



(12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 105277686 A

(43) 申请公布日 2016.01.27

(21) 申请号 201410289476.1

(22) 申请日 2014.06.26

(71) 申请人 赖平安

地址 102208 北京市昌平区回龙观龙跃园一
区 15-4-301

(72) 发明人 赖平安 刘鑫 何悦 柏亚铎
张伟 张朝晖 汪琳 高志强

(51) Int. Cl.

G01N 33/536(2006.01)

权利要求书1页 说明书3页

(54) 发明名称

ELISA 检测试剂盒两种稀释液指示剂

(57) 摘要

本发明 ELISA 检测试剂盒两种稀释液指示剂属于分析检测技术领域。为酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测试剂盒在研制过程中,针对每步实验步骤所用稀释液,加入对试验结果无干扰作用的染料指示剂,避免操作失误,确保最终检测结果可靠。其具体步骤为:(1) 选择不同颜色、不同特性的染料,经溶解配制成浓缩液;(2) 经试验优化确定指示剂在稀释液中含量;(3) 通过与国内、外 ELISA 检测试剂盒的试验验证,证明所用指示剂对检测结果判定无影响。本发明填补了我国 ELISA 检测试剂盒所用不同稀释液无颜色区别,解决了 ELISA 操作过程中存在的加样跳孔或重复加样问题,避免检测过程出现差错。

1. 一种染料指示剂用于 ELISA 检测稀释液,其特征在于,利用抗原抗体反应体外反应特性,染料对生物组织的亲嗜性,染料对酶标板孔壁的物理吸附特性,进行系列试验筛选而成。

2. 根据权利要求 1 所述的应用,其特征在于,ELISA 样品稀释液和抗体-酶复合物稀释液所用指示剂为碱性蓝 26 和亮蓝。

3. 根据权利要求 1 所述的应用,其特征在于,所述染料指示剂亮蓝和碱性蓝 26 均用纯净水充分溶解,配制成 0.5mg/ml 水溶液作为浓缩液。

4. 根据权利要求 1 所述的应用,其特征在于,每 6ml 样品稀释液加 120ul 碱性蓝 26 浓缩液。

5. 根据权利要求 1 所述的应用,其特征在于,每 6ml 抗体-酶复合物稀释液加 120ul 亮蓝浓缩液。

ELISA 检测试剂盒两种稀释液指示剂

技术领域

[0001] 本发明涉及 ELISA 稀释液指示剂的发明,属于分析检测技术领域。

背景技术

[0002] ELISA 检测技术广泛应用于人、动、植物疫病及体内多种目标成分检测;食品安全监测中农药、兽药残留筛查等领域。由于其操作简单,所需设备价低量少,敏感性高、特异性强,因此得以广泛应用。

[0003] 在 ELISA 检测技术领域,无论夹心法、间接法还是竞争法所用的稀释液主要有 2 种。国外进口试剂盒中 2 种不同的稀释液中均加有不同的指示剂,以防止操作者混用。此外,每一反应步骤所用成分经稀释后,加入酶标板孔槽内因有明显颜色,操作者可有效防止加样失误造成的跳孔或错加,从而保障检测结果的准确性和可重复性。我国各类 ELISA 试剂盒在稀释液中未添加不同的指示剂,当样品数量多,在加样过程中容易出现跳孔或重复加样问题,造成检测结果重复性及准确性差。因此开展此项发明研究。

发明内容

[0004] 本发明所要解决的技术问题是所选指示剂必须颜色鲜艳、水溶性好,不易让操作者皮肤及所接触的材料着色,不易粘附在酶标反应孔内壁和试验台面上;对原有试剂盒的检测结果的判定没有影响。

[0005] 为解决上述技术问题,本发明是通过以下技术方案实现:

[0006] (1) 选择不同颜色、不同特性的染料,经溶解配制成浓缩液。将亮蓝及碱性蓝 26 两种染料用纯净水充分溶解,均配制成 0.5mg/ml 水溶液,分装于棕色塑料瓶内,4℃ 冰箱保存。

[0007] (2) 按不同浓度分别加入 ELISA 各反应步骤所用的稀释液中,比较对检测结果的影响。将试剂盒中样品稀释液,按每 6ml 加入不同体积的碱性蓝 26 水溶液 (0.5mg/ml),分别观察指示剂颜色、对酶标板孔壁的粘附性及对结果的影响,最终确定每 6ml 样品稀释液加 120ul 碱性蓝 26 水溶液 (0.5mg/ml)。将试剂盒中抗体-酶复合物稀释液,按每 6ml 加入不同体积的亮蓝水溶液 (0.5mg/ml),分别观察指示剂颜色深浅、对酶标板孔壁的粘附性及对结果的影响,最终确定每 6ml 抗体-酶复合物稀释液加 120ul 亮蓝水溶液 (0.5mg/ml)。

具体实施方式

[0008] 通过与国内、外 ELISA 试剂盒系列试验验证,所用指示剂对检测结果的判定无影响。按上述试验结果筛选的指示剂及使用浓度分别加入到已商品化的国、内外 ELISA 检测试剂盒,与原试剂盒所用稀释液同时对相同样品进行验证试验,根据 OD 值及最终结果判定为评判指标。

[0009] 实例 1 国外牛结核病 γ 干扰素 ELISA 检测试剂盒验证结果

[0010] 1. 实验方法及步骤

[0011] (1) 指示剂的配制:将亮蓝及碱性蓝 26 分别配制成 0.5mg/ml 水溶液。

[0012] (2) 稀释液的配制:将试剂盒中血浆稀释液,按每 6ml 加入 120ul 碱性蓝 26 水溶液 (0.5mg/ml);将试剂盒中抗体-酶复合物稀释液,按每 6ml 加入 120ul 亮蓝水溶液 (0.5mg/ml);

[0013] (3) 分别用新配置的 2 种稀释液稀释样品及抗体-酶复合物,同时用试剂盒原对应的稀释液同时对 22 份样品进行检测,测定样品 OD 值,按试剂盒标准判定结果。

[0014] 2. 实验结果

[0015] 新配置的加亮蓝及碱性蓝 26 的 2 种稀释液 ELISA 检测结果与原 ELISA 检测结果 OD 值基本无差异,所检样品结果判定完全一致。

[0016] 表 1 牛结核病 γ 干扰素 ELISA 检测试剂盒 (国外产品) 验证结果

[0017]

样品编号	原试剂盒检测结果	新配指示剂检测结果	结果判定	样品编号	原试剂盒检测结果	新配指示剂检测结果	结果判定
1	0.1272	0.1241	合格	13	0.0842	0.0804	合格
2	0.0893	0.0941	合格	14	1.3919	1.3642	合格
3	0.1470	0.1378	合格	15	0.0685	0.0675	合格
4	0.0774	0.0836	合格	16	0.2055	0.1913	合格
5	0.0658	0.0688	合格	17	1.4071	1.4620	合格
6	0.0859	0.0949	合格	18	1.3921	1.3697	合格
7	0.2651	0.2399	合格	19	0.0445	0.0470	合格
8	0.0774	0.0718	合格	20	1.3889	1.2823	合格
9	0.0696	0.0711	合格	21	1.3480	1.3325	合格
10	0.2238	0.2021	合格	阳性对照	1.4691	1.4960	合格
11	0.1034	0.0937	合格	阴性对照	0.0451	0.0480	合格
12	0.1749	0.1636	合格				

[0018] 实例 2 国内猪瘟抗体 ELISA 检测试剂盒验证结果

[0019] 1. 实验方法及步骤

[0020] (1) 指示剂的配制:将亮蓝及碱性蓝 26 分别配制成 0.5mg/ml 水溶液。

[0021] (2) 稀释液的配制:将试剂盒中血清样品稀释液,按每 6ml 加入 120ul 碱性蓝 26 水溶液 (0.5mg/ml);将试剂盒中抗体-酶复合物稀释液,按每 6ml 加入 120ul 亮蓝水溶液 (0.5mg/ml);

[0022] (3) 分别用新配置的 2 种稀释液稀释样品及抗体-酶复合物,同时用试剂盒原对应的稀释液同时对 32 份样品进行检测,测定样品 OD 值,按试剂盒标准判定结果。

[0023] 2. 实验结果

[0024] 新配置的加亮蓝及碱性蓝 26 的 2 种稀释液 ELISA 检测结果与原 ELISA 检测结果 OD 值基本无差异,所检样品结果判定完全一致。

[0025] 表 2 猪瘟抗体 ELISA 检测试剂盒 (国内产品) 验证结果

[0026]

样品 编号	原试剂盒 检测结果	新配指 示剂检 测结果	结果判定	样品编号	原试剂盒检 测结果	新配指 示剂检 测结果	结果判 定
1	1.027	0.895	合格	18	0.536	0.45	合格
2	0.52	0.466	合格	19	0.348	0.306	合格
3	0.224	0.185	合格	20	0.274	0.238	合格
4	1.153	0.986	合格	21	1.058	0.941	合格
5	0.221	0.226	合格	22	0.238	0.206	合格
6	0.288	0.318	合格	23	0.152	0.159	合格
7	0.452	0.464	合格	24	1.119	1.032	合格
8	0.891	0.8	合格	25	0.194	0.179	合格
9	0.613	0.503	合格	26	0.64	0.454	合格
10	0.229	0.164	合格	27	0.302	0.228	合格
11	0.591	0.517	合格	28	0.734	0.505	合格
12	1.02	0.932	合格	29	0.31	0.2	合格
13	0.301	0.262	合格	30	0.269	0.188	合格
14	0.277	0.259	合格	31	1.007	0.722	合格
15	0.203	0.191	合格	阳性对照	2.353	2.359	合格
16	1.052	0.878	合格	阴性对照	0.1	0.14	合格
17	0.449	0.347	合格				

专利名称(译)	ELISA检测试剂盒两种稀释液指示剂		
公开(公告)号	CN105277686A	公开(公告)日	2016-01-27
申请号	CN201410289476.1	申请日	2014-06-26
[标]申请(专利权)人(译)	赖平安		
申请(专利权)人(译)	赖平安		
当前申请(专利权)人(译)	赖平安		
[标]发明人	赖平安 刘鑫 何悦 柏亚铎 张伟 张朝晖 汪琳 高志强		
发明人	赖平安 刘鑫 何悦 柏亚铎 张伟 张朝晖 汪琳 高志强		
IPC分类号	G01N33/536		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明ELISA检测试剂盒两种稀释液指示剂属于分析检测技术领域。为酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒在研制过程中，针对每步实验步骤所用稀释液，加入对试验结果无干扰作用的染料指示剂，避免操作失误，确保最终检测结果可靠。其具体步骤为：(1)选择不同颜色、不同特性的染料，经溶解配制成浓缩液；(2)经试验优化确定指示剂在稀释液含量；(3)通过与国内、外ELISA检测试剂盒的试验验证，证明所用指示剂对检测结果判定无影响。本发明填补了我国ELISA检测试剂盒所用不同稀释液无颜色区别，解决了ELISA操作过程中存在的加样跳孔或重复加样问题，避免检测过程出现差错。

样品编号	原试剂盒检测结果	新配指示剂检测结果	结果判定	样品编号	原试剂盒检测结果	新配指示剂检测结果	结果判定
1	0.1272	0.1241	合格	13	0.0842	0.0804	合格
2	0.0893	0.0941	合格	14	1.3919	1.3642	合格
3	0.1470	0.1378	合格	15	0.0685	0.0675	合格
4	0.0774	0.0836	合格	16	0.2055	0.1913	合格
5	0.0658	0.0688	合格	17	1.4071	1.4620	合格
6	0.0859	0.0949	合格	18	1.3921	1.3697	合格
7	0.2651	0.2399	合格	19	0.0445	0.0470	合格
8	0.0774	0.0718	合格	20	1.3889	1.2823	合格
9	0.0696	0.0711	合格	21	1.3480	1.3325	合格
10	0.2238	0.2021	合格	阳性对照	1.4691	1.4960	合格
11	0.1034	0.0937	合格	阴性对照	0.0451	0.0480	合格
12	0.1749	0.1636	合格				