



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109100505 A

(43)申请公布日 2018.12.28

(21)申请号 201810961706.2

(22)申请日 2018.08.22

(71)申请人 宁波奥丞生物科技有限公司

地址 315000 浙江省宁波市海曙区望春工业区春华路885号

(72)发明人 唐静 陈星星 周鸿章

(74)专利代理机构 北京盛凡智荣知识产权代理有限公司 11616

代理人 李丽君

(51)Int.Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

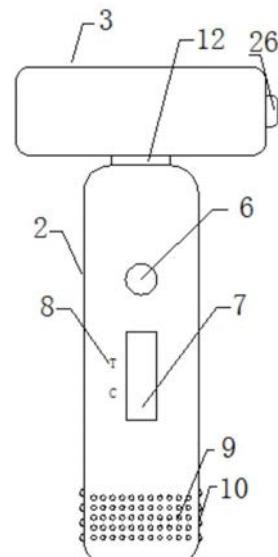
权利要求书1页 说明书5页 附图2页

(54)发明名称

一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒

(57)摘要

本发明公开了一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒，包括试剂盒盒体以及设置于试剂盒盒体内的试纸条；试剂盒包括第二盒体，第二盒体内设有微量采血管、末梢采血针、吸管、酒精消毒片，可一次完成抽血、检验全过程；试纸条设有检测线和质控线，当待测样品加到样品垫上后，通过毛细作用向前移动，先与结合垫上荧光标记抗体I反应，形成荧光标记抗体-抗原复合物，继续向前移动，与检测线包被的抗体II结合形成荧光标记抗体-抗原-抗原夹心复合物，并固定在检测线上，多余的荧光标记抗体与兔抗鼠IgG结合并固定，再通过荧光检测仪进行检测；本发明具有定量、快速、简便、灵敏等优点，有广阔的市场前景。



1. 一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒，其特征在于，包括试剂盒盒体以及设置于试剂盒盒体内的试纸条，所述试剂盒盒体包括第一盒体、第二盒体以及将第一盒体、第二盒体相连接的连接条，第一盒体包括上壳体、下壳体，上壳体与下壳体通过卡接相连，上壳体上设有加样孔、观察窗，观察窗的一边设有检测标识，上壳体上表面还设有若干防滑凸起，若干防滑凸起呈矩形阵列排布，上壳体的下端两侧设有若干防滑条，若干防滑条等距排列，上壳体内表面设有卡条，卡条位于加样孔和观察窗的上下两侧，卡条的长度为d₁，观察窗的长度为d₂，d₁=d₂，所述下壳体内表面设有试纸条、第一限位条、第二限位条，第一限位条位于试纸条的上下两侧，第二限位条位于试纸条的左右两侧；所述第二盒体包括盒体、盖体，盒体与盖体一端通过铰接相连，盒体与盖体另一端通过扣接相连，盒体内设有固定座，固定座与盒体相适应，固定座上设有第一凹槽、第二凹槽、第三凹槽、第四凹槽，第一凹槽、第二凹槽、第三凹槽相平行，第四凹槽与第一凹槽相垂直，第一凹槽内设有微量采血管，第二凹槽内设有末梢采血针，第三凹槽内设有吸管，第四凹槽内设有酒精消毒片，所述盖体一侧设有把手；

所述试纸条包括底板、吸水垫、硝酸纤维素包被膜、单克隆抗体结合垫以及样品垫，所述硝酸纤维素包被膜粘覆于所述底板的中间部位，且硝酸纤维素包被膜上设置有相间隔的检测线和质控线，所述检测线靠近所述单克隆抗体结合垫，所述质控线靠近所述吸水垫，所述单克隆抗体结合垫上包被荧光素标记的CD105单克隆抗体I，所述检测线上包被有CD105单克隆抗体II，质控线上包被有兔抗鼠lgG。

2. 如权利要求1所述的一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒，其特征在于，所述试剂盒盒体为塑料材质。

3. 如权利要求1所述的一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒，其特征在于，所述固定座为海绵材质。

4. 如权利要求1所述的一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒，其特征在于，所述单克隆抗体结合垫为聚氨酯材质。

5. 如权利要求1所述的一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒，其特征在于，所述样品垫是玻璃纤维素膜。

6. 如权利要求1所述的一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒，其特征在于，所述CD105单克隆抗体I与CD105单克隆抗体II的区别在于结合CD105抗原的位点不同。

7. 如权利要求1所述的一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒，其特征在于，所述吸水垫、硝酸纤维素包被膜、单克隆抗体结合垫、样品垫之间，依次与且仅与相邻部位相接触且部分重叠。

一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及体外诊断领域,具体涉及一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒。

背景技术

[0002] CD105是一种内皮细胞增殖的标志物,是转化生长因子 β (TGF β)受体复合物的成分之一。CD105在增殖的内皮细胞和血管生成旺盛的肿瘤组织内新生血管内皮细胞中呈过表达,而在正常成熟组织的血管内皮细胞中表达弱或不表达。具有调节内皮细胞对TGF的反应、促内皮细胞增殖和促血管形成等功能,可用来诊断肿瘤、预测疗效,也可用来抗肿瘤血管治疗。

[0003] 目前,检测CD105的方法目前主要是酶联免疫技术(ELISA),ELISA技术存在以下缺点:准确性差、操作时间长、自动化程度低,灵敏度较低,一般只能定性,不能定量,特别是重复性差这一缺点限制了其在临床上的应用,尤其不适用于需通过准确定量来帮助对疾病进行诊断的情况,因此酶联免疫技术检测CD105不适合临床快速诊断,如何能够制作出快速的定量检测设备成为需要迫切解决的问题。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒,重复性好,灵敏度高,可准确定量,检测效率高。

[0005] 为实现上述目的,本发明提供如下技术方案:一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒,包括试剂盒盒体以及设置于试剂盒盒体内的试纸条,所述试剂盒盒体包括第一盒体、第二盒体以及将第一盒体、第二盒体相连接的连接条,第一盒体包括上壳体、下壳体,上壳体与下壳体通过卡接相连,上壳体上设有加样孔、观察窗,观察窗的一边设有检测标识,上壳体上表面还设有若干防滑凸起,若干防滑凸起呈矩形阵列排布,上壳体的下端两侧设有若干防滑条,若干防滑条等距排列,上壳体内表面设有卡条,卡条位于加样孔和观察窗的上下两侧,卡条的长度为d1,观察窗的长度为d2,d1=d2,所述下壳体内表面设有试纸条、第一限位条、第二限位条,第一限位条位于试纸条的上下两侧,第二限位条位于试纸条的左右两侧;所述第二盒体包括盒体、盖体,盒体与盖体一端通过铰接相连,盒体与盖体另一端通过扣接相连,盒体内设有固定座,固定座与盒体相适应,固定座上设有第一凹槽、第二凹槽、第三凹槽、第四凹槽,第一凹槽、第二凹槽、第三凹槽相平行,第四凹槽与第一凹槽相垂直,第一凹槽内设有微量采血管,第二凹槽内设有末梢采血针,第三凹槽内设有吸管,第四凹槽内设有酒精消毒片,所述盖体一侧设有把手;

[0006] 所述试纸条包括底板、吸水垫、硝酸纤维素包被膜、单克隆抗体结合垫以及样品垫,所述硝酸纤维素包被膜粘覆于所述底板的中间部位,且硝酸纤维素包被膜上设置有相间隔的检测线和质控线,所述检测线靠近所述单克隆抗体结合垫,所述质控线靠近所述吸水垫,所述单克隆抗体结合垫上包被荧光素标记的CD105单克隆抗体I,所述检测线上包被

有CD105单克隆抗体Ⅱ，质控线上包被有兔抗鼠1gG。

[0007] 优选的，所述试剂盒盒体为塑料材质。

[0008] 优选的，所述固定座为海绵材质。

[0009] 优选的，所述单克隆抗体结合垫为聚氨酯材质。

[0010] 优选的，所述样品垫是玻璃纤维素膜。

[0011] 优选的，所述CD105单克隆抗体I与CD105单克隆抗体II的区别在于结合CD105抗原的位点不同。

[0012] 优选的，所述吸水垫、硝酸纤维素包被膜、单克隆抗体结合垫、样品垫之间，依次与且仅与相邻部位相接触且部分重叠。

[0013] 一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒包括如下制备步骤：

[0014] (1) 制备FITC标记的单克隆抗体I：4℃条件下，用含0.15mol/l NaCl的PBS缓冲液(0.05M, pH=7.2)稀释CD105单克隆抗体I，使CD105单克隆抗体I的终浓度为10mg/ml，在CD105单克隆抗体I溶液中加入FITC荧光素，FITC荧光素与CD105单克隆抗体I的比例为1:50, 4℃下搅拌12h，加入半饱和硫酸铵，离心，将沉淀去除，再用PBS缓冲液(0.01M, pH=7.2)透析，除去硫酸铵，将制备好的FITC标记抗体加0.01w/v%硫柳汞，分装在1ml安瓿中，于4℃保存；

[0015] (2) 制备单克隆抗体结合垫：使用含有1wt%蔗糖的PBS缓冲液(0.01M, pH=7.2)将FITC标记的CD105单克隆抗体I稀释至2mg/ml的浓度，再使用定量喷膜仪以2ul/cm的量将FITC标记的CD105单克隆抗体I喷涂于结合垫上，避光条件下37℃烘干1小时，制得单克隆抗体结合垫；

[0016] (3) 制备硝酸纤维素包被膜：使用含有1wt%蔗糖的PBS缓冲液(0.01M, pH=7.2)分别将CD105单克隆抗体Ⅱ、免抗鼠IgG抗体稀释至2mg/ml的浓度，再使用定量喷膜仪以1ul/cm的量将二者间隔喷涂在硝酸纤维素膜上，37℃烘干1小时，加入干燥剂置于4℃封存备用；

[0017] (4) 制备样品垫：用含有1wt%BSA、0.1wt%tritonx-100的PBS缓冲液(0.01M, pH=7.2)浸泡样品垫1.5~3小时，37℃烘干备用；

[0018] (5) 装配试剂盒：将标记有抗体的硝酸纤维素包被膜粘贴于底板的中间位置，在硝酸纤维素包被膜的一端搭接吸水垫，另一端搭接结合垫，结合垫上搭接样品垫，将试纸条置于下壳体的指定位置，盖上上壳体，置于湿度低于15%的密封空间内保存。

[0019] 本发明具有有益效果：本试剂盒设计合理、使用便捷，试剂盒包括第一盒体、第二盒体，第二盒体内设有微量采血管、末梢采血针、吸管、酒精消毒片，可一次完成抽血、检验全过程，无需在特定环境中使用；试纸条设有检测线和质控线，检测线和质控线上分别包被CD105单克隆抗体Ⅱ和兔抗鼠1gG，当待测样品加到试纸条一端的样品垫上后，通过毛细作用向前移动，先与结合垫上标记荧光素的CD105单克隆抗体I反应，形成荧光标记抗体-抗原复合物，继续向前移动，与检测线包被的CD105单克隆抗体Ⅱ结合形成荧光标记抗体-抗原-抗原夹心复合物，并固定在检测线上，多余的标记荧光素的CD105单克隆抗体I与质控线上包被的兔抗鼠1gG结合并固定，再通过荧光检测仪进行检测；本发明具有定量、快速、简便、灵敏等优点，有广阔的市场前景。

附图说明

- [0020] 图1为本发明结构示意图；
- [0021] 图2为上壳体、盖体打开示意图；
- [0022] 图3为下壳体结构示意图；
- [0023] 图4为试纸条结构示意图；
- [0024] 1-试纸条,2-第一盒体,3-第二盒体,4-上壳体,5-下壳体,6-加样孔,7-观察窗,8-检测标识,9-防滑凸起,10-防滑条,11-卡条,12-连接条,13-第一限位条,14-第二限位条,15-盒体,16-盖体,17-固定座,18-第一凹槽,19-第二凹槽,20-第三凹槽,21-第四凹槽,22-微量采血管,23-末梢采血针,24-吸管,25-酒精消毒片,26-把手,27-底板,28-吸水垫,29-硝酸纤维素包被膜,30-单克隆抗体结合垫,31-样品垫,32-检测线,33-质控线。

具体实施方式

[0025] 下面将结合本发明实施例中的附图，对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述。

[0026] 实施例1

[0027] 本发明免疫荧光法试剂盒的结构；

[0028] 如图1-4所示，一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒，包括试剂盒盒体以及设置于试剂盒盒体内的试纸条，所述试剂盒盒体包括第一盒体、第二盒体以及将第一盒体、第二盒体相连接的连接条，第一盒体包括上壳体、下壳体，上壳体与下壳体通过卡接相连，上壳体上设有加样孔、观察窗，观察窗的一边设有检测标识，上壳体上表面还设有若干防滑凸起，若干防滑凸起呈矩形阵列排布，上壳体的下端两侧设有若干防滑条，若干防滑条等距排列，上壳体内表面设有卡条，卡条位于加样孔和观察窗的上下两侧，卡条的长度为d₁，观察窗的长度为d₂，d₁=d₂，所述下壳体内表面设有试纸条、第一限位条、第二限位条，第一限位条位于试纸条的上下两侧，第二限位条位于试纸条的左右两侧；所述第二盒体包括盒体、盖体，盒体与盖体一端通过铰接相连，盒体与盖体另一端通过扣接相连，盒体内设有固定座，固定座与盒体相适应，固定座上设有第一凹槽、第二凹槽、第三凹槽、第四凹槽，第一凹槽、第二凹槽、第三凹槽相平行，第四凹槽与第一凹槽相垂直，第一凹槽内设有微量采血管，第二凹槽内设有末梢采血针，第三凹槽内设有吸管，第四凹槽内设有酒精消毒片，所述盖体一侧设有把手；

[0029] 所述试纸条包括底板、吸水垫、硝酸纤维素包被膜、单克隆抗体结合垫以及样品垫，所述硝酸纤维素包被膜粘覆于所述底板的中间部位，且硝酸纤维素包被膜上设置有相间隔的检测线和质控线，所述检测线靠近所述单克隆抗体结合垫，所述质控线靠近所述吸水垫，所述单克隆抗体结合垫上包被荧光素标记的CD105单克隆抗体I，所述检测线上包被有CD105单克隆抗体II，质控线上包被有兔抗鼠1gG。

[0030] 优选的，所述试剂盒盒体为塑料材质。

[0031] 优选的，所述固定座为海绵材质。

[0032] 优选的，所述单克隆抗体结合垫为聚氨酯材质。

[0033] 优选的，所述样品垫是玻璃纤维素膜。

[0034] 优选的，所述CD105单克隆抗体I与CD105单克隆抗体II的区别在于结合CD105抗原

的位点不同。

[0035] 优选的，所述吸水垫、硝酸纤维素包被膜、单克隆抗体结合垫、样品垫之间，依次与且仅与相邻部位相接触且部分重叠。

[0036] 实施例2

[0037] 本发明免疫荧光法试剂盒的制备方法；

[0038] 一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒包括如下制备步骤：

[0039] (1) 制备FITC标记的单克隆抗体I:4℃条件下,用含0.05mol/lNaCl的PBS缓冲液(0.05M,pH=7.2)稀释CD105单克隆抗体I,使CD105单克隆抗体I的终浓度为10mg/ml,在CD105单克隆抗体I溶液中加入FITC荧光素,FITC荧光素与CD105单克隆抗体I的比例为1:50,4℃下搅拌12h,加入半饱和硫酸铵,离心,将沉淀去除,再用PBS缓冲液(0.01M,pH=7.2)透析,除去硫酸铵,将制备好的FITC标记抗体加0.01w/v%硫柳汞,分装在1ml安瓿中,于4℃保存;

[0040] (2) 制备单克隆抗体结合垫:使用含有1wt%蔗糖的PBS缓冲液(0.01M,pH=7.2)将FITC标记的CD105单克隆抗体I稀释至2mg/ml的浓度,再使用定量喷膜仪以2ul/cm的量将FITC标记的CD105单克隆抗体I喷涂于结合垫上,避光条件下37℃烘干1小时,制得单克隆抗体结合垫;

[0041] (3) 制备硝酸纤维素包被膜:使用含有1wt%蔗糖的PBS缓冲液(0.01M,pH=7.2)分别将CD105单克隆抗体II、兔抗鼠IgG抗体稀释至2mg/ml的浓度,再使用定量喷膜仪以1ul/cm的量将二者间隔喷涂在硝酸纤维素膜上,37℃烘干1小时,加入干燥剂置于4℃封存备用;

[0042] (4) 制备样品垫:用含有1wt%BSA、0.1wt%tritonx-100的PBS缓冲液(0.01M,pH=7.2)浸泡样品垫1.5~3小时,37℃烘干备用;

[0043] (5) 装配试剂盒:将标记有抗体的硝酸纤维素包被膜粘贴于底板的中间位置,在硝酸纤维素包被膜的一端搭接吸水垫,另一端搭接结合垫,结合垫上搭接样品垫,将试纸条置于下壳体的指定位置,盖上上壳体,置于湿度低于15%的密封空间内保存。

[0044] 实施例3

[0045] 本发明免疫荧光法试剂盒的制备方法；

[0046] 一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒包括如下制备步骤：

[0047] (1) 制备FITC标记的单克隆抗体I:4℃条件下,用含0.15mol/lNaCl的PBS缓冲液(0.05M,pH=7.2)稀释CD105单克隆抗体I,使CD105单克隆抗体I的终浓度为20mg/ml,在CD105单克隆抗体I溶液中加入FITC荧光素,FITC荧光素与CD105单克隆抗体I的比例为1:40,4℃下搅拌16h,加入半饱和硫酸铵,离心,将沉淀去除,再用PBS缓冲液(0.01M,pH=7.2)透析,除去硫酸铵,将制备好的FITC标记抗体加0.01w/v%硫柳汞,分装在1ml安瓿中,于4℃保存;

[0048] (2) 制备单克隆抗体结合垫:使用含有1wt%蔗糖的PBS缓冲液(0.01M,pH=7.2)将FITC标记的CD105单克隆抗体I稀释至2mg/ml的浓度,再使用定量喷膜仪以2ul/cm的量将FITC标记的CD105单克隆抗体I喷涂于结合垫上,避光条件下37℃烘干2小时,制得单克隆抗体结合垫;

[0049] (3) 制备硝酸纤维素包被膜:使用含有1wt%蔗糖的PBS缓冲液(0.01M,pH=7.2)分别将CD105单克隆抗体II、兔抗鼠IgG抗体稀释至2mg/ml的浓度,再使用定量喷膜仪以2ul/

cm的量将二者间隔喷涂在硝酸纤维素膜上,37℃烘干1小时,加入干燥剂置于4℃封存备用;

[0050] (4) 制备样品垫:用含有1wt%BSA、0.1wt%tritonx-100的PBS缓冲液(0.01M,pH=7.2)浸泡样品垫1.5~3小时,37℃烘干备用;

[0051] (5) 装配试剂盒:将标记有抗体的硝酸纤维素包被膜粘贴于底板的中间位置,在硝酸纤维素包被膜的一端搭接吸水垫,另一端搭接结合垫,结合垫上搭接样品垫,将试纸条置于下壳体的指定位置,盖上上壳体,置于湿度低于15%的密封空间内保存。

[0052] 尽管已经示出和描述了本发明的实施例,对于本领域的普通技术人员而言,可以理解在不脱离本发明的原理和精神的情况下可以对这些实施例进行多种变化、修改、替换和变型,本发明的范围由所附权利要求及其等同物限定。

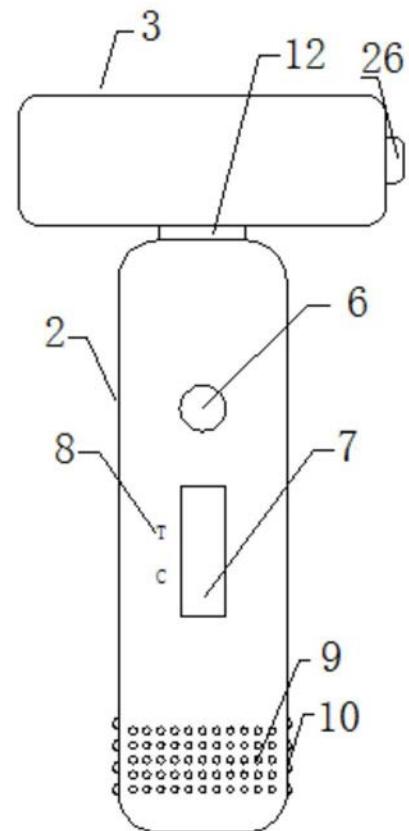


图1

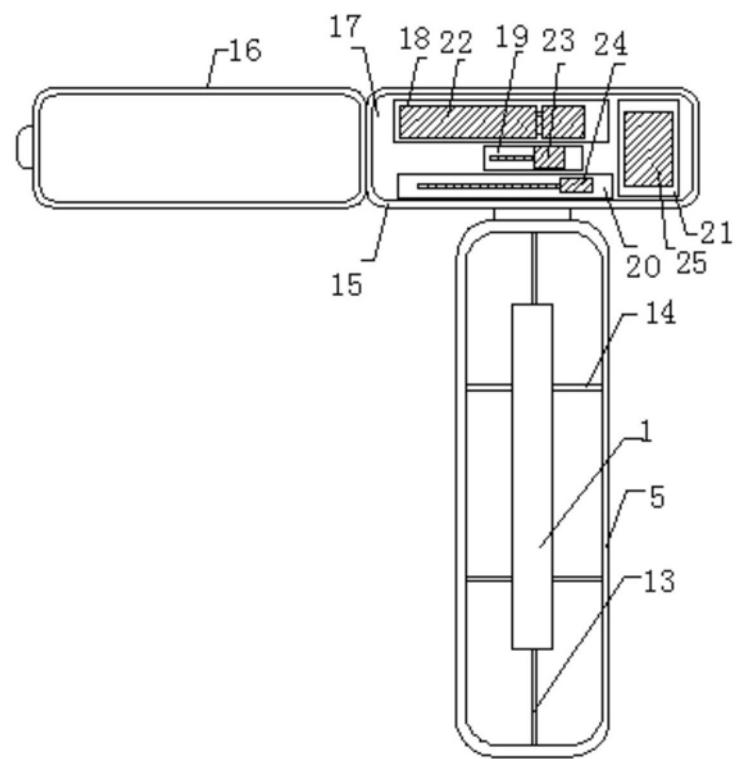


图2

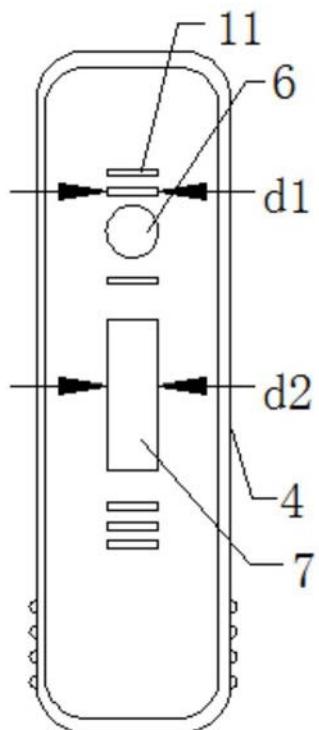


图3

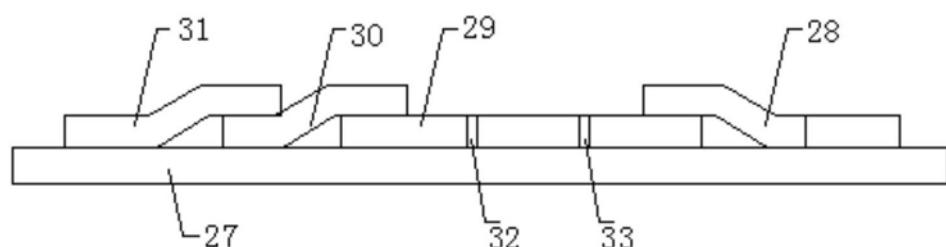


图4

专利名称(译)	一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒		
公开(公告)号	CN109100505A	公开(公告)日	2018-12-28
申请号	CN201810961706.2	申请日	2018-08-22
[标]发明人	唐静 陈星星 周鸿章		
发明人	唐静 陈星星 周鸿章		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/58 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/533 G01N33/582 G01N2333/495 G01N2333/71		
代理人(译)	李丽君		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明公开了一种定量检测血管内皮标志物CD105的免疫荧光试剂盒，包括试剂盒盒体以及设置于试剂盒盒体内的试纸条；试剂盒包括第二盒体，第二盒体内设有微量采血管、末梢采血针、吸管、酒精消毒片，可一次完成抽血、检验全过程；试纸条设有检测线和质控线，当待测样品加到样品垫上后，通过毛细作用向前移动，先与结合垫上荧光标记抗体I反应，形成荧光标记抗体-抗原复合物，继续向前移动，与检测线包被的抗体II结合形成荧光标记抗体-抗原-抗原夹心复合物，并固定在检测线上，多余的荧光标记抗体与兔抗鼠IgG结合并固定，再通过荧光检测仪进行检测；本发明具有定量、快速、简便、灵敏等优点，有广阔的市场前景。

