



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104458717 A

(43) 申请公布日 2015. 03. 25

(21) 申请号 201410685230. 6

(22) 申请日 2014. 11. 25

(71) 申请人 成都威尔诺生物科技有限公司

地址 610000 四川省成都市高新区紫荆西路
35号1层

(72) 发明人 叶正义 陶家春 何远立 杨秦

(51) Int. Cl.

G01N 21/78(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

权利要求书1页 说明书3页

(54) 发明名称

一种单组份酶底物显色液

(57) 摘要

本发明公开了一种单组份酶底物显色液,每1000mL的显色液包括以下组分:柠檬酸7-10g,磷酸氢二钠16-20g,过硼酸钠0.1-0.5g,甘油20-30ml,酶底物5-40mg,乙醇10-30mL。本发明用过硼酸钠替代现有的过氧化氢、过氧化脲,与过氧化氢、过氧化脲相比,过硼酸钠具有更好的氧化性,提高了单组份酶底物显色液的显色效果;同时本发明避免了酶底物显色液在使用之间需要将A、B液混合的操作步骤,简化操作流程,减少了操作时间,提高了效率,同时避免了因A、B液不同批次间的差异导致混合的显色剂的显色效果;避免了酶底物显色液的有效显色成分的浓度发生改变,进而提高了酶底物显色液的灵敏度。

1. 一种单组份酶底物显色液,其特征在于,每 1000mL 的显色液包括以下组分:柠檬酸 7-10g,磷酸氢二钠 16-20g,过硼酸钠 0.1-0.5g,甘油 20-30ml, 酶底物 5-40mg,乙醇 10-30mL。

2. 根据权利要求 1 所述的一种单组份酶底物显色液,其特征在于,所述柠檬酸为 9-10g,磷酸氢二钠 18-20g。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种单组份酶底物显色液,其特征在于,所述酶底物的质量设置为 10-30mg。

4. 根据权利要求 1 或 2 所述的一种单组份酶底物显色液,其特征在于,所述过硼酸钠为 0.4-0.5g。

5. 一种如权利要求 1 或 2 所述的单组份酶底物显色液的应用,其特征在于,将所述的单组份酶底物显色液应用到酶联免疫试剂盒。

一种单组份酶底物显色液

技术领域

[0001] 本发明涉及酶底物显色液领域,具体地,涉及一种单组份酶底物显色液。

背景技术

[0002] 酶底物即 TMB,用于 ELISA 反应。底物产生一种可溶性淡蓝色的末端产物,可在 370 或 635nm 在分光光度计上读取。其适用于酶联免疫反应中的显色阶段的定量和定性分析。其检验的原理是:当标记在抗体或抗原上的酶与显色液中的酶底物、双氧水等反应,加入终止液后溶液由无色变成黄色,黄色深浅反应 ELISA 体系中抗原抗体结合的多少,从而判断某种抗原或抗体的多少。在通过酶标仪测度吸光值,判断免疫反应的程度。

[0003] 现有市售的酶联免疫试剂盒所采用酶底物显色剂液大多为双组份,分 A 液和 B 液,使用之前需要先混匀,在使用上存在缺点一是不够方便,二是在包装材料上存在成本提高和资源浪费;三是使用中的混合过程容易造成批间质量不均一;四是还存在稳定性差、保存时间短、显色背景高、灵敏度低等的缺点。

[0004] 现有技术的酶底物显色液及其制备方法,由 A 液和 B 液等体积混合后得到,所述 A 液各组分的摩尔浓度为:柠檬酸 0.01-0.5mol/L,磷酸氢二钠 0.01-0.5mol/L,过氧化氢 0.01-0.5mol/L,EDTA0.1-1mmol/L;所述 B 液包括酶底物、HCl 和聚乙烯吡咯烷酮,所述酶底物的摩尔浓度为 0.1-1mmol/L,所述 HCl 的摩尔浓度为 0.01-0.5mol/L,所述聚乙烯吡咯烷酮的质量分数为 0.1-10%。

发明内容

[0005] 本发明所要解决的技术问题是提供一种单组份酶底物显色液,以克服现有显色液操作麻烦、灵敏度低的问题。

[0006] 此外,本发明还包括上述单组份酶底物显色液的应用。

[0007] 本发明解决上述问题所采用的技术方案是:一种单组份酶底物显色液,其特征在于,每 1000mL 的显色液包括以下组分:柠檬酸 7-10g,磷酸氢二钠 16-20g,过硼酸钠 0.1-0.5g,甘油 20-30ml,酶底物 5-40mg,乙醇 10-30mL。

[0008] 现有的酶底物显色液一般都是由 A 液和 B 液混合得到,A 液各组分的摩尔浓度为:柠檬酸 0.01-0.5mol/L,磷酸氢二钠 0.01-0.5mol/L,过氧化氢 0.01-0.5mol/L,EDTA0.1-1mmol/L;所述 B 液包括酶底物、HCl 和聚乙烯吡咯烷酮,所述酶底物的摩尔浓度为 0.1-1mmol/L,所述 HCl 的摩尔浓度为 0.01-0.5mol/L,所述聚乙烯吡咯烷酮的质量分数为 0.1-10%,现有酶底物显色剂的缺点在于 A、B 两种液体在显色之前需要等体积混匀,操作不方便、耗时间、效率较低、批此之间存在差异,同时成本也高,且 A 液 B 液自混合的过程中,HCl 会挥发,会导致显色的有效成分的浓度发生改变,因而会导致混合后的酶底物显色液的在显色过程中的灵敏度降低;本发明为单组份酶底物显色液,避免了酶底物显色液在使用之间需要将 A、B 液混合的操作步骤,简化操作流程,减少了操作时间,提高了效率,同时避免了因 A、B 液不同批次间的差异导致混合的显色剂的显色效果;并且,不会存在因 HCl 挥

发导致的酶底物显色液的有效显色成分的浓度发生改变,进而提高了酶底物显色液的灵敏度;本发明用过硼酸钠替代现有的过氧化氢、过氧化脲,实验证明,与过氧化氢、过氧化脲相比,过硼酸钠具有更好的氧化性。

[0009] 进一步地,柠檬酸为 9-10g,磷酸氢二钠 18-20g。

[0010] 实验证明,柠檬酸为 9-10g,磷酸氢二钠 18-20g 的 1000mL 单组份酶底物显色液具有更好的稳定性。

[0011] 进一步地,酶底物的质量设置为 10-30mg。将酶底物的质量设置为 10-30mg 能有效的提高显色效果,提高显色的灵敏度。

[0012] 进一步地,过硼酸钠为 0.4-0.5g。

[0013] 实验证明,过硼酸钠为 0.4-0.5g 的 1000mL 单组份酶底物显色液具有更好的显色效果。

[0014] 一种如权利要求单组份酶底物显色液的应用,其特征在于,将所述的单组份酶底物显色液应用到酶联免疫试剂盒。

[0015] 综上,本发明的有益效果是:

1、本发明用过硼酸钠替代现有的过氧化氢、过氧化脲,与过氧化氢、过氧化脲相比,过硼酸钠具有更好的氧化性,过硼酸钠提高了单组份酶底物显色液的显色效果。

[0016] 2、通过将本发明所述范围内的单组份酶底物显色液用于酶联免疫反应中的显色阶段,避免了酶底物显色液在使用之间需要将 A、B 液混合的操作步骤,简化操作流程,减少了操作时间,提高了效率,同时避免了因 A、B 液不同批次间的差异导致混合的显色剂的显色效果。

[0017] 3、通过将本发明所述范围内的单组份酶底物显色液用于酶联免疫反应中的显色阶段,避免了酶底物显色液的有效显色成分的浓度发生改变,进而提高了酶底物显色液的灵敏度。

具体实施方式

[0018] 下面结合实施例,对发明作进一步地的详细说明,但本发明的实施方式不限于此。

[0019] 实施例 1:

一种单组份酶底物显色液,每 1000mL 的显色液包括以下组分:柠檬酸 7g,磷酸氢二钠 16g,过硼酸钠 0.1g,甘油 20ml,酶底物 5mg,10ml 乙醇。

[0020] 实施例 2:

一种单组份酶底物显色液,每 1000mL 的显色液包括以下组分:柠檬酸 7g,磷酸氢二钠 16g,过硼酸钠 0.1g,甘油 20ml,酶底物 10mg,10ml 乙醇。

[0021] 实施例 3:

一种单组份酶底物显色液,每 1000mL 的显色液包括以下组分:柠檬酸 7g,磷酸氢二钠 16g,过硼酸钠 0.1g,甘油 20ml,酶底物 20mg,10ml 乙醇。

[0022] 实施例 4:

一种单组份酶底物显色液,每 1000mL 的显色液包括以下组分:柠檬酸 7g,磷酸氢二钠 16g,过硼酸钠 0.1g,甘油 20ml,酶底物 30mg,10ml 乙醇。

[0023] 实施例 5:

一种单组份酶底物显色液,每 1000mL 的显色液包括以下组分:柠檬酸 10g,磷酸氢二钠 20g,过硼酸钠 0.5g,甘油 30ml,酶底物 40mg,30ml 乙醇。

[0024] 实施例 6:

一种单组份酶底物显色液,每 1000mL 的显色液包括以下组分:柠檬酸 9g,磷酸氢二钠 18g,过硼酸钠 0.2g,甘油 20ml,酶底物 30mg,20ml 乙醇。

[0025] 实施例 7:

一种单组份酶底物显色液,每 1000mL 的显色液包括以下组分:柠檬酸 9g,磷酸氢二钠 18g,过硼酸钠 0.4g,甘油 20ml,酶底物 30mg,20ml 乙醇。

| 比较项目 \ 实施例 | 实施 例 1 | 实施 例 2 | 实施 例 3 | 实施 例 4 | 实施 例 5 | 实施 例 6 | 实施 例 7 |
|---------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 显色时间 (min) | 18 | 15 | 14 | 13 | 17 | 15 | 14 |
| 吸光度 | 5.2 | 5.2 | 5.3 | 5.3 | 5.6 | 5.4 | 5.6 |

[0026] 表 1

| 氧化剂 | 吸光度值 | | | 平均值 |
|------|-------|-------|-------|-------|
| 过氧化脲 | 2.430 | 2.364 | 2.474 | 2.423 |
| 过氧化氢 | 2.086 | 2.226 | 2.326 | 2.213 |
| 过硼酸钠 | 3.375 | 3.410 | 3.408 | 3.398 |

表 2

表 1 是单组份显色液的性能比较数据;

表 2 是单独的过硼酸钠与过氧化氢、过氧化脲的吸光度值比较。

[0027] 现有的酶底物显色液在酶联免疫反应的显色阶段的显色时间一般都是 20min 左右,如表 1 所示,本发明的实施例 1 至实施例 7 的显色时间均低于 20min,故本发明的单组份酶底物显色液具有更好的灵敏度,其中,实施例 6、实施例 7、实施例 2、实施例 3、实施例 4 的显色时间低于实施例 1、实施例 5,证明酶底物在 10-30mg 时具有更快好的灵敏度。

[0028] 现有的酶底物显色液的吸光度一般都在 5.0 左右,如表 1 所示,本本发明的实施例 1 至实施例 7 的吸光度均大于 5.0,故本发明的单组份酶底物显色液具有更好的显色效果;其中,实施例 5、实施例 6、实施例 7 具有更高的吸光度值,证明柠檬酸为 9-10g,磷酸氢二钠 18-20g 的 1000mL 单组份酶底物显色液具有更好的稳定性;其中,实施例 5、实施例 7 的吸光度值高于实施例 6,证明过硼酸钠为 0.4-0.5g 的 1000mL 单组份酶底物显色液具有更好的显色效果,如表 2 所示,与过氧化氢、过氧化脲相比,过硼酸钠具有更好的氧化性。

[0029] 如上所述,可较好的实现本发明。

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 一种单组份酶底物显色液 | | |
| 公开(公告)号 | CN104458717A | 公开(公告)日 | 2015-03-25 |
| 申请号 | CN201410685230.6 | 申请日 | 2014-11-25 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 成都威尔诺生物科技有限公司 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 成都威尔诺生物科技有限公司 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 成都威尔诺生物科技有限公司 | | |
| [标]发明人 | 叶正义 陶家春 何远立 杨秦 | | |
| 发明人 | 叶正义 陶家春 何远立 杨秦 | | |
| IPC分类号 | G01N21/78 G01N33/531 | | |
| 其他公开文献 | CN104458717B | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

本发明公开了一种单组份酶底物显色液，每1000mL的显色液包括以下组分：柠檬酸7-10g，磷酸氢二钠16-20g，过硼酸钠0.1-0.5g甘油20-30ml，酶底物5-40mg，乙醇10-30mL。本发明用过硼酸钠替代现有的过氧化氢、过氧化脲，与过氧化氢、过氧化脲相比，过硼酸钠具有更好的氧化性，提高了单组份酶底物显色液的显色效果；同时本发明避免了酶底物显色液在使用之间需要将A、B液混合的操作步骤，简化操作流程，减少了操作时间，提高了效率，同时避免了因A、B液不同批次间的差异导致混合的显色剂的显色效果；避免了酶底物显色液的有效显色成分的浓度发生改变，进而提高了酶底物显色液的灵敏度。

| 实施例 | 实施 | 实施 | 实施 | 实施 | 实施 | 实施 | 实施 |
|---------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| 比较项目 | 例1 | 例2 | 例3 | 例4 | 例5 | 例6 | 例7 |
| 显色时间 (min) | 18 | 15 | 14 | 13 | 17 | 15 | 14 |
| 吸光度 | 5.2 | 5.2 | 5.3 | 5.3 | 5.6 | 5.4 | 5.6 |