



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101949942 A

(43) 申请公布日 2011. 01. 19

(21) 申请号 201010243013. 3

G01N 33/535 (2006. 01)

(22) 申请日 2010. 08. 03

(71) 申请人 郑州安图绿科生物工程有限公司

地址 450016 河南省郑州市经济技术开发区
第五大街经北一路 87 号

(72) 发明人 高晓丹 陈晓玲 刘保鑫 付光宇
渠海 马建军 项立红 吴学炜
苗拥军

(74) 专利代理机构 郑州异开专利事务所 (普通
合伙) 41114

代理人 王霞

(51) Int. Cl.

G01N 33/78 (2006. 01)

G01N 33/577 (2006. 01)

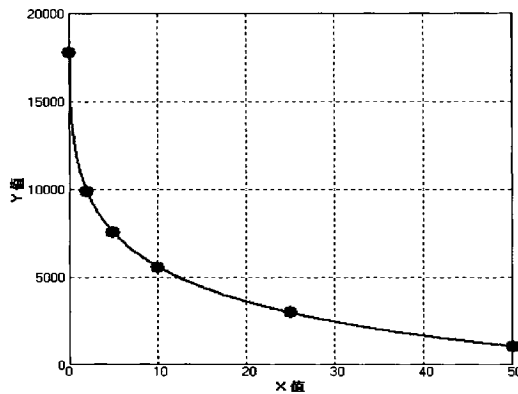
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 1 页

(54) 发明名称

游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒及其
制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,包括包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液、游离三碘甲状腺原氨酸系列校准品、辣根过氧化物酶标记的游离三碘甲状腺原氨酸抗体、发光底物 A 液、发光底物 B 液及 PBS 缓冲液。本发明还公开了该试剂盒的制备方法。本发明的优点在于采用化学发光技术与免疫磁微粒技术相结合,以免疫磁微粒为反应载体,增加了抗原的有效包被量,在节约原材料的同时也显著提高了检测的灵敏度和检测速度。采用了标记抗体包被抗原类似物的方法,因此能与该激素的抗体进行特异性结合,但与甲状腺结合蛋白的结合能力却大为降低,在很大程度上减小了结合蛋白对测量系统的影响。



1. 一种游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:它包括包被有二碘甲状腺原氨酸--明胶的磁微粒混悬液、游离三碘甲状腺原氨酸系列校准品、辣根过氧化物酶标记的游离三碘甲状腺原氨酸抗体、发光底物 A 液、发光底物 B 液及磷酸盐缓冲液。

2. 根据权利要求 1 所述的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述包被有二碘甲状腺原氨酸--明胶的磁微粒混悬液中的磁微粒粒径为 0.8-1.5 μ m,表面含有浓度为 20-30 μ eq/g 的羧基活性基团。

3. 根据权利要求 1 所述的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述游离三碘甲状腺原氨酸系列校准品采用激素血清为基质,加入三碘甲状腺原氨酸纯品配制而成。

4. 根据权利要求 1 所述的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述辣根过氧化物酶标记的游离三碘甲状腺原氨酸抗体采用碳二亚胺标记法。

5. 根据权利要求 1 所述的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述发光底物 A 液由 0.2M Tris-HCl、0.15mM Luminol、0.59mM 羟基香豆素、0.35mM 没食子酸组成。

6. 根据权利要求 1 所述的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述发光底物 B 液由 0.2M 乙酸-乙酸盐缓冲液、0.85mM 氨基酸氧化酶、0.8% tween 20、0.5mM DTPA、0.12mM 维生素 C 组成。

7. 根据权利要求 1 所述的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述浓缩洗液为加有稳定剂和表面活性剂的磷酸盐缓冲液。

8. 根据权利要求 1 所述的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒的制备方法,其特征在于:它包括下述步骤:

第一步,包被有二碘甲状腺原氨酸--明胶的磁微粒混悬液的制备

根据使用量取适量的羧基磁微粒,用过量的 EDC 和 NHS 在酸性条件下进行活化,活化时间为 30min,然后加磁场,静置,使磁微粒与液体分开,弃去上清,用 PH 为 7.6 的 0.01M 的磷酸盐缓冲液洗去多余的活化剂;加入二碘甲状腺原氨酸--明胶,使其浓度为 0.2 μ l/mg 磁微粒,在弱碱性条件下震荡反应 1h;反应结束后加磁场,静置使磁微粒与液体分开,弃去上清,用含有 1%牛血清白蛋白的 0.01M 的磷酸盐缓冲液进行封闭;并用封闭液保存磁微粒,得到磁微粒浓度为 0.5mg/ml 的混悬液;将该磁微粒混悬液置于 2-8 度保存备用;

第二步,游离三碘甲状腺原氨酸系列校准品的制备

用含有 0.05% -0.1% 的 NaN₃ 和 0.15% -0.25% 的 PC300 的去激素血清将三碘甲状腺原氨酸纯品配制成标示浓度为 0pmol/l、2pmol/l、5pmol/l、10pmol/l、25pmol/l、50pmol/l 的一系列校准品;

第三步,辣根过氧化物酶标记的游离三碘甲状腺原氨酸抗体的制备

采用碳二亚胺标记法:先用活化剂 EDC 将辣根过氧化物酶上的氨基活化,然后加入鼠抗游离三碘甲状腺原氨酸单克隆抗体,使抗体上的羧基与活化过的氨基缩合为酰胺化合物,透析后既得三碘甲状腺原氨酸酶标抗体;在标记好的溶液中,等比加入甘油 -20 度保存备用;

第四步,发光底物 A 液的配制

发光底物 A 液由 0.2M Tris-HCl、0.15mM Luminol、0.59mM 羟基香豆素、0.35mM 没食子

酸配制而成。

第五步,发光底物 B 液的配制

发光底物 B 液由 0.2M 乙酸 - 乙酸盐缓冲液、0.85mM 氨基酸氧化酶、0.8% tween20、0.5mM DTPA、0.12mM 维生素 C 配制而成。

第六步,浓缩洗液的配制

取 $\text{NaH}_2\text{P}_04 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4.06g ; $\text{Na}_2\text{HP}_04 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 62.32g ; NaCl , 175.6g ; Tween20, 2-10ml ; 蒸馏水, 1000ml 配制后得到 20 倍浓缩洗液。

游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物免疫检测领域,尤其是涉及一种将酶促化学发光技术与磁分离技术相结合的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,本发明还涉及该试剂盒的制备方法。

背景技术

[0002] 人体甲状腺可以分泌有生理活性的甲状腺素(T₄)和三碘甲状腺原氨酸(T₃)及无生理活性的反T₃等。血浆中的T₄来自甲状腺,而80-90%的T₃和反T₃是T₄在外周组织经脱去一个碘原子而生成的。血液中的T₃和T₄,以结合和游离两种形式存在。绝大部分的甲状腺激素(T₄99.97%, T₃99.7%)可逆性的结合于血浆蛋白上,游离的甲状腺激素在血中含量甚微,与蛋白结合的激素和微量游离激素处于动态平衡中,而正是这些微量的游离激素才能进入靶组织细胞,与细胞中受体结合,发挥其生物学作用,它还在垂体部分反馈性地调节促甲状腺激素(TSH)的分泌。结合型的甲状腺激素是没有生物学作用的,它对稳定血中游离激素含量起着贮存与缓冲作用。

[0003] T₃分子量为651,大约25%由甲状腺直接产生,75%由T₄在外周组织,主要在肝、肾中经5'-脱碘酶的作用形成,其每日周转率约为75%,甲状腺外循环总量约40μg,循环血中T₃的生物半寿期,即T_{1/2}仅1天,在外周血液中,99.6%与甲状腺结合球蛋白(TBG)及白蛋白结合,一般不和甲状腺结合前白蛋白(TBPA)结合,但当TBG浓度低时可与TBPA结合。但血浆中的T₃和蛋白质的结合能力相对于T₄较弱,与TBG的亲合常数仅为T₄的1/10。

[0004] T₃是目前已知生物活性最强的甲状腺激素,其生物活性为T₄的3~5倍。外周组织中约有80%的T₄经脱碘酶的作用而生成T₃。因此,有人提出T₃是真正的甲状腺激素,而T₄可能是一种前激素。临床上一般将未与TBG等运输蛋白结合的T₃称为游离T₃,即FT₃,只有游离的T₃具有代谢活性,而结合的则没有生理活性。

[0005] 大量的实验资料表明,测定血清T₃是判断甲状腺功能亢进首选指标之一,特别是T₃毒症患者的血清T₄浓度正常,而T₃却明显升高。因此,测定血清T₃是临床诊断甲状腺功能的一项重要指标。一般来讲,甲亢病人血清T₃值会明显升高。在多数甲亢病例中,血清T₃的升高和血清T₄升高相平行;而T₃毒症,亦称T₃性甲亢中,血清T₄值在正常范围,而仅T₃升高。临床上常见到某些病人在发展成典型的甲状腺毒症前,先经过一个血清T₃水平升高阶段,说明测定血清T₃对于诊断甲亢较测定血清T₄更有意义。此外在甲亢病人进行放射性碘或药物治疗过程中,血清T₄降至正常,而血清T₃仍高于正常,直至临床甲状腺功能恢复正常,血清T₃方降至正常水平;故测定血清T₃又可作为判断疗效的可靠指标。

[0006] 因为T₃在血液中的浓度变化快于T₄且更明显,所以血液T₃水平的测定也可用于应答兴奋和抑制试验中以评价甲状腺机能。一般认为,在甲状腺强兴奋条件下,T₃水平是代表甲状腺功能的一项很好的指标。

[0007] 但某些疾病如肝硬变,蛋白质及热量营养不良时,血清T₃可能降低;但只要甲状腺功能正常,血清T₄则在正常范围。所以,作为评定甲状腺功能低下的指标,测定血清T₃不如T₄可靠。

[0008] 近年来人们发现测定血清中游离甲状腺激素具有更重要的意义。虽然游离 T3 即 FT3 在外周血中含量很低,仅占总 T3 的 0.3%,但它可以通过细胞膜进入细胞与受体结合发挥生理效应,因此它是甲状腺激素发生生理效应的真正活性部分,能比较确切地反映甲状腺的功能状态及其它对人体机能的影响。

[0009] 一般甲亢病人血清 FT3 值明显升高。在多数甲亢病例中,血清 FT3 的升高和血清 FT4 升高相平行。而 T3 毒症,亦称 T3 性甲亢中,血清 FT4 值在正常范围,而仅 FT3 升高。临床上常见到某些病人在发展成典型的甲状腺毒症前,先经过一个血清 FT3 水平升高阶段,进而说明测定血清 FT3 对于诊断甲亢较测定血清 FT4 更有意义。此外,在甲亢病人进行放射性碘或药物治疗过程中,血清 FT4 降至正常,而血清 FT3 仍高于正常,直至临床甲状腺功能恢复正常,血清 FT3 方降至正常水平。故测定血清 FT3 又可以作为判断疗效的可靠指标。

[0010] 从检测原理上来讲,目前临床上常用的检测游离三碘甲状腺原氨酸的方法主要是竞争法。

[0011] 从检测技术上来讲,过去以放免为代表的早期 FT3、FT4 测定试剂盒受方法学的限制,其灵敏度和抗干扰能力严重不足,存在很大的弊端,已基本上退出市场,目前应用较多的为酶联免疫技术和化学发光技术。化学发光技术兴起于上个世纪 80 年代,是继酶联免疫技术和放免技术之后发展起来的新兴技术,由于其高灵敏度、高特异性,同时方法简便、快速,标记结合物稳定,无放射性同位素损伤和污染等特点,在近些年得到了飞速发展。

[0012] 免疫磁微粒技术是近几年的新兴技术,它是利用高分子合成一定粒度大小的磁性固相微粒做载体,载体表面修饰有一定数量的化学功能团,通过化学偶联等方法包被上具有特异性亲和力的免疫活性物质(抗原或抗体),具有分离速度快、效率高、可重复性好、反应均相等诸多优点。

发明内容

[0013] 本发明的目的在于提供一种采用竞争法的反应原理,将酶促化学发光技术与磁分离技术相结合,检测结果准确、使用简便快捷的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,本发明还提供该试剂盒的制备方法。

[0014] 为实现上述目的,本发明可采取下述技术方案:

[0015] 本发明所述的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,它包括包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液、游离三碘甲状腺原氨酸系列校准品、辣根过氧化物酶标记的游离三碘甲状腺原氨酸抗体、发光底物 A 液、发光底物 B 液及 PBS 缓冲液。

[0016] 所述包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液中的磁微粒粒径为 0.8-1.5 μ m,表面含有浓度为 20-30 μ eq/g 的羧基活性基团。

[0017] 所述游离三碘甲状腺原氨酸系列校准品采用去激素血清为基质,加入三碘甲状腺原氨酸纯品配制而成。

[0018] 所述辣根过氧化物酶标记的游离三碘甲状腺原氨酸抗体采用碳二亚胺标记法。

[0019] 所述发光底物 A 液由 0.2M Tris-HCl(三(羟甲基)氨基甲烷-盐酸缓冲液)、0.15mM Luminol(鲁米诺)、0.59mM 羟基香豆素、0.35mM 没食子酸组成。

[0020] 所述发光底物 B 液由 0.2M 乙酸-乙酸盐缓冲液、0.85mM 氨基酸氧化酶、0.8% tween 20(表面活性剂)、0.5mM DTPA(二乙烯三胺五乙酸)、0.12mM 维生素 C 组成。

[0021] 所述浓缩洗液为加有稳定剂和表面活性剂的磷酸盐缓冲液 (PBS 缓冲液)。

[0022] 本发明所述的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒的制备方法,它包括下述步骤:

[0023] 第一步,包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液的制备

[0024] 根据使用量取适量的羧基磁微粒,用过量的 EDC(1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺)和 NHS(N-羟基琥珀酰亚胺)在酸性条件下 (PH4.5-PH5.5) 进行活化,活化时间为 30min,然后加磁场,静置,使磁微粒与液体分开,弃去上清,用 PH 为 7.6 的 0.01M 的磷酸盐缓冲液 (PBS 缓冲液) 洗去多余的活化剂;加入二碘甲状腺原氨酸-明胶,使其浓度为 0.2 μ l/mg 磁微粒,在弱碱性条件下 (PH7.4-PH8.4) 震荡反应 1h;反应结束后加磁场,静置使磁微粒与液体分开,弃去上清,用含有 1% 牛血清白蛋白的 0.01M 的磷酸盐缓冲液 (PBS 缓冲液) 进行封闭;并用封闭液保存磁微粒,得到磁微粒浓度为 0.5mg/ml 的混悬液;将该磁微粒混悬液置于 2-8 度保存备用;

[0025] 第二步,游离三碘甲状腺原氨酸系列校准品的制备

[0026] 用含有 0.05% -0.1% 的 Na₃N (防腐剂) 和 0.15% -0.25% 的 PC300 (防腐剂) 的去激素血清将三碘甲状腺原氨酸纯品配制成标示浓度为 0pmol/l、2pmol/l、5pmol/l、10pmol/l、25pmol/l、50pmol/l 的一系列校准品;

[0027] 第三步,辣根过氧化物酶标记的游离三碘甲状腺原氨酸抗体的制备

[0028] 采用碳二亚胺标记法:先用活化剂 (1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺)EDC 将辣根过氧化物酶上的氨基活化,然后加入鼠抗游离三碘甲状腺原氨酸单克隆抗体,使抗体上的羧基与活化过的氨基缩合为酰胺化合物,透析后既得三碘甲状腺原氨酸酶标抗体;在标记好的溶液中,等比加入甘油 -20 度保存备用;

[0029] 第四步,发光底物 A 液的配制

[0030] 发光底物 A 液由 0.2M Tris-HCl、0.15mM Luminol (鲁米诺)、0.59mM 羟基香豆素、0.35mM 没食子酸配制而成。

[0031] 第五步,发光底物 B 液的配制

[0032] 发光底物 B 液由 0.2M 乙酸-乙酸盐缓冲液、0.85mM 氨基酸氧化酶、0.8% tween20、0.5mM DTPA、0.12mM 维生素 C 配制而成。

[0033] 第六步,PBS 缓冲液的配制

[0034] 取 NaH₂P₀4 · 2H₂O, 4.06g ;Na₂HPO₄ · 12H₂O, 62.32g ;NaCl, 175.6g ;Tween20, 2-10ml ;蒸馏水, 1000ml 配制后得到 20 倍浓缩洗液。

[0035] 本发明的优点在于采用化学发光技术与免疫磁微粒技术相结合,以免疫磁微粒为反应载体,由于磁微粒具有大的比表面积,因此大大增加了抗原的有效包被量,在节约原材料的同时也显著提高了检测的灵敏度和检测速度。同时本发明采用了标记抗体包被抗原类似物的方法,而该类似物与所测激素具有同等的免疫源性,因此能与该激素的抗体进行特异性结合,但与甲状腺结合蛋白 (THBP) 的结合能力却大为降低,在很大程度上减小了结合蛋白对测量系统的影响。

附图说明

[0036] 图 1 是本试剂盒的标准曲线线形图。

[0037] 图 2 是本试剂盒与同类试剂盒临床对照图。

具体实施方式

[0038] 本发明所述的游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,包括包被有三碘甲状腺原氨酸结构类似物(二碘甲状腺原氨酸, T₂)-明胶的磁微粒混悬液,所述磁微粒粒径为 0.8-1.5 μ m,表面含有浓度为 20-30 μ eq/g 的羧基活性基团;采用激素血清为基质,加入三碘甲状腺原氨酸纯品配制而成的游离三碘甲状腺原氨酸系列校准品;辣根过氧化物酶标记的游离三碘甲状腺原氨酸抗体,采用碳二亚胺标记法;由 0.2M Tris-HCl、0.15mM Luminol、0.59mM 羟基香豆素、0.35mM 没食子酸组成的发光底物 A 液;由 0.2M 乙酸-乙酸盐缓冲液、0.85mM 氨基酸氧化酶、0.8% tween20、0.5mM DTPA、0.12mM 维生素 C 组成的发光底物 B 液以及添加有稳定剂和表面活性剂的 PBS 浓缩液。

[0039] 本发明游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒的制备方法,包括下述步骤:

[0040] 第一步,包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液的制备

[0041] 根据使用量取适量的羧基磁微粒,用过量的 EDC(1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺)和 NHS(N-羟基琥珀酰亚胺)在酸性条件下(PH4.5-PH5.5)进行活化,活化缓冲液为 0.05M-0.1M 的 MES(2-(N-吗啉代)乙磺酸)缓冲液,活化时间为 30min,然后加磁场,静置 5min 使磁微粒与液体分开,弃去上清,用 PH 为 7.6 的 0.01M 的 PBS 缓冲液洗两遍以洗去多余的活化剂;加入二碘甲状腺原氨酸-明胶,使其浓度为 0.2 μ l/mg 磁微粒,在 PBS 缓冲液中(PH7.4-PH8.4)震荡反应 1h;反应结束后加磁场,静置 5min 使磁微粒与液体分开,弃去上清,用含有 1% 牛血清白蛋白(BSA)的 0.01M 的 PBS 缓冲液进行封闭,反复封闭 5 次,每次 10min;封闭结束后,加入封闭液保存磁微粒,使磁微粒的最终浓度为 0.5mg/ml;将该磁微粒混悬液置于 2-8 度保存备用;

[0042] 第二步,游离三碘甲状腺原氨酸系列校准品的制备

[0043] 用含有 NaN₃(0.05% -0.1%) 和 PC300(0.15% -0.25%) 的去激素血清依据临床样本将三碘甲状腺原氨酸纯品配制成为标示浓度为 0pmol/l、2pmol/l、5pmol/l、10pmol/l、25pmol/l、50pmol/l 的一系列校准品,瓶盖颜色依次为白、黄、绿、蓝、紫、黑;

[0044] 第三步,辣根过氧化物酶标记的游离三碘甲状腺原氨酸抗体的制备

[0045] 采用碳二亚胺标记法:即先用活化剂 EDC 将辣根过氧化物酶上的氨基活化,然后加入鼠抗游离三碘甲状腺原氨酸单克隆抗体,使抗体上的羧基与活化过的氨基缩合为酰胺化合物,透析后既得三碘甲状腺原氨酸酶标抗体;在标记好的溶液中,等比加入甘油 -20 度保存备用;

[0046] 将标记好的酶标抗体按照 1:20000-1:50000 的比例加入到含有 BSA(0.5% -2%) 和 PC300(0.15% -0.25%) 的 PH 7.4Tris-NaCl 缓冲液中,混合均匀,即得到该试剂盒的酶结合物。

[0047] 第四步,发光底物 A 液的配制

[0048] 发光底物 A 液由 0.2M Tris-HCl、0.15mM Luminol、0.59mM 羟基香豆素、0.35mM 没食子酸配制而成。

[0049] 第五步,发光底物 B 液的配制

[0050] 发光底物 B 液由 0.2M 乙酸-乙酸盐缓冲液、0.85mM 氨基酸氧化酶、0.8% tween20、

0.5mM DTPA、0.12mM 维生素 C 配制而成。

[0051] 第六步, PBS 缓冲液的配制

[0052] 取 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4.06g ; $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, 62.32g ; NaCl , 175.6g ; Tween20, 2-10ml ; 蒸馏水, 1000ml 配制后得到 20 倍浓缩洗液。

[0053] 本发明所述试剂盒的使用操作程序如下 :

[0054] 1、样本采集

[0055] 采用正确医用技术收集血清 (严重溶血或脂血的样本不能用于测定), 收集后的样本在室温放置不可超过 8 小时 ; 如果不在 8 小时内检测需将样本放置于 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 的冰箱中 ; 若需 72 小时以上保存或运输, 则应冻存于 -20°C 以下, 避免反复冻融。使用前恢复到室温, 轻轻摇动混匀 ;

[0056] 2、试验前准备

[0057] ①取 1 瓶浓缩洗液按标签上标识的稀释比例要求稀释备用 ;

[0058] ②将恒温箱或水浴锅温度调至 37°C , 待温度稳定后使用 ;

[0059] ③将磁微粒混悬液充分混匀至无肉眼可见沉淀。

[0060] 3、实验方法

[0061] ①取出一定量的反应容器, 编号, 根据实验要求加入 $50 \mu\text{l}$ 校准品 (或质控品 / 0 校准品 / 样本) ;

[0062] ②摇匀磁微粒混悬液, 每孔分别加入 $20 \mu\text{l}$;

[0063] ③每孔分别加入酶标记物 $100 \mu\text{l}$;

[0064] ④将反应容器内溶液混合均匀, 37°C 温育 15 分钟 ;

[0065] ⑤使用磁分离及洗涤设备, 将反应容器中磁微粒用洗液洗涤 5 次 ;

[0066] ⑥将洗涤后的反应容器充分振荡使磁微粒散开 ;

[0067] ⑦每孔加入发光底物 A 和发光底物 B 各 $50 \mu\text{l}$, 振荡混匀后避光室温反应 5 分钟 ;

[0068] ⑧化学发光检测仪检测发光强度 ;

[0069] 采用四参数拟合方式, 以校准品浓度值为 X 轴, 以校准品发光强度值为 Y 轴, 建立定标曲线。根据待测样本的发光强度值回算相应的浓度值。

[0070] 按照方法学鉴定, 本试剂盒可达到如下指标 :

[0071] 标准曲线线性 : R 大于 0.999 (如图 1 所示)

[0072] 最低检出限 : 0.2pmol/l

[0073] 精密性 : 分析内变异、分析间变异及批间变异均小于 10% (见表 1)

[0074] 表 1 : 精密性数据表

[0075] a) 分析内和分析间变异数据表

		第一批试剂	第二批试剂	第三批试剂
质控平均值 (pmol/l)	Q1	1.21	1.15	1.71
	Q2	4.82	4.84	6.08
	Q3	10.41	11.12	12.86
分析内变异 (CV%)	Q1	1.99	5.62	1.99
	Q2	1.31	9.49	1.74
	Q3	2.49	1.29	2.19
分析间变异 (CV%)	Q1	5.89	7.98	7.1
	Q2	3.67	6.77	3.14
	Q3	4.94	6.67	5.55

[0077] b) 批间变异数据表

[0078]

	Q1 (pmol/l)	Q2 (pmol/l)	Q3 (pmol/l)
第一批	1.57	5.56	11.99
第二批	1.35	5.84	11.12
第三批	1.61	6.08	12.86
变异 (CV%)	9.46	4.49	7.24

[0079] 特异性:与 500ng/ml 的 T4 和 2000ng/ml 的 rT3 交叉反应率均小于 0.001% (见表 2)

[0080] 表 2:特异性数据表

[0081]

	测定值 (pmol/l)	交叉反应率 (%)
T4(100ng/ml)	0.29	< 0.001
r-T3(2000ng/ml)	1.23	< 0.001

[0082] 与同类试剂盒对照:将本试剂盒与国际全自动知名品牌 siemens 的同类产品同时对 130 份临床血清样本进行测定,二者测定结果的相关性较好,相关系数 R 为 0.985 (如图 2 所示)。

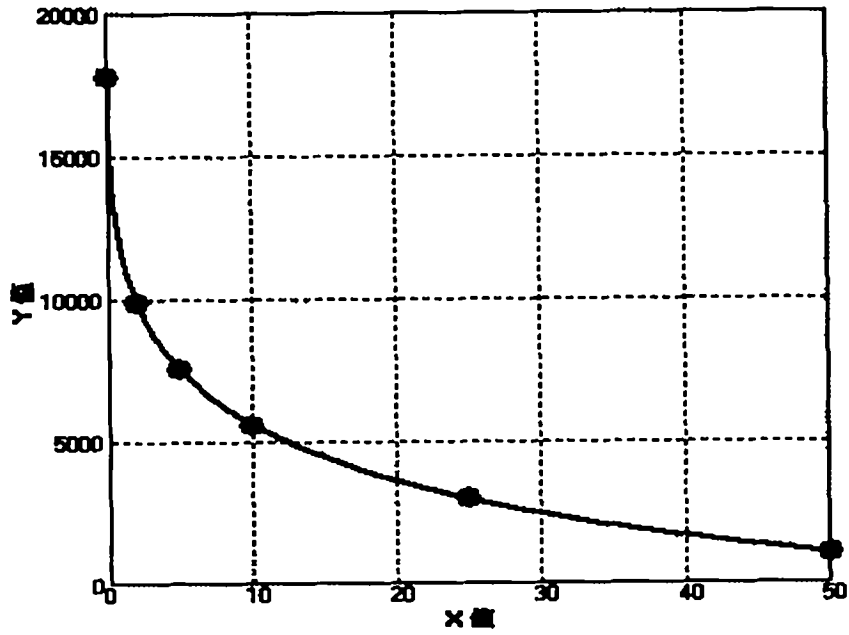


图 1

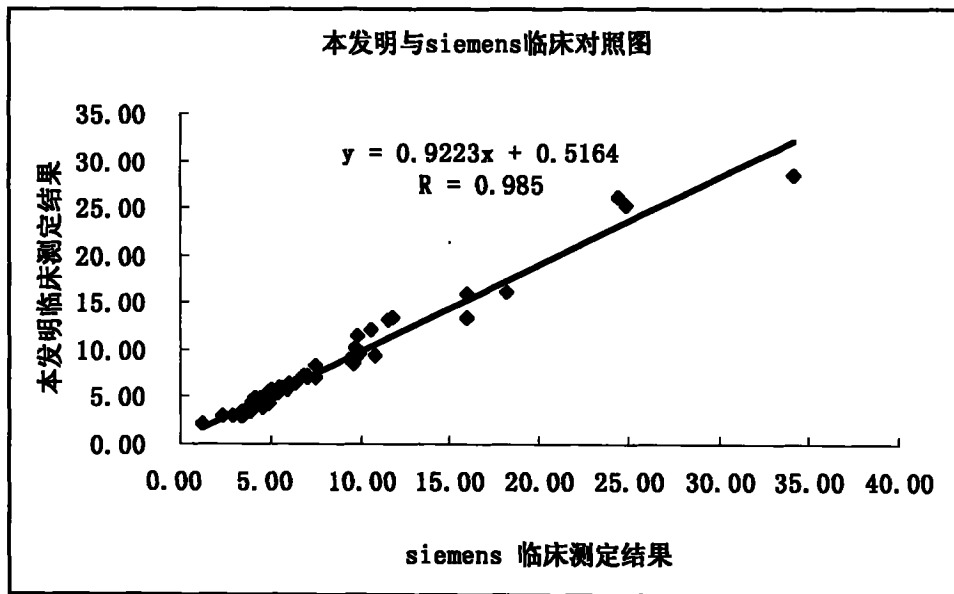


图 2

专利名称(译)	游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN101949942A	公开(公告)日	2011-01-19
申请号	CN201010243013.3	申请日	2010-08-03
[标]申请(专利权)人(译)	郑州安图绿科生物工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	郑州安图绿科生物工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	郑州安图绿科生物工程有限公司		
[标]发明人	高晓丹 陈晓玲 刘保鑫 付光宇 渠海 马建军 项立红 吴学炜 苗拥军		
发明人	高晓丹 陈晓玲 刘保鑫 付光宇 渠海 马建军 项立红 吴学炜 苗拥军		
IPC分类号	G01N33/78 G01N33/577 G01N33/535		
代理人(译)	王霞		
其他公开文献	CN101949942B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种游离三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒，包括包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液、游离三碘甲状腺原氨酸系列校准品、辣根过氧化物酶标记的游离三碘甲状腺原氨酸抗体、发光底物A液、发光底物B液及PBS缓冲液。本发明还公开了该试剂盒的制备方法。本发明的优点在于采用化学发光技术与免疫磁微粒技术相结合，以免疫磁微粒为反应载体，增加了抗原的有效包被量，在节约原材料的同时也显著提高了检测的灵敏度和检测速度。采用了标记抗体包被抗原类似物的方法，因此能与该激素的抗体进行特异性结合，但与甲状腺结合蛋白的结合能力却大为降低，在很大程度上减小了结合蛋白对测量系统的影响。

		第二批次	第三批次	第一批次
回收率(%)	01	1.2	1.15	1.7
	02	4.8	4.84	5.04
	03	10.5	11.12	12.06
分析灵敏度(CFU)	01	1.30	3.09	1.91
	02	1.01	9.45	1.74
	03	2.40	1.26	2.19
灵敏度(%)	01	3.09	3.96	1.1
	02	3.67	5.77	3.11
	03	4.51	3.19	5.99