



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102192980 A

(43) 申请公布日 2011. 09. 21

(21) 申请号 201010118968. 6

(22) 申请日 2010. 03. 08

(71) 申请人 苏州浩欧博生物医药有限公司  
地址 215123 江苏省苏州市工业园区星湖街  
218 号

(72) 发明人 李纪阳

(74) 专利代理机构 苏州创元专利商标事务所有  
限公司 32103  
代理人 孙仿卫

(51) Int. Cl.

G01N 33/53 (2006. 01)

G01N 33/543 (2006. 01)

G01N 33/532 (2006. 01)

G01N 33/76 (2006. 01)

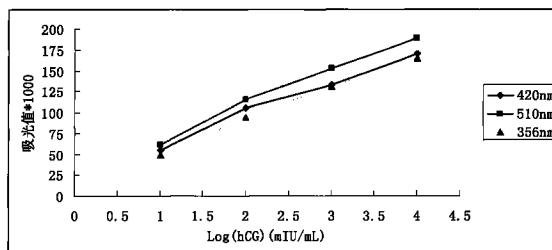
权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 1 页

(54) 发明名称

非金属胶体粒子免疫分析试剂及分析方法

(57) 摘要

本发明涉及一种免疫分析试剂及分析方法，该试剂由非金属胶体粒子与能够特异性结合所述待分析物质的免疫组分结合形成。分析方法包括如下依次进行的步骤：1) 将样品与所述免疫分析试剂接触；2) 通过检测待分析物质与所述免疫分析试剂形成的免疫复合物的含量，从而确定待分析物质的含量。本发明的免疫分析方法，由于其中采用了标记非金属胶体粒子的方式，与现有的免疫分析方法相比，一方面灵敏度更高，能够检测出更低含量的物质，另一方面，最后形成的免疫复合物的检测光吸收值的波长范围更广，在免疫复合物的定量分析上更为精确。



1. 一种免疫分析试剂,其特征在于:该试剂由非金属胶体粒子与能够特异性结合所述待分析物质的免疫组分结合形成。

2. 根据权利要求1所述的免疫分析试剂,其特征在于:所述的非金属胶体粒子选自硫、硒、碲胶体粒子。

3. 根据权利要求2所述的免疫分析试剂,其特征在于:所述的非金属胶体粒子为水分散形式的硒胶体粒子。

4. 根据权利要求1所述的免疫分析试剂,其特征在于:所述的非金属胶体粒子的平均粒径为  $3\text{nm}\sim 450\text{nm}$ 。

5. 根据权利要求1所述的免疫分析试剂,其特征在于:所述的免疫组分选自抗原、半抗原或抗体。

6. 根据权利要求1所述的免疫分析试剂,其特征在于:非金属胶体粒子与免疫组分的结合方式可以为物理固定、共价键或亲水键结合。

7. 一种免疫分析方法,该方法采用权利要求1所述免疫分析试剂来检测样品中的待分析物质的含量,该方法包括如下依次进行的步骤:1) 将样品与所述免疫分析试剂接触;2) 通过检测待分析物质与所述免疫分析试剂形成的免疫复合物的含量,从而确定待分析物质的含量;

所述的免疫分析试剂由非金属胶体粒子与能够特异性结合所述待分析物质的免疫组分结合形成。

8. 根据权利要求7所述的免疫分析方法,其特征在于:将所述的步骤1) 所得混合物孵育一定时间后,再进行步骤2)。

9. 根据权利要求7所述的免疫分析方法,其特征在于:步骤2) 中采用测量光吸收值的方法来检测所述免疫复合物的含量。

10. 根据权利要求9所述的免疫分析方法,其特征在于:所述测量光吸收值的方法为固相免疫分析方法。

## 非金属胶体粒子免疫分析试剂及分析方法

### 技术领域

[0001] 本发明属于诊断免疫分析技术领域。

### 背景技术

[0002] 已知的很多诊断免疫分析方法主要是利用带有可追踪标记的特异性抗体能够与分析物特异性结合的特性来检测分析物的含量,例如放射免疫分析法(RIA)、自由基检测技术(FRAT)、酶联免疫技术(EIA)、免疫荧光技术以及金属溶胶颗粒检测分析物的方法(专利申请号为4313734的美国专利中介绍了该方法)。

[0003] 现有技术中,上述的这些方法都在使用,都能够有效检测一些特定的分析物,但是上述这些方法都存在一些弊端,例如,放射免疫分析法虽然灵敏度高,但是需要使用有放射性的化合物,操作危险,对操作者的健康不利,并且也需要使用灵敏度高的仪器,成本较高。酶联免疫技术应用很普遍,但是其检测的灵敏度不高,无法检测含量低的免疫原。免疫荧光技术也同样存在这样的问题,灵敏度低。另外,自由基检测技术以及金属胶体的免疫分析方法,不仅检测的灵敏度偏低,并且较难对最后形成的复合物进行定量分析。

[0004] 因此,需要提供一种新的诊断免疫分析方法,该方法检测的灵敏度高,且对最后形成复合物的定量分析更为精准。

### 发明内容

[0005] 本发明的一方面提供了一种免疫分析试剂,该试剂由非金属胶体粒子与能够特异性结合所述待分析物质的免疫组分结合形成。

[0006] 本发明另一方面提供了一种免疫分析方法,该方法采用上述免疫分析试剂来检测样品中的待分析物质的含量,该方法包括如下依次进行的步骤:1)将样品与所述免疫分析试剂接触;2)通过检测待分析物质与所述免疫分析试剂形成的免疫复合物的含量,从而确定待分析物质的含量;所述免疫分析试剂由非金属胶体粒子与能够特异性结合所述待分析物质的免疫组分结合形成。

[0007] 上述免疫分析试剂及方法,利用标记了非金属胶体粒子的免疫组分特异性结合待分析物质,对最终形成的复合物进行定量分析从而检测出该分析物质的含量。

[0008] 其中,免疫组分是指能够特异性结合待分析物质的组分。免疫组分与待分析物质之间发生免疫反应而结合,具体的说,样品中的待分析物质与免疫组分特异性结合。优选的,所述的免疫组分为特异性结合蛋白。更优选的,所述的免疫组分选自抗原、半抗原或抗体。

[0009] 优选的,所述的非金属胶体粒子选自硫、硒、碲胶体粒子。在本发明的一个实施方案中,所述的非金属胶体粒子为水分散形式的硒胶体粒子。

[0010] 优选的,所述的非金属胶体粒子的平均粒径为3nm~450nm。在本发明的一个实施方案中,所述的硒胶体粒子的平均粒径为11nm~200nm。

[0011] 在本发明的一个实施方案中,使用的硒胶体粒子为水分散的形式,浓度为

0.005%~0.1% (W/V);浓度优选 0.02%~0.04%。在本发明的一个实施方案中,硒胶体粒子的形状大致呈球形,长与宽的比例在 0.7~0.95 之间。

[0012] 优选的,非金属胶体粒子与免疫组分的结合方式可以为物理固定、共价键或亲水键结合。

[0013] 上述的待分析物质可以是抗体、抗原、半抗原。

[0014] 本发明的免疫分析试剂及方法还可以用来检测分子量较高的大分子物质,例如多肽、蛋白质、抗原、半抗原以及抗体;或激素、维生素、药物、代谢物;或类固醇、维生素。

[0015] 采用本发明的免疫分析试剂及方法检测液体样品,如尿、血液、血清、唾液及其类似物,可以将样品与免疫分析试剂相混合,经过适当时间的孵育后,检测待分析物质与免疫分析试剂是否形成了免疫复合物或形成的免疫复合物的含量,由此可以获得待分析物质的含量。

[0016] 免疫复合物的含量可以通过测量光吸收值的方法来检测。测量光吸收值的常规方法有很多,例如本领域技术人员所熟知的分光光度法。在本发明的一个具体实施方式中,采用了固相免疫分析方法,特别适合本发明的非金属胶体粒子免疫分析方法。

[0017] 本发明的免疫分析试剂和方法并不局限于上述部分中所列举的,凡根据本发明的精神实质所作的等效变化或修饰,都应涵盖在本发明的保护范围内,例如,可以在上述的免疫分析试剂和方法基础上适当的进行改进,检测多种特异性结合物。

[0018] 采用本发明的非金属胶体粒子免疫分析试剂和方法,由于其中采用了标记非金属胶体粒子的方式,与现有的免疫分析方法相比,一方面灵敏度更高,能够检测出更低含量的物质,另一方面,最后形成的免疫复合物的检测光吸收值的波长范围更广,在免疫复合物的定量分析上更为精确。

## 附图说明

[0019] 附图 1 为实施例 1 中所获得免疫复合物的定量分析结果。

## 具体实施方式

[0020] 以下结合实施例来进一步阐述本发明的非金属胶体粒子免疫分析试剂和方法。

[0021] 实施例 1

[0022] 硒胶体粒子的制备

[0023] 在 200mL 沸水中加入 2mL 3% 二氧化硒 ( $\text{SeO}_2$ ) 和 4.5mL 1% 抗坏血酸 (要求现用现配)。回流 10 分钟,得到棕红色溶液,冷却至室温后。4℃,2500g 离心 20 分钟。沉淀物用 200mL 沸水重新悬浮,即得到需要的硒胶体粒子 (也称胶体硒)。

[0024] 抗  $\beta$  hCG 抗体与胶体硒的结合 (标记硒胶体粒子的抗体溶液 -- 免疫分析试剂)

[0025] 在 2mL 磷酸盐缓冲液 (20mM, pH 7.3) 中加入 25  $\mu$ L 羊抗  $\beta$  hCG 抗体 (4.6mg/mL),混合均匀,再向其中加入 25mL 制备好的胶体硒。26℃ 搅拌 10 分钟,再加入 1mL 1% 聚乙二醇溶液,混合均匀。4℃,5000g 离心 5 分钟。沉淀物用 1mL 磷酸缓冲液 (0.1M, pH7.3, 2% BSA, 0.15M NaCl) 重悬浮,得到标记硒胶体粒子的抗体溶液。

[0026] 检测血清中的绒毛膜促性腺激素 (hCG)

[0027] 分光光度法

[0028] 在一组试管中分别加入 0.6mL 磷酸钠盐缓冲液 (0.1M, 0.15M NaCl, pH7.3), 再向该缓冲液中加入 30  $\mu$ L 制备好的标记硒胶体粒子的免疫分析试剂。在每个试管中分别加入 70  $\mu$ L 不同浓度的 hCG 标准溶液。涡旋振荡, 26 $^{\circ}$ C 孵育 3 分钟。

[0029] 用分光光度计读数, 波长选择 356nm, 420nm 和 510nm, 结果见图 1。从图 1 可以看出, hCG 标准溶液在不同波长的光吸收值是相同的, 这表明, 检测硒-抗体免疫复合物的可选的光波长范围较广, 检测结果更为精准。

[0030] 实施例 2

[0031] 硒胶体粒子的制备同实施例 1。

[0032] 固相免疫分析技术

[0033] 本实施例中使用了抗猪旋毛虫抗体和硝酸纤维素膜。

[0034] 将按上述方法制备好的胶体硒 40  $\mu$ L、80  $\mu$ L 和 150  $\mu$ L 分别加到有 4mL 水的瓶中, 用 0.01M 碳酸钾调节 pH 至 7.2, 每瓶中加入 150  $\mu$ L 羊抗猪 IgG 抗体, 混匀, 孵育 10 分钟。加入 0.5mL 0.5% 的氢氧化钠溶液。全部离心, 去上清, 得到的沉淀物使用 20  $\mu$ L 含 4% 干酪素的 TBS 溶液重悬浮, 获得标记硒胶体粒子的抗体溶液。

[0035] 将 0.5  $\mu$ L 硒标记的抗体溶液与含抗猪旋毛虫抗体的血清样品混合, 将这个混合物加到硝酸纤维素膜上, 检测标记的抗体的特异性结合。结合物显示红色, 证明是阳性反应 (若阴性结果, 则无色)。经多次试验发现, 80nm 的硒胶体粒子得到的结果最好。

[0036] 本发明的非金属胶体粒子免疫分析试剂和方法并不局限于上述的实施例, 凡根据本发明的精神实质所作的等效变化或修饰, 都应涵盖在本发明的保护范围内。

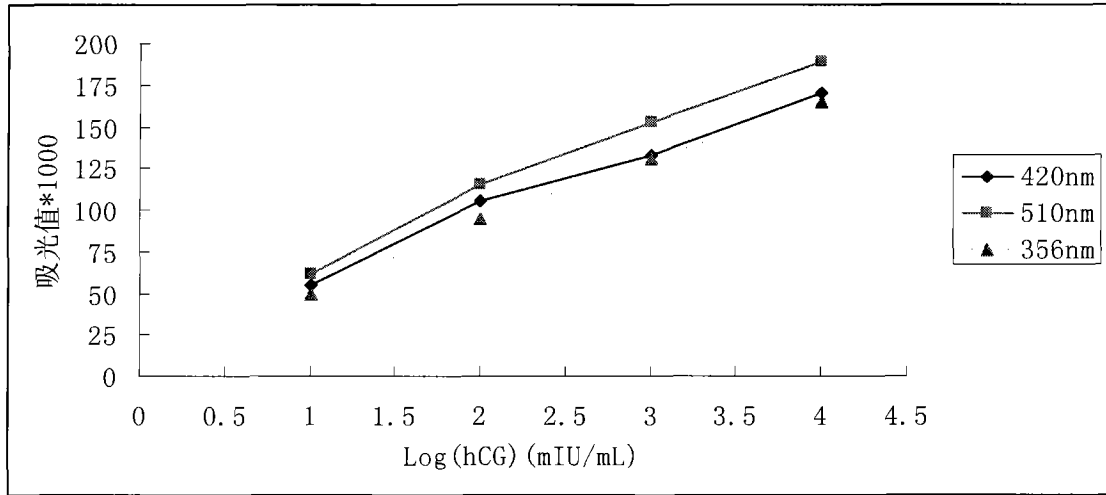


图 1

专利名称(译)	非金属胶体粒子免疫分析试剂及分析方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN102192980A</a>	公开(公告)日	2011-09-21
申请号	CN201010118968.6	申请日	2010-03-08
[标]申请(专利权)人(译)	苏州浩欧博生物医药有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州浩欧博生物医药有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	苏州浩欧博生物医药有限公司		
[标]发明人	李纪阳		
发明人	李纪阳		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 G01N33/532 G01N33/76		
其他公开文献	CN102192980B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种免疫分析试剂及分析方法，该试剂由非金属胶体粒子与能够特异性结合所述待分析物质的免疫组分结合形成。分析方法包括如下依次进行的步骤：1)将样品与所述免疫分析试剂接触；2)通过检测待分析物质与所述免疫分析试剂形成的免疫复合物的含量，从而确定待分析物质的含量。本发明的免疫分析方法，由于其中采用了标记非金属胶体粒子的方式，与现有的免疫分析方法相比，一方面灵敏度更高，能够检测出更低含量的物质，另一方面，最后形成的免疫复合物的检测光吸收值的波长范围更广，在免疫复合物的定量分析上更为精确。

