



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102713625 A

(43) 申请公布日 2012. 10. 03

(21) 申请号 201080060775. 8

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2010. 10. 07

G01N 33/531 (2006. 01)

G01N 33/543 (2006. 01)

(30) 优先权数据

2010-003421 2010. 01. 08 JP

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 07. 06

(86) PCT申请的申请数据

PCT/JP2010/067617 2010. 10. 07

(87) PCT申请的公布数据

W02011/083604 JA 2011. 07. 14

(71) 申请人 田中贵金属工业株式会社

地址 日本东京都

(72) 发明人 伊藤大辅 芝井勇亮

(74) 专利代理机构 北京聿宏知识产权代理有限

公司 11372

代理人 吴大建 刘华联

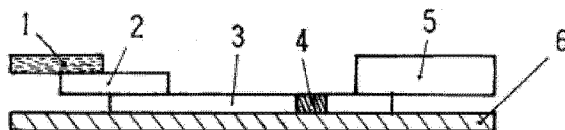
权利要求书 1 页 说明书 13 页 附图 1 页

(54) 发明名称

免疫层析用试剂组合物

(57) 摘要

本发明提供了一种相比于利用免疫层析装置来对检测对象物进行检测的现有技术而言可抑制非特异性反应的免疫层析用试剂组合物或试样稀释液。本发明还提供了一种使用上述试剂的高性能高灵敏度的免疫层析装置,以及可迅速简便地进行检测的检测试剂盒。利用免疫层析法对试样中的检测对象物进行检测时,通过使用含有缓冲液、螯合剂以及非离子表面活性剂的免疫层析用试剂组合物或免疫层析用展开液或免疫层析用试样稀释液,可以抑制非特异性反应。



1. 一种用于检测试样中的选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 和促甲状腺激素 (TSH) 的检测对象物的免疫层析用试剂组合物,其特征在于,所述免疫层析用试剂组合物含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在  $0.1 \sim 1.5$  的范围内。

2. 根据权利要求 1 所述的免疫层析用试剂组合物,其中,所述螯合剂为氨基酸类螯合剂。

3. 一种用于检测试样中的选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 和促甲状腺激素 (TSH) 的检测对象物的免疫层析用试样稀释组合物,其特征在于,所述免疫层析用试样稀释组合物含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在  $0.1 \sim 1.5$  的范围内。

4. 一种免疫层析装置,其特征在于,所述装置基本上按试样添加部,标记物保持部,层析介质部,用于检测试样中选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 和促甲状腺激素 (TSH) 的检测对象物的检测部以及吸收部顺序构成,在所述试样添加部的端部与吸收部之间的任意领域部设有含有免疫层析用试剂组合物的部位,所述组合物含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在  $0.1 \sim 1.5$  的范围内。

5. 根据权利要求 4 所述的免疫层析装置,其中,所述螯合剂为氨基酸类螯合剂。

6. 一种检测试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括免疫层析装置,所述装置基本上按试样添加部,标记物保持部,层析介质部,用于检测试样中的选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 和促甲状腺激素 (TSH) 的检测对象物的检测部以及吸收部顺序构成,在所述试样添加部的端部与吸收部之间的任意领域部设有含有免疫层析用试剂组合物的部位,所述组合物含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在  $0.1 \sim 1.5$  的范围内。

7. 一种用于检测试样中的选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 以及促甲状腺激素 (TSH) 的检测对象物的免疫层析用展开液,其特征在于,所述展开液含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在  $0.1 \sim 1.5$  的范围内。

8. 一种免疫层析方法,其特征在于,所述免疫层析法用于检测试样中的选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 和促甲状腺激素 (TSH) 的检测对象物;其中,将免疫层析用展开液作为构成移动相的展开液使用,所述免疫层析用展开液含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在  $0.1 \sim 1.5$  的范围内。

## 免疫层析用试剂组合物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种可抑制非特异性反应的、高性能高灵敏度的免疫层析用试剂组合物或免疫层析用展开液。本发明进一步涉及可抑制非特异性反应的、迅速简单地检查 / 测定试样中的检测对象物的检测试剂盒及其检测方法。更具体地,本发明涉及通过将没有经过预处理的检测试样直接供给到所述检测试剂盒的试样添加部来迅速简便且高精度地进行检测的检测试剂盒。

### 背景技术

[0002] 近年来,作为没有必要对检测试样进行预处理的免疫层析用免疫用的条带式免疫测定法,利用抗体所具有的特异性反应来检测试样液中的抗原的简便的体外诊断试剂盒或便携式诊断装置的重要性在提高。特别是,作为非处方医药品出售的妊娠检查试剂盒是一种常见的免疫层析装置。由于妊娠女性的尿中会排泄出胎盘分泌物 hCG,因此对利用可与尿中的 hCG 进行特异性反应的抗体进行妊娠检测的免疫层析装置进行了研究。

[0003] 但是,在检测试样为尿的情况下,由于尿中含有多种成分,且组成和比重也有差异,因此会给免疫化学的结合带来不小的影响,从而成为会影响通过利用免疫化学结合的检测法结果的准确性的妨害因素。为了将这些妨害因素的影响最小化,已经提出了使用各种补偿手段对其来进行处理(参考专利文献 1)。

[0004] 另外,在利用高速液体层析法对检体中的血红蛋白进行测定的时候为了达到防止血红蛋白变性的目的,添加乙二胺四乙酸(以下简称“EDTA”)·2 Na、EDTA·3K 以及二乙基三胺五乙酸(以下简称“DTPA”)等螯合剂的技术是公知的(参考专利文献 2)。

[0005] 然而,已经确认了 EDTA 对于粪便等试样中所含有的血红蛋白稳定化来说不具备充分的作用,并且也已知了使用过渡金属离子的水溶性金属络合物得到的稳定化效果比只使用 EDTA 的效果要高(参考专利文献 3)。

[0006] 进一步地说,在利用免疫层析法测定检体中的血红蛋白的时候,将由选自铁粒子、铜离子或铅粒子的金属离子和螯合剂组成的物质作为稳定剂混入到敏感金属胶体试剂溶液中的方法是已知的(参考专利文献 4)。

[0007] 另一方面,在传统的免疫层析装置中,背景着色(判定部的固定相抗体以外的部分的着色)以及空白发色(不存在检测物质时的固定相的发色)不仅降低了检测时的 SN 比,也被视为是造成误操作的原因的问题。背板着色的原因是由于可视化移动相抗体和多孔质载体之间的疏水性结合,而空白发色的原因是由带有负电荷的移动相抗体与带有正电荷的固定相载体之间的电相互作用。作为对策,公开了一种在由检测片构成的多孔质载体中的试样导入部和判定部之间设有添加剂含浸部的免疫层析装置,所述添加剂含浸部中承载有能够消除疏水结合和电相互作用的效果的物质,如表面活性剂、铵盐和 pH 缓冲剂中的至少一种(参考专利文献 5)。

[0008] 另外,在使用含有 pH 缓冲剂等展开液的免疫层析检测方法中,为了抑制基于生物学亲和性的副反应、抑制非特异性反应,使用了各种添加剂,例如用于促进抗原抗体反应

或抑制非特异性反应的蛋白质(例如牛血清白蛋白、酪蛋白、明胶等)、高分子化合物(例如聚乙二醇、右旋糖苷、甲基纤维素、聚乙烯基吡咯烷酮等)、非离子性表面活性剂(例如 Tween 20、Triton X-100 等)、离子型表面活性剂或聚阴离子(例如硫酸葡聚糖、肝磷脂、聚苯乙烯磺酸、透明质酸、硫酸软骨素等)或者它们的盐,这些作为添加剂进行了列举(参考专利文献 6)。

[0009] 但是,作为用于抑制背板着色或空白发色,或者用于抑制基于生物学亲和性的副反应或抑制非特异性反应的手段而使用的表面活性剂,所列举的非离子表面活性剂(例如 Tween 20、Triton X-100 等)、离子型表面活性剂或聚阴离子并没有完全达到目的,同样存在着不能抑制非特异性反应的问题。

[0010] 本发明的发明人着眼于上述的非离子表面活性剂(例如 Tween20、Triton X-100 等)、离子型表面活性剂或聚阴离子,特别着眼于非离子表面活性剂进行了实验,得到的结果发现,利用免疫层析法检测试样中的检测对象物时,依然会观察到非特异性反应的发生,非特异性反应不能得到充分抑制的问题依然存在。

## 现有技术

- [0011] 专利文献
- [0012] 专利文献 1 :日本特表 2007-526443 号公报
- [0013] 专利文献 2 :日本特开平 2-221859 号公报
- [0014] 专利文献 3 :日本特开平 7-229902 号公报
- [0015] 专利文献 4 :日本特开 2000-146967 号公报
- [0016] 专利文献 5 :日本特开平 11-153601 号公报
- [0017] 专利文献 6 :日本特开 2007-322310 号公报

## 发明内容

[0018] 本发明要解决的技术问题

[0019] 与现有技术相比,本发明提供了一种可抑制非特异性反应的高性能且高灵敏度的免疫层析用试剂组合物或免疫层析用展开液。另外,与现有技术相比,本发明还提供了一种可抑制非特异性反应的迅速简便且高精度地检测的免疫层析装置。例如,本发明提供了一种可与尿中的人绒毛膜促性腺激素(hCG)发生特异性反应的可迅速简便地进行妊娠检查的免疫层析装置。

[0020] 进一步地说,本发明提供了一种不用对试样进行预处理的、通过将试样直接供给到检测试剂盒的试样添加部以抑制非特异性反应并与试样中的检测对象物发生特异性反应的、可迅速简便且高精度地进行检测的检测试剂盒。例如,提供了一种通过将尿直接供给到检测试剂盒的试样添加部来迅速简便且高精度地进行妊娠检查的检测试剂盒。

[0021] 另外,本发明还涉及抑制非特异性反应的、利用免疫层析法来对试样中的检测对象物进行检测的方法。

[0022] 解决问题的手段

[0023] 本发明提供了如下(a)~(j)所述的免疫层析用试剂组合物、免疫层析用展开液、使用上述组合物或展开液的免疫层析装置以及免疫层析法及其检测用试剂盒。

[0024] (a) 本发明的第 1 特征为用于检测试样中的选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 和促甲状腺激素 (TSH) 的检测对象物的免疫层析用试剂组合物,其特征在于,所述免疫层析用试剂组合物含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在  $0.1 \sim 1.5$  的范围内。

[0025] (b) 本发明的第 2 特征为根据上述 (a) 记载的免疫层析用试剂组合物,其中螯合剂为氨基酸类螯合剂。

[0026] (c) 本发明的第 3 特征为用于检测试样中的选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 和促甲状腺激素 (TSH) 的检测对象物的免疫层析用试样稀释组合物,其特征在于,所述组合物含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在  $0.1 \sim 1.5$  的范围内。

[0027] (d) 本发明的第 4 特征为免疫层析装置,其特征在于,所述装置基本上按试样添加部,标记物保持部,层析介质部,用于检测试样中的选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 和促甲状腺激素 (TSH) 的检测对象物的检测部以及吸收部顺序构成;在所述试样添加部的端部与吸收部之间的任意领域部设有含有免疫层析装置试剂组合物的部位,所述组合物含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在  $0.1 \sim 1.5$  的范围内。

[0028] (e) 本发明的第 5 特征为根据上述 (d) 记载的免疫层析装置,其中螯合剂为氨基酸类螯合剂。

[0029] (f) 本发明的第 6 特征为检测试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括免疫层析装置,其基本上按试样添加部、标记物保持部、层析介质部、用于检测选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 和促甲状腺激素 (TSH) 中的检测对象物的检测部以及吸收部顺序构成,并且在所述试样添加部的端部与吸收部之间的任意领域部处设有含有免疫层析用试剂组合物的部位,所述免疫层析用试剂组合物含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在  $0.1 \sim 1.5$  的范围内。

[0030] (g) 本发明的第 7 特征为用于检测试样中的选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 和促甲状腺激素 (TSH) 中的检测对象物的免疫层析用展开液,其特征在于,所述展开液含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在  $0.1 \sim 1.5$  的范围内。

[0031] (h) 本发明的第 8 特征为免疫层析方法,用于检测试样中的选自人绒毛膜促性腺激素 (hCG)、黄体化激素 (LH)、促卵泡激素 (FSH) 和促甲状腺激素 (TSH) 的检测对象物,其特征在于,所述免疫层析法使用免疫层析用展开液作为构成移动相的展开液,所述展开液含有缓冲液、螯合剂以及由一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物制成的非离

子表面活性剂,在该共聚物中,聚氧乙烯嵌段中的乙氧基重复单元与聚氧丙烯嵌段中的丙氧基重复单元的摩尔比处在 0.1~1.5 的范围内。

[0032] 本发明的效果

[0033] 本发明的免疫层析用试剂组合物含有缓冲液、螯合剂以及非离子表面活性剂,在对检测试样中的检测对象物进行检测时,虽然其具体的抑制机理的原理不清楚,但能够抑制非特异性反应,检测的灵敏度不会降低,可以得到正确的结果判定。例如,在检测作为检体使用的尿中的 hCG 时,由于能显著地抑制非特异性反应,因此灵敏度不会降低,可以得到正确的判定妊娠检查的结果。

[0034] 另外,在本发明的免疫层析装置的区域设有含有本发明的免疫层析用试剂组合物的部位,其在用免疫层析用试剂组合物对试样添加部的端部和吸收部之间的区域内进行涂布、吸收或浸渍后,经干燥使之担载或保持或形成。例如,对于干燥的免疫层析装置来说,在免疫层析装置的样品板(试样添加部分)上涂布或浸渍上述试剂组合物后,在检测作为检体使用的尿中的 hCG 时,没有必要对试样中的尿进行预处理,因此,可以直接将尿供给到检测试剂盒的试样添加部,具有可抑制非特异性反应、可与尿中的 hCG 发生特异性反应以及迅速简便的检测妊娠等特性。在本发明的免疫层析装置的领域部设有含有本发明的免疫层析用试剂组合物的部位、即担载或保持或形成有本发明的免疫层析用试剂组合物的部位,只要存在试样添加部的端部和吸收部之间的领域部,该部位可以是领域部的任意部位。例如,它可以是试样添加部分、标记物保持部,或者是免疫层析介质上的比检测部更靠近试样添加部一侧的部分,然而,所述领域部位置、尺寸(宽度)、浓度等可以根据组合物的效能来任意地确定,这均属于设计选择的范围内。

#### 附图说明

[0035] 图 1 是免疫层析装置的试验片的示意图

#### 具体实施方式

[0036] 以下对本发明进行详细说明。

[0037] 本发明的发明人等对免疫层析装置进行了反复深入的研究,得到的结果表明,通过使用含有缓冲剂、螯合剂和非离子表面活性剂的试剂组合物作为免疫层析用试剂组合物,可以在缓冲剂、非离子表面活性剂和螯合剂的相互作用的帮助下很好地消除移动相抗体和多孔质载体之间的疏水结合作用以及移动相抗体和固定相载体之间的电相互作用。进一步地,通过缓冲剂、螯合剂和非离子表面活性剂之间的协同作用,可以对被检测物质和标记的检测试剂、并对由被检测物质和标记抗体的反应得到的复合体进行稳定化,同时第一次发现了利用上述试剂组合物作为移动相平缓移动的作用结果,可以非常显著地抑制非特异性反应,且可特别高灵敏度地、迅速地检测 / 测定试样中的被检测物质。

[0038] 作为本发明的免疫层析用试剂组合物的成分之一的缓冲剂没有特别的限定,只要它能够实现其作用(缓冲作用),不会因试样的添加、或试样的蒸发或稀释所导致的浓度变化、也不会因为自外部混入少许杂质而产生显著的影响。

[0039] 在本发明中,作为缓冲剂的例子有:乙酸缓冲液(乙酸+乙酸钠)、磷酸缓冲液(磷酸+磷酸钠)、柠檬酸缓冲液(柠檬酸+柠檬酸钠)、硼酸缓冲液、Tris 盐酸缓冲液(三(羟基

甲基)氨基甲烷 + 盐酸)、TE 缓冲液(Tris+ 乙二胺四乙酸)、TAE 缓冲液(Tris+ 乙酸 + 乙二胺四乙酸)、TBE 缓冲液(Tris+ 硼酸 + 乙二胺四乙酸)或 HEPES 缓冲液(2-[4-(2- 羟基乙基)-1- 哌嗪基]乙磺酸)等。优选使用乙酸缓冲液、磷酸缓冲液、Tris 盐酸缓冲液等,更优选 Tris 盐酸缓冲液。

[0040] 作为本发明的免疫层析用试剂组合物的成分之一的螯合剂,没有特别限定,只要它可用作具有多个配位基的配位体即可

[0041] 在本发明中,作为螯合剂的例子有:乙二胺、二吡啶、乙二胺四乙酸(以下称为“EDTA”)、EDTA · 2Na、EDTA · 3Na、EDTA · 4Na、EDTA 衍生物(例如 EDTA · 2NH<sub>4</sub>、EDTA · 3K、EDTA · 特殊铵盐等)、EDTA 金属盐(例如 EDTA · Ca · 2Na 等)、羟基乙基乙二胺三乙酸(HEDTA)系、二羟基乙基乙二胺二乙酸(DHEDDA)系、1,3-丙烷二胺四乙酸(1,3-PDTA)系、二乙烯三胺五乙酸(DTPA)系、三乙烯四胺六乙酸(TTHA)系、亚硝基三乙酸(NTA)系、葡糖酸系、羟乙基亚氨基二乙酸(HIMDA)系、L-天冬氨酸-N,N-二乙酸(ASDA)系、氨基三亚甲基膦酸(NTMP)系、羟基乙烷膦酸(HEDP)系、3-羟基-2,2'-亚氨基二琥珀酸四钠、菲咯啉、卟啉、冠醚等。

[0042] 作为本发明的螯合剂,优选氨基酸类螯合剂。

[0043] 作为本发明的氨基酸类螯合剂没有特别的限定,只要是含有氨基和羧酸官能团且可以与重金属离子和碱土金属离子形成络合的化合物即可。例如,可列举出上述的乙二胺四乙酸(EDTA)、亚硝基三乙酸(NTA)、二乙烯三胺五乙酸(DTPA)、羟基乙基乙二胺三乙酸(HEDTA)等。优选使用乙二胺四乙酸(EDTA)。

[0044] 作为本发明的免疫层析用试剂组合物成分之一的非离子表面活性剂的例子有:聚氧乙烯烷基醚、聚氧乙烯/聚氧丙烯烷基醚,聚氧乙烯失水山梨醇脂肪酸酯(商品名“Tween”系列)、聚氧乙烯对叔辛基苯基醚(商品名“Triton”系列)、聚氧乙烯对叔壬基苯基醚(商品名“TritonN”系列)、烷基聚葡糖苷、脂肪酸二乙醇酰胺、烷基单甘油基醚等。非离子表面活性剂可以单独地使用,或将2种以上混合使用。

[0045] 作为本发明的免疫层析组合物成分之一的非离子表面活性剂优选使用聚氧乙烯/聚氧丙烯烷基醚。具体地,使用一端端基为直链状或支链状的烷基的聚氧乙烯/聚氧丙烯嵌段共聚物,烷基的碳原子数优选为1-18,更优选为10-18。对于两端均为羟基的聚氧乙烯/聚氧丙烯嵌段共聚物,由于能引起非特异性反应的糖蛋白等杂质的变性受到了阻碍、处理液的可溶性和分散性的降低,以及不能控制标记抗体和检测抗体之间的静电或疏水结合的亲和力等原因,不能抑制非特异性反应,因此不能进行正确的判定。另外,在一端端基的烷基超过18个碳原子时,阻碍了测定所需的通过被检测物质和标记抗体反应得到的复合体的生成,不能得到足够的灵敏度,因此不合适。进一步地,聚氧乙烯嵌段中的氧乙烯重复单元和聚氧丙烯嵌段中的氧丙烯重复单元的摩尔比优选为0.1-1.5,更优选0.15-1.1。所述一端的烷基优选与聚氧乙烯嵌段相结合。在上述的重复单元的摩尔比小于0.1时,由于能引起非特异性反应的糖蛋白等杂质的变性受到了阻碍,或者处理液的可溶性和分散性的降低或者不能控制标记抗体和检测抗体之间的静电或疏水结合的亲和力等原因,不能抑制非特异性反应,因此不能进行正确的判定。另外,在超过1.5时,阻碍了测定所需的通过被检测物质和标记抗体反应得到的复合体的生成,不能得到足够的灵敏度,因此不合适。

[0046] 作为本发明的免疫层析用试剂组合物成分之一的非离子表面活性剂的含量为免

疫层析试剂组合物的 0.01-10 重量 % 的范围, 优选 0.05-5 重量 % 的范围。含量小于 0.05 重量 % 时, 不能抑制非特异性反应, 不能进行正确的判定。含量为 10% 以上时, 高于必要的浓度, 不会带来更好的抑制非特异性反应的影响, 不经济、浪费。

[0047] 作为本发明的免疫层析用试剂组合物成分之一的非离子表面活性剂, 理想的是使用只含有一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物。然而, 只要没有不好的影响发生, 也可以与其他的非离子表面活性剂和 / 或离子型表面活性剂等配合使用。

[0048] 作为本发明的免疫层析用试剂组合物成分之一的缓冲剂的浓度为 0.01-250mM 的范围, 优选 10-200mM 的范围, 更优选 30-180mM 的范围。浓度如果低于 0.01mM, 缓冲作用不充分。浓度为 250mM 以上时, 高于必要的浓度, 不经济、浪费。

[0049] 本发明的免疫层析用试剂组合物理想地不含有 Tris 盐酸缓冲液以外的缓冲剂。然而, 只要没有不好的影响发生, 也可以与其他缓冲剂配合使用。

[0050] 作为本发明的免疫层析用试剂组合物成分之一的螯合剂的浓度为 0.01-10mM 的范围, 优选 0.1-5mM 的范围, 更优选 0.5-2mM 的方位。浓度低于 0.01mM 时, 不能抑制非特异性反应, 不能进行正确的判定。浓度为 10mM 以上时, 高于必要的浓度以, 不经济、浪费。

[0051] 在本发明的免疫层析用试剂组合物中, 可以添加公知能抑制基于生物学亲和性的副反应或抑制非特异性反应的添加剂, 例如用于促进抗原抗体反应或抑制非特异性反应的蛋白质(例如牛血清白蛋白、酪蛋白、明胶等)、高分子化合物(例如聚乙二醇、甲基纤维素、聚乙烯基吡咯烷酮、聚乙烯基醇、葡聚糖等)、离子性表面活性剂或聚阴离子(例如硫酸葡聚糖、肝素、聚苯乙烯磺酸、硫酸软骨素等), 以及抗菌剂等。这些添加剂可以单独地使用, 或 2 种以上相结合地使用, 其使用有效, 没有任何妨碍。这些用于促进抗原抗体反应或抑制非特异性反应的蛋白质、高分子化合物、离子性表面活性剂或聚阴离子抗菌剂等中的 1 种或 2 种以上添加剂可以保持在构成固定相的层析介质上的流动相的流路上, 其使用有效, 没有任何妨碍。

[0052] 作为含有本发明的免疫层析用试剂组合物成分的免疫层析用试剂组合物的部位的设置方法, 例如可将组合物涂布在免疫层析装置的样品板(试样添加部)上, 或将样品板浸渍在组合物中, 然后进行干燥, 由此将组合物担载或保持在样品板上。将本发明的免疫层析用试剂组担载在免疫层析介质上的其它方式可以是: 在试样添加部的端部和吸收部之间的任意位置处设置添加剂保持部, 以这样的方式将组合物保持在其中。例如, 该设置部位可以在试样添加部、标记物保持部和免疫层析介质上。优选将所述试剂组合物担载或保持在试样添加部和 / 或标记物保持部上。

[0053] 本发明的免疫层析用试剂组合物的使用方法不限于上述的使用方法, 该组合物可以展开液的形式使用, 也可以试样的稀释液的形式使用。作为展开液使用时, 通常使用水作为溶剂, 然后再加入缓冲液、螯合剂和非离子表面活性剂。加入的顺序没有特别的限定, 也可以同时加入。以展开液的形式使用时, 可以将检测试样与展开液预先混合后, 将混合物供给 / 滴加到样品板上(试样添加部)进行展开, 也可以先将试样供给 / 滴加到样品板上(试样添加部), 然后将展开液供给 / 滴加到样品板(试样添加部)上进行展开。在作为试样稀释液使用时, 将试样稀释为稀释液, 然后以展开液的形式供给、滴加到样品板(试样添加部)上使用。

[0054] 作为本发明的含有检测对象物的试样(检体)的例子主要为生物体试样, 即血液、



血清、血浆、尿、唾液、髓液、汗、眼泪、羊水、乳头分泌液、鼻涕、痰、鼻腔或咽喉的冲洗液、皮肤分泌物、从组织、细胞以及粪便中的抽取物等。

[0055] 本发明的检测对象物没有特别的限制,可产生特异性结合即可,例如,只要存在或可以产生如抗原抗体反应一样的特异性结合物质即可。所述的检测对象物可以是本身具有抗原性,如完全抗原,或者是本身没有抗原性,但可以通过化学变化得到抗原性的物质,如半抗原(不完全抗原)。只要存在或可以产生与这些检测对象物的特异性结合的物质即可,可以是单克隆抗体或多克隆抗体。本发明的检测对象物的示例有:肽类激素(生长激素(GH)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、三聚氰胺细胞刺激激素(MSH)、催乳激素、促甲状腺激素(TSH)、黄体化激素(LH)、促卵泡激素(FSH)、垂体激素、钙代谢调节激素、胰岛素、胃肠(道)激素、血管激素、胎盘激素(如人绒毛膜促性腺激素)、前列腺酸性磷酸酶(PAP)、前列腺特异抗原(PSA)、碱性磷酸酶、转氨酶、胰蛋白酶、胃蛋白酶、甲胎蛋白(AFP)、癌症特定物质(如癌胚抗原(CEA))、血清蛋白组分(如免疫球蛋白G(IgG))、类风湿因子、尿激酶、铁蛋白、P物质、雌激素(如雌激素酮)、便潜血、梅毒抗体、流感病毒、腺病毒、轮状病毒、乙肝表面抗原、抗乙肝B表面抗原、衣原体抗原、A组β链球菌抗原、天然或合成的黄体激素(如黄体酮)、雄性激素(如睾酮)、肾上腺皮质激素(如皮质醇)、胆固醇、胆汁酸、强心性类固醇、其他类固醇(如皂素)、肾上腺素、多巴胺、具有生物活性的生物碱、含氨基酸组精神科药物、小分子肽(如TRH)、甲状腺激素(如二碘甲状腺氨酸)、前列腺素、维生素群、抗生素(如青霉素)、其他的体内元素、体内剂量药物及其代谢产物。作为检测对象物,优选使用人绒毛膜促性腺激素(hCG)、促黄体激素(LH)、促卵泡激素(FSH)和促甲状腺激素(TSH),特别优选使用hCG。

[0056] 使用尿作为本发明的检体时,由于无需对尿进行任何处理,只需要将其供给/滴加到免疫层析装置的样品板上即可。因此,妊娠检查很简便,谁都可以处理,例如可以在家中进行。在这种情况下,检体中的被检测物质为从妊娠女性的胎盘中分泌的、自尿中排泄出来的hCG。本发明的免疫层析用试剂组合物对尿检体特别有效,适用于通过抑制尿中的杂质的非特异性反应来高灵敏度地检测出被检测物质。

[0057] 用于检出尿中排泄出的hCG的免疫层析装置的构造和及其操作/检测方法是公知的。

[0058] 可以在传统的免疫层析装置的样品板中担载本发明的免疫层析用试剂组合物,例如用所述组合物浸渍样品板,之后进行干燥,得到的免疫层析用装置可通过特异性结合反应、如抗原抗体反应而对试样中的检测对象物、如尿中的hCG等进行鉴定/定量的检查。

[0059] 图1中的试样添加部(1)由多孔片构成,它具有可以使试样被迅速吸收、但保持力弱而使试样迅速地向反应部移动的性质。多孔片的例子有纤维素滤纸、玻璃滤纸、聚氨酯、聚乙酸酯、乙酸纤维素、尼龙、棉布等。本发明的多孔片优选使用玻璃滤纸。在本发明中,为了抑制非特异性反应,可以采取以下方案:预先用含有缓冲液、螯合剂以及非离子表面活性剂的免疫层析用试剂组合物浸渍样品板(试样添加部),然后通过干燥等方法使其可以担载在样品板上。例如,将含有Tris盐酸缓冲液、EDTA以及一端端基为烷基的聚氧乙烯/聚氧丙烯嵌段共聚物的成分的免疫层析用试剂组合物预先担载或保持在样品板上。

[0060] 标记物保持部(2)担载或保持有经标记成分对试剂成分标记过的标记试剂。作为标记成分的例子有:胶体金颗粒、胶体银颗粒等胶体金属颗粒、通过对使各种单体(共)聚合合成的合成高分子进行染色得到的染色胶乳颗粒、酶、荧光化合物、其它材料。试剂成分是

具有识别分析物的能力的颗粒或分子,优选单克隆抗体或多克隆抗体其片段(第二试剂)。

[0061] 层析介质(3)由在膜载体上的检测部构成。膜载体没有特别的限制,只要是可以通过毛细现象吸收试样检体并使其移动的材料即可。例如,膜载体可选自硝基纤维素、乙酸纤维素、尼龙、聚醚砜、聚乙烯基醇、聚酯、玻璃纤维、聚烯烃、纤维素、含有这些混合纤维的人造聚合物。在检测部(4)中,单克隆抗体或多克隆抗体或其片段(第一试剂)担载并固定于硝基纤维素的片上。

[0062] 吸收部(5)可使用具有迅速吸收过剩试样的能力的材料,可以使用玻璃滤纸等。

[0063] 背板(6)是基材。通过在背板的一个面上涂布胶粘剂或者粘贴胶带,使其具有胶粘性,在该胶粘面上贴合设置试样添加部(1)、标记物保持部(2)、层析介质(3)、检测部(4)以及吸收部(5)的一部分或全部。背板(6)作为基材没有特别的限制,只要是可通过胶粘剂使其对试样液体具有不透过性、非透湿性等即可。

[0064] 在检测部(或称为“反应部”)中使用的试剂成分(第一试剂)和在标记物保持部中使用的试剂成分(第二试剂)中的一方或两方可以是单克隆抗体,也可以是多克隆抗体。在保持特异性的基础上,考虑制造成本和抗体的稳定供给,优选至少一方使用多克隆抗体。

[0065] 进一步地,从测定灵敏度等方面考虑,标记试剂用的试剂成分(第二试剂)优选为特异性高的单克隆抗体,检测部(4)用的试剂成分(第一试剂)优选使用多克隆抗体。

[0066] 单克隆抗体和多克隆抗体及其片段是公知的且可以得到的,并可通过公知的方法进行调整。产生抗体的动物的例子有人、小鼠、大鼠、兔、羊等。免疫球蛋白可以是 IgG、IgM、IgA、IgE、IgD。

[0067] 单克隆抗体可以按常规方法,将经抗原(hCG)免疫的小鼠的脾脏细胞和骨髓瘤细胞混合,选择产生目标抗体的杂交瘤细胞,获得该杂交瘤细胞产生的单克隆抗体。例如可参照Köhler和Milstein的方法(Nature256(1975)495-497)。

[0068] 多克隆抗体可通过常规手法,利用抗原(hCG)对可产生抗体的动物(例如人、小鼠、大鼠、兔、羊、马等)进行免疫得到抗血清,在所得的抗血清中分离获得目标抗体。

[0069] hCG是由237氨基酸组成的36.7kDa的糖蛋白。hCG含有 $\alpha$ 亚基和 $\beta$ 亚基。 $\alpha$ 亚基是hCG中的与蛋白质促黄体激素(LH)、卵泡刺激素(FSH)、促甲状腺激素(TSH)中相同的物质,而 $\beta$ 亚基是hCG中的独有的物质。作为检测部位(4)用的试剂成分(第一试剂)和标记试剂用的试剂成分(第二试剂),可以使用在 $\alpha$ 亚基或 $\beta$ 亚基处具有反应结合部位的抗hCG $\alpha$ 抗体和抗hCG $\beta$ 抗体的任意一个。在一方使用抗hCG $\alpha$ 抗体时,另一方应使用抗hCG $\beta$ 抗体。作为标记试剂用的试剂成分(第二试剂),从反应效率的观点出发,优选使用在 $\beta$ 亚基处具有反应结合部位的抗hCG $\beta$ 抗体。作为检出部位(4)用的试剂成分(第一试剂),优选使用在 $\alpha$ 亚基处具有反应结合部位的抗hCG $\alpha$ 抗体。由于上述的促黄体激素、卵泡刺激素、促甲状腺激素与hCG一样含有 $\alpha$ 亚基,且其作为抗原的结构也类似,因此将上述物质作为抗原用于免疫层检测系统在本发明的检测系统中使用时可以期待得到同样的效果。

[0070] 以下对判定原理进行简要说明。

[0071] 1. 将试样(例如女性的尿)按规定量(通常0.1-2ml)滴加在样品板(1)上。试样滴加后,样品板(1)上所担载或保持和形成的免疫层析用试剂组合物溶解在试样的水分中,与试样开始一起移动。

[0072] 2. 溶解了免疫层析用试剂组合物的试样首先向标记物保持部(2)移动。试样通

过标记物保持部时,标记物保持部(2)上所保持的标记试剂(第二试剂)溶解在试样的水分中,与试样共同移动。

[0073] 3. 接着,溶解于试样水分中的标记试剂经过层析介质(3)上的检测部位(4)。这里,当女性受孕时,利用溶解在试样中的免疫层析用试剂组合物抑制非特异性结合反应,而尿中的hCG通过抗原和抗体的特异性结合反应而与保持、即担载固定在检测部位处的抗体和标记试剂以使得尿中的hCG被夹在抗体和标记试剂之间的方式而发生特异性反应结合,导致检测部位(4)着色。当女性未受孕时,由于尿中未含有hCG,溶解在试样水分重的标记试样即使通过层析介质(3)上的检测部(4)也不会引起特异性结合反应,检测部(4)不会着色。

[0074] 4. 试样的水分移动至吸收部。

[0075] 如上所述,通过检查尿中是否有hCG,可以正确地判定是否妊娠。

[0076] 也可利用将试样与免疫层析用试剂组合物预先混合,然后以展开液的方式滴加/供给到样品板上,以代替将免疫层析用试剂组合物浸渍涂布样品板后通过干燥使其保持或担载或形成在样品板上;与上述进行同样的检查,可以达到与上述同样的结果。另外,在试样为鼻涕、痰、鼻腔或咽喉的冲洗液,在检测对象物为流感病毒时,上述的免疫层析用试剂组合物作为试样稀释液使用。使用抗流感病毒单克隆抗体作为检测部(4)使用的试剂成分(第一试剂)和标记试剂用的试剂成分(第二试剂)。将采集的试样用上述的免疫层析用试剂组合物稀释约100倍,并将150微升的稀释液滴加/供给到样品板上以进行展开,进行上述同样的检查,可以达到上述同样的结果。

[0077] 实施例

[0078] 以下通过实施例来对本发明的有效性进行说明,但本发明不限于此。

[0079] 1. 层析介质上的判定部的制备

[0080] 使用抗体涂布机(BioDot公司制造)在 $25 \times 2.5\text{cm}$ 的纤维素膜(Millipore公司制造,商品名:HF120)上涂布经过含有5重量%异丙醇稀释的磷酸缓冲液(pH7.4)稀释过的浓度为 $1.0\text{mg/ml}$ 的hCG多克隆抗体( $\alpha\text{-hCG}\alpha$ ),干燥,制得层析介质上的判定部。

[0081] 2. 标记试剂溶液的制备

[0082] 在 $0.5\text{ml}$ 的胶体金悬浊液(田中贵金属工业株式会社制造,80nm)中加入 $0.1\text{ml}$ 磷酸缓冲液(pH7.4)、 $0.1\text{ml}$ 经磷酸缓冲液稀释的抗hCG单克隆抗体( $\alpha\text{-hCG}\beta$ ),室温下静置10分钟。接下来加入 $0.1\text{ml}$ 经磷酸缓冲液稀释的10重量%的牛血清蛋白(BSA),充分搅拌后,以 $8000 \times g$ 离心15分钟。除去上清液后,加入上述磷酸缓冲液,在超音波破碎机中充分分散,制成标记试剂溶液。

[0083] 3. 层析介质的制备

[0084] 将 $300\mu\text{L}$ 上述制备的标记试剂溶液均匀添加到 $16 \times 100\text{mm}$ 的玻璃纤维板(Millipore公司制造)上,然后在真空干燥机中干燥,作为标记试剂保持部。接着,在由背板形成的基材上粘合上述的由纤维素膜制备的判定部、标记试剂保持部、用于接受试样的玻璃纤维制样品板,以及为了吸收展开的试样和标记试剂等的吸收板。最后,用切裁机切裁成 $5\text{mm}$ 的宽度,作为层析介质。

[0085] 4. 测定

[0086] 使用上述3中制备的层析介质对 $150\mu\text{L}$ 经磷酸缓冲液稀释的含有浓度为 $0\text{mIU/ml}$

或 50mIU/ml 的被检测物质进行了 hCG 是否存在的测定。

[0087] 这时,针对样品板上的上述被稀释的被检测物质试样,将其浸渍在加有 50mM 的 Tris 盐酸缓冲液 (pH8.0)、0.15 重量%的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯烷基醚(日本油脂株式会社制造,商品名 Nonion (注册商标) MN811,烷基的碳原子数 =14,氧丙烯的摩尔比 / 氧乙烯的摩尔比 =1.1)、以及 0.83mM 的 EDTA 组成的物质中,然后干燥,对经上述化合物浸渍处理的样品板的效果进行评价。试样滴加后 5 分钟进行了目视判定,可以确认判定部位的测试线为红线时标记为“+”、能够更清楚地确认为红线的标记为“++”,不能确认为红线的标记为“-”。

[0088] 结果,当样品板没有浸渍 Tris 盐酸缓冲液、Nonion MN811 以及 EDTA 时,经非特异性反应确认为假阳性,使用浸渍处理的样品板时不会确认为假阳性。

[0089] 对样品板经进行浸渍处理的影响的测定结果如表 1 所示。

[0090] [表 1] 对样品板进行浸渍处理的影响

[0091]	Tris-HCl	-		+	
	MN811	-		+	
	EDTA	-		+	
	hCG (ng/mL)	0	50	0	50
	目视判定	+	++	-	+

[0092] 5. 各成分的配合比的影响的评价

[0093] 通过样品板上的 Tris 盐酸缓冲液、Nonion MN811 以及 EDTA 的配合抑制了假阳性,对各成分的配合比(对于稀释检体液)进行了研究。

[0094] 这时,针对样品板上的上述被稀释的被检测物质试样,将其浸渍在加有 33-50mM 的 Tris 盐酸缓冲液 (pH8.0)、0-0.3 重量%的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯烷基醚(日本油脂株式会社制造,商品名 Nonion (注册商标) MN811,烷基的碳原子数 =14,氧丙烯的摩尔比 / 氧乙烯的摩尔比 =1.1)、0-0.10%的 Tween 20 (商品名,HLB 值 16.7) 以及 0.56-1.6mM 的 EDTA 组成的物质中,然后干燥,对经上述化合物浸渍处理的样品板的效果进行评价。

[0095] 滴加试样后 5 分钟进行目视判定,可以确认判定部位的测试线为红线时标记为“+”、能够更清楚地确认为红线的标记为“++”,不能确认为红线的标记为“-”。

[0096] 用其中 hCG 被稀释到浓度为 0mIU/mL 或 50mIU/mL 的 PBS 作为检体,试验时滴加 150  $\mu$ L。每五分钟进行目视判定,可以确认判定部位的测试线为红线时标记为“+”,可以确认红线但是颜色非常浅的标记为“±”,不能确认为红线的标记为“-”。

[0097] 各成分的配合浓度和目视判定的结果如表 2 所示。

[0098] 另外,在 25mIU/mL 时,5 分钟后可以判定为“+”之后不再实施判定。

[0099] 以下,对本发明的试验例进行说明,但仅限于这些试验例。

[0100] 试验例 1

[0101] 在 150  $\mu$ L 稀释检体液中加入 33mM Tris 盐酸缓冲液 (pH8.0)、0.1%MN811、0.56mM EDTA,将样品板浸渍后干燥,对其进行评价测定,结果如表 2 所示。

[0102] 试验例 2

[0103] 在上述试验例 1 中,用 0.1%Tween 20 代替 MN811,其他的物质相同。将样品板浸渍

后干燥,对其进行评价测定,结果如表 2 所示。

[0104] 试验例 3

[0105] 在 150  $\mu$ L 稀释检体液中加入 50mM Tris 盐酸缓冲液 (pH8.0)、0.15%MN811、0.83mM EDTA,将样品板浸渍后干燥,对其进行评价测定,结果如表 2 所示。

[0106] 试验例 4

[0107] 在 150  $\mu$ L 稀释检体液中加入 33mM Tris 盐酸缓冲液 (pH8.0)、0.05%MN811、0.05%Tween 20、0.56mM EDTA,将样品板浸渍后干燥,对其进行评价测定,结果如表 2 所示。

[0108] 试验例 5

[0109] 在 150  $\mu$ L 稀释检体液中加入 33mM Tris 盐酸缓冲液 (pH8.0)、0.3%MN811、1.6mM EDTA,将样品板浸渍后干燥,对其进行评价测定,结果如表 2 所示。

[0110] 试验例 6

[0111] 同样地,加入 100mM Tris 盐酸缓冲液 (pH8.0)、0.3% MN811、1.6mM EDTA,测定结果如表 2 所示。

[0112] 试验例 7

[0113] 同样地,加入 167mM Tris 盐酸缓冲液 (pH8.0)、0.10% Tween 20、0.20% MN811、1.6mM EDTA,测定结果如表 2 所示。

[0114] 试验例 8

[0115] 上述试验例 7 中,用 55mM 2-[4-(2-羟基乙基)-1-哌嗪基]乙磺酸(HEPES 缓冲液)代替 Tris 缓冲液,进行了同样的判定,测定结果如表 2 所示。经过五分钟,确认抑制了假阳性,但对于浓度仅为 55mM 的 HEPES 缓冲液条件下,过了这个时间后确认为假阳性。

[0116] [表 2] 样品板上成分配合比的影响

[0117]

	试验例 1		试验例 2		试验例 3		试验例 4		试验例 5		试验例 6		试验例 7		试验例 8	
Tris-HCl	33mM		33mM		50mM		33mM		33mM		100mM		167mM		55mM HEPES	
吐温 20	0%		0.10%		0%		0.05%		0.00%		0%		0.10%		0.10%	
MN811	0.10%		0%		0.15%		0.05%		0.30%		0.30%		0.20%		0.20%	
EDTA	0.56 mM		0.56mM		0.83mM		0.56mM		1.6mM		1.6mM		1.6mM		1.6mM	
hCG(ng/mL)	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25	0	25
5 分钟	-	+	-	+	-	+	±	+	-	+	-	+	-	+	-	+
10 分钟	-		-		-		±		-		-		-		±	
15 分钟	±		±		-		±		-		-		-		±	

[0118] 上述试验例 2 中用 TritonX-100、Tween 20 和 TritonX-100d 的混合代替 Tween 20 使用时,得到与只有 Tween 20 时同样的测定结果。另外,上述实验 8 中,用磷酸缓冲液 (pH7.4) 代替 HEPES 缓冲液使用时,得到与 HEPES 缓冲液同样的试验结果。

[0119] 6. 对容易出现非特异性反应的尿检体的评价

[0120] 在样品板上将上述 3 种成分进行配合,可以明显抑制假阳性反应。在这里,对利用尿中成分是否能够抑制假阳性反应进行了研究。尿中含有多种多样的因子,容易引起非特异性反应。为了验证抑制假阳性的抑制效果,使用在尿中稀释分别为 0mIU/mL 和 25 mIU/

mL 的 hCG 作为检体,在试验中滴加 150  $\mu$  L。每 5 分钟进行目视判定,可以确认判定部位的测试线为红线时标记为“+”,可以确认红线但是颜色非常浅的标记为“ $\pm$ ”,不能确认为红线的标记为“-”。

[0121] 各成分的配合浓度和目视判定的结果如表 3 所示。

[0122] 另外,在 25m IU/mL 时,在 5 分钟后可以判定为“+”之后不再实施判定。

[0123] 试验的结果表明,在没有对样品板进行处理时,可以确认为假阳性;当用 Tris 盐酸缓冲液、Nonion MN811 和 EDTA 配合对样品板进行处理时可以抑制假阳性。另外,认为 Tris 盐酸缓冲液的浓度越高,假阳性就可以长时间地抑制。

[0124] [表 3] 用尿检体的评价结果

Tris-HCl	-		33mM		100 mM	
MN811	-		0.3%		0.3%	
EDTA	-		1.6mM		1.6mM	
hCG (ng/mL)	0	25	0	25	0	25
5 分钟	$\pm$	+	-	+	-	+
10 分钟	+		$\pm$		-	
15 分钟	+		$\pm$		-	
20 分钟	+		$\pm$		-	
25 分钟	+		+(星期)		-	

[0126] 由上所述,通过将样品板预先浸渍在 Tris 盐酸缓冲液、EDTA 和含有一端端基为烷基的聚氧乙烯 / 聚氧丙烯嵌段共聚物的非离子表面活性剂中,发现可以抑制非特异性反应。

[0127] 作为其他的实施方式,在上述试验例中,使用 NonionTA-411 (日本油脂株式会社制造,烷基的碳原子数 =11-18 的混合物、氧丙烯的摩尔比 / 氧乙烯的摩尔比 =0.15) 代替 NonionMN811,其他物质相同,进行了同样的测定。可以达到与表 1、表 2 和表 3 大体相同的目的。

[0128] 作为其他的实施方式,在上述试验例中,使用 ADEKA TOLLB-53B (旭电化工业株式会社制造,烷基的碳原子数 =12,氧丙烯的摩尔比 / 氧乙烯的摩尔比 =0.3) 代替 NonionMN811,其他物质相同,进行了同样的测定。可以达到与表 1、表 2 和表 3 大体相同的目的。

[0129] 另外,作为其他的实施方式,在上述的试验例中,使用亚硝基三乙酸 (NTA) 代替 EDTA,其他物质一样,进行了同样的测定。当使用 NTA 时,尽管由于物质的原因造成了性能上的一些差异,但可以确认能够达到与表 1、表 2 和表 3 大体相同的目的。

[0130] 进一步地说,作为其他的实施方式,例如进行下述的组合也可以达到同样的目的。

[0131]

缓冲剂	非离子表面活性剂	螯合剂
(1) 乙酸缓冲液	MN811	NTA
(2) 磷酸缓冲液	ADEKA TOL LB-53B	EDTA
(3) Tris 盐酸缓冲液	NonionTA-411	ASDA

[0132] 产业实用性

[0133] 本发明的检测试剂盒,由于可以抑制非特异性且特异性地检测出尿中的 hCG,从而能迅速简便地测定 hCG 以进行妊娠检查,因而具有产业实用性。

[0134] 符号说明

[0135] 1 试样添加部(样品板)

[0136] 2 标记物保持部

[0137] 3 层析介质

[0138] 4 检测部

[0139] 5 吸收部

[0140] 6 背板

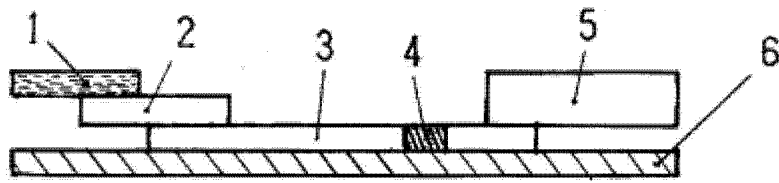


图 1



专利名称(译)	免疫层析用试剂组合物		
公开(公告)号	<a href="#">CN102713625A</a>	公开(公告)日	2012-10-03
申请号	CN201080060775.8	申请日	2010-10-07
[标]申请(专利权)人(译)	田中贵金属工业股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	田中贵金属工业株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	田中贵金属工业株式会社		
[标]发明人	伊藤大辅 芝井勇亮		
发明人	伊藤大辅 芝井勇亮		
IPC分类号	G01N33/531 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/76 G01N33/54393		
代理人(译)	刘华联		
优先权	2010003421 2010-01-08 JP		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种相比于利用免疫层析装置来对检测对象物进行检测的现有技术而言可抑制非特异性反应的免疫层析用试剂组合物或试样稀释液。本发明还提供了一种使用上述试剂的高性能高灵敏度的免疫层析装置，以及可迅速简便地进行检测的检测试剂盒。利用免疫层析法对试样中的检测对象物进行检测时，通过使用含有缓冲液、螯合剂以及非离子表面活性剂的免疫层析用试剂组合物或免疫层析用展开液或免疫层析用试样稀释液，可以抑制非特异性反应。

