



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102495216 A

(43) 申请公布日 2012.06.13

(21) 申请号 201110423389.7

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2011.12.16

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

(71) 申请人 吉林大学

地址 130062 吉林省长春市西安大路 5333 号

(72) 发明人 丁壮 黄志强 张晓东 郭育培
杨建新 母连志

(74) 专利代理机构 吉林长春新纪元专利代理有
限责任公司 22100

代理人 王薇

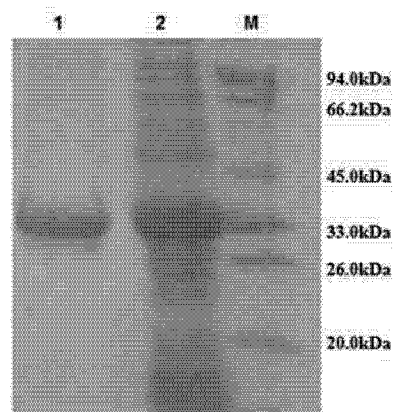
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

(54) 发明名称

猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体胶体金快速检测试纸条

(57) 摘要

本发明涉及一种猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体胶体金快速诊断试纸条,其特征在于:试纸条由样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸收垫依次粘附在不吸水的支撑薄片上;其中结合垫上包被有胶体金标记的 PRRSV_{Sp9} 蛋白;硝酸纤维素膜上分别包被有葡萄球菌蛋白 A(SPA) 构成的检测线 T 线和 PRRSV_{Sp9} 单克隆抗体 2D6 构成的质控线 C 线。其利用免疫学抗原抗体能特异性结合原理,胶体金标记抗原与相应抗体结合,这种抗原抗体结合物再与葡萄球菌蛋白 A(SPA) 结合,形成抗原-抗体-SPA 结合物在硝酸纤维素膜(NC 膜)上出现颜色反应,可以肉眼观察;具有简单、快速、敏感和特异性好等特点。并且价格低廉,适用于基层或临床检测猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体。具有特异性强、灵敏度高、操作简单和诊断快速的显著优点,可用于猪繁殖与呼吸综合征毒病的快速诊断。



1. 一种猪繁殖与呼吸综合征毒病抗体胶体金快速诊断试纸条,其特征在于:试纸条由样品垫(1)、结合垫(2)、硝酸纤维素膜(3)、吸收垫(4)依次粘附在不吸水的支撑薄片(5)上;其中结合垫(2)上包被有胶体金标记的重组 PRRSV Nsp9 蛋白;硝酸纤维素膜(3)上分别包被有葡萄球菌蛋白 A(SPA) 构成的检测线 T 线(6)和 PRRSV Nsp9 蛋白单克隆抗体 2D6(IgG₁) 构成的质控线 C 线(7)。

2. 根据权利要求 1 所述的一种猪繁殖与呼吸综合征病毒病抗体胶体金快速诊断试纸条,其特征在于所述的结合垫(2)上包被的胶体金标记的 PRRSV Nsp9 蛋白制备方法如下:

(A) 首先制备 PRRSV Nsp9 抗原,利用基因克隆技术从 PRRSV 基因组中克隆出 Nsp9 基因片段,将其连到 pET-28a 中,构成 pET-28a-Nsp9 载体,将载体转化到大肠杆菌 BL-21 中,表达 Nsp9 蛋白,并将其纯化,-80℃ 保存备用,PRRSV Nsp9 蛋白只与抗 Nsp9 抗体结合,这就决定了试纸条的特异性;

(B) 选用纯化发的 PRRSV Nsp9 蛋白标记胶体金,制备金标抗抗原,用 0.1M 碳酸钾调胶体金的 PH 值至 8.2,按 100ug 抗原 / 毫升胶体金加入 Nsp9 蛋白,磁力搅拌器混匀 30 分钟,加 BSA 至终浓度为 1%,静置 1 小时,4℃ 13000rpm 离心 30 分钟,弃上清,沉淀用保存液洗涤两次,用十分之一初始胶体金体积的洗涤保存液重悬沉淀,4℃ 备用;

(C) 将结合垫浸泡于封闭液即 2% BSA、0.5% 吐温-20、2.5% 蔗糖、0.05% 叠氮钠、0.01M PBS 中 30 分钟,37℃ 烘干;然后将制备好的金标抗体均匀喷涂于结合垫上,每毫升铺 20 平方厘米,冻干、保存。

3. 根据权利要求 1 所述的一种猪繁殖与呼吸综合症毒病抗体胶体金快速诊断试纸条,其特征在于所述的硝酸纤维素膜(3)上包被有葡萄球菌蛋白 A(SPA) 构成的检测线 T 线(6)是选用一种能够与 IgG 分子 Fc 片段特异性结合的蛋白(SPA) 喷涂于检测线上,用包被缓冲液将 SPA 稀释到 50ug/ml,调整机器划线为 T 线,即为检测线靠近结合垫,距结合垫一端约 5mm。

4. 根据权利要求 1 所述的一种猪繁殖与呼吸综合征毒病抗体胶体金快速诊断试纸条,其特征在于所述的 PRRSV Nsp9 单抗 2D6(IgG₁) 构成的质控线 C 线(7)是以 PRRSV Nsp9 蛋白作为抗原,免疫小鼠,利用杂交瘤技术制备抗 PRRSV Nsp9 单克隆抗体,得到细胞株 2D6,并获得纯化的抗体,用包被缓冲液将单抗稀释到 50-100ug/ml,调整机器划线为 C 线,即为对照线靠近吸收垫,距吸收垫端约 3mm;两线距离 5-8mm,在硝酸纤维素膜 NC 膜上的质控线上,可与金标抗原结合,以此检验试纸条的有效性。

5. 一种猪繁殖与呼吸综合症病毒抗体病胶体金快速诊断试纸条,其特征在于所述的试纸条的检测方法是样品血清中抗 PRRSV Nsp9 抗体先和胶体金标记的 Nsp9 抗原结合,由于毛细管作用,反应复合物沿包被膜向前泳动,若样品中有 PRRSV 抗体,到达检测线时遇到包被在硝酸纤维素膜上的 SPA,就会形成金标抗原-抗体-SPA 复合物,从而凝集在检测线上,形成特异性的红色沉淀线,没有和抗体结合的金标抗原则会直接通过检测线,富集在质控线上形成红色沉淀线,即判为阳性结果,若样品中无 PRRSV Nsp9 抗体,反应复合物到达检测线时遇到 SPA 就不会形成复合物,反应复合物通过检测线,富集在质控线上,形成红色沉淀,即判为阴性结果。

猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体胶体金快速检测试纸条

技术领域

[0001] 本发明涉及一种猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体胶体金快速诊断试纸条,属于一种新的动物诊断试剂,主要用于诊断猪繁殖与呼吸综合征病毒感染的动物;应用于畜牧兽医学领域。

背景技术

[0002] 猪繁殖与呼吸综合征(Porcine reproductive and respiratory syndrome,PRRS)由猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)感染引起,主要特征为怀孕母猪发生流产、早产和死胎等严重的繁殖障碍以及仔猪与育肥猪的呼吸道疾病。PRRS是上世纪80年代后期暴发的一种新的传染性疾病,于1987年首发于北美地区,在随后的几年内,便迅速地在欧、美大陆的许多国家流行,随后又蔓延至亚洲的一些国家,成世界范围内的大流行,给全球养猪业造成了巨大的经济损失。我国自1995年底暴发此病,并迅速传播至全国各地,成为我国规模化养猪场引发繁殖障碍的主要疫病之一。近年来PRRS呈持续性感染,并导致继发性感染增加,严重威胁了养猪业的发展。

[0003] 目前猪繁殖与呼吸综合征病毒病检测主要采用的技术方法有:ELISA、反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)技术、免疫荧光技术、荧光RT-PCR、环介导逆转录等温检测(RT-LAMP)、基因芯片以及病毒的分离鉴定等。比较快速准确的技术是ELISA和荧光RT-PCR,但这2种技术都需要特殊的仪器设备,并且检测时间都在2小时以上,检测成本昂贵,不便于适时和快速诊断。这些限制了猪繁殖与呼吸综合征病毒病的预防控制,因此研制出一种特异性强、灵敏度高、简单易行的诊断方法迫在眉睫。

发明内容

[0004] 发明涉及一种猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体胶体金抗体快速检测试纸条的制备方法,该方法是利用基因工程表达猪繁殖与呼吸综合征病毒Nsp9蛋白,利用免疫学抗原抗体能特异性结合原理,胶体金标记抗原与抗体结合,快速检测猪血液或血清中与病毒复制相关抗体;该测试纸条可广泛用于临床猪繁殖与呼吸综合征病毒的检测;与其他病毒无交叉反应,与ELISA、中和试验两种方法检测的符合率分别为95.3%和93.12%。与ELISA相比,重组抗原免疫胶体金具有明显的优势:安全性好,无需培养病毒本身,避免了因操作病毒造成的病毒扩散;可以大批量制备,工艺简单,生产成本低廉;抗原成分稳定均一,操作简便省力,不用仪器,检测结果特异性高,重复性好。整个实验仅需15分钟。操作简便、快速、准确、灵敏度高、直观、结果容易判定。

[0005] 本发明的技术方案是这样实现的:一种猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体胶体金快速诊断试纸条,其特征在于:试纸条由样品垫(1)、结合垫(2)、硝酸纤维素膜(3)、吸收垫(4)依次粘附在不吸水的支撑薄片(5)上;其中结合垫(2)上包被有胶体金标记的猪繁殖与呼吸综合征病毒Nsp9重组蛋白;硝酸纤维素膜(3)上分别包被SPA构成的检测线T线(6)和抗Nsp9蛋白单克隆抗体IgG构成的质控线C线(7)。

[0006] 所述的结合垫 (2) 上包被的胶体金标记的猪繁殖与呼吸病毒 Nsp9 蛋白的制备方法如下:(1) 首先利用基因工程菌原核表达 Nsp9 蛋白,所制备抗原为猪繁殖与呼吸综合征病毒 Nsp9 蛋白,且为病毒特有蛋白,这就决定了试纸条的特异性;

(2) 将纯化的 PRRSV Nsp9 蛋白制备金标抗原,用 0.1M 碳酸钾调胶体金的 PH 值至 8.2,按 100ug / 毫升胶体金加入 Nsp9 蛋白,磁力搅拌器混匀 30 分钟,加 BSA 至终浓度为 1%,静置 1 小时。4℃ 13000rpm 离心 30 分钟,弃上清,沉淀用标记洗涤保存液洗涤两次,用十分之一初始胶体金体积的洗涤保存液重悬沉淀,4℃ 备用。

[0007] (3) 将结合垫浸泡于封闭液即 2% BSA、0.5% 吐温 -20、2.5% 蔗糖、0.05% 叠氮钠、0.01M PBS 中 30 分钟,37℃ 烘干;然后将制备好的金标抗原均匀喷涂于结合垫上,每毫升铺 20 平方厘米,冻干、保存。

[0008] 所述的硝酸纤维素膜 (3) 上包被有葡萄球菌蛋白 A(SPA) 构成的检测线 T 线 (6) 是选用一种能够与 IgG 分子 Fc 片段特异性结合的蛋白 (SPA) 喷涂于检测线上,用包被缓冲液将 SPA 稀释到 50ug/ml,调整机器划线为 T 线,即为检测线靠近结合垫,距结合垫一端约 5mm。

[0009] 所述的 PRRSV Nsp9 单抗 2D6 (IgG₁) 构成的质控线 C 线 (7) 是以 PRRSV Nsp9 蛋白作为抗原,免疫小鼠,利用杂交瘤技术制备抗 PRRSV Nsp9 单克隆抗体,得到细胞株 2D6,并获得纯化的抗体,用包被缓冲液将单抗稀释到 50-100ug/ml,调整机器划线为 C 线,即为对照线靠近吸收垫,距吸收垫端约 3mm;两线距离 5-8mm,在硝酸纤维素膜 NC 膜上的质控线上,可与金标抗原结合,以此检验试纸条的有效性。

[0010] 所述的试纸条的检测方法是样品血清中抗 PRRSV Nsp9 抗体先和胶体金标记的 Nsp9 抗原结合,由于毛细管作用,反应复合物沿包被膜向前泳动,若样品中有 PRRSV 抗体,到达检测线时遇到包被在硝酸纤维素膜上的 SPA,就会形成金标抗原-抗体-SPA 复合物,从而凝集在检测线上,形成特异性的红色沉淀线,没有和抗体结合的金标抗原则会通过检测线,富集在质控线上形成红色沉淀线,即判为阳性结果,若样品中无 PRRSV Nsp9 抗体,反应复合物到达检测线时遇到 SPA 就不会形成复合物,反应复合物通过检测线,富集在质控线上,形成红色沉淀,即判为阴性结果。

[0011] 本发明的优点是

1、具有生物安全性,其所使用的金标抗原为基因工程菌表达的重组病毒蛋白,不含猪繁殖与呼吸综合征病毒,因此不存在散毒的危险。

[0012] 2、特异性强,胶体金试纸条金标抗原能够特异性的与 PRRSV Nsp9 抗体结合,检测线上的 SPA 能够与 IgG 分子 Fc 片段特异性结合,为捕获抗原,二者提高了检测的敏感性和特异性。

[0013] 3、其可快速检测即 10-15 分钟;不需特殊仪器设备,可用于现场操作;操作简单,一步完成,无需专业人员操作;检测成本低;储存方便。

附图说明

[0014] 图 1 为本发明所涉及的 PRRSV 重组蛋白。

[0015] 图 2 为本发明试纸条的结构模式图。

[0016] 图 3 为本发明试纸条结果判定示意图。

具体实施方式

[0017] 下面结合具体实例对本发明做详细说明。下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。

[0018] 实施例 1 表达猪繁殖与呼吸综合征病毒 Nsp9 蛋白制备

1、Nsp9 基因 7817 - 8657nt 的扩增:参照 PRRSV BJ-4 序列,设计并合成 1 对引物,扩增 Nsp9 基因的部分片段 (7817 - 8657nt)。

[0019]

F: 5'-TCAAGCTTTGAGTGAGGTTGAGCTAAAAGAC-3'

R: 5'-CGCTCGAGTCAGACAGTTTGCCAGTTTTCTCG-3'

上游引物下划线为 HindIII 序列,下游引物下划线为 XhoI 序列;PCR 反应条件为,94℃ 热启动 5 分钟,94℃ 变性 60 秒,55℃ 退火 30 秒,72℃ 延伸 30 秒,最后 72℃ 延伸 10 分钟,扩增产物为 840bp,经 1% 琼脂糖电泳;1. 2Nsp9 基因片段在 pMD-18T 中的克隆:将扩增产物利用胶回收试剂盒回收,利用 T-A 原理,与 pMD-18T 载体连接,转化 DH5 α 感受态大肠杆菌,涂布于氨苄青霉素的 LB 片板,12 小时后挑取典型白色单菌落培养,提质粒 DNA。通过 HindIII 和 XhoI 双酶切鉴定,命名为 pMD-Nsp9;1. 3Nsp9 基因在 pET-28a 中的克隆:原核表达载体 pET-28a 是上游带有 His 标签的高效表达载体,用 HindIII 和 XhoI 双酶切重组质粒 pMD-Nsp9,插入片段 840bp,回收其中 840bp,用 HindIII 和 XhoI 双酶切 pET-28a,与带有相同粘端的 Nsp9 基因判断连接,转化大肠杆菌 BL21 感受态菌,卡那青霉素抗性筛选,挑取单菌落少量培养基过夜培养,小提质粒 DNA,通过限制性内切酶鉴定重组质粒,得到重组克隆命名为 pET-28a-Nsp9。

[0020] 2、pET-28a-Nsp9 的诱导表达:将含有重组质粒的新鲜大肠杆菌 (BL-21) 单菌落在 LB 培养基中 37℃ 振荡培养过夜,次日按 1% 体积比转接 5ml 新鲜培养基,37℃ 继续培养,当菌液 OD₆₀₀ 值达 0.6-0.8 时,加入无菌 IPTG 溶液,使其终浓度为 1mmol/L。诱导 3-4 小时后停止培养,取 1ml 离心收集菌体,PBS (pH7.4) 洗涤,用 50 μ l PBS 悬浮菌体,与 10 μ l 5 \times SDS 上样缓冲液混合,煮沸变性 5 分钟。进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE),分离胶的丙烯酰胺浓度为 12%,将只含载体的大肠杆菌同样诱导做为阴性对照,0.25% 考马斯亮兰染色;经鉴定后,大量摇菌,离心沉淀菌体,超声破碎后经电洗脱得到高纯度的重组蛋白,于 -80℃ 保存备用。

[0021] 实施例 2 抗 PRRSV Nsp9 蛋白单克隆抗体的制备:

1、动物免疫 选择 6-8 周龄健康 Balb/C 小鼠以弗氏完全佐剂乳化纯化的 PRRSV Nsp9 蛋白,每只小鼠腹腔注射 100 μ g 左右,14d 后以弗氏不完全佐剂乳化蛋白腹腔注射 100 μ g,最后一次加强免疫时,直接腹腔注射 100 μ g 纯化的蛋白,融合前 3~4d 尾静脉注射 50 μ g 纯化的蛋白。

[0022] 2、细胞融合 取免疫小鼠的脾细胞与 SP2/0 混合于融合管内,以 300g 离心 10 min,弃去上清,振荡细胞,使两种细胞尽量混合均匀,然后 60s 内缓慢滴加预热的 PEG-4000 溶液,再缓慢加入无血清的 1640 培养基终止融合,静置后再以 1 000 r/min 离心 10 min,弃去上清后加入 HAT 培养基,使细胞悬浮并混匀,于 96 孔培养板中培养,

第 14d 开始换液并开始检测筛选

3、杂交瘤细胞的筛选和克隆化 克隆的筛选采用间接 ELISA, 用纯化的 PRRSV Nsp9 蛋白作为包被抗原。对所获阳性杂交瘤细胞的培养上清进行筛选; 将 ELISA 筛选的阳性杂交瘤细胞进行克隆化, 将检出的阳性孔再次克隆和亚克隆, 直到所有的孔都为阳性。通过三次细胞克隆最终获得杂交瘤细胞株 2D6, 抗体亚型为 IgG1。

[0023] 4、抗体的纯化 将得到的细胞株注射到 Balb/C 小鼠腹腔内, 一周后收取腹水, 用 IgG 纯化柱子纯化得到的单克隆抗体。

[0024] 实施例 3 金标抗原的制备

1、胶体金颗粒制备 将氯化金配制成 0.01% 水溶液, 取 100ml 煮沸 2min 后, 边搅拌边加入 1% 柠檬酸三钠 2ml, 煮沸至溶液颜色变成酒红色后, 继续煮沸至适宜浓度 OD535 = 0.9312, 冷却后加入双蒸馏水恢复到原体积, 置 4℃ 保存;

2、将待标记 PRRSV Nsp9 蛋白倍比稀释, 分别取 100 μl 加入 1ml 胶体金中, 10min 后加入 10% NaCl 100 μL, 4℃ 静止 1h。取胶体金颜色没有发生改变的最高稀释倍数为准, 按测得的最小蛋白浓度的比例将纯化的 PRRSV Nsp9 蛋白加至 pH 8.0 的胶体金溶液中, 边加边搅拌, 室温静置 30 min; 加入 10% 牛血清白蛋白 (BSA), 使其在溶液中的终浓度为 1%, 室温静置 15 min; 4℃、8 778×g 离心 30 min, 吸去上清, 用重悬液 I (含 BSA 等) 悬浮至原体积, 4℃、8 778×g 离心 30 min, 去上清, 沉淀用重悬液 II (含蔗糖、BSA、吐温 -20 等) 1/5 体积悬起, 4℃ 保存备用。

[0025] 实施例 4 免疫血清的制备

收集单抗制备时免疫小鼠血清作为抗 PRRSV Nsp9 高免血清, 于 -80℃ 保存备用。

[0026] 实施例 5 SPA 的获得

葡萄球菌蛋白 A (SPA) 购置于 sigma 公司, 将 SPA 配成 50ug/ml, 保存备用。

[0027] 实施例 6 试纸条的研制

1、试纸条的组成用喷膜机将胶体金标记蛋白复合物喷涂在胶体金结合垫上, 将 SPA 蛋白和抗 PRRSV Nsp9 蛋白单抗 2D6 间隔 4mm 喷在硝酸纤维素膜 NCM 上, 分别作为检测带和质控带, 将包被好的 NCM 放入含 3% BSA 的 PBS 中, 过夜, 封闭其余蛋白结合位点, 倒掉封闭液, 用 PBS, 洗 2 次, 每次 5min, 37℃ 干燥 1h 备用, 将硝酸纤维素膜、胶体金结合垫、样品垫、吸水垫等一次粘在 PVC 板上, 即, 将玻璃纤维连接在 NCM 上, 边缘并附着在 NCM 上; 棉浆垫附着在玻璃纤维上, 与 NCM 衔接; 吸水滤纸板连接在 NCM 下端, 边缘并附着在 NCM 上, 将粘好的 PVC 材料切成 60mm 长、4mm 宽的试纸条, 即制成猪繁殖与呼吸综合征病毒胶体金抗体快速检测试纸条, 将试纸条密封于铝箔袋中, 4℃ 保存;

2、所述的硝酸纤维素膜 (3) 上包被有 SPA 构成的检测线 T 线 (6) 是选用基因工程菌表达的重组金黄色葡萄球菌蛋白 A, 将其喷涂于检测线上, 用包被缓冲液将 SPA 稀释到 20-50ug/ml, 调整机器划线为 T 线, 即为检测线靠近结合垫, 距结合垫端约 5mm。

[0028] 3、所述的小鼠抗 PRRSV Nsp9 单抗 IgG 构成的质控线 C 线 (7) 是以杂交瘤技术获得的针对 PRRSV Nsp9 单个表位的细胞株分泌的抗体, 用包被缓冲液将其稀释到 50-100ug/ml, 调整机器划线为 C 线, 即为对照线靠近吸收垫, 距吸收垫端约 3mm; 两线距离 5-8mm, 在硝酸纤维素膜 NC 膜上的质控线上, 可与金标抗抗原结合, 以此检验试纸条的有效性。

[0029] 4、所述该纸条的检测方法是样品血清中抗猪繁殖与呼吸综合征病毒 Nsp9 抗体先

和胶体金标记的 Nsp9 蛋白结合,由于毛细管作用,反应复合物沿包被膜向前泳动,若样品中有相应抗体,到达检测线时遇到包被在硝酸纤维素膜上的 SPA,就会形成金标抗原 -Nsp9 抗体 -SPA 复合物,从而凝集在检测线上,形成特异性的红色沉淀线;没有和抗体结合的金标抗原则会直接通过检测线,富集在质控线上形成红色沉淀线,即判为阳性结果。若样品中无猪繁殖与呼吸综合征病毒 Nsp9 抗体,样品到达检测线时遇到 SPA 就不会形成金标抗原 -Nsp9 抗体 -SPA 复合物,不会形成红色沉淀线,而只富集在质控线上,形成红色沉淀,即判为阴性结果。

[0030] 实施例 7 胶体金试纸条的应用

1、本发明试纸条的使用方法

(1) 样品制备:临床采集待检动物血清用于检测。

[0031] (2) 检测:取出试纸条,室温平衡 20 分钟,将待检血清滴入试纸条检测窗口中,取出,平放,静置 10-15 分钟,判定结果。

[0032] (3) 结果判定:当时纸条只出现肉眼可见的紫红色质控线,没有出现肉眼可见的紫红色检测线,判为阴性,记为“-”;当试纸条出现肉眼可见的紫红色质控线,同时出现肉眼可见的紫红色检测线,判为阳性,记为“+”;检测线颜色深度与待检抗体水平成正比,颜色越深说明待检血清滴度越高,质控线无条带则判为试纸条失效。

[0033] 实施例 8 试纸条敏感性特异性测定

1、试纸条的敏感性试验

将 PRRSV Nsp9 蛋白免疫的小鼠血清作为检测阳性血清,用于试纸条敏感性检测试验,将阳性血清滴度稀释到 2560 倍,用试纸条进行检测,结果当稀释度为 160 倍以上时试纸条检测为阴性,稀释度为 80 倍以下时试纸条检测为阳性,结果见表 1

血清稀释度	10	40	80	160	320	640	1280	2560
敏感试验	+++	+++	++	-	-	-	-	-

2、试纸条的特异性试验

用检测试纸条检测 PRRSV 感染血清为阳性,而检测灭活 PRRSV 免疫血清、猪圆环病毒、猪细小病毒、猪流感病毒感染血清结果为阴性。证明试纸条较为特异。结果见表 2。

检测样品	PRRSV 感染	灭活 PRRSV	猪圆环病毒	猪细小病毒	猪流感病毒	猪伪狂犬病毒
检测结果	+	-	-	-	-	-

[0034]

3、试纸条的重复性试验

批内重复的 5 份检测,结果一致。4 个不同批次的试纸条检测,结果一致。说明该试纸条的重复性较好。

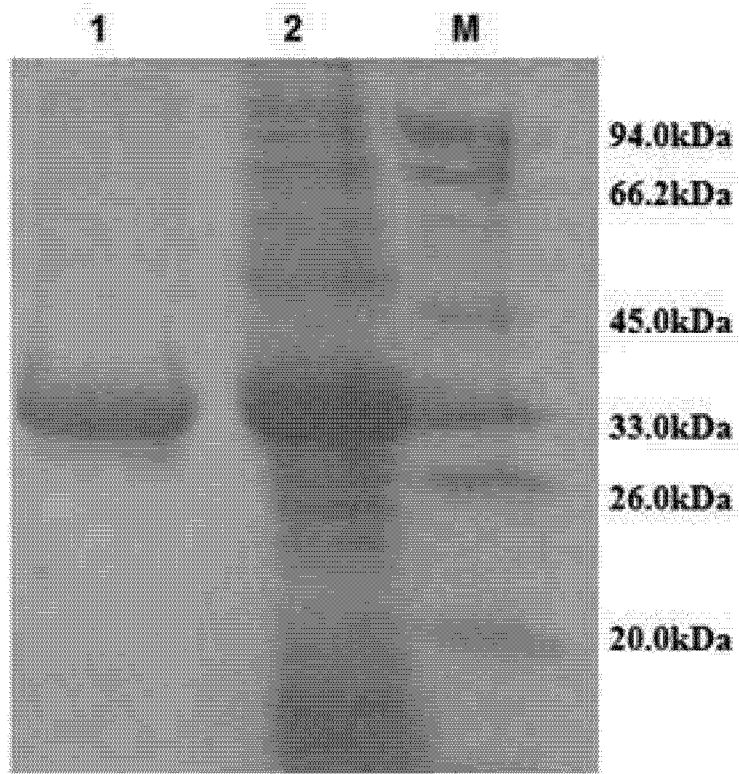


图 1

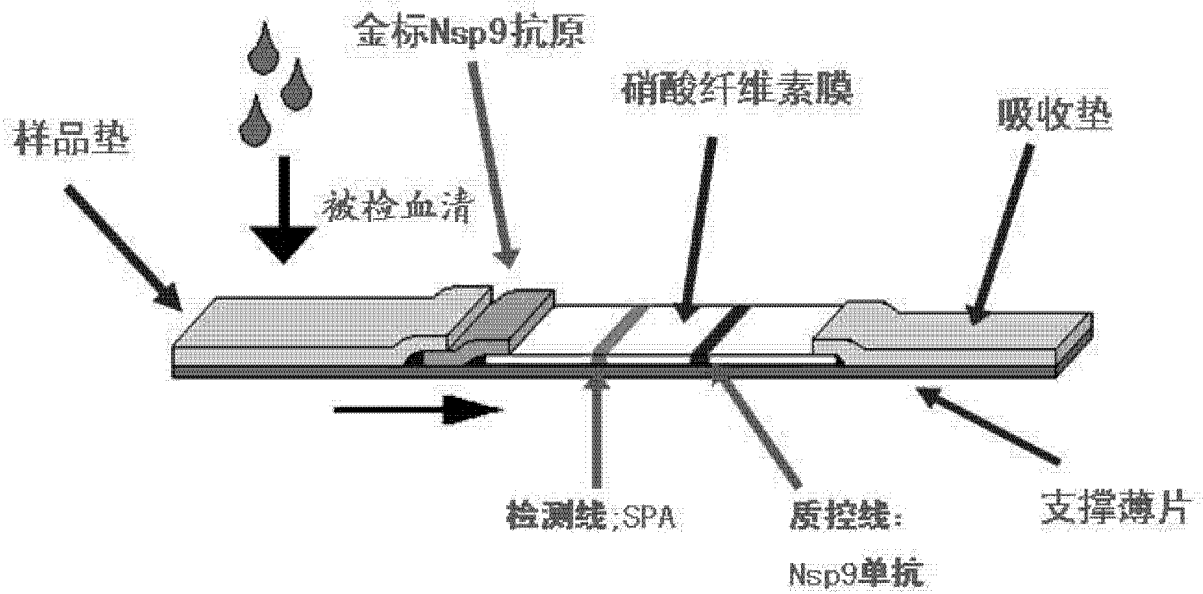


图 2

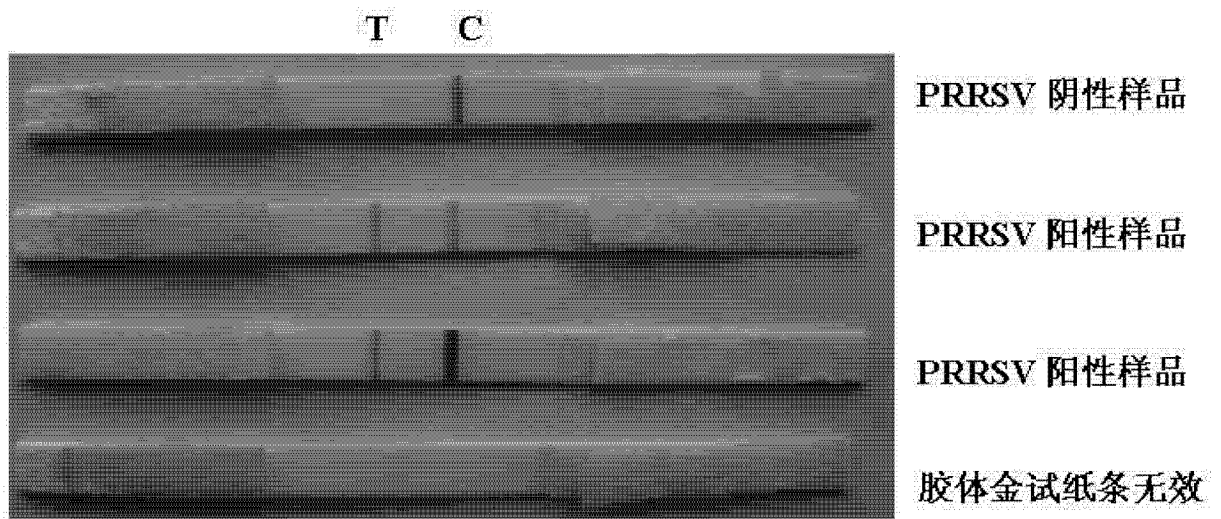


图 3

专利名称(译)	猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体胶体金快速检测试纸条		
公开(公告)号	CN102495216A	公开(公告)日	2012-06-13
申请号	CN201110423389.7	申请日	2011-12-16
[标]申请(专利权)人(译)	吉林大学		
申请(专利权)人(译)	吉林大学		
当前申请(专利权)人(译)	吉林大学		
[标]发明人	丁壮 黄志强 张晓东 郭育培 杨建新 母连志		
发明人	丁壮 黄志强 张晓东 郭育培 杨建新 母连志		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/531		
代理人(译)	王薇		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体胶体金快速诊断试纸条，其特征在于：试纸条由样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸收垫依次粘附在不吸水的支撑薄片上；其中结合垫上包被有胶体金标记的PRRSVNsp9蛋白；硝酸纤维素膜上分别包被有葡萄球菌蛋白A(SPA)构成的检测线T线和PRRSVNsp9单克隆抗体2D6构成的质控线C线。其利用免疫学抗原抗体能特异性结合原理，胶体金标记抗原与相应抗体结合，这种抗原抗体结合物再与葡萄球菌蛋白A(SPA)结合，形成抗原-抗体-SPA结合物在硝酸纤维素膜(NC膜)上出现颜色反应，可以肉眼观察；具有简单、快速、敏感和特异性好等特点。并且价格低廉，适用于基层或临床检测猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体。具有特异性强、灵敏度高、操作简单和诊断快速的显著优点，可用于猪繁殖与呼吸综合征病毒病的快速诊断。

