



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101949926 A

(43) 申请公布日 2011. 01. 19

(21) 申请号 201010244078. X

(22) 申请日 2010. 08. 04

(71) 申请人 浙江大学

地址 310012 浙江省杭州市西湖区浙大路
38 号

(72) 发明人 陈新华 庄杰 陈新梅 殷胜勇
蒋建文 谢海洋 周琳 郑树森

(74) 专利代理机构 杭州中成专利事务所有限公
司 33212

代理人 金祺

(51) Int. Cl.

G01N 33/569 (2006. 01)

G01N 33/558 (2006. 01)

G01N 33/532 (2006. 01)

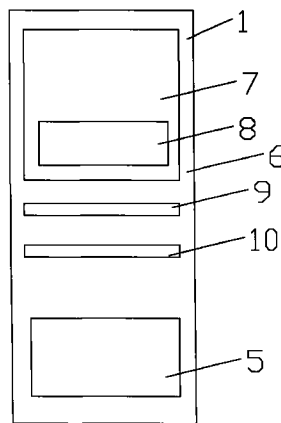
权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 1 页

(54) 发明名称

人体包虫病胶体金免疫层析试尿液快速诊断
试纸卡

(57) 摘要

本发明公开了一种人体包虫病胶体金免疫层析试尿液快速诊断试纸卡,它包括塑料卡盒和卡盒内的检测模块;所述的塑料卡盒上有加样孔和观察窗;所述的检测模块包括滤样纸、硝酸纤维膜和吸水纸;所述的吸水纸和硝酸纤维膜上吸附有胶体金标记的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体;所述硝酸纤维膜上的胶体金标记有抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体上标记有一条质控线和一条检测线;所述的滤样纸对着加样孔,所述的硝酸纤维素膜对着观察窗。本发明的试纸卡简便、快速、无创、可靠、稳定。



1. 一种人体包虫病胶体金免疫层析试尿液快速诊断试纸卡,其特征在于:它包括塑料卡盒和卡盒内的检测模块;所述的塑料卡盒上有加样孔和观察窗;所述的检测模块包括滤样纸、硝酸纤维膜和吸水纸;所述的吸水纸和硝酸纤维膜上吸附有胶体金标记的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体;所述硝酸纤维膜上的胶体金标记有抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体上标记有一条质控线和一条检测线;所述的滤样纸对着加样孔,所述的硝酸纤维素膜对着观察窗。

2. 根据权利要求1所述试纸卡,其特征在于:所述的观察窗为长方形。

3. 根据权利要求1所述试纸卡,其特征在于:所述的检测线由链霉亲和素标记。

4. 根据权利要求1所述试纸卡,其特征在于:所述的质控线由兔抗鼠 IgG 标记。

5. 权利要求1所述胶体金的制备及标记,其特征在于包括以下步骤:三蒸水溶解氯金酸,加热至沸腾,至终浓度为0.01%,每100ml加入10%柠檬酸三钠水溶液1.5ml;再煮沸10min呈橙红色,冷却后用0.2mol/LK₂CO₃调至pH8.5,快速搅拌下加入纯化的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体2mg,加入牛血清的蛋白250mg,快速搅拌10min,加入10%NaCl,使NaCl的浓度为1%,摇匀,分别以2000、4000、10000r/min梯度离心,10min/次,最后获得沉淀物即为初步纯化的金标记的抗体结合物,溶于储存液,金标记的抗体结合物即金标记的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体。

6. 权利要求1所述硝酸纤维素膜的标记,其特征在于包括以下步骤:硝酸纤维素膜包被胶体金标记的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体,硝酸纤维素膜上标记各为1mm宽的1:100链霉亲和素及兔抗鼠IgG;晾干后用含1%新生牛血清的0.1mol/L pH7.4PBS封闭,干燥后依次粘在白色塑料片上,切成0.6cm×10cm条,-4℃储存备用。

人体包虫病胶体金免疫层析试尿液快速诊断试纸卡

技术领域

[0001] 本发明涉及医药生物技术领域,特别涉及一种快速诊断人体包虫病的尿液试纸,能快速利用肉眼可观察的颜色变化诊断是否感染包虫病。

背景技术

[0002] 包虫病作为一种严重危害人类健康的人畜共患病,具有起病隐匿,发展缓慢,复发频繁的特点,需要早期诊断和定期检测。针对我国人畜共患病流行严重,卫生部 2007 年 4 月提出“对包虫病流行病学调查任务中达到高发区 60%人口覆盖率”的目标。社区医院、防疫站、医学院校和科研机构需要特殊科研仪器对该病进行血清学,免疫学和影像学诊断、但流行区现场调查和基层单位缺乏专门的仪器设备人员,造成很多病例不能早发现早诊断早治疗。

发明内容

[0003] 本发明的目的是克服现有技术中的不足之处,本发明基于胶体金免疫层析检测原理的免疫反应装置,提供了一种人体包虫病胶体金免疫层析试尿液快速诊断试纸卡。

[0004] 本发明的一种人体包虫病胶体金免疫层析试尿液快速诊断试纸卡,它包括塑料卡盒和卡盒内的检测模块;所述的塑料卡盒上有加样孔和观察窗;所述的检测模块包括滤样纸、硝酸纤维膜和吸水纸;所述的吸水纸和硝酸纤维膜上吸附有胶体金标记的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体;所述硝酸纤维膜上的胶体金标记有抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体上标记有一条质控线和一条检测线;所述的滤样纸对着加样孔,所述的硝酸纤维素膜对着观察窗。

[0005] 所述的观察窗为长方形。

[0006] 所述的检测线由链霉亲和素标记。

[0007] 所述的质控线由兔抗鼠 IgG 标记。

[0008] 所述胶体金的制备及标记,包括以下步骤:三蒸水溶解氯金酸,加热至 沸腾,至终浓度为 0.01%,每 100ml 加入 10%柠檬酸三钠水溶液 1.5ml;再煮沸 10min 呈橙红色,冷却后用 0.2mol/LK₂CO₃ 调至 pH8.5,快速搅拌下加入纯化的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体 2mg,加入牛血清的蛋白 250mg,快速搅拌 10min,加入 10% NaCl,使 NaCl 的浓度为 1%,摇匀,分别以 2000、4000、10000r/min 梯度离心,10min/次,最后获得沉淀物即为初步纯化的金标记的抗体结合物,溶于储存液,金标记的抗体结合物即金标记的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体。

[0009] 所述硝酸纤维素膜的标记,包括以下步骤:硝酸纤维素膜包被胶体金标记的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体,硝酸纤维素膜上标记各为 1mm 宽的 1:100 链霉亲和素及兔抗鼠 IgG;晾干后用含 1%新生牛血清的 0.1mol/LpH7.4PBS 封闭,干燥后依次粘在白色塑料片上,切成 0.6cm×10cm 条,-4℃储存备用。

[0010] 本发明具有如下优点:

[0011] 利用分子生物学技术研制开发具有简便（不用仪器设备，不需专业技术人员操作，可在病人家庭使用）、快速（1-5 分钟之内完成分析）、无创（在尿液中测试，不需要采集血液标本）、可靠（可定量判读结果，诊断符合率达 90% 以上）、稳定（产品在规定保存条件下稳定一年以上）的人体包虫病的体外快速诊断试剂盒。包虫抗体的特异性和敏感性决定了这个诊断工具的灵敏度和特异度。采用针对包虫病囊液抗原 B 的重组全蛋白的人源单链可变区抗体作为捕捉包虫抗原的抗体，可以降低与其他疾病的交叉反应，从而提高了灵敏度和特异度，减少了漏诊或误诊。

附图说明

[0012] 图 1 是本发明的实施例的结构示意图。

[0013] 图 2 是图 1 的外部结构示意图。

具体实施方式

[0014] 以下通过实施例进一步对本发明进行描述：

[0015] 参考图 1、图 2，检测装置：由外部的塑料卡盒和里面的检测模块组成，外部的塑料卡盒包括底座 1 和外壳 2，外壳 2 上有加样孔 3 和长方形观察窗 4；内部检测模块由滤样纸 5、硝酸纤维膜 6、吸水纸 7 组成。将胶体金标记的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体 8 吸附在吸水纸 7 和硝酸纤维膜 6 上，形成一条质控线 9 和一条检测线 10；滤样纸 5 正对加样孔 3，硝酸纤维膜 6 正对观察窗 4；检测线 10 由链霉亲和素标记；质控线 9 由兔抗鼠 IgG 标记。

[0016] 检测过程：尿样进入加样孔后由于毛细管作用向吸水纸方向流动，中间经过预先包被了胶体金标记的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体的区域，将金标记物完全复溶，抗原与金标记抗体形成金标记抗体-抗原复合物，继续向前流动至硝酸纤维膜上，固定有捕捉抗原的检测线处。当结果为阳性时，金标记抗体-抗原复合物上，就会形成金标记抗体-抗原-固相抗体复合物，呈现红色阳性条带；如样品中无抗原，则不被捕获，就不显色，则结果为阴性。多余的游离金标记抗体继续前移至固定有抗金标记体二抗处，被固定呈现红色的质控线。

[0017] 制作原料：氯金酸：北京化学试剂厂；链霉亲和素：BNHS：Sigma；抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体：(GENE BANK：AF407670)，由浙江大学提供，可购于浙江大学，或浙江大学提供；硝酸纤维膜：Sigma；兔抗鼠 IgG，Sigma。

[0018] 胶体金制备及标记：三蒸水溶解氯金酸，加热至沸腾，至终浓度为 0.01%，每 100ml 加入 10% 柠檬酸三钠水溶液 1.5ml。再煮沸 10min 呈橙红色，冷却后用 0.2mol/LK₂CO₃ 调至 pH8.5，快速搅拌下加入纯化的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体 2mg，加入牛血清的蛋白 250mg，快速搅拌 10min，加入 10% NaCl，使 NaCl 的浓度为 1%，摇匀，分别以 2000、4000、10000r/min 梯度离心，10min/次，最后获得沉淀物即为初步纯化的金标记的抗体结合物，溶于储存液。

[0019] 硝酸纤维膜标记：硝酸纤维膜包被胶体金标记的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体，硝酸纤维膜上标记 1：100 链霉亲和素（检测线）及兔抗鼠 IgG（对照线），均为 1mm 宽。晾干后用含 1% 新生牛血清的 0.1mol/L pH7.4PBS 封闭。干燥后依次粘在白色塑

料片上。切成 0.6cm×10cm 条，-4℃储存备用。

[0020] 结果判断：以硝酸纤维膜上检测线的位置 T 出现 1 条红色为包虫阳性；若只有质控线红色为阴性；两条线均无显色为测试条失效。

[0021] 最后，还需要注意的是，以上列举的仅是本发明的具体实施例子。显然，本发明不限于以上实施例子，还可以有许多变形。本领域的普通技术人员能从本发明公开的内容直接导出或联想到的所有变形，均应认为是本发明的保护范围。

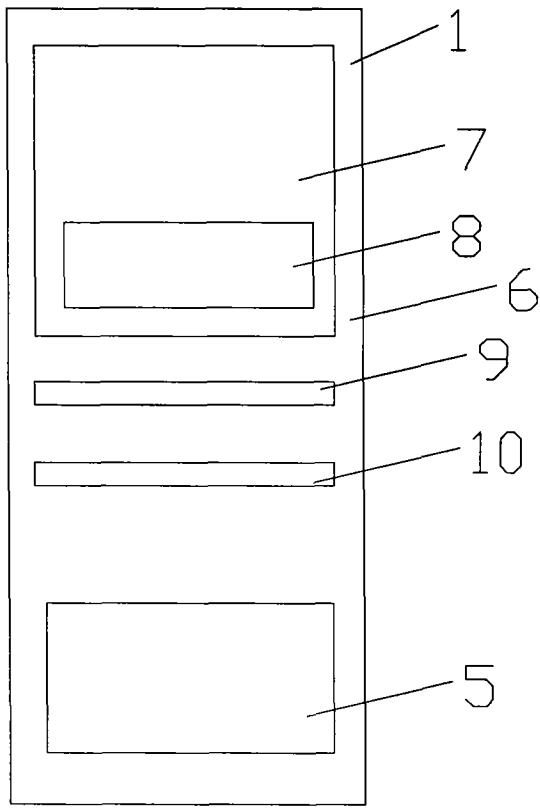


图 1

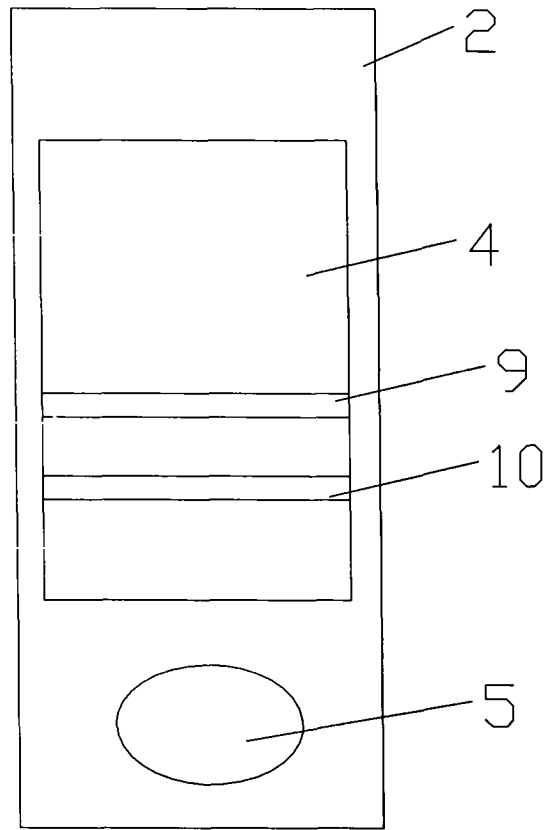


图 2

专利名称(译)	人体包虫病胶体金免疫层析试尿液快速诊断试纸卡		
公开(公告)号	CN101949926A	公开(公告)日	2011-01-19
申请号	CN201010244078.X	申请日	2010-08-04
[标]申请(专利权)人(译)	浙江大学		
申请(专利权)人(译)	浙江大学		
当前申请(专利权)人(译)	浙江大学		
[标]发明人	陈新华 庄杰 陈新梅 殷胜勇 蒋建文 谢海洋 周琳 郑树森		
发明人	陈新华 庄杰 陈新梅 殷胜勇 蒋建文 谢海洋 周琳 郑树森		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/558 G01N33/532		
代理人(译)	金祺		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种人体包虫病胶体金免疫层析试尿液快速诊断试纸卡，它包括塑料卡盒和卡盒内的检测模块；所述的塑料卡盒上有加样孔和观察窗；所述的检测模块包括滤样纸、硝酸纤维膜和吸水纸；所述的吸水纸和硝酸纤维膜上吸附有胶体金标记的抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体；所述硝酸纤维膜上的胶体金标记有抗包虫病囊液抗原人源单链可变区抗体上标记有一条质控线和一条检测线；所述的滤样纸对着加样孔，所述的硝酸纤维素膜对着观察窗。本发明的试纸卡简便、快速、无创、可靠、稳定。

