



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105785013 A

(43)申请公布日 2016.07.20

(21)申请号 201610257031.4

(22)申请日 2016.04.21

(71)申请人 卢连伟

地址 261100 山东省潍坊市大家洼街道禄
海路201号4号楼1单元202号

(72)发明人 卢连伟

(74)专利代理机构 贵阳派腾阳光知识产权代理
事务所(普通合伙) 52110

代理人 管宝伟

(51)Int.Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/574(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书2页 说明书7页

(54)发明名称

一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试
纸及其制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸及其制备方法,所述试纸包括底板、样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫;试纸制备时由样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接粘贴在底板上;所述胶体金结合垫上包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述硝酸纤维素膜上包被有检测线1,检测线2和质控线,所述检测线1包被有弓胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,所述检测线2包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述质控线包被有羊抗兔IgG抗体。本发明试纸操作制备和操作步骤简单,灵敏度高,为辅助胰腺癌的早期检查提供了很好的依据。

1. 一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸,其特征在于,所述试纸包括底板、样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫;试纸制备时由样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接粘贴在底板上;所述胶体金结合垫上包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述硝酸纤维素膜上包被有检测线1,检测线2和质控线,所述检测线1包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,所述检测线2包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述质控线包被有羊抗兔IgG抗体。

2. 如权利要求1所述的一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸,其特征在于,所述样品吸收垫经处理液处理,所述处理液为Tris-Hcl溶液,其中还包含1.7-2.9%的牛血清白蛋白、1.2-2.6%的聚乙烯吡咯烷酮、1-2.4%的海藻糖,pH为7.5-9.5。

3. 如权利要求1所述的一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸,其特征在于,所述底板为PVC胶板。

4. 如权利要求1所述的一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸,其特征在于,所述胶体金溶液的制备方法为:将质量浓度为0.01%的氯金酸溶液100mI,加热至沸腾后迅速加入1.5mI浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液,加热煮沸15min,冷却后以蒸馏水恢复到原体积,得到胶体金溶液。

5. 如权利要求1所述的一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸,其特征在于,所述的胶体金标记抗体的制备方法为:将制备好的胶体金溶液取出5mL的量两份,取抗CA19-9单克隆抗体和幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体各30 μ g分别加入上述两份的胶体金溶液中,搅拌30min使其混合,再分别加入质量浓度为6%的胎牛血清,其加入量为使总溶液最终浓度为1.1%,先以500r/min的转速低速离心5min,再以2500r/min的转速高速离心15min,取上清液,5 $^{\circ}$ C下保存,即得到纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体。

6. 如权利要求1所述的一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸,其特征在于,所述硝酸纤维素膜的包被方法为:将硝酸纤维素膜粘在底板上,用划膜仪在其上特定位置上划出检测线1,检测线2和质控线的位置,检测线1上喷涂 包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,检测线2上喷涂包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,质控线上喷涂包被有羊抗兔IgG抗体。

7. 如权利要求1所述的一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸的制备方法为:

步骤一:样品吸收垫经处理液处理,所述处理液为Tris-Hcl溶液,其中还包含1.7-2.9%的牛血清白蛋白、1.2-2.6%的聚乙烯吡咯烷酮、1-2.4%的海藻糖,pH为7.5-9.5。

步骤二:胶体金结合垫制备方法:

(1)胶体金溶液的制备方法为:将质量浓度为0.01%的氯金酸溶液100mI,加热至沸腾后迅速加入1.5mI浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液,加热煮沸15min,冷却后以蒸馏水恢复到原体积,得到胶体金溶液,备用;

(2)胶体金标记抗体的制备方法为:将(1)制备好的胶体金溶液取出5mL的量两份,取抗CA19-9单克隆抗体和幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体各30 μ g分别加入上述两份的胶体金溶液中,搅拌30min使其混合,再分别加入质量浓度为6%的胎牛血清,其加入量为使总溶液最终浓度为1.1%,先以500r/min的转速低速离心5min,再以2500r/min的转速

高速离心15min,取上清液,5℃下保存,即得到纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,备用;

(3)将(2)中制备好的纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体分别均匀喷涂于玻璃纤维膜上,冷冻干燥,即为胶体金结合垫,备用;

步骤三:硝酸纤维素膜的包被方法为:将硝酸纤维素膜粘在底板上,用划膜仪在其上特定位置上划出检测线1,检测线2和质控线的位置,检测线1上喷涂包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,检测线2上喷涂包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,质控线上喷涂包被有羊抗兔IgG抗体,备用;

步骤四:试纸制备:将样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫依次相互叠加粘贴在底板上,35-40℃下干燥,用斩切机切成5mm宽的试纸条, 然后进行包封储存。

一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及医学检验技术领域,具体涉及一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸及其制备方法。

背景技术

[0002] 胰腺癌是一种恶性程度很高,诊断和治疗都很困难的消化道恶性肿瘤,约90%为起源于腺管上皮的导管腺癌,其发病率和死亡率近年来明显上升,5年生存率<1%,是预后最差的恶性肿瘤之一。胰腺癌早期的确诊率不高,手术死亡率较高,而治愈率很低。本病发病率男性高于女性,男女之比为1.5~2:1,男性患者远较绝经前的妇女多见,绝经后妇女的发病率与男性相仿。胰腺癌的病因尚不十分清楚,其发生与吸烟、饮酒、高脂肪和高蛋白饮食、过量饮用咖啡、环境污染及遗传因素有关,近年来的调查报告发现糖尿病人群中胰腺癌的发病率明显高于普通人群,也有人注意到慢性胰腺炎病人与胰腺癌的发病存在一定关系,发现慢性胰腺炎病人发生胰腺癌的比例明显增高,另外还有许多因素与此病的发生有一定关系,如职业、环境、地理等。

[0003] 跟大多数恶性肿瘤一样,胰腺癌的早期症状往往不典型,大多数患者的主要症状是上腹部不舒服,有些病人可能会出现消化不良,食欲不好,或者一段时间内不明原因地出现体重明显下降,部分病人会有疼痛,疼痛与否和肿瘤的位置以及大小有关系,这种疼痛可能是腹痛,也可能是腰背部痛。另外,部分病人会出现黄疸,黄疸更多见于壶腹部和胆管下段肿瘤,但需要指出的是,黄疸的出现并不意味着肿瘤到了晚期,有些情况下正是由于黄疸才使得肿瘤得以较早期的发现,所以需要一种检测手段在症状不典型的时期可以进行简单方便的检测,为胰腺癌的确诊提供辅助的检测方法,为患者争取早期的检测确诊和治疗提供帮助,这也是医学上一直研究和想要突破的难点。

[0004] 研究表明,血清中CA19-9等肿瘤标志物的升高和胰腺癌有相当大的关联,且胰腺癌患者中幽门螺旋杆菌血清呈阳性,与对照组有显著差异,表明幽门螺旋杆菌的感染与胰腺癌有很大的关联,但并不绝对,发明者将两者的检测相结合,同时检测CA19-9肿瘤标记物和幽门螺旋杆菌的感染,大大提高了检测结果的准确性,为胰腺癌的早期确诊提供新的参考技术,为医学进步作出贡献。

发明内容

[0005] 本发明解决的技术问题就是提供一种快速准确地辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸及其制备方法。

[0006] 本发明的技术方案为:一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸包括底板、样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫;试纸制备时由样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫依次搭接粘贴在底板上;所述胶体金结合垫上包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述硝酸纤维素膜上包被有检测线1,检测线2和质控线,所述检测线1包被有胶体金标记的抗

CA19-9单克隆抗体,所述检测线2包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述质控线包被有羊抗兔IgG抗体。

[0007] 优选的,所述样品吸收垫经处理液处理,所述处理液为Tris-HCl溶液,其中还包含1.7-2.9%的牛血清白蛋白、1.2-2.6%的聚乙烯吡咯烷酮、1-2.4%的海藻糖,pH为7.5-9.5,所述处理液可增加样品吸收垫的吸收能力,增强检测时的稳定性,促进层析作用发生。

[0008] 优选的,所述底板为PVC胶板,为金标试纸条的常用原料,具有质轻、防蛀、耐酸碱的优良性能。

[0009] 优选的,所述胶体金溶液的制备方法为:将质量浓度为0.01%的氯金酸溶液100mL,加热至沸腾后迅速加入1.5mL浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液,加热煮沸15min,冷却后以蒸馏水恢复到原体积,得到胶体金溶液。

[0010] 优选的,所述的胶体金标记抗体的制备方法为:将制备好的胶体金溶液取出5mL的量两份,取抗CA19-9单克隆抗体和幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体各30μg分别加入上述两份的胶体金溶液中,搅拌30min使其混合,再分别加入质量浓度为6%的胎牛血清,其加入量为使总溶液最终浓度为1.1%,先以500r/min的转速低速离心5min,再以2500r/min的转速高速离心15min,取上清液,5℃下保存,即得到纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体。

[0011] 优选的,所述硝酸纤维素膜的包被方法为:将硝酸纤维素膜粘在底板上,用划膜仪在其上特定位置上划出检测线1,检测线2和质控线的位置,检测线1上喷涂包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,包被量为20-40μg,检测线2上喷涂包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,包被量为20-40μg,质控线上喷涂包被有羊抗兔IgG抗体,包被量为10-20μg。

[0012] 一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸的制备方法为:

[0013] 步骤一:样品吸收垫经处理液处理,所述处理液为Tris-HCl溶液,其中还包含1.7-2.9%的牛血清白蛋白、1.2-2.6%的聚乙烯吡咯烷酮、1-2.4%的海藻糖,pH为7.5-9.5,所述处理液可增加样品吸收垫的吸收能力,增强检测时的稳定性,促进层析作用发生,备用;

[0014] 步骤二:胶体金结合垫制备方法:

[0015] (1)胶体金溶液的制备方法为:将质量浓度为0.01%的氯金酸溶液100mL,加热至沸腾后迅速加入1.5mL浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液,加热煮沸15min,冷却后以蒸馏水恢复到原体积,得到胶体金溶液,备用;

[0016] (2)胶体金标记抗体的制备方法为:将(1)制备好的胶体金溶液取出5mL的量两份,取抗CA19-9单克隆抗体和幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体各30μg分别加入上述两份的胶体金溶液中,搅拌30min使其混合,再分别加入质量浓度为6%的胎牛血清,其加入量为使总溶液最终浓度为1.1%,先以500r/min的转速低速离心5min,再以2500r/min的转速高速离心15min,取上清液,5℃下保存,即得到纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,备用;

[0017] (3)将(2)中制备好的纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体分别均匀喷涂于玻璃纤维膜上,冷冻干燥,即为胶体金结合垫,备用;

[0018] 步骤三:硝酸纤维素膜的包被方法为:将硝酸纤维素膜粘在底板上,用划膜仪在其

上特定位置上划出检测线1,检测线2和质控线的位置,检测线1上喷涂包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,包被量为20-40 μ g,检测线2上喷涂包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,包被量为20-40 μ g,质控线上喷涂包被有羊抗兔IgG抗体,包被量为10-20 μ g,备用;

[0019] 步骤四:试纸制备:将样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫依次相互叠加粘贴在底板上,35-40℃下干燥,用斩切机切成5mm宽的试纸条,然后进行包封储存。

[0020] 本发明的试纸使用方法:室温条件下取被检样品液血清50-70uI,将试纸条的样品吸收垫端插入待测样品液,插入长度不能超过标记最大线,15min内观察结果,超过15min检测效果无效。如果检测线1、检测线2均出现红色条带,说明呈阳性,即为有可能患胰腺癌,如果不显色则呈阴性,即为没有患胰腺癌,如果质控线不显色,说明试纸条无效;当要检测的样品中含有待测物时,样品到达胶体金标记位置,和胶体金标记复合物发生免疫反应,层析到检测线位置时,胶体金标记的复合物上的待测物又会和检测线上的抗体发生结合,出现显色反应,C线也显色,即为阳性结果。由于胰腺癌是恶性肿瘤,早期症状不典型,本发明为辅助检测,当检测线1、检测线2只有一条线出现红色条带,代表患癌的可能性比较大,还需进行其他检查确诊,并不能准确说明检测结果为胰腺癌。

[0021] 本发明的有益效果体现在:本发明试纸操作制备和操作步骤简单,灵敏度高,同时检测CA19-9肿瘤标记物和幽门螺旋杆菌的感染,为辅助胰腺癌的早期检查提供了很好的依据。

具体实施方式

[0022] 实施例1:

[0023] 一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸包括底板、样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫;试纸制备时由样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接粘贴在底板上;所述胶体金结合垫上包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述硝酸纤维素膜上包被有检测线1,检测线2和质控线,所述检测线1包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,所述检测线2包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述质控线包被有羊抗兔IgG抗体。

[0024] 其中,所述样品吸收垫经处理液处理,所述处理液为Tris-HCl溶液,其中还包含1.7%的牛血清白蛋白、1.2%的聚乙烯吡咯烷酮、1%的海藻糖,pH为7.5,所述处理液可增加样品吸收垫的吸收能力,增强检测时的稳定性,促进层析作用发生;所述底板为PVC胶板,为金标试纸条的常用原料,具有质轻、防蛀、耐酸碱的优良性能;所述胶体金溶液的制备方法为:将质量浓度为0.01%的氯金酸溶液100mI,加热至沸腾后迅速加入1.5mI浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液,加热煮沸15min,冷却后以蒸馏水恢复到原体积,得到胶体金溶液;所述的胶体金标记抗体的制备方法为:将制备好的胶体金溶液取出5mL的量两份,取抗CA19-9单克隆抗体和幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体各30 μ g分别加入上述两份的胶体金溶液中,搅拌30min使其混合,再分别加入质量浓度为6%的胎牛血清,其加入量为使总溶液最终浓度为1.1%,先以500r/min的转速低速离心5min,再以2500r/min的转速高速离心15min,取上清液,5℃下保存,即得到纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标

记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述硝酸纤维素膜的包被方法为:将硝酸纤维素膜粘在底板上,用划膜仪在其上特定位置上划出检测线1,检测线2和质控线的位置,检测线1上喷涂包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,包被量为20 μ g,检测线2上喷涂包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,包被量为20 μ g,质控线上喷涂包被有羊抗兔IgG抗体,包被量为10 μ g。

[0025] 一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸的制备方法为:

[0026] 步骤一:样品吸收垫经处理液处理,所述处理液为Tris-HCl溶液,其中还包含1.7%的牛血清白蛋白、1.2%的聚乙烯吡咯烷酮、1%的海藻糖,pH为7.5,所述处理液可增加样品吸收垫的吸收能力,增强检测时的稳定性,促进层析作用发生,备用;

[0027] 步骤二:胶体金结合垫制备方法:

[0028] (1)胶体金溶液的制备方法为:将质量浓度为0.01%的氯金酸溶液100mL,加热至沸腾后迅速加入1.5mL浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液,加热煮沸15min,冷却后以蒸馏水恢复到原体积,得到胶体金溶液,备用;

[0029] (2)胶体金标记抗体的制备方法为:将(1)制备好的胶体金溶液取出5mL的量两份,取抗CA19-9单克隆抗体和幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体各30 μ g分别加入上述两份的胶体金溶液中,搅拌30min使其混合,再分别加入质量浓度为6%的胎牛血清,其加入量为使总溶液最终浓度为1.1%,先以500r/min的转速低速离心5min,再以2500r/min的转速高速离心15min,取上清液,5 $^{\circ}$ C下保存,即得到纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,备用;

[0030] (3)将(2)中制备好的纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体分别均匀喷涂于玻璃纤维膜上,冷冻干燥,即为胶体金结合垫,备用;

[0031] 步骤三:硝酸纤维素膜的包被方法为:将硝酸纤维素膜粘在底板上,用划膜仪在其上特定位置上划出检测线1,检测线2和质控线的位置,检测线1上喷涂包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,包被量为20 μ g,检测线2上喷涂包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,包被量为20 μ g,质控线上喷涂包被有羊抗兔IgG抗体,包被量为10 μ g,备用;

[0032] 步骤四:试纸制备:将样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫依次相互叠加粘贴在底板上,35 $^{\circ}$ C下干燥,用斩切机切成5mm宽的试纸条,然后进行包封储存。

[0033] 实施例2:

[0034] 一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸包括底板、样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫;试纸制备时由样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫依次搭接粘贴在底板上;所述胶体金结合垫上包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述硝酸纤维素膜上包被有检测线1,检测线2和质控线,所述检测线1包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,所述检测线2包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述质控线包被有羊抗兔IgG抗体。

[0035] 其中,所述样品吸收垫经处理液处理,所述处理液为Tris-HCl溶液,其中还包含2.3%的牛血清白蛋白、1.9%的聚乙烯吡咯烷酮、1.7%的海藻糖,pH为8.5,所述处理液可

增加样品吸收垫的吸收能力,增强检测时的稳定性,促进层析作用发生;所述底板为PVC胶板,为金标试纸条的常用原料,具有质轻、防蛀、耐酸碱的优良性能;所述胶体金溶液的制备方法为:将质量浓度为0.01%的氯金酸溶液100mL,加热至沸腾后迅速加入1.5mL浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液,加热煮沸15min,冷却后以蒸馏水恢复到原体积,得到胶体金溶液;所述的胶体金标记抗体的制备方法为:将制备好的胶体金溶液取出5mL的量两份,取抗CA19-9单克隆抗体和幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体各30 μ g分别加入上述两份的胶体金溶液中,搅拌30min使其混合,再分别加入质量浓度为6%的胎牛血清,其加入量为使总溶液最终浓度为1.1%,先以500r/min的转速低速离心5min,再以2500r/min的转速高速离心15min,取上清液,5 $^{\circ}$ C下保存,即得到纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体;所述硝酸纤维素膜的包被方法为:将硝酸纤维素膜粘在底板上,用划膜仪在其上特定位置上划出检测线1,检测线2和质控线的位置,检测线1上喷涂包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,包被量为30 μ g,检测线2上喷涂包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,包被量为30 μ g,质控线上喷涂包被有羊抗兔IgG抗体,包被量为15 μ g。

[0036] 一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸的制备方法为:

[0037] 步骤一:样品吸收垫经处理液处理,所述处理液为Tris-HCl溶液,其中还包含2.3%的牛血清白蛋白、1.9%的聚乙烯吡咯烷酮、1.7%的海藻糖,pH为8.5,所述处理液可增加样品吸收垫的吸收能力,增强检测时的稳定性,促进层析作用发生,备用;

[0038] 步骤二:胶体金结合垫制备方法:

[0039] (1)胶体金溶液的制备方法为:将质量浓度为0.01%的氯金酸溶液100mL,加热至沸腾后迅速加入1.5mL浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液,加热煮沸15min,冷却后以蒸馏水恢复到原体积,得到胶体金溶液,备用;

[0040] (2)胶体金标记抗体的制备方法为:将(1)制备好的胶体金溶液取出5mL的量两份,取抗CA19-9单克隆抗体和幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体各30 μ g分别加入上述两份的胶体金溶液中,搅拌30min使其混合,再分别加入质量浓度为6%的胎牛血清,其加入量为使总溶液最终浓度为1.1%,先以500r/min的转速低速离心5min,再以2500r/min的转速高速离心15min,取上清液,5 $^{\circ}$ C下保存,即得到纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,备用;

[0041] (3)将(2)中制备好的纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体分别均匀喷涂于玻璃纤维膜上,冷冻干燥,即为胶体金结合垫,备用;

[0042] 步骤三:硝酸纤维素膜的包被方法为:将硝酸纤维素膜粘在底板上,用划膜仪在其上特定位置上划出检测线1,检测线2和质控线的位置,检测线1上喷涂包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,包被量为30 μ g,检测线2上喷涂包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,包被量为30 μ g,质控线上喷涂包被有羊抗兔IgG抗体,包被量为15 μ g,备用;

[0043] 步骤四:试纸制备:将样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫依次相互叠加粘贴在底板上,37.5 $^{\circ}$ C下干燥,用斩切机切成5mm宽的试纸条,然后进行包封储存。

[0044] 实施例3:

[0045] 一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸包括底板、样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫；试纸制备时由样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接粘贴在底板上；所述胶体金结合垫上包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体，和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体；所述硝酸纤维素膜上包被有检测线1，检测线2和质控线，所述检测线1包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体，所述检测线2包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体；所述质控线包被有羊抗兔IgG抗体。

[0046] 其中，所述样品吸收垫经处理液处理，所述处理液为Tris-HcI溶液，其中还包含2.9%的牛血清白蛋白、2.6%的聚乙烯吡咯烷酮、2.4%的海藻糖，pH为9.5，所述处理液可增加样品吸收垫的吸收能力，增强检测时的稳定性，促进层析作用发生；所述底板为PVC胶板，为金标试纸条的常用原料，具有质轻、防蛀、耐酸碱的优良性能；所述胶体金溶液的制备方法为：将质量浓度为0.01%的氯金酸溶液100mI，加热至沸腾后迅速加入1.5mI浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液，加热煮沸15min，冷却后以蒸馏水恢复到原体积，得到胶体金溶液；所述的胶体金标记抗体的制备方法为：将制备好的胶体金溶液取出5mL的量两份，取抗CA19-9单克隆抗体和幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体各30μg分别加入上述两份的胶体金溶液中，搅拌30min使其混合，再分别加入质量浓度为6%的胎牛血清，其加入量为使总溶液最终浓度为1.1%，先以500r/min的转速低速离心5min，再以2500r/min的转速高速离心15min，取上清液，5℃下保存，即得到纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体；所述硝酸纤维素膜的包被方法为：将硝酸纤维素膜粘在底板上，用划膜仪在其上特定位置上划出检测线1，检测线2和质控线的位置，检测线1上喷涂包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体，包被量为40μg，检测线2上喷涂包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体，包被量为40μg，质控线上喷涂包被有羊抗兔IgG抗体，包被量为20μg。

[0047] 一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸的制备方法为：

[0048] 步骤一：样品吸收垫经处理液处理，所述处理液为Tris-HcI溶液，其中还包含2.9%的牛血清白蛋白、2.6%的聚乙烯吡咯烷酮、2.4%的海藻糖，pH为9.5，所述处理液可增加样品吸收垫的吸收能力，增强检测时的稳定性，促进层析作用发生，备用；

[0049] 步骤二：胶体金结合垫制备方法：

[0050] (1)胶体金溶液的制备方法为：将质量浓度为0.01%的氯金酸溶液100mI，加热至沸腾后迅速加入1.5mI浓度为1%的柠檬酸三钠水溶液，加热煮沸15min，冷却后以蒸馏水恢复到原体积，得到胶体金溶液，备用；

[0051] (2)胶体金标记抗体的制备方法为：将(1)制备好的胶体金溶液取出5mL的量两份，取抗CA19-9单克隆抗体和幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体各30μg分别加入上述两份的胶体金溶液中，搅拌30min使其混合，再分别加入质量浓度为6%的胎牛血清，其加入量为使总溶液最终浓度为1.1%，先以500r/min的转速低速离心5min，再以2500r/min的转速高速离心15min，取上清液，5℃下保存，即得到纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体，备用；

[0052] (3)将(2)中制备好的纯化的胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体分别均匀喷涂于玻璃纤维膜上，冷冻干燥，即

为胶体金结合垫,备用;

[0053] 步骤三:硝酸纤维素膜的包被方法为:将硝酸纤维素膜粘在底板上,用划膜仪在其上特定位置上划出检测线1,检测线2和质控线的位置,检测线1上喷涂包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体,包被量为40 μ g,检测线2上喷涂包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体,包被量为40 μ g,质控线上喷涂包被有羊抗兔IgG抗体,包被量为20 μ g,备用;

[0054] 步骤四:试纸制备:将样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维素膜和吸水垫依次相互叠加粘贴在底板上,40℃下干燥,用斩切机切成5mm宽的试纸条,然后进行包封储存。

[0055] 临床统计试验:

[0056] 本发明者收集100例疑似胰腺癌患者,用本发明实施例2制备的试纸进行检测,之后再行CT检查确诊,将两次结果进行对比,本发明检测出的阳性55例中,有35例确诊为胰腺癌,检出的阴性45例中,未检出胰腺癌患者,说明本发明在胰腺癌早期诊断中具有一定的意义,为恶性肿瘤的早期诊断发现提供了很好的资料。

[0057] 最后应说明的是:以上实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明,本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明实施例技术方案的精神和范围。

专利名称(译)	一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸及其制备方法		
公开(公告)号	CN105785013A	公开(公告)日	2016-07-20
申请号	CN201610257031.4	申请日	2016-04-21
[标]申请(专利权)人(译)	卢连伟		
申请(专利权)人(译)	卢连伟		
当前申请(专利权)人(译)	卢连伟		
[标]发明人	卢连伟		
发明人	卢连伟		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/574 G01N33/558 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/577 G01N33/52 G01N33/558 G01N33/57438 G01N33/57484 G01N2333/195		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种辅助检测胰腺癌的胶体金免疫层析试纸及其制备方法，所述试纸包括底板、样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫；试纸制备时由样品吸收垫、胶体金结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫依次搭接粘贴在底板上；所述胶体金结合垫上包被有胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体，和胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体；所述硝酸纤维素膜上包被有检测线1，检测线2和质控线，所述检测线1包被有弓胶体金标记的抗CA19-9单克隆抗体，所述检测线2包被有胶体金标记的幽门螺旋杆菌外膜血凝素抗原的单克隆抗体；所述质控线包被有羊抗兔IgG抗体。本发明试纸操作制备和操作步骤简单，灵敏度高，为辅助胰腺癌的早期检查提供了很好的依据。