



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104749354 A

(43) 申请公布日 2015. 07. 01

(21) 申请号 201310744910. 6

(22) 申请日 2013. 12. 30

(71) 申请人 点亮生物科技无锡有限公司
地址 江苏省无锡市无锡新区长江路 21 号信
息产业园 H 幢 3 层

(72) 发明人 章登吉 程禹 段新伟 张波

(74) 专利代理机构 上海国智知识产权代理事务
所(普通合伙) 31274

代理人 潘建玲

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

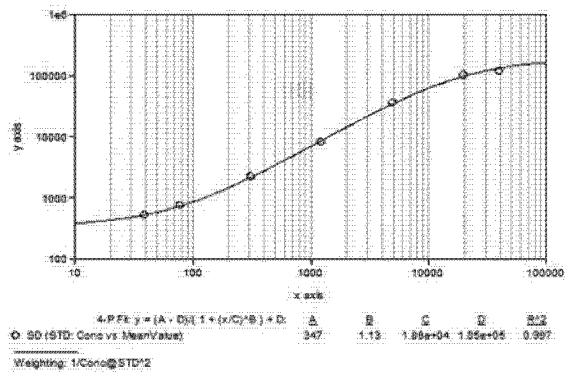
权利要求书2页 说明书5页 附图2页

(54) 发明名称

同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒及其制备方法

(57) 摘要

本发明涉及免疫检测技术领域,提供了同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒及其制备方法,包括制备抗体包被;对第一步中酶标板分别进行浇注、封闭、洗涤、晾干后,再保存起来待用;上样,并将酶标板放入孵育振荡器中孵育后加入检测抗体;加入酶 SA-HRP 于板孔中继续孵育;用 CCD 成像仪拍摄成像,并结合图像分析软件计算出图像的 IDV 值,根据 IDV 值绘制标准曲线,并且计算出样本浓度结果;运用 softMax 回归模型和 Excel 表格对样本浓度结果进行计算和统计学分析。本发明有效解决了工艺繁复、不利于操作、灵敏度低的问题。



1. 同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒,其特征在于,包括:

试剂盒、并且该试剂盒内含有用脑源性神经营养因子、表皮生长因子、髓过氧化物酶、和催乳素四种抗原及相应抗体以矩形阵列包被的表面经过等离子化且四壁经过镀膜处理的酶标板、稀释液、一份阳性血清对照样本、一份阴性血清对照样本、洗涤剂、生物素化的检测抗体、酶 SA-HRP、发光液。

2. 同时检测四种抑郁症标志物的发光试剂盒的制备方法,其特征在于,包含以下步骤:

第一步,制备抗体包被的酶标板;

配制含有脑源性神经营养因子、表皮生长因子、髓过氧化物酶、和催乳素为 100000-20000000ng/mL 于 0.01-0.1mol/l 的磷酸盐缓冲溶液中;

进一步地,用全自动点样仪提取 10-100n1 的上述含有四种特异性因子的磷酸盐缓冲溶液,点样于用等离子处理过的酶标板的孔中;

进一步地,将点样好的酶标板置于 2-8°C 的温度下包被 16-24 小时;

第二步,对该第一步中酶标板分别进行浇注、封闭、洗涤、晾干后,再保存起来待用;

首先,向 PH 值为 7.4±0.2 的磷酸盐缓冲液中,依次加入 0-0.05% 的聚氧乙烯山梨醇单月桂酸单脂和 3% 的牛血清白蛋白,搅拌均匀后,向该第一步中的酶标板中浇注;或向 PH 值为 7.4±0.2 的磷酸盐缓冲液中,依次加入 0-0.05% 的聚氧乙烯山梨醇单月桂酸单脂和 5-10% 的脱脂奶粉,搅拌均匀后,向该第一步中的酶标板中浇注;

进一步地,将该浇注好的酶标板放在 2-8°C 的温度下封闭放置 16-24 小时或者放在 37°C 下封闭放置 2±0.5 小时,或者室温封闭 3±0.5 小时;

进一步地,用含有非离子型表面活性剂的磷酸盐缓冲溶液对封闭好的酶标板进行洗涤、晾干后,置于 2-8°C 的温度下保存待用;

第三步,上样,并将酶标板放入孵育振荡器中孵育抗体;

首先,取多份病人的血清样本、1 份经筛查过的正常人的阴性对照样本和 1 份阳性对照样本;

进一步地用 PH 值为 7.4±0.2 的含有 1% 牛血清白蛋白、0.05% 聚氧乙烯山梨醇单月桂酸单脂的磷酸盐缓冲溶液样本稀释液进行样本稀释;再将稀释好的待测样本加入相应于该第二步中处理的酶标板孔中;

进一步地,将加好溶液的酶标板放入孵育振荡器中,在 18-25°C 的室温条件下反应;

第四步,加入检测抗体并孵育;

用含有聚氧乙烯山梨醇单月桂酸单脂的磷酸盐缓冲溶液作为洗液,再分别向酶标板的每个孔中加入检测抗体;放入孵育振荡器反应;

第五步,加入试剂盒中并孵育;

用含有聚氧乙烯山梨醇单月桂酸单脂的磷酸盐缓冲溶液作为洗液,对该第四步中反应后的酶标板洗涤 4 次,再对试剂盒进行稀释后,分别向酶标板的每个孔中加入稀释后的溶液,放入孵育振荡器中反应;

第六步,用 CCD 成像仪拍摄成像,并结合图像分析软件计算出图像的 IDV 值,根据 IDV 值绘制标准曲线,并且计算出样本浓度结果;

首先,将稳定的过氧化物酶溶液与含增强剂的鲁米诺底物溶液以 1:1 混合配制成发光

液；进一步地，用含有聚氧乙烯山梨醇单月桂酸单脂的磷酸盐缓冲溶液作为洗液，对该第五步中反应后的酶标板洗涤 4 次，向酶标板每个孔中加入配制好的发光液，在 1-10 分钟内用 CCD 成像仪拍照成像；

进一步地，由与 CCD 成像仪配套的图象分析软件将拍摄的图像处理成 IDV 值；

进一步地，根据 IDV 值绘制标准曲线，并且计算出样本浓度结果；

第七步，运用 softMax 回归模型和 Excel 表格对样本浓度结果进行计算和统计学分析，经综合分析，对该多份病人血清样本的检测检测结果为 100% 阳性，即敏感性为 100%。

3. 根据权利要求 2 所述的同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒的制备方法，其特征在于，该第一步中用全自动点样仪点样，是将四种抗体点置在酶标板内的距离板孔中心等距离矩形的四个边缘交叉点上，形成矩形阵列化的捕获表面。

4. 根据权利要求 2 所述的同时检测四种抑郁症标志物的发光试剂盒的制备方法，其特征在于，该第一步中的酶标板的表面经过等离子化且四壁经过镀膜处理。

同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫检测技术领域,特别涉及同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 近年来,越来越多的证据证明了炎症反应在抑郁症疾病发生、发展过程中的作用,很多的炎性因子和相应的可溶性受体、趋化分子、粘附分子、急性期蛋白等会在抑郁症患者的外周血、脑脊液中显著上升,抑郁症的个别症状如疲劳、认知障碍及睡眠障碍等与炎性因子之间的关系也被不断报道。这些抑郁症相关的生物标志物可以用于辅助临床诊断及预后评价,将为抑郁症的客观诊断提供生物学证据。进一步经过我们应用 600 多份血清样本对文献报道的抑郁症相关因子进行了大样本量筛选验证,初步确定了脑源性神经营养因子、皮质醇、表皮生长因子、髓过氧化物酶、催乳素、抵抗素、可溶性肿瘤坏死因子 α 受体 II 型作为抑郁症辅助诊断的生物标志物。

[0003] 目前市场上有很多检测相关因子的传统的单项 ELISA 技术,其成熟度高,特异性好,操作简便。但通常的酶联免疫吸附 ELISA 检测样本时,每个检测孔一般需要 100-200 μ l,样本用量较大,另外抑郁症的生物标志物不止一个,需要多个因子的联合监测来进行诊断,在这样的情况下若仍依赖于单项 ELISA 检测,则样本用量过大;对每个因子单独检测来辅助抑郁症的诊断显然费时费力,且诊断成本高昂,患者一般难以承受。

[0004] 放射免疫分析方法 RIA 技术,它既具有免疫反应的高特异性,又具有放射性测量的高灵敏度,但存在放射线辐射和污染等问题,而且对检测人员的健康也构成威胁,并且,操作相对于 ELISA 复杂,一次检验只能测一个指标,还需要提供专门的放射性实验场所,投资高,危害大。

[0005] 蛋白芯片虽然能实现多个因子同时检测的功能,但由于它是把抗体包被在用于制备蛋白质芯片的基底玻片、微球或膜上,并且基底玻片和膜在使用前要经过醛基化或多聚赖氨酸等预处理,导致生产成本增加,并且后续实验操作繁琐,重复性差,难于推广。

[0006] 因此,免疫检测技术领域急需一种基于化学发光的工艺简单、便于操作、灵敏度高,能同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒及其制备方法。

发明内容

[0007] 本发明提供了同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒及其制备方法,技术方案如下:

[0008] 同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒,其特征在于,包括:

[0009] 试剂盒、并且该试剂盒内含有用脑源性神经营养因子 BDNF、表皮生长因子 EGF、髓过氧化物酶 MPO、和催乳素 Prolactin 四种抗原及相应抗体以矩形阵列排布包被的表面经过等离子化且四壁经过镀膜处理的酶标板、稀释液、一份阳性血清对照样本、一份阴性血清对照样本、洗涤剂、生物素化的检测抗体、酶 SA-HRP、发光液。

[0010] 同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

[0011] 第一步,制备抗体包被的酶标板;

[0012] 配制含有脑源性神经营养因子 BDNF、表皮生长因子 EGF、髓过氧化物酶 MPO、和催乳素 Prolactin 为 100000-20000000ng/mL 于 0.01-0.1mol/l 的磷酸盐缓冲溶液中;

[0013] 进一步地,用全自动点样仪提取 10-100n1 的上述含有四种特异性因子的磷酸盐缓冲溶液,点样于用等离子处理过的酶标板的孔中;

[0014] 进一步地,将点样好的酶标板置于 2-8℃ 的温度下包被 16-24 小时;

[0015] 第二步,对第一步中酶标板分别进行浇注、封闭、洗涤、晾干后,再保存起来待用;

[0016] 首先,向 PH 值为 7.4±0.2 的磷酸盐缓冲液中,依次加入 0-0.05% 的聚氧乙烯山梨醇单月桂酸单脂 Tween20 和 3% 的牛血清白蛋白 BSA,搅拌均匀后,向第一步中的酶标板中浇注;或向 PH 值为 7.4±0.2 的磷酸盐缓冲液中,依次加入 0-0.05% 的聚氧乙烯山梨醇单月桂酸单脂 Tween20 和 5-10% 的脱脂奶粉,搅拌均匀后,向第一步中的酶标板中浇注;

[0017] 进一步地,将该浇注好的酶标板放在 2-8℃ 的温度下封闭放置 16-24 小时或者放在 37℃ 下封闭放置 2±0.5 小时,或者室温封闭 3±0.5 小时;

[0018] 进一步地,用含有非离子型表面活性剂 Tween20 的 PBS 溶液对封闭好的酶标板进行洗涤、晾干后,置于 2-8℃ 的温度下保存待用;

[0019] 第三步,上样,并将酶标板放入孵育振荡器中孵育;

[0020] 首先,取多份病人的血清样本、1 份经筛查过的正常人的阴性对照样本和 1 份阳性对照样本;

[0021] 进一步地用 PH 值为 7.4±0.2 的含有 1%BSA、0.05%Tween 的 PBS 样本稀释液进行样本稀释;再将稀释好的待测样本加入相应于第二步中处理的酶标板孔中;

[0022] 进一步地,将加好溶液的酶标板放入孵育振荡器中,在 18-25℃ 的室温条件下反应 1 小时;

[0023] 第四步,加入检测抗体并孵育;

[0024] 用含有 Tween 的 PBS 作为洗液,对第三步中反应后的酶标板洗涤后,再分别向酶标板的每个孔中加入检测抗体;放入孵育振荡器反应;

[0025] 第五步,加入酶 SA-HRP 中并孵育;

[0026] 用含有 Tween 的 PBS 作为洗液,对第四步中反应后的酶标板洗涤 4 次,再对试剂盒中 SA-HRP 进行稀释后,分别向酶标板的每个孔中加入稀释后的溶液,放入孵育振荡器中反应;

[0027] 第六步,用 CCD 成像仪拍摄成像,并结合图像分析软件计算出图像的 IDV 值,根据 IDV 值绘制标准曲线,并且计算出样本浓度结果;

[0028] 首先,将稳定的过氧化物酶溶液与含增强剂的鲁米诺底物溶液以 1:1 混合配制成发光液;

[0029] 进一步地,用含有 Tween 的 PBS 作为洗液,对第五步中反应后的酶标板洗涤 4 次,向酶标板每个孔中加入配制好的发光液,在 1-10 分钟内用 CCD 成像仪拍照成像;

[0030] 进一步地,由与 CCD 成像仪配套的图象分析软件将拍摄的图像处理成 IDV 值;

[0031] 进一步地,根据 IDV 值绘制标准曲线,并且计算出样本浓度结果;

[0032] 第七步,运用 softMax 回归模型和 Excel 表格对样本浓度结果进行计算和统计学

分析,经综合分析,对该多份病人血清样本的检测结果为 100% 阳性,即敏感性为 100%。

[0033] 如上所述的同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒的制备方法,其中,第一步中,用全自动点样仪点样,是将四种抗体点置在 ELISA 孔板内的距离板孔中心等距离矩形的四个边缘交叉点上,形成矩形阵列化的捕获表面。

[0034] 如上所述的同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒的制备方法,其中,第一步中的酶标板的表面经过等离子化且四壁经过镀膜处理。

[0035] 本发明的有益效果是:

[0036] 1. 本发明实现了多因子的同时检测,提高了检测效率,节约了检测成本,使患者易于接受,并且节省了样本用量,避免了因样本量不足无法完成多次单项检测的弊端。

[0037] 2. 本发明对于四种特异性因子的定量检测,检测限能够达到 0.1pg/ml,从而具有更高的检测灵敏度,能够定量的检测低丰度和下调表达的生物标志物。

[0038] 3. 本发明将线性范围从现有的 2-31log 提高到了 4-51log,从而具有更宽的线性范围,宽的线性范围能够定量的检测上调和下调两种情况下的因子,能够更好的评价效率。

[0039] 4. 本发明率先将矩形阵列运用到抑郁症的生物标志物检测中,将抗体探针点置在 ELISA 孔板内的矩形圈顶点上,形成矩形阵列化的捕获表面,从而获得一致性好的抗体阵列,促使了反应更加均匀、稳定,数据重复性好。

[0040] 5. 本发明通过通过矩形阵列设计与板处理技术,使不同的探针位点之间具有非常高的一致性,这两种技术的结合使产品的检测数据具有非常高的重复性,能够提高诊断的准确程度。

[0041] 6. 本发明的四种抑郁症标志物结合在经过等离子处理的酶标板上,能增强与抗体蛋白的有效结合,并且四壁是通过镀膜处理的,使其不会结合蛋白,从而降低非特异结合对背景的影响,提高灵敏性。

附图说明

[0042] 下面结合附图和具体实施方式来详细说明本发明:

[0043] 图 1 是本发明 BDMP 根据 IDV 值绘制的标准曲线。

[0044] 图 2 是本发明 EGF 根据 IDV 值绘制的标准曲线。

[0045] 图 3 是本发明 MPO 根据 IDV 值绘制的标准曲线。

[0046] 图 4 是本发明 Prolactin 根据 IDV 值绘制的标准曲线。

具体实施方式

[0047] 为了使本发明的技术手段、创作特征、达成目的与功效易于明白了解,下面结合具体图示,进一步阐述本发明。

[0048] 本发明提供了同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒,包括:

[0049] 试剂盒、并且该试剂盒内含有用脑源性神经营养因子 BDNF、表皮生长因子 EGF、髓过氧化物酶 MPO、和催乳素 Prolactin 四种抗原及相应抗体以矩形阵列排布包被的表面经过等离子化且四壁经过镀膜处理的酶标板、稀释液、一份阳性血清对照样本、一份阴性血清对照样本、洗涤剂、生物素化的检测抗体、酶 SA-HRP、发光液。

[0050] 同时检测四种抑郁症标志物的发光试剂盒的制备方法,具体步骤如下:

- [0051] 第一步,制备抗体包被的酶标板 ;
- [0052] 配制含有脑源性神经营养因子 BDNF、表皮生长因子 EGF、髓过氧化物酶 MPO、和催乳素 Prolactin 为 100000-20000000ng/mL 于 0.01-0.1mol/l 的磷酸盐缓冲溶液中 ;
- [0053] 进一步地,用全自动点样仪提取 10-100n1 的上述含有四种特异性因子的磷酸盐缓冲溶液,点样于用等离子处理过的酶标板的孔中 ;
- [0054] 用全自动点样仪点样,是将四种抗体点置在 ELISA 孔板内的距离板孔中心等距离矩形的四个边缘交叉点上,形成矩形阵列化的捕获表面 ;
- [0055] 进一步地,将点样好的酶标板置于 2-8℃ 的温度下包被 16-24 小时 ;
- [0056] 第二步,对第一步中酶标板分别进行浇注、封闭、洗涤、晾干后,再保存起来待用 ;
- [0057] 首先,向 PH 值为 7.4±0.2 的磷酸盐缓冲液中,依次加入 0-0.05% 的聚氧乙烯山梨醇单月桂酸单脂 Tween20 和 3% 的牛血清白蛋白 BSA,搅拌均匀后,向第一步中的酶标板中浇注 ;或向 PH 值为 7.4±0.2 的磷酸盐缓冲液中,依次加入 0-0.05% 的聚氧乙烯山梨醇单月桂酸单脂 Tween20 和 5-10% 的脱脂奶粉,搅拌均匀后,向第一步中的酶标板中浇注 ;
- [0058] 进一步地,将该浇注好的酶标板放在 2-8℃ 的温度下封闭放置 16-24 小时或者放在 37℃ 下封闭放置 2±0.5 小时,或者室温封闭 3±0.5 小时 ;
- [0059] 进一步地,用含有非离子型表面活性剂 Tween20 的 PBS 溶液对封闭好的酶标板进行洗涤、晾干后,置于 2-8℃ 的温度下保存待用 ;
- [0060] 第三步,上样,并将酶标板放入孵育振荡器中孵育 ;
- [0061] 首先,取 38 份病人的血清样本、1 份经筛查过的正常人的阴性对照样本和 1 份阳性对照样本 ;
- [0062] 进一步地用 PH 值为 7.4±0.2 的含有 1%BSA、0.05%Tween 的 PBS 样本稀释液进行 1:3 样本稀释 ;再将稀释好的待测样本加入相应于第二步中处理的酶标板孔中 ;进一步地,将加好溶液的酶标板放入孵育振荡器中,在 18-25℃ 的室温条件下反应 1 小时 ;
- [0063] 第四步,加入检测抗体并孵育 ;
- [0064] 用含有 Tween 的 PBS 作为洗液,对第三步中反应后的酶标板洗涤后,再分别向酶标板的每个孔中加入检测抗体 ;放入孵育振荡器于转速 500rpm,室温 18-25℃ 反应 0.5 小时 ;
- [0065] 第五步,加入 SA-HRP 并孵育
- [0066] 用含有 0.05%Tween 的 PBS 作为洗液,对第四步中反应后的酶标板洗涤 4 次,再以 1:10000 对试剂盒中 SA-HRP 进行稀释后,分别向酶标板的每个孔中加入 50 μ l 稀释后的溶液,放入孵育振荡器于转速 500rpm,室温 18-25℃ 反应 0.5 小时 ;
- [0067] 第六步,用 CCD 成像仪拍摄成像,并结合图像分析软件计算出图像的 IDV 值,根据 IDV 值绘制标准曲线,并且计算出样本浓度结果 ;
- [0068] 首先,将稳定的过氧化物酶溶液与含增强剂的鲁米诺底物溶液以 1:1 混合配制成发光液 ;
- [0069] 进一步地,用含有 0.05%Tween 的 PBS 作为洗液,对第五步中反应后的酶标板洗涤 4 次,向酶标板每个孔中加入 50 μ l 配制好的发光液,在 1-10 分钟内用 CCD 成像仪拍照成像 ;
- [0070] 进一步地,由与 CCD 成像仪配套的图象分析软件将拍摄的图像处理成 IDV 值 ;
- [0071] 进一步地,根据 IDV 值绘制标准曲线,图 1 是本发明 BDMP 根据 IDV 值绘制的标准

曲线,图 2 是本发明 EGF 根据 IDV 值绘制的标准曲线,图 3 是本发明 MPO 根据 IDV 值绘制的标准曲线,图 4 是本发明 Prolactin 根据 IDV 值绘制的标准曲线,并且根据标准曲线计算出样本浓度结果,如表一:

[0072]

	BDNF 浓度 (pg/ml)	EGF 浓度 (pg/ml)	MPO 浓度 (pg/ml)	Prolactin 浓度 (pg/ml)
阳性对照样本	3659.1±919.1	279.7±140.6	78714.4±20351.3	6156.9±1467.9
正常血清样本	1088.1±74.9	15.7±1.4	2497.1±47.3	166.4±0.9

[0073] 第七步,运用 softMax 回归模型和 Excel 表格对样本浓度结果进行计算和统计学分析,经综合分析,对该 38 份病人血清样本的检测检测结果为 100% 阳性,即敏感性为 100%。

[0074] 本发明实现了多因子的同时检测,提高了检测效率,节约了检测成本,使患者易于接受,并且节省了样本用量,避免了因样本量不足无法完成多次单项检测的弊端。

[0075] 本发明对于四种特异性因子的定量检测,检测限能够达到 0.1pg/ml,从而具有更高的检测灵敏度,能够定量的检测低丰度和下调表达的生物标志物。

[0076] 本发明将线性范围从现有的 2-31log 提高到了 4-51log,从而具有更宽的线性范围,宽的线性范围能够定量的检测上调和下调两种情况下的因子,能够更好的评价效率。

[0077] 本发明率先将矩形阵列运用到抑郁症的生物标志物检测中,将抗体探针点置在 ELISA 孔板内的矩形圈顶点上,形成矩形阵列化的捕获表面,从而获得一致性好的抗体阵列,促使了反应更加均匀、稳定,数据重复性好。

[0078] 本发明通过矩形阵列设计和板处理技术,使不同的探针位点之间具有非常高的一致性,这两种技术的结合使产品的检测数据具有非常高的重复性,能够提高诊断的准确程度。

[0079] 本发明的四种抑郁症标志物结合在经过等离子处理的酶标板上,能增强与抗体蛋白的有效结合,并且四壁是通过镀膜处理的,使其不会结合蛋白,从而降低非特异结合对背景的影响,提高灵敏性。

[0080] 以上显示和描述了本发明的基本原理、主要特征和本发明的优点。本行业的技术人员应该了解,本发明不受上述实施例的限制,上述实施例和说明书中描述的只是说明本发明的原理,在不脱离本发明精神和范围的前提下本发明还会有各种变化和改进,这些变化和进步都落入要求保护的本发明范围内。本发明要求保护范围由所附的权利要求书及其等同物界定。

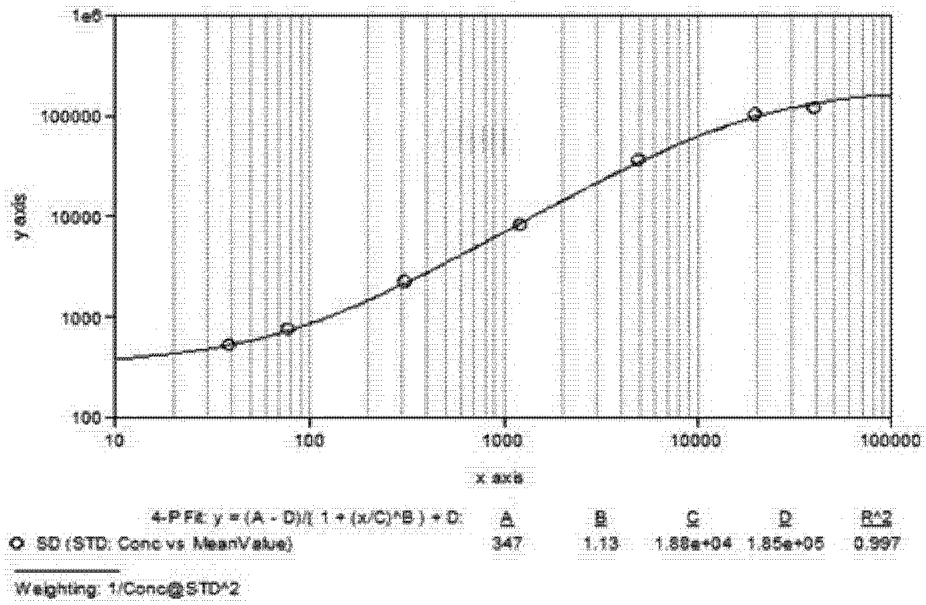


图 1

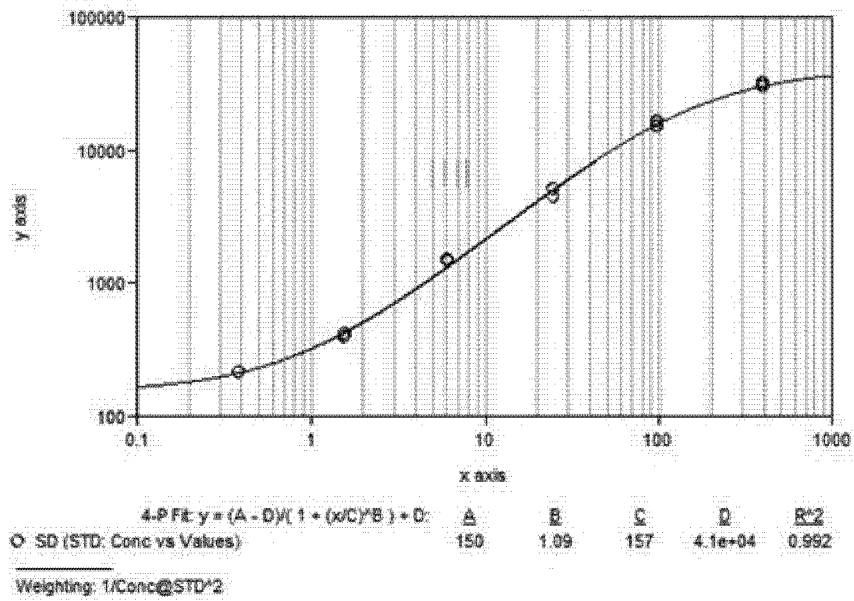


图 2

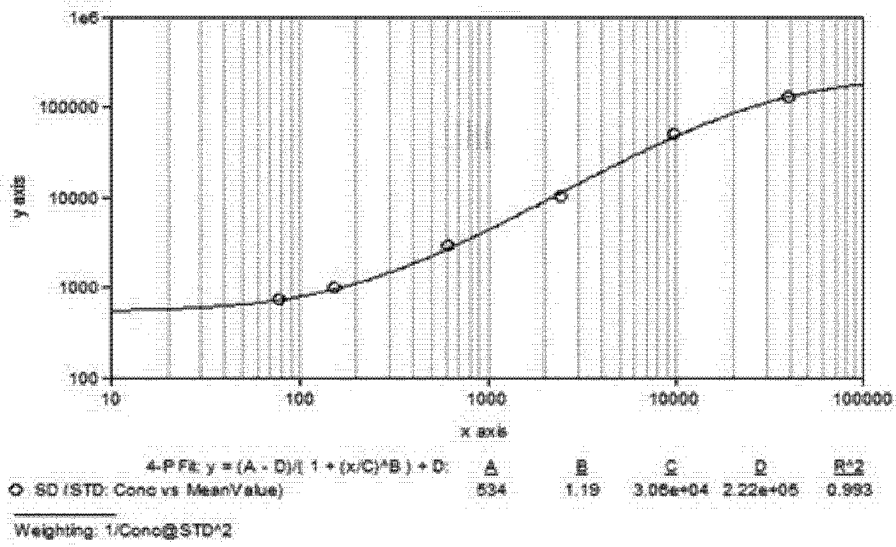


图 3

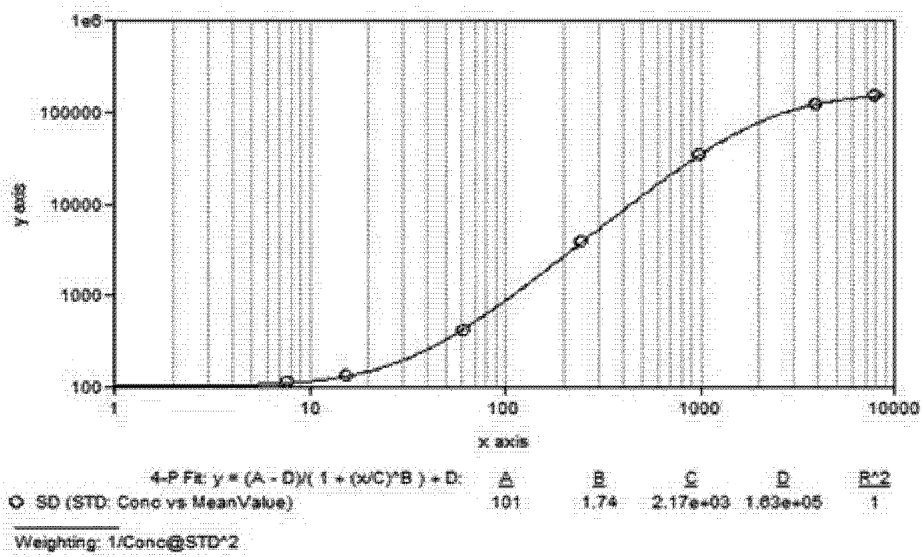


图 4

专利名称(译)	同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN104749354A	公开(公告)日	2015-07-01
申请号	CN201310744910.6	申请日	2013-12-30
[标]申请(专利权)人(译)	点亮生物科技无锡有限公司		
申请(专利权)人(译)	点亮生物科技无锡有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	点亮生物科技无锡有限公司		
[标]发明人	章登吉 程禹 段新伟 张波		
发明人	章登吉 程禹 段新伟 张波		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/535		
其他公开文献	CN104749354B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及免疫检测技术领域，提供了同时检测四种抑郁症标志物的试剂盒及其制备方法，包括制备抗体包被；对第一步中酶标板分别进行浇注、封闭、洗涤、晾干后，再保存起来待用；上样，并将酶标板放入孵育振荡器中孵育后加入检测抗体；加入酶SA-HRP于板孔中继续孵育；用CCD成像仪拍摄成像，并结合图像分析软件计算出图像的IDV值，根据IDV值绘制标准曲线，并且计算出样本浓度结果；运用softMax回归模型和Excel表格对样本浓度结果进行计算和统计学分析。本发明有效解决了工艺繁复、不利于操作、灵敏度低的问题。

