



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102507960 B

(45) 授权公告日 2014. 01. 08

(21) 申请号 201110352049. X

W0 2005/018413 A2, 2005. 03. 03, 全文.

(22) 申请日 2011. 11. 09

Anne Denizot. Normocalcemia with elevated parathyroid hormone levels after surgical treatment of primary hyperparathyroidism. 《The American Journal of Surgery》. 2001, 第 182 卷

(73) 专利权人 江苏省原子医学研究所

地址 214063 江苏省无锡市钱荣路 20 号江苏省原子医学研究所(卫生部核医学重点实验室、江苏省分子核医学重点实验室)

孙恒德. 人血清 PTH 的放免测定. 《天津医科大学学报》. 1995, 第 1 卷(第 3 期), 第 60-62 页.

(72) 发明人 周杏琴 蔡刚明 钦晓峰 邹美芬
徐希杰 张建康 曹国宪

何子强. 用放免法测定血中 PTH 的基础研究. 《国外医学临床生物化学与检验学分册》. 1990, 第 11 卷(第 5 期), 第 36-37 页.

(74) 专利代理机构 无锡市大为专利商标事务所
32104

代理人 时旭丹 刘品超

李克坚. 重组人甲状旁腺激素效价测定方法的研究. 《药物生物技术》. 2005, 第 12 卷(第 1 期), 第 43-45 页.

(51) Int. Cl.

G01N 33/78 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

审查员 刘迎鸣

(56) 对比文件

US 4369138, 1983. 06. 18, 全文.

权利要求书2页 说明书5页 附图3页

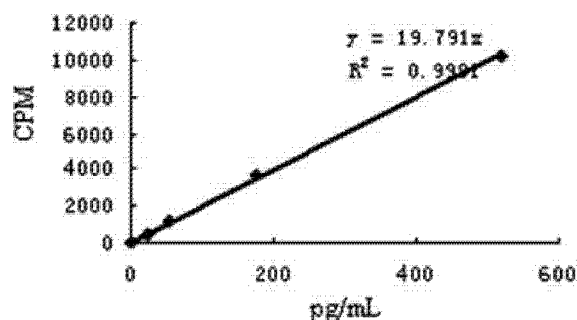
(54) 发明名称

注射用重组人甲状旁腺素及其代谢产物血药浓度的测定方法

的可靠性。

(57) 摘要

注射用重组人甲状旁腺素 rhPTH(1-84) 及其代谢产物 rhPTH(1-34) 血药浓度的测定方法, 属 PTH 血浆浓度测定技术领域。本发明用固相萃取结合放射免疫分析 (RIA) 法, 血浆样本采用固相萃取柱 StyreScreen®H2P 萃取, rhPTH(1-84) 用甲状腺素放免试剂盒 ELSA-PTH 测定; 取 rhPTH(1-84) 标准品或处理后的血浆样品加入 ELSATUBES, 再加入 ^{125}I -PTH, 复管测试, γ -count 测计数 CPM; 以 CPM 值为纵坐标, rhPTH(1-84) 浓度为横坐标作图, 得回归方程 $Y=19.791X$; rhPTH(1-34) 用甲状腺素放免试剂盒 RK-055-08 (PTH1-34) 测定; 将双复管加样品加抗体; 孵育; 每管加入 ^{125}I -PTH 后, 振荡混匀后孵育; 加羊抗兔, 正兔血清, 孵育; γ -counter 测计数 B, 按 $B_0=TB-NSB$, 以 B/B_0 为纵坐标, rhPTH(1-34) 浓度对数为横坐标作图, 得函数方程。本发明提高了 RIA 检测的重复性和稳定性, 增加了测定数据



1. 一种注射用重组人甲状旁腺素 rhPTH(1-84) 及其代谢产物 rhPTH(1-34) 血药浓度的测定方法,其特征在于:血浆样本采用固相萃取柱 Styre Screen® H2P 萃取, rhPTH(1-84) 采用甲状腺素放免试剂盒 ELSA-PTH 测定; rhPTH(1-34) 采用甲状腺素放免试剂盒 RK-055-08 PTH(1-34) 测定;步骤为:

(1)、标准溶液制备

rhPTH(1-84) 标准溶液的制备

取 rhPTH(1-84) 标准品,用去离子水溶解振荡,配制浓度分别为 0、24、55、177、520 pg · mL⁻¹ 标准品溶液;内质控 PC 配制成 rhPTH(1-84) 浓度为 46 pg · mL⁻¹ 的溶液;外质控 QC 配制含 rhPTH(1-84) 标准品浓度为 25、250、500 pg · mL⁻¹ 三种标准溶液,分装于离心管中, -80℃ 保存待用;

rhPTH(1-34) 标准溶液的制备

取 rhPTH(1-34) 标准品用缓冲液稀释成 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1280 pg · mL⁻¹ 的标准溶液;

QC 质控样品:精密称取 rhPTH(1-34) 标准,用缓冲液配制含 rhPTH(1-34) 浓度分别为 40.00、160.00、640.00 pg · mL⁻¹;

所述缓冲液为甲状腺素放免试剂盒 RK-055-08 PTH(1-34) 所提供的缓冲液;

(2)、血浆样品处理

将固相萃取柱 Styre Screen® H2P 依次用 1mL 乙醇、1mL 含 0.1% 三氟乙酸去离子水活化;吸取 0.5mL 血浆样本,以 1~2mL/min 的速度加入固相萃取柱,样品富集后用 1mL 去离子水淋洗,抽干;用乙醇:0.1% 三氟乙酸去离子水溶液的 V/V 为 60:40 的溶液洗脱,抽干;使用真空离心蒸发浓缩器干燥 15min, 去掉有机溶剂;经冷冻干燥器浓缩干燥,测定时用缓冲液稀释到合适的浓度;

(3)、操作流程

rhPTH(1-84) 测定操作流程:

取 200μL rhPTH(1-84) 标准品或处理后的血浆样品加入 ELSA TUBES, 分别加入 100μL ¹²⁵I-PTH 振荡 3 分钟,复管测试, 25℃ 孵育 18±2h, 弃上清,加 3mL 吐温 20, 5 分钟后弃上清, 重复洗涤 4 次, γ-count 测计数 CPM;

所述 ELSA TUBES 为甲状腺素放免试剂盒 ELSA-PTH 提供的固相包被好的 ELSA 试管;

rhPTH(1-34) 测定操作流程:

将聚苯乙烯管编号:总管 TC, 非特异性结合 NSB, 总结合 TB, 标准 A ~ H, 阳性对照 PC, 样品 S, 双复管加样品加抗体;振荡混匀后,封口 4℃ 孵育 16 ~ 24h;每管加入 100 μL ¹²⁵I-PTH 后,振荡混匀后 4℃ 孵育 16 ~ 24h;加羊抗兔 IgG 即 GAR, 正兔血清 NRS, 振荡室温孵育 90 分钟;除 TC 管外每管加 500 μL 缓冲液振荡混匀, 4℃ 3000rpm 离心 20 分钟, 在 15 ~ 30 分钟内吸弃上清, 残余物 γ-counter 测量得 B_x, 并计算 B=B_x-NSB;

(4)、计算方法

rhPTH(1-84) 浓度计算:

用 CPM 对 rhPTH(1-84) 浓度作图,以 CPM 值为纵座标, rhPTH(1-84) 浓度为横坐标作图, 得回归方程 Y=19.791X, 从方程中求得血浆样品中 rhPTH(1-84) 浓度,用 DAS 2.0 软件计算药代动力学参数;

rhPTH(1-34) 浓度计算：

γ -counter 测得计数按 $B_0 = TB - NSB$, $B/B_0(\%) = (B_x - NSB)/B_0 \times 100\%$ 计算, 以 B/B_0 为纵坐标, rhPTH(1-34) 浓度对数为横坐标作图, 曲线拟合得函数方程, 从方程中求得血浆样品中 rhPTH(1-34) 浓度, 用 DAS 2.0 软件计算药代动力学参数。

注射用重组人甲状旁腺素及其代谢产物血药浓度的测定方法

技术领域

[0001] 注射用重组人甲状旁腺素 rhPTH(1-84) 及其代谢产物 rhPTH(1-34) 血药浓度的测定方法,属于 PTH 血浆浓度的测定方法技术领域。

背景技术

[0002] PTH 是甲状旁腺分泌的天然甲状旁腺素,其中具有生理活性的是含 84 个氨基酸残基的多肽激素,它可以刺激新骨形成和维持正常钙的平衡及磷代谢。注射用重组人甲状旁腺素 (1-84) (Recombinant human parathyroid hormone (1-84) for injection,简称为 rhPTH(1-84)) 是一种含 PTH 全长序的重组人甲状旁腺素,由美国 NPS-Allelix 公司研发,2006 年被 FDA 批准用于治疗妇女绝经后骨质疏松症。rhPTH(1-84) 在体内可以部分降解为 rhPTH(1-34), rhPTH(1-34) 结构与 rhPTH (1-84) 的 N 端 34 个氨基酸序列一致, rhPTH(1-34) 可以增加骨密度、增强骨质和改善骨骼架构而成为骨质疏松症的主要治疗手段。rhPTH(1-34) 由美国 Eli Lilly 公司研发,2002 年 FDA 批准上市,在治疗绝经后骨质疏松症和部分老年男性骨质疏松症方面具有良好的疗效。rhPTH(1-84) 具有更好的安全性,两者均为重要的抗骨质疏松症治疗药物,但由于每天必须服用使得价格过于昂贵限制了其临床应用。由于社会老龄化,骨质疏松症发病率逐年升高, rhPTH(1-84) 因对骨量的增加效应比目前临床应用的其他治疗手段更有效而具有良好的临床应用前景,国内有多家生物制药公司在研发中。

[0003] rhPTH(1-84) 在体内可以降解为不同长度的肽链,由于 rhPTH(1-34) 具有较高的药效性,因此测定 rhPTH(1-84) 的代谢产物 rhPTH(1-34) 在血浆中的浓度及药动力学研究,对了解注射用 rhPTH(1-84) 的药效学、作用机制及临床合理用药具有重要意义。

[0004] PTH 血浆浓度的测定方法有放射免疫分析 (Radioimmunoassay, RIA)、酶联免疫分析法 (ELISA)、高效液相-质谱检测法 (HPLC-MS) 等。HPLC-MS 法需特殊检测器,使用价格昂贵;ELISA 及 RIA 分析法方法简便、操作便利,但由于血浆成分的复杂性,造成测定结果重复性和稳定性差等缺陷。

发明内容

[0005] 本发明的目的提供一种注射用重组人甲状旁腺素 rhPTH(1-84) 及其代谢产物 rhPTH(1-34) 血药浓度的测定方法,采用固相萃取结合 RIA 检测同时测定 rhPTH(1-84) 在血浆中的浓度以及代谢产物 rhPTH(1-34) 血浆浓度的变化及药动学研究。提高了 RIA 检测的重复性和稳定性,增加了测定数据的可靠性。

[0006] 本发明的技术方案:一种注射用重组人甲状旁腺素 rhPTH(1-84) 及其代谢产物 rhPTH(1-34) 血药浓度的测定方法:血浆样本采用固相萃取柱 Styre Screen® H2P 萃取, rhPTH(1-84) 采用甲状旁腺素放免试剂盒 ELSA-PTH 测定:rhPTH(1-34) 采用甲状旁腺素放免试剂盒 RK-055-08 (PTH 1-34) 测定。

[0007] 1、标准溶液制备

[0008] rhPTH(1-84) 标准溶液的制备

[0009] 取 rhPTH(1-84) 标准品,用去离子水溶解振荡,配制浓度分别为 0、24、55、177、520 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 标准品溶液;内质控(PC)配制成 rhPTH(1-84) 浓度为 46 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液;外质控(QC)配制含 rhPTH(1-84) 标准品浓度为 25、250、500 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 三种标准溶液,分装于离心管中, -80°C 保存待用;

[0010] rhPTH(1-34) 标准溶液的制备

[0011] 取 rhPTH(1-34) 标准品用缓冲液稀释成 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1280 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液;

[0012] QC 质控样品:精密称取 rhPTH(1-34) 标准,用缓冲液配制含 rhPTH(1-34) 浓度分别为 40.00、160.00、640.00 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$;

[0013] 所述缓冲液为甲状腺素放免试剂盒 RK-055-08(PTH 1-34) 所提供的缓冲液;下同。

[0014] 2、血浆样品处理

[0015] 将固相萃取柱 Styre Screen® H2P 用 1mL 乙醇、1mL 0.1% 三氟乙酸去离子水活化;吸取 0.5mL 血浆样本,以 1~2mL/min 的速度加入固相萃取柱,样品富集后用 1mL 去离子水淋洗,抽干;用乙醇-0.1% 三氟乙酸水(V/V, 60:40)溶液洗脱,抽干;使用真空离心蒸发浓缩器干燥 15min, 去掉有机溶剂;经冷冻干燥器浓缩干燥,测定时用缓冲液稀释到合适的浓度;

[0016] 3、操作流程

[0017] rhPTH(1-84) 测定操作流程:

[0018] 取 200 μL rhPTH(1-84) 标准品或固相萃取处理后的血浆样品加入 ELSA TUBES(固相包被好的 ELSA 试管,甲状腺素放免试剂盒 ELSA-PTH 提供),分别加入 100 μL ^{125}I -PTH 振荡 3 分钟,复管测试, 25°C 孵育 $18 \pm 2\text{h}$, 弃上清,加 3mL 吐温 20, 5 分钟后弃上清,重复洗涤 4 次, γ -count 测计数(CPM);

[0019] rhPTH(1-34) 测定操作流程:

[0020] 用甲状腺素放免试剂盒 RK-055-08(PTH 1-34) 进行操作,将聚苯乙烯管编号:总管(TC),非特异性结合(NSB),总结合(TB),标准 A~H,阳性对照 PC,样品 S,双复管加样品加抗体;振荡混匀后,封口 4°C 孵育 16~24h;每管加入 100 μL ^{125}I -PTH 后,振荡混匀后 4°C 孵育 16~24h;加羊抗兔 IgG(GAR),正兔血清(NRS),振荡室温孵育 90 分钟;除 TC 管外每管加 500 μL 缓冲液振荡混匀,3000rpm 离心 20 分钟(4°C),吸弃上清(在 15~30 分钟内完成),残余物 γ -counter 测量得 B_x , 并计算 $B=B_x-\text{NSB}$ 。

[0021] 4、计算方法

[0022] rhPTH(1-84) 浓度计算:

[0023] 用 CPM 对 rhPTH(1-84) 浓度作图,得回归方程 $y=ax$ ($Y=19.791X$)。从方程中求得血浆样品中 rhPTH(1-84) 浓度,用 DAS 2.0 软件计算药代动力学参数。

[0024] rhPTH(1-34) 浓度计算:

[0025] γ -counter 测得计数按 $B_0=\text{TB}-\text{NSB}$, $B/B_0(\%)=(B_x-\text{NSB})/B_0 \times 100\%$ 计算,以 B/B_0 为纵坐标, rhPTH(1-34) 浓度对数为横坐标作图,曲线拟合得函数方程,从方程中求得血浆样品中 rhPTH(1-34) 浓度,用 DAS 2.0 软件计算药代动力学参数。

[0026] 本发明的有益效果：本发明采用添加抑肽酶、固相萃取等多种途径降低 RIA 影响因素，考察了不同填料固相小柱的萃取效率，并对方法学进行了考察，提高了测定结果的重复性和稳定性。rhPTH（1-34）的研究较多，但作为 rhPTH（1-84）的代谢产物研究其血药浓度和药动学未见报道，本发明为 rhPTH（1-84）进入临床应用提供精确的临床试验检测方法。

附图说明

[0027] 图 1 rhPTH（1-84）标准曲线。

[0028] 图 2 rhPTH（1-34）标准曲线。

[0029] 图 3 不同批次 rhPTH（1-84）稳定性。

[0030] 图 4 rhPTH（1-84）长期贮存稳定性。

[0031] 图 5 rhPTH（1-84）和 rhPTH（1-34）血药浓度-时间曲线图。

具体实施方式

[0032] 实施例 1 线性范围

[0033] rhPTH（1-84）线性范围：

[0034] 取浓度为 0、24、55、177、520 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ rhPTH（1-84）标准品溶液；按甲状腺素放免试剂盒 ELSA-PTH 操作流程操作，所得标准曲线见图 1。采用直线回归在 24 ~ 520 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内线性关系良好，线性回归方程： $Y=19.791X$ ($R^2=0.9989$ ，图 1b)。分别考察了不同批次的多条线性关系，PC、QC 随行于标准曲线用于考察测定精确度（见表 1），各项质控标准测量值相对误差均小于 10%。

[0035] 取 rhPTH（1-34）标准品浓度为 10、20、40、80、160、320、640、1280 $\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的标准溶液，按甲状腺素放免试剂盒 RK-055-08（PTH 1-34）放免分析操作流程进行操作，建立标准曲线。以 rhPTH（1-34）标准浓度的对数为横坐标， B/B_0 为纵坐标，采用四参数 logistic 回归运算，得方程：

$$[0036] \quad y = A_2 + \frac{A_1 - A_2}{1 + (x/x_0)^p}, A_1=0.8462, A_2=-28.1523, x_0=13.8682, p=2.7849, R^2=0.9961。$$

[0037] 实施例 2、精密度和准确度

[0038] 取 QC 样本，按放免操作流程操作，每个质控浓度重复测定 5 次，3 天连续测定共 3 个分析批次，计算日内和日间精密度和准确度（表 1），精密度用相对标准偏差（RSD%）表示，准确度用相对误差（RE%）表示。

[0039] 表 1 方法学确证中的精密度和准确度（n=5）

[0040]

rhPTH (1-84)	加入浓度 pg·mL ⁻¹	批内						批间	
		No.1		No.2		No.3			
		RSD%	RE%	RSD%	RE%	RSD%	RE%	RSD%	RE%
	25	7.39	8.8	7.52	11.9	5.05	8.93	7.5	12.1
rhPTH (1-34)	250	3.84	0.22	2.72	1.33	1.73	4.10	6.3	9.2
	500	2.91	3.95	1.58	4.2	1.69	1.42	8.8	7.4
	rhPTH (1-34)	加入浓度 pg·mL ⁻¹	批内						批间
No.1			No.2		No.3				
RSD%			RE%	RSD%	RE%	RSD%	RE%	RSD%	RE%
40		2.8	7.79	4.2	12.08	4.3	10.85	6.5	9.4
160	3.7	-4.79	2.9	-3.21	3.9	-1.30	3.9	-3.1	
640	4.5	-1.09	3.8	0.40	3.0	-1.95	4.1	-0.9	

[0041] 实施例 3、测量最低定量限

[0042] 精密配制含 rhPTH(1-84) 和 rhPTH(1-34) 的血浆样品并稀释至 10 pg·mL⁻¹, 按放免分析操作流程进行操作, 重复测定 5 次, 计算精密度和精确度。在该浓度下 rhPTH(1-84) 测得平均浓度为 (8.70±0.57) pg·mL⁻¹, 相对误差 RE 为 13.0%, 相对标准偏差 RSD 为 6.54%; rhPTH(1-34) 测得平均浓度为 (8.82±0.31) pg·mL⁻¹, 相对误差 RE 为 11.9%, 相对标准偏差 RSD 为 3.51%。

[0043] 实施例 4、固相萃取柱的选择

[0044] 分别采用 Sepax-BRC18、Styre Screen® H2P 及普通的 ODS 小柱, 柱子按 2.0 血浆样品活化处理, 配制含 rhPTH(1-84) 25.0、250.0、500.0 pg·mL⁻¹; rhPTH(1-34) 40.0、160.0、640.0 pg·mL⁻¹ 高、中、低浓度的血浆样品, 血浆经固相萃取后按放免操作流程测定。

[0045] 萃取效率 = C 测定值 / C 标准值 × 100%。采用 Styre Screen® H2P 萃取, 效率大于 85%。

[0046] 表 2 不同固相萃取柱血浆萃取效率测定结果 (n=3)

[0047]

组分	加入浓度 (pg·mL ⁻¹)	ODS小柱		Sepax-BRC18		Styre Screen® H2P	
		萃取效率	RSD%	萃取效率	RSD%	萃取效率	RSD%
rhPTH (1-34)	40.0	50.2±2.1	9.29	65.4±4.5	10.3	86.5±4.4	8.52
	160.0	53.1±5.3	6.82	70.3±3.9	7.5	89.7±2.6	5.63
	640.0	62.5±3.4	5.53	64.5±2.8	8.9	90.3±3.2	6.49
rhPTH (1-84)	25.0	60.4±3.1	7.26	68.2±3.5	8.3	88.3±2.4	6.35
	250.0	58.3±4.2	7.88	67.8±3.3	7.9	91.5±3.1	4.05
	500.0	56.5±2.8	6.52	74.3±2.9	8.2	89.8±2.5	3.89

[0048] 实施例 5、抑肽酶用量的考察

[0049] 收集健康人空白血浆于 EDTA 抗凝试管中, 然后转移至含不同浓度抑肽酶离心管中, 摇匀, 4℃ 3000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 分取血浆。精密配制高、中、低浓度 rhPTH(1-84)

于不同浓度抑肽酶的血浆样本,按放免操作流程测定(表3)。血浆中采用0.5(TIU/mL)的抑肽酶。

[0050] 表3 抑肽酶用量对结果的影响

[0051]

rhPTH(1-84) 加入浓度 (pg·mL ⁻¹)	抑肽酶用量(TIU/mL)				
	0	0.2	0.5	0.8	1.0
25	21.3±2.8	22.8±3.5	26.8±2.7	24.1±2.3	25.3±2.9
250	220.1±13.4	225.4±14.5	243.6±10.6	233.7±17.3	240.6±13.2
500	438±26.3	439±25.6	509±35.2	489±27.6	491±33.4

[0052] 实施例6、rhPTH(1-84) 血浆稳定性考察

[0053] 配制含 rhPTH(1-84) 低、中、高浓度的血浆样品分装于数支离心管中,于4° C、室温分别放置6 h;-80° C反复冻融3次、-80° C贮存80天,按放免分析操作流程进行操作,测定血浆中 rhPTH(1-84) 的含量。

[0054] 室温放置超过6 h, rhPTH(1-84) 在血浆中浓度下降到原浓度的75.2%~77.6%;4° C放置6 h以上、冷冻解冻反复3次、-80° C贮存80天, rhPTH(1-84) 在血浆中浓度维持在90%~110%之间,显示良好稳定性;图3为 rhPTH(1-84) 低、中、高 QC 样本在血浆中多个批次的含量变化图(n=60),图4显示 rhPTH(1-84) QC 血浆样本长期贮存稳定性。

[0055] 实施例7、药动学研究

[0056] 10名健康自愿者皮下注射2.0 μg·kg⁻¹ rhPTH(1-84),分别于给药前5 min,给药后5, 15, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 600 min采集静脉血3 mL置于含EDTA抗凝试管中,4° C 3000 r·min⁻¹离心10 min,分取血浆,按放免操作规程测定血浆中 rhPTH(1-84) 和 rhPTH(1-34) 的浓度。将所测得的血浆浓度用药代动力学软件 DAS 2.0 处理,血药随时间变化曲线见图5。

[0057] 计算所得主要药动力学参数 rhPTH(1-84):AUC_{0-∞} 为(614.3±158.7) pg·h·mL⁻¹, C_{max} 为(131.2±33.5) pg·mL⁻¹, T_{max} 为(0.68h±0.1)h。rhPTH(1-34): AUC_{0-∞} 为(245.7±139.5) pg·h·mL⁻¹, C_{max} 为(58.0±10.0) pg·mL⁻¹, T_{max} 为(0.38h±0.02)h。

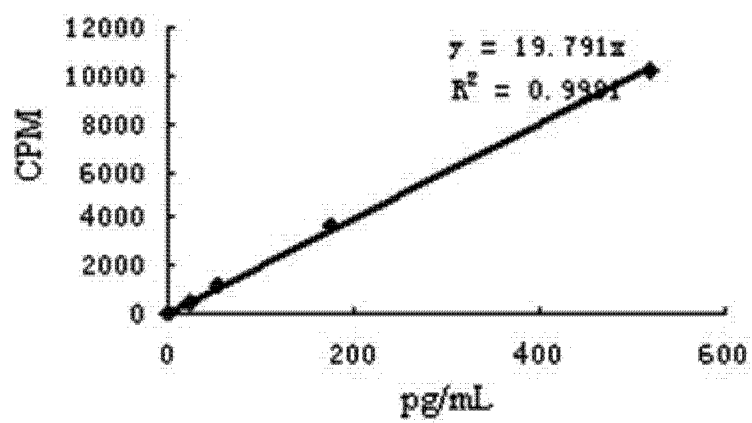


图 1

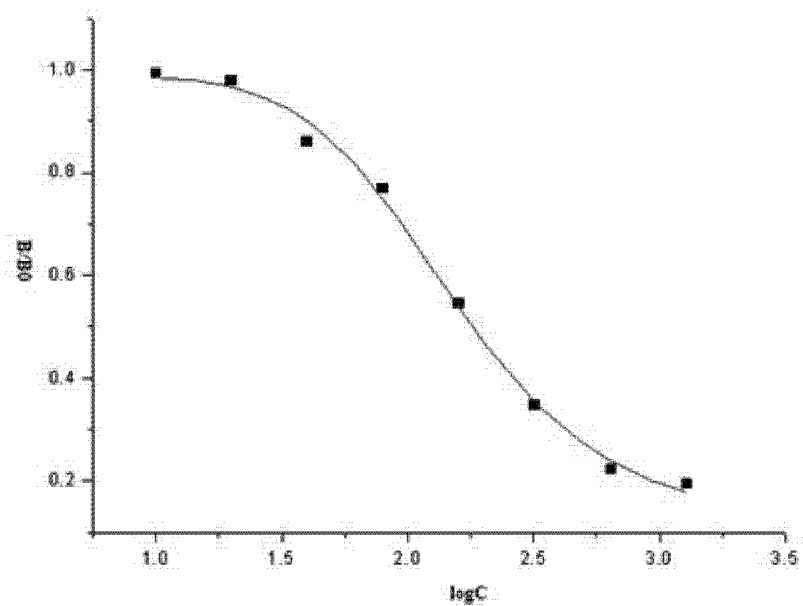


图 2

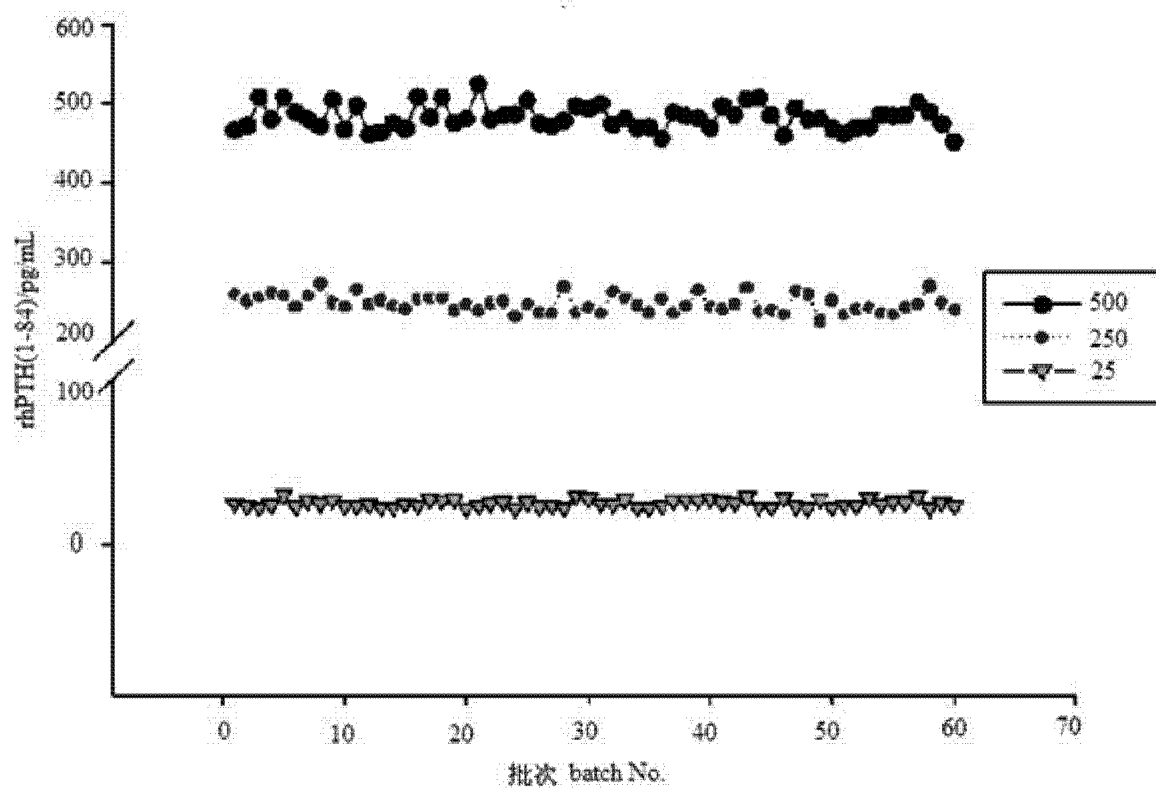


图 3

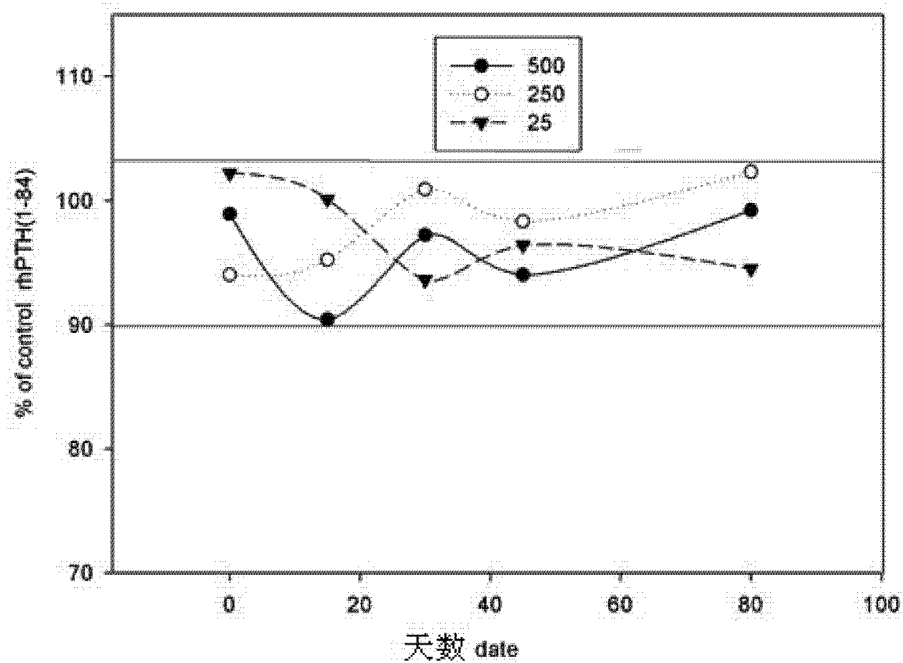


图 4

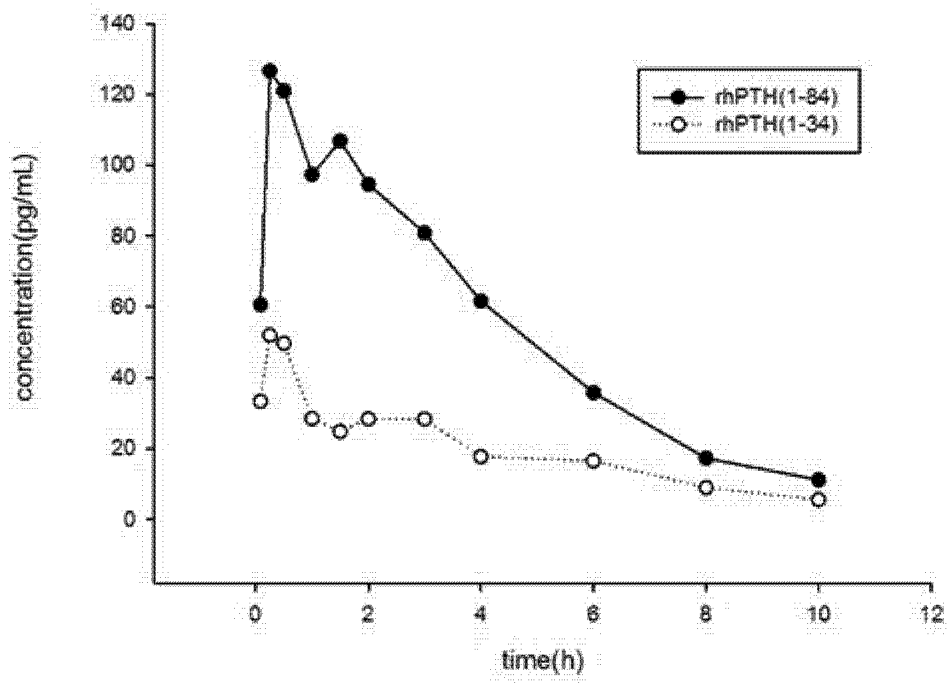


图 5

专利名称(译)	注射用重组人甲状旁腺素及其代谢产物血药浓度的测定方法		
公开(公告)号	CN102507960B	公开(公告)日	2014-01-08
申请号	CN201110352049.X	申请日	2011-11-09
[标]申请(专利权)人(译)	江苏省原子医学研究所		
申请(专利权)人(译)	江苏省原子医学研究所		
当前申请(专利权)人(译)	江苏省原子医学研究所		
[标]发明人	周杏琴 蔡刚明 钦晓峰 邹美芬 徐希杰 张建康 曹国宪		
发明人	周杏琴 蔡刚明 钦晓峰 邹美芬 徐希杰 张建康 曹国宪		
IPC分类号	G01N33/78 G01N33/531		
其他公开文献	CN102507960A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

注射用重组人甲状旁腺素rhPTH(1-84)及其代谢产物rhPTH(1-34)血药浓度的测定方法,属PTH血浆浓度测定技术领域。本发明用固相萃取结合放射免疫分析(RIA)法,血浆样本采用固相萃取柱StyreScreen®H2P萃取, rhPTH(1-84)用甲状腺素放免试剂盒ELSA-PTH测定:取rhPTH(1-84)标准品或处理后的血浆样品加入ELSATUBES,再加入125I-PTH,复管测试,γ-count测计数CPM;以CPM值为纵坐标, rhPTH(1-84)浓度为横坐标作图,得回归方程 $Y=19.791X$; rhPTH(1-34)用甲状腺素放免试剂盒RK-055-08(PTH1-34)测定;将双复管加样品加抗体;孵育;每管加入125I-PTH后,振荡混匀后孵育;加羊抗兔,正兔血清,孵育;γ-counter测计数B,按 $B_0=TB-NSB$,以 B/B_0 为纵坐标, rhPTH(1-34)浓度对数为横坐标作图,得函数方程。本发明提高了RIA检测的重复性和稳定性,增加了测定数据的可靠性。

