

## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103163291 A

(43) 申请公布日 2013.06.19

(21) 申请号 201310089340.1

(22) 申请日 2013.03.09

(71) 申请人 黑龙江八一农垦大学

地址 163319 黑龙江省大庆市高新区新阳路  
2号

(72) 发明人 张洪友 郑家三 夏成 吴凌

杜晓燕 徐闯 高维明

(51) Int. Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图3页

### (54) 发明名称

一种试剂盒及操作方法

### (57) 摘要

本发明适用于免疫测定技术领域,提供了一种试剂盒及操作方法,所述试剂盒的组成包括:96孔酶标板一块,孕酮标准品 1mL 及去激素乳 8mL,酶标记物 5mL,底物 A 液 150  $\mu$ L 和底物 B 液 10mL,终止液 5mL 及洗涤液 20mL。本发明通过对 ELISA 试剂盒相关试剂稳定性的筛选,确定了不同的稳定剂及相关的处理方法,从而保证了试剂盒的保存时间。

1. 一种试剂盒,其特征在于,所述试剂盒的组成包括:96孔酶标板一块,孕酮标准品1mL及去激素乳8mL,酶标记物5mL,底物A液150 $\mu$ L和底物B液10mL,终止液5mL及洗涤液20mL。

2. 如权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述孕酮标准品浓度为40ng/mL。

3. 如权利要求2所述的试剂盒,其特征在于,所述底物A液为100倍浓缩液。

4. 如权利要求3所述的试剂盒,其特征在于,所述终止液为2M $H_2SO_4$ 。

5. 如权利要求4所述的试剂盒,其特征在于,所述洗涤液为10倍浓缩液。

6. 一种试剂盒操作方法,其特征在于,所述方法包括下述步骤:

利用蒸馏水配制洗涤工作液;

取出酶标板,利用所述洗涤液洗涤3min/次,洗2次;

用去激素乳将孕酮标准品配制成不同梯度的孕酮浓度,各浓度孕酮标准浓度及待检样本分别等比例与酶标记物混匀后,以100 $\mu$ L/孔加入酶标板各孔,在37 $^{\circ}C$ 湿盒反应50min;

取出酶标板,倒掉孔内液体,洗涤酶标板3min/次,洗3次;

利用底物B液将底物A稀释液成工作液,以100 $\mu$ L/孔加入酶标板,避光反应15min;

在酶标板中加入终止液50 $\mu$ L/孔,终止反应;

利用酶标仪测定OD450nm值。

7. 如权利要求6所述的方法,其特征在于,所述不同梯度的孕酮浓度为:40ng/mL、20ng/mL、10ng/mL、5ng/mL、2.5ng/mL、1.25ng/mL、0.625ng/mL、0ng/mL。

## 一种试剂盒及操作方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于免疫测定技术领域,尤其涉及一种试剂盒及操作方法。

### 背景技术

[0002] 目前我国对奶牛妊娠检测仍然主要依靠直肠检查,并造成了一定的人为性妊娠流产。孕酮是一种甾体类激素,常作为反应卵巢活动的指示剂,在奶牛生产中,通过监测机体孕酮含量变化来检测奶牛的妊娠、卵巢机能和繁殖状况,是预防和治疗母畜繁殖障碍性疾病的一种有效方法。而奶牛乳汁孕酮检测,可以避免对奶牛本身的应激,减少人为对奶牛繁殖的影响,是奶牛机体孕酮含量测定的有效途径。

[0003] 国内对奶牛乳汁孕酮检测的研究相对国外还有一定的差距,目前已有相关试剂盒面世,在临床应用中取得了不错的效果。针对奶牛乳汁孕酮的检测,本实验室应用自己制备的酶标孕酮抗原和孕酮单克隆抗体,建立了孕酮直接竞争 ELISA 快速检测方法,应用于试剂盒的初步研制。

[0004] 试剂盒的质量控制是一个严重的问题,酶联免疫吸附试验(ELISA)在具体操作时主要存在技术误差、操作误差和统计误差。因此,需要建立一个统一的标准,以便得到高质量的结果,有助于应用与诊断。

### 发明内容

[0005] 本发明实施例提供一种试剂盒及操作方法,旨在解决上述问题。

[0006] 本发明实施例是这样实现的,一种试剂盒,所述试剂盒的组成包括:96孔酶标板一块,孕酮标准品 1mL 及去激素乳 8mL,酶标记物 5mL,底物 A 液 150  $\mu$  L 和底物 B 液 10mL,终止液 5mL 及洗涤液 20mL。

[0007] 本发明实施例还提供一种试剂盒操作方法,所述方法包括下述步骤:

[0008] 利用蒸馏水配制洗涤工作液;

[0009] 取出酶标板,利用所述洗涤液洗涤 3min/次,洗 2 次;

[0010] 将去激素乳将孕酮标准品配制成不同梯度的孕酮浓度,各浓度孕酮标准浓度及待检样本分别等比例与酶标记物混匀后,以 100  $\mu$  L/孔加入酶标板各孔,在 37 $^{\circ}$ C 湿盒反应 50min;

[0011] 取出酶标板,倒掉孔内液体,洗涤酶标板 3min/次,洗 3 次;

[0012] 利用底物 B 液将底物 A 稀释液成工作液,以 100  $\mu$  L/孔加入酶标板,避光反应 15min;

[0013] 在酶标板中加入终止液 50  $\mu$  L/孔,终止反应;

[0014] 利用酶标仪测定 OD<sub>450nm</sub> 值。

[0015] 本发明实施例通过对 ELISA 试剂盒相关试剂稳定性的筛选,确定了不同的稳定剂及相关的处理方法,从而保证了试剂盒的保存时间。

## 附图说明

- [0016] 图 1 是本发明实施例提供的酶标板稳定性示意图；  
[0017] 图 2 是本发明实施例提供的酶标抗原稳定性示意图；  
[0018] 图 3 是本发明实施例提供的工作液 A 稳定性示意图；  
[0019] 图 4 是本发明实施例提供的工作液 B 稳定性示意图；  
[0020] 图 5 是本发明实施例提供的试剂盒抑制曲线示意图；  
[0021] 图 6 是本发明实施例提供的试剂盒测定曲线示意图；  
[0022] 图 7 是本发明实施例提供的试剂盒在 37℃ 保存 9 天结合率示意图。

## 具体实施方式

[0023] 为了使本发明的目的、技术方案及优点更加清楚明白，以下结合附图及实施例，对本发明进行进一步详细说明。应当理解，此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明，并不用于限定本发明。

[0024] 本发明实施例通过对 ELISA 试剂盒相关试剂稳定性的筛选，确定了不同的稳定剂及相关的处理方法，从而保证了试剂盒的保存时间。

[0025] 在本发明实施例中，试剂盒的组成包括：96 孔酶标板一块，孕酮标准品 (40ng/mL) 1mL 及去激素乳 8mL，酶标记物 5mL，底物 A 液 (100 倍浓缩液) 150  $\mu$  L 和底物 B 液 10mL，终止液 (2M $H_2SO_4$ ) 5mL 及洗涤液 (10 倍浓缩液) 20mL。

[0026] 在本发明实施例中，为试剂盒整体效果做基础，需要考虑各个部分的稳定性，各部分稳定性筛选如下：

### [0027] 1. 酶标板稳定性筛选

[0028] 在本发明实施例中，孕酮单克隆抗体在最佳包被、封闭方式处理后，倒掉孔内液体；置于温度 30℃、湿度低于 30% 的条件下处理酶标板 120min，同时设置空白对照。取出酶标板放入干燥、密封的袋中后，分别置于 37℃ 进行加速破坏和 4℃ 对照，每天分别拿出一块，按 ELISA 法检测酶标板上固相抗体的活性。

### [0029] 2. 酶标记物稳定性的筛选

[0030] 在本发明实施例中，通过添加不同的稳定剂，保证酶标记物的酶活性及抗原、抗体的免疫学活性达到稳定的效果。

[0031] 用配制好的稳定剂溶液稀释酶标抗原到工作浓度，同时设置空白。配制后的工作液分别置于 37℃ 进行加速破坏和 4℃ 对照，并作新鲜对照。每天按直接 ELISA 法检测酶标抗体工作液的活性。

### [0032] 3. 显色系统稳定剂的筛选

#### [0033] (1) TMB 工作液 (底物 A 液) 稳定性筛选

[0034] 在本发明实施例中，用 DMA 溶解 TMB·2HCL，配制 100 倍浓缩的底物 A 液，配制后分别置于 37℃ 进行加速破坏和 4℃ 对照。每天按直接 ELISA 法检测底物溶液 A 的活性。

#### [0035] (2) $H_2O_2$ 工作液 (底物 B 液) 稳定性筛选

[0036] 在本发明实施例中，将过氧化氢分别稀释于不同浓度的磷酸-柠檬酸盐缓冲液 (pH5.0) 配制成不同浓度的底物 B 液 (B1、B2、B3、B4) 的工作液。配制后的工作液分别置于 4℃ 和 37℃ 进行加速破坏，并作新鲜对照。每天按直接 ELISA 法检测底物溶液 B 的活性。

[0037] 4. 洗涤剂及终止液的稳定性

[0038] 实验室常用的 PBST 一般置于室温条件下使用 15d 左右,其洗涤效果不变,在本发明实施例中,采用 10 倍浓缩的 PBST,在使用时,只须用蒸馏水稀释后便可使用。终止液应用  $2\text{M}\text{H}_2\text{SO}_4$ ,其酸性稳定,可直接应用。

[0039] 5. 孕酮标准品稳定性筛选

[0040] (1) 去激素乳的制备

[0041] 在本发明实施例中,采取发情期奶牛的新鲜乳汁,经去激素处理,用于 ELISA 法测定试验。

[0042] (2) 孕酮标准品的制备

[0043] 用精密天平称取一定量的孕酮标准品,制成高浓度的孕酮标准品。配制方法如下:

[0044] 首先用去激素乳将高浓度孕酮标准品配制成  $40\text{ng}/\text{mL}$  的孕酮乳样标准品,再由去激素乳将  $40\text{ng}/\text{mL}$  的孕酮乳样标准品进行倍比稀释,配制成  $40\text{ng}/\text{mL}$ 、 $20\text{ng}/\text{mL}$ 、 $10\text{ng}/\text{mL}$ 、 $5\text{ng}/\text{mL}$ 、 $2.5\text{ng}/\text{mL}$ 、 $1.25\text{ng}/\text{mL}$ 、 $0.625\text{ng}/\text{mL}$ 、 $0\text{ng}/\text{mL}$  等浓度标准孕酮乳样浓度。

[0045] 本发明实施例试中试剂盒操作方法实现方式,详述如下:

[0046] 利用蒸馏水配制洗涤工作液;

[0047] 取出酶标板,利用洗涤液洗涤  $3\text{min}/\text{次}$ ,洗 2 次;

[0048] 将去激素乳将孕酮标准品配制成不同梯度的孕酮浓度: $40\text{ng}/\text{mL}$ 、 $20\text{ng}/\text{mL}$ 、 $10\text{ng}/\text{mL}$ 、 $5\text{ng}/\text{mL}$ 、 $2.5\text{ng}/\text{mL}$ 、 $1.25\text{ng}/\text{mL}$ 、 $0.625\text{ng}/\text{mL}$ 、 $0\text{ng}/\text{mL}$ ,各浓度孕酮标准浓度及待检样本分别等比例与酶标记物混匀后,以  $100\mu\text{L}/\text{孔}$  加入酶标板各孔,在  $37^\circ\text{C}$  湿盒反应  $50\text{min}$ ;

[0049] 取出酶标板,倒掉孔内液体,洗涤酶标板  $3\text{min}/\text{次}$ ,洗 3 次;

[0050] 利用底物 B 液将底物 A 液稀释成工作液,加入酶标板  $100\mu\text{L}/\text{孔}$ ,避光反应  $15\text{min}$ ;

[0051] 在酶标板中加入终止液  $50\mu\text{L}/\text{孔}$ ,终止反应;

[0052] 酶标仪测定  $\text{OD}_{450\text{nm}}$  值。

[0053] 在本发明实施例中,对上述实验结果判定如下:

[0054] (1) 精确判定

[0055] 按上述操作,酶标仪测定  $\text{OD}_{450\text{nm}}$  值, $B_0$  为零孕酮浓度 ( $0\text{ng}/\text{mL}$ ) 抑制时的 OD 值, $B$  为不同孕酮浓度 ( $40\text{ng}/\text{mL}$ 、 $20\text{ng}/\text{mL}$ 、 $10\text{ng}/\text{mL}$ 、 $5\text{ng}/\text{mL}$ 、 $2.5\text{ng}/\text{mL}$ 、 $1.25\text{ng}/\text{mL}$ 、 $0.625\text{ng}/\text{mL}$ ) 抑制时的 OD 值,代入公式  $\text{Logit}(B/B_0) = \text{Ln}[(B/B_0)/(1-B/B_0)]$ ,以  $\text{Lg}[P]$  为横坐标, $\text{Logit}(B/B_0)$  为纵坐标绘制标准曲线,利用 Microsoft Excel 拟合曲线方程。将所得  $B/B_0$  值代入曲线方程求出乳汁样品中的孕酮含量。

[0056] (2) 半定量判定

[0057] 避光显色后,取出酶标板根据孕酮乳样标准品所显出的不同深度的蓝色,与待测样本所显色进行对比,初步确定样本孕酮的范围;也可再加入终止液后产生的不同深度的黄色与样本对比来判断。

[0058] 在本发明实施例中,试剂盒的稳定性是评估试剂盒的重要指标。关于 ELISA 试剂稳定性实验,是通过  $37^\circ\text{C}$  条件下的加速破坏性实验进行的。根据唐伟国主编的《医学检验诊断试剂的制备与应用》,生物试剂在  $37^\circ\text{C}$  条件下 24 小时,相当于  $4\sim 10^\circ\text{C}$  保存一个半月。因此,在相关试剂中加入适当的稳定剂可以使试剂的活性在长时间内得保证,而不失效。生

物试剂的稳定性实验应在实时、实温条件下进行,在加速和强化的条件下获得的稳定性实验数据不能作为最终确定有效期的依据,但是有助于为有效期提供数据支持。

[0059] 本发明实施例通过对固相物、酶标记物、显色系统底物 A 液、底物 B 液等试剂的稳定性做了相关的稳定性实验,都是在 37℃ 条件下进行。根据资料,在加入相关的稳定剂或采用不同的处理方法,获得了良好的效果,相关试剂能在 37℃ 的破坏性实验中 5 天内保持良好的活性。

[0060] 试剂盒的参数的确定,要考虑的因素有很多,主要有特异性、灵敏性、重复性等质量控制因素。试剂盒相关参数的确定详述如下:

[0061] 1. 试剂盒的特异性

[0062] 试剂盒的特异性是指特定抗体对特定抗原的特异识别,是试剂盒对类似物抗干扰能力的指标,本发明实施例选择了孕酮 (Progesterone)、雌二醇 (17-β-Oestradiol)、雌三醇 (Oestriol)、睾酮 (Testosterone) 四种物质进行交叉反应测定。应用 PBS 将四种激素稀释成系列梯度,对其特异性进行测定。

[0063] 2. 试剂盒的灵敏性

[0064] 灵敏性是指一定的水平上可与零剂量区别的剂量,其测定取决于分析方法的选择,还受到了实验条件的制约。本发明实施例选用 8 个不同浓度的孕酮乳样标准品,且每个做 4 个水平重复,以孕酮浓度的对数为横坐标,以各个浓度的 B/B<sub>0</sub> 值为纵坐标绘制标准曲线,建立曲线方程的同时,计算无孕酮抑制的 B<sub>0</sub> 值均数和标准差 (SD)。以 B<sub>0</sub>-3SD 的值再回归曲线上所对应的孕酮浓度为试剂盒的最小检出量。

[0065] 3. 试剂盒的重复性

[0066] 重复性是在相同测量条件下,对同一被测量进行连续多次测量所得结果之间的一致性,主要取决于人员的素质、仪器的性能以及对各种影响量的监控。

[0067] (1) 试剂盒的批内重复性

[0068] 选取在 4℃ 保存的同一批组装好的孕酮检测试剂盒,定在不同的时间即连续 4 天,每天检测一次三个水平的孕酮标准品,按试剂盒操作,确定变异系数。

[0069] (2) 试剂盒的批间重复性

[0070] 选取保存于 4℃ 的 4 个批次的孕酮检测试剂盒,同时检测三个水平浓度的孕酮乳样标准品,并设定 3 个重复。按试剂盒操作,确定变异系数。

[0071] 4. 试剂盒的稳定性

[0072] 同一批次的 4 个试剂盒至于 4℃ 保存和 37℃ 做加速破坏实验,在不同的保存期与新制备的试剂盒同时进行测定,确定试剂盒整体的稳定效果。

[0073] 5. 试剂盒的准确度

[0074] 准确性 (Accuracy) 是指测量值接近真实值的程度。通常规定用回收试验来确定准确性,其指标为回收率。回收率表示方法是,测定的结果与已知理论浓度相比较,根据资料报导试剂盒回收率在 90%~110% 范围内符合要求。回收率按以下公式计算:

[0075]

$$\text{回收率} = \frac{\text{测定值}}{\text{添加值}} \times 100\%$$

[0076] (6) 试剂盒样品测定实验

[0077] 利用试剂盒对样品进行初步应用实验,采集三头奶牛的新鲜乳样进行测定,并同时对其中的一个样品做孕酮添加实验,同时做 PBS 稀释的对照试验。

[0078] 本发明实施例经过上述测定实验稳定性筛选结果如下:

[0079] 1. 酶标板稳定性筛选

[0080] 经过处理后的固相抗体酶标板,置于 37°C 加速进行破坏性实验,每隔 24 小时取出一组按照直接 ELISA 法检测固相抗体的活性 (OD450nm 值),并做 4°C 条件及新鲜的对比实验。

[0081] 2. 酶标记物稳定性筛选

[0082] 加入稳定剂后的酶标抗原工作液,置于 37°C 加速进行破坏性实验,每隔 24 小时取出一组按照直接 ELISA 法检测酶标抗原的活性 (OD450nm 值),并做 4°C 条件及新鲜的对比实验。确定稳定剂 1 对酶标抗原的稳定性较好,起到了对酶标抗原工作液活性稳定的效果。酶标板稳定性及酶标抗原稳定性示意图分别如图 1、图 2 所示。

[0083] 3. 显色系统稳定剂的筛选

[0084] (1) TMB 工作液 (底物 A 液) 稳定性筛选

[0085] 浓缩的底物 A 液,在 37°C 条件下 9 天没有改变活性。底物 A 液稳定性示意图如图 3 所示。

[0086] (2) H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 工作液 (底物 B 液) 稳定性筛选

[0087] 配制的不同浓度底物 B 液,其中 B2 溶液,在 37°C 条件下保存 13d 后,其活性与新配制的液体的活性,无明显变化。图 4 示出了本发明实施例提供的底物 B 液工作液稳定性示意图。

[0088] 4. 试剂盒的特异性

[0089] 按试剂盒操作,测定稀释后孕酮、睾酮、雌二醇、雌三醇的系列梯度浓度的 OD450nm 值,绘制竞争抑制曲线。竞争抑制曲线除孕酮随抑制浓度的增加而逐步下降,其余三种类似激素则趋于平坦,表明试剂盒的特异性较好。图 5 示出了本发明实施例提供的试剂盒抑制曲线示意图。

[0090] 5. 试剂盒的灵敏性

[0091] 按照试剂盒操作,测定 10 个去激素乳样,并建立 Lg[P (ng/mL)] 对 B/B<sub>0</sub> 的标准曲线。根据测定结果,求出样本的平均数 (X<sub>0</sub>) 和标准差 (S),计算 X<sub>0</sub>-3S 的 OD450nm 值,换算成 B/B<sub>0</sub> 后,再将此值带入标准曲线方程,计算出试剂盒的灵敏度。试剂盒的灵敏度为 0.14ng/mL。试剂盒测定曲线示意图如图 6 所示。试剂盒灵敏性的确定如下表所示:

[0092]

样品 OD 值	1. 21, 1. 233, 1. 271, 1. 256, 1. 267
	1. 21, 1. 233, 1. 271, 1. 256, 1. 267
OD450nm 值平均值 (x <sub>0</sub> )	1. 241
OD450nm 值标准差 (s)	0. 0212

[0093]

x0- 3s	1.197
回归方程	$y = -0.8616x + 0.3827$
	$R^2 = 0.9953$
灵敏度(ng/mL)	0.14

[0094] 6. 试剂盒的重复性

[0095] 本发明实施例应用同一批次组装的孕酮乳汁检测试剂盒,连续4天,每天检测一个标准品,并做三个水平重复,测出 OD450nm 值,以批内变异系数(CV)表示, $CV\% = \frac{SD}{\text{平均值}} \times 100\%$ 。各个水平的批内变异系数在 1.85%~11.21%之间,平均为 4.11%。

[0096] 4个批次的孕酮乳汁试剂盒,在同一时间检测三个水平的孕酮标准品,并做三个水平重复,测定 OD450nm,求出总的变异系数(CV)。各个水平的批间变异系数在 2.66%~13.28%之间,平均为 6.26%。

[0097] 由批内和批间变异系数可知,试剂盒的重复性较好。试剂盒的批内和批间误差,如下表所示:

[0098]

P4(ng/mL)	批内误差	批间误差
	平均结合率±标准差(变异系数)	平均结合率±标准差(变异系数)
40	11.53±1.11(9.63)	11.14±1.48(13.28)
20	17.57±1.97(11.21)	17.49±2.12(12.12)
10	29.02±1.43(4.93)	27.75±2.08(7.49)
5	45.27±1.33(2.94)	41.40±2.98(7.19)
2.5	57.21±1.76(3.08)	54.95±3.21(5.48)
1.25	75.42±3.98(5.28)	68.35±4.90(7.17)
0.625	83.44±1.54(1.85)	80.88±2.15(2.66)
平均值(CV%)	4.11	6.26

[0099] 7. 试剂盒的稳定性

[0100] 通过对同一批次的试剂盒,进行 37℃ 加速破坏实验,测定其 OD450nm 值,计算 20ng/mL、5ng/mL、1.25ng/mL 三个标准品的平均结合率,并进行统计学分析,差异不显著 ( $P > 0.05$ )。根据所得的数据,该试剂盒在 37℃ 能最少保存 6 天。根据相关生物试剂检测标准,37℃ 24 小时相当于 4~10℃ 放置 45 天。该破坏性实验表明,试剂盒在 4℃ 至少保存 9 个月。图 7 显示了本发明实施例提供的试剂盒在 37℃ 保存 9 天的结合率示意图。

[0101] 8. 试剂盒的回收率

[0102] 在去激素乳中,分别添加孕酮标准品,检测结果表明,在去激素乳中孕酮的回收率

为 93.80%~107.60%，平均回收率为 99.24%，变异系数为 5.65%。试剂盒添加回收率测定如下表所示：

[0103]

孕酮理论浓度 (ng/mL)	检出浓度 (ng/mL)	回收率 (%)	平均回收率 (%)	变异系数 (cv%)
40	39.17	97.25	99.24±5.61	5.65
	40.63	101.56		
	38.64	96.60		
10	9.56	95.60		
	10.73	107.30		
	9.38	93.80		
2.5	2.69	107.60		
	2.45	98.00		
	2.37	94.80		

[0104] 本发明实施例通过对 ELISA 试剂盒相关试剂稳定性的筛选，确定了不同的稳定剂及相关的处理方法，从而保证了试剂盒的保存时间。同时，本发明还通过对试剂盒的特异性、灵敏性、重复性、稳定性、回收率的国内性能的参数测定，表明试剂盒的特异性较好，与雌二醇、雌三醇、睾酮的交叉反应率均小于 0.1%；灵敏度为 0.14ng/mL；批内、批间变异系数为 4.11%和 6.26%；回收率 93.8%~107.3%；37℃加速破坏性实验表明试剂盒在 4℃至少保存半年以上；检测时间为 90min。

[0105] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已，并不用以限制本发明，凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

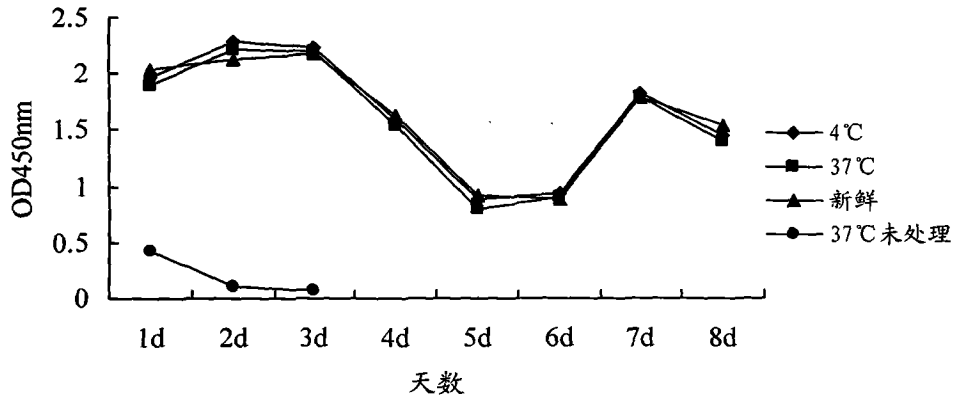


图 1

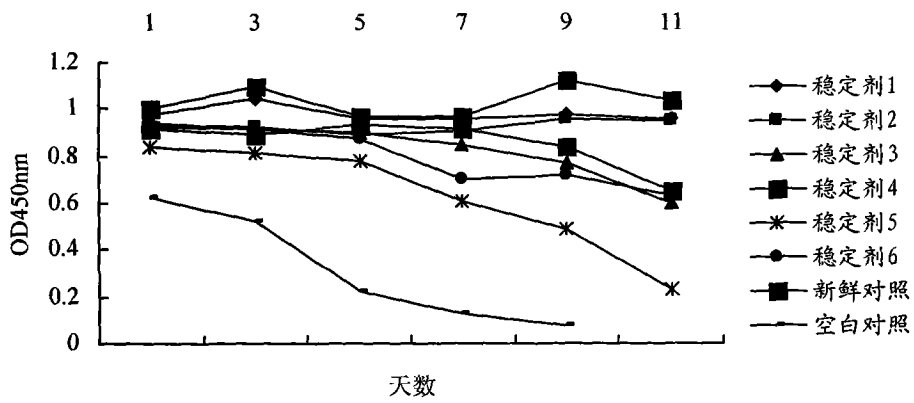


图 2

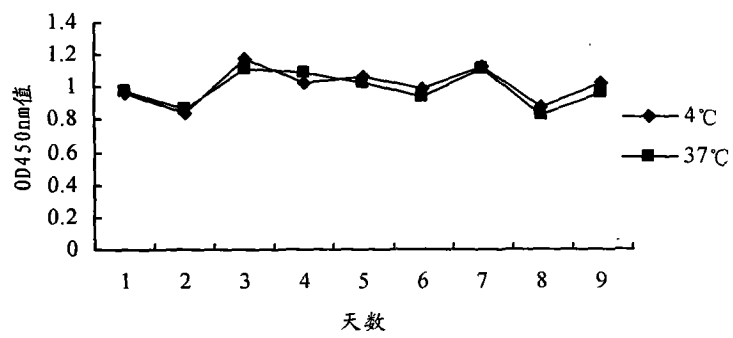


图 3

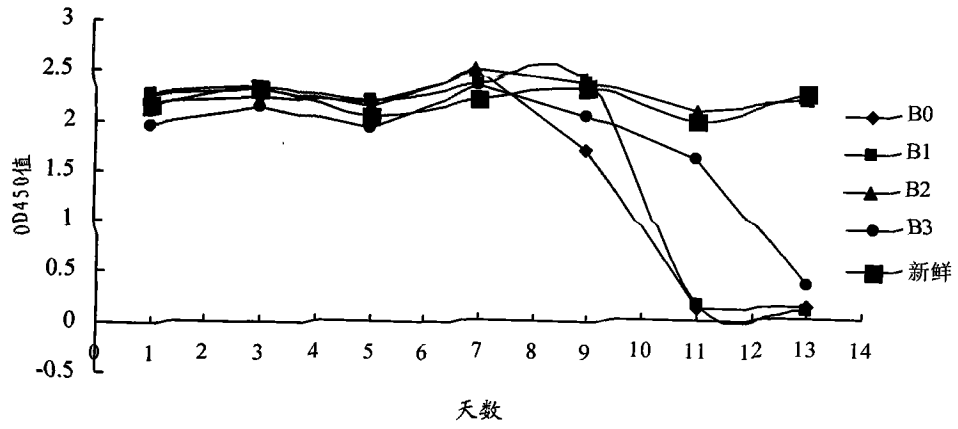


图 4

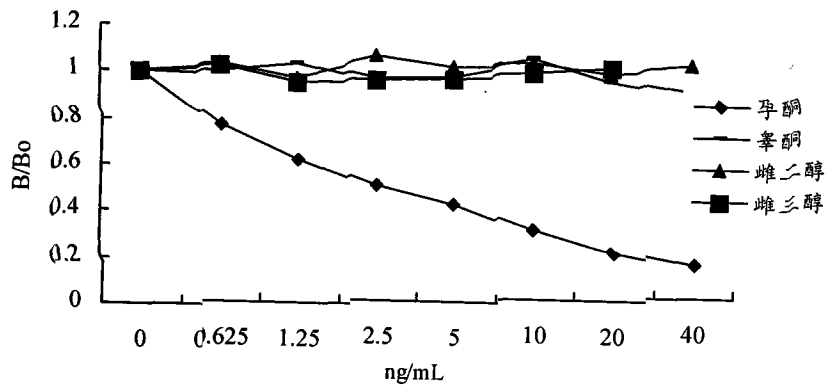


图 5

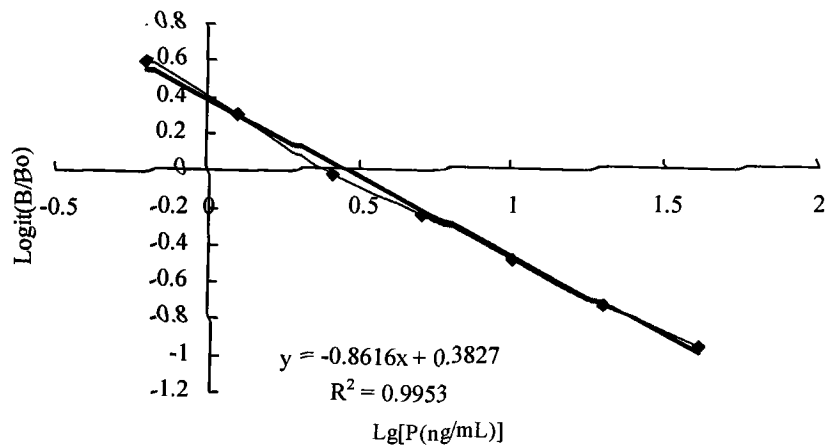


图 6

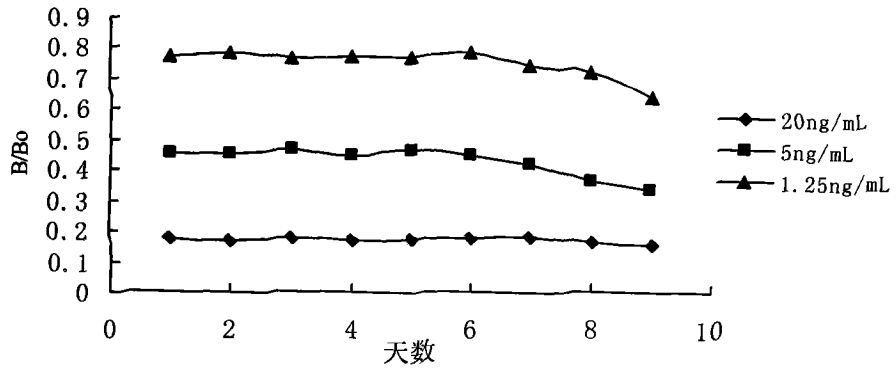


图 7

专利名称(译)	一种试剂盒及操作方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN103163291A</a>	公开(公告)日	2013-06-19
申请号	CN201310089340.1	申请日	2013-03-09
[标]申请(专利权)人(译)	黑龙江八一农垦大学		
申请(专利权)人(译)	黑龙江八一农垦大学		
当前申请(专利权)人(译)	黑龙江八一农垦大学		
[标]发明人	张洪友 郑家三 夏成 吴凌 杜晓燕 徐闯 高维明		
发明人	张洪友 郑家三 夏成 吴凌 杜晓燕 徐闯 高维明		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/535		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明适用于免疫测定技术领域，提供了一种试剂盒及操作方法，所述试剂盒的组成包括：96孔酶标板一块，孕酮标准品1mL及去激素乳8mL，酶标记物5mL，底物A液150μL和底物B液10mL，终止液5mL及洗涤液20mL。本发明通过对ELISA试剂盒相关试剂稳定性的筛选，确定了不同的稳定剂及相关的处理方法，从而保证了试剂盒的保存时间。

$$\text{回收率} = \frac{\text{测定值}}{\text{添加值}} \times 100\%$$