



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108398558 A

(43)申请公布日 2018.08.14

(21)申请号 201810136361.7

(22)申请日 2018.02.09

(71)申请人 广州源起健康科技有限公司
地址 510530 广东省广州市广州高新技术
产业开发区瑞泰路2号

(72)发明人 李根平 解巧丽

(74)专利代理机构 广州市深研专利事务所
44229

代理人 姜若天

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

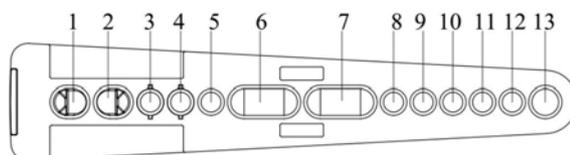
权利要求书1页 说明书6页 附图1页

(54)发明名称

一种磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒

(57)摘要

本发明公开了一种磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,包括包被BNP单克隆抗体的免疫磁珠、BNP校准品溶液、铕标记的BNP单克隆抗体溶液、清洗液和增强液。所述的包被BNP单克隆抗体的免疫磁珠为带有官能团修饰的直径1~3 μm的超顺磁珠与BNP单克隆抗体共价偶联物。本发明的试剂盒灵敏度高,BNP的灵敏度为10pg/mL,血清(浆)样本不需要稀释;检测时间短,30min出报告;样品需求量少,一次上样只需50 μL;配套全自动时间分辨免疫分析仪,操作简单,无人误差并节省人力。



1. 一种磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,其特征在于包括包被BNP单克隆抗体的免疫磁珠、BNP校准品溶液、钽标记的BNP单克隆抗体溶液、清洗液和增强液。

2. 如权利要求1所述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,其特征在于,所述的包被BNP单克隆抗体的免疫磁珠为带有官能团修饰的直径1~3 μ m的超顺磁珠与BNP单克隆抗体共价偶联物,其中所使用的超顺磁珠为羧基磁珠、氨基磁珠、羟基磁珠、甲苯磺酰基磁珠、NHS磁珠、链酶亲和素磁珠、蛋白A磁珠、蛋白G磁珠、抗小鼠IgG磁珠、亲水磁珠、疏水磁珠中的一种或几种。

3. 如权利要求1所述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,其特征在于,所述包被BNP单克隆抗体的免疫磁珠的制备方法为:吸取羧基磁珠到离心管中,将离心管放置在磁力架中,利用磁力架进行磁珠和缓冲液的分离,用0.05M pH6.0的2-(N-吗啡啉)乙磺酸洗涤磁珠3~5次;向上述洗涤好的磁珠中加入0.05M pH6.0的2-(N-吗啡啉)乙磺酸,加入20mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸溶液和20mg/mL N-羟基琥珀酰亚胺,室温震荡反应;将活化好的磁珠置于磁力架上,弃上清,收集活化好的磁珠;加入单克隆抗体,室温持续旋转孵育3~5小时;磁珠置于磁力架上,弃上清,收集免疫磁珠。

4. 如权利要求3所述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,其特征在于,所述包被BNP单克隆抗体的免疫磁珠还加入含有2%BSA 0.1M pH 8.0的Tris-HCl缓冲液,重悬磁珠,封闭未偶联单克隆抗体的活化羧基位点,反应30~60分钟。

5. 如权利要求4所述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,其特征在于,所述免疫磁珠置于磁力架上,弃上清,加入免疫磁珠保存液;所述的保存液为含5%(w/v) BSA、1%(w/v)海藻糖、0.1%(v/v)Tween-20 0.05M pH 8.0的Tris-HCl缓冲液。

6. 如权利要求1所述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,其特征在于,所述钽标记BNP抗体的制备方法为:按照BNP抗体与Eu³⁺的质量比为4:1,将DTTA-Eu作为标记物,在0.05M pH8.5的碳酸盐缓冲液下,加入DTTA-Eu与BNP单克隆抗体,混合后溶于0.05M pH8.5的碳酸盐缓冲液,室温震荡过夜;用葡聚糖凝胶柱纯化后收集峰管;将上述制备好的钽标抗体稀释,使BNP抗体的终浓度为0.0045~0.0080g/L。

7. 如权利要求1所述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,其特征在于,所述清洗液的配方为:0.8~1.5% Tween-20,0.02%Proclin300,pH 7.2~7.5 0.01M Tris-HCl缓冲液。

8. 如权利要求1所述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,其特征在于,所述增强液的配方为:0.03%乙酸钠、0.0002~0.0009%B-NTA、0.0024% TOPO 、0.08%醋酸、0.1%无水乙醇、0.01%的Triton X-100的水溶液。

9. 如权利要求1所述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,其特征在于,所述BNP校准品溶液的制备方法为:用含1 .5% Tween-20,0.02%Proclin300,pH 7.5 0.02M Tris-Hcl缓冲液将BNP抗原稀释至0、50、100、500、1000、2500pg/ml。

一种磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及体外试剂检测技术领域,具体地说,涉及一种磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒。

背景技术

[0002] 心力衰竭(heart failure, HF)是指各种心脏结构或功能性疾病引起的心室充盈及射血能力受损导致心排血量不能满足机体代谢的需要,器官、组织血液灌注不足的一种综合征,临床上常表现为呼吸困难、运动耐量下降及循环淤血或水肿。

[0003] B型脑钠肽(Brain Natriuretic Peptide, BNP)是心室分泌的一类激素片段,是含76个氨基酸的多肽,通过心肌细胞拉伸进入血液循环,不具有生物学活性,最终由肾脏清除。BNP是心室最主要的利钠肽,其在血液中代谢途径不会受肾脏代谢的影响,浓度升高能反映心衰时心室压力升高和容积增加。因此,BNP与其他利钠肽及其前体相比是评价心室负荷更敏感和特异的指标,可用于慢性心力衰竭的诊治。

[0004] BNP不仅是心力衰竭灵敏而特异的指标,也是稳定和不稳定性冠心病治疗、诊断、预后的重要因素,有助于预测以后发生心力衰竭和死亡的危险。2014年在中国急性心力衰竭和治疗指南中明确提出将BNP作为急性心衰诊断指标。欧洲心脏病协会将BNP检测列入诊断或排除心衰指南。BNP测定结果结合病史、临床表现、心电图、胸片和其他心肌标志物检测可为充血性心力衰竭的临床诊断、治疗和预后评价提供有价值的信息。

[0005] 目前检测BNP的方法主要有荧光免疫层析法、化学发光法、电化学发光法。荧光免疫层析法虽然操作简单、检测时间短,但其存在检测灵敏度低、准确度较差、重复性差等缺点;化学发光法和电化学发光法虽然具有灵敏度和准确度高、线性范围宽等优点,但是存在仪器设备昂贵、检测时间长等缺点,不适合基层社区医院使用。因此,我们需要更快提供准确结果的检测方法。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于针对现有技术中存在的上述问题,提出了一种磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒。本发明将时间分辨荧光免疫分析技术与磁微粒相结合,提供了一种成本低廉、操作简单、准确、灵敏度高、检测范围宽的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒。本发明的基于磁微粒的时间分辨荧光免疫分析试剂盒,能够定量检测样品中BNP含量,检测结果更加准确可靠,具有更高的检测灵敏度和特异性,并达到了较佳的性能参数。本发明提出的检测方法将大大提高HF、AMI(acute myocardial infarction, AMI)诊断率,在HF、AMI早期诊断、疗效观察和预后判断中发挥越来越重要的作用。

[0007] 为实现上述目的,本发明采用了如下技术方案:

[0008] 一种磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,包括包被BNP单克隆抗体的免疫磁珠、BNP校准品溶液、钕标记的BNP单克隆抗体溶液、清洗液和增强液。

[0009] 在上述磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒中,所述的包被BNP单克隆抗体

的免疫磁珠为带有官能团修饰的直径1~3 μ m的超顺磁珠与BNP单克隆抗体共价偶联物,其中所使用的磁珠为羧基磁珠、氨基磁珠、羟基磁珠、甲苯磺酰基磁珠、NHS磁珠、链酶亲和素磁珠、蛋白A磁珠、蛋白G磁珠、抗小鼠IgG磁珠、亲水磁珠、疏水磁珠中的一种或几种。

[0010] 在上述磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒中,所述的单克隆抗体为针对BNP不同表位的抗体。

[0011] 在上述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒中,所述免疫磁珠的制备方法为直径1~3 μ m的磁微粒与所述对应单克隆抗体经洗涤、活化、偶联、封闭制备得到。

[0012] 所述包被BNP单克隆抗体的免疫磁珠的制备方法为:吸取羧基磁珠到离心管中,将离心管放置在磁力架中,利用磁力架进行磁珠和缓冲液的分离,用0.05M pH6.0的2-(N-吗啡啉)乙磺酸洗涤磁珠3~5次;向上述洗涤好的磁珠中加入0.05M pH6.0的2-(N-吗啡啉)乙磺酸,加入20mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸溶液和20mg/mL N-羟基琥珀酰亚胺,室温震荡反应;将活化好的磁珠置于磁力架上,弃上清,收集活化好的磁珠;加入单克隆抗体,室温持续旋转孵育3~5小时,反应时间取决于磁珠的配位基与浓度;上述磁珠置于磁力架上,弃上清,收集免疫磁珠;加入含有2%BSA 0.1M pH 8.0的Tris-HCl缓冲液,重悬磁珠,封闭未偶联单克隆抗体的活化羧基位点,反应30~60分钟;上述磁珠置于磁力架上,弃上清,加入免疫磁珠保存液。所述的保存液为含5% (w/v) BSA,1% (w/v) 海藻糖,0.1% (v/v) Tween-20 0.05M pH 8.0的Tris-HCl缓冲液。

[0013] 所述的铕标记BNP抗体的制备方法为:按照BNP抗体与Eu³⁺的质量比为4:1,将DTTA-Eu作为标记物,在0.05M pH8.5的碳酸盐缓冲液下,加入DTTA-Eu与BNP单克隆抗体,混合后溶于0.05M pH8.5的碳酸盐缓冲液,室温震荡过夜;用葡聚糖凝胶柱纯化后收集峰管;将上述制备好的铕标抗体稀释,使BNP抗体的终浓度为0.0045~0.0080g/L。

[0014] 所述清洗液的配方为:0.8~1.5% Tween-20,0.02% Proclin300,pH 7.2~7.50.01M Tris-HCl缓冲液。

[0015] 所述增强液的配方为:0.03% 乙酸钠、0.0002~0.0009% β -NTA、0.0024% TOPO、0.08% 醋酸、0.1% 无水乙醇、0.01%的Triton X-100的水溶液。

[0016] 所述BNP校准品的制备方法为:用含1.5% Tween-20,0.02% Proclin300,pH 7.5 0.02M Tris-HCl缓冲液将BNP抗原稀释至0、50、100、500、1000、2500pg/ml。

[0017] 所述荧光物质的激发波长为300~350nm,发射波长为500~650nm。

[0018] 本发明所述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒的检测原理为夹心法,试剂条的反应孔中预装有BNP免疫磁珠,测试时,先将待测样本(血清或血浆)或者校准品加到试剂的反应孔中,振荡孵育10min,洗涤后再加入铕标BNP抗体,振荡孵育10min,形成免疫磁珠-抗原-铕标抗体复合物。洗涤后,再加入增强液,在激发光的作用下,荧光物质发射一定波长的光信号,被免疫荧光检测仪识别,样本中被测物越多,产生的荧光信号强度越强。将BNP校准品浓度与荧光信号值拟合剂量-反应曲线,即可按此测值得到未知样本中BNP浓度。

[0019] 与现有技术相比,本发明具有如下有益效果:

[0020] (1) 采用磁分离技术,形成的免疫复合物在外加磁场中直接沉淀,不需离心即将免疫复合物与未结合物质分离。因磁珠具有更大的结合面积与能在液相中分散而充分反应,大大提高检测范围,缩短反应时间,提高灵敏度。由于磁珠与抗原或抗体为共价偶联,克

服了物理吸附的不稳定性,因此免疫磁珠保存时间久且更稳定。

[0021] (2) 采用时间分辨荧光免疫分析技术,采用镧系螯合物铕、铽、钐、镱作为标记物,其具有较宽的激发光谱、较窄发射光谱,有利于降低本底,提高灵敏度;紫外光激发具有较高量子产率、较大Stokes位移,避免激发光谱和荧光发射光谱以及生物基质发射的光谱重合,荧光衰变时间长等优点,比传统荧光物质检测范围更宽、特异性更好。

[0022] (3) 配套全自动检测仪器,实现自动化操作,可同时检测一份或多份样本中BNP含量,样本用量少,操作简便快速(30分钟即可出结果)、为早期诊断HF和AMI提供重要依据,为病人节约了宝贵的时间。

附图说明

[0023] 图1是磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒利用试剂条进行检测,试剂条的结构俯视示意图。

[0024] 图2是磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒利用试剂条进行检测,试剂条的结构示意图。

[0025] 1、测试孔1,2、测试孔2,3、荧光标记物1,4、荧光标记物2,6、洗液,7、洗液,8、样本稀释液1,9、样本稀释液2,12、增强液,5、10、11、13均为预备孔。

具体实施方式

[0026] 本发明所述的BNP包被磁珠为带有官能团修饰的直径1~3 μm 的超顺磁珠与蛋白的共价偶联物,其中所使用的磁珠有羧基磁珠、氨基磁珠、羟基磁珠、甲苯磺酰基磁珠、NHS磁珠、链酶亲和素磁珠、蛋白A磁珠、蛋白G磁珠、抗小鼠IgG磁珠、亲水磁珠、疏水磁珠等其中的一种或几种。

[0027] 以下结合附图和具体实施例来详细说明本发明。

[0028] 实施例1

[0029] 在该实施例中,磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒由试剂条和BNP校准品组成。

[0030] 其中,试剂条的形状为扇形,从左到右依次排列1~13个孔。第1、2孔为测试孔,第3、4孔为荧光标记孔,第6、7孔为稀释液孔,第8、9为样本稀释液孔,第12为增强液孔,第5、10、11、13为预备孔。第1与2孔之间存放磁铁进行磁分离实验,第1与2孔存放液体体积为300 μl ;第3、4孔从整个试剂条上拆卸成为独立的组分,便于对荧光标记物进行分装储存。第3、4、5孔存放液体体积为400 μl ;第6、7孔存放液体体积为3000 μl ;第8~12孔存放液体体积为400 μl ;第13孔存放液体体积为600 μl 。

[0031] 本试剂条由测试孔1(BNP单克隆抗体包被羧基磁珠)、第3孔(铕标BNP单克隆抗体)、洗液孔6与7、增强液孔12组成,如图1和图2所示。

[0032] 所述磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒的制备过程如下,其中

[0033] (1) BNP免疫磁珠的制备方法:

[0034] ①洗涤磁珠

[0035] 吸取1mg直径1 μm 羧基磁珠到1.5ml离心管中,将离心管放置在磁力架中,利用磁力架进行磁珠和缓冲液的分离,用1ml 0.05M pH6.0的2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES)洗涤磁珠3

~5次。

[0036] ②磁珠活化

[0037] 向上述洗涤好的磁珠中加入1ml 0.05M pH6.0的MES,加入20 μ L 20mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸溶液(EDC)和20 μ L 20mg/ml N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),室温震荡反应0.5~1小时。

[0038] ③BNP抗体与磁珠的偶联

[0039] 上述活化好的磁珠置于磁力架上,弃上清,收集活化好的磁珠。加入1~2mg BNP单克隆抗体,室温持续旋转孵育3~5小时,反应时间取决于磁珠的配位基与浓度。

[0040] ④封闭

[0041] 上述磁珠置于磁力架上,弃上清,收集免疫磁珠。加入含有2%BSA 0.1M pH 8.0的Tris-HCl缓冲液,重悬磁珠,封闭未偶联BNP单克隆抗体的活化羧基位点,反应30~60min。

[0042] ⑤储存

[0043] 上述磁珠置于磁力架上,弃上清,加入500 μ L免疫磁珠保存液。

[0044] 所述的保存液为含5% (w/v) BSA,1% (w/v) 海藻糖,0.1% (v/v) Tween-20的0.05M pH 8.0的Tris-HCl缓冲液。

[0045] 将上述制备好的免疫磁珠稀释,使BNP单克隆抗体的终浓度为0.0025~0.0100g/L,分装至试剂条第1孔(测试孔1)中。

[0046] (2) 铕标记BNP抗体制备方法:

[0047] ①铕标BNP单抗的制备

[0048] 1) 取出1mg BNP单克隆抗体置于30KD超滤离心管,10000rpm离心10min,弃去滤液。

[0049] 2) 加入标记缓冲液(0.05M pH8.5碳酸盐缓冲液)200 μ L,10000rpm离心10min,弃去滤液。重复此操作4~5次。

[0050] 3) 将离心管滤膜反转,3000rpm离心6min,收集浓缩的抗体。加入200 μ L标记缓冲液,静置3~5min,再将离心管滤膜反转,3000rpm离心6min,收集浓缩的BNP单克隆抗体。

[0051] 4) 按照质量比BNP单克隆抗体:铕螯合物DTTA-Eu=4:1的比例充分混匀,放入旋转培养器,室温反应16~24小时。

[0052] ②铕标BNP单抗的纯化

[0053] 用SepHdexTM G-75凝胶柱纯化铕标BNP单抗,然后加入铕标BNP单抗保存剂(5% (w/v) BSA+5% (w/v) Proclin300),使BSA和Proclin300终浓度为0.3%,经0.22 μ m滤膜过滤,4 $^{\circ}$ C储存备用。

[0054] 将上述制备好的铕标BNP单抗稀释,使BNP单抗的终浓度为0.0045~0.0080g/L,分装至试剂条第3孔中。

[0055] 所述的荧光物质铕的激发波长为340nm,发射波长为615nm。

[0056] (3) 清洗液的制备方法:

[0057] 配制含有0.8~1.5% Tween-20,0.02% Proclin300,pH 7.2~7.5 0.01M Tris-HCl缓冲液,将配制好的溶液以每孔2000 μ L分装至洗液孔6和7中。

[0058] (4) 增强液的制备方法:

[0059] 配制含有0.03% 乙酸钠、0.0002~0.0009% β -NTA、0.0024% TOPO、0.08% 醋酸、0.1% 无水乙醇、0.01%的Triton X-100的水溶液。将配制好的溶液以每孔400 μ L分装至试

剂条第12孔(增强液孔)。

[0060] (5) 校准品制备方法:

[0061] 所述BNP校准品的制备方法为:1.5%Tween-20,0.02%Proclin300,pH 7.50.02M Tris-Hcl缓冲液将BNP抗原稀释至0、50、100、500、1000、2500pg/ml。

[0062] 实施例2试剂条的制作与检测

[0063] 本实施例中的试剂条,半成品通过以下工序组装而成:在第1、3、6、7、12分别分装50 μ LBNP免疫磁珠、100 μ L钡标BNP抗体、2000 μ L洗液、2000 μ L洗液、400 μ L增强液,然后用封膜机封口,所述的封板膜上涂有可供全自动荧光检测分析仪扫描识别的产品信息标识包括企业标准曲线、批次、生产日期、有效期。成品试剂条、分装好的BNP校准品与其他配件组装成试剂盒。

[0064] 样本检测:

[0065] ①加样:

[0066] 将待测样本或者校准品放入全自动仪器的装载系统,将试剂条插入试剂条卡槽,仪器自动识别封板膜的产品信息。在试剂条测试孔1中加入50 μ L待测样本或者校准品。

[0067] ②孵育:

[0068] 加样完成后37 $^{\circ}$ C震荡孵育10min。

[0069] ③洗涤:

[0070] 孵育完成后,仪器自动洗孔5次,每次洗液200 μ L/孔。

[0071] ④加入50 μ L钡标BNP抗体

[0072] 重复②、③步1次。

[0073] ⑤加入增强液:

[0074] 洗涤完成后,加入增强液100 μ L/孔,37 $^{\circ}$ C孵育3min。

[0075] ⑥检测:

[0076] 试剂条被推入暗室,仪器自动检测并出结果。

[0077] 用来测试试剂条的全自动磁珠时间分辨荧光免疫分析仪包含样本装载系统、条码读取系统、加样系统、温育系统、荧光光源检测系统及自动软件分析控制系统。

[0078] 本发明所述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,检测样本时只需将试剂条插入全自动仪器中,仪器自动完成加样、孵育、磁分离、检测过程,全程只需要30min即可以读取检测报告。

[0079] 实施例3与市售试剂盒的比较

[0080] 采用市售的B型脑钠肽测定试剂盒(化学发光微粒子免疫检测法)(雅培贸易有限公司)与实施例1中的方法检测样品(所述样品中BNP浓度范围为10~2500pg/mL)重复三次,验证本发明的试剂盒的检测结果正确性,结果见下表1。

[0081] 表1、样本检测结果

BNP	低值样本		中值样本		高值样本	
	雅培试剂	本试剂	雅培试剂	本试剂	雅培试剂	本试剂
[0082] 1	79.0	82.0	800.0	789.0	2000.0	2001.0
2	81.0	80.0	799.0	799.0	1999.0	2001.0
3	84.0	85.0	798.0	801.0	1998.0	1999.0
均值	81.3	82.3	799.0	796.3	1999.0	2000.3
偏差	1.23%		-0.33%		0.07%	

[0083] 与市售试剂比较,本试剂偏差均小于 $\pm 5\%$,本试剂的检测结果准确可靠。

[0084] 采用市售的B型脑钠肽测定试剂盒(化学发光微粒子免疫检测法)(雅培贸易有限公司)与实施例1中的试剂检测200例临床样本,检测结果见下表2。

[0085] 表2、临床样本检测结果

本试剂 \ 雅培试剂	阳性	阴性	合计	符合率
	[0086] 阳性	88	3	91
阴性	2	107	109	98.2%
合计	90	110	200	97.5%

[0087] 本试剂对200例临床样本的检测结果显示与雅培试剂进行比较,阳性符合率96.7%,阴性符合率98.2%,二者的总符合率为97.5%。说明本发明所述的磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒,具有如下优势:1)灵敏度高,BNP的灵敏度为10pg/mL,血清(浆)样本不需要稀释;2)检测时间短,30min出报告;3)样品需求量少,一次上样只需50 μ L;4)配套全自动时间分辨免疫分析仪,操作简单,无人为误差并节省人力。

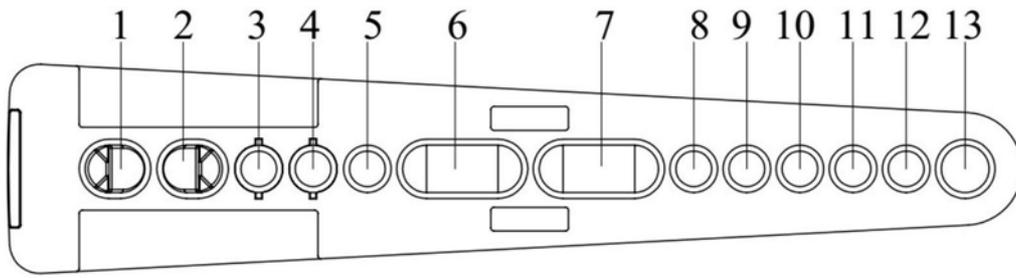


图1

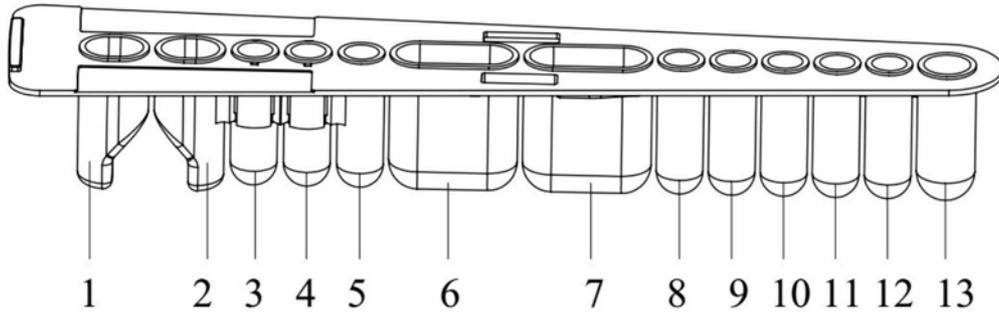


图2

专利名称(译)	一种磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒		
公开(公告)号	CN108398558A	公开(公告)日	2018-08-14
申请号	CN201810136361.7	申请日	2018-02-09
[标]发明人	李根平 解巧丽		
发明人	李根平 解巧丽		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/543 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/577 G01N33/533 G01N33/54326 G01N2800/325		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种磁珠时间分辨荧光免疫定量检测BNP试剂盒，包括包被BNP单克隆抗体的免疫磁珠、BNP校准品溶液、铕标记的BNP单克隆抗体溶液、清洗液和增强液。所述的包被BNP单克隆抗体的免疫磁珠为带有官能团修饰的直径1~3 μ m的超顺磁珠与BNP单克隆抗体共价偶联物。本发明的试剂盒灵敏度高，BNP的灵敏度为10pg/mL，血清(浆)样本不需要稀释；检测时间短，30min出报告；样品需求量少，一次上样只需50 μ L；配套全自动时间分辨免疫分析仪，操作简单，无人为误差并节省人力。

