

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510032367.2

[51] Int. Cl.

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 33/531 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

[43] 公开日 2006年5月17日

[11] 公开号 CN 1773283A

[22] 申请日 2005.11.11

[21] 申请号 200510032367.2

[71] 申请人 袁 洪

地址 410013 湖南省长沙市桐梓坡路 138 号
中南大学湘雅三医院实验中心

共同申请人 阎宏伟 黄志军

[72] 发明人 袁 洪 阎宏伟 黄志军

[74] 专利代理机构 湖南兆弘专利事务所

代理人 赵 洪

权利要求书 1 页 说明书 8 页 附图 2 页

[54] 发明名称

一种与预测心脑血管病发生相关的蛋白标志物的集成检测方法

[57] 摘要

本发明涉及与心脑血管病发生相关的蛋白标志物的检测技术。集成检测技术是指对同一样品一次检测多种与心脑血管病发生相关的蛋白标志物，本发明采用液相芯片法，在聚苯乙烯荧光微珠上包被心脑血管病事件相关蛋白质标志物的相应抗体，用来捕捉被测液体中对应的蛋白标志物，并利用各蛋白标志物的检测抗体来测定样品中各蛋白标志物的浓度，集成检测能在较短的时间内准确的获得多个指标的信息，与单一指标的免疫比浊法比较，灵敏度在 80% 以上，特异度在 90% 以上，因此集成检测可以为准确预测心脑血管病的发生提供全面的依据，明显提高对心脑血管病发生预测的准确率。

1、一种与预测心脑血管病发生相关的蛋白标志物的集成检测方法，包括相关蛋白标志物的确定，捕捉抗体的制备，检测抗体的制备以及样品的测定，本发明的特征在于：

(1) 检测样品采用的相关蛋白标志物为与心脑血管病相关的 hs-CRP、Hcy、脂蛋白(a)、TpP、D-二聚体、纤维蛋白原和 vWF 中的三种或三种以上蛋白标志物；

(2) 捕捉抗体的制备，将确定的三种或三种以上蛋白标志物的单抗包被在聚苯乙烯荧光微珠固体基质上，用羊抗鼠 IgG-生物素测定抗体的包被效率；

(3) 检测抗体的制备，另将上述三种或三种以上蛋白标志物另一不同抗原表位的单抗加入 BAC-S-NHS，进行生物素标记，纯化后测定抗体含量，计算生物素标记效率；

(4) 样品的测定：

[1] 包被好抗体的蛋白标志物微珠悬液于 96 孔抽滤板的液相体系中，

[2] 抽滤板中分别加入血清样品或蛋白标志物不同浓度的抗原标准品，

[3] 加入生物素标记的蛋白标志物的检测抗体，

[4] PE 染色后液相蛋白芯片阅读器检测。

一种与预测心脑血管病发生相关的蛋白标志物的集成检测方法

技术领域

本发明涉及蛋白质的检测技术，具体涉及与心脑血管病发生相关的蛋白标志物的检测技术。

背景技术

心脑血管疾病是危害我国人民身体健康最主要的因素之一。随着高危人群的大量增加，快速准确地预测心脑血管病的发生以及判断心脑血管病的预后情况成为迫切需要解决的难题。以往认为通过血压、血糖、血脂以及吸烟等传统危险因素就可以评估心脑血管疾病的发病风险，如果只凭传统的危险因素进行评估可能会漏掉 50% 的急性冠脉综合症的患者。随着研究的深入，一些蛋白质作为新的危险因素和标志物成为研究的热点。现代检测技术的进步和蛋白质组学的发展，使从蛋白质标志物着手研究心脑血管病发生的预测工具成为可能。由于现有检测方法如免疫比浊法大部分只能检测单个指标，而单个指标的准确率较低，如果要评估多个指标必须反复作多次实验，不便于临床开展。高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、同型半胱氨酸 (Hcy)、脂蛋白 a (LP (a))、血栓前体蛋白 (TpP)、D-二聚体 (D-dimer)、纤维蛋白原 (Fig)、von Willebrand 因子 (vWF) 等被认为是能够预测冠心病、脑卒中的独立危险因素，要探讨这些蛋白标志物的临床应用价值，阐明其心脑血管疾病事件预测中的综合作用，研究一种高度集成的蛋白质标志物检测技术，将多种指标的检测方法统一在一个平台之上，能够在较短的时间内简便、快捷、准确的获得多个甚至上百个指标的信息，为准确预测心脑血管事件提供全面的依据，及早发现心脑血管病的高危对象，及时进行有效干预，减少心脑血管疾病事件的发生，是一项具有极其重要价值的研究课题。

发明内容

本发明旨在提供一种与预测心脑血管病发生相关的蛋白标志物的集成检测技术，从而简便、快捷地分析人体内与心脑血管事件发生相关的蛋白标志物的变化，以及早发现心脑血管病的高危对象，及时进行有效干预，减少心脑血管事件的发生。

实现上述发明目的技术方案为：一种与预测心脑血管病发生相关的蛋白标志物的集成检测方法，包括相关蛋白标志物的确定，捕捉抗体的制备，检测抗体的制备以及样品的测定，本发明一次检测同一样品中与心脑血管病相关的 hs-CRP、Hcy、LP (a)、TpP、D-dimer、Fig 和 vWF 中的三种或三种以上蛋白标志物，具体步骤为：(1) 捕捉抗体的制

备，将确定的三种或三种以上蛋白标志物的单抗包被在聚苯乙烯荧光微珠固体基质上，用羊抗鼠 IgG-生物素测定抗体的包被效率，(2) 检测抗体的制备，另将上述三种或三种以上蛋白标志物另一不同抗原表位的单抗加入 BAC-S-NHS，进行生物素标记，纯化后测定抗体含量，计算生物素标记效率，(3) 样品的测定：[1] 包被好抗体的蛋白标志物微珠悬液于 96 孔抽滤板的液相体系中，[2] 抽滤板中分别加入血清样品或各种蛋白标志物不同浓度的抗原标准品，[3] 加入生物素标记的蛋白标志物的检测抗体，[4] PE 染色后液相蛋白芯片阅读仪检测。

下面结合附图进一步详述本发明。

附图说明

图 1 与心脑血管病发生相关的蛋白标志物集成检测技术流程图；

图 2 Bio-plex 液相蛋白芯片阅读仪检测包被了单抗的微珠的荧光值；

图 3 过柱收集 10 管标记抗体穿流液的 A280 和 A500 检测；

图 4 紫外-可见光分光光度计检测收集的第 4、5 管标记抗体 A280 和 A500 值；

图 5 紫外分光光度计检测 IgG 抗体浓度为 1mg/ml 时的 A280 值 (E280)；

图 6 生物素标准曲线。

1、与心脑血管病发生相关的蛋白质标志物的确定：

冠心病（心肌梗死、心绞痛）和脑卒中是主要的心脑血管疾病，而 hs-CRP、Hcy、LP (a)、TpP、D-dimer、Fig 和 vWF 被认为是能够预测冠心病、脑卒中的独立危险因素。集成检测技术选择其中 3 种或 3 种以上的蛋白质作为检测标志物。

2、蛋白标志物集成检测技术的设计：

采用液相芯片体系将 3 种或 3 种以上的蛋白标志物单抗包被在不同色彩编号微珠上，将这些微珠悬浮于一个液相体系中，利用这个系统对同一个样品中的 3 种或 3 种以上蛋白标志物同时进行检测，具体检测步骤如下：

液相悬浮微珠法检测步骤：

2.1、多种蛋白标志物单抗的聚苯乙烯荧光微珠包被

取 300~700 μ l 微珠，14000g 离心 4min，弃上清，加入 240~560 μ l 微珠洗涤缓冲液，震荡 30s，50Hz 超声 30s，14000g 离心 4min，弃上清，加入 240~560 μ l 微珠活化缓冲液，震荡 30s，50Hz 超声 30s，加入 30~70 μ l EDC 和 30~70 μ l S-NHS，1400 转震荡 20min，14000g 离心 4min，弃上清，加入 500 μ l ~1ml PBS 洗涤，震荡 30s，50Hz

超声 30s, 14000g 离心 4min, 弃上清, 加入 300~700 μ l PBS 重悬, 分装成 3~7 管, 每管分别加入 3~7 种蛋白标志物单抗各 9 μ g, 补充 PBS 至每管 500 μ l 终体积, 4 $^{\circ}$ C, 1400 转震荡过夜; 14000g 离心 4min, 弃上清, 每管分别加入 500 μ l PBS 洗涤, 加入 250 μ l 封闭缓冲液, 1400 转震荡 20min, 每管分别加入 500 μ l 储存缓冲液洗涤, 16000g 离心 6min, 弃上清, 每管分别加入 150 μ l 储存缓冲液重悬, 用羊抗鼠 IgG-生物素检测抗体的包被效率。

2.2、多种蛋白标志物单抗的生物素标记

将 3~7 种蛋白标志物另一不同抗原表位的单抗分别稀释成 1mg/ml, 加入 7.6 μ l BAC-S-NHS (5mg/ml), 1400 转震荡 30min, 将标记生物素的抗体过 sephadex-G25 柱纯化, 依次收集 10 管穿流液, 每管 1ml, 紫外分光光度计测定抗体含量 (A280 值), 测定 IgG 抗体浓度为 1mg/ml 时的 A280 值 (E280), 计算公式为: 蛋白 (mg/ml) = A280/ E280; 测定抗体标记的生物素含量 (A500 值); 计算 3~7 种蛋白标志物单抗的标记生物素与蛋白的比例 (摩尔分子比), 表示抗体的生物素标记效率。

2.3、蛋白标志物抗原标准品的标准曲线建立和血清样品的检测

各种蛋白标志物抗原标准品按 400, 200, 100, 50, 25, 10, 5, 0ng/L 的浓度制作标准曲线。96 孔板中每孔加入 100 μ l 包被好的微珠 (1: 100 稀释), 洗涤缓冲液洗涤 2 次, 抽滤, 加入 100 μ l 各梯度浓度的各种蛋白标志物抗原标准品, 作 3 重复孔, 其它孔加入 100 μ l 待测血清样品 (1: 10⁵ 稀释), 600 转震荡 1h; 抽滤, 洗涤缓冲液洗涤 3 次, 加入生物素标记的检测抗体 100 μ l (2 μ g), 600 转震荡 30min; 抽滤, 洗涤缓冲液洗涤 3 次, 加入 50 μ l PE (1: 25 稀释), 600 转震荡 10min; 抽滤, 洗涤缓冲液洗涤 3 次, 加入 125 μ l 分析缓冲液重悬; 采用 Bio-plex 液相蛋白芯片微珠阅读仪检测。

微珠洗涤缓冲液 (Bead wash buffer); 微珠活化缓冲液 (Bead activation buffer); PBS, PH 7.4; 封闭缓冲液 (Blocking buffer); 储存缓冲液 (Staining buffer); 上述溶液由 Bio-rad 公司的微珠包被试剂盒内提供。

0.1M 磷酸盐缓冲液 (0.1M Sodium Phosphate Buffer); 生物素化试剂 (Biotinylation Reagent); 链霉蛋白酶 (Pronase); 由 Sigma 公司的抗体生物素标记试剂盒内提供。

Bio-plex 液相蛋白芯片微珠阅读仪及随机配套的分析软件, 各种蛋白标志物的单抗及抗原标准品购自 Biodesign 公司, 聚苯乙烯荧光微珠, 微珠包被试剂盒购自 Bio-rad 公司, 抗体的生物素标记试剂盒购自 Sigma 公司,

本发明的蛋白标志物集成检测技术诊断冠心病的灵敏度和特异度明显优于单个指标

检测的免疫比浊法（实验结果见表1）。

表1 液相芯片法与免疫比浊法比较对CHD的诊断价值

标志物	检测方法	灵敏度(%)	特异度(%)
脂蛋白 a	免疫比浊法	73.9	70.3
纤维蛋白原	免疫比浊法	56.5	75.7
高敏 C 反应蛋白	免疫比浊法	63.0	86.5
3 种标志物联合检测	液相蛋白芯片法	88.7	93.6

脂蛋白(a) (Lp(a))、纤维蛋白原 (Fig)、高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 联合检测对冠心病患者诊断的特异度 (93.6%) 高于单一指标的检测方法 Lp(a) (70.3%)、Fig (75.7%)、hs-CRP (86.5%)；联合检测对冠心病患者诊断的灵敏度 (88.7%) 高于单一指标的检测方法 Lp(a) (73.9%)、Fig (56.5%)、hs-CRP (63.0%)；该方法提高了对冠心病诊断的灵敏度和特异度，明显优于单个指标检测方法。

本发明建立了一种与预测心脑血管病发生相关的蛋白标志物的集成检测技术，不仅简便、快捷、而且显著提高了对心脑血管病发生预测的准确率。

具体实施方式

冠心病诊断的3种相关蛋白标志物的集成检测方法：

1、研究对象待测血清样品采集：

2004年10月—2005年5月在本院住院，有胸闷、胸痛等症状，疑诊冠心病患者240例，排除肝肾功能不全、感染、肿瘤、免疫系统疾病、凝血功能障碍以及近期有大手术史、急性心肌梗死急性期、血清磷酸肌酸激酶(CPK)升高大于正常值2倍以上等可能影响hs-CRP的情况后，共有100例符合标准纳入研究，其中男性59例，女性41例，年龄 59 ± 11 岁，同时记录患者的高血压、糖尿病、高血脂、既往心肌梗死病史。所有患者均接受冠状动脉造影检查。冠心病组：冠状动脉造影显示左主干、左前降支、左回旋支、右冠脉4支血管中至少1支直径狭窄程度 $\geq 50\%$ ，共53例；非冠心病组：冠状动脉造影显示所有血管直径狭窄程度 $< 50\%$ 者归为对照组，共47例；患者均清晨空腹采血。

2、蛋白标志物的选择：脂蛋白(a)、纤维蛋白原和高敏C反应蛋白作为冠心病诊断的集成检测技术的3种相关蛋白检测标志物；

3、液相悬浮微珠法（液相蛋白芯片法）检测方法：

3.1、捕获抗体的制备—3种蛋白标志物单抗的聚苯乙烯荧光微珠包被：

取 300 μ l 微珠, 14000g 离心 4min, 弃上清, 加入 240 μ l 微珠洗涤缓冲液, 震荡 30s, 50Hz 超声 30s, 14000g 离心 4min, 弃上清, 加入 240 μ l 微珠活化缓冲液, 震荡 30s, 50Hz 超声 30s, 加入 30 μ l EDC 和 30 μ l S-NHS, 1400 转/分, 震荡 20min, 14000g 离心 4min, 弃上清, 加入 500 μ l PBS 洗涤, 震荡 30s, 50Hz 超声 30s, 14000g 离心 4min, 弃上清, 加入 300 μ l PBS 重悬, 分装成 3 管, 每管分别加入脂蛋白(a)、纤维蛋白原和高敏 C 反应蛋白的单抗 7 μ g、12 μ g、9 μ g, 补充 PBS 至每管 500 μ l 终体积, 4 $^{\circ}$ C, 1400 转/分, 震荡过夜; 14000g 离心 4min, 弃上清, 每管分别加入 500 μ l PBS 洗涤, 加入 250 μ l 封闭缓冲液, 1400 转/分, 震荡 20min, 每管分别加入 500 μ l 储存缓冲液洗涤, 16000g 离心 6min, 弃上清, 每管分别加入 150 μ l 储存缓冲液重悬, 用羊抗鼠 IgG-生物素检测抗体的包被效率, 结果表明包被检测的荧光值为 25500-26500 FI, 远远超过 2000 FI 的最低包被荧光值。见图 2 和表 2。

表 2 每 100 μ l 微珠分别包被不同量的 3 种单抗的最高平均荧光值

抗体名称	每 100 μ l 微珠包被的抗体量 (μ g)	最高平均荧光值 (FI)
脂蛋白(a)、	7	25709
纤维蛋白原	12	25655
高敏 C 反应蛋白	9	26227

3.2、检测抗体的制备—3种蛋白标志物单抗的生物素标记

将 3 种蛋白标志物另一不同抗原表位的单抗分别稀释成 1mg/ml, 加入 7.6 μ l BAC-S-NHS (5mg/ml), 1400 转/分, 震荡 30min, 将标记生物素的抗体过 sephadex-G25 柱纯化, 依次收集 10 管穿流液, 每管 1ml, 紫外-可见光分光光度计的 A280 检测蛋白含量, A500 检测生物素标记效率, 见图 3; 其中纯化的抗体主要集中在第 4、5 管, 见图 4; 紫外分光光度计测定抗体含量 (A280 值), 测定 IgG 抗体浓度为 1mg/ml 时的 A280 值 (E280), 见图 5; 生物素标准曲线见图 6; 计算公式为: 蛋白 (mg/ml) = A280/ E280; 测定抗体标记的生物素含量 (A500 值); 计算 3 种蛋白标志物单抗的标记生物素与蛋白的比例 (摩尔分子比), 表示抗体的生物素标记效率, 结果表明每种抗体的生物素标记效

率约为 12，即每摩尔分子的抗体蛋白有 12 摩尔分子的生物素被标记上。

3.3 3 种蛋白标志物抗原标准品的标准曲线建立和血清样品的检测

3 种蛋白标志物抗原标准品按 400, 200, 100, 50, 25, 10, 5, 0ng/L 的浓度制作标准曲线, 96 孔板中每孔加入 100 μ l 包被好的微珠 (1: 100 稀释), 洗涤缓冲液洗涤 2 次, 抽滤, 加入 100 μ l 各梯度浓度的 3 种蛋白标志物抗原标准品, 作 3 重复孔, 其它孔加入 100 μ l 患者清晨空腹采血的血清样品 (1: 10⁵ 稀释), 600 转/分, 震荡 1h; 抽滤, 洗涤缓冲液洗涤 3 次, 加入生物素标记的检测抗体 100 μ l (2 μ g), 600 转/分, 震荡 30min; 抽滤, 洗涤缓冲液洗涤 3 次, 加入 50 μ l 链霉亲和素标记的 PE 荧光素 (1: 25 稀释) 染色, 600 转/分, 震荡 10min; 抽滤, 洗涤缓冲液洗涤 3 次, 加入 125 μ l 分析缓冲液重悬; 采用 Bio-plex 液相蛋白芯片微珠阅读仪检测。

检测结果: 液相芯片法检测血浆中脂蛋白 a、纤维蛋白原和高敏 C 反应蛋白值

编号	性别	年龄	LP(a)(mg/L)	Fig (g/L)	Hy-CRP (mg/L)	是否冠心病
1	M	65	602	4.6	5.9	1
2	M	74	805	4.3	4.5	1
3	M	41	433	3.2	3.0	0
4	M	52	661	2.6	5.7	1
5	M	81	231	4.5	4.6	1
6	M	77	953	4.3	9.4	1
7	M	81	385	4.9	4.7	1
8	M	77	361	5.3	1.4	1
9	F	49	331	6.7	4.8	1
10	F	50	209	3.1	2.9	0
11	F	62	164	5.1	2.2	0
12	F	46	437	5.6	1.7	1
13	M	76	108	3.7	3.2	0
14	F	67	283	2.6	2.9	0
15	M	48	362	5.0	5.5	1
16	M	65	368	4.6	5.9	1
17	M	53	203	3.1	1.2	0
18	M	68	631	4.5	4.9	0
19	M	57	260	3.3	3.6	0
20	M	65	164	3.3	0.9	0
21	F	73	485	4.1	4.7	1
22	F	61	461	5.1	6.5	1
23	M	62	123	3.2	2.2	0
24	F	47	352	3.5	2.8	0
25	F	61	158	3.2	1.8	0
26	F	64	229	4.1	3.3	0
27	F	60	308	3.6	3.4	0

续上表:

28	M	57	352	5.3	5.6	1
29	M	69	527	3.5	4.9	1
30	M	69	203	3.2	3.1	0
31	M	74	362	5.4	5.9	1
32	M	58	221	4.8	5.3	1
33	F	61	291	2.6	1.7	0
34	M	74	1232	7.7	5.6	1
35	F	63	178	2.8	2.6	0
36	M	59	237	1.3	3.6	0
37	M	56	497	4.6	5.1	1
38	F	64	323	5.2	6.8	1
39	F	66	424	5.1	2.4	0
40	F	57	350	5.1	6.8	1
41	M	62	236	3.2	4.2	0
42	M	67	751	5.2	4.8	1
43	M	70	318	3.2	5.5	1
44	M	76	360	4.8	5.4	1
45	M	65	238	2.3	3.2	0
46	F	71	336	6.2	5.3	1
47	M	67	210	4.2	3.8	0
48	M	67	361	5.2	5.8	1
49	F	69	559	4.6	2.8	1
50	M	62	140	2.1	5.3	1
51	M	38	1714	4.5	5.9	1
52	M	62	384	4.9	5.6	1
53	F	61	313	4.3	4.7	1
54	F	54	292	3.4	2.3	0
55	M	48	60	3.6	1.9	0
56	M	58	319	3.2	2.3	0
57	F	49	276	3.8	1.7	0
58	M	46	237	6.1	3.7	0
59	M	47	490	5.9	8.2	1
60	F	61	1193	5.3	22.9	1
61	M	71	996	6.2	5.9	1
62	F	40	249	3.6	4.6	1
63	F	67	745	4.3	5.2	1
64	M	56	218	3.0	2.3	0
65	M	69	135	3.4	2.1	0
66	M	54	345	5.3	5.2	1
67	F	65	243	5.2	6.7	1
68	F	61	104	2.2	2.1	0
69	M	81	132	5.9	4.5	0
70	M	46	223	3.3	1.6	0
71	F	61	575	8.6	8.3	1
72	M	77	328	4.9	4.5	1

续上表:

73	F	59	369	4.3	5.6	1
74	M	65	387	5.5	3.5	1
75	M	58	373	4.1	5.8	1
76	F	66	325	4.6	6.2	1
77	F	57	258	2.3	1.8	0
78	F	50	318	3.1	2.2	0
79	M	40	180	4.1	3.8	0
80	M	43	277	3.5	1.9	0
81	M	73	866	6.9	12.3	1
82	F	70	372	4.3	5.1	1
83	F	60	200	3.7	2.1	0
84	M	70	162	3.3	2.5	0
85	M	72	76	6.2	3.6	0
86	F	67	198	3.2	2.3	0
87	F	58	165	4.6	5.8	1
88	M	36	568	4.4	10.5	1
89	F	69	269	3.4	1.6	0
90	F	70	242	3.0	3.1	0
91	M	70	389	5.3	6.3	1
92	M	61	226	1.4	2.7	0
93	M	67	379	5.1	6.3	1
94	F	61	188	3.9	2.3	0
95	M	65	478	3.2	1.9	1
96	M	55	392	4.9	5.1	1
97	F	75	203	3.0	1.8	0
98	F	51	196	2.3	2.8	0
99	F	56	359	3.7	3.1	0
100	M	66	262	5.6	6.1	1

注: 冠心病判断标准依据冠脉造影的结果; 1: 表示是冠心病; 0: 表示不是冠心病。

各种检测物参数的阳性界限分别为 $Lp(a) \geq 300\text{mg/L}$ 、 $Fig \geq 4.0\text{g/L}$ 、 $hs-CRP \geq 4.5\text{mg/L}$;

以冠脉造影的结果为标准, 本发明的蛋白标志物集成检测技术诊断冠心病的灵敏度为 88.7%; 特异度为 93.6%。

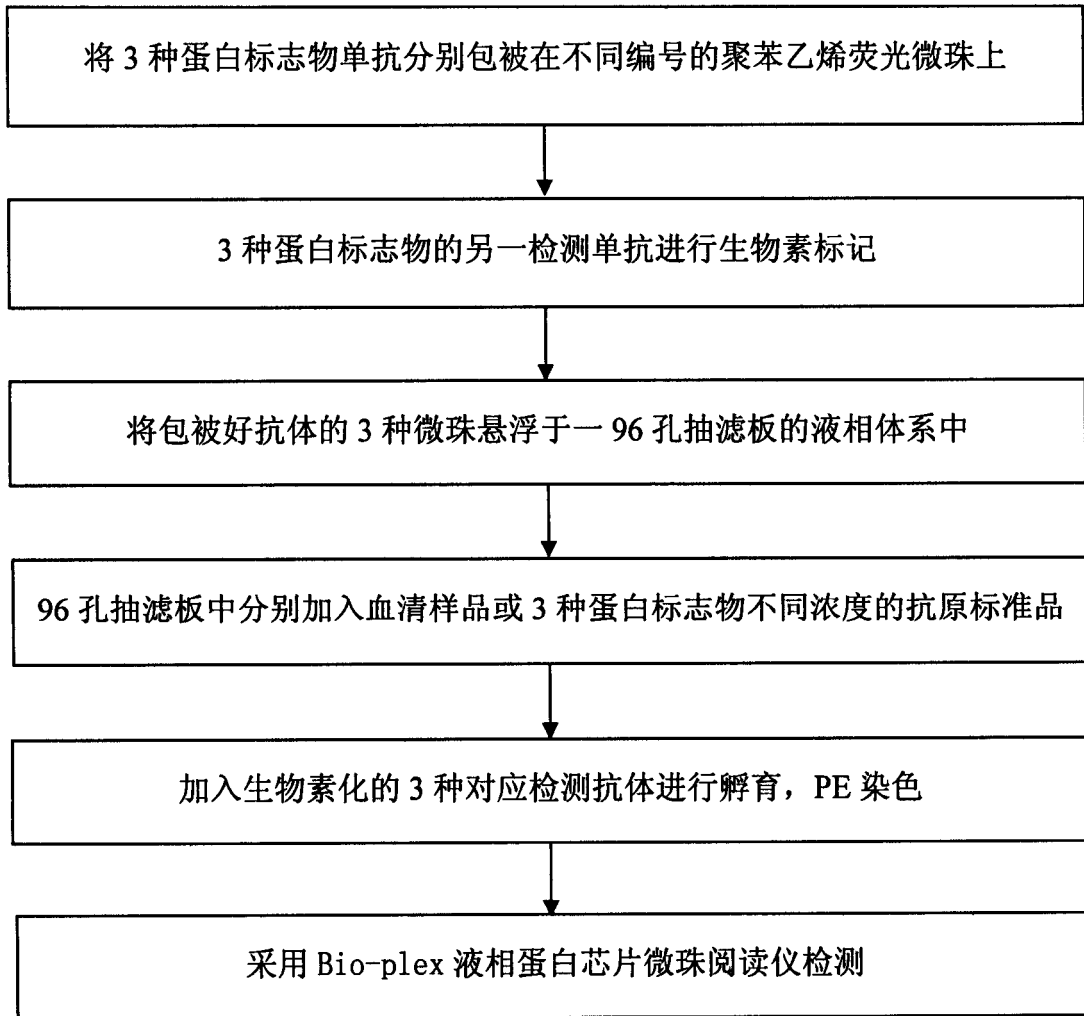


图 1

D9	X2	CRP Ab7ug to 100ul Beads	25034.0 (100)	100	112	180	34
E3	X2	CRP Ab7ug to 100ul Beads	28020.0 (100)	100	114	187	32
F3	X2	CRP Ab7ug to 100ul Beads	28303.0 (100)	100	111	180	34
G3	X5	Blank of CRP Ab8ug to 100ul Beads	3.0 (100)	100	100	124	12
H3	X6	Blank of CRP Ab7ug to 100ul Beads	1.0 (100)	100	107	117	8
A4	X3	CRP Ab10ug to 100ul Beads	25608.0 (100)	100	110	183	43
B4	X3	CRP Ab10ug to 100ul Beads	25594.0 (100)	100	114	180	43
C4	X3	CRP Ab10ug to 100ul Beads	28050.0 (100)	100	112	202	45
D4	X4	CRP Ab12ug to 100ul Beads	28774.0 (100)	100	112	211	47
E4	X4	CRP Ab12ug to 100ul Beads	28694.0 (100)	100	111	180	41
G4	X7	Blank of CRP Ab8ug to 100ul Beads	1.0 (100)	100	100	128	15
H4	X8	Blank of CRP Ab12ug to 100ul Beads	2.0 (100)	100	128	212	41

图 2

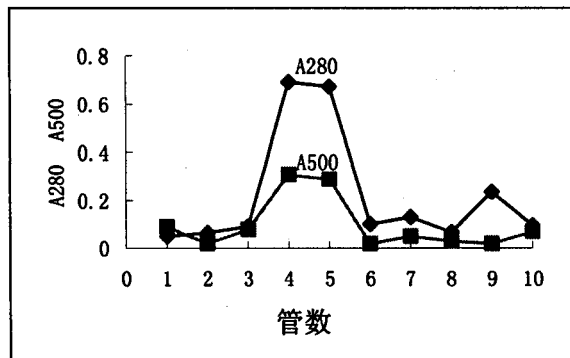


图 3

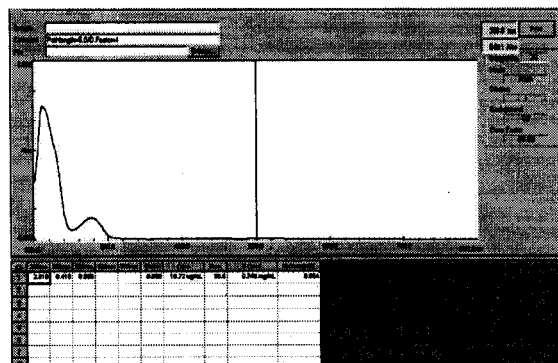


图 4

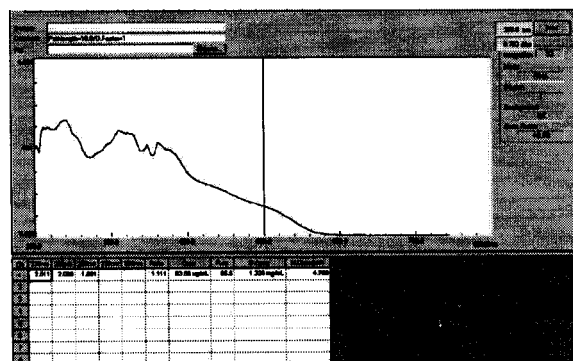


图 5

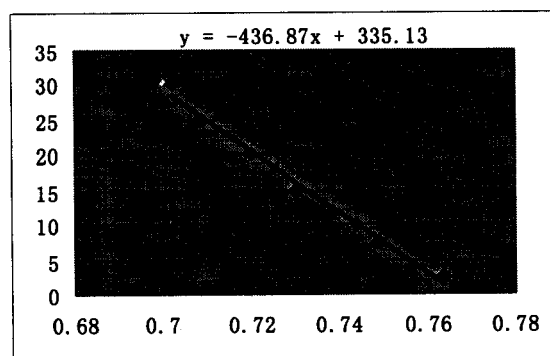


图 6

专利名称(译)	一种与预测心脑血管病发生相关的蛋白标志物的集成检测方法		
公开(公告)号	CN1773283A	公开(公告)日	2006-05-17
申请号	CN200510032367.2	申请日	2005-11-11
[标]申请(专利权)人(译)	袁洪 阎宏伟 黄志军		
申请(专利权)人(译)	袁洪 阎宏伟 黄志军		
当前申请(专利权)人(译)	袁弘		
[标]发明人	袁洪 阎宏伟 黄志军		
发明人	袁洪 阎宏伟 黄志军		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/531 G01N33/68		
代理人(译)	赵洪		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及与心脑血管病发生相关的蛋白标志物的检测技术。集成检测技术是指对同一样品一次检测多种与心脑血管病发生相关的蛋白标志物，本发明采用液相芯片法，在聚苯乙烯荧光微珠上包被心脑血管病事件相关蛋白质标志物的相应抗体，用来捕捉被测液体中对应的蛋白标志物，并利用各蛋白标志物的检测抗体来测定样品中各蛋白标志物的浓度，集成检测能在较短的时间内准确的获得多个指标的信息，与单一指标的免疫比浊法比较，灵敏度在80%以上，特异度在90%以上，因此集成检测可以为准确预测心脑血管病的发生提供全面的依据，明显提高对心脑血管病发生预测的准确率。

