



# (12)发明专利



(10)授权公告号 CN 107976537 B

(45)授权公告日 2020.03.24

(21)申请号 201711180821.8

G01N 33/68(2006.01)

(22)申请日 2017.11.23

(56)对比文件

(65)同一申请的已公布的文献号

CN 106124439 A, 2016.11.16, 说明书0007-0015段.

申请公布号 CN 107976537 A

CN 106568978 A, 2017.04.19, 说明书0017-0026段, 实施例8.

(43)申请公布日 2018.05.01

(73)专利权人 中山市创艺生化工程有限公司

CN 104267178 A, 2015.01.07, 全文.

地址 528400 广东省中山市火炬开发区国家健康基地康泰路8号

CN 101498732 A, 2009.08.05, 全文.

CN 104807990 A, 2015.07.29, 说明书0004-0015段, 实施例.

(72)发明人 黄小全 崔海林 李冰 曾晓君  
黄清媚

审查员 刘彦宁

(74)专利代理机构 广州嘉权专利商标事务所有  
限公司 44205

代理人 许飞

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书1页 说明书6页

(54)发明名称

一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂及其制备方法,属于体外诊断领域。所述稳定剂包括下列质量百分比的组分:0.5~5%牛血清白蛋白、0.1~3%丙二醇、0.1~0.3%Brij-35、1~2%乳糖、0.1~0.2%液体生物防腐剂Proclin300和余量水。将本发明的复合稳定剂加入到采用免疫比浊法原理的前白蛋白测定试剂盒中,可以确保试剂盒检测结果的准确性,并且使前白蛋白试剂盒更为稳定,可有效延长试剂盒的保存时间。本发明稳定剂配方中各组分成本低廉,配制简单,具有广阔的市场前景。

1. 一种测定前白蛋白含量的方法, 将稳定剂加入到基于免疫比浊法原理的前白蛋白测定试剂盒试剂中, 进行前白蛋白含量的测定, 其特征在于, 所述稳定剂包括下列组分: 10.00g/L牛血清白蛋白、10.00g/L丙二醇、1.00g/L Brij-35、15.00g/L乳糖、2.00g/L液体生物防腐剂Proclin300和余量水;

其中, 前白蛋白测定试剂盒是基于免疫比浊法原理的前白蛋白测定试剂盒;

所述前白蛋白测定试剂盒包括第一试剂和第二试剂, 所述第一试剂包括: Trisbase 2.20g/L、磷酸二氢钠3.56g/L、氯化钠7.20g/L、PEG-4000 1.00g/L、曲拉通X-100 1.00g/L、叠氮化钠1.00g/L; 所述第二试剂包括: Trisbase2.20g/L、磷酸二氢钠3.56g/L、抗前白蛋白抗体1.50g/L、叠氮化钠1.00g/L;

稳定剂在前白蛋白测定试剂盒中的使用量为4% v/v, 第一试剂和第二试剂均按此使用量添加;

所述方法不用于疾病的诊断。

## 一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于体外诊断领域,具体涉及一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 前白蛋白(Prealbumin,PA),又称转甲状腺素蛋白(transthyretin),由4个相同亚基组成的四聚体,分子量为55.0kD。PA除了主要作为组织修补的材料外,还可视为一种运载蛋白,它结合T4与T3,而对T3亲和力更大。此外,PA与视黄醇结合蛋白形成复合物,具有运载维生素A的作用。PA由肝细胞合成,在电泳分离时,常显示在白蛋白的前方,其半衰期很短,仅约1.9天。因此,测定PA在血浆中的浓度对于了解蛋白质的营养不良、肝功能不全、比之白蛋白和转铁蛋白具有更高的敏感性。

[0003] 目前已知的关于前白蛋白测定方法包括:(一)放射免疫测定法(RIA)、(二)酶联免疫测定法(ELISA)、(三)乳胶凝集试验和免疫比浊法、(四)荧光免疫测定法等。其中免疫比浊法是近年来应用最多,最有价值的一种检测方法。但是目前市面上应用免疫比浊法的前白蛋白测定试剂盒,大多存在稳定性较差,精密度较低,降低了临床使用价值,因此非常有必要研发一种稳定剂,应用在基于免疫比浊法原理的前白蛋白测定试剂盒中,用于临床上测定病人血清中的前白蛋白的含量。

### 发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂及其制备方法;

[0005] 本发明的另一目的在于提供一种基于免疫比浊法原理的前白蛋白测定试剂盒;

[0006] 本发明的再一目的在于提供一种测定前白蛋白含量的方法。

[0007] 本发明所采取的技术方案是:

[0008] 一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂,所述稳定剂包括下列质量百分比的组分:0.5~5%牛血清白蛋白、0.1~3%丙二醇、0.1~0.3%Brij-35、1~2%乳糖、0.1~0.2%液体生物防腐剂Proclin300和余量水。

[0009] 优选的,所述的稳定剂包括下列质量百分比的组分:0.8~3%牛血清白蛋白、0.8~2%丙二醇、0.1~0.15%Brij-35、1.2~1.8%乳糖、0.2%液体生物防腐剂Proclin300和余量水。

[0010] 优选的,所述前白蛋白测定试剂盒是基于免疫比浊法原理的前白蛋白测定试剂盒。

[0011] 优选的,所述前白蛋白测定试剂盒包括第一试剂和第二试剂,所述第一试剂包括:Trisbase2.20g/L、磷酸二氢钠3.56g/L、氯化钠7.20g/L、PEG-4000 1.00g/L、曲拉通X-100 1.00g/L、叠氮化钠1.00g/L;所述第二试剂包括:Trisbase 2.20g/L、磷酸二氢钠3.56g/L、抗前白蛋白抗体1.50g/L、叠氮化钠1.00g/L。

[0012] 优选的,稳定剂在前白蛋白测定试剂盒中的使用量为2%v/v-6%v/v。

[0013] 本发明原理：由于抗原及抗体主要成分是蛋白质，因此要保持抗原及抗体的活性主要就是保持抗原及抗体蛋白的空间结构的稳定。影响抗原、抗体活性的因素主要有溶液的pH值、盐分和糖分的浓度、微生物的作用及空气的氧化等。本发明的稳定剂中采用牛血清白蛋白、丙二醇、Brij-35、乳糖、和液体生物防腐剂Proclin300进行复配。其中，氨基酸是很好的抗氧化剂，各种糖能起到保护抗原、抗体活性的作用，离子螯合剂有多重功效，如抗氧化、防腐，亦可防止一些离子沉积，丙二醇作为润湿剂可以保持抗原抗体表面的滋润使其不至于因失水而失活。一些水溶性杂蛋白或化学惰性的高分子物质的聚合物，如Brij-35，因其分子量大能够在抗原抗体表面形成一种保护膜，使蛋白结构免遭破坏。此外，随着保存时间的延长，抗原、抗体及稳定剂中的氨基酸、糖类有机物易受到空气、水中微生物的腐蚀，因此加入一定的防腐剂。

[0014] 一种前白蛋白测定试剂盒用稳定剂的制备方法，包括下列步骤：按照上述任一项所述称取各组分，在溶解容器中依次加入牛血清白蛋白、丙二醇、乳糖，加适量水搅拌使其完全溶解，再加入乳化剂Brij-35充分乳化，乳化完全后加入液体生物防腐剂Proclin300和足量的水，搅拌使其完全溶解，过滤，分装，制备得到稳定剂。

[0015] 一种基于免疫比浊法原理的前白蛋白测定试剂盒，所述试剂盒包括上述任一项所述的稳定剂。

[0016] 一种测定前白蛋白含量的方法，将上述任一项所述的稳定剂加入到基于免疫比浊法原理的前白蛋白测定试剂盒试剂中，进行前白蛋白含量的测定。

[0017] 本发明的有益效果是：

[0018] 将本发明的复合稳定剂加入到采用免疫比浊法原理的前白蛋白测定试剂盒中，可以确保试剂盒检测结果的准确性，并且使前白蛋白试剂盒更为稳定，可有效延长试剂盒的保存时间。

[0019] 本发明稳定剂配方中各组分成本低廉，配制简单，具有广阔的市场前景。

[0020] 本发明还公开了一种使用本发明稳定剂测定前白蛋白含量的方法。是将稳定剂加入采用免疫比浊法的前白蛋白测定试剂盒试剂中，可以有效检测血清中前白蛋白含量，并且稳定性高、准确度强、灵敏度较好、使用方便、便于大规模推广。

## 具体实施方式

[0021] 下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施例仅是本发明的一部分实施例，而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例，本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其它实施例，都属于本发明保护的范围。

[0022] 本发明以下实施例中涉及的仪器有：日立全自动生化仪1台（日立7080），也可以采用其它品牌的相关仪器。

[0023] 实施例1

[0024] 一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂，包括下列组分：10.00g/L牛血清白蛋白、10.00g/L丙二醇、1.00g/L Brij-35、15.00g/L乳糖、2.00g/L液体生物防腐剂Proclin300和余量水。

[0025] 按照上述任一项所述称取各组分，在溶解容器中依次加入牛血清白蛋白、丙二醇、

乳糖,加适量水搅拌使其完全溶解,再加入乳化剂Brij-35充分乳化,乳化完全后加入液体生物防腐剂Proclin300和足量的水,搅拌使其完全溶解,过滤,分装,制备得到稳定剂。

[0026] 将实施例1的稳定剂应用于前白蛋白测定试剂盒,并从长期稳定性有效期和使用量两方面进行评价。

[0027] (一) 稳定性、准确性、精密度

[0028] 1、试验用稳定剂:配制实施例1所述稳定剂;

[0029] 2、试验用前白蛋白测定试剂盒,由试剂1和试剂2组成:

[0030] 试剂1:Trisbase 2.20g/L、磷酸二氢钠3.56g/L、氯化钠7.20g/L、PEG-4000 1.00g/L、曲拉通X-100 1.00g/L、叠氮化钠1.00g/L。

[0031] 试剂2:Trisbase 2.20g/L、磷酸二氢钠3.56g/L、抗前白蛋白抗体1.50g/L、叠氮化钠1.00g/L。

[0032] 3、试验方法及结果:

[0033] 按实施例1配制稳定剂,按4% (v/v) 的量加入前白蛋白测定试剂盒中(试剂1和试剂2均按此量添加),与不添加复合稳定剂的前白蛋白测定试剂盒进行对比,分别测定样本中前白蛋白含量。

[0034] 以英国朗道特种蛋白质控水平2(质控2)和特种蛋白质控水平3(质控3)为样本,标准品为英国朗道特种蛋白校准品,采用日立7080型全自动生化分析仪进行检测,设一个空白测试、两个样本测试(空白测试以生理盐水代替样本)。样本与试剂1和试剂2的比例为:250 $\mu$ L和50 $\mu$ L,设定的主波长为340nm、副波长为700nm,样本与试剂1混匀后,37 $^{\circ}$ C孵育5min,读取各管吸光度A1,加入试剂2混匀后反应5min,读取吸光度A2,每管的吸光度变化, $A=A_2-A_1$ ,扣除试剂空白后计算出样本、标准品的吸光度变化值,然后计算出样本中前白蛋白含量。质控2中前白蛋白靶值为20.4mg/dL,质控3中前白蛋白的靶值为32.4mg/dL,允许偏差范围在 $\pm 10\%$ 。

[0035] 根据以上测定方法,以同批次同瓶装的质控2、质控3作为检测样本,分别用添加4% (v/v) 稳定剂的前白蛋白测定试剂盒和不添加稳定剂的前白蛋白测定试剂盒进行检测,每7天检测一次,检测周期70天,计算得到测定质控结果的相对偏差(CV)、标准偏差(SD)、相对标准偏差(CV)和有效期天数,其中,相对偏差、相对标准偏差这两项可反映测定结果的稳定性。

[0036] 检测结果见表1。

[0037] 表1 检测结果

[0038]

添加 4% (V/V)复合稳定剂的前白蛋白测定试剂盒				不添加复合稳定剂的前白蛋白测定试剂盒		
	空白	质控 2	质控 3	空白	质控 2	质控 3
第 1 天	0.2	20.3	32.8	0.2	21.1	33.4
第 8 天	0.1	20.6	33.1	0.2	20.7	30.4
第 15 天	0.1	20.2	32.1	0.1	19.8	28.5
第 22 天	0.2	20.2	30.8	0.1	19.4	26.3
第 29 天	0.2	20.3	31.5	0.2	19.5	26.2
第 36 天	0.1	19.6	31.2	0.2	16.6	25.5
第 43 天	0.2	20.1	30.5	0.1	17.2	24.3
第 50 天	0.1	20.3	30.6	0.1	15.6	24.1
第 57 天	0.2	19.1	31.0	0.1	14.5	22.7
第 64 天	0.1	19.3	30.9	0.1	13.4	20.7
第 71 天	0.2	18.8	29.8	0.2	12.2	20.1
平均值	0.2	19.9	31.3	0.1	17.3	25.7
相对偏差		-2.45%	3.39%		-15.19%	-37.96%
SD		0.59	1.00		3.06	4.00
CV/%		2.97%	3.20%		17.72%	15.55%

[0039] 由表1数据可知,未加入稳定剂的前白蛋白测定试剂盒与加入4%稳定剂的试剂盒相比,其检测结果相对偏差、相对标准偏差分别明显偏高。说明没有加入稳定剂的前白蛋白测定试剂盒很不稳定,有效期天数少于30天。加入4%稳定剂的前白蛋白测定试剂盒在整个测试周期中,准确度均在允许偏差范围内,精密度CV小于4%,说明该测定试剂盒在70天内能保持良好的稳定性、准确性、精密度。由此可见,添加了4%稳定剂的前白蛋白测定试剂盒在测试稳定性、准确度、精密度方面表现更为优异,稳定剂对其有明显的稳定效果,可有效延长前白蛋白测定试剂盒的保存期限。

[0040] (二) 使用量比对试验

[0041] 1、试验用稳定剂:配制实施例1所述稳定剂;

[0042] 2、试验用前白蛋白测定试剂盒,由试剂1和试剂2组成:

[0043] 试剂1:Trisbase 2.20g/L、磷酸二氢钠3.56g/L、氯化钠7.20g/L、PEG-4000 1.00g/L、曲拉通X-100 1.00g/L、叠氮化钠1.00g/L。

[0044] 试剂2:Trisbase 2.20g/L、磷酸二氢钠3.56g/L、抗前白蛋白抗体1.50g/L、叠氮化钠1.00g/L。

[0045] 3、试验方法及结果:

[0046] 将稳定剂按照2% (v/v)、4% (v/v)、6% (v/v) 的比例分别加入前白蛋白测定试剂盒中(试剂1和试剂2均按同样量添加),进行样本中前白蛋白含量的测定。按本发明稳定性试验的测定方法测定,计算得到测定质控结果的相对偏差(CV)、标准偏差(SD)、相对标准偏差(CV)和有效期天数,其中,相对偏差、相对标准偏差这两项可反映测定结果的稳定性。

[0047] 检测结果见表2。

[0048] 表2 检测结果

[0049]

	添加 2% (V/V)稳定剂的前白蛋白测定试剂盒			添加 4% (V/V)稳定剂的前白蛋白测定试剂盒			添加 6% (V/V)稳定剂的前白蛋白测定试剂盒		
	空白	质控 2	质控 3	空白	质控 2	质控 3	空白	质控 2	质控 3
第 1 天	0.1	20.3	32.7	0.1	20.3	32.7	0.2	20.3	32.7
第 8 天	0.2	19.5	31.5	0.1	20.5	32.5	0.2	20.5	30.5
第 15 天	0.1	18.1	29.2	0.2	20.1	32.5	0.1	20.1	29.3
第 22 天	0.2	18.4	30.6	0.2	20.4	31.6	0.1	19.7	30.6
第 29 天	0.1	18.2	28.1	0.2	20.2	31.1	0.2	19.2	28.1
第 36 天	0.2	18.1	28.1	0.1	20.1	31.3	0.2	19.1	28.2
第 43 天	0.1	18.4	27.6	0.1	19.7	30.6	0.1	19.4	27.6
第 50 天	0.2	17.2	27.1	0.1	19.2	30.1	0.2	19.2	27.8
第 57 天	0.2	17.4	26.4	0.2	19.4	30.4	0.2	18.4	26.4
第 64 天	0.2	16.6	26.1	0.2	19.6	30.1	0.1	18.6	26.4
第 70 天	0.2	15.4	26.3	0.2	19.4	29.8	0.1	18.4	26.1
平均值	0.2	18.0	28.5	0.2	19.9	31.2	0.2	19.4	28.5
相对偏差		-11.76%	-12.03%		-2.45%	-3.70%		-4.90%	-12.03%
SD		1.33	2.23		0.45	1.06		0.73	2.07
CV/%		7.39%	7.82%		3.39%	2.74%		3.76%	7.26%

[0050] 由表2结果可知:复合稳定剂的三种不同加入量对前白蛋白测定试剂盒的稳定作用均有所增强,不同程度地延长了试剂盒的保存期限和提高了试剂盒的测试稳定性、准确度、精密度。加入2%稳定剂的试剂盒作用最弱,有效期天数约15天;加入6%稳定剂的试剂盒相对偏差、相对标准偏差较加入4%稳定剂的试剂盒低,说明6%稳定剂的加入量不是最优;4%稳定剂添加量的试剂盒的相对偏差、相对标准偏差最小,说明加入4%复合稳定剂的免疫球蛋白M测定试剂盒测试稳定性、准确性、精密度最好,在试剂盒开瓶后64天左右还能保持良好的测试性能。因此,4%可定为稳定剂在前白蛋白测定试剂盒中的最佳使用量。

[0051] 从以上数据和分析结果可以得到,前白蛋白测定试剂盒中加入本发明所述稳定剂后,能延长试剂盒的保存时间,有效提高测试稳定性、准确性、精密度,且最适加入体积比大约为4%。该稳定剂成本低廉,配制简单,值得进一步推广使用。

[0052] 实施例2

[0053] 一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂,包括下列组分:10.00g/L牛血清白蛋白、8.00g/L丙二醇、1.00g/L Brij-35、12.00g/L乳糖、2.00g/L液体生物防腐剂Proclin300和余量水。

[0054] 按照上述任一项所述称取各组分,在溶解容器中依次加入牛血清白蛋白、丙二醇、乳糖,加适量水搅拌使其完全溶解,再加入乳化剂Brij-35充分乳化,乳化完全后加入液体生物防腐剂Proclin300和足量的水,搅拌使其完全溶解,过滤,分装,制备得到稳定剂。

[0055] 实施例3

[0056] 一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂,包括下列组分:15.00g/L牛血清白蛋白、12.00g/L丙二醇、1.50g/L Brij-35、15.00g/L乳糖、2.00g/L液体生物防腐剂Proclin300和余量水。

[0057] 按照上述任一项所述称取各组分,在溶解容器中依次加入牛血清白蛋白、丙二醇、乳糖,加适量水搅拌使其完全溶解,再加入乳化剂Brij-35充分乳化,乳化完全后加入液体生物防腐剂Proclin300和足量的水,搅拌使其完全溶解,过滤,分装,制备得到稳定剂。

[0058] 实施例4

[0059] 一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂,包括下列组分:20.00g/L牛血清白蛋白、15.00g/L丙二醇、1.50g/L Brij-35、18.00g/L乳糖、2.00g/L液体生物防腐剂Proclin300和余量水。

[0060] 按照上述任一项所述称取各组分,在溶解容器中依次加入牛血清白蛋白、丙二醇、乳糖,加适量水搅拌使其完全溶解,再加入乳化剂Brij-35充分乳化,乳化完全后加入液体生物防腐剂Proclin300和足量的水,搅拌使其完全溶解,过滤,分装,制备得到稳定剂。

[0061] 实施例5

[0062] 一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂,包括下列组分:16.00g/L牛血清白蛋白、15.00g/L丙二醇、1.50g/L Brij-35、18.00g/L乳糖、2.00g/L液体生物防腐剂Proclin300和余量水。

[0063] 按照上述任一项所述称取各组分,在溶解容器中依次加入牛血清白蛋白、丙二醇、乳糖,加适量水搅拌使其完全溶解,再加入乳化剂Brij-35充分乳化,乳化完全后加入液体生物防腐剂Proclin300和足量的水,搅拌使其完全溶解,过滤,分装,制备得到稳定剂。

[0064] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。



专利名称(译)	一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN107976537B</a>	公开(公告)日	2020-03-24
申请号	CN201711180821.8	申请日	2017-11-23
[标]申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
[标]发明人	黄小全 崔海林 李冰 曾晓君 黄清媚		
发明人	黄小全 崔海林 李冰 曾晓君 黄清媚		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/5306 G01N33/68		
代理人(译)	许飞		
审查员(译)	刘彦宁		
其他公开文献	CN107976537A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

### 摘要(译)

本发明公开了一种用于前白蛋白测定试剂盒的稳定剂及其制备方法，属于体外诊断领域。所述稳定剂包括下列质量百分比的组分：0.5~5%牛血清白蛋白、0.1~3%丙二醇、0.1~0.3%Brij-35、1~2%乳糖、0.1~0.2%液体生物防腐剂Proclin300和余量水。将本发明的复合稳定剂加入到采用免疫比浊法原理的前白蛋白测定试剂盒中，可以确保试剂盒检测结果的准确性，并且使前白蛋白试剂盒更为稳定，可有效延长试剂盒的保存时间。本发明稳定剂配方中各组分成本低廉，配制简单，具有广阔的市场前景。

	添加 4% (V/V)复合稳定剂的前白蛋白测定试剂盒			不添加复合稳定剂的前白蛋白测定试剂盒		
	空白	质控 2	质控 3	空白	质控 2	质控 3
第 1 天	0.2	20.3	32.8	0.2	21.1	33.4
第 8 天	0.1	20.6	33.1	0.2	20.7	30.4
第 15 天	0.1	20.2	32.1	0.1	19.8	28.5
第 22 天	0.2	20.2	30.8	0.1	19.4	26.3
第 29 天	0.2	20.3	31.5	0.2	19.5	26.2
第 36 天	0.1	19.6	31.2	0.2	16.6	25.5
第 43 天	0.2	20.1	30.5	0.1	17.2	24.3
第 50 天	0.1	20.3	30.6	0.1	15.6	24.1
第 57 天	0.2	19.1	31.0	0.1	14.5	22.7
第 64 天	0.1	19.3	30.9	0.1	13.4	20.7
第 71 天	0.2	18.8	29.8	0.2	12.2	20.1
平均值	0.2	19.9	31.3	0.1	17.3	25.7
相对偏差		-2.45%	3.39%		-15.19%	-37.96%
SD		0.59	1.00		3.06	4.00
CV/%		2.97%	3.20%		17.72%	15.55%