



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104569409 A

(43) 申请公布日 2015. 04. 29

(21) 申请号 201510003791. 8

(22) 申请日 2015. 01. 04

(71) 申请人 深圳市艾瑞生物科技有限公司

地址 518100 广东省深圳市宝安区西乡街道

臣田社区宝田三路宝田工业区 22 栋 5

楼西边

(72) 发明人 谢爱武

(74) 专利代理机构 北京联瑞联丰知识产权代理

事务所(普通合伙) 11411

代理人 朱广存

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/542(2006. 01)

G01N 33/533(2006. 01)

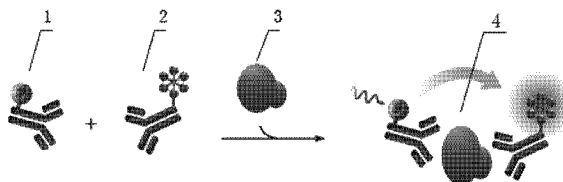
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54) 发明名称

一种快速定量检测髓过氧化物酶的均相荧光免疫试剂组及其制备方法

(57) 摘要

本发明提供了一种快速定量检测髓过氧化物酶的均相荧光免疫试剂组及其制备方法。本发明所述的快速定量检测髓过氧化物酶的均相荧光免疫试剂组,包括稀土元素螯合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体(anti-MPO)、近红外荧光化合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体和系列浓度的髓过氧化物酶校准品。本发明可定量检测人体内 MPO 水平,且成本低廉,操作简单、快速、灵敏,且特异性好,只需要配套专用均相荧光免疫检测仪,因此可广泛应用于各级医疗检验场所,尤其是基层医疗机构,包括乡镇卫生院等均可开展,对于心脑血管事件发生的预防有极为重要的意义。



1. 一种快速定量检测髓过氧化物酶的均相荧光免疫试剂组,其特征在于,包括稀土元素螯合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体、近红外荧光化合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体和系列浓度的髓过氧化物酶校准品。

2. 根据权利要求1所述的均相荧光免疫试剂组,其特征在于,稀土元素螯合物为 Eu^{3+} 螯合物。

3. 根据权利要求2所述的均相荧光免疫试剂组,其特征在于,稀土元素螯合物为 BHHCT-Eu^{3+} 或 BHHBCB-Eu^{3+} 。

4. 根据权利要求1所述的均相荧光免疫试剂组,其特征在于,所述近红外荧光化合物为Alexa系列近红外荧光化合物、DyLight系列近红外荧光化合物和CF系列近红外荧光化合物中的至少一种。

5. 根据权利要求4所述的均相荧光免疫试剂组,其特征在于,所述近红外荧光化合物Alexa647、DyLight-DY647和CF647中的至少一种。

6. 根据权利要求1所述的均相荧光免疫试剂组,其特征在于,所述系列浓度的髓过氧化物酶校准品由校准品稀释液稀释髓过氧化物酶配制而成,所述校准品稀释液为含0.01-0.5wt% PEG2000、1-5wt% BSA、0.01-0.05wt%表面活性剂的磷酸盐缓冲液。

7. 一种权利要求1-6中任意一项所述的均相荧光免疫试剂组的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

1) 稀土元素螯合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体的制备:

取0.5-5mg/ml的抗髓过氧化物酶单克隆抗体溶液,加入0.05-0.5mol/L的 NaHCO_3 溶液后,调pH至8.5-10,滴加10-100 $\mu\text{g/ml}$ 配体化合物溶液,搅拌反应0.6-2h,分离得到配体化合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体,加入终浓度为0.05-0.5wt%的BSA和0.01-1wt%的 NaN_3 ,调pH至5.5-6.5,免疫分析前,加入 Eu^{3+} 溶液,使配体化合物与 Eu^{3+} 等摩尔浓度,即得,其中,抗髓过氧化物酶单克隆抗体溶液、 NaHCO_3 溶液和配体化合物溶液的体积比为0.1-1 : 1 : 0.01-0.05;

2) 近红外荧光化合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体的制备:

将抗髓过氧化物酶单克隆抗体用0.05-0.5mol/L的 NaHCO_3 溶液稀释至0.5-5mg/ml,加入近红外荧光化合物溶解液,搅匀,室温孵育0.5-2h,分离得到近红外荧光化合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体;

3) 系列浓度的髓过氧化物酶校准品的制备:

将髓过氧化物酶用校准品稀释液稀释配制系列浓度,即得,

其中,1)、2)和3)的顺序可以任意颠倒。

8. 根据权利要求7所述的制备方法,其特征在于,抗髓过氧化物酶单克隆抗体在于配体化合物反应之前,先进行透析处理。

一种快速定量检测髓过氧化物酶的均相荧光免疫试剂组及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医学检验领域,具体涉及一种快速定量检测髓过氧化物酶的均相荧光免疫试剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 髓过氧化物酶 (myeloperoxidase, MPO) 是一种由活化的中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞分泌的相对分子质量为 150000 的白细胞酶,是糖基化的四聚体的血红素蛋白。多形核嗜中性粒细胞是血管内 MPO 最主要的细胞来源,分泌的 MPO 占全部细胞蛋白质的 4%,占全部循环 MPO 含量的 95%。MPO 水平与中性粒细胞激活程度呈显著的相关性,可作为中性粒细胞的活化标志物。

[0003] 目前已经研究发现在冠状动脉粥样硬化的斑块中有大量具有 MPO 活性的中性粒细胞巨噬细胞的浸润,提示其在粥样斑块的形成及进展中具有重要作用。已证实在急性冠状动脉综合征 (Acute coronary syndromes, ACS) 患者的易损斑块中存在大量中性粒细胞的浸润。用免疫染色发现 MPO 大量聚集在早期动脉粥样硬化病变富含脂质区域的胆固醇裂缝中。研究也证明在不稳定斑块中有许多含 MPO 阳性的巨噬细胞,此型细胞积聚在腐蚀或破裂斑块中可导致 ACS,而人脂质条纹中的巨噬细胞含少量或不含 MPO。

[0004] 目前国际上已有两个大型的临床实验揭示 MPO 是一个预测 ACS 等不良事件的强有力的指标,并且提示 MPO 作为一项炎症指标,它的变化是先于心肌的缺血性改变。从长远而言,该指标的应用将可以挽救许多常规检查阴性或者是症状较轻然而病变很严重的患者。对 ACS 患者研究发现与肌钙蛋白 T (TnT)、C 反应蛋白 (CRP) 等指标一样,血浆 MPO 水平可以独立预测 ACS 患者心血管事件的发病危险。选择 1090 例 ACS 患者,测量血浆 MPO 水平,并进行了 6 个月的随访,记录非致命性心肌梗死和死亡事件,结果显示,患者血浆 MPO 水平与血浆 TnT、可溶性 CD40 配体、MPO 水平以及 ST 段的改变无关。但随着 MPO 水平升高 (>350g/L, 31.3%), 患者发生观察终点事件的风险显著增加。尤其对判断 TnT 水平低于 0.01ng/ml 的 ACS 患者的危险性意义更大

[0005] 采用前瞻性研究方法评价基线血浆 MPO 水平对胸痛患者心血管事件的预测价值。研究人选了 604 例胸痛发作 24h 内就诊的患者,从胸痛发作到就诊的平均时间 4h。男性 354 例,女性 254 例。就诊时测定基线 MPO、TnT、MPO、肌酸激酶同工酶水平。并根据临床及实验室检查明确诊断。以年龄大于 21 岁,没有冠状动脉疾病临床证据的 115 名志愿者为对照组人群。预后评价指标为主要不良心脏事件包括 MI、再次梗死、必要的血运重建或死亡。通过回顾医疗记录和电话随访评价 30d 和 6 个月时的事件。结果发现病例组总体 MPO 水平比对照组 MPO 显著增加;就诊后 16h 内发生 MI 的患者比无 MI 患者基线 MPO 水平高,就诊时无明显心肌坏死证据的患者,4-16h 内有 TNT 升高的患者比 TNT 持续阴性的患者, MPO 明显升高;随访 30d 和 6 个月进行血运重建或发生主要不良心脏事件的患者与无并发症的患者相比,基线 MPO 水平升高,与 570 例存活的患者相比,死亡的 34 例患者 MPO 水平也升高。MPO

作为独立风险预测因子而言,整体人群和初始TnT阴性的患者,MI风险随着基线MPO四分位数的增加而增加,MPO水平可作为30d和6个月时主要不良心脏事件的预测因子。研究TNT阴性患者的临床预后时发现,无心肌坏死证据的462例患者,随访30d及6个月时,发生主要不良心脏事件组基线MPO水平比无事件组明显升高。经多因素校正分析,证实MPO水平是30d和6个月主要冠状动脉不良事件和血运重建的强独立预测因子。此外在筛选试验中单独应用TnT可预测出58%主要不良心脏事件,但加上MPO预测准确性则可达84.5%。

[0006] 临床实验室MPO检测一直采用酶联免疫定量检测方法,但操作步骤繁琐,时间较长,且需要多种检测仪器设备,不利于ACS患者快速检测和及时诊治的临床需求。目前发展的金标试纸检测MPO的方法,虽然满足了临床快速检测的要求,但不能实现定量检测迫切需求。因此,建立一种检测时间尽量缩短,并且检测除了能在实验室进行外,还要求能够进行床旁检测,同时能定量测定MPO的检测方法,从而为临床提供准确的诊断依据,是十分必要的。

[0007] 均相荧光分析法(homogeneous fluoroimmunoassay, HFIA)是在时间分辨荧光免疫分析(time-resolved fluoroimmunoassay, TRFIA)技术的基础上形成的一种新的荧光免疫分析技术。TRFIA技术采用的荧光物质与传统的荧光染料完全不同,采用的是镧系元素铕(Eu)、铽(Tb)等作为荧光材料,灵敏度非常高,稳定性好,低温条件可保存三年,因而成为二十一世纪最热门的免疫分析技术。

[0008] 均相荧光免疫检测法是用同一抗原的两个抗体分别标记Eu³⁺和荧光染料Alexa647。Eu³⁺标记抗体在游离状态时,受到340nm光线激发,只发射平均波长为615nm荧光,而在抗原、抗体复合物形成时,发生能量传递,激发荧光染料Alexa647发射出665nm荧光。标记抗体直接与待测样品进行抗原、抗体反应,如果能形成抗原、抗体复合物,则在665nm出可测得荧光信号。这种方法省却了酶联免疫法反复孵育和洗板等烦琐操作步骤,几分钟就能获得结果,省时省力。并且,此法也相应地避免了许多人为操作因素和试剂、环境等外界因素的干扰,稳定性和重复性都较好,能较真实地反映被测物质的含量。此外,Eu³⁺和Alexa647这对荧光物质的最大发射光波长之间相差较大,未发生抗原抗体反应的本底荧光值就非常低。而人血清中非特异性物质产生的300-500nm荧光,不能激发Alexa647发射荧光信号650nm激发光。因此非特异性荧光非常低。

[0009] 本发明采用均相荧光免疫快速检测技术,利用荧光的高灵敏特点,同样也避免了胶体金或者荧光MPO干式免疫试纸中的硝酸纤维素膜本身孔隙不均一特性对检测准确度和重复性的不良影响。由于均相荧光免疫检测中样品与荧光标记抗体全过程都在液相中全面接触,反应充分,因此可大幅度提高检测灵敏度和线性范围,同时反应在液相进行也增加了样品的稀释倍数,消除了样品的基质效应影响,使定量结果有很好的可重复性,提高了定量结果的精密度和准确度,可满足临床诊断大规模检测的要求。

发明内容

[0010] 本发明的目的在于克服现有MPO检测技术的不足,提供一种快速定量检测MPO的均相荧光免疫试剂组。本发明根据荧光免疫技术特点和MPO抗原抗体系统特点,设计新的原材料,试剂和工艺流程,应用本发明提供的试剂组检测MPO水平,具有简单,快速,灵敏和特异性好等特点,可同时定量检测高值和低值样品,并且性价比高,适用于临床快速检测。

[0011] 本发明的第一个方面是提供一种快速定量检测髓过氧化物酶的均相荧光免疫试剂组,包括稀土元素螯合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体(anti-MPO)、近红外荧光化合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体和系列浓度的髓过氧化物酶校准品。

[0012] 优选地,稀土元素螯合物为 Eu^{3+} 螯合物。

[0013] 更优选地,稀土元素螯合物为 BHHCT- Eu^{3+} 或 1,2-二(1'',1'',1'',2'',2'',3'',3''-七氟-4'',6''-己二酮-6''-基-对苄基)-4-氯磺酰基苯与铕(III)的配合物(BHHBCB- Eu^{3+})。

[0014] 优选地,所述近红外荧光化合物为 Alexa 系列近红外荧光化合物、DyLight 系列近红外荧光化合物和 CF 系列近红外荧光化合物中的至少一种。

[0015] 更优选地,所述近红外荧光化合物 Alexa647、DyLight-DY647 和 CF647 中的至少一种。

[0016] 优选地,所述系列浓度的髓过氧化物酶校准品由校准品稀释液稀释髓过氧化物酶配制而成,所述校准品稀释液为含 0.01-0.5wt% PEG2000、1-5wt% BSA、0.01-0.05wt% 表面活性剂的磷酸盐缓冲液。

[0017] 髓过氧化物酶校准品可用塑料瓶密封包装。

[0018] 本发明的第二个方面是提供本发明第一个方面所述的均相荧光免疫试剂组的制备方法,包括以下步骤:

[0019] 1) 稀土元素螯合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体的制备:

[0020] 取 0.5-5mg/ml 的抗髓过氧化物酶单克隆抗体溶液,加入 0.05-0.5mol/L 的 NaHCO_3 溶液后,调 pH 至 8.5-10,滴加 10-100 $\mu\text{g/ml}$ 配体化合物溶液,搅拌反应 0.6-2h,分离得到配体化合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体,加入终浓度为 0.05-0.5wt% 的 BSA 和 0.01-1wt% 的 NaN_3 ,调 pH 至 5.5-6.5,免疫分析前,加入 Eu^{3+} 溶液,使配体化合物与 Eu^{3+} 等摩尔浓度,即得,其中,抗髓过氧化物酶单克隆抗体溶液、 NaHCO_3 溶液和配体化合物溶液的体积比为 0.1-1 : 1 : 0.01-0.05;

[0021] 2) 近红外荧光化合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体的制备:

[0022] 将抗髓过氧化物酶单克隆抗体用 0.05-0.5mol/L 的 NaHCO_3 溶液稀释至 0.5-5mg/ml,加入近红外荧光化合物溶解液,搅匀,室温孵育 0.5-2h,分离得到近红外荧光化合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体;

[0023] 3) 系列浓度的髓过氧化物酶校准品的制备:

[0024] 将髓过氧化物酶用校准品稀释液稀释配制系列浓度,即得,

[0025] 其中,1)、2) 和 3) 的顺序可以任意颠倒。

[0026] 其中,稀土元素螯合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体用于免疫分析时,用标记物稀释液稀释使用,2-8℃分装保存。

[0027] 其中,近红外荧光化合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体用磷酸盐缓冲液稀释,2-6℃保存。

[0028] 其中,髓过氧化物酶校准品 2-6℃保存。

[0029] 优选地,抗髓过氧化物酶单克隆抗体在于配体化合物反应之前,先进行透析处理。

[0030] 优选地,步骤 1) 中配体化合物为 BHHCT 或 BHHBCB。

[0031] 优选地,步骤 1) 中分离得到配体化合物标记的 anti-MPO 通过离心和柱层析方式进行。柱层析采用 SephadexG-50 柱,0.01-0.1mol/L NH_4HCO_3 (pH8.0) 洗脱。

[0032] 优选地,步骤2)中,分离得到近红外荧光化合物标记的 anti-MPO 通过柱层析的方式进行。

[0033] 进一步优选地,步骤2)中,柱层析采用 G25 凝胶柱。

[0034] 优选地,步骤2)中,室温孵育时,每隔 10-20min 混匀一次。

[0035] 本发明的均相荧光免疫试剂的使用:先将稀土元素螯合物标记的 anti-MPO 溶液加入反应微孔中,再加入近红外荧光化合物标记的 anti-MPO 溶液,最后分别加入 MPO 校准品和临床检测样品,37℃反应 20 分钟后,用均相荧光免疫分析仪检测判读结果。

[0036] 本发明提供的快速定量检测髓过氧化物酶的均相荧光免疫试剂组,其反应原理为双抗体夹心法的均相荧光免疫法。待测样品与适当比例的稀土元素(例如 Eu^{3+})和荧光标记抗体在液相均质介质中充分混和均匀,在此过程中样品中的 MPO 既能专一性地与稀土元素标记的抗 MPO 抗体充分结合,也能与荧光标记的 MPO 抗体充分反应,形成“稀土元素-anti-MPO-MPO-anti-MPO-荧光化合物”免疫复合物,荧光强度可用专用均相荧光免疫分析仪器定量测定,荧光强度与样品中 MPO 浓度成正比。

[0037] 本发明可定量检测人体内 MPO 水平,且成本低廉,操作简单、快速、灵敏,且特异性好,只需要配套专用均相荧光免疫检测仪,因此可广泛应用于各级医疗检验场所,尤其是基层医疗机构,包括乡镇卫生院等均可开展,对于心脑血管事件发生的预防有极为重要的意义。

附图说明

[0038] 图1为本发明的一种实施例的作用原理图,其中,1: Eu^{3+} 标记 anti-MPO, 2: Alexa647 标记 anti-MPO, 3: 校准品或待测样本中 MPO, 4: Eu^{3+} -anti-MPO-MPO-anti-MPO-Alexa647 免疫复合物;

[0039] 图2为 MPO 浓度的标准曲线;

[0040] 图3为 MPO 相关性分析曲线。

具体实施方式

[0041] 下面参照附图,结合具体的实施例对本发明做进一步的说明,以更好地理解本发明。其中,下述内容中若无特别规定物质浓度均为质量百分比浓度。

[0042] 实施例 1

[0043] 1、标记用 anti-MPO 的准备:

[0044] 选用纯化的基因工程表达的抗髓过氧化物酶单克隆抗体。 Eu^{3+} 标记用抗髓过氧化物酶单克隆抗体商品编号为 16E3;荧光素标记用抗髓过氧化物酶单克隆抗体商品编号为 18B7 和 19G8。

[0045] 2、稀土元素螯合物标记 anti-MPO 的制备:

[0046] 用 3L 0.9% NaCl 于 4℃透析鼠抗人 MPO 单抗 16E3 溶液 (3mg/ml) 两次,每次 24hr。加水调浓度至 1.5mg/ml。取 0.6ml 该抗体溶液,加入 1ml NaHCO_3 (0.2mol/L),并用 1mol/L NaOH 调 pH 至 9.1。将 20 μ l BHHCT 甲醇溶液 (30 μ g/ml) 滴加到搅拌下的抗体溶液中,并继续搅拌反应 1hr。离心 (10000rpm, 10min) 除去不溶物后,上 SephadexG-50 柱,用 0.05mol/L NH_4HCO_3 (pH8.0) 洗脱,分离标记蛋白质和游离的标记物。紫外/可见分光光度计检测各

收集液的 A_{330} 值, 合并含有标记抗体的溶液。加入终浓度为 0.1% 的 BSA 和 0.05% 的 NaN_3 , 用 1 mol/L HCl 调 pH 至 6.2。分装后 -20°C 储存备用。用于免疫分析前, 加入 EuCl_3 溶液 (BHHCT 与 Eu^{3+} 等摩尔浓度)。用于免疫分析时, 用标记物稀释液稀释使用, $2-8^\circ\text{C}$ 分装保存。

[0047] 3、Alexa647 标记抗体的制备:

[0048] 将抗 MP0 单克隆抗体 18B7、19G8, 分别用 0.1M 碳酸氢钠溶液稀释至 1 mg/ml, 各取 5ml 抗体溶液, 分别加入 30mg 荧光素 Alexa647 溶解液, 搅匀, 室温孵育 1 小时, 每隔 15 分钟混匀一次。最后用 G25 凝胶柱过柱分离纯化, 收集标记好的荧光素标记抗体, 用含 0.01% PEG、1% BSA、5% 甘油、0.01% 表面活性剂的 0.01 M 磷酸盐缓冲液稀释, 用塑料瓶密封包装, 于 4°C 保存。

[0049] 4、系列浓度 MP0 校准品的制备:

[0050] 用含 0.025% PEG2000、3.5% BSA、0.035% 表面活性剂的 0.05M 磷酸盐缓冲液, 按照 $0 \mu\text{g/L}$ 、 $125 \mu\text{g/L}$ 、 $250 \mu\text{g/L}$ 、 $500 \mu\text{g/L}$ 、 $1000 \mu\text{g/L}$ 的浓度稀释溶解 MP0 纯品, 混匀后于 4°C 保存。

[0051] 实施例 2

[0052] 本实施例的制备方法与实施例 1 基本相同, 不同点在于:

[0053] 步骤 2 中, 稀土元素螯合物标记 anti-MP0 的制备方法是: 用 3L 0.9% NaCl 于 4°C 透析鼠抗人 MP0 溶液 (3mg/ml) 两次, 每次 24hr。加水调浓度至 1.5mg/ml。取 0.6ml 该抗体溶液, 加入 1ml NaHCO_3 (0.2mol/L), 并用 1 mol/L NaOH 调 pH 至 9.1。将 $20 \mu\text{l}$ BHHBCB 甲醇溶液 ($30 \mu\text{g/ml}$) 滴加到搅拌下的抗体溶液中, 并继续搅拌反应 1hr。离心 (10000rpm, 10min) 除去不溶物后, 上 SephadexG-25 柱, 用 0.05mol/L NH_4HCO_3 (pH8.0) 洗脱, 分离标记蛋白质和游离的标记物。紫外 / 可见分光光度计检测各收集液的 A_{330} 值, 合并含有标记抗体的溶液。加入终浓度为 0.1% 的 BSA 和 0.05% 的 NaN_3 , 用 1mol/L HCl 调 pH 至 6.2。分装后 -20°C 储存备用。用于免疫分析前, 加入 EuCl_3 溶液 (BHHBCB 与 Eu^{3+} 等摩尔浓度)。用于免疫分析时, 用标记物稀释液稀释使用, $2-8^\circ\text{C}$ 分装保存。

[0054] 实施例 3

[0055] 本实施例的制备方法与实施例 1 基本相同, 不同点在于:

[0056] 步骤 3 中, 将抗 MP0 单克隆抗体 18B7、19G8, 分别用 0.1M 碳酸氢钠溶液稀释至 1mg/ml, 各取 5ml 抗体溶液, 分别加入 40mg 荧光素 DyLight-DY647 溶解液, 搅匀, 室温孵育 1.5 小时, 每隔 15 分钟混匀一次。最后用 G25 凝胶柱过柱分离纯化, 收集标记好的荧光素标记抗体, 用含 0.015% PEG600、4.5% BSA、12.5% 甘油、0.025% 表面活性剂的 0.02M 磷酸盐缓冲液稀释, 用塑料瓶密封包装, 于 4°C 保存。

[0057] 实施例 4

[0058] 本实施例的制备方法与实施例 1 基本相同, 不同点在于:

[0059] 步骤 3 中, 将抗 MP0 单克隆抗体 18B7、19G8, 分别用 0.1M 碳酸氢钠溶液稀释至 1mg/ml, 各取 5ml 抗体溶液, 分别加入 50mg 荧光素 CF647 溶解液, 搅匀, 室温孵育 2 小时, 每隔 15 分钟混匀一次。最后用 G25 凝胶柱过柱分离纯化, 收集标记好的荧光素标记抗体, 用含 0.03% PEG600、5% BSA、10% 甘油、0.05% 表面活性剂的 0.02M 磷酸盐缓冲液稀释, 用塑料瓶密封包装, 于 4°C 保存。

[0060] 实施例 5

[0061] 在临床检测中,实验步骤为:先将 50 μ l 的稀土元素螯合物标记 anti-MPO 溶液加入反应微孔中,再加入 50 μ l 的近红外荧光化合物标记的 anti-MPO 溶液,最后分别加入 50 μ l 的 MPO 校准品、临床检测样品,37℃反应 20 分钟后,用均相荧光免疫分析仪检测判读结果。

[0062] 实施例 6

[0063] 用专用的均相荧光免疫分析仪检测荧光强度,各浓度校准品检测结果如下:

[0064]

MPO 浓度 (μ g/L)	0	125	250	500	1000
相对荧光强度	623	2361	5132	8966	19335

[0065] 依据相对荧光强度数据,制作 MPO 的标准曲线,见图 2。MPO 的标准曲线计算公式为 $Y = 18.784X + 239.55$, $R^2 = 0.9965$ 。

[0066] 实施例 7

[0067] 采用本发明实施例 1,用专用的均相荧光免疫分析仪检测 56 例临床冠心病患者血清样本,同步采用瑞士 Roche 公司的电化学法 MPO 试剂进行对比检测,进行相关性分析,见图 3,结果说明本研究方法与以上市产品检测结果一致,具有临床等效性。实施例 2-4 的临床试验结果与实施例 1 一致。

[0068] 以上对本发明的具体实施例进行了详细描述,但其只是作为范例,本发明并不限于以上描述的具体实施例。对于本领域技术人员而言,任何对本发明进行的等同修改和替代也都在本发明的范畴之中。因此,在不脱离本发明的精神和范围下所作的均等变换和修改,都应涵盖在本发明的范围内。

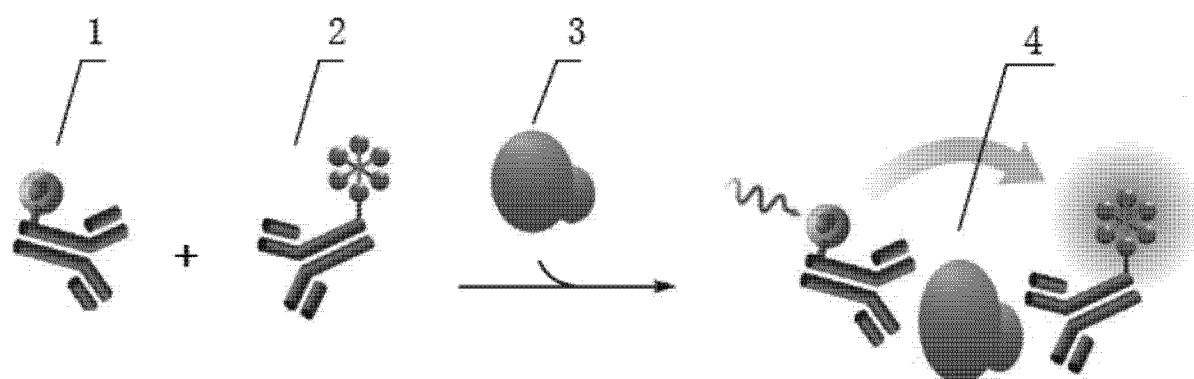


图 1

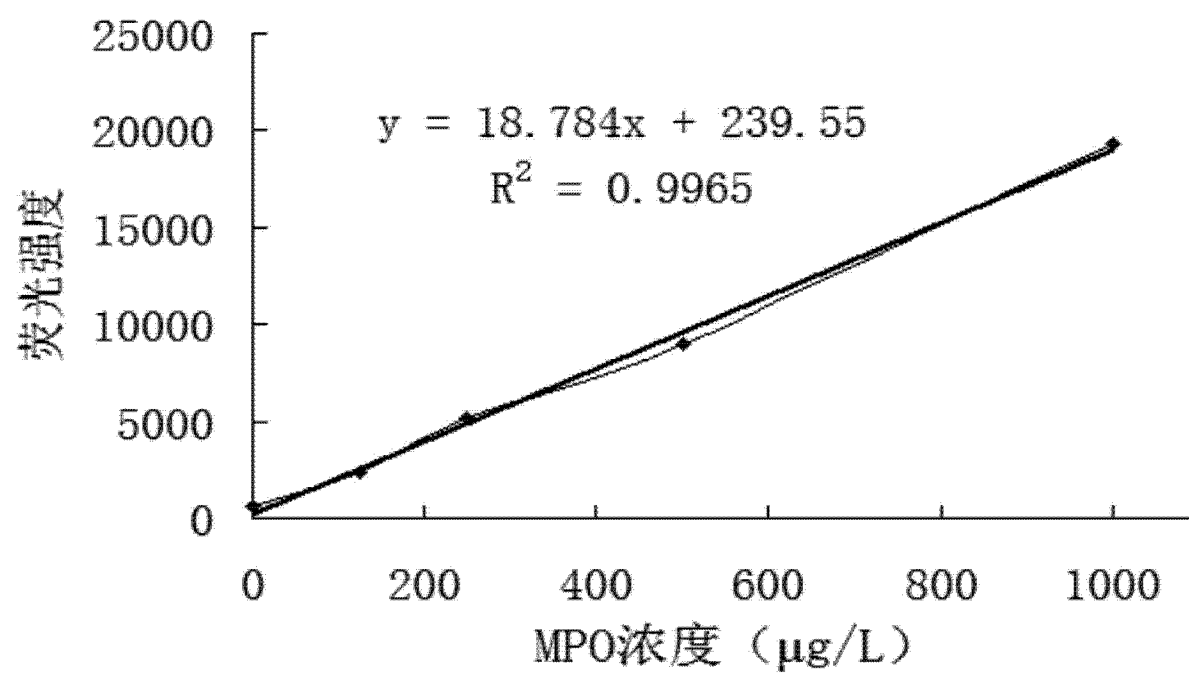


图 2

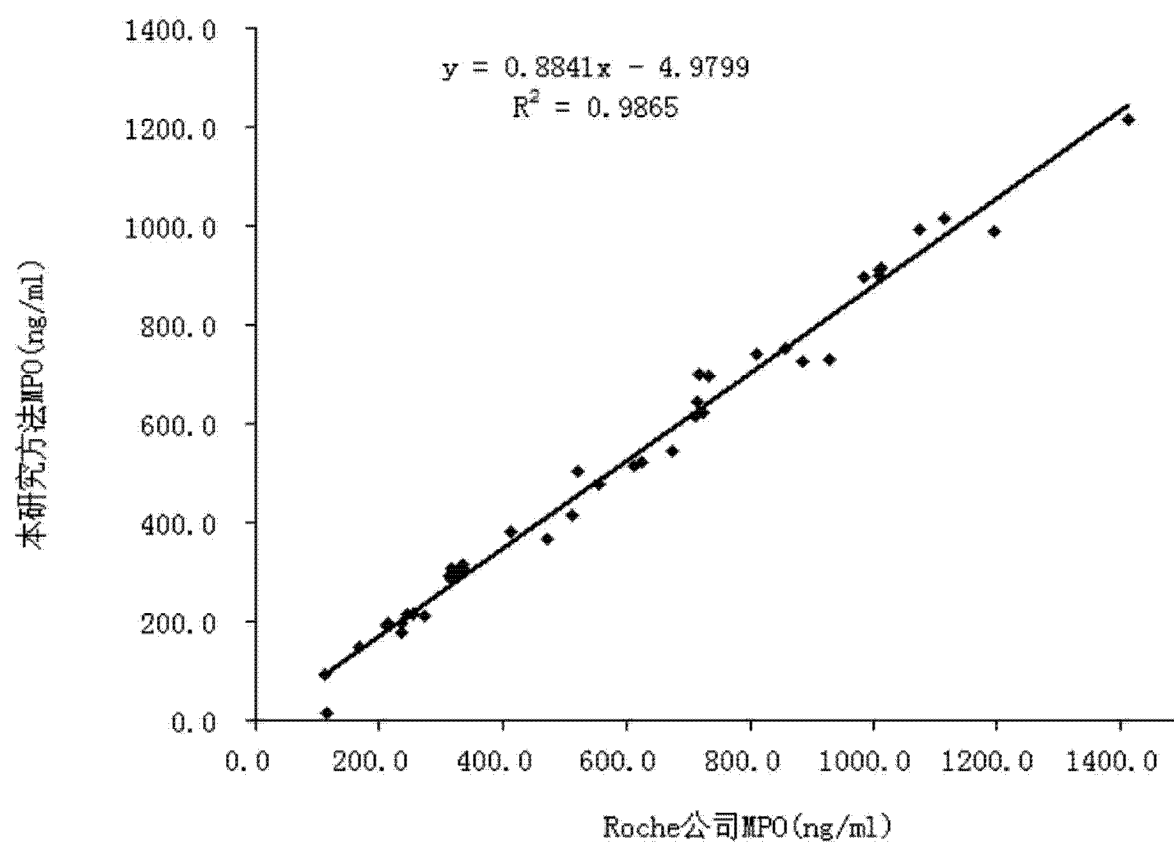


图 3

专利名称(译)	一种快速定量检测髓过氧化物酶的均相荧光免疫试剂组及其制备方法		
公开(公告)号	CN104569409A	公开(公告)日	2015-04-29
申请号	CN201510003791.8	申请日	2015-01-04
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市艾瑞生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳市艾瑞生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市艾瑞生物科技有限公司		
[标]发明人	谢爱武		
发明人	谢爱武		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/542 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/542 G01N33/577		
代理人(译)	朱广存		
其他公开文献	CN104569409B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种快速定量检测髓过氧化物酶的均相荧光免疫试剂组及其制备方法。本发明所述的快速定量检测髓过氧化物酶的均相荧光免疫试剂组，包括稀土元素螯合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体(anti-MPO)、近红外荧光化合物标记的抗髓过氧化物酶单克隆抗体和系列浓度的髓过氧化物酶校准品。本发明可定量检测人体内MPO水平，且成本低廉，操作简单、快速、灵敏，且特异性好，只需要配套专用均相荧光免疫检测仪，因此可广泛应用于各级医疗检验场所，尤其是基层医疗机构，包括乡镇卫生院等均可开展，对于心脑血管事件发生的预防有极为重要的意义。

