



## (12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 206038688 U

(45)授权公告日 2017.03.22

(21)申请号 201620179084.4

(22)申请日 2016.03.09

(73)专利权人 广州洋润生物科技有限公司

地址 510000 广东省广州市经济技术开发区银谊街6号102房

(72)发明人 彭立胜 杨开平 李明智

(74)专利代理机构 广州科粤专利商标代理有限公司 44001

代理人 刘明星

(51) Int. Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

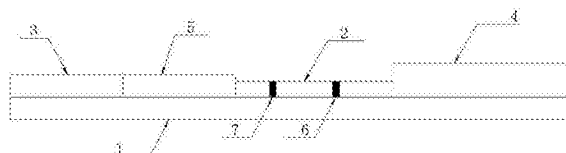
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

### (54)实用新型名称

一种免疫层析检测试纸条的荧光定量光谱检测系统

### (57)摘要

本实用新型公开了一种免疫层析检测试纸条的荧光定量光谱检测系统,包括荧光光源系统、检测系统、自动软件分析控制系统以及定量钙卫蛋白免疫层析检测试装置,定量钙卫蛋白免疫层析检测试装置包括定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条、塑料上壳和塑料下壳;定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条包括试纸条底衬、样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜及吸水纸,所述硝酸纤维素膜上设有包被羊抗兔IgG抗体的质控区和抗钙卫蛋白单克隆抗体的检测区两条相互平行的包被区;所述标记垫为内含有钙卫蛋白单克隆抗体和荧光胶乳的复合物以及羊抗兔IgG抗体和荧光胶乳的复合物等两种复合物的标记垫。本系统检测时间短、灵敏度高、精密度高,优化了整个试纸条的结构。



1. 一种免疫层析检测试纸条的荧光定量光谱检测系统,包括荧光光源系统、检测系统和用于将所述检测系统的信息进行定量并显示其结果的自动软件分析控制系统,其特征在于:还包括定量钙卫蛋白免疫层析检测试装置,

所述定量钙卫蛋白免疫层析检测试装置包括定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条、塑料上壳和塑料下壳;

所述定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条包括试纸条底衬、样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜及吸水纸,纸条底衬设于试纸条整体底端,所述样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜、吸水纸依次搭接并附着在底衬上;所述硝酸纤维素膜上设有包被羊抗兔IgG抗体的质控区和抗钙卫蛋白单克隆抗体的检测区两条相互平行的包被区,检测区靠近标记垫端,质控区靠近吸水纸端;所述标记垫为内含有钙卫蛋白单克隆抗体和荧光胶乳的复合物以及兔IgG抗体和荧光胶乳的复合物的标记垫;

所述定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条可拆卸地组装在由塑料上壳和塑料下壳扣合而成的塑料外壳中,塑料上壳设有加样孔和结果显示窗,加样孔对应于所述样品垫,结果显示窗对应于所述的质控区和检测区;

所述荧光光源系统设置有照射在所述定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条的检测区的单色激发光,检测区通过反应凝聚的荧光胶乳在所述单色激发光的作用下发射出可被所述检测系统捕获的荧光信号;

所述检测系统包括将所述荧光信号放大的光电倍增管、将经过光电倍增管放大后的荧光信号转换为电信号的固态检测器及将电信号输出的电信号读出电路,所述电信号读出电路与所述自动软件分析控制系统相连。

2. 根据权利要求1所述的免疫层析检测试纸条的荧光定量光谱检测系统,其特征在于:所述的硝酸纤维素膜为爬速在95s~140s/cm的硝酸纤维素膜。

## 一种免疫层析检测试纸条的荧光定量光谱检测系统

### 技术领域

[0001] 本实用新型涉及一种荧光定量光谱检测系统,尤其涉及一种测试免疫层析检测试纸条的荧光定量光谱检测系统。

### 背景技术

[0002] 钙卫蛋白又叫MRP8/14,L1,(p8,14),p34。构成钙卫蛋白异聚体的两种蛋白名称:

[0003] S100A8,钙粒蛋白A,MRP8(移动抑制因子相关蛋白8型),CP-10(小鼠);

[0004] S100A9,钙粒蛋白B,MRP14(移动抑制因子相关蛋白14型)。

[0005] 钙卫蛋白是一种钙结合蛋白,主要由嗜中性粒细胞和单核细胞分泌。粪便中的钙卫蛋白是肿瘤性和炎症性肠胃疾病的标志物。

[0006] 由于很难区分肠易激综合征和慢性肠炎疾病,因此要经常对病人进行结肠镜检查。而钙卫蛋白检测能够很好区分这两种疾病。粪便中钙卫蛋白水平与克罗恩病和溃疡性结肠炎的组织学、内窥镜检查具有显著一致性,也和肠炎疾病的检测金标准——粪便中铟-111标记的嗜中性粒细胞分泌物具有极高相关性。由于检测铟-111标记的嗜中性粒细胞的成本较高(住院治疗、同位素分析和处理)且病人暴露于放射性环境下,不建议对儿童和孕妇采用该方法。

[0007] 钙卫蛋白水平提高预示着相应疾病的复发,是一个比CRP,ESR,HB更好的标志物。将上述标志物与结肠直肠癌的标准便潜血检测比较后发现,粪便中钙卫蛋白检测在诊断上更具优势:如果粪便中钙卫蛋白水平很低,极大程度上说明未患有器官性肠道疾病。

[0008] 检测粪便中钙卫蛋白水平有助于:

[0009] 急性炎症的标志物

[0010] 评估肠胃炎症程度

[0011] 监测克罗恩病、溃疡性结肠炎或息肉摘除后病人状况

[0012] 进行粪便检查时区分肠炎疾病(克罗恩病、溃疡性结肠炎)和肠易激综合征

[0013] 目前钙卫蛋白检测方法有:

[0014] 1.金标法:该法具有快速简便,易观察的特点。但是灵敏度不高。

[0015] 2.酶联免疫吸附法:该测定方法灵敏度较高,适合专业人员批量检测,但比较复杂,需要专业人员操作,时间较长。

[0016] 3.荧光酶联免疫分析法该测定方法灵敏度较高,适合专业人员批量检测,但比较复杂,需要专业人员操作,时间较长。

[0017] 目前的测定方法为钙卫蛋白免疫层析试纸条(胶体金法),采用胶体金作为标记抗体的载体,来检测人粪便中的钙卫蛋白,该方法采用的是定性的方法,只能给出阴性和阳性判断,无法给出明确的定量结果,而且采用胶体金,灵敏度低。或者采用粪便钙卫蛋白检测试剂盒(酶联免疫法),采用酶标记抗体的载体,来检测人粪便中的钙卫蛋白,但是该方法操作比较复杂,需要专业人员操作,时间较长。或者采用粪便钙卫蛋白检测试剂盒(荧光酶联免疫法),采用酶标记抗体的载体,来检测人粪便中的钙卫蛋白,但是,该方法也是操作比较

复杂,需要专业人员操作,时间较长。目前市面上还没有钙卫蛋白定量免疫荧光层析快速检测测试纸条的产品。

### 实用新型内容

[0018] 本实用新型的目的是克服上述现有技术的不足,提供一种免疫层析检测测试纸条的荧光定量光谱检测系统,本系统能实现对粪便样品的定量检测,检测时间短,灵敏度高,精密度高。

[0019] 本实用新型是通过以下技术方案来实现的:一种免疫层析检测测试纸条的荧光定量光谱检测系统,包括荧光光源系统、检测系统、用于将所述检测系统的信息进行定量并显示其结果的自动软件分析控制系统以及定量钙卫蛋白免疫层析检测测试装置,

[0020] 所述定量钙卫蛋白免疫层析检测测试装置包括定量钙卫蛋白免疫层析检测测试纸条、塑料上壳和塑料下壳;

[0021] 所述定量钙卫蛋白免疫层析检测测试纸条包括试纸条底衬、样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜及吸水纸,纸条底衬设于试纸条整体底端,所述样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜、吸水纸依次搭接并附着在底衬上;所述硝酸纤维素膜上设有包被羊抗兔IgG抗体的质控区和抗钙卫蛋白单克隆抗体的检测区两条相互平行的包被区,检测区靠近标记垫端,质控区靠近吸水纸端;所述标记垫为内含有钙卫蛋白单克隆抗体和荧光胶乳的复合物以及兔IgG抗体和荧光胶乳的复合物的标记垫;

[0022] 所述定量钙卫蛋白免疫层析检测测试纸条可拆卸地组装在由塑料上壳和塑料下壳扣合而成的塑料外壳中,塑料上壳设有加样孔和结果显示窗,加样孔对应于所述样品垫,结果显示窗对应于所述的质控区和检测区;

[0023] 所述荧光光源系统设置有照射在所述定量钙卫蛋白免疫层析检测测试纸条的检测区的单色激发光,检测区通过反应凝聚的荧光胶乳在所述单色激发光的作用下发射出可被所述检测系统捕获的荧光信号;

[0024] 所述检测系统包括将所述荧光信号放大的光电倍增管、将经过光电倍增管放大后的荧光信号转换为电信号的固态检测器及将电信号输出的电信号读出电路,所述电信号读出电路与所述自动软件分析控制系统相连。

[0025] 所述的硝酸纤维素膜为爬速在95s~140s/cm的硝酸纤维素膜。

[0026] 本实用新型的优点是:1.检测时间短,只需15min。2.灵敏度高:采用荧光胶乳标记抗体,可使钙卫蛋白的灵敏度达到50ug/g。3.精密度高:优化了整个试纸条的结构,使用样品垫拼接标记垫的方法,改善了均一性。

### 附图说明

[0027] 图1为本实用新型实施例定量钙卫蛋白免疫层析检测测试纸条的结构示意图。

[0028] 图中附图标记含义:1、纸条底衬;2、硝酸纤维素膜;3、样品垫;4、吸水纸;5、标记垫;6、质控区;7、检测区。

### 具体实施方式

[0029] 下面结合附图和具体实施方式对本实用新型的内容做进一步详细说明。

[0030] 实施例

[0031] 参阅图1,为一种免疫层析检测试纸条的荧光定量光谱检测系统,包括荧光光源系统、检测系统、用于将所述检测系统的信息进行定量并显示其结果的自动软件分析控制系统以及定量钙卫蛋白免疫层析检测试装置,

[0032] 定量钙卫蛋白免疫层析检测试装置包括定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条、塑料上壳和塑料下壳;

[0033] 定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条包括试纸条底衬1、样品垫3、标记垫5、硝酸纤维素膜2及吸水纸4,纸条底衬1设于试纸条整体底端,样品垫3、标记垫5、硝酸纤维素膜2、吸水纸4依次搭接并附着在底衬上;硝酸纤维素膜2上设有包被羊抗兔IgG抗体的质控区6和抗钙卫蛋白单克隆抗体的检测区7两条相互平行的包被区,检测区7靠近标记垫5端,质控区6靠近吸水纸4端;标记垫5为内含有钙卫蛋白单克隆抗体和荧光胶乳的复合物以及兔IgG抗体和荧光胶乳的复合物的标记垫5;荧光胶乳的微球体的直径为 $0.1\mu\text{m}\sim 1\mu\text{m}$ ;

[0034] 定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条可拆卸地组装在由塑料上壳和塑料下壳扣合而成的塑料外壳中,塑料上壳设有加样孔和结果显示窗,加样孔对应于样品垫3,结果显示窗对应于的质控区6和检测区7;

[0035] 荧光光源系统设置有照射在定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条的检测区7的单色激发光,检测区7通过反应凝聚的荧光胶乳在单色激发光的作用下发射出可被检测系统捕获的荧光信号;荧光胶乳的颗粒受激发后发射的波长为 $180\text{nm}\sim 800\text{nm}$ ,

[0036] 检测系统包括将荧光信号放大的光电倍增管、将经过光电倍增管放大后的荧光信号转换为电信号的固态检测器及将电信号输出的电信号读出电路,电信号读出电路与自动软件分析控制系统相连。自动软件分析控制系统处理该电信号后,在显示屏上显示结果,实现对样本的精确定量。

[0037] 定量钙卫蛋白检测免疫层析试纸条的制备:

[0038] (1) 膜的选择:硝酸纤维素膜2为爬速在 $95\text{s}\sim 140\text{s}/\text{cm}$ 的硝酸纤维素膜2。

[0039] (2) 包被膜的选择:包被膜为:首先,制备质控区6和检测区7:用包被缓冲液稀释能与待检人粪便钙卫蛋白特异结合的抗钙卫蛋白单克隆抗体,并将稀释后的抗钙卫蛋白单克隆抗体划线于硝酸纤维素膜2从而形成检测区7;用包被缓冲液稀释能与待检人粪便钙卫蛋白特异结合的羊抗兔IgG抗体,并将稀释后的羊抗兔IgG抗体划线于硝酸纤维素膜2从而形成质控区6;检测区7与质控区6平行;然后,将包被好的硝酸纤维素膜2置于湿度小于30%的 $40\sim 50\text{C}$ 的烘箱,干燥 $24\sim 36\text{h}$ 后,于 $2\text{C}\sim 30\text{C}$ 密封干燥平衡3天以上形成包被膜,封袋备用。包被缓冲液含有5%蔗糖和 $0.05\text{M}$ 、 $\text{pH}7.4$ 的PBS,包被缓冲液用 $0.22\mu\text{m}$ 滤膜过滤,置于 $4\text{C}$ 备用,有效期30天。检测区7上用包被缓冲液稀释的能与待检人粪便钙卫蛋白特异结合的抗钙卫蛋白单克隆抗体的浓度为 $0.75\sim 1\text{mg}/\text{mL}$ ,划线于硝酸纤维素膜22上的用量为 $0.12\mu\text{L}/\text{mm}$ ;质控区6上用标记缓冲液稀释的能与待检人粪便钙卫蛋白特异结合的羊抗兔IgG抗体的浓度为 $0.75\sim 1\text{mg}/\text{mL}$ ,划线于硝酸纤维素膜22上的用量为 $0.12\mu\text{L}/\text{mm}$ 。

[0040] (3) 标记垫5为:首先,喷涂荧光标记的复合物:用标记缓冲液稀释钙卫蛋白单克隆抗体和荧光胶乳的复合物以及兔IgG抗体和荧光胶乳的复合物等两种复合物,并将稀释后的两种复合物按照稀释后的钙卫蛋白单克隆抗体和荧光胶乳的复合物:稀释后的兔IgG抗体和荧光胶乳的复合物为1:3的体积比例混合形成混合液,再使用喷金设备,按照 $0.06\text{MPa}$ 、

3.0uI/mm这些参数将混合液喷到玻璃纤维上;然后,将喷涂好的玻璃纤维置于湿度小于30%的40~50℃的烘箱,干燥24~36h后,于2℃~30℃密封干燥平衡3天以上形成标记垫5,封袋备用。标记垫5缓冲液含有5%蔗糖、1%BSA、0.5%Tween-20和0.05M、pH8.0的PBS,标记垫5缓冲液用0.22μm滤膜过滤,置于4℃备用,有效期30天。钙卫蛋白单克隆抗体和荧光胶乳的复合物以及兔IgG抗体和荧光胶乳的复合物等两种复合物为荧光标记的复合物,所述的荧光乳胶为共价活化的荧光胶乳,共价活化的方法为:超声波处理荧光胶乳微球体30秒后,调节荧光胶乳微球体浓度为 $1.0 \times 10^{12} \sim 1.0 \times 10^{13}$ 个/mL,10000~15000xg离心10分钟,离心后收集沉淀物用蒸馏水或者100mM pH6.0磷酸钠溶液溶解,并利用200W的超声波处理30秒;先加入50μL的100mg/mL的EDC,震荡混匀,再加入50μL的50mg/mL的N-羟基琥珀酰亚胺(SuIfo-NHS),震荡混匀;室温孵育30分钟后10000~15000xg、离心5~15分钟,沉淀用100mM、pH5.0~6.0的柠檬酸缓冲液溶解,放置在2~8℃条件下备用。荧光标记的复合物的制备方法为:将活化后的荧光胶乳用200W的超声波处理30秒后,按照50μg标记抗体/100μL荧光胶乳的比例加入标记抗体,所述的标记抗体为钙卫蛋白单克隆抗体或羊抗兔IgG抗体,混匀后室温搅拌反应2小时,离心洗涤3次,每次10000~15000xg、离心10分钟,沉淀用PBS-TBN溶解并用100W的超声波处理30秒,用PBS-TBN恢复离心前体积,形成钙卫蛋白单克隆抗体和荧光胶乳的复合物或兔IgG抗体和荧光胶乳的复合物,4℃保存备用。荧光乳胶标记的钙卫蛋白单克隆抗体的浓度为0.5~1mg/mL,在稀释时按10%~20%的稀释比进行稀释;步骤C中,荧光乳胶标记的羊抗兔IgG抗体的浓度为1~2mg/mL,在稀释时按5%~10%的稀释比进行稀释。

[0041] (4) 样品垫3为:首先,喷涂样品垫3处理液:使用喷金设备,按照0.06MPa、3.5uI/mm这些参数,将样品垫3处理液喷到玻璃纤维上;然后,将喷涂好的样品垫3置于湿度小于30%的40~50℃的烘箱,干燥24~36h后,于2℃~30℃密封干燥平衡3天以上形成样品垫3,封袋备用。样品垫3处理液含有1%BSA、0.5%Tween-20、0.05M、pH8.5的Tris、1%PVP和1%NaCl,样品垫3处理液置于4℃备用,有效期30天。

[0042] 本实用新型的有益效果:

[0043] 1. 定量检测:定量检测粪便中的钙卫蛋白。检测范围是50~2100ug/g。

[0044] 2. 检测时间:检测时间短,只需15min。

[0045] 3. 灵敏度:采用荧光胶乳标记抗体,可使钙卫蛋白的灵敏度达到50ug/g。

[0046] 4. 精密度:优化了整个试纸条的结构,使用样品垫3拼接标记垫5的方法,改善了均一性。

[0047] 上列详细说明是针对本实用新型可行实施例的具体说明,该实施例并非用以限制本实用新型的专利范围,凡未脱离本实用新型所为的等效实施或变更,均应包含于本案的专利范围中。

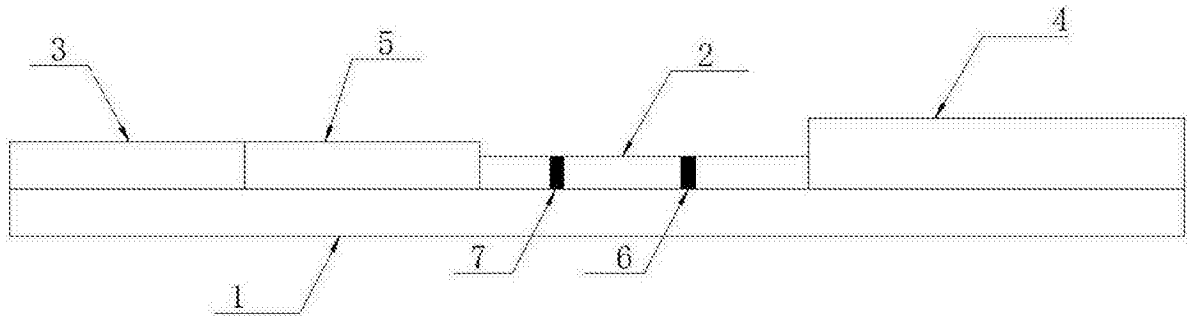


图1

专利名称(译)	一种免疫层析检测试纸条的荧光定量光谱检测系统		
公开(公告)号	<a href="#">CN206038688U</a>	公开(公告)日	2017-03-22
申请号	CN201620179084.4	申请日	2016-03-09
[标]申请(专利权)人(译)	广州洋润生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州洋润生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州洋润生物科技有限公司		
[标]发明人	彭立胜 杨开平 李明智		
发明人	彭立胜 杨开平 李明智		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/577		
代理人(译)	刘明星		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本实用新型公开了一种免疫层析检测试纸条的荧光定量光谱检测系统，包括荧光光源系统、检测系统、自动软件分析控制系统以及定量钙卫蛋白免疫层析检测试装置，定量钙卫蛋白免疫层析检测试装置包括定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条、塑料上壳和塑料下壳；定量钙卫蛋白免疫层析检测试纸条包括试纸条底衬、样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜及吸水纸，所述硝酸纤维素膜上设有包被羊抗兔IgG抗体的质控区和抗钙卫蛋白单克隆抗体的检测区两条相互平行的包被区；所述标记垫为内含有钙卫蛋白单克隆抗体和荧光胶乳的复合物以及羊抗兔IgG抗体和荧光胶乳的复合物等两种复合物的标记垫。本系统检测时间短、灵敏度高、精密度高，优化了整个试纸条的结构。

