



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106380617 A

(43)申请公布日 2017.02.08

(21)申请号 201610804733.X

G01N 21/64(2006.01)

(22)申请日 2016.09.06

(71)申请人 北京华科泰生物技术有限公司

地址 100070 北京市丰台区科学城海鹰路8
号2号楼501室(园区)

(72)发明人 林斯

(74)专利代理机构 北京汇泽知识产权代理有限公司 11228

代理人 张秋越

(51)Int.Cl.

C08J 7/12(2006.01)

C08L 25/06(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

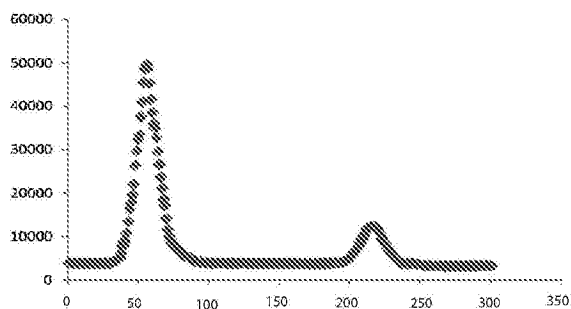
权利要求书2页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

表面活化的荧光乳胶微球及其制备和应用

(57)摘要

本发明公开了一种表面活化的荧光乳胶微球及其制备和应用。本发明的表面活化的荧光乳胶微球的制备方法,包括如下步骤:1)取含有羧基的表面活性剂加入pH为8~10的缓冲溶液中,再加入二甲基甲酰胺、N,N'-二环己基碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺;2)取氨基表面的荧光乳胶微球的分散液,以缓冲溶液调pH至8~10后,加入到步骤1)所得的混合物中,搅拌反应,反应完毕后,离心去除上清液,得到表面活化的荧光乳胶微球。本发明的表面活化的荧光乳胶微球在烘干时保持颗粒间的相对距离不易团聚,层析过程时,加入样本能即刻复溶并顺利层析,以便制备干式荧光免疫层析试纸条(试剂卡),方便用户使用,且检测结果稳定、准确、可靠。



1. 一种表面活化的荧光乳胶微球的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

1) 取含有羧基的表面活性剂加入pH为8~10的缓冲溶液中,再加入二甲基甲酰胺、N,N'-二环己基碳二亚胺和N-羧基琥珀酰亚胺;

2) 取氨基表面的荧光乳胶微球的分散液,以缓冲溶液调pH至8~10后,加入到步骤1)所得的混合物中,搅拌反应,反应完毕后,离心去除上清液,得到表面活化的荧光乳胶微球。

2. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,所述表面活性剂为非离子型表面活性剂、阴离子型表面活性剂或者两性表面活性剂中的一种或其两种以上的组合。

3. 根据权利要求2所述的制备方法,其特征在于,所述非离子表面活性剂为聚乙二醇脂肪酸酯型表面活性剂;所述阴离子型表面活性剂为富含亲水羧基的高级脂肪酸的钾、钠、铵盐以及三乙醇铵盐中的一种或其两种以上的组合;所述两性表面活性剂为氨基酸型表面活性剂中的一种或其两种以上的组合。

4. 根据权利要求3所述的制备方法,其特征在于,所述非离子表面活性剂为聚乙二醇脂肪酸酯中的一种或其两种以上的组合;所述阴离子型表面活性剂为硬脂酸的钾、钠、铵盐以及三乙醇铵盐中的一种或其两种以上的组合;所述两性表面活性剂为N-十二烷基丙氨酸、十二烷基氨基丙酸盐、椰油酰谷氨酸盐、月桂酰谷氨酸盐、N-酰基谷氨酸盐或十二烷基二亚甲基氨基二甲酸盐中的一种或其两种以上的组合。

5. 根据权利要求1所述的制备方法,其特征在于,步骤1)和步骤2)中所述的缓冲溶液为碳酸缓冲液;步骤2)中的搅拌反应时间为2~4小时,温度为20~30℃;氨基表面的荧光乳胶微球为氨基聚苯乙烯荧光微球。

6. 权利要求1~5任一项所述的制备方法得到的表面活化的荧光乳胶微球。

7. 权利要求6所述的表面活化的荧光乳胶微球的标记物工作液,其特征在于,取表面活化的荧光乳胶微球分散于微球缓冲液中,得到标记物工作液;表面活化的荧光乳胶微球在标记物工作液中所占的比例为0.5~2wt%;

其中,微球缓冲液的制备方法为:将BSA、生物防腐剂、雷米邦A和甜菜碱溶于0.01M、pH7.4的磷酸缓冲液中。

8. 根据权利要求7所述的标记物工作液,其特征在于,BSA、生物防腐剂、雷米邦A和甜菜碱在所述微球缓冲液中的浓度均为0.1wt%。

9. 一种标记物垫的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

1) 表面活化的荧光乳胶微球标记的兔IgG的制备:取权利要求7或8所述的表面活化的荧光乳胶微球的标记物工作液,离心,弃上清液后,用标记缓冲液复溶,并且同时加入碳二亚胺和兔IgG,搅拌反应,然后离心,弃上清液,最后用标记稀释液复溶;

2) 表面活化的荧光乳胶微球标记的标记用待测物抗体的制备方法:取权利要求7或8所述的表面活化的荧光乳胶微球的标记物工作液,离心,弃上清液后用标记缓冲液复溶,并且同时加入碳二亚胺和标记用待测物抗体,搅拌反应,然后离心,弃上清液,最后用标记稀释液复溶;

3) 取步骤1)所得分散液和步骤2)所得分散液,混合,喷涂于玻璃纤维之上,烘干;

所述标记缓冲液的配方为:碳酸钠4.33g、碳酸氢钠2.96g,溶于1000mL水中;所述标记稀释液的配方为:柠檬酸三钠7.33g、柠檬酸4.44g、氢氧化钠1g,溶于1000mL水中。

10. 一种荧光免疫层析试纸条,其特征在于,包括权利要求9所述的标记物垫、包被垫和

吸收垫,其中,所述标记物垫搭接于包被垫的一端上,吸收垫搭接于包被垫的另一端上,包被垫上设有质控线和检测线,质控线上包被有羊抗兔IgG的抗体,检测线上包被有包被用待测物抗体。

表面活化的荧光乳胶微球及其制备和应用

技术领域

[0001] 本发明属于荧光免疫层析技术领域,具体涉及一种表面活化的荧光乳胶微球及其制备和应用。

背景技术

[0002] 荧光免疫层析试纸条因其快速便捷的特性,广泛用于快检领域。待测物抗体标记荧光乳胶微球,乳胶微球在液相中存在着表面电子斥力和范德华力使得液相中的乳胶颗粒保持均匀分布。但是喷涂于玻璃纤维素膜并烘干后随着溶液被蒸发干,表面张力推动乳胶颗粒间无限靠近导致分子间斥力消失,范德华力增大,最终使得多个乳胶分子团聚成大大小小不同的颗粒。当免疫层析时加入样本复溶乳胶微球时,乳胶微球不再均匀分散导致层析失败。因此本领域多采用荧光免疫层析试剂盒,含试纸条加上样本缓冲液。增加了检测复杂度。或者由于乳胶微球部分凝聚,使得检测灵敏度降低,检测结果出现假阴性。另外,乳胶微球的不稳定,也会使得荧光试纸条的稳定性差,不便于保存以及运输。

发明内容

[0003] 本发明所要解决的技术问题是:荧光免疫层析试纸条的荧光乳胶微球在烘干后,容易团聚,分散不均匀,从而导致层析失败或使得检测灵敏度降低。

[0004] 为了解决上述技术问题,本发明提供了一种表面活化的荧光乳胶微球、其制备方法以及应用该表面活化的荧光乳胶微球制备的干式荧光免疫层析试纸条,以解决荧光乳胶微球在喷涂、烘干玻璃纤维素膜时发生团聚的现象,以便制备标记物垫,从而得到干式荧光免疫层析试纸条,无需稀释液配置检测试剂盒。

[0005] 本发明提供一种表面活化的荧光乳胶微球的制备方法,包括如下步骤:

1) 取含有羧基的表面活性剂加入pH为8~10的缓冲溶液中,再加入二甲基甲酰胺、N,N'-二环己基碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺;

2) 取氨基表面的荧光乳胶微球的分散液,以缓冲溶液调pH至8~10后,加入到步骤1)所得的混合物中,搅拌反应,反应完毕后,离心去除上清液,得到表面活化的荧光乳胶微球。

[0006] 优选地,所述表面活性剂为非离子型表面活性剂、阴离子型表面活性剂或者两性表面活性剂中的一种或其两种以上的组合。

[0007] 更优选地,所述非离子表面活性剂为聚乙二醇型表面活性剂;所述阴离子型表面活性剂为富含亲水羧基的高级脂肪酸的钾、钠、铵盐以及三乙醇铵盐中的一种或其两种以上的组合;所述两性表面活性剂为氨基酸型表面活性剂中的一种或其两种以上的组合。

[0008] 更优选地,所述非离子表面活性剂为聚乙二醇脂肪酸酯中的一种或其两种以上的组合;所述阴离子型表面活性剂为硬脂酸的钾、钠、铵盐以及三乙醇铵盐中的一种或其两种以上的组合;所述两性表面活性剂为N-十二烷基丙氨酸、十二烷基氨基丙酸盐、椰油酰谷氨酸盐、椰油酰谷氨酸二钠、月桂酰谷氨酸盐、N-酰基谷氨酸盐或十二烷基二亚甲基氨基二甲酸盐中的一种或其两种以上的组合。

[0009] 优选地,所述表面活性剂与所述氨基表面的荧光乳胶微球的质量比为500~2000:1。

[0010] 优选地,步骤1)和步骤2)中所述的缓冲溶液为碳酸缓冲液;步骤2)中的搅拌反应时间为2~4小时,温度为20~30℃;氨基表面的荧光乳胶微球为氨基聚苯乙烯荧光微球。

[0011] 本发明还提供,上述的制备方法得到的表面活化的荧光乳胶微球。

[0012] 本发明还提供上述的表面活化的荧光乳胶微球的标记物工作液,取表面活化的荧光乳胶微球分散于微球缓冲液中,得到标记物工作液;表面活化的荧光乳胶微球在标记物工作液中所占的比例为0.5~2wt%;

其中,微球缓冲液的制备方法为:将BSA(牛血清蛋白)、生物防腐剂、雷米邦A和甜菜碱溶于0.01M、pH7.4的磷酸缓冲液中。

[0013] 优选地, BSA、生物防腐剂、雷米邦A和甜菜碱在所述微球缓冲液中的浓度均为0.1wt%。

[0014] 本发明还提供一种标记物垫的制备方法,包括如下步骤:

1)表面活化的荧光乳胶微球标记的兔IgG的制备:取上述的表面活化的荧光乳胶微球的标记物工作液,离心,弃上清液后,用标记缓冲液复溶,并且同时加入碳二亚胺和兔IgG,搅拌反应,然后离心,弃上清液,最后用标记稀释液复溶;

2)表面活化的荧光乳胶微球标记的标记用待测物抗体的制备方法:取上述的表面活化的荧光乳胶微球的标记物工作液,离心,弃上清液后用标记缓冲液复溶,并且同时加入碳二亚胺和标记用待测物抗体,搅拌反应,然后离心,弃上清液,最后用标记稀释液复溶;

3)取步骤1)所得分散液和步骤2)所得分散液,混合,喷涂于玻璃纤维之上,烘干;

所述标记缓冲液的配方为:碳酸钠4.33g、碳酸氢钠2.96g,溶于1000mL水中;所述标记稀释液的配方为:柠檬酸三钠7.33g、柠檬酸4.44g、氢氧化钠1g,溶于1000mL水中。

[0015] 优选地,步骤3)中表面活化的荧光乳胶微球标记的兔IgG与表面活化的荧光乳胶微球标记的标记用待测物抗体的体积比为2:1。

[0016] 本发明还提供一种荧光免疫层析试纸条,包括上述的标记物垫、包被垫和吸收垫,其中所述标记物垫搭接于包被垫的一端上,吸收垫搭接于包被垫的另一端上,包被垫上设有质控线和检测线,质控线上包被有羊抗兔IgG的抗体,检测线上包被有包被用待测物抗体。

[0017] 本发明能够达到如下技术效果:

表面活化的荧光乳胶微球在烘干时保持颗粒间的相对距离不易团聚,层析过程时,加入样本能即刻复溶并顺利层析,以便制备干式荧光免疫层析试纸条(试剂卡),方便用户使用,且检测结果稳定、准确、可靠。

[0018] 本发明采用表面活性剂事先处理化学修饰的荧光乳胶微球,处理后的乳胶微球标记待测物抗体,用于制备荧光免疫层析试纸条的标记物垫,实现乳胶微球均匀喷涂,无团聚现象。从而在加入待测样本后,标记的荧光乳胶微球可以快速的、顺利实现层析,无需特殊样本稀释液或者缓冲液处理试纸条。本发明所制备的干式荧光免疫层析试剂卡,稳定性强,操作简便,用户友好,检测结果准确、可靠,灵敏度高。

附图说明

- [0019] 图1是本发明的荧光免疫层析试剂卡的截面分解结构示意图。
- [0020] 图2是本发明的荧光免疫层析试剂卡的俯视结构示意图。
- [0021] 图3 25-羟基维生素D (25-OH-D) 标准曲线的建立。
- [0022] 图4全血样本中25-羟基维生素D (25-OH-D) 含量测定曲线。
- [0023] 图5是实施例4的试纸条的荧光信号曲线。
- [0024] 图6是实施例5的试纸条的荧光信号曲线。
- [0025] 图7是对比例的试纸条的荧光信号曲线。

具体实施方式

[0026] 下面结合附图和具体实施例对本发明作进一步说明,以使本领域的技术人员可以更好的理解本发明并能予以实施,但所举实施例不作为对本发明的限定。

[0027] 本发明提供了一种表面活化的荧光乳胶微球的制备方法,包括如下步骤:

1) 取含有羧基的表面活性剂加入pH为8~10的缓冲溶液中,再加入二甲基甲酰胺、N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC,脂溶性碳二亚胺)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS),搅拌混合;

2) 取氨基表面的荧光乳胶微球的分散液,以缓冲溶液调pH至8~10后,加入到步骤1)所得的产物中,搅拌反应,反应完毕后,离心去除上清液,得到表面活化的荧光乳胶微球。

[0028] 本发明采用一种或几种含有羧基的表面活性剂通过共价偶联的方法修饰乳胶微球外表面,使其具有疏水性。处理后的乳胶微球采用合适技术再标记待测物抗体。荧光乳胶微球标记的待测物抗体与荧光乳胶微球标记的兔IgG混匀后喷涂在玻璃纤维素膜上制备成标记物垫1,包被垫2(硝酸纤维素膜)靠近质控线的一端覆盖上吸水垫,靠近检测线的另一端覆盖标记物垫,用于制备干式荧光免疫层析试剂卡。加入待测样本后,抗原与荧光乳胶微球待测物标记的抗体混合反应,乳胶微球能够保持分散状态不团聚,且在待测样本后可迅速、均匀分散,并沿着硝酸纤维素膜快速层析。

[0029] 本发明以下实施例中所用的荧光乳胶微球是指被化学修饰的氨基表面的聚苯乙烯荧光微球,直径100~500nm。

[0030] 一、表面活化的荧光乳胶微球的制备

实施例1

采用聚乙二醇单月桂酸酯处理荧光乳胶微球

1) 取10mg聚乙二醇单月桂酸酯首先溶解在0.5M pH9.6的碳酸缓冲液(H值到9.6),再加入在0.1mI的DMF中,0.1mI的DMF中,再加入N,N'-二环己基碳二亚胺(DCC) 1mg和0.6mg N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)后室温搅拌3小时。

[0031] 2) 将1mI含1%固体物的氨基表面的荧光乳胶微球溶液用0.5M pH9.6的碳酸缓冲液调PH值到9.6后加入到步骤1)中,继续搅拌反应3小时。既得活化的乳胶微球。

[0032] 3) 用高速离心机将荧光乳胶微球反应液高速离心分离,去除反应溶液上清液,用1mI 微球缓冲液复溶荧光乳胶微球,形成标记物工作液。

[0033] 微球磷酸缓冲液配制:0.01M pH7.4的磷酸缓冲液,含0.1wt% BSA,含0.1 wt % 生物防腐剂,含0.1 wt % 雷米邦A,含0.1 wt % 甜菜碱。微球磷酸缓冲液提供一定的例子强度和PH值,使微球均匀分散。

[0034] 实施例2

采用硬脂酸钠处理荧光乳胶微球

本实施例的操作方法与实施例1类似,不同之处在于,步骤1)中以硬脂酸钠取代聚乙二醇单月桂酸酯。

[0035] 实施例3

N-十二烷基丙氨酸处理荧光乳胶微球

本实施例的操作方法与实施例1类似,不同之处在于,步骤1)中以N-十二烷基丙氨酸取代聚乙二醇单月桂酸酯。

[0036] 二、以25-羟基维生素D荧光免疫层析试纸条为例对实施例1~3表面活化的荧光乳胶微球的应用及效果进行说明。

[0037] 实施例4

采用实施例1得到的标记物工作液制备的荧光免疫层析试纸条

1) 荧光乳胶微球标记的兔IgG: 取5mL实施例1得到的标记物工作液,用离心机离心30min(转速为10000r/min),离心完后弃上清液,用5mL标记缓冲液复溶,再加入1mg的兔IgG混匀,另加入5mg碳化二亚胺,室温搅拌反应1h,然后离心15min(转速为10000r/min),弃上清液,用10mL的标记物稀释液稀释复溶混匀后备用。

[0038] 2) 荧光乳胶微球标记的标记用鼠抗人25-羟基维生素D单克隆抗体

取10mL实施例1得到的标记物工作液,用离心机离心30min(转速为10000r/min),离心完后弃上清液,用10mL标记缓冲液复溶,再加入2mg的标记用鼠抗人25-羟基维生素D单克隆抗体混匀,另加入10mg碳化二亚胺,室温搅拌反应1h,然后离心15min(转速为10000r/min),弃上清液,用20mL的标记物稀释液稀释复溶混匀后备用。

[0039] 步骤1)和2)中标记缓冲液的配方为:碳酸钠4.33g、碳酸氢钠2.96g,溶于1000mL水中;标记稀释液的配方为:柠檬酸三钠7.33g、柠檬酸4.44g、氢氧化钠1g,溶于1000mL水中。

[0040] 3) 标记物垫制备

步骤2)得到的荧光乳胶微球标记的标记用待测物抗体与步骤1)得到的荧光乳胶微球标记的兔IgG混匀,二者体积比例为2:1。然后将混匀的荧光乳胶微球按1微升/厘米的量均匀喷涂在玻璃纤维素纸上转置45℃的烘干箱烘干2小时即完成标记物垫的制备。

[0041] 4) 包被液制备:取25-羟基维生素D完全抗原加入磷酸盐缓冲液中,制成检测线包被液;取羊抗兔IgG加入磷酸盐缓冲液中,制成质控线包被液。该磷酸盐缓冲液的配方为:0.99g 磷酸二氢钠,5.16g磷酸氢二钠溶于1000mL纯化水中。

[0042] 5) 包被垫的处理:检测线包被液在包被垫上划线包被形成检测线,质控线包被液在包被垫上划线包被形成质控线,然后干燥。

[0043] 6) 试纸条组装:

将干燥好的标记物垫和剪裁好的吸收垫(吸水纸),按包被垫(硝酸纤维素膜)靠近质控线的一端覆盖上吸收垫,靠近检测线的另一端覆盖标记物垫的要求进行贴条。按切条机标准操作规程进行操作,切成4mm±0.1mm宽的试纸条。

[0044] 如图1和2所示,试纸条包括:包被垫2(硝酸纤维素膜),其两端各设有一连接段(如图所示第一连接段20、第二连接段22),两连接段中间为检测段21,检测段21表面设有检测线5和质控线7;标记物垫1(玻璃纤维素膜),其一端设有连接段10,标记物垫的连接段10覆盖并固定于包被垫2的第一连接段20上;标记物垫1上喷涂有标记物8,具体在一实施方式

中,是在靠近连接段10附近(距连接段2mm,标记物沿包被垫长度方向的长度为5mm)喷涂标记物8(含有荧光乳胶微球标记的兔IgG和荧光乳胶微球标记的标记用鼠抗人25-羟基维生素D单克隆抗体)。

[0045] 吸收垫3(吸水纸),其一端设有连接段30,吸收垫的连接段30覆盖并固定于包被垫2的第二连接段22上;

底板4,包被垫2、标记物垫1和吸收垫3均固定于底板上。

[0046] (一)本实施例制得的试纸条校准曲线及待测样本的测定

将50uI校准品或者待测样本缓慢滴加在标记物垫上。在室温条件下静置15分钟反应,反应结束后将试纸条放入到Savant-100荧光免疫层析分析仪中检测。校准品的每个浓度点重复做5遍,取T/C面积比的平均值后与浓度生成一条标准曲线(线性范围5-120 ng/mL)。标准曲线测定结果如下表所示,标准曲线如附图3所示。

[0047] 线性

	x1	x2	x3	x4	x5
	4.70	25.41	47.14	78.63	107.7
	4.49	22.35	52.36	88.35	112.10
	5.41	27.21	54.69	82.94	117.29
平均值	4.87	24.99	51.40	83.31	112.36
SD	0.48	2.46	3.87	4.87	4.80
CV	9.91%	9.83%	7.52%	5.85%	4.27%
	理论值	平均值			
x1	4.78	4.87			
x2	24.99	31.74			
x3	51.40	58.62			
x4	83.31	85.49			
x5	112.36	112.36			

收集临床样本200例,与西门子(SIEMENS)医学诊断产品总维生素D测定试剂盒(化学发光法)进行对比检测,样本检测值如附图4所示,可见当 $r > 0.975$ 时,证明与西门子(SIEMENS)医学诊断产品的检测结果等同,具有同样的有效性。

[0048] (二)关于荧光乳胶微球的分散性和涌动性

试纸条的层析完成后,使用仪器采集包被垫的检测段21上的荧光信号,其将检测段沿长度方向平分为300段,每段为单位输出电信号(荧光强度)。共计输出300个电信号,如图5所示。

[0049] 图5中,纵坐标:Fluorescence Intensity 发光强度;横坐标:检测段21的位置长度(检测段21靠近第二连接段22的一侧边为0);横坐标50-100测的是质控线7,取值是50-100此段的峰面积。横坐标200-250测的是检测线5,取值是200-250此段的峰面积。

[0050] 从图5中可看出,表面活化的荧光乳胶微球易形成单分散状态,提高微球涌动性能。当血液移动至抗原的检测线时,待测物和试剂的复合物便可以进行充分的特异性结合(200-250段峰值)。峰清晰,检测段21上除了检测线与质控线之外无荧光微球残留。

[0051] 本实施例制得的试纸条,检测灵敏度高、特异性强、发光效率高且能够定量反应血

液中检测物的浓度。

[0052]

实施例5

采用实施例2得到的标记物工作液制备的荧光免疫层析试纸条

本实施例的荧光免疫层析试纸条与实施例4类似,区别在于步骤1)和2)中使用实施例2得到的标记物工作液取代实施例1得到的标记物工作液。

[0053] 对荧光乳胶微球的分散性和涌动性进行检测,方法同实施例4,结果见图6,本实施例制得的荧光免疫层析试纸条的具有如下效果:表面活化的荧光乳胶微球易形成单分散状态,提高微球涌动性能。当血液移动至抗原的检测线时,待测物和试剂的复合物便可以进行充分的特异性结合(200-250段峰值)。峰清晰,检测段21上除了检测线与质控线之外无荧光微球残留。

[0054] 本实施例制得的试纸条,检测灵敏度高、特异性强、发光效率高且能够定量反应血液中检测物的浓度。

[0055] 实施例6

采用实施例3得到的标记物工作液制备的荧光免疫层析试纸条

本实施例的荧光免疫层析试纸条与实施例4类似,区别在于步骤1)和2)中使用实施例3得到的标记物工作液取代实施例1得到的标记物工作液。

[0056] 对荧光乳胶微球的分散性和涌动性进行检测,方法同实施例4,本实施例制得的荧光免疫层析试纸条的具有如下效果:表面活化的荧光乳胶微球易形成单分散状态,提高微球涌动性能。当血液移动至抗原的检测线时,待测物和试剂的复合物便可以进行充分的特异性结合(200-250段峰值)。峰清晰,检测段21上除了检测线与质控线之外无荧光微球残留。

[0057] 本实施例制得的试纸条,检测灵敏度高、特异性强、发光效率高且能够定量反应血液中检测物的浓度。

[0058] 对比例

本对比例的荧光免疫层析试纸条与实施例4类似,区别在于步骤1)和2)中使用市售的氨基聚苯乙烯荧光微球分散液取代实施例1得到的标记物工作液。

[0059] 分散性和涌动性检测方法同实施例1,检测结果见图7,从图7可看出:1.未活化微球,爬膜效果差。乳胶微球易凝聚,同时因其疏水性,易发生非特异性吸附,造成颗粒聚并。2.在检测时的层析过程中,强大的吸附性凝聚成团的荧光微球很难再形成单分散微球层析。3.因包被垫(NC膜)是多孔网状结构膜,因此可能与较大颗粒发生不利于层析检测的非特异性吸附以及导致大颗粒荧光微球释放性差。4.致NC膜前(检测线5到第一连接段20之间的检测段21)端有明显大量荧光微球残留。图7中的200-300段,测试峰难以分辨。

[0060] 以上所述实施例仅是为充分说明本发明而所举的较佳的实施例,本发明的保护范围不限于此。本技术领域的技术人员在本发明基础上所作的等同替代或变换,均在本发明的保护范围之内。本发明的保护范围以权利要求书为准。

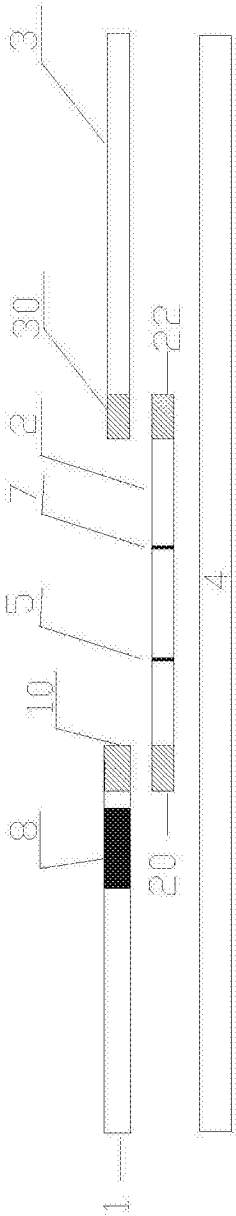


图 1

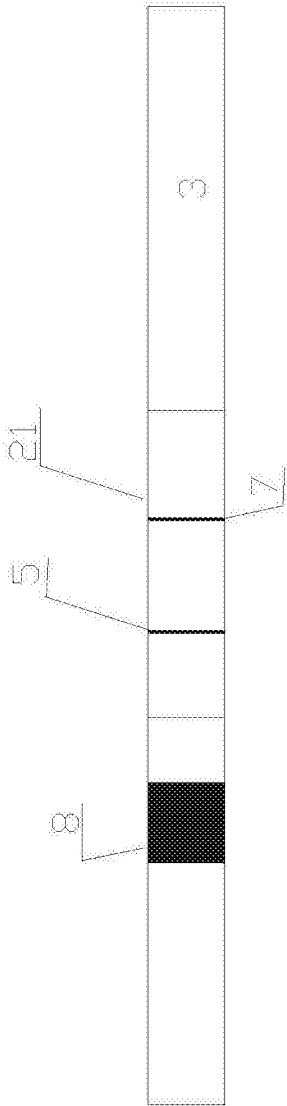


图 2

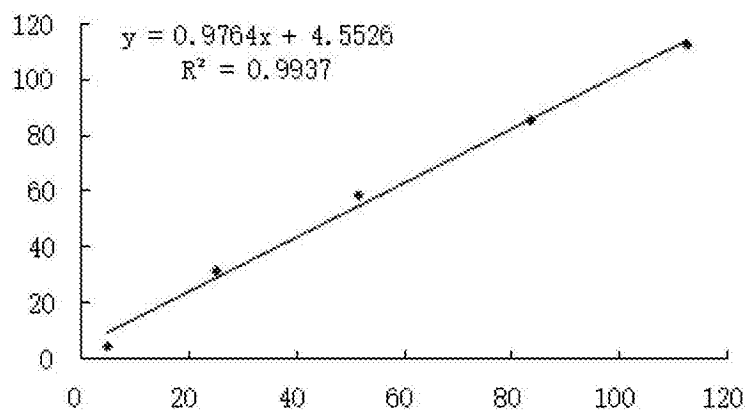


图 3

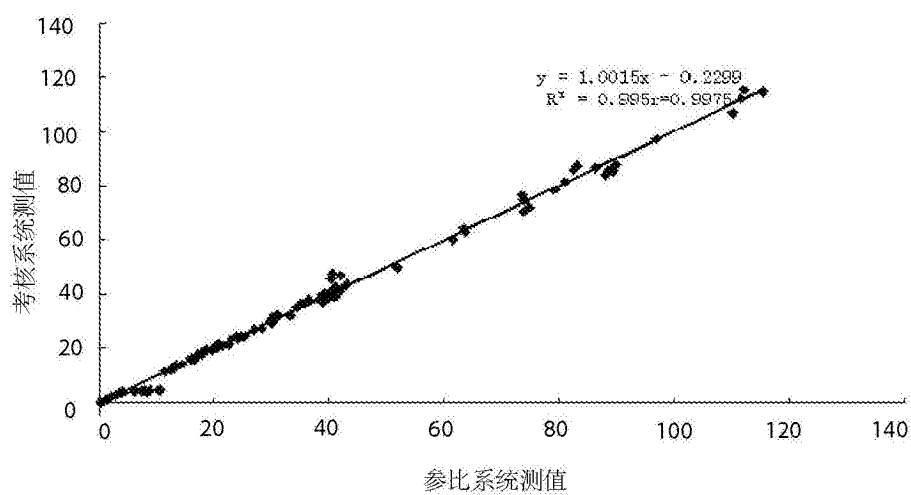


图 4

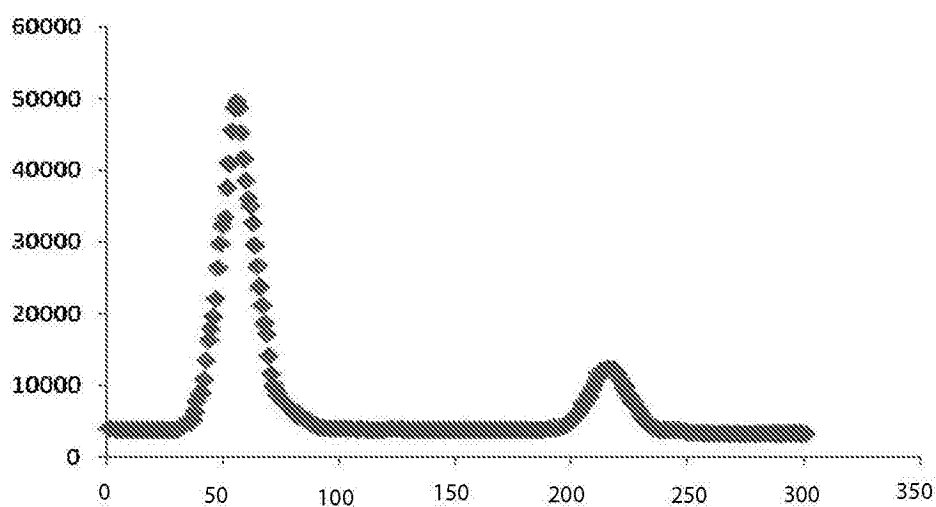


图 5

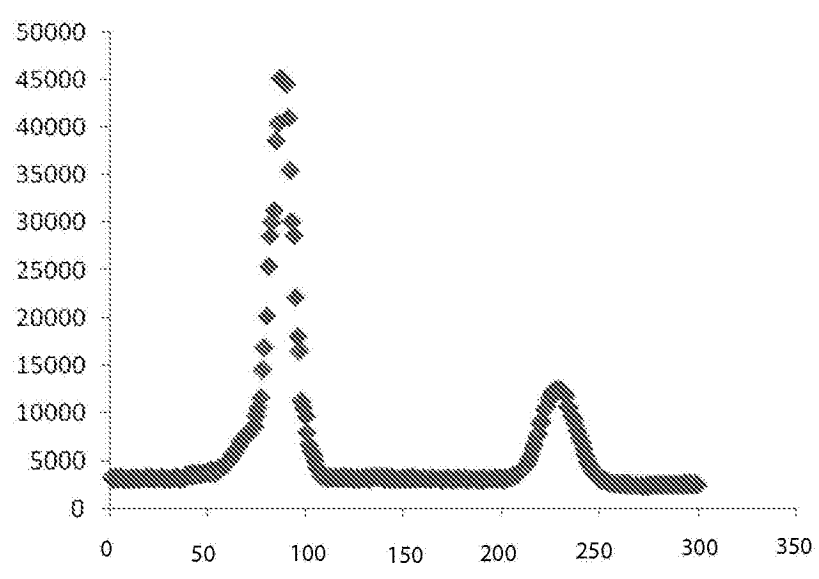


图 6

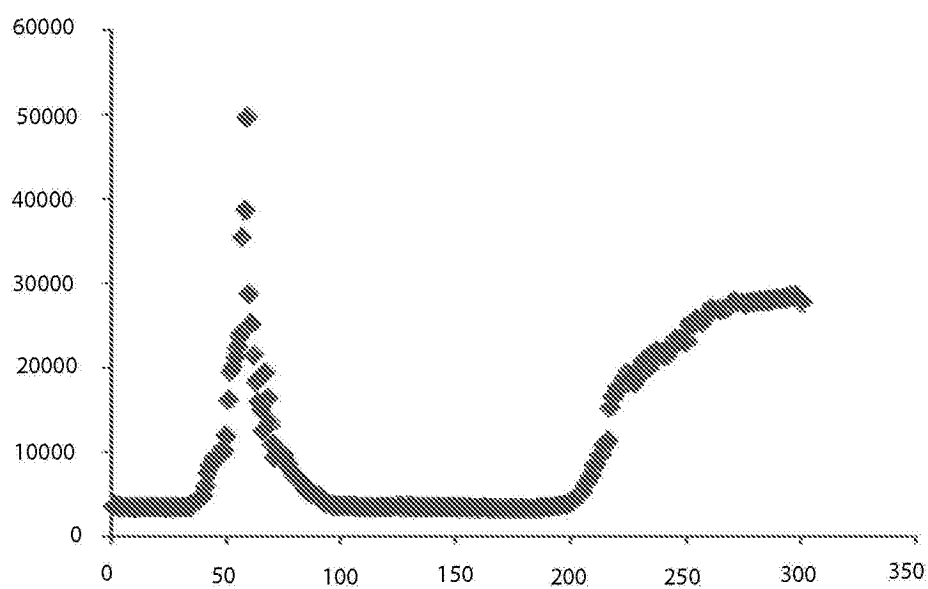


图 7

专利名称(译)	表面活化的荧光乳胶微球及其制备和应用		
公开(公告)号	CN106380617A	公开(公告)日	2017-02-08
申请号	CN201610804733.X	申请日	2016-09-06
[标]申请(专利权)人(译)	北京华科泰生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京华科泰生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京华科泰生物技术有限公司		
[标]发明人	林斯		
发明人	林斯		
IPC分类号	C08J7/12 C08L25/06 G01N33/558 G01N33/543 G01N33/533 G01N21/64		
CPC分类号	C08J7/12 C08J2325/06 G01N21/6486 G01N33/533 G01N33/54313 G01N33/558		
代理人(译)	张秋越		
其他公开文献	CN106380617B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种表面活化的荧光乳胶微球及其制备和应用。本发明的表面活化的荧光乳胶微球的制备方法，包括如下步骤：1) 取含有羧基的表面活性剂加入pH为8~10的缓冲溶液中，再加入二甲基甲酰胺、N,N'-二环己基碳二亚胺和N-羟基琥珀酰亚胺；2) 取氨基表面的荧光乳胶微球的分散液，以缓冲溶液调pH至8~10后，加入到步骤1) 所得的混合物中，搅拌反应，反应完毕后，离心去除上清液，得到表面活化的荧光乳胶微球。本发明的表面活化的荧光乳胶微球在烘干时保持颗粒间的相对距离不易团聚，层析过程时，加入样本能即刻复溶并顺利层析，以便制备干式荧光免疫层析试纸条（试剂卡），方便用户使用，且检测结果稳定、准确、可靠。

