



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 114113594 B

(45) 授权公告日 2024.06.21

(21) 申请号 202111390734.1

(22) 申请日 2021.11.23

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 114113594 A

(43) 申请公布日 2022.03.01

(73) 专利权人 上海凯创生物技术有限公司
地址 201318 上海市浦东新区上海国际医
学园区青黛路518号

(72) 发明人 陈璐 杨雅惠

(74) 专利代理机构 北京中索知识产权代理有限
公司 11640
专利代理师 高海涛

(51) Int. Cl.
G01N 33/569 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)

(56) 对比文件

Zinjarde S.Recent advances in
production and applications of ectoine, a
compatible solute of industrial
relevance.Bioresour Technol.2023,130016.

审查员 李若琳

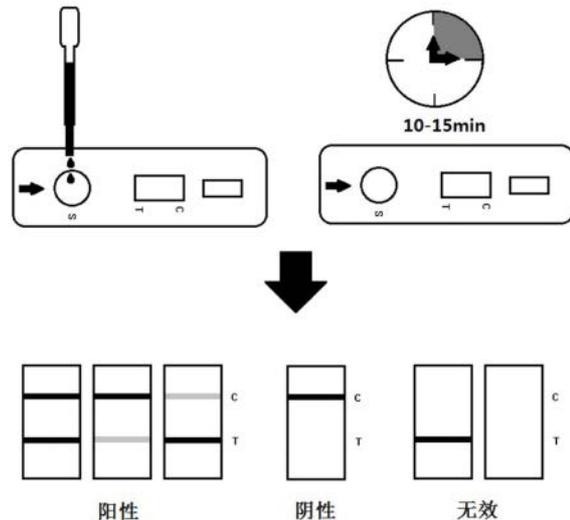
权利要求书1页 说明书9页 附图2页

(54) 发明名称

一种抗原稀释液、以及免疫缺陷病毒的检测
试剂盒

(57) 摘要

本发明提供了一种抗原稀释液以及免疫缺陷病毒的检测试剂盒,所述抗原稀释液主要由PBS缓冲液、小牛血清以及保护剂构成,其中所述保护剂包括二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因以及增效保护剂,所述增效保护剂包括厄多司坦、硫柳汞、S-烯丙基巯基半胱氨酸以巯基吡哆醇中的任意一种或几种的混合。该抗原稀释液中添加了可以使抗原抗体具有较高活性的保护剂,且对保护剂的种类进行了筛选和合理配比混合的尝试,通过采用该抗原稀释液后,显著提高了免疫学检测装置的稳定性和准确性,值得推广应用。



1. 一种保护剂,其特征在于,成份包括二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因以及增效保护剂,所述增效保护剂包括厄多司坦、硫柳汞、S-烯丙基巯基半胱氨酸以及巯基吡哆醇中的任意一种或几种的混合。

2. 根据权利要求1所述的保护剂,其特征在于,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦及S-烯丙基巯基半胱氨酸的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述厄多司坦以及所述S-烯丙基巯基半胱氨酸的体积比为(1-3):(1-2):1:1。

3. 根据权利要求1所述的保护剂,其特征在于,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与巯基吡哆醇保护剂的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述厄多司坦与所述巯基吡哆醇保护剂的体积比为(1-3):(1-2):1:1。

4. 根据权利要求1所述的保护剂,其特征在于,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与硫柳汞保护剂的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷,所述依克多因,所述厄多司坦与所述硫柳汞保护剂的体积比为(1-3):(1-2):1:1。

5. 根据权利要求1所述的保护剂,其特征在于,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与硫柳汞保护剂的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷,所述依克多因,所述S-烯丙基巯基半胱氨酸与所述硫柳汞保护剂的体积比为(1-3):(1-2):1:1。

6. 根据权利要求1所述的保护剂,其特征在于,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、巯基吡哆醇与硫柳汞保护剂的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷,所述依克多因,所述巯基吡哆醇与所述硫柳汞保护剂的体积比为(1-3):(1-2):1:1。

7. 根据权利要求1所述的保护剂,其特征在于,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与巯基吡哆醇保护剂的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述S-烯丙基巯基半胱氨酸与所述巯基吡哆醇保护剂的体积比为(1-3):(1-2):1:1。

8. 一种抗原稀释液,其特征在于,以体积份数计,PBS缓冲液75-80份、小牛血清15-25份以及权利要求1-2任一项所述的保护剂0.1-0.2份。

9. 根据权利要求8所述的抗原稀释液,其特征在于,以体积份数计,PBS缓冲液77份、小牛血清20份以及权利要求1-2任一项所述的保护剂0.15份。

10. 包括权利要求8-9任一项所述的抗原稀释液的检测试剂盒,其特征在于,所述试剂盒是以尿液为检测样本,比常见的血液样本测得的结果更准确。

11. 权利要求10所述的试剂盒在制备用于人类免疫缺陷病毒诊断的试剂或试剂盒中的应用。

一种抗原稀释液、以及免疫缺陷病毒的检测试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及医药生物领域,具体而言,涉及一种抗原稀释液以及免疫缺陷病毒的检测试剂盒。

背景技术

[0002] 人类免疫缺陷病毒是一种感染人类免疫系统细胞的慢性病,属于逆转录病毒的一种,根据其基因型差异分为HIV-1和HIV-2两大类型。HIV通过破坏人体的T淋巴细胞,进而阻断细胞免疫和体液免疫过程,导致免疫系统瘫痪,从而致使各种疾病在人体内蔓延,最终导致艾滋病。

[0003] 目前,检测HIV的方法种类有很多,主要包括HIV抗体和HIV核酸检测。检测的标本除血液外,尿液、唾液、泪液、精液和阴道分泌物中均能检测抗HIV。血液作为内环境的一个重要组成部分倾向于稳定,这个稳定不只是在酸碱盐等小分子无机物上,在蛋白质等大分子上也应该是一样的。外源蛋白和多肽在血中的半衰期很短,很少有成功的非抗体的蛋白类药物就是个旁证。抗体由于是血液的一个正常成分,药物抗体可能有更长的半衰期。尿液是血液经过肾脏而生成,尿液完全没有稳定的必要性和机制。不稳定的尿液不仅不会降低生物的生存优势,反而为此保障了血液的稳定,进而提高了生存优势。生物标志物本质上就是一个变量,被引入到血液的变量,会被肝、肾、肺、皮肤等器官利用各种机制把血中的这个变量缩小,在血液找标志物就是相当于和血液玩捉迷藏。要在血液消除掉这个变量前,找到这个变量。而尿液本身就是很多变量的累积,有可能比血液更能体现这个最初引入到血液的变量。因此尿液作为生物标志物的来源,也就是检测样本,会比血液有着更好的优势。

[0004] 截至目前,市面上以尿液作为标本的HIV试剂盒准确度较低,稳定性以及重复性不高。

[0005] 鉴于以上,特提出本发明。

发明内容

[0006] 本发明的第一目的在于提供一种抗原稀释液,该抗原稀释液中添加了可以使抗原抗体具有较高活性的保护剂,且对保护剂的种类进行了筛选,通过采用该抗原稀释液后,显著提高了免疫学检测装置的稳定性和准确性,值得推广应用。

[0007] 本发明的第二目的在于提供包含上述抗原稀释液的试剂盒,该试剂盒应用简单方便,能够对人体内的免疫缺陷病毒抗体进行很好的检测,有很好的应用前景,值得大力推广。

[0008] 为了实现本发明的上述目的,特采用以下技术方案:

[0009] 本发明提供了一种抗原稀释液,主要由PBS缓冲液、小牛血清以及保护剂构成,其中所述保护剂包括二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因以及增效保护剂,所述增效保护剂包括厄多司坦、硫柳汞、S-烯丙基巯基半胱氨酸以巯基吡哆醇中的任意一种或几种的混合。

[0010] 优选地,作为进一步可实施的方案,以体积份数计,PBS缓冲液75-80份、小牛血清

15-25份以及保护剂0.1-0.2份。

[0011] 优选地,作为进一步可实施的方案,以体积份数计,PBS缓冲液77份、小牛血清20份以及保护剂0.15份。本发明通过大量的实践发现最优的配比是按照上述配伍关系进行配合。

[0012] 现有技术中的抗原稀释液只是采用了单一的组分,导致其实际使用时对于检测装置稳定性以及重复性会有相应的影响,本发明通过将PBS缓冲液、小牛血清以及保护剂三种组分混配后,并对保护剂的种类进行了特定的筛选,可以使抗原抗体在室温下保藏依然保持较高的活性,其中,PBS缓冲液起到保持恒定pH值的作用,进一步促进抗原抗体的充分反应,小牛血清则是起到保护血清血浆样本抗体的作用。

[0013] 保护剂的种类主要为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦、硫柳汞、S-烯丙基巯基半胱氨酸以巯基吡哆醇保护剂这六种。

[0014] 其中,二甲基二乙酰氧基硅烷的分子量为108.64,所以不具免疫原性,不会引起免疫应答的性能;它是卤代硅烷的一种,在有机合成中有很多用途,也常作抗水剂,它在此保护剂中主要作用为除水。

[0015] 依克多因是一种天然的细胞保护剂,具有良好的安全性,有独特的理化性能和生物活化功能,它的分子量为142.156,同样不具有免疫原性,可以用作保护剂来降低细胞损伤。

[0016] 厄多司坦是一种结构中带有非游离的封闭的巯基,可以给细胞提供保护性的外衣,可以有利保持生物活性,且不影响试剂盒的检测结果。

[0017] 硫柳汞是一种含汞的有机化合物,长期以来一直被广泛用做生物制品及药物制剂包括许多疫苗的保护剂(防腐剂),以预防有害微生物污染所致的潜在危害。与此同时,他还有抑菌与抑霉菌作用,其效力比红汞强。而比升汞弱,毒性和刺激性小。外用作皮肤粘膜消毒剂。

[0018] S-烯丙基巯基半胱氨酸能够代表水溶性有机硫化物,且具有较高活性,可以降低细胞的损伤程度,进而提高细胞的存活率。

[0019] 巯基吡哆醇,它的基变相对更活跃,可以增加溶液的抗氧化性,可以使抗原抗体具有较高活性。

[0020] 优选地,以免疫学检测装置的稳定性和准确性作为考察关键指标,发现最优地保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦和S-烯丙基巯基半胱氨酸的混合液。因为本专利所描述的为抗原稀释液,如果选用的保护剂具有免疫原性,就无法证明我们的抗原稀释液的有效性,因此要选用无免疫原性的保护剂,故选择了上述四种混合的保护剂。

[0021] 优选地,作为进一步可实施的方案,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与S-烯丙基巯基半胱氨酸的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述厄多司坦和所述S-烯丙基巯基半胱氨酸的体积比为(1-3):(1-2):1:1,在采用单一保护剂的基础上通过将二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与S-烯丙基巯基半胱氨酸一定的体积比配合可以提高免疫学检测装置的稳定性和准确性。二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与S-烯丙基巯基半胱氨酸的体积比还可以为1:1:1:1、1:2:1:1、2:1:1:1、2:2:1:1、3:1:1:1、3:2:1:1等等。

[0022] 优选地,作为进一步可实施的方案,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多

因、厄多司坦与巯基吡哆醇的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述厄多司坦和所述巯基吡哆醇的体积比为(1-3):(1-2):1:1,在采用单一保护剂的基础上通过将二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与巯基吡哆醇一定的体积比配合可以提高免疫学检测装置的稳定性和准确性。二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与巯基吡哆醇的体积比还可以为1:1:1:1、1:2:1:1、2:1:1:1、2:2:1:1、3:1:1:1、3:2:1:1等等。

[0023] 优选地,作为进一步可实施的方案,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与硫柳汞的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述厄多司坦和所述硫柳汞的体积比为(1-3):(1-2):1:1,在采用单一保护剂的基础上通过将二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与硫柳汞一定的体积比配合可以提高免疫学检测装置的稳定性和准确性。二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与硫柳汞的体积比还可以为1:1:1:1、1:2:1:1、2:1:1:1、2:2:1:1、3:1:1:1、3:2:1:1等等。

[0024] 优选地,作为进一步可实施的方案,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与硫柳汞的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述S-烯丙基巯基半胱氨酸和所述硫柳汞的体积比为(1-3):(1-2):1:1,在采用单一保护剂的基础上通过将二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与硫柳汞的体积比配合可以提高免疫学检测装置的稳定性和准确性,二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与硫柳汞的体积比还可以为1:1:1:1、1:2:1:1、2:1:1:1、2:2:1:1、3:1:1:1、3:2:1:1等等。

[0025] 优选地,作为进一步可实施的方案,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、巯基吡哆醇与硫柳汞的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述巯基吡哆醇和所述硫柳汞的体积比为(1-3):(1-2):1:1,在采取单一保护剂的基础上通过将二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、巯基吡哆醇与硫柳汞的体积比配合可以提高免疫学检测装置的稳定性和准确性,二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、巯基吡哆醇与硫柳汞的体积比还可以为1:1:1:1、1:2:1:1、2:1:1:1、2:2:1:1、3:1:1:1、3:2:1:1等等。

[0026] 优选地,作为进一步可实施的方案,所述保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与巯基吡哆醇的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述S-烯丙基巯基半胱氨酸和所述巯基吡哆醇的体积比为(1-3):(1-2):1:1,在采用单一保护剂的基础上通过将二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与巯基吡哆醇一定的体积比配合可以提高免疫学检测装置的稳定性和准确性。二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与巯基吡哆醇的体积比还可以为1:1:1:1、1:2:1:1、2:1:1:1、2:2:1:1、3:1:1:1、3:2:1:1等等。

[0027] 从上述各个保护剂类型的配伍方式中也可以看出,最优的组合方式为在以二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因为主剂的前提下,再适量的添加厄多司坦、S-烯丙基巯基半胱氨酸、硫柳汞与巯基吡哆醇这些保护剂,因为虽然二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因相比于其他保护剂,稳定性好且具有良好的免疫原性,但是如果单纯的只添加二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因相互配合后,其灵敏度和重复性还会稍差一些,究其原因主要是因为考虑到在检测过程中,试剂与空气接触,可能会引入其他杂质,特加入一些预防微生物污染,具有抑菌作用且兼具良好免疫原性的的保护剂类型,所以最好的方式是保证各个保护剂类型之间的均衡性,均添加的情况下但是注意比例,二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因加量大,但是

其他保护剂加量小,这里还需要注意的是不能将所有的保护剂均以1:1的体积比进行添加,因为这样二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因的加量偏小,也是会影响到保护剂的稳定性以及免疫原性,试剂与空气隔绝的程度不够,还是会受到不同程度的污染,从而使得整个保护剂达不到应有的技术效果。

[0028] 本发明除了提供了一种抗原稀释液,还提供了一种用于免疫缺陷病毒检测的检测试剂盒,是通过检测尿液来对病患进行检测的。

[0029] 目前,检测HIV-1/2的方法种类有很多,主要包括HIV抗体和HIV核酸检测。检测的标本除血液外,尿液、唾液、泪液、精液和阴道分泌物中均能检测抗HIV-1/2。尿液标本作为一种无创伤标本来源,在检测抗HIV-1/2的实际应用中有重要的意义。尿液标本采集和处理费用较低,有利于对大规模人群HIV-1/2感染情况的监测和筛查,且有着如下优点:

[0030] (1) 尿液不同于其他样本,HIV感染者的尿液中仅含有HIV抗体,而不是含有具传染性的病毒本身。因此HIV不通过尿液传播,可以安全地收集和运输尿样到实验室。

[0031] (2) 尿液代替血液检测样品收集简便易行,便于大规模筛查。无针头采集尿液标本时,不会引起皮肤损伤,消除了与职业暴露相关的危险因素,可以保护医护人员和被检测者避免体查时因针刺意外感染艾滋病病毒的危险。

[0032] (3) 被检测者仅需要提供一个尿样,且尿样不需要浓缩和预处理,存储方便、无需更多处理设备。测试时仅需要普通的技术和仪器,简易而便捷。检测成本较低,更易于消费者接受。

[0033] (4) 尿液检测避免了采血对象不配合的问题,可以避免对新生儿这类对象采血困难的情况发生。

[0034] 总之,本发明的检测试剂盒可用于除血源筛查以外人群如吸毒人群、娱乐行业服务人员、婚前或孕妇检查等的艾滋病HIV-1/2抗体筛查。

[0035] 本发明的目的是在于提供一种检测人类免疫缺陷病毒的试剂盒,通过重新组合抗原标志物和稀释液,来实现试剂盒的检测,进一步保护医护人员和被检测者避免体查时因针刺意外感染艾滋病病毒的危险。

[0036] 本发明所提供的试剂盒在制备用于人类免疫缺陷病毒诊断的试剂或试剂盒中具有很强的应用价值。

[0037] 上述试剂盒配制合理,制备简单,结果判断客观准确,能够进行良好的应用。并且该试剂盒及时的对人体的免疫缺陷病毒进行监测,能够提早进行治疗,有利于后续其他工作的开展。

[0038] 与现有技术相比,本发明的有益效果为:

[0039] 本发明的检测试剂盒通过重组抗原标志物及调节抗原稀释液的组分以及用量比例,提供了一种专门针对人类免疫缺陷病毒1型/2型的尿液抗体检测试剂盒,该检测试剂盒通过尿液检测,避免了传播的风险,也提高了检测的稳定性以及重复性。

附图说明

[0040] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,以下将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍。

[0041] 图1为本发明实施例1中的检测试剂盒检测结果示意图;

[0042] 图2为本发明实施例1的检测试剂盒的组成图。

具体实施方式

[0043] 下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述,但是本领域技术人员将会理解,下列实施例仅用于说明本发明,而不应视为限制本发明的范围。实施例中未注明具体条件者,按照常规条件或制造商建议的条件进行。所用试剂或仪器未注明生产厂商者,均为可以通过市售购买获得的常规产品。

[0044] 实施例1

[0045] 检测试剂盒的制备过程参见图2,具体按照如下步骤进行:

[0046] 1) 配制抗原稀释液:以体积份数计,PBS缓冲液(由 Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , NaOH , $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ 和 NaCl 溶于去离子水中制备得到)75份,小牛血清15份,保护剂二甲基二乙酰氧基硅烷与依克多因混合液0.2份;

[0047] 2) 制备免疫乳胶颗粒纸片:在乳胶溶液中加入上述反应缓冲液,反应缓冲液为抗原稀释液与HIV-1gp41抗原、HIV-2gp36抗原的混合物,该混合物的pH为7.0,该混合物中抗原的标记浓度为 $7\mu\text{g}/\text{ml}$,使用离心机来浓缩标记好的免疫乳胶;根据产品要求在浓缩的免疫乳胶溶液中加入一定量的磷酸盐缓冲液至规定体积;

[0048] 3) 制备硝酸纤维素膜:包含有质控线和检测线,其中质控线是用羊抗鼠IgG喷涂,检测线是用HIV-1gp41抗原和HIV-1gp36抗原进行喷涂;

[0049] 4) 制备检测试剂盒:由免疫乳胶颗粒纸片、硝酸纤维素膜、吸水纸、硝酸纤维素膜以及胶质组合后,经过裁切、组装、真空干燥以及包装封口得到产品,该试剂盒的制备工艺参见图2,检测结果参见图1所示。

[0050] 实施例2

[0051] 其他操作步骤与实施例1一致,区别在于:步骤1)中,以体积份数计,PBS缓冲液(由 Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , NaOH , $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ 和 NaCl 溶于去离子水中制备得到)80份,小牛血清25份,保护剂二甲基二乙酰氧基硅烷与依克多因混合液0.1份。

[0052] 实施例3

[0053] 其他操作步骤与实施例1一致,区别在于:步骤1)中,以体积份数计,PBS缓冲液(由 Na_2HPO_4 , NaH_2PO_4 , NaOH , $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$ 和 NaCl 溶于去离子水中制备得到)77份,小牛血清20份,保护剂二甲基二乙酰氧基硅烷与依克多因混合液0.15份。

[0054] 实施例4

[0055] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与S-烯丙基巯基半胱氨酸的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述厄多司坦以及所述S-烯丙基巯基半胱氨酸的体积比为2:2:1:1。

[0056] 实施例5

[0057] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与S-烯丙基巯基半胱氨酸的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述厄多司坦以及所述S-烯丙基巯基半胱氨酸的体积比为3:2:1:1。

[0058] 实施例6

[0059] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克

多因、厄多司坦与巯基吡哆醇的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述厄多司坦与所述巯基吡哆醇的体积比为2:2:1:1。

[0060] 实施例7

[0061] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与巯基吡哆醇的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述厄多司坦与所述巯基吡哆醇的体积比为3:2:1:1。

[0062] 实施例8

[0063] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与硫柳汞的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述厄多司坦与所述硫柳汞保护剂的体积比为2:2:1:1。

[0064] 实施例9

[0065] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与硫柳汞的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述厄多司坦与所述硫柳汞保护剂的体积比为3:2:1:1。

[0066] 实施例10

[0067] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与硫柳汞的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述S-烯丙基巯基半胱氨酸与所述硫柳汞保护剂的体积比为2:2:1:1。

[0068] 实施例11

[0069] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与硫柳汞的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述S-烯丙基巯基半胱氨酸与所述硫柳汞保护剂的体积比为3:2:1:1。

[0070] 实施例12

[0071] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、巯基吡哆醇与硫柳汞的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述巯基吡哆醇与所述硫柳汞保护剂的体积比为2:2:1:1。

[0072] 实施例13

[0073] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、巯基吡哆醇与硫柳汞的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述巯基吡哆醇与所述硫柳汞保护剂的体积比为3:2:1:1。

[0074] 实施例14

[0075] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与巯基吡哆醇的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述S-烯丙基巯基半胱氨酸与所述巯基吡哆醇保护剂的体积比为2:2:1:1。

[0076] 实施例15

[0077] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于:保护剂为二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、S-烯丙基巯基半胱氨酸与巯基吡哆醇的混合物,所述二甲基二乙酰氧基硅烷、所述依克多因、所述S-烯丙基巯基半胱氨酸与所述巯基吡哆醇保护剂的体积比为3:2:1:1。

[0078] 比较例1

[0079] 其他操作步骤与实施例3一致,区别在于不添加任何保护剂。

[0080] 将上述实施例1-15以及比较例1的检测试剂盒的灵敏度、热稳定性以及重复性进行检测,具体检测结果如下表1所示。

[0081] 表1 检测结果

[0082]

| | | 实施例 1 | 实施例 2 | 实施例 3 | 实施例 4 | 实施例 5 | 实施例 6 | 实施例 7 | 实施例 8 |
|------|-----|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 0 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 8.25% | 8.21% | 8.18% | 8.04% | 8.01% | 7.64% | 7.21% | 7.88% |
| 3 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 8.71% | 8.67% | 8.66% | 8.47% | 8.39% | 8.04% | 7.76% | 8.34% |
| 6 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 9.31% | 9.28% | 9.26% | 8.97% | 8.94% | 8.49% | 8.06% | 8.82% |
| 9 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 9.84% | 9.81% | 9.74% | 9.48% | 9.34% | 9.21% | 8.88% | 9.54% |
| 12 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 10.55% | 10.50% | 10.41% | 10.03% | 9.93% | 9.81% | 9.27% | 10.17% |
| 18 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 10.88% | 10.84% | 10.77% | 10.46% | 10.34% | 10.07% | 9.64% | 10.69% |
| 24 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 11.57% | 11.48% | 11.44% | 11.11% | 11.06% | 10.93% | 10.21% | 11.33 |
| 30 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 12.56% | 12.53% | 12.49% | 11.98% | 11.87% | 11.43% | 11.04% | 12.32% |
| | | 实施例 9 | 比较例 10 | 实施例 11 | 实施例 12 | 实施例 13 | 实施例 14 | 实施例 15 | 比较例 1 |
| 0 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 7.79% | 7.94% | 7.71% | 7.93% | 7.97% | 8.14% | 8.06% | 8.31% |
| 3 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 8.24% | 8.27% | 8.16% | 8.31% | 8.44% | 8.53% | 8.42% | 8.77% |
| 6 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 8.92% | 8.93% | 8.67% | 8.57% | 8.81% | 9.14% | 9.04% | 9.36% |
| 9 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 9.51% | 9.48% | 9.38% | 9.44% | 9.48% | 9.66% | 9.54% | 9.91% |
| 12 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 10.06% | 9.93% | 9.87% | 10.28% | 10.23% | 10.21% | 10.10% | 10.64% |
| 18 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 10.63% | 10.52% | 10.34% | 10.64% | 10.49% | 10.62% | 10.51% | 10.97% |
| 24 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 11.08% | 11.27% | 11.38% | 11.02% | 11.22% | 11.28% | 11.08% | 11.58% |
| 30 月 | 灵敏度 | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ | +/+ |
| | 重复性 | 11.76% | 11.93% | 11.97% | 12.09% | 11.97% | 12.07% | 11.98% | 12.59% |

[0083] 在上述表格中,检测重复性的公式为: $CV = \frac{SD}{X}$,式中:SD -标准偏差,CV- 变异系数, X- n次连续输出测定值的均值,灵敏度的测试方式与现有技术无差别。

[0084] 从上述试验结果可以看出,实施例7为最佳试验方案,由于是在实施例3的基础上,PBS缓冲液:小牛血清:保护剂=77:20:0.15,三者的含量比例适中,而实施例7选用多种保护剂,其中二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与巯基吡哆醇保护剂=3:2:1:1,进一

步加强保护,而且四者控制在比较适宜的比例条件下,因此其灵敏度以及重复性较为优异。

[0085] 相较实施例3而言,实施例1中,由于PBS缓冲液:小牛血清:保护剂壳聚糖=75:15:0.2,PBS缓冲液和小牛血清含量较低,无法完全将样本中的抗体稀释出来,变异系数升高,因此试剂盒的多次试验检测的偏差数值略高。

[0086] 实施例2中,由于PBS缓冲液:小牛血清:保护剂壳聚糖=80:25:0.1,PBS缓冲液和小牛血清含量较高,导致样本的抗体过度分解,变异系数升高,因此试剂盒的多次试验检测的偏差数值略高。

[0087] 实施例3中,由于PBS缓冲液:小牛血清:保护剂=77:20:0.15,三者的含量比例适中,未对变异系数造成影响,因此试剂盒的多次试验检测的偏差数值较实施例1-2来说较低。

[0088] 实施例4中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中二甲基二乙酰氧基硅烷、依克多因、厄多司坦与S-烯丙基巯基半胱氨酸=2:2:1:1,其中二甲基二乙酰氧基硅烷的含量较少,因此试剂盒的多次试验检测的灵敏度和重复性优于实施例3,劣于实施例5。

[0089] 实施例5中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中二甲基二乙酰氧基硅烷:依克多因:厄多司坦:S-烯丙基巯基半胱氨酸=3:2:1:1,其中四中保护剂的含量适当,相当于在实施例4的基础上进行优化,因此试剂盒的多次试验检测的灵敏度和重复性优于实施例3,劣于实施例7。

[0090] 实施例6中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中二甲基二乙酰氧基硅烷:依克多因:厄多司坦:巯基吡哆醇=2:2:1:1,其中二甲基二乙酰氧基硅烷的含量较少,因此试剂盒的多次试验检测的灵敏度和重复性优于实施例3,劣于实施例7。

[0091] 实施例7中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中二甲基二乙酰氧基硅烷:依克多因:厄多司坦:巯基吡哆醇=3:2:1:1,其中四种保护剂体积含量适中,是优选方案。

[0092] 实施例8中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中二甲基二乙酰氧基硅烷:依克多因:厄多司坦:硫柳汞=2:2:1:1,其中硫柳汞的效果次于巯基吡哆醇,因此试剂盒的多次试验检测的灵敏度和重复性优于实施例3,劣于实施例9。

[0093] 实施例9中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中二甲基二乙酰氧基硅烷:依克多因:厄多司坦:硫柳汞=3:2:1:1,其中硫柳汞的效果次于巯基吡哆醇,因此试剂盒的多次试验检测的灵敏度和重复性优于实施例3,劣于实施例7。

[0094] 实施例10中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中二甲基二乙酰氧基硅烷:依克多因:S-烯丙基巯基半胱氨酸:硫柳汞=2:2:1:1,其中S-烯丙基巯基半胱氨酸的效果次于厄多司坦,因此试剂盒的多次试验检测的灵敏度和重复性优于实施例3,劣于实施例11。

[0095] 实施例11中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中二甲基二乙酰氧基硅烷:依克多因:S-烯丙基巯基半胱氨酸:硫柳汞=3:2:1:1,其中S-烯丙基巯基半胱氨酸的效果次于厄多司坦,因此试剂盒的多次试验检测的灵敏度和重复性优于实施例3,劣于实施例7。

[0096] 实施例12中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中

[0097] 二甲基二乙酰氧基硅烷:依克多因:巯基吡哆醇:硫柳汞=2:2:1:1,其中硫柳汞的

效果次于厄多司坦,因此试剂盒的多次试验检测的灵敏度和重复性优于实施例3,劣于试验例13。

[0098] 实施例13中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中

[0099] 二甲基二乙酰氧基硅烷:依克多因:巯基吡哆醇:硫柳汞=3:2:1:1,其中硫柳汞的效果次于厄多司坦,因此试剂盒的多次试验检测的灵敏度和重复性优于实施例3,劣于试验例7。

[0100] 实施例14中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中二甲基二乙酰氧基硅烷:依克多因:S-烯丙基巯基半胱氨酸:巯基吡哆醇=2:2:1:1,其中S-烯丙基巯基半胱氨酸的效果次于山厄多司坦,因此试剂盒的多次试验检测的灵敏度和重复性优于实施例3,劣于实施例15。

[0101] 实施例15中,由于是在实施例3的基础上,使用了多种保护剂,其中二甲基二乙酰氧基硅烷:依克多因:S-烯丙基巯基半胱氨酸:巯基吡哆醇=3:2:1:1,其中S-烯丙基巯基半胱氨酸的效果次于厄多司坦,因此试剂盒的多次试验检测的灵敏度和重复性优于实施例3,劣于实施例7。

[0102] 比较例1中,由于是与实施例3一致,区别在于不添加任何保护剂,因此试剂盒的多次试验检测的偏差数值略高。

[0103] 最后应说明的是:以上各实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述各实施例对本发明进行了详细的说明,但本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分或者全部技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的范围。

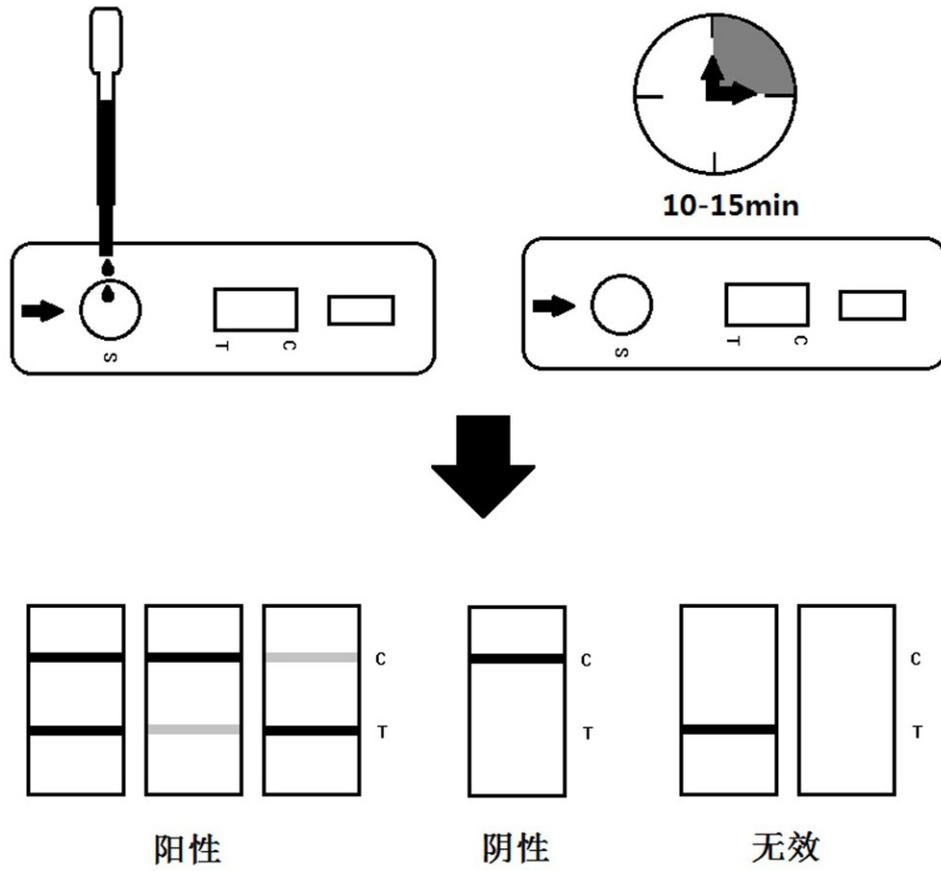


图1

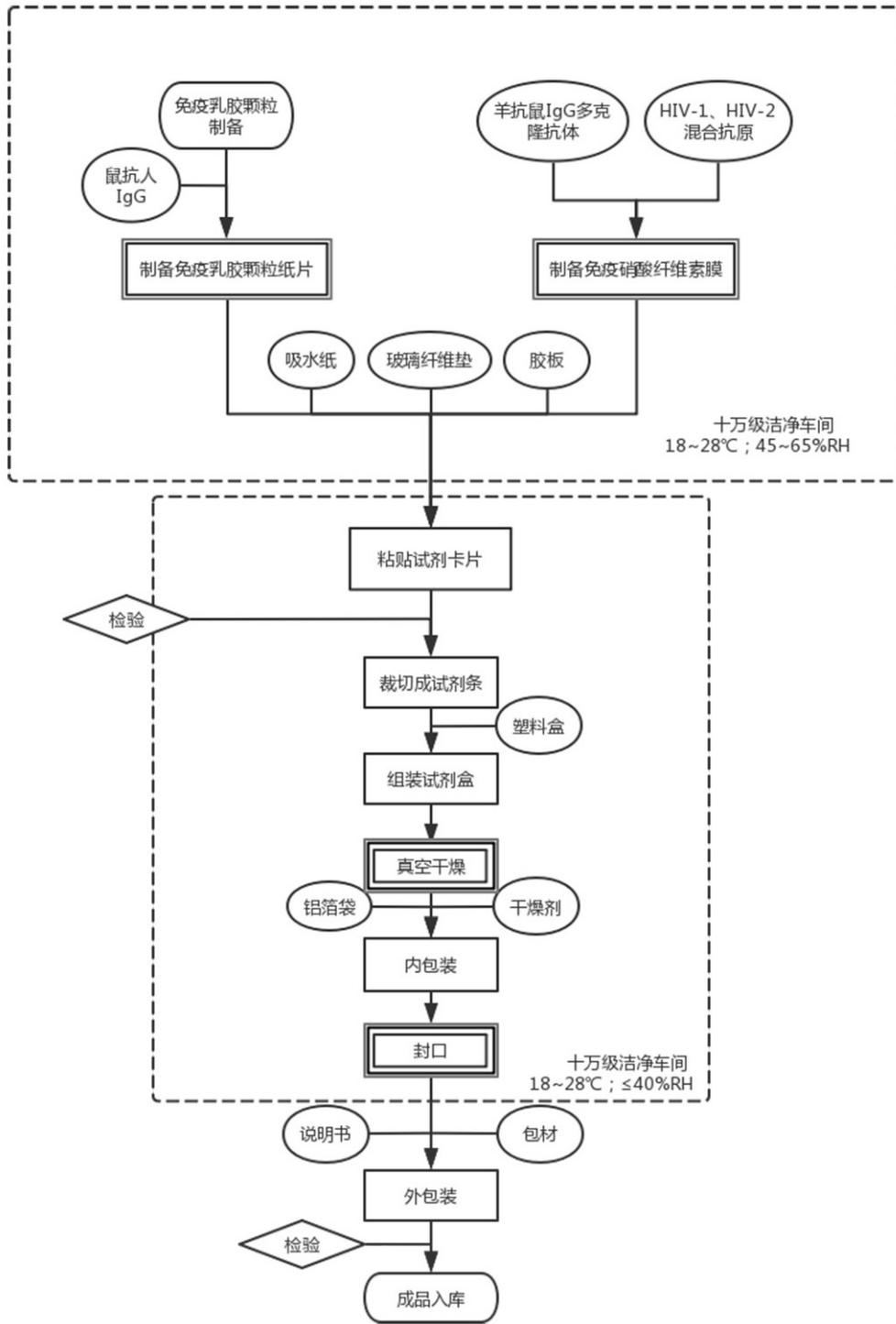


图2