



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105092852 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 25

(21) 申请号 201510471938. 6

(22) 申请日 2015. 08. 05

(71) 申请人 上海交通大学

地址 200240 上海市闵行区东川路 800 号

(72) 发明人 王侃 闫薪宇 崔大祥 何井华

秦伟健

(74) 专利代理机构 上海旭诚知识产权代理有限

公司 31220

代理人 郑立

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/533(2006. 01)

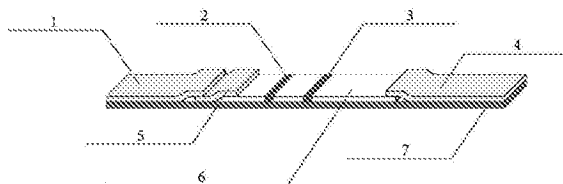
权利要求书2页 说明书6页 附图1页

(54) 发明名称

一种检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条及制备方法

(57) 摘要

本发明提供一种检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条及制备方法。所述试纸条包括依次相互重叠地铺设在底板上的样品垫、量子点标记结合垫、硝酸纤维素膜、吸水纸；采用双抗夹心免疫层析法；所述量子点标记结合垫上设置有量子点标记的抗 CA72-4 单克隆抗体 CC49 涂层；所述硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线，所述检测线上设置有抗 CA72-4 单克隆抗体 B72. 3，所述质控线上设置有羊抗鼠 IgG。本发明所述的制备方法主要涉及量子点标记抗体的制备。通过所述试纸条进行免疫层析后，用荧光免疫层析芯片检测仪分析获得 CA72-4 的定量结果，操作简便，可床边及时快速检测，稳定性好，灵敏度高。



1. 一种检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条,包括样品垫、量子点标记结合垫、硝酸纤维素膜、吸水纸和底板,其特征在于,所述荧光免疫试纸条所用的免疫层析法的类型为双抗夹心法,所述样品垫、量子点标记结合垫、硝酸纤维素膜、吸水纸依次相互重叠地铺设在所述底板上;所述量子点标记结合垫上设置有量子点标记的抗 CA72-4 单克隆抗体 CC49 涂层;所述硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线,所述检测线上设置有抗 CA72-4 单克隆抗体 B72.3,所述质控线上设置有羊抗鼠 IgG。

2. 如权利要求 1 所述的检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条,其特征在于,所述样品垫和所述量子点标记结合垫均是玻璃纤维素膜,所述硝酸纤维素膜是 pall vivid170,所述底板是 PVC 底板。

3. 如权利要求 1 或 2 任一项所述的检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

步骤一,量子点标记抗体的制备:

1) 将量子点与 MES 混合振荡,离心,弃上清,得到预处理后的量子点;

2) 将所述预处理后的量子点与 EDC、MES 混合,于旋转混合器上避光反应,然后离心,弃上清,得到沉淀一;

3) 将所述沉淀一与 NHS 和 PBS 混合,于旋转混合器上避光反应,然后离心,弃上清,得到沉淀二;

4) 将所述沉淀二与抗 CA72-4 单克隆抗体 CC49、PBS 混合,避光反应后,过夜,离心,弃上清,得到沉淀三;

5) 将所述沉淀三用含有 BSA 的 PBS 溶液重悬,静置封闭后,得到量子点标记抗体;

步骤二,量子点标记结合垫和样品垫的处理:将玻璃纤维素膜依次用水、无水乙醇浸泡,然后干燥,再置于含有蔗糖、海藻糖和 BST 的结合垫处理液中浸泡,再干燥,得到经过处理的量子点标记结合垫;将玻璃纤维素膜依次用水、无水乙醇浸泡,然后干燥,再置于含有 NaCl、PVP、Tween-20、BSA、MBS 的样品垫处理液中浸泡,再干燥,得到经过处理的样品垫;

步骤三,将所述步骤一得到的量子点标记抗体包被到所述步骤二得到的经过处理的量子点标记结合垫上,得到带有抗体的量子点标记结合垫;

步骤四,将抗 CA72-4 单克隆抗体 B72.3 固定到检测线,将羊抗鼠 IgG 固定到质控线,得到带有抗体的硝酸纤维素膜;

步骤五,将所述步骤二得到的经过处理的样品垫、所述步骤三得到的带有抗体的量子点标记结合垫、所述步骤四得到的带有抗体的硝酸纤维素膜、吸水纸依次相互重叠地铺设在底板上,然后切割以设定试纸条宽度,得到所述检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条。

4. 如权利要求 3 所述的制备方法,其特征在于,所述步骤一中加入的量子点、EDC、NHS 和 CC49 按照摩尔比为 1:4000:2000:8。

5. 如权利要求 3 或 4 任一项所述的制备方法,其特征在于,所述步骤一中的含有 BSA 的 PBS 溶液为含质量百分比 1.5% 的 BSA 的 pH 值是 7.4 的 PBS 溶液,于振荡器振荡,封闭 30min。

6. 如权利要求 3 或 4 任一项所述的制备方法,其特征在于,所述步骤二中的结合垫处理液是含质量百分比 5% 蔗糖、质量百分比 2% 海藻糖,pH 值是 7.4 的 0.02M 的 BST,且量子点

标记结合垫的处理具体过程为：将玻璃纤维素膜于超纯水浸泡 15 分钟后，再置于无水乙醇浸泡 15 分钟后，于干燥箱 50℃条件下干燥，再置于所述结合垫处理液中浸泡 30 分钟后，于干燥箱 37℃条件下干燥过夜，得到经过处理的量子点标记结合垫。

7. 如权利要求 3 或 4 任一项所述的制备方法，其特征在于，所述步骤二中的样品垫处理液是含质量百分比 2% NaCl、质量百分比 0.2% PVP、质量百分比 0.1% Tween-20、质量百分比 0.5% BSA，pH 值是 7.4 的 0.02M 的 BS，且样品垫的处理具体过程为：将玻璃纤维素膜于超纯水浸泡 15 分钟后，再置于无水乙醇浸泡 15 分钟后，于干燥箱 50℃条件下干燥，再置于所述样品垫处理液中浸泡 30 分钟后，于干燥箱 37℃条件下干燥过夜，得到经过处理的样品垫。

8. 如权利要求 3 所述的制备方法，其特征在于，所述步骤一的具体过程是：量子点标记抗体的制备：

1) 将 pH 值是 6.0 的 0.01M MES 加入至 100 μ l 发射波长为 620nm 的量子点后，将上述混合物于振荡器振荡 5 秒后，于离心机中 14000 - 20000rpm 离心 5 分钟，弃上清，得到预处理后的量子点；

2) 将所述预处理后的量子点与 EDC 以摩尔比 1:4000 混合后，加入 pH 值是 6.0 的 0.01M MES 中，于旋转混合器上避光反应 15min，然后 14000 - 20000rpm 离心 2min，弃上清，得到沉淀一；

3) 将所述沉淀一与 NHS 以摩尔比 1:2000 混合后，加入 100 μ l 0.02M pH 值是 7.2 的 PBS 缓冲液中，于旋转混合器上避光反应 15min，然后 14000 - 20000rpm 离心 2min，弃上清，得到沉淀二；

4) 将所述沉淀二与抗 CA72-4 单克隆抗体 CC49 以摩尔比 1:8 混合后，加入 100 μ l 0.02M pH 值是 7.2 的 PBS 缓冲液中，室温避光反应 3 小时，而后置于 17℃ 16 ~ 20 小时，14000rpm 离心 2min，弃上清，得到沉淀三；

5) 将所述沉淀三用 100 μ l 含有质量百分比 1.5% 的 BSA pH 值是 7.4 的 PBS 缓冲液重悬，静置封闭 30min 后，得到量子点标记抗体。

9. 如权利要求 1 或 2 所述的检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条的应用方法，其特征在于：

步骤一，将待测样本加到所述样品垫上，通过层析作用所述待测样本会依次经过量子点标记结合垫、硝酸纤维素膜和吸水纸；

步骤二，待层析结束结果稳定后，用手持式荧光免疫层析芯片检测仪进行检测，根据检测线和质控线的荧光信号的强弱以及标准曲线来判定检测结果，实现肿瘤标记物 CA72-4 的定性定量检测。

10. 如权利要求 9 所述的应用方法，其特征在于：

步骤一，将 50 μ l 血清样本加到所述样品垫上，通过层析作用所述血清样本会依次经过量子点标记结合垫、硝酸纤维素膜和吸水纸；

步骤二，待层析结束后，反应 10 ~ 20 分钟，用手持式荧光免疫层析芯片检测仪进行检测，根据检测线和质控线的荧光信号的强弱以及标准曲线来判定检测结果，实现肿瘤标记物 CA72-4 的定性定量检测。

一种检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条及制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种血液样本的快速定量检测试纸条及检测方法,尤其是涉及利用量子点技术测定血清或血浆中糖类抗原 72-4(简称 CA72-4)的快速定量检测试纸条及其测试方法,属于肿瘤标志物检测领域。

背景技术

[0002] 胃癌是源自胃黏膜上皮的恶性肿瘤,占全部恶性肿瘤的第 3 位,占消化道恶性肿瘤的首位,且胃癌病人得到确诊后其 5 年生存率非常低。

[0003] CA72-4 是 1981 年 Coleher 等从乳腺癌肝转移灶中得到的一种肿瘤相关糖蛋白,其分子量大于 1000,000,属于粘蛋白类癌胚胎抗原。组织化学研究证明它存在于 50% 的乳腺癌和 85% -95% 结肠、胰腺、胃、肺及卵巢的肿瘤中,不表现于良性肿瘤和正常成人组织中。一般认为,CA72-4 是一种较广谱的肿瘤标志物,其血清中的含量对卵巢癌、胃癌、直肠癌、肝癌、肺癌等有临床诊断价值。目前,CA72-4 广泛应用于癌症的诊断及免疫疗法的监测,术前 CA72-4 的水平亦可作为胃癌侵袭性及病人预后的评估指标。

[0004] 目前临床上用于测定 CA72-4 的方法主要有放免法、酶联免疫检测(简称 ELISA)法、化学发光法等。放免法检测因其方法学本身的限制,其灵敏度和抗干扰能力严重不足,已基本退出市场。酶联免疫检测技术和化学发光技术是目前临床检测 CA72-4 的主要技术,但是检测成本高,检测时间较长。

发明内容

[0005] 为了解决临床上测定 CA72-4 遇到的以上问题,本发明提供一种检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条,采用标记了抗 CA72-4 单克隆抗体 CC49 的量子点标记结合垫与包被了抗 CA72-4 单克隆抗体 B72.3 的硝酸纤维素膜的检测线和羊抗鼠 IgG 的硝酸纤维素膜的质控线进行组合;采用双抗体夹心免疫层析的原理,样本中的抗原在侧向移动的过程中与量子点标记的特异性抗体相结合,形成抗原-抗体复合物,继续向前方流动和硝酸纤维素膜的检测线上特异性抗体结合形成双抗体夹心复合物,进而进行结果的判定。具备操作简便,迅速,反应灵敏度高以及便于大规模推广使用的优点。

[0006] 为了实现上述目的,本发明公开了一种检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条,包括样品垫、量子点标记结合垫、硝酸纤维素膜、吸水纸和底板,其特征在于,所述荧光免疫试纸条所用的免疫层析法的类型为双抗夹心法,所述样品垫、量子点标记结合垫、硝酸纤维素膜、吸水纸依次相互重叠地铺设在所述底板上;所述量子点标记结合垫上设置有量子点标记的抗 CA72-4 单克隆抗体 CC49 涂层;所述硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线,所述检测线上设置有抗 CA72-4 单克隆抗体 B72.3,所述质控线上设置有羊抗鼠 IgG。

[0007] 进一步地,所述样品垫和所述量子点标记结合垫均是玻璃纤维素膜,所述硝酸纤维素膜是 pall vivid170,所述底板是聚氯乙烯(简称 PVC)底板。

[0008] 本发明还公开了如上所述的检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条的制备方法,其特征在于,包括如下步骤:

[0009] 步骤一,量子点标记抗体的制备:

[0010] 1) 将量子点与 2 吗啉代乙磺酸(简称 MES)混合振荡,离心,弃上清,得到预处理后的量子点;

[0011] 2) 将所述预处理后的量子点与(1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(简称 EDC)、MES 混合,于旋转混合器上避光反应,然后离心,弃上清,得到沉淀一;

[0012] 3) 将所述沉淀一与 N-羟基琥珀酰亚胺(简称 NHS)和磷酸盐缓冲液(简称 PBS)混合,于旋转混合器上避光反应,然后离心,弃上清,得到沉淀二;

[0013] 4) 将所述沉淀二与抗 CA72-4 单克隆抗体 CC49、PBS 混合,避光反应后,过夜,离心,弃上清,得到沉淀三;

[0014] 5) 将所述沉淀三用含有牛血清白蛋白(简称 BSA)的 PBS 溶液重悬,静置封闭后,得到量子点标记抗体;

[0015] 步骤二,量子点标记结合垫和样品垫的处理:将玻璃纤维素膜依次用水、无水乙醇浸泡,然后干燥,再置于含有蔗糖、海藻糖和 BST 的结合垫处理液中浸泡,再干燥,得到经过处理的量子点标记结合垫;将玻璃纤维素膜依次用水、无水乙醇浸泡,然后干燥,再置于含有 NaCl、聚乙烯吡咯烷酮(简称 PVP)、Tween-20、BSA、硼酸盐缓冲液(简称 BS)的样品垫处理液中浸泡,再干燥,得到经过处理的样品垫;

[0016] 步骤三,将所述步骤一得到的量子点标记抗体包被到所述步骤二得到的经过处理的量子点标记结合垫上,得到带有抗体的量子点标记结合垫;

[0017] 步骤四,将抗 CA72-4 单克隆抗体 B72.3 固定到检测线,将羊抗鼠 IgG 固定到质控线,得到带有抗体的硝酸纤维素膜;

[0018] 步骤五,将所述步骤二得到的经过处理的样品垫、所述步骤三得到的带有抗体的量子点标记结合垫、所述步骤四得到的带有抗体的硝酸纤维素膜、吸水纸依次相互重叠地铺设在底板上,然后切割以设定试纸条宽度,得到所述检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条。

[0019] 进一步地,所述步骤一中加入的量子点、EDC、NHS 和 CC49 按照摩尔比为 1:4000:2000:8。

[0020] 进一步地,所述步骤一中的含有 BSA 的 PBS 溶液为含质量百分比 1.5% 的 BSA 的 pH 值是 7.4 的 PBS 溶液,于振荡器振荡,封闭 30min。

[0021] 进一步地,所述步骤二中的结合垫处理液是含质量百分比 5% 蔗糖、质量百分比 2% 海藻糖,pH 值是 7.4 的 0.02M 的硼酸盐吐温溶液(简称 BST),且量子点标记结合垫的处理具体过程为:将玻璃纤维素膜于超纯水浸泡 15 分钟后,再置于无水乙醇浸泡 15 分钟后,于干燥箱 50℃ 条件下干燥,再置于所述结合垫处理液中浸泡 30 分钟后,于干燥箱 37℃ 条件下干燥过夜,得到经过处理的量子点标记结合垫。

[0022] 进一步地,所述步骤二中的样品垫处理液是含质量百分比 2% NaCl、质量百分比 0.2% PVP、质量百分比 0.1% Tween-20、质量百分比 0.5% BSA,pH 值是 7.4 的 0.02M 的 BS,且样品垫的处理具体过程为:将玻璃纤维素膜于超纯水浸泡 15 分钟后,再置于无水乙醇浸泡 15 分钟后,于干燥箱 50℃ 条件下干燥,再置于所述样品垫处理液中浸泡 30 分钟后,于干

燥箱 37℃条件下干燥过夜,得到经过处理的样品垫。

[0023] 更具体地,所述步骤一的具体过程是:量子点标记抗体的制备:

[0024] 1) 将 pH 值是 6.0 的 0.01M MES 加入至 100 μ l 发射波长为 620nm 的量子点后,将上述混合物于振荡器振荡 5 秒后,于离心机中 14000 – 20000rpm 离心 5 分钟,弃上清,得到预处理后的量子点;

[0025] 2) 将所述预处理后的量子点与 EDC 以摩尔比 1:4000 混合后,加入 pH 值是 6.0 的 0.01M MES 中,于旋转混合器上避光反应 15min,然后 14000 – 20000rpm 离心 2min,弃上清,得到沉淀一;

[0026] 3) 将所述沉淀一与 NHS 以摩尔比 1:2000 混合后,加入 100 μ l 0.02M pH 值是 7.2 的 PBS 缓冲液中,于旋转混合器上避光反应 15min,然后 14000 – 20000rpm 离心 2min,弃上清,得到沉淀二;

[0027] 4) 将所述沉淀二与抗 CA72-4 单克隆抗体 CC49 以摩尔比 1:8 混合后,加入 100 μ l 0.02M pH 值是 7.2 的 PBS 缓冲液中,室温避光反应 3 小时,而后置于 17℃ 16 ~ 20 小时,14000rpm 离心 2min,弃上清,得到沉淀三;

[0028] 5) 将所述沉淀三用 100 μ l 含有质量百分比 1.5% 的 BSA pH 值是 7.4 的 PBS 缓冲液重悬,静置封闭 30min 后,得到量子点标记抗体。

[0029] 本发明还提供如上所述的检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条的应用方法,其特征在于:

[0030] 步骤一,将待测样本加到所述样品垫上,通过层析作用所述待测样本会依次经过量子点标记结合垫、硝酸纤维素膜和吸水纸;

[0031] 步骤二,待层析结束结果稳定后,用手持式荧光免疫层析芯片检测仪进行检测,根据检测线和质控线的荧光信号的强弱以及标准曲线来判定检测结果,实现肿瘤标记物 CA72-4 的定性定量检测。

[0032] 进一步地,所述应用方法,其特征在于:

[0033] 步骤一,将 50 μ l 血清样本加到所述样品垫上,通过层析作用所述血清样本会依次经过量子点标记结合垫、硝酸纤维素膜和吸水纸;

[0034] 步骤二,待层析结束后,反应 10 ~ 20 分钟,用手持式荧光免疫层析芯片检测仪进行检测,根据检测线和质控线的荧光信号的强弱以及标准曲线来判定检测结果,实现肿瘤标记物 CA72-4 的定性定量检测。

[0035] 将上述方法制备的试纸条用于肿瘤标记物 CA72-4 检测,记录特定激发光下形成的发射荧光信号,并根据标准曲线,准确计算出样本中 CA72-4 的检测含量。

[0036] 量子点检测技术是近些年新兴的检测技术,采用量子点纳米材料,通过检测量子点纳米材料发出的荧光信号实现检测。量子点纳米材料又可称为纳米晶,是一种由 II – VI 族或 III – V 族元素组成的纳米颗粒。量子点的粒径一般介于 1 ~ 10nm 之间,由于电子和空穴被量子限域,连续的能带结构变成具有分子特性的分立能级结构,受外界光激发后可以发射荧光。不同粒径大小的量子点,在同一激发光下,可以发射不同的波长的荧光,也就是不同的颜色,比如从绿色到红色。量子点较其他现有荧光检测技术具有多项优势:发射光谱随尺寸大小和组成成分改变;具有很好的光强和稳定性;具有宽的激发谱和窄的发射谱;具有较大的斯托克斯位移;经修饰后生物相容性好;荧光寿命长等。

[0037] 本发明所述基于量子点的 CA72-4 的快速检测试纸条除了具备上述量子点技术的优点外,与 CA72-4 的酶联免疫检测及化学发光检测技术相比,还具备检测快速,操作简便,可床边及时快速检测的优点。

附图说明

[0038] 图 1 是本发明所述的检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条的结构示意图。

[0039] 其中:1- 样品垫、2- 检测线、3- 质控线、4- 吸水纸、5- 量子点标记结合垫、6- 硝酸纤维素膜、7- 底板。

具体实施方式

[0040] 下面结合附图和实施例对本发明做进一步的描述。

[0041] 本发明提供一种检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条,如图 1 所示,包括样品垫 1、量子点标记结合垫 5、硝酸纤维素膜 6、吸水纸 4 和底板 7,所用的免疫层析法的类型为双抗夹心法,所述量子点标记结合垫 5、硝酸纤维素膜 6、吸水纸 4 依次相互重叠 0.5 ~ 2mm 粘贴在所述底板 7 上;所述量子点标记结合垫 5 上设置有量子点标记的抗 CA72-4 单克隆抗体 CC49 涂层;所述硝酸纤维素膜 6 上设置有检测线 2 和质控线 3,所述检测线 2 上设置有抗 CA72-4 单克隆抗体 B72.3,所述质控线 3 上设置有羊抗鼠 Ig。所述样品垫 1 是玻璃纤维素膜,所述结合垫 2 是玻璃纤维素膜,所述硝酸纤维素膜 6 是商品化的 pall vivid170,所述底板 7 是 PVC 底板。

[0042] 实施例一:量子点偶联抗体的方法:

[0043] 1. 量子点预处理:

[0044] 将 0.01M MES(pH 6.0) 加入至 100ul 量子点(激发波长是 365nm,发射波长是 620nm)后,将上述混合物于振荡器振荡 5 秒后,于离心机中 14000 - 20000rpm 离心 5 分钟,弃上清。

[0045] 2. 量子点抗体偶联:

[0046] 1) 试剂准备:

[0047] 1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺(简称 EDC), N-羟基琥珀酰亚胺(简称 NHS),牛血清白蛋白(简称 BSA),抗 CA72-4 单克隆抗体 CC49。

[0048] 2) 量子点抗体偶联:

[0049] 将量子点按照摩尔比 $n(\text{QDs}):n(\text{EDC}) = 1:4000$,加入 0.01M MES(pH 6.0) 于旋转混合器上避光反应 15 分钟,离心机离心(14000-20000rpm, 2min),弃上清,然后按照摩尔比 $n(\text{QDs}):n(\text{NHS}) = 1:2000$,加入 100ul 0.02M PBS 缓冲液(pH 7.2) 旋转混合器上避光反应 15 分钟,离心机离心(14000 - 20000rpm, 2min),弃上清,按照摩尔比 $n(\text{QDs}):n(\text{CC49}) = 1:8$,加入 100ul 0.02M PBS 缓冲液(pH 7.2),室温避光反应 3 小时;而后置于 17℃ 过夜(16-20 小时);于离心机中 14000rpm 离心 2 分钟,弃上清;100ul 1.5% BSA PBS pH = 7.4 重悬上述沉淀,静置封闭 30min。

[0050] 实施例二:量子点标记结合垫及样品垫的处理

[0051] 1) 量子点标记结合垫处理方法:

[0052] 将玻璃纤维素膜置于超纯水浸泡 15 分钟后,再置于无水乙醇浸泡 15 分钟后,于干

干燥箱 50℃条件下干燥将经过上述条件处理后的量子点结合垫置于结合垫处理液（含质量百分比 5%蔗糖,质量百分比 2%海藻糖, pH 7.4 的 0.02M BST）中浸泡 30 分钟后,于干燥箱 37℃条件下干燥过夜（16-20 小时）。

[0053] 2) 样品垫处理方法：

[0054] 将玻璃纤维素膜置于超纯水浸泡 15 分钟后,再置于无水乙醇浸泡 15 分钟后,于 50℃干燥箱条件下干燥;将经过上述条件处理后的样品垫置于样品垫处理液（含质量百分比 2% NaCl,质量百分比 0.2% PVP,质量百分比 0.1% Tween-20,质量百分比 0.5% BSA, pH 7.4 的 0.02MBS 中浸泡 30 分钟后,于干燥箱 37℃条件下干燥过夜（16-20 小时）。

[0055] 实施例三:量子点标记结合垫的制备

[0056] 将量子点标记好的抗体用移液枪吸取 5 μ l,均匀的滴在预先处理好的结合垫上,并置于有干燥剂且避光的干净的塑料桶内,待其干燥即得到量子点标记的结合垫。

[0057] 实施例四:制备带有相应抗体的检测线和质控线

[0058] 用 BIODOT 喷膜仪在商品化的 pall vivid 170 硝酸纤维素膜上分别用羊抗鼠 IgG(浓度为 1mg/ml,含 1%的蔗糖)和抗 CA72-4 单克隆抗体 B72.3(浓度 2mg/ml,含 1%的蔗糖)喷膜出质控线及检测线,置于 37℃恒温烘箱中烘干。

[0059] 实施例五:试纸条的制备

[0060] 将实施例二中处理好的样品垫、实施例三中得到的量子点标记结合垫、实施例四得到的喷膜有相应抗体的 pall vivid 170 硝酸纤维素膜、吸水纸依次贴于低背景 PVC 蓝光底板（规格 3*2*3）上,相互重叠约 0.5-2mm;然后置于试纸条裁切机上,切成宽度为 3cm 的试纸条。将试纸条置于有干燥剂的干净的塑料筒内,待使用时取出。

[0061] 实施例六:带有相应抗体的检测线和质控线的制备以及试纸条的制备

[0062] 将商品化的 pall vivid 170 硝酸纤维素膜贴于低背景 PVC 蓝光底板（规格 3*2*3）的中间,宽度为 2cm,再将吸水纸贴于该底板上,相互重叠约 0.5-2mm,用 BIODOT 喷膜仪在 pall vivid 170 硝酸纤维素膜上分别用羊抗鼠 IgG(浓度为 1mg/ml,含 1%的蔗糖)和抗 CA72-4 单克隆抗体 B72.3(浓度 2mg/ml,含 1%的蔗糖)喷膜出质控线及检测线。将喷膜好线的 pall vivid 170 硝酸纤维素膜室温晾干后,置于试纸条裁切机上,切成宽度为 3cm 的试纸条,置于 37℃恒温烘箱中烘干;待其烘干后将实施例二中处理好的样品垫、实施例三中得到的量子点标记结合垫依次粘贴于 PVC 底板上,互相重叠约 0.5-2mm,使得 PVC 底板上依次重叠粘贴的是样品垫、量子点标记结合垫、pall vivid 170 硝酸纤维素膜、吸水纸;再用试纸条裁切机将多出的样品垫与量子点标记结合垫裁出,得到试纸条。将试纸条置于有干燥剂的干净的塑料筒内,待使用时取出。

[0063] 实施例七:一种检测肿瘤标记物 CA72-4 的荧光免疫试纸条的应用方法

[0064] 步骤一,将 50 μ l 血清样本加到样品垫上,通过层析作用血清样本会依次经过量子点标记结合垫、硝酸纤维素膜和吸水纸;

[0065] 步骤二,待层析结束后,反应 15 分钟,用手持式荧光免疫层析芯片检测仪进行检测,根据检测线和质控线的荧光信号的强弱以及标准曲线来判定检测结果,实现肿瘤标记物 CA72-4 的定性定量检测。

[0066] 以上详细描述了本发明的较佳具体实施例。应当理解,本领域的普通技术人员无需创造性劳动就可以根据本发明的构思作出诸多修改和变化。因此,凡本技术领域技术

人员依本发明的构思在现有技术的基础上通过逻辑分析、推理或者有限的实验可以得到的技术方案,皆应在由权利要求书所确定的保护范围内。

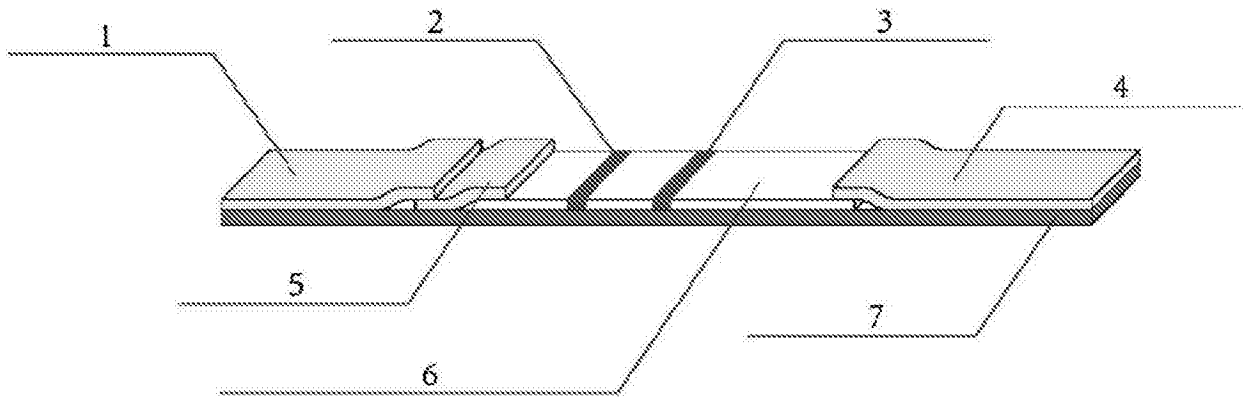


图 1

专利名称(译)	一种检测肿瘤标记物CA72-4的荧光免疫试纸条及制备方法		
公开(公告)号	CN105092852A	公开(公告)日	2015-11-25
申请号	CN201510471938.6	申请日	2015-08-05
[标]申请(专利权)人(译)	上海交通大学		
申请(专利权)人(译)	上海交通大学		
当前申请(专利权)人(译)	上海交通大学		
[标]发明人	王侃 闫新宇 崔大祥 何井华 秦伟健		
发明人	王侃 闫新宇 崔大祥 何井华 秦伟健		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/577		
代理人(译)	郑立		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种检测肿瘤标记物CA72-4的荧光免疫试纸条及制备方法。所述试纸条包括依次相互重叠地铺设在底板上的样品垫、量子点标记结合垫、硝酸纤维素膜、吸水纸；采用双抗夹心免疫层析法；所述量子点标记结合垫上设置有量子点标记的抗CA72-4单克隆抗体CC49涂层；所述硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线，所述检测线上设置有抗CA72-4单克隆抗体B72.3，所述质控线上设置有羊抗鼠IgG。本发明所述的制备方法主要涉及量子点标记抗体的制备。通过所述试纸条进行免疫层析后，用荧光免疫层析芯片检测仪分析获得CA72-4的定量结果，操作简便，可床边及时快速检测，稳定性好，灵敏度高。

