



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107860914 A

(43)申请公布日 2018.03.30

(21)申请号 201711020875.8

G01N 21/76(2006.01)

(22)申请日 2017.10.27

(71)申请人 江苏浩欧博生物医药股份有限公司

地址 215123 江苏省苏州市苏州市工业园区星湖街218号生物纳米园C6栋101

(72)发明人 李庆春 崔利歌 柳乐 赵婷

黎静雯 杨苏清 徐乐

(74)专利代理机构 苏州创元专利商标事务所有

限公司 32103

代理人 汪青

(51)Int.Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

G01N 35/00(2006.01)

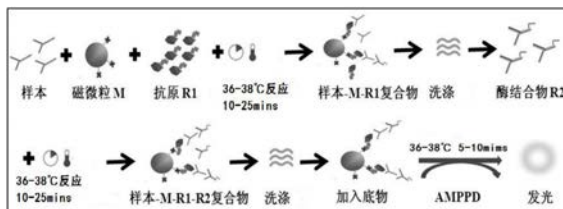
权利要求书2页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒及其检测方法

(57)摘要

本发明公开了一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,其特征在于,包括第一试剂、第二试剂、磁微粒分离试剂、化学发光底物、校准品、质控品以及清洗液,所述第一试剂为包含偶联有生物素的M2抗原的溶液,部分所述M2抗原为天然提取的M2抗原,其余部分为重组M2抗原;所述第二试剂为包含偶联有碱性磷酸酶的抗人IgG抗体的溶液。本发明检测试剂盒的第一试剂中多来源抗原之间的互补性大大提高临床灵敏度以及线性范围;本发明完成所有流程出结果时间标准为50min,相比酶联免疫吸附法大大缩短了反应时间。



1. 一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,其特征在于,包括第一试剂、第二试剂、磁微粒分离试剂、化学发光底物、校准品、质控品以及清洗液,所述第一试剂为包含偶联有生物素的M2抗原的溶液,部分所述M2抗原为天然提取的M2抗原,其余部分为重组M2抗原;所述第二试剂为包含偶联有碱性磷酸酶的抗人IgG抗体的溶液。

2. 根据权利要求1所述的一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,其特征在于,所述天然提取的M2抗原与所述重组M2抗原的质量比为1:0.25-2。

3. 根据权利要求1所述的一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,其特征在于,所述磁微粒分离试剂为表面偶联有亲和素的磁微粒悬浮液,所述亲和素为链霉亲和素,所述磁微粒的直径为0.1-5 μm 。

4. 根据权利要求1所述的一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,其特征在于,所述化学发光底物为AMPPD和增强剂的混合物。

5. 根据权利要求1所述的一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,其特征在于,所述第一试剂中的制备方法如下:

步骤1:将天然提取的M2抗原制备成生物素化的天然提取的M2抗原,保存备用;

步骤2:将重组M2抗原制备成生物素化的重组M2抗原,保存备用;

步骤3:将步骤1中制备的生物素化的天然提取的M2抗原与步骤2中制备的生物素化的重组M2抗原混合,并用pH为7-7.5的磷酸盐缓冲液稀释,即得所述的第一试剂,所述第一试剂中M2抗原的浓度为1-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

6. 根据权利要求5所述的一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,其特征在于,步骤1中,将天然提取的M2抗原与N-羟基琥珀酰亚胺活化的生物素混合,在15-40 $^{\circ}\text{C}$ 下静置20-40min,加入物质的量浓度为0.01-0.11 mol/L 的三羟甲基氨基甲烷缓冲液,在15-40 $^{\circ}\text{C}$ 下静置10-20min,再加入甘油,获得生物素化的天然提取的M2抗原,在-30-0 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

7. 根据权利要求5所述的一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,其特征在于,步骤2中,将重组M2抗原与N-羟基琥珀酰亚胺活化的生物素混合,在15-40 $^{\circ}\text{C}$ 下静置20-40min,加入物质的量浓度为0.01-0.11 mol/L 的三羟甲基氨基甲烷缓冲液,在15-40 $^{\circ}\text{C}$ 下静置10-20min,再加入甘油,获得生物素化的重组M2抗原,在-30-0 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

8. 根据权利要求1所述的一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,其特征在于,所述第二试剂的制备方法如下:

步骤1:将抗人IgG抗体加入偶联剂2-亚胺基硫烷盐酸盐中,静置后加入甘氨酸溶液,再静置后收集活化的抗人IgG抗体,保存备用;

步骤2:将碱性磷酸酶溶液加入到4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯溶液中,静置后收集活化的碱性磷酸酶,保存备用;

步骤3:将活化后的抗人IgG抗体和活化后的碱性磷酸酶混合,静置后纯化,获得连接物浓溶液,保存备用;

步骤4:将所述连接物浓溶液用缓冲液稀释,即得所述的第二试剂,所述第二试剂中碱性磷酸酶标记的抗人IgG抗体的浓度为0.1-2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

9. 根据权利要求8所述的一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,其特征在于,步骤4中所述缓冲液为含质量比为0.1-3%的牛血清白蛋白、pH为7.8-8.0的三羟甲基氨基甲烷缓冲液。

10. 一种如权利要求1所述的试剂盒检测抗线粒体抗体IgG含量的检测方法,其特征在

于,包括以下步骤:

步骤1:在检测管中依次加入所述磁微粒分离试剂与第一试剂,然后加入待测样本,混匀,进行第一次温育,其中所述待测磁微粒分离试剂、第一试剂和样本的体积比为1:0.5-2:0.2-0.5;

步骤2:添加磁场,使步骤1温育后的体系在磁场中沉降,去除上清液,用所述清洗液清洗多次;

步骤3:去除磁场,然后向步骤2中清洗后的体系中加入所述第二试剂,混匀,进行第二次温育,所述待测样本与第二试剂的体积比为1:4-8;

步骤4:重复步骤2进行再次清洗,去除上清液,去除磁场,然后加入所述化学发光底物,充分混悬后在36-38℃下温育5-10min检测相对发光强度值。

一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒及其检测方法

技术领域

[0001] 本发明属于体外诊断技术领域,具体涉及一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒及使用该检测试剂盒的检测方法。

背景技术

[0002] 抗线粒体抗体(Anti-Mitochondrial Antibody;AMA)的主要靶抗原为线粒体呼吸链上的丙酮酸脱氢酶复合物。九个分子被认为是AMA的靶抗原,分别为M1-M9,其中M2为主要靶抗原。

[0003] AMA-M2抗体对原发性胆汁性肝硬化(Primary Biliary Cirrhosis;PBC)具有极高的特异性,在大约90%的PBC患者中可检测到,该自身抗体被一致认为是原发性胆汁性肝硬化(PBC)的高度特异性抗体。

[0004] 目前,对于AMA-M2抗体检测方法主要为间接免疫荧光法和酶联免疫吸附法。

[0005] 间接免疫荧光法(Indirect Immunofluorescence;IIF)的基本原理是用特异性的抗体与切片中的抗原结合后,用间接荧光抗体,与前面的抗原抗体复合物结合,形成抗原抗体荧光复合物。在荧光显微镜下,根据复合物的发光情况来确定所检测的抗原。该方法由于结合在抗原抗体复合物上的荧光素抗体增多,发出的荧光亮度强,因而其敏感性强。但是具有以下不足:(1)在分析结果时无法根据分子量的大小区分非特异性识别;(2)操作相对复杂,需要价格较昂贵的荧光显微镜,在很多基层医院难以推广,也不太适用于标本量较多的实验室;(3)荧光测定中的本底较高,荧光免疫技术用于定量测定有一定困难;(4)结果判定需要有经验的专业人员,分析结果的客观性不足。

[0006] 酶联免疫吸附法(Enzyme Linked Immunosorbent Assay;ELISA)检测AMA-M2,具有简便易行、特异性高的优点,与间接免疫荧光法联合检测,可为临床上对PBC的诊断和治疗提供更为客观的实验依据。但与其他生物检测或免疫检测比较,酶联免疫吸附法的测定方法、技术、工具或产品仍有较多的不足而使其应用受限,这些不足主要包括以下几个方面:(1)检测试剂在检测过程中为开放方式,容易引起各种试剂之间的交叉污染而影响检测结果;(2)酶联免疫吸附法多采用辣根过氧化物酶进行检测,其检测范围和灵敏度都较低;(3)酶联免疫吸附法的检测时间通常反应是一件较长,完成一个测试所需的总时间一般在2h以上,不能完全满足临床上的快速诊断的需求;(4)酶联免疫吸附法不能随机进样检测,检测结果存在滞后性。

[0007] 近年来,纳米磁微粒化学发光检测技术得到了广泛使用,将其应用到检测抗线粒体抗体中,不仅能具有酶联免疫吸附法的所有优点,并且灵敏度更高,线性范围更宽。

[0008] 如中国专利申请号201510783072.2,专利名称“一种使用磁微粒化学发光定量检测抗M2-3E抗体IgG的试剂盒及其制备方法和检测方法”的发明专利,其将磁微粒化学发光定量检测技术应用于抗M2-3E抗体的检测中,实现了灵敏度和线性范围的提升,但是其并没有公开抗原的来源。而本案发明人在研究过程中发现,抗原的来源对检测的灵敏度有着非常重要的影响,且多种来源组成的混合抗原可以更加显著地提高检测的灵敏度和线性范

围。

发明内容

[0009] 有鉴于此,为了达到上述目的,本发明提供了一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,其中的第一试剂的多种来源抗原之间的互补性大大提高了该检测试剂盒的临床灵敏度以及线性范围,该试剂盒灵敏度高、特异性强。

[0010] 为了达到上述目的,本发明采用以下的技术方案:

[0011] 一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,包括第一试剂、第二试剂、磁微粒分离试剂、化学发光底物、校准品、质控品以及清洗液,所述第一试剂为包含偶联有生物素的M2抗原的溶液,部分所述M2抗原为天然提取的M2抗原,其余部分为重组M2抗原;所述第二试剂为包含偶联有碱性磷酸酶的抗人IgG抗体的溶液。所述的重组M2抗原为经过重组方法表达并提取的M2抗原。

[0012] 优选地,所述天然提取的M2抗原与所述重组M2抗原的质量比为1:0.25-2。

[0013] 优选地,所述磁微粒分离试剂为表面偶联有亲和素的磁微粒悬浮液,所述亲和素为链霉亲和素,所述磁微粒的直径为0.1-5 μ m。

[0014] 优选地,所述化学发光底物为AMPPD和增强剂的混合物。

[0015] 优选地,所述第一试剂中的制备方法如下:

[0016] 步骤1:将天然提取的M2抗原制备成生物素化的天然提取的M2抗原,保存备用;

[0017] 步骤2:将重组M2抗原制备成生物素化的重组M2抗原,保存备用;

[0018] 步骤3:将步骤1中制备的生物素化的天然提取的M2抗原与步骤2中制备的生物素化的重组M2抗原混合,并用pH为7-7.5的磷酸盐缓冲液稀释,即得所述的第一试剂,所述第一试剂中M2抗原的浓度为1-5 μ g/mL。

[0019] 更加优选地,步骤1中,将天然提取的M2抗原与N-羟基琥珀酰亚胺活化的生物素混合,在15-40 $^{\circ}$ C下静置20-40min,加入物质的量浓度为0.01-0.11mol/L的三羟甲基氨基甲烷缓冲液,在15-40 $^{\circ}$ C下静置10-20min,再加入甘油,获得生物素化的天然提取的M2抗原,在-30-0 $^{\circ}$ C保存备用。

[0020] 更加优选地,步骤2中,将重组M2抗原与N-羟基琥珀酰亚胺活化的生物素混合,在15-40 $^{\circ}$ C下静置20-40min,加入物质的量浓度为0.01-0.11mol/L的三羟甲基氨基甲烷缓冲液,在15-40 $^{\circ}$ C下静置10-20min,再加入甘油,获得生物素化的重组M2抗原,在-30-0 $^{\circ}$ C保存备用。

[0021] 优选地,所述第二试剂的制备方法如下:

[0022] 步骤1:将抗人IgG抗体加入偶联剂2-亚胺基硫烷盐酸盐中,在15-40 $^{\circ}$ C下静置18-25min,加入甘氨酸溶液,在15-40 $^{\circ}$ C下静置4-5min,用G-25凝胶柱除盐,收集活化的抗人IgG抗体,2-8 $^{\circ}$ C保存备用;

[0023] 步骤2:将碱性磷酸酶溶液加入到4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯溶液中,在15-40 $^{\circ}$ C下静置25-35min,用G-25凝胶柱除盐,收集活化的碱性磷酸酶,2-8 $^{\circ}$ C保存备用;

[0024] 步骤3:将活化后的抗人IgG抗体和活化后的碱性磷酸酶混合,在2-8 $^{\circ}$ C下静置12-24h,用Superdex200凝胶纯化柱纯化,获得连接物浓溶液,2-8 $^{\circ}$ C保存备用;

[0025] 步骤4:将所述连接物浓溶液用缓冲液稀释,即得所述的第二试剂,所述第二试剂中碱性磷酸酶标记的抗人IgG抗体的浓度为0.1-2.5 μ g/mL。

[0026] 更加优选地,步骤4中所述缓冲液为含质量比为0.1-3%的牛血清白蛋白、pH为7.8-8.0、物质的量浓度为0.01-0.11mol/L的三羟甲基氨基甲烷缓冲液。

[0027] 本发明还提供了一种如上所述的试剂盒检测抗线粒体抗体IgG含量的检测方法,包括以下步骤:

[0028] 步骤1:在检测管中依次加入所述磁微粒分离试剂与第一试剂,然后加入待测样本,混匀,在36-38 $^{\circ}$ C下第一次温育10-25min,其中所述待测磁微粒分离试剂、第一试剂和样本的体积比为1:0.5-2:0.2-0.5;

[0029] 步骤2:添加磁场,使步骤1温育后的体系在磁场中沉降,去除上清液,用所述清洗液清洗3-5次;

[0030] 步骤3:去除磁场,然后向步骤2中清洗后的体系中加入所述第二试剂,混匀,在36-38 $^{\circ}$ C下第二次温育10-25min,所述待测样本与第二试剂的体积比为1:4-8;

[0031] 步骤4:重复步骤2进行再次清洗,去除上清液,去除磁场,然后加入所述化学发光底物,充分混悬后在36-38 $^{\circ}$ C下温育5-10min检测相对发光强度值

[0032] 相较于现有技术,本发明的一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒的有益效果在于:本发明试剂盒的抗原试剂中抗原为偶联有生物素的混合M2抗原,混合M2抗原由天然提取的M2抗原和重组M2抗原组合而成,多来源抗原之间的互补性大大提高临床灵敏度以及线性范围;本发明完成所有流程出结果时间标准为50min,相比酶联免疫吸附法大大缩短了反应时间。

附图说明

[0033] 图1为实施例六中抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒的检测原理图;

[0034] 图2为实施例五的抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒的实际检测浓度与理论浓度的线性回归图。

具体实施方式

[0035] 下面结合附图对本发明优选的实施方式进行详细说明。

[0036] 以下实施例中天然提取的M2抗原和重组M2抗原均为市售。

[0037] 实施例一第一试剂的制备

[0038] 1、材料与仪器:

[0039] 材料:天然提取的M2抗原、N-羟基琥珀酰亚胺活化的生物素、三羟甲基氨基甲烷缓冲液、甘油、重组M2抗原、磷酸盐缓冲液

[0040] 仪器:试剂低温保存箱

[0041] 2、制备步骤:

[0042] 步骤1:将0.75mg天然提取的M2抗原与0.04mgN-羟基琥珀酰亚胺活化的生物素混合,在30 $^{\circ}$ C下静置25min;

[0043] 步骤2:加入12 μ L的物质的量浓度为0.05mol/L的三羟甲基氨基甲烷缓冲液,在30 $^{\circ}$ C下静置15min,再加入350 μ L的甘油,获得生物素化的天然提取的M2抗原,在-20 $^{\circ}$ C保存备

用；

[0044] 步骤3:将0.75mg通过重组M2抗原与0.04mgN-羟基琥珀酰亚胺活化的生物素混合,在30℃下静置25min;

[0045] 步骤4:加入12uL的物质的量浓度为0.05mol/L的三羟甲基氨基甲烷缓冲液,在30℃下静置15min,再加入350uL的甘油,获得生物素化的重组的M2抗原,在-20℃保存备用;

[0046] 步骤5:用pH为7-7.5、物质的量浓度为0.01mol/L的磷酸盐缓冲液将生物素化的天然提取的M2抗原与生物素化的重组M2抗原稀释成浓度为2ug/mL的混合溶液,即得第一试剂。

[0047] 实施例二第二试剂的制备

[0048] 1、材料与仪器:

[0049] 材料:抗人IgG抗体、2-亚胺基硫烷盐酸盐偶联剂、甘氨酸、碱性磷酸酶、三羟甲基氨基甲烷缓冲液

[0050] 仪器:试剂低温保存箱、G-25凝胶柱、Supperdex200凝胶纯化柱

[0051] 2、制备步骤:

[0052] 步骤1:将3mg抗人IgG抗体加入到40mL浓度为10mg/mL的2-亚胺基硫烷盐酸盐偶联剂中,在20℃下静置20min;

[0053] 步骤2:加入2mL的0.08mol/L甘氨酸溶液,在20℃下静置4min,用G-25凝胶柱除盐,收集活化后抗人IgG抗体,5℃保存备用;

[0054] 步骤3:将3mg碱性磷酸酶溶液加入到4mg/mL的4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯溶液中,在25℃下静置30min,用G-25凝胶柱除盐,收集活化后碱性磷酸酶,5℃保存备用;

[0055] 步骤4:将活化后的抗人IgG抗体和活化后的碱性磷酸酶混合,在5℃下静置20h,用Supperdex200凝胶纯化柱纯化,获得连接物浓溶液,在5℃保存备用;

[0056] 步骤5:将所述连接物浓溶液用含质量比为1%的牛血清白蛋白、pH为7.8-8.0、物质的量浓度为0.05mol/L的三羟甲基氨基甲烷缓冲液稀释到含碱性磷酸酶标记的抗人IgG抗体的浓度为1μg/mL,即得第二试剂。

[0057] 实施例三校准品的制备

[0058] 1、材料与仪器:

[0059] 材料:抗线粒体抗体、磷酸盐缓冲液、标准品;

[0060] 2、制备步骤:

[0061] 选取抗线粒体抗体,用pH为7-7.5、物质的量浓度为0.01mol/L的磷酸盐缓冲液按一定的比例稀释,参照标准品,配制成浓度分别为20RU/mL与200RU/mL的校准品。

[0062] 实施例四质控品的制备

[0063] 1、材料与仪器:

[0064] 材料:抗线粒体抗体、磷酸盐缓冲液、标准品;

[0065] 2、制备步骤:

[0066] 选取抗线粒体抗体,用pH为7-7.5、物质的量浓度为0.01mol/L的磷酸盐缓冲液按一定的比例稀释,参照标准品,配制成浓度分别为10RU/mL与80RU/mL的质控品。

[0067] 实施例五一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒

- [0068] 本实施例中的一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒,包括:
- [0069] 按照实施例一方法制备的第一试剂(浓度为1-5 μ g/mL),5mL;
- [0070] 按照实施例二方法制备的第二试剂(浓度为0.1-2.5 μ g/mL),30mL;
- [0071] 磁微粒分离试剂,5mL;
- [0072] 按照实施例三方法制备的校准品,1mL;
- [0073] 按照实施例四方法制备的质控品,1mL。
- [0074] 实施例六试剂盒的测试
- [0075] 实施例五的试剂盒采用全自动化学发光测定仪进行测试,具体包括以下步骤:
- [0076] 步骤1:实施例五的检测试剂盒与相适配的全自动化学发光测定仪配套使用,将试剂盒放入全自动化学发光测定仪试剂仓相应位置,试剂盒信息通过条形码扫描仪输入仪器系统或通过仪器配套软件设定;
- [0077] 步骤2:将校准品置于仪器样本仓,通过条形码扫描仪识别校准品信息,并在仪器系统中分配校准品位置;
- [0078] 步骤3:将质控物/待测样本置于仪器样本仓,通过仪器配套软件编辑相应检测信息;
- [0079] 步骤4:启动运行程序,所有校准品/质控物/待检样本处理步骤将自动执行。
- [0080] 当检测试剂盒配合全自动化学发光测定仪配套使用时,从稀释、加样、孵育、清洗以及检测步骤均实现了全自动化,可以无人值守流水操作。全自动封闭操作系统,不仅操作简易方便、可靠性高、稳定性好、检测结果重复性好,避免了人为操作带来的结果偏差,同时有效的提高了检测效率及节省人力成本。
- [0081] 对比例一
- [0082] 本对比例与实施例五制备的试剂盒除了第一试剂的抗原来源不同外,其余成分、来源及制备方法均相同。
- [0083] 本对比例的M2抗原为天然提取的M2抗原,即为单一组分的M2抗原。
- [0084] 对比例二
- [0085] 本对比例与实施例五制备的试剂盒除了第一试剂的抗原来源不同外,其余成分、来源及制备方法均相同。
- [0086] 本对比例的M2抗原为重组方法表达提取的M2抗原,即为单一组分的M2抗原。
- [0087] 实施例七
- [0088] 本实施例为对实施例五制备的抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒进行性能评价。
- [0089] 1. 样本对比
- [0090] 用实施例五的试剂盒对200例血清(100例阴性,100例阳性)检测抗线粒体抗体的含量,并与国外知名公司的抗线粒体抗体ELISA检测试剂盒进行临床比对。分别对比实施例五的混合抗原与对比例一和对比例二的单一抗原在符合率之间的差异,结果见下表:
- [0091] 表1临床样本比对符合情况

临床样本		HOB 发光					
		天然抗原		重组抗原		混合抗原	
		阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性
[0092] ELISA	阴性	98	2	97	3	98	2
	阳性	32	68	25	75	2	98
	总数	130	70	122	78	100	100

[0093] 从表1可以看出,实施例五的抗线粒体抗体试剂盒阴性符合率为98% (98/100), 阳性符合率为98% (98/100), 说明本发明的抗线粒体抗体试剂盒临床符合率高, 并且本发明试剂盒检测的浓度值与国外知名公司同类产品检测浓度值具有良好的相关性。

[0094] 2. 灵敏度

[0095] 实施例五的检测试剂盒的LOD为0.338RU/mL, 对比例一的检测试剂盒的LOD为1.2RU/mL, 对比例二的检测试剂盒的LOD为0.8RU/mL, 而酶联免疫法的LOD为2RU/mL。

[0096] 以上结果表明, 采用混合M2抗原的实施例五中的检测试剂盒灵敏度要优于对比例一和对比例二中采用单一组分抗原的灵敏度。

[0097] 3. 线性范围

[0098] 将一份高值血清按照1/2、1/4、1/8、1/16、1/40、1/80、1/200、1/400的比例稀释, 用试剂盒检测稀释样本, 以稀释比例和检测浓度做回归曲线。求出相关系数R的平方值。结果见图2, 结果表明抗线粒体抗体试剂盒的线性相关系数为0.996, 大于0.9900, 斜率为1.018。

[0099] 4. 准确度

[0100] 在一份基础血清上按照9:1的比例分别添加高值血清、中值血清, 各形成2个浓度水平的血清添加样本, 检测样本浓度, 按下述公式计算回收率。本方法的血清加样回收率在85%~115%之间, 数据见表2。

[0101] 加样回收率 = 添加后样本值 / (0.9 * 样本A + 0.1 * 样本B) * 100%

[0102] 式中: 样本A为基础血清, 样本B为添加高值血清、中值血清。

[0103] 表2血清加样回收率

样品值	添加浓度	添加后终浓度	测定平均值	回收率 (%)
	(RU/mL)	(RU/mL)	(RU/mL)	
[0104] 10.21	203.52	29.54	27.26	92
	100.00	19.19	20.56	107

[0105] 5. 精密度

[0106] 用实施例五中的试剂盒对三种不同浓度的质控品进行检测, 每天两次, 分上下午检测, 每次重复4次, 共检测10天, 每种浓度共测定80次, 计算变异系数, 结果表明变异系数在10%以内, 结果见表3。

[0107] 表3精密度结果

[0108]

浓度 (RU/mL)	测定次数	分析间CV (%)
------------	------	-----------

10	80	5.2
20	80	3.1
100	80	6.4

[0109] 6. 稳定性

[0110] 将实施例五中的抗线粒体抗体检测试剂盒37℃放置7天,测定高、中、低3种浓度质控的信号保留率,结果均>85%,表明该试剂盒稳定性好,符合临床要求。

[0111] 7. 特异性

[0112] 在高、中、低不同浓度值的血清添加不同浓度的胆红素、血红蛋白、甘油三酯、类风湿因子、人抗小鼠抗体后进行检测,检测结果见表4。

[0113] 表4特异性结果

[0114]

干扰物	添加浓度	交叉反应率(%)
胆红素	20mg/dL	0.25
血红蛋白	1000mg/dL	0.67
甘油三酯	2000mg/dL	0.53
人抗小鼠抗体	2000ng/mL	0.71
类风湿因子	1000IU/mL	1.23

[0115] 表4的结果表明,以上各添加物质对实施例五的抗线粒体抗体检测试剂盒的检测结果没有影响。

[0116] 上述实施例只为说明本发明的技术构思及特点,其目的在于让熟悉此项技术的人士能够了解本发明的内容并据以实施,并不能以此限制本发明的保护范围,凡根据本发明精神实质所作的等效变化或修饰,都应涵盖在本发明的保护范围之内。

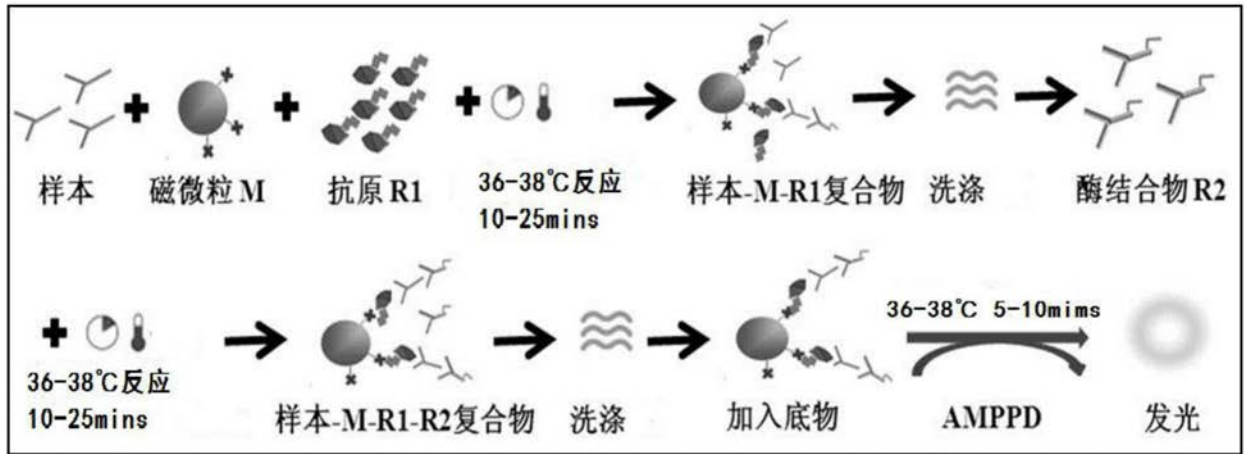


图1

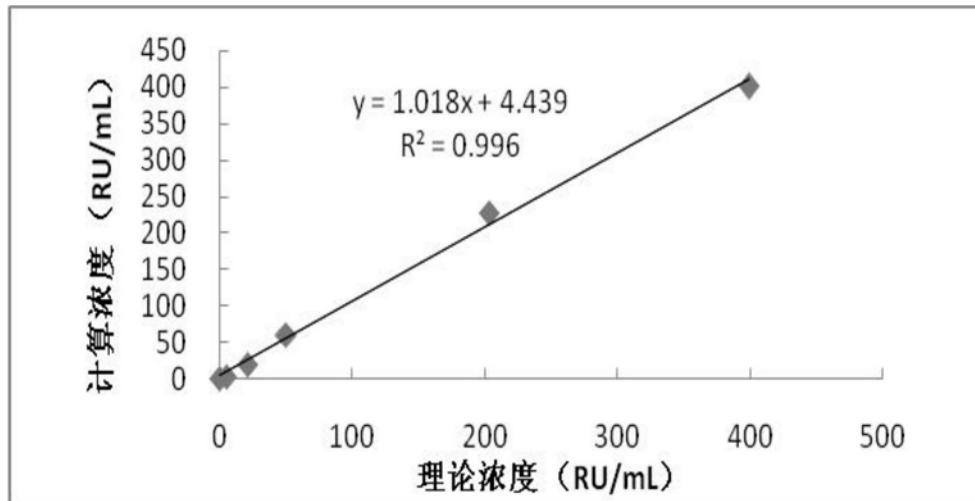


图2

专利名称(译)	一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒及其检测方法		
公开(公告)号	CN107860914A	公开(公告)日	2018-03-30
申请号	CN2017111020875.8	申请日	2017-10-27
[标]发明人	李庆春 崔利歌 柳乐 赵婷 黎静雯 杨苏清 徐乐		
发明人	李庆春 崔利歌 柳乐 赵婷 黎静雯 杨苏清 徐乐		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/531 G01N33/535 G01N35/00 G01N21/76		
CPC分类号	G01N33/54326 G01N21/76 G01N33/531 G01N33/535 G01N35/00		
代理人(译)	汪青		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种抗线粒体抗体IgG的检测试剂盒，其特征在于，包括第一试剂、第二试剂、磁微粒分离试剂、化学发光底物、校准品、质控品以及清洗液，所述第一试剂为包含偶联有生物素的M2抗原的溶液，部分所述M2抗原为天然提取的M2抗原，其余部分为重组M2抗原；所述第二试剂为包含偶联有碱性磷酸酶的抗人IgG抗体的溶液。本发明检测试剂盒的第一试剂中多来源抗原之间的互补性大大提高临床灵敏度以及线性范围；本发明完成所有流程出结果时间标准为50min，相比酶联免疫吸附法大大缩短了反应时间。

