

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200610014168.3

[51] Int. Cl.  
G01N 33/544 (2006.01)  
G01N 33/532 (2006.01)  
G01N 33/52 (2006.01)

[43] 公开日 2006年11月22日

[11] 公开号 CN 1866016A

[22] 申请日 2006.6.8

[21] 申请号 200610014168.3

[71] 申请人 中国人民解放军军事医学科学院卫生  
学环境医学研究所

地址 300050 天津市和平区大理道1号

[72] 发明人 高志贤 孙思明

[74] 专利代理机构 天津市北洋有限责任专利代理事  
务所

代理人 陆 艺

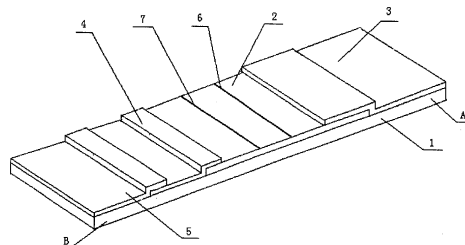
权利要求书2页 说明书6页 附图1页

## [54] 发明名称

检测雌二醇的胶体金免疫试纸及其制备方法

## [57] 摘要

本发明公开了检测雌二醇的胶体金免疫试纸及其制备方法，检测雌二醇的胶体金免疫试纸包括基板，在基板的中部设置有硝酸纤维膜，吸水纸的一端与基板的A端对齐设置，吸水纸的另一端搭盖在硝酸纤维膜的近A端的表面上，玻璃纤维膜的近B端覆盖在基板的近中部，玻璃纤维膜的近A端搭盖在硝酸纤维膜的近B端的表面上，加样纸的一端与基板的B端对齐设置，加样纸的另一端搭盖在玻璃纤维膜的近B端表面上，玻璃纤维膜浸泡于标记雌二醇抗体的胶体金探针中，取出，干燥；硝酸纤维素膜上设置有雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体，使用本发明的一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸，操作简便快速、成本低、携带方便、非专业人员也能操作及可进行现场检测。



1. 一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸, 包括基板, 其特征在所述基板的中部设置有硝酸纤维膜, 吸水纸的一端与所述基板的 A 端对齐设置, 所述吸水纸的另一端搭盖在所述硝酸纤维膜的近 A 端的表面上, 玻璃纤维膜的近 B 端覆盖在基板的近中部, 所述玻璃纤维膜的近 A 端搭盖在所述硝酸纤维膜的近 B 端的表面上, 加样纸的一端与所述基板的 B 端对齐设置, 所述加样纸的另一端搭盖在所述玻璃纤维膜的近 B 端表面上, 所述玻璃纤维膜浸泡于标记雌二醇抗体的胶体金探针中, 取出, 干燥; 所述硝酸纤维素膜上设置有雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体。

2. 根据权利要求 1 所述的一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸, 其特征是所述硝酸纤维素膜上设置的雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体为点膜机喷成的两条线。

3. 根据权利要求 1 所述的一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸, 其特征是所述吸水纸的长度为 25-35mm, 所述硝酸纤维膜的长度为 20-30mm, 所述玻璃纤维膜的长度为 1-10mm, 所述加样纸的长度为 10-20mm。

4. 根据权利要求 1 所述的一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸, 其特征是所述基板的材料为聚氯乙烯。

5. 根据权利要求 3 所述的一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸, 其特征是所述吸水纸的长度为 30mm, 所述硝酸纤维膜的长度为 25mm, 所述玻璃纤维膜的长度为 6mm, 所述加样纸的长度为 15mm。

6. 一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸制备方法, 包括如下步骤:

(1) 胶体金的制备;

(2) 胶体金探针的标记: ①将雌二醇抗体用 0.005mol/LNaCl 水溶液透析 8-12 小时, 离心除去蛋白沉淀, 调至 0.4-0.6mg/ml 水溶液; ②取胶体金 100 ml, 调 pH 为 8.2-9.0, 磁力搅拌下加入 2.4ml 雌二醇抗体溶液, 继续搅拌 5-15 min, 加入牛血清白蛋白, 使其最终质量百分浓度为 1%, 再搅拌 5-15 min, 4000 转/分离心 20-25min, 弃沉淀; ③上清以 10000 转/分离心 50-70min, 弃上清, 沉淀用 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲溶液重新悬浮洗涤 1-3 次, 所述磷酸盐缓冲溶液中含质量百分浓度为 1%的牛血清白蛋白; ④将沉淀用 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲溶液悬浮, 所述磷酸盐缓冲溶液中含质量百分浓度为 1%的牛血清白蛋白, 含质量百分浓度为 0.02%的  $\text{NaN}_3$ , 制成标记雌二醇抗体的胶体金探针, 4℃保存;

(3) 抗原的合成：①取卵清白蛋白 10 毫克，3 毫升水，3 毫升二氧六环，1N 氢氧化钠 0.3 毫升配成卵清白蛋白溶液；②取雌二醇-6-肟 43mg，加入三正丁胺 50  $\mu$ L，二氧六环 4 毫升，冷却到 0-10 $^{\circ}$ C，加入氯甲酸乙酯 15  $\mu$ L，4-10 $^{\circ}$ C 下反应 30 分钟，加入卵清白蛋白溶液，4 $^{\circ}$ C 冰浴搅拌，控制 pH 为 8，反应 5-7 小时，③将反应液加入透析袋，透析 45-50 小时，将透析液调至 pH4.5，冰箱 4 $^{\circ}$ C，放置 4 天，有黄色沉淀出现，离心收集沉淀，冷冻干燥，4 $^{\circ}$ C 冰箱保存，将卵清白蛋白溶于透析液内作参比，用紫外光谱法对雌二醇-6 肟-卵清白蛋白进行定性检验，经紫外测定证明卵清蛋白已与雌二醇衍生物结合成雌二醇与卵清蛋白的偶连物；

(4) 试纸制备：将玻璃纤维膜放入含 1%牛血清白蛋白、1%吐温-20 的磷酸盐缓冲溶液中浸泡 20-40min，浸泡于标记雌二醇抗体的胶体金探针中，真空干燥；在硝酸纤维膜上用点膜机将雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体喷成两条线，分别为检测线和对照线，经真空干燥后，用 1%牛血清白蛋白、0.01mol/L 磷酸盐缓冲溶液封闭 1.5-2.5 小时，以 0.01mol/L 磷酸盐缓冲溶液洗涤，真空干燥，将硝酸纤维膜粘于基板的中部，吸水纸的一端与所述基板的 A 端对齐粘接，所述吸水纸的另一端粘接在所述硝酸纤维膜的近 A 端的表面上，玻璃纤维膜的近 B 端粘接在基板的近中部，所述玻璃纤维膜的近 A 端粘接在所述硝酸纤维膜的近 B 端的表面上，加样纸的一端与所述基板的 B 端对齐粘接，所述加样纸的另一端粘接在所述玻璃纤维膜的近 B 端表面上制成一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸。

## 检测雌二醇的胶体金免疫试纸及其制备方法

### 技术领域

本发明涉及一种检测雌二醇的试纸及其制备方法。

### 背景技术

人类对动物内分泌干扰物所造成的环境污染和危害的普遍认知和系统研究还不到十年的历史，但越来越多的研究表明，具有内分泌干扰性的污染物不断富集所造成的污染正通过各种途径给人类和野生生物带来危害，且其已在世界范围内的自然水体，城市污水处理系统及供水系统中被广泛检出。雌二醇（ $17\beta$ -Estradiol）是天然雌激素的重要成分，它可以促进少女性早熟，因此，对食品中尤其是对畜禽产品进行雌二醇检测是很有必要的。目前，雌二醇的测定多采用放射免疫分析、酶联免疫分析或化学发光免疫分析法，但这些方法的操作过程繁琐、时间长，操作人员必须具有一定的专业技术知识才能操作，因此应用范围受限。

### 发明内容

本发明的目的是克服现有技术中的不足，提供一种操作简便快速、成本低、携带方便、非专业人员也能操作及可进行现场检测的检测雌二醇的胶体金免疫试纸。

本发明的第二个目的是提供一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸的制备方法。

本发明的技术方案概述如下：

一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸，包括基板，在所述基板的中部设置有硝酸纤维膜，吸水纸的一端与所述基板的A端对齐设置，所述吸水纸的另一端搭盖在所述硝酸纤维膜的近A端的表面上，玻璃纤维膜的近B端覆盖在基板的近中部，所述玻璃纤维膜的近A端搭盖在所述硝酸纤维膜的近B端的表面上，加样纸的一端与所述基板的B端对齐设置，所述加样纸的另一端搭盖在所述玻璃纤维膜的近B端表面上，所述玻璃纤维膜浸泡于标记雌二醇抗体的胶体金探针中，取出，干燥；所述硝酸纤维素膜上设置有雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体。

所述硝酸纤维素膜上设置的雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体为点膜机喷成的两条线。

所述吸水纸的长度为25-35mm，优选30mm，所述硝酸纤维膜的长度为20-30mm，优选

25mm, 所述玻璃纤维膜的长度为 1-10mm, 优选 6mm, 所述加样纸的长度为 10-20mm, 优选 15mm。

所述基板材料为聚氯乙烯。

一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸制备方法, 包括如下步骤:

(1) 胶体金的制备;

(2) 胶体金探针的标记: ①将雌二醇抗体 0.005mol/L NaCl 水溶液透析 8-12 小时离心除去蛋白沉淀, 调至 0.4-0.6mg/ml 水溶液; ②取胶体金 100 ml, 用 0.2mol/L  $K_2CO_3$  水溶液或 0.2mol/L NaOH 将胶体金溶液调至 pH 为 8.2-9.0, 磁力搅拌下加入 2.4ml 雌二醇抗体溶液, 继续搅拌 5-15 min, 加入牛血清白蛋白, 使其最终质量百分浓度为 1%, 再搅拌 5-15 min, 4000 转/分离心 20-25min, 弃沉淀; ③上清以 10000 转/分离心 50-70min, 弃上清, 沉淀用 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲溶液重新悬浮洗涤 1-3 次, 所述磷酸盐缓冲溶液中含质量百分浓度为 1% 的牛血清白蛋白; ④将沉淀用 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲溶液悬浮, 所述磷酸盐缓冲溶液中含质量百分浓度为 1% 的牛血清白蛋白, 含质量百分浓度为 0.02% 的  $NaN_3$ , 制成标记雌二醇抗体的胶体金探针, 4°C 保存;

(3) 抗原的合成: ①取卵清白蛋白 10 毫克, 3 毫升水, 3 毫升二氧六环, 1N 氢氧化钠 0.3 毫升配成卵清白蛋白溶液; ②取雌二醇-6-肟 43mg, 加入三正丁胺 50  $\mu$ L, 二氧六环 4 毫升, 冷却到 0-10°C, 加入氯甲酸乙酯 15  $\mu$ L, 4-10°C 下反应 30 分钟, 加入卵清白蛋白溶液, 4°C 冰浴搅拌, 控制 pH 为 8, 反应 5-7 小时, ③将反应液加入透析袋, 透析 45-50 小时, 将透析液调至 pH4.5, 冰箱 4°C, 放置 4 天, 有黄色沉淀出现, 离心收集沉淀, 冷冻干燥, 4°C 冰箱保存, 将卵清白蛋白溶于透析液内作参比, 用紫外光谱法对雌二醇-6-肟-卵清白蛋白进行定性检验, 经紫外测定证明卵清蛋白已与雌二醇衍生物结合成雌二醇与卵清蛋白的偶连物;

(4) 试纸制备: 将玻璃纤维膜放入含 1% 牛血清白蛋白、1% 吐温-20 的磷酸盐缓冲溶液中浸泡 20-40min, 浸泡于标记雌二醇抗体的胶体金探针中, 真空干燥; 在硝酸纤维膜上用点膜机将雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体喷成两条线, 分别为检测线和对照线, 经真空干燥后, 用 1% 牛血清白蛋白、0.01mol/L 磷酸盐缓冲溶液封闭 1.5-2.5 小时, 以 0.01mol/L 磷酸盐缓冲溶液洗涤, 真空干燥, 将硝酸纤维膜粘于基板的中部, 吸水纸的一端与所述基板的 A 端对齐粘接, 所述吸水纸的另一端粘接在所述硝酸纤维膜的近 A 端的表面上, 玻璃纤维膜的近 B 端粘接在基板的近中部, 所述玻璃纤维膜的近 A 端粘接在所述硝酸纤维膜的近 B 端的表面上, 加样纸的一端与所述基板的 B 端对齐粘接, 所述加样纸的另

一端粘接在所述玻璃纤维膜的近 B 端表面上制成一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸。

使用本发明的一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸，操作简便快速、成本低、携带方便、非专业人员也能操作及可进行现场检测。

#### 附图说明

图 1 为本发明的结构示意图。

#### 具体实施方式：

下面结合附图和具体实施例对本发明作进一步的说明：

#### 实施例 1

一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸，包括基板 1，在基板的中部设置有硝酸纤维膜 2，吸水纸 3 的一端与基板的 A 端对齐设置，吸水纸的另一端搭盖在所述硝酸纤维膜的近 A 端的表面上，玻璃纤维膜 4 的近 B 端覆盖在基板的近中部，玻璃纤维膜的近 A 端搭盖在硝酸纤维膜的近 B 端的表面上，加样纸 5 的一端与基板的 B 端对齐设置，加样纸的另一端搭盖在玻璃纤维膜的近 B 端表面上，玻璃纤维膜浸泡于标记雌二醇抗体的胶体金探针中，取出，干燥；硝酸纤维素膜上设置有雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体。

硝酸纤维素膜上设置的雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体为点膜机喷成的两条线，检测线 7 和质控线 6。

吸水纸的长度为 25-35mm，优选 30mm，所述硝酸纤维膜的长度为 20-30mm，优选 25mm，所述玻璃纤维膜的长度为 1-10mm，优选 6mm，所述加样纸的长度为 10-20mm，优选 15mm。

所述基板材料为聚氯乙烯。

#### 实施例 2

一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸制备方法，包括如下步骤：

(1) 胶体金的制备：用三蒸水溶解氯金酸，使其终浓度为 0.1g/L，先进行沸水浴，待氯金酸溶液煮沸后，每 100mL 加入质量百分浓度为 1% 的柠檬酸三钠水溶液 2.5mL，再沸水浴下搅拌，直到氯金酸溶液的颜色稳定，继续沸水浴 10min 制成胶体金；

(2) 胶体金探针的标记：①将雌二醇抗体用 0.005mol/L NaCl 水溶液透析 10 小时离心除去蛋白沉淀，调至 0.5mg/ml 水溶液 ②取胶体金 100 ml，用 0.2mol/L  $K_2CO_3$  水溶液将胶体金溶液调至 pH 为 9.0，磁力搅拌下加入 2.4ml 雌二醇抗体溶液，继续搅拌 10min，加入牛血清白蛋白，使其最终质量百分浓度为 1%，再搅拌 10min，4000 转/分离心 20min，弃沉淀；③上清以 10000 转/分离心 60min，弃上清，沉淀用 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲溶液重新悬浮洗涤 21-3 次，所述磷酸盐缓冲溶液中含质量百分浓度为 1% 的牛血清白蛋白；④将沉淀用

0.01mol/L 的磷酸盐缓冲溶液悬浮, 所述磷酸盐缓冲溶液中含质量百分浓度为 1% 的牛血清白蛋白, 含质量百分浓度为 0.02% 的  $\text{NaN}_3$ , 制成标记雌二醇抗体的胶体金探针, 4℃ 保存;

(3) 抗原的合成: ①取卵清白蛋白 10 毫克, 3 毫升水, 3 毫升二氧六环, 1N 氢氧化钠 0.3 毫升配成卵清白蛋白溶液; ②取雌二醇-6-肟 43mg, 加入三正丁胺 50  $\mu\text{L}$ , 二氧六环 4 毫升, 冷却到 0℃, 加入氯甲酸乙酯 15  $\mu\text{L}$ , 4℃ 下反应 30 分钟, 加入卵清白蛋白溶液, 4℃ 冰浴搅拌, 控制 pH 为 8, 反应 6 小时, ③将反应液加入透析袋, 透析 48 小时, 将透析液调至 pH4.5, 冰箱 4℃, 放置 4 天, 有黄色沉淀出现, 离心收集沉淀, 冷冻干燥, 4℃ 冰箱保存, 将卵清白蛋白溶于透析液内作参比, 用紫外光谱法对雌二醇-6 肟-卵清白蛋白进行定性检验, 经紫外测定证明卵清蛋白已与雌二醇衍生物结合成雌二醇与卵清蛋白的偶连物;

(4) 试纸制备: 将玻璃纤维膜放入含 1% 牛血清白蛋白、1% 吐温-20 的磷酸盐缓冲溶液中浸泡 30min, 浸泡于标记雌二醇抗体的胶体金探针中, 真空干燥; 在硝酸纤维膜上用点膜机将雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体喷成两条线, 分别为检测线和对照线, 经真空干燥后, 用 1% 牛血清白蛋白、0.01mol/L 磷酸盐缓冲溶液封闭 1.5 小时, 以 0.01mol/L 磷酸盐缓冲溶液洗涤, 真空干燥, 将硝酸纤维膜粘于基板的中部, 吸水纸的一端与所述基板的 A 端对齐粘接, 所述吸水纸的另一端粘接在所述硝酸纤维膜的近 A 端的表面上, 玻璃纤维膜的近 B 端粘接在基板的近中部, 所述玻璃纤维膜的近 A 端粘接在所述硝酸纤维膜的近 B 端的表面上, 加样纸的一端与所述基板的 B 端对齐粘接, 所述加样纸的另一端粘接在所述玻璃纤维膜的近 B 端表面上制成一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸。

### 实施例 3

一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸制备方法, 包括如下步骤:

(1) 胶体金的制备: 用三蒸水溶解氯金酸, 使其终浓度为 0.1g/L, 先进行沸水浴, 待氯金酸溶液煮沸后, 每 100mL 加入质量百分浓度为 1% 的柠檬酸三钠水溶液 2.5mL, 再沸水浴下搅拌, 直到氯金酸溶液的颜色稳定, 继续沸水浴 10min 制成胶体金;

(2) 胶体金探针的标记: ①将雌二醇抗体用 0.005mol/L NaCl 水溶液透析 8-12 小时离心除去蛋白沉淀, 调至 0.4mg/ml; ②取胶体金 100 ml, 用 0.2mol/L NaOH 将胶体金溶液调至 pH 为 8.2, 磁力搅拌下加入 2.4ml 雌二醇抗体溶液, 继续搅拌 5-15 min, 加入牛血清白蛋白, 使其最终质量百分浓度为 1%, 再搅拌 5-15 min, 4000 转/分离心 25min, 弃沉淀; ③上清以 10000 转/分离心 50-70min, 弃上清, 沉淀用 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲溶液重新悬浮洗涤 1-3 次, 所述磷酸盐缓冲溶液中含质量百分浓度为 1% 的牛血清白蛋白; ④将沉淀用 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲溶液悬浮, 所述磷酸盐缓冲溶液中含质量百分浓度为 1% 的牛血

清白蛋白，含质量百分浓度为 0.02% 的  $\text{NaN}_3$ ，制成标记雌二醇抗体的胶体金探针， $4^\circ\text{C}$  保存；

(3) 抗原的合成：①取卵清白蛋白 10 毫克，3 毫升水，3 毫升二氧六环，1N 氢氧化钠 0.3 毫升配成卵清白蛋白溶液；②取雌二醇-6-肟 43mg，加入三正丁胺  $50\ \mu\text{L}$ ，二氧六环 4 毫升，冷却到  $10^\circ\text{C}$ ，加入氯甲酸乙酯  $15\ \mu\text{L}$ ， $10^\circ\text{C}$  下反应 30 分钟，加入卵清白蛋白溶液， $4^\circ\text{C}$  冰浴搅拌，控制 pH 为 8，反应 5-7 小时，③将反应液加入透析袋，透析 45-50 小时，将透析液调至 pH4.5，冰箱  $4^\circ\text{C}$ ，放置 4 天，有黄色沉淀出现，离心收集沉淀，冷冻干燥， $4^\circ\text{C}$  冰箱保存，将卵清白蛋白溶于透析液内作参比，用紫外光谱法对雌二醇-6 肟-卵清白蛋白进行定性检验，经紫外测定证明卵清蛋白已与雌二醇衍生物结合成雌二醇与卵清蛋白的偶连物；

(4) 试纸制备：将玻璃纤维膜放入含 1% 牛血清白蛋白、1% 吐温-20 的磷酸盐缓冲溶液中浸泡 20-40min，浸泡于标记雌二醇抗体的胶体金探针中，真空干燥；在硝酸纤维膜上用点膜机将雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体喷成两条线，分别为检测线和对照线，经真空干燥后，用 1% 牛血清白蛋白、0.01mol/L 磷酸盐缓冲溶液封闭 2.5 小时，以 0.01mol/L 磷酸盐缓冲溶液洗涤，真空干燥，将硝酸纤维膜粘于基板的中部，吸水纸的一端与所述基板的 A 端对齐粘接，所述吸水纸的另一端粘接在所述硝酸纤维膜的近 A 端的表面上，玻璃纤维膜的近 B 端粘接在基板的近中部，所述玻璃纤维膜的近 A 端粘接在所述硝酸纤维膜的近 B 端的表面上，加样纸的一端与所述基板的 B 端对齐粘接，所述加样纸的另一端粘接在所述玻璃纤维膜的近 B 端表面上制成一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸。

#### 实施例 4

一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸制备方法，包括如下步骤：

(1) 胶体金的制备：用三蒸水溶解氯金酸，使其终浓度为 0.1g/L，先进行沸水浴，待氯金酸溶液煮沸后，每 100mL 加入质量百分浓度为 1% 的柠檬酸三钠水溶液 2.5mL，再沸水浴下搅拌，直到氯金酸溶液的颜色稳定，继续沸水浴 10min 制成胶体金；

(2) 胶体金探针的标记：①将雌二醇抗体用 0.005mol/L 水溶液透析 12 小时离心除去蛋白沉淀，调至 0.6mg/ml 的水溶液；②取胶体金 100 ml，用 0.2mol/L NaOH 将胶体金溶液调至 pH 为 8.2，磁力搅拌下加入 2.4ml 雌二醇抗体溶液，继续搅拌 15 min，加入牛血清白蛋白，使其最终质量百分浓度为 1%，再搅拌 15 min，4000 转/分离心 25min，弃沉淀；③上清以 10000 转/分离心 70min，弃上清，沉淀用 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲溶液重新悬浮洗涤 1 次，所述磷酸盐缓冲溶液中含质量百分浓度为 1% 的牛血清白蛋白；④将沉淀用 0.01mol/L 的磷酸盐缓冲溶液悬浮，所述磷酸盐缓冲溶液中含质量百分浓度为 1% 的牛血清

白蛋白，含质量百分浓度为 0.02% 的  $\text{NaN}_3$ ，制成标记雌二醇抗体的胶体金探针， $4^\circ\text{C}$  保存；

(3) 抗原的合成：①取卵清白蛋白 10 毫克，3 毫升水，3 毫升二氧六环，1N 氢氧化钠 0.3 毫升配成卵清白蛋白溶液；②取雌二醇-6-肟 43mg，加入三正丁胺  $50\ \mu\text{L}$ ，二氧六环 4 毫升，冷却到  $5^\circ\text{C}$ ，加入氯甲酸乙酯  $15\ \mu\text{L}$ ， $10^\circ\text{C}$  下反应 30 分钟，加入卵清白蛋白溶液， $4^\circ\text{C}$  冰浴搅拌，控制 pH 为 8，反应 7 小时，③将反应液加入透析袋，透析 50 小时，将透析液调至 pH4.5，冰箱  $4^\circ\text{C}$ ，放置 4 天，有黄色沉淀出现，离心收集沉淀，冷冻干燥， $4^\circ\text{C}$  冰箱保存，将卵清白蛋白溶于透析液内作参比，用紫外光谱法对雌二醇-6 肟-卵清白蛋白进行定性检验，经紫外测定证明卵清蛋白已与雌二醇衍生物结合成雌二醇与卵清蛋白的偶连物；

(4) 试纸制备：将玻璃纤维膜放入含 1%牛血清白蛋白、1%吐温-20 的磷酸盐缓冲溶液中浸泡 40min，浸泡于标记雌二醇抗体的胶体金探针中，真空干燥；在硝酸纤维膜上用点膜机将雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体喷成两条线，分别为检测线和对照线，经真空干燥后，用 1%牛血清白蛋白、0.01mol/L 磷酸盐缓冲溶液封闭 2.5 小时，以 0.01mol/L 磷酸盐缓冲溶液洗涤，真空干燥，将硝酸纤维膜粘于基板的中部，吸水纸的一端与所述基板的 A 端对齐粘接，所述吸水纸的另一端粘接在所述硝酸纤维膜的近 A 端的表面上，玻璃纤维膜的近 B 端粘接在基板的近中部，所述玻璃纤维膜的近 A 端粘接在所述硝酸纤维膜的近 B 端的表面上，加样纸的一端与所述基板的 B 端对齐粘接，所述加样纸的另一端粘接在所述玻璃纤维膜的近 B 端表面上制成一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸。

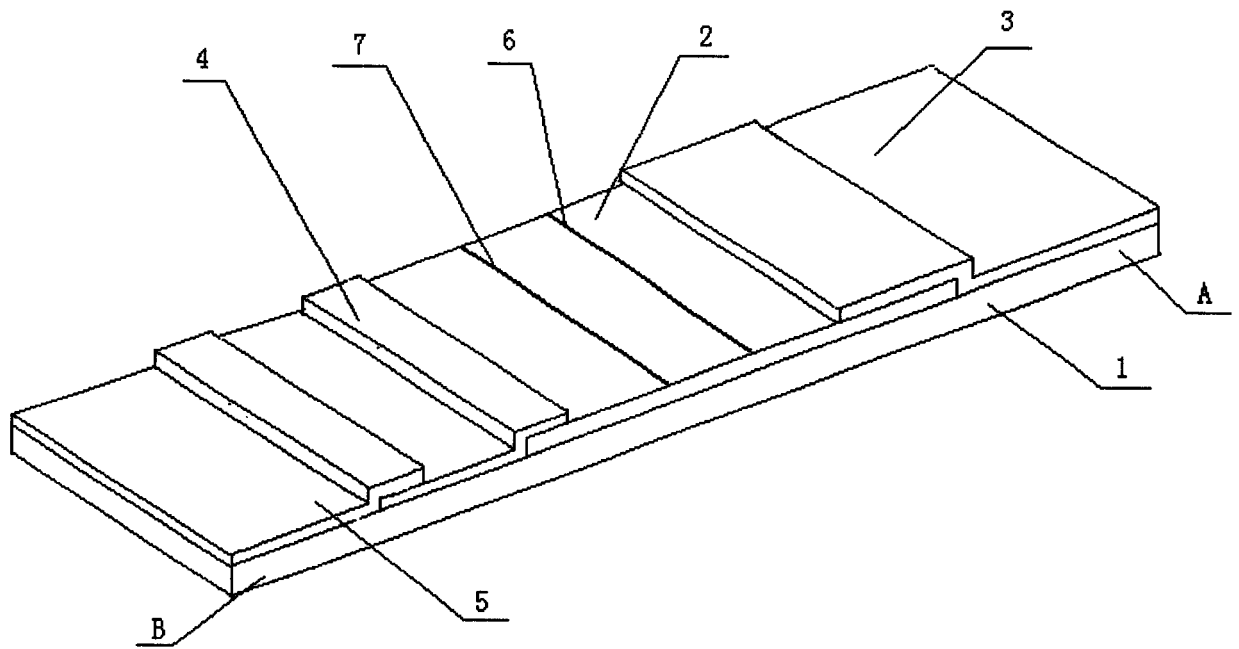


图 1

专利名称(译)	检测雌二醇的胶体金免疫试纸及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN1866016A</a>	公开(公告)日	2006-11-22
申请号	CN200610014168.3	申请日	2006-06-08
[标]申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所		
申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所		
[标]发明人	高志贤 孙思明		
发明人	高志贤 孙思明		
IPC分类号	G01N33/544 G01N33/52 G01N33/532		
代理人(译)	陆艺		
其他公开文献	CN1866016B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明公开了检测雌二醇的胶体金免疫试纸及其制备方法，检测雌二醇的胶体金免疫试纸包括基板，在基板的中部设置有硝酸纤维膜，吸水纸的一端与基板的A端对齐设置，吸水纸的另一端搭盖在硝酸纤维膜的近A端的表面上，玻璃纤维膜的近B端覆盖在基板的近中部，玻璃纤维膜的近A端搭盖在硝酸纤维膜的近B端的表面上，加样纸的一端与基板的B端对齐设置，加样纸的另一端搭盖在玻璃纤维膜的近B端表面上，玻璃纤维膜浸泡于标记雌二醇抗体的胶体金探针中，取出，干燥；硝酸纤维素膜上设置有雌二醇与卵清蛋白的偶连物和兔抗鼠抗体，使用本发明的一种检测雌二醇的胶体金免疫试纸，操作简便快速、成本低、携带方便、非专业人员也能操作及可进行现场检测。

