

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102692408 A

(43) 申请公布日 2012. 09. 26

(21) 申请号 201210125220. 8

(22) 申请日 2012. 04. 26

(71) 申请人 北京北方生物技术研究所
地址 100076 北京市丰台区潘家庙甲 20 号

(72) 发明人 白云鹏

(51) Int. Cl.
G01N 21/76 (2006. 01)
G01N 33/532 (2006. 01)

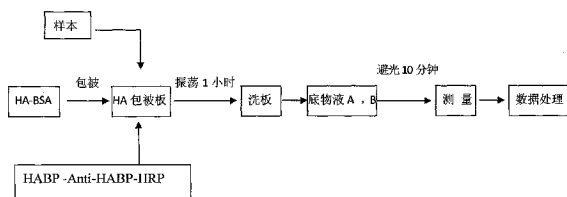
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 1 页

(54) 发明名称

透明质酸一步法化学发光定量检测试剂盒

(57) 摘要

本发明涉及一种一步法进行人血清、体液或组织匀浆中透明质酸含量检测的化学发光法试剂盒,属免疫分析医学范畴。其采用固相包被及间接标记酶技术,从根本上解决了透明质酸试剂盒不能一步法检测的难题,可以让操作更方便,让检测更准确,让试剂更稳定。本发明试剂盒包括有校准品;包被板;酶结合物和化学发光底物液 A 和 B。试剂盒中 HA 校准品和酶结合物的加样量均为 50 μ l,一步法,反应时间 1 小时。通过严谨的方法学鉴定,确定了科学合理的正常值范围,并对临床测值结果与放免法试剂盒进行统计学比较,表明试剂盒具备灵敏度高,测值准确,重复性好,试剂稳定等诸多技术优点,值得市场的大力推广和应用。



1. 一种一步法检测透明质酸 (HA) 的化学发光试剂盒,其特征在於试剂盒包括:1)HA 校准品 2)HA 包被板 3)HA 酶结合物 4) 化学发光底物液 A 和化学发光底物液 B。

2. 如权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在於所述的 HA 包被板上包被有与牛血清白蛋白 (BSA) 偶联的 HA (HA-BSA)。

3. 如权利要求 1 或 2 所述的试剂盒,其特征在於所述的 HA-BSA 按照如下方法制备:准确称取 5mg HA 抗原,溶解于 2ml 0.1mol/L pH 5.6 磷酸盐缓冲液 (PB) 加 10mg 牛血清白蛋白,溶解后加 5mg 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺 (EDC) 4℃ 反应 17-20 小时,装入透析袋于 1000ml 0.01mol/L pH7.4PB 中透析,换液 4 次,取出冻存于 -15℃ 以下备用。

4. 如权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在於所述的 HA 酶结合物是由透明质酸结合蛋白 (HABP) 和辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的 HABP 抗体分别按体积比 1 : 2000 和 1 : 6500 稀释到酶稀释液中 (含 50mmol/L PB, 0.25% BSA, 10% 丙三醇),经过 4℃ 20 小时二者充分反应后配制而成。

5. 如权利要求 4 所述的试剂盒,其特征在於其中 HABP 的制备方法如下:取新鲜牛鼻软骨,洗净后切成小块,加入 4mol/L 盐酸胍,制成均浆,4℃ 提取 30 小时,抽提液 13000g 离心 1 小时,上清液对水透析,冷冻干燥后即得 HABP 粗品, HABP 粗品 1.6g,溶于 25ml 0.1mol/L Tris-HCl (pH 7.3) 中,加入 5mg 胰蛋白酶,于 37℃ 温育 2 小时,加入 1mg 大豆胰蛋白酶抑制剂,在上述 HABP 粗品酶解液中,加入 38g 盐酸胍,用 0.5mol/L 醋酸-醋酸钠缓冲液补足体积至 50ml,与亲和层析凝胶混合,置于透析袋中,对蒸馏水透析,4℃ 过夜,透析后将凝胶装柱,依次用 1mol/L 和 3mol/L 的氯化钠 (NaCl) 梯度洗脱未吸附物及杂蛋白,然后用 4mol/L 盐酸胍洗脱,分步收集洗脱液,各组份分别取少量与碘标记 HA (¹²⁵I-HA) 反应,合并与 ¹²⁵I-HA 有结合的组份,对水透析后,用 PEG 20000 进行浓缩成 3mg/ml,冻存于 -15℃ 以下保存。

6. 如权利要求 4 或 5 所述的试剂盒,其特征在於其中 HABP 抗体的制备方法如下:采用常规免疫法将 HABP 按照 0.5mg/kg 的免疫剂量融合完全佐剂多点注射到大耳白实验用兔子的背部皮下,间隔 15 天后相同方法、相同免疫剂量注射 HABP 融合的不完全佐剂,共免疫 5 次,颈动脉取血,分离出血清,测定血清滴度,硫酸铵 2 次分级沉淀得到兔 IgG,透析于 2000ml 50mmol/L pH7.4PB 缓冲液中过夜,透析 4 次后取出,冻存于 -15℃ 以下备用。

7. 如权利要求 4,5 或 6 所述的试剂盒,其特征在於其中酶标记 HABP 抗体的制备方法如下:采用改良高碘酸钠氧化法将 HABP 抗体与辣根过氧化物酶 (HRP) 联结:称取 5mg HRP 溶解于 1ml 蒸馏水中,加入 0.2ml 新配的 0.1mol/L 高碘酸钠 (NaIO₄) 溶液,室温下避光搅拌 20 分钟。将上述溶液装入透析袋中,对 1mmol/L pH4.4 的醋酸钠缓冲液透析,4℃ 过夜。加 20 μl 0.2mol/L 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 HABP 抗体在 1ml 0.01M 碳酸盐缓冲液中,室温避光轻轻搅拌 2 小时,加 0.1ml 新配的 4mg/ml 硼氢化钠 (NaBH₄) 液,混匀,再置 4℃ 2 小时,将上述液装入透析袋中,对 0.15mol/L pH7.4PB 透析,4℃ 过夜。

8. 如权利要求 1 所述的试剂盒,其特征在於所述的化学发光底物液 A 的制备方法为:6mmol/L 过氧化氢,50mmol/L pH7.1Tris-HCl 缓冲液;化学发光底物液 B 的制备方法为:4mmol/L Luminol,1.2mmol/L p-iodophenol,50mmol/L pH8.6Tris-HCl 缓冲液。

透明质酸一步法化学发光定量检测试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及一种一步法进行人血清、体液或组织匀浆中透明质酸 (Hyaluronic Acid, 简称 HA) 含量检测的化学发光试剂盒。属于免疫分析医学范畴。

背景技术

[0002] 近年来的临床医学陆续发现透明质酸含量变化与肿瘤的生长、浸润和扩散密切相关, 尤其发现检测血清 HA 对诊断肿瘤有一定价值, 可作为区分良、恶性肿瘤的一个重要指标。它还有助于肝病的诊断和鉴别诊断、病情判断和预后评估, 还是抗纤维化药物治疗的一个非常重要的动态观察手段。

[0003] 目前, HA 的检测方法主要以放射免疫方法为主, 文献 CN1047391A 公开了一种放射免疫方法检测透明质酸 (H A) 含量的方法。它将碘标记的 HA (^{125}I -HA) 与未知量标本中的 H A 共同竞争加入的透明质酸结合蛋白 (HABP), 再用第一抗体、第二抗体将结合复合物沉淀下来, 测其放射性计数, 通过标准品的浓度 - 计数关系计算出拟合方程, 根据样本放射性计数反推出其中的 HA 含量来。这是一种比较灵敏、准确的透明质酸检测方法。但是上述方法也存在一定的缺陷: 一、加样步骤繁琐。整个实验包括三步加样和离心等过程, 反应的总计时间达到 2 个多小时; 二、试剂盒操作自动化程度低, 试剂盒的有效期也很短。只有 30-45 天; 三、使用 ^{125}I 作为标记物, 对环境产生放射性污染, 对操作人员健康有潜在危害。

[0004] 同样, 在市场上也有一部分 HA 化学放光和酶联检测试剂, 据了解, 它们大多数都是采用三步法反应模式, 免疫反应的时间一般都要 1.5-2 个小时左右, 可以说操作起来都比较繁琐。究其原因在于这些试剂盒都借助了 HA 与 HABP 之间的结合反应, 而 HABP 是一个成分和结构比较复杂的蛋白, 提纯工艺复杂, 纯度也不会太高, 且其与 HA 的结合力没有像抗原和抗体的结合力那么强, 所以, 一、不能用它直接包被, 干扰因素比较多, 造成试剂的重复性差。二、不能用它直接标记, HABP 某些活性基团极易失活, 造成试剂的稳定性差。

[0005] 本发明从根本上解决了透明质酸试剂盒不能一步法检测的难题, 可以让操作更方便, 让检测更准确。其反应原理为: 预先在固相载体 (例如 96 孔微孔板) 上包被 HA, 再依次加入校准品或样品和 HA 酶结合物, 反应过程中固相包被 HA 与样本中的 HA 共同与限量的 HABP-anti-HABP-HRP 进行竞争性结合反应, 经过一定的反应温度和反应时间, 经洗涤除去某些游离成分, 最终在固相板上形成 HABP-anti-HABP-HRP 的复合物。校准品或样本中的 HA 含量越高, 在包被板上形成的复合物就越少。测定时, 先洗去包被板中的液体, 再加入发光底物液 A 和 B, 发光底物液中的化学发光物质经催化剂的催化和氧化剂的氧化, 形成一个激发态的中间体, 当这种激发态中间体回到稳定的基态时, 会释放等能级的光子, 对光子进行测定从而实现定量分析。

[0006] 本试剂盒的突出技术优势具体在于:

[0007] (1) 采用化学发光定量测定方法, 充实了透明质酸的免疫检测手段, 进一步突出了方法学具有的灵敏度高, 特异性强, 精密度好, 线性范围宽, 试剂稳定性好等优点。本发明试剂盒所有组分从缓冲液到原材料再到制备条件均经过了最优化筛选与配比, 大大提高了试

试剂盒的灵敏度,特异性,检测范围和准确性。试剂盒的底物系统使用鲁米诺 (Luminol)/过氧化氢 / 辣根过氧化物酶 (HRP) / 对碘苯酚 (p-iodophenol) 底物发光系统,其在精心配比的 Tris-HCL 缓冲液中延长了底物系统发光持续时间,1 小时内对样品的测定值变化在 10% 以内,大大提高了测定结果的稳定性。

[0008] 同时,本试剂盒适用于开放式化学发光检测仪器,更有利于其进一步推广和应用。

[0009] (2) 液体试剂可直接使用,无需提前配制;可拆卸板条最大满足实验设计要求。

[0010] (3) 一步法反应,操作极为简单,只需向微孔中连续加入校准品或样本及 HA 酶结合物,反应 1 小时即可。

[0011] (4) 间接法形成酶结合物,从根本上解决辣根过氧化物酶直接标记 HABP 存在的不稳定、易失活的问题,试剂盒的稳定性大大改善,有效期可以达到 6 个月,而且测定结果的重复性也明显提高。

[0012] (5) 采用 $\text{LogX} - (1 - B/B_0)$ 拟合方法进行数据处理,避免个别低值血样发光值偏出标准曲线范围,无法计算的弊病。

[0013] 本试剂盒在具备了灵敏度高,测值准确,重复性好,试剂稳定,有效期长,等技术优势的基础上,科学性、创新性地解决了 HA 酶促法(化学发光和酶联法)试剂普遍存在的技术难题,大大简化了操作步骤,令其独特品质在国内的 HA 非放试剂中名列前茅。

发明内容

[0014] 一种一步法进行人血清、体液或组织匀浆中透明质酸 (Hyaluronic Acid, 简称 HA) 含量检测的化学发光试剂盒。

[0015] 本发明所提供的检测透明质酸的化学发光试剂盒包括:1) HA 校准品 2) HA 包被板 3) HA 酶结合物 4) 化学发光底物液 A 和化学发光底物液 B。

[0016] 上述本发明的试剂盒中,所述的 HA 校准品内含有经准确定值的 HA 抗原。

[0017] 上述本发明的试剂盒中,所述的 HA 包被板上包被有与牛血清白蛋白 (BSA) 偶联的 HA (HA-BSA)。

[0018] 上述本发明的试剂盒中,所述的用于 HA 包被板的 HA-BSA 其制备方法如下:准确称取 5mg HA 抗原,溶解于 2ml 0.1mol/L pH 5.6 磷酸盐缓冲液 (PB) 加 10mg 牛血清白蛋白,溶解后加 5mg 1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳二亚胺 (EDC) 4°C 反应 17-20 小时,装入透析袋于 1000ml 0.01mol/L pH7.4PB 中透析,换液 4 次,取出冻存于 -15°C 以下备用。

[0019] 上述本发明的试剂盒中,所述的 HA 酶结合物是由透明质酸结合蛋白 (HABP) 和辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的 HABP 抗体分别按体积比 1 : 2000 和 1 : 6500 稀释到酶稀释液中(含 50mmol/L PB, 0.25% BSA, 10% 丙三醇),经过 4°C 20 小时二者充分反应后配制而成。

[0020] 上述本发明的试剂盒中,所述的 HA 酶结合物中 HABP 的制备方法如下:取新鲜牛鼻软骨,洗净后切成小块,加入 4mol/L 盐酸胍,制成均浆,4°C 提取 30 小时,抽提液 13000g 离心 1 小时,上清液对水透析,冷冻干燥后即得 HABP 粗品, HABP 粗品 1.6g,溶于 25ml 0.1mol/L Tris-HCl (pH 7.3) 中,加入 5mg 胰蛋白酶,于 37°C 温育 2 小时,加入 1mg 大豆胰蛋白酶抑制因子,在上述 HABP 粗品酶解液中,加入 38g 盐酸胍,用 0.5mol/L 醋酸-醋酸钠缓冲液补足体积至 50ml,与亲和层析凝胶混合,置于透析袋中,对蒸馏水透析,4°C 过夜,透析后将

凝胶装柱,依次用 1mol/L 和 3mol/L 的氯化钠 (NaCl) 梯度洗脱未吸附物及杂蛋白,然后用 4mol/L 盐酸胍洗脱,分步收集洗脱液,各组份分别取少量与碘标记 HA (^{125}I -HA) 反应,合并与 ^{125}I -HA 有结合的组份,对水透析后,用 PEG20000 进行浓缩成 3mg/ml,冻存于 -15°C 以下保存。

[0021] 上述本发明的试剂盒中,所述的 HA 酶结合物中 HABP 抗体的制备方法如下:采用常规免疫法将 HABP 按照 0.5mg/kg 的免疫剂量融合完全佐剂多点注射到大耳白实验用兔子的背部皮下,间隔 15 天后相同方法、相同免疫剂量注射 HABP 融合的不完全佐剂,共免疫 5 次,颈动脉取血,分离出血清,测定血清滴度,硫酸铵 2 次分级沉淀得到兔 IgG,透析于 2000ml 50mmol/L pH7.4PB 缓冲液中过夜,透析 4 次后取出,冻存于 -15°C 以下备用。

[0022] 上述本发明的试剂盒中,所述的 HA 酶结合物中酶标记 HABP 抗体的制备方法如下:采用改良高碘酸钠氧化法将 HABP 抗体与辣根过氧化物酶 (HRP) 联结:称取 5mg HRP 溶解于 1ml 蒸馏水中,加入 0.2ml 新配的 0.1mol/L 高碘酸钠 (NaIO_4) 溶液,室温下避光搅拌 20 分钟,将上述溶液装入透析袋中,对 1mmol/L pH4.4 的醋酸钠缓冲液透析,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜,加 20 μl 0.2mol/L 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 HABP 抗体在 1ml 0.01M 碳酸盐缓冲液中,室温避光轻轻搅拌 2 小时,加 0.1ml 新配的 4mg/ml 硼氢化钠 (NaBH_4) 液,混匀,再置 4 $^{\circ}\text{C}$ 2 小时,将上述液装入透析袋中,对 0.15mol/L pH7.4PB 透析,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。

[0023] 上述本发明的试剂盒中,所述的化学发光底物液 A 的制备方法为:6mmol/L 过氧化氢,50mmol/L pH7.1Tris-HCl 缓冲液;化学发光底物液 B 的制备方法为:4mmol/L Luminol,1.2mmol/L p-iodophenol,50mmol/L pH8.6Tris-HCl 缓冲液。

[0024] 上述本发明的试剂盒中,所述的数据拟合方法为以校准品的标示浓度的 Log 值为横坐标,以 $(1-B/B_0)$ 值为纵坐标的数学拟合方程。

[0025] 上述本发明的试剂盒中,所述的 HA 校准品和 HA 酶结合物的加样量均为 50 μl ,一步法,反应时间为 1 小时。

[0026] 上述本发明的试剂盒中,所述的与 HA 偶联的 BSA 可以被其它蛋白或多肽替代;微孔板可以被其它适宜包被的材料,如塑料试管、塑料珠等替代;用于标记的辣根过氧化物酶可以被碱性磷酸酶或其它荧光物质、化学发光标记物替代,并用相应的仪器进行检测。

附图说明

[0027] 附图 1 为本发明检测方法的流程图

[0028] 附图 2:本发明与北方所放射免疫试剂盒测值相关性比较图

具体实施方式

[0029] 实施例 1:制备本发明的透明质酸一步法化学发光定量检测试剂盒

[0030] 一、HA 校准品的制备。

[0031] 1、50mmol/L pH7.4 磷酸盐缓冲液 (PB):

[0032] $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 14.5 克

[0033] $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1.48 克

[0034] 溶解于 1000ml 去离子水中,测其 pH 值为 7.4。

[0035] 标准品稀释液中加入 5% 小牛血清。

[0036] 2、将 HA 浓抗原准确稀释成 25, 50, 100, 200, 400, 800ng/ml 几个浓度, S0 为校准品稀释液, 共 7 瓶。

[0037] 二、HA 包被板的制备

[0038] 缓冲液 1 : 包被液

[0039] 50mmol/L pH7. 4PB

[0040] 缓冲液 2 : 封闭液

[0041] 50mmol/L pH7. 4PB

[0042] 10% 蔗糖

[0043] 0. 5% BSA

[0044] 0. 1% 防腐剂。

[0045] 包被板的制备 : 将 HA-BSA 按比例稀释到 50mmol/L pH7. 4PB 包被液, 100 μ l/ 孔加到微孔板中, 2 ~ 8 $^{\circ}$ C 放置过夜, 扣干。加入封闭液 150 μ l/ 孔, 2 ~ 8 $^{\circ}$ C 放置过夜, 弃去封闭液, 扣干, 待其自然干燥后, 用铝箔袋真空密封后备用。

[0046] 三、浓缩洗涤液的制备。

[0047] 配方为 :

[0048] 15% NaCl

[0049] 1% 吐温 (Tween 20)

[0050] 50mmol/L pH7. 4 磷酸盐缓冲液

[0051] 混合均匀, 分别按 20ml/ 瓶分装, 2-8 $^{\circ}$ C 储存。

[0052] 实施例 2 : 本发明的透明质酸一步法化学发光定量检测试剂盒的操作方法。

[0053] 以上实施例 1 制备的透明质酸一步法化学发光定量检测试剂盒的具体操作方法为 :

[0054] a. 向微孔板各孔中加入 50 μ l HA 校准品或待测样本。

[0055] b. 向微孔板各孔中加入 50 μ l HA 酶结合物。

[0056] c. 将微孔板放置振荡器上, 室温振荡反应 60 分钟。

[0057] d. 弃去微孔板内液体, 每孔加入洗涤液, 静置 30 秒钟后吸干或甩干。如此反复洗涤 5 次。结束后在纸上将微孔板扣干。

[0058] e. 每孔各加入 50 μ l (1 滴) 底物液 A 和底物液 B, 加样完毕后将微孔板震荡混合。

[0059] f. 在室温 (14 ~ 28 $^{\circ}$ C) 环境下避光反应 10 分钟后在微孔发光仪上测量各孔发光值。

[0060] 实施例 3 本发明透明质酸一步法化学发光定量检测试剂盒的方法学鉴定按照本领域常规制造及检定规程对实施例 1 中制备的试剂盒进行检定, 结果见

[0061] 表 1。

[0062] 表 1 试剂盒的方法学鉴定结果

[0063]

检验项目	检测标准	检测结果
1. 准确性	平均回收率应在 85.0~115.0%范围内	符合标准
2. 剂量-反应曲线的线性	相关系数应不低于 0.9900	符合标准
3. 灵敏度	不高于 15.0ng/ml	符合标准
4. 精密性	分析内变异系数 (CV) 应不高于 15.00%	符合标准
	分析间变异系数 (CV) 应不高于 20.00%	符合标准
5. 特异性	2000 ng/ml 层粘连蛋白 (LN) 的交叉反应值不高于 25ng/ml	符合标准
	2000 ng/ml 四型胶原 (CIV) 的交叉反应值不高于 25ng/ml	符合标准
	2000 ng/ml III型前胶原氨端肽 (PIIINP) 的交叉反应值不高于 25ng/ml	符合标准
6. 稳定性	37℃放置 3 天测定结果应符合要求	符合标准
6.1 准确性	平均回收率应在 85.0~115.0%范围内	符合标准
6.2 剂量-反应曲线的线性	相关系数应不低于 0.9900	符合标准
6.3 灵敏度	不高于 15.0ng/ml	符合标准
6.4 精密性	分析内变异系数 (CV) 应不高于 15.00%	符合标准
	分析间变异系数 (CV) 应不高于 20.00%	符合标准

[0064]

[0065] 说明本发明试剂盒的准确性,特异性,精密性,灵敏度和稳定性是完全合格的。

[0066] 实施例 4 本发明透明质酸一步法化学发光定量检测试剂盒正常值的确定。

[0067] 正常参考值指正常人(或动物)的某种生理常数,由于个体差异使这些生理常数有一定的波动范围,因此一般采用正常参考值范围的概念。即要保证大多数正常的观察值都在该范围内,习惯上可包括正常人的 80%、90%、95%、99%等,最常用的是 95%。就是说,如果正常百分界限采用 95%,则在正常参考值范围之外尚有 5%。在确定正常值时,首先要保证样本的数量足够大(一般 $n \geq 100$),在数据处理时则可近似用样本均数 \bar{X} 和样本标准差 S 代替总体均数和总体标准差来计算正常值范围。本试剂盒随机取 350 份健康体检人血清,用实施例 1 制备的透明质酸一步法化学发光定量检测试剂盒进行检测,统计求得 350 份样品的平均值 \bar{av} ,标准偏差 SD ,同时以平均值加 2 倍 SD 作为正常值的上限。如下表 2 所示。

[0068] 表 2 试剂盒正常值结果

N=350	平均值	SD 值	2*SD	上限值
正常人	79.21	10.43	20.86	100.0ng/ml

[0070] 结果表明,本发明试剂盒的正常值的上限为小于等于 100.0ng/ml。

[0071] 实施例 5 本发明透明质酸一步法化学发光定量检测试剂盒北方所放射免疫试剂

盒临床检测结果一致性的比较。

[0072] 使用实施例 1 制备的透明质酸一步法化学发光定量检测试剂盒和北京北方生物技术有限公司生产的透明质酸放射免疫分析药盒（批准文号为：国药准字 S20083010）测定 160 例临床样品，其中阳性病例达到 10% 以上。严格按试剂盒说明书操作，对检验的结果进行 t 测验，相关系数 r 分析和四格表统计分析。结果见表 3。

[0073] 表 3 本发明试剂盒与放免试剂盒测值结果一致性比较结果

[0074]

分析项目	类别	对照试剂盒	受试试剂盒
1、t 测验考核	检测方法	放射免疫法	化学发光法
	平均值 X	103.13	83.56
	标准差 S	73.94	69.74
	标准误 S_x	5.846	5.513
	合并标准误 $S_{x_1-x_2}$	7.88	
	t 值	0.534	
	$t_{0.05}$ 值	1.972	
	n	160	
	结论	P>0.05	
2、相关系数 r 分析	回归方程式	北方所试剂=0.946×放免试剂+22.79	
	相关系数 R	R=0.9385	
3、四格表统计	阳性符合率%	90.00%	
	阴性符合率%	100.00%	
	Kappa 值	0.934	

[0075] 综上所述，本发明试剂盒与放免试剂盒的测定结果具有很高的一致性。说明两种方法具有同等的使用价值。

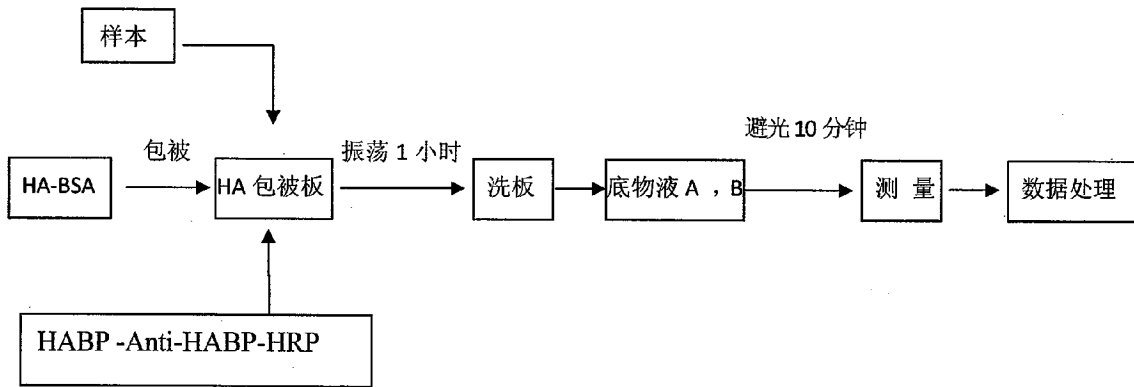


图 1

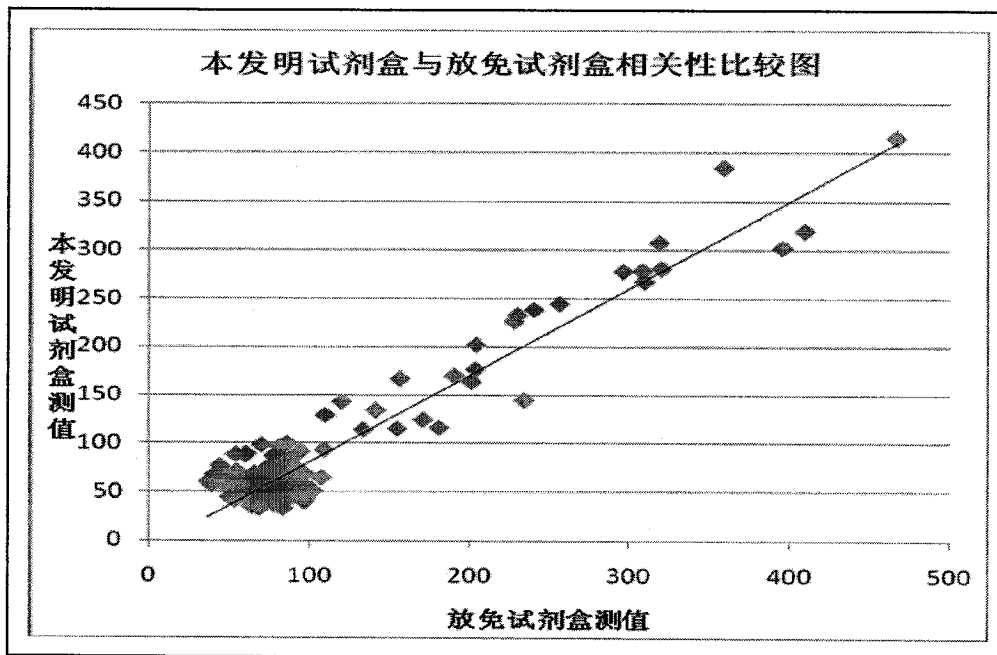


图 2

专利名称(译)	透明质酸一步法化学发光定量检测试剂盒		
公开(公告)号	CN102692408A	公开(公告)日	2012-09-26
申请号	CN201210125220.8	申请日	2012-04-26
[标]申请(专利权)人(译)	北京北方生物技术研究所		
申请(专利权)人(译)	北京北方生物技术研究所		
当前申请(专利权)人(译)	北京北方生物技术研究所		
[标]发明人	白云鹏		
发明人	白云鹏		
IPC分类号	G01N21/76 G01N33/532		
其他公开文献	CN102692408B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种一步法进行人血清、体液或组织匀浆中透明质酸含量检测的化学发光法试剂盒，属免疫分析医学范畴。其采用固相包被及间接标记酶技术，从根本上解决了透明质酸试剂盒不能一步法检测的难题，可以让操作更方便，让检测更准确，让试剂更稳定。本发明试剂盒包括有校准品；包被板；酶结合物和化学发光底物液A和B。试剂盒中HA校准品和酶结合物的加样量均为50 μ l，一步法，反应时间1小时。通过严谨的方法学鉴定，确定了科学合理的正常值范围，并对临床测值结果与放免法试剂盒进行统计学比较，表明试剂盒具备灵敏度高，测值准确，重复性好，试剂稳定等诸多技术优点，值得市场的大力推广和应用。

