



(12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 204989199 U

(45) 授权公告日 2016. 01. 20

(21) 申请号 201520588672. 9

(22) 申请日 2015. 07. 30

(73) 专利权人 广州天宝颂原生物科技开发有限公司

地址 510663 广东省广州经济技术开发区玉树工业园敬业三街 B 栋 403 房

(72) 发明人 吴明 王小明 夏坤 佟顺刚

(51) Int. Cl.

G01N 33/74(2006. 01)

G01N 33/68(2006. 01)

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/573(2006. 01)

G01N 33/558(2006. 01)

G01N 33/532(2006. 01)

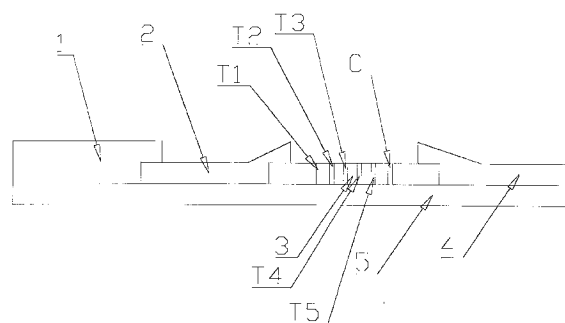
权利要求书1页 说明书7页 附图4页

(54) 实用新型名称

心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条

(57) 摘要

本实用新型公开了一种心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条,包括底板、样品垫、荧光标记物结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫;所述试纸条由样品垫、荧光标记物结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接粘贴在底板上构成。所述荧光标记物结合垫含有链霉亲和素标记荧光蛋白和生物素标记的心肌肌钙蛋白 I 单克隆抗体、生物素标记的脑钠肽单克隆抗体、生物素标记的 D- 二聚体单克隆抗体、生物素标记的肌红蛋白单克隆抗体、生物素标记的肌酸激酶同工酶单克隆抗体;所述硝酸纤维素膜上有检测线和质控线。本实用新型不仅大大缩短了检测时间,提高了检测灵敏度,同时联合检测还大大提高了便利性。



1. 心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条, 其特征在于: 其包括底板, 所述底板上依次设有样品垫、荧光标记物结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫, 所述吸水垫和荧光标记物结合垫分别交叠压在硝酸纤维素膜的两端后在硝酸纤维素膜的表面形成检测区, 所述样品垫交叠压在荧光标记物结合垫上, 所述荧光标记物结合垫上固定有生物素标记的心肌肌钙蛋白 I 单克隆抗体、生物素标记的脑钠肽单克隆抗体、生物素标记的 D- 二聚体单克隆抗体、生物素标记的肌红蛋白单克隆抗体、生物素标记的肌酸激酶同工酶单克隆抗体和链霉亲和素标记的荧光蛋白; 所述检测区内的硝酸纤维素膜上固定有识别心肌肌钙蛋白 I 另外一个表位的单克隆抗体构成的第一检测线、识别脑钠肽另外一个表位的单克隆抗体构成的第二检测线、识别 D- 二聚体另外一个表位的单克隆抗体构成的第三检测线、识别肌红蛋白另外一个表位的单克隆抗体构成的第四检测线、识别肌酸激酶同工酶另外一个表位的单克隆抗体构成的第五检测线和羊抗鼠 IgG 多克隆抗体构成的质控线。

2. 根据权利要求 1 所述的心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条, 其特征在于: 所述荧光标记物结合垫包括层叠的第一荧光标记物结合垫和第二荧光标记物结合垫, 所述第一荧光标记物结合垫的一端垫在样品垫的下方, 所述第二荧光标记物结合垫交叠压在硝酸纤维素膜的一端。

3. 根据权利要求 2 所述的心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条, 其特征在于: 所述第一荧光标记物结合垫中插入样品垫下方的一端设有定位条, 所述样品垫的下端面设有能容纳定位条的定位槽。

4. 根据权利要求 1 至 3 任一项所述的心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条, 其特征在于: 还包括卡壳, 所述底板、样品垫、荧光标记物结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫均置于卡壳内, 所述卡壳壳面上对应于硝酸纤维素膜的位置设有观察窗, 卡壳壳面上对应于样品垫的位置设有加样孔。

5. 根据权利要求 4 所述的心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条, 其特征在于: 所述观察窗为长方形孔。

6. 根据权利要求 4 所述的心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条, 其特征在于: 所述荧光蛋白可以是绿色荧光蛋白、藻胆蛋白中的一种。

7. 根据权利要求 4 所述的心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条, 其特征在于: 所述样品垫为经表面活性剂缓冲液浸泡处理后干燥的玻璃纤维构件。

8. 根据权利要求 4 所述的心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条, 其特征在于: 所述底板为聚苯乙烯构件或者聚乙烯构件。

9. 根据权利要求 4 所述的心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条, 其特征在于: 所述卡壳包括塑料上壳和塑料下壳, 所述塑料上壳扣合塑料下壳上后形成卡壳。

心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条

技术领域

[0001] 本实用新型属于免疫检测领域,具体涉及一种高灵敏度心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条。

背景技术

[0002] 心肌肌钙蛋白 I (Cardiac troponin I, cTnI) 是分子量 22.5kD 的心肌蛋白,和肌钙蛋白 T (TnT), 肌钙蛋白 C (TnC) 一起,形成肌钙蛋白复合体,从而对细胞内钙离子信号的传递和肌动-肌球蛋白的相互作用起着极其主要的作用,是一种高灵敏度、高特异性的心肌损伤的标志物。1987 年英国 Cummins 等首先报告了测定周围血中心肌肌钙蛋白浓度来诊断急性心肌梗死 (AMI),引起了研究者的广泛注意,近年来关于心肌肌钙蛋白的研究初步表明,心肌肌钙蛋白 I (cTnI) 是心脏的特异性抗原,其释放入血循环是心肌细胞损伤的敏感和高度特异性标志,对某些心血管病的诊断、预告及疗效判断等具有重要意义。1955 年美国 FDA 批准 cTnI 作为 AMI 的最新试验诊断指标。1999 年和 2000 年世界生化检测标准化协会、欧洲心脏病协会和美国心脏病学会提出了新的 AMI 定义和诊断标准,把血清标志物检测,特别是肌钙蛋白,放在了特别重要的位置。2001 年 11 月美国心脏病学会和心脏病协会提出测定 cTnI 作为诊断 AMI 和急性冠状动脉综合症危险分层的第一位标准。在人类心肌损伤的诊断中,cTnI 已经成为“金标准”之一。与其他指标相比,cTnI 具有在血中出现时间早、持续时间长,且为心肌细胞所特有的优点,所以心肌肌钙蛋白 I 在临床上有着广泛应用的前景。

[0003] 1988 年日本学者 Tetsuji Sudoh 首次从猪脑内分离得到一种具有强力的利钠、利尿、扩血管和降压作用的多肽,命名为脑钠肽 (brain natriuretic peptide, BNP)。以后的研究表明,不只是 BNP 这一种多肽,而是有一组多肽在生物进化的过程中逐渐发展产生 (在人类和脊椎动物至少包括 ANP、BNP、CNP、DNP、VNP 和 Urodilatin),称为利钠肽 (NP) 家族。其功能是维持循环系统的容量、渗透压和压力调节的稳态。目前用于临床检测的包括 BNP 和氨基末端脑钠肽前体 (NT-proBNP) 两种。在心肌细胞受刺激后,产生初始基因产物前 BNP 前体 (pre-proBNP),该肽的一个 26 氨基信号肽被立即去除,形成含 108 个氨基酸的 BNP 前体 (proBNP),后者在内切酶的作用下裂解为含有 76 个氨基酸、无生物活性的 NT-proBNP 和含有 32 个氨基酸、有活性的 BNP。BNP 主要来源是心室。在正常状态下,BNP 在颗粒中储存很少,机械性刺激是心室产生及分泌 BNP 的主要原因。当各种心肌损伤引起心输出量下降时,反馈性的兴奋神经、体液机制,从而使血管收缩、水钠潴留、心脏前后负荷增加,心肌张力升高,心肌细胞受到牵拉,使心室肌细胞 BNP 合成与分泌增加,血浆 BNP 浓度升高。可以产生抑制肾素-血管紧张素-醛固酮系统、抑制交感神经活动、减少水钠潴留、舒张血管等作用,对心脏有保护作用。因而血液 BNP 水平的异常变化即可以显示心脏功能的变化。BNP 对心衰的检测价值近年来已被广泛接受,现在认为 BNP 是心衰患者非常有力的诊断和预后的标志物,BNP 的检测也为心功能的分级提供了更加可靠的依据。Wieczorek SJ 等比较测定了严格按美国纽约心脏病协会 (NYHA) 心功能分级标准诊断的慢性心衰 (CHF) 患者血浆

BNP 水平,心功能 I ~ IV 级 CHF 患者血液 BNP 浓度均值较正常人明显增加,且随心功能的损害程度加重呈显著上升趋势。若以 100pg/ml 为 cut off 值,BNP 对 CHF 的诊断效能是:敏感度 90%,特异性 76%。BNP 浓度值对于心衰患者的治疗效果监测也有帮助,治疗有效的患者血液 BNP 水平较治疗前明显降低。

[0004] D-二聚体(D-Dimer,简称 DD)是交联纤维蛋白的特异降解产物之一,分子量大小约为 190kDa,在体内半衰期 > 3 小时,主要经肾脏排泄。人体纤溶系统对保持血管壁的正常通透性,维持血液的流动状态和组织修复起着重要作用。正常人纤溶酶和抑制酶之间保持动态平衡,使血液循环能正常进行。机体发生凝血时,凝血酶作用于纤维蛋白原,转变为交联纤维蛋白,同时纤溶系统被激活,交联纤维蛋白溶解过程开始,纤溶酶降解纤维蛋白凝块形成各种可溶片段,形成纤维蛋白产物(FDPs),包括 X-寡聚体(X-oligomer)、D-二聚体(D-Dimer)、中间片段(Intermediate fragments)、片段 E(Fragment E)组成。其中,X-寡聚体和 D-聚体均含 D-二聚体单位,其中最小、最简单的降解终产物即是 D-二聚体。1971 年 Wilson 等首先应用纤维蛋白降解产物用于诊断肺动脉栓塞(PE)。随着研究的开展和深入,临床工作者对 D-二聚体在肺动脉栓塞中的意义认识日益深刻。1999 年欧洲心脏病学会急性肺动脉栓塞诊断和治疗指南中推荐用 ELISA 方法检测 D-二聚体。阴性的 D-二聚体值对于肺动脉栓塞具有理想的阴性预告作用,阴性的结果可以基本排除肺动脉栓塞,从而可以减少有创的检查。但是临床医生必须清楚它的局限性和应用的指证。D-二聚体的浓度和血栓的位置有关,在肺动脉干主要分支的浓度较高,而在次要分支的浓度较低。在大分支的敏感性为 93%,小分支的敏感性为 50%。虽然 D-二聚体对于小分支血栓的诊断意义不够明显,然而其他检查对于小的血栓同样不明确,如肺动脉造影等。对于这些小的血栓,只要 D-二聚体是阴性的,在患者心肺储备功能比较好的情况下,可以不采取抗凝治疗,临床随访的结果表明这样做是安全的。D-二聚体在深静脉血栓(DVT)中总的诊断价值和在 PE 中的诊断类似价值,阴性的 D-二聚体可以基本排除 DVT 形成的可能。阳性的结果意义不大,特异性不够强,很多疾病可以引起 D-二聚体的升高。D-二聚体在 DVT 诊断中的敏感性为 95%,特异性为 40%,阳性预测值为 48%,阴性预测值为 95%。

[0005] 肌红蛋白(Myoglobin, MYO)是一种氧结合血红素蛋白,其分子量为 16.7KD,主要分布于心肌和骨骼肌组织,呈紧密球形。其本质是由一条肽链和一个血红素辅基组成的结合蛋白,由 153 个氨基酸残基组成,含有血红素,与血红蛋白同源,跟氧的结合能力介于血红蛋白和细胞色素氧化酶之间,可帮助肌细胞将氧转运到线粒体。能可逆地与氧结合,是一种氧合结合蛋白,参与葡萄糖氧化,在细胞内主要具有运输氧和储氧功能。与氧的亲合力比血红蛋白强,在极低的氧张力情况下,肌肉缺氧时,可以释放出氧供肌肉收缩的急需,还能缓冲细胞内氧浓度,使细胞内氧浓度相对稳定。其对于维持正常的肌肉发育和功能是必需的;结合并清除 NO,其过氧化物酶活性可以调节细胞内氧化还原状态,清除活性氧。由于 MYO 分子量小,容易释放入外周血,因而 MYO 是即时的最易检出的心肌坏死时的生化标志物,在心肌受损后 3 小时即可出现在外周血中,MYO 正常参考值为 20-80ng/ml,在急性心肌损伤时,MYO 最先被释放入血液中,在症状出现约 2-3 小时后,血中 MYO 可超出正常上限,升高幅度超过 150ng/ml 或增幅大于 25%,4-8 小时升高可达 900ng/ml 以上,9-12 小时升至峰值,峰值为参考值 10-30 倍,24-48 小时恢复正常。如峰值期持续时间较长,超过 24 小时,恢复正常缓慢,超过 4 天以上,或下降过程再度升高形成双峰、多峰,则提示可能发生心

梗延展或新的部位又发生心梗。升高程度及持续时间与心梗预后密切相关,其中峰值升高显著,在血液中持续 72-96 小时的患者预后不良,死亡率较高;而峰值低,发病 24 小时即恢复正常的,预后良好。在急性心肌梗塞患者血清肌红蛋白早期出现峰值,可指示心肌梗塞的大小和估计梗塞的扩展;在穿透性心肌梗塞患者血清肌红蛋白浓度要高于心内膜下急性心肌梗塞患者;在急性心肌梗塞患者病情恶化时,其血清肌红蛋白浓度可再度升高;急性心肌梗塞患者如其血清肌红蛋白浓度反复增高,则提示原有心肌梗塞还在扩展。

[0006] 肌酸激酶 (Creatinekinase,CK) 旧称为肌酸磷酸激酶 (Creatinephosphokinase,CPK)。CK 分子量为 81000,由两个亚基组成。通常存在于动物的心脏、肌肉以及脑等组织的细胞浆和线粒体中,是一个与细胞内能量运转、肌肉收缩、ATP 再生有直接关系的重要激酶,它可逆地催化肌酸与 ATP 之间的转磷酸基反应。CK 在 ATP 参与下催化肌酸磷酸化,生成 ATP 和磷酸肌酸。肌酸激酶有四种同工酶形式:肌肉型 (CK-MM)、脑型 (CK-BB)、杂化型 (CK-MB) 和线粒体型 (CK-MiMi)。CK-MM 型主要存在于各种肌肉细胞中,CK-BB 型主要存在于脑细胞中,CK-MB 型主要存在于心肌细胞中,CK-MiMi 型主要存在于心肌和骨骼肌线粒体中。CK-MB 在传统心肌酶学中曾作为诊断 AMI 的金标准,然而 25% -50% 的 AMI 患者在发病 4 小时内处于正常水平,造成约 10% 的患者被漏诊。CK-MB 的心肌特异性较高,胸痛发生后 4-6 小时开始升高,但亦存在于骨骼肌中,骨骼肌损伤时增高。另正常人血中也存在,正常存在与病理性增加之间有交叉,敏感性不高,不能诊断微小心肌梗死。

[0007] 综上所述, cTnI、BNP、DD、MYO、CK-MB 几种标志物的临床诊断价值各不相同,可以从不同的方面反应心肺功能,五项联检可用于心肺疾病的辅助诊断。

[0008] 目前国内市场上暂无同类产品。

[0009] 生物素-亲和素系统 (biotinavidin system, BAS),是一种新型生物反应放大系统。随着各种生物素衍生物问世, BAS 很快被广泛应用于医学各领域。将该系统应用于免疫组化,酶联免疫,荧光免疫,放射免疫等检测技术中,可显著地提高以上技术方法的敏感性、特异性和稳定性,使方法更简便,有助于临床快速诊断,并利于进行大规模流行病学调查,成为研究免疫反应的有力工具。由于 BAS 检测系统经济快速,又无放射物质污染,不需复杂仪器,充分显示了此系统的巨大潜力和应用的可能性。

[0010] 生物素-亲和素系统检测原理: BAS 是在常规 ELISA 原理的基础上,结合生物素与亲和素间的高度放大作用,而建立的一种检测系统。亲和素是卵白蛋白中提取的一种碱性糖蛋白,分子量为 68kDa,由 4 个亚单位组成,对生物素有非常高的亲和力(结合常数高达 10^{15}M^{-1})。生物素很易与蛋白质(如抗体等)以共价键结合。这样,结合了酶的亲和素分子与结合有特异性抗体的生物素分子产生反应,既起到了多级放大作用,又由于酶在遇到相应底物时的催化作用而呈色,达到检测未知抗原(或抗体)分子的目的。链霉亲和素是与亲和素有相似生物学特性的一种蛋白质,链霉亲和素与亲和素一样分子中每条肽链都能结合一个生物素,因几乎所有用于标记的物质均可以同亲和素或链霉亲和素结合。利用生物素-亲和素系统研制心肺功能五项联合检测快速诊断试剂尚无报道。

实用新型内容

[0011] 本实用新型的目的,在于提供一种心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条,其基于双抗体夹心法、荧光免疫侧向层析和生物素-链霉亲和素放大系统,提供高灵敏度

心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条。使用本实用新型时,提高了检测灵敏度和检测稳定性,降低了非特异性结合,联合检测大幅度提高检测的准确性和便利性,检测时间不大于 10 分钟,大大提高了诊断效率。

[0012] 本实用新型解决其技术问题的解决方案是:心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条,其包括底板,所述底板上依次设有样品垫、荧光标记物结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述吸水垫和荧光标记物结合垫分别交叠压在硝酸纤维素膜的两端后在硝酸纤维素膜的表面形成检测区,所述样品垫交叠压在荧光标记物结合垫上,所述荧光标记物结合垫上固定有生物素标记的心肌肌钙蛋白 I 单克隆抗体、生物素标记的脑钠肽单克隆抗体、生物素标记的 D-二聚体单克隆抗体、生物素标记的肌红蛋白单克隆抗体、生物素标记的肌酸激酶同工酶单克隆抗体和链霉亲和素标记的荧光蛋白;所述检测区内的硝酸纤维素膜上固定有识别心肌肌钙蛋白 I 另外一个表位的单克隆抗体构成的第一检测线、识别脑钠肽另外一个表位的单克隆抗体构成的第二检测线、识别 D-二聚体另外一个表位的单克隆抗体构成的第三检测线、识别肌红蛋白另外一个表位的单克隆抗体构成的第四检测线、识别肌酸激酶同工酶另外一个表位的单克隆抗体构成的第五检测线和羊抗鼠 IgG 多克隆抗体构成的质控线。

[0013] 作为上述技术方案的进一步改进,所述荧光标记物结合垫包括层叠的第一荧光标记物结合垫和第二荧光标记物结合垫,所述第一荧光标记物结合垫的一端垫在样品垫的下方,所述第二荧光标记物结合垫交叠压在硝酸纤维素膜的一端。

[0014] 作为上述技术方案的进一步改进,所述第一荧光标记物结合垫中插入样品垫下方的一端设有定位条,所述样品垫的下端面设有能容纳定位条的定位槽。

[0015] 作为上述技术方案的进一步改进,还包括卡壳,所述底板、样品垫、荧光标记物结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫均置于卡壳内,所述卡壳壳面上对应于硝酸纤维素膜的位置设有观察窗,卡壳壳面上对应于样品垫的位置设有加样孔。

[0016] 作为上述技术方案的进一步改进,所述观察窗为长方形孔。

[0017] 作为上述技术方案的进一步改进,所述荧光蛋白可以是绿色荧光蛋白、藻胆蛋白中的一种。

[0018] 作为上述技术方案的进一步改进,所述样品垫为经表面活性剂缓冲液浸泡处理后干燥的玻璃纤维构件。

[0019] 作为上述技术方案的进一步改进,所述底板为聚苯乙烯构件或者聚乙烯构件。

[0020] 作为上述技术方案的进一步改进,所述卡壳包括塑料上壳和塑料下壳,所述塑料上壳扣合塑料下壳上后形成卡壳。

[0021] 本实用新型与现有技术相比,具有如下优点:

[0022] (1) 本实用新型将荧光蛋白作为标记物,此标记物稳定性良好,有利于提高检测稳定性。

[0023] (2) 本实用新型通过利用“链霉亲和素-生物素放大系统”,提高检测灵敏度,降低非特异性结合,有利于提高试剂盒性能。

[0024] (3) 利用本实用新型进行样品的检测时间不大于 10 分钟,心肌肌钙蛋白 I 检测线性范围为 0.05-30.00ng/mL,脑钠肽检测线性范围为 5.0-5000.0pg/mL,D-二聚体检测线性范围为 0.1-5.0mg/L,肌红蛋白检测线性范围为 5.0-500.0ng/mL、肌酸激酶同工酶检测线

性范围为 2.5-100.0ng/mL,极大地提高了检测效率。

[0025] (4) 本实用新型可通过荧光免疫分析仪对结果进行判读,可实现自动化,减少主观因素的影响,提供便利、快速、可靠的诊断结果。

[0026] (5) 本实用新型卡壳设有样品进入的加样孔和供观测结果的观察窗,根据分析仪器判定结果,准确可靠。

[0027] (6) 本实用新型制作方便,体积小、便于携带。

[0028] (7) 本实用新型检测成本较低。

[0029] (8) 本实用新型可批量生产,适用于临床快速诊断和现场快速诊断;易于保存,有利于基层单位推广。

[0030] (9) 本实用新型采用联合检测,一条检测条同时检测五项,检测更加方便。

附图说明

[0031] 为了更清楚地说明本实用新型实施例中的技术方案,下面将对实施例描述中所需要使用的附图作简单说明。显然,所描述的附图只是本实用新型的一部分实施例,而不是全部实施例,本领域的技术人员在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据这些附图获得其他设计方案和附图。

[0032] 图 1 是本实用新型实施例一的结构示意图;

[0033] 图 2 是本实用新型实施例二的结构示意图;

[0034] 图 3 是本实用新型实施例三的结构示意图;

[0035] 图 4 是本实用新型实施例四的结构示意图。

具体实施方式

[0036] 以下将结合实施例和附图对本实用新型的构思、具体结构及产生的技术效果进行清楚、完整地描述,以充分地理解本实用新型的目的、特征和效果。显然,所描述的实施例只是本实用新型的一部分实施例,而不是全部实施例,基于本实用新型的实施例,本领域的技术人员在不付出创造性劳动的前提下所获得的其他实施例,均属于本实用新型保护的范畴。另外,文中所提到的所有联接/连接关系,并非单指构件直接相接,而是指可根据具体实施情况,通过添加或减少联接辅件,来组成更优的联接结构。

[0037] 参照图 1,心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条,其包括底板 5,所述底板 5 上依次设有样品垫 1、荧光标记物结合垫 2、硝酸纤维素膜 3 和吸水垫 4,所述吸水垫 4 和荧光标记物结合垫 2 分别交叠压在硝酸纤维素膜 3 的两端后在硝酸纤维素膜 3 的表面形成检测区,荧光标记物结合垫 2 为玻璃纤维膜,所述样品垫 1 交叠压在荧光标记物结合垫 2 上,所述荧光标记物结合垫 2 上固定有生物素标记的心肌肌钙蛋白 I 单克隆抗体(浓度 0.3~1.5mg/mL)、生物素标记的脑钠肽单克隆抗体(浓度 0.3~1.5mg/mL)、生物素标记的 D-二聚体单克隆抗体(浓度 0.3~1.5mg/mL)、生物素标记的肌红蛋白单克隆抗体(浓度 0.3~1.5mg/mL)、生物素标记的肌酸激酶同工酶单克隆抗体(浓度 0.3~1.5mg/mL)和链霉亲和素标记(或亲和素)的荧光蛋白(使用激发光波长 530nm,发射光波长 570nm,浓度 0.1~2.0mg/mL);所述检测区内的硝酸纤维素膜 3 上固定有识别心肌肌钙蛋白 I 另外一个表位的单克隆抗体构成的第一检测线 T1(浓度 0.5~3mg/mL)、识别脑钠肽另外一个表位的单克

隆抗体构成的第二检测线 T2(浓度 0.5 ~ 3mg/mL)、识别 D-二聚体另外一个表位的单克隆抗体构成的第三检测线 T3(浓度 0.5 ~ 3mg/mL)、识别肌红蛋白另外一个表位的单克隆抗体构成的第四检测线 T4(浓度 0.5 ~ 3mg/mL)、识别肌酸激酶同工酶另外一个表位的单克隆抗体构成的第五检测线 T5(浓度 0.5 ~ 3mg/mL)、和羊抗鼠 IgG 多克隆抗体构成的质控线 C(浓度 0.2 ~ 2.0mg/mL),质控线 C 用于检测试纸条的有效性。

[0038] 将生物素标记的心肌肌钙蛋白 I 单克隆抗体、生物素标记的脑钠肽单克隆抗体、生物素标记的 D-二聚体单克隆抗体、生物素标记的肌红蛋白单克隆抗体、生物素标记的肌酸激酶同工酶单克隆抗体和链霉亲和素(或亲和素)标记的荧光蛋白固定在荧光标记物结合垫 2 上,将有识别心肌肌钙蛋白 I 另外一个表位的单克隆抗体、识别脑钠肽另外一个表位的单克隆抗体、识别 D-二聚体另外一个表位的单克隆抗体、识别肌红蛋白另外一个表位的单克隆抗体、识别肌酸激酶同工酶另外一个表位的单克隆抗体和羊抗鼠 IgG 多克隆抗体固定于硝酸纤维素膜上分别作为检测线 T1、T2、T3、T4、T5 和质控线 C。当待测样品加到样品垫 1 上后,通过层析作用向前移动,样品中心肌肌钙蛋白 I、脑钠肽、D-二聚体、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶分别对应与荧光标记物结合垫 2 上结合荧光标记物(荧光蛋白)的心肌肌钙蛋白 I 抗体(Mab-cTnI*Fluoro)、结合荧光标记物(荧光蛋白)的脑钠肽抗体(Mab-BNP*Fluoro)、结合荧光标记物(荧光蛋白)的 D-二聚体抗体(Mab-DD*Fluoro)、结合荧光标记物(荧光蛋白)的肌红蛋白抗体(Mab-MYO*Fluoro)、结合荧光标记物(荧光蛋白)的肌酸激酶同工酶抗体(Mab-CK-MB*Fluoro)反应形成复合物 cTnI-Mab-cTnI*Fluoro、BNP-Mab-BNP*Fluoro、DD-Mab-DD*Fluoro、MYO-Mab-MYO*Fluoro、CK-MB-Mab-CK-MB*Fluoro,在层析作用下反应复合物继续向前移动经过硝酸纤维素膜上包被的 cTnI 抗体、BNP 抗体、DD 抗体、MYO 抗体、CK-MB 抗体(检测线)时,反应复合物分别对应被包被的 cTnI 抗体、BNP 抗体、DD 抗体、MYO 抗体、CK-MB 抗体捕获形成复合物(Mab-cTnI-cTnI-Mab-cTnI*Fluoro、Mab-BNP-BNP-Mab-BNP*Fluoro、Mab-DD-DD-Mab-DD*Fluoro、Mab-MYO-MYO-Mab-MYO*Fluoro、Mab-CK-MB-CK-MB-Mab-CK-MB*Fluoro)(检测线),通过荧光免疫分析仪读取检测线的反应信号,在激发光源的作用下,荧光物质发射特定波长的荧光信号,荧光免疫分析仪俘获荧光信号,通过信号转化及设定的标准曲线自动转化为定量数值,计算出样本中心肌肌钙蛋白 I、脑钠肽、D-二聚体、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶的浓度,得到心肌肌钙蛋白 I、脑钠肽、D-二聚体、肌红蛋白、肌酸激酶同工酶检测结果。

[0039] 作为上述技术方案的进一步改进,参照图 3,所述荧光标记物结合垫 2 包括层叠的第一荧光标记物结合垫 20 和第二荧光标记物结合垫 21,所述第一荧光标记物结合垫 20 的一端垫在样品垫 1 的下方,所述第二荧光标记物结合垫 21 交叠压在硝酸纤维素膜 3 的一端。荧光标记物结合垫 2 的分层设置,便于将荧光标记物结合垫 2 安装在样品垫 1 和硝酸纤维素膜 3 之间。

[0040] 作为上述技术方案的进一步改进,参照图 3 所述第一荧光标记物结合垫 20 中插入样品垫下方的一端设有定位条 22,所述样品垫 1 的下端面设有能容纳定位条 22 的定位槽。通过定位条 22 便于荧光标记物结合垫 2 和样品垫 1 之间的安装固定。

[0041] 作为上述技术方案的进一步改进,参照图 2 和图 4,还包括卡壳,所述底板 5、样品垫 1、荧光标记物结合垫 2、硝酸纤维素膜 3 和吸水垫 4 均置于卡壳 6 内,所述卡壳 6 壳面上

对应于硝酸纤维膜 3 的位置设有观察窗 8, 卡壳 6 壳面上对应于样品垫 1 的位置设有加样孔 7。

[0042] 作为上述技术方案的进一步改进, 所述观察窗 8 为长方形孔。

[0043] 作为上述技术方案的进一步改进, 所述荧光蛋白可以是绿色荧光蛋白、藻胆蛋白中的一种。

[0044] 作为上述技术方案的进一步改进, 所述样品垫 1 为经表面活性剂缓冲液浸泡处理后干燥的玻璃纤维构件。样品垫由玻璃纤维构成, 经表面活性剂缓冲液浸泡处理, 干燥后使用。所述样品垫 1 的裁剪宽度为 2.5 ~ 5.0mm。

[0045] 作为上述技术方案的进一步改进, 所述底板 5 为聚苯乙烯构件或者聚乙烯构件。

[0046] 作为上述技术方案的进一步改进, 所述卡壳 6 包括塑料上壳 60 和塑料下壳 61, 所述塑料上壳 60 扣合塑料下壳 61 上后形成卡壳 6。

[0047] 以上是对本实用新型的较佳实施方式进行了具体说明, 但本发明创造并不限于所述实施例, 熟悉本领域的技术人员在不违背本实用新型精神的前提下还可作出种种的等同变型或替换, 这些等同的变型或替换均包含在本申请权利要求所限定的范围内。

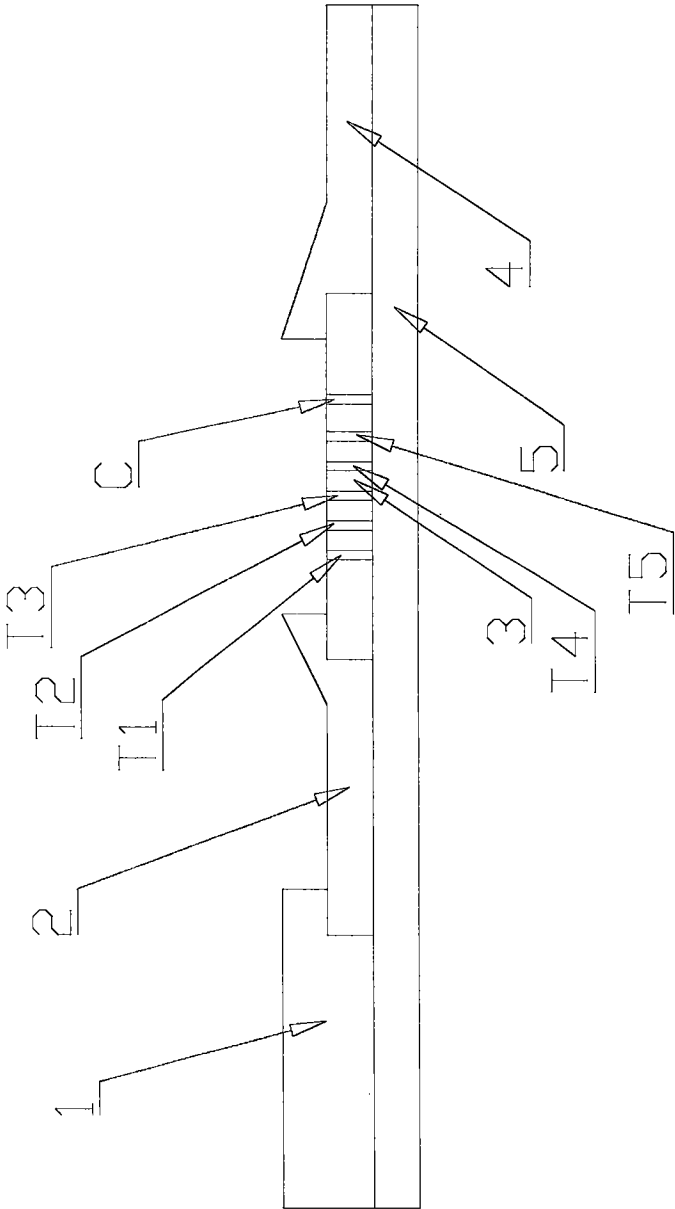


图 1

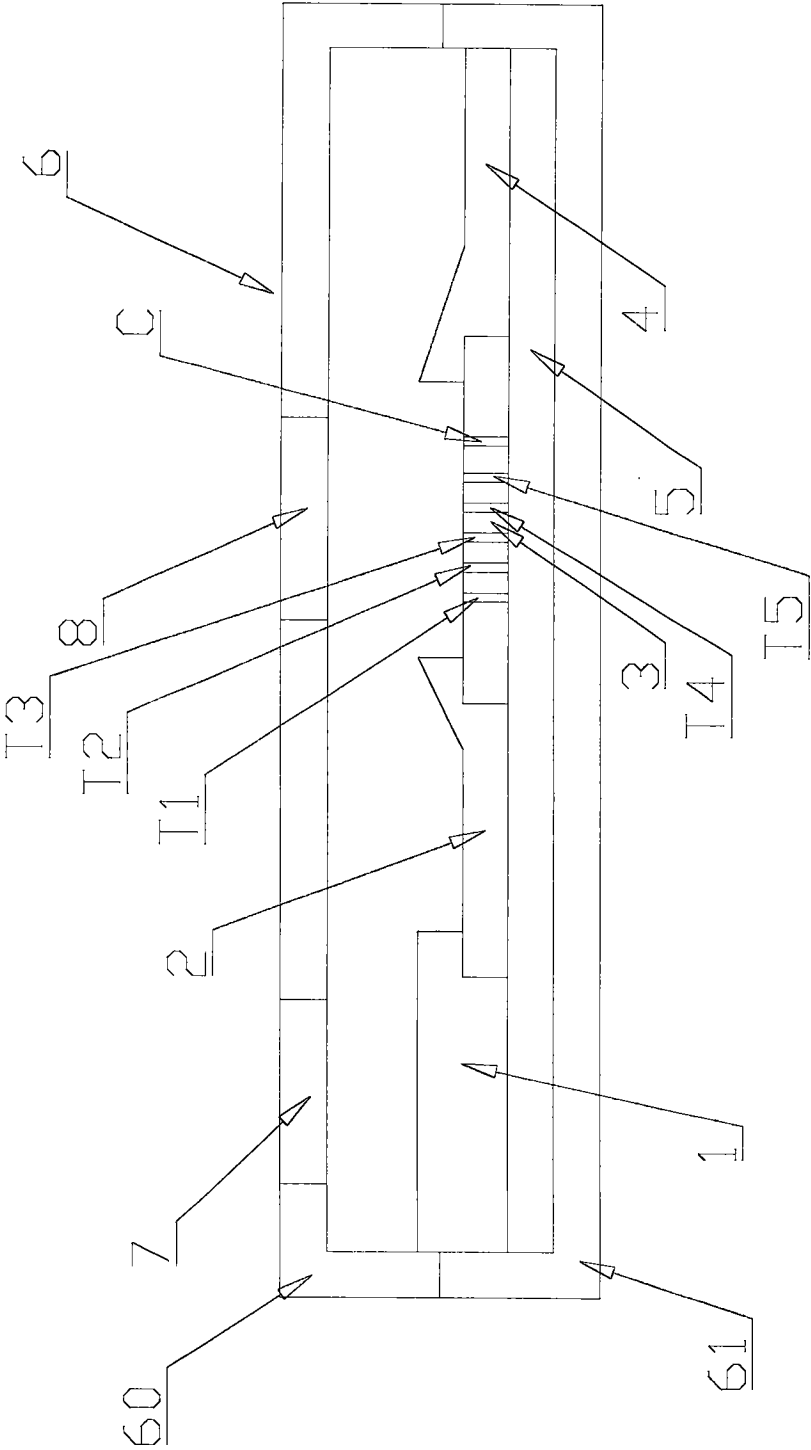


图 2

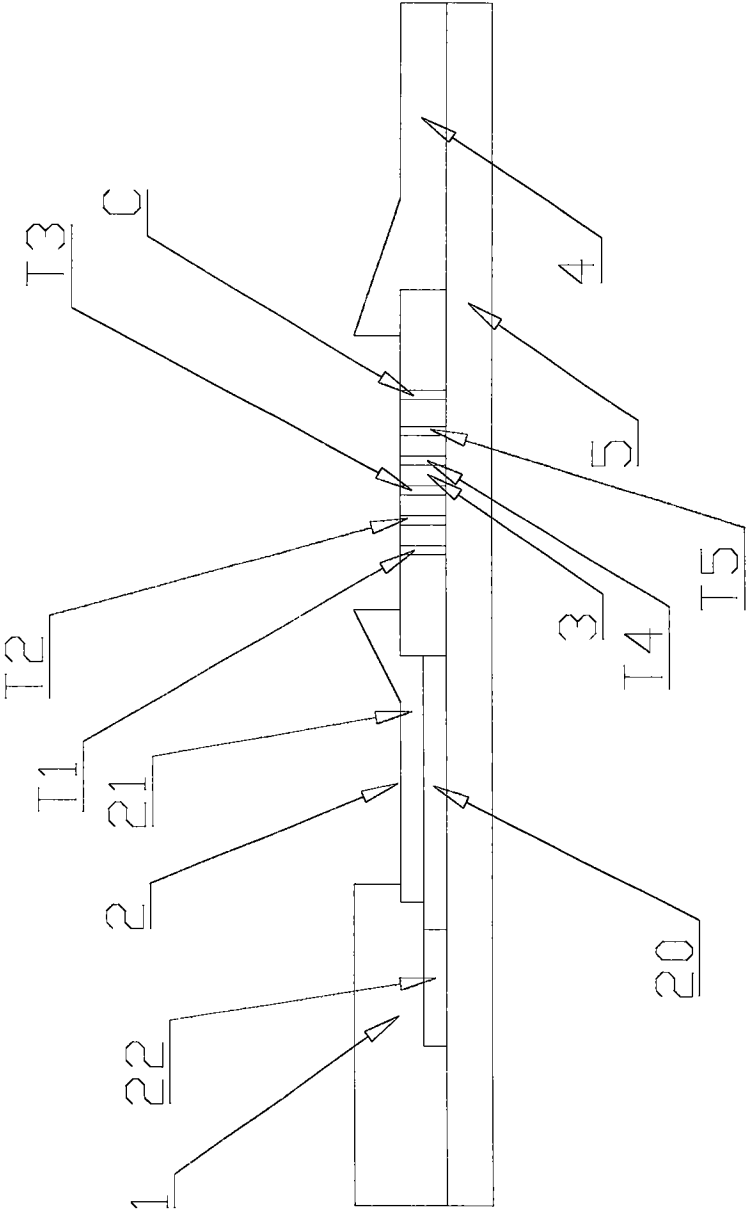


图 3

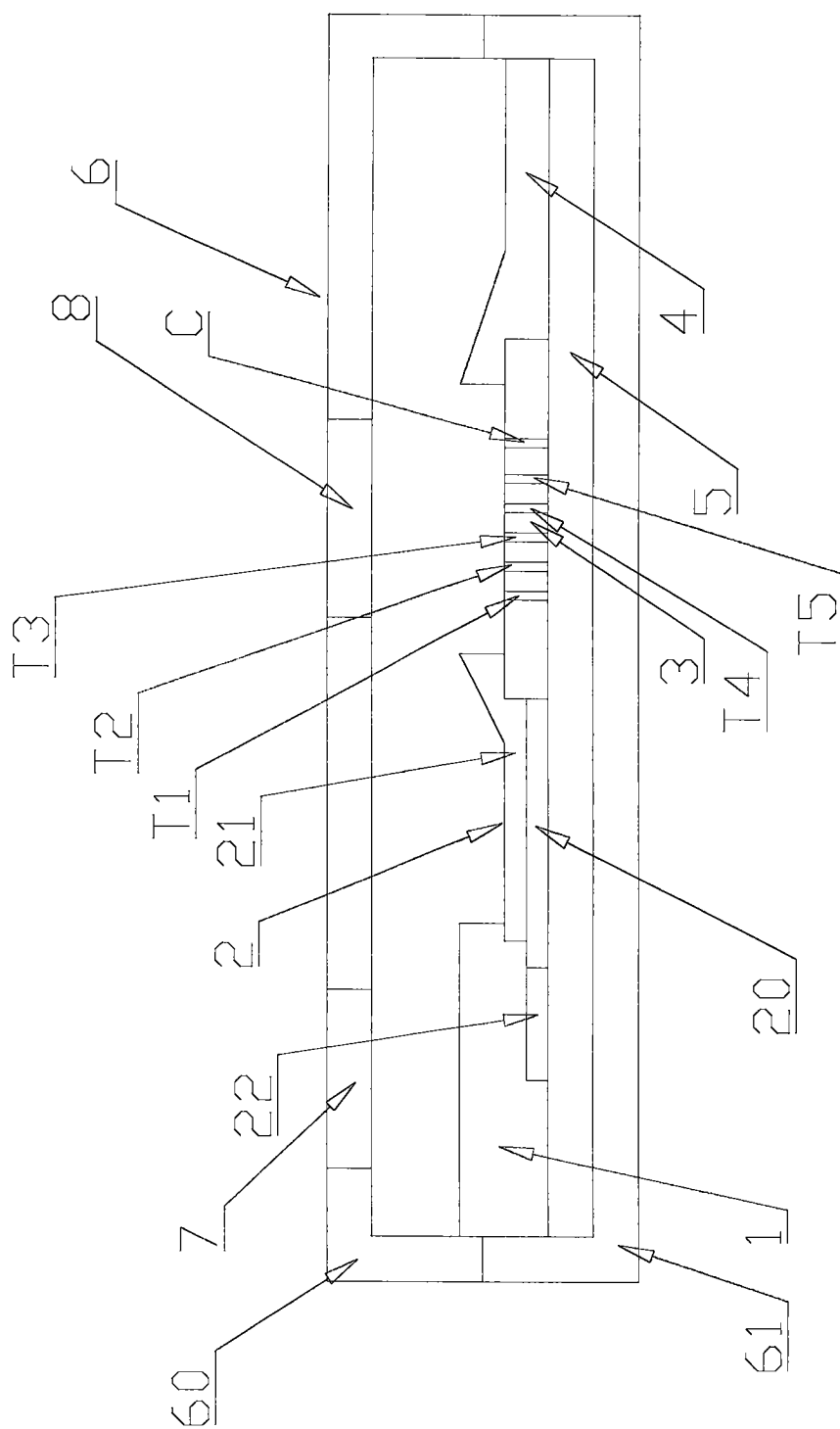


图 4

专利名称(译)	心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条		
公开(公告)号	CN204989199U	公开(公告)日	2016-01-20
申请号	CN201520588672.9	申请日	2015-07-30
[标]申请(专利权)人(译)	广州天宝颂原生物科技开发有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州天宝颂原生物科技开发有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州天宝颂原生物科技开发有限公司		
[标]发明人	吴明 王小明 夏坤 佟顺刚		
发明人	吴明 王小明 夏坤 佟顺刚		
IPC分类号	G01N33/74 G01N33/68 G01N33/577 G01N33/573 G01N33/558 G01N33/532		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型公开了一种心肺功能五项联合免疫层析定量联检试纸条，包括底板、样品垫、荧光标记物结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫；所述试纸条由样品垫、荧光标记物结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接粘贴在底板上构成。所述荧光标记物结合垫含有链霉亲和素标记荧光蛋白和生物素标记的心肌肌钙蛋白I单克隆抗体、生物素标记的脑钠肽单克隆抗体、生物素标记的D-二聚体单克隆抗体、生物素标记的肌红蛋白单克隆抗体、生物素标记的肌酸激酶同工酶单克隆抗体；所述硝酸纤维素膜上有检测线和质控线。本实用新型不仅大大缩短了检测时间，提高了检测灵敏度，同时联合检测还大大提高了便利性。

