



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109799352 A

(43)申请公布日 2019.05.24

(21)申请号 201910084381.9

(22)申请日 2019.01.29

(71)申请人 北京健坤禾润科技有限公司

地址 102600 北京市大兴区天荣大街19号7
栋5层

(72)发明人 曹秀娟

(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 任凤华

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

G01N 21/76(2006.01)

C09K 11/07(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

化学发光试剂及其在免疫检测中应用

(57)摘要

本发明公开了化学发光试剂及其在免疫检测中应用。本发明提供的化学发光试剂含有绿原酸和化学发光底物,所述化学发光底物为鲁米诺或鲁米诺可溶性盐。本发明通过标准辣根过氧化物酶催化鲁米诺和过氧化氢的化学发光分析,证明本发明的含绿原酸的化学发光试剂检测辣根过氧化物酶的灵敏度相对于含4-碘苯酚的化学发光试剂提高100倍以上。将本发明的含绿原酸的化学发光试剂用于蛋白免疫印迹实验,能够显著提高对目标蛋白的检测灵敏度。本发明可用于蛋白免疫印迹中检测微量蛋白。

1. 化学发光试剂,其特征在于:所述化学发光试剂含有绿原酸和化学发光底物,所述化学发光底物为鲁米诺或鲁米诺可溶性盐。

2. 根据权利要求1所述的化学发光试剂,其特征在于:所述化学发光试剂由绿原酸和所述化学发光底物组成。

3. 根据权利要求1所述的化学发光试剂,其特征在于:所述化学发光试剂由绿原酸、所述化学发光底物和下述至少一种物质组成:三羟甲基氨基甲烷、盐酸和水。

4. 根据权利要求1所述的化学发光试剂,其特征在于:所述化学发光试剂还含有过氧化氢。

5. 根据权利要求1或4所述的化学发光试剂,其特征在于:所述化学发光试剂由绿原酸、所述化学发光底物和过氧化氢组成。

6. 根据权利要求1或4所述的化学发光试剂,其特征在于:所述化学发光试剂还含有三羟甲基氨基甲烷和/或盐酸和/或水。

7. 根据权利要求1、4或6所述的化学发光试剂,其特征在于:所述化学发光试剂由绿原酸、所述化学发光底物、过氧化氢和下述至少一种物质组成:三羟甲基氨基甲烷、盐酸和水。

8. 绿原酸或权利要求1-7中任一权利要求所述的化学发光试剂在化学发光检测或化学发光免疫检测中的应用。

9. 绿原酸在制备化学发光试剂中的应用或绿原酸作为化学发光增强剂的应用。

10. 下述任一种应用:

U1、绿原酸和化学发光底物在制备化学发光试剂中的应用,所述化学发光底物为鲁米诺或鲁米诺可溶性盐;

U2、绿原酸、化学发光底物和过氧化氢在制备化学发光试剂中的应用,所述化学发光底物为鲁米诺或鲁米诺可溶性盐;

U3、绿原酸、化学发光底物和C在制备化学发光试剂中的应用,所述化学发光底物为鲁米诺或鲁米诺可溶性盐,所述C为三羟甲基氨基甲烷和/或盐酸和/或水;

U4、绿原酸、化学发光底物、过氧化氢和C在制备化学发光试剂中的应用,所述化学发光底物为鲁米诺或鲁米诺可溶性盐,所述C为三羟甲基氨基甲烷和/或盐酸和/或水;

U5、绿原酸和过氧化氢在制备化学发光试剂中的应用;

U6、绿原酸和三羟甲基氨基甲烷在制备化学发光试剂中的应用;

U7、绿原酸和盐酸在制备化学发光试剂中的应用。

化学发光试剂及其在免疫检测中应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物学和免疫学中化学发光试剂及其在免疫检测中应用。

背景技术

[0002] 在生物学检测技术中,免疫学检测处于十分重要的地位,利用抗体抗原反应检测相对应的抗原抗体浓度具有高特异性的特点。然而,经典的以抗体抗原直接反应为特征的沉淀法、凝集法检测抗原抗体的灵敏度低、准确性差。于是研究者们利用过氧化物酶标记第二抗体或链霉亲和素,将免疫反应中待测抗原或抗体信号转换为方便检测的酶活力。通过酶反应的放大性和良好线性大大提高了检测的灵敏度和准确度。辣根过氧化物酶是一种稳定性高、催化能力强的过氧化物酶。常用来标记第二抗体或链霉亲和素,用于将免疫反应中待测抗原或抗体信号转换为可以检测的酶活力。

[0003] 辣根过氧化物酶催化的氧化还原反应可以对酶活力进行定量测定,常用的辣根过氧化物酶底物是显色底物二氨基联苯胺和四甲基联苯胺。辣根过氧化物酶催化过氧化氢氧化二氨基联苯胺生成棕色不溶产物,适合用于蛋白免疫印迹检测和免疫组织化学检测;辣根过氧化物酶催化四甲基联苯胺生成蓝色产物,在酸性条件下,变成稳定的黄色物质,可以通过吸光度准确测定产物生成量和相对应的酶活力,适合用于酶联免疫吸附检测。然而这些辣根过氧化物酶的显色底物仍然存在检测灵敏度低、定量线性范围窄等严重缺点。研究者们发现利用化学发光底物可以显著提高辣根过氧化物酶检测的灵敏度和线性范围,于是各种化学发光底物逐渐得到开发。特别是基于鲁米诺和过氧化氢的氧化还原底物,通过加入4-碘苯酚等酚类化学发光增强剂(Pure and Applied Chemistry,1987,59(5),651-654),可以很好地通过化学发光反应检测辣根过氧化物酶的酶活力。

[0004] 在蛋白免疫印迹实验中,需要检测的蛋白很多都是微量蛋白。目前市场销售的增强化学发光液的灵敏度仍然不能满足蛋白免疫印迹实验的需要。

发明内容

[0005] 本发明所要解决的技术问题是如何增强辣根过氧化物酶催化鲁米诺和过氧化氢反应过程中的化学发光强度。

[0006] 为了解决上述技术问题,本发明提供了化学发光试剂。

[0007] 本发明所提供的化学发光试剂为化学发光组合物,所述化学发光试剂含有绿原酸和化学发光底物,所述化学发光底物为鲁米诺或鲁米诺可溶性盐。本发明的化学发光试剂也可称为含绿原酸的化学发光试剂。

[0008] 上述化学发光试剂中,所述鲁米诺可溶性盐可为鲁米诺钠盐。

[0009] 上述化学发光试剂中,所述化学发光试剂可由绿原酸和所述化学发光底物组成。该化学发光试剂中,所述绿原酸和所述化学发光底物可分别单独包装,也可混合在一起。该化学发光试剂中,所述绿原酸和所述化学发光底物的配比可为0.1-20.0mmol绿原酸:2.5mmol所述化学发光底物,0.5-2.0mmol绿原酸:2.5mmol所述化学发光底物,或1.0-

2.0mmol绿原酸:2.5mmol所述化学发光底物。

[0010] 上述化学发光试剂中,所述化学发光试剂还可含有进行化学发光反应所需的其它物质,如三羟甲基氨基甲烷和/或盐酸和/或水等。

[0011] 上述化学发光试剂中,所述化学发光试剂可由绿原酸、所述化学发光底物和下述至少一种物质组成:三羟甲基氨基甲烷、盐酸和水。

[0012] 上述化学发光试剂中,所述化学发光试剂还可含有过氧化氢。所述化学发光试剂可由绿原酸、所述化学发光底物和过氧化氢组成。该化学发光试剂中,过氧化氢单独包装,绿原酸和所述化学发光底物可分别单独包装,也可混合在一起。该化学发光试剂中,绿原酸、所述化学发光底物和过氧化氢的配比可为0.1-20.0mmol绿原酸:2.5mmol所述化学发光底物:6mmol过氧化氢,0.5-2.0mmol绿原酸:2.5mmol所述化学发光底物:6mmol过氧化氢,或1.0-2.0mmol绿原酸:2.5mmol所述化学发光底物:6mmol过氧化氢。

[0013] 上述化学发光试剂中,所述化学发光试剂还可含有进行化学发光反应所需的其它物质,如三羟甲基氨基甲烷和/或盐酸和/或水等。

[0014] 上述化学发光试剂中,所述化学发光试剂可由绿原酸、所述化学发光底物、过氧化氢和下述至少一种物质组成:三羟甲基氨基甲烷、盐酸和水。

[0015] 上述化学发光试剂中,所述化学发光试剂可为用于化学发光免疫检测的试剂。

[0016] 在实际应用中,所述化学发光试剂可由A液和B液组成,A液可为由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶剂为水,溶质及其浓度分别为0.1M三羟甲基氨基甲烷、0.03M盐酸和2.5mM鲁米诺钠盐,0.1-20.0mM绿原酸。B液可为由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质及其浓度分别为0.1M三羟甲基氨基甲烷、0.03M盐酸和6mM过氧化氢,溶剂为水。A液和B液等体积混合使用。

[0017] 上述化学发光试剂中,本发明的化学发光试剂(含绿原酸的化学发光试剂)与含4-碘苯酚的化学发光试剂相比,增强辣根过氧化物酶催化鲁米诺和过氧化氢反应过程中的化学发光强度114倍。本发明的化学发光试剂(含绿原酸的化学发光试剂)与含4-碘苯酚的化学发光试剂在组成上相比,除了将等摩尔的4-碘苯酚替换为等摩尔的绿原酸外,其它组分及其含量均相同。

[0018] 下述任一种应用也属于本发明的保护范围:

[0019] U0、绿原酸或所述化学发光试剂在化学发光检测或化学发光免疫检测(化学发光免疫分析,如蛋白免疫印迹检测)中的应用;

[0020] U01、绿原酸在制备化学发光试剂中的应用或绿原酸作为化学发光增强剂的应用;

[0021] U1、绿原酸和所述化学发光底物在制备化学发光试剂中的应用;

[0022] U2、绿原酸、所述化学发光底物和过氧化氢在制备化学发光试剂中的应用;

[0023] U3、绿原酸、所述化学发光底物和下述至少一种物质在制备化学发光试剂中的应用:三羟甲基氨基甲烷和/或盐酸和/或水;

[0024] U4、绿原酸、所述化学发光底物、过氧化氢和下述至少一种物质在制备化学发光试剂中的应用:三羟甲基氨基甲烷和/或盐酸和/或水;

[0025] U5、绿原酸和过氧化氢在制备化学发光试剂中的应用;

[0026] U6、绿原酸和三羟甲基氨基甲烷在制备化学发光试剂中的应用;

[0027] U7、绿原酸和盐酸在制备化学发光试剂中的应用。

[0028] 上述应用中,所述化学发光试剂可为上述化学发光试剂。所述化学发光增强剂可为增强辣根过氧化物酶催化鲁米诺和过氧化氢反应过程中的化学发光强度的试剂。

[0029] 上述应用中,绿原酸与4-碘苯酚相比,增强辣根过氧化物酶催化鲁米诺和过氧化氢反应过程中的化学发光强度114倍。

[0030] 本发明通过大量的鲁米诺化学发光增强作用筛选,发现绿原酸具有很强的化学发光增强效应,能够极大的提高蛋白免疫印迹实验的检测灵敏度。本发明通过标准辣根过氧化物酶催化鲁米诺和过氧化氢的化学发光分析,证明本发明的含绿原酸的化学发光试剂检测辣根过氧化物酶的灵敏度相对于含4-碘苯酚的化学发光试剂提高100倍以上。将本发明的含绿原酸的化学发光试剂用于蛋白免疫印迹实验,能够显著提高对目标蛋白的检测灵敏度。本发明可用于蛋白免疫印迹中检测微量蛋白。

附图说明

[0031] 图1为含4-碘苯酚的增强化学发光液和含绿原酸的增强化学发光液用于蛋白免疫印迹检测的结果。

具体实施方式

[0032] 下面结合具体实施方式对本发明进行进一步的详细描述,给出的实施例仅为了阐明本发明,而不是为了限制本发明的范围。以下提供的实施例可作为本技术领域普通技术人员进行进一步改进的指南,并不以任何方式构成对本发明的限制。

[0033] 下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。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。

[0034] 试剂:三羟甲基氨基甲烷(货号:T110600),购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司;鲁米诺钠盐(货号:V900354)、绿原酸(货号:C3878)、过氧化氢(货号:88597)和4-碘苯酚(货号:I10201)购自美国Sigma-Aldrich公司;其它化学试剂,购自北京化工厂。DMEM细胞培养基和胎牛血清,购自美国Corning公司。蛋白电泳相关试剂,购自北京佰瑞达生物科技有限公司。

[0035] 耗材:白色96孔板(货号:T110600)和常用离心管及移液器吸头,购自美国Corning公司。聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,购自德国默克公司;细胞培养瓶、离心管及移液器吸头,购自美国Corning公司。

[0036] 仪器:Enspire Multimode Plate Reader,购自德国铂金爱尔默公司。蛋白电泳相关设备,购自美国伯乐公司;ImageQuant LAS 4000化学发光成像仪,购自美国GE公司。

[0037] 细胞:RAW264.7细胞,购自中国医学科学院基础医学研究所细胞中心。

[0038] 实施例1、绿原酸增强辣根过氧化物酶催化鲁米诺和过氧化氢反应过程中的化学发光强度

[0039] 本实施例提供了9种化学发光试剂,这9种化学发光试剂均由A液和B液组成。这9种化学发光试剂的B液相同,只是A液不同。这9种化学发光试剂的B液均是由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质及其浓度分别为0.1M三羟甲基氨基甲烷、0.03M盐酸和6mM过氧化氢,溶剂为水。

[0040] 这9种化学发光试剂分别为0mM绿原酸化学发光试剂、0.1mM绿原酸化学发光试剂、

0.2mM绿原酸化学发光试剂、0.5mM绿原酸化学发光试剂、1.0mM绿原酸化学发光试剂、2.0mM绿原酸化学发光试剂、5.0mM绿原酸化学发光试剂、10.0mM绿原酸化学发光试剂和20.0mM绿原酸化学发光试剂。

[0041] 0mM绿原酸化学发光试剂的A液为0mM绿原酸溶液(对照)。该0mM绿原酸化学发光试剂的A液为由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质及其浓度分别为0.1M三羟甲基氨基甲烷、0.03M盐酸和2.5mM鲁米诺钠盐,溶剂为水。

[0042] 0.1mM绿原酸化学发光试剂的A液是由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质为绿原酸,溶剂为上述0mM绿原酸溶液。0.1mM绿原酸化学发光试剂的A液中的绿原酸含量是0.1mM。

[0043] 0.2mM绿原酸化学发光试剂的A液是由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质为绿原酸,溶剂为上述0mM绿原酸溶液。0.2mM绿原酸化学发光试剂的A液中的绿原酸含量是0.2mM。

[0044] 0.5mM绿原酸化学发光试剂的A液是由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质为绿原酸,溶剂为上述0mM绿原酸溶液。0.5mM绿原酸化学发光试剂的A液中的绿原酸含量是0.5mM。

[0045] 1.0mM绿原酸化学发光试剂的A液是由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质为绿原酸,溶剂为上述0mM绿原酸溶液。1.0mM绿原酸化学发光试剂的A液中的绿原酸含量是1.0mM。

[0046] 2.0mM绿原酸化学发光试剂的A液是由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质为绿原酸,溶剂为上述0mM绿原酸溶液。2.0mM绿原酸化学发光试剂的A液中的绿原酸含量是2.0mM。

[0047] 5.0mM绿原酸化学发光试剂的A液是由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质为绿原酸,溶剂为上述0mM绿原酸溶液。5.0mM绿原酸化学发光试剂的A液中的绿原酸含量是5.0mM。

[0048] 10.0mM绿原酸化学发光试剂的A液是由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质为绿原酸,溶剂为上述0mM绿原酸溶液。10.0mM绿原酸化学发光试剂的A液中的绿原酸含量是10.0mM。

[0049] 20.0mM绿原酸化学发光试剂的A液是由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质为绿原酸,溶剂为上述0mM绿原酸溶液。20.0mM绿原酸化学发光试剂的A液中的绿原酸含量是20.0mM。

[0050] 按照如下化学发光分析方法分别测试辣根过氧化物酶催化上述9种化学发光试剂进行化学发光反应的化学发光强度:将A液和B液等体积混合,然后吸取到白色96孔板中,100 μ l/孔,然后加入0.001U/ml的辣根过氧化物酶溶液,10 μ l/孔,充分混合后室室温反应5分钟,酶标仪检测化学发光强度(相对光单位,Relative light unit,RLU)。

[0051] 化学发光分析的结果表明辣根过氧化物酶分别催化0.1mM绿原酸化学发光试剂、0.2mM绿原酸化学发光试剂、0.5mM绿原酸化学发光试剂、1.0mM绿原酸化学发光试剂、2.0mM绿原酸化学发光试剂、5.0mM绿原酸化学发光试剂、10.0mM绿原酸化学发光试剂和20.0mM绿原酸化学发光试剂进行化学发光反应的化学发光强度分别是辣根过氧化物酶催化0mM绿原酸化学发光试剂进行化学发光反应的化学发光强度的3660倍($183/0.05=3660$)、7120倍

(356/0.05=7120)、9760倍(488/0.05=9760)、10760倍(538/0.05=10760)、10240倍(512/0.05=10240)、8560倍(428/0.05=8560)、7060倍(353/0.05=7060)和4460倍(223/0.05=4460)。说明绿原酸加入化学发光液中能够显著提高辣根过氧化物酶催化鲁米诺和过氧化氢反应的化学发光强度,使化学发光强度提高了3660-10760倍。实验重复3次,每次每个处理3个孔。

[0052] 表1.辣根过氧化物酶催化上述9种化学发光试剂进行化学发光反应的化学发光强度

[0053]

化学发光试剂	化学发光强度 RLU ($\times 10^6$)
--------	------------------------------

[0054]

0 mM 绿原酸化学发光试剂	0.05 \pm 0.01#
0.1 mM 绿原酸化学发光试剂	183 \pm 19*#
0.2 mM 绿原酸化学发光试剂	356 \pm 17*#
0.5 mM 绿原酸化学发光试剂	488 \pm 16*
1.0 mM 绿原酸化学发光试剂	538 \pm 12*
2.0 mM 绿原酸化学发光试剂	512 \pm 13*
5.0 mM 绿原酸化学发光试剂	428 \pm 11*#
10.0 mM 绿原酸化学发光试剂	353 \pm 17*#
20.0 mM 绿原酸化学发光试剂	223 \pm 15*#

[0055] 注:RLU值由平均值 \pm 标准差表示,利用One way ANOVA和Dunnnett's post hoc test进行统计分析。* $P < 0.05$ vs 0mM绿原酸化学发光试剂;# $P < 0.05$ vs 1.0mM绿原酸化学发光试剂。

[0056] 实施例2、利用辣根过氧化物酶标准品比较绿原酸和4-碘苯酚对鲁米诺化学发光的增强作用

[0057] 本实施例提供了3种化学发光试剂,分别为对照化学发光液、含4-碘苯酚的增强化学发光液和含绿原酸的增强化学发光液。这3种化学发光试剂均由A液和B液组成。这3种化学发光试剂的B液相同,只是A液不同。这3种化学发光试剂的B液均是由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质及其浓度分别为0.1M三羟甲基氨基甲烷、0.03M盐酸和6mM过氧化氢,溶剂为水。

[0058] 对照化学发光液的A液为由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质及其浓度分别为0.1M三羟甲基氨基甲烷、0.03M盐酸和2.5mM鲁米诺钠盐,溶剂为水。

[0059] 含4-碘苯酚的增强化学发光液的A液为由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质是4-碘苯酚,溶剂为上述对照化学发光液的A液,该含4-碘苯酚的增强化学发光液的A液中4-碘苯酚的含量为1mM。(注:1-5mM 4-碘苯酚溶液能对鲁米诺发挥最大化学发光增强作用,为了对比其与绿原酸的作用,选择1mM浓度4-碘苯酚配制增强化学发光液)。

[0060] 含绿原酸的增强化学发光液的A液为由溶质和溶剂组成的pH为8.6的水溶液,溶质

为绿原酸,溶剂为上述对照化学发光液的A液。该含绿原酸的增强化学发光液的A液中绿原酸的含量为1mM。

[0061] 按照如下化学发光分析方法分别测试辣根过氧化物酶催化上述3种化学发光试剂进行化学发光反应的化学发光强度:将A液和B液等体积混合,然后吸取到白色96孔板中,100 μ l/孔,然后加入0.001U/ml的辣根过氧化物酶溶液,10 μ l/孔,充分混合后室温反应5分钟,酶标仪检测化学发光强度(相对光单位,Relative light unit,RLU)。实验重复3次,每次每个处理3个孔。

[0062] 化学发光分析的结果表明辣根过氧化物酶分别催化含4-碘苯酚的增强化学发光液和含绿原酸的增强化学发光液进行化学发光反应的化学发光强度分别是辣根过氧化物酶催化对照化学发光液进行化学发光反应的化学发光强度的1205倍(4.82/0.04=1205)和13800倍(552/0.04=13800),辣根过氧化物酶催化含绿原酸的增强化学发光液进行化学发光反应的化学发光强度是辣根过氧化物酶催化含4-碘苯酚的增强化学发光液进行化学发光反应的化学发光强度的115倍(552/4.82=115)(表2)。说明4-碘苯酚和绿原酸加入化学发光液中都能够提高辣根过氧化物酶催化鲁米诺和过氧化氢反应的化学发光强度,而绿原酸相对4-碘苯酚,化学发光增强作用提高了100倍以上(表2)。

[0063] 表2.辣根过氧化物酶催化上述2种化学发光试剂进行化学发光反应的化学发光强度

[0064]

化学发光试剂	RLU($\times 10^6$)
对照化学发光液	0.04 \pm 0.01*
含4-碘苯酚的增强化学发光液	4.82 \pm 0.09
含绿原酸的增强化学发光液	552 \pm 15*

[0065] 注:RLU值由平均值 \pm 标准差表示,利用Student's t test进行统计分析。*P<0.05vs含4-碘苯酚的增强化学发光液。

[0066] 实施例3、利用蛋白免疫印迹实验比较绿原酸和4-碘苯酚对鲁米诺化学发光增强作用

[0067] 收集1百万个处于对数生长期的RAW264.7细胞,利用RIPA中等强度裂解液4 $^{\circ}$ C裂解细胞30分钟,10000g离心10分钟收集蛋白上清,然后加入上样缓冲液并在98 $^{\circ}$ C金属浴中孵育10分钟制备变性蛋白。将样品上样(5个平行孔)到10%聚丙烯酰胺凝胶中进行蛋白电泳,电泳结束后将蛋白电转到PVDF膜上。利用5%脱脂奶粉TBS溶液将膜封闭1小时,然后4 $^{\circ}$ C与大鼠抗小鼠 β -actin抗体孵育过夜,经TBST溶液洗涤后,室温与辣根过氧化物酶标记的山羊抗大鼠IgG孵育2小时,再经TBST溶液洗涤后,分别利用实施例2的含4-碘苯酚的增强化学发光液和含绿原酸的增强化学发光液曝光。其中,曝光前将两种增强化学发光液的A液和B液等体积混合,然后吸取到PVDF膜上,选择自动曝光模式,保存曝光图片和记录曝光时间。

[0068] 蛋白免疫印迹实验分析结果表明实施例2的含绿原酸的增强化学发光液相对于实施例2的含4-碘苯酚的增强化学发光液能够更灵敏检测出目的蛋白(β -actin),曝光条带更粗,曝光时间更短(图1)。图1中上图为利用实施例2的含4-碘苯酚的增强化学发光液曝光5秒的蛋白免疫印迹检测结果,图1中下图为利用实施例2的含绿原酸的增强化学发光液曝光0.5秒的蛋白免疫印迹检测结果。

[0069] 以上对本发明进行了详述。对于本领域技术人员来说,在不脱离本发明的宗旨和范围,以及无需进行不必要的实验情况下,可在等同参数、浓度和条件下,在较宽范围内实施本发明。虽然本发明给出了特殊的实施例,应该理解为,可以对本发明作进一步的改进。总之,按本发明的原理,本申请欲包括任何变更、用途或对本发明的改进,包括脱离了本申请中已公开范围,而用本领域已知的常规技术进行的改变。按以下附带的权利要求的范围,可以进行一些基本特征的应用。

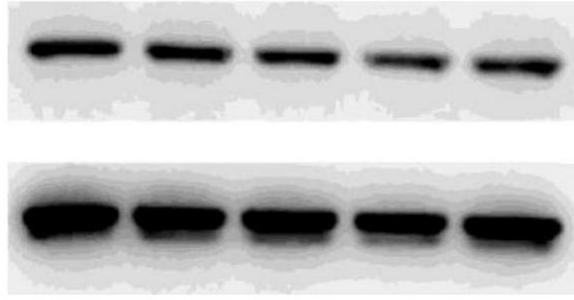


图1

专利名称(译)	化学发光试剂及其在免疫检测中应用		
公开(公告)号	CN109799352A	公开(公告)日	2019-05-24
申请号	CN201910084381.9	申请日	2019-01-29
[标]发明人	曹秀娟		
发明人	曹秀娟		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/58 G01N33/532 G01N21/76 C09K11/07		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了化学发光试剂及其在免疫检测中应用。本发明提供的化学发光试剂含有绿原酸和化学发光底物，所述化学发光底物为鲁米诺或鲁米诺可溶性盐。本发明通过标准辣根过氧化物酶催化鲁米诺和过氧化氢的化学发光分析，证明本发明的含绿原酸的化学发光试剂检测辣根过氧化物酶的灵敏度相对于含4-碘苯酚的化学发光试剂提高100倍以上。将本发明的含绿原酸的化学发光试剂用于蛋白免疫印迹实验，能够显著提高对目标蛋白的检测灵敏度。本发明可用于蛋白免疫印迹中检测微量蛋白。

