



(12)发明专利申请



(10)申请公布号 CN 108982831 A

(43)申请公布日 2018.12.11

(21)申请号 201810847905.0

(22)申请日 2018.07.27

(71)申请人 金华市强盛生物科技有限公司

地址 321000 浙江省金华市金华山旅游经
济区赤松镇法明街456号2#厂房三层

(72)发明人 黄信用 吕崇翔 曹春梅

(51)Int.Cl.

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书1页 说明书2页

(54)发明名称

一种新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法,所述试剂盒包括:试剂1,所述试剂1为pH=8.0~9.4的甘氨酸缓冲体系,含有0.1~0.5g/L的高分子促聚剂、1~10g/L的表面活性剂和0.5~10g/L的电解质;试剂2,所述试剂2为pH=6.5~7.3的MES缓冲体系,含有2.5~3g/L的羊抗人补体C3多克隆抗体、2.5~5mL/L的羊抗人补体C3多克隆抗体包被的胶乳、1~10g/L的表面活性剂和0.5~10g/L的电解质。本发明具有检测灵敏度高,准确度高,精密度好,检测范围内线性好,稳定性好,生产成本低,且抗干扰性能较强的优点。

1. 一种新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法,其特征在于,所述试剂盒包括:试剂1,所述试剂1为 $\text{pH}=8.0\sim 9.4$ 的甘氨酸缓冲体系,含有 $0.1\sim 0.5\text{g/L}$ 的高分子促聚剂、 $1\sim 10\text{g/L}$ 的表面活性剂和 $0.5\sim 10\text{g/L}$ 的电解质;试剂2,所述试剂2为 $\text{pH}=6.5\sim 7.3$ 的MES缓冲体系,含有 $2.5\sim 3\text{g/L}$ 的羊抗人补体C3多克隆抗体、 $2.5\sim 5\text{mL/L}$ 的羊抗人补体C3多克隆抗体包被的胶乳、 $1\sim 10\text{g/L}$ 的表面活性剂和 $0.5\sim 10\text{g/L}$ 的电解质;该方法包括如下步骤:

1) 用 $\text{pH}=6.5\sim 7.3$ 的MES缓冲液将羧基微球稀释至 $1\sim 2\text{g/L}$,再加入NHS和EDC, $15\sim 25^\circ\text{C}$ 下反应 $20\sim 30$ 分钟得到活化胶乳;

2) 向活化胶乳中加入包被用的羊抗人补体C3多克隆抗体,在 $25\sim 37^\circ\text{C}$ 下振摇孵育 $2\sim 4$ 小时,制得羊抗人补体C3多克隆抗体包被的胶乳;

3) 根据所述试剂2的各组分浓度,向 $\text{pH}=6.5\sim 7.3$ 的MES缓冲液中加入表面活性剂、电解质和羊抗人补体C3多克隆抗体,然后加入步骤2)制得的羊抗人补体C3多克隆抗体包被的胶乳;

4) 用 $0.2\mu\text{L}$ 尼龙膜过滤除菌和大颗粒,得试剂2。

2. 如权利要求1所述的新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法,其特征在于,步骤1)中的羧基微球粒径为 $30\sim 40\text{nm}$ 。

3. 如权利要求1所述的新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法,其特征在于,步骤2)和步骤3)中加入的羊抗人补体C3多克隆抗体预先用 $\text{pH}=6.5\sim 7.3$ 的MES缓冲液稀释至 $10\sim 20\text{g/L}$ 。

4. 如权利要求1所述的新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法,其特征在于,步骤3)中,还添加有防腐剂叠氮钠,所述叠氮钠添加浓度为 $0.5\sim 1\text{g/L}$ 。

一种新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫比浊的检测方法,尤其涉及一种新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法。

背景技术

[0002] 目前,检测脂蛋白(a)的检测方法有放射免疫法(RIA)、酶联免疫吸附法(ELISA)、胶乳颗粒增强比浊法,RIA虽然灵敏度高,但不稳定,重复性比ELISA差,而且存在放射性污染的危险;ELISA方法虽然在临床上使用了近二十年,但它依然存在一些致命缺点,定量准确性差、操作时间长、自动化程度低,一般只能用于定性检测。胶乳颗粒增强比浊法是近年来出现的一种较为稳定、准确的体液蛋白均相免疫比浊检测方法。其原理是在高分子胶乳微球的表面交联单克隆或多克隆抗体,当交联有抗体的微球与抗原结合后,在短时间内会迅速聚集在一起,改变了反应液的散光性能或透光性能。而且,反应液散光性能或透光性能的改变与被测抗原的浓度有较强的相关性,在一定范围内可以反映被测抗原的浓度。此技术通过颗粒增强的方式,放大了抗原抗体反应,弥补了普通透射比浊法灵敏度不够的缺点,同时又继承了透射比浊法稳定性好、方便快捷的优点,克服了ELISA和RIA方法的缺点,已越来越广泛应用于临床上各种微量蛋白的定量检测。日前,颗粒增强免疫透射比浊法广泛用于肾功能检测、心脑血管功能检测检测、糖尿病检测和脂类检测等,取得了良好的社会效益。

发明内容

[0003] 本发明的目的是提供一种新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法,具有检测灵敏度高,准确度高,精密度好,检测范围内线性好,稳定性好,生产成本低,且抗干扰性能较强的优点。

[0004] 为实现上述目的,本发明提供了如下技术方案:

[0005] 一种新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法,所述试剂盒包括:试剂1,所述试剂1为pH=8.0~9.4的甘氨酸缓冲体系,含有0.1~0.5g/L的高分子促聚剂、1~10g/L的表面活性剂和0.5~10g/L的电解质;试剂2,所述试剂2为pH=6.5~7.3的MES缓冲体系,含有2.5~3g/L的羊抗人补体C3多克隆抗体、2.5~5mL/L的羊抗人补体C3多克隆抗体包被的胶乳、1~10g/L的表面活性剂和0.5~10g/L的电解质;该方法包括如下步骤:

[0006] 1) 用pH=6.5~7.3的MES缓冲液将羧基微球稀释至1~2g/L,再加入NHS和EDC,15~25℃下反应20~30分钟得到活化胶乳;

[0007] 2) 向活化胶乳中加入包被用的羊抗人补体C3多克隆抗体,在25~37℃下振摇孵育2~4小时,制得羊抗人补体C3多克隆抗体包被的胶乳;

[0008] 3) 根据所述试剂2的各组分浓度,向pH=6.5~7.3的MES缓冲液中加入表面活性剂、电解质和羊抗人补体C3多克隆抗体,然后加入步骤2)制得的羊抗人补体C3多克隆抗体包被的胶乳;

[0009] 4) 用0.2μL尼龙膜过滤除菌和大颗粒,得试剂2。

[0010] 优选地,步骤1)中的羧基微球粒径为30~40nm。

[0011] 优选地,步骤2)和步骤3)中加入的羊抗人补体C3多克隆抗体预先用pH=6.5~7.3的MES缓冲液稀释至10~20g/L。

[0012] 优选地,步骤3)中,还添加有防腐剂叠氮钠,所述叠氮钠添加浓度为0.5~1g/L。

[0013] 通过采用上述技术方案,本发明胶乳中的羧基微球经NHS、EDC活化后与包被用的羊抗人补体C3多克隆抗体混合孵育,然后与其余组分混合,配制成试剂2。与传统的胶乳制备过程相比,控制NHS、EDC以及包被用的羊抗人补体C3多克隆抗体的用量,可避免NHS、EDC与活化羧基微球分离过程,以及活化羧基微球封闭过程,因此操作上更加简化。本发明的所述试剂盒可用于全自动生化分析仪上检测人血清补体C3的含量,与现有的免疫比浊试剂相比,可有效避免非特异性反应,特征吸收波长稳定,可提高反应灵敏度,检测限较低,可用于较低浓度样本的检测,而且与传统的胶乳制备过程相比,本发明免去了较多的液固分离和封闭过程,操作上更加简化。

具体实施方式

[0014] 为了使本领域的技术人员可以更好地理解本发明,下面结合实施例对本发明技术方案进一步说明。

[0015] 一种新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法,所述试剂盒包括:试剂1,所述试剂1为pH=8.0~9.4的甘氨酸缓冲体系,含有0.1~0.5g/L的高分子促聚剂、1~10g/L的表面活性剂和0.5~10g/L的电解质;试剂2,所述试剂2为pH=6.5~7.3的MES缓冲体系,含有2.5~3g/L的羊抗人补体C3多克隆抗体、2.5~5mL/L的羊抗人补体C3多克隆抗体包被的胶乳、1~10g/L的表面活性剂和0.5~10g/L的电解质;该方法包括如下步骤:

[0016] 1) 用pH=6.5~7.3的MES缓冲液将羧基微球稀释至1~2g/L,再加入NHS和EDC,15~25℃下反应20~30分钟得到活化胶乳;

[0017] 2) 向活化胶乳中加入包被用的羊抗人补体C3多克隆抗体,在25~37℃下振摇孵育2~4小时,制得羊抗人补体C3多克隆抗体包被的胶乳;

[0018] 3) 根据所述试剂2的各组分浓度,向pH=6.5~7.3的MES缓冲液中加入表面活性剂、电解质和羊抗人补体C3多克隆抗体,然后加入步骤2)制得的羊抗人补体C3多克隆抗体包被的胶乳;

[0019] 4) 用0.2μL尼龙膜过滤除菌和大颗粒,得试剂2。

[0020] 优选地,步骤1)中的羧基微球粒径为30~40nm。

[0021] 优选地,步骤2)和步骤3)中加入的羊抗人补体C3多克隆抗体预先用pH=6.5~7.3的MES缓冲液稀释至10~20g/L。

[0022] 优选地,步骤3)中,还添加有防腐剂叠氮钠,所述叠氮钠添加浓度为0.5~1g/L。

[0023] 以上所述实施例仅表达了本发明的优选实施方式,其描述较为具体和详细,但不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形、改进及替代,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

专利名称(译)	一种新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法		
公开(公告)号	CN108982831A	公开(公告)日	2018-12-11
申请号	CN201810847905.0	申请日	2018-07-27
[标]申请(专利权)人(译)	金华市强盛生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	金华市强盛生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	金华市强盛生物科技有限公司		
[标]发明人	黄信用 吕崇翔 曹春梅		
发明人	黄信用 吕崇翔 曹春梅		
IPC分类号	G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种新型胶乳增强免疫比浊法试剂盒中试剂2的制备方法，所述试剂盒包括：试剂1，所述试剂1为pH = 8.0 ~ 9.4的甘氨酸缓冲体系，含有0.1 ~ 0.5g/L的高分子促聚剂、1 ~ 10g/L的表面活性剂和0.5 ~ 10g/L的电解质；试剂2，所述试剂2为pH = 6.5 ~ 7.3的MES缓冲体系，含有2.5 ~ 3g/L的羊抗人补体C3多克隆抗体、2.5 ~ 5mL/L的羊抗人补体C3多克隆抗体包被的胶乳、1 ~ 10g/L的表面活性剂和0.5 ~ 10g/L的电解质。本发明具有检测灵敏度高，准确度高，精密度好，检测范围内线性好，稳定性好，生产成本低，且抗干扰性能较强的优点。