



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810043549.3

[43] 公开日 2009年12月30日

[11] 公开号 CN 101614735A

[22] 申请日 2008.6.25  
[21] 申请号 200810043549.3  
[71] 申请人 上海新波生物技术有限公司  
地址 201201 上海市浦东新区瑞庆路590号5号甲幢  
[72] 发明人 黄新明 吴冯波

[74] 专利代理机构 上海浦东良风专利代理有限责任公司  
代理人 张劲风

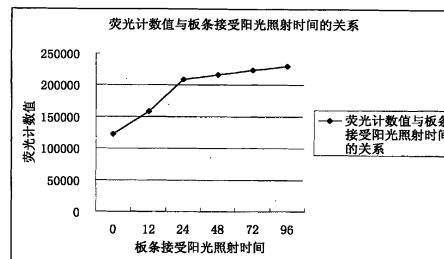
权利要求书1页 说明书3页 附图1页

## [54] 发明名称

一种透明质酸的包被方法

## [57] 摘要

本发明涉及透明质酸(HA)定量检测技术领域。为了提高聚苯乙烯板条对透明质酸的吸附能力,我们提出了一种新的透明质酸的包被方法。让聚苯乙烯板条包板前先接受阳光照射24-96小时,再用以包被透明质酸。结果表明这种方法使得透明质酸的包板情况得到明显改善,使得时间分辨荧光免疫分析法的透明质酸定量检测试剂盒的质量得以提高。



1、一种透明质酸的包被方法，其特征是包括以下步骤：

- a、将聚苯乙烯材质的板条放置于阳光下照射 24-96 小时；
- b、将透明质酸用包被液稀释至 10ug/mL 作为包板工作液，包被反应板，并用封闭液封闭。

2、根据权利要求 1 所述的一种透明质酸的包被方法，其特征是所述的包被液由 3.18g 碳酸钠、5.88g 碳酸氢钠、9g 氯化钠、1000ml 纯化水配制而成。

3、根据权利要求 1 所述的一种透明质酸的包被方法，其特征是所述的封闭液由 14.5 g 磷酸氢二钠、1.49 g 磷酸二氢钠、9 g 氯化钠、10gBSA、0.5g NaN<sub>3</sub>、40g 糖、1L 去离子水配制而成。

### 一种透明质酸的包被方法

#### 技术领域：

本发明涉及透明质酸定量检测技术领域。

#### 背景技术：

透明质酸定量检测试剂盒采用竞争免疫分析法。透明质酸（HA）包被于 96 孔荧免板，校准品或样品中的 HA 与固相表面 HA 竞争结合限量的生物素标记透明质酸结合蛋白（HABP-Biotin）。充分反应后，通过洗涤分离微孔表面 HA 结合的 HABP-Biotin 与未结合 HABP-Biotin，再加入镧标记链亲和素（SA-Eu<sup>3+</sup>），使之与微孔表面的 HABP-Biotin 结合。洗涤，加入荧光增强液，微孔表面免疫复合物中的 Eu<sup>3+</sup>被荧光增强液解离并形成稳定的荧光配合物，荧光强度与校准品或样品中的 HA 浓度呈负相关，根据已知 HA 浓度的系列校准品的荧光强度可得到剂量-反应曲线，通过剂量-反应曲线可得出未知样本的 HA 浓度。

对于透明质酸对荧免板的包被，由于透明质酸属于一强亲水性物质，其分子缺少疏水性官能团，因此透明质酸对常规荧免板的吸附性能不够理想，影响透明质酸的检测，尤其是标本中高浓度透明质酸的准确检测。本发明提出了一种新的透明质酸包被方法，该方法可显著改善透明质酸对荧免板的吸附性能。

#### 发明内容

本发明的目的是提供一种透明质酸的包被方法，本发明主要是克服聚苯乙烯材质的荧免板板条在包板时对透明质酸的吸附性能不理想，影响透明质酸定量检测试剂盒的质量。

本发明的技术方案是：一种透明质酸的包被方法，包括以下步骤：

- 1、将聚苯乙烯材质的板条放置于阳光下照射 24-96 小时；
- 2、将透明质酸用包被液稀释至 5-20ug/mL 作为包板工作液，包被反应板，并用封闭液封闭。

本发明的有益效果是：本发明对板条进行预处理，使得其对透明质酸的吸附性能得到明显提升，显著提高了透明质酸定量检测试剂盒的质量。

#### 附图说明：

图 1 为本发明板条接收阳光照射时间和检测方法荧光强度之间的关系图

### 具体实施方式

下面参照图 1，通过实施例对本发明作进一步说明。

#### 实施例

透明质酸定量检测试剂盒板条的包被

首先将聚苯乙烯材质的板条放置于阳光下照射 0、12、24、48、72、96 小时；

#### 1.1 包被液的配制

##### 1.1.1 配方

品名	级别	用量
碳酸钠		3.18g
碳酸氢钠		5.88g
氯化钠		9g
纯化水		1000ml

##### 1.1.2 配制过程

室温条件下，在 1000mL 的纯化水中加入 3.18g 碳酸钠，5.88g 碳酸氢钠和 9g 氯化钠搅拌子搅匀，PH 计测 PH 值应在  $9.5 \pm 0.1$  以内。

#### 1.2 封闭液的配制

##### 1.2.1 配方

品名	级别	用量
磷酸氢二钠		14.5 g
磷酸二氢钠		1.49 g
氯化钠		9 g
BSA		10g
NaN <sub>3</sub>		0.5g
糖		40g
去离子水		1 L

##### 1.2.2 配制过程

室温条件下，在 1000mL 的纯化水中加入 14.5g 磷酸氢二钠，1.49 g 磷酸二氢钠，搅拌子搅拌至溶解，然后边搅拌边依次加入 9 g 氯化钠，40g 糖，分次少量加入 10gBSA，直至完全溶解。最后加入 0.5g NaN<sub>3</sub>。PH 计测 PH 值应在 7.8±0.1 以内。

### 1.3 包板工作液配制

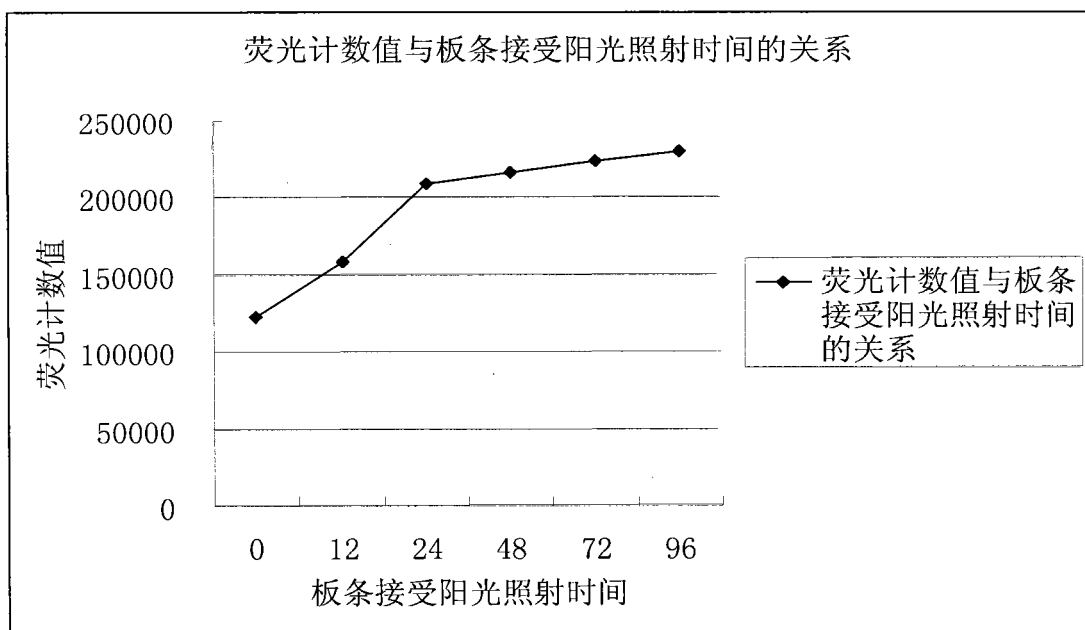
#### 1.3.1 配制过程

移取一定量 1 mg/ml HA 溶液于所需体积的包被液中，使其浓度达到 10μg/mL；

### 1.4 包被反应板的制备

用排枪将 HA 工作液按每孔 200μL 加入荧免板板条，室温静置过夜（注意要防止水分蒸发）。超过 200 块（96T）的，用包被机包被。以洗板机吸干-洗涤（洗液每孔加 200μL）二次，将板条在洁净的吸水纸上拍干。用排枪将封闭缓冲液按每孔 250μL 加入微孔，贴上贴片纸，37 度室温过夜，然后倒掉封闭液，洗衣机甩干，放入冷冻干燥机里真空（真空度小于 50 帕）抽干 3 小时，用热封机热封。结果发现，通过阳光照射 24 小时的聚苯乙烯材质的板条包板情况较好，在阳光照射 24-96 小时时间范围内荧光比较稳定，荧光再增长效果不明显（见图 1）。实验数据如下表：

不同阳光照射时间下的荧光计数值（CPS）						
阳光照射时间（小时）	0	12	24	48	72	96
荧光计数值	122542	159249	208427	216939	225197	230250



专利名称(译)	一种透明质酸的包被方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN101614735A</a>	公开(公告)日	2009-12-30
申请号	CN200810043549.3	申请日	2008-06-25
[标]申请(专利权)人(译)	上海新波生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海新波生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海新波生物技术有限公司		
[标]发明人	黄新明 吴冯波		
发明人	黄新明 吴冯波		
IPC分类号	G01N33/531		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及透明质酸(HA)定量检测技术领域。为了提高聚苯乙烯板条对透明质酸的吸附能力，我们提出了一种新的透明质酸的包被方法。让聚苯乙烯板条包板前先接受阳光照射24 - 96小时，再用以包被透明质酸。结果表明这种方法使得透明质酸的包板情况得到明显改善，使得时间分辨荧光免疫分析法的透明质酸定量检测试剂盒的质量得以提高。

