



# (12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 202956384 U

(45) 授权公告日 2013. 05. 29

(21) 申请号 201220497401. 9

(22) 申请日 2012. 09. 26

(73) 专利权人 南京基蛋生物医药有限公司

地址 211505 江苏省南京市六合区沿江工业  
开发区博富路 9 号 17 幢 201 室

(72) 发明人 苏恩本 颜彬 沈小娟 王勇

(51) Int. Cl.

G01N 33/558(2006. 01)

G01N 33/532(2006. 01)

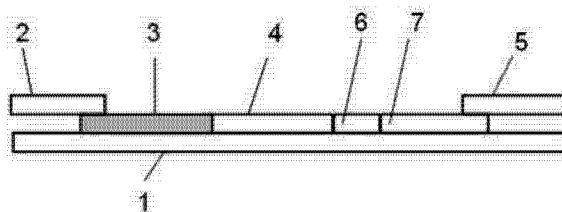
权利要求书1页 说明书3页 附图1页

## (54) 实用新型名称

NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒

## (57) 摘要

本实用新型公开了一种 NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒,属于临床医学检测领域。该试剂盒包括在底衬上依次粘贴的样品垫、结合垫、分析膜和吸水纸,所述结合垫上包被有上转发光 UCP 颗粒标记的 NGAL 抗体 I,所述分析膜上设有平行的检测区和质控区,所述检测区包被有 NGAL 抗体 II 或 NGAL 抗原,所述质控区包被有羊抗鼠 IgG。本试剂盒采用上转发光技术与免疫技术结合,具有准确、快速、定量检测的特点。



1. 一种 NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒,包括在底衬(1)上依次粘贴的样品垫(2)、结合垫(3)、分析膜(4)和吸水纸(5),其特征在于所述结合垫(3)上包被有上转发光 UCP 颗粒标记的 NGAL 抗体 I,所述分析膜(4)上设有平行的检测区(6)和质控区(7),所述检测区(6)包被有 NGAL 抗体 II 或 NGAL 抗原,所述质控区(7)包被有羊抗鼠 IgG。

2. 根据权利要求 1 所述 NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒,其特征在于所述上转发光 UCP 颗粒的直径为 50-350nm。

3. 根据权利要求 1 所述 NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒,其特征在于所述 NGAL 抗体 I 和 NGAL 抗体 II 为配对单抗或单抗-多抗配对。

4. 根据权利要求 1 所述 NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒,其特征在于所述 NGAL 抗原为人 NGAL。

## NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒

### 技术领域

[0001] 本实用新型涉及临床医学检验领域,具体涉及一种基于上转发光技术免疫层析快速、定量检测 NGAL 试剂盒。

### 背景技术

[0002] 上转发光颗粒(Up-Converting Phosphor, UCP)是一种可对能量进行上转的稀土金属合成物,即 UCP 可吸收低能量的(长波长)红外光,但却发出高能量的(短波长)可见光。UCP 是由几种稀土金属元素参杂于某些晶体的晶格中构成的。在这种材料中有三种主要的成分:主基质、吸收子和发射子。作为主基质的晶体材料有:氧硫化物(如  $Y_2O_2S$ 、 $GdO_2S$ 、 $La_2O_2S$  等)、氟化物(如  $YF_3$ 、 $GdF_3$ 、 $LaF_3$  等)、镓酸盐(如  $YGaO_3$ 、 $Y_3Ga_5O_{12}$  等)以及硅酸盐( $YSi_2O_5$ 、 $YSi_3O_7$  等)等;常用作吸收子的稀土金属离子有:镱离子( $Yb^{3+}$ )、铒离子( $Er^{3+}$ )、钐离子( $Sm^{3+}$ )等;常用作发射子的稀土金属离子有:铒离子( $Er^{3+}$ )、钬离子( $Ho^{3+}$ )、铥离子( $Tm^{3+}$ )、铽离子( $Tb^{3+}$ )等。吸收子和发射子这一离子对在主基质晶格内适宜的空间取向和距离,是产生上转发光的基础。

[0003] 上转发光颗粒 UCP 所具有的这种独特光学特性,使其在床边快速诊断领域发挥巨大的潜能:

[0004] (1) 高度的灵敏性:独有的上转发光现象确保了 UCP 在检测过程中不存在来自外界的背景干扰;

[0005] (2) 高度的稳定性:UCP 的发光现象是产生于结构内部的纯粹物理过程,因而完全避免了来自检测样品腐蚀及自身衰变导致的发光淬灭;

[0006] (3) 高度灵活性:UCP 具有的可自由组合的多样化特征光谱,使其适用于多重分析;

[0007] (4) 高度的安全性:无机惰性、红外光激发、可见光发射使得基于 UCP 检测对于检测者、被检测样品、环境均无危害。

[0008] 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL)是 1993 年在中性粒细胞内首次被发现的,与炎症、胚胎发育、免疫应答、趋化作用、信号转导以及多种肿瘤的发生于发展等过程相关。

[0009] 近年来国内外研究表明,NGAL 蛋白在多种疾病发生过程中具有特异性表达变化的特点,使得 NGAL 成为检测疾病的生物标志物。

[0010] 近年美国临床化学协会(AACC)年度会议的研究结果发表得知检测尿中中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白可能有助于临床医生检测心脏移植患者环孢霉素诱导的毒性,以及调节环孢霉素剂量以预防其对肾脏造成的不可逆伤害。中国专利 200580048175 研究在急性肾衰竭(ARF)、急性肾小管坏死(ATN)和急性肾小管间质性肾病(ATIN)发病的早期,尿液和血液中 NGAL 水平显著增加,因此 NGAL 是早期检测肾脏对缺血性损伤的标志物。

[0011] 目前,检测 NGAL 方法主要有酶联免疫法(中国专利 200810237423.X)、基于抗体免疫的微型柱测试法(中国专利 200580048175)和胶乳免疫比浊法(中国专利

20101036227.0)。酶联免疫法操作容易受到酶活性变化的影响,结果不太准确;胶乳比浊法反应特异性不好,所需试剂比较复杂。

[0012] 因此,应用上转发光免疫分析技术开发 NGAL 快速检测试剂应用于床边快速诊断具有重要的临床应用价值。

### 发明内容

[0013] 为了克服上述现有技术中的不足,本实用新型提供一种基于上转发光法的测定 NGAL 免疫层析定量试剂盒,具有准确、快速的特点。

[0014] 本实用新型的试纸条检测原理是通过一系列表面修饰与活化,上转发光颗粒 UCP 可与生物活性分子相结合,利用 UPT 生物传感器,对在层析过程中通过特异免疫反应结合于检测区与质控区上的 UCP 颗粒进行扫描分析,从而利用由 UPT 快速定量检验系统实现精确定量或定性。

[0015] 本实用新型的提供的技术方案是:

[0016] 一种 NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒,包括在底衬上依次粘贴的样品垫、结合垫、分析膜和吸水纸,所述结合垫上包被有上转发光 UCP 颗粒标记的 NGAL 抗体 I,所述分析膜上设有平行的检测区和质控区,所述检测区包被有 NGAL 抗体 II 或 NGAL 抗原,所述质控区包被有羊抗鼠 IgG。

[0017] 所述上转发光 UCP 颗粒的直径为 50-350nm。

[0018] 所述 NGAL 抗体 I 和 NGAL 抗体 II 为配对单抗或单抗-多抗配对。

[0019] 所述 NGAL 抗原为人 NGAL。

[0020] 本实用新型 NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒的制备方法为:

[0021] (1) 结合垫制备:将 UCP-NGAL 抗体 I 用 pH7.5 的 0.03M PBS 缓冲液(含有 2%BSA 和 2%海藻糖)稀释至终浓度为 2mg/ml,充分混匀后喷于结合垫上,37℃烘干备用;

[0022] (2) 分析膜制备:用点样仪在分析膜上不同位置分别喷点 NGAL 抗体 II(或 NGAL 抗原)和羊抗鼠 IgG 抗体,作为检测区和质控区,37℃烘干备用;

[0023] (3) 样品垫制备:将样品垫放入 pH 7.2 的 0.03M PBS 缓冲液(含 5mg/mlBSA 和 0.1%TritonX-100)中浸泡 1-2h,然后 37℃烘干备用;

[0024] (4) 试剂盒组装:将样品垫、结合垫、分析膜和吸水纸依次粘贴在底衬上,切割成指定宽度试纸条即可。

[0025] 与现有技术相比,本实用新型具有以下有益技术效果:

[0026] 本实用新型检测试剂盒基于转发光技术与免疫层析技术结合在定量检测 NGAL 的应用,使得 NGAL 检测无本底干扰、检测结果更加灵敏;与现有技术相比,该试剂盒稳定性更高。

### 附图说明

[0027] 图 1 NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒结构示意图。

[0028] 其中,1、底衬;2、样品垫;3、结合垫;4、分析膜;5、吸水纸;6、检测区;7、质控区。

### 具体实施方式

[0029] 下面结合附图对本实用新型进一步详细描述,所述是对本实用新型的解释而不是限定。

[0030] 如图 1 所示,一种 NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒,包括在底衬 1 上依次粘贴的样品垫 2、结合垫 3、分析膜 4 和吸水纸 5,所述结合垫 3 上包被有上转发光 UCP 颗粒标记的 NGAL 抗体 I,所述分析膜 4 上设有平行的检测区 6 和质控区 7,所述检测区 6 包被有 NGAL 抗体 II 或 NGAL 抗原,所述质控区 7 包被有羊抗鼠 IgG。

[0031] 所述上转发光 UCP 颗粒的直径为 50-350nm。

[0032] 所述 NGAL 抗体 I 和 NGAL 抗体 II 为配对单抗或单抗-多抗配对。

[0033] 所述 NGAL 抗原为人 NGAL。

[0034] 实施例 1 本实用新型 NGAL 检测的上转发光快速定量试剂盒的制备

[0035] 方法 1:

[0036] (1) 结合垫 3 制备:将 50nmUCP 颗粒与 NGAL 单克隆抗体 I 共价偶联得到 UCP-NGAL 单克隆抗体 I,然后用 pH7.5 的 0.03M PBS 缓冲液(含有 2%BSA 和 2%海藻糖)稀释至终浓度为 2mg/ml,充分混匀后喷于结合垫上,37℃烘干备用;

[0037] (2) 分析膜 4 制备:以 pH 7.2 的 PBS 缓冲液将 NGAL 单克隆抗体 II 或 NGAL 多克隆抗体和兔抗鼠 IgG 抗体分别配置成 0.2mg/ml 和 0.3mg/ml 的溶液,再用喷膜仪在分析膜 4 上以 1  $\mu$  l/cm 的量分别划线作为检测区 6 和质控区 7,37℃烘干备用;

[0038] (3) 样品垫 2 制备:将样品垫 2 放入 pH 7.2 的 0.03M PBS 缓冲液(含 5mg/mlBSA 和 0.1%TritonX-100)中浸泡 30min,然后 37℃烘干备用;

[0039] (4) 试剂盒组装:将样品垫 2、结合垫 3、分析膜 4 和吸水纸 5 依次粘贴在底衬 1 上,切割成指定宽度试纸条即可。

[0040] 方法 2:

[0041] (1) 结合垫 3 制备:将 350nmUCP 颗粒与 NGAL 单克隆抗体 I 共价偶联得到 UCP-NGAL 单克隆抗体 I,然后用 pH7.5 的 0.03M PBS 缓冲液(含有 2%BSA 和 2%海藻糖)稀释至终浓度为 2mg/ml,充分混匀后喷于结合垫上,37℃烘干备用;

[0042] (2) 分析膜 4 制备:以 pH 7.2 的 PBS 缓冲液将人 NGAL 和兔抗鼠 IgG 抗体分别配置成 0.2mg/ml 和 0.3mg/ml 的溶液,再用喷膜仪在分析膜 4 上以 1  $\mu$  l/cm 的量分别划线作为检测区 6 和质控区 7,37℃烘干备用;

[0043] (3) 样品垫 2 制备:将样品垫 2 放入 pH 7.2 的 0.03M PBS 缓冲液(含 5mg/mlBSA 和 0.1%TritonX-100)中浸泡 30min,然后 37℃烘干备用;

[0044] (4) 试剂盒组装:将样品垫 2、结合垫 3、分析膜 4 和吸水纸 5 依次粘贴在底衬 1 上,切割成指定宽度试纸条即可。

[0045] 实施例 2 样品检测

[0046] 将被检测尿液滴加 100-120  $\mu$  l 于样品垫 2 上,溶液将溶解结合垫 3 上标记好的 UCP 颗粒,并在分析膜 4 上发生层析,然后在 5-10min 内用 UPT 生物传感器对试纸条进行扫描,根据信号得出待测样品中的 NGAL 的含量进行定量或定性检测。

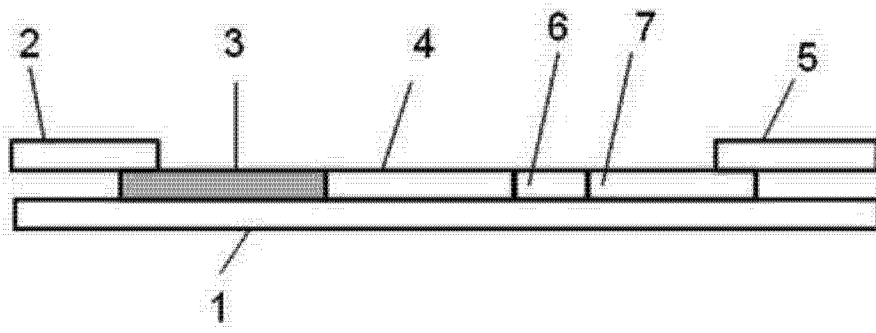


图 1

|         |  |         |            |
|---------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | NGAL检测的上转发光快速定量试剂盒                             |         |            |
| 公开(公告)号 | <a href="#">CN202956384U</a>                   | 公开(公告)日 | 2013-05-29 |
| 申请号     | CN201220497401.9                               | 申请日     | 2012-09-26 |
| [标]发明人  | 苏恩本<br>颜彬<br>沈小娟<br>王勇                         |         |            |
| 发明人     | 苏恩本<br>颜彬<br>沈小娟<br>王勇                         |         |            |
| IPC分类号  | G01N33/558 G01N33/532                          |         |            |
| 外部链接    | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a> |         |            |

摘要(译)

本实用新型公开了一种NGAL检测的上转发光快速定量试剂盒，属于临床医学检测领域。该试剂盒包括在底衬上依次粘贴的样品垫、结合垫、分析膜和吸水纸，所述结合垫上包被有上转发光UCP颗粒标记的NGAL抗体I，所述分析膜上设有平行的检测区和质控区，所述检测区包被有NGAL抗体II或NGAL抗原，所述质控区包被有羊抗鼠IgG。本试剂盒采用上转发光技术与免疫技术结合，具有准确、快速、定量检测的特点。

