

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



# [12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710063896.8

[51] Int. Cl.

G01N 33/68 (2006.01)  
G01N 33/577 (2006.01)  
G01N 33/558 (2006.01)  
G01N 33/544 (2006.01)  
G01N 33/532 (2006.01)

[43] 公开日 2008年8月20日

[11] 公开号 CN 101246177A

[22] 申请日 2007.2.14

[21] 申请号 200710063896.8

[71] 申请人 北京华安佛医药研究中心有限公司

地址 100026 北京市朝阳区甜水园街6号707室

共同申请人 安徽省生物医学研究所

[72] 发明人 吴瑕 王玉 王燕 徐希平  
于多 张彦明

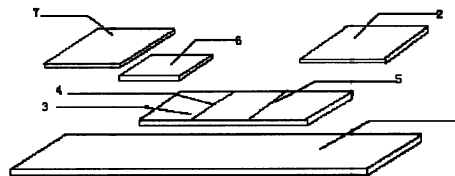
权利要求书2页 说明书7页 附图1页

## [54] 发明名称

同型半胱氨酸免疫胶体金检测试纸条及其制备方法

## [57] 摘要

本发明提供一种同型半胱氨酸免疫胶体金检测试纸条及其制备方法。该试纸条是由底板(1)上的依次接合吸水垫(2)、特定包被的硝酸纤维膜(NC膜)(3)、NC膜上有捕获线(4)和质控线(5)，涂覆胶体金标记特异抗体的玻璃纤维胶体金结合垫(6)、样品垫(7)而组成的条形物；所述玻璃纤维胶体金结合垫(6)涂覆胶体金标记特异抗体为S腺苷同型半胱氨酸(SAH)单克隆抗体。应用本发明所提供的试纸条检测人血清中同型半胱氨酸水平，具有操作简单、快速、灵敏和特异性好等特点，具有良好的应用前景。



- 1、一种检测同型半胱氨酸（HCY）的免疫胶体金层析试纸条，其特征在于：所述试纸条是由底板（1）上的依次接合吸水垫（2）、特定包被的硝酸纤维素膜（NC膜）（3）、NC膜上有捕获线（4）和质控线（5），涂覆胶体金标记特异抗体的玻璃纤维胶体金结合垫（6）、样品垫（7）而组成的条形物；所述玻璃纤维胶体金结合垫（6）涂覆胶体金标记特异抗体为S腺苷同型半胱氨酸（SAH）单克隆抗体。
- 2、根据权利要求1所述试纸条，其特征在于：所述吸水垫（2）为一种滤纸，包括吸水纸和滤油纸；吸水垫贴在底板的末端。
- 3、根据权利要求1所述试纸条，其特征在于：所述特定包被的NC膜（3）由一层滤膜和胶膜组成，NC膜上喷涂S腺苷同型半胱氨酸-牛血清白蛋白（SAH-BSA）抗原和兔抗小鼠二抗；NC膜贴在底板的中间，两端分别与结合垫和吸水垫连接。
- 4、根据权利要求1所述试纸条，其特征在于：所述结合垫（6）为玻璃纤维纸，用含聚乙烯醇的硼酸缓冲液浸泡处理后，37℃干燥过夜，喷涂上胶体金标记的SAH单克隆抗体，再冷冻干燥，SAH单克隆抗体是针对SAH抗原表位，结合垫上与样品垫衔接，下与NC膜衔接。
- 5、根据权利要求1所述试纸条，其特征在于：所述样品垫（7）为玻璃纤维纸，用含聚乙烯醇的硼酸缓冲液浸泡，缓冲液PH为7.2，浸泡处理后，37℃干燥过夜；样品垫位于结合垫上。
- 6、一种权利要求1所述的试纸条在制备HCY诊断试纸条中的应用，其特征在于：诊断试纸条还包括标识条，此标识条为两个带有标识的不干胶纸，分别粘贴在试纸条的两端，带有箭头端是贴在样品垫和结合垫上，由此端浸入待测样品，靠另一端的吸水垫的吸水作用，使样品经过NC膜。
- 7、一种权利要求1所述的试纸条在制备HCY测试卡中的应用，其特征在于：测试卡还包括塑料卡，此塑料卡是一个用塑料特制的卡，由上下2片组成，上下片可嵌合在一起，下片主要有一个放试纸条的槽和与上片结合的卡齿，上片主要包括一个检测孔、一个样品孔以及与下片结合的卡齿，检测孔旁边分别印有T和C字样，T表示捕获线的位置，C表示质控线的位置，检测孔是观察结果的窗口，样品孔是滴加样品的位置。
- 8、一种检测HCY的免疫胶体金层析试纸条的制备方法，包括如下步骤：
  - 1) SAH-BSA抗原制备：

将BSA、SAH和偶联剂于反应液中室温反应，凝胶层析分离偶联物，透析，浓缩，制成免疫抗原和包被抗原；
  - 2) SAH单抗制备：

以合成的SAH-BSA偶联物免疫Balb/c小白鼠，经多次基础免疫及加强免疫后，取小鼠脾细胞与Sp2/0骨髓瘤细胞，利用PEG细胞融合技术制备SAHmAb，腹水扩增，分离纯化；
  - 3) 胶体金的制备：
    - a 量取一定量的洗液于洁净的烧瓶中，煮沸5分钟，再换一次酸洗液，煮沸5分钟；

- b 量取一定量的超纯水于该烧瓶中，煮沸 5 分钟，再换一次超纯水，煮沸 5 分钟；
  - c 弃去超纯水，称取适量三蒸水于该烧瓶中，加热至沸腾，加入适量 1%氯金酸，加热至沸腾；
  - d 搅拌下加入 6~10 毫升 2%柠檬酸三钠，沸腾 5-10 分钟；
- 4) 胶体金探针标记：将 SAH 单克隆抗体用 NaCl 透析过夜，离心除去蛋白沉淀；取胶体金 100 毫升，调节胶体金溶液 PH 值 9.0，搅拌加入 1 毫升稀释的 SAH 单克隆抗体，再缓慢加入 1 毫升 10%BSA 充分混匀，搅拌，离心弃上清，加入工作液溶解；
  - 5) 制备检测同型半胱氨酸的胶体金免疫试纸条：先将玻璃纤维膜放入质量百分比浓度为 1%的牛血清白蛋白、质量百分比浓度为 1%的 TX-100 的磷酸盐缓冲液中封闭 30min，37℃烘干，再将玻璃纤维膜浸泡于标记 SAH 单克隆抗体的胶体金探针中，真空干燥，将制备好的试剂条板上 NC 膜用喷膜机分别喷上捕获抗原（SAH-BSA 偶联抗原）和质控抗体（兔抗 Balb/c 球蛋白抗体），喷完后 37℃干燥过夜；将吸水垫、已包被的硝酸纤维膜、玻璃纤维胶体金结合垫、样品垫依次粘于底板上，裁成细条，即成一种检测同型半胱氨酸的胶体金免疫试纸条。
- 9、根据权利要求 8 所述制备方法，其特征在于：3) 步中所述三蒸水为 200 毫升，所述氯金酸为 10 毫升，所述柠檬酸三钠为 7.5 毫升。
  - 10、 根据权利要求 8 所述制备方法，其特征在于：4) 步中所述加入 10%BSA 后，再加入 1 毫升 10%PEG20000 充分混匀，离心弃上清，加入工作液溶解。

## 同型半胱氨酸免疫胶体金检测试纸条及其制备方法

### 技术领域

本发明涉及一种利用胶体金免疫层析技术检测血液中 HCY 水平的试纸条及其制备方法，属于医学检验领域。

### 背景技术

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是人体内蛋氨酸代谢的中间产物，同时参与了体内转硫化作用途径。Hcy 通过 B12 在 5-甲基四氢叶酸存在下经叶酸循环重新甲基化为蛋氨酸，随后产生的 5,10-二甲基四氢叶酸被甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)还原成 5-甲基四氢叶酸。Hcy 也能被甘氨酸三甲内盐重甲基化为蛋氨酸。重甲基化在肝脏及肾脏中完成，蛋氨酸循环中，食物中蛋氨酸转化为 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)，SAM 以作为甲基转移酶甲基组供体的底物，在甲基转移酶作用下产生唯一产物 S-腺苷同型半胱氨酸(SAH)，SAH 经 SAH 水解酶水解为 Hcy 及腺苷。

如因各种原因引起血 Hcy 浓度升高，可发生 Hcy 尿症或高 Hcy 血症，并对动脉血管造成伤害。研究认为 Hcy 是一新的血管系统疾病的独立危险因子，与心血管疾病、脑梗塞、外周血管性疾病有关，也与叶酸或维生素 B12、B6 的缺乏相关。六十年代末，Mc Cully 从病理上发现高胱氨酸尿症和胱硫醚尿症患者早期即可发生全身动脉粥样硬化和血栓形成，七十年代初他又通过动物模型证实同型半胱氨酸血中蓄积可导致类似血管损害，八十年代人们提出高同型半胱氨酸血症是动脉粥样硬化和冠心病的一个独立危险因素，尤其是冠状动脉粥样硬化和心肌梗塞的危险指标，它的浓度升高程度与疾病的危险性成正比，被誉为“心脏新杀手”。目前不少研究表明高 HCY 是脑血管疾病危险因素指标，是缺血性脑血管病、脑梗死的独立危险因素，高 HCY 和脑卒中疾病发生密切相关。

HCY 检测目前主要采用的技术方法有：高效液相（HPLC）方法、荧光偏振免疫检测（FPLA）方法、酶联免疫技术（ELISA）和化学发光法等。高效液相（HPLC）方法操作比较复杂，试验耗时比较长，且试验数据变异比较大。荧光偏振免疫检测（FPLA）方法检测费时，须配备专用全自动荧光分析仪器，设备昂贵，不宜普及。酶联免疫技术（ELISA）大部分操作为手工操作，比较耗时，定量检测需配备仪器，必须有专门的实验室。化学发光法，检测时间在 2h 以上，且价格昂贵。以上方法均不适于在基层检验场所应用。免疫胶体金层析技术操作简单、快速、灵敏和特异性好，用于同型半胱氨酸的快速检测，有益于同型半胱氨酸基层医疗机构检测的普及，此项技术虽然是一种较为成熟的技术，但对不同的抗原抗体体系

统的应用有差异，包括原料来源，试剂配制，生产工艺等都不同，需进行新的设计和试验。目前国内外均未查到有用于检测 HCY 的免疫胶体金层析快速诊断试纸条，包括文献报道和发明专利。

### 发明内容

为克服现有 HCY 检测技术的不足，本发明提供一种快速检测 HCY 的试纸条。本发明根据胶体金免疫层析技术特点和 SAH 抗原抗体系统特点，设计新的原材料，试剂和工艺流程，应用本发明提供的试纸条检测 HCY 水平，具有简单，快速，灵敏和特异性好等特点，15 分钟以内出结果，并且价格低，适用于基层检测和临床初筛。

本发明所述试纸条是由底板（1）上依次接合吸水垫（2）、特定包被的硝酸纤维膜（3）、涂覆胶体金标记特异抗体的玻璃纤维胶体金结合垫（6）、样品垫（7）而组成的条形物；所述玻璃纤维胶体金结合垫涂覆胶体金标记特异抗体为 S 腺苷同型半胱氨酸单克隆抗体。检测样品经过样品垫和结合垫再经层析作用在 NC 膜上出现捕获线和质控线，用肉眼判断结果。在 NC 膜上仅仅出现一条质控线，结果为阳性，在 NC 膜上同时出现捕获线和质控线，结果为阴性，不出现线条表示试纸条或测试卡失效。15 分钟内出结果。

本发明所述试纸条吸水垫为一种滤纸，包括吸水纸和滤油纸，切成要求大小直接使用。贴在底板的末端，起吸水作用。

本发明所述试纸条上特定包被的 NC 膜是一种专门用于胶体金试纸条的材料，由一层滤膜和胶膜组成，成卷筒装，NC 膜上喷 2 条线，分别为捕获线和质控线，捕获线喷涂的是 S 腺苷同型半胱氨酸-牛血清白蛋白抗原，质控线喷涂的是兔抗小鼠二抗；NC 膜贴在底板的中间，两端分别与结合垫和吸水垫连接。

本发明所述试纸条上结合垫为玻璃纤维纸，用含聚乙烯醇的硼酸缓冲液浸泡处理后，37℃干燥过夜，喷涂上胶体金标记的 SAH 单克隆抗体，再冷冻干燥，SAH 单克隆抗体是针对 SAH 抗原表位，结合垫上与样品垫衔接，下与 NC 膜衔接。

本发明所述试纸条样品垫为玻璃纤维纸，用含聚乙烯醇的硼酸缓冲液浸泡处理，缓冲液 PH 为 7.2，浸泡处理后，37℃干燥过夜，在试剂条中起过滤样品的作用，位于结合垫上，贴在底板上。

本发明还提供上述试纸条在制备 HCY 诊断试纸条中的应用，诊断试纸条还包括标识条，此标识条为两个带有标识的不干胶纸，分别粘贴在试纸条的两端，带有箭头端是贴在样品垫和结合垫上，由此端浸入待测样品，靠另一端的吸水垫的吸水作用，使样品经过 NC 膜。

本发明还提供上述试纸条在制备 HCY 测试卡中的应用，测试卡还包括塑料卡，此塑料卡是一个用塑料特制的卡，由上下 2 片组成，上下片可嵌合在一起，下片主要有一个放试纸

条的槽和与上片结合的卡齿，上片主要包括一个检测孔、一个样品孔以及与下片结合的卡齿，检测孔旁边分别印有 T 和 C 字样，T 表示捕获线的位置，C 表示质控线的位置，检测孔是观察结果的窗口，样品孔是滴加样品的位置。此塑料卡起保护试纸条的作用，并且更美观，减少污染和保护操作者的安全。

本发明所述试纸条的制备方法，包括如下步骤：

1) SAH-BSA 抗原制备：

将 BSA、SAH 和偶联剂于反应液中室温反应，凝胶层析分离偶联物，透析，浓缩，制成免疫抗原和包被抗原。

2) SAH 单抗制备：

以合成的 SAH-BSA 偶联物免疫 Balb/c 小白鼠，经多次基础免疫及加强免疫后，取小鼠脾细胞与 Sp2/0 骨髓瘤细胞，利用 PEG 细胞融合技术制备 SAHmAb，腹水扩增，分离纯化。

3) 胶体金的制备：

a 量取一定量的洗液于洁净的烧瓶中，煮沸 5 分钟，再换一次酸洗液，煮沸 5 分钟；

b 量取一定量的超纯水于该烧瓶中，煮沸 5 分钟，再换一次超纯水，煮沸 5 分钟；

c 弃去超纯水，称取适量三蒸水于该烧瓶中，加热至沸腾，加入适量 1% 氯金酸，加热至沸腾；

d 搅拌下加入 6-10 毫升 2% 柠檬酸三钠，沸腾 5-10 分钟。

4) 胶体金探针标记：将 SAH 单克隆抗体用 0.005mol/L NaCl 透析过夜，离心除去蛋白沉淀。取胶体金 100 毫升，调节胶体金溶液 PH 值 9.0，搅拌加入 1 毫升稀释的 SAH 单克隆抗体，再缓慢加入 1 毫升 10%BSA 充分混匀，搅拌 15 分钟，4℃ 13000g/min 离心 40 分钟；弃上清，加入工作液 100 毫升溶解；储存条件：4℃ 保存。

5) 制备检测同型半胱氨酸的胶体金免疫试纸条：

先将玻璃纤维膜放入质量百分比浓度为 1% 的牛血清白蛋白、质量百分比浓度为 1% 的 TX-100 的磷酸盐缓冲液中封闭 30min，37℃ 烘干。再将玻璃纤维膜浸泡于标记 SAH 单克隆抗体的胶体金探针中，真空干燥。将制备好的试剂条板上 NC 膜用喷膜机分别喷上捕获抗原（SAH-BSA 偶联抗原）和质控抗体（兔抗 Balb/c 球蛋白抗体）。喷完后 37℃ 干燥过夜。将吸水垫、已包被的硝酸纤维膜（NC 膜）、玻璃纤维胶体金结合垫、样品垫、标识条依次粘于底板上，裁成细条，即成一种检测同型半胱氨酸的胶体金免疫试纸条。

上述胶体金制备过程中，优选三蒸水 200 毫升，氯金酸 10 毫升，柠檬酸三钠 7.5 毫升。

上述胶体金探针标记过程中，优选加入 10%BSA 后，再加入 1 毫升 10%PEG20000 充分混匀，离心弃上清，加入工作液溶解。

本发明的有益效果：应用本发明提供的试纸条检测人体内同型半胱氨酸水平，成本低廉，操作简单、快速、灵敏，且特异性好，不需要特殊检测仪器设备，因此可广泛应用于各级医疗检验场所，尤其是基层医疗机构，包括乡镇卫生院等均可开展。本发明有益于高同型半胱氨酸血症的筛查的普及，进而对于心脑血管事件发生的预防有极为重要的意义。

### 附图说明

图1为本发明的结构示意图

1：底板；2：吸水垫；3：特定包被的硝酸纤维膜；4：捕获线；5：质控线；6：结合垫；7：样品垫。

图2为本发明的检测结果示意图

a：阴性；b：阳性；c：无效；4：捕获线；5：质控线。

图3为本发明的试纸条外观示意图

a：样本垫；b：结合垫；c：捕获线；d：质控线；e：试纸条名称

图4为本发明的测试卡外观示意图

a：样本孔；b：测试孔；T：捕获线；C：质控线。

### 具体实施方式

下面结合具体实施方式对本发明作进一步说明，凡依照本发明公开内容所作出的本领域等同替换，均属于本发明的保护范围。

#### 实施例1：

同型半胱氨酸（HCY）胶体金免疫试纸条制备方法，它包括如下步骤：

#### 1、SAH-BSA 抗原制备：

取适量 BSA 和 SAH 分别溶于 15mlPBS 锥形瓶中，各自磁力搅拌器搅拌 10 分钟，将 SAH 溶液加入 BSA 溶液中，边加边搅拌，再加入 25%戊二醛，反应 5 小时，凝胶层析分离偶联物，于 PBS 内透析 24 h，浓缩。

#### 2、SAH 单抗制备：

以SAH-BSA 偶联物免疫Balb/c小鼠，经多次基础免疫及加强免疫后，取小鼠脾细胞，将脾细胞与Sp2/0骨髓瘤细胞，利用PEG细胞融合技术制备SAH mAb。

将杂交瘤细胞注入小鼠腹腔，制备腹水，用层析法纯化单克隆抗体。

#### 3、胶体金的制备：

量取一定量的洗液于洁净的 250ml 三角烧瓶中，煮沸 5 分钟，再换一次酸洗液，煮沸 5 分钟；量取一定量的超纯水于该烧瓶中，煮沸 5 分钟，再换一次超纯水，煮沸 5 分钟；弃去超纯水，称取 200ml 超纯水于该烧瓶中，加热至沸腾，加入 1%氯金酸 10ml，边煮边搅拌，加热至沸腾；搅拌下加入 2%柠檬酸三钠 10ml，沸水下快速搅拌，直到氯金酸溶液的颜色慢

慢稳定，呈红色后，继续沸腾 7 分钟，制成小颗粒胶体金。

#### 4、胶体金探针标记：

将 SAH 单克隆抗体用 0.005mol/L NaCl 透析过夜，离心除去蛋白沉淀。取胶体金 100 毫升，调节胶体金溶液 PH 值 9.0，搅拌加入 1 毫升稀释的 SAH 单克隆抗体，再加入 1 毫升 10%BSA 充分混匀，缓慢加入，搅拌 15 分钟，离心，条件 4℃ 13000g/min，40 分钟；弃上清，加入工作液 100 毫升溶解；储存条件：4℃ 保存。

#### 5、制备检测同型半胱氨酸的胶体金免疫试纸条：

先将玻璃纤维膜放入质量百分比浓度为 1%的牛血清白蛋白、质量百分比浓度为 1%的 TX-100 的磷酸盐缓冲液中封闭 30min，37℃ 烘干，再将玻璃纤维膜浸泡于标记 SAH 单克隆抗体的胶体金探针中，真空干燥，将制备好的试剂条板上 NC 膜用喷膜机分别喷上捕获抗原（SAH-BSA 偶联抗原）和质控抗体（兔抗 Balb/c 球蛋白抗体）。喷完后 37℃ 干燥过夜。将吸水垫、已包被的硝酸纤维膜、玻璃纤维胶体金结合垫、样品垫依次粘于底板上，裁成细条，即成一种检测同型半胱氨酸的胶体金免疫试纸条。

#### 实施例 2：

同型半胱氨酸（HCY）胶体金免疫试纸条制备方法，它包括如下步骤：

SAH-BSA 抗原及 SAH 单抗为实施例 1 制备。

#### 1、胶体金的制备：

量取一定量的洗液于洁净的 250ml 三角烧瓶中，煮沸 5 分钟，再换一次酸洗液，煮沸 5 分钟；量取一定量的超纯水于该烧瓶中，煮沸 5 分钟，再换一次超纯水，煮沸 5 分钟；弃去超纯水，称取 200ml 超纯水于该烧瓶中，加热至沸腾，加入 1%氯金酸 10ml，边煮边搅拌，加热至沸腾；搅拌下加入 2%柠檬酸三钠 7.5ml，沸水下快速搅拌，直到氯金酸溶液的颜色慢慢稳定，呈红色后，继续沸腾 9 分钟，制成中等大小的胶体金颗粒。

#### 2、胶体金探针标记：

将 SAH 单克隆抗体用 0.005mol/L NaCl 透析过夜，离心除去蛋白沉淀。取胶体金 100 毫升，调节胶体金溶液 PH 值 9.0，搅拌加入 1 毫升稀释的 SAH 单克隆抗体，再加入 1 毫升 10%BSA 充分混匀，再加入 1 毫升 10%PEG20000 充分混匀，缓慢加入，搅拌 15 分钟，离心，条件 4℃ 13000g/min，40 分钟；弃上清，加入工作液 100 毫升溶解；储存条件：4℃ 保存。

#### 3、制备检测同型半胱氨酸的胶体金免疫试纸条：

先将玻璃纤维膜放入质量百分比浓度为 1%的牛血清白蛋白、质量百分比浓度为 0.5%的 TX-100 的磷酸盐缓冲液中封闭 30min，37℃ 烘干，再将玻璃纤维膜浸泡于标记 SAH 单克隆抗体的胶体金探针中，真空干燥，将制备好的试剂条板上 NC 膜用喷膜机分别喷上捕获抗原

(SAH-BSA 偶联抗原)和质控抗体(兔抗 Balb/c 球蛋白抗体)。喷完后 37℃干燥过夜。将吸水垫、已包被的硝酸纤维膜、玻璃纤维胶体金结合垫、样品垫依次粘于底板上,裁成细条,即成一种检测同型半胱氨酸的胶体金免疫试纸条。

#### 实施例 3:

同型半胱氨酸(HCY)胶体金免疫试纸条制备方法,它包括如下步骤:

SAH-BSA 抗原及 SAH 单抗为实施例 1 制备。

#### 1、胶体金的制备:

量取一定量的洗液于洁净的 250ml 三角烧瓶中,煮沸 5 分钟,再换一次酸洗液,煮沸 5 分钟;量取一定量的超纯水于该烧瓶中,煮沸 5 分钟,再换一次超纯水,煮沸 5 分钟;弃去超纯水,称取 200ml 超纯水于该烧瓶中,加热至沸腾,加入 1%氯金酸 10ml,边煮边搅拌,加热至沸腾;搅拌下加入 2%柠檬酸三钠 6.6ml,沸水下快速搅拌,直到氯金酸溶液的颜色慢慢稳定,呈红色后,继续沸腾 9 分钟,制成较大的胶体金颗粒。

#### 2、胶体金探针标记:

将 SAH 单克隆抗体用 0.005mol/L NaCl 透析过夜,离心除去蛋白沉淀。取胶体金 100 毫升,调节胶体金溶液 PH 值 9.0,搅拌加入 1 毫升稀释的 SAH 单克隆抗体,再加入 1 毫升 10%BSA 充分混匀,再加入 1 毫升 10%Casein 充分混匀,缓慢加入,搅拌 15 分钟,离心,条件 4℃ 13000g/min, 40 分钟;弃上清,加入工作液 100 毫升溶解;储存条件:4℃保存。

#### 3、制备检测同型半胱氨酸的胶体金免疫试纸条:

先将玻璃纤维膜放入质量百分比浓度为 1%的牛血清白蛋白、质量百分比浓度为 0.5%的 TX-100 的磷酸盐缓冲液中封闭 30min, 37℃烘干,再将玻璃纤维膜浸泡于标记 SAH 单克隆抗体的胶体金探针中,真空干燥,将制备好的试剂条板上 NC 膜用喷膜机分别喷上捕获抗原(SAH-BSA 偶联抗原)和质控抗体(兔抗 Balb/c 球蛋白抗体)。喷完后 37℃干燥过夜。将吸水垫、已包被的硝酸纤维膜、玻璃纤维胶体金结合垫、样品垫依次粘于底板上,裁成细条,即成一种检测同型半胱氨酸的胶体金免疫试纸条。

#### 实施例 4:

同型半胱氨酸(HCY)的胶体金免疫诊断试纸条制备方法,它包括如下步骤:

将两个带有标识的不干胶纸(标识条)分别粘贴在实施例 2 中所制备试纸条的两端,带有箭头端是贴在样品垫和结合垫上,由此端浸入待测样品,靠另一端的吸水垫的吸水作用,使样品经过 NC 膜。即成一种检测同型半胱氨酸的胶体金免疫诊断试纸条,见图 3。

#### 实施例 5:

同型半胱氨酸(HCY)的胶体金免疫诊断测试卡制备方法,它包括如下步骤:

将实施例 2 中所制备试纸条放入塑料卡下片试纸条槽中，与上片嵌合，即成一种检测同型半胱氨酸的胶体金免疫诊断测试卡，见图 4。此塑料卡是一个用塑料特制的卡，由上下 2 片组成，上下片可嵌合在一起，下片主要有一个放试纸条的槽和与上片结合的卡齿，上片主要包括一个检测孔（见图 4 b）、一个样品孔（见图 4 a）以及与下片结合的卡齿，检测孔旁边分别印有 T 和 C 字样，T 表示捕获线的位置，C 表示质控线的位置，检测孔是观察结果的窗口，样品孔是滴加样品的位置。

#### 实施例 6:

HCY 免疫胶体金诊断层析试纸条使用方法：如图 1, 2 所示，将试纸条样品垫 7 插入待测液中，浸润后取出，水平放置，约 10~15 分钟后，在 NC 膜 3 上仅仅出现一条质控线 5，见图 2b，结果为阳性；在 NC 膜 3 上同时出现捕获线 4 和质控线 5，见图 2a，结果为阴性；不出现线条见图 2c 表示试纸条失效。试纸条检测灵敏度为  $1 \mu \text{mol/l}$ 。

#### 实施例 7:

HCY 免疫胶体金诊断层析测试卡使用方法：如图 4 所示，将样本加入样本孔 a，加样量 75 微升~80 微升，水平放置，约 10~15 分钟后，仅在测试孔 b 的质控线 C 处出现一条线，结果为阳性；在测试孔 b 的捕获线 T 和质控线 C 处分别出现一条线，结果为阴性；不出现线条表示测试卡失效。测试卡检测灵敏度为  $1 \mu \text{mol/l}$ 。

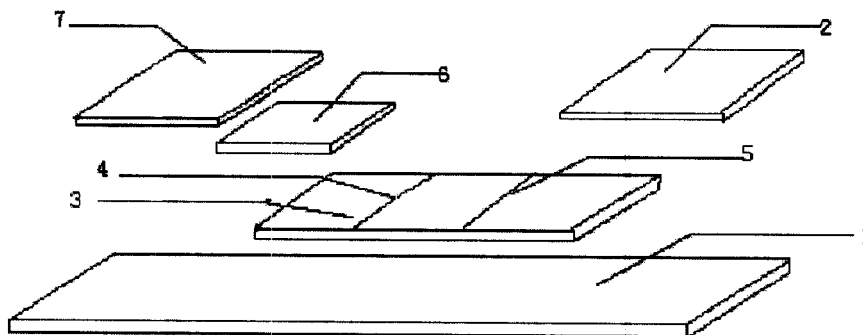


图1

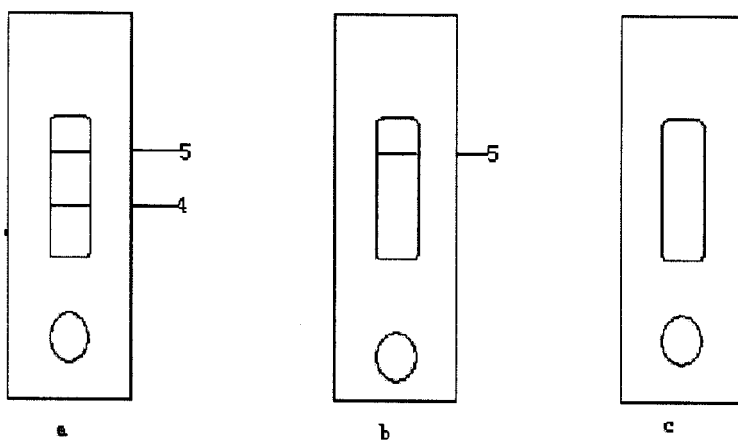


图2

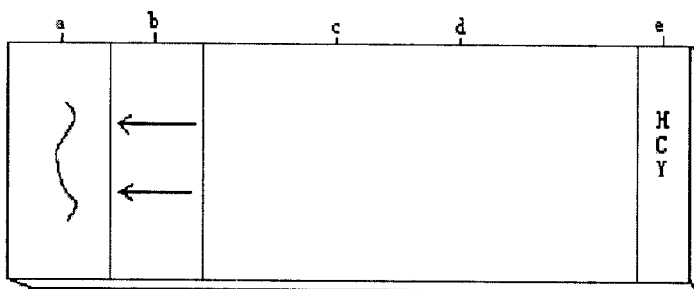


图3

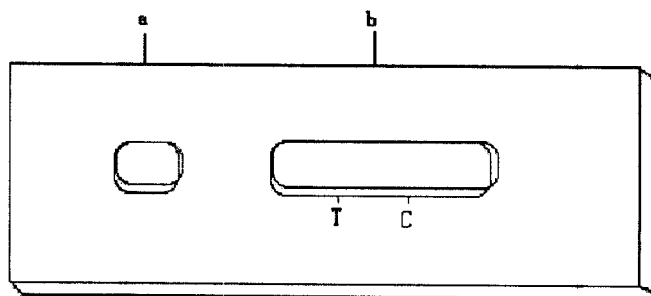


图4

专利名称(译)	同型半胱氨酸免疫胶体金检测试纸条及其制备方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN101246177A</a>	公开(公告)日	2008-08-20
申请号	CN200710063896.8	申请日	2007-02-14
[标]申请(专利权)人(译)	北京华安佛医药研究中心有限公司 安徽省生物医学研究所		
申请(专利权)人(译)	北京华安佛医药研究中心有限公司 安徽省生物医学研究所		
当前申请(专利权)人(译)	北京华安佛医药研究中心有限公司 安徽省生物医学研究所		
[标]发明人	吴瑕 王玉 王燕 徐希平 于多 张彦明		
发明人	吴瑕 王玉 王燕 徐希平 于多 张彦明		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/577 G01N33/558 G01N33/544 G01N33/532		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供一种同型半胱氨酸免疫胶体金检测试纸条及其制备方法。该试纸条是由底板(1)上的依次接合吸水垫(2)、特定包被的硝酸纤维膜(NC膜)(3)、NC膜上有捕获线(4)和质控线(5)，涂覆胶体金标记特异抗体的玻璃纤维胶体金结合垫(6)、样品垫(7)而组成的条形物；所述玻璃纤维胶体金结合垫(6)涂覆胶体金标记特异抗体为S腺苷同型半胱氨酸(SAH)单克隆抗体。应用本发明所提供的试纸条检测人血清中同型半胱氨酸水平，具有操作简单、快速、灵敏和特异性好等特点，具有良好的应用前景。

