



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102890156 A

(43) 申请公布日 2013. 01. 23

(21) 申请号 201210365240. 2

(22) 申请日 2012. 09. 26

(71) 申请人 中国人民解放军军事医学科学院基
础医学研究所

地址 100850 北京市海淀区太平路 27 号

(72) 发明人 钱令嘉 弓景波 王新兴 战锐
杲修杰

(74) 专利代理机构 北京众合诚成知识产权代理
有限公司 11246

代理人 陈波

(51) Int. Cl.

G01N 33/68 (2006. 01)

G01N 33/532 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 6 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种人体液 HSP70 胶体金标检测试纸条及其
制备方法

(57) 摘要

本发明公开了属于免疫检测技术领域的一种
人体液 HSP70 胶体金标检测试纸条及其制备方
法, 此试纸条包括设在固定板上依次相连的样品
垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水纸; 在硝酸纤
维素膜上设有三条检测线和一条质控线; 在金标
垫上设有金标抗体。金标抗体为显色抗体, 所述
检测线为捕捉抗体, 显色抗体与捕捉抗体为 1
对双抗体夹心配对的鼠抗人 HSP70 单克隆抗
体, 质控线为羊抗鼠 IgG。本发明的人体液
HSP70 胶体金标检测试纸条, 特异性高, 结果
易观察, 灵敏度达到 15ng / mL, 15min 内
就能判读结果, 具有良好的稳定性和重复性,
操作简便, 无需特殊仪器设备, 适宜在现
场检测基层医院和实验研究推广和应用。

1. 一种人体液 HSP70 胶体金标检测试纸条,其特征在於:此试纸条由设在固定板(1)上依次相连的样品垫(2)、金标垫(3)、硝酸纤维素膜(4)和吸水纸(9)组成;在硝酸纤维素膜(4)上设有第一检测线(5)、第二检测线(6)和第三检测线(7)和一条质控线(8);在金标垫(3)上设有金标抗体。

2. 根据权利要求 1 所述的人体液 HSP70 胶体金标检测试纸条,其特征在於:所述固定板(1)为具有压敏胶的 PVC 板,样品垫(2)为玻璃纤维膜,金标垫(3)为聚酯纤维膜。

3. 根据权利要求 1 所述的人体液 HSp70 胶体金标检测试纸条,其特征在於:所述金标抗体为显色抗体,所述检测线为捕捉抗体,显色抗体与捕捉抗体为 1 对双抗体夹心配对的鼠抗人 HSP70 单克隆抗体。

4. 根据权利要求 1 所述的人体液 HSP70 胶体金标检测试纸条,其特征在於:所述金标抗体用粒径为 20nm-60nm 的胶体金颗粒标记。

5. 根据权利要求 1 所述的人体液 HSP70 胶体金标检测试纸条,其特征在於:所述质控线(8)为羊抗鼠 IgG。

6. 权利要求 1 所述人体液 HSP70 胶体金标检测试纸条的制备方法,其特征在於,包括以下步骤:

(1) 用常规的柠檬酸三钠还原法制备均匀粒径为 20nm-60nm 的胶体金;

(2) 调节上述胶体金 pH 为 8.5-10,然后加入显色抗体与其反应,其中显色抗体的浓度为 0.04mg/ml,离心得沉淀,重悬沉淀,得金标抗体溶液,将金标抗体溶液用喷墨仪喷印在聚酯纤维膜,晾干;

(3) 将捕捉抗体用抗体稀释液稀释成浓度为 1mg/ml 的捕捉抗体溶液,用喷墨仪将捕捉抗体溶液在硝酸纤维素膜上喷划三条平行检测线,真空干燥;

(4) 将羊抗鼠 IgG 用抗体稀释液稀释成浓度为 0.5mg/ml 的羊抗鼠 IgG 溶液,用喷膜仪将抗体喷线在硝酸纤维素膜上形成质控线,真空干燥;

(5) 按样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜、吸水纸顺序粘贴在固定板上,切条,装入塑料袋,干燥包装。

7. 根据权利要求 6 所述的制备方法,其特征在於,离心的方法为:反应液于 5000xg 离心 30min,沉淀用 1wt% 牛血清白蛋白溶液重悬浮,反复 2 次;其中 1 wt % 牛血清白蛋白溶液为 10mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液,pH 为 8.5,含 1wt% 的牛血清白蛋白。

8. 根据权利要求 6 所述的制备方法,其特征在於,步骤(2)中重悬沉淀的溶液为:20mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液,pH 为 8.5,其中含 30wt% 的海藻糖,1wt% 的牛血清白蛋白,1wt % 的酪蛋白,体积浓度为 0.01% 的 Tween-20,0.02 wt % 的 NaN₃。

9. 根据权利要求 6 所述的制备方法,其特征在於,所述抗体稀释液为 10mM 的磷酸盐缓冲溶液,pH 为 7.6,其中含 10wt% 的海藻糖,体积浓度为 3% 的甲醇。

一种人体液 HSP70 胶体金标检测试纸条及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于免疫学分析技术领域,具体涉及一种人体液中 HSP70 胶体金标检测试纸条及制备方法。

背景技术

[0002] 热休克蛋白家族 (HSPs) 是一类高度保守的蛋白,热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70) 是热休克蛋白家族中的重要成员,其分为诱导型的组成型的。当机体受到外界环境中多种不良因素刺激时,诱导型的 HSP70 蛋白表达升高。HSP70 蛋白对细胞损伤的修复、存活和维持正常的细胞功能是必需的。在环境刺激、病原菌感染、疾病引起细胞应激损伤中发挥分子伴侣作用,阻止蛋白聚集,促进损伤蛋白的重新折叠。在大多数的哺乳动物,只有在应激条件下诱导型 HSP70 表达,而且显著的细胞和机体应激后才能检测到,但是在人和灵长类,诱导型的 HSP70 有一个基准值,在一些特殊条件下如过热、化学有毒物质暴露、缺氧、缺血、感染、自身免疫性疾病、凋亡、器官移植、细菌和病毒引起的感染,动脉粥样硬化等心血管病中,生物体的 HSP70 表达显著升高;在正常老化过程,精子发生,月经,运动练习等正常生理过程中,生物体的 HSP70 表达也显著升高,提示其在这些过程中可能发挥重要作用。

[0003] 酶联免疫吸附分析 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 技术是目前进行体液生物蛋白检测最为常用的方法,与其他检测方法相比,ELISA 检测方法具有成本低、检测设施设备简单、快速高效的特点,并在不断改进当中,已经有直接 ELISA、间接 ELISA、单抗体 ELISA,微波 ELISA、双抗体夹心 ELISA 方法。但是 ELISA 方法,目前只适用于实验室检测,不能适用于现场检测。

[0004] 应激是机体在对生存环境中多种不利因素适应过程中,实际或认知上的要求与适应和应付能力之间不平衡导致的身心紧张状态及其反应。应激同人的健康有密切联系,这种联系是双向的:一方面应激可影响人的健康,另一方面一个人的健康状况也会影响应激条件下心理应激反应的强度和对应激的耐受力。适度的心理应激是人成长和发展的必要条件,适当的应激有助于维持人的生理、心理和社会功能,应对挑战既可以引起我们的紧张、劳累、苦恼和痛苦,又可以为我们带来成功的喜悦、轻松和欢乐。但是长期、超过人适应和应对能力的应激就会损害人的健康,这是心理应激对健康的消极影响,主要表现在下述三个方面。

[0005] 首先,心理应激引起的心理和生理反应可以以症状和体征的形式见之于临床,成为人们身体不适、虚弱和精神痛苦的根源和就医需求帮助的原因;其次,心理应激可以加重已有的精神障碍和躯体疾病,或使这些疾病复发;最后,心理应激可以造成对疾病的易感状态,并且在其他因素的共同作用下导致新的精神障碍和躯体疾病。

[0006] 随着研究的深入, HSP70 作为应激的生物标记物,可以检测机体应激水平,预防应激损伤的发生,用于机体应激负荷健康风险评估。

发明内容

[0007] 本发明的目的是克服现有检测 HSP70 技术的不足,提供一种人体液 HSP70 胶体金检测试纸条。

[0008] 本发明的目的还在于提供上述检测试纸条的制备方法。

[0009] 一种人体液 HSP70 胶体金标检测试纸条,此试纸条由设在固定板 1 上依次相连的样品垫 2、金标垫 3、硝酸纤维素膜 4 和吸水纸 9 组成;在硝酸纤维素膜 4 上设有第一检测线 5、第二检测线 6 和第三检测线 7 和一条质控线 8;在金标垫 3 上设有金标抗体。

[0010] 固定板 1 为具有压敏胶的 PVC 板,样品垫 2 为玻璃纤维膜,金标垫 3 为聚酯纤维膜。

[0011] 金标抗体为显色抗体,检测线为捕捉抗体,显色抗体与捕捉抗体为 1 对双抗体夹心配对的鼠抗人 HSP70 单克隆抗体。

[0012] 金标抗体用粒径为 20nm-60nm 的胶体金颗粒标记。

[0013] 质控线 8 为羊抗鼠免疫球蛋白 G (immunoglobulin G, IgG)。

[0014] 上述人体液 HSP70 胶体金标检测试纸条的制备方法,包括以下步骤:

[0015] (1) 用常规的柠檬酸三钠还原法制备均匀粒径为 20nm-60nm 的胶体金;

[0016] (2) 调节上述胶体金 pH 为 8.5-10,然后加入显色抗体与其反应,其中显色抗体的浓度为 0.04mg/ml,离心得沉淀,重悬沉淀,得金标抗体溶液,将金标抗体溶液用喷墨仪喷印在聚酯纤维膜,晾干;

[0017] (3) 将捕捉抗体用抗体稀释液稀释成浓度为 1mg/ml 的捕捉抗体溶液,用喷墨仪将捕捉抗体溶液在硝酸纤维素膜上喷划三条平行检测线,真空干燥;

[0018] (4) 将羊抗鼠 IgG 用抗体稀释液稀释成浓度为 0.5mg/ml 的羊抗鼠 IgG 溶液,用喷膜仪将抗体喷线在硝酸纤维素膜上形成质控线,真空干燥;

[0019] (5) 按样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜、吸水纸顺序粘贴在固定板上,切条,装入塑料袋,干燥包装。

[0020] 离心的方法为:反应液于 5000xg 离心 30min,沉淀用 1wt% 牛血清白蛋白溶液重悬浮,反复 2 次;其中 1 wt % 牛血清白蛋白溶液为 10mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液,pH 为 8.5,含 1wt% 的牛血清白蛋白。

[0021] 步骤(2)中重悬沉淀的溶液为:20mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液,pH 为 8.5,其中含 30wt% 的海藻糖,1wt% 的牛血清白蛋白,1wt % 的酪蛋白,体积浓度为 0.01% 的 Tween-20,0.02 wt % 的 NaN₃。

[0022] 抗体稀释液为 10mM 的磷酸盐缓冲溶液,pH 为 7.6,其中含 10wt% 的海藻糖,体积浓度为 3% 的甲醇。

[0023] 本发明的有益效果为:用于人体液 HSP70 用于人体液 HSP70 检测,检测灵敏度高,准确性强、成本低,结果易观察,灵敏度达到 15ng/mL,15min 内能判读结果,具有良好的稳定性和重复性,操作简便,无需特殊仪器设备,可用于机体应激水平的监测,和其他疾病的辅助检查,适宜在现场检测基层医院和实验研究推广和应用。

附图说明

[0024] 图 1 为试纸条的结构示意图;其中各标号为 1- 为固定板,2- 为样品垫,3- 为胶体金垫,4- 为硝酸纤维素膜,5- 第一检测线,6- 第二检测线,7- 第三检测线,8- 为质控线,

9-吸水纸。

[0025] 图 2 为试纸条测试结果判定示意图。

[0026] 图 3 为 HSP70 单克隆抗体纯化产物 SDS-PAGE 电泳分析图。

具体实施方式

[0027] 下面将结合附图和具体实例对本发明作进一步的说明。

[0028] 实施例 1

[0029] 试纸条的制备和检测以下述方式进行：

[0030] (1) 胶体金颗粒制备：将 HAuCl_4 配制成浓度为 0.01wt% 水溶液，取 100ml 加热至沸。搅动下准确加入 2ml 的 1wt% 柠檬酸三钠 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 水溶液。继续加热煮沸 15min。此时可观察到淡黄色的氯金酸水溶液在柠檬酸钠加入后很快变为灰色，续而转成黑色，随后逐渐稳定成红色。冷却至室温后用蒸馏水恢复至原体积。

[0031] (2) 胶体金质量的分析：采用多功能酶标仪对胶体金进行波长在 400 ~ 800nm 范围光密度扫描，获得其最大吸收波长和半峰宽。根据最大吸收波长判断粒径大小，根据半峰宽判断粒径均一程度。

[0032] (3) 显色抗体金标记：用 K_2CO_3 调整胶体金的 pH 值到 8.5，于 100ml 金纳米颗粒溶液中滴加显色抗体 4mg，搅拌 5min，避光静止放置 30min，再加入 25ml 5wt% BSA 溶液(用 10mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液，pH 为 8.5 配制)，封闭 2h 以上，反应液 5000xg 离心 30min，沉淀用 125ml 的 1wt% BSA 溶液(用 10mM 的 Tris-HCl 缓冲溶液，pH 为 8.5 配制)重悬浮，反复处理 2 次，沉淀用 1ml 重悬液重悬沉淀，得到金标抗体。

[0033] (4) 金标垫的制备：将金标抗体用喷膜仪喷印在聚脂纤维素膜上，干燥，用量最优为 $2 \mu\text{l} / \text{cm}$ 。

[0034] (5) 检测线的制备：取 HSP70 捕获抗体(可与显色抗体形成夹心配对)作为检测线抗体，用抗体稀释液(10mM 的磷酸盐缓冲溶液，pH 为 7.6，其中含 10wt% 的海藻糖，体积浓度为 3% 的甲醇)稀释成 1mg/ml 浓度，用喷墨仪在硝酸纤维素膜上将抗体喷线，每隔 0.5cm 喷一线，共喷三条线，形成检测线，喷线以 $1 \mu\text{l} / \text{cm}$ 最优，真空干燥。

[0035] (6) 质控线的制备：将羊抗鼠 IgG 用抗体稀释液(10mM 的磷酸盐缓冲溶液，pH 为 7.6，其中含 10wt% 的海藻糖，体积浓度为 3% 的甲醇)稀释成 0.5mg/ml，用喷膜仪将抗体喷线在硝酸纤维素膜上形成质控线，以 $1 \mu\text{l} / \text{cm}$ 为最优，真空干燥。

[0036] (7) 试纸条的组装：将样品垫 2、金标垫 3、硝酸纤维素膜 4 和吸水纸 9 按顺序黏贴在具有压敏胶的 PVC 板的固定板上 1 上，如图 1 所示，硝酸纤维素膜 4 上含有捕获抗体的 3 条检测线 5、6、7 以及质控线 8；将黏附好的大板切割成 4mm 宽的试纸条，包装于含有干燥剂的密闭容器内，室温保存。

[0037] (8) 检测及结果判定：将试纸条平放，样品 $100 \mu\text{l}$ 滴加在样品垫上，15min 时观察，检测结果判读：检测线显示 1 条带，表明弱阳性；检测线显示 2 条带，表明中度阳性；检测线显示 3 条带，表明强阳性；以上结果判定必须以质控线显示条带为基础，若质控线无显色条带，表明试纸条失效，结果判定无效，重新测定。如图 2 所示。

[0038] 实施例 2

[0039] 实施例 1 制备的试纸条对人血清中 HSP70 的检测

[0040] 分别取正常人血样,中度应激人血样和高应激人群血样,采用HSP70 ELISA检测试剂盒测定HSP70水平,根据检测结果,选取代表HSP70水平阴性或弱阳性、中度阳性和强阳性血样各5份,15份血样用移液器吸取100 μ l的血浆样本,加在胶体金试纸条的样品垫上,开始计时,等待红色条带出现,15分钟时判断结果。

[0041] 结果判定:

[0042] 当质控线出现,检测线出现不出现或出现一条线时,表明HSP70阴性或弱阳性,表明机体应激水平正常。

[0043] 当质控线出现,检测线出现二条线时,表明HSP70中度阳性,表明机体处于次强应激状态;

[0044] 当质控线出现,检测线出现三条线时,表明HSP70强阳性,表明机体处于过强应激状态;

[0045] 若质控线无显色条带,表明试纸条失效;

[0046] 结果:15个试纸条质控线全部出现,15份血样检测结果与预测结果一样,100%全都符合,表明试纸条准确有效。

[0047] 实施例3

[0048] HSP70蛋白的制备纯化以下述方法制成:

[0049] (1)设计PCR扩增引物,构建原核表达载体,其中:

[0050] 上游引物为:5' CGAATTCATGGCCAAGAAAACAGCG3';下游引物为:5' CCCAAGCTTCTAATCCACCTCCTCGAT3';

[0051] PCR扩增条件为:

[0052] 第一阶段:温度:95°C,时间:3min;

[0053] 第二阶段:温度:95°C、时间:30s,温度:56°C、时间:60s,温度:72°C、时间60s,以上进行30个循环;

[0054] 第三阶段:温度:72°C、时间:10min。

[0055] PCR产物纯化后经EcoRI和Hind III双酶切后经胶回收试剂盒回收备用;

[0056] (2)构建原核表达菌株

[0057] 表达载体PET32a经EcoRI和Hind III双酶切后经胶回收试剂盒回收,与HSP70PCR产物回收片段进行连接,转化至BL21感受态菌株中,涂平板,在培养箱中培养16h,挑克隆,于摇菌管中扩展,提质粒酶切鉴定,阳性菌冻存,作为HSP70表达菌株。

[0058] (3)诱导表达并纯化HSP70蛋白

[0059] HSP70表达菌株于LB培养基中37°C振摇,扩增至OD值0.5时,加入IPTG 1.0M/ml,诱导4h,离心收集菌体,于PB缓冲液中超声破碎,离心收集上清。将收集的上清GE公司HP HISTRip纯化柱进行纯化。

[0060] 纯化条件为:

[0061] 亲和缓冲液(Buffer):20mM的磷酸盐缓冲液,氯化钠浓度为500mM,pH为7.4。

[0062] 洗脱Buffer:20mM的磷酸盐缓冲液,氯化钠浓度为500mM,咪唑浓度为500mM,pH为7.4。

[0063] 取样品10ml,经0.45 μ m膜过滤;柱子(Histrap 5ml)用亲和Buffer平衡10个柱体积,流速为5ml/min,上样10ml,再经亲和Buffer洗5个柱体积,用洗脱Buffer,100ml

线性梯度洗脱目标蛋白,收集目标峰,进行纯度鉴定。

[0064] (4)用 SDS-PAGE 电泳鉴定蛋白纯度

[0065] 将洗脱纯化的蛋白与上样缓冲液混合,100℃加热 5min 变性,1000rpm 离心 10min,取上清 10 μ l 上样。SDS-PAGE 胶浓度为 12.5%,电泳条件为:60V,30min,120V,80min;电泳完毕后,胶进行考马斯亮蓝 R250 染色,脱色后,胶进行扫描并图像分析,结果:重组 HSP70 蛋白纯度) 95% 以上。

[0066] HSP70 单克隆抗体的制备以下述方法制备:

[0067] (1)动物免疫:选取 8-12 周与骨髓瘤细胞同种系的 Balb/c 雌性小鼠,以上述纯化的 HSP70 蛋白为抗原,以下述方法免疫:

[0068] 第一次:第 1 天 80 μ g+ 等体积完全弗氏佐剂(Freund adjuvant),皮下注射,0.2ml/只;

[0069] 第二次:第 14 天 80 μ g+ 等体积不完全福氏佐剂,皮下注射,0.2ml/只;

[0070] 第三次:第 21 天 80 μ g,皮下注射,0.2ml/只;

[0071] 第四次:第 28 天 80 μ g,皮下注射,0.2ml/只;

[0072] 第五次:第 31 天 80 μ g,静脉注射(IV),0.1ml/只;

[0073] (2)制备脾细胞悬液并用 1640 无血清培养液洗涤干净后混入 SP2/0 细胞按脾细胞与 SP2/0 的比为(10:1)~(5:2)混合并离心,离心条件为:1200rpm \times 5 min;离心后滴干混合细胞,轻敲弹松细胞团块。按下述步骤进行融合:

[0074] 于 37℃水浴在混合细胞中加入预热至 40℃的聚乙二醇(PEG) 1ml,60 秒内加完,加完后在 37℃水浴中静置 1min;然后 1min 内加入终止液 1ml,30 秒内加入终止液 1ml,1min 内加入终止液 5ml,2min 内加入终止液 20ml,静置 7-8min。

[0075] (3)融合终止后于 900rpm \times 8min 离心,离心后把融合细胞转入 HAT 培养基,并滴板 200 μ l / 孔,全过程应防止吹散融合细胞。

[0076] (4)待融合细胞在 HAT 中培养 7 天左右后(即未融合的 SP2/0 和脾细胞死后)换成 HT 培养基。200 μ l / 孔 第 8~10 天检测。

[0077] (5)待融合板换液细胞长至中等大小约 1 万个细胞以上开始检测,采用间接 ELISA 法检测融合细胞的阳性克隆。在 ELISA 质控合格(即阴性对照 <1.0,阳性对照 >1.0)后挑选阳性孔(一般 OD450 \geq 0.5)作亚克隆。

[0078] (6)挑取亚克隆检测阳性值高的孔计数作有限稀释 4:2:1:0.5 个细胞四个梯度铺板 1 个阳性细胞株/块。待单克隆生长 7-10 天,单克隆细胞长至中等大小(1 万/孔)时进行检测,其中单克隆细胞 \geq 8 个/株(一般检测 12 个孔),待检测单克隆全阳后再进行一次同样的单克隆,细胞株扩增冻存。

[0079] (7)腹水制备:在细胞株鉴定合格后收集培养瓶中细胞,打小鼠腹水方法如下:选择 10 周龄 balb/c 雌性小鼠,小鼠毛发油光,活泼约 30 克体重。

[0080] 选优鼠,在打腹水前,7-30 天内致敏小鼠,选石蜡油(或其它矿物油)0.5ml/只腹腔(IP)注射。

[0081] 收集合格杂交瘤细胞加入于磷酸盐缓冲生理盐水(PBS,PH 值为 7.4)或生理盐水(无菌)中,100 万-200 万/只鼠,IP 注射。

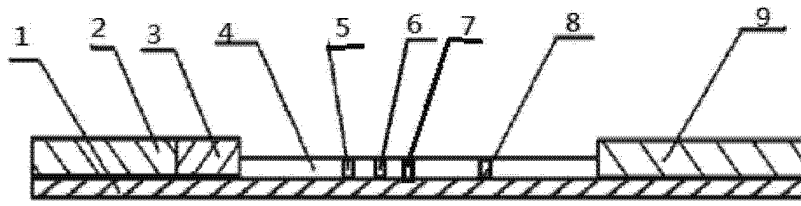
[0082] 杂交瘤细胞注入小鼠腹腔后 5-7 天即可产生腹水。(小鼠状态:腹部隆,小鼠精

神萎靡,不思饮)此时可用无菌注射器抽取约 2-5ml/只。腹水特点:血性或乳白色或微黄、脂性、略浓。一般隔天抽取一次,每只小鼠抽取三次即可处死。

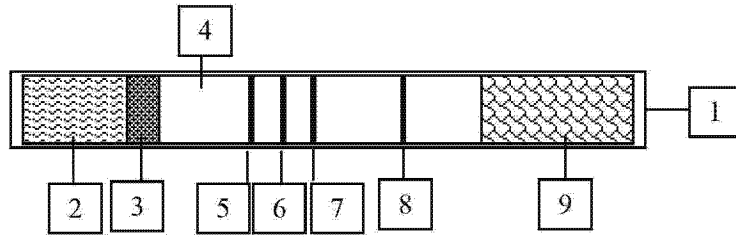
[0083] 腹水保存:抽取腹水后置 4℃过夜。离心 1000rpm×10min,取上清存放。

[0084] (8) 抗体纯化及亚型鉴定

[0085] 然后对单克隆抗体亚类鉴定,采用 Protein A 亲和纯化柱纯化单克隆抗体,纯化的单克隆抗体用 SDS-PAGE 分析,如图 3 所示。其中泳道 M 为 Protein Marker,1 为 HSP70 单克隆抗体辛酸-硫酸铵纯化;2 为 Protein G 纯化柱纯化 HSP70 单克隆抗体,箭头所示 HSP70 单克隆抗体的轻链与重链。

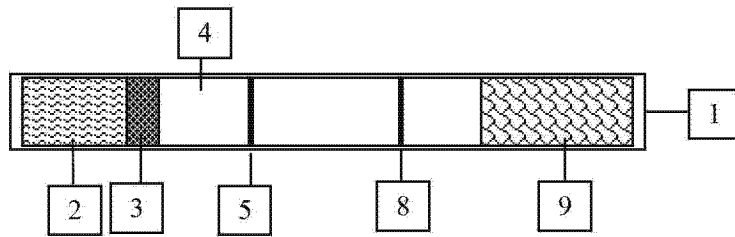


侧面图

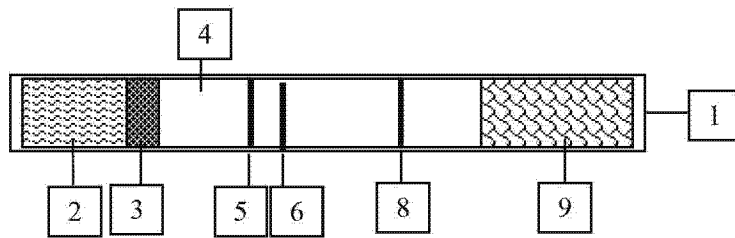


俯视图

图 1



阴性



弱阳性

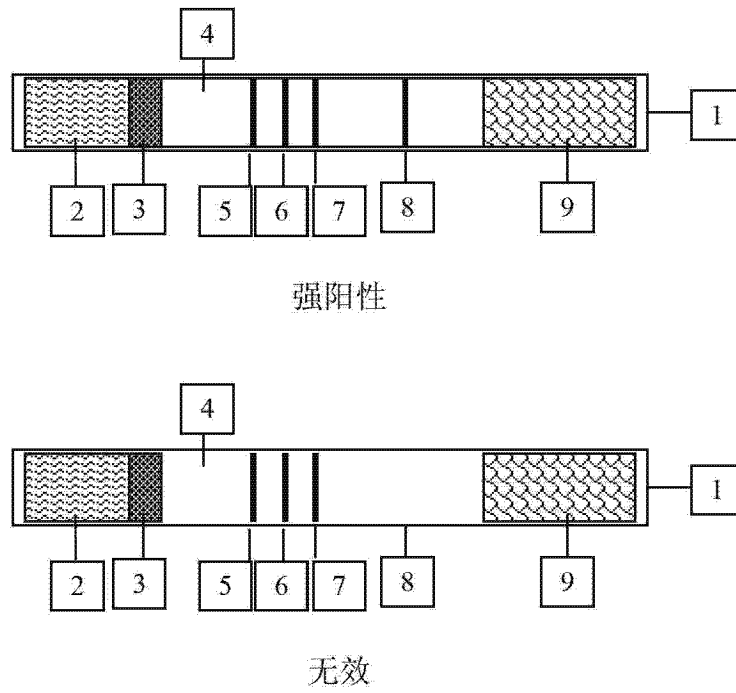


图 2

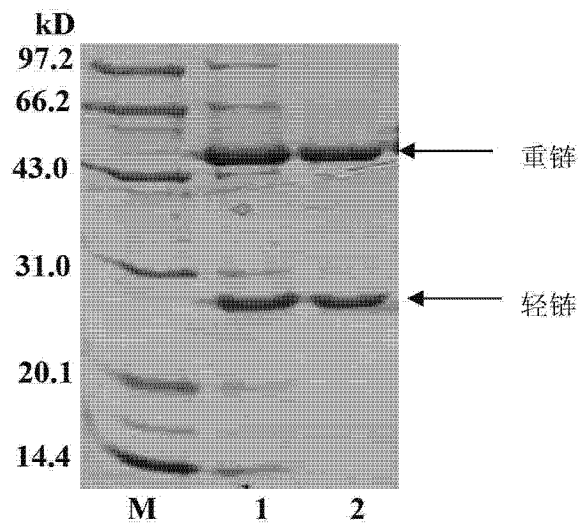


图 3

专利名称(译)	一种人体液HSP70胶体金标检测试纸条及其制备方法		
公开(公告)号	CN102890156A	公开(公告)日	2013-01-23
申请号	CN201210365240.2	申请日	2012-09-26
[标]申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院基础医学研究所		
申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院基础医学研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院基础医学研究所		
[标]发明人	钱令嘉 弓景波 王新兴 战锐 杲修杰		
发明人	钱令嘉 弓景波 王新兴 战锐 杲修杰		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/532		
代理人(译)	陈波		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了属于免疫检测技术领域的一种人体液HSP70胶体金标检测试纸条及其制备方法，此试纸条包括设在固定板上依次相连的样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水纸；在硝酸纤维素膜上设有三条检测线和一条质控线：在金标垫上设有金标抗体。金标抗体为显色抗体，所述检测线为捕捉抗体，显色抗体与捕捉抗体为1对双抗体夹心配对的鼠抗人HSP70单克隆抗体，质控线为羊抗鼠IgG。本发明的人体液HSP70胶体金标检测试纸条，特异性高，结果易观察，灵敏度达到15ng / mL，15min内就能判读结果，具有良好的稳定性和重复性，操作简便，无需特殊仪器设备，适宜在现场检测基层医院和实验研究推广和应用。