



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107656048 A

(43)申请公布日 2018.02.02

(21)申请号 201710831261.1

(22)申请日 2017.09.15

(71)申请人 刘哲

地址 100176 北京市大兴区亦庄文昌大道
18号

(72)发明人 刘密 王睿 刘哲

(74)专利代理机构 北京聿宏知识产权代理有限公司 11372

代理人 吴大建 桑胜梅

(51)Int.Cl.

G01N 33/551(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

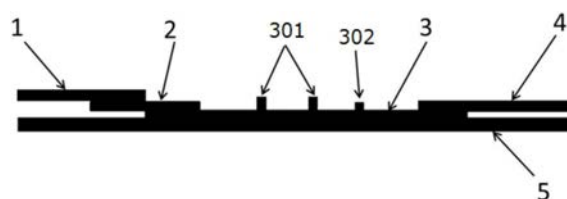
权利要求书1页 说明书8页 附图1页

(54)发明名称

一种半定量检测抗原或抗体的免疫层析试纸条及其应用

(57)摘要

本发明涉及体外免疫检测技术领域的一种半定量检测抗原或抗体的免疫层析试纸条及其应用。该试纸条包括：粘附支架；和沿层析方向依次黏贴在粘附支架上的加样区、标记物结合区、显色区和吸水区；所述显色区上沿层析方向依次设有检测区和质控区；所述检测区包括两条以上的检测线，所述质控区包括一条以上的质控线，且所述检测线中至少有两条检测线上所包被的第二对应物的浓度或质量相同，或至少有两条检测线上所包被的第二对应物能结合等浓度或等质量的待检测目的物。利用本发明所述试纸条进行抗原或抗体检测时，减小了由于显色条件不同带来的误差，提高了检测结果，而且操作简单，使用方便。



1. 一种半定量检测抗原或抗体的免疫层析试纸条,其包括:
粘附支架;和
沿层析方向依次黏贴在粘附支架上的加样区、标记物结合区、显色区和吸水区;
所述显色区上沿层析方向依次设有检测区和质控区;
所述标记物结合区包含有带有标记物且能与待检测目的物结合的第一对应物,所述检测区的检测线上包被有能与待检测目的物结合的第二对应物,所述质控区的质控线上包被有与所述待检测目的物相应的质控物;
所述检测区包括两条以上的检测线,所述质控区包括一条以上的质控线;且所述检测线中至少有两条检测线上所包被的第二对应物的浓度或质量相同,或至少有两条检测线上所包被的第二对应物能结合等浓度或等质量的待检测目的物。
2. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于,所述标记物为胶体金颗粒、化学发光试剂、化学显色试剂、金属粒子、碳纳米颗粒、胶乳颗粒、荧光物质、稀土离子、磁性微粒和量子点中的一种或多种。
3. 根据权利要求1或2所述的试纸条,其特征在于,所述待检目的物为待检抗原,且所述第一对应物为与所述待检抗原结合的抗体a,所述第二对应物为与所述待检抗原结合的抗体b,所述抗体a和抗体b识别所述待检抗原上不同的抗原决定簇;所述质控物为含待检抗原的标准品或能与抗体a结合的二抗c。
4. 根据权利要求1或2所述的试纸条,其特征在于,所述待检测目的物为待检测抗体,且所述第一对应物为与所述待测抗体对应的二抗d,所述第二对应物为与所述待检测抗体对应的抗原,所述质控物为含待检测抗体的标准品或其他的能达到相应质控效果的质控物。
5. 根据权利要求1或2所述的试纸条,其特征在于:所述待检测目的物为待检测抗体,且所述第一对应物为与所述待测抗体对应的抗原,所述第二对应物为与所述待检测抗体对应的二抗d,所述质控物为含待检测抗体的标准品或其他的能达到相应质控效果的质控物。
6. 根据权利要求1或2所述的试纸条,其特征在于,所述待检测目的物为待检测抗体,且所述第一对应物为与所述待检测抗体对应的抗原e,所述第二对应物为与所述待检测抗体对应的抗原f,所述抗原e和所述抗原f与所述待检测抗体的不同部位结合,所述质控物为含待检测抗体的标准品或其他的能达到相应质控效果的质控物。
7. 根据权利要求1或2所述的试纸条,其特征在于,所述试纸条采用双抗体夹心法检测抗原。
8. 根据权利要求1或2所述的试纸条,其特征在于,所述试纸条采用间接法、捕获法或双抗原夹心法检测抗体。
9. 一种免疫层析检测试剂盒,其包括权利要求1-8中任一项所述的试纸条。
10. 一种免疫层析检测方法,其采用权利要求1-8中任一项所述的试纸条或权利要求9所述的试剂盒进行检测。

一种半定量检测抗原或抗体的免疫层析试纸条及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于体外免疫检测技术领域,具体涉及一种半定量检测抗原或抗体的免疫层析试纸条及其应用。

背景技术

[0002] 随着各类疾病发病率的不断提高,大众对于简便、快捷、特异性强的检测技术的需求越来越大。

[0003] 免疫层析技术是以胶体金或荧光等作为示踪标记物应用于体内抗原或抗体检测的一种新型的检测技术。由于该技术具有成本较低使用方便、快速、便于基层使用和现场使用以及所有反应能在15分钟内完成等优势,免疫层析技术已应用于人绒毛膜促性腺激素(HCG)、甲胎蛋白(AFP)、前列腺特异抗原(PSA)、禽流感、鼠疫、人体包虫病和肺炎支原体等的临床检测。目前免疫层析技术主要进行定性检测或者需要额外附加比色卡进行比对进行半定量检测。而更为精确的定量检测方法如化学发光法,时间分辨荧光法等方法的过程复杂,操作繁琐且需要借助昂贵的仪器进行最后的结果读取。因而开发一种快速的能够短时间内直接读取实验检测指标所处范围的检测方法就显得尤为迫切。尤其是对于前列腺特异抗原、C肽、卵泡刺激素和黄体生成素等具有参考范围的临床检测指标,其检测结果即使同为阳性但是浓度高低不同则意义相差甚远,代表了是否患有不同的疾病或者所患疾病的不同阶段。因而在检测结果为阳性时进一步确定其检测结果所处范围尤为重要。

[0004] 目前应用开发的免疫层析技术一般针对同一被检测物只含有一条检测线,因而对于具有一定参考范围的身体指标的检测,免疫层析技术尚无直接快速半定量检测应用的实例。

发明内容

[0005] 本发明针对现有技术的不足提供了一种半定量检测抗原或抗体的免疫层析试纸条,通过观察本检测试纸条的检测结果,可以快速的确定被测试者待检测身体指标是否位于参考正常范围内或患病的不同阶段。

[0006] 为此,本发明第一方面提供了一种半定量检测抗原或抗体的免疫层析试纸条,其包括:

[0007] 粘附支架;和

[0008] 沿层析方向依次黏贴在粘附支架上的加样区、标记物结合区、显色区和吸水区;

[0009] 所述显色区上沿层析方向依次设有检测区和质控区;

[0010] 所述检测区包括两条以上的检测线,所述质控区包括一条以上的质控线。

[0011] 本发明中所述用语“两条以上”表示大于等于两条;同样,用语“一条以上”表示大于等于一条。

[0012] 在本发明的一些优选的实施方式中,所述检测线与质控线均与层析方向垂直。

[0013] 在本发明的一些实施方式中,所述标记物结合区包含有带有标记物且能与待检测

目的物结合的第一对应物；所述检测区的检测线上包被有能与待检测目的物结合的第二对应物；所述质控区的质控线上包被有与待检测目的物对应的质控物。

[0014] 根据本发明，所述检测线中至少有两条检测线上所包被的第二对应物的浓度或质量相同，或至少有两条检测线上所包被的第二对应物能结合等浓度或等质量的待检测目的物。

[0015] 在本发明的一些优选的实施方式中，所述检测线中靠近标记物结合区或质控区的至少两条检测线上所包被的第二对应物的浓度或含量相同。

[0016] 在本发明的一些实施方式中，所述标记物为胶体金颗粒、化学发光试剂、化学显色试剂、金属粒子、碳纳米颗粒、胶乳颗粒、荧光物质、稀土离子、磁性微粒和量子点中的一种或多种。

[0017] 在本发明的一些优选的实施方式中，所述标记物为胶体金颗粒。

[0018] 在本发明的一些实施方式中，所述待检目的物为待检抗原，且所述第一对应物为与所述待检抗原结合的抗体a，所述第二对应物为与所述待检抗原结合的抗体b，所述抗体a和抗体b识别所述待检抗原上不同的抗原决定簇；所述的质控物为含待检抗原的标准品或与抗体a结合的二抗c。

[0019] 在本发明的另一些实施方式中，所述待检目的物为待检抗体，且所述第一对应物为与所述待检抗体结合的二抗d，所述第二对应物为与所述待检抗体结合的抗原；所述质控物为含待检测抗体的标准品或其他的能达到相应质控效果的质控物。

[0020] 在本发明的一些实施方式中，所述待检目的物为待检抗体，且所述第一对应物为与所述待检抗体结合的抗原，所述第二对应物为与所述待检抗体结合的二抗d；所述质控物为含待检测抗体的标准品或其他的能达到相应质控效果的质控物。

[0021] 在本发明的另一些实施方式中，所述待检目的物为待检抗体，且所述第一对应物为与所述待检抗体结合的抗原e，所述第二对应物为与所述待检抗体结合的抗原f，抗原e和抗原f与待检测抗体的不同位点结合，所述质控物为含待检测抗体的标准品或其他的能达到相应质控效果的质控物。

[0022] 在本发明的一些实施方式中，所述试纸条采用双抗体夹心法检测抗原。

[0023] 在本发明的另一些实施方式中，所述试纸条采用间接法、捕获法或双抗原夹心法检测抗体。

[0024] 本发明中，被检测的待检测样品可以为血液样品、尿液、唾液或粪便。

[0025] 本发明中，所述粘附支架的基质材质可选用PVC板，加样区的基质材质选用聚脂膜或玻璃纤维，标记物结合区的基质材质可选用聚脂膜、玻璃纤维素膜或滤纸纤维，显色区的基质材质可为硝酸纤维素膜，吸水区的基质材质可为市售吸水滤纸等吸水材料。

[0026] 本发明第二方面提供了一种免疫层析检测试剂盒，其包括本发明第一方面所述的试纸条。

[0027] 本发明第三方面提供了一种免疫层析检测方法，其采用本发明第一方面所述的试纸条或本发明第二方面所述的试剂盒进行检测。具体地，将待测样品滴加到加样区或将加样区浸入待测样品中，平放静置5-20分钟；然后通过观察检测线和质控线的条带颜色，判断待测样品中被检测抗原或被检测抗体的浓度或含量范围。

[0028] 本发明的有益效果为：本发明所述试纸条的显色区上设置有包被同一物质的多条

检测线(两条以上),且至少有两条检测线上所包被的物质的浓度或质量相同,或至少有两条检测线上所包被的物质能结合等浓度或等质量的待检测目的物。这样在层析方向上通过抗原抗体反应(夹心法、捕获法或间接法)对标记物进行固化显色,进而对待检测目的物的含量进行半定量的检测。该试纸条可以实现半定量检测,检测快速,无需任何仪器设备,携带方便,检测成本低,简单易操作,特异性强和检测灵敏度高。利用本发明所述试纸条进行抗原或抗体半定量检测的方法,减小了由于显色条件不同带来的误差,提高了检测结果,并能最大程度地降低不必要的精确检测所带来的操作不便和使用成本,而且操作简单,使用方便。

附图说明

[0029] 下面将结合附图来说明本发明。

[0030] 图1为本发明实施例1中所采用的试纸条的结构示意图。图中附图标记的含义如下:1加样区;2标记物结合区;3显色区;301检测线(T线);302质控线(C线);4吸水区;5粘附支架。

[0031] 图2为实施例1采用含两条检测线的试纸条对血清中甲胎蛋白含量进行检测的显色示意图。

具体实施方式

[0032] 为使本发明容易理解,下面将结合附图详细说明本发明。

[0033] 本发明所述的试纸条既能采用双抗体夹心法对抗原进行检测,又能采用间接法、双抗原夹心法或捕获法对抗体进行检测。

[0034] 为此,本发明第一方面所涉及的半定量检测抗原或抗体的免疫层析试纸条,其包括:

[0035] 粘附支架;和

[0036] 沿层析方向依次黏贴在粘附支架上的加样区、标记物结合区、显色区和吸水区;

[0037] 所述显色区上沿层析方向依次设有检测区和质控区;

[0038] 所述检测区包括两条以上的检测线,所述质控区包括一条以上的质控线。

[0039] 在本发明的一些优选的实施方式中,所述检测线与质控线均与层析方向垂直。

[0040] 在本发明的一些实施方式中,所述试纸条为采用双抗体夹心法检测抗原的试纸条。该试纸条的标记物结合区包含有带有标记物且能与待检抗原结合的抗体a;所述检测区的检测线上包被有相同的物质,具体为能与待检抗原结合的抗体b,且所述抗体a和抗体b识别待检抗原上不同的抗原决定簇;所述质控区的质控线上包被有含待检抗原的标准品或与抗体a结合的二抗c。

[0041] 所述检测线中至少有两条检测线上所包被的抗体b的浓度或含量相同,或至少有两条检测线上所包被的抗体b能结合等浓度或等量的待检抗原。

[0042] 当采用上述试纸条检测抗原时,根据被测抗原的浓度或含量的参考范围,抗体b被分为若干份包被于检测线上,且至少两条检测线上包被的抗体b的含量相同或者至少有两条检测线处包被的抗体b可以结合或检测等量的待检抗原。当将待检样品被加入到加样区后,待检样品会因毛细作用向吸水区移动并且通过加样区而到达标记物结合区。在标记物

结合区,样品中的待检抗原可以特异性地与带有标记物的抗体a(标记物标记的抗体a)结合,形成抗原-抗体结合物。该抗原-抗体结合物和过量的标记物标记的抗体a在层析作用下继续向着检测区(T线区)和质控区(C线区)迁移。因为标记物标记的抗体a与检测区包被的抗体b识别同一抗原上不同的抗原决定簇,因此已结合了标记物标记的抗体a的待检抗原到达检测区后会与T线区固相化的抗体b结合而产生显色条带。与此同时,剩余的抗原-抗体结合物继续沿层析方向前移,与另一条检测线处固定的抗体b结合而形成第二条显色条带;剩余的抗原-抗体结合物和过量的标记物标记的抗体a继续沿层析方向前移直至形成最后一条显色条带。如果样品中待检抗原的浓度较高,那么在检测区与包被的抗体b结合的抗原就会越多,而抗原已经与标记物标记的抗体a结合,那么通过双抗体夹心在检测区形成的显色条带的颜色也会较深。如果样品中待检抗原的浓度较低,那么在检测区与包被的抗体b结合的抗原就会越少,通过双抗体夹心在检测区形成的显色条带颜色也会较浅。若样品中的待检抗原含量不同,则检测区能够显色的条带和每条条带所呈现的颜色深浅也会不同。通过对比分析显色的T线条带数、每一条T线条带的颜色深浅以及每一条T线上所包被的抗体b浓度或含量,检测人员就可以确定样品中待检抗原的浓度或含量范围。

[0043] 在本发明的另一些实施方式中,所述试纸条为采用间接法检测抗体的试纸条。该试纸条的标记物结合区包含有带有标记物且能与待检抗体结合的二抗d,所述检测区的检测线上包被有相同的物质,具体为能与待检抗体结合的抗原,所述质控区的质控线上包被有含待检测抗体的标准品或其他的能达到相应质控效果的质控物。

[0044] 或者,所述试纸条为采用捕获法检测抗体的试纸条。该试纸条的标记物结合区包含有带有标记物且能与待检抗体结合的抗原,所述检测区的检测线上包被有相同的物质,具体为能与待检抗体结合的二抗d,所述质控区的质控线上包被有含待检测抗体的标准品或其他的能达到相应质控效果的质控物。

[0045] 或者,所述试纸条为采用双抗原夹心法检测抗体的试纸条。该试纸条的标记物结合区包含有带有标记物且能与待检抗体结合的抗原e,所述检测区的检测线上包被有相同的物质,具体为能与待检抗体结合的抗原f,所述抗原e和所述抗原f分别能与所述待检测抗体的不同部位结合,所述质控区的质控线上包被有含待检测抗体的标准品或其他的能达到相应质控效果的质控物。

[0046] 所述检测线中至少有两条检测线上所包被的抗原或二抗的浓度或含量相同,或至少有两条检测线上所包被的抗原或二抗能结合等浓度或等量的待检抗体。

[0047] 下面以间接法为例,详细说明采用本发明所述试纸条进行抗体检测的过程。根据待检抗体的浓度或含量的参考范围,待检抗体所对应的抗原被分为若干份包被于检测线上,且至少两条检测线包被的抗原的含量相同或者至少有两条检测线处包被的抗原可以结合或检测等量的待检抗体。当待检样品被加入到加样区后,待检样品会因毛细作用向吸水区移动并且通过加样区而到达标记物结合区。在标记物结合区,样品中的待测抗原待检抗体可以特异性地与带有标记物的二抗d(标记物标记的二抗d)结合,形成结合物。该结合物和过量的标记物标记的二抗d在层析作用下继续向着检测区(T线区)和质控区(C线区)迁移。在T线区,已结合了标记物标记的二抗d的待检抗体到达检测区后会与T线区固相化的抗原结合而产生一条显色条带。与此同时,剩余的结合物和标记物标记的二抗d继续向吸水区移动并与检测区第二条检测线上固定的抗原结合而形成第二条显色条带;剩余的结合物和

过量标记得二抗d继续向吸水区移动直至形成最后一条显色条带。如果样品中待检抗体的浓度较高,那么在检测区与包被的抗原结合的抗体就会越多,而抗体已经与标记物标记的二抗d结合,那么通过间接法在检测区形成的显色条带的颜色也会较深。如果样品中待检抗体的浓度较低,那么在检测区与包被的抗原结合的抗体就会越少,通过间接法在检测区形成的显色条带颜色也会较浅。若样品中的待检抗体含量不同,则检测区能够显色的条带和每条条带所呈现的颜色深浅会有所不同。通过对比分析显色的T线条带数、每一条T线条带的颜色深浅以及每一条T线上所包被的抗原浓度或含量,检测人员就可以确定样品中待检抗体的浓度或含量范围。

[0048] 在本发明的一些实施方式中,所述标记物为胶体金颗粒、化学发光试剂、化学显色试剂、金属粒子、碳纳米颗粒、胶乳颗粒、荧光物质、稀土离子、磁性微粒和量子点中的一种或多种;优选地,所述标记物为胶体金颗粒。

[0049] 本发明中,被检测的待检测样品可为血液样品、尿液、唾液或粪便。

[0050] 本发明第二方面涉及一种免疫层析检测试剂盒,其包括本发明第一方面所述的试纸条。

[0051] 本发明第三方面涉及一种免疫层析检测方法,其采用本发明第一方面所述的试纸条或本发明第二方面所述的试剂盒进行检测。具体地,将待测样品滴加到加样区或将加样区浸入待测样品中,平静放置5-20分钟;然后通过观察检测线和质控线的条带颜色,判断待测样品中被检测抗原或被检测抗体的浓度或含量范围。

[0052] 实施例

[0053] 为使本发明更加容易理解,下面将结合实施例来进一步详细说明本发明,这些实施例仅起说明性作用,并不局限于本发明的应用范围。本发明中所使用的原料或组分若无特殊说明均可以通过商业途径或常规方法制得。

[0054] 实施例1:采用双抗体夹心法快速检测人血清甲胎蛋白抗原的含量。

[0055] 1.1胶体金免疫层析检测试剂盒的制备

[0056] 本实施例中所采用的免疫层析检测试剂盒中的试纸条的结构示意图如图1所示,具体为:

[0057] 所述试纸条的粘附支架上沿层析方向依次首尾相接并粘附有加样区、标记物结合区、显色区和吸水区。该试纸条在吸水区的作用下通过毛细作用可使待检样品依次经过加样区、标记物结合区和显色区并最终到达吸水区以完成检测。在显色区上依次并行排列有两条检测线(T1线和T2线)和一条质控线(C线),且两条检测线和质控线均与层析方向垂直。

[0058] 标记物结合区的基质材质上包括400ng/mL的胶体金所标记的鼠抗人甲胎蛋白IgG单克隆抗体a(第一对应物),抗体a通过识别甲胎蛋白抗原上特定的抗原决定簇而与该待检抗原发生抗原抗体反应而结合。

[0059] 显色区的两条检测线上包被有鼠抗人甲胎蛋白IgG单克隆抗体b(第二对应物),两条检测线上包被的抗体b的浓度相同。抗体b通过识别甲胎蛋白抗原上特定的抗原决定簇而与该待检抗原发生免疫反应而结合,抗体b识别的抗原决定簇与抗体a识别的抗原决定簇不同。质控区的条质控线上包被有10ng/mL的甲胎蛋白抗原的标准品(质控物)。

[0060] 参考的甲胎蛋白浓度在正常人体血清中低于20ng/mL,即参考上限为20ng/mL,故而在两条检测线T1和T2上所包被的抗体b的浓度均为10ng/mL。

[0061] 上述第一对应物、第二对应物和质控物的设定遵循以下规则：第一对应物的浓度至少大于所有检测线上第二对应物的浓度和质控物的浓度之和，或者第一对应物的质量至少大于所有检测线上第二对应物的质量和质控物的质量之和，以确保检测线和质控线都能正常显色。检测线设定为两条，且两条检测线上包被的第二对应物的浓度或含量相同并且每条检测线上包被的第二对应物的浓度或含量为参考值的二分之一。通过上述设定，能保证在检测应用中，有足够的标记结合物能依次经过各个检测线和质控线，并能在经过这些线形成固相化条带时，标记结合物上结合的待检目的物的含量，足以与检测线上的第二对应物进行免疫反应，而标记结合物上结合的第一对应物的含量，足以与质控线上的质控物进行免疫反应，这样才能在检测中通过对层析状况、标记物结合物的复溶状况等，判断半定量免疫层析试纸条的质量是否符合使用要求，同时检测线和质控线均显示正常，才能半定量地判定待检目的物的浓度范围。

[0062] 比如，在本实施例中，根据甲胎蛋白抗原的血清参考浓度，则每条检测线处包被的鼠抗人甲胎蛋白IgG单克隆抗体b的浓度为10ng/mL；质控线处包被的甲胎蛋白标准品的浓度为10ng/mL；标记物结合区包括的标记物标记的鼠抗人甲胎蛋白IgG单克隆抗体a的浓度为400ng/mL。这样在本实施例中，第二对应物和质控物的浓度之和为10ng/mL+10ng/mL+10ng/mL=30ng/mL。第一对应物的浓度应大于30ng/mL，本实施例中第一对应物的浓度为400ng/mL大于30ng/mL符合设定。

[0063] 按照上述参数制备检测人血清甲胎蛋白抗原含量的胶体金免疫层析检测试剂盒。具体的制备过程如下：

[0064] 步骤1，制备胶体金标记的鼠抗人甲胎蛋白IgG单克隆抗体a

[0065] 将100mL氯金酸溶液加热煮沸后迅速加入0.75mL-4mL 1wt%的枸橼酸三钠或柠檬酸三钠水溶液，待颜色稳定后继续煮沸约5-30分钟，冷却即可得胶体金溶液。

[0066] 调节胶体金溶液的pH值至鼠抗人甲胎蛋白IgG单克隆抗体a（第一对应物）的等电点或偏碱性的附近（最佳pH值），按最适标记蛋白量缓慢向胶体金溶液中添加鼠抗人IgG单克隆抗体a。

[0067] 用磁力搅拌器混合均匀后，加入BSA或聚乙二醇溶液，离心20-50分钟，沉淀物用含1%BSA的PB液或含有聚乙二醇的缓冲液复溶，重复离心2-3次，最终沉淀复溶体积为原体积的1/10，得到胶体金标记的鼠抗人甲胎蛋白IgG单克隆抗体a。

[0068] 最适蛋白质标记量的确定方法为：用0.1mol/L K_2CO_3 将胶体金溶液的pH值调至8.0-9.2，将含不同蛋白质含量的各胶体金溶液依次加入若干离心管中使之成梯度变化，混匀静置2-4小时。然后在每管中加入100 μ L 10%的NaCl溶液，以颜色不变管的蛋白量为最小蛋白稳定量，在此基础上再添加10%-20%蛋白量为最适蛋白标记量。

[0069] 最佳pH值为第一对应物的等电点或比等电点pH值稍大，其确定方法为：将胶体金溶液加入若干管中，每管中胶体金溶液的加入量为1mL。用0.1mol/L K_2CO_3 调节每管中胶体金溶液的pH值，使之成梯度变化。在各管中均加入等量最适标记量蛋白，混匀静置2小时，加入100 μ L 10%的NaCl溶液，以颜色不变管的pH值为最佳pH值。

[0070] 步骤2，标记物结合区的制备

[0071] 标记物结合区的基质材质选用玻璃纤维膜。首先采用含BSA的处理液处理玻璃纤维膜，然后将400ng/mL的胶体金标记的鼠抗人甲胎蛋白IgG单克隆抗体a溶液均匀喷涂于

玻璃纤维素膜上,获得标记物结合区。

[0072] 步骤3,制备加样区

[0073] 加样区的基质材质选自聚脂膜或玻璃纤维。加样区经处理液处理过夜。

[0074] 步骤4,制备显色区

[0075] 显色区的基质材质选用硝酸纤维素膜,按使用中的层析方向,在显色区上划线分为检测区(T线区)和质控区(C线区)。然后在T线区检测线上各包被浓度为10ng/mL的鼠抗人甲胎蛋白IgG单克隆抗体b,在C线区质控线上包被浓度10ng/mL的甲胎蛋白抗原标准品,获得显色区。

[0076] 步骤5,制备吸水区

[0077] 吸水区的基质材质选用滤纸等吸水材料。吸水区通过毛细作用促进待检样品依次经过加样区、标记物结合区、显色区并最终到达吸水区而进行层析,以完成检测。

[0078] 步骤6,检测试剂盒的组装

[0079] 将制备得到的加样区、标记物结合区、显色区以及吸水区依次粘贴到粘附支架上得到半定量检测人血清中甲胎蛋白抗原的免疫层析试纸条,其结构示意图如图1所示,再进一步组装就得到免疫层析检测试剂盒。

[0080] 1.2人血清甲胎蛋白抗原含量的检测

[0081] 化验室对人群进行常规甲胎蛋白测定时,正常人血清中甲胎蛋白低于20-25ng/mL。低于该值则为正常,高于该值时则为阳性,患有肝癌的可能性增高,需做更多进一步的检测。

[0082] 在检测时,将一定量的待检血清样品滴加至加样区上,待检血清样品在层析作用下从加样区到达标记物结合区后,则甲胎蛋白通过抗原抗体反应与标记物结合区的胶体金标记的抗体a结合,得到甲胎蛋白与胶体金标记的抗体a的复合物。该复合物和剩余的胶体金标记的抗体a在层析作用下向着检测区迁移,与检测线处的抗体b结合形成酒红色的检测带。未被结合的胶体金标记的抗体a在层析作用下向着质控区迁移,在质控线处与甲胎蛋白结合形成酒红色的质控线。在检测线和质控线处结合的胶体金标记的抗体a越多则形成的酒红色条带颜色越深,在检测线和质控线处结合的胶体金标记的抗体a越少则形成的酒红色条带颜色越浅。通过检测线与质控线的颜色比对可以得到待检目的物对应的浓度范围,半定量地确定待检血清样品中甲胎蛋白抗原的浓度范围。上述整个检测过程,将试纸条平放静置10到20分钟,就能完成,快速简便且准确。

[0083] 结果判定:若C线未显色,则检测无效;若C线显色,则检测有效。如果检测结果如图2A所示,C线显色,T1线和T2线都显色且颜色深度相同且与C线相近,则表示待检血清中甲胎蛋白水平高于20ng/mL,患肝癌可能性增加,需要做进一步的检查。如果检测结果如图2B所示,C线显色,T1线和T2线都显色但T1线颜色深于T2线,则表示待检血清中甲胎蛋白水平低于20ng/mL,为正常。如果C线显色,只有T1线显色或者T1线和T2线都不显示,则表示待检血清中甲胎蛋白水平低于20ng/mL,为正常。

[0084] 应当注意的是,以上所述的实施例仅用于解释本发明,并不构成对本发明的任何限制。通过参照典型实施例对本发明进行了描述,但应当理解为其中所用的词语为描述性和解释性词汇,而不是限定性词汇。可以按规定在本发明权利要求的范围内对本发明作出修改,以及在不背离本发明的范围和精神内对本发明进行修订。尽管其中描述的本发明涉

及特定的方法、材料和实施例,但是并不意味着本发明限于其中公开的特定例,相反,本发明可扩展至其他所有具有相同功能的方法和应用。



图1

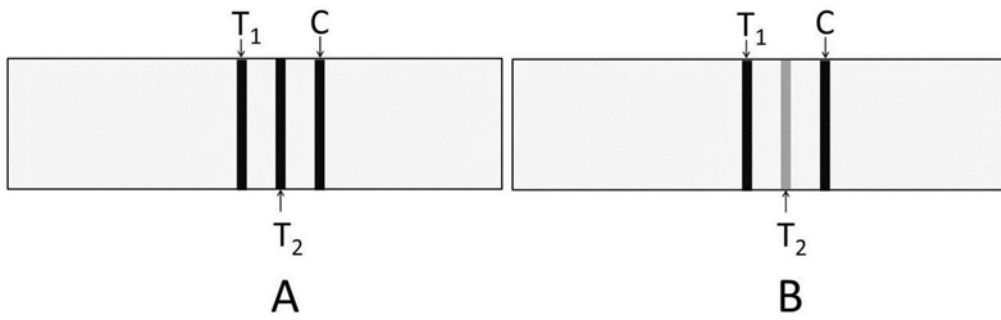


图2

专利名称(译)	一种半定量检测抗原或抗体的免疫层析试纸条及其应用		
公开(公告)号	CN107656048A	公开(公告)日	2018-02-02
申请号	CN2017110831261.1	申请日	2017-09-15
[标]申请(专利权)人(译)	刘哲		
申请(专利权)人(译)	刘哲		
当前申请(专利权)人(译)	刘哲		
[标]发明人	刘密 王镞 刘哲		
发明人	刘密 王镞 刘哲		
IPC分类号	G01N33/551 G01N33/558 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/551 G01N33/531 G01N33/558		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及体外免疫检测技术领域的一种半定量检测抗原或抗体的免疫层析试纸条及其应用。该试纸条包括：粘附支架；和沿层析方向依次黏贴在粘附支架上的加样区、标记物结合区、显色区和吸水区；所述显色区上沿层析方向依次设有检测区和质控区；所述检测区包括两条以上的检测线，所述质控区包括一条以上的质控线，且所述检测线中至少有两检测线上所包被的第二对应物的浓度或质量相同，或至少有两检测线上所包被的第二对应物能结合等浓度或等质量的待检测目的物。利用本发明所述试纸条进行抗原或抗体检测时，减小了由于显色条件不同带来的误差，提高了检测结果，而且操作简单，使用方便。

