



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102253196 A

(43) 申请公布日 2011. 11. 23

(21) 申请号 201110100019. X

(22) 申请日 2011. 04. 21

(71) 申请人 江苏昶迅生物科技有限公司

地址 226013 江苏省南通市港闸区长泰路  
128 号

(72) 发明人 王智联 范宝臣 徐德鸣

(74) 专利代理机构 苏州创元专利商标事务所有  
限公司 32103

代理人 马明渡 王华

(51) Int. Cl.

G01N 33/531 (2006. 01)

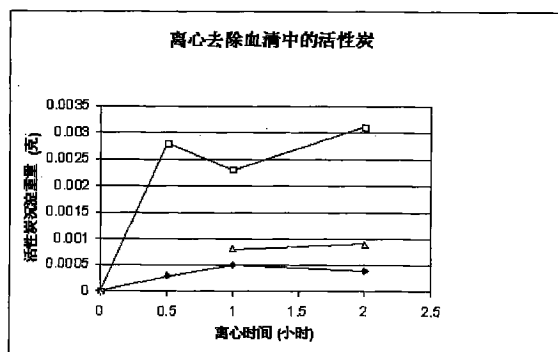
权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 1 页

### (54) 发明名称

小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法

### (57) 摘要

一种小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法, 向血清或血浆加入活性炭, 其中, 每毫升血清或血浆中加入 0.8~0.13 克的活性炭; 在 2~8℃ 条件下, 搅拌使所述活性炭充分吸附所述血清或血浆中的小分子物质; 然后离心分离去除吸附有小分子物质的活性炭。本发明在血清或血浆没有进行前处理的前提下, 用中性制药级脱色活性炭对血清或血浆中的小分子物质进行吸附, 去除血清或血浆内的小分子物质, 同时保留其他的血清物理化学特征, 从而得到一个高质量的为雌二醇免疫检测服务的标准品基质。



1. 一种小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法,其特征在于:向血清或血浆加入活性炭,其中,每毫升血清或血浆中加入 0.8 ~ 0.13 克的活性炭;在 2 ~ 8℃条件下,搅拌使所述活性炭充分吸附所述血清或血浆中的小分子物质;然后离心分离去除吸附有小分子物质的活性炭。

2. 根据权利要求 1 所述的小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法,其特征在于:所述活性炭为中性制药级脱色活性炭。

## 小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法,属于生物技术领域。

### 背景技术

[0002] 在抗体抗原反应测定未知待测物的过程中,通常必须要有一个系列的已知浓度的标准品(又可称为质控品)一起进行反应测定。当反应结束之后,由已知的标准品浓度对照反应强度(相对光子单位或波长吸收值)可以得到一个相关标准曲线。而其他待测物含量可以通过各自的反应强度对比标准曲线得到相应的浓度含量。所以标准品是一个完整反应体系中不可缺少的一部分。

[0003] 通常标准品是由基质和已知浓度的测定物组成,一个好的基质必须尽可能从生物特性上近似待测物的生物特性,这样才能避免由于基质不一致造成的误差,原理上基质可以是天然的血清/浆,也可以是人工勾兑的缓冲液加蛋白。但是它必须是不含或尽可能少含有测定物的物质。对于大分子测定物来讲,得到一个不含测定物的基质相对容易,因为无论是天然的或者是人工勾兑的基质,都是比较容易将测定物从基质中清除。可是对于一些小分子测定物,比如分子量才 300 多的小分子激素类,得到一个干净的“纯”基质却并不容易。由于小分子免疫反应易被干扰,虽然人工勾兑的基质可以做到完全不含小分子待测物,可是由于物理化学特征与待测样本,通常是血清/浆基质的不同,造成很大偏差而不能被采用。目前业界常用的还是天然的血清/浆基质,几乎所有的哺乳动物血清/浆基质内都含有小分子激素,并且具有相似性,所以必须将它们去除后才能使用。可是事实上它们极难被完全清除。这也是困惑业界多年的难题,也直接造就了一个共识:小分子激素免疫测定存在一个系统误差,特别是在低含量端,不能完全反应它们在体内的真实含量。而物化测定,如气相色谱-质谱(GC-MS),由于避免这些问题而成为测定小分子激素含量公认的‘金标准’。但是在具体的临床应用中,由于成本及检测速度上的问题,GC-MS 还是非常不实用的一种手段,而免疫测定却有着它特有的优势。

### 发明内容

[0004] 本发明提供一种小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法,目的是去除血清内的小分子物质,同时保留其它的血清物理化学特征,从而得到一个高质量的为雌二醇免疫检测服务的标准品基质。

[0005] 为达到上述目的,本发明采用的技术方案是:一种小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法,向血清或血浆加入活性炭,其中,每毫升血清或血浆中加入 0.8~0.13 克的活性炭;在 2~8℃ 条件下,搅拌使所述活性炭充分吸附所述血清或血浆中的小分子物质;然后离心分离去除吸附有小分子物质的活性炭。

[0006] 上述技术方案中的有关内容解释如下:

[0007] 1、上述方案中,所述活性炭为中性制药级脱色活性炭,可以购自 Amend Drug and chemical Co.。活性炭是一种很细小的炭粒,有很大的表面积,而且炭粒中还有更细小的

孔-毛细管,这种毛细管具有很强的吸附能力,因此可以与血清或血浆中的小分子物质充分接触并吸附小分子物质。

[0008] 2、上述方案中,所述小分子物质是指分子量大于或等于 150,且小于或等于 500 的物质。

[0009] 由于上述技术方案运用,本发明与现有技术相比具有下列优点和效果:

[0010] 本发明在血清或血浆没有进行前处理的前提下,用中性制药级脱色活性炭对血清或血浆中的小分子物质进行吸附,去除血清或血浆内的小分子物质,同时保留其他的血清物理化学特征,从而得到一个高质量的为雌二醇免疫检测服务的标准品基质。

## 附图说明

[0011] 附图 1 为活性炭处理血清或血浆后,离心的时间与活性炭去除的关系示意图。

## 具体实施方式

[0012] 下面结合附图及实施例对本发明作进一步描述:

[0013] 实施例:一种小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法

[0014] 一种小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法,取正常雄性马血清,以 1:10 重量/体积比例(每毫升马血清中加入 0.1 克的活性炭)加入活性炭,摄氏 4 度环境下搅拌 12 小时。搅拌使所述活性炭充分吸附所述血清或血浆中的小分子物质。然后将血清分成三组进行实验。

[0015] 第一组、分别用 180ml 容量转头离心机在 25000 转/分钟(RPM,revolutions per minute)、50000 转/分钟和 0.1 微米过滤器加 50000 转/分钟过滤条件下离心 0.5~2 小时,保留上清,去除吸附有小分子物质的活性炭沉淀。测定活性炭的质量,结果如附图 1 所示:附图 1 中共有由上至下共有三条线,上面的线是 25000 转/分钟离心分离吸附有小分子物质的活性炭沉淀的重量;中间的线是 50000 转/分钟离心分离吸附有小分子物质的活性炭沉淀的重量;下面的线是先用 0.1 微米过滤器过滤,再用 50000 转/分钟离心分离吸附有小分子物质的活性炭沉淀的重量。结果表明经过离心,活性炭可以被有效地与血清分离。而且离心速率和时间与活性炭去除的有效性没有正比关系,即使经过预先过滤也是如此。25000 转/分钟应该能有效地去除活性炭。

[0016] 第二组、以活性炭处理血清重复 0~4 次,然后用 180ml 容量转头离心机在 25000 转/分钟离心 1 小时,各留上清样本再进行 GC-MS(气质联用)测定每个样本的雌二醇含量。结果如下表所示:

[0017]

| 雄性马血清<br>Lot 86741 | 雌二醇含量 (pg / mL) |
|--------------------|-----------------|
| 活性炭处理次数            | GC - MS         |
| 0                  | 42              |
| 1                  | 10 ~ 12         |
| 2                  | 15 ~ 23         |
| 3                  | 9 ~ 17          |
| 4                  | 17 ~ 46         |

[0018] 从第二组结果可得：

[0019] 在经过一次活性炭处理后，残留的雌二醇 GC-MS 含量进入了一个平台期，这表明残存的雌二醇含量与血清活性炭处理的次数没有关联。一次活性炭（1：10 重量 / 体积比例）及 1 小时 25000 转 / 分钟离心处理应该足够了。

[0020] 第三组、血清先进行酸化处理，然后进行活性炭处理，再进行 A、仅 4000 转 / 分钟，离心半小时；B、4000 转 / 分钟，离心半小时，然后再 25000 转 / 分钟，离心一小时。结果如下表所示：

[0021]

| 雄性马血清<br>Lot 86741 | 雌二醇浓度 (pg / mL) | 雌二醇浓度 (pg / mL) |
|--------------------|-----------------|-----------------|
| 酸化处理+活性炭处理         | GC - MS         | GC - MS         |
| 0                  | 42              | 42              |
| 1                  | 14              | 19              |

[0022] 从第三组结果可得：

[0023] 经过酸化、活性炭、酸碱度中性化、再离心等处理，血清残留的雌二醇含量与只是活性炭及离心的处理（没有酸化处理）没有显著差别。而且与多少次离心没有太大关系。

[0024] 以仅活性炭处理一次，不过滤直接离心 25000 转 / 分钟 1 小时，产生的血清作为基质，小样加入理想 30、60pg/mL 水平的雌二醇。加与没加雌二醇的样本作 GC-MS 测定，以观察它们的真实浓度。通过比较理论、真实浓度差别，以判断血清基质能否用于实际。结果如下表所述：

[0025]

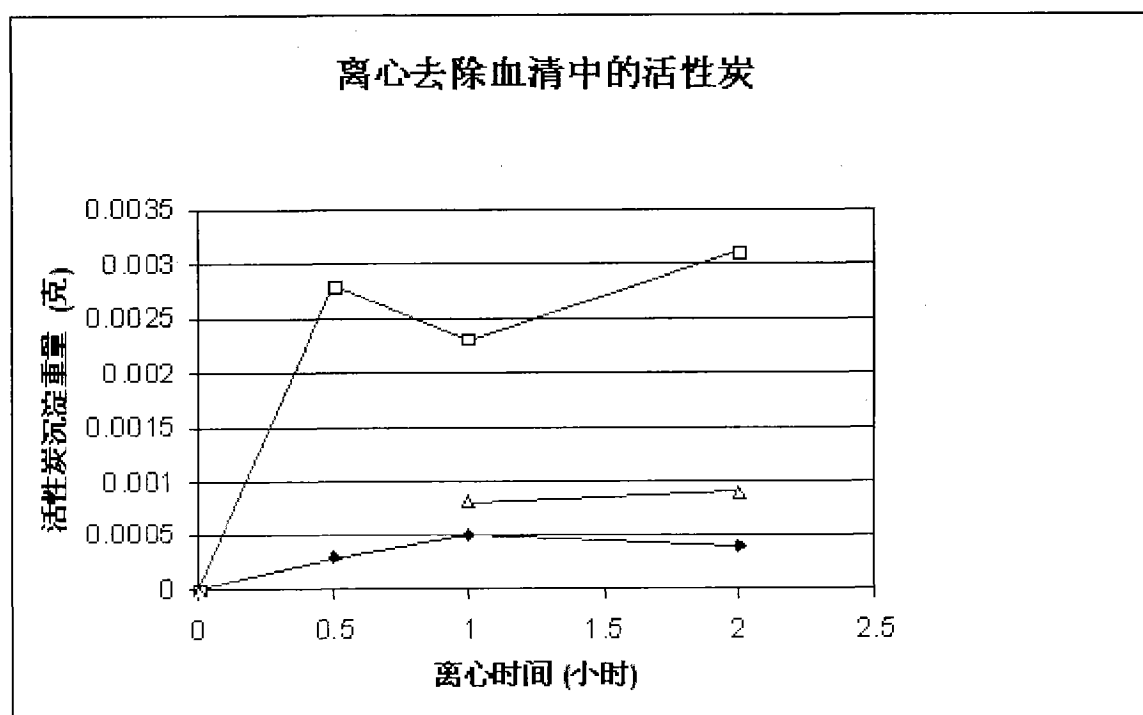
| 雌二醇理论浓度<br>(pg/mL) | 雌二醇 GC - MS 浓度<br>(pg / mL) |
|--------------------|-----------------------------|
| 0                  | 10 ~ 12                     |
| 30                 | 29 ~ 35                     |
| 60                 | 58 ~ 64                     |

[0026] 回收试验表明，经过一次活性炭及一次一小时 25000 转 / 分钟处理得到的血清基

质具有很好的回收结果,所以这种血清基质可被实际应用。

[0027] 上述试验中使用的活性炭为中性制药级脱色活性炭。购自 Amend Drug and chemical Co.。

[0028] 上述实施例只为说明本发明的技术构思及特点,其目的在于让熟悉此项技术的人士能够了解本发明的内容并据以实施,并不能以此限制本发明的保护范围。凡根据本发明精神实质所作的等效变化或修饰,都应涵盖在本发明的保护范围之内。



附图 1

|         |                                                |         |            |
|---------|------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译) | 小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法                             |         |            |
| 公开(公告)号 | <a href="#">CN102253196A</a>                   | 公开(公告)日 | 2011-11-23 |
| 申请号     | CN201110100019.X                               | 申请日     | 2011-04-21 |
| [标]发明人  | 王智联<br>范宝臣<br>徐德鸣                              |         |            |
| 发明人     | 王智联<br>范宝臣<br>徐德鸣                              |         |            |
| IPC分类号  | G01N33/531                                     |         |            |
| 代理人(译)  | 王华                                             |         |            |
| 外部链接    | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a> |         |            |

#### 摘要(译)

一种小分子雌二醇免疫测定标准品的制备方法，向血清或血浆加入活性炭，其中，每毫升血清或血浆中加入0.8~0.13克的活性炭；在2~8℃条件下，搅拌使所述活性炭充分吸附所述血清或血浆中的小分子物质；然后离心分离去除吸附有小分子物质的活性炭。本发明在血清或血浆没有进行前处理的前提下，用中性制药级脱色活性炭对血清或血浆中的小分子物质进行吸附，去除血清或血浆内的小分子物质，同时保留其他的血清物理化学特征，从而得到一个高质量的为雌二醇免疫检测服务的标准品基质。

