



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108918876 A

(43)申请公布日 2018.11.30

(21)申请号 201810648721.1

G01N 33/558(2006.01)

(22)申请日 2018.06.22

(71)申请人 河南省生物工程技术研究中心有限公司

地址 450001 河南省郑州市高新技术产业
开发区科学大道53号4号楼7层84号

(72)发明人 王云龙 银芳颖 李玉林 王继创
程蕾 王敏

(74)专利代理机构 郑州铭晟知识产权代理事务
所(特殊普通合伙) 41134

代理人 张鹏

(51)Int.Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

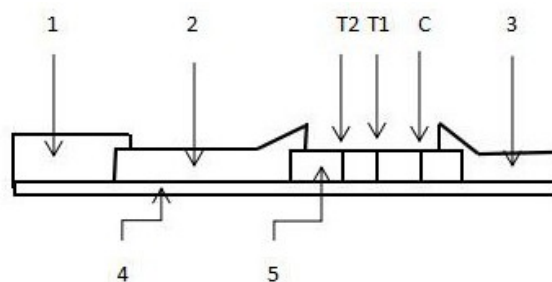
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

一种联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条

(57)摘要

本发明公开了一种联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条,包括底板、样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,结合垫上固定有抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物、胱抑素C配对单克隆抗体-荧光微球复合物、羊抗兔IgG-荧光微球复合物;抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物是由抗人白蛋白单克隆抗体与荧光微球通过EDC、NHS两步法偶联形成,胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物是由胱抑素C单克隆抗体与荧光微球通过EDC、NHS两步法偶联形成,羊抗兔IgG-荧光微球复合物是由羊抗兔IgG与荧光微球通过EDC一步法偶联形成。本发明提供一种操作简便、快速检测、灵敏度高、成本低廉,且适合床旁快速检测的联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条。



1. 一种联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条,其特征在于,包括底板、样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫依次搭接组装在底板上,其中,吸水垫和结合垫分别交叠压在硝酸纤维素膜的两端,并在硝酸纤维素膜的表面形成检测区;样品垫交叠压在结合垫上,所述结合垫上固定有抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物、胱抑素C配对单克隆抗体-荧光微球复合物、羊抗兔IgG-荧光微球复合物;所述检测区内的硝酸纤维素膜上包被有人白蛋白抗原、胱抑素C单克隆抗体和兔IgG多克隆抗体,分别构成检测线T1、检测线T2和质控线C;所述抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物是由抗人白蛋白单克隆抗体与荧光微球通过EDC、NHS两步法偶联形成,所述胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物是由胱抑素C单克隆抗体与荧光微球通过EDC、NHS两步法偶联形成,所述羊抗兔IgG-荧光微球复合物是由羊抗兔IgG与荧光微球通过EDC一步法偶联形成。

2. 根据权利要求1所述联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条,其特征在于,所述荧光微球是羧基荧光微球的一种。

3. 根据权利要求1所述联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条,其特征在于,所述抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物的制备过程为:

(1) 将荧光微球置于0.05M 硼酸缓冲液缓冲液中进行偶联,并加0.01M EDC和0.02M NHS缓冲液进行活化;

(2) 将步骤(1)所得已活化的荧光微球洗涤除去EDC、NHS,加入0.05M 硼酸缓冲液,再加入抗人白蛋白单克隆抗体后于25~30℃下反应2h,离心,得沉淀物;

(3) 将步骤(2)所得沉淀物用保护液重悬,用封闭液封闭1h,即得。

4. 根据权利要求1所述联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条,其特征在于,所述胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物的制备过程为:

(1) 将荧光微球置于0.05M 硼酸缓冲液中进行偶联,并加0.01M EDC和0.02M NHS缓冲液进行活化;

(2) 将步骤(1)所得已活化的荧光微球洗涤除去EDC、NHS,加入0.05M 硼酸缓冲液,再加入胱抑素C单克隆抗体后于25~30℃下反应2h,离心,得沉淀物;

(3) 将步骤(2)所得沉淀物用保护液重悬,用封闭液封闭1h,即得。

5. 根据权利要求1所述联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条,其特征在于,所述羊抗兔IgG-荧光微球复合物的制备过程为:

(1) 将荧光微球置于0.05M 硼酸缓冲液中进行偶联,并加0.01M EDC缓冲液进行活化;

(2) 将步骤(1)所得已活化的荧光微球洗涤除去EDC,加入0.05M 硼酸缓冲液,再加入羊抗兔IgG后于25~30℃下反应1.5h后离心,得沉淀物;

(3) 将步骤(2)所得沉淀物用保护液重悬,用封闭液封闭30min,即得。

6. 根据权利要求3-5任意一项所述联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条,其特征在于,步骤(3)中所述保护液由0.04M、pH 8.0的 Tris-HCl,质量浓度为0.5%~1%的BSA,质量浓度为3%~5%的海藻糖和质量浓度为0.1%的吐温20组成;所述封闭液为质量浓度为10%的PEG20000。

7. 所述联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

(1) 制备抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物、胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物、羊抗兔IgG-荧光微球复合物；

(2) 将硝酸纤维素膜粘贴在底板的中间位置，并与上端的吸水垫进行重叠接触，将稀释的1mg/mL人白蛋白抗原、稀释的2mg/mL胱抑素C单克隆抗体和稀释的1mg/ml兔IgG包被在硝酸纤维素膜上，形成两条检测线和一条质控线，两线相隔3mm，37℃烘干过夜后，于室温干燥环境下保存备用；

(3) 将玻璃纤维构件使用结合垫处理液浸泡处理并烘干，将步骤(1)制备的抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物、胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物、羊抗兔IgG-荧光微球复合物喷涂在烘干的玻璃纤维构件上，于37℃恒温干燥箱中干燥过夜，制成结合垫，放于干燥环境备用；

(4) 将玻璃纤维构件使用样品垫处理液浸泡处理并于37℃恒温干燥箱中干燥2h，制成样品垫，放于干燥环境备用；

(5) 组装试纸条：将硝酸纤维素膜、步骤(4)所得样品垫、吸水垫和步骤(3)所得结合垫依次搭接组装在底板上，切割成条状，即得联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条。

8. 根据权利要求7所述联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条的制备方法，其特征在于，步骤(3)中所述结合垫处理液是由0.1M PH 8.0 Tris-Hcl缓冲液，20%吐温20，质量浓度为0.5%~1%的BSA，质量浓度为3%的蔗糖和质量浓度为0.05%的NaN₃组成；步骤(4)中所述样品垫处理液为包含BSA的Tris-Hcl溶液，其中BSA的质量分数为0.1%，Tris-Hcl的浓度为0.02-0.1M，PH为 8.0。

9. 一种联合荧光免疫层析定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸卡，其特征在于，将上述试纸条装入长方形塑料卡壳内。

10. 根据权利要求9所述联合荧光免疫层析定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸卡，其特征在于，所述长方形卡壳包括塑料上壳和塑料下壳，上壳面上对应于硝酸纤维素膜检测区的位置设有观察窗，上壳面上对应于样品垫的位置设有加样孔，加样孔位于样品垫中间。

一种联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条

技术领域

[0001] 本发明涉及疾病诊断技术领域,具体涉及一种联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条。

背景技术

[0002] 肾脏的生理功能主要是排泄代谢废物及调节水、电解质酸碱平衡,分泌多种活性物质,维持机体内环境稳定,以保证机体的正常生理功能。近年来由于生活习性、饮食结构等的变化,使高血压、糖尿病等发病率呈现逐步增高趋势。而这些疾病很容易累及肾脏,导致肾脏功能损伤,但由于肾脏有较强的代偿能力,在早期并没有明显的临床特征,往往被人们所忽视,当出现明显症状时已处于中晚期,对患者的治疗及预后带来很大影响。早诊断、早治疗以逆转损伤的肾功能是唯一能阻止肾脏疾病恶化的方法。因此,肾功能损伤的早期筛查诊断就显得尤为重要。

[0003] 长期用于肾功能损伤检测的体系包括肾小球损伤标志物、肾小管损伤标志物和肾小球滤过率标志物等,这些生物标志物的检测对协助肾脏疾病的早期诊断治疗和预后的评价具有重要意义。

[0004] 肾小球滤过率是评价肾功能损伤最简便的方法,众所周知,其评价指标有外源性标志物和内源性标志物。外源性指标包括菊粉清除率和放射性核素物质测定,菊粉经肾小球滤过,无肾小管重吸收和分泌,可准确反映肾小球滤过功能,被称为“金标准”,但菊粉清除率检测不方便,尤其需要静脉输注,而且菊粉清除还可能受血糖影响;放射性标志物清除率检测价格昂贵,标本需特殊处理和放射显影,某些患者(如妊娠早期妇女)不宜接受而限制其应用。内源性指标包括肌酐、尿素、尿酸和一些低分子量蛋白等,它们不同程度的受一些肾前性或肾性因素干扰。目前临床常用检测肌酐、尿素等来评估肾功能受损情况,其存在敏感性低的缺点,当肾小球滤过率降至正常的50%时,肌酐、尿素值仍在正常范围内;肾小球滤过率降至正常的1/3时,肌酐、尿素会迅速增高,且肾小球滤过率降低和肌酐、尿素升高之间非线性关系,故肌酐、尿素并不能很好的反映早期肾功能损伤情况。

[0005] 肾小球早期损伤主要表现为肾小球滤过膜的屏障作用受损,在尿中可检出微量蛋白。目前研究最多的是白蛋白。人体代谢正常情况下,尿中的白蛋白极少,每升尿液中白蛋白不超过20mg,所以称尿微量白蛋白。当尿中的微量白蛋白在20-200mg/L范围内,就属于微量白蛋白尿。肾脏是人体重要的排泄器官,糖尿病、高血压、某些自身免疫疾病等都能导致肾脏损伤,而在这些病人发展成明显肾脏损伤之前要经过一个初始的肾脏损伤也就是微量白蛋白尿阶段。早期肾损伤即微量白蛋白尿阶段的病人常无临床症状,且尿常规检查正常,此时进行早期治疗是可以逆转的。因此,尿微量白蛋白对早期肾功能损伤诊断具有重要意义。

[0006] 肾小管标记蛋白可分为3类:肾小管上皮细胞的各种酶(统称尿酶)、低分子量蛋白和各段肾小管脱落的抗原性物质。胱抑素C是一种小分子量的半胱氨酸蛋白酶抑制剂,非糖基化的碱性蛋白,相对分子质量为13.3kD,由122个氨基酸残基组成,可由机体所有有核细

胞产生,产生率恒定,只能通过肾小球滤过,完全被肾小管上皮细胞重吸收并于细胞内降解,不受肾外其他因素(如性别、年龄、饮食、炎性反应等)的干扰,且当肾功能早期受损时,尿胱抑素C浓度将迅速增加至100倍之多。因此,通过检测尿液胱抑素C浓度可以为肾功能损伤提供一个敏感而又准确可靠的评价指标,对肾病患者早期肾损害的发现有重要临床价值。

[0007] 可见,准确的检测尿液中微量白蛋白和胱抑素C的含量对多种肾脏疾病的早期筛查诊断有重要的参考价值和临床意义。中国专利文件201610227990.1提出了“一种高性能的人尿液微量白蛋白检测试剂盒”,201320022738.9提出了“一种检测胱抑素C的试纸条”,现有技术中虽然有检测尿液微量白蛋白或胱抑素C的设备,但两者联合检测的设备却没有,且若能实现尿微量白蛋白和胱抑素C的联合检测,不仅操作简便而且能够提高肾功能损伤检出率,可有效的为临床高血压、糖尿病等导致的早期肾功能损伤提供重要的参考依据。目前,市售尿微量白蛋白和尿胱抑素C的检测方法主要有:免疫比浊法,化学发光法,酶联免疫荧光法(ELISA),它们的灵敏度都较高,易于实现自动化。但它们对实验室及操作人员水平要求较高,且费用较昂贵,难以在基层医院开展,且操作不够简便迅速、不能实现快速床旁检测。即时检验是体外诊断行业的子行业,是近几年体外诊断行业重要的发展方向和增长最快的领域。随着荧光材料学的发展,以免疫层析原理为基础同时结合荧光物质特性的荧光免疫层析技术已逐渐成为当前快速检测发展的重要方向。

发明内容

[0008] 本发明的目的在于克服上述问题,提供一种操作简便、快速检测、灵敏度高、成本低廉,且适合于床旁快速检测的联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条,其中尿液微量白蛋白采用竞争法反应模式,尿液胱抑素C采用双抗体夹心法。

[0009] 为实现上述目的,本发明所采用的技术方案具体如下:

一种联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条,包括底板、样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫依次搭接组装在底板上,其中,吸水垫和结合垫分别交叠压在硝酸纤维素膜的两端,并在硝酸纤维素膜的表面形成检测区;样品垫交叠压在结合垫上,所述结合垫上固定有抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物、胱抑素C配对单克隆抗体-荧光微球复合物、羊抗兔IgG-荧光微球复合物;所述检测区内的硝酸纤维素膜上包被有人白蛋白抗原、胱抑素C单克隆抗体和兔IgG多克隆抗体,分别构成检测线T1、检测线T2和质控线C;所述抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物是由抗人白蛋白单克隆抗体与荧光微球通过EDC、NHS两步法偶联形成,所述胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物是由胱抑素C单克隆抗体与荧光微球通过EDC、NHS两步法偶联形成,所述羊抗兔IgG-荧光微球复合物是由羊抗兔IgG与荧光微球通过EDC一步法偶联形成。

[0010] 优选的,所述荧光微球是羧基荧光微球的一种。

[0011] 优选的,所述抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物的制备过程为:

(1) 将荧光微球置于0.05M 硼酸缓冲液缓冲液中进行偶联,并加0.01M EDC和0.02M NHS缓冲液进行活化;

(2) 将步骤(1)所得已活化的荧光微球洗涤除去EDC、NHS,加入0.05M 硼酸缓冲液,再加入抗人白蛋白单克隆抗体后于25~30℃下反应2h,离心,得沉淀物;

(3) 将步骤(2)所得沉淀物用保护液重悬,用封闭液封闭1h,即得。

[0012] 优选的,所述胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物的制备过程为:

(1) 将荧光微球置于0.05M 硼酸缓冲液中进行偶联,并加0.01M EDC和0.02M NHS缓冲液进行活化;

(2) 将步骤(1)所得已活化的荧光微球洗涤除去EDC、NHS,加入0.05M 硼酸缓冲液,再加入胱抑素C单克隆抗体后于25~30℃下反应2h,离心,得沉淀物;

(3) 将步骤(2)所得沉淀物用保护液重悬,用封闭液封闭1h,即得。

[0013] 优选的,所述羊抗兔IgG-荧光微球复合物的制备过程为:

(1) 将荧光微球置于0.05M 硼酸缓冲液中进行偶联,并加0.01M EDC缓冲液进行活化;

(2) 将步骤(1)所得已活化的荧光微球洗涤除去EDC,加入0.05M 硼酸缓冲液,再加入羊抗兔IgG后于25~30℃下反应1.5h后离心,得沉淀物;

(3) 将步骤(2)所得沉淀物用保护液重悬,用封闭液封闭30min,即得。

[0014] 优选的,步骤(3)中所述保护液由0.04M、pH 8.0的 Tris-HCl,质量浓度为0.5%~1%的BSA,质量浓度为3%~5%的海藻糖和质量浓度为0.1%的吐温20组成;所述封闭液为质量浓度为10%的PEG20000。

本发明还提供了上述联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条的制备方法,包括以下步骤:

(1) 制备抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物、胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物、羊抗兔IgG-荧光微球复合物。

[0015] (2) 将硝酸纤维素膜粘贴在底板的中间位置,并与上端的吸水垫进行重叠接触,将稀释的1mg/mL人白蛋白抗原、稀释的2mg/mL胱抑素C单克隆抗体和稀释的1mg/mL兔IgG包被在硝酸纤维素膜上,形成两条检测线和一条质控线,两线相隔3mm,37℃烘干过夜后,于室温干燥环境下保存备用;

(3) 将玻璃纤维构件使用结合垫处理液浸泡处理并烘干,将步骤(1)制备的抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物、胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物、羊抗兔IgG-荧光微球复合物喷涂在烘干的玻璃纤维构件上,于37℃恒温干燥箱中干燥过夜,制成结合垫,放于干燥环境备用;

(4) 将玻璃纤维构件使用样品垫处理液浸泡处理并于37℃恒温干燥箱中干燥2h,制成样品垫,放于干燥环境备用;

(5) 组装试纸条:将硝酸纤维素膜、步骤(4)所得样品垫、吸水垫和步骤(3)所得结合垫依次搭接组装在底板上,切割成条状,即得联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条。

[0016] 优选的,步骤(3)中所述结合垫处理液是由0.1M PH 8.0 Tris-HCl缓冲液,20%吐温20,质量浓度为0.5%~1%的BSA,质量浓度为3%的蔗糖和质量浓度为0.05%的NaN₃组成;步骤(4)中所述样品垫处理液为包含BSA的Tris-HCl溶液,其中BSA的质量分数为0.1%,Tris-HCl的浓度为0.02~0.1M,PH为 8.0。

[0017] 本发明还提供了一种联合荧光免疫层析定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸卡,其中,将上述试纸条装入长方形塑料卡壳内。

[0018] 优选的,所述长方形卡壳包括塑料上壳和塑料下壳,上壳面上对应于硝酸纤维素膜

检测区的位置设有观察窗,上壳面上对应于样品垫的位置设有加样孔,加样孔位于样品垫中间。

[0019] 优选的,检测样本为新鲜尿液。

[0020] 本发明的有益效果是:

本发明提供一种操作简便、快速检测、灵敏度高、成本低廉,且适合于床旁快速检测的联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条,其中尿液微量白蛋白采用竞争法反应模式,尿液胱抑素C采用双抗体夹心法。本发明具有以下优点:1、实现无创检测:补充了传统的胱抑素C抽血定量检测方式,采用尿液中胱抑素C含量评估肾功能损伤程度;2、实现检测方法创新:将尿微量白蛋白和胱抑素C在一条荧光层析试纸上实现同时检测;3、检测方便:对配套的仪器设备及人员要求低,操作人员只需简单培训即可检测。本发明同时检测尿液中微量白蛋白(mAlb)和胱抑素C(CysC)的含量,可实现基层医院的快速床旁检测,检测程序简单、快速,结果准确可靠,可用于肾功能损伤的早期诊断及预后监测。

附图说明

[0021] 图1为本发明实施例1制备的试纸条的结构示意图;

图中:1-样品垫;2-结合垫;3-吸水垫;4-底板;5-硝酸纤维素膜。

[0022] 图2 为本发明实施例1制备的试纸条的尿微量白蛋白浓度-C/T值标准曲线图;

图3 为本发明实施例1制备的试纸条的胱抑素C浓度-C/T值标准曲线图;

图4 为本发明实施例4中采用白蛋白检测试剂盒对本发明试纸条定量检测结果进行验证时得到的相关性曲线;

图5 为本发明实施例4中采用胱抑素C测定试剂盒对本发明试纸条定量检测结果进行验证时得到的相关性曲线。

具体实施方式

[0023] 下面通过具体实施例对本发明作进一步说明。

[0024] 实施例1

一种联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C试纸条的制备

(1) 抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物的制备

将荧光微球置于0.05M 硼酸缓冲液缓冲液中进行偶联,并加0.01M EDC和0.02M NHS缓冲液进行活化;将已活化的荧光微球洗涤除去EDC、NHS,加入0.05M 硼酸缓冲液,再加入抗人白蛋白单克隆抗体后于25~30℃下反应2h,离心,得沉淀物;将沉淀物用保护液重悬,用封闭液封闭1h,即得。

[0025] (2) 胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物的制备

将荧光微球置于0.05M 硼酸缓冲液中进行偶联,并加0.01M EDC和0.02M NHS缓冲液进行活化;将已活化的荧光微球洗涤除去EDC、NHS,加入0.05M 硼酸缓冲液,再加入胱抑素C单克隆抗体后于25~30℃下反应2h,离心,得沉淀物;将沉淀物用保护液重悬,用封闭液封闭1h,即得。

[0026] (3) 羊抗兔IgG-荧光微球复合物的制备

将荧光微球置于0.05M 硼酸缓冲液中进行偶联,并加0.01M EDC缓冲液进行活化;

将已活化的荧光微球洗涤除去EDC,加入0.05M 硼酸缓冲液,再加入羊抗兔IgG后于25~30℃下反应1.5h后离心,得沉淀物;将沉淀物用保护液重悬,用封闭液封闭30min,即得。

[0027] (4) 硝酸纤维素膜包被检测线和质控线

用0.02M pH7.2 PBS缓冲液稀释兔IgG抗体的浓度为1mg/mL,稀释人白蛋白抗原的浓度为1mg/mL,稀释胱抑素C单克隆抗体的浓度为2mg/mL,将所得溶液在硝酸纤维素膜上包被形成一条质控线和两条检测线,两线相隔3mm,37℃烘干过夜后,于室温干燥环境下保存备用。

[0028] (5) 结合垫的制备

将玻璃纤维构件使用结合垫处理液浸泡处理并烘干,将抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物、胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物、羊抗兔IgG-荧光微球复合物喷涂在烘干的玻璃纤维构件上,于37℃恒温干燥箱中干燥过夜,制成结合垫,放于干燥环境备用。

[0029] (6) 样品垫的制备

用样品垫处理液(含有0.1%BSA的0.05M PH8.0的 Tris-Hcl溶液)浸泡处理玻璃纤维构件,然后放于37℃恒温干燥箱中干燥2h,制成样品垫,放于干燥环境备用。

[0030] (7) 荧光微球免疫层析试纸条的制备

在底板(PVC板)上依次搭接地粘贴样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,组装完成后剪切成3.9mm的宽度,即成为免疫层析试纸条。

[0031] 实施例2 样品检测

(1) 定量检测人尿液微量白蛋白浓度

用实施例1制备的同批次试纸条检测各浓度的白蛋白标准品溶液,以参考品浓度(mg/L)为横坐标,荧光信号C/T值为纵坐标,绘制标准曲线,如图2所示,线性范围为10-300mg/L,拟合获得标准曲线方程为 $y = 0.0185x + 0.6367$, $R^2 = 0.9903$ 。

[0032] (2) 定量检测人尿液胱抑素C浓度

用实施例1制备的同批次试纸条检测各浓度的胱抑素C标准品溶液,以参考品浓度(mg/L)为横坐标,荧光信号C/T值为纵坐标,绘制标准曲线,如图3所示,线性范围为0.1-8mg/L,拟合获得标准曲线方程为 $y = -0.0628x + 1.0577$, $R^2 = 0.9912$ 。

[0033] (3) 样品的检测

取尿液样品65μL加入加样孔中,将试纸条放入荧光检测仪中,5min后试纸条在荧光层析读数仪读取荧光强度值,根据标准曲线计算白蛋白和胱抑素C含量。

实施例3

对本发明制备的试纸条进行精密性的性能检测。

[0034] 采用实施例1制备的试纸条对含量分别是高值、中值和低值的样本连续检测10次,计算变异系数(CV)。

[0035] 对于mAlb含量的较高值选择为(244.3mg/l)、中值选择(86.3mg/l)、低值选择为(15.0mg/l),将上述3个尿液样本分别测定10次,利用 $CV=SD/X$ (SD表示标准差,X表示平均数)得高值 $CV= 9.31\%$,中值 $CV= 8.22\%$,低值 $CV=7.21\%$ 。

[0036] 对于Cys C含量的较高值选择为(7.13mg/l)、中值选择为(4.11mg/l)、低值选择为(0.26ug/l),将上述3个尿液样本分别测定10次,利用 $CV=SD/X$ 得高值 $CV=7.22\%$,中值 $CV= 8.42\%$,低值 $CV= 6.14\%$ 。

[0037] 本发明制备的试纸条检测结果CV值均小于15%,说明该试纸条精密性良好。

[0038] 实施例4

对本发明制备的试纸条进行方法学比对的性能检测。

[0039] (1)取45份经迈瑞尿微量白蛋白检测试剂盒检测过的尿液,用实施例1制备的试纸条进行检测,以自建系统检测结果为纵坐标,以临床检测值为横坐标,建立相关线性分析,如图4所示,拟合获得的方程为 $y = 1.0196x + 0.5213$,相关系数 R^2 为0.9829,两者相关性良好。

[0040] (2)取45份经北京利德曼生化股份有限公司生产的胱抑素C测定试剂盒检测过的尿液,用实施例1制备的试纸条进行检测,以自建系统检测结果为纵坐标,以临床检测值为横坐标,建立相关线性分析,如图5所示,拟合获得的方程为 $y = 1.0128x + 0.0068$,相关系数 R^2 为0.9879,两者相关性良好。

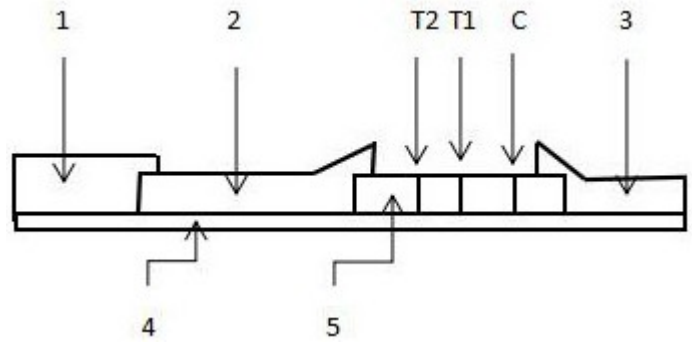


图1

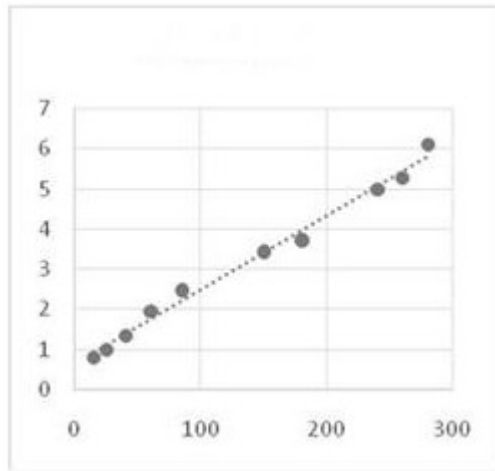


图2

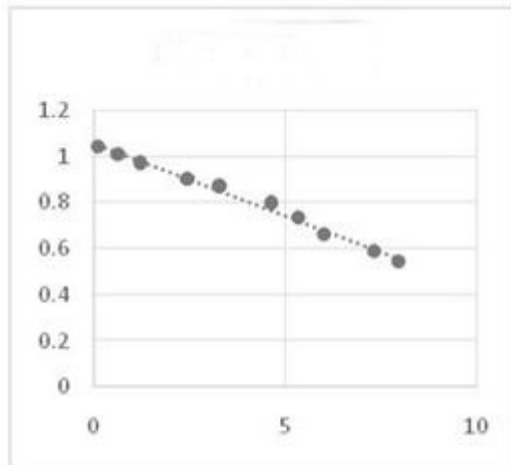


图3

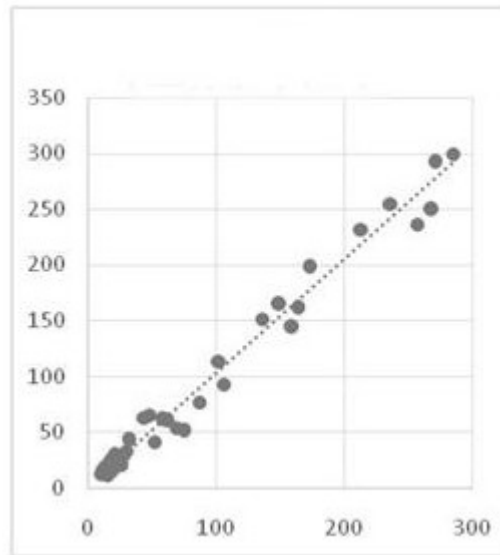


图4

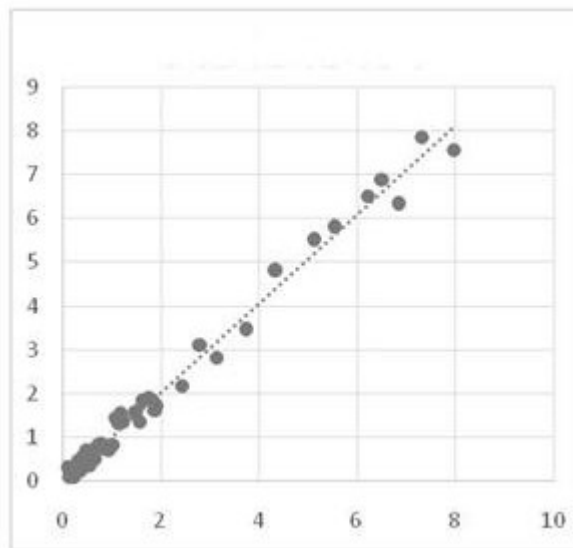


图5

专利名称(译)	一种联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条		
公开(公告)号	CN108918876A	公开(公告)日	2018-11-30
申请号	CN201810648721.1	申请日	2018-06-22
[标]发明人	王云龙 银芳颖 李玉林 王继创 程蕾 王敏		
发明人	王云龙 银芳颖 李玉林 王继创 程蕾 王敏		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/68 G01N33/533 G01N33/558		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/558 G01N33/577 G01N33/6893 G01N2333/47 G01N2800/347		
代理人(译)	张鹏		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条，包括底板、样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫，结合垫上固定有抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物、胱抑素C配对单克隆抗体-荧光微球复合物、羊抗兔IgG-荧光微球复合物；抗人白蛋白单克隆抗体-荧光微球复合物是由抗人白蛋白单克隆抗体与荧光微球通过EDC、NHS两步法偶联形成，胱抑素C单克隆抗体-荧光微球复合物是由胱抑素C单克隆抗体与荧光微球通过EDC、NHS两步法偶联形成，羊抗兔IgG-荧光微球复合物是由羊抗兔IgG与荧光微球通过EDC一步法偶联形成。本发明提供一种操作简便、快速检测、灵敏度高、成本低廉，且适合床旁快速检测的联合定量检测尿液微量白蛋白和胱抑素C的试纸条。

