



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101377490 B

(45) 授权公告日 2012.07.04

(21) 申请号 200710121117.5

2 段—右栏第 7 段, .

(22) 申请日 2007.08.30

审查员 朱晓乐

(73) 专利权人 北京科美生物技术有限公司

地址 100094 北京市海淀区永丰基地丰贤中
路 7 号北科技园

(72) 发明人 胡国茂 唐宝军 应希堂

(51) Int. Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 21/76(2006.01)

(56) 对比文件

宋晓荣等. 生物素—链霉亲和素技术一步
法检测人心肌肌钙蛋白 T. 《郑州大学学报(医学
版)》. 2004, 第 39 卷(第 2 期), 第 242 页左栏第

权利要求书 1 页 说明书 7 页 附图 2 页

(54) 发明名称

用于检测疾病相关标志物的磁微粒分离化学
发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法

(57) 摘要

本发明涉及免疫分析医学领域,具体地,本发明提供了一种用于检测疾病相关标志物的磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法。根据本发明的试剂盒包括:1) 校准品;2) 包被有链亲和素的磁微粒;3) 酶标记物和生物素标记的疾病相关标志物抗体;以及 4) 化学发光底物。进一步,根据本发明制备上述试剂盒的方法包括以下步骤:1) 以纯品原料配制校准品;2) 以链亲和素包被磁微粒;3) 制备酶和生物素标记物混合液;4) 分装上述校准品、化学发光底物和酶和生物素标记物混合液;以及 5) 组装为成品。本发明的试剂盒具有简便、快速、灵敏、稳定等优点。

1. 一种用于检测疾病相关标志物的磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒,所述试剂盒包括:

- 1) 校准品;
 - 2) 包被有链亲和素的磁微粒;
 - 3) 辣根过氧化物酶和生物素标记的疾病相关标志物抗体;以及
 - 4) 上述酶所作用的化学发光底物为鲁米诺或异鲁米诺,
- 其特征在于,所述试剂盒的制备方法包括以下步骤:

- 1) 以纯品原料配制校准品;
- 2) 用辣根过氧化物酶和生物素分别标记疾病相关标志物抗体,得到标记物混合液;
- 3) 以链亲和素包被磁微粒,

其中,所述磁微粒为 $1 \sim 3 \mu\text{m}$ 粒径、四氧化三铁内核、表面包裹带有活性基团的聚合物,所述活性基团为氨基或羧基,所述磁微粒的使用浓度为 $5\sim 10\text{mg/mL}$,

磁微粒的包被步骤如下:

将上述粒径为 $1 \sim 3 \mu\text{m}$ 的磁微粒加磁场,静置 $5 \sim 10\text{min}$,倒出上清,用 pH 值为 7.4 的 0.01mol/L 磷酸盐缓冲液清洗三次,并用该溶液进行悬浮,浓度为 $10 \sim 20\text{mg/mL}$,每毫升悬浮液中加入链亲和素 $100 \sim 200 \mu\text{g}$ 和 EDC,在 4°C 下搅拌过夜后,加磁场,静置 $5 \sim 10\text{min}$,倒出上清;

然后用封闭液封闭上述的磁微粒,所述的封闭液为含 1.0% 牛血清白蛋白、 1.0% 酪蛋白、pH 值为 7.4 的 0.05mol/L 磷酸缓冲液;

- 4) 分装上述校准品、标记物混合液和化学发光底物液;以及
- 5) 组装为成品。

2. 如权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于,所述疾病相关标志物为:

1) 肿瘤标志物系列:其中,所述肿瘤标志物为甲胎蛋白、癌胚抗原、铁蛋白、 $\beta 2$ 微球蛋白、人绒毛膜促性腺激素、 β -人绒毛膜促性腺激素、游离 β -人绒毛膜促性腺激素、前列腺特异性抗原、游离前列腺特异性抗原、肿瘤相关抗原 125、肿瘤相关抗原 15-3、肿瘤相关抗原 19-9、肿瘤相关抗原 50、肿瘤相关抗原 242 或肿瘤相关抗原 724;

2) 激素系列:其中,所述激素为垂体泌乳素、促黄体生成素、促卵泡生成素或促甲状腺素;

3) 糖尿病标志物系列:其中,所述糖尿病标志物为胰岛素或血清 C 肽。

3. 如权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在于,在标记步骤 2) 中,所述标记物混合液是将辣根过氧化物酶与生物素标记的疾病相关标志物单克隆抗体以体积比为 $1:1$ 混合,以 $20 \sim 50\%$ 小牛血清配制而成。

用于检测疾病相关标志物的磁微粒分离化学发光免疫分析 测定试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫分析医学领域,具体地,本发明提供了一种磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 近十年来标记免疫分析技术的研究和应用发展迅速,已广泛应用于生物医学基础理论研究及临床疾病诊断各领域。其中技术工艺成熟,具有先进性且实用性强,易于推广的主要有:放射免疫分析、酶免疫分析、时间分辨荧光免疫分析和化学发光免疫分析等四种。这些超微量检测技术的基本理论大体相同,但是所用示踪剂及所发出的信号各不相同。根据大量的实验结果及临床应用资料,从实用性、稳定性、准确性及发展前景来看,依次为:化学发光免疫分析、时间分辨荧光免疫分析、放射免疫分析以及酶免疫分析。

[0003] 磁微粒具有超顺磁性,在磁场下具磁场响应性,将磁微粒应用于免疫检测的固相,将大大提高反应的表面积,更容易进行固相、液相分离,可提高检测的灵敏度。采用微小的磁微粒作为固相可增加包被表面积,从而增加抗原或抗体的吸附量,既加快了反应速度,也使清洗和分离更简便。

[0004] 磁分离-酶标记-化学发光技术是酶标记免疫技术的新发展,该技术以微米级磁微粒为载体,利用表面有机物提供的羧基活性基团与蛋白质氨基共价结合,采用抗体进行“搭桥”成免疫磁微粒,可进行抗原、抗体反应。该技术的新颖之处有:(1)利用顺磁铁微粒为固相载体,外包被单克隆抗体,增加抗原、抗体的接触面积及底物发光面积,提高反应的灵敏度,并采用旋转磁场使磁微粒起搅拌作用及分离结合抗原-抗体与游离抗体的作用。(2)在液相反应中,使用发光增强剂,将水分子从发光底物的发光位点排开,同时还可缩短发光的达峰时间。(3)单克隆抗体,提高了反应的特异性。

[0005] 现有国外化学发光免疫分析试剂盒为封闭式全自动化学发光测量系统,需要昂贵的全自动化学发光测量仪,从而限制了推广使用,无法广泛地应用于临床诊断和科研工作。本发明的试剂盒可应用于开放式的化学发光测量仪,磁微粒分离剂可以通用,操作简便,使用成本低,更易推广应用。

发明内容

[0006] 本发明同时解决了上述问题,即将磁微粒技术与化学发光免疫分析技术有效地结合,提供了一种能够简便、快速、灵敏、稳定地检测试剂盒,该试剂盒适于在产业上有效地推广应用。

[0007] 本发明的目的是提供一种用于检测疾病相关标志物的磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒。

[0008] 本发明的再一目的是提供一种制备上述试剂盒的方法。

[0009] 根据本发明的试剂盒包括:1)校准品;2)包被有链亲和素的磁微粒;

[0010] 3) 辣根过氧化物酶标记物和生物素标记物混合液 ; 以及 4) 化学发光底物。

[0011] 进一步, 根据本发明的制备上述试剂盒的方法包括以下步骤 :

[0012] 1) 以纯品原料配制校准品 ;

[0013] 2) 制备辣根过氧化物酶和生物素标记物混合液 ;

[0014] 3) 以链亲和素包被磁微粒 ;

[0015] 4) 分装上述校准品、标记物混合液和化学发光底物鲁米诺或异鲁米诺 ; 以及

[0016] 5) 组装为成品。

[0017] 在根据本发明的方法中, 在标记步骤 2) 中, 所述标记物混合液是将辣根过氧化物酶标记单克隆抗体与生物素标记的单克隆抗体以体积比为 1 : 1 混合, 以 20 ~ 50 % 小牛血清配制而成。

[0018] 在所述包被步骤 3) 中 :

[0019] 链亲和素包被的磁微粒为 1 ~ 3 μm 粒径、四氧化三铁内核、表面包裹带有活性基团如氨基 (NH_2 -)、羧基 ($-\text{COOH}$) 的聚合物, 其使用浓度为 5 ~ 10mg/mL ;

[0020] 通过碳二亚胺法进行包被磁微粒 ;

[0021] 以封闭液封闭包被的磁微粒, 所述封闭液为含有 1.0 % 牛血清白蛋白、1.0 % 酪蛋白、pH 值为 7.4 的 0.05mol/L 磷酸缓冲液。

[0022] 具体的上述试剂盒可以包括校准品、磁微粒、标记物混合液、化学发光底物液与洗涤缓冲液等。其中, 所述校准品的原料为标准级, 纯度不低于 90 %、抗体包被于磁微粒上、标记酶为辣根过氧化物酶、化学发光底物液为鲁米诺或异鲁米诺、洗涤缓冲液为 Tris-HCl。

[0023] 本发明“用于检测疾病相关标志物的磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒”具有简便、快速、灵敏、稳定等优点。该测定试剂盒的各项指标均达到或超过酶联免疫分析法。并且, 根据本发明的检测系统为开放式操作, 简便快速, 不需要昂贵的全自动化学发光测量仪, 特别适合广大的中小医院推广使用, 为临床诊断和科研工作提供一种非常有价值的检测手段。本发明的试剂盒是采用“双抗体夹心一步法”反应模式, 既有效地利用了磁微粒分离技术和化学发光技术原理, 又确保了检测的灵敏性和分离的有效性。另外, 这种模式还便于操作和生产。

[0024] 本发明的试剂盒应用的是酶催化发光底物, 通过检测发光底物产生的光信号代替酶联免疫分析中的显色底物, 因而具有与酶联免疫分析同等的特异性, 而灵敏度大大提高, 比现今的酶联免疫吸附分析灵敏度提高约 10 倍, 可为临床诊断提供更为特异、快速、可靠的依据。

附图说明

[0025] 图 1 显示了肿瘤医院用本发明的 CA19-9 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒和 DPC 试剂盒检测 80 份肿瘤病人相关性的结果,

[0026] 其中, DPC 试剂盒的测定值为 X 轴, 本发明的试剂盒的测定值为 Y 轴, 结果经统计学处理得相关系数 $r = 0.9833$, $y = 0.9286x - 4.2054$ 。

[0027] 图 2 显示了肿瘤医院用本发明的 AFP 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒和 DPC 试剂盒检测 98 份肿瘤病人相关性的结果,

[0028] 其中, DPC 试剂盒的测定值为 X 轴, 本发明的试剂盒的测定值为 Y 轴, 结果经统计

学处理得相关系数 $r = 0.9909$, $y = 0.9966x - 7.783$ 。

[0029] 图3显示了北华医院用本发明的FSH磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒和DPC试剂盒检测66份病人相关性的结果,

[0030] 其中,DPC试剂盒的测定值为X轴,本发明的试剂盒的测定值为Y轴,结果经统计学处理得相关系数 $r = 0.9887$, $y = 0.9530x + 2.2401$ 。

[0031] 图4显示了北华医院用本发明的Ins磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒和DPC试剂盒检测60份病人相关性的结果,

[0032] 其中,DPC试剂盒的测定值为X轴,本发明的试剂盒的测定值为Y轴,结果经统计学处理得相关系数 $r = 0.9689$, $y = 0.9321x + 0.4163$ 。

具体实施方式

[0033] 实施例1制备本发明的CA19-9磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒

[0034] 一、标记物制备

[0035] 1. 辣根过氧化物酶标记CA19-9单抗采用高碘酸钠氧化法,具体标记过程如下:

[0036] 称取5mg HRP溶解于1ml双蒸水中。于上液中加入0.2ml新配的0.1M NaIO_4 溶液,室温下避光搅拌20分钟。加20 μl 0.2M pH9.5碳酸盐缓冲液,使以上醛化HRP的pH升高到9.0~9.5,然后立即加入10mg抗体在1ml 0.01M碳酸盐缓冲液中,室温避光轻轻搅拌2小时。将上述液装入透析袋中,对0.15M pH7.4PBS透析,4℃过夜。10,000rpm离心30分钟去除沉淀,上清液即为酶结合物,加入等量优质丙三醇,分装后,-20℃保存。

[0037] 2. CA19-9包被单抗用生物素标记,对PBS充分透析,加等体积甘油,-20℃以下保存。

[0038] 标记物混合液是由体积比为1:1~1:3的生物素标记抗体工作液和酶标记配对抗体工作液混合而成。

[0039] 二、CA19-9校准品的制备

[0040] 用CA19-9纯品配制,浓度分别为:0、2、6、20、60、200U/ml,共6瓶。

[0041] 三、磁微粒的制备

[0042] 将粒径为1~3 μm 的磁微粒子加磁场,静置5~10min,倒出上清,用pH值为7.4的0.01mol/L磷酸盐缓冲液清洗三次,并用该溶液进行悬浮,浓度为10~20mg/mL;每毫升悬浮液中加入链亲和素100~200 μg 和EDC,在4℃下搅拌过夜后,加磁场,静置5~10min,倒出上清,用含有0.5%~1.0%牛血清白蛋白、0.5%~1.0%酪蛋白、0.02mol/L的磷酸缓冲液(pH为7.4)于室温封闭3~4小时;最后用pH值为7.4、含0.5%BSA的0.05mol/L Tris-HCl缓冲液清洗3~5次,并用该溶液配制成8~10mg/mL的工作液。磁微粒在4℃保存,不应冻存,用时轻轻摇匀。

[0043] 四、标记单抗稀释液

[0044] Tris 12.120g

[0045] BSA 5g

[0046] Proclin 1ml

[0047] 双蒸水 1000ml

[0048] 五、化学发光底物液

[0049] 本发明所使用的辣根过氧化物酶 (HRP) 的化学发光底物液的配制方法：

[0050] A 液：在双蒸水中加入 Tris 和浓 HCl 配成 0.1M pH 值为 8.5 的 Tris-HCl 缓冲液。在此缓冲液中加入 4.0mg/mL 的 Luminol 和 0.3mg/mL 的对碘苯酚。

[0051] B 液：在双蒸水中加入柠檬酸三钠和柠檬酸，配制成 0.1M pH 值为 4.6 的柠檬酸缓冲液，在此溶液中加入 200mg/mL 的过氧化氢溶液。

[0052] 使用方法：A、B 液双组分试剂，在使用前根据使用量等体积混合。

[0053] 六、洗涤缓冲液

[0054] Tris 24g

[0055] NaCl 160g

[0056] KCl 4g

[0057] HCl 15mL

[0058] 去离子水 1000mL

[0059] 调整 pH 值至 7.4。

[0060] 七、半成品及成品组成

[0061] 上述步骤所得产品分装即为半成品。抽出三份经过特异性、精密性、灵敏度及稳定性检定合格才能组装成肿瘤相关抗原 19-9 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒，组装成试剂盒后还需抽检合格后才能出厂。

[0062] 八、按照本领域中常规的制造及检定规程对制备的试剂盒进行检定，结果见下表 1：

[0063] 表 1

[0064]

检验项目	检验标准	检验结果
准确性	平均回收率在 90.0-110.0%	102.6%
特异性	与其类似物的交叉反应率 $\leq 0.01\%$	0.003%
精密性 CV(%)	$\leq 15\%$ (n = 10)	5%
灵敏度	$\leq 0.5\text{U/ml}$	0.2U/ml
稳定性	各试剂组分置 37℃放置 6 天	符合标准

[0065] 肿瘤医院用本发明的 CA19-9 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒和 DPC 试剂盒检测 80 份肿瘤病人。结果经统计学处理得相关系数 $r = 0.9833$, $y = 0.9286x - 4.2054$ 。

[0066] 说明“肿瘤相关抗原 19-9 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒的临床符合率、准确性、特异性、精密性、灵敏度和稳定性是完全合格的。”

[0067] 综上，在本发明的研究过程中，本发明的发明人首先对所用的原材料进行了筛选实验和质量鉴定，包括标记抗体与包被抗体的活性、磁微粒的吸附性能和变异大小、HRP 的活性、化学发光底物的发光强度及发光持续时间等。然后对包被方法进行了研究，用不同的包被缓冲液和封闭液进行实验，选择出最适合的包被液和封闭液，通过抗体不同包被浓度

实验找到最佳的浓度条件。对于 HRP 的标记可以有不同的方法,通过反复探索和对比实验最终找到了简便、产率高、成本低、质量可靠的标记方法,并对不同的酶稀释液进行了长期的考察实验,配制出了能够使酶标记物长期保持活性稳定的稀释液。

[0068] 本发明的发明人还对试剂盒的反应模式和反应条件进行了实验研究,最终确定了双抗体夹心一步法反应模式,并就不同的反应时间对实验结果的影响进行了实验,确定最适合的反应时间。通过对化学发光底物液发光持续时间的测定及不同发光时间对测定值的影响实验表明:在加入化学发光底物液后 5-30 分钟之间进行测量为最佳,其结果也较为准确。

[0069] 实施例 2 制备本发明的甲胎蛋白 (AFP) 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒

[0070] 除酶和生物素标记的抗体换成 AFP 单克隆抗体作为标记物混合物,校准品浓度为 0、5、20、60、200、500ng/ml 不同以外,使用与实施例 1 相同的方法制备 AFP 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒。

[0071] 按照本领域中常规的制造及检定规程对制备的试剂盒进行检定,见下表 2:

[0072] 表 2

[0073]

检验项目	检验标准	检验结果
准确性	平均回收率在 90.0-110.0%	103.8%
特异性	与其类似物的交叉反应率 $\leq$ 0.01%	0.004%
精密性 CV(%)	$\leq$ 15% (n = 10)	6%
灵敏度	$\leq$ 2ng/mL	1.2ng/mL
稳定性	各试剂组分置 37℃至少 6 天	符合标准

[0074] 肿瘤医院用本发明的 AFP 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒和 DPC 试剂盒检测 98 份病人。结果经统计学处理得相关系数 $r = 0.9909$, $y = 0.9966x - 7.783$ 。

[0075] 说明甲胎蛋白 (AFP) 磁微粒定量测定试剂盒 (化学发光法) 的临床符合率、准确性、特异性、精密性、灵敏度和稳定性是完全合格的。

[0076] 本发明除实施例 1,2 外的检测试剂盒还包括以下产品:

[0077] 肿瘤标志物系列:癌胚抗原 (CEA)、铁蛋白 (Fer)、 β 2 微球蛋白 (β 2-MG)、人绒毛膜促性腺激素 (HCG)、 β -人绒毛膜促性腺激素 (β -HCG)、游离 β -人绒毛膜促性腺激素 (f β -HCG)、前列腺特异性抗原 (PSA)、游离前列腺特异性抗原 (fPSA)、肿瘤相关抗原 125 (CA125)、肿瘤相关抗原 15-3 (CA15-3)、肿瘤相关抗原 50 (CA50)、肿瘤相关抗原 242 (CA242) 和肿瘤相关抗原 724 (CA724) 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒。这些试剂盒均可采用本发明所提供的制备方法,只是所采用的抗体、校准品原料名称不同,其组成、制备方法和检测原理均相同。

[0078] 实施例 3 制备本发明的促卵泡生成素 (FSH) 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒

[0079] 除酶和生物素标记的抗体换成 FSH 单克隆抗体作为标记物混合物,校准品浓度为 0、1.0、2.5、10、40、160mIU/ml 不同以外,使用实施例 1 相同的方法制备 FSH 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒。

[0080] 按照本领域中常规的制造及检定规程对制备的试剂盒进行检定,见下表 3:

[0081] 表 3

[0082]

检验项目	检验标准	检验结果
准确性	平均回收率在 90.0-110.0%	101.9%
特异性	与其类似物的交叉反应率 $\leq 0.01\%$	0.005%
精密性 CV(%)	$\leq 15\%$ (n = 10)	7%
灵敏度	$\leq 0.5\text{mIU/mL}$	0.4mIU/mL
稳定性	各试剂组分置 37℃ 至少 6 天	符合标准

[0083] 北华医院用本发明的 FSH 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒和 DPC 试剂盒检测 66 份病人。结果经统计学处理得相关系数 $r = 0.9887$, $y = 0.9530x + 2.2401$ 。

[0084] 说明“FSH 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒的临床符合率、准确性、特异性、精密性、灵敏度和稳定性是完全合格的。

[0085] 本发明的检测试剂盒还包括以下产品:

[0086] 激素系列:垂体泌乳素(PRL)、促黄体生成素(LH)和促甲状腺素(TSH)磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒。这些试剂盒均可采用本发明所提供的制备方法,只是所采用的抗体、校准品原料名称不同,其组成、制备方法和检测原理均相同。

[0087] 实施例 4 制备本发明的胰岛素(Ins)磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒

[0088] 除酶和生物素标记的抗体换成 Ins 单克隆抗体作为标记物混合物,校准品浓度为 0、1.2、5、15、50、150 $\mu\text{IU/mL}$ 不同以外,使用与实施例 1 相同的方法制备 INS 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒。

[0089] 按照本领域中常规的制造及检定规程对制备的试剂盒进行检定,见下表 4:

[0090] 表 4

[0091]

检验项目	检验标准	检验结果
准确性	平均回收率在 90.0-110.0%	104.9%
特异性	与其类似物的交叉反应率 $\leq 0.01\%$	0.001%
精密性 CV(%)	$\leq 15\%$ (n = 10)	5%
灵敏度	$\leq 0.10\mu\text{IU/mL}$	0.07 $\mu\text{IU/mL}$

稳定性	各试剂组分置 37℃ 至少 6 天	符合标准
-----	-------------------	------

[0092] 北华医院用本发明的 Ins 磁微粒化学发光免疫分析测定试剂盒和 DPC 试剂盒检测 60 份病人, 结果经统计学处理得相关系数 $r = 0.9689$, $y = 0.9321x + 0.4163$

[0093] 说明“胰岛素 (Ins) 磁微粒定量测定试剂盒 (化学发光法) 的临床符合率、准确性、特异性、精密性、灵敏度和稳定性是完全合格的。

[0094] 本发明的检测试剂盒还包括以下产品:

[0095] 血清 C 肽 (C-P) 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒。这些试剂盒均可采用本发明所提供的制备方法, 只是所采用的抗体、校准品原料名称不同, 其组成、制备方法和检测原理均相同。

[0096] 实施例 5 本发明磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒的使用方法

[0097] 以实施例 1 制备的 CA19-9 磁微粒分离测定试剂盒的具体操作如下:

[0098] 1) 自 4℃ 冰箱中取出试剂盒, 室温平衡 15 分钟;

[0099] 2) 将圆底聚苯乙烯试管编号;

[0100] 3) 反应管中分别加待测样本和各浓度校准品每孔加 0、2、6、20、60、200U/ml 各 25 μ l, 然后各孔加标记物 100 μ l, 用微量震荡器充分振荡混匀, 室温温育 1 小时;

[0101] 4) 每管加磁分离剂 100 μ l, 混匀, 室温放置 5 分钟, 将各管插入磁分离器上, 放置 2 分钟后, 倾倒上清, 倒放在吸水纸上吸干, 再将分离器复位 (切勿拔出试管);

[0102] 5) 每管加稀释洗涤液 500 μ l, 从磁分离器上取下试管架, 混匀, 将试管架放回磁分离器, 扣紧, 放置 2 分钟, 再倾倒上清, 分离器倒放在吸水纸上吸干后, 再将分离器复位 (勿拔出试管), 重复操作一次;

[0103] 6) 各孔加化学发光底物液 100 μ l;

[0104] 7) 必须于加化学发光底物液后的第 30 ~ 90 分钟内测量, 在化学发光测量仪上依序测量各孔的发光强度 (RLU), 测量时间 1 秒 / 孔;

[0105] 8) 以校准品浓度为横坐标, RLU 值为纵坐标绘出标准曲线, 以各待测血清 RLU 值在标准曲线上查出该血清的 CA19-9 的浓度。

[0106] 本发明用于检测疾病相关标志物的磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒的使用方法和操作过程与 CA19-9 磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒的使用方法和操作过程完全一致。

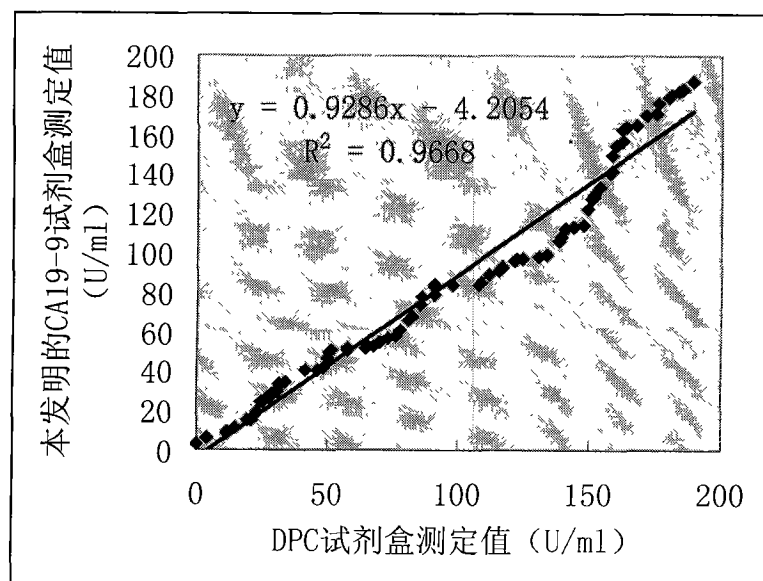


图 1

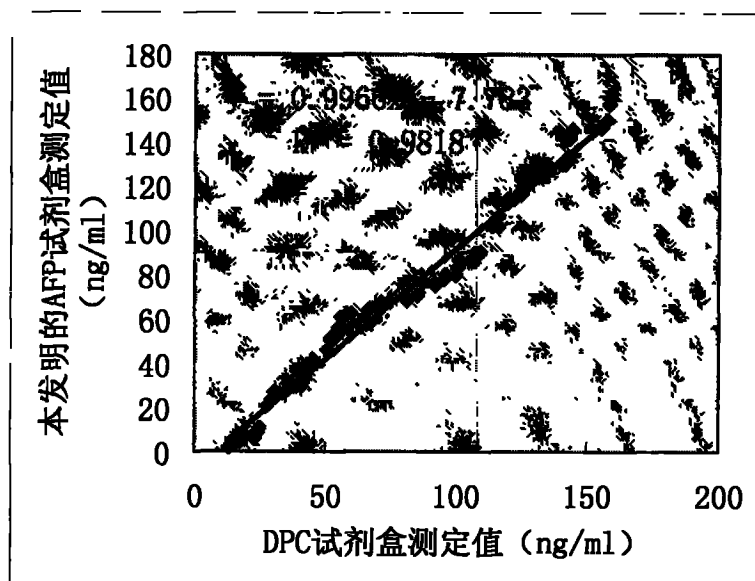


图 2

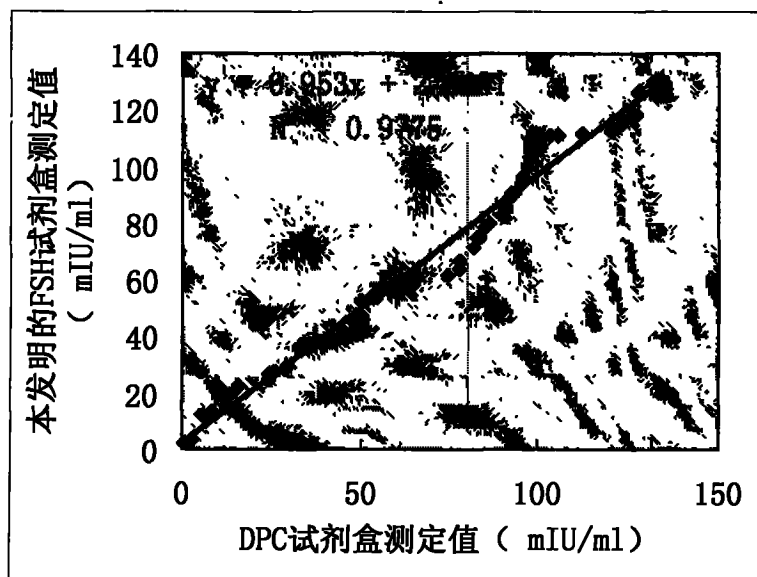


图 3

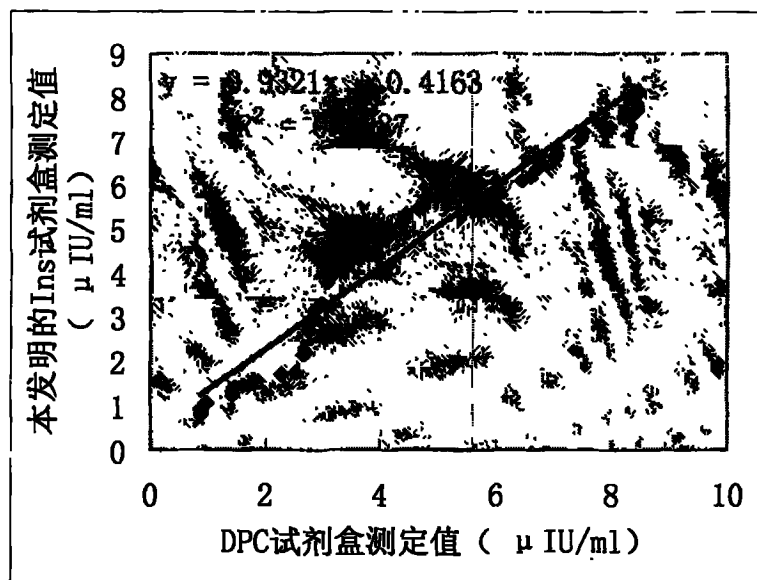


图 4

专利名称(译)	用于检测疾病相关标志物的磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN101377490B	公开(公告)日	2012-07-04
申请号	CN200710121117.5	申请日	2007-08-30
[标]申请(专利权)人(译)	北京科美东雅生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京科美东雅生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京科美生物技术有限公司		
[标]发明人	胡国茂 唐宝军 应希堂		
发明人	胡国茂 唐宝军 应希堂		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53 G01N33/58 G01N33/577 G01N21/76		
审查员(译)	朱晓乐		
其他公开文献	CN101377490A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及免疫分析医学领域，具体地，本发明提供了一种用于检测疾病相关标志物的磁微粒分离化学发光免疫分析测定试剂盒及其制备方法。根据本发明的试剂盒包括：1)校准品；2)包被有链亲和素的磁微粒；3)酶标记物和生物素标记的疾病相关标志物抗体；以及4)化学发光底物。进一步，根据本发明制备上述试剂盒的方法包括以下步骤：1)以纯品原料配制校准品；2)以链亲和素包被磁微粒；3)制备酶和生物素标记物混合液；4)分装上述校准品、化学发光底物和酶和生物素标记物混合液；以及5)组装为成品。本发明的试剂盒具有简便、快速、灵敏、稳定等优点。

