



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 118050505 A

(43) 申请公布日 2024.05.17

(21) 申请号 202410448775.9

(22) 申请日 2024.04.15

(71) 申请人 南京佰抗生物科技有限公司

地址 210046 江苏省南京市栖霞区仙林街  
道仙林大学城纬地路9号C6幢房屋  
903.905室

(72) 发明人 芮兵

(74) 专利代理机构 南通英诺威讯专利代理事务  
所(普通合伙) 32508

专利代理师 范鑫鑫

(51) Int. Cl.

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 33/78 (2006.01)

G01N 33/58 (2006.01)

G01N 21/64 (2006.01)

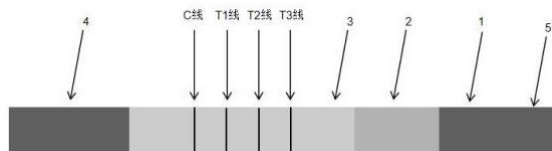
权利要求书1页 说明书7页  
序列表(电子公布) 附图4页

(54) 发明名称

一种多联检荧光免疫层析检测卡

(57) 摘要

本发明公开了一种多联检荧光免疫层析检测卡,检测卡内含试纸条,试纸条包括样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜载体以及吸水纸,硝酸纤维素膜载体上设有三条检测线,检测线上分别包被有甲功三项单克隆抗体一或抗原,甲功三项单克隆抗体一为FT3-Clone1、TSH-Clone1,抗原为FT4抗原;结合垫上有甲功三项单克隆抗体二,甲功三项单克隆抗体二为FT3-Clone2、FT4-Clone2、TSH-Clone2。本发明用于制备甲功三项的荧光免疫法联合检测试剂盒,能一次性对三个指标测试,提高甲状腺功能的早期诊断率,避免漏诊,又可以减少误诊,省时且高效。



1. 一种多联检荧光免疫层析检测卡,其特征在於:检测卡内含试纸条,试纸条包括样品垫(1)、结合垫(2)、硝酸纤维素膜载体(3)以及吸水纸(4),所述样品垫(1)的一端为加样端(5),所述样品垫(1)的另一端与结合垫(2)的一端搭接,所述结合垫(2)的另一端与硝酸纤维素膜载体(3)搭接,所述硝酸纤维素膜载体(3)的另一端与吸水纸(4)搭接,所述硝酸纤维素膜载体(3)上设有三条检测线,三条检测线是T1线、T2线、T3线,检测线上分别包被有甲功三项单克隆抗体一或抗原,甲功三项单克隆抗体一分别为FT3-Clone1、TSH-Clone1,抗原为FT4抗原;所述结合垫上有甲功三项单克隆抗体二,甲功三项单克隆抗体二为FT3-Clone2、FT4-Clone2、TSH-Clone2;

所述FT4抗原的分子式为 $C_{15}H_{11}I_4NO_4$  - BSA;

所述FT3-Clone1的重链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO.1所示,所述FT3-Clone1的轻链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO.2所示;

所述TSH-Clone1的重链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO.3所示,所述TSH-Clone1的轻链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO.4所示;

所述FT3-Clone2的重链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO.5所示,所述FT3-Clone2的轻链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO.6所示;

所述FT4-Clone2的重链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO.7所示,所述FT4-Clone2的轻链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO.8所示;

所述TSH-Clone2的重链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO.9所示,所述TSH-Clone2的轻链可变区氨基酸序列如SEQ ID NO.10所示。

2. 根据权利要求1所述的一种多联检荧光免疫层析检测卡,其特征在於:各种单克隆抗体二上偶联的检测信标物质不同,检测信标物质为荧光染料、荧光微球、胶乳微球、量子点微球、聚集诱导发光材料、上转换发光材料中的一种或几种。

3. 根据权利要求1所述的一种多联检荧光免疫层析检测卡,其特征在於:所述检测线上的多个特异性单抗或抗原,单抗为鼠抗人促甲状腺激素单抗一、鼠抗人三碘甲状腺原氨酸单抗一,抗原为甲状腺激素重组抗原;所述结合垫上的标记单抗为鼠抗人促甲状腺激素单抗二—荧光微球偶联物、鼠抗人三碘甲状腺原氨酸单抗二—荧光微球偶联物、鼠抗人甲状腺激素单抗二—荧光微球偶联物。

4. 根据权利要求1所述的一种多联检荧光免疫层析检测卡,其特征在於:所述硝酸纤维素膜载体上设有质控线,质控线上设有独立抗体羊抗鸡IgY;结合垫上设有标记鸡IgY抗体—荧光微球偶联物。

5. 根据权利要求1所述的一种多联检荧光免疫层析检测卡,其特征在於:所述检测信标物质的激发光波长为365nm。

## 一种多联检荧光免疫层析检测卡

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测卡,具体涉及一种多联检荧光免疫层析检测卡。

### 背景技术

[0002] 甲功三项:主要是指TSH(促甲状腺激素)、FT3(游离三碘甲状腺原氨酸)和FT4(游离甲状腺素)。根据这三个指标能够查看甲状腺功能的基本情况。TSH是由垂体分泌的一种激素,它能够刺激甲状腺合成和释放FT3和FT4。由甲状腺分泌FT3和FT4激素,它们能够调节身体的各种生理功能。当血液中的FT3和FT4水平过低或过高时,垂体也会相应地调节TSH的分泌,以便维持平衡。因此,通过检测TSH、FT3和FT4的水平,就能够判断出甲状腺功能是否正常。

[0003] 现有的甲功三项检测方法都存在一定的缺陷,如酶联免疫法反应时间长且自动化程度低,基层应用不便;化学发光法灵敏度高,但是需要昂贵的化学发光仪器,不能检测全血样本,均为项目单检检测耗时,不适于常规临床应用。

[0004] 而荧光免疫层析法稳定性好、操作简单、响应快速、灵敏度高,可以实现样本的快速和高通量检测,但目前荧光免疫层析法存在试剂盒均为单项检测、抗体特异性差、易受背景干扰、检测样本类型受限等问题。

### 发明内容

[0005] 为解决现有荧光免疫层析法存在试剂盒为单项检测、抗体特异性差的问题,本发明提供一种多联检荧光免疫层析检测卡,其在多个检测线上分别包被不同单克隆抗体或抗原,实现多种目标物同时检测的目的。

[0006] 本发明提供如下技术方案:

一种多联检荧光免疫层析检测卡,检测卡内含试纸条,试纸条包括样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜载体以及吸水纸,所述样品垫的一端为加样端,所述样品垫的另一端与结合垫的一端搭接,所述结合垫的另一端与硝酸纤维素膜载体搭接,所述硝酸纤维素膜载体的另一端与吸水纸搭接,所述硝酸纤维素膜载体上设有三条检测线,三条检测线是T1线、T2线、T3线,检测线上分别包被有甲功三项单克隆抗体一和抗原,甲功三项单克隆抗体一分别为FT3-Clone1、TSH-Clone1,抗原是FT4抗原;所述结合垫上有甲功三项单克隆抗体二,甲功三项单克隆抗体二为FT3-Clone2、FT4-Clone2、TSH-Clone2。

[0007] FT4抗原: $C_{15}H_{11}I_4NO_4$  - BSA

FT3-Clone1-Heavy chain VH

QVTLKESGPGILKPSQTLSTLCSFSGFGLSTGGTGVGWIRQPSGKGLEWLAHIWDDDRDYNPGLRGQL  
TISKDTSRNQVFLKITSVDTADTATYYCARGVPTSPFAYWGQGLVTVS

FT3-Clone1-Light chain VL

DIVMTQSQKFMSTSVGDRVSVTCRAGQNVSTDAVWYQHKPGQSPKALIFGASYRYGGVPDRFIGSGSGT  
DFTLTISNVQSEDLAEYFCQYYMTYGTFGGGTKLEIK

TSH-Clone1-Heavy chain VH

DVQLQESGPDLVKPSQSLSLTCTVTGYP L TSGYTWHWIRQFPGNCLEWWMGYMHYNGSTNYNPSLKSRLS  
ITRDTSKNQFFLQLNSVTTEDTATYYCALLIYYMDYWGQGTSVTVSS

TSH-Clone1-Light chain VL

DVVMQTPLTSLVTIGQPASISCKSSQSLIDSDGRTYLNLWLLQRPQQSPKRLIYIVSKLDSGVPDRFTG  
SGSGTDFLLKISRVEAEDLGVYYCWQGTSPQTFGGGKLEIK

FT3-Clone2-Heavy chain VH

QIQLVQSGPELKNPGETVNI SCKTSGYTFTNSGMNWKQAPGKGLKWMGWINTNTGKPTYADDFKGRFA  
FSLETSASTAFLQINNLRNEDTATYFCARSGPYGLYFYTMDYWGQGTSVTVSS

FT3-Clone2-Light chain VL

DILMTQTSSLSASLGDRVTISCRASQDINNFLNWKQKPDGTVKFLIYYTSSLHSGVPSRFSGSGSGT  
DYSLTISNLEQEDIATYFCQQGSSLPWTFGGGKLDIK

FT4-Clone2-Heavy chain VH

QVQLQQSGTVLARPGASVKLSCTTSGSTFTSYdMHVVKQRPQQGLEWIGTSYPNGDASYNQRFDRKA  
KLTAVTSASTAYMELNSLTNEDSAVYYCAREFLVRDYWGQGTTLTVSS

FT4-Clone2-Light chain VL

DIQMTQTSSLSASLGDRVTISCKASQDIENYLMWFQQKPDGTFKLLIYTTSSLGSGVPSRFSGSGSGT  
DYSLTITNLEEEDVATYFCQYGDVLPATFGSGTKLEIK

TSH-Clone2-Heavy chain VH

EVQVQQSGAELVRSVTSVKLSCTASGFNDKDYFHWVIQRPEQGLEWIGWLDAGNGATEYAPKFQVKAT  
MTADTSSNTAYLQLTSLTSED TAVYFCNARKYAGYYTMDKWQGTSTVTVSS

TSH-Clone2-Light chain VL

QIVLSQSPAILSASPGEKVTMTCRASSLSYMYWYQQKAGSSPKTWIYATDNLASGVPVRFSGSGSGTS  
YSLTISRVEAEDAATYYCQSWSSNPYTFGGGTRLEIK

进一步的,单克隆抗体二上偶联的检测信标物质不同,检测信标物质为荧光染料、  
荧光微球、胶乳微球、量子点微球、聚集诱导发光材料、上转换发光材料中的一种或几种。

[0008] 进一步的,所述检测线上的多个特异性单抗或抗原,单抗为鼠抗人促甲状腺激素  
单抗一(TSH-Clone1)、鼠抗人三碘甲状腺原氨酸单抗一(FT3-Clone1),抗原为甲状腺激素  
重组抗原(FT4抗原);

所述结合垫上的标记单抗为鼠抗人促甲状腺激素单抗二(TSH-Clone2) — 荧光微  
球偶联物、鼠抗人三碘甲状腺原氨酸单抗二(FT3-Clone2) — 荧光微球偶联物、鼠抗人甲  
状腺激素单抗二(FT4-Clone2) — 荧光微球偶联物。

[0009] 进一步的,所述硝酸纤维素膜载体上设有质控线,质控线上设有独立抗体羊抗鸡  
IgY;结合垫上设有标记鸡IgY抗体 — 荧光微球偶联物。

[0010] 进一步的,所述检测信标物质的激发光波长为365nm。

[0011] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:本申请用于制备甲功三项(FT3/FT4/TSH)  
的荧光免疫法联合检测试剂盒优势,

可实现一次性对三个指标测试,提高甲状腺功能的早期诊断率,避免漏诊,又可以  
减少误诊,省时且高效;

可以减少操作次数,降低人为操作失误率;  
生成的数据量更少,更易管理,因而分析起来更加轻松;  
样本类型同时支持血清/血浆/全血/指尖血,满足不同场景需求。

### 附图说明

- [0012] 图1为本发明检测卡结构示意图。  
[0013] 图2为本发明结构示意图。  
[0014] 图3为试剂盒检测样本中FT3的线性范围检测结果图。  
[0015] 图4为试剂盒检测样本中FT4的线性范围检测结果图。  
[0016] 图5为试剂盒检测样本中TSH的线性范围检测结果图。  
[0017] 图6为TSH临床样本对比分析图。  
[0018] 图7为FT3临床样本对比分析图。  
[0019] 图8为FT4临床样本对比分析图。  
[0020] 图中:1、样品垫;2、结合垫;3、硝酸纤维素膜载体;4、吸水纸;5、加样端。

### 实施方式

[0021] 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。

[0022] 请参阅图1-2,本发明的一种多联检荧光免疫层析检测卡,检测卡内含试纸条,试纸条包括样品垫1、结合垫2、硝酸纤维素膜载体3以及吸水纸4,样品垫1的一端为加样端5,样品垫1的另一端与结合垫2的一端搭接,结合垫2的另一端与硝酸纤维素膜载体3搭接,硝酸纤维素膜载体3的另一端与吸水纸4搭接,硝酸纤维素膜载体3上设有三条检测线,三条检测线是T1线、T2线、T3线,检测线上分别包被有甲功三项单克隆抗体一或抗原,甲功三项单克隆抗体一分别为FT3-Clone1、TSH-Clone1,抗原为FT4抗原;结合垫上有甲功三项单克隆抗体二,甲功三项单克隆抗体二为FT3-Clone2、FT4-Clone2、TSH-Clone2。

[0023] 各种单克隆抗体二上偶联的检测信标物质不同。检测信标物质为荧光染料、荧光微球、胶乳微球、量子点微球、聚集诱导发光材料、上转换发光材料中的一种或几种。

[0024] 检测线上的多个特异性单抗或抗原,单抗为鼠抗人促甲状腺激素单抗一(TSH-Clone1)、鼠抗人三碘甲状腺原氨酸单抗一(FT3-Clone1),抗原为甲状腺激素重组抗原(FT4抗原);

结合垫上的标记单抗为鼠抗人促甲状腺激素单抗二(TSH-Clone2) — 荧光微球偶联物、鼠抗人三碘甲状腺原氨酸单抗二(FT3-Clone2) — 荧光微球偶联物、鼠抗人甲状腺激素单抗二(FT4-Clone2) — 荧光微球偶联物。

[0025] 硝酸纤维素膜载体上设有质控线,质控线上设有独立抗体羊抗鸡IgY;结合垫上设有标记鸡IgY抗体 — 荧光微球偶联物。

[0026] 检测信标物质的激发光波长为365nm。

[0027] 图3为试剂盒检测样本中FT3的线性范围检测结果图,结果显示试剂盒FT3的检测

线性范围为1.5-50pmol/L。

[0028] 图4为试剂盒检测样本中FT4的线性范围检测结果图,结果显示试剂盒FT4的检测线性范围为6.4-77.2pmol/L。

[0029] 图5为试剂盒检测样本中TSH的线性范围检测结果图,结果显示试剂盒FT4的检测线性范围为0.1-100 $\mu$ IU/mL。

[0030] 检测方法:

(1) 准备:使用前将试剂条、样本恢复至室温,从铝箔包装袋中取出检测卡,将其置于一水平、干燥的平面上;

(2) 录入试剂参数:点击“录入试剂参数”,扫描试剂盒上的二维码,录入试剂名称和试剂批次;

(3) 样本稀释:吸取50 $\mu$ L血清、血浆或全血至0.1mL稀释液中,混匀后加样;

(4) 加样:选择样本类型,将检测卡插入展板仓后,在检测卡的样本孔上垂直滴加100 $\mu$ L稀释后的样本。

[0031] (5) 测量:将反应后的检测卡插入检测设备,按仪器说明书进行测试,并确认结果。

[0032] 表一40份TSH临床样本检测结果分析表( $\mu$ IU/mL):

序号	临床样本结果 -罗氏	临床样本测试 结果	序号	临床样本结果 -罗氏	临床样本测试 结果
1	0.11	0.16	21	32.45	35.20
2	0.33	0.30	22	33.17	36.02
3	0.74	0.80	23	35.77	31.09
4	1.72	1.48	24	37.39	34.88
5	2.77	3.12	25	43.54	37.93
6	3.16	4.03	26	43.68	47.43
7	4.19	5.02	27	44.92	46.18
8	4.34	3.88	28	52.05	56.77
9	5.42	4.97	29	53.53	52.83
10	7.85	8.24	30	53.67	57.29
11	8.29	7.27	31	57.46	52.30
12	10.61	9.20	32	58.40	65.19
13	14.26	17.33	33	66.3	69.24
14	14.68	13.02	34	71.52	67.19
15	14.96	18.71	35	72.98	70.05
16	21.76	25.07	36	75.44	81.07
17	24.92	20.10	37	76.69	73.84
18	27.87	22.16	38	87.23	91.05
19	28.89	24.24	39	90.97	86.49
20	32.05	34.61	40	99.41	95.22

[0033] 表二40份FT3临床样本检测结果分析表 (pmol/L) :

序号	临床样本结果 -罗氏	临床样本测试 结果	序号	临床样本结果 -罗氏	临床样本测试 结果
1	1.54	1.62	21	21.35	24.89
2	2.59	2.43	22	22.77	21.02
3	2.8	2.24	23	23.11	19.84
4	3.64	4.01	24	23.49	22.04
5	4.19	4.35	25	24.25	29.01
6	5.75	6.04	26	24.58	20.55
7	6.56	7.18	27	25.19	25.77
8	8.33	7.62	28	26.33	25.34
9	8.74	8.23	29	27.39	32.11
10	9.48	10.02	30	27.69	26.50
11	9.74	10.83	31	29.33	32.24
12	11.03	10.18	32	33.67	31.71
13	13.56	12.08	33	34.52	30.01
14	14.26	13.77	34	37.22	39.03
15	15.13	17.04	35	37.29	34.16
16	17.03	16.28	36	40.09	44.67
17	18.46	20.01	37	40.55	44.17
18	18.94	19.33	38	42.87	41.19
19	19.68	16.20	39	44.39	48.57
20	20.99	19.52	40	49.78	48.02

[0034] 表三40份FT4临床样本检测结果分析表(pmol/L)：



序号	临床样本结果 -罗氏	临床样本测试 结果	序号	临床样本结果 -罗氏	临床样本测试 结果
1	6.41	6.50	21	26.59	28.34
2	6.87	6.71	22	32.59	34.18
3	7.19	8.12	23	32.81	30.15
4	8.98	8.42	24	33.06	30.44
5	10.53	9.51	25	36.02	37.89
6	12.27	14.26	26	37.14	33.73
7	13.25	12.01	27	37.39	38.74
8	13.38	10.15	28	37.64	39.22
9	14.19	15.58	29	40.52	43.31
10	14.68	13.02	30	43.16	40.83
11	15.12	16.48	31	45.59	43.18
12	16.66	17.21	32	48.20	46.15
13	18.75	16.49	33	52.64	57.30
14	19.79	18.14	34	52.69	50.15
15	20.48	23.11	35	53.53	52.83
16	20.88	20.54	36	55.69	52.33
17	21.04	24.77	37	61.37	55.29
18	22.01	25.99	38	63.72	59.81
19	25.27	29.26	39	69.17	73.55
20	25.91	24.02	40	77.15	76.98

[0035] 图6为TSH临床样本对比分析图,图7为FT3临床样本对比分析图,图8为FT4临床样本对比分析图。实验证明:本发明的多联检荧光免疫层析检测卡,在多个检测线上分别包被不同单克隆抗体或抗原,实现多种目标物同时检测的目的,对甲功三项(FT3/FT4/TSH)进行检测,可实现一次性对三个指标测试,抗体特异性好、不受背景干扰,提高甲状腺功能的早期诊断率。

[0036] 尽管已经示出和描述了本发明的实施例,对于本领域的普通技术人员而言,可以理解在不脱离本发明的原理和精神的情况下可以对这些实施例进行多种变化、修改、替换和变型,本发明的范围由所附权利要求及其等同物限定。

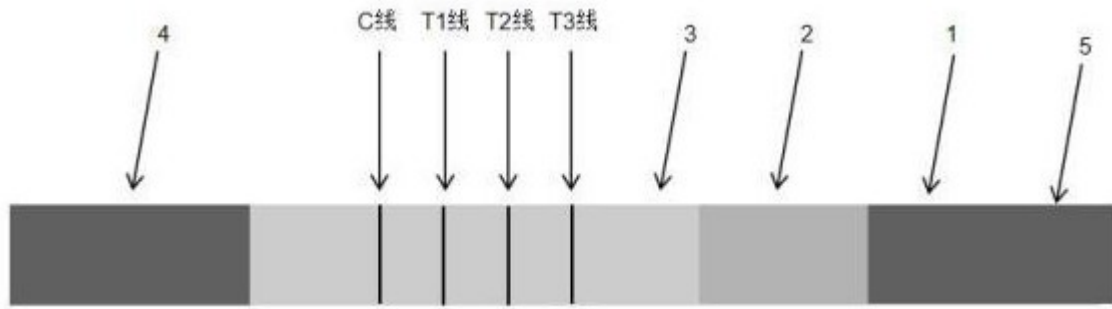


图 1

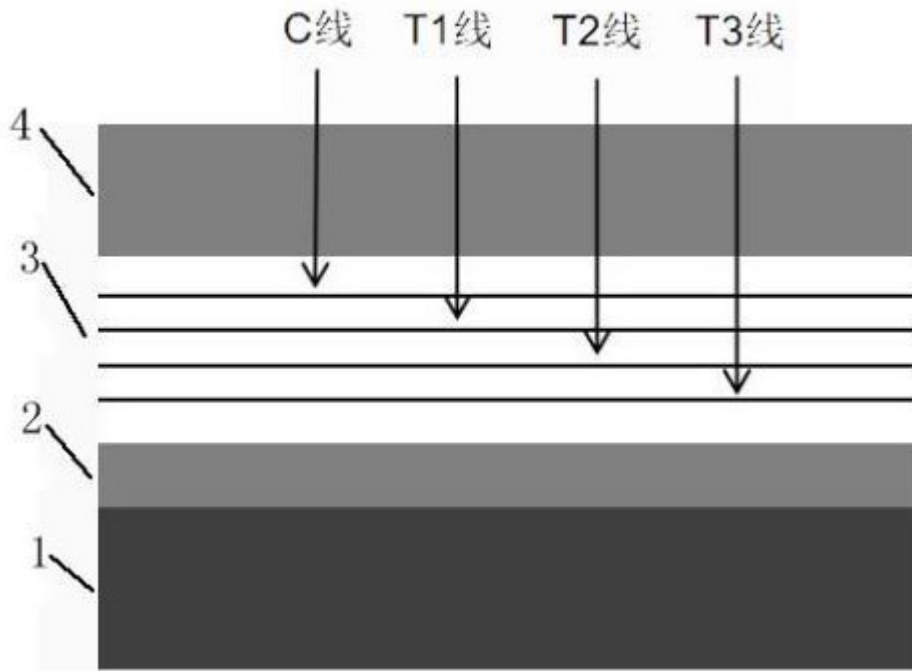


图 2

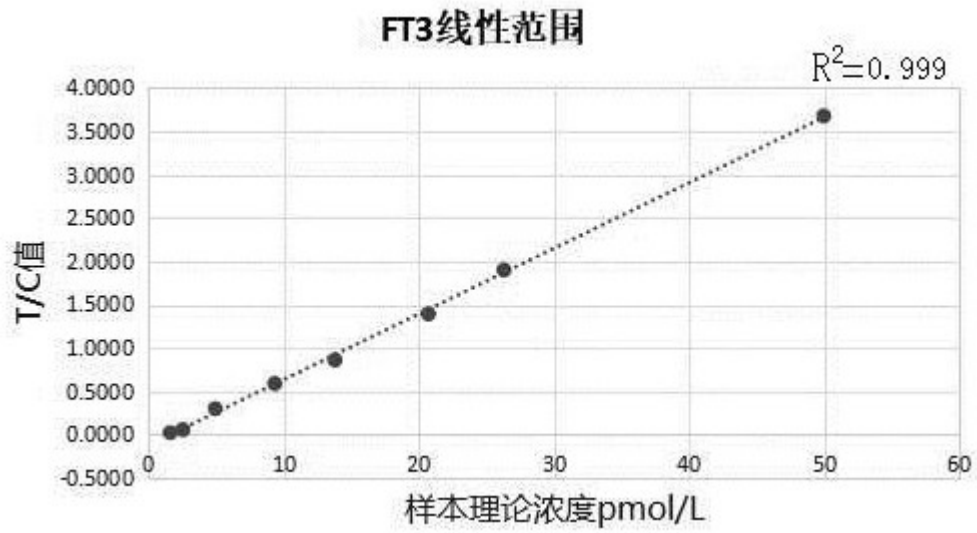


图 3

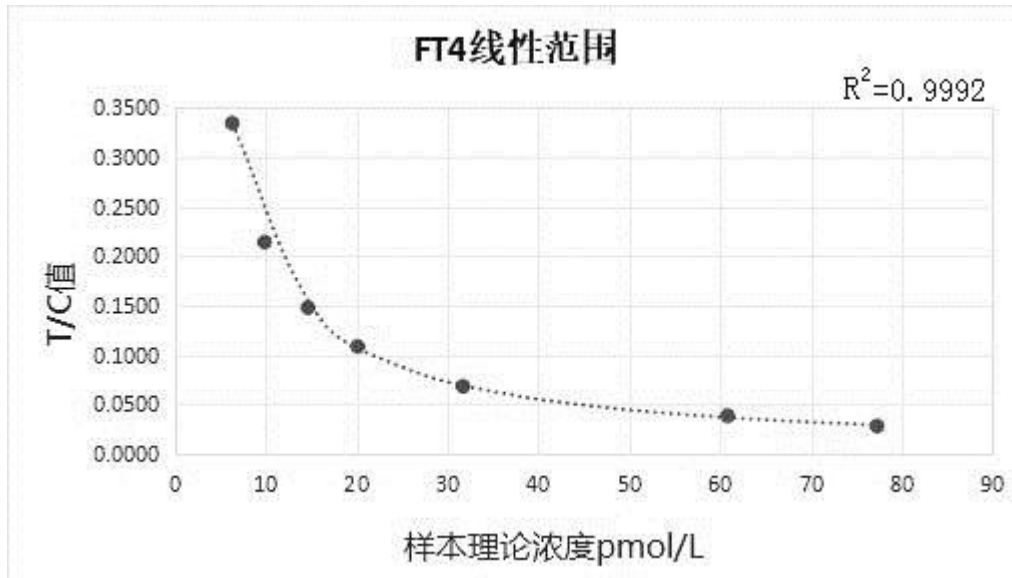


图 4

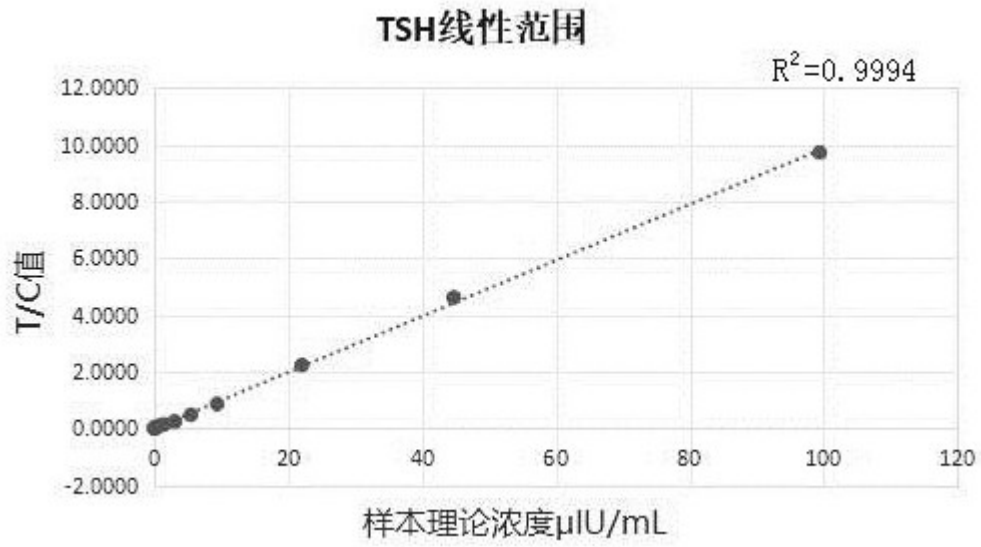


图 5

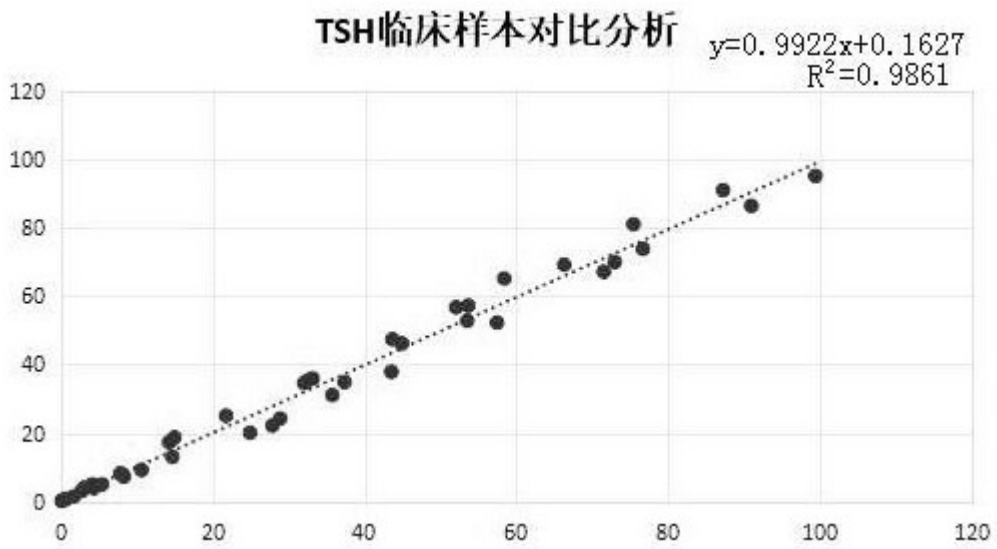


图 6

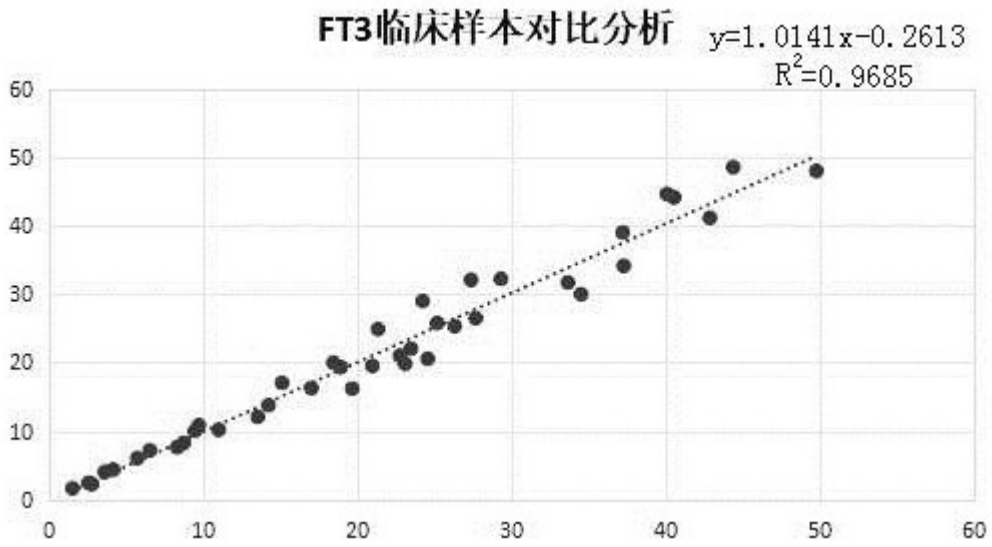


图 7

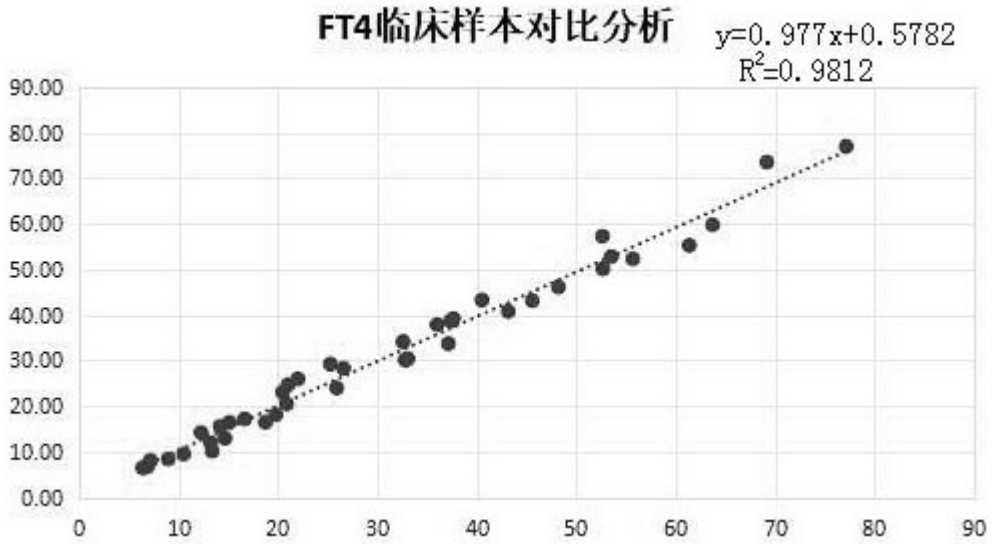


图 8