



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104458717 B

(45)授权公告日 2017.05.03

(21)申请号 201410685230.6

(22)申请日 2014.11.25

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104458717 A

(43)申请公布日 2015.03.25

(73)专利权人 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

(74)专利代理机构 成都行之专利代理事务所
(普通合伙) 51220

代理人 谭新民

(51)Int.Cl.

G01N 21/78(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

(56)对比文件

CN 103712982 A,2014.04.09,

CN 103063661 A,2013.04.24,

CN 1150649 A,1997.05.28,

US 2008286812 A1,2008.11.20,

JP H08168394 A,1996.07.02,

潘庆军 等.市售单组分TMB显色液质量比较.《检验医学与临床》.2013,第10卷(第23期),全文.

审查员 李双浩

权利要求书1页 说明书4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:

[0016] 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。

[0017] 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。

[0018] 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

[0019] 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。

[0020] 实施例1:

[0021] 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。

[0022] 实施例2:

[0023] 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。

[0024] 实施例3:

[0025] 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。

[0026] 实施例4:

[0027] 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。

[0028] 实施例5:

[0029] 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。

[0030] 实施例6:

[0031] 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。

[0032] 实施例7:

[0033] 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
	例 1	例 2	例 3	例 4	例 5	例 6	例 7
[0034] 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

[0035] 表1

氧化剂	吸光度值			平均值
	2.430	2.364	2.474	2.423
[0036] 过氧化脲	2.430	2.364	2.474	2.423
过氧化氢	2.086	2.226	2.326	2.213
[0037] 过硼酸钠	3.375	3.410	3.408	3.398

[0038] 表2

[0039] 表1是单组份显色液的性能比较数据;

[0040] 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。

[0041] 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。

[0042] 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。

[0043] 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	CN104458717B	公开(公告)日	2017-05-03
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		
代理人(译)	谭新民		
审查员(译)	李双浩		
其他公开文献	CN104458717A		
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。

比较项目 \ 实施例	实施	实施	实施	实施	实施	实施	实施
	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