



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103926401 A

(43) 申请公布日 2014. 07. 16

(21) 申请号 201410124710. 5

(22) 申请日 2014. 03. 31

(71) 申请人 瑞莱生物科技(江苏)有限公司
地址 225300 江苏省泰州市中国医药城口泰
路东侧、新阳路北侧(G30幢)

(72) 发明人 刘红剑 威廉姆·努特 何小红
刘丽萍 张丹

(74) 专利代理机构 南京正联知识产权代理有限
公司 32243

代理人 顾伯兴

(51) Int. Cl.

G01N 33/564(2006. 01)

G01N 33/533(2006. 01)

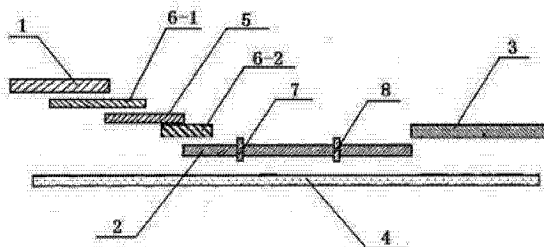
权利要求书2页 说明书12页 附图1页

(54) 发明名称

一种快速定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫
荧光试纸条及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种快速定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条及其制备方法,它包括支撑片以及支撑片上顺次搭接粘贴的样品垫片、检测膜和吸水垫片,所述样品垫片和检测膜之间设有偶合物垫片,所述检测膜上设有检测线,所述检测线包被有抗 IGFBP-7 和 / 或抗 TIMP-2 单克隆抗体或多克隆抗体,所述 IGFBP-7 抗体和 / 或 TIMP-2 抗体设在同一位置或设在相邻位置,所述检测线另一边设有控制线,控制线包被有抗链霉亲和素(SAV)抗体,所述偶合物垫片上涂布有含有不同荧光标记的 IGFBP-7 抗体和 TIMP-2 抗体偶合物。该试纸具有方便快捷、操作简单、结果准确等优点,适于临床快速诊断。



1. 一种快速定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条,它包括试纸条支撑片(4)以及试纸条支撑片(4)上顺次搭接粘贴的样品垫片(1)、检测膜(2)和吸水垫片(3),所述样品垫片(1)和检测膜(2)之间设有偶合物垫片(5),偶合物垫片(5)一端上方设有第一层玻璃纤维垫片(6-1),其一端下方设有第二层玻璃纤维垫片(6-2)或者偶合物垫片(5)一端上方仅设有第一层玻璃纤维垫片(6-1)或者不设有任一垫片,其特征在于:所述检测膜(2)上设有检测线(7-1)、(7-2),所述检测线(7-1)、(7-2)包被有抗胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 和 / 或抗金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 单克隆抗体或多克隆抗体,所述胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体和 / 或金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体设在同一位置或设在相邻位置,所述检测线(7) 另一边设有控制线(8),控制线(8) 包被有抗链霉亲和素(SAV) 抗体,所述偶合物垫片(5) 上涂布有含有不同荧光标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物。

2. 根据权利要求 1 所述的快速定量同时检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条,其特征在于:所述偶合物垫片(5)中荧光标记的 IGFBP-7 抗体和 TIMP-2 抗体偶合物的制备包括如下步骤:

(1) Biotin- IGFBP-7 抗体以及 Biotin- TIMP-2 抗体的制备:

(1.1) Biotin- IGFBP-7 抗体的制备:

胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中,活化的生物素(Biotin)溶解于二甲基亚砷(DMSO)中保证其活化度,然后把溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体加入准备好的活化的生物素(Biotin)溶液中,搅拌反应,反应完成后,将溶液超滤离心浓缩,并多次冲洗,形成 Biotin-IGFBP-7 抗体原液,并计算每个胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体可能结合的生物素(Biotin)平均个数;

(1.2) Biotin- TIMP-2 抗体的制备:

金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中,活化的生物素(Biotin)溶解于二甲基亚砷(DMSO)中保证其活化度,然后把溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中的金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体加入准备好的活化的生物素(Biotin)溶液中,搅拌反应,反应完成后,将溶液超滤离心浓缩,并多次冲洗,形成 Biotin- TIMP-2 抗体原液,并计算每个金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体可能结合的生物素(Biotin)平均个数;

(2) 两种荧光分子-SAV 的制备:

为了同时监测两种抗体,设有两种不同波长的荧光分子,所述制作过程一致,上述制备方法中只提一种;

抗链霉亲和素(SAV)粉末溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中活化,然后把溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中的抗链霉亲和素(SAV)加入荧光分子粉末中反应,反应完成后,将溶液超滤离心浓缩,并多次冲洗,形成荧光分子-SAV 原液,并计算每个荧光分子可能结合的抗链霉亲和素(SAV)的平均个数;

(3) 荧光 1 标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物以及荧光 2 标记的金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物的制备:

将 Biotin- IGFBP-7 抗体原液稀释,按照计算的比例加入荧光 1 分子 -SAV 反应,并在合适的条件下停止反应,形成荧光 1 标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物;

荧光 2 标记的金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物标记过程和荧光 1 标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物过程相同。

3. 一种快速定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条的制备方法,其特征在于:包括如下步骤:

步骤一:制备检测线;检测膜(2)在免疫荧光试纸条中用于固定包被抗体,同时也是免疫反应的发生处;检测线(7-1)是将抗胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释,划线于所述检测膜(2)上;检测线(7-2)是将抗金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释,划线于所述检测膜(2)上,然后将检测膜(2)充分干燥并烘烤数日后即得;检测线(7-1)、(7-2)位于同一位置或不同位置,若为不同位置,则检测线(7-1)、(7-2)均位于控制线(8)同一侧,即液体首先接触的位置;

步骤二:制备控制线;所述控制线(8)是将抗链霉亲和素(SAV)抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释,划线于所述检测膜(2)上,然后将检测膜(2)充分干燥并烘烤数日后即得;

步骤三:制备偶合物垫;所述偶合物垫片(5)的原材料为玻璃纤维滤膜,将用于制备偶合物垫片(5)的玻璃纤维滤膜放入预封闭缓冲液中浸泡后取出,充分干燥后,用包膜仪器将荧光 1 标记的 - 胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物和荧光 2 标记的 - 金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物涂布在偶合物垫片(5)上,充分干燥即得;

步骤四:制备样本垫片;所述样本垫片(1)可对液态样品起到初步过滤作用,将样本垫片用封闭液浸泡后,充分干燥即得;

步骤五:试纸条的组装;

在试纸条支撑片(4)由下而上依次粘附检测膜(2)、吸水垫片(3)和偶合物垫片(5),在偶合物垫片(5)上设有第一层玻璃纤维垫片(6-1)、第二层玻璃纤维垫片(6-2)或者仅设第一层玻璃纤维垫片(6-1)或者不设有任一垫片,最上一层为样品垫片(1);

将上述材料组装后,切成小条,即制的所述定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条。

一种快速定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于临床医学诊断领域,具体涉及一种快速定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条及其制备方法。

背景技术

[0002] 急性肾衰竭(AKI)是一个由多种病因引起的临床综合征,是因肾循环衰竭或肾小管的变化而引起的一种突发性肾功能丧失,因此肾脏无法排除身体的代谢废物。当肾脏无法行使正常功能时,会导致毒素,废物和水分在体内堆积,而引起急性肾衰竭。

[0003] 与急性肾衰竭(AKI)检测相关的标志物有许多种,如 KIM-1、L-FABP 都最引人注目的作为 AKI 诊断生物标志物。研究表明,在 AKI 中,胰岛素样生长因子结合蛋白(insulin-like growth factor-binding protein-7,胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7))和组织金属蛋白酶抑制剂-2 (tissue inhibitor of metalloproteinases-2,金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2))是细胞周期阻滞是一个关键的机制,可用于检测 AKI。而且 IGFBP7 和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) AUC (曲线下面积)分别为 0.76 和 0.79,两者联合胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7)和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) AUC 为 0.80。而其它标志物 AUC \leq 0.72。因此两者联合比现有检测标志物可早 12-36 小时检测到 AKI。

[0004] 免疫荧光技术(Fluorescence Immunoassay technique)是以荧光分子作为示踪标志物应用于抗原抗体的一种新型的免疫标记技术。生物素-亲和素系统(Biotin-Avidin-System, BAS)是一种非常有效的生物反应放大系统。生物素-亲和素系统几乎可与目前研究成功的各种标记物结合。生物素-亲和素与标记试剂高亲和力的牢固结合及多级放大效应,使 BAS 免疫标记和有关示踪分析更加灵敏。它已成为目前广泛用于微量抗原、抗体定性、定量检测及定位观察研究的新技术。BAS 在实际应用中所具有的巨大优越性,主要表现在以下几个方面。

[0005] (1)生物素容易与蛋白质和核酸类等生物大分子结合,形成的生物素衍生物,不仅保持了大分子物质的原有生物活性,而且比活性高,具多价性。因此, BAS 具有多级放大作用,使其在应用时可极大地提高检测方法的灵敏度。

[0006] (2)亲和素与生物素间的结合具有极高的亲和力,其反应呈高度专一性。因此, BAS 的多层次放大作用在提高灵敏度的同时,并不增加非特异性干扰。而且, BAS 结合特性不会因反应试剂的高度稀释而受影响,使其在实际应用中可最大限度地降低反应试剂的非特异作用。

[0007] (3)亲和素结合生物素的亲和常数可为抗原-抗体反应的百万倍,二者结合形成复合物的解离常数很小,呈不可逆反应性;而且酸、碱、变性剂、蛋白溶解酶以及有机溶剂均不影响其结合。因此, BAS 在实际应用中,产物的稳定性高,提高测定的精确度。(4)生物素和亲和素均可制成多种衍生物,不仅可与酶、荧光素和放射性核素等各类标记技术结合,用于检测体液、组织或细胞中的抗原-抗体、激素-受体和核酸系统以及其他多种生物学反

应体系,而且也可制成亲和介质,用于分离提纯上述各反应体系中的反应物。

[0008] 目前,IGFBP-7和TIMP-2的方法目前主要是酶联免疫技术(ELISA),ELISA技术存在以下缺点:检测设备要求高,成本高;干扰因素较多,重复性不好;检测时间长。因此酶联免疫技术检测IGFBP-7和TIMP-2不适合临床快速诊断。如何能够制作出快速的定量检测设备成为需要迫切解决的问题。

发明内容

[0009] 本发明的一个目的是提供一种快速定量检测胰岛素样生长因子结合蛋白7(IGFBP-7)和金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)的免疫荧光试纸条,本发明另一目的时还提供一种快速定量检测胰岛素样生长因子结合蛋白7(IGFBP-7)和金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)的免疫荧光试纸条的制备方法。

[0010] 本发明的技术方案是:一种快速定量检测IGFBP-7和TIMP-2的免疫荧光试纸条,它包括试纸条支撑片以及试纸条支撑片上顺次搭接粘贴的样品垫片、检测膜和吸水垫片,所述样品垫片和检测膜之间设有偶合物垫片,偶合物垫片一端上方设有第一层玻璃纤维垫片,其一端下方设有第二层玻璃纤维垫片或者偶合物垫片一端上方仅设有第一层玻璃纤维垫片或者不设有任一垫片,所述检测膜上设有检测线,所述检测线包被有抗胰岛素样生长因子结合蛋白7(IGFBP-7)和/或抗金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)单克隆抗体或多克隆抗体,所述胰岛素样生长因子结合蛋白7(IGFBP-7)抗体或金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)抗体设在同一位置或设在相邻位置,所述检测线另一边设有控制线,控制线包被有抗链霉亲和素(SAV)抗体,所述偶合物垫片上涂布有含有不同荧光标记的胰岛素样生长因子结合蛋白7(IGFBP-7)抗体和金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)抗体偶合物。

[0011] 作为本发明的进一步改进,所述偶合物垫片中偶合物的制备包括如下步骤。

[0012] (1) Biotin-IGFBP-7抗体以及Biotin-TIMP-2抗体的制备:

(1.1) Biotin-IGFBP-7抗体的制备:

胰岛素样生长因子结合蛋白7(IGFBP-7)抗体溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中,活化的生物素(Biotin)溶解于二甲基亚砷(DMSO)中保证其活化度,然后把溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中的胰岛素样生长因子结合蛋白7(IGFBP-7)抗体加入准备好的活化的生物素(Biotin)溶液中,搅拌反应,反应完成后,将溶液超滤离心浓缩,并多次冲洗,形成Biotin-IGFBP-7抗体原液,并计算每个胰岛素样生长因子结合蛋白7(IGFBP-7)抗体可能结合的生物素(Biotin)平均个数;

(1.2) Biotin-TIMP-2抗体的制备:

金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)抗体溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中,活化的生物素(Biotin)溶解于二甲基亚砷(DMSO)中保证其活化度,然后把溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中的金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)抗体加入准备好的活化的生物素(Biotin)溶液中,搅拌反应,反应完成后,将溶液超滤离心浓缩,并多次冲洗,形成Biotin-TIMP-2抗体原液,并计算每个金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)抗体可能结合的生物素(Biotin)平均个数。

[0013] (2) 两种荧光分子-SAV的制备:

为了同时监测两种抗体,两种不同波长的荧光分子使用在本申请中。由于制作过程一

致,制备方法中只提一种。抗链霉亲和素(SAV)粉末溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中活化,然后把溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中的抗链霉亲和素(SAV)加入荧光分子粉末中反应,反应完成后,将溶液超滤离心浓缩,并多次冲洗,形成荧光分子-SAV原液,并计算每个荧光分子可能结合的抗链霉亲和素(SAV)的平均个数。

[0014] (3) 荧光 1 标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物以及荧光 2 标记的金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物的制备:

以荧光 1 标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物为例,荧光 2 标记的金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物标记过程和荧光 1 标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物相似。将 Biotin- 胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体原液稀释,按照计算的比例加入荧光 1 分子-SAV 反应,并在合适的条件下停止反应,形成荧光 1 标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物;

本发明还提供了一种快速定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条的制备方法,包括如下步骤:

步骤一:制备检测线;检测膜在免疫荧光试纸条中用于固定包被抗体,同时也是免疫反应的发生处;检测线是将抗胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释,划线于所述检测膜上;检测线是将抗金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释,划线于所述检测膜上,然后将检测膜充分干燥并烘烤数日后即得;检测线 7-1 和检测线 7-2 即可位于同一位置,也可为两个不同的位置,若为不同位置,则均位于控制线同一侧,即液体首先接触的位置。

[0015] 步骤二:制备控制线;所述控制线是将抗链霉亲和素(SAV)抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释,划线于所述检测膜上,然后将检测膜充分干燥并烘烤数日后即得;

步骤三:制备偶合物垫;所述偶合物垫片的原材料为玻璃纤维滤膜,将用于制备偶合物垫片的玻璃纤维滤膜放入预封闭缓冲液中浸泡后取出,充分干燥后,用包膜仪器将荧光 1 标记的-胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物和荧光 2 标记的-金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物涂布在偶合物垫片上,充分干燥即得。

[0016] 步骤四:制备样本垫片;所述样本垫片可对液态样品起到初步过滤作用,将样本垫片用封闭液浸泡后,充分干燥即得;

步骤五:试纸条的组装;

在试纸条支撑片由下而上依次粘附检测膜、吸水垫片偶合物垫片,在偶合物垫片上设有第一层玻璃纤维垫片、第二层玻璃纤维垫片或者仅设第一层玻璃纤维垫片或者不设有任一垫片,最上一层为样品垫片;

将上述材料组装后,切成小条,即制的所述定量检测胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 的免疫荧光试纸条。

[0017] 采用如上技术方案后,其有益效果为:

本发明所述的快速定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条的工作原理是:采用免疫侧流反应原理,通过双抗体夹心法制备而成。检验时样本中的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗原首先分别与偶合垫上的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物发生免疫反应,形成免疫复合物。其后免疫复合物随着样本在硝基纤维素膜上层析流动,

当免疫复合物层析至硝基纤维素膜上的检测区(IGFBP-7 和 TIMP-2 检测线)时,分别与预先包被在硝基纤维素膜上的抗胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7)和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体发生反应从而被固定在硝基纤维素膜的检测线上。样本中的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7)和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2)越多,检测线上的复合物越多,条带上的光密度值就越高。同时,在检测过程中,未结合的荧光标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7)和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物也会随样本在检测膜上层析,当层析至检测膜的控制线时,荧光标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7)和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 会与预先包被在检测膜上的抗 SAV 抗体发生反应从而被固定在对照区(控制线)上。样本中胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7)和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 浓度分别与检测线中两种不同波长的荧光的光密度值成正比关系。

[0018] 当反应结束后,利用检测仪将控制线和检测线的光密度进行分析,并将所分析得到的结果进行运算,从而得到相对光密度值(RI)。然后检测仪根据已预先设置在检测仪内的标准曲线对胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7)和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 的浓度进行计算并显示结果,以 ng/mL 为单位表示,其反应结果如下表 1 所示。

| ng/ml | 荧光1-胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) (RI) | | | 平均值 | 偏差 | CV |
|-------|-----------------------------------|----------|----------|--------|-------|-------|
| | strip-1 | strip-2 | strip-3 | | | |
| 0 | 0.0056 | 0.0058 | 0.0056 | 0.006 | 0.000 | 2.2% |
| 0.25 | 0.0094 | 0.0083 | 0.0102 | 0.009 | 0.001 | 10.3% |
| 0.5 | 0.0139 | 0.0148 | 0.0141 | 0.014 | 0.000 | 3.4% |
| 1 | 0.0282 | 0.0301 | 0.0329 | 0.030 | 0.002 | 7.8% |
| 2 | 0.061559 | 0.056276 | 0.052213 | 0.057 | 0.005 | 8.3% |
| 4 | 0.114836 | 0.097402 | 0.105659 | 0.106 | 0.009 | 8.2% |
| 8 | 0.226902 | 0.207602 | 0.196342 | 0.210 | 0.015 | 7.3% |
| 16 | 0.375096 | 0.39998 | 0.398452 | 0.391 | 0.014 | 3.6% |
| 32 | 0.761224 | 0.889924 | 0.840711 | 0.831 | 0.065 | 7.8% |
| 64 | 1.474807 | 1.472984 | 1.577306 | 1.508 | 0.060 | 4.0% |
| 128 | 3.713541 | 3.783327 | 3.631495 | 3.709 | 0.076 | 2.0% |
| 256 | 6.232716 | 6.892966 | 6.02401 | 6.383 | 0.454 | 7.1% |
| 512 | 9.227975 | 8.667232 | 9.263473 | 9.053 | 0.334 | 3.7% |
| 800 | 11.47332 | 12.84159 | 11.18387 | 11.833 | 0.885 | 7.5% |
| 1000 | 17.76151 | 19.87269 | 20.90946 | 19.515 | 1.604 | 8.2% |

[0019]

| ng/ml | 荧光2-金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) (RI) | | | 平均值 | 偏差 | CV |
|-------|---------------------------------|----------|----------|--------|-------|-------|
| | strip-1 | strip-2 | strip-3 | | | |
| 0 | 0.005608 | 0.006075 | 0.003858 | 0.005 | 0.001 | 22.6% |
| 0.25 | 0.008806 | 0.007381 | 0.008795 | 0.008 | 0.001 | 9.8% |
| 0.5 | 0.015931 | 0.015936 | 0.013532 | 0.015 | 0.001 | 9.2% |
| 1 | 0.019773 | 0.020281 | 0.023753 | 0.021 | 0.002 | 10.2% |
| 2 | 0.040892 | 0.036928 | 0.033782 | 0.037 | 0.004 | 9.6% |
| 4 | 0.076915 | 0.07756 | 0.078962 | 0.078 | 0.001 | 1.3% |
| 8 | 0.186311 | 0.171773 | 0.163651 | 0.174 | 0.011 | 6.6% |
| 16 | 0.406225 | 0.350243 | 0.352811 | 0.370 | 0.032 | 8.5% |
| 32 | 0.705533 | 0.733315 | 0.731441 | 0.723 | 0.016 | 2.1% |
| 64 | 1.396596 | 1.251123 | 1.186 | 1.278 | 0.108 | 8.4% |
| 128 | 2.176123 | 1.895009 | 1.906906 | 1.993 | 0.159 | 8.0% |
| 150 | 3.962844 | 3.871382 | 3.323438 | 3.719 | 0.346 | 9.3% |
| 300 | 5.730933 | 5.327529 | 5.871143 | 5.643 | 0.282 | 5.0% |
| 600 | 9.913686 | 8.956984 | 8.780357 | 9.217 | 0.610 | 6.6% |
| 1200 | 16.32676 | 16.98167 | 17.12284 | 16.810 | 0.425 | 2.5% |

本发明所述快速定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条,具有方便快捷、操作简单、结果准确等优点,适于临床快速诊断。

附图说明

[0020] 图 1 是本发明快速定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条的结构示意图。

[0021] 其中:1- 样品垫片、2- 检测膜、3- 吸水垫片、4- 支撑片、5 偶合物垫片、6-1 第一层玻璃纤维垫片、6-2 第二层玻璃纤维垫片、7-1、7-2 检测线、8- 控制线。

具体实施方式

[0022] 下面结合附图和具体实施方式对本发明进行详细说明,不能理解为是对本发明的限制。

[0023] 实施例 1。

[0024] 如图 1 所示一种快速定量检测 IGFBP-7 的免疫荧光试纸条,它包括试纸条支撑片 4 以及试纸条支撑片上顺次搭接粘贴的样品垫片 1、检测膜 2 和吸水垫片 3,所述样品垫片 1 和检测膜 2 之间设有偶合物垫片 5,偶合物垫片 5 一端上方设有第一层玻璃纤维垫片 6-1,

其一端下方设有第二层玻璃纤维垫片 6-2 或者偶合物垫片 5 一端上方仅设有第一层玻璃纤维垫片 6-1 或者不设有任一垫片,所述检测膜 2 上设有检测线 7-1,所述检测线 7-1 包被有抗胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 单克隆抗体或多克隆抗体,所述检测线 7 另一边设有控制线 8,控制线 8 包被有抗链霉亲和素(SAV) 抗体,所述偶合物垫片 5 上涂布有荧光标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物。

[0025] 所述偶合物垫片 5 中荧光标记的 IGFBP-7 抗体偶合物的制备包括如下步骤:

(1) Biotin- IGFBP-7 抗体的制备:

胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体溶于磷酸盐缓冲液(PBS) 中,活化的生物素(Biotin) 溶解于二甲基亚砷(DMSO) 中保证其活化度,然后把溶于磷酸盐缓冲液(PBS) 中的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体加入准备好的活化的生物素(Biotin) 溶液中,搅拌反应,反应完成后,将溶液超滤离心浓缩,并多次冲洗,形成 Biotin-IGFBP-7 抗体原液,并计算每个胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体可能结合的生物素(Biotin) 平均个数;

(2) 荧光分子 -SAV 的制备:

抗链霉亲和素(SAV) 粉末溶于磷酸盐缓冲液(PBS) 中活化,然后把溶于磷酸盐缓冲液(PBS) 中的抗链霉亲和素(SAV) 加入荧光分子粉末中反应,反应完成后,将溶液超滤离心浓缩,并多次冲洗,形成荧光分子 -SAV 原液,并计算每个荧光分子可能结合的抗链霉亲和素(SAV) 的平均个数;

(3) 荧光 1 标记的 IGFBP-7 抗体偶合物的制备:

将 Biotin- IGFBP-7 抗体原液稀释,按照计算的比例加入荧光 1 分子 -SAV 反应,并在合适的条件下停止反应,形成荧光 1 标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物;

其中,检测膜 2 在免疫荧光试纸条中用于固定包被抗体,同时也是免疫反应的发生处;检测线 7-1 是将抗胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释,划线于所述检测膜 2 上;然后将检测膜 2 充分干燥并烘烤数日后即得;

其中,所述控制线 8 是将抗链霉亲和素(SAV) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释,划线于所述检测膜 2 上,然后将检测膜 2 充分干燥并烘烤数日后即得;

其中,制备偶合物垫;所述偶合物垫片 5 的原材料为玻璃纤维滤膜,将用于制备偶合物垫片 5 的玻璃纤维滤膜放入预封闭缓冲液中浸泡后取出,充分干燥后,用包膜仪器将荧光 1 标记的 -胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物涂布在偶合物垫片 5 上,充分干燥即得;

制备样本垫片;所述样本垫片 1 可对液态样品起到初步过滤作用,将样本垫片用封闭液浸泡后,充分干燥即得;

试纸条的组装;将上述各组成部件按图 1 所示结构粘贴在支撑垫片 4 上,获得快速定量检测胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 的免疫荧光试纸条。

[0026] 按以下步骤进行检测:1) 抽取的病人尿液样本,如低温保存样本需恢复至室温。2) 将待测样品加入样本垫片 1 上,反应。3) 判读,将所述免疫荧光试纸条置于(瑞莱) 免疫荧光检测仪以及其相关仪器中判定结果。其结果如下表所示。

| ng/ml | 荧光1-胰岛素样生长因子结合 蛋白7 (IGFBP-7) (RI) | | | 平均 值 | 偏差 | CV |
|-------|--------------------------------------|----------|----------|---------|-------|-------|
| | strip-1 | strip-2 | strip-3 | | | |
| 0 | 0.0056 | 0.0058 | 0.0056 | 0.006 | 0.000 | 2.2% |
| 0.25 | 0.0094 | 0.0083 | 0.0102 | 0.009 | 0.001 | 10.3% |
| 0.5 | 0.0139 | 0.0148 | 0.0141 | 0.014 | 0.000 | 3.4% |
| 1 | 0.0282 | 0.0301 | 0.0329 | 0.030 | 0.002 | 7.8% |
| 2 | 0.061559 | 0.056276 | 0.052213 | 0.057 | 0.005 | 8.3% |
| 4 | 0.114836 | 0.097402 | 0.105659 | 0.106 | 0.009 | 8.2% |
| 8 | 0.226902 | 0.207602 | 0.196342 | 0.210 | 0.015 | 7.3% |
| 16 | 0.375096 | 0.39998 | 0.398452 | 0.391 | 0.014 | 3.6% |
| 32 | 0.761224 | 0.889924 | 0.840711 | 0.831 | 0.065 | 7.8% |
| 64 | 1.474807 | 1.472984 | 1.577306 | 1.508 | 0.060 | 4.0% |
| 128 | 3.713541 | 3.783327 | 3.631495 | 3.709 | 0.076 | 2.0% |
| 256 | 6.232716 | 6.892966 | 6.02401 | 6.383 | 0.454 | 7.1% |
| 512 | 9.227975 | 8.667232 | 9.263473 | 9.053 | 0.334 | 3.7% |
| 800 | 11.47332 | 12.84159 | 11.18387 | 11.833 | 0.885 | 7.5% |
| 1000 | 17.76151 | 19.87269 | 20.90946 | 19.515 | 1.604 | 8.2% |

[0027] 实施例 2。

[0028] 一种快速定量检测 TIMP-2 的免疫荧光试纸条,它包括试纸条支撑片 4 以及试纸条支撑片 4 上顺次搭接粘贴的样品垫片 1、检测膜 2 和吸水垫片 3,所述样品垫片 1 和检测膜 2 之间设有偶合物垫片 5,偶合物垫片 5 一端上方设有第一层玻璃纤维垫片 6-1,其一端下方设有第二层玻璃纤维垫片 6-2 或者偶合物垫片 5 一端上方仅设有第一层玻璃纤维垫片 6-1 或者不设有任一垫片,所述检测膜 2 上设有检测线 7-2,所述检测线 7-2 包被有抗金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 单克隆抗体或多克隆抗体,所述检测线 7 另一边设有控制线 8,控制线 8 包被有抗链霉亲和素 (SAV) 抗体,所述偶合物垫片 5 上涂布有荧光标记的金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物。

[0029] 所述偶合物垫片 5 中荧光标记的金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物的制备包括如下步骤:

(1) Biotin- TIMP-2 抗体的制备:

金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体溶于磷酸盐缓冲液 (PBS) 中,活化的生物素 (Biotin) 溶解于二甲基亚砷 (DMSO) 中保证其活化度,然后把溶于磷酸盐缓冲液 (PBS) 中的金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体加入准备好的活化的生物素 (Biotin) 溶液中,

搅拌反应,反应完成后,将溶液超滤离心浓缩,并多次冲洗,形成Biotin-TIMP-2抗体原液,并计算每个金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)抗体可能结合的生物素(Biotin)平均个数;

(2) 荧光分子-SAV 的制备:

抗链霉亲和素(SAV)粉末溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中活化,然后把溶于磷酸盐缓冲液(PBS)中的抗链霉亲和素(SAV)加入荧光分子粉末中反应,反应完成后,将溶液超滤离心浓缩,并多次冲洗,形成荧光分子-SAV原液,并计算每个荧光分子可能结合的抗链霉亲和素(SAV)的平均个数;

(3) 荧光2标记的金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)抗体偶合物的制备:

将金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)抗体原液稀释,按照计算的比例加入荧光2分子-SAV反应,并在合适的条件下停止反应,形成荧光2标记的金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)抗体偶合物;

其中,检测膜2在免疫荧光试纸条中用于固定包被抗体,同时也是免疫反应的发生处;检测线7-2是将抗金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)抗体使用1*PBS、甲醇等缓冲液稀释,划线于所述检测膜2上,然后将检测膜2充分干燥并烘烤数日后即得;

步骤二:制备控制线;所述控制线8是将抗链霉亲和素(SAV)抗体使用1*PBS、甲醇等缓冲液稀释,划线于所述检测膜2上,然后将检测膜2充分干燥并烘烤数日后即得;

步骤三:制备偶合物垫;所述偶合物垫片5的原材料为玻璃纤维滤膜,将用于制备偶合物垫片5的玻璃纤维滤膜放入预封闭缓冲液中浸泡后取出,充分干燥后,用包膜仪器将荧光2标记的-金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)抗体偶合物涂布在偶合物垫片5上,充分干燥即得;

步骤四:制备样本垫片;所述样本垫片1可对液态样品起到初步过滤作用,将样本垫片用封闭液浸泡后,充分干燥即得;

试纸条的组装;将上述各组成部件按图1所示结构粘贴在支撑垫片4上,获得快速定量检测金属蛋白酶组织抑制因子2(TIMP-2)的免疫荧光试纸条。

[0030] 按以下步骤进行检测:1)抽取的病人尿液样本,如低温保存样本需恢复至室温。2)将待测样品加入样本垫片1上,反应。3)判读,将所述免疫荧光试纸条置于(瑞莱)免疫荧光检测仪以及其相关仪器中判定结果。其结果如下表所示。

| ng/ml | 荧光2-金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) (RI) | | | 平均值 | 偏差 | CV |
|-------|---------------------------------|----------|----------|--------|-------|-------|
| | strip-1 | strip-2 | strip-3 | | | |
| 0 | 0.005608 | 0.006075 | 0.003858 | 0.005 | 0.001 | 22.6% |
| 0.25 | 0.008806 | 0.007381 | 0.008795 | 0.008 | 0.001 | 9.8% |
| 0.5 | 0.015931 | 0.015936 | 0.013532 | 0.015 | 0.001 | 9.2% |
| 1 | 0.019773 | 0.020281 | 0.023753 | 0.021 | 0.002 | 10.2% |
| 2 | 0.040892 | 0.036928 | 0.033782 | 0.037 | 0.004 | 9.6% |
| 4 | 0.076915 | 0.07756 | 0.078962 | 0.078 | 0.001 | 1.3% |
| 8 | 0.186311 | 0.171773 | 0.163651 | 0.174 | 0.011 | 6.6% |
| 16 | 0.406225 | 0.350243 | 0.352811 | 0.370 | 0.032 | 8.5% |
| 32 | 0.705533 | 0.733315 | 0.731441 | 0.723 | 0.016 | 2.1% |
| 64 | 1.396596 | 1.251123 | 1.186 | 1.278 | 0.108 | 8.4% |
| 128 | 2.176123 | 1.895009 | 1.906906 | 1.993 | 0.159 | 8.0% |
| 150 | 3.962844 | 3.871382 | 3.323438 | 3.719 | 0.346 | 9.3% |
| 300 | 5.730933 | 5.327529 | 5.871143 | 5.643 | 0.282 | 5.0% |
| 600 | 9.913686 | 8.956984 | 8.780357 | 9.217 | 0.610 | 6.6% |
| 1200 | 16.32676 | 16.98167 | 17.12284 | 16.810 | 0.425 | 2.5% |

[0031] 实施例 3：

一种快速定量检测 IGFBP-7 和 TIMP-2 的免疫荧光试纸条，它包括试纸条支撑片 4 以及试纸条支撑片 4 上顺次搭接粘贴的样品垫片 1、检测膜 2 和吸水垫片 3，所述样品垫片 1 和检测膜 2 之间设有偶合物垫片 5，偶合物垫片 5 一端上方设有第一层玻璃纤维垫片 6-1，其一端下方设有第二层玻璃纤维垫片 6-2 或者偶合物垫片 5 一端上方仅设有第一层玻璃纤维垫片 6-1 或者不设有任一垫片，所述检测膜 2 上设有检测线 7-1、检测线 7-2，所述检测线 7-1、检测线 7-2 包被有抗胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 或抗金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 单克隆抗体或多克隆抗体，所述胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体或金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体设在同一位置或设在相邻位置，所述检测线 7 另一边设有控制线 8，控制线 8 包被有抗链霉亲和素 (SAV) 抗体，所述偶合物垫片 5 上涂布有含有不同荧光标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物。

[0032] 所述偶合物垫片 5 中荧光标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体和金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物的制备包括如下步骤：

(1) Biotin- IGFBP-7 抗体以及 Biotin- TIMP-2 抗体的制备：

(1.1) Biotin- IGFBP-7 抗体的制备：

胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体溶于磷酸盐缓冲液 (PBS) 中, 活化的生物素 (Biotin) 溶解于二甲基亚砷 (DMSO) 中保证其活化度, 然后把溶于磷酸盐缓冲液 (PBS) 中的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体加入准备好的活化的生物素 (Biotin) 溶液中, 搅拌反应, 反应完成后, 将溶液超滤离心浓缩, 并多次冲洗, 形成 Biotin- 胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体原液, 并计算每个胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体可能结合的生物素 (Biotin) 平均个数；

(1.2) Biotin- 金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体的制备：

金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体溶于磷酸盐缓冲液 (PBS) 中, 活化的生物素 (Biotin) 溶解于二甲基亚砷 (DMSO) 中保证其活化度, 然后把溶于磷酸盐缓冲液 (PBS) 中的金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体加入准备好的活化的生物素 (Biotin) 溶液中, 搅拌反应, 反应完成后, 将溶液超滤离心浓缩, 并多次冲洗, 形成 Biotin- 金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体原液, 并计算每个金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体可能结合的生物素 (Biotin) 平均个数；

(2) 两种荧光分子 -SAV 的制备：

为了同时监测两种抗体, 两种不同波长的荧光分子使用在本申请中。由于制作过程一致, 制备方法中只提一种；

抗链霉亲和素 (SAV) 粉末溶于磷酸盐缓冲液 (PBS) 中活化, 然后把溶于磷酸盐缓冲液 (PBS) 中的抗链霉亲和素 (SAV) 加入荧光分子粉末中反应, 反应完成后, 将溶液超滤离心浓缩, 并多次冲洗, 形成荧光分子 -SAV 原液, 并计算每个荧光分子可能结合的抗链霉亲和素 (SAV) 的平均个数；

(3) 荧光 1 标记的 IGFBP-7 抗体偶合物以及荧光 2 标记的 TIMP-2 抗体偶合物的制备：

将 Biotin- 胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体原液稀释, 按照计算的比例加入荧光 1 分子 -SAV 反应, 并在合适的条件下停止反应, 形成荧光 1 标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物；

荧光 2 标记的金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物标记过程和荧光 1 标记的胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物过程相同。

[0033] 其中, 检测膜 2 在免疫荧光试纸条中用于固定包被抗体, 同时也是免疫反应的发生处；检测线 7-1 是将抗胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释, 划线于所述检测膜 2 上；检测线 7-2 是将抗金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释, 划线于所述检测膜 2 上, 然后将检测膜 2 充分干燥并烘烤数日后即得；检测线 7-1、检测线 7-2 位于同一位置或不同位置, 若为不同位置, 则检测线 7-1、检测线 7-2 均位于控制线 8 同一侧, 即液体首先接触的位置；

其中, 所述控制线 8 是将抗链霉亲和素 (SAV) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释, 划线于所述检测膜 2 上, 然后将检测膜 2 充分干燥并烘烤数日后即得；

其中, 所述偶合物垫片 5 的原材料为玻璃纤维滤膜, 将用于制备偶合物垫片 5 的玻璃纤维滤膜放入预封闭缓冲液中浸泡后取出, 充分干燥后, 用包膜仪器将荧光 1 标记的 - 胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) 抗体偶合物和荧光 2 标记的 - 金属蛋白酶组织抑制因子 2 (TIMP-2) 抗体偶合物涂布在偶合物垫片 5 上, 充分干燥即得；

另外,所述样本垫片 1 可对液态样品起到初步过滤作用,将样本垫片用封闭液浸泡后,充分干燥即得;

按以下步骤进行检测:1)抽取的病人尿液样本,如低温保存样本需恢复至室温。2)将待测样品加入样本垫片 1 上,反应。3)判读,将所述免疫荧光试纸条置于(瑞莱)免疫荧光检测仪以及相关仪器中判定结果。其结果如下表所示:

| ng/ml | 荧光1-胰岛素样生长因子结合蛋白 7 (IGFBP-7) (RI) | | | 平均值 | 偏差 | CV |
|-------|-----------------------------------|----------|----------|--------|-------|-------|
| | strip-1 | strip-2 | strip-3 | | | |
| 0 | 0.0056 | 0.0058 | 0.0056 | 0.006 | 0.000 | 2.2% |
| 0.25 | 0.0094 | 0.0083 | 0.0102 | 0.009 | 0.001 | 10.3% |
| 0.5 | 0.0139 | 0.0148 | 0.0141 | 0.014 | 0.000 | 3.4% |
| 1 | 0.0282 | 0.0301 | 0.0329 | 0.030 | 0.002 | 7.8% |
| 2 | 0.061559 | 0.056276 | 0.052213 | 0.057 | 0.005 | 8.3% |
| 4 | 0.114836 | 0.097402 | 0.105659 | 0.106 | 0.009 | 8.2% |
| 8 | 0.226902 | 0.207602 | 0.196342 | 0.210 | 0.015 | 7.3% |
| 16 | 0.375096 | 0.39998 | 0.398452 | 0.391 | 0.014 | 3.6% |
| 32 | 0.761224 | 0.889924 | 0.840711 | 0.831 | 0.065 | 7.8% |
| 64 | 1.474807 | 1.472984 | 1.577306 | 1.508 | 0.060 | 4.0% |
| 128 | 3.713541 | 3.783327 | 3.631495 | 3.709 | 0.076 | 2.0% |
| 256 | 6.232716 | 6.892966 | 6.02401 | 6.383 | 0.454 | 7.1% |
| 512 | 9.227975 | 8.667232 | 9.263473 | 9.053 | 0.334 | 3.7% |
| 800 | 11.47332 | 12.84159 | 11.18387 | 11.833 | 0.885 | 7.5% |
| 1000 | 17.76151 | 19.87269 | 20.90946 | 19.515 | 1.604 | 8.2% |

| ng/ml | 荧光2-金属蛋白酶组织抑制因子2 (TIMP-2) (RI) | | | | | |
|----------|--------------------------------|----------|----------|--------|-------|-------|
| standard | strip-1 | strip-2 | strip-3 | 平均值 | 偏差 | CV |
| 0 | 0.005608 | 0.006075 | 0.003858 | 0.005 | 0.001 | 22.6% |
| 0.25 | 0.008806 | 0.007381 | 0.008795 | 0.008 | 0.001 | 9.8% |
| 0.5 | 0.015931 | 0.015936 | 0.013532 | 0.015 | 0.001 | 9.2% |
| 1 | 0.019773 | 0.020281 | 0.023753 | 0.021 | 0.002 | 10.2% |
| 2 | 0.040892 | 0.036928 | 0.033782 | 0.037 | 0.004 | 9.6% |
| 4 | 0.076915 | 0.07756 | 0.078962 | 0.078 | 0.001 | 1.3% |
| 8 | 0.186311 | 0.171773 | 0.163651 | 0.174 | 0.011 | 6.6% |
| 16 | 0.406225 | 0.350243 | 0.352811 | 0.370 | 0.032 | 8.5% |
| 32 | 0.705533 | 0.733315 | 0.731441 | 0.723 | 0.016 | 2.1% |
| 64 | 1.396596 | 1.251123 | 1.186 | 1.278 | 0.108 | 8.4% |
| 128 | 2.176123 | 1.895009 | 1.906906 | 1.993 | 0.159 | 8.0% |
| 150 | 3.962844 | 3.871382 | 3.323438 | 3.719 | 0.346 | 9.3% |
| 300 | 5.730933 | 5.327529 | 5.871143 | 5.643 | 0.282 | 5.0% |
| 600 | 9.913686 | 8.956984 | 8.780357 | 9.217 | 0.610 | 6.6% |
| 1200 | 16.32676 | 16.98167 | 17.12284 | 16.810 | 0.425 | 2.5% |

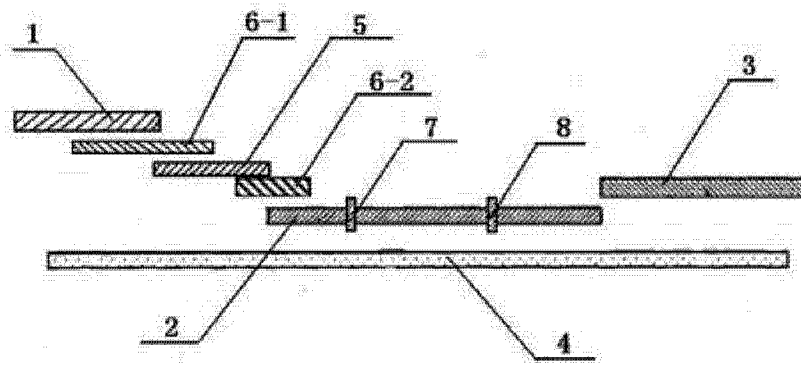


图 1

| | | | |
|----------------|--|---------|------------|
| 专利名称(译) | 一种快速定量检测IGFBP-7和TIMP-2的免疫荧光试纸条及其制备方法 | | |
| 公开(公告)号 | CN103926401A | 公开(公告)日 | 2014-07-16 |
| 申请号 | CN201410124710.5 | 申请日 | 2014-03-31 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 瑞莱生物科技(江苏)有限公司 | | |
| 申请(专利权)人(译) | 瑞莱生物科技(江苏)有限公司 | | |
| 当前申请(专利权)人(译) | 瑞莱生物科技(江苏)有限公司 | | |
| [标]发明人 | 刘红剑 威廉姆努特 何小红 刘丽萍 张丹 | | |
| 发明人 | 刘红剑 威廉姆.努特 何小红 刘丽萍 张丹 | | |
| IPC分类号 | G01N33/564 G01N33/533 | | |
| CPC分类号 | G01N33/558 G01N33/6809 | | |
| 外部链接 | Espacenet SIPO | | |

摘要(译)

本发明公开了一种快速定量检测IGFBP-7和TIMP-2的免疫荧光试纸条及其制备方法，它包括支撑片以及支撑片上顺次搭接粘贴的样品垫片、检测膜和吸水垫片，所述样品垫片和检测膜之间设有偶合物垫片，所述检测膜上设有检测线，所述检测线包被有抗IGFBP-7和/或抗TIMP-2单克隆抗体或多克隆抗体，所述IGFBP-7抗体和/或TIMP-2抗体设在同一位置或设在相邻位置，所述检测线另一边设有控制线，控制线包被有抗链霉亲和素(SAV)抗体，所述偶合物垫片上涂布有含有不同荧光标记的IGFBP-7抗体和TIMP-2抗体偶合物。该试纸具有方便快捷、操作简单、结果准确等优点，适于临床快速诊断。

