



(12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 204287196 U

(45) 授权公告日 2015. 04. 22

(21) 申请号 201420196584. X

(22) 申请日 2014. 04. 22

(73) 专利权人 瑞莱生物科技(江苏)有限公司

地址 225300 江苏省泰州市中国医药城口泰
路东侧新阳路北侧(G30 幢)

(72) 发明人 刘红剑 威廉姆·努特 何小红
刘丽萍 张丹

(74) 专利代理机构 南京正联知识产权代理有限
公司 32243

代理人 顾伯兴

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006. 01)

G01N 33/533(2006. 01)

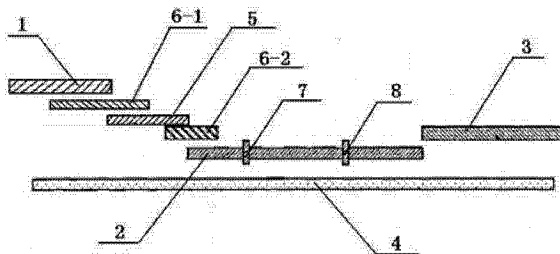
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 实用新型名称

一种快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条

(57) 摘要

本实用新型公开了一种快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条,它包括试纸条支撑片以及试纸条支撑片上顺次搭接粘贴的样品垫片、检测膜和吸水垫片,所述样品垫片和检测膜之间设有偶合物垫片,偶合物垫片一端上方设有第一层玻璃纤维垫片,其一端下方设有第二层玻璃纤维垫片或者偶合物垫片一端上方仅设有第一层玻璃纤维垫片或者不设有任一垫片,所述检测膜上设有检测线,所述检测线包被有基质裂解素(ST2) 抗体,所述检测线另一边设有控制线,控制线包被有抗链霉亲和素(SAV) 抗体,所述偶合物垫片上涂布有荧光标记的基质裂解素单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。该试纸具有方便快捷、操作简单、结果准确等优点,适于临床快速诊断。



1. 一种快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条,它包括试纸条支撑片(4)以及试纸条支撑片上顺次搭接粘贴的样品垫片(1)、检测膜(2)和吸水垫片(3),其特征在于:所述样品垫片(1)和检测膜(2)之间设有偶合物垫片(5),偶合物垫片(5)一端上方设有第一层玻璃纤维垫片(6-1),其一端下方设有第二层玻璃纤维垫片(6-2)或者偶合物垫片(5)一端上方仅设有第一层玻璃纤维垫片(6-1)或者不设有任一垫片,所述检测膜(2)上设有检测线(7),所述检测线(7)包被有基质裂解素(ST2)抗体,所述检测线(7)另一边设有控制线(8),控制线(8)包被有抗链霉亲和素(SAV)抗体,所述偶合物垫片(5)上涂布有荧光标记的基质裂解素单克隆抗体或多克隆抗体偶合物,所述控制线(8)与检测线(7)平行设置于检测膜(2)上,并与偶合物垫片(5)部分重叠或不重叠。

一种快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条

技术领域

[0001] 本实用新型属于临床医学诊断领域,具体涉及一种用于定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条。

背景技术

[0002] ST2 (基质裂解素) 基因是 1989 年由 Tominaga 等首先在 BALB/c-3T3 细胞系中得到的,是 IL-1 (白细胞介素 1) 受体家族成员之一,该基因表达两种蛋白产物:一种带有跨膜结构,称为跨膜型 ST2 (ST2L),一种可以分泌到细胞外,称为分泌型 ST2 (sST2)。研究发现 ST2 可由心脏成纤维细胞和心肌细胞表达,是生物机械应力诱导产生的一种心肌蛋白。ST2 基因表达于肥大细胞激活的辅助性 T 细胞 2 (Th2) 巨噬细胞和心肌细胞。人的 ST2 基因约 40kb,位于人类染色体 2q12,可编码一种可溶性蛋白 (sST2) 和一种跨膜形式蛋白 (ST2L),两者的转录分别受到不同的启动子调控。

[0003] 研究表明 sST2 是 IL-33 的诱骗受体,它可以与 IL-33 结合,从而阻断 IL-33 与 ST2L 结合,继而削弱 IL-33/ST2L 信号通路的心血管保护作用在心肌受到过度牵拉造成损伤的过程中,大量 sST2 生成使心肌缺乏足够的 IL-33 的保护,从而加速心肌重构和心室功能障碍,最终导致死亡风险增高。IL-33 是 IL-1 家族成员,可以与靶细胞上的膜受体结合后介导下游信号通路,或者被运输到靶细胞的细胞核作为 DNA 结合因子行使功能。研究表明,机械应力可刺激心脏成纤维细胞产生 IL-33,与其受体复合物 (由 ST2L 和 IL-1RAcP 组成) 结合后,将活化信号传递至细胞内,经过下游的 IL-1 相关蛋白激酶髓样分化因子 88 和肿瘤坏死因子受体相关因子 6 等一系列信号分子,激活核转录因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 和促分裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK),从而调节基因转录,导致 Th2 细胞效应分子 IL-5 IL-4 和 IL-13 等的释放。当心脏成纤维细胞和心肌细胞受到过大的压力负荷时,这些效应分子可以使心脏作出适应性反应,防止过度牵拉导致的心肌肥大和心肌纤维化发生。与此同时,心肌 sST2 大量生成,sST2 与 IL-33 结合后竞争性抑制其与 ST2L 结合,阻断经 ST2L 的信号传导,最终抑制 NF- κ B 和 MAPK 激活,从而大大降低 IL-33/ST2L 信号通路的内源性心肌保护作用。ST2 能够独立的诊断心力衰竭,结合 NT-proBNP 时,其对心衰的诊断的敏感性和特异性均高于 ST2 和 NT-proBNP 单独诊断的结果。基于 ST2 水平能够很好的预测病患在一年内的死亡率,所以其在指导病患是否进行心脏移植时提供数据支持,有利于提前干预提高病患的治愈率和成活率。

[0004] 目前,检测 ST2 的方法目前主要是酶联免疫技术 (ELISA),ELISA 技术存在以下缺点:检测设备要求高,成本高;干扰因素较多,重复性不好;检测时间长。因此酶联免疫技术检测 ST2 不适合临床快速诊断,因此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

[0005] 本实用新型要解决的技术问题是提供一种能快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸

条。

[0006] 为了解决上述技术问题,本实用新型提供了一种快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条,它包括试纸条支撑片以及试纸条支撑片上顺次搭接粘贴的样品垫片、检测膜和吸水垫片,所述样品垫片和检测膜之间设有偶合物垫片,偶合物垫片一端上方设有第一层玻璃纤维垫片,其一端下方设有第二层玻璃纤维垫片或者偶合物垫片一端上方仅设有第一层玻璃纤维垫片或者不设有任一垫片,所述检测膜上设有检测线,所述检测线包被有基质裂解素 (ST2) 抗体,所述检测线另一边设有控制线,控制线包被有抗链霉亲和素 (SAV) 抗体,所述偶合物垫片上涂布有荧光标记的基质裂解素单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。

[0007] 所述控制线与检测线平行设置于检测膜上,并与偶合物垫片部分重叠或不重叠。

[0008] 采用如上技术方案后,其有益效果为:

[0009] 本实用新型所述的快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条的工作原理是:采用免疫侧流反应原理,通过双抗体夹心法制备而成。检验时样本中的 ST2 抗原首先与偶合垫上的荧光标记的 ST2 抗体偶合物发生免疫反应,形成免疫复合物。其后免疫复合物随着样本在检测膜上层析流动,当免疫复合物层析至检测膜上的检测区 (ST2 检测线) 时,与预先包被在检测膜上的抗 ST2 抗体发生反应从而被固定在检测膜的检测线上。血液中的 ST2 越多,检测线上的复合物越多,条带上的光密度值就越高。同时,在检测过程中,未与 ST2 抗原结合的荧光标记的 ST2 抗体偶合物,当层析至检测膜的控制线时,免疫荧光偶合物会与预先包被在检测膜上的抗 SAV 抗体发生反应从而被固定在对照区 (控制线) 上。

[0010] 当反应结束后,利用免疫荧光检测仪将控制线和检测线的光密度进行分析,并将所分析得到的结果进行运算,从而得到相对光密度值 (RI)。然后检测仪根据已预先设置在检测仪内的标准曲线对 ST2 的浓度进行计算并显示结果,以 ng/mL 为单位表示。

[0011] 综上所述,本实用新型所述快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条,该试纸具有方便快捷、操作简单、结果准确等优点,适于临床快速诊断。

附图说明

[0012] 图 1 是本实用新型所述快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条的结构示意图。

[0013] 其中:1- 样品垫片、2- 检测膜、3- 吸水垫片、4- 支撑片、5 偶合物垫片、6-1 第一层玻璃纤维垫片、6-2 第二层玻璃纤维垫片、7- 检测线、8- 控制线。

具体实施方式

[0014] 下面结合附图和具体实施方式对本实用新型进行详细说明,不能理解为是对本实用新型的限制;

[0015] 实施例 1:

[0016] 制备快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条

[0017] 如图 1 所示的免疫荧光试纸条结构,一种快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条,它包括试纸条支撑片 4 以及试纸条支撑片上顺次搭接粘贴的样品垫片 1、检测膜 2 和吸水垫片 3,所述样品垫片 1 和检测膜 2 之间设有偶合物垫片 5,偶合物垫片 5 一端上方设有第一层玻璃纤维垫片 6-1,其一端下方设有第二层玻璃纤维垫片 6-2,所述检测膜 2 上设有检测线 7,所述检测线 7 包被有基质裂解素 (ST2) 抗体,所述检测线 7 另一边设有控制线 8,控制

线 8 包被有抗链霉亲和素 (SAV) 抗体, 所述偶合物垫片 5 上涂布有荧光标记的基质裂解素单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。

[0018] 所述控制线 8 与检测线 7 平行设置于检测膜 2 上, 与偶合物垫片 5 部分不重叠。

[0019] 其中, 检测膜 2 在荧光试纸中用于固定包被抗体, 同时也是免疫反应的发生处; 检测线 7 是将基质裂解素 (ST2) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释后划线于所述检测膜 2 上, 干燥及烘烤后, 即得; 控制线 8 是将抗链霉亲和素 (SAV) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释后划线于所述检测膜 2 上, 干燥及烘烤后, 即得。

[0020] 其中, 所述偶合物垫片 5 的原材料为玻璃纤维滤膜, 将用于制备偶合物垫片的玻璃纤维滤膜放入预封闭缓冲液中浸泡后取出干燥, 用包膜仪器将荧光标记的基质裂解素单克隆抗体或多克隆抗体偶合物涂布在偶合物垫片 5 上, 干燥, 即得。

[0021] 另外, 所述样品垫片 1 可对液态样品起到初步过滤作用。将样本垫片 1 用封闭液浸泡后, 干燥即得。

[0022] 将上述各组成部件按图 1 所示结构粘贴在支撑垫片 4 上, 获得快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条。

[0023] 按以下步骤进行检测: 1) 抽取的病人血清、血浆或全血等待检样本, 如低温保存样本需恢复至室温。2) 将待测样品加入样本垫片上, 反应。3) 判读, 将所述免疫荧光试纸条置于免疫荧光检测仪中判定结果。

[0024] 实施例 2:

[0025] 一种快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条, 它包括试纸条支撑片 4 以及试纸条支撑片上顺次搭接粘贴的样品垫片 1、检测膜 2 和吸水垫片 3, 所述样品垫片 1 和检测膜 2 之间设有偶合物垫片 5, 偶合物垫片 5 一端上方仅设有第一层玻璃纤维垫片 6-1, 所述检测膜 2 上设有检测线 7, 所述检测线 7 包被有基质裂解素 (ST2) 抗体, 所述检测线 7 另一边设有控制线 8, 控制线 8 包被有抗链霉亲和素 (SAV) 抗体, 所述偶合物垫片 5 上涂布有荧光标记的基质裂解素单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。

[0026] 所述控制线 8 与检测线 7 平行设置于检测膜 2 上, 并与偶合物垫片 5 部分重叠。

[0027] 其中, 检测膜 2 在荧光试纸中用于固定包被抗体, 同时也是免疫反应的发生处; 检测线 7 是将基质裂解素抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释后划线于所述检测膜 2 上, 干燥及烘烤后, 即得; 控制线 8 是将抗链霉亲和素 (SAV) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释后划线于所述检测膜 2 上, 干燥及烘烤后, 即得。

[0028] 其中, 所述偶合物垫片 5 的原材料为玻璃纤维滤膜, 将用于制备偶合物垫片的玻璃纤维滤膜放入预封闭缓冲液中浸泡后取出干燥, 用包膜仪器将荧光标记的基质裂解素单克隆抗体或多克隆抗体偶合物涂布在偶合物垫片 5 上, 干燥, 即得。

[0029] 另外, 所述样品垫片 1 可对液态样品起到初步过滤作用。将样本垫片 1 用封闭液浸泡后, 干燥即得。

[0030] 将上述各组成部件按图 1 所示结构粘贴在支撑垫片 4 上, 获得快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条。

[0031] 按以下步骤进行检测: 1) 抽取的病人血清、血浆或全血等待检样本, 如低温保存样本需恢复至室温。2) 将待测样品加入样本垫片上, 反应。3) 判读, 将所述免疫荧光试纸条置于免疫荧光检测仪中判定结果。

[0032] 实施例 3：

[0033] 一种快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条，它包括试纸条支撑片 4 以及试纸条支撑片上顺次搭接粘贴的样品垫片 1、检测膜 2 和吸水垫片 3，所述样品垫片 1 和检测膜 2 之间设有偶合物垫片 5，所述检测膜 2 上设有检测线 7，所述检测线 7 包被有基质裂解素 (ST2) 抗体，所述检测线 7 另一边设有控制线 8，控制线 8 包被有抗链霉亲和素 (SAV) 抗体，所述偶合物垫片 5 上涂布有荧光标记的基质裂解素单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。

[0034] 所述控制线 8 与检测线 7 平行设置于检测膜 2 上，并与偶合物垫片 5 部分重叠。

[0035] 其中，检测膜 2 在荧光试纸中用于固定包被抗体，同时也是免疫反应的发生处；检测线 7 是将基质裂解素 (ST2) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释后划线于所述检测膜 2 上，干燥及烘烤后，即得；控制线 8 是将抗链霉亲和素 (SAV) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释后划线于所述检测膜 2 上，干燥及烘烤后，即得。

[0036] 其中，所述偶合物垫片 5 的原材料为玻璃纤维滤膜，将用于制备偶合物垫片的玻璃纤维滤膜放入预封闭缓冲液中浸泡后取出干燥，用包膜仪器将荧光标记的 ST2 单克隆抗体或多克隆抗体偶合物涂布在偶合物垫片 5 上，干燥，即得。

[0037] 另外，所述样品垫片 1 可对液态样品起到初步过滤作用。将样本垫片 1 用封闭液浸泡后，干燥即得。

[0038] 将上述各组成部件按图 1 所示结构粘贴在支撑垫片 4 上，获得快速定量检测 ST2 的免疫荧光试纸条。

[0039] 按以下步骤进行检测：1) 抽取的病人血清、血浆或全血等待检样本，如低温保存样本需恢复至室温。2) 将待测样品加入样本垫片上，反应。3) 判读，将所述免疫荧光试纸条置于免疫荧光检测仪中判定结果。

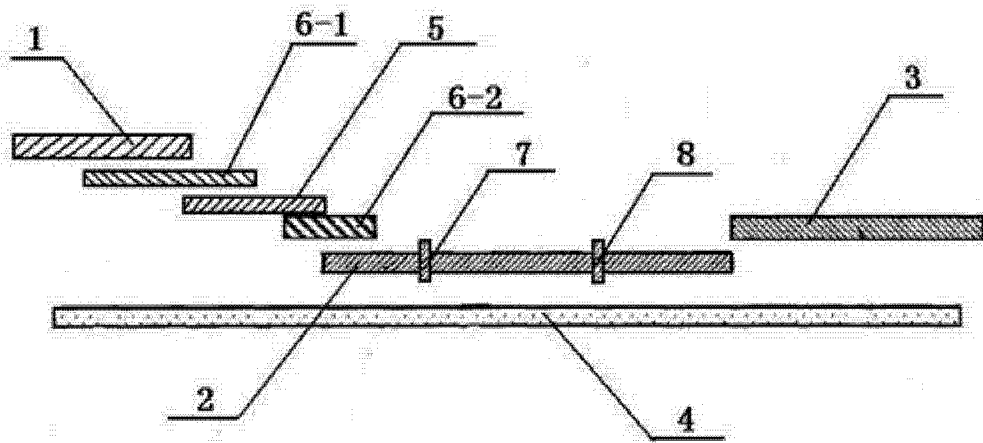


图 1

专利名称(译)	一种快速定量检测ST2的免疫荧光试纸条		
公开(公告)号	CN204287196U	公开(公告)日	2015-04-22
申请号	CN201420196584.X	申请日	2014-04-22
[标]申请(专利权)人(译)	瑞莱生物科技(江苏)有限公司		
申请(专利权)人(译)	瑞莱生物科技(江苏)有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	瑞莱生物科技(江苏)有限公司		
[标]发明人	刘红剑 威廉姆努特 何小红 刘丽萍 张丹		
发明人	刘红剑 威廉姆.努特 何小红 刘丽萍 张丹		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/533		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型公开了一种快速定量检测ST2的免疫荧光试纸条，它包括试纸条支撑片以及试纸条支撑片上顺次搭接粘贴的样品垫片、检测膜和吸水垫片，所述样品垫片和检测膜之间设有偶合物垫片，偶合物垫片一端上方设有第一层玻璃纤维垫片，其一端下方设有第二层玻璃纤维垫片或者偶合物垫片一端上方仅设有第一层玻璃纤维垫片或者不设有任一垫片，所述检测膜上设有检测线，所述检测线包被有基质裂解素(ST2)抗体，所述检测线另一边设有控制线，控制线包被有抗链霉亲和素(SAV)抗体，所述偶合物垫片上涂布有荧光标记的基质裂解素单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。该试纸具有方便快捷、操作简单、结果准确等优点，适于临床快速诊断。

