



## (12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 205333641 U

(45) 授权公告日 2016. 06. 22

(21) 申请号 201521134641. 2

(22) 申请日 2015. 12. 30

(73) 专利权人 厦门依柯利斯医疗科技有限公司

地址 361028 福建省厦门市海沧区翁角西路  
2050 号 603、703 单元

(72) 发明人 钟伟波 许元峰 卢志珍

(74) 专利代理机构 厦门市首创君合专利事务所  
有限公司 35204

代理人 杨依展

(51) Int. Cl.

G01N 33/533(2006. 01)

G01N 33/577(2006. 01)

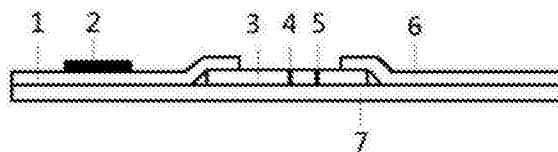
权利要求书1页 说明书5页 附图1页

### (54) 实用新型名称

一种 PCT 时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测测试纸条

### (57) 摘要

本实用新型公开了一种 PCT 时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测测试纸条,包括背衬底板,该背衬底板上设置有硝酸纤维素膜、样品结合垫和吸水膜,该样品结合垫和吸水膜分别叠压在硝酸纤维素膜的两端上;该样品结合垫上包被有时间分辨荧光物质标记的 PCT 单克隆抗体;该硝酸纤维素膜上设有检测线和质控线,该检测线包被有另一个表位的 PCT 单克隆抗体,该质控线包被有羊抗鼠 IgG。本实用新型具有灵敏度高,特异性强、稳定性好和无放射性污染等特点,可广泛应用于 PCT 的临床免疫检验和科学研究中。



1. 一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条,其特征在于:包括背衬底板,该背衬底板上设置有硝酸纤维素膜、样品结合垫和吸水膜,该样品结合垫和吸水膜分别叠压在硝酸纤维素膜的两端上;该样品结合垫上包被有时间分辨荧光物质标记的PCT单克隆抗体;该硝酸纤维素膜上设有检测线和质控线,该检测线包被有另一个表位的PCT单克隆抗体,该质控线包被有羊抗鼠IgG。

2. 根据权利要求1所述的一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条,其特征在于:所述时间分辨荧光物质为镧系元素、镧系元素与乳胶的结合物、镧系元素的螯合物中的一种。

3. 根据权利要求2所述的一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条,其特征在于:所述镧系元素为铈,铽,钐或镝中的一种。

4. 根据权利要求1所述的一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条,其特征在于:所述样品结合垫为玻璃纤维素膜或聚酯膜。

5. 根据权利要求4所述的一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条,其特征在于:所述样品结合垫为玻璃纤维素膜或聚酯膜经表面活性剂缓冲液浸泡处理后干燥而得。

6. 根据权利要求1所述的一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条,其特征在于:所述试纸条外还包裹有一壳体。

## 一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条

### 技术领域

[0001] 本实用新型属于免疫层析检测技术领域,具体涉及一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条。

### 背景技术

[0002] 降钙素原(Procalcitonin,PCT),是由116个氨基酸组成的糖蛋白质,无激素活性。为降钙素(CT)的前肽物质。健康人血浆PCT含量极低,当严重细菌、真菌、寄生虫感染以及脓毒症和多脏器功能衰竭时它在血浆中的水平升高,并且在2~6小时内循环中就可以被检测到。降钙素原的半衰期约为20-24小时,在炎症过后很快就会恢复正常水平。自身免疫、过敏和病毒感染时PCT不会升高。局部有限的细菌感染、轻微的感染和慢性炎症也不会导致其升高。

[0003] PCT反映了全身炎症反应的活跃程度。影响PCT水平的因素包括被感染器官的大小和类型、细菌的种类、炎症的程度和免疫反应的状况。另外,PCT只是在少数患者的大型外科术后1~4d可以测到。

[0004] PCT是诊断和监测细菌炎性疾病感染的一个参数。监测有感染危险的患者(如外科术后和器官移植后免疫抑制期,多处创伤后)以及需要重症监护患者,用来探测细菌感染的全身影响或检测脓毒性并发症。

[0005] 截止目前还未有一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条。

### 实用新型内容

[0006] 本实用新型的目的在于克服现有技术的不足之处,提供了一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条。

[0007] 本实用新型解决其技术问题所采用的技术方案是:

[0008] 一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条,包括背衬底板,该背衬底板上设置有硝酸纤维素膜、样品结合垫和吸水膜,该样品结合垫和吸水膜分别叠压在硝酸纤维素膜的两端上;该样品结合垫上包被有时间分辨荧光物质标记的PCT单克隆抗体;该硝酸纤维素膜上设有检测线和质控线,该检测线包被有另一个表位的PCT单克隆抗体,该质控线包被有羊抗鼠IgG。

[0009] 一实施例中:所述时间分辨荧光物质为镧系元素、镧系元素与乳胶的结合物、镧系元素的螯合物中的一种。

[0010] 一实施例中:所述镧系元素为铈,铽,钐或镝中的一种。

[0011] 一实施例中:所述样品结合垫为玻璃纤维素膜或聚酯膜。

[0012] 一实施例中:所述样品结合垫为玻璃纤维素膜或聚酯膜经表面活性剂缓冲液浸泡处理后干燥而得。

[0013] 一实施例中:所述试纸条外还包裹有一壳体。

[0014] 本技术方案与背景技术相比,它具有如下优点:

[0015] 1.传统的定量检测试纸条分别设有样品垫和结合垫,血清/血浆等样品首先与样品垫接触,样品垫对样品进行预处理,去除样品中杂质颗粒,调节样品液pH值或粘度等,减缓样品渗透速度,有利于样品的均匀分布;经样品垫预处理过后的均匀的样品再流动至结合垫上与标记抗体发生结合,才能够保证定量反应的准确性,如果不经预处理,样品在结合垫上的结合量无法把握,且结合稳定性也差,更加难以实现定量效果;而本实用新型采用一个样品结合垫代替传统的样品垫和结合垫,该样品结合垫上准确而均匀地分布有标记抗体,既能保证样品得到预处理,又能保证样品结合一定量的标记抗体,保证了定量反应的准确性,经检测,准确度和精密度良好;同时,也使得试纸条结构和制备过程得到简化。

[0016] 2.本实用新型的PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条,利用时间分辨荧光免疫分析(time-resolved fluoro-immunoassay,TRFIA)这种新型非放射性标记免疫分析技术。与传统的荧光素标记不同,采用具有独特荧光特性的镧系元素及其螯合物作为时间分辨荧光物质,镧系元素激发光与发射光之间的Stokes位移较大,避免了激发及发射光谱存在的重叠问题,排除激发光的干扰,通过波长分辨方式使其明显的区别于背景荧光;且镧系元素激发光光谱较宽,可采用只允许发射荧光通过的滤光片,从而进一步将特异性荧光和背景荧光区分开,消除干扰;镧系离子螯合物的荧光衰变时间长,为传统荧光的103~106倍,通过测定时间差可以实现高信噪比;同时其可以反复接受激发,从而大大提高仪器探测到的信号值,有效排除样品自然荧光的干扰,具有灵敏度高,特异性强、稳定性好和无放射性污染等特点,可广泛应用于PCT的临床免疫检验和科学研究中。

[0017] 3.本实用新型的NGAL时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条制作方便,可批量生产;体积小,便于携带。

## 附图说明

[0018] 下面结合附图和实施例对本实用新型作进一步说明。

[0019] 图1为本实用新型的PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条结构示意图。

[0020] 附图标记:样品结合垫1;时间分辨荧光物质标记的PCT单克隆抗体2;硝酸纤维素膜3;检测线4;质控线5;吸水膜6;背衬底板7。

## 具体实施方式

[0021] 下面通过实施例具体说明本实用新型的内容:

[0022] 请查阅图1,一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条,包括背衬底板7,该背衬底板7上设置有硝酸纤维素膜3、样品结合垫1和吸水膜6,该样品结合垫1和吸水膜6分别叠压在硝酸纤维素膜3的两端上;该样品结合垫1上包被有时间分辨荧光物质标记的PCT单克隆抗体2;该硝酸纤维素膜3上设有检测线4(T线)和质控线5(C线),检测线4(T线)包被有另一个表位的PCT单克隆抗体,质控线5(C线)包被有羊抗鼠IgG。

[0023] 上述试纸条可以通过以下制备方法制备:

[0024] 1)硝酸纤维素膜(NC膜)处理

[0025] 将NC膜贴至背衬底板的制定位置,取50mM的pH 7.4磷酸盐缓冲液将另一个表位的PCT单克隆抗体稀释至1mg/mL,用于制备T线;用0.05M的MES缓冲液将羊抗鼠IgG抗体稀释至0.5mg/mL,用于制备C线;按1 $\mu$ L/cm划液量,通过biodot划膜仪将上述两种稀释后的抗体均

匀的划至NC膜上制备T线和C线；将划好的NC膜放置于50℃干燥箱中，干燥过夜。

[0026] 2)样品结合垫的处理

[0027] 玻璃纤维素膜用含有表面活性剂的缓冲液(配方:100mM PB(pH 7.4),其中含有2%NaCl,2%BSA、0.5%酪蛋白、0.1%吐温-20、0.5%S9和5%蔗糖)浸泡进行预封闭后,50℃干燥过夜;通过Biodot仪器的airjet喷头,将标记有时间分辨荧光物质乳胶微球的PCT单克隆抗体按照8 $\mu$ I/cm的量超声喷雾至宽为1cm的玻璃纤维素膜上,50℃干燥过夜,制备得到样品结合垫。

[0028] 本实施例之中,所述时间分辨荧光物质乳胶微球为含镧乳胶微球,即时间分辨荧光物质为镧系元素镧与乳胶的结合物;根据需要,所述时间分辨荧光物质可以调整为镧系元素、镧系元素与乳胶的结合物、镧系元素的螯合物中的一种;镧系元素可以为镧,铈,钕或铕中的一种。3)组装

[0029] 将步骤2)得到的样品结合垫固定叠压在步骤1)得到的硝酸纤维素膜的一端,并将吸水膜固定叠压在硝酸纤维素膜的另一端,用裁膜仪按每条4mm的宽度进行裁剪,并装入层析条壳体中,即得成品。

[0030] 本实用新型的试纸条利用双抗夹心法进行检测:将待测样品量取75 $\mu$ L滴加到样品垫上,样品中的PCT与样品垫上时间分辨荧光物质标记的PCT单克隆抗体结合,形成抗原-标记抗体复合物。经层析原理,依次与硝酸纤维素膜上的另一个表位的PCT抗体(T线)和羊抗鼠IgG抗体(C线)形成抗体-抗原-标记抗体复合物。在时间分辨荧光分析仪的激发光激发下,标记元素显现荧光,结合的标记抗体越多,荧光强度越高,从而进行定量检测。

[0031] 健康人群血清PCT平均浓度应<0.1ng/mL;受到细菌感染后血清PCT水平急剧上升。在血清PCT浓度为0.25ng/mL<PCT<0.5ng/mL时,表明为细菌感染可能存在;在血清PCT浓度>0.5ng/mL时,则反映细菌感染的存在。

[0032] 实验例:样品的定量检测

[0033] 1.标准曲线制作

[0034] 1.1 取PCT校准品一套,具体值见下表

| 编号             | C0 | C1  | C2  | C3 | C4 | C5 | C6  |
|----------------|----|-----|-----|----|----|----|-----|
| 浓 度<br>(ng/ml) | 0  | 0.1 | 0.7 | 5  | 25 | 75 | 150 |

[0035] 1.2 检测方法

[0037] 1.2.1 取校准品75 $\mu$ I,加入本实用新型实施例制备的层析条中样品窗口;

[0038] 1.2.2 10分钟之后,用时间分辨荧光定量分析仪定量检测发光值。

[0039] 1.2.3 每个校准品检测2次,取T/C值的平均值。具体结果见下表:

[0040]

| 校准品编号 | 检测结果   | 平均值    |
|-------|--------|--------|
| C0    | 0.000  | 0.000  |
|       | 0.000  |        |
| C1    | 0.011  | 0.011  |
|       | 0.010  |        |
| C2    | 0.067  | 0.067  |
|       | 0.067  |        |
| C3    | 0.562  | 0.578  |
|       | 0.593  |        |
| C4    | 2.922  | 2.965  |
|       | 3.008  |        |
| C5    | 8.028  | 8.492  |
|       | 8.956  |        |
| C6    | 13.057 | 13.811 |
|       | 14.564 |        |

[0041] 1.3 标准曲线制备

[0042] 根据上述检测结果,以T/C值的对数值为X轴,以浓度的对数值为Y轴进行线性回归,得到线性方程 $y=0.998x-2.2305$ , $R^2=0.999$ 。

[0043] 2精密度测试:

[0044] 2.1 取制备好的9张层析条,配置一个浓度(40ng/mL)的PCT工作校准品,

[0045] 2.2 取75 $\mu$ I样品,一次性加入层析条的检测口;

[0046] 2.3 待样品层析10min之后,用时间分辨荧光定量分析仪对结果进行扫描分析,结果如下表,说明本实用新型的PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条精密度良好。

[0047]

|     | 1     | 2     | 3      | 4     | 5    | 6     | 7     | 8     | 9     | t/c 均值 | 标准偏差  | CV(%) |
|-----|-------|-------|--------|-------|------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|-------|
| T/C | 4.422 | 4.321 | 3.8911 | 4.694 | 4.21 | 4.176 | 4.830 | 4.907 | 5.321 | 4.530  | 0.444 | 9.798 |

[0048] 3 准确性测试:

[0049] 3.1 配置0.5ng/mL,2ng/mL,10ng/mL,40ng/mL,120ng/mL浓度的工作校准品。

[0050] 3.2 各取75 $\mu$ I样品,一次性加入层析条的检测口;

[0051] 3.3 待样品层析10min之后,用时间分辨荧光定量分析仪对结果进行扫描分析,结果如下表,说明本实用新型的PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条准确度良好。

[0052]

| 配置浓度 | T/C值  | 换算浓度 | CV(%) |
|------|-------|------|-------|
| 0.5  | 0.055 | 0.51 | 1.68  |

|     |        |        |      |
|-----|--------|--------|------|
| 2   | 0.203  | 1.89   | 4.00 |
| 10  | 1.181  | 11.04  | 6.99 |
| 40  | 4.038  | 37.85  | 3.91 |
| 120 | 11.737 | 110.24 | 5.99 |

[0053] 以上所述,仅为本实用新型较佳实施例而已,故不能依此限定本实用新型实施的范围,即依本实用新型专利范围及说明书内容所作的等效变化与修饰,皆应仍属本实用新型涵盖的范围内。

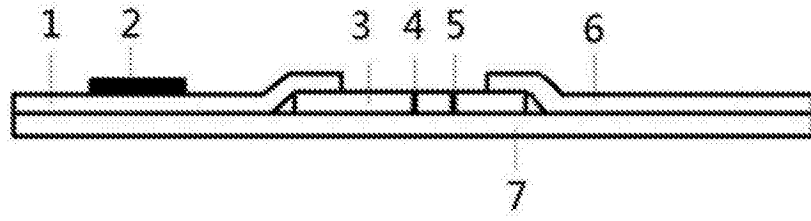


图1

|                |                                                |         |            |
|----------------|------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 一种PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条                       |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">CN205333641U</a>                   | 公开(公告)日 | 2016-06-22 |
| 申请号            | CN201521134641.2                               | 申请日     | 2015-12-30 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 厦门依柯利斯医疗科技有限公司                                 |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 厦门依柯利斯医疗科技有限公司                                 |         |            |
| 当前申请(专利权)人(译)  | 厦门依柯利斯医疗科技有限公司                                 |         |            |
| [标]发明人         | 钟伟波<br>许元峰<br>卢志珍                              |         |            |
| 发明人            | 钟伟波<br>许元峰<br>卢志珍                              |         |            |
| IPC分类号         | G01N33/533 G01N33/577                          |         |            |
| 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PCT时间分辨荧光纳米免疫层析定量检测试纸条，包括背衬底板，该背衬底板上设置有硝酸纤维素膜、样品结合垫和吸水膜，该样品结合垫和吸水膜分别叠压在硝酸纤维素膜的两端上；该样品结合垫上包被有时间分辨荧光物质标记的PCT单克隆抗体；该硝酸纤维素膜上设有检测线和质控线，该检测线包被有另一个表位的PCT单克隆抗体，该质控线包被有羊抗鼠IgG。本实用新型具有灵敏度高，特异性强、稳定性好和无放射性污染等特点，可广泛应用于PCT的临床免疫检验和科学研究中。

