



(12) 实用新型专利

(10) 授权公告号 CN 204044162 U

(45) 授权公告日 2014. 12. 24

(21) 申请号 201420197173. 2

(22) 申请日 2014. 04. 22

(73) 专利权人 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 33/68(2006. 01)

G01N 33/533(2006. 01)

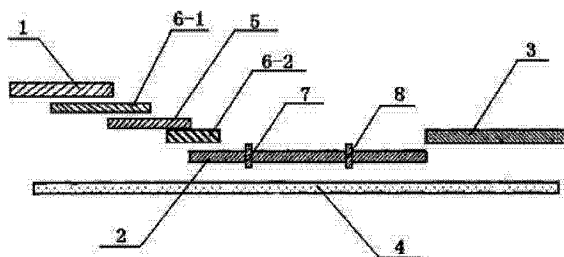
权利要求书1页 说明书4页 附图1页

(54) 实用新型名称

一种快速定量检测 KIM-1 的免疫荧光试纸条

(57) 摘要

本实用新型公开了一种快速定量检测 KIM-1 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,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,检测膜上设有检测线,检测线包被有肾损伤分子-1(KIM-1) 抗体,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荧光标记的肾损伤分子-1 单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。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 KIM-1 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从左到右顺次搭接粘贴的样品垫片(1)、检测膜(2)和吸水垫片(3),其特征在于: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),其另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),所述检测线(7)包被有肾损伤分子-1(KIM-1)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肾损伤分子-1单克隆抗体或多克隆抗体偶合物,所述控制线(8)与检测线(7)平行设置于检测膜(2)上,并与偶合物垫片(5)部分重叠或不重叠。

一种快速定量检测 KIM-1 的免疫荧光试纸条

技术领域

[0001] 本实用新型属于临床医学诊断领域,具体涉及一种用于定量检测 KIM-1 的免疫荧光试纸条。

背景技术

[0002] 肾损伤分子-1(KIM-1)是由 334 个氨基酸残基组成的 I 型跨膜蛋白,属于免疫球蛋白基因超家族。在正常的肾组织中几乎不表达,但是在缺血及肾损伤后的人近曲小管上皮细胞中却呈高表达状态。KIM-1 参与肾脏疾病的损伤及修复过程,在近端小管上皮细胞黏附、生长及分化中起重要作用。肾损伤发生后组织 KIM-1 胞外功能区被金属蛋白酶介导裂解并释放入尿,并且尿 KIM-1 水平和组织 KIM-1 水平呈正相关。在诊断药源性肾小管坏死、退化和 / 或膨胀,及组织细微变化或肾功能严重紊乱引起的嗜酸性粒细胞增多方面, KIM-1 的检测是高度灵敏、特异和精确的。

[0003] KIM-1 是一种伴有细胞外免疫球蛋白和高度 O 糖基化 mucin 子域的跨膜蛋白成份。KIM-1 分子的细胞外 ectodomain (金属蛋白酶水解脱下来的,可以分泌到尿液中)是 AKI (急性肾衰竭)的一个定量标志物。在肾小管间质损害区域内(伴有炎症细胞浸润与纤维化)高表达 KIM-1。在急性蛋白尿,小管上皮细胞表达 KIM-1 增强。反过来,由于它可与其它蛋白质进行反应,它可能会主动性调节与损伤或修复相关的细胞事件或过程。尿中 KIM-1 的外功能域是人类 AKI 的特异性、敏感性、有前途的标志物,不受尿液理化物性的影响。肾小管受损后第 1 天 KIM-1 升高至少 5 倍以上,而血清肌酐与尿素氮晚到受损后第 3 天才升高。心脏手术后几个小时就会检测到 KIM-1 在尿液中大幅增长现象。尿 KIM-1 排泄水平升高对于检测肾脏缺血相当有特异性,而且几乎独立于慢性肾病的类型或尿道感染。对于 AKI 患者而言,高水平 KIM-1 预示患者的预后较差。

[0004] 有研究数据显示 ICU 危重病患者 80% 的 ARF (急性肾脏衰竭)由急性肾小管损伤所致,而非肾小球或间质性病变。KIM-1 是肾小管损伤最敏感的标志物。多个动物实验和临床实验证明 KIM-1 与多种因素所致肾小管损伤有关:

[0005] 1、缺血肾小管损伤;

[0006] 2、中毒性肾小管损伤;3. 蛋白负荷过重肾小管损伤。KIM-1 作为 AKI 诊断标志物具有以下优势:1. 敏感性高。其在正常组织不表达,AKI 发生时,其在近端小管上皮细胞的表达才显著上调,并一直持续到细胞完全康复;2. 特异性很高,特别是对缺血性或肾毒性 AKI 特异性更高,在其他器官很少表达;3. 其胞外部分脱落进入尿液后性质比较稳定,容易检测;4. 极少受到慢性肾脏疾病和尿路感染的影响。

[0007] 目前,检测肾损伤分子-1 (KIM-1)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肾损伤分子-1 (KIM-1)不适合临床快速诊断。因此如何能够制作出快速的定量检测试纸成为需要迫切解决的问题。

发明内容

[0008] 本实用新型要解决的技术问题是提供一种能快速定量检测 KIM-1 的免疫荧光试纸条。

[0009] 为了解决上述技术问题,本实用新型提供了一种快速定量检测 KIM-1 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从左到右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,其另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,所述检测线包被有肾损伤分子-1(KIM-1) 抗体,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荧光标记的肾损伤分子-1 单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。

[0010] 所述控制线与检测线平行设置于检测膜上,并与偶合物垫片部分重叠或不重叠。

[0011] 采用如上技术方案后,其有益效果为:

[0012] 本实用新型所述的快速定量检测肾损伤分子-1 (KIM-1) 的免疫荧光试纸的工作原理是: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 KIM-1 抗原首先与偶合垫上的 KIM-1 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检测膜上层析流动,当免疫复合物层析至检测膜上的检测区(KIM-1 检测线)时,与预先包被在检测膜上的抗 KIM-1 抗体发生反应从而被固定在检测膜的检测线上。样本中的 KIM-1 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,未与 KIM-1 抗原结合的荧光标记的 KIM-1 抗体偶合物,当层析至检测膜的控制线时,免疫荧光偶合物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。

[0013] 当反应结束后,利用免疫荧光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 KIM-1 的浓度进行计算并显示结果,以 ng/mL 为单位表示。

[0014] 综上所述,本实用新型所述快速定量检测 KIM-1 的免疫荧光试纸条,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。

附图说明

[0015] 图 1 是本实用新型所述快速定量检测 KIM-1 的免疫荧光试纸条的结构示意图。

[0016] 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- 检测线、8- 控制线。

具体实施方式

[0017] 下面结合附图和具体实施方式对本实用新型进行详细说明,不能理解为是对本实用新型的限制;

[0018] 实施例 1:

[0019] 制备快速定量检测 KIM-1 的免疫荧光试纸条

[0020] 如图 1 所示的免疫荧光试纸条结构,一种快速定量检测 KIM-1 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从左到右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, 其另一端下方设有第二层玻璃纤维垫片 6-2, 所述检测膜 2 上设有检测线 7, 所述检测线 7 包被有肾损伤分子 -1 (KIM-1) 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肾损伤分子 -1 单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。

[0021] 所述控制线 8 与检测线 7 平行设置于检测膜 2 上, 与偶合物垫片 5 不重叠。

[0022] 其中, 检测膜 2 在荧光试纸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 是将肾损伤分子 -1 (KIM-1) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释后, 划线于所述检测膜 2 上, 干燥及烘烤后, 即得; 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, 干燥及烘烤后, 即得。

[0023] 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的玻璃纤维滤膜放入预封闭缓冲液中浸泡后取出, 干燥后, 用包膜仪器将荧光标记的肾损伤分子 -1 单克隆抗体或多克隆抗体偶合物涂布在偶合物垫片 5 上, 干燥即得。

[0024] 另外, 所述样品垫片 1 可对液态样品起到初步过滤作用。将样本垫片 1 用封闭液浸泡后, 干燥即得。

[0025] 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 KIM-1 的免疫荧光试纸条。

[0026] 按以下步骤进行检测: 1) 收集的病人尿液样品, 如低温保存样品需恢复至室温。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置于免疫荧光检测仪中判定结果。

[0027] 实施例 2:

[0028] 一种快速定量检测 KIM-1 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从左到右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 一端上方仅设有第一层玻璃纤维垫片 6-1, 所述检测膜 2 上设有检测线 7, 所述检测线 7 包被有肾损伤分子 -1 (KIM-1) 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肾损伤分子 -1 单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。

[0029] 所述控制线 8 与检测线 7 平行设置于检测膜 2 上, 与偶合物垫片 5 部分重叠。

[0030] 其中, 检测膜 2 在荧光试纸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 是将肾损伤分子 -1 (KIM-1) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释后, 划线于所述检测膜 2 上, 干燥及烘烤后, 即得; 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, 干燥及烘烤后, 即得。

[0031] 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的玻璃纤维滤膜放入预封闭缓冲液中浸泡后取出, 干燥后, 用包膜仪器将荧光标记的肾损伤分子 -1 单克隆抗体或多克隆抗体偶合物涂布在偶合物垫片 5 上, 干燥即得。

[0032] 另外, 所述样品垫片 1 可对液态样品起到初步过滤作用。将样本垫片 1 用封闭液浸泡后, 干燥即得。

[0033] 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 KIM-1 的免疫荧光试纸条。

[0034] 按以下步骤进行检测：1)收集的病人尿液样品，如低温保存样品需恢复至室温。2)将待测样品加入样本垫片上，反应。3)判读，将所述免疫荧光试纸置于免疫荧光检测仪中判定结果。

[0035] 实施例 3：

[0036] 一种快速定量检测 KIM-1 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从左到右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，所述检测线 7 包被有肾损伤分子 -1 (KIM-1) 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肾损伤分子 -1 单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。

[0037] 所述控制线 8 与检测线 7 平行设置于检测膜 2 上，与偶合物垫片 5 部分重叠。

[0038] 其中，检测膜 2 在荧光试纸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 是将肾损伤分子 -1 (KIM-1) 抗体使用 1*PBS、甲醇等缓冲液稀释后，划线于所述检测膜 2 上，干燥及烘烤后，即得；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，干燥及烘烤后，即得。

[0039] 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的玻璃纤维滤膜放入预封闭缓冲液中浸泡后取出，干燥后，用包膜仪器将荧光标记的肾损伤分子 -1 单克隆抗体或多克隆抗体偶合物涂布在偶合物垫片 5 上，干燥即得。

[0040] 另外，所述样品垫片 1 可对液态样品起到初步过滤作用。将样本垫片 1 用封闭液浸泡后，干燥即得。

[0041] 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 KIM-1 的免疫荧光试纸条。

[0042] 按以下步骤进行检测：1)收集的病人尿液样品，如低温保存样品需恢复至室温。2)将待测样品加入样本垫片上，反应。3)判读，将所述免疫荧光试纸置于免疫荧光检测仪中判定结果。

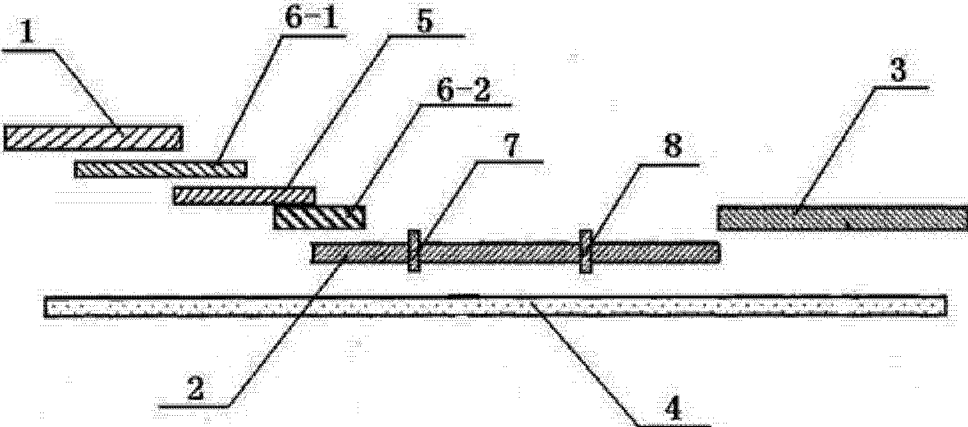


图 1

专利名称(译)	一种快速定量检测KIM-1的免疫荧光试纸条		
公开(公告)号	CN204044162U	公开(公告)日	2014-12-24
申请号	CN201420197173.2	申请日	2014-04-22
[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	G01N33/68 G01N33/533		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型公开了一种快速定量检测KIM-1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，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，检测膜上设有检测线，检测线包被有肾损伤分子-1(KIM-1)抗体，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荧光标记的肾损伤分子-1单克隆抗体或多克隆抗体偶合物。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。

