



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104597233 A

(43) 申请公布日 2015. 05. 06

(21) 申请号 201410617881. 1

(22) 申请日 2014. 11. 05

(71) 申请人 深圳市美凯特科技有限公司
地址 518109 广东省深圳市宝安区龙华大浪
街道华宁路华联工业园 7 栋四楼

(72) 发明人 任琪

(74) 专利代理机构 深圳市科吉华烽知识产权事
务所 (普通合伙) 44248
代理人 张英 谭果林

(51) Int. Cl.
G01N 33/531(2006. 01)
G01N 21/76(2006. 01)

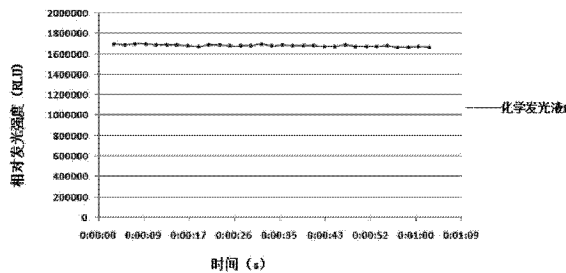
权利要求书1页 说明书5页 附图4页

(54) 发明名称

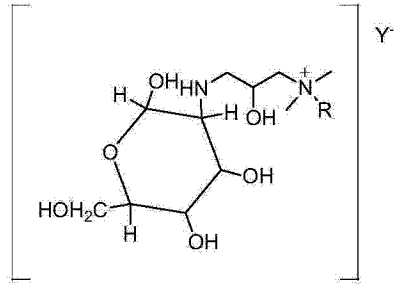
用于增强化学发光的增强液及制备化学发光液的方法

(57) 摘要

本发明提供一种用于增强化学发光的增强液及制备化学发光液的方法,包括以下几个步骤:步骤 A: 将葡萄糖甲胺溶解于水中调节 pH 至 8 至 9, 再将权利要求 1 所述的 N- 烷基二甲基甘露糖胺季铵盐,吡啶橙, BSA, 甘氨酸, MgCl₂, ZnCl₂, 分别加入至二乙醇胺溶液中, 搅拌溶解, 定容, 得到增强液; 步骤 B: 用增强液将化学发光底物稀释得到化学发光液。本发明采用以上技术方案, 其优点在于, 该增强液用于免疫检测领域, 提高了检测灵敏度高和线性范围, 降低了成本, 且无污染。解决了以往试剂依赖进口, 价格昂贵, 且不能达到最佳发光性能等问题。



1. 一种用于增强化学发光的增强液，其特征在于，包含至少一种化学发光法底物：
N-烷基二甲基甘露糖胺季铵盐，R 为 8-40 烷基或 8-40 烯基，Y 为负离子，其结构式如下：



2. 如权利要求 1 所述的增强液，其特征在于，所述 N-烷基二甲基甘露糖胺季铵盐采用 N-十二烷基二甲基甘露糖胺氯化铵，N-十四烷基二甲基甘露糖胺氯化铵，N-十六烷基二甲基甘露糖胺氯化铵，N-十八烷基二甲基甘露糖胺氯化铵，N-十二烷基二甲基甘露糖胺溴化铵，N-十四烷基二甲基甘露糖胺溴化铵，N-十六烷基二甲基甘露糖胺溴化铵和 N-十八烷基二甲基甘露糖胺溴化铵中的至少一种。

3. 如权利要求 1 所述的增强液，其特征在于，还包括：1-50mg/L 吡啶橙、1-100g/L BSA、1-10g/L 甘氨酸、0.1-0.5mol/L 葡萄糖甲胺、0.1-10mmol/L 氯化镁或者乙酸镁、0.1-10mmol/L 氯化锌。

4. 如权利要求 3 所述的增强液，其特征在于，葡萄糖甲胺 $\text{pH} = 8.5$ 。

5. 一种采用如权利要求 3 所述的增强液制备化学发光液的方法，其特征在于，包括以下几个步骤：

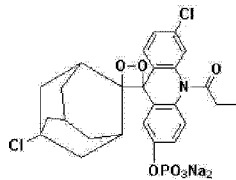
步骤 A：将葡萄糖甲胺溶解于水中调节 pH 至 8 至 9，再将 N-烷基二甲基甘露糖胺季铵盐，吡啶橙，BSA，甘氨酸， MgCl_2 ， ZnCl_2 ，分别加入至二乙醇胺溶液中，搅拌溶解，定容，得到增强液；

步骤 B：用增强液将化学发光底物稀释得到化学发光液。

6. 如权利要求 5 所述的方法，其特征在于，所述步骤 B 中，化学发光底物采用环二氧化乙烷化合物化学发光底物。

7. 如权利要求 5 所述的方法，其特征在于，所述步骤 B 中，化学发光底物采用 9-[3-(5-氯-2-螺旋金刚烷)-1,2-二氧化环乙烷]-3-氯-7-磷氧酰基-10-丙酸基-9,10-二

氢化吡啶二钠盐，其结构式为：



用于增强化学发光的增强液及制备化学发光液的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于增强化学发光的增强液及制备化学发光液的方法。

背景技术

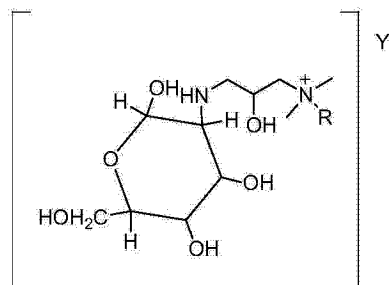
[0002] 化学发光作为国外近年快速发展且广泛使用的免疫分析技术,它具有高灵敏度,检测线性范围宽和无污染等特点。目前化学发光免疫分析中主要有鲁米诺,异鲁米诺,吖啶和环二氧化乙烷衍生物(如CSPD, CDP-SATR, AMPPD等)等系统。吖啶和异鲁米诺直接标记示踪属于直接化学发光。鲁米诺和环二氧化乙烷衍生物(如CSPD, CDP-SATR, AMPPD等)属于酶促类化学发光。CSPD, CDP-SATR, AMPPD及其增强液多为进口产品价格昂贵。

[0003] 美国专利 5145772 公开了聚乙烯苄基二甲基苄基氯化铵形成胶束对环二氧化乙烷化合物的发光增强效果。美国专利 US5547836 公开了聚乙烯苄基三甲基氯化铵可对环二氧化乙烷化合物发光增强。中国专利 CN1719254A 公开了一 CSPD 为底物,十六烷基三甲基氯化铵, BSA, 十八烷基荧光素, 肉蔻酰甘油磷酸二钠为增强液的发光液,但其成本高,制备复杂,不利于广泛应用

发明内容

[0004] 本发明提出一种的用于新型环二氧化乙烷化合物化学发光底物 A 的增强液,包含至少一种化学发光法底物:N-烷基二甲基甘露糖胺季铵盐,R为8-40烷基或8-40烯基,Y为负离子,其结构式如下:

[0005]



[0006] 本发明采用以上技术方案,其优点在于,该增强液用于免疫检测领域,提高了检测灵敏度高和线性范围,降低了成本低,且无污染。解决了以往试剂依赖进口,价格昂贵,且不能达到最佳发光性能等问题。

[0007] 优选的,所述 N-烷基二甲基甘露糖胺季铵盐采用 N-十二烷基二甲基甘露糖胺氯化铵, N-十四烷基二甲基甘露糖胺氯化铵, N-十六烷基二甲基甘露糖胺氯化铵, N-十八烷基二甲基甘露糖胺氯化铵, N-十二烷基二甲基甘露糖胺溴化铵, N-十四烷基二甲基甘露糖胺溴化铵, N-十六烷基二甲基甘露糖胺溴化铵和 N-十八烷基二甲基甘露糖胺溴化铵中的至少一种。

[0008] 优选的,还包括:1-50mg/L 吖啶橙、1-100g/L BSA、1-10g/L 甘氨酸、0.1-0.5mol/L 葡萄糖甲胺、0.1-10mmol/L 氯化镁或者乙酸镁、0.1-10mmol/L 氯化锌。

[0009] 优选的,葡萄糖甲胺 pH = 8.5。

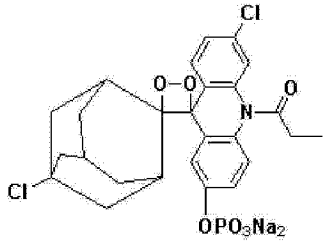
[0010] 本发明还提供一种采用该增强液制备化学发光液的方法,包括以下几个步骤:

[0011] 步骤A:将葡萄糖甲胺溶解于水中调节 pH 至 8 至 9,再将 N-烷基二甲基甘露糖胺季铵盐、吖啶橙、BSA、甘氨酸、MgCl₂、ZnCl₂分别加入至二乙醇胺溶液中,搅拌溶解,定容,得至增强液;

[0012] 步骤B:用增强液将化学发光底物稀释得到化学发光液。

[0013] 优选的,化学发光底物采用环二氧化乙烷化合物化学发光底物。

[0014] 优选的,化学发光底物采用 9-[3-(5-氯-2-螺旋金刚烷)-1,2-二氧化乙烷]-3-氯-7-磷氧酰基-10-丙酸基-9,10-二氢吖啶二钠盐,其结构式为:



[0015] 本发明的有益效果是:

[0016] 1:与市售增强液相比提高了新型环二氧化乙烷化合物化学发光法底物的发光液的稳定性

[0017] 2:与市售增强液相比提高了新型环二氧化乙烷化合物化学发光法底物的发光液的性能

[0018] 3:相比市售 CDP-STAR+Emerald-II™发光液发光性信号著提高。

[0019] 4:相比市售 CDP-STAR+Emerald-II™发光液检测时间明显缩短。

[0020] 5:相对进口化学发光液和增强剂更为经济,新型化学发光底物化合物产品灵敏度高,稳定性好,价格低。

附图说明

[0021] 图1是实施例1中,将 10u1 2*10⁻¹⁶mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中,然后加入 100u1 化学发光液1,在化学发光仪(BIOTEK-Synergy2)上记录发光信号,检测其发光动力学曲线。

[0022] 图2是实施例1中,将 10u1 2*10⁻¹⁶mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中,然后加入 100u1 化学发光液2,在化学发光仪(BIOTEK-Synergy2)上记录发光信号,检测其发光动力学曲线。

[0023] 图3是实施例1中,将 10u1 2*10⁻¹⁶mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中,然后加入 100u1 化学发光液3,在化学发光仪(BIOTEK-Synergy2)上记录发光信号,检测其发光动力学曲线。

[0024] 图4是实施例1中,将 10u1 2*10⁻¹⁶mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中,然后加入 100u1 化学发光液4,在化学发光仪(BIOTEK-Synergy2)上记录发光信号,检测其发光动力学曲线。

[0025] 图5是实施例2中,将 10u1 2*10⁻¹⁶mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中,然

后分别加入 100u1 化学发光液 1-A, 化学发光液 1-B, 化学发光液 5-A 和化学发光液 5-B, 在化学发光仪 (BIOTEK-Synergy2) 上记录发光信号, 检测其发光动力学曲线。

[0026] 图 6 是实施例 2 中, 将 10u1 2×10^{-16} mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中, 然后分别加入 100u1 化学发光液 2-A, 化学发光液 2-B 在化学发光仪 (BIOTEK-Synergy2) 上记录发光信号, 检测其发光动力学曲线。

图 7 是实施例 2 中, 将 10u1 2×10^{-16} mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中, 然后分别加入 100u1 化学发光液 1, 化学发光液 6, 在化学发光仪 (BIOTEK-Synergy2) 上记录发光信号, 检测其发光动力学曲线。

具体实施方式

[0027] 下面结合附图, 对本发明的较优的实施例作进一步的详细说明:

[0028] 实施例 1:

[0029] 步骤 1: 将葡萄糖甲胺按 19.5g 浓度溶解于 900mL 水中调节 pH 至 8.5, N-十二烷基二甲基甘露糖胺氯化铵 1g, 吡啶橙 6mg, BSA 10g, 甘氨酸 30mg, $MgCl_2$ 1mmol, $ZnCl_2$ 0.2mmol, 分别加入至二乙醇胺溶液中, 搅拌溶解, 定容至 1L, 得增强液 (1);

[0030] 步骤 2: 将增强液 (1) 将 9-[3-(5-氯-2-螺旋金刚烷)-1,2-氧环乙烷]-3-氯-7-磷氧酰基-10-丙酸基-9,10-二氢吡啶二钠盐稀释至 450mg/L 得到化学发光液 1。

[0031] 步骤 3: 将 CDP-STAR 增强液 Emerald-II™ (Tropix) 稀释 9-[3-(5-氯-2-螺旋金刚烷)-1,2-氧环乙烷]-3-氯-7-磷氧酰基-10-丙酸基-9,10-二氢吡啶二钠盐稀释至 450mg/L 得到化学发光液 2

[0032] 步骤 4: 用增强液 (1) 将 CDP-STAR 稀释至 400mg/L 得到化学发光液 3

[0033] 使用 CDP-STAR 增强液 Emerald-II™ (Tropix) 将 CDP-STAR 稀释至 400mg/L 得到化学发光液 4

[0034] 测试步骤:

[0035] 1. 将 10u1 2×10^{-16} mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中, 然后加入 100u1 化学发光液 1, 在化学发光仪 (BIOTEK-Synergy2) 上记录发光信号, 检测其发光动力学曲线, 如图 1 所示;

[0036] 2. 将 10u1 2×10^{-16} mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中, 然后加入 100u1 化学发光液 2, 在化学发光仪 (BIOTEK-Synergy2) 上记录发光信号, 检测其发光动力学曲线, 如图 2 所示;

[0037] 3. 将 10u1 2×10^{-16} mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中, 然后加入 100u1 化学发光液 3, 在化学发光仪 (BIOTEK-Synergy2) 上记录发光信号, 检测其发光动力学曲线, 如图 3 所示;

[0038] 4. 将 10u1 2×10^{-16} mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中, 然后加入 100u1 化学发光液 4, 在化学发光仪 (BIOTEK-Synergy2) 上记录发光信号, 检测其发光动力学曲线, 如图 4 所示;

[0039] 由图 1 和图 2 可知, 增强液和 Emerald-II™ (Tropix) 用于新型环氧乙烷化合物化学发光法底物 A 时 Emerald-II™ 所配置发光液 2 发光效率明显低于增强液所配置发光液

1

[0040] 由图 3和图 4可知,我们发现增强液和 Emerald-II™(Tropix) 用于环二氧乙烷化合物 CDP-STAR 时 Emerald-II™所配置发光液 4 发光效率明显高于增强液所配置发光液 3

[0041] 实施例 2

[0042] 步骤 1:将葡萄糖甲胺按 19.5g 浓度溶解于 900mL 水中调节 PH 至 8.5,N-十二烷基二甲基甘露糖胺氯化铵 1g,吡啶橙 6mg,BSA 10g,MgCl₂1mmol,ZnCl₂0.2mmol,分别加入至二乙醇胺溶液中,搅拌溶解,定容至 1L 增强液 (2)

[0043] 步骤 2:使用增强液 (2) 将 9-[3-(5-氯-2-螺旋金刚烷)-1,2-二氧环乙烷]-3-氯-7-磷氧酰基-10-丙酸基-9,10-二氢吡啶二钠盐 (A) 稀释至 450mg/L 得到化学发光液 5。

[0044] 步骤 3:将化学发光液 1 分成两份:化学发光液 1-A 和发光液 1-B,将化学发光液 1-B 放置于 37°C,发光液 1-A 室温保存 6 天

[0045] 步骤 4:将化学发光液 2 分成两份:化学发光液 2-A 和发光液 2-B,将化学发光液 2-B 放置于 37°C,发光液 2-A 室温保存 6 天

[0046] 步骤 5:将化学发光液 5 分成两份:化学发光液 5-A 和化学发光液 5-B,将发光液 5-B 放置于 37°C,发光液 5-A 室温保存 6 天

[0047] 测试方法:

[0048] 步骤 A:将 10ul 2×10^{-16} mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中,然后分别加入 100ul 化学发光液 1-A,化学发光液 1-B,化学发光液 5-A 和化学发光液 5-B,在化学发光仪 (BIOTEK-Synergy2) 上记录发光信号,检测其发光动力学曲线。如图 5

[0049] 将 10ul 2×10^{-16} mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中,然后分别加入 100ul 化学发光液 2-A,化学发光液 2-B 在化学发光仪 (BIOTEK-Synergy2) 上记录发光信号,检测其发光动力学曲线。如图 6

[0050] 由图 5可知,发光液 1 室温和 37°C 分别存放 6 天后发光信号基本不变,而化学发光液 5 室温和 37°C 分别存放 6 天后 37°C 存放条件下的化学发光液 5-B 发光信号明显衰减。我们发现甘氨酸能够协同提高发光液的稳定性。

[0051] 由图 6可知,发光增强液 Emerald-II™(Tropix) 所配发光液 2 在 37°C 存放 6 天后发光信号较室温存放下明显下降。

[0052] 步骤 3:将葡萄糖甲胺按 19.5g 浓度溶解于 900mL 水中调节 PH 至 8.5,N-十二烷基二甲基甘露糖胺氯化铵 1g,吡啶橙 6mg,BSA 10g,甘氨酸 30mg,MgCl₂1mmol,分别加入至二乙醇胺溶液中,搅拌溶解,定容至 1L,得增强液 (3)

[0053] 使用增强液 (3) 将 9-[3-(5-氯-2-螺旋金刚烷)-1,2-二氧环乙烷]-3-氯-7-磷氧酰基-10-丙酸基-9,10-二氢吡啶二钠盐 (A) 稀释至 450mg/L 得到化学发光液 6

[0054] 将 10ul 2×10^{-16} mol 的碱性磷酸酶作为样品加入微孔板中,然后分别加入 100ul 化学发光液 1,化学发光液 6,在化学发光仪 (BIOTEK-Synergy2) 上记录发光信号,检测其发光动力学曲线。

[0055] 如图 7所示化学发光液 1 和化学发光液 6 相比前者发光信号明显高于后者,本发明发现 ZnCl₂有着提高发光信号的作用。

[0056] 以上内容是结合具体的优选实施方式对本发明所作的进一步详细说明,不能认定

本发明的具体实施只局限于这些说明。对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干简单推演或替换,都应当视为属于本发明的保护范围。

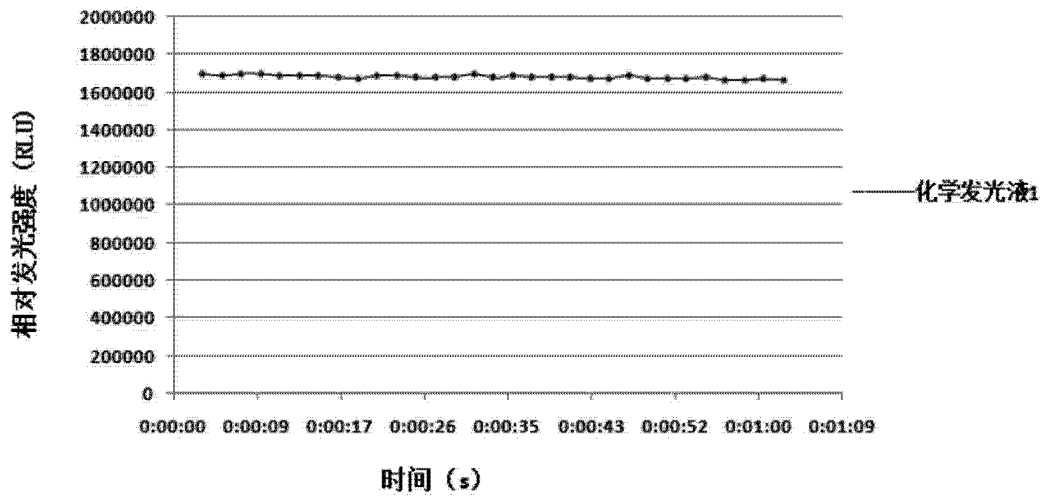


图 1

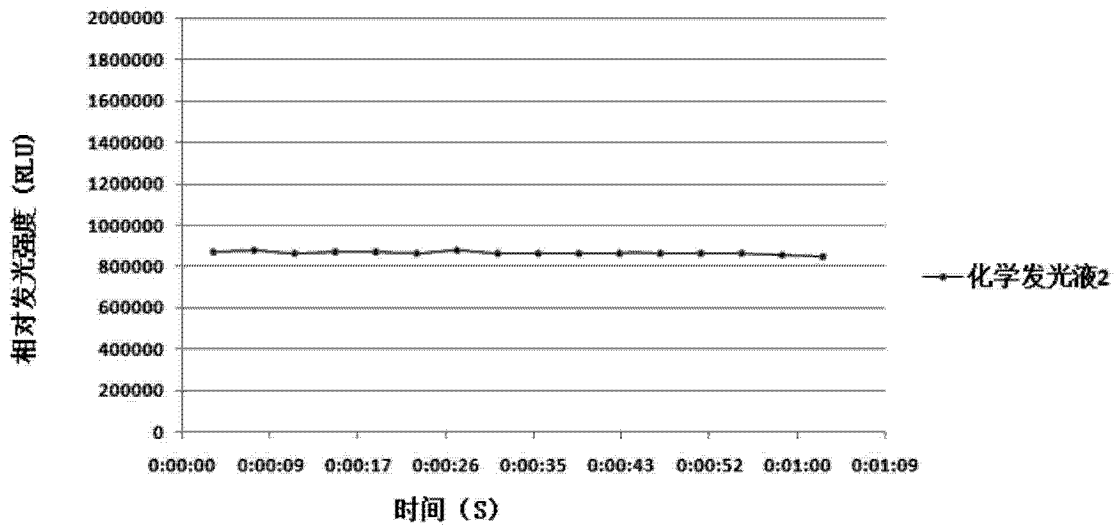


图 2

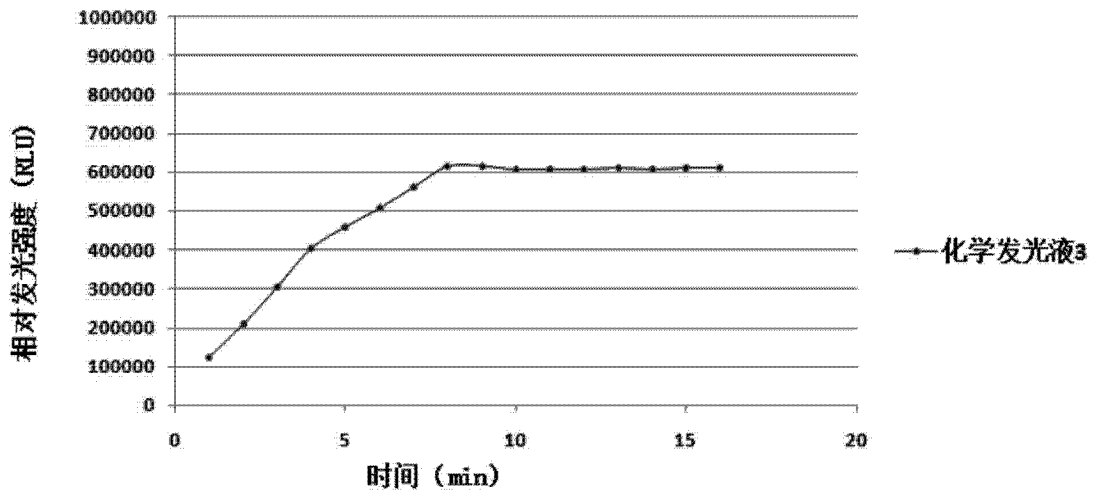


图 3

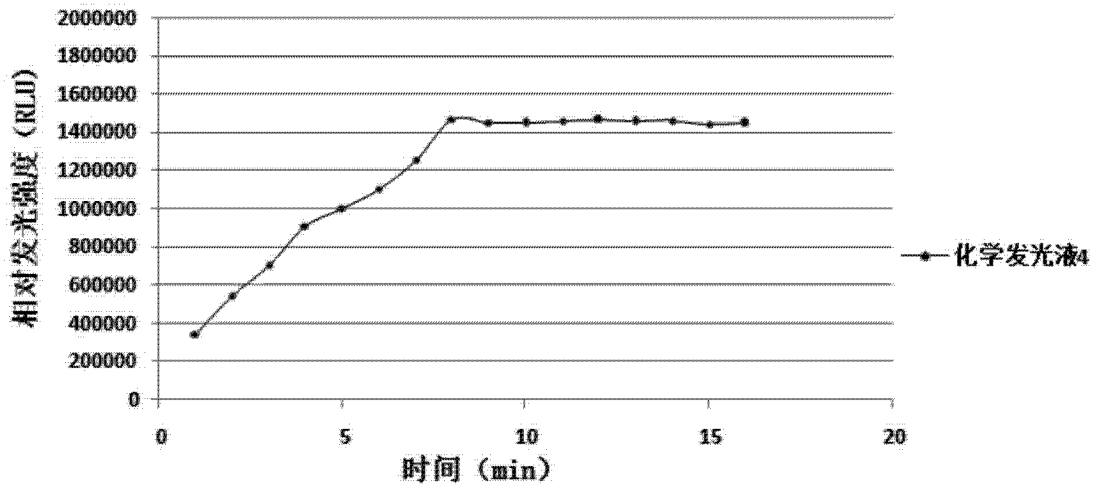


图 4

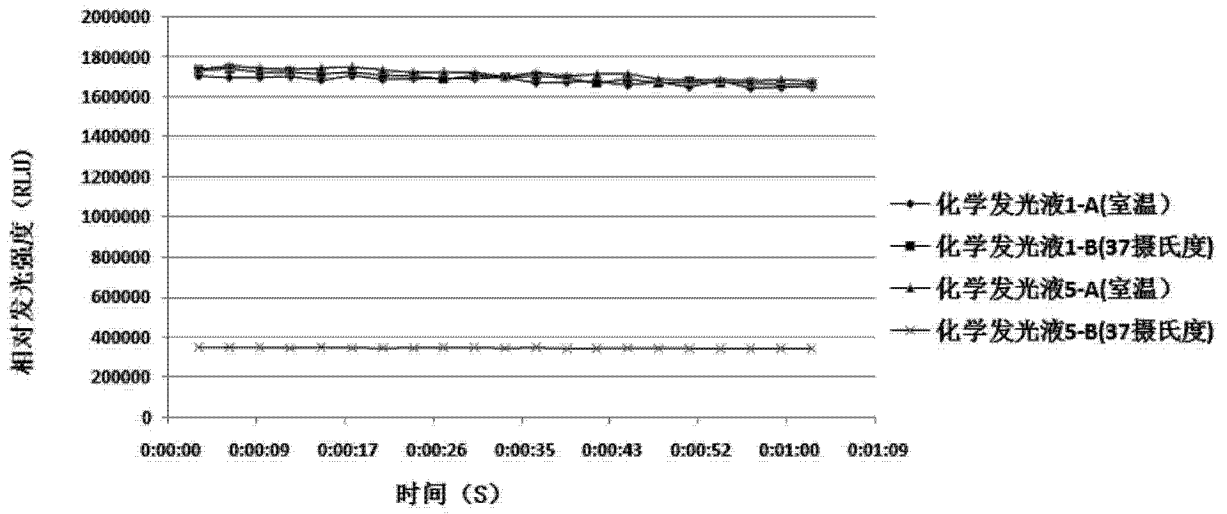


图 5

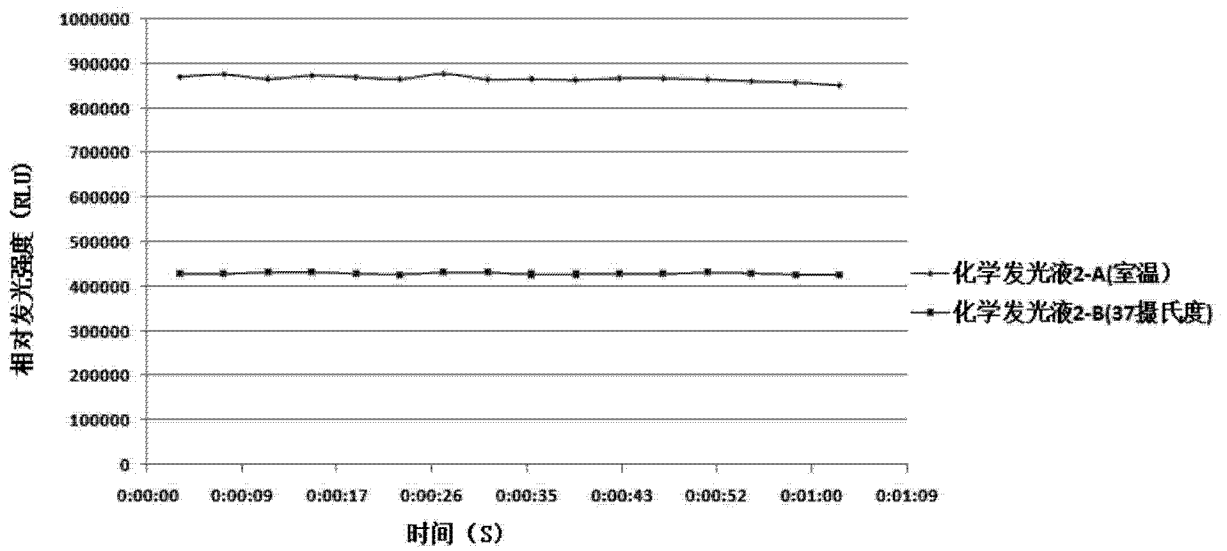


图 6

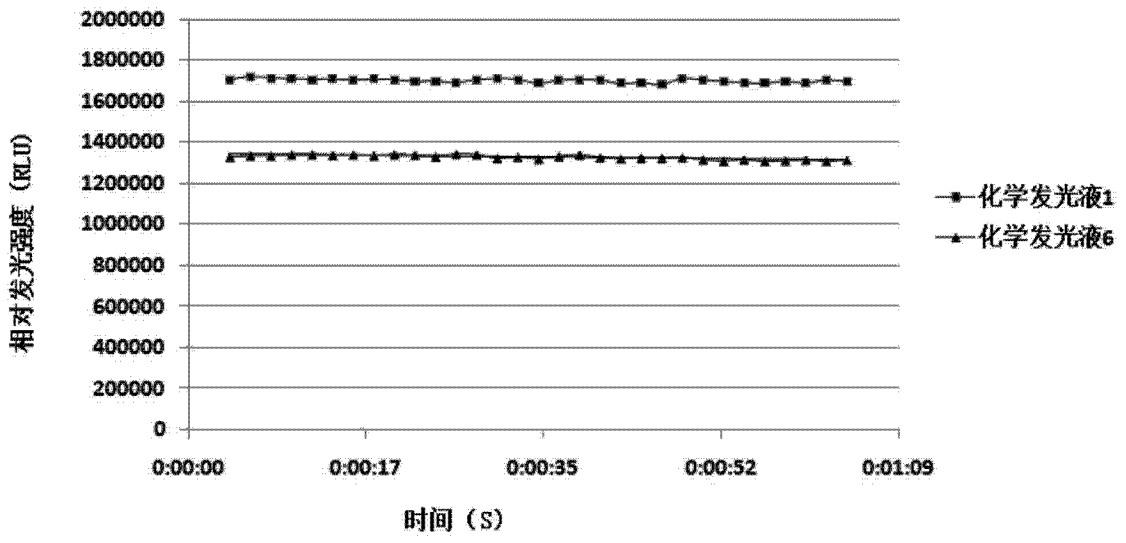


图 7

专利名称(译)	用于增强化学发光的增强液及制备化学发光液的方法		
公开(公告)号	CN104597233A	公开(公告)日	2015-05-06
申请号	CN201410617881.1	申请日	2014-11-05
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市美凯特科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳市美凯特科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市美凯特科技有限公司		
[标]发明人	任琪		
发明人	任琪		
IPC分类号	G01N33/531 G01N21/76		
CPC分类号	G01N33/532 C09K9/02 C09K11/07 C09K2211/1007 C09K2211/1022 C09K2211/1029 C09K2211/1033 G01N33/531 G01N21/76		
代理人(译)	张英		
其他公开文献	CN104597233B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种用于增强化学发光的增强液及制备化学发光液的方法，包括以下几个步骤：步骤A:将葡萄糖甲胺溶解于水中调节pH至8至9,再将权利要求1所述的N-烷基二甲基甘露糖胺季铵盐，吖啶橙，BSA,甘氨酸，MgCl₂,ZnCl₂,分别加入至二乙醇胺溶液中，搅拌溶解，定容，得到增强液；步骤B:用增强液将化学发光底物稀释得到化学发光液。本发明采用以上技术方案，其优点在于，该增强液用于免疫检测领域，提高了检测灵敏度高和线性范围，降低了成本，且无污染。解决了以往试剂依赖进口，价格昂贵，且不能达到最佳发光性能等问题。

