



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104880563 A

(43) 申请公布日 2015. 09. 02

(21) 申请号 201510162866. 7

(22) 申请日 2015. 04. 08

(71) 申请人 上海盛复源生物医药有限公司

地址 200030 上海市徐汇区天钥桥路 325 号
1915、16 室

(72) 发明人 李锐 闵洪中 刘辉荣

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006. 01)

G01N 33/533(2006. 01)

权利要求书2页 说明书5页

(54) 发明名称

一种 NGAL 快速检测试剂及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开一种 NGAL 快速检测试剂,其包括基片和覆盖在基片上的盖片,所述基片上依序加工有加样区、反应区、检测区和废液区;所述加样区、反应区、检测区和废液区均由微流通道构成;所述加样区放置有用于过滤生物样品的聚酯膜;所述反应区包被有干燥的荧光微球标记抗体,该干燥的荧光微球标记抗体包括荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体和荧光微球标记羊抗鼠免疫球蛋白(IgG)抗体;所述检测区包被有检测线和控制线,所述检测线包被有 NGAL 多克隆抗体;所述控制线包被有鼠 IgG 抗体;所述废液区为具有毛细作用的微流通道构成。本发明的 NGAL 快速检测试剂具有操作方便、检测快速、灵敏度高、准确性好等优点,且试剂制作工艺简便,制作过程对环境无污染,成本低。

1. 一种 NGAL 快速检测试剂, 包括基片和覆盖在基片上的盖片, 其特征在于, 所述基片上依序加工有加样区、反应区、检测区和废液区; 所述加样区、反应区、检测区和废液区均由微流通道构成; 所述加样区放置有用于过滤生物样品的聚酯膜; 所述反应区包被有干燥的荧光微球标记抗体, 该干燥的荧光微球标记抗体包括荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体和荧光微球标记羊抗鼠 IgG 抗体; 所述检测区包被有检测线和控制线, 所述检测线包被有 NGAL 多克隆抗体; 所述控制线包被有鼠 IgG 抗体; 所述废液区为具有毛细作用的微流通道构成。

2. 一种 NGAL 快速检测试剂的制备方法, 其特征在于, 其包括以下步骤:

步骤 S1, 制备荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体和荧光微球标记羊抗鼠 IgG 抗体;

步骤 S2, 制备出布满微流通道的基片和盖片;

步骤 S3, 在基片上制备出加样区、反应区、检测区和废液区;

步骤 S4, NGAL 快速检测试剂的组装。

3. 根据权利要求 2 所述的一种 NGAL 快速检测试剂的制备方法, 其特征在于, 所述步骤 S1 中制备荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体和荧光微球标记羊抗鼠 IgG 抗体的过程如下:

一、制备荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体

步骤 S01, 取 50mM 且 PH 值为 5.0 的 MEST, 将 NGAL 多克隆抗体稀释为体积为 100u1, 浓度为 2mg/ml 的抗体溶液;

步骤 S02, 取 100u1 的 0.02g/100ml 的荧光微球, 加到步骤 S01 制得的抗体溶液中, 超声作用 1 分钟;

步骤 S03, 室温下, 搅拌孵育 15 分钟;

步骤 S04, 加入 5u1 的 0.5g/ml 的 EDC, 超声作用 1 分钟;

步骤 S05, 加入 0.4u1 的 1M 的氢氧化钠, 调节 pH 为 6.5 ± 0.2 , 室温下搅拌反应 3 小时; 超声作用 1 分钟, 再加入 20u1 的 1M 的甘氨酸, 反应 30 分钟;

步骤 S06, 在 20000g 的离心力作用下离心 10 分钟, 弃去上清液并用 200u1 的 PBS 重悬, 超声作用 1 分钟;

步骤 S07, 重复步骤 S06 两次后, 最后将荧光微球用 100u1 的 1%PBSA 溶解重悬, 即制得荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体;

二、制备荧光微球标记羊抗鼠 IgG 抗体

步骤 S101, 取 50mM 且 PH 值为 5.0 的 MEST, 将羊抗鼠 IGG 抗体稀释为体积为 100u1, 浓度为 2mg/ml 的抗体溶液;

步骤 S102, 取 100u1 的 2% 的荧光微球, 加到步骤 S101 制得的抗体溶液中, 超声作用 1 分钟;

步骤 S103, 室温下, 搅拌孵育 15 分钟;

步骤 S104, 加入 5u1 的 0.5g/ml 的 EDC, 超声作用 1 分钟;

步骤 S105, 加入 0.4u1 的 1M 的氢氧化钠, 调节 pH 为 6.5 ± 0.2 , 室温下搅拌反应 3 小时; 超声作用 1 分钟, 再加入 20u1 的 1M 的甘氨酸, 反应 30 分钟;

步骤 S106, 在 20000g 的离心力作用下离心 10 分钟, 弃去上清液并用 200u1 的 PBS 重悬, 超声作用 1 分钟;

步骤 S107, 重复步骤 S106 两次后, 最后将荧光微球用 100u1 的 1%PBSA 溶解重悬, 即制得荧光微球标记羊抗鼠 IGG 抗体。

4. 根据权利要求 3 所述的一种 NGAL 快速检测试剂的制备方法, 其特征在于, 所述步骤 S2 中制备出布满微流通道的基片和盖片如下:

步骤 S21, 在 70 摄氏度条件下, 恒温鼓风干燥箱中烘干 COC 基片;

步骤 S22, 使用注塑成型法以带有凸起微通道结构的金属材料作为阳模, 制备出带微流通道的 COC 基片和 COC 盖片, 且该带微流通道的 COC 基片注塑成型有预设加样区、预设反应区、预设检测区、废液区; 所述预设检测区带有预设检测线位置和预设控制线位置。

5. 根据权利要求 4 所述的一种 NGAL 快速检测试剂的制备方法, 其特征在于, 步骤 S3 中反应区的制备过程如下: 使用含有 1%BSA 的 0.01M 的 PBS, 1000 倍稀释荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体; 使用含有 1%BSA 的 0.01M 的 PBS, 10000 倍稀释荧光微球标记羊抗鼠 IGG 抗体; 将稀释后的荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体和稀释后的羊抗鼠 IGG 抗体混合, 得到两种抗体的混合物; 使用喷点仪将 10u1 所述混合物喷点于带有微通道 COC 基片上预设反应区的中心, 再在 37℃ 摄氏度条件下干燥 24 小时, 即制得试剂的反应区。

6. 根据权利要求 5 所述的一种 NGAL 快速检测试剂的制备方法, 其特征在于, 步骤 S3 中检测区的制备过程如下: 使用喷点仪在带微流通道的 COC 基片的预设检测区的预设检测线位置滴加 2u1 含有 1% 蔗糖的 0.01M 的 PBS, 且抗体浓度为 2mg/ml 的 NGAL 多克隆抗体; 使用喷点仪在带微流通道的 COC 基片的预设检测区的预设控制线位置滴加 2u1 含有 1% 蔗糖的 0.01M 的 PBS, 且抗体浓度为 2mg/ml 鼠 IgG 抗体; 然后在 37℃ 干燥 3 小时, 即制得带检测线和控制线的检测区。

7. 根据权利要求 6 所述的一种 NGAL 快速检测试剂的制备方法, 其特征在于, 步骤 S4 中 NGAL 快速检测试剂的组装过程为: 在 COC 基片的加样区加入滤血膜, 再将 COC 盖片覆盖在 COC 基片上, 使用焊接的方式将 COC 基片和 COC 盖片封合起来, 且所述 COC 基片和 COC 盖片上的微通道形成闭合的通道, 即完成试剂的组装。

一种 NGAL 快速检测试剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医药试剂领域,具体涉及一种 NGAL(中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白)快速检测试剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是临床各科室最常见的急危重症之一。从轻微血肌酐升高到严重无尿性 AKI, AKI 程度和临床表现不一而足, AKI 与患者病死率、慢性肾脏病(CKD)的发生以及维持性透析率密切相关。AKI 发病率逐年增高,已由 1988 年的 610 例(每百万人)增加至 2009 年的 2888 例(每百万人),全国近 10 年的统计数据显示, AKI 患者占同期住院患者比例为 0.28%~3.19%,而在 ICU 中更高达 30%~50%;病死率为 14.5%~41.9%。危重症患者尤其老年患者的 AKI 发生率日益增加,需要接受肾脏替代治疗的 AKI 死亡率高达 50%~80%,全球每年约有 200 万人死于 AKI。因此,如何防治 AKI 的发生、发展已成为当前肾脏病研究工作中的一个重点和热点。

[0003] 目前,我国 AKI 临床研究主要聚焦于 AKI 流行病学调查、早期分类和诊断、AKI 早期生物标记物研究、特殊类型 AKI 的诊治及 AKI 连续性血液净化治疗等。要想更好地对 AKI 进行定义和分期、实现早期诊断,研发更好的肾脏损伤标志物是一个重要研究方向。在早期诊断方面,目前研究较多的生物标志物包括肾损伤分子(KIM)-1、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、IL-18 及半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C(Cystatin C)等。

[0004] 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophilgelatinase-associated lipocalin, NGAL),也称为脂质运载蛋白-2(Lipocalin-2),是 1993 年在动物中性粒细胞中发现的与明胶酶结合的分明性蛋白,相对分子质量为 25000,属于脂质运载蛋白家族的成员。在生理状态下,中性粒细胞、肾小管上皮细胞、肺泡巨噬细胞、支气管上皮黏液细胞、胃壁细胞、小肠潘氏细胞、肝胆管细胞、胰腺细胞等分泌少量 NGAL,循环 NGAL 通过肾小球滤过,在近端肾小管重吸收。研究人员通过缺血性及肾毒性顺上动物模型发现,在损伤发生 2h 内肾小管上皮细胞 NGAL 的转录表达有显著升高。大量后续的临床研究也证实了动物的结果,血液和尿液 NGAL 在不同年龄、不同疾病患者中都具有较好的急性肾功能损伤(acute kidney injury, AKI)预测价值。发生缺血性和毒性肾损伤的过程中,肾小管上皮细胞中的 NGAL 将显著增加,在开始的两个小时内,尿液和血液中 NGAL 水平将显著增加,因此 NGAL 是早期急性肾损伤的敏感标志物。

[0005] 中国专利(CN101163971B)提出通过对体液中嗜中性粒细胞明胶酶相关性脂蛋白(neutrophilgelatinase-associated lipocalin, NGAL)的测定来诊断并监测人的疾病的方法,包括由缺血性损伤(由于对肾脏的血液供给受损)、接触肾毒剂或对移植肾脏的排斥所导致的那些。特别可用于早期检测肾脏对缺血性损伤的反应,缺血性损伤的临床或病理结果通常是急性肾衰竭(ARF)、急性肾小管坏死(ATN)或急性肾小管间质性肾病(ATIN),并也可用于监测肾病的病程,包括对治疗性措施的反应。

[0006] 目前,检测 NGAL 方法主要有酶联免疫法(中国专利 CN101650369)、基于抗体免疫

的微型柱测试法(中国专利 CN101163971)、胶乳免疫比浊法(中国专利 CN102072960A) 和 NGAL 荧光免疫层析定量检测试纸条(中国专利 CN202837303U)。酶联免疫法操作容易受到酶活性变化的影响,结果不太准确;胶乳比浊法反应特异性不好,所需试剂比较复杂。免疫层析方法操作简便,但其一方面其灵敏性不高;另一方面由于结合垫上标记物释放不均一、NC 膜的差异大、样品层析速度不可控等原因导致检测结果精密度不高。

[0007] 为解决上述问题,如果能利用 NGAL(中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白)标志物的抗体,以微流控技术为平台,研发出一种针对 AKI 诊断的 NGAL 快速检测试剂。使其与现有检测试剂相比,具有操作方便、检测快速、灵敏度高、准确性好等优点;将其应用于肾损伤的监测,可以提高肾损伤诊断的准确率。则就会受到市场的广泛欢迎和具有极大的市场价值。

发明内容

[0008] 为了解决现有技术中存在的上述问题,本发明的目的是提供一种 NGAL 快速检测试剂及其制备方法,该方法制备的试剂具有操作方便、检测快速、灵敏度高、准确性好等优点,且试剂制作工艺简便,制作过程对环境无污染,成本低。

[0009] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案为:一种 NGAL 快速检测试剂,包括基片和覆盖在基片上的盖片,其特征在于,所述基片上依序加工有加样区、反应区、检测区和废液区;所述加样区、反应区、检测区和废液区均由微流通道构成;所述加样区放置有用于过滤生物样品的聚酯膜;所述反应区包被有干燥的荧光微球标记抗体,该干燥的荧光微球标记抗体包括荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体和荧光微球标记羊抗鼠 IgG (immunoglobulin G, 免疫球蛋白 G) 抗体;所述检测区包被有检测线和控制线,所述检测线包被有 NGAL 多克隆抗体;所述控制线包被有鼠 IgG 抗体;所述废液区为具有毛细作用的微流通道构成。

[0010] 一种 NGAL 快速检测试剂的制备方法包括以下步骤:

步骤 S1, 制备荧光微球标记 NGAL(中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白)多克隆抗体和荧光微球标记羊抗鼠 IgG 抗体;

步骤 S2, 制备出布满微流通道的基片和盖片;

步骤 S3, 在基片上制备出加样区、反应区、检测区和废液区;

步骤 S4, NGAL 快速检测试剂的组装。

[0011] 优选的技术方案,所述步骤 S1 中制备荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体和荧光微球标记羊抗鼠 IgG 抗体的过程如下:

一、制备荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体

步骤 S01, 取 50mM 且 PH 值为 5.0 的 MEST (2-(N-morpholino)ethanesulfonic acid-tween, 2 - (N-吗啉)乙磺酸-吐温), 将 NGAL 多克隆抗体稀释为体积为 100ul, 浓度为 2mg/ml 的抗体溶液;

步骤 S02, 取 100ul 的 0.02g/100ml 的荧光微球, 加到步骤 S01 制得的抗体溶液中, 超声作用 1 分钟;

步骤 S03, 室温下, 搅拌孵育 15 分钟;

步骤 S04, 加入 5ul 的 0.5g/ml 的 EDC, 超声作用 1 分钟;

步骤 S05, 加入 0.4ul 的 1M 的氢氧化钠, 调节 pH 为 6.5 ± 0.2, 室温下搅拌反应 3 小

时 ;超声作用 1 分钟,再加入 20ul 的 1M 的甘氨酸,反应 30 分钟 ;

步骤 S06,在 20000g 的离心力作用下离心 10 分钟,弃去上清液并用 200ul 的 PBS (Phosphate Buffered Saline, 磷酸盐缓冲液) 重悬,超声作用 1 分钟 ;

步骤 S07,重复步骤 S06 两次后,最后将荧光微球用 100ul 的 1%PBSA (含 1% 牛血清白蛋白(BSA) 的磷酸盐缓冲液) 溶解重悬,即制得荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体 ;

二、制备荧光微球标记羊抗鼠 IgG 抗体

步骤 S101,取 50mM 且 PH 值为 5.0 的 MEST,将羊抗鼠 IGG 抗体稀释为体积为 100ul,浓度为 2mg/ml 的抗体溶液 ;

步骤 S102,取 100ul 的 2% 的荧光微球,加到步骤 S101 制得的抗体溶液中,超声作用 1 分钟 ;

步骤 S103,室温下,搅拌孵育 15 分钟 ;

步骤 S104,加入 5ul 的 0.5g/ml 的 EDC(1-(3-Dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide,1- 乙基 -(3- 二甲基氨基丙基) 碳酰二亚胺),超声作用 1 分钟 ;

步骤 S105,加入 0.4ul 的 1M 的氢氧化钠,调节 pH 为 6.5 ± 0.2 ,室温下搅拌反应 3 小时 ;超声作用 1 分钟,再加入 20ul 的 1M 的甘氨酸,反应 30 分钟 ;

步骤 S106,在 20000g 的离心力作用下离心 10 分钟,弃去上清液并用 200ul 的 PBS 重悬,超声作用 1 分钟 ;

步骤 S107,重复步骤 S106 两次后,最后将荧光微球用 100ul 的 1%PBSA 溶解重悬,即制得荧光微球标记羊抗鼠 IGG 抗体。

[0012] 进一步优选的技术方案,所述步骤 S2 中制备出布满微流通道的基片和盖片如下 :

步骤 S21,在 70 摄氏度条件下,恒温鼓风干燥箱中烘干 COC 基片 ;

步骤 S22,使用注塑成型法以带有凸起微通道结构的金属材料作为阳模,制备出带微流通道的 COC 基片和 COC 盖片,且该带微流通道的 COC 基片注塑成型有预设加样区、预设反应区、预设检测区、废液区 ;所述预设检测区带有预设检测线位置和预设控制线位置。

更进一步优选方案,步骤 S3 中反应区的制备过程如下 :使用含有 1%BSA 的 0.01M 的 PBS,1000 倍稀释荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体 ;使用含有 1%BSA 的 0.01M 的 PBS,10000 倍稀释荧光微球标记羊抗鼠 IGG 抗体 ;将稀释后的荧光微球标记 NGAL 多克隆抗体和稀释后的羊抗鼠 IGG 抗体混合,得到两种抗体的混合物 ;使用喷点仪将 10ul 所述混合物喷点于带有微通道 COC 基片上预设反应区的中心,再在 37℃ 摄氏度条件下干燥 24 小时,即制得试剂的反应区。

[0013] 再更进一步优选的技术方案,步骤 S3 中检测区的制备过程如下 :使用喷点仪在带微流通道的 COC 基片的预设检测区的预设检测线位置滴加 2ul 含有 1% 蔗糖的 0.01M 的 PBS,且抗体浓度为 2mg/ml 的 NGAL 多克隆抗体 ;使用喷点仪在带微流通道的 COC 基片的预设检测区的预设控制线位置滴加 2ul 含有 1% 蔗糖的 0.01M 的 PBS,且抗体浓度为 2mg/ml 鼠 IgG 抗体 ;然后在 37℃ 干燥 3 小时,即制得带检测线和控制线的检测区。

[0014] 步骤 S4 中 NGAL 快速检测试剂的组装过程为 :在 COC 基片的加样区加入滤血膜,再将 COC 盖片覆盖在 COC 基片上,使用焊接的方式将 COC 基片和 COC 盖片封合起来,且所述 COC 基片和 COC 盖片上的微通道形成闭合的通道,即完成试剂的组装。

[0015] 本发明相对于现有技术的有益效果为 :本发明利用优化的针对 NGAL (中性粒细胞

明胶酶相关脂质运载蛋白)标志物的抗体,以微流控技术为平台,开发出针对 AKI 诊断的 NGAL 快速检测试剂。与现有检测试剂相比,具有操作方便、检测快速、灵敏度高、准确性好等优点,应用于肾损伤的监测,可以提高肾损伤诊断的准确率。

具体实施方式

[0016] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚明了,下面结合具体实施方式,对本发明进一步详细说明。应该理解,这些描述只是示例性的,而并非要限制本发明的范围。此外,在以下说明中,省略了对公知结构和技术的描述,以避免不必要地混淆本发明的概念。

[0017] 实施例 1

一种 NGAL 快速检测试剂的制备方法包括以下步骤:

一,荧光微球标记抗体

按照下述流程在荧光微球表面分别标记 NGAL 多克隆抗体和羊抗鼠 IgG:

取 50mM 的 MEST (pH 为 5.0),将抗体稀释成浓度为 2mg/ml,总体积为 100ul;

取 100ul 的 0.02g/100ml 的荧光微球,加到抗体溶液中,90% 功率(总功率 350W 的超声仪,10-90% 功率可调,超声波频率 25KHZ,下同)超声 1min;

室温(25℃)下搅拌孵育 15min;

加入 5ul 的 0.5g/ml 的 EDC,混匀,90% 功率超声 1min;

加入 0.4ul 的 1M 的氢氧化钠,调节 pH 为 6.5 ± 0.2,室温下搅拌反应 3 小时;

停止反应,90% 功率超声 1min,加入 20ul 的 1M 的甘氨酸,反应 30 分钟;

20000g 离心 10 分钟,弃去上清液并用 200ul 的 PBS 重悬,90% 功率超声 1min;一共离心三次,最后的微球用 100ul 的 1%PBSA 溶解重悬,避光保存。

[0018] 二,微流通道制备

将 COC 材料放在恒温鼓风干燥箱中,70℃ 烘干。使用注塑成型法以带有凸起微通道结构的金属材料作为阳模,制备出带通道的 COC 微流基片和盖片(带有加样区、反应区、检测区、废液区)。

[0019] 三,微流通道反应区和检测区制备

微流通道反应区制备:使用含有 1%BSA 的 0.01M 的 PBS,1000 倍稀释标记 NGAL 抗体的荧光微球;使用含有 1%BSA 的 0.01M 的 PBS,10000 倍稀释标记羊抗鼠 IgG 抗体的荧光微球;将两种微球混合。使用喷点仪将此荧光微球混合物 10ul 喷点于 COC 基片微流通道反应区的中心,37℃ 干燥 24 小时。

[0020] 微流通道检测区制备:使用喷点仪在 COC 基片微流通道的检测区域检测线位置滴加 2ul (使用含有 1% 蔗糖的 0.01M 的 PBS 稀释,抗体浓度为 2mg/ml) NGAL 包被抗体,在控线位置滴加 2ul (使用含有 1% 蔗糖的 0.01M 的 PBS 稀释,抗体浓度为 2mg/ml) 鼠 IgG,37℃ 干燥 3 小时。

[0021] 四,微流通道封合

在 COC 基片的加样区加入滤血膜,将 COC 盖片覆盖在基片上,使用焊接的方式,将微流通道封合,形成封闭的通道。

[0022] 本发明制得的 NGAL 快速检测试剂的工作原理如下:

基片,作为微流通道的支撑,使用热成型的方法在基片上按照模具的形状制备出具有

不同功能区域的微流通道。

[0023] 加样区：带有滤血功能的聚酯膜，作为样品添加的区域，具有过滤红细胞等大颗粒的效果；另外，其涵水功能，能够确保样品慢慢释放到反应区，与标记荧光微球的抗体充分反应。

[0024] 反应区：作为标记荧光微球抗体的铺垫区，样品溶液从加样区流入此区域，并将干燥于此的荧光微球抗体复溶，样品中的抗原与荧光微球抗体在此反应。

[0025] 检测区：包被有检测线和控制线的区域，抗原-荧光微球标记抗体的复合物在此区域与检测线上的抗体结合形成检测线上的荧光信号；作为对照的荧光微球标记的羊抗鼠 IgG 在此区域与控制线上的鼠 IgG 反应形成控制线上的荧光信号。

[0026] 检测线和控制线：检测线上包被与待检测物反应的抗体即 NGAL 抗体，加样后，其与样品中的 NGAL 或已经结合有荧光微球标记抗体的 NGAL 结合，形成检测线的荧光信号，检测线的荧光信号与样品中 NGAL 的含量成正比关系。控制线上包被用作质控作用的鼠 IgG，反应区标记荧光微球的羊抗鼠 IgG 被样品溶解后流经此区域被控制线捕获，形成恒定的荧光信号，荧光信号的强弱不受样品的影响，此荧光信号用于质控检测卡的检测结果（校正环境影响、操作误差等因素带来的结果偏差）。

[0027] 废液区：未被检测区截留的样品和荧光微球等废液被毛细作用吸入废液区，起到将检测区域非特异荧光微球抗体洗去的作用，以降低检测背景，提高检测灵敏度。

[0028] 应当理解的是，本发明的上述具体实施方式仅仅用于示例性说明或解释本发明的原理，而不构成对本发明的限制。因此，在不偏离本发明的精神和范围的情况下所做的任何修改、等同替换、改进等，均应包含在本发明的保护范围之内。此外，本发明所附权利要求旨在涵盖落入所附权利要求范围和边界、或者这种范围和边界的等同形式内的全部变化和修改例。

专利名称(译)	一种NGAL快速检测试剂及其制备方法		
公开(公告)号	CN104880563A	公开(公告)日	2015-09-02
申请号	CN201510162866.7	申请日	2015-04-08
[标]发明人	李锐 闵洪中 刘辉荣		
发明人	李锐 闵洪中 刘辉荣		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N2800/347		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开一种NGAL快速检测试剂，其包括基片和覆盖在基片上的盖片，所述基片上依序加工有加样区、反应区、检测区和废液区；所述加样区、反应区、检测区和废液区均由微流通道构成；所述加样区放置有用于过滤生物样品的聚酯膜；所述反应区包被有干燥的荧光微球标记抗体，该干燥的荧光微球标记抗体包括荧光微球标记NGAL多克隆抗体和荧光微球标记羊抗鼠免疫球蛋白(IgG)抗体；所述检测区包被有检测线和控制线，所述检测线包被有NGAL多克隆抗体；所述控制线包被有鼠IgG抗体；所述废液区为具有毛细作用的微流通道构成。本发明的NGAL快速检测试剂具有操作方便、检测快速、灵敏度高、准确性好等优点，且试剂制作工艺简便，制作过程对环境无污染，成本低。