



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106370848 A

(43)申请公布日 2017. 02. 01

(21)申请号 201610921293.6

(22)申请日 2016.10.21

(71)申请人 北京康思润业生物技术有限公司

地址 101300 北京市顺义区仁和镇顺强路1  
号2幢4层西侧

(72)发明人 王龙

(74)专利代理机构 北京鼎佳达知识产权代理事  
务所(普通合伙) 11348

代理人 王伟锋 刘铁生

(51)Int.Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

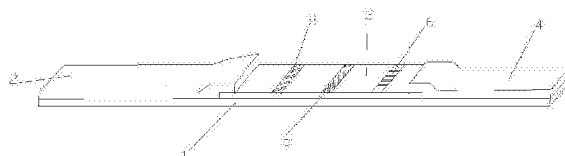
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

### (54)发明名称

免疫侧向层析检测系统及其制备方法

### (57)摘要

本发明公开了一种免疫侧向层析检测系统及其制备方法,其中,检测系统包括:底板,其包括近样品端和远样品端;所述的底板上由近样品端到远样品端依次连接地设置有样品垫,硝酸纤维素膜和吸水垫;所述的硝酸纤维素膜上设置有标记物带,所述的标记物带和吸水垫之间设置有检测带和质控带。本发明的免疫侧向层析检测系统具有成本低、检测准确的优点。



1. 一种免疫侧向层析检测系统,其特征在于,包括:

底板,其包括近样品端和远样品端;所述的底板上由近样品端到远样品端依次连接地设置有样品垫,硝酸纤维素膜和吸水垫;所述的硝酸纤维素膜上设置有标记物带,所述的标记物带和吸水垫之间设置有检测带和质控带。

2. 根据权利要求1所述的免疫侧向层析检测系统,其特征在于,所述的标记物带上含有标记物,所述的标记物为乳胶荧光、时间分辨荧光、上转移发光、量子点荧光、荧光染料或胶体金。

3. 根据权利要求1所述的免疫侧向层析检测系统,其特征在于,所述的检测带上含有检测抗体,所述的检测抗体为C反应蛋白检测抗体。

4. 根据权利要求1所述的免疫侧向层析检测系统,其特征在于,所述的质控带上含有对照抗体,所述的对照抗体为羊抗鸡IgY。

5. 根据权利要求1所述的免疫侧向层析检测系统,其特征在于,所述的检测系统的长度为6-8cm,宽度为3-6mm。

6. 一种免疫侧向层析系统的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

(1) 将第一检测抗体或抗原包被到硝酸纤维素膜上作为检测带,将第一对照试剂包被到硝酸纤维素膜上作为质控带;

(2) 用膜处理液将所述的硝酸纤维素膜进行封闭处理;

(3) 制备标记试剂:将第二抗体或抗原、第二对照试剂进行标记得到所述的标记试剂;

(4) 制备标记物带:将所述的标记试剂涂覆在所述的硝酸纤维素膜上形成标记物带;

(5) 制备样品垫和吸水垫;

(6) 组装:将所述的样品垫、硝酸纤维素膜和吸水垫依次连接地固定在底板上并裁成所需尺寸即得所述的检测系统,所述的标记物带距样品垫的距离小于所述的检测带和质控带距样品垫的距离。

7. 根据权利要求6所述的免疫侧向层析系统的制备方法,其特征在于,所述的第一检测抗体为C反应蛋白检测抗体;所述的第一对照试剂为羊抗鸡IgY。

8. 根据权利要求6所述的免疫侧向层析系统的制备方法,其特征在于,所述的封闭处理方法具体包括如下步骤:膜处理液A浸泡所述的硝酸纤维素膜50-70min,然后再用膜处理液B浸泡10-30min后干燥;

其中,所述的膜处理液A中碳酸缓冲液的摩尔浓度为10-100mMol/L,牛血清蛋白的质量百分含量为0.01-2.0%,表面活性剂的质量百分含量为0.1-2.0%;

所述的膜处理液B中磷酸缓冲液的摩尔浓度为10-100mMol/L,蔗糖的质量百分含量为0.1-1.0%,表面活性剂的质量百分含量为1-20%。

9. 根据权利要求6所述的免疫侧向层析系统的制备方法,其特征在于,所述的封闭处理具体包括如下步骤:用质量浓度为1-10%牛血清白蛋白喷膜处理硝酸纤维素膜上,干燥。

10. 根据权利要求6所述的免疫侧向层析系统的制备方法,其特征在于,所述的步骤(3)中标记采用的标记物为乳胶荧光、时间分辨荧光、上转移发光、量子点荧光、荧光染料或胶体金。

## 免疫侧向层析检测系统及其制备方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及医学领域,具体涉及一种免疫侧向层析检测系统及其制备方法。

### 背景技术

[0002] 免疫侧向层析诊断技术作为一种稳定和实用的技术适合在多样的即时检验(POCT)或者现场使用。按标记部分分为主要有胶体金免疫侧向层析法、普通荧光免疫侧向层析法、时间分辨荧光免疫侧向层析法、上转发光免疫侧向层析法、量子点荧光免疫侧向层析法等,按包被部分主要有硝酸纤维素膜、复合材料(fusion5)、微流控等。

[0003] 随着免疫层析技术(immunochromatography)和胶体金技术的发展,尤其是90年代后,胶体金免疫侧向层析法(GoId immunochromatography assay,GICA)在体外诊断疾病检测中得到了广泛应用。不过现在进行定量检测,对项目精密度及重复性要求越来越高,经过许多年的发展,最近各类荧光免疫侧向层析方法层出不穷。已成为主流先进技术被许多公司推崇。

[0004] 然而,现有的免疫侧向层析法一般都将标记物浸泡或喷在专门的标记物垫内或上,这样做的缺点如下:组分众多,影响产品的爬水和标记物的释放;由于组分众多,生产起来麻烦,费人工,间接提高了产品的成本,社会资源的极大浪费。还有些将标记物放到荧光枪头内,此方法操作要求高,导致不简便。标记物用量大,导致生产成本高昂。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种免疫侧向层析检测系统,本发明的检测系统通过将标记物设置在硝酸纤维素膜上来减少检测系统的组分,从而提高检测系统的爬水性能,降低操作难度和生产成本。

[0006] 本发明还提供了一种免疫侧向层析检测系统的制备方法。

[0007] 本发明的目的是通过如下方式实现的:

[0008] 一种免疫侧向层析检测系统,其特征在于,包括:

[0009] 底板,其包括近样品端和远样品端;所述的底板上由近样品端到远样品端依次连接地设置有样品垫,硝酸纤维素膜和吸水垫;所述的硝酸纤维素膜上设置有标记物带,所述的标记物带和吸水垫之间设置有检测带和质控带。

[0010] 进一步的,所述的标记物带上含有标记物,所述的标记物为乳胶荧光、时间分辨荧光、上转移发光、量子点荧光、荧光染料或胶体金。

[0011] 进一步的,所述的检测带上含有检测抗体,所述的检测抗体为C反应蛋白检测抗体。

[0012] 进一步的,所述的质控带上含有对照抗体,所述的对照抗体为羊抗鸡IgY。

[0013] 进一步的,所述的检测系统的长度为6-8cm,宽度为3-6mm。

[0014] 另一方面,本发明还提供了一种免疫侧向层析系统的制备方法,包括如下步骤:

[0015] (1) 将第一检测抗体或抗原包被到硝酸纤维素膜上作为检测带,将第一对照试剂

包被到硝酸纤维素膜上作为质控带；

[0016] (2) 用膜处理液将所述的硝酸纤维素膜进行封闭处理；

[0017] (3) 制备标记试剂：将第二抗体或抗原、第二对照试剂进行标记得到所述的标记试剂；

[0018] (4) 制备标记物带：将所述的标记试剂涂覆在所述的硝酸纤维素膜上形成标记物带；

[0019] (5) 制备样品垫和吸水垫；

[0020] (6) 组装：将所述的样品垫、硝酸纤维素膜和吸水垫依次连接地固定在底板上并裁成所需尺寸即得所述的检测系统，所述的标记物带距样品垫的距离小于所述的检测带和质控带距样品垫的距离。

[0021] 进一步的，所述的封闭处理方法具体包括如下步骤：膜处理液A浸泡所述的硝酸纤维素膜50-70min，然后再用膜处理液B浸泡10-30min后干燥；

[0022] 其中，所述的膜处理液A中碳酸缓冲液的摩尔浓度为10-100mMol/L，牛血清蛋白的质量百分含量为0.01-2.0%，表面活性剂的质量百分含量为0.1-2.0%；

[0023] 所述的膜处理液B中磷酸缓冲液的摩尔浓度为10-100mMol/L，蔗糖的质量百分含量为0.1-1.0%，表面活性剂的质量百分含量为1-20%。

[0024] 这里碳酸缓冲液的摩尔浓度指碳酸氢钠和碳酸钠的摩尔浓度；磷酸缓冲液浓度指磷酸二氢钠，磷酸氢二钠和氯化钠的摩尔浓度。

[0025] 进一步的，所述的封闭处理具体包括如下步骤：用质量百分比为1-10%牛血清白蛋白喷膜处理硝酸纤维素膜上，干燥。

[0026] 进一步的，所述的步骤(3)中标记采用的标记物为乳胶荧光、时间分辨荧光、上转移发光、量子点荧光、荧光染料或胶体金。

[0027] 与现有技术相比，本发明方案至少具有如下优点：

[0028] 本发明申请的方案将标记物直接标记在硝酸纤维素膜上，其减少了检测系统的组成，有利于样品的爬水，提高检测的效率和准确性。

[0029] 组分的减少也可以减少生产工序，提高生产效率，从而降低检测系统的生产成本。

[0030] 标记物在硝酸纤维素膜上，有利于样品爬水的同时也有利于标记物的释放，这样使检测效果更加明显、准确。

[0031] 本发明方法对硝酸纤维素膜进行了封闭处理，改变了硝酸纤维素膜的疏水性，实现了将标记物包被到硝酸纤维素膜上，而现有的都是直接采用硝酸纤维素膜，那将标记物包被到硝酸纤维素膜上会使标记物结合在硝酸纤维素膜上，无法释放。

## 附图说明

[0032] 图1为本发明免疫侧向层析检测系统中现有的免疫侧向层析系统结构示意图；

[0033] 图2为本发明免疫侧向层析检测系统中一种免疫侧向层析系统结构示意图。

## 具体实施方式

[0034] 为方便本领域技术人员理解本发明技术方案，下面结合附图及较佳实施例对本发明的技术方案作进一步阐述，应当理解，较佳实施例是为了方便本方案的理解，并不作为本

发明的限定。

[0035] 现有的免疫侧向层析系统都是将标记物以单独的组分存在(标记物垫或荧光枪头等形式),图1为现有的免疫侧向层析系统结构示意图(以标记物垫为例),如图1所示,现有的免疫侧向层析系统包括底板1,底板1上由近样品端到远样品端依次设置有样品垫2、标记物垫7、硝酸纤维素膜3和吸水垫4,硝酸纤维素膜3上设置有检测带5和质控带6;本发明方案将标记物包被到硝酸纤维素膜上,减少了组分;现有的硝酸纤维素膜如果直接将标记物标记到上面标记效果很差,影响检测结果,分析其原因是硝酸纤维素膜具有疏水性,因此本方案对硝酸纤维素膜进行了封闭处理,改变了其疏水性,从而可以将标记物包被到硝酸纤维素膜上,减少了生产成本,节约了人力物力。下面对本发明方案进行详细阐述。

[0036] 图2为本发明免疫侧向层析系统结构示意图,如图2所示,一种免疫侧向层析检测系统,包括:

[0037] 底板1,其包括近样品端和远样品端;所述的底板上由近样品端到远样品端依次连接地设置有样品垫2,硝酸纤维素膜3和吸水垫4;所述的硝酸纤维素膜上设置有标记物带8,所述的标记物带8和吸水垫4之间设置有检测带5和质控带6;硝酸纤维素膜3的疏水性是其和抗体等蛋白质结合的基础,同时也会对标记物带8的释放起到阻碍作用,本发明对所述的硝酸纤维素膜3表面进行了处理,改变其疏水性,达到将标记物带8放在所述的硝酸纤维素膜的目的。

[0038] 以上方案已经可以实现将标记物包被到硝酸纤维素膜上达到降低检测成本的目的,下面在此基础上给出优化方案:

[0039] 作为优选,所述的标记物带8上含有标记物,所述的标记物为乳胶荧光、时间分辨荧光、上转移发光、量子点荧光、荧光染料或胶体金。

[0040] 作为优选,所述的检测带5上含有检测抗体,所述的检测抗体为C反应蛋白检测抗体。

[0041] 作为优选,所述的质控带6上含有对照抗体,所述的对照抗体为羊抗鸡IgY。

[0042] 作为优选,所述的检测系统的长度为6-8cm,宽度为3-6mm。

[0043] 实施例1

[0044] 一种免疫侧向层析系统的制备方法,包括如下步骤:

[0045] (1) 将CRP检测抗体1用包被缓冲液稀释成2.0mg/mL,另对照抗体1(羊抗鸡IgY)也稀释成2.0mg/mL,采用专门的包被设备将上述两个液体包被到赛多利斯公司(Sartorius)的硝酸纤维素膜(NC)上分别形成检测带和质控带,37℃干燥箱干燥4小时。包被缓冲液为0.01mol/L的磷酸缓冲液(PBs)加质量分数为3%的蔗糖作为保护剂。

[0046] (2) 将硝酸纤维素膜进行封闭处理:用膜处理液A浸泡处理1小时,再用膜处理液B浸泡处理20分钟,干燥。

[0047] 其中,所述的膜处理液A包括如下组分:其中CB为摩尔浓度,其余为质量百分比,具体配方如下:50mmol/L的CB,0.01%的BSA,0.4%的S3(上海捷宁);

[0048] 膜处理液B为其中PBs为摩尔浓度,其余为质量百分比,具体配方如下:10mmol/L的PBs,0.32%的蔗糖,4%的CNB5000(上海捷宁);

[0049] 缩写:S3:表面活性剂的一种;CNB5000:表面活性剂的一种;BSA:牛血清白蛋白;CB:碳酸缓冲液,含碳酸氢钠和碳酸钠;PBs:磷酸缓冲液,内含磷酸二氢钠,磷酸氢二钠和氯

化钠;

[0050] (3) 制备标记试剂:CRP检测抗体2用乳胶荧光标记,对照抗体(鸡IgY)也用乳胶荧光标记,储存在储存液内(其中Tris-Cl为摩尔浓度,其余为质量百分比,具体配方如下:50mMol/L Tris-Cl,0.5%BSA,pH 7.8)备用。

[0051] (4) 制备标记物带:将标记物按5.0mg/mL配制后,用BIODOT XYZ3060喷膜设备将其喷在硝酸纤维素膜,干燥(蒸发、真空、冻干)形成标记物带。注意:标记物带、检测带和质控带的排列顺序为顺着样品爬水方向依次为标记物带、检测带和质控带。

[0052] (5) 制备样品垫:样品垫用样品处理液喷点在样品垫,进行预处理,干燥(蒸发、真空、冻干)备用。

[0053] 处理液配方为:其中Tri-Cl为摩尔浓度,其余为质量百分比,具体配方如下50mMol/L的Tris-CL,0.5%的Casein,0.5%的BSA,0.1%的Tween-20,0.05%的PEG,0.1%的Tween-80,0.05%的PVP,0.3%的二水合柠檬酸钠,2%的蔗糖。

[0054] 缩写:BSA:牛血清白蛋白,Casein:酪蛋白,Tris-CL:三羟甲基氨基甲烷盐酸,PEG:聚乙二醇,Tween-20:吐温20,Tween-80:吐温80,PVP:聚乙烯吡咯烷酮

[0055] 备好吸水垫。

[0056] (6) 组装:将所述的样品垫、硝酸纤维素膜和吸水垫依次连接地固定在底板上并裁成宽度为3-5mm即得所述的检测系统,所述的标记物带、检测带和质控带由样品垫到吸水垫方向依次排列。

[0057] 将所述的检测系统放到带有观察窗(用于采集检测带和质控带上的数据)和加样孔(用于滴加待测样品)的卡塞中,通过加样孔向样品垫上加样,样品经爬水经过标记物带、检测带和质控带,经观察窗收集检测带和质控带上的数据并分析检测结果。吸取5微升样品,用生理盐水作为稀释液(1000微升),反复吹打混匀,再加入到卡塞加样孔内,标记物含在硝酸纤维素膜上。由于样品的加入,标记物溶解、释放,和样品内被测物反应。由于毛细血管作用向前侧向层析,5分钟内读取数据。

[0058] 表1

[0059]

CRP	检测线荧光值		质控线荧光值	
标记物用量	5ug	15ug	5ug	15ug
校准品 mg/L	本方法	对照	本方法	对照
0	2417	530	396471	46011

[0060]

	2243	650	450962	39840
	2345	1078	459025	43561
	2178	704	383742	41257
0.78	12873	9712	371595	37440
	11354	8447	360253	39280
	12830	9140	338031	38714
	11542	9207	380139	37654
25	130910	68840	396152	12383
	125841	69096	358509	13263
	135401	68712	386525	12547
	124760	68214	384489	13546
200	326311	80752	383742	6076
	301234	81694	378954	5376
	312546	82456	369874	5462
	332154	81047	387920	5524

[0061] 由表1可以看出,本方法标记物用量少于原先方法3倍时,在CRP项目上检测线和质控线的荧光值都大于原先方法,所以标记物用量节省很多。本方法样本稀释倍数100倍,原先方法300倍。

[0062] 本发明未尽之处,本领域技术人员可以根据现有知识根据需要进行选择,比如,根据需要可以选择标记物为乳胶荧光、时间分辨荧光、上转移发光、量子点荧光、荧光染料或胶体金;比如标检测带和质控带的先后顺序等等。

[0063] 以上所述,仅为本发明的具体实施方式,但本发明的保护范围并不局限于此,任何熟悉本技术领域的技术人员在本发明揭露的技术范围内,可轻易想到变化或替换,都应涵盖在本发明的保护范围之内。因此,本发明的保护范围应以所述权利要求的保护范围为准。

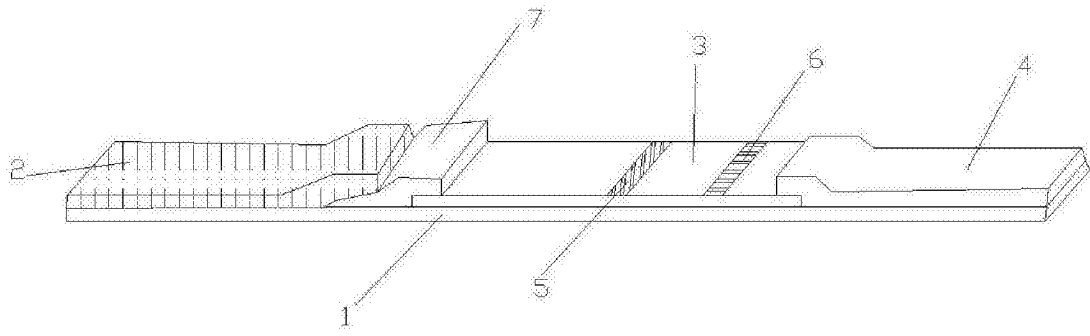


图1

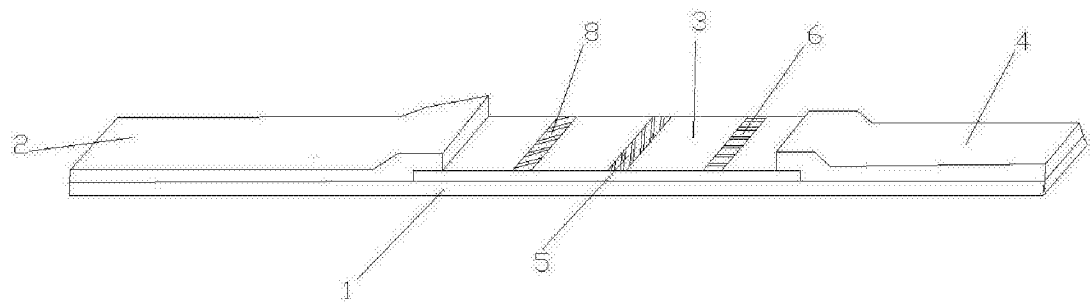


图2



专利名称(译)	免疫侧向层析检测系统及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN106370848A</a>	公开(公告)日	2017-02-01
申请号	CN201610921293.6	申请日	2016-10-21
[标]申请(专利权)人(译)	北京康思润业生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京康思润业生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京康思润业生物技术有限公司		
[标]发明人	王龙		
发明人	王龙		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/533		
代理人(译)	王伟锋 刘铁生		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明公开了一种免疫侧向层析检测系统及其制备方法，其中，检测系统包括：底板，其包括近样品端和远样品端；所述的底板上由近样品端到远样品端依次连接地设置有样品垫，硝酸纤维素膜和吸水垫；所述的硝酸纤维素膜上设置有标记物带，所述的标记物带和吸水垫之间设置有检测带和质控带。本发明的免疫侧向层析检测系统具有成本低、检测准确的优点。

