



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110261621 A

(43)申请公布日 2019.09.20

(21)申请号 201910642203.3

(22)申请日 2019.07.16

(71)申请人 三诺生物传感股份有限公司

地址 410205 湖南省长沙市长沙高新技术
开发区谷苑路265号

(72)发明人 罗继全 汪长海 李宗祥

(74)专利代理机构 北京集佳知识产权代理有限
公司 11227

代理人 任洁芳

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/537(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页

(54)发明名称

一种白介素-6检测试剂盒

(57)摘要

本申请公开了一种白介素-6检测试剂盒,包括试剂R1和试剂R2,所述试剂R1包括第一缓冲液、封闭剂、无机盐;所述试剂R2包括第二缓冲液、链霉亲和素修饰微球、生物素标记白介素-6单克隆抗体或生物素标记白介素-6多克隆抗体、封闭剂、糖类。本申请提供一种白介素-6检测试剂盒,通过引入链霉亲和素-生物素信号放大系统,对传统胶乳增强免疫比浊法进行改良,大幅提高了检测灵敏度,可以实现对白介素-6的准确定量。

1. 一种白介素-6检测试剂盒,其特征在于,包括试剂R1和试剂R2,所述试剂R1包括第一缓冲液、封闭剂、无机盐;

所述试剂R2包括第二缓冲液、链霉亲和素修饰微球、生物素标记白介素-6单克隆抗体或生物素标记白介素-6多克隆抗体、封闭剂、糖类。

2. 根据权利要求1所述的检测试剂盒,其特征在于,所述糖类具体为蔗糖、海藻糖、乳糖中的任意一种或多种。

3. 根据权利要求1所述的检测试剂盒,其特征在于,所述第一缓冲液具体为磷酸盐缓冲液、Tris-HCl缓冲液、甘氨酸缓冲液、HEPES缓冲液中的任意一种;和/或,

所述第二缓冲液具体为磷酸盐缓冲液、Tris-HCl缓冲液、硼酸缓冲液中的任意一种。

4. 根据权利要求1所述的检测试剂盒,其特征在于,所述链霉亲和素修饰微球具体为链霉亲和素修饰聚苯乙烯微球。

5. 根据权利要求1所述的检测试剂盒,其特征在于,所述封闭剂具体为BSA、脱脂奶粉、酪蛋白、明胶、Tween20中的任意一种或多种;和/或,

所述无机盐具体为氯化钠、氯化钾、硫酸钠中的任意一种或多种。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的检测试剂盒,其特征在于,所述试剂R1还包括增敏剂、表面活性剂、防腐剂中的一种或多种;和/或,

所述试剂R2还包括防腐剂。

7. 根据权利要求6所述的检测试剂盒,其特征在于,所述增敏剂具体为PEG6000-20000中的任意一种或多种。

8. 根据权利要求8所述的检测试剂盒,其特征在于,所述表面活性剂具体为TWEEN系列表面活性剂、TRITON系列表面活性剂中的任意一种或多种。

9. 根据权利要求8所述的检测试剂盒,其特征在于,所述防腐剂具体为叠氮钠、proclin 300、硫柳汞中的任意一种或多种。

10. 根据权利要求1所述的检测试剂盒,其特征在于,所述试剂R2中,链霉亲和素修饰微球的浓度为0.1%-0.25%;和/或,

所述试剂R2中,生物素标记白介素-6单克隆抗体的浓度为100-200mg/L。

一种白介素-6检测试剂盒

技术领域

[0001] 本申请涉及医学检测技术领域,特别是涉及一种白介素-6检测试剂盒。

背景技术

[0002] 白细胞介素-6,简称白介素6(IL-6),是一种细胞因子,属于白细胞介素的一种。白介素-6可调节多种细胞的生长与分化,具有调节免疫应答、急性期反应及造血功能,并在机体的抗感染免疫反应中起重要作用。白介素-6在多种疾病时有明显改变,白介素-6上升的水平与疾病的活动期、肿瘤的发展变化、排斥反应程度以及治疗效果都密切相关,因此,对病人白介素-6水平的检测可反映患者的病情变化。

[0003] 由于人体血液内白介素-6含量很低,正常人通常在0.5pg/ml-6pg/ml范围内,要实现对白介素-6的准确测定,必须采用灵敏度较高的方法。目前市售的白介素-6检测试剂盒多采用酶联免疫法或化学发光检测法进行检测,同时有报导采用胶乳增强免疫比浊法测定白介素-6。但酶联免疫法通常只能实现定性或半定量测定,检测结果的稳定性及准确性均易受到干扰;化学发光检测法灵敏度与准确性均明显优于酶联免疫法,但是其成本高昂,并且通常只能应用于生产厂家的封闭仪器系统,不利于检测项目的推广;而胶乳增强免疫比浊法虽然成本低,且能广泛适用于开放式的全自动生化分析仪,但是由于检测的灵敏度通常不超过10pg/ml,难以实现准确测定白介素-6的目的。

发明内容

[0004] 为解决上述技术问题,本发明的第一个目的为提供一种白介素-6检测试剂盒;本申请提供一种白介素-6检测试剂盒,通过引入链霉亲和素-生物素信号放大系统,对传统胶乳增强免疫比浊法进行改良,大幅提高了检测灵敏度,可以实现对白介素-6的准确定量。

[0005] 本发明提供的技术方案如下:

[0006] 一种白介素-6检测试剂盒,包括试剂R1和试剂R2,所述试剂R1包括第一缓冲液、封闭剂、无机盐;

[0007] 所述试剂R2包括第二缓冲液、链霉亲和素修饰微球、生物素标记白介素-6单克隆抗体或生物素标记白介素-6多克隆抗体、封闭剂、糖类。

[0008] 优选地,所述糖类具体为蔗糖、海藻糖、乳糖中的任意一种或多种。

[0009] 优选地,所述第一缓冲液具体为磷酸盐缓冲液、Tris-HCl缓冲液、甘氨酸缓冲液、HEPES缓冲液中的任意一种;和/或,

[0010] 所述第二缓冲液具体为磷酸盐缓冲液、Tris-HCl缓冲液、硼酸缓冲液中的任意一种。

[0011] 优选地,所述链霉亲和素修饰微球具体为链霉亲和素修饰聚苯乙烯微球。

[0012] 优选地,所述封闭剂具体为BSA、脱脂奶粉、酪蛋白、明胶、Tween20中的任意一种或多种;和/或,

[0013] 所述无机盐具体为氯化钠、氯化钾、硫酸钠中的任意一种或多种。

- [0014] 优选地,所述试剂R1还包括增敏剂、表面活性剂、防腐剂中的一种或多种;和/或,
- [0015] 所述试剂R2还包括防腐剂。
- [0016] 优选地,所述增敏剂具体为PEG6000-20000中的任意一种或多种。
- [0017] 优选地,所述表面活性剂具体为TWEEN系列表面活性剂、TRITON系列表面活性剂中的任意一种或多种。
- [0018] 优选地,所述防腐剂具体为叠氮钠、proclin 300、硫柳汞中的任意一种或多种。
- [0019] 优选地,所述试剂R2中,链霉亲和素修饰微球的浓度为0.1%-0.25%;和/或,
- [0020] 所述试剂R2中,生物素标记白介素-6单克隆抗体的浓度为100-200mg/L。
- [0021] 本申请提供一种白介素-6检测试剂盒,应用免疫比浊法对白介素-6进行检测,通过引入链霉亲和素-生物素信号放大系统,对传统胶乳增强免疫比浊法进行改良,大幅提高了检测灵敏度,可以实现对白介素-6的准确定量。

具体实施方式

[0022] 为了使本技术领域的人员更好地理解本申请中的技术方案,下面将对本申请实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本申请一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本申请中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都应当属于本申请保护的范围。

[0023] 需要说明的是,当元件被称为“固定于”或“设置于”另一个元件上,它可以直接在另一个元件上或者间接设置在另一个元件上;当一个元件被称为是“连接于”另一个元件,它可以是直接连接到另一个元件或间接连接至另一个元件上。

[0024] 需要理解的是,术语“长度”、“宽度”、“上”、“下”、“前”、“后”、“左”、“右”、“竖直”、“水平”、“顶”、“底”“内”、“外”等指示的方位或位置关系仅是为了便于描述本申请和简化描述,而不是指示或暗示所指的装置或元件必须具有特定的方位、以特定的方位构造和操作,因此不能理解为对本申请的限制。

[0025] 此外,术语“第一”、“第二”仅用于描述目的,而不能理解为指示或暗示相对重要性或者隐含指明所指示的技术特征的数量。由此,限定有“第一”、“第二”的特征可以明示或者隐含地包括一个或者更多个该特征。在本申请的描述中,多个”、“若干个”的含义是两个或两个以上,除非另有明确具体的限定。

[0026] 本申请实施例采用递进的方式撰写。

[0027] 本发明实施例提供一种白介素-6检测试剂盒,包括试剂R1和试剂R2,所述试剂R1包括第一缓冲液、封闭剂、无机盐;

[0028] 所述试剂R2包括第二缓冲液、链霉亲和素修饰微球、生物素标记白介素-6单克隆抗体或生物素标记白介素-6多克隆抗体、封闭剂、糖类。

[0029] 本申请提供一种白介素-6检测试剂盒,应用免疫比浊法对白介素-6进行检测,通过引入链霉亲和素-生物素信号放大系统,对传统胶乳增强免疫比浊法进行改良,大幅提高了检测灵敏度,可以实现对白介素-6的准确定量。一方面,理论上由于使用链霉亲和素修饰的聚苯乙烯微球,1个分子链霉亲和素分子可结合4个生物素分子,而每1个待偶联抗体可结合数个生物素分子,最终用于检测样本时,每个抗体又可以结合2个待测物分子;另一方面,由于引入链霉亲和素分子具有一定长度,可在一定程度上降低抗原抗体反应时的空间位阻

效应。基于以上对检测信号的级联放大作用以及对空间位阻效应的改善,通常相较于传统胶乳免疫增强比浊法,可实现检测灵敏度数倍到数十倍的提高。

[0030] 本申请提供的白介素-6检测试剂盒,包括试剂R1和试剂R2,试剂R1是缓冲体系,用于缓冲和稀释待检测样本,可以使反应处于最适反应条件,避免非特异性的结果产生;试剂R2是启动试剂,使得待检测样本中待测物分子与微球上所标记抗体产生抗原-抗体反应,进行检测。其中,生物素标记白介素-6单克隆抗体或生物素标记白介素-6多克隆抗体是使用生物素和抗体反应制备,制备方法为本领域常规方法。优选使用生物素标记白介素-6单克隆抗体。

[0031] 优选地,所述糖类具体为蔗糖、海藻糖、乳糖中的任意一种或多种。

[0032] 优选地,所述第一缓冲液具体为磷酸盐缓冲液、Tris-HCl缓冲液、甘氨酸缓冲液、HEPES缓冲液中的任意一种;和/或,

[0033] 所述第二缓冲液具体为磷酸盐缓冲液、Tris-HCl缓冲液、硼酸缓冲液中的任意一种。

[0034] 优选地,所述链霉亲和素修饰微球具体为链霉亲和素修饰聚苯乙烯微球。

[0035] 优选地,所述封闭剂具体为BSA、脱脂奶粉、酪蛋白、明胶、Tween20中的任意一种或多种;和/或,

[0036] 所述无机盐具体为氯化钠、氯化钾、硫酸钠中的任意一种或多种。其中,封闭剂优选使用BSA。无机盐优选使用氯化钠。

[0037] 优选地,所述试剂R1还包括增敏剂、表面活性剂、防腐剂中的一种或多种;和/或,

[0038] 所述试剂R2还包括防腐剂。

[0039] 使用增敏剂、防腐剂,可以有效维持试剂盒的稳定性,在长期存储后仍能保证检测结果的精准。而在试剂R1中加入表面活性剂,可以排除待检测样本中某些物质(如脂类)的干扰,降低非特异性的结合,提高检测结果的准确度。

[0040] 优选地,所述增敏剂具体为PEG6000-20000中的任意一种或多种。例如PEG6000、PEG8000、PEG20000。优选使用PEG6000。

[0041] 优选地,所述表面活性剂具体为TWEEN系列表面活性剂、TRITON系列表面活性剂中的任意一种或多种。

[0042] 本申请中,表面活性剂优选使用TWEEN系列表面活性剂(Tween20)。

[0043] 优选地,所述防腐剂具体为叠氮钠、proclin 300、硫柳汞中的任意一种或多种。

[0044] 优选地,所述试剂R2中,链霉亲和素修饰微球的浓度为0.1%-0.25%;和/或,

[0045] 所述试剂R2中,生物素标记白介素-6单克隆抗体的浓度为100-200mg/L。

[0046] 实施例试剂盒制备方法如下:

[0047] R1试剂配制按照常规溶液配制方法制备;

[0048] R2试剂配制通常分为三个步骤,首先需要制备生物素标记的抗人白介素-6单克隆抗体,然后将生物素标记的抗人白介素-6单克隆抗体偶联至链霉亲和素修饰微球上,最后将偶联完成的微球重悬于溶液中。

[0049] 实施例1

[0050]

R1 试剂	
Tris-HCl (pH8.0)	100mmol/L
PEG 6000	3%
BSA	0.1%
叠氮钠	0.1%
Tween 20	0.05%
氯化钠	0.9%
R2 试剂	
PB 缓冲液 (pH7.4)	25mmol/L
海藻糖	6%
链霉亲和素修饰聚苯乙烯微球	0.2%
Proclin 300	0.1%
生物素标记白介素-6 单克隆抗体	100mg/L

[0051] 实施例2

[0052]

R1 试剂	
Tris-HCl (pH8.0)	100mmol/L
PEG 6000	3%
BSA	0.1%
叠氮钠	0.1%
Tween 20	0.05%
氯化钠	0.9%
R2 试剂	
Hepes 缓冲液 (pH7.4)	25mmol/L
蔗糖	6%
链霉亲和素修饰聚苯乙烯微球	0.25%
Proclin 300	0.1%
生物素标记白介素-6 单克隆抗体	150mg/L

[0053] 实施例3

[0054]	R1 试剂	
	Tris-HCl (pH8.0)	100mmol/L
	PEG 6000	3%
	BSA	0.1%
	叠氮钠	0.1%
	Tween 20	0.05%
	氯化钠	0.9%
	R2 试剂	
	Tris-HCl 缓冲液 (pH7.4)	50mmol/L
	乳糖	3%
	链霉亲和素修饰聚苯乙烯微球	0.1%
	Proclin 300	0.1%

[0055]	生物素标记白介素-6 单克隆抗体	200mg/L
--------	------------------	---------

[0056] 对比例1传统胶乳增强免疫比浊检测试剂盒

[0057]	R1 试剂	
	Tris-HCl (pH8.0)	100mmol/L
	PEG 6000	3%
	BSA	0.1%
	叠氮钠	0.1%
	Tween 20	0.05%
	氯化钠	0.9%
	R2 试剂	
	PB 缓冲液 (pH7.4)	50mmol/L
	海藻糖	5%
	白介素-6 单克隆抗体标记羧基胶乳微球	0.15%
	Proclin 300	0.1%
	丙氨酸	10mmo/L
	EDTA	1mmol/L

[0058] 取40例血清标本,分别测试,采用西门子白介素-6试剂作为参比,结果如下:

血清样本比对 (单位: pg/mL)				
西门子	实施例 1	实施例 2	实施例 3	对比例 1
0.5	0.1	0.7	0.2	0.1
1.2	0.5	1	0.8	0
2.6	1.1	2.2	1.5	0.2
10.8	8.1	10.2	7.4	2.5
6.9	8.3	7.1	8.9	0.1
26.8	19.6	23.8	29.3	5.3
1.1	0.1	0.9	0.1	0
5.2	2.2	4.9	3.1	0
46.7	32.5	43.9	35.6	6.9
60	46	57.2	59	5.1
1.3	0.6	1.5	0.7	0
2.8	2	2.6	3.3	0.1
6.5	4.1	6.3	3.9	0.2
1.1	0.3	0.8	1.4	0
0.9	0.3	1.1	0.6	0
2.3	1.9	2.2	0.9	0
4.2	1.1	4	3.1	0.1
5.1	3.3	4.8	5.9	0.2
3.1	1.8	2.9	0.9	0
2.4	1.8	2.2	2.9	0
126.1	95.2	120.5	78.6	10.7
631	697.2	645.1	557.6	24.5
2.1	0.2	1.9	2.7	0.1
468.1	324.3	473.6	371.8	28
0.7	0.1	0.9	0.2	0
25.1	10.6	24.7	15.4	5.3
36.8	16.2	39.4	18.3	2.8
1.4	0.2	1.6	0.3	0
27.5	15.4	29.4	12.6	0.4
753.1	714.9	738.9	694.5	38.7
15.7	10.4	145.1	8.9	0.2
28.7	22.4	29.5	18.4	1
46	32.1	47.8	52.1	2.2
0.7	0.1	0.5	1	0
11.7	3.3	10.1	14.6	0.1
14	3.8	12.7	5.2	0.3
14.7	2.7	13.9	12.5	2
0.7	0.1	0.5	0.4	0.1
518.4	432.6	507.4	347.9	23.7
1.7	0.2	1.5	2.3	0

[0061] 由以上检测结果可以看出:

[0062] 第一、实施例1-3的检测灵敏度明显优于对比例1,说明本申请提供的白介素-6检测试剂盒,采用链霉亲和素-生物素信号放大系统,对传统胶乳增强免疫比浊法进行改良,

相较于传统的乳胶增强免疫比浊法检测试剂盒,灵敏度显著提高,可以实现对白介素-6的准确定量。

[0063] 第二、实施例1-3中,实施例2提供的检测试剂盒,与参比的西门子白介素-6试剂相关性最好,偏差最小。

[0064] 对所公开的实施例的上述说明,使本领域专业技术人员能够实现或使用本发明。对这些实施例的多种修改对本领域的专业技术人员来说将是显而易见的,本文中所定义的一般原理可以在不脱离本发明的精神或范围的情况下,在其它实施例中实现。因此,本发明将不会被限制于本文所示的这些实施例,而是要符合与本文所公开的原理和新颖特点相一致的最宽的范围。

专利名称(译)	一种白介素-6检测试剂盒		
公开(公告)号	CN110261621A	公开(公告)日	2019-09-20
申请号	CN201910642203.3	申请日	2019-07-16
[标]申请(专利权)人(译)	三诺生物传感股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	三诺生物传感股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	三诺生物传感股份有限公司		
[标]发明人	罗继全 汪长海 李宗祥		
发明人	罗继全 汪长海 李宗祥		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/537		
CPC分类号	G01N33/5375 G01N33/6869		
代理人(译)	任洁芳		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本申请公开了一种白介素-6检测试剂盒，包括试剂R1和试剂R2，所述试剂R1包括第一缓冲液、封闭剂、无机盐；所述试剂R2包括第二缓冲液、链霉亲和素修饰微球、生物素标记白介素-6单克隆抗体或生物素标记白介素-6多克隆抗体、封闭剂、糖类。本申请提供一种白介素-6检测试剂盒，通过引入链霉亲和素-生物素信号放大系统，对传统胶乳增强免疫比浊法进行改良，大幅提高了检测灵敏度，可以实现对白介素-6的准确定量。

R1 试剂	
Tris-HCl (pH8.0)	100mmol/L
PEG 6000	3%
BSA	0.1%
叠氮钠	0.1%
Tween 20	0.05%
氯化钠	0.9%
R2 试剂	
PB 缓冲液 (pH7.4)	25mmol/L
海藻糖	6%
链霉亲和素修饰聚苯乙烯微球	0.2%
Proclin 300	0.1%
生物素标记白介素-6 单克隆抗体	100mg/L