



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111381024 A

(43)申请公布日 2020.07.07

(21)申请号 201811642269.4

(22)申请日 2018.12.29

(71)申请人 深圳市帝迈生物技术有限公司

地址 518055 广东省深圳市南山区桃源街
道留仙大道4093号南山云谷创新产业
园南风楼2楼B

(72)发明人 马志亚 钱婷 汪业红 李会平
刘治志

(74)专利代理机构 深圳市威世博知识产权代理
事务所(普通合伙) 44280

代理人 李庆波

(51)Int.Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

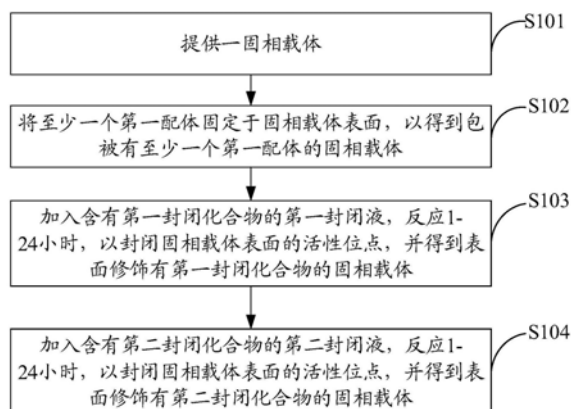
权利要求书3页 说明书18页 附图1页

(54)发明名称

免疫捕获组合物、制备方法、试剂盒以及应用

(57)摘要

本申请公开了一种免疫检测组合物、制备方法、试剂盒以及应用,该免疫捕获组合物包括:固相载体;至少一个第一配体,固定于固相载体表面;以及修饰于固相载体表面的至少第一封闭化合物和第二封闭化合物,第一封闭化合物和第二封闭化合物用于封闭固相载体表面的活性位点;其中,第一封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第二封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第一封闭化合物不同于第二封闭化合物。通过上述方式,本申请能够有效提高封闭效果,提高检测结果的准确性。



1. 一种免疫捕获组合物,其特征在于,所述免疫捕获组合物包括:
固相载体;
至少一个第一配体,固定于所述固相载体表面;
以及修饰于所述固相载体表面的至少第一封闭化合物和第二封闭化合物,所述第一封闭化合物和所述第二封闭化合物用于封闭所述固相载体表面的活性位点;
其中,所述第一封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,所述第二封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,所述第一封闭化合物不同于所述第二封闭化合物。
2. 根据权利要求1所述的免疫捕获组合物,其特征在于,所述免疫捕获组合物进一步包括:
修饰于所述固相载体表面的第三封闭化合物;
其中,所述第三封闭化合物为含有伯氨基的小分子化合物。
3. 根据权利要求2所述的免疫捕获组合物,其特征在于,
所述多羟基糖类化合物为葡萄糖、蔗糖、乳糖、海藻糖、葡聚糖、甘露醇或聚蔗糖中的至少一种;
所述蛋白质类化合物为牛血清白蛋白、人血清白蛋白、酪蛋白、明胶、酪蛋白水解物、免疫球蛋白、奶粉、人或动物血清中的至少一种;
所述含有伯氨基的小分子化合物为三羟甲基氨基甲烷、乙醇胺、羟胺、己胺或甘氨酸中的至少一种。
4. 根据权利要求1所述的免疫捕获组合物,其特征在于,
所述至少一个第一配体为抗体或抗原。
5. 根据权利要求4所述的免疫捕获组合物,其特征在于,所述固相载体为微孔板、玻璃片、微流控芯片、胶乳、磁性或非磁性的高分子微球、金属纳米颗粒、金属合金纳米颗粒、无机微球、无机/有机杂化微球、荧光纳米颗粒、磁珠、多功能荧光磁珠中的至少一种;
所述金属纳米颗粒包括但不限于金纳米颗粒或银纳米颗粒。
6. 根据权利要求5所述的免疫捕获组合物,其特征在于,
所述固相载体为所述高分子微球,所述高分子微球的粒径为1-10 μ m,所述高分子微球的表面具有功能基团,所述功能基团用于偶联所述至少一个第一配体;
所述功能基团为羧基、羟基、氨基、甲苯磺酰基、氯甲基、巯基、醛基、酰肼、硅羟基、琥珀酰亚胺酯、环氧基中的至少一种。
7. 根据权利要求6所述的免疫捕获组合物,其特征在于,
所述至少一个第一配体包括:第一抗体和第二抗体;
其中,所述第一抗体和所述第二抗体与同种待测抗原发生特异性结合作用。
8. 根据权利要求1所述的免疫捕获组合物,其特征在于,
所述第一封闭化合物和所述第二封闭化合物的质量之和与所述固相载体的质量的比值为(0.01-10):100。
9. 根据权利要求2所述的免疫捕获组合物,其特征在于,
所述第一封闭化合物、所述第二封闭化合物以及所述第三封闭组合物的质量之和与所述固相载体的质量的比值为(0.01-10):100。

10. 一种免疫捕获组合物的制备方法, 其特征在于, 所述制备方法包括:

提供一固相载体;

将至少一个第一配体固定于所述固相载体表面, 以得到包被有所述至少一个第一配体的所述固相载体;

加入含有第一封闭化合物的第一封闭液, 反应1-24小时, 以封闭所述固相载体表面的活性位点, 并得到表面修饰有所述第一封闭化合物的所述固相载体;

加入含有第二封闭化合物的第二封闭液, 反应1-24小时, 以封闭所述固相载体表面的活性位点, 并得到表面修饰有所述第二封闭化合物的所述固相载体;

其中, 所述第一封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物, 所述第二封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物, 所述第一封闭化合物不同于所述第二封闭化合物。

11. 根据权利要求10所述的制备方法, 其特征在于, 在加入含有第一封闭化合物的第一封闭液, 反应1-24小时, 以封闭所述固相载体表面的活性位点, 并得到表面修饰有所述第一封闭化合物的所述固相载体的步骤之前, 所述制备方法进一步包括:

加入含有第三封闭化合物的第三封闭液, 反应0.5-2小时, 以封闭所述固相载体表面的活性位点, 并得到表面修饰有所述第三封闭化合物的所述固相载体;

所述第三封闭化合物为含有伯胺基的小分子化合物。

12. 根据权利要求10所述的制备方法, 其特征在于,

所述第一封闭化合物为所述多羟基糖类化合物;

所述第二封闭化合物为所述蛋白质类化合物。

13. 根据权利要求11所述的制备方法, 其特征在于, 所述第一封闭化合物、所述第二封闭化合物以及所述第三封闭化合物通过静电作用、疏水作用、氢键、分子间力、生物分子间的特异作用或共价键中的至少一种修饰于所述固相载体表面。

14. 根据权利要求10所述的制备方法, 其特征在于, 所述将至少一个第一配体固定于所述固相载体表面, 以得到包被有所述至少一个第一配体的所述固相载体的步骤包括:

将所述至少一个第一配体直接固定于固相载体上;

或通过蛋白A和/或蛋白G、二抗与一抗、或者亲和素和生物素的特异性亲和反应中的至少一种方式, 将所述至少一个第一配体间接固定于固相载体上。

15. 如前述所述的免疫检测组合物在心肌检测、高血压检测、甲状腺检测、心血管检测、性腺检测、肾功能检测、骨代谢检测、糖代谢检测、传染病检测、自身免疫性疾病检测、产前筛查、药物检测、肝纤维化检测、EB病毒检测、炎症监测或肿瘤检测中的应用。

16. 一种免疫检测试剂盒, 其特征在于, 所述免疫检测试剂盒包括:

如权利要求1-9任一项所述的免疫捕获组合物;

以及免疫检测组合物, 所述免疫检测组合物包括至少一个第二配体和信号示踪物;

所述信号示踪物为酶示踪物、化学发光示踪物、或荧光示踪物中的至少一种。

17. 根据权利要求16所述的免疫检测试剂盒, 其特征在于,

所述信号示踪物为荧光示踪物, 且所述荧光示踪物不同于所述免疫捕获组合物中的荧光标记物。

18. 根据权利要求16所述的免疫检测试剂盒, 其特征在于,

所述至少一个第二配体为抗体或抗原。

19. 根据权利要求18所述的免疫检测试剂盒,其特征在于,

所述至少一个第二配体包括:第三抗体和第四抗体;

所述免疫捕获组合物的第一抗体与所述第三抗体、待测抗原进行特异性结合;

所述免疫捕获组合物的第二抗体与所述第四抗体、所述待测抗原进行特异性结合。

20. 根据权利要求19所述的免疫检测试剂盒,其特征在于,

所述待测抗原包括蛋白质、多肽、激素、糖类、酶、药物、核酸、小分子化合物、或金属离子。

21. 根据权利要求16所述的免疫检测试剂盒,其特征在于,所述免疫检测试剂盒进一步包括:

至少一个试剂管,所述试剂管内设有所述悬浮液;

所述免疫捕获组合物以及所述免疫检测组合物溶于所述悬浮液内;

其中,所述悬浮液包括缓冲液、表面活性剂、无机盐、稳定剂以及防腐剂。

22. 如权利要求16-21任一项所述的免疫检测试剂盒在心肌检测、高血压检测、甲状腺检测、心血管检测、性腺检测、肾功能检测、骨代谢检测、糖代谢检测、传染病检测、自身免疫性疾病检测、产前筛查、药物检测、肝纤维化检测、EB病毒检测、炎症监测或肿瘤检测中的应用。

23. 一种免疫检测方法,所述免疫检测方法基于权利要求16-21任一项所述的免疫检测试剂盒,其特征在于,所述免疫检测方法包括:

提供一免疫捕获组合物,其中,免疫捕获组合物包括:至少一个第一配体,固定于所述固相载体表面,以及修饰于所述固相载体表面的至少第一封闭化合物和第二封闭化合物,所述第一封闭化合物和所述第二封闭化合物用于封闭所述固相载体表面的活性位点,其中,所述第一封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,所述第二封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,所述第一封闭化合物不同于所述第二封闭化合物;

向检测体系中加入待测样本和所述免疫捕获组合物;

向所述检测体系中加入至少一个免疫检测组合物;

孵育,磁分离;

分别检测所述免疫捕获组合物和所述免疫检测组合物的荧光信号。

24. 根据权利要求23所述的免疫检测方法,其特征在于,

所述第一配体为NT-ProBNP捕获抗体、肌钙蛋白捕获抗体、甲胎蛋白捕获抗体、癌胚捕获抗体、HIV捕获抗体、乙肝表面捕获抗体、甲状腺球蛋白捕获抗体、肌钙蛋白T捕获抗体或肌红蛋白捕获抗体。

25. 一种免疫荧光分析系统,其特征在于,包括:

如权利要求16-21任一项所述的免疫检测试剂盒;

以及用以检测所述免疫检测试剂盒的荧光信号的光学检测机构;

所述免疫荧光分析系统用于心肌检测、高血压检测、甲状腺检测、心血管检测、性腺检测、肾功能检测、骨代谢检测、糖代谢检测、传染病检测、自身免疫性疾病检测、产前筛查、药物检测、肝纤维化检测、EB病毒检测、炎症监测或肿瘤检测。

免疫捕获组合物、制备方法、试剂盒以及应用

技术领域

[0001] 本申请涉及免疫检测技术领域,特别是涉及免疫捕获组合物、制备方法、试剂盒以及应用。

背景技术

[0002] 在经典的免疫分析方法中,抗原抗体之间的高亲和、特异性识别构成了分析的基础。亲和作用是特定生物分子结构下配体和受体间一系列非共价力(亲疏水作用、静电作用、氢键等)的总称,多重弱力的综合作用保证了亲和双方的稳定结合。然而,在复杂体系中存在的非目标物质可能在不同程度上对亲和配体和受体产生吸附,称为“非特异性吸附”。在实际实验操作与相关器件设计中,通常需加入封闭剂与传感界面的活性位点结合,以降低非特异性吸附,同时不干扰体系中目标亲和反应的正常进行。

[0003] 本申请发明人在长期研发过程中发现,在传统免疫亲和反应中,通常由廉价易得的蛋白质作为单一封闭剂,如牛血清蛋白(BSA)和卵清蛋白(OVA)等。但对于某些特定的项目来说,还是没有很好的封闭效果,会产生很高的背景信号,严重影响检测结果的灵敏度和特异性。

发明内容

[0004] 本申请主要解决的技术问题是提供一种免疫检测组合物、制备方法、试剂盒以及应用,能够解决蛋白质作为单一封闭剂时,由于封闭效果不好,产生高背景信号,从而影响检测结果的灵敏度和特异性的问题。

[0005] 为解决上述技术问题,本申请采用的一个技术方案是:提供一种免疫捕获组合物,免疫捕获组合物包括:固相载体;至少一个第一配体,固定于固相载体表面;以及修饰于固相载体表面的至少第一封闭化合物和第二封闭化合物,第一封闭化合物和第二封闭化合物用于封闭固相载体表面的活性位点;其中,第一封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第二封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第一封闭化合物不同于第二封闭化合物。

[0006] 其中,免疫捕获组合物进一步包括:修饰于固相载体表面的第三封闭化合物;其中,第三封闭化合物为含有伯氨基的小分子化合物。

[0007] 其中,多羟基糖类化合物为葡萄糖、蔗糖、乳糖、海藻糖、葡聚糖、甘露醇或聚蔗糖中的至少一种;蛋白质类化合物为牛血清白蛋白、人血清白蛋白、酪蛋白、明胶、酪蛋白水解物、免疫球蛋白、奶粉、人或动物血清中的至少一种;含有伯氨基的小分子化合物为三羟甲基氨基甲烷、乙醇胺、羟胺、己胺或甘氨酸中的至少一种。

[0008] 其中,至少一个第一配体为抗体或抗原。

[0009] 其中,固相载体为微孔板、玻璃片、微流控芯片、胶乳、磁性或非磁性的高分子微球、金属纳米颗粒、金属合金纳米颗粒、无机微球、无机/有机杂化微球、荧光纳米颗粒、磁珠、多功能荧光磁珠中的至少一种;金属纳米颗粒包括但不限于金纳米颗粒或银纳米颗粒。

[0010] 其中,固相载体为高分子微球,高分子微球的粒径为1-10 μm ,高分子微球的表面具有功能基团,功能基团用于偶联至少一个第一配体;功能基团为羧基、羟基、氨基、甲苯磺酰基、氯甲基、巯基、醛基、酰肼、硅羟基、琥珀酰亚胺酯、环氧基中的至少一种。

[0011] 其中,至少一个第一配体包括:第一抗体和第二抗体;其中,第一抗体和第二抗体与同种待测抗原发生特异性结合作用。

[0012] 其中,第一封闭化合物和第二封闭化合物的质量之和与固相载体的质量的比值为(0.01-10):100。

[0013] 其中,第一封闭化合物、第二封闭化合物以及第三封闭组合物的质量之和与固相载体的质量的比值为(0.01-10):100。

[0014] 为解决上述技术问题,本申请采用的一个技术方案是:提供一种免疫捕获组合物的制备方法,制备方法包括:提供一固相载体;将至少一个第一配体固定于固相载体表面,以得到包被有至少一个第一配体的固相载体;加入含有第一封闭化合物的第一封闭液,反应1-24小时,以封闭固相载体表面的活性位点,并得到表面修饰有第一封闭化合物的固相载体;加入含有第二封闭化合物的第二封闭液,反应1-24小时,以封闭固相载体表面的活性位点,并得到表面修饰有第二封闭化合物的固相载体;其中,第一封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第二封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第一封闭化合物不同于第二封闭化合物。

[0015] 其中,在加入含有第一封闭化合物的第一封闭液,反应1-24小时,以封闭固相载体表面的活性位点,并得到表面修饰有第一封闭化合物的固相载体的步骤之前,制备方法进一步包括:加入含有第三封闭化合物的第三封闭液,反应0.5-2小时,以封闭固相载体表面的活性位点,并得到表面修饰有第三封闭化合物的固相载体;第三封闭化合物为含有伯胺基的小分子化合物。

[0016] 其中,第一封闭化合物为多羟基糖类化合物;第二封闭化合物为蛋白质类化合物。

[0017] 其中,第一封闭化合物、第二封闭化合物以及第三封闭化合物通过静电作用、疏水作用、氢键、分子间力、生物分子间的特异作用或共价键中的至少一种修饰于固相载体表面。

[0018] 其中,将至少一个第一配体固定于固相载体表面,以得到包被有至少一个第一配体的固相载体的步骤包括:将至少一个第一配体直接固定于固相载体上;或通过蛋白A和/或蛋白G、二抗与一抗、或者亲和素和生物素的特异性亲和反应中的至少一种方式,将至少一个第一配体间接固定于固相载体上。

[0019] 为解决上述技术问题,本申请采用的一个技术方案是:提供如前述的免疫检测组合物在心肌检测、高血压检测、甲状腺检测、心血管检测、性腺检测、肾功能检测、骨代谢检测、糖代谢检测、传染病检测、自身免疫性疾病检测、产前筛查、药物检测、肝纤维化检测、EB病毒检测、炎症监测或肿瘤检测中的应用。

[0020] 为解决上述技术问题,本申请采用的一个技术方案是:提供一种免疫检测试剂盒,免疫检测试剂盒包括:如前述的免疫捕获组合物;以及,免疫检测组合物,免疫检测组合物包括至少一个第二配体和信号示踪物;信号示踪物为酶示踪物、化学发光示踪物、或荧光示踪物中的至少一种。

[0021] 其中,信号示踪物为荧光示踪物,且荧光示踪物不同于免疫捕获组合物中的荧光

标记物。

[0022] 其中,至少一个第二配体为抗体或抗原。

[0023] 其中,至少一个第二配体包括:第三抗体和第四抗体;免疫捕获组合物的第一抗体与第三抗体、待测抗原进行特异性结合;免疫捕获组合物的第二抗体与第四抗体、待测抗原进行特异性结合。

[0024] 其中,上述待测抗原包括蛋白质、多肽、激素、糖类、酶、药物、核酸、小分子化合物、或金属离子。

[0025] 其中,免疫检测试剂盒进一步包括:至少一个试剂管,试剂管内设有悬浮液;免疫捕获组合物以及免疫检测组合物溶于悬浮液内;其中,悬浮液包括缓冲液、表面活性剂、无机盐、稳定剂以及防腐剂。为解决上述技术问题,本申请采用的一个技术方案是:提供如前述的免疫检测试剂盒在心肌检测、高血压检测、甲状腺检测、心血管检测、性腺检测、肾功能检测、骨代谢检测、糖代谢检测、传染病检测、自身免疫性疾病检测、产前筛查、药物检测、肝纤维化检测、EB病毒检测、炎症监测或肿瘤检测中的应用。

[0026] 为解决上述技术问题,本申请采用的一个技术方案是:提供一种免疫检测方法,免疫检测方法基于如前述的免疫检测试剂盒,免疫检测方法包括:提供一免疫捕获组合物,其中,免疫捕获组合物包括:至少一个第一配体,固定于固相载体表面,以及修饰于固相载体表面的至少第一封闭化合物和第二封闭化合物,第一封闭化合物和第二封闭化合物用于封闭固相载体表面的活性位点,其中,第一封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第二封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第一封闭化合物不同于第二封闭化合物;向检测体系中加入待测样本和免疫捕获组合物;向检测体系中加入至少一个免疫检测组合物;孵育,磁分离;分别检测免疫捕获组合物和免疫检测组合物的荧光信号。其中,第一配体为NT-ProBNP捕获抗体、肌钙蛋白捕获抗体、甲胎蛋白捕获抗体、癌胚捕获抗体、HIV捕获抗体、乙肝表面捕获抗体、甲状腺球蛋白捕获抗体、肌钙蛋白T捕获抗体或肌红蛋白捕获抗体。

[0027] 为解决上述技术问题,本申请采用的一个技术方案是:提供一种免疫荧光分析系统,包括:如前述的免疫检测试剂盒;以及用以检测免疫检测试剂盒的荧光信号的光学检测机构;免疫荧光分析系统用于心肌检测、高血压检测、甲状腺检测、心血管检测、性腺检测、肾功能检测、骨代谢检测、糖代谢检测、传染病检测、自身免疫性疾病检测、产前筛查、药物检测、肝纤维化检测、EB病毒检测、炎症监测或肿瘤检测。

[0028] 本申请的有益效果是:区别于现有技术的情况,本申请中固相载体表面修饰有第一封闭化合物和第二封闭化合物,该第一封闭化合物和第二封闭化合物用于封闭活性位点,其中,第一封闭化合物为多羟基糖类化合物,第二封闭化合物为蛋白质类化合物,因此能够通过两种封闭化合物封闭固相载体表面中大多数甚至全部活性位点,因此干扰物质对固相载体的非特异性吸附被有效抑制。特别是在固相载体上固定有多个配体并进行分类检测时,采用本申请的封闭策略对固相载体进行封闭的效果显著优于传统的蛋白质作为单一封闭剂的封闭策略,有效提高封闭效果,能够消除非特异性吸附的影响,且减少对获得的有效数据量的影响,以及提高检测的灵敏度和特异性。

附图说明

[0029] 为了更清楚地说明本申请实施例中的技术方案,下面将对实施例描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本申请的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。其中:

[0030] 图1是本申请一种免疫检测组合物的制备方法一实施方式的流程示意图;

[0031] 图2是本申请一种免疫检测方法一实施方式的流程示意图。

具体实施方式

[0032] 下面将结合本申请实施例中的附图,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的劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本申请保护的范围。

[0033] 本申请提供一种免疫捕获组合物,免疫捕获组合物包括:固相载体;至少一个第一配体,固定于固相载体表面;以及修饰于固相载体表面的至少第一封闭化合物和第二封闭化合物,第一封闭化合物和第二封闭化合物用于封闭固相载体表面的活性位点;其中,第一封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第二封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第一封闭化合物不同于第二封闭化合物。

[0034] 具体的,固相载体可以为多个,每一第一配体对应固定于每一固相载体表面;或者多个第一配体对应每一固相载体表面,此时多个第一配体种类相同,但性能参数等可以不同,包括但不限于亲和力常数等。

[0035] 具体的,第一配体通常为抗原或抗体,将抗原或抗体固定化的过程称为包被,即包被为抗原或抗体结合到固相载体表面的过程。抗体或抗原可以通过物理吸附、共价结合、亲和作用(如蛋白A或/和蛋白G、二抗与一抗、或者亲和素和生物素)等与固相载体结合,而物理吸附靠的则是包被物上的疏水基团与固相载体表面的疏水基团间的相互作用、或静电相互作用。这种物理吸附是非特异性的,受包被物种类、分子量、等电点、pH值、离子强度、浓度等的影响。共价结合是通过包被物和载体上的活性功能基团形成共价键而完成包被。亲和作用则是通过生物分子间的亲和作用完成包被。

[0036] 在包被过程中,包被物通过以上的几种作用固定在固相载体表面,但在固相载体的表面还有一些未被目标包被物占据的活性位点存在。这些位点的存在就会引起固相载体的非特异性结合,从而会产生高的背景信号,会影响到检测结果的灵敏度、准确性和特异性。为此必须对这些非特异性结合位点进行封闭。封闭是继包被之后用高浓度的封闭剂,如本申请中的第一封闭化合物、第二封闭化合物或者第三封闭化合物再包被的过程,就是让大量不相关的第一封闭化合物、第二封闭化合物占据这些残余的位点,从而抑制在其后的免疫反应步骤中各种干扰物质的非特异性吸附,从而降低背景信号,改善免疫反应灵敏度、准确性和特异性。

[0037] 封闭的程序与包被过程相类似。现有技术中最常用的封闭剂是0.05%-10%的蛋白质类,如牛血清蛋白(BSA)等,本申请发明人发现,在传统免疫亲和反应中,对于某些特定的检测项目来说,蛋白质类封闭剂的封闭效果不佳,会产生较高的背景信号,从而影响检测

结果的灵敏度、准确性和特异性。本申请发现当使用多羟基糖类化合物和蛋白质类化合物对固相载体表面进行封闭,可以得到很好的封闭效果。

[0038] 区别于现有技术的情况,本实施例中固相载体表面修饰有第一封闭化合物和第二封闭化合物,该第一封闭化合物和第二封闭化合物用于封闭残余活性位点,其中,第一封闭化合物为多羟基糖类化合物,第二封闭化合物为蛋白质类化合物,因此能够通过两种封闭化合物封闭固相载体表面中大多数甚至全部活性位点,因此干扰物质对固相载体的非特异性吸附被有效抑制。采用本申请的封闭策略对固相载体进行封闭的效果显著优于传统的蛋白质作为单一封闭剂的封闭策略,有效提高封闭效果,提高检测结果的灵敏度、准确性和特异性。

[0039] 需要注意的是,本申请的免疫捕获组合物可以用于化学发光免疫分析法、电化学发光免疫分析法、酶联免疫吸附测定法(enzyme-linked immuno sorbent assay, ELISA)、酶促免疫分析法、生物素-亲和素系统测定法、放射免疫测定法、免疫荧光分析法中的至少一种方法。其中,ELISA的基础是抗原或抗体的固相化及抗原或抗体的酶标记。可以理解的,免疫捕获组合物中的第一配体包括但不限于多种抗体和/或抗原,根据检测方法学的不同,其组成有差异。例如,采用双抗体夹心法时,第一配体为单一抗体或多种抗体;采用竞争法检测时,第一配体包括单一抗体或多种抗体以及第一抗原或多种抗原;采用双抗原夹心法时,第一配体包括单一抗体或多种抗原。当然,第一配体的具体组成应包括但不限于上述方式,其应包括本领域的所有检测方法学,例如间接法等。

[0040] 在一实施例中,该组合物进一步包括:修饰于固相载体表面的第三封闭化合物;其中,第三封闭化合物为含有伯氨基($-NH_2$)的小分子化合物。

[0041] 具体的,在修饰有多羟基糖类化合物和蛋白质类化合物之前用含伯胺基($-NH_2$)的小分子化合物先进行封闭,以钝化残留的活性基团。

[0042] 在一实施例中,多羟基糖类化合物可以为葡萄糖、蔗糖、乳糖、海藻糖、葡聚糖、甘露醇或聚蔗糖中的至少一种;蛋白质类化合物可以为牛血清白蛋白、人血清白蛋白、酪蛋白、明胶、酪蛋白水解物、免疫球蛋白、奶粉、人或动物血清中的至少一种;含有伯氨基的小分子化合物可以为三羟甲基氨基甲烷、乙醇胺、羟胺、己胺或甘氨酸中的至少一种。

[0043] 在一实施例中,固相载体为微孔板、玻璃片、微流控芯片、胶乳、高分子微球、金属纳米颗粒、金属合金纳米颗粒、无机微球、无机/有机杂化微球、荧光纳米颗粒、磁珠、多功能荧光磁珠中的至少一种;金属纳米颗粒包括但不限于金纳米颗粒或银纳米颗粒。

[0044] 具体的,可以选用商业化羧基修饰的超顺磁性微球作为磁珠载体,经缓冲液进行清洗后,按1:1的体积比加入1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)-碳化二亚胺溶液,在室温下避光振荡反应30-60分钟后进行磁性分离,得到活化的磁珠。

[0045] 优选地,固相载体为高分子微球,高分子微球的粒径为1-10 μm ,高分子微球的表面具有功能基团,功能基团用于共价偶联所述至少一个第一配体;功能基团为羧基、羟基、氨基、甲苯磺酰基、氯甲基、巯基、醛基、酰肼、硅羟基、琥珀酰亚胺酯、环氧基中的至少一种。

[0046] 在一实施例中,第一封闭化合物和第二封闭化合物的质量之和与固相载体的质量的比值为(0.01-10):100,例如,0.01:100、0.1:100、1:100或10:100。

[0047] 具体的,可以根据第一封闭化合物和第二封闭化合物的质量之和与固相载体的质量的比值,配置浓度为1-100%(例如,1%、5%、10%、50%或100%)的第一封闭化合物溶液

和浓度为1-100% (例如,1%、5%、10%、50%或100%)的第二封闭化合物溶液。

[0048] 在一实施例中,第一封闭化合物、第二封闭化合物以及第三封闭组合物的质量之和与固相载体的质量的比值为(0.01-10):100,例如,0.01:100、0.1:100、1:100或10:100。

[0049] 具体的,可以根据第一封闭化合物和第二封闭化合物的质量之和与固相载体的质量的比值,配置浓度为1-100% (例如,1%、5%、10%、50%或100%)的第一封闭化合物溶液、浓度为1-100% (例如,1%、5%、10%、50%或100%)的第二封闭化合物溶液以及浓度为1-100% (例如,1%、5%、10%、50%或100%)的第三封闭化合物溶液

[0050] 优选地,至少一个第一配体为抗体。

[0051] 其中,至少一个第一配体包括:第一抗体和第二抗体;其中,第一抗体和第二抗体与同种待测抗原发生特异性结合作用。

[0052] 具体的,第一抗体和第二抗体可以为捕获抗体。在进行荧光免疫多通量检测时,会在高分子微球上包被有第一抗体和第二抗体。第一抗体和第二抗体为同种抗体,第一抗体和第二抗体与同种待测抗原发生特异性结合作用。

[0053] 其中,在进行荧光免疫多通量检测时,加入的待测抗原中的蛋白质类化合物、多羟基糖类化合物或者含有伯氨基的小分子化合物会部分的吸附于高分子微球表面,这种非特异性吸附不仅会降低高分子微球的特异性分离效果,而且在荧光免疫多通量检测中会增加背景信号,进而降低信噪比。进一步地,高分子微球的内部和/或表面至少含有一种荧光化合物,以对实现荧光免疫分类检测,由于高分子微球的结构相对复杂,因此会带来更多的背景信号。因此,消除非特异性吸附的影响尤为重要,采用本申请的封闭策略对固相载体进行封闭的效果显著优于传统的蛋白质作为单一封闭剂的封闭策略,有效提高封闭效果,能够消除非特异性吸附的影响,且减少对获得的有效数据量的影响,以及提高检测的灵敏度和特异性。

[0054] 参阅图1,本申请提供了一种免疫检测组合物的制备方法,该制备方法包括以下步骤:

[0055] S101:提供一固相载体。

[0056] 具体的,固相载体为微孔板、玻璃片、微流控芯片、胶乳、高分子微球、金属纳米颗粒、金属合金纳米颗粒、无机微球、无机/有机杂化微球、荧光纳米颗粒、磁珠、多功能荧光磁珠中的至少一种;金属纳米颗粒包括但不限于金纳米颗粒或银纳米颗粒。优选地,固相载体为高分子微球。

[0057] 可以选用商业化羧基修饰的超顺磁性微球作为磁珠载体,经缓冲液进行清洗后,按1:1的体积比加入1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺溶液,在室温下避光振荡反应30-60分钟后进行磁性分离,得到活化的磁珠。

[0058] S102:将至少一个第一配体固定于固相载体表面,以得到包被有至少一个第一配体的固相载体。

[0059] 优选地,配体为抗体或抗原。

[0060] 可以用缓冲溶液将抗体稀释至浓度为1.0-1000 μ g/mL的抗体溶液,加入100 μ L,4-6 $^{\circ}$ C反应8-12小时,以得到包被有配体的固相载体。其中,缓冲溶液可以为碳酸钠/碳酸氢钠缓冲液、乙酸/乙酸钾缓冲液、三羟甲基氨基甲烷/盐酸缓冲液、3-(N-吗啉基)丙磺酸钠盐/盐酸缓冲液、2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液(MES缓冲液)、磷酸盐缓冲液、硼酸盐缓冲液、

MOPS、HEPES、Good's buffer中的至少一种。

[0061] S103:加入含有第一封闭化合物的第一封闭液,反应1-24小时,以封闭固相载体表面的活性位点,并得到表面修饰有第一封闭化合物的固相载体。

[0062] 具体的,第一封闭化合物可以为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物。多羟基糖类化合物可以为葡萄糖、蔗糖、乳糖、海藻糖、葡聚糖、甘露醇或聚蔗糖中的至少一种。蛋白质类化合物可以为牛血清白蛋白、人血清白蛋白、酪蛋白、明胶、酪蛋白水解物、免疫球蛋白、奶粉、人或动物血清中的至少一种。

[0063] 可以用缓冲溶液将多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物稀释至浓度为0.01%-10%的溶液,加入1-1000 μ L,37 $^{\circ}$ C反应1-24小时(例如1小时、4小时、12小时或24小时),以得到修饰有第一封闭化合物的固相载体。其中,缓冲溶液可以为碳酸钠/碳酸氢钠缓冲液、乙酸/乙酸钾缓冲液、三羟甲基氨基甲烷/盐酸缓冲液、3-(N-吗啉基)丙磺酸钠盐/盐酸缓冲液、2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液(MES缓冲液)、磷酸盐缓冲液、硼酸盐缓冲液、MOPS、HEPES、Good's buffer中的至少一种。

[0064] S104:加入含有第二封闭化合物的第二封闭液,反应1-24小时,以封闭固相载体表面的活性位点,并得到表面修饰有第二封闭化合物的固相载体。

[0065] 具体的,第二封闭化合物可以为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第一封闭化合物不同于第二封闭化合物。在第一封闭化合物为多羟基糖类化合物时,第二封闭化合物为蛋白质类化合物。在第一封闭化合物为蛋白质类化合物时,第二封闭化合物为多羟基糖类化合物。

[0066] 可以用缓冲溶液将多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物稀释至浓度为0.01-10%的溶液,加入1-1000 μ L,37 $^{\circ}$ C反应1-24小时(例如1小时、4小时、12小时或24小时),以得到修饰有第二封闭化合物的固相载体。其中,缓冲溶液可以为碳酸钠/碳酸氢钠缓冲液、乙酸/乙酸钾缓冲液、三羟甲基氨基甲烷/盐酸缓冲液、3-(N-吗啉基)丙磺酸钠盐/盐酸缓冲液、2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液(MES缓冲液)、磷酸盐缓冲液、硼酸盐缓冲液、MOPS、HEPES、Good's buffer中的至少一种。

[0067] 区别于现有技术的情况,本实施例中固相载体表面修饰有第一封闭化合物和第二封闭化合物,该第一封闭化合物和第二封闭化合物用于封闭活性位点,其中,第一封闭化合物为多羟基糖类化合物,第二封闭化合物为蛋白质类化合物,因此能够通过两种封闭化合物封闭固相载体表面中大多数甚至全部活性位点,因此干扰物质对固相载体的非特异性吸附被有效抑制。特别是在固相载体上固定有多个配体并进行分类检测时,采用本实施例的封闭策略对固相载体进行封闭的效果显著优于传统的蛋白质作为单一封闭剂的封闭策略,有效提高封闭效果,能够消除非特异性吸附的影响,且减少对获得的有效数据量的影响,以及提高检测的灵敏度和特异性。

[0068] 在一实施例中,在步骤S103之前,该制备方法进一步包括以下步骤:加入含有第三封闭化合物的第三封闭液,反应0.5-2小时,以封闭固相载体表面的活性位点,并得到表面修饰有第三封闭化合物的固相载体。其中,第三封闭化合物为含伯胺基的小分子化合物。

[0069] 具体的,含伯胺基的小分子化合物可以为三羟甲基氨基甲烷、乙醇胺、羟胺、己胺或甘氨酸中的至少一种。可以用缓冲溶液将其稀释至浓度为0.01%-10%的溶液,加入1-1000 μ L,37 $^{\circ}$ C反应0.5-2小时(例如0.5小时、1小时或2小时),以得到修饰有第三封闭化合物

的固相载体。其中,缓冲溶液可以为碳酸钠/碳酸氢钠缓冲液、乙酸/乙酸钾缓冲液、三羟甲基氨基甲烷/盐酸缓冲液、3-(N-吗啉基)丙磺酸钠盐/盐酸缓冲液、2-(N-吗啡啉)乙磺酸缓冲液(MES缓冲液)、磷酸盐缓冲液、硼酸盐缓冲液、MOPS、HEPES、Good's buffer中的至少一种。

[0070] 通过上述方式,在表面修饰多羟基糖类化合物和蛋白质类化合物之前用含伯胺基的小分子量化合物进行预封闭,可以进一步提高封闭的效果。

[0071] 在一实施例中,第一封闭化合物、第二封闭化合物以及第三封闭化合物通过静电作用、疏水作用、氢键、分子间力、生物分子间的特异作用或共价键中的至少一种修饰于所述固相载体表面。

[0072] 在一实施例中,将配体固定于固相载体表面的步骤包括:将配体直接固定于固相载体上。或者通过如蛋白A和/或蛋白G、二抗与一抗、亲和素和生物素的特异性亲和反应将配体间接固定于固相载体上。

[0073] 具体的,包被方法包括直接包被法和间接包被法,直接包被法为将配体直接固定于固相载体上。间接包被法为通过如蛋白A和/或蛋白G、二抗与一抗、亲和素和生物素的特异性亲和反应将配体间接固定于固相载体上。

[0074] 本申请提供了如前述的免疫检测组合物在心肌检测、高血压检测、甲状腺检测、心血管检测、性腺检测、肾功能检测、骨代谢检测、糖代谢检测、传染病检测、自身免疫性疾病检测、产前筛查、药物检测、肝纤维化检测、EB病毒检测、炎症监测或肿瘤检测中的应用。

[0075] 本申请提供了一种免疫检测试剂盒,免疫检测试剂盒包括如免疫捕获组合物;以及,免疫检测组合物,免疫检测组合物包括至少一个第二配体和信号示踪物;信号示踪物为酶示踪物、化学发光示踪物、或荧光示踪物中的至少一种。具体的,至少一个第二配体为抗体或抗原。

[0076] 优选地,第二配体可以为检测抗体。在免疫检测试剂盒使用时,首先捕获抗体结合待测抗原,形成的抗原抗体复合物与检测抗体结合,反应过程中会形成固相载体-捕获抗体-待测抗原-检测抗体复合物。

[0077] 免疫捕获组合物的具体描述请参见上述实施例中的免疫捕获组合物,在此不做赘述。采用本申请的免疫检测试剂盒进行封闭的效果显著优于传统的蛋白质作为单一封闭剂的封闭策略,有效提高封闭效果,能够消除非特异性吸附的影响,且减少对获得的有效数据量的影响,以及提高检测的灵敏度和特异性。

[0078] 优选地,信号示踪物为荧光示踪物,且荧光示踪物不同于免疫捕获组合物中的荧光标记物。荧光示踪物与荧光标记物可以具有不同的荧光强度,例如荧光示踪物与荧光标记物可以为不同种类的荧光化合物,或者,荧光示踪物与荧光标记物可以为粒径不同的相同种类的荧光化合物。

[0079] 进一步地,免疫检测组合物可以包括分别与检测抗体连接的荧光标记物和荧光增强颗粒,其中,荧光增强颗粒包括纳米金属颗粒。本实施方式在检测抗体上连接纳米金属颗粒和荧光标记物,金属纳米颗粒产生的等离子体共振使荧光标记物发出的荧光信号得到增强,能够有效提高检测灵敏度。

[0080] 其中,至少一个第二配体包括:第三抗体和第四抗体;免疫捕获组合物的第一抗体与第三抗体、待测抗原进行特异性结合;免疫捕获组合物的第二抗体与第四抗体、该待测抗

原进行特异性结合。

[0081] 具体地,第三抗体、第四抗体可以为检测抗体。在免疫检测试剂盒使用时,首先第一抗体结合待测抗原,形成的抗原抗体复合物与第三抗体结合,反应过程中会形成固相载体-第一抗体-待测抗原-第三抗体复合物。第二抗体结合待测抗原,形成的抗原抗体复合物与第四抗体结合,反应过程中会形成固相载体-第二抗体-待测抗原-第四抗体复合物。

[0082] 在一实施例中,免疫检测试剂盒进一步包括:至少一个试剂管,试剂管内设有悬浮液;免疫捕获组合物以及免疫检测组合物溶于悬浮液内;其中,悬浮液包括缓冲液、表面活性剂、无机盐、稳定剂以及防腐剂。可以理解的,悬浮液可以包含多个捕获免疫组合物和多个检测免疫组合物,每一捕获免疫组合物和检测免疫组合物内又可分别包含多个单一的第一配体和多个单一的第二配体。

[0083] 具体的,悬浮液包括缓冲液、表面活性剂、无机盐、稳定剂以及防腐剂。其中,缓冲液的pH范围在7.0-9.0之间,缓冲液的浓度范围为10-100mmol/L。缓冲液为3-(N-吗啉基)丙磺酸-氢氧化钠缓冲液(MOPS-NaOH)、3-[N,N-二(羟乙基)氨基]-2-羟基丙磺酸-氢氧化钠缓冲液(DIPSO-NaOH)、4-(2-羟乙基)-1-哌嗪丙磺酸-氢氧化钠缓冲液(HEPPS-NaOH)、三羟甲基氨基甲烷-HCl缓冲液(Tris-HCl)、N-(2-羟乙基)哌嗪-N'-2-乙烷磺酸-NaOH缓冲液(HEPES-NaOH)、磷酸盐缓冲液、硼酸盐缓冲液、咪唑缓冲液、柠檬酸缓冲液、甘氨酸-NaOH缓冲液或巴比妥缓冲液中的至少一种。稳定剂为明胶、牛血清白蛋白或酪蛋白。无机盐为氯化钠、氯化钾、氯化钙、氯化铵、氯化镁、硫酸钠或硫酸钾中的至少一种。表面活性剂为吐温20或曲拉通X-100。稳定剂为浓度1%-5%的蔗糖、海藻糖、甘油、甘露醇、聚乙二醇、聚乙烯比咯烷酮或乙二胺四乙酸二钠的至少一种。防腐剂为叠氮钠、硫柳汞或Proclin-300中的至少一种。

[0084] 为了进一步提高上述免疫检测试剂盒在自动化免疫检测设备中的应用便利性,在本申请一种优选的实施例中,上述试剂盒还包括校准品和质控品。校准品和质控品采用现有的检测免疫检测试剂盒中常用的校准品和质控品即可。

[0085] 本申请提供了如前述的免疫检测组合物在免疫检测中的应用。

[0086] 请参阅图2,本申请提供一种免疫检测方法,该免疫检测方法基于前述的免疫检测试剂盒,该免疫检测方法包括以下步骤:

[0087] S201:提供一免疫捕获组合物。

[0088] 具体的,免疫捕获组合物包括:至少一个第一配体,固定于固相载体表面,以及修饰于固相载体表面的至少第一封闭化合物和第二封闭化合物,第一封闭化合物和第二封闭化合物用于封闭固相载体表面的活性位点,其中,第一封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第二封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物,第一封闭化合物不同于第二封闭化合物。其中,制备免疫捕获组合物的具体描述请参见上述实施例中的免疫捕获组合物的制备方法,在此不做赘述。

[0089] S202:向检测体系中加入待测样本和免疫捕获组合物。

[0090] 具体的,向检测体系中加入步骤S102制得的免疫捕获组合物以及待测样本,反应10-30分钟(例如10分钟、20分钟或30分钟)后可以形成:待测抗原-第一抗体-固相载体-第二抗体-待测抗原。

[0091] S203:向检测体系中加入至少一个免疫检测组合物。

[0092] 具体的,第二配体可以为生物素化检测抗体,例如,将检测抗体与生物素反应,制备得到生物素标记的检测抗体,即为生物素化检测抗体。其中,生物素化抗体的制备为本领域常规技术手段,在此不做赘述。加入生物素化检测抗体,室温孵育,形成固相载体-第一抗体-待测抗原-检测抗体-生物素复合物、固相载体-第二抗体-待测抗原-检测抗体-生物素复合物、或生物素-检测抗体-待测抗原-第一抗体-固相载体-第二抗体-待测抗原-检测抗体-生物素复合物。

[0093] 具体的,将检测抗体与生物素反应,制备得到生物素标记的检测抗体,即为生物素化检测抗体。其中,生物素化检测抗体的制备为本领域常规技术手段,在此不做赘述。

[0094] 信号示踪物为酶示踪物、化学发光示踪物、或荧光示踪物中的至少一种。优选地,信号示踪物可以为链霉亲和素-藻红蛋白,向检测体系中加入链霉亲和素-藻红蛋白,以使检测抗体与链霉亲和素-藻红蛋白结合。

[0095] 加入链霉亲和素-藻红蛋白(SAPE),室温孵育,可以形成固相载体-第一抗体-待测抗原-检测抗体-生物素-SAPE复合物、固相载体-第二抗体-待测抗原-检测抗体-生物素-SAPE复合物、或SAPE-生物素-检测抗体-待测抗原-第一抗体-固相载体-第二抗体-待测抗原-检测抗体-生物素-SAPE复合物。

[0096] 信号示踪物可以为异硫氰酸荧光素、藻红蛋白、藻红蛋白-德州红或藻红蛋白-花青苷中的至少一种。

[0097] S204:孵育,磁分离。

[0098] S205:分别检测免疫捕获组合物和免疫检测组合物的荧光信号。

[0099] 具体的,可以以流式细胞仪为检测工具,方法学模式为双抗体夹心法,检测光敏物质SA-PE产生的信号强度。

[0100] 其中,第一配体为NT-ProBNP捕获抗体、肌钙蛋白捕获抗体、甲胎蛋白捕获抗体、癌胚捕获抗体、HIV捕获抗体、乙肝表面捕获抗体、甲状腺球蛋白捕获抗体、肌钙蛋白T捕获抗体或肌红蛋白捕获抗体。

[0101] 下面结合实施例对本申请作进一步描述:

[0102] 实施例1

[0103] 免疫检测组合物1包括如下组分:

[0104] (1) 固相载体:表面羧基化磁珠,直径为1-10 μ m;

[0105] (2) 配体:氮末端脑钠肽捕获抗体;

[0106] (3) 第一封闭化合物:海藻糖;

[0107] (4) 第二封闭化合物:牛血清白蛋白。

[0108] 免疫检测组合物1的制备包括如下步骤:

[0109] 步骤(1):先用MES缓冲液(50mM,pH6)清洗1mg表面羧基化磁珠(以下简称磁珠)两次,磁分离后,用MES缓冲液重新悬浮磁珠,分别加入N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)和1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)各100 μ g,其中,NHS和EDC分别用50mM,pH6的MES缓冲液溶解,室温下活化30分钟。用PBS缓冲液(10mM,0.1%Tween20)清洗两次以进行磁分离。加入氮末端脑钠肽捕获抗体40 μ g(溶解在PBS缓冲液中),室温反应2个小时。磁分离后用PBS缓冲液(10mM,0.1%Tween20)清洗两次,以得到包被有氮末端脑钠肽捕获抗体的磁珠。

[0110] 步骤(2):加入0.5mL第一封闭化合物溶液(5%海藻糖,溶解于10mM PBS缓冲溶液,

pH7.4), 室温封闭2个小时。

[0111] 步骤(3): 加入0.5mL第二封闭化合物溶液(1%牛血清白蛋白, 溶解于10mM PBS缓冲溶液, pH7.4) 室温封闭1小时。

[0112] 步骤(4): 封闭完成后, 磁分离清洗两次。

[0113] 步骤(5): 加入PBS-TBN (10mM, 0.05% Tween 20, 0.1% BSA, pH7.4) 缓冲液, 磁珠浓度为0.2mg/mL, 2-8℃避光保存。

[0114] 实施例2

[0115] 免疫检测组合物2包括如下组分:

[0116] (1) 固相载体: 表面羧基化磁珠, 直径为6μm;

[0117] (2) 配体: 氮末端脑钠肽捕获抗体;

[0118] (3) 第一封闭化合物: 牛血清白蛋白;

[0119] (4) 第二封闭化合物: 海藻糖。

[0120] 免疫检测组合物2的制备包括如下步骤:

[0121] 步骤(1): 先用MES缓冲液(50mM, pH6) 清洗1mg表面羧基化磁珠(以下简称磁珠) 两次, 磁分离后, 用MES缓冲液重新悬浮磁珠, 分别加入N-羟基琥珀酰亚胺(NHS) 和1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC) 各100μg, 其中, NHS和EDC分别用50mM, pH6的MES缓冲液溶解, 室温下活化30分钟。用PBS缓冲液(10mM, 0.1% Tween20) 清洗两次以进行磁分离。加入氮末端脑钠肽捕获抗体40μg(溶解在PBS缓冲液中), 室温反应2个小时。磁分离后用PBS缓冲液(10mM, 0.1% Tween20) 清洗两次, 以得到包被有氮末端脑钠肽捕获抗体的磁珠。

[0122] 步骤(2): 加入0.5mL第一封闭化合物溶液(1%牛血清白蛋白, 溶解于10mM PBS缓冲溶液, pH7.4), 室温封闭1个小时。

[0123] 步骤(3): 加入0.5mL第二封闭化合物溶液(5%海藻糖, 溶解于10mM PBS缓冲溶液, pH7.4), 室温封闭2小时。

[0124] 步骤(4): 封闭完成后, 磁分离清洗两次。

[0125] 步骤(5): 加入PBS-TBN (10mM, 0.05% Tween 20, 0.1% BSA, pH7.4) 缓冲液, 磁珠浓度为0.2mg/mL, 2-8℃避光保存。

[0126] 实施例3

[0127] 免疫检测组合物3包括如下组分:

[0128] (1) 固相载体: 表面羧基化磁珠, 直径为6μm;

[0129] (2) 配体: 氮末端脑钠肽捕获抗体;

[0130] (3) 第一封闭化合物: 海藻糖;

[0131] (4) 第三封闭化合物: 乙醇胺。

[0132] 免疫检测组合物3的制备包括如下步骤:

[0133] 步骤(1): 先用MES缓冲液(50mM, pH6) 清洗1mg表面羧基化磁珠(以下简称磁珠) 两次, 磁分离后, 用MES缓冲液重新悬浮磁珠, 分别加入N-羟基琥珀酰亚胺(NHS) 和1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC) 各100μg, 其中, NHS和EDC分别用50mM, pH6的MES缓冲液溶解, 室温下活化30分钟。用PBS缓冲液(10mM, 0.1% Tween20) 清洗两次以进行磁分离。加入氮末端脑钠肽捕获抗体40μg(溶解在PBS缓冲液中), 室温反应2个小时。磁分离后用PBS缓冲液(10mM, 0.1% Tween20) 清洗两次, 以得到包被有氮末端脑钠肽捕获抗体的磁珠。

[0134] 步骤(2):加入0.5mL第三封闭化合物溶液(5%乙醇胺,10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭0.5个小时。

[0135] 步骤(3):加入0.5mL第一封闭化合物溶液(5%海藻糖,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭3小时。

[0136] 步骤(4):封闭完成后,磁分离清洗两次。

[0137] 步骤(5):加入PBS-TBN(10mM,0.05%Tween 20,0.1%BSA,pH7.4)缓冲液,磁珠浓度为0.2mg/mL,2-8℃避光保存。

[0138] 实施例4

[0139] 免疫检测组合物4包括如下组分:

[0140] (1)固相载体:表面羧基化磁珠,直径为6μm;

[0141] (2)配体:氮末端脑钠肽捕获抗体;

[0142] (3)第一封闭化合物:牛血清白蛋白;

[0143] (4)第三封闭化合物:乙醇胺。

[0144] 免疫检测组合物4的制备包括如下步骤:

[0145] 步骤(1):先用MES缓冲液(50mM,pH6)清洗1mg表面羧基化磁珠(以下简称磁珠)两次,磁分离后,用MES缓冲液重新悬浮磁珠,分别加入N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)和1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)各100μg,其中,NHS和EDC分别用50mM,pH6的MES缓冲液溶解,室温下活化30分钟。用PBS缓冲液(10mM,0.1%Tween20)清洗两次以进行磁分离。加入氮末端脑钠肽捕获抗体40μg(溶解在PBS缓冲液中),室温反应2个小时。磁分离后用PBS缓冲液(10mM,0.1%Tween20)清洗两次,以得到包被有氮末端脑钠肽捕获抗体的磁珠。

[0146] 步骤(2):加入0.5mL第三封闭化合物溶液(5%乙醇胺,10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭0.5个小时。

[0147] 步骤(3):加入0.5mL第一封闭化合物溶液(1%牛血清白蛋白,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭3小时。

[0148] 步骤(4):封闭完成后,磁分离清洗两次。

[0149] 步骤(5):加入PBS-TBN(10mM,0.05%Tween 20,0.1%BSA,pH7.4)缓冲液,磁珠浓度为0.2mg/mL,2-8℃避光保存。

[0150] 实施例5

[0151] 免疫检测组合物5包括如下组分:

[0152] (1)固相载体:表面羧基化磁珠,直径为6μm;

[0153] (2)配体:氮末端脑钠肽捕获抗体;

[0154] (3)第一封闭化合物:牛血清白蛋白;

[0155] (4)第二封闭化合物:海藻糖;

[0156] (5)第三封闭化合物:乙醇胺。

[0157] 免疫检测组合物5的制备包括如下步骤:

[0158] 步骤(1):先用MES缓冲液(50mM,pH6)清洗1mg表面羧基化磁珠(以下简称磁珠)两次,磁分离后,用MES缓冲液重新悬浮磁珠,分别加入N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)和1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)各100μg,其中,NHS和EDC分别用50mM,pH6的MES缓冲液溶解,室温下活化30分钟。用PBS缓冲液(10mM,0.1%Tween20)清洗两次以进行磁分离。

加入氮末端脑钠肽捕获抗体40 μ g (溶解在PBS缓冲液中), 室温反应2个小时。磁分离后用PBS缓冲液 (10mM, 0.1% Tween20) 清洗两次, 以得到包被有氮末端脑钠肽捕获抗体的磁珠。

[0159] 步骤(2): 加入0.5mL第三封闭化合物溶液 (5%乙醇胺, 10mM PBS缓冲溶液, pH7.4), 室温封闭0.5个小时。

[0160] 步骤(3): 加入0.5mL第一封闭化合物溶液 (1%牛血清白蛋白, 溶解于10mM PBS缓冲溶液, pH7.4), 室温封闭1小时。

[0161] 步骤(4): 加入0.5mL第二封闭化合物溶液 (5%海藻糖, 溶解于10mM PBS缓冲溶液, pH7.4), 室温封闭2小时。

[0162] 步骤(5): 封闭完成后, 磁分离清洗两次。

[0163] 步骤(6): 加入PBS-TBN (10mM, 0.05% Tween 20, 0.1% BSA, pH7.4) 缓冲液, 磁珠浓度为0.2mg/mL, 2-8 $^{\circ}$ C避光保存。

[0164] 实施例6

[0165] 免疫检测组合物6包括如下组分:

[0166] (1) 固相载体: 表面羧基化磁珠, 直径为6 μ m;

[0167] (2) 配体: 氮末端脑钠肽捕获抗体;

[0168] (3) 第一封闭化合物: 海藻糖;

[0169] (4) 第二封闭化合物: 牛血清白蛋白;

[0170] (5) 第三封闭化合物: 乙醇胺。

[0171] 免疫检测组合物6的制备包括如下步骤:

[0172] 步骤(1): 先用MES缓冲液 (50mM, pH6) 清洗1mg表面羧基化磁珠 (以下简称磁珠) 两次, 磁分离后, 用MES缓冲液重新悬浮磁珠, 分别加入N-羟基琥珀酰亚胺 (NHS) 和1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐 (EDC) 各100 μ g, 其中, NHS和EDC分别用50mM, pH6的MES缓冲液溶解, 室温下活化30分钟。用PBS缓冲液 (10mM, 0.1% Tween20) 清洗两次以进行磁分离。加入氮末端脑钠肽捕获抗体40 μ g (溶解在PBS缓冲液中), 室温反应2个小时。磁分离后用PBS缓冲液 (10mM, 0.1% Tween20) 清洗两次, 以得到包被有氮末端脑钠肽捕获抗体的磁珠。

[0173] 步骤(2): 加入0.5mL第三封闭化合物溶液 (5%乙醇胺, 10mM PBS缓冲溶液, pH7.4), 室温封闭0.5个小时。

[0174] 步骤(3): 加入0.5mL第一封闭化合物溶液 (5%海藻糖, 溶解于10mM PBS缓冲溶液, pH7.4), 室温封闭2小时。

[0175] 步骤(4): 加入0.5mL第二封闭化合物溶液 (1%牛血清白蛋白, 溶解于10mM PBS缓冲溶液, pH7.4), 室温封闭1小时。

[0176] 步骤(5): 封闭完成后, 磁分离清洗两次。

[0177] 步骤(6): 加入PBS-TBN (10mM, 0.05% Tween 20, 0.1% BSA, pH7.4) 缓冲液, 磁珠浓度为0.2mg/mL, 2-8 $^{\circ}$ C避光保存。

[0178] 实施例7

[0179] 实施例1-6所制备的免疫检测组合物在氮末端脑钠肽的免疫检测方法上的应用。

[0180] 氮末端脑钠肽的免疫检测方法包括如下步骤:

[0181] 步骤(1): 制备生物素化氮末端脑钠肽检测抗体

[0182] 取0.1mg氮末端脑钠肽检测抗体, 用NaHCO₃ (100mM, pH8.3) 溶液稀释至浓度为2mg/

mL;加入2 μ L,10mM的(+)生物素-N-琥珀酰亚胺基酯(Biotin-NHS)的DMSO溶液,37℃反应2h。经过Sephadex G-25层析柱,纯化生物素化氮末端脑钠肽检测抗体;加入1mL的PBS-TBN缓冲溶液,pH7.4溶液于2-8℃保存。

[0183] 步骤(2):免疫检测

[0184] 在反应杯中加入10 μ L的待测样品,分别加入50 μ L的实施例1-6和对照组的免疫检测组合物,反应20分钟后,再加100 μ L的生物素化氮末端脑钠肽检测抗体,反应10分钟后,最后加入100 μ L链霉亲和素标记的藻红蛋白(SA-PE)溶液,反应5分钟。磁分离后,加入100 μ L的PBS-TBN缓冲溶液,放入流式细胞仪,进行荧光强度(MFI)的检测。实验结果如表1所示。

[0185] 其中,对照组免疫检测组合物为仅采用牛血清白蛋白封闭溶液(1%牛血清白蛋白,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭3小时制备得到的免疫检测组合物。

[0186] 表1应用实施例1-6所制备的免疫检测组合物的氮末端脑钠肽的免疫检测方法的荧光强度检测结果

[0187]

样本浓度 (ng/mL)	荧光	对照组	实施例					
	强度 (MFI)		实施例 1	实施例 2	实施例 3	实施例 4	实施例 5	实施例 6
0	S0	101	68	75	96	80	73	62
0.1	S1	355	452	449	385	402	445	450
10	S2	32641	38416	37984	32589	32584	36350	38723
信噪比 S1/S0		3.51	6.64	5.98	4.01	5.03	6.09	7.25

[0188] 实施例8

[0189] 免疫检测组合物7包括如下组分:

[0190] (1)固相载体:表面甲苯磺酰基化磁珠,直径为1 μ m;

[0191] (2)配体:甲胎蛋白捕获抗体;

[0192] (3)第一封闭化合物:甘露醇;

[0193] (4)第二封闭化合物:酪蛋白。

[0194] 免疫检测组合物7的制备包括如下步骤:

[0195] 步骤(1):先用0.1M硼酸盐缓冲液清洗50mg表面甲苯磺酰基化磁珠(以下简称磁珠)两次,磁分离后,用0.8mL硼酸盐缓冲液重新悬浮磁珠,加入AFP抗体2mg。最后加入3M硫酸铵溶液0.4mL,37℃下反应24小时。进行磁分离,用PBS缓冲液(10mM,0.05%Tween 20)清洗两次,以得到包被有甲胎蛋白捕获抗体的磁珠。

[0196] 步骤(2):加入0.5mL第一封闭化合物溶液(10%甘露醇,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭4个小时。

[0197] 步骤(3):加入0.5mL第二封闭化合物溶液(1%酪蛋白,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4)室温封闭4小时。

[0198] 步骤(4):封闭完成后,磁分离清洗两次。

[0199] 步骤(5):加入PBS-TBN(10mM,0.05%Tween 20,0.1%牛血清白蛋白,pH7.4)缓冲液,磁珠浓度为0.5mg/mL,2-8℃避光保存。

[0200] 实施例9

[0201] 免疫检测组合剂8包括如下组分:

[0202] (1) 固相载体:表面甲磺酰基化磁珠,直径为1 μ m;

[0203] (2) 配体:甲胎蛋白捕获抗体;

[0204] (3) 第一封闭化合物:酪蛋白;

[0205] (4) 第二封闭化合物:甘露醇。

[0206] 免疫检测组合剂8的制备包括如下步骤:

[0207] 步骤(1):先用0.1M硼酸盐缓冲液清洗50mg表面甲磺酰基化磁珠(以下简称磁珠)两次,磁分离后,用0.8mL硼酸盐缓冲液重新悬浮磁珠,加入AFP抗体2mg。最后加入3M硫酸铵溶液0.4mL,37℃下反应24小时。进行磁分离,用PBS缓冲液(10mM,0.05%Tween 20)清洗两次,以得到包被有甲胎蛋白捕获抗体的磁珠。

[0208] 步骤(2):加入0.5mL第一封闭化合物溶液(1%酪蛋白,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭4个小时。

[0209] 步骤(3):加入0.5mL第二封闭化合物溶液(10%甘露醇,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4)室温封闭4小时。

[0210] 步骤(4):封闭完成后,磁分离清洗两次。

[0211] 步骤(5):加入PBS-TBN(10mM,0.05%Tween 20,0.1%牛血清白蛋白,pH7.4)缓冲液,磁珠浓度为0.5mg/mL,2-8℃避光保存。

[0212] 实施例10

[0213] 免疫检测组合剂9包括如下组分:

[0214] (1) 固相载体:表面甲磺酰基化磁珠,直径为1 μ m;

[0215] (2) 配体:甲胎蛋白捕获抗体;

[0216] (3) 第一封闭化合物:甘露醇;

[0217] (4) 第三封闭化合物:甘氨酸。

[0218] 免疫检测组合剂9的制备包括如下步骤:

[0219] 步骤(1):先用0.1M硼酸盐缓冲液清洗50mg表面甲磺酰基化磁珠(以下简称磁珠)两次,磁分离后,用0.8mL硼酸盐缓冲液重新悬浮磁珠,加入AFP抗体2mg。最后加入3M硫酸铵溶液0.4mL,37℃下反应24小时。进行磁分离,用PBS缓冲液(10mM,0.05%Tween 20)清洗两次,以得到包被有甲胎蛋白捕获抗体的磁珠。

[0220] 步骤(2):加入0.5mL第三封闭化合物溶液,(10mM甘氨酸,pH 8.3),室温封闭0.5小时。

[0221] 步骤(3):加入0.5mL第一封闭化合物溶液(10%甘露醇,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭8个小时。

[0222] 步骤(4):封闭完成后,磁分离清洗两次。

[0223] 步骤(5):加入PBS-TBN(10mM,0.05%Tween 20,0.1%牛血清白蛋白,pH7.4)缓冲液,磁珠浓度为0.5mg/mL,2-8℃避光保存。

[0224] 实施例11

[0225] 免疫检测组合剂10包括如下组分:

[0226] (1) 固相载体:表面甲磺酰基化磁珠,直径为1 μ m;

[0227] (2) 配体:甲胎蛋白捕获抗体;

[0228] (3) 第一封闭化合物:酪蛋白;

[0229] (4) 第三封闭化合物:甘氨酸。

[0230] 免疫检测组合物10的制备包括如下步骤:

[0231] 步骤(1):先用0.1M硼酸盐缓冲液清洗50mg表面甲苯磺酰基化磁珠(以下简称磁珠)两次,磁分离后,用0.8mL硼酸盐缓冲液重新悬浮磁珠,加入AFP抗体2mg。最后加入3M硫酸铵溶液0.4mL,37℃下反应24小时。进行磁分离,用PBS缓冲液(10mM,0.05%Tween 20)清洗两次,以得到包被有甲胎蛋白捕获抗体的磁珠。

[0232] 步骤(2):加入0.5mL第三封闭化合物溶液(10mM甘氨酸,pH8.3)室温封闭0.5小时。。

[0233] 步骤(3):加入0.5mL第一封闭化合物溶液(1%酪蛋白,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭8个小时

[0234] 步骤(4):封闭完成后,磁分离清洗两次。

[0235] 步骤(5):加入PBS-TBN(10mM,0.05%Tween 20,0.1%牛血清白蛋白,pH7.4)缓冲液,磁珠浓度为0.5mg/mL,2-8℃避光保存。

[0236] 实施例12

[0237] 免疫检测组合物11包括如下组分:

[0238] (1) 固相载体:表面甲苯磺酰基化磁珠,直径为1μm;

[0239] (2) 配体:甲胎蛋白捕获抗体;

[0240] (3) 第一封闭化合物:甘露醇;

[0241] (4) 第二封闭化合物:酪蛋白;

[0242] (5) 第三封闭化合物:甘氨酸。

[0243] 免疫检测组合物11的制备包括如下步骤:

[0244] 步骤(1):先用0.1M硼酸盐缓冲液清洗50mg表面甲苯磺酰基化磁珠(以下简称磁珠)两次,磁分离后,用0.8mL硼酸盐缓冲液重新悬浮磁珠,加入AFP抗体2mg。最后加入3M硫酸铵溶液0.4mL,37℃下反应24小时。进行磁分离,用PBS缓冲液(10mM,0.05%Tween 20)清洗两次,以得到包被有甲胎蛋白捕获抗体的磁珠。

[0245] 步骤(2):加入0.5mL第三封闭化合物溶液(10mM甘氨酸,pH8.3),室温封闭0.5个小时。

[0246] 步骤(3):加入0.5mL第二封闭化合物溶液(1%酪蛋白,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭4个小时。

[0247] 步骤(4):加入0.5mL第一封闭化合物溶液(10%甘露醇,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4)室温封闭4小时。

[0248] 步骤(5):封闭完成后,磁分离清洗两次。

[0249] 步骤(6):加入PBS-TBN(10mM,0.05%Tween 20,0.1%牛血清白蛋白,pH7.4)缓冲液,磁珠浓度为0.5mg/mL,2-8℃避光保存。

[0250] 实施例13

[0251] 免疫检测组合物12包括如下组分:

[0252] (1) 固相载体:表面甲苯磺酰基化磁珠,直径为1μm;

[0253] (2) 配体:甲胎蛋白捕获抗体;

[0254] (3) 第一封闭化合物:酪蛋白;

[0255] (4) 第二封闭化合物:甘露醇;

[0256] (5) 第三封闭化合物:甘氨酸。

[0257] 免疫检测组合物12的制备包括如下步骤:

[0258] 步骤(1):先用0.1M硼酸盐缓冲液清洗50mg表面甲苯磺酰基化磁珠(以下简称磁珠)两次,磁分离后,用0.8mL硼酸盐缓冲液重新悬浮磁珠,加入AFP抗体2mg。最后加入3M硫酸铵溶液0.4mL,37℃下反应24小时。进行磁分离,用PBS缓冲液(10mM,0.05%Tween 20)清洗两次,以得到包被有甲胎蛋白捕获抗体的磁珠。

[0259] 步骤(2):加入0.5mL第三封闭化合物溶液(10mM甘氨酸,pH8.3),室温封闭0.5个小时。

[0260] 步骤(3):加入0.5mL第二封闭化合物溶液(10%甘露醇,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭4个小时。

[0261] 步骤(4):加入0.5mL第一封闭化合物溶液(1%酪蛋白,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4)室温封闭4小时。

[0262] 步骤(5):封闭完成后,磁分离清洗两次。

[0263] 步骤(6):加入PBS-TBN(10mM,0.05%Tween 20,0.1%牛血清白蛋白,pH7.4)缓冲液,磁珠浓度为0.5mg/mL,2-8℃避光保存。

[0264] 实施例14

[0265] 实施例7-13所制备的免疫检测组合物在甲胎蛋白的免疫检测方法上的应用。

[0266] 甲胎蛋白的免疫检测方法包括如下步骤:

[0267] 步骤(1):制备示踪抗体

[0268] 取1mg甲胎蛋白检测抗体,用0.05MPBS缓冲溶液,pH8.0配制成5mg/mL,加入5μL 2-亚氨基硫烷盐酸盐,37℃反应2h。将甲胎蛋白检测抗体上的氨基转换为巯基。经过SephadexG-25层析柱,纯化抗体;1mg碱性磷酸酶用10μL琥珀酰亚胺-4-(N-马来酰亚胺)环己烷-1-羧酸酯(SMCC偶联剂)(10mg/mL)在室温下活化0.5h。在活化后的碱性磷酸酶中加入上述巯基化的甲胎蛋白检测抗体,4℃反应12h。

[0269] 步骤(2):免疫检测

[0270] 在反应杯中加入20μL的待测样品,然后分别50μL实施例7-13和对照组所制备的免疫检测组合物,反应20分钟后,进行磁分离,清洗2次。再加50μL的示踪抗体,反应20分钟后,最后加入50μL底物溶液AMPPD(3-(2'-螺旋金刚烷)-4-甲氧基-4-(3"-磷酸氧基)苯-1,2-二氧杂环丁烷),反应15分钟,放入多功能酶标仪,进行发光值(RLU)的检测。实验结果如表2所示。

[0271] 其中,对照组免疫检测组合物为仅采用牛血清白蛋白封闭溶液(1%牛血清白蛋白,溶解于10mM PBS缓冲溶液,pH7.4),室温封闭3小时制备得到的免疫检测组合物。

[0272] 表2应用实施例8-13所制备的免疫检测组合物的甲胎蛋白的免疫检测方法的发光值检测结果

[0273]

样本 浓度 (ng/m L)	发光 值 (RL U)	对照组	实施例					
			实施例 8	实施例 9	实施例 10	实施例 11	实施例 12	实施例 13
0	S0	2466	2020	2056	2187	2445	2015	1954
10	S1	28156	28569	27916	27524	28813	28956	29658
100	S2	42984	43685	43567	431687	426958	440145	443158
信噪比 S1/S0		11.42	14.14	13.58	12.59	11.78	14.37	15.18

[0274] 由上述表1-2可知:

[0275] (1) 实施例1-6、8-13中, 实施例1-6的信噪比均高于对照组的信噪比, 即实施例1-6的背景发光信号均低于对照组的背景发光信号, 说明相比单独使用一种蛋白质类化合物作为封闭剂, 背景信号显著降低, 能够有效提高检测的灵敏度。

[0276] (2) 实施例1-2、8-9中, 当使用多羟基糖类化合物进行封闭, 再使用蛋白类化合物进行封闭时, 信噪比更高, 说明优选封闭顺序为多羟基糖类化合物、蛋白类化合物时, 背景信号显著降低, 能够有效提高检测的灵敏度。

[0277] (3) 实施例3-4、10-11中, 当使用含伯胺基的小分子化合物和多羟基糖类化合物进行封闭时, 其信噪比高于使用含伯胺基的小分子化合物和蛋白质类化合物进行封闭时的信噪比, 说明优选封闭顺序为含伯胺基的小分子化合物和多羟基糖类化合物时, 背景信号显著降低, 能够有效提高检测的灵敏度。

[0278] (4) 实施例5-6、12-13中, 依次使用含伯胺基的小分子化合物、多羟基糖类化合物、蛋白质类化合物以及作为封闭剂时, 可以显著降低非特异性吸附, 相比其他实施例, 背景信号显著降低, 提高了检测的灵敏度。

[0279] 以上所述仅为本申请的实施方式, 并非因此限制本申请的专利范围, 凡是利用本申请说明书所作的等效结构或等效流程变换, 或直接或间接运用在其他相关的技术领域, 均包括在本申请的专利保护范围内。

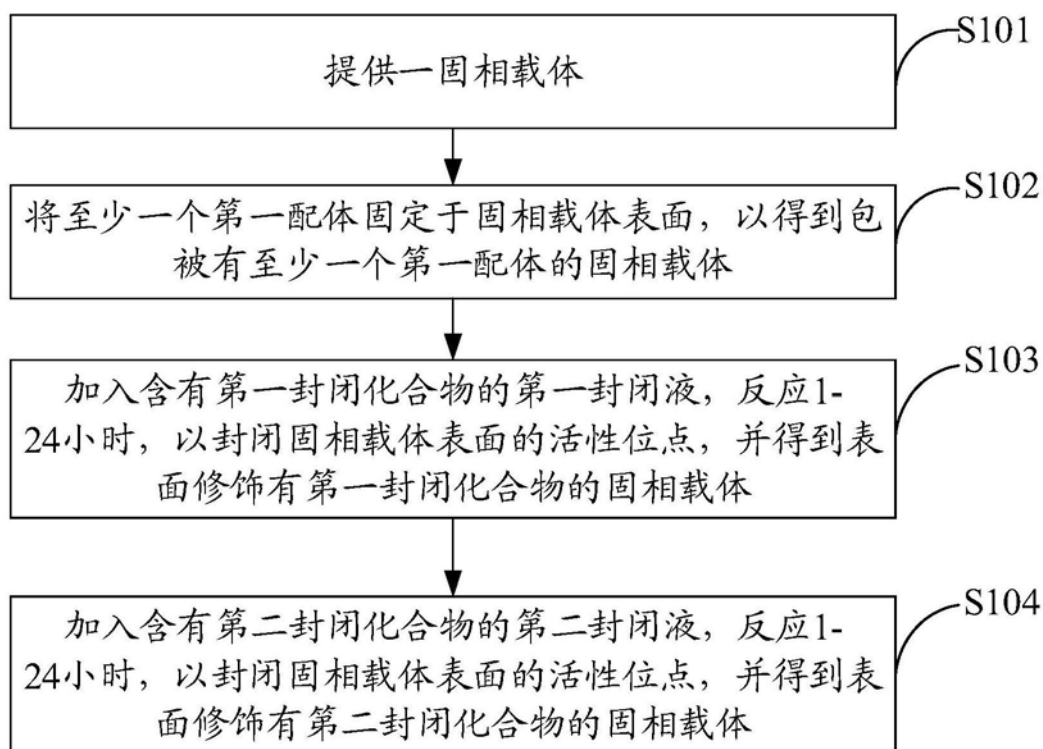


图1

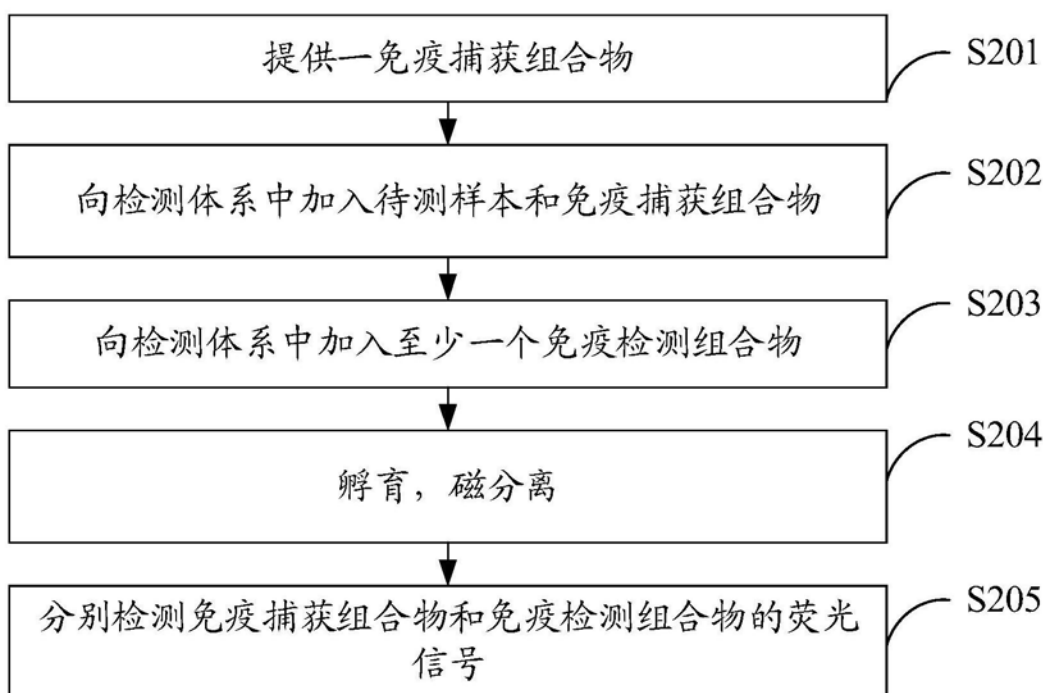


图2

专利名称(译)	免疫捕获组合物、制备方法、试剂盒以及应用		
公开(公告)号	CN111381024A	公开(公告)日	2020-07-07
申请号	CN201811642269.4	申请日	2018-12-29
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市帝迈生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳市帝迈生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市帝迈生物技术有限公司		
[标]发明人	马志亚 钱婷 汪业红 李会平 刘治志		
发明人	马志亚 钱婷 汪业红 李会平 刘治志		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/533 G01N33/532		
代理人(译)	李庆波		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本申请公开了一种免疫检测组合物、制备方法、试剂盒以及应用，该免疫捕获组合物包括：固相载体；至少一个第一配体，固定于固相载体表面；以及修饰于固相载体表面的至少第一封闭化合物和第二封闭化合物，第一封闭化合物和第二封闭化合物用于封闭固相载体表面的活性位点；其中，第一封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物，第二封闭化合物为多羟基糖类化合物或蛋白质类化合物，第一封闭化合物不同于第二封闭化合物。通过上述方式，本申请能够有效提高封闭效果，提高检测结果的准确性。

