



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105891510 A

(43)申请公布日 2016.08.24

(21)申请号 201610288747.0

G01N 33/58(2006.01)

(22)申请日 2016.05.04

G01N 33/543(2006.01)

(66)本国优先权数据

201610217265.6 2016.04.08 CN

(71)申请人 四川新健康成生物股份有限公司

地址 610000 四川省成都市高新区天欣路
101号

(72)发明人 代敏 林源 谭韬

(74)专利代理机构 成都行之专利代理事务所

(普通合伙) 51220

代理人 廖慧敏

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

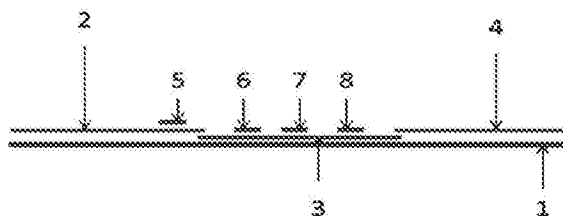
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

一种CRP免疫荧光层析检测用包被膜、试纸条及其使用方法

(57)摘要

本发明公开了一种CRP免疫荧光层析检测用包被膜、试纸条及其使用方法,解决了现有CRP免疫层析技术不能同时兼顾宽线性范围检测和高灵敏度检测的问题。本发明公开了一种包被膜,利用该包被膜组成的试纸条,以及利用该试纸条进行检测的方法;该包被膜包括膜本体,其特征在于,所述膜本体上沿着层析方向顺次包被有CRP单克隆抗体A、CRP单克隆抗体B和CRP抗原。本发明能够在不稀释CRP检测样品的前提下,保证CRP检测同时兼有高灵敏度和宽线性范围,避免了传统检测方法需要对临床样本进行几百倍稀释引起取样偏差。



1. 一种CRP免疫荧光层析检测用包被膜,包括膜本体,其特征在于,所述膜本体上沿着层析方向顺次包被有CRP单克隆抗体A、CRP单克隆抗体B和CRP抗原。

2. 根据权利要求1所述的一种CRP免疫荧光层析检测用包被膜,其特征在于,所述CRP单克隆抗体A、CRP单克隆抗体B和CRP抗原的包被浓度为0.1mg/mL~10mg/mL。

3. 根据权利要求1所述的一种CRP免疫荧光层析检测用包被膜,其特征在于,所述CRP单克隆抗体A与CRP单克隆抗体B之间的距离设置为4~8mm,CRP单克隆抗体B和CRP抗原之间的距离设置为4~8mm。

4. 根据权利要求3所述的一种CRP免疫荧光层析检测用包被膜,其特征在于,所述CRP单克隆抗体A与CRP单克隆抗体B之间、以及CRP单克隆抗体B和CRP抗原之间的距离均设置为5mm。

5. 一种CRP免疫荧光层析检测用试纸条,其特征在于,包括如权利要求1~4任一项所述的包被膜,端部搭接在包被膜一端上方的样品释放垫;该样品释放垫上邻近包被膜一端的位置处固定有荧光微球抗体。

6. 根据权利要求5所述的一种CRP免疫荧光层析检测用试纸条,其特征在于,所述荧光微球抗体由稀土荧光微球或有机荧光微球通过共价键与CRP单克隆抗体A偶联制得。

7. 根据权利要求6所述的一种CRP免疫荧光层析检测用试纸条,其特征在于,所述稀土荧光微球或有机荧光微球的粒径为0.05 μ m~0.5 μ m。

8. 根据权利要求5所述的一种CRP免疫荧光层析检测用试纸条,其特征在于,还包括底板和吸水纸,所述吸水纸的端部搭接在包被膜上远离样品释放垫的一端,所述样品释放垫、包被膜和吸水纸均固定在底板上。

9. 根据权利要求5所述的一种CRP免疫荧光层析检测用试纸条,其特征在于,所述荧光微球抗体与CRP单克隆抗体A之间的距离为4~8mm。

10. 如权利要求5~9任一项所述的一种CRP免疫荧光层析检测用试纸条的使用方法,其特征在于,包括:

(1)将CRP样本直接加样于样品释放垫上,CRP样本中的CRP抗原与样品释放垫上的荧光微球抗体形成复合物;

(2)复合物层析到包被膜上,该复合物与包被膜上的CRP单克隆抗体A和CRP单克隆抗体B形成双抗体夹心复合物进而被固定和累积;

(3)CRP样本中未与荧光微球抗体结合的游离CRP抗原或复合物会继续层析,移动至包被膜上的CRP抗原位置处,该游离CRP抗原或复合物与该处的CRP抗原形成竞争反应;

(4)通过荧光检测仪对包被膜进行荧光激发,根据荧光强度即可转换为CRP检测浓度。

一种CRP免疫荧光层析检测用包被膜、试纸条及其使用方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种包被膜以及该包被膜组成的试纸条,具体涉及一种CRP免疫荧光层析用包被膜和试纸条,并提供了该试纸条的使用方法。

背景技术

[0002] 免疫荧光层析法是利用免疫标记物在固相载体上进行层析分离,实现检测物含量的定量检测。因该方法操作简单、便携、快速而被广泛接受。但该方法涉及的材料范围广,制备过程复杂,其检测结果的重复性差、线性范围窄、灵敏度高而受到限制。

[0003] CRP检测根据检测灵敏度的差异,分为超敏CRP(检测线性为0.1~10mg/L)和常规CRP(检测线性为3~200mg/L),可分别用于心血管疾病风险预测和判断细菌或病毒感染的指标,当CRP高于250mg/L时,则可提示为广泛坏死性胰腺炎,因此实现CRP宽线性范围检测是十分必要的。

[0004] C反应蛋白(C-reactive protein;CRP)为特殊的五聚体结构,其表面含有较多相同的抗原决定簇,检测时仅需要 10^{-3} 浓度分析物即可达到较高的反应强度,因此其检测线性范围窄是最大的局限性。现有技术检测时均采用对CRP样本进行高度稀释的方式,以实现其宽线性检测。但此检测方法因样本加样量太少,使得检测的准确性得到了限制,另外也限制了高灵敏度项目的联合检测。

发明内容

[0005] 本发明所要解决的技术问题是:现有CRP免疫层析技术不能同时兼顾宽线性范围检测和高灵敏度检测的问题,提供解决上述问题的一种CRP免疫荧光层析检测试纸条,并公开了该试纸条的制备方法。

[0006] 本发明通过下述技术方案实现:

[0007] 一种CRP免疫荧光层析检测用包被膜,包括膜本体,所述膜本体上沿着层析方向依次包被有CRP单克隆抗体A、CRP单克隆抗体B和CRP抗原。

[0008] 现有技术中通常是采用稀释样本的方法进行检测,然后通过换算后获得较宽的线性检测范围的目的,该方法虽然获得了较宽的线性范围,但样本高度稀释会影响取样偏差,进而影响检测的准确度,同时不利于高灵敏度项目的检测。

[0009] 本发明结合了双抗体夹心法和竞争法两种检测原理,通过本发明的设置,有效弥补线性范围检测不足的问题,极大地提高CRP免疫荧光层析检测试纸条的线性范围,有效避免了传统检测方法需要对临床样本进行几百倍稀释引起取样偏差,为多项高灵敏度检测项目(如PCT、心肌四项等)同时检测提供了条件,保证了检测结果良好的重复性和准确性。

[0010] 优选地,所述CRP单克隆抗体A、CRP单克隆抗体B和CRP抗原的包被浓度为0.1mg/mL~10mg/mL。在该浓度范围下有效使线性检测范围最宽,检测精度最高,可达到0.1mg/L的高灵敏度,同时能使检测的线性范围达到0.1~300mg/L。

[0011] 优选地,CRP单克隆抗体A、CRP单克隆抗体B和CRP抗原之间的包被浓度均优选为

0.1mg/mL~10mg/mL;更加优选地,所述CRP单克隆抗体A、CRP单克隆抗体B和CRP抗原的包被浓度为0.5mg/mL~5mg/mL。在该浓度下能极大地增加CRP免疫荧光层析检测试纸条的线性范围。

[0012] CRP单克隆抗体A、CRP单克隆抗体B和CRP抗原之间的距离过远或过近均会对检测结果会影响,对已经被捕获的荧光微球复合物而言,线间距离的不同将产生不同程度的回流或竞争性结合,从而影响检测结果。为了能达到最准确的检测效果,本发明将CRP单克隆抗体A与CRP单克隆抗体B之间,CRP单克隆抗体B和CRP抗原之间的距离设置为4~8mm,最优设置为5mm。在该距离条件下,能使检测准确率、精确度达到最优。

[0013] 一种CRP免疫荧光层析用试纸条,包括上述包被膜,端部搭接在包被膜一端上方的样品释放垫;该样品释放垫上邻近包被膜一端的位置处固定有荧光微球抗体。

[0014] 现有技术中的一种全程定量检测C反应蛋白的免疫层析试纸条,其由样品垫、标记垫、包被膜、吸水纸顺次搭接粘贴在底板上构成。而本发明在常规免疫荧光层析试纸条基础上,将样品垫与标记垫结合为一体,因而本发明的样品释放垫同时兼具现有技术中样品垫和标记垫的双重功能,其样品垫和标记垫一体化材质的设置有效提高样品检测的精密性。同时,该样品垫和标记垫一体化材质的设置还有效提高了材料的可控性,简化了试纸条的制备工艺,成本更加低廉,效果更加显著。

[0015] 进一步,所述荧光微球抗体由稀土荧光微球或有机荧光微球通过共价键与CRP单克隆抗体A偶联制得。

[0016] 更进一步地,所述稀土荧光微球或有机荧光微球的粒径为0.05 μ m~0.5 μ m。

[0017] 本发明的试纸条还包括底板和吸水纸,所述吸水纸的端部搭接在包被膜上远离样品释放垫的一端,所述样品释放垫、包被膜和吸水纸均固定在底板上。

[0018] 优选地,所述荧光微球抗体与CRP单克隆抗体A之间的距离为4~8mm。荧光微球抗体与CRP单克隆抗体A之间的距离不同将影响荧光微球复合物层析至CRP单克隆抗体A位置处所需时间,从而影响检测结果。

[0019] 利用上述试纸条进行CRP免疫荧光层析检测的具体使用方法如下:

[0020] (1)将CRP样本直接加样于样品释放垫上,CRP样本中的CRP抗原与样品释放垫上的荧光微球抗体形成复合物;

[0021] (2)复合物层析到包被膜上,该复合物与包被膜上的CRP单克隆抗体A和CRP单克隆抗体B形成双抗体夹心复合物进而被固定和累积;

[0022] (3)CRP样本中未与荧光微球抗体结合的游离CRP抗原或复合物会继续层析,移动至包被膜上的CRP抗原位置处,该游离CRP抗原或复合物与该处的CRP抗原形成竞争反应;

[0023] (4)通过荧光检测仪对包被膜进行荧光激发,根据荧光强度即可转换为CRP检测浓度。

[0024] 本发明与现有技术相比,具有如下的优点和有益效果:

[0025] 1、本发明能够在不稀释CRP检测样品的前提下,保证CRP检测同时兼有高灵敏度(0.1mg/L)和宽线性范围(0.5-300mg/L),避免了传统检测方法需要对临床样本进行几百倍稀释引起的取样偏差;

[0026] 2、通过本发明的设置,能明显提高检测结果的精密性。

附图说明

[0027] 此处所说明的附图用来提供对本发明实施例的进一步理解,构成本申请的一部分,并不构成对本发明实施例的限定。在附图中:

[0028] 图1为本发明试纸条的结构示意图。

[0029] 附图中标记及对应的零部件名称:

[0030] 1-底板,2-样品释放垫,3-包被膜,4-吸水纸,5-荧光微球抗体,6-CRP单克隆抗体A,7-CRP单克隆抗体B,8-CRP抗原。

具体实施方式

[0031] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚明白,下面结合实施例,对本发明作进一步的详细说明,本发明的示意性实施方式及其说明仅用于解释本发明,并不作为对本发明的限定。

[0032] 实施例

[0033] 一种CRP免疫荧光层析检测试纸条,如图1所示,包括底板、样品释放垫、包被膜和吸水纸,所述包被膜上沿着层析方向顺次包被有CRP单克隆抗体A、CRP单克隆抗体B和CRP抗原。所述样品释放垫和吸水纸分别搭接在包被膜两端的上方,且样品释放垫上邻近包被膜的一端固定有荧光微球抗体。

[0034] 所述荧光微球抗体由粒径为 $0.05\mu\text{m}\sim 0.5\mu\text{m}$ 稀土荧光微球或有机荧光微球,通过共价键与CRP单克隆抗体A偶联制得。所述CRP单克隆抗体A与CRP单克隆抗体B之间、以及CRP单克隆抗体B和CRP抗原之间的距离均设置为5mm。所述CRP单克隆抗体A与荧光微球抗体之间的距离设置为7mm。

[0035] 本发明中CRP单克隆抗体A是指一种CRP单克隆抗体,该CRP单克隆抗体B是指与CRP单克隆抗体A不同的另一种CRP单克隆抗体。

[0036] 本实施例中选用不同包被浓度的CRP单克隆抗体A、CRP单克隆抗体B和CRP抗原固定在包被膜上,包被浓度的单位为mg/mL,具体设置如表1所示。

[0037] 表1

[0038]

	实例1	实例2	实例3	实例4	实例5	实例6	实例7
CRP单克隆抗体A	0.6	3	5	0.4	8	0.05	11
CRP单克隆抗体B	0.6	5	2	0.3	6	0.05	11
CRP抗原	3	5	1	6	0.2	11	0.05

[0039] 采用上述表1中的不同包被浓度的试纸条进行样本检测,检测方法如下:

[0040] (1)将CRP样本直接加样于样品释放垫上,CRP样本中的CRP抗原与荧光微球抗体形成复合物;

[0041] (2)复合物层析到包被膜上,其与CRP单克隆抗体A和CRP单克隆抗体B形成双抗体夹心复合物被固定和累积;

[0042] (3)游离的CRP抗原或复合物会继续层析,移动至包被膜上的CRP抗原位置处,该游离的CRP抗原或复合物与该处的CRP抗原形成竞争反应;

[0043] (4)通过荧光检测仪对包被膜进行荧光激发,根据荧光强度即可转换为CRP检测浓度。

[0044] 同时,本实施例还采用上述检测方法分别对双抗法试纸条和竞争法试纸条进行检测,检测结果如表2所示。

[0045] 表2

[0046]

包被方法 浓度 (mg/L)	双抗法	竞争法	实例 1	实例 2	实例 3	实例 4	实例 5	实例 6	实例 7
0.10	0.2	0.15	0.21	0.12	0.15	0.34	0.15	0.25	0.12
0.53	0.55	0.61	0.61	0.57	0.61	0.61	0.55	0.51	0.60
3.09	2.89	3.02	3.04	3.15	3.5	3.07	3.24	3.44	3.18
10.24	9.83	10.55	10.55	10.54	10.62	11.27	11.00	9.88	10.62
30.52	12.56	33.72	31.27	32.34	32.54	30.55	31.08	35.81	12.26
51.37	14.36	55.61	53.41	51.69	50.79	54.32	53.01	60.02	14.90
98.70	10.21	52.13	99.31	99.62	97.62	99.7	94.00	61.38	14.88
201.26	7.83	53.90	184.2	215.7	210.37	125.3	95.07	65.69	15.65
305.50	5.36	57.66	284.2	310.4	308.6	135.1	145.07	63.41	15.37

[0047] 通过表2可知:仅采用双抗体夹心法测得的CRP线性范围仅为0.10~10.24mg/L;仅采用竞争法测得的CRP线性范围为0.10~51.37mg/L;而采用二者结合方式包被,能够测定的CRP线性范围得以大大提高,最高可以达到0.10~305.50mg/L。

[0048] 以上所述的具体实施方式,对本发明的目的、技术方案和有益效果进行了进一步详细说明,所应理解的是,以上所述仅为本发明的具体实施方式而已,并不用于限定本发明的保护范围,凡在本发明的精神和原则之内,所做的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

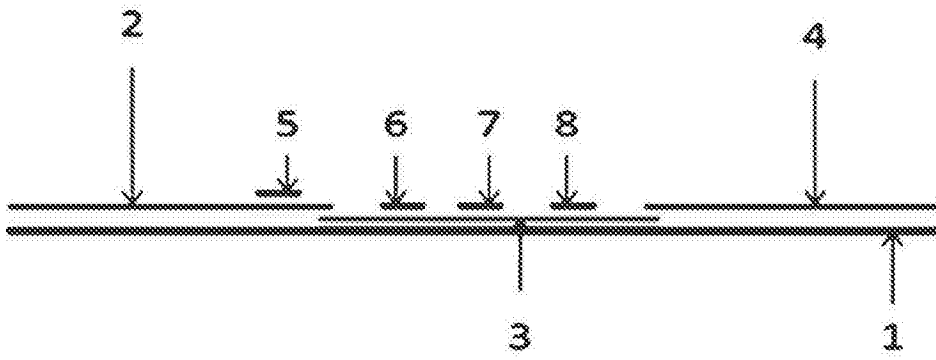


图1

专利名称(译)	一种CRP免疫荧光层析检测用包被膜、试纸条及其使用方法		
公开(公告)号	CN105891510A	公开(公告)日	2016-08-24
申请号	CN201610288747.0	申请日	2016-05-04
[标]申请(专利权)人(译)	四川新健康成生物股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	四川新健康成生物股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	四川新健康成生物股份有限公司		
[标]发明人	代敏 林源 谭韬		
发明人	代敏 林源 谭韬		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/577 G01N33/533 G01N33/58 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/68 G01N33/533 G01N33/543 G01N33/577 G01N33/582 G01N33/6803 G01N2333/4737		
代理人(译)	廖慧敏		
优先权	201610217265.6 2016-04-08 CN		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种CRP免疫荧光层析检测用包被膜、试纸条及其使用方法，解决了现有CRP免疫层析技术不能同时兼顾宽线性范围检测和高灵敏度检测的问题。本发明公开了一种包被膜，利用该包被膜组成的试纸条，以及利用该试纸条进行检测的方法；该包被膜包括膜本体，其特征在于，所述膜本体上沿着层析方向顺次包被有CRP单克隆抗体A、CRP单克隆抗体B和CRP抗原。本发明能够在不稀释CRP检测样品的前提下，保证CRP检测同时兼有高灵敏度和宽线性范围，避免了传统检测方法需要对临床样本进行几百倍稀释引起取样偏差。

