

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/53

G01N 33/535 G01N 21/17

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01118410.8

[43] 公开日 2002 年 1 月 30 日

[11] 公开号 CN 1333464A

[22] 申请日 2001.5.30 [21] 申请号 01118410.8

[71] 申请人 王京

地址 100094 北京市海淀区圆明园西路 2 号原子能所内

[72] 发明人 王京

[74] 专利代理机构 北京市科技专利事务所

代理人 杜澄心

权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 高稳定性化学发光底物及检测方法

[57] 摘要

一种高稳定性化学发光底物及检测方法,其特征在于:该化学发光底物由 A、B 两种液体组成,并且在 HRP 标记的免疫反应后被加入混匀,其中 A 液中含有葡萄糖,B 液中含有葡萄糖氧化酶。本发明的优点是光信号的稳定性好,可以适用于自动或手工分析,检测结果准确和成本低。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

知识产权出版社出版

权 利 要 求 书

1、一种高稳定性化学发光底物，其特征在于：该化学发光底物由 A、B 两种液体组成，并且在 HRP 标记的免疫反应后被加入混匀，其中 A 液为氧化酶类，B 液为氧化酶的相应底物。

2、一种高稳定性化学发光底物检测方法，以辣根过氧化物酶 HRP 标记的化学发光免疫反应完成后，加入 HRP 的底物，其特征在于：采用内源 H_2O_2 的方式，将可产生 H_2O_2 的 A、B 两种反应液混匀，利用在一定时间范围内，所述两种反应液产生 H_2O_2 速率是基本不变的原理，使化学发光反应保持稳定。

说明书

高稳定性化学发光底物及检测方法

本发明涉及一种超微量分析方法。特别是涉及化学发光分析技术。

化学发光分析技术是现代微量分析方法之一，由于其灵敏度高（可达 10^{-18}mol ）、简便快速（计数 1 秒/管）、线性好（可两点校准标准曲线）、有效期长（可达 1 年）、安全无害（无放射性和致畸物污染）等优点而成为取代放免和酶联的重要技术。以辣根过氧化物酶（HRP）标记的化学分析法是在免疫反应完成后，加入 HRP 的底物 H_2O_2 ，在碱性条件下，HRP 催化 H_2O_2 ，使发光底物鲁咪诺发生化学反应而发光，用光信号测量仪记录这种光信号（一般测 1 秒，单位为 CPS）。这种底物的一个配方是： H_2O_2 （7.3mM）、对碘苯酚（0.37mM）、鲁咪诺（3.1mM）。由于该配方使用中是直接加入 H_2O_2 ，所以存在着两个突出的缺点：一是 H_2O_2 本身不稳定，随放置时间的延长而逐步被破坏；二是产生的光信号不稳定，达到高峰以后，随时间而很快衰减，从加样到检测光信号的时间，对每个样品必须严格控制，否则会对检测结果造成或大（竞争法）或小（夹心法）的偏差而导致误检。

本发明的目的是提供一种既适用于自动化分析，也适用于手工分析，成本低和光信号稳定性好的高稳定性化学发光底物及检测方法。

本发明所述的高稳定性化学发光底物，该化学发光底物由 A、B 两种液体组成，并且在 HRP 标记的免疫反应后被加入混匀，其中 A 液为氧化酶类，B 液为氧化酶的相应底物。

本发明所述的高稳定性化学发光底物检测方法，以辣根过氧化物酶 HRP 标记的化学发光免疫反应完成后，加入 HRP 的底物，采用内源 H_2O_2 的方式，将可产生 H_2O_2 的 A、B 两种反应液混匀，利用在一定时间范围内，所述两种反应液产生 H_2O_2 速率是基本不变的原理，使化学发光反应保持稳定。

本发明与传统的技术相比较具有如下优点：

- 1、光信号的稳定性好，可以适应自动和手动分析。
- 2、检测结果准确，成本低。

本发明关键解决了 H_2O_2 的稳定性的控制问题。传统的方式由于只能一次性加入 H_2O_2 ，不可能边反应边测量边添加 H_2O_2 ，我们称之为“外源” H_2O_2 的方式。本发明将 H_2O_2 改为“内源”式，即控制 H_2O_2 的反应量，使其达到恒速、均匀地供应的目的。方法之一是以葡萄糖氧化酶作用于葡萄糖而产生 H_2O_2 ，在一定的时间内 H_2O_2 的产生速率是基本不变的，这就使化学发光反应也保持稳定，因此，出现光信号“平台”。这就从理论和实践上，解决了传统方法由于光信号随时间很快衰减而使检测结果不可靠的问题。所述化学发光底物由 A 液和 B 液组成；B 液为含有葡萄糖、鲁咪诺、对碘苯酚等，A 液含葡萄糖氧化酶及其稳定剂等。在 HRP 标记的免疫反应后加入 A 液和 B 液，混匀几分钟后，即可测到稳定信号。

本发明所述化学发光底物中产生 H_2O_2 的系统还可以由下列成份组成：

(1) A 液含有黄嘌呤氧化物、B 液含有水杨醛；(2) A 液含有半乳糖氧化酶、B 液含有乳糖；(3) A 液含有葡萄糖氧化酶、B 液含有葡萄糖。

专利名称(译)	高稳定性化学发光底物及检测方法		
公开(公告)号	CN1333464A	公开(公告)日	2002-01-30
申请号	CN01118410.8	申请日	2001-05-30
[标]申请(专利权)人(译)	王静		
申请(专利权)人(译)	王京		
当前申请(专利权)人(译)	王京		
[标]发明人	王京		
发明人	王京		
IPC分类号	G01N21/17 G01N33/53 G01N33/535		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种高稳定性化学发光底物及检测方法,其特征在于:该化学发光底物由A、B两种液体组成,并且在HRP标记的免疫反应后被加入混匀,其中A液中含有葡萄糖,B液中含有葡萄糖氧化酶。本发明的优点是光信号的稳定性好,可以适用于自动或手工分析,检测结果准确和成本低。