



# (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110579596 A

(43)申请公布日 2019.12.17

(21)申请号 201910869448.X

(22)申请日 2019.09.16

(71)申请人 菲鹏生物股份有限公司

地址 518000 广东省深圳市南山区西丽留  
仙洞中山园路1001号TCL科学园区研  
发楼D2栋6层ABCD单元601;602;603;  
604号房

申请人 广东菲鹏生物有限公司

(72)发明人 刘丽萍 李文静 于鸪 迟晨

(74)专利代理机构 北京超凡宏宇专利代理事务  
所(特殊普通合伙) 11463

代理人 李双艳

(51) Int. Cl.

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

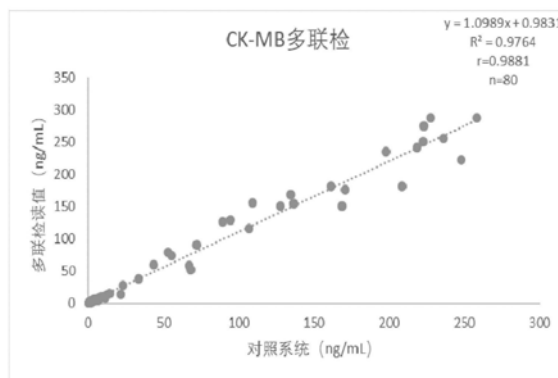
权利要求书1页 说明书12页 附图5页

## (54)发明名称

多联检免疫层析试剂卡及其应用和多联检  
免疫层析试剂盒

## (57)摘要

本发明提供了一种多联检免疫层析试剂卡及其应用和多联检免疫层析试剂盒,涉及生物检测技术领域,本发明提供的多联检免疫层析试剂卡包括依次设置的样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫,能够避免多条T线引起的各个待检测项目的检测性能差异,能够保证每个待检测项目的性能保持一致性。



1. 一种多联检免疫层析试剂卡,其特征在于,所述多联检免疫层析试剂卡包括依次设置的样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫;

所述结合垫上包被有至少一种标记-抗体复合物,所述NC膜上包含有至少一条T线和一条C线。

2. 根据权利要求1所述的多联检免疫层析试剂卡,其特征在于,T线上混合包被至少2个结合抗体或竞争抗原;

所述结合抗体能够结合来自结合垫中的标记-抗体-样本复合物;

所述竞争抗原能够与样本竞争性的结合来自结合垫中的标记-抗体复合物,从而将标记基团固定在T线上。

3. 根据权利要求1所述的多联检免疫层析试剂卡,其特征在于,C线上包被能够捕捉游离的标记-抗体复合物的捕捉抗体。

4. 根据权利要求1所述的多联检免疫层析试剂卡,其特征在于,所述标记-抗体复合物中的标记物包括荧光标记物、量子点标记物或生物素标记物,优选为荧光标记物。

5. 根据权利要求2所述的多联检免疫层析试剂卡,其特征在于,所述T线上包被有CK-MB、cTnI和Myo中的一种或多种被标记的结合抗体。

6. 根据权利要求2所述的多联检免疫层析试剂卡,其特征在于,T线上包被有PCT抗体和CRP抗原。

7. 根据权利要求1所述的多联检免疫层析试剂卡,其特征在于,所述多联检免疫层析试剂卡还包括承载层,用于粘结样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫。

8. 如权利要求1-7任一项所述的多联检免疫层析试剂卡在联合检测不同类型抗原的非诊断/治疗目的的应用。

9. 一种多联检免疫层析试剂盒,其特征在于,所述多联检免疫层析试剂盒包括权利要求1-7任一项所述的多联检免疫层析试剂卡。

## 多联检免疫层析试剂卡及其应用和多联检免疫层析试剂盒

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物检测技术领域,尤其是涉及一种多联检免疫层析试剂卡及其应用和多联检免疫层析试剂盒。

### 背景技术

[0002] 目前,已上市的多联检免疫荧光层析试剂盒,主要按照心肌(cTnI/NT-proBNP),炎症(PCT/CRP/SAA/IL-6),胃功能(PGI/PGII)等疾病进行分类,组合形成针对特定疾病的二联检或三联检试剂盒。现有技术中的多联检试剂盒通常都会有如下的缺点:

[0003] 1.当前多联检荧光免疫层析试剂卡主要以单一荧光素进行信号捕捉,决定了NC膜包被抗体时,每一个项目都必须包被单独的T线抗体。

[0004] 2.现有技术中多联检试剂卡的包被条件主要由一条控制线C线和多条检测线T线组合构成,每条T线上包被能够结合单一项目抗原的抗体。存在NC膜包被条件复杂,对包被机器有特定的要求(如包被泵头的个数至少需要3个或4个),包被成本高,包被工艺复杂。

[0005] 3.多条T线包被的特点,决定了待检测试剂卡的NC膜需要一定的长度,存在一定的选材限制,由于长度的限制,通常最多只能包被3-4条T线,无法实现更多项目的联检。

[0006] 4.多联检试剂卡包被多条T线时,并不能同时满足所有待检项目的性能一致,各个项目之间的性能存在差异,一般包被在后面的项目的性能会有一定损失。

[0007] 有鉴于此,特提出本发明。

### 发明内容

[0008] 本发明的第一个目的在于提供一种多联检免疫层析试剂卡,以至少缓解现有技术中存在的技术问题之一。

[0009] 本发明的第二个目的在于提供上述多联检免疫层析试剂卡在联合检测不同类型抗原的非诊断/治疗目的的应用。

[0010] 本发明的第三个目的在于提供一种多联检免疫层析试剂盒,该多联检免疫层析试剂盒能够联合检测不同类型的多种抗原,实现不同类型疾病的联合检测,且成本低廉,易于推广应用。

[0011] 本发明提供了一种多联检免疫层析试剂卡,所述多联检免疫层析试剂卡包括依次设置的样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫;

[0012] 所述结合垫上包被有至少一种标记-抗体复合物,所述NC膜上设置包含有至少一条T线和一条C线。

[0013] 进一步地,多联检免疫层析试剂卡设置有一条T线。

[0014] 进一步地,T线上混合包被多个结合抗体或竞争抗原;

[0015] 所述结合抗体能够结合来自结合垫中的标记-抗体-样本复合物;

[0016] 所述竞争抗原能够与样本竞争性的结合来自结合垫中的标记-抗体复合物,从而将标记基团固定在T线上。

- [0017] 进一步地,C线上包被能够捕捉游离的标记-抗体复合物的捕捉抗体。
- [0018] 进一步地,所述标记-抗体复合物中的标记物包括荧光标记物、量子点标记物或生物素标记物,优选为荧光标记物。
- [0019] 进一步地,所述T线上包被有CK-MB、cTnI和Myo中的一种或多种被标记的结合抗体。
- [0020] 进一步地,T线上包被有PCT抗体和CRP抗原。
- [0021] 进一步地,所述多联检免疫层析试剂卡还包括承载层,用于粘结样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫。
- [0022] 本发明还提供了上述的多联检免疫层析试剂卡在联合检测不同类型抗原的非诊断/治疗目的的应用。
- [0023] 另外,本发明还提供了一种多联检免疫层析试剂盒,所述多联检免疫层析试剂盒包括上述的多联检免疫层析试剂卡。
- [0024] 本发明提供的多联检免疫层析试剂卡,包括依次设置的样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫,其中结合垫上包被有至少一种标记-抗体复合物,NC膜上设置有一条T线和一条C线。本发明提供的多联检免疫层析试剂卡只包被一条T线和一条C线,利用不同标记物的检测结果不同,即可实现不同类型疾病的联合检测。并且,NC膜只需要包被两条线(一条T线和一条C线),相对于已有的多联检产品,精简了包被工艺,节约了包被时间,对包被机器的泵头需求只有2个,节约机器成本,对NC膜的长度没有特定的要求。此外,该多联检免疫层析试剂卡由于只包被了一条T线,还能够避免多条T线引起的各个待检测项目的检测性能差异,能够保证每个待检测项目的性能保持一致性。
- [0025] 基于与本发明提供的多联检免疫层析试剂卡相同原理,本发明提供的多联检免疫层析试剂盒具有本发明提供的多联检免疫层析试剂卡的所有有益效果,在此不再赘述。

## 附图说明

- [0026] 为了更清楚地说明本发明具体实施方式或现有技术中的技术方案,下面将对具体实施方式或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图是本发明的一些实施方式,对于本领域普通技术人员来讲,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的附图。
- [0027] 图1A为本发明实验例1提供的CK-MB单检的结果图;
- [0028] 图1B为本发明实验例1提供的CK-MB多联检的结果图;
- [0029] 图2A为本发明实验例1提供的cTnI单检的结果图;
- [0030] 图2B为本发明实验例1提供的cTnI多联检的结果图;
- [0031] 图3A为本发明实验例1提供的Myo单检的结果图;
- [0032] 图3B为本发明实验例1提供的Myo多联检的结果图;
- [0033] 图4A为本发明实验例2提供的PCT单检的结果图;
- [0034] 图4B为本发明实验例2提供的PCT多联检的结果图;
- [0035] 图5A为本发明实验例2提供的CRP单检的结果图;
- [0036] 图5B为本发明实验例2提供的CRP多联检的结果图。

## 具体实施方式

[0037] 下面将结合实施例对本发明的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0038] 除非本文另有定义,连同本发明使用的科学和技术术语应具有本领域普通技术人员通常理解的含义。术语的含义和范围应当清晰,然而,在任何潜在不明确性的情况下,本文提供的定义优先于任何字典或外来定义。此外,术语“包括”及其他形式的使用是非限制性的。

[0039] 一般地,连同本文描述的细胞和组织培养、分子生物学、免疫学、微生物学、遗传学以及蛋白和核酸化学和杂交使用的命名法和其技术是本领域众所周知和通常使用的那些。除非另有说明,本发明的方法和技术一般根据本领域众所周知,且如各种一般和更具体的参考文献中所述的常规方法来进行,所述参考文献在本说明书自始至终引用和讨论。酶促反应和纯化技术根据制造商的说明书、如本领域通常实现的或如本文所述来进行。连同本文描述的分析化学、合成有机化学以及医学和药物化学使用的命名法、以及其实验室程序和技术是本领域众所周知和通常使用的那些。

[0040] 根据本发明的一个方面,提供了一种多联检免疫层析试剂卡,所述多联检免疫层析试剂卡包括依次设置的样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫;

[0041] 所述结合垫上包被有至少一种标记-抗体复合物,所述NC膜上设置有一条T线和一条C线。

[0042] 本发明提供的多联检免疫层析试剂卡,只包被一条T线和一条C线,利用不同标记物的检测结果不同,即可实现不同类型疾病的联合检测。并且,NC膜只需要包被两条线(一条T线和一条C线),相对于已有的多联检产品,精简了包被工艺,节约了包被时间,对包被机器的泵头需求只有2个,节约机器成本,对NC膜的长度没有特定的要求。此外,该多联检免疫层析试剂卡由于只包被了一条T线,还能够避免多条T线引起的各个待检测项目的检测性能差异,能够保证每个待检测项目的性能保持一致性。

[0043] 可以理解的是,在本发明中,“包被”为免疫学术语,具有固定和/或吸附的意思。

[0044] 在本发明中,“T线”为test检测线,“C线”为control控制线。

[0045] 在本发明中,“标记物-抗体复合物”指的是标记物与抗体复合而成的物质,其中标记物与抗体可以通过肽键或其他本领域常规的方式结合,本发明对此不做限制。

[0046] 其中,吸水层包括强吸水物质,能够通过其吸水性为待测样品提供定向动力,使待测样品依次经过结合垫和NC膜。本发明对吸水层的材料不做限定,凡是具有强吸水性质的材料均可作为本实施方式的吸水层。样品垫用于与待测样品接触,以保证待测样品通过定向动力移动到结合垫时能够与结合垫上的标记物-抗体复合物结合更加均匀,保证检测结果的准确性。本实施方式对样品垫的材料不做限定,典型的样品垫可以为玻璃纤维棉或尼龙膜。

[0047] 需要说明的是,在本发明中,依次设置样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫指的是,样品垫与结合垫远离NC膜的一端相接紧密连接,以保证待测样品能够通过定向动力移动到结合垫上。结合垫的一端和NC膜的一端紧密连接,以保证游离的标记物-抗体复合物以及标记

物-抗体-样本复合物能够从结合垫过渡至NC膜上。吸水垫与NC膜远离结合垫的一端紧密连接,以保证能够通过其强吸水特性为待测样品提供定向动力。

[0048] 在本发明中,“标记物-抗体复合物”可以指代一种标记物-抗体复合物,也可以指代一类标记物-抗体复合物。当指代一类标记物-抗体复合物时,其中每种标记物-抗体复合物的检测原理相同,例如均使用双抗体夹心法或均使用竞争法实现;其中每种抗体复合物的标记物均不相同,例如标记物-抗体复合物可以包括有机荧光素A-抗体a复合物、有机荧光素B-抗体b复合物等。

[0049] 在一些优选的实施方式中,T线上混合包被多个结合抗体或竞争抗原;

[0050] 所述结合抗体能够结合来自结合垫中的标记-抗体-样本复合物;

[0051] 所述竞争抗原能够与样本竞争性的结合来自结合垫中的标记-抗体复合物,从而将标记基团固定在T线上。

[0052] 需要说明的是,在本发明中,样本指的是待测样本,即待测抗原。

[0053] 标记-抗体-样本复合物,指的是样本(待测抗原)与标记物-抗体复合物复合而成的物质,其中样本(待测抗原)与标记物-抗体复合物可以通过肽键或其他本领域常规的方式结合,本发明对此不做限制。

[0054] 在本发明中,“结合抗体”能够捕捉标记-抗体-样本复合物,从而将标记-抗体-样本复合物固定在T线上,形成双抗体夹心复合物。利用双抗体夹心法,通过不同标记物的检测结果不同,即可实现联检的需求。对“结合抗体”不做具体的限定,只要能够与标记-抗体-样本复合物发生特异性结合即可,例如可以为,但不限于PCT抗体或cTNI抗体等。

[0055] 在本发明中,“竞争抗原”能够与样本竞争性的结合来自结合垫中的标记-抗体复合物,从而将标记基团固定在T线上。利用竞争法,通过不同标记物的检测结果不同,即可实现联检的需求。对“竞争抗原”不做具体的限定,只要能够与游离的标记物-抗体复合物发生特异性结合即可。

[0056] 需要说明的是,虽然在本发明提供的多联检免疫层析试剂卡中T线同时包含结合抗体和竞争抗原,但在实际应用中可以根据待测样品的性质选择只应用结合抗体,通过双抗体夹心法进行检测,也可以只应用竞争抗原,通过竞争法进行检测,或者同时应用结合抗体和竞争抗原,通过双抗体夹心法和竞争法进行检测。

[0057] 在一些优选的实施方式中,待测抗原为一种或多种,优选为多种。

[0058] 对应标记物-抗体复合物,当待测抗原为多种时,其中每种待测抗原的检测原理相同,例如均使用双抗体夹心法或均使用竞争法实现。当待测抗原为多种时,本发明提供的多联检免疫层析试剂卡可以实现同时检测多个项目,检测效率更高。

[0059] 在一些优选的实施方式中,C线上包被能够捕捉游离的标记-抗体复合物的捕捉抗体。

[0060] 在本实施方式中,“捕捉抗体”能够捕捉游离的标记物-抗体复合物,从而将游离的标记物-抗体复合物固定在C线上。

[0061] 对“捕捉抗体”不做具体的限定,只要能够与游离的标记物-抗体复合物发生特异性结合即可,例如可以为,但不限于羊抗鼠抗体、兔抗鼠抗体或羊抗兔抗体等。

[0062] 在一些优选的实施方式中,所述标记-抗体复合物中的标记物包括荧光标记物、量子点标记物或生物素标记物,优选为荧光标记物。当选择荧光标记物作为标记物时,可以利

用不同荧光标记物的激发波长和发射波长不一样,将多联检项目分别包被形成不同的荧光基团-抗体复合物,混合包被在同一条T线上,从而实现联检。

[0063] 其中荧光标记物例如可以为,但不限于Cy3、Cy5、Fitc、AMC、CMK或FMK等。

[0064] 在一些优选的实施方式中,所述T线上包被有CK-MB、cTnI和Myo中的一种或多种被标记的结合抗体。

[0065] 可以理解的是,CK-MB(肌酸磷酸激酶-MB同功酶)、cTnI(心肌钙蛋白i)和Myo(肌红蛋白)的检测原理相同,例如均使用双抗体夹心法或均使用竞争法实现。

[0066] 其中,“一种或多种”指的是,T线上可以包被有CK-MB被标记的结合抗体、cTnI被标记的结合抗体或Myo被标记的结合抗体、或者包括CK-MB被标记的结合抗体和cTnI被标记的结合抗体、或者包括CK-MB被标记的结合抗体和Myo被标记的结合抗体、或者包括cTnI被标记的结合抗体和Myo被标记的结合抗体,或者包括CK-MB被标记的结合抗体、cTnI被标记的结合抗体和Myo被标记的结合抗体。

[0067] 在一些优选的实施方式中,T线上包被有PCT抗体和CRP抗原。

[0068] PCT(procalcitonin,降钙素原)和CRP(C reactive protein,C反应蛋白)为加样量和加样方式不一样的联检项目,具体地,在双抗夹心法单检中PCT样本不需要稀释,而CRP样本需要稀释,所以在联检上有难度,因此在本实施方式中,PCT采用双抗体夹心法进行包被,CRP采用竞争法进行包被,避免样本处理方式不同的问题。

[0069] 在一些优选的实施方式中,所述多联检免疫层析试剂卡还包括承载层,用于粘结所述吸附层。

[0070] 承载层能够承载吸附层,使检测更便于进行。

[0071] 在本实施方式中对承载层的材料不做限定,凡是具有固相形态且不影响抗原抗体反应的材料均可,例如可以为,但不限于塑料板或玻璃板。

[0072] 另外,本发明还提供了一种多联检免疫层析试剂盒,包括上述的多联检免疫层析试剂卡。

[0073] 基于与本发明提供的多联检免疫层析试剂卡相同原理,本发明提供的多联检免疫层析试剂盒具有本发明提供的多联检免疫层析试剂卡的所有有益效果,在此不再赘述。

[0074] 下面通过具体的实施例进一步说明本发明,但是,应当理解为,这些实施例仅仅是用于更详细地说明之用,而不应理解为用于以任何形式限制本发明。

[0075] 本发明实施例中用到的主要试剂及仪器信息如下:

[0076] 荧光素是购自ANASPEC公司,型号为HiLyte Fluor 405、HiLyte Fluor532和HiLyte Fluor 750。样品垫是购自上海杰一公司,型号为XQ-Y1,结合垫购自上海杰一公司,型号是GL0194,吸水垫,是购自上海杰一公司、型号为H5072,硝酸纤维素膜是购自Millipore公司,型号为Hi-FlowPlusHF135。

[0077] 喷膜系统采用BioDot的XYZ3050喷膜系统,所采用的抗原/抗体均为菲鹏生物股份有限公司自产抗原和抗体。cTnI抗体型号为cTnI-MCAb-9#、cTnI-MCAb-11#、MYO抗体型号为MYO-Ab2、MYO-Ab2、CK-MB抗体型号为CK-MB-3、CK-MB-4、CRP抗原型号为CRP-Ag、CRP抗体型号为CRP-Ab7#、PCT抗体型号为PCT-Ab4#、PCT-Ab7#。

[0078] 实施例1

[0079] 本实施例提供了一种多联检免疫层析试剂卡,包括依次设置的样品垫、结合垫、NC

膜和吸水垫。

[0080] 结合垫上包被有第一标记物-抗体复合物和第二标记物-抗体复合物；

[0081] 第一标记物-抗体复合物包括HiLyte Fluor 405-CK-MB抗体复合物、HiLyte Fluor 532-cTnI抗体复合物和HiLyte Fluor 750-Myo抗体复合物。

[0082] 其中,HiLyte Fluor 405-CK-MB抗体复合物用于特异性结合CK-MB, HiLyte Fluor 532-cTnI抗体复合物用于特异性结合cTnI,HiLyte Fluor 750-Myo抗体复合物用于特异性结合Myo。

[0083] NC膜上设置有一条T线和一条C线；

[0084] T线上包被有结合抗体,该结合抗体包括A结合抗体、B结合抗体和C结合抗体,A结合抗体能够与结合有HiLyte Fluor 405-CK-MB抗体复合物的待测抗原发生特异性结合,B结合抗体能够与结合有HiLyte Fluor 532-cTnI抗体复合物的待测抗原发生特异性结合,C结合抗体能够与结合有HiLyte Fluor 750-Myo抗体复合物的待测抗原发生特异性结合。

[0085] C线上包被有捕捉抗体；

[0086] 捕捉抗体用于捕捉游离的HiLyte Fluor 405-CK-MB抗体复合物、HiLyte Fluor 532-cTnI抗体复合物和HiLyte Fluor 750-Myo抗体复合物。

[0087] 进一步地,本实施例提供的多联检免疫层析试剂卡还包括承载层,用于粘结所述吸附层。

[0088] 在本实施例中,整个多联检免疫层析试剂卡由双抗体夹心法实现。双抗体夹心法的原理为:多联检免疫层析试剂卡结构由样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫组成。其中结合垫上包被有荧光标记物-抗体的复合物。NC膜上包被两条线,分别是T线和C线。T线上混合包被多个项目的抗体,能捕捉来自结合垫上的荧光标记物-抗体复合物形成双抗体夹心的复合物,从而将荧光基团固定在T线上。C线上包被能够捕捉游离的荧光标记物-抗体复合物的抗体。待测样品加入到检测试剂卡样品垫的加样口中,在吸水垫提供的侧向毛细吸附力的作用下,待检样品先经过结合垫,与结合垫上的不同荧光标记物-抗体复合物分别发生特异的免疫结合,各自结合形成抗原-抗体荧光复合物,从而被固定在T线中。游离的荧光标记物-抗体复合物经过C线时,能够与C线抗体发生特异的免疫结合,从而被固定在C线中。最后通过免疫荧光分析仪,发射不同激发波长,分别激发和接收不同荧光基团的信号,实现联检的需求。

[0089] 实施例2

[0090] 本实施例提供了一种多联检免疫层析试剂卡,包括依次设置的样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫。

[0091] 结合垫上包被有第一标记物-抗体复合物和第二标记物-抗体复合物；

[0092] 第一标记物-抗体复合物包括HiLyte Fluor 405-PCT抗体复合物。

[0093] 第二标记物-抗体复合物包括HiLyte Fluor 532-CRP抗体复合物。

[0094] 其中,HiLyte Fluor 405-PCT抗体复合物用于特异性结合PCT,HiLyte Fluor 532-CRP抗体复合物用于特异性结合CRP。

[0095] NC膜上设置有T线和C线；

[0096] T线上包被有结合抗体,该结合抗体能够与结合有HiLyte Fluor 405-PCT抗体复合物的待测抗原发生特异性结合。

[0097] T线上还包被有竞争抗原,该竞争抗原能够与游离的HiLyte Fluor 532-CRP抗体复合物发生特异性结合。

[0098] C线上包被有捕捉抗体;

[0099] 捕捉抗体用于捕捉游离的HiLyte Fluor 405-PCT抗体复合物和HiLyte Fluor 532-CRP抗体复合物。

[0100] 进一步地,本实施例提供的多联检免疫层析试剂卡还包括承载层,用于粘结所述吸附层。

[0101] 在本实施例中,整个多联检免疫层析试剂卡由双抗体夹心法和竞争法共同实现,其中通过双抗体夹心法对PCT进行检测,通过竞争法对CRP进行检测。双抗体夹心法的原理同实施例1,在此不再赘述。竞争法的原理为:多联检免疫层析试剂卡结构由样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫组成。其中结合垫上包被有HiLyte Fluor 532-CRP抗体复合物。NC膜上包被两条线,分别是T线和C线。待测样品加入到检测试剂卡样品垫的加样口中,在吸水垫提供的侧向毛细吸附力的作用下,待测样品经过结合垫时,与HiLyteFluor 532-CRP抗体复合物进行结合,在流动到T线时,T线上包被的竞争抗原结合游离的HiLyte Fluor 532-CRP抗体复合物,将荧光标记物固定在T线上。C线上包被能够捕捉结合有HiLyte Fluor 532-CRP抗体复合物的待测抗原的抗体,捕捉结合有HiLyte Fluor 532-CRP抗体复合物的待测抗原。CRP与PCT分别以各自的结合方式固定T线和C线后,通过免疫荧光分析仪,发射不同激发波长,依次激发和接收不同荧光基团的信号,实现联检的需求。

[0102] 为了对本发明提供的多联检免疫层析试剂卡进行进一步的说明,进行如下实验:

[0103] 实验例1

[0104] 本实验例选用35例正常人样本和45例病人样本,对心肌(CK-MB、cTnI和Myo)的多联检试剂(应用本发明实施例1提供的多联检免疫层析试剂卡,均为双抗体夹心法),和CK-MB、cTnI和Myo项目的单检试剂(均为双抗体夹心法)进行比对检测。

[0105] 结果如下表1所示:

[0106] 表1 CK-MB、cTnI和Myo的多联检试剂及单检试剂检测结果

[0107]

临床样本	CK-MB (ng/mL)			cTnI (ng/mL)			Myo (ng/mL)		
	对照系统	单检读值	多联检读值	对照系统	单检读值	多联检读值	对照系统	单检读值	多联检读值
1	0.19	0.50	0.32	0.002	0.002	0.002	3.71	5.35	4.34
2	0.19	0.43	0.43	0.004	0.014	0.008	4.16	3.98	4.74
3	0.30	0.31	0.35	0.004	0.004	0.004	5.23	8.50	7.71
4	0.40	0.31	0.51	0.004	0.004	0.004	6.30	5.74	7.44
5	0.45	0.66	0.39	0.005	0.005	0.005	6.60	5.89	7.42
6	0.46	0.69	0.81	0.007	0.007	0.008	7.26	8.30	8.00
7	0.49	0.55	0.55	0.008	0.008	0.009	8.92	6.48	9.18
8	0.61	0.92	0.33	0.008	0.013	0.021	11.72	17.00	12.56
9	0.67	0.77	0.74	0.012	0.022	0.025	12.06	18.53	15.98
10	0.76	0.77	0.87	0.012	0.025	0.022	12.63	18.48	18.02
11	0.89	1.43	1.29	0.015	0.015	0.015	15.15	19.47	17.11
12	0.98	1.34	1.54	0.016	0.007	0.021	18.93	26.58	27.07
13	0.99	1.33	1.64	0.018	0.021	0.018	20.46	27.77	28.31

[0108]

14	1.02	0.62	0.82	0.019	0.020	0.019	21.11	27.45	29.59
15	1.18	1.40	1.32	0.021	0.033	0.013	21.27	27.53	24.20
16	1.55	1.75	1.84	0.022	0.012	0.012	23.40	28.25	26.93
17	1.66	1.94	1.88	0.022	0.025	0.024	24.66	21.95	28.68
18	1.82	2.12	2.17	0.024	0.017	0.015	25.55	26.69	27.43
19	1.86	2.20	2.02	0.025	0.017	0.033	25.58	28.88	29.80
20	2.01	2.39	2.69	0.027	0.038	0.012	29.79	33.00	34.52
21	2.24	1.69	2.57	0.028	0.030	0.032	29.89	35.69	33.48
22	2.43	3.76	3.55	0.028	0.038	0.032	30.92	37.57	35.50
23	2.56	2.80	2.02	0.028	0.037	0.020	30.98	35.22	31.69
24	2.62	3.86	3.74	0.028	0.032	0.028	31.20	39.29	35.50
25	2.73	3.10	3.19	0.029	0.031	0.033	33.21	36.89	39.22
26	2.75	3.28	3.21	0.029	0.023	0.020	33.62	44.22	34.18
27	3.09	3.54	3.28	0.033	0.024	0.025	37.02	43.40	38.17
28	3.27	3.34	3.78	0.033	0.025	0.025	40.66	31.17	34.88
29	3.33	3.42	3.87	0.033	0.027	0.024	42.50	63.24	67.63
30	3.40	3.87	3.94	0.033	0.027	0.028	44.02	57.48	58.34
31	3.57	3.60	3.16	0.036	0.036	0.039	53.61	67.98	68.93
32	3.60	3.73	3.97	0.038	0.035	0.032	56.98	62.29	57.32
33	3.81	3.51	3.96	0.039	0.031	0.045	65.82	66.81	66.39
34	3.92	3.57	4.22	0.039	0.043	0.044	67.48	74.87	68.89
35	3.95	6.24	5.58	0.039	0.044	0.042	69.62	86.61	92.63
36	4.08	4.66	4.84	0.058	0.079	0.077	83.02	91.71	98.21
37	4.23	4.33	4.32	0.059	0.083	0.082	84.04	94.26	84.28
38	4.54	6.28	6.07	0.059	0.087	0.083	84.65	87.56	93.56
39	4.75	5.90	6.26	0.062	0.089	0.088	84.87	98.40	93.25
40	5.79	6.92	5.98	0.134	0.141	0.158	87.37	114.81	120.98
41	6.47	7.58	7.29	0.189	0.201	0.189	92.86	111.36	109.34
42	6.52	4.96	5.04	0.242	0.186	0.386	94.16	94.99	108.55
43	6.77	7.66	7.45	0.257	0.274	0.292	102.72	105.15	112.36
44	6.81	7.89	7.33	0.260	0.268	0.312	104.86	114.59	125.06
45	7.30	7.79	8.74	0.277	0.311	0.328	107.98	111.35	151.36
46	8.54	9.40	10.14	0.293	0.310	0.320	111.98	129.74	145.47
47	9.67	10.58	10.07	0.332	0.586	0.564	122.39	151.38	263.18
48	10.56	8.20	9.25	0.392	0.393	0.442	123.80	125.62	144.71
49	11.21	8.33	8.80	1.421	1.448	1.670	127.28	151.02	134.62
50	12.06	12.60	12.70	1.893	2.085	2.266	135.12	172.91	166.62
51	12.14	14.04	12.34	2.965	4.344	3.214	144.08	94.21	131.54
52	14.22	16.27	15.00	2.980	3.358	3.369	210.41	301.86	211.64
53	21.69	19.91	13.40	3.125	4.431	3.768	310.35	269.69	256.84
54	23.39	30.25	27.81	3.271	4.610	4.921	339.71	396.05	380.62
55	33.54	46.89	37.50	3.299	3.307	3.822	427.06	745.51	609.98
56	43.35	59.43	59.01	4.420	3.487	5.276	427.19	509.77	530.46
57	52.97	71.37	79.41	4.820	5.381	5.217	457.14	643.65	650.58
58	55.37	70.66	74.14	5.722	6.864	6.293	503.10	636.50	541.45
59	67.03	62.61	57.69	6.089	7.255	6.620	584.10	456.21	558.23
60	68.10	76.53	51.63	6.388	8.033	9.336	596.65	711.75	499.93
61	72.28	97.40	89.79	6.923	9.103	11.192	620.52	961.77	799.01
62	89.48	114.84	126.24	7.010	8.354	9.047	721.77	599.42	825.51

[0109]

63	94.48	113.68	128.66	7.577	8.986	11.640	741.70	920.46	916.93
64	106.75	126.88	116.51	10.992	16.562	15.305	787.25	720.23	943.28
65	109.28	141.08	155.53	11.995	14.828	15.459	794.42	641.73	880.18
66	127.41	165.07	149.94	12.517	16.198	17.035	871.28	996.23	692.81
67	134.35	141.89	168.00	15.687	21.483	17.629	897.66	771.78	929.98
68	136.62	183.84	154.49	24.610	37.524	32.693	914.53	840.67	837.03
69	161.13	188.53	180.73	26.769	33.207	29.075	989.35	918.00	895.59
70	168.47	141.89	150.91	29.188	38.344	34.355	998.32	913.05	953.76
71	170.76	194.00	175.79	31.045	27.657	24.807	1016.20	1313.14	1205.01
72	197.75	244.22	234.75	35.386	45.876	49.320	1041.12	1499.89	1365.30
73	208.77	178.06	181.21	43.258	48.887	46.799	1053.39	1362.43	1244.44
74	218.79	250.39	240.88	51.254	60.062	52.154	1115.14	1239.85	1312.41
75	222.64	247.05	250.77	54.596	75.288	69.708	1225.79	1540.67	1479.44
76	222.82	276.34	274.98	61.202	84.926	84.092	1270.42	1447.14	1409.08
77	227.49	275.22	287.28	64.058	68.486	88.101	1367.41	1561.47	1599.18
78	236.02	288.25	255.10	66.916	78.919	74.876	1393.89	1412.88	1227.05
79	247.52	227.63	221.96	71.056	70.362	72.889	1415.78	1784.95	1347.88
80	258.18	289.31	287.78	75.165	80.942	83.774	1431.43	1586.95	1512.39

[0110] 将表1的实验结果进行汇总,汇总结果如下表2及图1A、图1B、图2A、图2B、图3A和图3B所示。

[0111] 表2实验汇总结果

[0112]

CK-MB	线性相关系数	特异性	灵敏性	一致性
单检	0.9890	97.1%	100.0%	98.8%
多联检	0.9881	94.3%	100.0%	97.5%
cTnI	线性相关系数	特异性	灵敏性	一致性
单检	0.9901	100.0%	97.8%	98.8%
多联检	0.9897	100.0%	97.8%	98.8%
Myo	线性相关系数	特异性	灵敏性	一致性
单检	0.9800	94.3%	100.0%	97.5%
多联检	0.9854	97.1%	100.0%	98.7%

[0113] 从上述结果可以看出按本发明制备的CK-MB,cTnI,Myo联检试剂卡能够得到与单独检测的一致性的结果,并且与单检相比能够提高某些指标的性能。说明将不同抗体混合包被一条T线的方案不会干扰各项检测结果,且只需检测一次就可得多个待检测物的检测值。

[0114] 实验例2

[0115] 本实验例选用35例正常人样本和45例病人样本对炎症(PCT和CRP)的二联检试剂(应用本发明实施例2提供的多联检免疫层析试剂卡,PCT为双抗体夹心法、CRP为竞争法),和PCT和CRP项目的单检试剂(PCT为双抗体夹心法、CRP为竞争法)进行比对检测。

[0116] 结果如下表3所示:

[0117] 表3 PCT和CRP的二联检试剂及单检试剂检测结果

[0118]

临床样本	PCT (ng/mL)			CRP (mg/L)		
	对照系统	单检读值	多联检读值	对照系统	单检读值	多联检读值
1	0.01	0.01	0.01	0.19	0.31	0.14
2	0.01	0.01	0.01	0.21	0.19	0.06
3	0.01	0.01	0.01	0.30	0.36	0.31
4	0.01	0.01	0.01	0.38	0.40	0.41
5	0.01	0.01	0.01	0.40	0.62	0.21
6	0.01	0.01	0.02	0.42	0.44	0.49
7	0.02	0.02	0.02	0.48	0.02	0.52
8	0.02	0.02	0.02	0.48	0.61	0.82
9	0.02	0.02	0.02	0.60	0.67	0.61
10	0.02	0.02	0.02	0.61	0.73	0.79
11	0.02	0.02	0.02	0.62	0.84	0.91
12	0.02	0.03	0.03	0.63	5.52	5.57
13	0.02	0.02	0.02	0.65	0.33	0.84
14	0.02	0.03	0.02	0.68	0.86	0.94
15	0.03	0.04	0.04	0.68	0.95	0.52
16	0.03	0.03	0.03	0.70	0.84	0.78
17	0.03	0.03	0.04	0.71	0.89	0.97
18	0.04	0.04	0.04	0.72	0.67	0.62
19	0.04	0.04	0.04	0.79	0.67	0.60
20	0.04	0.05	0.04	0.79	0.70	0.66
21	0.04	0.05	0.05	0.80	0.73	0.75
22	0.05	0.09	0.08	0.80	0.43	0.46
23	0.05	0.08	0.08	0.82	0.92	0.88
24	0.05	0.06	0.05	0.82	0.66	0.58
25	0.05	0.06	0.05	0.83	0.45	0.64
26	0.05	0.06	0.05	0.84	0.66	0.69
27	0.05	0.06	0.06	0.86	0.81	0.91
28	0.06	0.07	0.07	0.86	0.75	0.55
29	0.07	0.07	0.07	0.89	0.98	0.82
30	0.07	0.08	0.07	0.90	0.53	0.52
31	0.07	0.08	0.07	0.91	0.83	0.73
32	0.07	0.08	0.09	0.91	0.85	0.83
33	0.08	0.08	0.08	0.91	0.90	0.91
34	0.08	0.09	0.11	0.95	0.94	1.11
35	0.09	0.11	0.11	0.97	0.89	1.18
36	0.11	0.13	0.12	1.59	1.67	1.88

[0119]

37	0.12	0.17	0.17	2.39	2.44	2.41
38	0.75	0.80	0.77	3.01	2.62	2.67
39	0.79	0.80	0.88	4.44	3.78	4.66
40	0.80	0.81	0.91	5.19	5.69	5.75
41	0.81	0.89	0.84	6.10	5.84	5.75
42	0.83	0.87	0.87	7.80	5.95	6.85
43	0.84	0.88	0.86	8.54	6.89	7.18
44	0.87	0.89	1.04	9.15	11.86	15.87
45	0.99	1.60	0.99	9.81	8.38	9.75
46	1.10	1.30	1.68	9.85	7.94	11.86
47	2.31	2.79	2.45	9.88	11.99	11.05
48	2.32	2.46	2.63	15.90	10.82	9.99
49	14.78	16.08	16.14	16.55	15.99	15.02
50	14.95	17.47	16.04	17.96	10.11	9.89
51	17.22	19.32	19.85	19.95	27.49	28.96
52	19.52	27.70	18.71	21.22	32.00	33.04
53	19.74	31.15	30.61	28.73	22.63	23.69
54	21.09	33.83	31.41	32.53	36.75	36.59
55	23.18	18.00	18.28	36.62	38.55	39.02
56	28.88	33.67	31.69	41.05	49.31	50.28
57	29.21	37.34	35.11	49.34	40.42	40.92
58	30.42	42.73	45.07	51.05	76.07	77.53
59	32.99	36.28	35.99	57.74	64.47	63.91
60	33.88	60.95	67.21	66.99	60.01	53.77
61	38.71	45.83	41.26	70.79	65.23	63.43
62	41.61	58.49	59.19	74.26	99.81	94.26
63	48.03	31.24	32.54	79.35	63.57	64.75
64	55.95	70.42	77.07	84.68	77.02	72.54
65	58.03	88.50	86.46	87.73	95.48	95.99
66	65.21	83.21	77.32	91.14	75.39	89.91
67	68.19	88.78	83.05	96.84	84.70	81.28
68	68.76	91.72	93.01	101.80	94.60	126.64
69	68.86	79.05	60.03	104.27	120.38	124.69
70	70.98	66.14	68.43	115.19	108.52	91.38
71	80.66	98.91	91.26	121.35	150.20	159.74
72	81.13	72.48	76.55	132.76	132.08	137.01
73	86.37	129.93	137.91	136.11	123.72	135.82
74	88.31	104.57	106.69	137.97	151.82	159.74
75	102.42	92.83	92.56	143.35	164.95	169.82
76	121.17	162.48	167.04	166.99	182.37	188.28
77	124.40	105.51	134.53	183.96	232.37	235.72
78	124.53	104.75	115.63	200.29	221.36	225.81
79	145.07	133.40	143.35	210.82	219.40	196.50
80	147.90	180.71	182.76	227.85	254.29	221.96

[0120] 将表3的实验结果进行汇总,汇总结果如下表4及图4A、图4B图5A和图5B所示。

[0121] 表4实验汇总结果

[0122]

PCT	线性相关系数	特异性	灵敏性	一致性
单检	0.9705	97.1%	100.0%	98.8%

多联检	0.9758	94.3%	100.0%	97.5%
CRP	线性相关系数	特异性	灵敏性	一致性
单检	0.9903	100.0%	100.0%	100.0%
多联检	0.9856	94.3%	100.0%	97.5%

[0123] 从上述结果可以看出按本发明制备的PCT,CRP联检试剂卡能够得到与单独检测一致的结果。说明将不同抗体和抗原混合包被一条T线的方案(同时实现夹心法和竞争法)不会干扰各项检测结果,且只需检测一次就可得多个待检测物的检测值。

[0124] 最后应说明的是:以上各实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述各实施例对本发明进行了详细的说明,本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述各实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分或者全部技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明各实施例技术方案的范围。

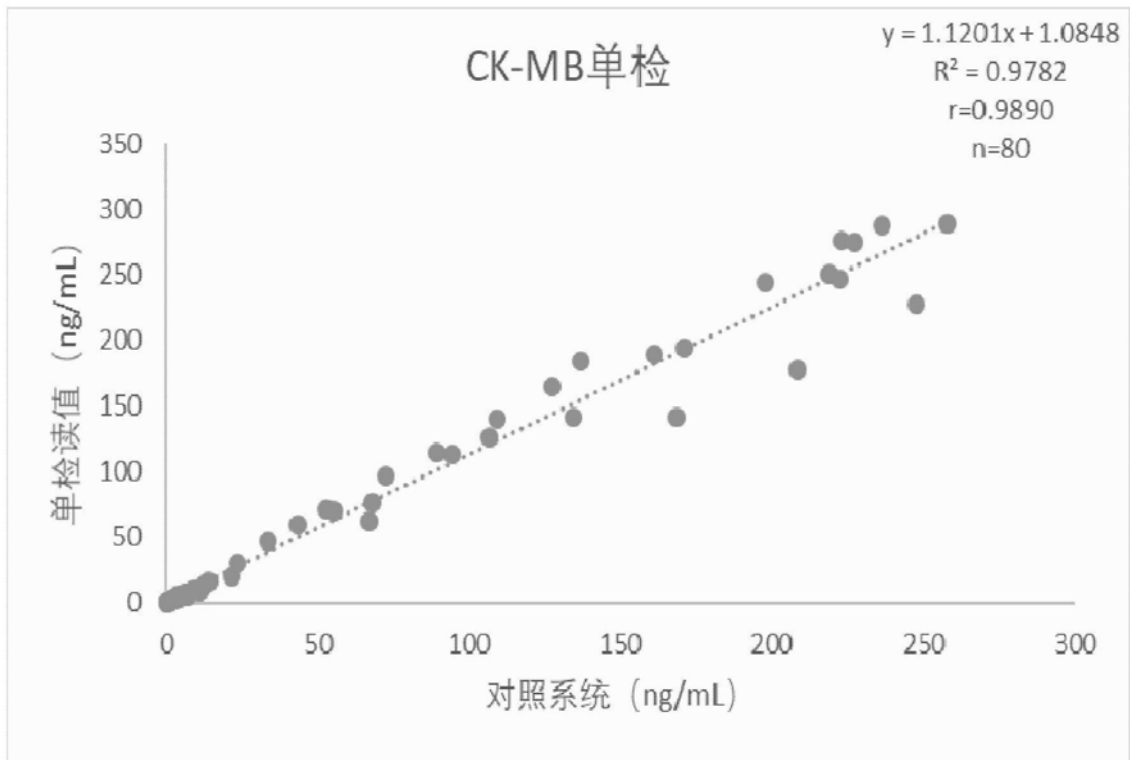


图1A

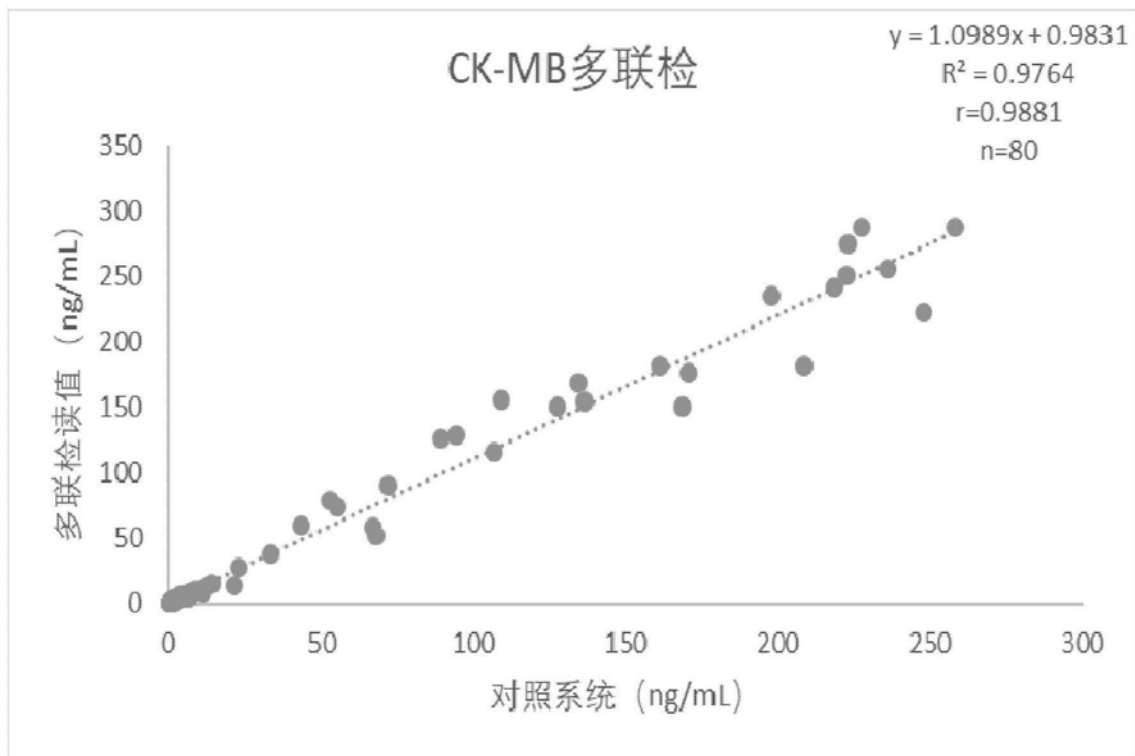


图1B



图2A

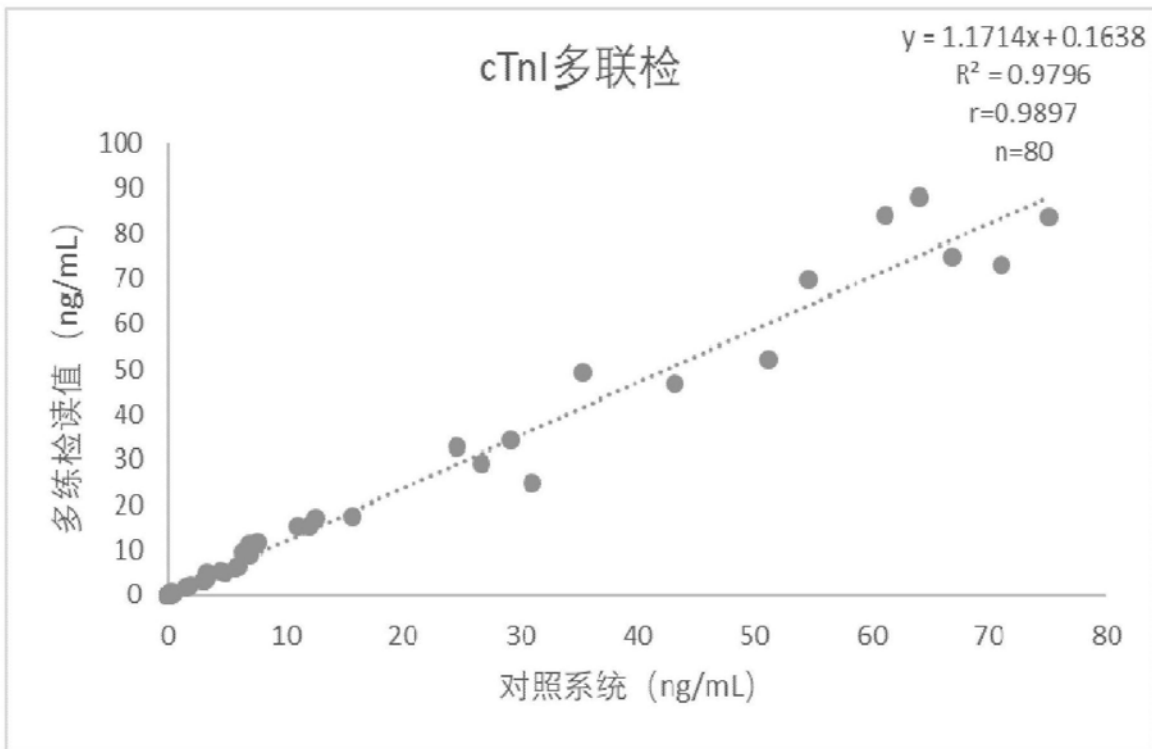


图2B

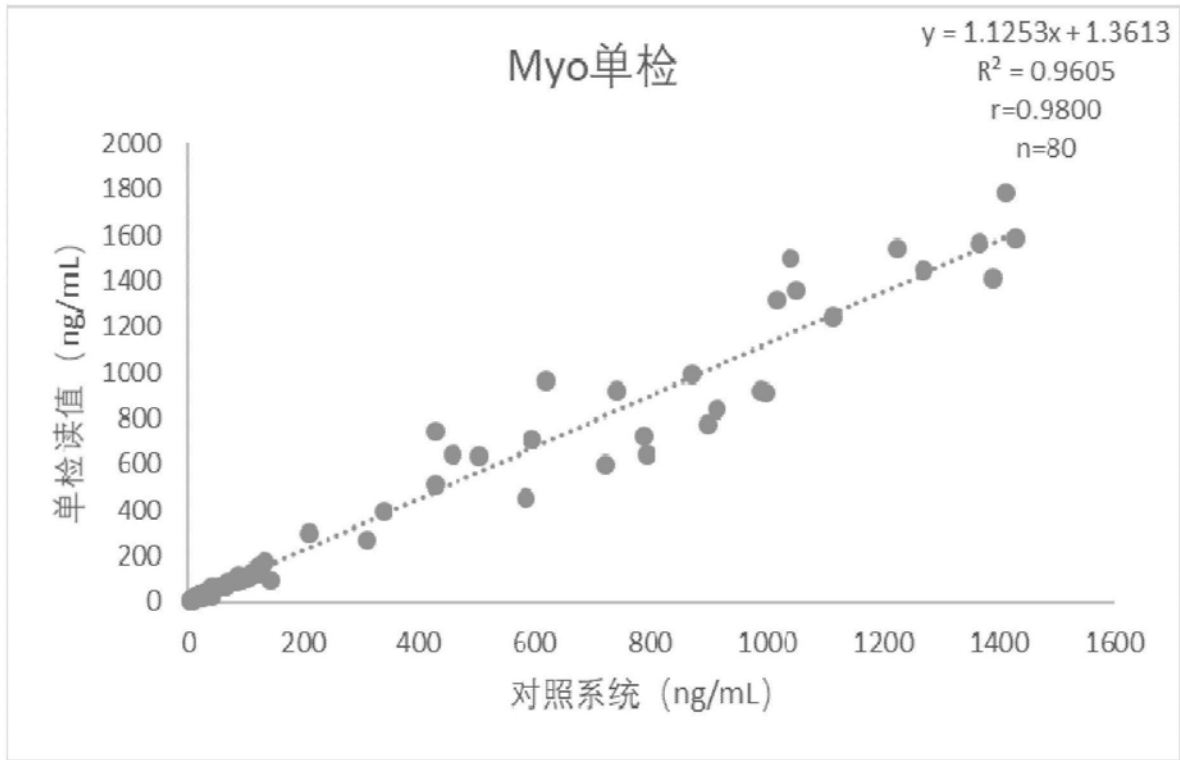


图3A

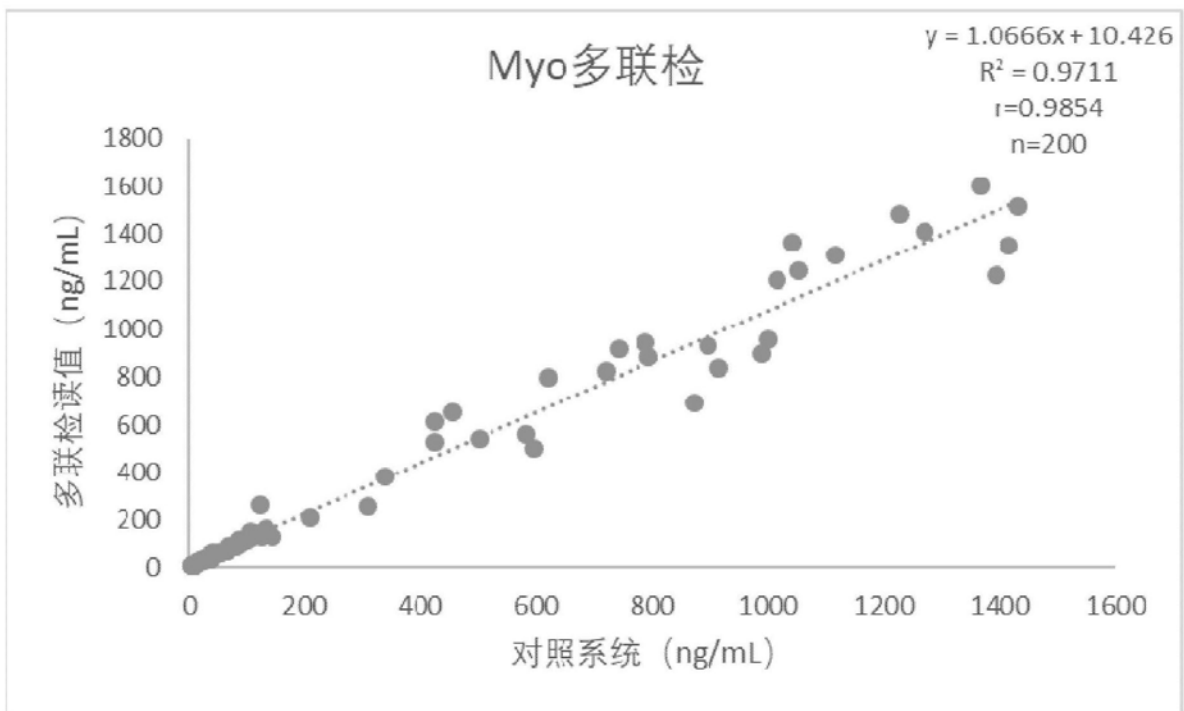


图3B

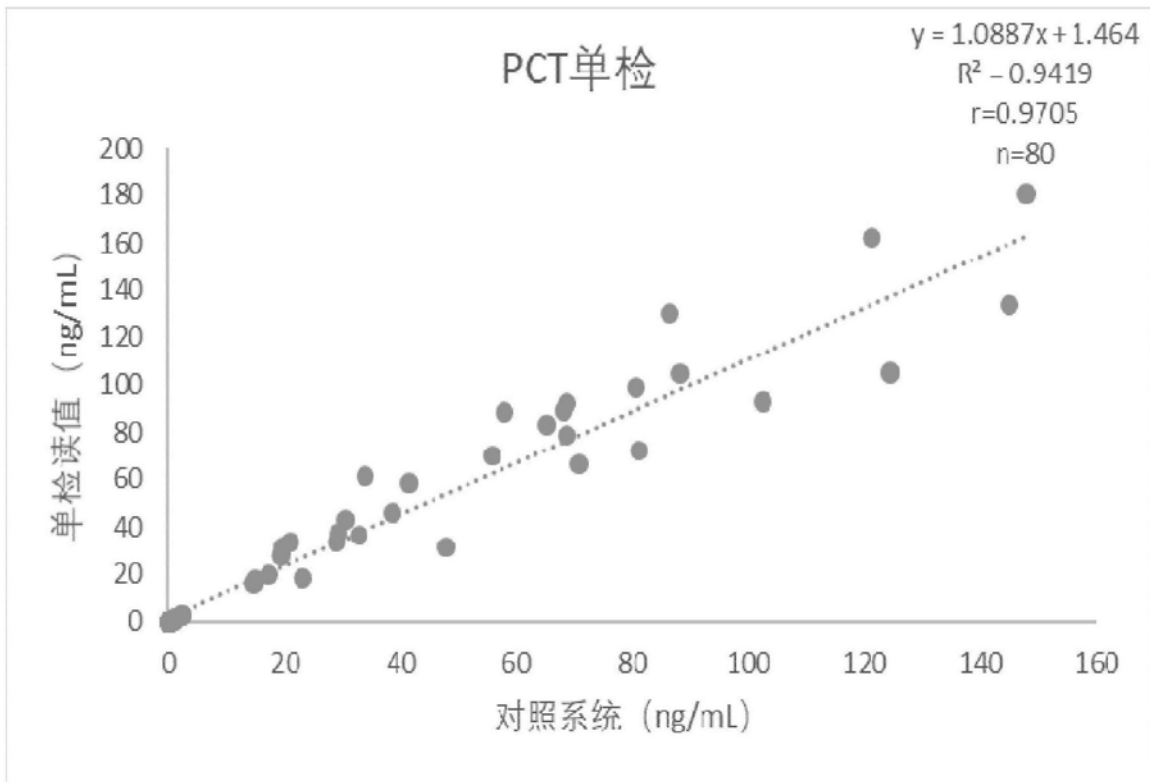


图4A

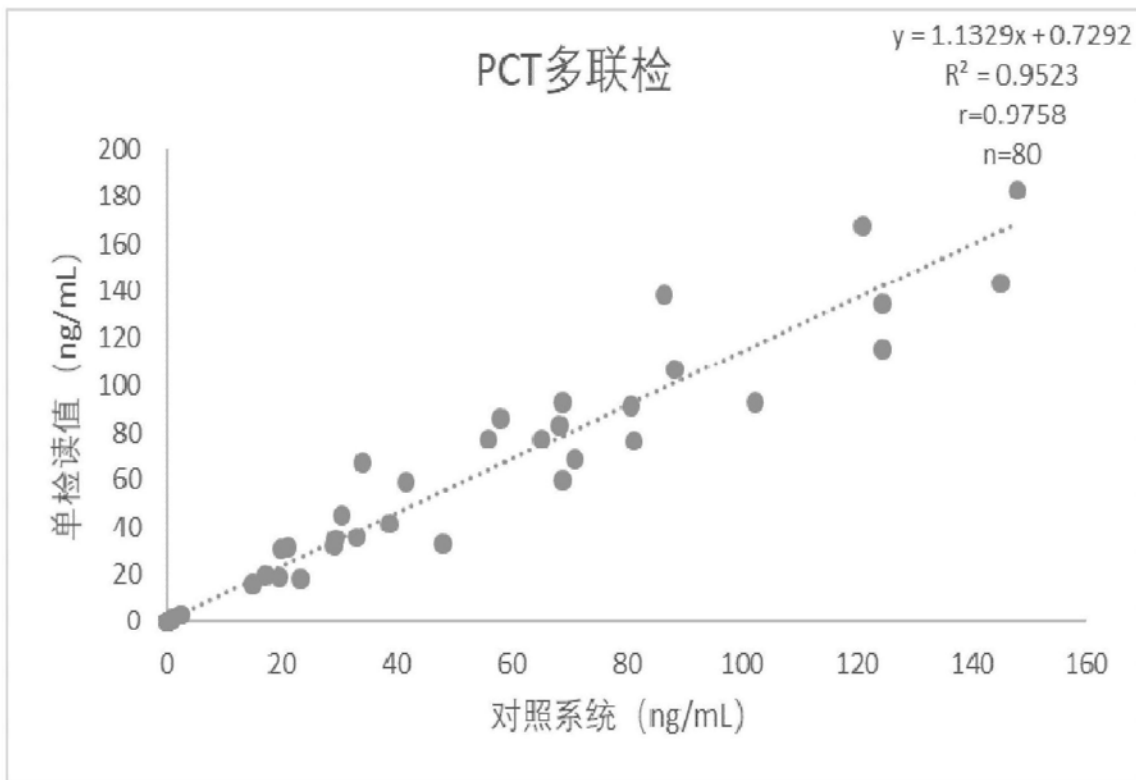


图4B

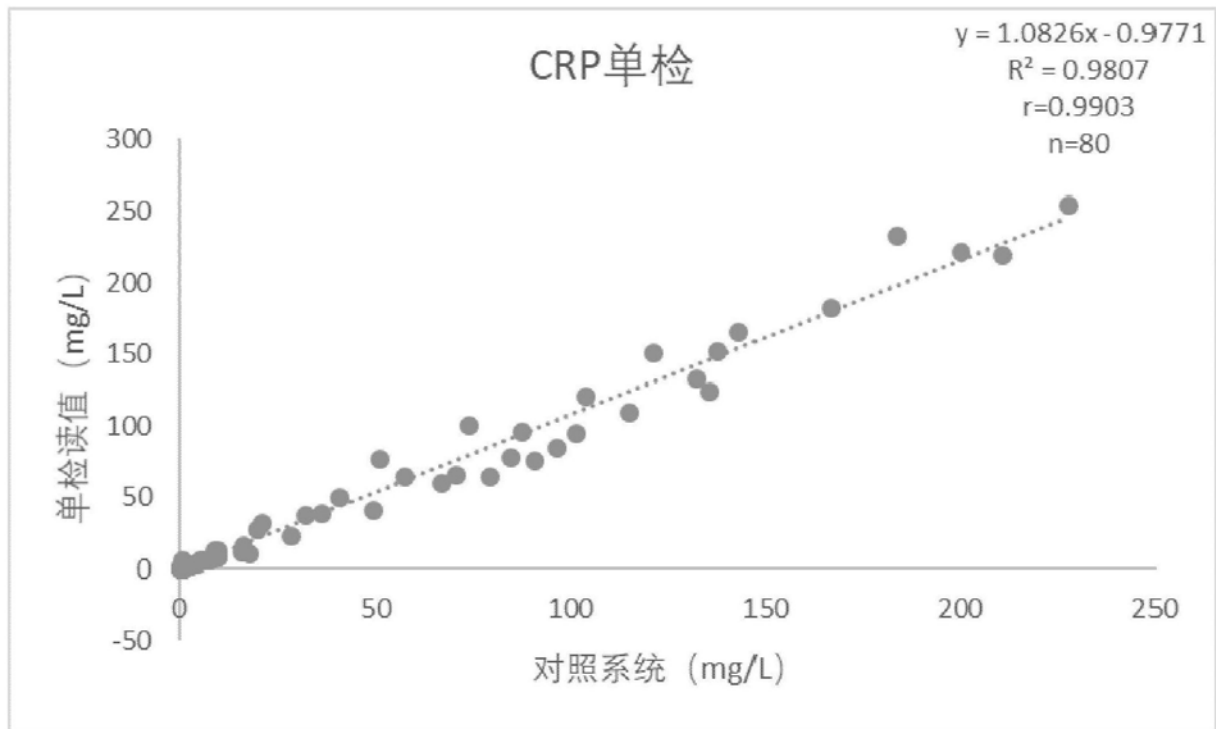


图5A

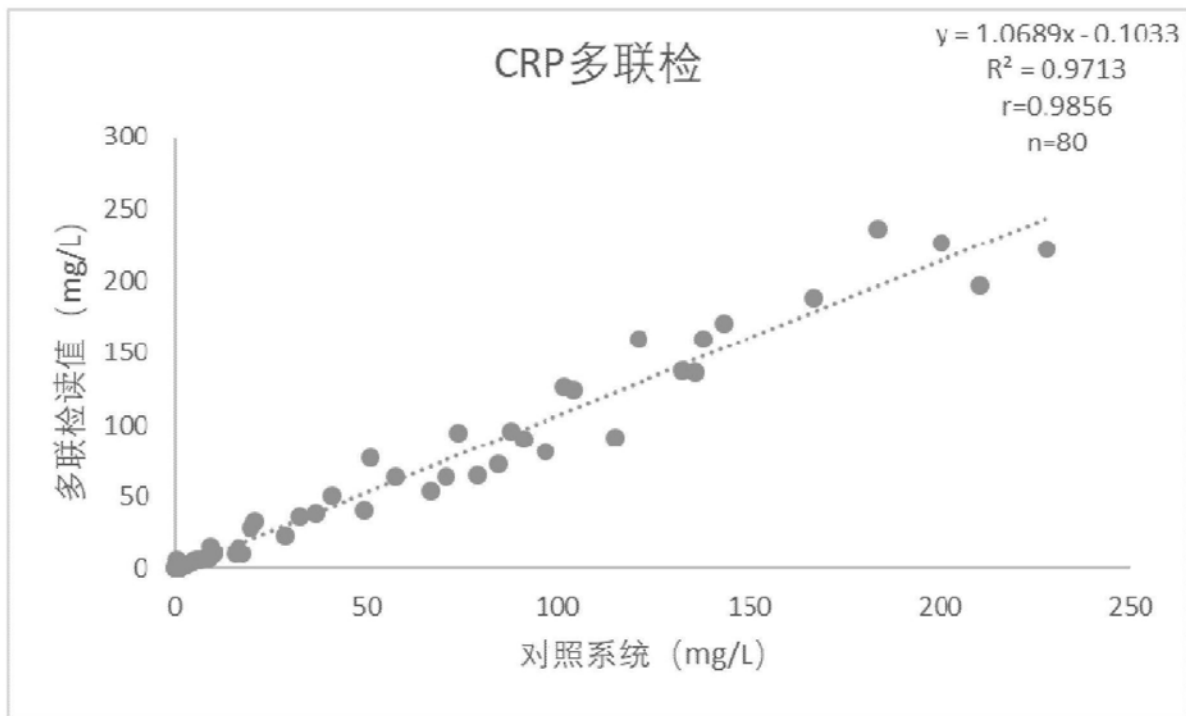


图5B

专利名称(译)	多联检免疫层析试剂卡及其应用和多联检免疫层析试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">CN110579596A</a>	公开(公告)日	2019-12-17
申请号	CN201910869448.X	申请日	2019-09-16
[标]申请(专利权)人(译)	菲鹏生物股份有限公司 广东菲鹏生物有限公司		
申请(专利权)人(译)	菲鹏生物股份有限公司 广东菲鹏生物有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	菲鹏生物股份有限公司 广东菲鹏生物有限公司		
[标]发明人	刘丽萍 李文静 于鹄 迟晨		
发明人	刘丽萍 李文静 于鹄 迟晨		
IPC分类号	G01N33/533 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/54366		
代理人(译)	李双艳		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种多联检免疫层析试剂卡及其应用和多联检免疫层析试剂盒，涉及生物检测技术领域，本发明提供的多联检免疫层析试剂卡包括依次设置的样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫，能够避免多条T线引起的各个待检测项目的检测性能差异，能够保证每个待检测项目的性能保持一致性。

