



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110907636 A

(43)申请公布日 2020.03.24

(21)申请号 201911297204.5

(22)申请日 2019.12.17

(71)申请人 天津森郁生物科技有限公司

地址 300000 天津市北辰区天津北辰经济  
技术开发区医药医疗器械工业园京福  
公路西侧医药医疗器械产业园1-2-  
301,401厂房

(72)发明人 不公告发明人

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 21/76(2006.01)

权利要求书1页 说明书2页

(54)发明名称

一种光激化学发光均相免疫分析方法

(57)摘要

本发明公开了一种光激化学发光均相免疫分析方法,全程无需分离游离标记微球或未参加抗原抗体结合的标记物质,参与免疫反应的一个抗体上包被了感光微球,内含酞菁;产生一系列的化学发光反应,最后将能量传递给Eu,使发光微球发射520-620 nm荧光信号并被光子计数器捕获;即完成鲁米诺氧途径化学发光过程;在此过程中;当体系中不存在抗原抗体复合物时,感光微球和发光微球之间的距离大于200nm;非结合状态下的感光微球和发光微球由于相距较远,当680nm激光照射时,发光微球无法获得能量而不会发光。两种微球之间借助抗原-抗体间结合,实现高能活性氧的传递,诱导光激发化学发光过程,从而实现“免分离”的均相免疫分析,精密度高,检测速度快。

1. 一种光激化学发光均相免疫分析方法,其特征在于,全程无需分离游离标记微球或未参加抗原抗体结合的标记物质,参与免疫反应的一个抗体上包被了感光微球,内含酞菁;另一个抗体上包被了发光微球,内含二甲基噻吩衍生物及Eu螯合物;在目标抗原存在的情况下,形成夹心免疫复合物;目标抗原可使两个抗体上标记的感光微球和发光微球紧密的连接在一起,在680nm激光照射下,感光微球中的光敏物质受到激发并催化周围的氧分子形成高能态的单线态氧,该高能态的单线态氧扩散至发光微球,产生一系列的化学发光反应,最后将能量传递给Eu,使发光微球发射520-620 nm荧光信号并被光子计数器捕获;即完成鲁米诺氧途径化学发光过程;在此过程中,单线态氧的半衰期只有4 $\mu$ s,且最大扩散距离200nm;当体系中不存在抗原抗体复合物时,感光微球和发光微球之间的距离大于200nm;因此,本系统只有结合状态下的感光微球才能传递单线态氧至发光微球并发光;非结合状态下的感光微球和发光微球由于相距较远,当680nm激光照射时,发光微球无法获得能量而不会发光。

## 一种光激化学发光均相免疫分析方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及阿尔茨海默病的初期临床筛查领域,尤其涉及一种光激化学发光均相免疫分析方法。

### 背景技术

[0002] 光激化学发光(Light Initiated Chemiluminescence Assay, LiCA)技术使用的是均相体系化学发光检测技术,属第四代化学发光免疫分析技术。作为近年兴起的新型定量均相免疫学检测技术,它克服了传统标记免疫学技术需洗涤分离结合标记与游离标记的缺点。它结合单线态氧半衰期短、纳米材料和激光技术等优势,实现了在均相中进行反应的操作过程。光激化学发光免疫分析技术具有操作简单、背景信号低、检测重复性好、无放射性污染、不需分离结合标记与游离标记、高通量、易于自动化和高灵敏度等优势。代表了现在及未来分析检测技术的发展趋势。

### 发明内容

[0003] 针对现有技术中的上述不足,本发明提供了一种光激化学发光均相免疫分析方法,两种微球之间借助抗原-抗体间结合,实现高能活性氧的传递,诱导光激发化学发光过程,从而实现“免分离”的均相免疫分析,精密度高,检测速度快。

[0004] 为了达到上述发明目的,本发明采用的具体方案为:

一种光激化学发光均相免疫分析方法,全程无需分离游离标记微球或未参加抗原抗体结合的标记物质,参与免疫反应的一个抗体上包被了感光微球,内含酞菁;另一个抗体上包被了发光微球,内含二甲基噻吩衍生物及Eu螯合物;在目标抗原存在的情况下,形成夹心免疫复合物;目标抗原可使两个抗体上标记的感光微球和发光微球紧密的连接在一起,在680nm激光照射下,感光微球中的光敏物质受到激发并催化周围的氧分子形成高能态的单线态氧,该高能态的单线态氧扩散至发光微球,产生一系列的化学发光反应,最后将能量传递给Eu,使发光微球发射520-620 nm荧光信号并被光子计数器捕获;即完成鲁米诺氧途径化学发光过程;在此过程中,单线态氧的半衰期只有4 $\mu$ s,且最大扩散距离200nm;当体系中不存在抗原抗体复合物时,感光微球和发光微球之间的距离大于200nm;因此,本系统只有结合状态下的感光微球才能传递单线态氧至发光微球并发光;非结合状态下的感光微球和发光微球由于相距较远,当680nm激光照射时,发光微球无法获得能量而不会发光。

[0005] 本发明的有益效果为:

此项技术与电化学发光、直接化学发光、酶促化学发光不同,采用发光物质(luminescent material)和感光物质(photoactive substance)两种标记,发光物质分布于发光微球表面,感光物质分布于感光微球表面,体现出“双标”和“双球”特征。两种微球之间借助抗原-抗体间结合,实现高能活性氧的传递,诱导光激发化学发光过程,从而实现“免分离”的均相免疫分析,精密度高,检测速度快。

### 具体实施方式

[0006] 以下通过具体实施例进一步描述本发明,但本发明不仅仅限于以下实施例。在本发明的范围内或者在不脱离本发明的内容、精神和范围内,对本发明进行的变更、组合或替换,对于本领域的技术人员来说是显而易见的,且包含在本发明的范围之内。

[0007] 一种光激化学发光均相免疫分析方法,全程无需分离游离标记微球或未参加抗原抗体结合的标记物质,参与免疫反应的一个抗体上包被了感光微球,内含酞菁;另一个抗体上包被了发光微球,内含二甲基噻吩衍生物及Eu螯合物;在目标抗原存在的情况下,形成夹心免疫复合物;目标抗原可使两个抗体上标记的感光微球和发光微球紧密的连接在一起,在680nm激光照射下,感光微球中的光敏物质受到激发并催化周围的氧分子形成高能态的单线态氧,该高能态的单线态氧扩散至发光微球,产生一系列的化学发光反应,最后将能量传递给Eu,使发光微球发射520-620 nm荧光信号并被光子计数器捕获;即完成鲁米诺氧途径化学发光过程;在此过程中,单线态氧的半衰期只有4 $\mu$ s,且最大扩散距离200nm;当体系中不存在抗原抗体复合物时,感光微球和发光微球之间的距离大于200nm;因此,本系统只有结合状态下的感光微球才能传递单线态氧至发光微球并发光;非结合状态下的感光微球和发光微球由于相距较远,当680nm激光照射时,发光微球无法获得能量而不会发光。

[0008] 以上所述仅为本发明专利的较佳实施例而已,并不用以限制本发明专利,凡在本发明专利的精神和原则之内所作的任何修改、等同替换和改进等,均应包含在本发明专利的保护范围之内。

专利名称(译)	一种光激化学发光均相免疫分析方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN110907636A</a>	公开(公告)日	2020-03-24
申请号	CN201911297204.5	申请日	2019-12-17
[标]发明人	不公告发明人		
发明人	不公告发明人		
IPC分类号	G01N33/53 G01N21/76		
CPC分类号	G01N21/76 G01N33/53		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明公开了一种光激化学发光均相免疫分析方法，全程无需分离游离标记微球或未参加抗原抗体结合的标记物质，参与免疫反应的一个抗体上包被了感光微球，内含酞菁；产生一系列的化学发光反应，最后将能量传递给Eu，使发光微球发射520-620 nm荧光信号并被光子计数器捕获；即完成鲁米诺氧途径化学发光过程；在此过程中；当体系中不存在抗原抗体复合物时，感光微球和发光微球之间的距离大于200nm；非结合状态下的感光微球和发光微球由于相距较远，当680nm激光照射时，发光微球无法获得能量而不会发光。两种微球之间借助抗原-抗体间结合，实现高能活性氧的传递，诱导光激发化学发光过程，从而实现“免分离”的均相免疫分析，精密度高，检测速度快。