



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104569431 A

(43) 申请公布日 2015. 04. 29

(21) 申请号 201510003916. 7

(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 33/68(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

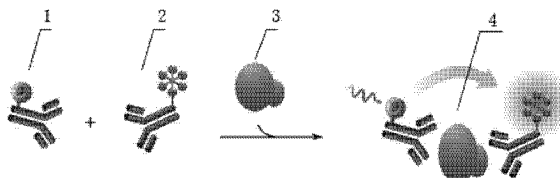
权利要求书1页 说明书6页 附图2页

(54) 发明名称

一种快速定量检测肌钙蛋白 I 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肌钙蛋白 I 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肌钙蛋白 I 的均相荧光免疫试剂组,包括稀土元素螯合物标记的抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体 (anti-cTnI)、近红外荧光化合物标记的抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体和系列浓度的肌钙蛋白 I 校准品。本发明可同时检测高值和低值 cTnI,尤其是低值 cTnI,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. 一种快速定量检测肌钙蛋白 I 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肌钙蛋白 I 单克隆抗体、近红外荧光化合物标记的抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体和系列浓度的肌钙蛋白 I 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,所述系列浓度的肌钙蛋白 I 校准品由校准品稀释液稀释肌钙蛋白 I 配制而成,所述校准品稀释液为含 0.01-0.5wt% PEG1000、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肌钙蛋白 I 单克隆抗体的制备:

取 0.5-5mg/ml 的抗肌钙蛋白 I 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肌钙蛋白 I 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,抗肌钙蛋白 I 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肌钙蛋白 I 单克隆抗体的制备:

将抗肌钙蛋白 I 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肌钙蛋白 I 单克隆抗体;

3) 系列浓度的肌钙蛋白 I 校准品的制备:

将肌钙蛋白 I 用校准品稀释液稀释配制成系列浓度,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,抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体在于配体化合物反应之前,先进行透析处理。

一种快速定量检测肌钙蛋白 I 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肌钙蛋白 I 的均相荧光免疫试剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 冠心病已成为影响人群健康的主要疾病。急性心肌梗死则是造成冠心病人死亡的主要原因。如何及时地发现急性心肌梗死病人及其相应的治疗是挽救心肌梗死病人生命的关键所在。传统的诊断主要是根据典型的临床表现,心电图的改变及实验室酶学检查。但相当一部分心肌梗死病人临床表现不明显,早期心电图无明显改变。在这种情况下,心肌损伤特异性标志物的应用对心肌梗死的早期确诊就起到了关键的作用。肌钙蛋白 I (Cardiac troponin I, cTnI) 是一重要的心肌组织损伤特异性标识物,临床用于急性心肌梗死及其它心肌损伤性疾病的诊断。

[0003] 肌钙蛋白复合体是由 3 个亚基组成,3 个亚基分别是肌钙蛋白 T、肌钙蛋白 I 及肌钙蛋白 C。钙蛋白 T 是原球蛋白结合亚基,主要调节肌钙蛋白复合体与细肌丝间的相互作用。肌钙蛋白 I 是肌原纤维 ATP 酶的抑制性亚单位。肌钙蛋白 C 是钙离子结合部分,主要调节钙离子依赖型的肌肉收缩。肌钙蛋白 I 的基因长约 6.2Kb,可以编码 205 个氨基酸。cTnI 非常特异地仅在心肌中,在肌肉及其它组织中从没有发现 cTnI。cTnI 以不同形式存在于心肌细胞中,其中胞浆内游离的 cTnI 只占 4.1%,为可溶性,大部分与肌钙蛋白 T 及 C 亚单位结合在一起,以复合体的形式存在。当心肌损伤时,外周血中 cTnI 主要为与 TnC 形成的二聚体 (IC),此外 cTnI 还有可能以氧化型、还原型、磷酸化、去磷酸化、蛋白降解形式释放。因 cTnI 分子质量较 CK-MB 小,对心肌损伤很敏感,“微型心肌损伤”cTnI 即可出现阳性结果,而此时 CK-MB 未增高或处正常高限。当心肌细胞膜的完整性受破坏,cTnI 先从胞浆内释放,因此血清水平很快升高,而结合的 cTnI 由于相对分子质量大,从心肌细胞结构蛋白缓慢持续的释放,心肌损伤后 4~6h 释放入血,达到诊断决定值。心肌缺血症状发作后 14~36h 出现高峰,高峰出现时间与血中 CK、CK-MB 相似。持续 3~7 天,部分病例 14 天时仍可测到。最近文献指出,测定血清 cTnI 诊断 AMI 的敏感性为 97%,特异性为 98%,预测值为 99.8%。故 cTnI 增高往往对于心肌损伤的诊断很有价值。90 年代以来,对肌钙蛋白的大量临床研究表明,肌钙蛋白具有心肌损伤的高度的特异性和敏感性。美国临床化学学会 (NACB) 及国际检测医学联合会 (IFCC) 建议:心肌肌钙蛋白是检测心肌损伤的新的标志物;中国检验学会推荐由心肌肌钙蛋白逐步取代 CK-MB 成为检出心肌损伤的新标准。

[0004] cTnI 的测定始于 20 世纪 80 年代中期,多采用双抗体竞争放射免疫法和竞争性 ELISA 测定法。有研究者将金标记或硒标记单克隆抗体与免疫层析技术相结合,用纸条法半定量床边检测 cTnI 浓度,最低检测值为 0.4 $\mu\text{g/L}$ 。目前 cTnI 的检测多采用化学发光法,用化学发光物质标记后作为检测抗体,大大提高了测定的精确性和敏感性,但现在通用的 cTnI 测定方法尚无标准化,不同的方法采用不同的抗体识别位点,所以在使用商品 cTnI 试

剂盒时,必须研究商品试剂的特性。但目前的床旁检测方法—胶体金试纸法,不能满足临床诊断准确定量的要求,无法对 AMI 的病程起到很好的疗效监测作用。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 cTnI 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。

[0005] 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。

[0006] 均相荧光免疫检测法是用同一抗原的两个抗体分别标记 Eu^{3+} 和荧光染料 Alexa647。 Eu^{3+} 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, Eu^{3+} 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。

[0007] 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 cTnI 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

[0008] 本发明的目的在于克服现有 cTnI 检测技术的不足,提供一种快速定量检测 cTnI 的均相荧光免疫试剂组。本发明根据荧光免疫技术特点和 cTnI 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 cTnI 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。

[0009] 本发明的第一个方面是提供一种快速定量检测肌钙蛋白 I 的均相荧光免疫试剂组,包括稀土元素螯合物标记的抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体 (anti-CTNI)、近红外荧光化合物标记的抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体和系列浓度的肌钙蛋白 I 校准品。

[0010] 优选地,稀土元素螯合物为 Eu^{3+} 螯合物。

[0011] 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+})。

[0012] 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。

[0013] 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。

[0014] 优选地,所述系列浓度的肌钙蛋白 I 校准品由校准品稀释液稀释肌钙蛋白 I 配制而成,所述校准品稀释液为含 0.01-0.5wt% PEG1000、1-5wt% BSA、0.01-0.05wt% 表面活性剂的磷酸盐缓冲液。

[0015] 肌钙蛋白 I 校准品可用塑料瓶密封包装。

[0016] 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:

[0017] 1) 稀土元素螯合物标记的抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体的制备:

[0018] 取 0.5-5mg/ml 的抗肌钙蛋白 I 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肌钙蛋白 I 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,抗肌钙蛋白 I 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;

[0019] 2) 近红外荧光化合物标记的抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体的制备:

[0020] 将抗肌钙蛋白 I 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肌钙蛋白 I 单克隆抗体;

[0021] 3) 系列浓度的肌钙蛋白 I 校准品的制备:

[0022] 将肌钙蛋白 I 用校准品稀释液稀释配制成系列浓度,即得,

[0023] 其中,1)、2) 和 3) 的顺序可以任意颠倒。

[0024] 其中,稀土元素螯合物标记的抗肌钙蛋白 I 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 $^{\circ}\text{C}$ 分装保存。

[0025] 其中,近红外荧光化合物标记的抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体用磷酸盐缓冲液稀释,2-6 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

[0026] 其中,肌钙蛋白 I 校准品 2-6 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

[0027] 优选地,抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体在于配体化合物反应之前,先进行透析处理。

[0028] 优选地,步骤 1) 中配体化合物为 BHHCT 或 BHHBCB。

[0029] 优选地,步骤 1) 中分离得到配体化合物标记的 anti-cTnI 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。

[0030] 优选地,步骤 2) 中,分离得到近红外荧光化合物标记的 anti-cTnI 通过柱层析的方式进行。

[0031] 进一步优选地,步骤 2) 中,柱层析采用 G25 凝胶柱。

[0032] 优选地,步骤 2) 中,室温孵育时,每隔 10-20min 混匀一次。

[0033] 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-cTnI 溶液加入反应微孔中,再加入近红外荧光化合物标记的 anti-cTnI 溶液,最后分别加入 cTnI 校准品和临床检测样品,37 $^{\circ}\text{C}$ 反应 20 分钟后,用均相荧光免疫分析仪检测判读结果。

[0034] 本发明提供的快速定量检测肌钙蛋白 I 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 cTnI 既能专一性地与稀土元素标记的抗 cTnI 抗体充分结合,也能与荧光标记的 cTnI 抗体充分反应,形成“稀土元素-anti-cTnI-cTnI-anti-cTnI-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 cTnI 浓度成正比。

[0035] 本发明可同时检测高值和低值 cTnI,尤其是低值 cTnI,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

[0036] 图 1 为本发明的一种实施例的作用原理图,其中,1:Eu³⁺ 标记 anti-cTnI,2:Alexa647 标记 anti-cTnI,3:校准品或待测样本中 cTnI,4:Eu³⁺-anti-cTnI-cTnI-anti-cTnI-Alexa647 免疫复合物;

[0037] 图 2 为 CTNI 浓度的标准曲线;

[0038] 图 3 为 CTNI 相关性分析曲线。

具体实施方式

[0039] 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。

[0040] 实施例 1

[0041] 1、标记用 anti-cTnI 的准备:

[0042] 选用纯化的基因工程表达的抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体。Eu³⁺标记用抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体商品编号为 19C7;荧光素标记用抗肌钙蛋白 I 单克隆抗体商品编号为 16A11 和 560。

[0043] 2、稀土元素螯合物标记 anti-cTnI 的制备:

[0044] 用 3L 0.9% NaCl 于 4℃ 透析鼠抗人 cTnI 单抗 19C7 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 1mol/L HCl 调 pH 至 6.2。分装后 -20℃ 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℃ 分装保存。

[0045] 3、Alexa647 标记抗体的制备:

[0046] 将抗 cTnI 单克隆抗体 16A11、560,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 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 0.01M 磷酸盐缓冲液稀释,用塑料瓶密封包装,于 4℃ 保存。

[0047] 4、系列浓度 cTnI 校准品的制备:

[0048] 用含 0.08% PEG1000、4.5% BSA、0.045% 表面活性剂的 0.01M 磷酸盐缓冲液,按照 0ng/ml、5ng/ml、10ng/ml、20ng/ml、50ng/ml 的浓度稀释溶解 cTnI 纯品,混匀后于 4℃ 保存。

[0049] 实施例 2

[0050] 本实施例的制备方法与实施例 1 基本相同,不同点在于:

[0051] 步骤 2 中,稀土元素螯合物标记 anti-cTnI 的制备方法是:用 3L 0.9% NaCl 于 4℃ 透析鼠抗人 cTnI 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 μl 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℃ 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℃ 分装保存。

[0052] 实施例 3

[0053] 本实施例的制备方法与实施例 1 基本相同,不同点在于:

[0054] 步骤 3 中,将抗 cTnI 单克隆抗体 16A11、560,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 0.05% PEG600、3.5% BSA、10% 甘油、0.05% 表面活性剂的 0.01M 磷酸盐缓冲液稀释,用塑料瓶密封包装,于 4℃ 保存。

[0055] 实施例 4

[0056] 本实施例的制备方法与实施例 1 基本相同,不同点在于:

[0057] 步骤 3 中,将抗 cTnI 单克隆抗体 16A11、560,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% PEG、5% BSA、10% 甘油、0.05% 表面活性剂的 0.01M 磷酸盐缓冲液稀释,用塑料瓶密封包装,于 4℃ 保存。

[0058] 实施例 5

[0059] 在临床检测中,实验步骤为:先将 50 μl 的稀土元素螯合物标记 anti-cTnI 溶液加入反应微孔中,再加入 50 μl 的近红外荧光化合物标记的 anti-cTnI 溶液,最后分别加入 50 μl 的 cTnI 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。

[0060] 实施例 6

[0061] 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:

[0062]

cTnI 浓度 (ng/ml)	0	5	10	20	50
相对荧光强度	466	933	1573	2962	6316

[0063] 依据相对荧光强度数据,制作 cTnI 的标准曲线,见图 2。cTnI 的标准曲线计算公式为 $Y = 118.47X + 435.98$, $R^2 = 0.9983$ 。

[0064] 实施例 7

[0065] 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 cTnI 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。

[0066] 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。

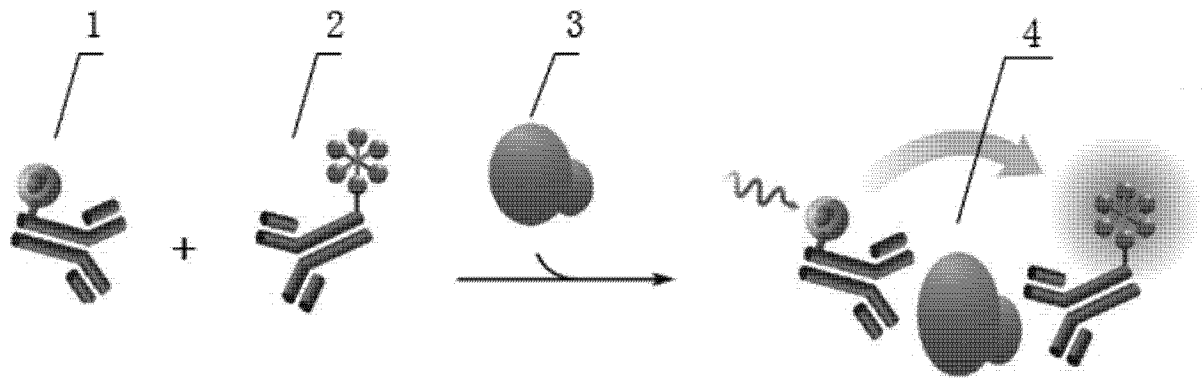


图 1

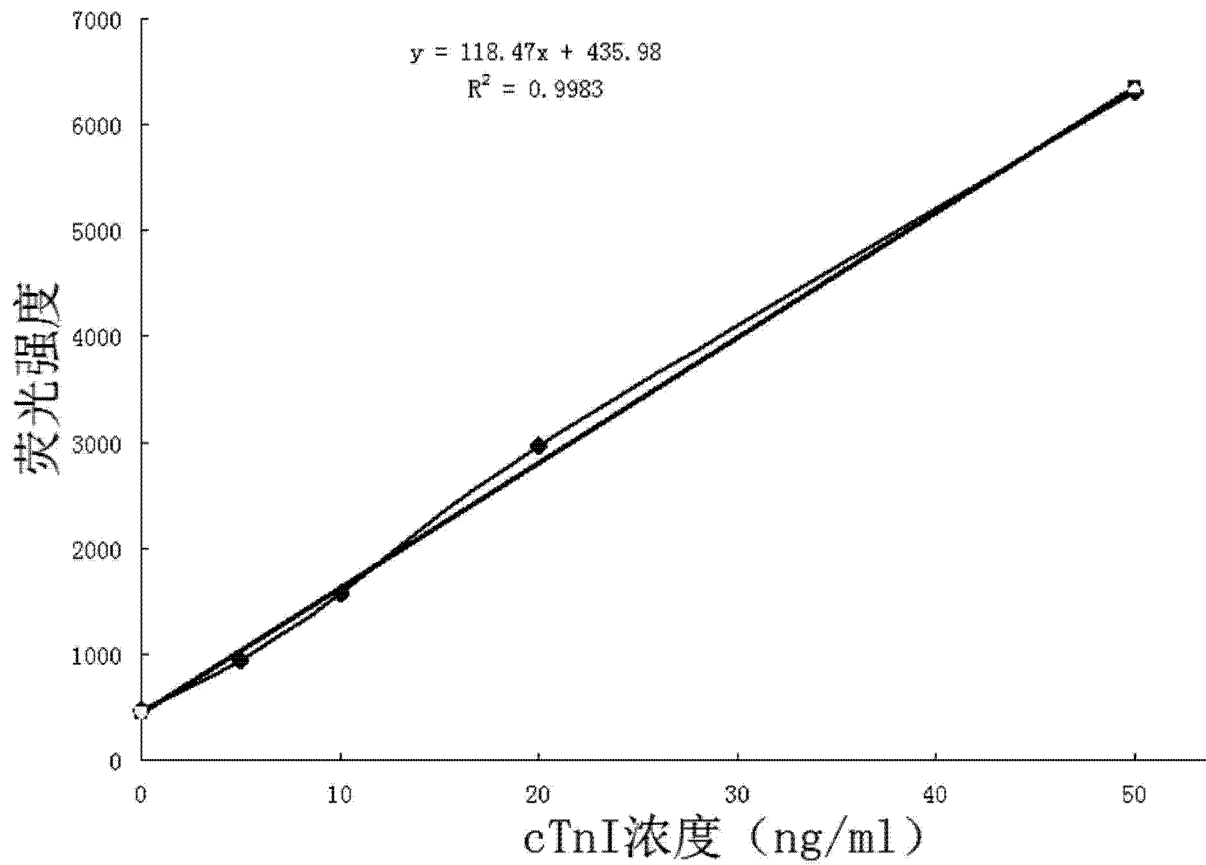


图 2

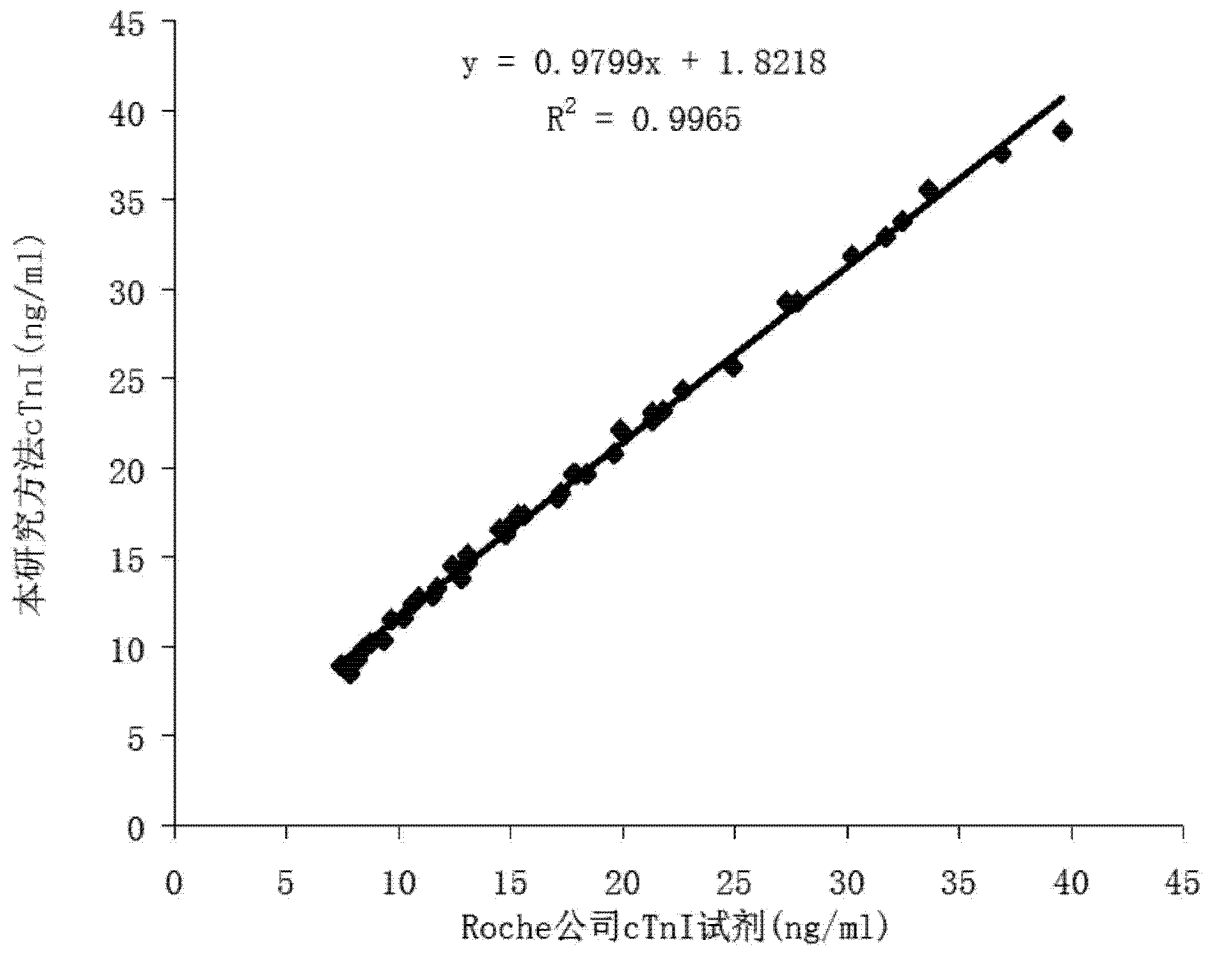


图 3

专利名称(译)	一种快速定量检测肌钙蛋白I的均相荧光免疫试剂组及其制备方法		
公开(公告)号	CN104569431A	公开(公告)日	2015-04-29
申请号	CN201510003916.7	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	G01N33/68 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/577		
代理人(译)	朱广存		
其他公开文献	CN104569431B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种快速定量检测肌钙蛋白I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肌钙蛋白I的均相荧光免疫试剂组，包括稀土元素螯合物标记的抗肌钙蛋白I单克隆抗体(anti-cTnI)、近红外荧光化合物标记的抗肌钙蛋白I单克隆抗体和系列浓度的肌钙蛋白I校准品。本发明可同时检测高值和低值cTnI，尤其是低值cTnI，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。

