



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102650637 A

(43) 申请公布日 2012.08.29

(21) 申请号 201110045542.7

(22) 申请日 2011.02.25

(71) 申请人 广州固康生物科技有限公司

地址 510663 广东省广州市广州科学城揽月
路 80 号科技创新基地 D 区 302-304 单
元

(72) 发明人 郭志程

(74) 专利代理机构 广州华进联合专利商标代理
有限公司 44224

代理人 万志香 胡杰

(51) Int. Cl.

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 33/532 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 10 页

(54) 发明名称

尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒, 主要包括有: 包被 CTX-I 抗原的微孔板, 每个微孔包被的 CTX-I 抗原量为 0.48-7.2 μ g; 兔抗 CTX 抗体溶液, 兔抗 CTX 抗体效价达 1 : 10000。所述尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒具有特异性、灵敏度和精密度都非常好的优点。

1. 一种尿 β -胶原降解产物检测试剂盒,其特征是,主要包括有:
 - (A) 包被有 CTX-I 抗原的微孔板,每个微孔包被的 CTX-I 抗原量为 $0.54-0.66 \mu\text{g}$;
 - (B) 兔抗 CTX 抗体溶液,其中兔抗 CTX 抗体的浓度为 $3.8 \mu\text{g/ml}-42 \mu\text{g/ml}$,用量为每微孔 $100 \mu\text{l}$ 。
2. 根据权利要求 1 所述的尿 β -胶原降解产物检测试剂盒,其特征是,所述每个微孔包被的 CTX-I 抗原量为 $0.6 \mu\text{g}$ 。
3. 根据权利要求 1 所述的尿 β -胶原降解产物检测试剂盒,其特征是,所述兔抗 CTX 抗体的浓度为 $4.0 \mu\text{g/ml}$ 。
4. 根据权利要求 1-3 任一项所述的尿 β -胶原降解产物检测试剂盒,其特征是,所述尿 β -胶原降解产物检测试剂盒还包括有过氧化物酶偶联抗体,酶偶联抗体的工作浓度为 $1:2950-3050$ 。
5. 一种尿 β -胶原降解产物检测试剂盒的制备方法,其特征是,主要包括以下步骤:
 - 1) 包被 CTX-I 抗原的微孔板:把浓度为 $6.0 \mu\text{g/ml}$ 的 CTX-I 抗原在每个微孔板的反应孔中加 $0.09-0.11\text{ml}$, 37°C 干燥, 4°C 密封保存;洗板;封闭;
 - 2) 制备兔抗 CTX 抗体溶液:将兔抗 CTX 抗体用 10mmol/L 的 PBS 缓冲液和 25mol/L 的 EDTA 混合,兔抗 CTX 抗体的浓度为 $3.8 \mu\text{g/ml}-4.2 \mu\text{g/ml}$, 4°C 密封保存。
6. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征是,所述微孔板的洗板和封闭为:加入 CTX-I 抗原的次日,弃去孔内液体,吸去残留液体,加入洗涤液 $280-300\mu\text{l}$ /孔,漂洗 3 次,每次 3min ;按 $200-250\mu\text{l}$ /孔加入封闭液, 37°C 封闭 1-2 小时或在 4°C 封闭过夜,然后弃去孔内封闭液。
7. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征是,步骤 1) 中,加入 CTX-I 抗原的量为 0.1ml ;所述兔抗 CTX 抗体的浓度为 $4.0 \mu\text{g/ml}$ 。
8. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征是,所述尿 β -胶原降解产物检测试剂盒还包括有氧化物酶偶联抗体,该氧化物酶偶联抗体的制备为:取羊抗兔抗体冻干粉 0.1g ,与 10ml 浓度为 10mmol/L 的 PBS 缓冲液混合;取 HRP 固体用去离子水稀释为 5mg/ml ,采用简易过碘酸钠法将 HRP 与羊抗兔抗体交联;取制备后的 HRP-抗兔抗体,用 10mmol/L 的 PBS 缓冲液和 25mol/L 的 EDTA 混合,酶偶联抗体的工作浓度为 $1:2950-3050$,加入防腐剂和稳定剂。
9. 根据权利要求 4 所述的制备方法,其特征是,所述兔抗 CTX 抗体的制备为:取健康雄性家兔,采用皮下注射方式,对家兔 5-8 处部位进行免疫接种,初次免疫注射 1mg/ml 浓度的 CTX 抗原 0.2ml ,第 3 周、第 4 周及第 5 周注射 1mg/ml 浓度的 CTX 抗原与不完全弗氏佐剂等体积混合溶液 0.4ml ;拉颈处死家兔,收集血液,离心取上清液,加入防腐剂和稳定剂,再将抗体纯化,测定抗体效价。

尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医疗器械领域,具体地是涉及一种尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] I 型胶原占骨有机基质 90% 以上,并主要在骨中合成。骨骼更新时,I 型胶原被降解,短肽片段进入尿液。这些片段可用尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒检测,并有文献报道此分析有助于患骨代谢疾病的病人抗骨吸收治疗后的研究。

[0003] 目前,市场上缺少特异性、灵敏度好,且操作简单的相关检测试剂盒。

发明内容

[0004] 本发明的目的之一是提供一种尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒。

[0005] 实现上述目的的技术方案如下:

[0006] 一种尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒,主要包括有:

[0007] (A) 包被 CTX-I 抗原的微孔板,每个微孔包被的 CTX-I 抗原量为 0.54-0.66 μ g;

[0008] (B) 兔抗 CTX 抗体溶液,兔抗 CTX 抗体的浓度为 3.8 μ g/ml-4.2 μ g/ml (最佳优选浓度为 4.0 μ g/ml),用量为每微孔 100 μ l。

[0009] 优选地,所述每个微孔包被的 CTX-I 抗原量为 0.6 μ g。

[0010] 所述尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒还包括有过氧化物酶偶联抗体。

[0011] 本发明另一目的是提供一种尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒的制备方法。

[0012] 实现上述目的的技术方案为:

[0013] 一种尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒的制备方法,主要包括以下步骤:

[0014] 1) 包被 CTX-I 抗原的微孔板:

[0015] 把浓度为 6.0 μ g/ml 的 CTX-I 抗原在每个微孔板的反应孔中加 0.09-0.11ml (最优选为 0.1ml),37°C 干燥,4°C 密封保存;洗板;封闭;

[0016] 2) 制备兔抗 CTX 抗体溶液:将抗体效价达 1:10000 的兔抗 CTX 抗体用 10mmol/L 的 PBS 缓冲液和 25mmol/L 的 EDTA 混合,兔抗 CTX 抗体的浓度为 3.8 μ g/ml-4.2 μ g/ml,4°C 密封保存。

[0017] 优选地,所述微孔板的洗板和封闭为:加入 CTX-I 抗原次日弃去孔内液体,吸去残留液体,加入洗涤液 280-300 μ l/孔,漂洗 3 次,每次 3min;按 200-250 μ l/孔加入封闭液,37°C 封闭 1-2 小时或在 4°C 封闭过夜,然后弃去孔内封闭液。

[0018] 所述尿 β - 胶原降解产物检测试剂盒还包括有氧化物酶偶联抗体,该氧化物酶偶联抗体的制备为:取羊抗兔抗体冻干粉 0.1g,与 10mL 浓度为 10mmol/L 的 PBS 缓冲液混合;取 HRP 固体用去离子水稀释为 5mg/mL,采用简易过碘酸钠法将 HRP 与羊抗兔抗体交联;取制备后的 HRP- 抗兔抗体,用 10mmol/L 的 PBS 缓冲液和 25mmol/L 的 EDTA 混合,酶偶联抗体的工作浓度为 1:2950-3050,加入防腐剂和稳定剂。

[0019] 所述兔抗 CTX 抗体的制备为：取健康雄性家兔，采用皮下注射方式，对家兔 5-8 处部位进行免疫接种，初次免疫注射 1mg/mL 浓度的 CTX 抗原 0.2mL，第 3 周、第 4 周及第 5 周注射 1mg/mL 浓度的 CTX 抗原与不完全弗氏佐剂等体积混合溶液 0.4mL；拉颈处死家兔，收集血液，离心取上清液，加入防腐剂和稳定剂，再将抗体纯化，测定抗体效价。

[0020] 所述尿 β -胶原降解产物检测试剂盒采用酶联免疫法，基于抗 CTX-I 抗体对可溶性 CTX-I 抗原或包被 CTX-I 抗原的微孔的竞争性结合。所述尿 β -胶原降解产物检测试剂盒具有特异性、灵敏度和精密度都非常好的优点。

具体实施方式

[0021] 本发明所述的尿 β -胶原降解产物检测试剂盒，其检测方法为：标准品、质控和待测样本加入微孔板中，再加入抗 CTX-I 抗体，18-22℃ 孵育 1 小时。洗涤微孔板，加入过氧化物酶偶联抗兔抗体，18-22℃ 下再孵育 1 小时。第二次洗涤微孔板后，与生色底物孵育 15 分钟，终止显色反应，测量吸光度。

[0022] 实施例 1

[0023] (一)、本实施例所述的尿 β -胶原降解产物检测试剂盒的主要组成成份如下：

[0024] 1. 微孔板

[0025] 预包被 CTX-I 抗原的 6 条微孔板 (2x 8 孔 / 每条)，置于一塑料框架中。

[0026] 2. CTX-I 标准品 0

[0027] 一瓶 (11mL) 可直接使用的缓冲溶液。

[0028] 3. CTX-I 标准品 1-5

[0029] 五瓶 (0.3mL/瓶) 可直接使用的 CTX-I 标准品。

[0030] 4. 尿质控品

[0031] 两瓶 (0.5mL/瓶) 可直接使用的人尿。

[0032] 5. 一抗溶液

[0033] 一瓶 (12mL) 可直接使用的兔抗 CTX-I 抗体溶液。

[0034] 6. 过氧化物酶偶联抗体

[0035] 一瓶 (12mL) 可直接使用的辣根过氧化物酶偶联的抗兔抗体，工作浓度为 1 : 3000。

[0036] 7. 底物溶液

[0037] 一瓶 (12mL) 可直接使用的四甲基联苯胺 (TMB) 底物 (溶于酸性缓冲液中)。

[0038] 请注意该生色底物可带浅蓝色。

[0039] 8. 终止液

[0040] 一瓶 (12mL) 可直接使用的 0.18mol/L 硫酸溶液。

[0041] 9. 冲洗液 50 倍

[0042] 一瓶 (20mL) 含有去污剂和防腐剂的浓缩冲洗缓冲液。用前 1 : 50 的比例稀释。

[0043] 10. 封口膜

[0044] 孵育时密封微孔板的粘性薄膜。

[0045] (二)、所述尿 β -胶原降解产物检测试剂盒的制备方法如下：

[0046] 一、包被 CTX-I 抗原的微孔板：

[0047] CTX-I 抗原购自 Nordic Bioscience Diagnostic A/S 公司。用 0.05M PH 为 7.4 的 PBS 缓冲液将 CTX-I 抗原稀释至 CTX-I 抗原含量为 6.0 μ g/ml。

[0048] 1) 包被：

[0049] 把稀释好的 CTX-I 抗原在每个微孔板的反应孔中加 0.1ml, 37 $^{\circ}$ C 干燥 2h, 4 $^{\circ}$ C 密封保存。

[0050] 2) 洗板：

[0051] 次日弃去孔内液体, 在纸巾上轻轻扣打以吸去残留液体, 加入洗涤液 (约 280-300 μ l/ 孔

[0052]), 漂洗 3 次, 每次 3min。洗涤液: 含 0.05% Tween 20 的 PBS) :1LPBS 中加入 Tween-20500 μ L。

[0053] 3) 封闭：

[0054] 按 200-250 μ l/ 孔加入封闭液, 封闭液: 10mM 的 PBS 缓冲液含 1% 的 BSA, 37 $^{\circ}$ C 封闭 1-2 小时, 也可 4 $^{\circ}$ C 封闭过夜, 然后弃去孔内封闭液。

[0055] 二、制备一抗溶液

[0056] 1) 抗体制备：

[0057] 取健康雄性家兔, 采用皮下注射方式, 对家兔 5-8 处部位进行免疫接种, 初次免疫注射 1mg/mL 浓度的 CTX 抗原 0.2mL, 第 3 周、第 4 周及第 5 周注射 1mg/mL 浓度的 CTX 抗原与不完全弗氏佐剂等体积混合溶液 0.4mL。

[0058] 拉颈处死家兔, 收集血液, 2000r/min 离心 30min 后取上清, 加入 1% 的 BSA、0.1% 的 Tween20 和 0.0075% 的 Bronidox 5L 做为防腐剂 and 稳定剂, 4 $^{\circ}$ C 密封保存。

[0059] 抗体纯化：

[0060] 用 Buffer A (0.05M 硼酸, 4.0M NaCl, pH 9.0) 平衡 rProtein A 亲和层析柱, 加少量血清抗体, 用 BufferB (0.05M 磷酸钠, 0.05M 柠檬酸钠, 0.3MNaCl, pH3.0) 洗脱, 收集蛋白进行效价评定。

[0061] 抗体效价的测定：

[0062] 制备的兔抗 CTX 抗体用 ELISA 法测定效价, 以 OD 值 $P \geq 1.0$ 的稀释度作为效价, 抗体效价达 1 : 10000。

[0063] 2) 一抗溶液制备：

[0064] 取制备后的兔抗 CTX 抗体, 用 10mmol/L 的 PBS 缓冲液和 25mol/L 的 EDTA 混合, 取 12mL 分装, 4 $^{\circ}$ C 密封保存。

[0065] 用 10mmol/L 的 PBS 缓冲液和 25mol/L 的 EDTA 混合液将兔抗 CTX 抗体稀释成 0.1 μ g/ml, 1.0 μ g/ml, 2.0 μ g/ml, 4.0 μ g/ml, 6.0 μ g/ml, 8.0 μ g/ml, 10.0 μ g/ml 六个浓度, 经过综合测试和评估, 得到 OD 值在 1.0 时的兔抗 CTX 抗体浓度作为工作浓度。最终, 确定的兔抗 CTX 抗体的浓度为 :3.8-4.2 μ g/ml, 本实施例的最佳浓度为 4.0 μ g/ml。

[0066] 三、过氧化物酶偶联抗体

[0067] 通用羊抗兔抗体冻干粉购自英国 Abcam 公司。取羊抗兔抗体冻干粉 0.1g, 与 10mL 浓度为 10mmol/L 的 PBS 缓冲液混合。取 HRP (辣根过氧化物酶) 固体用去离子水稀释为 5mg/mL, 采用简易过碘酸钠法将 HRP 与羊抗兔抗体交联。取制备后的 HRP- 抗兔抗体, 用 10mmol/L 的 PBS 缓冲液和 25mol/L 的 EDTA 混合, 加入 1% 的 BSA、0.1% 的 Tween 20 和 0.0075% 的

Bronidox5L 做为防腐剂和稳定剂,取 12mL 分装,4℃密封保存。

[0068] 酶标记抗体工作浓度的选择:酶结合物使用稀释度测定:先将浓度 6.0 μg/ml 的抗原包被固相载体,洗涤后加一系列不同稀释度(1:1000,1:2000,1:3000,1:4000,1:5000,1:6000,1:7000)的酶结合物进行孵育,洗涤后加底物显色,加终止液终止反应。在酶标比色计中测定不同稀释度酶结合物的 OD 值,选择 OD 值 ≥ 1.0 的那个酶结合物稀释度即为酶结合物的使用浓度。最终确定本实施例的酶标抗体最佳工作浓度为 1:3000。

[0069] 四、标准品与质控品的制备

[0070] 1) 来源:CTX 尿液样本取自某认证医院健康人群,-20℃下保存。

[0071] 2) CTX 样本制备:

[0072] 取 CTX 尿液样本,2000r/min 离心 10min 后取上清,与 10mmol/L 的 PBS 缓冲液等体积混合,并加入 1%的 BSA 和 0.018%的 Bronidox 5L 做为防腐剂和稳定剂,4℃密封保存。

[0073] 3) 质控品制备:

[0074] 从 CTX 尿液样本中取高值、低值样本,制备内部质控。8000r/min 离心 10min 后取上清,与 10mmol/L 的 PBS 缓冲液等体积混合,并加入 1%的 BSA 和 0.018%的 Bronidox 5L 做为防腐剂和稳定剂,各取 0.5mL 分装,4℃密封保存。低值内部质控通常约为 1000-1300 μg/L,高值内部质控通常约为 2200-3500 μg/L。

[0075] 4) 标准品制备:

[0076] 标准品 0 取 11mL 浓度 10mmol/L 的 PBS 缓冲液,加入 1%的 BSA 和 0.018%的 Bronidox5L 做为防腐剂和稳定剂,4℃密封保存。

[0077] 标准品 1-5 取已配制的 CTX 样本混合溶液,分别用 10mmol/L 的 PBS 缓冲液稀释至 CTX 浓度为 100 μg/L、300 μg/L、850 μg/L、2500 μg/L 和 7500 μg/L。各取 0.3mL 分装,4℃密封保存。

[0078] 底物溶液、终止液、冲洗液和封口膜等可以按照常规购买。

[0079] 实施例 2:运用实施例 1 所述的检测试剂盒对样品进行检测

[0080] 使用前,将所有溶液平衡至室温。在 18 ~ 22℃下进行实验。

[0081] 确定实验所需微孔板数量。另外,每轮实验共需要 16 孔用于标准品和质控。将适当数量的微孔板置于塑料框架上。将未使用的微孔板与干燥剂一起密封于锡箔袋中。

[0082] 1. 加入标准、质控和待测样本

[0083] 移取 15 μl 标准品,质控或待测样本于微孔板中。

[0084] 2. 微孔板孵育

[0085] 向各孔加入 100 μl 一抗溶液。用封口膜密封微孔板,在 18-22℃,以 300rpm 在微孔板振荡器上孵育 60±5 分钟。

[0086] 3. 冲洗

[0087] 冲洗液 50x 以 1 体积浓缩缓冲溶液 +50 体积蒸馏水的比例稀释。用稀释的冲洗缓冲液手工清洗微孔板 5 次。

[0088] 用洗板机,请参照产品说明或实验室指南。通常清洗 3-5 次。确保每次手工或自动清洗后将微孔板中的溶液倒干净。

[0089] 4. 与过氧化物酶偶联抗体孵育

[0090] 向各孔加入 100 μl 过氧化物酶偶联抗体。用封口膜密封微孔板,在 18-22℃以

300rpm 在振荡器上孵育 60±5 分钟。

[0091] 5. 冲洗

[0092] 见第 3 步。

[0093] 6. 与底物溶液孵育

[0094] 向各孔加入 100 微升底物溶液,用封口膜密封,18-22℃,在振荡器上(300rpm)避光孵育 15±2 分钟。不要直接从盛 TMB 底物的小瓶吸取,将所需体积的 TMB 移入干净容器中使用。容器中剩余的底物应予丢弃,不要倒回瓶中。

[0095] 7. 终止显色反应

[0096] 向各孔加入 100 微升终止液。

[0097] 8. 测定吸光度

[0098] 在 2 小时内以 650nm 为参照测定 450nm 下的吸光度。

[0099] 检测范围

[0100] 如果待测样本的吸光度低于标准品 5,应该用标准品 0 稀释样本并重新分析。

[0101] 【参考值(参考范围)】

[0102] 各类人群的平均值和标准差举例如下。所有样本均采自第二次晨尿。

[0103]

人群	人数	尿CTX-I	95%置信区间
		平均值($\mu\text{g}/\text{mmoL}$)	($\mu\text{g}/\text{mmoL Cr}$)
绝经前妇女	175	190	67-544
绝经后妇女 ¹⁾	250	322	121-874
男性	249	173	54-559

[0104] 个体日间差异

[0105] 评估个体日间差异:分析 14 个健康绝经后妇女两周以上的 5 个时间点的尿样(第二次晨尿)

[0106]

CTX-I ELISA ($\mu\text{g}/\text{mmol}$ 尿肌酐)								
编号	年龄	第1次	第2次	第3次	第4次	第5次	平均值	SD
001	75	368	331	299	290	307	319	31
002	75	239	261	240	267	247	251	13
003	72	200	193	182	183	185	188	8
004	74	220	218	203	236	203	216	14
005	65	76	78	83	81	72	78	4
006	63	71	52	65	57	59	61	7
007	72	101	135	153	125	106	124	21
008	65	110	104	129	148	141	126	19
009	74	128	134	134	98	131	125	15
010	73	107	131	140	141	117	127	15
011	60	109	124	107	109	114	113	7
012	54	98	112	107	104	113	107	6
013	53	362	433	424	392	479	418	44
014	73	117	142	136	111	99	121	18
SD	68.0							15.89
	7.80							10.87

[0107]

[0108] 【检验结果的解释】

[0109] 结果处理

[0110] 计算样本平行孔吸光度的平均值,构建六个标准品的吸光度平均值(纵坐标)对

相应 CTX-I 浓度（横坐标）的标准曲线。绘制最佳拟合曲线。也可使用四参数对数曲线拟合。

[0111] 用内推法确定质控和待测样本中 CTX-I 的浓度。

[0112] 结果举例

[0113]

标准/ 质控/ 样本	CTX-I 浓度 ($\mu\text{g/L}$)	$A_{450-650}$ (nm)	$A_{450-650}$ 平均值 (nm)	内推 CTX-I 浓度 ($\mu\text{g/L}$)
标准0	0	1.950 / 2.027	2.059	
标准1	75	1.599 / 1.705	1.771	
标准2	250	1.236 / 1.275	1.333	
标准3	750	0.785 / 0.850	0.909	
标准4	2250	0.472 / 0.496	0.547	
标准5	6750	0.267 / 0.285	0.339	
质控1		0.643 / 0.671	0.657	1193
质控2		0.440 / 0.468	0.454	2462
样本1		1.161 / 1.202	1.182	305
样本2		0.729 / 0.765	0.747	919
样本3		0.423 / 0.422	0.423	2829

[0114]

[0115] 计算校正 CTX-I 值

[0116] 应测定每一样本的 CTX-I 浓度 ($\mu\text{g/L}$) 和尿肌酐浓度 ($\text{mM} = \text{mmol/L}$)。建议用 Jaffe⁽³⁾ 或类似方法测定尿肌酐。

[0117] 用以下公式对尿液中 CTX-I 的进行校正：

[0118] $\text{CTX-I 校正值} (\mu\text{g}/\text{mmol}) = \text{CTX-I} (\mu\text{g}/\text{L}) / \text{尿肌酐} (\text{mM})$

[0119] **【产品性能指标】**

[0120] 检测极限 : $50 \mu\text{g/L}$

[0121] 此值为低于标准品 0 的 21 个测定平均值两个标准偏差所对应的浓度。

[0122] 实施例 3：

[0123] 精确度分析

[0124] 运用实施例 1 所述的尿 β -胶原降解产物检测试剂盒,按照实施例 2 所述的检测方法,进行精确度的分析。

[0125] 以下结果由检验四个样本,每一样本一式五份,连续测定五天得出(每个样本共测定 25 次)。

[0126] 批间 CV($n = 25$)

[0127]

平均值($\mu\text{g/L}$)	SD($\mu\text{g/L}$)	CV(%)
240	13.68	5.7
480	13.92	2.9
1340	46.90	3.5
3790	20.47	5.4

[0128] 批内 CV($n = 25$)

[0129]

平均值($\mu\text{g/L}$)	SD($\mu\text{g/L}$)	CV(%)
240	22.56	9.4
480	25.92	4.7
1340	62.98	4.7
3790	32.59	8.6

[0130] 稀释 / 线性

[0131] 本试剂盒的线性范围在 50 $\mu\text{g/L}$ 到 6750 $\mu\text{g/L}$ 。

[0132] CTX-I 浓度为 3450-4340 $\mu\text{g/L}$ 的尿样用标准品 0 稀释后, 使用实施例 1 所述试剂盒进行测定。

[0133] 原尿样的浓度设为 100%。

[0134]

样本	稀释	期望值 ($\mu\text{g/L}$)	实测值 ($\mu\text{g/L}$)	校正值 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 %
1	净样	3450	3450	3450	100
	1:2	1730	1680	3360	97
	1:4	860	790	3160	92
	1:8	430	440	3520	102
2	净样	4060	4060	4060	100
	1:2	2030	2200	4400	108
	1:4	1015	1070	4280	105
	1:8	508	550	4400	108
3	净样	4340	4340	4340	100
	1:2	2170	2180	4380	101
	1:4	1085	1150	4600	106
	1:8	443	510	4080	94
平均值					101

[0135] 回收率

[0136] 加入不同量的 CTX-I 抗原至三个不同尿样, 制备混合样品。

[0137]

样本	起始 浓度 ($\mu\text{g/L}$)	加入 浓度 ($\mu\text{g/L}$)	期望值 ($\mu\text{g/L}$)	实际值 ($\mu\text{g/L}$)	回收率 %
1	410	130	540	560	106
	410	380	790	870	110
	410	1130	1540	1670	108
2	500	130	630	560	89
	500	380	880	790	90
	500	1130	1630	1590	98
3	520	130	650	590	91
	520	380	900	790	88
	520	1130	1650	1390	84
平均值					96

[0138]

[0139] 以上是针对本发明的可行实施例的具体说明,但该实施例并非用以限制本发明的专利范围,凡未脱离本发明的等效实施或变更,均应包含于本发明的专利范围内。

专利名称(译)	尿β-胶原降解产物检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN102650637A	公开(公告)日	2012-08-29
申请号	CN201110045542.7	申请日	2011-02-25
[标]申请(专利权)人(译)	广州固康生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州固康生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州固康生物科技有限公司		
[标]发明人	郭志程		
发明人	郭志程		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/543 G01N33/532		
代理人(译)	胡杰		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种尿β-胶原降解产物检测试剂盒，主要包括有：包被CTX-I抗原的微孔板，每个微孔包被的CTX-I抗原量为0.48-7.2μg；兔抗CTX抗体溶液，兔抗CTX抗体效价达1:10000。所述尿β-胶原降解产物检测试剂盒具有特异性、灵敏度和精密度都非常好的优点。

人群	人数	尿CTX-I 平均值(μg/mmoL)	95%置信区间 (μg/mmoL Cr)
绝经前妇女	175	190	67-544
绝经后妇女 ¹⁾	250	322	121-874
男性	249	173	54-559