



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104198699 A

(43) 申请公布日 2014. 12. 10

(21) 申请号 201410449056. 5

(22) 申请日 2014. 09. 04

(71) 申请人 深圳市领治医学科技有限公司

地址 518000 广东省深圳市南山区蛇口太子路 18 号海景广场 8 楼 B

(72) 发明人 岳朋 周锦源 盛威玮

(74) 专利代理机构 深圳市精英专利事务所

44242

代理人 任哲夫

(51) Int. Cl.

G01N 33/543(2006. 01)

G01N 33/533(2006. 01)

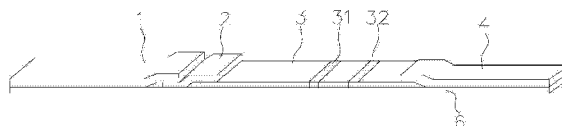
权利要求书1页 说明书9页 附图1页

(54) 发明名称

一种快速诊断试纸及其制备方法

(57) 摘要

本发明涉及体外检测技术领域,具体为一种快速诊断试纸及其制备方法。快速诊断试纸包括包被有硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物的结合垫及样品垫、反应膜和吸收垫,并先制备硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液,再进行喷涂、干燥和封闭等工序。由于远红外荧光颗粒本身的特性,本发明使用的示踪物无淬灭现象,试纸没有自身的背景远红外荧光,可显著提高试纸的信号稳定性和抗干扰能力。配合使用硝基化的样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫,可进一步提高试纸的特异性、灵敏度和准确性。荧光颗粒溶液先与 SMCC 溶液混合,使荧光颗粒的活性先被激活再与硝基酪氨酸抗体结合,可提高示踪物的稳定性,从而有利于提高试纸的特异性、灵敏度和准确性。



1. 一种快速诊断试纸,包括底板,以及设于底板上且依次紧密相连的样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫,所述反应膜上设有检测区和质控区,其特征在于:所述结合垫上包被有硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物;

所述检测区上包被有能与待测抗原特异性结合的抗体;

所述质控区上包被有能与硝基酪氨酸抗体特异性结合的抗原。

2. 根据权利要求1所述一种快速诊断试纸,其特征在于,所述硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物中,荧光颗粒的粒径 $\leq 40\text{nm}$,荧光颗粒的荧光波长为680-720nm或780-820nm。

3. 根据权利要求2所述一种快速诊断试纸,其特征在于,所述样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫分别经过硝基化处理,经硝基化处理后分别为硝基化样品垫、硝基化结合垫、硝基化反应膜、硝基化吸收垫。

4. 根据权利要求3所述一种快速诊断试纸,其特征在于,检测区上能与待测抗原特异性结合的抗体的包被量为 $10-1000\text{ng}/\text{cm}^2$ 。

5. 根据权利要求4所述一种快速诊断试纸,其特征在于,所述反应膜的质控区上能与硝基酪氨酸抗体特异性结合的抗原的包被量为 $10-1000\text{ng}/\text{cm}^2$ 。

6. 一种如权利要求1所述快速诊断试纸的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1、在室温下将荧光颗粒溶液与SMCC溶液混合,溶液中荧光颗粒与SMCC的质量比为0.1-0.15:48-96,静置0.5-1.5h,得混合液;然后除去混合液中的盐,并向混合液中加入pH为7.0-7.4的磷酸盐缓冲液至混合液中荧光颗粒的质量体积浓度为100-300ng/mL,得准备液;

S2、在室温下,取10-20体积浓度为200-400ng/mL的硝基酪氨酸抗体溶液,将其与1体积的准备液混合并静置20-50min,然后除去溶液中的盐,得预备液;向预备液中加入2-巯基乙醇以猝灭硝基酪氨酸抗体与荧光颗粒的结合反应,并用pH为7.0-7.4的磷酸盐缓冲液将预备液稀释10-160倍,得硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液;

S3、将第一玻璃纤维块、第二玻璃纤维块、反应膜和吸收垫依次紧密固定于底板上;然后将硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液喷涂于第二玻璃纤维块上,形成结合垫;将能与待测抗原特异性结合的抗体喷涂于反应膜上,形成检测区;将能与硝基酪氨酸抗体特异性结合的抗原喷涂于反应膜上形成质控区;所述检测区位于质控区与结合垫之间;由第一玻璃纤维块形成样品垫;得初型试纸;

S4、将初型试纸置于4°C中干燥1h以上;

S5、用酪蛋白封闭初型试纸上的样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫,制得试纸。

7. 根据权利要求6所述一种快速诊断试纸的制备方法,其特征在于,在步骤S3前还包括步骤S21,所述步骤S21为:分别将第一玻璃纤维块、第二玻璃纤维块、反应膜和吸收垫浸泡于0.1-1mmol/L的亚硝酸盐溶液中5-10min,然后再分别浸泡于0.1-1mol/L的甘露醇溶液中1-10min,接着在4°C下真空干燥。

一种快速诊断试纸及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及体外检测技术领域,尤其涉及一种快速诊断试纸及其制备方法。

背景技术

[0002] 目前,心血管疾病、肝脏疾病、肾脏疾病、糖尿病以及肿瘤等各类疾病的发病率逐年升高,人们已经意识到,疾病的快速诊断和早期发现已经变得越来越重要。科学家们为此进行众多的尝试和突破,如基因芯片技术,放射性免疫试验、酶联免疫技术等,但是由于这些方法需要专业人员操作,并且操作复杂,步骤繁琐,甚至有的还有放射性物质参与,因此,很难有效地早期快速诊断疾病。然而,快速诊断试纸是一种热门的快速早期诊断疾病的重要方法,其具备快速、低成本、操作简单,不需要专业技术人员等特点。

[0003] 传统的快速诊断试纸通过胶体金颗粒来实现最终的显色反应。市场上的胶体金颗粒在 100nm 左右,其灵敏度较酶联免疫技术差很多,因此,一些研究者通过制备更小的胶体金颗粒来增加灵敏度,虽然这是一种不错的提高快速诊断试纸灵敏度的方法,但该方法对灵敏度的提高有限,与理想的灵敏度仍有较大差距,且更小的胶体金颗粒会增加生产难度,提高生产成本。

[0004] 目前,远红外纳米颗粒技术主要用于精密性要求很高的 western-blot 的免疫印迹的基础研究中,由于其工艺的复杂性和精细性,很难在便携性快速疾病诊断试纸中应用。

发明内容

[0005] 本发明针对现有的快速诊断试纸的灵敏度低、信号不稳定、抗干扰能力差等问题,提供一种利用远红外纳米荧光颗粒来实现显色反应,且信号稳定、抗干扰能力强、不受外界光线干扰、灵敏度高的快速诊断试纸,以及该种快速诊断试纸的制备方法。

[0006] 为实现上述目的,本发明采用以下技术方案,

[0007] 一种快速诊断试纸,包括底板,以及设于底板上且依次紧密相连的样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫,所述反应膜上设有检测区和质控区,所述结合垫上包被有硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物;所述检测区上包被有能与待测抗原特异性结合的抗体;所述质控区上包被有能与硝基酪氨酸抗体特异性结合的抗原。

[0008] 进一步说,所述硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物中,荧光颗粒的粒径 $\leq 40\text{nm}$,荧光颗粒的荧光波长为 680-720nm 或 780-820nm。

[0009] 进一步说,所述样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫分别经过硝基化处理,经硝基化处理后分别为硝基化样品垫、硝基化结合垫、硝基化反应膜、硝基化吸收垫。

[0010] 进一步说,所述检测区上能与待测抗原特异性结合的抗体的包被量为 10-1000ng/cm²。

[0011] 进一步说,所述质控区上能与硝基酪氨酸抗体特异性结合的抗原的包被量为 10-1000ng/cm²。

[0012] 以上所述快速诊断试纸的制备方法,包括以下步骤:

[0013] S1、在室温下将荧光颗粒溶液与 SMCC 溶液混合,溶液中荧光颗粒与 SMCC 的质量比为 0.1-0.15:48-96,静置 0.5-1.5h,得混合液;然后除去混合液中的盐,并向混合液中加入 pH 为 7.0-7.4 的磷酸盐缓冲液使混合液中荧光颗粒的质量体积浓度为 100-300ng/mL,得准备液。

[0014] S2、在室温下,将 10-20 体积浓度为 200-400ng/mL 的硝基酪氨酸抗体溶液与 1 体积的准备液混合并静置 20-50min,然后除去溶液中的盐,得预备液;向预备液中加入 2-巯基乙醇以猝灭硝基酪氨酸抗体与荧光颗粒的结合反应,并用 pH 为 7.0-7.4 的磷酸盐缓冲液将预备液稀释 10-160 倍,得硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液。

[0015] S3、将第一玻璃纤维块、第二玻璃纤维块、反应膜和吸收垫依次紧密固定于底板上;然后将硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液喷涂于第二玻璃纤维块上,形成结合垫;将能与待测抗原特异性结合的抗体喷涂于反应膜上,形成检测区;将能与硝基酪氨酸抗体特异性结合的抗原喷涂于反应膜上形成质控区;所述检测区位于质控区与结合垫之间;由第一玻璃纤维块形成样品垫;得初型试纸。

[0016] 优选的,将第一玻璃纤维块、第二玻璃纤维块、反应膜和吸收垫依次紧密固定于底板上,先对第一玻璃纤维块、第二玻璃纤维块、反应膜和吸收垫进行硝基化处理,即在步骤 S3 前先进行步骤 S21:分别将第一玻璃纤维块、第二玻璃纤维块、反应膜和吸收垫浸泡于 0.1-1mmol/L 的亚硝酸盐溶液中 5-10min,然后再分别浸泡于 0.1-1mol/L 的甘露醇溶液中 1-10min,接着在 4℃真空干燥。

[0017] S4、将初型试纸置于 4℃中干燥 1h 以上。

[0018] S5、用酪蛋白封闭初型试纸上的样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫,制得试纸。

[0019] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:本发明通过以硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物作为示踪物,由于远红外荧光颗粒物本身的特性,该示踪物无猝灭现象,试纸没有自身的远红外荧光背景,因此可显著提高试纸的信号稳定性和抗干扰能力。配合使用硝基化的样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫,可进一步提高试纸的特异性、灵敏度和准确性。荧光颗粒溶液先与 SMCC 溶液混合,使荧光颗粒的活性先被激活再与硝基酪氨酸抗体结合,可提高硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物的稳定性,从而有利于提高试纸的特异性、灵敏度和准确性。

附图说明

[0020] 图 1 为实施例 1 的底板上设置了硝基化样品垫、硝基化结合垫、硝基化反应膜和硝基化吸收垫的俯视图;

[0021] 图 2 为实施例 1 的底板上设置了硝基化样品垫、硝基化结合垫、硝基化反应膜和硝基化吸收垫的立体结构示意图;

[0022] 图 3 为实施例 1 的快速诊断试纸的结构示意图。

具体实施方式

[0023] 为了更充分理解本发明的技术内容,下面结合具体实施例对本发明的技术方案作进一步介绍和说明。

[0024] 本发明的快速诊断试纸的制备方法为:

[0025] (1) 在室温下将荧光颗粒溶液与 SMCC 溶液混合, 溶液中荧光颗粒与 SMCC 的质量比为 0.1-0.15:48-96, 静置 0.5-1.5h, 得混合液; 然后除去混合液中的盐(根据现有技术, 通过脱盐柱脱盐), 并向混合液中加入 pH 为 7.0-7.4 的磷酸盐缓冲液至混合液中荧光颗粒的质量体积浓度为 100-300ng/mL, 得准备液。

[0026] 取 10-20 体积浓度为 200-400ng/mL 的硝基酪氨酸抗体溶液, 将其与 1 体积的准备液混合并静置 20-50min, 然后除去预备液中的盐(根据现有技术, 通过脱盐柱脱盐), 得预备液; 向预备液中加入 2-巯基乙醇以猝灭硝基酪氨酸抗体与荧光颗粒的结合反应, 并用 pH 为 7.0-7.4 的磷酸盐缓冲液将预备液稀释 10-160 倍, 得硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液。

[0027] (2) 分别将第一玻璃纤维块、第二玻璃纤维块、反应膜和吸收垫浸泡于 0.1-1mmol/L 的亚硝酸盐溶液中 5-10min, 然后再分别浸泡于 0.1-1mol/L 的甘露醇溶液中 1-10min, 接着在 4℃ 真空干燥。

[0028] (3) 将第一硝基化玻璃纤维块、第二硝基化玻璃纤维块、硝基化反应膜和硝基化吸收垫分别依次紧密交叠固定于底板上, 然后将硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液喷涂于第二玻璃纤维块上, 形成结合垫。将能与待测抗原特异性结合的抗体喷涂于反应膜上, 形成检测区, 抗体的包被量为 10-1000ng/cm²。将能与硝基酪氨酸抗体特异性结合的抗原喷涂于反应膜上形成质控区, 抗原的包被量为 10-1000ng/cm²。; 由第一玻璃纤维块形成样品垫; 得初型试纸。

[0029] (4) 将初型试纸置于 4℃ 中干燥 1h 以上。

[0030] (5) 用酪蛋白封闭初型试纸上的样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫, 制得试纸。

[0031] 具体实施例如下:

[0032] 实施例 1

[0033] 参照图 1-3, 本实施例提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸, 包括底板 6、硝基化样品垫 1、硝基化结合垫 2、硝基化反应膜 3、硝基化吸收垫 4 和塑料支撑架 5。塑料支撑架 5 上设有一进样窗 51 和一观察窗 52, 底板 6 封装于塑料支撑架 5 内。硝基化样品垫 1、硝基化结合垫 2、硝基化反应膜 3 和硝基化吸收垫 4 则分别依次设于底板 6 上并紧密相连。同时, 在硝基化反应膜 3 上平行设置一检测区 32 和一质控区 31, 并且检测区 32 位于质控区 31 与硝基化结合垫 2 之间, 如图 1 和图 2 所示。所述的检测区 32 即硝基化反应膜 3 上包被有能与待测抗原特异性结合的抗体的区域; 所述的质控区 31 即硝基化反应膜 3 上包被有能与硝基酪氨酸抗体特异性结合的抗原的区域。所述的硝基化结合垫 2 由第二硝基化玻璃纤维块与包被于其上的硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物组成, 所述的硝基化样品垫 1 为一块第一硝基化玻璃纤维块。

[0034] 通过塑料支撑架 5 的进样窗 51 可将样品滴加到硝基化样品垫 1 上, 并可通过观察窗 52 观察检测区 32 和质控区 31 的变化情况, 如图 3 所示。

[0035] 且结合垫上包被有标记物的面积为 0.1cm², 质控区和检测区的面积也均为 0.1cm²。

[0036] 上述用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的制备步骤如下:

[0037] (1) 荧光颗粒溶液: 粒径为 40nm, 荧光波长为 700nm, 溶剂为二硫苏糖醇, 荧光颗粒的物质的量浓度为 800nmol/L, 质量体积浓度为 1mg/L。

[0038] 在室温下,取 100 μ L 荧光颗粒溶液,向其中加入 10 μ L,4.8mg/mL 的 SMCC 溶液(4-(N-马来酰亚胺基甲基)环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯),混合均匀并静置 1h,得混合液。然后将混合液放入脱盐柱中进行脱盐处理,并通过低速离心(1000-5000rpm)收集经脱盐处理后的混合液于离心管中。接着用 pH 为 7.2 的磷酸盐缓冲液将混合液稀释至 500 μ L,得荧光颗粒的质量体积浓度为 200ng/mL 的准备液,备用。

[0039] 取 400 μ L 浓度为 300ng/mL 的硝基酪氨酸抗体溶液,并向其中加入 30 μ L 上述的准备液,充分混合后静置 30min,然后将溶液放入脱盐柱中进行脱盐处理,并通过低速离心(1000-5000rpm)收集经脱盐处理后的溶液于离心管中,得预备液。接着向预备液中加入 5 μ L 的 2-巯基乙醇以中止硝基酪氨酸抗体与荧光颗粒的反应,并用 pH 为 7.2 的磷酸盐缓冲液将预备液稀释 40 倍,得硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液。

[0040] (2) 分别取第一玻璃纤维块、第二玻璃纤维块、硝化纤维膜(即反应膜)和棉绒块(即吸收垫),将它们浸泡于 0.5mmol/L 的亚硝酸钠溶液中 10min(在其它实施方案中,还可使用其它的亚硝酸盐),然后再将它们分别浸泡于 0.1mol/L 的甘露醇溶液中 5min;在 4 $^{\circ}$ C 真空烘干后分别得到第一硝基化玻璃纤维块、第二硝基化玻璃纤维块、硝基化硝化纤维膜(即硝基化反应膜)和硝基化棉绒块(即硝基化吸收垫)。

[0041] (3) 将第一硝基化玻璃纤维块、第二硝基化玻璃纤维块、硝基化反应膜和硝基化吸收垫分别依次紧密交叠固定于底板上,如图 3 所示。

[0042] 第一硝基化玻璃纤维块固定在底板的一端,形成硝基化样品垫。

[0043] 在第二硝基化玻璃纤维块上喷涂上述制备的硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液 10 μ L,形成硝基化结合垫。

[0044] 在硝基化反应膜的一个区域上喷涂 10 μ L,200ng/mL 的结合珠蛋白抗原溶液,使该区域成为质控区。质控区的结合珠蛋白抗原的包被量为 20ng/cm²。

[0045] 在质控区与结合垫之间的硝基化反应膜的一个区域上喷涂 10 μ L,1000ng/mL 的结合珠蛋白抗体,使该区域成为检测区。检测区的结合珠蛋白抗体的包被量为 100ng/cm²。

[0046] 由此制得初型试纸。

[0047] (4) 将初型试纸置于 4 $^{\circ}$ C 中干燥 1h 以上,然后用 0.5% 的酪蛋白封闭初型试纸上的硝基化样品垫、硝基化结合垫、硝基化反应膜和硝基化吸收垫 30min,并在 4 $^{\circ}$ C 下真空干燥 10min。

[0048] 然后将初型试纸装入塑料支撑架中,制得试纸产品 TP1。

[0049] 实施例 2

[0050] 本实施例提供的一种用于诊断心脏疾病的快速诊断试纸,该试纸的结构与实施 1 用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0051] 用于诊断心脏疾病的快速诊断试纸的制备步骤如下:

[0052] (1) 荧光颗粒溶液:粒径为 40nm,荧光波长为 700nm,溶剂为二硫苏糖醇,荧光颗粒的浓度为 800nmol/L,质量体积浓度为 1mg/L。

[0053] 在室温下,取 150 μ L 荧光颗粒溶液,向其中加入 15 μ L,4.8mg/mL 的 SMCC 溶液,混合均匀并静置 1h,得混合液。然后将混合液放入脱盐柱中进行脱盐处理,并通过低速离心(1000-5000rpm)收集经脱盐处理后的混合液于离心管中。接着用 pH 为 7.2 的磷酸盐缓冲液将混合液稀释至 500 μ L,得荧光颗粒的质量体积浓度为 300ng/mL 的准备液,备用。

[0054] 取 600 μL 浓度为 300ng/mL 的硝基酪氨酸抗体溶液,并向其中加入 30 μL 上述的准备液,充分混合后静置 30min,然后将溶液放入脱盐柱中进行脱盐处理,并通过低速离心(1000-5000rpm)收集经脱盐处理后的溶液于离心管中,得预备液。接着向预备液中加入 5 μL 的 2-巯基乙醇以中止硝基酪氨酸抗体与荧光颗粒的反应。用 pH 为 7.2 的磷酸盐缓冲液将预备液稀释 50 倍,得硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液。

[0055] (2) 分别取第一玻璃纤维块、第二玻璃纤维块、硝化纤维膜(即反应膜)和棉绒块(即吸收垫),将它们浸泡于 0.2mmol/L 的亚硝酸钠溶液中 5min,然后再将它们分别浸泡于 0.5mol/L 的甘露醇溶液中 5min;在 4 $^{\circ}\text{C}$ 真空烘干后分别得到第一硝基化玻璃纤维块、第二硝基化玻璃纤维块、硝基化硝化纤维膜(即硝基化反应膜)和硝基化棉绒块(即硝基化吸收垫)。

[0056] (3) 将第一硝基化玻璃纤维块、第二硝基化玻璃纤维块、硝基化反应膜和硝基化吸收垫分别依次紧密交叠固定于底板上。

[0057] 第一硝基化玻璃纤维块固定在底板的一端,形成样品垫。

[0058] 在第二硝基化玻璃纤维块上喷涂上述制备的硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液 10 μL ,形成硝基化结合垫。

[0059] 在硝基化反应膜的一个区域上喷涂 10 μL , 200ng/mL 肌钙蛋白 I 抗原,使该区域成为质控区。质控区的肌钙蛋白 I 抗原的包被量为 20ng/cm²。

[0060] 在质控区与结合垫之间的硝基化反应膜的一个区域上喷涂 10 μL , 2000ng/mL 的肌钙蛋白 I 抗体,使该区域成为检测区。检测区的肌钙蛋白 I 抗体的包被量为 200ng/cm²。

[0061] 由此制得初型试纸。

[0062] (4) 将初型试纸置于 4 $^{\circ}\text{C}$ 中干燥 1h 以上,然后用 0.1% 的酪蛋白封闭初型试纸上的第一玻璃纤维块、第二玻璃纤维块、反应膜和吸收垫 30min,并在 4 $^{\circ}\text{C}$ 下真空干燥 5min。

[0063] 然后将初型试纸装入塑料支撑架中,制得试纸产品 TP2。

[0064] 实施例 3

[0065] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸,该试纸的结构与实施例 1 的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0066] 本实施例的快速诊断试纸的制备方法与实施例 1 的试纸的制备基本相同,不同之处在于:步骤(1)中制备硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液的方法不同。

[0067] 荧光颗粒溶液:粒径为 40nm,荧光波长为 700nm,溶剂为二硫苏糖醇,荧光颗粒的浓度为 800nmol/L,质量体积浓度为 1mg/L。

[0068] 硝基酪氨酸抗体溶液:浓度为 300ng/mL。

[0069] 将 6 μL 准备液与 400 μL 的硝基酪氨酸抗体溶液混合,静置 30min 后得预备液。然后将预备液放入脱盐柱中进行脱盐处理,并通过低速离心(1000-5000rpm)收集经脱盐处理后的预备液于离心管中。接着向预备液中加入 5 μL 的 2-巯基乙醇,中止硝基酪氨酸抗体与荧光颗粒的反应。用 pH 为 7.2 的磷酸盐缓冲液将预备液稀释 40 倍,得硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液。

[0070] 制得试纸产品 TP3。

[0071] 实施例 4

[0072] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸,该试纸的结构与实施例 1

的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构基本相同,不同之处在于:试纸中的样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫是未作硝基化处理。

[0073] 即在试纸的制备方法中,省去步骤(2)的操作,按步骤(3)的方法,直接将第一玻璃纤维块、第二玻璃纤维块、硝化纤维膜(即反应膜)和棉绒块(即结合垫)固定在底板上,并最终形成未经步骤(2)硝基化处理的样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫。

[0074] 其它过程与实施例1的相同,制得试纸产品TP4。

[0075] 实施例5

[0076] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸,该试纸的结构与实施例1的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0077] 本实施例的快速诊断试纸的制备方法与实施例1的试纸的制备基本相同,不同之处在于:在步骤(1)中,用pH为7.2的磷酸盐缓冲液将预备液稀释10倍,得硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液。

[0078] 其它过程与实施例1的相同,制得试纸产品TP5。

[0079] 实施例6

[0080] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸,该试纸的结构与实施例1的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0081] 本实施例的快速诊断试纸的制备方法与实施例1的试纸的制备基本相同,不同之处在于:在步骤(1)中,用pH为7.2的磷酸盐缓冲液将预备液稀释20倍,得硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液。

[0082] 其它过程与实施例1的相同,制得试纸产品TP6。

[0083] 实施例7

[0084] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸,该试纸的结构与实施例1的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0085] 本实施例的快速诊断试纸的制备方法与实施例1的试纸的制备基本相同,不同之处在于:在步骤(1)中,用pH为7.2的磷酸盐缓冲液将预备液稀释80倍,得硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液。

[0086] 其它过程与实施例1的相同,制得试纸产品TP7。

[0087] 实施例8

[0088] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸,该试纸的结构与实施例1的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0089] 本实施例的快速诊断试纸的制备方法与实施例1的试纸的制备基本相同,不同之处在于:在步骤(1)中,用pH为7.2的磷酸盐缓冲液将预备液稀释160倍,得硝基酪氨酸抗体-荧光颗粒标记物喷涂液。

[0090] 其它过程与实施例1的相同,制得试纸产品TP8。

[0091] 实施例9

[0092] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸,该试纸的结构与实施例1的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0093] 本实施例的快速诊断试纸的制备方法与实施例1的试纸的制备基本相同,不同之处在于:在步骤(1)中,使用不同荧光波长的荧光颗粒溶液。所用荧光颗粒溶液:粒径为

40nm, 荧光波长为 650nm, 溶剂为二硫苏糖醇, 荧光颗粒的浓度为 800nmol/L, 质量体积浓度为 1mg/L。

[0094] 其它过程与实施例 1 的相同, 制得试纸产品 TP9。

[0095] 实施例 10

[0096] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸, 该试纸的结构与实施例 1 的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0097] 本实施例的快速诊断试纸的制备方法与实施例 1 的试纸的制备基本相同, 不同之处在于: 在步骤 (1) 中, 使用不同荧光波长的荧光颗粒溶液。所用荧光颗粒溶液: 粒径为 40nm, 荧光波长为 680nm, 溶剂为二硫苏糖醇, 荧光颗粒的浓度为 800nmol/L, 质量体积浓度为 1mg/L。

[0098] 其它过程与实施例 1 的相同, 制得试纸产品 TP10。

[0099] 实施例 11

[0100] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸, 该试纸的结构与实施例 1 的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0101] 本实施例的快速诊断试纸的制备方法与实施例 1 的试纸的制备基本相同, 不同之处在于: 在步骤 (1) 中, 使用不同荧光波长的荧光颗粒溶液。所用荧光颗粒溶液: 粒径为 40nm, 荧光波长为 720nm, 溶剂为二硫苏糖醇, 荧光颗粒的浓度为 800nmol/L, 质量体积浓度为 1mg/L。

[0102] 其它过程与实施例 1 的相同, 制得试纸产品 TP11。

[0103] 实施例 12

[0104] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸, 该试纸的结构与实施例 1 的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0105] 本实施例的快速诊断试纸的制备方法与实施例 1 的试纸的制备基本相同, 不同之处在于: 在步骤 (1) 中, 使用不同荧光波长的荧光颗粒溶液。所用荧光颗粒溶液: 粒径为 40nm, 荧光波长为 750nm, 溶剂为二硫苏糖醇, 荧光颗粒的浓度为 800nmol/L, 质量体积浓度为 1mg/L。

[0106] 其它过程与实施例 1 的相同, 制得试纸产品 TP12。

[0107] 实施例 13

[0108] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸, 该试纸的结构与实施例 1 的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0109] 本实施例的快速诊断试纸的制备方法与实施例 1 的试纸的制备基本相同, 不同之处在于: 在步骤 (1) 中, 使用不同荧光波长的荧光颗粒溶液。所用荧光颗粒溶液: 粒径为 40nm, 荧光波长为 780nm, 溶剂为二硫苏糖醇, 荧光颗粒的浓度为 800nmol/L, 质量体积浓度为 1mg/L。

[0110] 其它过程与实施例 1 的相同, 制得试纸产品 TP13。

[0111] 实施例 14

[0112] 本实施提供的一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸, 该试纸的结构与实施例 1 的用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸的结构相同。

[0113] 本实施例的快速诊断试纸的制备方法与实施例 1 的试纸的制备基本相同, 不同之

处在于：在步骤(1)中，使用不同荧光波长的荧光颗粒溶液。所用荧光颗粒溶液：粒径为40nm，荧光波长为820nm，溶剂为二硫苏糖醇，荧光颗粒的浓度为800nmol/L，质量体积浓度为1mg/L。

[0114] 其它过程与实施例1的相同，制得试纸产品TP14。

[0115] 比较例1

[0116] 根据现有技术制备一种用于诊断肾脏疾病的快速诊断试纸，具体为：该快速检测试纸包括一底板，样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫则分别设于底板上并依次紧密相连。同时，在反应膜上平行设置一检测区和一质控区，并且检测区位于质控区与结合垫之间。检测区上包被有结合珠蛋白抗体，质控区上包被有结合珠蛋白抗原。（检测区和质控区中包被的物质及包被量与实施例1的完全相同。）结合垫由玻璃纤维块与包被于玻璃纤维块上的胶体金示踪物组成，胶体金示踪物的包被量为200ng/cm²。然后用塑料支撑架包装，通过塑料支撑架的进样窗可将样品滴加到样品垫上，通过观察窗可观察检测区和质控区的变化情况。所制备的快速检测试纸记为TP15。

[0117] 比较例2

[0118] 根据现有技术制备一种用于诊断心脏疾病的快速诊断试纸，具体为：该快速检测试纸包括一底板，样品垫、结合垫、反应膜和吸收垫则分别设于底板上并依次紧密相连。同时，在反应膜上平行设置一检测区和一质控区，并且检测区位于质控区与结合垫之间。检测区上包被有肌钙蛋白I抗体，质控区上包被有肌钙蛋白I抗原。（检测区和质控区中包被的物质及包被量与实施例2的完全相同。）结合垫由玻璃纤维块与包被于玻璃纤维块上的胶体金示踪物组成，胶体金示踪物的包被量为200ng/cm²。然后用塑料支撑架包装，通过塑料支撑架的进样窗可将样品滴加到样品垫上，通过观察窗可观察检测区和质控区的变化情况。所制备的快速检测试纸记为TP16。

[0119] 分别测试上述实施例和比较例制备的快速诊断试纸的灵敏度和特异性。

[0120] 实施例1、实施例3-14、比较例1制备的快速诊断试纸TP1、TP3-TP15：

[0121] 灵敏度测试：分别准备浓度为1ng/mL、10ng/mL、50ng/mL、100ng/mL的肾脏疾病检测样本，用各种试纸分别对各浓度的检测样本重复检测100次，取样量均为1μL，统计各种试纸的检出率。快速诊断试纸TP1、TP3-TP15的检出率如下表1所示。

[0122] 表1 快速诊断试纸TP1、TP3-TP15的检出率

[0123]

	1ng/mL	10ng/mL	50ng/mL	100ng/mL
TP 1	100%	100%	100%	100%
TP 3	0%	63%	81%	85%
TP 4	0	0	25%	40%
TP 5	100%	95%	95%	92%

[0124]

TP 6	87%	100%	98%	95%
TP 7	85%	90%	100%	95%
TP 8	65%	77%	80%	83%
TP 9	51%	70%	83%	90%
TP 10	98%	99%	100%	100%
TP 11	95%	97%	100%	100%
TP 12	53%	65%	77%	93%
TP 13	97%	97%	100%	100%
TP 14	92%	93%	100%	100%
TP 15	0	0	0	89%

[0125] 实施例 2 和比较例 2 制备的快速诊断试纸 TP2、TP16：

[0126] 灵敏度测试：分别准备浓度为 1ng/mL、10ng/mL、50ng/mL、100ng/mL 的心脏疾病检测样本，用各种试纸分别对各浓度的检测样本重复检测 100 次，取样量均为 1 μ L，统计各种试纸的检出率。快速诊断试纸 TP1、TP3-TP15 的检出率如下表 2 所示。

[0127] 表 2 快速诊断试纸 TP2 和 TP16 的检出率

[0128]

	1ng/mL	10ng/mL	50ng/mL	100ng/mL
TP 1	98%	100%	100%	100%
TP 16	0	0	0	87%

[0129] 以上所述仅以实施例来进一步说明本发明的技术内容，以便于读者更容易理解，但不代表本发明的实施方式仅限于此，任何依本发明所做的技术延伸或再创造，均受本发明的保护。

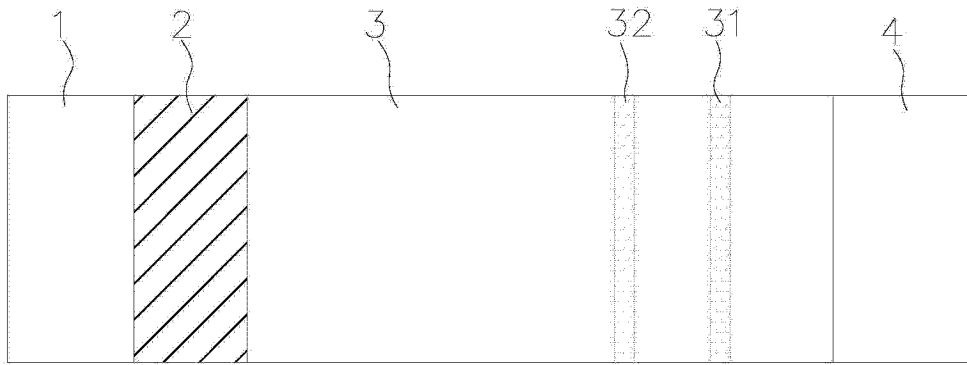


图 1

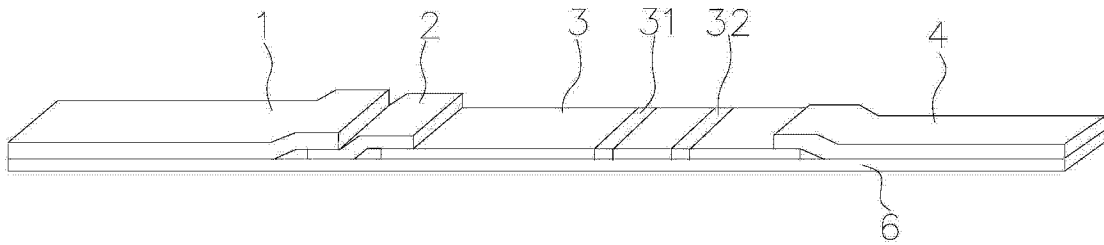


图 2

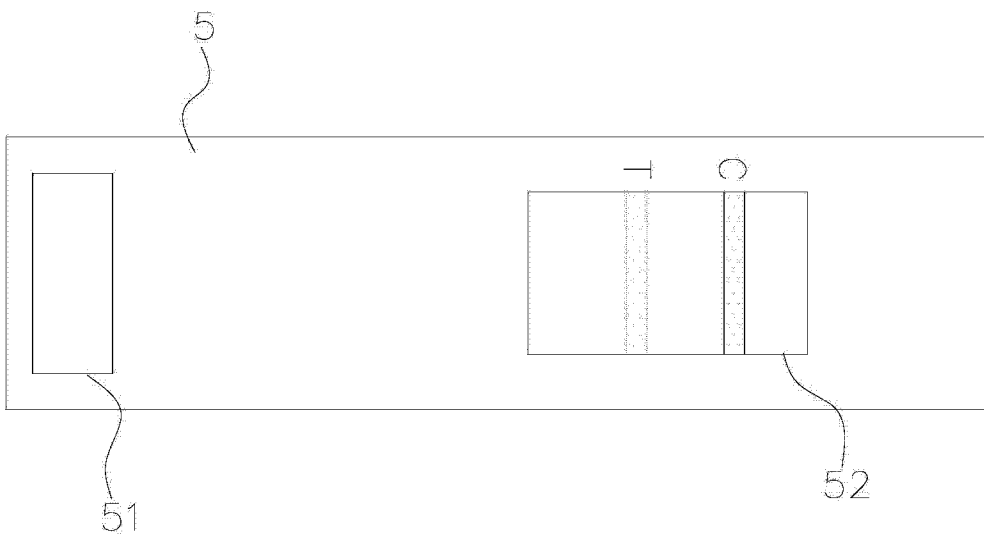


图 3