



(12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 204964515 U

(45) 授权公告日 2016. 01. 13

(21) 申请号 201520614886. 9

(22) 申请日 2015. 08. 14

(73) 专利权人 天津脉络生物科技有限公司

地址 300380 天津市西青区李七庄街凌奥创
意产业园一期 8 号楼 107 室

(72) 发明人 刘鹏飞 陈威潼 韩雪 姬晓兵

(74) 专利代理机构 北京格旭知识产权代理事务
所(普通合伙) 11443

代理人 雒纯丹 李郁

(51) Int. Cl.

G01N 33/535(2006. 01)

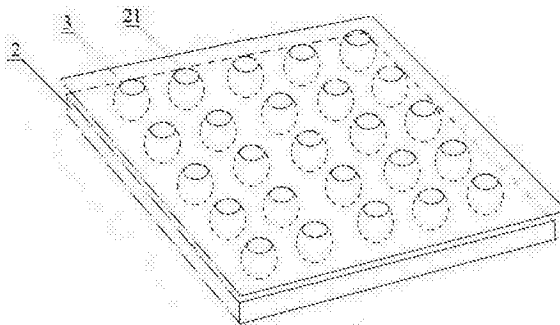
权利要求书1页 说明书4页 附图2页

(54) 实用新型名称

类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒

(57) 摘要

本实用新型涉及医疗检测仪器技术领域, 具体涉及类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒。该试剂盒包括设置有凹槽的箱体 (1), 其特征在于, 所述箱体 (1) 内设置有酶联板 (2)、封板膜 (3) 和放置于凹槽上的试剂瓶 (4); 所述酶联板 (2) 包括基板和设置于基板上的包被有抗 IgG 型 RF 抗体的反应槽 (21); 所述反应槽 (21) 为腰鼓状结构, 槽底和槽口的直径小于中间部分的直径。本实用新型所述 ELISA 试剂盒生物酶催化效率高, 间接地放大了免疫反应的结果, 使测定方法达到很高的灵敏度。抗原无需进行纯化, 抗体专一性高。用本实用新型所述试剂盒对滑膜液中 IgG 型 RF 进行检测, 针对性强, 准确率高, 具有广阔的应用前景。



1. 一种类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒,包括设置有凹槽的箱体 (1),其特征在于,所述盒体内设置有酶联板 (2)、封板膜 (3) 和放置于凹槽上的试剂瓶 (4);

所述酶联板 (2) 包括基板和设置于基板上的包被有抗 IgG 型 RF 抗体的反应槽 (21),所述反应槽为腰鼓状结构,槽底和槽口的直径小于中间部分的直径。

2. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其中,所述反应槽 (21) 槽底和槽口的直径相同,为 2-5mm,中间部分直径比两端大 0.5-2mm。

3. 根据权利要求 2 所述的试剂盒,其中,所述反应槽的数量为 25-96 个。

4. 根据权利要求 3 所述的试剂盒,其中,所述试剂瓶 (4) 包括稀释液瓶、洗涤液瓶、酶标抗体瓶、底物液瓶和终止液瓶。

5. 根据权利要求 4 所述的试剂盒,其中,所述试剂瓶 (4) 还包括辅助剂瓶或封闭液瓶。

6. 根据权利要求 1 所述的试剂盒,其中,所述箱体 (1) 内还设置有样品管 (5)。

7. 根据权利要求 4 所述的试剂盒,其中,所述底物液瓶包括第一显色液瓶和第二显色液瓶。

8. 根据权利要求 4 所述的试剂盒,其中,所述稀释液瓶的容积为 10mL ~ 20mL,酶标抗体瓶的容积为 10mL ~ 20mL,终止液瓶的容积为 100-300mL。

9. 根据权利要求 7 所述的试剂盒,其中,所述第一显色液瓶的容积为 50-100mL,第二显色液瓶的容积为 50-100mL。

10. 根据权利要求 6 所述的试剂盒,其中,所述样品管 (5) 的容积为 60-120mL。

类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒

技术领域

[0001] 本实用新型涉及医疗检测仪器技术领域,主要涉及风湿或类风湿医疗检测仪器,具体涉及类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒。

背景技术

[0002] 类风湿关节炎是一个累及周围关节为主的系统性炎症性自身免疫性疾病,其特征性病理改变是关节滑膜的慢性炎症,滑膜增生形成绒毛状突起,侵犯关节软骨、软骨下骨、韧带和肌腱等,造成关节软骨、骨和关节囊等破坏,最终导致关节畸形和功能丧失。

[0003] 类风湿关节炎(rheumatoid arthritis,RA)是一种常见的以慢性多关节性炎症为主要症状的系统性自身免疫疾病。类风湿关节炎病程长、多复发,对组织的损伤不可逆,给患者带来极大痛苦。该疾病早期症状复杂多样且不典型,给临床诊断带来困难,进而延误治疗导致病情进展,严重危害患者健康和影响生活质量。

[0004] 目前对 RA 的诊断主要依靠临床症状和血清学检查。目前常用的血清学指标为类风湿因子(rheumatoid factor,RF),RA 可分为 IgM、IgA、IgG、IgD、IgE 五型,是类风湿关节炎血清中针对 IgG Fc 片段上抗原表位的一类自身抗体。RF 是目前类风湿关节炎诊治中最常用的一个临床检测指标,它具有较高的敏感性,但特异性较差。

[0005] 临床检测类风湿因子的常见方法包括免疫印迹法、间接凝集反应和酶联免疫吸附法,简称 ELISA 法(Enzyme-linked Immuno Sorbent Assay)。免疫印迹法是将蛋白质转移到膜上,然后利用抗体进行检测。对已知表达蛋白,可用相应抗体作为一抗进行检测,对新基因的表达产物,可通过融合部分的抗体检测。间接凝集反应是将可溶性抗原先吸附适当大小的颗粒性载体的表面,然后与相应抗体作用,在适合的电解质存在条件下,出现特异性凝集现象,称间接凝集反应或被动凝集反应。ELISA 法的原理是将抗原或抗体结合到某种固相载体表面,并保持其免疫活性,将酶标抗原或抗体与固体载体表面的抗原或抗体起反应,加入酶反应的底物,底物被酶催化变为有色产物,再根据颜色的深浅来定性或定量分析,是目前最常用的手段。

实用新型内容

[0006] 本发明人发现:在 RA 患者血清或滑膜液中 IgG 型 RF 的出现与患者的滑膜炎、血管炎和关节的症状密切相关,此类 RF 常伴随高滴度的 IgM 型 RF 在同一 RA 患者血清或滑膜液中出现。在正常人及非 RA 患者中很难检测出 IgG 型 RF。此外,IgG 型 RF 在关节软骨表面的沉积可激活补体引起关节的炎性损伤,因此滑膜液中检测出 IgG 型 RF 比血清中检出 IgM 型 RF 更具病理意义。

[0007] 即,本实用新型解决的技术问题是:现有 ELISA 试剂盒多以血清中 RF 为测试指标,若想针对滑膜炎、血管炎或关节症状的患者定量检测 IgG 型 RF,需针对血清进行纯化,以消除 IgM 型 RF 的干扰,操作复杂,成本较高,且检测结果准确率低;此外,滑膜液的表面张力比血清大,传统的试剂盒中酶联板的反应槽为圆柱形,不利于滑膜液与孔壁包覆的抗体进行

有效接触。

[0008] 即,本实用新型的目的在于:提供一种 ELISA 试剂盒,以滑膜液为检测对象,针对性检测滑膜液中 IgG 型 RF,提高准确性,避免 IgG 型 RF 在关节软骨表面的沉积而导致关节的炎性损伤。

[0009] 针对现有技术,本实用新型提供一种类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒,针对滑膜液表面张力比血清大的特点,本实用新型将试剂盒中酶联板的反应槽设计成腰鼓形,槽底和槽口的直径小于中间部分。

[0010] 具体来说,针对现有技术的不足,本实用新型提供了如下技术方案:

[0011] 一种类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒,包括设置有凹槽的箱体 1,其特征在于,所述箱体内设置有酶联板 2、封板膜 3 和放置于凹槽上的试剂瓶 4;

[0012] 所述酶联板包括基板和设置于基板上的包被有抗 IgG 型 RF 抗体的反应槽 21;所述反应槽为腰鼓状结构,槽底和槽口的直径小于中间部分的直径。

[0013] 优选的,上述试剂盒中,所述反应槽槽底和槽口的直径相同,为 2-5mm,中间部分直径比两端大 0.5-2mm。

[0014] 优选的,上述试剂盒中,所述反应槽的数量为 25-96 个。

[0015] 优选的,上述试剂盒中,所述反应槽的数量为 25 个、50 个或 75 个。

[0016] 优选的,上述试剂盒中,所述试剂瓶包括稀释液瓶、洗涤液瓶、酶标抗体瓶、底物液瓶和终止液瓶。

[0017] 优选的,上述试剂盒中,所述试剂瓶还包括辅助剂瓶或封闭液瓶。

[0018] 优选的,上述试剂盒中,所述试剂瓶还包括用来承装滑膜液的样品管 5。

[0019] 优选的,上述试剂盒中,所述底物液瓶包括第一显色液瓶和第二显色液瓶。

[0020] 优选的,上述试剂盒中,所述稀释液瓶的容积为 10mL ~ 20mL,酶标抗体瓶的容积为 10mL ~ 20mL,终止液瓶的容积为 100-300mL。

[0021] 优选的,上述试剂盒中,所述第一显色液瓶的容积为 50-100mL,第二显色液瓶的容积为 50-100mL。

[0022] 优选的,上述试剂盒中,所述样品管的容积为 60-120mL。

[0023] 此外,本实用新型所述类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒也可用于风湿类疾病的治疗。

[0024] 本实用新型的机理为:在酶联板中包被的 IgG 为抗 IgG 型 RF 抗体,可以与 IgG 型 RF 结合。将滑膜液样本加入反应槽中,样品中的 IgG 型 RF 与 Ig G 结合,形成抗原抗体复合物;将酶标抗体加入反应槽中,与上述抗原抗体复合物结合,形成抗体-抗原-抗体双抗体夹心结构,再加入底物液,使其在酶催化作用下变成有色产物,进而用酶标仪检测 IgG 型 RF 浓度。

[0025] 本实用新型的有益效果是:1) 生物酶催化效率高,间接地放大了免疫反应的结果,使测定方法达到很高的灵敏度。2) 抗原无需进行纯化,抗体专一性高。3) 用本实用新型所述试剂盒对滑膜液中 IgG 型 RF 进行检测,针对性强,准确率高。

附图说明

[0026] 图 1 为具体实施方式中所述类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒的结构图,其中,

1 为盒体,2 为酶联板,4 为试剂瓶,5 为样品管。

[0027] 图 2 为实施例一所述酶联板与封板膜贴合后的透视图,其中,3 为封板膜,21 为反应槽。

[0028] 图 3 为实施例一所述 ELISA 试剂盒内部结构的俯视图,其中,12 为酶联板槽,13 为用于放置终止液瓶的凹槽,14 为用于放置稀释液瓶的凹槽,15 为用于放置洗涤液瓶的凹槽,16 为用于放置样品管的凹槽。

具体实施方式

[0029] 鉴于目前没有 ELISA 试剂盒针对滑膜液中 IgG 型 RF 含量进行检测,本实用新型提供一种类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒,针对滑膜液设计,可更加准确地检测滑膜液中 IgG 型 RF 含量。

[0030] 一种优选的实施方式中,本实用新型所述 ELISA 试剂盒的操作流程如下:

[0031] 1) 向包被有抗 IgG 型 RF 抗体的反应槽中加含 RF 的滑膜液样本。标本中的 RF 与固相 IgG 抗体结合,形成固相抗原抗体复合物,洗涤除去其他未结合物质。

[0032] 2) 加酶标热聚 IgG 反应。固相免疫复合物上的抗原与酶标抗体结合。彻底洗涤未结合的酶标抗体。此时固相载体上带有的酶量与标本中受检抗原的量相关。

[0033] 3) 加底物显色。固相上的酶催化底物成为有色产物。通过比色,可对 RF 进行定性和定量分析。

[0034] 本实用新型一种优选的实施方式中,所述试剂盒的结构图如图 1 所示,所述试剂盒包括盒体 1、盒体 1 内设置有酶联板 2、封板膜 3、试剂瓶 4 和样品管 5,其中,所述酶联板、试剂瓶和样品管的数量和容积不受限制,可按需调整。

[0035] 下面通过实施例来进一步描述本实用新型所述试剂盒及其使用方法。下列实施例中,所用各试剂的厂家为:

[0036] 牛血清蛋白,厂家:江苏科特商贸有限公司

[0037] β -半乳糖苷酶标记的链霉亲和素,厂家:上海彩佑实业有限公司

[0038] 兔 IgG,厂家:上海远慕生物科技有限公司

[0039] 实施例一

[0040] 一种类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒,结构如下:

[0041] ELISA 试剂盒的结构图与图 1 类似,所述试剂盒包括设置有凹槽的盒体,盒体内设置有酶联板、封板膜、试剂瓶和样品管。

[0042] 所述酶联板与封板膜贴合后的透视图如图 2 所示,本实施例所用酶联板包括 25 个反应槽,5×5 排列,反应槽为腰鼓形,槽底和槽口的直径为 4mm,中间部分的直径为 5mm。

[0043] 盒体内俯视图如图 3 所示,所述凹槽包括用于放置酶联板的凹槽 12、用于放置试剂瓶的凹槽和用于放置样品管的凹槽 16。所述用于放置试剂瓶的凹槽为 7 个,凹槽 13 最大,用于放置终止液瓶;凹槽 14 最小,与其相同的凹槽用于放置稀释液瓶和酶标抗体瓶,凹槽 15 较大,与其相同的凹槽用于放置洗涤液瓶、底物液 A 瓶(即第一底物液瓶)、底物液 B 瓶(第二底物液瓶)和封闭液瓶。

[0044] 稀释液试剂瓶:稀释液为牛血清蛋白,浓度为 1g/L,容积为 15mL;

[0045] 洗涤液试剂瓶:洗涤液为 PBS 缓冲液,浓度为 12g/L,容积为 50mL;

[0046] 酶标抗体瓶： β -半乳糖苷酶标记的链霉亲和素，容积 15mL。

[0047] 底物液为显色液 A 和显色液 B：显色液 A 为磷酸氢二钠 27.5g/L 与柠檬酸 20.3g/L，双蒸水定容至 50ml；显色液 B：10mg TMB(3,3',5,5'-四甲基联苯胺)溶于 1mL DMSO(二甲基亚砷)中形成 TMB 溶液，柠檬酸 19.2g/L，容积为 50mL。

[0048] 封闭液瓶：1 份 TBST(TBS 缓冲液+0.1%的 TWEEN20)+PBS 磷酸缓冲盐溶液+BSA 牛血清白蛋白(终浓度为 10%)，配成终浓度是 5%的乳液，容积为 50mL。其中，所述 TWEEN20 为吐温 20，即聚氧乙烯失水山梨醇月桂酸酯。

[0049] 终止液：终止液为双蒸水 180ml，加浓硫酸至 200ml。

[0050] 本实施例所述试剂盒中所述酶联板的制备方法如下：

[0051] 用稀释液将兔 IgG 稀释为 1 μ g/ml，取 30 μ l 加入到酶联板反应槽中，37 $^{\circ}$ C 放置过夜后，用洗涤液洗板，除去多余的 IgG 及其他杂质，用封闭液在 37 $^{\circ}$ C 下封闭 1.5 小时，甩干后在 45 $^{\circ}$ C 下烘干 0.5 小时，得到包被有 IgG 的酶联板。

[0052] 本实施例所述试剂盒的使用方法如下：

[0053] 1. 向酶联板的反应槽内加入 25 μ l 滑膜液样本，在 37 $^{\circ}$ C 下作用 3 小时，样本中的类风湿因子与 Ig G 结合，形成抗原抗体复合物，用洗涤液洗涤去除未结合的物质。

[0054] 2. 向反应槽内加入 25 μ l 酶标抗体，在 37 $^{\circ}$ C 下作用 2 小时，使其与上述抗原抗体复合物结合，用洗涤液洗涤去除未结合的酶标抗体。

[0055] 3. 向反应槽内加入 40 μ l 显色液 A，40 μ l 显色液 B，在 37 $^{\circ}$ C 下作用 1 小时，在酶催化作用下变成有色产物。

[0056] 4. 加入 50 μ l 终止液，在 37 $^{\circ}$ C 下作用 5 分钟后，用酶标仪在 450nm 的波长下进行检测，读取吸光度，从而计算得到类风湿因子浓度。

[0057] 本实用新型所述类风湿因子双抗体夹心 ELISA 试剂盒可以滑膜液为检测对象，针对性地检测滑膜液中 IgG 型 RF，准确性高，更具有病理意义。

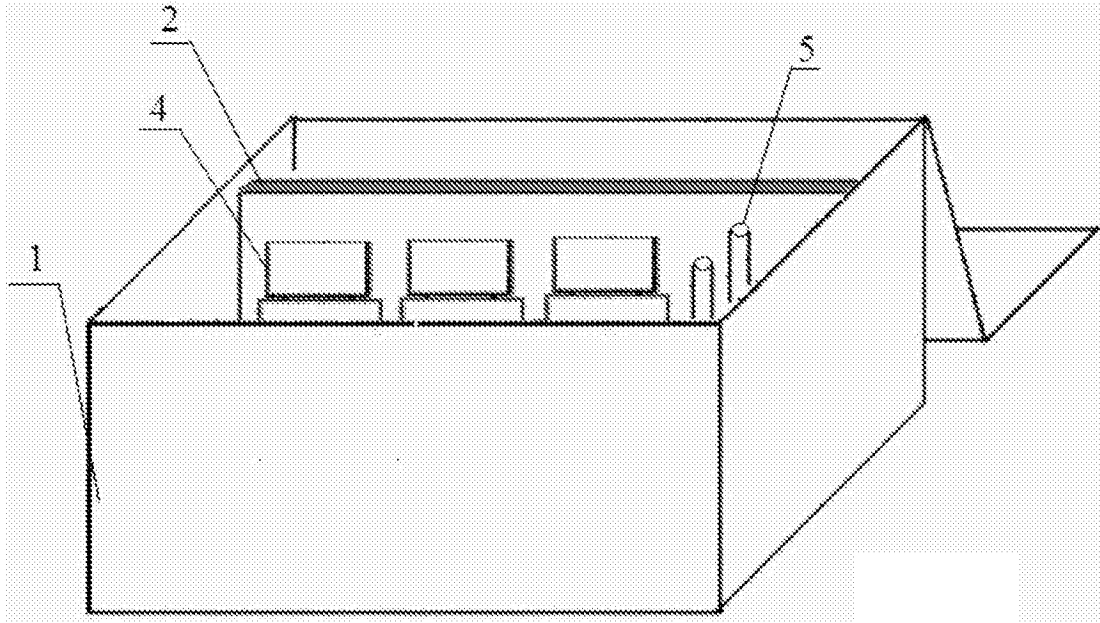


图 1

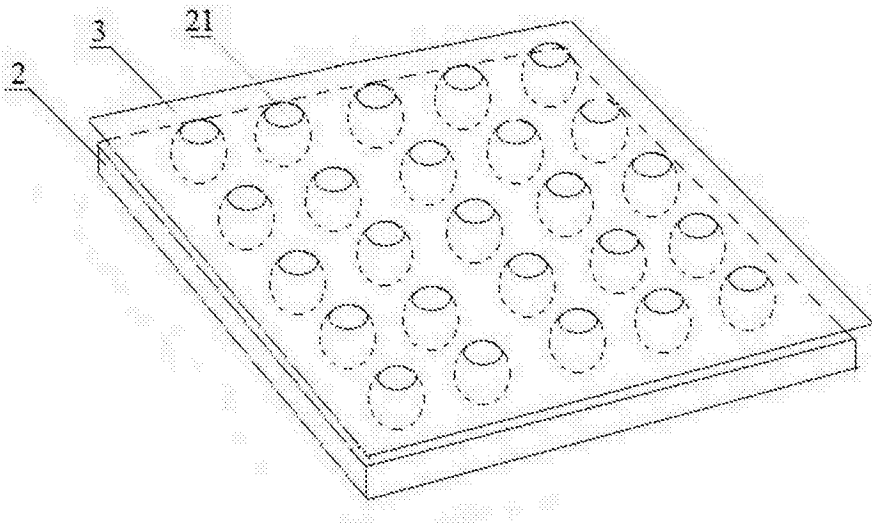


图 2

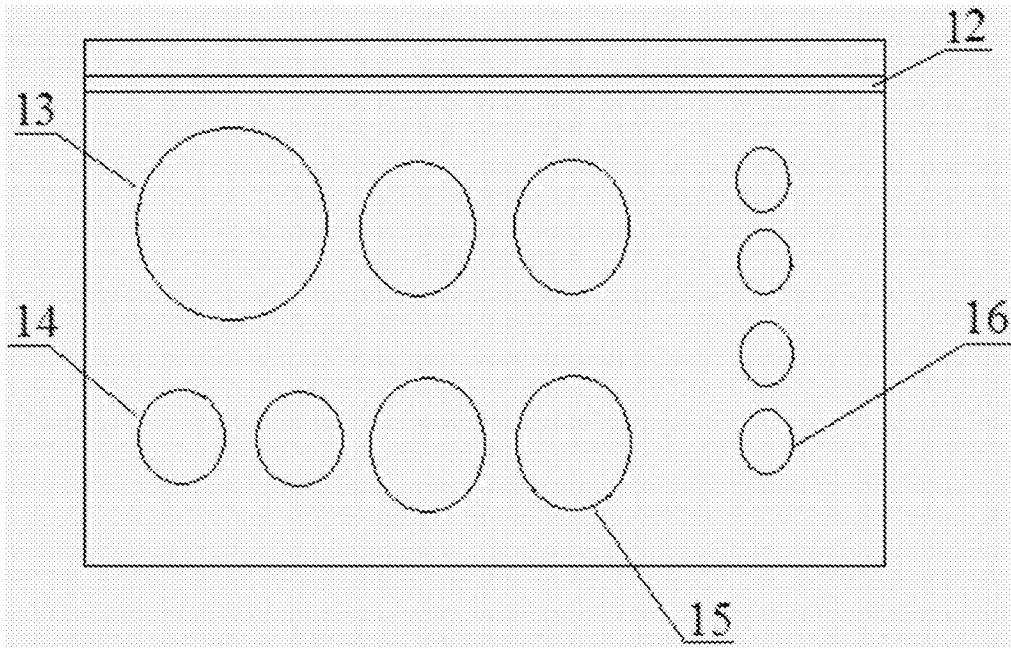


图 3

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 类风湿因子双抗体夹心ELISA试剂盒 | | |
| 公开(公告)号 | CN204964515U | 公开(公告)日 | 2016-01-13 |
| 申请号 | CN201520614886.9 | 申请日 | 2015-08-14 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 天津脉络生物科技有限公司 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 天津脉络生物科技有限公司 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 天津脉络生物科技有限公司 | | |
| [标]发明人 | 刘鹏飞 陈威潼 韩雪 姬晓兵 | | |
| 发明人 | 刘鹏飞 陈威潼 韩雪 姬晓兵 | | |
| IPC分类号 | G01N33/535 | | |
| 代理人(译) | 李郁 | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

本实用新型涉及医疗检测仪器技术领域，具体涉及类风湿因子双抗体夹心ELISA试剂盒。该试剂盒包括设置有凹槽的箱体(1)，其特征在于，所述盒体内设置有酶联板(2)、封板膜(3)和放置于凹槽上的试剂瓶(4)；所述酶联板(2)包括基板和设置于基板上的包被有抗IgG型RF抗体的反应槽(21)；所述反应槽为腰鼓状结构，槽底和槽口的直径小于中间部分的直径。本实用新型所述ELISA试剂盒生物酶催化效率高，间接地放大了免疫反应的结果，使测定方法达到很高的灵敏度。抗原无需进行纯化，抗体专一性高。用本实用新型所述试剂盒对滑膜液中IgG型RF进行检测，针对性强，准确率高，具有广阔的应用前景。

