

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/53



[12] 发明专利申请公开说明书

G01N 33/547 G01N 33/569

G01N 33/571 G01N 33/532

G01N 33/535

[21] 申请号 02136571.7

[43] 公开日 2003 年 4 月 30 日

[11] 公开号 CN 1414389A

[22] 申请日 2002.8.19 [21] 申请号 02136571.7

[71] 申请人 上海华冠生物芯片有限公司

地址 201203 上海市张江高科技园区松涛路
563 号 B 楼 3 层

[72] 发明人 胡志能 金维荣 苏 蓓 费 西

[74] 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限责
任公司

代理人 罗大忱

权利要求书 5 页 说明书 10 页 附图 2 页

[54] 发明名称 HCV 和 TORCH 蛋白芯片及其制备
和应用方法

[57] 摘要

本发明公开了一种蛋白芯片及其制备和应用方法。本发明建立了一种蛋白质诊断芯片，将多种相关指标相应抗原分别印迹在硝酸纤维素膜的不同位置，采用多条带免疫印迹法，通过金标显色或沉淀酶免显色，以检测患者标本中针对所有抗原的抗体。可避免传统方法中因抗原间相互作用而引起的假阴性和假阳性，或一次只能检测一种抗原的缺点，提高了免疫法检测的敏感性和特异性。克服了一次只能识别一种抗体的局限性，通过一次性联合检测，比从单个抗体蛋白检测试纸条上获得的信息丰富而全面。可以大大减少临床样品的采集量，缩短检验周期，为医生提供更详细、丰富的临床信息，便于医生制订更有针对性的诊疗方案。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种蛋白芯片，包括固相载体，其特征在于将两种或两种以上的 HCV 抗原或两种或两种以上的 TORCH 所涉及的病毒抗原，同时包被于固相载体的不同位置上。

2. 如权利要求 1 所述的蛋白芯片，其特征在于所述及的 HCV 抗原包括 C 抗原、NS2 抗原、NS3 抗原、NS4 抗原、NS5 抗原、E1 抗原和 E2 抗原。

3. 如权利要求 1 所述的蛋白芯片，其特征在于所述及的 TORCH 所涉及的病毒包括弓形体 (Toxoplasma)、梅毒螺旋体(Treponema Pallidum)、沙眼衣原体(Chlamydia)、风疹病毒(Rubella Virus)、巨细胞病毒(Cytomegalovirus)和单纯疱疹病毒(Herpes Simplex Virus)。

4. 如权利要求 1 或 2 所述的蛋白芯片，其特征在于所说的芯片还包括一条质控线、一条阳性线。

5. 如权利要求 4 所述的蛋白芯片，其特征在于所说的芯片由上至下包括质控线、阳性线、Core 线、NS2 线、NS3 线、NS4 线、NS5 线、E1 线和 E2 线。

6. 如权利要求 3 所述的蛋白芯片，其特征在于所说的芯片由上至下依次包括质控线，分别为人 IgG 和人 IgM，弓形体 (Toxoplasma)、梅毒螺旋体(Treponema Pallidum)、沙眼衣原体(Chlamydia)、风疹病毒 (Rubella Virus)、巨细胞病毒(Cytomegalovirus)和 I 型和 II 型单纯疱疹病毒(Herpes Simplex Virus)病原微生物。

7. 根据权利要求 2、4 或 5 所述芯片的制备方法，其特征在于包括

如下步骤:

金标层析法诊断芯片的制备方法:

(1). 胶体金溶液的配制与标记: 将 HAuCl_4 溶液加热, 沸腾后加柠檬酸三钠还原, 并保持沸腾 10-15 分钟, 冷却后调 pH 值至 7.2-8, 加入抗 IgG/IgM 或蛋白 A 标记, 用 1%BSA 的 PBS 缓冲液封闭, 4°C 高速离心, 去掉上清液, 用含 1%BSA 的 PBS 重悬沉淀物, 以 $\text{OD}_{530}=100\times 4\text{ul}/\text{cm}$ 的浓度用点膜机将其包被于聚脂膜上。

(2). 抗原的包被: 用点膜机将 E1 抗原与 E2 抗原混合物包被于固相载体的抗体阳性线, 人 IgG/IgM 包被于固相载体的质控线, Core、NS2、NS3、NS4、NS5、E1、E2 这 7 种抗原分别包被于载体的不同位置上, 干燥, 以固定蛋白;

(3). 按照金标快检试剂的常规生产方法, 将固相载体、聚脂膜以及其他辅助材料粘贴、切割, 即获得本发明的芯片;

酶免显色法诊断芯片的制备方法:

(1) 酶标记抗人 IgG 或 SPA 的制备: 将辣根过氧化物酶 (HRPO) 溶于 $\text{PH}=9-10$ 的碳酸盐缓冲液, 加入新鲜配制的 NaIO_4 溶液, 室温避光放置 2 小时; 加入 $\text{PH}=6-8$ 的 PBS 透析过的抗人 IgG 或 SPA, 加 Sephadex G-25, 室温避光放置 1-5 小时, 然后用碳酸盐缓冲液洗脱偶联物; 加入新鲜配制的 NaBH_4 至洗脱物中, 室温避光放置 15-60 分钟; 加饱和硫酸铵 (SAS) 溶液, 于 $0-10^\circ\text{C}$ 温和振摇 15-60 分钟; 离心分离, 弃上清, 沉淀重悬于 TEN 缓冲液, 用 TEN 缓冲液透析过夜, 加 BSA 和甘油, 冷冻保存。

(2) 碱性磷酸酶 (AP) 标记: 用 PBS 透析抗人 IgG 或 SPA, 加入 AP, 再加入戊二醛, 温和振摇, 加入 NaN_3 至终浓度 0.05-2wt%, 避光保存;

(3) 用点膜机分别在两条固相载体包被入 IgG, 作为质控线;

(4) 用点膜机将 E1 抗原与 E2 抗原混合物包被于固相载体的抗体阳性线, Core、NS2、NS3、NS4、NS5、E1、E2 这 7 种抗原分别包被于固相载体的特定不同位置上;

(5) 将包被后的载体放置在 37°C 烘箱内干燥 1 小时, 以固定蛋白;

(6) 用含 PBS 缓冲液浸泡载体 2 小时进行封闭, 然后在 37°C 烘箱内干燥 6~10 小时;

(7) 按照常规方法进行切割、包装, 即获得本发明的芯片。

8. 根据权利要求 3 或 6 所述的芯片的制备方法, 其特征在于包括如下步骤:

金标层析法诊断芯片的制备方法:

(1) 胶体金溶液的配制与标记: 将 HAuCl_4 溶液加热, 沸腾后加柠檬酸三钠还原, 并保持沸腾 10-15 分钟, 冷却后调 pH 值至 7.2-8, 加入抗 IgG/IgM, 用 1%BSA 的 PBS 缓冲液封闭, 4°C 高速离心, 去掉上清液, 用含 1%BSA 的 PBS 重悬沉淀物, 以 $\text{OD}_{530}=200 \times 2 \mu\text{l}/\text{cm}$ 的浓度用点膜机将其包被于聚脂膜上;

(2) 抗原的包被: 用点膜机依次将弓形虫 (Toxo, *Toxoplasma gondii*)、梅毒 (TP, *Treponema Pallidum*)、沙眼衣原体 (*Chlamydia Trachomatis*)、风疹病毒 (Rub, *Rubella Virus*)、巨细胞病毒 (CMV,

Cytomegalovirus)、I 型和 II 型单纯性疱疹病毒(HSV-1/2, Herpes Simplex Virus)抗原包被于固相载体的检测区；人 IgG/IgM 分别包被于两条固相载体的质控线区（C 线），将包被的载体放置在 37°C 烘箱内干燥 1 小时，以固定蛋白；

(3) 用 PBS 缓冲液浸泡载体 2 小时进行封闭，然后在 37°C 烘箱内干燥 6~10 小时；

(4) 按金标快检试剂的常规生产方法，将固相载体、聚脂膜以及其他辅助材料粘贴、切割，即获得本发明的芯片；

酶免显色法诊断芯片的制备方法：

(1) 酶标记抗人 IgG/IgM 的制备：将辣根过氧化物酶溶于 PH=9-10 的碳酸盐缓冲液，加入新鲜配制的 NaIO_4 溶液，室温避光放置 2 小时；加入 PH=6-8 的 PBS 透析过的抗人 IgG/IgM，加 Sephadex G-25，室温避光放置 1-5 小时，然后用碳酸盐缓冲液洗脱偶联物；加入新鲜配制的 NaBH_4 至洗脱物中，室温避光放置 15-60 分钟；加饱和硫酸铵（SAS）溶液，于 0-10°C 温和振摇 15-60 分钟；离心分离，弃上清，沉淀重悬于 TEN 缓冲液，用 TEN 缓冲液透析过夜，加 BSA 和甘油，冷冻保存；

(2) 碱性磷酸酶（AP）标记：用 PBS 透析抗人 IgG/IgM，加入 AP，再加入戊二醛，温和振摇，加入 NaN_3 至终浓度 0.05-2wt%，避光保存；

(3) 用点膜机分别在两条固相载体上包被人 IgG 和人 IgM，作为质控线（C 线）区，并画上标识线以示区别；

(4) 用点膜机分别将蛋白质样品（各项指标的抗原）直接包被于

载体的特定不同位置上；

(5) 将包被后的两条载体放置在 37°C 烘箱内干燥 1 小时，以固定蛋白；

(6) 用含 PBS 缓冲液浸泡硝酸纤维素膜 2 小时进行封闭，然后在 37°C 烘箱内干燥 6~10 小时；

(7) 按照常规方法切割、包装，即获得本发明的芯片。

9. 权利要求 2、4 或 5 所述芯片在检测 HCV 抗体中的应用。

10. 权利要求 3 或 6 所述芯片在检测 TORCH 所涉及的病毒抗体中的应用。

HCV 和 TORCH 蛋白芯片及其制备和应用方法

技术领域

本发明属于生物技术领域体外诊断的试剂及其制备方法和应用技术领域，具体涉及一种生物芯片，特别涉及一种蛋白质芯片。

背景技术

蛋白质芯片是一种在固态基底上有序排布的蛋白质或多肽阵列，以实现蛋白质进行并行检测、识别、鉴定和诊断的器件，可应用于生物学、医学及其相关领域。

21 世纪人类面临着人口、资源和环境等一系列问题的严峻挑战，生物技术已成为应对这些挑战的重要战略选择，是解决粮食、医药、环保等涉及社会经济可持续发展的关键问题，是改善广大群众的健康状况和提高生活质量、促进传统产业改造和带动新兴产业的重要手段。目前，心血管病、恶性肿瘤和传染性疾病依然是严重危害人类健康水平的三大主要疾病。随着蛋白芯片技术的发展，蛋白芯片在医学临床检验中的巨大的潜在应用前景已毋庸置疑，虽由于蛋白质样品的特殊性以及芯片技术等多种原因，蛋白质芯片技术还有待进一步的发展和完善，蛋白质芯片成为常规的临床检验尚需时日。但由于蛋白质芯片其在临床诊断上具有传统方法没有的优越性和巨大的市场前景，世界上各国的科学家、医药公司均投入了巨大的力量开展蛋白质芯片技术和蛋白质诊断芯片的研制和开发。

目前，就体外免疫诊断试剂在方法上分类有：酶标法（ELISA 法），

血凝法，微光法，微粒法，乳胶凝集法，胶体金标记或乳胶标记的免疫层析法，放免法（RIA），荧光标记法，化学发光等。所有的这些方法都有其优点和不足，因此就存在应用范围问题。

酶标法是把抗原抗体的免疫反应和酶的高度催化作用有机地结合而发展起来的一种免疫学分析技术。通过化学方法，将酶与抗原（或抗体）结合，形成酶标记物。这种酶标记物仍保持免疫学活性和酶的活性，然后与相应的抗体（或抗原）起反应，形成酶标记的免疫复合物。在一定的底物参与下，免疫复合物上的酶催化底物使其水解，氧化或还原成另一种带色物质。在一定条件，酶的降解底物和呈色是成正比的。该方法既具有抗原抗体反应的特异性，又有酶促反应的生物放大作用，因此可作为基因工程产物的定性定量测定方法。相比较而言，这种酶标技术比金标技术具有更高的灵敏度和特异性，但是该技术需要离心机、孵育箱、酶标仪等实验设备，而且操作过程复杂、耗时，每次只能检测一种蛋白，同时该方法检测必须积攒到一定数量的病例才可测试，因此不能随时随地进行检测。

胶体金免疫层析法是九十年代的一项新型的快速免疫学检测技术，其反应所需要的原料的全部均已整合到试剂中，当待测样品（尿液或血清）加入到样品膜上后，由于微孔滤膜的毛细管作用，使抗原抗体反应在固相膜上快速进行，反应通常只需数分钟，测试结果以肉眼可见的显色条带来判断，但是由于该方法是通过富集作用判读结果，因此在定量上不如酶标法，并且通过一次反应仅能获得一项指标的反应结果，因此其应用受到了一定的局限。

发明内容

本发明需要解决的技术问题是公开一种蛋白芯片及其制备和应用方法，以克服现有技术存在的上述缺陷，满足人们的需要。

本发明的技术构思是这样的：

建立一种蛋白质诊断芯片，将多种相关指标相应抗原分别印迹在固相载体的不同位置，采用多条带免疫印迹法，通过金标显色或沉淀酶免显色，以检测患者标本中针对所有抗原的抗体。同时可避免传统方法中因抗原间相互作用而引起的假阴性和假阳性，或一次只能检测一种抗原的缺点，提高其免疫法检测的敏感性和特异性。

本发明的技术方案：

本发明的蛋白芯片以硝酸纤维素膜或尼龙膜为固相载体，将两种或两种以上的 HCV C 抗原、NS2 抗原、NS3 抗原、NS4 抗原、NS5 抗原、E1 抗原和 E2 抗原或两种或两种以上的 TORCH 所涉及的病毒抗原，如弓形体 (Toxoplasma)、梅毒螺旋体 (Treponema Pallidum)、沙眼衣原体 (Chlamydia)、风疹病毒 (Rubella Virus)、巨细胞病毒 (Cytomegalovirus)、单纯疱疹病毒 (Herpes Simplex Virus)，同时包被于固相载体的不同位置上，从而获得一种具有 HCV 或 TORCH 所涉及的病毒抗体的多条带金标法或沉淀酶免显色法诊断芯片，以上所述的病毒抗原形成一条或一条以上的检测线区。

对于 TORCH 诊断芯片还包括一条质控线；

对于 HCV 诊断芯片还包括一条质控线和一条阳性线。

所述及的 HCV 为丙型肝炎病毒，经序列分析比较，HCV 与黄病毒、

瘟病毒基因结构极其相似，因而归入黄病毒（Flavivirus）科丙型肝炎病毒。初步研究表明，在电镜下 HCV 为 55nm 直径的球形颗粒，去包膜后为 33nm 直径的核壳蛋白包括核心部分，内含全长约 9400 个核苷酸的单股正链 RNA 基因组。基因组两侧分别为 5' 和 3' 非编码区。编码区从 5' 端依次为核蛋白（C）、包膜蛋白区（E）区和非结构（NS）区。后者又分为 NS2、NS3、NS4、NS5 等区。

对育龄妇女（尤其在早孕期）进行有关病原体感染的筛选检测，其主要检测项目称为 TORCH，涉及弓形体（Toxoplasma）、梅毒螺旋体（*Treponema Pallidum*）、沙眼衣原体（*Chlamydia*）、风疹病毒（*Rubella Virus*）、巨细胞病毒（*Cytomegalovirus*）、单纯疱疹病毒（*Herpes Simplex Virus*）等病原微生物。TORCH 诊断是对孕妇进行产前检查的重要指标之一，对于了解孕妇的免疫力和胎儿的健康状况有着积极作用。另外，在肿瘤、眼睛疾病、器官移植及 AIDS 病人中进行 TORCH 检查也具有临床意义。

HCV 抗体金标层析法诊断芯片的制备方法：

1. 胶体金溶液的配制与标记：将 HAuCl_4 溶液加热，沸腾后加柠檬酸三钠还原，并保持沸腾 10-15 分钟，冷却后调 pH 值至 7.2-8，加入抗 IgG/IgM 或蛋白 A 标记，用 1%BSA 的 PBS 缓冲液封闭，4℃ 高速离心，去掉上清液，用含 1%BSA 的 PBS 重悬沉淀物，以 $\text{OD}_{530}=100 \times 4 \mu\text{l}/\text{cm}$ 的浓度用点膜机将其包被于聚脂膜上。

2. 抗原的包被：用点膜机将 E1 抗原与 E2 抗原混合物包被于固相载体的抗体阳性线区，人 IgG/IgM 包被于固相载体的质控线区，Core、

NS2、NS3、NS4、NS5、E1、E2 这 7 种抗原分别包被于固相载体的不同位置上，将包被的载体放置在 37°C 烘箱内干燥 1 小时，以固定蛋白。

3. 用 PBS 缓冲液浸泡载体 2 小时进行封闭，然后在 37°C 的烘箱内干燥 6-10 小时。

4. 按照金标快检试剂的常规生产方法，将固相载体、聚脂膜以及其他辅助材料粘贴、切割、包装、保存。

HCV 抗体诊断芯片的使用方法：

1. 将病人血清稀释 20 倍；

2. 在加样孔内滴加稀释后血样。

3. 等待 20 分钟，从观察窗内判读结果。

4. 结果分析：阴性结果：只在质控线区出现一条红色条带。

阳性结果：除质控线区、阳性线区各出现一条红色条带外，其他区域出现一条以上的条带。

无效结果：质控线区不出现红色条带。

HCV 抗体酶免显色法诊断芯片的制备方法：

1. 酶标记抗人 IgG 或 SPA 的制备：将辣根过氧化物酶（HRPO）溶于 PH=9-10 的碳酸盐缓冲液，加入新鲜配制的 NaIO₄ 溶液，室温避光放置 2 小时；加入 PH=6-8 的 PBS 透析过的抗人 IgG 或 SPA，加 Sephadex G-25，室温避光放置 1-5 小时，然后用碳酸盐缓冲液洗脱偶联物；加入新鲜配制的 NaBH₄ 至洗脱物中，室温避光放置 15-60 分钟；加饱和硫酸铵（SAS）溶液，于 0-10°C 温和振摇 15-60 分钟；离心分离，弃上清，沉淀重悬于 TEN 缓冲液，用 TEN 缓冲液透析过夜，加 BSA 和甘油，

冷冻保存。

2. 碱性磷酸酶 (AP) 标记: 用 PBS 透析抗人 IgG 或 SPA, 加入 AP, 再加入戊二醛, 温和振摇, 加入 NaN_3 至终浓度 0.05-2wt%, 避光保存。

3. 用点膜机分别在两条固相载体包被入 IgG, 作为质控线 (C 线) 区。

4. 用点膜机将 E1 抗原与 E2 抗原混合物包被于固相载体的抗体阳性线区 (T 线), Core、NS2、NS3、NS4、NS5、E1、E2 这 7 种抗原分别包被于固相载体的特定不同位置上。

5. 将包被后的载体放置在 37°C 烘箱内干燥 1 小时, 以固定蛋白。

6. 用含 PBS 缓冲液浸泡载体 2 小时进行封闭, 然后在 37°C 烘箱内干燥 6~10 小时。

7. 按照常规方法进行切割、包装、保存。

使用方法:

1. 分别在装有固相载体的腔室内加入 20 倍稀释过的病人血清样品, 直至完全覆盖整条膜, 37°C 温育 1 小时, 使抗原抗体充分反应。

2. 用低浓度钠离子盐为主的洗脱液洗去多余样品。

3. 加入以封阻液稀释过的酶标记二抗, 37°C 温育 30-60 分钟, 洗净。

4. 加入新配制的显色液 (TMB), 暗处放置 10-20 分钟。

5. 反应结束后, 肉眼判读和分析检测结果。

结果分析:

阴性结果: 只在质控线区出现一条红色条带。

阳性结果：除质控线区、阳性线区各出现一条红色条带外，其他区域出现一条以上的条带。

无效结果：质控线区不出现红色条带。

TORCH 酶免显色法诊断芯片的制备方法：

1. 酶标记抗人 IgG/IgM 的制备：将辣根过氧化物酶（HRPO）溶于 PH=9-10 的碳酸盐缓冲液，加入新鲜配制的 NaIO_4 溶液，室温避光放置 2 小时；加入 PH=6-8 的 PBS 透析过的抗人 IgG/IgM，加 Sephadex G-25，室温避光放置 1-5 小时，然后用碳酸盐缓冲液洗脱偶联物；加入新鲜配制的 NaBH_4 至洗脱物中，室温避光放置 15-60 分钟；加饱和硫酸铵（SAS）溶液，于 0-10℃温和振摇 15-60 分钟；离心分离，弃上清，沉淀重悬于 TEN 缓冲液，用 TEN 缓冲液透析过夜，加 BSA 和甘油，冷冻保存。

2. 碱性磷酸酶（AP）标记：用 PBS 透析抗人 IgG/IgM，加入 AP，再加入戊二醛，温和振摇，加入 NaN_3 至终浓度 0.05-2wt%，避光保存。

3. 用点膜机分别在两条固相载体上包被抗人 IgG 和抗人 IgM，作为质控线（C 线）区，并画上标识线以示区别。

4. 用点膜机分别将蛋白质样品（各项指标的抗原）直接包被于载体的特定不同位置上。

5. 将包被后的两条载体放置在 37℃烘箱内干燥 1 小时，以固定蛋白。

6. 用含 PBS 缓冲液浸泡硝酸纤维素膜 2 小时进行封闭，然后在 37℃烘箱内干燥 6~10 小时。

7. 按照常规方法切割、包装、保存。

TORCH 酶免显色法诊断芯片的使用方法：

1. 分别在装有固相载体的两个腔室内加入稀释过的病人血清样品，直至完全覆盖整条膜，37°C 温育 1 小时，使抗原抗体充分反应。
2. 用低浓度钠离子盐为主的洗脱液法去多余样品。
3. 加入以封阻液稀释过的酶标记二抗，在测血清 IgG 的腔室里，二抗采用酶标记的抗 IgG 二抗；在测血清 IgM 的腔室里，二抗采用酶标记的抗 IgM 二抗。
4. 37°C 温育 10-60 分钟，洗净。
5. 加入新配制的显色液（TMB），暗处放置 5-30 分钟。
6. 反应结束后，判读和分析检测结果。

TORCH 金标层析法诊断芯片的制备方法：

1. 胶体金溶液的配制与标记：将 HAuCl_4 溶液加热，沸腾后加柠檬酸三钠还原，并保持沸腾 10-15 分钟，冷却后调 pH 值至 7.2-8，加入抗 IgG/IgM，用 1%BSA 的 PBS 缓冲液封闭，4°C 高速离心，去掉上清液，用含 1%BSA 的 PBS 重悬沉淀物，以 $\text{OD}_{530}=200 \times 2 \mu\text{l}/\text{cm}$ 的浓度用点膜机将其包被于聚脂膜上。

2. 抗原的包被：用点膜机依次将弓形虫 (Toxo, *Toxoplasma gondii*)、梅毒 (TP, *Treponema Pallidum*)、沙眼衣原体 (*Chlamydia Trachomatis*)、风疹病毒 (Rub, *Rubella Virus*)、巨细胞病毒 (CMV, *Cytomegalovirus*)、I 型和 II 型单纯性疱疹病毒 (HSV-1/2, *Herpes Simplex Virus*) 抗原包被于固相载体的检测区；人 IgG/IgM 分别包被于两条固相载体的质控线区，将包被的载体放置在 37°C 烘箱内干燥

1 小时，以固定蛋白。

3. 用 PBS 缓冲液浸泡载体 2 小时进行封闭，然后在 37°C 烘箱内干燥 6~10 小时。

4. 按金标快检试剂的常规生产方法，将固相载体、聚脂膜以及其他辅助材料粘贴、切割、包装、保存。

TORCH 金标层析法诊断芯片的使用方法：

1. 将病人血清稀释 20 倍。
2. 分别在 IgG/IgM 的 2 个加样孔内滴加稀释后血样。
3. 等待 20 分钟，从观察窗内判读结果。
4. 结果分析：

阴性结果：只在质控线区出现一条红色条带。

阳性结果：除质控线区出现一条红色条带外，其他区域出现一条以上的条带。

无效结果：质控线区不出现红色条带。

由上述公开的技术方案可见，本发明有别于传统两条带金标诊断试剂，克服了一次只能识别一种抗体的局限性，提供了一种简便、快捷、高通量的信息获得方法，以及敏感性更高、特异性更强的检测体液所有相关抗体的体外诊断试剂。通过一次性联合检测，比从单个抗体蛋白检测试纸条上获得的信息丰富而全面。预计该套蛋白芯片应用与临床诊断，可以大大减少临床样品的采集量，缩短检验周期，为医生提供更详细、丰富的临床信息，便于医生制订更有针对性的诊疗方案。

附图说明

图 1 为由本发明的芯片所构成的诊断试剂盒结构示意图。

图 2 为本发明的 HCV 诊断芯片的构成图。

图 3 为 TORCH 诊断芯片的构成图。

具体实施方式

参见图 1，本发明的芯片通常组装于诊断试剂盒中，该试剂盒包括背板 1、面板 2。背板 1 和面板 2 构成一个盒状体，包被了抗原的载体如硝酸纤维素膜而形成的芯片固定在试剂盒中，面板 2 上设有观察孔 3，为了便于操作还可增加加样孔 4。

图 2 为本发明的芯片的一种构成图。由图 2 可见，由上至下依次包括质控线 5、阳性线 6、Core 线 7、NS2 线 8、NS3 线 9、NS4 线 10、NS5 线 11、E1 线 12 和 E2 线 13。

图 3 为两条 TORCH 诊断芯片的构成图。由图 3 可见，由上至下依次包括质控线，分别为人 IgG14 和人 IgM22，弓形体 (*Toxoplasma*) 15、梅毒螺旋体(*Treponema Pallidum*)16、沙眼衣原体(*Chlamydia*)17、风疹病毒(*Rubella Virus*)18、巨细胞病毒(*Cytomegalovirus*)19 和单纯疱疹病毒 (*Herpes Simplex Virus*) I 型 20 和 II 型 21 等病原微生物。

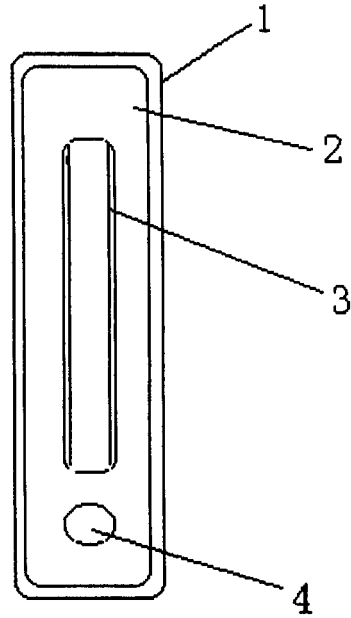


图 1

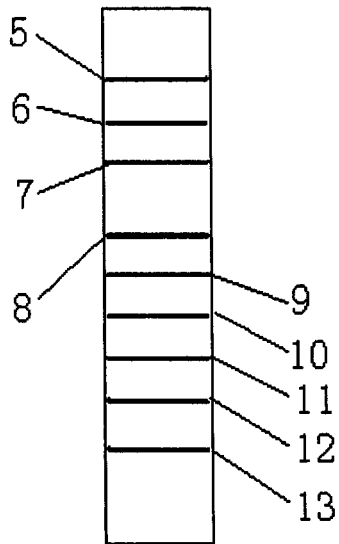


图 2

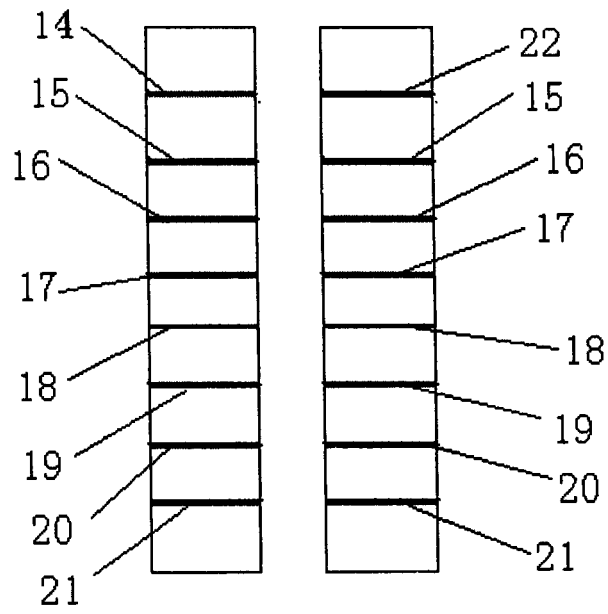


图 3

专利名称(译)	HCV和TORCH蛋白芯片及其制备和应用方法		
公开(公告)号	CN1414389A	公开(公告)日	2003-04-30
申请号	CN02136571.7	申请日	2002-08-19
[标]发明人	胡志能 金维荣 苏蓓 费西		
发明人	胡志能 金维荣 苏蓓 费西		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/532 G01N33/535 G01N33/547 G01N33/569 G01N33/571		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种蛋白芯片及其制备和应用方法。本发明建立了一种蛋白质诊断芯片，将多种相关指标相应抗原分别印迹在硝酸纤维素膜的不同位置，采用多条带免疫印迹法，通过金标显色或沉淀酶免显色，以检测患者标本中针对所有抗原的抗体。可避免传统方法中因抗原间相互作用而引起的假阴性和假阳性，或一次只能检测一种抗原的缺点，提高了免疫法检测的敏感性和特异性。克服了一次只能识别一种抗体的局限性，通过一次性联合检测，比从单个抗体蛋白检测试纸条上获得的信息丰富而全面。可以大大减少临床样品的采集量，缩短检验周期，为医生提供更详细、丰富的临床信息，便于医生制订更有针对性的诊疗方案。

