



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109799331 A

(43)申请公布日 2019.05.24

(21)申请号 201910201394.X

(22)申请日 2019.03.18

(71)申请人 湖南海源医疗科技股份有限公司

地址 410205 湖南省长沙市高新区谷苑路
229号海凭园A4栋5-7层

(72)发明人 史丙华 姜志华 陈玲强

(74)专利代理机构 长沙正奇专利事务所有限责
任公司 43113

代理人 何为 袁颖华

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 21/31(2006.01)

权利要求书1页 说明书6页 附图1页

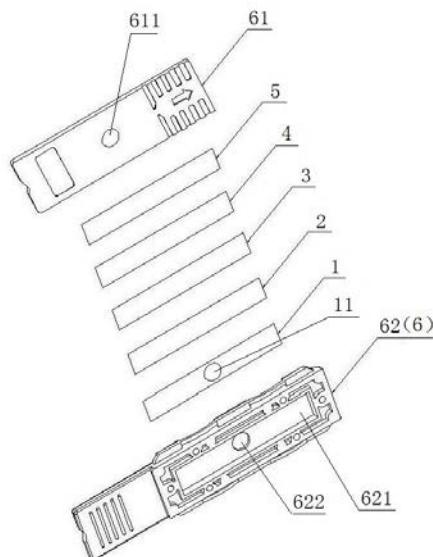
(54)发明名称

一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试

条

(57)摘要

一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试
条，包括PET基板、反应膜、沉淀膜、过滤膜和扩散
层，该PET基板上由下至上依次设有反应膜、沉淀
膜、过滤膜和扩散层，且PET基板上设有测试孔，
该测试孔内设有固状酶层。待测试血液滴于扩散
层上与测试孔对应位置处，经各层过滤后得血
清，与酶层反应后，所得反应物经TSGF测试仪，可
得知血液中肿瘤特异性生长因子的含量。本发明
提供的分析试条检测时间为3-5min，节约了大量
时间，且操作简单，应用范围极广，可在家庭、医
院、社区等场所随时随地进行分析检测。



1. 一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条，其特征在于，该试条包括PET基板(1)、反应膜(2)、沉淀膜(3)、过滤膜(4)和扩散层(5)，该PET基板(1)上由下至上依次设有反应膜(2)、沉淀膜(3)、过滤膜(4)和扩散层(5)，且该PET基板(1)上设有一测试孔(11)，该测试孔(11)中设有固状的酶层；

其中，上述酶层是取1.5-3.0uL酶液滴于测试孔中后烘干而成，该酶液是取0.1M且pH为6.2-7.2的缓冲液，于缓冲液中加入为缓冲液重量0.01%-0.5%的多元醇、0.5%-2%的显色剂茚三酮、0.05%-1%的聚乙烯醇、0.01-1%的纤维素、0.01%-0.03%的表面活性剂及0.5%-1.5%的D-海藻糖，混匀得到。

2. 如权利要求1所述的一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条，其特征在于，所述反应膜为聚醚砜膜、醋酸纤维素膜或芳香族聚酰胺膜。

3. 如权利要求1所述的一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条，其特征在于，所述过滤膜由玻璃纤维或尼龙制成，存水量为34-100uL/cm²。

4. 如权利要求1所述的一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条，其特征在于，所述扩散层为网纱，孔径大小为45-200目。

5. 如权利要求1所述的一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条，其特征在于，所述缓冲液为Tris-HCl缓冲液、KH₂PO₄-K₂HPO₄缓冲液、柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液或PIPES缓冲液。

6. 如权利要求1所述的一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条，其特征在于，所述多元醇为甘油、异丙醇、木糖醇、山梨醇或甘露醇。

7. 如权利要求1所述的一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条，其特征在于，所述纤维素为羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、羟乙基纤维素、甲基纤维素或羟丙基甲基纤维素。

8. 如权利要求1所述的一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条，其特征在于，所述表面活性剂为曲拉通-100、吐温-20、甜菜碱或十二烷基苯磺酸钠。

9. 如权利要求1所述的一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条，其特征在于，所述试条容置于一外壳(6)中，该外壳(6)由上盖(61)及下盖(62)组成，该上盖(61)与下盖(62)能卡扣，该下盖(62)设有能容置该试条的凹槽(621)，且该上盖(61)上对应该测试孔(11)设有滴定孔(611)，而该下盖(62)上对应该测试孔(11)设有通孔(622)。

一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条

技术领域

[0001] 本发明属于体外诊断技术领域,涉及一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条。

背景技术

[0002] 由糖类物质构成的糖脂、糖蛋白等多种营养成分广泛分布于细胞内外及各种体液中,在细胞发生癌变时,其新陈代谢会发生紊乱引起体液中营养成分含量升高,是国际公认的肿瘤标记物,其中氨基酸及其代谢产物由于其肿瘤特异性强而适用于普查筛选。经过长期研究,在这几种小分子的肿瘤标记物中,选定几种标记物组合在一起称为肿瘤特异性生长因子(Tumor Specific Growth Factor, TSGF)。肿瘤特异性生长因子是恶性肿瘤及其周边毛细血管大量扩增的结果,并随着肿瘤的形成和增长逐渐释放到外周血液。

[0003] 1989年加拿大多伦多大学科学家们发现恶性肿瘤病人血液中存在TSGF,对恶性肿瘤血管增生起重要作用,在肿瘤形成早期即明显升高。血清TSGF是一种新的、敏感性和特异性较高的广谱肿瘤标志物,检测方法简便快捷,结果稳定。对恶性肿瘤的初筛、早期辅助诊断、疗效评价和预示肿瘤复发具有重要临床意义和应用价值。

[0004] 目前已经明确肿瘤的生长和转移需要血管增生以提供营养,为了使血管增生,肿瘤组织就分泌一种促进血管生长的物质释放到外周血液中,这种物质就是恶性肿瘤特异性生长因子,能促进血管增生。它不仅带有恶性肿瘤的特异性,而且在癌肿形成的初期就释放到血液中,并达到一定浓度,而与非肿瘤血管增生无明显关系。

[0005] 恶性肿瘤的早期发现、早期诊断、早期治疗是提高其治愈率的重要手段之一。目前,主要的诊断手段有物理学方法、组织细胞学方法和化学方法三类,前两种方法适用于中晚期患者,且操作复杂、费用昂贵;而化学方法由于其具有操作简单、适用范围广等特点而被广泛应用,通过化学显色和分析技术,可以检测当细胞发生恶性转化时含量升高的TSGF。因此,这个指标可以用来做体检指标,是一种适合群体肿瘤普查的过筛试验。

[0006] 中国发明专利CN104833806B,提供了一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF抗原电致化学发光传感器的制备方法及应用,具体涉及一种氮掺杂碳量子点作为发光材料,氨基化石墨烯GS-NH₂与检测抗体Ab₂的孵化物作为检测抗体标记物的电致化学发光免疫传感器的制备与应用。中国发明专利CN104515768B,提供了一种肿瘤特异性生长因子检测试剂盒,具体包括R1试剂、R2试剂以及标准品溶液,采用全自动生化仪进行定标、检测,该发明简化了检测步骤,操作简单,但仍然需要在大型医院进行检测,其适用范围、人群数量有限。

[0007] 随着社会生活水平的不断提高,人们越来越重视自身的健康指标,已出现了许多可家用的试纸条,如血糖试条、尿酸试条等,但是,重大疾病预防还不到位,如癌症患者,一般到了中晚期才发现症状,大大提高了患者的治疗难度,因此,本发明提供了一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条,可家用,不需要大型仪器就能够对恶性肿瘤进行提前预判,以便及早进行治疗,减轻患者的痛苦和压力。

发明内容

[0008] 本发明的目的在于，针对现有的恶性肿瘤特异性生长因子的检测手段有限，仍然需要去医院进行诊断，不能很好地进行早期预判等问题，提供一种便携式、快速、准确的恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条。

[0009] 为了实现上述目的，本发明所采用的技术方案是：一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条，该试条包括PET基板、反应膜、沉淀膜、过滤膜和扩散层，该PET基板上由下至上依次设有反应膜、沉淀膜、过滤膜和扩散层，且该PET基板上设有一测试孔，该测试孔中设有固状的酶层；

[0010] 其中，上述酶层是取1.5-3.0uL酶液滴于测试孔中后烘干而成，该酶液是取0.1M且pH为6.2-7.2的缓冲液，于缓冲液中加入为缓冲液重量0.01%-0.5%的多元醇、0.5%-2%的显色剂茚三酮、0.05%-1%的聚乙烯醇、0.01%-1%的纤维素、0.01%-0.03%的表面活性剂及0.5%-1.5%的D-海藻糖，拌匀得到。

[0011] 上述反应膜为聚醚砜膜、醋酸纤维素膜或芳香族聚酰胺膜；过滤膜由玻璃纤维或尼龙制成，存水量为34-100uL/cm²；扩散层为网纱，孔径大小为45-200目。

[0012] 上述酶液制备中，缓冲液为Tris-HCl缓冲液、KH₂PO₄-K₂HPO₄缓冲液、柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液或PIPES缓冲液；多元醇为甘油、异丙醇、木糖醇、山梨醇或甘露醇；纤维素为羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、羟乙基纤维素、甲基纤维素或羟丙基甲基纤维素；表面活性剂为曲拉通-100、吐温-20、甜菜碱或十二烷基苯磺酸钠。

[0013] 较佳的，上述试条容置于一外壳中，该外壳由卡扣的上盖及下盖组成，该下盖设有能容置该试条的凹槽，且该上盖上对应该测试孔设有滴定孔，而该下盖上对应该测试孔设有通孔。

[0014] 制作时，是取PET基板，于PET基板上贴上双面胶，并采用冲孔机冲孔形成测试孔，再于PET基板上由下至上依次将反应膜、沉淀膜、过滤膜、扩散层进行贴粘形成半成品，然后采用点酶机，将半成品倒置后，将配制好的酶液滴入测试孔中，酶液量为1.5-3.0uL/孔，然后将有酶液的半成品过烘道(温度37℃)，将酶液烘干成酶层，裁切成形，即得试条。较佳的，可将裁切后的试条装入上述外壳中。

[0015] 使用时，是将待检测的血液滴于扩散层上对应测试孔的位置处或是滴于外壳上盖的滴定孔处，当血液与酶层反应后，利用TSGF测试仪(检测波长570nm)检测分析反应后的反应液。

[0016] 本发明提供的分析试条检测肿瘤特异性生长因子的原理是，固定的血液检测样本通过该分析试条过滤，得到固定的血清，血清中待测的肿瘤特异性生长因子(特定的带氨基基团的营养物质及游离的氨基酸等物质)与试条中的显色剂进行反应，形成蓝紫色产物，利用TSGF测试仪(检测波长570nm)检测分析试条前后的变化值的差值(简称吸光度值)，通过标准血样中肿瘤特异性生长因子的浓度与吸光度值建立曲线方程(定码,Code)，从而可检测出血液中肿瘤特异性生长因子的含量。

[0017] 本发明产品的检测原理与现有大型生化仪检测原理的区别：

[0018] 1、本发明采用的检测原理是光反射原理，是血清中的TSGF与固态酶层反应，即液态与固态的反应，通过反应前后的反射吸收值的变化来定量TSGF的含量。现有大型生化仪的检测原理是血清与酶溶液反应，即为液态与液态的反应，是利用朗伯-比尔定律，即利用

光的透射原理来定量TSGF的含量。两者反应界面不同,应用的检测原理不一致。

[0019] 2、本发明的酶液配方除显色剂成分与生化试剂酶配方相同外,其它组份均是为了保证酶液能有效地分布,且保证酶层在温度低于40℃下稳定、不失活性,而生化试剂的酶液配方为液体状态,需要保存在2-8℃环境下。

[0020] 与现有技术相比,本发明的有益之处在于:

[0021] 1、本发明采用此类试条结构,血液依次通过反应膜、沉淀膜、过滤膜和扩散层后,能有效地去除血液中的红细胞,使试条不出现渗血现象。

[0022] 2、本发明的酶液采用合适的物料配比,能使酶液均匀分布在反应膜上,使反应后显色均一、无白色斑点;且酶液干燥后,能有效地与血清中TSGF迅速反应,在温度低于40℃环境下能长时间保存,保质期达12个月。

[0023] 3、本发明提供的TSGF分析试条,操作简单,通过手指血就可以完成检测,血液量为10-15uL即可,测试时间短(仅3-5min),重复性好,灵敏度高。

[0024] 4、本TSGF分析试条,携带方便,适用范围广,可在家庭、医院、社区等场所随时随地进行分析检测,不仅节约了费用,而且无需贵重仪器,极易推广,便于人们随时检查身体状况,进行早期诊断、早发现、早治疗。

附图说明

[0025] 图1是本发明的试条结构示意图。

[0026] 图2是TSGF生长因子与吸光度的定码关系图。

具体实施方式

[0027] 以下本发明提供的具体案例是对技术方案进行说明,并不是对本发明的技术方案进行限制。

[0028] 如图1所示,本发明为一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条,其该试条包括PET基板1、反应膜2、沉淀膜3、过滤膜4、扩散层5和外壳6。该PET基板1上由下至上依次粘贴有反应膜2、沉淀膜3、过滤膜4和扩散层5,该PET基板1上设有一测试孔11,该测试孔11中设有固状的酶层(图中未示);该外壳6由上盖61及下盖62组成,该上盖61与下盖62能卡扣,该下盖62设有能容置前述结构(PET基板、反应膜、沉淀膜、过滤膜和扩散层)的凹槽621,且该上盖61上对应该测试孔11设有滴定孔611,而该下盖62上对应该测试孔11设有通孔622。

[0029] 上述反应膜为聚醚砜膜、醋酸纤维素膜或芳香族聚酰胺膜;过滤膜由玻璃纤维或尼龙制成,存水量为34-100uL/cm²;扩散层为网纱,孔径大小为45-200目。

[0030] 上述酶层是取1.5-3.0uL酶液滴于测试孔中后烘干而成,该酶液是取0.1M且pH为6.2-7.2的缓冲液,于其中依次加入为缓冲液重量0.01%-0.5%的多元醇、0.5%-2%的显色剂茚三酮、0.05%-1%的聚乙烯醇、0.01-1%的纤维素、0.01%-0.03%的表面活性剂及0.5%-1.5%的D-海藻糖,磁力搅拌至完全溶解,即得。其中,缓冲液为Tris-HCl缓冲液、KH₂PO₄-K₂HP0₄缓冲液、柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液或PIPES缓冲液;多元醇为甘油、异丙醇、木糖醇、山梨醇或甘露醇;纤维素为羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、羟乙基纤维素、甲基纤维素或羟丙基甲基纤维素;表面活性剂为曲拉通-100、吐温-20、甜菜碱或十二烷基苯磺酸钠。

[0031] 制作方法:取PET基板,于PET基板上贴上双面胶,并采用冲孔机冲孔形成测试孔,

再于PET基板上由下至上依次将反应膜、沉淀膜、过滤膜、扩散层进行贴粘形成半成品，然后采用点酶机，将半成品倒置后，将配制好的酶液滴入测试孔中，酶液量为1.5-3.0uL/孔，然后将有酶液的半成品过烘道(温度37℃)，将酶液烘干成酶层，裁切成形，然后将裁切后的试条装入上述外壳下盖凹槽中，将上盖与下盖扣合即可。

[0032] 实施例1

[0033] 酶液配置：配置50mL 0.1M的Tris-HCl缓冲液(pH=6.8)，依次加入0.01%的甘油、0.5%的茚三酮、0.05%的聚乙烯醇、0.01%的羧甲基纤维素、0.01%曲拉通及0.5%的D-海藻糖，磁力搅拌2h至完全溶解，于2-8℃静置24h，备用。再按前述方法制作试条。

[0034] 实施例2

[0035] 酶液配置：配置50mL 0.1M的柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液(pH=7.0)，依次加入0.05%的木糖醇、1%的茚三酮、0.1%的聚乙烯醇、0.05%的羧甲基纤维素钠、0.01%甜菜碱及1%的D-海藻糖，磁力搅拌2h至完全溶解，于2-8℃静置24h，备用。再按前述方法制作试条。

[0036] 实施例3

[0037] 酶液配置：配置50mL 0.1M的PIPES缓冲液(pH=6.2)，依次加入0.5%的甘露醇、1.5%的茚三酮、1%的聚乙烯醇、0.1%的羟乙基纤维素、0.02%吐温-20及1.5%的D-海藻糖，磁力搅拌2h至完全溶解，于2-8℃静置24h，备用。再按前述方法制作试条。

[0038] 实施例4

[0039] 酶液配置：配置50mL 0.1M的KH₂PO₄-K₂HP0₄缓冲液(pH=7.2)，依次加入0.1%的异丙醇、2%的茚三酮、0.1%的聚乙烯醇、0.08%的羟丙基甲基纤维素、0.03%十二烷基苯磺酸钠及1%的D-海藻糖，磁力搅拌2h至完全溶解，于2-8℃静置24h，备用。再按前述方法制作试条。

[0040] 实施例5

[0041] 肿瘤特异性生长因子标准液配置：现配现用，取新鲜血液样本，添加不同量的唾液酸、果糖胺、同型半胱氨酸，配置成不同特异性生长因子为22、40、64、82、100五个点(生化仪检测)，待测。

[0042] 目前国内的行业参考标准：TSGF≥64为阳性，TSGF<64为阴性。

[0043] 将上述实施例1-4制作的TSGF分析试条，通过TSGF测试仪对上述标准液进行定码，实施例1的检测数据如下表1和图1所示。

[0044] 表1 TSGF特异性生长因子与吸光度的关系

标准血液样本序号	TSGF	原点值	终点值	吸光度
[0045]	1	22	3318	1989
	2	40	3426	2254
	3	64	3388	2532
	4	82	3405	2768
	5	100	3412	3411
				1

[0046] 临床比对：抽取某医院当天的血液样本20例，使用实施例1-4的TSGF分析试条进行比对测试，具体数据如表2所示：

[0047] 表2实施例1-4分析试条的比对情况

[0048]

序号	生化测定值	实施例 1 试条测试值	实施例 2 试条测试值	实施例 3 试条测试值	实施例 4 试条测试值
1	45	42	40	43	44
2	50	53	49	50	55
3	62	60	58	59	64
4	60	57	56	61	59
5	48	49	50	53	51
6	39	42	44	39	40
7	37	39	40	42	39
8	42	40	45	42	39
9	46	45	49	50	44
10	68	67	65	70	66
11	72	74	68	67	70
12	55	50	53	49	48
13	91	95	90	88	92
14	69	70	72	74	66
15	66	67	68	62	65
16	64	60	61	59	63

[0049]

17	42	40	38	39	44
18	39	44	39	41	37
19	59	60	58	58	62
20	60	57	56	63	61
21	62	59	55	57	58
22	53	50	51	49	47
23	48	53	45	49	50
24	49	48	46	47	52
25	41	40	44	42	37
26	43	40	41	39	38
27	50	51	53	47	49
28	71	72	74	73	74
29	78	80	82	77	76
30	51	50	46	49	52
相关系数(R^2)		0.9608	0.9365	0.9384	0.9513

[0050] 根据上述比对情况,得出本发明提供的TSGF分析试条检测结果与生化仪检测结果很接近,相关系数大于93%,说明该分析试条能用于检测诊断恶性肿瘤特异性生长因子,为广大患者提供一种既简单方便,又能准确检测TSGF的医疗产品。

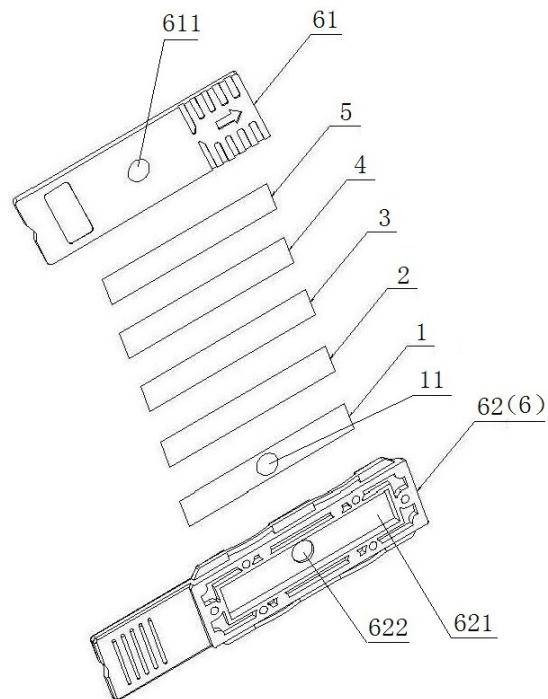


图1

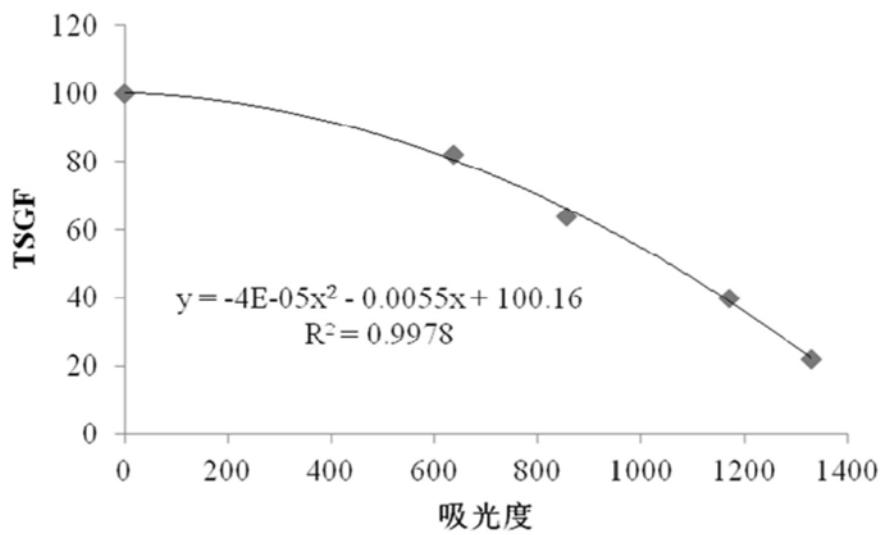


图2

专利名称(译)	一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条		
公开(公告)号	CN109799331A	公开(公告)日	2019-05-24
申请号	CN201910201394.X	申请日	2019-03-18
[标]发明人	史丙华 姜志华 陈玲强		
发明人	史丙华 姜志华 陈玲强		
IPC分类号	G01N33/53 G01N21/31		
代理人(译)	何为		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

一种恶性肿瘤特异性生长因子TSGF分析试条，包括PET基板、反应膜、沉淀膜、过滤膜和扩散层，该PET基板上由下至上依次设有反应膜、沉淀膜、过滤膜和扩散层，且PET基板上设有测试孔，该测试孔内设有固状酶层。待测试血液滴于扩散层上与测试孔对应位置处，经各层过滤后得血清，与酶层反应后，所得反应物经TSGF测试仪，可得知血液中肿瘤特异性生长因子的含量。本发明提供的分析试条检测时间为3-5min，节约了大量时间，且操作简单，应用范围极广，可在家庭、医院、社区等场所随时随地进行分析检测。

