



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104316685 A

(43) 申请公布日 2015. 01. 28

(21) 申请号 201410531126. 1

(22) 申请日 2014. 10. 10

(71) 申请人 辽宁迈迪生物科技有限公司

地址 117004 辽宁省本溪市经济开发区香槐路 166 栋

(72) 发明人 李文欣 刘峰

(74) 专利代理机构 沈阳科苑专利商标代理有限公司 21002

代理人 周秀梅 李颖

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

G01N 33/574(2006. 01)

权利要求书2页 说明书6页 附图5页

(54) 发明名称

一种二乙酰精胺的检测试剂盒及制备方法和应用

(57) 摘要

本发明涉及生物学检测方法,其特征在于具体的说是一种二乙酰精胺的检测试剂盒及制备方法。试剂盒,包括试纸条,试纸条从加样端依次为玻璃纤维素膜、金垫、NC膜、吸水纸;其特征在于:金垫上包被有胶体金标记的 DiAcSpm 和 CRE 的单克隆抗体及兔抗体;NC膜上的检测区(T)有 DiAcSpm 和 CRE 的抗原、标准区(C)有羊抗兔抗体。本发明运用细胞生物学、分子生物学、生物化学、免疫学等原理,利用胶体金免疫层析技术,采用验尿等简单易行、无创伤的方法,进而可以得出用于早期发现、早期诊断多种癌症患者尿液中的二乙酰精胺体外诊断试剂盒。利用胶体金免疫层析分析仪进行检测,达到快速、准确、操作方便。

1. 一种二乙酰精胺的检测试剂盒,包括试纸条,试纸条从加样端依次为玻璃纤维素膜、金垫、NC膜、吸水纸;其特征在于:金垫上包被有胶体金标记的二乙酰精胺(DiAcSpm)和肌酐(CRE)的单克隆抗体及羊抗兔抗体;NC膜上的检测区(T)有DiAcSpm和CRE的抗原、标准区(C)有羊抗兔或羊抗鼠抗体。

2. 按权利要求1所述的二乙酰精胺的检测试剂盒,其特征在于:

所述DiAcSpm抗原为乙酰基精胺(AcSpm)同牛血清白蛋白(BSA)偶联所得;

所述DiAcSpm抗体由乙酰基精胺(AcSpm)同牛血清白蛋白(BSA)偶联再免疫小鼠,而获得DiAcSpm单克隆抗体;

所述CRE抗原为CRE同牛血清白蛋白(BSA)或牛甲状腺球蛋白(BTG)偶联所得;

所述CRE抗体为CRE同牛血清白蛋白(BSA)或牛甲状腺球蛋白(BTG)偶联再免疫鼠或羊,而获得CRE单克隆抗体。

3. 按权利要求1或2所述的二乙酰精胺的检测试剂盒,其特征在于:所述金垫上包被有胶体金标记的二乙酰精胺(DiAcSpm)和肌酐(CRE)的单克隆抗体及羊抗兔抗体的制备采用铺金或喷金的方式获得。

4. 按权利要求3所述的二乙酰精胺的检测试剂盒,其特征在于:所述铺金或喷金的方式,分别向经调整PH值的胶体金中加入DiAcSpm和CRE的单克隆抗体,以及兔抗体,静置5-15min后分别加入20%BSA进行封闭,再次静置5-15min,静置后分别离心收集沉淀,所得沉淀再分别用复溶液复溶,所得复溶后的溶液混匀后均匀铺在或喷在玻璃纤维素膜或聚酯纤维素膜上,真空冻干、真空抽干或烘干后即得到包被有胶体金标记的二乙酰精胺(DiAcSpm)和肌酐(CRE)的单克隆抗体及羊抗兔抗体的金垫。

5. 按权利要求4所述的二乙酰精胺的检测试剂盒,其特征在于:所述铺金或喷金的方式,分别向经调整PH值的胶体金中加入1-25 μ g DiAcSpm单克隆抗体、1-25 μ g CRE的单克隆抗体,以及10-30 μ g兔抗体,静置5-15min后加入20%BSA进行封闭,再次静置5-15min,静置后以9000-12000的转数离心7-15min收集沉淀,分别对获得的DiAcSpm单克隆抗体、CRE的单克隆抗体和兔抗体沉淀中依次加入复溶液对沉淀进行复溶,再将所得复溶的溶液混合,混匀后均匀铺在或喷在玻璃纤维素膜或聚酯纤维素膜上,真空冻干、真空抽干或烘干后,即得到包被有胶体金标记的二乙酰精胺(DiAcSpm)和肌酐(CRE)的单克隆抗体及羊抗兔抗体的金垫;

其中,经调整PH值为的胶体金是每1ml胶体金,用2-10 μ L 0.2M K_2CO_3 调整胶体金的PH值;

所述,铺金方式所得获得的DiAcSpm单克隆抗体、CRE的单克隆抗体和兔抗体沉淀中依次加入500-1000 μ L或30-50 μ L、500-1000 μ L复溶液对沉淀进行复溶;

喷金方式所得获得的DiAcSpm单克隆抗体、CRE的单克隆抗体和兔抗体沉淀中依次加入30-50 μ L、1-2ml或30-50 μ L复溶液对沉淀进行复溶。

6. 按权利要求4或5所述的二乙酰精胺的检测试剂盒,其特征在于:所述复溶液按重量百分比计,0.3%-1% Tris、0-1%柠檬酸三钠、0-2% PVP40、0.1-0.5% TWEEN 20、0-0.5% Triton X-405、0-0.5% NP40、0-4% 蔗糖、0.5-1.5% PEG 20000、0.1-1% BSA、0-1% Casein-Na、0-1% SDS,余量为水。

7. 一种二乙酰精胺的检测试剂盒的制备方法,其特征在于:

1) 采用胶体金分别标记 DiAcSpm 和 CRE 的单克隆抗体及兔抗体, 分别获得复溶的溶液;

2) 将上述获得的复溶的溶液混合, 混匀后均匀铺在或喷在玻璃纤维素膜或聚酯纤维素膜上, 真空冻干、真空抽干或烘干后待用, 即得金垫;

3) 将 DiAcSpm 和 CRE 的抗原溶液、羊抗兔溶液, 分别固定在 NC 膜检测区的检测线上和标准区的标准线上, 即得到包被好的 NC 膜;

4) 将玻璃纤维素膜、上述获得的铺金或喷金的金垫、包被抗原的 NC 膜、吸水纸依次粘附在 PVC 板上, 斩切、组装后即得检测试剂盒。

8. 按权利要求 7 所述的二乙酰精胺的检测试剂盒的制备方法, 其特征在于: 所述步骤 1) 分别获得复溶的溶液的制备:

分别向经调整 PH 值的胶体金中加入 DiAcSpm 和 CRE 的单克隆抗体, 以及兔抗体, 静置 5-15min 后分别加入 20% BSA 进行封闭, 再次静置 5-15min, 静置后分别离心收集沉淀, 所得沉淀再分别用复溶液复溶;

所述步骤 3) 包被抗原的 NC 膜的制备:

将 DiAcSpm 抗原、CRE 抗原分别用含 0.5-2% (质量) 蔗糖的 PH = 7.0-8.0 的碳酸盐缓冲液或磷酸盐缓冲液稀释至 0.3-0.8mg/ml, 即分别得到 DiAcSpm 抗原的稀释液和 CRE 抗原的稀释液;

将羊抗兔使用含 0.5-2% 蔗糖的 PH = 7.0-8.0 的碳酸盐缓冲液或磷酸盐缓冲液稀释至 0.5-2.5mg/ml, 即得到羊抗兔的稀释液;

将上述得到的稀释液分别固定在 NC 膜上 T1 线、T2 线和 C 线位置上, 包被后, 待用。

9. 按权利要求 8 所述的二乙酰精胺的检测试剂盒的制备方法, 其特征在于: 所述复溶液按重量百分比计, 0.3% -1% Tris、0-1% 柠檬酸三钠、0-2% PVP40、0.1-0.5% TWEEN 20、0-0.5% Triton X-405、0-0.5% NP40、0-4% 蔗糖、0.5-1.5% PEG 20000、0.1-1% BSA、0-1% Casein-Na、0-1% SDS, 余量为水。

10. 一种权利要求 1 所述的二乙酰精胺的检测试剂盒的应用, 其特征在于: 所述试剂盒用于检测和 / 或诊断癌症的用途。

一种二乙酰精胺的检测试剂盒及制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及生物学检测方法,其特征在于具体的说是一种二乙酰精胺的检测试剂盒及制备方法和方法。

背景技术

[0002] 诊断试剂在疾病的预防和诊断方面有很大的作用,作为生物制药的子行业,诊断试剂在 20 多年的发展过程中,其应用范围不断扩大,在疾病的预防和愈后的检测中正发挥着越来越大的作用,商业价值也不断凸显。2010 年我国诊断试剂行业在新医改、国家在生物医药领域重点扶持诊断试剂行业发展的背景下,我国诊断试剂市场规模达到 40 亿元人民币左右。目前我国诊断试剂的市场份额只仅占世界市场的 2% 左右,这与我国的人口数量和医疗需求是相当不匹配的,随着我国国民经济水平和健康意识的提高,这种差距将会成为诊断试剂行业增长的巨大空间。从国际上看,美国 FDA 已批准的诊断试剂近 700 种,名列世界各国之首,但与世界卫生组织所属全球疾病统计分类协会宣布的全球已确知的 12000 种疾病相比,需求潜力仍非常大。国内临床检验市场经过几年的快速发展,一些重要的临床产品项目已经进入成熟期,发展速度有所减缓,但仍然有 20%~30% 的增长。目前,同国际上的几百种产品相比,国内市场还远没有得到开发,具有巨大的市场潜力。即使从目前需求较大、发展比较成熟的几个病种来看,市场仍有很大的发展潜力。

[0003] 体外诊断行业是一个充满活力和前景的领域。目前,全球体外诊断产业规模在 200 亿美元的水平。另外,老年人口群体的不断扩大,分子诊断学技术日益进步,都给体外诊断市场的发展带来了积极的影响。我国已批准上市的免疫诊断试剂有 387 种,这些产品主要集中在肝炎及性病的临床诊断上,仅乙肝一项就占了 62%,说明国内的体外诊断试剂品种比较单一。国内体外诊断试剂行业在基础技术研究方面投入较少,几乎没有自己的专利技术和知识产权。一些国内产品不能跨出国门,国际竞争力非常弱。

[0004] 癌症是一个全球性公共健康问题。尤其在中国这样一个发展中国家,医学和卫生水平均不及西方发达国家先进,肿瘤发病率很高并且仍在继续升高,其中很大一部分由于发现不及时造成发现时即为晚期,错过了最佳治疗时间。所以如果能在肿瘤发生的早期检测出相关指标,就能做到肿瘤的早期发现、早期诊断、早期治疗,就可以大大降低肿瘤患者的死亡率,全面提高生存质量和生活质量。同时,开发的体外诊断试剂也可以填补肿瘤体外诊断的国内空白。

[0005] 目前,早期诊断癌症的最新、最有效的方法是通过验血检测肿瘤标志物,特别是其中的蛋白标志物。利用分子生物学、免疫学原理,制成能特异性检测肿瘤标志物的体外诊断试剂,能在早期准确的诊断癌症的发生,为治疗提供有效依据;针对个体差异,指导临床药物选择;以及在治疗后的疗效监测、预后和复发监测等方面都有重大意义。

发明内容

[0006] 本发明目的在于提供一种二乙酰精胺的检测试剂盒及检测方法和方法。

[0007] 为实现上述目的,本发明采用的技术方案为:

[0008] 一种二乙酰精胺的检测试剂盒,包括试纸条干燥剂和吸管,试纸条从加样端依次为玻璃纤维素膜、金垫、NC膜、吸水纸;金垫上包被有胶体金标记的二乙酰精胺(DiAcSpm)和肌酐(CRE)的单克隆抗体及羊抗兔抗体;NC膜上的检测区(T)有DiAcSpm和CRE的抗原、标准区(C)有羊抗兔或羊抗鼠抗体。

[0009] 所述DiAcSpm抗原为乙酰基精胺(AcSpm)同牛血清白蛋白(BSA)偶联所得;所述DiAcSpm抗体由乙酰基精胺(AcSpm)同牛血清白蛋白(BSA)偶联再免疫小鼠,而获得DiAcSpm单克隆抗体;所述CRE抗原为CRE同牛血清白蛋白(BSA)或牛甲状腺球蛋白(BTG)偶联所得;所述CRE抗体为CRE同牛血清白蛋白(BSA)或牛甲状腺球蛋白(BTG)偶联再免疫鼠或羊,而获得CRE单克隆抗体。

[0010] 上述抗原和抗体也可通过市购获得。

[0011] 所述金垫上包被有胶体金标记的二乙酰精胺(DiAcSpm)和肌酐(CRE)的单克隆抗体及羊抗兔抗体的制备采用铺金或喷金的方式获得。

[0012] 所述铺金或喷金的方式,分别向经调整PH值的胶体金中加入DiAcSpm和CRE的单克隆抗体,以及兔抗体,静置5-15min后分别加入20%BSA进行封闭,再次静置5-15min,静置后分别离心收集沉淀,所得沉淀再分别用复溶液复溶,所得复溶后的溶液混匀后均匀铺在或喷在玻璃纤维素膜或聚酯纤维素膜上,真空冻干、真空抽干或烘干后即得到包被有胶体金标记的二乙酰精胺(DiAcSpm)和肌酐(CRE)的单克隆抗体及羊抗兔抗体的金垫;

[0013] 所述铺金或喷金的方式,分别向经调整PH值的胶体金中加入1-25 μ gDiAcSpm单克隆抗体、1-25 μ gCRE的单克隆抗体,以及10-30 μ g兔抗体,静置5-15min(优选5-10min)后加入20%BSA进行封闭,再次静置5-15min(优选5-10min),静置后以9000-12000的转数离心7-15min收集沉淀,分别对获得的DiAcSpm单克隆抗体、CRE的单克隆抗体和兔抗体沉淀中依次加入复溶液对沉淀进行复溶,再将所得复溶的溶液混合,混匀后均匀铺在或喷在玻璃纤维素膜或聚酯纤维素膜上,真空冻干、真空抽干或烘干后,即得到包被有胶体金标记的二乙酰精胺(DiAcSpm)和肌酐(CRE)的单克隆抗体及羊抗兔抗体的金垫;

[0014] 其中,经调整PH值为的胶体金是每1ml胶体金,用2-10 μ L0.2M K_2CO_3 调整胶体金的PH值;

[0015] 所述,铺金方式所得获得的DiAcSpm单克隆抗体、CRE的单克隆抗体和兔抗体沉淀中依次加入500-1000 μ L或30-50 μ L、500-1000 μ L复溶液对沉淀进行复溶;

[0016] 喷金方式所得获得的DiAcSpm单克隆抗体、CRE的单克隆抗体和兔抗体沉淀中依次加入30-50 μ L、1-2ml或30-50 μ L复溶液对沉淀进行复溶。

[0017] 所述复溶液按重量百分比计,0.3%-1%Tris、0-1%柠檬酸三钠、0-2%PVP40、0.1-0.5%TWEEN 20、0-0.5%Triton X-405、0-0.5%NP40、0-4%蔗糖、0.5-1.5%PEG 20000、0.1-1%BSA、0-1%Casein-Na、0-1%SDS,余量为水。

[0018] 一种二乙酰精胺的检测试剂盒的制备方法,

[0019] 1) 采用胶体金分别标记DiAcSpm和CRE的单克隆抗体及兔抗体,分别获得复溶的溶液;

[0020] 2) 将上述获得的复溶的溶液混合,混匀后均匀铺在或喷在玻璃纤维素膜或聚酯纤维素膜上,真空冻干、真空抽干或烘干后待用,即得金垫;

[0021] 3) 将 DiAcSpm 和 CRE 的抗原溶液、羊抗兔溶液,分别固定在 NC 膜检测区的检测线上和标准区的标准线上,即得到包被好的 NC 膜;

[0022] 4) 将玻璃纤维素膜、上述获得的铺金或喷金的金垫、包被抗原的 NC 膜、吸水纸依次粘附在 PVC 板上,斩切、组装后即得检测试剂盒。

[0023] 所述步骤 1) 分别获得复溶的溶液的制备:分别向经调整 PH 值的胶体金中加入 DiAcSpm 和 CRE 的单克隆抗体,以及兔抗体,静置 5-15min 后分别加入 20% BSA 进行封闭,再次静置 5-15min,静置后分别离心收集沉淀,所得沉淀再分别用复溶液复溶;

[0024] 所述步骤 3) 包被抗原的 NC 膜的制备:将 DiAcSpm 抗原、CRE 抗原分别用含 0.5-2% (质量) 蔗糖的 PH = 7.0-8.0 的碳酸盐缓冲液或磷酸盐缓冲液稀释至 0.3-0.8mg/ml,即分别得到 DiAcSpm 抗原的稀释液和 CRE 抗原的稀释液;

[0025] 将羊抗兔使用含 0.5-2% 蔗糖的 PH = 7.0-8.0 的碳酸盐缓冲液或磷酸盐缓冲液稀释至 0.5-2.5mg/ml,即得到羊抗兔的稀释液;

[0026] 将上述得到的稀释液分别固定在 NC 膜上 T1 线、T2 线和 C 线位置上,包被后,待用。

[0027] 所述复溶液按重量百分比计,0.3% -1% Tris、0-1% 柠檬酸三钠、0-2% PVP40、0.1-0.5% TWEEN 20、0-0.5% Triton X-405、0-0.5% NP40、0-4% 蔗糖、0.5-1.5% PEG 20000、0.1-1% BSA、0-1% Casein-Na、0-1% SDS,余量为水。

[0028] 一种二乙酰精胺的检测试剂盒的应用,所述试剂盒用于检测和 / 或诊断癌症的用途。

[0029] 检测原理,恶性肿瘤患者尿中聚胺浓度增加,二乙酰精胺 (diacetylspermine) 是聚胺家族的新成员,其浓度与癌症的关系密切。癌症患者尿中两物质的浓度显著升高 (见图 1);癌症得到有效治疗后,尿中两物质的浓度下降至正常水平 (见图 2、图 3);癌症复发后,尿中两物质的浓度再次上升 (见图 4)。尿中二乙酰精胺对大肠癌和乳腺癌的检出率明显高于正常人 (图 5)。本发明采用免疫诊断方法中竞争法定量检测尿液中的 DiAcSpm 和 CRE,尿液中若含有 DiAcSpm 和 CRE 时,则会优先和标记在胶体金上的抗体结合,使胶体金标记的抗体无法同包被在 NC 膜上的抗原相结合,检测区 T1 和 T2 的显色强度同待检物浓度呈负相关 (见图 6)。

[0030] 试剂盒中试纸条的检测区共有三个指示条带,分别为 C 线, T1 线, T2 线,其中 T1 为二乙酰精胺检测专用,其显色强度同样本中的二乙酰精胺含量呈负相关, T2 为肌酐检测专用,其显色强度同样本中的肌酐含量呈负相关。分别通过 T1 和 T2 (或者 T1/C 和 T2/C) 利用二乙酰精胺和肌酐标准品建立标准曲线,检测结果会得出二乙酰精胺和肌酐的含量,直接使用二乙酰精胺和肌酐比值作为该产品的最终检测值用以提示提供样本患者的健康信息。

[0031] 本发明所具有的优点:

[0032] 本发明运用细胞生物学、分子生物学、生物化学、免疫学等原理,利用胶体金免疫层析技术,采用验尿等简单易行、无创伤的方法,进而可以得出用于早期发现、早期诊断多种癌症患者尿液中的二乙酰精胺体外诊断试剂盒。利用胶体金免疫层析分析仪进行自动检测,达到快速、准确、操作简便。

附图说明

[0033] 图 1 为癌症患者尿液中二乙酰精胺和二乙酰亚精胺的浓度显著高于健康人和良

性疾病患者。

[0034] 图 2 为癌症得到有效治疗后,尿液中二乙酰精胺和二乙酰亚精胺的浓度下降至正常水平。a 为癌症手术前;b 为癌症手术后。

[0035] 图 3 为癌症得到有效治疗后,尿液中二乙酰精胺的浓度明显下降。

[0036] 图 4 为癌症复发后,尿液中二乙酰精胺的浓度再次显著升高。

[0037] 图 5 为大肠癌和乳腺癌患者,尿液中二乙酰精胺的浓度显著高于健康人。

[0038] 图 6 为本发明实施例提供的检测原理图。

[0039] 图 7 为本发明是实例提供的试剂条示意图。其中,1 为玻璃纤维素膜,2. 金垫、3. NC 膜、4. 吸水纸。

[0040] 图 8 为本发明实施例提供的由检测结果进行产品曲线,其中,A 为 DiAcSpm 四参数拟合标准曲线;B 为 CRE 四参数拟合标准曲线。

[0041] 图 9 为本发明实施例提供的试剂盒应用测试统计图。

具体实施例方式

[0042] 实施例 1

[0043] 试剂盒的制备:

[0044] ①取 1ml 胶体金,加 7 μ L 的 0.2M K_2CO_3 ,混合后再加入 20 μ g DiAcSpm 单克隆抗体,混匀静置 10min,加 10 μ L 20% BSA 封闭,再次混匀静置 10min,离心 7min(9000r),弃上清,沉淀用 1000 μ L 复溶液复溶;

[0045] ②取 1ml 胶体金,加 2-10 μ L 的 0.2M K_2CO_3 ,混合后再加入 10-30 μ g CRE 单克隆抗体,混匀静置 10min,加 10 μ L 20% BSA 封闭,再次混匀静置 10min,离心 7min(9000r),弃上清,沉淀用 1000 μ L 复溶液复溶;

[0046] ③取 2ml 胶体金,加 10 μ L 的 0.2M K_2CO_3 ,混合后再加入 30 μ g 兔抗体,混匀静置 10min,加 20 μ L 20% BSA 封闭,再次混匀静置 10min,离心 7min(9000r),弃上清,沉淀用 2ml 复溶液复溶;

[0047] 将①至③混合后,均匀铺在玻璃纤维素膜或聚酯纤维素膜上,烘干、真空抽干或真空冻干均可,干燥后密封、干燥保存,即得到包被金垫。

[0048] b. NC 膜的制备

[0049] 包被工艺:将 DiAcSpm 抗原、CRE 抗原分别用含 2%蔗糖的 PH = 7.0 的 PBS 缓冲液稀释至 0.3mg/ml,将羊抗兔用含 2%蔗糖的 PH = 7.0 的 PBS 缓冲液稀释至 1.5mg/ml;将所得稀释液分别固定在 NC 膜上 T1 线、T2 线和 C 线位置上,包被后室温晾干后,密封干燥保存待用。

[0050] c) 将玻璃纤维素膜、上述获得的铺金的金垫、包被抗原的 NC 膜、吸水纸依次粘附在 PVC 板上,斩切、组装后即得检测试剂盒(参见图 7)。

[0051] 实施例 2

[0052] 试剂盒的制备:

[0053] ①取 1ml 胶体金,加 7 μ L 的 0.2M K_2CO_3 ,混合后再加入 20 μ g DiAcSpm 单克隆抗体,混匀静置 10min,加 10 μ L 20% BSA 封闭,再次混匀静置 10min,离心 7min(9000r),弃上清,沉淀用 1000 μ L 复溶液复溶;

[0054] ②取 1ml 胶体金,加 2-10 μ L 的 0.2M K_2CO_3 ,混合后再加入 10-30 μ g CRE 单克隆抗体,混匀静置 10min,加 10 μ L 20% BSA 封闭,再次混匀静置 10min,离心 7min(9000r),弃上清,沉淀用 1000 μ L 复溶液复溶;

[0055] ③取 2ml 胶体金,加 10 μ L 的 0.2M K_2CO_3 ,混合后再加入 30 μ g 兔抗体,混匀静置 10min,加 20 μ L 20% BSA 封闭,再次混匀静置 10min,离心 7min(9000r),弃上清,沉淀用 2ml 复溶液复溶;

[0056] 将①至③混合后,均匀喷在玻璃纤维素膜或聚酯纤维素膜上,烘干、真空抽干或真空冻干均可,干燥后密封、干燥保存,即得到包被金垫。

[0057] b. NC 膜的制备

[0058] 包被工艺:将 DiAcSpm 抗原、CRE 抗原分别用含 2%蔗糖的 PH = 7.0 的 PBS 缓冲液稀释至 0.3mg/ml,将羊抗兔用含 2%蔗糖的 PH = 7.0 的 PBS 缓冲液稀释至 1.5mg/ml;将所得稀释液分别固定在 NC 膜上 T1 线、T2 线和 C 线位置上,包被后室温晾干后,密封干燥保存待用。

[0059] c) 将玻璃纤维素膜、上述获得的金垫、包被抗原的 NC 膜、吸水纸依次粘附在 PVC 板上,斩切、组装后即得检测试剂盒(参见图 7)。

[0060] 实施例 3

[0061] 对上述获的试剂盒进行检测,共检测健康样本 25 个,直肠癌患样本 25 个,胃癌患样本共 26 个,加样量为 80 μ L,检测结果(参见表 1),同时根据所检测结果进行产品曲线(参见图 8)和产品应用测试统计(参见图 9 和表 1)。

[0062] 表 1

[0063]

健康样本		直肠癌患者样本 (C)		胃癌患样本 (G)	
序号					
1	0.17	C1	154.62	G1	0.40
2	0.07	C2	2.36	G2	0.32
3	0.10	C3	0.24	G3	0.24
4	0.15	C4	26.05	G4	0.40
5	0.10	C5	0.47	G5	0.50
6	0.10	C6	0.30	G6	0.39
7	0.09	C7	0.28	G7	1.34
8	0.06	C8	0.21	G8	0.50
9	0.13	C9	0.23	G9	0.13
10	0.18	C10	0.35	G10	0.70
11	0.10	C11	0.29	G11	1.22
12	0.06	C12	0.25	G12	12.68
13	0.14	C13	0.45	G13	0.57
14	0.15	C14	0.58	G14	6.72
15	0.05	C15	0.21	G15	1.39
16	0.05	C16	0.61	G16	0.49
17	0.13	C17	0.21	G17	0.49
18	0.12	C18	0.48	G18	0.21
19	0.15	C19	0.06	G19	0.70
20	0.17	C20	0.78	G20	0.15
21	0.30	C21	0.95	G21	0.14
22	0.22	C22	0.10	G22	0.20
23	0.16	C23	0.15	G23	4.96
24	0.12	C24	0.16	G24	14.77
25	0.05	C25	0.28	G25	0.92
				G26	0.55

[0064] 由上述的图 8 的检测结果进行产品曲线,通过 $Y = A+C/[1+\exp\{-B(X-D)\}]$ 和 $Y = (A-D)/[1+(X/C)^B]+D$ 拟合得出 $R^2 \geq 0.9801$,由 R^2 可见本发明所得试剂盒检测的各项指标均符合产品的使用要求。

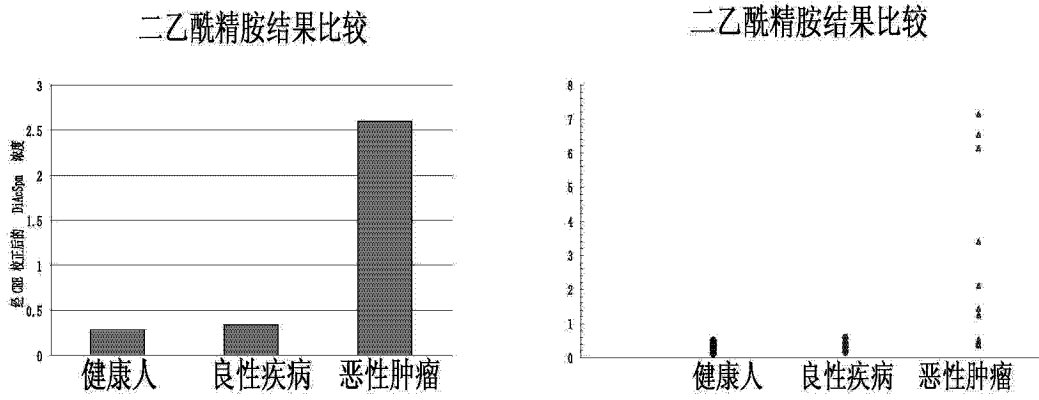


图 1

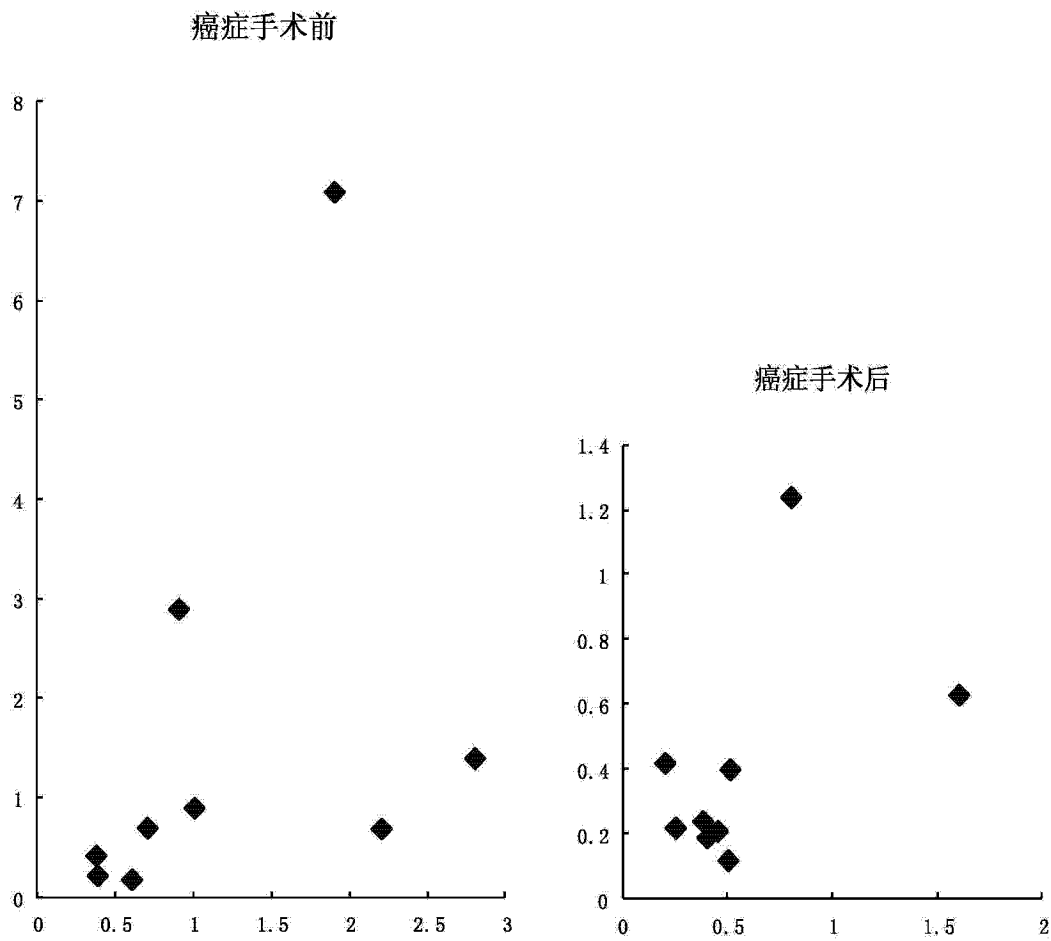


图 2

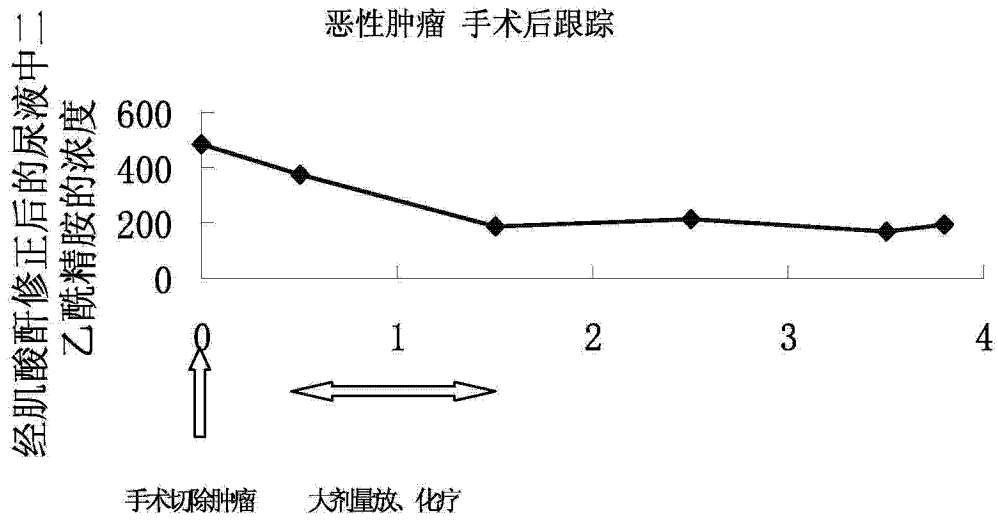


图 3

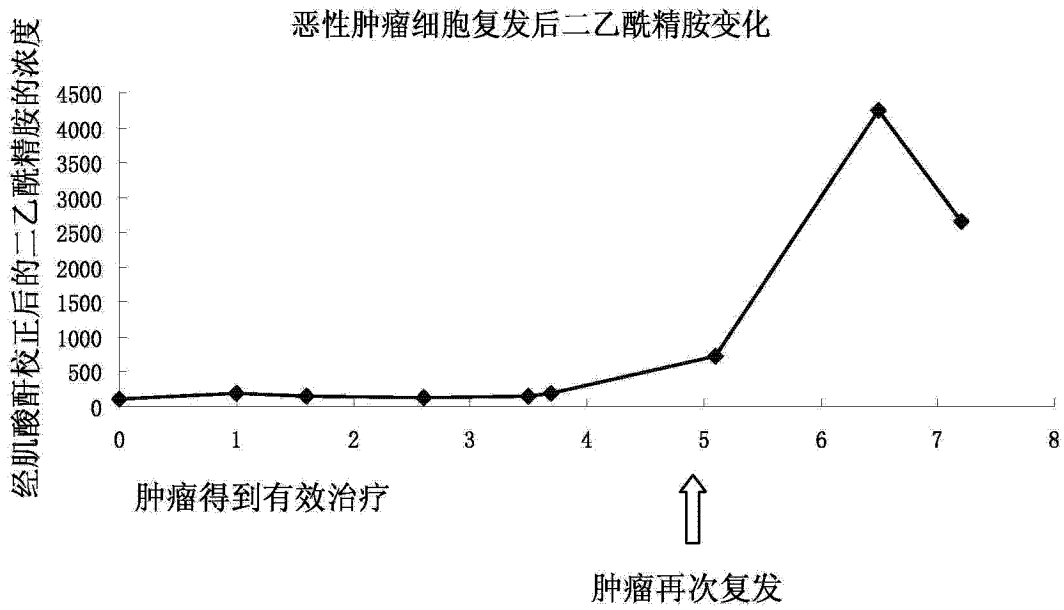


图 4

经肌酐酞修正后的二乙酰精胺的浓度

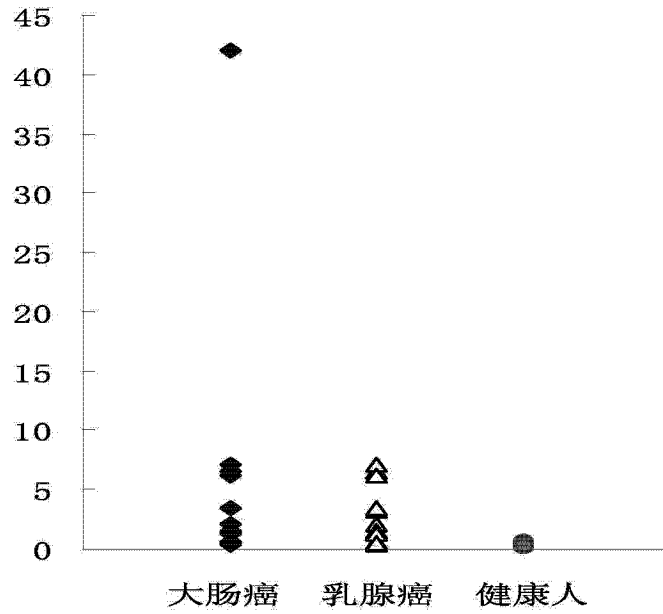


图 5

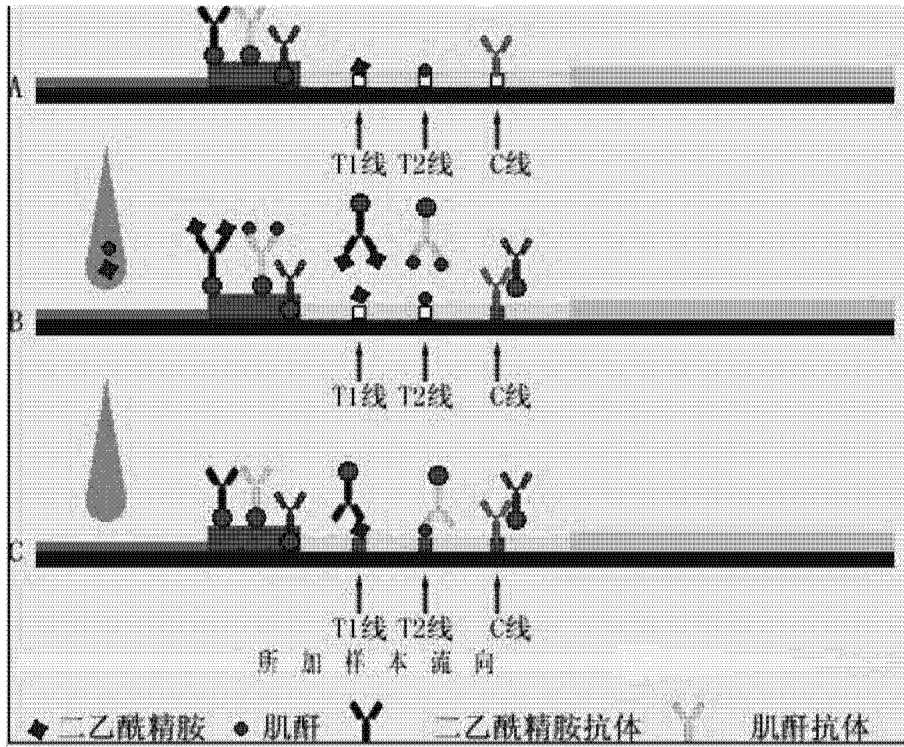


图 6

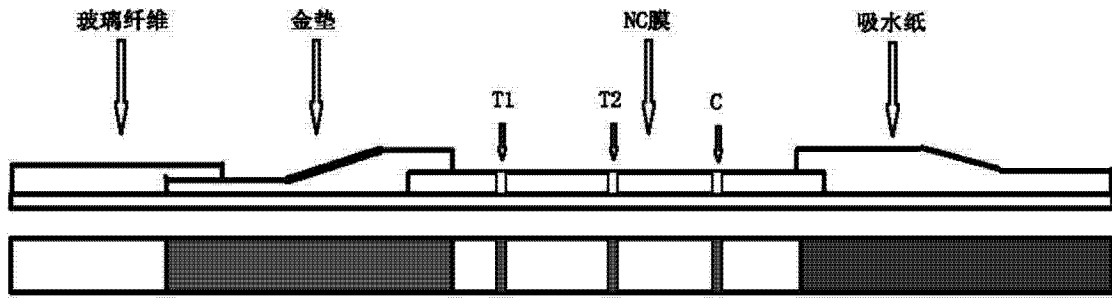


图 7

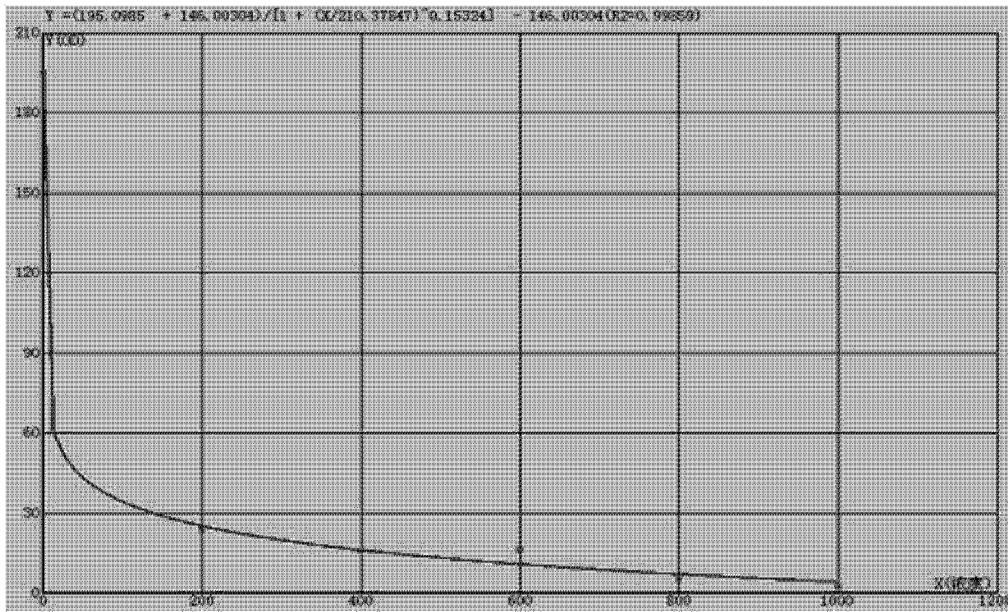


图 8A

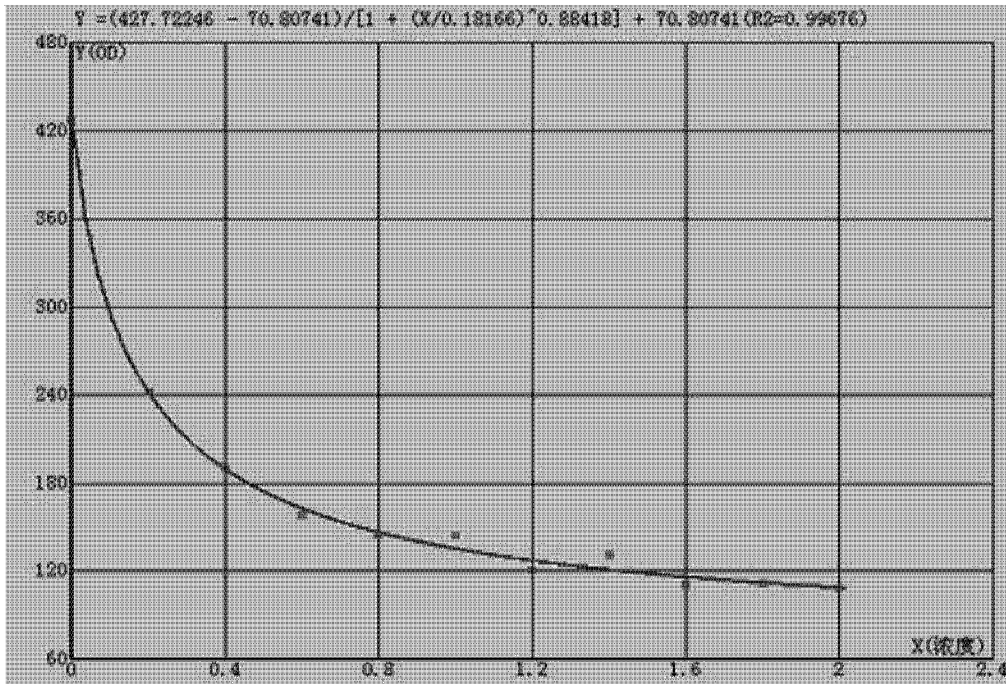


图 8B

健康人、肠癌、胃癌比较

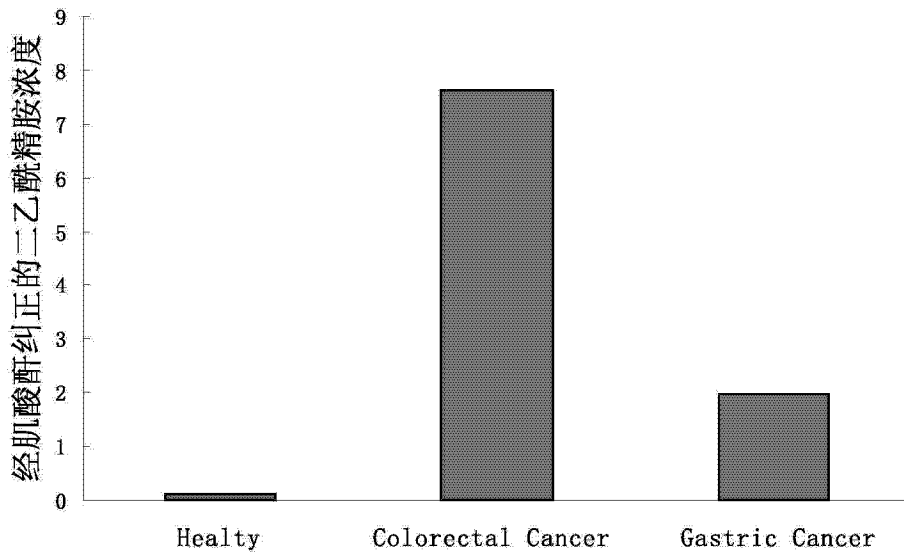


图 9

专利名称(译)	一种二乙酰精胺的检测试剂盒及制备方法和应用		
公开(公告)号	CN104316685A	公开(公告)日	2015-01-28
申请号	CN201410531126.1	申请日	2014-10-10
[标]申请(专利权)人(译)	辽宁迈迪生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	辽宁迈迪生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	辽宁迈迪生物科技有限公司		
[标]发明人	李文欣 刘峰		
发明人	李文欣 刘峰		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/531 G01N33/574		
CPC分类号	G01N33/57488 G01N33/577		
代理人(译)	周秀梅 李颖		
其他公开文献	CN104316685B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及生物学检测方法，其特征在于具体的说是一种二乙酰精胺的检测试剂盒及制备方法。试剂盒，包括试纸条，试纸条从加样端依次为玻璃纤维素膜、金垫、NC膜、吸水纸；其特征在于：金垫上包被有胶体金标记的DiAcSpm和CRE的单克隆抗体及兔抗体；NC膜上的检测区(T)有DiAcSpm和CRE的抗原、标准区(C)有羊抗兔抗体。本发明运用细胞生物学、分子生物学、生物化学、免疫学等原理，利用胶体金免疫层析技术，采用验尿等简单易行、无创伤的方法，进而可以得出用于早期发现、早期诊断多种癌症患者尿液中的二乙酰精胺体外诊断试剂盒。利用胶体金免疫层析分析仪进行检测，达到快速、准确、操作方便。

健康样本		直肠癌患者样本 (C)		胃癌患者样本 (G)	
序号					
1	0.17	C1	154.62	G1	0.40
2	0.07	C2	2.36	G2	0.32
3	0.10	C3	0.24	G3	0.24
4	0.15	C4	26.05	G4	0.40
5	0.10	C5	0.47	G5	0.50
6	0.10	C6	0.30	G6	0.39
7	0.09	C7	0.28	G7	1.34
8	0.06	C8	0.21	G8	0.50
9	0.13	C9	0.23	G9	0.13
10	0.18	C10	0.35	G10	0.70
11	0.10	C11	0.29	G11	1.22
12	0.06	C12	0.25	G12	12.68
13	0.14	C13	0.45	G13	0.57
14	0.15	C14	0.58	G14	6.72
15	0.05	C15	0.21	G15	1.39
16	0.05	C16	0.61	G16	0.49
17	0.13	C17	0.21	G17	0.49
18	0.12	C18	0.48	G18	0.21
19	0.15	C19	0.06	G19	0.70
20	0.17	C20	0.78	G20	0.15
21	0.30	C21	0.95	G21	0.14
22	0.22	C22	0.10	G22	0.20
23	0.16	C23	0.15	G23	4.96
24	0.12	C24	0.16	G24	14.77
25	0.05	C25	0.28	G25	0.92
				G26	0.55