

第一局部 工程运行意义概述

胸苷激酶 1 简称 TK1，是一种国际公认的细胞增殖特异性标志物；它参与 DNA 补救合成途径，是 DNA 合成的特别标志酶。临床上，可用于监测和评估体细胞的特别增殖速度。

安康人细胞多处于静止状态〔非增殖细胞〕，血清中的 TK1 酶含量极微，而随着增殖类疾病的发生，尤其是肿瘤、组织特别增生类疾病，细胞发生过度增殖，血清中TK1 酶的含量消灭显著上升，超过安康人平均水平 2 倍甚至 100 倍以上。所以，通过检测血清中TK1 浓度水平的变化，能够敏感地觉察细胞增殖特别，动态评估细胞增殖进展趋势，为提前干预治疗高风险癌前病变，遏制肿瘤进程供给重要信息。

在瑞典卡罗琳斯卡大学(诺贝尔医学和生理学奖评审机构)二十多年的研发根底上，华瑞同康生物技术〔 〕与瑞典Karolinska 大学 TK1 争论团队共同研制出高灵敏度的胸苷激酶 1〔TK1〕细胞周期分析试剂盒及 CIS 系列化学发光数字成像仪，该系统是世界上唯一用于临床检验血清中 TK1 浓度的产品，其特异性高于 95%，对各类增殖性疾病的综合检测灵敏度高于70%。

该系统已在多临床领域得到较为广泛地应用：

- 1、**独立的肿瘤预后因子**：多国家，多机构的争论说明，TK1 是优选的预后评估指标，可作为独立的肿瘤预后因子；
- 2、**动态评估手术、放化疗效果**：能够对各种实体肿瘤〔例如：肺癌，胃癌，结肠癌，直肠癌，食道癌，乳腺癌，宫颈癌，前列腺癌等〕以及白血病和淋巴瘤患者的治疗效果进展评估，为治疗方案的改善供给参考；
- 3、**更早评估肿瘤复发风险**：对肿瘤康复期患者进展动态跟踪，较影像学更早提示肿瘤复发或转移风险信号；
- 4、**评估各类增殖类疾病恶变风险**：处于过度增殖的增殖类疾病是肿瘤形成的第一步。基于TK1 与细胞增殖的亲热关系，能够灵敏地通过 TK1 的浓度变化，觉察恶性增殖风险，为肿瘤的癌前干预供给了更有效率，更有价值的信息，适用于无疾病人群的恶性增殖风险筛查。

其次局部 工程运行预备

一. 工程环境

1、环境参数

温度： 24-25℃；

湿度： 小于 65%；

试验用水：

- (1) 双蒸水；
- (2) 去离子水；

2、试验室设置要求：

- (1) 工程最小占地约 8-9 平方米；
- (2) 工作区域可放置两 1.5m×0.8m 或一 3m×1m 工作台；
- (3) 控温设备：30 立方米左右的独立空间，可选用 2 匹的挂式空调进展控温, 或选用恒温摇床，如以下图：



二、工程所需设备

1、试验用设备

编号	设备名称	规格要求	数量	用途
1	化学发光数字成像	CIS 系列	1	采集发光信号和分析数据
2	脱色/恒温摇床〔平摇〕	20-100r/min 可调	1	免疫孵育
3	台式离心机	0-4000r/min	1	分别血清
4	冰箱	冷藏 2-8℃ 冷冻-20℃	1	保存试剂 保存样本
5	打印机	USB 数据接口	1	输出检测结果
6	恒温水浴锅	单孔或双孔	1	掌握反响液温度

2、试验工具及耗材

〔1〕 试验用工具：

编号	工具名称	规格要求	数量	用途
1	移液器	0-10 μl 或	1	血清点样
2	移液器	20-100 μl	1	配制反响液
3	移液器	100-1000 μl	1	分装和检测样本
4		500ml	2	配制工作液
6	烧杯	100ml	2	配制工作液
7	电子计时器	无	1	试验提示
8	探头温度计	-50℃-50℃	1	掌握试验温度
9	塑料镊子	平头	1	试验需要
10	反响盒	24T、48T、96T	各 1	适用于对应规格的产品使用
11	量筒	25ml	1	配制工作液
12	量筒	250ml	1	配制工作液

〔3〕 试验耗材

编号	耗材名称	规格要求	用量	用途
1	移液器枪头	20 μl	1 个/ 样本	配套0-10 μl 移液器使用

2	移液器枪头	200 μ l	2 个/ 次	配套20-100 μ l 移液器使用
3	移液器枪头	1ml	1 个/ 次	配套100-1000 μ l 移液器使用
4	分装管	500 μ l 或 1ml	1 个/ 样本	血清分装时使用
5	吸水纸	无	-	保持环境清洁, 防止膜污染
6	周密 PH 试纸	5.5-9.0	-	测定缓冲液PH 值

三、试验样本处理要求及保存

样本种类：血清

采集要求：

- 1、必需使用无任何添加剂的真空采血管；
- 2、取静脉血 2ml〔室温〕；
- 3、建议空腹采血；
- 4、脂血、溶血样本可能造成试验结果的偏差，不建议使用；

样本处理：

- 1、采血完成后，室温下静置或 37℃水浴至凝固后离心使用；
- 2、离心转速：4000r/min，离心时间：5min；

注：室温放置时间不宜超过 3h；

样本保存：

- 1、离心后的血清如非即时使用，应马上分装，推举血清分装量 100-200 μ l/管，放置于-20℃保存；
- 2、-20℃保存时间以不超过 7 天为佳；
- 3、如需长时间保存，建议提高分装量〔1.5ml〕，并放置于-80℃〔可保存 3 年左右〕；

样本运输：

- 1、样本如需外送检验〔本市围或行程小于 3 小时〕，建议采血后先放置于 2-8℃静置，到检验点后取出离心，处理要求同上；
- 2、样本如需外送检验〔外省市〕，建议离心后分装至分装管中，

血清分装量 1.5ml/管，运输介质建议使用保温箱+化学冰+干冰，干冰用量 2 公斤/24 小时〔依据路程消耗时间增量〕；

样本复融：

- 1、血清使用前需充分振荡混匀；
- 2、冷冻保存的血清样本，需放置于室温完全解冻后使用；
- 3、反复冻融的血清样本严禁使用。

第三局部 工程核心产品简介

一、胸苷激酶 1 细胞周期分析试剂盒

注册号：粤食药监械〔准〕字 2023 第 2400369 号

规格：24 人份、48 人份、96 人份

储存条件：2-8℃

有效期：6 个月〔具体日期见试剂盒标签〕

使用要求：后一次性使用

试验用时：单次试验用时 5-6h 〔依据样本数量有所差异〕；

工作通量：300-400 人份/天



图 1

主要组成成份：

试剂盒由校准品、抗TK1-IgY、生物素化抗IgY 二抗、SA-HRP、ECL1、ECL2、浓缩稀释液、浓缩洗涤液、封闭剂、硝酸纤维素膜主要成分组成。

组分名称、装量详见产品说明书，并以产品说明书为主。

二、CIS 系列化学发光数字成像

注册号：粤食药监械〔准〕字2023第2400879号

1、设备性能参数

- 系统偏差：±5%
- 成像灰度等级：12bit (212)
- 区分率：1392〔H〕×1040〔L〕
- 光学镜头：几何形变率小于1%
- 拍摄围：12cm×9cm 可调
- 工作环境温度：10-30℃
- 单次批处理力量：96 人份/次
- 读出噪音：≤7 e-rms/20MHz
- 降噪力量：专业级高效半导体制冷CCD，集成噪音软处理功能

2、主要构造部件

CIS-2 化学发光数字成像、免疫点印迹分析软件、加密狗、Lenovo 一体机。



图 2

第四局部 工程试验操作

一、工程原理概述

1、TK1 检测:

先将含有 TK1 抗原血清吸附在硝酸纤维素膜固相载体上，用抗人 TK1-IgY 抗体识别抗原〔A〕，生物素化抗 IgY 二抗识别抗原-抗人 TK1-IgY 抗体并进展信号放大〔B〕，亲和素化辣根过氧化物酶与生物素连接〔C〕，在参加发光底物后，亲和素化辣根过氧化物酶催化底物发光，发出的光信号强弱光信号〔D〕，必需通过 CCD 的信号采集设备进展采集和分析。〔如图 3〕

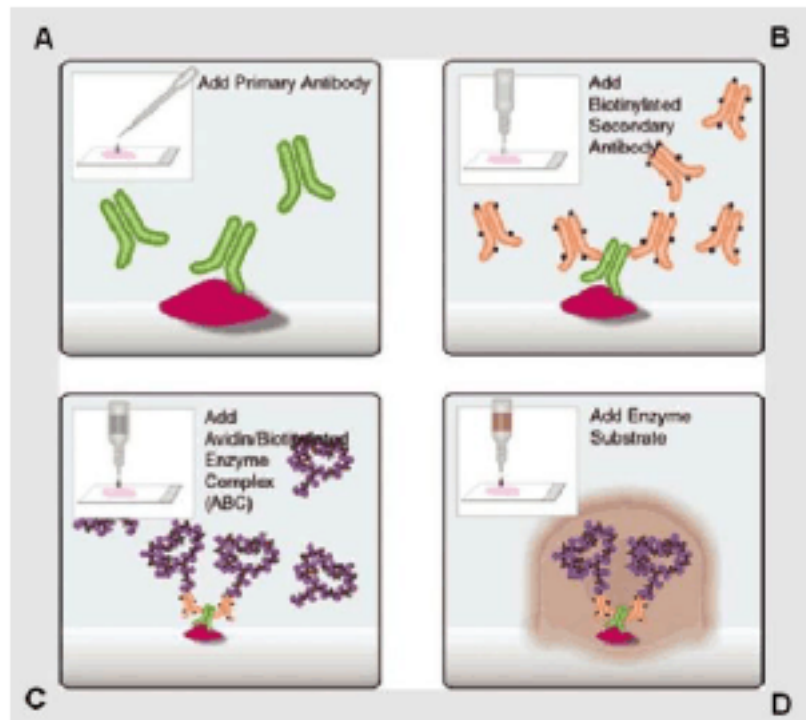


图 3

2、试验结果分析：

将反应完毕的样本载体，放入暗室〔避开外界光的干扰〕，通过周密的制冷CCD 长时间曝光将化学发光强弱信号转变为数字信号，保存后得到样本发光图片，通过校准品固定浓度与亮度的关系，绘制标准曲线，进而计算出其他样本TK1 的浓度。

二、试验操作流程

1、试验预备局部：

- 1.1 血清预备：请参照《试验样本处理要求及保存》章节；
- 1.2 试剂工作的最正确温度为 25-26℃，请使用空调和恒温水浴锅等保证明验工作液温度到达该标准；
- 1.3 试验前需认真清洗玻璃器皿：洗涤液清洗→清水冲洗→试验用水润洗
- 1.4 检测试验用设备和工具是否都处于正常工作状态〔包括化学发光数字成像〕，对于觉察的特别状况进展准时排解；
- 1.5 依据说明书要求配制试验所需的稀释液和洗涤液，保证配制好

后的 pH 值在 7.2-7.8 之间;

2、试验操作掌握

1、点样:

取出点样板, 为防止污染在点样板下放一白纸, 样本上样量为 3 μ l;

a. 取样后, 枪头贴壁 2-3 次; b. 加样枪垂直; c. 扶稳加样枪, 枪头固定于孔中心; d. 保证样本打出后直接被膜吸附;

2、晾干:

将膜从点样板中取出, 揭掉反面蓝色保护膜, 放置于温度 28-30°C, 湿度小于 65%的环境进展晾干, 时间为 30min;

3、漂洗:

待膜晾干完毕, 将膜放入反响盒, 倒入双蒸水或去离子水, 使膜浸没于水中, 以 60-70r/min 的转速洗涤 2 次, 每次 1min;

4、封闭:

封闭剂使用稀释液配制 [3g 封闭剂+50ml 稀释液]; 使用磁力搅拌器混匀 5min [或用手快速搅匀 10-15min], 至没有封闭剂颗粒和沉淀为止; 将晾干后的膜放入反响盒中, 倒入封闭剂; 以 35-45r/min 的转速摇动, 时间为 30min;

5、抗 TK1-IgY 抗体反响:

将封闭液摇匀 [盒底无沉淀] 后倒出, 然后加一抗反响液 [一抗稀释浓度见试剂盒说明书], 并以 400 μ l 封闭剂/10ml 反响液的比例添加封闭剂; 以 35-45r/min; 反响 2h; 反响液温度掌握在 25°C 左右;

6、洗涤:

倒去一抗反响液, 先用洗涤液快速漂洗两次, 再倒入洗涤液以 60-70r/min 的转速洗涤 3 次, 每次 5min;

7、生物素化抗 IgY 二抗:

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/398020071044006105>