



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106066399 A

(43)申请公布日 2016. 11. 02

(21)申请号 201610348706.6

(22)申请日 2016.05.24

(71)申请人 深圳市前海安测信息技术有限公司

地址 518057 广东省深圳市南山区粤兴二道6号武汉大学深圳产学研大楼B815房(入驻深圳市前海商务秘书有限公司)

(72)发明人 张贯京 陈兴明 高伟明 李慧玲 徐之艳

(51)Int.Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

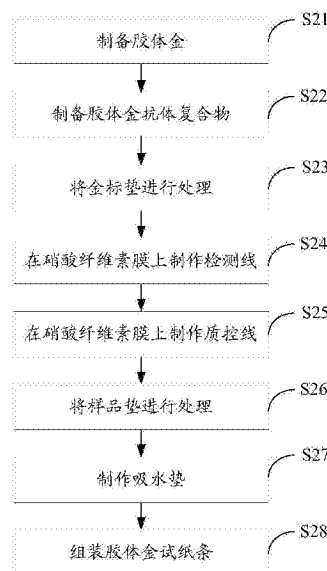
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法

(57)摘要

本发明提供一种检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,所述胶体金试纸条包括样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜、吸水垫以及支撑垫,所述制备方法包含以下步骤:制备胶体金的步骤;制备胶体金抗体复合物的步骤;金标垫处理步骤;在硝酸纤维素膜上制备检测线的步骤;在硝酸纤维素膜上制备控制线的步骤;样品垫处理步骤;制备吸水垫的步骤;组装胶体金试纸条的步骤。本发明通过上述步骤制备成的胶体金试纸条可以实现同时定量检测早期糖尿病肾病的多种生物标志物,解决单一生物标志物筛查谱狭窄及预见性较差的问题,从而节省检测早期糖尿病肾病的成本,提高检测的准确性及效率。



1. 一种检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,其特征在于,所述胶体金试纸条包括样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜、吸水垫以及支撑垫,所述制备方法包含以下步骤:

制备胶体金的步骤:将0.01%的氯金酸与1%柠檬酸钠混合,煮沸搅拌直到出现红色得到胶体金,将该胶体金保存备用;

制备胶体金抗体复合物的步骤:将与生物标志物对应的其中一种单克隆抗体分别与制备好的胶体金混合并通过梯度稀释法确定最低浓度的单克隆抗体,在标记单克隆抗体时,取制备好的胶体金与最低浓度的单克隆抗体混合,搅拌后加入牛血清白蛋白(BSA)并经纯化获得胶体金抗体复合物;

金标垫处理步骤:将金标垫在BSA中浸泡第一段时间后并干燥,将制备好的胶体金抗体复合物均匀铺在金标垫上并恒温干燥第二段时间;

在硝酸纤维素膜上制备检测线的步骤:将选择的每种与生物标志物对应的另一种配对单克隆抗体按照排列顺序在硝酸纤维素膜上平行划线制作成多条检测线并恒温干燥第二段时间;

在硝酸纤维素膜上制备控制线的步骤:将二抗在硝酸纤维素膜上的检测线之后划一根与检测线平行的线制作成控制线并恒温干燥第二段时间;

样品垫处理步骤:将样品垫在磷酸缓冲液(PBS)中浸泡第一段时间,恒温干燥第二段时间制作成样品垫备用;

制备吸水垫的步骤:选择吸水垫并按照预定宽度进行裁剪;

组装胶体金试纸条的步骤:将上述制备好的样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜以及吸水垫首尾相互重叠预设长度并依次粘贴在支撑垫上,经裁剪得到胶体金试纸条。

2. 如权利要求1所述的检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,其特征在于,所述样品垫和金标垫均采用玻璃纤维膜或聚酯膜材料制成,所述吸水垫采用吸水纤维或吸水海绵材料制成。

3. 如权利要求1所述的检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,其特征在于,所述通过梯度稀释法确定最低浓度的单克隆抗体的步骤包括如下步骤:

选择一种单克隆抗体,利用0.002mol/L、pH 9.0的PBS将选择的单克隆抗体稀释到预设浓度梯度0.01~0.1mg/ml;

将所述单克隆抗体稀释液与胶体金按照1:5混合,并将PH调整为9.0,孵育10分钟;

加入0.1ml的10%氯化钠(NaCl)得到胶体金抗体复合物,然后检测520nm下的吸光值,经比较分析确定稳定1ml胶体金的最低抗体量即为选择的单克隆抗体的最低浓度;

确定其他单克隆抗体的最低浓度采用以上相同步骤;

通过比较每一种单克隆抗体的最低浓度来确定最低浓度的单克隆抗体。

4. 如权利要求1所述的检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,其特征在于,所述经纯化获得胶体金抗体复合物的步骤包括如下步骤:

将胶体金与最低浓度的一种单克隆抗体混合液搅拌10分钟,缓慢加入BSA使浓度为1%,继续搅拌30分钟,4℃静置2~3小时,获得免疫胶体金复合物;

将所述免疫胶体金复合物采用离心法纯化,先2000rpm离心10分钟后将上清转移到离心管中,再12000rpm离心20分钟后去掉上清;

用TBS缓冲液悬起红色沉积物,再用TBS悬起红色沉积物为原体积的1/10,即为纯化的

1ml胶体金抗体复合物。

5.如权利要求1所述的检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,其特征在于,所述第一段时间为2~3小时,所述第二段时间为3~12小时,所述恒温为25℃~30℃。

6.如权利要求1所述的检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,其特征在于,所述生物标志物包括足糖萆蛋白、IV型胶原蛋白、肝型脂肪酸结合蛋白和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白。

7.如权利要求6所述的检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,其特征在于,所述单克隆抗体包括足糖萆蛋白单克隆抗体、IV型胶原蛋白单克隆抗体、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白单克隆抗体以及肝型脂肪酸结合蛋白单克隆抗体。

8.如权利要求1所述的检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,其特征在于,所述多条检测线设置在所述硝酸纤维素膜的排列顺序是沿着样品垫上的样品层析方向并按照生物标志物分子量从大到小平行等间隔排列。

9.如权利要求1所述的检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,其特征在于,所述预设长度为1.5~2mm,所述二抗为羊抗鼠IgG或兔抗鼠IgG。

检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于临床医学疾病检测领域,尤其涉及一种检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法。

背景技术

[0002] 糖尿病肾病是糖尿病最严重的慢性微血管并发症之一,并最终引起终末肾衰竭,是糖尿病患者死亡的主要原因。然而,糖尿病肾病早期很难发现,且临床糖尿病肾病诊断黄金标准肌酐和蛋白尿也只能间接反映肾脏实质性病变,在正常蛋白尿期间无法诊断早期糖尿病肾病。通常当临床确诊时,糖尿病肾病患者错过了最佳的治疗时机,致使疾病急剧恶化,不可逆转。因此,针对糖尿病肾病早期损伤生物标志物早发现、早干预,具有重要的现实意义。

[0003] 目前研究发现了许多早期糖尿病肾病相关的生物标志物,有些生物标志物可以在此阶段释放到尿液中,尿液中的蛋白种类及含量的高低直接反映了泌尿系统,尤其是肾脏的健康状态,可以预测糖尿病肾病发生、发展及预后的情况。比如足糖萼蛋白(podocalyxin),是足细胞损伤的早期生物标志物,并与疾病的发展正相关;IV型胶原蛋白(Collagen IV),在维持细胞基底膜正确装配方面具有重要的作用;肾病蛋白(Nephrin),在裂空隔膜的装配中发挥重要的作用;肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP),是肾小球间质细胞损伤的生物标志物,可以预测糖尿病肾病的发生;中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、胱抑素C(cystatinC)、神经生长因子-1(Netrin-1)是肾小管近端损伤的生物标志物。对这些与疾病发生发展密切相关的生物标志物进行检测,有助于了解糖尿病肾病发生和发展,有效提高对肾病并发症的预测能力。

[0004] 免疫胶体金技术(Immune colloidal gold technique)是以胶体金作为示踪生物标志物应用于抗原抗体的一种新型的免疫标记技术,英文缩写为GICT。胶体金是由氯金酸(HAuCl₄)在还原剂如白磷、抗坏血酸、枸橼酸钠、鞣酸等作用下,聚合成为特定大小的金颗粒,并由于静电作用成为一种稳定的胶体状态,称为胶体金。胶体金在弱碱环境下带负电荷,可与蛋白质分子的正电荷基团形成牢固的结合,由于这种结合是静电结合,所以不影响蛋白质的生物特性。胶体金除了与蛋白质结合以外,还可以与许多其它生物大分子结合,如SPA、PHA、ConA等。根据胶体金的一些物理性状,如高电子密度、颗粒大小、形状及颜色反应,加上结合物的免疫和生物学特性,因而使胶体金广泛地应用于免疫学、组织学、病理学和细胞生物学等领域。

[0005] 目前检测早期糖尿病肾病的检测设备中常用的方法是采用酶联免疫技术(ELISA),其技术缺点如下:检测设备体积大、成本高;检测时间长、重复性不好,不适合临床的快速筛查。然而,目前尚无利用多种生物标志物同时进行定量检测的设备,因此不能实现同时定量检测早期糖尿病肾病的多种生物标志物,从而无法为早期糖尿病肾病临床诊断提供依据。

发明内容

[0006] 本发明的主要目的在于提供一种检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,旨在解决目前检测设备无法同时定量检测早期糖尿病肾病多种生物标志物的问题。

[0007] 为实现上述目的,本发明提供了一种检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法,所述胶体金试纸条包括样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜、吸水垫以及支撑垫,所述制备方法包含以下步骤:

[0008] 制备胶体金的步骤:将0.01%的氯金酸与1%柠檬酸钠混合,煮沸搅拌直到出现红色得到胶体金,将该胶体金保存备用;

[0009] 制备胶体金抗体复合物的步骤:将与每种生物标志物对应的其中一种单克隆抗体分别与制备好的胶体金混合并通过梯度稀释法确定最低浓度的单克隆抗体,在标记单克隆抗体时,取制备好的胶体金与最低浓度的单克隆抗体混合,搅拌后加入牛血清白蛋白(BSA)并经纯化获得胶体金抗体复合物;

[0010] 金标垫处理步骤:将金标垫在BSA中浸泡第一段时间后并干燥,将制备好的胶体金抗体复合物均匀铺在金标垫上并恒温干燥第二段时间;

[0011] 在硝酸纤维素膜上制备检测线的步骤:将选择的每种与生物标志物对应的另一种配对单克隆抗体按照排列顺序在硝酸纤维素膜上平行划线制作成多条检测线并恒温干燥第二段时间;

[0012] 在硝酸纤维素膜上制备控制线的步骤:将二抗在硝酸纤维素膜上的检测线之后划一根与检测线平行的线制作成控制线并恒温干燥第二段时间;

[0013] 样品垫处理步骤:将样品垫在磷酸缓冲液(PBS)中浸泡第一段时间,恒温干燥第二段时间制作成样品垫备用;

[0014] 制备吸水垫的步骤:选择吸水垫并按照预定宽度进行裁剪;

[0015] 组装胶体金试纸条的步骤:将上述制备好的样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜以及吸水垫首尾相互重叠预设长度并依次粘贴在支撑垫上,经裁剪得到胶体金试纸条。

[0016] 优选的,所述样品垫和金标垫均采用玻璃纤维膜或聚酯膜材料制成,所述吸水垫采用吸水纤维或吸水海绵材料制成。

[0017] 优选的,所述通过梯度稀释法确定最低浓度的单克隆抗体的步骤包括如下步骤:

[0018] 选择一种单克隆抗体,利用0.002mol/L、pH 9.0的PBS将选择的单克隆抗体稀释到预设浓度梯度0.01~0.1mg/ml;

[0019] 将所述单克隆抗体稀释液与胶体金按照1:5混合,并将PH调整为9.0,孵育10分钟;

[0020] 加入0.1ml的10%氯化钠(NaCl)得到胶体金抗体复合物,然后检测520nm下的吸光值,经比较分析确定稳定1ml胶体金的最低抗体量即为选择的单克隆抗体的最低浓度;

[0021] 确定其他单克隆抗体的最低浓度采用以上相同步骤;

[0022] 通过比较每一种单克隆抗体的最低浓度来确定最低浓度的单克隆抗体。

[0023] 优选的,所述纯化获得胶体金抗体复合物的步骤包括如下步骤:

[0024] 将胶体金与最低浓度的一种单克隆抗体混合液搅拌10分钟,缓慢加入BSA使浓度为1%,继续搅拌30分钟,4℃静置2~3小时,获得免疫胶体金复合物;

[0025] 将所述免疫胶体金复合物采用离心法纯化,先2000rpm离心10分钟后将上清转移

到离心管中,再12000rpm离心20分钟后去掉上清;

[0026] 用TBS缓冲液悬起红色沉积物,再用TBS悬起红色沉积物为原体积的1/10,即为纯化的1ml胶体金抗体复合物。

[0027] 优选的,所述第一段时间为2~3小时,所述第二段时间为3~12小时,所述恒温为25℃~30℃。

[0028] 优选的,其特征在于,所述生物标志物包括足糖萼蛋白、IV型胶原蛋白、肝型脂肪酸结合蛋白和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白。

[0029] 优选的,所述单克隆抗体包括足糖萼蛋白单克隆抗体、IV型胶原蛋白单克隆抗体、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白单克隆抗体以及肝型脂肪酸结合蛋白单克隆抗体。

[0030] 优选的,所述多条检测线设置在所述硝酸纤维素膜的排列顺序是沿着样品垫上的样品层析方向并按照生物标志物分子量从大到小平行等间隔排列。

[0031] 优选的,所述预设长度为1.5~2mm,所述二抗为羊抗鼠IgG或兔抗鼠IgG。

[0032] 相较于现有技术,本发明通过上述制备方法制备成的胶体金试纸条可以针对早期糖尿病肾病的多种早期生物标志物进行检测,解决单一生物标志物筛查谱狭窄及预见性较差的问题,可以节省检测成本,提高检测准确性。此外,所述胶体金试纸条可以结合定量检测仪一起使用实现多种生物标志物的同时定量检测,为早期糖尿病肾病临床诊断提供依据,提高检测效率。

附图说明

[0033] 图1是本发明检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条较佳实施例的结构示意图;

[0034] 图2是本发明检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法较佳实施例的流程示意图。

[0035] 本发明目的的实现、功能特点及优点将结合实施例,参照附图做进一步说明。

具体实施方式

[0036] 为更进一步阐述本发明为达成上述目的所采取的技术手段及功效,以下结合附图及较佳实施例,对本发明的具体实施方式、结构、特征及其功效进行详细说明。应当理解,此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0037] 如图1所示,图1是本发明检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条较佳实施例的结构示意图。在本实施例中,所述胶体金试纸条包括样品垫1、金标垫2、硝酸纤维素膜3、吸水垫4以及支撑垫5。其中,所述样品垫1、金标垫2、硝酸纤维素膜3、吸水垫4首尾相互重叠预设长度(例如1.5~2mm)并粘贴在所述支撑垫5上。所述金标垫2上包被多种生物标志物的单克隆抗体,所述硝酸纤维素膜3上设置有多条检测线31(例如T1~T4)和一条控制线32,每一条检测线31包被有一种与所述金标垫2上所包被的单克隆抗体相配对的另一种单克隆抗体。所述控制线32包被二抗,例如羊抗鼠IgG或者兔抗鼠IgG。所述二抗是指能和金标垫2上标记的一种单克隆抗体结合,即抗抗体,其主要作用是检测金标试纸条的有效性。本发明实施例中所使用的包被一词意为非特异性吸附固定意思,本发明实施例中所使用的材料和试剂除特别说明外,均为普通市售。

[0038] 在本实施例中,所述多种生物标志物包括,但不限于,足糖萼蛋白(podocalyxin)、

IV型胶原蛋白(CollagenIV)、肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)。

[0039] 每一条检测线31包被有一种与所述金标垫2上所包被的抗体相配对的另一种单克隆抗体,所述多条检测线设置在所述硝酸纤维素膜3的排列顺序是沿着样品垫上的样品层析方向6并按照生物标志物分子量从大到小平行等间隔排列。例如,足糖萼蛋白(podocalyxin)、IV型胶原蛋白(Collagen IV)、肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL),按照分子量依次大约为55KDa、160KDa、14KDa、21KDa,因此,不同检测线31包被的另一种抗单克隆抗体从左到右依次为抗IV型胶原蛋白(Collagen IV)单克隆抗体、抗足糖萼蛋白(podocalyxin)单克隆抗体、抗中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)单克隆抗体及抗肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)单克隆抗体。

[0040] 在本实施例中,所述样品垫1和金标垫2均采用玻璃纤维膜或聚酯膜材料制成,所述样品垫1为待检测的样品(例如尿液)的加样位置。所述金标垫2上标记有针对生物标志物的单克隆抗体。所述检测线31包被的抗体和金标垫2包被的抗体为一种相互配对单克隆抗体。所述控制线32包被的抗体为一种能和金标垫2上标记的一种单克隆抗体结合的二抗,例如,羊抗鼠IgG或兔抗鼠IgG。所述样品垫1、金标垫2、硝酸纤维素膜3、吸水垫4首尾相互重叠预设长度(例如1.5~2mm)并粘贴在所述支撑垫5上。所述吸水垫4采用吸水能力强的吸水纤维或吸水海绵材料制成,能够对所述样品垫1上的样品液体具有强吸引流作用,即样品液体通过所述金标垫2将金标抗体-抗原复合物或者金标抗体复合物沿着样品液体的层析方向6吸附至所述硝酸纤维素膜3上相应的检测线位置或控制线位置。所述支撑垫5为一种硬质塑料底板或PVC支撑底板。

[0041] 如图2所示,图2是本发明检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法较佳实施例的流程示意图。所述胶体金试纸条的制备方法包括步骤:

[0042] 步骤S21,制备胶体金的步骤:将0.01%的氯金酸与1%柠檬酸钠混合,煮沸搅拌直到出现红色得到胶体金,将该胶体金保存备用;

[0043] 在本实施例中,采用柠檬酸三钠还原法制备直径为20~30nm的胶体金颗粒100ml。首先,配制0.01%的氯金酸,例如取99ml三蒸水加入至500ml的锥形瓶中,加入1%氯金酸水溶液1ml,使氯金酸的浓度为0.01%;将配制好的0.01%的氯金酸加热煮沸,然后加入1.0~2.0ml的1%柠檬酸钠,期间不停的搅拌,继续煮沸直到出现红色,再继续煮沸10分钟,定容至100ml,并将配制好的胶体金保存在4℃温度下备用。

[0044] 步骤S22,制备胶体金抗体复合物的步骤:将每一种单克隆抗体分别与制备好的胶体金混合并通过梯度稀释法确定最低浓度的单克隆抗体,在标记抗体时,取制备好的胶体金与最低浓度的单克隆抗体混合,搅拌之后加入牛血清白蛋白(BSA),继续搅拌并经纯化获得胶体金抗体复合物;

[0045] 在本实施例中,选择一种单克隆抗体,利用0.002mol/L、pH 9.0的磷酸缓冲液(PBS)将选择的与生物标志物对应的单克隆抗体稀释到预设的浓度梯度(例如0.01~0.1mg/ml);将抗体稀释液与胶体金按照1:5混合(例如将抗体稀释液0.2ml加入到1ml的胶体金中),PH调整为9.0,孵育10分钟后,在加入0.1ml的10%氯化钠(NaCl)得到胶体金抗体复合物,然后检测520纳米(nm)下的吸光值,稳定1ml胶体金的最低抗体量即为选择的标记抗体的最低浓度;其他单克隆抗体的最低浓度采用以上同样方法确定;通过比较每一种单

克隆抗体的最低浓度来确定最低浓度的单克隆抗体。

[0046] 在标记单克隆抗体时,取10ml制备好的胶体金放置于50ml的小烧杯中,调节PH值为9.0,缓慢加入稳定1ml胶体金的最低浓度的单克隆抗体,搅拌10分钟,之后缓慢加入牛血清白蛋白(BSA)使BSA浓度为1%,继续搅拌30分钟,4℃静置2~3小时,获得10ml的免疫胶体金复合物;将标记好的胶体金复合物进行离心法纯化,2000rpm离心10分钟,将上清转移到离心管中,再12000rpm离心20分钟后去掉上清。用TBS缓冲液轻轻悬起疏松的红色沉积物。重复以上操作一次,再用TBS轻轻悬起疏松的红色沉积物为原体积的1/10,即为1ml纯化的免疫胶体复合物。采用同样方法分别确定将要检测的其他生物标志物单克隆抗体的最低浓度,并分别纯化以备使用。

[0047] 步骤S23,金标垫处理步骤:将金标垫2在BSA中浸泡第一段时间(例如2~3)小时后并干燥,采用制备好的胶体金抗体复合物均匀铺在处理好的金标垫2上并恒温干燥第二段时间备用;

[0048] 在本实施例中,采用浸泡标金法制备金标垫2。先用2.0%的BSA浸泡金标垫2(例如玻璃纤维膜或聚酯膜)2~3小时,干燥后备用;采用胶体金抗体复合物用喷金仪以1.0u1/cm作为喷量均匀铺在处理好的金标垫2上,恒温(例如25℃~30℃)干燥第二段时间(例如3~12小时)。

[0049] 步骤S24,在硝酸纤维素膜上制作检测线的步骤:将选择的每种与生物标志物对应的另一种配对单克隆抗体按照排列顺序在硝酸纤维素膜3上平行划线制作成多条检测线31并恒温干燥第二段时间;

[0050] 在本实施例中,取浓度为2.0~2.5mg/ml的单克隆抗体,按照1u1/cm在硝酸纤维素膜3上分别划多条平行线,各平行线之间距离5~10mm,每一线条长度0.5~0.8cm,恒温25℃~30℃干燥第二段时间(例如3~12小时)制作成检测线31。所述多条检测线31设置在硝酸纤维素膜3的排列顺序是沿着样品垫1上的样品层析方向并按照生物标志物分子量从大到小平行等间隔排列。

[0051] 步骤S25,在硝酸纤维素膜上制作控制线的步骤:将二抗在硝酸纤维素膜3上的检测线31之后(例如检测线T4)划一根与每一条检测线31平行的线制作成控制线32并恒温干燥第二段时间;

[0052] 在本实施例中,取浓度为2.0~2.5mg/ml的二抗,按照1u1/cm在硝酸纤维素膜3上划线,与检测线31平行间隔5~10mm,线条长度0.5~0.8cm,恒温(例如25℃~30℃)干燥第二段时间(例如3~12小时)小时制成控制线32。

[0053] 步骤S26,样品垫处理步骤:将样品垫在PBS缓冲液中浸泡第一段时间(例如2~3),恒温25℃干燥第二段时间制作成样品垫1备用;

[0054] 在本实施例中,将样品垫1在0.1mol/L的PBS缓冲液中浸泡2~3小时,恒温(例如25℃~30℃)干燥第二段时间(例如3~12小时)小时备用。

[0055] 步骤S27,制作吸水垫的步骤:选择吸水垫4并按照预定宽度进行裁剪;在本实施例中,裁剪一条预定宽度(例如长2cm*宽1cm)的吸水垫4。

[0056] 步骤S28,组装胶体金试纸条的步骤:将上述制备好的样品垫1、金标垫2、硝酸纤维素膜3以及吸水垫4首尾相互重叠预设长度并依次粘贴在支撑垫5上,经裁剪得到胶体金试纸条;

[0057] 在本实施例中,取长度为8~15cm的支撑垫5,在支撑垫5上依次粘贴样品垫1、金标垫2、硝酸纤维素膜3、吸水垫4,各相邻垫之间相互重叠预设长度(例如1.5~2mm),并切成宽为(0.5~0.8)cm、长为(8~10)cm的胶体金试纸条。

[0058] 在使用本发明利用述胶体金试纸条检测早期糖尿病肾病患者的尿液(样品)时,患者的尿液流经样品垫1,患者尿液中早期糖尿病肾病相关的生物标志物与金标垫2上的相应抗体结合,形成胶体金抗体复合物(即抗原抗体免疫复合物);该复合物随着样品液体在硝酸纤维素膜3上层析流动。当层析到检测线区域时,则被预先包被有标志物的另一种单克隆抗体捕获截留在检测线31(例如T1~T4)上,捕获的某种标志物越多,在某一条检测线31上颜色越深;同时,在层析过程中,未被截留的胶体金抗体复合物继续前行,当到达控制线32区域,则会被预先包被的二抗(例如羊抗鼠IgG)识别并截留在控制线32上,显示红色。根据不同检测线31上红色的深浅来判断样品中的不同标志物的含量。如果样品中不含有某种标志物,则在相应的检测线上不呈现颜色,如果含有某种标志物,就会在相应的检测线31上呈现不同深浅程度的红色。控制线32上如果没有红色条带出现,则说明胶体金试纸条失效。本发明所述胶体金试纸条具有检测容易、应用广泛、携带方便、筛查全面的优点,并可以与颜色采集设备结合实现多种标志物的同时定量检测,提高检测效率。

[0059] 以上仅为本发明的优选实施例,并非因此限制本发明的专利范围,凡是利用本发明说明书及附图内容所作的等效结构或等效功能变换,或直接或间接运用在其他相关的技术领域,均同理包括在本发明的专利保护范围内。

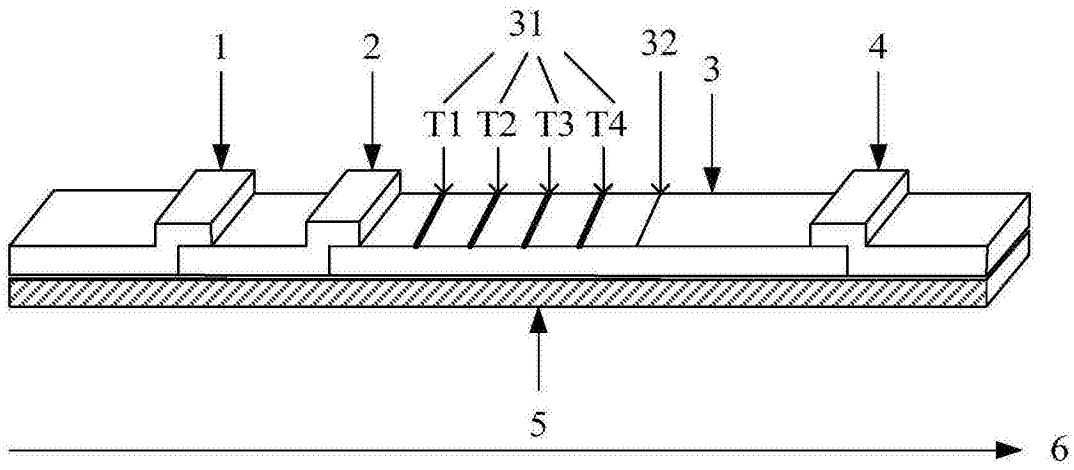


图1

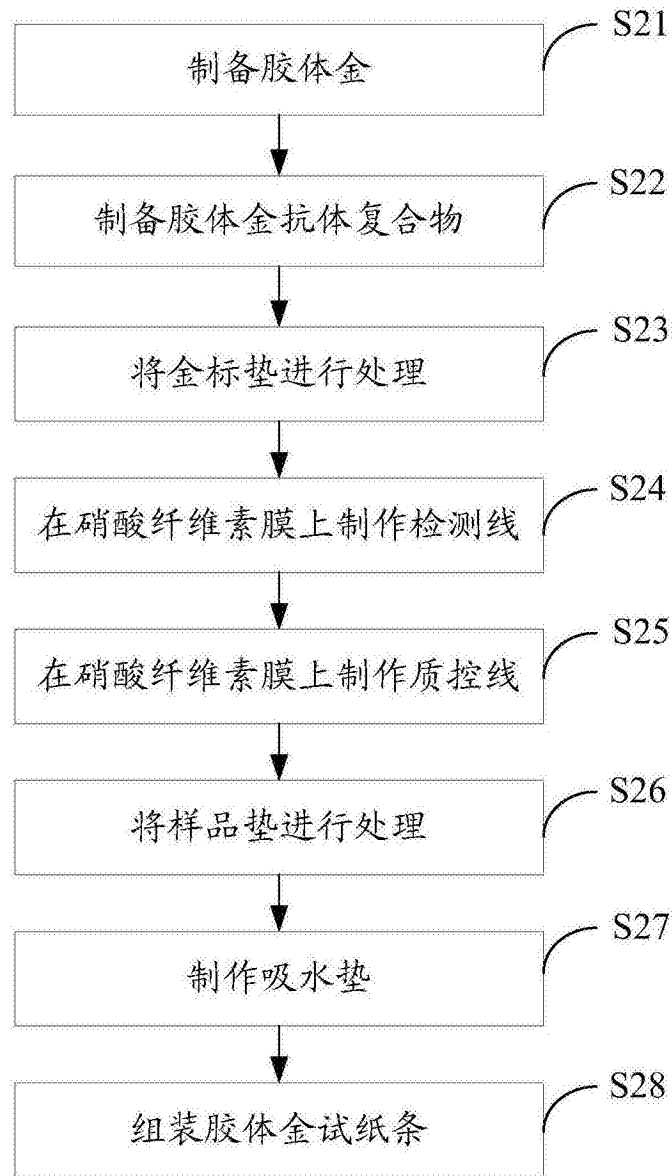


图2

专利名称(译)	检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法		
公开(公告)号	CN106066399A	公开(公告)日	2016-11-02
申请号	CN201610348706.6	申请日	2016-05-24
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市前海安测信息技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	深圳市前海安测信息技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市前海安测信息技术有限公司		
[标]发明人	张贯京 陈兴明 高伟明 李慧玲 徐之艳		
发明人	张贯京 陈兴明 高伟明 李慧玲 徐之艳		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/532		
CPC分类号	G01N33/558 G01N33/532 G01N2800/347		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种检测早期糖尿病肾病的胶体金试纸条的制备方法，所述胶体金试纸条包括样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜、吸水垫以及支撑垫，所述制备方法包含以下步骤：制备胶体金的步骤；制备胶体金抗体复合物的步骤；金标垫处理步骤；在硝酸纤维素膜上制备检测线的步骤；在硝酸纤维素膜上制备控制线的步骤；样品垫处理步骤；制备吸水垫的步骤；组装胶体金试纸条的步骤。本发明通过上述步骤制备成的胶体金试纸条可以实现同时定量检测早期糖尿病肾病的多种生物标志物，解决单一生物标志物筛查谱狭窄及预见性较差的问题，从而节省检测早期糖尿病肾病的成本，提高检测的准确性及效率。

