



(12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 202676708 U

(45) 授权公告日 2013. 01. 16

(21) 申请号 201220323588. 0

(22) 申请日 2012. 07. 06

(73) 专利权人 南京基蛋生物科技有限公司

地址 211505 江苏省南京市六合区沿江工业
开发区博富路 9 号

(72) 发明人 苏恩本 颜彬 黄力 王勇 李靖
沈小娟

(51) Int. Cl.

G01N 33/68 (2006. 01)

G01N 33/531 (2006. 01)

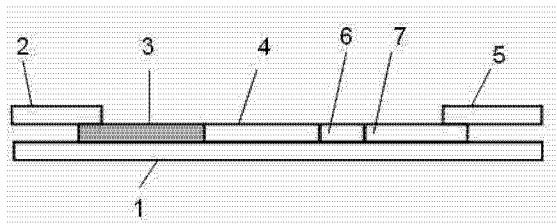
权利要求书 1 页 说明书 4 页 附图 1 页

(54) 实用新型名称

一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒

(57) 摘要

本实用新型公开了一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒,包括底衬、吸水垫,底衬上从左到右依次粘贴样品垫、免疫纳米磁珠结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述免疫纳米磁珠结合垫上包被有 NGAL 单克隆抗体相偶联的纳米磁珠,所述硝酸纤维素膜上包被有 NGAL 抗体作为检测线和兔抗鼠 IgG 抗体作为质控线。本实用新型实现了快速检测,同时具有操作方便、准确率和灵敏度高的优点。



1. 一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒,包括底衬、吸水垫,其特征在于底衬上从左到右依次粘贴样品垫、免疫纳米磁珠结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述免疫纳米磁珠结合垫上包被有 NGAL 单克隆抗体相偶联的纳米磁珠,所述硝酸纤维素膜上包被有 NGAL 抗体作为检测线和兔抗鼠 IgG 抗体作为质控线。

2. 根据权利要求 1 所述一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒,其特征在于所述纳米磁珠为直径 50-200nm 的超顺纳米磁珠。

3. 根据权利要求 1 所述一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒,其特征在于所述硝酸纤维素膜上包被的 NGAL 抗体为 NGAL 单克隆抗体或多克隆抗体。

4. 根据权利要求 1 所述一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒,其特征在于免疫纳米磁珠结合垫材质为玻璃纤维素膜或聚酯膜。

一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒

技术领域

[0001] 本实用新型属于临床医学诊断领域,具体涉及一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒。

背景技术

[0002] 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)是 1993 年在中性粒细胞内首次被发现的,与炎症、胚胎发育、免疫应答、趋化作用、信号转导以及多种肿瘤的发生于发展等过程相关。近年来国内外研究表明,NGAL 蛋白在多种疾病发生过程中具有特异性表达变化的特点,使得 NGAL 成为检测疾病的生物标志物。

[0003] 近年美国临床化学协会(AACC)年度会议的研究结果发表得知检测尿中中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白可能有助于临床医生检测心脏移植患者环孢霉素诱导的毒性,以及调节环孢霉素剂量以预防其对肾脏造成的不可逆伤害。中国专利 CN101163971 研究在急性肾衰竭(ARF)、急性肾小管坏死(ATN)和急性肾小管间质性肾病(ATIN)发病的早期,尿液和血液中 NGAL 水平显著增加,因此 NGAL 是早期检测肾脏对缺血性损伤的标志物。

[0004] 目前,检测 NGAL 方法主要有酶联免疫法(中国专利 CN101650369)、基于抗体免疫的微型柱测试法(中国专利 CN101163971)和胶乳免疫比浊法(中国专利 CN102072960A)。酶联免疫法操作容易受到酶活性变化的影响,结果不太准确;胶乳比浊法反应特异性不好,所需试剂比较复杂。

[0005] 磁性纳米颗粒技术通过借助小型仪器对试纸条上免疫磁珠微量信号的检测从而对样品实行定量检测,大大提高了检测的灵敏度,使得这一技术得到快速发展。

发明内容

[0006] 本实用新型的目的是提供一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒,将超顺磁性纳米颗粒作为标记物,具有简便快速、定量准确的优点。

[0007] 本实用新型通过以下技术方案实现:

[0008] 一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒,包括底衬、吸水垫,底衬上从左到右依次粘贴样品垫、免疫纳米磁珠结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,免疫纳米磁珠结合垫上包被有 NGAL 单克隆抗体相偶联的纳米磁珠,硝酸纤维素膜上包被有 NGAL 抗体作为检测线和兔抗鼠 IgG 抗体作为质控线。

[0009] 所述纳米磁珠为直径 50-200nm 的超顺纳米磁珠。

[0010] 所述硝酸纤维素膜上包被的 NGAL 抗体为 NGAL 单克隆抗体或多克隆抗体。

[0011] 所述免疫纳米磁珠结合垫材质为玻璃纤维素膜或聚酯膜。

[0012] 本实用新型所述一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒的检测原理如下:利用纳米磁珠标记 NGAL 抗体,在硝酸纤维素膜上包被 NGAL 相应的配对的抗体,检测时当样品中含有 NGAL 时,标记纳米磁珠的 NGAL 抗体和样品中 NGAL 结合形成复合物,然后层析在

硝酸纤维素膜上于检测线上 NGAL 配对抗体结合,聚集在检测线上,数分钟后,再通过 MICT 磁信号检测仪测定检测线上捕获磁珠的含量,从而得知样品中 NGAL 的含量。

[0013] 与现有技术相比,本实用新型具有以下有益技术效果:

[0014] 本实用新型通过超顺纳米磁珠与抗体结合测定样品中 NGAL 含量,所用超顺磁性纳米磁珠不受其他有色杂质干扰,通过高灵敏度磁性检测仪测量结合在免疫磁性复合物上的微粒所产生的局部磁场效应,进而得出所测分析物的定量结果,并高于同类目测法。

附图说明

[0015] 图 1 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒结构示意图。

[0016] 其中,1、底衬;2、样品垫;3、免疫纳米磁珠结合垫;4、硝酸纤维素膜;5、吸水垫;6、检测线;7、质控线。

具体实施方式

[0017] 下面结合附图对本实用新型做进一步详细描述:

[0018] 如图 1 所示,一种 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒,包括底衬 1、吸水垫 5,底衬 1 上从左到右依次粘贴样品垫 2、免疫纳米磁珠结合垫 3、硝酸纤维素膜 4 和吸水垫 5,免疫纳米磁珠结合垫 3 上包被有 NGAL 单克隆抗体相偶联的纳米磁珠,硝酸纤维素膜 4 上包被有 NGAL 抗体作为检测线 6 和兔抗鼠 IgG 抗体作为质控线 7。

[0019] 所述纳米磁珠为直径 50-200nm 的超顺纳米磁珠。

[0020] 所述硝酸纤维素膜 4 上包被的 NGAL 抗体为 NGAL 单克隆抗体或多克隆抗体。

[0021] 所述免疫纳米磁珠结合垫 3 材质为玻璃纤维素膜或聚酯膜。

[0022] 实施例 1 本实用新型 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒制备方法,包括如下步骤:

[0023] 1) 抗 NGAL 免疫磁珠的制备

[0024] 取适量 50nm 的超顺纳米磁珠(购自上海奥润微纳新材料科技有限公司)悬浮于含有 20 μ g/ml NGAL 单克隆抗体 3B1 的 20mmol/L pH7.5 的 PBS 缓冲液,37 $^{\circ}$ C 下孵化致敏 1-1.5h,再于 4 $^{\circ}$ C 下包被过夜。加 0.1mol/L 的甘氨酸溶液终止反应,再用 0.5% 小牛血清封闭磁珠。包被好的磁珠经过多次洗涤后,加入 10% 硫酸铵于 4 $^{\circ}$ C 保存。

[0025] 所述 NGAL 单克隆抗体 3B1 是由杂交瘤细胞株 3B1 产生的,所述杂交瘤细胞株 3B1 保藏单位为中国典型培养物保藏中心(CCTCC),其保藏编号为 CCTCC NO :C201249,保藏日期为 2012 年 5 月 9 号。

[0026] 2) 包被免疫纳米磁珠结合垫 3 的制备

[0027] 将步骤 1)制备好的免疫磁珠以 Bio-Dot 仪器喷涂到免疫纳米磁珠结合垫 3 上,喷量 1.0 μ l/cm,25 $^{\circ}$ C 干燥 4~8 小时,密封干燥保存,所述免疫纳米磁珠结合垫 3 材质是玻璃纤维素膜。

[0028] 3) 检测线 6 的制备:将 NGAL 单克隆抗体 4C2 使用 20mmol/L 的 PBS(pH7.2) 稀释到 4mg/ml 的浓度,0.8 μ l/cm 在硝酸纤维素膜 4 上划线,在硝酸纤维素膜 4 上划线,在干燥箱内 20 $^{\circ}$ C 鼓风干燥 12h。

[0029] 所述 NGAL 单克隆抗体 4C2 是由杂交瘤细胞株 4C2 产生的,所述杂交瘤细胞株 3B1

保藏单位为中国典型培养物保藏中心(CCTCC),其保藏编号为 CCTCC NO :C201250,保藏日期为 2012 年 5 月 9 号。

[0030] 4) 质控线 7 的制备:将兔抗鼠 IgG 抗体按 4mg/ml 的浓度,0.8ul/cm 在硝酸纤维素膜 4 上划控制线,该线与检测线 6 平行,然后在干燥箱内 20℃鼓风干燥 12h,密封干燥保存。

[0031] 5) 样品垫 2 的制备

[0032] 将样品垫 2 用 PBS 缓冲液浸泡 2 ~ 4 小时,取出后 25℃干燥 8 小时。

[0033] 6) 试纸条组装

[0034] 在底衬 1 上顺次相互搭接地粘贴样品垫 2、免疫纳米磁珠结合垫 3、硝酸纤维素膜 4 和吸水垫 5 得到试纸板,按照要求切割成适当宽度的试纸条。

[0035] 实施例 2 本实用新型 NGAL 纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒另一种制备方法,包括如下步骤:

[0036] 1) 抗 NGAL 免疫磁珠的制备

[0037] 取适量 180nm 的超顺纳米磁珠(购自上海奥润微纳新材料科技有限公司)悬浮于含有 20 μg/ml 单克隆抗体 3B1 的 20mmol/L pH7.5 的 PBS 缓冲液,37℃下孵化致敏 1-1.5h,再于 4℃下包被过夜。加 0.1mol/L 的甘氨酸溶液终止反应,再用 0.5% 小牛血清封闭磁珠。包被好的磁珠经过多次洗涤后,加入 10% 硫酸铵于 4℃保存。

[0038] 2) 包被免疫纳米磁珠结合垫 3 的制备

[0039] 将步骤 1)制备好的免疫磁珠以 Bio-Dot 仪器喷涂到免疫纳米磁珠结合垫 3 上,喷量 1.0ul/cm,25℃干燥 4 ~ 8 小时,密封干燥保存,所述免疫纳米磁珠结合垫 3 材质是聚酯膜。

[0040] 3)检测线 6 的制备:将 NGAL 多克隆抗体使用 20mmol/L 的 PBS(pH7.2) 稀释到 4mg/ml 的浓度,0.8ul/cm 在硝酸纤维素膜 4 上划线,在硝酸纤维素膜 4 上划线,在干燥箱内 20℃鼓风干燥 12h。

[0041] 所述多克隆抗体是采用本领域熟练技术人员熟知的常规方法免疫鼠获得抗血清制备而得。

[0042] 4) 质控线 7 的制备:将兔抗鼠 IgG 抗体按 4mg/ml 的浓度,0.8ul/cm 在硝酸纤维素膜 4 上划控制线,该线与检测线 6 平行,然后在干燥箱内 20℃鼓风干燥 12h,密封干燥保存。

[0043] 5) 样品垫 2 的制备

[0044] 将样品垫 2 用 PBS 缓冲液浸泡 2 ~ 4 小时,取出后 25℃干燥 8 小时。

[0045] 6) 试纸条组装

[0046] 在底衬 1 上顺次相互搭接地粘贴样品垫 2、免疫纳米磁珠结合垫 3、硝酸纤维素膜 4 和吸水垫 5 得到试纸板,按照要求切割成适当宽度的试纸条。

[0047] 实施例 3 样品检测

[0048] 将被检测血清、全血或尿液滴加 100-120 μl 于样品垫 2 上,溶液将溶解免疫纳米磁珠结合垫 3 上标记好的免疫磁珠,并在硝酸纤维素膜 4 上发生层析,然后在 5-10min 内用磁力检测仪(MICT)检测试纸条特定位置的磁信号,根据信号得出待测样品中的 NGAL 的含量进行定量检测,或者直接用肉眼观察条带颜色的深浅,从而判断血清中是否含有 NGAL 抗

原,进行定性检测。

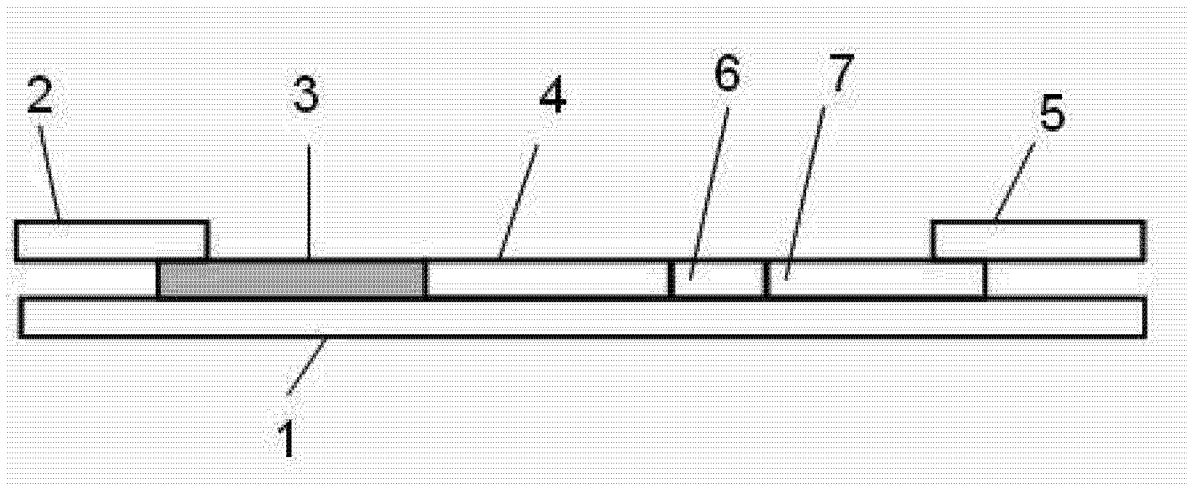


图 1

专利名称(译)	一种NGAL纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒		
公开(公告)号	CN202676708U	公开(公告)日	2013-01-16
申请号	CN201220323588.0	申请日	2012-07-06
[标]申请(专利权)人(译)	基蛋生物科技股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	南京基蛋生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	南京基蛋生物科技有限公司		
[标]发明人	苏恩本 颜彬 黄力 王勇 李靖 沈小娟		
发明人	苏恩本 颜彬 黄力 王勇 李靖 沈小娟		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/531		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型公开了一种NGAL纳米磁珠免疫快速定量检测试剂盒，包括底衬、吸水垫，底衬上从左到右依次粘贴样品垫、免疫纳米磁珠结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫，所述免疫纳米磁珠结合垫上包被有NGAL单克隆抗体相偶联的纳米磁珠，所述硝酸纤维素膜上包被有NGAL抗体作为检测线和兔抗鼠IgG抗体作为质控线。本实用新型实现了快速检测，同时具有操作方便、准确率和灵敏度高的优点。

