

[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 200810103257.4

[51] Int. Cl.
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 21/76 (2006.01)
C11D 3/06 (2006.01)
C11D 1/66 (2006.01)

[43] 公开日 2009年10月7日

[11] 公开号 CN 101551386A

[22] 申请日 2008.4.2

[21] 申请号 200810103257.4

[71] 申请人 北京科美东雅生物技术有限公司

地址 100094 北京市海淀区永丰基地丰贤中
路7号北科技园

[72] 发明人 王宏锐 应希堂 宋胜利 胡国茂
郑金来 于尚永

[74] 专利代理机构 北京法思腾知识产权代理有限公司
代理人 杨小蓉

权利要求书2页 说明书8页 附图1页

[54] 发明名称

一种可直接使用的化学发光洗涤工作液及其
制备方法

[57] 摘要

本发明公开了一种可直接使用的化学发光洗涤工作液及其制备方法。本发明的洗涤工作液由工作浓度的化学发光免疫分析洗涤液分装制成,在进行化学发光免疫分析的洗涤步骤时,直接使用所述洗涤工作液。本发明制备上述可直接使用的化学发光洗涤工作液的方法包括根据洗涤液配方配制工作浓度的洗涤液和将上述配制好的洗涤液分装到容器内的步骤。本发明可直接使用的化学发光洗涤工作液能够彻底避免由于不同水质的原因或是操作者稀释错误倍数等原因所导致的测定结果的误差,同时给用户提供可直接使用的洗涤工作液(无需稀释),节约了用户的时间并避免了风险。

1、一种可直接使用的化学发光洗涤工作液，其特征在于，所述洗涤工作液由工作浓度的化学发光免疫分析洗涤液分装制成，在进行化学发光免疫分析的洗涤步骤时，直接使用所述洗涤工作液。

2、如权利要求 1 所述的洗涤工作液，其特征在于，所述洗涤液为磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液。

3、如权利要求 2 所述的洗涤工作液，其特征在于，所述磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液的浓度为 0.01 mol/L -0.1mol/L。

4、如权利要求 1 所述的洗涤工作液，其特征在于，所述洗涤工作液含有表面活性剂和生物防腐剂，表面活性剂为 Tween20 和/或 Tween80，浓度为 0.005%-0.05%；所述生物防腐剂为 Proclin300，其浓度为 0.1%，和/或硫柳汞钠，其浓度为 1mmol/L。

5、一种可直接使用的化学发光洗涤工作液的制备方法，其特征在于，包括以下步骤：

1) 根据洗涤液配方配制工作浓度的洗涤液；

2) 将上述配制好的洗涤液分装到容器内。

6、如权利要求 5 所述的方法，其特征在于，所述洗涤液为磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液。

7、如权利要求 6 所述的方法，其特征在于，所述磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液的浓度为 0.01 mol/L -0.1mol/L。

8、如权利要求 5 所述的方法，其特征在于，在步骤 1) 中，所述工作浓度洗涤液含有表面活性剂和生物防腐剂。

9、如权利要求 8 所述的方法，其特征在于，所述表面活性剂为 Tween20 和/或 Tween80，所述生物防腐剂为 Proclin300 和/或硫柳汞钠。

10、如权利要求 9 所述的方法，其特征在于，所述表面活性剂 Tween20 和/或 Tween80 的浓度为 0.005%-0.05%；所述 Proclin300 的浓度为 0.1%，硫柳汞钠的浓度为 1mmol/L。

一种可直接使用的化学发光洗涤工作液及其制备方法

技术领域

本发明涉及免疫分析医学领域，具体地，本发明提供了一种可直接使用的化学发光洗涤工作液及其制备方法。

背景技术

目前对于微孔板式化学发光及其他一些生物检测方法，在免疫反应结束后，通常使用洗涤液进行冲洗，以去除没有参加反应物质，经过冲洗后，再利用仪器检测保留下的结合物信号，从而实现对本检测项目的检测。

在化学发光免疫分析技术中，洗涤液是一个十分关键的组分，目前生产者都是通过成品试剂盒中配置一瓶浓缩洗涤液或一袋化学固体配料袋的方式提供给用户，实验人员在每次实验前必须按照产品说明书的要求用去离子水稀释相应的倍数，然后才能使用。化学发光免疫分析属于高精度分析，对洗涤这一步的要求较高，由于用户使用的纯化水或双蒸水质量参差不齐，或是操作者稀释错误倍数等因素常常会影响测定结果的准确性，同时配制过程也浪费了用户的时间。

发明内容

本发明的发明人为了解决上述浓缩洗涤液或化学固体配料袋在使用中存在的问题而提出并完成了本发明。

本发明的目的之一是提供一种直接可用的化学发光洗涤工作液。

本发明的目的之二是提供一种直接可用的化学发光洗涤工作液的制备方法。

根据本发明的直接可用的化学发光洗涤工作液，由工作浓度的化学发光免疫分析洗涤液分装制成，在进行化学发光免疫分析的洗涤步骤时，直接使用所述洗涤工作液。

根据本发明的洗涤工作液，其中，所述洗涤液为磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液，所述磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液的浓度为 0.01 mol/L -0.1mol/L。

根据本发明的洗涤工作液，其中，所述洗涤工作液含有表面活性剂和/或生物防腐剂，所述表面活性剂可以为 Tween20、Tween80 的至少一种，其浓度为 0.005%-0.05%，所述生物防腐剂可以为 Proclin300、硫柳汞钠的至少一种，Proclin 300 最佳浓度为 0.1%，硫柳汞钠最佳浓度为 1mmol/L。

将本发明中添加有表面活性剂和生物防腐剂的洗涤工作液与传统的没有加入上述物质的洗涤液各 5 瓶同时放入 37℃烤箱内，进行考核，在 30 天后传统洗涤液有 3 瓶出现肉眼可见直径 1mm-3mm 大小的白色絮状浮游菌落，本发明的洗涤工作液在 37℃下考核 180 天及室温(17℃-32℃)放置 365 天没有出现肉眼可见的菌落。

本发明通过在洁净度高达 10 万级的生产条件下，使用去离子水（电阻率大于 16MΩ·cm）配制工作浓度的洗涤液，较传统的使用前将浓缩液或配料袋稀释到工作浓度的方法相比，能够彻底避免由于不同水质的原因或是操作者稀释错误倍数等原因所导致的测定结果的误差，同时给用户直接可用的洗涤工作液（无需稀释）就可使用，节约了用户的时间并避免了风险。通过添加表面活性剂提高了洗涤的效果；通过添加生物防腐剂抑制细菌真菌等微生物滋生。

本发明的洗涤工作液可以直接使用，而传统洗涤液需要稀释相应倍数后才可使用。

本发明的洗涤工作液区别于现有技术在于：

现有技术使用方法是通过在成品试剂盒中配置一瓶浓缩洗涤液或一袋化学固体配料袋的方式提供给用户，实验人员在每次实验前必须按照产品说明书的要求用水稀释相应的倍数，然后才能使用。

根据本发明的技术方案通过生产者直接向使用者提供无需稀释或溶解处理直接使用的洗涤液，从而解决了现有技术中存在的弊端。

根据本发明的直接可用的化学发光洗涤工作液的制备方法包括以下步骤：

- 1) 根据洗涤液配方配制工作浓度的洗涤液；
- 2) 将上述配制好的洗涤液分装到容器内。

根据本发明的制备方法，发明人通过对比试验从众多缓冲液中优选出洗涤效果最好的磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液，最佳的浓度为 0.01 mol/L~0.1mol/L，作为本发明洗涤工作液的基础液。

根据本发明的制备方法，其中所述洗涤液中含有表面活性剂和/或生物防腐剂，所述表面活性剂为 Tween20 和/或 Tween80，所述生物防腐剂为 Proclin300 和/或硫柳汞钠，所述表面活性剂 Tween20 和/或 Tween80 的浓度为 0.005%-0.05%v/v，所述 Proclin300 的浓度为 0.1%，硫柳汞钠的浓度为 1mmol/L。

附图说明

图 1 为实施例 5 中使用本发明洗涤工作液后的校准品线性图。

具体实施方式

实施例 1 配制本发明的用于化学发光免疫分析的洗涤工作液（磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液浓度为 0.01M）

用去离子水（电阻率 18.2 MΩ）按照如下配方进行配制 0.01 mol/L 的磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液：

磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	257.9 g
磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	43.7g

Proclin300	100ml
Tween20	10ml
去离子水	100L

在 100 升不锈钢容器使用搅拌器转速为 200 rpm 搅拌 10 分钟。

溶解后溶液应澄清、透明、无色、无混浊、无沉淀或絮状物。

检测 pH 应为 7.0~7.5 之间。

用 0.45 微米孔径的滤膜进行过滤处理，液体分装机进行分装 2L/瓶，拧紧盖。

按照要求贴上标签，室温保存，有效期 12 个月。

实施例 2 配制本发明的用于化学发光免疫分析的洗涤工作液（磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液浓度为 0.1M）

用去离子水（电阻率 18.2 MΩ）按照如下配方进行配制 0.1 mol/L 的磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液：

磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	2579 g
磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	437g
Proclin300	100ml
Tween80	10ml
去离子水	100L

在 100 升不锈钢容器使用搅拌器转速为 200 rpm 搅拌 10 分钟。

溶解后溶液应澄清、透明、无色、无混浊、无沉淀或絮状物。

检测 pH 应为 7.0~7.5 之间。

用 0.45 微米孔径的滤膜进行过滤处理，液体分装机进行分装 2L/瓶，拧紧盖。

按照要求贴上标签，室温保存，有效期 12 个月。

实施例 3 配制本发明的用于化学发光免疫分析的洗涤工作液（磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液浓度为 0.05M）

用去离子水（电阻率 18.2 MΩ）按照如下配方进行配制 0.05 mol/L 的磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液：

磷酸氢二钠 ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	1289.5 g
磷酸二氢钠 ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	218.5g
硫柳汞钠	40.18g
Tween20	10ml
去离子水	100L

在 100 升不锈钢容器使用搅拌器转速为 200 rpm 搅拌 10 分钟。

溶解后溶液应澄清、透明、无色、无混浊、无沉淀或絮状物。

检测 pH 应为 7.0~7.5 之间。

用 0.45 微米孔径的滤膜进行过滤处理，液体分装机进行分装 2L/瓶，拧紧盖。

按照要求贴上标签，室温保存，有效期 12 个月。

实施例 4 配制本发明的用于化学发光免疫分析的洗涤工作液（磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液浓度为 0.02M）

用去离子水（电阻率 18.2 M Ω ）按照如下配方进行配制 0.05 mol/L 的磷酸氢二钠-磷酸二氢钠缓冲液：

磷酸氢二钠 (Na ₂ HPO ₄ •12H ₂ O)	515.8 g
磷酸二氢钠 (NaH ₂ PO ₄ •2H ₂ O)	87.4g
硫柳汞钠	40.18g
Tween20	6ml
Tween80	4ml
去离子水	100L

在 100 升不锈钢容器使用搅拌器转速为 200 rpm 搅拌 10 分钟。

溶解后溶液应澄清、透明、无色、无混浊、无沉淀或絮状物。

检测 pH 应为 7.0~7.5 之间。

用 0.45 微米孔径的滤膜进行过滤处理，液体分装机进行分装 2L/瓶，拧紧盖。

按照要求贴上标签，室温保存，有效期 12 个月。

实施例 5 使用本发明的洗涤工作液进行前列腺特异性抗原（PSA）化学发光免疫分析测定

以前列腺特异性抗原（PSA）化学发光免疫分析测定试剂盒为例。实验前，需先取出固相抗体包被板、校准品/检测样品、标记抗体溶液在室温放置 15~30 分钟，使它们平衡到室温；同时将恒温温箱调至 37℃；然后，准备好合适的微量加样器及对应吸头并且检查化学发光仪以及辅助仪器，如洗板机等，是否正常工作。

具体操作步骤如下：

- a) 将实验需要的板条（已包被好抗体，96/48孔可拆为12/6*8*1孔）放置在板架上；
- b) 反应孔中分别加待测样品和各浓度校准品，校准品每孔加0、5、10、25、50、100ng/mL各50 μ L，每次试验设空白1孔，然后除空白孔外各孔加酶标记抗体溶液50 μ L；
- c) 微量振荡器上振荡20秒混匀；
- d) 37 $^{\circ}$ C恒温温育60分钟；
- e) 直接使用实施例1制备的洗涤工作液，用自动洗板机或者手工洗板5次，在吸水纸上拍干；
- f) 每孔加发光底物100 μ L，振荡混匀，室温（22~28 $^{\circ}$ C）反应30~90分钟；
- g) 用化学发光仪测相对发光值（RLU），测量时间1秒/孔；
- h) 分别对校准品浓度和对应RLU取对数，在建立的双对数曲线上建立标准曲线，以各待测血清RLU值在标准曲线上查出该血清的PSA的浓度，计算检测结果。

实施例6 对比本发明的洗涤工作液与传统的洗涤液（没有加入表面活性剂和生物防腐剂的洗涤液）

使用实施例5所用品种的试剂盒，按照说明书要求在所有步骤都相同的情况下，做两组试验，一半试剂用本发明的洗涤工作液洗涤，另一半用传统洗涤液（没有加入表面活性剂和生物防腐剂的洗涤液），试验结果如下：

表1 传统洗涤液与本发明的洗涤工作液洗涤效果的对比

	传统洗涤液	本发明的洗涤工作液
S0 (0ng/mL) 平均发光值	1254	471
S1 (5ng/mL) 平均发光值	15990	13795
S2 (10ng/mL) 平均发光值	40213	36470
S3 (25ng/mL) 平均发光值	122075	114580
S4 (50ng/mL) 平均发光值	259813	245747
S5 (100ng/mL) 平均发光值	670214	650214
剂量-反应曲线线性相关系数	0.9994	0.9996
最低检出量	0.45	0.17
最低信噪比	12.8	29.3
最高信噪比	534.5	1380.5

对比结果显示：新洗涤液洗涤效果更好，本底 S0 (0ng/mL) 平均发光值更低；最低检出量更低；最低、最高信噪比更大有利于实验结果的精密度；同时相关系数也有相应的提高。

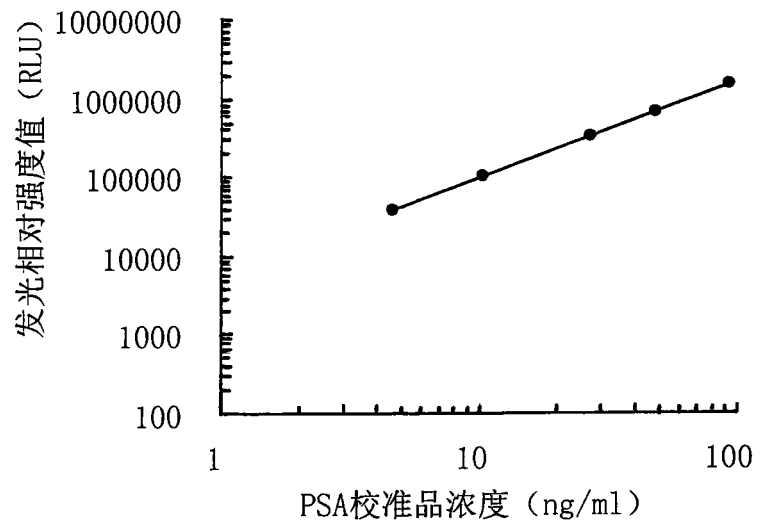


图 1

专利名称(译)	一种可直接使用的化学发光洗涤工作液及其制备方法		
公开(公告)号	CN101551386A	公开(公告)日	2009-10-07
申请号	CN200810103257.4	申请日	2008-04-02
[标]申请(专利权)人(译)	北京科美东雅生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京科美东雅生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京科美东雅生物技术有限公司		
[标]发明人	王宏锐 应希堂 宋胜利 胡国茂 郑金来 于尚永		
发明人	王宏锐 应希堂 宋胜利 胡国茂 郑金来 于尚永		
IPC分类号	G01N33/53 G01N21/76 C11D3/06 C11D1/66		
代理人(译)	杨小蓉		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)
 本发明公开了一种可直接使用的化学发光洗涤工作液及其制备方法。本发明的洗涤工作液由工作浓度的化学发光免疫分析洗涤液分装制成，在进行化学发光免疫分析的洗涤步骤时，直接使用所述洗涤工作液。本发明制备上述可直接使用的化学发光洗涤工作液的方法包括根据洗涤液配方配制工作浓度的洗涤液和将上述配制好的洗涤液分装到容器内的步骤。本发明可直接使用的化学发光洗涤工作液能够彻底避免由于不同水质的原因或是操作者稀释错误倍数等原因所导致的测定结果的误差，同时给用户提提供可直接使用的洗涤工作液(无需稀释)，节约了用户的时间并避免了风险。

