



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102323402 A

(43) 申请公布日 2012. 01. 18

(21) 申请号 201110142351. 2

(22) 申请日 2011. 05. 30

(71) 申请人 上海精臻生物科技有限公司

地址 200006 上海市普陀区澳门路 256 号三
维大厦 19 楼 A 座

(72) 发明人 朱晓敏 王泉龙 朱慧琳 刘颖成
杨杰 刘颖冰 张瑞镐

(74) 专利代理机构 上海申汇专利代理有限公司
31001

代理人 林炜

(51) Int. Cl.

G01N 33/544 (2006. 01)

G01N 33/532 (2006. 01)

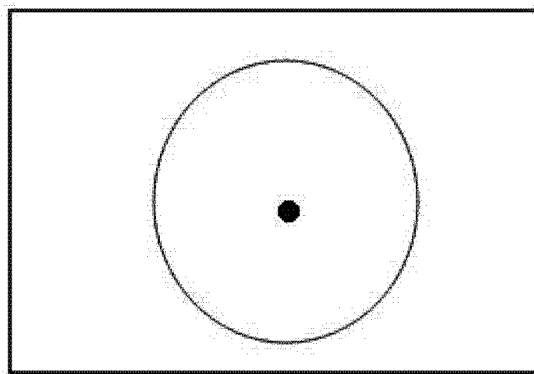
权利要求书 1 页 说明书 12 页 附图 1 页

(54) 发明名称

抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒及制备方法

(57) 摘要

本发明属于生物工程领域,提供了一种抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体体外检测试剂盒,包括检测板、环瓜氨酸肽(CCP)抗原、由胶体金标记的重组金黄色葡萄球菌 A 蛋白结合物、封闭液、洗涤液、阳性参考品和阴性参考品。本发明还提供了上述的抗 CCP 抗体体外检测试剂盒的制备方法。本试剂盒采用间接法免疫吸附法原理检测人血清中的抗 CCP 抗体,将 CCP 抗原包被于硝酸纤维素膜,制成固相抗原,用以捕获人血清中的抗 CCP 抗体,再将胶体金标记于 SPA,形成胶体金结合物作为示踪物,如被测人血清中含有抗 CCP 抗体,则形成固相抗原-抗 CCP 抗体-胶体金结合物,呈红色斑点反应。本发明可应用于类风湿性关节炎的辅助诊断。



1. 一种抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒,其特征在于:包括检测板、环瓜氨酸肽抗原、由胶体金标记的重组金黄色葡萄球菌 A 蛋白结合物、封闭液、洗涤液、阳性参考品和阴性参考品。

2. 如权利要求 1 所述的一种抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒,其特征在于:所述的检测板包括一个塑料盒底盒,所述的塑料盒底盒中设置有一层吸水层,所述的吸水层上设置有一层硝酸纤维素膜,所述的硝酸纤维素膜上设置有一个塑料盒面盖,所述的塑料盒面盖面盖中央设置有一个检测反应孔,在检测反应孔对应的硝酸纤维素膜上点加环瓜氨酸肽抗原。

3. 如权利要求 1 所述的一种抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒,其特征在于:所述的封闭液是含有牛血清白蛋白的磷酸盐溶液,磷酸盐溶液的 pH 7.0 ~ 7.5 之间,牛血清白蛋白在磷酸盐溶液中的重量百分比为 1.0%。

4. 如权利要求 1 所述的一种抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒,其特征在于:所述的洗涤液是含有 Tween-20 的 Tris-HCl 溶液,Tris-HCl 溶液的 pH7.0 ~ 7.5 之间,Tween-20 在 Tris-HCl 溶液中的重量百分比为 0.05%。

5. 如权利要求 1 所述的一种抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒,其特征在于:在每毫升胶体金结合物中,重组金黄色葡萄球菌 A 蛋白的质量为 0.025 毫克。

6. 如权利要求 1 所述的一种抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒,其特征在于:所述的阳性参考品为浓度大于 6.0 RU/mL 的抗 CCP 抗体。

7. 如权利要求 1 所述的一种抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒,其特征在于:所述的阴性参考品为浓度小于 6.0 RU/mL 的抗 CCP 抗体。

8. 权利要求 1 所述的一种抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒的制备方法,其特征在于:包括一个制备检测板的步骤,一个配制环瓜氨酸肽抗原溶液的步骤,一个制备胶体金标记的重组金黄色葡萄球菌 A 蛋白结合物的步骤,一个配制封闭液的步骤,一个配制洗涤液的步骤,一个制备阳性参考品的步骤和一个制备阴性参考品的步骤。

抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒及制备方法

技术领域

[0001] 本发明生物工程领域,尤其涉及一种试剂盒及其制备方法,特别是一种抗环瓜氨酸肽抗体定性体外检测试剂盒及制备方法。

背景技术

[0002] 类风湿性关节炎 (Rheumatoid Arthritis, RA) 是一种慢性炎症性、多关节受累的系统性自身免疫性疾病, RA 的诊断目前采用 1987 年美国风湿病协会 (ARA) 修订的分类标准,其中主要的实验室指标是类风湿因子 (RF)。2000 年国外首次报道根据聚角蛋白微丝蛋白 (Filaggrin) 的 cDNA 序列合成了环瓜氨酸肽 (Cyclic Citrulinated Peptide, CCP), 以此作为抗原建立酶联免疫吸附试验 (ELISA), 并成功地在 RA 血清中检测出了抗 CCP 抗体, 发现该抗体在 RA 的诊断中具有较高的敏感性和特异性。中小型医院的类风湿关节炎患者就诊数量少, 检测样品少, 检测报告周期长, 容易延误患者明确诊断和用药治疗。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒及制备方法, 所述的这种一种抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒及制备方法是采用胶体金渗滤法和层析法原理来检测人血清中的抗环瓜氨酸肽抗体的浓度, 解决了现有技术中检测血清中的抗环瓜氨酸肽抗体浓度的时间较长, 程序复杂的技术问题。

[0004] 本发明提供了一种抗环瓜氨酸肽 (CCP) 抗体体外检测试剂盒, 包括检测板、环瓜氨酸肽 (CCP) 抗原、由重组金黄色葡萄球菌 A 蛋白 (SPA) 标记的胶体金结合物、封闭液、洗涤液、阳性参考品和阴性参考品。

[0005] 进一步的, 所述的检测板由一个塑料盒底盒, 所述的塑料盒底盒中设置有一层吸水层, 所述的吸水层上设置有一层硝酸纤维素膜, 所述的硝酸纤维素膜上设置有一个塑料盒面盖, 所述的塑料盒面盖中央设置有一个检测反应孔, 在检测反应孔对应的硝酸纤维素膜上点加环瓜氨酸肽 (CCP) 抗原。

[0006] 进一步的, 所述的检测反应孔为圆形或者其它形状。

[0007] 进一步的, 所述的封闭液是含有牛血清白蛋白的磷酸盐溶液, 磷酸盐溶液的 pH7.0 ~ 7.5 之间, 牛血清白蛋白在磷酸盐溶液中的重量百分比为 1.0%。

[0008] 进一步的, 所述的洗涤液是含有 Tween-20 的 Tris-HCl 溶液, Tris-HCl 溶液的 pH7.0 ~ 7.5 之间, Tween-20 在 Tris-HCl 溶液中的重量百分比为 0.05%。

[0009] 进一步的, 在每毫升胶体金结合物中, 重组金黄色葡萄球菌 A 蛋白的质量为 0.025 毫克。

[0010] 进一步的, 所述的阳性参考品为浓度大于 6.0RU/mL 的抗 CCP 抗体。

[0011] 进一步的, 所述的阴性参考品为浓度小于 6.0RU/mL 的抗 CCP 抗体。

[0012] 本发明还提供了上述的一种抗环瓜氨酸肽 (CCP) 抗体体外检测试剂盒的制备方法, 包括一个制备检测板的步骤, 一个配制环瓜氨酸肽 (CCP) 抗原溶液的步骤, 一个制备胶

体金标记的重组金黄色葡萄球菌 A 蛋白结合物的步骤,一个配制封闭液的步骤,一个配制洗涤液的步骤,一个制备阳性参考品的步骤和一个制备阴性参考品的步骤。

[0013] 本发明的工作原理是:本试剂盒采用间接法免疫吸附法原理用以检测人血清中的抗 CCP 抗体。将 CCP 抗原包被于硝酸纤维素膜,制成固相抗原,用以捕获人血清中可能存在的抗 CCP 抗体。再将 SPA 标记于胶体金,形成胶体金结合物作为示踪物。如被测人血清中含有抗 CCP 抗体,则形成固相抗原-抗 CCP 抗体-胶体金结合物,呈红色斑点反应,其颜色深浅与被测血清中含有的抗 CCP 抗体的浓度有关,但不呈比例关系。

[0014] 本发明和已有技术相比,其技术进步是显著的。本发明的抗环瓜氨酸肽 (CCP) 抗体间接捕获法原理及胶体金渗滤或胶体金层析检测技术定性体外检测试剂盒,用以检测人血清中的抗 CCP 抗体,其中的瓜氨酸肽是有 18 个多肽组成,无生物毒性。本发明可以用于检测人血清样本中抗环瓜氨酸肽 (CCP) 抗体浓度,作为类风湿性关节炎 (RA) 辅助诊断使用。采用本发明的试剂盒当天能收到检测报告,检测结果准确而且方便。

附图说明

[0015] 图 1 显示了检测板反应孔中心检测点有红色斑点,为阳性结果。

[0016] 图 2 显示了检测板反应孔中心检测点无红色斑点,为阴性结果。

具体实施方式

[0017] 实施例 1 胶体金制备条件选择

[0018] 1.1 柠檬酸三钠用量选择

[0019] A 组:0.05%氯化金溶液 100 毫升加入 5%柠檬酸三钠 2.0 毫升。

[0020] B 组:0.05%氯化金溶液 100 毫升加入 5%柠檬酸三钠 1.5 毫升。

[0021] C 组:0.05%氯化金溶液 100 毫升加入 5%柠檬酸三钠 1.0 毫升。

[0022] D 组:0.05%氯化金溶液 100 毫升加入 5%柠檬酸三钠 0.5 毫升。

[0023] 实验结果:

[0024] 波长 λ :540 535 530 525 520 510nm。

[0025] ABS 值:A 组 0.471 0.608 0.791 1.044 1.426 1.063

[0026] B 组 0.601 0.746 1.093 1.411 0.942 0.711

[0027] C 组 0.623 0.803 1.318 0.952 0.714 0.635

[0028] D 组 0.998 1.431 1.091 0.801 0.678 0.600

[0029] 目测胶体金溶液颜色:A 组:橙红色。B 组:红色。C 组:红色、D 组:紫红色。

[0030] 根据比色法胶体金峰值比较及目测观察胶体金溶液颜色,制备 40 纳米左右的胶体金颗粒,0.05%氯化金溶液 100 毫升拟加入 5.0%柠檬酸三钠 1.2 毫升。

[0031] 实施例 2 胶体金结合物制备条件选择

[0032] 2.1 胶体金标记 SPA 的 pH 值选择

[0033] 选择胶体金标记 SPA 的 pH 值,使用 1.0%无水碳酸钠溶液调节胶体金标记 pH 值,通过检测灵敏度比较胶体金标记 SPA 的合适 pH 值范围。

[0034] 实验结果:

[0035]

组别	1	2	3	4	5
pH 值范围	6.0~6.4	6.4~6.7	6.7~7.2	7.2~7.5	7.5~8.0
阴性样本	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—
临界值样本	—	±	±	±	±
	—	±	±	±	±
	—	±	±	±	±
阳性样本	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+

[0036] 实验结果表明,胶体金标记 SPA 的 pH 值范围在 pH6.0 ~ 6.4 时临界值样本偏阴, pH ≥ 6.4 时胶体金标记 SPA 的效果都差不多,无明显差异,据此建议胶体金标记 SPA 的 pH 值范围控制在 pH6.4 ~ 7.2,亦即每 100 毫升胶体金,加 1.0%无水碳酸钠溶液 1.2 毫升。

[0037] 2.2.2 胶体金标记 SPA 浓度选择

[0038] 取胶体金按照每 100 毫升加入 1.0%无水碳酸钠溶液 1.2 毫升,再按下表操作选择 SPA 浓度:

[0039]

管数	1	2	3	4	5	6
胶体金 (mL)	1	1	1	1	1	1
1mg/mL SPA (mL)	0.1	0.05	0.025	0.0125	0.00625	0.0
蒸馏水 (mL)	0	0.05	0.075	0.0875	0.09375	0.1
SPA 量 (mg)	0.1	0.05	0.025	0.0125	0.00625	0.0
混合, 室温静止 30 分钟						
10% 氯化钠 (mL)	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1
室温静止 2 小时, 观察各管颜色						
	红色	红色	红色	微紫红	紫红	紫

[0040] 室温静止 2 小时,胶体金第 3 管,每毫升胶体金标记 SPA 0.025 毫克的呈红色透明,第 4 管即呈微紫红色。表明每毫升胶体金需标记 SPA 0.025 毫克。

[0041] 实施例 3 检测板制备条件选择

[0042] 3.3.1 检测点包被介质 pH 条件的比较

[0043] 实验材料：

[0044] (1) 硝酸纤维素膜,孔径为 $0.45\ \mu\text{m}$ 。

[0045] (2) 包被缓冲液: 1.0mol/L NaHCO_3

[0046] NaHCO_3 (分析纯)8.401克,放入容器,用量筒量取工艺用水倒入容器,待溶解,再取工艺用水补足体积到100毫升,混匀。

[0047] (3) 检测点抗原:环瓜氨酸肽(CCP)抗原(1.0mg/mL)

[0048] 实验过程：

[0049] (1) 检测点抗原处理：

[0050] 环瓜氨酸肽(CCP)抗原(1.0mg/mL)原液, $\text{pH} = 7.0 \sim 7.5$ 。

[0051] 环瓜氨酸肽(CCP)抗原(1.0mg/mL)原液0.05毫升加入 1.0mol/L NaHCO_3 0.005毫升,混匀, $\text{pH} \geq 8.0$ 。

[0052] (2) 包被:取检测点抗原 $2.0\ \mu\text{L}$,点加在硝酸纤维素膜上制成检测板。

[0053] (3) 测试阴性、阳性样本各10次比较检测点呈色程度。

[0054] 实验结果：

[0055]

包被介质 pH 条件的比较		检测点	
实验次数	包被介质 pH 条件	中性	碱性
1	阴性样本	—	—
	阳性样本	+	++
2	阴性样本	—	—
	阳性样本	+	++
3	阴性样本	—	—
	阳性样本	+	++
4	阴性样本	—	—
	阳性样本	+	++
5	阴性样本	—	—
	阳性样本	+	++
6	阴性样本	—	—
	阳性样本	+	++
7	阴性样本	—	—
	阳性样本	+	++
8	阴性样本	—	—
	阳性样本	+	++
9	阴性样本	—	—
	阳性样本	+	++
10	阴性样本	—	—
	阳性样本	+	++

[0056] 根据我们的实验结果表明检测点包被介质的 pH 条件以 $\text{pH} \geq 8.0$ 更为理想,且采用 1.0mol/L NaHCO_3 来调整 pH 具有配制方便使用稳定的优点。拟定包被介质采用在包被抗原中加入十分之一的 1.0M NaHCO_3 调整 $\text{pH} \geq 8.0$ 。

[0057] 3.3.2 检测点抗原使用浓度选择

[0058] 实验材料:

[0059] (1) 硝酸纤维素膜,孔径为 $0.45\ \mu\text{m}$ 。

[0060] (2) 检测点抗原:环瓜氨酸肽 (CCP) 抗原 (2.0mg/mL) 原液 0.1 毫升加入 1.0mol/L NaHCO_3 0.01 毫升,混匀,此抗原浓度为 2.0mg/mL ,再用 100mmol/L NaHCO_3 作梯度稀释成抗原浓度为 1.0mg/mL 、 0.5mg/mL 、 0.25mg/mL 。

[0061] 实验过程：

[0062] (1) 包被：按抗原浓度分组，取检测点抗原 2.0uL，点加在硝酸纤维素膜上制成检测板。

[0063] (2) 测试阴性、阳性、灵敏度参考品各 5 次比较检测点呈色程度。

[0064] 实验结果：

[0065] (1) 包被抗原浓度：环瓜氨酸肽 (CCP) 抗原 2.0mg/mL。

[0066]

样本	阴性参考品	灵敏度参考品	阳性参考品
序号	检测点	检测点	检测点
1	±	+	++
2	±	+	++
3	±	+	++
4	±	+	++
5	±	+	++

[0067] (2) 包被抗原浓度：环瓜氨酸肽 (CCP) 抗原 1.0mg/mL。

[0068]

样本	阴性参考品	灵敏度参考品	阳性参考品
序号	检测点	检测点	检测点
1	-	±	+
2	-	±	+
3	-	±	+
4	-	±	+

5	-	±	+
---	---	---	---

[0069] (3) 包被抗原浓度 :环瓜氨酸肽 (CCP) 抗原 0.5mg/mL。

[0070]

样本	阴性参考品	灵敏度参考品	阳性参考品
序号	检测点	检测点	检测点
1	-	-	±
2	-	-	±
3	-	-	±
4	-	-	±
5	-	-	±

[0071] (4) 包被抗原浓度 :环瓜氨酸肽 (CCP) 抗原 0.25mg/mL。

[0072]

样本	阴性参考品	灵敏度参考品	阳性参考品
序号	检测点	检测点	检测点
1	-	-	±
2	-	-	±
3	-	-	±
4	-	-	±
5	-	-	±

[0073] (1) 实验结果表明检测点环瓜氨酸肽 (CCP) 抗原的包被浓度以 1.0mg/mL 为宜。包

被浓度 2.0mg/mL 时,阴性参考品偏阳,而包被浓度 0.5mg/mL 时,灵敏度参考品、阳性参考品偏阴。

[0074] 3.3.3 检测点包被加液量比较

[0075] 实验材料:

[0076] (1) 检测点抗原:环瓜氨酸肽 (CCP) 抗原 (1.0mg/mL)0.25 毫升放入容器,加入 1.0mol/L NaHCO_3 0.025 毫升,混匀。

[0077] 实验过程:

[0078] 取检测点抗原点加在检测板反应孔中心的硝酸纤维素膜上包被加液量分别为:1.0uL,1.5uL,2.0uL,2.5uL,3.0uL。测试阳性样本,每组重复测试 20 次,观察阳性斑点的呈色程度的重复性及斑点大小和斑点一致程度。

[0079] 实验结果:

[0080]

序号	包被加量 (uL)	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
1	阳性斑点的呈色	±	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
2	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	很小	中	中	较大	大
3	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
4	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
5	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
6	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
7	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
8	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
9	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
10	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
11	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	偏中	中	中	较大	大
12	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
13	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
14	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	很小	中	中	较大	大

[0081]

15	阳性斑点的呈色	±	+	+	+	+
	斑点大小	很小	中	中	较大	大
16	阳性斑点的呈色	±	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
17	阳性斑点的呈色	±	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
18	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大
19	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	偏中	中	中	较大	大
20	阳性斑点的呈色	+	+	+	+	+
	斑点大小	小	中	中	较大	大

[0082] 包被加量 1.0uL 时虽能节约原材料,但是阳性斑点的呈色程度的重复性较差,不可取,原因是 1.0uL 取样量太小微量加样器不易控制吸样量。且呈色斑点的一致程度也不理想。另外呈色斑点太小会影响目测的效果。

[0083] 包被加量 1.5 ~ 3.0uL 时测试阳性斑点的呈色程度的重复性结果都较理想。各组内斑点大小的一致程度也较理想。

[0084] 随着包被加量的增加,阳性斑点的直径也越大。包被加量 3.5uL 时阳性斑点的直径太大,且造成原材料的浪费。

[0085] 宜推荐包被加量 1.5 ~ 2.5uL,此包被加量范围内阳性斑点大小的视觉效果较为理想,阳性斑点的呈色程度的重复性也较一致。

[0086] 实施例 4 生产工艺

[0087] 4.1 胶体金结合物制备工艺

[0088] 4.1.1 制备胶体金

[0089] 4.1.1.1 10.05%氯化金溶液 300 毫升,加热至沸。

[0090] 4.1.1.2 加入 5%柠檬酸三钠 3.6 毫升。

[0091] 4.1.1.3 继续加热煮沸 15 分钟,停止加热,待冷至室温,用蒸馏水恢复至原体积。

[0092] 4.1.2 胶体金标记

[0093] 4.1.2.1 胶体金 100mL。

[0094] 4.1.2.2 加 1.0%无水碳酸钠溶液 1.2 毫升,校 pH 6.4 ~ 7.2。

[0095] 4.1.2.3 加 SPA(1.0mg/mL)2.5 毫升,室温静止 30 分钟。

[0096] 4.1.2.4 搅拌加入 10X Tris-HCl 20 毫升调控 pH7.2 ~ 7.5。

[0097] 4.1.2.5 搅拌加入 BSA2 克、PEG200001 克、ProClin3000.2 毫升。

[0098] 4.2 检测板制备工艺

[0099] 4.2.1 装配检测板,取塑料盒底盖,放置吸水层,在吸水层上放置硝酸纤维素膜,盖上塑料盒面盖,压紧。

[0100] 4.2.2 检测点抗原:环瓜氨酸肽 (CCP) 抗原 (1.0mg/mL) 1.0 毫升加入 1.0mol/LNaHCO₃ 0.1 毫升,混匀。

[0101] 4.2.3 取检测点抗原 2.0uL,点加在检测板反应孔中心的硝酸纤维素膜上制成检测板。

[0102] 4.3 配制封闭液及洗涤液

[0103] 4.3.1 配制封闭液,1.0%牛血清白蛋白,0.02M pH7.0 ~ 7.5 磷酸盐溶液。

[0104] 4.3.2 配制洗涤液,0.05% Tween-20,0.05M pH7.0 ~ 7.5 Tris-HCl 溶液。

[0105] 4.4 制备抗 CCP 抗体参考品。

[0106] 4.4.1 阳性参考品制备,将封闭液 15 毫升加入抗 CCP 抗体 (200RU/mL) 5.0 毫升,混匀,约为抗 CCP 抗体 50RU/mL。

[0107] 4.4.2 阴性参考品制备,将封闭液 13.5 毫升加入阳性参考品 1.5 毫升,混匀,为抗 CCP 抗体 < 6.0RU/mL。

[0108] 4.4.3 灵敏度参考品制备:将封闭液 14.5 毫升加入阳性参考品 2.0 毫升,混匀,约为抗 CCP 抗体 6.0RU/mL。

[0109] 4.4.4 阴、阳及灵敏度参考品 CCP 抗原浓度均以抗环瓜氨酸肽 (CCP) 抗体测定试剂盒 (ELISA) 沪食药监械(准)字 2010 的检测结果为依据。

[0110] 4.5 正常参考范围确定,以抗环瓜氨酸肽 (CCP) 抗体测定试剂盒 (ELISA) 的正常参考范围抗 CCP 抗体 < 6.0RU/mL 为依据,由于本法为定性检测,样品抗 CCP 抗体含量在正常参考范围内检测点不显色,故选择以抗 CCP 抗体约为 6.0RU/mL 的样品做灵敏度参考品。

[0111] 实施例 5 检验方法

[0112] 1、使用前先将试剂和样品取出,在室温中放置 15-30 分钟,使其恢复至室温。

[0113] 2、取出检测板。

[0114] 3、在检测板反应孔中心加入封闭液 2 滴,待封闭液完全渗入。

[0115] 4、用移液器在检测板反应孔中心加入待测样品 40 微升,待样品完全渗入。

[0116] 5、在检测板反应孔中心加入洗涤液 4 滴,待洗涤液完全渗入。

[0117] 6、在检测板反应孔中心加入胶体金结合物 3 滴,待胶体金结合物完全渗入。

[0118] 7、在检测板反应孔中心加入洗涤液 4 滴,待洗涤液完全渗入,目测结果。

[0119] 【检验结果判读】

[0120] 使用者在进行样品检测时,可能会出现如下情况:

[0121] a. 检测板反应孔中心检测点有红色斑点,为阳性结果(如图 1 所示)。

[0122] b. 检测板反应孔中心检测点无红色斑点,为阴性结果(如图 2 所示)。

[0123] 【参考值(参考范围)】

[0124] 以抗环瓜氨酸肽 (CCP) 抗体测定试剂盒 (ELISA) 的正常参考范围抗 CCP 抗体 < 6.0RU/mL 为依据,样品抗 CCP 抗体含量在正常参考范围内检测板反应孔中心检测点无红色斑点,显示阴性结果。

[0125] 正常参考范围:显示阴性结果(提示抗 CCP 抗体含量小于 6.0RU/mL)。

[0126] 【检验结果的解释】

- [0127] 1、阴性结果,则提示该样本的抗 CCP 抗体含量 $< 6.0\text{RU/mL}$ 是正常范围。
- [0128] 2、阳性结果,则提示该样本的抗 CCP 抗体含量 $\geq 6.0\text{RU/mL}$ 是不正常范围。
- [0129] **【检验方法的局限性】**
- [0130] 1、本方法只能定性测定人血清样本中抗环瓜氨酸肽 (CCP) 抗体,仅作为辅助诊断使用。
- [0131] 2、反应斑点的稳定性:在 30 分钟内阳性斑点不会褪色,阴性结果仍无变化。
- [0132] **【产品性能指标】**
- [0133] 1、物理性状
- [0134] 外观:整洁,标志(名称、批号、有效期等)完整,文字清晰。各液体试剂应清晰、无不溶物。封闭液为淡黄色透明液体,洗涤液为无色透明液体,胶体金结合物为红色透明液体,阳性参考品呈淡黄色透明液体,阴性参考品呈淡黄色透明液体。试剂盒内容物应准确无误。
- [0135] 2、特异性
- [0136] 检测 300 例抗 CCP 抗体含量小于 6.0RU/mL 的样本,目测检测结果,检测板反应孔中心检测点不显示红色斑点,呈阴性反应结果。
- [0137] 3、分析灵敏度
- [0138] 取抗 CCP 抗体含量约 6.0RU/mL 的样品进行检测,目测检测结果,检测板反应孔中心检测点应显示红色斑点。

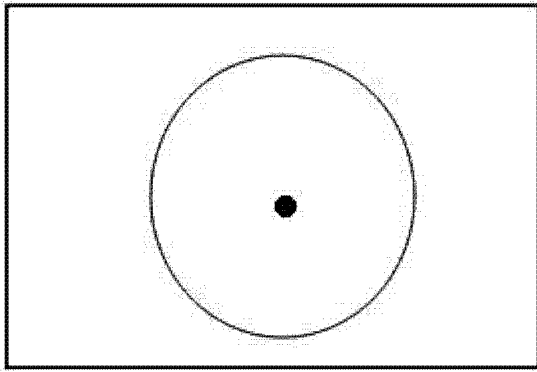


图 1

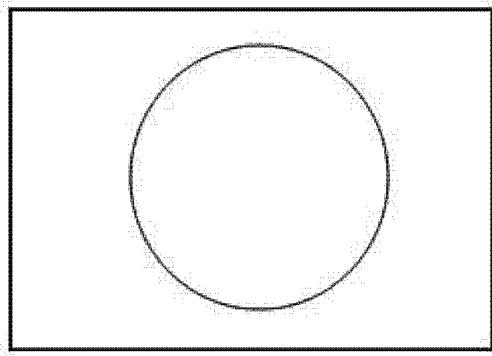


图 2

专利名称(译)	抗环瓜氨酸肽抗体体外检测试剂盒及制备方法		
公开(公告)号	CN102323402A	公开(公告)日	2012-01-18
申请号	CN201110142351.2	申请日	2011-05-30
[标]发明人	朱晓敏 王泉龙 朱慧琳 刘颖成 杨杰 刘颖冰 张瑞镐		
发明人	朱晓敏 王泉龙 朱慧琳 刘颖成 杨杰 刘颖冰 张瑞镐		
IPC分类号	G01N33/544 G01N33/532		
代理人(译)	林炜		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于生物工程领域，提供了一种抗环瓜氨酸肽（CCP）抗体体外检测试剂盒，包括检测板、环瓜氨酸肽（CCP）抗原、由胶体金标记的重组金黄色葡萄球菌A蛋白结合物、封闭液、洗涤液、阳性参考品和阴性参考品。本发明还提供了上述的抗CCP抗体体外检测试剂盒的制备方法。本试剂盒采用间接法免疫吸附法原理检测人血清中的抗CCP抗体，将CCP抗原包被于硝酸纤维素膜，制成固相抗原，用以捕获人血清中的抗CCP抗体，再将胶体金标记于SPA，形成胶体金结合物作为示踪物，如被测人血清中含有抗CCP抗体，则形成固相抗原-抗CCP抗体-胶体金结合物，呈红色斑点反应。本发明可应用于类风湿性关节炎的辅助诊断。

