



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110824159 A

(43)申请公布日 2020.02.21

(21)申请号 201911157347.6

(22)申请日 2019.11.22

(71)申请人 蓝怡科技集团股份有限公司

地址 201108 上海市闵行区北横沙河路468  
弄152号

申请人 浙江蓝怡医药有限公司

(72)发明人 李子樵 张辰欢

(74)专利代理机构 北京品源专利代理有限公司  
11332

代理人 巩克栋

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/576(2006.01)

权利要求书1页 说明书9页

(54)发明名称

一种碱性磷酸酶标记物的稀释液及其应用

(57)摘要

本发明涉及一种碱性磷酸酶标记物的稀释液及其应用。所述稀释液包括缓冲液、蛋白质、表面活性剂、锌离子、镁离子、防腐剂和添加剂；所述添加剂包括阻断剂和/或碱性磷酸酶；所述碱性磷酸酶为低活性碱性磷酸酶和/或无活性碱性磷酸酶。本发明创造性地在传统的用于稀释碱性磷酸酶标记物的稀释液中添加阻断剂和/或碱性磷酸酶，能够很好地降低非特异性反应，最终降低临床样本检测假阳性结果概率，提高检测分析结果的准确率。

1. 一种碱性磷酸酶标记物的稀释液,其特征在于,所述稀释液包括缓冲液、蛋白质、表面活性剂、锌离子、镁离子、防腐剂和添加剂;所述添加剂包括阻断剂和/或碱性磷酸酶;所述碱性磷酸酶为低活性碱性磷酸酶和/或无活性碱性磷酸酶。

2. 如权利要求1所述的碱性磷酸酶标记物的稀释液,其特征在于,所述缓冲液包括MES缓冲液、Tris缓冲液、Hepes缓冲液、Pipes缓冲液或Mops缓冲液中的任意一种或至少两种的组合;

优选地,所述缓冲液在所述稀释液中的浓度为5-100mmol/L。

3. 如权利要求1或2所述的碱性磷酸酶标记物的稀释液,其特征在于,所述蛋白质包括牛血清白蛋白、明胶蛋白或酪蛋白中的任意一种或至少两种的组合;

优选地,所述蛋白质在所述稀释液中的质量浓度为0.5-5%。

4. 如权利要求1-3中任一项所述的碱性磷酸酶标记物的稀释液,其特征在于,所述表面活性剂为非离子表面活性剂;

优选地,所述非离子表面活性剂为聚氧乙烯失水山梨醇脂肪酸酯;

优选地,所述表面活性剂在所述稀释液中的质量浓度为0.1-0.8%。

5. 如权利要求1-4中任一项所述的碱性磷酸酶标记物的稀释液,其特征在于,所述锌离子来源于氯化锌;

优选地,所述锌离子在所述稀释液中的浓度为0.1-1mmol/L;

优选地,所述镁离子来源于氯化镁;

优选地,所述镁离子在所述稀释液中的浓度为0.1-1mmol/L。

6. 如权利要求1-5中任一项所述的碱性磷酸酶标记物的稀释液,其特征在于,所述防腐剂包括Proclin 300、叠氮钠或庆大霉素中的任意一种或至少两种的组合;

优选地,所述防腐剂在所述稀释液中的浓度为0.05-0.2%。

7. 如权利要求1-6中任一项所述的碱性磷酸酶标记物的稀释液,其特征在于,所述阻断剂包括HBR系列阻断剂和/或HIER系列阻断剂;

优选地,所述阻断剂在所述稀释液中的浓度为10-200 $\mu$ g/mL;

优选地,所述碱性磷酸酶在所述稀释液中的浓度为1-50 $\mu$ g/mL。

8. 如权利要求1-7中任一项所述的碱性磷酸酶标记物的稀释液,其特征在于,所述稀释液的pH值为6.0-8.0。

9. 一种试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括如权利要求1-7中任一项所述的碱性磷酸酶标记物的稀释液。

10. 如权利要求1-7中任一项所述的碱性磷酸酶标记物的稀释液在免疫分析中的应用。

## 一种碱性磷酸酶标记物的稀释液及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于医药试剂技术领域,涉及一种酶标记物的稀释液及其应用,具体涉及一种碱性磷酸酶标记物的稀释液及其应用,尤其涉及一种能够降低非特异性反应的碱性磷酸酶标记物的稀释液及其应用。

### 背景技术

[0002] 在适宜的缓冲体系中,碱性磷酸酶可以催化含磷酸根基团的显色底物和化学发光底物,因此,碱性磷酸酶作为一种标记酶,广泛应用于临床免疫测定中。碱性磷酸酶的标记物溶液是体外诊断试剂盒的组分之一,当被测定血清反应时,反应微环境几乎全由酶标记物的稀释液提供,即抗原抗体反应是在酶标记物稀释液中进行的。

[0003] 很多传染病例如乙型肝炎可以采用免疫分析法进行筛查,但是筛查往往容易出现假阳性或假阴性结果,给患者带来生活或心理上的负面影响,或者延误治疗时机,导致出现假阴性与假阳性的原因很多,主要受检查方法、试剂选择以及操作的影响。

[0004] 但现有技术中关于酶结合物稀释液的报道多侧重于如何提高酶结合物的稳定性效果,例如CN102115737A公开了一种碱性磷酸酶或其标记物的稳定剂及其制备方法,以及采用所述稳定剂稳定碱性磷酸酶或其标记物的方法。该发明还涉及一种碱性磷酸酶或其标记物试剂及其制备方法。该稳定剂可以长期稳定保存碱性磷酸酶或其标记物,延长碱性磷酸酶或其标记物溶液的保存期。

[0005] CN108663511A公开了一种碱性磷酸酶抗原抗体专用稀释液。该专用稀释液包括以下按质量分数计的组分:磷酸盐缓冲液92-95%、高分子亲水化合物1-3%、乙二胺四乙酸钠0.2-0.5%、防腐剂0.01-0.02%、改性氨基酸1-3%、抗凝剂0.02-0.04%、丝蛋白0.05-0.12%、纳米银粉2.68-5.72%。与现有技术相比,该碱性磷酸酶抗原抗体专用稀释液的组分简单,亲水性好,能够稳定标记碱性磷酸酶的抗原抗体的活性,且所需量少,降低了生产成本。

[0006] CN102628863A公开了一种标记了碱性磷酸酶抗原抗体稀释液,由如下物质组成,磷酸盐缓冲液,多羟基类有机化合物,氨基酸及蛋白质类化合物,金属离子,非离子型表面活性剂,防腐剂。同现有技术相比,该稀释液能够稳定标记碱性磷酸酶的抗原抗体的活性,且将稀释液加入碱性磷酸酶标记的抗原抗体通过冷冻干燥法,制备成冻干品,这样能够长期稳定标记了碱性磷酸酶的抗原抗体的活性。因此,开发出一种能够降低非特异性反应的酶结合物稀释液是非常有必要的。

### 发明内容

[0007] 针对现有技术的不足,本发明的目的在于提供一种酶标记物的稀释液及其应用,具体提供一种碱性磷酸酶标记物的稀释液及其应用,尤其提供一种能够降低非特异性反应的碱性磷酸酶标记物的稀释液及其应用。该稀释液能够很好地降低非特异性反应,降低临床样本检测假阳性结果概率,提高检测分析结果的准确率。

[0008] 为达到此发明目的,本发明采用以下技术方案:

[0009] 一方面,本发明提供一种碱性磷酸酶标记物的稀释液,所述稀释液包括缓冲液、蛋白质、表面活性剂、锌离子、镁离子、防腐剂和添加剂;所述添加剂包括阻断剂和/或碱性磷酸酶;所述碱性磷酸酶为低活性碱性磷酸酶和/或无活性碱性磷酸酶。

[0010] 本发明所涉及的碱性磷酸酶标记物的稀释液包含三种技术方案,组成成分分别具体为:

[0011] (1) 缓冲液、蛋白质、表面活性剂、锌离子、镁离子、防腐剂和阻断剂;

[0012] (2) 缓冲液、蛋白质、表面活性剂、锌离子、镁离子、防腐剂和碱性磷酸酶;所述碱性磷酸酶为低活性碱性磷酸酶和/或无活性碱性磷酸酶;

[0013] (3) 缓冲液、蛋白质、表面活性剂、锌离子、镁离子、防腐剂、阻断剂和碱性磷酸酶,所述碱性磷酸酶为低活性碱性磷酸酶和/或无活性碱性磷酸酶。

[0014] 本发明所述低活性碱性磷酸酶或无活性碱性磷酸酶是指在60-65℃下处理2h得到的低活性或者无活性的碱性磷酸酶。

[0015] 本发明创造性地在传统的用于稀释碱性磷酸酶标记物的稀释液中添加阻断剂和/或碱性磷酸酶,能够很好地降低非特异性反应,减少由异嗜性抗体或RF因子引起的假阳性结果,减少由血清中某一物质对磁微粒和ALP酶同时有吸附作用引起的假阳性结果,最终降低临床样本检测假阳性结果概率,提高检测分析结果的准确率。

[0016] 优选地,所述缓冲液包括MES缓冲液、Tris缓冲液、Hepes缓冲液、Pipes缓冲液或Mops缓冲液中的任意一种或至少两种的组合;所述至少两种的组合例如MES缓冲液和Tris缓冲液的组合、Hepes缓冲液和Pipes缓冲液的组合、Tris缓冲液和Mops缓冲液的组合等,其他任意的组合方式均可选择,在此便不一一赘述。

[0017] 优选地,所述缓冲液在所述稀释液中的浓度为5-100mmol/L,例如5mmol/L、10mmol/L、20mmol/L、40mmol/L、50mmol/L、60mmol/L、80mmol/L或100mmol/L等。

[0018] 优选地,所述蛋白质包括牛血清白蛋白、明胶蛋白或酪蛋白中的任意一种或至少两种的组合;所述至少两种的组合例如牛血清白蛋白和明胶蛋白的组合、明胶蛋白和酪蛋白的组合、牛血清白蛋白和酪蛋白的组合等,其他任意的组合方式均可选择,在此便不一一赘述。

[0019] 所述稀释液中的蛋白质主要起到稳定碱性磷酸酶标记物的作用。

[0020] 优选地,所述蛋白质在所述稀释液中的质量浓度为0.5-5%,例如0.5%、1%、1.5%、2%、3%、3.5%、4%、4.5%或5%等。

[0021] 优选地,所述表面活性剂为非离子表面活性剂。

[0022] 优选地,所述非离子表面活性剂为聚氧乙烯失水山梨醇脂肪酸酯。

[0023] 所述聚氧乙烯失水山梨醇脂肪酸酯是指吐温系列表面活性剂,例如吐温-20、吐温-60、吐温-80或吐温-85等。

[0024] 所述稀释液中的表面活性剂主要起到降低表面张力,提高抗原抗体反应性的作用。

[0025] 优选地,所述表面活性剂在所述稀释液中的质量浓度为0.1-0.8%,例如0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%或0.8%等。

[0026] 优选地,所述锌离子来源于氯化锌。

[0027] 优选地,所述锌离子在所述稀释液中的浓度为0.1-1mmol/L,例如0.1mmol/L、0.2mmol/L、0.3mmol/L、0.4mmol/L、0.5mmol/L、0.6mmol/L、0.7mmol/L、0.8mmol/L、0.9mmol/L或1mmol/L等。

[0028] 优选地,所述镁离子来源于氯化镁。

[0029] 优选地,所述镁离子在所述稀释液中的浓度为0.1-1mmol/L,例如0.1mmol/L、0.2mmol/L、0.3mmol/L、0.4mmol/L、0.5mmol/L、0.6mmol/L、0.7mmol/L、0.8mmol/L、0.9mmol/L或1mmol/L等。

[0030] 所述稀释液中的锌离子和镁离子主要起到稳定碱性磷酸酶的作用。

[0031] 优选地,所述防腐剂包括Proclin 300、叠氮钠或庆大霉素中的任意一种或至少两种的组合;所述至少两种的组合例如Proclin 300和叠氮钠的组合、叠氮钠和庆大霉素的组合、Proclin 300和庆大霉素的组合等,其他任意的组合方式均可选择,在此便不一一赘述。

[0032] 优选地,所述防腐剂在所述稀释液中的浓度为0.05-0.2%,例如0.05%、0.08%、0.1%、0.12%、0.14%、0.15%、0.16%、0.18%或0.2%等。

[0033] 优选地,所述阻断剂包括HBR系列阻断剂和/或HIER系列阻断剂。

[0034] 所述阻断剂可以减少由HAMA效应,异嗜性抗体或RF因子引起的假阳性结果,降低临床样本检测假阳性结果概率,提高检测分析结果的准确率。

[0035] 优选地,所述阻断剂在所述稀释液中的浓度为10-200 $\mu$ g/mL,例如10 $\mu$ g/mL、20 $\mu$ g/mL、40 $\mu$ g/mL、50 $\mu$ g/mL、60 $\mu$ g/mL、80 $\mu$ g/mL、100 $\mu$ g/mL、150 $\mu$ g/mL或200 $\mu$ g/mL等。

[0036] 优选地,所述碱性磷酸酶在所述稀释液中的浓度为1-50 $\mu$ g/mL,例如1 $\mu$ g/mL、2 $\mu$ g/mL、5 $\mu$ g/mL、8 $\mu$ g/mL、10 $\mu$ g/mL、15 $\mu$ g/mL、20 $\mu$ g/mL、25 $\mu$ g/mL、30 $\mu$ g/mL、35 $\mu$ g/mL、40 $\mu$ g/mL、45 $\mu$ g/mL或50 $\mu$ g/mL等。

[0037] 所述低活性碱性磷酸酶或无活性碱性磷酸酶可以减少由血清中某一物质对磁微粒和ALP酶同时有吸附作用引起的假阳性结果,降低临床样本检测假阳性结果概率,提高检测分析结果的准确率。

[0038] 优选地,所述稀释液的pH值为6.0-8.0,例如pH=6.0、pH=6.2、pH=6.4、pH=6.5、pH=6.8、pH=7.0、pH=7.2、pH=7.5、pH=7.6、pH=7.8或pH=8.0等。

[0039] 本发明所涉及的碱性磷酸酶标记物的稀释液的制备方法为:

[0040] 根据生产需要确定碱性磷酸酶标记物稀释液的配制体积,按配方计算出各种原料的用量;在容器中加入配制体积60%~80%纯化水,再加入所需量的物料,搅拌溶解;用盐酸或氢氧化钠调整到所需pH值;补加纯化水至配制体积;使用0.22 $\mu$ m滤膜抽滤得到所述碱性磷酸酶标记物的稀释液。

[0041] 另一方面,本发明提供一种试剂盒,所述试剂盒包括如上所述的碱性磷酸酶标记物的稀释液。

[0042] 该试剂盒可以应用于测定人血清或血浆中的乙型肝炎病毒e抗原,临床上主要用于乙型肝炎病毒感染的辅助诊断。

[0043] 乙型肝炎病毒e抗原(HBeAg)是一种非颗粒分泌型核壳蛋白,是PreC蛋白翻译后加工的产物,作为HBV感染的血清标志物发现于1973年。随后研究发现,该抗原并非病毒复制所必须的蛋白,由HBV DNA C区编码,随HBV复制而增加,临床上将其作为判断HBV活动性复制的指标之一。出现HBeAg表示乙肝病毒在大量复制,在乙肝急性患者或慢性乙肝病毒携带

者血清中都可出现。HBeAg的长期存在会伴随着肝脏酶水平上升。HBeAg检测为阳性的人具有很强的传染性。

[0044] 再一方面,本发明提供一种如上所述的碱性磷酸酶标记物的稀释液在免疫分析中的应用。

[0045] 与现有技术相比,本发明具有如下有益效果:

[0046] 本发明创造性地在传统的用于稀释碱性磷酸酶标记物的稀释液中添加阻断剂和/或碱性磷酸酶(低活性碱性磷酸酶和/或无活性碱性磷酸酶),能够很好地降低非特异性反应,减少由异嗜性抗体或RF因子引起的假阳性结果,减少由血清中某一物质对磁微粒和ALP酶同时有吸附作用引起的假阳性结果,最终降低临床样本检测假阳性结果概率,提高检测分析结果的准确率。

### 具体实施方式

[0047] 为更进一步阐述本发明所采取的技术手段及其效果,以下结合本发明的优选实施例来进一步说明本发明的技术方案,但本发明并非局限在实施例范围内。

[0048] 以下实施例所涉及的HBeAb单抗均购自于菲鹏生物股份有限公司。

[0049] 以下实施例所涉及的低活碱性磷酸酶的获得方法为:

[0050] 以下实施例所涉及的方法1信息为:将碱性磷酸酶在65℃下灭活处理2h得到。

[0051] 雅培检测仪器:全自动免疫分析仪ARCHITECT System ARCHITECT i2000sr;

[0052] 试剂:乙型肝炎病毒e抗原测定试剂盒(化学发光微粒子免疫检测法)【国械注进20163402561】;

[0053] 标记物:吡啶酯标记。

[0054] 以下实施例所涉及的方法2信息为:

[0055] 罗氏检测仪器:cobas e 411;

[0056] 试剂:乙型肝炎病毒e抗原检测试剂盒(电化学发光法)Elecsys HBeAg【国械注进20143405195】及配套仪器;

[0057] 标记物:钆复合物标记。

[0058] 实施例1

[0059] 本实施例提供一种碱性磷酸酶标记物稀释液,所述稀释液包括如下组分:

组分	类型	浓度
缓冲液	MES	10mmol/L
蛋白质	BSA	1%
锌离子	ZnCl <sub>2</sub>	0.1mmol/L
镁离子	MgCl <sub>2</sub>	1mmol/L
防腐剂	Proclin-300	0.10%
表面活性剂	Tween-80	0.50%
pH=6.7		

[0061] 其制备方法为:以50mL的配制体积,按配方计算出各种原料的用量;在容器中加入40mL纯化水,再加入上述原料,搅拌溶解;调整pH值;补加纯化水至配制体积;使用0.22μm滤膜抽滤得到所述碱性磷酸酶标记物的稀释液。

[0062] 将得到的稀释液用于HBeAg磁微粒化学发光免疫分析,具体如下:

[0063] 采购自菲鹏的两株HBeAb单抗,分别做包被和标记,HBeAb-碱性磷酸酶标记物用该稀释液稀释至工作浓度(0.1 $\mu$ g/mL),以500份正常人血清中为检测样本,测定并统计阴阳性,阳性结果与其他方法学(方法1、方法2)比较符合率。

[0064] 使用实施例1稀释液检测500份正常人血清中出现15份假阳性样本(假阳性样本均复检2次,大于等于2次阳性结果则判定为假阳性),结果统计如表1所示:

[0065] 表1

样本序号	样本号	HBeAg S/CO 均值	结果判定	雅培结果	罗氏结果
1	5	3.798	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
2	40	3.750	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
3	77	2.075	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
4	88	1.882	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
5	100	2.822	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
6	115	4.302	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
7	116	3.159	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
8	122	103.215	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
9	193	16.917	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
10	202	5.284	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
11	204	4.013	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
12	356	2.137	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
13	387	119.425	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
14	402	25.183	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
15	457	10.385	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)

备注 1: S/CO>1 判定为阳性, Cut-off 浓度值定为 0.2 IU/mL,与方法 1 和方法 2 基本保持一致。  
备注 2: 方法 1 检测仪器为 i2000sr,方法 2 检测仪器为 cobas 411。

[0067] 由表1数据可知:当稀释液中不添加阻断剂和低活酶时,500份样本中出现15份假阳性样本,假阳性率为3%。

[0068] 实施例2

[0069] 本实施例提供一种碱性磷酸酶标记物稀释液,所述稀释液包括如下组分:

组分	类型	浓度
缓冲液	MES	10mmol/L
蛋白质	BSA	1%
锌离子	ZnCl <sub>2</sub>	0.1mmol/L
镁离子	MgCl <sub>2</sub>	1mmol/L
防腐剂	Proclin-300	0.10%
表面活性剂	Tween-80	0.50%
阻断剂	HIER-E-010	100 mg/L
pH=6.7		

[0072] 其制备方法参照实施例1。

[0073] 将得到的稀释液用于HBeAg磁微粒化学发光免疫分析,具体如下:

[0074] 采购自菲鹏的两株HBeAb单抗,分别做包被和标记,HBeAb-碱性磷酸酶标记物用该稀释液稀释至工作浓度(0.1 $\mu$ g/mL),以500份正常人血清中为检测样本,测定并统计阴阳性,阳性结果与其他方法学(方法1、方法2)比较符合率。

[0075] 使用实施例2稀释液检测500份正常人血清中出现4份假阳性样本(假阳性样本均

复检2次,大于等于2次阳性结果则判定为假阳性),结果统计如表2所示:

[0076] 表2

样本序号	样本号	HBeAg S/CO	结果判定	雅培结果	罗氏结果
1	88	1.943	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
2	202	4.985	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
3	204	3.876	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
4	356	1.754	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
备注 1: S/CO>1 判定为阳性, Cut-off 浓度值定为 0.2 IU/mL, 与方法 1 和方法 2 基本保持一致。					
备注 2: 方法 1 检测仪器为 i2000sr, 方法 2 检测仪器为 cobas 411。					

[0078] 由表2数据可知:当稀释液中添加阻断剂时,500份样本中仅出现4份假阳性样本,假阳性率由3%降低至0.8%,可能是减少了由异嗜性抗体或RF因子引起的假阳性结果。

[0079] 实施例3

[0080] 本实施例提供一种碱性磷酸酶标记物稀释液,所述稀释液包括如下组分:

组分	类型	浓度
缓冲液	MES	10mmol/L
蛋白质	BSA	1%
锌离子	ZnCl <sub>2</sub>	0.1mmol/L
镁离子	MgCl <sub>2</sub>	1mmol/L
防腐剂	Proclin-300	0.10%
表面活性剂	Tween-80	0.50%
低活酶	低活碱性磷酸酶	20 mg/L
pH=6.7		

[0083] 其制备方法参照实施例1。

[0084] 将得到的稀释液用于HBeAg磁微粒化学发光免疫分析,具体如下:

[0085] 采购自菲鹏的两株HBeAb单抗,分别做包被和标记,HBeAb-碱性磷酸酶标记物用该稀释液稀释至工作浓度(0.1μg/mL),以500份正常人血清中为检测样本,测定并统计阴阳性,阳性结果与其他方法学(方法1、方法2)比较符合率。

[0086] 使用实施例3稀释液检测500份正常人血清中出现11份假阳性样本(假阳性样本均复检2次,大于等于2次阳性结果则判定为假阳性),结果统计如表3所示:

[0087] 表3



样本序号	样本号	HBeAg S/CO 均值	结果判定	雅培结果	罗氏结果
1	5	3.645	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
2	40	2.942	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
3	77	2.274	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
4	100	3.024	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
5	115	4.752	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
6	116	2.967	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
7	122	99.247	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
8	193	15.784	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
9	387	115.278	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
10	402	23.761	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)
11	457	11.574	阳性 (+)	阴性 (-)	阴性 (-)

备注 1: S/CO>1 判定为阳性, Cut-off 浓度值定为 0.2 IU/mL,与方法 1 和方法 2 基本保持一致。  
备注 2: 方法 1 检测仪器为 i2000sr,方法 2 检测仪器为 cobas 411。

[0088] 由表3数据可知:当稀释液中添加低活酶时,500份样本中仅出现11份假阳性样本,假阳性率由3%降低至2.2%,可能是减少了由血清中某一物质对磁微粒和ALP酶同时有吸附作用引起的假阳性结果。

[0090] 实施例4

[0091] 本实施例提供一种碱性磷酸酶标记物稀释液,所述稀释液包括如下组分:

组分	类型	浓度
缓冲液	MES	10mmol/L
蛋白质	BSA	1%
锌离子	ZnCl <sub>2</sub>	0.1mmol/L
镁离子	MgCl <sub>2</sub>	1mmol/L
防腐剂	Proclin-300	0.10%
表面活性剂	Tween-80	0.50%
阻断剂	HIER-E-010	100 mg/L
低活酶	低活碱性磷酸酶	20 mg/L
pH=6.7		

[0092] 其制备方法参照实施例1。

[0093] 将得到的稀释液用于HBeAg磁微粒化学发光免疫分析,具体如下:

[0094] 采购自菲鹏的两株HBeAb单抗,分别做包被和标记,HBeAb-碱性磷酸酶标记物用该稀释液稀释至工作浓度(0.1μg/mL),以500份正常人血清中为检测样本,测定并统计阴阳性,阳性结果与其他方法学(方法1、方法2)比较符合率。

[0095] 使用实施例4稀释液检测500份正常人血清中未出现假阳性样本,实施例1中15例假阳性样本检测结果统计如表4所示:

[0096] 表4

	样本序号	样本号	HBeAg S/CO	结果判定	雅培结果	罗氏结果
	1	5	0.053	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	2	40	0.080	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	3	77	0.090	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	4	88	0.153	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	5	100	0.060	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
[0098]	6	115	0.064	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	7	116	0.235	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	8	122	0.128	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	9	193	0.033	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	10	202	0.275	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	11	204	0.204	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	12	356	0.168	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	13	387	0.075	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
	14	402	0.083	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
[0099]	15	457	0.085	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
备注 1: S/CO>1 判定为阳性, Cut-off 浓度值定为 0.2 IU/mL,与方法 1 和方法 2 基本保持一致。						
备注 2: 方法 1 检测仪器为 i2000sr,方法 2 检测仪器为 cobas 411。						

[0100] 由表4数据可知:当稀释液中同时添加阻断剂低活酶时,500份样本中未出现假阳性样本,假阳性率由3%降至0,可能是同时减少了由血清中某一物质对磁微粒和ALP酶同时有吸附作用引起的假阳性结果和由异嗜性抗体或RF因子引起的假阳性结果。

[0101] 实施例5

[0102] 本实施例提供一种碱性磷酸酶标记物稀释液,所述稀释液包括如下组分:

组分	类型	浓度
缓冲液	Tris	25mmol/L
蛋白质	水解明胶	2%
锌离子	ZnCl <sub>2</sub>	0.1mmol/L
镁离子	MgCl <sub>2</sub>	1mmol/L
防腐剂	Proclin-300	0.10%
表面活性剂	Tween-20	0.50%
阻断剂	HIER-E-100	200 mg/L
低活酶	低活碱性磷酸酶	20 mg/L
pH=7.4		

[0104] 其制备方法参照实施例1。

[0105] 将得到的稀释液用于HBeAg磁微粒化学发光免疫分析,具体如下:

[0106] 采购自菲鹏的两株HBeAb单抗,分别做包被和标记,HBeAb-碱性磷酸酶标记物用该稀释液稀释至工作浓度(0.1 $\mu$ g/mL),以500份正常人血清中为检测样本,测定并统计阴阳性,阳性结果与其他方法学(方法1、方法2)比较符合率。

[0107] 使用实施例5稀释液检测500份正常人血清中未出现假阳性样本,实施例1中15例假阳性样本检测结果统计如表5所示:

[0108] 表5

	样本序号	样本号	HBeAg S/CO	结果判定	雅培结果	罗氏结果
[0109]	1	5	0.047	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)

[0110]

2	40	0.035	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
3	77	0.060	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
4	88	0.128	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
5	100	0.073	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
6	115	0.081	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
7	116	0.267	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
8	122	0.114	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
9	193	0.028	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
10	202	0.324	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
11	204	0.189	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
12	356	0.157	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
13	387	0.034	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
14	402	0.074	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
15	457	0.059	阴性 (-)	阴性 (-)	阴性 (-)
备注 1: S/CO>1 判定为阳性, Cut-off 浓度值定为 0.2 IU/mL,与方法 1 和方法 2 基本保持一致。					
备注 2: 方法 1 检测仪器为 i2000sr,方法 2 检测仪器为 cobas 411。					

[0111] 由表5数据可知:当稀释液中同时添加阻断剂低活酶时,500份样本中未出现假阳性样本,假阳性率由3%降至0,可能是同时减少了由血清中某一物质对磁微粒和ALP酶同时有吸附作用引起的假阳性结果和由异嗜性抗体或RF因子引起的假阳性结果。

[0112] 申请人声明,本发明通过上述实施例来说明本发明的一种碱性磷酸酶标记物的稀释液及其应用,但本发明并不局限于上述实施例,即不意味着本发明必须依赖上述实施例才能实施。所属技术领域的技术人员应该明了,对本发明的任何改进,对本发明产品各原料的等效替换及辅助成分的添加、具体方式的选择等,均落在本发明的保护范围和公开范围之内。

[0113] 以上详细描述了本发明的优选实施方式,但是,本发明并不限于上述实施方式中的具体细节,在本发明的技术构思范围内,可以对本发明的技术方案进行多种简单变型,这些简单变型均属于本发明的保护范围。

[0114] 另外需要说明的是,在上述具体实施方式中所描述的各个具体技术特征,在不矛盾的情况下,可以通过任何合适的方式进行组合,为了避免不必要的重复,本发明对各种可能的组合方式不再另行说明。

专利名称(译)	一种碱性磷酸酶标记物的稀释液及其应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN110824159A</a>	公开(公告)日	2020-02-21
申请号	CN201911157347.6	申请日	2019-11-22
[标]申请(专利权)人(译)	浙江蓝怡医药有限公司		
申请(专利权)人(译)	浙江蓝怡医药有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	浙江蓝怡医药有限公司		
[标]发明人	李子樵		
发明人	李子樵 张辰欢		
IPC分类号	G01N33/535 G01N33/576		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/5761		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及一种碱性磷酸酶标记物的稀释液及其应用。所述稀释液包括缓冲液、蛋白质、表面活性剂、锌离子、镁离子、防腐剂和添加剂；所述添加剂包括阻断剂和/或碱性磷酸酶；所述碱性磷酸酶为低活性碱性磷酸酶和/或无活性碱性磷酸酶。本发明创造性地在传统的用于稀释碱性磷酸酶标记物的稀释液中添加阻断剂和/或碱性磷酸酶，能够很好地降低非特异性反应，最终降低临床样本检测假阳性结果概率，提高检测分析结果的准确率。

组分	类型	浓度
缓冲液	MES	10mmol/L
蛋白质	BSA	1%
锌离子	ZnCl <sub>2</sub>	0.1mmol/L
镁离子	MgCl <sub>2</sub>	1mmol/L
防腐剂	Proclin-300	0.10%
表面活性剂	Tween-80	0.50%
pH=6.7		