



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106970226 A

(43)申请公布日 2017.07.21

(21)申请号 201710174151.2

(22)申请日 2017.03.22

(71)申请人 童坤

地址 225763 江苏省泰州市兴化市大邹镇
顾马村364号

(72)发明人 童坤 茄兵

(74)专利代理机构 北京挺立专利事务所(普通
合伙) 11265

代理人 倪钜芳

(51)Int.Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/538(2006.01)

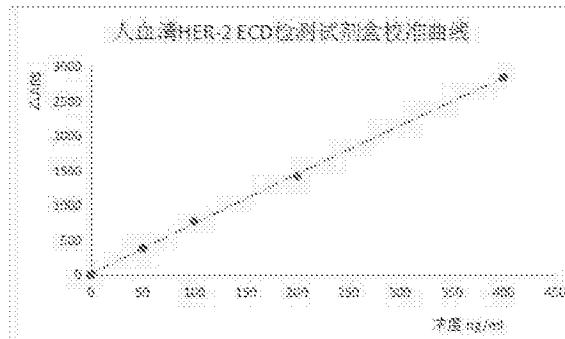
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54)发明名称

一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试
剂盒

(57)摘要

本发明涉及一种测定人血清中表皮生长因子受体-2胞外区蛋白(以下简称HER-2 ECD)浓度水平测定的试剂盒，所要解决的技术问题是提供一种适用于全自动生化分析仪以及特定蛋白仪使用的人血清HER-2 ECD浓度水平测定的试剂盒，该试剂盒由相互关联的三个部分组成：试剂R1、试剂R2、校准品Cal，将以上试剂组合在特定的仪器上校准后直接测试临床血清样本，得到的结果即为人血清中HER-2 ECD浓度水平。本发明与化学发光法相比结果具有较高的一致性，且成本更低，更适合临床检测的运用及推广，本发明的技术方案能够提供一种抗体亲和力及特异性好、方法灵敏度高、稳定性好的测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒。



1. 一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒,其特征在于:包含试剂R1、试剂R2及校准品Ca1三种试剂,所述试剂R1组份包括纯化水、生物缓冲剂、促凝剂、抑凝剂和防腐剂;所述试剂R2组份包括纯化水、生物缓冲剂、包被鼠抗人HER-2 ECD协同单克隆抗体的致敏胶乳颗粒、稳定剂、助悬剂、表面活性剂和防腐剂;所述校准品Ca1组份包括纯化水、生物缓冲剂、稳定剂、防腐剂以及重组HER-2 ECD蛋白。

2. 根据权利要求1所述的一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒,其特征在于:所述试剂R1组分中生物缓冲剂为2-(N-吗啡啉)乙磺酸,促凝剂为聚乙烯吡咯烷酮K30,抑凝剂为氯化钠,防腐剂为叠氮钠。

3. 根据权利要求2所述的一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒,其特征在于:所述1L 的试剂R1组分中2-(N-吗啡啉)乙磺酸 5~10g,PEG20000为1~10g,氯化钠为1~100g,叠氮钠为1g,其余为纯化水,所述试剂R1组分使用氢氧化钠或稀盐酸调节 PH到5.0~7.0。

4. 根据权利要求1所述的一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒,其特征在于:所述试剂R2组份中的包被鼠抗人HER-2 ECD协同单克隆抗体的致敏胶乳颗粒是通过以下步骤得到的:

步骤一,胶乳颗粒的清洗:取粒径为250~300nm的羧基微球分散于50mmol/L、PH=6.0的2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液中,缓冲液中胶乳颗粒的浓度为0.5%~1.0%,离心弃上清将洗涤过的胶乳颗粒分散于同等体积的上述2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液中;

步骤二,胶乳颗粒的活化:取碳化二亚胺和N-羟基硫代琥珀酰亚胺分别用2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液溶解后加入胶乳溶液中,混合均匀置于25~37℃ 恒温摇床上反应10~30min,得到活化的胶乳颗粒;

步骤三,胶乳颗粒的抗体致敏:分别向活化完成的胶乳溶液中加入鼠抗人HER-2 ECD单克隆抗体,震荡混合均匀,置于25~37℃恒温摇床上反应1~3小时;

步骤四,致敏胶乳颗粒的封闭及洗涤:向上述反应体系中加入1%牛血清白蛋白水溶液,混合均匀,置于25~37℃恒温摇床上反应1~3小时,离心并用储存液重悬,稀释到0.1%~0.5%的终浓度。

5. 根据权利要求1所述的一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒,其特征在于:所述试剂R2组分中生物缓冲剂2-(N-吗啡啉)乙磺酸,稳定剂为牛血清白蛋白,助悬剂为海藻糖,表面活性剂为吐温-20,防腐剂为叠氮钠叠氮钠。

6. 根据权利要求5所述的一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒,其特征在于:所述1L的 试剂R2组分中2-(N-吗啡啉)乙磺酸 5~10g,牛血清白蛋白为1~10g,海藻糖为10~100g,叠氮钠为1g,吐温-20为1~10ml,1~5g的抗体致敏胶乳颗粒,其余为纯化水,试剂R2组分溶液的PH为5.0~7.0。

7. 根据权利要求1所述的一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒,其特征在于:所述校准品Ca1组份中的生物缓冲剂为20mmol/L 磷酸盐缓冲液 ,PH值等于7.5,稳定剂为1%牛血清白蛋白,防腐剂为0.1% 叠氮钠。

一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及生物检测技术领域,尤其涉及一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒。

背景技术

[0002] HER-2 ECD是HER-2蛋白胞外区域受蛋白酶裂解,从细胞表面脱落至血液中形成的可溶性糖蛋白。血清HER-2 ECD检测具有与肿瘤组织HE试剂R2检测相关性好且易于实时动态检测的优点,是组织学检测的一种重要补充。目前市场上检测血清HER-2 ECD的方法主要是化学发光法,西门子ADVIA HER-2/neu血清学化学发光检测系统是目前全球唯一获得美国食品药品监督管理局(FDA)认证的血清学检测产品,用于监测管理初始血清水平大于15ng/ml的转移性乳腺癌患者。该方法由于试剂仪器系统封闭,进口试剂仪器成本高昂,操作繁琐,限制其临床大规模运用及推广。

[0003] 本发明是一种全新的人血清HER-2 ECD检测试剂盒,采用4株针对HER-2 ECD不同表位的单克隆抗体制备的胶乳增强免疫比浊法检测试剂盒,灵敏度高,特异性好,且具有与西门子检测结果很高的一致性。本发明系开放的检测系统,可以在全自动生化分析仪及特定蛋白分析仪上进行,大大提高操作简便性,降低了检测成本。

发明内容

[0004] 本发明目的是为了克服现有技术的不足而提供一种抗体亲和力及特异性好、方法灵敏度高、稳定性好的测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒。

[0005] 该检测方法,是通过鼠抗人HER-2 ECD单克隆抗体与胶乳颗粒偶联,采用胶乳增强比浊法来测定人体血清中HER-2 ECD的含量,运用该方法的试剂不需要预处理标本,操作简单,准确度高,重复性好,且能够在全自动生化分析仪或者特种蛋白仪上使用。

[0006] 为达到上述目的,本发明采用了如下技术方案。

[0007] 一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒,包含试剂R1、试剂R2及校准品Ca1,所述试剂R1组份包括纯化水、生物缓冲剂、促凝剂、抑凝剂和防腐剂;所述试剂R2组份包括纯化水、生物缓冲剂、包被鼠抗人HER-2 ECD协同单克隆抗体的致敏胶乳颗粒、稳定剂、助悬剂、表面活性剂和防腐剂;所述校准品Ca1组份包括纯化水、生物缓冲剂、稳定剂、防腐剂以及根据赋值需要添加的一定浓度梯度的重组HER-2 ECD蛋白。

[0008] 优选地,所述试剂R1组分中生物缓冲剂为2-(N-吗啡啉)乙磺酸,促凝剂为聚乙烯吡咯烷酮K30,抑凝剂为氯化钠,防腐剂为叠氮钠。

[0009] 本发明所述的生物缓冲剂能够使反应体系维持一定的PH值,各种能使反应体系PH值稳定的物质均能作为本发明的生物缓冲剂。为了使试剂盒的各项性能最佳,本发明中的生物缓冲剂优选为2-(N-吗啡啉)乙磺酸。

[0010] 本发明所述的促凝剂是指能够促进胶乳颗粒发生凝集反应从而提高试剂灵敏度的一类物质,多种高分子聚合物均可以用作促凝剂,如聚乙二醇6000,聚乙二醇2000,聚乙

烯醇等,为了使试剂盒的各项性能最佳,本发明中的促凝剂优选为PVP K30。

[0011] 本发明所述的抑凝剂是指能够抑制胶乳颗粒发生凝集反应从而降低非特异性反应的一类物质,如一价盐、二价盐、甘油、泊洛沙姆等,为了使试剂盒的各项性能最佳,本发明中的抑凝剂优选为氯化钠。

[0012] 本发明所述的防腐剂是指能够抑制液体制剂中微生物生长及繁殖以防止试剂污染导致性能变化的一类物质,如苯甲酸、苯甲酸钠、山梨酸、山梨酸钾、叠氮钠、Proclin 300等,为了使试剂盒的各项性能最佳,本发明中的防腐剂优选为叠氮钠。

[0013] 进一步地,1L 试剂R1组分中2-(N-吗啡啉)乙磺酸 5~10g,PEG20000为1~10g,氯化钠为1~100g,叠氮钠为1g,其余为纯化水,试剂R1用氢氧化钠或稀盐酸调节 PH为5.0~7.0。

[0014] 本发明所述的抗人HER-2 ECD抗体是指能够与人血清中HER-2 ECD蛋白发生特异性的抗原抗体免疫学反应的物质,包括鼠或兔单克隆抗体,羊或兔多克隆抗体。为了使试剂盒的各项性能最佳,本发明中的抗人HER-2 ECD优选为鼠抗人HER-2 ECD单抗隆抗体。

[0015] 本发明所述胶乳增强免疫比浊法是指将特定的抗体与微球连接起来,与血清样本中的靶抗原发生免疫学反应,包被抗体的微球之间进一步通过抗原进行交联并产生浊度,浊度大小与靶抗原的浓度成正比例关系,且此浊度可被全自动生化分析仪及特定蛋白分析仪检测到。由于本发明使用的是单抗,一株单抗只针对一个抗原表位,无法通过抗原形成交联。为了使试剂盒的各项性能最佳,本发明中优选的是4株针对不同表位的单抗分别连接微球后混合与血清中的抗原反应,达到多株单抗协同的效应,确保能形成浊度以被仪器检测到。

[0016] 本发明所述的胶乳微球是指羧基修饰的聚苯乙烯微球,其粒径大小对最终试剂的灵敏度、线性范围及稳定性等性能指标均有很大的影响,为了使试剂盒的各项性能最佳,本发明中优选的是250~300nm粒径大小的羧基微球。

[0017] 进一步地,本发明所述的包被鼠抗人HER-2 ECD协同单克隆抗体的致敏胶乳颗粒是通过化学偶联的方法制备的,工艺更加可控,试剂稳定性更好,具体步骤如下:

步骤一,胶乳颗粒的清洗:取粒径为250~300nm的羧基微球分散于50mmol/L、PH=6.0的2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液中,缓冲液中胶乳颗粒的浓度为0.5%~1.0%,离心弃上清将洗涤过的胶乳颗粒分散于同等体积的上述2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液中。

[0018] 步骤二,胶乳颗粒的活化:取碳化二亚胺和N-羟基硫代琥珀酰亚胺分别用2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液溶解后加入胶乳溶液中,混合均匀置于25~37℃恒温摇床上反应10~30min,得到活化的胶乳颗粒。

[0019] 步骤三,胶乳颗粒的抗体致敏:分别向活化完成的胶乳溶液中加入鼠抗人HER-2 ECD单克隆抗体,震荡混合均匀,置于25~37℃恒温摇床上反应1~3小时。

[0020] 步骤四,致敏胶乳颗粒的封闭及洗涤:向上述反应体系中加入1%牛血清白蛋白水溶液,混合均匀,置于25~37℃恒温摇床上反应1~3小时,离心并用储存液重悬,稀释到0.1%~0.5%的终浓度。

[0021] 优选地,试剂R2组分中生物缓冲剂2-(N-吗啡啉)乙磺酸,,稳定剂为牛血清白蛋白,助悬剂为海藻糖,表面活性剂为吐温-20,防腐剂为叠氮钠叠氮钠。

[0022] 本发明所述的稳定剂是指对致敏胶乳颗粒具体稳定作用的一类无关蛋白,如牛血

清白蛋白,酪蛋白等。为了使试剂盒的各项性能最佳,本发明中的稳定剂优选为牛血清白蛋白。

[0023] 本发明所述的助悬剂是指能提高储存液密度、对致敏胶乳颗粒具有助悬剂分散作用的一类物质,如PEG400、甘油、海藻糖蔗糖等。为了使试剂盒的各项性能最佳,本发明中的稳定剂优选为海藻糖。

[0024] 本发明所述的表面活性剂是指能提高胶体溶解度的一类非离子型表面活性剂,如吐温系列、曲拉通系列、乙基苯基聚乙二醇等。为了使试剂盒的各项性能最佳,本发明中的稳定剂优选为吐温-20。

[0025] 进一步地,1L 试剂R2组分中2-(N-吗啡啉)乙磺酸 5~10g,牛血清白蛋白为1~10g,海藻糖为10~100g,叠氮钠为1g,吐温-20为1~10ml,1~5g的抗体致敏胶乳颗粒,其余为纯化水。试剂R2 PH为5.0~7.0。

[0026] 优选地,校准品Ca1组份中生物缓冲剂为20mmol/L 磷酸盐缓冲液 PH=7.5,稳定剂为1%牛血清白蛋白,防腐剂为0.1% 叠氮钠,一定浓度梯度的重组HER-2 ECD蛋白,其余为纯化水。

[0027] 本发明所述的HER-2 ECD蛋白是指能与相应的抗体发生特异性免疫反应并可用来配置校准品的一类蛋白,其来源可分为重组HER-2蛋白全长、重组HER-2 ECD、天然提取的HER-2蛋白等,为了使试剂盒的各项性能最佳且降低试剂盒成本,本发明中的优选为重组HER-2 ECD。

[0028] 本发明检测的原理是:将特定的抗体与微球通过化学键连接起来,在特定的溶液体系中与血清样本中的靶抗原发生免疫学反应,微球之间通过抗原抗体复合物进行交联并产生浊度,浊度大小与靶抗原的浓度成正比例关系,且此浊度可被全自动生化分析仪及特定蛋白分析仪检测到,通过事先校准好的定标曲线进行计算,我们可以得到单份血清标本中HER-2 ECD浓度水平。

[0029] 由于上述技术方案的运用,本技术方案具有的有益技术效果:

(1)使用的4株针对HER-2 ECD蛋白不同表位的鼠源单克隆抗体制备比浊试剂,充分发挥多株单抗之间的协同效应,既能保证特异性和灵敏度,防止单一单抗的漏检现象,也能保证线性范围,克服多抗的假阳性问题,使结果更可靠;

(2)采用的抗原是大肠杆菌重组HER-2 ECD蛋白,使得校准品原料稳定性好,批间差小,且成本远远低于一般较易获得的全长蛋白及天然蛋白;

(3)抗体致敏颗粒采用的是化学偶联的方法,而非物理吸附的方法,抗体与微球之间通过共价键结合,使得试剂具有更好的开瓶稳定性及热稳定性,2~8°C 可储存12个月以上,方便长期推广及使用;

(4)本发明是一种全新的人血清HER-2 ECD检测试剂盒,与化学发光法方法相比,具有很好的一致性,但本发明系开放的检测系统,可以在全自动生化分析仪及特定蛋白分析仪上进行,使用更为简便,出结果更快,只需3~10分钟,性能更稳定,本发明对仪器要求不高,使得整体成本大幅降低。

下面结合具体实施例对本发明作进一步的详细说明。

附图说明:

图1为人血清HER-2 ECD检测试剂盒校准曲线示意图；

图2为本发明与西门子化学发光检测系统临床样本测试结果相关性的结果示意图；

图3为本发明试剂盒开瓶及37℃热破坏实验的结果示意图；

具体实施方式

[0030] 下面结合具体实施例对本发明作进一步的详细说明。

[0031] 一、人血清表皮生长因子受体-2胞外区蛋白检测试剂盒中试剂R1组分的制备

用电子天平精确称取2-(N-吗啡啉)乙磺酸 5.0g, PEG20000 10.0g, 氯化钠 100.0g, 叠氮钠 1.0g置于1L烧杯中, 加纯化水800ml, 搅拌使其充分溶解, 用1M氢氧化钠或盐酸调节 PH为6.0±0.2, 用纯化水定容至1L, 用0.45um微孔滤膜抽滤, 取续滤液置于2-8℃储存备用。

[0032] 二、人血清表皮生长因子受体-2胞外区蛋白检测试剂盒中试剂R2组分的制备

步骤1, 制备包被液50mmol/L PH=6.0: 用电子天平精确称取2-(N-吗啡啉)乙磺酸 10.7g, 置于1L烧杯中, 加纯化水800ml, 搅拌使其充分溶解, 用1M氢氧化钠或盐酸调节 PH为 6.0±0.2, 用纯化水定容至1L, 用0.45um微孔滤膜抽滤, 取续滤液置于2-8℃储存备用。

[0033] 步骤2, 制备胶乳储存液: 用电子天平精确称取2-(N-吗啡啉)乙磺酸 5.0g, 牛血清白蛋白1.0g, 海藻糖10.0g, 叠氮钠为1g、移液器精确量取吐温-20 1.0ml置于1L烧杯中, 加纯化水800ml, 搅拌使其充分溶解, 用1M氢氧化钠或盐酸调节 PH为6.5±0.2, 用纯化水定容至1L, 用0.45um微孔滤膜抽滤, 取续滤液置于2~8℃储存备用。

[0034] 步骤3, 胶乳颗粒的清洗: 取粒径为280nm、浓度为10% w/v的羧基微球4ml分散于400ml包被液中, 13000r/min 4℃离心30min, 弃上清, 将沉淀中的胶乳颗粒重悬于同等体积的包被液中。

[0035] 步骤4, 胶乳颗粒的活化: 取碳化二亚胺(EDC) 26.5mg和N-羟基硫代琥珀酰亚胺15.6mg分别用2.65ml和1.56ml上述包被液溶解后全部迅速加入胶乳溶液中, 混合均匀置于37℃恒温摇床上反应30min, 得到活化的胶乳颗粒。

[0036] 步骤5, 胶乳颗粒的抗体致敏: 将上述活化胶乳平均分成4份, 分别向其中加入4株鼠抗人HER-2 ECD单克隆抗体各10mg, 震荡混合均匀, 置于37℃恒温摇床上反应1小时。

[0037] 步骤6, 致敏胶乳颗粒的封闭及洗涤: 分别向上述反应体系中加入10% w/v 牛血清白蛋白水溶液10ml, 混合均匀, 置于37℃恒温摇床上反1小时, 13000r/min 4℃离心30min并分别用100ml储存液重悬。

[0038] 步骤7, 超声破碎及混合: 将上述胶乳试剂全部混匀共400ml, 将超声细胞破碎机探头置于其中, 超声30min(30%功率, 超声5s, 间歇5s)。取出探头, 将试剂置于2~8℃储存备用。

[0039] 三、人血清表皮生长因子受体-2胞外区蛋白检测试剂盒中校准品Ca1组分的制备

步骤1, 校准品稀释液配置: 用电子天平精确称取0.5014g NaH2PO4、6.025gNa2 HP04·12 H2 O置于1L烧杯中, 加纯化水800ml, 搅拌使其充分溶解, 用1M氢氧化钠或盐酸调节 PH为7.5±0.2; 称取10g 牛血清白蛋白、1g 叠氮钠加入其中搅拌使其充分溶解, 用纯化水定容至1L, 用0.45um微孔滤膜抽滤, 取续滤液置于2-8℃储存备用。

[0040] 步骤2: 量取一定量的重组HER-2 ECD溶液, 加入到上述校准品稀释液中, 使其浓度

为400ng/ml,用校准品稀释液对其进行梯度稀释,共制备出5个不同浓度梯度的校准品:0.0ng/ml,50ng/ml,100ng/ml,200ng/ml,400ng/ml。将此校准品置于2-8℃储存备用。

[0041] 四、人血清表皮生长因子受体-2胞外区蛋白检测试剂盒测定

本次测定采用的测试仪器为日立7170全自动生化分析仪,上机参数:主波长/副波/试剂R1/试剂R2/S=700nm/0/150ul/50ul/15ul;校准方式:Spline;读点:试剂R1与样品(校准品)加入后孵育5分钟,然后加入试剂R2,立即读点A1,反应5分钟再读点A2,计算吸光度的变化, $\triangle\text{ABS}=\text{A2}-\text{A1}$ 。

[0042] 将试剂R1/试剂R2/校准品Ca1三者组合在一起,按上述程序进行校准,最后得到的人血清HER-2 ECD检测试剂盒校准曲线,详见附图1。

[0043]

五、人血清表皮生长因子受体-2胞外区蛋白检测试剂盒主要分析性能评估(本次评估采用的测试仪器为日立7170全自动生化分析仪)

5.1 试剂空白吸光度

以蒸馏水为空白液,按照规定的测试方法测试吸光度 $\triangle\text{ABS}<1.2$,即为试剂空白吸光度。

[0044] 5.2 分析灵敏度(又称最低检测限)测定

用本发明所述的试剂盒对空白样本(含有5%牛血清白蛋白的生理盐水)重复测定20次,最低检测限度为空白的均值浓度加上20个标准差,得到最低检测限度为2ng/ml。

[0045] 5.3 线性范围

(1) 取接近线性范围下限的血清样本稀释接近线性范围上限的血清样本,混合成五个稀释浓度(x_i)。用配套仪器检测,每个浓度测试3次,分别求出每个浓度检测结果的均值(y_i),以五个浓度(x_i)为自变量,每个浓度检测结果的均值(y_i)为因变量求出线性回归方程,按公式⑩计算相关系数r。

[0046] 因线性范围上下限的血清样本较难收集,在出厂检验中可用参考血清或重组蛋白配制成5个不同浓度水平的校准品进行检验。用配套仪器检测,每个浓度测试3次,分别求出每个浓度检测结果的均值(y_i),以五个浓度(x_i)为自变量,每个浓度检测结果的均值(y_i)为因变量求出线性回归方程,按公式(1)计算相关系数 r 。

$$[0047] \quad r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \cdot \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \dots \text{m}$$

(2) 用5.6.1方法中稀释浓度(x_i)代入线性回归方程,计算 y_i 的估计值及 y_i 与估计值的绝对偏差或相对偏差。

[0048] 经计算,本发明的线性范围为1-400 ng/mL,在此线性范围内:

a、线性相关系数r不小于0.990；

b、在1-30 ng/mL范围内,线性绝对偏差不超过 ± 5 ng/mL;在30-400 ng/mL范围内,线性相对偏差不超过 $\pm 10\%$

5.4 相关性

收集50份西门子ADVIA HER-2/neu血清学化学发光检测系统定值的新鲜标本,用本试

剂盒测试,得到的结果,本发明与西门子化学发光检测系统临床样本测试结果相关性,请详见表1和附图2。

[0049] 表1:本发明与西门子化学发光检测系统临床样本测试结果相关性

临床样本编号	西门子化学发光测 值	苯妥英试剂盒测 值	绝对/相对误差
	μg/L	μg/L	%
1	61.4	62.3	-0.8
2	88.8	77.4	-~3.4
3	131.0	121.4	-1.8
4	131.7	111.0	-~2.8
5	138.4	106.4	-1
6	37	18.0	-~3.3
7	128.0	22.1	-9.6
8	22.7	19.4	-~3.3
9	25.7	22.0	-~3.4
10	29	27	-~8
11	33.8	31.4	-~4%
12	37.8	35.4	-~6%
13	38.4	42.0	9%
14	42.0	44.0	6%
15	44.0	43.0	-~2%
16	57.0	58	-~5%
17	68	68.7	-~5%
18	68	62	-~9%
19	73.0	77.4	5%
20	78.0	73.0	-~6%
21	82.7	83.0	1%
22	87	87.0	0%
23	98.0	98.0	0%
24	114.0	128.0	12%
25	118.0	138.0	9%
26	131	125.0	-~5%
27	138.4	143.5	4%
28	148.7	364	108

从以上结果可以看出,本发明与西门子化学发光检测系统临床样本测试结果具有很好的相关性,整体相关系数 $r>0.99$ (n=50)。

[0050] 5.5 精密度

用同一批号的试剂盒对参考血清在同样条件下重复测定至少10次($n \geq 10$)，按公式n计算变异系数(CV)。

式中：

CV—变异系数

S — 标准差

一测量值的平均值

本发明测量精密度结果如下表2:

表2:本发明测量精密度

测试次数	参考血清 1 浓度 15ng/ml	参考血清 2 浓度 100ng/ml
1	14.7	98.7
2	15.6	99.3
3	15.1	98.1
4	14.8	97.2
5	13.7	101.3
6	15.4	100.6
7	16.2	99.8
8	15	98.6
9	14.8	99.7
10	14.9	97.8
平均值	15.02	99.83
标准差	0.652857	1.310471
变异系数	4.3%	1.3%

以上结果显示本发明变异系数<5%，出值很稳定。

[0052] 5.6 稳定性

将本发明试剂盒开瓶置于生化仪中模拟载机实验，密闭置于37℃烘箱中，分别在第0天、1天、7天、14天、30天测试参考血清1和2，考察出值是否稳定，试剂盒开瓶及37℃热破坏实验，得到的结果，详见附图3。

[0053] 以上数据显示本发明试剂盒很稳定，不仅满足试剂使用需求，且便于长期储存。

[0054] 以上仅是本发明的具体应用范例，对本发明的保护范围不构成任何限制。凡采用等同变换或者等效替换而形成的技术方案，均落在本发明权利保护范围之内。

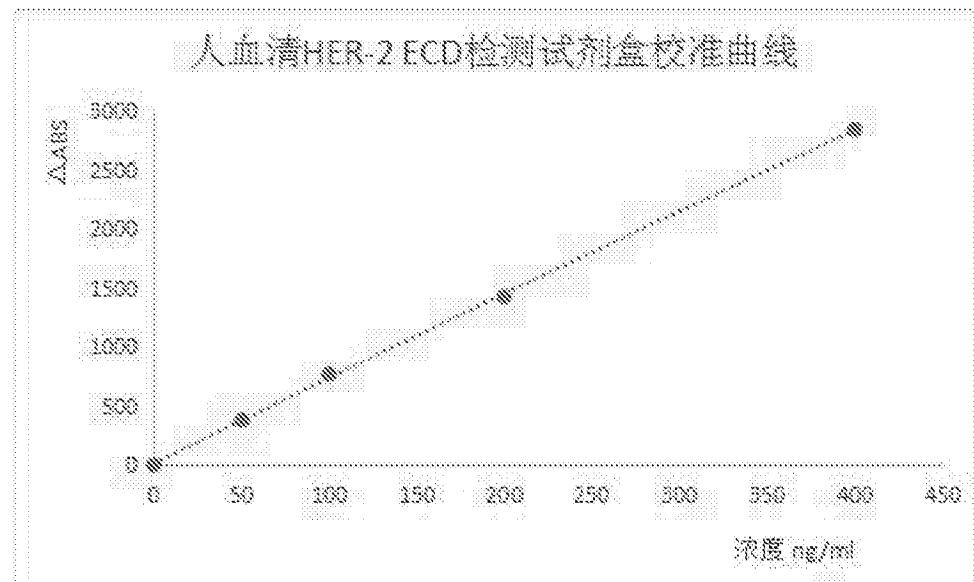


图1

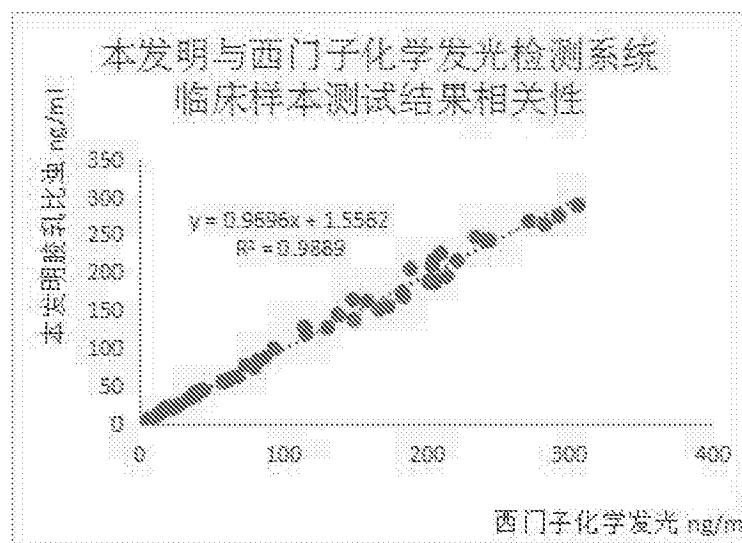


图2

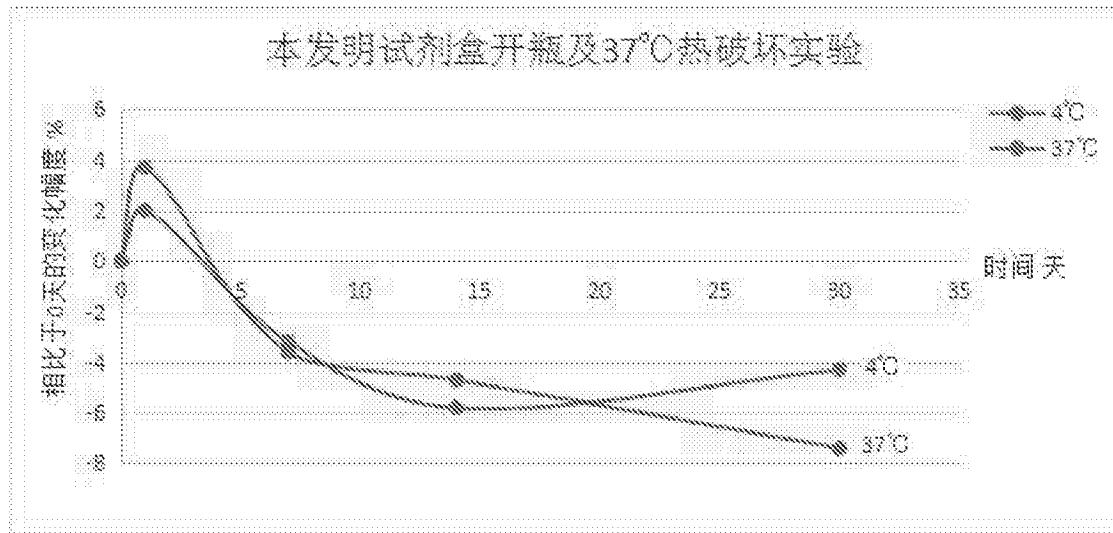


图3

专利名称(译)	一种测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒		
公开(公告)号	CN106970226A	公开(公告)日	2017-07-21
申请号	CN201710174151.2	申请日	2017-03-22
[标]申请(专利权)人(译)	童坤		
申请(专利权)人(译)	童坤		
当前申请(专利权)人(译)	童坤		
[标]发明人	童坤 芮兵		
发明人	童坤 芮兵		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/538		
CPC分类号	G01N33/577 G01N33/538		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明涉及一种测定人血清中表皮生长因子受体-2胞外区蛋白(以下简称HER-2 ECD)浓度水平测定的试剂盒，所要解决的技术问题是提供一种适用于全自动生化分析仪以及特定蛋白仪使用的人血清HER-2 ECD浓度水平测定的试剂盒，该试剂盒由相互关联的三个部分组成：试剂R1、试剂R2、校准品Cal，将以上试剂组合在特定的仪器上校准后直接测试临床血清样本，得到的结果即为人血清中HER-2 ECD浓度水平。本发明与化学发光法相比结果具有较高的一致性，且成本更低，更适合临床检测的运用及推广，本发明的技术方案能够提供一种抗体亲和力及特异性好、方法灵敏度高、稳定性好的测定人血清中HER-2 ECD浓度水平的试剂盒。

人血清HER-2 ECD检测试剂盒校准曲线

