



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103837675 A

(43) 申请公布日 2014. 06. 04

(21) 申请号 201410082986. 1

(22) 申请日 2014. 03. 07

(71) 申请人 常艳敏

地址 300100 天津市南开区南开三纬路 122
号南开医院检验科

(72) 发明人 常艳敏 张盈莹 朱黎娜 侯丽英
李会强 吴婧

(74) 专利代理机构 天津滨海科纬知识产权代理
有限公司 12211

代理人 杨慧玲

(51) Int. Cl.

G01N 33/533 (2006. 01)

G01N 21/64 (2006. 01)

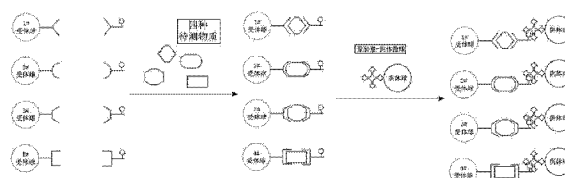
权利要求书2页 说明书10页 附图2页

(54) 发明名称

多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法及其所使用的试剂盒

(57) 摘要

本发明提供一种多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法及其所使用的试剂盒,该方法采用含有多种不同荧光素的受体微球,同时也包被捕获不同待测生物标志物的抗体分子。在测定过程中,待测样本中的多种生物标志物分别与检测体系中相应的受体微球表面的抗体分子和生物素化抗体形成双抗体夹心复合物,再分别连接标记有链霉亲和素的供体微球;用激发光照射供体微球时,使各种类的受体微球发出不同波长光学信号,分别检测不同波长光的强度即可对待测生物标志物进行准确定量。试剂盒包括含有化学发光剂和荧光素的受体微球、生物素化抗体和含有光敏物质的供体微球。本发明的有益效果是实现了多组分同时定量测定,节省检测成本。



1. 多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法,其特征在于:包括如下步骤:

(1)试剂准备:①取多组含有化学发光剂和荧光素的受体微球,每组受体微球中的化学发光剂相同,但荧光素种类不同,每种荧光素均可被紫外光激发并发出不同波长的光学信号;每组受体微球分别包被能捕获不同待测生物分子的抗体;②用生物素标记不同种类的抗体,制备生物素化抗体;其中每组包被抗体的受体微球均具有与其对应的同类生物素化抗体;③供体微球中含有光敏物质,该供体微球偶联链霉亲和素分子,作为通用试剂;

(2)检测体系中加入步骤(1)中的受体微球和生物素化抗体,加入待测样本,待测样本中如果含有能被检测体系中受体微球所包被的抗体所捕获的待测生物分子,则该待测生物分子将分别与检测体系中相应的受体微球上包被的抗体和生物素化抗体结合形成双抗体夹心复合物;待测样本中如果不含能被检测体系中受体微球所包被的抗体所捕获的待测生物分子,受体微球和生物素化抗体将仍处于游离状态;

(3)将步骤(1)中的供体微球加入检测体系中,此时供体微球上的链霉亲和素分子与体系中的生物素结合,如果此时体系中存在双抗体夹心复合物,将形成供体微球-链霉亲和素-生物素-抗体-待检生物分子-抗体-受体微球复合物;

(4)激发光照射供体微球,供体微球上的光敏剂将周围环境中的氧气转化为更为活跃的单体氧,如果此时检测体系中存在供体微球-链霉亲和素-生物素-抗体-待检生物分子-抗体-受体微球复合物,则单体氧扩散至受体微球,与受体微球上的化学发光剂反应,进一步激活了同样在受体微球上的荧光素,使之发出一定波长的荧光;如果体系中没有复合物存在,则不会有荧光信号产生;

(5)用光学仪器分别检测体系中发出的每种光信号,每种光信号强度分别对应一种待测物质的分子浓度。

2. 根据权利要求1所述的多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法,其特征在于:步骤(4)中激发光的波长为680nm。

3. 根据权利要求1所述的多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法,其特征在于:步骤(5)中光学仪器采集体系发出的所有光信号,经一组滤光片分离并输送至光电倍增管,以此实现对不同波长光信号强度的检测。

4. 根据权利要求1所述的多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法,其特征在于:受体微球中的化学发光剂为二甲基噻吩衍生物。

5. 根据权利要求1所述的多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法,其特征在于:供体微球中的光敏物质为酞菁。

6. 根据权利要求1所述的多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法,其特征在于:受体微球中的荧光素包括异硫氰酸荧光素(FITC)、藻红蛋白(PE)、藻红蛋白-德州红(EDC)和藻红蛋白-花青苷(PE-Cy5)。

7. 应用权利要求1至6中任一项所述的多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法所使用的试剂盒,其特征在于:包括:

(1)多组含有化学发光剂和荧光素的受体微球:每组受体微球中的化学发光剂相同,荧光素种类不同,每种荧光素均可被紫外光激发并发出不同波长的光学信号;每组受体微球分别包被能捕获不同待测生物分子的抗体;

(2)多种生物素化抗体:其中每组包被抗体的受体微球均具有与其对应的同类生物素

化抗体；

(3) 含有光敏物质的供体微球：该供体微球偶联链霉亲和素分子。

8. 根据权利要求 1 所述的试剂盒，其特征在于：受体微球中的化学发光剂为二甲基噻吩衍生物。

9. 根据权利要求 1 所述的试剂盒，其特征在于：供体微球中的光敏物质为酞菁。

10. 根据权利要求 1 所述的试剂盒，其特征在于：受体微球中的荧光素包括异硫氰酸荧光素(FITC)、藻红蛋白(PE)、藻红蛋白-德州红(EDC)和藻红蛋白-花青苷(PE-Cy5)。

多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法及其所使用的试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及一种多项组分同时测定的均相发光免疫分析方法,其特点是能够同时定量分析待测样本中多种生物标志物,可应用于临床检验诊断领域。

背景技术

[0002] 标记免疫分析是一种超微量生物分析方法,它利用抗原-抗体间的高亲和性以及作为探针的标记物的高度可测性,能够对生物样本中超微量物质进行准确的定量分析,具有操作简单、特异性高、敏感度高等优势,已成为生物学、临床医学等领域研究的重要检测手段之一。

[0003] 鲁米诺氧途径免疫分析(luminol oxygen channel immunoassay, LOCI)技术是一种新型标记免疫分析,与 LOCI 技术类似,上海博阳生物技术有限公司也开发一种称为光激发化学发光分析(light initiated chemiluminescent assay, LICA)技术。无论 LOCI 还是 LICA,由于整个检测过程中不需分离游离标记物而直接检测光信号强度,故被称为均相发光免疫分析。由于 LICA 是发光分析和免疫分析相结合而成,故还是称之为光激发化学发光免疫分析系统更为恰当。整个检测系统由供体微球和受体微球组成,利用供体微球和受体微球及抗原-抗体间相互作用来定性或定量分析生物分子(如抗原或抗体)。供体微球和受体微球的粒径约 150nm 左右,微球表面覆盖了一层水凝胶,作为连接生物分子的功能基团。同时,供体微球含有光敏剂,受到光激发后可激活周围氧分子;而受体微球含有化学发光剂和荧光素物质,活性氧激发化学反应为荧光素的激发提供能量,激发后发射光学信号。当生物分子(抗原-抗体)间存在相互作用时,这种相互作用会将供体微球和受体微球拉近,从而激发级联放大的化学反应,产生极强的信号。具体来说,在激光(波长 680nm)的照射下,供体微球上的光敏剂将周围环境中的氧气转化为更为活跃的单体氧。单体氧扩散至受体微球,与微球表面的化学发光剂反应,进一步激活了同样在受体微球上的荧光素,使之发出一定波长的荧光。单体氧的半衰期为 4 微秒,在溶液中的扩散距离为 200nm 左右。如果生物分子间不存在特异的相互作用,单体氧无法扩散至距离较远的受体微球,则不会有荧光信号产生。光激发化学发光免疫分析具有很高敏感度和特异度,整个检测过程中不需分离过剩的游离标记物(生物素化抗体分子和抗体包被受体微球),也就是说,该技术不同于现有的发光免疫分析(化学发光免疫分析、电化学发光免疫分析、荧光免疫分析等),具有操作简单、分析时间短、精密度高等众多优点,深受临床实验室喜欢并广泛应用。

[0004] 在临床医学检验诊断领域中,有些检测需要多项指标联合测定,如肿瘤高危人群做肿瘤标志物筛查时,需要同时检测血清甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、糖链抗原 125(CA-125)、铁蛋白(Ferr)等;献血员筛查时需同时检测是否感染人类免疫缺陷病毒(HIV)、乙型肝炎病毒(HBV)、丙型肝炎病毒(HCV);优生优育领域筛查唐氏综合症胎儿时需同时检测孕妇血清中妊娠相关蛋白 A(PAPP-A),甲胎蛋白(AFP)、人绒毛膜促性腺激素(hCG)等。以上检测所涉及的生物标志物于体内含量较低,目前一般采用标记免疫分析方法,特别是

采用发光免疫分析(化学发光免疫分析和电化学发光分析)、时间分辨免疫分析等。当然,光激化学发光免疫分析也可应用于上述生物标志物的测定。但是,无论哪一种发光免疫分析(含光激化学发光),由于只使用一种探针(或标记物),如化学发光采用吖啶脂为探针,故在一次检测过程中,只能对单一标本中的单一一种生物标志物进行定量分析,不能够同时对单一标本中的多个生物标志物进行定量分析。现有检测模式不仅浪费时间、人力,增加检测成本,又需要较多血清样本。

[0005] 生物芯片是一种能够对单一标本多个组分同时进行处理和分析的技术生物技术。根据芯片上固定的探针种类不同,分为蛋白芯片、核酸芯片、细胞芯片和组织芯片等。其中,蛋白芯片是指在固相载体上直接合成短肽探针,或者直接将大量的短肽探针以一定方式(如微阵列)固化于载体表面,然后与配体进行杂交,通过对信号进行检测分析得出反应结果。蛋白芯片中依靠抗原-抗体反应特异性结合的称为免疫芯片。免疫芯片可以分为微阵列芯片和液相流式芯片。微阵列芯片是用玻片、硅片或尼龙膜等作为载体,利用放射自显影或者激光共聚焦显微镜扫描进行检测,其缺点为不能准确定量。液相流式芯片是用高聚分子微粒为载体,用流式细胞仪检测标记抗体的荧光强度,其缺点是需要对微粒进行逐一检测,速度较慢。一般情况下,生物芯片倾向于数百种参数同时测定,而只需测定几个参数时不需要采用生物芯片技术。此外,生物芯片因技术复杂,检测成本较高,不适合临床常规标本的检测。

发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种适合临床使用的多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法,本方法具有定量分析、操作简单、检测成本低,适合医院检验科使用。

[0007] 本发明中的免疫分析方法在光激发化学发光免疫分析的基础上,采用含有多种不同荧光素的受体微球,同时也包被有能够捕获不同待测生物标志物的抗体分子,在测定过程中,待测样本中的多种生物标志物分别与检测体系中相应的受体微球表面的抗体分子和生物素化抗体形成双抗体夹心复合物,再分别连接标记有链霉亲和素的供体微球。当用发光照射供体微球时,通过活性氧传递能量,使各种类的受体微球发出不同波长光学信号,分别检测不同波长光的强度即可对待测生物标志物进行准确定量。

[0008] 为了更好理解本发明的分析原理,需首先说明光激发化学发光免疫分析的测定过程和分析原理。下面以“双抗体夹心分析模式”定量分析血清甲胎蛋白(AFP)浓度为例,进一步说明光激发化学发光免疫分析的分析原理。链霉亲和素包被供体微球,并作为检测通用试剂;受体微球包被抗-AFP多克隆抗体;同时,用生物素标记抗-AFP单克隆抗体,制备生物素化抗-AFP单克隆抗体。将待测样本加入含有生物素化抗体和受体微球体系中,待检样本中AFP分别与生物素化抗体和受体微球表面抗体结合,并形成双抗体夹心复合物;此时,如再加入供体微球,则形成供体微球-链霉亲和素-生物素-抗体-AFP-抗体-受体微球复合物,由于抗原-抗体相互作用促使受体微球、供体微球相互靠近,当用光激发时即可发出荧光(如图1所示)。标本中待测物质(AFP)浓度越高,受体微球与供体微球连接的机会越大,荧光强度要高;即荧光强度与待测标本中AFP分子数量呈现某种函数关系。通过已知浓度AFP标准品可绘制标准曲线(数学函数),未知样本浓度可通过数学函数获得。由于未参加反应的供体微球和受体微球,分散存在于检测体系中,活性氧不发生传递,能量不能

转移,受体球不能发出荧光(如图 2 所示)。在这种情况下,不需洗涤过程,可直接进行检测荧光强度。因此,光激发化学发光免疫分析是一种均相免疫分析。

[0009] 多项组分同时测定的均相发光免疫分析方法采用的技术方案为:包括如下步骤:

[0010] (1)试剂准备:①取多组含有化学发光剂和荧光素的受体微球,每组受体微球中的化学发光剂相同,但荧光素种类不同,每种荧光素均可被紫外光激发并发出不同波长的光学信号;每组受体微球分别包被能捕获不同待测生物分子的抗体;②用生物素标记不同种类的抗体,制备生物素化抗体;其中每组包被抗体的受体微球均具有与其对应的同类生物素化抗体;③供体微球中含有光敏物质,同时,该供体微球偶联链霉亲和素分子,作为通用试剂;

[0011] (2)检测体系中加入步骤(1)中的受体微球和生物素化抗体,加入待测血清样本,待测血清样本中如果含有能被检测体系中受体微球所包被的抗体所捕获的待测生物分子,则该待测生物分子将分别与检测体系中相应的受体微球上包被的抗体和生物素化抗体结合形成双抗体夹心复合物,从而使受体微球-供体微球相互靠近,距离小于 200nm;待测血清样本中如果不含能被检测体系中受体微球所包被的抗体所捕获的待测生物分子,受体微球和生物素化抗体将仍处于游离状态,供体-受体微球距离远超过 200nm;

[0012] (3)将步骤(1)中的供体微球加入检测体系中,此时供体微球上的链霉亲和素分子与体系中的生物素结合,如果此时体系中存在双抗体夹心复合物,将形成供体微球-链霉亲和素-生物素-抗体-待检生物分子-抗体-受体微球复合物;

[0013] (4)激发光照射供体微球,供体微球上的光敏剂将周围环境中的氧气转化为更为活跃的单体氧,如果此时检测体系中存在供体微球-链霉亲和素-生物素-抗体-待检生物分子-抗体-受体微球复合物,则单体氧扩散至受体微球,与其上的化学发光剂反应,进一步激活了同样在受体微球上的荧光素,使之发出一定波长的荧光;如果体系中没有复合物存在,则由于单体氧的半衰期为 4 微秒,在溶液中的扩散距离为 200nm 左右,单体氧将无法扩散至距离较远的受体微球,则不会有荧光信号产生;其中激发光的强度为 680nm;

[0014] (5)用光学仪器检测体系中发出的光信号;体系发出的所有光信号被光学元件采集,经一组滤光片分离并输送至光电倍增管,实现对光信号强度的检测,每种光信号强度分别对应一种待测物质的分子数量(浓度)相关。

[0015] 进一步,本发明还提供一种应用该多组分同时测定的均相发光免疫分析方法所使用的试剂盒,该试剂盒包括:(1)多组含有化学发光剂和荧光素的受体微球:每组受体微球中的化学发光剂相同,荧光素种类不同,每种荧光素均可被紫外光激发并发出不同波长的光学信号;每组受体微球分别包被能捕获不同待测生物标志物的抗体分子;(2)多种生物素化抗体:其中每组包被抗体的受体微球均具有与其对应的同类生物素化抗体;(3)含有光敏物质的供体微球:该供体微球偶联链霉亲和素分子。

[0016] 其中受体微球中的化学发光剂为二甲基噻吩衍生物;供体微球中的光敏物质为酞菁。

[0017] 依据流式细胞术原理,受体微球中的可选荧光素包括异硫氰酸荧光素(FITC)、藻红蛋白(PE)、藻红蛋白-德州红(EDC)和藻红蛋白-花青苷(PE-Cy5),见下表;

[0018] 荧光素一览表

[0019]

型号	荧光素	激发波长 (nm)	发射波长 (nm)	颜色
1#受体微球	异硫氰酸荧光素 (FITC)	488	525	绿色
2#受体微球	藻红蛋白 (PE)	488	575	橙色
3#受体微球	藻红蛋白-德州红 (EDC)	488	625	橙红色
4#受体微球	藻红蛋白-花青苷 (PE-Cy5)	488	675	红色

[0020] 试剂盒中各试剂的制备:1 受体微球:光激发化学发光免疫分析体系中的受体微球表面有活性基团,能够通过化学反应实现抗体分子的包被过程,此项技术已经成熟。受体微球内含有二甲基噻吩衍生物,该物质能够接受周围活性氧(单体氧)携带的能量从而产生紫外光,这些紫外光可激活同在受体微球表面的荧光素,进而发射不同波长的光学信号。目前,国内外公司已成功研制含有铕(Eu)螯合物的受体微球,微球粒径为 130 纳米左右,市场有售。同理,按照相同的制备流程,我们可以掺入其他荧光素,制备含有不同荧光素的受体微球;2、生物素化抗体的制备为本领域常规技术手段;3、供体微球:光激发化学发光免疫分析体系中的供体微球表面有活性基团,能通过通过化学反应连接生物分子,商品化供体微球已偶联链霉亲和素分子,并作为通用试剂,结合不同生物素化抗体分子;同时,供体微球含有酞菁,该物质在 680nm 激光照射下产生瞬间的氧离子(活性氧或单体氧)可在 200 纳米范围内瞬间传递给附近受体微球表面二甲基噻吩衍生物。供体微球已实现商品化供应,国内(上海博阳)、国外(美国 PE)公司有售。

[0021] 本技术发明所介绍的免疫分析方法具有如下优势:

[0022] (1)多项相关组分同时测定,节省标本用量、节省检测时间、节省检测成本;(2)与液相免疫芯片相比,所需测量时间更短,操作更为简单;(3)整个过程无洗涤过程,赋予此项技术具有较高精密度(重复性)。

附图说明

[0023] 图 1、图 2 是光激发化学发光免疫分析的分析原理示意图;

[0024] 图 3 是具体实施例示意图;

[0025] 图中:1-链霉亲和素分子;2-生物素;3-单克隆抗体;4-待检样本中的生物分子;5-多克隆抗体。

具体实施方式

[0026] 现以同时定量分析血清甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、糖链抗原 125(CA-125)、铁蛋白(Ferr)为例详细说明多项组分同时测定的均相发光免疫分析方法(如图 3):检测体系中存在四种受体微球,此四种受体微球均含有相同的化学发光剂和不同的荧光素,其中 1#受体微球含有 FITC,2#受体微球含有 PE,3#受体微球含有 EDC,4#受体微球含有 PE-Cy5),每种受体微球均分别包被有一种多克隆抗体,1#受体微球为抗 AFP,2#受体微球为抗-CEA,3#受体微球为抗-CA-125,4#受体微球为抗-Ferr。此外,体系中存在四种生物素化单克隆抗体,分别为 Bio-抗 AFP, Bio-抗-CEA, Bio-抗-CA-125, Bio-抗-Ferr。如待检标本中只存在 AFP 分子,则待测分子 AFP 分别与 Bio-抗 AFP 和抗 AFP-受体微球结合形成双抗体夹心复合物,并与供体微球表面的链霉亲和素结合,受体微球-供体微球偶联,

680nm 激光照射供体微球后,能量发生转移,受体微球表面的荧光素(FITC)被激活后发出 525nm (绿色)的光信号。如待检系统同时存在 AFP、CEA、CA-125 和 Ferr,四种待测分子将分别与相应生物素化抗体结合并连接四种抗体包被的受体微球,同时,分别与供体微球表面的链霉亲和素结合,受体微球-供体微球偶联,激光照射供体微球后,能量发生转移,四种受体微球表面的荧光素:1# 受体微球(FITC)被激活后发出 525nm (绿色)的光信号;2# 受体微球(PE)被激活后发出 575nm (橙色)的光信号;3# 受体微球(EDC)被激活后发出 625nm (橙红色)的光信号;4# 受体微球(PE-Cy5)被激活后发出 675nm (红色)的光信号。体系发出的所有光信号被光学元件采集,经一组滤光片分离并输送至光电倍增管,实现对光信号强度的检测,四种光信号强度分别与四种待测物质的分子数量(浓度)相关。如此,可实现联合检测体系,一次检测即可对同一样本中四种待测物质进行准确定量。

[0027] 其中检测光信号的光学仪器可选择复合光学信号的检测仪,国内外已研制成功并销售用于光激发化学发光免疫分析的检测仪器,实现对单一光学信号的采集。同时,采用流式细胞仪已能够实现对单一细胞或粒子表面的多种荧光信号进行检测。如果在现有光激发化学发光免疫分析检测仪的基础上,对发生光检测系统进行改造,按照流式细胞仪光学检测硬件的原理,增加一组光学滤片(长通滤片、短通滤片,带通滤片以及二相色滤等片)即可对混合的光学信号实施分离和单一光学信号的测定。

[0028] 具体检查过程:

[0029] 本发明所述检测试剂盒提供一套标准品,用于制作标准曲线(拟合数学函数),通过标准曲线可获得未知标本的浓度。标准品使用方法是:检测时将标准品视作待检样本使用,测定不同浓度标准品的信号值,以标准品浓度为 X 轴,光学信号值为 Y 轴,绘制标准曲线(剂量-反应曲线)。未知样本的浓度通过标准曲线获得(已知 Y 求 X)。标准品共设置 6 个溶液,每瓶溶液分别含有 4 种物质的一直浓度,如表所示。

序号	AFP	CEA	CA-125	Ferr
	(纳克/毫升)	(纳克/毫升)	(单位/毫升)	(纳克/毫升)
STD-1	0	0	0	0
STD-2	10	5	15	20
STD-3	20	10	50	50
STD-4	50	50	100	100
STD-5	100	100	200	200
STD-6	250	200	500	500

[0031] 测定数据实例:

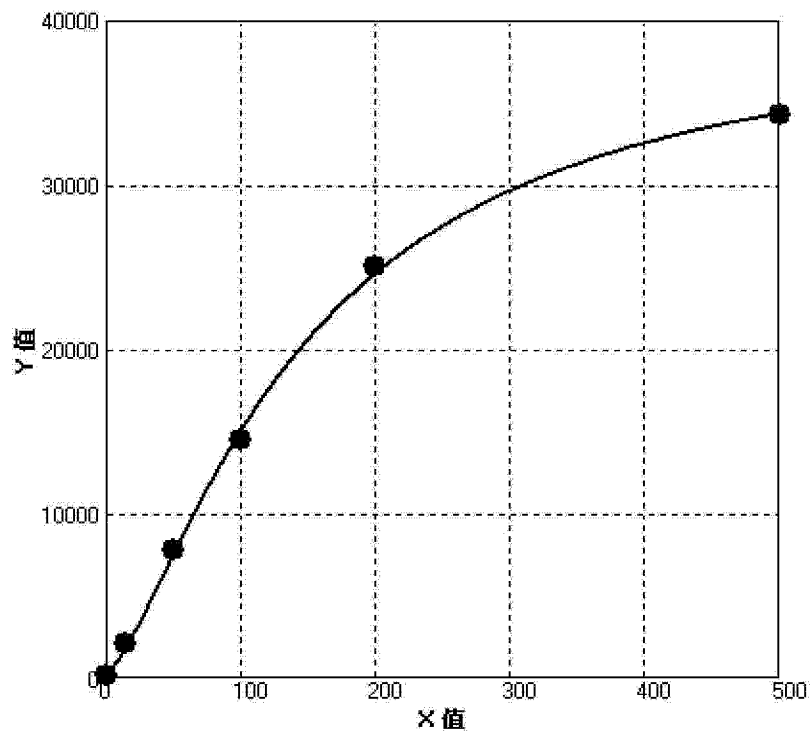
[0032] 1. 标准曲线数据和剂量-反应曲线

[0033] 甲胎蛋白(AFP)标准品测定数据

[0034]

序号	标准品浓度-X (纳克/毫升)	信号强度-Y (525 nm)
STD-1	0	167
STD-2	10	2097
STD-3	20	7818
STD-4	50	14544
STD-5	100	25049
STD-6	250	34254

[0035]

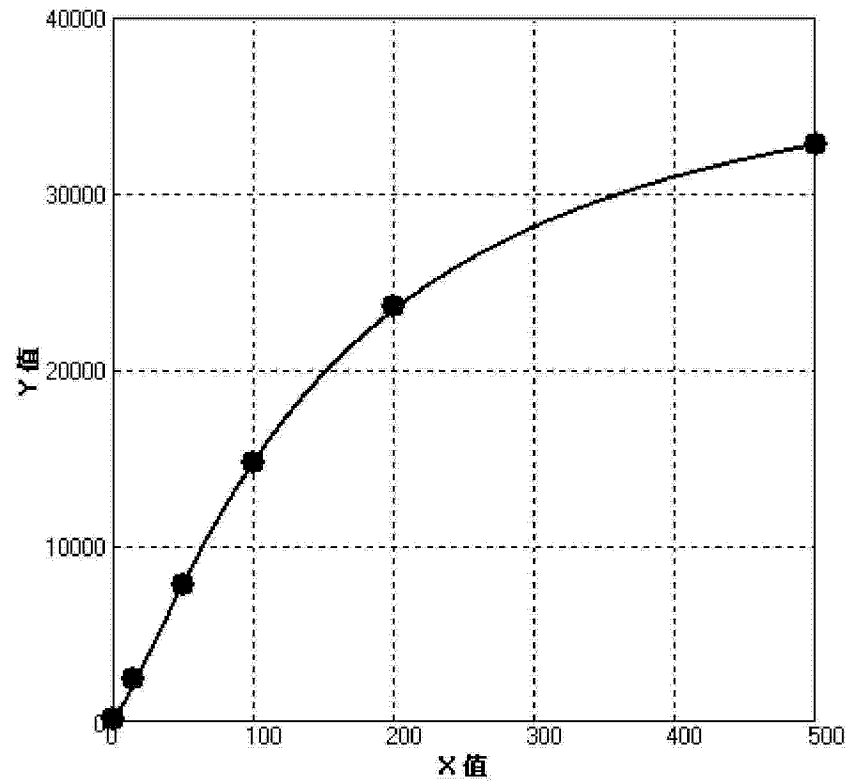


[0036] 癌胚抗原(CEA)标准品测定数据

[0037]

序号	标准品浓度-X (纳克/毫升)	信号强度-Y (575 nm)
STD-1	0	131
STD-2	5	2455
STD-3	10	7768
STD-4	50	14723
STD-5	100	23580
STD-6	200	32735

[0038]

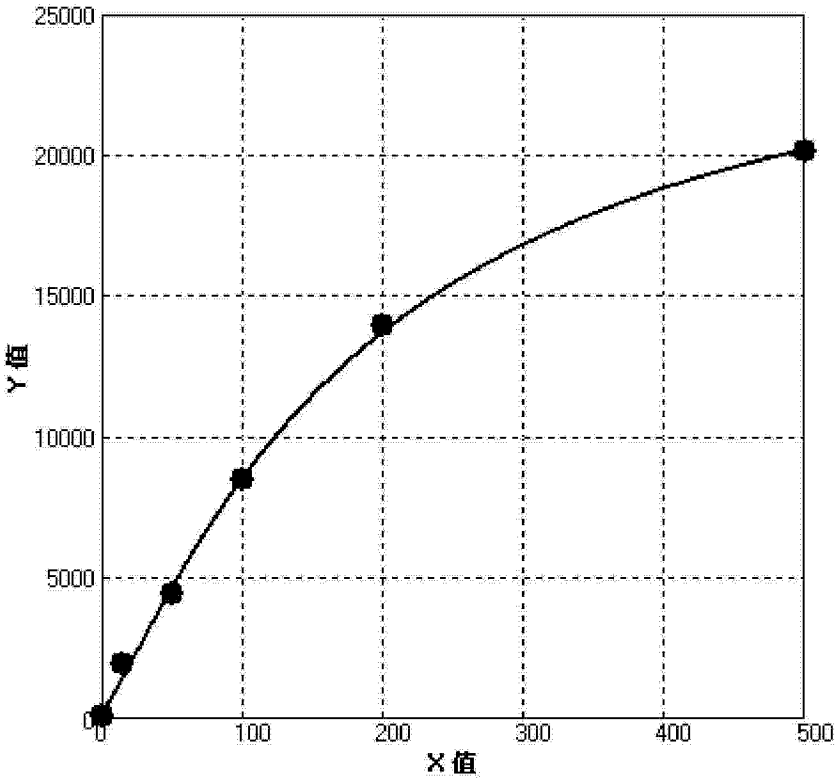


[0039] 糖链抗原 125 (CA-125) 标准品测定数据

[0040]

序号	标准品浓度-X (单位/毫升)	信号强度-Y (625 nm)
STD-1	0	74
STD-2	15	1957
STD-3	50	4458
STD-4	100	8502
STD-5	200	13930
STD-6	500	20156

[0041]

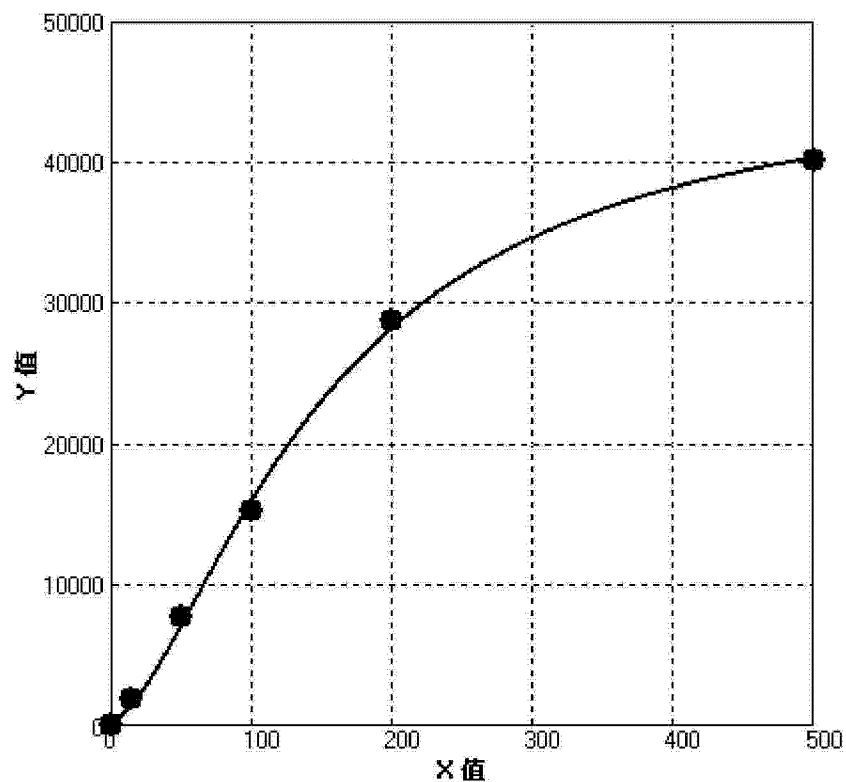


[0042] 铁蛋白(Ferr) 标准品测定数据

[0043]

序号	标准品浓度-X (纳克/毫升)	信号强度-Y (675 nm)
STD-1	0	74
STD-2	20	1857
STD-3	50	7720
STD-4	100	15253
STD-5	200	28830
STD-6	500	40165

[0044]



[0045] 临床样本：

[0046] 未知标本测定数据和经数学函数计算后的待测物质浓度

[0047] 临床标本测定信号和相应物质的浓度

1 号	信号值			
	波长	强度	项目	浓度
	525nm	1568.6	AFP	12.5
	575nm	558.5	CEA	3.2
	625nm	4607.8	CA-125	48.9
	675nm	11302.1	Ferr	72.5

[0048]

2 号	信号值			
	波长	强度	项目	浓度
	525nm	3424.6	AFP	25.1
	575nm	464.8	CEA	2.3
	625nm	2458.6	CA-125	25.3
	675nm	18155.1	Ferr	113.3

3 号	信号值			
	波长	强度	项目	浓度
	525nm	1005.5	AFP	7.9
	575nm	398.4	CEA	1.6
	625nm	2096.0	CA-125	21.4
	675nm	4333.6	Ferr	33.8

[0049]

4 号	信号值			
	波长	强度	项目	浓度
	525nm	733.4	AFP	5.3
	575nm	1008.9	CEA	6.9
	625nm	1525.3	CA-125	15.2
	675nm	6386.6	Ferr	45.6

[0050] 同理,如采用六种荧光素标记的受体微球,即可实现六种生物标志物的联合测定。

[0051] 以上对本发明的实施例进行了详细说明,但所述内容仅为本发明的较佳实施例,不能被认为用于限定本发明的实施范围。凡依本发明申请范围所作的均等变化与改进等,均应仍归属于本发明的专利涵盖范围之内。

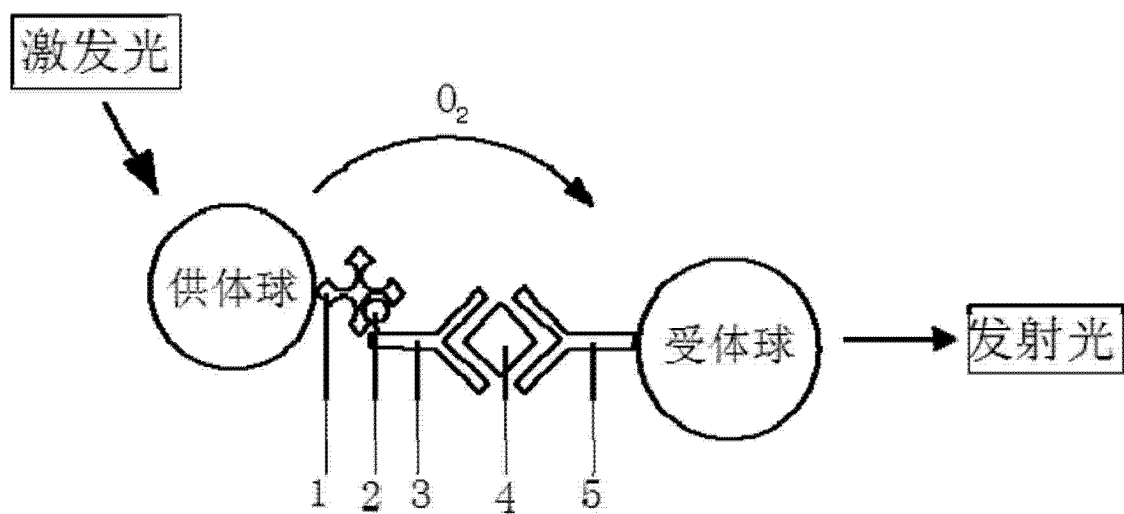


图 1

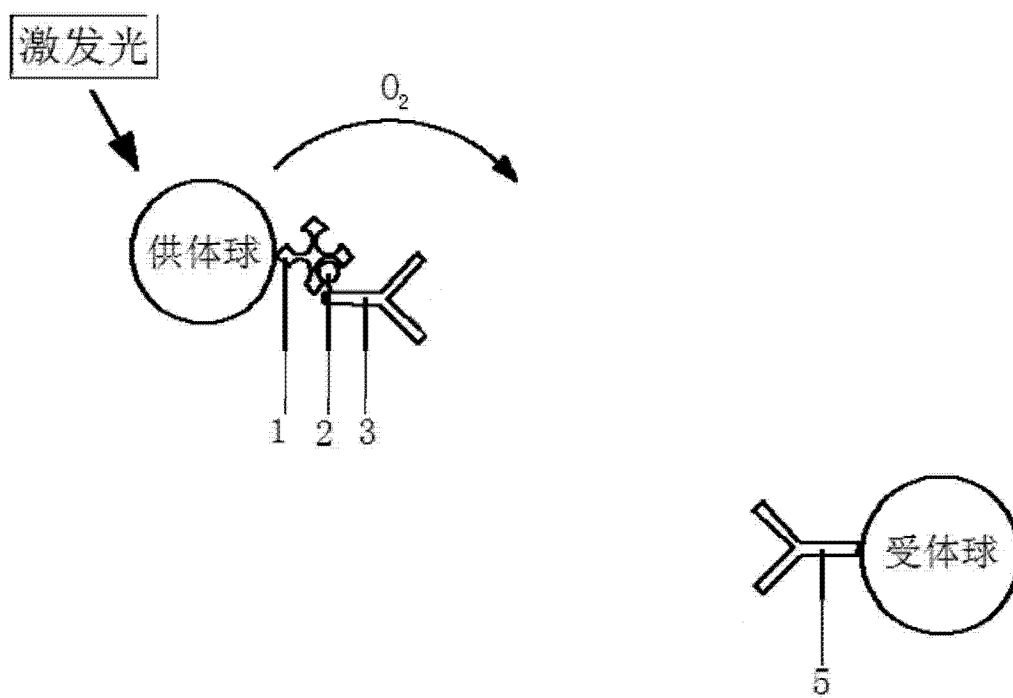


图 2

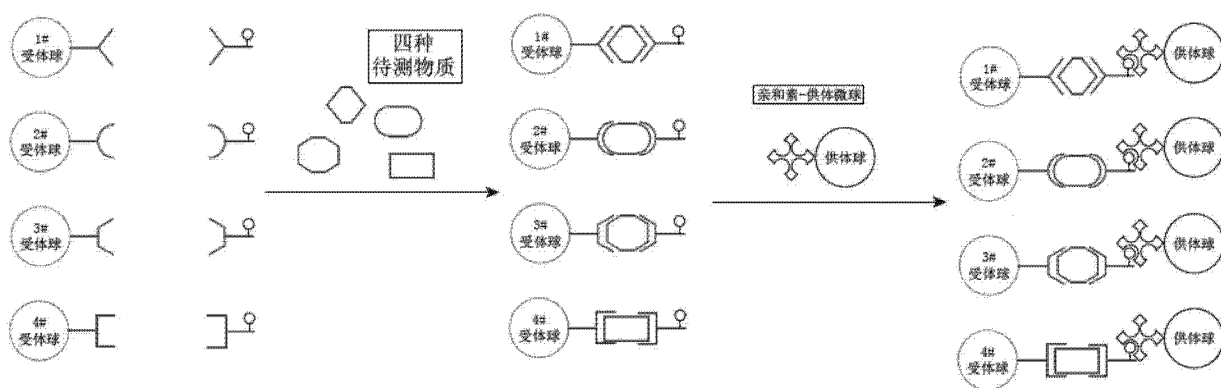


图 3

专利名称(译)	多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法及其所使用的试剂盒		
公开(公告)号	CN103837675A	公开(公告)日	2014-06-04
申请号	CN201410082986.1	申请日	2014-03-07
[标]申请(专利权)人(译)	常艳敏		
申请(专利权)人(译)	常艳敏		
当前申请(专利权)人(译)	常艳敏		
[标]发明人	常艳敏 张盈莹 朱黎娜 侯丽英 李会强 吴婧		
发明人	常艳敏 张盈莹 朱黎娜 侯丽英 李会强 吴婧		
IPC分类号	G01N33/533 G01N21/64		
CPC分类号	G01N21/6402 G01N33/53 G01N33/533		
代理人(译)	杨慧玲		
其他公开文献	CN103837675B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种多组分同时定量分析的均相发光免疫分析方法及其所使用的试剂盒，该方法采用含有多种不同荧光素的受体微球，同时也包被捕获不同待测生物标志物的抗体分子。在测定过程中，待测样本中的多种生物标志物分别与检测体系中相应的受体微球表面的抗体分子和生物素化抗体形成双抗体夹心复合物，再分别连接标记有链霉亲和素的供体微球；用激发光照射供体微球时，使各种类的受体微球发出不同波长光学信号，分别检测不同波长光的强度即可对待测生物标志物进行准确定量。试剂盒包括含有化学发光剂和荧光素的受体微球、生物素化抗体和含有光敏物质的供体微球。本发明的有益效果是实现了多组分同时定量测定，节省检测成本。

