



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108020662 A

(43)申请公布日 2018.05.11

(21)申请号 201711180755.4

(22)申请日 2017.11.23

(71)申请人 中山市创艺生化工程有限公司

地址 528400 广东省中山市火炬开发区国家健康基地康泰路8号

(72)发明人 陈润文 何平 李冰 肖丝尹  
周琼华

(74)专利代理机构 广州嘉权专利商标事务所有限公司 44205

代理人 舒胜英

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

权利要求书2页 说明书7页 附图4页

(54)发明名称

一种检测肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条

(57)摘要

本发明公开了一种检测肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条,本发明所制备的肌酸激酶同工酶免疫荧光定量试纸条标准曲线相关系数高,检测准确率高,稳定性好,精密度高,灵敏度高。本发明所用到的储存液具有较高的层析回收率,试纸条上几乎没有荧光微球残存在结合垫或跑到吸水纸上,几乎都被捕获。适合临幊上检测,具有操作简便、反应快速、灵敏度高、特异性強、适合现场检测和经济实用等优点。

1. 一种检测肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条,包括吸水垫、硝酸纤维素膜、质控线、检测线、结合垫、样品垫、PVC底板;其中,结合垫上喷有鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体-荧光微球偶联物;检测线为鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体,质控线为羊抗鼠IgG多克隆抗体,且检测线和质控线依次固定于硝酸纤维素膜上;样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接并承载于PVC底板;其特征在于:鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体-荧光微球偶联物使用储存液进行浸渍处理、保存和稀释;所述的储存液配方为:PB的质量浓度为15~50mM、BSA的百分浓度为1.6%~10%、Tween-80的百分浓度为0.4%~10%,葡萄糖的百分浓度为0.4%~10%、甘氨酸的百分浓度为1.5%~10%、PEG4000的百分浓度为0.8%~5%、PEG20000的百分浓度为1%~8%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~1.5%、PH6.5~9.0。

2. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于:所述的储存液配方为:PB的质量浓度为20~40mM、BSA的百分浓度为0.5%~4.8%、Tween-80的百分浓度为0.5~6.0%,葡萄糖的百分浓度为0.5~3.0%、甘氨酸的百分浓度为2.0~7.0%、PEG4000的百分浓度为1.0~3.0%、PEG20000的百分浓度为1.5~4.0%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03~0.1%、PH7.0~8.0。

3. 权利要求1~2任一项所述的试纸条的检测方法,其特征在于,将该试纸条加样层析后,检测质控线和检测线的荧光信号强度,并以质控线荧光信号强度校正检测线的荧光信号强度,实现肌酸激酶同工酶质量的定量检测。

4. 一种检测肌酸激酶同工酶质量的免疫荧光定量试纸条的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

(1) 将荧光微球活化后与鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体偶联,偶联完毕后加入封闭剂,保存于储存液中;

(2) 将鼠源肌酸激酶同工酶质量-荧光微球偶联物用储存液稀释后,喷于结合垫上,干燥保存;

(3) 将鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体固定于硝酸纤维素膜上作为检测线,将羊抗鼠IgG多克隆抗体固定于硝酸纤维素膜上作为质控线;

(4) 在PVC底板上依次搭接地粘贴:样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫,并剪切成需要的宽度即成为免疫荧光定量试纸条;

所述的储存液配方为:PB的质量浓度为120~40mM、BSA的百分浓度为0.5%~4.8%、Tween-80的百分浓度为0.5~6.0%,葡萄糖的百分浓度为0.5~3.0%、甘氨酸的百分浓度为2.0~7.0%、PEG4000的百分浓度为1.0~3.0%、PEG20000的百分浓度为1.5~4.0%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03~0.1%、PH7.0~8.0。

5. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于:所述的储存液配方为:PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%,葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03%,PH7.5。

6. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于:鼠源肌酸激酶同工酶质量-荧光微球偶联物在储存液中的保存浓度为0.1~10mg/mL。

7. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于:所述样品垫的材质为玻璃纤维素膜或

滤血膜。

8. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于:所述结合垫材质为玻璃纤维素膜。

## 一种检测肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条

### 技术领域

[0001] 本发明免疫学检测领域,更具体地涉及一种检测肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条。

### 背景技术

[0002] 肌酸激酶 (Creatine Kinase, CK) (ATP:Creatine N-phosphotransferase EC2.7.3.2) 通常存在于动物的心脏、肌肉以及脑等组织的细胞浆和线粒体中,是一个与细胞内能量运转、肌肉收缩、腺嘌呤核苷三磷酸 (ATP) 再生有直接关系的重要激酶1,2,它可逆地催化肌酸与ATP之间的转磷酸基反应。肌酸激酶有四种同功酶形式:肌肉型 (MM)、脑型 (BB)、杂化型 (MB) 和线粒体型 (MiMi)。人体中肌酸激酶同工酶升高有以下情形:急性心肌梗死 (CK-MB>0.03, 可达0.12~0.38)、甲状腺功能减低症、脑血管疾病、肺部疾病、慢性醇中毒、手术后恢复期肌肉痉挛、心脏复苏后、休克、破伤风、骨骼肌损伤等同工酶分析只发现有 CK-MM型, 无CK-MB型、也检不出CK-BB型。药物注射 (氯丙嗪、苯巴比妥、青霉素、利血平、苯妥英钠、肾上腺素、多粘菌素B) 肌肉损伤可检出CK-MM型肌酸激酶的同功酶在临床诊断中有十分重要的意义,在各种病变包括肌肉萎缩和心肌梗塞发生时,人的血清中肌酸激酶水平迅速提高,认为在心肌梗塞的诊断中测定肌酸激酶的活性比做心电图更为可靠。临幊上常以 CK-MB 超过 CK 总活性的 3 (离子交换柱层析法) 或 10 (免疫抑制法) 作为急性心肌梗塞的诊断依据。心肌梗死时,肌酸激酶在起病 6 小时内升高,24 小时达高峰,3-4 日内恢复正常。其中肌酸激酶的同工酶 CK-MB 诊断的特异性最高。肌酸激酶因其具有重要的生理功能和临床应用价值已引起人们广泛的重视和深入的研究。

[0003] 目前,临幊上用于检测肌酸激酶同工酶 (CK-MB) 的方法有免疫比浊法、酶联免疫吸附法和免疫抑制法等。酶联免疫吸附法检测耗时且操作复杂,不适用于大批量快速检测。胶乳增强免疫比浊法反应后会产生胶乳颗粒物的沉淀,不利于仪器的清洗,且检测精度差。常规的试剂检测时也经常因为样本中存在的丙酮酸、肝素等干扰物,影响检测结果的准确性,同造成试剂稳定性较差,进而影响了试剂在市场上的应用。

[0004] 荧光免疫层析定量检测技术是免疫层析技术和荧光标记技术的结合,其具有检测仪器精巧轻便、操作简单迅速、结果精准等优点,被广泛应用于多类抗原物质的检测。其中,抗体-荧光微球偶联物实施荧光免疫层析定量检测的关键分子之一,其稳定性关乎抗原荧光定量检测的准确度及其产品的保存期。因此,对抗体-荧光微球偶联物的储存液的要求很高。因此寻找一种助稳性能更好、能提高检测准确度、层析回收率高的储存液对检测肌酸激酶同工酶非常具有现实意义。

### 发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种检测肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条。

[0006] 本发明所采取的技术方案是:

[0007] 一种检测肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条,包括吸水垫、硝酸纤维素膜、

质控线、检测线、结合垫、样品垫、PVC底板；其中，结合垫上喷有鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体-荧光微球偶联物；检测线为鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体，质控线为羊抗鼠 IgG 多克隆抗体，且检测线和质控线依次固定于硝酸纤维素膜上；样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接并承载于 PVC 底板；鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体-荧光微球偶联物使用储存液进行浸渍处理、保存和稀释；所述的储存液配方为：PB 的质量浓度为 15 ~ 50mM、BSA 的百分浓度为 1.6% ~ 10%、Tween-80 的百分浓度为 0.4% ~ 10%，葡萄糖的百分浓度为 0.4% ~ 10%、甘氨酸的百分浓度为 1.5% ~ 10%、PEG4000 的百分浓度为 0.8% ~ 5%、PEG20000 的百分浓度为 1% ~ 8%、Proclin300 或叠氮钠的百分浓度为 0.01% ~ 1.5%、PH6.5 ~ 9.0。

[0008] 进一步的，所述的储存液配方为：PB 的质量浓度为 20 ~ 40mM、BSA 的百分浓度为 0.5% ~ 4.8%、Tween-80 的百分浓度为 0.5 ~ 6.0%，葡萄糖的百分浓度为 0.5 ~ 3.0%、甘氨酸的百分浓度为 2.0 ~ 7.0%、PEG4000 的百分浓度为 1.0 ~ 3.0%、PEG20000 的百分浓度为 1.5 ~ 4.0%、Proclin300 或叠氮钠的百分浓度为 0.03 ~ 0.1%、PH7.0 ~ 8.0。

[0009] 上述所述的试纸条的检测方法，将该试纸条加样层析后，检测质控线和检测线的荧光信号强度，并以质控线荧光信号强度校正检测线的荧光信号强度，实现肌酸激酶同工酶质量的定量检测。

[0010] 一种检测肌酸激酶同工酶质量的免疫荧光定量试纸条的制备方法，包括如下步骤：

[0011] 将荧光微球活化后与鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体偶联，偶联完毕后加入封闭剂，保存于储存液中；

[0012] 将鼠源肌酸激酶同工酶质量-荧光微球偶联物用储存液稀释后，喷于结合垫上，干燥保存；

[0013] 将鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体固定于硝酸纤维素膜上作为检测线，将羊抗鼠 IgG 多克隆抗体固定于硝酸纤维素膜上作为质控线；

[0014] 在 PVC 底板上依次搭接地粘贴：样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫，并剪切成适当宽度即成为荧光免疫层析试纸条，其中，样品垫材质为玻璃纤维素膜或滤血膜，结合垫材质为玻璃纤维素膜；

[0015] 所述的储存液配方为：PB 的质量浓度为 120 ~ 40mM、BSA 的百分浓度为 0.5% ~ 4.8%、Tween-80 的百分浓度为 0.5 ~ 6.0%，葡萄糖的百分浓度为 0.5 ~ 3.0%、甘氨酸的百分浓度为 2.0 ~ 7.0%、PEG4000 的百分浓度为 1.0 ~ 3.0%、PEG20000 的百分浓度为 1.5 ~ 4.0%、Proclin300 或叠氮钠的百分浓度为 0.03 ~ 0.1%、PH7.0 ~ 8.0。

[0016] 进一步的，所述的储存液配方为：PB 的质量浓度为 20mM、BSA 的百分浓度为 1.8%、Tween-80 的百分浓度为 0.5%，葡萄糖的百分浓度为 0.5%、甘氨酸的百分浓度为 2%、PEG4000 的百分浓度为 1%、PEG20000 的百分浓度为 1.5%、Proclin300 或叠氮钠的百分浓度为 0.03%，PH7.5。

[0017] 进一步的，鼠源肌酸激酶同工酶质量-荧光微球偶联物在储存液中的保存浓度为 0.1 ~ 10mg/mL。

[0018] 本发明的有益效果是：

[0019] 本发明所制备的肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条标准曲线相关系数高，

检测准确率高,稳定性好,精密度高,灵敏度高,本发明所用到的储存液具有较高的层析回收率,试纸条上几乎没有荧光微球残存在结合垫或跑到吸水纸上,几乎都被捕获。

## 附图说明

[0020] 图1:利用本发明储存液制备的肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条检测贝克曼肌酸激酶同工酶质量标准曲线;

[0021] 图2:利用本发明储存液制备的肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条检测肌酸激酶同工酶质量重组抗原的检测值与理论值散点图。

[0022] 图3:不同储存液制备的试纸条检测含不同浓度肌酸激酶同工酶质量的病人血清样本的荧光检测折线图;

[0023] 图4:不同储存液制备的试纸条检测含肌酸激酶同工酶质量的病人血清样本检测值与贝克曼-DxI800检测值的相关图。

## 具体实施方式

[0024] 实施例1

[0025] 本发明的一个优选配方:PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%,葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03%,PH7.5。

[0026] 储存液制备方法:称取0.25g葡萄糖,用45mL纯水溶解。加入1mL事先配好的100mM的PB母液,振荡混匀。先后加入1g甘氨酸,0.5gPEG4000,0.75gPEG20000和0.9gBSA,振荡混匀;用加样枪加入0.25mLTween-80,反复打匀;加入15 $\mu$ L的Proclin300,振荡混匀;用1M的HCl将PH调至7.5。最后室温定容至50mL,过滤除菌,制得储存液。

[0027] PB配制方法为:称取29g的Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub> • 12H<sub>2</sub>O和2g的K<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>,加入1L纯水溶解配成为100mM的PB母液。

[0028] 实施例2

[0029] 肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条的制备过程如下:

[0030] (1) 储存液的制备:PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%,葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300百分浓度为0.03%、PH7.5按上述配方配制混匀后过滤除菌,制得储存液;

[0031] (2) 样品垫的制备:用样品垫处理液浸泡玻璃纤维膜10min,置于干燥间37℃湿度30%,烘干3h,制得样品垫,备用;

[0032] (3) 结合垫的制备:用结合垫处理液浸泡玻璃纤维素膜10min,浸泡处理后,置于干燥间37℃湿度30%,烘干3h,制得结合垫,备用;

[0033] (4) 将1mg的200nm聚苯乙烯荧光微球先后加入20 $\mu$ L的0.5mg/mL的EDC和0.5mg/mL的NHS,在活化缓冲液37℃活化1h;

[0034] (5) 加入0.1mg鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体,在200 $\mu$ L偶联缓冲液中与荧光微球偶联,完毕后加入封闭液20 $\mu$ L,制得鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体-荧光微球

偶联物,18000rpm离心15min后,加入200 $\mu$ L储存液,制得鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体-荧光微球偶联物浓度为5mg/mL,2~8℃保存;

[0035] (6) 用储存液将鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体-荧光微球偶联物稀释到0.5mg/mL,用喷金划膜仪喷于经结合垫处理液处理后的结合垫上,用鼓风干燥箱干燥7h。铝箔袋密封置于20~25℃、湿度约30%的条件下存放备用;

[0036] (7) 将1mg/mL羊抗鼠IgG多克隆抗体和1mg/mL鼠源肌酸激酶同工酶质量单克隆抗体分别用包被液包被,以条带状1.0mm用喷金划膜仪分别固定于硝酸纤维素膜上分别作为质控线和检测线;

[0037] (8) 在PVC底板上依次搭接地粘贴:样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水滤纸,并剪切成宽度4.1mm即成为肌酸激酶同工酶质量荧光定量试纸条;

[0038] (9) 将上步切好的试纸条装卡,过压壳机,准备检测;

[0039] (10) 样品垫处理液:100mMPBS、1%Triton X-100、0.75%BSA、0.5%PVA、0.9%NaCl、0.3%葡聚糖、0.05%Proclin300, pH7.8;

[0040] (11) 结合垫处理液:2%Tween-80、1.5%PVA、0.5%BSA、1%海藻糖,PH7.05~7.10;

[0041] (12) 活化缓冲液为75mM MES, pH5.5;

[0042] (13) 偶联缓冲液:20mM PB, pH7.5;

[0043] (14) 封闭液:20%甘氨酸;

[0044] (15) 包被液:20mMPBS,1.2%异丙醇、0.4%葡聚糖20000、1.5%BSA、0.5%Tween-80、0.03%Proclin300, pH7.0。

[0045] 实施例3

[0046] 配制对照储存液,具体配方为:PB的质量浓度为50mM、BSA的百分浓度为1%、Tween-80的百分浓度为1%,葡萄糖的百分浓度为1%、甘氨酸的百分浓度为0.5%、PEG4000的百分浓度为2%、Proclin300百分浓度为0.3%。

[0047] 采用实施例1制备的优选储存液(以下简称储存液2)与对照储存液(以下简称储存液1)进行助稳性能和精密度对比,实施方法和结果如下:

[0048] 用储存液1和储存液2,对相同工艺标记肌酸激酶同工酶质量(CK-MB)单抗的荧光微球进行喷膜干燥,分别组装成40个试纸条,放铝箔袋、干燥剂封口。一袋放置冰箱4℃保存7天(对照组),另外一袋放置温箱37℃加速7天。完整7天后,取出卡条,分别加入浓度为2.5ng/mL和10ng/mL的CK-MB重组抗原检测。根据理论37℃加速7天相当于4℃保存1年,模拟1年后的抗原检测情况,结果如下表1、表2所示。

[0049] 表1、2种储存液制得的试纸条测试2.5ng/mL CK-MB重组抗原的效果对比

储存液 1			储存液 2		
测试浓度	2.5ng/mL		测试浓度	2.5ng/mL	
保存温度	4°C	37°C 加速 7 天	测试温度	4°C	37°C 加速 7 天
测试 1	2.584312	2.164789	测试 1	2.541357	2.224174
测试 2	2.34318	2.04616	测试 2	2.356941	2.31344
测试 3	2.693148	1.716542	测试 3	2.335634	2.06364
测试 4	2.05607	1.68743	测试 4	2.95642	1.93824
测试 5	2.244736	1.433943	测试 5	2.42787	2.52137
测试 6	2.95323	2.34687	测试 6	2.39351	2.36998
测试 7	2.74185	2.17499	测试 7	2.25417	2.47133
测试 8	2.14153	1.92327	测试 8	2.62396	2.02682
测试 9	2.745608	1.534347	测试 9	2.43334	2.14469
测试 10	1.98423	1.81359	测试 10	2.35967	1.98425
测试 11	2.05047	1.641672	测试 11	2.132827	1.95321
测试 12	2.15689	1.46668	测试 12	2.06947	2.08312
测试 13	2.25647	1.93284	测试 13	2.74163	2.13254
测试 14	2.693846	2.04659	测试 14	2.64413	2.44139
测试 15	2.856444	2.14162	测试 15	2.85648	2.23548
测试 16	2.369133	2.79841	测试 16	2.35476	2.30041
测试 17	2.746111	2.01369	测试 17	2.65947	2.12185
测试 18	2.21149	1.83461	测试 18	2.53284	2.05588
测试 19	1.832471	1.77476	测试 19	2.51113	2.34122
测试 20	2.02603	1.46872	测试 20	2.439947	2.27895
AVE	2.384362	1.898076	AVE	2.481278	2.200099
SD	0.336973	0.337635	SD	0.222985	0.175879
CV	14.13%	17.79%	CV	8.99%	7.99%
下降比例	20.39%		下降比例	11.33%	

[0052] 表2、2种储存液制得的试纸条测试10ng/mL CK-MB重组抗原的效果对比

储存液 1			储存液 2		
测试浓度	10ng/mL		测试浓度	10ng/mL	
保存温度	4℃	37℃ 加速 7 天	测试温度	4℃	37℃ 加速 7 天
[0053]	测试 1	9.942307	7.572226	测试 1	11.35941
	测试 2	11.09691	7.855429	测试 2	11.19666
	测试 3	8.387033	10.78419	测试 3	9.710908
	测试 4	11.74931	9.428864	测试 4	11.47088
	测试 5	12.98895	11.13852	测试 5	10.94707
	测试 6	10.93472	7.757435	测试 6	10.6451
	测试 7	10.74387	8.124626	测试 7	11.63677
	测试 8	12.47789	8.17385	测试 8	11.22337
	测试 9	11.19502	10.36853	测试 9	10.40474
	测试 10	9.631738	10.25517	测试 10	11.01436
	测试 11	11.92835	8.037976	测试 11	11.36608
	测试 12	8.403676	9.140761	测试 12	11.19769
	测试 13	11.50162	8.733896	测试 13	11.84099
	测试 14	12.79417	8.363821	测试 14	9.793418
	测试 15	11.65076	8.575913	测试 15	11.19361
	测试 16	10.63981	8.056371	测试 16	11.63733
	测试 17	13.63308	7.773361	测试 17	10.97907
	测试 18	11.22449	9.416416	测试 18	10.83873
	测试 19	8.869633	10.38193	测试 19	11.16961
	测试 20	10.1995	9.953071	测试 20	10.64551
		AVE	9.942307	7.572226	AVE
					11.35941
					10.43613
[0054]	SD	11.09691	7.855429	SD	11.19666
	CV	13.26%	12.68%	CV	5.08%
	下降比例	18.23%		下降比例	4.05%

[0055] 从表1、2得出,优选的储存液2储在37℃加速七天后,仅下降10%左右,且精密度较好,在5%左右;而对照储存液1在37℃加速七天后,下降20%左右,精密度相对较差,维持在13%左右。

[0056] 实施例4

[0057] 将实施例2制备的肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条建立标准曲线并进行检测,实施方法如下:

[0058] (1)建立标准曲线:用CK-MB标准品配制系列浓度标准品溶液至0.1ng/mL、0.25ng/mL、0.5ng/mL、1ng/mL、2ng/mL、4ng/mL、6ng/mL、16ng/mL、32ng/mL、64ng/mL、128ng/mL十一个浓度。用制备好的试纸条加样80μL上免疫荧光分析以检测,每个浓度重复3次取平均值。以检测线所出的T峰面积和质控线所出的C峰面积的比值为纵坐标,标准品理论值为横坐标,求出线性回归方程;

[0059] 标准曲线如图1所示,得线性关系 $y=0.3123x+0.0037$ , $R^2=0.9998$ ,用该方程可计

算样品中的肌酸激酶同工酶质量含量,实现定量,且相关性好。

[0060] (2) 样品检测:用抗原稀释液对肌酸激酶同工酶质量重组抗原倍比稀释至0.1ng/mL、0.5ng/mL、1ng/mL、2.5ng/mL、5ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、40ng/mL、80ng/mL、160ng/mL十个浓度(作为理论值)。抗原稀释液:20mMPBS,0.5%BSA,0.5%Tween-20,PH7.2;将求得T/C峰面代入 $y=0.3123x+0.0037$ 中的Y,求得X为所测抗原值(作为测量值)。

[0061] 结果如图2所示,可以看出实施例1制备的试纸条检测值与理论值偏差小( $R^2=0.9982$ ),检测的准确率高。

[0062] 实施例5

[0063] 用储存液1和储存液2(同实施例3),对相同工艺标记肌酸激酶同工酶质量单抗的荧光微球进行喷膜干燥,组装好试纸条,分别用浓度为1.41ng/mL、1.84ng/mL、1.03ng/mL、1.73ng/mL、1.01ng/mL、6.06ng/mL的含肌酸激酶同工酶质量的贝克曼DxI800赋值的病人血清样本对两种试纸条加样检测,随后用配套检测仪器对试纸条窗口信息进行读取。通过仪器激光对窗口的荧光微球进行激发,再采集窗口300个位置(作横坐标)的发射荧光强度(作纵坐标),利用荧光分析软件将300个点按顺序连在一起形成折线图。

[0064] 如图3所示,折线图可反映荧光微球在NC膜上的跑膜情况,图中有两个峰,左边为T峰(对应肉眼视卡条为检测线),右边为C峰(对应肉眼视卡条为质控线)。使用储存液2的整体出峰效果较好,说明储存液2对抗体-荧光微球偶联物从结合垫释放到NC膜效果较好。使用储存液1的则出峰信号不高,基线不平整,前段抬起较明显,影响软件对峰面积的计算,进而影响读值的准确度。

[0065] 实施例6

[0066] 用储存液1和储存液3(同实施例3),对相同工艺肌酸激酶同工酶质量单抗标记的荧光微球进行喷膜干燥,分别组装20个试纸条,用20个不同浓度的含肌酸激酶同工酶质量抗原的病人血清样本同时对两种试纸条加样检测。用配套检测仪器对试纸条窗口信息进行读取,用荧光分析软件计算T峰面积与C峰面积,同时用业界对肌酸激酶同工酶质量项目普遍认可的贝克曼旗下的DxI800全自动血化学发光仪检测的结果值。

[0067] 以贝克曼DxI800评价2种储存液制备的试纸条检测结果的临床诊断准确性。如图4所示,纵坐标为T峰面积/C峰面积,横坐标贝克曼DxI800结果值,储存液2制备的试纸条检测结果与希贝克曼的DxI800仪器检测结果较吻合( $R^2=0.984$ ),而储存液1的血清线性相关较差( $R^2=0.799$ ),重复性也不好。这与前述储存液2让荧光微球释放效果更好,软件计算面积更加准确有关。

## 标准曲线

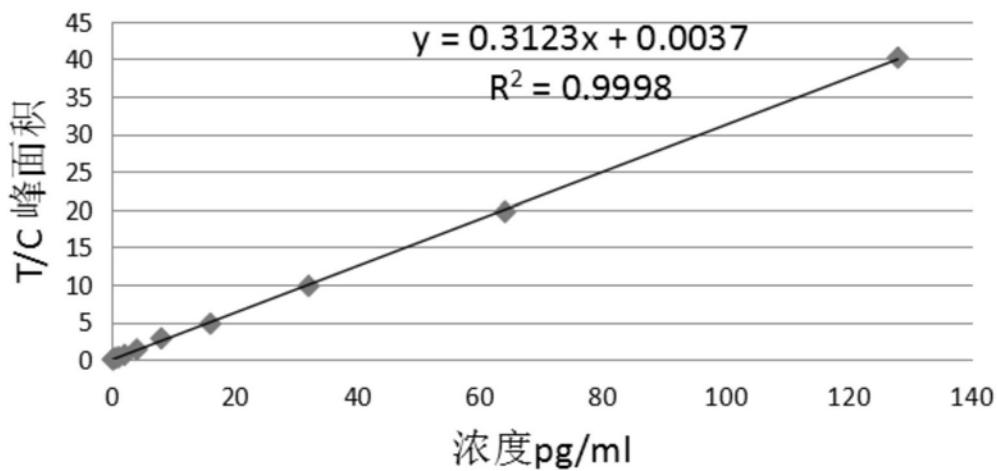


图1

## 代入曲线

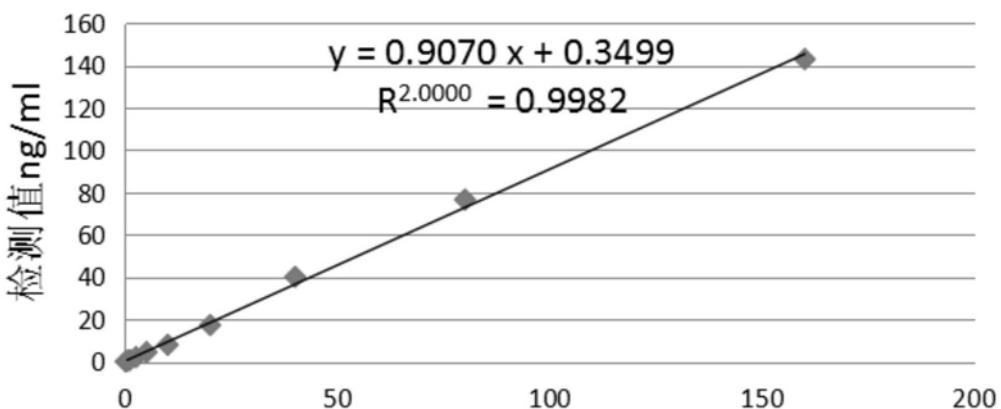
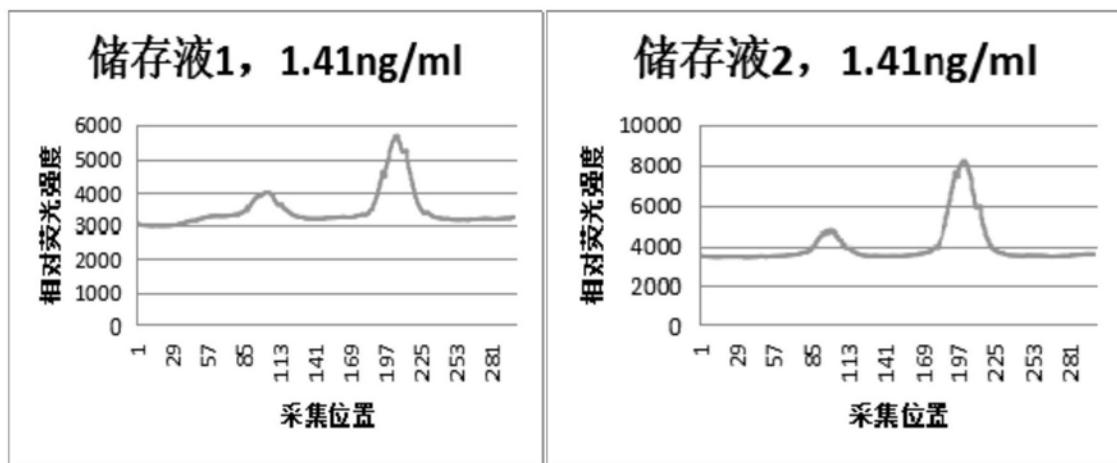
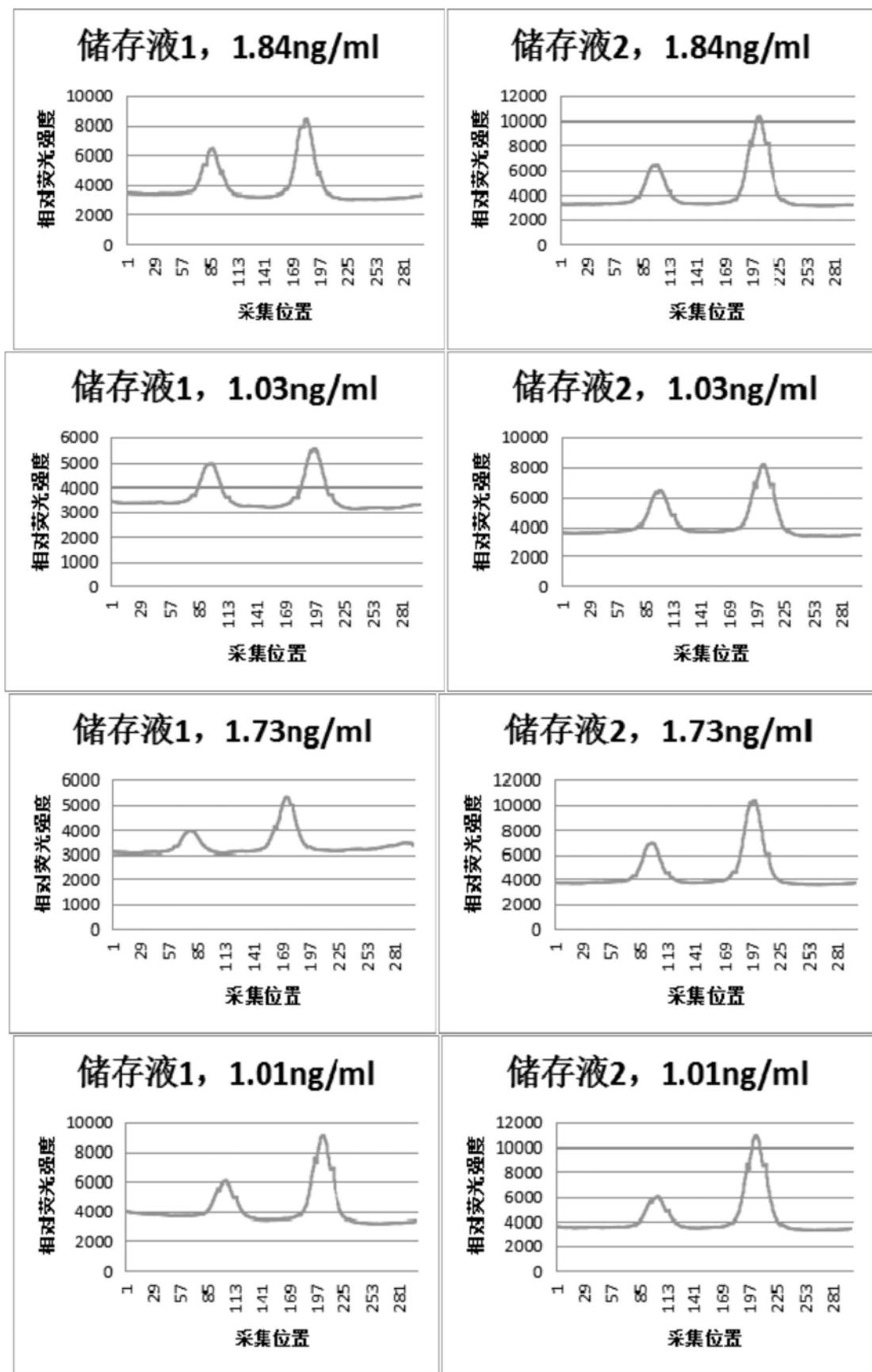


图2





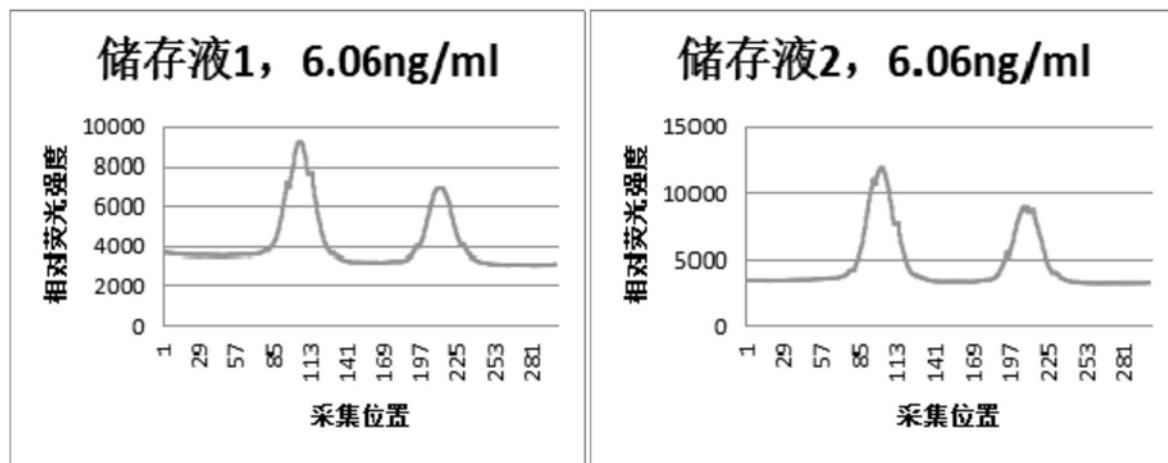


图3

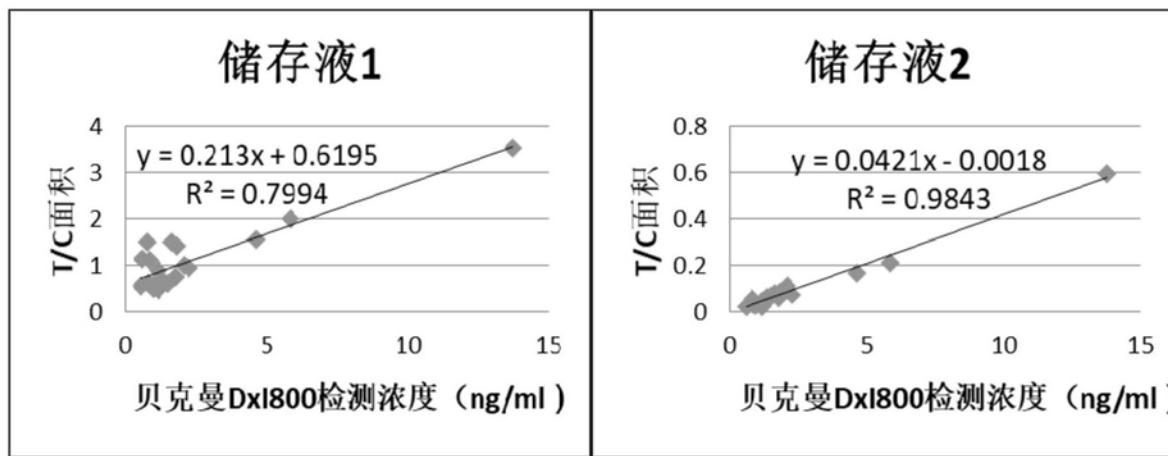


图4

专利名称(译)	一种检测肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条		
公开(公告)号	<a href="#">CN108020662A</a>	公开(公告)日	2018-05-11
申请号	CN201711180755.4	申请日	2017-11-23
[标]申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
[标]发明人	陈润文 何平 李冰 肖丝尹 周琼华		
发明人	陈润文 何平 李冰 肖丝尹 周琼华		
IPC分类号	G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">Sipo</a>		

**摘要(译)**

本发明公开了一种检测肌酸激酶同工酶质量免疫荧光定量试纸条，本发明所制备的肌酸激酶同工酶免疫荧光定量试纸条标准曲线相关系数高，检测准确率高，稳定性好，精密度高，灵敏度高。本发明所用到的储存液具有较高的层析回收率，试纸条上几乎没有荧光微球残存在结合垫或跑到吸水纸上，几乎都被捕获。适合临幊上检测，具有操作简便、反应快速、灵敏度高、特异性强、适合现场检测和经济实用等优点。

储存液1			储存液2		
测试浓度	2.5ng/mL		测试浓度	2.5ng/mL	
保存温度	4℃	37℃加速7天	测试温度	4℃	37℃加速7天
测试1	2.584312	2.164789	测试1	2.541357	2.224174
测试2	2.34318	2.04616	测试2	2.356941	2.31344
测试3	2.693148	1.716542	测试3	2.335634	2.06364
测试4	2.05607	1.68743	测试4	2.95642	1.93824
测试5	2.244736	1.433943	测试5	2.42787	2.52137
测试6	2.95323	2.34687	测试6	2.39351	2.36998
测试7	2.74185	2.17499	测试7	2.25417	2.47133
测试8	2.14153	1.92327	测试8	2.62396	2.02682
测试9	2.745608	1.534347	测试9	2.43334	2.14469