



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 113049806 A

(43)申请公布日 2021.06.29

(21)申请号 201911384038.2

(22)申请日 2019.12.28

(71)申请人 深圳市帝迈生物技术有限公司
地址 518107 广东省深圳市光明区玉塘街道田寮社区光侨路高科创新中心B座10层

(72)发明人 邝俊韬 李嫚莉 陆锋

(74)专利代理机构 深圳市威世博知识产权代理事务所(普通合伙) 44280
代理人 黎坚怡

(51)Int.Cl.
G01N 33/533(2006.01)
G01N 21/64(2006.01)

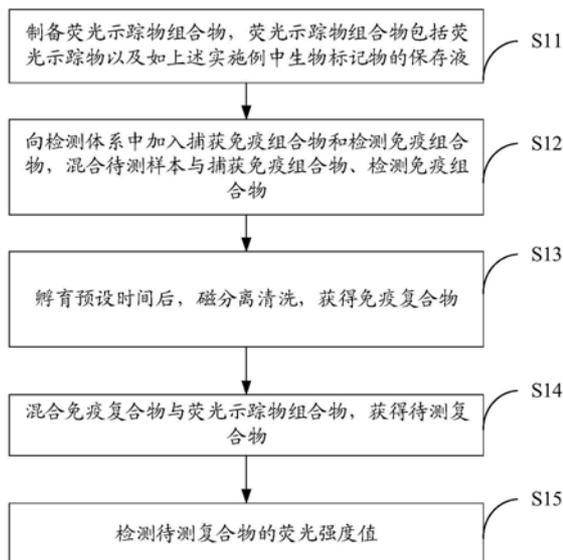
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

生物标记物的保存液、荧光示踪物试剂以及免疫检测方法

(57)摘要

本申请涉及体外诊断试剂领域技术领域,公开了一种生物标记物的保存液、荧光示踪物试剂以及免疫检测方法,该生物标记物的保存液,包括:至少一种抗荧光淬灭剂,抗荧光淬灭剂的浓度为2-6mmol/L;水溶性蛋白保护剂,水溶性蛋白保护剂的添加量为保存液总质量的0.01-2%;缓冲溶液,缓冲溶液的浓度为0.01-0.5mol/L。通过上述方式,本申请能够让保存在生物标记物的保存液的荧光示踪物试剂在不避光的情况下至少保存30天,同时,荧光示踪物试剂的配制过程方便且可控。



1. 一种生物标记物的保存液,其特征在于,包括:
至少一种抗荧光淬灭剂,所述抗荧光淬灭剂的浓度为2-6mmol/L;
水溶性蛋白保护剂,所述水溶性蛋白保护剂的添加量为所述保存液总质量的0.01-2%;
缓冲溶液,所述缓冲溶液的浓度为0.01-0.5mol/L。
2. 根据权利要求1所述的保存液,其特征在于,所述抗荧光淬灭剂选自:含有浓度为2-7mmol/L P-苯二胺(Para-phenylene diamine,PPD)的甘油溶液、含有浓度为3-9mmol/L n-丙基没食子酸盐(propyl gallate,NPG)的甘油溶液、含有质量百分比浓度为0.1-4%三乙烯二胺(1,4-diazobicyclo(2,2,2)-octane,DABCO)的甘油溶液中的至少一种。
3. 根据权利要求1所述的保存液,其特征在于,所述缓冲溶液为pH值为7.4的磷酸盐缓冲液。
4. 根据权利要求1所述的保存液,其特征在于,所述pH值为7.4的磷酸盐缓冲液为将0.2克磷酸二氢钾、2.9克十二水合磷酸氢二钠、8.0克氯化钠、0.2克氯化钾、0.5mL吐温-20加至1L蒸馏水中而得。
5. 根据权利要求1所述的保存液,其特征在于,所述保存液还含有至少一种抗氧化剂和防腐剂;
其中,所述抗氧化剂的浓度为1-20mmol/L,所述防腐剂的添加量为所述保存液总质量的0.04-0.06%。
6. 根据权利要求5所述的保存液,其特征在于,所述抗氧化剂选自乙二胺四乙酸钠盐,所述防腐剂选自Proclin300。
7. 一种荧光示踪物试剂,其特征在于,所述荧光示踪物试剂包括荧光标记物和如权利要求1-6任一项所述的保存液。
8. 根据权利要求7所述的试剂,其特征在于,
所述荧光示踪物选自小分子荧光素、荧光蛋白或串联荧光染料。
9. 根据权利要求8所述的试剂,其特征在于,
所述荧光蛋白选自藻红蛋白、藻蓝蛋白、藻红蓝蛋白以及别藻蓝蛋白中的至少一种;
所述小分子荧光素选自FITC、Cy5、Cy3、Cy5.5、Alexa Flour系列荧光素、Dylight系列荧光素、Pacific blue、FAM、TRITC、TAMRA以及罗丹明中的至少一种;
所述串联荧光染料为链霉亲和素-藻红蛋白(SAPE)。
10. 一种免疫检测方法,其特征在于,所述方法包括如下步骤:
制备荧光示踪物组合物,所述荧光示踪物组合物包括荧光示踪物以及如权利要求1-6任一项所述的保存液;
向检测体系中加入所述捕获免疫组合物和所述检测免疫组合物,混合所述待测样本与所述捕获免疫组合物、所述检测免疫组合物;
孵育预设时间后,磁分离清洗,获得多个免疫复合物;
混合所述免疫复合物与所述荧光示踪物组合物,获得待测复合物;
检测多个所述待测复合物的荧光强度值。

生物标记物的保存液、荧光示踪物试剂以及免疫检测方法

技术领域

[0001] 本申请涉及体外诊断试剂领域技术领域,特别是涉及生物标记物的保存液、荧光示踪物试剂以及免疫检测方法。

背景技术

[0002] 在免疫检测技术(流式细胞术,流式荧光多重检测和荧光蛋白印迹等)中,需要使用到荧光素/荧光蛋白标记的抗体/抗原,因此这些荧光标记产物的保存就存在淬灭的风险。

[0003] 为了防止光照射产生的荧光淬灭,通常会采用物理方式规避风险:在避光的环境中进行生产和配制,使用深色试剂瓶(棕色,褐色)进行分装储存。这些物理方式通常对于防止光照射导致的荧光淬灭非常有效,但也会带来很多新的问题,例如,在试剂配制时全程避光,将会使人工操作过程变得很困难;另外,采用深色试剂瓶不能实现直接观察试剂状态(澄清变浑浊),最终使检验过程变得更繁琐和容易出错。

发明内容

[0004] 本申请提供一种生物标记物的保存液、荧光示踪物试剂以及免疫检测方法,能够让荧光示踪物试剂在不避光的情况下至少保存30天,同时,荧光示踪物试剂的配制过程方便且可控。

[0005] 一方面,本申请提供了一种生物标记物的保存液,包括:至少一种抗荧光淬灭剂,抗荧光淬灭剂的浓度为2-6mmol/L;水溶性蛋白保护剂(BSA),水溶性蛋白保护剂的添加量为保存液总质量的0.01-2%;缓冲溶液,缓冲溶液的浓度为0.01-0.5mol/L。

[0006] 为解决上述技术问题,本申请采用的一个技术方案是:提供一种荧光示踪物试剂,荧光示踪物试剂包括荧光示踪物和如前述的保存液。

[0007] 为解决上述技术问题,本申请采用的另一个技术方案是:提供一种免疫检测方法,方法包括如下步骤:制备荧光示踪物组合物,荧光示踪物组合物包括荧光示踪物以及如前述的保存液向检测体系中加入捕获免疫组合物和检测免疫组合物,混合待测样本与捕获免疫组合物、检测免疫组合物;孵育预设时间后,磁分离清洗,获得多个免疫复合物混合免疫复合物与荧光示踪物组合物,获得待测复合物;检测多个待测复合物的荧光强度值。

[0008] 本申请的有益效果是:区别于现有技术的情况,本申请的生物标记物的保存液包括浓度为2-6mmol/L的抗荧光淬灭剂,在该保存液用于荧光示踪物试剂中,能够增强荧光示踪物的抗淬灭能力,以使配制荧光示踪物试剂的过程中,在一定时间内能够不避光操作,荧光示踪物试剂的配制过程方便且可控,提高用户的工作效率。同时,含有本申请生物标记物的保存液的荧光示踪物试剂在不避光的情况下可至少保存30天。

附图说明

[0009] 为了更清楚地说明本申请实施例中的技术方案,下面将对实施例描述中所需要使

用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本申请的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。其中:

[0010] 图1是本申请免疫检测方法一实施方式的流程示意图。

具体实施方式

[0011] 下面将结合本申请实施例中的附图,对本申请实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本申请一部分实施例,而不是全部实施例。基于本申请中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性的劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本申请保护的范围。

[0012] 本文中使用的术语“荧光示踪物”,是指可以产生荧光信号,并能够和生物材料偶联的化合物,包括但不限于小分子荧光素、荧光蛋白、荧光染料、稀土离子及其螯合剂、半导体纳米微晶粒等。

[0013] 荧光淬灭(quench)是指荧光分子由内部因素和外部因素同时作用造成的不可逆破坏。内部因素主要是分子从激发态回到基态以非辐射跃迁形式释放能量。外部因素则包含多方面,主要有:

[0014] 1) 光照射是致荧光淬灭的最常见原因,荧光的产生需要光照射,但同时光照射也会促进激发态分子与其他分子相互作用而引起碰撞,使荧光淬灭;

[0015] 2) 荧光物质的分子与外部分子(或离子)形成非荧光的化合物;

[0016] 3) 荧光共振能量转移(FRET);供体荧光分子的激发能诱发受体分子发出荧光,同时供体荧光分子自身的荧光强度衰减,也就是说,FRET中的供体分子发生了淬灭。

[0017] 4) pH值及温度等环境条件。卤素离子、重金属离子、氧分子以及硝基化合物、重氮化合物、羧基和羰基化合物均为常见的荧光熄灭剂。

[0018] 在免疫检测技术(流式细胞术,流式荧光多重检测和荧光蛋白印迹等)中,需要使用到荧光素/荧光蛋白标记的抗体/抗原,因此这些荧光标记产物的保存就存在淬灭的风险。

[0019] 为了防止光照射产生的荧光淬灭,通常会采用物理方式规避风险:在避光的环境中进行生产和配制,使用深色试剂瓶(棕色,褐色)进行分装储存。这些物理方式通常对于防止光照射导致的荧光淬灭非常有效,但也会带来很多新的问题,例如,在试剂配制时全程避光,将会使人工操作过程变得很困难;另外,采用深色试剂瓶不能实现直接观察试剂状态(澄清变浑浊),最终使检验过程变得更繁琐和容易出错。

[0020] 本申请提出一种生物标记物的保存液,该生物标记物的保存液包括:至少一种抗荧光淬灭剂、水溶性蛋白保护剂以及缓冲溶液。其中,抗荧光淬灭剂的浓度为2-6mmol/L,水溶性蛋白保护剂的添加量为保存液总质量的0.01-2%,缓冲溶液的浓度为0.01-0.5mol/L。

[0021] 其中,抗荧光淬灭剂选自:含有摩尔浓度为2-7mmol/L P-苯二胺(Para-phenylene diamine,PPD)的甘油溶液、含有摩尔浓度为3-9mmol/L n-丙基没食子酸盐(propyl gallate,NPG)的甘油溶液、含有质量百分比浓度为0.1-4%三乙烯二胺(1,4-diazobicyclo(2,2,2)-octane,DABCO)的甘油溶液中的至少一种。

[0022] 其中,PPD的防淬灭效果好,对各种荧光的保护能力都非常好,该PPD的甘油溶液包

括:质量百分比浓度为10%的PBS缓冲液、质量百分比浓度为90%的甘油以及摩尔浓度为2-7mmol/L的PPD。优选地,PPD的摩尔浓度为4mmol/L PPD。PPD的甘油溶液保存在-20℃或-70℃的环境下。

[0023] DABCO是一种不电离的、稳定的抗荧光淬灭剂,价格便宜而且容易使用。抗淬灭作用较PPD稍差,但毒性较低,且容易保存,可以存放在室温,该DABCO的甘油溶液包括:质量百分比浓度为10%的PBS缓冲液、质量百分比浓度为90%的甘油以及质量百分比浓度为0.1%-1%的DABCO。优选地,DABCO的质量百分比浓度为0.1%。

[0024] NPG是一无毒性且对光和热稳定的抗荧光淬灭剂,但抗漂白效果不如PPD,可用于体内研究。

[0025] 其中,水溶性蛋白保护剂选自牛血清白蛋白、酪蛋白、明胶和鱼皮凝胶中的至少一种。其中,水溶性蛋白保护剂可以一定程度降低耦合物的降解与失活。优选地,水溶性蛋白保护剂为牛血清白蛋白,牛血清白蛋白作为蛋白保护剂可以减轻一些不利环境如加热、表面张力及化学因素等引起的蛋白变性。

[0026] 上述缓冲溶液为pH值为7.4的磷酸盐缓冲液。其中,pH值为7.4的磷酸盐缓冲液为将0.2克磷酸二氢钾、2.9克十二水合磷酸氢二钠、8.0克氯化钠、0.2克氯化钾、0.5mL吐温-20加至1L蒸馏水中而得。在其他实施例中可以根据需要按照上述比例配置pH值为7.4的磷酸盐缓冲液。

[0027] 进一步地,保存液还含有至少一种抗氧化剂和防腐剂。其中,抗氧化剂的浓度为1-20mmol/L,防腐剂的添加量为保存液总质量的0.04-0.06%。

[0028] 优选地,抗氧化剂选自乙二胺四乙酸钠盐,防腐剂选自Proclin300。

[0029] 区别于现有技术的情况,本申请的生物标记物的保存液包括浓度为2-6mmol/L的抗荧光淬灭剂,在该保存液用于荧光示踪物试剂中,能够增强荧光示踪物的抗淬灭能力,以使配制荧光示踪物试剂的过程中,在一定时间内能够不避光操作,荧光示踪物试剂的配制过程方便且可控,提高用户的工作效率。同时,含有本申请生物标记物的保存液的荧光示踪物试剂在不避光的情况下可至少保存30天。

[0030] 本申请还提出一种荧光示踪物试剂,该荧光示踪物试剂包括荧光示踪物和上述实施例中的保存液。

[0031] 其中,荧光示踪物选自小分子荧光素、荧光蛋白或串联荧光染料。

[0032] 具体地,荧光蛋白选自藻红蛋白、藻蓝蛋白、藻红蓝蛋白以及别藻蓝蛋白中的至少一种。其中,藻胆蛋白(phycobiliprotein)是蓝藻和红藻光合作用捕光复合物的功能组分。根据其吸收光谱和荧光光谱特征,藻胆蛋白可以分为藻红蛋白(phycoerythrin,简称CPE)、藻红蓝蛋白(phycoerythrocyanin,简称PEC)、藻蓝蛋白(phycoocyanin,简称CPC)和变藻蓝蛋白(allophycoocyanin,简称APC)。CPE、PEC、CPC和APC含alpha和beta亚基,每个亚基中藻胆色素(phycobilin)通过硫醚键与藻胆蛋白脱辅基蛋白(apo-phycobiliprotein)半胱氨酸残基的巯基共价结合,其种类及其与脱辅基蛋白的相互作用决定藻胆蛋白的光谱性质。藻胆色素与脱辅基蛋白共价结合形成特定的构象,使得CPE主要吸收约560nm的可见光,发射约580nm的荧光;PEC吸收约570nm的可见光,发射约630nm的荧光;CPC吸收约620nm的可见光,发射约640nm的荧光;APC吸收约650-660nm的可见光,发射约660-670nm的荧光。CPE结合的辅基色素为藻红胆素(phycoerythrobilin,简称PEB);PEC的alpha亚基结合的辅基色素

为藻紫胆素 (phycoviolobilin, 简称PVB); PEC的beta亚基结合的辅基色素为藻蓝胆素 (phycocyanobilin, 简称PCB); CPC和APC结合的辅基色素都为藻蓝胆素PCB。

[0033] 小分子荧光素选自FITC、Cy5、Cy3、Cy5.5、Alexa Flour系列荧光素、Dylight系列荧光素、Pacific blue、FAM、TRITC、TAMRA以及罗丹明中的至少一种。

[0034] 串联荧光染料为链霉亲和素-藻红蛋白 (SAPE)。

[0035] 本申请还提出一种免疫检测方法, 其中免疫检测方法可以包括化学发光免疫分析法、电化学发光免疫分析法、酶联免疫吸附测定法 (ELISA)、酶促免疫分析法、生物素-亲和素系统测定法、放射免疫测定法、免疫荧光分析法中的至少一种方法。其中, ELISA的基础是抗原或抗体的固相化及抗原或抗体的酶标记。可以理解的, 捕获免疫组合物的组成包括但不限于多种抗体和/或抗原, 根据检测方法学的不同, 其组成有差异。上述免疫测试方法包括以下步骤:

[0036] S11: 制备荧光示踪物组合物, 荧光示踪物组合物包括荧光示踪物以及如上述实施例中生物标记物的保存液。

[0037] 其中, 该荧光示踪物选自小分子荧光素、荧光蛋白或串联荧光染料。

[0038] 优选地, 该荧光示踪物为链霉亲和素-藻红蛋白 (SAPE)。

[0039] S12: 向检测体系中加入捕获免疫组合物和检测免疫组合物, 混合待测样本与捕获免疫组合物、检测免疫组合物。

[0040] 其中, 捕获免疫组合物包括: 固相载体、连接于固相载体的捕获配体以及稀释液。其中, 捕获配体可与相应的待测配体特异性结合。

[0041] 固相载体可通过其表面的偶联基团将捕获配体以共价键偶联在其表面, 捕获配体包括: 抗原、抗体、激素受体、酶、核酸、寡核苷酸、半抗原等。偶联基团包括羧基、羟基、氨基、甲苯磺酰基、氯甲基、巯基、醛基、酰肼、硅羟基、琥珀酰亚胺酯、环氧基中的至少一种。在此不做限定。固相载体为微孔板、玻璃片、微流控芯片、胶乳、磁性或非磁性的高分子微球、金属合金纳米颗粒、无机微球、无机/有机杂化微球、荧光磁球、磁珠、多功能荧光磁珠中的至少一种。优选地, 固相载体为具有荧光编码的荧光微球。

[0042] 检测免疫组合物包括: NHS生物素、连接于NHS生物素的检测配体以及稀释液。其中, 各个捕获配体、各个检测配体可与相应的待测配体特异性结合, 以形成免疫复合物。

[0043] 上述稀释液包括10mmol/L PBS、0.1% BSA、1% 甘露醇、0.01% 酪蛋白、5% 蔗糖、0.05% Tween20以及0.1% 防腐剂。

[0044] S13: 孵育预设时间后, 磁分离清洗, 获得免疫复合物。

[0045] 具体的, 待测样本和捕获抗体组合物和检测抗体组合物的混合方式, 可同时进行, 也可依次进行。同时进行的方式为: 将待测样本、捕获抗体组合物和检测抗体组合物同时进行混合, 孵育一定时间后, 磁分离清洗后进行荧光信号的检测。依次进行的方式为: 将待测样本和捕获抗体组合物先进行混合, 孵育一定时间后, 加入检测抗体组合物, 再孵育一段时间, 磁分离清洗后进行荧光信号的检测。

[0046] S14: 混合免疫复合物与荧光示踪物组合物, 获得待测复合物。

[0047] 将受试者样本与检测试剂盒的捕获免疫组合物和检测免疫组合物孵育形成免疫复合物: 固相载体-捕获配体-待测配体-检测配体-链霉亲和素-藻红蛋白。

[0048] S15: 检测待测复合物的荧光强度值。

- [0049] 检测仪器为流式细胞仪NovoCyte 2040R;
- [0050] 检测参数设置为FSC阈值:10000,终止条件为吸取体积:20 μ L;
- [0051] 检测数据参数为median (PE-H)。
- [0052] 下面结合实施例对本申请作进一步描述:
- [0053] 实施例1
- [0054] 一种生物标记物的保存液,包括:
- [0055] P-苯二胺的甘油溶液,P-苯二胺的浓度为4mmol/L;
- [0056] 牛血清白蛋白0.1% (质量百分比);
- [0057] pH值为7.4的磷酸盐缓冲液0.02mol/L;
- [0058] 乙二胺四乙酸钠盐0.05% (质量百分比);
- [0059] Proclin300 0.05% (质量百分比)。
- [0060] 实施例2
- [0061] 一种生物标记物的保存液,包括:
- [0062] P-苯二胺的甘油溶液,P-苯二胺的浓度为4mmol/L;
- [0063] 牛血清白蛋白1% (质量百分比);
- [0064] pH值为7.4的磷酸盐缓冲液0.02mol/L;
- [0065] 乙二胺四乙酸钠盐0.05% (质量百分比);
- [0066] Proclin300 0.05% (质量百分比)。
- [0067] 实施例3
- [0068] 一种生物标记物的保存液,包括:
- [0069] n-丙基没食子酸盐的甘油溶液,n-丙基没食子酸盐的浓度为4mmol/L;
- [0070] 牛血清白蛋白0.1% (质量百分比);
- [0071] pH值为7.4的磷酸盐缓冲液0.02mol/L;
- [0072] 乙二胺四乙酸钠盐0.05% (质量百分比);
- [0073] Proclin300 0.05% (质量百分比)。
- [0074] 实施例4
- [0075] 一种生物标记物的保存液,包括:
- [0076] 三乙烯二胺的甘油溶液,三乙烯二胺的质量百分比浓度为2%;
- [0077] 牛血清白蛋白0.1% (质量百分比);
- [0078] pH值为7.4的磷酸盐缓冲液0.02mol/L;
- [0079] 乙二胺四乙酸钠盐0.05% (质量百分比);
- [0080] Proclin300 0.05% (质量百分比)。
- [0081] 实施例5
- [0082] 一种荧光示踪物试剂,包括:
- [0083] P-苯二胺的甘油溶液,P-苯二胺的浓度为4mmol/L;
- [0084] 牛血清白蛋白1% (质量百分比);
- [0085] pH值为7.4的磷酸盐缓冲液0.02mol/L;
- [0086] 乙二胺四乙酸钠盐0.05% (质量百分比);
- [0087] Proclin300 0.05% (质量百分比);

[0088] SAPE 1 μ g/mL。

[0089] 实施例6

[0090] 一种免疫检测方法

[0091] 以降钙素原(PCT)项目为例,其中试剂盒包括:①Ra试剂:磁珠包被PCT抗体;②Rb试剂:生物素标记PCT抗体;③Re试剂:实施例1-4配置的保存液所保存的荧光示踪物,荧光示踪物为1 μ g/mL SAPE。

[0092] 待测样本为:100ng/mL的PCT抗原,该待测样本制备方法具体如下:用抗原稀释液将PCT天然抗原母液(5 μ g/mL)稀释50倍,制备100ng/mL的PCT抗原。

[0093] 检测步骤:

[0094] 1) 将50 μ L的Ra试剂与50 μ L的PCT抗原(100ng/mL)在37 $^{\circ}$ C孵育6min,清洗一次;

[0095] 2) 加入50 μ L的Rb试剂在37 $^{\circ}$ C孵育4min,清洗一次;

[0096] 3) 加入50 μ L的Re试剂在37 $^{\circ}$ C孵育2min,清洗一次;

[0097] 4) 加入60 μ L的清洗液混匀,待检测。

[0098] 5) 检测方式:检测多个待测复合物的荧光强度值。

[0099] 其中,检测仪器:流式细胞仪NovoCyte 2040R;

[0100] 参数设置:FSC阈值:10000,终止条件为吸取体积:20 μ L;

[0101] 数据参数:median(PE-H)。

[0102] 荧光信号结果如下表1:

[0103] 表1不同处理方式的SAPE的待测复合物的荧光强度值结果

| 处理方式 | 0h | 2h | 5h | 10h | 24h | 48h |
|------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 实施例1 | 174936 | 173623 | 175647 | 162150 | 152213 | 147565 |
| 实施例2 | 175962 | 175536 | 174652 | 172231 | 166765 | 158846 |
| 实施例3 | 173257 | 171956 | 173961 | 160593 | 150752 | 146148 |
| 实施例4 | 165048 | 163809 | 165719 | 152985 | 143609 | 139224 |

[0105] 由上表可以看出,实施例1的PPD的防淬灭效果明显比实施例3的NPG、实施例4的DABCO的防淬灭效果好;添加更多水溶性蛋白保护剂的实施例2的防淬灭效果明显比实施例1的PPD的防淬灭效果好,说明牛血清白蛋白作为蛋白保护剂可以减轻一些不利环境如加热、表面张力及化学因素等引起的蛋白变性,更利于保存荧光示踪物。

[0106] 实施例7

[0107] 一种免疫检测方法

[0108] 以降钙素原(PCT)项目为例,其中试剂盒包括:①Ra试剂:磁珠包被PCT抗体;②Rb试剂:生物素标记PCT抗体;③Re试剂:不同处理方式的SAPE(避光保存、不避光保存、实施例5的荧光示踪物试剂)。

[0109] 待测样本为:100ng/mL的PCT抗原,该待测样本制备方法具体如下:用抗原稀释液将PCT天然抗原母液(5 μ g/mL)稀释50倍,制备100ng/mL的PCT抗原。

[0110] 检测步骤:

[0111] 1) 将50 μ L的Ra试剂与50 μ L的PCT抗原(100ng/mL)在37 $^{\circ}$ C孵育6min,清洗一次;

[0112] 2) 加入50 μ L的Rb试剂在37 $^{\circ}$ C孵育4min,清洗一次;

[0113] 3) 加入50 μ L的Re试剂在37 $^{\circ}$ C孵育2min,清洗一次;

- [0114] 4) 加入60 μ L的清洗液混匀,待检测。
- [0115] 5) 检测方式:检测多个待测复合物的荧光强度值。
- [0116] 其中,检测仪器:流式细胞仪NovoCyte 2040R;
- [0117] 参数设置:FSC阈值:10000,终止条件为吸取体积:20 μ L;
- [0118] 数据参数:median (PE-H)。
- [0119] 荧光信号结果如下表1:
- [0120] 表1不同处理方式的SAPE的待测复合物的荧光强度值结果

| 处理方式 | 0h | 2h | 5h | 10h | 24h | 48h |
|----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 避光 | 176936 | 176523 | 177647 | 176350 | 175895 | 177565 |
| 不避光 | 176486 | 174645 | 171322 | 166874 | 152399 | 126533 |
| 不避光+抗淬灭剂 | 175962 | 175536 | 174652 | 172231 | 166765 | 158846 |

[0122] 由上表可以看出,本申请的生物标记物的保存液包括浓度为2-6mmol/L的抗荧光淬灭剂,在该保存液用于荧光示踪物试剂中,能够增强荧光示踪物的抗淬灭能力,以使配制荧光示踪物试剂的过程中,在10小时内不避光操作的荧光强度与避光操作的荧光强度相当,且在48小时内不避光操作的荧光强度远强于不避光操作的荧光强度。

[0123] 以上所述仅为本申请的实施方式,并非因此限制本申请的专利范围,凡是利用本申请说明书及附图内容所作的等效结构或等效流程变换,或直接或间接运用在其他相关的技术领域,均同理包括在本申请的专利保护范围内。

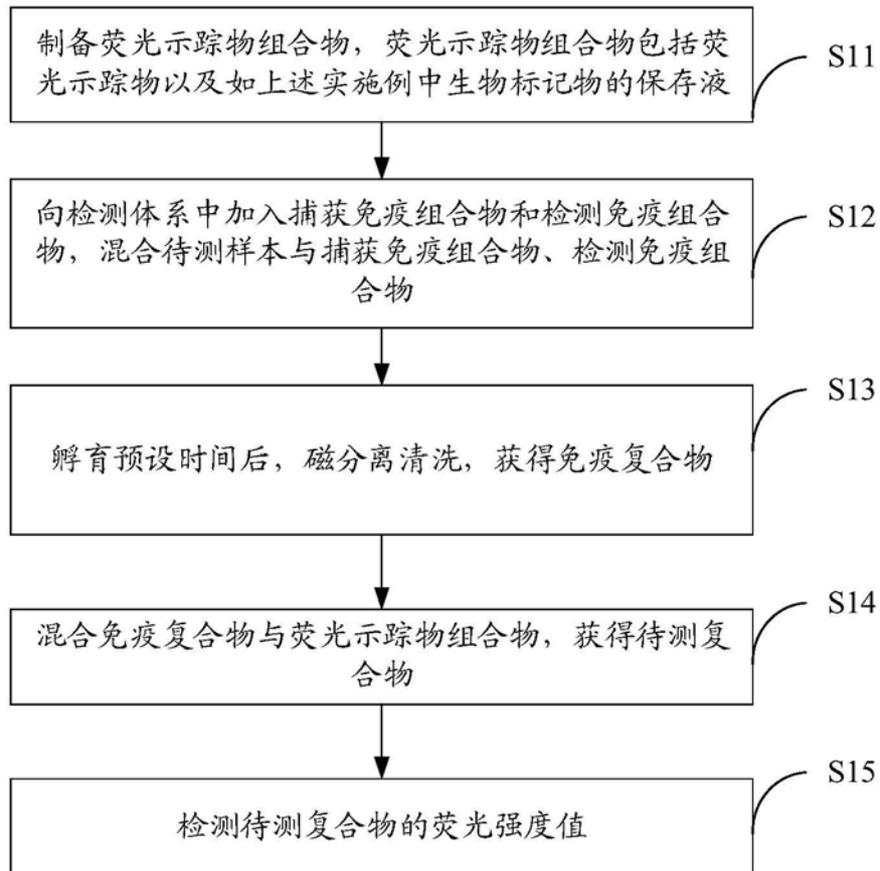


图1