

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/53

G01N 33/543 G01N 33/558

G01N 33/577 G01N 33/72



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02114649.7

[43] 公开日 2004 年 1 月 7 日

[11] 公开号 CN1465977A

[22] 申请日 2002.6.21 [21] 申请号 02114649.7

[71] 申请人 甘肃省医学科学研究所

地址 730050 甘肃省兰州市七里河区小西湖
东街 2 号

[72] 发明人 李克生 杜惠芬 施 苓 何晓东
王永昌 王 兰 刘元强

[74] 专利代理机构 兰州中科华西专利代理有限公司

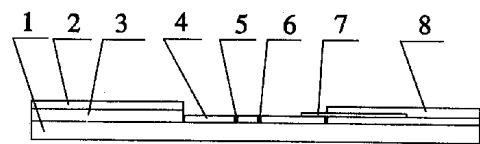
代理人 王玉双

权利要求书 1 页 说明书 3 页 附图 1 页

[54] 发明名称 潜血金标测试条及其制备方法

[57] 摘要

本发明涉及一种潜血金标测试条及其制备方法，包括衬板和保护层；在衬板的两端分别粘贴有由滤纸制成的手持端吸水层和测试端吸水层；在手持端吸水层和测试端吸水层之间的衬板上设有纤维素膜制成的检测层；在测试端吸水层与检测层之间设有抗人血红蛋白金标抗体层；在检测层上设有检测线和控制线；其中检测层上包被有抗人血红蛋白单抗、羊、兔抗人血红蛋白多抗和羊抗鼠、兔 IgG 抗体、兔抗羊 IgG 抗体形成的检测线和控制线；在其金标抗体层上由玻璃纤维或无纺布上浸有胶体金标记的抗人血红蛋白抗体；本发明测试条具有高度的种特异性和高灵敏度，而且速度快、操作简便，无需专门设施；其制备方法简单、稳定性、重复性好。



ISSN 1008-4274

1、一种潜血金标测试条，包括衬板(1)和保护层(2)；其特征在于在衬板(1)的两端分别设有手持端吸水层(3)和测试端吸水层(8)；在手持端吸水层(3)和测试端吸水层(8)之间的衬板(1)上设有检测层(4)；在测试端吸水层(8)与检测层(4)之间设有抗人血红蛋白抗体金标抗体层(7)；在检测层(4)上设有检测线(6)和控制线(5)。

2、一种权利要求 1 所述的潜血金标测试条的制备方法，其特征在于包括抗人血红蛋白抗体金标抗体层(7)和检测层(4)及其上包被检测线(6)和控制线(5)的制备，以及测试条的组装。

3、如权利要求 2 所述的潜血金标测试条的制备方法，其特征在于所述的抗人血红蛋白抗体金标抗体层(7)的制备包括：i 胶体金的制备，采用公知方法制备胶体金；ii 抗人血红蛋白抗体胶体金标记，在 100ml 胶体金溶液中加入 2-10mg 抗人血红蛋白抗体包括单抗、羊兔抗人血红蛋白多抗；再在上述胶体金溶液中按 0.1-0.6g/100ml 加入动物血清白蛋白；然后又在上述胶体金溶液中按 6-12ml/100ml 加入浓度为 10%的盐液；最后离心去沉淀，取上清再离心得沉淀物，将沉淀物按 4-10ml/100ml 溶于 0.02M、PH7.4Tris-HCl (PBS) 含 0.1-0.6%动物血清白蛋白、0.02%的叠氮钠得抗人血红蛋白胶体金液；iii 将抗人血红蛋白胶体金溶液浸着玻璃纤维或无纺布，浸入量以浸入液体开始向外流出为止，然后在 37℃下干燥得金标抗体层(7)。

4、如权利要求 2 或 3 所述潜血金标测试条的制备方法，其特征在于所述的抗人血红蛋白抗体的制备是采用常规技术将源自于已用纯化抗人血红蛋白免疫接种的鼠的脾脏细胞与鼠骨髓瘤细胞融合，选择产生所需抗人血红蛋白单克隆抗体的杂交瘤细胞；再将杂交瘤细胞克隆得单克隆抗体。

5、如权利要求 2 所述的潜血金标测试条的制备方法，其特征在于所述的检测层(4)的制备，在抗人血红蛋白单抗、羊、兔抗人血红蛋白多抗和羊抗鼠、兔 IgG 抗体、兔抗羊 IgG 抗体中加入固定剂，然后用喷膜机将抗人血红蛋白单抗、羊、兔抗人血红蛋白多抗和羊抗鼠、兔 IgG 抗体、兔抗羊 IgG 抗体喷在纤维素膜上形成检测线(6)和控制线(5)；再用 0.01MPH7.0PBS 液含 10%小牛血清封闭 30 分钟漂洗、干燥得检测层(4)。

6、如权利要求 2 或 5 所述的潜血金标测试条的制备方法，其特征在于所述的固定剂选自甲醛、丙酮中的一种。

潜血金标测试条及其制备方法

技术领域

本发明涉及一种潜血金标测试条及其制备方法。

背景技术

粪便潜血试验是消化道出血和肿瘤的主要诊断指标。目前临床上，粪便潜血试验常用的过筛试验方法，是利用血液的主要成份血红蛋白(Hb)中的亚铁血红素，具有类似过氧化物酶作用而设计的简易化学检查法。这类方法的氧化显色剂较多，如联苯胺、邻-甲苯胺、邻联甲苯胺、愈创木、还原酚酞、氨基吡啉、无色孔雀绿、四甲基联苯胺、二苯胺、二甲基联苯胺等；因而方法众多。上述方法虽然简便易行，但特异性较低、干扰因素较多。动物血、肉、肝脏及富含叶绿素食物、铁剂、维生素 C、中药等均可引起假阳性。

本发明的公开

本发明的主要目的是为了提供一种潜血金标测试条，该测试条以潜血中的靶物质人血红蛋白单克隆抗体或多抗为基础，采用免疫层析技术和胶体金显色原理而设计的一种特异性强、灵敏度高，而且速度快、操作简便，无需专门设施的一步法潜血金标测试条。

本发明的另一目的是为了提供一种潜血金标测试条的制备方法，该方法简单、稳定性、重复性好。

本发明的主要目的可通过如下措施来实现：

一种潜血金标测试条，包括衬板和保护层；在衬板的两端分别粘贴有由滤纸制成的手持端吸水层和测试端吸水层；在手持端吸水层和测试端吸水层之间的衬板上设有纤维素膜制成的检测层；在测试端吸水层与检测层之间设有抗人血红蛋白金标抗体层；在检测层上设有检测线和控制线。

本发明的另一目的可通过如下措施来实现：

一种潜血金标测试条的制备方法包括金标抗体层和检测层及其上包被检测线和控制线的制备，以及测试条的组装。

所述的抗人血红蛋白金标抗体层的制备包括：i 胶体金的制备，在浓度为 0.01-0.03%的氯金酸中加入其体积的 1.2-1.8%、浓度为 1%的柠檬酸三钠，煮沸 10-20 分钟，还原成 15-50 纳米的胶体金原子液；ii 抗人血红蛋白抗体胶体金标记，在 100ml 胶体金溶液中加入 2-10mg 抗人血红蛋白抗体包括单抗、羊兔抗人血红蛋白多抗；再在上述胶体金溶液中按 0.1-0.6g/100ml 加入动物血清白蛋白；然后又在上述胶体金溶液中按 6-

12ml/100ml 加入 10%的盐液；最后离心去沉淀，取上清再离心得沉淀物，将沉淀物按 4-10ml/100ml 溶于 0.02M、PH7.4Tris-HCl 含 0.1-0.6%动物血清白蛋白、0.02%的叠氮钠得抗人血红蛋白抗体胶体金溶液；iii将抗人血红蛋白抗体胶体金溶液浸着玻璃纤维或无纺布，浸入量以浸入液体开始向外流出为止，然后在 37℃下干燥得金标抗体层。

所述的抗人血红蛋白抗体的制备是采用常规技术将源自于已用纯化抗人血红蛋白免疫接种的鼠的脾脏细胞与鼠骨髓瘤细胞融合，选择产生所需抗人血红蛋白单克隆抗体的杂交瘤细胞；再将杂交瘤细胞克隆得单克隆抗体。

所述的检测层的制备是在抗人血红蛋白单抗、羊、兔抗人血红蛋白多抗和羊抗鼠、兔 IgG 抗体、兔抗羊 IgG 抗体中加入固定剂，然后用喷膜机将抗人血红蛋白单抗、羊、兔抗人血红蛋白多抗和羊抗鼠、兔 IgG 抗体、兔抗羊 IgG 抗体喷在纤维素膜上形成检测线和控制线；再用 0.01MPH7.0PBS 液含 10%小牛血清封闭 30 分钟漂洗、干燥得检测层。

所述的固定剂选自甲醛、丙酮中的一种。

本发明相比现有技术具有如下优点：

1、本发明的金标试纸条检测潜血时采用一步法，具有高度的特异性和高灵敏度，其检测快速，结果判定在 3-15 分钟内完成，无需专门试验设施、试验条件和专门的操作人员。

2、本发明的试纸条的制备方法具有制作简便，稳定性、重复性好。

图面说明

图 1 是本发明的结构示意图

1—衬板 2—保护层 3—手持端吸水层 4—检测层
5—控制线 6—检测线 7—抗人血红蛋白金标抗体层
8—测试端吸水层

本发明的实施方式

本发明还将结合实施例作进一步详述：

实施例一：

参照图 1，一种潜血金标测试条，包括衬板 1 和保护层 2；在衬板 1 的两端分别设有由多层滤纸制成的手持端吸水层 3 和测试端吸水层 8；在手持端吸水层 3 和测试端吸水层 8 之间的衬板 1 上设有检测层 4；在测试端吸水层 8 与检测层 4 之间设有抗人血红蛋白金标抗体层 7；在检测层 4 上设有检测线 6 和控制线 5。

一种潜血金标测试条的制备方法包括抗人血红蛋白金标抗体层 7 和检

测层 4 及其上包被检测线 6 和控制线 5 的制备, 以及测试条的组装。

所述的抗人血红蛋白金标抗体层 7 的制备包括: i 胶体金的制备, 在浓度为 0.01-0.03% 的氯金酸中加入其体积 1.6% 的柠檬酸三钠, 煮沸 10-20 分钟, 还原成 15-50 纳米的胶体金原子液; ii 抗人血红蛋白抗体胶体金标记, 在 100ml 胶体金溶液中加入 6mg 抗人血红蛋白抗体; 再在上述胶体金溶液中按 0.24g/100ml 加入牛血清白蛋白; 然后又在上述胶体金溶液中按 10ml/100ml 加入 10% 的 NaCl 溶液; 最后经 2000 转/分离心 10 分钟去沉淀, 取上清再经 10000 转/分离心 1 小时得沉淀物, 将沉淀物按 8ml/100ml 溶于 0.02M、PH7.4 Tris-HCl 液得抗人血红蛋白胶体金溶液; 其中含 0.25% 牛血清白蛋白、0.02% 的叠氮钠; iii 将抗人血红蛋白抗体胶体金溶液浸着玻璃纤维或无纺布, 浸入量以浸入液体开始向外流出为止, 然后在 37℃ 下干燥得抗人血红蛋白金标抗体层 7。

所述的抗人血红蛋白抗体的制备是采用常规技术将源自于已用纯化抗人血红蛋白免疫接种的鼠的脾脏细胞与鼠骨髓瘤细胞融合, 选择产生所需抗人血红蛋白单克隆抗体的杂交瘤细胞; 再将杂交瘤细胞克隆得单克隆抗体。

所述的检测层 4 的制备, 在制备的浓度为 2mg/ml 的抗人血红蛋白单抗和浓度为 1mg/ml 羊抗鼠 IgG 抗体中加入 2% 固定剂, 然后喷膜机将抗人血红蛋白单抗和羊抗鼠 IgG 抗体喷在纤维素膜上形成检测线 6 和控制线 5; 再用 0.01M PH7.0 PBS 液含 10% 小牛血清封闭 30 分钟漂洗、干燥得检测层 4。所述的固定剂选自甲醛、丙酮中的一种。

最后在塑料衬板 1 的两端分别粘贴手持端吸水层 3 和测试端吸水层 8 的滤纸, 并在其中段粘贴纤维素膜制成的检测层 4, 在测试端吸水层 8 与检测层 4 之间夹贴含金标抗人血红蛋白抗体的玻璃纤维的抗体层 7, 其 4/5 部分夹在测试端吸水层 8, 1/5 部分压在检测层 4 上, 然后在手持端吸水层 3 和测试端吸水层 8 上附上不干胶的保护层 2。

实施例二:

除胶体金标记抗体为羊抗人血红蛋白抗体, 检测层 4 的纤维素膜上检测线 6 喷羊抗人血红蛋白抗体, 控制线 5 喷兔抗羊 IgG 抗体外, 其余条件均与例一同。

实施例三:

除胶体金标记抗体为兔抗人血红蛋白抗体, 检测层 4 的纤维素膜上检测线 6 喷兔抗人血红蛋白抗体, 控制线 5 喷羊抗兔 IgG 抗体外, 其余条件均与例一同。

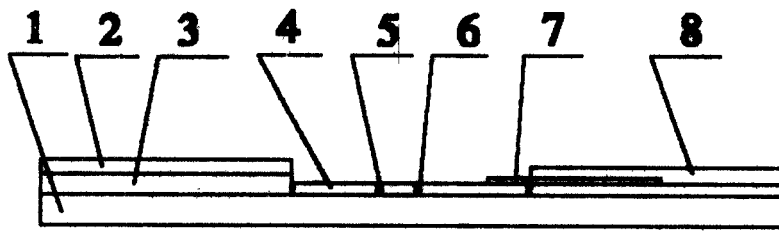


图1

专利名称(译)	潜血金标测试条及其制备方法		
公开(公告)号	CN1465977A	公开(公告)日	2004-01-07
申请号	CN02114649.7	申请日	2002-06-21
[标]申请(专利权)人(译)	甘肃省医学科学研究院		
申请(专利权)人(译)	甘肃省医学科学研究院		
当前申请(专利权)人(译)	甘肃省医学科学研究院		
[标]发明人	李克生 杜惠芬 施苓 何晓东 王永昌 王兰 刘元强		
发明人	李克生 杜惠芬 施苓 何晓东 王永昌 王兰 刘元强		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 G01N33/558 G01N33/577 G01N33/72		
代理人(译)	王玉双		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种潜血金标测试条及其制备方法，包括衬板和保护层；在衬板的两端分别粘贴有由滤纸制成的手持端吸水层和测试端吸水层；在手持端吸水层和测试端吸水层之间的衬板上设有纤维素膜制成的检测层；在测试端吸水层与检测层之间设有抗人血红蛋白金标抗体层；在检测层上设有检测线和控制线；其中检测层上包被有抗人血红蛋白单抗、羊、兔抗人血红蛋白多抗和羊抗鼠、兔IgG抗体、兔抗羊IgG抗体形成的检测线和控制线；在其金标抗体层上由玻璃纤维或无纺布上浸有胶体金标记的抗人血红蛋白抗体；本发明测试条具有高度的种特异性和高灵敏度，而且速度快、操作简便，无需专门设施；其制备方法简单、稳定性、重复性好。

