



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111381028 A

(43)申请公布日 2020.07.07

(21)申请号 201811647322.X

G01N 33/58(2006.01)

(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 李春晖 刘治志 许墨横
张文琪

(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 33/553(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

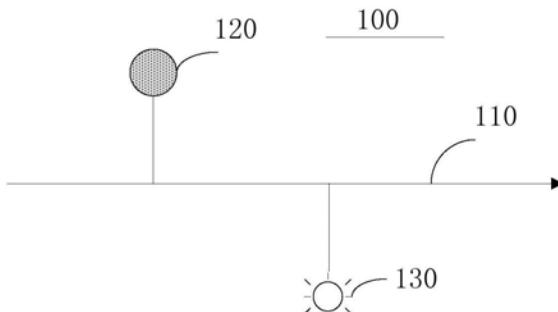
权利要求书2页 说明书14页 附图2页

(54)发明名称

试剂盒、系统、应用、检测抗体组合物及其制
备方法

(57)摘要

本发明公开了一种试剂盒、系统、应用、检测抗体组合物及其制备方法，该检测抗体组合物包括：检测抗体，分别与所述检测抗体连接的荧光标记物和荧光增强颗粒，其中，所述荧光增强颗粒包括金属纳米颗粒。通过上述方式，本发明能够简化操作过程，有效放大荧光检测信号，提高检测灵敏度。



1. 一种检测抗体组合物，其特征在于，所述检测抗体组合物包括：
 检测抗体，分别与所述检测抗体连接的荧光标记物和荧光增强颗粒，其中，所述荧光增强颗粒包括金属纳米颗粒。
2. 根据权利要求1所述的检测抗体组合物，其特征在于，所述荧光增强颗粒表面上设有功能基团，所述荧光增强颗粒通过所述功能基团与所述检测抗体连接。
3. 根据权利要求2所述的检测抗体组合物，其特征在于，所述功能基团包括羧基、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、环氧基中的一种或以上的组合。
4. 根据权利要求1所述的检测抗体组合物，其特征在于，构成所述金属纳米颗粒的金属包括银，金，铝、铂、或其合金中的一种或以上的组合。
5. 根据权利要求1所述的检测抗体组合物，其特征在于，所述荧光标记物包括有机荧光染料和/或量子点。
6. 根据权利要求1所述的检测抗体组合物，其特征在于，所述金属纳米颗粒为球形，且所述金属纳米颗粒的粒径为3-200纳米。
7. 根据权利要求1所述的检测抗体组合物，其特征在于，其中，所述荧光增强颗粒还包括间隔层，所述间隔层包覆在所述金属纳米颗粒的外周。
8. 根据权利要求7所述的检测抗体组合物，其特征在于，包覆在所述金属纳米颗粒外周的间隔层包括二氧化硅间隔层、二氧化钛间隔层、氧化铝间隔层、有机高分子间隔层、生物大分子间隔层中的一种或以上的组合。
9. 根据权利要求7所述的检测抗体组合物，其特征在于，所述间隔层的厚度为5-50纳米。
10. 一种试剂盒，其特征在于，所述试剂盒包括：
 试剂盒本体；
 第一试剂容纳位，设置在所述试剂盒本体上，用于容置权利要求1-9任一项所述检测抗体组合物；
 其中，所述第一试剂容纳位包括至少两种所述检测抗体组合物，且不同的所述检测抗体组合物中的检测抗体种类不同。
11. 根据权利要求10所述的试剂盒，其特征在于，所述试剂盒还包括：
 第二试剂容纳位，设置在所述试剂盒上，用于容置至少两种免疫检测组合物，所述免疫检测组合物分别与相应的所述检测抗体组合物配合，得到不同的检测复合物，以检测不同的待测物；
 其中，不同的所述检测复合物具有不同荧光强度。
12. 根据权利要求11所述的试剂盒，其特征在于，所述免疫检测组合物包括捕获抗体组合物和/或标记抗原。
13. 一种检测抗体组合物的制备方法，其特征在于，所述方法包括：
 将荧光增强颗粒加入到缓冲液中形成荧光增强颗粒悬浮液；
 向所述荧光增强颗粒悬浮液中加入交联剂并活化，得到第一产物；
 向所述第一产物中加入检测抗体溶液，得到第二产物。
14. 根据权利要求12所述的方法，其特征在于，所述向所述第一产物中加入检测抗体悬

浮液,得到第二产物之后,所述方法还包括;

向所述第二产物中加入荧光标记物,并避光反应。

15.根据权利要求13所述的方法,其特征在于,所述向所述第二产物中加入荧光标记物之前,所述方法还包括:

向所述第二产物中加入封闭剂,并反应一段时间,其中,所述封闭剂包括多羟基糖类化合物、蛋白质类化合物或含有伯氨基(-NH₂)的小分子化合物中的至少一种。

16.根据权利要求15所述的方法,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。

17.一种免疫荧光分析系统,其特征在于,所述免疫荧光分析系统包括:

试剂盒,所述试剂盒包括权利要求10-12任一项所述的试剂盒;

样本分析仪,所述样本分析仪通过使用所述试剂盒中的所述免疫检测组合物和所述检测抗体组合物进行不同待测物的检测,并输出检测结果。

18.权利要求1-9任一项所述的检测抗体组合物在免疫荧光分析中的应用;

所述检测抗体组合物用于对甲状腺功能相关蛋白、心血管功能相关蛋白、心肌肌钙蛋白、肝纤维化相关蛋白、肿瘤相关蛋白、性腺功能相关蛋白、肾功能相关蛋白、骨代谢功能相关蛋白、糖代谢功能相关蛋白、传染病相关蛋白、自身免疫功能相关蛋白、产前筛查项目相关蛋白、药物检测相关蛋白、4型人类疱疹病毒相关蛋白、炎症相关蛋白中的至少一种进行检测。

试剂盒、系统、应用、检测抗体组合物及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及体外诊断检测领域,特别是涉及试剂盒、系统、应用、检测抗体组合物及其制备方法。

背景技术

[0002] 免疫荧光检测技术是常用的免疫检测手段,主要通过检测含有荧光标记物的细胞复合物的荧光强度来确定相应检测指标的结果。而随着免疫荧光检测技术的不断发展,对检测灵敏度的要求不断提高,如何提高检测灵敏度成为人们研究的热点。

[0003] 目前,通常采用增加荧光物质的种类或增加荧光物质的用量的方式来提高检测灵敏度,然而荧光标记物的荧光强度有限,无法满足高灵敏度检测过程中对荧光强度的要求。

[0004] 本申请的发明人在长期的研发过程中,发现现有的免疫荧光检测过程中,检灵敏度低。

发明内容

[0005] 本发明主要解决的技术问题是提供一种试剂盒、系统、应用、检测抗体组合物及其制备方法,能够简化操作过程,有效放大荧光检测信号,提高检测灵敏度。

[0006] 为解决上述技术问题,本发明采用的一个技术方案是:提供一种检测抗体组合物。

[0007] 其中,检测抗体组合物包括:检测抗体,分别与检测抗体连接的荧光标记物和荧光增强颗粒,其中,荧光增强颗粒包括金属纳米颗粒。

[0008] 为解决上述技术问题,本发明采用的另一个技术方案是:提供一种检测抗体组合物的制备方法。

[0009] 其中,方法包括:

[0010] 将荧光增强颗粒加入到缓冲液中形成荧光增强颗粒悬浮液;

[0011] 向所述荧光增强颗粒悬浮液中加入交联剂并活化,得到第一产物;

[0012] 向所述第一产物中加入检测抗体悬浮液,得到第二产物。

[0013] 为解决上述技术问题,本发明采用的另一个技术方案是:提供一种试剂盒。

[0014] 其中,试剂盒包括:

[0015] 试剂盒本体;

[0016] 第一试剂容纳位,设置在试剂盒本体上,用于容置所述的检测抗体组合物;

[0017] 其中,所述第一试剂容纳位包括至少两种所述检测抗体组合物,且不同的所述检测抗体组合物中的检测抗体种类不同。

[0018] 为解决上述技术问题,本发明采用的一个技术方案是:提供检测抗体组合物在免疫荧光分析中的应用,所述检测抗体组合物用于对甲状腺功能相关蛋白、心血管功能相关蛋白、心肌肌钙蛋白、肝纤维化相关蛋白、肿瘤相关蛋白、性腺功能相关蛋白、肾功能相关蛋白、骨代谢功能相关蛋白、糖代谢功能相关蛋白、传染病相关蛋白、自身免疫功能相关蛋白、产前筛查项目相关蛋白、药物检测相关蛋白、4型人类疱疹病毒相关蛋白、炎症相关蛋白中

的至少一种进行检测。

[0019] 为解决上述技术问题,本发明采用的一个技术方案是:提供一种免疫荧光分析系统。

[0020] 所述免疫荧光分析系统包括:

[0021] 所述的试剂盒;

[0022] 样本分析仪,所述样本分析仪通过使用所述试剂盒中的所述免疫检测组合物和所述检测抗体组合物进行不同待测物的检测,并输出检测结果。

[0023] 本发明的有益效果是:区别于现有技术的情况,本发明在检测抗体上连接金属纳米颗粒和荧光标记物,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显著增强,能够有效提升检测灵敏度。

附图说明

[0024] 为了更清楚地说明本发明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发明的一些实施例,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:

[0025] 图1是本发明一种检测抗体组合物第一实施方式的结构示意图;

[0026] 图2是本发明一种检测抗体组合物第二实施方式的结构示意图;

[0027] 图3是本发明一种试剂盒第一实施方式的结构示意图;

[0028] 图4是本发明一种试剂盒第二实施方式的结构示意图;

[0029] 图5是本发明一种检测抗体组合物的制备方法一实施方式的流程示意图;

[0030] 图6是本发明一种免疫荧光分析系统一实施方式的结构示意图。

具体实施方式

[0031] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明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发明一部分实施例,而不是全部实施例。基于本发明中的实施例,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,都属于本发明保护的范围。

[0032] 参阅图1,图1是本发明一种检测抗体组合物第一实施方式的结构图,该检测抗体组合物100包括:检测抗体110,分别与检测抗体110连接的荧光标记物130和荧光增强颗粒120,其中,荧光增强颗粒120包括金属纳米颗粒。

[0033] 本实施方式在检测抗体上连接金属纳米颗粒和荧光标记物130,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。

[0034] 具体的,在本实施方式中,由于荧光标记物130中的荧光物质标记在与金属纳米颗粒连接的抗体上,二者相隔一段距离,金属纳米颗粒产生的等离子体共振使得荧光标记物130中的荧光基团量子产率增加,使得荧光标记物130发出的荧光信号增强。

[0035] 可选的,荧光标记物130包括有机荧光染料和量子点;所述有机荧光染料包括荧光素及其衍生物,罗丹明及其衍生物,花菁类荧光染料,香豆素类荧光染料,氟硼类荧光染料,酞菁类荧光染料中的一种或以上的组合。荧光标记物的具体种类可根据荧光增强颗粒的种

类,检测条件等指标具体确定,此处不再限定。

[0036] 进一步的,荧光增强颗粒120表面上设有功能基团(图未示),荧光增强颗粒120通过功能基团与检测抗体110连接。进一步的,功能基团包括羧基、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、环氧基中的一种或以上的组合。连接基团与抗体110表面的基团通过物理吸附或共价偶联的方式连接在一起。

[0037] 可选的,构成金属纳米颗粒的金属包括银,金,铂,铝,或其合金中的一种或以上的组合。为获得较好的荧光信号增强效果,金纳米颗粒和银纳米颗粒。

[0038] 可选的,金属纳米颗粒的形状包括球形、椭球形、棒状、三角形或其他不规则形状。进一步的,金属纳米颗粒为球形,且金属纳米颗粒的尺寸为5-200纳米。

[0039] 可选的,请参考图2,图2是本发明一种检测抗体组合物第二实施方式的结构示意图,其中,检测抗体组合物200包括,检测抗体210,分别与检测抗体210连接的荧光标记物230及荧光增强颗粒220,荧光增强颗粒220还包括间隔层222,间隔层222包覆在金属纳米颗粒221外周。间隔层222提供了一个具有一定厚度的电介质层,使荧光标记物230和金属纳米颗粒221隔开一定的距离,也便于在间隔层222上修饰多种功能基团,实现与抗体和/或抗原进行结合。

[0040] 可选的,包覆在金属纳米颗粒221外周的间隔层222的包括二氧化硅间隔层、二氧化钛间隔层、氧化铝间隔层、有机高分子间隔层、生物大分子间隔层中的一种或以上的组合;其中,所述有机高分子间隔层包括聚合物与间隔层,所述聚合物包括聚酯类,聚烯烃类等,具体的,所述聚合物包括但不限于聚酯,聚酰胺,聚醚,聚硫醚,聚脲,聚碳酸酯,聚碳酰胺,蛋白质,多糖,聚芳酯。所述生物大分子间隔层包括蛋白质间隔层和/或核酸间隔层。在一个实施方式中,金属纳米颗粒221为金球,间隔层为二氧化硅。二氧化硅价格低,有利于降低成本;二氧化硅是透明的,不会影响金属纳米颗粒对光的吸收,同时二氧化硅的表面非常容易修饰其他各种功能基团,便于和抗体和/或抗原进行相连,有利于简化操作流程,提高检测效率。

[0041] 间隔层222的厚度将荧光标记物质和金属纳米颗粒隔开一定距离。显然,荧光强度的增加与荧光标记物230的荧光物质种类、金属纳米颗粒的尺寸和金属纳米颗粒221之间的距离相关。为获得较好的荧光增强效果,间隔层222的厚度优选为5纳米-100纳米,如,5纳米、50纳米或100纳米等。

[0042] 为解决上述技术问题,本发明采用的另一个技术方案是:提供一种试剂盒。

[0043] 请参考图3,图3是本发明一种试剂盒第一实施方式的结构示意图,其中,试剂盒300包括:试剂盒本体310;第一试剂容纳位320,设置在试剂盒本体310上,用于容置所述的检测抗体组合物;其中,所述第一试剂容纳位包括至少两种所述检测抗体组合物,且不同的所述检测抗体组合物中的检测抗体种类不同。

[0044] 在本实施方式中,抗体组合物包括:检测抗体,分别与检测抗体连接的荧光标记物和荧光增强颗粒,其中,荧光增强颗粒包括金属纳米颗粒。本实施方式在在检测抗体上连接金属纳米颗粒和荧光标记物,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。此外,不同的检测抗体组合物中的检测抗体种类不同,不同的检测抗体能够检测不同的待测物,便于进行多项目联检,提高检测效率。

[0045] 而检测抗体组合物的技术细节及技术好处已经在前文进行了详细阐释,故此处不

再赘述。

[0046] 进一步的,请参考图4,图4是本发明一种试剂盒第二实施方式的结构示意图,试剂盒300还包括:第二试剂容纳位320,设置在试剂盒本体310上,用于容置至少两种免疫检测组合物,所述免疫检测组合物分别与相应的所述检测抗体组合物、待测物特异性结合,得到不同的检测复合物,以检测不同的待测物;其中,不同的所述检测复合物具有不同荧光强度。进一步的,所述免疫检测组合物包括捕获抗体组合物和/或标记抗原。

[0047] 具体的,使用夹心法进行检测过程中,所述捕获抗体组合物包括捕获抗体,与捕获抗体连接的磁珠及发光物质。为实现联检,当检测不同待测物的捕获抗体组合物中,实现不同待测抗原的分类,可通过五种方式:1) 磁珠具有不同的粒径且连接在磁珠上的发光物质相同;2) 连接在磁珠上的发光物质相同但具有不同的荧光强度时;3) 连接在磁珠上的发光物质种类不同;4) 磁球相同但捕获抗体上连接的发光物质种类不同;5) 磁球相同且发光物质种类相同,但捕获抗体上的发光物质的荧光强度不同;6) 磁珠不具有发光物质但具有不同的粒径,捕获抗体上的发光物质可种类相同。且在捕获抗体组合物中不同的捕获抗体特异性结合相应不同的待测抗原,不同的待测抗原又特异性结合对应的不同种类的检测抗体时,通过上述6种方式的任一种,可得到荧光强度不同的检测抗体组合物。这样,在荧光检测系统时,不同种类的检测抗体组合物可以单个成列依次通过检测器,经采集、处理、分析不同的荧光信号,其中第一路荧光信号根据上述6种方式的任一情况,经数据处理可实现对待测样本中待测抗原或抗体进行分类,并根据检测免疫组合物的荧光标记物经数据处理对待测样本中待测抗原或抗体进行定量检测。当然,所述捕获抗体组合物中,捕获抗体上也可以连接所述荧光增强颗粒,以提高荧光信号强度。

[0048] 同理,使用竞争法进行检测的过程中,标记抗原包括抗原和连接在抗原上的发光标记物,同上述6种方式一样,也可得到荧光强度不同的检测抗体组合物,在荧光检测系统时,不同种类的检测抗体组合物可以单个成列依次通过检测器,经采集、处理、分析不同的荧光信号,其中第一路荧光信号根据上述6种方式的任一情况,经数据处理可实现对待测样本中待测抗原进行分类,并根据检测免疫组合物的荧光标记物经数据处理对待测样本中待测抗原或抗体进行定量检测。

[0049] 可选的,试剂盒300还包括稀释液,稀释液包括牛血清白蛋白(BSA)、新生牛血清、羊血清、马血清、二硫苏糖醇、三羟甲基氨基甲烷、水合2-吗啉乙磺酸(如一水合2-吗啉乙磺酸)、乙二醇、丙三醇、吐温-80、酪蛋白和乙二胺四乙酸二钠;稀释液的溶剂优选于水。且稀释液各组分的浓度如下:1~10g/L的BSA、1~50体积%的新生牛血清、0.1~10体积%的羊血清、0.1~10体积%的马血清、1~100mmol/L的二硫苏糖醇、1~100mmol/L的三羟甲基氨基甲烷、1~100mmol/L的水合2-吗啉乙磺酸、0.1~10体积%的乙二醇、0.1~10体积%的丙三醇、0.01~2体积%的吐温-80、0.1~10g/L的酪蛋白和0.1~10g/L的乙二胺四乙酸二钠。该稀释液还优选地进一步包含0.01~1g/L的防腐剂。

[0050] 在检测过程中添加稀释液能够消除类风湿因子(RF)、人抗鼠抗体(HAMA)、嗜异性抗体、抗核抗体(ANA)等多种干扰免疫反应因子,从而提供一个更利于抗体和抗原反应的条件。因此,加入稀释剂能够显著地降低样本检测的非特异性结合,从而进一步提高反应灵敏度和检测准确度。

[0051] 可选的,稀释液还包括防腐剂,防腐剂选自山梨酸钾、苯甲酸钠、叠氮钠、亚硝酸

钠、Proclin 300(免疫诊断常用防腐剂之一,主要活性成分为2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮和5-氯-2-甲基-4-异噻唑啉-3-酮)和抗生素中的任一种或两种以上混合物。添加防腐剂能够避免免疫试剂中的组分发生变质,有利于提高试剂盒的检测的质量,进而提高检测结果的可靠性。

[0052] 进一步的,磁珠是将纳米级的 Fe_2O_3 或 Fe_3O_4 磁性粒子和有机高分子材料进行复合,形成具有超顺磁性和极大蛋白吸附容量的微米级的固相微球,具有在外加磁场作用下可迅速被磁化,在撤走磁场后剩磁为零的属性。在本实施方式中,所使用的磁珠应能满足直径为0.1-5微米,磁珠还可以通过表面改性而带有多种活性功能基团,包括但不限于羧基、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,并通过活性功能基团与捕获抗体进行共价偶联。在本实施方式中,所述磁珠尺寸为5微米。

[0053] 为解决上述技术问题,本发明采用的另一个技术方案是:提供一种检测抗体组合物的制备方法。

[0054] 请参考图5,图5是本发明一种检测抗体组合物的制备方法一实施方式的流程示意图,其中,方法包括步骤:

[0055] S510、将荧光增强颗粒加入到缓冲液中形成荧光增强颗粒悬浮液。

[0056] 在步骤S510中,荧光增强颗粒为二氧化硅包被的金属纳米颗粒或金属纳米颗粒;缓冲液包括2-吗啉乙磺酸生物缓冲剂(MES),磷酸缓冲液(PBS)等。

[0057] S520、向荧光增强颗粒悬浮液中加入交联剂并活化,得到第一产物。

[0058] 在步骤S520中,交联剂包括1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐和/或羟基琥珀酸亚胺;而为保证较好的交联效果,交联剂现配现用。活化时间可以为20-60分钟,如,20分钟、30分钟或60分钟等,具体时间根据活化剂的种类及荧光增强颗粒的性质进行确定。而第一产物即为活化后的荧光增强颗粒,对荧光增强颗粒进行预先活化有利于提高荧光增强颗粒与抗体的结合效率。

[0059] S530、向第一产物中滴加检测抗体溶液,得到第二产物。

[0060] 在步骤530,向活化后的荧光增强颗粒中滴加检测抗体溶液后,使活化后的荧光增强颗粒与检测抗体交联。反应时间可以为1-3小时,如,1小时、2小时或3小时等。第二产物为连接有荧光增强颗粒的检测抗体。

[0061] 在本实施方式中,抗体组合物包括:检测抗体,分别与检测抗体连接的荧光标记物和荧光增强颗粒,其中,荧光增强颗粒包括金属纳米颗粒。本实施方式在检测抗体上连接金属纳米颗粒和荧光标记物,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。

[0062] 而检测抗体组合物的技术细节及技术好处已经在前文进行了详细阐释,故此处不再赘述。

[0063] 进一步的,所述方法还包括对检测抗体进行荧光标记。具体的,对检测抗体进行荧光标记的方法包括,向第二产物中加入荧光标记物,并避光反应一段时间,将得到的荧光增强颗粒-抗体-荧光标记物用稀释剂稀释到预设浓度,并在2-8℃保存。

[0064] 在一个实施方式中,在对检测抗体进行荧光标记之前,向第二产物中加入封闭剂,并反应一段时间,这样检测抗体上不需要荧光标记物结合物的点位被占据,使得荧光标记物结合在检测抗体的特定点位上,获得较好的荧光标记效果。其中,封闭剂包括多羟基糖类

化合物、蛋白质类化合物或含有伯氨基(-NH₂)的小分子化合物中的至少一种。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。在一个实施方式中，所述封闭剂的包括至少两种所述封闭剂，加入至少两种封闭剂能够提高封闭效果，有利于减小背景信号，进一步提高检测灵敏度。可选的，在本实施方式中，封闭时间为2-4小时，如，2小时，3小时或4小时等。在另一个实施方式中，对检测抗体进行荧光标记之后，方法还包括：将避光反应后的产物进行离心分离，除去未与检测抗体结合的荧光标记物。

[0065] 为解决上述技术问题，本发明采用的一个技术方案是：提供检测抗体组合物在免疫荧光分析中的应用。

[0066] 在本实施方式中，所述检测抗体组合物用于人血清中各种特异性总抗原的化学荧光免疫检测；如，所述检测抗体组合物用于对甲状腺功能相关蛋白、心血管功能相关蛋白、心肌肌钙蛋白、肝纤维化相关蛋白、肿瘤相关蛋白、性腺功能相关蛋白、肾功能相关蛋白、骨代谢功能相关蛋白、糖代谢功能相关蛋白、传染病相关蛋白、自身免疫功能相关蛋白、产前筛查项目相关蛋白、药物检测相关蛋白、4型人类疱疹病毒相关蛋白、炎症相关蛋白中的至少一种进行检测。

[0067] 为解决上述技术问题，本发明采用的一个技术方案是：提供一种免疫荧光分析系统。

[0068] 请参考图6，图6是本发明一种免疫荧光分析系统一实施方式的结构示意图，所述免疫荧光分析系统600包括：所述的试剂盒610；样本分析仪620，所述样本分析仪620通过使用所述试剂盒610中的所述免疫检测组合物和所述检测抗体组合物进行不同待测物的检测，并输出检测结果。

[0069] 在本实施方式中，样本分析仪620使用的检测抗体上连接金属纳米颗粒和荧光标记物，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。

[0070] 而所述免疫荧光分析仪620包括流式细胞分析仪、酶标仪或荧光显微镜等通过荧光信号进行定性和/或定量检测的仪器。而所述试剂盒610的具体技术好处和技术细节已经在前文进行了详细阐释，故此处不再赘述。

[0071] 下面通过实施例对本发明的技术方案进行详细阐释

[0072] 对比例1：

[0073] 取20μL的Alexa Fluor 488-N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)的二甲基亚砜溶液加入到20μg肾素抗体中，室温避光反应2小时，过脱盐柱除去未与肾素抗体结合的荧光标记物，并用pH为7.4的PBS-TBN缓冲溶液稀释至终浓度为2μg/mL，得到检测抗体组合物01。

[0074] 对比例2：

[0075] 取50μL的异硫氰酸荧光素(FITC)-N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)的二甲基亚砜溶液加入到100μg肾素抗体中，室温避光反应2小时，过脱盐柱除去未与肾素抗体结合的荧光标记物，并用pH为7.4的PBS-TBN缓冲溶液稀释至终浓度为2μg/mL，得到检测抗体组合物02。

[0076] 对比例3：

[0077] 取50 μ L的Cy5-N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)的二甲基亚砜溶液加入到100 μ g白介素-6(IL-6)抗体中,室温避光反应2小时,过脱盐柱除去未与IL-6抗体结合的荧光标记物,并用pH为7.4的PBS-TBN缓冲溶液稀释至终浓度为2 μ g/mL,得到检测抗体组合物03。

[0078] 实施例1:

[0079] 取0.5mg表面羧基化的二氧化硅包被的金纳米颗粒(最大吸收波长520nm),二氧化硅层厚度为20nm,金纳米颗粒的粒径为15nm。用pH为5,浓度为50mM的MES缓冲液清洗两次,离心分离后,用MES缓冲液重新悬浮,将琥珀酰亚胺(NHS)和1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺(EDC)各50 μ g分别溶解在浓度为50mmol/L,pH为5的2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES)缓冲液溶中,并将溶液加入到悬浮液中。离心后用浓度为10mmol/L且包含质量份数为0.1%的吐温20的PBS缓冲液清洗两次。向二氧化硅包被的金纳米颗粒中加入溶解在PBS中的肾素抗体,且肾素抗体的加入量为20 μ g,室温反应2个小时得到二氧化硅包被的金纳米颗粒-肾素抗体结合物。

[0080] 取20 μ L的Alexa Fluor 488-NHS的二甲基亚砜溶液加入到上述200 μ L二氧化硅包被的金纳米颗粒-肾素抗体溶液中,室温避光反应2小时,离心除去未与肾素抗体结合的荧光标记物,并用pH为7.4的PBS-TBN缓冲溶液稀释至终浓度为2 μ g/mL,得到检测抗体组合物1。

[0081] 实施例2:

[0082] 取1mg表面羧基化的聚苯乙烯包被的金纳米颗粒(最大吸收波长520nm),聚苯乙烯层厚度为20nm,金纳米颗粒的粒径为15nm。用pH为5,浓度为50mM的MES缓冲液清洗两次,离心分离后,用MES缓冲液重新悬浮,将琥珀酰亚胺(NHS)和1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺(EDC)各100 μ g分别溶解在浓度为50mmol/L,pH为5的2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES)缓冲液溶中,并将溶液加入到悬浮液中。离心后用浓度为10mmol/L且包含质量份数为0.1%的吐温20的PBS缓冲液清洗两次。向溶液加入溶解在PBS中的肾素抗体,且肾素抗体的加入量为20 μ g,室温反应2个小时得到聚苯乙烯包被的金纳米颗粒-肾素抗体结合物。

[0083] 取20 μ L的Alexa Fluor 488-NHS的二甲基亚砜溶液加入到上述200 μ L聚苯乙烯包被的金纳米颗粒-肾素抗体溶液中,室温避光反应2小时,离心除去未与肾素抗体结合的荧光标记物,并用pH为7.4的PBS-TBN缓冲溶液稀释至终浓度为2 μ g/mL,得到检测抗体组合物2。

[0084] 实施例3:

[0085] 取1mg表面羧基化的二氧化硅包被的银纳米颗粒(最大吸收波长480nm),二氧化硅层厚度为5nm,,金纳米颗粒的粒径为70nm。用pH为5,浓度为50mM的MES缓冲液清洗两次,离心分离后,用MES缓冲液重新悬浮,将琥珀酰亚胺(NHS)和1-乙基-3-(3-二甲基氨基丙基)-碳化二亚胺(EDC)各50 μ g分别溶解在浓度为50mmol/L,pH为5的2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES)缓冲液溶中,并将溶液加入到悬浮液中。离心后用浓度为10mmol/L且包含质量份数为0.1%的吐温20的PBS缓冲液清洗两次。向溶液中加入溶解在PBS中的肾素抗体,且肾素抗体的加入量为20 μ g,室温反应2个小时得到二氧化硅包被的银纳米颗粒-肾素抗体结合物。

[0086] 取20 μ L的FITC-NHS的二甲基亚砜溶液加入到上述200 μ L二氧化硅包被的银纳米颗粒-肾素抗体溶液中,室温避光反应2小时,离心除去未与肾素抗体结合的荧光标记物,并用pH为7.4的PBS-TBN缓冲溶液稀释至终浓度为2 μ g/mL,得到检测抗体组合物3。

[0087] 实施例4

[0088] 取0.5mg表面氨基化的金纳米棒(最大吸收波长650nm),用pH为8.4,浓度为1mmol/L的磷酸盐缓冲液(PBS)清洗两次,离心分离后,用PBS缓冲液重新悬浮,加入200μg的羧基-聚乙二醇-琥珀酰亚胺酯(COOH-PEG-NHS),室温反应4小时后离心,用浓度为10mmol/L且包含质量份数为0.1%的吐温20的PBS缓冲液清洗两次。

[0089] 将琥珀酰亚胺(NHS)和1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)-碳化二亚胺(EDC)各50μg分别溶解在浓度为50mmol/L,pH为5的2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES)缓冲液溶中,并将溶液加入到金纳米棒中,在室温下活化30min。离心后用浓度为10mmol/L且包含质量份数为0.1%的吐温20的PBS缓冲液清洗两次。向清洗后的金纳米棒中加入溶解在PBS中的IL-6抗体(40μg),室温反应2个小时后得到金纳米棒与IL-6抗体的结合物。

[0090] 取20μL的Cy5-NHS的二甲基亚砜溶液加入到20μg金纳米棒与肾素抗体的组合物中,室温避光反应2小时,离心除去未与肾素抗体结合的荧光标记物,并用pH为7.4的PBS-TBN缓冲溶液稀释至终浓度为2μg/mL,得到检测抗体组合物4。

[0091] 2、捕获抗体组合物的制备

[0092] 1) 肾素捕获抗体组合物的制备

[0093] 先用pH为6,浓度为50mM的MES缓冲液清洗1mg磁珠两次,磁分离后用MES缓冲液重新悬浮磁珠。将琥珀酰亚胺(NHS)和1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)-碳化二亚胺(EDC)各50μg分别溶解在浓度为50mmol/L,pH为5的2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES)缓冲液溶中,并将溶液加入到磁珠悬浮液中,并在室温下活化30min。磁分离后用浓度为10mmol/L且包含质量份数为0.1%的吐温20的PBS缓冲液清洗两次。将包含20μg肾素抗体的PBS溶液加入到磁珠中,室温反应2个小时。磁分离后用10mmol/L且包含质量份数为0.1%的吐温20的PBS缓冲液清洗两次。加入0.5mL第一封闭剂(第一封闭剂包括质量份数为5%的乙醇胺,pH为7.4,浓度为10mM的PBS缓冲液),室温封闭0.5小时;然后加入0.5mL第二封闭剂(第二封闭剂包括质量份数为1%的酪蛋白,pH为7.4,浓度为10mM的PBS缓冲液)室温封闭3小时。封闭完成后,磁分离清洗两次。加入浓度为10mmol/L且包含质量份数为0.1%的吐温20的PBS缓冲液,稀释至磁珠浓度为0.2mg/mL,得到肾素捕获抗体组合物。

[0094] 2) IL-6捕获抗体组合物的制备

[0095] 先用pH为6,浓度为50mM的MES缓冲液清洗1mg磁珠两次,磁分离后用MES缓冲液重新悬浮磁珠。将琥珀酰亚胺(NHS)和1-乙基-3-(3-二甲基氨丙基)-碳化二亚胺(EDC)各80μg分别溶解在浓度为50mmol/L,pH为5的2-(N-吗啡啉)乙磺酸(MES)缓冲液溶中,并将溶液加入到磁珠悬浮液中,并在室温下活化30min。磁分离后用浓度为10mmol/L且包含质量份数为0.1%的吐温20的PBS缓冲液清洗两次。将包含20μgIL-6抗体的PBS溶液加入到磁珠中,室温反应2个小时。磁分离后用10mmol/L且包含质量份数为0.1%的吐温20的PBS缓冲液清洗两次。加入0.5mL第一封闭剂(第一封闭剂包括质量份数为5%的乙醇胺,pH为7.4,浓度为10mM的PBS缓冲液),室温封闭0.5小时;然后加入0.5mL第二封闭剂(第二封闭剂包括质量份数为1%的酪蛋白,pH为7.4,浓度为10mM的PBS缓冲液)室温封闭3小时。封闭完成后,磁分离清洗两次。加入浓度为10mmol/L且包含质量份数为0.05%的吐温20及质量份数为0.1%的牛血清蛋白的PBS-TBN缓冲液,稀释至磁珠浓度为0.1mg/mL,得到IL-6捕获抗体组合物。

[0096] 3、流式荧光检测

[0097] 1) 肾素校准品的制备

[0098] 将肾素重组抗原溶于pH为7.4,浓度为10mM且包括质量份数为2%的牛血清蛋白的PBS缓冲液,制成一系列不同浓度的校准品。用国际校准品(NIBSC 68/356)对其进行赋值。校准品的浓度为0、12.5、25、50、125、250、500及1000pg/mL。

[0099] 2) 肾素流式荧光检测

[0100] 采用双抗夹心法模式进行流式荧光免疫检测:

[0101] 在反应杯中加入10μL的样本(校准品)、50μL的肾素捕获抗体组合物溶液,反应20min后,再加入100μL的检测抗体组合物01的溶液,反应20min后,磁分离,加入100μL的PBS-TBN清洗液,得到检测样本01,将其放入流式细胞仪,进行荧光强度(MFI)的检测。并使用不同浓度的校准品重复上述过程,得到检测抗体组合物01的线性范围及灵敏度。

[0102] 在反应杯中加入10μL的样本(校准品)、50μL的肾素捕获抗体组合物溶液,反应20min后,再加入100μL的检测抗体组合物02的溶液,反应20min后,磁分离,加入100μL的PBS-TBN清洗液,得到检测样本02,将其放入流式细胞仪,进行荧光强度(MFI)的检测。并使用不同浓度的校准品重复上述过程,得到检测抗体组合物02的线性范围及灵敏度。

[0103] 在反应杯中加入10μL的样本(校准品)、50μL的肾素捕获抗体组合物溶液,反应20min后,再加入100μL的检测抗体组合物1的溶液,反应20min后,磁分离,加入100μL的PBS-TBN清洗液,得到检测样本1,将其放入流式细胞仪,进行荧光强度(MFI)的检测。并使用不同浓度的校准品重复上述过程,得到检测抗体组合物1的线性范围及灵敏度。

[0104] 在反应杯中加入10μL的样本(校准品)、50μL的肾素捕获抗体组合物溶液,反应20min后,再加入100μL的检测抗体组合物2的溶液,反应20min后,磁分离,加入100μL的PBS-TBN清洗液,得到检测样本2,将其放入流式细胞仪,进行荧光强度(MFI)的检测。并使用不同浓度的校准品重复上述过程,得到检测抗体组合物2的线性范围及灵敏度。

[0105] 在反应杯中加入10μL的样本(校准品)、50μL的肾素捕获抗体组合物溶液,反应20min后,再加入100μL的检测抗体组合物3的溶液,反应20min后,磁分离,加入100μL的PBS-TBN清洗液,得到检测样本3,将其放入流式细胞仪,进行荧光强度(MFI)的检测。并使用不同浓度的校准品重复上述过程,得到检测抗体组合物3的线性范围及灵敏度。

[0106] 3) IL-6校准品的制备

[0107] IL-6重组抗原溶于pH为7.4,浓度为10mM且包括质量份数为2%的牛血清蛋白的PBS缓冲液,制成一系列不同浓度的校准品。校准品的浓度为0,0.5,50,500,1000,5000,10000,20000pg/mL。

[0108] 4) IL-6流式荧光检测

[0109] 在反应杯中加入10μL的样本(校准品)、50μL的IL-6捕获抗体组合物溶液,反应20min后,再加入100μL的检测抗体组合物03的溶液,反应20min后,磁分离,加入100μL的PBS-TBN清洗液,得到检测样本03,将其放入流式细胞仪,进行荧光强度(MFI)的检测。并使用不同浓度的校准品重复上述过程,得到检测抗体组合物03的线性范围及灵敏度。

[0110] 在反应杯中加入10μL的样本(校准品)、50μL的IL-6捕获抗体组合物溶液,反应20min后,再加入100μL的检测抗体组合物4的溶液,反应20min后,磁分离,加入100μL的PBS-TBN清洗液,得到检测样本4,将其放入流式细胞仪,进行荧光强度(MFI)的检测。并使用不同浓度的校准品重复上述过程,得到检测抗体组合物4的线性范围及灵敏度。

[0111] 4、结果分析

[0112] 1) 线性范围的确定

[0113] 表1包含肾素抗体的检测抗体组合物检测范围表

[0114]

序号	组合物 01		组合物 02		组合物 1		组合物 2		组合物 3	
	浓度	信号	浓度	信号	浓度	信号	浓度	信号	浓度	信号
1	0	185	0	145	0	150	0	168	0	169
2	2.5	250	2.5	290	2.5	451	2.5	524	2.5	375
3	5	284	5	329	5	2021	5	1856	5	3226
4	20	404	20	469	20	11669	20	10519	20	18628
5	50	2051	50	2379	50	23489	50	27489	50	37498
6	200	6489	200	7527	200	75984	200	81524	200	121301
7	500	10826	500	12558	500	125889	500	113689	500	200969
8	1000	12148	1000	14092	1000	142511	1000	137950	1000	227505
线性范围	50-1000 pg/mL		50-1000 pg/mL		5-1000 pg/mL		5-1000 pg/mL		5-1000 pg/mL	

[0115] 表2包含白介素-6抗体的检测抗体组合物检测范围表

序号	组合物 03		组合物 4	
	浓度	信号	浓度	信号
1	0	142	0	176
2	20	156	20	1254
3	100	275	100	4121
4	400	771	400	11569
5	1000	1573	1000	23589
6	4000	5066	4000	75985
7	10000	7060	10000	105896
8	20000	9503	20000	142541
线性范围	100-20000 pg/mL		20-20000 pg/mL	

[0116] [0117] 以线性范围为横坐标(单位:pg/mL),实测浓度为纵坐标(单位:pg/mL),获得表3和表4中的回归方程,且获得表4和表3中的回归常数。

[0118] 表3包含肾素抗体的检测抗体组合物理论浓度/试剂浓度表

[0119]

序号	组合物 01		组合物 02		组合物 1		组合物 2		组合物 3	
	理论	实测	理论	实测	理论	实测	理论	实测	理论	实测
1	50	57.11	50	56.84	5	3.75	5	6.29	5	3.86
2	200	197.53	200	197.70	20	22.36	20	21.12	20	22.40
3	500	506.62	500	505.94	50	49.07	50	47.86	50	49.05
4	1000	980.88	1000	982.56	200	200.07	200	208.03	200	200.06
5	/	/	/	/	500	499.94	500	476.01	500	499.95
6	/	/	/	/	1000	1000.16	1000	1027.08	1000	1000.13
回归方程	$y = 0.976x + 8.422$		$y = 0.978x + 7.848$		$y = 1x + 0.042$		$y = 1.017x - 3.206$		$y = 1x + 0.085$	
回归常数	$R^2 = 0.999$		$R^2 = 0.999$		$R^2 = 1$		$R^2 = 0.998$		$R^2 = 1$	

[0120] 根据上表3可知,检测抗体组合物01标准品的数据确定在线性范围内,回归方程为 $y=0.976x+8.422$,且回归常数 $R^2=0.999$,则线性范围50-1000pg/mL较为可靠;检测抗体组合物02标准品的数据确定在线性范围内,回归方程为 $y=0.978x+7.848$,且回归常数 $R^2=0.999$,则线性范围50-1000pg/mL较为可靠;检测抗体组合物1标准品的数据确定在线性范围内,根据表6中的数据确定在线性范围内,回归方程为 $y=1x+0.042$,且回归常数 $R^2=1$,则线性范围5-1000pg/mL较为可靠。检测抗体组合物2标准品的数据确定在线性范围内,回归方程为 $y=1.017x-3.206$,且回归常数 $R^2=0.998$,则线性范围5-1000pg/mL较为可靠;检测抗体组合物3标准品的数据确定在线性范围内,回归方程为 $y=1x+0.085$,且回归常数 $R^2=1$,则线性范围5-1000pg/mL较为可靠。

[0121] 表4包含白介素-6抗体的检测抗体组合物理论浓度/试剂浓度表

序号	组合物 0		组合物 4	
	理论	实测	理论	实测
1	100	94.62	20	24.08
2	400	364.41	100	118.15
3	1000	874.90	400	372.44
4	4000	4554.02	1000	866.06
5	10000	8817.36	4000	4554.93
6	20000	21308.05	10000	8866.10
7	/	/	20000	21176.2807
回归方程	$y = 1.043x - 172.0$		$y = 1.035x - 114.3$	
回归常数	$R^2 = 0.991$		$R^2 = 0.999$	

[0123] 根据上表4可知,检测抗体组合物03标准品的数据确定在线性范围内,回归方程为 $y=1.043x-172.0$,且回归常数 $R^2=0.999$,则线性范围100-20000pg/mL较为可靠;检测抗体组合物4标准品的数据确定在线性范围内,回归方程为 $y=1.035x-114.3$,且回归常数 $R^2=0.992$,则线性范围20-20000pg/mL较为可靠。

[0124] 参照表1-表4中的数据,并比较组合物01、组合物1及组合物2,组合02及组合物3,组合物03及组合物4可知,增加荧光增强颗粒后,无论是包含肾素抗体的检测抗体组合物,

还是包含白介素-6的检测抗体组合物,其检测范围明显拓宽,表明增加荧光增强颗粒能拓宽检测范围。

[0125] 而在相同的校准品浓度下,与组合物01相比,组合物1及组合物2中的荧光信号强度更强;与组合物02相比,组合物3的荧光信号强度更强;与组合物03相比,组合物4中的荧光信号强度更强;具体的,信号强度发生了数量级的变化,差值可达100倍。可见,添加荧光增强颗粒能够有效增强荧光信号的强度。

[0126] 2) 灵敏度的确定

[0127] 用试剂测试空白样本(5%BSA),重复测试20次,计算20次测试结果的平均值X和标准差SD,X+2SD应不大于空白限值。

[0128] 包含肾素抗体的检测抗体组合物的灵敏度表如下表5。

[0129] 表5、包含肾素抗体的检测抗体组合物的灵敏度表

[0130]

组合物 01		组合物 02		组合物 1		组合物 2		组合 3	
次数	信号	次数	信号	次数	信号	次数	信号	次数	信号
1	164.48	1	159.96	1	159	1	175	1	211
2	272.03	2	216.95	2	169	2	195	2	195
3	239.88	3	232.09	3	202	3	159	3	166
4	215.32	4	216.97	4	266	4	164	4	167
5	248.56	5	182.53	5	112	5	244	5	192
6	155.58	6	216.27	6	266	6	214	6	227
7	268.05	7	242.52	7	201	7	245	7	241
8	157.5	8	217.51	8	169	8	212	8	170
9	234.38	9	187.56	9	162	9	171	9	244
10	298.72	10	189.47	10	193	10	170	10	226
11	309.86	11	169.94	11	145	11	229	11	231
12	155.98	12	166.25	12	145	12	209	12	191
13	157.93	13	184.68	13	185	13	217	13	241
14	256.64	14	159.94	14	139	14	204	14	237
15	196.66	15	157.95	15	109	15	202	15	162
16	265.45	16	218.74	16	157	16	186	16	236

[0131]

17	184.17	17	208.96	17	159	17	211	17	249
18	173.24	18	241.51	18	166	18	246	18	229
19	236.46	19	187.86	19	109	19	202	19	197
20	267.46	20	228.77	20	122	20	232	20	168
M	222.9175	M	199.3215	M	166.75	M	204.35	M	209
SD	51.08993	SD	28.03115	SD	43.99387	SD	27.12791	SD	30.66285
M+2SD	325.0974	M+2SD	255.3838	M+2SD	254.7377	M+2SD	258.6058	M+2SD	270.3257
灵敏度	6.89	灵敏度	4.1	灵敏度	1.05	灵敏度	1.9	灵敏度	1.06

[0132] 从表5中可知,组合物01的灵敏度为6.89,组合物02的灵敏度为4.1,组合物1的灵敏度为1.05,组合物2的灵敏度为1.9,组合物3的灵敏度为1.06。

[0133] 表6、包含白介素-6抗体的检测抗体组合物的灵敏度表

[0134]

组合物 03		组合物 4	
次数	信号	次数	信号
1	142	1	153
2	142	2	150
3	143	3	157
4	143	4	158
5	149	5	157
6	143	6	155
7	147	7	155
8	143	8	157
9	143	9	152
10	147	10	156
11	141	11	153
12	144	12	159
13	143	13	152
14	141	14	155
15	148	15	158
16	146	16	154
17	146	17	152
18	148	18	153
19	145	19	152
20	148	20	160
M	144.6	M	154.9
SD	2.5628931	SD	2.77014155
M+2SD	149.725786	M+2SD	160.440283
灵敏度	2.03	灵敏度	0.06

[0135] 从表5中可知,组合物03的灵敏度为2.03,组合物4的灵敏度为0.06。

[0136] 参照表5-表6中的数据,并比较组合物01、组合物1及组合物2,组合02及组合物3,组合物03及组合物4可知,增加荧光增强颗粒后,无论是包含肾素抗体的检测抗体组合物,还是包含白介素-6的检测抗体组合物,其检测灵敏度明显增强,也即更低浓度的校准品对应的检测样本的荧光强度就可以与校准品的浓度为0时的荧光强度区分开。增加荧光增强颗粒后,肾素抗体组合物的检测灵敏度从到,白介素-6检测抗体组合物的灵敏度从到,可见,金属纳米颗粒使荧光强度增强了近100倍,大大提高了检测的灵敏度。

[0137] 综上可知,在检测抗体上添加荧光增强颗粒能够扩大检测范围,提高荧光信号的强度并提高检测灵敏度。

[0138] 综上,本发明公开了一种试剂盒、检测抗体组合物及其制备方法,该检测抗体组合物包括:检测抗体,分别与检测抗体连接的荧光标记物和荧光增强颗粒,其中,荧光增强颗粒包括金属纳米颗粒。通过上述方式,本发明能够简化操作过程,有效放大荧光检测信号,提高检测灵敏度。

[0139] 以上所述仅为本发明的实施方式,并非因此限制本发明的专利范围,凡是利用本发明说明书及附图内容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，均同理包括在本发明的专利保护范围内。

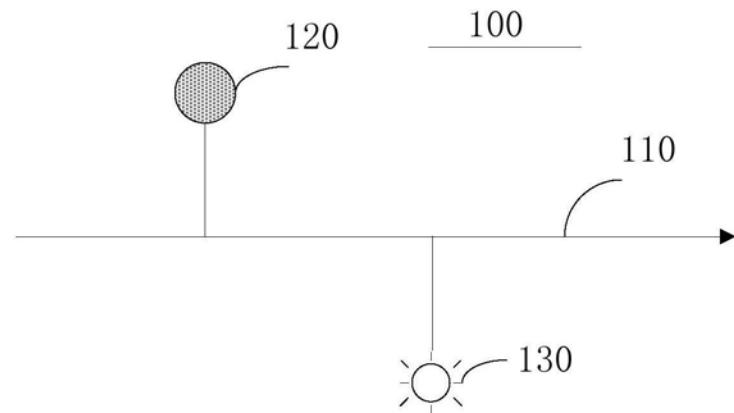


图1

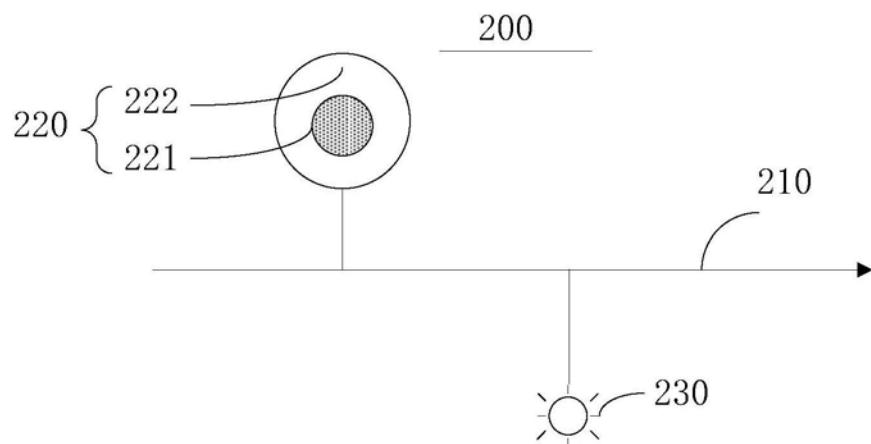


图2

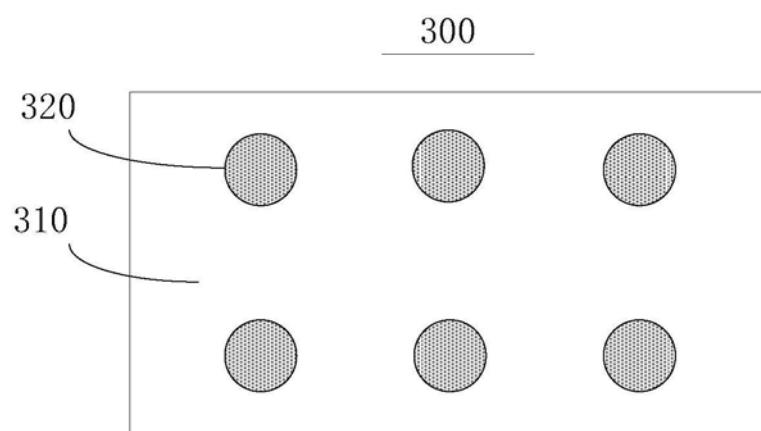


图3

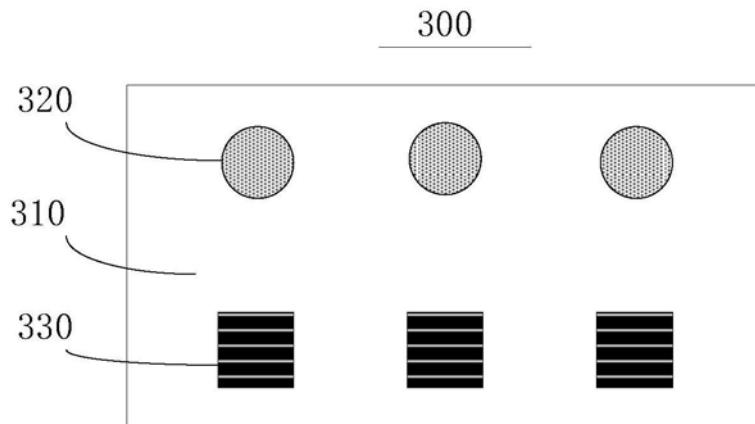


图4

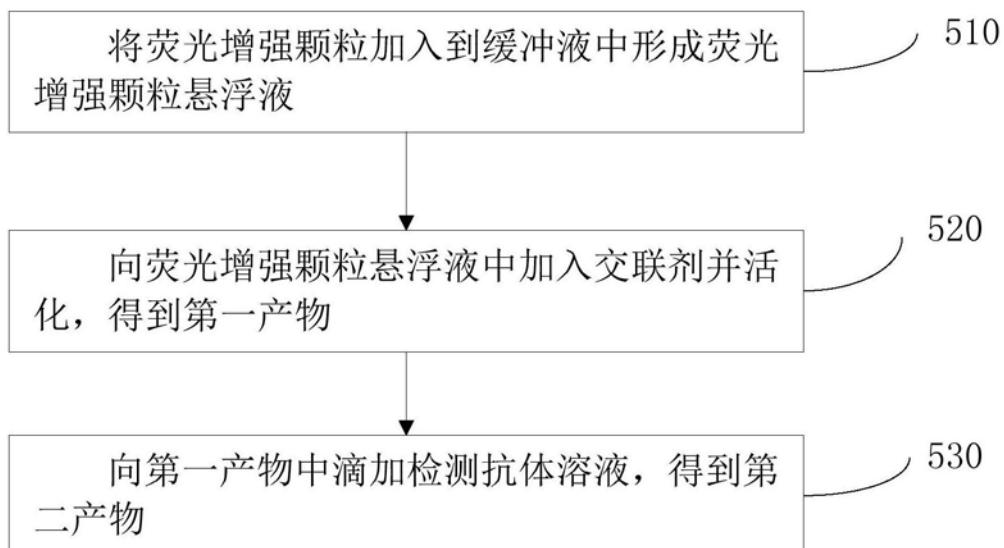


图5

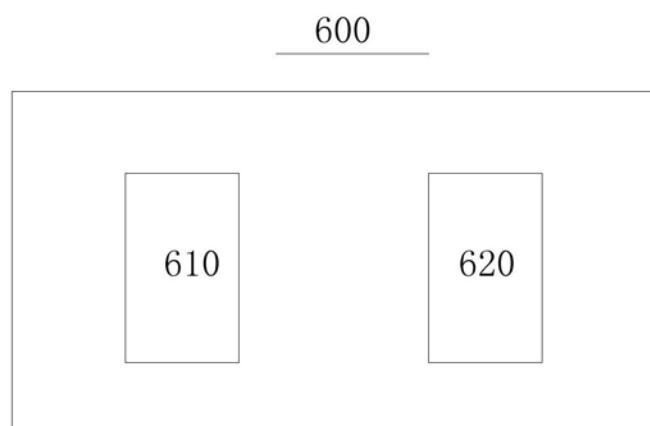


图6

专利名称(译)	试剂盒、系统、应用、检测抗体组合物及其制备方法		
公开(公告)号	CN111381028A	公开(公告)日	2020-07-07
申请号	CN201811647322.X	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 李春晖 刘治志 张文琪		
发明人	马志亚 李春晖 刘治志 许墨横 张文琪		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/553 G01N33/533 G01N33/58		
代理人(译)	李庆波		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明公开了一种试剂盒、系统、应用、检测抗体组合物及其制备方法，该检测抗体组合物包括：检测抗体，分别与所述检测抗体连接的荧光标记物和荧光增强颗粒，其中，所述荧光增强颗粒包括金属纳米颗粒。通过上述方式，本发明能够简化操作过程，有效放大荧光检测信号，提高检测灵敏度。

