



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108152484 A

(43)申请公布日 2018.06.12

(21)申请号 201711287462.6

(22)申请日 2017.12.07

(71)申请人 珠海霍普金斯医药研究院股份有限公司

地址 519000 广东省珠海市横琴新区宝华路6号105室-1791

(72)发明人 刘天赫 曹文强 赵柏松

(74)专利代理机构 北京力量专利代理事务所  
(特殊普通合伙) 11504

代理人 张晓俊

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 21/76(2006.01)

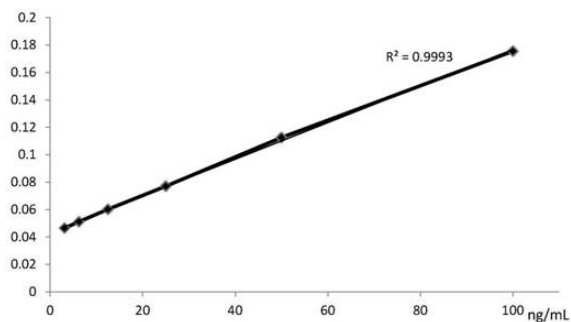
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

### (54)发明名称

一种PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒

### (57)摘要

本发明属于检验技术领域,尤其涉及一种PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒。本发明的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒,包括:标准品、鼠抗人PD-L1抗体I包被的免疫磁珠、酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II、化学发光底物与辅助试剂。本发明的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒具有特异性强,稳定性好,灵敏度高,成本较低,适用于大规模临床推广。



1. 一种PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒,其特征在于,包括:标准品、鼠抗人PD-L1抗体I包被的免疫磁珠、酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II、化学发光底物与辅助试剂。

2. 根据权利要求1所述的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒,其特征在于,所述标准品的制备方法为:用PBS缓冲液将PD-L1抗体标准品稀释,分别制备成100ng/mL、50ng/mL、25ng/mL、12.5ng/mL、6.25ng/mL、3.125ng/mL、0ng/mL的梯度标准溶液。

3. 根据权利要求1所述的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒,其特征在于,所述鼠抗人PD-L1抗体I包被的免疫磁珠的制备方法:将活化磁珠与鼠抗人PD-L1抗体I孵育0.5-2h,加入BSA,采用MES清洗得到免疫磁珠。

4. 根据权利要求3所述的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒,其特征在于,所述活化磁珠的制备方法:将磁珠经MES缓冲液进行清洗,之后加入1-2%戊二醛/PBS震荡反应0.5-2h,之后MES缓冲液进行清洗,得到活化磁珠。

5. 根据权利要求4所述的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒,其特征在于,所述磁珠的制备方法:二价铁盐与三价铁盐反应得到铁盐,所述铁盐与碱液反应得到磁珠。

6. 根据权利要求1所述的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒,其特征在于,所述酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II制备:将鼠抗人PD-L1抗体II溶于NaCl,并与醛化辣根过氧化酶溶液混合;加入NaHCO<sub>3</sub>缓冲液混合20-30h;加入赖氨酸,放置1-3h,得到酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II。

7. 根据权利要求6所述的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒,其特征在于,所述醛化辣根过氧化酶溶液制备方法:取8-12mg辣根过氧化酶溶于1-2%戊二醛/PBS,室温反应15-20h,之后采用PBS在2-5℃透析12h得到醛化辣根过氧化酶。

8. 根据权利要求1所述的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒,其特征在于,所述化学发光底物的制备方法:分别配置化学发光底物A及化学发光底物B,使用前等体积混合;所述化学发光底物A包括鲁米诺、对碘苯酚、苯甲酸钠与Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液;所述化学发光底物B包括苯甲酸钠,乙二胺四乙酸二钠盐,过氧化脲,吐温-20与Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液。

## 一种PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒

### 技术领域

[0001] 本发明属于检验技术领域,尤其涉及一种PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒。

### 背景技术

[0002] 程序性死亡分子1 (PD-1) 主要在激活的T淋巴细胞、B淋巴细胞中表达。程序性死亡分子1配体-1 (PD-L1), 又称B7同源分子 (B7-H1) 是PD-1的配体。PD-L1与PD-1结合,能够抑制淋巴细胞的增殖和活化。但是,肿瘤微环境会诱导浸润的T细胞高表达PD-1分子,肿瘤细胞会高表达PD-1的配体PD-L1和PD-L2,导致肿瘤微环境中PD-1通路持续激活,T细胞功能被抑制,无法杀伤肿瘤细胞,从而导致肿瘤免疫逃逸。PD-1的抗体可以阻断这一通路,部分恢复T细胞的功能。研究表明肿瘤细胞通过形成PD-1/PD-L1通路的方式抑制免疫细胞,进而躲避人体免疫系统的攻击。因此,PD-1和PD-L1在人体内的含量直接决定PD-L1类单抗药物的使用效果。

[0003] 基于上述原理,通过检测人体内PD-L1的含量,可以预知PD-L1单抗的使用效果,如果病人体内PD-L1的含量过低,则PD-L1单抗的治疗效果可能会降低,反之,PD-L1单抗可能会表现出较好的疗效。同时精确的定量可以指导医生在治疗过程中剂量的选择,达到最佳的治疗效果。通过检测人体内PD-L1抗体的含量,可以研究PD-L1单抗在病人体内的分布、吸收、代谢情况,进而为临床医生提供PD-L1单抗的用药指导。目前免疫磁珠在化学发光免疫分析、核酸提取等领域已有广泛的应用,但PD-L1的磁珠酶联免疫检测尚无文献报道。

### 发明内容

[0004] 本发明提供了一种PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒,可解决现有技术中存在的问题。

[0005] 根据本发明的一个方面,本发明提供的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒,包括:标准品、鼠抗人PD-L1抗体I包被的免疫磁珠、酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II、化学发光底物与辅助试剂。

[0006] 进一步地,所述标准品的制备方法为:用PBS缓冲液将PD-L1抗体标准品稀释,分别制备成100ng/mL、50ng/mL、25ng/mL、12.5ng/mL、6.25ng/mL、3.125ng/mL、0ng/mL的梯度标准溶液。

[0007] 进一步地,所述鼠抗人PD-L1抗体I包被的免疫磁珠的制备方法:将活化磁珠与鼠抗人PD-L1抗体I孵育0.5-2h,加入BSA,采用MES清洗得到免疫磁珠。

[0008] 进一步地,所述活化磁珠的制备方法:将磁珠经MES缓冲液进行清洗,之后加入1-2%戊二醛/PBS震荡反应0.5-2h,之后MES缓冲液进行清洗,得到活化磁珠。

[0009] 进一步地,所述磁珠的制备方法:二价铁盐与三价铁盐反应得到铁盐,所述铁盐与碱液反应得到磁珠。

[0010] 进一步地,所述酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II制备:将鼠抗人PD-L1抗体II溶于

NaCl, 并与醛化辣根过氧化物酶溶液混合; 加入NaHCO<sub>3</sub>缓冲液混合20-30h; 加入赖氨酸, 放置1-3h, 得到酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II。

[0011] 进一步地, 所述醛化辣根过氧化物酶溶液制备方法: 取8-12mg辣根过氧化物酶溶于1-2%戊二醛/PBS, 室温反应15-20h, 之后采用PBS在2-5℃透析12h得到醛化辣根过氧化物酶。

[0012] 进一步地, 所述化学发光底物的制备方法: 分别配置化学发光底物A及化学发光底物B, 使用前等体积混合; 所述化学发光底物A包括鲁米诺、对碘苯酚、苯甲酸钠与Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液; 所述化学发光底物B包括苯甲酸钠, 乙二胺四乙酸二钠盐, 过氧化脲, 吐温-20与Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液。

[0013] 本发明与现有技术相比, 具有以下优点:

[0014] 1. 本发明的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒具有特异性强, 稳定性好, 灵敏度高, 成本较低, 适用于大规模临床推广;

[0015] 2. 本发明的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒适用于多种样本检测, 包括血清、血浆等多种标本类型;

[0016] 3. 传统的化学发光底物需配成A液(氧化剂)和B液(发光剂), 使用前将A液和B液混合, 在10分钟之内用完, 否则其稳定性就会变差; 本发明试剂盒中的化学发光底物经过配方改良, A液和B液混合后稳定性增强, 放置1h依然能保持稳定, 便于临床应用。

[0017] 上述说明仅是本发明技术方案的概述, 为了能够更清楚了解本发明的技术手段, 而可依照说明书的内容予以实施, 并且为了让本发明的上述和其它目的、特征和优点能够更明显易懂, 以下特举本发明的具体实施方式。

## 附图说明

[0018] 通过阅读下文优选实施方式的详细描述, 各种其他的优点和益处对于本领域普通技术人员将变得清楚明了。附图仅用于示出优选实施方式的目的, 而并不认为是对本发明的设置。而且在整个附图中, 用相同的参考符号表示相同的部件。在附图中:

[0019] 图1为本发明的PD-L1抗体标准品浓度与OD450的线性关系图;

[0020] 图2为本发明的实施例4的实验方案1与实验方案2的结果。

## 具体实施方式

[0021] 下面将结合附图与实施例对本发明的技术方案进行清楚、完整地描述, 显然, 所描述的实施例是本发明一部分实施例, 而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例, 本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例, 都属于本发明保护的范围。

[0022] 本发明的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒, 包括: 标准品、鼠抗人PD-L1抗体I包被的免疫磁珠、酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II、化学发光底物与辅助试剂。

[0023] 所述标准品的制备方法为: 取PD-L1抗体标准品, 用0.05mol/L PH7.6的PBS缓冲液稀释, 分别制备成100ng/mL、50ng/mL、25ng/mL、12.5ng/mL、6.25ng/mL、3.125ng/mL、0ng/mL的梯度标准液。

[0024] 所述鼠抗人PD-L1抗体I包被的免疫磁珠的制备方法:

[0025] 二价铁盐与三价铁盐的摩尔反应比为1: (1-2) (反应式为: $\text{Fe}^{2+}+2\text{Fe}^{3+}+8\text{OH}^{-}=\text{Fe}^{3+}_4+4\text{H}_2\text{O}$ ),总铁盐与碱液的摩尔反应比为1: (7-9),反应时间为1-2h,反应温度为170-180℃,得到磁珠;

[0026] 将磁珠经0.02-0.07mol/L的MES缓冲液进行清洗,之后加入1-2%戊二醛/0.02-0.07mol/L PH5.0-7.0的PBS震荡反应0.5-2h,之后0.02-0.07mol/L的MES缓冲液进行清洗,得到活化磁珠;

[0027] 将活化磁珠与鼠抗人PD-L1抗体I孵育0.5-2h,加入BSA,采用MES清洗得到免疫磁珠。

[0028] 所述酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II制备:

[0029] 取8-12mg辣根过氧化酶溶于0.1-0.3mL1-2%戊二醛/PH6-7的PBS,室温反应结合15-20h,用0.01mol/L PH7-8的PBS在2-5℃透析12h时间得到醛化辣根过氧化酶;

[0030] 将鼠抗人PD-L1抗体II溶于NaCl,并与醛化辣根过氧化酶溶液混合;加入 $\text{NaHCO}_3$ 缓冲液,2-5℃混合20-30h;加入赖氨酸,2-5℃放置1-3h,得到酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II。

[0031] 所述化学发光底物的制备方法:分别配置化学发光底物A及化学发光底物B,使用前等体积混合;所述化学发光底物A包括0.5-1.5mmol/L鲁米诺;0.2-1.0mmol/L对碘苯酚;0.05-0.2mmol/L苯甲酸钠;0.05-0.2mol/L PH 7-9的 $\text{Na}_2\text{HPO}_3$ 缓冲液;所述化学发光底物B包括0.05-0.2mmol/L苯甲酸钠,0.1-0.3mmol/L乙二胺四乙酸二钠盐,0.5-1.0mmol/L过氧化脲,0.05-0.2mmol/L吐温-20,0.05-0.2mol/L PH7-9的 $\text{Na}_2\text{HPO}_3$ 缓冲液。

[0032] 本发明的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒的使用方法是:以磁珠为固相载体,表面结合特异性鼠抗人PD-L1抗体I成为免疫磁珠,加入待测抗原和酶标记的特异性鼠抗人PD-L1抗体II后可形成双抗夹心复合物,该复合物上标记的酶能与化学发光底物反应,通过检测光信号的强度达到定量检测抗原的目的,具有特异性强,稳定性好,适用于大规模推广等优点。

[0033] 下面通过具体的实施例来阐述本发明,本领域技术人员应当理解的是,这不应被理解为对本发明权利要求范围的限制。

[0034] PBS是磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline)一般作为溶剂,起溶解保护试剂的作用。它是生物化学研究中使用最为广泛的一种缓冲液,主要成分为 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 、NaCl和KCl,由于 $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ 和 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 它们有二级解离,缓冲的pH值范围很广;而NaCl和KCl主要作用为增加盐离子浓度。

[0035] BSA牛血清白蛋白,是牛血清中的一种白蛋白,包含583个氨基酸残基,分子量为66.430kDa,等电点为4.7。牛血清白蛋白在生化实验中有广泛的应用,ELISA中也常常用到,比如封闭液,样本稀释液,酶结合物稀释液都可以用BSA。

[0036] MES缓冲液,中文名一水吗啉乙磺酸;主要用于生物缓冲剂。

[0037] 本发明实施例采用的原料如下:

[0038]

	厂家 型号
--	-------

[0039]

鼠抗人 PD-L1 抗体	Abcam 公司生产, 货号 ab205921
辣根过氧化酶	Sigma 公司生产, 货号 400-968-7988
戊二醛	Sigma 公司生产, 货号 G5882
赖氨酸	Sigma 公司生产, 货号 V900409
鲁米诺	Sigma 公司生产, 货号 123072
对碘苯酚	Sigma 公司生产, 货号 10201
苯甲酸钠	Sigma 公司生产, 货号 B3420
乙二胺四乙酸二钠盐	Sigma 公司生产, 货号 V900106
过氧化脲	Sigma 公司生产, 货号 289132
吐温-20	Sigma 公司生产, 货号 93773
Na <sub>2</sub> HPO <sub>3</sub>	Sigma 公司生产, 货号 94046

[0040] 1. 本发明的试剂盒的制备:

[0041] 实施例1

[0042] 1) 免疫磁珠制备: 所述的磁珠采用化学共沉淀法制备, 二价铁盐与三价铁盐的摩尔反应比为1:1.5, 全部铁盐与碱液的摩尔反应比为1:8, 反应时间为1h, 反应温度为175℃; 将上述磁珠经0.05mol/L的MES缓冲液进行清洗, 之后加入1.25%戊二醛/0.05mol/L PH6.0 PBS震荡反应1h, 之后0.05mol/L的MES缓冲液进行清洗, 得到活化磁珠; 取活化磁珠与鼠抗人PD-L1抗体I以250ug抗体/mg磁珠的比例25℃孵育1h, 磁性分离后, 加入2%的BSA封闭游离基, MES再次清洗得到免疫磁珠;

[0043] 2) 酶标抗体制备: 取10mg辣根过氧化酶溶于0.2mL1.25%戊二醛/PH6.8 PBS, 室温反应结合18h; 用0.01mol/L PH7.2的PBS, 4℃透析过夜; 将5mg鼠抗人PD-L1抗体II溶于1mL 0.15mol/L NaCl, 与醛化辣根过氧化酶溶液 (10mg/mL) 混合; 加入0.1mL 1mol/L PH9.6的NaHCO<sub>3</sub>缓冲液, 4℃, 电磁搅拌下结合24h; 加入0.1mL0.2mol/L赖氨酸 (0.29g溶于10mL蒸馏水), 4℃放置2h, 以封闭残留的醛基, 终止反应, 得到酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II;

[0044] 3) 化学发光底物制备: 分别配置发光底物A及发光底物B, 使用前按体积比1:1混合;

[0045] 所述化学发光底物A含有以下组分: 鲁米诺1.0mmol/L; 对碘苯酚0.5mmol/L; 苯甲酸钠0.1mmol/L; 0.1mol/L PH 8.6Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液;

[0046] 所述化学发光底物B含有以下组分: 苯甲酸钠0.1mmol/L, 乙二胺四乙酸二钠盐0.25mmol/L, 过氧化脲0.75mmol/L, 吐温-20 0.1mmol/L, 0.1mol/L PH 7.8Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液。

[0047] 实施例2

[0048] 1) 免疫磁珠制备: 所述的磁珠采用化学共沉淀法制备, 二价铁盐与三价铁盐的摩

尔反应比为1:1,全部铁盐与碱液的摩尔反应比为1:7,反应时间为1h,反应温度为170℃;将上述磁珠经0.02mol/L的MES缓冲液进行清洗,之后加入1%戊二醛/0.02mol/L PH5.0的PBS震荡反应0.5h,之后0.02mol/L的MES缓冲液进行清洗,得到活化磁珠;取活化磁珠与鼠抗人PD-L1抗体I以250ug抗体/mg磁珠的比例25℃孵育0.5h,磁性分离后,加入2%的BSA封闭游离基,MES再次清洗得到免疫磁珠;

[0049] 2) 酶标抗体制备:取8mg辣根过氧化酶溶于0.1mL1%戊二醛/PH 6.0PBS,室温反应结合15h;用0.01mol/L PH 7.0的PBS,2℃透析过夜;将5mg鼠抗人PD-L1抗体II溶于1mL 0.15mol/L NaCl,与醛化辣根过氧化酶溶液(10mg/mL)混合;加入0.1mL 1mol/L PH9.6的NaHCO<sub>3</sub>缓冲液,3℃,电磁搅拌下结合20h;加入0.1mL0.2mol/L赖氨酸(0.29g溶于10mL蒸馏水),3℃放置1h,以封闭残留的醛基,终止反应,得到酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II;

[0050] 3) 化学发光底物制备:分别配置发光底物A及发光底物B,使用前按体积比1:1混合;

[0051] 所述化学发光底物A含有以下组分:鲁米诺0.5mmol/L;对碘苯酚0.2mmol/L;苯甲酸钠0.05mmol/L;0.05mol/L PH7的Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液;

[0052] 所述化学发光底物B含有以下组分:苯甲酸钠0.05mmol/L,乙二胺四乙酸二钠盐0.1mmol/L,过氧化脲0.5mmol/L,0.05mmol/L吐温-20,0.05mol/L PH7的Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液。

[0053] 实施例3

[0054] 1) 免疫磁珠制备:所述的磁珠采用化学共沉淀法制备,二价铁盐与三价铁盐的摩尔反应比为1:2,全部铁盐与碱液的摩尔反应比为1:9,反应时间为2h,反应温度为180℃;将上述磁珠经0.07mol/L的MES缓冲液进行清洗,之后加入2%戊二醛/0.07mol/L PH7.0的PBS震荡反应2h,之后0.07mol/L的MES缓冲液进行清洗,得到活化磁珠;取活化磁珠与鼠抗人PD-L1抗体I以250ug抗体/mg磁珠的比例25℃孵育2h,磁性分离后,加入2%的BSA封闭游离基,MES再次清洗得到免疫磁珠;

[0055] 2) 酶标抗体制备:取12mg辣根过氧化酶溶于0.3mL2%戊二醛/PH7PBS,室温反应结合20h;用0.01mol/L PH8的PBS,5℃透析过夜;将5mg鼠抗人PD-L1抗体II溶于1mL 0.15mol/L NaCl,与醛化辣根过氧化酶溶液(10mg/mL)混合;加入0.1mL 1mol/L PH9.6的NaHCO<sub>3</sub>缓冲液,5℃,电磁搅拌下结合30h;加入0.1mL0.2mol/L赖氨酸(0.29g溶于10mL蒸馏水),5℃放置3h,以封闭残留的醛基,终止反应,得到酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II;

[0056] 3) 化学发光底物制备:分别配置发光底物A及发光底物B,使用前按体积比1:1混合;

[0057] 所述化学发光底物A含有以下组分:鲁米诺1.5mmol/L;对碘苯酚1.0mmol/L;苯甲酸钠0.2mmol/L;0.2mol/L PH9的Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液;

[0058] 所述化学发光底物B含有以下组分:苯甲酸钠0.2mmol/L,乙二胺四乙酸二钠盐0.3mmol/L,过氧化脲1.0mmol/L,0.2mmol/L吐温-20,0.2mol/L PH9的Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液。

[0059] 2. 本发明的试剂盒的使用方法

[0060] 将待测血清样本以0.05mol/L PH6.0PBS稀释,取样本20uL,加入免疫磁珠50uL,室温孵育30min以结合样本中的待测PD-L1抗原,再加入酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II 20uL,室温孵育30min,酶标抗体与待测抗原结合后,形成以磁珠为载体的双抗夹心复合物。磁性分离洗涤后,加入化学发光底物A及化学发光底物B各10uL,室温孵育30min,通过检测光信

号强度来定量分析待测样本中PD-L1的含量。

[0061] 按照本领域中常规的制造和检定规程对通过实施例1中制备成的试剂盒进行检定,结果如下:

[0062] 灵敏度:对PD-L1标准品零浓度重复测定5次,以零浓度均值 $\pm 2SD$ 确定其最低检测限,1.57ng/mL。

[0063] 准确度:取PD-L1抗体标准品,用0.05mol/L PH7.6的PBS缓冲液稀释,分别制备成100ng/mL、50ng/mL、25ng/mL、12.5ng/mL、6.25ng/mL、3.125ng/mL、0ng/mL的梯度标准液。以浓度为横坐标,以OD450为纵坐标,每个浓度测3次,取均值,标准曲线, $y=0.0013x+0.0435$ ,  $R^2=0.9993$ 。

[0064] 精密度:取3种样本,分别同批测定3次,批间变异为1.25%、1.97%、2.03%,均低于5%,符合精密度要求。

[0065] 实施例4

[0066] 化学发光底物A及化学发光底物B的筛选

[0067] 实验方案1(本发明使用的成分)

[0068] 化学发光底物A:鲁米诺1.5mmol/L;对碘苯酚1.0mmol/L;苯甲酸钠0.2mmol/L;0.2mol/L PH9的Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液;

[0069] 化学发光底物B含有以下组分:苯甲酸钠0.2mmol/L,乙二胺四乙酸二钠盐0.3mmol/L,过氧化脲1.0mmol/L,0.2mmol/L吐温-20,0.2mol/L PH9的Na<sub>2</sub>HPO<sub>3</sub>缓冲液。

[0070] 将实验方案1的化学发光底物A和B各取5mL,混合,分成7份,标记为混合物1-7。在第0分钟取混合物1、第10分钟取混合物2、第20分钟取混合物3、第30分钟取混合物4、第40分钟取混合物5、第50分钟取混合物6、第60分钟取混合物7,进行测试。

[0071] 实验方案2

[0072] 化学发光底物A1:鲁米诺1mmol/L,4-羟基联苯0.1mmol/L,4-碘代苯基硼酸0.03mmol/L,0.2mol/L硼酸-硼砂缓冲液pH 8.7

[0073] 化学发光底物B1:过氧化脲9mmol/L,吐温-20 0.05%(体积),0.2mol/L磷酸盐缓冲液pH7.2

[0074] 将实验方案2的化学发光底物A1和B1各取5mL,混合,分成7份,标记为混合物8-14。在第0分钟取混合物8、第10分钟取混合物9、第20分钟取混合物10、第30分钟取混合物11、第40分钟取混合物12、第50分钟取混合物13、第60分钟取混合物14,进行测试。

[0075] 测试方法如下:样本及酶标记物各加50 $\mu$ L于微孔板中,室温反应30分钟后,用洗涤液冲洗3遍,甩干,每孔加入混合后的的发光底物液100 $\mu$ L,即刻测量样本的发光值。

[0076] 表1实验方案1与实验方案2的测试结果

[0077]

时间	编号	实验结果	
		样品浓度 (uIU/mL)	相对发光值 (RLU)
第 0 分 钟	混合物 1	0.68	15763
	混合物 8	0.63	14139
第 10 分 钟	混合物 2	0.59	14332
	混合物 9	0.61	12101
第 20 分 钟	混合物 3	0.58	14651
	混合物 10	0.66	9896
第 30 分	混合物 4	0.52	13956

[0078]

钟	混合物 11	0.49	9710
第 40 分 钟	混合物 5	0.61	15101
	混合物 12	0.58	8945
第 50 分 钟	混合物 6	0.61	15225
	混合物 13	0.63	7562
第 60 分 钟	混合物 7	0.58	14369
	混合物 14	0.56	6630

[0079] 实验结论:实验方案2的化学发光底物需配成A1液(氧化剂)和B1液(发光剂),使用前将A1液和B1液混合,在10分钟之内用完,否则其稳定性就会变差;本发明试剂盒中的化学发光底物经过配方改良,实验方案1的A液和B液混合后稳定性增强,放置1h依然能保持稳定,便于临床应用。

[0080] 最后应说明的是:以上各实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述各实施例对本发明进行了详细的说明,本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分或者全部技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的范围。

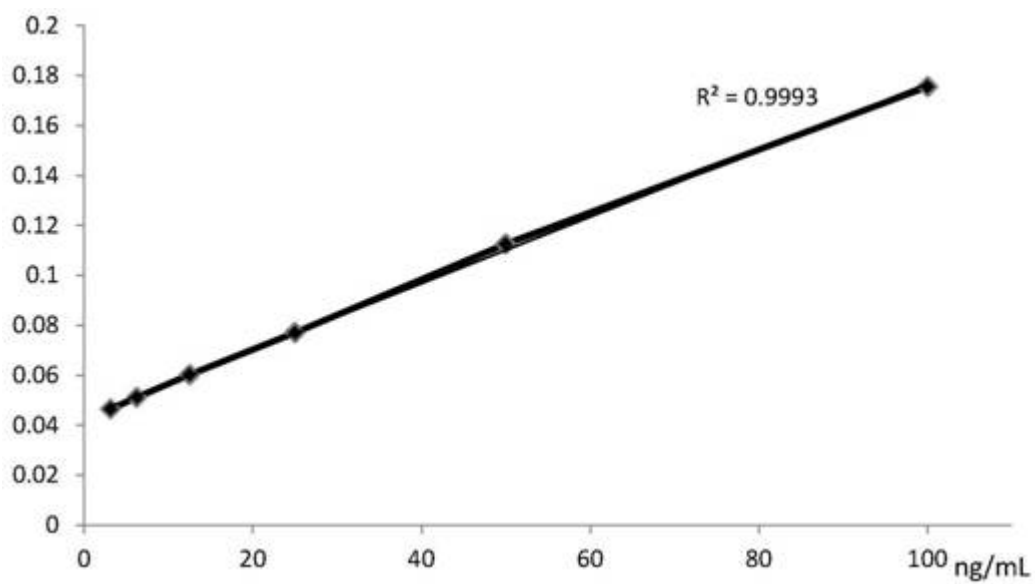


图1

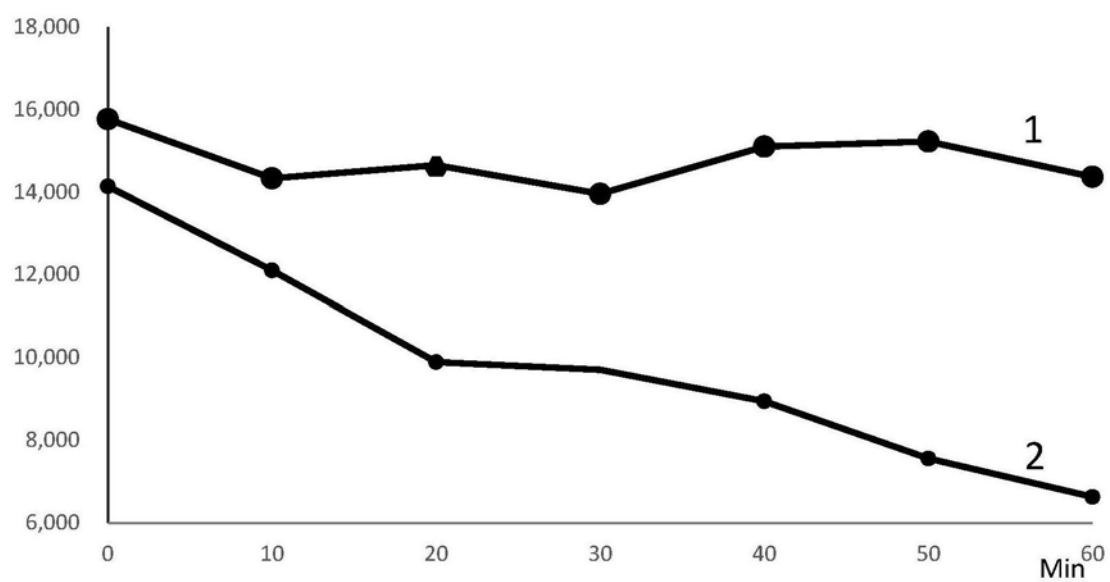


图2

专利名称(译)	一种PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">CN108152484A</a>	公开(公告)日	2018-06-12
申请号	CN2017111287462.6	申请日	2017-12-07
[标]申请(专利权)人(译)	珠海霍普金斯医药研究院股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	珠海霍普金斯医药研究院股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	珠海霍普金斯医药研究院股份有限公司		
[标]发明人	刘天赫 曹文强 赵柏松		
发明人	刘天赫 曹文强 赵柏松		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 G01N21/76		
CPC分类号	G01N33/53 G01N21/76 G01N33/54326		
代理人(译)	张晓俊		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明属于检验技术领域，尤其涉及一种PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒。本发明的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒，包括：标准品、鼠抗人PD-L1抗体I包被的免疫磁珠、酶标记的鼠抗人PD-L1抗体II、化学发光底物与辅助试剂。本发明的PD-L1的化学发光磁珠酶联免疫法快速定量检测试剂盒具有特异性强，稳定性好，灵敏度高，成本较低，适用于大规模临床推广。

