



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102161716 A

(43) 申请公布日 2011.08.24

(21) 申请号 201010615283.2

(22) 申请日 2010.12.30

(71) 申请人 北京九强生物技术股份有限公司
地址 100083 北京市海淀区花园东路15号
旷怡大厦5层

(72) 发明人 胥敏 刘希 高爱民

(74) 专利代理机构 北京戈程知识产权代理有限公司 11314

代理人 程伟

(51) Int. Cl.

C08F 12/08 (2006.01)

C08F 8/30 (2006.01)

C08G 81/02 (2006.01)

C08H 1/00 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

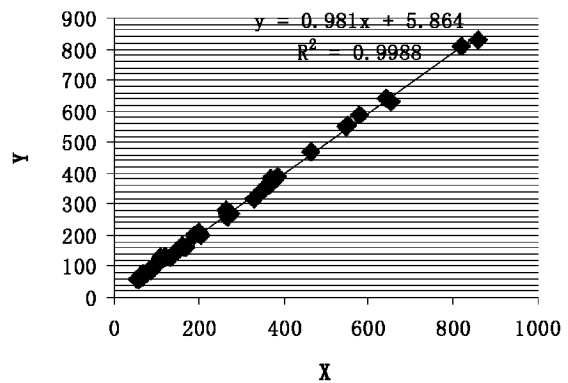
权利要求书 2 页 说明书 7 页 附图 1 页

(54) 发明名称

胶乳致敏的方法及试剂

(57) 摘要

本发明涉及胶乳致敏的方法及试剂。具体而言,本发明的胶乳致敏的方法为先通过化学键将胶乳与无关蛋白结合,再使用戊二醛将抗原或抗体交联在无关蛋白上,从而使胶乳致敏。本发明提供了使用本方法制备的抗链球菌溶血素O胶乳增强免疫比浊试剂。使用本发明的方法可以节省试剂的制备时间,同时提高试剂的灵敏度。



1. 一种胶乳致敏的方法,其特征在于先通过化学键将胶乳与无关蛋白结合,再使用戊二醛将抗原或抗体交联在无关蛋白上,从而使胶乳致敏,其中所述无关蛋白是指水溶性的且不与所述抗原或抗体发生免疫反应的蛋白,优选地,所述无关蛋白选自 BSA 或血蓝蛋白,优选地,所述胶乳为聚苯乙烯胶乳。

2. 根据权利要求 1 所述的胶乳致敏的方法,其特征在于所述化学键通过聚苯乙烯胶乳表面的化学基团与无关蛋白的相应化学基团形成,优选地,化学基团选自羧基、磺酸基或羟基。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的胶乳致敏的方法,其特征在于所述抗原选自天然抗原、基因重组抗原、化学合成抗原或多肽的一种或多种。

4. 根据权利要求 1 至 3 任一项所述的胶乳致敏的方法,其特征在于所述抗体选自多克隆抗体或单克隆抗体中的一种或多种。

5. 根据权利要求 1 至 4 任一项所述的胶乳致敏的方法,其特征在于所述聚苯乙烯胶乳的粒径为 50-200nm。

6. 根据权利要求 1 至 5 任一项所述的胶乳致敏的方法,其特征在于胶乳在反应体系中的浓度优选 0.1 ~ 2% 重量体积比,更优选 0.5 ~ 1% 重量体积比;和/或,无关蛋白在反应体系中的浓度优选 0.05 ~ 2mg/ml,更优选 0.1 ~ 0.3mg/ml;和/或,反应条件优选在 4 ~ 40°C,更优选在 25 ~ 37°C 反应 0.5 ~ 1hr;和/或,反应在有缓冲作用的缓冲液中进行的,所述缓冲液选自 MES 缓冲液、Tris 缓冲液、磷酸缓冲液,优选 MES 缓冲液, pH5.5-7;和/或,结合有无关蛋白的胶乳浓度优选 0.1 ~ 2% 重量体积比,更优选 0.2 ~ 1% 重量体积比;和/或,抗原或抗体在反应体系中的浓度优选 0.05 ~ 2mg/ml,更优选 0.1 ~ 0.2mg/ml;和/或,戊二醛在反应体系中浓度优选 0.001% ~ 0.02% 重量体积比,更优选 0.001 ~ 0.008% 重量体积比;和/或,反应条件优选在 4 ~ 40°C,更优选在 25 ~ 37°C 反应 0.5 ~ 3hr。

7. 一种胶乳,其特征在于所述胶乳使用根据权利要求 1 至 6 任一项所述的胶乳致敏的方法致敏,优选地,所述胶乳为羧基修饰的聚苯乙烯胶乳先利用羧基结合 BSA,然后利用戊二醛将基因重组链球菌溶血素 O 抗原结合在 BSA 上获得的胶乳。

8. 一种胶乳增强免疫比浊试剂,其特征在于所述胶乳使用根据权利要求 1 至 6 任一项所述的胶乳致敏的方法致敏。

9. 根据权利要求 8 所述的胶乳增强免疫比浊试剂,其特征在于所述胶乳增强免疫比浊试剂为抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂,其包含试剂 R1、试剂 R2,试剂 R1 为含有盐离子的缓冲液,试剂 R2 为交联了链球菌溶血素 O 抗原的致敏胶乳溶液,优选地,所述链球菌溶血素 O 抗原为基因重组链球菌溶血素 O 抗原,优选地,所述胶乳为羧基修饰的聚苯乙烯胶乳。

10. 根据权利要求 9 所述的胶乳增强免疫比浊试剂,其特征在于所述盐离子为一价金属离子和二价金属离子中的一种或几种,优选地,所述盐离子选自钠离子和/或镁离子,更优选地,所述盐离子为 Na 离子;优选地,所述盐离子在反应体系中的浓度优选 10 ~ 300mM,更优选 100 ~ 200mM;和/或,胶乳在反应体系中的浓度在 0.08 ~ 0.2% 重量体积比。

11. 根据权利要求 9 或 10 所述的胶乳增强免疫比浊试剂,其特征在于所述试剂 R1、R2 的缓冲液选自甘氨酸缓冲液、Tris 缓冲液、HEPES 缓冲液或磷酸缓冲液,优选地,所述试剂 R1、R2 的缓冲液是甘氨酸缓冲液,优选地,所述试剂 R1、R2 的缓冲液的 pH 在 6.5 ~ 9 之间,

更优选地,所述试剂 R1、R2 的缓冲液的 pH 在 8 ~ 8.6 之间;和/或,所述试剂 R1、R2 含有表面活性剂、防腐剂、多聚体,优选地,所述表面活性剂为非离子表面活性剂,更优选地,所述非离子表面活性剂选自 TWEEN 系列、SPAN 系列、TRITON 系列,优选地,所述防腐剂选自山梨酸钾、苯甲酸钠、叠氮钠、亚硝酸钠、PC300 中的一种或几种,优选地,所述多聚体选自 PEG 系列、PVP 系列。

12. 根据权利要求 9 至 11 任一项所述的胶乳增强免疫比浊试剂,其特征在于所述抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂的成分如下:

试剂 R1 :甘氨酸缓冲液 0.01-0.5M pH8.4,
NaCl 10-600mM,
Tween 20 0.01% -1%重量体积比,
PEG6000 0.01-5%重量体积比,
NaN₃ 0.01% -1%重量体积比,
试剂 R2 :甘氨酸缓冲液 0.01-0.5M pH8.4,
致敏胶乳 0.01% -1%重量体积比,
BSA 0.01% -2%重量体积比,
NaN₃ 0.01% -1%重量体积比,

其中所述致敏胶乳为羧基修饰的聚苯乙烯胶乳先利用羧基结合 BSA,然后利用戊二醛将基因重组链球菌溶血素 O 抗原结合在 BSA 上获得。

13. 一种胶乳增强免疫比浊试剂盒,其特征在于其使用了如权利要求 7 所述的胶乳或者如权利要求 8 至 12 任一项所述的胶乳增强免疫比浊试剂。

胶乳致敏的方法及试剂

技术领域

[0001] 本发明涉及胶乳致敏的方法及试剂。更特别地,本发明涉及先通过化学键将胶乳与无关蛋白结合,再使用戊二醛将抗原或抗体交联在无关蛋白上,从而使胶乳致敏的方法。本发明还涉及利用该方法获得致敏的胶乳及使用了该致敏的胶乳的胶乳增强免疫比浊试剂。

背景技术

[0002] 1956年 Singer 和 plotz 开始使用直径为微米级的粒子,通过附着在胶乳上的抗原或抗体对血清中的抗体或抗原进行定性的玻片凝集法检测。在此基础上发展起来的胶乳增强免疫比浊法提高了普通免疫比浊法的灵敏度,而且操作简单,可以使用普通生化分析仪测定,是一种新的临床诊断方法。

[0003] 在胶乳增强免疫比浊试剂中,胶乳的致敏,也就是将抗原或抗体与胶乳相结合,这一步是制备试剂中最重要的步骤。胶乳的致敏,通常有物理吸附法和化学交联法。物理吸附法是靠蛋白质分子结构上的疏水基团与胶乳表面的疏水基团间的相互作用,将抗原或抗体吸附到胶乳表面。化学交联法是通过抗原或抗体与胶乳表面的化学基团反应,将抗原或抗体交联在胶乳上。化学交联法由于特异性好、易保存、分散性良好等特点,现已广泛应用于体外诊断试剂中。但是化学交联法会由于化学反应造成抗原或抗体在交联过程中活性丧失,影响试剂的灵敏度。化学交联法通常采取的步骤是,先将抗原或抗体通过化学键直接交联在胶乳上使其致敏,再加入 BSA、聚乙二醇等蛋白质或多聚体封闭胶乳表面未结合的位点,整个反应一般在两天及两天以上,时间较长。而且,由于这个反应的条件较强烈且反应时间较长,抗原或抗体的活性损失较大,导致反应的灵敏度也受到较大的影响。所以,需要一种反应更温和、更快速的胶乳致敏的方法和试剂。

发明内容

[0004] 因此,本发明的技术目的在于寻找一种反应更温和、更快速的胶乳致敏的方法和试剂。

[0005] 因此,本发明的第一方面涉及一种胶乳致敏的方法,其特征在于先通过化学键将胶乳与无关蛋白结合,再使用戊二醛将抗原或抗体交联在无关蛋白上,从而使胶乳致敏,其中所述无关蛋白是指水溶性的且不与所述抗原或抗体发生免疫反应的蛋白,优选地,所述无关蛋白选自 BSA 或血蓝蛋白,优选地,所述胶乳为聚苯乙烯胶乳。

[0006] 优选地,所述化学键通过聚苯乙烯胶乳表面的化学基团与无关蛋白的相应化学基团形成,优选地,化学基团选自羧基、磺酸基或羟基。

[0007] 优选地,所述抗原选自天然抗原、基因重组抗原、化学合成抗原或多肽的一种或多种。

[0008] 优选地,所述抗体选自多克隆抗体或单克隆抗体中的一种或多种。

[0009] 优选地,所述聚苯乙烯胶乳的粒径为 50-200nm。

[0010] 优选地,胶乳在反应体系中的浓度无特别限制,优选 0.1 ~ 2% 重量体积比,更优选 0.5 ~ 1% 重量体积比;和/或,无关蛋白在反应体系中的浓度无特别限制,优选 0.05 ~ 2mg/ml,更优选 0.1 ~ 0.3mg/ml;和/或,反应条件优选在 4 ~ 40℃,更优选在 25 ~ 37℃ 反应 0.5 ~ 1hr;和/或,反应在有缓冲作用的缓冲液中进行的,所述缓冲液选自 MES 缓冲液、Tris 缓冲液、磷酸缓冲液,优选 MES 缓冲液,pH5.5-7;和/或,结合有无关蛋白的胶乳浓度无特别限制,优选 0.1 ~ 2% 重量体积比,更优选 0.2 ~ 1% 重量体积比;和/或,抗原或抗体在反应体系中的浓度无特别限制,优选 0.05 ~ 2mg/ml,更优选 0.1 ~ 0.2mg/ml;和/或,戊二醛在反应体系中浓度优选 0.001% ~ 0.02% 重量体积比,更优选 0.001 ~ 0.008% 重量体积比;和/或,反应条件优选在 4 ~ 40℃,更优选在 25 ~ 37℃ 反应 0.5 ~ 3hr。

[0011] 本发明的第二方面涉及一种胶乳,其中,所述胶乳使用如上所述的胶乳致敏的方法致敏,优选地,所述胶乳为羧基修饰的聚苯乙烯胶乳先利用羧基结合 BSA,然后利用戊二醛将基因重组链球菌溶血素 O 抗原结合在 BSA 上获得的胶乳。

[0012] 本发明的第三方面涉及一种胶乳增强免疫比浊试剂,其中,所述胶乳使用根据上述胶乳致敏的方法致敏。

[0013] 优选地,所述胶乳增强免疫比浊试剂为抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂,其包含试剂 R1、试剂 R2,试剂 R1 为含有盐离子的缓冲液,试剂 R2 为交联了链球菌溶血素 O 抗原的致敏胶乳溶液,优选地,所述链球菌溶血素 O 抗原为基因重组链球菌溶血素 O 抗原,优选地,所述胶乳为羧基修饰的聚苯乙烯胶乳。

[0014] 优选地,所述盐离子为一价金属离子和二价金属离子中的一种或几种,优选地,所述盐离子选自钠离子和/或镁离子,更优选地,所述盐离子为 Na 离子;优选地,所述盐离子在反应体系中的浓度优选 10 ~ 300mM,更优选 100 ~ 200mM;和/或,胶乳在反应体系中的浓度在 0.08 ~ 0.2% 重量体积比。

[0015] 优选地,所述试剂 R1、R2 的缓冲液选自甘氨酸缓冲液、Tris 缓冲液、HEPES 缓冲液或磷酸缓冲液,优选地,所述试剂 R1、R2 的缓冲液是甘氨酸缓冲液,优选地,所述试剂 R1、R2 的缓冲液的 pH 在 6.5 ~ 9 之间,更优选地,所述试剂 R1、R2 的缓冲液的 pH 在 8 ~ 8.6 之间;和/或,所述试剂 R1、R2 含有表面活性剂、防腐剂、多聚体,优选地,所述表面活性剂为非离子表面活性剂,更优选地,所述非离子表面活性剂选自 TWEEN 系列、SPAN 系列、TRITON 系列,优选地,所述防腐剂选自山梨酸钾、苯甲酸钠、叠氮钠、亚硝酸钠、PC300 中的一种或几种,优选地,所述多聚体选自 PEG 系列、PVP 系列。

[0016] 优选地,所述抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂的成分如下:

[0017] 试剂 R1:甘氨酸缓冲液浓度为 0.01-0.5M pH8.4,优选 0.05-0.2MpH8.4,NaCl 浓度为 10-600mM,优选 100-500mM,更优选 200-400mM,Tween 20 浓度为 0.01% -1% 重量体积比,优选 0.02-0.5% 重量体积比,更优选 0.05% -0.2% 重量体积比,PEG6000 浓度为 0.01-5% 重量体积比,优选 0.1-3.5% 重量体积比,更优选 0.5-3% 重量体积比,NaN₃ 浓度为 0.01% -1% 重量体积比,优选 0.02% -0.5% 重量体积比,更优选 0.05% -0.2% 重量体积比;

[0018] 试剂 R2:甘氨酸缓冲液浓度为 0.01-0.5M pH8.4,优选 0.05-0.2MpH8.4,致敏胶乳浓度为 0.01% -1% 重量体积比,优选 0.2% -0.5% 重量体积比,更优选 0.1% -0.3% 重量体积比,BSA 浓度为 0.01% -2% 重量体积比,优选 0.1% -1% 重量体积比,更优选

0.2% -0.6% 重量体积比, NaN_3 浓度为 0.01% -1% 重量体积比, 优选 0.02% -0.5% 重量体积比, 更优选 0.05% -0.2% 重量体积比。

[0019] 其中所述致敏胶乳为羧基修饰的聚苯乙烯胶乳先利用羧基结合 BSA, 然后利用戊二醛将基因重组链球菌溶血素 O 抗原结合在 BSA 上获得。

[0020] 最优选地, 所述抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂的成分如下:

[0021] 试剂 R1 : 甘氨酸缓冲液 0.1M pH8.4,

[0022] NaCl 300mM,

[0023] Tween 200.1% 重量体积比,

[0024] NaN_3 0.1% 重量体积比,

[0025] 试剂 R2 : 甘氨酸缓冲液 0.1M pH8.4,

[0026] 致敏胶乳 0.17% 重量体积比,

[0027] BSA 0.5% 重量体积比,

[0028] NaN_3 0.1% 重量体积比,

[0029] 其中所述致敏胶乳为羧基修饰的聚苯乙烯胶乳先利用羧基结合 BSA, 然后利用戊二醛将基因重组链球菌溶血素 O 抗原结合在 BSA 上获得。

[0030] 本发明的第四方面涉及一种胶乳增强免疫比浊试剂盒, 其中, 所述试剂盒使用了如本发明第二方面所述的胶乳或者如本发明第三方面所述的胶乳增强免疫比浊试剂。

[0031] 换言之, 本发明提供了一种胶乳致敏的方法, 其特征在于先通过化学键将胶乳与无关蛋白结合, 再使用戊二醛将抗原或抗体交联在无关蛋白上, 从而使胶乳致敏。这样, 由于采取了先结合胶乳表面的化学位点, 再交联抗原或抗体, 使胶乳致敏, 因此, 一般几个小时就能完成反应, 省掉了传统方法中耗时较长的封闭步骤, 减少了制备时间, 比传统方法节省时间。通过采用戊二醛法交联, 由于戊二醛是一种温和的蛋白交联剂, 因此在反应中能保持抗原抗体的免疫活性。同时, 胶乳和抗原或抗体之间多了无关蛋白的连接, 相当于胶乳表面多了一个手臂的连接, 增加了抗原或抗体的空间发散度, 减少了空间位阻, 使抗原抗体反应更加迅速, 提高了灵敏度。

[0032] 胶乳是指表面有化学基团修饰的聚苯乙烯胶乳, 化学基团可以是羧基、羟基、磺酸基等, 优选的胶乳是羧基修饰的聚苯乙烯胶乳, 优选的粒径为 50-200nm。

[0033] 本发明所使用的无关蛋白无特别限制, 满足两个条件即可, 一是水溶性蛋白, 二是不与交联的抗原抗体发生免疫反应。优选的无关蛋白是 BSA、血蓝蛋白等。

[0034] 将胶乳与无关蛋白使用化学键结合后, 对胶乳进行离心、清洗、重悬、分散一系列步骤, 得到结合有无关蛋白的胶乳。清洗可使用 MES 缓冲液、Tris 缓冲液、磷酸缓冲液等, 但不限于此。

[0035] 将结合有无关蛋白的胶乳与抗原或抗体使用戊二醛结合后, 对胶乳进行离心、清洗、重悬、分散一系列步骤, 得到致敏胶乳。清洗可使用 MES 缓冲液、Tris 缓冲液、磷酸缓冲液等, 但不限于此。重悬液可优选甘氨酸缓冲液、Tris 缓冲液等, 但不限于此。

[0036] 本发明还提供了使用本方法制备的胶乳增强免疫比浊试剂, 特别是使用本方法制备的抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂。

[0037] 本发明所述的抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂的试剂 R1 中, 所述盐离子可以为二价金属离子和一价金属离子中的一种或几种, 优选钠离子和镁离子, 更优选 Na 离

子,其在反应体系中的浓度优选 10 ~ 300mM,更优选 100 ~ 200mM。在试剂 R2 中,交联了链球菌溶血素 O 抗原的致敏胶乳在反应体系中的浓度在 0.08 ~ 0.2% 重量体积比。

[0038] 在本发明中,试剂 R1、R2 的缓冲液可优选甘氨酸缓冲液,Tris 缓冲液、HEPES 缓冲液、磷酸缓冲液等,更优选甘氨酸缓冲液,pH 在 6.5 ~ 9 之间,更优选 8 ~ 8.6 之间。在试剂 R1、R2 中,根据需要还可以含有表面活性剂、防腐剂、多聚体等。

[0039] 本发明的胶乳和胶乳增强免疫比浊试剂可以用于制备胶乳增强免疫比浊试剂盒。

[0040] 本发明所述的胶乳致敏的方法相对于现有技术的胶乳致敏方法节省时间,检测灵敏度提高,增强了胶乳增强免疫比浊法的临床应用价值。

附图说明

[0041] 图 1:分别采用本发明试剂和市售试剂 A,采用奥林巴斯 AU400 全自动生化分析仪对 50 份新鲜人血清(包含正常和异常样本),按各自参数进行测定,对测定值进行相关分析。其中 X 轴表示的是本发明试剂的测定值;Y 轴表示的是 A 试剂的测定值,相关系数 $R^2 = 0.9988$,回归方程为 $y = 0.981x + 5.864$ 。

具体实施方式

[0042] 下面将通过下述非限制性实施例进一步说明本发明,本领域技术人员公知,在不背离本发明精神的情况下,可以对本发明做出许多修改,这样的修改也落入本发明的范围。

[0043] 下述实验方法如无特别说明,均为常规方法,所使用的实验材料如无特别说明,均可容易地从商业公司获取。

[0044] 实施例

[0045] 实施例 1:胶乳与无关蛋白的结合

[0046] 原料:

[0047] 羧基修饰的聚苯乙烯胶乳,粒径 124nm,浓度 10% (重量体积比),表面羧基含量为 $100 \mu\text{mol/g}$ 。

[0048] EDAC(分析纯, sigma)溶于双蒸水中,配制成 5mg/ml 溶液,使用前半小时配制。

[0049] 用 10mM MES, pH6.1 缓冲液将胶乳溶液稀释为 0.5% (重量体积比),再加入 BSA 溶液,使 BSA 在体系中的浓度达到 200ug/ml,最后加入 5mg/ml 的 EDAC 溶液,使 EDAC 在体系中浓度达到 75ug/ml,使反应开始。使用恒温水浴锅,保持反应温度 37℃,反应时间 3hr。反应结束后,离心 (12000rpm, 30min),再加入起始同量的 0.1M PBS, pH7.4 缓冲液,冰浴超声,使胶乳分散,再次离心,将胶乳分散于 10mM Tris, pH 8.4 (25℃) 缓冲液中,胶乳浓度为 0.5% (重量体积比)。

[0050] 实施例 2:致敏胶乳的制备

[0051] 向实施例 1 中的结合有无关蛋白的胶乳溶液中加入链球菌溶血素 O 抗原。使用的链球菌溶血素 O 抗原为基因重组产品。加入的抗原在体系中的浓度为 100ug/ml。再加入 2% 戊二醛水溶液使反应开始,添加的比例为 0.002%。反应温度 25℃,反应时间 3hr,反应结束后,离心 (12000rpm, 30min),再加入起始同量的 0.1M 甘氨酸, pH8.4 缓冲液,冰浴超声,使胶乳分散,再次离心,将胶乳分散于含有 0.5% (重量体积比) BSA 的 0.1M 甘氨酸, pH8.4 缓冲液中保存。

- [0052] 实施例 3 :抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂的制备
- [0053] 抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂的具体组成如下 :
- [0054] 试剂 R1 :甘氨酸缓冲液 0.1M pH8.4
- [0055] NaCl 300mM
- [0056] Tween 20 0.1% (重量体积比)
- [0057] PEG6000 1% (重量体积比)
- [0058] NaN₃ 0.1% (重量体积比)
- [0059] 试剂 R2 :甘氨酸缓冲液 0.1M pH8.4
- [0060] 致敏胶乳 (实施例 2 中制备)0.17% (重量体积比)
- [0061] BSA 0.5% (重量体积比)
- [0062] NaN₃ 0.1% (重量体积比)。
- [0063] 对照为市售的进口试剂 A,其信息如下 :
- [0064] 产品名称 :抗链球菌 O 检测试剂盒 (免疫比浊法)
- [0065] 原理 :样本中的 ASO 与超敏化的胶乳颗粒试剂反应,形成免疫复合物,在波长 570nm 处检测其浊度的变化,其变化程度与样本中的 ASO 含量呈正比。
- [0066] 试剂 R1' :甘氨酸缓冲液
- [0067] 试剂 R2' :含有 0.12% (重量体积比)致敏胶乳的缓冲液。
- [0068] 实施例 4 :试剂测定方法
- [0069] 分析方法 :两点终点法,即试剂 R1 :试剂 R2 用量分别为 100ul 和 170ul,样本用量 3ul。100ul 试剂 R1 加入 3ul 样本,于 37°C 5min 后加入 170ul 试剂 R2,即开始读数,反应 5min 后读取另一点,检测波长为 540nm。
- [0070] 使用奥林巴斯 AU400 自动生化分析仪。
- [0071] 采用单点定标方法,标准液采用市售试剂 A 配套标准液,浓度为 500IU/ml。
- [0072] 市售试剂 A 按说明书操作。
- [0073] 1 相关性试验
- [0074] 检测 50 份新鲜人血清 (包含正常和异常样本),按各自参数进行测定,对测定值进行相关分析 (结果见图 1, X, Y 轴均为测定值,单位 IU/ml)。相关系数 $R^2 = 0.9988$, 回归方程为 $y = 0.981x + 5.864$, 结果表明本试剂与市售试剂相关性良好,具有很好的特异性和准确性。
- [0075] 2 灵敏度试验
- [0076] 表 1 显示本发明试剂和市售试剂 A 的灵敏度结果,具体操作方法一样。
- [0077] 结果显示本发明试剂灵敏度优于市售试剂 A。
- [0078] 表 1 :本发明试剂和市售试剂 A 灵敏度试验结果
- [0079]

次数	本发明试剂		市售试剂 A	
	水	低值样本 (理论值 50IU/ml)	水	低值样本(理 论值 50IU/ml)
1	10	273	85	320
2	13	269	135	382
3	15	270	142	379
4	12	283	90	312
5	15	275	135	405
6	12	278	77	344
7	15	273	89	318
8	12	273	130	333
9	9	288	124	372
10	11	275	59	310
11	12	273	103	345
12	11	273	89	365
13	13	278	104	350
14	12	285	112	336
15	16	280	78	340
16	13	273	90	311
17	12	277	138	368
18	10	278	125	365
19	15	268	112	346
20	12	275	86	321
均值	12.5	275.85	105.15	346.1
SD	1.90567	1.73566	24.16887	26.98518

[0080]

[0081] 本试剂最低检测限 (LLD) = $12.5 + 3 * 1.90567 = 18.21701$

[0082] 灵敏度 : $50 * 18.21701 / 275.85 = 3.31\text{IU/ml}$

[0083] 对照试剂最低检测限 (LLD) = $105.15 + 3 * 24.16887 = 177.65661$

[0084] 灵敏度 : $50 * 177.65661 / 346.1 = 25.71\text{IU/ml}$ 。

[0085] 实施例 5 : 抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂的制备 (2)

[0086] 抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂的具体组成如下 :

[0087] 试剂 R1 :甘氨酸缓冲液 0.1M pH8.4

[0088] NaCl 200mM

[0089] Tween 20 0.05% (重量体积比)

[0090] PEG6000 0.5% (重量体积比)

[0091] NaN₃ 0.1% (重量体积比),

[0092] 试剂 R2 :甘氨酸缓冲液 0.1M pH8.4

[0093] 致敏胶乳 (实施例 2 中制备)0.1% (重量体积比)

[0094] BSA 0.5% (重量体积比)

[0095] NaN₃ 0.1% (重量体积比)。

[0096] 该试剂的使用方法与实施例 4 中所述的方法相同,利用该试剂和市售试剂 A 测量 50 份新鲜人血清后,结果表明其相关性数据和灵敏度数据与实施例 3 的所述试剂的数据间的差异在正常的误差范围之内(数据略)。

[0097] 实施例 6 :抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂的制备(3)

[0098] 抗链球菌溶血素 O 胶乳增强免疫比浊试剂的具体组成如下:

[0099] 试剂 R1 :甘氨酸缓冲液 0.1M pH8.4

[0100] NaCl 400mM

[0101] Tween 20 0.2% (重量体积比)

[0102] PEG6000 3% (重量体积比)

[0103] NaN₃ 0.1% (重量体积比)

[0104] 试剂 R2 :甘氨酸缓冲液 0.1M pH8.4

[0105] 致敏胶乳 (实施例 2 中制备)0.3% (重量体积比)

[0106] BSA 0.5% (重量体积比)

[0107] NaN₃ 0.1% (重量体积比)。

[0108] 该试剂的使用方法与实施例 4 中所述的方法相同,利用该试剂和市售试剂 A 测量 50 份新鲜人血清后,结果表明其相关性数据和灵敏度数据与实施例 3 的所述试剂的数据间的差异在正常的误差范围之内(数据略)。

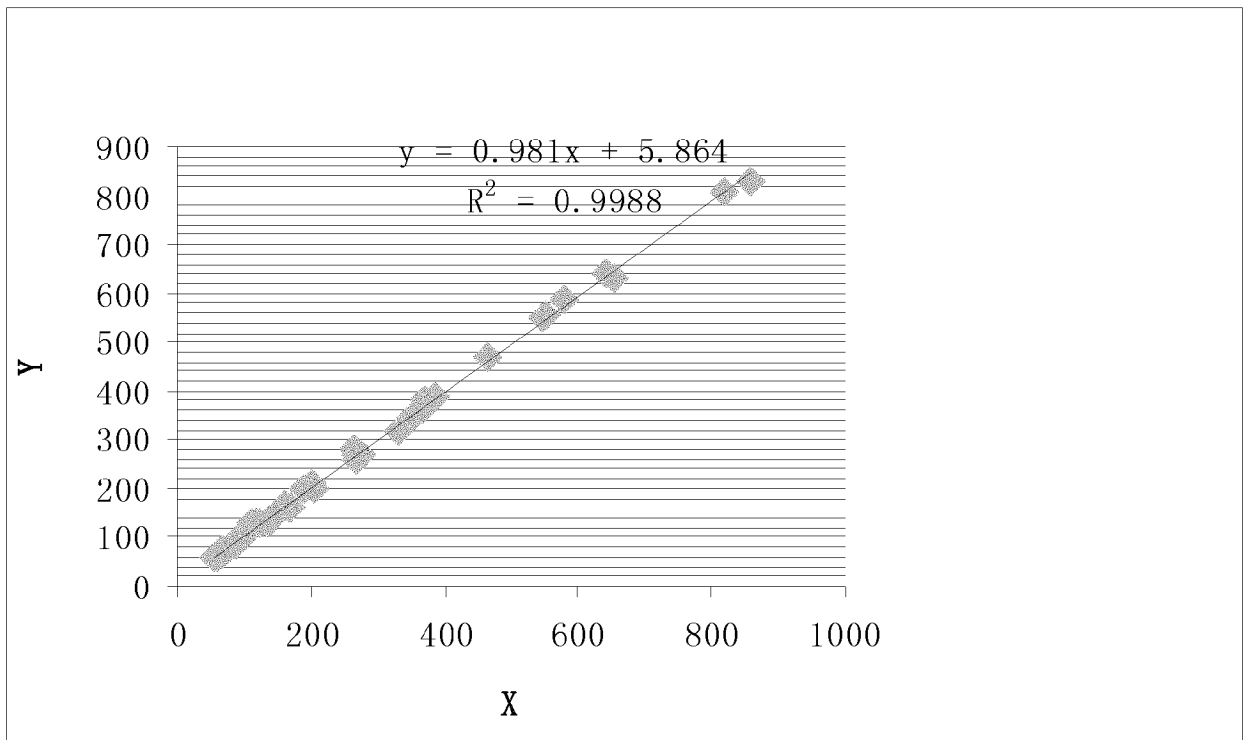


图 1

专利名称(译)	胶乳致敏的方法及试剂		
公开(公告)号	CN102161716A	公开(公告)日	2011-08-24
申请号	CN201010615283.2	申请日	2010-12-30
[标]申请(专利权)人(译)	北京九强生物技术股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京九强生物技术股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京九强生物技术股份有限公司		
[标]发明人	胥敏 刘希 高爱民		
发明人	胥敏 刘希 高爱民		
IPC分类号	C08F12/08 C08F8/30 C08G81/02 C08H1/00 G01N33/53		
代理人(译)	程伟		
其他公开文献	CN102161716B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及胶乳致敏的方法及试剂。具体而言，本发明的胶乳致敏的方法为先通过化学键将胶乳与无关蛋白结合，再使用戊二醛将抗原或抗体交联在无关蛋白上，从而使胶乳致敏。本发明提供了使用本方法制备的抗链球菌溶血素O胶乳增强免疫比浊试剂。使用本发明的方法可以节省试剂的制备时间，同时提高试剂的灵敏度。

