



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102346183 A

(43) 申请公布日 2012. 02. 08

(21) 申请号 201010241914. 9

(22) 申请日 2010. 08. 02

(71) 申请人 吴佩珊

地址 450001 河南省郑州市友爱路 26 号院 2
号楼 1 单元 9 号

(72) 发明人 吴佩珊

(51) Int. Cl.

G01N 33/53 (2006. 01)

G01N 33/543 (2006. 01)

G01N 33/545 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 3 页

(54) 发明名称

一种免疫结合试验方法

(57) 摘要

一种免疫结合试验方法,属于医学、生物检测技术领域。以酶联免疫吸附试验的吸附材料为载体,以胶体微粒和 / 或染料为示踪物,采用简化的酶联免疫吸附实验步骤,使用简单仪器和 / 或肉眼进行测量判读,可进行相应疾病、食品、药物等抗体、抗原或核酸的检测。本发明通过综合采用新型吸附材料、示踪物和简单仪器,在保证整个实验精密性和灵敏性的同时,满足了多种类型实验的需要,提高了实验结果的可信度,简化了实验步骤,增加了判读容易性,降低了非专业人员使用实验试剂的技术门槛。

1. 一种免疫结合试验方法,其特征在于,以酶联免疫吸附试验的吸附材料为载体,以胶体微粒和/或染料为示踪物,采用简化的酶联免疫吸附实验步骤,使用简单仪器和/或肉眼进行测量判读。

2. 根据权利要求1所述的一种免疫结合试验方法,其特征在于:这种试验方法与载体的吸附有关,与层析、渗滤无关;其示踪与胶体微粒和/或染料有关,与酶和底物无关。

3. 根据权利要求1所述的一种免疫结合试验方法,其特征在于:作为载体的吸附材料,是酶联免疫吸附试验常用的吸附材料,如聚苯乙烯、聚氯乙烯、硅片,或者是以聚苯乙烯、聚氯乙烯和/或磁性微粒、硅微粒为表面的吸附材料,它们的外观是表面平整、便于放入简单仪器进行测量的条形、板形、块形。

4. 根据权利要求3所述的作为载体的吸附材料,其特征在于:这一载体材料的检测区表面上,应吸附了参与免疫反应的抗体和/或抗原和/或核酸,进行了封闭、干燥等常规加工(注:专业术语称为“包被”),并且这个载体材料的检测区,并不限于它的某一个面,还包括了这个面的对面。

5. 根据权利要求1所述的一种免疫结合试验方法,其特征在于:所述的示踪物是胶体微粒和/或染料,但应标记在参与免疫反应的抗体和/或抗原和/或核酸上,是兼有示踪和参与免疫反应作用的结合物。

6. 根据权利要求5所述的示踪物,其特征在于:这些示踪物可以是胶体微粒,如胶体金、胶体硒、乳胶,也可以是染料,如荧光染料、颜料、显色染料、阳离子染料、分散染料、反应染料、硫化染料、还原染料、直接染料,还可以是进一步增强这些示踪物作用的显色物,如胶体金与银微粒。

7. 根据权利要求1所述的一种免疫结合试验方法,其特征在于:所述的简化的酶联免疫吸附实验步骤,是指载体上已经包被过的检测区先后与测试样品接触、与标记结合物接触、测量判读等主要实验过程,也可根据需要增加洗涤、增强等辅助实验过程。

8. 根据权利要求1所述的一种免疫结合试验方法,其特征在于:所述的用于测量判读的简单仪器,依据示踪物的不同,可以是比色计、光度计、光密度计、荧光仪。

9. 根据权利要求8所述的用于测量判读的简单仪器,其特征在于:这些简单仪器,可以附有通用滤光片,也可以由不同的实验试剂提供专用的本底对照片、临界值对照片。

10. 根据权利要求4所述的包被物和权利要求5所述的标记结合物,其特征在于:采用不同的包被物与标记结合物组合,可以进行双抗体夹心法、双抗原夹心法、间接法、竞争法、阻断法、捕获法等免疫吸附实验类型。

一种免疫结合试验方法

技术领域

[0001] 本发明属于医学、生物检测技术领域，特别涉及一种新的免疫结合试验方法。

背景技术

[0002] 目前，在生物、食品、药物、医学、畜牧等检测中普遍采用的方法有：(1) 酶联免疫吸附试验，该法适用于在实验室进行检测，检测时间一般需要 1 小时到数小时，每次可检测较多样品；(2) 胶体微粒标记免疫层析或渗滤试纸试验，该法使用胶体金、胶体硒作为标记物，可以在实验室内外进行快速检测，一般仅需要 10-20 分钟，每次可检测单份样品，但检测灵敏度较低，不易定量或半定量，无法满足很多检测的需要。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于提供一种对具有免疫活性样品进行定性和 / 或定量检测的新方法。与现有方法相比较，本发明的方法既有酶联免疫吸附试验较高精密性、灵敏性，又有胶体微粒标记免疫层析或渗滤试纸试验方便性、快速性。本发明的另一个目的在于提供简化免疫结合实验方法的同时，提高检测的灵敏度，满足定性、半定量和定量分析的要求。

[0004] 为达上述目的，本发明采用如下技术方案：

[0005] 以酶联免疫吸附试验的吸附材料为载体，以胶体微粒和 / 或染料为标记物，采用简化的酶联免疫吸附实验步骤，使用简单仪器和 / 或肉眼进行测量判读。

[0006] 本发明通过采用酶联免疫吸附试验常用的吸附材料，如聚苯乙烯、聚氯乙烯，将其制作成为表面平整、便于放入简单仪器进行测量的条形或板形，并且在其两个相对的平整面上设置检测区，吸附参与免疫反应的抗体和 / 或抗原和 / 或核酸，并进行了封闭、干燥等常规加工（注：专业术语称为“包被”），将载体的吸附性能增加了一倍，可以保证整个实验的精密性和灵敏性；通过采用兼有示踪和参与免疫反应的作用的标记物，如胶体金或胶体硒标记的、与包被物配对的抗体、抗原、核酸等，可使整个实验步骤得以简化，方便了非专业人员按说明书进行操作；实验试剂设计为单份，使不需规模化实验的检测成本相对降低；通过采用比色计等简单仪器进行测量判读，使实验结果定量和 / 或半定量，提高了实验结果的可信度，增加了判读容易性；进而，这些简单仪器可以附有通用滤光片，使其满足某一类型实验的需要，也可以针对不同的实验试剂设计和提供专用的本底滤光片、临界值光片，降低非专业人员测量判读的技术门槛。

[0007] 以下列表显示本方法与现有方法主要异同点的对比：

[0008] 1 本方法与酶联免疫吸附试验主要异同点的对比

[0009]

项目	酶联免疫吸附试验	本方法
载体	聚苯乙烯、聚氯乙烯等	聚苯乙烯、聚氯乙烯等

载体形状	孔状、杯状、珠状	条状、板状
载体检测区	孔状和杯状底部,单面 ;珠状全表面	条状、板状的两面
示踪物	酶和底物	胶体微粒和 / 或染料
实验步骤	复杂,主要 3 步	简单,主要 2 步
实验时间	1 小时到数小时	40 分钟左右
判读仪器	专用分光光度计	简单比色计等

[0010] 2 本方法与胶体微粒标记试纸试验主要异同点的对比

[0011]

项目	胶体微粒标记试纸试验	本方法
载体	硝酸纤维素膜、杂交膜等	聚苯乙烯、聚氯乙烯等
载体形状	膜状	条状、板状
载体检测区	膜的一面	条状、板状的两面
目标捕获	层析或渗滤后免疫结合	吸附后免疫结合
示踪物	胶体微粒	胶体微粒和 / 或染料
增强显色	层析不可,渗滤可	可
实验步骤	层析极简单,1 步 ;渗滤简单,2 步	简单,主要 2 步
实验时间	10-20 分钟	40 分钟左右
判读仪器	无	简单比色计等
结果性质	定性	定性、定量、半定量

[0012]

[0013] 本发明的积极意义在于,通过综合采用新型吸附材料、示踪物和简单仪器,在保证整个实验精密性和灵敏性的同时,满足了多种类型实验的需要,提高了实验结果的可信度,简化了实验步骤,增加了判读容易性,降低了非专业人员使用实验试剂的技术门槛。

具体实施方式

[0014] 实施例 1、hCG 免疫吸附结合检测试剂,其制作过程如下:(1)用胶体金标记抗 β -hCG 单抗,并纯化;(2)将抗 α -hCG 单抗或多抗包被在条形聚苯乙烯板两面的固定位置

上(将条形板插入包被液);(3) 组装试剂,待用。检测过程为:(1) 将条形包被板插入被测试样中 20 分钟;(2) 将条形包被板洗涤后,插入胶体金标记抗体工作液 20 分钟;(3) 将条形包被板置比色计中测量判读。

[0015] hCG 免疫吸附结合检测试剂与其他检测方法对比结果:以 hCG 国家标准品为检品,使用微孔板酶联免疫检测,最低检出量不高于 5mIU/ml,可以半定量;使用金标试纸检测,最低检出量不高于 25mIU/ml,可以定性;使用本方法试剂检测,最低检出量不高于 20mIU/ml,可以半定量。

[0016] 实施例 2、乙型肝炎表面抗原免疫吸附结合检测试剂,其制作过程如下:(1) 用胶体金标记乙型肝炎表面抗原单抗 I,并纯化;(2) 将乙型肝炎表面抗原的单抗 II 或多抗包被在条形聚苯乙烯板两面的固定位置上(将条形板插入包被液);(3) 组装试剂,待用。检测过程为:(1) 将条形包被板插入被测试样中 20 分钟;(2) 将条形包被板洗涤后,插入胶体金标记抗体工作液 20 分钟;(3) 将条形包被板置比色计中测量判读。

[0017] 乙型肝炎表面抗原免疫吸附结合检测试剂与其他检测方法对比结果:以中国药品生物制品检定所的标准品为检品,使用微孔板酶联免疫检测乙型肝炎表面抗原,最低检出量不高于 0.5ng/ml,可以半定量;使用金标试纸检测乙型肝炎表面抗原,最低检出量不高于 1-8ng/ml,可以定性;使用本方法试剂检测,最低检出量不高于 2ng/ml,可以半定量。

专利名称(译)	一种免疫结合试验方法		
公开(公告)号	CN102346183A	公开(公告)日	2012-02-08
申请号	CN201010241914.9	申请日	2010-08-02
申请(专利权)人(译)	吴佩珊		
当前申请(专利权)人(译)	吴佩珊		
[标]发明人	吴佩珊		
发明人	吴佩珊		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 G01N33/545		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种免疫结合试验方法，属于医学、生物检测技术领域。以酶联免疫吸附试验的吸附材料为载体，以胶体微粒和/或染料为示踪物，采用简化的酶联免疫吸附实验步骤，使用简单仪器和/或肉眼进行测量判读，可进行相应疾病、食品、药物等抗体、抗原或核酸的检测。本发明通过综合采用新型吸附材料、示踪物和简单仪器，在保证整个实验精密性和灵敏性的同时，满足了多种类型实验的需要，提高了实验结果的可信度，简化了实验步骤，增加了判读容易性，降低了非专业人员使用实验试剂的技术门槛。

项目	酶联免疫吸附试验	本方法
载体	聚苯乙烯、聚氯乙稀等	聚苯乙烯、聚氯乙稀等