



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109425732 A

(43)申请公布日 2019.03.05

---

(21)申请号 201710743255.0

(22)申请日 2017.08.25

(71)申请人 苏州长光华医生物医学工程有限公司

地址 215100 江苏省苏州市高新区锦峰路8号4号楼

(72)发明人 欧赛英 李大军 陶俊 涂策

(74)专利代理机构 苏州知途知识产权代理事务所(普通合伙) 32299

代理人 马刚强

(51)Int.Cl.

G01N 33/532(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 21/76(2006.01)

---

权利要求书2页 说明书10页

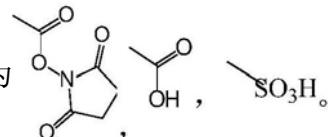
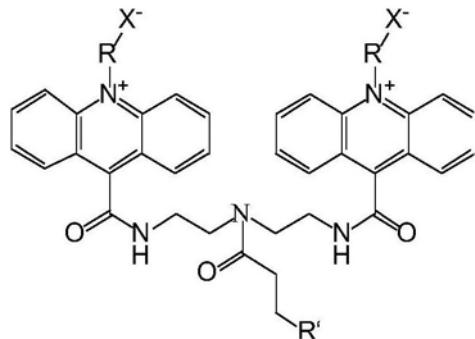
(54)发明名称

一种检测抗原的化学发光检测试剂盒和免疫分析方法

(57)摘要

本发明涉及一种检测抗原的化学发光检测试剂盒和免疫分析方法,通过待测抗原、生物素化抗待测抗原抗体、吖啶化合物标记的抗待测抗原抗体和链霉亲和素包被的磁性微粒形成磁性复合物,使用磁性分离技术捕获所述的磁性复合物,加入发光缓冲液进行化学发光,检测其化学发光光子强度。本发明吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液中含有高聚物PEG20000,对非特异性吸附起到更好的封闭效果,从而降低了背景值;同时,本发明采用一种含两个吖啶环结构的标记物,而现有常用的化学发光免疫试剂采用单个吖啶环结构的化合物标记抗体,在相同的底物激发下能发出双倍的光子数,使得化学发光免疫分析的灵敏度提高了一倍。

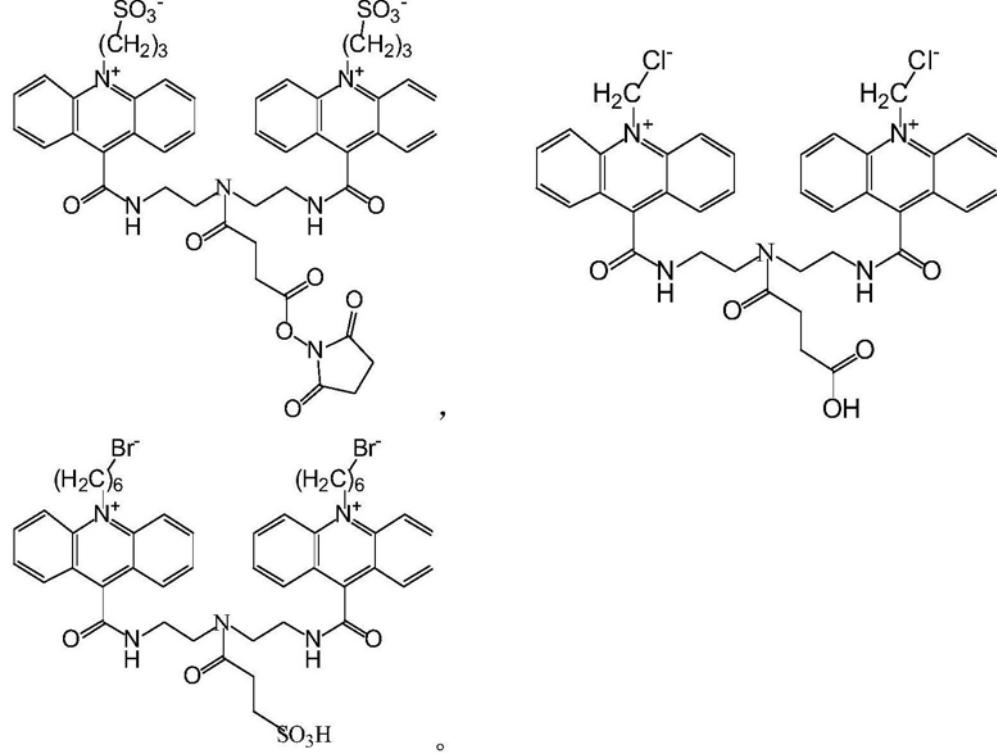
1. 一种检测抗原的化学发光检测试剂盒,所述试剂盒包括:吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液,生物素化抗待测抗原抗体溶液,链酶亲和素包被的磁性颗粒悬浮液和化学发光激发液,其特征在于,所述吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液中含有0.5-1.5wt%的PEG20000,所述吖啶化合物的结构如下:



所述R为取代或未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>亚烷基,X为磺酰基或卤素,R'为

2. 根据权利要求1所述检测抗原的化学发光检测试剂盒,其特征在于,所述吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液中含有以下含量的组分:0.5-1.5wt%的BSA,0.5-1wt%的NaCl,0.3-0.8wt%的酪蛋白,0.02-0.07wt%的tween20和0.5-1.5wt%的PEG20000。

3. 根据权利要求1或2所述检测抗原的化学发光检测试剂盒,其特征在于,所述吖啶化合物为下述结构中的一种:



4. 根据权利要求1至3任一项所述检测抗原的化学发光检测试剂盒,其特征在于,所述化学发光激发液包括化学发光激发液1和化学发光激发液2,所述化学发光激发液1含0.1M硝酸和1% (质量体积百分比,g/mL) 过氧化氢,所述化学发光激发液2含0.25M氢氧化钠和

0.1% (质量体积百分比, g/mL) tritonx-100。

5. 一种采用权利要求1至4任一项所述化学发光检测试剂盒进行检测抗原的化学发光免疫分析方法, 其特征在于, 所述方法的步骤如下:

(1) 将待测抗原样本和生物素化抗待测抗原的抗体及吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体进行反应, 形成抗体-抗原-抗体夹心复合体;

(2) 加入链霉亲和素包被的磁性微粒, 与步骤(1)所述的复合体进行反应, 形成磁性复合物悬浮液;

(3) 将步骤(2)所述的悬浮液置于磁场内, 洗涤所述磁性复合物;

(4) 向步骤(3)所述洗涤后的磁性复合物中注入化学发光激发液, 检测其化学发光光子强度。

6. 根据权利要求5所述检测抗原的化学发光免疫分析方法, 其特征在于, 所述待测抗原为促甲状腺激素、人类免疫缺陷病毒p24抗原、乙肝表面抗原中的一种。

7. 一种采用权利要求1至4任一项所述化学发光检测试剂盒进行检测抗原的化学发光免疫分析方法, 其特征在于, 所述方法的步骤如下:

(1) 将待测抗原样本和生物素化抗待测抗原的抗体进行反应, 形成抗原-抗体复合体;

(2) 加入链霉亲和素包被的磁性微粒, 与步骤(1)所述的复合体进行反应, 形成磁性抗原-抗体复合物悬浮液;

(3) 将步骤(2)所述的磁性抗原-抗体复合物悬浮液置于磁场内, 洗涤所述磁性抗原-抗体复合物;

(4) 将步骤(3)所述洗涤后的磁性抗原-抗体复合物与吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体进行反应, 形成磁性复合物悬浮液;

(5) 将步骤(4)所述的磁性复合物悬浮液置于磁场内, 洗涤所述磁性复合物;

(6) 向步骤(5)所述的磁性复合物中注入化学发光激发液, 检测其化学发光光子强度。

8. 根据权利要求7所述检测抗原的化学发光免疫分析方法, 其特征在于, 所述待测抗原为促甲状腺激素、人类免疫缺陷病毒p24抗原、乙肝表面抗原中的一种。

## 一种检测抗原的化学发光检测试剂盒和免疫分析方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测抗原的化学发光检测试剂盒和免疫分析方法,属于化学分析技术领域。

### 背景技术

[0002] 化学发光发光免疫分析是将化学发光体系与免疫反应相结合,用于检测微量抗原或抗体的一种新型标记免疫测定技术,它具有选择性好、灵敏度高、特异性强、无放射性危害、分析速度快、设备简单等优点,在环境、临床、食品、药物检测等领域得到了广泛应用,成为免疫分析方法的研究热点和发展趋势。

[0003] 吖啶化合物作为一种化学发光免疫分析试剂的标记物,在化学发光发光免疫分析中得到了广泛的应用。吖啶化合物跟其他标记物(如放射元素标记、酶标记)相比,有许多重要优势,比如相对高的灵敏度,低成本、线性范围宽,相对简单的信号检测设备等。

[0004] 尽管吖啶化合物作为标记物的化学发光免疫方法灵敏度高达attomoles级别(即 $10^{-18}$ mole)甚至更高,但在实际应用中,测定一些更微量的分析物时则需要更高的灵敏度。例如促甲状腺激素(TSH),测定血清中TSH的浓度是判断甲状腺功能是否正常的首选指标,也是研究下丘脑-垂体-甲状腺轴反馈调节机制等的重要参数,美国临床生化科学院(NACB)规定第三代TSH试剂盒的最低功能灵敏度不得低于0.02mIU/L(功能灵敏度:批间CV小于20%所能检测到的最低浓度),但国内的促甲状腺激素检测灵敏度均达不到第三代的要求,亟待需要提高现有平台检测TSH的灵敏度水平;又如人类免疫缺陷病毒P24抗原,血液及其他体液标本中P24抗原的检测可以缩短窗口期,有助于HIV-1的早期诊断、预后判断及评价抗病毒治疗的效果,具有良好的实际应用价值,但由于p24抗原在血清中的浓度非常低,需要试剂有很高的灵敏度才能检测出来,现有p24抗原试剂的检出水平大约只有10IU/mL,而国家参考品规定的灵敏度检出量是5IU/mL;再如乙肝表面抗原,提高乙肝表面抗原定量检测试剂的灵敏度,能进一步缩短检测的窗口期,有文献报道罗氏II代乙肝表面抗原检测系统在对2724例常规检测标本盒6360例献血标本筛选中,其检测灵敏度为0.025IU/mL,而国内文献报道化学发光法检测乙肝表面抗原的灵敏度为0.05IU/mL。另外,细菌感染标志物降钙素原、心梗指标心肌肌钙蛋白等项目对灵敏度的要求也是越高越好,越高的灵敏度意味着能更早地发现疾病及感染标志物。

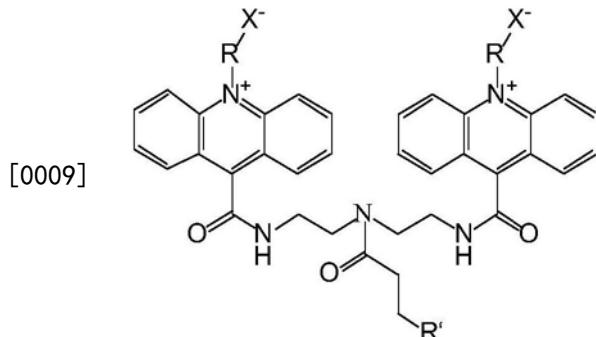
[0005] 因此,需要努力去寻求如何在现有的试剂平台上提高检测抗原的化学发光免疫分析的灵敏度。

### 发明内容

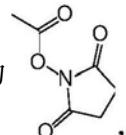
[0006] 本发明要解决的技术问题是:为解决现有技术中吖啶化合物标记抗体来检测抗原的化学发光免疫分析方法灵敏度低的问题,提供一种检测抗原的化学发光检测试剂盒和免疫分析方法。

[0007] 本发明解决其技术问题所采用的技术方案是:

[0008] 一种检测抗原的化学发光检测试剂盒,所述试剂盒包括:吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液,生物素化抗待测抗原抗体溶液,链酶亲和素包被的磁性颗粒悬浮液和化学发光激发液,所述吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液中含有0.5-1.5wt%的PEG20000,所述吖啶化合物的结构如下:



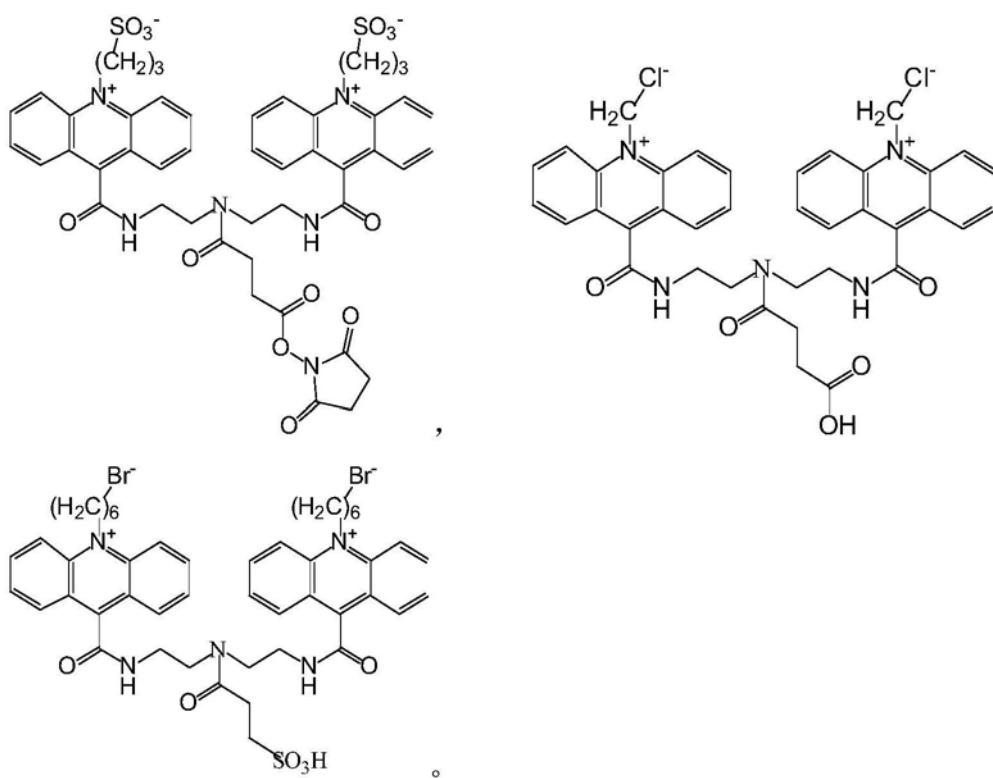
[0010] 所述R为取代或未取代的C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>亚烷基,X为磺酰基或卤素,R'为



[0011] 优选地,所述吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液中含有以下含量的组分:0.5-1.5wt%的BSA,0.5-1wt%的NaCl,0.3-0.8wt%的酪蛋白,0.02-0.07wt%的tween20和0.5-1.5wt%的PEG20000。

[0012] 优选地,所述吖啶化合物为下述结构中的一种:

[0013]



[0014] 优选地,所述化学发光激发液包括化学发光激发液1和化学发光激发液2,所述化学发光激发液1含0.1M硝酸和1% (质量体积百分比,g/mL)过氧化氢,所述化学发光激发液2

含0.25M氢氧化钠和0.1% (质量体积百分比,g/mL) tritonx-100。

[0015] 一种采用上述化学发光检测试剂盒进行检测抗原的化学发光免疫分析方法,所述方法的步骤如下:

[0016] (1) 将待测抗原样本和生物素化抗待测抗原的抗体及吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体进行反应,形成抗体-抗原-抗体夹心复合体;

[0017] (2) 加入链霉亲和素包被的磁性微粒,与步骤(1)所述的复合体进行反应,形成磁性复合物悬浮液;

[0018] (3) 将步骤(2)所述的悬浮液置于磁场内,洗涤所述磁性复合物;

[0019] (4) 向步骤(3)所述洗涤后的磁性复合物中注入化学发光激发液,检测其化学发光光子强度。

[0020] 一种采用上述化学发光检测试剂盒进行检测抗原的化学发光免疫分析方法,其特征在于,所述方法的步骤如下:

[0021] (1) 将待测抗原样本和生物素化抗待测抗原的抗体进行反应,形成抗原-抗体复合体;

[0022] (2) 加入链霉亲和素包被的磁性微粒,与步骤(1)所述的复合体进行反应,形成磁性抗原-抗体复合物悬浮液;

[0023] (3) 将步骤(2)所述的磁性抗原-抗体复合物悬浮液置于磁场内,洗涤所述磁性抗原-抗体复合物;

[0024] (4) 将步骤(3)所述洗涤后的磁性抗原-抗体复合物与吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体进行反应,形成磁性复合物悬浮液;

[0025] (5) 将步骤(4)所述的磁性复合物悬浮液置于磁场内,洗涤所述磁性复合物;

[0026] (6) 向步骤(5)所述的磁性复合物中注入化学发光激发液,检测其化学发光光子强度。

[0027] 优选地,所述待测抗原为促甲状腺激素、人类免疫缺陷病毒p24抗原、乙肝表面抗原中的一种。

[0028] 本发明的有益效果是:

[0029] 本发明吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液优选了适合磁珠体系的成分,溶液中含有一种含大量亲水基团的高聚物PEG20000,能在加入吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体的同时实现即时封闭,对非特异性吸附起到更好的封闭效果,从而降低了背景值;同时,本发明采用一种含两个吖啶环结构的标记物,而现有常用的化学发光免疫试剂采用单个吖啶环结构的化合物标记抗体,在相同的底物激发下能发出双倍的光子数,使得化学发光免疫分析的灵敏度提高了一倍。

## 具体实施方式

[0030] 实施例1-6和对比例1-3化学发光检测试剂盒

[0031] 实施例1-6和对比例1-3提供了检测抗原的化学发光检测试剂盒,所述试剂盒包括:吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液,生物素化抗待测抗原抗体溶液,链酶亲和素包被的磁性颗粒悬浮液和化学发光激发液。

[0032] 所述化学发光激发液包括化学发光激发液1和化学发光激发液2,所述化学发光激

发液1含0.1M硝酸和1% (质量体积百分比,g/mL) 过氧化氢,所述化学发光激发液2含0.25M 氢氧化钠和0.1% (质量体积百分比,g/mL) tritonx-100。

[0033] 所述实施例1-6和对比例1所述吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液中除吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体外,还含有如下含量的组分:

[0034] 表1吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液包含的组分情况表

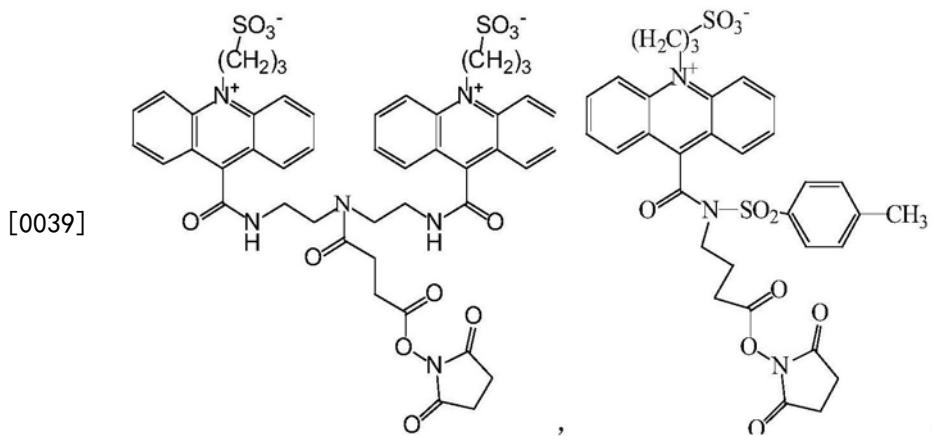
[0035]

编号	吖啶化合物	吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液包含的组分				
		BSA (Wt%)	NaCl (Wt%)	Casein (Wt%)	tween20 (Wt%)	PEG20000 (Wt%)
实施例1	A	0.5	0.5	0.3	0.02	0.5
实施例2	A	0.7	0.65	0.4	0.03	0.7
实施例3	B	0.9	0.8	0.45	0.04	0.8
实施例4	B	1	0.85	0.5	0.05	1
实施例5	C	1.3	0.9	0.6	0.06	1.2
实施例6	C	1.5	1	0.8	0.07	1.5
对比例1	A	0.5	0.5	0.3	0.02	0
对比例2	B	1	0.85	0.5	0.05	0.3
对比例3	C	1.5	1	0.8	0.07	1.7
对比例4	A'	0.7	0.65	0.4	0.03	0.7
对比例5	B'	1	0.85	0.5	0.05	1
对比例6	C'	1.3	0.9	0.6	0.06	1.2

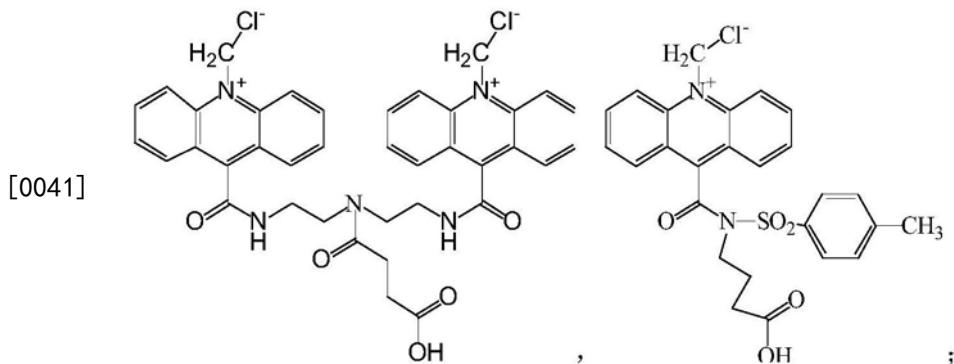
[0036] 备注:表中BSA为牛血清白蛋白,Casein为酪蛋白,tween20为吐温20,PEG20000为聚乙二醇20000。

[0037] 所述实施例1、实施例2、对比例1、对比例4的试剂盒所用抗待测抗原的抗体为促甲状腺素单克隆抗体;实施例3、实施例4、对比例2、对比例5的试剂盒所用抗待测抗原的抗体为人类免疫缺陷病毒p24抗体;实施例5、实施例6、对比例3、对比例6的试剂盒所用的抗待测抗原的抗体为乙型肝炎病毒表面抗体。

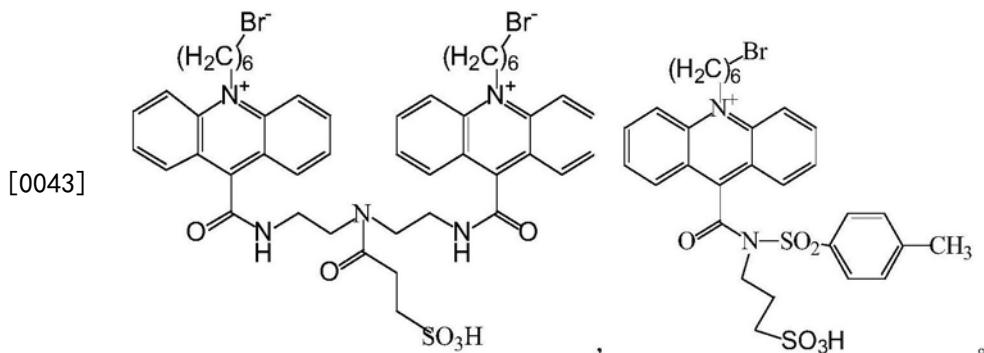
[0038] 所述吖啶化合物A、A' 的结构依次为:



[0040] 所述吖啶化合物B、B'的结构依次为：



[0042] 所述吖啶化合物C、C'的结构依次为：



[0044] 实施例7检测促甲状腺素(TSH)的化学发光免疫分析法

[0045] 实施例7提供了一种检测促甲状腺素(TSH)的化学发光免疫分析法，步骤如下：

[0046] (1) 将10μL待测样本、100μL浓度为100ng/mL的生物素化促甲状腺素单克隆抗体和100μL浓度为100ng/mL的吖啶化合物标记促甲状腺素单克隆抗体反应10分钟后，形成抗体-抗原-抗体夹心复合体；

[0047] (2) 加入20μL浓度为100ng/mL的链霉亲和素包被的磁性微粒，与步骤(1)所述的复合体反应10分钟后，形成磁性复合物悬浮液；

[0048] (3) 将步骤(2)所述的磁性复合物悬浮液置于磁场内，洗涤所述磁性复合物；

[0049] (4) 向步骤(3)所述洗涤后的磁性复合物中注入100μL化学发光激发液1，1.5秒后，注入100μL化学发光激发液2，检测其化学发光光子强度。

[0050] 实施例8人类免疫缺陷病毒p24抗原的化学发光免疫分析法

[0051] 实施例8提供了一种检测人类免疫缺陷病毒p24抗原的化学发光免疫分析法，步骤

如下：

[0052] (1) 将50μL待测样本和100μL浓度为300ng/mL的生物素化p24抗体反应10分钟后，形成抗原-抗体复合体；

[0053] (2) 加入20μL浓度为300ng/mL的链霉亲和素包被的磁性微粒，与步骤(1)所述的复合体反应10分钟后，形成磁性抗原-抗体复合体悬浮液；

[0054] (3) 将步骤(2)所述的磁性抗原-抗体复合体悬浮液置于磁场内，洗涤所述磁性抗原-抗体复合体；

[0055] (4) 将步骤(3)所述洗涤后的磁性抗原-抗体复合体与100μL浓度为300ng/mL的吖啶化合物标记的p24抗体反应10分钟后，形成磁性复合物悬浮液；

[0056] (5) 将步骤(4)所述的磁性复合物悬浮液置于磁场内，洗涤所述磁性复合物；

[0057] (6) 向步骤(5)所述的磁性复合物中注入100μL化学发光激发液1，1.5秒后，注入100μL化学发光激发液2，检测其化学发光光子强度。

[0058] 实施例9乙型肝炎病毒表面抗原的化学发光免疫分析法

[0059] 实施例9提供了一种乙型肝炎病毒表面抗原的化学发光免疫分析法，步骤如下：

[0060] (1) 将50μL待测样本和100μL浓度为500ng/mL的生物素化乙型肝炎病毒表面抗体反应10分钟后，形成抗原-抗体复合体；

[0061] (2) 加入20μL浓度为500ng/mL的链霉亲和素包被的磁性微粒，与步骤(1)所述的复合体反应10分钟后，形成磁性抗原-抗体复合体悬浮液；

[0062] (3) 将步骤(2)所述的磁性抗原-抗体复合体悬浮液置于磁场内，洗涤所述磁性抗原-抗体复合体；

[0063] (4) 将步骤(3)所述洗涤后的磁性抗原-抗体复合体与100μL浓度为500ng/mL的吖啶化合物标记的乙型肝炎病毒表面抗体反应10分钟后，形成磁性复合物悬浮液；

[0064] (5) 将步骤(4)所述的磁性复合物悬浮液置于磁场内，洗涤所述磁性复合物；

[0065] (6) 向步骤(5)所述的磁性复合物中注入100μL化学发光激发液1，1.5秒后，注入100μL化学发光激发液2，检测其化学发光光子强度。

[0066] 所述实施例7-9的化学发光激发液1和化学发光激发液2同实施例1-6和对比例1-3。

[0067] 效果例1-4

[0068] 效果例1采用实施例1的试剂盒，效果例2采用实施例2的试剂盒，效果例3采用对比例1的试剂盒，效果例4采用对比例4的试剂盒，通过实施例7的化学发光免疫分析法检测浓度为0-0.06mIU/L的促甲状腺素(TSH)的20孔发光平均值(M)和20孔间变异系数值(CV)，结果如下表：

[0069] 表2采用不同试剂盒检测不同浓度TSH抗原的发光情况表

[0070]

TSH浓度 (mIU/L)	效果例 1		效果例 2		效果例 3		效果例 4	
	M	CV	M	CV	M	CV	M	CV
0	6472	35. 1%	5879	34. 1%	28472	41. 1%	4986	36. 1%
0. 015	25014	19. 1%	23069	18. 9%	30865	21. 3%	10796	28. 5%
0. 03	53125	14. 4%	48285	16. 2%	61908	18. 1%	20528	21. 2%
0. 06	981569	13. 5%	99659	12. 8%	118086	15. 3%	41778	16. 8%

[0071] 通过效果例1、效果例2和效果例3的对比可以看出,效果例1和效果例2的促甲状腺素(TSH)的化学发光免疫分析法检测TSH的背景值比效果例3明显低,这是由于效果例1和效果例2所用试剂盒中吖啶化合物标记促甲状腺素抗体的稀释液中含有一种含大量亲水基团的高聚物PEG20000,极大降低了吖啶化合物标记促甲状腺素抗体的非特异性吸附,从而降低了背景,而效果例3所用试剂盒中吖啶化合物标记促甲状腺素抗体的稀释液中不含PEG20000,由于封闭不充分、不及时,其背景相应提高了很多;以孔间CV小于20%所能检测到的最低浓度为功能灵敏度计算,效果例3检测TSH的功能灵敏度为0.03mIU/L,而效果例1和效果例2检测TSH的功能灵敏度为0.015mIU/L,功能灵敏度显著提高。

[0072] 效果例4与效果例2所用的试剂盒除吖啶化合物的结构不同(效果例4所用试剂盒的吖啶化合物含单个吖啶环,效果例2所用试剂盒的吖啶化合物含两个吖啶环)外,其余完全相同,且效果例4与效果例2所用的化学发光免疫分析法相同,通过对比可知:用单个吖啶环的吖啶化合物标记促甲状腺素单克隆抗体时,检测TSH的功能灵敏度为不足0.03mIU/L,没有达到NACB的要求,而以两个吖啶环的吖啶化合物标记促甲状腺素单克隆抗体时,其功能灵敏度为0.015mIU/L,功能灵敏度显著提高。

[0073] 效果例5-8

[0074] 效果例5采用实施例3的试剂盒,效果例6采用实施例4的试剂盒,效果例7采用对比例2的试剂盒,效果例8采用对比例5的试剂盒,通过实施例8的化学发光免疫分析法检测1000例阴性血样发光平均值(M)及含5-20IU/mL人类免疫缺陷病毒p24抗原的血样发光值(RLU),结果如下表:

[0075] 表4采用不同试剂盒检测不同浓度p24抗原的发光情况表

[0076]

	效果例 5	效果例 6	效果例 7	效果例 8
M	1355	1125	6911	1050
Cov 值 (M+2SD)	27684	25311	31253	25061
5IU/mL 抗原的 RLU	28214 (阳性)	29368 (阳性)	30258 (阴性)	14580 (阴性)
10IU/mL 抗原的 RLU	58741 (阳性)	56312 (阳性)	57456 (阳性)	27495 (阳性)
20IU/mL 抗原的 RLU	112352 (阳性)	110462 (阳性)	120412 (阳性)	55738 (阳性)

[0077] 通过效果例5、效果例6和效果例7的对比可以看出,效果例5和效果例6的人类免疫缺陷病毒p24抗原的化学发光免疫分析法检测TSH的背景值比效果例7明显低,这是由于效果例5和效果例6所用试剂盒中吖啶化合物标记p24抗原的稀释液的配方合理,极大降低了吖啶化合物标记促甲状腺素抗体的非特异性吸附,从而降低了背景,而效果例6所用试剂盒中吖啶化合物标记p24抗原的稀释液封闭不充分、不及时,其背景也相应提高了很多;实验中测定1000例阴性血样,取发光值的平均值M和标准误差SD,M+2SD即为最低检出量发光值的临界值,将标准品的发光值与M+2SD做比较,即可得知p24抗原的最低检出量,效果例6检测p24抗原的最低检出量为10IU/mL,而效果例5和效果例6检测p24抗原的最低检出量为5IU/mL,灵敏度显著提高。

[0078] 效果例8与效果例6所用的试剂盒除吖啶化合物的结构不同(效果例8所用试剂盒的吖啶化合物含单个吖啶环,效果例6所用试剂盒的吖啶化合物含两个吖啶环)外,其余完全相同,且效果例8与效果例6所用的化学发光免疫分析法相同,通过对比可知:用单个吖啶环的吖啶化合物标记人类免疫缺陷病毒p24抗体时,检测人类免疫缺陷病毒p24抗原的最低检出量为10IU/mL,而以两个吖啶环的吖啶化合物标记人类免疫缺陷病毒p24抗体时,最低检出量为5IU/mL,灵敏度提高了一倍。

[0079] 效果例9-12

[0080] 效果例9采用实施例5的试剂盒,效果例10采用实施例6的试剂盒,效果例11采用对比例3的试剂盒,效果例12采用对比例6的试剂盒,通过实施例9的化学发光免疫分析法检测500例阴性血样发光平均值(M),含0.05-0.2IU/mL Adr亚型乙型肝炎病毒表面抗原、含0.05-0.2IU/mL adw亚型乙型肝炎病毒表面抗原以及含0.1-0.4IU/mL ay亚型乙型肝炎病毒表面抗原的血样发光值(RLU),结果如下表:

[0081] 表6采用不同试剂盒检测不同浓度乙型肝炎病毒表面抗原的发光情况表

[0082]

	效果例 9	效果例 10	效果例 11	效果例 12
M	1123	1515	3051	1019
Cov 值 (M+2SD)	2068	2516	4082	1952
Adr 亚型-0.2IU/mL (RLU)	11850 (阳性)	11596 (阳性)	11705 (阳性)	5495 (阳性)
Adr 亚型-0.1IU/mL (RLU)	5826 (阳性)	6512 (阳性)	6386 (阳性)	3241 (阳性)
Adr 亚型-0.05IU/mL(RLU)	3385 (阳性)	3452 (阳性)	3852 (阴性)	1736 (阴性)

[0083]

Adw 亚型-0.2IU/mL (RLU)	12584 (阳性)	11652 (阳性)	11796 (阳性)	5982 (阳性)
Adw 亚型-0.1IU/mL (RLU)	6165 (阳性)	5989 (阳性)	6032 (阳性)	2908 (阳性)
Adw 亚型-0.05IU/M1 (RLU)	3395 (阳性)	3245 (阳性)	3651 (阴性)	1672 (阴性)
Ay 亚型-0.4IU/mL (RLU)	11900 (阳性)	11982 (阳性)	12896 (阳性)	5853 (阳性)
Ay 亚型-0.2IU/mL (RLU)	5902 (阳性)	5896 (阳性)	6596 (阳性)	2900 (阳性)
Ay 亚型-0.1IU/mL (RLU)	3379 (阳性)	3265 (阳性)	3912 (阴性)	1648 (阴性)

[0084] 通过效果例9、效果例10和效果例11的对比可以看出,效果例9和效果例10的化学发光免疫分析法检测乙型肝炎病毒表面抗原的背景值比效果例11明显低,这是由于效果例9和效果例10所用试剂盒中吖啶化合物标记乙型肝炎病毒表面抗原的稀释液的配方合理,极大降低了吖啶化合物标记促甲状腺素抗体的非特异性吸附,从而降低了背景,而效果例11所用试剂盒中吖啶化合物标记乙型肝炎病毒表面抗原的稀释液封闭效果差,其背景也相应提高了很多;实验中测定500例临床阴性血样,取发光值的平均值M和标准误差SD,M+2SD即为最低检出量发光值的临界值,将标准品的RLU值与M+2SD做比较,即可得知乙型肝炎病毒表面抗原的最低检出量,效果例9、效果例10对Adr亚型乙型肝炎病毒表面抗原的最低检出量均为0.05IU/mL,而效果例11对Adr亚型乙型肝炎病毒表面抗原的最低检出量均为0.1IU/mL;效果例9、效果例10对Adw亚型乙型肝炎病毒表面抗原的最低检出量均为0.05IU/mL,而效果例11对Adw亚型乙型肝炎病毒表面抗原的最低检出量均为0.1IU/mL;效果例9、效果例10对Ay亚型乙型肝炎病毒表面抗原的最低检出量均为0.1IU/mL,效果例11对Ay亚型乙型肝炎病毒表面抗原的最低检出量均为0.2IU/mL。

[0085] 效果例12与效果例9所用的试剂盒除吖啶化合物的结构不同(效果例12所用试剂盒的吖啶化合物含单个吖啶环,效果例9所用试剂盒的吖啶化合物含两个吖啶环)外,其余

完全相同,且效果例12与效果例9所用的化学发光免疫分析法相同,通过对比可知:用含单个吖啶环的吖啶化合物标记乙型肝炎病毒表面抗体时,对Adr、adw和ay亚型的乙型肝炎病毒表面抗原的最低检出量分别为0.1、0.1和0.2IU/mL,而以含两个吖啶环的吖啶化合物标记乙型肝炎病毒表面抗体时,对Adr、adw和ay亚型的乙型肝炎病毒表面抗原的最低检出量分别为0.05、0.05和0.1IU/mL,灵敏度提高了一倍。

[0086] 以上述依据本发明的理想实施例为启示,通过上述的说明内容,相关工作人员完全可以在不偏离本项发明技术思想的范围内,进行多样的变更以及修改。本项发明的技术性范围并不局限于说明书上的内容,必须要根据权利要求范围来确定其技术性范围。

专利名称(译)	一种检测抗原的化学发光检测试剂盒和免疫分析方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN109425732A</a>	公开(公告)日	2019-03-05
申请号	CN201710743255.0	申请日	2017-08-25
[标]申请(专利权)人(译)	苏州长光华医生物医学工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州长光华医生物医学工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	苏州长光华医生物医学工程有限公司		
[标]发明人	欧赛英 李大军 陶俊 涂策		
发明人	欧赛英 李大军 陶俊 涂策		
IPC分类号	G01N33/532 G01N33/543 G01N21/76		
CPC分类号	G01N33/532 G01N21/76 G01N21/763 G01N33/54326 G01N2446/80		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">Sipo</a>		

**摘要(译)**

本发明涉及一种检测抗原的化学发光检测试剂盒和免疫分析方法，通过待测抗原、生物素化抗待测抗原抗体、吖啶化合物标记的抗待测抗原抗体和链霉亲和素包被的磁性微粒形成磁性复合物，使用磁性分离技术捕获所述的磁性复合物，加入发光缓冲液进行化学发光，检测其化学发光光子强度。本发明吖啶化合物标记抗待测抗原的抗体溶液中含有高聚物PEG20000，对非特异性吸附起到更好的封闭效果，从而降低了背景值；同时，本发明采用一种含两个吖啶环结构的标记物，而现有常用的化学发光免疫试剂采用单个吖啶环结构的化合物标记抗体，在相同的底物激发下能发出双倍的光子数，使得化学发光免疫分析的灵敏度提高了一倍。

