



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110412282 A

(43)申请公布日 2019.11.05

(21)申请号 201910680323.2

(22)申请日 2019.07.26

(71)申请人 北京健平金星生物科技有限公司
地址 100000 北京市海淀区开拓路5号中关村生物医药园A区2层204室

(72)发明人 邹检平

(51)Int.Cl.

G01N 33/574(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54)发明名称

VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒

(57)摘要

一种VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,包括盒体和用于扣合的上盖,所述盒体内设有POCT荧光免疫层析试纸条,所述POCT荧光免疫层析试纸条包括底板、加样区、样本垫、结合垫、吸水垫、检测线和质控线,所述结合垫与吸水垫之间为硝酸纤维素膜(简称NC膜),该膜有微米级的孔隙构成,用于样本在试纸条上流动。该试剂盒具有检测灵敏度高,操作简单,操作流程短,储存时间长等优点。一方面减少了检测时间,另一方面,通过二者含量比值建立标准曲线,消除或大大减少了检测误差和假阳性的机率,使检测更加精准、重复性更高。

1. 一种VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,其特征在于,包括盒体和用于扣合的上盖,所述盒体内设有联合检测盘,所述联合检测盘为POCT荧光免疫层析试纸条,所述POCT荧光免疫层析试纸条包括底板、加样区、样品垫、结合垫、吸水垫、检测线和质控线,所述结合垫与吸水垫之间为硝酸纤维素膜,质控线位于试剂条的末端。

2. 根据权利要求1所述的一种VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,其特征在于,所述硝酸纤维素膜上包被VEGF受体肿瘤标志物:PSA、AFP、CEA、CA199、CA125、CA153、CA50、CA724、CA242、NSE、CYFRA21-1等。

3. 根据权利要求1所述的一种VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,其特征在于,所述结合垫上喷涂有荧光微球标记抗体。

4. 根据权利要求1所述的一种VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,其特征在于,所述POCT荧光免疫层析试纸条所检测蛋白抗原为VEGF PSA AFPCEA CA199 CA125 CA153 CA50 CA724 CA242CYFRA21-1肿瘤标志物抗原。

5. 根据权利要求3所述的一种VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,其特征在于,所述荧光微球标记抗体分别为荧光微球标记的抗VEGF抗体,荧光微球标记PSA抗体,荧光微球标记AFP抗体,荧光微球标记CEA抗体,荧光微球标记CA199抗体,荧光微球标记CA125抗体,荧光微球标记CA153抗体,荧光微球标记CA50抗体,荧光微球标记CA724抗体。

6. 根据权利要求2所述的一种VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,其特征在于,所述硝酸纤维素膜上抗体的包被量为0.05~1.0 μ g,结合垫上荧光微球标记抗体的标记量为0.05~1.0 μ g。

7. 根据权利要求3所述的一种VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,其特征在于,所述结合垫上喷涂有荧光微球标记抗体细胞裂解液包含体积百分比为0.05%~2%的表面活性剂、5mM~1M缓冲液和0.5mM~10mM蛋白酶抑制剂及含校准品干粉。

8. 根据权利要求7所述的一种VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,其特征在于,所述校准品干粉为相应溶液浓度作为横坐标荧光强度的比值作为纵坐标,采用拟合法得到标准曲线。

9. 根据权利要求1-8所述的一种VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,其特征在于,包括如下步骤:

S1: 首先将细胞裂解液加入样本采集管中,涡旋震荡;

S2: 将S1中震荡液置于冰箱-20 $^{\circ}$ C,静置10min,之后置于37 $^{\circ}$ C烘箱中烘烤1-5min;

S3: 再次震荡,离心处理,收集上清液;

S4: 将试剂盒中的荧光免疫层析试纸条在室温中恢复10-20min,于加样区加样;

S5: 置于荧光检测仪孵育仓,8-12min后,仪器自动检测并读取X线的荧光强度;

S6: 根据实际测得荧光的值与浓度标准曲线,得到样品中VEGF及其他肿瘤标志物蛋白浓度,再与标准取样时样本中VEGF及其它肿瘤标志物蛋白浓度对比,获得修正系数,根据标准曲线计算得出最终的浓度结果。

VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及癌症诊断技术领域,具体为VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒。

背景技术

[0002] 临床研究,肿瘤大于2mm时,主要通过新生血管输送足够的养分和排除代谢废物,并为其转移提供便利(2.Hanahan D,Folkman J, Patterns and emerging mechanisms of the angiogenic switch during tumorigenesis[J].Cell,1996,86(3):353-364.),血管生成需多种因子的参与,其中血管内皮生长因子信号通路是主要的限速环节(3.Ferrara N.Vascular endothelial growth factor[J].Arteriosclerthromb,2009,29(6):789-791)。

[0003] 肿瘤特异性生长因子(Tumor Specific Growth Factor,TSGF)是恶性肿瘤及其周边毛细血管大量扩增的结果,并随着肿瘤的形成和增长逐渐释放到外周血液。恶性肿瘤病人血沮中存在TSGF,对恶性肿瘤血管增生起重要作用,在肿瘤形成早期即明显升高。血清TSGF是一种新的、敏感性和特异性较高的广谱肿瘤标志物,检测方法简便快捷,结果稳定。对恶性肿瘤的初筛、早期辅助诊断、疗效评价和预示肿瘤复发具有重要临床意义和应用价值。通过化学显色和分析技术,可以检测当细胞发生恶性转化时含量升高的TSGF。因此,这个指标可以用来做体检指标,是一种适合群体肿瘤普查的过筛试验。

[0004] 血管内皮生长因子(VEGF)是一种高度特异性的促血管内皮细胞生长因子,能够促进内皮细胞增生、促进血管增生、增加血管通透性、改变细胞外基质。能够通过结合分布于肿瘤血管内皮表面的VEGF抗体,调节肿瘤血管的生成。参与许多血管生成依赖性疾病的发病及其进展,主要是癌症,也包括某些炎性疾病以及风湿、类风湿、糖尿病视网膜膜病变等。研究证实,VEGF广泛分布于癌症患者体内,其浓度远远超过正常人。因此,可以通过检测人体内VEGF浓度达到癌症早期筛查的目的。此外,癌症患者中VEGF的浓度与肿瘤大小的变化密切相关,肿瘤数量越多,体积越大,VEGF浓度越高;肿瘤数量越少,体积越小,VEGF浓度越低。因此,VEGF的测定对于肿瘤患者病情监测及临床动态追踪有着积极意义。

发明内容

[0005] 针对现有技术存在的不足,本发明的目的在于提供VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒。该试剂盒简便、准确且高效。

[0006] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案如下:

[0007] VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,包括盒体和用于扣合的上盖,所述盒体内设有POCT荧光免疫层析试纸条,所述POCT荧光免疫层析试纸条包括底板、加样区、样本垫、结合垫、吸水垫、检测线和质控线,所述结合垫与吸水垫之间为硝酸纤维素膜,质控线位于试剂条的末端。

[0008] 作为一种优选的技术方案:所述硝酸纤维素膜上包被VEGF受体肿瘤标志物:PSA、

AFP、CEA、CA199、CA125、CA153、CA50、CA724、CA242、NSE、CYFRA21-1。

[0009] 作为一种优选的技术方案:所述结合垫上喷涂有荧光微球标记抗体。

[0010] 作为一种优选的技术方案:所述POCT荧光免疫层析试纸条所检测蛋白抗原为VEGF、PSA、AFP、CEA、CA199、CA125、CA153、CA50、CA724、CA242、CYFRA21-1肿瘤标志物抗原。

[0011] 作为一种优选的技术方案:所述荧光微球标记抗体分别为荧光微球标记的抗VEGF抗体,荧光微球标记PSA抗体,荧光微球标记AFP 抗体,荧光微球标记CEA抗体,荧光微球标记CA199抗体,荧光微球标记CA125抗体,荧光微球标记CA153抗体,荧光微球标记CA50抗体,荧光微球标记CA724抗体。

[0012] 作为一种优选的技术方案:所述硝酸纤维素膜上抗体的包被量为0.05~1.0 μ g,结合垫上荧光微球标记抗体的标记量为0.05~1.0 μ g。

[0013] 作为一种优选的技术方案:所述结合垫上喷涂有荧光微球标记抗体细胞裂解液包含体积百分比为0.05%~2%的表面活性剂、5mM~1M缓冲液和0.5mM~10mM蛋白酶抑制剂及含校准品干粉。

[0014] 作为一种优选的技术方案:所述校准品干粉为相应溶液浓度作为横坐标荧光强度的比值作为纵坐标,采用拟合法得到标准曲线。

[0015] 作为一种优选的技术方案:包括如下步骤:

[0016] S1:首先将细胞裂解液加入样本采集管中,涡旋震荡;

[0017] S2:将S1中震荡液置于冰箱-20 $^{\circ}$ C,静置10min,之后置于37 $^{\circ}$ C烘箱中烘烤1-5min;

[0018] S3:再次震荡,离心处理,收集上清液;

[0019] S4:将试剂盒中的荧光免疫层析试纸条在室温中恢复10-20min,于加样区加样;S5:置于荧光检测仪孵育仓,8-12min后,仪器自动检测并读取X线的荧光强度;S6:根据实际测得荧光的值与浓度标准曲线,得到样品中VEGF及其他肿瘤标志物蛋白浓度,再与标准取样时样本中VEGF及其它肿瘤标志物蛋白浓度对比,获得修正系数,根据标准曲线计算得出最终的浓度结果。

[0020] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:该试剂盒具有检测灵敏度高,操作简单,操作流程短,储存时间长等优点。一方面减少了检测时间,另一方面,通过二者含量比值建立标准曲线,消除或大大减少了检测误差和假阳性的机率,使检测更加精准、重复性更高。

附图说明

[0021] 图1为联合检测盘俯视图;

[0022] 图2为联合检测盘截面图。

具体实施方式

[0023] 下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅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。

[0024] 结合图1、图2具体说明,VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒,包括盒体和用于扣合的上盖,所述盒体内设有POCT 荧光免疫层析试纸条,所述POCT荧光免疫层

析试纸条包括底板、加样区、样本垫、结合垫、吸水垫、检测线和质控线,所述结合垫与吸水垫之间为硝酸纤维素膜,质控线位于试剂条的末端。

[0025] 在本实施例中,所述硝酸纤维素膜上包被VEGF受体肿瘤标志物:PSA、AFP、CEA、CA199、CA125、CA153、CA50、CA724、CA242、NSE、CYFRA21-1。

[0026] 在本实施例中,所述结合垫上喷涂有荧光微球标记抗体。

[0027] 在本实施例中,所述POCT荧光免疫层析试纸条所检测蛋白抗原为VEGF、PSA、AFP、CEA、CA199、CA125、CA153、CA50、CA724、CA242、CYFRA21-1肿瘤标志物抗原。

[0028] 作为一种优选的技术方案:所述荧光微球标记抗体分别为荧光微球标记的抗VEGF抗体,荧光微球标记PSA抗体,荧光微球标记AFP抗体,荧光微球标记CEA抗体,荧光微球标记CA199抗体,荧光微球标记CA125抗体,荧光微球标记CA153抗体,荧光微球标记CA50抗体,荧光微球标记CA724抗体。

[0029] 在本实施例中,所述硝酸纤维素膜上抗体的包被量为0.05~1.0 μ g,结合垫上荧光微球标记抗体的标记量为0.05~1.0 μ g。

[0030] 在本实施例中,所述结合垫上喷涂有荧光微球标记抗体细胞裂解液包含体积百分比为0.05%~2%的表面活性剂、5mM~1M缓冲液和0.5mM~10mM蛋白酶抑制剂及含校准品干粉。

[0031] 在本实施例中,所述校准品干粉为相应溶液浓度作为横坐标荧光强度的比值作为纵坐标,采用拟合法得到标准曲线。

[0032] 所述硝酸纤维素膜简称NC膜,其带有微米级的孔隙构成,用于样本在试纸条上流动。

[0033] 在本实施例中,VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒包括如下步骤:

[0034] S1:首先将细胞裂解液加入样本采集管中,涡旋震荡;

[0035] S2:将S1中震荡液置于冰箱-20 $^{\circ}$ C,静置10min,之后置于37 $^{\circ}$ C烘箱中烘烤1-5min;

[0036] S3:再次震荡,离心处理,收集上清液;

[0037] S4:将试剂盒中的荧光免疫层析试纸条在室温中恢复10-20min,于加样区加样;

S5:置于荧光检测仪孵育仓,8-12min后,仪器自动检测并读取X线的荧光强度;S6:根据实际测得荧光的值与浓度标准曲线,得到样品中VEGF及其他肿瘤标志物蛋白浓度,再与标准取样时样本中VEGF及其它肿瘤标志物蛋白浓度对比,获得修正系数,根据标准曲线计算得出最终的浓度结果。

[0038] 具体检测方法:

[0039] 检测时,首先将1ml细胞裂解液加入样本采集管中,涡旋振荡,置于冰箱-20 $^{\circ}$ C 10min,之后置于37 $^{\circ}$ C烘箱中烘烤2min,再次震荡,离心处理,收集上清液;将试剂盒中的荧光免疫层析试纸条在室温中恢复15min,于加样区加样,置于荧光检测仪孵育仓,10min后,仪器自动检测并读取X线的荧光强度。根据实际测得荧光的值与浓度标准曲线,得到样品中VEGF及其他肿瘤标志物蛋白浓度。

[0040] 本发明的特别是联合定量检测VEGF、PSA、AFP、CEA、CA199、CA125、CA153、CA50、CA724、CA242、NSE、CYFRA21-1蛋白的POCT荧光免疫层析定量试剂盒,其应用荧光免疫层析技术支持全血、血清、血浆、尿液、细胞等样本的检测,在心内科、检验科、急诊科、ICU、肿瘤

科、肾内科、儿科、内分泌科、妇科、老年科、呼吸科、胸外科、消化科、泌尿科等科室取得了广泛应用。

[0041] 对于本领域技术人员而言,显然本发明不限于上述示范性实施例的细节,而且在不背离本发明的精神或基本特征的情况下,能够以其他的具体形式实现本发明。因此,无论从哪一点来看,均应将实施例看作是示范性的,而且是非限制性的,本发明的范围由所附权利要求而不是上述说明限定,因此旨在将落在权利要求的等同要件的含义和范围内的所有变化囊括在本发明内。不应将权利要求中的任何附图标记视为限制所涉及的权利要求。

[0042] 此外,应当理解,虽然本说明书按照实施方式加以描述,但并非每个实施方式仅包含一个独立的技术方案,说明书的这种叙述方式仅仅是为清楚起见,本领域技术人员应当将说明书作为一个整体,各实施例中的技术方案也可以经适当组合,形成本领域技术人员可以理解的其他实施方式。

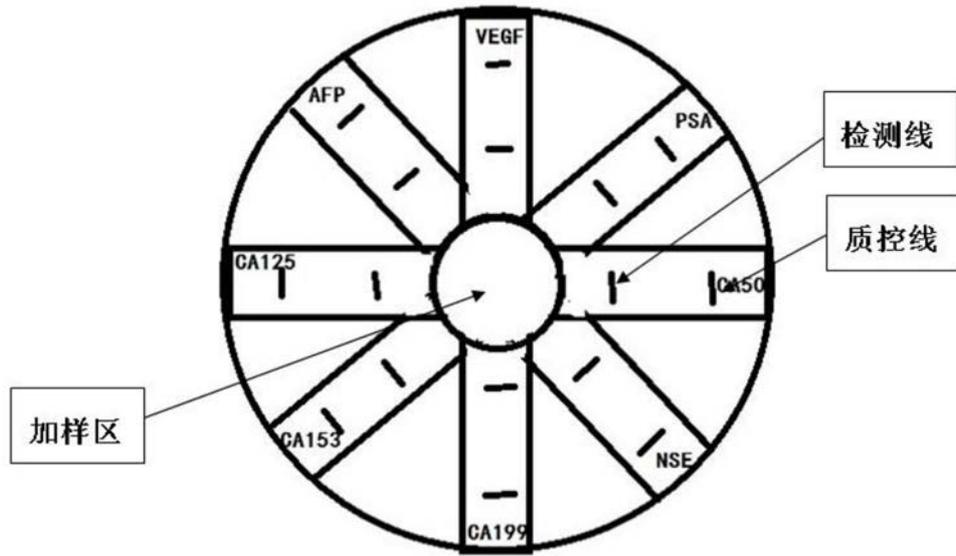


图1

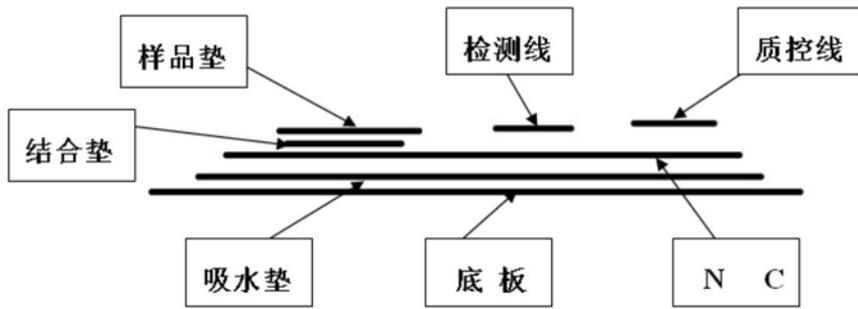


图2

专利名称(译)	VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒		
公开(公告)号	CN110412282A	公开(公告)日	2019-11-05
申请号	CN201910680323.2	申请日	2019-07-26
[标]发明人	邹检平		
发明人	邹检平		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/53 G01N33/533 G01N33/543 G01N33/558 G01N33/58		
CPC分类号	G01N33/5302 G01N33/533 G01N33/54313 G01N33/558 G01N33/57473 G01N33/57484 G01N33/582		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种VEGF多肿瘤标记物的荧光免疫层析联合检测试剂盒，包括盒体和用于扣合的上盖，所述盒体内设有POCT荧光免疫层析试纸条，所述POCT荧光免疫层析试纸条包括底板、加样区、样本垫、结合垫、吸水垫、检测线和质控线，所述结合垫与吸水垫之间为硝酸纤维素膜(简称NC膜)，该膜有微米级的孔隙构成，用于样本在试纸条上流动。该试剂盒具有检测灵敏度高，操作简单，操作流程短，储存时间长等优点。一方面减少了检测时间，另一方面，通过二者含量比值建立标准曲线，消除或大大减少了检测误差和假阳性的机率，使检测更加精准、重复性更高。

