



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110007092 A

(43)申请公布日 2019.07.12

(21)申请号 201910276633.8

(22)申请日 2019.04.08

(71)申请人 杭州博谱医药科技有限公司

地址 311121 浙江省杭州市余杭区仓前街
道龙潭路8号1幢105室

(72)发明人 朱永良 杨晓东 陈佳明 缪刘

(74)专利代理机构 杭州杭诚专利事务所有限公
司 33109

代理人 尉伟敏

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物及其制备方法以及测定血清中CMPF含量的试剂盒

(57)摘要

本发明涉及生物检测技术领域,具体涉及一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物及其制备方法,所述的偶联物为CMPF与蛋白以及胶乳微球在偶联剂的作用下依次脱水得到的偶联产物,其可用于胶乳增强免疫比浊法测定人血清中CMPF含量的试剂盒中。本发明克服了现有技术中的均相酶免疫法CMPF检测试剂盒中的试剂稳定性较差,同时载体酶在反应过程中活力会有损失,导致反应产物得率较低的缺点,将现有技术中不稳定的酶偶联物通过使用稳定性较好的胶乳微球偶联物替代,提升了试剂的稳定性以及在反应过程中活性不会损失,防止对测试结果的干扰的优点;本发明中的试剂盒还能够实现样本的快速高通量检测,满足临床检测要求。

1. 一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物,其特征在于,所述的偶联物为CMPF与蛋白以及胶乳微球在偶联剂的作用下依次脱水得到的偶联产物。

2. 根据权利要求1所述的一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物,其特征在于,所述的蛋白为牛血清白蛋白、卵白蛋白、血蓝蛋白或多聚赖氨酸中的一种。

3. 一种如权利要求1中所述的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物的制备方法,其特征在于,所述的制备方法包括以下步骤:

(S.1):CMPF与蛋白偶联:将CMPF与蛋白溶于缓冲液中,搅拌混合均匀后加入偶联剂,搅拌反应后透析得到CMPF-蛋白偶联物;

(S.2) CMPF-蛋白的活化:将步骤(S.1)中得到的CMPF-蛋白偶联物稀释后再次加入偶联剂,搅拌反应得到CMPF-BSA偶联物的活化液;

(S.3) CMPF-蛋白与胶乳微球的偶联:将胶乳微球溶液溶于缓冲液后加入(S.2)中得到的CMPF-蛋白偶联物的活化液,搅拌反应结束后加入封闭剂进行封闭处理,离心除去杂质,得到沉淀的胶乳微球,然后再向其中加入缓冲液,超声重悬,即可获得胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物。

4. 根据权利要求3所述的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物的制备方法,其特征在于,所述的步骤(S.1)中CMPF、蛋白以及偶联剂三者的质量比为100:(30~50):(180~250),搅拌反应时间为180~240min。

5. 根据权利要求3所述的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物的制备方法,其特征在于,所述的步骤(S.2)中CMPF-BSA偶联物稀释至蛋白含量为0.4~0.6mg/mL。

6. 根据权利要求3所述的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物的制备方法,其特征在于,所述的步骤(S.2)中加入的偶联剂占步骤(S.1)中所加入的偶联剂质量的50~75%,搅拌反应为10~20min。

7. 根据权利要求3或4或6所述的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物的制备方法,其特征在于,所述的步骤(S.1)以及(S.2)中的偶联剂为1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐或者1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐与N-羟基琥珀酰亚胺的组合。

8. 根据权利要求3所述的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物的制备方法,其特征在于,所述的步骤(S.3)中胶乳微球溶液中的胶乳微球的含量为10%,其为粒径80nm-120nm的氨基胶乳。

9. 根据权利要求3或8所述的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物的制备方法,其特征在于,所述的步骤(S.3)中反应时间为1.5~2.5h,封闭处理时间为1.5~2.5h。

10. 一种应用胶乳增强免疫比浊法测定血清中CMPF含量的试剂盒,包括试剂R1以及试剂R2,其特征在于,所述的试剂R1中含有权利要求1~9中所述的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物。

一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物及其制备方法以及测定血清中CMPF含量的试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及生物检测技术领域,具体涉及一种用于胶乳增强免疫比浊法测定人血清中CMPF含量的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物及其制备方法以及测定血清中CMPF含量的试剂盒。

背景技术

[0002] 本发明涉及的小分子CMPF是一种内源性的呋喃脂肪酸代谢产物,是主要的尿毒症毒素之一,属于蛋白结合类毒素。近期的一些临床研究结果表明:血清中CMPF水平在妊娠糖尿病(GDM)、糖耐量受损(IGT)、2型糖尿病(T2DM)患者中明显偏高。Shan Zhang等(Shan Zhang et al.Circulating 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropanoic acid (CMPF) levels are associated with hyperglycemia and β cell dysfunction in a Chinese population.Scientific Reports 7:3114.)研究表明,在糖尿病前期及2型糖尿病一级亲属人群组血浆中,CMPF水平也出现明显偏高。Kacey J.Prentice等(Kacey J.Prentice.et al.The furan fatty acid metabolite CMPF is elevated in diabetes and induces beta cell dysfunction.J.Cell Metab.2014.19,653-666.)研究表明:CMPF通过作用于 β -细胞,从而导致线粒体功能异常,降低葡萄糖诱导的ATP的累积,诱导氧化应激反应,导致关键转录因子调节异常,最终降低胰岛素的生物合成。Liu Ying等(Liu Ying et al.Rapid elevation in CMPF may act as a tipping point in diabetes development.Cell Rep,2016,14(12):2889-2900.)研究也表明:CMPF会降低葡萄糖刺激的胰岛素分泌,增加活性氧的形成,加速 β -细胞功能紊乱,加速糖尿病的形成。因此,CMPF水平的检测对于及早预防及检测糖尿病具有重要意义。

[0003] 目前,测试血清中小分子标志物的方法较多,如酶联免疫吸附法、放射免疫法、均相酶免疫法、胶乳增强免疫比浊法等。酶联免疫吸附法定量准确性差、自动化程度低、操作时间长,一般多用于定性检测。放射免疫法虽灵敏度高,但重复性差,而且存在放射性污染的风险。血清中CMPF水平的检测方法目前公开的较少,本公司有公开过均相酶免疫法(CMPF均相酶免疫检测试剂盒、制备方法及检测方法,中国,201811518946.1),该法虽克服了上述两种方法的缺点,但是其试剂稳定性较差,且该方法所涉及的载体酶可能易对检测结果产生干扰,同时载体酶在反应过程中活力会有损失。

发明内容

[0004] 本发明是为了克服现有技术中的均相酶免疫法CMPF检测试剂盒中的试剂稳定性较差,同时载体酶在反应过程中活力会有损失,导致检测结果不准确的缺陷,提供了一种稳定性较好,同时反应活性不受影响的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物及其制备方法,同时将其应用于测定血清中CMPF含量的试剂盒中,提升了试剂盒的测试稳定性以及准确性。

[0005] 为实现上述发明目的,本发明通过以下技术方案实现:

一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物,所述的偶联物为CMPF与蛋白以及胶乳微球在偶联剂的作用下依次脱水得到的偶联产物。

[0006] 本发明中的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物,其首先通过先将小分子半抗原偶联到蛋白载体上后,再将其与胶乳微球偶联。负载了CMPF小分子半抗原的胶乳微球与CMPF抗体结合后,胶乳微球迅速发生聚集,反应液的散光性能或透光性能即随之改变,而其改变的幅度与被测抗原的浓度有较强的相关性,在一定范围内可以反映被测抗原的浓度。该方法不仅有效避免了均相酶免疫法中载体酶在反应过程中活力损失的缺点,消除了载体酶可能对测试结果产生干扰的风险,同时可以提高试剂稳定性。

[0007] 作为优选,所述的蛋白为牛血清白蛋白、卵白蛋白、血蓝蛋白或多聚赖氨酸中的一种。

[0008] 本发明中的蛋白载体相较于现有技术中的酶载体而言,其稳定性更佳,因此将其制备成的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物的稳定性也相应增强。从而保证了测定血清中CMPF含量的试剂盒的稳定性以及测试结果准确性。

[0009] 一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物的制备方法,所述的制备方法包括以下步骤:

(S.1):CMPF与蛋白偶联:将CMPF与蛋白溶于缓冲液中,搅拌混合均匀后加入偶联剂,搅拌反应后透析得到CMPF-蛋白偶联物;

(S.2)CMPF-蛋白的活化:将步骤(S.1)中得到的CMPF-蛋白偶联物稀释后再次加入偶联剂,搅拌反应得到CMPF-BSA偶联物的活化液;

(S.3)CMPF-蛋白与胶乳微球的偶联:将胶乳微球溶液溶于缓冲液后加入(S.2)中得到的CMPF-蛋白偶联物的活化液,搅拌反应结束后加入封闭剂进行封闭处理,离心除去杂质,得到沉淀的胶乳微球,然后再向其中加入缓冲液,超声重悬,即可获得胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物。

[0010] 本发明中的CMPF其分子结构上含有游离的羧基,其在偶联剂的作用下能够与蛋白中的氨基发生脱水缩合,形成偶联物,经过活化后能够继续与胶乳微球表面的氨基继续偶联形成胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物。由于本发明中使用稳定性更佳的胶乳微球偶联物替换了稳定性较差的酶偶联物,有效避免了均相酶免疫法中载体酶在反应过程中活力损失的缺点,消除了载体酶可能对测试结果产生干扰的风险,同时可以提高试剂稳定性。且整个实验过程操作简单,可实现样本的快速高通量检测,满足临床检测要求。

[0011] 作为优选,所述的步骤(S.1)中CMPF、蛋白以及偶联剂三者的质量比为100:(30~50):(180~250),搅拌反应时间为180~240min。

[0012] 作为优选,所述的步骤(S.2)中CMPF-BSA偶联物稀释至蛋白含量为0.4~0.6mg/mL。

[0013] 作为优选,所述的步骤(S.2)中加入的偶联剂占步骤(S.1)中所加入的偶联剂质量的50~75%,搅拌反应为10~20min。

[0014] 作为优选,所述的步骤(S.1)以及(S.2)中的偶联剂为1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐或者1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐与N-羟基琥珀酰亚胺的组合。

[0015] 作为优选,所述的步骤(S.3)中胶乳微球溶液中的胶乳微球的含量为10%,其为粒径80nm-120nm的氨基胶乳。

[0016] 作为优选,所述的步骤(S.3)中反应时间为1.5~2.5h,封闭处理时间为1.5~2.5h。

[0017] 一种应用胶乳增强免疫比浊法测定血清中CMPF含量的试剂盒,包括试剂R1以及试剂R2,所述的试剂R1中含有权利要求1~9中所述的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物。

[0018] 因此,本发明具有以下有益效果:

(1) 本发明将现有技术中可能对测试结果产生干扰的酶偶联物用胶乳微球偶联物替代,降低对测试结果的干扰;

(2) 本发明中的胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物在反应过程中活性不会损失,提升了试剂的稳定性;

(3) 本发明中的试剂盒能够实现样本的快速高通量检测,满足临床检测要求。

附图说明

[0019] 图1为本发明的定标结果图。

[0020] 图2为本发明试剂稳定性结果。

具体实施方式

[0021] 下面结合具体实施例对本发明做进一步描述,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。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他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0022] 实施例1

一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物,所述的偶联物为CMPF与牛血清白蛋白(BSA)以及胶乳微球在偶联剂的作用下依次脱水得到的偶联产物,其制备方法如下所示。

[0023] (S.1) CMPF与蛋白偶联

称取CMPF(100mg),用10mL二甲亚砜溶解,称40mg牛血清白蛋白(BSA)(德国Roche公司)溶解于pH7.6,100mM的磷酸盐缓冲液中,室温搅拌15分钟,再加入125mg水溶性1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)粉末及75mg水溶性N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),室温避光温和搅拌180分钟,反应结束后,装入透析袋(自由通透分子大小<14KD),置4℃透析,每6小时换液1次,连续6-8次,即可得到所需的蛋白偶联物CMPF-BSA。

[0024] (S.2) CMPF-蛋白的活化

将第一步制得的CMPF-BSA偶联物用MES缓冲液(25mM,pH=6.5)稀释至蛋白含量为0.5mg/mL,加入80mg水溶性1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)粉末及48mg水溶性N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),37℃搅拌15min,得到CMPF-蛋白的活化液。

[0025] (S.3) CMPF-BSA与胶乳微球的偶联

准确量取50mL胶乳微球溶液(氨基胶乳,粒径80nm-120nm,含量10%),加入100mL MES缓冲液(25mM,pH=6.5),混匀后缓慢加入CMPF-BSA的活化液中,继续在37℃条件下搅拌反应2h。反应结束后加入BSA进行封闭处理,室温搅拌2h。搅拌结束后,样本高速离心30min左右,去除多余的小分子(如:EDC、NHS、CMPF)及蛋白(如:BSA、CMPF-BSA)等。在沉淀的胶乳微球中加入磷酸盐缓冲液(50mM,pH=8.0),超声重悬,即可获得胶乳微球-BSA-CMPF偶联物。

[0026] 实施例2

一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物,所述的偶联物为CMPF与血蓝蛋白(KLH)以及胶乳微球在偶联剂的作用下依次脱水得到的偶联产物,其制备方法如下所示:

(S.1) CMPF与蛋白偶联

称取CMPF(100mg),用10mL二甲亚砜溶解,称30mg血蓝蛋白(KLH)(德国Roche公司)溶解于pH7.8,100mM的磷酸盐缓冲液中,室温搅拌15分钟,再加入100mg水溶性1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)粉末及80mg水溶性N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),室温避光温和搅拌180分钟,反应结束后,装入透析袋(自由通透分子大小<14KD),置4℃透析,每6小时换液1次,连续6-8次,即可得到所需的蛋白偶联物CMPF-KLH。

[0027] (S.2) CMPF-KLH的活化

将第一步制得的CMPF-KLH偶联物用MES缓冲液(25mM,pH=6.5)稀释至蛋白含量0.4mg/mL,加入60mg水溶性1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)粉末及40mg水溶性N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),37℃搅拌10min,得到CMPF-KLH的活化液。

[0028] (S.3) CMPF-KLH与胶乳微球的偶联

准确量取50mL胶乳微球溶液(氨基胶乳,粒径80nm-120nm,含量10%),加入100mL MES缓冲液(25mM,pH=6.5),混匀后缓慢加入CMPF-KLH的活化液中,继续在37℃条件下搅拌反应1.5h。反应结束后加入BSA进行封闭处理,室温搅拌2h。搅拌结束后,样本高速离心30min左右,去除多余的小分子(如:EDC、NHS、CMPF)及蛋白(如:KLH、BSA、CMPF-KLH)等。在沉淀的胶乳微球中加入磷酸盐缓冲液(50mM,pH=8.0),超声重悬,即可获得胶乳微球-KLH-CMPF偶联物。

[0029] 实施例3

一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物,所述的偶联物为CMPF与卵白蛋白(OVA)以及胶乳微球在偶联剂的作用下依次脱水得到的偶联产物,其制备方法如下所示:

(S.1) CMPF与蛋白偶联

称取CMPF(100mg),用10mL二甲亚砜溶解,称50mg卵白蛋白(OVA)(德国Roche公司)溶解于pH7.6,100mM的磷酸盐缓冲液中,室温搅拌15分钟,再加入120mg水溶性1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)粉末及100mg水溶性N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),室温避光温和搅拌180分钟,反应结束后,装入透析袋(自由通透分子大小<14KD),置4℃透析,每6小时换液1次,连续6-8次,即可得到所需的蛋白偶联物CMPF-OVA。

[0030] (S.2) CMPF-蛋白的活化

将第一步制得的CMPF-OVA偶联物用MES缓冲液(25mM,pH=6.5)稀释至蛋白含量约0.5mg/mL,加入100mg水溶性1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)粉末及65mg水溶性N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),37℃搅拌15min,得到CMPF-OVA的活化液。

[0031] (S.3) CMPF-OVA与胶乳微球的偶联

准确量取50mL胶乳微球溶液(氨基胶乳,粒径80nm-120nm,含量10%),加入100mL MES缓冲液(25mM,pH=6.5),混匀后缓慢加入CMPF-OVA的活化液中,继续在37℃条件下搅拌反应2.5h。反应结束后加入BSA进行封闭处理,室温搅拌1.5h。搅拌结束后,样本高速离心30min左右,去除多余的小分子(如:EDC、NHS、CMPF)及蛋白(如:OVA、BSA、CMPF-OVA)等。在沉淀的胶乳微球中加入磷酸盐缓冲液(50mM,pH=8.0),超声重悬,即可获得胶乳微球-OVA-CMPF偶联物。

[0032] 实施例4

一种胶乳微球-多聚赖氨酸-CMPF偶联物,所述的偶联物为CMPF与多聚赖氨酸以及胶乳微球在偶联剂的作用下依次脱水得到的偶联产物,其制备方法如下所示:

(S.1) CMPF与多聚赖氨酸偶联

称取CMPF (100mg),用10mL二甲亚砜溶解,称45mg多聚赖氨酸溶解于pH7.6,100mM的磷酸盐缓冲液中,室温搅拌15分钟,再加入150mg水溶性1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)粉末及90mg水溶性N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),室温避光温和搅拌180分钟,反应结束后,装入透析袋(自由通透分子大小<14KD),置4℃透析,每6小时换液1次,连续6-8次,即可得到所需的偶联物CMPF-多聚赖氨酸。

[0033] (S.2) CMPF-多聚赖氨酸的活化

将第一步制得的CMPF-多聚赖氨酸偶联物用MES缓冲液(25mM,pH=6.5)稀释至蛋白含量约0.5mg/mL,加入125mg水溶性1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)粉末及75mg水溶性N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),37℃搅拌15min,得到CMPF-多聚赖氨酸的活化液。

[0034] (S.3) CMPF-多聚赖氨酸与胶乳微球的偶联

准确量取50mL胶乳微球溶液(氨基胶乳,粒径80nm-120nm,含量10%),加入100mL MES缓冲液(25mM,pH=6.5),混匀后缓慢加入CMPF-所需的偶联物的活化液中,继续在37℃条件下搅拌反应2h。反应结束后加入BSA进行封闭处理,室温搅拌2h。搅拌结束后,样本高速离心30min左右,去除多余的小分子(如:EDC、NHS、CMPF)及蛋白(如:BSA、多聚赖氨酸、CMPF-多聚赖氨酸)等。在沉淀的胶乳微球中加入磷酸盐缓冲液(50mM,pH=8.0),超声重悬,即可获得胶乳微球-多聚赖氨酸-CMPF偶联物。

[0035] 实施例5

一种应用胶乳增强免疫比浊法测定血清中CMPF含量的试剂盒,包括试剂R1、试剂R2、CMPF标准品及质控品。

[0036] 其中,试剂R1配置:将胶乳微球-BSA-CMPF偶联物用磷酸盐缓冲液(50mM,pH=8.0)稀释至浓度为0.02%,加入0.1%的BSA、PC-300及稳定剂。磷酸盐缓冲液配方(1L):磷酸二氢钾0.68g、十二水合磷酸氢二钠16.1g,氯化钠8g。

[0037] 试剂R2的配置:磷酸盐缓冲液50mM,pH6.8;CMPF抗体20mg/L(抗体制备方法见本公司专利:公开号201811518946.1),0.05%吐温80,0.1%PC-300,0.8%NaCl,1mM NAD。

[0038] 标准液配制:精确称取TRC-canada公司CMPF(纯度99%)1.000mg溶解于12.5mL磷酸盐缓冲液50mM,pH6.8,内含5g/L BSA;CMPF浓度为80μg/mL,然后再用内含5g/L BSA,50mM的磷酸盐缓冲液作倍比稀释为40μg/mL、20μg/mL、8μg/mL、4μg/mL、2μg/mL和0μg/mL等。

[0039] 质控品配制:精确称取TRC-canada公司CMPF(纯度99%)1.000mg溶解于6.25mL磷酸盐缓冲液50mM,pH6.8,内含5g/L BSA;CMPF浓度为160μg/mL,然后再用健康人新鲜血清作1:8和1:32稀释,即CMPF浓度分别为20μg/mL和5μg/mL。

[0040] 应用例1:

血清CMPF水平的检测方法

一、检测步骤

血清CMPF水平的测试采用实施例5中得到的试剂盒进行胶乳增强免疫比浊法测试,测试参数如下:

反应类型:两点终点法温度:37℃比色杯光径:0.6cm

主/副波长:570nm/800nm单位:mg/L反应方向:下降

	空白管(B)	校准管(S)	测定管(T)
试剂 R1	200 μ L	200 μ L	200 μ L
生理盐水	5 μ L		
校准品		5 μ L	
样 本			5 μ L
混匀, 37℃孵育 3-5 分钟			
试剂 R2	50 μ L	50 μ L	50 μ L
混匀, 37℃温育 60s 后记录吸光度 (A_1), 5 分钟后记录吸光度 (A_2), 计算吸光度 ΔA ($\Delta A=A_2-A_1$)。			

[0041] 二、检测结果

计算校准品吸光度的差值(A校准-A空白),建立合适的数学模(非线性)如Logit-Log等,拟合成多点定标的校准曲线。根据校准曲线的反应变化幅度、线性范围、相关系数和反应可重复性确定血清中CMPF的含量。其定标结果如图1所示。

[0042] 三、稳定性测试

将本发明中所制备的CMPF胶乳检测试剂(R1/R2)在37℃放置0天、7天以及15天做加速稳定性,然后对其三者进行稳定性测试,测试结果如图2所示,从图中可知本发明中的CMPF胶乳检测试剂在经过37℃加速稳定性测试后, ΔOD 值变化小于10%,表明其稳定性较好。

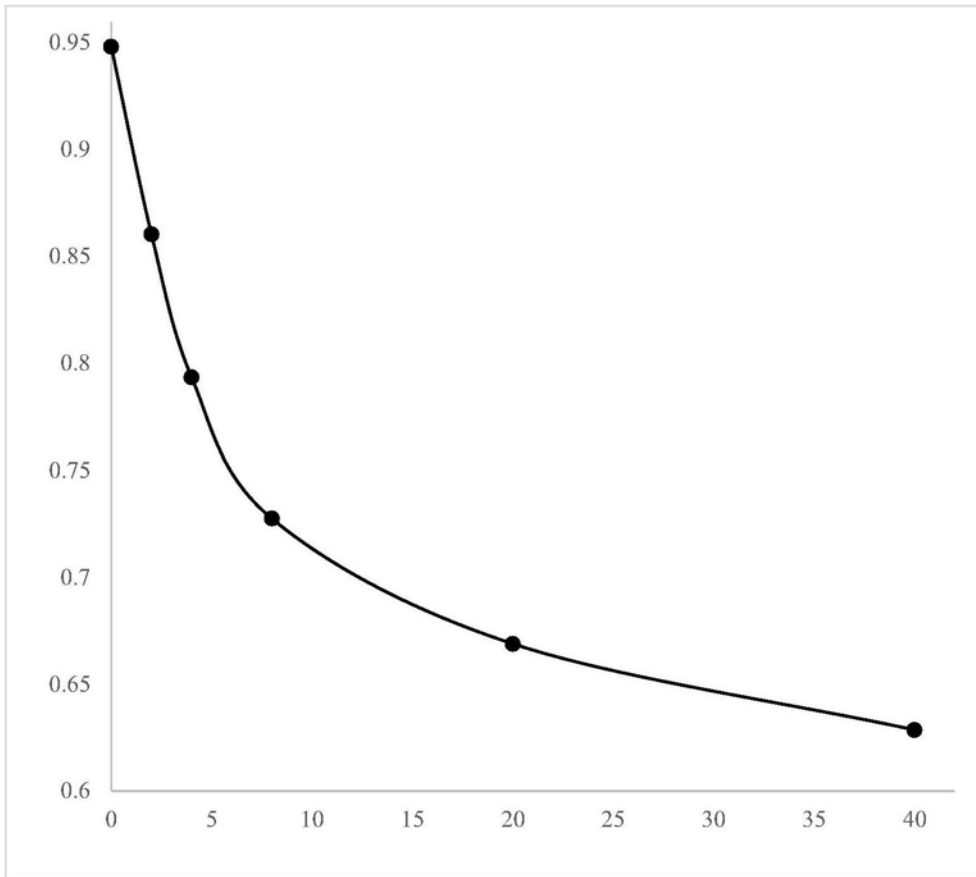


图1

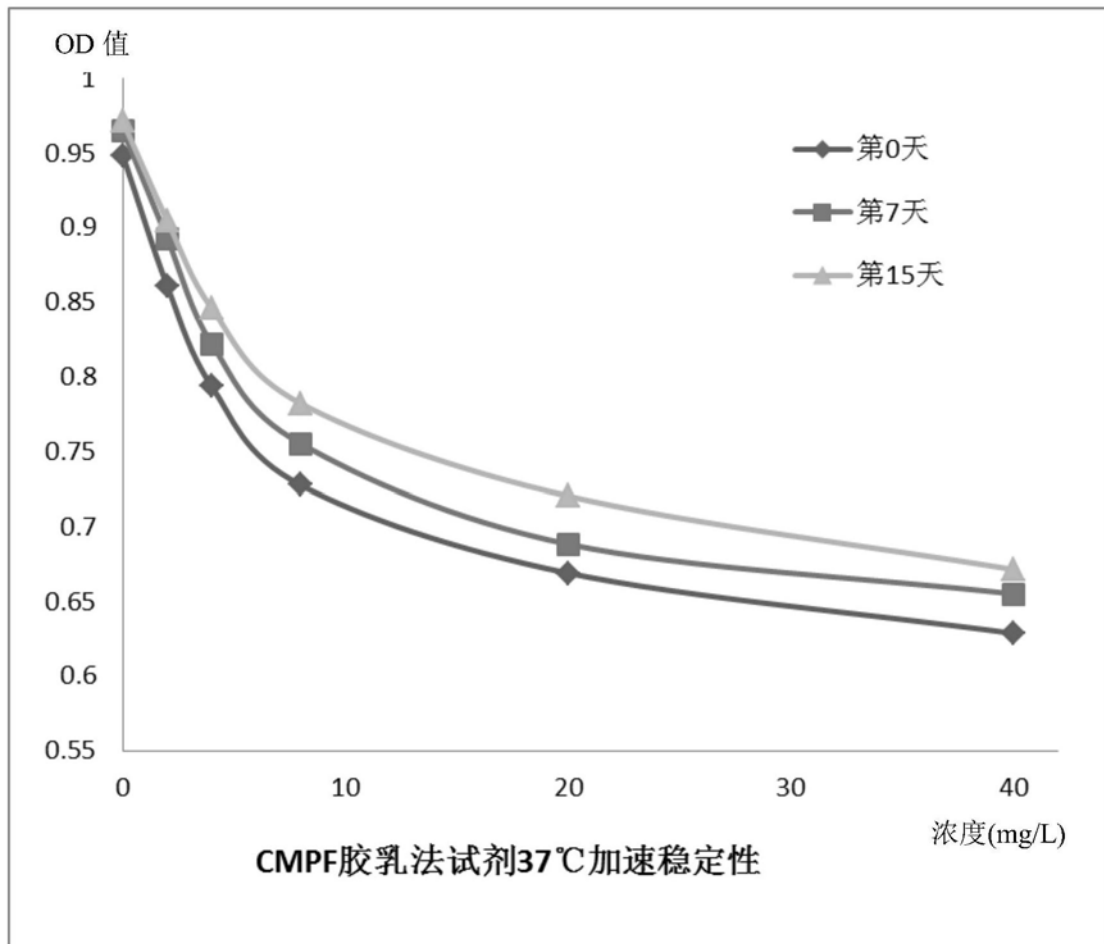


图2

专利名称(译)	一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物及其制备方法以及测定血清中CMPF含量的试剂盒		
公开(公告)号	CN110007092A	公开(公告)日	2019-07-12
申请号	CN201910276633.8	申请日	2019-04-08
[标]申请(专利权)人(译)	杭州博谱医药科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	杭州博谱医药科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	杭州博谱医药科技有限公司		
[标]发明人	朱永良 杨晓东 陈佳明 缪刘		
发明人	朱永良 杨晓东 陈佳明 缪刘		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/531		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及生物检测技术领域，具体涉及一种胶乳微球-蛋白-CMPF偶联物及其制备方法，所述的偶联物为CMPF与蛋白以及胶乳微球在偶联剂的作用下依次脱水得到的偶联产物，其可用于胶乳增强免疫比浊法测定人血清中CMPF含量的试剂盒中。本发明克服了现有技术中的均相酶免疫法CMPF检测试剂盒中的试剂稳定性较差，同时载体酶在反应过程中活力会有损失，导致反应产物得率较低的缺点，将现有技术中不稳定的酶偶联物通过使用稳定性较好的胶乳微球偶联物替代，提升了试剂的稳定性以及在反应过程中活性不会损失，防止对测试结果的干扰的优点；本发明中的试剂盒还能够实现样本的快速高通量检测，满足临床检测要求。

	空白管(B)	校准管(S)	测定管(T)
试剂 R1	200 μ L	200 μ L	200 μ L
生理盐水	5 μ L		
校准品		5 μ L	
样 本			5 μ L
混匀，37 $^{\circ}$ C 孵育 3-5 分钟			
试剂 R2	50 μ L	50 μ L	50 μ L
混匀，37 $^{\circ}$ C 温育 60s 后记录吸光度 (A_1)，5 分钟后记录吸光度 (A_2)，计算吸光度 ΔA ($\Delta A=A_2-A_1$)。			