



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107271660 A

(43)申请公布日 2017. 10. 20

(21)申请号 201710480108.9

(22)申请日 2017.06.22

(71)申请人 苏州万木春生物技术有限公司

地址 215000 江苏省苏州市苏州高新技术
产业开发区锦峰路8号(科技城)

(72)发明人 黄政 丁锦勤 马军

(51)Int.Cl.

G01N 33/532(2006.01)

G01N 33/76(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

权利要求书3页 说明书5页

(54)发明名称

一种人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备
方法

(57)摘要

本发明公开了一种人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,通过HCG胶体金、免疫胶体金的制备、免疫金垫的制备、反应膜的制备、样品垫的制备,最终进行检测试纸的制备得到。通过上述方式,本发明的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,制作方法简单,容易进行操作,方便进行推广应用,制得的人绒毛膜促性腺激素检测试纸检测效果好,灵敏度高,检测方法简单,能够随时进行检测。

1. 一种人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,其特征在于,包括步骤为:

(1)HCG胶体金、免疫胶体金的制备

胶体金的制备:

取450mL高纯水放入1000mL的烧杯内,再加入14.4mL 2%的氯金酸水溶液,置于磁力搅拌器上加热,加热至沸腾;另取130mL高纯水放入250mL的烧杯内,再加入18.72~28mL 2%的柠檬酸三钠水溶液,置于磁力搅拌器上加热至沸腾;待上述2种溶液都沸腾时,将柠檬酸三钠溶液倒入沸腾的氯金酸溶液中,可看到溶液的颜色由澄清透明→黑色→紫色→深红色,当溶液的颜色完全变为深红色时,继续煮沸40分钟,置室温冷却,加入高纯水稀释;通知QA取样3mL送QC处,1:3稀释后用紫外可见分光光度计在波长450~600nm范围内扫描,最大吸收峰值应在523~528nm处,吸光度为 1.05 ± 0.05 ;2~8℃避光保存,备用,储存期限1个月;

确定0.2M K_2CO_3 溶液的使用量:

分别按每1mL胶体金加0.2M K_2CO_3 溶液5、6、7、8、9 μ L,搅拌均匀后按每1mL胶体金加入鼠抗 α -HCG单抗20 μ g,静置10min,观察显色,取不变色的第2管胶体金所选用的0.2M K_2CO_3 溶液使用量;

HCG免疫胶体金的制备:

(a) 每1mL胶体金按照1.2的确定结果加入0.2M K_2CO_3 溶液,搅拌10 min;

(b) 按每1mL胶体金向调好pH的金中加入鼠抗 α -HCG单抗20 μ g,搅拌120min;

(c) 按每1mL胶体金加入10% BSA溶液100 μ L,搅拌120 min;

(d) 将标记好的胶体金4℃、6000rpm $\times$ 30min离心,吸取沉淀,将上清液4℃、10000rpm $\times$ 30min离心,吸取沉淀,再次将上清液4℃、12000rpm $\times$ 30min离心,吸取沉淀,向收集得到的沉淀中加胶体金重悬液,终体积为胶体金体积的40%,混匀,即得到HCG免疫胶体金;取样150 μ L,用重悬液稀释20倍,用紫外分光光度计在波长450~600nm范围内扫描,最大吸收峰值应在530~550nm处,吸光度为 0.6 ± 0.1 ;暂存于2~8℃冰箱,备用,储存期限7天;

(2) 免疫金垫的制备

选用型号为RB65的玻璃纤维素膜作为免疫金垫材料,裁切成7mm $\times$ 300mm的金垫长条,按线浓度3.0、4.0、5.0 μ l/cm,分别喷制,干燥后送检,检测最低检测限、特异性;

按上述检验合格的线浓度,将重悬好的免疫胶体金喷于玻璃纤维素膜上,60℃烘干5~15分钟或18~28℃晾干,密封保存,备用,储存期限14个月;

(3) 反应膜的制备

将硝酸纤维素膜浸润在高纯水中,浸泡2小时后取出晾干,再用膜处理液浸泡10分钟取出晾干,裁切成条带,粘贴在PVC底板上;用划膜机在膜上不同位置分别划上抗 β -HCG单抗(2.0mg/mL,0.2 μ L/cm)和羊抗鼠IgG抗体(隆基或贤至2.5mg/mL,0.2 μ L/cm),作为检测线和质控线,60℃ $\pm$ 3℃,相对湿度 $\leq$ 30%,烘干2h,密封保存,备用,储存期限14个月;

(4) 样品垫的制备

条型:选用SB08或C-SAB 0.80作为样品垫材料,放置于样品垫处理液中,确保全部浸湿后取出,相对湿度 $\leq$ 30%风干4h,密封保存,备用,储存期限14个月,使用时用自动裁条机裁切成规格为27mm $\times$ 300mm玻纤长条(具体规格按照客户要求而定);

卡型:选用SB08或C-SAB 0.80作为样品垫材料,放置于样品垫处理液中,确保全部浸湿后取出,相对湿度 $\leq$ 30%风干4h,密封保存,备用,储存期限14个月,使用时用自动裁条机裁

切成规格为17mm×300mm玻纤长条,具体规格按照客户要求而定;

笔型:选用SR62或F-CT-048作为样品垫材料,放置于样品垫处理液中,确保全部浸湿后取出,相对湿度≤30%风干4h,密封保存,备用,储存期限14个月,使用时用自动裁条机裁切成规格为41mm×300mm玻纤长条,具体规格按照客户要求而定;

(5) 检测试纸的制备

条型:将免疫金垫、样品垫、吸水纸依次组装到固定有反应膜的粘性PVC底板上(300mm×80mm),在样品垫上贴MAX线,吸水纸上贴条型手柄贴纸,切成试纸条;然后将其与1袋干燥剂装入铝箔袋中,封口,4-30℃保存,有效期14个月;

卡型:将免疫金垫、样品垫、吸水纸依次组装到固定有反应膜的粘性PVC底板上(300mm×60mm),切成试纸条,装入卡壳;然后将其与1袋干燥剂,1个一次性滴管依次装入铝箔袋中,封口,4-30℃保存,有效期14个月;

笔型:将型号为KB50/C-SAB 0.80的玻璃纤维素膜、免疫金垫、样品垫、吸水纸依次组装到固定有反应膜的粘性PVC底板上(300mm×94mm),切成试纸条,装入笔壳;然后将其与1袋干燥剂装入铝箔袋中,封口,4-30℃保存,有效期14个月。

2. 根据权利要求1所述的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,其特征在于,2%柠檬酸三钠溶液标准配方:称取无水柠檬酸三钠2.00g,用高纯水定容至100mL,0.22μm过滤,2-8℃密闭保存,储存期限1天。

3. 根据权利要求1所述的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,其特征在于,2%氯金酸溶液标准配方:用高纯水将规格为1g/瓶的氯金酸定容至50mL,2-8℃避光保存,储存期限6个月。

4. 根据权利要求1所述的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,其特征在于,0.2M碳酸钾溶液标准配方:称取2.76g碳酸钾,用高纯水定容至100mL,0.22μm过滤,2-8℃密闭保存,储存期限1个月。

5. 根据权利要求1所述的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,其特征在于,0.2M磷酸氢二钠溶液的配制:称取Na₂HPO₄ 2.84g,加高纯水定容至100mL,0.22μm过滤;2-8℃密闭保存,储存期限3个月。

6. 根据权利要求1所述的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,其特征在于,0.2M磷酸二氢钠溶液的配制:称取NaH₂PO₄ 2.40g,加高纯水定容至100mL,0.22μm过滤;2-8℃密闭保存,储存期限3个月。

7. 根据权利要求1所述的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,其特征在于,0.01M,PH7.4PB缓冲液的配制:量取0.2M, Na₂HPO₄溶液81mL,0.2M, NaH₂PO₄溶液19mL,量取高纯水1900 mL,混匀;2-8℃密闭保存,储存期限3个月。

8. 根据权利要求1所述的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,其特征在于,10%BSA溶液标准配方:称取10.00gBSA (SPRC 01),取高纯水100 mL,0.22μm过滤,2-8℃密闭保存,储存期限1个月。

9. 根据权利要求1所述的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,其特征在于,重悬液标准配方:称取0.24gTris、10.00g蔗糖、5.00g海藻糖、1.00gBSA (SPRC 02) 和0.10g叠氮钠,用高纯水定容至100mL,用1M 盐酸调节pH至8.5,0.22μm过滤,2-8℃密闭保存,储存期限1个月。

10. 根据权利要求1所述的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,其特征在于,样品垫处理液标准配方:称取1.21gTris、1.00gBSA (SPRC 02)、0.50gPVP、0.10g酪蛋白,加入100mL高纯水,加入1mL Triton,用1M盐酸调节pH=8.7,2-8℃密闭保存,储存期限1个月;膜处理液标准配方:称取0.2mL TritonX-100, 加入100mL高纯水,混匀;2-8℃密闭保存,储存期限7天。

一种人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测试纸的制备方法,特别是涉及一种人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法。

背景技术

[0002] 人绒毛膜促性腺激素是由胎盘的滋养层细胞分泌的一种糖蛋白,它是由 α 和 β 二聚体的糖蛋白组成。人绒毛膜促性腺激素(HCG) $\alpha\beta$,由合体滋养细胞合成。分子量为36700的糖蛋白激素, α 亚基与垂体分泌的FSH(卵泡刺激素)、LH(黄体生成素)和TSH(促甲状腺激素)等基本相似,故相互间能发生交叉反应,而 β 亚基的结构各不相同。 β -HCG与 β -LH结构相近,但最后24个氨基酸延长部分在 β -LH中不存在。现有的人绒毛膜促性腺激素检测试纸存在缺点,不容易使用。

发明内容

[0003] 本发明主要解决的技术问题是提供一种人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,简单容易实现。

[0004] 为解决上述技术问题,本发明采用的一个技术方案是:提供一种人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,包括步骤为:

(1)HCG胶体金、免疫胶体金的制备

胶体金的制备:

取450mL高纯水放入1000mL的烧杯内,再加入14.4mL 2%的氯金酸水溶液,置于磁力搅拌器上加热,加热至沸腾;另取130mL高纯水放入250mL的烧杯内,再加入18.72~28mL 2%的柠檬酸三钠水溶液,置于磁力搅拌器上加热至沸腾;待上述2种溶液都沸腾时,将柠檬酸三钠溶液倒入沸腾的氯金酸溶液中,可看到溶液的颜色由澄清透明 $\rightarrow$ 黑色 $\rightarrow$ 紫色 $\rightarrow$ 深红色,当溶液的颜色完全变为深红色时,继续煮沸40分钟,置室温冷却,加入高纯水稀释;通知QA取样3mL送QC处,1:3稀释后用紫外可见分光光度计在波长450~600nm范围内扫描,最大吸收峰值应在523~528nm处,吸光度为 1.05 ± 0.05 ;2~8℃避光保存,备用,储存期限1个月;

确定0.2M K_2CO_3 溶液的使用量:

分别按每1mL胶体金加0.2M K_2CO_3 溶液5、6、7、8、9 μ L,搅拌均匀后按每1mL胶体金加入鼠抗 α -HCG单抗20 μ g,静置10min,观察显色,取不变色的第2管胶体金所选用的0.2M K_2CO_3 溶液使用量;

HCG免疫胶体金的制备:

(a) 每1mL胶体金按照1.2的确定结果加入0.2M K_2CO_3 溶液,搅拌10 min;

(b) 按每1mL胶体金向调好pH的金中加入鼠抗 α -HCG单抗20 μ g,搅拌120min;

(c) 按每1mL胶体金加入10% BSA溶液100 μ L,搅拌120 min;

(d) 将标记好的胶体金4℃、6000rpm $\times$ 30min离心,吸取沉淀,将上清液4℃、10000rpm $\times$ 30min离心,吸取沉淀,再次将上清液4℃、12000rpm $\times$ 30min离心,吸取沉淀,向收集得到的

沉淀中加胶体金重悬液,终体积为胶体金体积的40%,混匀,即得到HCG免疫胶体金;取样150 μL ,用重悬液稀释20倍,用紫外分光光度计在波长450–600nm范围内扫描,最大吸收峰值应在530~550nm处,吸光度为 0.6 ± 0.1 ;暂存于2–8℃冰箱,备用,储存期限7天;

(2) 免疫金垫的制备

选用型号为RB65的玻璃纤维素膜作为免疫金垫材料,裁切成7mm $\times$ 300mm的金垫长条,按线浓度3.0、4.0、5.0 $\mu\text{L}/\text{cm}$,分别喷制,干燥后送检,检测最低检测限、特异性;

按上述检验合格的线浓度,将重悬好的免疫胶体金喷于玻璃纤维素膜上,60℃烘干5~15分钟或18~28℃晾干,密封保存,备用,储存期限14个月;

(3) 反应膜的制备

将硝酸纤维素膜浸润在高纯水中,浸泡2小时后取出晾干,再用膜处理液浸泡10分钟取出晾干,裁切成条带,粘贴在PVC底板上;用划膜机在膜上不同位置分别划上抗B–HCG单抗(2.0mg/mL,0.2 $\mu\text{L}/\text{cm}$)和羊抗鼠IgG抗体(隆基或贤至2.5mg/mL,0.2 $\mu\text{L}/\text{cm}$),作为检测线和质控线,60℃ $\pm$ 3℃,相对湿度 $\leq$ 30%,烘干2h,密封保存,备用,储存期限14个月;

(4) 样品垫的制备

条型:选用SB08或C–SAB 0.80作为样品垫材料,放置于样品垫处理液中,确保全部浸湿后取出,相对湿度 $\leq$ 30%风干4h,密封保存,备用,储存期限14个月,使用时用自动裁条机裁切成规格为27mm $\times$ 300mm玻纤长条(具体规格按照客户要求而定);

卡型:选用SB08或C–SAB 0.80作为样品垫材料,放置于样品垫处理液中,确保全部浸湿后取出,相对湿度 $\leq$ 30%风干4h,密封保存,备用,储存期限14个月,使用时用自动裁条机裁切成规格为17mm $\times$ 300mm玻纤长条,具体规格按照客户要求而定;

笔型:选用SR62或F–CT–048作为样品垫材料,放置于样品垫处理液中,确保全部浸湿后取出,相对湿度 $\leq$ 30%风干4h,密封保存,备用,储存期限14个月,使用时用自动裁条机裁切成规格为41mm $\times$ 300mm玻纤长条,具体规格按照客户要求而定;

(5) 检测试纸的制备

条型:将免疫金垫、样品垫、吸水纸依次组装到固定有反应膜的粘性PVC底板上(300mm $\times$ 80mm),在样品垫上贴MAX线,吸水纸上贴条型手柄贴纸,切成试纸条;然后将其与1袋干燥剂装入铝箔袋中,封口,4–30℃保存,有效期14个月;

卡型:将免疫金垫、样品垫、吸水纸依次组装到固定有反应膜的粘性PVC底板上(300mm $\times$ 60mm),切成试纸条,装入卡壳;然后将其与1袋干燥剂,1个一次性滴管依次装入铝箔袋中,封口,4–30℃保存,有效期14个月;

笔型:将型号为KB50/C–SAB 0.80的玻璃纤维素膜、免疫金垫、样品垫、吸水纸依次组装到固定有反应膜的粘性PVC底板上(300mm $\times$ 94mm),切成试纸条,装入笔壳;然后将其与1袋干燥剂装入铝箔袋中,封口,4–30℃保存,有效期14个月。

[0005] 在本发明一个较佳实施例中,2%柠檬酸三钠溶液标准配方:称取无水柠檬酸三钠2.00g,用高纯水定容至100mL,0.22 μm 过滤,2–8℃密闭保存,储存期限1天。

[0006] 在本发明一个较佳实施例中,2%氯金酸溶液标准配方:用高纯水将规格为1g/瓶的氯金酸定容至50mL,2–8℃避光保存,储存期限6个月。

[0007] 在本发明一个较佳实施例中,0.2M 碳酸钾溶液标准配方:称取2.76g碳酸钾,用高纯水定容至100mL,0.22 μm 过滤,2–8℃密闭保存,储存期限1个月。

[0008] 在本发明一个较佳实施例中,0.2M磷酸氢二钠溶液的配制:称取 Na_2HPO_4 2.84g,加高纯水定容至100mL,0.22 μm 过滤。2-8℃密闭保存,储存期限3个月。

[0009] 在本发明一个较佳实施例中,0.2M磷酸二氢钠溶液的配制:称取 NaH_2PO_4 2.40g,加高纯水定容至100mL,0.22 μm 过滤。2-8℃密闭保存,储存期限3个月。

[0010] 在本发明一个较佳实施例中,0.01M,PH7.4PB缓冲液的配制:量取0.2M, Na_2HPO_4 溶液81mL,0.2M, NaH_2PO_4 溶液19mL,量取高纯水1900 mL,混匀。2-8℃密闭保存,储存期限3个月。

[0011] 在本发明一个较佳实施例中,10%BSA溶液标准配方:称取10.00gBSA (SPRC 01),取高纯水100 mL,0.22 μm 过滤, 2-8℃密闭保存,储存期限1个月。

[0012] 在本发明一个较佳实施例中,重悬液标准配方:称取0.24gTris、10.00g蔗糖、5.00g海藻糖、1.00gBSA (SPRC 02) 和0.10g叠氮钠,用高纯水定容至100mL,用1M 盐酸调节pH至8.5,0.22 μm 过滤,2-8℃密闭保存,储存期限1个月。

[0013] 在本发明一个较佳实施例中,样品垫处理液标准配方:称取1.21gTris、1.00gBSA (SPRC 02)、0.50gPVP、0.10g酪蛋白,加入100mL高纯水,加入1mL Triton,用1M盐酸调节pH=8.7,2-8℃密闭保存,储存期限1个月;膜处理液标准配方:称取0.2mL TritonX-100, 加入100mL高纯水,混匀。2-8℃密闭保存,储存期限7天。

[0014] 本发明的有益效果是:本发明的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,制作方法简单,容易进行操作,方便进行推广应用,制得的人绒毛膜促性腺激素检测试纸检测效果好,灵敏度高,检测方法简单,能够随时进行检测。

具体实施方式

[0015] 下面将对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例仅是本发明的一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其它实施例,都属于本发明保护的范围。

[0016] 提供一种人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法,包括步骤为:

(1)HCG胶体金、免疫胶体金的制备

胶体金的制备:

取450mL高纯水放入1000mL的烧杯内,再加入14.4mL 2%的氯金酸水溶液,置于磁力搅拌器上加热,加热至沸腾;另取130mL高纯水放入250mL的烧杯内,再加入18.72~28mL 2%的柠檬酸三钠水溶液,置于磁力搅拌器上加热至沸腾。待上述2种溶液都沸腾时,将柠檬酸三钠溶液倒入沸腾的氯金酸溶液中,可看到溶液的颜色由澄清透明→黑色→紫色→深红色,当溶液的颜色完全变为深红色时,继续煮沸40分钟,置室温冷却,加入高纯水稀释。通知QA取样3mL送QC处,1:3稀释后用紫外可见分光光度计在波长450~600nm范围内扫描,最大吸收峰值应在523~528nm处,吸光度为 1.05 ± 0.05 。2-8℃避光保存,备用,储存期限1个月。

[0017] 确定0.2M K_2CO_3 溶液的使用量:

分别按每1mL胶体金加0.2M K_2CO_3 溶液5、6、7、8、9 μL ,搅拌均匀后按每1mL胶体金加入鼠抗 α -HCG单抗20 μg ,静置10min,观察显色,取不变色的第2管胶体金所选用的0.2M K_2CO_3 溶液使用量。

[0018] HCG免疫胶体金的制备:

(a) 每1mL胶体金按照1.2的确定结果加入0.2M K_2CO_3 溶液,搅拌10 min。

[0019] (b) 按每1mL胶体金向调好pH的金中加入鼠抗 α -HCG单抗20 μ g,搅拌120min。

[0020] (c) 按每1mL胶体金加入10% BSA溶液100 μ L,搅拌120 min。

[0021] (d) 将标记好的胶体金4℃、6000rpm $\times$ 30min离心,吸取沉淀,将上清液4℃、10000rpm $\times$ 30min离心,吸取沉淀,再次将上清液4℃、12000rpm $\times$ 30min离心,吸取沉淀,向收集得到的沉淀中加胶体金重悬液,终体积为胶体金体积的40%,混匀,即得到HCG免疫胶体金。取样150 μ L,用重悬液稀释20倍,用紫外分光光度计在波长450~600nm范围内扫描,最大吸收峰值应在530~550nm处,吸光度为 0.6 ± 0.1 。暂存于2~8℃冰箱,备用,储存期限7天。

[0022] (2) 免疫金垫的制备

选用型号为RB65的玻璃纤维素膜作为免疫金垫材料,裁切成7mm $\times$ 300mm的金垫长条,按线浓度3.0、4.0、5.0 μ l/cm,分别喷制,干燥后送检,检测最低检测限、特异性。

[0023] 按上述检验合格的线浓度,将重悬好的免疫胶体金喷于玻璃纤维素膜上,60℃烘干5~15分钟或18~28℃晾干,密封保存,备用,储存期限14个月。

[0024] (3) 反应膜的制备

将硝酸纤维素膜浸润在高纯水中,浸泡2小时后取出晾干,再用膜处理液浸泡10分钟取出晾干,裁切成条带,粘贴在PVC底板上。用划膜机在膜上不同位置分别划上抗B-HCG单抗(2.0mg/mL,0.2 μ L/cm)和羊抗鼠IgG抗体(隆基或贤至2.5mg/mL,0.2 μ L/cm),作为检测线和质控线,60℃ $\pm$ 3℃,相对湿度 $\leq$ 30%,烘干2h,密封保存,备用,储存期限14个月。

[0025] (4) 样品垫的制备

条型:选用SB08或C-SAB 0.80作为样品垫材料,放置于样品垫处理液中,确保全部浸湿后取出,相对湿度 $\leq$ 30%风干4h,密封保存,备用,储存期限14个月,使用时用自动裁条机裁切成规格为27mm $\times$ 300mm玻纤长条(具体规格按照客户要求而定)。

[0026] 卡型:选用SB08或C-SAB 0.80作为样品垫材料,放置于样品垫处理液中,确保全部浸湿后取出,相对湿度 $\leq$ 30%风干4h,密封保存,备用,储存期限14个月,使用时用自动裁条机裁切成规格为17mm $\times$ 300mm玻纤长条(具体规格按照客户要求而定)。

[0027] 笔型:选用SR62或F-CT-048作为样品垫材料,放置于样品垫处理液中,确保全部浸湿后取出,相对湿度 $\leq$ 30%风干4h,密封保存,备用,储存期限14个月,使用时用自动裁条机裁切成规格为41mm $\times$ 300mm玻纤长条(具体规格按照客户要求而定)。

[0028] (5) 检测试纸的制备

条型:将免疫金垫、样品垫、吸水纸依次组装到固定有反应膜的粘性PVC底板上(300mm $\times$ 80mm),在样品垫上贴MAX线,吸水纸上贴条型手柄贴纸,切成试纸条。然后将其与1袋干燥剂装入铝箔袋中,封口,4~30℃保存,有效期14个月。

[0029] 卡型:将免疫金垫、样品垫、吸水纸依次组装到固定有反应膜的粘性PVC底板上(300mm $\times$ 60mm),切成试纸条,装入卡壳。然后将其与1袋干燥剂,1个一次性滴管依次装入铝箔袋中,封口,4~30℃保存,有效期14个月。

[0030] 笔型:将型号为KB50/C-SAB 0.80的玻璃纤维素膜、免疫金垫、样品垫、吸水纸依次组装到固定有反应膜的粘性PVC底板上(300mm $\times$ 94mm),切成试纸条,装入笔壳。然后将其与1袋干燥剂装入铝箔袋中,封口,4~30℃保存,有效期14个月。

[0031] (6)有关液体试剂标准配方及制备

2%柠檬酸三钠溶液标准配方:称取无水柠檬酸三钠2.00g,用高纯水定容至100mL,0.22 μ m过滤,2-8℃密闭保存,储存期限1天。

[0032] 2%氯金酸溶液标准配方:用高纯水将规格为1g/瓶的氯金酸定容至50mL,2-8℃避光保存,储存期限6个月。

[0033] 0.2M 碳酸钾溶液标准配方:称取2.76g碳酸钾,用高纯水定容至100mL,0.22 μ m过滤,2-8℃密闭保存,储存期限1个月。

[0034] 0.2M磷酸氢二钠溶液的配制:称取Na₂HPO₄ 2.84g,加高纯水定容至100mL,0.22 μ m过滤。2-8℃密闭保存,储存期限3个月。

[0035] 0.2M磷酸二氢钠溶液的配制:称取NaH₂PO₄ 2.40g,加高纯水定容至100mL,0.22 μ m过滤。2-8℃密闭保存,储存期限3个月。

[0036] 0.01M,PH7.4PB缓冲液的配制:量取0.2M, Na₂HPO₄溶液81mL,0.2M, NaH₂PO₄溶液19mL,量取高纯水1900 mL,混匀。2-8℃密闭保存,储存期限3个月。

[0037] 10%BSA溶液标准配方:称取10.00gBSA (SPRC 01),取高纯水100 mL,0.22 μ m过滤,2-8℃密闭保存,储存期限1个月。

[0038] 重悬液标准配方:称取0.24gTris、10.00g蔗糖、5.00g海藻糖、1.00gBSA (SPRC 02) 和0.10g叠氮钠,用高纯水定容至100mL,用1M 盐酸调节pH至8.5,0.22 μ m过滤,2-8℃密闭保存,储存期限1个月。

[0039] 样品垫处理液标准配方:称取1.21gTris、1.00gBSA (SPRC 02)、0.50gPVP、0.10g酪蛋白,加入100mL高纯水,加入1mL Triton,用1M盐酸调节pH=8.7,2-8℃密闭保存,储存期限1个月。

[0040] 膜处理液标准配方:称取0.2mL TritonX-100, 加入100mL高纯水,混匀。2-8℃密闭保存,储存期限7天。

[0041] 其中C线包被液 0.01M,PH7.4 PB+15%无水乙醇,T线包被液 0.01M,PH7.4 PB + 15%无水乙醇。

[0042] 所述人绒毛膜促性腺激素检测试纸的反应原理为:

本试纸将鼠抗 β -HCG单克隆抗体以适当浓度包被在硝酸纤维素膜的检测线处,对照线处则包被羊抗鼠IgG多克隆抗体;同时在玻璃纤维素膜上预包被胶体金标记鼠抗 α -HCG单克隆抗体。应用免疫层析技术及双抗体夹心的原理,检测人尿液中的人绒毛膜促性腺激素(HCG)。

[0043] 检测时,样本尿液将包被在玻璃纤维素膜上标记有鼠抗 α -HCG单克隆抗体的胶体金复合物复溶,复溶混合物由于毛细效应沿NC膜向前移动,若样本尿液中含有一定量的HCG,复溶混合物中胶体金标记的鼠抗 α -HCG单克隆抗体与NC膜上预包被的鼠抗 β -HCG单克隆抗体结合形成复合物,使得胶体金标记物被截留在检测线处而形成一条红色的条带;无论样本是否含有HCG,游离的胶体金标记鼠抗 α -HCG单克隆抗体都会在对照线处被羊抗鼠IgG多克隆抗体捕获而呈现出红色条带。

[0044] 以上所述仅为本发明的实施例,并非因此限制本发明的专利范围,凡是利用本发明说明书内容所作的等效结构或等效流程变换,或直接或间接运用在其它相关的技术领域,均同理包括在本发明的专利保护范围内。

专利名称(译)	一种人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法		
公开(公告)号	CN107271660A	公开(公告)日	2017-10-20
申请号	CN2017110480108.9	申请日	2017-06-22
[标]申请(专利权)人(译)	苏州万木春生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州万木春生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	苏州万木春生物技术有限公司		
[标]发明人	黄政 丁锦勤 马军		
发明人	黄政 丁锦勤 马军		
IPC分类号	G01N33/532 G01N33/76 G01N33/558		
CPC分类号	G01N33/532 G01N33/558 G01N33/76		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法，通过HCG胶体金、免疫胶体金的制备、免疫金垫的制备、反应膜的制备、样品垫的制备，最终进行检测试纸的制备得到。通过上述方式，本发明的人绒毛膜促性腺激素检测试纸的制备方法，制作方法简单，容易进行操作，方便进行推广应用，制得的人绒毛膜促性腺激素检测试纸检测效果好，灵敏度高，检测方法简单，能够随时进行检测。