



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105277716 A

(43) 申请公布日 2016. 01. 27

(21) 申请号 201510608156. 2

(22) 申请日 2015. 09. 23

(71) 申请人 上海凯璟生物科技有限公司

地址 201611 上海市松江区松江经济开发区
江田东路 185 号 8 栋 302 室

(72) 发明人 罗朝领 刘红水 侍崇晓

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006. 01)

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/533(2006. 01)

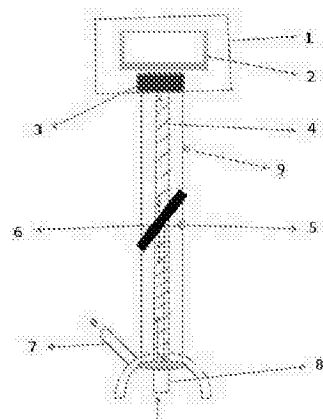
权利要求书1页 说明书3页 附图4页

(54) 发明名称

脂蛋白磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 免疫荧光探针检测试剂盒

(57) 摘要

本发明是基于一种自行设计的免疫荧光探针检测系统来定量检测动脉硬化脑梗死的风险预测因子 Lp-PLA2, 从而对患者是否会发生动脉粥样化心脏病进行预测。荧光探针检测系统包括样品采集系统, 反应检测系统, 激光发射系统, 荧光收集和荧光转化系统。本探针通过连接一种负压装置, 可使采集的血液样本依次进入血液滤膜器对血液样本进行过滤处理, 然后进入样本结合区与标记荧光微球的抗体结合, 最后进入样本的检测区与包被的抗体结合, 即样本以 Ab-Ag(样本)-Ab(标记荧光微球) 的夹心复合物形式存在。通过激光的照射, 激发标记的抗体产生荧光, 然后通过荧光传导装置将荧光信号传送到荧光感光区, 把荧光信号转换为数字信号, 进而转化为样本的浓度信号。本发明的特点是: 通过此探针快速检测心脏病预测因子 Lp-PLA2, 从采集血液样本到检测出结果可在 5 分钟内完成, 检测快速准确, 操作简单, 从而更早更快的预测患者突发心脏病的风险。且本探针的反应检测系统为可分离装置, 即可通过设计不同项目的检测系统。



1. 一种脂蛋白磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 免疫荧光探针检测试剂盒, 其特征在于: 本探针采用的荧光材料为上转换发光颗粒 UCP, 用其标记了鼠抗人 Lp-PLA2 单抗 I。

2. 一种脂蛋白磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 免疫荧光探针检测试剂盒, 其特征在于: 探针的样本采集和反应装置可做成连体的一次性探头, 采用血液过滤膜直接血液样本进行过滤, 无需特殊处理。

3. 一种脂蛋白磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 免疫荧光探针检测试剂盒, 其特征在于: 本探针把样本采集, 反应检测和数据输出三位一体结合在一起, 从采集血液样本到检测出结果可在 5 分钟内完成, 检测快速准确, 操作简单。

4. 一种脂蛋白磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 免疫荧光探针检测试剂盒, 其特征在于: 本探针可设计为探头和主机两部分组成, 通过使用不同项目的探头和对主机芯片导入对应项目的运算程序可对相应的指标进行检测。

脂蛋白磷脂酶 A2 (Lp-PLA2) 免疫荧光探针检测试剂盒

技术领域

[0001] 本发明是基于一种自行设计的免疫荧光探针检测系统来定量检测动脉硬化脑梗死的风险预测因子 Lp-PLA2, 属于医疗产品领域。

背景技术

[0002] 冠状动脉疾病又称冠心病 (coronary heart disease, CHD) 是冠状动脉血管发生动脉粥样硬化病变而引起血管腔狭窄或阻塞, 造成心肌缺血、缺氧或坏死而导致的心脏病。冠状动脉粥样硬化的发生与发展是一个慢性的炎性过程, 慢性炎症被认为是增加冠状动脉病变的风险因素, 能使动脉粥样硬化斑块易于破裂。近年研究发现脂蛋白相关性磷脂酶 A2 是冠心病新的预测因子, 并指出其与动脉粥样硬化性病变密切相关。Lp-PLA2 亦称血小板活化因子乙酰水解酶 (platelet activating factor acetylhydrolase, PAF-AH), 由炎症细胞 (如泡沫细胞、巨噬细胞和肥大细胞) 和肝细胞分泌产生; 激活的泡沫细胞和巨噬细胞会大量产生 Lp-PLA2, 释放入血后形成恶性循环, 从而导致动脉粥样硬化 atherosclerosis, AS) 的形成, 其催化产生的促炎症性产物涉及动脉粥样硬化的各个阶段, 从粥样硬化斑块的最初形成到斑块稳定性的破坏无不与之有关。测定血浆中 Lp-PLA2 的含量或活性可作为独立危险因子, 预警发生冠心病及缺血性卒中的危险性。Lp-PLA2 是一种新发现的参与 AS 发展的一种新的炎症标记物, 流行病学研究表明, 在心血管疾病的初级和二级预防中, Lp-PLA2 可作为独立的预测因子, 并在健康人群或者患有动脉粥样硬化症的患者中, Lp-PLA2 对 CHD 的发生或发展可能有着重要的预测价值。

[0003] 目前临床对 CHD 检测的局限性

1) 血管造影, 可以显示血管的狭窄程度, 但是是一种有创伤性检查, 不适用与正常人员的预防和监测。

[0004] 2) 许多的血液生化检测, 比如胆固醇与低密度脂蛋白升高, 都意味着血管内造成粥样斑块的可能性升高。但是还是无法预警由于血管内的粥样斑块的炎症加重而随时爆发心肌梗塞的危险性。

[0005] 3) 心电图和各种心肌酶的检测, 则是发生了心肌梗塞以后才出现的指标异常, 因而失去了预防的意义。

[0006] 4) C- 反应蛋白的血液检测, 由于 C- 反应蛋白缺乏相关特异性, 目前在欧美国家的临床研究中, 大家对人血浆脂蛋白磷脂酶 A2 的检测达成共识, 只有 Lp-PLA2 的检测能直接准确的反应血管内炎症的严重程度, 并且它反应的是动态的变化, 作为一个动态的指标。

[0007] 检测 CHD 标志物脂蛋白相关性磷脂酶 A2 的优点:

1) Lp-PLA2 是血管炎症高特异性标志物, 不受其他炎症因子的干扰, 更能准确的提示心血管疾病的风险。

[0008] 2) 反应粥样斑块的严重程度, 有效鉴别良性斑块与恶性斑块。

[0009] 3) 各种动脉粥样硬化相关的心脑血管栓塞性疾病的风险评估。

[0010] 4) 各种粥样硬化相关的心脑血管栓塞性疾病治疗效果评估。

[0011] 5) Lp-PLA2 联合 hsCRP 检测能提高冠心病和脑卒中的预测率。

[0012] 6) Lp-PLA2 与动脉粥样硬化性心脑血管疾病的相关性,有可能为治疗这种疾病提供一个新靶标。

发明内容

[0013] 针对以上所述的优缺点,本发明提供一种快速免疫检测系统免疫荧光检测探针和检测 Lp-PLA2 的试剂。试剂主要包括优选的一对抗 Lp-PLA2 的单克隆抗体株,其中一株用来标记荧光微球,制成抗体-荧光垫,另一株包被在载体检测板上,对应的放在荧光探针的不同区域制成一套检测系统。本发明的荧光免疫探针检测系统操作简单智能,检测范围宽,特异性高,灵敏度好。

[0014] 本发明的荧光探针在检测上的优点:

1) 检测快速:采集的样本无需特殊处理,可直接进入本探针进行检测,一步完成,节省时间。

[0015] 2) 本探针采用的荧光材料为上转换发光颗粒 UCP,应其特殊的光学特性在标志物检测方面包括灵敏性,稳定性和灵活性具有很大的优点。

[0016] 3) 此探针的样本采集和反应装置可做成连体的一次性探头,与探针的数据处理系统配套使用,所以只需换上不同项目的检测探头和导入对应项目的运算方法即可实现对不同项目进行检测。

[0017] 4) 操作简单,携带方便,适合各层次的医院甚至家庭式应用。

[0018] 本发明的技术突破

1) 采用血液过滤膜直接血液样本进行过滤,无需特殊处理。

[0019] 2) 采用一种负压装置,牵引血液样本依次进入血液过滤膜过滤进入荧光抗体结合区,然后进入包被抗体检测区反应,最后被吸入废液收集区。

[0020] 3) 荧光微球被激光激发后发出的荧光经过荧光传感光纤传送到荧光感光区,将光信号转化为数字信号,然后经过芯片的处理输出样本的浓度值。

[0021] 4) 本探针可设计为探头和主机两部分组成,通过使用不同项目的探头和对主机芯片导入对应项目的运算程序可对相应的指标进行检测。

[0022] 5) 本探针把样本采集,反应检测和数据输出三位一体结合在一起,操作简易,能快速输出检测结果。

附图说明

[0023] 仪器分拆的各个结构图

图 1 为一个血膜过滤装置,过滤血液样本,去除液体样本中一些基质,减少检测偏差。

[0024] 图 2 为带刻度的毛细采血管,可根据需求采取所需要检测样本的体积。采血的毛细管上端设计为圆形,与过滤器的低端相连。

[0025] 图 3 为荧光抗体装置,可设计为下窄上款,下窄可套入过滤装置的出样口,上端设计为圆柱形,柱腔内连接一个抗体荧光垫。样本在负压的牵引下经滤器流入次装置,与标记的荧光抗体结合。模型这样设计的目的:1 由于样本是靠负压牵引,可以起到缓冲的作用。2 可以增大抗体荧光垫与样本的接触面积,充分反应。

[0026] 抗体荧光垫是一种玻璃纤维,浸润在荧光抗体液中后放入冷冻干燥机中进行冻干,冻干后的玻纤就沾有了荧光抗体。

[0027] 荧光抗体的另外一种设计方案可直接置于过滤器里面的膜上,直接与过滤后的样本反应。

[0028] 图 4 为检测抗体包被区,内腔设计为锥形,外面包裹一层吸水纸,下方与图 3 装置相连,锥形的上方连接一段凹形的 NC 膜,膜上划的有检测抗体,荧光抗体与样本结合后,随样本一起流入此装置,到达 NC 膜上的包被抗体检测区。NC 膜的两端开有两个小孔,与外腔的吸水纸相连,样本与检测抗体反应后,最终经膜被吸水纸区吸收。

[0029] 图 5 中 1 为人机界面的一个控制面板,2 为荧光显示屏,3 为荧光感光区,4 为光纤,5 为激光发射装置,6 为反光镜,7 为负压装置,8 为荧光感光探头,9 为控制按钮。

[0030] 图 6 为光纤传导装置的背面图,加载的有一个高能充电电池,和一个处理芯片,是整个检测系统的电源输出。

具体实施方式

[0031] 1. Lp-PLA2 检测探针制备:

选用两株特异性好,灵敏度高的鼠抗人 Lp-PLA2 单克隆抗体 I 和鼠抗人 Lp-PLA2 单克隆抗体 II。

[0032] 1.1 标记抗体:利用 UCP 标记鼠抗人 Lp-PLA2 单克隆抗体 I 备用;

1.2 血液滤膜的制备:标记荧光微球的抗体用 Ph7.4 10mmol/L 的 PBS 稀释成一定浓度的溶液,将血液滤膜放入溶液中浸泡 2 小时,取出放入恒温干燥箱中 37℃干燥 16h 备用;

1.3 检测芯片的制备:用芯片点样仪将鼠抗人 Lp-PLA2 单克隆抗体 II 和兔抗鼠 IgG 抗体分别点在 NC 膜上,冷冻干燥过夜,备用。

[0033] 1.4 组装:将 NC 膜固定检测芯片反应区的装置中,将血液滤膜滤膜置入微量过滤器中,再与采血毛细管、信号检测仪组装成 Lp-PLA2 荧光检测系统。

[0034] 2 Lp-PLA2 血清样本检测

2.1 采血毛细管通过负压装置吸取 100u1 样本;

2.3 样本中的抗原与血液滤膜上的标记的荧光抗体结合,然后进入芯片检测区,再与检测区抗体结合形成双抗夹心复合物。

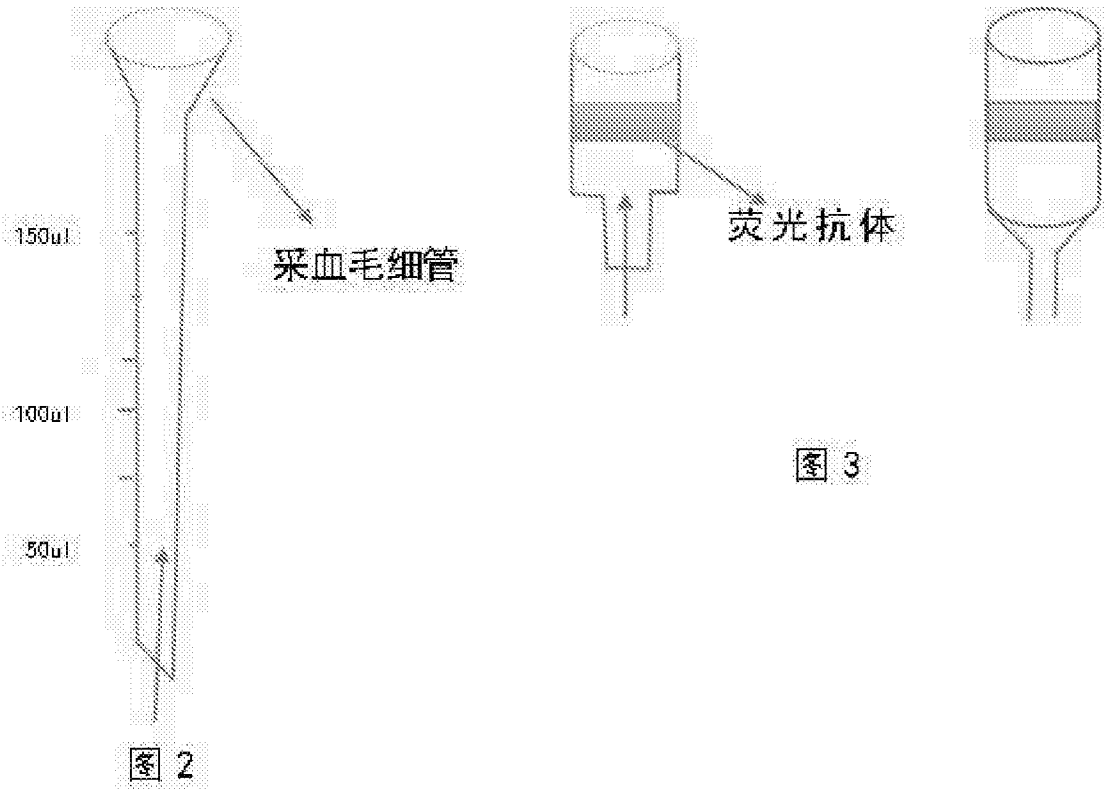
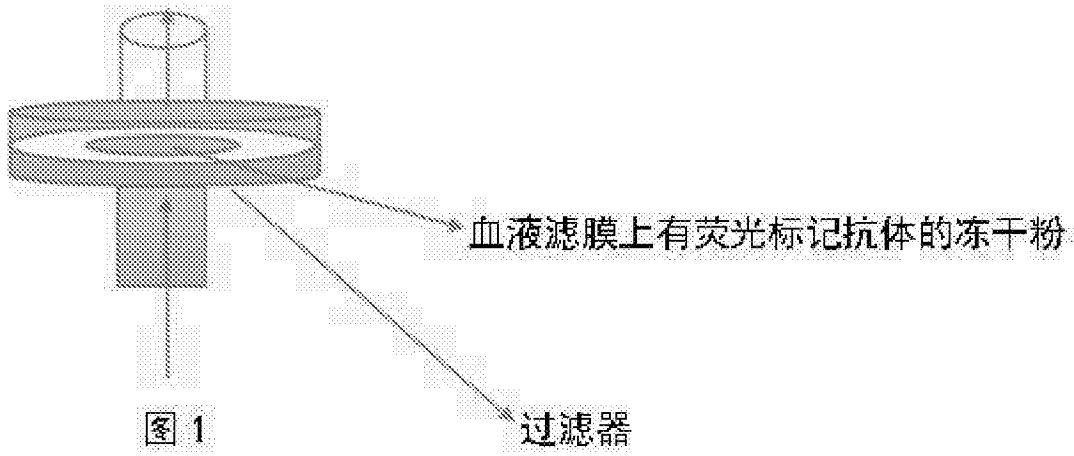
[0035] 2.4 反应 5min 后,启动检测,通过标曲计算样本浓度值。

[0036] 3 临床样本检测

3.1 收集样本:收集临床样本 100 例,其中 Lp-PLA2 阳性的样本 42 例,阴性样本 58 例;

3.2 检测:采用 Lp-PLA2 荧光检测系统进行检测;

3.3 结果:42 例阳性样本检测均为阳性,58 例阳性样本检测均为阴性。



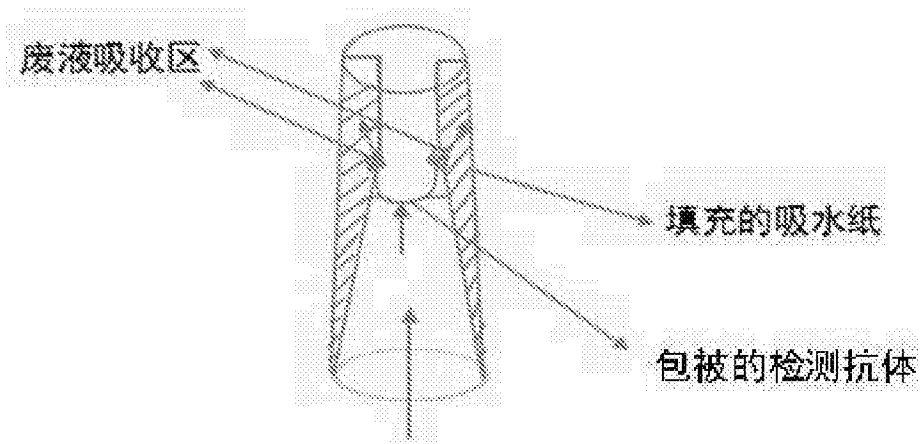


图 4

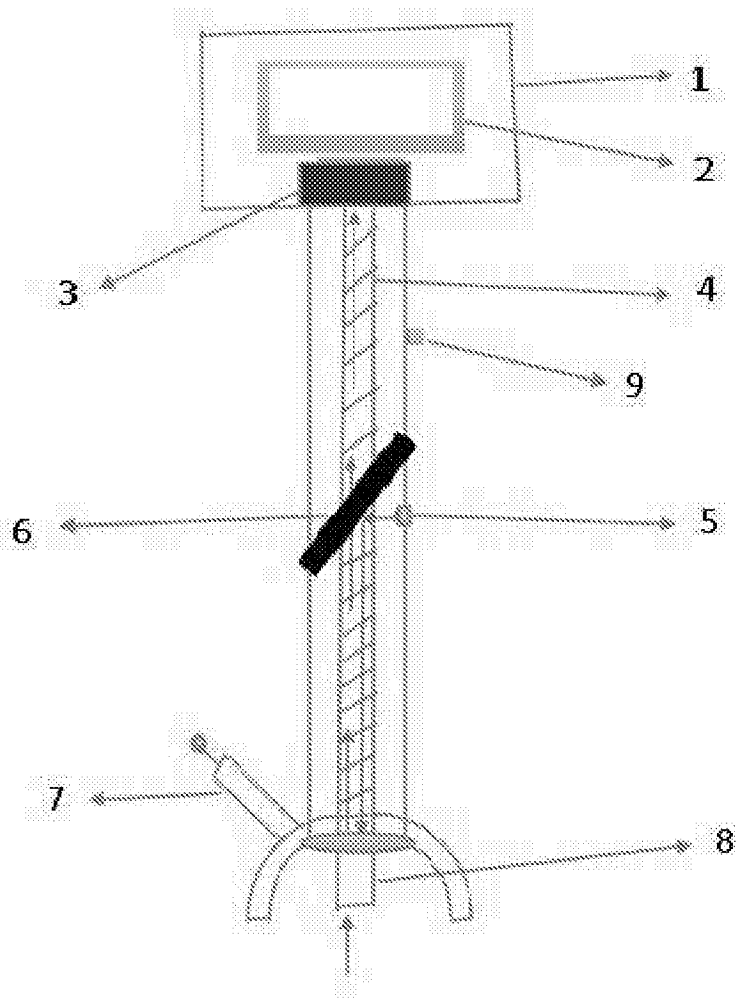
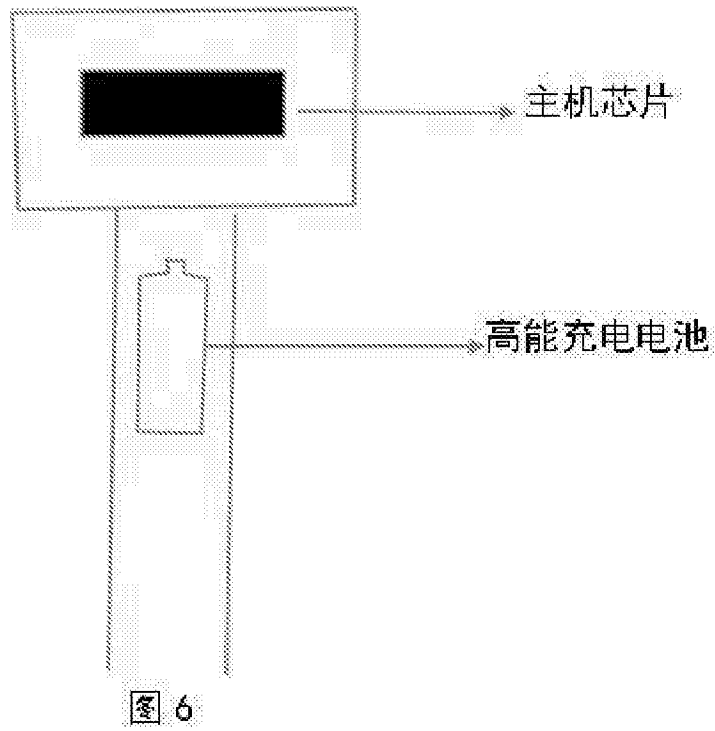


图 5



专利名称(译)	脂蛋白磷脂酶A2 (Lp-PLA2) 免疫荧光探针检测试剂盒		
公开(公告)号	CN105277716A	公开(公告)日	2016-01-27
申请号	CN201510608156.2	申请日	2015-09-23
[标]申请(专利权)人(译)	上海凯璟生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海凯璟生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海凯璟生物科技有限公司		
[标]发明人	罗朝领 刘红水 侍崇晓		
发明人	罗朝领 刘红水 侍崇晓		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/577 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/68 G01N33/533 G01N33/577		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明是基于一种自行设计的免疫荧光探针检测系统来定量检测动脉硬化脑梗死的风险预测因子Lp-PLA2，从而对患者是否会发发生动脉粥样化心脏病进行预测。荧光探针检测系统包括样品采集系统，反应检测系统，激光发射系统，荧光收集和荧光转化系统。本探针通过连接一种负压装置，可使采集的血液样本依次进入血液滤膜器对血液样本进行过滤处理，然后进入样本结合区与标记荧光微球的抗体结合，最后进入样本的检测区与包被的抗体结合，即样本以Ab-Ag(样本)-Ab(标记荧光微球)的夹心复合物形式存在。通过激光的照射，激发标记的抗体产生荧光，然后通过荧光传导装置将荧光信号传送到荧光感光区，把荧光信号转换为数字信号，进而转化为样本的浓度信号。本发明的特点是：通过此探针快速检测心脏病预测因子Lp-PLA2，从采集血液样本到检测出结果可在5分钟内完成，检测快速准确，操作简单，从而更早更快的预测患者突发心脏病的风险。且次探针的反应检测系统为可分离装置，即可通过设计不同项目的检测系统。

