



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109991416 A

(43)申请公布日 2019.07.09

(21)申请号 201910186156.6

(22)申请日 2019.03.12

(71)申请人 江苏伯纳德生物科技发展有限公司

地址 211300 江苏省南京市高淳区古柏镇
双高路86-1号、-12号

(72)发明人 孙伟

(74)专利代理机构 北京盛凡智荣知识产权代理
有限公司 11616

代理人 许羽冬

(51)Int.Cl.

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

权利要求书1页 说明书8页

(54)发明名称

一种免疫层析法检测试剂盒及其制备方法

(57)摘要

本发明涉及一种免疫层析法检测试剂盒,包括反应板、PBS缓冲液、水痘病毒抗原、羊抗鼠IgG抗体、胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液和塑料卡,所述反应板由NC膜、玻璃纤维素膜、吸水纸以及样品垫装配而成;本发明水痘病毒抗体免疫层析法检测试剂盒具有快速、简便、准确和灵敏度高的特点,整个操作时间仅需20分钟就可判读结果,不需要辅助仪器,可直接肉眼观察结果,适用范围广,可单份检测,易于对水痘疫苗接种后效果进行评价。

1. 一种免疫层析法检测试剂盒,其特征在于,包括反应板、PBS缓冲液、水痘病毒抗原、羊抗鼠IgG抗体、胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液和塑料卡,所述反应板由NC膜、玻璃纤维素膜、吸水纸以及样品垫装配而成。

2. 根据权利要求1所述的一种免疫层析法检测试剂盒,其特征在于:所述PBS缓冲液为0.05mol/L PH值在7.30~7.50的PBS缓冲液,按照100ml量计由 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 1.45g、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.148g、NaCl 0.85g加纯化水80.00mL制得,其电导率在 $9000\mu\text{S}/\text{cm} \sim 13000\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

3. 根据权利要求1所述的一种免疫层析法检测试剂盒,其特征在于:所述胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液按照100mL量计采用如下步骤制得:

(1) 取100mL胶体金于三角瓶中,加入0.1M碳酸钾溶液1.7mL,混匀,静置10min;

(2) 取鼠抗人IgG单抗3mg,快速搅拌下,将鼠抗人IgG单抗逐滴加入到三角瓶中,室温静置40min;

(3) 取10%牛血清白蛋白溶液10mL,快速搅拌下逐滴加入到三角瓶中,室温静置15min;

(4) 将步骤(3)中所得溶液在10000rpm,4℃下离心30min,弃去上清液,再加入胶体金结合物稀释液至100mL,在2~8℃下保存备用,得胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液。

4. 根据权利要求3所述的一种免疫层析法检测试剂盒,其特征在于:所述胶体金按照100mL量计由1%氯金酸溶液1mL、1%柠檬酸三钠溶液1.4mL,其余为纯化水制得。

5. 根据权利要求4所述的一种免疫层析法检测试剂盒,其特征在于:所述胶体金结合物稀释液按照100mL量计由三羟甲基氨基甲烷0.1211g、蔗糖2g、PVP-10 1g、牛血清白蛋白2g、吐温-20 0.5mL、纯化水80mL以及适量盐酸制得,pH值控制在8.6~8.8之间。

6. 一种如权利要求1~5任一所述的免疫层析法检测试剂盒的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

a) 检测线包被液的制备,按10mL量计,取水痘病毒抗原10mg,加入到PBS缓冲液中并定容至10mL,充分混匀15min,使水痘病毒抗原的终浓度为1.0mg/mL即得;

b) 质控线包被液的制备,按10mL量计,取羊抗鼠IgG抗体20mg,加入到PBS缓冲液中,并定容至10mL,充分混匀15min,使羊抗鼠IgG抗体的终浓度为2.0mg/mL即得;

c) 用金标划线机将步骤a)与步骤b)中所得的两种包被液划到NC膜上并干燥,得划线NC膜;

d) 用胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液按 $60\mu\text{L}/\text{m}^2$ 浸泡涂抹玻璃纤维素膜制成金标垫,干燥后保存备用;

e) 将划线NC膜、金标垫、吸水纸、样品垫整装后用切条机切成4mm的试纸条,并装入塑料卡中得试剂卡,将试剂卡装入铝箔袋后装盒即得试剂盒。

一种免疫层析法检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术领域,具体来说是涉及一种免疫层析法检测试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 水痘是由水痘-带状疱疹病毒初次感染引起的急性传染病。主要发生在婴幼儿和学龄前儿童,成人发病症状比儿童更严重。以发热及皮肤和黏膜成批出现周身性红色斑丘疹、疱疹、痂疹为特征,皮疹呈向心性分布,主要发生在胸、腹、背,四肢很少。冬春两季多发,其传染力强,水痘患者是惟一的传染源,自发病前1~2天直至皮疹干燥结痂期均有传染性,接触或飞沫吸入均可传染,易感儿发病率可达95%以上。该病为自限性疾病,一般不留瘢痕,如合并细菌感染会留瘢痕,病后可获得终身免疫,有时病毒以静止状态存留于神经节,多年后感染复发而出现带状疱疹。

[0003] 接种水痘疫苗是预防水痘最安全、有效的方法。水痘疫苗是经水痘病毒传代毒株制备而成,是预防水痘感染的唯一手段。接种水痘疫苗不仅能预防水痘,还能预防因水痘带状疱疹而引起的并发症。接种疫苗的目的是让受种者产生相关传染疾病的保护性抗体,而不易感染相关传染疾病。当所产生的抗体达到最低保护滴度(含)以上,就会被成功保护。

发明内容

[0004] 本发明的目的是为了提供一种新的适用于水痘病毒抗体的检测,并用于接种水痘疫苗后的效果评价,为临床判定提供依据的免疫层析法检测试剂盒及其制备方法。

[0005] 为实现上述目的,本发明的技术方案如下:

[0006] 一种免疫层析法检测试剂盒,其特征在于,包括反应板、PBS缓冲液、水痘病毒抗原、羊抗鼠IgG抗体、胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液和塑料卡,所述反应板由NC膜、玻璃纤维素膜、吸水纸以及样品垫装配而成。

[0007] 作为优选的技术方案,所述PBS缓冲液为0.05mol/L PH值在7.30~7.50的PBS缓冲液,按照100ml量计由 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 1.45g、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.148g、NaCl 0.85g加纯化水80.00mL制得,其电导率在 $9000\mu\text{S}/\text{cm}$ ~ $13000\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

[0008] 作为优选的技术方案,所述胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液按照100mL量计采用如下步骤制得:

[0009] (1)取100mL胶体金于三角瓶中,加入0.1M碳酸钾溶液1.7mL,混匀,静置10min;

[0010] (2)取鼠抗人IgG单抗3mg,快速搅拌下,将鼠抗人IgG单抗逐滴加入到三角瓶中,室温静置40min;

[0011] (3)取10%牛血清白蛋白溶液10mL,快速搅拌下逐滴加入到三角瓶中,室温静置15min;

[0012] (4)将步骤(3)中所得溶液在10000rpm,4℃下离心30min,弃去上清液,再加入胶

体金结合物稀释液至100mL,在2~8℃下保存备用,得胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液。

[0013] 作为优选的技术方案,所述胶体金按照100mL量计由1%氯金酸溶液1mL、1%柠檬酸三钠溶液1.4mL,其余为纯化水制得。

[0014] 作为优选的技术方案,所述胶体金结合物稀释液按照100mL量计由三羟甲基氨基甲烷 0.1211g、蔗糖2g、PVP-101g、牛血清白蛋白2g、吐温-200.5mL、纯化水80mL以及适量盐酸制得,pH值控制在8.6~8.8之间。

[0015] 一种免疫层析法检测试剂盒的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

[0016] a) 检测线包被液的制备,按10mL量计,取水痘病毒抗原10mg,加入到PBS缓冲液中并定容至10mL,充分混匀15min,使水痘病毒抗原的终浓度为1.0mg/mL即得;

[0017] b) 质控线包被液的制备,按10mL量计,取羊抗鼠IgG抗体20mg,加入到PBS缓冲液中,并定容至10mL,充分混匀15min,使羊抗鼠IgG抗体的终浓度为2.0mg/mL即得;

[0018] c) 用金标划线机将步骤a)与步骤b)中所得的两种包被液划到NC膜上并干燥,得划线NC膜;

[0019] d) 用胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液按 $60\mu\text{L}/\text{m}^2$ 浸泡涂抹玻璃纤维素膜制成金标垫,干燥后保存备用;

[0020] e) 将划线NC膜、金标垫、吸水纸、样品垫整装后用切条机切成4mm的试纸条,并装入塑料卡中得试剂卡,将试剂卡装入铝箔袋后装盒即得试剂盒。

[0021] 进一步,本试剂盒采用胶体金免疫层析法,含有水痘病毒IgG抗体的待测样品加到试纸条的样品垫上后,通过毛细作用向前移动,溶解金标垫上的胶体金标记的鼠抗人IgG抗体后相互反应,再移动至固定在NC膜的水痘病毒抗原区域反应形成金标记免疫复合物而被截留,聚集在检测带上,通过可目测的胶体金标记物检测人血清或血浆中的水痘病毒IgG抗体。

[0022] 本发明的有益效果为:水痘病毒抗体免疫层析法检测试剂盒具有快速、简便、准确和灵敏度高的特点,整个操作时间仅需20分钟就可判读结果,不需要辅助仪器,可直接肉眼观察结果,适用范围广,可单份检测,易于对水痘疫苗接种后效果进行评价。

具体实施方式

[0023] 为使对本发明的结构特征及所达成的功效有更进一步的了解与认识,用以较佳的实施例详细的说明,说明如下:

[0024] 一种免疫层析法检测试剂盒,包括反应板、PBS缓冲液、水痘病毒抗原、羊抗鼠IgG抗体、胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液和塑料卡,所述反应板由NC膜、玻璃纤维素膜、吸水纸以及样品垫装配而成。

[0025] 在本实施例中,PBS缓冲液为0.05mol/L PH值在7.30~7.50的PBS缓冲液,按照100mL量计由 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 1.45g、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.148g、NaCl 0.85g加纯化水80.00mL制得,其电导率在 $9000\mu\text{S}/\text{cm}$ ~ $13000\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

[0026] 在本实施例中,胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液按照100mL量计采用如下步骤制得:

[0027] (1) 取100mL胶体金于三角瓶中,加入0.1M碳酸钾溶液1.7mL,混匀,静置10min;

[0028] (2) 取鼠抗人IgG单抗3mg,快速搅拌下,将鼠抗人IgG单抗逐滴加入到三角瓶中,

室温静置40min;

[0029] (3) 取10%牛血清白蛋白溶液10mL,快速搅拌下逐滴加入到三角瓶中,室温静置15min;

[0030] (4) 将步骤(3)中所得溶液在10000rpm,4℃下离心30min,弃去上清液,再加入胶体金结合物稀释液至100mL,在2~8℃下保存备用,得胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液。

[0031] 在本实施例中,胶体金按照100mL量计由1%氯金酸溶液1mL、1%柠檬酸三钠溶液1.4mL,其余为纯化水制得。

[0032] 在本实施例中,胶体金结合物稀释液按照100mL量计由三羟甲基氨基甲烷0.1211g、蔗糖2g、PVP-101g、牛血清白蛋白2g、吐温-200.5mL、纯化水80mL以及适量盐酸制得,pH值控制在8.6~8.8之间。

[0033] 一种免疫层析法检测试剂盒的制备方法,包括以下步骤:

[0034] a) 检测线包被液的制备,按10mL量计,取水痘病毒抗原10mg,加入到PBS缓冲液中并定容至10mL,充分混匀15min,使水痘病毒抗原的终浓度为1.0mg/ml即得;

[0035] b) 质控线包被液的制备,按10mL量计,取羊抗鼠IgG抗体20mg,加入到PBS缓冲液中,并定容至10mL,充分混匀15min,使羊抗鼠IgG抗体的终浓度为2.0mg/mL即得;

[0036] c) 用金标划线机将步骤a)与步骤b)中所得的两种包被液划到NC膜上并干燥,得划线NC膜;

[0037] d) 用胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液按60 μ l/m²浸泡涂抹玻璃纤维素膜制成金标垫,干燥后保存备用;

[0038] e) 将划线NC膜、金标垫、吸水纸、样品垫整装后用切条机切成4mm的试纸条,并装入塑料卡中得试剂卡,将试剂卡装入铝箔袋后装盒即得试剂盒。

[0039] 在检测时,取出试剂卡,放在水平工作台上平置并做好样本标记,用加样器取50 μ l血清或者血浆样品,直接加入到加样孔中,再滴加样本稀释液2滴。15-25分钟内判读结果,25分钟后检验结果无效;对比检验结果:(1)、阳性:在质控区及检测区均出现紫红色条带。(2)、阴性:只在质控区出现一条紫红色条带。(3)、无效:质控区(C)未出现紫红色条带,表明不正确的操作过程或试剂已变质损坏,实验无效。

[0040] 在本实施例中,生产工艺条件的确定做了如下实验:

[0041] 1.胶体金颗粒的选择

[0042] 1.1原理:根据煮沸条件下氯金酸与柠檬酸三钠发生氧化还原反应制备胶体金。通过调节氯金酸和柠檬酸三钠的加入比例来改变和控制胶体金的颗粒大小。

[0043] 1.2制备方法

[0044] 在100ml双蒸水中加入1%氯金酸溶液1ml煮沸,在搅拌条件下加入不同量的1%柠檬酸三钠溶液,继续煮沸5分钟以制备不同大小的胶体金颗粒,自然冷却待用。用不同大小的胶体金标记鼠抗人IgG单克隆抗体,以企业内部质控品为研究材料进行检测,结果详见表1,表2。

[0045] 表1.1%柠檬酸三钠用量的选择实验——胶体金颗粒大小的选择(1)

[0046]

液体加入顺序	单位	胶体金溶液编号			
		1	2	3	4
双蒸水	ml	100	100	100	100

[0047]

1%氯金酸	ml	1	1	1	1
1%柠檬酸三钠	ml	1	1.4	1.8	2.0
胶体金外观	颜色	紫色透亮	紫红透亮	鲜红透亮	橙红透亮
波峰范围	nm	548	535	525	518

[0048] 表2. 内部质控品检测结果——胶体金颗粒大小的选择 (2)

[0049]

胶体金溶液编号	检测结果					
	P1	P2	P3	N1	N2	N3
1	+++	++	+	-	±	-
2	+++	++	+	-	-	-
3	++	+	-	-	-	-
4	++	±	-	-	-	-

[0050] 结果分析:表1、表2可以看出,2号胶体金溶液颜色紫红、透亮,无混浊及漂浮物,标记后的胶体金抗体其敏感性、特异性最好,故选择制备胶体金的工艺条件为:在100ml双蒸水中加入1%氯金酸溶液1ml煮沸,在搅拌条件下加入1.4ml的1%柠檬酸三钠溶液,继续煮沸5分钟,自然冷却待用。

[0051] 2. 胶体金标记鼠抗人IgG单克隆抗体工艺的优化

[0052] 2.1原理:胶体金由于静电作用形成带负电的疏水胶溶液,胶体金在弱碱环境下带负电荷,可与鼠抗人IgG单克隆抗体的正电荷基团形成牢固的结合,形成稳定的鼠抗人IgG单克隆抗体金标记物。

[0053] 2.2胶体金标记最适pH值的选择

[0054] 取若干个1.5ml离心管,分别加入1ml胶体金,用5mol/L的HCl和0.1mol/L的K₂CO₃将pH分别调整为3,4,5,6,7,8,9,10。每管加入50μg的鼠抗人IgG单克隆抗体,混匀,室温放置10分钟。每管加入100μl 10%NaCl溶液,混匀,室温放置2小时,观察胶体金颜色变化,记录胶体金颜色保持不变的最低pH(X)。调整pH为X-1.0、X-0.5、X、X+0.5、X+1.0,重复以上步骤,胶体金颜色保持不变的最低pH值即为标记的最适pH值。结果详见 表3、表4。

[0055] 表3. 胶体金标记最适pH值的选择 (1)

[0056]

pH 值	5mol/LHCl 调整			0.1mol/L K ₂ CO ₃ 调整				
	3	4	5	6	7	8	9	10
结果	变蓝	变蓝	变蓝	略变蓝	微变色	不变色	不变色	不变色

[0057] 表4.胶体金标记最适pH值的选择 (2)

[0058]

pH 值	7.0	7.5	8.0	8.5	9.0
0.1mol/L K ₂ CO ₃	12μl/ml	14μl/ml	17μl/ml	20μl/ml	25μl/ml
结果	微变色	微变色	不变色	不变色	不变色

[0059] 结果分析:从表3、表4可以看出,当pH值为8.0时,金标记鼠抗人IgG单克隆抗体的稳定性好,故选定胶体金标记的最适pH值为8.0,即加入0.1mol/L的K₂CO₃17μl/ml。

[0060] 2.3鼠抗人IgG单克隆抗体最适标记量的选择

[0061] 取若干个1.5ml离心管,分别加入1ml胶体金,用0.1mol/L的K₂CO₃将pH分别调整为8.0。每管依次分别按5μg、10μg、15μg、20μg、25μg、30μg、35μg、40μg加入鼠抗人 IgG单克隆抗体,混匀,室温放置10分钟。每管加入100μl 10%NaCl溶液,混匀,室温放置2小时,观察胶体金颜色变化,记录胶体金颜色保持不变的最低鼠抗人IgG单克隆抗体加入量,胶体金颜色保持不变的最低抗体加入量即为标记的鼠抗人IgG单克隆抗体最适标记量。结果详见表5。

[0062] 表5.鼠抗人IgG单克隆抗体最适标记量的选择

[0063]

鼠抗人 IgG 单克隆抗体							
5μg /ml	10μg /ml	15μg /ml	20μg/ml	25μg/ml	30μg/ml	35μg/ml	40μg/ml
变蓝	变蓝	变蓝	略变蓝	微变色	不变色	不变色	不变色

[0064] 结果分析:从表5可以看出,当加入的鼠抗人IgG单克隆抗体浓度为30μg/ml时,金标记鼠抗人IgG单克隆抗体不变色,故选定鼠抗人IgG单克隆抗体最适标记量为30μg/ml。

[0065] 3.检测线包被浓度和胶体金标记鼠抗人IgG稀释比例的选择

[0066] 按照上述确定好的金标记工艺标记鼠抗人IgG单抗,将其体积浓缩至原体积的1/10,再以不同的稀释比例稀释浓缩液,用稀释液按60μl/m²涂金标垫,干燥备用。以不同检测线包被浓度按0.15μl/mm的包被量包被硝酸纤维素膜(NC膜)检测线。将金标垫和划线NC

膜 配对,检测内部质控血清,实验方案如表6,实验结果如表7、表8。

[0067] 表6. 试验设计方案

[0068]

检测线包被浓度	金标记物稀释比例			
	1:6	1:8	1:10	1:12
0.6mg/ml	A1	A2	A3	A4
0.8mg/ml	B1	B2	B3	B4
1.0mg/ml	C1	C2	C3	C4
1.2mg/ml	D1	D2	D3	D4
1.4mg/ml	E1	E2	E3	E4

[0069] 表7. 10份阳性内部质控品和最低检出限质控品检测结果

[0070]

	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	P9	P10	L2
A1	++	+++	±	+	++	+	++	+++	++	++	-
A2	+	++	±	+	++	+	++	++	+	++	-
A3	+	++	±	±	++	+	++	++	+	+	-
A4	+	++	-	-	++	+	++	++	+	+	-
B1	++	+++	±	+	+++	++	+++	+++	++	++	±
B2	++	+++	±	+	+++	++	+++	+++	++	++	±
B3	++	+++	±	+	+++	+	++	++	++	++	±
B4	+	++	±	±	++	+	++	++	+	+	-
C1	++	+++	+	+	+++	++	+++	+++	++	++	+
C2	++	+++	+	+	+++	++	+++	+++	++	++	+
C3	++	+++	+	+	+++	++	+++	+++	++	++	+
C4	++	+++	+	+	+++	++	+++	+++	++	++	±
D1	++	+++	+	+	+++	+++	+++	+++	++	+++	+
D2	++	+++	+	+	+++	++	+++	+++	++	++	+
D3	++	+++	+	+	+++	++	+++	+++	++	++	+
D4	++	+++	+	+	+++	++	+++	+++	++	++	±
E1	++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	++	+++	+
E2	+++	+++	+++	+	++	+++	++	+++	++	+++	+
E3	+++	++	+++	+	++	+++	+	++	++	+++	+
E4	+++	++	+++	+	++	+++	+	++	++	+++	+

[0071] 表8. 10份阴性内部质控品检测结果

[0072]

	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8	N9	N10
A1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

A2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
B4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C1	-	-	-	-	-	±	-	-	±	-
C2	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
C3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
C4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D1	-	-	-	-	-	±	-	-	+	-
D2	-	-	-	-	-	±	-	-	±	-
D3	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
D4	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-
E1	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-
E2	-	-	-	-	-	±	-	-	+	-
E3	-	-	-	-	-	±	-	-	±	-
E4	-	-	-	-	-	-	-	-	±	-

[0073] 结果分析:通过表7、表8结果可以看出C3组合的灵敏度高,特异性好,故将检测线的包被浓度定为1.0mg/ml,按0.15 μ l/mm的包被量包被NC膜检测线;将胶体金标记鼠抗人IgA 稀释比例定为1:10,即胶体金结合物稀释液加入至原体积的100%,原体积以胶体金体积计算。金标垫的制备条件为稀释后的胶体金结合物按60 μ l/m²浸泡涂抹。

[0074] 4. 质控线包被浓度的选择

[0075] 将羊抗鼠IgG抗体配成不同浓度,与水痘病毒抗原1.0mg/ml,以0.15 μ l/mm的包被量 分别包被在NC膜的检测线和质控线位置上,干燥后与制备好的金标垫配套使用,用内部质 控品进行检测,结果详见表9。

[0076] 表9. 质控线检测结果

[0077]	羊抗鼠 IgG 抗体浓度 (mg/ml)	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0
	P1	+	++	+++	+++	+++
	P2	+	++	+++	+++	+++
	P3	+	++	+++	+++	+++
	N1	+	++	+++	+++	+++
	N2	+	++	+++	+++	+++
	N3	+	++	+++	+++	+++

结果分析:从表9可以看出,当C线抗体深度 \geq mg/ml时,反应到达最大值,所以选择质控

线抗体浓度为2mg/ml。

[0078] 综上所述,NC膜最终包被条件为:

[0079] 包被量为0.15 μ l/mm;

[0080] 检测线包被浓度:水痘病毒抗原为1.0mg/ml;

[0081] 质控线包被浓度:羊抗鼠IgG抗体为2.0mg/ml。

[0082] 5. 划线NC膜和金标垫干燥条件的选择

[0083] 适宜的干燥条件,不仅影响试剂盒的灵敏度,而且关系到试剂盒的稳定性。结果表明,在干燥环境为37℃条件下,干燥3小时制备的试纸条,其敏感性,稳定性均较好,故选择37℃条件下干燥3小时为划线NC膜和金标垫生产的干燥条件。

[0084] 以上显示和描述了本发明的基本原理、主要特征和本发明的优点。本行业的技术人员应该了解,本发明不受上述实施例的限制,上述实施例和说明书中描述的只是本发明的原理,在不脱离本发明精神和范围的前提下本发明还会有各种变化和改进,这些变化和进步都落入 要求保护的本发明的范围内。

专利名称(译)	一种免疫层析法检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN109991416A	公开(公告)日	2019-07-09
申请号	CN201910186156.6	申请日	2019-03-12
[标]申请(专利权)人(译)	江苏伯纳德生物科技发展有限公司		
申请(专利权)人(译)	江苏伯纳德生物科技发展有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	江苏伯纳德生物科技发展有限公司		
[标]发明人	孙伟		
发明人	孙伟		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/558 G01N33/532 G01N33/58		
CPC分类号	G01N33/532 G01N33/558 G01N33/56994 G01N33/58 G01N2333/04		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种免疫层析法检测试剂盒，包括反应板、PBS缓冲液、水痘病毒抗原、羊抗鼠IgG抗体、胶体金标记鼠抗人IgG单抗溶液和塑料卡，所述反应板由NC膜、玻璃纤维素膜、吸水纸以及样品垫装配而成；本发明水痘病毒抗体免疫层析法检测试剂盒具有快速、简便、准确和灵敏度高的特点，整个操作时间仅需20分钟就可判读结果，不需要辅助仪器，可直接肉眼观察结果，适用范围广，可单份检测，易于对水痘疫苗接种后效果进行评价。

液体加入顺序	单位	胶体金溶液编号			
		1	2	3	4
双蒸水	ml	100	100	100	100