



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108982882 A

(43)申请公布日 2018.12.11

(21)申请号 201810652230.4

(22)申请日 2018.06.22

(71)申请人 卢氏实验室公司

地址 美国圣地亚哥CA92121买莎山脊场
10054号118室

申请人 南京路始生物科技有限公司

(72)发明人 卢惟钊 詹姆斯·傲翊·卢
胡成龙 卢剑

(74)专利代理机构 北京高沃律师事务所 11569
代理人 王戈

(51)Int.Cl.

G01N 33/82(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/58(2006.01)

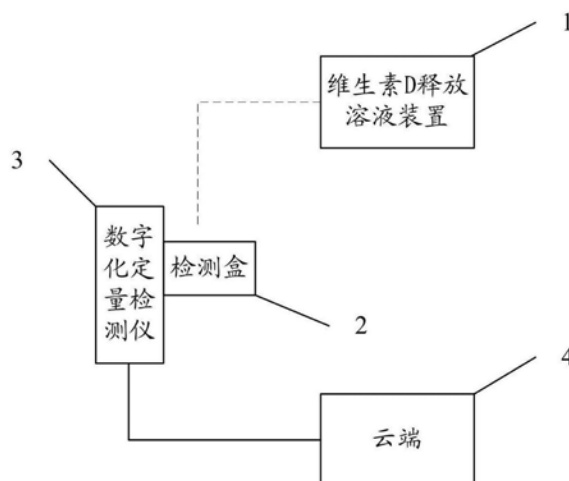
权利要求书2页 说明书8页 附图2页

(54)发明名称

一种数字化信息化维生素D快速检测系统和方法

(57)摘要

本发明公开了一种数字化信息化维生素D快速检测系统和方法。该系统包括：维生素D释放溶液装置，用于利用水溶性化学物释放溶液将待测样本中的维生素D与蛋白分离，得到待测维生素D样品；免疫层析条，用于获取反应待测维生素D样品中维生素D浓度的复合沉淀线；检测盒，用于放置免疫层析条；数字化定量检测仪，与检测盒连接；云端，与数字化定量检测仪无线连接。本发明将检测结果数字化、信息化，提供给所需设备存储和使用，提高了检测效率和精度。



1. 一种数字化信息化维生素D快速检测系统,其特征在于,包括:

维生素D释放溶液装置,用于利用水溶性化学物释放溶液将待测样本中的维生素D与蛋白分离,得到待测维生素D样品;

免疫层析条,用于获取反应所述待测维生素D样品中维生素D浓度的复合沉淀线,所述复合沉淀线是所述待测维生素D样品中的维生素D与所述免疫层析条中的标记物和包被物质反应得到的;

检测盒,用于放置所述免疫层析条;

数字化定量检测仪,与所述检测盒连接,用于检测所述复合沉淀线的颜色强度、依据所述颜色强度计算所述待测维生素D样品中维生素D的浓度、确定待测维生素D样品对应的测试信息以及读取、显示和传送所述浓度和所述测试信息;

云端,与所述数字化定量检测仪无线连接,用于存储所述浓度和所述测试信息。

2. 根据权利要求1所述的一种数字化信息化维生素D快速检测系统,其特征在于,所述免疫层析条包括底板、加样区、固相标记物区、层析区和吸水区,所述底板上由下到上依次粘贴设置加样区、固相标记物区、层析区和吸水区;所述层析区包括检测区和对照区。

3. 根据权利要求2所述的一种数字化信息化维生素D快速检测系统,其特征在于,所述固相标记物质区为由固相标记物构成的固相标记物质膜;所述检测区为由包被物质构成的包被物质层析膜。

4. 根据权利要求1所述的一种数字化信息化维生素D快速检测系统,其特征在于,所述数字化定量检测仪包括:

记忆单位,用于获取待测维生素D样品对应的测试信息;

颜色强度读取单元,用于对所述免疫层析条上的复合沉淀线进行拍照或扫描,得到待测颜色强度信息;

检测分析单元,与所述记忆单位和所述颜色强度读取单元连接;用于接收所述待测信息和所述待测颜色强度信息,以及将接收到的所述待测颜色强度信息与已存储的颜色强度标准曲线进行对比,分析并计算所述待测样品中维生素D的浓度;

数据传输单元,与所述检测分析单元连接,用于传输所述待测信息和所述浓度,并将所述待测信息和所述浓度通过云端传递出去;

数据显示单元,与所述数据传输单元连接,用于读取和显示所述浓度和所述测试信息。

5. 根据权利要求4所述的一种维生素D快速检测系统,其特征在于,所述数字化定量检测仪还包括:

塑壳卡座,用于放置所述免疫层析条。

6. 一种用于权利要求1-5中任意一项所述检测系统的数字化信息化维生素D快速检测方法,其特征在于,包括:

在试管中放置维生素D水溶性化学物释放溶液;

在所述水溶性化学物释放溶液中滴加待测样本,培育10-20分钟后,得到所述待测维生素D样品;

将所述待测维生素D样品滴加至免疫层析条的加样区,所述含有待测维生素D样品在所述免疫层析条上上行至固相标记物区,所述液体中的维生素D与固相标记物质膜中的固相标记物形成第一复合物,所述第一复合物继续上行至层析区中的检测区,检测区上的包被

物质与所述第一复合物复合,形成复合沉淀线;

将所述免疫层析条插入塑壳卡座,数字化定量检测仪的照片或扫描模式自动打开,检测所述复合沉淀线的颜色强度;

依据所述颜色强度计算所述待测样品中维生素D的浓度,并获取待测维生素D样品对应的测试信息;

读取、显示和传送所述浓度和所述测试信息。

7. 根据权利要求6所述的维生素D快速检测方法,其特征在于,所述固相标记物质膜的制备方法为:

将标记物和被标记物结合后溶解于缓冲液中,得到标记复合物溶液;

将所述标记物溶液喷涂在玻璃纤维膜上,形成带标记物的玻璃纤维膜;

将所述带标记物的玻璃纤维膜在真空干燥器中干燥,得到固相标记物质膜。

8. 根据权利要求6所述的维生素D快速检测方法,其特征在于,所述包被物质层析膜的制备方法为:

利用包被物溶液在硝基纤维膜上划线,形成检测线或检测线 and 对照区;

将划线后的硝基纤维膜放在37℃环境下烘干25分钟,得到包被物质层析膜。

9. 根据权利要求6所述的维生素D快速检测方法,其特征在于,所述复合沉淀线上的复合物是利用三明治夹心法或竞争法形成的。

一种数字化信息化维生素D快速检测系统和方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医药和医学检验技术领域,特别是涉及一种数字化信息化维生素D快速检测系统和方法。

背景技术

[0002] 维生素D(25羟基维生素D)在人体内具有广泛的功能,例如,可以调节钙代谢,维持肌肉骨骼系统,介导免疫反应,调节细胞凋亡,调节多种内分泌,调节造血功能等。联合国卫生组织统计数据显示,全球约90%人口有维生素不足之症,但如果摄入外来维生素D过量,则又会导致中毒。因此,检测人体内维生素D的浓度尤为重要。

[0003] 血液中的维生素D 80%与维生素D结合蛋白(DBP)紧密结合在一起,其它20%又与其它蛋白,如白蛋白结合在一起,所以检测血液,血清,血浆中维生素D的真实水平十分困难。

[0004] 目前通常采用的方法有:

[0005] 1)采用有机溶剂将维生素D从结合蛋白中释放出来,如氯仿,乙烷,乙酸乙酯等,然后将有机溶剂蒸发以取得水溶液再进行检测,或采用相色谱法、HPLC等仪器对释放后的溶液进行监测,该方法操作复杂,检测效率低且检测效果也有待提高;

[0006] 2)将维生素D结合蛋白包被作为样本垫,通过层析检测维生素D的浓度水平,但由于维生素D结合蛋白DBP在血样中的浓度相当高,导致检测结果精度不高。

发明内容

[0007] 基于此,有必要提供一种数字化信息化维生素D快速检测系统和方法,以提高维生素D的检测效率和检测精度。

[0008] 为实现上述目的,本发明提供了如下方案:

[0009] 一种数字化信息化维生素D快速检测系统,包括:

[0010] 维生素D释放溶液装置,用于利用水溶性化学物释放溶液将待测样本中的维生素D与蛋白分离,得到待测维生素D样品;

[0011] 免疫层析条,用于获取反应所述待测维生素D样品中维生素D浓度的复合沉淀线,所述复合沉淀线是所述待测维生素D样品中的维生素D与所述免疫层析条中的标记物和包被物质反应得到的;

[0012] 检测盒,用于放置所述免疫层析条;

[0013] 数字化定量检测仪,与所述检测盒连接,用于检测所述复合沉淀线的颜色强度、依据所述颜色强度计算所述待测维生素D样品中维生素D的浓度、确定待测维生素D样品对应的测试信息以及读取、显示和传送所述浓度和所述测试信息;

[0014] 云端,与所述数字化定量检测仪无线连接,用于存储所述浓度和所述测试信息。

[0015] 可选的,所述免疫层析条包括底板、加样区、固相标记物区、层析区和吸水区,所述底板上由下到上依次粘贴设置加样区、固相标记物区、层析区和吸水区;所述层析区包括检

测区和对照区。

[0016] 可选的,所述固相标记物质区为由固相标记物构成的固相标记物质膜;所述检测区为由包被物质构成的包被物质层析膜。

[0017] 可选的,所述数字化定量检测仪包括:

[0018] 记忆单元,用于获取待测维生素D样品对应的测试信息;

[0019] 颜色强度读取单元,用于对所述免疫层析条上的复合沉淀线进行拍照或扫描,得到待测颜色强度信息;

[0020] 检测分析单元,与所述记忆单元和所述颜色强度读取单元连接;用于接收所述待测信息和所述待测颜色强度信息,以及将接收到的所述待测颜色强度信息与已存储的颜色强度标准曲线进行对比,分析并计算所述待测样品中维生素D的浓度;

[0021] 数据传输单元,与所述检测分析单元连接,用于传输所述待测信息和所述浓度,并将所述待测信息和所述浓度通过云端传递出去;

[0022] 数据显示单元,与所述数据传输单元连接,用于读取和显示所述浓度和所述测试信息。

[0023] 可选的,所述数字化定量检测仪还包括:

[0024] 塑壳卡座,用于放置所述免疫层析条。

[0025] 本发明还提供了一种用于上述所述检测系统的数字化信息化维生素D快速检测方法,所述方法包括:

[0026] 在试管中放置维生素D水溶性化学物释放溶液;

[0027] 在所述水溶性化学物释放溶液中滴加待测样本,培育10-20分钟后,得到所述待测维生素D样品;

[0028] 将所述待测维生素D样品滴加至免疫层析条的加样区,所述含有待测维生素D样品在所述免疫层析条上行至固相标记物区,所述液体中的维生素D与固相标记物质膜中的固相标记物形成第一复合物,所述第一复合物继续上行至层析区中的检测区,检测区上的包被物质与所述第一复合物复合,形成复合沉淀线;

[0029] 将所述免疫层析条插入塑壳卡座,数字化定量检测仪的照片或扫描模式自动打开,检测所述复合沉淀线的颜色强度;

[0030] 依据所述颜色强度计算所述待测样品中维生素D的浓度,并获取待测维生素D样品对应的测试信息;

[0031] 读取、显示和传送所述浓度和所述测试信息。

[0032] 可选的,所述固相标记物质膜的制备方法为:

[0033] 将标记物和被标记物结合后溶解于缓冲液中,得到标记复合物溶液;

[0034] 将所述标记物溶液喷涂在玻璃纤维膜上,形成带标记物的玻璃纤维膜;

[0035] 将所述带标记物的玻璃纤维膜在真空干燥器中干燥,得到固相标记物质膜。

[0036] 可选的,所述包被物质层析膜的制备方法为:

[0037] 利用包被物溶液在硝基纤维膜上划线,形成检测线或检测线和对照区;

[0038] 将划线后的硝基纤维膜放在37℃环境下烘干25分钟,得到包被物质层析膜。

[0039] 可选的,所述复合沉淀线上的复合物是利用三明治夹心法或竞争法形成的。

[0040] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:

[0041] 本发明提出了一种数字化信息化维生素D快速检测系统和方法,该系统包括:维生素D释放溶液装置,用于利用水溶性化学物释放溶液将待测样本中的维生素D与蛋白分离,得到待测维生素D样品;免疫层析条,用于获取反应待测维生素D样品中维生素D浓度的复合沉淀线;检测盒,用于放置免疫层析条;数字化定量检测仪,与检测盒连接;云端,与数字化定量检测仪无线连接。本发明的系统或方法,将检测结果数字化、信息化,提供给所需设备存储和使用,提高了检测效率和精度。

附图说明

[0042] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动性的前提下,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0043] 图1为本发明实施例一种数字化信息化维生素D快速检测系统的结构示意图;

[0044] 图2为本发明实施例一种数字化信息化维生素D快速检测系统中免疫层析条的结构示意图;

[0045] 图3为采用不同量的水溶性化学物释放溶液得到的检测结果图。

具体实施方式

[0046] 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。

[0047] 为使本发明的上述目的、特征和优点能够更加明显易懂,下面结合附图和具体实施方式对本发明作进一步详细的说明。

[0048] 图1为本发明实施例一种数字化信息化维生素D快速检测系统的结构示意图;图2为本发明实施例一种数字化信息化维生素D快速检测系统中免疫层析条的结构示意图。

[0049] 参见图1和图2,实施例的数字化信息化维生素D快速检测系统,包括:维生素D释放溶液装置1,利用水溶性化学物释放溶液将待测样本中的维生素D与蛋白分离,得到待测维生素D样品;所述水溶性化学物释放溶液可以一次性的将与蛋白结合的结合状态中的维生素D全部释放出来,以便检测待测样本中维生素D的真实水平;免疫层析条,用于获取反应所述待测维生素D样品中维生素D浓度的复合沉淀线,所述复合沉淀线是所述待测维生素D样品中的维生素D与所述免疫层析条中的标记物和包被物质反应得到的;检测盒2,用于放置所述免疫层析条;数字化定量检测仪3,与所述检测盒2连接,用于检测所述复合沉淀线的颜色强度、依据所述颜色强度计算所述待测维生素D样品中维生素D的浓度、确定待测维生素D样品对应的测试信息以及读取、显示和传送所述浓度和所述测试信息,所述测试信息或包括测试样品名称、测试编号、测试用户姓名、测试用户性别、测试时间和备注信息;读取和计算所述浓度,并将其显示和传送出去;云端4,与所述数字化定量检测仪无线连接,用于存储所述浓度和所述测试信息。

[0050] 作为一种可选的实施方式,所述水溶性化学物释放溶液的成分可以为:PH为7的磷

酸缓冲液,其中含氯化钠0.8%、8-Anilino-1-Napthalene Sulphonic acid ammonium salt (8-苯胺基-1-萘磺酸铵盐),具体为1.6克/升的8-苯胺基-1-萘磺酸铵盐、160毫升/升的3-(alpha-acetonyl benzyl)-4-hydroxycoumarin (3-(α -丙酮基苄基)-4-羟基香豆素)和160毫升/升的甲醇。

[0051] 作为一种可选的实施方式,所述水溶性化学物释放溶液的成分还可以为:PH为7.0-7.5的磷酸缓冲液,该缓冲液包括5%的Dimethyl Sulfoxide (二甲基亚砜,DMSO)和0.7%的乙醇。

[0052] 作为一种可选的实施方式,所述免疫层析条包括底板、加样区21、固相标记物区22、层析区23和吸水区24,所述层析区包括检测区和对照区。所述免疫层析条的制备方法为:首先,在底板上由下到上依次粘贴设置加样区21、固相标记物区22、层析区23和吸水区24,得到组装后的底板,粘贴时,各个区的交叠为1mm~1.5mm;然后将组装后的底板切条,得到免疫层析条,所述免疫层析条的宽度为3.0mm~5.0mm,本实施例中,所述免疫层析条的宽度为4.0mm,所述底板的材质为塑料或胶片材料。

[0053] 所述固相标记物区22为固相标记膜;所述固相标记膜的制备方法为:1)将标记物和被标记物结合后溶解于缓冲液中,得到标记物溶液;2)将所述标记物溶液喷涂在玻璃纤维膜,形成带标记物的玻璃纤维膜;3)将所述带标记物的玻璃纤维膜在真空干燥器中干燥,得到固相标记物质膜。其中,所述标记物颗粒可为胶体金,磁颗粒,碳颗粒,晒粒,胶金颗粒,银粒,有色乳胶粒,荧光,脂质体,其它颗粒等,本实施例中,所述标记物质为胶体金。

[0054] 所述层析区23中的检测区为包被物质层析膜;所述包被物质层析膜的制备方法为:1)利用包被物溶液在硝基纤维膜上划线,形成检测线;2)将划线后的硝基纤维膜放在37℃环境下烘干25分钟,得到包被物质层析膜。

[0055] 作为一种可选的实施方式,所述数字化定量检测仪3包括:记忆单位,用于获取待测维生素D样品对应的测试信息;颜色强度读取单元,用于对所述免疫层析条上的复合沉淀线进行拍照或扫描,得到待测颜色强度信息;检测分析单元,与所述记忆单位和所述颜色强度读取单元连接;用于接收所述待测信息和所述待测颜色强度信息,以及将接收到的所述待测颜色强度信息与已存储的颜色强度标准曲线进行对比,分析并计算所述待测样品中维生素D的浓度;数据传输单元,与所述检测分析单元连接,用于传输所述待测信息和所述浓度,并将所述待测信息和所述浓度通过云端传递出去;数据显示单元,与所述数据传输单元连接,用于读取和显示所述浓度和所述测试信息。

[0056] 作为一种可选的实施方式,所述数字化定量检测仪3还包括:塑壳卡座,用于放置所述免疫层析条(试盒)。

[0057] 作为一种可选的实施方式,所述数字化定量检测仪3为手持便携式数字化定量检测仪,所述手持便携式数字化定量检测仪的型号为QikTech-4000 (JAJ international, Inc.San Diego,CA,USA),该型号的手持便携式数字化定量检测仪是一种影像测定整套设备,包括:记忆单位,输入待测样本对应的信息;读数仪、检测软件和云端服务组成,检测时,将放置有免疫层析条的检测盒2插入数字化定量检测仪3,数字化定量检测仪3自动打开其照明装置,检测免疫层析条上复合沉淀线的颜色强度,基于智能快速诊断测试(RDT)阅读器,进行图像采集,处理分析和输出。

[0058] 在实际应用中,上述数字化信息化维生素D快速检测系统基于以下两个原理实现。

[0059] 1) 三明治夹心法:

[0060] 待测样本为血样,可为血液,或指血,或血清,或血浆。将5微升的血样滴加到维生素D释放溶液装置1中,室温培育10-15分钟,水溶性化学物释放溶液将血样中的维生素D与蛋白分离,得到待测释放血样;然后将60-80微升的待测释放血样滴加到免疫层析条(试盒)的加样区21,液体依层析原理上行至固相标记物区22,所述液体中的维生素D与固相标记物质膜中的标记物形成第一复合物,所述第一复合物为所述维生素D与所述固相标记物质膜中的标记物复合而成,可命名为“维生素D—标记物”;所述第一复合物继续上行至层析区23中的检测区,检测线中的固相物质与所述第一复合物复合,形成复合沉淀线,可命名为“标记物—维生素D—包被固相物质”,该复合沉淀线的颜色强度与待测样本中标维生素D的浓度成正比;在特定检测时间如10—15分钟,利用数字化定量检测仪3检测所述复合沉淀线的颜色强度,并记录结果。

[0061] 2) 竞争法:

[0062] 待测样本为血样,可为血液,或指血,或血清,或血浆。将5微升的血样滴加到维生素D释放溶液装置1中,室温培育10-15分钟,水溶性化学物释放溶液将血样中的维生素D与蛋白分离,得到待测释放血样;然后将60-80微升的待测释放血样滴加到免疫层析条(试盒)的加样区21,液体依层析原理上行至固相标记物区22,将固相标记物质膜中的标记物溶解,形成“维生素D—标记物”复合物;该复合物进入层析区23中,维生素D与配对抗维生素抗体标记物质或维生素-BSA结合蛋白标记物根据竞争原理,竞争标记物,竞争后剩余游离标记物在检测线位置形成“游离标记物—维生素D”复合沉淀线。该复合沉淀线的颜色将与血样中维生素D的浓度成反比例;在特定检测时间如10—15分钟,利用数字化定量检测仪3检测所述复合沉淀线的颜色强度,并记录结果。

[0063] 本实施例中的数字化信息化维生素D快速检测系统和方法,通过维生素D释放溶液将维生素D从结合蛋白状态分离出来,操作简单,提高了检测效率和检测精度;通过数字化定量检测仪读取结果与显示结果,将检测结果信息化、数字化,进一步提高了检测效率和检测精度。

[0064] 本发明还提供了一种上述数字化信息化维生素D快速检测系统和方法,所述方法,包括:

[0065] 在试管中放置维生素D水溶性化学物释放溶液;

[0066] 在所述水溶性化学物释放溶液中滴加待测样本,培育10-20分钟后,得到所述待测维生素D样品;

[0067] 将所述待测维生素D样品滴加至免疫层析条的加样区,所述含有待测维生素D样品在所述免疫层析条上行至固相标记物区,所述液体中的维生素D与固相标记物质膜中的固相标记物形成第一复合物,所述第一复合物继续上行至层析区中的检测区,检测区上的包被物质与所述第一复合物复合,形成复合沉淀线;

[0068] 将所述免疫层析条插入塑壳卡座,数字化定量检测仪的照片或扫描模式自动打开,检测所述复合沉淀线的颜色强度;

[0069] 依据所述颜色强度计算所述待测样品中维生素D的浓度,并获取待测维生素D样品对应的测试信息;

[0070] 读取、显示和传送所述浓度和所述测试信息。

[0071] 本实施例中,在检测区形成检测线(复合沉淀线);

[0072] 本实施例中,所述水溶性化学物释放溶液可以选用:

[0073] 第一种成分组成:所述水溶性化学物释放溶液的成分可以为:PH为7的磷酸缓冲液,其中含氯化钠0.8%、8-Anilino-1-Napthalene Sulphonic acid ammonium salt(8-苯胺基-1-萘磺酸铵盐),具体为1.6克/升的8-苯胺基-1-萘磺酸铵盐、160毫升/升的3-(alpha-acetonyl benzyl)-4-hydroxycoumarin(3-(α -丙酮基苄基)-4-羟基香豆素)和160毫升/升的甲醇。

[0074] 第二种成分组成:所述水溶性化学物释放溶液的成分还可以为:PH为7.0-7.5的磷酸缓冲液,该缓冲液包括5%的Dimethyl Sulfoxide(二甲基亚砜,DMSO)和0.7%的乙醇。

[0075] 本实施例中,选用第一种成分组成的水溶性化学物释放溶液得到待测维生素D样品,对检测结果进行验证:

[0076] 待测样本为5-10微升的血样,具体为血清或血浆,将待测血样加入到200微升第一种成分构成的水溶性化学物释放溶液中,室温培育5-15分钟,形成的释放样本作为待测液备用。图3为采用不同量的水溶性化学物释放溶液得到的检测结果图,其中横坐标表示水溶性化学物释放溶液的加入量,纵坐标表示复合沉淀线的颜色强度,曲线a为采用原量(200微升)第一种成分构成的水溶性化学物释放溶液得到的检测曲线,曲线b-f分别为采用0.5倍、1倍、2倍、3倍和4倍量的第一种成分构成的水溶性化学物释放溶液得到的检测曲线。对应的采用不同量的水溶性化学物释放溶液得到的检测结果表格如表1下:

[0077] 表1

[0078]

25 OH D3	水溶性化学物释放溶液					
维生素 D 加入血清 中的量 (ng/ml)	原量	0.5 倍	1 倍	2 倍	3 倍	4 倍
0	0.0820	0.0790	0.0720	0.0810	0.0860	0.0860
10	0.1200	0.1460	0.1380	0.2500	0.1890	0.2130
20	0.1930	0.1650	0.2450	0.4740	0.4270	0.4600
40	0.2670	0.1770	0.5340	1.2800	1.1370	1.1490
80	0.4790	0.4750	1.4910	2.2840	2.3280	2.4670
160	0.4750	1.0800	2.2710	3.4700	3.5900	3.7960

[0079] 本实施例中,所述固相标记物质膜的制备方法为:将标记物质溶解于缓冲液中,得到标记物溶液;将所述标记物溶液喷涂在玻璃纤维膜,形成带标记物的玻璃纤维膜;将所述带标记物的玻璃纤维膜在真空干燥器中干燥,得到固相标记物质膜。

[0080] 所述包被物质层析膜的制备方法为:利用包被物溶液在硝基纤维膜上划线,形成检测线;将划线后的硝基纤维膜放在37℃环境下烘干25分钟,得到包被标记物层析膜。

[0081] 作为一种可选的实施方式,所述免疫层析条可以基于三明治夹心法的原理进行制备,制备方法如下:

[0082] 1) 制备固相标记物质膜:将产品型号为VD-020的维生素D抗体按50微克/10毫升胶体金溶液(JAJ international, Inc. San Diego, CA, USA)加入胶体金标记溶液中,搅拌10~15分钟后,加入浓度为1%的小牛血清蛋白液,所述小牛血清蛋白液与胶体金标记溶液体积比为1:7~15,经高速(12000PM) 4℃离心10分钟后,得到有色沉淀物,所述有色沉淀物为标记物。抽取掉上清液,沉淀物溶解于特定缓冲液中。将稀释后的标记物标记浸泡在玻璃纤维膜上,将浸泡后的纤维膜在真空干燥器下,35~38℃进行真空干燥,8小时左右制得固相标记物质膜。

[0083] 2) 制备包被物质层析膜:层析膜上检测区包被液的维生素D配对抗体VD-022浓度为2mg/ml;所述包被液喷涂量为每30cm硝基纤维膜喷涂80ul/秒。将3毫克/毫升的兔抗鼠IgG溶液(产品型号#125-3401),速度同前,划线于反应区上制作质控线C线,得到划线的对照区。划线采用划线仪进行划线,所述划线仪的型号为Biodot CA, USA。划线后,将硝基纤维膜放在37℃环境下烘干25分钟,得到包被物质层析膜。

[0084] 3) 在底板上由下到上依次粘贴设置加样条、固相标记物质膜、包被物质层析膜和吸水条,切割后得到免疫层析条。

[0085] 作为一种可选的实施方式,所述免疫层析条还可以基于竞争法的原理进行制备,制备方法如下:

[0086] 1) 固相标记物质,例如抗维生素D抗体膜的制备与基于三明治夹心法的原理进行制备方法相同。

[0087] 2) 制备包被物质层析膜:层析膜上检测区包被液物维生素D-BSA的VD-124(JAJ international, Inc. San Diego, CA, USA)浓度为2mg/ml;所述包被液喷涂量为每30cm硝基纤维膜喷涂80ul/秒。将3毫克/毫升的兔抗鼠IgG溶液(产品型号#125-3401),速度同前,划线于反应区上制作质控线C线,得到划线的对照区。划线采用划线仪进行划线,所述划线仪的型号为Biodot CA, USA。划线后,将硝基纤维膜放在37℃环境下烘干25分钟,得到包被物质层析膜。

[0088] 3) 在底板上由下到上依次粘贴设置加样条、固相标记物质膜、包被物质层析膜和吸水条,切割后得到免疫层析条。

[0089] 下面,采用上述检测方法对待测样品中的维生素的浓度进行检测。

[0090] 将10微升血样或5微升血浆或5微升血清滴入到200微升水溶性化学物释放溶液中,室温培育10-15分钟,然后培育后的液样取80微升滴入到免疫层析条的加样区,在特定检测时间如10-15分钟,将免疫层析条插入到QikTech-4000定量检测仪上,得到检测结果,并通过结果读取与显示装置读取和显示检测结果。表2为采用基于三明治夹心法的原理进行检测的检测结果,表3为采用基于竞争法的原理进行检测的检测结果。

[0091] 表2

[0092]

维生素D浓度 (ng/ml)	颜色强度
0	0.053
5	0.110

15	0.332
30	0.810
70	1.994
100	2.520

[0093] 表3

[0094]

维生素D浓度 (ng/ml)	颜色强度
0	2.520
5	1.994
15	0.810
30	0.332
70	0.110
100	0.053

[0095] 本实施例中的数字化信息化维生素D快速检测方法,直接采用水溶性化学物释放溶液将维生素D从结合蛋白状态分离出来,操作简单,并且检测结果数字化、信息化,进一步提高了检测效率和检测精度。

[0096] 本文中应用了具体个例对本发明的原理及实施方式进行了阐述,以上实施例的说明只是用于帮助理解本发明的方法及其核心思想;同时,对于本领域的一般技术人员,依据本发明的思想,在具体实施方式及应用范围上均会有改变之处。综上所述,本说明书内容不应理解为对本发明的限制。

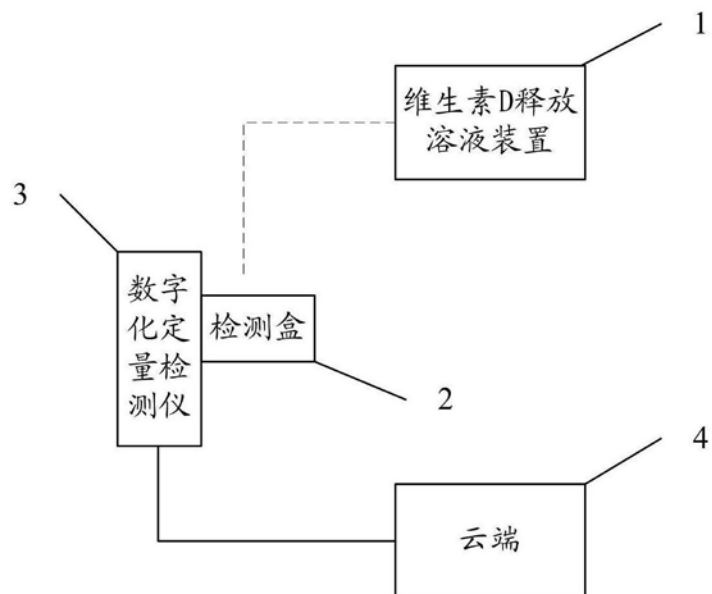


图1

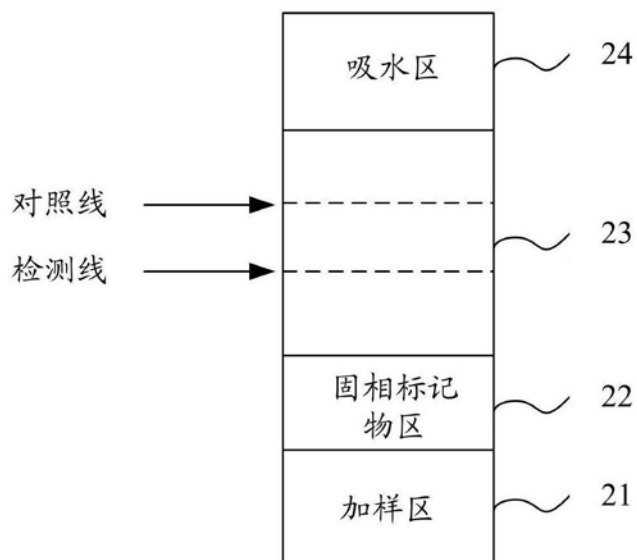


图2

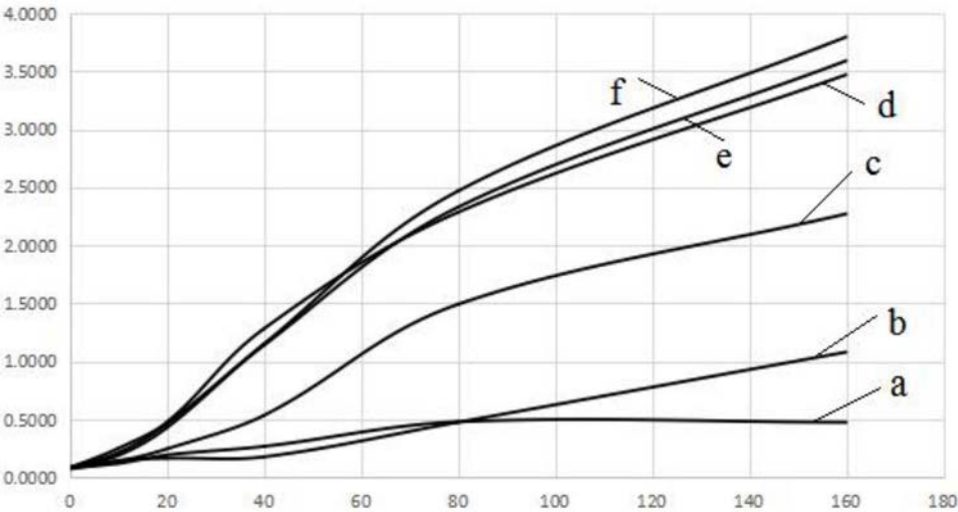


图3

专利名称(译)	一种数字化信息化维生素D快速检测系统和方法		
公开(公告)号	CN108982882A	公开(公告)日	2018-12-11
申请号	CN201810652230.4	申请日	2018-06-22
[标]申请(专利权)人(译)	卢氏实验室公司 南京路始生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	卢氏实验室公司 南京路始生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	卢氏实验室公司 南京路始生物科技有限公司		
[标]发明人	卢惟钊 詹姆斯·傲翊卢 胡成龙 卢剑		
发明人	卢惟钊 詹姆斯·傲翊卢 胡成龙 卢剑		
IPC分类号	G01N33/82 G01N33/532 G01N33/558 G01N33/58		
CPC分类号	G01N33/82 G01N33/532 G01N33/558 G01N33/58		
代理人(译)	王戈		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种数字化信息化维生素D快速检测系统和方法。该系统包括：维生素D释放溶液装置，用于利用水溶性化学物释放溶液将待测样本中的维生素D与蛋白分离，得到待测维生素D样品；免疫层析条，用于获取反应待测维生素D样品中维生素D浓度的复合沉淀线；检测盒，用于放置免疫层析条；数字化定量检测仪，与检测盒连接；云端，与数字化定量检测仪无线连接。本发明将检测结果数字化、信息化，提供给所需设备存储和使用，提高了检测效率和精度。

