



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107748266 A

(43)申请公布日 2018.03.02

(21)申请号 201710915572.6

G01N 33/531(2006.01)

(22)申请日 2017.09.30

(71)申请人 安徽伊普诺康生物技术股份有限公司

地址 236000 安徽省合肥市包河经济开发区繁华大道与吉林路交口东南角联东U谷第一期18号楼1-4层

(72)发明人 庄庆华 丁先骏 吴泽东 吴铮
张金东 朱雨

(74)专利代理机构 合肥市浩智运专利代理事务所(普通合伙) 34124

代理人 王志兴

(51)Int.Cl.

G01N 33/76(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页

(54)发明名称

一种 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒及其应用

(57)摘要

本发明公开了一种 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒,包含体积比为3-4:1的试剂R1和R2;其中,试剂R1包含:MES缓冲液80-120mM,叠氮钠0.8-1.2g/L,蔗糖10-20g/L,Tween-80 4-6ml/L,PEG-8000 5-15g/L;试剂R2包含:MES缓冲液40-60mM,NaCl 100-110mM,叠氮钠0.4-0.6g/L,牛血清蛋白20-40g/L,甘油0.5-1.5ml/L,乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体0.5%-3%。本发明的优点在于:试剂盒为液体,可直接应用于全自动生化分析仪,无需大型仪器即可快速检测;大大提高了试剂盒的灵敏度和线性范围。

1. 一种 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒,其特征在于,包含体积比为3-4:1的试剂R1和试剂R2;

其中,所述试剂R1的组分及含量为:

MES 缓冲液	80-120 mM,
叠氮钠	0.8-1.2 g/L,
蔗糖	10-20 g/L,
Tween-80	4-6 ml/L,
PEG-8000	5-15 g/L;

所述试剂R2的组分及含量为:

MES 缓冲液	40-60 mM,
NaCl	100-110 mM,
叠氮钠	0.4-0.6 g/L,
牛血清蛋白	20-40 g/L,
甘油	0.5-1.5 ml/L,

乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体 0.5%-3%;

所述乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体的原料成分为:胶乳微球、 β -人绒毛膜促性腺激素抗体和聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物,其中,聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物在整体试剂R2中的含量为9%-11%。

2. 根据权利要求1所述的 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒,其特征在于,包含体积比为3-4:1的试剂R1和试剂R2;

其中,所述试剂R1的组分及含量为:

MES 缓冲液	100 mM,
叠氮钠	1.0 g/L,
蔗糖	15 g/L,
Tween-80	5 ml/L,
PEG-8000	10 g/L;

所述试剂R2的组分及含量为:

MES 缓冲液	50 mM,
NaCl	105 mM,
叠氮钠	0.5 g/L,
牛血清蛋白	30 g/L,
甘油	1 ml/L,

乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体 2%;

所述乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体的原料成分为:胶乳微球、 β -人绒毛膜促性腺激素抗体和聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物,其中,聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物在整体试剂R2中的含量为10%。

3. 根据权利要求1或2所述的 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒,其特征在于,所述MES缓冲液的pH为7.2。

4. 根据权利要求1或2所述的 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒,其特征在于,所述胶乳微球包含粒径为80nm和120nm的胶乳微球。

5. 根据权利要求4所述的 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒,其特征在于,所述粒径为80nm的胶乳微球的添加量为20g/L,所述粒径为120nm的胶乳微球的添加量为40g/L。

6. 权利要求1至5中任一项所述的 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒在检测样本中 β -人绒毛膜促性腺激素的含量中的应用。

7. 根据权利要求6所述的应用,其特征在于,包括以下步骤:

1) 向比色杯中加入样本和试剂R1,混匀,37℃孵育5分钟,置入全自动生化分析仪中,读取吸光度A1;

2) 再向比色杯中添加试剂R2,混匀,37℃孵育5分钟,置入全自动生化分析仪中,读取吸光度A2;

3) 根据校准曲线计算出样本中 β -人绒毛膜促性腺激素的含量。

8. 根据权利要求7所述的应用,其特征在于,按体积比计,样本:试剂R1:试剂R2=1:80-120:20-40,且样本、试剂R1和试剂R2的总体积至少为比色杯总体积的2/3。

一种 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及医学检验技术领域,更具体涉及一种 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒及其应用。

背景技术

[0002] 人绒毛膜促性腺激素(HCG)是由胎盘的滋养层细胞分泌的一种糖蛋白,它是由 α 和 β 二聚体的糖蛋白组成。它的主要功能是维持黄体及降低母体淋巴细胞的活动,防止对胎儿的排斥反应。HCG结构中包括 α 、 β 两个亚基, α 亚基与LH、FSH、TSH近似,尤其是与LH有较大的免疫交叉反应, β 链为其独有, β 亚基被用来制备特异性抗体测定血中的HCG,专名为 β -HCG。

[0003] 检测 β -人绒毛膜促性腺激素的方法多为酶联免疫吸附法、荧光免疫层析法、放射免疫法等。酶联免疫吸附法操作繁琐,定量检测效果不佳,结果受人为因素影响结果较大;放射免疫法有放射型污染,且所需仪器较昂贵。

发明内容

[0004] 本发明所要解决的技术问题在于提供了一种检测方便、定量检测效果好的 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒及其应用。

[0005] 本发明是通过以下技术方案解决上述技术问题的:

[0006] 一方面,提供一种 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒包含体积比为3-4:1的试剂R1和试剂R2;

[0007] 其中,所述试剂R1的组分及含量为:

[0008]	MES 缓冲液	80-120 mM,
	叠氮钠	0.8-1.2 g/L,
	蔗糖	10-20 g/L,
[0009]	Tween-80	4-6 ml/L,
	PEG-8000	5-15 g/L;

[0010] 所述试剂R2的组分及含量为:

- | | | |
|--------|---|---------------|
| | MES 缓冲液 | 40-60 mM, |
| | NaCl | 100-110 mM, |
| [0011] | 叠氮钠 | 0.4-0.6 g/L, |
| | 牛血清蛋白 | 20-40 g/L, |
| | 甘油 | 0.5-1.5 ml/L, |
| [0012] | 乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体0.5%-3%; | |
| [0013] | 所述乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体的原料成分为:胶乳微球、 β -人绒毛膜促性腺激素抗体和聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物,其中,聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物在整体试剂R2中的含量为9%-11%。 | |
| [0014] | 优选地, β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒包含体积比为3-4:1的试剂R1和试剂R2; | |
| [0015] | 其中,所述试剂R1的组分及含量为: | |
| | MES 缓冲液 | 100 mM, |
| | 叠氮钠 | 1.0 g/L, |
| [0016] | 蔗糖 | 15 g/L, |
| | Tween-80 | 5 ml/L, |
| | PEG-8000 | 10 g/L; |
| [0017] | 所述试剂R2的组分及含量为: | |
| [0018] | MES 缓冲液 | 50 mM, |
| | NaCl | 105 mM, |
| | 叠氮钠 | 0.5 g/L, |
| [0019] | 牛血清蛋白 | 30 g/L, |
| | 甘油 | 1 ml/L, |
| [0020] | 乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体2%; | |
| [0021] | 所述乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体的原料成分为:胶乳微球、 β -人绒毛膜促性腺激素抗体和聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物,其中,聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物在整体试剂R2中的含量为10%。 | |
| [0022] | 优选地,所述MES缓冲液的pH为7.2。 | |
| [0023] | 优选地,所述胶乳微球包含粒径为80nm和120nm的胶乳微球。 | |
| [0024] | 优选地,所述粒径为80nm的胶乳微球的添加量为20g/L,所述粒径为120nm的胶乳 | |

微球的添加量为40g/L。

[0025] 另一方面,提供上述的 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒在检测样本中 β -人绒毛膜促性腺激素的含量中的应用。

[0026] 优选地,上述应用通过以下步骤实现:

[0027] 1) 向比色杯中加入样本和试剂R1,混匀,37℃孵育5分钟,置入全自动生化分析仪中,读取吸光度A1;

[0028] 2) 再向比色杯中添加试剂R2,混匀,37℃孵育5分钟,置入全自动生化分析仪中,读取吸光度A2;

[0029] 3) 根据校准曲线计算出样本中 β -人绒毛膜促性腺激素的含量。

[0030] 优选地,按体积比计,样本:试剂R1:试剂R2=1:80-120:20-40,且样本、试剂R1和试剂R2的总体积至少为比色杯总体积的2/3。

[0031] 本发明相比现有技术具有以下优点:

[0032] 试剂盒中所使用的化学试剂和抗体均可从市场采购,且无污染,配制方便;试剂盒中试剂R1和试剂R2均为液体,可直接应用于全自动生化分析仪,无需手工操作,无需大型仪器设备即可在一定时间内快速检测,且定量效果好;所形成的抗原抗体复合物,稳定性佳,在特定波长下有一定的吸光度,特异性强;试剂盒中采取了不同粒径的胶乳微球混合使用,大大提高了试剂盒的灵敏度和线性范围。

具体实施方式

[0033] 下面对本发明的实施例作详细说明,本实施例在以本发明技术方案为前提下进行实施,给出了详细的实施方式和具体的操作过程,但本发明的保护范围不限于下述的实施例。

[0034] 所有原料均为市购原料;所有配比中,对于固体,%表示g/100mL,对于液体,%表示mL/100mL。

[0035] 实施例1

[0036] 一种 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒包含体积比为3:1的试剂R1和试剂R2;

[0037] 其中,所述试剂R1的组分及含量为:

pH 为 7.2 的 MES 缓冲液 80 mM,

叠氮钠 0.8 g/L,

[0038] 蔗糖 10 g/L,

Tween-80 4 ml/L,

PEG-8000 5 g/L;

[0039] 所述试剂R2的组分及含量为:

[0040] pH 为 7.2 的 MES 缓冲液 40 mM,

	NaCl	100 mM,
	叠氮钠	0.4 g/L,
[0041]	牛血清蛋白	20 g/L,
	甘油	0.5 ml/L,

[0042] 乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体0.5%；

[0043] 所述乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体的原料成分为：胶乳微球、 β -人绒毛膜促性腺激素抗体和聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物，其中，聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物在整体试剂R2中的含量为9%。

[0044] 试剂R1的配制如下：

[0045] 按照上述配比向MES缓冲液中添加叠氮钠、蔗糖、Tween-80和PEG-8000，搅拌均匀，待充分溶解，制得试剂R1。

[0046] 试剂R2液的配制如下：

[0047] (1) 按照上述配比向MES缓冲液中添加NaCl、叠氮钠、牛血清蛋白、甘油，搅拌均匀，待充分溶解，制得乳胶微球溶解试剂；

[0048] (2) 取粒径为80nm的胶乳微球20g/L和粒径为120nm的胶乳微球40g/L，溶解于100mM MES缓冲液中，加入50g/L的EDAC溶液混匀后，于37℃环境中孵育混匀1小时，离心去上清液，向沉淀物中加入50g/L的NHS溶液恢复至原体积后，于37℃环境中孵育混匀1小时，离心去上清；在37℃条件下，向沉淀物中加入聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物，共聚反应2小时后，离心去上清液，将沉淀物分散于MES缓冲液中，重复离心和分散步骤3次，最后向沉淀物中加入MES缓冲液恢复至原体积；加入 β -人绒毛膜促性腺激素抗体，于37℃下反应4小时，离心去上清液，将沉淀物分散于原体积的PBS缓冲液中，重复离心和分散步骤3次，最后将沉淀物分散于原体积的NHS缓冲液中，加入牛血清蛋白30g/L，2-8℃封存48小时，制得乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体；

[0049] (3) 将步骤(2)制得的乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体离心去上清液，然后用步骤(1)制得的乳胶微球溶解试剂溶解沉淀物，使胶聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物在整体试剂R2中的含量为9%，超声分散，制得试剂R2。

[0050] 上述试剂盒在检测样本中 β -人绒毛膜促性腺激素的含量中的应用通过以下步骤实现：

[0051] 1) 向全自动生化分析仪的比色杯中加入5 μ L样本和150 μ L试剂R1，混匀，37℃孵育5分钟，置入全自动生化分析仪中，读取吸光度A1；

[0052] 2) 再向比色杯中添加50 μ L试剂R2，混匀，37℃孵育5分钟，置入全自动生化分析仪中，读取吸光度A2；

[0053] 3) 根据校准曲线计算出样本中 β -人绒毛膜促性腺激素(β -HCG)的含量。

[0054] 样本中 β -HCG含量(pg/mL) = CS \times Δ AT / Δ AS (pg/mL)

[0055] 式中： Δ AT以空白管吸光度作对照的样品管吸光度值

[0056] Δ AS以空白管吸光度作对照的校准管吸光度值

[0057] CS校准液中 β -HCG的浓度。

[0058] 实施例2

[0059] 一种 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒包含体积比为4:1的试剂R1和试剂R2;

[0060] 其中,所述试剂R1的组分及含量为:

pH 为 7.2 的 MES 缓冲液 120 mM,

[0061] 叠氮钠 1.2 g/L,

蔗糖 20 g/L,

Tween-80 6 ml/L,

[0062] PEG-8000 15 g/L;

[0063] 所述试剂R2的组分及含量为:

pH 为 7.2 的 MES 缓冲液 60 mM,

NaCl 110 mM,

[0064] 叠氮钠 0.6 g/L,

牛血清蛋白 40 g/L,

甘油 1.5 ml/L,

[0065] 乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体3%;

[0066] 所述乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体的原料成分为:胶乳微球、 β -人绒毛膜促性腺激素抗体和聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物,其中,聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物在整体试剂R2中的含量为11%。

[0067] 按照实施例1的方法制备上述试剂盒并将上述试剂盒应用于检测样本中 β -人绒毛膜促性腺激素的含量,其中区别在于样本、试剂R1和试剂R2的添加量分别为2 μ L、240 μ L和60 μ L。

[0068] 实施例3

[0069] 一种 β -人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒包含体积比为3:1的试剂R1和试剂R2;

[0070] 其中,所述试剂R1的组分及含量为:

pH 为 7.2 的 MES 缓冲液 100 mM,

叠氮钠 1.0 g/L,

[0071] 蔗糖 15 g/L,

Tween-80 5 ml/L,

PEG-8000 10 g/L;

[0072] 所述试剂R2的组分及含量为:

	pH 为 7.2 的 MES 缓冲液	50 mM,
	NaCl	105 mM,
[0073]	叠氮钠	0.5 g/L,
	牛血清蛋白	30 g/L,
	甘油	1 ml/L,

[0074] 乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体2%；

[0075] 所述乳胶包被的 β -人绒毛膜促性腺激素抗体的原料成分为：胶乳微球、 β -人绒毛膜促性腺激素抗体和聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物，其中，聚乙烯对氯甲基苯乙烯共聚物在整体试剂R2中的含量为10%。

[0076] 按照实施例1的方法制备上述试剂盒并将上述试剂盒应用于检测样本中 β -人绒毛膜促性腺激素的含量，其中区别在于样本、试剂R1和试剂R2的添加量分别为6 μ L、210 μ L和70 μ L。

[0077] 试剂盒中所使用的化学试剂和抗体均可从市场采购，且无污染，配制方便；试剂盒中试剂R1和试剂R2均为液体，可直接应用于全自动生化分析仪，无需手工操作，无需大型仪器设备即可在一定时间内快速检测，且定量效果好；所形成的抗原抗体复合物，稳定性佳，在特定波长下有一定的吸光度，特异性强；试剂盒中采取了不同粒径的胶乳微球混合使用，大大提高了试剂盒的灵敏度和线性范围。

[0078] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已，并不用以限制本发明，凡在本发明的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

专利名称(译)	一种β-人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒及其应用		
公开(公告)号	CN107748266A	公开(公告)日	2018-03-02
申请号	CN2017110915572.6	申请日	2017-09-30
[标]申请(专利权)人(译)	安徽伊普诺康生物技术股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	安徽伊普诺康生物技术股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	安徽伊普诺康生物技术股份有限公司		
[标]发明人	庄庆华 丁先骏 吴泽东 吴铮 张金东 朱雨		
发明人	庄庆华 丁先骏 吴泽东 吴铮 张金东 朱雨		
IPC分类号	G01N33/76 G01N33/543 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/76 G01N33/531 G01N33/54313		
代理人(译)	王志兴		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)	MES 缓冲液	80-120 mM,
本发明公开了一种β-人绒毛膜促性腺激素检测试剂盒，包含体积比为3-4:1的试剂R1和R2；其中，试剂R1包含：MES缓冲液80-120mM，叠氮钠0.8-1.2g/L，蔗糖10-20g/L，Tween-80 4-6ml/L，PEG-8000 5-15g/L；	叠氮钠	0.8-1.2 g/L,
试剂R2包含：MES缓冲液40-60mM，NaCl 100-110mM，叠氮钠0.4-0.6g/L，牛血清蛋白20-40g/L，甘油0.5-1.5ml/L，乳胶包被的β-人绒毛膜促性腺激素抗体0.5%-3%。本发明的优点在于：试剂盒为液体，可直接应用于全自动生化分析仪，无需大型仪器即可快速检测；大大提高了试剂盒的灵敏度和线性范围。	蔗糖	10-20 g/L,
	Tween-80	4-6 ml/L,
	PEG-8000	5-15 g/L;