



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109490281 A

(43)申请公布日 2019.03.19

(21)申请号 201811215406.6

(22)申请日 2018.10.18

(71)申请人 深圳天深医疗器械有限公司

地址 518101 广东省深圳市宝安区沙井街
道后亭茅洲山工业园工业大厦全至科
技创新园科创大厦10层F、10层G、11层
F、11层G

(72)发明人 刘挺 邓月月 姚天成

(74)专利代理机构 广州华进联合专利商标代理
有限公司 44224

代理人 潘霞

(51)Int.Cl.

G01N 21/76(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

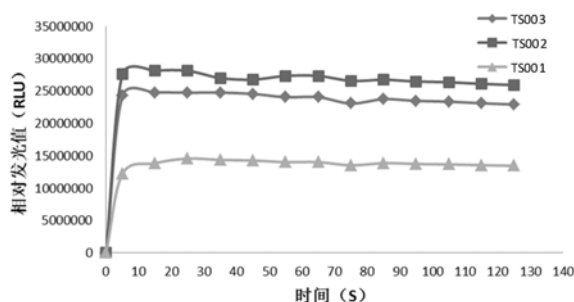
权利要求书1页 说明书8页 附图1页

(54)发明名称

化学发光底物液及其应用

(57)摘要

本发明涉及一种化学发光底物液。该化学发光底物液包括如下组分：150mg/L的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、10mmol/L-500mmol/L的缓冲基质、0.1mg/L-20mg/L的荧光增强物质、10mg/L-5000mg/L的本底发光抑制物质及0.1g/L-10g/L的表面活性剂；化学发光底物液的pH为8-11，本底发光抑制物质为具有弱还原性的无机还原剂或者具有弱还原性的有机还原剂，表面活性剂为非离子表面活性剂与阴离子表面活性剂的混合物或者为非离子表面活性剂与阳离子表面活性剂的混合物。上述化学发光底物液达到发光平台期时间短、发光持续时间长，检测灵敏度高且光稳定性好，可以提高临床免疫检测速度，缩短检测时间。



1. 一种化学发光底物液,其特征在于,所述化学发光底物液包括如下组分:

150mg/L的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、10mmol/L-500mmol/L的缓冲基质、0.1mg/L-20mg/L的荧光增强物质、10mg/L-5000mg/L的本底发光抑制物质及0.1g/L-10g/L的表面活性剂;

所述化学发光底物液的pH为8-11,所述本底发光抑制物质为具有弱还原性的无机还原剂或者具有弱还原性的有机还原剂,所述表面活性剂为非离子表面活性剂与阴离子表面活性剂的混合物或者为非离子表面活性剂与阳离子表面活性剂的混合物。

2. 根据权利要求1所述的化学发光底物液,其特征在于,所述缓冲基质选自三羟甲基氨基甲烷、2-氨基-2-甲基-1-丙醇及4-羟乙基哌嗪乙磺酸中的一种。

3. 根据权利要求1所述的化学发光底物液,其特征在于,所述荧光增强物质为含有多个碳环及至少一个阳离子取代基的芳香族化合物。

4. 根据权利要求3所述的化学发光底物液,其特征在于,所述荧光增强物质选自光泽精、亚甲基蓝及碱性蓝中的一种。

5. 根据权利要求1所述的化学发光底物液,其特征在于,所述本底发光抑制物质选自亚硫酸钠、亚硫酸钾、硫代硫酸钠、维生素C及二硫苏糖醇中的一种。

6. 根据权利要求1所述的化学发光底物液,其特征在于,所述非离子表面活性剂为羟丙基甲基纤维素,所述阴离子表面活性剂为十二烷基磺酸钠。

7. 根据权利要求1所述的化学发光底物液,其特征在于,所述化学发光底物液还包括如下组分:质量百分浓度为0.01%-0.5%的防腐剂和/或1ppm-1000ppm的消泡剂。

8. 根据权利要求7所述的化学发光底物液,其特征在于,所述防腐剂选自叠氮钠、液体生物防腐剂、5-溴-5-硝基-1,3-二噁烷及卡松中的至少一种。

9. 根据权利要求7所述的化学发光底物液,其特征在于,所述消泡剂选自矿物油类消泡剂、有机硅类消泡剂及聚醚类消泡剂中的一种。

10. 如权利要求1-9任一项所述的化学发光底物液在化学发光免疫分析中的应用。

化学发光底物液及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及化学发光免疫分析技术领域,特别是涉及一种化学发光底物液及其应用。

背景技术

[0002] 化学发光免疫分析技术因具有灵敏度高,检测线性范围宽、操作简单、检测时间短、易于自动化处理等特点,已成为免疫诊断领域广泛使用的免疫分析技术。化学发光分为直接化学发光、酶促(间接)化学发光和电化学发光。酶促化学发光免疫分析技术建立在酶免疫反应及化学发光基础之上,免疫反应原理与酶联免疫(EIA)、放射免疫(RIA)相似,不同之处在于信号的产生和检测。免疫反应完成后,发光底物在酶催化作用下,形成激发态的中间体,该中间体不稳定,在回复到基态的过程中会辐射光子,通过光信号测量仪器测量相对发光强度,可以推算出待检测物质的浓度。

[0003] 碱性磷酸酶(ALP)在酶促化学发光免疫分析中应用比较广泛,目前使用最多的碱性磷酸酶发光底物是1,2-二氧环己烷衍生物,如CDP-star、AMPPD等,此类发光底物属于辉光型,达到发光平台期时间长,通常大于20分钟。相关技术中还有以9,10-二氢吖啶衍生物为发光底物的APS-5碱性磷酸酶底物液,该底物达到发光平台期时间虽然比上述1,2-二氧环己烷衍生物发光底物的达到发光平台期时间短,但是该底物本底信号较高、稳定性较差,且价格昂贵。

发明内容

[0004] 基于此,有必要提供一种达到平台期时间短、检测灵敏度高且稳定性好的化学发光底物液。

[0005] 此外,还提供化学发光底物液的应用。

[0006] 一种化学发光底物液,包括如下组分:

[0007] 150mg/L的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢吖啶亚甲基)磷酸二钠盐、10mmol/L-500mmol/L的缓冲基质、0.1mg/L-20mg/L的荧光增强物质、10mg/L-5000mg/L的本底发光抑制物质及0.1g/L-10g/L的表面活性剂;

[0008] 所述化学发光底物液的pH为8-11,所述本底发光抑制物质为具有弱还原性的无机还原剂或者具有弱还原性的有机还原剂,所述表面活性剂为非离子表面活性剂与阴离子表面活性剂的混合物或者为非离子表面活性剂与阳离子表面活性剂的混合物。

[0009] 上述化学发光底物液中,采用(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢吖啶亚甲基)磷酸二钠盐作为碱性磷酸酶底物,缓冲基质具有维持pH、增加稳定性的作用;荧光增强物质能够使底物液发光信号增强,从而可以提升检测灵敏度;具有弱还原性的本底发光抑制物质能够降低本底信号值,从而提升检测灵敏度;非离子表面活性剂与阴离子表面活性剂复配的表面活性剂,及非离子表面活性剂与阳离子表面活性剂复配的表面活性剂能够改善溶液分散性,使底物液发光信号增强,从而提升检测灵敏度,同时还能使底物液产生持续、稳

定的发光信号;通过将上述(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、缓冲基质、荧光增强物质、本底发光抑制物质及的表面活性剂以一定的配比进行混合,能够使化学发光底物液的发光效率高、达到发光平台期时间短,发光持续时间长、检测灵敏度高且光稳定性好,从而可以提高临床免疫检测速度,缩短检测时间。

[0010] 在其中一个实施例中,所述缓冲基质选自三羟甲基氨基甲烷、2-氨基-2-甲基-1-丙醇及4-羟乙基哌嗪乙磺酸中的一种。

[0011] 在其中一个实施例中,所述荧光增强物质为含有多个碳环及至少一个阳离子取代基的芳香族化合物。

[0012] 在其中一个实施例中,所述本底发光抑制物质选自亚硫酸钠、亚硫酸钾、硫代硫酸钠、维生素C及二硫苏糖醇中的一种。

[0013] 在其中一个实施例中,所述非离子表面活性剂为羟丙基甲基纤维素,所述阴离子表面活性剂为十二烷基磺酸钠。

[0014] 在其中一个实施例中,所述荧光增强物质选自光泽精、亚甲基蓝及碱性蓝中的一种。

[0015] 在其中一个实施例中,所述化学发光底物液还包括如下组分:质量百分浓度为0.01%-0.5%的防腐剂。防腐剂具有抑菌防腐的作用,能够增加化学发光底物液的稳定性及增长化学发光底物液的有效期。

[0016] 在其中一个实施例中,所述防腐剂选自叠氮钠、液体生物防腐剂、5-溴-5-硝基-1,3-二噁烷及卡松中的至少一种。

[0017] 在其中一个实施例中,所述化学发光底物液还包括如下组分:1ppm-1000ppm的消泡剂。消泡剂具有消泡功能,通过加入消泡剂能够防止混匀时出现气泡,影响读数。

[0018] 在其中一个实施例中,所述消泡剂选自矿物油类消泡剂、有机硅类消泡剂及聚醚类消泡剂中的一种。

[0019] 上述化学发光底物液在化学发光免疫分析中的应用。

附图说明

[0020] 图1为实施例1~3的化学发光底物液的发光动力学曲线图。

具体实施方式

[0021] 为了便于理解本发明,下面将参照相关附图对本发明进行更全面的描述。附图中给出了本发明的较佳的实施例。但是,本发明可以以许多不同的形式来实现,并不限于本文所描述的实施例。相反地,提供这些实施例的目的是使对本发明的公开内容的理解更加透彻全面。

[0022] 除非另有定义,本文所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。本文中在本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的,不是旨在于限制本发明。

[0023] 一实施方式的化学发光底物液包括如下组分:150mg/L的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、10mmol/L-500mmol/L的缓冲基质、0.1mg/L-20mg/L的荧光增强物质、10mg/L-5000mg/L的本底发光抑制物质及0.1g/L-10g/L的表面活性剂。其

中,化学发光底物液的pH为8-11,本底发光抑制物质为具有弱还原性的无机还原剂或者具有弱还原性的有机还原剂,表面活性剂为非离子表面活性剂与阴离子表面活性剂的混合物或者为非离子表面活性剂与阳离子表面活性剂的混合物。

[0024] 上述化学发光底物液中,采用(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐作为碱性磷酸酶底物,缓冲基质具有维持pH、增加稳定性的作用;荧光增强物质能够使底物液发光信号增强,从而可以提升检测灵敏度;具有弱还原性的本底发光抑制物质能够降低本底信号值,从而提升检测灵敏度;非离子表面活性剂与阴离子表面活性剂复配的表面活性剂,及非离子表面活性剂与阳离子表面活性剂复配的表面活性剂能够改善溶液分散性,使底物液发光信号增强,从而提升检测灵敏度,同时还能使底物液产生持续、稳定的发光信号;通过将上述(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、缓冲基质、荧光增强物质、本底发光抑制物质及的表面活性剂以一定的配比进行混合,能够使化学发光底物液的达到发光平台期时间短,发光持续时间长,灵敏度高且光稳定性好,从而可以提高临床免疫检测速度,缩短检测时间。其中,“发光平台期”是指底物液的发光值达到峰值且稳定不变的时间段。

[0025] 其中,缓冲基质(也叫缓冲剂)选自三羟甲基氨基甲烷(Tris)、2-氨基-2-甲基-1-丙醇及4-羟乙基哌嗪乙磺酸(HEPES)中的一种。优选三羟甲基氨基甲烷作为缓冲基质。缓冲基质具有维持pH、增加稳定性的作用。具体地,可以使用稀盐酸来调节化学发光底物液的pH,化学发光底物液的pH优选为9.1。

[0026] 其中,荧光增强物质(也叫荧光增强剂)为含有多个碳环及至少一个阳离子取代基的芳香族化合物。具体地,荧光增强物质选自光泽精、亚甲基蓝及碱性蓝中的一种。优选光泽精作为荧光增强物质。

[0027] 其中,本底发光抑制物质选自亚硫酸钠、亚硫酸钾、硫代硫酸钠、维生素C及二硫苏糖醇(DTT)中的一种。优选硫代硫酸钠作为本底发光抑制物质,

[0028] 其中,非离子表面活性剂优选为羟丙基甲基纤维素,阴离子表面活性剂优选为十二烷基磺酸钠。

[0029] 在一些实施例中,化学发光底物液还包括如下组分:质量百分浓度为0.01%-0.5%的防腐剂。防腐剂具有抑菌防腐的作用,能够增加化学发光底物液的稳定性及增长化学发光底物液的有效期。具体地,防腐剂选自叠氮钠、液体生物防腐剂、5-溴-5-硝基-1,3-二噁烷及卡松中的至少一种,优选叠氮钠作为防腐剂。其中,液体生物防腐剂可以是proclin 300。当防腐剂选自叠氮钠、液体生物防腐剂、5-溴-5-硝基-1,3-二噁烷及卡松中的两种或两种以上时,每一种防腐剂的质量百分浓度均为0.01%-0.5%。

[0030] 在一些实施例中,化学发光底物液还包括如下组分:1ppm-1000ppm的消泡剂。消泡剂具有消泡功能,通过加入消泡剂能够防止混匀时出现气泡,影响读数。具体地,消泡剂选自矿物油类消泡剂、有机硅类消泡剂及聚醚类消泡剂中的一种,优选有机硅类消泡剂。

[0031] 下面以配制1L的化学发光底物液为例,对一实施方式的化学发光底物液的配制方法进行说明,该化学发光底物液的配制方法包括以下步骤:

[0032] S110、量取超纯水800mL,加入10mmol-500mmol的缓冲基质,调节pH至目标pH值;

[0033] S120、向步骤S110得到的溶液中加入150mg的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐,混匀;

[0034] S130、向步骤S120得到的溶液中加入0.1mg-20mg的荧光增强物质,混匀;
[0035] S140、向步骤S130得到的溶液中加入0.1g-5g的防腐剂,混匀;
[0036] S150、向步骤S140得到的溶液中加入10mg-5000mg的本底发光抑制物质,混匀;
[0037] S160、向步骤S150得到的溶液中加入0.1g-10g的表面活性剂,混匀;
[0038] S170、将步骤S160得到的溶液调节pH至目标pH值,定容至1L,加入1mg-1g的消泡剂,得到化学发光底物液。

[0039] 上述化学发光底物液能够应用在化学发光免疫分析中,从而可以提高临床免疫检测速度,缩短免疫检测时间。

[0040] 下面将结合具体实施例对本发明作进一步详细的说明。

[0041] 实施例1

[0042] 化学发光底物液包括如下组分:150mg/L的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、20mmol/L的三羟甲基氨基甲烷、1mg/L的光泽精、0.5g/L的十二烷基磺酸钠、100mg/L的硫代硫酸钠、0.2g/L的羟丙基甲基纤维素、10ppm的消泡剂及质量百分浓度为0.02%的叠氮钠,化学发光底物液的pH为8.5。

[0043] 实施例1的化学发光底物液的配制过程如下:

[0044] 1)、量取超纯水800mL,加入2.4228g三羟甲基氨基甲烷,调节pH至8.5;

[0045] 2)、向步骤1)得到的溶液中加入150mg的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐,混匀;

[0046] 3)、向步骤2)得到的溶液中加入1mg光泽精,混匀;

[0047] 4)、向步骤3)得到的溶液中加入0.2g的叠氮钠,混匀;

[0048] 5)、向步骤4)得到的溶液中加入100mg的硫代硫酸钠,混匀;

[0049] 6)向步骤5)得到的溶液中加入0.2g羟丙基甲基纤维素和0.5g十二烷基三甲基磺酸钠,混匀;

[0050] 7)、将步骤6)得到的溶液调节pH至8.5,定容至1L,加入10mg的消泡剂,得到化学发光底物液。

[0051] 实施例2

[0052] 化学发光底物液包括如下组分:

[0053] 150mg/L的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、50mmol/L的三羟甲基氨基甲烷、5mg/L的光泽精、1g/L的十二烷基磺酸钠、1000mg/L的硫代硫酸钠、1g/L的羟丙基甲基纤维素、100ppm的消泡剂及质量百分浓度为0.05%的叠氮钠,化学发光底物液的pH为9.0。

[0054] 实施例2的化学发光底物液的配制过程如下:

[0055] 1)、量取超纯水800mL,加入6.057g三羟甲基氨基甲烷,调节pH至9.0;

[0056] 2)、向步骤1)得到的溶液中加入150mg的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐,混匀;

[0057] 3)、向步骤2)得到的溶液中加入5mg光泽精,混匀;

[0058] 4)、向步骤3)得到的溶液中加入0.5g的叠氮钠,混匀;

[0059] 5)、向步骤4)得到的溶液中加入1g的硫代硫酸钠,混匀;

[0060] 6)向步骤5)得到的溶液中加入1g羟丙基甲基纤维素和1g十二烷基三甲基磺酸钠,

混匀；

[0061] 7)、将步骤6)得到的溶液调节pH至9.0,定容至1L,加入100mg的消泡剂,得到化学发光底物液。

[0062] 实施例3

[0063] 化学发光底物液包括如下组分:

[0064] 150mg/L的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、200mmol/L的三羟甲基氨基甲烷、10mg/L的光泽精、5g/L的十二烷基磺酸钠、5000mg/L的硫代硫酸钠、3g/L的羟丙基甲基纤维素、1000ppm的消泡剂、质量百分浓度为0.1%的叠氮钠。其中,化学发光底物液的pH为9.5。

[0065] 实施例3的化学发光底物液的配制过程如下:

[0066] 1)、量取超纯水800mL,加入24.228g三羟甲基氨基甲烷,调节pH至9.5;

[0067] 2)、向步骤1)得到的溶液中加入150mg的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐,混匀;

[0068] 3)、向步骤2)得到的溶液中加入10mg光泽精,混匀;

[0069] 4)、向步骤3)得到的溶液中加入1g的叠氮钠,混匀;

[0070] 5)、向步骤4)得到的溶液中加入5g的硫代硫酸钠,混匀;

[0071] 6)向步骤5)得到的溶液中加入3g羟丙基甲基纤维素和5g十二烷基三甲基磺酸钠,混匀;

[0072] 7)、将步骤6)得到的溶液调节pH至9.5,定容至1L,加入1g的消泡剂,得到化学发光底物液。

[0073] 实施例4

[0074] 化学发光底物液包括如下组分:

[0075] 150mg/L的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、50mmol/L的三羟甲基氨基甲烷、10mg/L的光泽精、0.5g/L的十二烷基磺酸钠、200mg/L的硫代硫酸钠、0.5g/L的羟丙基甲基纤维素、100ppm的消泡剂及质量百分浓度为0.05%叠氮钠,化学发光底物液的pH为9.5。

[0076] 实施例4的化学发光底物液的配制过程如下:

[0077] 1)、量取超纯水800mL,加入6.057g三羟甲基氨基甲烷,调节pH至9.5;

[0078] 2)、向步骤1)得到的溶液中加入150mg的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐,混匀;

[0079] 3)、向步骤2)得到的溶液中加入10mg光泽精,混匀;

[0080] 4)、向步骤3)得到的溶液中加入0.5g的叠氮钠,混匀;

[0081] 5)、向步骤4)得到的溶液中加入200mg的硫代硫酸钠,混匀;

[0082] 6)向步骤5)得到的溶液中加入0.5g羟丙基甲基纤维素和0.5g十二烷基三甲基磺酸钠,混匀;

[0083] 7)、将步骤6)得到的溶液调节pH至9.5,定容至1L,加入0.1g的消泡剂,得到化学发光底物液。

[0084] 实施例5

[0085] 化学发光底物液包括如下组分:

[0086] 150mg/L的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、200mmol/L的三羟甲基氨基甲烷、10mg/L的光泽精、2g/L的十二烷基磺酸钠、200mg/L的硫代硫酸钠、2g/L的羟丙基甲基纤维素、100ppm的消泡剂及质量百分浓度为0.05%的叠氮钠,化学发光底物液的pH为9.5。

[0087] 实施例5的化学发光底物液的配制过程如下:

[0088] 1)、量取超纯水800mL,加入24.228g三羟甲基氨基甲烷,调节pH至9.5;

[0089] 2)、向步骤1)得到的溶液中加入150mg的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐,混匀;

[0090] 3)、向步骤2)得到的溶液中加入10mg光泽精,混匀;

[0091] 4)、向步骤3)得到的溶液中加入0.5g的叠氮钠,混匀;

[0092] 5)、向步骤4)得到的溶液中加入200mg的硫代硫酸钠,混匀;

[0093] 6)向步骤5)得到的溶液中加入2g羟丙基甲基纤维素和2g十二烷基三甲基磺酸钠,混匀;

[0094] 7)、将步骤6)得到的溶液调节pH至9.5,定容至1L,加入100mg的消泡剂,得到化学发光底物液。

[0095] 实施例6

[0096] 化学发光底物液包括如下组分:

[0097] 150mg/L的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、200mmol/L的三羟甲基氨基甲烷、10mg/L的光泽精、2g/L的十二烷基磺酸钠、1000mg/L的硫代硫酸钠、2g/L的羟丙基甲基纤维素、100ppm的消泡剂及质量百分浓度为0.05%的叠氮钠,化学发光底物液的pH为9.5。

[0098] 实施例6的化学发光底物液的配制过程如下:

[0099] 1)、量取超纯水800mL,加入24.228g三羟甲基氨基甲烷,调节pH至9.5;

[0100] 2)、向步骤1)得到的溶液中加入150mg的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐,混匀;

[0101] 3)、向步骤2)得到的溶液中加入10mg光泽精,混匀;

[0102] 4)、向步骤3)得到的溶液中加入0.5g的叠氮钠,混匀;

[0103] 5)、向步骤4)得到的溶液中加入0.1g的硫代硫酸钠,混匀;

[0104] 6)向步骤5)得到的溶液中加入2g羟丙基甲基纤维素和2g十二烷基三甲基磺酸钠,混匀;

[0105] 7)、将步骤6)得到的溶液调节pH至9.5,定容至1L,加入100mg的消泡剂,得到化学发光底物液。

[0106] 下面将对实施例1~3的化学发光底物液进行性能测试。分别配制实施例1、实施例2及实施例3的化学发光底物液各500mL,并分别命名为TS001,TS002和TS003;然后对化学发光底物液TS001、化学发光底物液TS002和化学发光底物液TS003进行发光动力学曲线测定、灵敏度测试和稳定性测试。具体测试过程如下:

[0107] (一)化学发光底物液的发光动力学曲线测定:

[0108] 分别取200μL的化学发光底物液TS001、200μL的化学发光底物液TS002和200μL的化学发光底物液TS003,并向三者中分别加入10μL浓度约为 10^{-15} mol/L的碱性磷酸酶,迅速

混匀后,用深圳天深医疗器械有限公司生产的ACCRE6化学发光测定仪测定化学发光底物液TS001、化学发光底物液TS002和化学发光底物液TS003的发光强度。以相对发光值做Y轴、时间为X轴做相对发光值随时间变化的发光动力学曲线图如图1所示。

[0109] 从图1所示的发光动力学曲线图可以看出,化学发光底物液TS001的相对发光值达到平衡的时间不超过30s,化学发光底物液TS002和化学发光底物液TS003的相对发光值达到平衡的时间均不超过10s,说明本发明中的化学发光底物液发光效率高、达到平台期时间短,因此可以极大地减少检测时间。与此同时,化学发光底物液TS001、化学发光底物液TS002和化学发光底物液TS003的发光持续时间均超过2分钟,即发光持续时间较长,有利于仪器检测。本发明中,可以通过调节表面活性剂的使用比例,以得到不同相对发光值及不同平衡时间的底物液。

[0110] (二) 化学发光底物液的灵敏度测试

[0111] 用深圳天深医疗器械有限公司生产的AMH测定试剂盒对某商品化APS-5碱性磷酸酶底物液与化学发光底物液TS001、化学发光底物液TS002和化学发光底物液TS003的灵敏度进行比较分析,具体操作步骤如下:将AMH校准品和磁微粒包被的抗体以及碱性磷酸酶标记的另一抗体混合在一起进行孵育,反应10分钟后进行磁分离后并清洗磁分离得到的沉淀物,清洗后向沉淀物加入200 μ L的底物液,混匀后等待20s,开始测量相对发光值。测试数据如下表1所示:

[0112] 表1.

[0113]

校准品浓度 (ng/mL)	APS-5 相对发光值	TS001 相对发光值	TS002 相对发光值	TS003 相对发光值
0	5326	3231	2737	2886
0.1	15324	9472	13247	11428
1	145241	90895	120247	108337
5	784157	499785	645417	578924
15	2841542	1658743	2204147	1980412
25	4215412	2633795	3421515	3028794
信噪比	791	815	1250	1049

[0114] 其中,信噪比越高说明灵敏度越高,“信噪比”是底物液测量最大定标浓度校准品时的相对发光值与测量零浓度校准品时的相对发光值的比值。从表1中的测试数据可知,某商品化APS-5碱性磷酸酶底物液测量最大定标浓度校准品时的相对发光值高于化学发光底物液TS001、化学发光底物液TS002和化学发光底物液TS003,但是其测量零浓度校准品时的相对发光值也显著高于化学发光底物液TS001、化学发光底物液TS002和化学发光底物液TS003。相比而言,化学发光底物液TS001、化学发光底物液TS002和化学发光底物液TS003测量得到的信噪比均高于APS-5碱性磷酸酶底物液测量得到的信噪比,说明本发明中的化学发光底物液TS001、化学发光底物液TS002和化学发光底物液TS003与APS-5碱性磷酸酶底物液相比均具有更高的检测灵敏度。

[0115] (三) 化学发光底物液的稳定性测试

[0116] 将上述化学发光底物液TS001,化学发光底物液TS002、化学发光底物液TS003与某

商品化APS-5碱性磷酸酶底物液进行稳定性比较,具体操作步骤如下:

[0117] 将化学发光底物液TS001、化学发光底物液TS002、化学发光底物液TS003和APS-5碱性磷酸酶底物液分别置于透明塑料瓶中,然后将装有上述底物液的各透明塑料瓶放置在可见光下,室温下放置10分钟、30分钟和1小时,进行曝光处理。曝光处理完后,取200u1不同曝光时间处理的底物液并分别加入10u1浓度约为 10^{-15} mol/L的碱性磷酸酶(ALP),用深圳天深医疗器械有限公司生产的ACCRE6化学发光测定仪测定发光强度。以避光保存的底物液测试结果作为对照,比较不同曝光时间下的底物液的稳定性。测试数据如下表2所示:

[0118] 表2.

[0119]

底物	ALP 浓度	曝光 0 分钟	曝光 10 分钟		曝光 30 分钟		曝光 60 分钟	
		信号值	信号值	信号偏差	信号值	信号偏差	信号值	信号偏差
APS-5	0mol ALP	2741	5214	90%	20472	647%	70475	2471%
	10^{-15} mol ALP	38785987	36472145	-6%	33014724	-15%	30140274	-22%
TS001	0mol ALP	1758	3089	76%	9978	468%	20414	1061%
	10^{-15} mol ALP	15217447	14578591	-4%	13758492	-10%	12799678	-16%
TS002	0mol ALP	1328	2241	69%	7847	491%	12478	840%
	10^{-15} mol ALP	28370023	27476208	-3%	26079694	-8%	24454829	-14%
TS003	0mol ALP	1214	1914	58%	6274	417%	10147	736%
	10^{-15} mol ALP	24357412	23859741	-2%	23076744	-5%	21853779	-10%

[0120] 由于信号偏差越大,说明化学发光底物液的稳定性越差,从表2中的数据可以看出,在加入相同量的同一浓度的碱性磷酸酶及曝光时间相同的情况下,某商品化APS-5碱性磷酸酶底物的信号偏差均大于本发明中的化学发光底物液TS001、化学发光底物液TS002和化学发光底物液TS003,说明本发明实施例中的化学发光底物液TS001、化学发光底物液TS002和化学发光底物液TS003在可见光照射下的稳定性均显著优于某商品化APS-5碱性磷酸酶底物液,这有利于底物液的制备运输存储和使用。

[0121] 综上所述,上述实施方式的化学发光底物液发光效率高、到达平台期时间短、发光持续时间长,灵敏度高且稳定性好,有利于提高临床免疫检测速度,缩短检测时间;同时,本发明的化学发光底物液配方简单,所使用的组分均易得且价格便宜。

[0122] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0123] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明的保护范围应以所附权利要求为准。

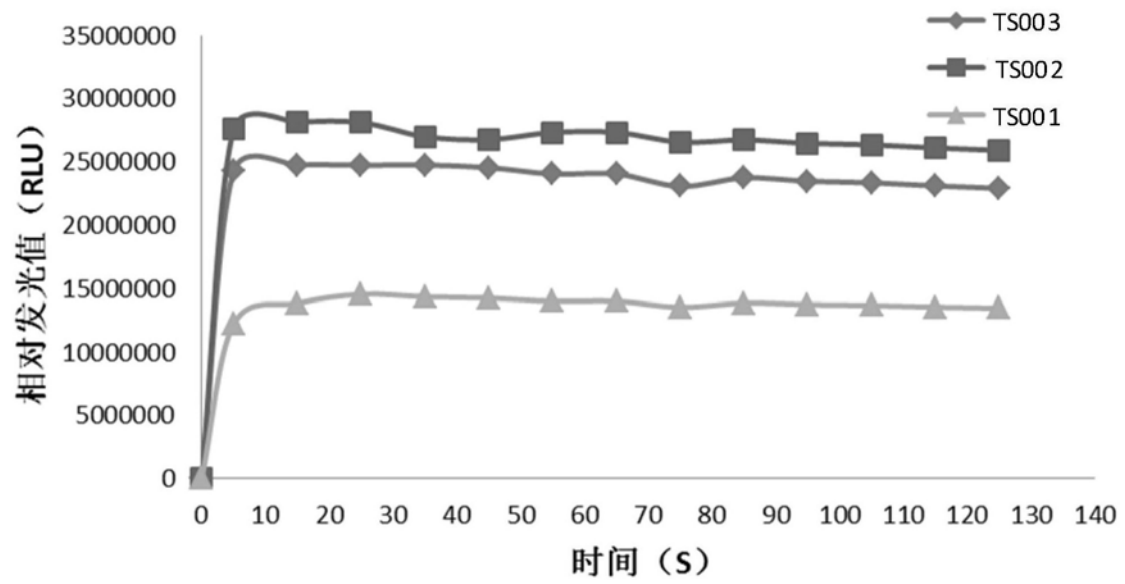


图1

专利名称(译)	化学发光底物液及其应用		
公开(公告)号	CN109490281A	公开(公告)日	2019-03-19
申请号	CN201811215406.6	申请日	2018-10-18
[标]发明人	刘挺 姚天成		
发明人	刘挺 邓月月 姚天成		
IPC分类号	G01N21/76 G01N33/533		
CPC分类号	G01N21/76 G01N33/533		
代理人(译)	潘霞		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种化学发光底物液。该化学发光底物液包括如下组分：150mg/L的(4-氯苯巯基)(10-甲基-9,10-二氢化吡啶亚甲基)磷酸二钠盐、10mmol/L-500mmol/L的缓冲基质、0.1mg/L-20mg/L的荧光增强物质、10mg/L-5000mg/L的本底发光抑制物质及0.1g/L-10g/L的表面活性剂；化学发光底物液的pH为8-11，本底发光抑制物质为具有弱还原性的无机还原剂或者具有弱还原性的有机还原剂，表面活性剂为非离子表面活性剂与阴离子表面活性剂的混合物或者为非离子表面活性剂与阳离子表面活性剂的混合物。上述化学发光底物液达到发光平台期时间短、发光持续时间长，检测灵敏度高且光稳定性好，可以提高临床免疫检测速度，缩短检测时间。

