



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110873801 A

(43)申请公布日 2020.03.10

(21)申请号 201911228372.9

(22)申请日 2019.12.04

(71)申请人 海卫特(广州)医疗科技有限公司  
地址 510000 广东省广州市广州高新技术产业开发区新瑞路6号二栋B201

(72)发明人 杨晶 邓艳珍 黄晨珠 梁才弗  
岑赞询 王伟

(74)专利代理机构 广州华进联合专利商标代理有限公司 44224

代理人 林青中

(51)Int.Cl.

G01N 33/78(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

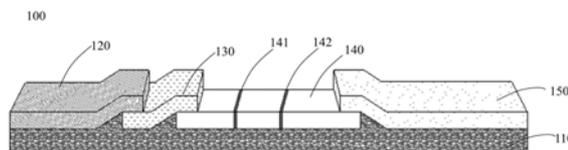
权利要求书2页 说明书8页 附图1页

(54)发明名称

甲状腺激素免疫层析试纸条及其制备方法和试剂盒

(57)摘要

本发明涉及一种甲状腺激素免疫层析试纸条及其制备方法和试剂盒。该试纸条包括基底和设在基底上的样品垫、标记垫、检测膜和吸收垫，样品垫、标记垫、检测膜及吸收垫从基底的一端至另一端依次连接；标记垫具有标记区，标记区含有荧光微球标记的动物甲状腺激素单抗与荧光微球标记的第一配合物；检测膜上设有检测区和质控区，检测区包被有动物甲状腺激素抗原，质控区包被有第二配合物，第一配合物与第二配合物能够特异性结合。本发明的甲状腺激素免疫层析试纸条，借助免疫分析仪检测荧光信号，通过光电磁信号放大系统使检测灵敏度得到大大的提高，有效排除背景色的干扰，减少了人为因素对结果的误判，操作安全、简单、快速、灵敏度高。



1. 一种甲状腺激素免疫层析试纸条,其特征在于,包括基底和设在所述基底上的样品垫、标记垫、检测膜和吸收垫,所述样品垫、所述标记垫、所述检测膜及所述吸收垫从所述基底的一端至另一端依次连接;

所述标记垫具有标记区,所述标记区含有荧光微球标记的动物甲状腺激素单抗与荧光微球标记的第一配合物;

所述检测膜上设有检测区和质控区,所述检测区包被有动物甲状腺激素抗原,所述质控区包被有第二配合物,所述第一配合物与所述第二配合物能够特异性结合。

2. 根据权利要求1所述的甲状腺激素免疫层析试纸条,其特征在于,所述荧光微球的直径为200nm~500nm;和/或

所述荧光微球受激发后发射的波长为500nm~600nm。

3. 根据权利要求1所述的甲状腺激素免疫层析试纸条,其特征在于,所述荧光微球是胶体金颗粒或磁珠微粒。

4. 根据权利要求1~3所述的甲状腺激素免疫层析试纸条,其特征在于,所述第一配合物与所述第二配合物中一个是抗体,另一个是与该抗体对应的二抗。

5. 一种权利要求1~4任一项所述的甲状腺激素免疫层析试纸条的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

将样品垫处理液加到样品垫,干燥;

将荧光微球溶液、动物甲状腺激素单抗与第一配合物制备成标记溶液,然后将所述标记溶液加到标记垫的标记区,干燥;

将动物甲状腺激素抗原溶液与第二配合物溶液分别加到检测膜的检测区和质控区,干燥;

将干燥后的所述样品垫、干燥后的所述标记垫、干燥后的所述检测膜及吸收垫置于基底上,并使所述样品垫、所述标记垫、所述检测膜及所述吸收垫从所述基底的一端至另一端依次连接,得到所述甲状腺激素荧光免疫层析试纸条。

6. 根据权利要求5所述的甲状腺激素免疫层析试纸条的制备方法,其特征在于,还包括制备标记溶液的步骤:

提供动物甲状腺激素单抗和第一配合物;

活化荧光微球,制备活化荧光微球溶液,然后将所述动物甲状腺激素单抗、所述第一配合物和所述活化荧光胶乳微粒溶液混匀,离心、保留沉淀;

将所述沉淀复溶,得到所述标记溶液。

7. 根据权利要求6所述的甲状腺激素免疫层析试纸条的制备方法,其特征在于,所述活化荧光微球溶液中活化荧光微球的浓度为800 $\mu$ g/100 $\mu$ L~1200 $\mu$ g/100 $\mu$ L;和/或

所述动物甲状腺激素单抗、所述第一配合物和所述活化荧光微球溶液的用量比为(0.2~0.8)mg:(0.2~0.8)mg:1mL。

8. 根据权利要求5所述的甲状腺激素免疫层析试纸条的制备方法,其特征在于,所述标记区上所述标记溶液的加入量为2 $\mu$ L/cm<sup>2</sup>~4 $\mu$ L/cm<sup>2</sup>。

9. 根据权利要求5~8任一项所述的甲状腺激素免疫层析试纸条的制备方法,其特征在于,所述动物甲状腺激素抗原溶液的浓度为0.5mg/mL~1.0mg/mL,在所述检测区上的加入量为0.5 $\mu$ L/cm~2 $\mu$ L/cm;和/或

所述第二配合物溶液的浓度为0.5mg/mL~1.0mg/mL,在所述质控区的加入量为0.5 $\mu$ L/cm~2 $\mu$ L/cm。

10.一种甲状腺激素免疫层析试剂盒,其特征在于,包括如权利要求1~4任一项所述的甲状腺激素荧光免疫层析试纸条和样本稀释液,所述样本稀释液中含有8-苯胺-1-萘磺酸。

## 甲状腺激素免疫层析试纸条及其制备方法和试剂盒

### 技术领域

[0001] 本发明涉及免疫层析检测技术领域,特别是涉及甲状腺激素免疫层析试纸条及其制备方法和试剂盒。

### 背景技术

[0002] 甲状腺激素(T4) 具有很重要的生理作用,它能促进动物的生长发育,促进动物体内糖类、蛋白质、脂肪的基础代谢,增加动物体内的产热量,作用于中枢神经、心血管、消化道等多种组织。甲状腺激素的合成和分泌不足会引起甲状腺功能减退(甲减),而甲状腺激素的合成和分泌过量又会导致甲状腺功能亢进(甲亢)。因此,检测血清中甲状腺激素(T4) 对于评估甲状腺功能是否正常具有重要的意义。

[0003] 目前检测甲状腺激素的免疫学方法主要有:平衡透析法、化学发光法、酶联免疫法。平衡透析法和酶联免疫法对实验操作要求高,并且耗时长,限制了其应用和发展;化学发光法需要大型仪器,对实验人员的要求较高。此外,上述检测方法主要针对于人的甲状腺激素检测,对于检测规格要求较低动物来说,采用上述检测方法则会导致技术成本和人员成本过高,在宠物医院难以普及。因此,至今对于动物甲状腺激素的检测仍存在较大的限制。

### 发明内容

[0004] 基于此,有必要针对动物甲状腺激素的检测受限的问题,提供一种甲状腺激素免疫层析试纸条及其制备方法和试剂盒。

[0005] 一种甲状腺激素免疫层析试纸条,包括基底和设在所述基底上的样品垫、标记垫、检测膜和吸收垫,所述样品垫、所述标记垫、所述检测膜及所述吸收垫从所述基底的一端至另一端依次连接;

[0006] 所述标记垫具有标记区,所述标记区含有荧光微球标记的动物甲状腺激素单抗与荧光微球标记的第一配合物;

[0007] 所述检测膜上设有检测区和质控区,所述检测区包被有动物甲状腺激素抗原,所述质控区包被有第二配合物,所述第一配合物与所述第二配合物能够特异性结合。

[0008] 在其中一个实施例中,所述荧光微球的直径为200nm~500nm;和/或

[0009] 所述荧光微球受激发后发射的波长为500nm~600nm。

[0010] 在其中一个实施例中,所述荧光微球是胶体金颗粒或磁珠微粒。

[0011] 在其中一个实施例中,所述第一配合物与所述第二配合物中一个是抗体,另一个是与该抗体对应的二抗。

[0012] 本发明提供一种任一项所述的甲状腺激素免疫层析试纸条的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

[0013] 将样品垫处理液加到样品垫,干燥;

[0014] 将荧光微球溶液、动物甲状腺激素单抗与第一配合物制备成标记溶液,然后将所

述标记溶液加到标记垫的标记区,干燥;

[0015] 将动物甲状腺激素抗原溶液与第二配合物溶液分别加到检测膜的检测区和质控区,干燥;

[0016] 将干燥后的所述样品垫、干燥后的所述标记垫、干燥后的所述检测膜及吸收垫置于基底上,并使所述样品垫、所述标记垫、所述检测膜及所述吸收垫从所述基底的一端至另一端依次连接,得到所述甲状腺激素荧光免疫层析试纸条。

[0017] 在其中一个实施例中,所述的甲状腺激素免疫层析试纸条的制备方法还包括制备标记溶液的步骤:

[0018] 提供动物甲状腺激素单抗和第一配合物;

[0019] 活化荧光微球,制备活化荧光微球溶液,然后将所述动物甲状腺激素单抗、所述第一配合物和所述活化荧光胶乳微粒溶液混匀,离心、保留沉淀;

[0020] 将所述沉淀复溶,得到所述标记溶液。

[0021] 在其中一个实施例中,所述活化荧光微球溶液中活化荧光微球的浓度为 $800\mu\text{g}/100\mu\text{L}\sim 1200\mu\text{g}/100\mu\text{L}$ ;和/或

[0022] 所述动物甲状腺激素单抗、所述第一配合物和所述活化荧光微球溶液的用量比为 $(0.2\sim 0.8)\text{mg}:(0.2\sim 0.8)\text{mg}:1\text{mL}$ 。

[0023] 在其中一个实施例中,所述标记区上所述标记溶液的加入量为 $2\mu\text{L}/\text{cm}^2\sim 4\mu\text{L}/\text{cm}^2$ 。

[0024] 在其中一个实施例中,所述动物甲状腺激素抗原溶液的浓度为 $0.5\text{mg}/\text{mL}\sim 1.0\text{mg}/\text{mL}$ ,在所述检测区上的加入量为 $0.5\mu\text{L}/\text{cm}\sim 2\mu\text{L}/\text{cm}$ ;和/或

[0025] 所述第二配合物溶液的浓度为 $0.5\text{mg}/\text{mL}\sim 1.0\text{mg}/\text{mL}$ ,在所述质控区的加入量为 $0.5\mu\text{L}/\text{cm}\sim 2\mu\text{L}/\text{cm}$ 。

[0026] 本发明还提供一种甲状腺激素免疫层析试剂盒,包括任一项所述的甲状腺激素荧光免疫层析试纸条和样本稀释液,所述样本稀释液中含有8-苯胺-1-萘磺酸。

[0027] 传统的检测甲状腺激素的免疫学方法主要有:平衡透析法、化学发光法、酶联免疫法。平衡透析法和酶联免疫法对实验操作要求高,并且耗时长,限制了其应用和发展;化学发光法需要大型仪器,对实验人员的要求较高。此外,上述检测方法主要针对于人的甲状腺激素检测,对于检测规格要求较低动物来说,采用上述检测方法则会导致技术成本和人员成本过高,在宠物医院难以普及。

[0028] 基于此,本发明开发出一种利用荧光免疫层析技术定量检测动物甲状腺激素的试纸条,采用荧光微球作为标记物,借助免疫分析仪检测荧光信号,通过光电磁信号放大系统使检测灵敏度得到大大的提高,有效排除背景色的干扰,减少了人为因素对结果的误判,操作安全、简单、快速、灵敏度高。且本发明的试纸条的储存温度在 $4^{\circ}\text{C}\sim 30^{\circ}\text{C}$ ,无需冷藏,性能稳定,易于保存,使用者操作快捷。经过试验研究表明,本发明的试纸条可以常温保存2年。

[0029] 此外,本发明提供的试剂盒中的样本稀释液中含有8-苯胺-1-萘磺酸(ANS),进一步提高了检测的准确度和灵敏度。

## 附图说明

[0030] 图1为本发明一实施例的甲状腺激素免疫层析试纸条的结构示意图;

[0031] 图2为本发明实施例1的甲状腺激素校准品浓度与C/T值的线性回归曲线图。

## 具体实施方式

[0032] 为使本发明的上述目的、特征和优点能够更加明显易懂,对本发明的具体实施方式做详细的说明。在下面的描述中阐述了很多具体细节以便于充分理解本发明。但是本发明能够以很多不同于在此描述的其它方式来实施,本领域技术人员可以在不违背本发明内涵的情况下做类似改进,因此本发明不受下面公开的具体实施例的限制。

[0033] 需要说明的是,当元件被称为“固定于”另一个元件,它可以直接在另一个元件上或者也可以存在居中的元件。当一个元件被认为是“连接”另一个元件,它可以是直接连接到另一个元件或者可能同时存在居中元件。本文所使用的术语“垂直的”、“水平的”、“左”、“右”以及类似的表述只是为了说明的目的。

[0034] 除非另有定义,本文所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。本文中在本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的,不是旨在于限制本发明。本文所使用的术语“及/或”包括一个或多个相关的所列项目的任意的和所有的组合。

[0035] 参见图1,本发明提供一种实施例的一种甲状腺激素免疫层析试纸条100,包括基底110和设在基底上的样品垫120、标记垫130、检测膜140和吸收垫150,样品垫120、标记垫130、检测膜140及吸收垫150从基底110的一端至另一端依次连接。

[0036] 以下动物甲状腺激素单克隆抗体记为动物甲状腺激素单抗。

[0037] 标记垫130具有标记区,标记区含有荧光微球标记的动物甲状腺激素单抗与荧光微球标记的第一配合物。

[0038] 检测膜140上设有检测区141和质控区142,检测区141包被有动物甲状腺激素抗原,质控区142包被有第二配合物,第一配合物与第二配合物能够特异性结合。

[0039] 在一实施例中,荧光微球的直径为200nm~500nm。荧光微球受激发后发射的波长为500nm~600nm。荧光微球可以是胶体金颗粒,也可以是磁珠微粒。

[0040] 在一实施例中,第一配合物与第二配合物中一个是抗体,另一个是与该抗体对应的二抗。

[0041] 在一实施例中,第一配合物与第二配合物中一个是抗体,另一个是与该抗体对应的二抗。如第一配合物是一抗,第二配合物是二抗,也可对换。更具体的,在一个示例中,第一配合物是抗IgG抗体,第二配合物是IgG抗体。例如,第一配合物为羊抗兔IgG抗体、羊抗鼠IgG抗体或羊抗鸡IgG抗体等,对应地,第二配合物可以为兔IgG抗体、鼠IgG抗体或鸡IgG抗体等。

[0042] 本实施例中,基底的材质优选为PVC,样品垫和标记垫优选为玻璃纤维,检测膜优选为硝酸纤维素膜,吸收垫采用常见的吸水滤纸。在基底上依次相互搭接地粘贴样品垫、标记垫、检测膜和吸收垫,切割成适当宽度,获得试纸条。需要说明的是,样品垫、标记垫、检测膜、吸收垫和基底之间还可以采用其他的粘贴方式,只要能实现连接即可。

[0043] 在一实施例中,本发明还提供一种任一项上述的甲状腺激素免疫层析试纸条的制备方法,包括如下步骤:

[0044] S1、将样品垫处理液加到样品垫,干燥。

[0045] 具体步骤为:将样品垫处理液,以2-8 $\mu$ L/cm的速度喷在样品垫上,过夜烘干。

[0046] 在一实施例中,样品垫处理液为含0.5-2mg/mL鼠IgG、0.5%-1%伊文斯兰和0.1-

2mg/mL RBC的样品垫稀释液,样品垫稀释液为含有0.5%–3%吐温-20和2%–5%BSA(牛血清白蛋白)的0.02M PB缓冲液(磷酸缓冲液)。

[0047] S2、将荧光微球溶液、动物甲状腺激素单抗与第一配合物制备成标记溶液,然后将标记溶液加到标记垫的标记区,干燥。

[0048] 在一实施例中,活化荧光微球溶液中活化荧光微球的浓度为800 $\mu$ g/100 $\mu$ L~1200 $\mu$ g/100 $\mu$ L。动物甲状腺激素单抗、第一配合物和活化荧光微球溶液的用量比为(0.2~0.8)mg:(0.2~0.8)mg:1mL。

[0049] 在一具体实施例中,将标记溶液以2–8 $\mu$ L/cm的速度喷在标记垫的标记区,过夜烘干。标记区上标记溶液的加入量为2 $\mu$ L/cm<sup>2</sup>~4 $\mu$ L/cm<sup>2</sup>。

[0050] S3、将动物甲状腺激素抗原溶液与第二配合物溶液分别加到检测膜的检测区和质控区,干燥。

[0051] 在一具体实施例中,动物甲状腺激素抗原溶液的浓度为0.5mg/mL~1.0mg/mL,配制步骤为:用含2–5%蔗糖的0.01M PB(pH=7.4)缓冲液将动物甲状腺激素抗原稀释至浓度为0.5mg/mL~1.0mg/mL。动物甲状腺激素抗原溶液在检测区上的加入量为0.5 $\mu$ L/cm~2 $\mu$ L/cm。第二配合物溶液的浓度为0.5mg/mL~1.0mg/mL,配制步骤为:用含2–5%蔗糖的0.01M PB(pH=7.4)缓冲液将第二配合物稀释至浓度为0.5mg/mL~1.0mg/mL,第二配合物溶液在质控区的加入量为0.5 $\mu$ L/cm~2 $\mu$ L/cm。

[0052] S4、将干燥后的样品垫、干燥后的标记垫、干燥后的检测膜及吸收垫置于基底上,并使样品垫、标记垫、检测膜及吸收垫从基底的一端至另一端依次连接,得到甲状腺激素荧光免疫层析试纸条。

[0053] 在一具体实施例中,将检测膜贴在基底上,在膜上划检测区和质控区,划膜的浓度为0.5–2 $\mu$ L/cm,放置于40–60 $^{\circ}$ C烘干24–72h。

[0054] 标记溶液可以使用喷涂、点涂、均匀涂布或浸没等方式加到标记区。同样的,动物甲状腺激素抗原溶液和/或第二配合物溶液是使用喷涂、点涂、均匀涂布或浸没等方式加到相应的区。

[0055] 在一实施例中,甲状腺激素荧光免疫层析试纸条的制备方法还包括制备上述标记溶液的步骤:

[0056] S10、提供动物甲状腺激素单抗和第一配合物;

[0057] S20、活化荧光微球,制备活化荧光微球溶液,然后将动物甲状腺激素单抗、第一配合物和活化荧光胶乳微粒溶液混匀,离心、保留沉淀;

[0058] S30、将沉淀复溶,得到标记溶液。

[0059] 在一实施例中,制备活化荧光微球溶液的具体步骤为:将荧光微球清洗、活化、活化终止。

[0060] 清洗:用移液枪吸取荧光微球于离心管中,在12000–15000rpm离心10–15min,弃上清液,加入1mL清洗缓冲液,超声混匀。进一步地,上述清洗缓冲液为0.01M Tris缓冲液。

[0061] 活化:向上述清洗后的荧光微球中加入活化缓冲液,在旋转混匀仪上混匀20min。进一步地,活化缓冲液是含5–10mg/mL的N-羟基琥珀酰亚胺和5–10mg/mL 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐的0.01M Tris缓冲液。

[0062] 活化终止:将上述活化后的荧光微球在12000–15000rpm离心10–15min,弃上清液,

加入1mL终止液,超声混匀。进一步地,终止液是含0.1-0.5%甲醇的0.1M MES缓冲液。

[0063] 在一实施例中,标记溶液的具体制备步骤为:

[0064] 向活化荧光微球溶液中加入动物甲状腺激素单抗和第一配合物,在旋转混匀仪上混匀60-120min,然后加入封闭液,超声混匀,然后在旋转混匀仪上混匀30min;

[0065] 然后在12000-15000rpm离心10-15min,弃上清液,保留沉淀;

[0066] 向沉淀中加入微球稀释液复溶,超声混匀,得到标记溶液。

[0067] 进一步地,封闭液是含0.5-2%BSA的0.01M Tris缓冲液,微球稀释液是含有0.5%-3%吐温-20、2%-5%BSA和3-10%蔗糖的0.02M PB缓冲液。

[0068] 上述标记垫和检测膜的制备过程可不限先后,可根据需要具体制作,如可以同时制备。

[0069] 上述糖化血红蛋白免疫层析试纸条的制备方法原理简单、制作流程简便,便于推广使用。

[0070] 本发明还提供一种甲状腺激素荧光免疫层析试剂盒,包括如任一项上述的甲状腺激素荧光免疫层析试纸条和样本稀释液,样本稀释液中含有8-苯胺-1-萘磺酸。

[0071] 在一实施例中,样本稀释液为含有0.5-2%吐温-20、0.5-2%吐温-80、0.5-2%S9,0.2M-0.5MNaCl和0.1-2mg/mLANS的0.02M PB缓冲液。

[0072] 本发明的甲状腺激素荧光免疫层析试纸条在使用时,将待测血液样品加入样本稀释液后,上下颠倒混匀,然后加到试纸条的样品垫上。

[0073] 以下为具体实施例。

[0074] 实施例1

[0075] 检测膜的制备

[0076] 用含5%蔗糖的0.01M PB(pH=7.4)缓冲液将动物甲状腺激素抗原稀释至浓度为0.5mg/mL,为检测区(T线)的工作液;

[0077] 用含5%蔗糖的0.01M PB(pH=7.4)缓冲液将兔IgG抗体稀释至浓度为0.5mg/mL,为质控区(C线)的工作液;

[0078] 将硝酸纤维素膜贴在PVC板上,在膜上划检测区和质控区,划膜的浓度为1 $\mu$ L/cm,放置于50 $^{\circ}$ C烘干48h。

[0079] 样品垫的制备

[0080] 将样品垫处理液以2 $\mu$ L/cm的速度喷在玻璃纤维(样品垫)上,过夜烘干;其中,样品垫处理液为含0.5mg/mL鼠IgG、0.5%伊文斯兰和0.1mg/mL RBC的样品垫稀释液,样品垫稀释液为含有0.5%吐温-20和2%-BSA的0.02M PB缓冲液。

[0081] 标记垫的制备

[0082] 1)、制备活化荧光微球溶液:

[0083] 清洗:用移液枪吸取1mL荧光微球液(含10mg荧光微球)于离心管中,在15000rpm离心10min,弃上清液,加入1mL 0.01M Tris缓冲液,超声混匀。

[0084] 活化:向上述清洗后的荧光微球中加入1mL活化缓冲液,在旋转混匀仪上混匀20min;其中,活化缓冲液是含5mg/mL的N-羟基琥珀酰亚胺和5mg/mL 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐的0.01M Tris缓冲液。

[0085] 活化终止:将上述活化后的荧光微球在15000rpm离心10min,弃上清液,加入1mL含

0.1%甲醇的0.1M MES缓冲液,超声混匀,即得活化荧光微球溶液。

[0086] 2)、制备标记溶液

[0087] 向上述活化荧光微球溶液中加入0.2mg动物甲状腺激素单抗和0.2mg羊抗兔IgG,在旋转混匀仪上混匀60min,然后加入1mL含0.5%BSA的0.01M Tris缓冲液,超声混匀,然后在旋转混匀仪上混匀30min;

[0088] 然后在15000rpm离心10min,弃上清液,保留沉淀;

[0089] 向沉淀中加入1mL含有0.5%吐温-20、2%BSA和3%蔗糖的0.02M PB缓冲液,超声混匀,得到标记溶液。

[0090] 2)、将制备的标记溶液以2 $\mu$ L/cm的速度喷在玻璃纤维(标记垫)的标记区,过夜烘干。

[0091] 将样品垫、标记垫、吸水滤纸置于PVC板上,并使样品垫、标记垫、硝酸纤维素膜及吸水滤纸从PVC板的一端至另一端依次连接,得到甲状腺激素荧光免疫层析试纸条。

[0092] 1. 拟合线性方程

[0093] 采用实施例1制备的试纸条对不同浓度的甲状腺激素校准品(每个浓度做3个平行样)进行测定,甲状腺激素校准品的浓度以及对应的检测区信号值和质控区信号值如表1所示,检测区信号值和质控区信号值分别用T和C表示,并计算每个浓度的C/T的平均值,以C/T的平均值为纵坐标,甲状腺激素校准品的浓度为横坐标,建立方程并拟合线性回归曲线,线性回归曲线原始数据如下表1,线性回归曲线见图2。

[0094] 表1

浓度 (nmol/L)	C	T	C/T	均值
0	29497	84277	0.35	0.36
	30603	85007	0.36	
	27688	74832	0.37	
15	25133	31221	0.81	0.81
	24985	31482	0.79	
	26949	32743	0.82	
30	27682	21229	1.30	1.33
	25361	18754	1.35	
	26344	19852	1.33	
60	25581	10183	2.51	2.47
	25703	10642	2.42	
	26444	10653	2.48	
100	28171	7315	3.85	3.83
	31004	8327	3.72	
	27339	7002	3.90	
160	25251	4173	6.05	6.13
	29977	4815	6.23	
	27419	4479	6.12	
r	0.9994			
回归方程	$y = 0.0377x + 0.1868$			

[0096] 由图2的线性回归曲线显示:试纸条在检测甲状腺激素范围8-100nmol/L的浓度范围内,线性拟合相关系数R大于0.99。

[0097] 2、精密度

[0098] 取浓度为15nmol/L、60nmol/L的甲状腺激素校准品,每个浓度测试10张试纸条。甲状腺激素校准品的浓度以及对应的检测区信号值和质控区信号值如表2所示,其中,检测区信号值和质控区信号值分别用T和C表示。

[0099] 表2

编号	15 nmol/L			60 nmol/L		
	T	C	C/T	T	C	C/T
1	34866	27196	0.78	10924	25343	2.21
2	28727	23556	0.82	9071	23132	2.55
3	29464	24455	0.83	9116	22607	2.48
4	31395	23546	0.75	9157	22983	2.51
5	34953	25516	0.73	12018	29084	2.42
6	29131	25052	0.86	10616	24735	2.33
7	35913	29449	0.82	8485	21891	2.58
8	31916	26809	0.84	9368	24169	2.58
9	31847	28026	0.88	10241	26831	2.62
10	36285	27213	0.75	9726	24022	2.47
AV			0.806			2.475
SD			0.050816			0.126601
CV			6.304661			5.115186

[0101] 由表2的结果显示:本发明制备的试纸条的批内精密度较好,且检测的两个浓度的校准品的批内精密度变异系数(CV)小于15%。

### [0102] 3、准确度

[0103] 对浓度分别为10nmol/L、30nmol/L、80nmol/L的甲状腺激素校准品进行测定,每个浓度各检测3次,得出拟合浓度(nmol/L),计算测定结果均值和相对偏差,结果如表3所示。

[0104] 表3

校准品浓度	10nmol/L	30nmol/L	80nmol/L
	拟合浓度 (nmol/L)		
1	11.3	32.14	83.02
2	10.88	35.82	85.42
3	9.32	28.24	89.14
均值	10.50	32.07	85.86
Bias%	5.00	6.89	7.33

[0106] 由表3的结果显示:本发明制备的试纸条的准确度较高,相对偏差Bias%在±15%内。

### [0107] 4、在不同时间内,常温保存的试纸条进行检测

[0108] 将试纸条常温保存6个月、12个月、18个月、24个月,分别检测浓度为15nmol/L、60nmol/L、80nmol/L的甲状腺激素校准品,稳定性检测结果如表4所示:

[0109] 表4

浓度	15nmol/L			60nmol/L			80nmol/L		
	C/T	拟合浓度 (nmol/L)	Bias%	C/T	拟合浓度 (nmol/L)	Bias%	C/T	拟合浓度 (nmol/L)	Bias%
6个月	0.8212	14.82	-1.2	2.4122	58.76	-2.0666 7	3.1179	78.25	-2.187 5
[0110] 12个月	0.8017	14.28	-4.8	2.32	56.22	-6.3	3.047	76.29	-4.637 5
18个月	0.7709	13.43	-10.46 6667	2.2359	53.89	-10.183 3	3.006	75.16	-6.05
24个月	0.7524	12.92	-13.86 6667	2.1479	51.46	-14.233 3	2.83	70.34	-12.07 5

[0111] 由表4可知,试纸条常温保存24个月后,相对偏差Bias%在±15%内,可以常温保存2年。

[0112] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0113] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明的保护范围应以所附权利要求为准。

100

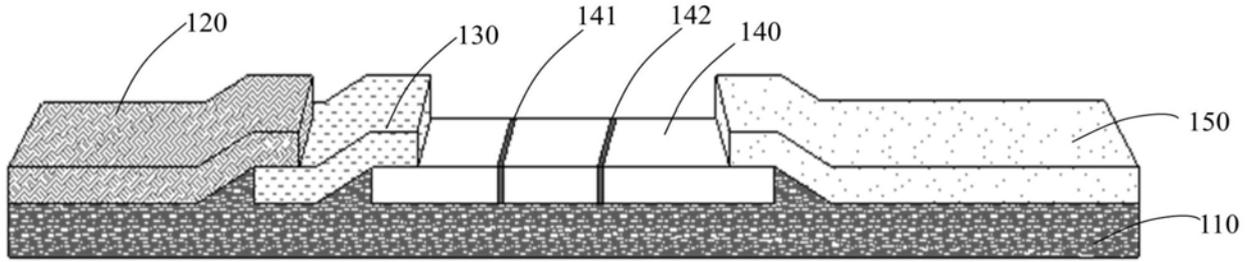


图1

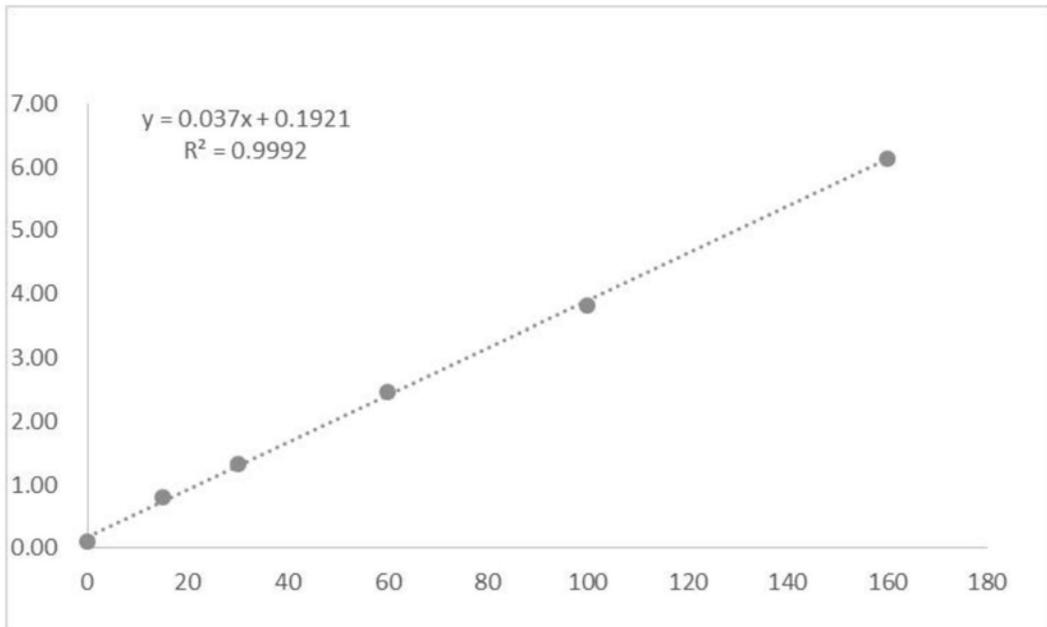


图2

专利名称(译)	甲状腺激素免疫层析试纸条及其制备方法和试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">CN110873801A</a>	公开(公告)日	2020-03-10
申请号	CN201911228372.9	申请日	2019-12-04
[标]发明人	杨晶 岑赞询 王伟		
发明人	杨晶 邓艳珍 黄晨珠 梁才弗 岑赞询 王伟		
IPC分类号	G01N33/78 G01N33/533 G01N33/558		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/558 G01N33/78		
代理人(译)	林青中		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种甲状腺激素免疫层析试纸条及其制备方法和试剂盒。该试纸条包括基底和设在基底上的样品垫、标记垫、检测膜和吸收垫，样品垫、标记垫、检测膜及吸收垫从基底的一端至另一端依次连接；标记垫具有标记区，标记区含有荧光微球标记的动物甲状腺激素单抗与荧光微球标记的第一配合物；检测膜上设有检测区和质控区，检测区包被有动物甲状腺激素抗原，质控区包被有第二配合物，第一配合物与第二配合物能够特异性结合。本发明的甲状腺激素免疫层析试纸条，借助免疫分析仪检测荧光信号，通过光电磁信号放大系统使检测灵敏度得到大大的提高，有效排除背景色的干扰，减少了人为因素对结果的误判，操作安全、简单、快速、灵敏度高。

