



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105785057 A

(43)申请公布日 2016.07.20

(21)申请号 201510973245.7

(22)申请日 2015.12.22

(71)申请人 山东博科生物产业有限公司
地址 250000 山东省济南市章丘明水经济
开发区明埠路与经十东路交界

(72)发明人 谭柏清 李敏 甘宜梧

(51)Int. Cl.

G01N 35/00(2006.01)

G01N 33/96(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/536(2006.01)

G01N 33/574(2006.01)

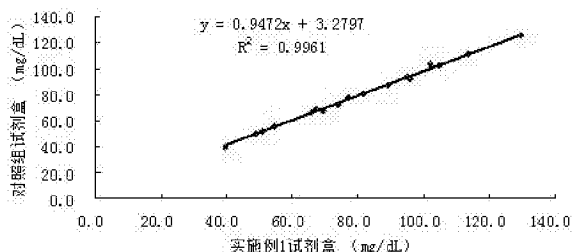
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

一种 α 1-酸性糖蛋白检测试剂盒

(57)摘要

本发明公开了一种 α 1-酸性糖蛋白检测试剂盒,本试剂盒采用免疫透射比浊法检测血液中的 α 1-酸性糖蛋白,属于临床体外检测试剂技术领域。本发明试剂盒包括试剂R1和试剂R2。通过将试剂R1与试剂R2中的缓冲液更换为pH 6.8的磷酸盐缓冲液,同时往试剂R2中添加2%的明胶颗粒,提高了试剂盒的稳定性,线性范围较好,试剂的准确度也较好,有利于在市场中进一步的推广使用。



1. 一种 α 1-酸性糖蛋白检测试剂盒,其特征在于,它包含试剂R1和试剂R2。
2. 试剂组成如下:试剂R1组成为:pH为6.8磷酸盐缓冲液、1% TritonX-100、50mmol/L氯化钠、10mmol/L叠氮钠;试剂R2组成为:pH为6.8磷酸盐缓冲液、2mg/mL羊抗人 α 1-酸性糖蛋白抗体、2%胶乳颗粒、10mmol/L叠氮钠。
3. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,使用全自动生化分析仪采用终点法进行测定,检测主波长为340nm。
4. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,所述试剂R1和试剂R2在使用时的比例为R1:R2=200:100。

一种 α 1-酸性糖蛋白检测试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及临床体外检测试剂技术领域,特别涉及一种 α 1-酸性糖蛋白免疫比浊法检测试剂盒。

背景技术

[0002] α 1-酸性糖蛋白是一种非特异的急性时相反应蛋白,它是人体血浆中糖含量最高、酸性最强的糖蛋白。 α 1-酸性糖蛋白是由181个氨基酸残基组成的多肽链构成,分子结构为单链,含糖量约为40%,包括等分子的己糖、己糖胺和唾液酸,电泳移动时在 α 1位置,故称 α 1-酸性糖蛋白,其分子量约为40000KD,pH值为2.7~3.5。

[0003] α 1-酸性糖蛋白主要由肝脏巨噬细胞和粒细胞产生,某些癌细胞也可进行合成。早期 α 1-酸性糖蛋白曾作为一种非特异性的肿瘤标志物被广泛认知,后来诸多研究表明,在某些肾病、胃病等患者体内 α 1-酸性糖蛋白浓度也有所升高,从而降低研究指数。正常人血清中 α 1-酸性糖蛋白含量较低,在感染、炎症和肿瘤等病理情况下其浓度显著升高。此外, α 1-酸性糖蛋白也被认为是粘蛋白的主要成分,但目前鉴于粘蛋白操作繁琐、影响因素较多、检测结果灵敏度低,已被建议取消。近几年来,随着检验技术和检验设备的不断改进, α 1-酸性糖蛋白检测灵敏度的显著提高,检测方法与测定结果标准化的逐渐实施,临床开始对 α 1-酸性糖蛋白有了新的认识,对 α 1-酸性糖蛋白的检测也日益受到重视。国外学术期刊报道,在乳房癌、卵巢癌等病理性变化时,血清中 α 1-酸性糖蛋白的浓度明显升高。

[0004] 近年来, α 1-酸性糖蛋白的临床价值越来越受到广泛关注。有研究表明,恶性肿瘤患者血清中 α 1-酸性糖蛋白浓度显著升高并与患者的治疗进程有关。另有研究发现腹水 α 1-酸性糖蛋白的测定不仅能鉴别渗出液和漏出液,而且有助于良恶性腹水的鉴别。前人通过对健康人 α 1-酸性糖蛋白浓度及其与年龄的相关性研究,指出尽管有关文献所列的 α 1-酸性糖蛋白浓度范围较宽,但其血清浓度较高者并不多见,提示作为一项非特异性的实验室指标,血清中较高浓度的 α 1-酸性糖蛋白可能预示某种疾病或病理状态的存在。由于 α 1-酸性糖蛋白的肝脏合成与释放受到体内多种激素尤其是性激素的调节,雌激素可抑制 α 1-酸性糖蛋白的产生。

[0005] 目前,用于 α 1-酸性糖蛋白的检测方法主要有放射免疫分析法、酶联免疫法。这些检测方法存在诸多不足,如需要特定的设备,样本需要进行预处理,不能用全自动生化分析仪进行批量检测等。此外,放射免疫分析存在放射线辐射和污染等问题。酶联免疫法应用比较普遍,但该方法为非均相免疫检测,测定过程较繁琐,耗时长,批间差和重复性相对较大,需要配备多种专门设备,一定程度上增加了成本。

[0006] 鉴于此,本发明提供一种用免疫透射比浊法检测 α 1-酸性糖蛋白的试剂盒,优化其反应体系,使其操作简单、重复性好、稳定性好、可进行批量样本全自动化检测,从而消除上述背景技术中缺陷。

发明内容

[0007] 本发明的目的是提供一种稳定性好的用于检测 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白的试剂盒,该试剂盒采用免疫透射比浊法。该试剂盒与常规的试剂盒相比,稳定性和线性范围比常规的检测试剂盒要好有利于试剂在临床上的推广应用。

[0008] 基本原理:

以免疫比浊法为测定原理,血清中 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白抗原与相应抗体在溶液中相遇,形成不溶性的抗原-抗体复合物,使反应液产生一定的浊度,该浊度的高低在一定量的抗体存在时与抗原的含量成正比。在特定波长下测定该复合物的吸光值,与校准品标定的校准曲线比较,即可计算出样本中的 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白的含量。

[0009] 发明是通过以下步骤得到的:

一种 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白检测试剂盒,其特征在于,它包含试剂R1和试剂R2。试剂组成如下:试剂R1为pH为6.8磷酸盐缓冲液、1% TritonX-100、50mmol/L氯化钠、10mmol/L叠氮钠;试剂R2为pH为6.8磷酸盐缓冲液、2mg/mL羊抗人 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白抗体、2%胶乳颗粒、10mmol/L叠氮钠。

[0010] 所述的 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白检测试剂盒来检测 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白的检测方法,使用全自动生化分析仪利用终点法进行测定,检测主波长为340nm。

[0011] 所述的 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白检测试剂,试剂R1和试剂R2在使用时的比例为R1:R2=200:100。

[0012] 本发明的试剂盒在具有双试剂功能的全自动生化分析仪上进行,其具体使用方法如图3,加入生理盐水、样本或校准品3 μ l,再加入200 μ l的R1试剂预孵育5min后读取吸光度A1,之后再加入100 μ l的R2试剂反应5min后,读取吸光度A2,并计算 ΔA 。

[0013] 本发明的有益效果:

- 1)采用新的缓冲体系,改善了试剂的稳定性;
- 2)添加2%的胶乳颗粒,增强了试剂的稳定性和抗干扰能力,而且不会对试剂的准确度产生影响;
- 3)试剂的准确度和稳定性良好,价格便宜,使用方便,有利于该试剂在市场中进一步的推广。

附图说明

[0014] 图1为两种试剂的相关性曲线图,

图2为两种试剂效期稳定性曲线图,

图3为试剂盒在具有双试剂功能的全自动生化分析仪上的具体使用方法。

具体实施方式

[0015] 下面结合具体实施例对本发明进行进一步说明:

实施例1

一种常规的 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白检测试剂盒,它包括试剂R1和试剂R2。

[0016] 其中试剂R1组成为:

磷酸盐缓冲液	pH 6.8
TritonX-100	1%
氯化钠	50mmol/L
叠氮钠	10mmol/L

试剂R2组成为：

磷酸盐缓冲液	pH 6.8
羊抗人 α 1-酸性糖蛋白抗体	2mg/mL
胶乳颗粒	2%
叠氮钠	10mmol/L

本实施例所述试剂R1和试剂R2,配置时需先配制磷酸缓冲液,调到适当pH值后,再添加其它物质。本实施例所述试剂盒,在使用时,其测定方法是采用具有双试剂功能的迈瑞800全自动生化分析仪,利用终点法进行测定,操作如下:

加入生理盐水、样本或校准品 $3\mu\text{l}$,再加入 $200\mu\text{l}$ 的R1试剂预孵育5min后读取吸光度A1,之后再加入 $100\mu\text{l}$ 的R2试剂反应5min后,读取吸光度A2,并计算 ΔA 。

[0017] α 1-酸性糖蛋白含量(mg/dL) = (ΔA 测定 \div ΔA 标准) \times C标准。

[0018] 实施例2

准确度验证试验:将实施例1的 α 1-酸性糖蛋白检测试剂作为实验组,市场上获得认可的一种准确度好、稳定性好的 α 1-酸性糖蛋白检测试剂作为对照组进行检测,对20个临床血清样本进行检测,检测结果如表1所示。获得了两种试剂的相关性曲线(如图1所示),结果表明,两组试剂盒的相关系数为0.9980,说明两者相关性比较好。证明本发明试剂盒添加及更改的组分对其准确性不会造成影响,试剂盒依然保持较好的准确度。

[0019] 表1实施例1试剂与市场认可的 α 1-酸性糖蛋白检测试剂对比检测结果

样本号	实施例 1 试剂 (mg/dL)	对照组试剂 (mg/dL)	相对偏差 (%)
1	50.9	51.6	-1.30%
2	129.7	124.8	3.92%
3	104.8	101.7	3.08%
4	81.8	80.6	1.45%
5	95.1	93.6	1.67%
6	39.6	39.7	-0.14%
7	102.1	103.9	-1.69%
8	69.3	67.3	3.10%
9	95.4	92.8	2.87%
10	54.7	55.6	-1.56%
11	95.8	91.8	4.41%
12	67.1	68.8	-2.50%
13	102.8	101.2	1.60%
14	48.9	49.5	-1.21%
15	77.1	77.7	-0.68%
16	73.7	72.3	1.90%
17	113.5	111.9	1.41%
18	95.2	93.1	2.23%
19	89.3	86.9	2.80%
20	65.8	66.6	-1.20%
相关系数 R	0.9980		

实施例3

线性相关性验证试验:选取 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白含量为350mg/dL的高值样本,用生理盐水进行系列稀释,配制6个不同浓度的样本,浓度依次为350mg/dL、280mg/dL、210mg/dL、140mg/dL、70mg/dL、0mg/dL。分别利用实施例1试剂及对照组试剂进行检测,每个浓度的样本分别测定三次,分别取平均值,检测结果如表2所示。

[0020] 表2实施例1试剂线性相关验证实验检测结果

理论浓度 (mg/dL)	实施例 1 试剂 (mg/dL)	对照组试剂 (mg/dL)
0	-0.4	0.6
70	70.2	72.3
140	141.7	143.2
210	208.9	205.5
280	278.6	276.6
350	353.7	354.8
相关系数 R	0.9999	0.9996

如上表所示,实施例1与对照组试剂检测结果相关系数均大于0.990,且实施例1试剂检

测结果的相关系数略大于对照组试剂检测结果的相关系数,这表明本发明试剂具有更好的线性相关性。

[0021] 实施例4

稳定性验证实验:在2℃~8℃、无腐蚀性气体的避光环境中贮存试剂,检测实施例1及对照组试剂的稳定性。每月1号分别用两组试剂测定同一混合血清样本,测定三次取平均值,检测数据如表3所示。

[0022] 表3实施例1试剂稳定性验证实验检测结果

时间	实施例 1 试剂 (mg/dL)	对照组试剂 (mg/dL)
1 个月	89.0	88.6
2 个月	88.0	86.6
3 个月	87.6	86.7
4 个月	85.3	84.2
5 个月	87.5	86.0
6 个月	86.1	83.8
7 个月	84.0	85.3
8 个月	84.8	83.6
9 个月	83.5	84.2
10 个月	84.7	82.8
11 个月	84.6	81.9
12 个月	82.4	78.4
13 个月	83.3	77.2
14 个月	82.1	75.4
15 个月	83.9	70.0

实验结果显示,实施例1试剂在2℃~8℃、无腐蚀性气体的避光环境中贮存15个月稳定,而对照组试剂在2℃~8℃、无腐蚀性气体的避光环境中贮存12个月开始不稳定,说明本发明试剂更换缓冲液及添加明胶颗粒后稳定性增强。

[0023] 综上所述,本发明提供的 α 1-酸性糖蛋白检测试剂盒,试剂R1与试剂R2中的缓冲液更换为pH 6.8的磷酸盐缓冲液,同时往试剂R2中添加2%的明胶颗粒,提高了试剂盒的稳定性,线性范围较好,试剂的准确度也较好。因此,本发明提供的 α 1-酸性糖蛋白检测试剂盒有利于在市场中进一步的推广使用。

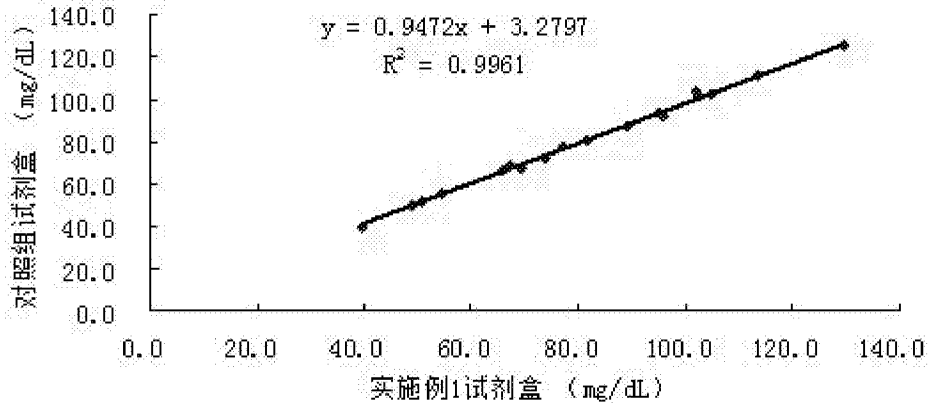


图1

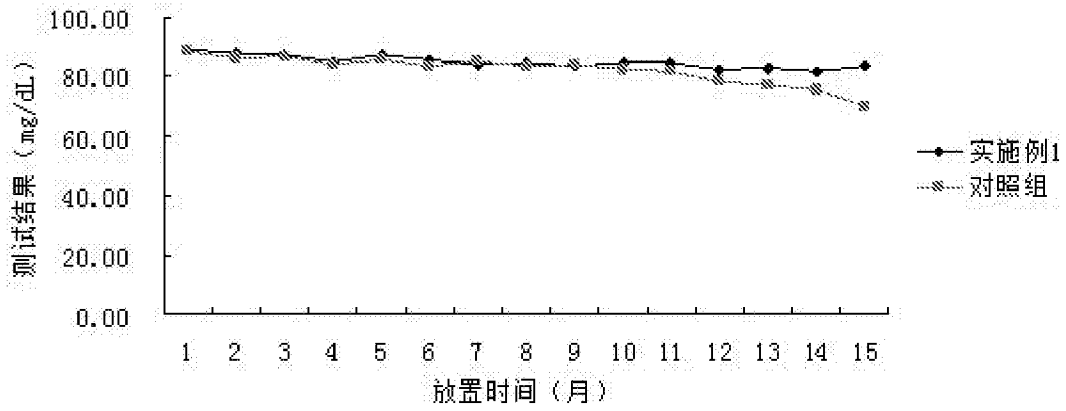


图2

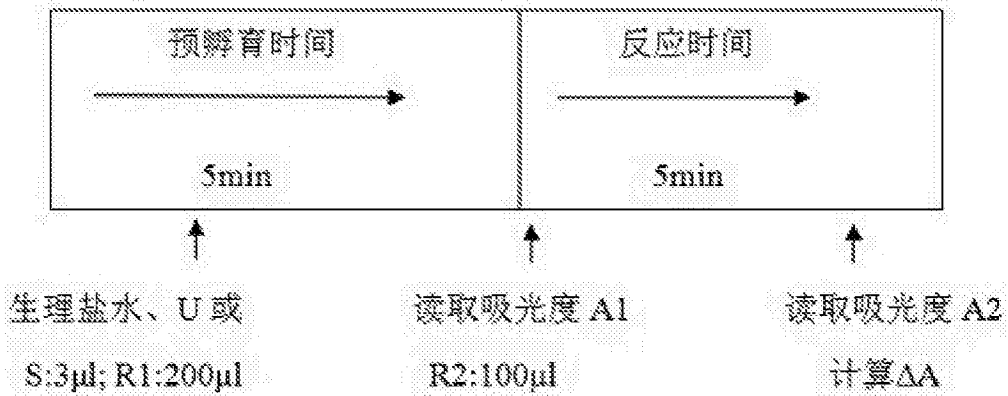


图3

专利名称(译)	一种α1-酸性糖蛋白检测试剂盒		
公开(公告)号	CN105785057A	公开(公告)日	2016-07-20
申请号	CN201510973245.7	申请日	2015-12-22
[标]申请(专利权)人(译)	济南鑫贝西生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	山东博科生物产业有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	山东博科生物产业有限公司		
[标]发明人	谭柏清 李敏 甘宜梧		
发明人	谭柏清 李敏 甘宜梧		
IPC分类号	G01N35/00 G01N33/96 G01N33/68 G01N33/536 G01N33/574		
CPC分类号	G01N35/00 G01N33/536 G01N33/57415 G01N33/57449 G01N33/68 G01N33/96 G01N2333/4728		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种α1-酸性糖蛋白检测试剂盒，本试剂盒采用免疫透射比浊法检测血液中的α1-酸性糖蛋白，属于临床体外检测试剂技术领域。本发明试剂盒包括试剂R1和试剂R2。通过将试剂R1与试剂R2中的缓冲液更换为pH 6.8的磷酸盐缓冲液，同时往试剂R2中添加2%的明胶颗粒，提高了试剂盒的稳定性，线性范围较好，试剂的准确度也较好，有利于在市场中进一步的推广使用。

