

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

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



[12] 发明专利说明书

专利号 ZL 03813730.5

[45] 授权公告日 2007 年 8 月 22 日

[11] 授权公告号 CN 1333254C

[22] 申请日 2003.1.14 [21] 申请号 03813730.5

[30] 优先权

[32] 2002. 6. 6 [33] CN [31] 02113834.6

[86] 国际申请 PCT/CN2003/000026 2003.1.14

[87] 国际公布 WO2003/104808 中 2003.12.18

[85] 进入国家阶段日期 2005.2.5

[73] 专利权人 成都夸常科技有限公司

地址 610041 中国四川省成都市桐梓林中
路 1 号

[72] 发明人 邹方霖 陈春生 王建霞

[56] 参考文献

CN1098201A 1995.2.1

CN1351259A 2002.5.29

US5763158 1998.6.9

WO01/14425A1 2001.3.1

CN1184935A 1998.6.17

审查员 边 昕

[74] 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

代理人 过晓东

权利要求书 2 页 说明书 26 页

[54] 发明名称

一种基于抗原 - 抗体反应的新型探针板以及
使用该探针板的试剂盒及方法

[57] 摘要

本发明涉及一种用于检测生物样品的探针板，其包含至少一个反应器，在该反应器中通过直接或间接的形式固定的探针中至少包含以下探针组合中的一种：A. 探针抗体和探针抗原；B. 抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗抗体；以及 C. 抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗抗体和探针抗原或/和探针抗体。本发明还涉及包含该探针板的检测试剂盒以及使用该探针板进行检测的方法。在需要检测不同目标分子组合时，利用本发明的探针板可使检测所需的反应器数目下降、检测时间减少、检测可比性提高，具有经济、快速、高效的优点。

1. 一种用于检测生物样品的试剂盒，其包括：

- (1). 探针板，所述探针板包含至少一个反应器，在该反应器中通过直接或间接的形式固定的探针中至少包含探针抗体和探针抗原；和
- (2). 标记物，所述标记物包含与上述探针抗体和探针抗原相对应的配基及结合在该配基上的标记反应物。

2. 按照权利要求1所述的试剂盒，其特征在于：所述配基具有抗原-抗体特异反应性。

3. 按照权利要求1所述的试剂盒，其特征在于：所述标记物为以下标记物组合之一：A、特异性标记抗体和特异性标记抗原；B、种属特异性标记抗体和特异性标记抗体或/和特异性标记抗原；C、结构特异性标记抗体和特异性标记抗体或/和特异性标记抗原；D、基于上述组合的各种衍生组合。

4. 按照权利要求2或3所述的试剂盒，其特征在于：其为生物芯片试剂盒。

5. 按照权利要求2或3所述的试剂盒，其特征在于：其为可以肉眼识别检测结果的试剂条试剂盒。

6. 按照权利要求2或3所述的试剂盒，其特征在于：其为酶联免疫试剂盒、放射免疫（RIA）试剂盒、免疫荧光试剂盒、化学发光试剂盒或电化学发光试剂盒。

7. 按照权利要求4-6之一所述的试剂盒，其特征在于：所述探针抗

体包括人乙型肝炎病毒表面抗体(HBs Ab)。

8. 按照权利要求4-6之一所述的试剂盒,其特征在於:所述探针抗体包括人获得性免疫缺陷病毒抗体(HIV Ab)。

9. 按照权利要求7或8所述的试剂盒,其特征在於:所述探针抗原包括人获得性免疫缺陷病毒抗原(HIV Ag)。

10. 按照权利要求7或8所述的试剂盒,其特征在於:所述探针抗原包括人丙型肝炎病毒抗原(HCV Ag)。

11. 按照权利要求4-6之一所述的试剂盒,其特征在於:所述探针抗体包括肿瘤标记物抗体。

12. 一种检测生物样品的方法,其包括以下步骤:

(1). 提供权利要求1-11之一所述的用于检测生物样品的试剂盒;

(2). 将待检测的生物样品加到所述反应器中并进行反应;

(3). 任选地向反应器中分别、部分混合或完全混合地加入一种以上的多种所述标记物,利用一种以上的多种标记方法进行标记,其中所述多种标记方法包括双抗体夹心法与双抗原夹心法合用、或双抗体夹心法与间接法合用;以及

(4)对反应后的反应器进行测量。

一种基于抗原-抗体反应的新型探针板以及使用该探针板的试剂盒及方法

技术领域

本发明涉及一种基于抗原-抗体反应的用于检测生物样品的探针板。更具体而言，在探针板上的同一个反应器中固定有可与不同目标分子反应的探针，在需要标记时其标记物能分别与不同分子结合以将反应结果表达出来，用以对同一样品中的不同目标分子例如目标抗体和目标抗原进行定性和/或定量检测。本发明还涉及包括该探针板的试剂盒（test kit或assay kit）以及使用该探针板对生物样品进行检测的方法。

背景技术

目前，将抗原或抗体分别固定在固相载体上制成探针抗原板和探针抗体板，利用其特异选择反应以检测样品中相应的抗体或抗原，是一类广泛应用的定性或/和定量检测方法。在这些方法所用的试剂盒中，有代表性的三大类为：快速检测试剂盒、常规检测试剂盒和生物芯片试剂盒。

现有的基于抗原-抗体反应的快速检测试剂盒，可以肉眼识别检测结果。其反应器通常是由一条膜状载体及其表面上固定的探针抗原或探针抗体线、质控线和标记抗原或抗体或抗抗体组成，多数情况下利用免疫亲和层析原理进行检测。这种快速检测试剂盒应用于检测样品中与固定探针抗原或探针抗体相应的目标抗体或目标抗原。在某些情况下，可以将几条分别检测不同抗原或不同抗体的试剂条并列组装在一起，成为一个多反应器探针板，例如中国专利申请号为00226807.8的试剂盒（《病毒肝炎鉴别诊断生物芯片》）。利用该快速检测试剂盒的多装置组合，即多反应器探针板，可以测定目标肝炎抗原和目标肝炎抗体。然而同其它现有快速检测试剂盒一样，如果只利用该快速检测试剂盒的一条检测试剂条（单个装置）、即一个反应器，仍然只可以测定目标肝炎抗原或目标肝炎抗体，而不能够

在同一个反应器中测定目标肝炎抗原和目标肝炎抗体。

现有基于抗原-抗体反应的常规检测试剂盒，其特征为：其探针是以随机分布的方式固定在反应器中的。这些常规检测试剂盒包括酶联免疫试剂盒、生物素-亲和素试剂盒（例如BAS固相标记试剂盒）、放射免疫（RIA）试剂盒、免疫荧光试剂盒、化学发光试剂盒、电化学发光试剂盒等等。以ELISA试剂盒为例，其反应器通常为内表面上以随机分布的方式固定有抗原或抗体的塑料微孔或玻璃微孔。其探针板、即微孔板上通常包含有多个反应器（包被微孔）。其标记系统含有酶标记的抗原或抗体或抗抗体和底物。其应用在于检测样品中与探针抗原或探针抗体相应的目标抗体或目标抗原。

在常规检测试剂盒反应器中，反应分子（探针分子、目标分子、标记物等）之间可以有不同的反应模式，例如间接法、捕获法、竞争抑制法、双抗体夹心法和双抗原夹心法等反应模式。一种探针板通常可以使用不同的反应模式。例如ELISA试剂盒中的抗原包被板（探针板上固定的是特异抗原），检测时样品中的目标抗体和包被孔中的探针抗原发生特异性结合，如果标记系统中的酶标物为酶标特异抗原则是双抗原夹心法，如果标记系统中的酶标物为酶标抗抗体则是间接法；如果探针板上固定的是特异抗体，检测时样品中的目标抗原和探针板上的探针抗体发生特异性反应，标记系统中的标记物为酶标特异抗体则是双抗体夹心法。不管使用那种方法，在洗去未结合的酶标记物，加入标记系统中的底物溶液，显色后检测OD值，即可对结合的目标抗体或者目标抗原进行定性或定量检测。现有的ELISA试剂盒及其它常规检测试剂盒，利用同一反应器都只能或者检测抗体或者检测抗原。法国BioMerieux有一种可同时进行抗原、抗体检测的试剂盒（例如VIDAS HIV DUO），但所有检测反应不是在一个反应器、而是在多个反应器中完成的。

本发明中所述的多肽芯片，相当于英语术语中的 " peptide arrays " ， "

peptide microarrays " , " peptide chips " , " protein arrays " 或 " protein chips " 。现有的以抗原-抗体反应为基础的多肽芯片, 其反应器中的固相载体以非随机的方式(例如可寻址的方式)固定有多种探针抗原或多种探针抗体。现有抗原芯片试剂盒和抗体芯片试剂盒的应用也只在检测样品中与多种探针抗原或多种探针抗体相应的多种抗体或多种抗原。抗原-抗体芯片试剂盒具有广泛的应用前景, 特别是在临床免疫学诊断上。然而, 尽管研究开发工作已进行了十多年, 该产品还有若干关键问题尚待解决, 故还未进入大规模应用阶段。抗原或抗体芯片试剂盒中反应器内, 探针、目标物与标记物间的反应模式, 亦与ELISA方法中的反应模式基本相同, 即间接法、捕获法、竞争抑制法、双抗体夹心法、双抗体夹心法等方法中的一种。

总而言之, 目前基于抗原-抗体反应的检测试剂盒, 其探针板上一个反应器中都只是或者固定抗原、或者固定抗体, 利用同一反应器都只能或者检测抗体或者检测抗原。

发明内容

根据本发明的一个方面, 其提供一种用于检测生物样品的探针板, 其包含至少一个反应器, 在该反应器中通过直接或间接的形式固定的探针中至少包含以下探针组合中的一种: A、探针抗体和探针抗原; B、抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗抗体; 以及C、抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗抗体和探针抗原或/和探针抗体。

在上述的探针板中, 所述探针组合以探针阵列或/和探针符号或图案的非随机分布方式固定在反应器上。

上述的探针板可为生物芯片或者可以以肉眼识别检测结果的试剂条的形式。

根据本发明的另一个方面, 还提供一种用于检测生物样品的试剂盒,

其包括如上所述的探针板。另外，该试剂盒还可包括标记物，所述标记物包含与上述组合相对应的配基及结合在该配基上的标记反应物。

在上述试剂盒中，所述配基具有抗原-抗体特异反应性或对抗原或/和抗体的亲和反应性。

在上述试剂盒中，所述标记物为以下标记物组合之一：A、特异性标记抗体和特异性标记抗原；B、不同结构特异性标记抗抗体；C、种属特异性标记抗抗体和特异性标记抗体或/和特异性标记抗原；D、结构特异性标记抗抗体和种属特异性标记抗体或/和特异性标记抗原；E、基于上述组合的各种衍生组合。

该试剂盒可为酶联免疫、放射免疫（RIA）试剂盒、免疫荧光试剂盒、化学发光试剂盒或电化学发光试剂盒。

根据本发明的再一个方面，还提供一种检测生物样品的方法，其包括以下步骤：

- (1) 将待检测的生物样品加到如上所述的探针板上，并使它们反应，
- (2) 任选地向反应器中分别、部分混合或完全混合地加入标记反应物，以及
- (3) 对反应后的反应器进行测量。

具体实施方式

长期以来，科学界已经认识到抗原与相应抗体之间的特异反应性、抗体与不同种属抗体制备的抗抗体之间的不同反应活性即种属特异性、不同类或不同亚类免疫球蛋白与用其或其特征片段制备的抗抗体之间的不同反应活性即类或亚类结构特异性。然而，这些科学认识一直没有被应用到解决在同一个反应器中检测不同目标分子组合（例如抗原和抗体）这一实际问题中。我们在利用生物芯片研究抗原/抗体/抗抗体的各种相互作用时，应用这些科学认识发明了本发明的探针板以及试剂盒。下表1为我们研究

抗原、抗体与抗抗体之间作用的一些结果。

表1: 抗原、抗体与抗抗体干扰试验结果

反应池号	探针	荧光标记物	结果
1	兔抗HBsAg抗体	抗HBsAg鼠单抗	阴性
	抗HBsAg鼠单抗		阴性
2	兔抗HBsAg抗体	羊抗人抗体	阴性
	抗HBsAg鼠单抗		阴性
3	抗人IgM抗体	纯化人抗HBV抗体	阳性
	抗人IgG抗体		阳性
4	抗人IgM抗体	纯化人抗HBVIgG	阴性
	抗人IgG抗体		阳性
5	抗人IgM抗体	纯化人抗HBVIgG	阴性
	HBsAg		阳性

本发明的探针板的特征为：其至少包含有一个反应器，其中固定的探针至少包含有以下探针组合之一种：A、探针抗体和探针抗原，该抗体或抗原可相同或不同；B、抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗抗体；和C、抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗抗体和探针抗原或/和探针抗体。

本发明中所述的探针板通常是试剂盒的一个主要组成部分，其上包含有一个或多个反应器，例如ELISA试剂盒的多孔包被板、快速检测试剂盒的试剂条、生物芯片的单反应器或多反应器芯片板。

本发明所述反应器是指探针以直接或间接方式固定在其中、加样后探针与目标分子在其中进行反应、反应结果以可识别的方式在其中表示出来的一个有确定边界的连续的面或容器，例如单反应器生物芯片的芯片板、多反应器生物芯片板上的一个反应池、ELISA包被板的一个包被孔、快速

检测试剂盒的一条试剂条等等。

本发明中所述抗体包括天然抗体、特异性抗体、多克隆抗体、单克隆抗体、基因工程抗体和抗体片断。所述免疫球蛋白包括不同种类免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM、IgE、IgD)、不同亚类免疫球蛋白(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4)。本发明中所述抗原是免疫学检验中的一种重要物质,它能直接或间接刺激机体的系统发生免疫应答,产生抗体和/或致敏淋巴细胞,同时又能与免疫应答产物(即相应抗体和/或致敏淋巴细胞)发生特异性结合、发生免疫反应。

所述抗原包括完全抗原、半抗原和其它具有反应原性的物质,例如具有免疫原性和免疫反应性的动植物、微生物的成分(如蛋白质、肽类、脂类、多糖、糖和其它有机成份及其组合)、动植物、微生物的代谢产物、人工抗原、合成抗原、基因工程重组抗原以及药物、药物成份、作为抗原制备二抗的抗体、制备三抗的二抗;本发明中所述的待标记物是指与标记物发生反应的分子,可以是目标抗原、目标抗体,也可以是连接于目标抗原、目标抗体与标记物之间的中间体。

在本发明中,抗抗体是指由抗体或抗抗体作为抗原免疫各种动物而制备的抗体,包括二抗、三抗、多抗等;抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗抗体是指用作探针的、以不同结构免疫球蛋白作为抗原免疫各种动物而制备的抗体。

以下是一些本发明的探针板中反应器内所固定的探针组合的一些例子。探针组合A的例子为:抗HBsAg抗体/HCV抗原/HIV 1+2抗原/HTLV抗原/梅毒抗原;探针组合B的例子为:抗IgM抗抗体/抗IgG抗抗体;探针组合C的例子为:抗IgM抗抗体/兔抗HBsAg抗体/HCV抗原。我们将给出更多的例子在下面的"实施例"中。

本发明探针板中的反应器,其探针可以直接固定在反应器中,也可以通过间接的形式固定在反应器中。本发明所述的间接固定形式,是指探针

通过其它物质作中介固定在反应器中的形式，例如探针固定在基片上的活化分子上，或者将探针固定在活化颗粒上，然后将固定有探针的活化颗粒再固定在反应器的固相载体上。

本发明探针板中的反应器，其探针可以以随机分布的方式、也可以以非随机分布的方式固定在反应器固相载体表面。通过随机分布方式固定的不同探针，不能通过它们的几何分布将它们分别区别开来。在本发明中，探针固定的非随机分布方式，是指探针固定在固相载体表面后可通过其几何分布将它们分别区别开来的方式，包括可寻址的探针阵列和可识别的探针符号或图案。

本发明的探针板可为生物芯片的形式，其上至少一个反应器中以可寻址的探针阵列或/和可识别的探针符号和/或图案的方式固定以下探针组合之一种：A、探针抗体和探针抗原；B、抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗抗体；以及C、抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗抗体和探针抗原或/和探针抗体。

本发明反应器中固定有探针抗体和探针抗原的芯片，例子为探针板上反应器内以探针阵列方式分布有m种探针抗原（m等于或大于1）和n种探针抗体（n等于或大于1），例如实施例1中的输血检测芯片。本发明反应器中固定有抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗抗体的多肽芯片试剂盒的多肽芯片，例子为探针板上反应器内以探针阵列方式分布有用IgG1/IgG2/IgG3/IgG4分别免疫兔得到的兔抗人IgG1/IgG2/IgG3/IgG4抗体的人免疫球蛋白亚类分类芯片，如以荧光标记的羊抗人IgG为标记物，可检测免疫病人的某些亚型缺失或含量降低。

在本发明的生物芯片中，其探针可以直接固定在反应器中，也可以通过间接的形式固定在反应器中，探针通过固定在活化颗粒上、固定有探针的活化颗粒再固定在芯片反应器的固相载体。探针固定化的不同方式，不会在本质上影响本试剂盒应用于对本发明所述不同目标分子组合的检测。

本发明的探针板还可为快速检测试剂条的形式，包括抗原/抗体快速检测试剂条、IgG/IgM快速检测试剂条、IgG/IgA快速检测试剂条和抗原/IgG/IgM快速检测试剂条，等等。

利用本发明的基于抗原-抗体反应的探针板，可以在一个反应器中测定下列6种不同目标分子组合之一：A、抗原和抗体；B、不同结构免疫球蛋白（例如不同类免疫球蛋白IgG、IgA和IgM，和不同亚类免疫球蛋白IgG1、IgG2、IgG3、IgG4）；C、不同种属抗体；D、结构特异性免疫球蛋白抗抗体；E、不同结构免疫球蛋白和抗原或/和抗体；F、基于上述组合的其它组合。在本发明中，不同目标分子组合指的就是上述6种不同目标分子组合之一。

本发明所述试剂盒包括根据本发明的探针板，其可含有标记系统也可以是不含标记系统。当试剂盒包含标记系统时，探针板的反应器中的反应结果可由肉眼或相应的光电比色检测仪器、光电成像检测仪器、荧光检测仪器、放免检测仪器、微磁力检测仪等检测仪通过检测标记物所携带的“标记”来检测样品目标物，例如输血快速筛选ELISA试剂盒中的“酶标”。当试剂盒不包含标记系统时，反应器中的反应结果可由微电位检测器等不需标记物的检测仪检测。

在本发明中，试剂盒是指某些定性和/或定量检测中必不可少的一种耗材，其核心是探针板上的反应器，反应器中固定有探针，被用以同样品目标物进行反应。

在本发明中，标记系统是试剂盒的一个重要组成部分，是指用于目标物定性和/或定量检测中的、用以将探针与目标物反应结果以“标记”的形式表达出来的有关物质的总和，包含目标分子的配基（ligand）、标记反应物及某些检测中的中间体和标记放大系统，例如使用间接法的抗原包被ELISA试剂盒中的酶标抗抗体和底物。本发明中所述的标记物包含目标分子的配基和结合在配基上的标记反应物，例如使用间接法的抗原包被

ELISA试剂盒中用酶标记后用以同目标抗体结合的酶标抗抗体、使用夹心法的探针抗体芯片试剂盒中用荧光物质标记后用以同目标抗原结合的荧光标记抗体等。

本发明含有标记系统的试剂盒，其标记系统包含目标分子配基、标记反应物及某些检测中的中间体和标记放大系统，例如胶体金标记加银盐放大系统、生物素-亲和素-抗体或生物素放大系统等。本发明含有标记系统的试剂盒，其所含的标记物包含目标分子的配基和结合在配基上的标记反应物，例如在ELISA检测试剂盒中的酶标记的抗原、抗体和抗抗体为目标分子的配基，配基上只结合了标记反应物的酶部分，而没有包含底物部分；在荧光标记试剂盒中，荧光标记的抗原、抗体和抗抗体为抗体、抗原目标分子的配基，这时配基上结合了全部荧光标记反应物。

本发明含有标记系统的试剂盒，其标记系统可以使用不同的标记方法或使用同一种标记方法但不相同的标记反应物。例如，为了分别检测IgG、IgM，可使用两种不同激发和发射波长的荧光标记反应物。

在本发明的含有标记物的试剂盒中，标记物所含的配基具有抗原-抗体特异反应性或/和抗原或/和抗体的亲和反应性。本发明所述标记物配基与抗原或/和抗体的亲和反应性，是指其所具有的抗原-抗体反应机理以外的其它亲和反应机理的反应性，例如生物素、亲和素、SPA、SPG、补骨脂素、地高辛等分别与抗原或/和抗体的亲和反应性。在本发明中，抗原-抗体特异反应性不仅是抗原与相应抗体之间的特异反应性，而且包括抗体与不同种属抗体制备的抗抗体之间的不同反应活性即种属特异反应性和不同结构免疫球蛋白与用其或其特征片段制备的抗抗体之间的不同反应活性即结构特异反应性。抗原和相应抗体之间的特异反应性，一个例子是HCV抗原与HCV抗体之间的特异反应性。抗体与不同种属抗体制备的抗抗体之间种属特异反应性，一个例子是羊抗人的抗抗体只与人抗HBsAg抗体而不与抗HBsAg鼠单抗发生有检测意义的反应的特异反应性。不同结构免疫球蛋

白与用其或其特征片段制备的抗抗体之间的结构特异反应性，一个例子是人抗乙肝IgG只与抗IgG抗抗体而不与抗IgM抗抗体结合的特反应性。

本发明含有抗原-抗体特异反应性标记物的试剂盒，其标记物配基选择范围，不仅包括特异性标记抗原、特异性标记抗体和标记抗抗体还包括种属特异性标记抗抗体和结构特异性标记抗抗体。其标记物为下列5种标记物组合之一：A、特异性标记抗体和特异性标记抗原；B、不同结构特异性标记抗抗体；C、种属特异性标记抗抗体和特异性标记抗体或/和特异性标记抗原；D、结构特异性标记抗抗体和特异性标记抗体或/和特异性标记抗原；E、基于上述组合的各种衍生组合。其标记系统所含的标记抗原、标记抗体、标记抗抗体以及标记物质各自的数目取决于检测的目标分子种类、数目及检测方法。

使用试剂盒时，其标记物组合中的特异性标记抗原、特异性标记抗体、种属特异性标记抗抗体、结构特异性标记抗抗体可以分别加入、也可部分或完全混合后加入反应器。标记物组合A的例子为罗丹明标记的HCV、HIV、HTLV、梅毒特异性抗原和罗丹明标记的抗HBs特异性抗体；标记物组合B的例子为罗丹明标记的抗IgM抗抗体和罗丹明标记的抗IgG抗抗体；标记物组合C的例子为罗丹明标记的羊抗人抗抗体和罗丹明标记的抗HBs鼠单抗；标记物组合D的例子为罗丹明标记的抗IgM抗抗体和罗丹明标记的特异性HBsAg。

本发明有标记系统的多肽芯片试剂盒中，其标记系统所用标记方法可以为金（银）标记、酶标记、荧光标记、化学发光标记、电化学发光标记、放射性标记、磁标记之一种及其组合，等等。根据所选择的标记系统所用标记方法，本发明的多肽芯片试剂盒可以使用同属于一种标记方法、但互不相同的标记反应物，例如使用不同波长的荧光试剂标记不同的标记物配基，从而形成有区别的标记物。

本发明中所述探针组合以随机分布方式固定在反应器内的常规免疫检

测试剂盒，该类试剂盒的例子为：

1)、酶联免疫抗原/抗体试剂盒:其组成为以随机分布的方式包被有特异探针抗原和特异探针抗体的多孔板、酶标记特异抗原/酶标记特异抗体或酶标记特异抗原/酶标记种属特异性抗抗体、底物和缓冲液等其它辅助材料。

2)、放射免疫试剂盒:其组成为以随机分布的方式包被有特异探针抗原和特异探针抗体的多孔板、放射标记特异抗原/放射标记特异抗体或放射标记特异抗原/放射标记种属特异性抗抗体和缓冲液等其它辅助材料。

3)、免疫荧光试剂盒:其组成为以随机分布的方式包被有特异探针抗原和特异探针抗体的多孔板、荧光标记特异抗原/荧光标记特异抗体或荧光标记特异抗原/荧光标记种属特异性抗抗体和缓冲液等其它辅助材料。

4)、电化学发光试剂盒:其组成为以随机分布的方式包被有特异探针抗原和特异探针抗体的多孔板、电化学发光标记特异抗原/电化学发光标记特异抗体或电化学发光标记特异抗原/电化学发光标记种属特异性抗抗体和缓冲液等其它辅助材料。

5)、化学发光试剂盒:其组成为以随机分布的方式包被有特异探针抗原和特异探针抗体的多孔板、化学发光标记特异抗原/化学发光标记特异抗体或化学发光标记特异抗原/化学发光标记种属特异性抗抗体和缓冲液等其它辅助材料。

本发明所述的随机分布的方式固定探针的检测试剂盒最适宜于当多项检测中有一项为阳性即判为不合格的检测，例如输血检测试剂盒，当乙肝、丙肝、HIV、梅毒中的任何一项为阳性，即判为该献血员和该袋血液或血浆不合格。

本发明的所有常规检测试剂盒，其标记系统所用标记方法可为金(银)标记、酶标记、荧光标记、化学发光标记、电化学发光标记、放射性标记、磁标记之一种或一种以上的组合。其使用同一标记方法的标记物配基上，

结合有相同的标记反应物或不同的标记反应物。标记反应物包括：放射性物质、酶、显色底物、生物素-亲和素、SPA、SPG、补骨脂素、地高辛、荧光染料、胶体金（银）、稀土化合物着色剂、化学发光剂、电化学发光剂、生物发光剂、磁性微粒、等。

本发明的所有检测试剂盒，均可用于检测样品中下列6种不同目标分子组合之一：A、抗原和抗体；B、不同类免疫球蛋白；C、不同亚类免疫球蛋白；D、抗原和不同类免疫球蛋白或/和不同类免疫球蛋白混合物；E、抗原和不同亚类免疫球蛋白或/和不同亚类免疫球蛋白混合物；F、基于上述组合的其它组合。

本发明试剂盒中述及的探针板反应器，是将探针固定在固相载体上制成的。本发明中的固相载体，包括各种有机、无机，透明或不透明、吸水或不吸水、质硬或质软的材料，如玻璃、塑料、橡胶、金属、纤维材质的膜、片、板等其中的一种或几种的复合物。本发明中的探针板的形状，可以是各种形状的平板、各种形状的孔板，各种形状的条状物等各种几何体。本发明中的探针板上，可以有一个或多个选择性反应器。每一个反应器内固定有检测特异反应所要求的探针抗原和探针抗体，它们可以以随机分布的形式或非随机分布的方式固定在反应器内。本发明中的探针板上固定的特异抗体和抗原，既可以是天然物又可以是合成物，包括多肽和蛋白质等所有具备抗原或抗体特性的物质。在本发明试剂盒的生产中，不同探针（特异抗原和特异抗体）在探针板上的固定，既可以同时进行，也可以分前后进行。

本发明还提供一种检测生物样品的方法，其包括以下步骤：

(1) 将待检测的生物样品加到本发明的探针板上的反应器中，并使它们反应，例如在37摄氏度下反应1小时，

(2) 任选地向反应器中加入标记反应物并使它们在反应器中反应，该标记反应物可分别加入，也可在部分混合或完全混合后加入，以及

(3) 对反应后的反应器进行测量。

根据本发明试剂盒以及检测方法的优点是：可以利用同一反应器分别检测不同的目标分子，例如抗体和抗原、不同类的免疫球蛋白、不同亚类的免疫球蛋白等等，从而使上述检测所需的反应器数目下降，检测时间下降和检测可比性提高，本发明提供了一种经济、快速、高效的试剂盒。

以下将参考实施例对本发明进行详细的说明。在本发明的实施例1—8中，所用芯片基片均为目前市场上可获得的芯片基片或法国SEDAC公司提供的实验用芯片基片。

实施例1：输血芯片试剂盒(1)

在本例中，试剂盒由输血芯片、标记物、阴性对照物、阳性对照物、洗涤液等组成。本实施例试剂盒用以检测人血清样品中的HBsAg和HCV抗体、HIV 1+2抗体和梅毒抗体。

本例试剂盒中的输血芯片的探针组合主要根据目前法定输血用血检测项目而确定。在本实施例中，探针组合为抗原探针/抗体探针组合，其所含一种探针抗体为兔抗HBsAg抗体，所含三种探针抗原分别为HCV融合抗原、HIV 1+2混合抗原和梅毒混合抗原。每种探针以已确定的最佳浓度在基片上点3个样点，形成5×3的点阵。点样完毕后，用牛血清白蛋白封闭空白的载体表面后干燥备用。

本例中试剂盒采用双抗体夹心法—间接法检测，其标记物组合为特异性标记抗体/种属特异性标记抗抗体。该组合含一种标记抗体配基，为可与探针兔抗HBsAg抗体及其捕获的HBsAg形成双抗体夹心的抗HBsAg鼠单抗。该组合所含一种标记抗抗体配基，为可与探针HCV抗原捕获的人抗HCV抗体、探针HIV 1+2抗原捕获的人抗HIV 1+2抗体、探针梅毒抗原捕获的人抗梅毒抗体结合，而不与探针兔抗HBsAg抗体和标记的抗HBsAg鼠单抗结合的羊抗人抗抗体。其标记物配基上结合的标记反应物为罗丹明。在已确

定的最佳反应条件下进行罗丹明标记后，标记抗体和标记抗抗体可以以混合或分开形式备用。

本例中阴性对照物为经ELISA方法（微孔板分别包被兔抗HBsAg抗体、HCV融合抗原、HIV 1+2混合抗原和梅毒抗原）检测后选定的HBsAg和HCV抗体、HIV 1+2抗体和梅毒抗体阴性人血清。本例中阳性对照物为经ELISA方法检测后选定的HBsAg阳性人血清和HCV抗体阳性人血清、HIV 1+2抗体阳性人血清和梅毒抗体阳性人血清的混合物。

使用上述制备的输血芯片试剂盒，可以检测人血清样品中的HBsAg和HCV抗体、HIV 1+2抗体和梅毒抗体。本试验中人血清样品如下：1、HBsAg阳性人血清，2、HCV抗体阳性人血清，3、HIV 1+2抗体阳性人血清，4、梅毒抗体阳性人血清，5、HBsAg阳性和梅毒阳性人血清，6、阴性对照物和7、阳性对照物，所有人血清样品的阴阳性均是经ELISA方法预先测定的。上述人血清样品稀释后分别加到上述制备的输血芯片中，在37℃反应1小时。然后，用缓冲液洗去未结合血清成分，再加入试剂盒的标记物（罗丹明标记兔抗HBsAg抗体及罗丹明标记羊抗人抗抗体），在37℃反应1小时，然后用缓冲液洗去未结合的标记物，再用无水乙醇洗涤后吹干。干燥的芯片分别用芯片扫描仪（GMS 418 ARRAY SCANNER）阅读、计算机软件处理，得到以下结果。

表2: 输血芯片试剂盒试验结果

样 品	ELISA检测结果				本试剂盒检测结果			
	HBsAg	HCV	HIV	梅毒	HBsAg	HCV	HIV	梅毒
1	+	-	-	-	+	-	-	-
2	+	+	-	-	-	+	-	-
3	-	-	+	-	-	-	+	-
4	-	-	-	+	-	-	-	+
5	+	-	-	+	+	-	-	+
阴性对照	-	-	-	-	-	-	-	-
阳性对照	+	+	+	+	+	+	+	+
空白对照	-	-	-	-	-	-	-	-

实施例2: 输血芯片试剂盒的制备(2)

在本例中, 试剂盒由输血芯片、标记物、阴性对照物、阳性对照物、洗涤液等组成。本例试剂盒中的输血芯片的制备方法如同例一中试剂盒中的输血芯片。

本例中试剂盒采用双抗体夹心法-双抗原夹心法检测, 其标记物组合为特异性标记抗原/特异性标记抗体。该组合特异性标记抗体配基为可与探针兔抗HBsAg抗体及其捕获的HBsAg形成双抗体夹心的抗HBsAg鼠单抗。该组合3种特异性标记抗原配基, 为可与探针HCV抗原捕获的人抗HCV抗体特异结合的HCV抗原、可与探针HIV 1+2抗原捕获的人抗HIV 1+2抗体特异结合的HIV 1+2抗原、可与探针梅毒抗原捕获的人抗梅毒抗体特异结合的梅毒抗原。其标记物配基上结合的标记反应物为罗丹明。在已确定的最佳

反应条件下进行罗丹明标记后，标记抗体和标记抗原可以以混合或分开形式备用。

本例中阴性对照物和阳性对照物如同例一输血芯片试剂盒中的阴性对照物和阳性对照物。

使用上述制备的输血芯片试剂盒，可以检测人血清样品中的HBsAg和HCV抗体、HIV 1+2抗体和梅毒抗体。本试验中人血清样品如同实施例1中的人血清样品。本实施例中人血清样品检测方法如同实施例1，得到和实施例1中表2相同的结果。

实施例3：HIV抗原/抗体检测芯片试剂盒(1)

在本例中，试剂盒由HIV抗原/抗体检测芯片、标记物、阴性对照物、阳性对照物、洗涤液等组成。本实例试剂盒用以检测人血清样品中的HIV抗原和抗体。

本例试剂盒中的HIV抗原/抗体检测芯片的探针组合为抗原探针/抗体探针组合，其所含探针抗体为抗p24特异性鼠单抗，所含探针抗原为gp160、gp41、gp36的混合抗原。探针在基片上的固定，每种探针以已确定的最佳浓度点3个样点，形成2×3的点阵。点样完毕后，用牛血清白蛋白封闭空白的载体表面后干燥备用。

本例中试剂盒采用双抗体/双抗原夹心法检测，其标记物组合为特异性标记抗体/特异性标记抗原。该组合配基为可分别与探针抗p24特异性单抗及其捕获的HIV抗原形成双抗体夹心的抗p24特异性单抗，和与探针HIV抗原及其捕获的HIV抗体形成双抗原夹心的HIV抗原。其标记物配基上结合的标记反应物为罗丹明。在已确定的最佳反应条件下进行罗丹明标记后，标记抗体和标记抗原可以以混合或分开形式备用。

本例中阴性对照物为经ELISA方法（微孔板分别包被抗p24特异性单抗和gp160、gp41、gp36的抗原）检测后选定的HIV抗体和抗原阴性人血清。

本例中阳性对照物为经ELISA方法检测后选定的HIV抗体和抗原阳性人血清。

使用上述制备的芯片试剂盒，可以检测人血清样品中的HIV抗体和抗原。本试验中人血清样品如下：A、HIV p24抗原阳性人血清，B、HIV gp160、gp41、gp36抗体阳性人血清，C、HIV抗原阳性和HIV抗体阳性人血清，D、阴性对照物，E、阳性对照物，所有人血清样品的阴阳性均是经ELISA方法（分别用抗p24特异性单抗和gp160、gp41、gp36抗原包被微孔）测定的。上述人血清样品稀释后分别加到上述制备的HIV抗原/抗体检测芯片中，在37℃反应1小时。然后，用缓冲液洗去未结合血清成分，再加入试剂盒的标记物（罗丹明标记HIV抗体及罗丹明标记HIV抗原），在37℃反应1小时，然后用缓冲液洗去未结合的标记物，再用无水乙醇洗涤后吹干。干燥的芯片分别用芯片扫描仪（GMS 418 ARRAY SCANNER）阅读、计算机软件处理，得到以下结果。

表3：HIV抗原/抗体检测芯片试剂盒试验结果

样 品	ELISA检测结果		本试剂盒检测结果	
	p24	混合抗原	p24	混合抗原
A	+	-	+	-
B	-	+	-	+
C	+	+	+	+
阴性对照	-	-	-	-
阳性对照	++++	++++	++++	++++
空白对照	-	-	-	-

实施例4: HIV抗原/抗体检测芯片试剂盒(2)

在本例中, 试剂盒由HIV抗原/抗体检测芯片、标记物、阴性对照物、阳性对照物、洗涤液等组成。本实施例的试剂盒用于检测人血清样品中的HIV抗原和抗体。

本例试剂盒中的HIV抗原/抗体检测芯片的制备方法如同实施例3中的HIV抗原/抗体检测芯片。

本例中试剂盒用于双抗体夹心法—间接法检测, 其标记物组合为特异性标记抗体/种属特异性标记抗抗体。该组合配基为可分别与探针抗p24特异性鼠单抗及其捕获的HIV抗原形成双抗体夹心的抗p24特异性鼠单抗, 和可与探针HIV抗原捕获的人抗HIV抗体结合而不与探针抗p24特异性鼠单抗和标记抗p24特异性鼠单抗结合的羊抗人抗抗体。其标记物配基上结合的标记反应物为罗丹明。在已确定的最佳反应条件下进行罗丹明标记后, 标记抗体和标记抗抗体可以以混合或分开的形式备用。

本例中阴性对照物、阳性对照物和人血清样品与实施例3相同。本试验中人血清样品如同例一中的。本例中人血清样品检测方法与实施例3相同, 得到与实施例3中表3相同的结果。

实施例5: 肿瘤相关抗原/抗体检测芯片试剂盒

在本例中, 试剂盒由肿瘤相关抗原/抗体检测芯片、标记物、阴性对照物、阳性对照物、质控品、洗涤液等组成。本实施例的试剂盒用于检测人血清样品中的肿瘤相关抗原/抗体。

本例试剂盒中的肿瘤相关抗原/抗体检测芯片的探针组合根据检测需要及可以提供的有意义的肿瘤相关抗原/抗体确定。在本例中, 探针组合为抗原探针/抗体探针组合, 所含一种抗原探针为合成多肽的EBV抗原, 所含6种探针抗体为: 抗HCG促激素抗体、抗肿瘤标志抗原50(CA50)抗体、抗糖类抗原242(CA242)抗体、抗乳腺癌特异性抗原(CA153)抗体、

抗癌胚抗原（CEA）抗体和抗卵巢癌特异性抗原（CA125）抗体。探针在基片上的固定，使用手工点样机，每种探针以已确定的最佳浓度点3个样点，形成7×3的点阵。点样完毕后，用牛血清白蛋白封闭空白的载体表面后干燥备用。

本例中试剂盒用于双抗体夹心法-间接法检测，其标记物组合为特异性标记抗体/种属特异性标记抗体。该组合配基为可分别与探针抗体及其捕获的抗原分别形成双抗体夹心的6种抗体（抗HCG、抗CA50、抗CA242、抗CA153、抗CEA、抗CA125特异鼠单抗）和可与探针抗体捕获的EBV VCA抗原结合的抗人IgA二抗。其标记物配基上结合的标记反应物为罗丹明。在已确定的最佳反应条件下进行罗丹明标记后，标记抗体和标记抗原可以以混合或分开形式备用。

本例中阴性对照物为经ELISA方法（微孔板分别包被合成多肽的EBV VCA抗原、抗HCG促激素抗体、抗肿瘤标志抗原50（CA50）抗体、抗糖类抗原242（CA242）的多糖和糖蛋白抗体、抗乳腺癌特异性抗原（CA153）抗体、抗癌胚抗原（CEA）抗体和抗卵巢癌特异性抗原（CA125）抗体）检测后选定的阴性人血清。本例中质控对照物为经其它方法定量检测后选定的上述检测肿瘤标志物。

使用上述制备的芯片试剂盒，可以定量检测人血清样品中的肿瘤有关的抗体、促激素、多糖、糖蛋白、蛋白质标志物，多种抗原在一个反应器中一次检测完成，具有快速、经济的优点。

实施例6：乙肝检测芯片试剂盒

在本例中，试剂盒由乙肝相关抗原/抗体检测芯片、标记物、阴性对照物、阳性对照物、洗涤液等组成。本实例试剂盒用以检测人血清样品中的乙肝相关抗原/抗体。

本例试剂盒中的乙肝相关抗原/抗体检测芯片的探针组合根据检测需要

及可以提供的有意义的乙肝相关抗原/抗体确定。在本例中，探针组合为探针抗原/探针抗体组合，其所含二种探针抗体为纯化抗HBsAg鼠单抗和纯化兔抗人乙肝e抗体（HBeAb），其所含三种探针抗原为纯化乙肝表面抗原（HBsAg）、纯化乙肝核心抗原（HBcAg）和纯化乙肝e抗原（HBeAg）。探针在基片上的固定，每种探针以已确定的最佳浓度点3个样点，形成5×3的点阵。点样完毕后，用牛血清白蛋白封闭空白的载体表面后干燥备用。

本例中试剂盒用以检测人血清样品中的乙肝表面抗原、乙肝e抗原、乙肝表面抗体IgG、乙肝表面抗体IgM、乙肝e抗体IgG、乙肝e抗体IgM、乙肝c抗体IgG、乙肝c抗体IgM。

本例中试剂盒用于双抗体夹心法一间接法检测，其标记物组合为特异性标记抗体/种属特异性标记抗IgG抗体/种属特异性标记抗IgM抗体。该组合特异性配基抗体三种，分别为可与探针抗体及其捕获的抗原分别形成双抗体夹心的纯化抗HBsAg鼠单抗和纯化乙肝e兔抗体（HBeAb）。该组合种属特异性配基抗人IgG和种属特异性配基抗人IgM为可分别与探针抗原捕获的人IgG、IgM抗体结合、但不与其它探针抗体及特异性配基抗体（抗HBsAg鼠单抗和乙肝e兔抗体）结合的羊抗人IgG和羊抗人IgM。其标记物配基上结合的标记反应物，分别为结合在特异性配基抗体和羊抗人IgG二抗上的罗丹明（激发波长546 nm、发射波长575 nm），和结合在羊抗人IgM上的Cy 5（激发波长649 nm、发射波长为670 nm）。在已确定的最佳反应条件下，分别进行罗丹明和Cy 5标记，标记后的配基抗体和抗抗体（标记物组合）备用。

本例中阴性对照物为经ELISA方法检测后选定的阴性人血清。本例中阳性对照物为经ELISA方法检测后选定的阳性人血清的混合物。本试验中选定的单项阳性样品如下：1#、乙肝表面抗原阳性样品，2#、乙肝e抗原阳性样品，3#、乙肝表面抗体IgG阳性样品，4#、乙肝表面抗体IgM阳性样品，5#、乙肝e抗体IgG阳性样品，6#、乙肝e抗体IgM阳性样品，7#、乙肝

c抗体IgG阳性样品，8#、乙肝c抗体IgM阳性样品，所有样品的阴阳性是经ELISA方法检测后选定的。上述样品分别加到上述制备的检测芯片中，在37℃反应1小时。然后，用缓冲液洗去未结合成分，再加入上述的标记物。当标记物与检测样品中的目标分子反应完成后，洗去未结合的标记物。结果检测时使用多波长的激光共聚焦显微镜，在540nm波长的激发光扫描得到乙肝表面抗原、乙肝e抗原和抗乙肝表面抗体IgG、乙肝e抗体IgG、乙肝c抗体IgG的检测结果，在650nm波长的激发光扫描，得到抗乙肝表面抗体IgM、乙肝e抗体IgM、乙肝c抗体IgM的检测结果（见表4）。

表4：乙肝检测芯片试剂盒对样品人血清的检测结果

样 品	ELISA单项检测结果								本试剂盒检测结果							
	A	B	C	D	E	F	G	H	A	B	C	D	E	F	G	H
1#	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
2#	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
3#	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
4#	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
5#	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
6#	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
7#	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
8#	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
阴性对照	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
阳性对照	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
空白对照	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注释：A:HBsAg, B:HBeAg, C:HbsIgG, D:HbsIgM, E:HbeIgG, F:HbeIgM, G:HbcIgG, H:HbcIgM

实施例7：乙肝—丙肝抗原/抗体检测芯片试剂盒

在本例中，试剂盒由乙肝—丙肝抗原/抗体检测芯片、标记系统和缓冲液组成。乙肝、丙肝相关抗原/抗体检测芯片的探针组合根据检测需要及可以提供的有意义的乙肝、丙肝相关抗原/抗体确定，在本例中为抗HBsAg兔抗体和丙型肝炎融合抗原，用以检测人血清样品中的乙肝表面抗原和丙肝抗体。探针在基片上的固定，每个探针以已确定的最佳浓度点3个样点，形成2X3的点阵。点样完毕后，用牛血清白蛋白封闭空白的载体表面后干燥。

本例中试剂盒采用间接法—双抗体夹心间接复合法检测，其标记系统包括用作中间连接分子的与探针抗HBsAg兔抗体捕获的HBsAg结合的HBs抗体和标记物。标记物配基为可与探针抗HBsAg兔抗体捕获的HBsAg结合的人源性抗HBs鼠单抗和探针HCV抗原捕获的HCV抗体结合的羊抗人抗抗体。其标记物配基上结合的标记反应物为罗丹明。本例中试剂盒的其它辅助部分为阴阳性对照、洗涤液等。

实施例8：肝炎检测芯片试剂盒

在本例中，试剂盒由肝炎相关抗原/抗体检测芯片、标记物和缓冲液组成。肝炎相关抗原/抗体检测芯片的探针组合根据检测需要及可以提供的有意义的肝炎相关抗原/抗体确定，在本例中为HAV抗原、抗HBsAg兔抗体、HCV融合抗原、HDV融合抗原、HEV融合抗原和HGV融合抗原，用以检测人血清样品中的甲肝抗体、乙肝表面抗原、丙肝抗体、丁肝抗体和戊肝抗体。探针在基片上的固定，每个探针以已确定的最佳浓度点3个样点，形成5×3的点阵。点样完毕后，用牛血清白蛋白封闭空白的载体表面后干燥。本例中试剂盒用于双抗体夹心法-间接法检测，其标记物配基组合为：可与探针抗体及其捕获的抗原分别形成双抗体夹心的纯化抗HBsAg兔抗体，及可与探针抗原捕获的抗体结合的羊抗人二抗。其标记物配基上结合

的标记反应物，为分别结合在纯化抗HBsAg兔抗体和羊抗人抗抗体上的罗丹明（激发波长546nm的、发射波长575nm）。这些以已确定的最佳反应条件分别进行罗丹明标记后的配基抗体和抗抗体（标记物组合），可以混合、部分混合或分开备用。本例中试剂盒的其它辅助部分为阴阳性对照、洗涤液等。

实施例9：快速输血检测试剂盒

在本例中，试剂盒由输血快检试剂条和洗涤液等组成。本实例试剂盒用以快速检测人血清样品中的HBsAg和HCV、HIV 1+2和梅毒抗体，可用作献血员的快速筛查。

本例试剂盒中的输血快检试剂条上分别有加样区、标记物区、探针区、质控区。本例中试剂条为硝酸纤维膜条，加样区中有玻璃纤维膜。探针区内固定有探针组合。探针组合主要根据中国目前法定输血用血检测的项目而确定的。在本例中，探针组合为抗原探针/抗体探针组合，其所含一种探针抗体为兔抗HBsAg抗体，所含三种探针抗原分别为HCV融合抗原、HIV 1+2融合抗原和梅毒抗原。每种探针以检测线的形式固定在试剂膜条上探针区内。

本例中试剂盒用于双抗体夹心法一间接法检测，其标记物组合为特异性标记抗体/种属特异性标记抗抗体。该组合标记抗体配基为兔抗HBsAg抗体。该组合标记抗抗体配基为羊抗人抗抗体。其标记物配基以胶体金进行标记。标记好的标记物混合后以线条形式固定在上述探针线组与加样区之间的标记物区内。本例中试剂条区内固定有一条人IgG质控线。

本试验中人血清样品如同实施例1中的人血清样品。由于对献血员的筛选有别于临床对病人的诊断，该试剂盒能在几分钟内对献血员进行初筛，只要上述几种病毒指标有一项出现检测结果阳性，献血员不能献血，合格的再作进一步检查。这样做初筛，一可以节约时间，二可以节约费用。

实施例10: HIV抗原/抗体快速检测试剂盒

在本例中, 试剂盒由HIV抗原/抗体快检试剂条和洗涤液等组成。本实施例试剂盒用以快速检测人血清样品中的HIV抗原和抗体。

本例试剂盒中的HIV抗原/抗体试剂条上分别有加样区、标记物区、探针区、对照物区。本例中试剂条为硝酸纤维膜条, 加样区中有玻璃纤维膜。探针区内固定有抗原探针/抗体探针组合, 其所含一种探针抗体为抗p24特异性单抗, 所含一种探针抗原为gp160、gp41、gp36的抗原。它们分别以探针线的形式固定在试剂膜条上探针区内。

本例中试剂盒用于双抗体/双抗原夹心法检测, 其标记物组合为抗p24特异性单抗和HIV抗原。其标记物配基以胶体金进行标记。标记好的标记物混合后以线条形式固定在上述探针线组与加样区之间的标记物区内。

本例中试剂条区内固定有一条抗人二抗质控线。

本试验中人血清样品如同实施例3中的人血清样品。快速检测试剂盒由于能在几分钟内给出肉眼可辨识的检测结果, 可以节约时间和检测费用。

实施例11: 肝炎快速检测试剂盒

本例中的试剂盒可用于怀疑为肝炎病人的肝炎类型的快速筛选。在本例中, 试剂盒由肝炎抗原/抗体快检试剂条和洗涤液等组成。

本例试剂盒中的肝炎抗原/抗体试剂条上分别有加样区、标记物区、探针区、对照物区。本例中试剂条为硝酸纤维膜条, 加样区中有玻璃纤维膜。在本例中, 探针区内固定有抗原探针/抗体探针组合, 其所含一种探针抗体为抗HBsAg鼠抗人抗体, 其所含五种探针抗原为HAV抗原、HCV融合抗原、HDV融合抗原、HEV融合抗原和HGV融合抗原, 将上述抗原按各自最适浓度和抗HBsAg鼠抗人抗体一起固定于载体检测区上, 分别形成6条检测线。用人IgG设置一条质控线。

本例中试剂盒用于双抗体夹心法—间接法检测，其标记物组合为特异性标记抗体/种属特异性标记抗抗体。该组合特异性配基抗体为纯化抗HBsAg鼠单抗。该组合种属特异性配基抗抗体为羊抗人抗抗体。其标记物配基以胶体金进行标记。标记好的标记物混合后以线条形式固定在上述探针线组上方标记物区内。使用上述制备的试剂盒，可以用肉眼快速检测人血清样品中的HAV抗体、乙肝表面抗原、HCV抗体、HDV抗体、HEV抗体和HGV抗体，是一种快速、经济的检测试剂盒。

实施例12：输血快速筛选ELISA试剂盒的制备

在本例中，试剂盒由输血相关抗原/抗体包被微孔板、标记物、底物、阴性对照物、阳性对照物、洗涤液等组成。

本例试剂盒中的输血相关抗原/抗体包被微孔板由96孔酶标板及包被在孔内表面上的探针组合组成。探针组合主要根据输血用血中国目前法定检测的项目而确定。在本例中，探针组合为抗原探针/抗体探针组合，其所含一种探针抗体为兔抗HBsAg抗体，所含三种探针抗原分别为HCV融合抗原、HIV 1+2混合抗原和梅毒抗原。探针的包被是将所有按针按最适浓度和比例混合，再包被于微孔内表面，再用牛血清白蛋白封闭，然后干燥备用。

本例中试剂盒用于双抗体夹心法—间接法检测。试剂盒的标记系统由标记物和底物（底物显色液A和B）组成。其标记物组合为特异性酶标记抗体/种属特异性酶标记抗抗体。标记抗体配基为可与探针兔抗HBsAg抗体及其捕获的HBsAg形成双抗体夹心的抗HBsAg鼠单抗。标记抗抗体配基为可与探针HCV抗原捕获的人HCV抗体、探针HIV 1+2抗原捕获的人HIV 1+2抗体、探针梅毒抗原捕获的人梅毒抗体结合而不与探针兔抗HBsAg抗体和标记抗HBsAg鼠单抗结合的羊抗人抗抗体。其标记抗体和标记抗抗体具有己优化的比例和浓度。

本例中阴性对照物和阳性对照物如同实施例1输血芯片试剂盒中的阴性对照物和阳性对照物。使用上述制备的输血快速筛选试剂盒，可以检测人血清样品中的HBsAg、HCV抗体、HIV 1+2抗体和梅毒抗体中有否一项阳性或是否全为阴性。由于对献血员的筛选有别于临床对病人的诊断，只要上述几种病毒指标有一项不合格即出现检测结果阳性，献血员不能献血。虽然本试剂盒不能用于HBV、HCV、HIV、梅毒等其中任一种病毒的检测，但由于用它能够对献血员进行经济、快速的筛查，在临床上仍是有利的。

本例使用上述制备的96孔板试剂盒，设3孔阴性对照，3孔阳性对照，1孔空白对照，8份已知检测样品。试验时除空白外依不同的孔加入稀释液以及阴阳对照和被检测样品，反应完成后加入酶标记的配对抗原和抗体以及显色剂、终止液。然后使用酶标仪测定，其结果如下：

表5：献血员快速筛选结果

样 品	ELISA单项检测结果				本试剂盒
	HBsAg	HCV	HIV	梅毒	
1	+	-	-	-	+
2	-	+	-	-	+
3	-	-	+	-	+
4	-	-	-	+	+
5	-	-	-	-	+
6	+	+	-	-	++
7	-	-	+	+	++
8	+	-	-	-	++
阴性对照	-	-	-	-	-
阳性对照	+	+	+	+	+++
空白对照	-	-	-	-	-

专利名称(译)	一种基于抗原 - 抗体反应的新型探针板以及使用该探针板的试剂盒及方法		
公开(公告)号	CN1333254C	公开(公告)日	2007-08-22
申请号	CN03813730.5	申请日	2003-01-14
[标]申请(专利权)人(译)	成都夸常科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	成都夸常科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	成都夸常科技有限公司		
[标]发明人	邹方霖 陈春生 王建霞		
发明人	邹方霖 陈春生 王建霞		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/53 G01N21/76 G01N21/78 G01N37/00		
CPC分类号	G01N33/54366		
优先权	02113834.6 2002-06-06 CN		
其他公开文献	CN1672051A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种用于检测生物样品的探针板，其包含至少一个反应器，在该反应器中通过直接或间接的形式固定的探针中至少包含以下探针组合中的一种：A. 探针抗体和探针抗原；B. 抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗体；以及C. 抗不同结构特异性免疫球蛋白探针抗体和探针抗原或/和探针抗体。本发明还涉及包含该探针板的检测试剂盒以及使用该探针板进行检测的方法。在需要检测不同目标分子组合时，利用本发明的探针板可使检测所需的反应器数目下降、检测时间减少、检测可比性提高，具有经济、快速、高效的优点。

样 品	ELISA检测结果		本试剂盒检测结果	
	p24	混合抗原	p24	混合抗原
A	+	-	+	-
B	-	+	-	+
C	+	+	+	+
阴性对照	-	-	-	-
阳性对照	++++	++++	++++	++++
空白对照	-	-	-	-