



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105403692 A

(43) 申请公布日 2016. 03. 16

(21) 申请号 201510788481. 1

(22) 申请日 2015. 11. 17

(71) 申请人 苏州浩欧博生物医药有限公司

地址 215000 江苏省苏州市工业园区星湖街
218 号生物纳米园 C6 栋 101

(72) 发明人 韩霜 钱林 何晓静 丁俊荣
罗薇 李庆春

(74) 专利代理机构 苏州广正知识产权代理有限
公司 32234

代理人 徐萍

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

G01N 33/535(2006. 01)

权利要求书2页 说明书7页 附图1页

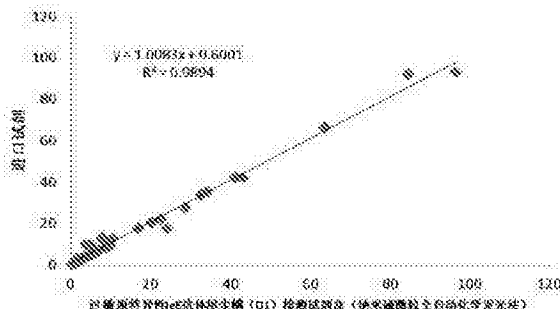
(54) 发明名称

检测屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体的试剂盒
及方法

(57) 摘要

本发明公开了一种检测屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体的试剂盒及方法,试剂盒包括校准品、质控品、生物素标记的屋尘螨过敏原溶液、碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗溶液、链霉亲和素标记的纳米磁微粒悬浮液,利用所述试剂盒对屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体进行检测。通过上述方式,本发明试剂盒中各试剂组分稳定性良好,有效期可至一年以上,检测灵敏度高、特异性能好、变异小。经过大量实验的工艺优化,得到完善统一工艺,并严格按照标准生产操作规程和质量控制规程进行生产。用户仅需按照操作说明进行规范操作,就可得到可靠的结果。在临床研究与国外进口试剂的符合相关性高达 90% 以上,且费用仅为其 1/2。

过敏原特异性IgE抗体屋尘螨(O1)检测试剂盒(纳米磁微粒全自动化学发光法)与进口试剂的性能对比



1. 一种检测屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体的试剂盒,其特征在于,包括校准品、质控品、生物素标记的屋尘螨过敏原溶液、碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗溶液、链霉亲和素标记的纳米磁微粒悬浮液。

2. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于,所述生物素标记的屋尘螨过敏原溶液的浓度为 0.1~1.0 ug/ml;所述链霉亲和素标记的纳米磁微粒悬浮液的浓度为 0.1~1.0 mg/ml;所述碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗溶液的浓度为 0.1~2.0 ug/ml。

3. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于,所述校准品的浓度为:0 IU/ml、0.35 IU/ml、0.7 IU/ml、3.5 IU/ml、17.5 IU/ml、50 IU/ml、100 IU/ml,所述校准品是 IgE 蛋白与 0.1M、pH 值为 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液配制得到的;所述质控品的浓度为:0.7 IU/ml、17.5 IU/ml,所述质控品是 IgE 蛋白与 0.1M、pH 值为 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液配制得到的。

4. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于,所述屋尘螨过敏原为能与人体内屋尘螨特异性 IgE 蛋白结合的抗原,所述生物素标记的屋尘螨过敏原的配制方法为:将屋尘螨过敏原按 1:20 摩尔比加入到溶于二甲基甲酰胺的生物素中,再用 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液透析得到。

5. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于,所述标记的鼠抗人 IgE 二抗为能与人体内 IgE 蛋白特异结合的抗体,所述碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗的配制方法为:将浓度为 1.0~5.0mg/mL 的碱性磷酸酶溶液与鼠抗人 IgE 二抗按摩尔比为 2~10:1 进行混合后并纯化,得到碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗,所述纯化是用 pH 为 8~9 的碳酸氢盐缓冲液平衡并洗脱,再紫外检测和记录纯化图谱,再用 0.05M、pH 值为 6.0 的 MES 缓冲液对碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 抗体稀释。

6. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于,所述链霉亲和素标记的纳米磁微粒悬浮液的制备过程为:将链霉亲和素标记的纳米磁微粒用磁分离器沉淀,再用 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液重悬,混匀磁分离沉出,并重复清洗,清洗后的纳米磁微粒分散于 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液。

7. 提供一种纳米磁微粒化学发光法定量检测血清屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体的方法,其特征在于,包括步骤为:

(1) 将磁微粒试剂、生物素标记的屋尘螨过敏原和待检样本混匀并反应,反应后置于磁场中静置并去上清,得到第一溶液;

(2) 向所述第一溶液中加入碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗混匀并反应,反应后置于磁场中静置并去上清,得到第二溶液;

(3) 向所述第二溶液中加入发光底物并反应,测发光强度;

(4) 利用已知浓度的校准品绘制发光强度标准曲线,根据步骤(3)得到的发光强度对照所述标准曲线,计算得出待测血清样本中特异性 IgE 的含量。

8. 根据权利要求 7 所述的方法,其特征在于,步骤(1)中所述反应的条件为 37℃ 下反应 15 分钟,所述静置的时间为 3 分钟;步骤(1)中还包括对所述第一溶液用清洗液进行清洗,置于磁场中静置并去上清,清洗重复 2 次;步骤(2)中所述反应的条件为 37℃ 下反应 15 分钟,所述静置的时间为 3 分钟;步骤(2)中还包括对所述第二溶液用清洗液进行清洗,置于磁场中静置并去上清,清洗重复 2 次;步骤(3)中所述反应的条件为 37℃ 下反应 5 分钟,在化学发光分析 / 测定仪中测定发光强度。

9. 根据权利要求 7 所述的方法,其特征在于,所述方法在全自动化学发光仪 Lumiray 系列上进行,所述 Lumiray 系列为 Lumiray 1200、Lumiray 1220、Lumiray 1260 或 Lumiray 1280。

10. 根据权利要求 9 所述的方法,其特征在于,包括的步骤为:

- (1) 将所述试剂盒放入全自动化学发光仪的试剂仓里并进行识别;
- (2) 将校准品置于所述全自动化学发光仪的仪器样本仓,识别校准品信息,分配校准品位置;
- (3) 将质控物或待测样本置于仪器样本仓,编辑检测信息;
- (4) 启动运行程序,所有校准品 / 质控物 / 待测样本自动进行处理得到结果。

检测屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体的试剂盒及方法

技术领域

[0001] 本发明属于医疗器械生物类免疫体外诊断领域,特别是涉及一种检测过敏原特异性 IgE 抗体屋尘螨的试剂盒及方法。

背景技术

[0002] IgE 抗体介导的 I 型过敏反应性疾病相当普遍,世界各国变态反应疾病的总发病率约为 15%-30%,我国大约有 5-10% 的人受过敏原的袭扰,是当前世界性的重大卫生学问题,被世界卫生组织(WHO)列为二十一世纪重点防治的三大疾病之一。

[0003] 过敏性疾病是患者吸入、摄食入或者注入含有致敏成分的物质,即称为过敏原或变应原 Allergen,后触发机体的 B 细胞产生特异性免疫球蛋白 E (Immunoglobulin E, IgE),从而引发过敏反应(或称变态反应,Allergy)的疾病及相关症状,如过敏性哮喘、枯草热、荨麻疹、过敏性鼻炎、湿疹、结膜炎及胃肠道 I 型过敏性疾病及严重过敏反应等。上述过敏性疾病的发生, IgE 抗体起关键作用。

[0004] 尘螨中重要的致敏蛋白组分为 Der p1 和 Der f2。尘螨既有共同的过敏原组分,也有种属特异性的过敏原组分。螨的一些致敏蛋白组分与无脊椎动物具有广泛的交叉反应性。

[0005] 在国内,屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体(D1)检测临床上主要以国外进口试剂和免疫组化试剂应用为主,国外进口试剂价格非常昂贵,给患者带来很大的经济负担,不利于在基层普及。具有自主知识产权的国产屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体(D1)免疫化学发光检测试剂盒目前还没有。

[0006] 因此,有待开发对屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体(D1)检测灵敏度高与可靠性并能降低检测成本的检测技术。

发明内容

[0007] 本发明主要解决的技术问题是提供一种屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体的试剂盒及方法,该试剂盒性能可靠,灵敏度高,线性范围宽,可配合全自动仪器使用,能提高检测灵敏度及可靠性,并降低成本,延长有效期。

[0008] 提供一种检测屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体的试剂盒,包括校准品、质控品、生物素标记的屋尘螨过敏原溶液、碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗溶液、链霉亲和素标记的纳米磁微粒悬浮液。

[0009] 在本发明一个较佳实施例中,所述生物素标记的屋尘螨过敏原溶液的浓度为 0.1~1.0 ug/ml;所述链霉亲和素标记的纳米磁微粒悬浮液的浓度为 0.1~1.0 mg/ml;所述碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗溶液的浓度为 0.1~2.0 ug/ml。

[0010] 在本发明一个较佳实施例中,所述校准品的浓度为:0 IU/ml、0.35 IU/ml、0.7 IU/ml、3.5 IU/ml、17.5 IU/ml、50 IU/ml、100 IU/ml,所述校准品是 IgE 蛋白与 0.1M、pH 值为 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液配制得到的;所述质控品的浓度为:0.7 IU/ml、17.5 IU/ml,所述

质控品是 IgE 蛋白与 0.1M、pH 值为 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液配制得到的。

[0011] 在本发明一个较佳实施例中,所述屋尘螨过敏原为能与人体内屋尘螨特异性 IgE 蛋白结合的抗原,所述生物素标记的屋尘螨过敏原的配制方法为:将屋尘螨过敏原按 1:20 摩尔比加入到溶于二甲基甲酰胺的生物素中,再用 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液透析得到。

[0012] 在本发明一个较佳实施例中,所述标记的鼠抗人 IgE 二抗为能与人体内 IgE 蛋白特异结合的抗体,所述碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗的配制方法为:将浓度为 1.0-5.0mg/mL 的碱性磷酸酶溶液与鼠抗人 IgE 二抗按摩尔比为 2-10:1 进行混合后并纯化,得到碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗,所述纯化是用 pH 为 8-9 的碳酸氢盐缓冲液平衡并洗脱,再紫外检测和记录纯化图谱,再用 0.05M、pH 值为 6.0 的 MES 缓冲液对碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 抗体稀释。

[0013] 在本发明一个较佳实施例中,所述链霉亲和素标记的纳米磁微粒悬浮液的制备过程为:将链霉亲和素标记的纳米磁微粒用磁分离器沉淀,再用 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液重悬,混匀磁分离沉出,并重复清洗,清洗后的纳米磁微粒分散于 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液。

[0014] 提供一种纳米磁微粒化学发光法定量检测血清屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体的方法,包括步骤为:

(1) 将磁微粒试剂、生物素标记的屋尘螨过敏原和待检样本混匀并反应,反应后置于磁场中静置并去上清,得到第一溶液;

(2) 向所述第一溶液中加入碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗混匀并反应,反应后置于磁场中静置并去上清,得到第二溶液;

(3) 向所述第二溶液中加入发光底物并反应,测发光强度;

(4) 利用已知浓度的校准品绘制发光强度标准曲线,根据步骤(3)得到的发光强度对照所述标准曲线,计算得出待测血清样本中特异性 IgE 的含量。

[0015] 在本发明一个较佳实施例中,步骤(1)中所述反应的条件为 37°C 下反应 15 分钟,所述静置的时间为 3 分钟;步骤(1)中还包括对所述第一溶液用清洗液进行清洗,置于磁场中静置并去上清,清洗重复 2 次;步骤(2)中所述反应的条件为 37°C 下反应 15 分钟,所述静置的时间为 3 分钟;步骤(2)中还包括对所述第二溶液用清洗液进行清洗,置于磁场中静置并去上清,清洗重复 2 次;步骤(3)中所述反应的条件为 37°C 下反应 5 分钟,在化学发光分析/测定仪中测定发光强度。

[0016] 在本发明一个较佳实施例中,所述定量检测方法在全自动化学发光仪 Lumiray 系列上进行,所述 Lumiray 系列为 Lumiray 1200、Lumiray 1220、Lumiray 1260 或 Lumiray 1280。

[0017] 在本发明一个较佳实施例中,所述定量检测方法包括的步骤为:

(1) 将所述试剂盒放入全自动化学发光仪的试剂仓里并进行识别;

(2) 将校准品置于所述全自动化学发光仪的仪器样本仓,识别校准品信息,分配校准品位置;

(3) 将质控物或待测样本置于仪器样本仓,编辑检测信息;

(4) 启动运行程序,所有校准品/质控物/待测样本自动进行处理得到结果。

[0018] 本发明的有益效果是：本发明的检测屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体的试剂盒及方法，试剂盒中各试剂组分稳定性良好，有效期可至一年以上，检测灵敏度高、特异性能好、变异小。经过大量实验的工艺优化，得到完善统一工艺，并严格按照标准生产操作规程和质量控制规程进行生产。用户仅需按照操作说明进行规范操作，就可得到可靠的结果。在临床研究中与国外进口试剂的符合相关性高达 90% 以上，且费用仅为其 1/2。

附图说明

[0019] 为了更清楚地说明本发明实施例中的技术方案，下面将对实施例描述中所需要使用的附图作简单地介绍，显而易见地，下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例，对于本领域普通技术人员来讲，在不付出创造性劳动的前提下，还可以根据这些附图获得其它的附图，其中：

图 1 是本发明的实施例一中检测屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体的试剂盒的标准曲线图；

图 2 是本发明的屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体(D1)检测试剂盒与进口试剂的性能对比图。

具体实施方式

[0020] 下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施例仅是本发明的一部分实施例，而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例，本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其它实施例，都属于本发明保护的范围。

[0021] 实施例一：

提供一种基于纳米磁微粒全自动化学发光法定量检测屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体(D1)的试剂盒，包括如下试剂：

- (1) 生物素标记的屋尘螨过敏原溶液，浓度为 0.1-1.0 ug/mL；
- (2) 链霉亲和素标记的纳米磁微粒悬浮液，浓度为 0.1-1.0 mg/mL；
- (3) 碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗溶液，浓度为 0.1-2.0 ug/mL；
- (4) 6 个不同浓度水平的校准品：0 IU/ml, 0.35 IU/ml, 0.7 IU/ml, 3.5 IU/ml, 17.5 IU/ml, 50 IU/ml, 100 IU/ml；
- (5) 2 个不同浓度水平的质控品：0.7 IU/ml, 17.5 IU/ml。

[0022] 实施例二：

本发明提供的一种纳米磁微粒全自动化学发光法定量检测血清屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体试剂盒的制备包括如下步骤：

(1) 配制缓冲液：

配制 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液，0.1M、pH 值为 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液，0.05M、pH 值为 6.0 的 MES 缓冲液。

[0023] 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液的配制：取容量 1L 的烧杯，加入 800ml 去离子水，称取 2.56g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、0.44g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 和 9g NaCl，加入到烧杯中，搅拌使其充分溶解，用 HCl 或 NaOH 调节 pH 值至 7.4 ± 0.05 ，加入质量分数为 2% 的甘露醇、质量分数为

1%的甘油,搅拌 0.5h 至完全溶解,加去离子水定容至 1L。

[0024] 0.1M、pH 值为 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液的配制:取容量 1L 的烧杯,加入 800ml 去离子水,称取 12.11g Tris (三羟甲基氨基甲烷)加入到烧杯中,搅拌使其充分溶解,用 HCl 或 NaOH 调节 pH 值至 7.4 ± 0.05 ,加入质量分数为 2% 的 BSA、质量分数为 0.3% 的 Proclin 300,搅拌 0.5h 至完全溶解,加去离子水定容至 1L。

[0025] 0.05M、pH 值为 6.0 的 MES 缓冲液的配制:取容量 1L 的烧杯,加入 800ml 去离子水,称取 9.76g MES(2-(N-吗啉代)乙磺酸)、9g NaCl 加入到烧杯中,搅拌使其充分溶解,用 HCl 或 NaOH 调节 pH 值至 6.0 ± 0.05 ,加入质量分数为 1% 的 BSA、质量分数为 0.1% 的 Tween-20,搅拌 0.5h 至完全溶解,加去离子水定容至 1L。

[0026] (2) 制备生物素标记的屋尘螨过敏原溶液

将屋尘螨过敏原以 1:20 的比例加入到溶于二甲基甲酰胺的生物素中,室温条件下充分混合反应 30 分钟,反应后的溶液用 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液透析。BCA 法测定生物素标记的屋尘螨过敏原溶液的浓度,并调整其浓度到 0.1-1.0 ug/ml。

[0027] (3) 制备链霉亲和素标记的纳米磁微粒悬浮液

将链霉亲和素标记的纳米磁微粒用磁分离器沉淀出来,用 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液重悬,充分混匀 15 分钟后磁分离沉出,弃去上清,再用 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液重悬,如此重复清洗 5 次,清洗后的纳米磁微粒分散于 0.01M、pH 值为 7.4 的磷酸盐缓冲液,浓度为 0.1-1.0 mg/ml。

[0028] (4) 制备碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗溶液;

用 0.05M、pH 值为 6.0 的 MES 缓冲液将碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗稀释到 0.1-2.0 ug/ml。

[0029] (5) 制备校准品

取 IgE 蛋白,用 0.1M、pH 值为 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液配制成 0、0.35、0.7、3.5、17.5、50、100IU/ml 的校准点。

[0030] (6) 制备质控品

取 IgE 蛋白,用 0.1M、pH 值为 7.4 的 Tris-HCl 缓冲液配制成 0.7、17.5 IU/ml 的质控品。

[0031] (7) 试剂盒组装

将生物素标记的屋尘螨过敏原溶液、链霉亲和素标记的纳米磁微粒悬浮液、碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗溶液、校准品和质控品组装成试剂盒。

[0032] 本发明的试剂盒中未详细提及的试剂组分(例如清洗液、一些必要的缓冲液等)、试剂盒的外包装以及各试剂组分的独立包装容器等均可以按照所属领域的常规操作进行,符合相关行业规定即可。

[0033] 实施例三:

提供了一种纳米磁微粒全自动化学发光法定量检测血清屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体试剂盒的检测方法,检测在全自动化学发光仪 Lumiray 系列(Lumiray 1200、Lumiray 1220、Lumiray 1260、Lumiray 1280 等)上进行,具体仪器操作步骤如下:

(1) 将试剂盒放入全自动化学发光分析/测定仪试剂仓相应位置,试剂盒信息通过条形码扫描仪输入仪器系统,也可通过仪器配套软件设定。

[0034] (2)将校准品置于仪器样本仓。通过条形码扫描仪识别校准品信息,并在仪器系统中分配校准品位置。

(3)将质控物 / 待测样本置于仪器样本仓,通过仪器配套软件编辑相应检测信息。

[0035] (4)启动运行程序,所有校准品 / 质控物 / 待检样本处理步骤将自动执行。

[0036] 本发明提供的一种纳米磁微粒全自动化学发光定量检测血清屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体试剂盒还可以在半自动化学发光仪上实现,具体的样本检测步骤如下:

(1)在检测管中依次加入 40uL 待测血清或 IgE 校准品、50uL 生物素标记的屋尘螨、50uL 链霉亲和素标记的纳米磁微粒,混匀后,在 37°C 下共孵育 15 分钟,样本中屋尘螨特异性 IgE 抗体被捕获,并固着在纳米磁微粒表面。

[0037] (2)外加磁场作用下,磁微粒沉降下来,去除上清,加入 500uL 清洗液,去除磁场后,震荡使磁微粒重悬;重复此清洗步骤 3 次以除去未结合的生物素标记的鼠抗人 IgE 抗体。

[0038] (3)加入 100uL 碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗溶液,混匀,37°C 下孵育 15 分钟。

[0039] (4)外加磁场作用下,磁微粒沉降下来,去除上清,加入 500uL 清洗液,去除磁场后,震荡使磁微粒重悬;重复此清洗步骤 3 次以除去未结合的酶标抗体及其它杂质。

[0040] (5)加入 150uL 酶促化学发光底物,去除磁场,37°C 下孵育 5 分钟,充分混匀后,测定发光值。

[0041] (6)数据的处理:通过校准品的浓度值和检测到的发光值,通过四参数非线性拟合获得标准曲线,将样本的发光值代入图 1 所示的标准曲线获得相应的浓度值。

[0042] 本发明的工作原理:待测血清样本与生物素标记的屋尘螨过敏原、链霉亲和素标记的纳米磁微粒共孵育,待测血清样本中屋尘螨特异性 IgE 抗体与生物素标记的屋尘螨过敏原特异性结合,同时借助生物素-链霉亲和素放大体系,血清样本中屋尘螨过敏原特异性 IgE 结合到固相载体纳米磁微粒上;外加磁场作用下,磁分离洗涤去除多余生物素标记的屋尘螨过敏原;加入碱性磷酸酶标记的鼠抗人 IgE 二抗,形成抗生物素标记的屋尘螨过敏原-屋尘螨特异性 IgE-抗 IgE 二抗的免疫复合物结构;外加磁场作用下,多次磁分离洗涤去除未结合的酶标抗体及其它杂质;加入酶促化学发光底物,测定发光强度;使用已知浓度的校准品标准曲线,根据发光强度对照标准曲线,计算得出待测样本中屋尘螨特异性 IgE 抗体的含量;

实施例四:

所述试剂盒的性能评估:

1、屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体(D1)检测试剂盒(纳米磁微粒全自动化学发光法)分析性能和稳定性,具体见下表。

测试参数	测试值							
	0月	3月	6月	9月	12月	13月	14月	15月
外观	合格	合格	合格	合格	合格	合格	合格	合格
曲线相关系数	0.9921	0.9958	0.9998	0.9913	0.9973	0.9998	0.9943	0.9962
最低检测限 (IU/mL)	0.091	0.095	0.097	0.089	0.087	0.092	0.094	0.097
准确度 (%)	97.09	104.14	99.18	102.2	95.4	97.4	105.1	106.1
批间精密度 (%)	8.61	7.58	8.32	5.12	9.24	4.25	3.64	7.52
批内精密度 (%)	3.17	4.51	5.42	4.45	3.24	2.41	4.12	2.24
热稳定性 (7天信号保留率%)	104.6	98.2	100.2	99.3	102.3	98.3	101.2	97.5
线性 (%)	102.3	101.1	95.6	98.2	96.2	94.5	102.3	95.1
抗干扰能力	胆红素 ≤ 20 mg/dL, 血红蛋白 ≤ 400 mg/dL, 甘油三酯 ≤ 2000 mg/dL, 对本试剂测定无影响。							
特异性	未检测出与其它生理浓度下的人免疫球蛋白 (IgA, IgD, IgM, IgG) 的交叉反应。							

[0043] 2、请参阅图 2, 显示了屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体 (D1) 检测试剂盒 (纳米磁微粒全自动化学发光法) 与进口试剂的性能对比。

[0044] 3、屋尘螨过敏原特异性 IgE 抗体 (D1) 检测试剂盒 (纳米磁微粒全自动化学发光法) 临床参考值范围, 具体见下表, 以正常人样本检测值的双侧 95 百分位数作为参考值。

95% 计算基本范围 (IU/mL)
正常非过敏反应成人的血清中单个过敏原 IgE 抗体浓度小于 0.35 IU/mL。
测值介于 0.35~0.7 IU/mL 为该过敏原 1 级过敏;
测值介于 0.7~3.5 IU/mL 为该过敏原 2 级过敏;
测值介于 3.5~17.5 IU/mL 为该过敏原 3 级过敏;
测值介于 17.5~50 IU/mL 为该过敏原 4 级过敏;
测值介于 50~100 IU/mL 为该过敏原 5 级过敏;
测值大于 100 IU/mL 为该过敏原 6 级过敏。

[0045] 本发明的有益效果为:

一、以碱性磷酸酶 (AP) 为标记酶, 通过化学反应标记抗体, 并使用凝胶层析分离未反应的酶、抗体或抗原, 提高反应的灵敏度;

二、以免疫磁微粒为固相, 以链霉亲和素偶联磁性微球, 作为通用的分离试剂, 不仅使免疫反应更容易混匀和分离, 而且大大提高了反应速度;

三、以新型化学发光底物 AMPPD 为底物, 该底物是辉光性底物, 而且快速达到平台期, 有利于信号的检测, 提高了最终试剂盒的灵敏度和特异性性能; 并进一步优化了化学发光增强体系, 保证了终产品的信号灵敏度高和稳定性好、变异小;

四、AMPPD 底物的优点在于灵敏度高和平台稳定期长。

[0046] 以上所述仅为本发明的实施例, 并非因此限制本发明的专利范围, 凡是利用本发明说明书内容所作的等效结构或等效流程变换, 或直接或间接运用在其它相关的技术领

域,均同理包括在本发明的专利保护范围内。

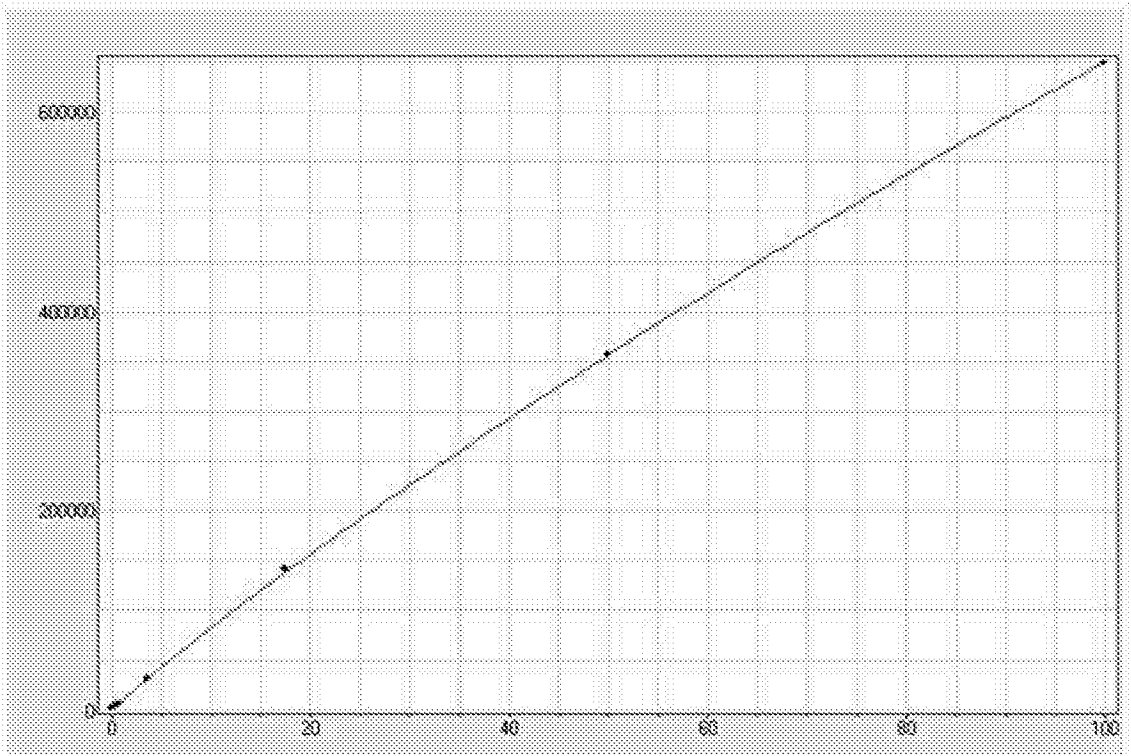


图 1

过敏原特异性IgE抗体屋尘螨 (D1) 检测试剂盒 (纳米磁微粒全自动化学发光法) 与进口试剂的性能对比

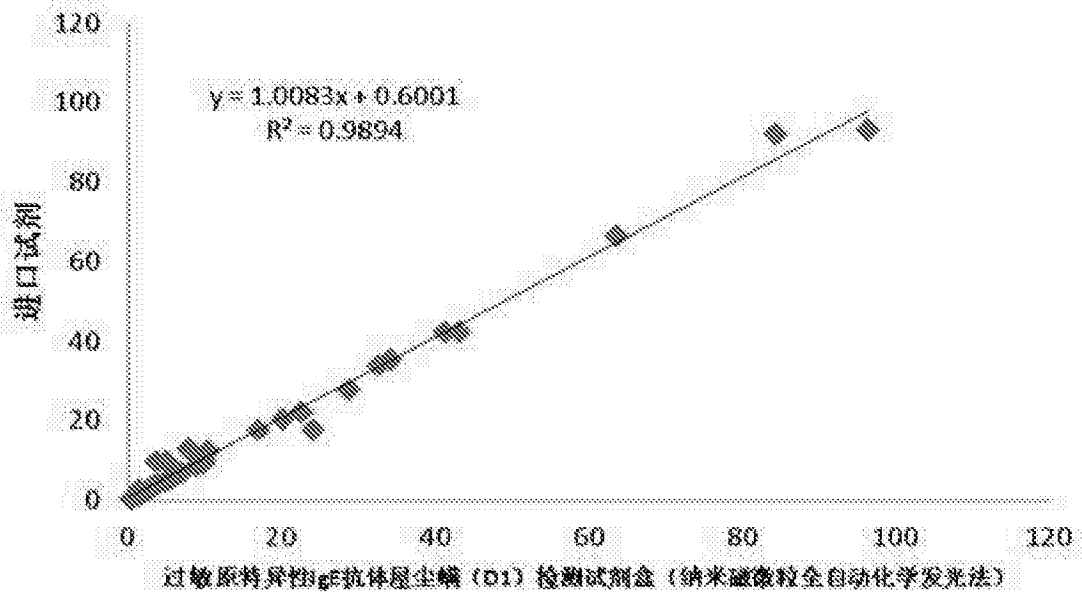


图 2

专利名称(译)	检测屋尘螨过敏原特异性IgE抗体的试剂盒及方法		
公开(公告)号	CN105403692A	公开(公告)日	2016-03-16
申请号	CN201510788481.1	申请日	2015-11-17
[标]申请(专利权)人(译)	苏州浩欧博生物医药有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州浩欧博生物医药有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	苏州浩欧博生物医药有限公司		
[标]发明人	韩霜 钱林 何晓静 丁俊荣 罗薇 李庆春		
发明人	韩霜 钱林 何晓静 丁俊荣 罗薇 李庆春		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/53 G01N33/535		
代理人(译)	徐萍		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种检测屋尘螨过敏原特异性IgE抗体的试剂盒及方法，试剂盒包括校准品、质控品、生物素标记的屋尘螨过敏原溶液、碱性磷酸酶标记的鼠抗人IgE二抗溶液、链霉亲和素标记的纳米磁微粒悬浮液，利用所述试剂盒对屋尘螨过敏原特异性IgE抗体进行检测。通过上述方式，本发明试剂盒中各试剂组分稳定性良好，有效期可至一年以上，检测灵敏度高、特异性能好、变异小。经过大量实验的工艺优化，得到完善统一工艺，并严格按照标准生产操作规程和质量控制规程进行生产。用户仅需按照操作说明进行规范操作，就可得到可靠的结果。在临床研究与国外进口试剂的符合相关性高达90%以上，且费用仅为其1/2。

过敏原特异性IgE抗体屋尘螨(D1)检测试剂盒(纳米磁微粒全自动化学发光法)与进口试剂的性能对比

