



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101762701 A

(43) 申请公布日 2010.06.30

(21) 申请号 200910087642.9

(22) 申请日 2009.06.24

(71) 申请人 北京科美东雅生物技术有限公司

地址 100094 北京市海淀区永丰基地丰贤中路7号北科园

(72) 发明人 唐宝军 应希堂 李强 胡国茂

郑金来 于尚永

(51) Int. Cl.

G01N 33/576 (2006.01)

G01N 33/533 (2006.01)

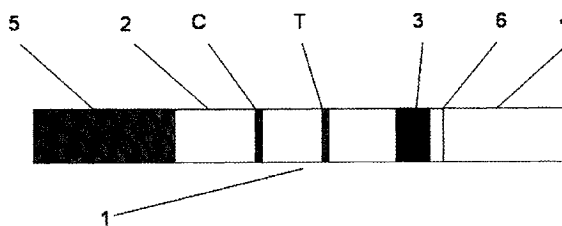
权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 1 页

(54) 发明名称

一种检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条及其制备方法

(57) 摘要

本发明涉及一种检测血液中乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条及其制备方法。该试纸条是将包被膜、结合了乙肝表面抗体的磁颗粒垫、样品垫、吸水垫依次相互交错 2mm 地粘贴在底板上、然后在上层覆盖透明塑料密封膜组装而成的。包被膜上预包被有乙肝表面抗原检测线和质控线,本发明将磁性免疫层析技术和异硫氰酸荧光素系统引入到乙肝表面抗原检测中,操作简便,灵敏度高,特异性好。



1. 一种检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条,其特征在于:该试纸条是将包被膜、结合了乙肝表面抗体的磁颗粒垫、样品垫、吸水垫依次相互交错 2mm 地粘贴在底板上,然后在上层覆盖透明塑料密封膜组装而成,其中所述的包被膜上预包被有乙肝表面抗原检测线和质控线。

2. 根据权利要求 1 所述的检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条,其特征在于:所述的磁颗粒垫制备是选用直径为 100-300nm 的超顺磁颗粒,使用碳二亚胺共价偶联的方式将抗异硫氰酸荧光素抗体标记到磁颗粒上;选用异硫氰酸荧光素进行乙肝表面抗体的标记,将标记好的异硫氰酸荧光素抗体以 1 : 3-1 : 10 的比例(体积比)与抗异硫氰酸荧光素抗体磁颗粒混合,确保抗异硫氰酸荧光素抗体磁颗粒过量;将制备好的磁颗粒使用定量喷液装置以 25 μ l/cm-50 μ l/cm 的量喷涂于玻璃纤维上。

3. 根据权利要求 1 所述的检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条,其特征在于:所述的样品垫是经过样品垫处理液预处理的纤维素膜,所述的样品垫处理液是含有 1% -5% 酪蛋白和 0.1% -1% 的聚乙烯醇,以及 0.01-0.2% 吐温 -20 的 0.02M, pH7.0-7.6 的磷酸盐缓冲溶液。

4. 根据权利要求 1 所述的检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条,其特征在于:所述的包被膜制备是使用 0.02mM, pH7.0-7.6 的 PBS, 分别将乙肝表面抗体以及异硫氰酸荧光素化牛血清白蛋白稀释到 0.5-2mg/ml 的浓度,使用定量喷液装置分别将二者以 0.5-1.0cm 的间隔喷印于硝酸纤维素膜上,晾干后于封闭液中浸泡 10 分钟后于 25-35 $^{\circ}$ C 烘干 8 小时,加入干燥剂封存备用。

5. 根据权利要求 2 所述的磁颗粒的喷涂方法是:将制备好的磁颗粒使用定量喷膜装置以 50 μ l/cm 的量均匀喷涂于玻璃纤维上,冷冻干燥后加入干燥剂封存备用。

6. 根据权利要求 4 所述的包被膜的制备方法是:用包被缓冲液将乙肝表面抗原稀释为 1.0mg/ml, 异硫氰酸荧光素化 BSA 稀释为 1mg/ml, 使用定量喷膜装置以 1 μ l/cm 的量将三者以 0.8cm 的间隔喷印于硝酸纤维素膜上,室温晾干 30 分钟后于封闭液中浸泡 10 分钟后于 25-35 $^{\circ}$ C 烘干 8 小时,加入干燥剂封存备用。

一种检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医学检验领域,特别是涉及一种检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条及其制备方法。

背景技术

[0002] 肝炎是一个通用的术语,含义是肝脏的炎症,它可以由一系列不同的病毒引起,例如 A 型、B 型、C 型、D 型和 E 型肝炎病毒。在引起人类肝炎的众多病毒中,乙型肝炎病毒 (HBV) 最具有全球影响性。

[0003] 乙型肝炎由乙型肝炎病毒 (HBV) 引起,HBV 是一种包含部分双链环状 DNA 基因组的包膜病毒,属于肝 DNA 病毒科。当病毒在肝细胞中复制时,可以干扰肝脏的功能,随即免疫系统激活产生一系列特异的反应以对抗并根除传染性因素。作为一种病理性损伤的结果,肝脏发生炎症。持续的 HBV 感染导致的严重的病理学结果包括:慢性肝脏功能不全,肝硬化和肝细胞癌 (HCC)。

[0004] 乙肝表面抗原 (HBsAg) 是一种异质性抗原,具有一个共同的抗原,命名为 a,以及两对突变的互斥性抗原:d 和 y,w 和 r(包括几个亚决定簇)。因而,HBsAg 有 4 种主要的亚型:adw, ayw, adr 和 ayr。

[0005] HBsAg 几种亚型的分布具有地域性的特点。在美国、北欧、亚洲和大洋州,d 决定簇比较常见,但是 y 决定簇出现的频率稍少。在日本人口中,d 决定簇占绝大多数,y 决定簇极少。在非洲和澳洲土著中,y 决定簇常见,而 d 决定簇很少。Y 决定簇也经常出现于印度和环地中海地区。在欧洲、美国、非洲、印度、澳大利亚和大洋州,w 决定簇占优势。在日本、中国和东南亚,r 亚型占优势。adw, ady 和 adr 亚型每一个都在世界的广大地区分布。而 ayr 亚型在世界上较罕见,只是在大洋州的少量人口中常见。

[0006] 由于共同决定簇的存在,对一种亚型的保护似乎可以将这种保护作用传递给其他亚型。并且在临床特征上,各亚型间没有区别。

[0007] 目前的 HBsAg 病原学诊断技术主要包括酶联免疫试验 (ELISA)、化学发光 (CLIA)、免疫层析法(胶体金或乳胶颗粒法)、PCR 法,这些方法都有各自的特点和使用对象。

[0008] ELISA 法是目前临床血液筛查中普遍使用检测技术,但是 ELISA 试验操作程序复杂,容易出现假阳性或假阴性结果,且灵敏度低,CLIA 与 ELISA 方法类似,只是灵敏度提高了一些,并没有根本解决 ELISA 存在的问题,并且二者都存在操作繁琐,反应时间长的问题,而且都需要酶标仪或发光仪和洗板机以及温箱等复杂设备,而且不能单人份检测,进一步限制了他们在一些基层医院、诊所的应用。近几年国内外出现了以胶体金或乳胶颗粒为代表的快速检测试纸条,但是由于结果是肉眼目视观察,容易受观察者主观判断的影响,灵敏度低,结果准确度也不高,检测窗口期较长。

[0009] PCR 方法需要很高的试验工作环境和条件(无菌操作间,超净工作台)及大量的仪器设备(培养箱,离心机,PCR 仪等),并且操作极其复杂,需要受过严格专业训练的人员操

作,且试验周期很长,因此不适合用于临床检测用。

[0010] 磁性免疫层析(Magnetic ImmunoChromatographic Test, MICT)是近年来出现的一种单人份快速定量检测技术。是以超顺磁性颗粒(superPMPs)代替传统的标记物(胶体金,乳胶颗粒等)来进行免疫层析,通过检测结合在超顺磁性纳米微粒上的生物物质来提供对生物样品的定量检测数据。通过检测磁场强度来表达标记在样品区域的量,采用标记的免疫复合物-磁场强度的标准曲线,从而达到定量的目的。该技术与传统技术相比具有下述优势:a. 所用磁性检测仪器采用固相元件,微型化设计自成一体,独立运行,体积小,操作简便;b. 灵敏度比各类目测快速诊断法高10-100倍;c. 分析速度可在15秒内测量到多达6个分析位点的数据;d. 线性范围在4个数量级浓度范围内呈线性;e. 超顺磁性纳米微粒由聚合物包被,不会随时间而衰变。该技术继承了传统免疫层析法(胶体金,乳胶颗粒等)简便快速,单人份操作的优点,又弥补了传统免疫层析技术灵敏度低,只能定性,不能定量的缺点,代表了当今即时检验(Point of Care Test, POCT)技术发展的方向和潮流,一经问世,发展迅速,目前已经成为替代传统免疫层析技术的首选。

[0011] 目前常用的标记磁颗粒为超顺磁颗粒(superPMPs),没有外加磁场的情况下不具有任何磁性,只有在外加磁场作用下才会表现出磁性,商品化超顺磁颗粒都经过表面修饰,大大方便了标记过程,标记简便,重复性好。

[0012] 将异硫氰酸荧光素系统引入磁性免疫层析中,既提高了检测方法的灵敏度,又提供了一种通用技术平台,增加了工艺的通用性,减少了系统因素的影响。

发明内容

[0013] 本发明的目的即是将磁性免疫层析技术与异硫氰酸荧光素系统联合应用在HBsAg免疫分析中。将抗FITC抗体共价偶联于超顺磁颗粒上,将FITC化HBsAb与之混合之后作为检测流动相,将HBsAb包被于硝酸纤维素膜上制成检测线作为捕获固相,按照常规免疫层析法的原理进行标本的检测,结合简便易行的磁性检测仪进行检测,在实现高灵敏度检测的同时又能大大缩短检测的窗口期,可以避免前述几种检测方法的不足,又综合了前述几种方法的优势:可以单人份检测,也可以批量检测,并且可以即时给出定量结果,测量仪器简单可靠,操作简便,方便实用。

[0014] 为达到上述的目的,本发明的技术方案如下:本发明的检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条是将包被膜、结合HBsAb的磁颗粒垫、样品垫、吸水垫、依次相互交错2mm地粘贴在底板上,然后在上层覆盖透明塑料密封膜而制成,其中所述的包被膜上预包被有HBsAb检测线,以及FITC化牛血清白蛋白的质控线。

[0015] 选用的底板为透明塑料底板,包被膜为35mm宽度的硝酸纤维素膜,选用的吸水垫为纤维素膜,磁颗粒垫为玻璃纤维垫,样品垫为经过样品垫处理液预处理的纤维素膜。所述的样品垫处理液是含有1%-5%酪蛋白(casein)和0.1%-1%的聚乙烯醇(PVP),以及0.01-0.2%吐温-20(Tween-20)的0.02M, pH7.0-7.6的磷酸盐缓冲溶液(PBS)。检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条的制备方法,包括以下步骤:

[0016] A、磁颗粒的制备:选用直径为100-300nm的超顺磁颗粒,使用碳二亚胺(EDC)和琥珀酰亚胺(NHS)共价偶联的方式将抗FITC抗体标记到磁颗粒上,选用FITC进行HBsAb的标记,将标记好的FITC化HBsAb以1:3-1:10的比例(体积比)与抗FITC抗体磁颗粒

混合,确保抗 FITC 抗体磁颗粒过量;

[0017] B、将制备好的磁颗粒使用定量喷液装置以 $25\ \mu\text{l}/\text{cm}$ – $50\ \mu\text{l}/\text{cm}$ 的量喷涂于磁颗粒垫上;

[0018] C、包被膜的制备:使用包被缓冲液分别将 HBsAb 以及 FITC 化 BSA 稀释到 0.5 – $2\text{mg}/\text{ml}$ 的浓度,使用定量喷液装置分别将三者以 0.5 – 1.0cm 的间隔于硝酸纤维素膜上,晾干后于封闭液中浸泡 10 分钟后于 25 – 35°C 烘干 8 小时,加入干燥剂封存备用;

[0019] D、样品垫的处理:将样品垫放入样品垫处理溶液中浸泡处理 1 小时后取出 25 – 35°C 烘干 8 小时;

[0020] E、试纸条的组装:在透明塑料底板上依次相互交错 2mm 贴上包被膜、磁颗粒垫、样品垫、吸水垫,然后在上层覆盖透明塑料密封膜,得到试纸板,根据要求宽度切割即得到试纸条。

[0021] 所述的步骤 A 包括以下三步:

[0022] 1) 抗 FITC 抗体磁颗粒的制备:使用含有 0.1% Tween-20 的 50mM , $\text{pH}7.0$ – 7.6 的 PBS 洗涤磁颗粒,加入 EDC,室温反应 1 小时,使用含有 0.1% Tween-20 的 50mM , $\text{pH}7.0$ – 7.6 的 PBS 充分洗涤磁颗粒后加入抗 FITC 抗体使抗 FITC 抗体与磁颗粒的分子比例为 $5:1$ (摩尔比),室温反应 3 小时,加入含有 0.5% BSA 的 0.02M , $\text{pH}7.0$ – 7.6 的 PBS 室温封闭 30 分钟,洗涤磁颗粒,使用含有 1% PVP, 1% Casein, 0.5% Tween-20, 5% 蔗糖的 50mM $\text{pH}8.2$ – 9.0 的硼酸保存缓冲液复溶磁颗粒, 4°C 保存备用;

[0023] 2) FITC-HBsAb 的制备:将 HBsAb 对 0.02M , $\text{pH}7.0$ – 7.6 的 PBS 4°C 透析过夜,调整浓度为 $2\text{mg}/\text{ml}$,将 FITC 使用二甲基甲酰胺 (DMF) 溶解,终浓度为 50mM ,以 $10:1$ 的分子比例向抗体溶液中加入所需量的 FITC 溶液,室温反应 1 小时,对 0.02M PBS 4°C 透析过夜,加入等体积甘油后 -20°C 保存备用;

[0024] 3) FITC-HBsAb 与抗 FITC 抗体磁颗粒的混合,以 $0.5\ \mu\text{l}/\text{mg}$ 磁颗粒的量向抗 FITC 抗体磁颗粒溶液中加入 FITC-HBsAb,充分混匀后使用保存缓冲液以 $1:5$ – $1:20$ 的比例 (体积比) 将混合物稀释待喷涂玻璃纤维垫使用。

[0025] 所述的步骤 B 中,磁颗粒的喷涂方法是:将制备好的磁颗粒使用定量喷膜装置以 $50\ \mu\text{l}/\text{cm}$ 的量均匀喷涂于玻璃纤维上,冷冻干燥后加入干燥剂封存备用。

[0026] 所述的步骤 C 中,包被膜的制备方法是:用包被缓冲液 (0.02M PB, $\text{pH}7.0$ – 7.6) 将 HBsAb 稀释为 $0.5\text{mg}/\text{ml}$, FITC 化 BSA 稀释为 $1\text{mg}/\text{ml}$,使用定量喷膜装置以 $1\ \mu\text{l}/\text{cm}$ 的量将三者以 0.6cm 的间隔喷印于硝酸纤维素膜上,室温晾干 30 分钟后于封闭液中浸泡 10 分钟后于 25 – 35°C 烘干 8 小时,加入干燥剂封存备用。

[0027] 与现有快速检测试纸条相比较,本发明具有以下优点:

[0028] 1) 通过在磁颗粒上引入异硫氰酸荧光素系统,使得试纸条的制备过程大大简化,适合大规模生产。

[0029] 2) 运用磁性检测仪来进行结果的判读,依据检测线与质控线的磁性检测值比值来进行阴阳性判断,降低了主观性,结果准确、可靠。

[0030] 本发明操作简便,适合大规模生产,检测所需的便携式设备也已经上市,因此能广泛用于医院、血站、防疫站、体检等大批量使用单位以及一些采血现场、农村和基层诊所等小批量或单人份使用的单位使用。

附图说明

[0031] 图 1 为本发明检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条结构示意图。

[0032] 为进一步说明本发明检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条及其制备方法,特举以下的实施例进行说明,该实施例是为了解释而不是以任何方式限制本发明。

具体实施方式

[0033] 本发明所述的检测血液中乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条,如图 1 所示,该试纸条是在底板 1) 上依次相互交错 2mm 地粘贴上包被膜 2)、结合了 HBsAb 的磁颗粒垫 3)、样品垫 4)、吸水垫 5),并在上层覆盖透明塑料密封膜 6) 组装而成的试纸条,包被膜 2) 上预包被有 HBsAb 检测线 T 和质控线 C。

[0034] 在具体实施例中,所采用 HBsAb 为商品化抗体。利用双抗体夹心法原理检测 HBsAg 的标本,当待测标本中含有 HBsAg 时,抗原会先和磁颗粒上结合的抗体结合,随着层析作用的进行,结合物向前移动到达 HBsAb 包被线 T 处,抗原会再次和包被抗体结合形成双抗体夹心复合物而聚集在 T 处,另外,未结合 FITC 化抗体的抗 FITC 抗体标记磁颗粒会继续前行到达质控线 C 时, FITC 化 BSA 会与抗 FITC 抗体标记磁颗粒结合从而在 C 线处同样出现磁颗粒聚集。整个反应在 30 分钟内进行完全,一般反应十五分钟后即可使用磁性免疫层析仪器读卡, T 线以及 C 线都会产生相应的磁性信号值,计算 T/C 的比值,根据预设的界限比值即可判定结果的阴阳性。整个读卡、计算、与预设界限值比对的过程已经完全程序化,磁性检测仪会直接给出阴阳性结果。

[0035] 本发明所述的检测血液中乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条的制备方法见以下实例:

[0036] 实施例 1

[0037] 检测血液中乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条及试纸盒的制备方法

[0038] 本实施例的试纸条及试纸盒的制备方法包括以下步骤:

[0039] A、抗体的制备:选用商品化的 HBsAb,对 20mM, pH7.2 (pH7.0-7.6 均适用) 的 PBS, 4℃ 透析过夜备用。

[0040] B、包被膜的制备:

[0041] 包被缓冲液的配制:0.02M pH 7.2 的磷酸缓冲液 (PBS) 为包被缓冲液,0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌后置 4℃ 保存备用,有效期两周。

[0042] 封闭液的配制:含 0.5% BSA 的 0.02M pH7.2 (pH7.0-7.6 均适用) 的磷酸盐缓冲液 (PBS),0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌后置 4℃ 保存备用,有效期一周。

[0043] 包被膜的制备:用包被缓冲液 (0.02M pH7.2 (pH7.0-7.6 均适用) 的 PB) 将 HBsAb 稀释为 0.5mg/ml, FITC 化 BSA 稀释为 1mg/ml,使用定量喷膜装置以 1 μl/cm 的量将三者以 0.6cm 的间隔均匀喷印于 3.5cm 宽度硝酸纤维素膜上,室温晾干 30 分钟后于封闭液 (含有 0.5% BSA 的 0.02M pH7.2 (pH7.0-7.6 均适用) 的 PBS,) 中浸泡 10 分钟后于 25-35℃ 烘干 8 小时,加入干燥剂封存备用。

[0044] C、磁颗粒的制备:

[0045] PBS 缓冲液的配制:用双蒸水和磷酸二氢钠及磷酸氢二钠配制 pH 值为

7.4 (pH7.0-7.6 均适用), 浓度为 50mM 的 PBS, 加入 Tween-20 至终浓度为 0.1%, 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌后 4℃ 保存备用, 有效期两周。

[0046] 硼酸保存缓冲液的配制: 用双蒸水, 硼酸和硼砂配制 pH 为 8.5 (pH8.2-9.0 均适用), 终浓度为 50mM 的硼酸缓冲液, 加入 PVP, Casine, Tween-20, 蔗糖, 终浓度分别为 1%, 1%, 0.5%, 5%, 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌后 4℃ 保存备用, 有效期一周。

[0047] 抗 FITC 抗体磁颗粒的制备: 使用含有 0.1% Tween-20 的 50mM pH7.4 (pH7.0-7.4 均适用) PBS 洗涤磁颗粒, 加入 EDC, 室温反应 1 小时, 充分洗涤磁颗粒后加入抗 FITC 抗体使抗 FITC 抗体与磁颗粒的分子比例为 5 : 1 (摩尔比), 室温反应 3 小时, 加入含有 0.5% BSA 的 0.02M pH7.2 (pH7.0-7.6 均适用) 的 PBS, 室温封闭 30 分钟, 洗涤磁颗粒, 使用含有 1% PVP, 1% Casein, 0.5% Tween-20, 5% 蔗糖的 50mmolpH8.5 (pH8.2-9.0 均适用) 的硼酸保存缓冲液复溶磁颗粒, 4℃ 保存备用。

[0048] FITC-HBsAb 的制备: 将 HBsAb 对 0.02M pH7.2 (pH7.0-7.6 均适用) 的 PBS 4℃ 透析过夜, 调整浓度为 2mg/ml, 将 FITC 使用 DMF 溶解, 终浓度为 50mM, 以 10 : 1 的分子比例向抗原或抗体溶液中加入所需量的 FITC 溶液, 室温反应 1 小时, 对 0.02M pH7.2 (pH7.0-7.6 均适用) 的 PBS 4℃ 透析过夜, 加入等体积甘油后 -20℃ 保存备用。

[0049] FITC-HBsAb 与抗 FITC 抗体磁颗粒的混合: 以 0.5 μl/mg 的量向抗 FITC 抗体磁颗粒溶液中加入 FITC-HBsAb, 充分混匀后使用保存缓冲液以 1 : 5 比例将混合物稀释待喷涂玻璃纤维垫使用。

[0050] D、磁颗粒的喷涂与冻干

[0051] 使用 BioDot 喷膜仪的专用喷头将处理好的磁颗粒以 50 μl/cm 的量均匀喷涂于 0.8cm 宽度玻璃纤维垫上, 过夜冷冻干燥, 加入干燥剂封存备用,

[0052] E、样品垫的处理

[0053] 将 1.8cm 宽度样品垫放入样品垫处理溶液中浸泡处理 1 小时后取出 25-35℃ 烘干 8 小时。

[0054] 样品垫处理液是含有 1% -5% Casein 和 0.1% -1% 的 PVA 以及 0.01-0.2% Tween-20 的 0.02M pH7.2 (pH7.0-7.6 均适用) 的 PBS 溶液。

[0055] F、试纸条的组装及切割

[0056] 下述所有操作都必须在湿度小于 20%, 温度 20-25℃ 的房间内进行。

[0057] 试纸板的组装: 使用 BioDot LM5000 型组装仪按照要求将 3.5cm 宽的包被膜, 2.5cm 宽的吸水纸, 0.8cm 宽的磁颗粒垫, 1.8cm 宽的样品垫组装于 9.8cm 宽度透明塑料底板上, 贴上上层透明塑料盖板, 组装成试纸板。

[0058] 试纸条的裁切: 使用 BioDot CM4000 型切条机将组装好的试纸板切成 0.5cm 宽的成品试纸条。

[0059] G、试纸卡的组装

[0060] 将本发明所述的切割好的单人份试纸条置于塑料底卡上的卡槽内, 盖上上盖, 使用压卡机将上下两片塑料卡压紧, 确保整个试纸条处于绷紧状态。加入干燥剂室温封存备用。

[0061] H、确定该批次的二维码信息

[0062] 品名: HBsAg 磁性检测卡

[0063] 批次：试纸卡的组装日期，格式为：年 / 月 / 日，XXXX/XX/XX

[0064] 阴阳性判读标准的确定：取 100 份确认 HBsAg 标本（强弱均有）、500 份随机标本使用该批次试纸卡检测，使用磁性检测仪检测结果，计算每个检测卡的 T1/C 值，T2/C 值，使用统计学方法计算均值和标准差，确定： $T/C < 0.1$ ， $T/C > 0.2$ 为阳性，二者之间为灰区。

[0065] I、二维码的打印粘贴

[0066] 将上述二维码信息输入二维码打印机内并打印，将二维码粘贴于试纸卡的特定位置，使用二维码粘贴位置检测器随机抽检 2% 确保二维码粘贴无误。

[0067] J、成品包装

[0068] 将贴好二维码的单人份试纸卡与一包干燥剂密封于铝箔袋内，100 人份为一个包装置于一个包装盒内，一盒一份说明书和 1 瓶 10ml 装层析缓冲液，即制成试纸盒，该试纸盒于室温避光保存，保质期为 18 个月。层析缓冲液配方为：1% Tween-20, 0.5% Triton X-100, 1% NP-40, 0.05% NaN₃, 20mmol pH7.2 (pH7.0-7.6 均适用) 的 PBS。

[0069] 实施例 2

[0070] 除了 FITC-HBsAb 与抗 FITC 抗体磁颗粒的混合步骤中：充分混匀后使用保存缓冲液以 1 : 10 的比例将混合物稀释待喷涂玻璃纤维垫使用，其它步骤同实施例 1。

[0071] 实施例 3

[0072] 除了 FITC-HBsAb 与抗 FITC 抗体磁颗粒的混合步骤中：充分混匀后使用保存缓冲液以 1 : 20 的比例将混合物稀释待喷涂玻璃纤维垫使用，其它步骤同实施例 1。

[0073] 实施例 4

[0074] 本发明的检测卡的使用方法

[0075] 1、加样

[0076] 从包装盒中取出单人份的检测卡，撕开铝箔带包装，将试纸卡置于平整桌面上，用微量移液器取 50 μ l 样本血清加入卡上的加样孔内，再加入 50 μ l 层析缓冲液，等待反应进行 15 分钟。

[0077] 2、测量及结果输出

[0078] 将 MICT 检测仪预先开机，将检测卡插入检测仪的插卡口，运行仪器，仪器会自动读取卡上的二维码信息并进行测量，即时打印测量结果，阴阳性结果会在打印结果中显示。

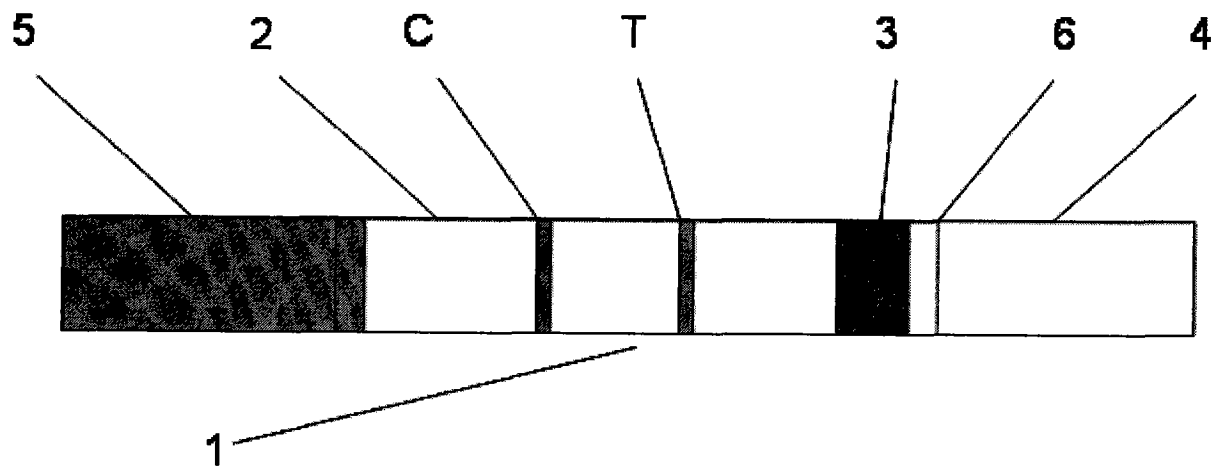


图 1

专利名称(译)	一种检测乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条及其制备方法		
公开(公告)号	CN101762701A	公开(公告)日	2010-06-30
申请号	CN200910087642.9	申请日	2009-06-24
[标]申请(专利权)人(译)	北京科美东雅生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京科美东雅生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京科美生物技术有限公司		
[标]发明人	唐宝军 应希堂 李强 胡国茂 郑金来 于尚永		
发明人	唐宝军 应希堂 李强 胡国茂 郑金来 于尚永		
IPC分类号	G01N33/576 G01N33/533		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种检测血液中乙肝表面抗原的磁性免疫层析试纸条及其制备方法。该试纸条是将包被膜、结合了乙肝表面抗体的磁颗粒垫、样品垫、吸水垫依次相互交错2mm地粘贴在底板上、然后在上层覆盖透明塑料密封膜组装而成的。包被膜上预包被有乙肝表面抗原检测线和质控线，本发明将磁性免疫层析技术和异硫氰酸荧光素系统引入到乙肝表面抗原检测中，操作简便，灵敏度高，特异性好。

