



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108872581 A

(43)申请公布日 2018.11.23

(21)申请号 201810711749.5

(22)申请日 2018.07.03

(71)申请人 江苏恒易生物科技有限公司

地址 225300 江苏省泰州市医药高新区中
国医药城口泰路西侧、陆家路东侧G58
幢66号一层

(72)发明人 邱又彬 欧阳文 徐玉 王宇

(74)专利代理机构 北京华际知识产权代理有限
公司 11676

代理人 杨觅

(51)Int.Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

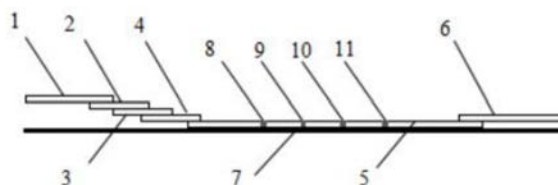
权利要求书2页 说明书11页 附图1页

(54)发明名称

同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒及制备方法

(57)摘要

本发明公开了同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒及制备方法,该试剂盒由免疫层析试纸条和塑料卡壳组成,免疫层析试纸条包括样品垫、标记垫、层析膜、吸水垫和底板,标记垫上包被有荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,层析膜上的第一检测线、第二检测线和第三检测线上分别包被有hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2;其制备方法为荧光物质的处理、抗体标记、标记垫的制备、层析膜的制备和组装即得试剂盒,本发明试剂盒实现了hs-CRP、Lp-PLA2和D-Dimer的联合检测,大大提高了检测及诊断效率,另外试剂盒结构简单,材料皆为市场上普及,可大大降低工业化生产成本。



1. 同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒,其特征在于:该试剂盒由免疫层析试纸条和塑料卡壳组成,所述免疫层析试纸条包括样品垫(1)、标记垫(12)、层析膜(5)、吸水垫(6)和底板(7),所述标记垫(12)上包被有荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,所述层析膜(5)上设有第一检测线(8)、第二检测线(9)、第三检测线(10)和质控线(11),所述第一检测线(8)、第二检测线(9)和第三检测线(10)上分别包被有hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2。

2. 根据权利要求1所述的同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒,其特征在於:所述标记垫(12)包括第一标记垫(2)、第二标记垫(3)和第三标记垫(4),所述第一标记垫(2)、第二标记垫(3)和第三标记垫(4)上分别包被有荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1。

3. 同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,其特征在於,该制备方法包括以下步骤:

(a) 荧光物质的处理:

将荧光物质溶解在pH为5.0-7.0的缓冲溶液中,待所述荧光物质充分溶解后,往其中加入活化剂1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC),混合均匀,再加入与所述EDC等量的活化剂N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),混合均匀,在避光、室温条件下孵育0.5-2h,然后用离心机离心5-20min,取出上清液,备用,用pH为5.0-7.0的缓冲溶液清洗沉淀并复溶,所述EDC和NHS的浓度均为1mg/mL;

(b) 抗体标记:

往步骤(a)所得的荧光溶液中加入hs-CRP单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1-3h,反应结束后用pH为6.0-8.0的缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0-2.0mg/mL,即得荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1,所述荧光溶液与hs-CRP单克隆抗体的摩尔比为2-20:1;

往步骤(a)所得的荧光溶液中加入Lp-PLA2单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1-3h,反应结束后用pH为6.0-8.0的缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0-2.0mg/mL,即得荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1,所述荧光溶液与Lp-PLA2单克隆抗体的摩尔比为2-20:1;

往步骤(a)所得的荧光溶液中加入D-Dimer单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1-3h,反应结束后用pH为6.0-8.0的缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0-2.0mg/mL,即得荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,所述荧光溶液与D-Dimer单克隆抗体的摩尔比为2-20:1;

(c) 标记垫(12)的制备:

将步骤(b)所制得的荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1均稀释成浓度为0.05-0.5mg/mL,然后按4:1:2的体积混合,以5-10 μ L/cm包被在标记垫(12)上,抽真空干燥10-24小时;

(d) 层析膜(5)的制备:

检测线的制备:将hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2均稀释至浓度为0.5-2mg/mL,以0.5-2 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的第一检测线(8)、第二检

测线(9)和第三检测线(10)处划线;

质控线(11)的制备:将浓度为1mg/mL的多克隆抗体以1 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的质控线(11)处划线;

将上述包被好的硝酸纤维素膜放入干燥箱内鼓风干燥20-24h,所述干燥箱内的温度为37 $^{\circ}$ C,干燥结束后,取出硝酸纤维素膜进行密封干燥保存;

(e) 组装:

在底板(7)上先粘贴步骤(d)所得的层析膜(5),然后在层析膜(5)靠第一检测线(8)的一端粘贴标记垫(12)和样品垫(1),在层析膜(5)靠质控线(11)的一端粘贴吸水垫(6),将粘贴好的底板(7)裁切成长为3.8-4.2mm的试纸条,然后装入塑料卡壳中,压紧后即为试剂盒,所述试剂盒在湿度低于30%的环境下进行组装。

4. 根据权利要求3所述的同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,其特征在于,所述标记垫(12)的制备:将步骤(b)所得到的荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1以5-10 μ L/cm分别包被在第一标记垫(2)、第二标记垫(3)和第三标记垫(4)上,然后抽真空干燥10-24h,所述荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1的浓度均为0.05-0.5mg/mL。

5. 根据权利要求4所述的同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,其特征在于,所述组装:在底板(7)上先粘贴步骤(d)所得的层析膜(5),然后在层析膜(5)靠第一检测线(8)的一端粘贴第三标记垫(4)、第二标记垫(3)、第一标记垫(2)和样品垫(1),在层析膜(5)靠质控线(11)的一端粘贴吸水垫(6),将粘贴好的底板(7)裁切成长为3.8-4.2mm的试纸条,然后装入塑料卡壳中,压紧后即为试剂盒,所述试剂盒在湿度低于30%的环境下进行组装。

6. 根据权利要求5所述的同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,其特征在于:所述荧光物质为荧光素cy5、荧光素cy7、羧基荧光素、2-甲氧基荧光素、罗丹明、藻红蛋白或量子点中的一种。

7. 根据权利要求6所述的同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,其特征在于:所述缓冲溶液为吗啉乙磺酸(MES)、磷酸(PB)或磷酸盐(PBS)中的一种。

8. 根据权利要求7所述的同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,其特征在于:所述标记垫(12)由玻璃纤维素膜或聚酯膜组成,所述样品垫(1)由玻璃纤维素膜或聚酯膜组成,所述层析膜(5)由硝酸纤维素膜组成。

同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒及制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及医学检验技术领域,具体是同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒及制备方法。

背景技术

[0002] 急性冠状动脉综合征(acute coronary syndrome,ACS)是临床常见的心血管病变,动脉粥样硬化是急性冠状动脉综合征的病理基础。研究发现,动脉粥样硬化的形成过程均有炎症介质参与,炎症反应与急性冠状动脉综合征的发生、发展及预后关系密切。

[0003] 超敏C反应蛋白(hs-CRP)是目前临床最常用的炎症反应标志物,是在机体受到感染或组织损伤时血浆中一些急剧上升的蛋白质,激活补体和加强吞噬细胞的吞噬而起调理作用,清除入侵机体的病原微生物和损伤、坏死、凋亡的组织细胞。hs-CRP由5个完全相同的非糖基化的亚单位以非共价键联结,其分子量为11.5-14万。它具有多种生物活性,被认为是最敏感的炎症指标之一。hs-CRP不仅对感染性疾病、妊娠期糖尿病的病程检测及预后判断评估、抗生素疗效等具有重要的临床应用前景,同时亦是心脑血管疾病最有力的预测因子之一,大量研究已经证实其与急性冠状动脉综合征的发生发展关系密切。

[0004] 脂蛋白相关磷脂酶A2(Lp-PLA2)是最近几年新发现的炎症标志物,是磷脂酶超家族中的亚型之一,也被称为是血小板活化因子乙酰水解酶,由血管内膜中的巨噬细胞、T细胞和肥大细胞分泌。Lp-PLA2是由441个氨基酸组成的蛋白质,其分子量为45KDa。动脉粥样硬化斑块中Lp-PLA2表达上调,并且在易损斑块纤维帽的巨噬细胞中强表达。Lp-PLA2可水解氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)中的氧化磷脂,生成脂类促炎物质,如溶血卵磷脂和氧化游离脂肪酸,进而产生多种致动脉粥样硬化作用,包括内皮细胞死亡和内皮功能异常,刺激粘附因子和细胞因子的产生。这些物质可通过趋化炎症细胞进一步产生自我强化的循环,生成更多促炎物质。与hs-CRP不同,Lp-PLA2是具有血管特异性的炎症标志物,研究发现,Lp-PLA2为冠心病和缺血性卒中的独立危险因素,与冠状动脉血管病变密切相关。

[0005] D-二聚体(D-Dimer)是纤维蛋白单体经活化因子XIII交联后,再经纤溶酶水解所产生的一种特异性降解产物,是一个特异性的纤溶过程标记物。D-二聚体来源于纤溶酶溶解的交联纤维蛋白凝块。D二聚体主要反映纤维蛋白溶解功能,是凝血活化及血栓形成的指标,研究发现,炎症反应与血栓形成关系密切。

[0006] 所以hs-CRP、Lp-PLA2和D-Dimer均是急性冠状动脉综合征患者良好的检测指标,在预测心肌损伤、冠状动脉血管病变及心功能方面具有重要的临床价值。但目前,临床上采用不同方法及试剂或试剂盒分别检测hs-CRP、Lp-PLA2和D-Dimer,还未有对其三个指标进行联合检测的试剂盒。这就需要医院投入较长检验时间、较多样本、较高检测成本及人力成本,但往往临床医生拿到检测报告时,已错过最佳的诊疗时机。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒及制备方法,为临床诊断分析提供一种灵敏度高、稳定性强、精确性好且方便快捷的试剂盒,可大大提高检测及诊断效率,以解决现有技术中的问题。

[0008] 为实现上述目的,本发明提供如下技术方案:

[0009] 技术方案一:同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒,该试剂盒由免疫层析试纸条和塑料卡壳组成,免疫层析试纸条包括样品垫、标记垫、层析膜、吸水垫和底板,标记垫上包被有荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,层析膜上设有第一检测线、第二检测线、第三检测线和质控线,第一检测线、第二检测线和第三检测线上分别包被有hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2,第一检测线、第二检测线和第三检测线的前后顺序可以根据实际需要进行调整。

[0010] 同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,该制备方法包括以下步骤:

[0011] (a) 荧光物质的处理:

[0012] 将荧光物质溶解在pH为5.0-7.0的缓冲溶液中,待荧光物质充分溶解后,往其中加入活化剂1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC),混合均匀,再加入与EDC等量的活化剂N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),混合均匀,在避光、室温条件下孵育0.5-2h,然后用离心机离心5-20min,取出上清液,备用,用pH为5.0-7.0的缓冲溶液清洗沉淀并复溶,EDC和NHS的浓度均为1mg/mL;

[0013] (b) 抗体标记:

[0014] 往步骤(a)所得的荧光溶液中加入hs-CRP单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1-3h,反应结束后用pH为6.0-8.0的缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0-2.0mg/mL,即得荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1,荧光溶液与hs-CRP单克隆抗体的摩尔比为2-20:1;

[0015] 往步骤(a)所得的荧光溶液中加入Lp-PLA2单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1-3h,反应结束后用pH为6.0-8.0的缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0-2.0mg/mL,即得荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1,荧光溶液与Lp-PLA2单克隆抗体的摩尔比为2-20:1;

[0016] 往步骤(a)所得的荧光溶液中加入D-Dimer单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1-3h,反应结束后用pH为6.0-8.0的缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0-2.0mg/mL,即得荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,荧光溶液与D-Dimer单克隆抗体的摩尔比为2-20:1;

[0017] (c) 标记垫的制备:

[0018] 将步骤(b)所制得的荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1均稀释成浓度为0.05-0.5mg/mL,然后按4:1:2的体积混合,以5-10 μ L/cm包被在标记垫上,抽真空干燥10-24小时;

[0019] (d) 层析膜的制备:

[0020] 检测线的制备:将hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2均稀释至浓度为0.5-2mg/mL,以0.5-2 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的第一检测线、第二检测线和第三检测线处划线;

[0021] 质控线的制备:将浓度为1mg/mL的多克隆抗体以1 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的质控线处划线;

[0022] 将上述包被好的硝酸纤维素膜放入干燥箱内鼓风干燥20-24h,干燥箱内的温度为37℃,干燥结束后,取出硝酸纤维素膜进行密封干燥保存;

[0023] (e) 组装:

[0024] 在底板上先粘贴步骤(d)所得的层析膜,然后在层析膜靠第一检测线的一端粘贴标记垫和样品垫,在层析膜靠质控线的一端粘贴吸水垫,将粘贴好的底板裁切成长为3.8-4.2mm的试纸条,然后装入塑料卡壳中,压紧后即为试剂盒,试剂盒在湿度低于30%的环境下进行组装。

[0025] 作为优化,荧光物质为荧光素cy5、荧光素cy7、羧基荧光素、2-甲氧基荧光素、罗丹明、藻红蛋白或量子点中的一种。

[0026] 作为优化,缓冲溶液为吗啉乙磺酸(MES)、磷酸(PB)或磷酸盐(PBS)中的一种。

[0027] 作为优化,标记垫由玻璃纤维素膜或聚酯膜组成,样品垫由玻璃纤维素膜或聚酯膜组成,层析膜由硝酸纤维素膜组成。

[0028] 技术方案二:同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒,该试剂盒由免疫层析试纸条和塑料卡壳组成,免疫层析试纸条包括样品垫、第一标记垫、第二标记垫、第三标记垫、层析膜、吸水垫和底板,第一标记垫、第二标记垫和第三标记垫上分别包被有荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,第一标记垫、第二标记垫和第三标记垫的前后顺序可以根据实际需要进行调整,层析膜上设有第一检测线、第二检测线、第三检测线和质控线,第一检测线、第二检测线和第三检测线上分别包被有hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2,第一检测线、第二检测线和第三检测线的前后顺序可以根据实际需要进行调整。

[0029] 同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,该制备方法包括以下步骤:

[0030] (a) 荧光物质的处理:

[0031] 将荧光物质溶解在pH为5.0-7.0的缓冲溶液中,待荧光物质充分溶解后,往其中加入活化剂1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC),混合均匀,再加入与EDC等量的活化剂N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),混合均匀,在避光、室温条件下孵育0.5-2h,然后用离心机离心5-20min,取出上清液,备用,用pH为5.0-7.0的缓冲溶液清洗沉淀并复溶,EDC和NHS的浓度均为1mg/mL;

[0032] (b) 抗体标记:

[0033] 往步骤(a)所得的荧光溶液中加入hs-CRP单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1-3h,反应结束后用pH为6.0-8.0的缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0-2.0mg/mL,即得荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1,荧光溶液与hs-CRP单克隆抗体的摩尔比为2-20:1;

[0034] 往步骤(a)所得的荧光溶液中加入Lp-PLA2单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1-3h,反应结束后用pH为6.0-8.0的缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0-2.0mg/mL,即得荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1,荧光溶液与Lp-PLA2单克隆抗体的摩尔比为2-20:1;

[0035] 往步骤(a)所得的荧光溶液中加入D-Dimer单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1-3h,反应结束后用pH为6.0-8.0的缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0-2.0mg/mL,即得荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,荧光溶液与D-Dimer单克隆抗体的摩尔比为2-20:1;

[0036] (c) 标记垫的制备:将步骤(b)所得到的荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1以5-10 μ L/cm分别包被在第一标记垫、第二标记垫和第三标记垫上,然后抽真空干燥10-24h,荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1的浓度均为0.05-0.5mg/mL;

[0037] (d) 层析膜的制备:

[0038] 检测线的制备:将hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2均稀释至浓度为0.5-2mg/mL,以0.5-2 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的第一检测线、第二检测线和第三检测线处划线;

[0039] 质控线的制备:将浓度为1mg/mL的多克隆抗体以1 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的质控线处划线;

[0040] 将上述包被好的硝酸纤维素膜放入干燥箱内鼓风干燥20-24h,干燥箱内的温度为37 $^{\circ}$ C,干燥结束后,取出硝酸纤维素膜进行密封干燥保存;

[0041] (e) 组装:

[0042] 在底板上先粘贴步骤(d)所得的层析膜,然后在层析膜靠第一检测线的一端粘贴第三标记垫、第二标记垫、第一标记垫和样品垫,在层析膜靠质控线的一端粘贴吸水垫,将粘贴好的底板裁切成长为3.8-4.2mm的试纸条,然后装入塑料卡壳中,压紧后即为试剂盒,试剂盒在湿度低于30%的环境下进行组装。

[0043] 作为优化,荧光物质为荧光素cy5、荧光素cy7、羧基荧光素、2-甲氧基荧光素、罗丹明、藻红蛋白或量子点中的一种。

[0044] 作为优化,缓冲溶液为吗啉乙磺酸(MES)、磷酸(PB)或磷酸盐(PBS)中的一种。

[0045] 作为优化,标记垫由玻璃纤维素膜或聚酯膜组成,样品垫由玻璃纤维素膜或聚酯膜组成,层析膜由硝酸纤维素膜组成。

[0046] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:本发明同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的检测原理是将抗体和各类不同波长的荧光物质共价结合,利用荧光物质在激发光作用下可以发射荧光的原理,当测样时,样品中的抗原与标记垫上包被的荧光标记抗体结合形成复合物,该复合物在层析作用下向前移动,并被包被在层析膜检测线上的另一抗体捕获,形成双抗体夹心复合物,检测线上积聚的双抗体夹心复合物受到光源激发释放出相应波长的发射荧光,通过荧光检测仪器将捕捉到的荧光信号转化为数字信号,检测线上积聚的双抗体夹心复合物越多,荧光信号越强,从而可用于hs-CRP、Lp-PLA2和D-Dimer的准确定量的快速检测。本发明试剂盒实现了hs-CRP、Lp-PLA2和D-Dimer的联合检测,大大提高了检测及诊断效率,另外试剂盒结构简单,材料皆为市场上普及,可大大降低工业化生产成本。

附图说明

[0047] 图1为本发明技术方案一试剂盒中免疫层析试纸条的结构示意图；

[0048] 图2为本发明技术方案二试剂盒中免疫层析试纸条的结构示意图。

[0049] 图中：1-样品垫、2-第一标记垫、3-第二标记垫、4-第三标记垫、5-层析膜、6-吸水垫、7-底板、8-第一检测线、9-第二检测线、10-第三检测线、11-质控线、12-标记垫。

具体实施方式

[0050] 下面将结合本发明实施例中的附图，对本发明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发明一部分实施例，而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例，本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例，都属于本发明保护的范围。

[0051] 实施例1：

[0052] 同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法，该制备方法包括以下步骤：

[0053] (a) 荧光物质的处理：

[0054] 将羧基荧光素溶解在pH为5.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液中，待羧基荧光素充分溶解后，往其中加入活化剂1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC)，混合均匀，再加入与EDC等量的活化剂N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)，混合均匀，在避光、室温条件下孵育0.5h，然后用离心机离心5min，取出上清液，备用，用pH为5.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液清洗沉淀并复溶，EDC和NHS的浓度均为1mg/mL；

[0055] (b) 抗体标记：

[0056] 往步骤(a)所得的羧基荧光素溶液中加入hs-CRP单克隆抗体，混合均匀，不断搅拌，室温下反应1h，反应结束后用pH为6.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液进行透析，然后调节浓度为1.0mg/mL，即得荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1，羧基荧光素溶液与hs-CRP单克隆抗体的摩尔比为2:1；

[0057] 往步骤(a)所得的羧基荧光素溶液中加入Lp-PLA2单克隆抗体，混合均匀，不断搅拌，室温下反应1h，反应结束后用pH为6.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液进行透析，然后调节浓度为1.0mg/mL，即得荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1，羧基荧光素溶液与Lp-PLA2单克隆抗体的摩尔比为2:1；

[0058] 往步骤(a)所得的羧基荧光素溶液中加入D-Dimer单克隆抗体，混合均匀，不断搅拌，室温下反应1h，反应结束后用pH为6.0-8.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液进行透析，然后调节浓度为1.0-2.0mg/mL，即得荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1，羧基荧光素溶液与D-Dimer单克隆抗体的摩尔比为2:1；

[0059] (c) 标记垫的制备：

[0060] 将步骤(b)所制得的荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1均稀释成浓度为0.05mg/mL，然后按4:1:2的体积混合，以5μL/cm包被在标记垫(12)上，抽真空干燥10小时；

[0061] (d) 层析膜(5)的制备：

[0062] 检测线的制备：将hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2均稀释至浓度为0.5mg/mL，以0.5μL/cm在硝酸纤维素膜上的第一检测线(8)、第二检

测线(9)和第三检测线(10)处划线;

[0063] 质控线的制备:将浓度为1mg/mL的多克隆抗体以1 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的质控线(11)处划线;

[0064] 将上述包被好的硝酸纤维素膜放入干燥箱内鼓风干燥20h,干燥箱内的温度为37 $^{\circ}$ C,干燥结束后,取出硝酸纤维素膜进行密封干燥保存;

[0065] (e) 组装:

[0066] 在底板(7)上先粘贴步骤(d)所得的层析膜(5),然后在层析膜(5)靠第一检测线(8)的一端粘贴标记垫(12)和样品垫(1),在层析膜(5)靠质控线(11)的一端粘贴吸水垫(6),将粘贴好的底板(7)裁切成长为3.8-4.2mm的试纸条,然后装入塑料卡壳中,压紧后即成为试剂盒,试剂盒在湿度低于30%的环境下进行组装。

[0067] 实施例2:

[0068] 同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,该制备方法包括以下步骤:

[0069] (a) 荧光物质的处理:

[0070] 将羧基荧光素溶解在pH为5.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液中,待羧基荧光素充分溶解后,往其中加入活化剂1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC),混合均匀,再加入与EDC等量的活化剂N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),混合均匀,在避光、室温条件下孵育0.5h,然后用离心机离心5min,取出上清液,备用,用pH为5.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液清洗沉淀并复溶,EDC和NHS的浓度均为1mg/mL;

[0071] (b) 抗体标记:

[0072] 往步骤(a)所得的羧基荧光素溶液中加入hs-CRP单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1h,反应结束后用pH为6.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0mg/mL,即得荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1,羧基荧光素溶液与hs-CRP单克隆抗体的摩尔比为2:1;

[0073] 往步骤(a)所得的羧基荧光素溶液中加入Lp-PLA2单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1h,反应结束后用pH为6.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0mg/mL,即得荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1,羧基荧光素溶液与Lp-PLA2单克隆抗体的摩尔比为2:1;

[0074] 往步骤(a)所得的羧基荧光素溶液中加入D-Dimer单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应1h,反应结束后用pH为6.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0mg/mL,即得荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,羧基荧光素溶液与D-Dimer单克隆抗体的摩尔比为2:1;

[0075] (c) 标记垫的制备:将步骤(b)所得到的荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1以5 μ L/cm分别包被在第一标记垫(2)、第二标记垫(3)和第三标记垫(4)上,然后抽真空干燥10h,荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1的浓度均为0.05mg/mL;

[0076] (d) 层析膜(5)的制备:

[0077] 检测线的制备:将hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆

抗体-2均稀释至浓度为0.5mg/ml,以0.5μL/cm在硝酸纤维素膜上的第一检测线(8)、第二检测线(9)和第三检测线(10)处划线;

[0078] 质控线(11)的制备:将浓度为1mg/mL的多克隆抗体以1μL/cm在硝酸纤维素膜上的质控线(11)处划线;

[0079] 将上述包被好的硝酸纤维素膜放入干燥箱内鼓风干燥20h,干燥箱内的温度为37℃,干燥结束后,取出硝酸纤维素膜进行密封干燥保存;

[0080] (e) 组装:

[0081] 在底板(7)上先粘贴步骤(d)所得的层析膜(5),然后在层析膜(5)靠第一检测线(8)的一端粘贴第三标记垫(4)、第二标记垫(3)、第一标记垫(2)和样品垫(1),在层析膜(5)靠质控线(11)的一端粘贴吸水垫(6),将粘贴好的底板(7)裁切成长为3.8mm的试纸条,然后装入塑料卡壳中,压紧后即为试剂盒,试剂盒在湿度低于30%的环境下进行组装。

[0082] 实施例3:

[0083] 同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,该制备方法包括以下步骤:

[0084] (a) 荧光物质的处理:

[0085] 将荧光素cy5溶解在pH为6.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液中,待荧光素cy5充分溶解后,往其中加入活化剂1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC),混合均匀,再加入与EDC等量的活化剂N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),混合均匀,在避光、室温条件下孵育1.5h,然后用离心机离心15min,取出上清液,备用,用pH为6.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液清洗沉淀并复溶,EDC和NHS的浓度均为1mg/mL;

[0086] (b) 抗体标记:

[0087] 往步骤(a)所得的荧光素cy5溶液中加入hs-CRP单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应2h,反应结束后用pH为7.2的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0mg/mL,即得荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1,荧光素cy5溶液与hs-CRP单克隆抗体的摩尔比为15:1;

[0088] 往步骤(a)所得的荧光素cy5溶液中加入Lp-PLA2单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应2h,反应结束后用pH为7.2的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0mg/mL,即得荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1,荧光素cy5溶液与Lp-PLA2单克隆抗体的摩尔比为15:1;

[0089] 往步骤(a)所得的荧光素cy5溶液中加入D-Dimer单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应2h,反应结束后用pH为7.2的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0mg/mL,即得荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,荧光素cy5溶液与D-Dimer单克隆抗体的摩尔比为15:1;

[0090] (c) 标记垫的制备:

[0091] 将步骤(b)所制得的荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1均稀释成浓度为0.5mg/mL,然后按4:1:2的体积混合,以5μL/cm包被在标记垫(12)上,抽真空干燥24小时;

[0092] (d) 层析膜(5)的制备:

[0093] 检测线的制备:将hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆

抗体-2均稀释至浓度为1mg/ml,以1 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的第一检测线(8)、第二检测线(9)和第三检测线(10)处划线;

[0094] 质控线(11)的制备:将浓度为1mg/mL的多克隆抗体以1 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的质控线(11)处划线;

[0095] 将上述包被好的硝酸纤维素膜放入干燥箱内鼓风干燥20-24h,干燥箱内的温度为37℃,干燥结束后,取出硝酸纤维素膜进行密封干燥保存;

[0096] (e) 组装:

[0097] 在底板(7)上先粘贴步骤(d)所得的层析膜(5),然后在层析膜(5)靠第一检测线(8)的一端粘贴标记垫(12)和样品垫(1),在层析膜(5)靠质控线(11)的一端粘贴吸水垫(6),将粘贴好的底板(7)裁切成长为4.0mm的试纸条,然后装入塑料卡壳中,压紧后即为试剂盒,试剂盒在湿度低于30%的环境下进行组装。

[0098] 实施例4:

[0099] 同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,该制备方法包括以下步骤:

[0100] (a) 荧光物质的处理:

[0101] 将荧光素cy5溶解在pH为6.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液中,待荧光素cy5充分溶解后,往其中加入活化剂1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC),混合均匀,再加入与EDC等量的活化剂N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),混合均匀,在避光、室温条件下孵育1.5h,然后用离心机离心15min,取出上清液,备用,用pH为6.0的吗啉乙磺酸(MES)缓冲溶液清洗沉淀并复溶,EDC和NHS的浓度均为1mg/mL;

[0102] (b) 抗体标记:

[0103] 往步骤(a)所得的荧光素cy5溶液中加入hs-CRP单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应2h,反应结束后用pH为7.2的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0mg/mL,即得荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1,荧光素cy5溶液与hs-CRP单克隆抗体的摩尔比为15:1;

[0104] 往步骤(a)所得的荧光素cy5溶液中加入Lp-PLA2单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应2h,反应结束后用pH为7.2的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0mg/mL,即得荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1,荧光素cy5溶液与Lp-PLA2单克隆抗体的摩尔比为15:1;

[0105] 往步骤(a)所得的荧光素cy5溶液中加入D-Dimer单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应2h,反应结束后用pH为7.2的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为1.0mg/mL,即得荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,荧光素cy5溶液与D-Dimer单克隆抗体的摩尔比为15:1;

[0106] (c) 标记垫的制备:将步骤(b)所得到的荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1以7 μ L/cm分别包被在第一标记垫(2)、第二标记垫(3)和第三标记垫(4)上,然后抽真空干燥24h,荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1的浓度均为0.4mg/mL;

[0107] (d) 层析膜(5)的制备:

[0108] 检测线的制备:将hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2均稀释至浓度为1mg/ml,以1.1 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的第一检测线(8)、第二检测线(9)和第三检测线(10)处划线;

[0109] 质控线(11)的制备:将浓度为1mg/mL的多克隆抗体以1 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的质控线(11)处划线;

[0110] 将上述包被好的硝酸纤维素膜放入干燥箱内鼓风干燥24h,干燥箱内的温度为37 $^{\circ}$ C,干燥结束后,取出硝酸纤维素膜进行密封干燥保存;

[0111] (e) 组装:

[0112] 在底板(7)上先粘贴步骤(d)所得的层析膜(5),然后在层析膜(5)靠第一检测线(8)的一端粘贴第三标记垫(4)、第二标记垫(3)、第一标记垫(2)和样品垫(1),在层析膜(5)靠质控线(11)的一端粘贴吸水垫(6),将粘贴好的底板(7)裁切成长为4.0mm的试纸条,然后装入塑料卡壳中,压紧后即为试剂盒,试剂盒在湿度低于30%的环境下进行组装。

[0113] 实施例5:

[0114] 同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,该制备方法包括以下步骤:

[0115] (a) 荧光物质的处理:

[0116] 将量子点溶解在pH为7.0的磷酸(PB)缓冲溶液中,待量子点充分溶解后,往其中加入活化剂1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC),混合均匀,再加入与EDC等量的活化剂N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),混合均匀,在避光、室温条件下孵育2h,然后用离心机离心20min,取出上清液,备用,用pH为7.0的磷酸(PB)缓冲溶液清洗沉淀并复溶,EDC和NHS的浓度均为1mg/mL;

[0117] (b) 抗体标记:

[0118] 往步骤(a)所得的量子点溶液中加入hs-CRP单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应3h,反应结束后用pH为8.0的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为2.0mg/mL,即得荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1,量子点溶液与hs-CRP单克隆抗体的摩尔比为20:1;

[0119] 往步骤(a)所得的量子点溶液中加入Lp-PLA2单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应3h,反应结束后用pH为8.0的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为2.0mg/mL,即得荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1,量子点溶液与Lp-PLA2单克隆抗体的摩尔比为20:1;

[0120] 往步骤(a)所得的量子点溶液中加入D-Dimer单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应3h,反应结束后用pH为8.0的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为2.0mg/mL,即得荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,量子点溶液与D-Dimer单克隆抗体的摩尔比为20:1;

[0121] (c) 标记垫的制备:

[0122] 将步骤(b)所制得的荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1均稀释成浓度为0.5mg/mL,然后按4:1:2的体积混合,以10 μ L/cm包被在标记垫(12)上,抽真空干燥24小时;

[0123] (d) 层析膜(5)的制备:

[0124] 检测线的制备:将hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2均稀释至浓度为2mg/ml,以2 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的第一检测线(8)、第二检测线(9)和第三检测线(10)处划线;

[0125] 质控线(11)的制备:将浓度为1mg/mL的多克隆抗体以1 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的质控线(11)处划线;

[0126] 将上述包被好的硝酸纤维素膜放入干燥箱内鼓风干燥24h,干燥箱内的温度为37 $^{\circ}$ C,干燥结束后,取出硝酸纤维素膜进行密封干燥保存;

[0127] (e) 组装:

[0128] 在底板(7)上先粘贴步骤(d)所得的层析膜(5),然后在层析膜(5)靠第一检测线(8)的一端粘贴标记垫(12)和样品垫(1),在层析膜(5)靠质控线(11)的一端粘贴吸水垫(6),将粘贴好的底板(7)裁切成长为4.2mm的试纸条,然后装入塑料卡壳中,压紧后即成为试剂盒,试剂盒在湿度低于30%的环境下进行组装。

[0129] 实施例6:

[0130] 同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒的制备方法,该制备方法包括以下步骤:

[0131] (a) 荧光物质的处理:

[0132] 将量子点溶解在pH为7.0的磷酸(PB)缓冲溶液中,待量子点充分溶解后,往其中加入活化剂1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(EDC),混合均匀,再加入与EDC等量的活化剂N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),混合均匀,在避光、室温条件下孵育2h,然后用离心机离心20min,取出上清液,备用,用pH为7.0的磷酸(PB)缓冲溶液清洗沉淀并复溶,EDC和NHS的浓度均为1mg/mL;

[0133] (b) 抗体标记:

[0134] 往步骤(a)所得的量子点溶液中加入hs-CRP单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应3h,反应结束后用pH为8.0的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为2.0mg/mL,即得荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1,量子点溶液与hs-CRP单克隆抗体的摩尔比为20:1;

[0135] 往步骤(a)所得的量子点溶液中加入Lp-PLA2单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应3h,反应结束后用pH为8.0的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为2.0mg/mL,即得荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1,量子点溶液与Lp-PLA2单克隆抗体的摩尔比为20:1;

[0136] 往步骤(a)所得的量子点溶液中加入D-Dimer单克隆抗体,混合均匀,不断搅拌,室温下反应3h,反应结束后用pH为8.0的磷酸盐(PBS)缓冲溶液进行透析,然后调节浓度为2.0mg/mL,即得荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1,荧光溶液与D-Dimer单克隆抗体的摩尔比为20:1;

[0137] (c) 标记垫的制备:将步骤(b)所得到的荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1以10 μ L/cm分别包被在第一标记垫(2)、第二标记垫(3)和第三标记垫(4)上,然后抽真空干燥24h,荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1的浓度均为0.5mg/mL;

[0138] (d) 层析膜 (5) 的制备:

[0139] 检测线的制备: 将hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2均稀释至浓度为2mg/ml, 以2 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的第一检测线 (8)、第二检测线 (9) 和第三检测线 (10) 处划线;

[0140] 质控线 (11) 的制备: 将浓度为1mg/mL的多克隆抗体以1 μ L/cm在硝酸纤维素膜上的质控线 (11) 处划线;

[0141] 将上述包被好的硝酸纤维素膜放入干燥箱内鼓风干燥24h, 干燥箱内的温度为37 $^{\circ}$ C, 干燥结束后, 取出硝酸纤维素膜进行密封干燥保存;

[0142] (e) 组装:

[0143] 在底板 (7) 上先粘贴步骤 (d) 所得的层析膜 (5), 然后在层析膜 (5) 靠第一检测线 (8) 的一端粘贴第三标记垫 (4)、第二标记垫 (3)、第一标记垫 (2) 和样品垫 (1), 在层析膜 (5) 靠质控线 (11) 的一端粘贴吸水垫 (6), 将粘贴好的底板 (7) 裁切成长为4.2mm的试纸条, 然后装入塑料卡壳中, 压紧后即为试剂盒, 试剂盒在湿度低于30%的环境下进行组装。

[0144] 对于本领域技术人员而言, 显然本发明不限于上述示范性实施例的细节, 而且在不背离本发明的精神或基本特征的情况下, 能够以其他的具体形式实现本发明。因此, 无论从哪一点来看, 均应将实施例看作是示范性的, 而且是非限制性的, 本发明的范围由所附权利要求而不是上述说明限定, 因此旨在将落在权利要求的等同要件的含义和范围内的所有变化囊括在本发明内。不应将权利要求中的任何附图标记视为限制所涉及的权利要求。

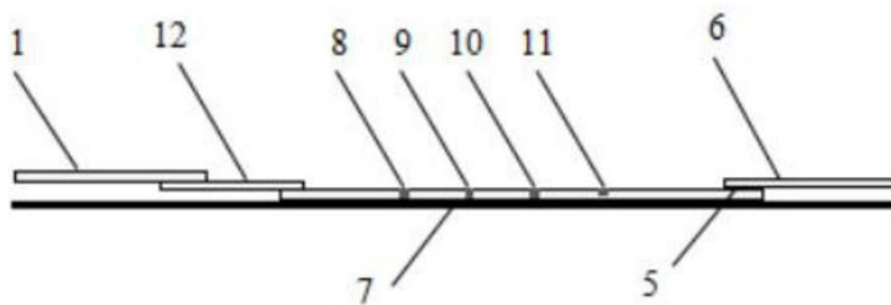


图1

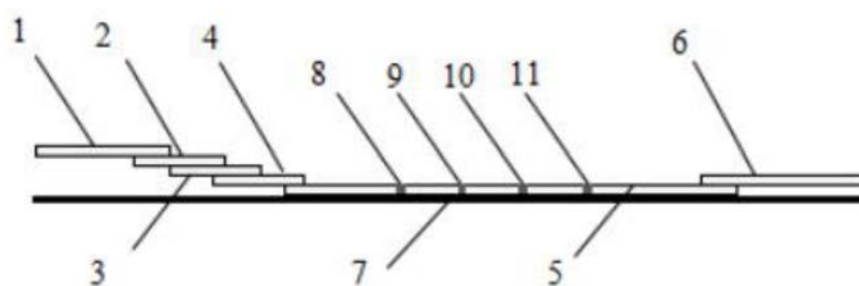


图2

专利名称(译)	同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒及制备方法		
公开(公告)号	CN108872581A	公开(公告)日	2018-11-23
申请号	CN201810711749.5	申请日	2018-07-03
[标]发明人	邱又彬 欧阳文 徐玉 王宇		
发明人	邱又彬 欧阳文 徐玉 王宇		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/558 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/577 G01N33/533 G01N33/558		
代理人(译)	杨觅		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了同时检测超敏CRP、脂蛋白磷脂酶A2和D-二聚体的荧光免疫层析试剂盒及制备方法，该试剂盒由免疫层析试纸条和塑料卡壳组成，免疫层析试纸条包括样品垫、标记垫、层析膜、吸水垫和底板，标记垫上包被有荧光标记hs-CRP单克隆抗体-1、荧光标记Lp-PLA2单克隆抗体-1和荧光标记D-Dimer单克隆抗体-1，层析膜上的第一检测线、第二检测线和第三检测线上分别包被有hs-CRP单克隆抗体-2、Lp-PLA2单克隆抗体-2和D-Dimer单克隆抗体-2；其制备方法为荧光物质的处理、抗体标记、标记垫的制备、层析膜的制备和组装即得试剂盒，本发明试剂盒实现了hs-CRP、Lp-PLA2和D-Dimer的联合检测，大大提高了检测及诊断效率，另外试剂盒结构简单，材料皆为市场上普及，可大大降低工业化生产成本。

