



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107966563 A

(43)申请公布日 2018.04.27

(21)申请号 201611018772.3

(22)申请日 2016.11.21

(66)本国优先权数据

201620680259.X 2016.06.30 CN

(71)申请人 深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司

地址 518057 广东省深圳市南山区南山街道兴海路荔山工业区5栋1-4层

(72)发明人 李江 徐向红 王栋凯 郑燕萍  
马晓雯

(51)Int.Cl.

G01N 33/573(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

权利要求书2页 说明书2页 附图1页

(54)发明名称

一种抗髓过氧化物酶抗体IgG化学发光免疫测定试剂盒及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种抗髓过氧化物酶抗体IgG化学发光免疫测定试剂盒，所述试剂盒包括：髓过氧化物酶抗原包被的磁微粒、吖啶酯标记的鼠抗人IgG抗体、抗髓过氧化物酶抗体IgG定标品、预激发液、激发液。另外本发明还公开了一种抗髓过氧化物酶抗体IgG化学发光免疫测定试剂盒的制备方法。本发明所述试剂盒与现有试剂盒相比操作简便，灵敏度高，检测范围广等优点。

1. 一种抗髓过氧化物酶抗体 IgG 化学发光免疫测定试剂盒, 所述试剂盒包括: 髓过氧化物酶抗原包被的纳米磁微球、吖啶酯标记的鼠抗人 IgG 抗体、化学发光底物液、抗髓过氧化物酶抗体 IgG 定标品。

2. 根据权利要求 1 所述的试剂盒, 其特征在于, 所述髓过氧化物酶抗原包被的固相载体为磁微粒。

3. 根据权利要求 1 所述的试剂盒, 其特征在于, 所述髓过氧化物酶抗原包被的固相载体为羧基化的粒径为 0.05~1μm 磁微粒。

4. 根据权利要求 1 所述的试剂盒, 其特征在于, 所述化学发光标记物为吖啶酯、吖啶酯磺酰胺、吖啶酯甲苯磺酰胺、吖啶酯对甲基磺酰胺、吖啶酯三氟甲基磺酰胺。

5. 根据权利要求 1 所述的试剂盒, 其特征在于, 所述化学发光标记物优选吖啶酯。

6. 根据权利要求 1 所述的试剂盒, 其特征在于, 所述化学发光底物液包括化学发光激发液、化学发光预激发液。

7. 根据权利要求 1 所述的试剂盒, 其特征在于, 所述化学发光预激发液为质量分数 0.005% ~ 0.5% 的双氧水 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 溶液, 激发液为 0.005 mol/L ~ 0.025 mol/L 的氢氧化钠 (NaOH) 溶液。

8. 根据权利要求 1 所述的试剂盒, 其特征在于, 所述抗髓过氧化物酶抗体 IgG 定标品为用标准品缓冲液将抗髓过氧化物酶抗体 IgG 配制成浓度为 0 AU/mL、20 AU/mL、40 AU/mL、80 AU/mL、160 AU/mL、320 AU/mL, 4 °C 保存备用。

9. 根据权利要求 1 所述的试剂盒, 其特征在于, 所述试剂盒的制备方法, 其特征在于包括髓过氧化物酶抗原包被的磁微粒的制备、吖啶酯标记的鼠抗人 IgG 抗体的制备、化学发光底物液的制备、抗髓过氧化物酶抗体 IgG 定标品的制备。

10. 根据权利要求 1 和权利要求 9 所述试剂盒的制备方法, 其特征在于包括以下步骤:

1) 髓过氧化物酶抗原包被的磁微粒的制备:

取羧基化的纳米磁珠悬浮液, 磁分离去上清, MES 缓冲液重悬, 加入 EDC 水溶液, 活化磁珠表面羧基, 加入髓过氧化物酶抗原, 室温下混悬 2~10 h, 磁分离, 去除上清, Tris 缓冲液重悬, 得到髓过氧化物酶抗原包被的磁微粒; 可选的, 羧基化纳米磁珠直径为 0.1~2.0 μm; MES 缓冲液浓度为 10 mM ~ 100 mM, pH 5.5 ~ 8.5;

2) 叶啶酯标记的鼠抗人 IgG 抗体的制备:

取鼠抗人 IgG 抗体, 加入碳酸盐缓冲液, 混匀, 然后加入叶啶酯混匀, 室温下避光反应, 1~2 h 后取出, 离心脱盐柱脱盐处理, 脱盐过程中首先分别用纯净水及 TBS 缓冲液进行处理, 最后加入得到的鼠抗人 IgG 抗体衍生物标记的叶啶酯溶液, 收集离心管中的液体至保存管得到鼠抗人 IgG 抗体衍生物标记的叶啶酯;

3) 抗髓过氧化物酶抗体 IgG 定标品的制备:

用标准品缓冲液将抗髓过氧化物酶抗体 IgG 配置成浓度为 0 AU/mL、20 AU/mL、40 AU/mL、80 AU/mL、160 AU/mL、320 AU/mL, 分装冻干, 4 °C 保存备用;

4) 化学发光预激发液的制备:

量取 1.0 升纯化水, 依次加入 0.5 ~ 100 μL 质量分数为 20% 的双氧水 (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、0.5 ~ 5 克防腐剂、0.5 ~ 5 克表面活性剂, 摆匀后避光存放; 可选的, 防腐剂为商品化叠氮化钠、PC300, 表面活性剂为吐温 20、吐温 80、Triton X-100、Triton X-405;

## 5) 化学发光激发液的制备：

量取1.0升纯化水,依次加入0.2 ~ 1克氢氧化钠、0.5 ~ 5克防腐剂、0.5 ~ 5克表面活性剂,摇匀后避光存放;可选的,防腐剂为商品化叠氮化钠、PC300,表面活性剂为吐温20、吐温80、Triton X-100、Triton X-405。

## 一种抗髓过氧化物酶抗体 IgG 化学发光免疫测定试剂盒及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及体外诊断免疫检测领域,具体地,本发明提供了一种化学发光免疫检测抗髓过氧化物酶抗体 IgG 试剂盒及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 髓过氧化物酶(myeIoperoxidase, MPO)是糖基化的血红素蛋白,主要存在于髓系细胞(主要是嗜中性粒细胞和单核细胞)的嗜苯胺蓝颗粒中,外界刺激可导致中性粒细胞聚集,释放MPO,血液中95%的MPO是由活化的嗜中性粒细胞脱颗粒释放入血的。MPO是由2个亚单位聚合而成的二聚体,每个亚单位又由一条重链(α链)和一条轻链(β链)构成,2个亚单位在α链处由1个二硫键相连。

[0003] MPO水平与中性粒细胞激活程度之间存在极显著的相关性,是中性粒细胞的活化标志物当前临幊上对急性冠脉综合征的诊断与评估主要应用心肌酶谱等指标。此类指标的水平通常会在心肌发生实质损伤后发生明显升高,因此,该类指标不能对心血管疾病的发生提供早期预警。MPO抗体的测定可用于诊断自身免疫性血管炎等疾病,同时对于监视治疗和病情追踪以及判断预后等有重要意义。

[0004] 临幊检测抗髓过氧化物酶抗体 IgG 的主要方法为酶联免疫吸附法,但该方法存在着下述的不足之处:

(1) 使用12×8型、6×8型、8×12型或整板型96孔专用微孔板作为抗原包被用具和反应容器,在使用时只能分成12批次、6批次、8批次或整板一次使用,无法进行独立的、单人份的检测;

(2) 定量测定所用的试剂种类较多,每一种检测试剂都要用试剂瓶来盛装,并且每使用一种试剂时都需要更换吸液嘴来分别加注到微孔板的微孔中,不但试剂瓶种类多,加注试剂的操作也极为繁琐;

(3) 缺少对检测信息的相应标注,只能通过查看试剂盒外包装盒的标识才能了解或知悉检测试剂的生产批号及有效期信息,而且所知悉的信息在检测过程中不受控,具有很大的随意性;

(4) 检测试剂在检测过程中处于开放的空间,容易引起各种试剂之间的交叉污染而影响检测结果的准确性;

(5) 检测过程多采用手工操作,试剂或样本的加量不很精确,操作过程极为繁琐和复杂,容易发生操作差错,检测结果的准确度和精密度较差;

(6) 在检测项目成套试剂的数量配置及使用上均为项目数×48/96人份,如果需要检测10个项目,则试剂的配置及使用数须为10×48/96人份,如果只有一份样本需要检测10个不同的项目,也需要配置10×48/96人份的试剂,存在着不够经济合理的缺点。

### 发明内容

[0005] 目前抗髓过氧化物酶抗体 IgG 检测技术存在以下缺点:检测成本高、检测灵敏度低、检测线性范围窄、重现性低、不能定量、操作复杂等。

[0006] 本发明正是为了克服以上所述缺点,公开了一种检测成本低、灵敏度高、检测线性范围广、重现性高、可以定量、操作简单的抗髓过氧化物酶抗体 IgG 试剂盒及其制备方法。本发明首先制备化学发光免疫分析试剂盒,主要包括:抗髓过氧化物酶抗体 IgG 单克隆抗体包被的磁颗粒、抗髓过氧化物酶抗体 IgG 单克隆抗体包被的吖啶酯以及抗髓过氧化物酶抗体 IgG 定标品;然后利用全自动化学发光免疫分析仪对定标品进行检测,绘制标准曲线,内置于电脑软件,测试实际样本,根据样本发光值计算样本浓度;最后对抗髓过氧化物酶抗体 IgG 全自动化学发光免疫分析系统进行性能(灵敏度、线性、精密度、干扰性)的评价。

[0007] 本发明与目前技术相比,具有以下优点:

1、本发明选择吖啶酯作为标记材料,并应用于化学发光免疫分析系统,该发光体系为直接化学发光,与传统的酶促化学发光相比,该反应不需要酶的参与,更加节约成本;

2、本发明选用的吖啶酯化学发光免疫分析系统检测灵敏度高,能够达到 1.5 AU/mL;

3、本发明选用的吖啶酯化学发光免疫分析系统线性范围宽,能达到 1.5-300 AU/mL;

4、本发明选用的吖啶酯化学发光免疫分析系统重复性高,批内及批间差均在 5% 以内,这是其它化学发光免疫分析系统难以达到的;

5、本发明的化学发光免疫分析系统已实现样本的定量,通过内置标准曲线到测试软件,只需测试样本就可直接得到样本的浓度值;

6、本发明的化学发光免疫分析系统已实现全自动化,试剂及样本的添加全有仪器完成,操作更加简便,减少了人为的误差。

## 附图说明

[0008]

图1为实施例3得到的抗髓过氧化物酶抗体 IgG 标准曲线图。

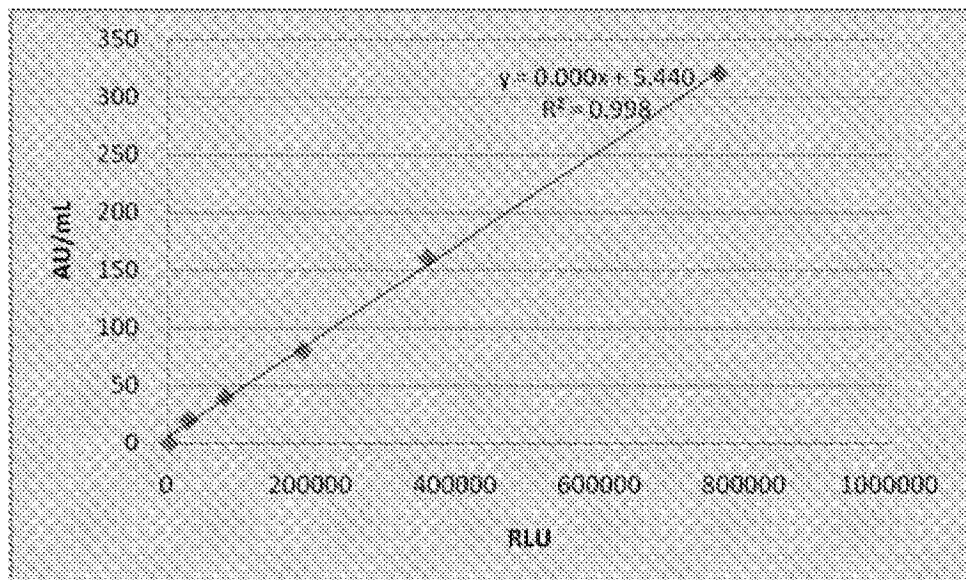


图1

专利名称(译)	一种抗髓过氧化物酶抗体IgG化学发光免疫测定试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN107966563A</a>	公开(公告)日	2018-04-27
申请号	CN201611018772.3	申请日	2016-11-21
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司		
[标]发明人	李江 徐向红 王栋凯 郑燕萍 马晓雯		
发明人	李江 徐向红 王栋凯 郑燕萍 马晓雯		
IPC分类号	G01N33/573 G01N33/577 G01N33/532		
CPC分类号	G01N33/573 G01N33/532 G01N33/577 G01N2333/901 G01N2446/80 G01N2458/00 G01N2800/328		
优先权	201620680259.X 2016-06-30 CN		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>	<a href="#">Sipo</a>	

**摘要(译)**

本发明公开了一种抗髓过氧化物酶抗体IgG化学发光免疫测定试剂盒，所述试剂盒包括：髓过氧化物酶抗原包被的磁微粒、吖啶酯标记的鼠抗人IgG抗体、抗髓过氧化物酶抗体IgG定标品、预激发液、激发液。另外本发明还公开了一种抗髓过氧化物酶抗体IgG化学发光免疫测定试剂盒的制备方法。本发明所述试剂盒与现有试剂盒相比操作简便，灵敏度高，检测范围广等优点。

