



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110286110 A

(43)申请公布日 2019.09.27

(21)申请号 201910687685.4

G01N 33/574(2006.01)

(22)申请日 2019.07.29

G01N 33/58(2006.01)

(71)申请人 邓鑫

地址 530000 广西壮族自治区南宁市兴宁
区中华路73号

申请人 赵晓芳

(72)发明人 邓鑫 赵晓芳

(74)专利代理机构 北京天盾知识产权代理有限公司 11421

代理人 贺丽娟

(51)Int.Cl.

G01N 21/64(2006.01)

G01N 33/50(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

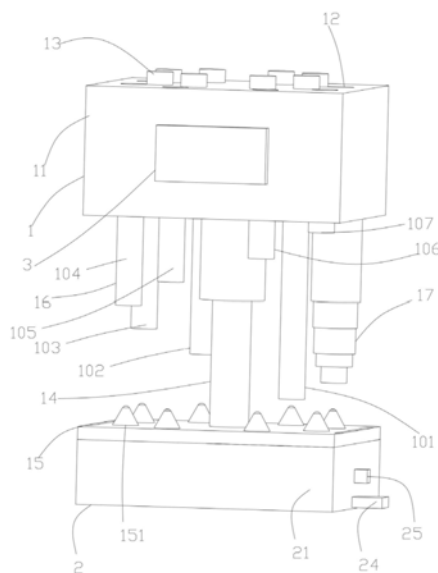
权利要求书3页 说明书10页 附图8页

(54)发明名称

一种肝癌早期诊断试剂盒

(57)摘要

本发明属于生物医药领域,具体涉及一种肝癌早期诊断试剂盒,包括有包括有上箱体结构、下箱体结构及工作模块;上箱体结构包括有上箱体、若干试剂管孔、若干孔板、伸缩柱、盖板、若干管体、洗涤液管;若干管体活动收容于若干试剂管孔内;其中为小牛血清白蛋白管;其中为固定液管;其中一管体渗透液管;其中一管体为封闭液管;其中一管体为生物素标记山羊抗兔IgG复合物管,其中一管体装为FA-QDs复合物管;其中一管为Hank's液管。本肝癌早期诊断试剂盒能够作为一种多模式的靶向荧光探针应用到肝癌细胞的标记、成像,通过对肝癌细胞的标记、示踪,有望实现对肝癌发生、发展的准确诊断。



1. 一种肝癌早期诊断试剂盒, 其特征在于, 包括有上箱体结构、下箱体结构及工作模块;

上箱体结构包括有上箱体、若干试剂管孔、若干孔板、伸缩柱、盖板、若干管体、洗涤液管;

若干管体及洗涤液管均为伸缩管;

若干管体活动收容于若干试剂管孔内;

若干管体为两端密封的结构, 两端均为铝箔进行密封;

其中一管体装有小牛血清白蛋白为小牛血清白蛋白管;

其中一管体装有固定液为固定液管;

其中一管体装有渗透液为渗透液管;

其中一管体装有封闭液为封闭液管;

其中一管体装有生物素标记山羊抗兔IgG复合物为生物素标记山羊抗兔IgG复合物管;

其中一管体装有FA-QDs复合物为FA-QDs复合物管;

其中一管体装有Hank's液为Hank's液管;

洗涤液管包括有第一腔体、第二腔体、第三腔体、第四腔体及第五腔体, 第一腔体、第二腔体、第三腔体、第四腔体及第五腔体内部均装有洗涤液, 并且两端均通过铝箔进行密封; 通过铝箔将第一腔体、第二腔体、第三腔体、第四腔体及第五腔体依次连接在一起;

若干试剂管孔设置在上箱体上; 小牛血清白蛋白管、洗涤液管、固定液管、渗透液管、封闭液管、生物素标记山羊抗兔IgG复合物管、FA-QDs复合物管、Hank's液管分别活动收容于试剂管孔内;

每一若干试剂管孔对应设置有一孔板, 若干孔板旋转设置在上箱体上;

伸缩柱一端与上箱体固定连接, 另一端与盖板固定连接; 盖板上设置有与若干试剂管孔对应的若干凸起部; 凸起部上设置有贯穿凸起部及盖板的下料孔;

下箱体结构可拆卸的固定在上箱体结构上;

下箱体结构包括有下箱体、过滤膜、排水槽、排水板、振动器; 下箱体设置有容纳空间, 过滤膜设置在容纳空间内, 并将容纳空间分隔成两部分; 排水槽设置在下箱体底部, 用于将容纳空间中的液体排出; 排水板活动收容在排水槽, 用于控制排水槽的排水; 下箱体上设置有插片, 盖板上设置有与插片对应的插槽, 下箱体通过插片插入插槽内与上箱体可拆卸的固定;

工作模块安装于上箱体上, 工作模块包括有显示屏、计时器、蜂鸣器、电源;

电源均与显示屏、计时器、蜂鸣器、及振动器连接;

计时器分别与蜂鸣器及显示屏连接;

计时器分别通过电线与若干管体及洗涤液管上的铝箔连接并形成通路。

2. 根据权利要求1所述的一种肝癌早期诊断试剂盒, 其特征在于, 凸起部呈空心锥形结构。

3. 根据权利要求2所述的一种肝癌早期诊断试剂盒, 其特征在于, 上箱体结构及下箱体结构之间设置有易撕铝膜, 易撕铝膜通过与上箱体结构及下箱体结构连接。

4. 一种如权利要求3所述肝癌早期诊断试剂盒用于检测肝癌细胞的方法, 其特征在于: 具体步骤如下:

1) 先将小牛血清白蛋白管、固定液管、渗透液管、封闭液管、生物素标记山羊抗兔IgG复合物管、FA-QDs复合物管、Hank's液管及洗涤液管分别装入试剂管孔,再旋转对应的孔板,将试剂管孔盖住,小牛血清白蛋白管、固定液管、渗透液管、封闭液管、生物素标记山羊抗兔IgG复合物管、FA-QDs复合物管、Hank's液管及洗涤液管相对凸起部的一端露出上盒体外;

2) 将生物样本放入下盒体中的过滤膜上,将排水板对排水槽进行密封;然后将下盒体的插片插入插槽内,将上盒体与下盒体进行固定;

3) 将上盒体朝盖板的方向下压;上盒体沿着伸缩柱向盖板的方向移动;小牛血清白蛋白管的铝箔最先被凸起部戳破;小牛血清白蛋白从凸起部的下料孔进入容纳空间内对生物样本细胞进行培养,同时由于小牛血清白蛋白管的铝箔被戳破,计时器与小牛血清白蛋白管的铝箔形成的通路变为断路,计时器开始计时并且在显示屏上显示时间;经过24小时的培养后,计时器启动蜂鸣器进行蜂鸣;将排水板抽出,将容纳空间中的液体从排水槽排出,得到生物样本细胞;

4) 将容纳空间中的液体从排水槽排干净后,将排水槽进行密封,继续将上盒体朝盖板的方向下压;使洗涤液管的第一腔体的铝箔被凸起部戳破;洗涤液进入容纳空间内对生物样本细胞进行洗涤,同时计时器与第一腔体的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时,并且启动振动器进行振动下盒体;洗涤5分钟后,计时器启动蜂鸣器进行蜂鸣;再将排水板抽出,将容纳空间中的洗涤液从排水槽排出;

5) 将容纳空间中的洗涤液从排水槽排干净后,将排水槽进行密封,继续将上盒体朝盖板的方向下压;固定液管的铝箔被凸起部戳破;固定液进入容纳空间内对生物样本细胞进行固定,同时计时器与固定液管的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时,固定15分钟后,计时器启动蜂鸣器进行蜂鸣;需要将排水板抽出,将容纳空间中的固定液从排水槽排出;

6) 继续将上盒体朝盖板的方向下压;使洗涤液管的第二腔体的铝箔被凸起部戳破;洗涤液进入容纳空间内对生物样本细胞进行洗涤,同时计时器与第二腔体的铝箔形成的通路断开,计时器开始计时,并且启动振动器进行振动下盒体,增强洗涤效果;洗涤5分钟后,计时器启动蜂鸣器进行蜂鸣;再将排水板抽出,将容纳空间中的洗涤液从排水槽排出;

7) 继续将上盒体朝盖板的方向下压,渗透液管的铝箔被凸起部戳破;同时计时器与渗透液管的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时;洗涤液进入容纳空间内对生物样本细胞进行渗透,渗透5分钟后,蜂鸣器进行蜂鸣;再将排水板抽出,将容纳空间中的渗透液从排水槽排出;

8) 继续将上盒体朝盖板的方向下压,使洗涤液管的第三腔体的铝箔被凸起部戳破,同时计时器与第三腔体的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时;洗涤液进入容纳空间内对生物样本细胞进行洗涤,洗涤5分钟后,蜂鸣器进行蜂鸣;再将排水板抽出,将容纳空间中的洗涤液从排水槽排出;

9) 继续将上盒体朝盖板的方向下压,使封闭液管的铝箔被凸起部戳破;同时计时器32与封闭液管的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时;封闭液进入容纳空间内对生物样本细胞进行封闭,5分钟后,蜂鸣器进行蜂鸣;再将排水板抽出,将容纳空间中的封闭液从排水槽排出;再将上盒体朝盖板的方向下压,使洗涤液管的第四腔体的铝箔被凸起部戳破;同时计时器与第四腔体的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时;洗涤

液进入容纳空间内对生物样本细胞进行洗涤,洗涤5分钟后,蜂鸣器进行蜂鸣;再将排水板抽出,将容纳空间中的洗涤液从排水槽排出;

10) 继续将上箱体朝盖板的方向下压,使生物素标记山羊抗兔IgG复合物管的铝箔被凸起部戳破;同时计时器与生物素标记山羊抗兔IgG复合物管的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时;生物素标记山羊抗兔IgG复合物进入容纳空间与生物样本细胞在常温下共孵育1小时后,蜂鸣器进行蜂鸣;再将上箱体朝盖板的方向下压,使洗涤液管的第五腔体的铝箔被凸起部戳破;同时计时器与第五腔体的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时;洗涤液进入容纳空间内对生物样本细胞进行洗涤,洗涤5分钟后,蜂鸣器进行蜂鸣;再将排水板抽出,将容纳空间中的洗涤液从排水槽排出;

11) 继续将上箱体朝盖板的方向下压,使FA-QDs复合物管的铝箔被凸起部戳破;同时计时器与FA-QDs复合物管的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时;FA-QDs复合物进入容纳空间与生物样本细胞在常温下共孵育0.5小时后,蜂鸣器进行蜂鸣;继续将上箱体朝盖板的方向下压,使Hank's液管的铝箔被凸起部戳破;同时计时器与Hank's液管的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时;Hank's液进入容纳空间内对生物样本细胞进行冲洗脱去背景色10分钟后,蜂鸣器进行蜂鸣;立即将附在过滤膜上的生物样本细胞在倒置荧光显微镜下观察荧光信号并通过荧光信号采集系统进行定量分析。

5. 一种如权利要求1中所述的肝癌早期诊断试剂盒中的FA-QDs复合物的制备方法的方法,其特征在于:具体步骤如下:

1) 用分析天平精密称取0.001g FA溶于10ml的PBS中,用超声仪FA充分溶解,制成FA溶液;用分析天平精密称取0.001g EDC和0.0005g NHS,将EDC和NHS分别溶于10mL甲醇溶液中,然后取上述FA溶液25 μ l放于20ml烧杯内,加入EDC、NHS甲醇溶液,将烧杯放置于35℃水浴中搅拌15分钟,得到叶酸活化酯;

2) 取PEG-QDs溶液放入烧杯中,将叶酸活化酯缓慢滴入PEG-QDs溶液中,于25℃水浴搅拌2小时,进行酰胺缩合反应,得到FA-QDs溶液;将反应后的溶液装入分子截留量为8000-14000的超滤器中进行透析,放于双蒸水中动态透析24小时,每半小时换一次水;透析后得到纯化的FA-QDs溶液;

3) 将纯化的FA-QDs溶液进行冷冻干燥,得到淡红色的FA-QDs复合物。

一种肝癌早期诊断试剂盒

【技术领域】

[0001] 本发明属于生物医药领域,具体涉及一种肝癌早期诊断试剂盒。

【背景技术】

[0002] 肝癌可以大致分为2类,一类是原发性肝癌,还一种是转移性肝癌。原发性肝癌是的是,本身生长在肝脏表面的癌症;而转移性的肝癌,则因为其他组织和器官的癌细胞,慢慢转移到肝脏处,从而慢慢生长成肝癌。一般来说,原发性的肝癌恶化到晚期的进程,要比转移性肝癌时间久很多,大概要经过15年左右的时间,才会慢慢恶化成肝癌。

[0003] 对于肝癌晚期的患者来说,当被发现晚期时,那就意味着体内的癌细胞已经大量扩散了,时间越久,恶化程度就越高,有的人甚至只有短短几个月的时间可以活。所以,确诊时间起着决定性的因素。但是目前没有一种能快速且简便的肝癌早期诊断试剂盒,使得肝癌的确诊时间延后,导致患者得不到及时治疗。

【发明内容】

[0004] 鉴于以上问题,本发明提供了一种肝癌早期诊断试剂盒。

[0005] 本发明所要解决的技术问题采用以下技术方案实现:

[0006] 一种肝癌早期诊断试剂盒,包括有上盒体结构、下盒体结构及工作模块;

[0007] 上盒体结构包括有上盒体、若干试剂管孔、若干孔板、伸缩柱、盖板、若干管体、洗涤液管;

[0008] 若干管体及洗涤液管均为伸缩管;

[0009] 若干管体活动收容于若干试剂管孔内;

[0010] 若干管体为两端密封的结构,两端均为铝箔进行密封;

[0011] 其中一管体装有小牛血清白蛋白为小牛血清白蛋白管;

[0012] 其中一管体装有固定液为固定液管;

[0013] 其中一管体装有渗透液为渗透液管;

[0014] 其中一管体装有封闭液为封闭液管;

[0015] 其中一管体装有生物素标记山羊抗兔IgG复合物为生物素标记山羊抗兔IgG复合物管;

[0016] 其中一管体装有FA-QDs复合物为FA-QDs复合物管;

[0017] 其中一管体装有Hank's液为Hank's液管;

[0018] 洗涤液管包括有第一腔体、第二腔体、第三腔体、第四腔体及第五腔体,第一腔体、第二腔体、第三腔体、第四腔体及第五腔体内部均装有洗涤液,并且两端均通过铝箔进行密封;通过铝箔将第一腔体、第二腔体、第三腔体、第四腔体及第五腔体依次连接在一起;

[0019] 若干试剂管孔设置在上盒体上;小牛血清白蛋白管、洗涤液管、固定液管、渗透液管、封闭液管、生物素标记山羊抗兔IgG复合物管、FA-QDs复合物管、Hank's液管分别活动收容于试剂管孔内;

[0020] 每一若干试剂管孔对应设置有一孔板,若干孔板旋转设置在上盒体上,孔板用于密封试剂管孔;

[0021] 伸缩柱一端与上盒体固定连接,另一端与盖板固定连接;盖板上设置有与若干试剂管孔对应的若干凸起部;凸起部上设置有贯穿凸起部及盖板的下料孔;

[0022] 凸起部呈空心锥形结构;

[0023] 下盒体结构可拆卸的固定在上盒体结构上;

[0024] 下盒体结构包括有下盒体、过滤膜、排水槽、排水板、振动器;下盒体设置有容纳空间,过滤膜设置在容纳空间内,并将容纳空间分隔成两部分;排水槽设置在下盒体底部,用于将容纳空间中的液体排出;排水板活动收容在排水槽,用于控制排水槽的排水;下盒体上设置有插片,盖板上设置有与插片对应的插槽,下盒体通过插片插入插槽内与上盒体可拆卸的固定。

[0025] 工作模块安装于上盒体上,工作模块包括有显示屏、计时器、蜂鸣器、电源;

[0026] 电源均与显示屏、计时器、蜂鸣器、及振动器连接;

[0027] 计时器分别与蜂鸣器及显示屏连接;

[0028] 计时器分别通过电线与若干管体及洗涤液管上的铝箔连接并形成通路;

[0029] 计时器型号为OHR-B200计时器。

[0030] 针对上述的肝癌早期诊断试剂盒的用途,用于检测肝癌细胞,具体步骤如下:

[0031] 1) 先将小牛血清白蛋白管、固定液管、渗透液管、封闭液管、生物素标记山羊抗兔IgG 复合物管、FA-QDs复合物管、Hank's液管及洗涤液管分别装入试剂管孔,再旋转对应的孔板,将试剂管孔盖住,小牛血清白蛋白管、固定液管、渗透液管、封闭液管、生物素标记山羊抗兔IgG复合物管、FA-QDs复合物管、Hank's液管及洗涤液管相对凸起部的一端露出上盒体外;

[0032] 2) 将生物样本放入下盒体中的过滤膜上,将排水板对排水槽进行密封;然后将下盒体的插片插入插槽内,将上盒体与下盒体进行固定;

[0033] 3) 将上盒体朝盖板的方向下压;上盒体沿着伸缩柱向盖板的方向移动;小牛血清白蛋白管的铝箔最先被凸起部戳破;小牛血清白蛋白从凸起部的下料孔进入容纳空间内对生物样本细胞进行培养,同时由于小牛血清白蛋白管的铝箔被戳破,计时器与小牛血清白蛋白管的铝箔形成的通路变为断路,计时器开始计时并且在显示屏上显示时间;经过24小时的培养后,计时器启动蜂鸣器进行蜂鸣;将排水板抽出,将容纳空间中的液体从排水槽排出,得到生物样本细胞;

[0034] 4) 将容纳空间中的液体从排水槽排干净后,将排水槽进行密封,继续将上盒体朝盖板的方向下压;使洗涤液管的第一腔体的铝箔被凸起部戳破;洗涤液进入容纳空间内对生物样本细胞进行洗涤,同时计时器与第一腔体的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时,并且启动振动器进行振动下盒体,增强洗涤效果;洗涤5分钟后,计时器启动蜂鸣器进行蜂鸣;再将排水板抽出,将容纳空间中的洗涤液从排水槽排出;

[0035] 5) 将容纳空间中的洗涤液从排水槽排干净后,将排水槽进行密封,继续将上盒体朝盖板的方向下压;固定液管的铝箔被凸起部戳破;固定液进入容纳空间内对生物样本细胞进行固定,同时计时器与固定液管的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器开始计时,固定15分钟后,计时器启动蜂鸣器进行蜂鸣;需要将排水板抽出,将容纳空间中的固定液从

排水槽排出；

[0036] 6) 继续将上盒体朝盖板的方向下压；使洗涤液管的第二腔体的铝箔被凸起部戳破；洗涤液进入容纳空间内对生物样本细胞进行洗涤，同时计时器与第二腔体的铝箔形成的通路断开，计时器开始计时，并且启动振动器进行振动下盒体，增强洗涤效果；洗涤5分钟后，计时器启动蜂鸣器进行蜂鸣；再将排水板抽出，将容纳空间中的洗涤液从排水槽排出；

[0037] 7) 继续将上盒体朝盖板的方向下压，渗透液管的铝箔被凸起部戳破；同时计时器与渗透液管的铝箔连接的电线形成的通路断开，计时器开始计时；洗涤液进入容纳空间内对生物样本细胞进行渗透，渗透5分钟后，蜂鸣器进行蜂鸣；再将排水板抽出，将容纳空间中的渗透液从排水槽排出；

[0038] 8) 继续将上盒体朝盖板的方向下压，使洗涤液管的第三腔体的铝箔被凸起部戳破，同时计时器与第三腔体的铝箔连接的电线形成的通路断开，计时器开始计时；洗涤液进入容纳空间内对生物样本细胞进行洗涤，洗涤5分钟后，蜂鸣器进行蜂鸣；再将排水板抽出，将容纳空间中的洗涤液从排水槽排出；

[0039] 9) 继续将上盒体朝盖板的方向下压，使封闭液管的铝箔被凸起部戳破；同时计时器32与封闭液管的铝箔连接的电线形成的通路断开，计时器开始计时；封闭液进入容纳空间内对生物样本细胞进行封闭，5分钟后，蜂鸣器进行蜂鸣；再将排水板抽出，将容纳空间中的封闭液从排水槽排出；再将上盒体朝盖板的方向下压，使洗涤液管的第四腔体的铝箔被凸起部戳破；同时计时器与第四腔体的铝箔连接的电线形成的通路断开，计时器开始计时；洗涤液进入容纳空间内对生物样本细胞进行洗涤，洗涤5分钟后，蜂鸣器进行蜂鸣；再将排水板抽出，将容纳空间中的洗涤液从排水槽排出；

[0040] 10) 继续将上盒体朝盖板的方向下压，使生物素标记山羊抗兔IgG复合物管的铝箔被凸起部戳破；同时计时器与生物素标记山羊抗兔IgG复合物管的铝箔连接的电线形成的通路断开，计时器开始计时；生物素标记山羊抗兔IgG复合物进入容纳空间与生物样本细胞在常温下共孵育1小时后，蜂鸣器进行蜂鸣；再将上盒体朝盖板的方向下压，使洗涤液管的第五腔体的铝箔被凸起部戳破；同时计时器与第五腔体的铝箔连接的电线形成的通路断开，计时器开始计时；洗涤液进入容纳空间内对生物样本细胞进行洗涤，洗涤5分钟后，蜂鸣器进行蜂鸣；再将排水板抽出，将容纳空间中的洗涤液从排水槽排出；

[0041] 11) 继续将上盒体朝盖板的方向下压，使FA-QDs复合物管的铝箔被凸起部戳破；同时计时器与FA-QDs复合物管的铝箔连接的电线形成的通路断开，计时器开始计时；FA-QDs复合物进入容纳空间与生物样本细胞在常温下共孵育0.5小时后，蜂鸣器进行蜂鸣；继续将上盒体朝盖板的方向下压，使Hank's液管的铝箔被凸起部戳破；同时计时器32与Hank's液管的铝箔连接的电线形成的通路断开，计时器开始计时；Hank's液进入容纳空间内对生物样本细胞进行冲洗脱去背景色10分钟后，蜂鸣器进行蜂鸣；立即将附在过滤膜的生物样本细胞在倒置荧光显微镜下观察荧光信号并通过荧光信号采集系统进行定量分析。

[0042] FA-QDs复合物制备方法如下：

[0043] 1) 用分析天平精密称取0.001gFA溶于10ml的PBS中，用超声仪FA充分溶解，制成FA溶液；用分析天平精密称取0.001gEDC和0.0005gNHS，将EDC和NHS分别溶于10mL甲醇溶液中，然后取上述FA溶液25 μ l放于20ml烧杯内，加入EDC、NHS甲醇溶液。将烧杯放置于35℃水浴中搅拌15分钟，得到叶酸活化酯；

[0044] 2) 取PEG-QDs溶液放入烧杯中,将叶酸活化酯缓慢滴入PEG-QDs溶液中,于25℃水浴搅拌2小时,进行酰胺缩合反应,得到FA-QDs溶液。将反应后的溶液装入分子截留量为8000-14000的超滤器中进行透析,放于双蒸水中动态透析24小时,每半小时换一次水;透析后得到纯化的FA-QDs溶液;

[0045] 3) 将纯化的FA-QDs溶液进行冷冻干燥,得到淡红色的FA-QDs复合物。

[0046] EDC为(1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳酰二亚胺盐酸盐)。

[0047] 针对上述的肝癌早期诊断试剂盒的用途,用于检测肝癌细胞,具体步骤如下:

[0048] 原理:FA-QDs复合物与生物样本细胞反应后,FA-QDs探针与肝癌细胞结合,并且FA-QDs 与肝癌细胞结合后在荧光信号下,能将肝癌细胞进行显色,更容易地检测出肝癌细胞。

[0049] 洗涤液为TBS清洗液。

[0050] 渗透液为pbs缓冲液。

[0051] 固定液为4%戊二醛固定液。

[0052] 其中生物样本包括肝组织、血液、血清或血浆。

[0053] 铝箔被凸起部戳破后,计时器接收到断路信号后均开始计时。

[0054] 进一步的,若干管体及洗涤液管均为塑料制成;

[0055] 小牛血清白蛋白管、洗涤液管、固定液管、渗透液管、封闭液管、生物素标记山羊抗兔 IgG复合物管、FA-QDs复合物管、Hank's液管的长度依次缩短。

[0056] 原理:FA-QDs复合物与生物样本细胞反应后,FA-QDs探针与肝癌细胞结合,并且FA-QDs 与肝癌细胞结合后在荧光信号下,能将肝癌细胞进行显色,通过荧光显微镜,能清楚观察到,肝癌细胞被FA-QDs复合物特异性识别,呈现橘红色荧光,相对其他检测肝癌细胞的探针更容易地检测出肝癌细胞。

[0057] 由于采用了上述技术方案,本发明具有以下有益效果:肝癌早期诊断试剂盒使用了多种不同的试剂放入管体并且在使用洗涤液管在完成工作步骤之后进行洗涤,使用人员只需对肝癌早期诊断试剂盒进行按压就能完成对肝癌细胞的检测,极大方便了检测人员;并且若干管体活动收容于若干试剂管孔内及下盒体与上盒体可拆卸的固定,可以对试剂盒可以进行重复利用;将生物样本放入过滤膜进行密封培育,能及时将废液排出,保证生物样本细胞的培育;本肝癌早期诊断试剂盒能够作为一种多模式的靶向荧光探针应用到肝癌细胞的标记、成像,通过对肝癌细胞的标记、示踪,相对现有的肝癌检测诊断盒具有更高的准确性。

【附图说明】

[0058] 图1是本发明一种肝癌早期诊断试剂盒的结构示意图。

[0059] 图2是本发明一种肝癌早期诊断试剂盒的结构示意图。

[0060] 图3是本发明一种肝癌早期诊断试剂盒的洗涤液管的结构示意图。

[0061] 图4是本发明一种肝癌早期诊断试剂盒的工作模块的结构示意图。

[0062] 图5是本发明一种肝癌早期诊断试剂盒的上盒体结构的结构示意图。

[0063] 图6是本发明一种肝癌早期诊断试剂盒的下盒体结构的结构示意图。

[0064] 图7是本发明一种肝癌早期诊断试剂盒的下盒体结构的结构示意图。

[0065] 图8是本发明一种肝癌早期诊断试剂盒的结构示意图。

[0066] 主要元件符号说明

[0067]

上箱体结构1	下箱体结构2	工作模块 3
上箱体11	试剂管孔12	孔板13
伸缩柱14	盖板15	管体16
洗涤液管17	小牛血清白蛋白管101	固定液管102
渗透液管103	封闭液管104	生物素标记山羊抗兔IgG复合物管105
FA-QDs复合物管106	Hank's液管107	第一腔体171
第二腔体172	第三腔体173	第四腔体174
第五腔体175	凸起部151	下料孔152
下箱体21	过滤膜22	排水槽23
排水板24	振动器25	容纳空间26
插片27	插槽153	显示屏31
计时器32	蜂鸣器33	电源34
易撕铝膜5	铝箔4	

【具体实施方式】

[0068] 下面将结合本发明实施例中的附图,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的一部分实施例,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作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。

[0069] 需要说明,本发明实施例中所有方向性指示(诸如上、下、左、右、前、后……)仅用于解释在某一特定姿态(如附图所示)下各部件之间的相对位置关系、运动情况等,如果该特定姿态发生改变时,则该方向性指示也相应地随之改变。

[0070] 另外,在本发明中涉及“第一”、“第二”等的描述仅用于描述目的,而不能理解为指示或暗示其相对重要性或者隐含指明所指示的技术特征的数量。由此,限定有“第一”、“第二”的特征可以明示或者隐含地包括至少一个该特征。另外,全文中出现的“和/或”的含义为,包括三个并列的方案,以“A和/或B为例”,包括A方案,或B方案,或A和B同时满足的方案。另外,各个实施例之间的技术方案可以相互结合,但是必须是以本领域普通技术人员能够实现为基础,当技术方案的结合出现相互矛盾或无法实现时应当认为这种技术方案的结合不存在,也不在本发明要求的保护范围之内。

[0071] 实施例

[0072] 请参阅图1-8,一种肝癌早期诊断试剂盒,包括有上盒体结构1、下盒体结构2及工作模块3;

[0073] 上盒体结构1包括有上盒体11、若干试剂管孔12、若干孔板13、伸缩柱14、盖板15、若干管体16、洗涤液管17;

[0074] 若干管体16及洗涤液管17均为伸缩管;

[0075] 若干管体16活动收容于若干试剂管孔12内;

[0076] 若干管体16为两端密封的结构,两端均为铝箔4进行密封;

[0077] 其中一管体16装有小牛血清白蛋白为小牛血清白蛋白管101;

[0078] 其中一管体16装有固定液为固定液管102;

[0079] 其中一管体16装有渗透液为渗透液管103;

[0080] 其中一管体16装有封闭液为封闭液管104;

[0081] 其中一管体16装有生物素标记山羊抗兔IgG复合物为生物素标记山羊抗兔IgG复合物管 105;

[0082] 其中一管体16装有FA-QDs复合物为FA-QDs复合物管106;

[0083] 其中一管体16装有Hank's液为Hank's液管107;

[0084] 请参阅图3,洗涤液管17包括有第一腔体171、第二腔体172、第三腔体173、第四腔体 174及第五腔体175,第一腔体171、第二腔体172、第三腔体173、第四腔体174及第五腔体175内部均装有洗涤液,并且两端均通过铝箔4进行密封;通过铝箔4将第一腔体171、第二腔体172、第三腔体173、第四腔体174及第五腔体175依次焊接在一起;

[0085] 若干试剂管孔12设置在上盒体11上;小牛血清白蛋白管101、洗涤液管17、固定液管 102、渗透液管103、封闭液管104、生物素标记山羊抗兔IgG复合物管105、FA-QDs复合物管106、Hank's液管107分别活动收容于试剂管孔12内;

[0086] 每一若干试剂管孔12对应设置有一孔板13,在本实施例中,若干孔板13通过与旋转轴连接旋转设置在上盒体上11,孔板13用于密封试剂管孔12;

[0087] 伸缩柱14一端与上盒体11固定连接,另一端与盖板15固定连接;盖板15上设置有与若干试剂管孔对应的若干凸起部151;凸起部151上设置有贯穿凸起部151及盖板15的下料孔152;

[0088] 凸起部151呈空心锥形结构;

[0089] 下盒体结构2可拆卸的固定在上盒体结构1上;

[0090] 下盒体结构2包括有下盒体21、过滤膜22、排水槽23、排水板24、振动器25;下盒体21设置有容纳空间26,过滤膜22设置在容纳空间26内,并将容纳空间26分隔成两部分;排水槽23设置在下盒体21底部,用于将容纳空间26中的液体排出;排水板24活动收容在排水槽23内,用于控制排水槽23的排水;下盒体21上设置有插片27,盖板15上设置有与插片27对应的插槽153,下盒体21通过插片27插入插槽153内与上盒体11可拆卸的固定。

[0091] 工作模块3安装于上盒体11上,工作模块包括有显示屏31、计时器32、蜂鸣器33、电源34;

[0092] 请参阅图4,电源34均与显示屏31、计时器32、蜂鸣器33、及振动器25连接;

[0093] 计时器32分别与蜂鸣器33及显示屏31连接;

[0094] 计时器32分别通过电线与若干管体16及洗涤液管17上的铝箔4连接并形成通路,

铝箔 4 起到连接电机及计时器 32 的作用,铝箔 4 一旦被戳破,计时器 32 分别通过电线与若干管体 16 及洗涤液管 17 上的铝箔 4 形成断路,计时器 32 受到断路信号后开始计时,及时结束后,计时器 32 启动蜂鸣器 33 进行蜂鸣。

[0095] 计时器 32 型号为 OHR-B200 计时器。

[0096] 针对上述的肝癌早期诊断试剂盒的用途,用于检测肝癌细胞,具体步骤如下:

[0097] 1) 先将小牛血清白蛋白管 101、固定液管 102、渗透液管 103、封闭液管 104、生物素标记山羊抗兔 IgG 复合物管 105、FA-QDs 复合物管 106、Hank's 液管 107 及洗涤液管 17 分别装入试剂管孔 12,再旋转对应的孔板 13,将试剂管孔 12 盖住,小牛血清白蛋白管 101、固定液管 102、渗透液管 103、封闭液管 104、生物素标记山羊抗兔 IgG 复合物管 105、FA-QDs 复合物管 106、Hank's 液管 107 及洗涤液管 17 相对凸起部 151 的一端露出上盒体 11 外;

[0098] 2) 将生物样本放入下盒体 21 中的过滤膜 22 上,将排水板 24 对排水槽 23 进行密封;然后将下盒体 21 的插片 27 插入插槽 153 内,将上盒体 11 与下盒体 21 进行固定;

[0099] 3) 将上盒体 11 朝盖板 15 的方向下压;上盒体 11 沿着伸缩柱 14 向盖板 15 的方向移动;小牛血清白蛋白管 101 的铝箔最先被凸起部 151 戳破;小牛血清白蛋白从凸起部 151 的下料孔 152 进入容纳空间 26 内对生物样本细胞进行培养,同时由于小牛血清白蛋白管 101 的铝箔被戳破,计时器 32 与小牛血清白蛋白管 101 的铝箔形成的通路变为断路,计时器 32 开始计时并且在显示屏 31 上显示时间;经过 24 小时的培养后,计时器 32 启动蜂鸣器 33 进行蜂鸣;将排水板 24 抽出,将容纳空间 26 中的液体从排水槽 23 排出,得到生物样本细胞;

[0100] 4) 将容纳空间 26 中的液体从排水槽 23 排干净后,将排水槽 23 进行密封,继续将上盒体 11 朝盖板 15 的方向下压;使洗涤液管 17 的第一腔体 171 的铝箔被凸起部 151 戳破;洗涤液进入容纳空间 26 内对生物样本细胞进行洗涤,同时计时器 32 与第一腔体 171 的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器 32 开始计时,并且启动振动器 25 进行振动下盒体 21,增强洗涤效果;洗涤 5 分钟后,计时器 32 启动蜂鸣器 33 进行蜂鸣;再将排水板 24 抽出,将容纳空间 26 中的洗涤液从排水槽 23 排出;

[0101] 5) 将容纳空间 26 中的洗涤液从排水槽 23 排干净后,将排水槽 23 进行密封,继续将上盒体 11 朝盖板 15 的方向下压;固定液管 102 的铝箔被凸起部 151 戳破;固定液进入容纳空间 26 内对生物样本细胞进行固定,同时计时器 32 与固定液管 102 的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器 32 开始计时,固定 15 分钟后,计时器 32 启动蜂鸣器 33 进行蜂鸣;需要将排水板 24 抽出,将容纳空间 26 中的固定液从排水槽 23 排出;

[0102] 6) 继续将上盒体 11 朝盖板 15 的方向下压;使洗涤液管 17 的第二腔体 172 的铝箔被凸起部 151 戳破;洗涤液进入容纳空间 26 内对生物样本细胞进行洗涤,同时计时器 32 与第二腔体 172 的铝箔形成的通路断开,计时器 32 开始计时,并且启动振动器 25 进行振动下盒体 21,增强洗涤效果;洗涤 5 分钟后,计时器 32 启动蜂鸣器 33 进行蜂鸣;再将排水板 24 抽出,将容纳空间 26 中的洗涤液从排水槽 23 排出;

[0103] 7) 继续将上盒体 11 朝盖板 15 的方向下压,渗透液管 103 的铝箔被凸起部 151 戳破;同时计时器 32 与渗透液管 103 的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器 32 开始计时;洗涤液进入容纳空间 26 内对生物样本细胞进行渗透,渗透 5 分钟后,蜂鸣器 33 进行蜂鸣;再将排水板 24 抽出,将容纳空间 26 中的渗透液从排水槽 23 排出;

[0104] 8) 继续将上盒体 11 朝盖板 15 的方向下压,使洗涤液管 17 的第三腔体 173 的铝箔被

凸起部151戳破,同时计时器32与的第三腔体173的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器 32开始计时;洗涤液进入容纳空间26内对生物样本细胞进行洗涤,洗涤5分钟后,蜂鸣器33进行蜂鸣;再将排水板24抽出,将容纳空间26中的洗涤液从排水槽23排出;

[0105] 9) 继续将上盒体11朝盖板15的方向下压,使封闭液管104的铝箔被凸起部151戳破;同时计时器32与封闭液管104的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器32开始计时;封闭液进入容纳空间26内对生物样本细胞进行封闭,5分钟后,蜂鸣器33进行蜂鸣;再将排水板24抽出,将容纳空间26中的封闭液从排水槽23排出;再将上盒体11朝盖板15的方向下压,使洗涤液管17的第四腔体174的铝箔被凸起部151戳破;同时计时器32与第四腔体 174的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器32开始计时;洗涤液进入容纳空间26内对生物样本细胞进行洗涤,洗涤5分钟后,蜂鸣器33进行蜂鸣;再将排水板24抽出,将容纳空间26中的洗涤液从排水槽23排出;

[0106] 10) 继续将上盒体11朝盖板15的方向下压,使生物素标记山羊抗兔IgG复合物管105 的铝箔被凸起部151戳破;同时计时器32与生物素标记山羊抗兔IgG复合物管105的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器32开始计时;生物素标记山羊抗兔IgG复合物进入容纳空间26与生物样本细胞在常温下共孵育1小时后,蜂鸣器33进行蜂鸣;再将上盒体11朝盖板 15的方向下压,使洗涤液管17的第五腔体175的铝箔被凸起部151戳破;同时计时器32与第五腔体175的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器32开始计时;洗涤液进入容纳空间26内对生物样本细胞进行洗涤,洗涤5分钟后,蜂鸣器33进行蜂鸣;再将排水板24抽出,将容纳空间26中的洗涤液从排水槽23排出;

[0107] 11) 继续将上盒体11朝盖板15的方向下压,使FA-QDs复合物管106的铝箔被凸起部151戳破;同时计时器32与FA-QDs复合物管106的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器32开始计时;FA-QDs复合物进入容纳空间26与生物样本细胞在常温下共孵育0.5小时后,蜂鸣器33进行蜂鸣;继续将上盒体11朝盖板15的方向下压,使Hank's液管107的铝箔被凸起部151戳破;同时计时器32与Hank's液管107的铝箔连接的电线形成的通路断开,计时器32开始计时;Hank's液进入容纳空间26内对生物样本细胞进行冲洗脱去背景色10分钟后,蜂鸣器33进行蜂鸣;立即将附在过滤膜22的生物样本细胞在倒置荧光显微镜下观察荧光信号并通过荧光信号采集系统进行定量分析。

[0108] FA-QDs复合物制备方法如下:

[0109] 1) 用分析天平精密称取0.001gFA溶于10ml的PBS中,用超声仪FA充分溶解,制成FA溶液;用分析天平精密称取0.001gEDC和0.0005gNHS,将EDC和NHS分别溶于10mL甲醇溶液中,然后取上述FA溶液25 μ l放于20ml烧杯内,加入EDC、NHS甲醇溶液。将烧杯放置于 35℃水浴中搅拌15分钟,得到叶酸活化酯;

[0110] 2) 取PEG-QDs溶液放入烧杯中,将叶酸活化酯缓慢滴入PEG-QDs溶液中,于25℃水浴搅拌2小时,进行酰胺缩合反应,得到FA-QDs溶液。将反应后的溶液装入分子截留量为8000-14000的超滤器中进行透析,放于双蒸水中动态透析24小时,每半小时换一次水;透析后得到纯化的FA-QDs溶液;

[0111] 3) 将纯化的FA-QDs溶液进行冷冻干燥,得到淡红色的FA-QDs复合物。

[0112] EDC为(1-乙基-(3-二甲基氨基丙基) 碳酰二亚胺盐酸盐)。

[0113] 原理:FA-QDs复合物与生物样本细胞反应后,FA-QDs探针与肝癌细胞结合,并且

FA-QDs 与肝癌细胞结合后在荧光信号下,能将肝癌细胞进行显色,更容易地检测出肝癌细胞。

[0114] 在本实施例中,洗涤液为TBS清洗液。

[0115] 在本实施例中,渗透液为pbs缓冲液。

[0116] 在本实施例中,固定液为4%戊二醛固定液。

[0117] 在本实施例中,其中生物样本包括肝组织、血液、血清或血浆。

[0118] 在本实施例中,铝箔被凸起部151戳破后,计时器32接收到断路信号后均开始计时。

[0119] 在本实施例中,计时器32驱动蜂鸣器33进行蜂鸣的时间均为预先在计时器32设定好的时间。

[0120] 在本实施例中,过滤膜22为醋酸纤维膜或者醋酸纤维素膜

[0121] 原理:FA-QDs复合物与生物样本细胞反应后,FA-QDs探针与肝癌细胞结合,并且FA-QDs 与肝癌细胞结合后在荧光信号下,能将肝癌细胞进行显色,更容易地检测出肝癌细胞。

[0122] 在本实施例中,洗涤液为TBS清洗液。

[0123] 在本实施例中,渗透液为pbs缓冲液。

[0124] 在本实施例中,固定液为4%戊二醛固定液。

[0125] 在本实施例中,其中生物样本包括肝组织、血液、血清或血浆。

[0126] 在本实施例中,凸起部151为绝缘材料制成,例如塑料。

[0127] 在本实施例中,伸缩柱14为淄博朗达复合材料有限公司生产的型号为:6009的碳纤维伸缩管。伸缩柱14在肝癌试剂盒未使用的时候处于拉伸的状态。

[0128] 在本实施例中,小牛血清白蛋白管101、第一腔体171、固定液管102、第二腔体172、渗透液管103、第三腔体173、封闭液管104及第四腔体174、生物素标记山羊抗兔IgG复合物管105、第五腔体175、FA-QDs复合物管106及Hank's液管107相对凸起部151的一端露出上盒体11出的长度依次递减;

[0129] 请参阅图8,在本实施例中,上盒体结构1及下盒体结构2之间设置有易撕铝膜5,易撕铝膜5通过胶水与上盒体结构1及下盒体结构2连接;易撕铝膜5用于将上盒体结构1及下盒体结构2之间的管体16及洗涤液管17围住,防止管体16及洗涤液管17在未使用之前受到污染或者受到外力下压使管体16及洗涤液管17中的试剂流出、损坏,在需要使用肝癌早期诊断试剂盒之前将易撕铝膜5撕开即可漏出管体16及洗涤液管17。

[0130] 实验例

[0131] 在临床实际样本中,选取100例肝癌患者血液和100例无病人员血液使用该试剂盒检测后表明,92例肝癌患者血液中发现肝癌细胞,而在无病人员的血液中未发现肝癌细胞。

[0132]

实际样本	病理诊断	每人抽取的血量 /ml	肝癌细胞数目/ 个
100 例肝癌患者 血液	肝癌	1	2-30
100 例无病人员 的血液	无病	1	0

[0133] 表1临床实际样本的肝癌细胞检测结果

[0134] 由表1可知,本发明一种肝癌早期诊断试剂盒,对肝癌患者的肝癌细胞检出率为92%,从而可用于早期肝癌的检测。本发明检测肝癌结果为阳性后,可以进一步的采用其他技术手段对肝癌进行确诊。

[0135] 虽然,上文中已经用一般性说明及具体实施方案对本发明作了详尽的描述,但在本发明基础上,可以对之作一些修改或改进,这对本领域技术人员而言是显而易见的。因此,在不偏离本发明精神的基础上所做的这些修改或改进,均属于本发明要求保护的范围。

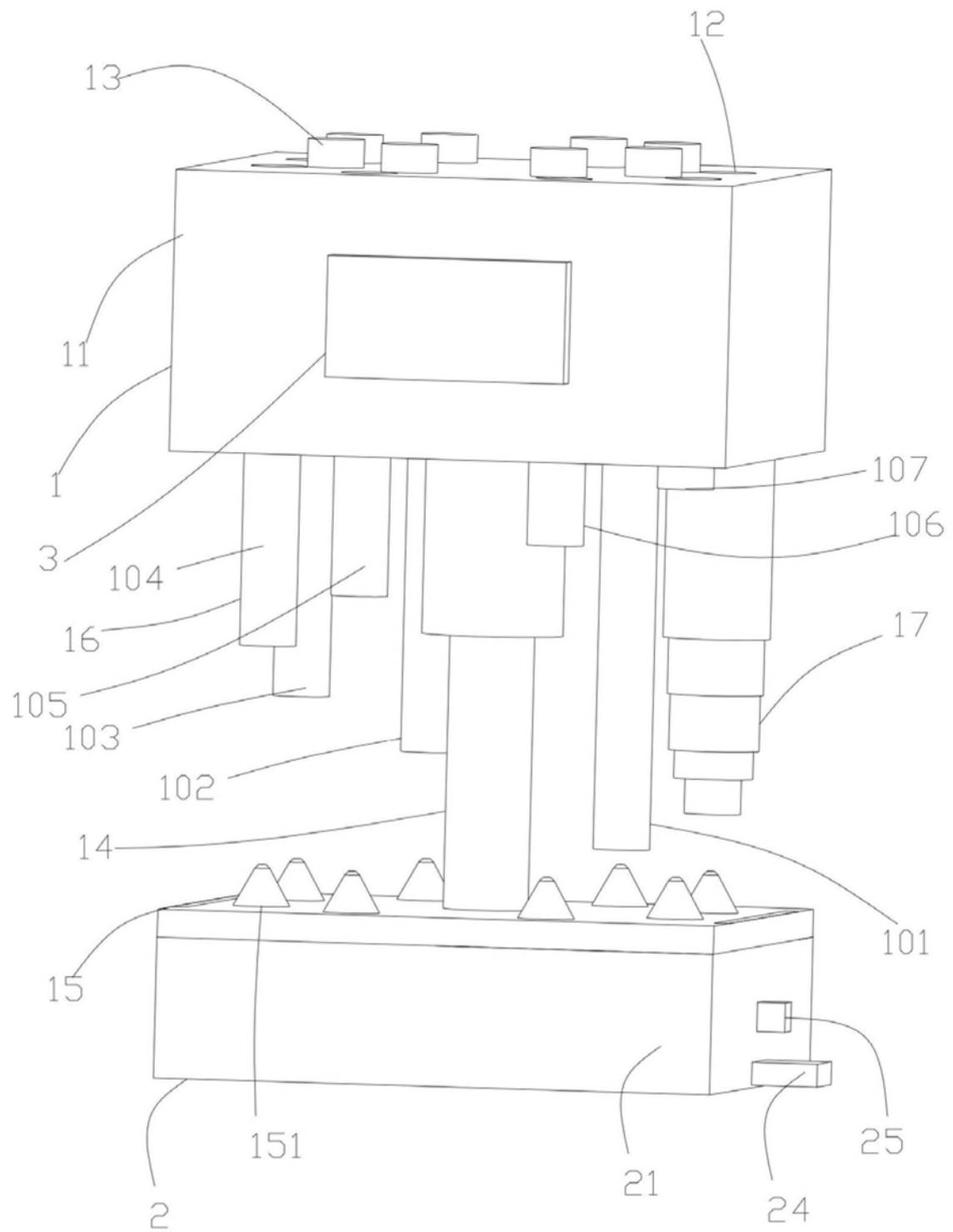


图1

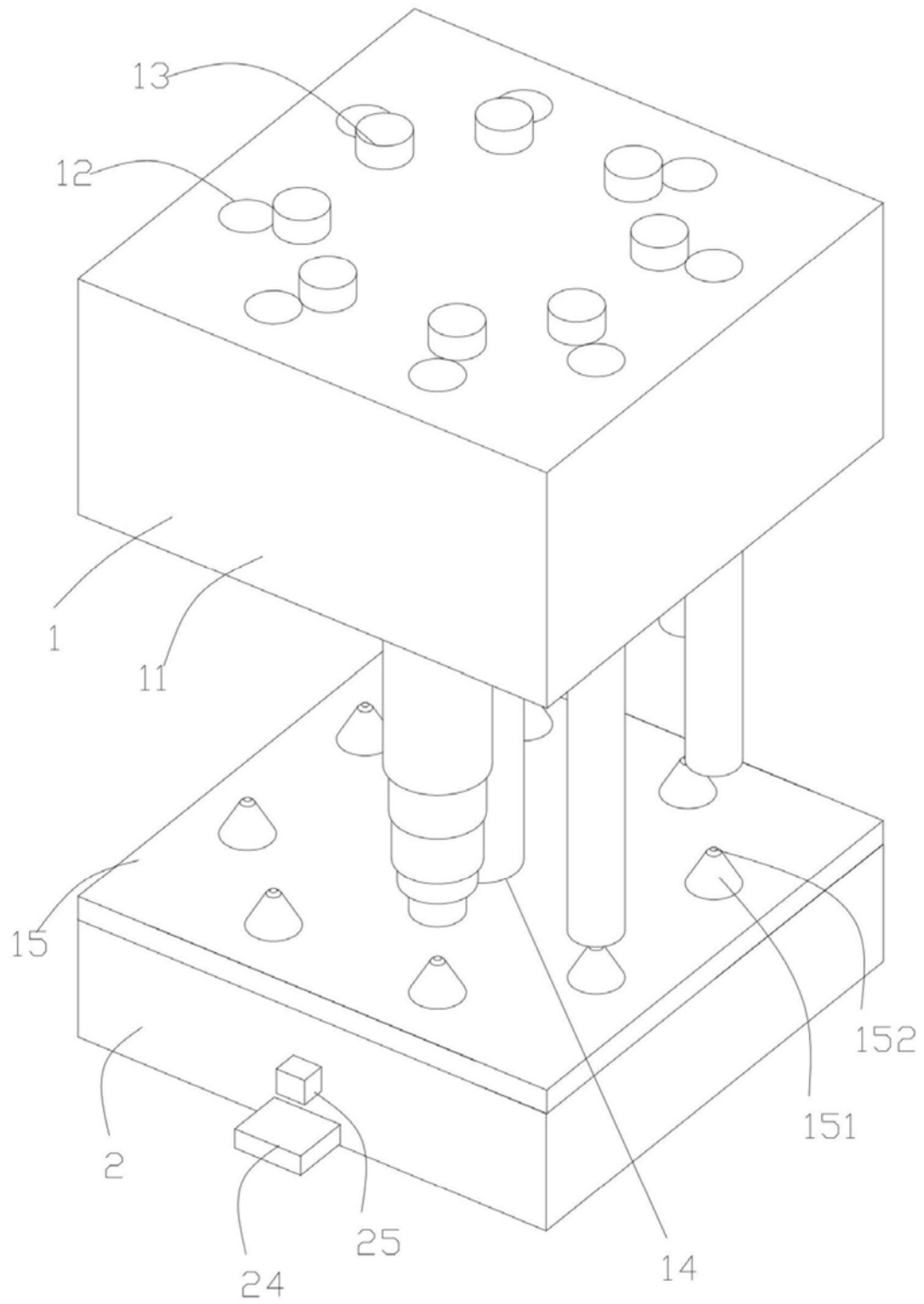


图2

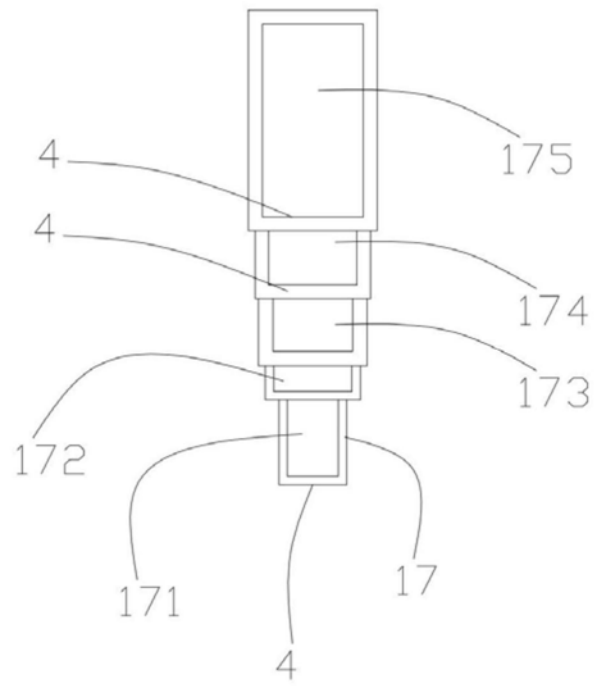


图3

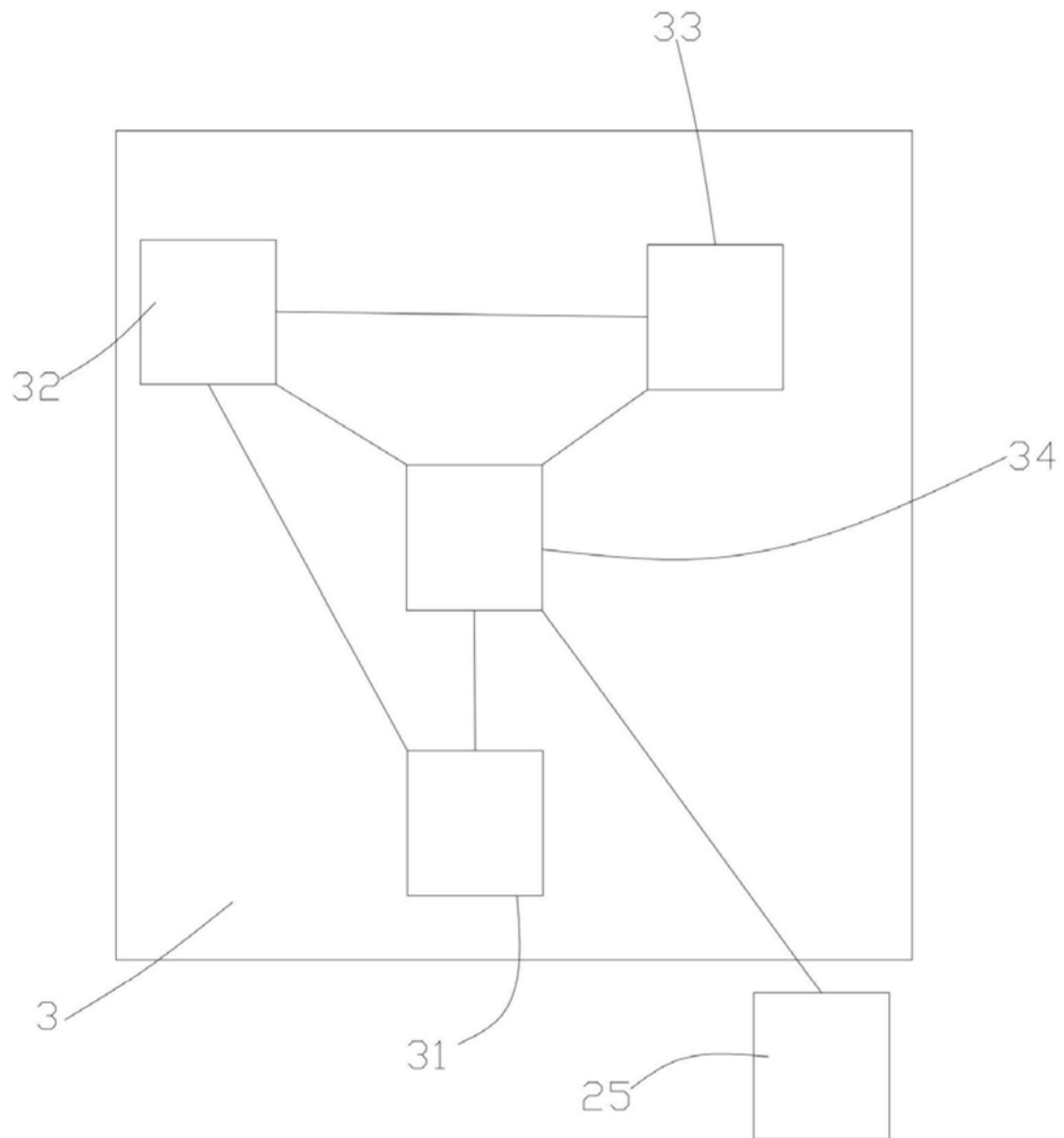


图4

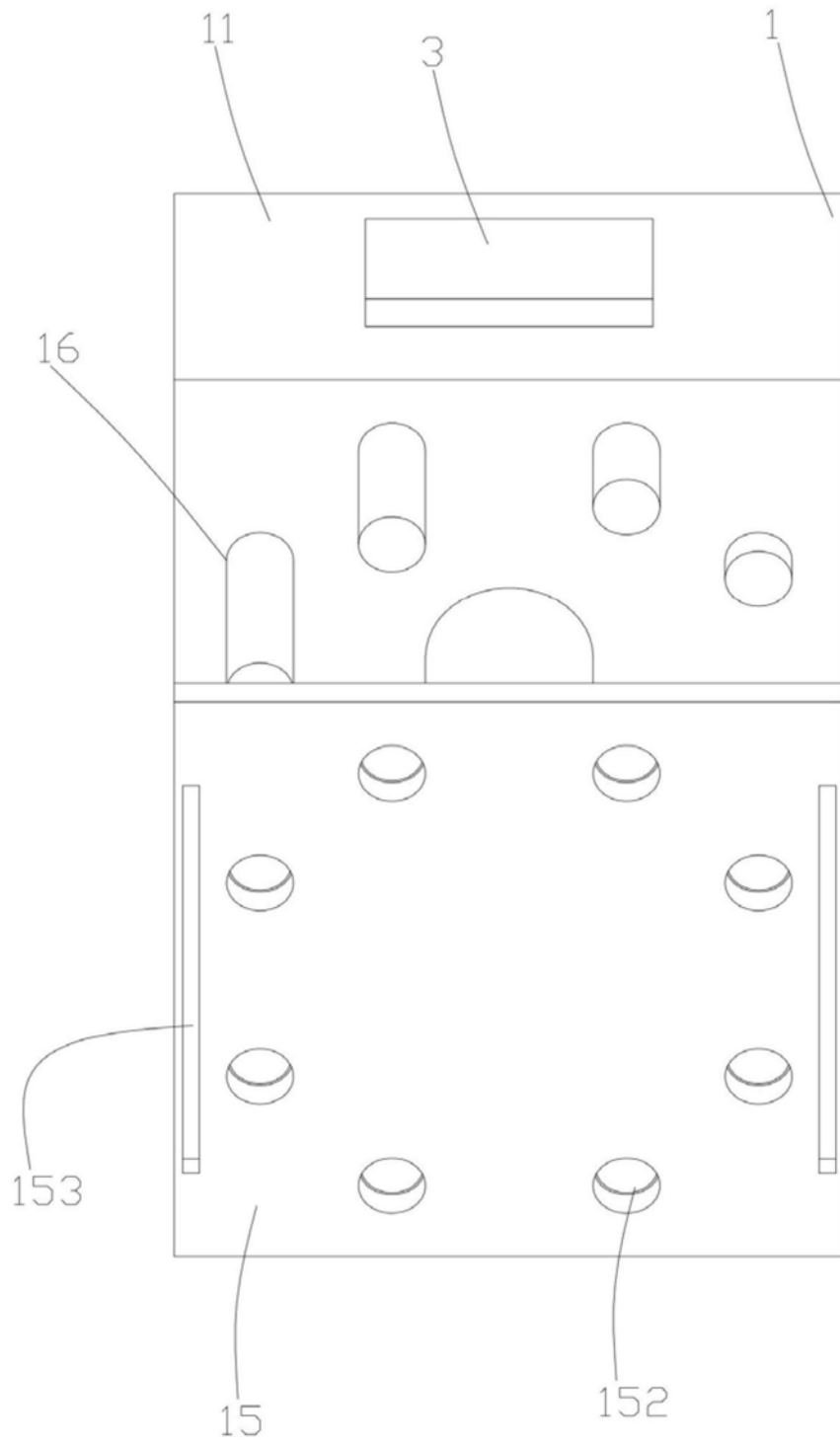


图5

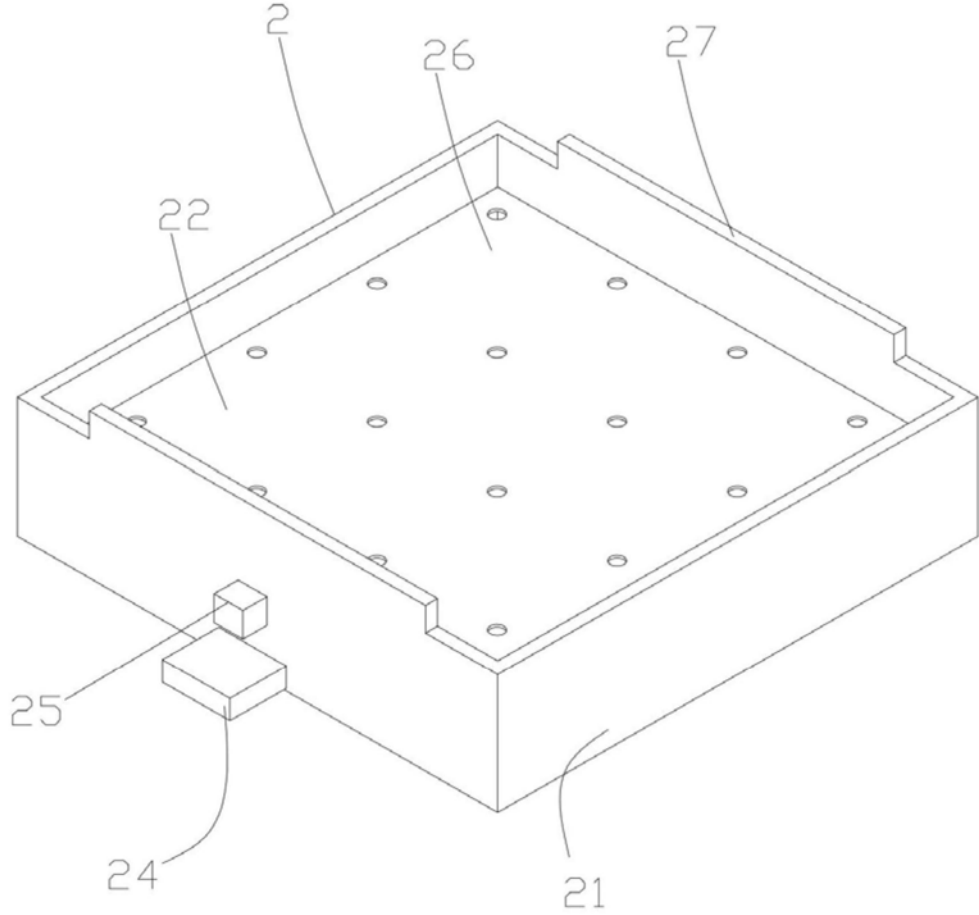


图6

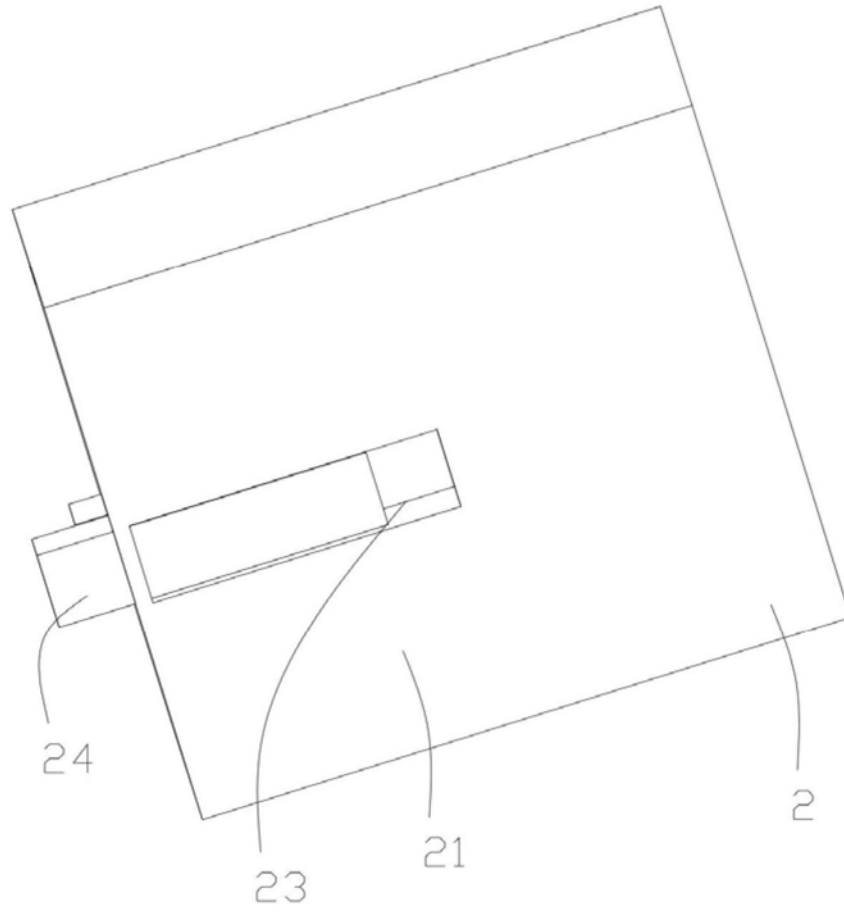


图7

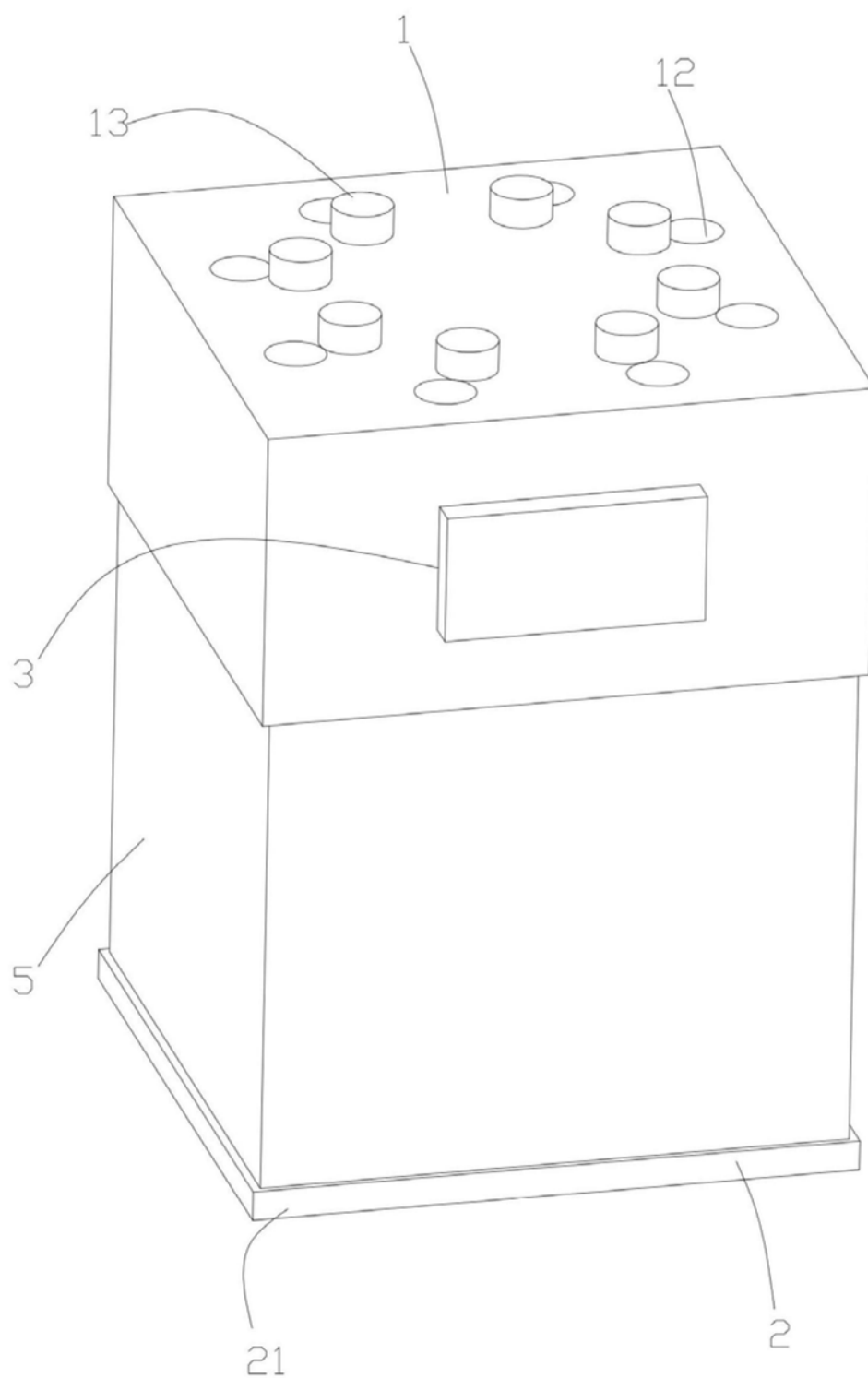


图8

专利名称(译)	一种肝癌早期诊断试剂盒		
公开(公告)号	CN110286110A	公开(公告)日	2019-09-27
申请号	CN201910687685.4	申请日	2019-07-29
[标]申请(专利权)人(译)	邓鑫 赵晓芳		
申请(专利权)人(译)	邓鑫 赵晓芳		
当前申请(专利权)人(译)	邓鑫 赵晓芳		
[标]发明人	邓鑫 赵晓芳		
发明人	邓鑫 赵晓芳		
IPC分类号	G01N21/64 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/533 G01N33/574 G01N33/58		
CPC分类号	G01N21/6458 G01N33/5005 G01N33/5302 G01N33/533 G01N33/57438 G01N33/582		
代理人(译)	贺丽娟		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于生物医药领域，具体涉及一种肝癌早期诊断试剂盒，包括有包括有上盒体结构、下盒体结构及工作模块；上盒体结构包括有上盒体、若干试剂管孔、若干孔板、伸缩柱、盖板、若干管体、洗涤液管；若干管体活动收容于若干试剂管孔内；其中为小牛血清白蛋白管；其中为固定液管；其中一管体渗透液管；其中一管体为封闭液管；其中一管体为生物素标记山羊抗兔IgG复合物管，其中一管体装为FA-QDs复合物管；其中一管为Hank's液管。本肝癌早期诊断试剂盒能够作为一种多模式的靶向荧光探针应用到肝癌细胞的标记、成像，通过对肝癌细胞的标记、示踪，有望实现对肝癌发生、发展的准确诊断。

