



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110779912 A

(43)申请公布日 2020.02.11

(21)申请号 201911152753.3

(22)申请日 2019.11.22

(71)申请人 无锡壹闪生物科技有限公司

地址 214174 江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道1699号50305室

(72)发明人 奚伟红

(74)专利代理机构 北京酷爱智慧知识产权代理有限公司 11514

代理人 魏星

(51)Int.Cl.

G01N 21/76(2006.01)

G01N 33/536(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

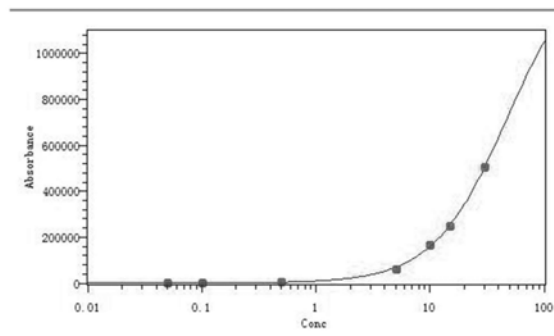
权利要求书1页 说明书8页 附图1页

(54)发明名称

生物素-亲和素或链霉亲和素的无微球均相化学发光体系

(57)摘要

本发明公开了生物素-亲和素或链霉亲和素的无微球均相化学发光体系,以及将其用于定量测量抗原或抗体的方法,涉及化学发光体系技术领域,所述的无微球均相化学发光体系包括:生物素标记的抗体或抗原、9,10-二氢吖啶标定的抗体或抗原、HRP标记的亲和素或链霉亲和素。生物素-亲和素或生物素-链霉亲和素的无微球均相化学发光(No Microspheres Homogeneous Luminescent(Biotin-Avidin/streptavidin))体系不使用微球,是均相体系;引入生物素-亲和素/链霉亲和素系统,可以大大提高化学发光效率,提高检测灵敏度,实例S100B蛋白最低检测浓度可达到0.015ng/ml;该体系检测过程不需清洗,方便简单,可用于自动免疫均相化学发光系统,POCT及微流控芯片等快速定量分析。



1. 一种基于生物素-亲和素或生物素-链霉亲和素的无微球均相化学发光体系,其特征 在于:包括:生物素标记的抗体或抗原、9,10-二氢吡啶标定的抗体或抗原、HRP标记的亲和 素或链霉亲和素。

2. 根据权利要求1所述的无微球均相化学发光体系,其特征在于:所述的制备HRP标记 的亲和素或链霉亲和素的步骤如下:在1mg HRP中加入60mmol/L NaIO₄ 0.1ml于4℃作用30 分钟,再加入0.1ml浓度0.16mol/L的乙二醇,30分钟后,加入1mg A或SA,4℃静置24小时;透 析过夜,加等体积的饱和硫酸铵溶液,4000r/min离心15分钟,将沉淀物溶解于PBS中,280nm 下测吸光度并进行200-280nm波长扫描;用Sephadex G-75装柱,HRP-SA或HRP-A上样100ul, 用0.025mol/L KCL-0.2mol/L乙酸缓冲液,以0.5ml/2min的速度淋洗,分部收集;用DU800紫 外分光光度计测量收集各管样品的OD₂₈₀值,绘制洗脱曲线,收集单白峰,透析液用PEG- 2000进行浓缩;取1的HRP-SA或HRP-A和100ul去离子双蒸馏水,用紫外分光光度计在200- 280nm波长扫描,至HRP-SA在280nm处有吸收峰。

3. 根据权利要求2所述的无微球均相化学发光体系,其特征在于:所述的PBS的PH为 7.4。

4. 根据权利要求1所述的无微球均相化学发光体系,其特征在于:所述的制备生物素标 记的抗体或抗原的步骤如下:将待生物素标记的抗原或抗体用缓冲液稀释到1-2.5ml,制得 抗原或抗体溶液,所述缓冲液为0.1mol/L的碳酸氢钠缓冲液或0.5mol/L的硼酸缓冲液;将 1mg的NHSB溶解于1ml的DMSO中,制得NHSB溶液;取1ml抗原或抗体溶液在其中加入 120ulNHSB溶液,室温下搅拌,保温2-4小时,再向其中加入9.6ul浓度为1mol/L的NH₄CL,搅 拌10分钟;在4℃,对PBS进行透析,除去游离的生物素;将样品上1ml的分子筛柱,以PBS缓慢 洗脱,收集1ml/管,抗原或抗体在1-3ml之间洗下;洗脱液中加入其体积50%的重蒸甘油,置 于20℃保存。

5. 根据权利要求4所述的无微球均相化学发光体系,其特征在于:所述的所述的碳酸氢 钠缓冲液的pH为8.0。

6. 根据权利要求5所述的无微球均相化学发光体系,其特征在于:所述的硼酸缓冲液的 pH为8.6。

7. 权利要求1-6所述的无微球均相化学发光体系定量测量抗原或抗体的方法,其特征 在于:所述的方法步骤如下:S1、试剂配制:分别配制校准品、辅助剂和触发剂,制备生物素 标记的抗体或抗原、9,10-二氢吡啶标定的抗体或抗原、HRP标记的亲和素或链霉亲和素; S2、加样:在校准品或样本中加入生物素标记的抗体或抗原、9,10-二氢吡啶标定的抗体或 抗原、HRP标记的亲和素或链霉亲和素,震荡混匀,制得待测混合物A;S3、检测:在待测混合 物A中加入辅助剂,震荡混匀,静置,加入触发剂,震荡混匀,制得待测混合物B,进行检测,读 取发光值;S4、计算:对校准品的浓度和发光值进行logistic四参数拟合,通过样本RLU计算 样本浓度。

8. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于:步骤S2中所述的校准品、样本、酶标记物、 生物素标记物和发光标记物的加入体积为25ul。

9. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于:步骤S3中所述的辅助剂和触发剂的加入体 积分别为5ul和75ul。

10. 根据权利要求7所述的方法,其特征在于:步骤S3中所述的静置时间为1-2分钟。

生物素-亲和素或链霉亲和素的无微球均相化学发光体系

技术领域

[0001] 本发明涉及化学发光体系技术领域,具体涉及生物素-亲和素或链霉亲和素的无微球均相化学发光体系,以及将其用于定量测量抗原或抗体的方法。

背景技术

[0002] LOCI (Luminescent oxygen channeling immunoassay) 诊断技术在90年代初由美国科学家Ullman教授发现,并由美国德灵公司开发。该技术是一种基于两个纳米微球利用单线氧能量的短距离扩散,激发已形成的相邻位点的化学发光反应来测定生物分子之间的相互作用,是一种非放射性的检测分析方法,由捕获微球上生物分子的近距离结合,从一个微球到另一个微球发生了能量转移,通过化学反应并最终产生发光信号。

[0003] LOCI体系需用两种不同的微球,微球内需分别灌装光敏剂酞菁染料和二甲基噻吩衍生物、稀土螯合物,不同批间微球的均一性和微球内定量灌装需要苛刻的生产工艺和设备,同时使用微球的体系也并不是真正的均相,非均相会影响检测结果的重复性。

[0004] 生物素-亲和素系统(Biotin-Avidin—System,BAS)是70年代末发展起来的一种新型生物反应放大系统。生物素与亲和素之间高亲合力的牢固结合以及多级放大效应,使BAS免疫标记和有关示踪分析更加灵敏。BAS目前已广泛用于抗原、抗体的定性、定量检测及定位观察研究。

[0005] 生物素(biotin,B)广泛分布于动、植物组织中,常从含量较高的卵黄和肝组织中提取,分子量244.31Da。生物素分子有两个环状结构,其中I环为咪唑酮环,是与亲和素结合的主要部位;II环为噻吩环,C2上有一戊酸侧链,其末端羧基是结合抗体和其他生物大分子的惟一结构,经化学修饰后,生物素可成为带有多种活性基团的衍生物——活化生物素。

[0006] 亲和素(avidin,AV)亦称抗生物素蛋白、卵白素,是从卵白蛋白中提取的一种由4个相同亚基组成的碱性糖蛋白,分子量为68kD。4个相同的亚基使每个亲和素能最多可结合4个分子的生物素。生物素与亲和素之间具有极强的亲和力,比抗原与抗体间的亲和力高很多。并且,二者的结合稳定性好、专一性强。链霉亲和素(streptavidin,SA)分子由4条相同的肽链组成,其氨基酸组成中,甘氨酸和丙氨酸的含量较大,而且结合生物素的活性基团也是肽链中的色氨酸残基;链霉亲和素是一种稍偏酸性(pH6.0)的蛋白质,并且不带任何糖基。在蛋白水解酶作用下,链霉亲和素可在N端10-12和C端19-21间断裂,形成的核心链霉亲和素仍然保持完整的结合生物素的能力。链霉亲和素的活性单位以结合1 μ g生物素所需的量来表示,1mg链霉亲和素的最高活性可达18U。

[0007] 目前,还没有一种基于生物素-亲和素或生物素-链霉亲和素的无微球均相化学发光体系,可用于自动免疫均相化学发光系统,POCT及微流控芯片等快速定量分析。

发明内容

[0008] 针对现有技术中的缺陷,本发明提供一种基于生物素-亲和素或生物素-链霉亲和素的无微球均相化学发光体系,其特征在于:包括:生物素标记的抗体或抗原、9,10-二氢

吡啶标定的抗体或抗原、HRP标记的亲合素或链霉亲和素。

[0009] 所述的制备HRP标记的亲合素或链霉亲和素的步骤如下：在HRP1mg中加入60mmol/L NaIO₄0.1ml于4℃作用30分钟，再加入0.1ml浓度0.16mol/L的乙二醇，30分钟后，加入1mg A或SA，4℃静置24小时；透析过夜，加等体积的饱和硫酸铵溶液，4000r/min离心15分钟，将沉淀物溶解于PBS中，280nm下测吸光度并进行200-280nm波长扫描；用Sephadex G-75装柱。HRP-SA或HRP-A上样100ul，用0.025mol/L KCL-0.2mol/L乙酸缓冲液，以0.5ml/2min的速度淋洗，分部收集。用DU800紫外分光光度计测量收集各管样品的OD₂₈₀值，绘制洗脱曲线，收集单白峰，透析液用PEG-2000进行浓缩；取1的HRP-SA或HRP-A和100ul去离子双蒸馏水，用紫外分光光度计在200-280nm波长扫描，至HRP-SA在280nm处有吸收峰。

[0010] 所述的PBS的PH为7.4。

[0011] 所述的制备生物素标记的抗体或抗原的步骤如下：将待生物素标记的抗原或抗体用缓冲液稀释到1-2.5ml，制得抗原或抗体溶液，所述缓冲液为0.1mol/L的碳酸氢钠缓冲液或0.5mol/L的硼酸缓冲液；将1mg的NHSB溶解于1ml的DMSO中，制得NHSB溶液；取1ml抗原或抗体溶液在其中加入120ul NHSB溶液，室温下搅拌，保温2-4小时，再向其中加入9.6ul浓度为1mol/L的NH₄CL，搅拌10分钟；在4℃，对PBS进行透析，除去游离的生物素；将样品上1ml的分子筛柱，以PBS缓慢洗脱，收集1ml/管，抗原或抗体在1-3ml之间洗下；洗脱液中加入其体积50%的重蒸甘油，置于20℃保存。

[0012] 所述的所述的碳酸氢钠缓冲液的pH为8.0。

[0013] 所述的硼酸缓冲液的pH为8.6。

[0014] 一种基于生物素-亲和素或生物素-链霉亲和素的无微球均相化学发光体系定量测量抗原或抗体的方法，所述的方法步骤如下：S1、试剂配制：分别配制校准品、辅助剂和触发剂，制备生物素标记的抗体或抗原、9,10-二氢吡啶标定的抗体或抗原、HRP标记的亲合素或链霉亲和素；S2、加样：在校准品或样本中加入生物素标记的抗体或抗原、9,10-二氢吡啶标定的抗体或抗原、HRP标记的亲合素或链霉亲和素，震荡混匀，制得待测混合物A；S3、检测：在待测混合物A中加入辅助剂，震荡混匀，静置，加入触发剂，震荡混匀，制得待测混合物B，进行检测，读取发光值；S4、计算：对校准品的浓度和发光值进行logistic四参数拟合，通过样本RLU计算样本浓度。

[0015] 步骤S2中所述的校准品、样本、生物素标记的抗体或抗原、9,10-二氢吡啶标定的抗体或抗原、HRP标记的亲合素或链霉亲和素的加入体积为25uL。

[0016] 步骤S3中所述的辅助剂和触发剂的加入体积分别为5uL和75uL。

[0017] 步骤S3中所述的静置时间为1-2分钟。

[0018] 所述的配制校准品的步骤如下：

[0019] 配制校准品稀释液：称取磷酸氢二钾14.1g，磷酸二氢钠·2H₂O 3.0g，加超纯水溶解，Proclin-3000.5~1mL，混匀后，加超纯水定容至1000mL，得到校准品稀释液，2~8℃储存备用；配制校准品：校准品的浓度为0、10ng/mL、50ng/mL、500ng/mL、1000ng/mL、10000ng/mL，用校准品稀释液将抗原或抗体校准品稀释至相应浓度，2~8℃储存备用。

[0020] 所述的制备辅助剂的步骤如下：

[0021] 称取枸橼酸1.82g，枸橼酸钠10.45g，加纯水溶解并定容至1000mL，在枸橼酸盐缓冲液中加入发光辅助剂，混匀后分装，置于4℃冰箱保存备用；其中，更优选每瓶装10mL。

[0022] 所述的制备触发剂的步骤如下：

[0023] 称取Tris 6.06g,氯化钠9g,加适量纯水溶解,再加入浓HCl 2.1mL混匀;之后加入吐温-202mL,混匀后定容至1000mL,分装,置于4℃冰箱保存备用;其中,更优选每瓶装200mL。

[0024] 所述的制备9,10-二氢吖啶标记的抗体或抗原的步骤如下：

[0025] 将发光底物Acridan用500μL的DMF溶解;吸取溶解的Acridan 41.3μL,加入0.05M硼酸钠缓冲液708.7μL,再加入250μL抗原或抗体,翻转混匀4~5次,在室温下静置30min;将标记反应管置于摇床上,在2~8℃下混合过夜,取出加入适量甘油置-20℃冰箱保存。

[0026] 上述的无微球均相化学发光体系的原理是将生物素-亲和素/链霉亲和素引入到空间邻近均相化学发光体系,在一个抗体分子上标记生物素,另一个抗体分子上标记有9,10-二氢吖啶(Acridan),亲和素/链霉亲和素分子上标记HRP。当样本中的抗原分别与标记有生物素的抗体和标记有9,10-二氢吖啶(Acridan)的抗体反应,形成抗原抗体复合物,该复合物与标记有HRP的亲和素/链霉亲和素结合形成抗原-抗体-生物素-亲和素/链霉亲和素复合物,使他们在空间上得以相互接近,加入触发剂辅助剂后,产生闪光型化学发光。该体系中没有使用微球与生物素或亲和素/链霉亲和素连接,而是采用生物素与抗体连接,亲和素/链霉亲和素与HRP连接的均相化学发光,故将该体系称为生物素-亲和素或生物素-链霉亲和素的无微球均相化学发光体系即NMHL(No Microspheres Homogeneous Luminescent(Biotin-Avidin/streptavidin))体系。

[0027] 本发明的另一个目的在于保护上述的方法在自动免疫均相化学发光系统、POCT和微流控芯片的快速定量分析中的应用。

[0028] 本发明的有益效果体现在：

[0029] 生物素-亲和素或生物素-链霉亲和素的无微球均相化学发光(No Microspheres Homogeneous Luminescent(Biotin-Avidin/streptavidin))体系不使用微球,是均相体系;引入生物素-亲和素/链霉亲和素系统,可以大大提高化学发光效率,提高检测灵敏度,实例S100B蛋白最低检测浓度可达到0.015ng/mL;该体系检测过程不需清洗,方便简单,可用于自动免疫均相化学发光系统,POCT及微流控芯片等快速定量分析。

附图说明

[0030] 为了更清楚地说明本发明具体实施方式或现有技术中的技术方案,下面将对具体实施方式或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍。在所有附图中,类似的元件或部分一般由类似的附图标记标识。附图中,各元件或部分并不一定按照实际的比例绘制。

[0031] 图1为实施例1的校准品logistic四参数拟合曲线。

具体实施方式

[0032] 下面将结合附图对本发明技术方案的实施例进行详细的描述。以下实施例仅用于更加清楚地说明本发明的技术方案,因此只作为示例,而不能以此来限制本发明的保护范围。

[0033] 需要注意的是,除非另有说明,本申请使用的技术术语或者科学术语应当为本发明所属领域技术人员所理解的通常意义。

[0034] 实施例1

[0035] NMHL技术检测S100B蛋白

[0036] 一种基于生物素-链霉亲和素的无微球均相化学发光体系定量测量S100B蛋白的方法,所述的方法步骤如下:S1、试剂配制:分别配制校准品、辅助剂和触发剂,制备生物素标记的抗体或抗原、9,10-二氢吖啶标定的抗体或抗原、HRP标记的亲合素或链霉亲和素;S2、加样:在校准品或样本中加入酶标记物、生物素标记物、发光标记物,震荡混匀,制得待测混合物A;S3、检测:在待测混合物A中加入辅助剂,震荡混匀,静置,加入触发剂,震荡混匀,制得待测混合物B,进行检测,读取发光值;S4、计算:对校准品的浓度和发光值进行logistic四参数拟合,通过样本RLU计算样本浓度。

[0037] 进一步地,步骤S2中所述的校准品、样本、生物素标记的抗体、9,10-二氢吖啶标定的抗体或抗原、HRP标记的亲合素或链霉亲和素的加入体积为25uL。

[0038] 进一步地,步骤S3中所述的辅助剂和触发剂的加入体积分别为5uL和75uL。

[0039] 进一步地,步骤S3中所述的静置时间为1-2分钟。

[0040] 所述的配制校准品的步骤如下:

[0041] 配制校准品稀释液:称取磷酸氢二钾14.1g,磷酸二氢钠·2H₂O 3.0g,加超纯水溶解,Proclin-3000.5~1mL,混匀后,加超纯水定容至1000mL,得到校准品稀释液,2~8℃储存备用;配制校准品:校准品的浓度为0ng/mL、10ng/mL、50ng/mL、500ng/mL、1000ng/mL、10000ng/mL,用校准品稀释液将S100B校准品稀释至相应浓度,2~8℃储存备用。

[0042] 所述的制备9,10-二氢吖啶标定的抗体的步骤如下:

[0043] 将发光底物Acridan用500μL的DMF溶解;吸取溶解的Acridan 41.3μL,加入0.05M硼酸钠缓冲液708.7μL,再加入250μL 9,10-二氢吖啶标记的S100B单克隆抗体,翻转混匀4~5次,在室温下静置30min;将标记反应管置于摇床上,在2~8℃下混合过夜,取出加入适量甘油置-20℃冰箱保存。

[0044] 所述的制备辅助剂的步骤如下:

[0045] 称取枸橼酸1.82g,枸橼酸钠10.45g,加纯水溶解并定容至1000mL,在枸橼酸盐缓冲液中加入发光辅助剂,混匀后分装,置于4℃冰箱保存备用;其中,更优选每瓶装10mL。

[0046] 所述的制备触发剂的步骤如下:

[0047] 称取Tris6.06g,氯化钠9g,加适量纯水溶解,再加入浓HCl2.1mL混匀;之后加入吐温-202mL,混匀后定容至1000mL,分装,置于4℃冰箱保存备用;其中,更优选每瓶装200mL。

[0048] 所述的制备HRP标记的链霉亲和素的步骤如下:在1mg的HRP中加入0.1ml浓度为60mmol/L的NaIO₄于4℃作用30分钟,再加入0.1ml的浓度为0.16mol/L的乙二醇,30分钟后,加入1mg的SA,于4℃静置24小时;透析过夜,加等体积的饱和硫酸铵溶液,4000r/min离心15分钟,将沉淀物溶解于PH7.4的PBS中,280nm下测吸光度并进行200-280nm波长扫描;用Sephadex G-75装柱。HRP-SA上样100ul,用0.025mol/L KCL-0.2mol/L乙酸缓冲液,以0.5ml/2min的速度淋洗,分部收集。用DU800紫外分光光度计测量收集各管样品的OD280值,绘制洗脱曲线,收集单白峰,透析液用PEG-2000进行浓缩;取10ul的HRP-SA和100ul去离子双蒸馏水,用紫外分光光度计在200-280nm波长扫描,至HRP-SA在280nm处有吸收峰。

[0049] 进一步地,所述的PBS的PH为7.4。

[0050] 所述的制备生物素标记的抗体的步骤如下:将待生物素化的蛋白质用缓冲液稀

释到1-2.5ml,制得蛋白质溶液,所述缓冲液为0.1mol/L的碳酸氢钠缓冲液或0.5mol/L的硼酸缓冲液;将1mg的NHSB溶解于1ml的DMSO中,制得NHSB溶液;取1ml蛋白质溶液在其中加入120u1NHSB溶液,室温下搅拌,保温2-4小时,再向其中加入9.6μl浓度为1mol/L的NH₄CL,搅拌10分钟;在4℃,对PBS进行透析,除去游离的生物素;将样品上1ml的分子筛柱,以PBS缓慢洗脱,收集1ml/管,蛋白质在1-3ml之间洗下;洗脱液中加入其体积50%的重蒸甘油,置于20℃保存。

[0051] 进一步地,所述的碳酸氢钠缓冲液的pH为8.0。

[0052] 进一步地,所述的硼酸缓冲液的pH为8.6。

[0053] 试验例1

[0054] 校准品标准曲线

[0055] 根据实施例1的测试结果,进行标准曲线的绘制,得到表1中的数据和图1的标准曲线。

[0056] 表1实施例1的校准品浓度-RLU数据

[0057]	抗原 ng/ml	RLU
	0	540
	0.05	1084
	0.1	2076
	0.5	4635
	5	62572
	10	168241
	15	248928
	30	505260

[0058] logistic四参数:A.791.840 (+/-2194.175),B.1.336 (+/-0.125),C.47.783 (+/-19.863),D.1443503.542 (+/-471663.592)。

[0059] $\chi^2=130929595.899$, $RMS=5721.224$, $r^2=0.999$ 。

[0060] 试验例2

[0061] 空白限试验

[0062] 表2实施例1的空白限试验数据

[0063]	测试次数	RLU

[0064]

1	810
2	814
3	824
4	805
5	811
6	800
7	810
8	815
9	809
10	822
11	811
12	807
13	810
14	811
15	815
16	801
17	810
18	815
19	801
20	811
M	810.6
SD	6.18
空白限 (RLU)	823.0
空白限 (抗原)	0.015ng/ml

[0065] 从表2的数据可知,本发明的方法的最低检测浓度可达到0.015ng/ml。

[0066] 试验例3

[0067] 重复性试验

[0068] 1. 低值质控:0.25ng/ml

[0069] 表3低值质控变异系数表

[0070]

低值编号	RLU	测试浓度 (ng/ml)
1	2050	0.245
2	2125	0.256
3	2105	0.253
4	2164	0.262
5	2080	0.25

[0071]

6	2140	0.258
7	2105	0.253
8	2250	0.274
平均值 M	0.256	
标准偏差 SD	0.009	
变异系数 CV (%)	3.4%	

[0072] 2. 中值质控:5.0ng/ml

[0073] 表4中值质控变异系数表

[0074]

中值编号	RLU	测试浓度 (ng/ml)
1	66988	4.93
2	72098	5.227
3	66487	4.901
4	67521	4.962
5	67800	4.978
6	67152	4.94
7	70512	5.177
8	67890	4.983
平均值 M	5.012	
标准偏差 SD	0.121	
变异系数 CV (%)	2.4%	

[0075] 3. 高值质控:20ng/ml

[0076] 表5高值质控变异系数表

[0077]

高值编号	RLU	测试浓度 (ng/ml)
1	350598	20.37
2	355640	20.66
3	337870	19.642
4	346452	20.132
5	342456	19.903
6	340215	19.775
7	341205	19.832
8	346592	20.14
平均值 M	20.057	
标准偏差 SD	0.338	
变异系数 CV (%)	1.7%	

[0078] 最后应说明的是:以上各实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽

管参照前述各实施例对本发明进行了详细的说明,本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分或者全部技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的范围,其均应涵盖在本发明的权利要求和说明书的范围当中。

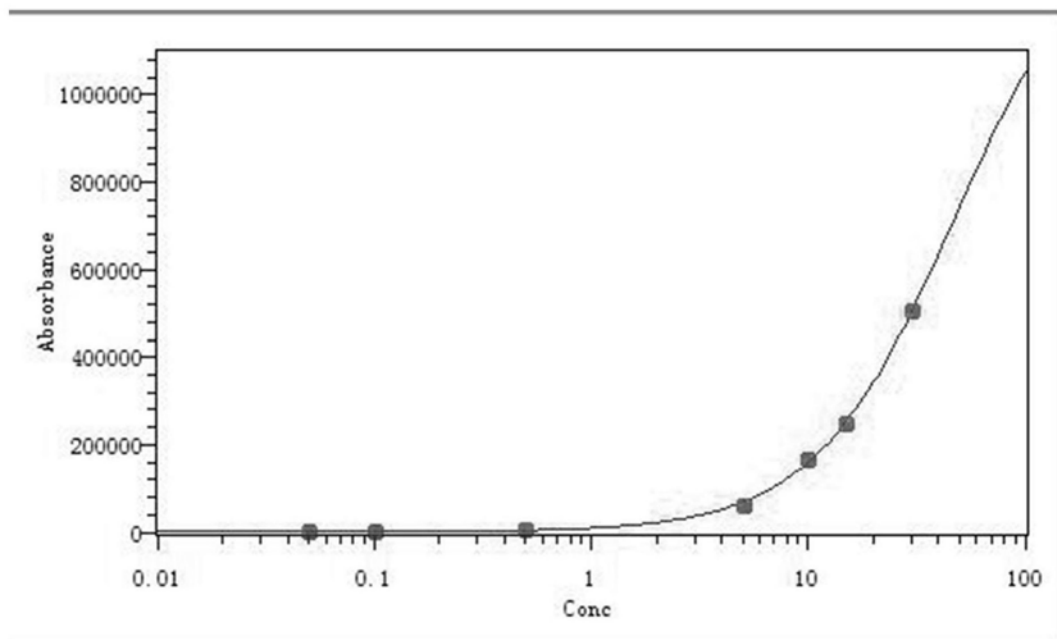


图1

专利名称(译)	生物素-亲和素或链霉亲和素的无微球均相化学发光体系		
公开(公告)号	CN110779912A	公开(公告)日	2020-02-11
申请号	CN201911152753.3	申请日	2019-11-22
[标]发明人	奚伟红		
发明人	奚伟红		
IPC分类号	G01N21/76 G01N33/536 G01N33/532		
CPC分类号	G01N21/76 G01N33/532 G01N33/536		
代理人(译)	魏星		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了生物素-亲和素或链霉亲和素的无微球均相化学发光体系，以及将其用于定量测量抗原或抗体的方法，涉及化学发光体系技术领域，所述的无微球均相化学发光体系包括：生物素标记的抗体或抗原、9,10-二氢吡啶标定的抗体或抗原、HRP标记的亲和素或链霉亲和素。生物素-亲和素或生物素-链霉亲和素的无微球均相化学发光(No Microspheres Homogeneous Luminescent(Biotin-Avidin/streptavidin))体系不使用微球，是均相体系；引入生物素-亲和素/链霉亲和素系统，可以大大提高化学发光效率，提高检测灵敏度，实例S100B蛋白最低检测浓度可达到0.015ng/ml；该体系检测过程不需清洗，方便简单，可用于自动免疫均相化学发光系统，POCT及微流控芯片等快速定量分析。

