



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103926400 A

(43) 申请公布日 2014. 07. 16

(21) 申请号 201410135589. 6

(22) 申请日 2014. 04. 06

(71) 申请人 邵超鹏

地址 518035 广东省深圳市福田区泥岗西路
梅岗街笔架山庄 7-603

(72) 发明人 邵超鹏

(51) Int. Cl.

G01N 33/558 (2006. 01)

G01N 33/532 (2006. 01)

G01N 33/544 (2006. 01)

权利要求书3页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

特异性测定 IgM 和 IgG 和 IgA 血型抗体的试纸条

(57) 摘要

本发明属于生物医药领域,公开了一种免疫层析试纸技术,特异性测定人血液或体液或组织液或分泌液中的 IgM 类和 IgG 类和 IgA 类血型抗体的阴性、阳性及效价。发明内容包括:(1) 样本滤膜和样品垫的制作;(2) 示踪物和示踪垫的制作;(3) 纤维膜检测区和质控区的制备;(4) 试纸条的标记;(5) 试纸条的组装;(6) 加样检测;(7) 结果判读。可用于测定 IgM 抗-A 和抗-B 抗体效价监测骨髓移植植入,测定个体特别是孕妇产前及新生儿免疫性 IgG 抗-A 和抗-B 抗体的效价,特异性测定 IgM 抗-A 和抗-B 抗体可准确判断血型的反定型,特异性测定分泌液中的 IgA 抗-A 和抗-B 抗体可无需采血而通过唾液等判断个体血型的反定型。

1. 一种特异性测定血型抗体及其效价的免疫层析试纸方法,其特征在于,可特异性测定 IgM 抗 -A 和抗 -B 血型抗体、特异性测定 IgG 抗 -A 和抗 -B 血型抗体、特异性测定 IgA 抗 -A 和抗 -B 血型抗体、特异性测定 IgM 抗 -A 和抗 -B 血型抗体的效价、特异性测定 IgG 抗 -A 和抗 -B 血型抗体的效价、特异性测定 IgA 抗 -A 和抗 -B 血型抗体的效价,其制作和检测方法包括:(1) 样本滤膜和样品垫的制作;(2) 示踪物和示踪垫的制作;(3) 纤维膜检测区和质控区的制备;(4) 试纸条的标记;(5) 试纸条的组装;(6) 加样检测;(7) 结果判读。

2. 根据权利要求书 1 所述的样本滤膜和样品垫,其特征在于,面积为 1 平方毫米至 1 平方米,样本滤膜包括 2 种,第一种为样本“有形成分滤膜”,主要是阻止样本中可能含有的红细胞及其它大体积的有形成分,滤膜的孔径小于 6 至 8 微米,材料为聚酯膜或玻纤膜或纤维膜,层数为 1 至 100 层,根据样本的不同和样品垫材料的不同,“有形成分滤膜”可以使用也可以不使用;第二种样本滤膜为样本“特异性成分滤膜”,滤膜为硝酸纤维膜或酸化纤维膜或纯纤维膜或尼龙膜,膜上包埋抗 - 人 IgM 抗体和(或)抗 - 人 IgG 抗体和(或)抗 - 人 IgA 抗体和(或)特异性抗体凝集素和(或)抗 -A 和(或)抗 -B 和(或)抗 -AB 抗体和(或)A 抗原和(或)B 抗原和(或)AB 抗原和(或)蛋白 A 和(或)蛋白 G,滤膜可以是 1 至 100 层,不同目的下,“特异性成分滤膜”可以使用也可以不使用;所述“有形成分滤膜”的功能可以由“特异性成分滤膜”实现;样品垫至少包括加样垫(8)和(或)有形成分滤膜(7)和(或)特异性成分滤膜(5)和(或)亲水层(6);所述加样垫的材料为聚酯膜或玻纤膜或滤血膜,当使用滤血膜时,样本“有形成分滤膜”的功能可由滤血膜替代;所述亲水层为亲水纸或亲水材料。

3. 根据权利要求书 1 所述的示踪物和示踪垫,其特征在于,示踪物包括示踪粒子结合物和示踪粒子,示踪粒子为胶体金或胶体硒或胶体铁或乳胶或明胶或磁珠或磁性颗粒或荧光素或荧光微球或量子点或纳米金或镧系元素或有机纳米粒子或纳米磁性材料或碳纳米管,示踪粒子结合物为抗 - 人 IgM 抗体和(或)抗 - 人 IgG 抗体和(或)抗 - 人 IgA 抗体和(或)特异性抗体凝集素和(或)抗 -A 和(或)抗 -B 和(或)抗 -AB 抗体和(或)A 抗原和(或)B 抗原和(或)AB 抗原和(或)蛋白 A 和(或)蛋白 G,示踪粒子结合物标记示踪粒子后为示踪物,聚酯膜或玻纤膜含有示踪物后为示踪垫,示踪垫的面积为 1 平方毫米至 1 平方米。

4. 根据权利要求书 1 所述的纤维膜检测区和质控区,其特征在于,1 个纤维膜的面积为 1 平方毫米至 1 平方米,1 个纤维膜检测区或称为检测线或 T 区或 T 线,包埋特异性血型抗体的检测物,纤维膜为硝酸纤维膜或酸化纤维膜或纯纤维膜或尼龙膜,血型抗体的检测物为 A 抗原或 B 抗原或 AB 抗原或抗 -A 或抗 -B 或抗 -AB 抗体或凝集素或蛋白或示踪物的反应物,在同 1 个纤维膜上,可设置 1 条至 100 条抗 -A 检测线和(或)1 条至 100 条抗 -B 检测线,每条检测线的宽度为 0.001 毫米至 50 厘米,长度为 0.001 毫米至 50 厘米;1 个纤维膜质控区或称质控线或 C 区或 C 线,包埋能与示踪物结合的抗 - 抗体或凝集素或蛋白;1 个纤维膜可同时设置检测区和质控区,当 1 个纤维膜包埋有 1 条或多条检测线时,质控线可设立也可以不设立;1 个纤维膜可设置 1 个特定抗体效价的检测线,也可以设置多个特定抗体效价的检测线;不同抗体效价的检测线可以设置在 1 个纤维膜上,也可以设置在多个不同的纤维膜上,此时,可以使用亲水材料使他们排列在一起。

5. 根据权利要求书 1 所述的试纸条的标记,其方法为,在试纸条支撑板上标记抗 -A 和(或)抗 -B 抗体效价 1:1 至 1:16384 之间的任意 1 个或多个,标记可以是代表所述抗体和所述抗体效价的其它数字或符号或文字,标记也可以直接标记在纤维膜上或标记在试纸条的

其它位置。

6. 根据权利要求书 1 所述的试纸条的组装,其特征在于,1 个或多个试纸条至少包括 1 个或多个支撑板(1)和(或)纤维膜(2)和(或)吸收垫(3)和(或)示踪垫(4)和(或)特异性成分滤膜(5)和(或)亲水层(6)和(或)有形成分滤膜(7)和(或)加样垫(8);试纸条的面积为 1 平方毫米至 1 平方米;每个试纸条可以单独使用,也可以 2 至 1000 个试纸条组装在一起使用,每个试纸条使用独立的样品垫单独加样检测,也可以多个试纸条共用 1 个样品垫一起加样检测;1 个或多个试纸条可有 1 个或多个支撑板(1);1 个或多个试纸条可包括 1 个或多个纤维膜(2),纤维膜可以裁剪使用,也可以通过阻断液体迁移的方式隔开区使用。

7. 根据权利要求书 1 和权利要求书 6 所述的加样检测,其方式为,将样品手工通过特定设备加样或通过自动化设备加样到权利要求书 1 和权利要求书 2 所述的样品垫上;所述样品可稀释使用或预处理使用或不稀释使用或不预处理使用,加样后放置数秒或数十分钟后,当如果设置了的质控线出现反应时,开始判读结果;所述样品包括人的血样、体液、分泌液、组织液、全血、血清、血浆、手指血、唾液、尿液;每次检测的加样量为 1 微升至 10000 微升。

8. 根据权利要求书 1 所述的结果判读,其内容包括,判读被测定样本的 IgM 抗 -A 和(或)IgM 抗 -B 抗体的阴性和阳性结果、IgM 抗 -A 和(或)IgM 抗 -B 抗体的效价或半定量值或定量值、IgG 抗 -A 和(或)IgG 抗 -B 抗体的阴性和阳性结果、IgG 抗 -A 和(或)IgG 抗 -B 抗体的效价或半定量值或定量值、IgA 抗 -A 和(或)IgG 抗 -B 抗体的阴性和阳性结果、IgA 抗 -A 和(或)IgG 抗 -B 抗体的效价或半定量值或定量值、ABO 血型的反定型;判读可肉眼根据颜色有无或深浅判读,也可使用商用或自制的试纸条定量检测仪器、激发光源、滤光片、CCD 扫描、光纤技术、光密度计、颜色识别及其它自动判读仪判读检测结果或由设备给出推断结果。

9. 根据权利要求书 2 所述的“特异性成分滤膜”(5),其全部功能或其部分功能可以由纤维膜(2)的检测区与加样垫(8)之间的纤维膜的一部分或其它材料的一部分包埋根据权利要求书 2 所述的包埋“特异性成分滤膜”的抗体或凝集素或物质来实现。

10. 根据权利要求书 2 和权利要求书 3 和权利要求书 4 所述的“样本滤膜”和“示踪物”和“检测区”和“质控区”的包埋物,可按照免疫层析技术的基本原理因使用不同的检测方式而进行改变,所述检测方式包括双抗体夹心法、双抗原夹心法、间接法、荧光标记法、竞争法、定量法、半定量法、捕获法和样品回流法;使用不同的检测方式,可以特异性测定 IgM 和(或)IgG 和(或)IgA 血型抗体,也可以测定 IgM 和(或)IgG 和(或)IgA 的混合血型抗体,可以特异性测定 IgM 和(或)IgG 和(或)IgA 血型抗体的效价,也可以测定 IgM 和(或)IgG 和(或)IgA 混合血型抗体的效价,可以用于定性分析血型抗体阴性或阳性而用于判断被测定样本的血型的反定型。

11. 根据权利要求书 1 和权利要求书 2 和权利要求书 3 和权利要求书 4 和权利要求书 5 和权利要求书 8 所述的血型 and 血型抗体,其特征在于,血型包括 ABO 血型的 A、B、O 和 AB 型,其中 A 型包括 A、A1 和 A2 型,AB 型包括 AB、A1B 和 A2B 型;所述血型抗体包括抗 -A 和抗 -B 抗体,其中抗 -A 抗体包括抗 -A 和抗 -A1 抗体;所述血型抗体的类别包括 IgG 和 IgM 和 IgA 抗体。

12. 根据权利要求书 2 和权利要求书 3 和权利要求书 4 所述的 A 抗原和 B 抗原和 AB 抗原,为提取的红细胞膜抗原或提取的体液血型物质或人工合成糖抗原或糖蛋白或糖脂,A 抗原包括 A 抗原和 A1 抗原。

特异性测定 IgM 和 IgG 和 IgA 血型抗体的试纸条

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域,公开了一种采用免疫层析试纸技术特异性测定 IgM 和 IgG 和 IgA 抗 -A 和抗 -B 血型抗体及其效价的方法,可用于测定 IgM 抗 -A 和抗 -B 抗体效价监测骨髓移植植入,测定个体特别是孕妇产前及新生儿免疫性 IgG 抗 -A 和抗 -B 抗体的效价,特异性测定 IgM 抗 -A 和抗 -B 抗体可准确判断血型的反定型,特异性测定分泌液中的 IgA 抗 -A 和抗 -B 抗体可无需采血通过唾液等判断个体的血型的反定型。

背景技术

[0002] 免疫层析试纸技术从上个世纪八十年代至今,已被广泛用于各种传染病因子、抗体、激素、酶、肿瘤标志物和药物的检测,该技术的基本要领和操作方法,已被广泛公开于国内外教科书、文献、网络等媒体或载体,其基本原理为,当样品加入到样品区后,延试纸条迁移至示踪垫时,样品中的被测因子与示踪物结合成“复合物”,并继续延试纸条迁移至检测区,被包埋在检测区的特异性结合物捕获,示踪物以颜色显示出条带,多余的或其它的“复合物”继续迁移至质控区,与包埋的特异性结合物形成质控条带,提示检测有效,最后根据检测区是否出现条带或条带颜色,判读被测因子阴性或阳性或半定量值或定量值。

[0003] 检索中国专利,有众多专利都采用免疫层析试纸技术建立特定的检测方法,这些专利所采用的免疫层析试纸技术基本一致,所不同的是,或者检测的样本不同、或者检测的因子不同、或者检测的目的不同,也或者检测因子和检测目的均相同,但检测的方式不同,如有的采用双抗原夹心法、有的使用双抗体夹心法等。

[0004] 关于 ABO 血型,其测定方法包括正定法和反定法,正定是测定红细胞上的 A、B 血型抗原,反定是测定血清中的抗 -A、抗 -B 血型抗体,血型抗体包括 IgM 类和 IgG 类和 IgA 类抗体。目前血型测定最广泛或者说一般都是采用凝集法,其原理是利用血型抗原和抗体反应引起肉眼可见的红细胞凝集来判断结果,正定时,使用 IgM 抗 -A 或抗 -B 试剂检测样本的红细胞抗原;反定时,使用已知 A 或 B 型的红细胞试剂测定样本血清中的 IgM 血型抗体。凝集法时间快、成本低、准确率极高,是血型鉴定的标准方法,但是,凝集法如果不事先对样本进行特殊处理,尚不能直接测定血型抗体,也不能特异性测定不同类别的血型抗体,更不能测定其抗体效价。

[0005] 中国专利中,有多个专利采用免疫层析试纸技术测定 ABO 血型,如发明专利申请号 02159979.3、实用新型专利申请号 200920041078.2、实用新型专利申请号 200920041080.X 和实用新型专利申请号 200720079592.6 是测定样本红细胞的血型抗原,即血型的正定型;上述实用新型专利 200720079592.6、以及发明专利申请号 200910158167 和申请号 201310394101.7 是测定样本血清中的血型抗体,即血型的反定型,而且均是使用“纤维膜载体进行抗原-抗体反应”来完成测定的。

[0006] 这几个测定血型抗体的专利中,发明专利申请号 201310394101.7 是采用“纤维膜载体+酶联免疫酶显色”方法,实用新型专利申请号 200720079592.6 和发明专利申请号 200910158167 则是采用“纤维膜载体+免疫层析示踪粒子显色”的方法,但它们均是测定人

血清中的混合血型抗体,并不能特异性检测 IgM 或 IgG 类或 IgA 类血型抗体,更不能测定抗体的效价。

[0007] 文献检索,目前国内外尚未见采用免疫层析试纸技术,特异性测定 IgM 或 IgG 类或 IgA 类血型抗体及其效价的报道,也未见现有商业试剂盒,亦未检索到相关的中国专利。

[0008] 本申请同样采用免疫层析试纸技术,但特异性测定 IgM 或 IgG 或 IgA 血型抗体及其效价。特异性测定 IgM 时,可用于血型反定,将与凝集法同步(凝集法测定 IgM 抗体),排除 IgG 等抗体的干扰,降低 HOOK 效应,可大大提高测定结果的准确性和稳定性;特异性测定 IgM 抗体效价时,可监测骨髓移植的植入是否成功,将是最简单和最直接的证明,也可用于输血医学的科学研究;特异性测定 IgG 血型抗体时,可测定 IgG 抗体的效价或半定量或定量值,可用于个体特别是孕妇及新生儿免疫性抗 -A 或抗 -B 抗体效价的测定,预防 ABO 血型新生儿溶血病(HDN);特异性测定分泌液中的 IgA 抗 -A 和抗 -B 抗体时,可通过唾液等分泌液来测定个体的血型的反定型,无需采集血液样本,也无需对唾液进行特殊处理,可使血型测定进入家庭自测或自我测定(DIY),而以往唾液测血型约 20% 的非分泌性个体无法检测。同时,本申请设计的免疫层析试纸技术,不需要对人的血液样本进行血清分离,不需要凝集法必须的离心机等设备,操作也相对简单,省时省力准确。

发明内容

[0009] 本发明涉及一种特异性测定血型抗体及其效价的免疫层析试纸方法,其特征在于,可特异性测定 IgM 抗 -A 和抗 -B 血型抗体、特异性测定 IgG 抗 -A 和抗 -B 血型抗体、特异性测定 IgA 抗 -A 和抗 -B 血型抗体、特异性测定 IgM 抗 -A 和抗 -B 血型抗体的效价、特异性测定 IgG 抗 -A 和抗 -B 血型抗体的效价、特异性测定 IgA 抗 -A 和抗 -B 血型抗体的效价。

[0010] 本发明的制作方法和检测方法的主要内容包括:(1)样本滤膜和样品垫的制作;(2)示踪物和示踪垫的制作;(3)纤维膜检测区和质控区的制备;(4)试纸条的标记;(5)试纸条的组装;(6)加样检测;(7)结果判读。具体制作方法和具体检测方法如下。

[0011] 1. 样本滤膜和样品垫的制作:样本滤膜和样品垫的面积为 1 平方毫米至 1 平方米,样本滤膜包括 2 种,第一种为样本“有形成分滤膜”,主要是阻止样本中可能含有的红细胞及其它大体积的有形成分,滤膜的孔径小于 6 至 8 微米,材料为聚酯膜或玻纤膜或纤维膜,层数为 1 至 100 层,根据样本的不同和样品垫材料的不同,“有形成分滤膜”可以使用也可以不使用;第二种样本滤膜为样本“特异性成分滤膜”,滤膜为硝酸纤维膜或酸化纤维膜或纯纤维膜或尼龙膜,膜上包埋抗 - 人 IgM 抗体和(或)抗 - 人 IgG 抗体和(或)抗 - 人 IgA 抗体和(或)特异性抗体凝集素和(或)抗 -A 和(或)抗 -B 和(或)抗 -AB 抗体和(或)A 抗原和(或)B 抗原和(或)AB 抗原和(或)蛋白 A 和(或)蛋白 G,滤膜可以是 1 至 100 层,不同目的下,“特异性成分滤膜”可以使用也可以不使用;所述“有形成分滤膜”的功能可以由“特异性成分滤膜”实现;样品垫至少包括加样垫(8)和(或)有形成分滤膜(7)和(或)特异性成分滤膜(5)和(或)亲水层(6);所述加样垫的材料为聚酯膜或玻纤膜或滤血膜,当使用滤血膜时,样本“有形成分滤膜”的功能可由滤血膜替代;所述亲水层为亲水纸或亲水材料。

[0012] 2. 示踪物和示踪垫的制作:示踪物包括示踪粒子结合物和示踪粒子,示踪粒子为胶体金或胶体硒或胶体铁或乳胶或明胶或磁珠或磁性颗粒或荧光素或荧光微球或量子点或纳米金或镧系元素或有机纳米粒子或纳米磁性材料或碳纳米管,示踪粒子结合物为

抗-人 IgM 抗体和(或)抗-人 IgG 抗体和(或)抗-人 IgA 抗体和(或)特异性抗体凝集素和(或)抗-A 和(或)抗-B 和(或)抗-AB 抗体和(或)A 抗原和(或)B 抗原和(或)AB 抗原和(或)蛋白 A 和(或)蛋白 G,示踪粒子结合物标记示踪粒子后为示踪物,聚酯膜或玻纤膜含有示踪物后为示踪垫,示踪垫的面积为 1 平方毫米至 1 平方米。

[0013] 3. 纤维膜检测区和质控区的制备:1 个纤维膜的面积为 1 平方毫米至 1 平方米,1 个纤维膜检测区或称为检测线或 T 区或 T 线,包埋特异性血型抗体的检测物,纤维膜为硝酸纤维膜或酸化纤维膜或纯纤维膜或尼龙膜,所述血型抗体的检测物为 A 抗原或 B 抗原或 AB 抗原或抗-A 或抗-B 或抗-AB 抗体或凝集素或蛋白或示踪物的反应物,在同 1 个纤维膜上,可设置 1 条至 100 条抗-A 检测线和(或)1 条至 100 条抗-B 检测线,每条检测线的宽度为 0.001 毫米至 50 厘米,长度为 0.001 毫米至 50 厘米,每条检测线的检测物的包被浓度为特定效价的血型抗体的结合力的饱和浓度;1 个纤维膜质控区或称质控线或 C 区或 C 线,包埋能与示踪物结合的抗-抗体或凝集素或蛋白;1 个纤维膜可同时设置检测区和质控区,当 1 个纤维膜包埋有 1 条或多条检测线时,质控线可设立也可以不设立;1 个纤维膜可设置 1 个特定抗体效价的检测线,也可以设置多个特定抗体效价的检测线;不同抗体效价的检测线可以设置在 1 个纤维膜上,也可以设置在多个不同的纤维膜上,此时,可以使用亲水材料使他们排列在一起。

[0014] 4. 试纸条的标记:其方法为在试纸条支撑板上标记抗-A 和(或)抗-B 抗体效价 1:1 至 1:16384 之间的任意 1 个或多个,标记可以是代表所述抗体和所述抗体效价的其它数字或符号或文字,标记也可以直接标记在纤维膜上或标记在试纸条的其它位置。

[0015] 5. 试纸条的组装:1 个或多个试纸条至少包括 1 个或多个支撑板(1)和(或)纤维膜(2)和(或)吸收垫(3)和(或)示踪垫(4)和(或)特异性成分滤膜(5)和(或)亲水层(6)和(或)有形成分滤膜(7)和(或)加样垫(8);试纸条的面积为 1 平方毫米至 1 平方米;每个试纸条可以单独使用,也可以 2 至 1000 个试纸条组装在一起使用,每个试纸条使用独立的样品垫单独加样检测,也可以多个试纸条共用 1 个样品垫一起加样检测;1 个或多个试纸条可有 1 个或多个支撑板(1);1 个或多个试纸条可包括 1 个或多个纤维膜(2),纤维膜可以裁剪使用,也可以通过阻断液体迁移的方式隔开分区使用。

[0016] 6. 加样检测:其方式为,将样品手工通过特定设备加样或通过自动化设备加样到权利要求书 1 和权利要求书 2 所述的样品垫上;所述样品可稀释使用或预处理使用或不稀释使用或不预处理使用,加样后放置数秒或数十分钟后,当如果设置了的质控线出现反应时,开始判读结果;所述样品包括人的血样、体液、分泌液、组织液、全血、血清、血浆、手指血、唾液、尿液;每次检测的加样量为 1 微升至 10000 微升。

[0017] 7. 结果判读:其内容包括,判读被测定样本的 IgM 抗-A 和(或)IgM 抗-B 抗体的阴性和阳性结果、IgM 抗-A 和(或)IgM 抗-B 抗体的效价或半定量值或定量值、IgG 抗-A 和(或)IgG 抗-B 抗体的阴性和阳性结果、IgG 抗-A 和(或)IgG 抗-B 抗体的效价或半定量值或定量值、IgA 抗-A 和(或)IgG 抗-B 抗体的阴性和阳性结果、IgA 抗-A 和(或)IgG 抗-B 抗体的效价或半定量值或定量值、ABO 血型的反定型;判读可肉眼根据颜色有无或深浅判读,也可使用商用或自制的试纸条定量检测仪器、激发光源、滤光片、CCD 扫描、光纤技术、光密度计、颜色识别及其它自动判读仪判读检测结果或由设备给出推断结果。下表举例几种可能的检测结果。

抗-A抗体:最高阳性效价	抗-B抗体:最高阳性效价	结果:抗体类别需根据不同的试验设计综合判断
1:64 阳性	1:512 阳性	抗-A效价 1:64;抗-B效价 1:512
1:512 阳性	1:64 阳性	抗-A效价 1:512;抗-B效价 1:64
1:512 阳性	1:512 阳性	抗-A效价 1:512;抗-B效价 1:512
1:64 阳性	1:64 阳性	抗-A效价 1:64;抗-B效价 1:64

[0018] 8. 所述的“特异性成分滤膜”(5),其全部功能或其部分功能可以由纤维膜(2)的检测区与加样垫(8)之间的纤维膜的一部分或其它材料的一部分包埋根据权利要求书2所述的包埋“特异性成分滤膜”的抗体或凝集素或物质来实现。

[0019] 9. 所述“样本滤膜”和“示踪物”和“检测区”和“质控区”的包埋物,可按照免疫层析技术的基本原理因使用不同的检测方式而进行改变,所述检测方式包括双抗体夹心法、双抗原夹心法、间接法、荧光标记法、竞争法、定量法、半定量法、捕获法和样品回流法;使用不同的检测方式,可以特异性测定 IgM 和(或) IgG 和(或) IgA 血型抗体,也可以测定 IgM 和(或) IgG 和(或) IgA 的混合血型抗体,可以特异性测定 IgM 和(或) IgG 和(或) IgA 血型抗体的效价,也可以测定 IgM 和(或) IgG 和(或) IgA 混合血型抗体的效价,可以用于定性分析血型抗体阴性或阳性而用于判断被测定样本的血型的反定型。

[0020] 10. 所述的血型 and 血型抗体,其特征在于,血型包括 ABO 血型的 A、B、O 和 AB 型,其中 A 型包括 A、A1 和 A2 型,AB 型包括 AB、A1B 和 A2B 型;所述血型抗体包括抗-A 和抗-B 抗体,其中抗-A 抗体包括抗-A 和抗-A1 抗体;所述血型抗体的类别包括 IgG 和 IgM 和 IgA 抗体。

[0021] 11. 所述的 A 抗原和 B 抗原和 AB 抗原,为提取的红细胞膜抗原或提取的体液血型物质或人工合成糖抗原或糖蛋白或糖脂,A 抗原包括 A 抗原和 A1 抗原。

附图说明

[0022] 图1为特异性测定血型抗体效价的试纸条的组成及抗原抗体包埋和检测示意图。

1. 支撑板;2. 纤维膜;3. 吸收垫;4. 示踪垫;5. 特异性成分滤膜;6. 亲水层;7. 有形成分滤膜;8. 加样垫;9. 待测因子;10. 示踪物;11. 待测因子反应物;12. 示踪物反应物;64、128、256、512 和 1024 分别为检测区,数字分别表示特异性抗体的效价 1:64、1:128、1:256、1:512 和 1:1024;C 表示质控区。

具体实施方式

[0023] 实施例1:一种测定孕妇血清或血浆抗-A 和抗-B 抗体效价的免疫层析试纸条方法,主要步骤如下。

[0024] 1. 样本滤膜的制作:包括1种“特异性成分滤膜”,选用硝酸纤维膜,饱和包埋抗-人 IgM 抗体。

[0025] 2. 示踪物和示踪垫的制作:示踪物包括示踪粒子结合物和示踪粒子,示踪粒子选用胶体金,示踪粒子结合物为羊抗-人 IgG 抗体,将示踪物分散吸附于玻璃纤维垫冻干成示踪垫。

[0026] 3. 纤维膜检测区和质控区的制备:纤维膜选用硝酸纤维膜,使用2个纤维膜,1个设检测线4条,分别包埋血型抗原A;另1个纤维膜同样设4条检测线,分别包埋血型抗原B;质控区均包埋抗-羊抗-人 IgG 抗体。

[0027] 4. 试纸条的标记 : 试纸条支撑板对应纤维膜检测线的位置分别标记 1:64、1:128、1:256、1:512。

[0028] 5. 试纸条的组装 : 分 2 个试纸条, 每个试纸条均按附图组装, 然后平行固定成为 1 个整体, 中间保持 1 毫米的距离, 2 个试纸条共用 1 个样品垫。

[0029] 6. 加样检测 : 孕妇血清或血浆, 使用生理盐水稀释 64 倍, 然后 1 滴或 50 微升加样在样品垫上。

[0030] 7. 待质控区出现可见条带时, 按下表判读结果(举例)。

抗 -A : 最高阳性效价	抗 -B : 最高阳性效价	结果 : IgG 类抗体效价	结果推断
1:64 阳性	1:512 阳性	抗 -A1:64, 抗 -B1:512	抗 -B 升高
1:512 阳性	1:512 阳性	抗 -A1:512, 抗 -B1:512	抗 -A, B 升高
1:512 阳性	1:64 阴性	抗 -A1:512, 抗 -B 小于 1:64	抗 -A 升高

[0031] 实施例 2 : 一种使用手指血测定 IgM 类 ABO 血型抗体的免疫层析试纸条测定方法, 主要步骤如下。

[0032] 1. 样本滤膜的制作 : 包括 2 种, 第一种为“有形成分滤膜”, 使用玻纤膜, 阻止样本中红细胞和白细胞进入检测区 ; 第二种为“特异性成分滤膜”, 选用硝酸纤维膜, 包埋蛋白 A。

[0033] 2. 示踪物和示踪垫的制作 : 示踪物包括示踪粒子结合物和示踪粒子, 示踪粒子选用胶体金, 示踪粒子结合物为鼠源 IgM 抗 -A 和抗 -B 抗体, 将示踪物分散吸附于玻璃纤维垫冻干成示踪垫。

[0034] 3. 纤维膜检测区和质控区的制备 : 纤维膜选用硝酸纤维膜, 检测线 2 条, 分别包埋血型抗原 A 和 B ; 质控线 1 条, 包埋抗 - 鼠 IgM 抗体。

[0035] 4. 试纸条的组装 : 试纸条按附图组装。

[0036] 5. 加样检测 : 样本使用手指血, 1 滴或 50 微升, 直接加样在样品垫上。

[0037] 6. 待质控区出现可见条带时, 按下表判读结果(举例)。

抗 -A	抗 -B	结果	反定型
阳性	阴性	有 IgM 抗 -A 抗体, 无 IgM 抗 -B 抗体	B 型
阳性	阳性	有 IgM 抗 -A 抗体和 IgM 抗 -B 抗体	O 型
阴性	阳性	无 IgM 抗 -A 抗体, 有 IgM 抗 -B 抗体	A 型
阴性	阴性	无 IgM 抗 -A 抗体和无 IgM 抗 -B 抗体	AB 型

[0038] 实施例 3 : 一种使用唾液测定 ABO 血型反定型的免疫层析试纸条方法, 主要步骤如下。

[0039] 1. 样本滤膜的制作 : 无需上述“有形成分滤膜”和“特异性成分滤膜”。

[0040] 2. 示踪物和示踪垫的制作 : 示踪物包括示踪粒子结合物和示踪粒子, 示踪粒子选用胶体金, 示踪粒子结合物为鼠抗 - 人 IgA 抗体, 将示踪物分散吸附于玻璃纤维垫冻干成示踪垫。

[0041] 3. 纤维膜检测区和质控区的制备 : 纤维膜选用硝酸纤维膜, 设 2 条检测线状分别包埋血型抗原 A 和 B, 质控区包埋抗 - 鼠抗 - 人 IgA 抗体。

[0042] 4. 试纸条的组装 : 试纸条按附图组装。

[0043] 5. 加样检测 : 唾液或稀释后的唾液 1 滴或 50 微升, 直接加样在样品区。

[0044] 6. 待质控区出现可见条带时, 按下表判读结果。

抗 -A	抗 -B	结果	反定型
阳性	阴性	有 IgA 抗 -A 抗体, 无 IgA 抗 -B 抗体	B 型
阳性	阳性	有 IgA 抗 -A 抗体和有 IgA 抗 -B 抗体	O 型
阴性	阳性	无 IgA 抗 -A 抗体, 有 IgA 抗 -B 抗体	A 型
阴性	阴性	无 IgA 抗 -A 抗体和无 IgA 抗 -B 抗体	AB 型

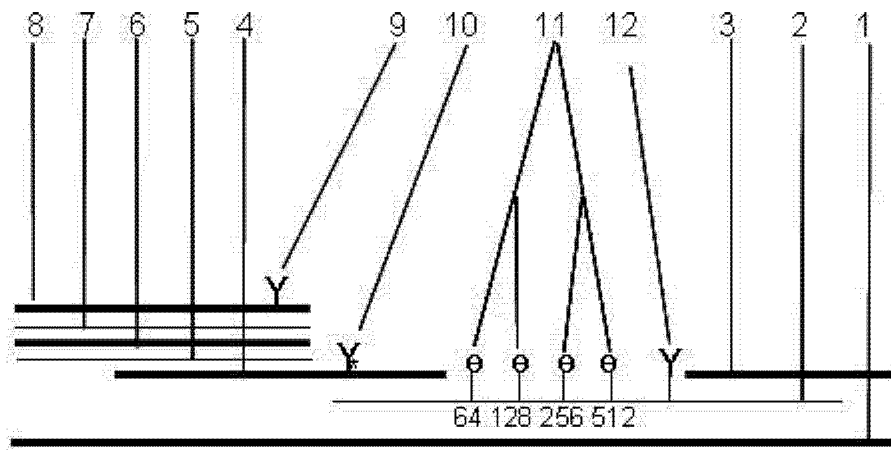


图 1

专利名称(译)	特异性测定IgM和IgG和IgA血型抗体的试纸条		
公开(公告)号	CN103926400A	公开(公告)日	2014-07-16
申请号	CN201410135589.6	申请日	2014-04-06
[标]申请(专利权)人(译)	邵超鹏		
申请(专利权)人(译)	邵超鹏		
当前申请(专利权)人(译)	邵超鹏		
[标]发明人	邵超鹏		
发明人	邵超鹏		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/532 G01N33/544		
CPC分类号	G01N33/80 G01N33/558		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于生物医药领域，公开了一种免疫层析试纸技术，特异性测定人血液或体液或组织液或分泌液中的IgM类和IgG类和IgA类血型抗体的阴性、阳性及效价。发明内容包括：（1）样本滤膜和样品垫的制作；（2）示踪物和示踪垫的制作；（3）纤维膜检测区和质控区的制备；（4）试纸条的标记；（5）试纸条的组装；（6）加样检测；（7）结果判读。可用于测定IgM抗-A和抗-B抗体效价监测骨髓移植植入，测定个体特别是孕妇产前及新生儿免疫性IgG抗-A和抗-B抗体的效价，特异性测定IgM抗-A和抗-B抗体可准确判断血型的反定型，特异性测定分泌液中的IgA抗-A和抗-B抗体可无需采血而通过唾液等判断个体血型的反定型。

