



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110579615 A

(43)申请公布日 2019.12.17

(21)申请号 201910842912.6

(22)申请日 2019.09.06

(71)申请人 广州科方生物技术股份有限公司

地址 510000 广东省广州市高新技术产业
开发区科学城开源大道11号C4栋五
层、六层

(72)发明人 周剑辉

(74)专利代理机构 广州市越秀区哲力专利商标
事务所(普通合伙) 44288

代理人 贺红星

(51)Int.Cl.

G01N 33/74(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

权利要求书1页 说明书9页

(54)发明名称

一种通用于血清中类固醇激素的释放剂及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种通用于血清中类固醇激素的释放剂及其制备方法,由酰胺类化合物、金属螯合剂、防腐剂、表面活性剂、甾体杂环化合物和去离子水组成,本发明制备的通用于血清中类固醇激素的释放剂当做样本预处理液用于类固醇激素项目检测试剂中,根据人血清标本中类固醇激素的特异性和主要的存在形式,将人血清中络合态的睾酮、雌二醇、孕酮和皮质醇从各自的结合蛋白中释放出来后,采用化学发光免疫分析法(CLIA)对游离态的激素进行检测验证,使得样本结果测值准确。

1. 一种通用于血清中类固醇激素的释放剂,其特征在于,由以下试剂组成:

0.1-0.5wt%的酰胺类化合物、0.01-0.1wt%的金属螯合剂、0.05-0.2wt%的防腐剂、0.05~0.5wt%的表面活性剂和0.005-0.015wt%的甾体杂环化合物,其余为去离子水;其中,酰胺类化合物为N,N-二甲基甲酰胺和/或N-甲基乙酰胺;甾体杂环化合物包括甲氢睾酮、达那唑和雄诺龙中的一种或几种。

2. 如权利要求1所述的通用于血清中类固醇激素的释放剂,其特征在于,所述金属螯合剂为EDTA和/或DTPA。

3. 如权利要求1所述的通用于血清中类固醇激素的释放剂,其特征在于,所述防腐剂包括硫柳汞、Proclin300、叠氮钠和洗必泰中的一种或几种。

4. 如权利要求1所述的通用于血清中类固醇激素的释放剂,其特征在于,所述表面活性剂包括Tween-20、Tween-40、Triton X-100和十二烷基硫酸钠中的一种或几种。

5. 如权利要求1-4任一所述的通用于血清中类固醇激素的释放剂的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

1) 称取酰胺类化合物、金属螯合剂、防腐剂、表面活性剂和甾体杂环化合物,混合后加入1L去离子水;

2) 调节pH值为6.4后,得到通用于血清中类固醇激素的释放剂,放在2-8℃条件下避光保存。

6. 如权利要求5所述的通用于血清中类固醇激素的释放剂的制备方法,其特征在于,步骤2) 加入1mol/L盐酸溶液调节pH值为6.4。

一种通用于血清中类固醇激素的释放剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种免疫分析技术领域,具体涉及一种通用于血清中类固醇激素的释放剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 类固醇激素(steroidhormone)又称甾体激素,是胆固醇经细胞色素P450(cytochromeP450)酶催化形成的一类具有环戊烷多氢菲结构的化合物。类固醇激素主要分为4类:孕酮、皮质醇、雌二醇和睾酮。类固醇激素对人体新陈代谢、维持内环境稳定、生长、发育及生殖行为等方面起着重要的调节作用[1-2]。类固醇激素分析方法是临床检测学、内分泌学以及其他交叉学科相关领域的重要研究内容之一。

[0003] 其中在人体血液中98%睾酮分子跟性激素结合球蛋白(SHBG)结合,几乎所有的雌二醇分子都以结合蛋白的形式存在,孕酮主要结合白蛋白,其次是与性激素结合球蛋白(SHBG)结合,以及血液中大部分的皮质醇与结合蛋白结合,大约1%的皮质醇以原型经尿液排出。而在临床诊断当中这4种类固醇激素只有检测游离态的才具有临床意义。怎样将样本血清中这4种类固醇激素从结合态中释放出来成为游离态的分子就成了实验研发中的一个难题。

发明内容

[0004] 为了克服现有技术的不足,本发明的目的在于提供一种通用于血清中类固醇激素的释放剂及其制备方法,将该释放剂应用在类固醇激素的临床实验中,能够将血清中结合态的4种激素从各自结合蛋白中释放出来,通过测定游离态激素的含量来获得样本临床实验数据,提高临床准确性。

[0005] 本发明的目的采用如下技术方案实现:

[0006] 一种通用于血清中类固醇激素的释放剂,由以下试剂组成:

[0007] 0.1-0.5wt%的酰胺类化合物、0.01-0.1wt%的金属螯合剂、0.05-0.2wt%的防腐剂、0.05~0.5wt%的表面活性剂和0.005-0.015wt%的甾体杂环化合物,其余为去离子水;其中,酰胺类化合物为N,N-二甲基甲酰胺和/或N-甲基乙酰胺;酰胺类化合物用于提高甾体杂环化合物的溶解性及稳定性。甾体杂环化合物包括甲氢睾酮、达那唑和雄诺龙中的一种或几种。

[0008] 达那唑为17 α -乙炔睾酮的衍生物,为合成雄激素,具有弱雄激素活性,兼有蛋白同化作用和抗雌激素作用。但无孕激素和雌激素活性。达那唑和雄诺龙均为雄激素类。N-甲基乙酰胺具有溶解其它有机物的优良性能,所以在有机合成上常用作溶剂使用。 α -巯基乙基磺酸钠主要用作表面活性剂中间体、日化及医药中间体。甾体杂环化合物与待检测的类固醇激素结构类似,可以将类固醇激素从结合蛋白中解离释放出来,从而甾体杂环化合物可以与结合蛋白结合,而待检测的类固醇激素处于游离状态,方便后续的检测。

[0009] 本发明制备的通用于血清中类固醇激素的释放剂当做样本预处理液用于类固醇

激素项目检测试剂中,根据人血清标本中类固醇激素的特异性和主要的存在形式,将人血清中络合态的睾酮、雌二醇、孕酮和皮质醇从各自的结合蛋白中释放出来,使之处于游离状态,采用化学发光免疫分析法 (CLIA) 对游离态的激素进行检测验证,使得样本结果测值准确。

[0010] 进一步,所述金属螯合剂为EDTA和/或DTPA。EDTA和DTPA都是氨基酸类。EDTA能与 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 和 Fe^{2+} 等二价金属离子结合的螯合剂。由于多数核酸酶类和有些蛋白酶类的作用需要 Mg^{2+} ,故EDTA也常用做核酸酶和蛋白酶的抑制剂。DTPA是高效螯合剂,螯合性强,能迅速与钙、镁、铁、铅、铜、锰等离子生成水溶性络合物。

[0011] 再进一步,所述防腐剂包括硫柳汞、Proclin300和叠氮钠中的一种或几种。

[0012] 具体地,硫柳汞和叠氮钠均为杀菌剂,能有效预防有害微生物污染所致的潜在危害。Proclin300防腐剂是用于诊断试剂或产品中控制微生物含量的高效来灭菌剂。以其广谱活性、优越的兼容性和稳定性及其在使用浓度下的低毒性,ProClin 300成为用于诊断试剂的理想高效防腐剂。ProClin 300防腐剂可在更长的时间内根除细菌、真菌及酵母,从而延长以本发明的稳定剂配制的脑钠肽校准品的储存时间。其水溶性确保其可轻易溶入所需试剂中。特别是,ProClin 300防腐对大多数的酶或抗体交联反应的功能无影响,所以不会干扰检验指示剂,适用于采用化学发光免疫分析法。

[0013] 进一步,所述表面活性剂包括Tween-20、Tween-40、Triton X-100和十二烷基硫酸钠中的一种或几种。Tween-20、Tween-40、NP-40和Triton X-100均为非离子表面活性剂,十二烷基硫酸钠为阴离子表面活性剂。甘油作为助表面活性剂能使非离子表面活性剂插入在反胶团的结构中以增大反胶团的尺寸,从而能溶解较大相对分子质量的蛋白质。明胶能与十二烷基硫酸钠相互作用,从而提高体系的摩尔电导率荧光强度,使得本发明制备的通用用于血清中类固醇激素的释放剂当做样本预处理液用于类固醇激素项目检测试剂中,采用化学发光免疫分析法 (CLIA) 进行实验的验证结果更加准确。

[0014] 通用用于血清中类固醇激素的释放剂的制备方法,包括以下步骤:

[0015] 1) 称取酰胺类化合物、金属螯合剂、防腐剂、表面活性剂和甾体杂环化合物,混合后加入1L去离子水;

[0016] 2) 调节pH值为6.4后,得到通用用于血清中类固醇激素的释放剂,放在2-8℃条件下避光保存。

[0017] 进一步,步骤2) 加入1mol/L盐酸溶液调节pH值为6.4。

[0018] 相比现有技术,本发明的有益效果在于:

[0019] (1) 本发明制备的通用用于血清中类固醇激素的释放剂当做样本预处理液用于类固醇激素项目检测试剂中,将人血清中络合态的睾酮、雌二醇、孕酮和皮质醇从各自的结合蛋白中释放出来,使之成为游离态后,采用化学发光免疫分析法 (CLIA) 对游离态的激素进行检测验证,使得样本结果测值准确;

[0020] (2) 本发明的释放剂通用用于睾酮、雌二醇、孕酮和皮质醇这4种类固醇激素,极大的简化了实验的流程,变得更为方便,大大减轻了实验人员的工作量,提高效率;

[0021] (3) 本发明制备的释放剂于整个类固醇激素类型的项目的实验研发具有重要意义,便于项目后续的研发以及优化。

具体实施方式

[0022] 下面,结合具体实施方式,对本发明做进一步描述,需要说明的是,在不相冲突的前提下,以下描述的各实施例之间或各技术特征之间可以任意组合形成新的实施例。

[0023] 实施例1

[0024] 在1L去离子水中加入0.1wt%的N,N-二甲基甲酰胺和0.5wt%N-甲基乙酰胺、0.05wt%EDTA、0.1wt%叠氮钠,0.4wt%Triton X-100、0.005wt%甲氢睾酮、0.005wt%达那唑和0.005wt%雄诺龙混匀后,加入1mol/L盐酸溶液调节pH值为6.4,放置在2-8℃条件下避光保存。

[0025] 实施例2

[0026] 在1L去离子水中加入0.25wt%的N,N-二甲基甲酰胺和0.25wt%N-甲基乙酰胺、0.05wt%EDTA、0.1wt%叠氮钠,0.4wt%Triton X-100、0.010%甲氢睾酮、0.010%达那唑和0.010%雄诺龙混匀后,加入1mol/L盐酸溶液调节pH值为6.4,,放置在2-8℃条件下避光保存。

[0027] 实施例3

[0028] 在1L去离子水中加入0.5wt%的N,N-二甲基甲酰胺和0.1wt%N-甲基乙酰胺、0.05wt%EDTA、0.1wt%叠氮钠,0.4wt%Triton X-100、0.015%甲氢睾酮、0.015%达那唑、0.015%雄诺龙混匀后,加入1mol/L盐酸溶液调节pH值为6.4,放置在2-8℃条件下避光保存。

[0029] 实施例4

[0030] 在1L去离子水中加入0.1wt%的N,N-二甲基甲酰胺和0.1wt%N-甲基乙酰胺、0.05%EDTA、0.1wt%叠氮钠,0.4wt%Triton X-100、0.010%甲氢睾酮、0.010%达那唑和0.010%雄诺龙混匀后,加入1mol/L盐酸溶液调节pH值为6.4,放置在2-8℃条件下避光保存。

[0031] 实施例5

[0032] 在1L去离子水中加入0.5wt%的N,N-二甲基甲酰胺和0.5wt%N-甲基乙酰胺、0.05%EDTA、0.1wt%叠氮钠,0.4wt%Triton X-100、0.010%甲氢睾酮、0.010%达那唑和0.010%雄诺龙混匀后,加入1mol/L盐酸溶液调节pH值为6.4,放置在2-8℃条件下避光保存。

[0033] 实施例6

[0034] 在1L去离子水中加入0.25wt%的N,N-二甲基甲酰胺和0.25wt%N-甲基乙酰胺、0.01wt%EDTA、0.05wt%叠氮钠,0.05wt%Triton X-100、0.010wt%甲氢睾酮、0.010wt%达那唑和0.010wt%雄诺龙混匀后,加入1mol/L盐酸溶液调节pH值为6.4,放置在2-8℃条件下避光保存。

[0035] 实施例7

[0036] 在1L去离子水中加入0.25wt%的N,N-二甲基甲酰胺和0.25wt%N-甲基乙酰胺、0.1wt%EDTA、0.2wt%叠氮钠,0.5wt%Triton X-100、0.010wt%甲氢睾酮、0.010wt%达那唑和0.010wt%雄诺龙混匀后,加入1mol/L盐酸溶液调节pH值为6.4,放置在2-8℃条件下避光保存。

[0037] 检测实验

[0038] 收集有进口试剂盒测值的睾酮、雌二醇、孕酮、皮质醇这4个激素项目的标本各15例,总共60例标本(睾酮标本编号1~15号,雌二醇标本编号16~30号,孕酮标本编号31~45号,皮质醇标本编号46~60号),每个标本用移液枪分别取50 μ L标本到8个样品反应杯中,反应杯编号为A、B、C、D、E、F、G和H。并以1.5mol/L的PBS缓冲液作为对照组。在A反应杯中各添加100 μ L的实施例1的释放剂,在B反应杯中各添加100 μ L的实施例2的释放剂,在C反应杯中各添加100 μ L的实施例3的释放剂,在D反应杯中各添加100 μ L的实施例4的释放剂,在E反应杯中各添加100 μ L的实施例5的释放剂,在F反应杯中各添加100 μ L的实施例6的释放剂,在G反应杯中各添加100 μ L的实施例7的释放剂。在H反应杯中各添加100 μ L的1.5mol/L的PBS缓冲液,混匀后常温静置15分钟,然后用化学发光免疫分析法(CLIA)进行上机实验验证,由于进口试剂盒测定结果值较为准确,所以将CLIA测得的结果跟进口试剂盒测定的结果进行对比分析,以下是实施例1-7得到的检测对比结果:

[0039] 表1睾酮对比实验结果(单位:nmol/L)

[0040]

标本 编号	进口 试剂 盒	实施 例 1 A	实施 例 2 B	实施 例 3 C	实施 例 4D	实施 例 5E	实施 例 6F	实施 例 7G	常规 项目 处理 液 H
1	0.21	0.14	0.19	0.27	0.22	0.16	0.17	0.14	0.03
2	0.57	0.4	0.53	0.31	0.57	0.56	0.43	0.27	0.02
3	1.69	1.29	1.58	1.38	1.83	1.43	1.36	1.32	0.34
4	3.19	2.77	3.07	2.87	3.45	3.03	2.87	2.36	0.57
5	3.55	2.33	3.62	2.62	3.70	3.38	3.15	3.28	0.49
6	4.75	5.04	4.77	6.39	5.09	5.06	4.22	4.36	1.22
7	6.62	4.61	6.55	4.87	6.97	6.66	4.52	5.34	1.94
8	8.09	6.71	8.31	6.08	8.94	6.54	7.62	6.25	3.61
9	10.25	11.74	12.6	13.64	11.25	11.48	8.61	15.44	2.97
10	13.51	11.60	13.33	11.73	13.04	15.33	12.36	11.2	4.67
11	17.61	15.57	17.19	16.08	17.30	16.45	21.73	15.22	8.61
12	22.38	19.61	23.61	18.66	22.08	21.02	17.52	18.06	6.39
13	26.55	22.38	27.16	24.43	25.23	24.24	20.32	28.94	8.19
14	26.93	26.72	27.08	25.18	27.33	29.49	21.62	17.33	11.03
15	28.62	24.67	31.28	24.50	25.77	27.28	24.36	22.08	13.62
相关性		0.9917 2	0.9971 5	0.9866 4	0.9970 7	0.9918 5	0.9735 1	0.9439 9	0.9590 2

[0041] 表2雌二醇对比实验结果(单位:pg/mL)

[0042]

标本	进口	实施	实施	实施					常规
----	----	----	----	----	--	--	--	--	----

[0043]

编号	试剂 盒	例 1 A	例 2 B	例 3 C	实施 例 4D	实施 例 5E	实施 例 6F	实施 例 7G	项目 处理 液 H
1	8.66	7.98	9.15	7.48	8.21	9.17	6.62	8.97	1.25
2	15.73	15.58	14.93	16.33	14.16	14.90	12.19	13.51	3.78
3	18.4	18.17	18.54	17.42	19.90	18.35	13.84	12.68	2.65
4	21.67	20.07	23.77	18.04	21.35	19.59	17.97	15.22	5.11
5	34.55	31.54	35.49	30.36	33.78	36.16	35.89	29.81	6.61
6	42.18	38.56	37.05	33.22	40.48	43.17	37.2	35.14	12.09
7	48.72	43.99	47.54	51.16	52.45	49.43	40.75	39.47	10.76
8	72.16	75.56	76.61	67.47	74.21	75.82	78.06	65.18	18.37
9	85.64	91.95	87.19	78.64	87.53	91.36	75.12	72.18	21.34
10	108.07	109.33	120.73	105.31	100.76	107.49	85.39	114.81	55.61
11	246.18	231.64	246.91	215.49	246.71	224.72	256.85	228.44	34.28
12	543.62	597.76	611.37	503.31	594.64	593.86	502.59	497.7	67.83
13	719.08	733.78	750.16	688.27	731.43	648.74	662.58	735.63	88.37
14	772.29	843.59	762.82	811.36	823.37	738.06	850.48	725.14	125.36
15	975.63	903.21	953.11	875.41	908.77	1051.4 4	875.27	802.73	87.61
相关性		0.9956 5	0.9981 3	0.9966 7	0.9968 4	0.9953 1	0.9937 7	0.9942 0	0.9204 0

[0044]

表3孕酮对比实验结果(单位:ng/mL)

[0045]

标本	进口	实施	实施	实施					常规
----	----	----	----	----	--	--	--	--	----

[0046]

编号	试剂 盒	例 1 A	例 2 B	例 3 C	实施 例 4D	实施 例 5E	实施 例 6F	实施 例 7G	项目 处理 液 H
1	0.3	0.5	0.4	0.5	0.6	0.3	0.1	0.3	0.0
2	0.8	1.0	0.7	0.8	0.8	0.7	0.5	0.4	0.0
3	1.7	1.3	1.9	1.2	1.3	1.4	1.2	1.3	0.2
4	2.3	2.6	2.4	1.9	2.3	3.1	1.2	1.1	0.7
5	4.5	4.8	4.4	4.1	4.3	4.4	4.2	3.9	0.6
6	5.8	5.3	6.2	5.9	5.2	5.9	5.1	4.2	1.7
7	8.6	8.9	9.2	8.1	8.4	8.6	7.4	7.1	1.2
8	12.8	11.7	13.8	10.3	14.5	12.1	11.3	10.6	5.6
9	18.9	16.9	17.6	15.2	17.5	15.6	16.6	17.5	3.7
10	21.3	18.4	22.3	23.7	20.6	18.5	18.3	17.8	5.0
11	25.7	30.1	26.7	23.0	24.2	23.1	23.5	34.2	11.9
12	28.2	30.8	31.1	24.3	24.5	24.6	24.2	29.8	8.4
13	32.4	28.6	33.8	30.3	27.8	35.7	35.8	28.7	14.5
14	33.1	35.7	34.8	31.2	36.2	32.5	30.4	28.3	17.3
15	38.6	43.8	39.5	28.9	41.9	36.7	34.2	35.6	15.9
相关性		0.9866	0.9984	0.9841	0.9878	0.9912	0.9907	0.9736	0.9468
		1	7	5	2	3	1	1	2

[0047] 表4皮质醇对比实验结果 (单位:μg/dL)

[0048]

标本 编号	进口								常规 项目
----------	----	--	--	--	--	--	--	--	----------

[0049]

	试剂 盒	实施 例 1 A	实施 例 2 B	实施 例 3 C	实施 例 4D	实施 例 5E	实施 例 6F	实施 例 7G	处理 液 H
1	2.3	2.4	2.2	1.9	1.7	2.5	1.8	2.1	0.2
2	2.9	2.1	3.1	2.6	2.4	2.3	2.5	2.3	0.0
3	4.8	4.2	4.9	4.2	4.2	4.6	4.1	3.8	0.0
4	7.1	6.7	8.0	7.2	7.2	6.8	6.2	6.3	2.4
5	10.6	8.9	11.8	8.6	9.3	8.6	8.9	9.4	3.8
6	15.3	14.6	15.1	15.3	13.5	17.6	14.5	14.9	0.6
7	19.5	21.5	22.8	18.6	18.7	23.4	22.6	18.5	7.3
8	24.6	22.3	26.0	23.3	25.6	22.1	21.5	22.4	8.6
9	28.3	25.8	31.4	25.6	26.0	26.8	27.6	25.1	7.1
10	31.4	28.9	32.3	30.8	27.8	27.6	33.5	28.6	12.6
11	35.2	36.7	35.1	30.5	38.9	31.4	32.3	37.4	7.5
12	39.3	35.6	41.7	34.9	45.1	38.2	36.8	32.5	18.6
13	48.7	47.2	49.8	44.2	46.8	48.6	42.8	38.2	22.6
14	51.2	45.6	54.5	41.0	45.3	47.1	53.6	47.5	17.3
15	58.6	54.9	57.5	55.3	52.6	61.6	52.9	54.7	15.9
相关性		0.9956	0.9973	0.9939	0.9862	0.9914	0.9906	0.9896	0.9138
		7	9	9	6	3	3	8	9

[0050] 对表1-4的对比结果进行分析得出,常规项目处理液处理标本后测值结果普遍偏低很多,从而可以推断出标本中的激素分子没有被释放出来,没有起到从结合蛋白中释放的效果,而实施例1-7配制出来的解离剂稀释标本后得出的结果浓度跟进口试剂盒测得的浓度很接近。可以推断实施例1-7配制出来的通用于血清中类固醇激素的释放剂对标本中睾酮、雌二醇、孕酮、皮质醇这4种激素的释放是很充分的,根据释放剂中各成分所含质量比的摸索,实施例2的释放效果最明显,跟进口试剂所测结果基本吻合,相关性最高,达到0.99以上,释放效率最高。

[0051] 因此本发明提供的能将血清中类固醇激素(包括睾酮、雌二醇、孕酮、皮质醇)分子从各自的结合蛋白中释放出来的通用于血清中类固醇激素的释放剂,用该释放剂预处理临床血清标本,能将血清中的类固醇激素从结合蛋白中释放出来。

[0052] 上述实施方式仅为本发明的优选实施方式,不能以此来限定本发明保护的范围,本领域的技术人员在本发明的基础上所做的任何非实质性的变化及替换均属于本发明所要求保护的范围。

专利名称(译)	一种通用于血清中类固醇激素的释放剂及其制备方法		
公开(公告)号	CN110579615A	公开(公告)日	2019-12-17
申请号	CN201910842912.6	申请日	2019-09-06
[标]申请(专利权)人(译)	广州科方生物技术股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州科方生物技术股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州科方生物技术股份有限公司		
[标]发明人	周剑辉		
发明人	周剑辉		
IPC分类号	G01N33/74 G01N33/532		
CPC分类号	G01N33/532 G01N33/743		
代理人(译)	贺红星		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种通用于血清中类固醇激素的释放剂及其制备方法，由酰胺类化合物、金属螯合剂、防腐剂、表面活性剂、甾体杂环化合物和去离子水组成，本发明制备的通用于血清中类固醇激素的释放剂当做样本预处理液用于类固醇激素项目检测试剂中，根据人血清标本中类固醇激素的特异性和主要的存在形式，将人血清中络合态的睾酮、雌二醇、孕酮和皮质醇从各自的结合蛋白中释放出来后，采用化学发光免疫分析法(CLIA)对游离态的激素进行检测验证，使得样本结果测值准确。

标本 编号	进口 试剂 盒	实施 例 1 A	实施 例 2 B	实施 例 3 C	实施 例 4D	实施 例 5E	实施 例 6F	实施 例 7G	常规 项目 处理 液 H
1	0.21	0.14	0.19	0.27	0.22	0.16	0.17	0.14	0.03
2	0.57	0.4	0.53	0.31	0.57	0.56	0.43	0.27	0.02
3	1.69	1.29	1.58	1.38	1.83	1.43	1.36	1.32	0.34
4	3.19	2.77	3.07	2.87	3.45	3.03	2.87	2.36	0.57
5	3.55	2.33	3.62	2.62	3.70	3.38	3.15	3.28	0.49
6	4.75	5.04	4.77	6.39	5.09	5.06	4.22	4.36	1.22
7	6.62	4.61	6.55	4.87	6.97	6.66	4.52	5.34	1.94
8	8.09	6.71	8.31	6.08	8.94	6.54	7.62	6.25	3.61
9	10.25	11.74	12.6	13.64	11.25	11.48	8.61	15.44	2.97
10	13.51	11.60	13.33	11.73	13.04	15.33	12.36	11.2	4.67
11	17.61	15.57	17.19	16.08	17.30	16.45	21.73	15.22	8.61
12	22.38	19.61	23.61	18.66	22.08	21.02	17.52	18.06	6.39
13	26.55	22.38	27.16	24.43	25.23	24.24	20.32	28.94	8.19
14	26.93	26.72	27.08	25.18	27.33	29.49	21.62	17.33	11.03
15	28.62	24.67	31.28	24.50	25.77	27.28	24.36	22.08	13.62
相关性		0.9917 2	0.9971 5	0.9866 4	0.9970 7	0.9918 5	0.9735 1	0.9439 9	0.9590 2