



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109799340 A

(43)申请公布日 2019.05.24

(21)申请号 201811491849.8

(22)申请日 2018.12.07

(71)申请人 中国农业科学院兰州兽医研究所  
地址 730046 甘肃省兰州市盐场堡徐家坪1号

(72)发明人 郭慧琛 侯凤萍 张韵 孙世琪  
张禹 白满元 茹嘉喜 靳野  
郭建宏 殷宏

(74)专利代理机构 兰州振华专利代理有限责任公司 62102

代理人 张晋

(51)Int.Cl.

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

权利要求书1页 说明书5页  
序列表2页 附图2页

(54)发明名称

一种O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸

(57)摘要

本发明公开一种用于快速、定量检测O型口蹄疫病毒的检测试纸。本发明的检测试纸,包括:不透水材料的底板、在不透水材料的底板上依次固定样品垫、结合垫、硝酸纤维膜构成的分析膜和吸水材料制成的吸水垫,其中:结合垫上添加偶联有稀土发光材料与金黄色葡萄球菌A蛋白的偶联物,在硝酸纤维素膜上分别用O型口蹄疫病毒样颗粒制出的检测线和用兔IgG制出的对照线。本发明用O型口蹄疫的病毒样颗粒作为捕获抗原,可对血清中的O型口蹄疫的抗体水平进行快速定量检测,既具有很好的免疫原性,又没有病毒散毒的威胁,对操作者和环境安全无害。

1. 一种O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸,包括:不透水材料的底板、在不透水材料的底板上依次固定样品垫、结合垫、硝酸纤维膜构成的分析膜和吸水材料制成的吸水垫,其中:样品垫与结合垫间、结合垫与硝酸纤维膜间、硝酸纤维素膜和吸水垫间相互重叠,形成良好连接,其特征在于:结合垫上添加偶联有稀土发光材料与金黄色葡萄球菌A蛋白的偶联物,在硝酸纤维素膜上分别用O型口蹄疫病毒样颗粒制出的检测线和用兔IgG制出的对照线。

2. 根据权利要求1所述的O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸,其特征在于结合垫采用玻璃纤维素,分析膜为硝酸纤维素。

3. 权利要求1或2所述O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸制备方法,其特征在于:

a. 偶联SPA的稀土发光材料的制备——在稀土发光材料中加入新配的N-羟基琥珀酰亚胺和新配的碳二亚胺,于室温反应1小时,离心分离后,沉淀物分散于水中,加金黄色葡萄球菌A蛋白,室温充分反应后离心分离,沉淀物重新分散后,加牛血清白蛋白封闭过夜,再经离心分离后,重新分散于保存液中,得到目的物;

b. 划膜——将O型口蹄疫病毒样颗粒和兔IgG分别稀释后用划膜仪分别在分析膜上中喷涂制成检测线和对照线;

c. 组装——将样品垫、结合垫、分析膜和吸水垫依次粘贴在带粘合剂的PVC底板上,组装成大卡片,再用切条机切割适用宽度的试纸条;

d. 封闭——配制含1%牛血清白蛋白,0.5% Tween 20的磷酸盐缓冲液,在切好的试纸条结合垫处加30  $\mu$ L封闭液,室温晾干后备用;

e. 结合——将偶联了SPA的稀土发光材料进行稀释,在试纸条的结合垫上加偶联的稀土发光材料,得到所述的O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸。

## 一种O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于快速、定量检测O型口蹄疫病毒的检测试纸。

### 背景技术

[0002] 口蹄疫(Foot-and-mouth disease, FMD)是由口蹄疫病毒(Foot-and-mouth disease virus, FMDV)引起的人兽共患的一种急性、热性、高度接触性传染病。口蹄疫病毒现有A、O、C型(欧洲型)、SAT1、SAT2、SAT3(非洲型)和Asia I型(亚洲型等)7个互无交叉免疫的血清型。在长期进化过程中,产生了许多突变株,目前已有80多种亚型,同一血清型内的不同亚型或分离株的抗原性皆有不同程度的差别,血清学交叉反应的程度也各不相同,这种特性给口蹄疫的诊断和防治带来极大的困难。从根本上控制口蹄疫的发生和流行,首先要加强对口蹄疫诊断学的研究,为控制口蹄疫疫病提供技术支持。

[0003] FMDV基因组由单股正链RNA组成,长度约为8500 bp,病毒核酸被衣壳蛋白包裹,形成正十二面体结构,该十二面体衣壳是由口蹄疫病毒的4个结构蛋白VP1、VP2、VP3和VP4各60个拷贝组成。口蹄疫病毒结构蛋白可以在体外环境中自组装形成不含病毒遗传物质的空衣壳,即病毒样颗粒(Virus-like particles, VLPs)。病毒样颗粒作为纳米级生物材料,具有良好的型特异性和免疫原性,表现出良好的应用潜力。

[0004] 用于口蹄疫的诊断方法主要有补体结合实验(CFT)、中和实验(NT)、免疫扩散实验(IDPT)、免疫荧光抗体实验(IFA)以及酶联免疫吸附测定(ELISA)。由于这些方法都需要较复杂的仪器设备和实验条件,且耗时较长。近些年发展了胶体金免疫层析的方法,组装成试纸条,实现病原或抗体的快速实时检测。胶体金免疫层析试纸通过肉眼观察,只能实现定性或半定量检测,所以需要开发一种用于口蹄疫病毒的快速定量检测方法。稀土发光材料具有发光信号强、荧光寿命长、无背景干扰和无光漂白的特点,利用其材料的优势应用于免疫层析试纸,提高口蹄疫免疫层析方法的灵敏性和准确性,从而实现FMDV抗体的实时定量检测。

### 发明内容

[0005] 本发明提供一种可克服现有技术不足,能快速、定量检测O型口蹄疫病毒的检测试纸。

[0006] 本发明的O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸,包括:不透水材料的底板、在不透水材料的底板上依次固定的吸水材料制成的样品垫、结合垫、硝酸纤维膜构成的分析膜和吸水材料制成的吸水垫,其中:样品垫与结合垫间、结合垫与硝酸纤维膜间、硝酸纤维素膜和吸水垫间相互重叠,形成良好连接。本发明的结合垫上添加偶联有稀土发光材料与金黄色葡萄球菌A蛋白(SPA)的偶联物,在硝酸纤维素膜上分别用O型口蹄疫病毒样颗粒制出的检测线和用兔IgG制出的对照线。

[0007] 优选地,本发明的O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸,其结合垫采用玻璃纤维,分析膜为硝酸纤维素。

[0008] 本发明的O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸制备方法是：

a. 偶联SPA的稀土发光材料的制备——在稀土发光材料中加入新配的N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)和新配的碳二亚胺(EDC)中,于室温反应1小时,离心分离后沉淀物分散于水中,加SPA,室温充分反应后离心分离,沉淀物重新分散后,加牛血清白蛋白BSA封闭过夜,再经离心分离后,重新分散于保存液中,得到目的物;

b. 划膜——将O型口蹄疫病毒样颗粒和兔IgG分别稀释后用划膜仪分别在分析膜上中喷涂制成检测线和对照线;

c. 组装——将样品垫、结合垫、分析膜和吸水垫依次粘贴在带粘合剂的PVC底板上,组装成大卡片,再用切条机切割适用宽度的试纸条;

d. 封闭——配制含1%牛血清白蛋白,0.5% Tween 20的磷酸盐缓冲液,在切好的试纸条结合垫处加30  $\mu$ L封闭液,室温晾干后备用;

e. 结合——将偶联了SPA的稀土发光材料进行稀释,在试纸条的结合垫上加偶联的稀土发光材料,得到所述的O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸。

[0009] 本发明具有如下优点:

本发明首次用O型口蹄疫的病毒样颗粒作为捕获抗原,建立了可检测O型口蹄疫的免疫层析试纸,可对血清中的O型口蹄疫的抗体水平进行快速定量检测;

本发明采用的病毒样颗粒具有与全病毒类似的完整结构,而不携带遗传物质RNA,具有很好的免疫原性,而不能复制,没有病毒散毒的威胁,对操作者和环境安全无害、无传染性;

本发明用金黄色葡萄球菌A蛋白与稀土发光材料偶联,可用于猪、牛、羊等多种家畜O型口蹄疫抗体的检测,而不局限于某种具体的家畜O型口蹄疫的检测;

本发明敏感性高、特异性和可重复性好,结果稳定,可应用于O型口蹄疫的抗体水平的监测,了解偶蹄类家畜O型口蹄疫抗体的状况;

本发明应用大肠杆菌表达系统具有经济、廉价的优点。

## 附图说明

[0010] 图1为本发明检测试纸的结构图,图中右图为本发明试纸的主视位置示意图,左图是右图的剖面示意图,其中:1为底板,2为样品吸收垫,3为结合垫,4为硝酸纤维膜,5为吸水垫。

[0011] 图2为试纸对受试样品阴性样品和阳性样品检测的结果。

[0012] 图3为荧光信号对FMDV抗体浓度的响应标准曲线。

[0013] 图4为样本猪血清和牛血清的测试结果,其中:a为猪血清,b为牛血清。

## 具体实施方式

[0014] 以下是本发明的具体实施方式。

[0015] 1.O型口蹄疫病毒VLPs的制备

### 1) 重组VLPs蛋白的表达

将由本实验室保存的阳性重组质粒pSMK-VP0,pSMK-VP3和pSMA-VP1的共转化的感受态细胞 BL21 (DE3)-RIL 表达菌按1:100的比例接种到含有10 $\mu$ g/mL卡那霉素、50 $\mu$ g/mL氨苄青霉素和25 $\mu$ g/mL氯霉素的经高压灭菌的新鲜LB液体培养基中,在37 $^{\circ}$ C、220 r/min摇床上过

夜培养。将过夜培养的的表达菌接种含有10 $\mu$ g/mL卡那霉素、50 $\mu$ g/mL氨苄青霉素和25 $\mu$ g/mL氯霉素的经高压灭菌的新鲜LB液体培养基中,在37 $^{\circ}$ C、220r/min摇床上摇至菌液OD600值为0.8左右。加入终浓度为0.5mmol/L的IPTG(异丙基- $\beta$ -D-硫代半乳糖苷),并于16 $^{\circ}$ C条件下诱导16h收集菌体,超声破碎、离心收集上清。

[0016] 本发明所述的VP0、VP1和优化的VP3的基因序列及其制备方法已经完全公开于申请号为2016109292790中国发明专利申请中,其序列分别为SEQ ID No.1、SEQ ID No. 2和SEQ ID No.3。

#### [0017] 2) 重组VLPs蛋白的亲亲和层析纯化

收集的上清与Ni<sup>2+</sup>亲和层析树脂的层析柱结合1h。先用10个柱体积Buffer A洗液(20mM Tris-HCl,500mM NaCl,20mM咪唑,3%TritonX-100,pH 8.0)洗脱杂蛋白,然后用漂洗液洗脱与Ni<sup>2+</sup>柱非特异性结合的杂蛋白。用 Buffer B洗液(20mM Tris-HCl, 500mM NaCl, 500mM咪唑,3%TritonX-100, pH 8.0)将目的蛋白洗脱,收集洗脱液,然后用SDS-PAGE电泳实验鉴定得到的蛋白。测定蛋白浓度后于-80 $^{\circ}$ C保存备用。

#### [0018] 3) 病毒样颗粒VLPs的体外制备

将纯化好带有His-SUMO标签的蛋白与SUMO酶按100:1的比例装入透析袋中,混匀后加入到截留分子量为8 kD的透析袋中,4 $^{\circ}$ C过夜透析,切除标签蛋白。将切除标签蛋白的样品装入截留分子量为8 kD的透析袋中,透析袋置于500 ml组装Buffer (250 mmol / L NaCl, 20 mmol/L Tris-HCl 20 mmol / L Imidazole,1 mmol/L CaCl<sub>2</sub>,2 mmol/L DTT,0.1% Triton X-100,pH 8.4)中,切除SUMO标签的结构蛋白自行组装为VLPs。收集组装后的VLPs,进行SDS-PAGE和Western blot鉴定,可见VP0、VP1和VP3的清晰条带;通过透射电镜(TEM)观察,制备的VLPs成球形,大小在20-40 nm,确定得到的蛋白是O型口蹄疫病毒的VLPs。

#### [0019] 2. IgG的制备、纯化

##### 1) 高免血清的制备

将4只实验兔分为两组,A组(3只)为实验组,B组(1只)为对照组。第一次免疫,将纯化后的O型口蹄疫病毒样颗粒(VLPs)用PBS稀释成0.2mg/ml,与等体积的弗氏完全佐剂混合并完全乳化后免疫健康家兔,于脊部皮下肌肉多点注射,每只免疫1ml;隔14d进行第2次免疫,佐剂为弗氏不完全佐剂,方法剂量同上。隔14d后进行第三次免疫,佐剂为弗氏不完全佐剂,方法剂量同第2次免疫相同。隔14d后进行第4次免疫,佐剂为弗氏完全佐剂,方法剂量同上。每次免疫前于耳缘静脉处采血,用O型口蹄疫液相阻断ELISA试剂盒测定效价。最后一次抗原免疫后第14d,从兔心脏采血,分离血清,经离心去掉细胞等组织碎片后,分装待用。

##### [0020] 2) IgG的纯化

饱和硫酸铵沉淀法和Protein A亲和层析法分离纯化IgG:

在10mL抗血清中加入等体积的PBS,边搅拌边滴加5mL的饱和硫酸铵,搅拌20min后4 $^{\circ}$ C静置30min。3500rpm离心30min,弃去沉淀,留下上清。在上清中边搅拌边滴加等体积的饱和硫酸铵,搅拌20min后4 $^{\circ}$ C静置30min。3500rpm离心30min,弃去上清,收集沉淀,将沉淀用PBS溶解至10mL,边搅拌边滴加5.4 mL饱和硫酸铵,同上操作,重复3次。将沉淀用PBS溶解,装入透析袋中,置于20倍体积的PBS溶液(pH值8.0)中,4 $^{\circ}$ C透析24 h,每隔3-6 h换液。收集脱盐后的抗体溶液,用0.22 $\mu$ m的滤膜过滤。将Protein A亲和层析柱固定于蛋白纯化仪,用10倍体积的超纯水清洗,再用10倍体积0.02 mol/L pH=7.4的磷酸盐缓冲液平衡柱床;洗出液的

盐浓度、pH值与起始缓冲液相同时,用注射器将1mL经饱和硫酸铵法分离的IgG样品注入。用10倍柱体积的0.02 mol/L pH=7.4的磷酸盐缓冲液洗脱杂蛋白。用6倍体积的0.1 mol/L pH=3.0的柠檬酸盐缓冲液洗脱IgG,收集样品,每管0.5 mL,在每管中加入50  $\mu$ L的1 mol/L pH=9.0的Tris-HCL缓冲液。取血清和纯化后的IgG进行SDS-PAGE电泳,凝胶染色,脱色,确定得到纯的IgG。

### [0021] 3. 免疫层析试纸的组装及使用

#### 1) 稀土发光材料与金黄色葡萄球菌A蛋白(SPA)的偶联

取100  $\mu$ L稀土发光材料(10mg/mL),加80 $\mu$ L新配的N-羟基琥珀酰亚胺NHS(20mg/mL)和40 $\mu$ L新配的碳二亚胺EDC(20mg/mL),加水至1 mL,于室温旋转反应1小时。离心分离后,沉淀物分散于水中,加80  $\mu$ L SPA,室温旋转反应10小时;离心分离,沉淀物重新分散后,加牛血清白蛋白BSA封闭过夜。离心分离后,重新分散于保存液中,即得偶联蛋白SPA的稀土发光材料,冷藏保存备用。

[0022] 2) 划膜。将制备的VLPs稀释至0.4 mg/mL,兔IgG稀释至1mg/mL。用专用划膜喷金仪在硝酸纤维素膜上划膜,VLPs作为检测线,兔IgG作为对照线,划膜量为0.5  $\mu$ L/cm,分析膜于室温放置晾干备用。

[0023] 3) 组装。将样品垫、结合垫、分析膜和吸水垫依次粘贴在带粘合剂的PVC底板上,组装成大卡片。然后用切条机切割成3mm宽的试纸条。

[0024] 4) 封闭。配制含1%牛血清白蛋白(BSA),0.5% Tween 20的磷酸盐缓冲液(10 mmol, pH=7.4)。在切好的试纸条结合垫处加30  $\mu$ L封闭液,室温晾干后备用。

[0025] 5) 结合垫。将偶联了SPA的稀土发光材料稀释至0.1 mg/mL。在试纸条的结合垫上加5  $\mu$ L偶联的稀土发光材料。

[0026] 6) 装壳。将试纸条装入塑料壳中。

### [0027] 免疫层析试纸的结构

如附图1所示,免疫层析试纸包括PVC底板、样品垫、结合垫、分析膜和吸水垫。带有粘合剂的PVC底板上依次粘贴玻璃纤维作为样品垫,用于添加样品;玻璃纤维作为结合垫,用于添加偶联金黄色葡萄球菌A蛋白(SPA)的稀土发光材料;硝酸纤维素膜作为分析膜,在上面包被抗原VLPs和兔IgG,分别作为检测线和对照线;高密度纤维素作为吸水垫,通过毛细作用实现样液在试纸条上持续流动。将试纸条装配在塑料外壳中,外壳上对应样品垫位置设置加样孔,对应分析膜位置设置可视窗可观察到检测线和对照线。

[0028] 附图1为本发明的试纸示意图,试纸条的规格为6cm  $\times$  3mm。塑料外壳尺寸为7cm  $\times$  2cm。

[0029] 本发明的试纸使用方法是:将样本血清用样品稀释液50:1稀释后,取50  $\mu$ L至加样孔处的样品垫上,通过吸水垫和微孔膜的毛细作用,样品在分析膜上进行移动,直至吸水垫的位置。在避免强光照射的条件下层析15min后,在测试仪上进行检测,记录检测线和对照线的荧光信号。由图2可见,本发明的试纸条对阴性试样检测后,其质控线C峰值较高,而检测线T值较低;对阳性试样检测后结果则与前述相反,其质控线C峰值较低,而检测线T峰值明显较高,阴性与阳性差别非常显著。本发明的荧光信号对FMDV抗体浓度的标准曲线参见图3,将未知样通过免疫层析试纸测试,根据得到信号值T/C,带入标准曲线,即可得出抗体的浓度。

[0030] 制备O型口蹄疫病毒抗体免疫层析试纸标准曲线。将标准阴性血清用稀释液50:1稀释后,分别添加O型口蹄疫抗体至终浓度为0.05, 0.1,0.5, 5,10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。将不同浓度的标准液分别加入试纸条的加样孔内,15min后,在测试仪上进行检测,将得到的结果线性回归作标准曲线。标准曲线参见图3。将测试样本信号值T/C值带入标准曲线即可得出样本的抗体浓度。该定量免疫层析试纸可用于口蹄疫抗体的定量检测。抗体浓度低至50  $\text{ng}/\text{mL}$ 时,依然可用层析试纸条可检出(敏感性);通过平行3次试验,得出结果基本相同(可重复性);该免疫层析法通过对口蹄疫A型病毒、口蹄疫亚洲I型病毒、猪蓝耳病毒、猪瘟病毒阳性血清测试发现,没有交叉反应(特异性);试纸条加样后,在不同时间进行测试,发现结果在1个月内没有明显差异(稳定性)。在具体应用中,每一批免疫层析试纸需要对应一条标准曲线。

[0031] 图4为猪血清和牛血清的测试结果,其中图4为阳性猪血清和阳性牛血清的测试结果。测试结果表明其背景均较低,能明显看出检测线的峰值高于质控线的峰值,均符合阳性结果。

## 序列表

- <110> 中国农业科学院兰州兽医研究所  
 <120> 一种O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸  
 <160> 3  
 <170> SIPOSequenceListing 1.0  
 <210> 1  
 <211> 909  
 <212> DNA  
 <213> O型口蹄疫病毒的结构蛋白基因和 (VP0)  
 <400> 1

```

gggtgcgggcc agtcatctcc ggcgacgggt tcccagaatc aatcaggcaa cacgggttcc 60
atcatcaaca actactacat gcaacagtat cagaacagtg tggatacca actgggcgac 120
aacgcggttt caggcggttc gaatgaaggt agtaccgaca ccacgtccac gcataccacg 180
aataaccaga acaatgattg gtttagcaaa ctggcaagct ctgctttttc tggcctgttc 240
gggtgcgctgc tggccgacaa aaagaccgaa gaaaccacgc tgctggaaga tcgtattctg 300
accacgcgca acggccatac cacgagtacc acgcagagtt ccgtcggcat cacgcacggt 360
tacgcgaccg ccgaagattt cgtgtcaggc ccgaatacgt cgggtctgga aaccctgtgtg 420
gttcaagccg aacgcttttt caaaacgcac ctgtttgatt gggtagacctc cgacccttcc 480
ggtcgttgct atctgctgga actgccgacg gatcacaagg gcgtttacgg tagcctgacc 540
gactcttatg cgtacatgcg caacggctgg gatgtggaag ttaccgccgt gggtaccag 600
tttaatggcg gttgcctgct ggttgcaatg gtcttggaa tgtgttctat tgaacgtcgc 660
gaactgttcc agctgaccct gttccgcat caattcatta acccgctac caatatgacg 720
gctcacatca aagttccggt tgcggcgctg aaccgctatg atcagtacaa agtccacaag 780
ccgtggacc c tggctcgtgat gttgtcgca ccgctgaccg ttaatacga aagcgtccg 840
caaatcaagg tgtatgcaa tatcgccccg acgaatgtcc acgttgctgg tgaatttccg 900
agtaaagaa 909

```

- <210> 2  
 <211> 639  
 <212> DNA  
 <213> O型口蹄疫病毒的结构蛋白基因 (VP1)  
 <400> 2

```

accaccagca cgggcgaatc ggccagatccg gttacggcaa cggtcgaaaa ctaccggcggc 60
gaaacgcagg ttcaacgtcg tcatcatacc gatgttagct ttattctgga ccgtttcgtg 120
aaagttacgc cgaaggattc tatcaacgtc ctggacctga tgcagacccc gccgcatacc 180
ctgggtgggcg cactgctgcg caccgccacg tattactttg cagatctgga agtcgctgtg 240
aaacacgaag gcgacctgac ctgggtcccc aatggtgcac cggaagcagc actggataac 300
accacgaatc cgacggcata tcataaagct ccgctgaccg gtctggcact gccgtacacg 360
gccccgcacc gtgttctggc aaccgtctat aacggcaatt gcaaatacgc tggcggtagt 420

```

ctgccgaacg tgcgtggtga tctgcaggtt ctggcccaaa aggcagcttg gccgctgccg 480  
accagcttca attatggtgc gattaaagcc acccgtgtga cggaactgct gtatcgtatg 540  
aagcgtgcag aaacctactg tccgcgtccg ctgctggcag tccaccgctc cgcagcacgc 600  
cataagcaaa aaatcgtcgc cccggtcaaa caaagtctg 639

<210> 3

<211> 618

<212> DNA

<213> O型口蹄疫病毒的结构蛋白基因 (VP3)

<400> 3

ggtatcttcc cggtagcgtg tagcgatggt tacggtggcc tggtagcagc ggacccgaaa 60  
acggcagacc cgggtgatgg caaagttttt aaccgcgcgc gtaatctgct gccgggtcgc 120  
ttcaccaacc tgctggatgt tgccgaagca tgcccagcgt ttctgcattt cgatggcgac 180  
gtgccgtatg ttaccacgaa aaccgattcg gaccgtgtcc tggcccagtt tgacctgtcc 240  
ctggcggcca agcatatgtc aaacaccttc ctggctggcc tggcgcagta ttacacccaa 300  
tacagcggta cggatgaatc gcactttatg ttcaccggcc cgacggatgc taaagcgcgc 360  
tatatgattg cctacgcacc gccgggtatg gaaccgcaa agaccccgga agcagctgcg 420  
cattgcattc acgcggaatg ggacaccggc ctgaacagca aatttacgtt ctctatcccg 480  
tatctgagtg ccgcagatta tgcctacacc gcaagtgcgc ctgcggaaac cacgaatgtc 540  
cagggttggg tgtgtctggt tcaaatcacg cacggcaagg attttgaact gcgtctgccg 600  
gttgatgccc gtcagcaa 618

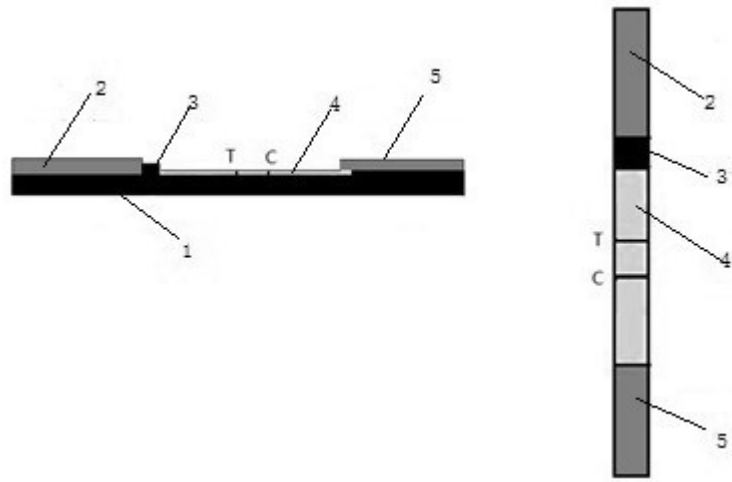


图 1

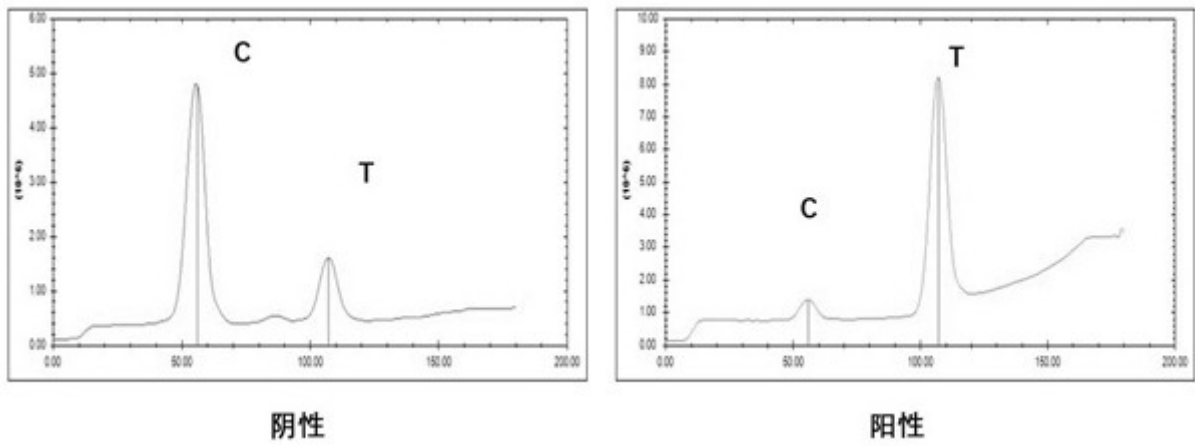


图 2

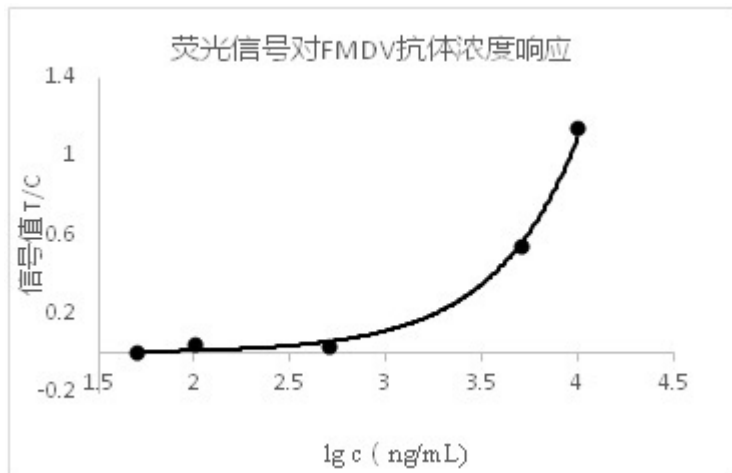


图 3

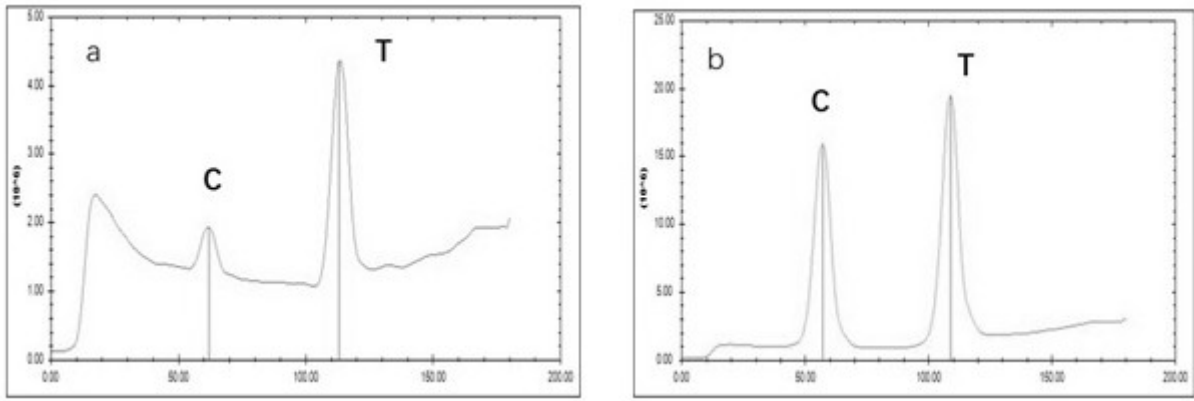


图 4

专利名称(译)	一种O型口蹄疫病毒的快速定量检测试纸		
公开(公告)号	<a href="#">CN109799340A</a>	公开(公告)日	2019-05-24
申请号	CN201811491849.8	申请日	2018-12-07
[标]申请(专利权)人(译)	中国农业科学院兰州兽医研究所		
申请(专利权)人(译)	中国农业科学院兰州兽医研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国农业科学院兰州兽医研究所		
[标]发明人	郭慧琛 张韵 孙世琪 张禹 白满元 茹嘉喜 靳野 郭建宏 殷宏		
发明人	郭慧琛 侯凤萍 张韵 孙世琪 张禹 白满元 茹嘉喜 靳野 郭建宏 殷宏		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/558 G01N33/533		
代理人(译)	张晋		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开一种用于快速、定量检测O型口蹄疫病毒的检测试纸。本发明的检测试纸，包括：不透水材料的底板、在不透水材料的底板上依次固定样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜构成的分析膜和吸水材料制成的吸水垫，其中：结合垫上添加偶联有稀土发光材料与金黄色葡萄球菌A蛋白的偶联物，在硝酸纤维素膜上分别用O型口蹄疫病毒样颗粒制出的检测线和用兔IgG制出的对照线。本发明用O型口蹄疫的病毒样颗粒作为捕获抗原，可对血清中的O型口蹄疫的抗体水平进行快速定量检测，既具有很好的免疫原性，又没有病毒散毒的威胁，对操作者和环境安全无害。

