

BP 180抗体检测试剂盒（ELISA）

说 明 书

货号：7695E

规格：48 孔

生产企业

株式会社医学生物学研究所（MBL）

经销企业

北京博尔迈生物技术有限公司

【产品名称】

通用名称: BP180抗体检测试剂盒 (ELISA)

英文名称: MESACUP BP180 TEST

【包装规格】

48人份/盒

【预期用途】

BP180抗体检测试剂盒 (ELISA) 利用酶联免疫吸附法 (ELISA), 定性测定人类血清中的BP180抗体, 用于体外诊断, 作为诊断类天疱疮的一种辅助诊断手段。

大疱性类天疱疮 (BP) 是一种慢性瘙痒性的大疱性皮肤病, 主要发病人群为老年人, 表现为红斑和紧张的水疱。此类患者的血清中可检测到IgG基底膜 (BMZ) 抗体, 损伤部位的基底膜可检测到线性IgG或C3沉积。BP患者血清中自身抗体的靶抗原是BP230和BP180, 也称作BPAG1和BPAG2。这两种抗原的分子量分别是230 kD和180 kD。由于所在部位的原因, BP180被认为是自身抗体的直接靶点, 而抗BP230自身抗体则被认为是其继发性产物。BP180抗体被认为是致病源, 因为注射兔抗小鼠NC16a区域的BP180抗体可诱导新生小鼠产生类似于BP的水疱。BP180的主要表位位于接近细胞膜的区域, 称为NC16a, 大多数患者的血清对重组的NC16a蛋白起反应。

BP180抗体检测试剂盒 (ELISA) 能特异性地检测患者血清中的BP180自身抗体。

【检验原理】

BP180抗体检测试剂盒 (ELISA) 利用ELISA定性测定血清中的BP180抗体。检测时, 将标准血清和患者血清加入包埋BP180抗原的微孔条带, 使BP180抗体与孔内固定的抗原发生反应 (样品孵育)。洗涤微孔条带, 除去未结合的血清蛋白, 然后加入标记了辣根过氧化酶的人类IgG抗体, 并孵育 (结合孵育)。接着再次洗涤, 然后加入过氧化物酶底物, 并再次孵育一段时间 (底物孵育), 之后向每孔加入酸溶液, 以终止酶反应, 并稳定显色反应。用分光光度计测定吸光度, 量化检测结果。

【主要组成成分】

BP180微孔条带 (48孔)、0U/mL标准血清1 (1.5mL的含0.09%叠氮钠的反应缓冲液 (标本稀释液))、100U/mL标准血清2 (1.5mL的BP180抗体呈阳性的人类血清, 稀释于含0.09%叠氮钠的反应缓冲液)、酶标记抗体液 (二抗) (8mL标记辣根过氧化酶的羊抗人IgG抗体)、反应缓冲液 (标本稀释液) (50mL含PBS、Tween20和0.09% 叠氮钠的混合液)、洗缓冲液 (液 100mL含PBS和Tween20的浓缩液, 需10倍稀释)、酶基质液 (20 mL的3、3'-5、5'-四甲基联苯胺二氢氯化物/过氧化氢 (TMB/ H₂O₂) 溶液)、终止液 (20mL的1.0N硫酸溶液)。

【储存条件及有效期】

产品储存至2-8℃下, 避光保存。

产品有效期一年。

【适用仪器】

酶标仪 (波长: 450nm, 620nm)

【样本要求】

北京博尔迈生物技术有限公司
BEIJING B&M BIOTECH CO.,LTD

- 使用新鲜患者血清，如需储藏，必须分装冷冻保存，-20℃下最多可保存1个月，-70℃下长期保存，切勿反复冻融。（*如果-20℃下保存超过6个月，或反复冻融，IgG变性致使结果失去特异性。）
- 1:101稀释每个患者血清：10μl血清加1mL反应缓冲液（标本稀释液）。（*稀释好的样品必需在1天内使用）

【检验方法】

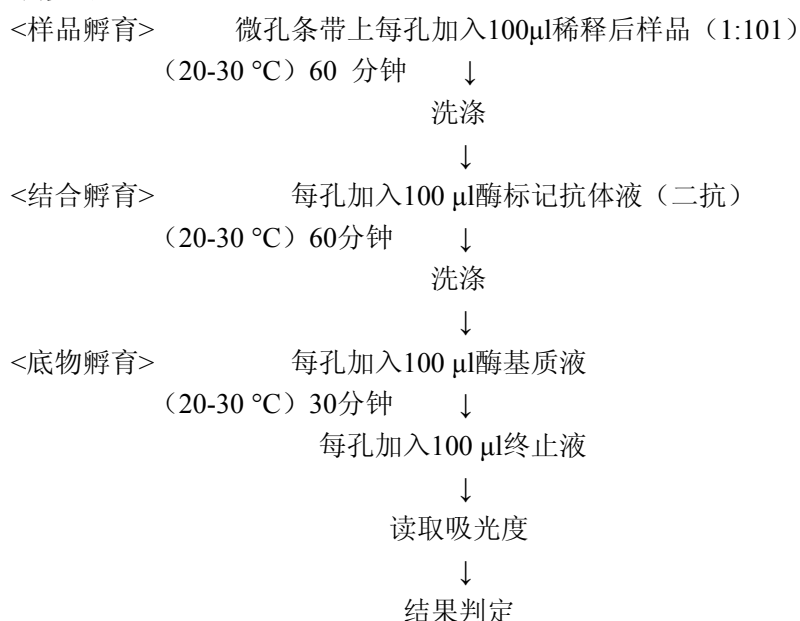
1. 试剂制备

- 使用前，将所有检测材料置于室温下（20~25℃）
- 微孔条带：从袋中取出所需微孔条带，置于支架上，将不用的条带迅速放回袋中，冷冻保存。
- 清洗缓冲液：清洗缓冲液使用前必须稀释。
1:10稀释清洗缓冲液：50mL清洗缓冲液加450mL蒸馏水。稀释好的清洗液可在2-8℃下稳定保存2周。
- 请勿稀释其他待用的试剂盒组分。

2. 样品制备

- 使用新鲜患者血清。
- 1:101稀释每个患者血清：10μl血清加1mL反应缓冲液（标本稀释液）。（*稀释好的样品必需在1天内使用）
*稀释好的样品可冷冻保存3天。

3. 检测步骤



• 步骤1. <样品孵育>

吸取150 μl标准血清1、标准血清2、稀释好的样本溶液，加入到各自的抗原测定孔板中。



然后用多管微量加样器取100 μ l加入到各包埋抗原的孔内。

*移液到包埋抗原的微孔时开始孵育。移液操作必须尽可能迅速。

用板封条盖住各孔，在室温（20-25 $^{\circ}$ C）下孵育60分钟。

• 步骤2.<洗涤>

吸出并丢弃孔中的液体。向孔中加入洗涤液，然后完全吸出并丢弃。如此洗涤4次。在纸巾上拍打酶标板，以除去残留的清洗液。如果使用自动洗样机，则洗涤4次。

*建议每个实验室确认适合自身的洗涤次数和其他条件。

*洗涤液应在20-25 $^{\circ}$ C下使用。

• 步骤3.<结合孵育>

将酶标记抗体液（二抗）倒入试剂槽中。用多管微量加样器向每孔加入100 μ l结合液。用板封条封住各孔，室温下（20-25 $^{\circ}$ C）孵育60分钟。

• 步骤4.<洗涤>

与步骤2程序相同，再次洗涤微孔板。

• 步骤5.<底物孵育>

将酶基质液倒入试剂槽中。用多管微量加样器向每孔加入100 μ l酶基质液。

*本次使用的试剂槽须不同于倾倒结合液（二抗和标本稀释液）的试剂槽。使用新的试剂槽是因为底物很容易被金属离子氧化。用板封条封住各孔，室温下（20-25 $^{\circ}$ C）孵育30分钟。

• 步骤6.<终止反应>

将终止液倒入试剂槽中。用多管微量加样器向每孔加入100 μ l终止液。

4. 读取结果

450 nm下读取各孔的吸光度。如果酶标仪具有双波长功能，设置测试波长为450 nm、参考波长为620 nm。

*反应终止后应尽快读取结果。

*保证酶标板的底部清洁、干燥，读数前每孔液体表面没有气泡。

5. 结果计算

$$\text{单位值 (U/mL)} = \frac{(A_{450} \text{ <样品> } - A_{450} \text{ <标准血清 1>})}{(A_{450} \text{ <标准血清2> } - A_{450} \text{ <标准血清1>})} \times 100$$

* A450是450 nm处吸光度的缩写。

*目前BP180抗体尚无国际通行的参考标准，因此本检测结果校准时采用了相对单位。

6. 质量控制

• 每个检测结果必须符合以下标准：

标准血清1的A450： ≤ 0.100

标准血清2的A450： ≥ 0.500

如不符合上述标准，则结果视为无效，必须重新检测。



- 在重新检测之前，请检查以下步骤：
孵育温度 / 孵育时间 / 洗涤

【参考值（参考范围）】

抗BP180值 (U/mL)	判定
<9	阴性
≥9	阳性

【检验结果的解释】

对72个BP样本和对照样本（42例PF患者，69例PV患者和336位正常人）的ROC分析确定了上述参考值。

【检验方法的局限性】

BP180抗体诊断试剂盒检测获得的结果仅供辅助诊断使用，应根据实际情况加以解释。

【产品性能指标】

1. 特异性和灵敏性

疾 病	阳性样本	阳性率
落叶型天疱疮 (PF)	0/6	0.0%
寻常型天疱疮 (PV)	0/42	0.0%
大疱性类天疱疮 (BP)	51/69	73.9%
正常人	5/336	1.5%

2. 重复性

每个样本的可重复性和可重现性的CV%值均小于15%。

3. 检测范围

本试剂盒的检测范围在7U/mL 到150U/mL之间。如检测结果超过150U/mL，须报告“大于150U/mL”。

4. 干扰物质

血红蛋白（440 mg/dl 以内）、胆红素（40.0mg/dl 以内）、乳糜（2,350 个福尔马胂单位以内）和/或类风湿因子（1000 IU/mL 以内）对检测结果没有影响，但须避免使用高度溶血的样本或高血脂的样本。

【注意事项】

- 本产品仅用于体外诊断。
- 请勿在有效期以外使用本试剂盒的各组分。
- 避免试剂接触到眼睛、皮肤和衣服。一旦接触到皮肤和眼睛，须立即用大量清水冲洗干净。TMB液含有刺激性物质，终止液含有1N的硫酸，具有毒性和腐蚀性。
- 标准液取自人类血清，未检测出HBs抗原、HBV抗体、HCV抗体、HIV-1和HIV-2抗体。但是没有一种检测方法能完全保证血清中不含有这些或其他传染性物质。因此在处理这些试剂以及所有患者血清样本时，必须假定其可能传播AIDS、肝炎或其他传染性疾病。
- 标准血清1、标准血清2和反应用缓冲液（标本稀释液）含有叠氮钠（0.09%），叠氮



钠作防腐剂用，必须谨慎处理—严禁吞咽、接触皮肤或黏膜。叠氮钠可与铜或铅制品中的铅发生反应，形成金属叠氮化物易爆物质。因此，将含有叠氮钠的废液倒入下水道时，必须用大量清水冲洗。

- 试剂盒的某些组分含有来自动物的原料，这些动物均为非传染性动物。但是，使用和处置这些组分时，仍须将其当作潜在危险物质对待。
- 使用时，请仔细对照微孔条带、标准血清1和标准血清2上的批号。请勿与其他试剂盒中的试剂替换使用。
- 所有试剂在开始检测前必须先置于室温下（20-25℃）。
- 在检测和储藏过程中，请勿将试剂盒直接暴露于日光下。
- 请避免试剂或样本间的微生物污染和交叉污染。
- 孵育温度高于或低于正常室温（20-25℃）、孵育时间过长或过短、以及稀释倍数错误均可导致错误的检测结果。
- 必须用洗涤液充分洗涤各孔，以避免假阳性结果。
- 小心吸取各样品和试剂溶液，避免产生气泡，避免各孔间产生交叉污染。
- 非即时需要使用的微孔条带须放回拉链袋中，小心封口，避免吸收水分。
- 清洗缓冲液在2-8℃下可能变得混浊，但不会影响检测结果。
- 试验中用到的工具须作如下处理：
在2%最终浓度的戊二醛溶液中浸泡1小时以上，或在0.5%的次氯酸钠溶液（有效氯：大约5000ppm）中浸泡1小时以上，或121℃高压灭菌20分钟以上。
- 本实验获得的 BP180 抗体值仅用于辅助诊断。各临床医师应结合患者的病史、生理指标和其他诊断指标合理地解释本试剂盒的检测结果。

【参考文献】

1. Liu Z, et al.: A passive transfer model of the organ-specific autoimmune disease, bullous pemphigoid, using antibodies generated against the hemidesmosomal antigen, BP180. J Clin Invest 92:2480-2488, 1993.
2. Matsumura K, et al.: The majority of bullous pemphigoid and herpes gestationis serum samples react with NC16a domain of the 180kD bullous pemphigoid antigen. Arch Dermatol Res 288:507-509, 1996.

【生产企业】

企业名称：Medical & Biological Laboratories Co., Ltd. (MBL)
注册地址：5-10 Marunouchi 3-chome, Naka-ku, Nagoya 460-0002, Japan
生产地址：1063-103 Terasawaoka Ina-shi, Nagano-ken, Japan
电话：81-52-971-2081 传真：81-52-971-2337
网址：www.mbl.co.jp

【售后服务机构】

公司名称：北京博尔迈生物技术有限公司
公司地址：北京市昌平区生命园路29号创新大厦A202室 102206
电话：010-8070 7048 传真：010-8289 0976

【医疗器械注册证书编号】

国食药监械（进）字2010第2401734号

【产品标准编号】

YZB/JAP 0851-2010



北京博尔迈生物技术有限公司
BEIJING B&M BIOTECH CO.,LTD