(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109187951 A
(43)申请公布日 2019.01.11

(21)申请号 201811037099.7

(22)申请日 2018.09.06

(71)申请人 河北国高生物科技有限公司
地址 071000 河北省保定市华光路123号1-501

(72)发明人 郭凤学 袁大丰

(74)专利代理机构 石家庄德皓专利代理事务所（普通合伙）13129
代理人 刘磊娜 杨瑞龙

(51)Int.Cl.
G01N 33/535(2006.01)

权利要求书1页 说明书11页

(54)发明名称

一种酶稀释液及其制备方法

(57)摘要

本发明属于体外诊断试剂技术领域，提出了一种酶稀释液，包括以下组分：磷酸氢二钠2.5～3g，磷酸二氢钠0.25～0.35g，4-氨基安替比林0.9～1.1g，扑热息痛0.9～1.1g，氯化钠7.2～8.8g，酪蛋白钠9～11g，胭脂红0.018～0.022g，吐温20 9.5～10.5mL，新生牛血清49～51mL，Proclin300 0.95～1.05mL，曲拉通X-100 9.5～10.5mL，体外诊断试剂用纯化水，加至1000mL，本发明解决了酶联免疫试剂中酶标记抗体稳定性差、免疫活性低的技术问题。

CN 109187951 A

1.一种酶稀释液,其特征在于,包括以下组分:

磷酸氢二钠2.5～3g

磷酸二氢钠0.25～0.35g

4-氨基安替比林0.9～1.1g

扑热息痛0.9～1.1g

氯化钠7.2～8.8g

酪蛋白钠9～11g

胭脂红0.018～0.022g

吐温20 9.5～10.5mL

新生牛血清49～51mL

Proclin300 0.95～1.05mL

曲拉通X-100 9.5～10.5mL

体外诊断试剂用纯化水,加至1000mL。

2.根据权利要求1所述的一种酶稀释液,其特征在于,包括以下组分:

磷酸氢二钠2.85g

磷酸二氢钠0.30g

4-氨基安替比林1.00g

扑热息痛1.00g

氯化钠8.00g

酪蛋白钠10.00g

胭脂红0.02g

吐温20 10mL

新生牛血清50mL

Proclin300 1.0mL

曲拉通X-100 10mL

体外诊断试剂用纯化水,加至1000mL。

3.一种酶稀释液的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1、按照权利要求1～2任意一项所述的一种酶稀释液的配方,取各个组分备用;

S2、向800mL体外诊断试剂用纯化水中依次加入磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氯化钠、4-氨基安替比林、扑热息痛、酪蛋白钠、胭脂红,匀速搅拌10min以上使其充分溶解;

S3、加入Proclin300、新生牛血清、吐温20、曲拉通X-100匀速搅拌10min以上使充分混匀;

S4、用体外诊断试剂用纯化水定容至1000mL,得到酶稀释液,置于2℃～8℃保存备用。

一种酶稀释液及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于体外诊断试剂技术领域，涉及一种酶稀释液及其制备方法。

背景技术

[0002] 酶联免疫吸附测定(ELISA)方法广泛用于测定抗体和抗原，其原理是使抗原或抗体结合到某种固相载体表面，并保持其免疫活性，形成固相的抗原或抗体，即免疫吸附剂。使抗原或抗体与某种酶连接成酶标抗原或抗体，这种酶标抗原或抗体既保留其免疫活性，又保留酶的活性。在测定时，把受检标本(测定其中的抗体或抗原)和酶标记抗体或抗原按不同的步骤与固相载体表面的抗原或抗体起反应，用洗涤的方法使固相载体上形成的抗原抗体复合物与其他物质分开，最后结合在固相载体上的酶量与标本中受检物质的量成一定的比例。通过加入与酶可发生化学反应的物质，酶催化变为有色产物，产物的量与标本中受检物质的量直接相关，故可根据颜色反应的深浅来判断所检物质的含量。

[0003] 酶标记抗体一般只能将其原液在-20℃以及更低温度条件下贮藏时，且不能经过反复冻融，其免疫活性才能在贮藏半年时间内不会大量地降低，才能有效地保证诊断方法结果的可靠性。目前经过酶标记抗体技术的不断发展，酶标记抗体免疫活性得到大大的提升，同时为了确保酶标记抗体免疫活性的稳定，市售的酶标记抗体都是制备成高纯度的浓缩液或冻干粉。市售的酶标记抗体在使用时均需进行几千倍的大体积稀释才能进行使用。但是如果将酶标记抗体放置于4℃条件下或将酶标记抗体进行大体积稀释后，在很短的时间内其免疫活性将迅速下降。对于ELISA商品化试剂盒而言，其关键技术之一是确保试剂盒内的酶标记抗体的免疫活性不发生改变，这不仅要求将酶标记抗体稀释几千倍制备成工作液，还需在2～8℃条件下进行保存及运输。因此，研究制备使酶标记抗体在在2～8℃中长期(6个月)保持稳定的稀释液是十分必要的，这将为诊断试剂的制备及实验室保持酶标记抗体的稳定提供必要的条件。

发明内容

[0004] 本发明提出一种酶稀释液，解决了现有技术中的上述问题。

[0005] 本发明的技术方案是这样实现的：

[0006] 一种酶稀释液，包括以下组分：

[0007] 磷酸氢二钠 2.5～3g

[0008] 磷酸二氢钠 0.25～0.35g

[0009] 4-氨基安替比林 0.9～1.1g

[0010] 扑热息痛 0.9～1.1g

[0011] 氯化钠 7.2～8.8g

[0012] 酪蛋白钠 9～11g

[0013] 胭脂红 0.018～0.022g

[0014] 吐温 20 9.5～10.5mL

[0015] 新生牛血清 49～51mL

[0016] Proclin300 0.95～1.05mL

[0017] 曲拉通 X-100 9.5～10.5mL

[0018] 体外诊断试剂用纯化水，加至1000mL。

[0019] 作为进一步的技术方案，包括以下组分：

[0020] 磷酸氢二钠 2.85g

[0021] 磷酸二氢钠 0.30g

[0022] 4-氨基安替比林 1.00g

[0023] 扑热息痛 1.00g

[0024] 氯化钠 8.00g

[0025] 酪蛋白钠 10.00g

[0026] 胭脂红 0.02g

[0027] 吐温 20 10mL

[0028] 新生牛血清 50mL

[0029] Proclin300 1.0mL

[0030] 曲拉通 X-100 10mL

[0031] 体外诊断试剂用纯化水，加至1000mL。

[0032] 一种酶稀释液的制备方法，包括以下步骤：

[0033] S1、按照上述酶稀释液的配方，称取各个组分备用；

[0034] S2、向800mL体外诊断试剂用纯化水中依次加入磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氯化钠、4-氨基安替比林、扑热息痛、酪蛋白钠、胭脂红，匀速搅拌10min以上使其充分溶解；

[0035] S3、加入Proclin300、新生牛血清、吐温20、曲拉通X-100匀速搅拌10min以上使充分混匀；

[0036] S4、用体外诊断试剂用纯化水定容至1000mL，得到酶稀释液，置于2℃～8℃保存备用。

[0037] 本发明使用原理及有益效果为：

[0038] 本发明中，含有复合型保护剂4-氨基安替吡啉、扑热息痛、酪蛋白钠和新生牛血清，其中4-氨基安替比林吡啉是酶保护剂，扑热息痛过氧化氢保护剂，酪蛋白钠是蛋白保护剂，新生牛血清的作用是保护酶，四种保护剂相互补充，防止酶的分解和非特异性吸附，减少酶的变性，可有效防止酶标记抗体活性降低，用该稀释保护剂对辣根过氧化物酶标记的抗体进行稀释后，稀释后的酶标记抗体可在2～8℃保存10.5个月其免疫活性仍很高，取得了很好的实用效果。

[0039] 本发明，采用曲拉通X-100、吐温20等作为表面活性剂，采用Proclin300作为抑菌剂，同时采用4-氨基安替吡啉、扑热息痛、酪蛋白钠和新生牛血清等保护酶标记抗体活性的成分，多种成分相互协同，使得该酶稀释液有效防止酶标记抗体失活，提高其稳定性，进而提高酶联免疫检测的稳定性和准确性，同时，制备方法操作简单，易于配制，可广泛应用到酶联免疫检测中。

[0040] 本发明中，采用磷酸盐缓冲液体系，与4-氨基安替吡啉、扑热息痛、酪蛋白钠、新生牛血清和吐温20等原料相互配合的效果更好，使得用本发明制备的酶稀释液配制成的辣根

过氧化物酶标记抗体工作液在37℃加速时7天降解率仍低于15％，因此，整个体系的稳定性好，对酶标记抗体的保护效果更好。

[0041] 本发明中，在原料中采用新生牛血清，与牛血清白蛋白相比，新生牛血清保护酶的能力更好，防止酶的分解和非特异性吸附，减少酶的变性，与4-氨基安替吡啉、扑热息痛、酪蛋白混合使用，同时配合磷酸盐缓冲液体系，多种原料之间起到了相互增效和协同作用协同作用，使得酶稀释液对辣根过氧化物酶标记抗体的保护效果更好，各浓度点于37℃放置3天、6天、7天后的降解率低，且各浓度点约定的标准曲线线性相关系数均大于0.9900，因此稳定性更好，对酶标记抗体的保护效果更好，同时节约物料成本，适合推广使用。

具体实施方式

[0042] 下面将结合本发明实施例，对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例，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作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都属于本发明保护的范围。

[0043] 实施例1

[0044] 一种酶稀释液，由以下组分组成：

[0045] 磷酸氢二钠 2.85g

[0046] 磷酸二氢钠 0.30g

[0047] 4-氨基安替比林 1.00g

[0048] 扑热息痛 1.00g

[0049] 氯化钠 8.00g

[0050] 酪蛋白钠 10.00g

[0051] 胭脂红 0.02g

[0052] 吐温 20 10mL

[0053] 新生牛血清 50mL

[0054] Proclin300 1.0mL

[0055] 曲拉通 X-100 10mL

[0056] 体外诊断试剂用纯化水，加至1000mL。

[0057] 其制备方法包括以下步骤：

[0058] S1、按照上述酶稀释液的配方，称取各个组分备用；

[0059] S2、向800mL体外诊断试剂用纯化水中依次加入磷酸氢二钠、磷酸二氢钠、氯化钠、4-氨基安替比林、扑热息痛、酪蛋白钠、胭脂红，匀速搅拌10min以上使其充分溶解；

[0060] S3、加入Proclin300、新生牛血清、吐温20、曲拉通X-100匀速搅拌10min以上使充分混匀；

[0061] S4、用体外诊断试剂用纯化水定容至1000mL，得到酶稀释液，置于2℃～8℃保存备用。

[0062] 实施例2

[0063] 一种酶稀释液，由以下组分组成：

[0064] 磷酸氢二钠 2.5g

[0065] 磷酸二氢钠 0.25g

[0066] 4-氨基安替比林 0.9g

[0067] 扑热息痛 0.9g

[0068] 氯化钠 7.2g

[0069] 酪蛋白钠 9g

[0070] 胭脂红 0.018g

[0071] 吐温 20 9.5mL

[0072] 新生牛血清 49mL

[0073] Proclin300 0.95mL

[0074] 曲拉通 X-100 9.5mL

[0075] 体外诊断试剂用纯化水，加至1000mL。

[0076] 其制备方法同实施例1。

[0077] 实施例3

[0078] 一种酶稀释液，由以下组分组成：

[0079] 磷酸氢二钠 3g

[0080] 磷酸二氢钠 0.35g

[0081] 4-氨基安替比林 1.1g

[0082] 扑热息痛 1.1g

[0083] 氯化钠 8.8g

[0084] 酪蛋白钠 11g

[0085] 胭脂红 0.022g

[0086] 吐温 20 10.5mL

[0087] 新生牛血清 51mL

[0088] Proclin300 1.05mL

[0089] 曲拉通 X-100 10.5mL

[0090] 体外诊断试剂用纯化水，加至1000mL。

[0091] 其制备方法同实施例1。

[0092] 对比例1

[0093] 一种酶稀释液，由以下组分组成：

[0094] 三羟甲基氨基甲烷 6.057g

[0095] 盐酸 3mL

[0096] 氯化钠 10g

[0097] 4-氨基安替比林 9g

[0098] 扑热息痛 1g

[0099] 牛血清白蛋白 10g

[0100] 胭脂红 0.02g

[0101] Brij-35 2g

[0102] Proclin 300 1mL

[0103] 曲拉通 X-100 1mL

[0104] 体外诊断试剂用纯化水，加至1000mL。

[0105] 其制备方法包括以下步骤：

[0106] S1、按照上述酶稀释液的配方，称取各个组分备用；

[0107] S2、向800mL体外诊断试剂用纯化水中依次加入盐酸、氯化钠、4-氨基安替比林、扑热息痛、三羟甲基氨基甲烷、胭脂红、Brij-35，匀速搅拌10min以上使其充分溶解；

[0108] S3、加入Proclin300、牛血清白蛋白、吐温20、曲拉通X-100匀速搅拌10min以上使充分混匀；

[0109] S4、用体外诊断试剂用纯化水定容至1000mL，得到酶稀释液，置于2℃～8℃保存备用。

[0110] 将实施例1～3与对比例1制备的酶稀释液分别与辣根过氧化物酶标记的抗体配制成工作液的形式，研究不同酶稀释液对于反应体系的影响。

[0111] 实验1

[0112] 实验步骤：

[0113] 1)分别用上述实施例1～3及对比例1制备的酶稀释液稀释辣根过氧化物酶标记的Lp-PLA2抗体至规定浓度，将稀释后的辣根过氧化物酶标记Lp-PLA2抗体工作液分别置于2℃～8℃和37℃放置3天、6天和7天后备用。

[0114] 2)取已制备好的Lp-PLA2包被板。

[0115] 3)用校准品稀释液稀释后的Lp-PLA2校准品(0、31.25、62.5、125、250、500、1000ng/mL)，每个条件下的每个滴度均做复孔。每孔加入稀释后的校准品50μL，37℃温育60min。

[0116] 4)1×PBST洗板5次，并拍干孔内残余液体。

[0117] 5)依照加样表，每孔加入2℃～8℃和37℃放置3天、6天、7天和8天后的辣根过氧化物酶标记Lp-PLA2抗体100μL，37℃温育60min。

[0118] 6)1×PBST洗板5次，并拍干孔内残余液体。

[0119] 7)每孔加入50μL底物液A和50μL底物液B或加入底物液100μL(底物液A和B按1:1混匀)，37℃温育15min。

[0120] 8)每孔加入终止液50μL，立即读值。

[0121] 其中校准品稀释液、底物液A、底物液B的配方及配制方法如下：

[0122] a1.校准品稀释液的标准配方：按照1000mL基准量计。

[0123] 氯化钠 9.00g

[0124] 山羊血清 10mL

[0125] 磷酸氢二钠 5.80g

[0126] 磷酸二氢钠 0.59g

[0127] Proclin 300 0.5mL

[0128] 体外诊断试剂用纯化水定容至1000mL

[0129] a2.校准品稀释液的配制方法：

[0130] 配制桶中加体外诊断试剂用纯化水800mL，依次称取氯化钠、磷酸氢二钠、磷酸二氢钠加入到配制桶中，匀速搅拌10min以上使其充分溶解，加入Proclin300、山羊血清匀速搅拌10min以上使充分混匀，用体外诊断试剂用纯化水定容至1000mL，置2℃～8℃保存备

用。

[0131] b1.底物液A的标准配方:按照1000mL基准量计。

[0132] 磷酸氢二钠 35.8g

[0133] 柠檬酸 9.33g

[0134] 过氧化脲 0.54g

[0135] 体外诊断试剂用纯化水定容至1000mL

[0136] b2.底物液A的配制方法:

[0137] 配制桶中加入体外诊断试剂用纯化水800mL,准确称取磷酸氢二钠、柠檬酸、过氧化脲,搅拌充分溶解后定容至1000mL,置2℃～8℃保存备用。

[0138] c1.底物液B的标准配方:按照1000mL基准量计。

[0139] TMB-2HCl 0.45g

EDTA-Na2 0.4g

[0140] 柠檬酸 1.92g

丙三醇 50mL

[0141] 体外诊断试剂用纯化水定容至1000mL

[0142] c2.底物液B的配制方法:

[0143] 配制桶中加入体外诊断试剂用纯化水800mL,准确称取TMB-2HCl、EDTA-Na2、柠檬酸,匀速搅拌,量取丙三醇至配制桶中,充分溶解后定容至1000mL,2℃～8℃避光保存备用。

[0144] 实验结果见表1

[0145] 表1:实施例1～3及对比例1酶稀释液选择实验结果

[0146]

实施例 1									
加速时间	0 天	3 天	3 天降解率	6 天	6 天降解率	7 天	7 天降解率	8 天	8 天降解率
0ng/mL	0.0205	0.0205	—	0.021	—	0.0185	—	0.0185	—
31.25ng/mL	0.172	0.176	—	0.18	—	0.1765	—	0.1635	—
62.5ng/mL	0.336	0.3154	-6.12%	0.3452	2.74%	0.3181	-5.34%	0.2768	-17.61%
125ng/mL	0.5565	0.5366	-3.57%	0.5651	1.53%	0.5066	-8.96%	0.4705	-15.45%
250ng/mL	1.074	1.0427	-2.91%	1.072	-0.14%	0.9842	-8.36%	0.8663	-19.34%
500ng/mL	2.0715	1.9702	-4.89%	1.9547	-5.64%	1.8264	-11.83%	1.6961	-18.12%
1000ng/mL	2.8405	2.7814	-2.08%	2.6596	-6.37%	2.5636	-9.75%	2.3698	-16.57%
线性相关系数	0.9985	0.9987	—	0.9987	—	0.9988	—	0.9984	—
斜率	-1.586	-1.528	—	-1.435	—	-1.436	—	-1.504	—
实施例 2									
加速时间	0 天	3 天	3 天降解率	6 天	6 天降解率	7 天	7 天降解率	8 天	8 天降解率
0ng/mL	0.0205	0.0205	—	0.021	—	0.0185	—	0.0185	—
31.25ng/mL	0.172	0.176	—	0.18	—	0.1765	—	0.1635	—
62.5ng/mL	0.336	0.3165	-5.80%	0.349	3.87%	0.3205	-4.61%	0.28	-16.67%
125ng/mL	0.5565	0.5385	-3.23%	0.573	2.96%	0.5105	-8.27%	0.4735	-14.91%
250ng/mL	1.074	1.0465	-2.56%	1.075	0.05%	0.99	-7.82%	0.872	-18.81%
500ng/mL	2.0715	1.9925	-3.81%	1.964	-5.19%	1.8375	-11.30%	1.7055	-17.67%
1000ng/mL	2.8405	2.7965	-1.55%	2.672	-5.93%	2.5835	-9.05%	2.392	-15.79%

[0147]

线性相关系数	0.9985	0.9987	—	0.9987	—	0.9988	—	0.9984	—
斜率	-1.586	-1.528	—	-1.435	—	-1.436	—	-1.504	—
实施例 3									
加速时间	0 天	3 天	3 天降解率	6 天	6 天降解率	7 天	7 天降解率	8 天	8 天降解率
0ng/mL	0.0205	0.0205	—	0.021	—	0.0185	—	0.0185	—
31.25ng/mL	0.172	0.176	—	0.18	—	0.1765	—	0.1635	—
62.5ng/mL	0.336	0.3162	-5.89%	0.3471	3.29%	0.3195	-4.92%	0.2783	-17.16%
125ng/mL	0.5565	0.5356	-3.75%	0.5733	3.01%	0.5082	-8.68%	0.4826	-13.27%
250ng/mL	1.074	1.0424	-2.94%	1.0758	0.17%	0.9824	-8.53%	0.8633	-19.62%
500ng/mL	2.0715	1.9936	-3.76%	1.9505	-5.84%	1.8201	-12.14%	1.6976	-18.05%
1000ng/mL	2.8405	2.7862	-1.91%	2.6536	-6.58%	2.5601	-9.87%	2.3823	-16.13%
线性相关系	0.9985	0.9987	—	0.9987	—	0.9988	—	0.9984	—
斜率	-1.586	-1.528	—	-1.435	—	-1.436	—	-1.504	—
对比例 1									
加速时间	0 天	3 天	3 天降解率	6 天	6 天降解率	7 天	7 天降解率	8 天	8 天降解率
0ng/mL	0.0165	0.0235	—	0.023	—	0.0185	—	0.0185	—
31.25ng/mL	0.1895	0.175	—	0.134	—	0.1295	—	0.133	—
62.5ng/mL	0.3055	0.297	-2.78%	0.223	-27.00%	0.2175	-28.81%	0.2025	-33.72%
125ng/mL	0.526	0.5475	4.09%	0.4145	-21.20%	0.3995	-24.05%	0.3995	-24.05%
250ng/mL	1.0415	1.06	1.78%	0.823	-20.98%	0.7835	-24.77%	0.724	-30.48%
500ng/mL	1.9945	1.9855	-0.45%	1.52	-23.79%	1.473	-26.15%	1.393	-30.16%
1000ng/mL	2.876	2.8085	-2.35%	2.1275	-26.03%	2.0575	-28.46%	1.9875	-30.89%
线性相关系数	0.9993	0.9995	—	0.9996	—	0.9995	—	0.9993	—
斜率	-1.361	-1.347	—	-1.393	—	-1.404	—	-1.331	—

[0148] 从表1中数据可以看出，本发明的配方及制备方法制得的酶稀释液对辣根过氧化物酶标记Lp-PLA2抗体的保护效果更好：经对比例制备的酶稀释液配制成的辣根过氧化物酶标记Lp-PLA2抗体工作液于在各浓度点于37℃加速时仅能保证3天降解率低于15％，而在放置6天后的降解率竟高达27％，而经本发明实施例1～3制备的酶稀释液配制成的辣根过氧化物酶标记Lp-PLA2抗体工作液在各浓度点于37℃放置7后的降解率仍低于15％，能够达到加速稳定性要求，且各浓度点约定的标准曲线线性相关系数也能满足要求，因此本发明实施例1～3制备的酶稀释液作为辣根过氧化物酶标记Lp-PLA2抗体的稀释液效果更好。其

中，实施例2采用的原料配比和制备方法是本发明相对更优的技术方案，制得的酶稀释液对辣根过氧化物酶标记Lp-PLA2抗体的保护效果更好。

[0149] 实验2

[0150] 实验步骤：

[0151] 1)分别用上述实施例1～3及对比例1制备的酶稀释液稀释辣根过氧化物酶标记的NT-proBNP抗体至规定浓度，将稀释后的辣根过氧化物酶标记的NT-proBNP抗体工作液，分别置于2℃～8℃和37℃放置3天、6天、7天和8天后备用。

[0152] 2)取已制备好的NT-proBNP包被板。

[0153] 3)用校准品稀释液2稀释后的NT-proBNP校准品(0，78.125，156.25，325，625，1250，2500pg/mL)。每个条件下的每个滴度均做复孔。每孔加入稀释后的工作校准品50μL，37℃温育60min。

[0154] 4)1×PBST洗板5次，并拍干孔内残余液体。

[0155] 5)依照加样表，每孔加入2℃～8℃和37℃放置3天、6天、7天和8天后的辣根过氧化物酶标记NT-proBNP抗体100μL，37℃温育60min。

[0156] 6)1×PBST洗板5次，并拍干孔内残余液体。

[0157] 7)每孔加入50μL底物液A和50μL B或加入底物液100μL(底物液A和B按1:1混匀)，37℃温育15min。

[0158] 8)每孔加入终止液50μL，立即读值。

[0159] 其中校准品稀释液、底物液A、底物液B的配方及配制方法同实验1。

[0160] 实验结果见表2：

[0161] 表2:实施例1～3及对比例1酶稀释液选择实验结果

[0162]

实施例 1									
加速时间	0 天	3 天	3 天降解率	6 天	6 天降解率	7 天	7 天降解率	8 天	8 天降解
0pg/mL	0.0225	0.02	—	0.02	—	0.021	—	0.0325	—
78.125pg/mL	0.111	0.1015	—	0.102	—	0.0935	—	0.085	—

[0163]

156.25pg/mL	0.23	0.2272	-1.23%	0.2073	-9.86%	0.2041	-11.23%	0.1913	-16.82%
325pg/mL	0.3825	0.3804	-0.56%	0.3722	-2.68%	0.3363	-12.09 %	0.3165	-17.26%
625pg/mL	0.683	0.6849	0.28%	0.661	-3.15%	0.620	-9.24%	0.606	-11.32%
1250pg/mL	1.3865	1.3765	-0.72%	1.3258	-4.38%	1.3044	-5.92%	1.1776	-15.07%
2500pg/mL	2.4195	2.3775	-2.36%	2.2673	-6.29%	2.2121	-8.57%	2.0043	-17.16%
线性相关系数	0.9996	0.9995	—	0.9996	—	0.9997	—	0.9999	—
斜率	-1.029	-1.053	—	-1.064	—	-1.195	—	-1.132	—
实施例 2									
加速时间	0 天	3 天	3 天降解率	6 天	6 天降解率	7 天	7 天降解率	8 天	8 天降解
0pg/mL	0.0225	0.02	—	0.02	—	0.021	—	0.0375	—
78.125pg/mL	0.111	0.1095	—	0.103	—	0.0995	—	0.089	—
156.25pg/mL	0.23	0.2285	-0.65%	0.209	-9.13%	0.205	-10.87%	0.193	-16.09%
325pg/mL	0.3825	0.3815	-0.26%	0.374	-2.22%	0.3425	-10.46%	0.3185	-16.73%
625pg/mL	0.683	0.6865	0.51%	0.665	-2.71%	0.6325	-7.39%	0.6115	-10.47%
1250pg/mL	1.3865	1.378	-0.61%	1.333	-3.86%	1.316	-5.08%	1.19	-14.17%
2500pg/mL	2.4195	2.3775	-1.74%	2.286	-5.54%	2.2255	-8.02%	2.034	-15.93%
线性相关系数	0.9997	0.9997	—	0.9997	—	0.9995	—	0.9999	—
斜率	-1.079	-1.075	—	-1.089	—	-1.200	—	-1.157	—
实施例 3									
加速时间	0 天	3 天	3 天降解率	6 天	6 天降解率	7 天	7 天降解率	8 天	8 天降解
0pg/mL	0.0225	0.02	—	0.02	—	0.021	—	0.0375	—
78.125pg/mL	0.111	0.1095	—	0.103	—	0.0995	—	0.089	—
156.25pg/mL	0.23	0.2270	-1.31%	0.2076	-9.75%	0.2034	-11.56%	0.1915	-16.75%
325pg/mL	0.3825	0.3797	-0.72%	0.3711	-2.97%	0.3391	-11.34%	0.3153	-17.56%
625pg/mL	0.683	0.6847	0.25%	0.6609	-3.24%	0.6282	-8.02%	0.6053	-11.37%
1250pg/mL	1.3865	1.3742	-0.89%	1.3240	-4.51%	1.3043	-5.93%	1.1839	-14.61%
2500pg/mL	2.4195	2.3435	-3.14%	2.2855	-5.54%	2.1988	-9.12%	2.0094	-16.95%
线性相关系数	0.9997	0.9997	—	0.9997	—	0.9995	—	0.9999	—
斜率	-1.023	-1.035	—	-1.041	—	-1.176	—	-1.137	—
对比例 1									
加速时间	0 天	3 天	3 天降解率	6 天	6 天降解率	7 天	7 天降解率	8 天	8 天降解
0pg/mL	0.0205	0.02	—	0.0245	—	0.0215	—	0.026	—

[0164]

78.125pg/mL	0.118	0.105	—	0.0975	—	0.0885	—	0.0875	—
156.25pg/mL	0.221	0.2	-9.50%	0.173	-21.72%	0.1585	-28.28%	0.14	-36.65%
325pg/mL	0.385	0.331	-14.03%	0.3095	-19.61%	0.3045	-20.91%	0.2835	-26.36%
625pg/mL	0.7035	0.629	-10.59%	0.623	-11.44%	0.6065	-13.79%	0.5885	-16.35%
1250pg/mL	1.3565	1.1825	-12.83%	1.057	-22.08%	0.9885	-27.13%	0.9595	-29.27%
2500pg/mL	2.4585	2.1605	-12.12%	1.8215	-25.91%	1.7665	-28.15%	1.705	-30.65%
线性相关系数	0.9999	—	—	0.9999	—	0.9999	—	0.9999	—
斜率	-0.984	-0.967	—	-0.985	—	-0.909	—	-0.969	—

[0165] 从表2中数据可以看出，本发明的配方及制备方法制得的酶稀释液对辣根过氧化物酶标记NT-proBNP抗体的保护效果好，经对比例制备的酶稀释液配制成的辣根过氧化物酶标记NT-proBNP抗体工作液于在各浓度点于37℃加速时仅能保证3天降解率低于15％，经本发明实施例1～3制备的酶稀释液配制成的辣根过氧化物酶标记NT-proBNP抗体工作液在37℃放置6天后的降解率仍很低，在37℃放置7天后的降解率仍低于15％，根据Arrhenius equation的37℃存放1天相当于2～8℃存放1.5个月的推论，该工作液在2～8℃存放10.5个月仍相对稳定；相较于对比例1，酶稀释液配制成的辣根过氧化物酶标记NT-proBNP抗体工作液，各浓度点于37℃放置3天、6天、7天后的降解率更低，且各浓度点约定的标准曲线线性相关系数均大于0.9900，因此本发明实施例1～3制备的酶稀释液作为辣根过氧化物酶标记NT-proBNP抗体的稀释液效果更好。其中，实施例2采用的原料配比和制备方法是本发明相对更优的技术方案，制得的酶稀释液对辣根过氧化物酶标记NT-proBNP抗体的保护效果更好。

[0166] 以上所述仅为本发明的较佳实施例而已，并不用以限制本发明，凡在本发明的精神和原则之内，所作的任何修改、等同替换、改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。

专利名称(译)	一种酶稀释液及其制备方法		
公开(公告)号	CN109187951A	公开(公告)日	2019-01-11
申请号	CN201811037099.7	申请日	2018-09-06
[标]发明人	郭凤学 袁大丰		
发明人	郭凤学 袁大丰		
IPC分类号	G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/535		
代理人(译)	刘磊娜 杨瑞龙		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于体外诊断试剂技术领域，提出了一种酶稀释液，包括以下组分：磷酸氢二钠2.5～3g，磷酸二氢钠0.25～0.35g，4-氨基安替比林0.9～1.1g，扑热息痛0.9～1.1g，氯化钠7.2～8.8g，酪蛋白钠9～11g，胭脂红0.018～0.022g，吐温20 9.5～10.5mL，新生牛血清49～51mL，Proclin300 0.95～1.05mL，曲拉通X-100 9.5～10.5mL，体外诊断试剂用纯化水，加至1000mL，本发明解决了酶联免疫试剂中酶标记抗体稳定性差、免疫活性低的技术问题。