

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710004141.0

[51] Int. Cl.  
G01N 33/539 (2006.01)  
G01N 33/543 (2006.01)

[43] 公开日 2008年7月9日

[11] 公开号 CN 101216487A

[22] 申请日 2007.1.1

[21] 申请号 200710004141.0

[71] 申请人 陈纯美

地址 350025 福建省福州市西洪路312号

[72] 发明人 陈纯美

权利要求书1页 说明书3页

[54] 发明名称

未沉降物免疫法

[57] 摘要

一种免疫学检测法和相应试剂盒，主要步骤如下：用致敏试剂1(已标记的溶液试剂或胶乳等微粒试剂)与待测物结合或与待测物竞争与配体结合，形成免疫复合物I(其中致敏试剂1含量与待测物有关)；用致敏试剂2(溶液试剂或血球、磁性微粒等微粒试剂)与免疫复合物I结合形成免疫复合物II并沉降，使上清(层)液中致敏试剂1减少(减少量与待测物相关)，再检测上清(层)液中未沉降的致敏试剂1显示值，就可定量检测待测物。致敏试剂1可用酶、荧光素、化学发光物或同位素等标记物来标记。微粒试剂可为胶乳、血球、磁性微粒等。

1 一种免疫学检测法和相应试剂盒,其特点是用致敏试剂 1(溶液试剂或微粒试剂)与待测物结合或与待测物竞争形成免疫复合物 I;用致敏试剂 2(溶液试剂或血球、磁性微粒等微粒试剂)与免疫复合物 I 结合形成免疫复合物 II 并沉降,再检测上清(层)液中未沉降物的显示值,查出待测物含量。

2 根据权利要求 1 所述检测法,致敏试剂 1 可用酶、荧光素、化学发光物或同位素等标记物来标记。

3 根据权利要求 1、2 所述检测法,微粒试剂可为胶乳、血球、磁性微粒等,也可用包被物制成。

### 未沉降物免疫法

**技术领域** 本发明涉及一种免疫检测法，特别是用致敏试剂 1(溶液试剂或微粒试剂)与待测物结合或与待测物竞争与配体结合形成免疫复合物 I；用致敏试剂 2(溶液试剂或血球、磁性微粒等微粒试剂)与免疫复合物 I 结合形成免疫复合物 II 并沉降；再检测上清液中未沉降物中致敏试剂 1 显示值的免疫检测法。

**背景技术** 现有的免疫浊度检测法是根据免疫微粒与其相应的配体(抗原或抗体)结合形成凝集颗粒，使反应混合物系统的浊度变小，透射光增强，可用分光光度计测定(也可用光散射法测定凝集颗粒在某一角度的散射强度改变)，来定量检测。这些方法未均将凝集颗粒和未凝集微粒分开，故检测灵敏度受到影响。如果使凝集颗粒沉降，再检测未沉降微粒的显示值，将可提高灵敏度。

现有的微粒固相检测法的原理是以微粒为载体，在液相中捕获待测物，形成微粒免疫复合物，再使微粒免疫复合物沉淀，检测沉淀物的显示值，测得的显示值与标本中待测物浓度相关。但该法需离心洗涤以除去上清液中的未沉降物。如果在沉淀后取上清液检测未沉降物显示值，也可与标本待测物浓度相关，却省去了洗涤等步骤。

本发明的目的是用致敏试剂 1(溶液试剂或微粒试剂)与待测物结合或与待测物竞争与配体结合形成免疫复合物 I；用致敏试剂 2(溶液试剂或血球、磁性微粒等微粒试剂)与免疫复合物 I 结合形成免疫复合物 II 并沉降，再检测上清(层)液中未沉降物中致敏试剂 1 的显示值，查出待测物含量；建立一种更灵敏、可不用离心洗涤的定量免疫检测法。

本发明的目的是这样实现的，综合现有的免疫浊度法和微粒固相法，主要改进点：1. 致敏试剂 1(溶液试剂或胶乳等微粒试剂)与待测物结合或与待测物竞争与配体结合形成免疫复合物 I(形成量与待测物相关)；2. 致敏试剂 1 可用标记物(酶、荧光素、化学发光物或同位素等)标记；3. 用致敏试剂 2(溶液试剂或血球、磁性微粒等微粒试剂)与免疫复合物 I 结合形成免疫复合物 II 并沉降，使上清(层)液中致敏试剂 1 减少(减少量与待测物相关)，检测上清(层)液中未沉降物(致敏试剂 1)的显示值，即可定量检测待测物。本法主要步骤如下：用致敏试剂 1(已标记的溶液试剂或胶

乳等微粒试剂)与待测物结合或与待测物竞争与配体结合,形成免疫复合物 I (其中致敏试剂 1 含量与待测物有关);用致敏试剂 2(溶液试剂或血球、磁性微粒等微粒试剂)与免疫复合物 I 结合形成免疫复合物 II 并沉降,使上清(层)液中致敏试剂 1 减少(减少量与待测物相关),再检测上清(层)液中未沉降的致敏试剂 1 显示值,就可定量检测待测物。以上两步也可合为一步。

本法的原理是免疫复合物 I 中结合的致敏试剂 1 量与待测物量有关;致敏试剂 2 使免疫复合物 I 沉降(其中致敏试剂 1 沉降量与待测物相关);免疫复合物 II 比免疫复合物 I 更容易沉降。

也可检测沉淀中致敏试剂 1 显示值,或用包被物自身(如 DNA)作微粒载体(使载体和免疫活性物成同一物)。

本发明的特点是一种检测上清(层)液未沉降物的液相反应系统,无需离心洗涤就可分离反应产物,抗原抗体易碰撞,表面吸附面积大,反应快速,灵敏度高,操作简便。

下面结合实施例对本发明进一步说明,以下所说致敏胶乳、致敏血球和致敏磁性微粒均用通常材料和方法制成。

实施例(一):用竞争未沉降物免疫法检测抗双链 DNA 抗体

(1)加入待测标本、酶标记抗双链 DNA 抗体,双链 DNA 试剂,混匀反应;(2)加入已包被抗双链 DNA 抗体的血球或磁性微粒,反应后使沉降;(3)取上清液显色检测 OD 值,再从反应标准曲线查出标本中抗双链 DNA 抗体含量。

实施例(二):用竞争未沉降物免疫法检测甲胎蛋白

(1)加入待测标本、已包被甲胎蛋白的胶乳(可用辣根过氧化物酶标记,粒径约  $0.1\mu\text{m}\sim 2\mu\text{m}$ )、抗甲胎蛋白抗体(兔抗人),混匀反应;(2)加入已包被羊抗兔 IgG 的血球或磁性微粒,反应后使沉降;(3)检测上层液的浊度,或取上层液加入显色液、终止液,测定吸光度;(4)再从反应标准曲线查出标本中甲胎蛋白含量。

实施例(三):用未沉降物免疫法检测 IgE

(1)加入已包被酶标抗 IgE 抗体的胶乳(粒径约  $0.1\mu\text{m}\sim 2\mu\text{m}$ )、待测标本,混匀反应;(2)再加入过量的已包被抗 IgE 抗体的血球或磁性微粒,反应后使沉降;(3)测上层液浊度,或吸取适量上层液于另一微孔板中,加入显色液、终止液,测定吸光度,再从反应标准曲线查出标本中 IgE 含量。

**实施例（四）：用竞争未沉降物免疫法检测尿微量白蛋白**

(1)加入待测尿液、胶乳(粒径约 $0.1\mu\text{m}\sim 2\mu\text{m}$ ,用荧光素标记的人白蛋白致敏)、兔抗人白蛋白抗体,混匀反应;(2)加入用羊抗兔 IgG 致敏的血球或磁性微粒,反应后使沉降;(3)测上层液浊度,或吸取适量上层液于微孔板中,通过荧光仪测定荧光强度,再从反应标准曲线查出标本中白蛋白含量。

**实施例（五）：用竞争未沉降物免疫法检测促甲状腺素**

(1)加入待测标本、已包被促甲状腺素的胶乳(用辣根过氧化物酶标记,粒径约 $0.1\mu\text{m}\sim 2\mu\text{m}$ )、抗促甲状腺素抗体(兔抗人),混匀反应;(2)加入已包被羊抗兔 IgG 的血球或磁性微粒,反应后使沉降;(3)检测上层液的浊度,或取上层液加入显色液、终止液,测定吸光度;再从反应标准曲线查出标本中含量。

**实施例（六）：用未沉降物免疫法测血清中抗双链 DNA 抗体**

将双链 DNA 制成 DNA 微粒(粒径约 $5\mu\text{m}\sim 20\mu\text{m}$ )。(1)加入酶标记金葡萄球菌体试剂、待测标本,混匀反应,使标本中的 IgG、抗双链 DNA 抗体(属于 IgG)和金葡萄球菌上的 SPA 蛋白结合形成复合物 I;(2)加入 DNA 微粒;使 DNA 微粒和复合物 I 上的抗双链 DNA 抗体(IgG)结合形成复合物 II;(3)使复合物 II 沉降,吸取适量上层液于另一微孔板中,检测浊度、计数,或加入显色液、终止液,测定吸光度,测得的吸光度与标本中复合物 I 或抗双链 DNA 抗体浓度相关;(4)再从反应标准曲线查出标本中抗双链 DNA 抗体含量。

|         |  |         |            |
|---------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 未沉降物免疫法  |         |            |
| 公开(公告)号 | <a href="#">CN101216487A</a>                   | 公开(公告)日 | 2008-07-09 |
| 申请号     | CN200710004141.0                               | 申请日     | 2007-01-01 |
| [标]发明人  | 陈纯美  |         |            |
| 发明人     | 陈纯美  |         |            |
| IPC分类号  | G01N33/539 G01N33/543                          |         |            |
| 外部链接    | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a> |         |            |

#### 摘要(译)

一种免疫学检测法和相应试剂盒，主要步骤如下：用致敏试剂1(已标记的溶液试剂或胶乳等微粒试剂)与待测物结合或与待测物竞争与配体结合，形成免疫复合物I(其中致敏试剂1含量与待测物有关)；用致敏试剂2(溶液试剂或血球、磁性微粒等微粒试剂)与免疫复合物I结合形成免疫复合物II并沉降，使上清(层)液中致敏试剂1减少(减少量与待测物相关)，再检测上清(层)液中未沉降的致敏试剂1显示值，就可定量检测待测物。致敏试剂1可用酶、荧光素、化学发光物或同位素等标记物来标记。微粒试剂可为胶乳、血球、磁性微粒等。