



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103777025 A

(43) 申请公布日 2014. 05. 07

(21) 申请号 201210398932. 7

(22) 申请日 2012. 10. 18

(71) 申请人 上海铭源数康生物芯片有限公司
地址 201403 上海市奉贤区现代农业园区汇
丰北路 699 号

(72) 发明人 喻长杰 柳飞舟 姚涌

(74) 专利代理机构 上海天翔知识产权代理有限
公司 31224

代理人 吕伴

(51) Int. Cl.

G01N 33/96 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

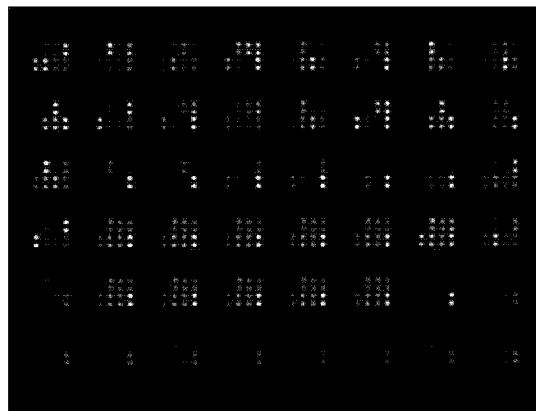
权利要求书3页 说明书8页 附图1页

(54) 发明名称

蛋白质微阵列芯片的临界值一级参考品的制备方法、临界值系数的确定和实验结果判定方法

(57) 摘要

本发明以利用蛋白质微阵列芯片 - 化学发光技术对多种自身抗体并行检测时实验结果判定为研究对象, 为此类技术的实验结果判定提供了一种新思路。本发明包括: 利用临界血清配制临界值一级参考品; 利用临界值一级参考品确定阳性对照品中各自身抗体指标的临界值系数; 利用每次实验中阳性对照品的信号值与临界值系数确定各自身抗体指标的临界值信号, 并对实验结果作出判定。本发明还公开了临界值一级参考品的制备方法和临界值系数确定方法。



1. 临界值一级参考品的制备方法,其特征在于,由以下步骤组成:

(1) 选取阳性血清利用健康人阴性血清进行稀释,使稀释后的血清中每个指标在利用免疫斑点法检测,其结果为弱阳性而得到弱阳性血清;

(2) 对按步骤(1)中所得弱阳性血清作进一步梯度稀释,得到2~5个浓度梯度血清;

(3) 对按步骤(2)中所得到的每个浓度梯度血清,进行芯片反应实验,每个浓度梯度血清重复10孔,对每个浓度梯度血清样本中各指标的信号值计算平均值 $\bar{X}_{\text{样品}}$,标准差 $S_{\text{样品}}$;

(4) 取具有统计学意义数量的健康人阴性血清样本,进行芯片反应实验,计算阴性血清样本中各指标信号的百分位数 P_r ,取99分位数 P 值;

(5) 比较步骤(3)中不同浓度梯度血清各个指标的 $\bar{X}_{\text{样品}}-2S_{\text{样品}}$ 值与步骤

(4)步中的 P_r 值,以最接近于 P_r 值的那个浓度梯度血清的浓度作为制备为各指标临界值参考品浓度;

(6) 按照步骤(5)步中确定的各指标临界值参考品浓度,选取阳性血清,用健康人阴性血清进行稀释制备临界值一级参考品。

2. 如权利要求1所述的临界值一级参考品的制备方法,其特征在于,所述步骤(1)和步骤(6)中的阳性血清为Jo-1、SSA、SSB、Sm、Sc1-70、RNP自身抗体指标阳性的血清中的一个或多个。

3. 如权利要求1所述的临界值一级参考品的制备方法,其特征在于,所述步骤(2)中,得到4个浓度梯度血清;所述步骤(5)中是比较步骤(3)中4个浓度梯度血清各个指标的 $\bar{X}_{\text{样品}}-2S_{\text{样品}}$ 值与步骤(4)步中的 P_r 值。

4. 利用权利要求1所述的临界值一级参考品确定阳性对照品中各自身抗体指标的临界值系数的方法,其特征在于具体由以下步骤组成:

(1) 选用阳性对照品作为待测样本,进行芯片反应实验,重复反应10孔,计算阳性对照品的各个指标信号值平均值 $\bar{X}_{\text{阳性}}$;

(2) 选用临界值一级参考品作为待测样本,进行芯片反应实验,重复反应2孔,计算临界值一级参考品的各个指标信号值平均值 $\bar{X}_{\text{临界}}$;

(3) 利用下述公式求取指标临界值系数

指标临界值系数 = 阳性对照品中该指标信号值的平均值($\bar{X}_{\text{阳性}}$) / 临界值参考品该指标信号值的平均值($\bar{X}_{\text{临界}}$)。

5. 用于联合检测自身抗体蛋白质微阵列芯片的实验结果判定方法,其特征在于:是以利用蛋白质微阵列芯片——化学发光技术对多种自身抗体并行检测时实验结果判定为研究对象,利用“临界值公司一级参考品”确定阳性对照品中各自身抗体指标的“临界值系数”,再利用每次实验中阳性对照品的信号值与“临界值系数”确定各自身抗体指标的临界值信号,并对实验结果作出判定。

6. 如权利要求5所述的用于联合检测自身抗体蛋白质微阵列芯片的实验结果判定方法,其特征在于,具体步骤如下:

(1) 临界值一级参考品的制备步骤;

(2) 利用步骤(1)制备的临界值一级参考品,采用具有统计学数据处理方法,给阳性对

照品中各自身抗体指标确定临界值系数步骤；

(3) 在每次实验中,利用阳性对照品中的各指标信号值与对应的各指标的临界值系数确定此次实验中各指标的临界值信号,并对实验结果作出判定步骤。

7. 如权利要求 6 所述的用于联合检测自身抗体蛋白质微阵列芯片的实验结果判定方法,其特征在于,所述临界值一级参考品的制备步骤由以下步骤组成；

(1a) 选取阳性血清利用健康人阴性血清进行稀释,使稀释后的血清中每个指标在利用免疫斑点法检测,其结果为弱阳性而得到弱阳性血清；

(1b) 对按步骤(1b)中所得弱阳性血清作进一步梯度稀释,得到 2 ~ 5 个浓度梯度血清；

(1c) 对按步骤(1b)中所得到的每个浓度梯度血清,进行芯片反应实验,每个浓度梯度血清重复 10 孔,对每个浓度梯度血清样本中各指标的信号值计算平均值 $\bar{X}_{\text{样品}}$,标准差 $S_{\text{样品}}$ ；

(1d) 取具有统计学意义数量的健康人阴性血清样本,进行芯片反应实验,计算阴性血清样本中各指标信号的百分位数 P_r ,取 99 分位数 P 值；

(1e) 比较步骤(1c)中不同浓度梯度血清各个指标的 $\bar{X}_{\text{样品}}-2S_{\text{样品}}$ 值与步骤(1d)步中的 P_r 值,以最接近于 P_r 值的那个浓度梯度血清的浓度作为制备为各指标临界值参考品浓度；

(1f) 按照步骤(1e)步中确定的各指标临界值参考品浓度,选取阳性血清,用健康人阴性血清进行稀释制备临界值一级参考品。

8. 如权利要求 7 所述的用于联合检测自身抗体蛋白质微阵列芯片的实验结果判定方法,其特征在于,所述步骤(1a)和步骤(1f)中的阳性血清为 Jo-1、SSA、SSB、Sm、Scl-70、RNP 自身抗体指标阳性的血清中的一个或多个。

9. 如权利要求 7 所述的用于联合检测自身抗体蛋白质微阵列芯片的实验结果判定方法,其特征在于,所述步骤(1b)中,得到 4 个浓度梯度血清;所述步骤(1e)中是比较步骤(1c)中 4 个浓度梯度血清各个指标的 $\bar{X}_{\text{样品}}-2S_{\text{样品}}$ 值与步骤(1d)步中的 P_r 值。

10. 如权利要求 7 所述的用于联合检测自身抗体蛋白质微阵列芯片的实验结果判定方法,其特征在于,所述利用步骤(1)制备的临界值一级参考品,采用具有统计学数据处理方法,给阳性对照品中各自身抗体指标确定临界值系数步骤由以下步骤组成；

(2a) 选用阳性对照品作为待测样本,进行芯片反应实验,重复反应 10 孔,计算阳性对照品的各个指标信号值平均值 $\bar{X}_{\text{阳性}}$ ；

(2b) 选用临界值一级参考品作为待测样本,进行芯片反应实验,重复反应 2 孔,计算临界值一级参考品的各个指标信号值平均值 $\bar{X}_{\text{临界}}$ ；

(2c) 利用下述公式求取指标临界值系数

指标临界值系数 = 阳性对照品中该指标信号值的平均值($\bar{X}_{\text{阳性}}$) / 临界值参考品该指标信号值的平均值($\bar{X}_{\text{临界}}$)。

11. 如权利要求 7 所述的用于联合检测自身抗体蛋白质微阵列芯片的实验结果判定方法,其特征在于,所述在每次实验中,利用阳性对照品中的各指标信号值与对应的各指标的临界值系数确定此次实验中各指标的临界值信号,并对实验结果作出判定步骤由以下步骤

组成：

(3a) 取每次芯片实验时, 阳性对照品中各指标信号值, 用阳性对照品的临界值系数除各指标信号值得到各指标的临界信号值；

(3b) 比较每个样本中各指标信号值与该指标临界信号值大小, 当大于临界信号值时, 实验结果判定为阳性, 否则判定为阴性。

蛋白质微阵列芯片的临界值一级参考品的制备方法、临界值系数的确定和实验结果判定方法

技术领域：

[0001] 本发明属于生物芯片技术领域，具体涉及一种用于联合检测自身抗体蛋白质微阵列芯片的临界值一级参考品的制备方法、临界值系数的确定方法以及实验结果判定方法。

背景技术：

[0002] 随着人们对自身免疫性疾病(autoimmune diseases, AID)的研究深入,发现自身免疫性疾病累及全身各个系统,种类多达 40 余种,自身免病患者中,有很大一部分病人的血清或其它体液中可检测到一种或多种高效价的自身抗体,自身抗体数量达到上百种(World J Gastroenterol, 2010, 16:3616-3629.)。自身抗体检测对 AID 的辅助诊断、病情评估、疗效监测以及预后判断均具有重要的临床应用价值。

[0003] 蛋白芯片微阵列技术(Protein Microarray)作为一种高通量、高灵敏度、特异性强、快速便捷的检测分析方法,在以自身抗体为特征的自身免疫性疾病的诊断、鉴别与筛查中得到了广泛应用,目前常见的商业化蛋白质微阵列芯片技术检测平台有 FIDIS (微珠芯片) (Ann Biol Clin(Pairs) 2005, 63:51-58.), AtheNA (微珠芯片), Luminex 和 Bio-Rad 等公司研发的自身抗体检测系统(Anal Bioanal Chem, 2009, 393:1407-1416.)。此类芯片能同时对多个样本多个指标进行并行检测分析,产品性能与传统方法相当,但自动化程度和检测速度明显提高,标本用量减少,更加适合临床常规自身抗体的检测需求。

[0004] 近年来蛋白质微阵列芯片的多重新技术发展迅速,且既可用于实验室研究又可用于临床常规分析,该技术的敏感度和特异度不断得到提升(Arthritis Rheum, 2005, 52:2645-2655.),蛋白质微阵列芯片技术似乎是未来自身抗体分析的首选方法。

[0005] 利用蛋白质微阵列芯片技术检测样本所得测量值是连续的数值,临界参考值(cut-off)的确定对检测结果的判断有密切关系,也直接影响蛋白质微阵列芯片技术的灵敏度与特异度,因而临界参考值的研究在蛋白质微阵列芯片技术平台中至关重要。

[0006] 在自身抗体蛋白质微阵列芯片的临界值(cut-off)研究中,有文献报道(Clinical Chemistry, 2004, 50(2):416-422.),利用 Human IgG 的浓度-灰度标准曲线,选取各个自身抗体指标的临界值(cut-off)范围内所有共有的最低灰度值所对应的 Human IgG 的浓度作为临界值对照品的浓度,当被测样本中自身抗体指标的信号值大于临界值对照品信号值时,结果判断为阳性,反之,则结果判断为阴性。也有文献报道,通过大量健康人阴性血清检测实验,利用统计学数据处理方法,计算出每个自身抗体指标的临界信号值(cut-off),在此后的实验过程中,当某个指标的检测信号值大于该指标的临界信号值(cut-off)时,结果判断为阳性,反之,则结果判断为阴性。在这两种自身抗体蛋白质微阵列芯片的临界值(cut-off)研究中,前者利用 Human IgG 的浓度-灰度曲线有替代各个自身抗体指标的浓度-灰度曲线是否合理,是值得商榷的。后者将每次实验过程中引入的信号波动忽略不计,这与在蛋白质微阵列芯片化学发光法实验过程中由于实验操作不能标准化、人为因素较大而导致实验信号波动较大的事实不相符合。

发明内容：

[0007] 本发明要解决的问题是之一在于针对目前在利用蛋白质微阵列芯片——化学发光法技术联合并行检测多个自身抗体的实验过程中,实验结果判断方法的不足,提供一种临界值一级参考品的制备方法。

[0008] 本发明要解决的问题是之二在于提供一种利用上述临界值一级参考品确定阳性对照品中各自身抗体指标的临界值系数的方法。

[0009] 本发明要解决的问题是之三在于针对目前在利用蛋白质微阵列芯片——化学发光法技术联合并行检测多个自身抗体的实验过程中,实验结果判断方法的不足,提供一种科学合理的实验结果判定方法,有效地消除出每次实验操作时引入的信号偏差对检测结果判断的影响,同时保证了实验结果判定的可靠性、稳定性,提高产品的灵敏度和特异度。

[0010] 作为本发明第一方面的临界值一级参考品的制备方法,由以下步骤组成：

[0011] (1) 选取阳性血清利用健康人阴性血清进行稀释,使稀释后的血清中每个指标在利用免疫斑点法检测,其结果为弱阳性而得到弱阳性血清；

[0012] (2) 对按步骤(1)中所得弱阳性血清作进一步梯度稀释,得到 2 ~ 5 个浓度梯度血清；

[0013] (3) 对按步骤(2)中所得到的每个浓度梯度血清,进行芯片反应实验,每个浓度梯度血清重复 10 孔,对每个浓度梯度血清样本中各指标的信号值计算平均值 $\bar{X}_{\text{样品}}$,标准差 $S_{\text{样品}}$ ；

[0014] (4) 取具有统计学意义数量的健康人阴性血清样本,进行芯片反应实验,计算阴性血清样本中各指标信号的百分位数 P_r ,取 99 分位数 P 值；

[0015] (5) 比较步骤(3)中不同浓度梯度血清各个指标的 $\bar{X}_{\text{样品}}-2S_{\text{样品}}$ 值与步骤(4)步中的 P_r 值,以最接近于 P_r 值的那个浓度梯度血清的浓度作为制备为各指标临界值参考品浓度；

[0016] (6) 按照步骤(5)步中确定的各指标临界值参考品浓度,选取阳性血清,用健康人阴性血清进行稀释制备临界值一级参考品。

[0017] 在上述临界值一级参考品的制备方法中,所述步骤(1)和步骤(6)中的阳性血清为 Jo-1、SSA、SSB、Sm、Scl-70、RNP 自身抗体指标阳性的血清中的一个或多个。

[0018] 在上述临界值一级参考品的制备方法中,所述步骤(2)中,得到 4 个浓度梯度血清;所述步骤(5)中是比较步骤(3)中 4 个浓度梯度血清各个指标的 $\bar{X}_{\text{样品}}-2S_{\text{样品}}$ 值与步骤(4)步中的 P_r 值。

[0019] 作为本发明第二方面的利用上述临界值一级参考品确定阳性对照品中各自身抗体指标的临界值系数的方法,具体由以下步骤组成：

[0020] (1) 选用阳性对照品作为待测样本,进行芯片反应实验,重复反应 10 孔,计算阳性对照品的各个指标信号值平均值 $\bar{X}_{\text{阳性}}$ ；

[0021] (2) 选用临界值一级参考品作为待测样本,进行芯片反应实验,重复反应 2 孔,计算临界值一级参考品的各个指标信号值平均值 $\bar{X}_{\text{临界}}$ ；

[0022] (3) 利用下述公式求取指标临界值系数

[0023]

指标临界值系数=阳性对照品中该指标信号值的平均值($\bar{X}_{\text{阳性}}$)/ 临界值

[0024]

参考品该指标信号值的平均值($\bar{X}_{\text{临界}}$)。

[0025] 作为本发明第三方面的用于联合检测自身抗体蛋白质微阵列芯片的实验结果判定方法,其是以利用蛋白质微阵列芯片——化学发光技术对多种自身抗体并行检测时实验结果判定为研究对象,利用“临界值公司一级参考品”确定阳性对照品中各自身抗体指标的“临界值系数”,再利用每次实验中阳性对照品的信号值与“临界值系数”确定各自身抗体指标的临界值信号,并对实验结果作出判定。

[0026] 上述用于联合检测自身抗体蛋白质微阵列芯片的实验结果判定方法的具体步骤如下:

[0027] (1) 临界值一级参考品的制备步骤;

[0028] (2) 利用步骤(1)制备的临界值一级参考品,采用具有统计学数据处理方法,给阳性对照品中各自身抗体指标确定临界值系数步骤;

[0029] (3) 在每次实验中,利用阳性对照品中的各指标信号值与对应的各指标的临界值系数确定此次实验中各指标的临界值信号,并对实验结果作出判定步骤。

[0030] 所述临界值一级参考品的制备步骤由以下步骤组成;

[0031] (1a) 选取阳性血清利用健康人阴性血清进行稀释,使稀释后的血清中每个指标在利用免疫斑点法检测,其结果为弱阳性而得到弱阳性血清;

[0032] (1b) 对按步骤(1b)中所得弱阳性血清作进一步梯度稀释,得到 2 ~ 5 个浓度梯度血清;

[0033] (1c) 对按步骤(1b)中所得到的每个浓度梯度血清,进行芯片反应实验,每个浓度梯度血清重复 10 孔,对每个浓度梯度血清样本中各指标的信号值计算平均值 $\bar{X}_{\text{样品}}$,标准差 $S_{\text{样品}}$;

[0034] (1d) 取具有统计学意义数量的健康人阴性血清样本,进行芯片反应实验,计算阴性血清样本中各指标信号的百分位数 P_r ,取 99 分位数 P 值;

[0035] (1e) 比较步骤(1c)中不同浓度梯度血清各个指标的 $\bar{X}_{\text{样品}}-2S_{\text{样品}}$ 值与步骤(1d)步中的 P_r 值,以最接近于 P_r 值的那个浓度梯度血清的浓度作为制备为各指标临界值参考品浓度;

[0036] (1f) 按照步骤(1e)步中确定的各指标临界值参考品浓度,选取阳性血清,用健康人阴性血清进行稀释制备临界值一级参考品。

[0037] 在上述临界值一级参考品的制备方法中,所述步骤(1a)和步骤(1f)中的阳性血清为 Jo-1、SSA、SSB、Sm、Scl-70、RNP 自身抗体指标阳性的血清中的一个或多个。

[0038] 在上述临界值一级参考品的制备方法中,所述步骤(1b)中,得到 4 个浓度梯度血清;所述步骤(1e)中是比较步骤(1c)中 4 个浓度梯度血清各个指标的 $\bar{X}_{\text{样品}}-2S_{\text{样品}}$ 值与步骤(1d)步中的 P_r 值。

[0039] 所述利用步骤(1)制备的临界值一级参考品,采用具有统计学数据处理方法,给阳性对照品中各自身抗体指标确定临界值系数步骤由以下步骤组成:

[0040] (2a) 选用阳性对照品作为待测样本,进行芯片反应实验,重复反应 10 孔,计算阳性对照品的各个指标信号值平均值 $\bar{X}_{\text{阳性}}$;

[0041] (2b) 选用临界值一级参考品作为待测样本,进行芯片反应实验,重复反应 2 孔,计算临界值一级参考品的各个指标信号值平均值 $\bar{X}_{\text{临界}}$;

[0042] (2c) 利用下述公式求取指标临界值系数指标临界值系数 = 阳性对照品中该指标信号值的平均值 ($X_{\text{阳性}}$) / 临界值参考品该指标信号值的平均值($\bar{X}_{\text{临界}}$)。

[0043] 所述在每次实验中,利用阳性对照品中的各指标信号值与对应的各指标的临界值系数确定此次实验中各指标的临界值信号,并对实验结果作出判定步骤由以下步骤组成:

[0044] (3a) 取每次芯片实验时,阳性对照品中各指标信号值,用阳性对照品的临界值系数除各指标信号值得到各指标的临界信号值;

[0045] (3b) 比较每个样本中各指标信号值与该指标临界信号值大小,当大于临界信号值时,实验结果判定为阳性,否则判定为阴性。

[0046] 在本发明研究中,临界值一级参考品是通过大量临床样本实验,利用统计学方法进行数据处理,并按照严格的原材料选择准,标准化生产工艺规程制备而成,其结果判定可靠的、质量稳定的。利用阳性对照品与临界值一级参考品建立起来的临界系数方法,有效地消除出每次实验操作时引入的信号偏差对检测结果判断的影响,更为突出的是每一次检测结果的判断均与临界值一级参考品建立了联系。

[0047] 本发明方法具有可靠性、稳定性、科学性,操作简便,提升了产品的灵敏度和特异度等优点。

附图说明

[0048] 图 1 为本发明临界系数验证发光图。图 1 中第 1 ~ 3 排为阳性血清反应孔,第 8 排为阴性血清反应孔,第 A4、H4 为阳性血清反应孔,第 B4 ~ F4 和第 B5 ~ F5 为灵敏度质控品反应孔,第 G4 为阳性对照品反应孔,第 A5、G5、H5 为阴性血清反应孔。

具体实施方式

[0049] 以下结合附图和具体实施方式来进一步说明本发明。

[0050] 临界值一级参考品制备的实例:

[0051] 制备步骤如下:

[0052] 1) 选取 Jo-1、SSA、SSB、Sm、Scl-70、RNP 等 6 种指单个或多个阳性的血清,利用健康人阴性血清进行稀释,使稀释后的血清中每个指标在 ENA/ANA 组合(IgG) 欧蒙斑点法检测试剂盒(ENA 组合)检测结果均为弱阳性。

[0053] 2) 对稀释得到每个指标弱阳性血清,再用健康人阴性血清按稀释度 5、5/2、5/3、5/4 稀释。

[0054] 3)、将稀释后的血清,用样品稀释液以 1 :100 稀释后进行抗可提取性核抗原(ENA) 抗体蛋白质微阵列芯片(以下简称 I-6 芯片)反应,各指标弱阳性血清的各稀释度重复反应 10 孔。

[0055] 4) 选取 300 份健康人阴性血清,用样品稀释液以 1 :100 稀释后进行 I-6 芯片反

应。

[0056] 5) 对实验结果按照如下统计学处理,选择每个指标的最佳稀释度。

[0057] a) 300 份阴性血清与芯片反应的信号值数据的分布属偏态,客观而简便的方法是采用百分位数法。百分位数的计算公式为:

$$[0058] \quad P_r = L + \frac{W}{f} \left(\frac{n \times r}{100} - C \right),$$

[0059] 式中 P_r 为第 r 百分位数, L 为第 r 百分位数所在组的下限, W 为第 r 百分位数所在组的宽度, f 为第 r 百分位数所在组的频数, n 表示总频数, C 为第 r 百分位数所在组的前一组的累计频数。

[0060] b)、对各指标弱阳性血清的每个稀释度 10 孔的信号值计算平均值 $\bar{X}_{\text{样品}}$, 标准差 $S_{\text{样品}}$;

[0061] c)、比较各个指标 4 个不同稀释度的 $\bar{X}_{\text{样品}} - 2S_{\text{样品}}$ 值与 P_r 值, 以最接近于 P_r 值的那个稀释度作为制备为临界值参考品浓度。

[0062] 6) 按照每个指标的最佳稀释度配制成各指标的临界值一级参考品, -80°C 低温保存备用。

[0063] 制备实验结果:

[0064] 在临界值一级参考品制备过程中各指标弱阳性血清稀释度选择实验结果如下表 1

[0065] 表 1 各指标弱阳性血清稀释度选择实验结果

[0066]

指标名称	300 份阴性血清的百分位信号值		弱阳性血清各稀释度的 $\bar{X}_{\text{样品}} - 2S_{\text{样品}}$ 信号值			
	P_{95}	P_{99}	5	5/2	5/3	5/4
Jo-1	290	304	240	323	387	493
Sc1-70	283	295	123	322	384	510
RNP	263	274	177	204	290	386
Sm	255	265	218	309	373	488
SSA	236	244	154	204	270	380
SSB	363	374	344	399	507	595

[0067] 从表 1 实验结果数据可知,在临界值一级参考品制备过程中, Jo-1、Sc1-70、Sm、SSB 等四个指标选择弱阳性血清的 5/2 稀释度; RNP 和 SSA 指标选择弱阳性血清的 5/3 稀释度。

[0068] 阳性对照品的临界值系数确定的实例:

[0069] 具体方法如下:

[0070] 1) 选取阳性对照品进行 I-6 芯片反应,重复反应 10 孔。

[0071] 2) 选取各指标的“临界值公司一级参考品”进行 I-6 芯片反应,各个重复反应 2

孔。

[0072] 3) 对实验结果按照如下统计学处理, 计算得到各指标的临界系数。

[0073] a)、计算阳性对照品的各个指标信号值平均值 $\bar{X}_{\text{阳性}}$

[0074] b)、计算“临界值公司一级参考品”的各个指标信号值平均值 $\bar{X}_{\text{临界}}$

[0075] c)、指标临界值系数 = 阳性对照品中该指标信号值的平均值($\bar{X}_{\text{阳性}}$) / 该指标临界值参考品信号值的平均值($\bar{X}_{\text{临界}}$)

[0076] 4) 选取 10 阳性血清、10 健康人阴性血清、10 灵敏度参考品进行 I-6 芯片反应, 利用得到的“临界系数”对实验结果进行判断, 对“临界系数”进行验证。

[0077] 实验结果:

[0078] 临界系数实验结果如下表 2

[0079] 表 2 阳性对照品各指标临界系数

[0080]

指标		J0-1	SCL-70	RNP	SM	SSA	SSB
阳性对照品	$\bar{X}_{\text{阳}}$						
	性	1063	1418	779	988	1397	2277
临界值公司一级参考品	$\bar{X}_{\text{临}}$						
	界	293	298	281	281	259	395
临界系数	$\bar{X}_{\text{阳}}$						
	性 / $\bar{X}_{\text{临}}$	3.63	4.76	2.77	3.52	5.39	5.77

[0081] 临界系数验证实验结果如下图 1 和表 3

[0082] 表 3 临界系数验证各反应孔信号及阴阳性判断结果

[0083]

	J0-1	Sc1-70	RNP	Sm	SSA	SSB	备注
G4	1736	1482	2038	1968	1987	1562	阳性对照品
临界系数	3.63	4.76	2.77	3.52	5.39	5.77	
临界信号	478	312	735	559	368	271	

[0084]

A1	195 (-)	311 (-)	2568(+)	2068(+)	2445(+)	684 (+)	阳性血清
A2	39 (-)	2663(+)	49 (-)	47 (-)	1787(+)	1832	阳性血清
A3	2491(+)	91 (-)	920 (+)	776 (+)	1557(+)	1873	阳性血清
B1	2203(+)	134 (-)	1666(+)	108 (-)	255 (-)	225 (-)	阳性血清
B2	151 (-)	71 (-)	2036(+)	2045(+)	285 (-)	169 (-)	阳性血清
B3	863 (+)	13 (-)	38 (-)	21 (-)	36 (-)	43 (-)	阳性血清
C1	174 (-)	1194(+)	182 (-)	144 (-)	1471(+)	443 (+)	阳性血清
C2	19 (-)	731 (+)	1470(+)	1166(+)	106 (-)	29 (-)	阳性血清
C3	12 (-)	796 (+)	25 (-)	22 (-)	20 (-)	23 (-)	阳性血清
D1	1397(+)	1976(+)	2141(+)	1485(+)	219 (-)	63 (-)	阳性血清
A5	172 (-)	59 (-)	62 (-)	57 (-)	39 (-)	128 (-)	阴性血清
A6	99 (-)	43 (-)	41 (-)	53 (-)	27 (-)	65 (-)	阴性血清
B6	62 (-)	28 (-)	38 (-)	34 (-)	19 (-)	55 (-)	阴性血清
C6	118 (-)	42 (-)	43 (-)	52 (-)	31 (-)	100 (-)	阴性血清
D6	87 (-)	36 (-)	31 (-)	34 (-)	23 (-)	57 (-)	阴性血清
E6	55 (-)	33 (-)	25 (-)	40 (-)	21 (-)	76 (-)	阴性血清
F6	66 (-)	27 (-)	35 (-)	42 (-)	22 (-)	48 (-)	阴性血清
G5	10 (-)	10 (-)	12 (-)	15 (-)	10 (-)	14 (-)	阴性血清
G6	101 (-)	37 (-)	37 (-)	45 (-)	30 (-)	70 (-)	阴性血清
H5	93 (-)	39 (-)	35 (-)	54 (-)	40 (-)	113 (-)	阴性血清
H6	91 (-)	41 (-)	37 (-)	50 (-)	39 (-)	114 (-)	阴性血清
B4	1068(+)	1083(+)	1051(+)	713 (+)	1431(+)	1301(+)	灵敏度质 控品
B5	1052(+)	1094(+)	986 (+)	700 (+)	1413(+)	1288(+)	灵敏度质 控品
C4	1078(+)	1128(+)	984 (+)	738 (+)	1459(+)	1306(+)	灵敏度质 控品
C5	954 (+)	931 (+)	902 (+)	629 (+)	1276(+)	1124(+)	灵敏度质 控品
D4	953 (+)	967 (+)	941 (+)	585 (+)	1343(+)	1163(+)	灵敏度质

[0085]

							控品
D5	929 (+)	959 (+)	872 (+)	588 (+)	1311(+)	1136(+)	灵敏度质 控品
E4	981 (+)	983 (+)	889 (+)	651 (+)	1345(+)	1134(+)	灵敏度质 控品
E5	978 (+)	1026(+)	926 (+)	669 (+)	1456(+)	1213(+)	灵敏度质 控品
F4	913 (+)	949 (+)	894 (+)	702 (+)	1359(+)	1141(+)	灵敏度质 控品
F5	943 (+)	1039(+)	1002(+)	654 (+)	1426(+)	1234(+)	灵敏度质 控品

[0086] 从表 3 数据可知,经确定的阳性对照品临界值系数在芯片实验结果判断时是有效的,其阴性符合率为 100%,阳性符合率为 100%,灵敏度质控品检出率也达到了 100%。

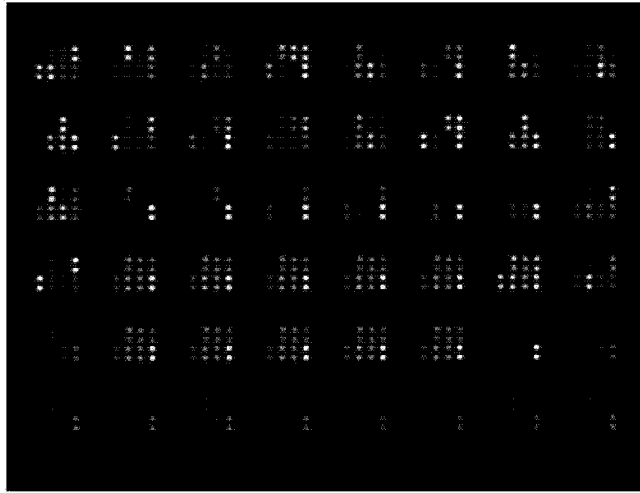


图 1

专利名称(译)	蛋白质微阵列芯片的临界值一级参考品的制备方法、临界值系数的确定和实验结果判定方法		
公开(公告)号	CN103777025A	公开(公告)日	2014-05-07
申请号	CN201210398932.7	申请日	2012-10-18
[标]申请(专利权)人(译)	上海铭源数康生物芯片有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海铭源数康生物芯片有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海铭源数康生物芯片有限公司		
[标]发明人	喻长杰 柳飞舟 姚涌		
发明人	喻长杰 柳飞舟 姚涌		
IPC分类号	G01N33/96 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/564 G01N33/96		
其他公开文献	CN103777025B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明以利用蛋白质微阵列芯片-化学发光技术对多种自身抗体并行检测时实验结果判定为研究对象，为此类技术的实验结果判定提供了一种新思路。本发明包括：利用临界血清配制临界值一级参考品；利用临界值一级参考品确定阳性对照品中各自身抗体指标的临界值系数；利用每次实验中阳性对照品的信号值与临界值系数确定各自身抗体指标的临界值信号，并对实验结果作出判定。本发明还公开了临界值一级参考品的制备方法和临界值系数确定方法。

