



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105301090 A

(43) 申请公布日 2016. 02. 03

(21) 申请号 201510736381. 4

(22) 申请日 2015. 11. 03

(71) 申请人 清华大学

地址 100084 北京市海淀区北京市 100084

信箱 82 分箱清华大学专利办公室

(72) 发明人 张新荣 孙公伟 邢志 张四纯

(74) 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

代理人 关畅 王春霞

(51) Int. Cl.

G01N 27/62(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

G01N 33/574(2006. 01)

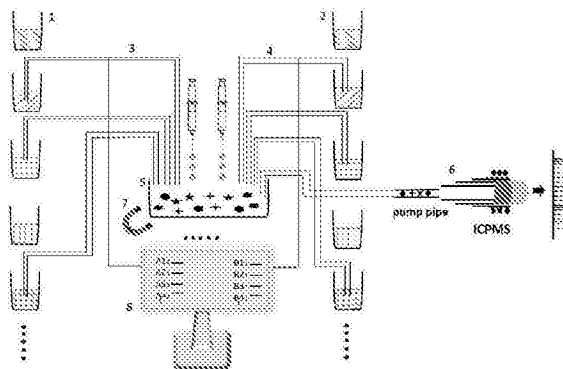
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54) 发明名称

一种任意组合式免疫多组份检测方法及装置

(57) 摘要

本发明公开了一种任意组合式免疫多组份检测方法及装置。该装置包括若干个存储容器A、若干个存储容器B和若干个免疫反应容器,存储容器A和存储容器B的数量相应,免疫反应容器的数量不小于存储容器A的数量;每个存储容器A中均引出输液管A,用于与免疫反应容器相连通;一个或多个存储容器A与一个免疫反应容器相连通;每个存储容器B中均引出输液管B,用于与免疫反应容器相连通;一个或多个存储容器B与一个免疫反应容器相连通;免疫反应容器与电感耦合等离子体质谱仪的进样器相连通。本发明针对检测对象和检测项目的不同,通过计算机软件控制,可任意选择对应检测对象的抗体包被的磁性微球进入反应容器与血清样品进行免疫反应,并利用不同元素标记的抗体实现多组份同时分析,最大限度地满足个体化治疗的测定要求。



1. 一种任意组合式免疫多组份检测装置,其特征在于:所述检测装置包括若干个存储容器 A、若干个存储容器 B 和若干个免疫反应容器,所述存储容器 A 和所述存储容器 B 的数量相应,所述免疫反应容器的数量不小于所述存储容器 A 的数量;

每个所述存储容器 A 中均引出一输液管 A,用于与所述免疫反应容器相连通;一个或多个所述存储容器 A 与一个所述免疫反应容器相连通;

每个所述存储容器 B 中均引出一输液管 B,用于与所述免疫反应容器相连通;一个或多个所述存储容器 B 与一个所述免疫反应容器相连通;

所述免疫反应容器与电感耦合等离子体质谱仪的进样器相连通。

2. 根据权利要求 1 所述的检测装置,其特征在于:所述存储容器 A 和所述存储容器 B 与所述免疫反应容器之间的连通均通过计算机控制。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的检测装置,其特征在于:所述装置还包括使用说明书,所述使用说明书中记载如下内容:

(1) 标准曲线的建立,包括如下步骤:

1) 将不同的包被肿瘤标志物抗体的磁性微球置于所述存储容器 A 中;根据检测目标,将相应的所述磁性微球输入至相应的所述免疫反应容器中进行免疫反应;所述免疫反应容器中置有肿瘤标志物抗原标准品;

2) 将不同的标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体置于所述存储容器 B 中;

3) 步骤 1) 中所述免疫反应结束后,将所述标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体输入至所述免疫反应容器中进行免疫反应,输入的所述标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体与步骤 1) 中输入的所述磁性微球包被的肿瘤标志物抗体相结合;

4) 将步骤 3) 中所述免疫反应的产物进行解离,然后输入至所述电感耦合等离子体质谱仪中进行检测,得到金属的质谱峰强度;

5) 变化所述标准品中所述肿瘤标志物的浓度,重复 1)-4) 的步骤至少 3 次;以标准品中肿瘤标志物的浓度为横坐标,以金属的质谱峰强度为纵坐标,建立标准品中肿瘤标志物的浓度与金属的质谱峰强度之间的标准曲线;

(2) 检测样本中肿瘤标志物的检测,包括如下步骤:

重复步骤 (1) 中 1)-4) 的步骤,得到金属的质谱峰强度,根据所述标准曲线,即得到检测样本中肿瘤标志物的浓度;仅将步骤 (2) 中的所述免疫反应容器中置有所述检测样本。

4. 根据权利要求 1-3 中任一项所述的检测装置,其特征在于:所述检测装置还包括磁分离装置,用于对所述免疫反应容器中的产物进行分离。

5. 利用权利要求 1-4 中任一项所述装置进行组合式免疫多组份检测的方法,包括如下步骤:

(1) 标准曲线的建立,包括如下步骤:

1) 将不同的包被肿瘤标志物抗体的磁性微球置于所述存储容器 A 中;根据检测目标,将相应的所述磁性微球输入至相应的所述免疫反应容器中进行免疫反应;所述免疫反应容器中置有肿瘤标志物抗原标准品;

2) 将不同的标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体置于所述存储容器 B 中;

3) 步骤 1) 中所述免疫反应结束后,将所述标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体输入至所述免疫反应容器中进行免疫反应,输入的所述标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体与步骤

1) 中输入的所述磁性微球包被的肿瘤标志物抗体相结合；

4) 将步骤 3) 中所述免疫反应的产物进行解离,然后输入至所述电感耦合等离子体质谱仪中进行检测,得到金属的质谱峰强度；

5) 变化所述标准品中所述肿瘤标志物的浓度,重复 1)-4) 的步骤至少 3 次;以标准品中肿瘤标志物的浓度为横坐标,以金属的质谱峰强度为纵坐标,建立标准品中肿瘤标志物的浓度与金属的质谱峰强度之间的标准曲线；

(2) 检测样本中肿瘤标志物的检测,包括如下步骤：

重复步骤 (1) 中 1)-4) 的步骤,得到金属的质谱峰强度,根据所述标准曲线,即得到检测样本中肿瘤标志物的浓度;仅将步骤 (2) 中的所述免疫反应容器中置有所述检测样本。

6. 根据权利要求 5 所述的方法,其特征在于:所述金属为稳定同位素。

7. 根据权利要求 5 或 6 所述的方法,其特征在于:步骤 (1) 中 3) 中,将所述标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体输入至所述免疫反应容器之前,所述方法还包括对步骤 1) 中所述免疫反应的产物进行清洗的步骤。

8. 根据权利要求 5-7 中任一项所述的方法,其特征在于:步骤 (1) 中步骤 4) 中,将步骤 3) 中所述免疫反应的产物输入至所述电感耦合等离子体质谱仪之前,所述方法还包括对步骤 3) 中所述免疫反应的产物进行清洗的步骤；

所述清洗步骤如下:利用所述磁分离装置吸引所述磁性微球,将步骤 (1) 中 1) 中免疫反应的产物或步骤 (1) 中 3) 中所述免疫反应的产物中的液体抽离,即能对所述磁性微球进行清洗。

9. 根据权利要求 5-8 中任一项所述的方法,其特征在于:所述解离采用 $\text{pH} < 2.0$ 的酸性溶液的作为解离液。

10. 权利要求 1-4 中任一项所述装置在组合式免疫多组份检测中的应用。

一种任意组合式免疫多组份检测方法及装置

技术领域

[0001] 本发明涉及一种任意组合式免疫多组份检测方法及装置,属于生物检测分析技术领域。

背景技术

[0002] 个体化治疗(individualized drug therapy)是以每个患者的信息为基础决定治疗方针,从基因组成或表达变化的差异来把握治疗效果或毒副作用等应答的个性,对每个患者进行最适宜药物疗法的治疗。目前的个体化医疗集中体现在分子诊断的应用方面,也就是通过基因组测序或基因芯片检测,预测被检测对象在哪些疾病上有较高的风险。基于个人特异性 DNA 序列得到了较快的发展,但是蛋白水平上的健康预测发展的较为缓慢,限制了个体化治疗领域的发展。例如,个体化肿瘤治疗需要同时检测不同的肿瘤标志物,提高诊断的准确性,减少假阳性或假阴性出现率,根据准确地诊断结果确定治疗手段及给药的类别和剂量。由于不同患者的癌症发病种类不同、癌变部位不同,需要检测的标志物也各不相同;同时,一种癌细胞不是只分泌一种标志物,因个体差异及细胞变异,同一种病的病人血液中的肿瘤标志物的高低也是不一样的。所以个体化肿瘤治疗需要对某种癌细胞可能分泌的标志物进行检测并对其动态变化进行监测,才能对病情变化做出准确判断。

[0003] 以抗体为基础的免疫反应是对特定对象检测的最基本、最普遍方法。在过去的几十年间,各种免疫方法已经广泛地应用到生命科学研究及临床检测中。但是,目前的免疫分析技术中,无论是放射免疫分析(RIA)还是后来逐渐发展起来的非放射性免疫分析方法,都很难实现多组份及高通量检测。荧光免疫分析虽然可以使用多种荧光染料标记,但每种荧光探针都有较大的峰宽,存在严重的光谱重叠,不适合多组份的标记。半导体荧光量子点因其独特的一元激发/多元发射、耐光漂白、发射波长可调等光学性质在临床检测方面受到关注。应用多色荧光量子点可在同一样品中同时测定多种标志物,但测定的数目有限,通常只能同时测定几个组分。面对个体化治疗所需的如此繁多的疾病标志物,如今的检测手段很难满足对这些疾病标志物同时测定及高通量检测的要求。因此,发展一种多组份、高通量的临床免疫检测方法就显的尤为重要。

[0004] 此外,传统的基于多孔板的免疫反应方式也不利于多组份免疫分析。首先,多孔板活性位点有限,在包被不同的抗体时会有歧视效应,很难实现在多孔板的一个孔中包被多种抗体,从而很难对多个组分同时进行免疫分析。其次,实际样品中免疫分析的对象浓度也差别很大,不同浓度的样品在多孔板的同一个孔中进行免疫反应时相互间的干扰严重,高浓度分析物会对低浓度样品的检测带来很大的干扰,这也对多孔板中进行多组份免疫分析带来很大的挑战。特别是针对不同癌症患者、不同的癌症发病种类、不同癌变部位,需要检测的标志物的种类也各不相同,不可能针对不同的病人包被不同的免疫多孔板。因此,多孔板方式的免疫分析无法满足针对个体化诊疗检测的需求。

[0005] 免疫磁性微球是免疫学和超顺磁性磁珠相结合而发展起来的新型材料,是一种包被有抗体或具有抗体结合功能的超顺磁性微球。在免疫检测中,免疫磁珠替代传统酶标板

作为固相载体,包被在磁珠表面的抗体(或抗原)可与环境中特异性抗原(或抗体)结合,形成抗原-抗体复合物,在外加磁场作用下,使特异性抗原(或抗体)与其它物质分离。这种分离方法使整个反应在液相中进行,克服了放射免疫测定和传统酶联免疫测定方法中抗原抗体反应发生在固/液相之间等的缺点,具有灵敏度高、检测速度快、特异性高、重复性好等优点,因而磁性粒子可广泛应用于生物医学检测,如检测体内各种抗原或抗体,癌细胞、环境、生物样品及食品中的微生物。免疫磁珠的超顺磁性使固/液相分离更加简便,可简化清洗等繁杂的传统操作;磁珠微小、比表面积大、与生物分子等物质偶联时容量大、悬浮稳定性好,有利于抗原抗体反应顺利进行。

发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种任意组合式免疫多组份检测方法及装置,本发明是基于磁性微球可根据不同检测需求易于进行不同组合的特点,等离子体质谱可进行多组分同时测定以及精准定量的特点;利用本发明方法及装置能够实现同一个人不同疾病标志物以及不同人不同疾病标志物的同时、高通量免疫检测分析;本发明方法及装置有望在临床检测、个体化治疗和精准医学等领域发挥积极的作用。

[0007] 本发明所提供的组合式免疫多组份检测装置,包括若干个存储容器A、若干个存储容器B和若干个免疫反应容器A,所述存储容器A和所述存储容器B的数量相应,所述免疫反应容器A的数量不小于所述存储容器A的数量;

[0008] 每个所述存储容器A中均引出一输液管A,用于与所述免疫反应容器相连通;一个或多个所述存储容器A与一个所述免疫反应容器相连通;

[0009] 每个所述存储容器B中均引出一输液管B,用于与所述免疫反应容器相连通;一个或多个所述存储容器B与一个所述免疫反应容器相连通;

[0010] 所述免疫反应容器与电感耦合等离子体质谱仪的进样器相连通。

[0011] 上述的检测装置中,所述存储容器A和所述存储容器B与所述免疫反应容器之间的连通均通过计算机控制,通过现有的程序即可实现上述控制。

[0012] 上述的检测装置中,所述检测装置还包括磁分离装置,如磁铁,用于对所述免疫反应容器中的产物进行分离,因此通过磁分离的方式吸引住磁珠,进而将磁珠与液体分离。

[0013] 所述检测装置还包括使用说明书,所述使用说明书中记载如下内容:

[0014] (1) 标准曲线的建立,包括如下步骤:

[0015] 1) 将不同的包被肿瘤标志物抗体的磁性微球置于所述存储容器A中;根据检测目标,将相应的所述磁性微球输入至相应的所述免疫反应容器中进行免疫反应;所述免疫反应容器中置有肿瘤标志物抗原标准品;

[0016] 2) 将不同的标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体置于所述存储容器B中;

[0017] 3) 步骤1)中所述免疫反应结束后,将所述标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体输入至所述免疫反应容器中进行免疫反应,输入的所述标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体与步骤1)中输入的所述磁性微球包被的肿瘤标志物抗体相结合;

[0018] 4) 将步骤3)中所述免疫反应的产物进行解离,然后输入至所述电感耦合等离子体质谱仪中进行检测,得到金属的质谱峰强度;

[0019] 5) 变化所述标准品中所述肿瘤标识物的浓度,重复1)-4)的步骤至少3次;以标

准品中肿瘤标志物的浓度为横坐标,以金属的质谱峰强度为纵坐标,建立标准品中肿瘤标志物的浓度与金属的质谱峰强度之间的标准曲线;

[0020] (2) 检测样本中肿瘤标志物的检测,包括如下步骤:

[0021] 重复步骤(1)中1)-4)的步骤,得到金属的质谱峰强度,根据所述标准曲线,即得到检测样本中肿瘤标志物的浓度;仅将步骤(2)中的所述免疫反应容器中置有所述检测样本。

[0022] 本发明进一步提供利用上述装置进行组合式免疫多组份检测的方法,包括如下步骤:

[0023] (1) 标准曲线的建立,包括如下步骤:

[0024] 1) 将不同的包被肿瘤标志物抗体的磁性微球置于所述存储容器A中;根据检测目标,将相应的所述磁性微球输入至相应的所述免疫反应容器中进行免疫反应;所述免疫反应容器中置有肿瘤标志物抗原标准品;

[0025] 2) 将不同的标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体置于所述存储容器B中;

[0026] 3) 步骤1)中所述免疫反应结束后,将所述标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体输入至所述免疫反应容器中进行免疫反应,输入的所述标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体与步骤1)中输入的所述磁性微球包被的肿瘤标志物抗体相结合;

[0027] 4) 将步骤3)中所述免疫反应的产物进行解离,然后输入至所述电感耦合等离子体质谱仪中进行检测,得到金属的质谱峰强度;

[0028] 5) 变化所述标准品中所述肿瘤标识物的浓度,重复1)-4)的步骤至少3次;以标准品中肿瘤标记物的浓度为横坐标,以金属的质谱峰强度为纵坐标,建立标准品中肿瘤标志物的浓度与金属的质谱峰强度之间的标准曲线;

[0029] (2) 检测样本中肿瘤标志物的检测,包括如下步骤:

[0030] 重复步骤(1)中1)-4)的步骤,得到金属的质谱峰强度,根据所述标准曲线,即得到检测样本中肿瘤标志物的浓度,仅将步骤(2)中的所述免疫反应容器中置有所述检测样本。

[0031] 本发明中所使用的磁性微球的粒径可为 $2 \sim 3 \mu\text{m}$,常规材质的磁性微球均适用于本发明方法,如核-壳结构的氧化铁和四氧化三铁磁性微球。

[0032] 上述的方法中,所述金属可为稀土稳定同位素,如 ^{141}Pr 、 ^{159}Tb 、 ^{169}Tm 、 ^{175}Lu 、 ^{165}Ho 、 ^{163}Dy 、 ^{139}La 、 ^{147}Sm 、 ^{140}Ce 、 ^{153}Eu 等。

[0033] 上述的方法中,所述肿瘤标志物抗原标准品采用Tris-HCl缓冲液配制,不同的肿瘤标志物,所需的标准品浓度范围不同。

[0034] 上述的方法中,步骤3)中,将所述标记金属的肿瘤标志物抗体的抗体输入至所述免疫反应容器之前,所述方法还包括对步骤1)中所述免疫反应的产物进行清洗的步骤,以对所述免疫反应的产物进行清洗,排除干扰,保证测定的准确性。

[0035] 上述的方法中,步骤4)中,将步骤3)中所述免疫反应的产物输入至所述解离容器之前,所述方法还包括对步骤3)中所述免疫反应的产物进行清洗的步骤,以对所述免疫反应的产物进行清洗,排除干扰,保证测定的准确性。

[0036] 上述的方法中,所述清洗步骤如下:利用所述磁分离装置吸引所述磁性微球,将步骤1)中免疫反应的产物或步骤3)中所述免疫反应的产物中的液体抽离,即能对所述磁性

微球进行清洗；

[0037] 所述清洗采用 PBST 溶液作为清洗溶液,其具体是如下配制的:0.01M PBS 缓冲液中加入体积百分比为 0.05%的吐温 20 水溶液得到。

[0038] 上述的方法中,所述解离采用 pH<2.0 的酸性溶液的作为解离液,具体可为硝酸水溶液,其中硝酸与水的体积比为 1:100。

[0039] 使用本发明方法进行检测时,使用血清作为检测样本。

[0040] 本发明通过一系列包被不同单克隆抗体的磁性微球,这些不同标记的微球分别盛于不同的存储容器中,通过程序控制可进入不同的免疫反应容器,捕获血清中相应的疾病标志物,反应一定时间后不同金属元素标记的对应抗体通过程序控制进入相应的免疫反应容器,反应结束后经硝酸解离直接进入 ICPMS 检测,通过 ICPMS 检测抗体上标记的元素实现多种标志物的同时定性、定量分析。

[0041] 本发明具有如下优点:

[0042] 1、本发明可实现任意组合式免疫反应和多组份检测。针对检测对象和检测项目的不同,通过计算机软件控制,可任意选择对应检测对象的抗体包被的磁性微球进入反应容器与血清样品进行免疫反应,并利用不同元素标记的抗体实现多组份同时分析,最大限度地满足个体化治疗的测定要求。

[0043] 2、由于无机质谱仪具有优异的同位素质量数分辨率及绝对定量能力 [Han, G. J., Zhang, S. C., Xing, Z., Zhang, X. R. . Angewandte Chemie-International Edition 52(2013) 1466-1471.],基于稳定同位素标记和 ICPMS 检测的生物分析方法具有强的多组分生物分子同时分析及精准定量的能力。磁性微球免疫反应的多种疾病标志物可进入 ICPMS 同时检测分析及精准定量。此方法在医学研究和临床应用等领域对个体化治疗、高通量检测和精准定量等方面发挥积极的作用。

[0044] 3、本发明可以实现高通量检测,对于一批不同病人患者的血清,通过程序控制加入相应的抗体,可以对多个不同病人进行同时检测分析,实现高通量检测,大大减少分析时间,提高疾病检测的准确性。

[0045] 4、本发明只需很少的血清就可以对同一病人的不同疾病进行同时检测分析,更加全面的了解病人的发病情况,克服常规免疫反应最多只能同时检测几个疾病标志物的缺点。

附图说明

[0046] 图 1 为本发明任意组合式免疫多组份检测装置的结构示意图。

[0047] 图中各标记如下:

[0048] 1 存储容器 A、2 存储容器 B、3 输液管 A、4 输液管 B、5 免疫反应容器、6 电感耦合等离子体质谱仪、7 磁分离装置、8 电脑控制装置。

[0049] 图 2 为本发明方法的流程示意图。

[0050] 图 3 为本发明实施例 2 得到的 AFP、CEA 和 FER 浓度与标记金属的质谱峰强度之间的标准曲线图。

具体实施方式

[0051] 下述实施例中所使用的实验方法如无特殊说明,均为常规方法。

[0052] 下述实施例中所用的材料、试剂等,如无特殊说明,均可从商业途径得到。

[0053] 实施例 1、组合式免疫多组份检测装置

[0054] 如图 1 所示,为本发明任意组合式免疫多组份检测装置的结构示意图,它包括多个存储容器 A1、多个存储容器 B2 和多个免疫反应容器 5,且存储容器 A1 和存储容器 B2 的数量相应,免疫反应容器 A 的数量不小于存储容器 A1 的数量。每个存储容器 A1 分别通过输液管 A3 与每个免疫反应容器 5 相连通或者多个存储容器 A1 分别通过输液管 A3 与一个免疫反应容器 5 相连通,每个存储容器 B2 分别通过输液管 B4 与每个免疫反应容器 5 相连通或者多个存储容器 B2 分别通过输液管 B4 与一个免疫反应容器 5 相连通。免疫反应容器 5 与电感耦合等离子体质谱仪 6 的进样器相连通。

[0055] 本发明检测装置还包括磁铁 7,利用磁铁 7 对免疫反应容器 5 中的产物进行分离,以实现产物的清洗以及解离等操作。

[0056] 上述的检测装置,存储容器 A1 和存储容器 B2 与免疫反应容器 5 之间的连通均通过电脑控制装置 8 控制,通过现有的程序即能实现上述控制。

[0057] 上述的检测装置,所设置的存储容器 A1 和存储容器 B2 的个数可根据检测需要进行调控。

[0058] 实施例 2、病人血清中的免疫多组份检测

[0059] 1、标准曲线的建立

[0060] (1) 将磁性微球分别包被 3 种肿瘤标志物抗体:甲胎蛋白 (AFP) 抗体、癌胚抗原 (CEA) 抗体和血清铁蛋白 (FER) 抗体。

[0061] 采用赛默飞世尔科技(中国)有限公司生产的 Dynabeads® M-280 的磁性微球,根据其说明书中磁性微球标记抗体的方法和用量分别包被 AFP、CEA 和 FER 三种抗体,即:10mg/mL 的磁性微球与 0.1mg/mL 的肿瘤标志物抗体等体积混合于 PBS (0.01M pH = 7.4) 缓冲液中,常温反应 30 分钟。

[0062] (2) 使用同位素丰度比较高的 3 种镧系元素稳定同位素 (^{141}Pr 、 ^{153}Eu 和 ^{159}Tb) 分别标记 3 种肿瘤标记物抗体的抗体:甲胎蛋白 (AFP) 抗体、癌胚抗原 (CEA) 抗体和血清铁蛋白 (FER) 抗体。DTPA(S-2-(4-Isothiocyanatobenzyl)-diethylenetriamine pentaacetic acid) 化合物与上述 3 种稀土离子按照摩尔比 1:2 的比例溶解在醋酸铵缓冲液 (0.05M pH = 5.8) 中,常温反应 30 分钟;得到的大环-稀土螯合物与肿瘤标志物抗体溶解在碳酸钠缓冲液 (0.1M pH = 9.8) 中,室温轻微搅拌反应 48 小时,产物经色谱柱纯化,洗脱液为 Tris-HCl 缓冲液 (0.05M pH = 7.8)。

[0063] (3) 利用实施例 1 的装置进行检测:包被肿瘤标志物的抗体分别放置于存储容器 A1 中,根据然后通过计算机控制将上述磁性微球输入至免疫反应容器 5 中,与免疫反应容器 5 中的 AFP、CEA 和 FER 抗原标准品进行免疫反应,于 37℃ 下反应 1 个小时。

[0064] 其中,各抗原标准品均是由 Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.6) 配制的。

[0065] AFP 抗原标准品的浓度依次为 0、0.4ng/mL、2ng/mL、20ng/mL、100ng/mL 和 200ng/mL;

[0066] CEA 抗原标准品的浓度依次为 0、0.4ng/mL、2ng/mL、4ng/mL、40ng/mL 和 100ng/mL;

[0067] FER 抗原标准品的浓度依次为 0、1ng/mL、2ng/mL、20ng/mL、100ng/mL 和 200ng/mL。

[0068] (4) 对步骤 (3) 免疫反应后的产物进行清洗 : 利用磁铁 7 吸引住磁性微球, 将免疫反应容器 5 中的液体抽走, 用 PBST 溶液磁性微球。

[0069] 将步骤 (2) 中标记金属的抗体输入至免疫反应容器 5 中继续进行免疫反应 ; 将免疫反应后的产物进行清洗 : 利用磁铁 7 吸引住磁性微球, 将免疫反应容器 5 中的液体抽走, 用 PBST 溶液磁性微球。

[0070] (5) 对步骤 (4) 中清洗后的免疫反应的产物进行解离 : 利用磁铁 7 吸引住磁性微球, 将免疫反应容器 5 中的液体抽走, 用硝酸水溶液 (1 : 100, 水 / 硝酸, 体积比) 进行解离, 然后输入至电感耦合等离子体质谱仪 6 中进行检测。

[0071] 以标准品中肿瘤标志物的浓度为横坐标, 以金属的质谱峰强度为纵坐标, 建立标准曲线, 如图 3 所示。

[0072] 由图 3 可以看出, 3 条标准曲线都能呈现很好的线性关系, 说明本发明方法是可行的

[0073] 2、检测样本中肿瘤标志物的检测

[0074] 取肝癌病人的血清进行检测, 检测其中的标志物, 按照步骤 1 中 (1)–(5) 中进行, 将血清放置于免疫反应容器 5 中。

[0075] 根据得到的金属 ^{141}Pr 、 ^{153}Eu 和 ^{159}Tb 的质谱峰强度以及图 3 所示的标准曲线, 得到该肝癌病人血清中, FER 的浓度为 164.90ng/mL, AFP 的浓度为 25.70ng/mL 和 CEA 的浓度为 11.01。

[0076] 为了验证本发明方法的准确性, 利用时间分辨荧光免疫分析 (TRFIA) 测定上述血清中 3 种标志物的浓度, 结果为 : FER 的浓度为 165.26ng/mL, AFP 的浓度为 25.58ng/mL 和 CEA 的浓度为 10.77, 与本发明方法的测定结果吻合。

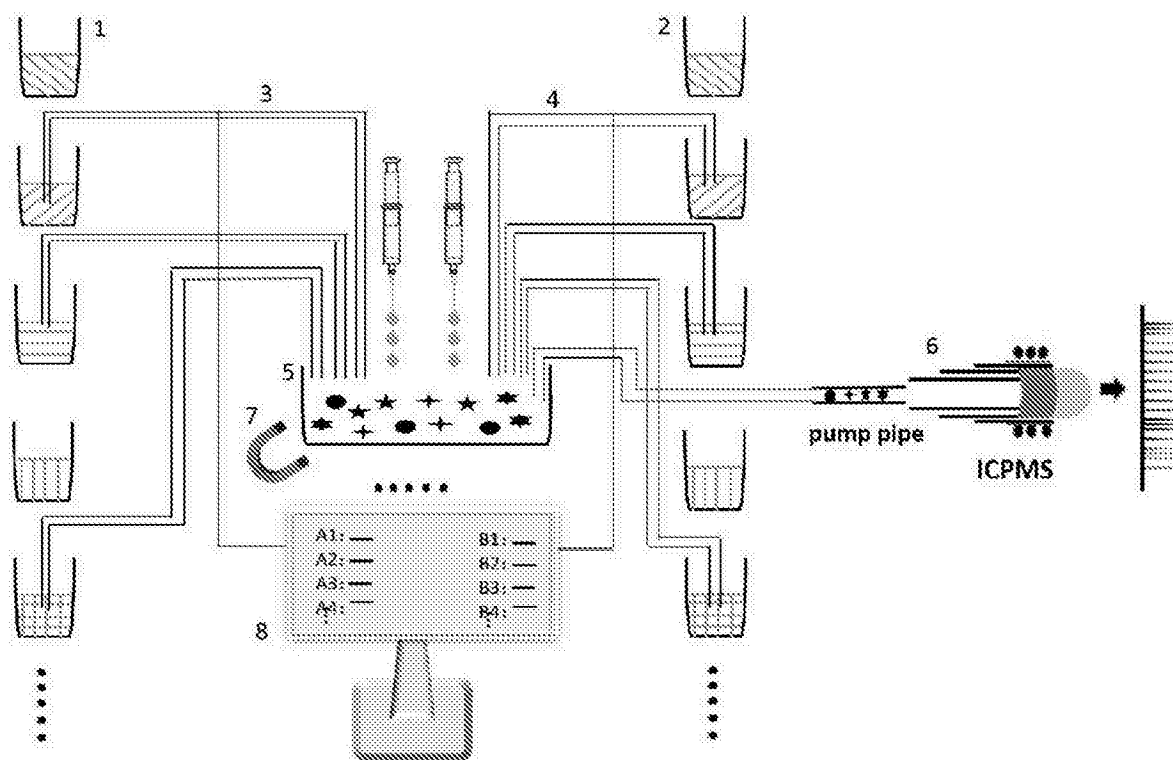


图 1

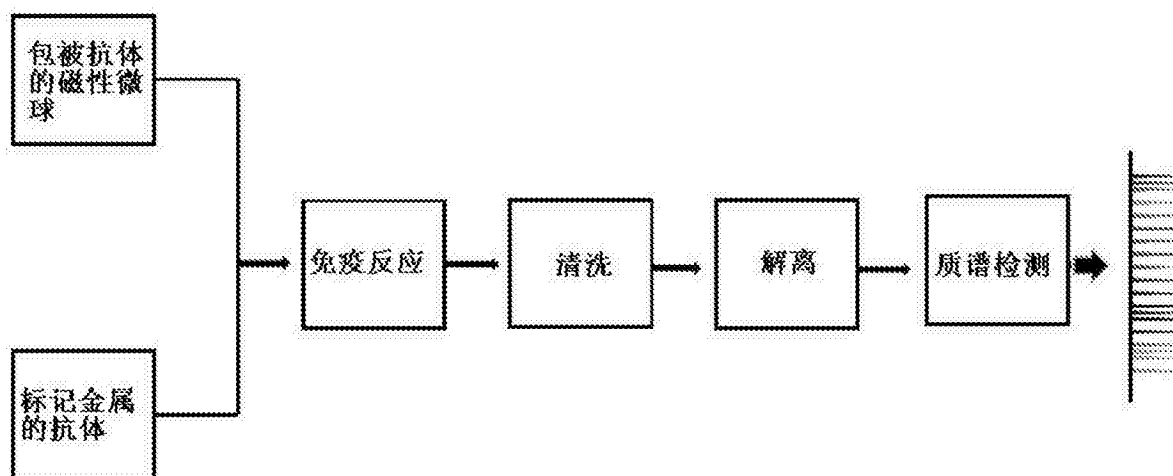


图 2

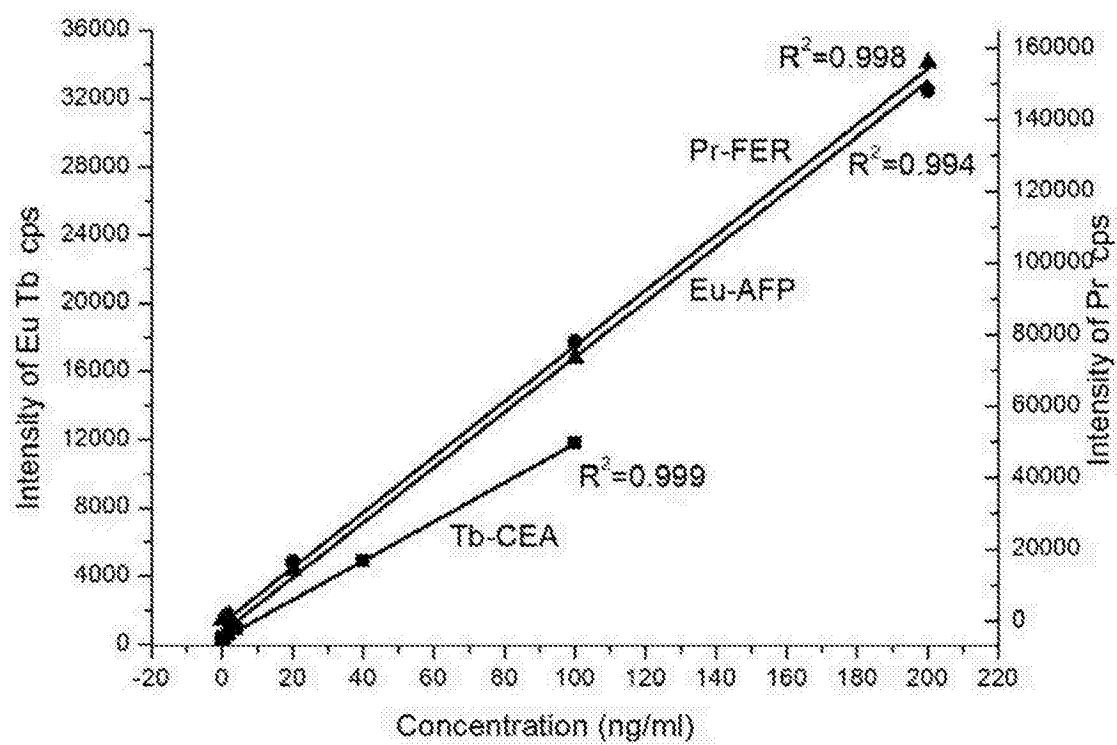


图 3

专利名称(译)	一种任意组合式免疫多组份检测方法及装置		
公开(公告)号	CN105301090A	公开(公告)日	2016-02-03
申请号	CN201510736381.4	申请日	2015-11-03
[标]申请(专利权)人(译)	清华大学		
申请(专利权)人(译)	清华大学		
当前申请(专利权)人(译)	清华大学		
[标]发明人	张新荣 孙公伟 邢志 张四纯		
发明人	张新荣 孙公伟 邢志 张四纯		
IPC分类号	G01N27/62 G01N33/53 G01N33/574		
代理人(译)	关畅 王春霞		
其他公开文献	CN105301090B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种任意组合式免疫多组份检测方法及装置。该装置包括若干个存储容器A、若干个存储容器B和若干个免疫反应容器，存储容器A和存储容器B的数量相应，免疫反应容器的数量不小于存储容器A的数量；每个存储容器A中均引出输液管A，用于与免疫反应容器相连通；一个或多个存储容器A与一个免疫反应容器相连通；每个存储容器B中均引出输液管B，用于与免疫反应容器相连通；一个或多个存储容器B与一个免疫反应容器相连通；免疫反应容器与电感耦合等离子体质谱仪的进样器相连通。本发明针对检测对象和检测项目的不同，通过计算机软件控制，可任意选择对应检测对象的抗体包被的磁性微球进入反应容器与血清样品进行免疫反应，并利用不同元素标记的抗体实现多组份同时分析，最大限度地满足个体化治疗的测定要求。

