



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101949944 A

(43) 申请公布日 2011. 01. 19

(21) 申请号 201010243061. 2

G01N 33/577(2006. 01)

(22) 申请日 2010. 08. 03

G01N 33/535(2006. 01)

(71) 申请人 郑州安图绿科生物工程有限公司

地址 450016 河南省郑州市经济技术开发区
第五大街经北一路 87 号

(72) 发明人 高晓丹 陈晓玲 刘保鑫 付光宇
渠海 马建军 项立红 吴学炜
苗拥军

(74) 专利代理机构 郑州异开专利事务所(普通
合伙) 41114

代理人 王霞

(51) Int. Cl.

G01N 33/78(2006. 01)

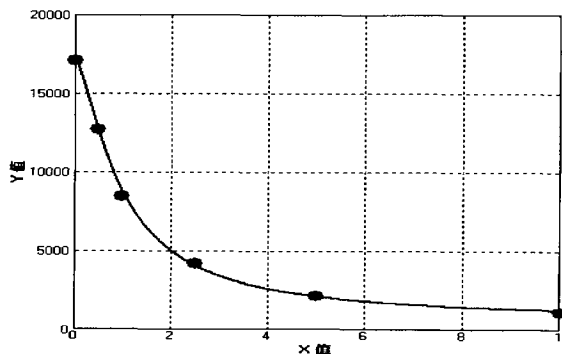
权利要求书 2 页 说明书 7 页 附图 1 页

(54) 发明名称

三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,包括包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液、三碘甲状腺原氨酸系列校准品、辣根过氧化物酶标记的三碘甲状腺原氨酸抗体、解离剂、发光底物A液、发光底物B液及浓缩洗液。本发明还公开了该试剂盒的制备方法。本发明的优点在于采用了标记抗体包被抗原类似物的方法,包被了一种激素的化学结构类似物,而该类似物与所测激素具有同等的免疫源性,因此能与该激素的抗体进行特异性结合,但与甲状腺结合蛋白(THBP)的结合能力却大为降低,在很大程度上减小了结合蛋白对测量系统的影响。本试剂盒的灵敏度、精密性和检测范围大大提高,反应时间大大缩短,提高产品性能的同时又降低了产品成本。



1. 一种三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:它包括包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液、三碘甲状腺原氨酸系列校准品、辣根过氧化物酶标记的三碘甲状腺原氨酸抗体、解离剂、发光底物 A 液、发光底物 B 液及浓缩洗液。

2. 根据权利要求 1 所述的三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液中,所采用的磁微粒粒径为 0.8-1.5 μ m,表面含有浓度为 20-30 μ eq/g 的羧基活性基团。

3. 根据权利要求 1 所述的三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述三碘甲状腺原氨酸系列校准品采用去激素血清为基质,加入三碘甲状腺原氨酸纯品配制而成。

4. 根据权利要求 1 所述的三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述辣根过氧化物酶标记的三碘甲状腺原氨酸抗体,是将辣根过氧化物酶与鼠抗三碘甲状腺原氨酸单克隆抗体相连接。

5. 根据权利要求 1 所述的三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述解离剂为含有 1-苯胺基-8-萘磺酸的 Tris-NaCl 缓冲液。

6. 根据权利要求 1 所述的三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述发光底物 A 液由酶促化学发光底物、增强剂和氨基酸组成;发光底物 B 液由氨基酸氧化酶和稳定剂组成。

7. 根据权利要求 1 所述的三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,其特征在于:所述浓缩洗液为含有稳定剂和表面活性剂的磷酸盐缓冲液。

8. 根据权利要求 1 所述的三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒的制备方法,其特征在于:它包括下述步骤:

第一步,包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液的制备

根据使用量取羧基磁微粒,用 EDC 和 NHS 在酸性条件下进行活化,活化完成后,加磁场,静置使磁微粒与液体分开,弃去上清,用 PH7.6 的 0.01M 的 PBS 缓冲液洗去多余活化剂;加入适量的二碘甲状腺原氨酸-明胶,使其浓度为 0.5 μ l/mg 磁微粒,在弱碱性条件下震荡反应;反应结束后加磁场,静置使磁微粒与液体分开,弃去上清,用含有 1% 牛血清白蛋白的 0.01M 的 PBS 缓冲液进行封闭,封闭结束后,加入封闭液以保存磁微粒,使磁微粒的最终浓度为 0.5mg/ml;该磁微粒混悬液置于 2-8 度保存,以备使用;

第二步,三碘甲状腺原氨酸系列校准品的制备

用含有 0.1% -0.2% Na₃N 和 0.15% -0.25% PC300 的去激素血清将三碘甲状腺原氨酸纯品配制成标示浓度为 0ng/ml、0.5ng/ml、1ng/ml、2.5ng/ml、5ng/ml、10ng/ml 的 - 系列校准品;

第三步,辣根过氧化物酶标记的三碘甲状腺原氨酸抗体的制备

用活化剂 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺将辣根过氧化物酶上的氨基活化,然后加入鼠抗三碘甲状腺原氨酸单克隆抗体,使抗体上的羧基与活化过的氨基缩合为酰胺化合物,透析后既得三碘甲状腺原氨酸酶标抗体;在标记好的溶液中,等比加入甘油 -20 度保存备用;

第四步,解离剂的配制

取纯化水、Tris、NaCl、Procl in300、解离剂 ANS 按照下述比例配制成解离剂:纯化水 1000ml、Tris 6.05g、NaCl 8.5g、Proclin3002ml、解离剂 ANS1-3g;

第五步,发光底物 A 液和发光底物 B 液的配制

发光底物 A 液:取 0.2M Tris-Hcl、0.15mM Luminol、0.59mM 羟基香豆素、0.59mM 没食子酸配制而成;

发光底物 B 液:取 0.2M 乙酸-乙酸盐缓冲、0.85mM 氨基酸氧化酶、0.008tween20、0.5mM 二乙烯三胺五乙酸、0.12mM 维生素 C 配制而成;

第六步,浓缩洗液的配制

取 $\text{NaH}_2\text{P}_04 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{HP}_04 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、NaCl、Tween20、蒸馏水按照下述比例配制而成:
 $\text{NaH}_2\text{P}_04 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4.6g、 $\text{Na}_2\text{HP}_04 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 62.32g、NaCl 175.6g、Tween20-10ml、蒸馏水 1000ml。

三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及体外免疫检测,尤其是涉及一种三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,本发明还涉及该试剂盒的制备方法。

背景技术

[0002] 三碘甲状腺原氨酸(3,5,3'-三碘甲状腺原氨酸,T₃)是一种分子量为651的碘化酪氨酸,与甲状腺素(T₄)一样是一种重要的甲状腺激素。碘和酪氨酸是合成甲状腺激素的主要原料,甲状腺球蛋白是碘化的场所和原料,酪氨酸的碘化和碘化酪氨酸的偶联均在此进行,水解甲状腺球蛋白时T₃、T₄被分泌入血,分泌物中90%为T₄,10%为T₃。血液中20%的T₃由甲状腺直接合成,另外80%的T₃是由T₄脱去1分子碘生成,脱碘位置不同也可形成反T₃,但反T₃没有生物活性。T₃的半衰期为1.5天,20%在外周组织代谢消除,80%经脱碘代谢。

[0003] 血清中T₃的量只约为T₄的1/60,但其生物活性比T₄大5倍,因此T₃的测定对诊断甲状腺功能紊乱和监测甲状腺技能非常有意义。对甲状腺功能亢进的病人来讲,大多数患者的总T₃和总T₄的水平都是升高的。不过在某些病例中,甲状腺功能亢进仅仅是由于T₃的增多引起的(T₃型甲亢),因此对fT₄正常的甲亢患者,建议检测T₃,尤其对于fT₄和TSH均正常的患者(一般患者常首先检测fT₄和TSH),更应进一步检测T₃。T₃水平升高而T₄正常还可见于甲状腺功能正常而患有功能自主性甲状腺疾病(Graves眼病)的患者,也可为亚临床型甲状腺功能衰退者的一种代偿现象,同时伴有TSH分泌增多。

[0004] 大量的实验资料表明,测定血清T₃是判断甲状腺功能亢进首选指标之一,特别是T₃毒症患者,血清T₄浓度正常,而T₃却明显升高。因此,测定血清T₃是临床诊断甲状腺功能的一项重要指标。一般来讲,甲亢病人血清T₃值会明显升高。在多数甲亢病例中,血清T₃的升高和血清T₄升高相平行;而T₃毒症,亦称T₃性甲亢中,血清T₄值在正常范围,而仅T₃升高。临床上常见到某些病人在发展成典型的甲状腺毒症前,先经过一个血清T₃水平升高阶段,说明测定血清T₃对于诊断甲亢较测定血清T₄更有意义。此外在甲亢病人进行放射性碘或药物治疗过程中,血清T₄降至正常,而血清T₃仍高于正常,直至临床甲状腺功能恢复正常,血清T₃方降至正常水平;故测定血清T₃又可作为判断疗效的可靠指标。

[0005] 从检测原理上来讲,目前临床上常用的检测三碘甲状腺原氨酸的方法主要是竞争法,包括标记抗原(包被抗体)的检测方法和标记抗体(包被抗原)的检测方法两种,国外试剂多为标记抗原的方法,国内试剂多为标记抗体的方法。

[0006] 从检测技术上来讲,过去以放免为代表的早期T₃、T₄测定试剂盒受方法学的限制,其灵敏度和抗干扰能力严重不足,存在很大的弊端,已基本退出市场,目前应用较多的为酶联免疫技术和化学发光技术。化学发光技术兴起于上个世纪80年代是继酶联免疫技术和放免技术之后发展起来的新兴技术,由于其高灵敏度、高特异性,同时方法简便、快速,标记结合物稳定,无放射性同位素损伤和污染等特点,在近些年得到了飞速发展。免疫磁微粒技术是近几年新兴技术,它是利用高分子合成一定粒度大小的磁性固相微粒做载

体,载体表面修饰有一定数量的化学功能团,可通过化学偶联等方法包被上具有特异性亲和力的免疫活性物质(抗原或抗体),具有分离速度快、效率高、可重复性好、反应均相等诸多优点。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,该试剂盒将酶促化学发光技术与磁分离技术相结合,成本低廉,简便快速,结果准确;本发明的另一目的还在于提供该试剂盒的制备方法。

[0008] 为实现上述目的,本发明可采取下述技术方案:

[0009] 本发明所述的三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,包括包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液、三碘甲状腺原氨酸系列校准品、辣根过氧化物酶标记的三碘甲状腺原氨酸抗体、解离剂、发光底物A液、发光底物B液及浓缩洗液。

[0010] 所述包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液中,所采用的磁微粒粒径为0.8-1.5 μ m,表面含有浓度为20-30 μ eq/g的羧基活性基团。

[0011] 所述三碘甲状腺原氨酸系列校准品采用去激素血清为基质,加入三碘甲状腺原氨酸纯品配制而成。

[0012] 所述辣根过氧化物酶标记的三碘甲状腺原氨酸抗体,是将辣根过氧化物酶与鼠抗三碘甲状腺原氨酸单克隆抗体相连接。

[0013] 所述解离剂为含有1-苯胺基-8-萘磺酸(ANS)的Tris-NaCl缓冲液(三(羟甲基)氨基甲烷-盐酸缓冲液)。

[0014] 所述发光底物A液由酶促化学发光底物、增强剂和氨基酸组成;发光底物B液由氨基酸氧化酶和稳定剂组成。

[0015] 所述浓缩洗液为加有稳定剂和表面活性剂的磷酸盐缓冲液(PBS缓冲液)。

[0016] 本发明三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒的制备方法,包括下述步骤:

[0017] 第一步,包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液的制备

[0018] 根据使用量取羧基磁微粒,用1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)在酸性条件下(PH4.5-PH5.5)进行活化,活化完成后,加磁场,静置使磁微粒与液体分开,弃去上清,用PH7.6的0.01M的PBS缓冲液洗去多余活化剂;加入适量的二碘甲状腺原氨酸-明胶,使其浓度为0.5 μ l/mg磁微粒,在弱碱性条件下(PH7.4-PH8.4)震荡反应;反应结束后加磁场,静置使磁微粒与液体分开,弃去上清,用含有1%牛血清白蛋白的0.01M的PBS缓冲液进行封闭,封闭结束后,加入封闭液以保存磁微粒,使磁微粒的最终浓度为0.5mg/ml;该磁微粒混悬液置于2-8度保存,以备使用;

[0019] 第二步,三碘甲状腺原氨酸系列校准品的制备

[0020] 用含有0.1%-0.2% Na₃N(防腐剂)和0.15%-0.25% PC300(防腐剂)的去激素血清将三碘甲状腺原氨酸纯品配制标示浓度为0ng/ml、0.5ng/ml、1ng/ml、2.5ng/ml、5ng/ml、10ng/ml的一系列校准品;

[0021] 第三步,辣根过氧化物酶标记的三碘甲状腺原氨酸抗体的制备

[0022] 用活化剂EDC(1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺)将辣根过氧化物酶上的氨基活化,然后加入鼠抗三碘甲状腺原氨酸单克隆抗体,使抗体上的羧基与活化过的氨基

缩合为酰胺化合物,透析后既得三碘甲状腺原氨酸酶标抗体;在标记好的溶液中,等比加入甘油 -20 度保存备用;

[0023] 第四步,解离剂的配制

[0024] 取纯化水、Tris、NaCl、Proclin300、ANS 按照下述比例配制成解离剂:纯化水 1000ml、Tris 6.05g、NaCl 8.5g、Proclin300 2ml、ANS 1-3g;

[0025] 第五步,发光底物 A 液和发光底物 B 液的配制

[0026] 发光底物 A 液:取 0.2M Tris-HCl、0.15mM Luminol(鲁米诺)、0.59mM 羟基香豆素、0.59mM 没食子酸配制而成;

[0027] 发光底物 B 液:取 0.2M 乙酸-乙酸盐缓冲液、0.85mM 氨基酸氧化酶、0.008tween20、0.5mM DTPA(二乙烯三胺五乙酸)、0.12mM 维生素 C 配制而成。

[0028] 第六步,浓缩洗液的配制

[0029] 取 NaH₂PO₄ · 2H₂O、Na₂HPO₄ · 12H₂O、NaCl、Tween20、蒸馏水按照下述比例配制而成:NaH₂PO₄ · 2H₂O 4.6g、Na₂HPO₄ · 12H₂O 62.32g、NaCl 175.6g、Tween20-10ml、蒸馏水 1000ml。

[0030] 本发明的优点在于采用了标记抗体包被抗原类似物的方法,与传统标记同类激素的免疫分析法不同,该方法包被了一种激素的化学结构类似物,而该类似物与所测激素具有同等的免疫源性,因此能与该激素的抗体进行特异性结合,但与甲状腺结合蛋白 (THBP) 的结合能力却大为降低,在很大程度上减小了结合蛋白对测量系统的影响。

[0031] 本发明的主要创新之处在于:

[0032] 1、该试剂盒将化学发光技术与免疫磁微粒相结合,提供了一种接近均相的反应体系,并且采用了一步法反应模式,使得检测性能大大提高(灵敏度、精密性、检测范围等),反应时间大大缩短(从开始加样到检测结果,时间少于 25min,明显快于同类试剂盒);

[0033] 2、发明了一种新的二碘甲状腺原氨酸-明胶与磁微粒的偶联方法,该方法偶联效率较高,结合牢固,且工艺稳定,在提高产品性能的同时,大大降低了产品成本;

[0034] 3、试剂盒中的校准品、酶结合物、解离剂、浓缩洗液、及发光底物配方均是该反应体系下的最优配方,给该试剂盒的使用效期及检测性能提供了有力保障。

附图说明

[0035] 图 1 是本发明试剂盒的标准曲线线形图。

[0036] 图 2 是本发明试剂盒与同类产品临床对照图。

具体实施方式

[0037] 本发明所述的三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒,包括包被有三碘甲状腺原氨酸结构类似物(二碘甲状腺原氨酸, T₂)-明胶的磁微粒混悬液,该悬液中采用的磁微粒粒径约为 0.8-1.5μm,表面含有浓度为 20-30μeq/g 的羧基活性基团,采用活化剂对其羧基进行活化,然后与二碘甲状腺原氨酸-明胶的氨基进行连接,形成稳定的肽键;采用去激素血清为基质,加入三碘甲状腺原氨酸纯品配制而成的三碘甲状腺原氨酸系列校准品;将辣根过氧化物酶与鼠抗三碘甲状腺原氨酸单克隆抗体相连接的辣根过氧化物酶标记的三碘甲状腺原氨酸抗体;含有 ANS 的 Tris-NaCl 缓冲液的解离剂;由酶促化学发光底物、增强剂和氨

氨酸组成的发光底物 A 液；由氨基酸氧化酶和稳定剂组成的发光底物 B 液以及含有稳定剂和表面活性剂的 PBS 缓冲液，该缓冲液使用前需进行 20 倍稀释。

[0038] 本发明三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒的制备方法，包括下述步骤：

[0039] 第一步，包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液的制备

[0040] 根据使用量取适量的羧基磁微粒，用过量的 EDC 和 NHS 在酸性条件下 (PH4.5-PH5.5) 进行活化，活化缓冲液为 0.05M-0.1M 的 MES(2-(N-吗啉代)乙磺酸) 缓冲液，活化时间 30min，活化完成后，加磁场，静置 5min 使磁微粒与液体分开，弃去上清，用 PH7.6 的 0.01M 的 PBS 缓冲液洗两遍洗去多余的活化剂；加入适量的二碘甲状腺原氨酸-明胶，使其浓度为 0.5 μ l/mg 磁微粒，在 PBS 缓冲液中 (PH7.4-PH8.4) 震荡反应 1h；反应结束后加磁场，静置 5min 使磁微粒与液体分开，弃去上清，用含有 1% 牛血清白蛋白的 0.01M 的 PBS 缓冲液进行封闭，反复封闭 5 次，每次 10min，封闭结束后，加入适量的封闭液以保存磁微粒，使磁微粒的最终浓度为 0.5mg/ml；将该磁微粒混悬液置于 2-8 度保存，以备使用；该连接方法效率较高，在很大程度上降低了包被原材料的使用量，减小了该试剂盒的成本，同时该连接方法较为稳定，批间差异较小。

[0041] 第二步，三碘甲状腺原氨酸系列校准品的制备

[0042] 依据国家药品生物制品检定所的三碘甲状腺原氨酸标准品，用含有 Na₂S₂O₃ (0.1% - 0.2%) 和 PC300 (0.15% - 0.25%) 的去激素血清将三碘甲状腺原氨酸纯品配制成标示浓度为 0ng/ml、0.5ng/ml、1ng/ml、2.5ng/ml、5ng/ml、10ng/ml 的一系列校准品，瓶盖颜色依次为白、黄、绿、蓝、紫、黑；由于该校准品采用去激素血清为基质，使得校准品与样本的反应性较为一致，在很大程度上减小了基质效应；同时该校准品依据国家标准品配制而成，保证了测量结果的准确度；另外该校准品为液态，无需复溶，使用方便。

[0043] 第三步，辣根过氧化物酶标记的三碘甲状腺原氨酸抗体的制备

[0044] 用活化剂 EDC 将辣根过氧化物酶上的氨基活化，然后加入鼠抗三碘甲状腺原氨酸单克隆抗体，使抗体上的羧基与活化过的氨基缩合为酰胺化合物，透析后既得三碘甲状腺原氨酸酶标抗体；在标记好的溶液中，等比加入甘油 -20 度保存备用；上述标记方法为碳二亚胺 (EDC) 法，即将鼠抗三碘甲状腺原氨酸单克隆抗体上的羧基与辣根过氧化物酶 (HRP) 分子的氨基经 EDC 的作用缩合为酰胺化合物，透析后既得三碘甲状腺原氨酸酶标抗体。经检测，该酶标记物在使用过程中的工作浓度为 1 : 10000—1 : 20000。

[0045] 第四步，解离剂的配制

[0046] 取纯化水、Tris、NaCl、Proclin300、ANS 按照下述比例配制成解离剂：纯化水 1000ml、Tris 6.05g、NaCl 8.5g、Proclin300 2ml、ANS 1-3g。解离剂的目的是将血清样本中的三碘甲状腺原氨酸从结合蛋白上解离下来，以保证该系统检测的是血清中的总三碘甲状腺原氨酸的量。

[0047] 第五步，发光底物 A 液和发光底物 B 液的配制

[0048] 发光底物 A 液：取 0.2M Tris-HCl、0.15mM Luminol、0.59mM 羟基香豆素、0.59mM 没食子酸配制而成；

[0049] 发光底物 B 液：取 0.2M 乙酸-乙酸盐缓冲液、0.85mM 氨基酸氧化酶、0.008tween20、0.5mM DTPA、0.12mM 维生素 C 配制而成。

[0050] 第六步，浓缩洗液的配制

[0051] 取 $\text{NaH}_2\text{P}_04 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{HP}_04 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、 NaCl 、Tween20、蒸馏水按照下述比例配制而成： $\text{NaH}_2\text{P}_04 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 4.6g、 $\text{Na}_2\text{HP}_04 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 62.32g、 NaCl 175.6g、Tween20-10ml、蒸馏水 1000ml。

[0052] 本发明试剂盒的使用操作程序如下：

[0053] 1、样本采集

[0054] 采用正确医用技术收集血清（严重溶血或脂血的样本不能用于测定），收集后的样本在室温放置不可超过 8 小时；如果不在 8 小时内检测需将样本放置于 2-8℃ 的冰箱中；若需 72 小时以上保存或运输，则应冻存于 -20℃ 以下，避免反复冻融。使用前恢复到室温，轻轻摇动混匀。

[0055] 2、实验前准备

[0056] ①取 1 瓶浓缩洗液用蒸馏水进行 20 倍稀释；

[0057] ②将恒温箱或水浴锅温度调至 37℃，待温度稳定后使用；

[0058] ③将磁微粒混悬液充分混匀至无肉眼可见沉淀。

[0059] 3、实验方法

[0060] ①取出一定量的反应容器，编号。根据实验要求加入 50 μl 校准品 / 质控品 / 临床样本；

[0061] ②摇匀磁微粒混悬液，每孔分别加入 20 μl ；

[0062] ③每孔分别加入解离剂 50 μl 、酶标记物 50 μl ；

[0063] ④将反应容器内溶液混合均匀，37℃ 温育 15 分钟；

[0064] ⑤使用磁分离及洗涤设备，将反应容器中磁微粒用洗液洗涤 5 次；

[0065] ⑥将洗涤后的反应容器充分振荡使磁微粒散开；

[0066] ⑦每孔加入发光底物 A 和发光底物 B 各 50 μl ，振荡混匀后避光室温反应 5 分钟；

[0067] ⑧化学发光检测仪检测发光强度；

[0068] ⑨采用四参数拟合方式，以校准品浓度值为 X 轴，以校准品发光强度值为 Y 轴，建立定标曲线。根据待测样本的发光强度值回算相应的浓度值。

[0069] 将本发明试剂盒按照方法学鉴定，可达到如下指标：

[0070] 标准曲线线性： R 大于 0.999（如图 1 所示），

[0071] 最低检出限：小于 0.1ng/ml

[0072] 精密性：分析内变异、分析间变异及批间变异均小于 10%（见表 1）

[0073] 表 1. 精密性数据表

[0074] a)、分析内和分析间变异数据表

		第一批试剂	第二批试剂	第三批试剂
质控平均值 (ng/ml)	Q1	0.63	0.51	0.46
	Q2	1.43	1.56	1.49
	Q3	2.57	2.75	2.46
分析内变异 (CV%)	Q1	2.27	6.49	7.12
	Q2	3.39	2.41	3.76
	Q3	3.19	1.96	2.34
分析间变异 (CV%)	Q1	7.86	3.59	4.05
	Q2	6.44	2.97	6.81
	Q3	5.31	4.21	3.01

[0076] b)、批间变异数据表

[0077]

	Q1	Q2	Q3
第一批	0.57	1.48	2.70
第二批	0.51	1.56	2.54
第三批	0.49	1.51	2.65
变异 (CV%)	8.54	2.53	3.14

[0078] 特异性:与 500ng/ml 的 T4 交叉反应率小于 0.1%;与 2000ng/ml 的 rT3 交叉反应率小于 0.01% (见表 2)

[0079] 表 2. 特异性数据表

	测定值 (ng/ml)	交叉反应率(%)
T4 (500ng/ml)	0.073	0.015
r-T3 (2000ng/ml)	0.16	0.008

[0081] 准确性:以国家标准品回算本试剂盒的一系列校准品,回算浓度与标示浓度之比平均值在 0.9-1.1 之间 (见表 3)

[0082] 表 3. 准确性数据表

[0083]

浓度 (ng/ml)	国家 标准品	试剂盒 校准品	回算 浓度	实测浓度/ 标示浓度
0	17061	17562.7	-----	
0.5	12672.1	12239.5	0.53	1.05
1	8413.1	8574.5	1.02	1.02
2.5	4199.1	4043.9	2.48	0.99
5	2125.9	2034	5.16	1.03
10	1131.1	1194.9	10.49	1.05

[0084] 与同类产品对照：将本试剂盒与国际知名品牌 Biocheck 的 T3 试剂盒（酶联免疫法）同时对 124 份临床血清样本进行测定，二者测定结果的相关性较好，相关系数 R 为 0.986（如图 2 所示）。

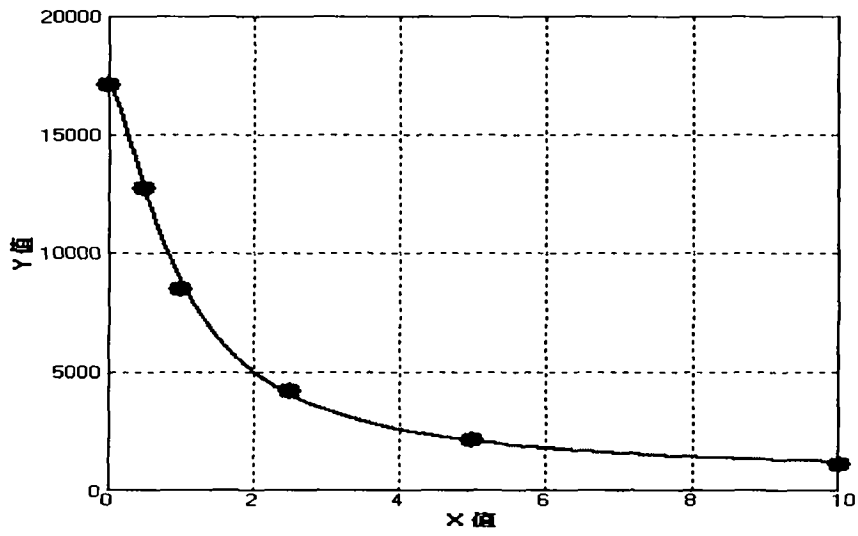


图 1

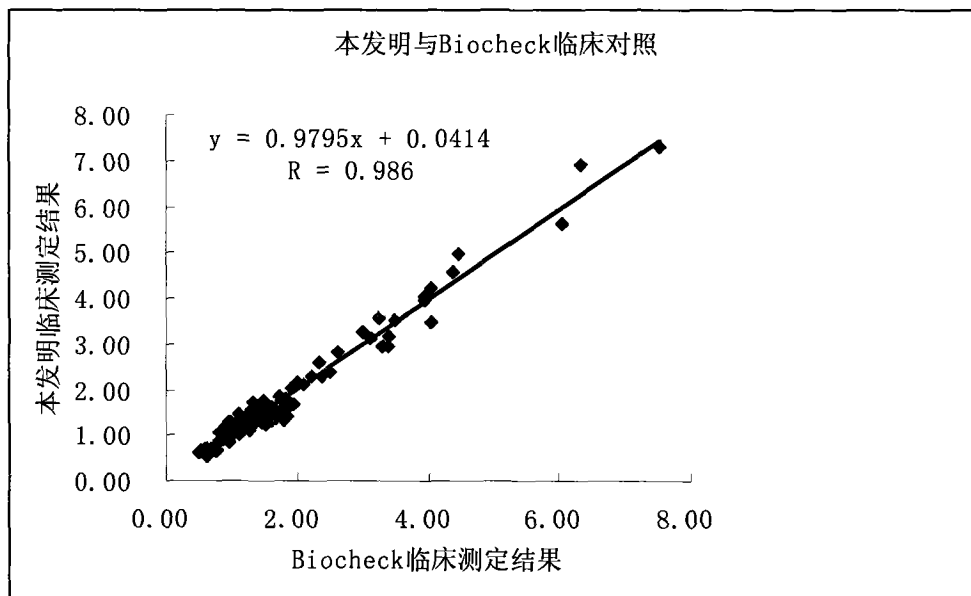


图 2

专利名称(译)	三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN101949944A	公开(公告)日	2011-01-19
申请号	CN201010243061.2	申请日	2010-08-03
[标]申请(专利权)人(译)	郑州安图绿科生物工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	郑州安图绿科生物工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	郑州安图绿科生物工程有限公司		
[标]发明人	高晓丹 陈晓玲 刘保鑫 付光宇 渠海 马建军 项立红 吴学炜 苗拥军		
发明人	高晓丹 陈晓玲 刘保鑫 付光宇 渠海 马建军 项立红 吴学炜 苗拥军		
IPC分类号	G01N33/78 G01N33/577 G01N33/535		
代理人(译)	王霞		
其他公开文献	CN101949944B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种三碘甲状腺原氨酸定量检测试剂盒，包括包被有二碘甲状腺原氨酸-明胶的磁微粒混悬液、三碘甲状腺原氨酸系列校准品、辣根过氧化物酶标记的三碘甲状腺原氨酸抗体、解离剂、发光底物A液、发光底物B液及浓缩洗液。本发明还公开了该试剂盒的制备方法。本发明的优点在于采用了标记抗体包被抗原类似物的方法，包被了一种激素的化学结构类似物，而该类似物与所测激素具有同等的免疫源性，因此能与该激素的抗体进行特异性结合，但与甲状腺结合蛋白(THBP)的结合能力却大为降低，在很大程度上减小了结合蛋白对测量系统的影响。本试剂盒的灵敏度、精密性和检测范围大大提高，反应时间大大缩短，提高产品性能的同时又降低了产品成本。

校准品	浓度	吸光度	校正吸光度	校正吸光度
三碘甲状腺原氨酸	Q1	0.00	0.51	0.43
	Q2	1.43	1.76	1.40
	Q3	2.87	2.75	2.35
三碘甲状腺原氨酸	Q1	0.00	3.29	2.12
	Q2	3.30	4.27	3.30
	Q3	6.60	5.96	4.51
三碘甲状腺原氨酸	Q1	0.00	3.79	2.05
	Q2	3.30	4.31	3.07
	Q3	6.60	4.47	3.00