



(12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 203688563 U

(45) 授权公告日 2014.07.02

(21) 申请号 201320647481.6

(22) 申请日 2013.10.18

(73) 专利权人 无锡宜佰维盛生物技术有限公司
地址 214200 江苏省无锡市宜兴经济开发区
文庄路6号

(72) 发明人 杨雷 刘琴 刘扬 代丽

(74) 专利代理机构 北京爱普纳杰专利代理事务
所(特殊普通合伙) 11419
代理人 何自刚 王玉松

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/574(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

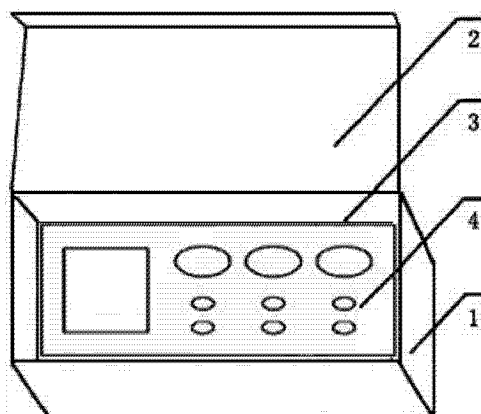
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 实用新型名称

一种胃蛋白酶原 I 酶联免疫一步法检测试剂盒

(57) 摘要

本实用新型公开了一种快速检测胃蛋白酶原 I 酶联免疫一步法检测试剂盒,所述试剂盒包括盒体(1),盒盖(2),盒体内设置有下凹瓶位(3)、试剂瓶(4)、及微孔板(5),所述试剂瓶(4)按分类置于下凹瓶位(3)上,所述微孔板(5)中包被有抗 PGI 抗体,所述试剂瓶(4)包括 PGI 酶标抗体、浓度为 0-180ug/L 校准品试剂、质控品、显色剂、终止液、洗涤液;所述微孔板(5)置于盒体(1)底部。本实用新型提供的试剂盒采用一步法检测,能不稀释血清样本直接检测,而且使试剂盒的整个检测时间比同类别的检测试剂缩短 45-60 分钟,具有高特异性、灵敏度高、操作简单和快速检测,便于临床使用。



1. 一种胃蛋白酶原 I 酶联免疫一步法检测试剂盒,其特征在於所述试剂盒包括盒体(1),盒盖(2),盒体内设置有下凹瓶位(3)、试剂瓶(4)、及微孔板(5),所述试剂瓶(4)按分类置于下凹瓶位(3)上,所述微孔板(5)中包被有抗 PGI 抗体,所述试剂瓶(4)包括 PGI 酶标抗体、浓度为 0-180ug/L 校准品试剂、质控品、显色剂、终止液、洗涤液;所述微孔板(5)置于盒体(1)底部。

2. 权利要求 1 所述的检测试剂盒,其特征在於所述微孔板设置 1 块、PGI 酶标抗体设置 1 瓶、校准品设置 5 瓶、质控品设置 1 瓶、显色剂设置 1 瓶、终止液设置 1 瓶、洗涤液采用浓缩形式,设置 1 瓶。

3. 根据权利要求 2 所述的检测试剂盒,其特征在於所述盒体(1)与盒盖(2)采用防水材料制成。

4. 根据权利要求 3 所述的检测试剂盒,其特征在於所述防水材料优选塑化材料。

5. 根据权利要求 1-4 任一所述的检测试剂盒,其特征在於还包括用于密封的封口膜。

6. 根据权利要求 5 所述的检测试剂盒,其特征在於所述微孔板采用可拆卸方式。

7. 根据权利要求 1-4 任一所述的检测试剂盒,其特征在於所述微孔板优选 48 或 96 孔。

8. 根据权利要求 1 所述的检测试剂盒,其特征在於所述下凹瓶位与试剂瓶形状相同,能稳定固定试剂瓶。

9. 根据权利要求 1-4 任一所述的检测试剂盒,其特征在於所述 PGI 酶标抗体为 PGI 单克隆抗体标记的辣根过氧化物酶;校准品为已配置好的不同浓度 PGI 抗原溶液。

一种胃蛋白酶原 I 酶联免疫一步法检测试剂盒

技术领域：

[0001] 本实用新型涉及一种胃蛋白酶原 I 检测试剂盒，特别是一种一步法快速检测试剂盒。

背景技术：

[0002] 胃癌是全球高危死亡率的第二大疾病，严重威胁着人类健康。胃癌是最常见的恶性肿瘤之一，死亡率居各种恶性肿瘤前列，全球每年 934,000 新发胃癌病例，42%（近 40 万）的新发病例数在我国，胃癌在我国的患病率和死亡率均是世界水平的 2 倍多。其早期诊断、早期治疗是提高患者生存质量、降低死亡率的唯一途径，改善胃癌患者预后的关键是作好二级预防，血清 PG 检测可以作为胃癌筛查“二步法”中的初筛方法。联合测定 PGI 和 PG II 的水平及其比值可起到胃黏膜“血清学活检”的作用，有利于胃癌的预防干预、早期诊断以及术后复发预测。近年来，血清 PG 含量的变化与胃癌及其他胃部疾病的关系及其作为初筛手段在胃癌筛查中的应用已引起越来越多研究者的关注。

[0003] PG (PG) 是一种门冬氨酸蛋白酶前体，是分子质量为 42KDa 的单链多肽。人类 PG 依其电泳迁移率可以分为 7 个组分，1-5 组分的免疫原性相同，成为 PGI (PGI)，主要由胃腺的主细胞和黏液颈细胞分泌；组分 6-7 被称为 PGII (PGII)，除由胃体和胃底黏膜的泌酸腺的主细胞分泌外，泌酸腺的黏液颈细胞、贲门腺和胃窦的幽门腺的黏液细胞以及十二指肠上段的 Brunner 腺也能产生 PGII。由于胃几乎是 PG 的唯一来源，并且在分泌阶段的分泌量会发生变化，因此，血清 PGI 和 PGII 不仅反映了胃黏膜腺体和细胞的数量，也间接反映了胃黏膜不同部位的分泌功能。

[0004] 通常情况下约有 1% 的 PG 通过胃黏膜进入血液循环，进入血液循环的 PG 在血液中非常稳定。血清 PG 水平是反映胃黏膜形态和功能的良好指标。大部分酶原进入胃腔，经酸解成具有活性的胃蛋白酶发挥其消化蛋白质的作用。但也有少量透过胃黏膜毛细血管进入血液，可从血清中检测。当胃粘膜发生病变时，血清中 PG 的含量也随之发生改变。血清 PG 含量的变化与胃癌及其他胃部疾病的关系及其作为初筛手段在胃癌筛查中的应用已引起越来越多研究者的关注。研究发现，在常规体检中大约有 15% 左右的人的血清 PG 水平异常，而进一步进行胃镜检查，其中 90% 以上的患者有不同程度的浅表性胃炎、糜烂性胃炎、胃溃疡、十二指肠溃疡、萎缩性胃炎、胃癌等胃部疾病。近年来，血清 PG 含量的变化与胃癌及其他胃部疾病的关系及其作为初筛手段在胃癌筛查中的应用已引起越来越多研究者的关注。

实用新型内容：

[0005] 本实用新型要解决的技术问题是提供一种新型的 PGI 酶联免疫一步法检测试剂盒，运用一步法快速检测技术，运用特殊包被液制备的微孔板和加速抗原抗体反应的酶标抗体稀释液，使一步法反应快速、充分，达到快速、高灵敏度、特异性好级量程宽的目的。

[0006] 所述试剂盒包括盒体(1)，盒盖(2)，盒体内设置有下凹瓶位(3)、试剂瓶(4)、及微孔板(5)，所述试剂瓶(4)按分类置于下凹瓶位(3)上，所述微孔板(5)中包被有抗 PGI 抗

体,所述试剂瓶(4)包括 PGI 酶标抗体、浓度为 0-180ug/L 校准品试剂、质控品、显色剂、终止液、洗涤液;所述微孔板(5)置于盒体(1)底部。

[0007] 所述下凹瓶位与试剂瓶形状相同,能稳定固定试剂瓶。

[0008] 根据试剂盒的空间及试验用量,本试剂盒设置微孔板设置 1 块、PGI 酶标抗体设置 1 瓶、校准品设置 5 瓶、质控品设置 1 瓶、显色剂设置 1 瓶、终止液设置 1 瓶、洗涤液采用浓缩形式,设置 1 瓶。

[0009] 为了更好的便于试剂盒在多种环境中使用,试剂盒的盒体(1)与盒盖(2)采用防水材料制成,其中优选塑化材料。

[0010] 为便于本试剂盒的使用,盒子中还包括用于密封的封口膜;微孔板采用可拆卸方式并优选 48 或 96 孔。

[0011] 所述 PGI 酶标抗体为 PGI 单克隆抗体标记的辣根过氧化物酶;校准品为已配置好的不同浓度 PGI 抗原溶液。

[0012] 本实用新型提供的试剂盒灵敏度高,检测灵敏度达 0.1ug/L;量程宽,检测样本不需要稀释;检测时间短,整个检测时间为 1 小时,比现有市场上同类产品检测时间缩短 45-60 分钟;样本需求量少,一次上样只需要 50ul,比目前市场上同类产品上样量减少一倍。此外,本试剂盒方便携带,便于使用,具有很好的应用前景。

附图说明:

[0013] 图 1 为本试剂盒的结构示意图。

[0014] 图 2 为本试剂盒微孔板示意图。

[0015] 附图标记说明 1:盒体 2:盒盖 3:下凹瓶位 4:试剂瓶 5:微孔板

[0016] 图 3 为 PGI 酶联免疫一步法检测试剂盒反应标准曲线图。

具体实施方式

[0017] 如图 1 所示,本实用新型提供的试剂盒包括盒体(1),盒盖(2),盒体内设置有以下凹瓶位(3)、试剂瓶(4)、及微孔板(5),所述试剂瓶(4)按分类置于下凹瓶位(3)上,所述微孔板(5)中包被有抗 PGI 抗体,所述试剂瓶(4)包括 PGI 酶标抗体、浓度为 0-180ug/L 校准品试剂、质控品、显色剂、终止液、洗涤液;所述微孔板(5)置于盒体(1)底部。所述 PGI 酶标抗体为 PGI 单克隆抗体标记的辣根过氧化物酶;校准品为已配置好的不同浓度 PGI 抗原溶液。

[0018] 所述下凹瓶位与试剂瓶形状相同,能稳定固定试剂瓶。

[0019] 根据试剂盒的空间及试验用量,本试剂盒设置微孔板设置 1 块、PGI 酶标抗体设置 1 瓶、校准品设置 5 瓶、质控品设置 1 瓶、显色剂设置 1 瓶、终止液设置 1 瓶、洗涤液采用浓缩形式,设置 1 瓶。

[0020] 为了更好的便于试剂盒在多种环境中使用,试剂盒的盒体(1)与盒盖(2)采用防水材料制成,其中优选塑化材料。

[0021] 为便于本试剂盒的使用,盒子中还包括用于密封的封口膜;微孔板采用可拆卸方式并优选 48 或 96 孔。

[0022] 本试剂盒的具体组成及使用方法如下:

- [0023] 1. 溶液配制
- [0024] a) 包被缓冲液配制 :0. 1M 碳酸盐缓冲液 (pH9. 6) ;
- [0025] b) 封闭液配制 :磷酸盐缓冲液, 1%BSA, 酪蛋白 (pH7. 4) ;
- [0026] c) 浓缩洗涤液配制 :0. 5M 磷酸盐缓冲液, 十二烷基硫酸钠, pH7. 4 ;
- [0027] d) 酶标抗体稀释液配制 :0. 1MTris 盐酸缓冲液, pH8. 5 ;
- [0028] e) 底物液配制 :0. 2mg/ml 过氧化脲, 0. 1M 柠檬酸缓冲液 pH5. 5, TMB0. 5mg/ml, DMSO ;
- [0029] f) 终止液配制 :2M 硫酸 ;
- [0030] g) 校准品稀释液 :0. 1MPBS, pH7. 4。
- [0031] 2. 微孔板制备
- [0032] 2. 1 包被
- [0033] (1) 用包被机或移液器将包被液按 100u1/ 孔加入微孔板 ;
- [0034] (2) 盖板膜封闭微孔板, 放置于 4℃ 冰箱过夜 ;
- [0035] (3) 洗板机、稀释后的 0. 05M 洗涤液洗板 5 次。
- [0036] 2. 2 封闭
- [0037] (1) 用包被机或移液器将封闭液按 300u1/ 孔加入微孔板 ;
- [0038] (2) 盖板膜封闭微孔板, 放置于 37℃ 封闭 1 小时 ;
- [0039] (3) 洗板机、稀释后的 0. 05M 洗涤液洗板 5 次。
- [0040] 2. 3 真空包装
- [0041] (1) 将上述处理后的微孔板放置于 37℃ 烘箱干燥 0. 5 小时 ;
- [0042] (2) 立即用真空封装机进行真空包装。
- [0043] 3. 分装
- [0044] (1) 酶标抗体分装 :用自动灌装机按照 6. 0ml/ 瓶, 灌装于 15ml 白色塑料瓶中, 并随灌装进行及时旋上瓶盖 ;
- [0045] (2) 底物液分装 :用自动灌装机按照 12. 0ml/ 瓶, 灌装于 15ml 棕色塑料瓶中, 并随灌装进行及时旋上瓶盖 ;
- [0046] (3) 浓缩洗涤液分装 :用自动灌装机按照 50. 0ml/ 瓶, 灌装于 50ml 白色塑料瓶中, 并随灌装进行及时旋上瓶盖 ;
- [0047] (4) 终止液分装 :用自动灌装机按照 6. 0ml/ 瓶, 灌装于 15ml 白色塑料瓶中, 并随灌装进行及时旋上瓶盖 ;
- [0048] (5) 校准品分装 :取大小适用的 5 个容器, 配制浓度点依次为 0. 0、30. 0、70. 0、120. 0、180. 0ug/L 的校准品, 用自动灌装机按照 0. 6ml/ 瓶, 灌装于 1. 8ml 白色塑料瓶中, 并随灌装进行及时旋上瓶盖 ;
- [0049] (6) 质控品分装 :配制 60. 0ug/L 的质控品, 用自动灌装机按照 0. 6ml/ 瓶, 灌装于 1. 8ml 白色塑料瓶中, 并随灌装进行及时旋上瓶盖 ;
- [0050] 4. 试剂盒组装
- [0051] 将各组按照下表的进行组合, 即为 PGI 的酶联免疫一步法检测试剂盒。
- [0052] 表 1PGI 的酶联免疫一步法检测试剂盒组成成分
- [0053]

名称	规格	数量 / 盒	主要成分
校准品	0.6ml / 瓶	5	PGI 原料
质控品	0.6ml / 瓶	1	PGI 原料
酶标抗体	6.0ml / 瓶	1	HRP
底物液	12.0ml / 瓶	1	四甲基联苯胺
终止液	6.0ml / 瓶	1	硫酸
10× 浓缩洗涤液	50.0ml / 瓶	1	磷酸盐
微孔板	96 孔 / 板	1	
封板膜	85mm × 140mm	3	
说明书	A4	1	

[0054] 5. 试剂盒的检测步骤

[0055] (1) 首先在微孔板反应孔中依次加入 50u1 样本和 50u1 酶标抗体, 混匀;

[0056] (2) 37℃ 孵育 45 分钟;

[0057] (3) 用稀释好的洗涤液洗板 5 次, 扣干;

[0058] (4) 加入底物液 100u1, 盖上盖板膜, 37℃ 温育避光显色 15 分钟;

[0059] (5) 加入终止液 50u1, 然后立即用酶标仪测定 450nm 吸光值。

[0060] 本实用新型所述实施例是指导性的, 非限定性的, 只是帮助理解本实用新型, 因此本实用新型并不限于具体实施方式中所述的实施例, 凡是由本领域技术人员根据本实用新型的技术方案得出的其他具体实施方式, 同样属于本实用新型的保护范围。

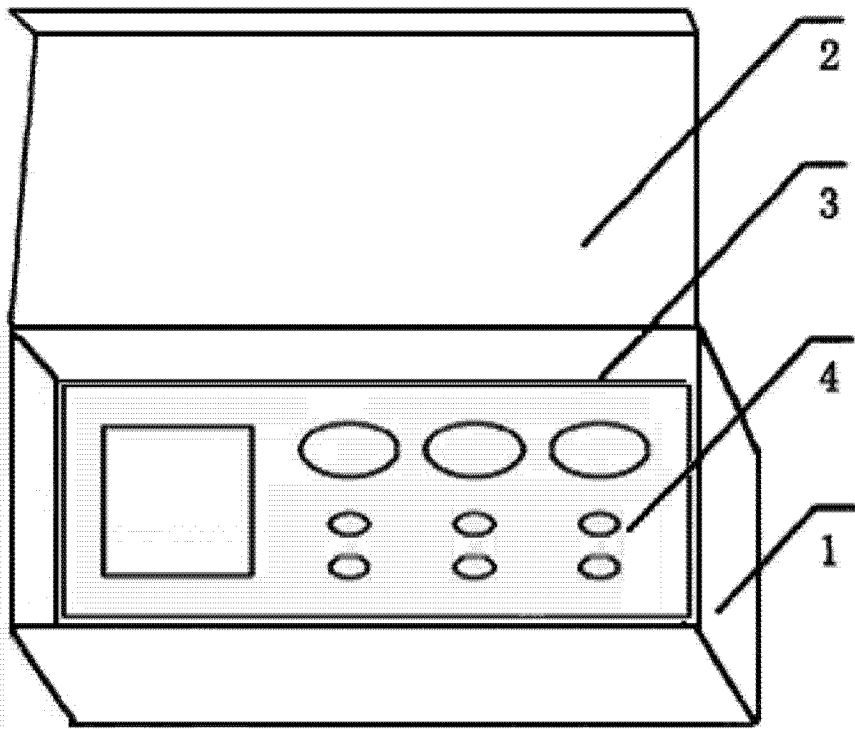


图 1

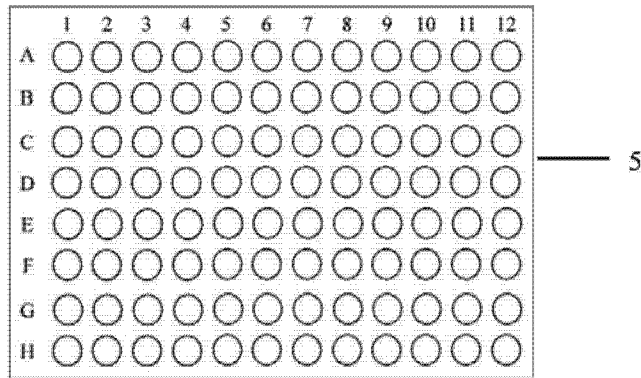


图 2

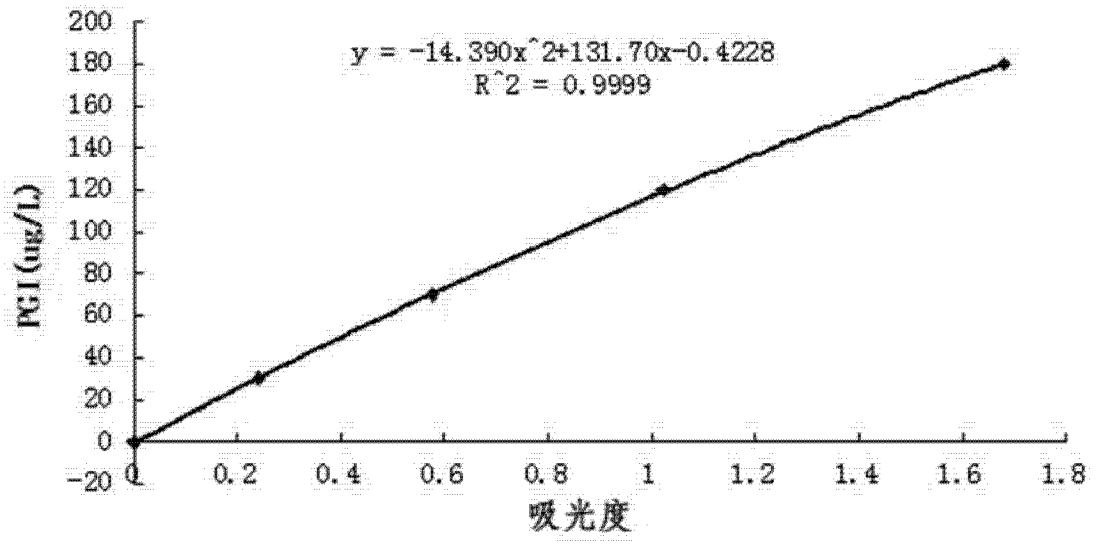


图 3

专利名称(译)	一种胃蛋白酶原I酶联免疫一步法检测试剂盒		
公开(公告)号	CN203688563U	公开(公告)日	2014-07-02
申请号	CN201320647481.6	申请日	2013-10-18
[标]申请(专利权)人(译)	无锡宜诺维盛生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	无锡宜诺维盛生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	无锡宜诺维盛生物技术有限公司		
[标]发明人	杨雷 刘琴 刘扬 代丽		
发明人	杨雷 刘琴 刘扬 代丽		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/574 G01N33/535		
代理人(译)	王玉松		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型公开了一种快速检测胃蛋白酶原I酶联免疫一步法检测试剂盒，所述试剂盒包括盒体（1），盒盖（2），盒体内设置有下凹瓶位（3）、试剂瓶（4）、及微孔板（5），所述试剂瓶（4）按分类置于下凹瓶位（3）上，所述微孔板（5）中包被有抗PGI抗体，所述试剂瓶（4）包括PGI酶标抗体、浓度为0-180ug/L校准品试剂、质控品、显色剂、终止液、洗涤液；所述微孔板（5）置于盒体（1）底部。本实用新型提供的试剂盒采用一步法检测，能不稀释血清样本直接检测，而且使试剂盒的整个检测时间比同类别的检测试剂缩短45-60分钟，具有高特异性、灵敏度高、操作简单和快速检测，便于临床使用。

