

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2020 年 6 月 11 日 (11.06.2020)



(10) 国际公布号
WO 2020/113529 A1

(51) 国际专利分类号:
G01N 33/53 (2006.01)

(21) 国际申请号: PCT/CN2018/119617

(22) 国际申请日: 2018 年 12 月 6 日 (06.12.2018)

(25) 申请语言: 中文

(26) 公布语言: 中文

(71) 申请人: 深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司 (SHENZHEN MINDRAY BIO-MEDICAL ELECTRONICS CO., LTD.) [CN/CN]; 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南12路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。

(72) 发明人: 李可 (LI, Ke); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南12路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。詹成雄 (ZHAN, Chengxiong); 中国广东省深圳南山区高新技术产业园区科技南12路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。张裕平 (ZHANG, Yuping); 中国广东省深圳市南山区高新技术产业园区科技南12路迈瑞大厦, Guangdong 518057 (CN)。

(74) 代理人: 北京派特恩知识产权代理有限公司 (CHINA PAT INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE); 中国北京市海淀区海淀南路21号中关村知识产权大厦B座2层, Beijing 100080 (CN)。

(81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL,

PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。

(84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: METHOD FOR CANCELLING INTERFERENCE OF THEOPHYLLINE IN IMMUNODETECTION AND IMMUNODETECTION KIT

(54) 发明名称: 免疫检测中消除茶碱干扰的方法及免疫检测试剂盒

(57) Abstract: A method for cancelling interference of theophylline in immunodetection and an immunodetection kit. The method for cancelling interference of theophylline in immunodetection comprises: carrying out an immunodetection reaction in the presence of a theophylline interference-resistant agent, the theophylline interference-resistant agent having a final concentration of 0.1 mg/mL-100 mg/mL, and being selected as at least one from a group consisting of free 6-mercaptopurine, 6-mercaptopurine, 8-azguanine, hypoxanthine, adenine, purine, 2,6,8-trioxypurine, adenine nucleotide, and adenosine. The method and the kit can effectively reduce interference of theophylline on an immunodetection result.

(57) 摘要: 免疫检测中消除茶碱干扰的方法及免疫检测试剂盒。免疫检测中消除茶碱干扰的方法包括: 在抗茶碱干扰剂的存在下进行免疫检测反应, 其中抗茶碱干扰剂的终浓度为0.1mg/mL~100mg/mL, 且选自自由6-巯基嘌呤、6-巯基鸟嘌呤、8-杂氮鸟、次黄嘌呤、腺嘌呤、嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤、腺嘌呤核苷酸和腺苷所组成的组中的至少一种。该方法及试剂盒能有效降低茶碱对免疫检测结果的干扰。



WO 2020/113529 A1

免疫检测中消除茶碱干扰的方法及免疫检测试剂盒

技术领域

本发明涉及免疫检测领域，特别涉及针对服用茶碱类药物的患者消除茶碱类药物对免疫检测影响的检测方法。

5 背景技术

茶碱是一类平喘药物，对呼吸道平滑肌有直接松弛作用。茶碱类药物适用于治疗哮喘（如支气管哮喘）、慢性支气管炎、喘息型支气管炎、肺气肿、慢性阻塞性肺炎等疾病，起到放松肺部气道，增加气流的作用，从而缓解喘息症状。茶碱也可用于治疗心力衰竭时的喘息。

10 服用茶碱类药物后的一定时期内，患者的血液中会含有一定量的药物。在临床免疫检测中，如果受试者的血液中存在一定浓度的药物或其代谢物时，会干扰免疫测定结果的准确性，并进而影响临床判断。

因此，需要一种能够消除茶碱类药物对受试者免疫测定干扰的方法。

发明内容

15 为此，本发明提供了一种在免疫检测中抗茶碱干扰的方法以及抗茶碱干扰的免疫检测试剂盒。

根据本发明的第一方面，提供一种在对样本的免疫检测中消除茶碱干扰的方法，所述方法包括：在抗茶碱干扰剂的存在下进行免疫检测反应，其中所述抗茶碱干扰剂的终浓度为 0.1 mg/mL~100 mg/mL，且选自由 6-巯基嘌呤、6-巯基鸟嘌呤、8-杂氮鸟、次黄嘌呤、腺嘌呤、嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤、腺嘌呤核苷酸和腺苷所组成的组中的至少一种。

20

根据进一步的实施方式，所述抗茶碱干扰剂的终浓度为 5 mg/mL~80

mg/mL、优选为 20mg/mL~80 mg/mL、更优选为 50 mg/mL~80 mg/mL。

根据更进一步的实施方式，本发明中所述抗茶碱干扰剂可为选自由 6-巯基嘌呤、腺嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤和腺苷所组成的组中的至少一种。

本发明的方法可用于各种免疫检测中，尤其是化学发光免疫检测、电
5 化学发光免疫检测或酶联免疫检测。

具体地，本发明的方法涉及针对肿瘤标志物的免疫检测。更具体地为采用固相法进行的免疫检测。

根据一种实施方式，本发明中，抗茶碱干扰剂可以以单独的试剂形式加入免疫检测反应体系中，例如以样本前处理液的形式预先在加入免疫检
10 测试剂之前加入待测样本中。

根据另一种实施方式，本发明的抗茶碱干扰剂以与一种或多种试剂组合的形式加入所述免疫检测反应体系中。在本发明的方法中，可列举的一种或多种试剂包括，但不限于：底物、标记物、包被有免疫检测反应物的固相、样本处理液、缓冲液、离子强度调节剂、表面活性剂、防腐剂和清
15 洗剂等。

根据具体实施方式，本发明的抗茶碱干扰剂可在加入所述底物之前加入，优选可在加入包被有免疫检测反应物的固相之前或在加入标记物之前加入，更优选地可在样本前处理步骤中加入。

本发明的方法中，所述样本为血液样本，更具体地为血清或血浆样本。

20 本发明的第二方面，提供一种免疫检测试剂盒，所述试剂盒包括终浓度为 0.1 mg/mL~100 mg/mL 的抗茶碱干扰剂，所述茶碱抗干扰剂选自由 6-巯基嘌呤、6-巯基鸟嘌呤、8-杂氮鸟、次黄嘌呤、腺嘌呤、嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤、腺嘌呤核苷酸和腺苷所组成的组中的至少一种。

根据一种实施方式，所述免疫检测试剂盒包括终浓度为 5 mg/mL~80
25 mg/mL、优选为 20mg/mL~80 mg/mL、更优选为 50 mg/mL~80 mg/mL 的抗

茶碱干扰剂。

根据进一步的实施方式，本发明的试剂盒中的抗茶碱干扰剂为选自由6-巯基嘌呤、腺嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤和腺苷所组成的组中的至少一种。

5 本发明的免疫检测试剂盒可以是任何用于免疫检测的试剂盒，尤其是化学发光免疫检测试剂盒、电化学发光免疫检测试剂盒或酶联免疫检测试剂盒。

根据具体实施方式，本发明的免疫检测试剂盒是针对肿瘤标志物的免疫检测试剂盒。

10 在本发明的免疫检测试剂盒中，所述抗茶碱干扰剂可以为与所述试剂盒中的一种或多种试剂组合的形式，或者也可以是以单独试剂的形式提供在所述试剂盒中。

根据本发明的免疫检测试剂盒还包括用于免疫检测的必要试剂。根据检测对象及检测方法的需要，本发明的免疫检测试剂盒相应地包括不同试剂。不同的免疫检测试剂盒中具体包含的试剂是本领域技术人员已经掌握
15 的。

例如，对于常见的酶联免疫试剂盒及化学发光免疫检测试剂盒，通常来说，还可包括底物、标记物和免疫检测反应物，尤其是包被在固相上的免疫检测反应物（如抗原、抗体、链酶亲和素等）。用作固相的可以是磁珠、塑料珠或者酶联免疫的板或条。

20 根据不同需要，所述试剂盒中还可包括样本处理液、缓冲液、离子强度调节剂、表面活性剂和/或防腐剂等，但不限于此。

本发明的免疫检测试剂盒用于对血液样本的检测。所述血液样本可以是血清或血浆样本。

本发明的另一方面，还提供一种消除茶碱干扰的免疫检测方法。所述
25 免疫检测方法具有以上定义的特征和/或包括以上定义的步骤。

本发明的再一方面，提供一种抗茶碱干扰剂在对血液样本的免疫检测中消除茶碱干扰的用途，所述抗茶碱干扰剂选自由 6-巯基嘌呤、6-巯基鸟嘌呤、8-杂氮鸟、次黄嘌呤、腺嘌呤、嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤、腺嘌呤核苷酸和腺苷所组成的组中的至少一种。

- 5 本发明的方法和试剂盒能显著降低、甚至消除进行茶碱治疗的受试者在免疫检测中由茶碱或其代谢产物引起的干扰，得到不受茶碱干扰的较准确的免疫测定结果，为临床诊治提供可靠的判断依据。本发明的方法简单，对原免疫检测方法不产生干扰。

具体实施方式

- 10 下面将结合本发明具体实施方式和实施例，对本发明实施方式中的技术方案进行清楚、完整地描述，显然，所描述的具有实施方式仅仅是本发明的一部分实施方式，而不是全部的实施方式。基于本发明中的实施方式，本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施方式，都属于本发明保护的范围。

- 15 在整个说明书中，除非另有特别说明，本文使用的术语应理解为如本领域中通常所使用的含义。因此，除非另有定义，本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域技术人员的一般理解相同的含义。若存在矛盾，本说明书优先。

- 20 在文中，术语“包括”、“包含”或者其任何其他变体意在涵盖非排他性的包含，从而使得包括一系列要素的方法或者产品不仅包括所明确记载的要素，而且还包括没有明确列出的其他要素，或者还包括为实施所述方法或者产品所固有的要素。

除非另有说明，否则如在本文件所使用的单数形式“一个/种”和“该/所述”包括所指名词的复数。

- 25 本文所述“茶碱”，除非另有说明，包括任何一种茶碱类的药物及其

所有药用形式。

茶碱 (Theophylline) 属于黄嘌呤类生物碱，是一种支气管平滑肌松弛药，可用于治疗支气管哮喘、慢性支气管炎、肺气肿、慢性阻塞性肺病等呼吸性疾病。

5 已知茶碱类药物及其衍生物有 300 多种。临床上较为常用的茶碱类药物有氨茶碱、二羟丙茶碱、胆茶碱、茶碱乙醇胺和思普菲林等，但不限于此。

本发明的方法旨在为正在或近期进行茶碱治疗的受试者进行免疫检测时，提供消除茶碱干扰的方法。

10 本文所述的“抗茶碱干扰”或“消除茶碱干扰”是指降低、甚至消除茶碱类药物本品或其代谢产物对免疫检测的干扰。

本文所称“受试者”是指有需要进行免疫检测的受试者，其正在经历茶碱的给药，或者近期曾经进行过茶碱的给药。例如，在 1 周内施用过茶碱，或者在 5 天、3 天、或 2 天内施用过茶碱。

15 本文所述“样本”指用于进行免疫检测的采自受试者的血液样本。具体为血清或血浆样本，特别是血清样本。

本文所述“免疫检测”，如无特别说明，是指利用免疫学原理，以待测物作为抗原或抗体从而测定样本中待测物质含量的方法。

20 可用于本发明的免疫检测方法是指基于免疫反应原理的免疫检测方法，包括，但不限于：酶联免疫法、放射免疫法、荧光免疫法、化学发光免疫法、电化学发光免疫法等。特别适用于酶联免疫检测、化学发光免疫检测和电化学发光免疫检测的方法和试剂盒。

标记物根据具体方法不同而不同，本发明对此并无特别限制。可列举的标记物包括酶（如碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶）标记的抗体（或抗原），

发光化合物（如吖啶酯、鲁米诺、异鲁米诺、三联吡啶钌等）标记的抗体（或抗原、或免疫测定被分析物）等，但不限于此。

本发明的方法更适用于固相免疫检测法。用于本发明固相免疫检测的固相可以是包被有免疫检测反应物的磁珠、塑料珠、免疫板（或条）等。

5 包被在固相上的免疫检测反应物根据方法的不同而不同，例如可以包括抗原、抗体、链酶亲和素等。

本发明的降低茶碱干扰的免疫检测方法尤其适用于肿瘤标志物的免疫测定。

10 肿瘤标志物是存在于癌细胞中的、或由癌细胞产生的、或机体对癌细胞反应而产生的物质，能反映肿瘤的有、无、发展。因此，对血清中肿瘤标志物的检测可用于肿瘤诊断、病程分析、制定治疗方案、监测复发或转移等。已知的肿瘤标志物有很多，包括糖类抗原、胚胎性抗原、细胞角蛋白、肿瘤相关的酶、激素类以及其他蛋白类。常见的肿瘤标志物可列举的有：甲胎蛋白（AFP）、癌胚抗原（CEA）、糖类抗原125（CA125）、糖
15 类抗原153（CA153）、糖类抗原199（CA199）、糖类抗原724（CA724）、糖类抗原242（CA242）、糖类抗原50（CA50）、CYFRA21-1（Cy211）、神经元特异性烯醇化酶（NSE）、前列腺特异性抗原（PSA）、人绒毛膜促性腺激素（HCG）、甲状腺球蛋白（TG）、铁蛋白（SF）、 β 2-微球蛋白（ β 2-MG）、鳞状细胞抗原（SCC）等，但不限于此。

20 本发明人发现，很多嘌呤类化合物及其衍生物可以降低、甚至消除免疫检测中茶碱或其代谢物对免疫检测的干扰。可用于本发明的嘌呤类化合物及其衍生物有 6-巯基嘌呤、6-巯基鸟嘌呤、8-杂氮鸟、次黄嘌呤、腺嘌呤、嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤、腺嘌呤核苷酸和腺苷。其中，6-巯基嘌呤、腺嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤和腺苷具有更优的效果。

25 本发明中，抗茶碱干扰剂的终浓度为 0.1 mg/mL~100 mg/mL。抗茶碱

干扰剂终浓度具体实例可为 6 mg/mL、8 mg/mL、10 mg/mL、15 mg/mL、20 mg/mL、30 mg/mL、40 mg/mL、50 mg/mL、60 mg/mL、70 mg/mL 或 80 mg/mL。

在较佳的实施方式中，抗茶碱干扰剂的终浓度为 5 mg/mL~80 mg/mL、

5 优选为 20mg/mL~80 mg/mL、更优选为 50 mg/mL~80 mg/mL。

根据本发明，所述抗茶碱干扰剂可作为单独的试剂存在于本发明的免疫检测试剂盒中或者添加至免疫检测反应体系中，也可以与其他一种或多种试剂组合存在于本发明的免疫检测试剂盒中或者添加至免疫检测反应体系中。因此，本发明的抗茶碱干扰剂在添加到免疫检测反应体系中之前的
10 浓度取决于其存在方式。为使上下文清楚、一致，本文所说的“终浓度”是指在免疫检测反应体系中的浓度，尤其是抗茶碱干扰剂的在最终免疫检测反应体系中的浓度。

根据本发明的一种实施方式，抗茶碱干扰剂是以单独的试剂形式存在。具体地，将抗茶碱干扰剂溶解在适当的溶剂中，制成溶液。作为单独的试
15 剂的抗茶碱干扰剂可以作为样本前处理剂，与其他样本处理液先后或同时加入待测样本中。也可以在检测反应过程中加入抗茶碱干扰剂。例如，在加入所述底物之前、尤其是在加入包被有免疫检测反应物的固相或标记物之前加入反应体系中。

根据本发明的另一种实施方式，抗茶碱干扰剂是以与其他免疫检测用
20 试剂组合（如混合）的形式被加入到免疫检测反应体系中。例如，抗茶碱干扰剂可添加在含标记物的试剂中、含底物的试剂中，或者添加在固相试剂中。此外，抗茶碱干扰剂也可添加在辅助试剂中，例如添加在其他样本处理剂中、添加在缓冲液、离子强度调节剂、表面活性剂、防腐剂或清洗剂中。总之，本领域技术人员可以根据具体需要，将抗茶碱干扰剂添加在
25 方便操作且无不良作用的试剂中，以便在适当的时机将抗茶碱干扰剂添加

到免疫检测反应体系中，从而确保免疫检测反应过程中茶碱或其代谢产物不对免疫检测反应产生干扰。

本发明进一步提供一种包括本发明的抗茶碱干扰剂的免疫检测试剂盒，以便方便地实施本发明的方法。

5 本发明的试剂盒中包含的抗茶碱干扰剂如上文定义。

同样的，本发明的试剂盒可以是受试者需要进行的任何免疫检测的试剂盒，并无特别限制。但是，本发明的试剂盒尤其为酶联免疫检测试剂盒、化学发光免疫检测试剂盒或电化学发光免疫检测试剂盒。

更具体地，本发明的免疫检测试剂盒是针对肿瘤标志物的检测试剂盒。
10 并且更优选为采用固相检测法的试剂盒。

同样的，在本发明的免疫检测试剂盒中，抗茶碱干扰剂可以以单独的试剂形式存在，也可以以与其他一种或多种免疫检测反应所需要的试剂组合（如混合）的形式存在。

以下实施例用于进一步说明本发明的效果。

15 实施例 1

在该实施例 1 中，对上述抗茶碱干扰剂的抗茶碱干扰能力进行评估。

首先准备胃泌素释放肽前体（ProGRP）浓度分别为（ 40.00 ± 10.00 ）
pg/mL、（ 600.00 ± 120.00 ）pg/mL 的两组血清样本，每组各两份；向其中一
份样本中添加一定体积的高浓度茶碱溶液（使用无水乙醇溶解，添加体积
20 不超过添加后总体积的 1/20），配制得到茶碱浓度为 50 $\mu\text{g/mL}$ 的干扰样本；
向另一份样本中添加等体积无水乙醇（添加体积与前述干扰样本添加体积
一致，不超过添加后总体积的 1/20），配制得到不含干扰物的对照样本。

在此使用胃泌素释放肽前体化学发光免疫分析试剂盒对干扰样本和对
照样本分别测试 2 次。干扰物样本的测试结果均值记为 M，对照样本的测
25 试结果均值记为 T，按以下公式计算干扰偏差 B：

$$B(\%) = (M-T)/T \times 100\%$$

在本实施例 1 中，用于进行检测的胃泌素释放肽前体测定的试剂盒为商购试剂盒以及按照本发明的在商购试剂盒中加入了抗茶碱干扰剂的试剂盒。其中，商购试剂盒包括以下组分：

- 5 磁性微粒试剂：悬浮于 Tris 缓冲液中的包被着抗胃泌素释放肽前体抗体的超顺磁性微粒；

标记物试剂：抗胃泌素释放肽前体抗体-碱性磷酸酶标记物溶于 MES 缓冲液；和

- 10 化学发光底物：3-(2-螺旋金刚烷)-4-甲氧基-4-(3-磷氧酰)-苯基-1,2-二氧环乙烷，AMPPD。

在所述标记物试剂中加入终浓度为 10mg/mL 的本发明的抗茶碱干扰剂，以制备按照本发明的免疫检测试剂盒，所述抗茶碱干扰剂分别为：6-巯基嘌呤、6-巯基鸟嘌呤、8-杂氮鸟、次黄嘌呤、腺嘌呤、嘌呤（C₅H₄N₄）、2,6,8-三氧嘌呤、腺嘌呤核苷酸和腺苷（9-β-D-呋喃核糖基腺嘌呤）。

- 15 上述试剂盒中的磁微粒试剂和标记物试剂可以用常规的抗体包被方法和标记技术，将抗体包被到磁微粒和将抗体与碱性磷酸酶结合标记。

分别用含有不同的抗茶碱干扰剂的试剂盒进行胃泌素释放肽前体的检测，检测步骤如下：

- 20 第一步：将 20μL 样本与 50μL 磁性微粒试剂和 50μL 标记物试剂添加到反应管中，37℃ 孵育 10 分钟。反应完成后，形成夹心复合物，在磁场下吸住磁珠，洗去未结合的物质。

- 25 第二步：将化学发光底物（AMPPD）添加到反应管内，37℃ 孵育 6 分钟。结合到磁性微粒上的夹心复合物上的碱性磷酸酶催化底物发光，所产生光子数与样本内胃泌素释放肽前体的浓度成正比，记录发光读数。样本内胃泌素释放肽前体的量由校准曲线来计算得到。

采用上述含有不同抗茶碱干扰剂的试剂盒以及不含有抗茶碱干扰剂的试剂盒进行检测，得到的干扰偏差 B 如下表所示。

抗茶碱干扰剂	抗茶碱干扰剂终浓度	低浓度样本干扰偏差	高浓度样本干扰偏差
无	/	-34.92%	-39.45%
6-巯基嘌呤	10mg/mL	-2.24%	-1.04%
6-巯基鸟嘌呤	10mg/mL	-5.63%	-3.66%
8-杂氮鸟	10mg/mL	-8.22%	-5.27%
次黄嘌呤	10mg/mL	-9.36%	-7.05%
腺嘌呤	10mg/mL	2.16%	-3.52%
嘌呤(C ₅ H ₄ N ₄)	10mg/mL	-5.95%	-3.77%
2,6,8-三氧嘌呤	10mg/mL	3.52%	2.18%
腺嘌呤核苷酸	10mg/mL	5.06%	5.01%
腺苷	10mg/mL	-0.17%	1.16%

从上表中结果可以看出，当样本中干扰物茶碱浓度达 50 $\mu\text{g/mL}$ 时，不添加本方法所列化合物的胃泌素释放肽前体试剂盒，其干扰偏差较大（低值样本-34.9%，高值样本-39.5%），表明样本中的茶碱严重干扰了试剂盒的检测结果。

当在试剂盒组分中添加一定终浓度（本实施例中为 10mg/mL）的上述抗茶碱干扰剂后，能够将干扰偏差降低至可接受范围内（ $\pm 10\%$ 范围内），有效地降低了茶碱对检测结果的干扰。

10 实施例 2

在该实施例 2 中，按照与实施例 1 基本相同的方法对不同终浓度的抗茶碱干扰剂的抗茶碱干扰能力进行评估。

本实施例中，向胃泌素释放肽前体化学发光免疫分析试剂盒的标记物试剂中添加终浓度分别为 1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1 mg/mL、1mg/mL、5mg/mL、10mg/mL、20mg/mL、50mg/mL、80mg/mL、100mg/mL 的嘌呤，然后按照与实施例 1 相同的方法对胃泌素释放肽前体（ProGRP）浓度分别为（40.00 $\pm$ 10.00）pg/mL、（600.00 $\pm$ 120.00）pg/mL 的、含有 50 $\mu\text{g/mL}$ 茶碱干

扰或不含任何干扰的血清样本进行测定，并计算干扰偏差 B，结果如下表所示。

抗茶碱干扰剂 终浓度	低浓度样本干扰偏 差	高浓度样本 干扰偏差
0	-34.92%	-39.45%
1 μ g/mL	-28.11%	-38.29%
0.1 mg/mL	-9.33%	-9.40%
1mg/mL	-8.06%	-8.23%
5mg/mL	-7.92%	-7.50%
10mg/mL	-5.95%	-3.77%
20mg/mL	-4.06%	-2.19%
50mg/mL	-2.00%	-1.68%
80mg/mL	-1.09%	-0.88%
100mg/mL	1.58%	3.14%

从上表中结果可以看出，不同终浓度的嘌呤能够不同程度地降低、甚至消除免疫测定中由茶碱引起的干扰。随着胃泌素释放肽前体试剂盒中嘌呤的添加浓度依次升高，测定含 50 μ g/mL 茶碱浓度干扰样本的干扰偏差依次降低；当嘌呤的添加浓度升高至终浓度大约为 0.1mg/mL 时，能够将干扰偏差降低至可接受范围内 ($\pm 10\%$ 范围内)，即显著降低了茶碱对检测结果的干扰。随嘌呤的终浓度进一步增加，抗茶碱干扰的偏差绝对值进一步降低。而当嘌呤的终浓度达到 20mg/mL 之后，随嘌呤浓度的增大，对检测结果的偏差的影响相对减小。

权利要求书

1、一种在对样本的免疫检测中消除茶碱干扰的方法，所述方法包括：
在抗茶碱干扰剂的存在下进行免疫检测反应，其中所述抗茶碱干扰剂的终
浓度为 0.1 mg/mL~100 mg/mL，且选自由 6-巯基嘌呤、6-巯基鸟嘌呤、8-
5 杂氮鸟、次黄嘌呤、腺嘌呤、嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤、腺嘌呤核苷酸和腺苷
所组成的组中的至少一种。

2、根据权利要求 1 中所述的方法，其中，所述抗茶碱干扰剂的终浓度为
5 mg/mL~80 mg/mL，优选为 20mg/mL~80 mg/mL，更优选为 50 mg/mL~80
mg/mL。

10 3、根据权利要求 1 或 2 所述的方法，其中，所述抗茶碱干扰剂为选自
由 6-巯基嘌呤、腺嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤和腺苷所组成的组中的至少一种。

4、根据权利要求 1~3 中任一项所述的方法，其中，所述免疫检测为化
学发光免疫检测、电化学发光免疫检测或酶联免疫检测，优选为针对肿瘤
标志物的免疫检测，更优选为固相法免疫检测。

15 5、根据权利要求 1~4 所述的方法，其中，所述抗茶碱干扰剂以单独
的试剂形式、优选以样本处理液的形式加入免疫检测反应体系中，或者以
与一种或多种试剂组合的形式加入所述免疫检测反应体系中，优选所述一
种或多种试剂选自由底物、标记物、包被有免疫检测反应物的固相、样本
处理液、缓冲液、离子强度调节剂、表面活性剂、防腐剂和清洗剂中的一
20 种或多种。

6、根据权利要求 5 所述的方法，其中，所述抗茶碱干扰剂在加入底物
之前加入，优选在加入包被有免疫检测反应物的固相之前或加入标记物之
前加入，更优选在样本前处理步骤中加入。

7、根据权利要求 1~6 中任一项所述的方法，其中，所述样本为血液样
25 本，例如为血清样本或血浆样本。

8、一种免疫检测试剂盒，所述试剂盒包括终浓度为 0.1 mg/mL~100 mg/mL 的抗茶碱干扰剂，所述茶碱抗干扰剂选自自由 6-巯基嘌呤、6-巯基鸟嘌呤、8-杂氮鸟、次黄嘌呤、腺嘌呤、嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤、腺嘌呤核苷酸和腺苷所组成的组中的至少一种。

5 9、根据权利要求 8 所述的免疫检测试剂盒，其中，所述免疫检测试剂盒包括终浓度为 5 mg/mL~80 mg/mL、优选为 20mg/mL~80 mg/mL、更优选为 50 mg/mL~80 mg/mL 的抗茶碱干扰剂。

10、根据权利要求 8 或 9 所述的免疫检测试剂盒，其中，所述抗茶碱干扰剂为选自自由 6-巯基嘌呤、腺嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤和腺苷所组成的组中的至少一种。

11、根据权利要求 8~10 中任一项所述的免疫检测试剂盒，其中，所述免疫检测试剂盒是化学发光免疫检测试剂盒、电化学发光免疫检测试剂盒或酶联免疫检测试剂盒，优选是肿瘤标志物免疫检测试剂盒。

12、根据权利要求 8~11 中任一项所述的免疫检测试剂盒，其中，所述抗茶碱干扰剂以与所述试剂盒中的一种或多种试剂组合的形式或者以单独试剂的形式包含在所述免疫检测试剂盒中。

13、根据权利要求 11 或 12 所述的免疫检测试剂盒，其中，所述免疫检测试剂盒还包括底物、标记物和包被有免疫检测反应物的固相，以及可选的选自自由样本处理液、缓冲液、离子强度调节剂、表面活性剂和防腐剂所组成的组中的一种或多种。

14、根据权利要求 8~13 中任一项所述的免疫检测试剂盒，其中，所述免疫检测试剂盒用于对血液样本、例如血清样本或血浆样本进行检测。

15、一种抗茶碱干扰剂在对血液样本的免疫检测中消除茶碱干扰的用途，所述抗茶碱干扰剂选自自由 6-巯基嘌呤、6-巯基鸟嘌呤、8-杂氮鸟、次黄嘌呤、腺嘌呤、嘌呤、2,6,8-三氧嘌呤、腺嘌呤核苷酸和腺苷所组成的组中

的至少一种。

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/119617

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

G01N 33/53(2006.01)i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

G01N; C12Q

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CNABS, CNTXT, CNKI, VEN, WOTXT, EPTXT, USTXT, ISI, PUBMED, ELSEVIER: 免疫检测, 消除, 茶碱, 干扰, 6-巯基嘌呤, 6-巯基鸟嘌呤, 8-杂氮鸟, 次黄嘌呤, 腺嘌呤, 嘌呤, 2, 6, 8-三氧嘌呤, 腺嘌呤核苷酸, 腺苷, immunoassay, eliminate, theophylline, interference, 6-mercaptopurine, 6-mercaptopguanine, 8-azaguanine, hypoxanthine, adenine, purine, 2, 6, 8-trioxypurine, adenine nucleotide, adenosine

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CN 109100520 A (JINHUA STRONG BIOLOGICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) 28 December 2018 (2018-12-28) description, paragraphs 3-5	8-14
A	CN 109100520 A (JINHUA STRONG BIOLOGICAL TECHNOLOGY CO., LTD.) 28 December 2018 (2018-12-28) entire document	1-7, 15
A	CN 102253215 A (JINAN KINGMED CENTER FOR CLINICAL LABORATORY CO., LTD.) 23 November 2011 (2011-11-23) entire document	1-15
A	CN 104374905 A (BIOBASE BIODUSTRY (SHANDONG) CO., LTD.) 25 February 2015 (2015-02-25) entire document	1-15
A	WO 9532428 A1 (BECKMAN INSTRUMENTS INC.) 30 November 1995 (1995-11-30) entire document	1-15



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
 “E” earlier application or patent but published on or after the international filing date
 “L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
 “O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
 “P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
 “X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
 “Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
 “&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

20 August 2019

Date of mailing of the international search report

03 September 2019

Name and mailing address of the ISA/CN

State Intellectual Property Office of the P. R. China
 No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing
 100088
 China

Facsimile No. (86-10)62019451

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/CN2018/119617

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	JP 04256854 A (KONICA CORP.) 11 September 1992 (1992-09-11) entire document	1-15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.

PCT/CN2018/119617

Patent document cited in search report			Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)			Publication date (day/month/year)
CN	109100520	A	28 December 2018	None			
CN	102253215	A	23 November 2011	None			
CN	104374905	A	25 February 2015	CN	104374905	B	30 March 2016
WO	9532428	A1	30 November 1995	US	5747352	A	05 May 1998
				EP	0710361	A1	08 May 1996
				AU	2597995	A	18 December 1995
				CA	2166712	A1	30 November 1995
				JP	H09501505	A	10 February 1997
				AU	703171	B2	18 March 1999
JP	04256854	A	11 September 1992	JP	H04256854	A	11 September 1992

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2018/119617

A. 主题的分类 G01N 33/53 (2006.01) i 按照国际专利分类 (IPC) 或者同时按照国家分类和 IPC 两种分类																							
B. 检索领域 检索的最低限度文献 (标明分类系统和分类号) G01N; C12Q 包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献 在国际检索时查阅的电子数据库 (数据库的名称, 和使用的检索词 (如使用)) CNABS, CNTXT, CNKI, VEN, WOTXT, EPTXT, USTXT, ISI, PUBMED, ELSEVIER: 免疫检测, 消除, 茶碱, 干扰, 6-巯基嘌呤, 6-巯基鸟嘌呤, 8-杂氮鸟, 次黄嘌呤, 腺嘌呤, 嘌呤, 2,6,8-三氧嘌呤, 腺嘌呤核苷酸, 腺苷, immunoassay, eliminate, theophylline, interference, 6-mercaptopurine, 6-mercaptopurine, 8-azaguanine, hypoxanthine, adenine, purine, 2,6,8-trioxypurine, adenine nucleotide, adenosine																							
C. 相关文件 <table border="1"> <thead> <tr> <th>类 型*</th> <th>引用文件, 必要时, 指明相关段落</th> <th>相关的权利要求</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>X</td> <td>CN 109100520 A (金华市强盛生物科技有限公司) 2018年 12月 28日 (2018 - 12 - 28) 说明书第3-5段</td> <td>8-14</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 109100520 A (金华市强盛生物科技有限公司) 2018年 12月 28日 (2018 - 12 - 28) 全文</td> <td>1-7, 15</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 102253215 A (济南金域医学检验中心有限公司) 2011年 11月 23日 (2011 - 11 - 23) 全文</td> <td>1-15</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>CN 104374905 A (山东博科生物产业有限公司) 2015年 2月 25日 (2015 - 02 - 25) 全文</td> <td>1-15</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>WO 9532428 A1 (BECKMAN INSTRUMENTS INC) 1995年 11月 30日 (1995 - 11 - 30) 全文</td> <td>1-15</td> </tr> <tr> <td>A</td> <td>JP 04256854 A (KONICA CORP) 1992年 9月 11日 (1992 - 09 - 11) 全文</td> <td>1-15</td> </tr> </tbody> </table>			类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求	X	CN 109100520 A (金华市强盛生物科技有限公司) 2018年 12月 28日 (2018 - 12 - 28) 说明书第3-5段	8-14	A	CN 109100520 A (金华市强盛生物科技有限公司) 2018年 12月 28日 (2018 - 12 - 28) 全文	1-7, 15	A	CN 102253215 A (济南金域医学检验中心有限公司) 2011年 11月 23日 (2011 - 11 - 23) 全文	1-15	A	CN 104374905 A (山东博科生物产业有限公司) 2015年 2月 25日 (2015 - 02 - 25) 全文	1-15	A	WO 9532428 A1 (BECKMAN INSTRUMENTS INC) 1995年 11月 30日 (1995 - 11 - 30) 全文	1-15	A	JP 04256854 A (KONICA CORP) 1992年 9月 11日 (1992 - 09 - 11) 全文	1-15
类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求																					
X	CN 109100520 A (金华市强盛生物科技有限公司) 2018年 12月 28日 (2018 - 12 - 28) 说明书第3-5段	8-14																					
A	CN 109100520 A (金华市强盛生物科技有限公司) 2018年 12月 28日 (2018 - 12 - 28) 全文	1-7, 15																					
A	CN 102253215 A (济南金域医学检验中心有限公司) 2011年 11月 23日 (2011 - 11 - 23) 全文	1-15																					
A	CN 104374905 A (山东博科生物产业有限公司) 2015年 2月 25日 (2015 - 02 - 25) 全文	1-15																					
A	WO 9532428 A1 (BECKMAN INSTRUMENTS INC) 1995年 11月 30日 (1995 - 11 - 30) 全文	1-15																					
A	JP 04256854 A (KONICA CORP) 1992年 9月 11日 (1992 - 09 - 11) 全文	1-15																					
☐ 其余文件在C栏的续页中列出。 ☒ 见同族专利附件。																							
* 引用文件的具体类型: “A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件 “E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利 “L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的) “O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件 “P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件 “T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件 “X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性 “Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性 “&” 同族专利的文件																							
国际检索实际完成的日期 2019年 8月 20日		国际检索报告邮寄日期 2019年 9月 3日																					
ISA/CN的名称和邮寄地址 中国国家知识产权局 (ISA/CN) 中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088 传真号 (86-10)62019451		授权官员 胡晓佳 电话号码 (86-10)62085681																					

国际检索报告
关于同族专利的信息

国际申请号

PCT/CN2018/119617

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
CN	109100520	A	2018年 12月 28日	无			
CN	102253215	A	2011年 11月 23日	无			
CN	104374905	A	2015年 2月 25日	CN	104374905	B	2016年 3月 30日
WO	9532428	A1	1995年 11月 30日	US	5747352	A	1998年 5月 5日
				EP	0710361	A1	1996年 5月 8日
				AU	2597995	A	1995年 12月 18日
				CA	2166712	A1	1995年 11月 30日
				JP	H09501505	A	1997年 2月 10日
				AU	703171	B2	1999年 3月 18日
JP	04256854	A	1992年 9月 11日	JP	H04256854	A	1992年 9月 11日