



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105021811 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 04

(21) 申请号 201510444709. 5

(22) 申请日 2015. 07. 27

(71) 申请人 厦门拜尔杰生物科技有限公司

地址 361000 福建省厦门市海沧区新阳街道
翁角西路 2026 号 3-4 层

(72) 发明人 陈隆玉 史正文

(74) 专利代理机构 泉州市博一专利事务所
35213

代理人 方传榜

(51) Int. Cl.

G01N 33/564(2006. 01)

G01N 33/535(2006. 01)

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

一种抗核抗体联合检测试剂盒及其检测方法

(57) 摘要

本发明公开一种抗核抗体联合检测试剂盒,包括样本稀释液、酶结合物、冲洗液以及底物四种试剂。本发明还公开了该抗核抗体联合检测试剂盒的检测方法,包括检测试剂盒平衡至室温、样本处理、卡片窗口内膜面的润洗、加入样本、冲洗液、加入酶结合物、显色及终止等步骤。本发明可以同时做到多通道多人份检测同时进行(即抗核抗体 16 个检测项目可以同时进行检测,并能给出单独的 16 份检测结果),并且灵敏度可以达到免疫印记产品的检测水平并远高于金标渗滤产品;同时本试剂盒的检测时间可以接近于金标渗滤的检测时间并远远优于免疫印记的检测时间,且不需要进行试剂浓缩液处理、温浴、反复清洗等,能够很好地满足临床使用。

1. 一种抗核抗体联合检测试剂盒,其特征在于,包括以下四种体积份数含量的试剂:样本稀释液 10 份、酶结合物 5~6 份、冲洗液 10 份以及底物 5~6 份;其中,所述样本稀释液包括 0.46% 三羟甲基氨基甲烷、0.8% 氯化钠、0.1% 吐温 80、0.2% 酪蛋白、0.1% 羧甲基纤维素钠盐、0.04% 乙二胺四乙酸、0.1% Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述酶结合物包括 0.46% 三羟甲基氨基甲烷、5% 山羊血清、0.8% 氯化钠、0.1% 吐温 20、0.04% 乙二胺四乙酸、0.5% 对羟基苯甲酸钠、0.05% HRP 标记的羊抗人 IgG、0.1% Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述冲洗液包括 0.46% 磷酸二氢钠、0.58% 十二水合磷酸氢二钠、0.01% 十二烷基硫酸钠、0.1% 吐温 80、0.1% 吐温 20、0.04% 乙二胺四乙酸、0.1% Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述底物包括 0.12% 一水合柠檬酸钠、0.05% 咪唑、0.05% 聚乙烯吡咯烷酮、0.04% 乙二胺四乙酸、0.05% 核糖、0.4% 葡萄糖、0.01% 聚乙烯醇、0.08% 硫代硫酸钠、0.02% TMB、0.03% 过氧化氢、0.1% Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水。

2. 如权利要求 1 所述的一种抗核抗体联合检测试剂盒的检测方法,其特征在于,包括以下步骤:

一、检测准备

(1) 平衡室温:取出检测试剂盒平衡至室温 18~26℃;

(2) 样本处理:将 3000rpm 的待测血清离心 10min,取 200 μL 样本稀释液,混入 5 μL 已离心处理的血清,即为已处理样本;

二、样本检测

(3) 润洗:在卡片窗口内膜面上加 200 μL 样本稀释液,均匀润洗卡片窗口内膜面,待其渗入;

(4) 加入样本:将已处理样本全部加于步骤(3)中润洗过的卡片窗口内膜面,待其渗入;

(5) 冲洗:待样本完全渗入后,加入 200 μL 冲洗液,待其渗入;

(6) 加入酶结合物:往步骤(5)冲洗过的卡片窗口内膜面上加入 200 μL 酶结合物,完全渗入后加入 200 μL 冲洗液,以除去未结合的酶结合物;

(7) 显色及终止:继续往卡片窗口内膜面上加入 200 μL 底物并开始计时,10~15min 后加入 100 μL 去离子水或蒸馏水以终止显色。

一种抗核抗体联合检测试剂盒及其检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测试剂盒,更为具体地说是指一种抗核抗体联合检测试剂盒及其检测方法。

背景技术

[0002] 近年来,自身免疫性疾病(AID)发病率呈明显上升趋势,其发病率占世界总人口的3%~5%,已成为严重影响人类健康的一类疾病。自身抗体是自身免疫疾病(AID)最重要的特征,有相当一部分AID患者血清或其他体液中可检测到一种或多种特异性或相关性自身抗体,疾病特征性自身抗体(谱)对AID的诊断、鉴别诊断、病情评估以及疗效和预后判断提供非常重要的价值。而抗核抗体谱(ANAs)就是其中一类,其对系统性红斑狼疮(SLE)、类风湿关节炎(RA)、原发性干燥综合征(pSS)、系统性硬皮病(SSc)、混合性结缔组织病(MCTD)及皮炎和多发性肌炎(PM/DM)等结缔组织病(CTD)的诊断与鉴别诊断具有重要临床意义。

[0003] 目前市场上抗核抗体的试剂盒(如HOB、欧蒙等厂家的ANA抗体谱检测产品)主要是进行免疫印记的检测形式。但是该类检测方式所需标本量大(一般为几十微升)、操作(如浓缩液稀释、温浴等)麻烦、检测时间过长(检测时间将近3个小时)、价格昂贵等问题。尤其是免疫印记形式采取的是浸泡式的反应模式,需要大量的反应试剂,而类似产品的试剂都是浓缩液,单人份或是少量人份检测时也需要进行试剂稀释,极其繁琐,并占用较大的容器空间,严重的限制了实际的临床使用。也有个别有使用金标渗滤形式进行检测的,但其产品不是单项目而是多种抗原混合之后的检测,检测结果准确性比较低、灵敏度也比较低,同时无法确切的给出具体的项目结果。

发明内容

[0004] 本发明提供一种抗核抗体联合检测试剂盒及其检测方法,以解决现有该类试剂盒的检测所需标本量大、操作麻烦、检测时间过长、价格昂贵、检测结果准确性较低等缺点。

[0005] 本发明采用如下技术方案:

一种抗核抗体联合检测试剂盒,其特征在于,包括以下四种体积份数含量的试剂:样本稀释液10份、酶结合物5~6份、冲洗液10份以及底物5~6份;其中,所述样本稀释液包括0.46%三羟甲基氨基甲烷、0.8%氯化钠、0.1%吐温80、0.2%酪蛋白、0.1%羧甲基纤维素钠盐、0.04%乙二胺四乙酸、0.1%Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述酶结合物包括0.46%三羟甲基氨基甲烷、5%山羊血清、0.8%氯化钠、0.1%吐温20、0.04%乙二胺四乙酸、0.5%对羟基苯甲酸钠、0.05%HRP标记的羊抗人IgG、0.1%Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述冲洗液包括0.46%磷酸二氢钠、0.58%十二水合磷酸氢二钠、0.01%十二烷基硫酸钠、0.1%吐温80、0.1%吐温20、0.04%乙二胺四乙酸、0.1%Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述底物包括0.12%一水合柠檬酸钠、0.05%咪唑、0.05%聚乙烯吡咯烷酮、0.04%乙二胺四乙酸、0.05%核糖、0.4%葡萄糖、0.01%聚乙烯醇、0.08%硫代硫酸钠、0.02%TMB、

0.03% 过氧化氢、0.1% Proclin-300, 其余为去离子水或蒸馏水。

[0006] 上述一种抗核抗体联合检测试剂盒的检测方法, 包括以下步骤:

一、检测准备

(1) 平衡室温: 取出检测试剂盒平衡至室温 18 ~ 26℃;

(2) 样本处理: 将 3000rpm 的待测血清离心 10min, 取 200 μL 样本稀释液, 混入 5 μL 已离心处理的血清, 即为已处理样本;

二、样本检测

(3) 润洗: 在卡片窗口内膜面上加 200 μL 样本稀释液, 均匀润洗卡片窗口内膜面, 待其渗入;

(4) 加入样本: 将已处理样本全部加于步骤(3)中润洗过的卡片窗口内膜面, 待其渗入;

(5) 冲洗: 待样本完全渗入后, 加入 200 μL 冲洗液, 待其渗入;

(6) 加入酶结合物: 往步骤(5)冲洗过的卡片窗口内膜面上加入 200 μL 酶结合物, 完全渗入后加入 200 μL 冲洗液, 以除去未结合的酶结合物;

(7) 显色及终止: 继续往卡片窗口内膜面上加入 200 μL 底物并开始计时, 10 ~ 15min 后加入 100 μL 去离子水或蒸馏水以终止显色。

[0007] 由上述对本发明的描述可知, 和现有技术相比, 本发明具有如下优点:

1、本发明的检测试剂盒通过蛋白生物芯片的形式, 可以同时做到多通道多人份检测同时进行(即抗核抗体 16 个检测项目可以同时进行检测, 并能给出单独的 16 份检测结果), 并且灵敏度可以达到免疫印记产品的检测水平并远高于金标渗滤产品; 同时本试剂盒的检测时间可以接近于金标渗滤的检测时间并远远优于免疫印记的检测时间, 且不需要进行试剂浓缩液处理、温浴、反复清洗等, 能够很好地满足临床使用。

[0008] 2、本发明检测试剂盒的样本稀释液, 加入了羧甲基纤维素钠盐, 具有良好的封闭效果, 可很好地降低非特异性、增强特异性的特点。

[0009] 3、本发明检测试剂盒的酶结合物, 加入对羟基苯甲酸钠和山羊血清, 其中, 对羟基苯甲酸钠可增强酶的稳定性, 山羊血清则可降低非特异性, 提高灵敏度, 故该酶结合物具有良好的酶稳定性、封闭效果好以及灵敏度高等特点。

[0010] 4、本发明检测试剂盒的冲洗液, 加入十二烷基硫酸钠、吐温 20 以及吐温 80, 其中, 吐温 20 与吐温 80 的组合使用可增强使用效果, 可很好的完成清洗过程, 故该冲洗液可很好地冲洗未完全反映的残留实际, 提高信噪比。

[0011] 5、本发明检测试剂盒的底物, 加入核糖、葡萄糖、聚乙烯醇以及硫代硫酸钠, 核糖、葡萄糖、聚乙烯醇等可以很好的保护并稳定 TMB 及过氧化氢的化学性质, 增强试剂稳定性, 而硫代硫酸钠则可以很好的增强特异性反应。故该底物具有示踪反应结果, 单组份成分, 操作简便, 稳定性良好等特点。

具体实施方式

[0012] 下面说明本发明的具体实施方式。

[0013] 实施例一

一种抗核抗体联合检测试剂盒, 内含 20 片检测卡, 具体包括以下四种试剂: 样本稀释

液 10mL、酶结合物 5mL、冲洗液 10mL 以及底物 5mL。其中,样本稀释液包括 0.46% 三羟甲基氨基甲烷、0.8% 氯化钠、0.1% 吐温 80、0.2% 酪蛋白、0.1% 羧甲基纤维素钠盐、0.04% 乙二胺四乙酸、0.1%Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述酶结合物包括 0.46% 三羟甲基氨基甲烷、5% 山羊血清、0.8% 氯化钠、0.1% 吐温 20、0.04% 乙二胺四乙酸、0.5% 对羟基苯甲酸钠、0.05%HRP 标记的羊抗人 IgG、0.1%Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述冲洗液包括 0.46% 磷酸二氢钠、0.58% 十二水合磷酸氢二钠、0.01% 十二烷基硫酸钠、0.1% 吐温 80、0.1% 吐温 20、0.04% 乙二胺四乙酸、0.1%Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述底物包括 0.12% 一水合柠檬酸钠、0.05% 咪唑、0.05% 聚乙烯吡咯烷酮、0.04% 乙二胺四乙酸、0.05% 核糖、0.4% 葡萄糖、0.01% 聚乙烯醇、0.08% 硫代硫酸钠、0.02%TMB、0.03% 过氧化氢、0.1%Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水。

[0014] 实施例二

一种抗核抗体联合检测试剂盒,内含 10 片检测卡,具体包括以下四种试剂:样本稀释液 5mL、酶结合物 3mL、冲洗液 5mL 以及底物 3mL。其中,样本稀释液包括 0.46% 三羟甲基氨基甲烷、0.8% 氯化钠、0.1% 吐温 80、0.2% 酪蛋白、0.1% 羧甲基纤维素钠盐、0.04% 乙二胺四乙酸、0.1%Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述酶结合物包括 0.46% 三羟甲基氨基甲烷、5% 山羊血清、0.8% 氯化钠、0.1% 吐温 20、0.04% 乙二胺四乙酸、0.5% 对羟基苯甲酸钠、0.05%HRP 标记的羊抗人 IgG、0.1%Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述冲洗液包括 0.46% 磷酸二氢钠、0.58% 十二水合磷酸氢二钠、0.01% 十二烷基硫酸钠、0.1% 吐温 80、0.1% 吐温 20、0.04% 乙二胺四乙酸、0.1%Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水;所述底物包括 0.12% 一水合柠檬酸钠、0.05% 咪唑、0.05% 聚乙烯吡咯烷酮、0.04% 乙二胺四乙酸、0.05% 核糖、0.4% 葡萄糖、0.01% 聚乙烯醇、0.08% 硫代硫酸钠、0.02%TMB、0.03% 过氧化氢、0.1%Proclin-300,其余为去离子水或蒸馏水。

[0015] 上述各百分含量均指质量的百分含量。

[0016] 该抗核抗体联合检测试剂盒的检测方法,包括以下步骤:

一、检测准备

(1) 平衡室温:取出检测试剂盒平衡至室温 18 ~ 26℃;

(2) 样本处理:将 3000rpm 的待测血清离心 10min,取 200 μL 样本稀释液,混入 5 μL 已离心处理的血清,即为已处理样本;

二、样本检测

(3) 润洗:在卡片窗口内膜面上加 200 μL 样本稀释液,均匀润洗卡片窗口内膜面,待其渗入;

(4) 加入样本:将已处理样本全部加于步骤(3)中润洗过的卡片窗口内膜面,待其渗入;

(5) 冲洗:待样本完全渗入后,加入 200 μL 冲洗液,待其渗入;

(6) 加入酶结合物:往步骤(5)冲洗过的卡片窗口内膜面上加入 200 μL 酶结合物,完全渗入后加入 200 μL 冲洗液,以除去未结合的酶结合物;

(7) 显色及终止:继续往卡片窗口内膜面上加入 200 μL 底物并开始计时,10 ~ 15min 后加入 100 μL 去离子水或蒸馏水以终止显色。

[0017] 上述仅为本发明的具体实施方式,但本发明的设计构思并不局限于此,凡利用此

构思对本发明进行非实质性的改动,均应属于侵犯本发明保护范围的行为。

专利名称(译)	一种抗核抗体联合检测试剂盒及其检测方法		
公开(公告)号	CN105021811A	公开(公告)日	2015-11-04
申请号	CN201510444709.5	申请日	2015-07-27
[标]申请(专利权)人(译)	厦门拜尔杰生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	厦门拜尔杰生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	厦门拜尔杰生物科技有限公司		
[标]发明人	陈隆玉 史正文		
发明人	陈隆玉 史正文		
IPC分类号	G01N33/564 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/564		
其他公开文献	CN105021811B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开一种抗核抗体联合检测试剂盒，包括样本稀释液、酶结合物、冲洗液以及底物四种试剂。本发明还公开了该抗核抗体联合检测试剂盒的检测方法，包括检测试剂盒平衡至室温、样本处理、卡片窗口内膜面的润洗、加入样本、冲洗液、加入酶结合物、显色及终止等步骤。本发明可以同时做到多通道多人份检测同时进行（即抗核抗体16个检测项目可以同时进行检测，并能给出单独的16份检测结果），并且灵敏度可以达到免疫印记产品的检测水平并远高于金标渗滤产品；同时本试剂盒的检测时间可以接近于金标渗滤的检测时间并远远优于免疫印记的检测时间，且不需要进行试剂浓缩液处理、温浴、反复清洗等，能够很好地满足临床使用。