



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110208530 A

(43)申请公布日 2019.09.06

(21)申请号 201910638992.3

(22)申请日 2019.07.16

(71)申请人 何金星

地址 215000 江苏省苏州市工业园区八达
街中新·星湖天地3栋901

(72)发明人 何金星

(51)Int.Cl.

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书2页 说明书8页

(54)发明名称

一种测定免疫水平的诊断制剂及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种测定免疫水平的诊断制剂及其制备方法,属于生物医学领域。本发明先将磁性介孔二氧化硅经氨基硅烷偶联剂,γ-巯丙基三甲氧基硅烷,N-异丙基丙烯酰胺,N-羟丙基丙烯酰胺,浓硫酸和双氧水联合改性制得改性介孔二氧化硅,然后将改性介孔二氧化硅与聚烯丙胺盐酸盐混合,并加入氯金酸,搅拌混合后,再加入柠檬酸三钠还原,制得产品坯料,最后将产品坯料与抗原混合,制得测定免疫水平的诊断制剂。本发明制备的测定免疫水平的诊断制剂具有灵敏的免疫诊断性能,且对免疫水平具有较好的判断效果。

1. 一种测定免疫水平的诊断制剂,其特征在于,所述测定免疫水平的诊断制剂主要包括以下重量份数的原料组分:20~30份改性介孔二氧化硅,10~12份抗原,2~4份柠檬酸三钠和5~8份氯金酸。

2. 根据权利要求1所述的一种测定免疫水平的诊断制剂,其特征在于,所述测定免疫水平的诊断制剂还包括以下重量份数的原料组分:5~10份聚烯丙胺盐酸盐。

3. 根据权利要求2所述的一种测定免疫水平的诊断制剂,其特征在于,所述改性介孔二氧化硅由磁性介孔二氧化硅经氨基硅烷偶联剂, γ -巯丙基三甲氧基硅烷,N-异丙基丙烯酰胺,N-羟丙基丙烯酰胺,浓硫酸和双氧水联合改性制得;所述磁性介孔二氧化硅由纤维素,介孔二氧化硅和磁性粒子混合制得。

4. 根据权利要求2所述的一种测定免疫水平的诊断制剂,其特征在于,所述一种测定免疫水平的诊断制剂主要包括以下重量份数的原料组分:28份改性介孔二氧化硅,10份抗原,4份柠檬酸三钠,6份氯金酸和8份聚烯丙胺盐酸盐。

5. 一种测定免疫水平的诊断制剂的制备方法,其特征在于,主要包括以下制备步骤:

(1) 将磁性介孔二氧化硅先经浓硫酸和双氧水处理后,再经氨基硅烷偶联剂, γ -巯丙基三甲氧基硅烷,N-异丙基丙烯酰胺和N-羟丙基丙烯酰胺联合改性,过滤,干燥;

(2) 将步骤(1)所得物质与聚烯丙胺盐酸盐溶液混合后,依次加入氯金酸和柠檬酸三钠,搅拌反应后,过滤,干燥;

(3) 将步骤(2)所得物质于碱性条件下与抗原分散液混合,搅拌反应后,过滤,干燥;

(4) 对步骤(3)所得物质进行指标分析。

6. 根据权利要求5所述的一种测定免疫水平的诊断制剂的制备方法,其特征在于,主要包括以下制备步骤:

(1) 将98%的浓硫酸与30%的双氧水按体积比7:3混合,得混合处理液,将混合处理液与磁性介孔二氧化硅按质量比10:1~12:1混合,搅拌反应后,过滤,洗涤,干燥,得改性介孔二氧化硅坯料;将改性介孔二氧化硅坯料与无水乙醇按质量比1:50混合,并加入改性介孔二氧化硅坯料质量0.1~0.3倍的氨丙基三甲氧基硅烷和改性介孔二氧化硅坯料质量0.1~0.2倍的 γ -巯丙基三甲氧基硅烷,搅拌反应后,离心分离,得预处理改性介孔二氧化硅坯料,将预处理改性介孔二氧化硅坯料与N,N-二甲基甲酰胺按质量比1:10混合,并加入预处理改性介孔二氧化硅坯料质量2倍的丁二酸酐,搅拌反应后,过滤,干燥,得预处理改性介孔二氧化硅;将预处理改性介孔二氧化硅与四氢呋喃按质量比1:20~1:30混合,并加入预处理改性介孔二氧化硅质量10~12倍的N-异丙基丙烯酰胺,预处理改性介孔二氧化硅质量0.8~1.2倍的N-羟甲基丙烯酰胺和预处理改性介孔二氧化硅质量0.01~0.03倍的偶氮二异丁腈,于氮气氛围下,搅拌反应后,过滤,洗涤,干燥;

(2) 将聚烯丙胺盐酸盐与水按质量比1:10混合,并加入聚烯丙胺盐酸盐质量4~5倍的步骤(1)所得物质,搅拌混合后,得混合分散液,将混合分散液与氯金酸按质量比50:1~80:1混合,并加入混合分散液质量0.02~0.05倍的柠檬酸三钠,搅拌反应后,过滤,干燥;

(3) 将抗原与水按质量比1:10混合,于pH为8的条件下超声分散后,加入抗原质量4~6倍的步骤(2)所得物质,搅拌反应后,磁滤,干燥;

(4) 对步骤(3)所得物质进行指标分析。

7. 根据权利要求6所述的一种测定免疫水平的诊断制剂的制备方法,其特征在于,步骤

(1)所述磁性介孔二氧化硅为将质量分数为2%的十六烷基三甲基溴化铵的水溶液与纳米四氧化三铁按质量百200:1~300:1混合,并加入十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.1~0.2倍的1,3,5-三甲苯和十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.1~0.3倍的氨水,超声分散后,得十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液,将十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液与正硅酸乙酯按质量比40:1混合,并加入正硅酸乙酯质量4~8倍的微纤化纤维素纤维,搅拌反应后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅坯料;将磁性介孔二氧化硅坯料硝酸铵按质量比1:2混合,并加入磁性介孔二氧化硅坯料质量10倍的无水乙醇,冷凝回流后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅。

一种测定免疫水平的诊断制剂及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医学领域,具体是一种测定免疫水平的诊断制剂及其制备方法。

背景技术

[0002] 免疫胶体金技术作为一种新的免疫学方法,其发展十分迅速,在生物医学各研究领域,特别是在医学检验中得到了日益广泛的应用。胶体金已成为继荧光素、放射同位素和酶之后,在免疫标记技术中较为常用的一种非放射性标剂。

[0003] 胶体金是由氯金酸在还原剂如鞣酸、柠檬酸三钠的作用下聚合形成特定大小的金颗粒,并由于静电作用成为一种稳定的胶体状态,它具有高电子密度、能与多种生物大分子结合的特点。免疫金标记技术主要利用了金颗粒的这一特征,在金标蛋白结合处于显微镜下可见黑褐色颗粒,当这些标物在相应的配体处大量聚集时,肉眼可见红色或紫红色斑点,因而用于定性或半定量的快速免疫检测方法中。

[0004] 免疫磁性粒子技术是近年来发展起来的新技术,多用于分离浓缩等试验中。磁性粒子能与蛋白质以共价方式结合而不影响其活性,所以常用来捕获特定蛋白或分离蛋白。其原理如下:将某抗体标记磁性粒子,放入含目的抗原的溶液中,经充分混合反应后,形成抗原抗体磁性粒子混合物,使溶液通过一磁性柱,由于磁性粒子被吸附而使目的抗原截留下来。同时它又能用作定量检测,可根据磁性强弱确定捕获抗体或抗原量的多少。

[0005] 目前,免疫胶体金技术在金标检测试剂上运用具有下列缺点:

1. 由于方法学的限制,只使用免疫胶体金技术建立的诊断制剂,其灵敏度较低。

[0006] 2. 对于某些抗原或抗体含量极低的样本,如使用此种技术建立的快速诊断制剂由于灵敏度限制,导致无法对免疫水平实现直接有效的判断。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供一种测定免疫水平的诊断制剂及其制备方法,以解决现有技术中的问题。

[0008] 为实现上述目的,本发明提供如下技术方案:

一种测定免疫水平的诊断制剂,其特征在于,所述测定免疫水平的诊断制剂主要包括以下重量份数的原料组分:20~30份改性介孔二氧化硅,10~12份抗原,2~4份柠檬酸三钠和5~8份氯金酸;改性介孔二氧化硅的加入可吸附抗原,从而实现免疫诊断的处理中,抗体与抗原的有效接触。

[0009] 一种测定免疫水平的诊断制剂,其特征在于,所述测定免疫水平的诊断制剂还包括以下重量份数的原料组分:5~10份聚烯丙胺盐酸盐;聚烯丙胺盐酸盐的加入可使氯金酸中氯金根离子吸附于改性介孔二氧化硅内部,在柠檬酸三钠的处理下可在改性介孔二氧化硅内部形成金单质,并被抗原所封闭,当抗原倍抗体吞噬时,抗原的大分子性消失,从而使改性介孔金单质和磁性粒子与抗体结合,形成肉眼可见的红色或紫红色斑点,实现免疫诊断功能。

[0010] 作为优化,所述改性介孔二氧化硅由磁性介孔二氧化硅经氨基硅烷偶联剂, γ -疏丙基三甲氧基硅烷, N-异丙基丙烯酰胺, N-羟丙基丙烯酰胺, 浓硫酸和双氧水联合改性制得;所述磁性介孔二氧化硅由纤维素, 介孔二氧化硅和磁性粒子混合制得;纤维素的加入可提高介孔二氧化硅对抗原的吸附性能。

[0011] 作为优化,所述一种测定免疫水平的诊断制剂主要包括以下重量份数的原料组分:28份改性介孔二氧化硅,10份抗原,4份柠檬酸三钠,6份氯金酸和8份聚烯丙胺盐酸盐。

[0012] 作为优化,一种测定免疫水平的诊断制剂的制备方法主要包括以下制备步骤:

(1)将磁性介孔二氧化硅先经浓硫酸和双氧水处理后,再经氨基硅烷偶联剂, γ -疏丙基三甲氧基硅烷, N-异丙基丙烯酰胺和N-羟丙基丙烯酰胺联合改性,过滤,干燥;

(2)将步骤(1)所得物质与聚烯丙胺盐酸盐溶液混合后,依次加入氯金酸和柠檬酸三钠,搅拌反应后,过滤,干燥;

(3)将步骤(2)所得物质于碱性条件下与抗原分散液混合,搅拌反应后,过滤,干燥;

(4)对步骤(3)所得物质进行指标分析。

[0013] 作为优化,一种测定免疫水平的诊断制剂的制备方法主要包括以下制备步骤:

(1)将98%的浓硫酸与30%的双氧水按体积比7:3混合,得混合处理液,将混合处理液与磁性介孔二氧化硅按质量比10:1~12:1混合,搅拌反应后,过滤,洗涤,干燥,得改性介孔二氧化硅坯料;将改性介孔二氧化硅坯料与无水乙醇按质量比1:50混合,并加入改性介孔二氧化硅坯料质量0.1~0.3倍的氨丙基三甲氧基硅烷和改性介孔二氧化硅坯料质量0.1~0.2倍的 γ -疏丙基三甲氧基硅烷,搅拌反应后,离心分离,得预处理改性介孔二氧化硅坯料,将预处理改性介孔二氧化硅坯料与N,N-二甲基甲酰胺按质量比1:10混合,并加入预处理改性介孔二氧化硅坯料质量2倍的丁二酸酐,搅拌反应后,过滤,干燥,得预处理改性介孔二氧化硅;将预处理改性介孔二氧化硅与四氢呋喃按质量比1:20~1:30混合,并加入预处理改性介孔二氧化硅质量10~12倍的N-异丙基丙烯酰胺,预处理改性介孔二氧化硅质量0.8~1.2倍的N-羟甲基丙烯酰胺和预处理改性介孔二氧化硅质量0.01~0.03倍的偶氮二异丁腈,于氮气氛围下,搅拌反应后,过滤,洗涤,干燥;

(2)将聚烯丙胺盐酸盐与水按质量比1:10混合,并加入聚烯丙胺盐酸盐质量4~5倍的步骤(1)所得物质,搅拌混合后,得混合分散液,将混合分散液与氯金酸按质量比50:1~80:1混合,并加入混合分散液质量0.02~0.05倍的柠檬酸三钠,搅拌反应后,过滤,干燥;

(3)将抗原与水按质量比1:10混合,于pH为8的条件下超声分散后,加入抗原质量4~6倍的步骤(2)所得物质,搅拌反应后,于磁滤器中过滤,去除滤液后,干燥;

(4)对步骤(3)所得物质进行指标分析。

[0014] 作为优化,步骤(1)所述磁性介孔二氧化硅为将质量分数为2%的十六烷基三甲基溴化铵的水溶液与纳米四氧化三铁按质量百200:1~300:1混合,并加入十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.1~0.2倍的1,3,5-三甲苯和十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.1~0.3倍的氨水,超声分散后,得十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液,将十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液与正硅酸乙酯按质量比40:1混合,并加入正硅酸乙酯质量4~8倍的微纤化纤维素纤维,搅拌反应后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅坯料;将磁性介孔二氧化硅坯料硝酸铵按质量比1:2混合,并加入磁性介孔二氧化硅坯料质量10倍的无水乙醇,冷凝回流后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅。

[0015] 与现有技术相比,本发明的有益效果是:

(1) 本发明在制备测定免疫水平的诊断制剂时使用改性介孔二氧化硅,并同时加入聚烯丙胺盐酸盐;首先,改性介孔二氧化硅在经过改性后,改性介孔二氧化硅内部的孔隙上接枝有丙烯酰胺,从而使改性介孔二氧化硅具有pH敏感性,即在酸性条件下,改性介孔二氧化硅的孔隙会扩张,而当pH为碱性时,改性介孔二氧化硅的孔隙缩小,因此,在改性介孔二氧化硅与氯金酸混合后,当氯金酸在柠檬酸三钠的作用下被还原时,改性介孔二氧化硅内部的孔隙同时发生收缩,从而可将氯金酸被柠檬酸三钠还原形成的金单质固定于改性介孔二氧化硅内部的空隙中,其次,在改性介孔二氧化硅与抗原混合后,由于改性介孔二氧化硅中介孔的收缩,可防止金粒子与抗原结合,产生显色反应,提高产品在使用过程中的敏感性;再者,在产品制备过程中加入聚烯丙胺盐酸盐,由于经过改性处理的介孔二氧化硅内部表面带有负电荷,因此,当改性介孔二氧化硅与聚烯丙胺盐酸盐混合后,在静电力的作用下可将聚烯丙胺盐酸盐吸附于改性介孔二氧化硅的内壁上,当经聚烯丙胺盐酸盐处理的改性介孔二氧化硅与氯金酸混合后,可将氯金根离子吸附于改性介孔二氧化硅内部,进而为改性介孔二氧化硅后续吸附固定金单质提供条件。

[0016] (2) 本发明在制备测定免疫水平的诊断制剂时对二氧化硅进行改性,使介孔二氧化硅具有pH敏感性,从而在介孔二氧化硅吸附抗原后,可通过介孔的封闭有效防止改性介孔二氧化硅内部的金粒子流失,并且抗原在吸附后,由于抗原的大分子性,可保证改性介孔二氧化硅内部介孔周围的pH在抗原未被消灭时的稳定,进而提高产品的敏感性,而当抗原被消灭时,无论抗原被消灭的多少,改性介孔二氧化硅内部孔隙周围的pH都会改变,从而使改性介孔二氧化硅内部的金粒子外泄,并且由于改性介孔二氧化硅内部孔隙的联通性,因此可形成明显的显色反应,进而进一步提高产品的敏感性。

具体实施方式

[0017] 下面将结合本发明实施例,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0018] 为了更清楚的说明本发明提供的方法通过以下实施例进行详细说明,在以下实施例中制作的测定免疫水平的诊断制剂的各指标测试方法如下:

显色性:将各实施例所得的测定免疫水平的诊断制剂与对比例产品置于抗原相对应的抗体溶液中(浓度为2g/L),观察是否有颜色变化

免疫水平测定:将各实施例所得的测定免疫水平的诊断制剂与对比例产品置于不同浓度的抗原相对应的抗体溶液中,观察显色反应产生的时间;显色反应时间越短说明免疫水平越高。

[0019] 实施例1

一种测定免疫水平的诊断制剂,按重量份数计,主要包括以下重量份数的原料组分:28份改性介孔二氧化硅,10份抗原,4份柠檬酸三钠,6份氯金酸和8份聚烯丙胺盐酸盐。

[0020] 一种测定免疫水平的诊断制剂的制备方法,所述测定免疫水平的诊断制剂的制备方法主要包括以下制备步骤:

(1) 将98%的浓硫酸与30%的双氧水按体积比7:3混合,得混合处理液,将混合处理液与磁性介孔二氧化硅按质量比12:1混合,于温度为45℃,转速为300r/min的条件下搅拌反应2h后,过滤,得滤饼,将滤饼用水洗涤5次后,于温度为80℃的条件下干燥6h,得改性介孔二氧化硅坯料;将改性介孔二氧化硅坯料与无水乙醇按质量比1:50混合于烧杯中,并向烧杯中加入改性介孔二氧化硅坯料质量0.3倍的氨丙基三甲氧基硅烷和改性介孔二氧化硅坯料质量0.2倍的 γ -巯丙基三甲氧基硅烷,于温度为65℃,转速为320r/min的条件下,搅拌反应8h后,离心分离,得预处理改性介孔二氧化硅坯料,将预处理改性介孔二氧化硅坯料与N,N-二甲基甲酰胺按质量比1:10混合于烧瓶中,并向烧瓶中加入预处理改性介孔二氧化硅坯料质量2倍的丁二酸酐,于温度为60℃,转速为300r/min的条件下,搅拌反应6h后,过滤,得滤渣,将滤渣于温度为80℃的条件下干燥3h,得预处理改性介孔二氧化硅;将预处理改性介孔二氧化硅与四氢呋喃按质量比1:30混合于四口烧瓶中,并向四口烧瓶中加入预处理改性介孔二氧化硅质量12倍的N-异丙基丙烯酰胺,预处理改性介孔二氧化硅质量1.2倍的N-羟甲基丙烯酰胺和预处理改性介孔二氧化硅质量0.03倍的偶氮二异丁腈,向四口烧瓶中以50mL/min的速率通入氮气,于温度为80℃,转速为280r/min的条件下,搅拌反应24h后,过滤,去除滤液,并用去离子水洗涤3次,于温度为60℃的条件下干燥2h;

(2) 将聚烯丙胺盐酸盐与水按质量比1:10混合,并向聚烯丙胺盐酸盐与水的混合物中加入聚烯丙胺盐酸盐质量5倍的步骤(1)所得物质,于温度为40℃,转速为300r/min的条件下,搅拌混合30min后,得混合分散液,将混合分散液与氯金酸按质量比80:1混合,并向混合分散液与氯金酸的混合物中加入混合分散液质量0.05倍的柠檬酸三钠,于温度为40℃,转速为280r/min的条件下,搅拌反应3h后,过滤,真空干燥;

(3) 将抗原与水按质量比1:10混合,用质量分数为2%的氢氧化钠溶液调节抗原与水混合物的pH为8,于频率为45kHz的条件下超声分散10min后,向抗原与水的混合物中加入抗原质量6倍的步骤(2)所得物质,于温度为30℃,转速为300r/min的条件下,搅拌反应5h后,磁滤去除滤液,得坯料,将坯料于温度为40℃的条件下干燥12h;

(4) 对步骤(3)所得物质进行指标分析。

[0021] 作为优化,步骤(1)所述磁性介孔二氧化硅为将质量分数为2%的十六烷基三甲基溴化铵的水溶液与纳米四氧化三铁按质量百300:1混合,并加入十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.2倍的1,3,5-三甲苯和十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.3倍的氨水,超声分散后,得十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液,将十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液与正硅酸乙酯按质量比40:1混合,并加入正硅酸乙酯质量8倍的微纤化纤维素纤维,搅拌反应后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅坯料;将磁性介孔二氧化硅坯料硝酸铵按质量比1:2混合,并加入磁性介孔二氧化硅坯料质量10倍的水乙醇,冷凝回流后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅。

[0022] 实施例2

一种测定免疫水平的诊断制剂,按重量份数计,主要包括以下重量份数的原料组分:28份改性介孔二氧化硅,10份抗原,4份柠檬酸三钠,6份氯金酸和8份聚烯丙胺盐酸盐。

[0023] 一种测定免疫水平的诊断制剂的制备方法,所述测定免疫水平的诊断制剂的制备方法主要包括以下制备步骤:

(1) 将98%的浓硫酸与30%的双氧水按体积比7:3混合,得混合处理液,将混合处理液与

磁性介孔二氧化硅按质量比12:1混合,于温度为45℃,转速为300r/min的条件下搅拌反应2h后,过滤,得滤饼,将滤饼用水洗涤5次后,于温度为80℃的条件下干燥6h,得改性介孔二氧化硅坯料;将改性介孔二氧化硅坯料与无水乙醇按质量比1:50混合于烧杯中,并向烧杯中加入改性介孔二氧化硅坯料质量0.3倍的氨丙基三甲氧基硅烷和改性介孔二氧化硅坯料质量0.2倍的 γ -巯丙基三甲氧基硅烷,于温度为65℃,转速为320r/min的条件下,搅拌反应8h后,离心分离,得预处理改性介孔二氧化硅坯料,将预处理改性介孔二氧化硅坯料与N,N-二甲基甲酰胺按质量比1:10混合于烧瓶中,并向烧瓶中加入预处理改性介孔二氧化硅坯料质量2倍的丁二酸酐,于温度为60℃,转速为300r/min的条件下,搅拌反应6h后,过滤,得滤渣,将滤渣于温度为80℃的条件下干燥3h,得预处理改性介孔二氧化硅;将预处理改性介孔二氧化硅与四氢呋喃按质量比1:30混合于四口烧瓶中,并向四口烧瓶中加入预处理改性介孔二氧化硅质量12倍的N-异丙基丙烯酰胺,预处理改性介孔二氧化硅质量1.2倍的N-羟甲基丙烯酰胺和预处理改性介孔二氧化硅质量0.03倍的偶氮二异丁腈,向四口烧瓶中以50mL/min的速率通入氮气,于温度为80℃,转速为280r/min的条件下,搅拌反应24h后,过滤,去除滤液,并用去离子水洗涤3次,于温度为60℃的条件下干燥2h;

(2) 将聚烯丙胺盐酸盐与水按质量比1:10混合,并向聚烯丙胺盐酸盐与水的混合物中加入聚烯丙胺盐酸盐质量5倍的步骤(1)所得物质,于温度为40℃,转速为300r/min的条件下,搅拌混合30min后,得混合分散液,将混合分散液与氯金酸按质量比80:1混合,并向混合分散液与氯金酸的混合物中加入混合分散液质量0.05倍的柠檬酸三钠,于温度为40℃,转速为280r/min的条件下,搅拌反应3h后,过滤,真空干燥;

(3) 将抗原与水按质量比1:10混合,用质量分数为2%的氢氧化钠溶液调节抗原与水混合物的pH为8,于频率为45kHz的条件下超声分散10min后,向抗原与水的混合物中加入抗原质量6倍的步骤(2)所得物质,于温度为30℃,转速为300r/min的条件下,搅拌反应5h后,磁滤去除滤液,得坯料,将坯料于温度为40℃的条件下干燥12h;

(4) 对步骤(3)所得物质进行指标分析。

[0024] 作为优化,步骤(1)所述磁性介孔二氧化硅为将质量分数为2%的十六烷基三甲基溴化铵的水溶液与纳米四氧化三铁按质量百300:1混合,并加入十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.2倍的1,3,5-三甲苯和十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.3倍的氨水,超声分散后,得十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液,将十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液与正硅酸乙酯按质量比40:1混合,搅拌反应后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅坯料;将磁性介孔二氧化硅坯料硝酸铵按质量比1:2混合,并加入磁性介孔二氧化硅坯料质量10倍的无水乙醇,冷凝回流后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅。

[0025] 实施例3

一种测定免疫水平的诊断制剂,按重量份数计,主要包括以下重量份数的原料组分:28份改性介孔二氧化硅,10份抗原,4份柠檬酸三钠,6份氯金酸。

[0026] 一种测定免疫水平的诊断制剂的制备方法,所述测定免疫水平的诊断制剂的制备方法主要包括以下制备步骤:

(1) 将98%的浓硫酸与30%的双氧水按体积比7:3混合,得混合处理液,将混合处理液与磁性介孔二氧化硅按质量比12:1混合,于温度为45℃,转速为300r/min的条件下搅拌反应2h后,过滤,得滤饼,将滤饼用水洗涤5次后,于温度为80℃的条件下干燥6h,得改性介孔二

氧化硅坯料;将改性介孔二氧化硅坯料与无水乙醇按质量比1:50混合于烧杯中,并向烧杯中加入改性介孔二氧化硅坯料质量0.3倍的氨丙基三甲氧基硅烷和改性介孔二氧化硅坯料质量0.2倍的 γ -巯丙基三甲氧基硅烷,于温度为65℃,转速为320r/min的条件下,搅拌反应8h后,离心分离,得预处理改性介孔二氧化硅坯料,将预处理改性介孔二氧化硅坯料与N,N-二甲基甲酰胺按质量比1:10混合于烧瓶中,并向烧瓶中加入预处理改性介孔二氧化硅坯料质量2倍的丁二酸酐,于温度为60℃,转速为300r/min的条件下,搅拌反应6h后,过滤,得滤渣,将滤渣于温度为80℃的条件下干燥3h,得预处理改性介孔二氧化硅;将预处理改性介孔二氧化硅与四氢呋喃按质量比1:30混合于四口烧瓶中,并向四口烧瓶中加入预处理改性介孔二氧化硅质量12倍的N-异丙基丙烯酰胺,预处理改性介孔二氧化硅质量1.2倍的N-羟甲基丙烯酰胺和预处理改性介孔二氧化硅质量0.03倍的偶氮二异丁腈,向四口烧瓶中以50mL/min的速率通入氮气,于温度为80℃,转速为280r/min的条件下,搅拌反应24h后,过滤,去除滤液,并用去离子水洗涤3次,于温度为60℃的条件下干燥2h;

(2)将步骤(1)所得物质与水按质量比1:10混合,并向步骤(1)所得物质与水的混合物中加入步骤(1)所得物质质量0.3倍的氯金酸和步骤(1)所得物质质量0.05倍的柠檬酸三钠,于温度为40℃,转速为280r/min的条件下,搅拌反应3h后,过滤,真空干燥;

(3)将抗原与水按质量比1:10混合,用质量分数为2%的氢氧化钠溶液调节抗原与水混合物的pH为8,于频率为45kHz的条件下超声分散10min后,向抗原与水的混合物中加入抗原质量6倍的步骤(2)所得物质,于温度为30℃,转速为300r/min的条件下,搅拌反应5h后,磁滤去除滤液,得坯料,将坯料于温度为40℃的条件下干燥12h;

(4)对步骤(3)所得物质进行指标分析。

[0027] 作为优化,步骤(1)所述磁性介孔二氧化硅为将质量分数为2%的十六烷基三甲基溴化铵的水溶液与纳米四氧化三铁按质量百300:1混合,并加入十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.2倍的1,3,5-三甲苯和十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.3倍的氨水,超声分散后,得十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液,将十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液与正硅酸乙酯按质量比40:1混合,并加入正硅酸乙酯质量8倍的微纤化纤维素纤维,搅拌反应后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅坯料;将磁性介孔二氧化硅坯料硝酸铵按质量比1:2混合,并加入磁性介孔二氧化硅坯料质量10倍的无水乙醇,冷凝回流后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅。

[0028] 实施例4

一种测定免疫水平的诊断制剂,按重量份数计,主要包括以下重量份数的原料组分:28份改性介孔二氧化硅,10份抗原,4份柠檬酸三钠,6份氯金酸和8份聚烯丙胺盐酸盐。

[0029] 一种测定免疫水平的诊断制剂的制备方法,所述测定免疫水平的诊断制剂的制备方法主要包括以下制备步骤:

(1)将98%的浓硫酸与30%的双氧水按体积比7:3混合,得混合处理液,将混合处理液与磁性介孔二氧化硅按质量比12:1混合,于温度为45℃,转速为300r/min的条件下搅拌反应2h后,过滤,得滤饼,将滤饼用水洗涤5次后,于温度为80℃的条件下干燥6h;

(2)将聚烯丙胺盐酸盐与水按质量比1:10混合,并向聚烯丙胺盐酸盐与水的混合物中加入聚烯丙胺盐酸盐质量5倍的步骤(1)所得物质,于温度为40℃,转速为300r/min的条件下,搅拌混合30min后,得混合分散液,将混合分散液与氯金酸按质量比80:1混合,并向混合

分散液与氯金酸的混合物中加入混合分散液质量0.05倍的柠檬酸三钠,于温度为40℃,转速为280r/min的条件下,搅拌反应3h后,过滤,真空干燥;

(3)将抗原与水按质量比1:10混合,用质量分数为2%的氢氧化钠溶液调节抗原与水混合物的pH为8,于频率为45kHz的条件下超声分散10min后,向抗原与水的混合物中加入抗原质量6倍的步骤(2)所得物质,于温度为30℃,转速为300r/min的条件下,搅拌反应5h后,磁滤去除滤液,得坯料,将坯料于温度为40℃的条件下干燥12h;

(4)对步骤(3)所得物质进行指标分析。

[0030] 作为优化,步骤(1)所述磁性介孔二氧化硅为将质量分数为2%的十六烷基三甲基溴化铵的水溶液与纳米四氧化三铁按质量百300:1混合,并加入十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.2倍的1,3,5-三甲苯和十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.3倍的氨水,超声分散后,得十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液,将十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液与正硅酸乙酯按质量比40:1混合,并加入正硅酸乙酯质量8倍的微纤化纤维素纤维,搅拌反应后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅坯料;将磁性介孔二氧化硅坯料硝酸铵按质量比1:2混合,并加入磁性介孔二氧化硅坯料质量10倍的无水乙醇,冷凝回流后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅。

[0031] 对比例

一种测定免疫水平的诊断制剂,按重量份数计,主要包括以下重量份数的原料组分:28份改性介孔二氧化硅,10份抗原,4份柠檬酸三钠,6份氯金酸。

[0032] 一种测定免疫水平的诊断制剂的制备方法,所述测定免疫水平的诊断制剂的制备方法主要包括以下制备步骤:

(1)将98%的浓硫酸与30%的双氧水按体积比7:3混合,得混合处理液,将混合处理液与磁性介孔二氧化硅按质量比12:1混合,于温度为45℃,转速为300r/min的条件下搅拌反应2h后,过滤,得滤饼,将滤饼用水洗涤5次后,于温度为80℃的条件下干燥6h;

(2)将步骤(1)所得物质与水按质量比1:10混合,并向步骤(1)所得物质与水的混合物中加入步骤(1)所得物质质量0.3倍的氯金酸和步骤(1)所得物质质量0.05倍的柠檬酸三钠,于温度为40℃,转速为280r/min的条件下,搅拌反应3h后,过滤,真空干燥;

(3)将抗原与水按质量比1:10混合,用质量分数为2%的氢氧化钠溶液调节抗原与水混合物的pH为8,于频率为45kHz的条件下超声分散10min后,向抗原与水的混合物中加入抗原质量6倍的步骤(2)所得物质,于温度为30℃,转速为300r/min的条件下,搅拌反应5h后,磁滤去除滤液,得坯料,将坯料于温度为40℃的条件下干燥12h;

(4)对步骤(3)所得物质进行指标分析。

[0033] 作为优化,步骤(1)所述磁性介孔二氧化硅为将质量分数为2%的十六烷基三甲基溴化铵的水溶液与纳米四氧化三铁按质量百300:1混合,并加入十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.2倍的1,3,5-三甲苯和十六烷基三甲基溴化铵水溶液质量0.3倍的氨水,超声分散后,得十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液,将十六烷基三甲基溴化铵的混合水溶液与正硅酸乙酯按质量比40:1混合,搅拌反应后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅坯料;将磁性介孔二氧化硅坯料硝酸铵按质量比1:2混合,并加入磁性介孔二氧化硅坯料质量10倍的无水乙醇,冷凝回流后,过滤,干燥,得磁性介孔二氧化硅。

[0034] 效果例

下表1给出了采用本发明实施例1至4与对比例的测定免疫水平的诊断制剂及其制备方法的显色性和免疫水平测定的分析结果。

		实施 例 1	实施 例 2	实施 例 3	实施 例 4	对 比 例
是否显色		是	是	否	否	否
抗体浓度 (2g/L)	显色所用时间 (min)	3	2	无	无	无
抗体浓度 (4g/L)		2	1	无	无	无

[0035] 从表1中实施例1与对比例的实现数据比较可发现,当产品中加入聚烯丙胺盐酸盐,并对介孔二氧化硅进行改性,可使产品具有有效的免疫诊断能力,并且从不同抗体浓度条件下,显色时间的比较,可发现本发明制备的产品具有高效的测定免疫水平的能力。从表1中实施例1和实施例2的比较可发现,当产品中不加入纤维素时,改性介孔二氧化硅的抗原吸附性变差,从而使改性介孔二氧化硅内部的金粒子容易流失,从而导致产品的显色时间减小,从表1中实施例1和实施例3的比较可发现,当产品中不加入聚烯丙胺盐酸盐时,改性介孔二氧化硅对金粒子的吸附性减小,从而无法将金粒子固定于改性介孔二氧化硅中,使产品无法对免疫水平进行诊断;从实施例1与实施例4的比较可发现,当产品中加入的改性介孔二氧化硅不具备pH敏感性时,在氯金酸还原过程中,改性介孔二氧化硅无法固定金粒子,从而导致金粒子与抗原结合,使后续产品无法形成显色反应。

专利名称(译)	一种测定免疫水平的诊断制剂及其制备方法		
公开(公告)号	CN110208530A	公开(公告)日	2019-09-06
申请号	CN201910638992.3	申请日	2019-07-16
[标]申请(专利权)人(译)	何金星		
申请(专利权)人(译)	何金星		
当前申请(专利权)人(译)	何金星		
[标]发明人	何金星		
发明人	何金星		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/54326		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种测定免疫水平的诊断制剂及其制备方法，属于生物医学领域。本发明先将磁性介孔二氧化硅经氨基硅烷偶联剂， γ -巯丙基三甲氧基硅烷，N-异丙基丙烯酰胺，N-羟丙基丙烯酰胺，浓硫酸和双氧水联合改性制得改性介孔二氧化硅，然后将改性介孔二氧化硅与聚烯丙胺盐酸盐混合，并加入氯金酸，搅拌混合后，再加入柠檬酸三钠还原，制得产品坯料，最后将产品坯料与抗原混合，制得测定免疫水平的诊断制剂。本发明制备的测定免疫水平的诊断制剂具有灵敏的免疫诊断性能，且对免疫水平具有较好的判断效果。

		实施 例 1	实施 例 2	实施 例 3	实施 例 4	对 比 例
是否显色		是	是	否	否	否
抗体浓度 (2g/L)	显色所用时间 (min)	3	2	无	无	无
抗体浓度 (4g/L)		2	1	无	无	无