



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106405117 B

(45)授权公告日 2019.01.29

(21)申请号 201610716072.5

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2016.08.25

G01N 33/74(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

G01N 33/577(2006.01)

申请公布号 CN 106405117 A

G01N 33/543(2006.01)

(43)申请公布日 2017.02.15

G01N 33/533(2006.01)

(73)专利权人 绥化市诚美盛世网络科技有限公司
司

G01N 33/535(2006.01)

G01N 21/76(2006.01)

地址 152000 黑龙江省绥化市北林区绥化
师苑专科学校(大学生创新创业基地
408室)

审查员 周洋

(72)发明人 杨凌波

(74)专利代理机构 北京力量专利代理事务所
(特殊普通合伙) 11504

代理人 宋林清

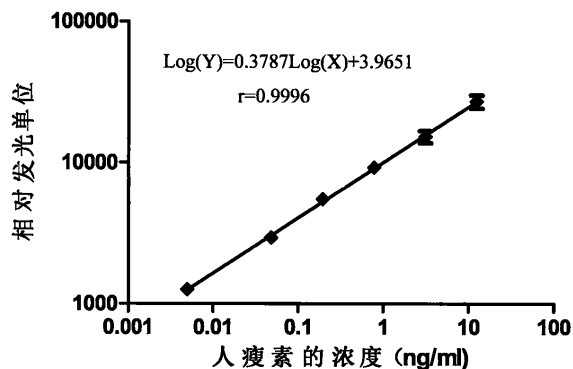
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学
发光分析试剂盒

(57)摘要

本发明公开了属于生物检测技术领域的一
种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发
光分析试剂盒。该试剂盒包括:包被有抗异
硫氰酸荧光素抗体的磁性微粒子,标记物
混合液,瘦素抗原标准品,浓缩洗涤液,发
光底物液。本发明的磁性微粒子板式化
学发光酶免疫分析试剂盒,结构简单、使
用方便、价格便宜、携带便利,与市场
上的放免试剂盒、酶联免疫试剂盒相比,
灵敏度更高,线性范围宽,有效避免弯
钩效应,不需样品稀释,适用于大批量
样品筛选的定性、定量。



1. 一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒,其特征在于,该试剂盒包括:包被有抗异硫氰酸荧光素抗体的磁性微粒子,标记物混合液,瘦素抗原标准品,浓缩洗涤液,发光底物液;

所述检测瘦素抗原的磁性微粒子板式化学发光免疫分析试剂盒中还含有马唐提取物,设置于包被抗FITC抗体的磁性微粒子小瓶中,含量为1-3mg/mL;

所述马唐提取物的提取方法为,将马唐晒干,1%氢氧化钠溶液浸泡2天,清水清洗干净,再次晒干,磨成粉末,加3-5倍重量份数的30%乙醇溶液回流提取3次,合并滤液,蒸干制成。

2. 根据权利要求1所述一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒,其特征在于,所述标记物混合液为体积比为1:1-1:3的标记异硫氰酸荧光素的瘦素单克隆抗体和标记辣根过氧化物酶的瘦素多克隆抗体混合而成。

3. 根据权利要求1所述一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒,其特征在于,所述磁性微粒子的内核为四氧化三铁,表面包裹带有活性基团的氨基和羧基聚合物。

4. 根据权利要求1所述一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒,其特征在于,所述磁性微粒子的粒径为2-3 μ m,使用浓度为5-10mg/ml。

5. 根据权利要求1所述一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒,其特征在于,所述发光底物液由A液和B液构成,A液为过氧化氢溶液,B液为鲁米诺溶液。

6. 根据权利要求1所述一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒,其特征在于,所述浓缩洗涤液为含0.5%吐温-20,0.1%生物防腐剂的磷酸盐缓冲液。

一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于生物检测技术领域,具体涉及一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒。

背景技术

[0002] 瘦素(Leptin)是一种由脂肪细胞分泌的蛋白类激素,全长146个氨基酸,通过与广泛存在于中枢神经系统、脂肪、心、肝、肺、肾、胰腺、造血系统等不同组织的特异性受体(OB-R)和相应信号传导系统发挥作用。瘦素进入血液循环后会参与糖、脂肪及能量代谢的调节。最近许多国内外研究发现,瘦素水平在很多生理及病理情况下会发生改变,对许多与能量代谢有关疾病的发生、发展、预后及用药疗效检测都有非常重要的临床指导价值。例如:肥胖与瘦素水平增高及瘦素昼夜节律消失互为因果,体内瘦素水平,对肥胖的预防和治疗具有一定的积极意义;恶性肿瘤(肺、胃、结肠和直肠癌、肝癌、乳腺癌、前列腺癌等)患者血清Leptin水平显著高于正常对照,经化疗改善后Leptin水平会相应降低,提示Leptin可能作为评价恶性肿瘤患者状况及用药前后疗效监控的新指标;妊娠期尿液中瘦素水平增高,对判断妊娠高血压疾病的严重程度具一定临床价值;瘦素与胎儿生长发育有关,胎儿生长发育迟缓时,孕妇血及脐血中瘦素水平明显减低,瘦素和早产儿的营养状态密切相关,早产儿体重下降与血清瘦素浓度下降之间存在显著正相关;高血压患者的血清瘦素水平比健康人高,平均动脉压与瘦素呈显著的正相关性,对62名突发急性心肌梗死的男性患者的生活史、血压、瘦素等资料分析后认为,高瘦素和高胆固醇血症是急性心肌梗死发生的独立危险因素,高浓度瘦素是促进血栓形成的危险因素,提示血清瘦素水平在心血管疾病鉴别和治疗方面有很积极的参考意义;最近研究资料显示,在脑部缺血再灌注损伤后,Leptin水平下降,在诱导的阿尔茨海默症模型中,外源性给予Leptin也能减轻阿尔茨海默症的损伤程度,提示Leptin在神经性疾病的鉴别具有辅助诊断意义。总之,瘦素与肥胖、肿瘤、糖尿病及许多急慢性疾病相关,这方面的研究已经成为热点,随着人们对瘦素的了解更加深入,会将其更准确、可靠地应用于临床,促进医学的发展。

[0003] 目前用于检测瘦素抗原的免疫方法主要有放射免疫分析法(RIA)和酶联免疫分析法(enzyme immunoassay,EIA),RIA试剂盒的标记物具有放射性,对人体和环境都有伤害;EIA试剂盒大都是国外进口,售价昂贵。

发明内容

[0004] 本发明目的是提供一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒,即采用高特异性的单克隆抗体及包被抗异硫氰酸荧光素抗体的磁性微粒子固相分离技术,利用FITC(异硫氰酸荧光素)和酶分别标记一株单克隆抗体和一株多克隆抗体,在液相中形成免疫夹心复合物,然后加入包被FITC抗体的磁性微粒子分离剂,进行洗涤分离,并在板式化学发光仪中进行测定。

[0005] 一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒,该试剂盒包括:包被

有抗异硫氰酸荧光素抗体的磁性微粒子,标记物混合液,瘦素抗原标准品,浓缩洗涤液,发光底物液。

[0006] 所述标记物混合液为体积比为1:1-1:3的标记异硫氰酸荧光素的瘦素单克隆抗体和标记辣根过氧化物酶的瘦素多克隆抗体混合而成。

[0007] 所述磁性微粒子的内核为四氧化三铁,表面包裹带有活性基团的氨基和羧基聚合物。

[0008] 所述磁性微粒子的粒径为2-3 μm ,使用浓度为5-10mg/ml。

[0009] 所述发光底物液由A液和B液构成,A液为过氧化氢溶液,B液为鲁米诺溶液。

[0010] 所述浓缩洗涤液为含0.5%吐温-20,0.1%生物防腐剂的磷酸盐缓冲液。

[0011] 一种利用权利要求1所述试剂盒检测瘦素抗原的方法,按照如下步骤进行:

[0012] (1) 样品前处理:对临床血清、血浆3000rpm离心2-10分钟,取上清液;

[0013] (2) 向微孔板中加入100 μL 血清样品或同体积的瘦素抗原标准品,再加入标记物混合液50 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡反应60min;

[0014] (3) 加入包被有抗异硫氰酸荧光素抗体的磁性微粒子溶液50 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温振荡反应1-10min后,将微孔板置于磁分离器上分离1-10min,然后倒转分离器倒出上清液,将倒转的微孔板放在滤纸上,拍击分离器以除去挂壁液体;

[0015] (4) 将浓缩洗涤液用水稀释10-30倍,每管加入洗涤液300 μL ,置于振荡器充分混匀,置于磁分离器上分离1-10min,然后倒转分离器倒出上清液,将倒转的微孔板放在滤纸上,拍击分离器以除去挂壁液体,重复2-10次;

[0016] (5) 加入发光底物液200 μL ,置于振荡器充分混匀,暗处放置1-4min后置于磁分离器,待磁颗粒富集于底部后,将微孔板置于板式发光仪测定。

[0017] 本发明的检测原理:瘦素抗原是一种大分子蛋白质,对此类分子一般采用双抗体夹心的方法进行测定,当反应液中有FITC标记的捕获抗体和酶标记的多克隆抗体时,加入系列标准品或样品溶液后,通过“识别”抗原分子上的抗原决定簇,在溶液中形成FITC标记抗体-抗原-酶标记抗体复合物。然后加入包被有抗FITC抗体的磁性微粒子,使其充分分散于溶液中,通过免疫反应即可将免疫复合物偶联聚集到磁性微粒子表面,在96孔板底部施加磁场后即可将偶联有免疫复合物的磁性粒子聚集于板孔底部,加入发光底物,用板式发光仪测定发光强度,样品的发光强度与样品中抗原含量成正相关,与标准曲线比较即可得出相应的抗原含量。

[0018] 本发明的有益效果:本发明的试剂盒主要采用磁性微粒子固相分离及双抗夹心的反应模式定性或定量检测人体血清血浆等样品中瘦素抗原含量;对样品的前处理要求低,过程简单,能快速、高通量检测大批样品;采用了高特异的瘦素抗原单克隆抗体和超顺磁、高分散、比表面积大的磁性微粒子,主要试剂以工作液的形式提供,检测方法方便易行,具有特异性高、灵敏度高、精确度高、准确度高等特点。本发明的磁性微粒子板式化学发光酶免疫分析试剂盒,结构简单、使用方便、价格便宜、携带便利,与市场上的放免试剂盒、酶联免疫试剂盒相比,灵敏度更高,线性范围宽,有效避免弯钩效应,不需样品稀释,适用于大批量样品筛选的定性、定量。

附图说明

[0019] 图1是以磁性微粒子化学发光酶免疫分析试剂盒检测瘦素的标准曲线(双对数曲线)。

具体实施方式

[0020] 下面结合附图和具体实施例对本发明做进一步说明。

[0021] 下述实施例的方法如无特别说明,均为常规方法。下述实施例中的百分含量,如无特别说明,均为质量百分含量。

[0022] 实施例1

[0023] 一、检测瘦素抗原的磁性微粒子板式化学发光免疫分析试剂盒包括:

[0024] (1) 商品化的包被抗FITC抗体的磁性微粒子:粒径为2-3 μm ,使用浓度为5-10mg/mL,20mL/瓶,1瓶;

[0025] (2) 标记FITC的瘦素单克隆抗体(捕获抗体)及标记辣根过氧化物酶的瘦素多隆抗体(配对抗体)混合作为标记物混合液:体积比为1:1的FITC标记捕获抗体工作液和酶标记配对抗体工作液混合而成,15mL/瓶,1瓶,其中FITC标记抗体液以20%小牛血清稀释为1.25 $\mu\text{g/mL}$,标记辣根酶的酶工作液所用的稀释液为含有15%甘油、0.05%的生物防腐剂溶液并稀释为1/2000;

[0026] (3) 瘦素标准品溶液:用50%马血清将瘦素浓标准品稀释成标准溶液6瓶,0ng/mL,0.048ng/mL,0.195ng/mL,0.78ng/mL,3.125ng/mL,12.5ng/mL,1mL/瓶;

[0027] (4) 发光底物液:A溶液为过氧化氢缓冲液,6mL/瓶,2瓶;B溶液为鲁米诺溶液6mL/瓶,2瓶;

[0028] (5) 浓缩洗涤液:PH 7.4,含0.5%吐温-20,0.1%生物防腐剂的磷酸盐缓冲液,30mL/瓶,1瓶。使用时用蒸馏水稀释20倍;

[0029] (6) 反应板:所用的反应板材料为乳白色不透明聚苯乙烯96孔板,锡箔袋真空封装,1块/包,1包。

[0030] 二、其中FITC标记的瘦素单克隆抗体、辣根酶标记的瘦素多克隆抗体的制备方法如下:

[0031] 1、FITC标记的瘦素单克隆抗体的制备

[0032] (1) FITC标记的瘦素单克隆抗体的制备原理:FITC分子与瘦素抗原单克隆抗体的偶联物是以碱性液标记法对抗体进行标记。

[0033] (2) FITC标记的瘦素单克隆抗体的制备方法:①A液:取瘦素单克隆抗体0.5mg置于50mmol/L pH值为9.3的 Na_2CO_3 - NaHCO_3 缓冲液中;②B液:取FITC 2mg溶于1mL 50mmol/L pH值为9.3的 Na_2CO_3 - NaHCO_3 缓冲液中;③将A液置于磁力搅拌器,取B液缓缓滴加至A液中,约5-8分钟间加完,避免出现气泡,然后置4 $^{\circ}\text{C}$ 搅拌14-16小时;④将反应液装透析袋,置10mmol/L PH值为7.4的磷酸盐缓冲液中透析48小时,每天更换透析液4次;⑤将标记物以20%小牛血清稀释为1.25 $\mu\text{g/mL}$,加入适量生物防腐剂,分装,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

[0034] 2、辣根酶标记的瘦素多克隆抗体的制备

[0035] (1) 辣根酶标记的瘦素多克隆抗体的制备原理:可采用现有技术中的多种方法如戊二醛法或过碘酸钠法将酶交联在抗体上,优选过碘酸钠法;

[0036] (2) 抗体制备及标记

[0037] ①抗血清得制备及纯化

[0038] a. 多克隆抗体的制备: 免疫用雄性新西兰兔3只, 体质量1.2kg, 重组人leptin (英国Peprotech INC提供), 福氏完全和不完全佐剂为GIBCORL产品。首次将人leptin 120 μ g同福氏完全佐剂3mL充分混匀, 分别于3只动物背部多点皮内注射, 加强免疫于4周后将人leptin 70 μ g同福氏不完全佐剂3mL充分混匀后同样方法进行。每间隔4周加强1次, 从第3次免疫后7d开始经耳缘静脉抽血检测抗体滴度, 待获高效价抗血清后经颈动脉放血, 分离血清, 分装于-80 $^{\circ}$ C保存待用。

[0039] b. 抗体纯化: 取兔抗leptin血清用常规饱和硫酸铵法沉淀后进行亲和层析, CNBr-activated SepharoseTM 4B珠由GE公司提供。

[0040] ②辣根酶标记的瘦素多克隆抗体的制备方法:

[0041] a. 称HRP3.3mg, 溶于400 μ L新鲜三蒸水中, 滴加新配制60mmol/L的过碘酸钠400 μ L, 4 $^{\circ}$ C搅拌下反应30分钟。

[0042] b. 向反应液中滴加160mmol/L乙二醇400 μ L, 4 $^{\circ}$ C搅拌下反应30分钟。

[0043] c. 将反应液用0.05M pH 9.16Na₂CO₃-NaHCO₃缓冲液透析5小时。

[0044] d. 纯化后的兔抗瘦素IgG 4.5mg, 加0.1M pH9.16Na₂CO₃-NaHCO₃缓冲液500 μ L使PH值为碱性, 滴加入醛化后的HRP溶液中, 室温避光反应1小时, 4 $^{\circ}$ C搅拌过夜。

[0045] e. 向反应液中滴加新鲜配制4mg/mL硼氢化钠200 μ L, 4 $^{\circ}$ C搅拌下反应2小时。

[0046] f. 反应液装入透析袋, 以PH 7.4的0.01mol/L的磷酸盐缓冲液透析24小时后, 5000rpm 4 $^{\circ}$ C离心15分钟, 去除沉淀物。

[0047] g. 吸上清, 过Sephadax G-200柱, 0.01M PH7.4PB淋洗, 每0.5ml收集一管, 在403nm及280nm测定各管吸光度并计算403nm/280nm的比值。第一峰即为不同分子量大小的HRP-IgG结合物。

[0048] h. 将结合物合并浓缩至2-3mL, 5000rpm 4 $^{\circ}$ C离心15分钟, 去除沉淀物, 加入牛血清白蛋白、等体积甘油, 0.05%生物防腐剂分装, 冰冻保存, 溶液1:2000稀释。

[0049] 三、利用该试剂盒检测样品中瘦素含量的方法如下:

[0050] 1. 样品前处理对人血清血浆: 取空腹晨血样本, 3000rpm离心5min, 取上层液进行分析。待测样品2-8 $^{\circ}$ C存放不得超过48小时, 若48小时未检测, 应于-20 $^{\circ}$ C以下保存, 但不应超过60天。

[0051] 2. 检测方法向微孔板中加入100 μ L血清样品或同体积的系列瘦素抗原标准品溶液, 再加入标记物混合液50 μ L, 37 $^{\circ}$ C恒温振荡反应60min。加入包被有抗异硫氰酸荧光素抗体的磁性微粒子溶液50 μ L, 37 $^{\circ}$ C恒温振荡反应5min后, 将微孔板置于磁分离器上分离5min, 然后倒转分离器倒出上清液, 将倒转的微孔板放在滤纸上, 拍击分离器以除去挂壁液体。每管加入洗涤液300 μ L, 置于振荡器充分混匀, 置于磁分离器上分离5min, 然后倒转分离器倒出上清液, 将倒转的微孔板放在滤纸上, 拍击分离器以除去挂壁液体, 重复3次。加入发光底物200 μ L, 置于振荡器充分混匀, 暗处放置2min后置于磁分离器, 待磁颗粒富集于底部后, 将微孔板置于板式发光仪测定。

[0052] 3. 结果分析发光计数-剂量反应曲线在双对数坐标上显示, 以每个浓度标准溶液或样本发光值的平均值 (B) 减去第一个零标准的发光值 (B0) 为纵坐标, 以瘦素浓度为横坐标绘制标准曲线, 如图1所示。相应每一个样品中瘦素浓度可以从标准曲线上读出。也可以

用多参数回归方程法进行拟合,计算出样本溶液中瘦素的浓度。由于市场上大多数化学发光板式试剂盒的线性范围在0-4ng/mL之间,而本试剂盒提供的线性范围大大增加(0-12.5ng/mL),所以避免了高浓度样品的稀释,钩效应也可以得到避免。使用本试剂盒的整个检测过程只需1.5个小时就可以完成,最低检测限为0.04ng/mL。

[0053] 实施例2试剂盒精密度、准确性、健全性、灵敏度和稳定性实验

[0054] 1、试剂盒精密度测定标准品精密度实验

[0055] (1) 将实施例1中制备的试剂盒分别取三批进行精密度实验,每批抽取10个试剂盒。以实施例1中所抽取的试剂盒测定3.125ng/mL的瘦素标准品6次,计算测定浓度的变异系数。实施例1中的三批试剂盒的测定结果如表1所示,结果表明变异系数在之4.3-8.0%之间。

[0056] 表1瘦素标准可重复性实验

[0057]

| 试剂盒 批次 | | 试剂盒 | | | | | | | | | |
|-----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| 1 | CV% | 4.3 | 5.2 | 6.4 | 4.6 | 5.3 | 6.2 | 8.0 | 6.7 | 5.9 | 4.9 |
| 3 | | 5.6 | 4.4 | 5.5 | 4.9 | 5.1 | 7.8 | 6.4 | 5.3 | 5.4 | 5.0 |
| 7 | | 6.1 | 5.3 | 5.5 | 6.1 | 4.7 | 6.8 | 5.1 | 6.4 | 6.2 | 6.4 |

[0058] (2) 样本可重复性实验取1份正常人血清,添加以瘦素标准品至3.0ng/mL。取实施例1中三个不同批次的试剂盒各3个,对样品重复测定6次,分别计算变异系数。测定结果如表2所示,表明本发明所制备的瘦素磁性微粒子板化学发光酶免疫分析试剂盒测定血清样本的批内变异系数小于7.86%。

[0059] 表2样本可重复性实验

[0060]

| 批号 | 实际测量值 (ng/mL) | | | | | | CV% |
|-----|---------------|------|------|------|------|------|------|
| 1 批 | 3.21 | 3.06 | 3.42 | 2.94 | 3.37 | 3.44 | 5.80 |
| | 3.31 | 2.89 | 3.26 | 3.23 | 2.90 | 3.12 | 5.89 |
| | 3.01 | 3.24 | 2.92 | 3.15 | 3.17 | 3.34 | 4.85 |
| 3 批 | 3.37 | 3.18 | 2.84 | 3.19 | 2.75 | 3.06 | 7.60 |
| | 3.15 | 3.20 | 3.47 | 2.95 | 3.04 | 3.26 | 5.70 |
| | 3.10 | 3.28 | 2.87 | 3.03 | 3.40 | 3.32 | 6.34 |
| 6 批 | 3.37 | 2.94 | 2.88 | 2.92 | 3.19 | 2.81 | 7.12 |
| | 2.79 | 3.08 | 3.27 | 3.16 | 3.52 | 3.34 | 7.80 |
| | 2.82 | 3.03 | 3.15 | 3.24 | 3.31 | 2.97 | 5.89 |

[0061] 2、试剂盒准确度测定

[0062] 取1个瘦素用进口试剂盒定值后血清,浓度分别为0.25ng/ml/mL,向其中加入瘦素的标准品溶液0.2ng/mL、2.0ng/mL和4.0ng/mL,按照实施例1的方法对每个浓度做3个平行,计算回收率。结果如表3所示,表明瘦素的添加回收率在96.6%-104.7%之间。

[0063] 表3实施例1的试剂盒的回收率

[0064]

| 样品值(ng/mL) | 加入值(ng/mL) | 测得值及平均值(ng/mL) | | 回收率及平均值(%) | |
|------------|------------|----------------|-------|------------|------|
| | 0.2 | 0.45 | 0.456 | 95 | 98.3 |
| | | 0.43 | | 85 | |
| | | 0.49 | | 115 | |
| | 2 | 2.29 | | 101.5 | |

[0065]

| | | | | | |
|------|-----|-------|-------|-------|-------|
| 0.26 | | 2.31 | 2.28 | 102.5 | 101.0 |
| | | 2.24 | | 99.0 | |
| | 4 | 4.38 | 4.40 | 103.0 | 102.6 |
| 4.57 | | 107.7 | | | |
| 4.15 | | 97.2 | | | |
| 2.48 | 0.2 | 2.70 | 2.673 | 110 | 96.6 |
| | | 2.67 | | 95 | |
| | | 2.65 | | 85 | |
| | 2 | 4.52 | 4.51 | 102.0 | 101.5 |
| | | 4.40 | | 96.0 | |
| | | 4.61 | | 106.5 | |
| | 4 | 6.78 | 6.67 | 107.5 | 104.7 |
| | | 6.64 | | 104 | |
| | | 6.59 | | 102.7 | |

[0066] 5、试剂盒稳定性实验对实施例1的试剂盒进行37℃5天和7天加速实验后,测定试剂盒的最大、最低发光强度、待测物的加标回收率,表明实施例1指标在正常范围之内。对实施例1的试剂盒主要组分:标记物工作液、标准品、发光底物液、磁性微粒子工作液进行2-8℃6个月跟踪实验,结果表明各项指标符合要求。考虑到试剂盒冷冻情况的发生,将实施例1的试剂盒放入-20℃冷冻7天,测定结果也表明试剂盒的各项指标完全正常。从以上结果可

以看出试剂盒可以在2-8℃至少可以保存6个月以上。

[0067] 实施例3

[0068] 所述检测瘦素抗原的磁性微粒子板式化学发光免疫分析试剂盒中含有马唐提取物,设置于包被抗FITC抗体的磁性微粒子小瓶中,含量为1-3mg/mL,马唐提取物的加入增加了试剂盒稳定性,对实施例3的试剂盒进行37℃15天和27天加速实验后,测定试剂盒的最大、最低发光强度、待测物的加标回收率,表明实施例1指标在正常范围之内。对实施例3的试剂盒主要组分:标记物工作液、标准品、发光底物液、磁性微粒子工作液进行2-8℃12个月跟踪实验,结果表明各项指标符合要求。考虑到试剂盒冷冻情况的发生,将实施例3的试剂盒放入-20℃冷冻10天,测定结果也表明试剂盒的各项指标完全正常。从以上结果可以看出试剂盒可以在2-8℃至少可以保存12个月以上。

[0069] 上述马唐提取物的提取方法为,将马唐晒干,1%氢氧化钠溶液浸泡2天,清水清洗干净,再次晒干,磨成粉末,加3-5倍重量份数的30%乙醇溶液回流提取3次,合并滤液,蒸干制成。

[0070] 实施例4

[0071] 所述检测瘦素抗原的磁性微粒子板式化学发光免疫分析试剂盒中含有车前子提取物,设置于包被抗FITC抗体的磁性微粒子小瓶中,含量为1-3mg/mL,车前子提取物的加入增加了试剂盒稳定性,对实施例3的试剂盒进行37℃15天和27天加速实验后,测定试剂盒的最大、最低发光强度、待测物的加标回收率,表明实施例1指标在正常范围之内。对实施例3的试剂盒主要组分:标记物工作液、标准品、发光底物液、磁性微粒子工作液进行2-8℃12个月跟踪实验,结果表明各项指标符合要求。考虑到试剂盒冷冻情况的发生,将实施例3的试剂盒放入-20℃冷冻10天,测定结果也表明试剂盒的各项指标完全正常。从以上结果可以看出试剂盒可以在2-8℃至少可以保存12个月以上。

[0072] 上述车前子提取物的提取方法为,将车前的种子晒干,1%盐酸溶液浸泡2天,清水清洗干净,再次晒干,磨成粉末,加3-5倍重量份数的30%乙醇溶液回流提取3次,合并滤液,蒸干制成。

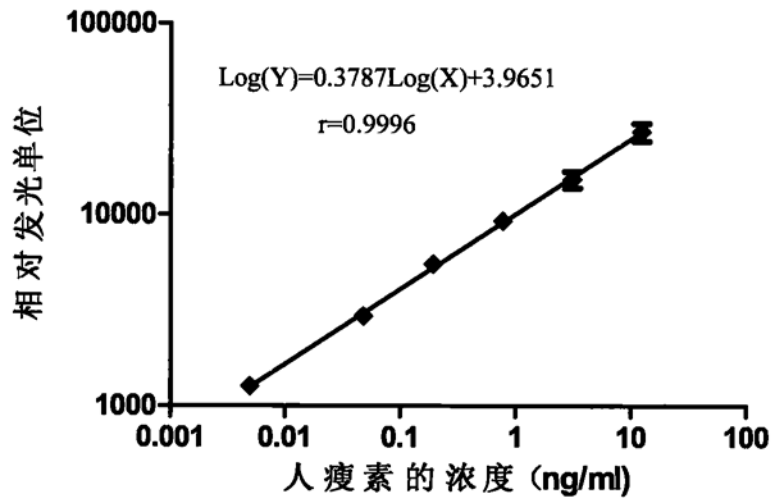


图1

| | | | |
|----------------|-------------------------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译) | 一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒 | | |
| 公开(公告)号 | CN106405117B | 公开(公告)日 | 2019-01-29 |
| 申请号 | CN201610716072.5 | 申请日 | 2016-08-25 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 杨凌波 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 杨凌波 | | |
| [标]发明人 | 杨凌波 | | |
| 发明人 | 杨凌波 | | |
| IPC分类号 | G01N33/74 G01N33/577 G01N33/543 G01N33/533 G01N33/535 G01N21/76 | | |
| CPC分类号 | G01N21/76 G01N33/533 G01N33/535 G01N33/54326 G01N33/577 G01N33/74 | | |
| 审查员(译) | 周洋 | | |
| 其他公开文献 | CN106405117A | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

本发明公开了属于生物检测技术领域的一种检测瘦素抗原的板式磁性微粒子化学发光分析试剂盒。该试剂盒包括：包被有抗异硫氰酸荧光素抗体的磁性微粒子，标记物混合液，瘦素抗原标准品，浓缩洗涤液，发光底物液。本发明的磁性微粒子板式化学发光酶免疫分析试剂盒，结构简单、使用方便、价格便宜、携带便利，与市场上的放免试剂盒、酶联免疫试剂盒相比，灵敏度更高，线性范围宽，有效避免弯钩效应，不需样品稀释，适用于大批量样品筛选的定性、定量。

