



(12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 207301082 U

(45)授权公告日 2018.05.01

(21)申请号 201720899288.X

(22)申请日 2017.07.24

(73)专利权人 吉林工程技术师范学院

地址 130052 吉林省长春市凯旋路3050号

(72)发明人 李占东 李皓 王倩 李依伦

张静 李馥旭 李宛泽

(74)专利代理机构 北京君泊知识产权代理有限公司

11496

代理人 王程远

(51)Int.Cl.

G01N 33/64(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 21/64(2006.01)

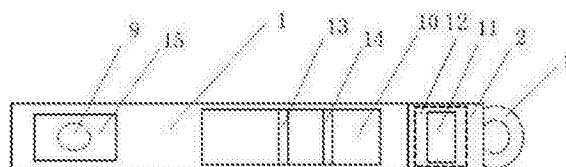
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)实用新型名称

一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条

(57)摘要

本实用新型的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条,其特征在于,包括:试纸检测区,数显区,手柄,样本垫,结合垫,NC膜,吸水纸,粘性底板,点样孔,观察窗,读数框,荧光感应器,检测线,控制线,保护膜。本实用新型的有益之处在于:本实用新型的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条提供了一种以孕酮为靶标的快速定量检测试剂盒,具有检测快速方便、灵敏度高、特异性强,生产工艺流程简单、收益好、效益高、成本低等特点;解决了目前常规方法检验方法成本高、人为因素影响大、假阴性率高的弊端。对推动我国宠物医疗行业的健康发展,进行孕酮定量检测的普及具有重要意义,具有一定的实用价值和广阔的市场前景。



1. 一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条, 其特征在于, 包括: 试纸检测区 (1)、数显区 (2)、手柄 (3), 所述试纸检测区 (1) 外部设置有卡壳;

所述试纸检测区 (1) 内部设置有样本垫 (4)、结合垫 (5)、NC膜 (6)、吸水纸 (7)、粘性底板 (8), 表面设置有点样孔 (9)、观察窗 (10); 所述数显区 (2) 表面设置有读数框 (11), 内部设置有荧光感应器 (12); 所述数显区 (2) 与所述试纸检测区 (1) 为可插拔连接, 所述数显区 (2) 可以连接电脑, 进行数据传输和分析;

所述结合垫 (5) 设置有荧光微球标记的鼠源孕酮单克隆抗体, 所述NC膜 (6) 上固定有检测线 (13) 和质控线 (14); 所述检测线 (13) 包被有羊源孕酮多克隆抗体, 包被浓度为0.8-1.2ug/mL; 所述质控线 (14) 包被有羊抗鼠二抗, 包被浓度为0.8-1.2ug/mL; 点样孔 (9) 外面设置有保护膜 (15);

所述样本垫 (4)、结合垫 (5)、NC膜 (6)、吸水纸 (7) 依次粘贴于所述粘性底板 (8) 上。

2. 根据权利要求1所述的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条, 其特征在于, 所述粘性底板 (8) 为PVC材质。

3. 根据权利要求1或2所述的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条, 其特征在于, 所述荧光微球标记的鼠源孕酮单克隆抗体与所述结合垫 (5) 的连接方式为采用XYZ三维大平面感应喷金仪喷涂的方式。

4. 根据权利要求3所述的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条, 其特征在于, 所述NC膜 (6) 与所述检测线 (13)、质控线 (14) 的连接方式为采用XYZ三维大平面感应喷金仪喷涂的方式。

5. 根据权利要求4所述的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条, 其特征在于, 所述卡壳是利用压壳机采用塑料加工而成。

6. 根据权利要求5所述的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条, 其特征在于, 所述保护膜 (15) 由透明防水可掀除材料制成。

一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条

技术领域

[0001] 本实用新型涉及生化检测技术领域,具体涉及一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条。

背景技术

[0002] 孕酮(Progesterone,P4)是一种性腺激素,由卵巢的黄体细胞及妊娠期的胎盘组织所分泌的,它是反映卵巢活动的精确指示剂,在雌性生殖的不同阶段,血浆孕酮富有特征性的变化。所以监测机体孕酮含量变化是预防和治疗母畜繁殖障碍性疾病的一种有效的方法。检测孕酮含量,必须要有高效、灵敏和特异性的检测方法。

[0003] 1941年,Cons和Kaplan用荧光素和抗体结合来定位组织中的抗原,从而提出了荧光免疫分析法的概念。荧光素等有机荧光分子一直是分析领域中常用的标记物。自20世纪70年代以来,Ambrome、Mathies、Nguyen等分别成功地实现了荧光单分子检测。然而,在实际检测分析中,由于生物制品、溶剂及溶质等的散射光、本底荧光及化学发光物质的干扰,以及荧光染料之间的一些光谱重叠,使检测所受的干扰极多,致使传统荧光分析的敏感性大大降低,其灵敏度仅是理论值的0.1%—1%,很难适应对微量抗原抗体的检测识别。1983年,Soini和Kojola等首先报告以镧系元素标记为示踪螯合物与时间分辨荧光测量相结合,建立了一种新的非放射性微量分析技术——时间分辨荧光免疫分析。

[0004] 在免疫分析法被大量应用于激素分析的情况下,放射免疫法的诸多缺点如示踪物储藏时间短、废物核辐射泄露、必须特殊的放射性装置等也渐渐受到分析人员的诟病,在此基础上引入了酶联免疫法等非放射性免疫分析法。WalterHubl等于1988年用辣根过氧化物酶作为酶标记,开发了一个双抗体/聚乙烯乙二醇固相酶联免疫的方法,该方法使用涂有蛋白A和第二抗体的微量滴定管,大大节约成本,且方法有较好的重复性(相对标准偏差为5.0%~6.0%)和回收率(91%~97%)。古巴免疫分析中心的Ernesto CarlosGonzale等人于2008年开发了一种快速、简单的酶联免疫方法,以17 α -羟孕酮结合碱性磷酸酶与17 α -羟孕酮结合血清竞争,采取兔抗体血清,分析滤纸上血点内17 α -羟孕酮,分析缓冲液中以达纳错替代17 α -羟孕酮甾体激素结合蛋白,整个分析时间为3h,分析范围是10~250nmol/L,日间和日内标准偏差与17 α -羟孕酮浓度有关分别为5.5%~8.2%和6.4%~9.1%,分析回收率达到98%~103%。

[0005] 酶联免疫测定法(ELISA)是常规检验中较常用的一种方法,是20世纪70年代在放射免疫基础上发展起来的一种免疫分析技术。它的中心就是让抗体与酶复合物结合,然后通过显色来检测。而以荧光素标记抗原或抗体,利用被检物质在反应体系中特异结合位点荧光的强弱,由荧光显微镜、流式细胞分析仪和自动化电子成像计算机进行定性、定量分析的荧光免疫技术。利用具有潜在荧光的底物作为酶标抗体(抗原),当此类底物被酶分解后,其产物可产生荧光,据此可以进行荧光酶联免疫分析(ELFIA)。这种方法综合利用酶联免疫技术中酶解产物所具有的累计放大性和荧光测量的高度敏感性,大大提高了分析的灵敏度。

[0006] 国内的孕酮检测主要是吸收国外的先进技术和经验,进行自主创新发展起来的,并取得了良好的效果。1974年开始应用放射免疫诊断技术在全乳孕酮方面的研究,1981年对奶牛试验取得成功。西北农学院李永鹏等也进行了奶牛乳汁孕酮的放射免疫测定工作。南京农业大学杨利国等初步研制了全乳孕酮酶免疫测定试剂盒,并应用于临床检测,取得了良好的效果,但其保质期比较短。

[0007] 国家检测中心发现常规的化学分析方法缺乏定量检测类固醇类激素的高灵敏度,需要进一步优化。用于化合物定量的免疫分析方法如ELISA,改进定量方法的制定是未来研究的新领域。浙江大学与四川农业大学都对相关的酶联免疫测定法进行改进,四川农业大学郭大智(2002)对其研制的现场快速诊断奶牛早孕与发情的酶免疫分析测试盒申请了国家专利,主要是通过定性的方法判断怀孕、未孕及可疑,还没有得到广泛应用。国内有关检测奶牛乳汁孕酮的生物传感器其检测已有报道,但人血清和血浆中孕酮含量的定量检测还未见相关报道。目前,吉林大学和黑龙江八一农垦大学通过制备孕酮单克隆抗体,分别建立了不同的ELISA检测方法,并都在进行试剂盒方面的研制开发。

[0008] 我国国内宠物产业经过20多年的发展,大体经历了启蒙期、孕育期以及现在的蓬勃发展期。据统计,国内广义上的宠物总量在约1.5亿只,而登记的宠物数量约1000万只,2014年,我国共有4亿户家庭,平均全国拥有宠物的家庭占总家庭户数约2.6%。目前国内宠物产业市场规模500多亿,预计我国宠物产业未来5-10年将以20-30%速度高速增长,预计未来5年宠物产业市场规模将达1500亿。

[0009] 我国宠物产业将以20-30%增速增长,美国目前是全球宠物产业最大的市场,其中最大的细分市场为宠物医疗,约占50%市场份额。根据美国APPA的宠物调查数据显示,2014年,美国平均一只宠物狗的年支出达到1641美元,平均一只宠物猫的年支出约1125美元。按照这样的各项支出分类,并根据市场调查情况,一个中等收入家庭一只宠物狗每年的支出总和约为5660元,其中宠物医疗消费约占2500元。我国宠物医疗预计占市场20-30%,约150亿。随着宠物消费服务升级以及社会的关注,预计我国宠物医疗市场份额将逐步提升。现今国内外对孕酮的快速定量检测的测定方法都不是很理想,存在灵敏度差,专一性差,价格昂贵,检测时间长等缺点。

实用新型内容

[0010] 为解决现有技术的不足,本实用新型的目的在于提供一种以孕酮为靶标的快速定量检测试纸条,它可以快速高效的对孕酮进行定量检测,而孕酮在动物机体中的变化规律,尤其是在发情和妊娠过程中,孕酮浓度的巨大变化,可以作为确定排卵、早期妊娠检测的评价、相关疾病的诊断和孕激素治疗效果的检测。

[0011] 一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条,包括:试纸检测区、数显区、手柄,所述试纸检测区外部设置有卡壳;

[0012] 所述试纸检测区内部设置有样本垫、结合垫、NC膜、吸水纸、粘性底板,表面设置有点样孔、观察窗;所述数显区表面设置有读数框,内部设置有荧光感应器;所述数显区与所述试纸检测区为可插拔连接,所述数显区可以连接电脑,进行数据传输和分析。

[0013] 所述结合垫设置有荧光微球标记的鼠源孕酮单克隆抗体,所述NC膜上固定有检测线和质控线;所述检测线包被有羊源孕酮多克隆抗体,包被浓度为0.8-1.2 μ g/mL;所述质

控线包被有羊抗鼠二抗,包被浓度为0.8-1.2ug/mL;点样孔外面设置有保护膜;

[0014] 所述样本垫、结合垫、NC膜、吸水纸依次粘贴于所述粘性底板上。

[0015] 所述粘性底板为PVC材质。

[0016] 所述荧光微球标记的鼠源孕酮单克隆抗体与所述结合垫的连接方式为采用 XYZ 三维大平面感应喷金仪喷涂的方式。

[0017] 所述NC膜与所述检测线、质控线的连接方式为采用XYZ三维大平面感应喷金仪喷涂的方式。

[0018] 所述卡壳是利用压壳机采用塑料加工而成。

[0019] 所述保护膜由透明防水可掀除材料制成。

[0020] 本实用新型的有益之处在于:本实用新型的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条提供了一种以孕酮为靶标的快速定量检测试剂盒,具有检测快速方便、灵敏度高、特异性强,生产工艺流程简单、收益好、效益高、成本低等特点;解决了目前常规方法检验方法成本高、人为因素影响大、假阴性率高的弊端。对推动我国宠物医疗行业的健康发展,进行孕酮定量检测的普及具有重要意义,具有一定的实用价值和广阔的市场前景。

附图说明

[0021] 图1是本实用新型的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条的一个具体实施例的结构示意图;

[0022] 图2是图1中试纸检测区的内部结构示意图。

[0023] 图中附图标记的含义:1-试纸检测区,2-数显区,3-手柄,4-样本垫,5-结合垫,6-NC膜,7-吸水纸,8-粘性底板,9-点样孔,10-观察窗,11-读数框,12- 荧光感应器,13-检测线,14-质控线,15-保护膜。

具体实施方式

[0024] 参照图1和图2,本实用新型的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条,包括:试纸检测区1、数显区2、手柄3,试纸检测区1外部设置有卡壳;

[0025] 试纸检测区1内部设置有样本垫4、结合垫5、NC膜6、吸水纸7、粘性底板8,表面设置有点样孔9、观察窗10;数显区2表面设置有读数框11,内部设置有荧光感应器12;数显区2与试纸检测区1为可插拔连接,一个数显区2 可以与多个试纸检测区1连接,也就是说多个试纸条可以重复使用一个数显区2;同时数显区2可以连接电脑,进行数据传输和分析。

[0026] 结合垫5设置有荧光微球标记的鼠源孕酮单克隆抗体,NC膜6上固定有检测线13和质控线14;检测线13包被有羊源孕酮多克隆抗体,包被浓度为 0.8-1.2ug/mL;质控线14包被有羊抗鼠二抗,包被浓度为0.8-1.2ug/mL;点样孔 9外面设置有保护膜15;样本垫4、结合垫5、NC膜6、吸水纸7依次粘贴于所述粘性底板8上。

[0027] 作为一种优选的方案,粘性底板8为PVC材质。这种材质坚固性好,且价格便宜。

[0028] 更为优选的是,荧光微球标记的鼠源孕酮单克隆抗体与所述结合垫5的连接方式为采用XYZ三维大平面感应喷金仪喷涂的方式。采用这种喷涂方式结合牢固,能够满足后续检测的需要。

[0029] 更为优选的是,NC膜6与检测线13、质控线14的连接方式为采用XYZ 三维大平面感

应喷金仪喷涂的方式。采用这种喷涂方式结合牢固,能够满足后续检测的需要。

[0030] 更为优选的是,卡壳是利用压壳机采用塑料加工而成。这样的设置能够很好的保护试纸条的内部结构。

[0031] 更为优选的是,保护膜15由透明防水可掀除材料制成。这样的设置既能保护点样孔9,又能在使用时轻松的掀去保护膜15进行后续的实验。

[0032] 本实用新型的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条,其使用过程为:首先将数显区2与试纸检测区1连接,之后掀去保护膜15,将处理好的样本通过点样孔9点到样板垫4上,等待15min左右,若样本中含有孕酮,则其荧光微球标记的孕酮的单克隆抗体在结合垫5上发生特异性结合形成复合物,复合物继续前行至质控线14时与羊抗鼠二抗发生免疫反应,通过观察窗10观察检测线13和质控线14的荧光值来确定样本中是否含有孕酮,通过荧光感应器12检测孕酮的含量,并通过读数框11读取相应的参数;若样本中没有孕酮,则不能与结合垫上的荧光微球标记的孕酮的单克隆抗体结合,但荧光微球标记的鼠源孕酮单克隆抗体会与质控线14处的羊抗鼠二抗发生免疫反应而显示出荧光。证明本试纸条有效。若质控线处没有荧光值,则证明该试纸条失效。

[0033] 应当理解,以上所描述的具体实施例仅用于解释本实用新型,并不用于限定本实用新型。由本实用新型的精神所引伸出的显而易见的变化或变动仍处于本实用新型的保护范围之内。

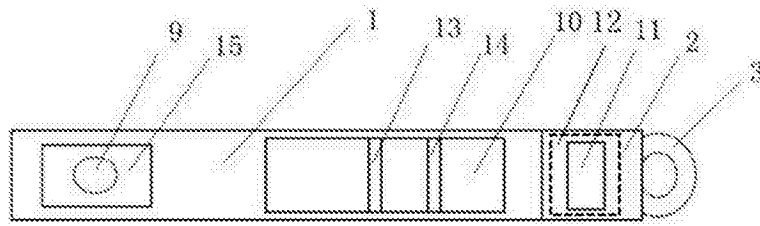


图1

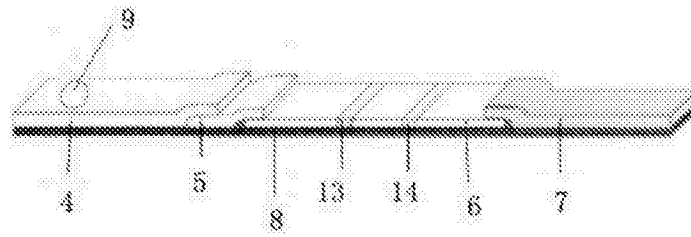


图2

专利名称(译)	一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条		
公开(公告)号	CN207301082U	公开(公告)日	2018-05-01
申请号	CN201720899288.X	申请日	2017-07-24
[标]申请(专利权)人(译)	吉林工程技术师范学院		
申请(专利权)人(译)	吉林工程技术师范学院		
当前申请(专利权)人(译)	吉林工程技术师范学院		
[标]发明人	李占东 李皓 王倩 李依伦 张静 李馥旭 李宛泽		
发明人	李占东 李皓 王倩 李依伦 张静 李馥旭 李宛泽		
IPC分类号	G01N33/64 G01N33/558 G01N33/577 G01N33/533 G01N21/64		
代理人(译)	王程远		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条，其特征在于，包括：试纸检测区，数显区，手柄，样本垫，结合垫，NC膜，吸水纸，粘性底板，点样孔，观察窗，读数框，荧光感应器，检测线，控制线，保护膜。本实用新型的有益之处在于：本实用新型的一种孕酮荧光微球免疫层析定量试纸条提供了一种以孕酮为靶标的快速定量检测试剂盒，具有检测快速方便、灵敏度高、特异性强，生产工艺流程简单、收益好、效益高、成本低等特点；解决了目前常规方法检验方法成本高、人为因素影响大、假阴性率高的弊端。对推动我国宠物医疗行业的健康发展，进行孕酮定量检测的普及具有重要意义，具有一定的实用价值和广阔的市场前景。

