



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101718782 A

(43) 申请公布日 2010.06.02

(21) 申请号 200910114508.3

(22) 申请日 2009.10.29

(71) 申请人 广西师范大学

地址 541004 广西壮族自治区桂林市育才路
15号

(72) 发明人 张静 孙双娇 李纪顺 蒋治良

(74) 专利代理机构 桂林市华杰专利商标事务所
有限责任公司 45112

代理人 王俭

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/536(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

G01N 21/47(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 2 页

(54) 发明名称

检测人血清纤维蛋白原的免疫同步散射光谱
试剂盒及其使用方法

(57) 摘要

本发明涉及一种检测人血清纤维蛋白原的免疫同步散射光谱试剂盒及其使用方法。本试剂盒由下列三种试剂组成,1、纤维蛋白原标准液;2、R1:含 24.6 ~ 122mmol/L Na_2HPO_4 和 56 ~ 175.4mmol/L NaH_2PO_4 和 100-400g/L 聚乙二醇 6000;3、R2:含稳定剂和 1.00mg · mL⁻¹羊抗人纤维蛋白原抗体。具体使用方法是按一定比例制备标准系列,并测定其同步散射强度,绘制同步散射强度-浓度标准曲线,然后测定样品的同步散射强度,根据标准曲线求出其 Fg 含量。这种试剂盒操作简便、快速,灵敏度高,抗干扰强,同时与 Clauss 法测定结果相比,一致性较好,为临床诊断治疗冠心病、心肌梗死、脑血管病等疾病提供可靠的实验数据。

1. 用于检测人血清纤维蛋白原的免疫同步散射光谱试剂盒,其特征是:它由下列三种试剂组成:

(1) 纤维蛋白原,即 Fg 标准液;

(2) R1:含 24.6 ~ 122mmol/LNa₂HPO₄ 和 56 ~ 175.4mmol/LNaH₂PO₄ 和 100-400g/L 聚乙二醇 6000;

(3) R2:含稳定剂和 1.00mg · mL⁻¹ 羊抗人纤维蛋白原抗体。

2. 如权利要求 1 所述试剂盒的使用方法,其特征是:包括如下步骤:

(1) 绘制标准曲线

1) 准备 6 支试管,依次移取 0.30mLR1,0.20mLR2,不同量 Fg 标准溶液,于 5mL 带刻度的试管中,用蒸馏水定容至 3mL,混匀,在 37°C 温育 15min;以不加 Fg 作空白对照体系;

2) 分别取适量上述体系于石英池中,置于荧光分光光度计上,在激发波长 λ_{ex} 等于发射波长 λ_{em} 的条件下,同步扫描得到体系的同步散射光谱,分别测定 340nm 和 470nm 处的同步散射光强度 I,并测定空白体系同步散射光强度 I_b,计算 $\Delta I = I - I_b$;

3) 以 ΔI 对 Fg 的浓度关系绘制标准曲线;

(2) 制备样品检测体系

取医院处理过的待测人血浆样品,用 24.6 ~ 122mmol/LNa₂HPO₄ 和 56 ~ 175.4mmol/LNaH₂PO₄ 混合液将样品稀释 50 倍,取稀释后的样品 50 μ L,依照步骤 (1) 的 1) 和 2) 的方法制备检测体系,求出样品的 $\Delta I_{样}$;

(3) 依据绘制的标准曲线,计算出血浆样品 Fg 的浓度。

3. 如权利要求 2 所述的试剂盒的使用方法,其特征是:纤维蛋白原的检出范围为 0.13-5.33 μ g/mL。

检测人血清纤维蛋白原的免疫同步散射光谱试剂盒及其使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生化分析技术,具体是检测人血清纤维蛋白原的免疫同步散射光谱试剂盒及其使用方法。

背景技术

[0002] 纤维蛋白原(Fg)是由肝脏合成,类似球蛋白的一种大分子可溶性糖蛋白。它能与凝血酶作用,是影响血液粘度的重要因素,它在细胞的迁移、生长、分化、伤口的修复等过程中都担负着重要的生理作用。目前,对于Fg的检测,国内外报道了多种检测方法,如盐析法、免疫比浊法、热浊度法、双缩脲法、von Clauss法、紫外光度法、电泳法、PT演算法等。其中常规多采用较为简便的von Clauss法,该法的线性范围是 $0.82-4.90\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。其次应用相对较多的为盐析法,这类方法快速简便,但是特异性不强,影响因素多。免疫比浊法较为简便、快速、特异和准确性较高,但灵敏度不高。

发明内容

[0003] 本发明的目的是为克服现有技术的不足,而提供一种能简便、快速、灵敏度高、抗干扰强的检测人血清纤维蛋白原的免疫同步散射光谱试剂盒及其使用方法。

[0004] 实现本发明的目的技术方案是:本试剂盒利用Fg与羊抗人Fg在一定温度水浴条件下,生成免疫复合物,二者之间的反应具有较高的特异性,生成的免疫复合物存在瑞利散射乃至同步散射。在一定Fg浓度范围内,随着其浓度的增加,体系在340nm和470nm处的同步散射强度线性增强,据此可绘制Fg浓度与 ΔI_{RS} 的标准曲线。按照使用方法测定样品的同步散射强度,与标准曲线体系空白的同步散射强度相减,即计算 $\Delta I_{RS} = (I_{RS})_{\text{样}} - (I_{RS})_{\text{b}}$,根据标准曲线即能得出样品中纤维蛋白原的浓度。

[0005] 本发明检测人血清纤维蛋白原的免疫同步散射光谱试剂盒,由下列三种试剂组成:

[0006] (1) 纤维蛋白原(Fg)标准液;

[0007] (2) R1:含 $24.6 \sim 122\text{mmol/LNa}_2\text{HPO}_4$ 和 $56 \sim 175.4\text{mmol/LNaH}_2\text{PO}_4$ 和 $100-400\text{g/L}$ 聚乙二醇6000;

[0008] (3) R2:含稳定剂和 $1.00\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 羊抗人纤维蛋白原抗体。

[0009] 本试剂盒的使用方法包括如下步骤:

[0010] 一、绘制标准曲线

[0011] (1) 准备6支试管,依次移取 0.30mL R1, 0.20mL R2,不同量Fg标准溶液,其中第一管不加Fg标准溶液,于 5mL 带刻度的试管中,用蒸馏水定容至 3mL ,混匀,在 37°C 温育 15min ;以不加Fg作空白对照体系;

[0012] (2) 分别取适量上述体系于石英池中,置于荧光分光光度计上,在激发波长 λ_{ex} 等于发射波长 λ_{em} 的条件下,同步扫描得到体系的同步散射光谱。分别测定 340nm 和 470nm

处的同步散射光强度 I , 并测定空白体系同步散射光强度 I_b , 计算 $\Delta I = I - I_b$;

[0013] (3) 以 ΔI 对 Fg 的浓度关系绘制标准曲线;

[0014] 二、制备样品检测体系

[0015] (1) 取医院处理过的待测人血浆样品, 用 24.6 ~ 122mmol/L Na_2HPO_4 和 56 ~ 175.4mmol/L NaH_2PO_4 将样品稀释 50 倍, 取稀释后的样品 50 μL , 依照步骤一的 (1) 和 (2) 的方法制备检测体系, 求出样品的 $\Delta I_{\text{样}}$;

[0016] 三、依据绘制的标准曲线, 计算出血浆样品 Fg 的浓度。

[0017] 本发明的优点是:

[0018] (1) 与已有的方法相比, 本测定方法的仪器简单, 操作简便, 抗干扰强, 灵敏度高, 选择性好, 反应条件容易达到。

[0019] (2) 试剂仅为纤维蛋白原 (Fg) 标准液, R1 : 含 24.6 ~ 122mmol/L Na_2HPO_4 和 56 ~ 175.4mmol/L NaH_2PO_4 和 100-400g/L 聚乙二醇 6000, R2 : 含稳定剂和 1.00mg $\cdot\text{mL}^{-1}$ 羊抗人纤维蛋白原抗体, 所用羊抗人 Fg 抗体溶液和 Fg 溶液浓度较低, 试剂用量少且均无毒。

具体实施方式

[0020] 本试剂盒由独立分装下列三种试剂组成: 纤维蛋白原 (Fg) 标准液; R1 : 含 24.6 ~ 122mmol/L Na_2HPO_4 和 56 ~ 175.4mmol/L NaH_2PO_4 和 100-400g/L 聚乙二醇 6000; R2 : 含稳定剂和 1.00mg $\cdot\text{mL}^{-1}$ 羊抗人纤维蛋白原抗体;

[0021] 用本试剂盒测定人血清纤维蛋白原的方法, 包括如下步骤:

[0022] 一、绘制标准曲线

[0023] (1) 准备 6 支试管, 依次移取 0.30mL R1, 0.20mL R2, 不同量的 Fg 标准溶液, 其中第一管不加 Fg 标准溶液, 于 5mL 带刻度的试管中, 用蒸馏水定容至 3mL, 混匀, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 温育 15min; 以不加 Fg 作空白对照体系;

[0024] (2) 分别取适量上述体系于石英池中, 置于荧光分光光度计上。用低灵敏档, 纵坐标为 6, 在激发波长 λ_{ex} 等于发射波长 λ_{em} 的条件下, 在 RF-540 型荧光分光光度计 (日本岛津) 同步扫描得到体系的同步散射光谱。测定 340nm 或 470nm 处的同步散射光强度 I , 并测定空白体系同步散射光强度 I_b , 计算 $\Delta I = I - I_b$;

[0025] (3) 以 $\Delta I_{\text{样}}$ 对 Fg 的浓度关系绘制标准曲线;

[0026] 二、制备样品检测体系:

[0027] 取医院处理过的待测人血浆样品, 用 24.6 ~ 122mmol/L Na_2HPO_4 和 56 ~ 175.4mmol/L NaH_2PO_4 混合液将样品稀释 50 倍, 取稀释后的样品 50 μL , 依照步骤一的 (1) 和 (2) 的方法制备检测体系, 求出样品的 $\Delta I_{\text{样}}$;

[0028] 三、依据绘制的标准曲线, 计算出血浆样品 Fg 的浓度。

[0029] 本试剂盒纤维蛋白原的检出范围为 0.13-5.33 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

专利名称(译)	检测人血清纤维蛋白原的免疫同步散射光谱试剂盒及其使用方法		
公开(公告)号	CN101718782A	公开(公告)日	2010-06-02
申请号	CN200910114508.3	申请日	2009-10-29
[标]申请(专利权)人(译)	广西师范大学		
申请(专利权)人(译)	广西师范大学		
当前申请(专利权)人(译)	广西师范大学		
[标]发明人	张静 孙双娇 李纪顺 蒋治良		
发明人	张静 孙双娇 李纪顺 蒋治良		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/536 G01N21/64 G01N21/47		
代理人(译)	王俭		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种检测人血清纤维蛋白原的免疫同步散射光谱试剂盒及其使用方法。本试剂盒由下列三种试剂组成，1、纤维蛋白原标准液；2、R1：含24.6~122mmol/L Na₂HPO₄和56~175.4mmol/L NaH₂PO₄和100-400g/L聚乙二醇6000；3、R2：含稳定剂和1.00mg·mL⁻¹羊抗人纤维蛋白原抗体。具体使用方法是按一定比例制备标准系列，并测定其同步散射强度，绘制同步散射强度-浓度标准曲线，然后测定样品的同步散射强度，根据标准曲线求出其Fg含量。这种试剂盒操作简便、快速，灵敏度高，抗干扰强，同时与Clauss法测定结果相比，一致性较好，为临床诊断治疗冠心病、心肌梗死、脑血管病等疾病提供可靠的实验数据。