



(12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 208537565 U

(45)授权公告日 2019.02.22

(21)申请号 201820492450.0

G01N 33/533(2006.01)

(22)申请日 2018.04.08

(ESM)同样的发明创造已同日申请发明专利

(73)专利权人 广州天宝颂原生物科技开发有限公司

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

(72)发明人 夏坤 宋建勋 王小明 卢艳华
佟顺刚

(74)专利代理机构 广州嘉权专利商标事务所有
限公司 44205

代理人 谭英强

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

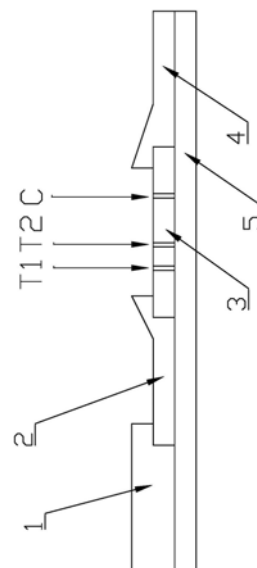
权利要求书1页 说明书5页 附图4页

(54)实用新型名称

C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定
量联合检测试纸条

(57)摘要

本实用新型公开了C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条,包括卡壳、底板、样品垫、荧光标记物结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫;荧光标记物结合垫上固定有生物素标记的C-反应蛋白单克隆抗体固定有识别C-反应蛋白另外一个表位的单克隆抗体、生物素标记的血清淀粉样蛋白A单克隆抗体和链霉亲和素标记的荧光蛋白;所述硝酸纤维素膜上有检测线和质控线。本实用新型旨在利用荧光蛋白标记物结合“链霉亲和素-生物素放大系统”实现C-反应蛋白/血清淀粉样蛋白A的快速定量联合检测,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与可靠性。



1. C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条, 其特征在于: 其包括卡壳, 卡壳内设置有底板, 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, 所述的样品垫位于底板一端, 所述吸水垫位于底板另一端, 所述的荧光标记物结合垫与样品垫一端交叠, 所述荧光标记物结合垫与吸水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, 检测区设有第一检测线、第二检测线和质控线, 所述第一检测线固定有识别C-反应蛋白的单克隆抗体, 所述第二检测线固定有识别血清淀粉样蛋白A的单克隆抗体, 所述质控线固定有羊抗鼠IgG多克隆抗体, 荧光标记物结合垫上固定有生物素标记的C-反应蛋白单克隆抗体固定有识别C-反应蛋白另外一个表位的单克隆抗体、生物素标记的血清淀粉样蛋白A单克隆抗体和链霉亲和素标记的荧光蛋白, 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固定有生物素标记的识别C-反应蛋白另外一个表位的单克隆抗体和生物素标记的识别血清淀粉样蛋白A另一个表位的单克隆抗体, 所述第二荧光标记物结合垫固定有链霉亲和素标记的荧光蛋白, 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。

2. 根据权利要求1所述的C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条, 其特征在于: 所述荧光蛋白是绿色荧光蛋白、藻胆蛋白中的一种。

3. 根据权利要求1所述的C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条, 其特征在于: 所述第一检测线位于检测区中靠近靠近荧光标记物结合垫的一端, 所述质控线位于检测区中靠近吸水垫的一端, 所述第一检测线和质控线相隔的距离为4-8mm, 第二检测线位于第一检测线和质控线之间。

4. 根据权利要求1所述的C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条, 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。

5. 根据权利要求1所述的C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条, 其特征在于: 所述底板为聚苯乙烯构件或者聚乙烯构件。

6. 根据权利要求1所述的C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条, 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。

7. 根据权利要求1所述的C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条, 其特征在于: 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, 所述观察窗为长方形孔, 所述加样孔为椭圆形孔。

C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条

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C-反应蛋白/血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条。

背景技术

[0002] C-反应蛋白(CRP)是一种非常敏感的炎症和组织损伤标志物,在各种急性或慢性感染、组织损伤、心肌梗死等时,CRP在疾病发生后数小时便有成倍增长趋势,甚至高达2000倍,并较其它时相蛋白增长快而显著,其升高的幅度与感染的程度呈正相关,可作为感染的早期诊断指标,亦可用于临床监测病程。CRP通常在细菌感染后增高,而病毒感染后不增高或轻度增高,因此,临床上将CRP作为鉴别细菌或病毒感染的一个重要指标。健康人血清浓度很低($\leq 8\text{mg/L}$),CRP长期低浓度升高($< 10\text{mg/L}$)提示有动脉粥样硬化性炎症的存在,因此它可以作为评价冠心病危险的重要指标。

[0003] 血清淀粉样蛋白A(SAA)是一种小分子载脂蛋白,相对分子量为12000Da,主要来源于肝脏,在肝外细胞中也有表达,同样是一种急性时相反应蛋白。SAA在正常条件下为阴性,但它在炎症发生时可以增高1000倍以上,比高敏CRP更容易被检测到。检测血清中SAA含量有助于诊断非特异炎症、监控炎症活动及预后效果。

[0004] 由于CRP对病毒感染缺乏敏感性,而SAA在细菌和病毒感染早期均可升高。两者的联合检测可提高病毒感染早期的诊断效率,并为病毒与细菌感染的鉴别及治疗方案的选择提供有用的参考信息。另外,CRP和SAA的比值与小儿感染性疾病的严重程度存在相关性,监测CRP/SAA比值比单独检测CRP或SAA具有更大的应用价值。

[0005] 随着炎症反应在冠心病的发展过程中所起的作用进一步被阐明,SAA与高敏CRP都是急性期时相蛋白,都是敏感的炎症反应标志物,反映动脉粥样硬化斑块稳定性的标志。血液中CRP/SAA浓度水平与许多心血管疾病的严重程度呈一定的正相关性,两者联合检测可以用于心血管疾病的辅助诊断、治疗监测及预后评估。

[0006] 目前市场上CRP/SAA联合检测的产品非常少,临床上对患者进行CRP和SAA浓度的检测基本只能单独进行检测。耗费了时间、人力与成本,不便于医生对病情的直接判断。因此,建立一种快速、便捷、高灵敏度的C-反应蛋白/血清淀粉样蛋白A联合检测试剂对临床应用诊断十分迫切。

[0007] 生物素-亲和素系统(biotinavidin system,BAS),是一种医学领域广泛应用的生物反应放大系统。大量研究表明,BAS几乎可与目前研究成功的各种标记物结合。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,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,具有巨大潜力和应用的可能性。

[0008] 生物素-亲和素系统检测原理:生物素经化学修饰后可成为带有多种活性基团的衍生物--活化生物素,活化生物素可以在蛋白质交联剂的介导下,与已知的几乎所有生物

大分子偶联,包括蛋白质,核酸,多糖,脂类等。亲和素是卵白蛋白中提取的一种碱性糖蛋白,对生物素有非常高的亲和力,亲和常数(K)为 10mol/L ,两者结合稳定性好专一性强。这样,结合了荧光物质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,起到了多级放大作用,通过对荧光物质的激发而发射特定荧光信号,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-亲和素系统研制抗缪勒管激素检测快速诊断试剂尚无报道。

实用新型内容

[0009] 本实用新型的目的,在于提供C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条,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,提供一种高灵敏度的C-反应蛋白/血清淀粉样蛋白A快速定量联合检测。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15分钟,大大提高了诊断效率。

[0010] 本实用新型解决其技术问题的解决方案是:C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条,其包括卡壳,卡壳内设置有底板,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,所述的样品垫位于底板一端,所述吸水垫位于底板另一端,所述的荧光标记物结合垫与样品垫一端交叠,所述荧光标记物结合垫与吸水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,检测区设有第一检测线、第二检测线和质控线,所述第一检测线固定有识别C-反应蛋白的单克隆抗体,所述第二检测线固定有识别血清淀粉样蛋白A的单克隆抗体,所述质控线固定有羊抗鼠IgG多克隆抗体,荧光标记物结合垫上固定有生物素标记的C-反应蛋白单克隆抗体固定有识别C-反应蛋白另外一个表位的单克隆抗体、生物素标记的血清淀粉样蛋白A单克隆抗体和链霉亲和素标记的荧光蛋白。

[0011] 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固定有生物素标记的识别C-反应蛋白另外一个表位的单克隆抗体和生物素标记的识别血清淀粉样蛋白A另一个表位的单克隆抗体,所述第二荧光标记物结合垫固定有链霉亲和素标记的荧光蛋白,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。

[0012] 作为上述技术方案的进一步改进,所述荧光蛋白是绿色荧光蛋白、藻胆蛋白中的一种。

[0013] 作为上述技术方案的进一步改进,所述第一检测线位于检测区中靠近荧光标记物结合垫的一端,所述质控线位于检测区中靠近吸水垫的一端,所述第一检测线和质控线相隔的距离为4-8mm,第二检测线位于第一检测线和质控线之间。

[0014] 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。

[0015] 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。

[0016] 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。

[0017] 作为上述技术方案的进一步改进,所述卡壳壳面上对应于硝酸纤维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,所述观察窗为长方形孔,所述加样孔为椭圆形孔。

[0018] 本实用新型与现有技术相比,具有如下优点:

[0019] (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。

[0020] (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。

[0021] (3) 利用本实用新型进行C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A的检测时间不大于15分钟,C-反应蛋白检测线性范围为0.5mg/L~200.0mg/L,血清淀粉样蛋白A检测线性范围为3.0mg/L~200.0mg/L,极大地提高了检测效率。

[0022] (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。

[0023] (5) 本实用新型制作方便,体积小、便于携带且成本较低,克服了酶联免疫吸附法及化学发光法价格高、耗时长和操作要求高的缺点,实现单人份定量检测。

[0024] (6) 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。

[0025] (7) 本实用新型采用联合检测技术,将两项检测整合到同一条试剂条进行,一方面简化了操作,缩短了检测时间,使检测更快速便捷;另一方面,通过结合两项联合检测结果,提高临床诊断的准确性,使医生对患者病情的预测、诊断与监控更具可靠性。

附图说明

[0026] 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。

[0027] 图1是本实用新型实施例一的结构示意图;

[0028] 图2是本实用新型实施例二的结构示意图;

[0029] 图3是本实用新型实施例三的结构示意图;

[0030] 图4是本实用新型实施例四的结构示意图。

具体实施方式

[0031] 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。

[0032] 参照图1和图2,C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条,其包括卡壳6,卡壳6内设置有底板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,所述的样品垫1位于底板5一端,所述吸水垫4位于底板5另一端,所述的荧光标记物结合垫2与样品垫1一端交叠,所述荧光标记物结合垫2与吸水垫4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,所述检测区内的硝酸纤维素膜3上固定有识别C-反应蛋白的单克隆抗体构成的第一检测线T1(浓度0.5~2.0mg/mL)、识别血清淀粉样蛋白A的单克隆抗体构成的第二检测线T2(浓度0.5~2.0mg/mL)和羊抗鼠IgG多克隆抗体构成的质控线C(浓度0.5~2.0mg/mL),所述荧光标记物结合垫2上固定有生物素标记的识别C-反应蛋白另外一个表位的单克隆抗体(浓度0.3~1.5mg/mL)、生物素标记的识别血清淀粉样蛋白A另一个表位的单克隆抗体(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)。

[0033] 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C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A分别对应与荧光标记物结合垫2上结合荧光蛋白的C-反应蛋白抗体(Mab-CRP*Fluoro)、结合荧光蛋白的血清淀粉样蛋白A抗体(Mab-SAA*Fluoro)反应形成复合物CRP—Mab-CRP*Fluoro、SAA—Mab-SAA*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CRP抗体(T1)、SAA抗体(T2)时,反应复合物分别被对应包被的CRP抗体、SAA抗体捕获形成复合物(Mab-CRP—CRP—Mab-CRP*Fluoro、Mab-SAA—SAA—Mab-SAA*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C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A的浓度,得到C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A检测结果。

[0034] 作为上述技术方案的进一步改进,参照图3和图4,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固定有生物素标记的识别C-反应蛋白另外一个表位的单克隆抗体和生物素标记的识别血清淀粉样蛋白A另一个表位的单克隆抗体,所述第二荧光标记物结合垫21固定有链霉亲和素标记的荧光蛋白。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。

[0035] 作为上述技术方案的进一步改进,所述荧光蛋白是绿色荧光蛋白、藻胆蛋白中的一种。

[0036] 作为上述技术方案的进一步改进,所述的检测线T位于检测区中靠近荧光标记物结合垫2的一端,所述质控线位于检测区中靠近吸水垫4的一端,所述第一检测线T1和质控线C相隔的距离为4~8mm,第二检测线T2位于第一检测线T1和质控线C之间。

[0037] 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。

[0038] 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。

[0039] 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。

[0040] 作为上述技术方案的进一步改进,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,所述观察窗8为长方形孔,所述加样孔7为椭圆形孔。

[0041] 以上是对本实用新型的较佳实施方式进行了具体说明,但本实用新型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。

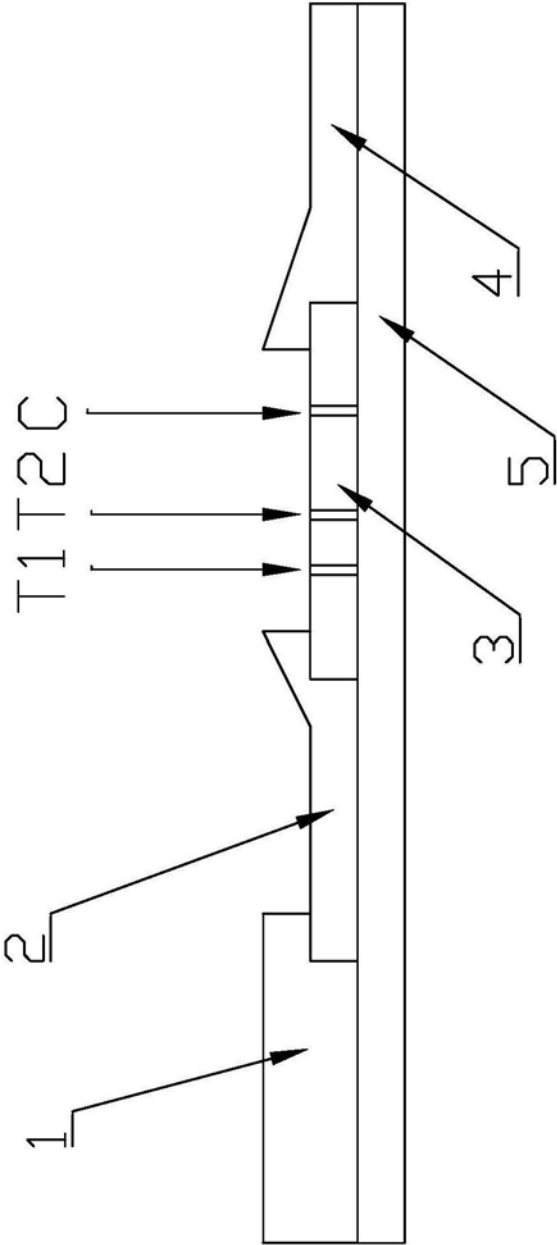


图1

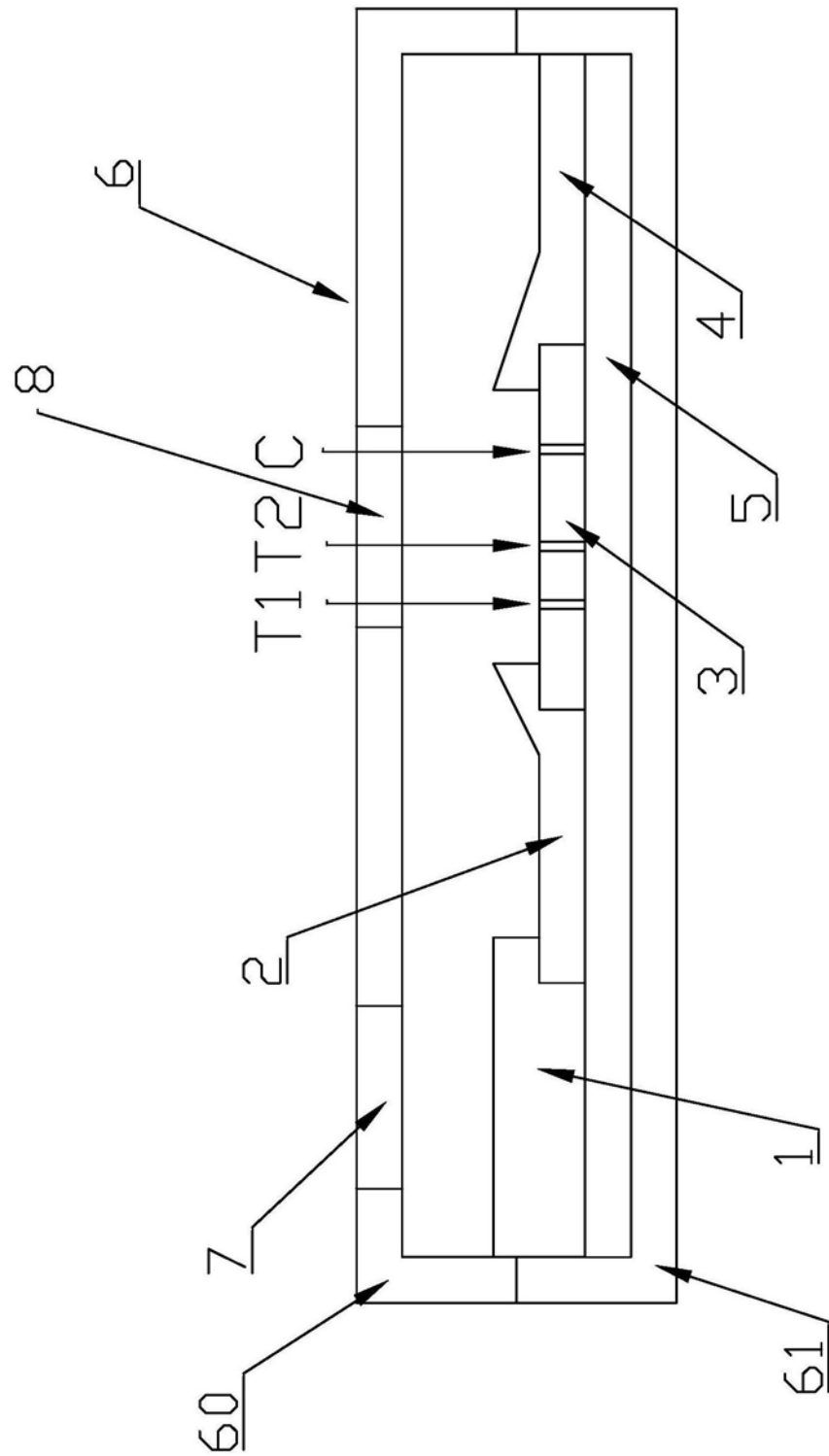


图2

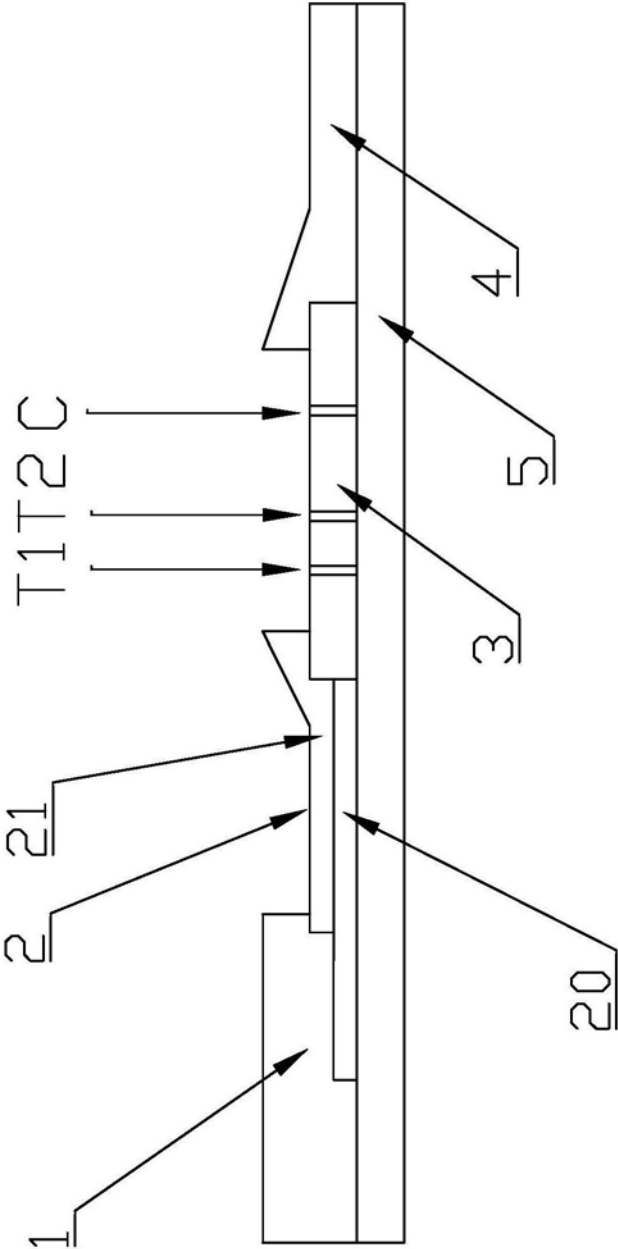


图3

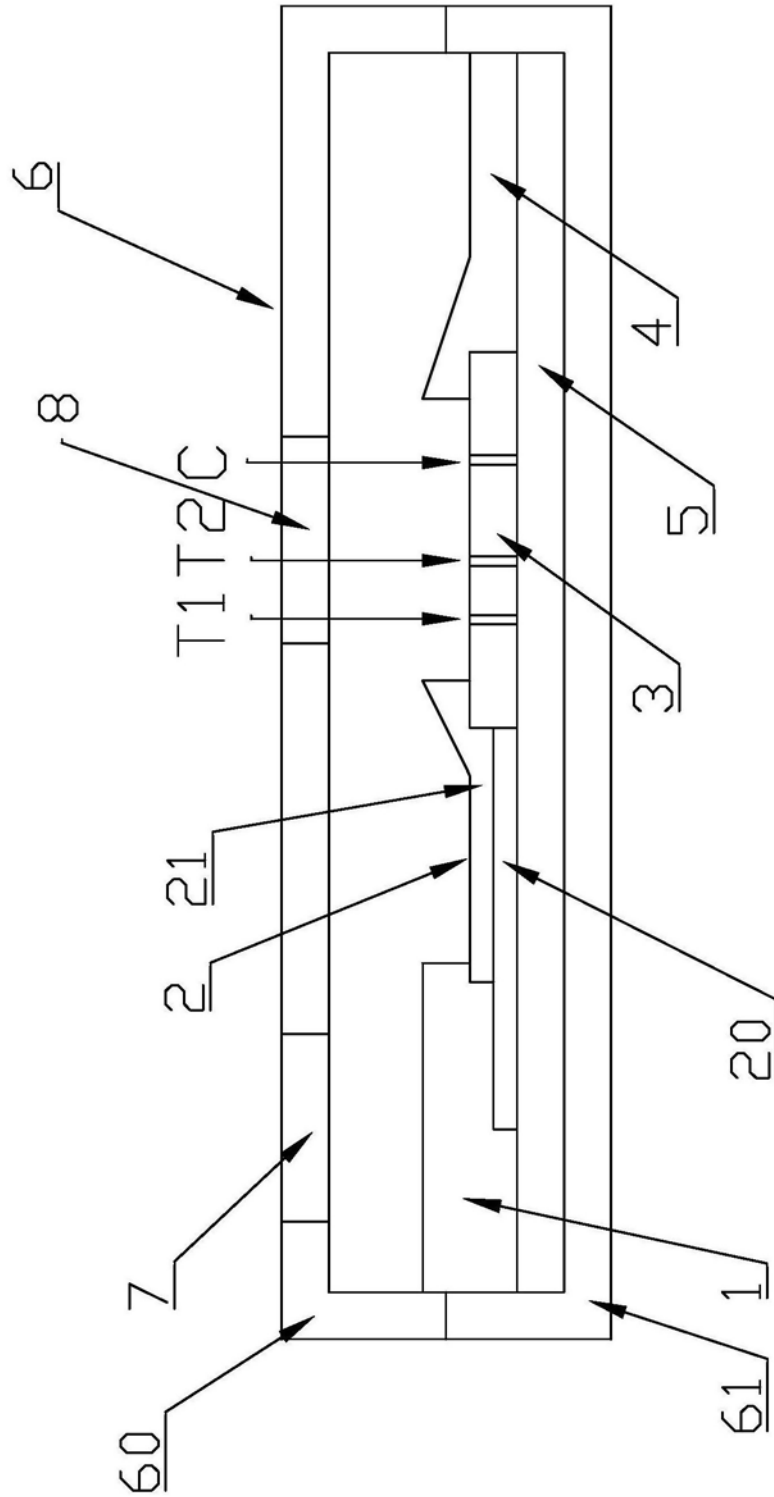


图4

专利名称(译)	C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条		
公开(公告)号	CN208537565U	公开(公告)日	2019-02-22
申请号	CN201820492450.0	申请日	2018-04-08
[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	夏坤 宋建勋 王小明 卢艳华 佟顺刚		
发明人	夏坤 宋建勋 王小明 卢艳华 佟顺刚		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/577 G01N33/558 G01N33/533		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型公开了C-反应蛋白、血清淀粉样蛋白A免疫层析定量联合检测试纸条，包括卡壳、底板、样品垫、荧光标记物结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫；荧光标记物结合垫上固定有生物素标记的C-反应蛋白单克隆抗体固定有识别C-反应蛋白另外一个表位的单克隆抗体、生物素标记的血清淀粉样蛋白A单克隆抗体和链霉亲和素标记的荧光蛋白；所述硝酸纤维素膜上有检测线和质控线。本实用新型旨在利用荧光蛋白标记物结合“链霉亲和素-生物素放大系统”实现C-反应蛋白/血清淀粉样蛋白A的快速定量联合检测，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与可靠性。

