



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 109765385 B

(45)授权公告日 2019.10.25

(21)申请号 201910087799.5

G01N 33/543(2006.01)

(22)申请日 2019.01.29

审查员 刘彦宁

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 109765385 A

(43)申请公布日 2019.05.17

(73)专利权人 浙江夸克生物科技有限公司

地址 312500 浙江省绍兴市新昌省级高新技术产业园区(江东路1号)

(72)发明人 陈青松 林耀文

(74)专利代理机构 北京精金石知识产权代理有限公司 11470

代理人 宋秀兰

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书1页 说明书10页

(54)发明名称

一种提高胶乳试剂灵敏性和线性的方法

(57)摘要

本发明提供了一种提高胶乳试剂灵敏性和线性的方法,属于医学检测领域,该方法包括以下步骤:(1)制备溶液A:所述的溶液A包括与胶乳微球连接的针对待测抗原的单克隆抗体;(2)制备溶液B:所述的溶液B包括苯丙氨酸、赖氨酸和维生素C;(3)混合步骤(1)制得的溶液A和步骤(2)得到的溶液B得到溶液C,将溶液C用于对待测抗原的检测。本发明还提供了一种检测试剂盒的制备方法,该方法试剂R2中加入了一定含量的溶液B发现溶液B的加入不仅提高了检测的灵敏度,还可以明显提高检测的线性关系,意外地发现溶液B的加入可以提高试剂R2的稳定性,在无需加入防腐剂的条件下,试剂R2的稳定性依然较高。

B

CN 109765385

1. 一种提高胶乳试剂灵敏性和线性的方法,其特征在于:该方法包括以下步骤:

(1) 制备溶液A:所述的溶液A包括与胶乳微球连接的针对待测抗原的单克隆抗体;

所述的针对待测抗原的单克隆抗体与胶乳微球连接的方法为:用2-吗啉乙磺酸缓冲液洗涤胶乳微球后,将重量份数比为0.6:80的乙基二甲基胺丙基碳化二亚胺与洗涤好的胶乳微球混合在室温条件下进行第一步反应,反应时间为1小时,将第一步反应后的胶乳微球与己二酸二酰肼溶液按重量份数比80:30混合在5℃下反应过夜进行第二步反应,得到激活的胶乳微球,将氧化后的针对待测抗原的单克隆抗体与激活的胶乳微球按重量份数比5:100混合5℃下反应过夜进行第三步反应,即得与胶乳微球连接的针对待测抗原的单克隆抗体;

步骤(1)中所述的待测抗原为C反应蛋白;

(2) 制备溶液B:所述的溶液B包括苯丙氨酸、赖氨酸和维生素C;

所述的溶液B的制备方法为:将苯丙氨酸、赖氨酸和维生素C按质量比为3:2:1的比例溶于水,即得溶液B;

步骤(2)中所述的苯丙氨酸、赖氨酸和维生素C混合物与水的质量体积比为20:100;

(3) 混合步骤(1)制得的溶液A和步骤(2)得到的溶液B得到溶液C,将溶液C用于对待测抗原的非诊断目的检测;

步骤(3)混合过程中所述的溶液A和溶液B的体积比为5:50;

溶液C中所述的苯丙氨酸、赖氨酸和维生素C的混合物与胶乳微球的重量份数比为20:100;

步骤(1)中所述的氧化后的针对待测抗原的单克隆抗体的氧化步骤为将抗体溶液中加入磷酸钠缓冲溶液配置的高碘酸钠,室温混合12分钟;

(4) 制备试剂R1:所述的R1试剂为:三羟甲基胺基甲烷40mmol/L、聚乙二醇6000 4g/L、吐温-20 1%、氯化钠10g/L;

(5) 制备试剂R2:所述的R2试剂为:0.04M三羟甲基胺基甲烷缓冲液中含有0.15%抗人体C反应蛋白-免疫球蛋白G的聚己内酯乳胶微球;

所述试剂R1和试剂R2的体积比为5:1,将试剂R1和试剂R2用于对C反应蛋白的非诊断目的的胶乳比浊检测;

所述试剂R2的制备方法包括:

A、将制备的C溶液中加入1-10g/L的牛血清蛋白,反应;

B、向步骤A反应得到的溶液中加入1-8g/L的葡萄糖,反应;

C、用氯化铵缓冲溶液洗涤步骤B中反应完成的溶液,洗涤2-3次,然后加入0.5-5g/L的蔗糖,用缓冲溶液调整胶乳微球浓度为0.15%;

上述步骤A中所述的反应为4-8℃条件下反应1-2小时;上述步骤B所述的反应为4-8℃反应过夜;

上述步骤A中所述的牛血清蛋白与溶液C中胶乳微球的重量份数比为10:100;

上述步骤B中所述的葡萄糖与溶液C中胶乳微球的重量份数比为20:100。

## 一种提高胶乳试剂灵敏性和线性的方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于医学检测领域,具体涉及一种提高胶乳试剂灵敏性和线性的方法。

### 背景技术

[0002] 载脂蛋白E (Apolipoprotein E, APOE) 是一种多态性蛋白,参与脂蛋白的转化与代谢过程,其基因可以调节许多生物学功能,与许多眼科疾病发病有关,对APOE及其基因多态性的研究是目前医学研究的热点之一,探讨APOE及其基因多态性之间的内在联系,对眼病的预防、诊断及治疗具有重要的临床应用价值。正常人血浆APOE浓度为0.03-0.05g/L。Apo E的浓度与血浆甘油三酯含量呈正相关。

[0003] 抗链球菌溶血素O (ASO) 是A组链球菌的代谢产物之一,可以溶解人血红蛋白,具有很强的抗原性,当基体因咽炎。扁桃体炎、猩红热、丹毒、脓皮病、风湿热等感染A组链球菌后,可产生链球菌溶血素O抗体。

[0004] 抗CCP抗体的检测对类风湿性关节炎 (RA) 的诊断有高度的特异性,并可用于RA的早期诊断。目前认为抗CCP抗体对RA诊断敏感性为50%-78%,特异性为96%,早期患者阳性率可达80%。抗CCP抗体阳性患者比抗体阴性的患者易发展成为影像学能检测到的骨关节损害。

[0005] 血清甘胆酸 (Cholyglycine, CG) 是胆酸与甘氨酸结合而成的结合型胆酸之一。甘胆酸是妊娠晚期血清中最主要的胆汁酸组分。急性肝炎、慢性活动性肝炎、肝硬化、慢迁肝患者血CG均明显高于正常人,且呈递性增高;胆石症伴黄疸患者胆管、胆囊排泄功能障碍引起血清CG显著升高;患妊娠肝内胆汁淤积症的孕妇血清CG水平显著升高

[0006] 纤维蛋白(原)降解产物主要反映纤维蛋白溶解功能。增高见于:原发性纤维蛋白溶解功能亢进;继发性纤维蛋白溶解功能亢进:高凝状态、弥散性血管内凝血、肾脏疾病、器官移植排斥反应、溶栓治疗等;血管栓塞性疾病(肺栓塞、心肌梗死、闭塞性脑血管病、深部静脉血栓);出血性血小板增多症、尿毒症、肝脏疾患等。

[0007] 根据以上的描述可以看出身体机能的变化会对应着体内抗原的变化,为了检测各种抗原的变化情况常用的检测方法有荧光免疫层析法、胶体金法、酶联免疫吸附法、胶乳增强免疫法等,荧光免疫层析法、胶体金法、酶联免疫吸附法虽然可以部分同时解决灵敏度和线性问题,但是只能做到定性或者半定量,测定准确度低;常用的胶乳增强免疫比浊法测定准确,但是无法兼顾高灵敏度和宽线型关系。

[0008] 胶乳免疫比浊法分为透射比浊法和散射比浊法,前者用于生化分析仪,后者用于特定蛋白分析仪,但是在现有技术中每次检测不同的成分都需要使用特定的试剂盒即需要配制不同的乳胶颗粒,并且灵敏度和线性关系也不好把控,使用起来比较麻烦,例如检测抗链球菌溶血素O,需要制备羊抗人抗链球菌溶血素O结合乳胶粒子;检测脂蛋白(a)时需要制备羊抗人脂蛋白(a)抗体乳胶颗粒,因此限制了多种抗原的检测,并且容易造成试剂的浪费。

[0009] 因此基于现有检测方法中存在的检测针对性强,灵敏性和线性关系不好把控的问

题,提供一种可以用于检测多种抗原的方法,并且该方法能够的加入可以明显提高乳胶检测的灵敏度和线性,十分必要。

## 发明内容

[0010] 根据上述现有技术中的不足,本发明旨在提供一种检测方法,该方法用于检测乳胶试剂针对性强,灵敏性高和线性关系好,并且该检测方法可以用于检测多种抗原,不受检测抗原种类的限制。

[0011] 一种提高胶乳试剂灵敏性和线性的方法,该方法包括以下步骤:

[0012] (1)制备溶液A:所述的溶液A包括与胶乳微球连接的针对待测抗原的单克隆抗体;

[0013] 所述的针对待测抗原的单克隆抗体与胶乳微球连接的方法为:用2-吗啉乙磺酸缓冲溶液洗涤胶乳微球后,将乙基二甲基胺丙基碳化二亚胺与洗涤好的胶乳微球混合进行第一步反应,将第一步反应后的胶乳微球与己二酸二酰肼溶液混合进行第二步反应,得到激活的胶乳微球,将氧化后的针对待测抗原的单克隆抗体与激活的胶乳微球混合进行第三步反应,即得与胶乳微球连接的针对待测抗原的单克隆抗体;

[0014] (2)制备溶液B:所述的溶液B包括苯丙氨酸、赖氨酸和维生素C;

[0015] 所述的溶液B的制备方法为:将苯丙氨酸、赖氨酸和维生素按质量比为1- 3:1-2:1的比例溶于水,即得溶液B;

[0016] (3)混合步骤(1)制得的溶液A和步骤(2)得到的溶液B得到溶液C,将溶液C用于对待测抗原的检测。

[0017] 上述步骤(1)所述的胶乳微球为聚苯乙烯微球、聚己内酯微球、聚甲基丙烯酸甲酯微球或聚乳酸-羟基乙酸共聚物微球中的一种。

[0018] 优选地,上述步骤(1)所述的胶乳微球为聚苯乙烯微球、聚己内酯微球或聚甲基丙烯酸甲酯微球中的一种。

[0019] 再优选地,上述步骤(1)所述的胶乳微球为聚苯乙烯微球或聚己内酯微球、中的一种。

[0020] 上述步骤(1)中所述的胶乳微球的平均粒径为100-300mm,优选为150- 250mm;再优选为180-220mm。

[0021] 上述步骤(1)中所述的第一步反应的反应温度为24℃,反应时间为0.5-1 小时;所述的第二步反应的反应条件为4-8℃反应过夜;所述的第三步反应的反应条件为4-8℃反应过夜。

[0022] 上述步骤(1)中所述的氧化后的针对待测抗原的单克隆抗体的氧化步骤为将抗体溶液中加入磷酸钠缓冲溶液配置的高碘酸钠,24℃条件下混合10-15分钟。

[0023] 上述步骤(1)中所述的乙基二甲基胺丙基碳化二亚胺和胶乳微球的重量份数比为0.6-0.8:80-100;优选为0.6:80或0.8:100。

[0024] 上述步骤(1)中所述的己二酸二酰肼与第一步反应后的胶乳微球的重量份数比为20-40:80;优选为30:80。

[0025] 所述的抗体与激活的乳胶微球的重量份数比为2-25:100,优选为5- 23:100;再优选为10-18:100;进一步优选为12-16:100;再进一步优选为14- 15:100.

[0026] 上述步骤(1)中所述的待测抗原的单克隆抗体为鼠单克隆抗体、羊或兔多克隆抗

体。

[0027] 上述步骤(1)中所述的待测抗原为载脂蛋白E、抗链球菌溶血素O、肝胆酸、C反应蛋白、肌钙蛋白I、胱抑素C、D二聚体、纤维蛋白(原)降解产物、铁蛋白、纤维结合蛋白、心型脂肪酸结合蛋白、胰岛素、脂蛋白、尿微量白蛋白、肌红蛋白和视黄醇结合蛋白中的一种。

[0028] 上述步骤(2)中所述的苯丙氨酸、赖氨酸和维生素优选比例为3:2:1;

[0029] 上述步骤(2)中所述的苯丙氨酸、赖氨酸和维生素混合物与水的质量体积比为5-20:100;优选为8-18:100;再优选为10-15:100;进一步优选为12-14:100。

[0030] 上述溶液A和溶液B的体积比为2-5:10-50,优选为3-5:20-40,优选为4-5:30-40。

[0031] 上述溶液C中所述的苯丙氨酸、赖氨酸和维生素C的混合物与胶乳微球的重量份数比为10-20:100;优选为12-18:100;再优选为14-16:100。

[0032] 制备检测待检测抗体的胶乳比浊检测试剂盒,该试剂盒包括试剂R1和试剂R2。所述试剂R1和试剂R2的体积比为2-5:1。

[0033] 所述的试剂R2的制备方法包括:

[0034] A、将制备的C溶液中加入1-10g/L的牛血清蛋白,反应;

[0035] B、向上述步骤(1)反应得到的溶液中加入1-8g/L的葡萄糖,反应;

[0036] C、用氯化铵缓冲溶液洗涤步骤(2)中反应完成的溶液,洗涤2-3次,然后加入0.5-5g/L的蔗糖,用缓冲溶液调整胶乳微球浓度为0.15-0.20%,即得到试剂R2。

[0037] 上述步骤A中所述的反应为4-8℃条件下反应1-2小时;上述步骤B所述的反应反应条件为4-8℃反应过夜。

[0038] 上述步骤A中所述的牛血清蛋白与溶液C中胶乳微球的重量份数比为10-15:100;优选为11-14:100;再优选为12-13:100。

[0039] 上述步B中所述的葡萄糖与溶液C中胶乳微球的重量份数比为20-30:100;优选为22-28:100;再优选为24-26:100。

[0040] 上述步骤C中所述的缓冲液为氯化铵缓冲液、三羟甲基胺基甲烷或甘氨酸中的一种。

[0041] 所述的溶液C加入胶乳微粒中制备得到的包被待检测抗体的胶乳微粒溶液可以明显提高胶乳试剂的灵敏性和线性关系,并且制备的试剂R2稳定性高,试剂R2中无需加入防腐剂,便可以保证试剂R2的稳定性,避免了因为防腐剂的加入而引起的干扰。

[0042] 在一个优选实施方案中,检测的抗体为载脂蛋白E时,检测试剂包括R1和R2,

[0043] 所述的R1试剂为:磷酸二氢钾6.8g/L、磷酸氢二钠22g/L、曲拉通X-100 2mL/L、牛血清白蛋白5g/L、聚氧乙烯月桂醚-35 10g/L、Proclin300 0.2mL/L.

[0044] 所述的R2试剂为:0.2M氯化铵缓冲液中含有0.15%抗载脂蛋白E抗体致敏的苯乙烯胶乳微球。

[0045] 试剂R1和试剂R2的体积比为2:1。

[0046] 在另一个优选实施方案中,检测抗链球菌溶血素O时,检测试剂包括R1和R2,

[0047] 所述的R1试剂为:聚乙二醇6000 30g/L、氯化钠150mmol/L、曲拉通X-100 0.5mL/L、三羟甲基胺基甲烷100mmol/L、叠氮钠1.0g/L。

[0048] 所述的R2试剂为:0.1M三羟甲基胺基甲烷缓冲液中含有0.15%抗链球菌溶血素O抗体致敏的苯乙烯胶乳微球。

- [0049] 试剂R1和试剂R2的体积比为3:1
- [0050] 在另一个优选实施例中,检测甘胆酸时,检测试剂包括R1和R2,
- [0051] 所述的R1试剂为:三羟甲基胺基甲烷100mmol/L、聚乙二醇6000 4g/L、氯化钠15g/L。
- [0052] 所述的R2试剂为:0.1M三羟甲基胺基甲烷缓冲液中含有0.18%抗甘胆酸抗体致敏的聚己内酯乳胶微球。
- [0053] 所述试剂R1和试剂R2的体积比为4:1。
- [0054] 当样品中存在待测抗原时,上述包被有抗体的乳胶颗粒因为抗原抗体的特异性结合彼此连接,造成浊度上升,待测抗原越多、吸光度增加越多,因此通过测定样品吸光度的增加,根据标准曲线能够计算出样品中待测抗原的含量,本发明在试剂R2中加入了一定含量的溶液B发现溶液B的加入不仅提高了检测的灵敏度,还可以明显提高检测的线性关系,意外地发现溶液B的加入可以提高试剂R2的稳定性,在无需加入防腐剂的条件下,试剂R2的稳定性依然较高。
- [0055] 本发明与现有技术相比,具有以下优点:
- [0056] (1) 本发明在待测抗体的胶乳微球时,在溶液中加入了质量比为1-3:1- 2:1的苯丙氨酸、赖氨酸和维生素混合物制备的溶液B,意外地发现溶液B的加入不仅可以提高检测的灵敏性和线性关系,并且提高了检测精密性和准确性。
- [0057] (2) 本发明在待测抗体的胶乳微球的制备过程中加入了溶液B,发现制备的胶乳微粒可以用于检测多种待测抗原,解决了一种乳胶微粒只能检测一种抗体的局限性。
- [0058] (3) 本发明公开方案制备的试剂R2的稳定性高,再不加任何防腐剂的条件下,试剂的稳定性依然很高,从而减少了防腐剂存在引起的干扰。

## 具体实施方式

- [0059] 基础实施例1一种提高胶乳试剂灵敏性和线性的方法
- [0060] 包括以下步骤:
- [0061] (1) 制备溶液A:所述的溶液A包括与聚苯乙烯微球连接的针对待测抗原的单克隆抗体;
- [0062] 所述的针对待测抗原的单克隆抗体与胶乳微球连接的方法为:用2-吗啉乙磺酸缓冲溶液洗涤胶乳微球后,将重量份数比为0.6:80的乙基二甲基胺丙基碳化二亚胺与洗涤好的胶乳微球混合在室温条件下进行第一步反应,反应时间为 1小时,将第一步反应后的胶乳微球与己二酸二酰肼溶液按重量份数比80:30 混合在5℃下反应过夜进行第二步反应,得到激活的胶乳微球,将氧化后的针对待测抗原的单克隆抗体与激活的胶乳微球按重量份数比5:100混合5℃下反应过夜进行第三步反应,即得与胶乳微球连接的针对待测抗原的单克隆抗体,即溶液A;
- [0063] (2) 制备溶液B:所述的溶液B包括苯丙氨酸、赖氨酸和维生素C;
- [0064] 所述的溶液B的制备方法为:将苯丙氨酸、赖氨酸和维生素按质量比为 3:2:1的比例溶于水,所述的苯丙氨酸、赖氨酸和维生素混合物与水的质量体积比为20:100;,即得溶液B;
- [0065] (3) 混合步骤(1)制得的溶液A和步骤(2)得到的溶液B按体积比为 5:50混合得到

溶液C,将溶液C用于对待测抗原的检测。

[0066] 上述步骤(1)中所述的胶乳微球的平均粒径为100-300mm,优选为150- 250mm;再优选为180-220mm。

[0067] 上述步骤(1)中所述的氧化后的针对待测抗原的单克隆抗体的氧化步骤为将抗体溶液中加入磷酸钠缓冲溶液配置的高碘酸钠,室温混合12分钟。

[0068] 上述步骤(1)中所述的待测抗原的单克隆抗体为鼠单克隆抗体、羊或兔多克隆抗体。

[0069] 上述步骤(1)中所述的待测抗原为载脂蛋白E、抗链球菌溶血素O、肝胆酸、C反应蛋白、肌钙蛋白I、胱抑素C、D二聚体、纤维蛋白(原)降解产物、铁蛋白、纤维结合蛋白、心型脂肪酸结合蛋白、胰岛素、脂蛋白、尿微量白蛋白、肌红蛋白和视黄醇结合蛋白中的一种。

[0070] 上述溶液C中所述的苯丙氨酸、赖氨酸和维生素C的混合物与胶乳微球的重量份数比为20:100。

[0071] 基础实施例2一种制备检测待检测抗体的胶乳比浊检测试剂盒,该试剂盒包括试剂R1和试剂R2。所述试剂R1和试剂R2的体积比为3:1。

[0072] 所述的试剂R2的制备方法包括:

[0073] A、将制备的C溶液中加入1-10g/L的牛血清蛋白,反应;

[0074] B、向上述步骤(1)反应得到的溶液中加入1-8g/L的葡萄糖,反应;

[0075] C、用氯化铵缓冲溶液洗涤步骤(2)中反应完成的溶液,洗涤2-3次,然后加入0.5-5g/L的蔗糖,用缓冲溶液调整胶乳微球浓度为0.15-0.20%,即得到试剂R2。

[0076] 上述步骤A中所述的反应为4-8℃条件下反应1-2小时;上述步骤B所述的反应条件为4-8℃反应过夜。

[0077] 上述步骤A中所述的牛血清蛋白与溶液C中胶乳微球的重量份数比为10: 100。

[0078] 上述步骤B中所述的葡萄糖与溶液C中胶乳微球的重量份数比为20: 100。

[0079] 实施例1一种制备检测载脂蛋白E的胶乳比浊检测试剂盒

[0080] 检测试剂包括R1和R2,

[0081] 所述的R1试剂为:磷酸二氢钾6.8g/L、磷酸氢二钠22g/L、曲拉通X-100 2mL/L、牛血清白蛋白5g/L、聚氧乙烯月桂醚-35 10g/L、Proclin300 0.2mL/L.

[0082] 所述的R2试剂为:0.2M磷酸氢二钠和磷酸二氢钾缓冲液中含有0.15%抗载脂蛋白E抗体致敏的苯乙烯胶乳微球。

[0083] 试剂R1和试剂R2的体积比为2:1。

[0084] 实施例2一种制备检测抗链球菌溶血素O的胶乳比浊检测试剂盒

[0085] 检测试剂包括R1和R2,

[0086] 所述的R1试剂为:聚乙二醇6000 30g/L、氯化钠150mmol/L、曲拉通X- 100 0.5mL/L、三羟甲基胺基甲烷100mmol/L。

[0087] 所述的R2试剂为:0.1M三羟甲基胺基甲烷缓冲液中含有0.15%抗链球菌溶血素O抗体致敏的苯乙烯胶乳微球。

[0088] 试剂R1和试剂R2的体积比为3:1

[0089] 实施例3一种制备检测甘胆酸的胶乳比浊检测试剂盒

[0090] 检测试剂包括R1和R2,

- [0091] 所述的R1试剂为:三羟甲基氨基甲烷100mmol/L、聚乙二醇6000 4g/L、氯化钠15g/L。
- [0092] 所述的R2试剂为:0.1M三羟甲基氨基甲烷缓冲液中含有0.18%抗甘胆酸抗体致敏的聚己内酯乳胶微球。
- [0093] 所述试剂R1和试剂R2的体积比为4:1。
- [0094] 实施例4一种制备检测C反应蛋白的胶乳比浊检测试剂盒
- [0095] 检测试剂包括R1和R2，
- [0096] 所述的R1试剂为:三羟甲基氨基甲烷40mmol/L、聚乙二醇6000 4g/L、吐温-201%、氯化钠10g/L。
- [0097] 所述的R2试剂为:0.04M三羟甲基氨基甲烷缓冲液中含有0.15%抗人体C 反应蛋白-免疫球蛋白G的聚己内酯乳胶微球。
- [0098] 所述试剂R1和试剂R2的体积比为5:1。
- [0099] 实施例5一种制备检测肌钙蛋白I的胶乳比浊检测试剂盒
- [0100] 检测试剂包括R1和R2，
- [0101] 所述的R1试剂为:甘氨酸50mmol/L、聚乙二醇6000 4g/L、吐温-20 1%、氯化钠10g/L。
- [0102] 所述的R2试剂为:0.05M甘氨酸缓冲液中含有0.18%抗肌钙蛋白I抗体的苯乙烯胶乳微球。
- [0103] 所述试剂R1和试剂R2的体积比为3:1。
- [0104] 实施例6一种制备检测纤维蛋白(原)降解产物的胶乳比浊检测试剂盒
- [0105] 检测试剂包括R1和R2，
- [0106] 所述的R1试剂为:三羟甲基氨基甲烷40mmol/L、聚乙二醇6000 4g/L、吐温-20 1%、氯化钠15g/L。
- [0107] 所述的R2试剂为:0.04M三羟甲基氨基甲烷缓冲液中含有0.16%抗纤维蛋白(原)降解产物抗体的苯乙烯胶乳微球。
- [0108] 所述试剂R1和试剂R2的体积比为2:1。
- [0109] 实施例7一种制备检测心型脂肪酸结合蛋白的胶乳比浊检测试剂盒
- [0110] 检测试剂包括R1和R2，
- [0111] 所述的R1试剂为:三羟甲基氨基甲烷40mmol/L、聚乙二醇6000 4g/L、吐温-20 1%、曲拉通X-100 1%、氯化钠15g/L。
- [0112] 所述的R2试剂为:0.04M三羟甲基氨基甲烷缓冲液中含有0.15%心型脂肪酸结合蛋白抗体的苯乙烯胶乳微球。
- [0113] 所述试剂R1和试剂R2的体积比为4:1。
- [0114] 实施例8一种制备检测视黄醇结合蛋白的胶乳比浊检测试剂盒
- [0115] 检测试剂包括R1和R2，
- [0116] 所述的R1试剂为:三羟甲基氨基甲烷缓冲液50mmol/L、氯化钠5.85g/L、牛血清白蛋白5g/L、聚氧乙烯月桂醚-35 10g/L。
- [0117] 所述的R2试剂为:0.05M三羟甲基氨基甲烷缓冲液中含有0.17%抗人视黄醇结合蛋白抗体的苯乙烯胶乳微球。

[0118] 所述试剂R1和试剂R2的体积比为5:1。

[0119] 各实施例检测试剂盒的各项性能测试

[0120] 1、线性关系检测方法:用接近线性范围上限的高浓度样品和接近线性范围下限的低浓度样品,混合成5个稀释浓度( $X_i$ ),每个浓度测定三次取平均值( $Y_i$ ),以稀释浓度( $X_i$ )为自变量,以检测结果为均值( $Y_i$ )为因变量求出线性回归方程,并计算线性回归的相关系数(r)。

[0121] 2、灵敏度检测:用特定浓度的样本测试试剂盒,记录在试剂盒规定参数下产生的吸光度改变,即吸光度差值( $\Delta A$ )。

[0122] 3、精密度:

[0123] 重复性:取一份待测试剂,对特定浓度的样本连续测定10次,计算测定结果均值( $\bar{X}$ )、标准差(S)及变异系数CV,  $CV = S/\bar{X} \times 100\%$

[0124] 批间差:取三份待测试剂,分别测定特定浓度的样本,每三份待测试剂测定3次,分别计算每批3次测定结果的均值 $\bar{X}_i$  ( $i=1, 2, 3$ ),按下列公式计算相对偏差(R)。

$$[0125] \bar{X}_r = (\bar{X}_1 + \bar{X}_2 + \bar{X}_3) / 3$$

$$[0126] R = [(\bar{X}_{\max} - \bar{X}_{\min}) / \bar{X}_r] \times 100\%$$

[0127] 式中: $\bar{X}_{\max}$ 为 $\bar{X}_1$ 、 $\bar{X}_2$ 、 $\bar{X}_3$ 中的最大值; $\bar{X}_{\min}$ 为 $\bar{X}_1$ 、 $\bar{X}_2$ 、 $\bar{X}_3$ 中的最小值; $\bar{X}_r$ 为3批试剂检测均值。

[0128] 4、准确性检测:用不少于40个在检测浓度范围内不同浓度的人源样本,以国外进口产品的检测系统进行比对;每份样品按试剂盒操作方法及比对方法分别检测,用线性回归方程计算两组结果的相关系数及相对偏差。

[0129] 试验例1线性关系检测,具体数据线下表1

[0130] 表1

[0131]

实施例	浓度范围	理论浓度与实测浓度的线性相关系数 r
实施例 1	0~20 mg/dL	≥0. 9900
实施例 2	30~900 IU/mL	≥0. 9900
实施例 3	0. 5~80mg/L	≥0. 9900
实施例 4	1~250mg/L	≥0. 9900
实施例 5	1~25ng/mL	≥0. 9900
实施例 6	2. 5~80mg/L	≥0. 9900
实施例 7	2. 5~160ng/mL	≥0. 9900
实施例 8	0. 4~140mg/L	≥0. 9900

[0132] 由上述表1的检测数据可知,本发明提供的检测方法,可以用于检测多种抗体,并且可以明显提高检测的线性关系。

[0133] 试验例2灵敏度检测,具体数据见下表2

[0134] 表2

[0135]

实施例	样本浓度	吸光度差值 (Δ A)
实施例1	4.0mg/dL	≥0.02
实施例2	722IU/mL	≥0.3
实施例3	10mg/L	≥0.08
实施例4	20mg/L	≥0.05
实施例5	2.40ng/mL	≥0.01
实施例6	20mg/L	≥0.04
实施例7	100ng/mL	≥0.002
实施例8	100mg/L	≥0.1

[0136] 由上述表2的检测数据可知,本发明提供的检测方法,可以用于检测多种抗体,检测灵敏度高。

[0137] 试验例3精密度检测,具体数据见下表3

[0138] 表3

[0139]

实施例	重复性	批间差
实施例 1	CV≤6. 0%	≤10. 0%
实施例 2	CV≤5. 0%	≤8. 0%
实施例 3	CV≤5. 0%	≤10. 0%
实施例 4	CV≤10. 0%	≤10. 0%
实施例 5	CV≤10. 0%	≤10. 0%
实施例 6	CV≤10. 0%	≤10. 0%

[0140]

实施例 7	CV≤5. 0%	≤10. 0%
实施例 8	CV≤6. 0%	≤8. 0%

[0141] 由上述表3的检测数据可知,本发明提供的检测方法,可以用于检测多种抗体,检测精密度高。

[0142] 试验例4准确性检测,具体数据见下表4

[0143] 表4

[0144]

实施例	相关系数r <sup>2</sup>	相对偏差
实施例1	≥0.95	±15%
实施例2	≥0.95	±10%
实施例3	≥0.95	±10%
实施例4	≥0.95	±15%
实施例5	≥0.95	±10%
实施例6	≥0.95	±10%
实施例7	≥0.95	±10%
实施例8	≥0.95	±15%

[0145] 由上述表4的检测数据可知,本发明提供的检测方法,可以用于检测多种抗体,检测准确度高。

[0146] 5、稳定性试验:原包装试剂盒在2℃-8℃保存,存放12个月后检测各项质量指标测定仍满足要求。

[0147] 综上,本发明在试剂R2中加入了一定含量的溶液B发现溶液B的加入不仅提高了检

测的灵敏度,还可以明显提高检测的线性关系,意外地发现溶液B的加入可以提高试剂2的稳定性,在无需加入防腐剂的条件下,试剂2的稳定性依然较高。

[0148] 上述详细说明是针对本发明其中之一可行实施例的具体说明,该实施例并非用以限制本发明的专利范围,凡未脱离本发明所谓的等效实施和变更,均应包含于本发明技术方案范围内。

专利名称(译)	一种提高胶乳试剂灵敏性和线性的方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN109765385B</a>	公开(公告)日	2019-10-25
申请号	CN201910087799.5	申请日	2019-01-29
[标]申请(专利权)人(译)	浙江夸克生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	浙江夸克生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	浙江夸克生物科技有限公司		
[标]发明人	陈青松 林耀文		
发明人	陈青松 林耀文		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/531 G01N33/543		
代理人(译)	宋秀兰		
审查员(译)	刘彦宁		
其他公开文献	<a href="#">CN109765385A</a>		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">Sipo</a>		

### 摘要(译)

本发明提供了一种提高胶乳试剂灵敏性和线性的方法，属于医学检测领域，该方法包括以下步骤：(1)制备溶液A：所述的溶液A包括与胶乳微球连接的针对待测抗原的单克隆抗体；(2)制备溶液B：所述的溶液B包括苯丙氨酸、赖氨酸和维生素C；(3)混合步骤(1)制得的溶液A和步骤(2)得到的溶液B得到溶液C，将溶液C用于对待测抗原的检测。本发明还提供了一种检测试剂盒的制备方法，该方法试剂R2中加入了一定含量的溶液B发现溶液B的加入不仅提高了检测的灵敏度，还可以明显提高检测的线性关系，意外地发现溶液B的加入可以提高试剂R2的稳定性，在无需加入防腐剂的条件下，试剂R2的稳定性依然较高。

