



(12)实用新型专利

(10)授权公告号 CN 208239466 U

(45)授权公告日 2018.12.14

(21)申请号 201820863319.0

(22)申请日 2018.06.05

(73)专利权人 宁波奥丞生物科技有限公司

地址 315000 浙江省宁波市海曙区望春工
业园区春华路885号

(72)发明人 唐静 陈星星 周义正

(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 曾龙

(51)Int.Cl.

G01N 33/82(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

(ESM)同样的发明创造已同日申请发明专利

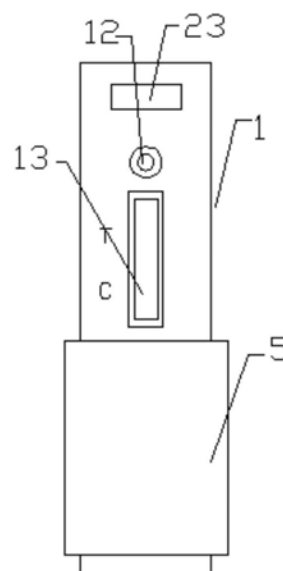
权利要求书1页 说明书7页 附图5页

(54)实用新型名称

一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒

(57)摘要

本实用新型公开了一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,包括试剂盒盒体以及设置于试剂盒盒体内的试纸条,试剂盒盒体包括上壳体、下壳体、以及设置于上壳体上的保护盖,试纸条固定于下壳体中,试纸条包括底板、硝酸纤维素膜、样品垫、吸水垫、玻璃纤维素膜,底板上表面搭接硝酸纤维素膜,玻璃纤维素膜搭接在硝酸纤维素膜的一端,吸水垫搭接在硝酸纤维素膜的另一端,样品垫搭接于玻璃纤维素膜上,硝酸纤维素膜上有叶酸-BSA抗原包被的检测线和羊抗鼠IgG抗体包被的质控线,所述玻璃纤维素膜上包被有稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I;使用本实用新型制备的试剂盒进行叶酸检测时,操作简便、快速准确、重复性好、数据可靠,为临床使用提供了极大便利。



1. 一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒, 其特征在于, 包括试剂盒盒体以及设置于试剂盒盒体内的试纸条; 所述试剂盒盒体包括上壳体、下壳体、以及设置于上壳体上的保护盖, 所述上壳体的侧面设有第一凹槽, 第一凹槽内设有第一滑轨, 保护盖上设有第一滑块、第一连接板、第二连接板, 第一滑块位于第一滑轨内, 第一滑块与第一滑轨相配合, 第一滑块沿长度方向的两端设有圆柱形卡块, 第一滑轨的两端均设有圆柱形卡槽, 圆柱形卡槽与圆柱形卡块相配合, 第一连接板为长条形, 第二连接板的截面为“n”字形结构, 第一连接板的一端与第一滑块相连, 第一连接板的另一端与第二连接板相连, 第一连接板、第一滑块均位于第一凹槽中; 上壳体上表面设有加样孔、检测窗, 加样孔、检测窗均为穿过上壳体的通孔, 上壳体内表面设有若干卡体、两个卡条, 两个卡条位于检测窗的上下两端, 两个卡条的宽度与试纸条的宽度相同, 下壳体内表面设有第一限位条、第二限位条、以及与上壳体卡体相对应的卡槽, 第一限位条为“n”字形结构, 第一限位条包括第一竖臂、第一横臂、第二竖臂, 第一竖臂与第二竖臂之间的距离与试纸条的宽度相同, 第二限位条为长条形结构, 两个第二限位条之间的距离与试纸条的宽度相同, 两个第一限位条的第一横臂之间的距离与试纸条的长度相同。

2. 如权利要求1所述的一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒, 其特征在于, 所述第二连接板沿自身长度方向的两端竖直向下设有挡片, 挡片为硅胶材质, 挡片的高度为第二连接板到上壳体上表面之间的距离。

3. 如权利要求1所述的一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒, 其特征在于, 所述试剂盒盒体上设有防卡孔, 防卡孔为长条形通孔。

4. 如权利要求1所述的一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒, 其特征在于, 所述试纸条包括底板、硝酸纤维素膜、样品垫、吸水垫、玻璃纤维素膜, 所述底板上表面搭接硝酸纤维素膜, 玻璃纤维素膜搭接在硝酸纤维素膜的一端, 吸水垫搭接在硝酸纤维素膜的另一端, 样品垫搭接于玻璃纤维素膜上, 所述硝酸纤维素膜上有叶酸-BSA抗原包被的检测线和羊抗鼠IgG抗体包被的质控线, 所述玻璃纤维素膜上包被有稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I, 稀土荧光微球是以稀土元素铕为荧光基体材料的乳胶颗粒。

5. 如权利要求4所述的一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒, 其特征在于, 所述检测线和质控线相互平行, 检测线靠近样品垫, 质控线靠近吸水垫。

6. 如权利要求4所述的一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒, 其特征在于, 所述稀土荧光微球的直径为100nm-300nm。

一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒

技术领域

[0001] 本实用新型涉及免疫荧光检测技术领域,具体涉及一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒。

背景技术

[0002] 叶酸(Folic Acid)是由喋呤啶、对氨基苯甲酸和谷氨酸等组成的化合物,是一种水溶性B族维生素。叶酸对人体有重要营养作用,缺乏叶酸可引起巨红细胞性贫血以及白细胞减少症,还会导致身体无力、易怒、没胃口以及精神病症状。此外,叶酸对孕妇尤其重要,如在怀孕头3个月内缺乏叶酸,可导致胎儿神经管发育缺陷,从而增加裂脑儿、无脑儿的发生率。现在叶酸的作用正逐渐被人们所认识,许多国家已在人们日常饮食中有意识地添加叶酸,2009年6月21日卫生部宣布启动6项公共卫生项目,增补叶酸预防神经管缺陷项目,这就为叶酸的检测提出了较高的要求。

[0003] 目前叶酸检测方法包括:酶联免疫方法、气相色谱质谱法(GC-MS)、液相色谱串联质谱法(LC-MS-MS)、液相色谱法、比色法、薄层层析法、微生物法和同位素放射免疫法等,仪器法灵敏、准确,特异性强、分离度好,可以同时测定多种药物,但需要昂贵的仪器、样品的前处理复杂、繁琐费时、检测的成本较高,不能现场操作,而且需专业人员操作,所以限制了其应用,酶联免疫方法具有检测设备要求高,成本高;干扰因素较多,重复性不好;检测时间长等缺点,因此有必要研究开发出一种快速准确的检测方法和手段,有助于整体评估孕妇的健康状况。

实用新型内容

[0004] 本实用新型的目的在于提供一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,灵敏度高、稳定性好,取样方便,有利于及时对孕妇进行整体的有效评估。

[0005] 为实现上述目的,本实用新型提供如下技术方案:一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,包括试剂盒盒体以及设置于试剂盒盒体内的试纸条;所述试剂盒盒体包括上壳体、下壳体、以及设置于上壳体上的保护盖,所述上壳体的侧面设有第一凹槽,第一凹槽内设有第一滑轨,保护盖上设有第一滑块、第一连接板、第二连接板,第一滑块位于第一滑轨内,第一滑块与第一滑轨相配合,第一滑块沿长度方向的两端设有圆柱形卡块,第一滑轨的两端均设有圆柱形卡槽,圆柱形卡槽与圆柱形卡块相配合,第一连接板为长条形,第二连接板的截面为“n”字形结构,第一连接板的一端与第一滑块相连,第一连接板的另一端与第二连接板相连,第一连接板、第一滑块均位于第一凹槽中;上壳体上表面设有加样孔、检测窗,加样孔、检测窗均为穿过上壳体的通孔,上壳体内表面设有若干卡体、两个卡条,两个卡条位于检测窗的上下两端,两个卡条的宽度与试纸条的宽度相同,下壳体内表面设有第一限位条、第二限位条、以及与上壳体卡体相对应的卡槽,第一限位条为“n”字形结构,第一限位条包括第一竖臂、第一横臂、第二竖臂,第一竖臂与第二竖臂之间的距离与试纸条的宽度相同,第二限位条为长条形结构,两个第二限位条之间的距离与试纸条的宽度相同,两个第一限

位条的第一横臂之间的距离与试纸条的长度相同。

[0006] 上述一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,其中,所述第二连接板沿自身长度方向的两端竖直向下设有挡片,挡片为硅胶材质,挡片的高度为第二连接板到上壳体上表面之间的距离。

[0007] 上述一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,其中,所述试剂盒盒体上设有防卡孔,防卡孔为长条形通孔。

[0008] 上述一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,其中,所述试纸条包括底板、硝酸纤维素膜、样品垫、吸水垫、玻璃纤维素膜,所述底板上表面搭接硝酸纤维素膜,玻璃纤维素膜搭接在硝酸纤维素膜的一端,吸水垫搭接在硝酸纤维素膜的另一端,样品垫搭接于玻璃纤维素膜上,所述硝酸纤维素膜上有叶酸-BSA抗原包被的检测线和羊抗鼠IgG抗体包被的质控线,所述玻璃纤维素膜上包被有稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I,稀土荧光微球是以稀土元素铕为荧光基体材料的乳胶颗粒。

[0009] 上述一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,其中,所述检测线和质控线相互平行,检测线靠近样品垫,质控线靠近吸水垫。

[0010] 上述一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,其中,所述稀土荧光微球的直径为100nm-300nm。

[0011] 本实用新型还提供了一种制备上述试纸条的方法,包括如下步骤:

[0012] (1) 制备玻璃纤维素膜:将玻璃纤维素膜用含聚乙烯醇的BBS缓冲液($\text{pH}=7.2$)浸泡处理,浸泡处理后,37℃干燥过夜,使用定量喷膜仪将稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I喷涂于玻璃纤维素膜上,在37℃避光烘干4小时,加入干燥剂封存备用;

[0013] (2) 制备硝酸纤维素膜:将硝酸纤维素膜放入烘干机中,25-37℃干燥处理4-10h,干燥后放入20-30℃、湿度50-70%的环境中避光处理2-4h,使用划膜仪在检测线位置划上叶酸-BSA抗原,在质控线位置划上羊抗鼠IgG抗体,在37℃避光烘干4小时,加入干燥剂封存备用;

[0014] (3) 组装:在底板上搭接硝酸纤维素膜、玻璃纤维素膜、样品垫、吸水垫,然后进行切割,装入试剂盒盒体中。

[0015] 其中,所述稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I的制备方法如下:将叶酸单克隆抗体I溶于0.05mol/L的PBS缓冲液($\text{pH}=7.2$),得到叶酸单克隆抗体I溶液,将叶酸单克隆抗体I溶液转移至超滤管中进行纯化,并用0.05mol/L的PBS缓冲液($\text{pH}=7.2$)进行3-6次冲洗,得到纯化的叶酸单克隆抗体I,使用0.05mol/L MES缓冲液($\text{pH}=7.2$)洗涤稀土荧光微球,加入碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺,室温反应1h,离心过滤,用0.05mol/L的PBS缓冲液($\text{pH}=7.2$)复溶后加入纯化的叶酸单克隆抗体I,室温反应5小时,加入含有1%BSA的0.01mol/L的PBS缓冲液($\text{pH}=7.2$),室温反应1h,用0.01mol/L的PBS缓冲液($\text{pH}=7.2$)洗涤稀土荧光微球3-5次,最后用含有0.05%BSA,0.05%Tween-20,0.01mol/L的PBS缓冲液($\text{pH}=7.2$)保存。

[0016] 其中,所述叶酸-BSA抗原的制备方法如下:将BSA和叶酸分别溶于0.05mol/L的PBS缓冲液($\text{pH}=7.2$)中,搅拌均匀,分别得到BSA溶液和叶酸溶液,在叶酸溶液中加入碳二亚胺,搅拌均匀后,再加入BSA溶液,避光反应2小时,得到叶酸-BSA抗原溶液,将叶酸-BSA抗原溶液转移至超滤管中进行纯化,并用0.05mol/L的PBS缓冲液($\text{pH}=7.2$)进行3-5次冲洗,收集叶酸-BSA抗原。

[0017] 使用时：在样品垫上滴加样品液，在毛细作用下，样品液向吸水垫泳动，当样品液中含有叶酸时，叶酸与稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I形成抗原-抗体复合物，随着层析作用，复合物向前移动，到达检测线时，与叶酸-BSA抗原结合，形成抗原-抗体-抗原复合物，未结合叶酸-BSA抗原的抗原-抗体复合物继续前行，到达质控线时，羊抗鼠IgG抗体与抗原-抗体复合物结合，整个反应完成，上机读卡。检测线和质控线都会产生相应的荧光信号，荧光检测仪会根据定标卡上的信息将实际检测值带入预设的标准曲线中算出定量的结果。

[0018] 本实用新型具有有益效果：

[0019] (1) 本实用新型试剂盒盒体设有保护盖，未使用时可以将加样孔、检测窗盖住，使用时，通过滑轨和滑块的配合，可以将保护盖从加样孔、检测窗上移开，再进行检测，有效避免了因操作不当造成交叉污染情况的发生；同时上壳体内表面、下壳体内表面的设置能将试纸条稳定地固定于试剂盒盒体中，试剂盒在运输过程中，不会出现试纸条脱落、偏离或受潮的情况发生，使用本实用新型制备的试剂盒进行样品检测时，操作简便，快速准确，重复性好，数据可靠；

[0020] (2) 本实用新型通过对试纸条进行改进，将时间分辨免疫层析技术引入叶酸的检测中，采用稀土荧光微球作为标记物，每个微球中可包裹成千上万个荧光分子，大大提高了标记效率，有效的提高了灵敏度，同时荧光微球表面修饰有合适密度的羧基，用于与蛋白或抗体的共价偶联，提高标记物的稳定性，此外灵敏度高，线性好，批内、批间差小，为临床使用提供了极大便利。

附图说明

[0021] 图1为本实用新型结构示意图；

[0022] 图2为上壳体内表面示意图；

[0023] 图3为下壳体内表面示意图；

[0024] 图4为下壳体内装入试纸条示意图；

[0025] 图5为图1的右视图；

[0026] 图6为保护盖示意图；

[0027] 图7为试纸条结构示意图；

[0028] 图8为实施例2的标准曲线图；

[0029] 图9为实施例3的标准曲线图；

[0030] 图中：1-试剂盒盒体，2-试纸条，3-上壳体，4-下壳体，5-保护盖，6-第一凹槽，7-第一滑轨，8-第一滑块，9-第一连接板，10-第二连接板，11-圆柱形卡块，12-加样孔，13-检测窗，14-卡体，15-卡条，16-第一限位条，17-第二限位条，18-卡槽，19-第一竖臂，20-第一横臂，21-第二竖臂，22-挡片，23-防卡孔，24-底板，25-硝酸纤维素膜，26-样品垫，27-吸水垫，28-玻璃纤维素膜，29-检测线，30-质控线。

具体实施方式

[0031] 下面将结合本实用新型实施例中的附图，对本实用新型实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述。

[0032] 实施例1

[0033] 本实施例详细阐述检测叶酸的免疫荧光法试剂盒的结构。

[0034] 如图1-7所示,一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,包括试剂盒箱体1以及设置于试剂盒箱体1内的试纸条2;所述试剂盒箱体1包括上壳体3、下壳体4、以及设置于上壳体3上的保护盖5,所述上壳体3的侧面设有第一凹槽6,第一凹槽6内设有第一滑轨7,保护盖5上设有第一滑块8、第一连接板9、第二连接板10,第一滑块8位于第一滑轨7内,第一滑块8与第一滑轨7相配合,第一滑块8沿自身长度方向的两端设有圆柱形卡块11,第一滑轨7的两端均设有圆柱形卡槽,圆柱形卡槽与圆柱形卡块相配合,第一连接板9为长条形结构,第二连接板10的截面为“n”字形结构,第一连接板9的一端与第一滑块8相连,第一连接板9的另一端与第二连接板10相连,第一连接板9、第一滑块8均位于第一凹槽6中;上壳体3上表面设有加样孔12、检测窗13,加样孔12、检测窗13均为穿过上壳体3的通孔,上壳体内表面设有若干卡体14、两个卡条15,两个卡条15位于检测窗13的上下两端,两个卡条15的宽度与试纸条2的宽度相同,下壳体4内表面设有第一限位条16、第二限位条17、以及与所述上壳体3卡体14相对应的卡槽18,第一限位条16为“n”字形结构,第一限位条16包括第一竖臂19、第一横臂20、第二竖臂21,第一竖臂19与第二竖臂21之间的距离与试纸条2的宽度相同,第二限位条17为长条形结构,两个第二限位条17之间的距离与试纸条2的宽度相同,两个第一限位条16的第一横臂20之间的距离与试纸条2的长度相同。

[0035] 上述一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,其中,所述第二连接板10沿自身长度方向的两端竖直向下设有挡片22,挡片22为硅胶材质,挡片22的高度为第二连接板10到上壳体3上表面之间的距离。

[0036] 上述一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,其中,所述试剂盒箱体1上设有防卡孔23,防卡孔23为长条形通孔。

[0037] 上述一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,其中,所述试纸条2包括底板24、硝酸纤维素膜25、样品垫26、吸水垫27、玻璃纤维素膜28,所述底板24上表面搭接硝酸纤维素膜25,玻璃纤维素膜28搭接在硝酸纤维素膜25的一端,吸水垫27搭接在硝酸纤维素膜25的另一端,样品垫26搭接于玻璃纤维素膜28上,所述硝酸纤维素膜25上有叶酸-BSA抗原包被的检测线29和羊抗鼠IgG抗体包被的质控线30,所述玻璃纤维素膜28上包被有稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I,稀土荧光微球是以稀土元素铕为荧光基体材料的乳胶颗粒。

[0038] 上述一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,其中,所述检测线29和质控线30相互平行,检测线29靠近样品垫26,质控线30靠近吸水垫27。

[0039] 上述一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒,其中,所述稀土荧光微球的直径为100nm-300nm。

[0040] 实施例2

[0041] 本实施例详细阐述了检测叶酸的免疫荧光法试纸条的制备方法。

[0042] 一种检测叶酸的免疫荧光法试纸条的制备方法,包括如下步骤:

[0043] (1) 制备玻璃纤维素膜:将玻璃纤维素膜用含聚乙烯醇的BBS缓冲液(pH=7.2)浸泡处理,浸泡处理后,37℃干燥过夜,使用定量喷膜仪将稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I喷涂于玻璃纤维素膜上,在37℃避光烘干4小时,加入干燥剂封存备用;

[0044] (2) 制备硝酸纤维素膜:将硝酸纤维素膜放入烘干机中,25℃干燥处理4h,干燥后

放入25℃、湿度50%的环境中避光处理4h,使用0.05mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)调整叶酸-BSA抗原和羊抗鼠IgG抗体的终浓度为1.2mg/ml,使用划膜仪在检测线位置划上叶酸-BSA抗原,在质控线位置划上羊抗鼠IgG抗体,在37℃避光烘干4小时,加入干燥剂封存备用;

[0045] (3) 组装:在底板上搭接硝酸纤维素膜、玻璃纤维素膜、样品垫、吸水垫,然后进行切割,装入试剂盒盒体中。

[0046] 其中,所述稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I的制备方法如下:将叶酸单克隆抗体I溶于0.05mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2),得到叶酸单克隆抗体I溶液,将叶酸单克隆抗体I溶液转移至超滤管中进行纯化,并用0.05mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)进行3-6次冲洗,得到纯化的叶酸单克隆抗体I,调整叶酸单克隆抗体I的浓度为1.2mg/ml,使用0.05mol/L MES缓冲液(pH=7.2)洗涤稀土荧光微球,加入碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺,室温反应1h,离心过滤,用0.05mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)复溶后加入纯化的叶酸单克隆抗体I,使叶酸单克隆抗体I与稀土荧光微球的质量比为1:40,室温反应5小时,加入含有1%BSA的0.01mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2),室温反应1h,用0.01mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)洗涤稀土荧光微球5次,最后用含有0.05%BSA,0.05%Tween-20,0.01mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)保存。

[0047] 其中,所述叶酸-BSA抗原的制备方法如下:将BSA和叶酸分别溶于0.05mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)中,搅拌均匀,分别得到BSA溶液和叶酸溶液,在叶酸溶液中加入碳二亚胺,搅拌均匀后,再加入BSA溶液,避光反应2小时,得到叶酸-BSA抗原溶液,将叶酸-BSA抗原溶液转移至超滤管中进行纯化,并用0.05mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)进行5次冲洗,收集叶酸-BSA抗原。

[0048] 上述试纸条的检测方法:

[0049] 在制备好的试纸条的加样区加入不同浓度的叶酸标准品(取7个不同的浓度,分别为0ug/L、1ug/L、2ug/L、4ug/L、10ug/L、20ug/L、40ug/L,每个浓度做3个平行样,反应15分钟后,荧光检测仪读取质控线C、检测线T信号,具体数值如表1所示:

[0050] 表1:实施例2中标准品浓度对应检测信号数据

[0051]

叶酸 (ug/L)	检测信号	均值
0	2.068	2.178
	2.175	
	2.292	
1	2.134	2.132
	2.136	
	2.126	
2	2.066	2.075
	2.078	
	2.081	
4	2.005	1.996
	1.992	
	1.991	
10	1.709	1.706
	1.708	
	1.701	
20	1.235	1.233
	1.246	
	1.218	
40	0.306	0.302
	0.304	
	0.296	

[0052] 以检测的荧光值信号为纵坐标,叶酸标准品浓度值为横坐标,绘制标准品曲线,参阅图8,由图8标准曲线可以看出,该标准曲线的 R^2 为0.999,线性较好,可以通过该标准曲线对样品中所含叶酸浓度进行定量分析。

[0053] 实施例3

[0054] 本实施例详细阐述了检测叶酸的免疫荧光法试纸条的制备方法。

[0055] 一种检测叶酸的免疫荧光法试纸条的制备方法,包括如下步骤:

[0056] (1) 制备玻璃纤维素膜:将玻璃纤维素膜用含聚乙烯醇的BBS缓冲液 ($\text{pH}=7.2$) 浸泡处理,浸泡处理后, 37°C 干燥过夜,使用定量喷膜仪将稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I喷涂于玻璃纤维素膜上,在 37°C 避光烘干7小时,加入干燥剂封存备用;

[0057] (2) 制备硝酸纤维素膜:将硝酸纤维素膜放入烘干机中, 37°C 干燥处理4h,干燥后放入 30°C 、湿度70%的环境中避光处理4h,使用 0.05mol/L 的PBS缓冲液 ($\text{pH}=7.2$) 调整叶酸-BSA抗原和羊抗鼠IgG抗体的终浓度为 1.5mg/ml ,使用划膜仪在检测线位置划上叶酸-BSA抗原,在质控线位置划上羊抗鼠IgG抗体,在 37°C 避光烘干4小时,加入干燥剂封存备用;

[0058] (3) 组装:在底板上搭接硝酸纤维素膜、玻璃纤维素膜、样品垫、吸水垫,然后进行切割,装入试剂盒盒体中。

[0059] 其中,所述稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I的制备方法如下:将叶酸单克隆抗体I溶于 0.05mol/L 的PBS缓冲液 ($\text{pH}=7.2$),得到叶酸单克隆抗体I溶液,将叶酸单克隆抗体I溶液转移至超滤管中进行纯化,并用 0.05mol/L 的PBS缓冲液 ($\text{pH}=7.2$) 进行3-6次冲洗,得到纯化的叶酸单克隆抗体I,调整叶酸单克隆抗体I的浓度为 1.5mg/ml ,使用 0.05mol/L MES缓冲液 ($\text{pH}=7.2$) 洗涤稀土荧光微球,加入碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺,室温反应1h,离心过滤,用 0.05mol/L 的PBS缓冲液 ($\text{pH}=7.2$) 复溶后加入纯化的叶酸单克隆抗体I,使叶

酸单克隆抗体I与稀土荧光微球的质量比为1:30,室温反应5小时,加入含有1%BSA的0.01mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2),室温反应1h,用0.01mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)洗涤稀土荧光微球3次,最后用含有0.05%BSA,0.05%Tween-20,0.01mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)保存。

[0060] 其中,所述叶酸-BSA抗原的制备方法如下:将BSA和叶酸分别溶于0.05mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)中,搅拌均匀,分别得到BSA溶液和叶酸溶液,在叶酸溶液中加入碳二亚胺,搅拌均匀后,再加入BSA溶液,避光反应4小时,得到叶酸-BSA抗原溶液,将叶酸-BSA抗原溶液转移至超滤管中进行纯化,并用0.05mol/L的PBS缓冲液(pH=7.2)进行3次冲洗,收集叶酸-BSA抗原。

[0061] 上述试纸条的检测方法:

[0062] 在制备好的试纸条的加样区加入不同浓度的叶酸标准品(取7个不同的浓度,分别为0ug/L、1ug/L、2ug/L、4ug/L、10ug/L、20ug/L、40ug/L,每个浓度做3个平行样,反应15分钟后,荧光检测仪读取质控线C、检测线T信号,具体数值如表2所示:

[0063] 表2:实施例3中标准品浓度对应检测信号数据

叶酸 (ug/L)	检测信号	均值
0	2.163	2.172
	2.179	
	2.175	
1	2.122	2.127
	2.134	
	2.124	
2	2.054	2.063
	2.072	
	2.063	
4	2.001	1.989
	1.985	
	1.982	
10	1.623	1.630
	1.643	
	1.625	
20	1.226	1.234
	1.243	
	1.232	
40	0.296	0.300
	0.312	
	0.292	

[0064] [0065] 以检测的荧光值信号为纵坐标,叶酸标准品浓度值为横坐标,绘制标准品曲线,参阅图9,由图9标准曲线可以看出,该标准曲线的 R^2 为0.998,线性较好,可以通过该标准曲线对样品中所含叶酸浓度进行定量分析。

[0066] 尽管已经示出和描述了本实用新型的实施例,对于本领域的普通技术人员而言,可以理解在不脱离本实用新型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,本实用新型的范围由所附权利要求及其等同物限定。

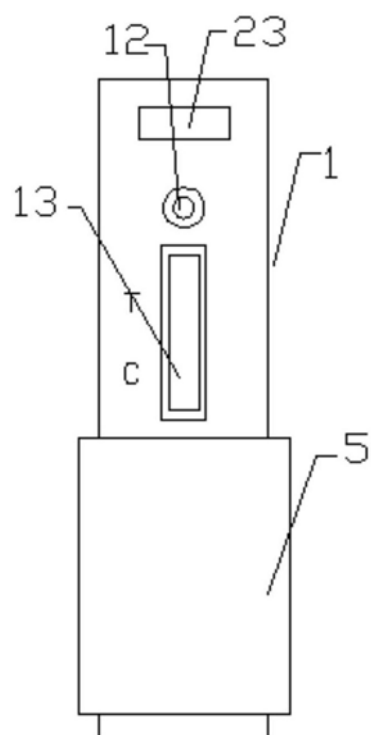


图1

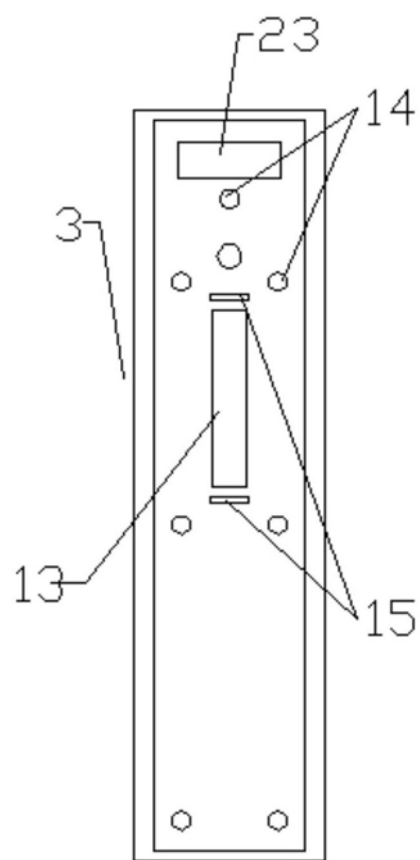


图2

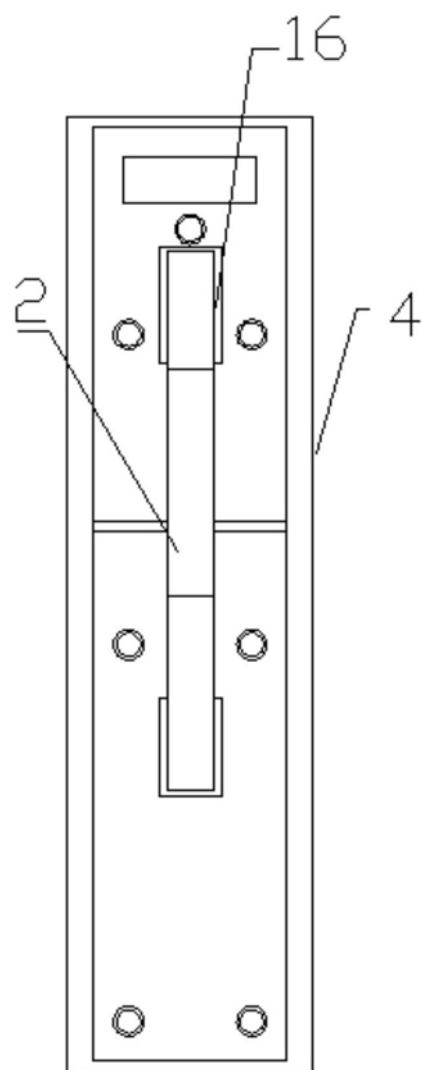


图4

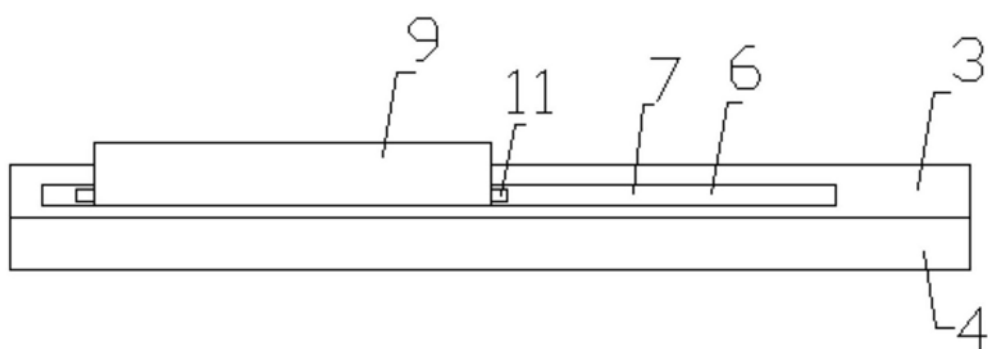


图5

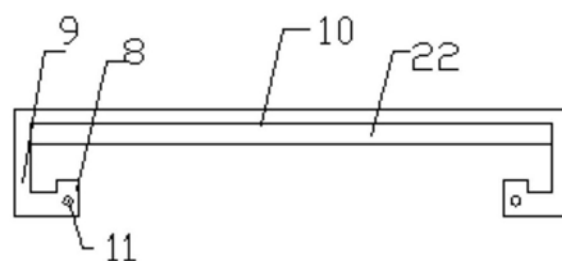


图6

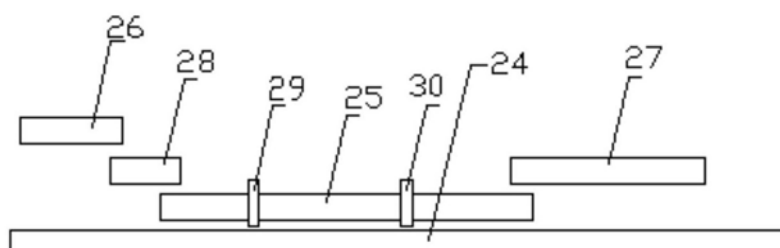


图7

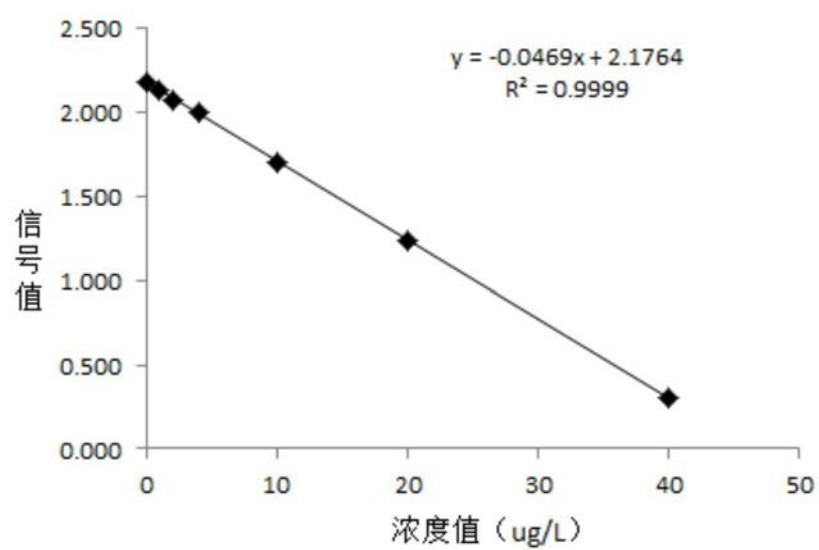


图8

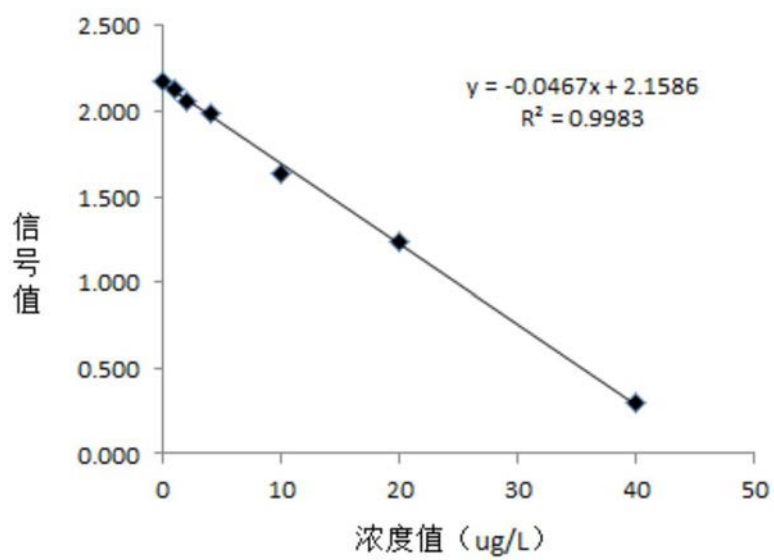


图9

专利名称(译)	一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒		
公开(公告)号	CN208239466U	公开(公告)日	2018-12-14
申请号	CN201820863319.0	申请日	2018-06-05
[标]发明人	唐静 陈星星 周义正		
发明人	唐静 陈星星 周义正		
IPC分类号	G01N33/82 G01N33/58 G01N33/533 G01N33/558		
代理人(译)	曾龙		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型公开了一种检测叶酸的免疫荧光法试剂盒，包括试剂盒盒体以及设置于试剂盒盒体内的试纸条，试剂盒盒体包括上壳体、下壳体、以及设置于上壳体上的保护盖，试纸条固定于下壳体中，试纸条包括底板、硝酸纤维素膜、样品垫、吸水垫、玻璃纤维素膜，底板上表面搭接硝酸纤维素膜，玻璃纤维素膜搭接在硝酸纤维素膜的一端，吸水垫搭接在硝酸纤维素膜的另一端，样品垫搭接于玻璃纤维素膜上，硝酸纤维素膜上有叶酸-BSA抗原包被的检测线和羊抗鼠IgG抗体包被的质控线，所述玻璃纤维素膜上包被有稀土荧光微球标记的叶酸单克隆抗体I；使用本实用新型制备的试剂盒进行叶酸检测时，操作简便、快速准确、重复性好、数据可靠，为临床使用提供了极大便利。

