



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105606796 A

(43) 申请公布日 2016.05.25

(21) 申请号 201610066693.3

(22) 申请日 2016.02.01

(71) 申请人 苏州东尼生物技术有限公司

地址 215300 江苏省苏州市昆山市开发区中
小型企业园风琴路 108 号 5 号房

(72) 发明人 王峰 王玉立 卜天

(51) Int. Cl.

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

一种应用于胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜
预处理方法

(57) 摘要

本发明公开了一种应用于胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜预处理方法,该方法这一次包括如下步骤:1、硝酸纤维素膜与背衬、PVC板粘在一起;2、粘好的硝酸纤维素膜放入鼓风干燥箱20°C-37°C干燥4-10小时;3、干燥后的硝酸纤维素膜放在温度为18°C-28°C,湿度60%-70%状态下,避光平衡1-2小时;4、点膜,本发明硝酸纤维素酶预处理方法一方面提高点膜线的质量,另一方面又产品的重复性和批间差。

1.一种应用于胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜预处理方法,其特征在于:依次包括如下步骤:粘膜:硝酸纤维素膜与背衬、PVC板粘在一起;(2)干燥:粘好的硝酸纤维素膜放入鼓风干燥箱中干燥;(3)平衡;(4)点膜。

2.根据权利要求1所述的一种应用于胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜预处理方法,其特征在于:所述的干燥条件为鼓风干燥机中,温度为20℃-37℃,干燥时间为4-10分钟。

3.根据权利要求1所述的一种应用于胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜预处理方法,其特征在于:所述的平衡条件为:避光或者红光条件,温度为18℃-28℃,湿度为60%-70%,平衡时间为1-2小时。

4.根据权利要求1所述的一种应用于胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜预处理方法,其特征在于:所述的点膜可以用连续点膜机、台式点膜机设备点膜。

一种应用于胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜预处理方法

技术领域

[0001]

本发明属于胶体金免疫层析技术,具体涉及一种应用于胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜预处理方法。

背景技术

[0002] 胶体金免疫层析技术以其特异性强、灵敏度高、操作简捷等特点,在医学、农牧业、环境及食品检测等领域被广泛应用。胶体金免疫层析技术的反应过程是一个由纳米金颗粒、抗原与抗体在试纸上结合层析的反应过程,在这个过程中每个环节的好坏都直接影响检测结果的准确性。

[0003] 硝酸纤维素膜材料因为拥有低成本、毛细流动稳定、高蛋白结合能力、处理相对容易(有聚酯背衬的膜)和拥有不同的吸水速率和表面活性组分的特点,从而被大多数免疫层析诊断产品系统选用。

[0004] 尽管硝酸纤维素膜有这些积极的特性,硝酸纤维素膜也有许多的缺陷。这些缺陷包括:功能易受环境变化(例如湿度)影响,批内批间性能和重复性差。

[0005] 现有的胶体金免疫层析方法中,刚生产出的膜一般含有5-10%的水分。关于膜的老化机理,有个理论支持,不过争议比较大。理论认为:膜的老化是因为膜上的水分蒸发,使膜变得疏水,带电荷并变脆。储存膜一般要求是避光,密封。过干或过湿都不利。在这种保存条件下,一般可以放置两年。湿度过低,膜上容易聚集静电荷,点膜容易出现散点,导致测试会出现疏水斑。湿度过高,膜上毛细作用加强,点膜容易引起CT线变宽甚至扩散。为了保证点样时膜湿度的均一性,改善批内重复性和批间重复性,本专利发明了一种新的硝酸纤维素膜预处理方法。

[0006]

发明内容

[0007] 1、本发明的目的是针对现有技术的上述不足,提供一种应用于胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜预处理方法。

[0008] 2、一种胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜预处理方法,依次包括如下步骤:(1)粘膜:硝酸纤维素膜与背衬、PVC板粘在一起(2)干燥:粘好的硝酸纤维素膜放入鼓风干燥箱20°C-37°C干燥4-10小时(3)平衡:干燥后的硝酸纤维素膜放在温度为18°C-28°C,湿度60%-70%状态下,避光平衡1-2小时(4)点膜。

[0009] 3、所述的干燥温度优选20~37°C,干燥时间优选4~10小时。

[0010] 4、所述的干燥温度进一步优选20°C,干燥时间进一步优选4小时。

[0011] 5、所述的平衡温度18°C-28°C,湿度60%-70%状态下,避光平衡1-2小时。

[0012] 6、所述的平衡温度进一步优选为20°C,湿度65%状态下,避光平衡1小时。

[0013] 7、所述点膜为标准的台式或者连续点膜机点膜。

[0014] 本发明的有益效果:硝酸纤维素膜通过预处理,批内硝酸纤维素膜在划膜过程中,划膜液出现疏水斑率和扩散率明显下降;硝酸纤维素膜通过预处理后制成的胶体金试纸卡,加入样品检验,其批内重复性和批间重复性得到进一步优化,可以明显提高胶体金试纸检测的准确性和检测效率。

[0015]

具体实施方式

[0016] 实施例1

1、粘膜:将PVC底板上的膜片位置的保护层揭掉,露出黏合剂,将硝酸纤维素膜与PVC底板相应位置对齐黏贴。

[0017] 2、干燥:将粘好硝酸纤维素膜的PVC底板放入鼓风干燥箱内干燥,选择温度20℃,干燥4小时,将干燥后的硝酸纤维素膜放入装有干燥剂的铝箔袋内密封保存,有效期为3个月。

[0018] 3、平衡:取出干燥过的硝酸纤维素膜在温度20℃,湿度65%,避光的环境中放置1小时平衡。

[0019] 4、质控线工作液的制备:以3%海藻糖的PBS溶液做溶剂配制0.9mg/ml的羊抗鼠多克隆抗体溶液。

[0020] 5、检测线工作液的制备:以3%海藻糖的PBS溶液做溶剂配制0.7mg/ml的降钙素原单克隆抗体溶液。

[0021] 6、点膜:利用台式点膜喷金机将事先配制好的质控线和检测线工作液在平衡过的硝酸纤维素膜上点膜,点膜速度为1 μ l/cm,质控线与检测线平行,两线相隔6mm,细致均匀,放入鼓风干燥箱内37℃鼓风干燥20小时。

[0022]

实施例2

1、为了进一步说明运用在胶体金免疫层析法中的硝酸纤维素膜预处理的优越性,我们采用了将同样的胶体金免疫层析法,将硝酸纤维素膜预处理改成对硝酸纤维素膜不进行预处理方法,运用到降钙素原检测试剂卡的实际应用中,

胶体金试纸条的具体制备方法如下:

1) 包被膜的制备:

a)粘膜:将PVC底板上的膜片位置的保护层揭掉,露出黏合剂,将硝酸纤维素膜与PVC底板相应位置对齐黏贴,将粘好的硝酸纤维素膜分成两份,一份直接放入铝箔袋内密封保存,另一份按照实施例1方法对硝酸纤维素膜进行预处理;

b)质控线工作液的制备:以3%海藻糖的PBS溶液做溶剂配制0.9mg/ml的羊抗鼠多克隆抗体溶液;

c)检测线工作液的制备:以3%海藻糖的PBS溶液做溶剂配制0.7mg/ml的降钙素原单克隆抗体溶液;

d)点膜:利用台式点膜喷金机将事先配制好的质控线和检测线工作液分别在预处理过的硝酸纤维素膜和未预处理过的硝酸纤维素膜上点膜,点膜速度为1 μ l/cm,质控线与检测线平行,两线相隔6mm,细致均匀,放入鼓风干燥箱内37℃鼓风干燥20小时;

e)将上述干燥后的硝酸纤维素膜放在装有干燥剂的铝箔袋内,密封保存。

[0023] 2) 涂覆金标抗体的聚酯膜的制备:

a)氯金酸水溶液的配制:将10g氯金酸1000ml的三蒸水溶解,配成1%的水溶液,置于4℃备用,有效期3个月;

b)柠檬酸三钠的配制:用三蒸水溶解柠檬酸三钠,配成1%的水溶液,置于4℃备用,有效期7天;

c)1%碳酸钾水溶液的配制:将1g碳酸钾用100ml用三蒸水溶解,置于4℃备用,有效期为7天;

d)金标抗体保存液的配制:将15g的蔗糖,20ul的叠氮钠,在100ml的pH=7.4的1%BSA溶解,置于4℃备用,有效期为7天;

e)胶体金的颗粒的制备:用三蒸水将1%氯金酸稀释成0.01%,置于95℃反应10分钟,加入1ml柠檬酸三钠,继续反应15分钟,待胶体金溶液颜色由蓝经紫变红后,冷却后加入2ml 1%碳酸钾溶液备用。外观廓纯净,透亮,无沉淀和漂浮物;

f)金标抗体的制备:用1%碳酸钾溶液调节胶体金pH值至7.5,加入适合的降钙素原单克隆抗体溶液充分混匀,调节pH至5.0,反应10~30分钟后,冷却后,边搅拌边用1%碳酸钾水溶液缓慢滴加,调节溶液PH至7.5,稳定搅拌10分钟,然后置于25℃水浴反应30分钟后再加入5%BSA,封闭20分钟后,离心取沉淀,用BSA恢复其终浓度为1%,4℃保存备用;

g)将标记好抗体胶体金均匀的铺在聚酯膜上,喷量为1.0ul/cm,干燥,封袋,备用。

[0024] 3)样品垫的处理

将样品垫用100mM PBs缓冲液浸泡数小时,取出干燥后。

[0025] 4) 胶体金试纸条的组装:

底衬1,样品垫2和吸水纸5是本领域通用的部件。将上述样品垫2、涂覆有金标抗体的聚酯膜3、包被膜4及吸水纸5顺次相互搭接粘贴得到试纸板,最后将试纸板切割成不同宽度的试纸条即可。

[0026] 将经预处理过的硝酸纤维素膜和未处理过的硝酸纤维素膜制备好的试纸条进行重复性的对比。通过对比,我们可以看到经处理过的硝酸纤维素膜的疏水斑率和扩散率比未处理过的硝酸纤维素膜低;同时,经预处理过的硝酸纤维素膜制成的试纸卡的批内重复性和我批间重复性明显低于未处理过的硝酸纤维素膜制成的试纸卡,我们从中得出硝酸纤维素膜经过处理后制成的胶体金试纸,其质量和准确度较未处理的硝酸纤维素膜有很大提高。对比数据如下:

表一、硝酸纤维素膜无预处理

批 次	外观		1.2mg/ml 试纸条 (ng/ml)											批内 重复 性 CV (%)
	疏水 斑率 (%)	扩散 率 (%)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
1	6	10.6	1.47	2.09	2.11	1.83	1.72	1.64	1.59	1.63	1.79	1.82	11.7	
2	8	9	2.1	1.5	1.8	1.7	1.6	1.5	1.8	1.9	1.4	2.0	12.6	
			3	6	2	9	2	8	3	6	8	9		
3	7	9	1.8	1.7	1.6	1.4	2.1	1.6	2.0	1.7	2.2	1.6	13.8	
			6	2	6	7	2	9	3	6	2	8		
批间重复性 CV (%): 12.3														

表二、硝酸纤维素膜有预处理

批号	外观		1.7ng/ml 标准液 测试 (ng/ml)											批内重复性 CV (%)
	疏水斑率 (%)	扩散率 (%)	1.53	1.84	1.90	1.81	1.52	1.74	1.63	1.77	1.74	1.85		
1	0	3	1.53	1.84	1.90	1.81	1.52	1.74	1.63	1.77	1.74	1.85	6.6	
2	0	4	1.69	1.52	1.83	1.70	1.65	1.57	1.80	1.91	1.46	1.78	8.6	
3	0	3	1.81	1.7	1.6	1.4	1.9	1.6	1.8	1.7	1.7	1.6	7.5	
批内重复性 CV (%) : 7.4														

备注：硝酸纤维素膜局部过于干燥就会产生疏水斑，过于湿润划膜线就会扩散开来，以30cm长度为一条的硝酸纤维素膜计算，出现断点的总长度除以30得到百分位数即为疏水斑率，划膜宽度为1mm，超过1.5mm区域的总长度除以30得到百分位数即为扩散率。

[0027] 在以上的实施例中，未详细描述的各种过程和方法是本领域中公知的常规方法。

[0028] 以上所述，仅是本发明的较佳实施例而已，并非是对本发明作其它形式的限制，任何熟悉本专业的技术人员可能利用上述揭示的技术内容加以变更或改型为等同变化的等效实施例。但是凡是未脱离本发明技术方案内容，依据本发明的技术实质对以上实施例所作的任何简单修改、等同变化与改型，仍属于本发明技术方案的保护范围。

专利名称(译)	一种应用于胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜预处理方法		
公开(公告)号	CN105606796A	公开(公告)日	2016-05-25
申请号	CN201610066693.3	申请日	2016-02-01
[标]申请(专利权)人(译)	苏州东尼生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州东尼生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	苏州东尼生物技术有限公司		
[标]发明人	王峰 王玉立 卜天		
发明人	王峰 王玉立 卜天		
IPC分类号	G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种应用于胶体金免疫层析的硝酸纤维素膜预处理方法，该方法这一次包括如下步骤：1、硝酸纤维素膜与背衬、PVC板粘在一起；2、粘好的硝酸纤维素膜放入鼓风干燥箱20°C-37°C干燥4-10小时；3、干燥后的硝酸纤维素膜放在温度为18°C-28°C，湿度60%-70%状态下，避光平衡1-2小时；4、点膜，本发明硝酸纤维素酶预处理方法一方面提高点膜线的质量，另一方面又产品的重复性和批间差。

批次	外观		1.7ng/ml标准液 测试 (ng/ml)										批内重复性CV (%)
	疏水斑率 (%)	扩散率 (%)	1.53	1.84	1.90	1.81	1.62	1.74	1.65	1.77	1.74	1.85	
1	0	3	1.53	1.84	1.90	1.81	1.62	1.74	1.65	1.77	1.74	1.85	6.6
2	0	4	1.69	1.52	1.83	1.70	1.65	1.57	1.80	1.91	1.46	1.78	8.6
3	0	3	1.81	1.73	1.6	1.49	1.93	1.64	1.88	1.71	1.78	1.69	7.5
批间重复性 CV (%) : 7.4													