



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102879584 A

(43) 申请公布日 2013.01.16

(21) 申请号 201210365239.X

(22) 申请日 2012.09.26

(71) 申请人 中国人民解放军军事医学科学院基础医学研究所

地址 100850 北京市海淀区太平路 27 号

(72) 发明人 钱令嘉 弓景波 王新兴 战锐
吴修杰

(74) 专利代理机构 北京众合诚成知识产权代理
有限公司 11246

代理人 陈波

(51) Int. Cl.

G01N 33/68 (2006.01)

G01N 33/531 (2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种人血液 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条
及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种人血液 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条及其制备方法。该试纸条包括设在固定板上依次相连的样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水纸；在硝酸纤维素膜上设有三条检测线抗原和一条质控线抗体；在金标垫上设有金标抗原。金标抗原为显色抗原，检测线抗原为捕捉抗原，显色抗原与捕捉抗原能同时和人 HSP70 抗体结合形成双抗原夹心；显色抗原和捕获抗原为原核重组表达的人 HSP70 蛋白。本发明的试纸条用于人血液 HSP70 抗体检测，特异性高，结果易观察判断，20min 内就能判读结果，具有良好的稳定性和重复性，操作简便，无需特殊仪器设备，适宜在现场检测基层医院和实验研究推广和应用。

1. 一种人血液 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条, 其特征在于: 包括设在固定板(1)上依次相连的样品垫(2)、金标垫(3)、硝酸纤维素膜(4)和吸水纸(9); 在硝酸纤维素膜(4)上设有三条平行的第一检测线抗原(5)、第二检测线抗原(6)、第三检测线抗原(7)和一条质控线抗体(8); 在金标垫(3)上设有金标抗原。

2. 根据权利要求 1 所述的人血液 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条, 其特征在于: 所述固定板(1)为具有压敏胶的 PVC 板材, 样品垫(2)为玻璃纤维膜, 金标垫(3)为聚酯纤维膜。

3. 根据权利要求 1 所述的人血液 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条, 其特征在于: 所述金标抗原为显色抗原, 检测线抗原为捕捉抗原, 显色抗原与捕捉抗原能同时和人 HSP70 抗体结合形成双抗原夹心; 显色抗原和捕获抗原为原核重组表达的人 HSP70 蛋白。

4. 根据权利要求 1 所述的人血液 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条, 其特征在于: 所述金标抗原用粒径为 20nm-60nm 的胶体金标记。

5. 根据权利要求 1 所述的人血液 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条, 其特征在于: 所述质控线抗体为兔抗人 HSP70 多克隆抗体。

6. 一种权利要求 1 所述的人血液 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条的制备方法, 其特征在于, 包括以下步骤:

(1) 用常规的柠檬酸三钠还原法制备均匀粒径为 20nm-60nm 的胶体金;

(2) 调节胶体金 pH 为 8.5-9, 然后加入显色抗原与其反应, 其中显色抗原的浓度为 0.02mg/ml, 离心得沉淀, 重悬沉淀, 得金标抗原溶液, 将金标抗原溶液喷印在聚酯纤维膜, 晾干;

(3) 将捕捉抗原用稀释液稀释成浓度为 1mg/ml 的捕捉抗原溶液, 用喷墨仪将捕捉抗原溶液在硝酸纤维素膜上喷划三条平行检测线, 真空干燥;

(4) 将兔抗人 HSP70 多克隆抗体用稀释液稀释成浓度为 0.5mg/ml 的兔抗人 HSP70 多克隆抗体溶液, 用喷膜仪将抗体喷线在硝酸纤维素膜上形成质控线, 真空干燥;

(5) 按样品垫、金标垫、硝酸纤维膜、吸水纸顺序粘贴在固定板上, 切条, 装入塑料袋, 干燥包装。

7. 根据权利要求 6 所述的制备方法, 其特征在于, 离心的方法为: 反应液于 5000xg 离心 30min, 沉淀用 1wt% 牛血清白蛋白溶液重悬浮, 反复 2 次; 其中 1wt% 牛血清白蛋白溶液为 10mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液, pH 为 8.5, 含 1wt% 的牛血清白蛋白。

8. 根据权利要求 6 所述的制备方法, 其特征在于, 步骤(2)中重悬沉淀的溶液为: 20mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液, pH 为 8.5, 含 30wt% 的海藻糖, 1wt% 的牛血清白蛋白, 1wt% 的酪蛋白, 体积浓度为 0.01% 的 Tween-20, 0.02 wt% 的 Na3N。

9. 根据权利要求 6 所述的制备方法, 其特征在于, 所述稀释液为 10mM 的磷酸盐缓冲溶液, pH 为 7.6, 其中含 10wt% 的海藻糖, 体积浓度为 3% 的甲醇。

一种人血液 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于免疫检测分析技术领域,具体涉及一种人体液中 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条及制备方法。

背景技术

[0002] 热休克蛋白家族 (HSPs) 是一类高度保守的蛋白, HSP70 (heat shock protein 70, 热休克蛋白) 是热休克蛋白家族中的重要成员, 其分为诱导型的组成型的。当机体受到外界环境中多种不良因素刺激时, 诱导型的 HSP70 蛋白表达升高。HSP70 蛋白对细胞损伤的修复、存活和维持正常的细胞功能是必需的。在环境刺激、病原菌感染、疾病引起细胞应激损伤中发挥分子伴侣作用, 阻止蛋白聚集, 促进损伤蛋白的重新折叠。在大多数的哺乳动物, 只有在应激条件下诱导型 HSP70 表达, 而且显著的细胞和机体应激后才能检测到, 但是在人和灵长类, 诱导型的 HSP70 有一个基准值, 在一些特殊条件下如过热、化学有毒物质暴露、缺氧、缺体、感染、自身免疫性疾病、凋亡、器官移植、细菌和病毒引起的感染, 动脉粥样硬化等心体管疾病中, 生物体的 HSP70 表达显著升高; 在正常老化过程, 精子发生, 月经, 运动练习等正常生理过程中, 生物体的 HSP70 表达也显著升高, 提示其在这些过程中可能发挥重要作用。研究者发现在很多疾病的发生、形成、预后过程中 Hsps 的自身抗体显著改变, 提示 HSP70 抗体在这些过程中可能具有重要作用。一般认为诱导型的 HSP70 是细胞内的蛋白, 但是研究发现在正常人的外周循环和一些疾病状态下能够检测到可溶性的 HSP70 和 HSP70 抗体, 细胞内的 HSP70 能够释放到细胞外, 引起机体产生 HSP70 抗体。近来的研究发现在各种风湿性疾病和自身免疫性疾病, HSP70 能够被机体识别, 产生自身抗体; 人群流行病学研究发现 HSP70 抗体与动脉粥样硬化的进展和严重程度密切相关。所以建立快速、可靠的检测血中 HSP70 抗体的方法, 将为多种疾病的监控提供重要的手段。现在检测 HSP70 抗体的方法主要有 Western Blotting、Elisa 方法。各种方法互相印证, 同时又存在检测灵敏度、专业性、设备设施条件及成本的影响。目前, 以血清学反应原理为基础的酶联免疫吸附测定 (Elisa) 是被广泛接受和推广的方法。

[0003] 酶联免疫吸附分析 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 技术是目前进行体液生物蛋白检测最为常用的方法, 与其他检测方法相比, ELISA 检测方法具有成本低、检测设施设备简单、快速高效的特点, 并在不断改进当中, 已经有直接 ELISA、间接 ELISA、单抗体 ELISA, 微波 ELISA、双抗体夹心 ELISA 方法。但是 ELISA 方法, 目前只适用于实验室检测, 不能适用于现场检测。

[0004] 应激是机体在对生存环境中多种不利因素适应过程中, 实际或认知上的要求与适应和应付能力之间不平衡导致的身心紧张状态及其反应。应激同人的健康有密切联系, 这种联系是双向的: 一方面应激可影响人的健康, 另一方面一个人的健康状况也会影响应激条件下心理应激反应的强度和对应激的耐受力。适度的心理应激是人成长和发展的必要条件, 适当的应激有助于维持人的生理、心理和社会功能, 应对挑战既可以引起我们的紧张、劳累、苦恼和痛苦, 又可以为我们带来成功的喜悦、轻松和欢乐。但是长期、超过人适应

和应对能力的应激就会损害人的健康,这是心理应激对健康的消极影响,主要表现在下述三个方面。

[0005] 首先,心理应激引起的心理和生理反应可以以症状和体征的形式见之于临床,成为人们身体不适、虚弱和精神痛苦的根源和就医需求帮助的原因;其次,心理应激可以加重已有的精神障碍和躯体疾病,或使这些疾病复发;最后,心理应激可以造成对疾病的易感状态,并且在其他因素的共同作用下导致新的精神障碍和躯体疾病。

[0006] 实验室前期研究发现,长期高强度应激,机体 HSP70 抗体水平升高, HSP70 抗体可作为应激的生物标记物,可以检测机体应激水平,预防应激损伤的发生,用于机体应激负荷健康风险评估。

发明内容

[0007] 本发明目的是克服现有 HSP70 抗体检测技术中的不足,提供一种人血液 HSP70 抗体胶体金检测试纸条。

[0008] 本发明的目的还在于提供上述检测试纸条的制备方法。

[0009] 一种人血液 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条,此试纸条包括设在固定板 1 上依次相连的样品垫 2、金标垫 3、硝酸纤维素膜 4 和吸水纸 9;在硝酸纤维素膜 4 上设有三条平行检测线抗原 5,6,7 和一条质控线抗体 8;在金标垫 3 上设有金标抗原。

[0010] 固定板 1 为具有压敏胶的 PVC 板材,样品垫 2 为玻璃纤维膜,金标垫 3 为聚酯纤维膜。

[0011] 金标抗原为显色抗原,检测线抗原为捕捉抗原,显色抗原与捕捉抗原能同时和人 HSP70 抗体结合形成双抗原夹心;显色抗原和捕获抗原为原核重组表达的人 HSP70 蛋白;

[0012] 金标抗原用粒径为 20nm-60nm 的胶体金标记。

[0013] 质控线抗体为兔抗人 HSP70 多克隆抗体。

[0014] 一种权利要求 1 所述的人血液 HSP70 抗体胶体金标检测试纸条的制备方法,其特征在于,包括以下步骤:

[0015] (1)用常规的柠檬酸三钠还原法制备均匀粒径为 20nm-60nm 的胶体金;

[0016] (2)调节胶体金 pH 为 8.5-9,然后加入显色抗原与其反应,其中显色抗原的浓度为 0.02mg/ml,离心得沉淀,重悬沉淀,得金标抗原溶液,将金标抗原溶液喷印在聚酯纤维膜,晾干;

[0017] (3)将捕捉抗原用稀释液稀释成浓度为 1mg/ml 的捕捉抗原溶液,用喷墨仪将捕捉抗原溶液在硝酸纤维素膜上喷划三条平行检测线,真空干燥;

[0018] (4)将兔抗人 HSP70 多克隆抗体用稀释液稀释成浓度为 0.5mg/ml 的兔抗人 HSP70 多克隆抗体溶液,用喷膜仪将抗体喷线在硝酸纤维素膜上形成质控线,真空干燥;

[0019] (5)按样品垫、金标垫、硝酸纤维膜、吸水纸顺序粘贴在固定板上,切条,装入塑料袋,干燥包装。

[0020] 离心的方法为:反应液于 5000xg 离心 30min,沉淀用 1wt% 牛血清白蛋白溶液重悬浮,反复 2 次;其中 1wt% 牛血清白蛋白(BSA)溶液为 10mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液, pH 为 8.5,含 1wt% 的牛血清白蛋白。

[0021] 步骤(2)中重悬沉淀的溶液为:20mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液, pH 为 8.5,含 30wt% 的

海藻糖,1wt% 的牛血清白蛋白,1wt %的酪蛋白,体积浓度为 0.01% 的 Tween-20(吐温-20), 0.02 wt % 的 NaN3。

[0022] 该稀释液为 10mM 的磷酸盐缓冲溶液, pH 为 7.6, 其中含 10wt% 的海藻糖, 体积浓度为 3% 的甲醇。

[0023] 本发明的有益效果为:用于人血液 HSP70 抗体检测, 检测灵敏度高, 准确性强、成本低; 结果易观察判断, 20min 内就能判读结果, 具有良好的稳定性和重复性, 操作简便, 无需特殊仪器设备, 适宜在现场检测基层医院和实验研究推广和应用。

附图说明

[0024] 图 1 为试纸条的结构示意图; 其中各标号为: 1- 固定板, 2- 样品垫, 3- 为胶体金垫, 4- 为硝酸纤维素膜, 5- 第一检测线抗原, 6- 第二检测线抗原, 7- 第三检测线抗原, 8- 为质控线, 9- 吸水纸。

[0025] 图 2 为试纸条测试结果判定示意图。

[0026] 图 3 为 HSP70 蛋白诱导表达及纯化后 HSP70 蛋白的 SDS-PAGE 图; 各条带分别为: 1- 诱导表达的未经纯化的全菌蛋白; 2、3、4 分别为 Ni 柱亲和纯化 HSP70 蛋白, 箭头所示 HSP70 目标蛋白。

具体实施方式

[0027] 实施例 1

[0028] 试纸条的制备以下述方式进行

[0029] 1. 胶体金制备: 将 HAuCl₄ 配制成浓度为 0.01wt% 的水溶液, 取 100ml 加热至沸。搅动下准确加入 2ml 的 1wt% 柠檬酸三钠 (C₆H₅Na₃O₇•2H₂O) 水溶液。继续加热煮沸 15min。此时可观察到淡黄色的氯金酸水溶液在柠檬酸钠加入后很快变为灰色, 继而转成黑色, 随后逐渐稳定成红色。冷却至室温后用蒸馏水恢复至原体积。

[0030] 2. 胶体金质量的分析: 采用多功能酶标仪对胶体金进行波长在 400 ~ 800nm 范围光密度扫描, 获得其最大吸收波长和半峰宽。根据最大吸收波长判断粒径大小, 根据半峰宽判断粒径均一程度。

[0031] 3. 显色抗原金标记: 用 K₂CO₃ 调整胶体金的 pH 值到 8.5, 于 100ml 胶体金溶液中滴加显色抗原 2mg, 搅拌 5min, 避光静止放置 30min, 再加入 25ml 5wt% BSA 溶液(用 10mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液, pH 为 8.5 配制), 封闭 2h 以上, 反应液 5000×g 离心 30min, 沉淀用 125ml 的 1wt% BSA 溶液重悬浮, 反复处理 2 次, 沉淀用 1ml 重悬液(20mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液, pH 为 8.5, 其中含 30wt% 的海藻糖, 1wt% 的 BSA, 1wt% 的酪蛋白, 体积浓度为 0.01% 的 Tween-20, 0.02wt% 的 NaN3) 重悬沉淀, 得到金标抗原。

[0032] 4. 金标垫的制备: 将金标抗原用喷膜仪喷印在聚脂纤维素膜上, 2 μl /cm 最优, 干燥。

[0033] 5. 检测线的制备: 取纯化的 HSP70 蛋白捕获抗原(可与显色抗原形成夹心配对)作为检测线抗原, 用稀释液(10mM 的磷酸盐缓冲溶液, pH 为 7.6, 其中含 10wt% 的海藻糖, 体积浓度为 3% 的甲醇)稀释成 1mg/ml 浓度的溶液, 用喷墨仪在硝酸纤维素膜上将抗原喷线, 每隔 0.5cm 喷一线, 共喷三条平行线, 形成检测线, 喷线以 1 μl /cm 最优, 真空干燥。

[0034] 6. 质控线的制备 : 将兔抗人 HSP70 的多克隆抗体用稀释液 (10mM 的磷酸盐缓冲溶液, pH 为 7.6, 其中含 10wt% 的海藻糖, 体积浓度为 3% 的甲醇) 稀释成浓度为 0.5mg/ml 溶液, 用喷膜仪将抗体喷线在硝酸纤维素膜上形成质控线, $1\mu\text{l}/\text{cm}$ 最优, 真空干燥。

[0035] 7. 试纸条的组装 : 将样品垫 2、金标垫 3、硝酸纤维素膜 4 和吸水纸 9 按顺序黏贴在压敏胶的 PVC 板 1 上, 如图 1 所示, 硝酸纤维素膜 4 上含有捕获抗原的 3 条检测线 5、6、7 以及质控线 8; 将黏附好的大板切割成 4mm 宽的试纸条, 包装于含有干燥剂的密闭容器内, 室温保存。

[0036] 8. 检测及结果判定 : 将试纸条平放, 样品 $100\mu\text{l}$ 滴加在样品垫上, 20min 时观察, 检测结果判读 : 检测线显示 1 条带, 表明阴性; 检测线显示 2 条带, 表明弱阳性; 检测线显示 3 条带, 表明强阳性; 以上结果判定必须以质控线显示条带为基础, 若质控线无显色条带, 表明试纸条失效, 结果判定无效, 重新测定, 如图 2 所示。

[0037] 实施例 2

[0038] 实施例 1 制备的试纸条对人血清中 HSP70 抗体的检测

[0039] 采用 HSP70 抗体 ELISA 检测试剂盒检测人群血样, 根据检测结果, 从正常人血样, 中度应激强度人血样和高应激人群中分别选取代表 HSP70 抗体阴性、弱阳性和强阳性血样各 5 份, 15 份血样用移液器吸取 $100\mu\text{l}$ 的血浆样本, 加在胶体金试纸条的样品垫上, 开始计时, 等待红色条带出现, 20 分钟时判断结果。

[0040] 结果判定 :

[0041] 当质控线出现, 检测线出现一条线时, 表明 HSP70 抗体阴性, 表明机体应激水平正常。

[0042] 当质控线出现, 检测线出现二条线时, 表明 HSP70 抗体弱阳性, 表明机体处于次强应激状态;

[0043] 当质控线出现, 检测线出现三条线时, 表明 HSP70 抗体强阳性, 表明机体处于过强应激状态;

[0044] 若质控线无显色条带, 表明试纸条失效;

[0045] 结果 : 15 个试纸条质控线全部出现, 15 份血样检测结果与预测结果一样, 100% 全都符合, 表明试纸条准确可靠。

[0046] 实施例 3

[0047] HSP70 蛋白抗原的制备纯化按下述方法 :

[0048] (1) 设计 PCR 扩增引物, 构建原核表达载体, 其中 :

[0049] 上游引物为 : 5' CGAATTCTGGCCAAGAAAACAGCG3'; 下游引物为 : 5' CCCAAGCTTCTAATCCACCTCCTCGAT3', PCR 扩增 HSP70 基因。

[0050] PCR 扩增条件为 :

[0051] 第一阶段 : 温度 : 95°C , 时间 : 3min;

[0052] 第二阶段 : 温度 : 95°C 、时间 : 30s, 温度 : 56°C 、时间 : 60s, 温度 : 72°C 、时间 60s, 以上进行 30 个循环;

[0053] 第三阶段 : 温度 : 72°C 、时间 : 10min。

[0054] PCR 产物纯化后经 EcoRI 和 Hind III 双酶切后经胶回收试剂盒回收备用;

[0055] (2) 构建原核表达菌株

[0056] 表达载体 PET32a 经 EcoRI 和 Hind III 双酶切后经胶回收试剂盒回收, 与 HSP70PCR 产物回收片段进行连接, 转化至 BL21 感受态菌株中, 涂平板, 在培养箱中培养 16h, 挑克隆, 于摇菌管中扩增, 提质粒酶切鉴定, 阳性菌冻存, 作为 HSP70 表达菌株。

[0057] (3) 诱导表达并纯化 HSP70 蛋白

[0058] HSP70 表达菌株于 LB 培养基中 37℃ 振摇, 扩增至 OD 值 0.5 时, 加入 IPTG 1.0U/ml, 诱导 4h, 离心收集菌体, 于 PB 缓冲液中超声破碎, 离心收集上清。将收集的上清 GE 公司 HP HISTrip 纯化柱进行纯化。

[0059] 纯化条件为 :

[0060] 亲和缓冲液(Buffer): 20mM 的磷酸盐缓冲液, 氯化钠浓度为 500mM, pH 为 7.4。

[0061] 洗脱 Buffer: 20mM 的磷酸盐缓冲液, 氯化钠浓度为 500mM, 咪唑浓度为 500mM, pH 为 7.4。

[0062] 取样品 10ml, 经 0.45 μm 膜过滤; 柱子(Histrap 5ml)用亲和 Buffer 平衡 10 个柱体积, 流速为 5ml/min, 上样 10ml, 再经亲和 Buffer 洗 5 个柱体积, 用洗脱 Buffer, 100ml 线性梯度洗脱目标蛋白, 收集目标峰, 进行纯度鉴定。

[0063] 4) 用 SDS-PAGE 电泳鉴定蛋白纯度

[0064] 将洗脱纯化的蛋白与上样缓冲液混合, 100℃ 加热 5min 变性, 1000rpm 离心 10min, 取上清 10ul 上样, SDS-PAGE 胶浓度为 12.5wt%, 电泳条件, 60V, 30min, 120V, 80min; 电泳完毕后, 胶进行考马斯亮蓝 R250 染色, 脱色后, 胶进行扫描并图像分析, 结果: 重组 HSP70 蛋白纯度 > 95% 以上, 如图 3 所示。

[0065] 5) 将洗脱液装入透析袋中, PBS 液中透析过夜, 其间换液三次。将透析袋中的液体分装入冷冻干燥管中, 即制成 HIS-HSP70 重组蛋白, 每管中总蛋白量为 1mg, 冷冻干燥成粉末状, 放入 -70℃ 备用。

[0066] 实施例 4

[0067] 兔抗人 HSP70 多克隆抗体制备

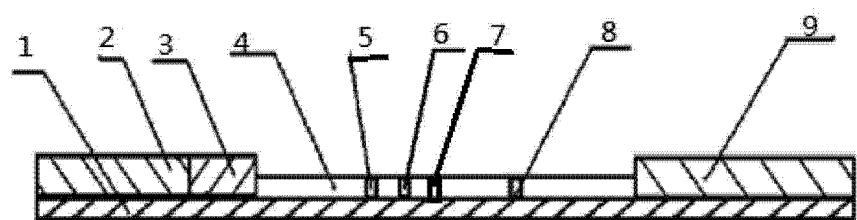
[0068] 1) 选用健康雌性家兔, 用实施例 2 制成的 HIS-HSP70 重组蛋白作为免疫原免疫动物; 免疫程序为: 将 0.5ml 的浓度为 2mg/ml 蛋白抗原与 0.5ml 的弗氏完全佐剂完全混合, 在兔子背部皮下多点注射, 每点 0.2ml, 下肢腹股沟 0.2ml;

[0069] 2) 一个月后, 将 0.5ml 的浓度为 2mg/ml 蛋白抗原与 0.5ml 的弗氏完全佐剂完全混合均匀, 在兔子背部皮下多点注射, 每点 0.2ml, 下肢腹股沟 0.2ml;

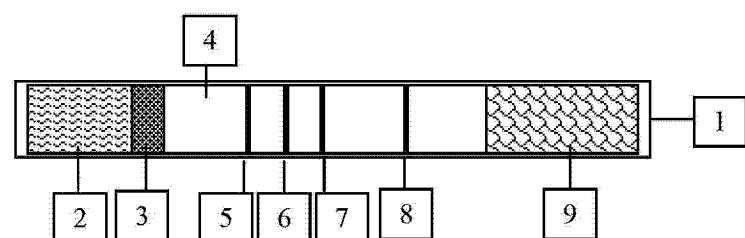
[0070] 3) 再一个月后, 用 0.5ml 的浓度为 2mg/ml 蛋白抗原耳静脉注射;

[0071] 4) 再 7 天后, 颈动脉放血采集, 分离血清, 加入浓度为 1wt% 硫柳汞水溶液防腐, -70 度保存,

[0072] 5) 采用硫酸铵沉淀法纯化 HSP70 多克隆抗体, 得到兔抗人 HSP70 多克隆抗体。

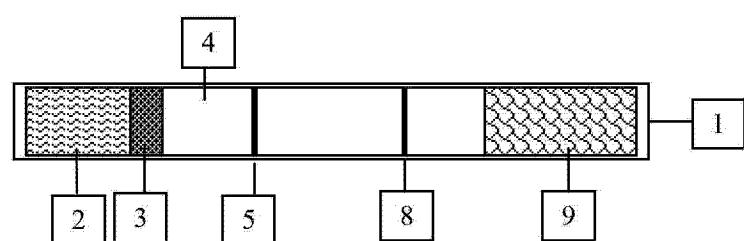


侧视图

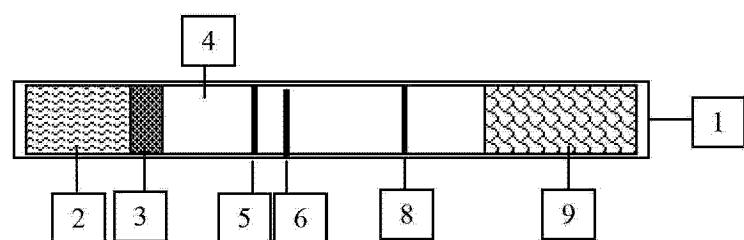


俯视图

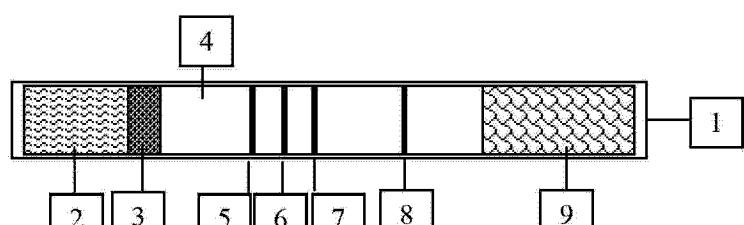
图 1



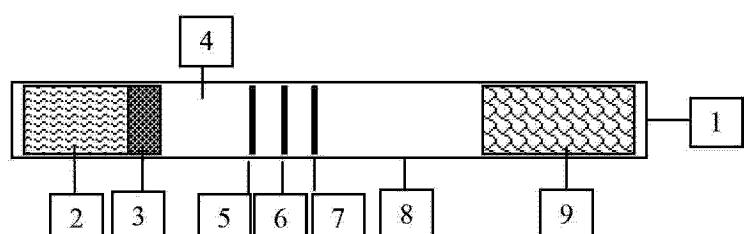
阴性



弱阳性



强阳性



无效

图 2

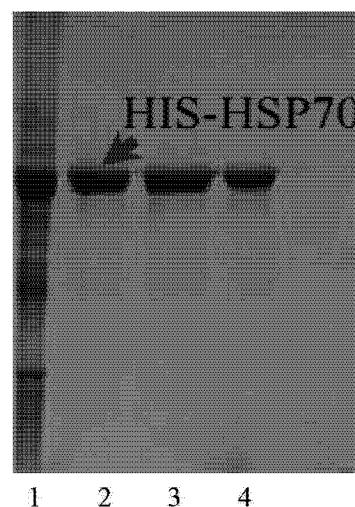
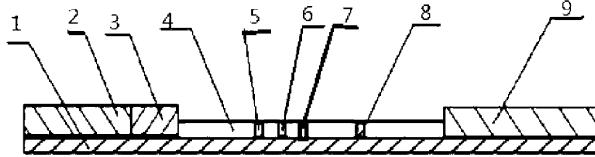


图 3

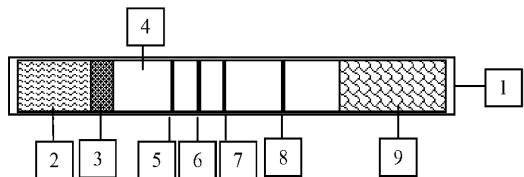
专利名称(译)	一种人血液HSP70抗体胶体金标检测试纸条及其制备方法		
公开(公告)号	CN102879584A	公开(公告)日	2013-01-16
申请号	CN201210365239.X	申请日	2012-09-26
[标]申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院基础医学研究所		
申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院基础医学研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院基础医学研究所		
[标]发明人	钱令嘉 弓景波 王新兴 战锐 吴修杰		
发明人	钱令嘉 弓景波 王新兴 战锐 吴修杰		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/531		
代理人(译)	陈波		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明公开了一种人血液HSP70抗体胶体金标检测试纸条及其制备方法，此试纸条包括设在固定板上依次相连的样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水纸；在硝酸纤维素膜上设有三条检测线抗原和一条质控线抗体；在金标垫上设有金标抗原。金标抗原为显色抗原，检测线抗原为捕捉抗原，显色抗原与捕捉抗原能同时和人HSP70抗体结合形成双抗原夹心；显色抗原和捕获抗原为原核重组表达的人HSP70蛋白。本发明的试纸条用于人血液HSP70抗体检测，特异性高，结果易观察判断，20min内就能判读结果，具有良好的稳定性和重复性，操作简便，无需特殊仪器设备，适宜在现场检测基层医院和实验室推广应用。



侧视图



俯视图