

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00109728.8

[43] 公开日 2002 年 1 月 16 日

[11] 公开号 CN 1331416A

[22] 申请日 2000.7.3 [21] 申请号 00109728.8
[71] 申请人 王立莉
地址 100080 北京市海淀区中关村北 2 条 3 号 316 室
[72] 发明人 王立莉

[74] 专利代理机构 北京市科技专利事务所
代理人 杜澄心

权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 一种统一体外免疫试剂检测方法

[57] 摘要

一种统一体外免疫试剂检测方法,其特征在于:对原标记物改进,变成统一的 标记物,将原用于标记的物质变成底物,包括酶联、荧光、化学发光和时间分辨荧光 分析,通过更换底物适应不同的检测方法。本发明具有产品质量高、适应性强和检测 产品成本低等优点。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

权 利 要 求 书

1. 一种统一体外免疫试剂检测方法，利用对照血清与包被孔、珠或管组成的包被物载体进行免疫反应，再加入底物，通过检测来判定结果；其特征在于：对标记物进行改进，变成统一的标记物，将原用于标记的物质变成底物，包括显色底物、荧光底物、发光底物或时间分辨荧光底物，通过更换底物适应不同的检测方法。

2. 如权利要求 1 所述的一种统一体外免疫试剂检测方法，其特征在于：所述统一标记物由表面抗原或抗体、生物素、亲和素和碱性磷酸酶等反应制成。

说明书

一种统一体外免疫试剂检测方法

本发明涉及一种医用免疫试剂检测方法。

利用现代生物工程和标记技术所开发的超微量分析方法，极大地推动了生物医学等领域的各项研究工作的快速发展，为人类的科学进步和健康事业作出了非凡的贡献。

这类方法自 1959 年 Yalow 等人发明放射免疫分析以来（此发明获诺贝尔奖），现已开发了多种免疫学分析方法，已得到实际应用的有酶联免疫分析（EIA）、荧光免疫分析（FIA）、化学发光免疫分析（CLIA）和时间分辨荧光免疫分析（TRFIA），由于这些方法制备的药盒有效期长（6 个月至 2 年，放免只有 1 个月），使用中无放射性污染，近年来得到了迅速的发展，将会逐步取代放免，而成为今后市场上的主导产品。

现有技术：

酶联免疫分析、荧光免疫分析、化学发光免疫分析和时间分辨荧光免疫分析，均属于非同位素标记分析方法，这些方法以标记物和检测信号不同而相互区别而形成各自的独立系统，酶联免疫分析是用酶（如辣根过氧化物酶）标记抗原或抗体，经免疫反应后，加进酶的底物（如 H_2O_2 等）和显色剂（如 TMB），通过检测颜色的深浅来判定结果，其优点是使用方便，便于普及，尤其适宜地区以下卫生部门的使用，缺点是灵敏度不太理想，检测精度不高。

荧光免疫分析，是用荧光物质（如异硫氰酸荧光素，FITC）标记抗原或抗体，免疫反应后检测荧光信号来判定结果，灵敏度略高于酶联。

化学发光免疫分析是利用可产生发光反应的物质（如鲁米诺，吖啶酯等）来标记抗体或抗原，免疫反应后加入氧化剂（如 H_2O_2 和 OH^- 等）产生光，检测光信号来判定结果，化学发光的优点是产品稳定分析快速（1 小时以内）和全盘自动化，灵敏度

可与放免比美，但这种方法由于全盘自动化，只适用于省级和经济效益好的大医院。

时间分辨荧光免疫测定是用镧系元素（如 Eu^{+3} ， Tb^{+3} 等）的螯合物，标记抗原或抗体，免疫反应后（加入增强液）通过光激发使螯合物发射荧光，延迟一定时间使背景荧光消失后测定发射荧光强度。此法的优点是灵敏度最高，线性范围宽，精密度好，可自动化也可半自动化，缺点是对制备和使用环境要求高，尤其不能有稀土元素污染。适宜条件好的卫生部门使用。

以上这几种方法，适宜我国不同地区和不同条件的要求，都是市场所需求的方法，但由于各自自成系统，从生产到使用均有诸多不便之处。

（1）生产费用高：厂家为了满足市场需求，要生产不同方法制备的商用药盒，由于这些方法各自独立，厂家必须单独投入人力和物力，加大了生产费用，增加了产品成本。

（2）质量不易保证：如前所述，最为普及的方法酶联免疫分析等，其质量不甚理想，主要是灵敏度和精密度不够，化学发光的信号时间短暂，而时间分辨又可能由于污染而使分析失败。

（3）使用不方便：对于用户而言，由于检测的品种不同，对检测希望达到的标准也不一样，因而往往需要订购不同方法的药盒，卫生部门不仅要设不同的科室，也要重复药费人力和物力，最终是增加了患者的负担，对社会造成损害。

本发明的目的在于提供一种生产成本低、使用方便的统一体外免疫试剂检测方法。

本发明所述一种统一体外免疫试剂的方法，利用对照血清与包被孔、珠或管组成的包被物载体进行免疫反应，再加入底物，通过检测来判定结果；其特征在于：对标记物进行改进，变成统一的标记物，将原用于标记的物质变成底物，包括显色底物、荧光底物、发光底物或时间分辨荧光免疫底物，通过更换底物适应不同的检测方法。

如上所述的一种统一体外免疫试剂检测方法，其特征在于：所述统一标记物由

表面抗原或抗体、生物素、亲和素和碱性磷酸酶等反应制成。

本发明与传统的检测方法相比，具有如下优点：

(1) 提高了产品质量：主要表现在大大地提高了灵敏度和稳定性，这是由于新的统一标记物利用生物素——亲和素的放大作用和碱性磷酸酶优于其它酶以及标记物制备中最大限制地保全了抗——HBS 的免疫反应活性；

(2) 提高了产品的适应性能：我国是一个富含稀土元素的国家，按原方法生产的药盒易被污染而引起检测失败，改进后稀土元素变成了底物，必须有 ALP 催化的产物存在才起作用，因而不存在外部环境不好，而造成的污染，导致检测结果不准确的问题。

(3) 由于将 4 种标记物变成了一种标记物，大大地简化了试剂盒的生产过程，减少了劳力和物力，降低了产品成本。

本发明是在原方法基础上，对标记物进行改进变成统一的标记物，而把原用于标记的物质变成底物，这样，只需更换底物就可以变成不同的检测方法。不仅提高了产品质量，而且也简化了生产过程，降低了生产成本。

下面以检测乙肝表面抗原为例加以说明：

本发明以对照血清、抗—HBS 包被孔等与统一标记物结合，通过改变底物包括显色底物、荧光底物、发光底物、EDTA—Tb³⁺底物，完成不同的检测。

检测方式如下（如包被球为例）：

(1) 酶联药盒：管中加入 200 μ l 样品（对照血清和待测标准），37℃ 情况下保持 1 小时；然后洗小球 2—3 次；各管中加标记物 200 μ l，37℃ 下 30—60 分钟；洗小球 3—5 次，加显色剂 300 μ l 测 O·D 值。

(2) 荧光免疫药盒：步聚同上，底物改为加荧光底物 300 μ l，测荧光。

(3) 化学发光免疫药盒：步聚同上，底物改为加化学发光底物 300 μ l，测光信号。

(4) 时间分辨免疫荧光药盒:

步骤同上, 底物改为加螯合物等 $300\ \mu\text{l}$, 用时间分辨方法测荧光。

专利名称(译)	一种统一体外免疫试剂检测方法		
公开(公告)号	CN1331416A	公开(公告)日	2002-01-16
申请号	CN00109728.8	申请日	2000-07-03
[标]申请(专利权)人(译)	王立莉		
申请(专利权)人(译)	王立莉		
当前申请(专利权)人(译)	王立莉		
[标]发明人	王立莉		
发明人	王立莉		
IPC分类号	G01N33/53		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种统一体外免疫试剂检测方法,其特征在于:对原标记物改进,变成统一的标记物,将原用于标记的物质变成底物,包括酶联、荧光、化学发光和时间分辨荧光分析,通过更换底物适应不同的检测方法。本发明具有产品质量高、适应性强和检测产品成本低等优点。