



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108761058 A

(43)申请公布日 2018.11.06

(21)申请号 201810528146.1

(22)申请日 2018.05.19

(71)申请人 大连大学

地址 116622 辽宁省大连市经济技术开发区  
学府大街10号

(72)发明人 郑国侠 王云华 王丹丹

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

G01N 33/574(2006.01)

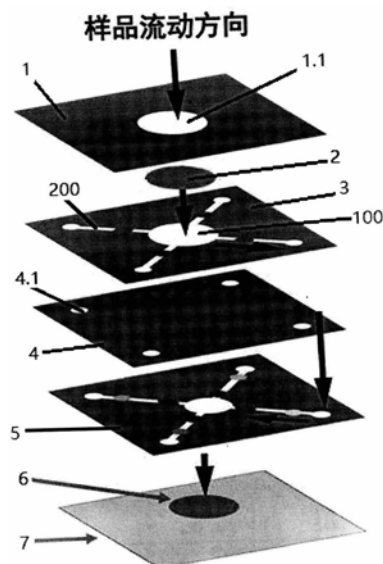
权利要求书2页 说明书6页 附图6页

### (54)发明名称

用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片及方法

### (57)摘要

本发明涉及感染性疾病诊断标志物检测技术领域,具体涉及用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片及方法,包括上层滤纸芯片、中层滤纸芯片和下层硝酸纤维素膜;上层滤纸芯片和下层硝酸纤维素膜皆包括由中部向外辐射出的多个亲水区以及其余部分的疏水围堰,亲水区包括进样区和检测通道,上层纸芯片的检测通道包被各自对应的胶体金标记病原抗原及胶体金标记鼠IgG;下层硝酸纤维素膜的检测通道分别设有检测区和控制区,各检测区分别包被对应的非标记的病原体抗原,各控制区包被羊抗鼠IgG抗体。本发明所提供的用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片及方法,将免疫金标记技术与纸芯片相结合,实现了多重检测和半定量检测,检测结果及时准确。



1. 一种用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片, 其特征在于, 包括上层滤纸芯片(3)、中层滤纸芯片(4)和下层硝酸纤维素膜(5); 所述上层滤纸芯片(3)和下层硝酸纤维素膜(5)皆分别包括由中部向外辐射出的多个亲水区以及其余部分的疏水围堰, 所述亲水区包括进样区(100)和检测通道(200), 各亲水区的进样区(100)汇聚于对应滤纸芯片的中部, 所述上层纸芯片(3)的各亲水区的检测通道包被各自对应的胶体金标记病原抗原及胶体金标记鼠IgG; 所述中层滤纸芯片(4)上对应所述上层滤纸芯片(3)的检测通道的液体流向的末端位置设有通样口(4.1); 所述下层硝酸纤维素膜(5)的各亲水区的检测通道由沿着液体流动方向分别设有检测区和控制区, 各检测区分别包被对应的非标记的病原体抗原, 各控制区包被羊抗鼠IgG抗体。

2. 根据权利要求1所述的用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片, 其特征在于, 所述上层滤纸芯片(3)和下层硝酸纤维素膜(5)皆分别设有四个亲水区, 每个亲水区的检测通道检测一个指标。

3. 根据权利要求2所述的用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片, 其特征在于, 所述上层滤纸芯片(3)由中部的进样区向四周辐射出四个检测通道, 每个检测通道分别包被有胶体金标记病原体A抗原+胶体金标记鼠IgG(3.1)、胶体金标记病原体B抗原+胶体金标记鼠IgG(3.2)、胶体金标记病原体C抗原+胶体金标记鼠IgG(3.3)以及胶体金标记病原体D抗原+胶体金标记鼠IgG(3.4); 所述下层硝酸纤维素膜(5)中对应四个检测区和四个控制区, 所述四个检测区分别为检测区A(5.1)、检测区B(5.2)、检测区C(5.3)和检测区D(5.4), 各检测区分别对应包被有病原体A抗原、病原体B抗原、病原体C抗原和病原体D抗原; 所述四个控制区(5.5)分别位于四个检测通道上, 每个控制区包被羊抗鼠IgG抗体。

4. 根据权利要求1所述的用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片, 其特征在于, 所述下层硝酸纤维素膜(5)的每个检测通道中的检测区与控制区之间的距离为1-15mm。

5. 根据权利要求1所述的用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片, 其特征在于, 所述纸芯片由喷蜡打印制作而成, 各层之间通过印胶和层压技术组装而成。

6. 根据权利要求1-5任意一项中所述的用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片, 其特征在于, 还包括上层垫片(1)、血细胞过滤垫(2)、吸水垫(6)和下层垫片(7), 所述上层垫片(1)位于所述上层滤纸芯片(3)的上部, 所述上层垫片(1)中部设有加样区(1.1), 所述血细胞过滤垫(2)位于所述加样区(1.1)与所述上层滤纸芯片(3)的中部的进样区(100)间; 所述下层垫片(7)位于所述下层硝酸纤维素膜(5)下部, 所述吸水垫(6)位于所述下层硝酸纤维素膜(5)中部与所述下层垫片(7)中部间。

7. 根据权利要求6所述的用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片, 其特征在于, 所述上层垫片(1)和下层垫片(7)皆为亚克力垫片。

8. 根据权利要求6所述的用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片, 其特征在于, 所述血细胞过滤垫(2)的厚度为200-1800um。

9. 根据权利要求1-8任意一项中所述纸芯片平行检测多种感染性疾病标志物的方法, 其特征在于, 包括如下步骤:

(1) 将待检测的样本通过上层滤纸芯片中部的进样区流入到检测通道;

(2) 样本中的病原抗体结合胶体金标记的抗原继续向下经中层滤纸芯片的通样口流经下层硝酸纤维素膜的检测区;

(3) 如果存在检测目标病原体抗体,检测区的非标记抗原将捕获结合了胶体金的目标抗体,引起胶体金聚集,产生可测量的颜色变化;胶体金标记的鼠IgG不会被捕获,继续向前移动,到达控制区的时候被羊抗鼠IgG捕获,产生可测量的颜色变化,通过颜色变换判断出病原体的有无;

(4) 通过手机拍照app拍照分析或者回传至电脑分析,定量颜色变化量,与预先确定的标准曲线相比,定量病原体的数量。

10. 根据权利要求9所述的方法,其特征在于,所述标本包括但不限于全血,血浆,血清,干血点,组织液,唾液,泪液,汗液。

## 用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片及方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及感染性疾病及其他疾病的诊断标志物检测的技术领域,具体涉及一种用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片及方法。

### 背景技术

[0002] 传统的病原体检测方法中常用的有分离培养、ELISA(酶联免疫吸附实验)和PCR(聚合酶链式反应)。其中,分离培养耗时且方法复杂,并且不是所有的病原体都可以进行分离培养;ELISA和PCR灵敏度高,但价格昂贵,限制其在发展中国家、尤其是偏远地区的应用。这三种检测方法通常都需要耗时一个小时至几个小时,检测时间较长,不适合现场快速检验。

[0003] 即时诊断(point-of-care testing,POCT)是在采样现场进行的、利用便携式分析仪器及配套试剂快速得到检测结果的一种检测方式,这种检测省去标本在实验室检验时的复杂处理程序,能快速得到检验结果。免疫金标记技术是POCT应用技术之一,目前此技术与侧向层析相结合形成胶体金试纸条,胶体金试纸条具有廉价、快速、试剂用量少、样品量少、易操作等优点,因此得到了广泛的应用。胶体金试纸条检测成本低,检测灵敏度和准确度尚可接受,可用于疾病的大规模筛查或者部分疾病的快速诊断。

[0004] 现有的胶体金试纸条检测方法具有如下缺点,(1)只能够进行定性检测,不能进行定量检测。(2)只能检测单一疾病,不能实现多重检测。(3)灵敏度不如ELISA。由于抗原抗体孵育时间短,或者抗体与纤维素膜非特异性相互作用会影响其灵敏性。

[0005] 微流控芯片(microfluidics)又称微流控芯片实验室或芯片实验室(lab-on-a-chip,LOC),是20世纪90年代在毛细管电泳基础上发展起来的一种新技术,通过微加工技术将微管道、微反应器、微电极、微检测器等不同功能的元件集成起来,具备将一个生物或化学实验室微缩到一块只有几平方厘米薄片上的能力。微流控技术因其所需样品体积小、检测效率高、使用成本低且易于和其他技术设备集成,具有良好的兼容性、有望实现便携式检测装置等特点,吸引了众多研究者的关注。近年,微流控芯片技术迅速向生物医学领域渗透,显示了广阔的应用前景,越来越多迹象表明这项技术已成为新一代医学研究和医学检测极其重要的平台。

[0006] 微流控纸芯片装置主要由滤纸或纤维素膜等材料制成,是微流控芯片中最简单的一类。微流控纸芯片只要很少的样品和试剂就能够完成其他装置复杂的检测程序;白色的纸芯片使许多利用颜色变化来进行的检测变得更加方便;使用后的纸芯片焚烧即可销毁,处理简单,不产生有害残留。近年来,在医学上,纸芯片在蛋白检测,血液分离,细胞培养等方面发展迅速。

### 发明内容

[0007] 本发明为了解决上述技术问题,提供了一种用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片及方法。

[0008] 为了达到上述技术效果,本发明包括以下技术方案:一种用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片,包括上层滤纸芯片、中层滤纸芯片和下层硝酸纤维素膜;所述上层滤纸芯片和下层硝酸纤维素膜皆分别包括由中部向外辐射出的多个亲水区以及其余部分的疏水围堰,所述亲水区包括进样区和检测通道,各亲水区的进样区汇聚于对应滤纸芯片的中部,所述上层纸芯片的各亲水区的检测通道包被各自对应的胶体金标记病原抗原及胶体金标记鼠IgG;所述中层滤纸芯片上对应所述上层滤纸芯片的检测通道的液体流向的末端位置设有通样口;所述下层硝酸纤维素膜的各亲水区的检测通道由沿着液体流动方向分别设有检测区和控制区,各检测区分别包被对应的非标记的病原体抗原,各控制区包被羊抗鼠IgG抗体。

[0009] 优选地,所述上层滤纸芯片和下层硝酸纤维素膜皆分别设有四个亲水区,每个亲水区的检测通道检测一个指标。

[0010] 优选地,所述上层滤纸芯片由中部的进样区向四周辐射出四个检测通道,每个检测通道分别包被有胶体金标记病原体A抗原+胶体金标记鼠IgG、胶体金标记病原体B抗原+胶体金标记鼠IgG、胶体金标记病原体C抗原+胶体金标记鼠IgG以及胶体金标记病原体D抗原+胶体金标记鼠IgG;所述下层硝酸纤维素膜中对应四个检测区和四个控制区,所述四个检测区分别为检测区A、检测区B、检测区C和检测区D,各检测区分别对应包被有病原体A抗原、病原体B抗原、病原体C抗原和病原体D抗原;所述四个控制区分别位于四个检测通道上,每个控制区包被羊抗鼠IgG抗体。

[0011] 优选地,所述下层硝酸纤维素膜的每个检测通道中的检测区与控制区之间的距离为1-15mm。

[0012] 优选地,所述纸芯片由喷蜡打印制作而成,各层之间通过印胶和层压技术组装而成。

[0013] 作为本发明的进一步改进,还包括上层垫片、血细胞过滤垫、吸水垫和下层垫片,所述上层垫片位于所述上层滤纸芯片的上部,所述上层垫片中部设有加样区,所述血细胞过滤垫位于所述加样区与所述上层滤纸芯片的中部的进样区间;所述下层垫片位于所述下层硝酸纤维素膜下部,所述吸水垫位于所述下层硝酸纤维素膜中部与所述下层垫片中部间。

[0014] 优选地,所述上层垫片和下层垫片皆为亚克力垫片。

[0015] 优选地,所述血细胞过滤垫的厚度为200-1800um。

[0016] 另一方面,本发明还提供了一种采用上述纸芯片平行检测多种感染性疾病标志物的方法,包括如下步骤:

[0017] (1) 将待检测的样本通过上层滤纸芯片中部的进样区流入到检测通道;

[0018] (2) 样本中的病原抗体结合胶体金标记的抗原继续向下经中层滤纸芯片的通样口流经下层硝酸纤维素膜的检测区;

[0019] (3) 如果存在检测目标病原体抗体,检测区的非标记抗原将捕获结合了胶体金的目标抗体,引起胶体金聚集,产生可测量的颜色变化;胶体金标记的鼠IgG不会被捕获,继续向前移动,到达控制区的时候被羊抗鼠IgG捕获,产生可测量的颜色变化,通过颜色变换判断出病原体的有无;

[0020] (4) 通过手机拍照app拍照分析或者回传至电脑分析,定量颜色变化量,与预先确

定的标准曲线相比,定量病原体的数量。

[0021] 可选地,所述标本包括但不限于全血,血浆,血清,干血点,组织液,唾液,泪液,汗液。

[0022] 采用上述技术方案,包括以下有益效果:本发明所提供的用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片及方法,将免疫金标记技术与纸芯片相结合,能检测全血样本,一滴血检测多种传染病,实现了多重检测和半定量检测,检测结果及时准确,成本低且能实现大规模批量化生产。

## 附图说明

[0023] 图1为本发明实施例1中所提供用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片的结构示意图;

[0024] 图2为本发明实施例1中用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片中的上层滤纸芯片的结构示意图;

[0025] 图3为本发明实施例1中用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片中的下层硝酸纤维素膜的结构示意图;

[0026] 图4为本发明实施例2中所提供上层滤纸芯片的示意图;

[0027] 图5为本发明实施例2中所提供下层硝酸纤维素膜结构示意图;

[0028] 图6为本发明实施例3中所提供上层滤纸芯片的示意图;

[0029] 图7为本发明实施例3中所提供下层硝酸纤维素膜结构示意图;

[0030] 图8为本发明实施例2所提供的乙肝表面抗体的标准曲线;

[0031] 图9为本发明实施例2所提供的梅毒抗体的标准曲线;

[0032] 图10为本发明实施例2所提供的丙肝抗体的标准曲线。

[0033] 图中,

[0034] 1、上层垫片;1.1、加样区;2、血细胞过滤垫;3、上层滤纸芯片;3.1、胶体金标记病原体A抗原+胶体金标记鼠IgG;3.2、胶体金标记病原体B抗原+胶体金标记鼠IgG;3.3、胶体金标记病原体C抗原+胶体金标记鼠IgG;3.4、胶体金标记病原体D抗原+胶体金标记鼠IgG;4、中层滤纸芯片;4.1、通样口;5、下层硝酸纤维素膜;5.1、检测区A;5.2、检测区B;5.3、检测区C;5.4、检测区D;5.5、控制区;6、吸水垫;7、下层垫片;100、进样区;200、检测通道。

## 具体实施方式

[0035] 为使本发明的目的、技术方案和优点更加清楚,下面将结合本发明实施例中的附图,对本发明实施例中的技术方案进行清楚、完整地描述,显然,所描述的实施例是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有作出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。

[0036] 在本发明中,术语“上”、“下”、“左”、“右”、“前”、“后”、“顶”、“底”、“内”、“外”、“中”、“竖直”、“水平”、“横向”、“纵向”等指示的方位或位置关系为基于附图所示的方位或位置关系。这些术语主要是为了更好地描述本发明及其实施例,并非用于限定所指示的装置、元件或组成部分必须具有特定方位,或以特定方位进行构造和操作。

[0037] 并且,上述部分术语除了可以用于表示方位或位置关系以外,还可能用于表示其

他含义,例如术语“上”在某些情况下也可能用于表示某种依附关系或连接关系。对于本领域普通技术人员而言,可以根据具体情况理解这些术语在本发明中的具体含义。

[0038] 此外,术语“安装”、“设置”、“设有”、“连接”、“相连”“套接”应做广义理解。例如,可以是固定连接,可拆卸连接,或整体式构造;可以是机械连接,或电连接;可以是直接相连,或者通过中间媒介间接相连,又或者是两个装置、元件或组成部分之间内部的连通。对于本领域普通技术人员而言,可以根据具体情况理解上述术语在本发明中的具体含义。

[0039] 除非另有说明,“多个”的含义为两个或两个以上。

[0040] 下面通过具体的实施例并结合附图对本发明做进一步的详细描述。

[0041] 实施例1:

[0042] 本实施例提供了一种用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片,参阅图1,包括上层滤纸芯片3、中层滤纸芯片4和下层硝酸纤维素膜5;所述上层滤纸芯片3和下层硝酸纤维素膜5皆分别包括由中部向外辐射出的多个亲水区以及其余部分的疏水围堰,所述亲水区包括进样区100和检测通道200,各亲水区的进样区汇聚于对应滤纸芯片的中部,所述上层滤纸芯片3的各亲水区的检测通道200包被各自对应的胶体金标记病原抗原及胶体金标记鼠IgG;所述中层滤纸芯片4上对应所述上层滤纸芯片3的检测通道的液体流向的末端位置设有通样口4.1;所述下层硝酸纤维素膜5的各亲水区的检测通道由沿着液体流动方向分别设有检测区和控制区5.5,各检测区分别包被对应的非标记的病原体抗原,各控制区包被羊抗鼠IgG抗体。

[0043] 通道数视实际需要,可以为2-16之间任意数目的通道,本实施例中,在所述上层滤纸芯片3和下层硝酸纤维素膜5皆分别设有四个亲水区,每个亲水区的检测通道检测一个指标。本实施例中使用喷蜡打印的方法制备纸芯片,也可用其他方法制备。通过设计亲水通道,通过喷蜡打印机打印,再经过烘焙过程使蜡融化渗透形成疏水围堰,从而控制液体的流动方向。也可以使用紫外光刻、蜡印、等离子体处理、喷墨打印、喷墨刻蚀、绘图、丝网印刷、融蜡浸透、融蜡印章、柔印、激光处理等技术进行加工。各层之间通过印胶和层压技术组装而成。三维纸芯片的制备方法为本领域技术人员的公知常识,此处不做赘述。

[0044] 参见图2和3,所述上层滤纸芯片3由中部的进样区100向四周辐射出四个检测通道200,每个检测通道分别包被有胶体金标记病原体A抗原+胶体金标记鼠IgG(3.1)、胶体金标记病原体B抗原+胶体金标记鼠IgG(3.2)、胶体金标记病原体C抗原+胶体金标记鼠IgG(3.3)以及胶体金标记病原体D抗原+胶体金标记鼠IgG(3.4);所述下层硝酸纤维素膜5中对应应有四个检测区和四个控制区,所述四个检测区分别为检测区A(5.1)、检测区B(5.2)、检测区C(5.3)和检测区D(5.4),各检测区分别对应包被有病原体A抗原、病原体B抗原、病原体C抗原和病原体D抗原;所述四个控制区5.5分别位于四个检测通道上,每个控制区包被羊抗鼠IgG抗体。

[0045] 所述下层硝酸纤维素膜5的每个检测通道中的检测区与控制区之间的距离为1-15mm。所述纸芯片由喷蜡打印制作而成,各层之间通过印胶和层压技术组装而成。

[0046] 本实施例中,还包括上层垫片1、血细胞过滤垫2、吸水垫6和下层垫片7,所述上层垫片1位于所述上层滤纸芯片3的上部,所述上层垫片1中部设有加样区1.1,所述血细胞过滤垫2位于所述加样区1.1与所述上层滤纸芯片3的中部的进样区100间;所述下层垫片7位于所述下层硝酸纤维素膜5下部,所述吸水垫6位于所述下层硝酸纤维素膜5中部与所述下

层垫片7中部间。其中,所述上层垫片1和下层垫片7皆为亚克力垫片。所述血细胞过滤垫的厚度为200-1800um。

[0047] 本实施例中所提供的纸芯片,优选采用喷蜡打印制作成三维纸芯片,通过上层滤纸芯片、中层滤纸芯片和下层硝酸纤维素膜形成回折的流向设计,减少了芯片总体尺寸。通过免疫金标记技术检测多种传染病,实现高通量检测。通过印胶和层压技术组装芯片,胶粒分布均匀且不需要额外填充纤维素粉,适合大规模批量化生产。纸芯片与胶体金试纸条结合使用,更适合多重检测;制备简单;包被物用量少,成本低。可检测传染性疾病,也可用于其它疾病标志物等检测。

[0048] 采用上述纸芯片平行检测多种感染性疾病标志物的方法,包括如下步骤:将待检测的样本通过上层垫片的加样区加入全血约20ul,血液通过血细胞过滤垫去血细胞,然后向下通过上层滤纸芯片中部的进样区流入到检测通道;

[0049] 样本中的病原抗体结合胶体金标记的抗原继续向下经中层滤纸芯片的通样口流经下层硝酸纤维素膜的检测区;

[0050] 如果存在检测目标病原体抗体,检测区的非标记抗原将捕获结合了胶体金的目标抗体,引起胶体金聚集,产生可测量的颜色变化;胶体金标记的鼠IgG不会被捕获,继续向前移动,到达控制区的时候被羊抗鼠IgG捕获,产生可测量的颜色变化,通过颜色变换判断出病原体的有无;

[0051] 通过手机拍照app拍照分析或者回传至电脑分析,定量颜色变化量,与预先确定的标准曲线相比,定量病原体的数量。

[0052] 需要说明的是,所述标本包括但不限于全血,血浆,血清,干血点,组织液,唾液,泪液,汗液。

[0053] 实施例2:

[0054] 在实施例1的基础上,本实施例提供了一种采用实施例1中纸芯片平行检测乙肝表面抗原、乙肝表面抗体、丙肝抗体以及梅毒抗体的方法,包括如下步骤:

[0055] 用厚度为1mm的亚克力分别加工上层垫片和下层垫片。上层滤纸芯片和中层滤纸芯片选用Whatman滤纸。下层选用孔径为0.45um的硝酸纤维素纸。选用200um厚血细胞过滤垫和500um厚吸水垫。

[0056] 用喷蜡打印机打印出疏水围堰,制备图案化芯片。在芯片上层滤纸芯片不同区域(不同检测通道)分别包被胶体金标记的HbsAb抗原(100ug/mL)、HbsAg抗原(200ug/mL)、HCV(丙型肝炎,200ug/mL)抗原和TP(梅毒螺旋体,200ug/mL)抗原,以上抗原或抗体内同时混合胶体金标记的鼠IgG(100ug/mL),作为质控内参,如图4所示。

[0057] 非标记的病原体抗原包被于下层硝酸纤维素膜的各检测区,羊抗鼠IgG抗体包被于下层硝酸纤维素膜的四个控制区。在芯片下层硝酸纤维素膜相应区域(不同检测通道)分别包被HBsAb第二抗体(100ug/mL)、HBsAg抗原(200ug/mL)、HCV抗原(丙型肝炎,200ug/mL)和TP抗原(梅毒螺旋体,200ug/mL),如图5所示。

[0058] 选取150目的图案化印胶丝网,张力15N/cm,将胶液(主要成分是环氧树脂的纸粘胶)印刷在上层滤纸芯片、下层硝酸纤维素膜的正面和背面,其丝网图案分别与上层滤纸芯片和下层硝酸纤维素膜一致,印刷时印胶丝网与滤纸之间网距是1.5mm,刮板与印胶丝网接触时角度是45°,印刷速度是0.4m/s,纸张承受压力为4N,将血细胞过滤垫和上层垫片叠放



再与上层滤纸芯片粘接,然后上层滤纸芯片与中层滤纸芯片粘接,依次粘结至整个纸芯片装配完成。

[0059] 工作时,从上层垫片的加样区中加入全血约20 $\mu$ l,血液通过血细胞过滤垫滤去血细胞,向下流动通过上层滤纸芯片时,样本中的病原抗体结合胶体金标记的抗原,继续向下,流经下层硝酸纤维素膜检测区时,如果存在检测目标病原体抗体,检测区的非标记抗原将捕获结合了胶体金的目标抗体,引起胶体金聚集,产生可测量的颜色变化。胶体金标记的鼠IgG不会被捕获,继续向前移动,到达控制区的时候被羊抗鼠IgG捕获,产生可测量的颜色变化。

[0060] 通过颜色变化可以判断病原体的有/无;

[0061] 通过手机拍照回传至电脑分析,用imageJ对图像进行灰度分析,与标准曲线比较,确定病原体的数量。当检测病原体抗原时,胶体金标记抗原替换成胶体金标记第一抗体,非标记抗原替换为非标记第二抗体即可。

[0062] 实施例3:

[0063] 在实施例1的基础上,本实施例提供了采用实施例1所提供的纸芯片协助肺癌筛查检测肺癌标志物的方法。

[0064] 该方法可以用于检测肺癌相关抗原:癌胚抗原CEA、神经元特异性烯醇化酶NSE、细胞角蛋白19可溶性抗原Cyfra21-1、鳞状细胞癌抗原SCCA。

[0065] 用喷蜡打印机打印出疏水围堰,制备图案化芯片。在芯片上层滤纸芯不同区域(不同检测通道)分别包被胶体金标记的单克隆抗体CEA (200 $\mu$ g/mL)、NSE (500 $\mu$ g/mL)、Cyfra21-1 (300 $\mu$ g/mL)和SCCA (300 $\mu$ g/mL)。以上抗原或抗体同时混合胶体金标记的鼠IgG (100 $\mu$ g/mL),作为质控内参,如图6所示。

[0066] 参阅图7,非标记的病原体抗原包被于下层硝酸纤维素膜的检测区,羊抗鼠IgG抗体包被于下层硝酸纤维素膜的四个控制区。在芯片下层硝酸纤维素膜相应区域(不同检测通道)分别包被单克隆第二抗体CEA (300 $\mu$ g/mL)、NSE (300 $\mu$ g/mL)、Cyfra21-1 (300 $\mu$ g/mL)和SCCA (300 $\mu$ g/mL)。用1mm亚克力加工上层垫片和下层垫片。选用200 $\mu$ m厚血细胞过滤垫和500 $\mu$ m厚吸水垫。印胶方法、芯片组装与结果分析同实例2。

[0067] 以上所述仅为本发明的优选实施例而已,并不用于限制本发明,对于本领域的技术人员来说,本发明可以有各种更改和变化。凡在本发明的精神和原则之内,所作的任何修改、等同替换、改进等,均应包含在本发明的保护范围之内。

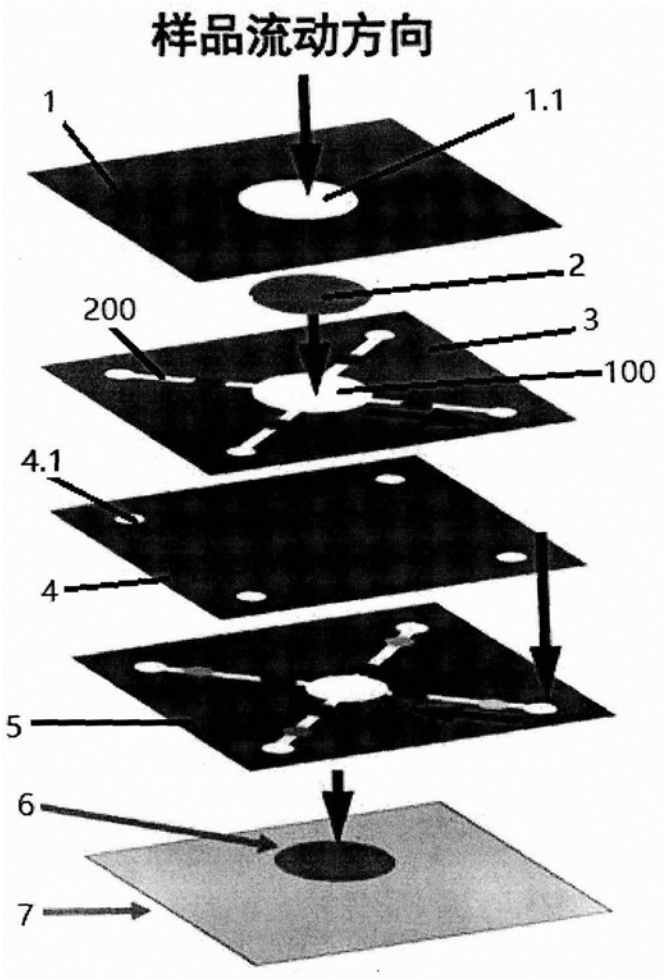


图1

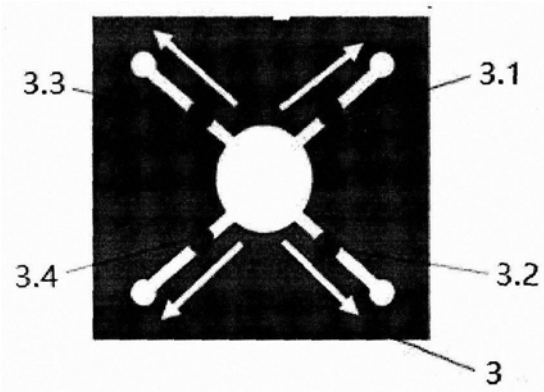


图2

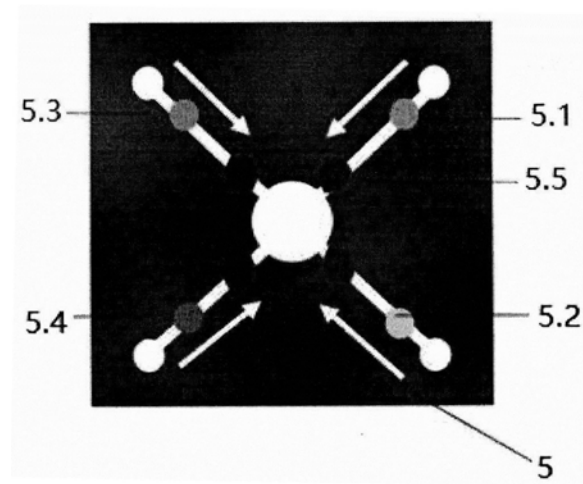


图3

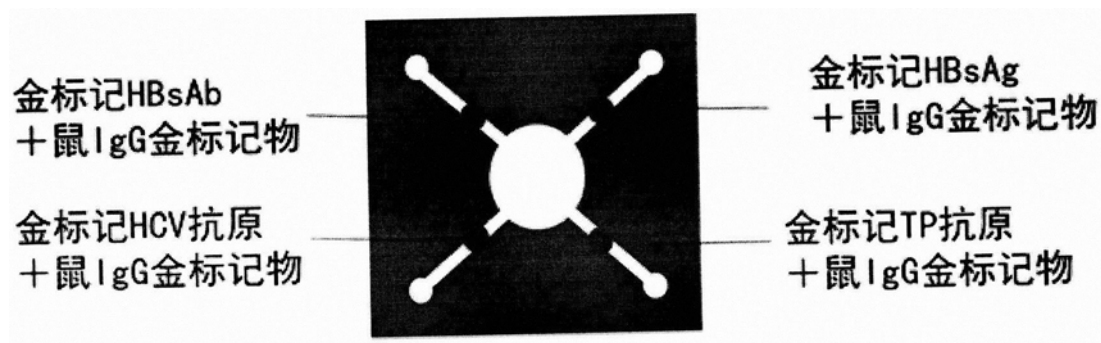


图4

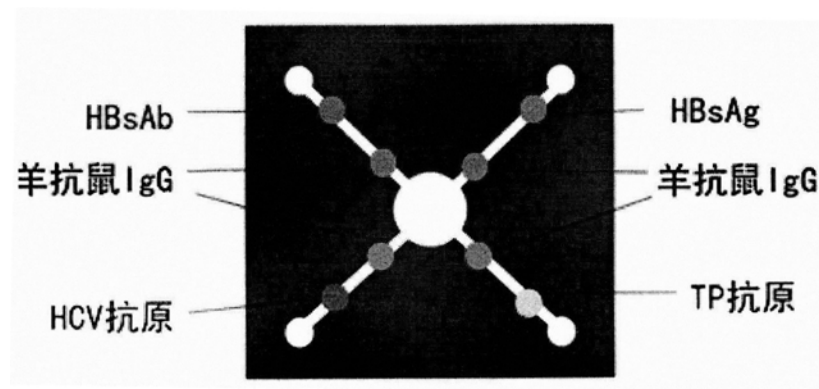


图5

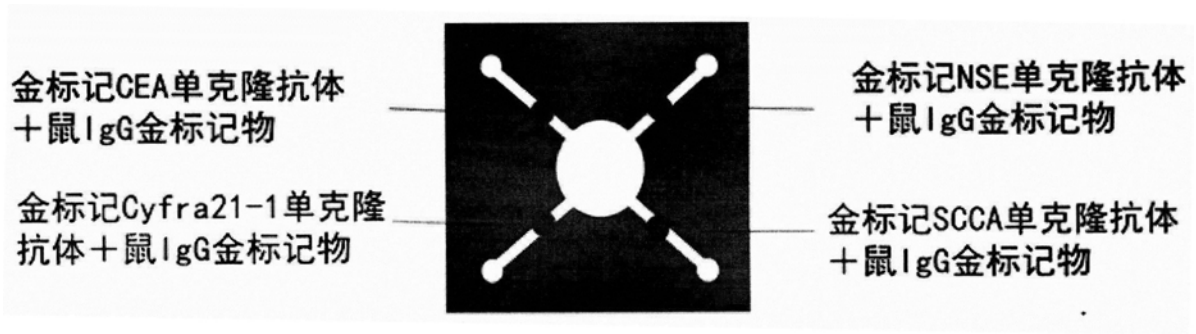


图6

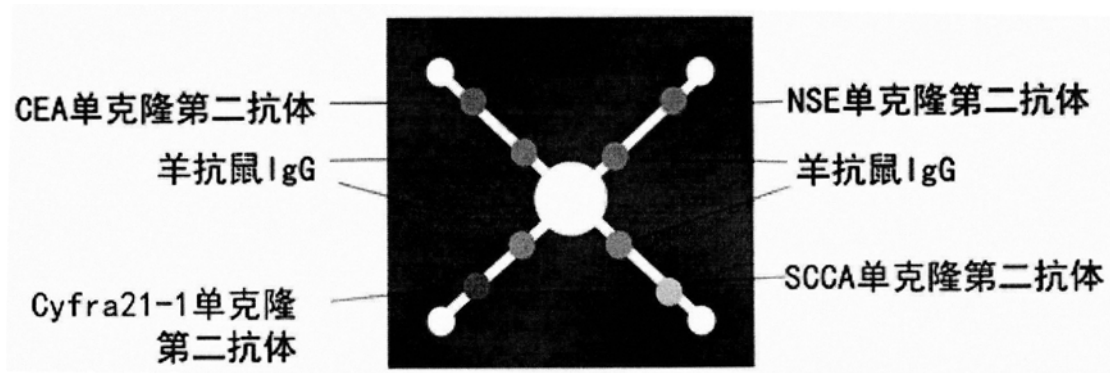


图7

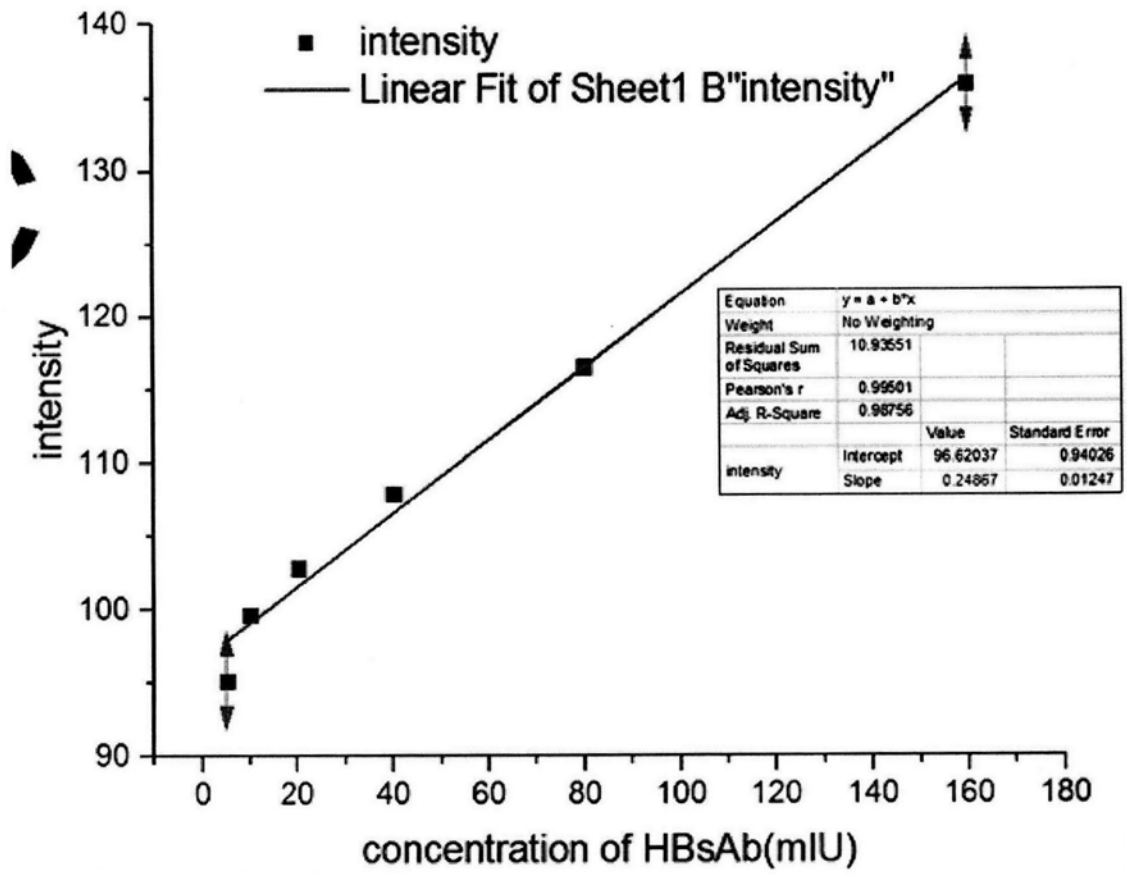


图8

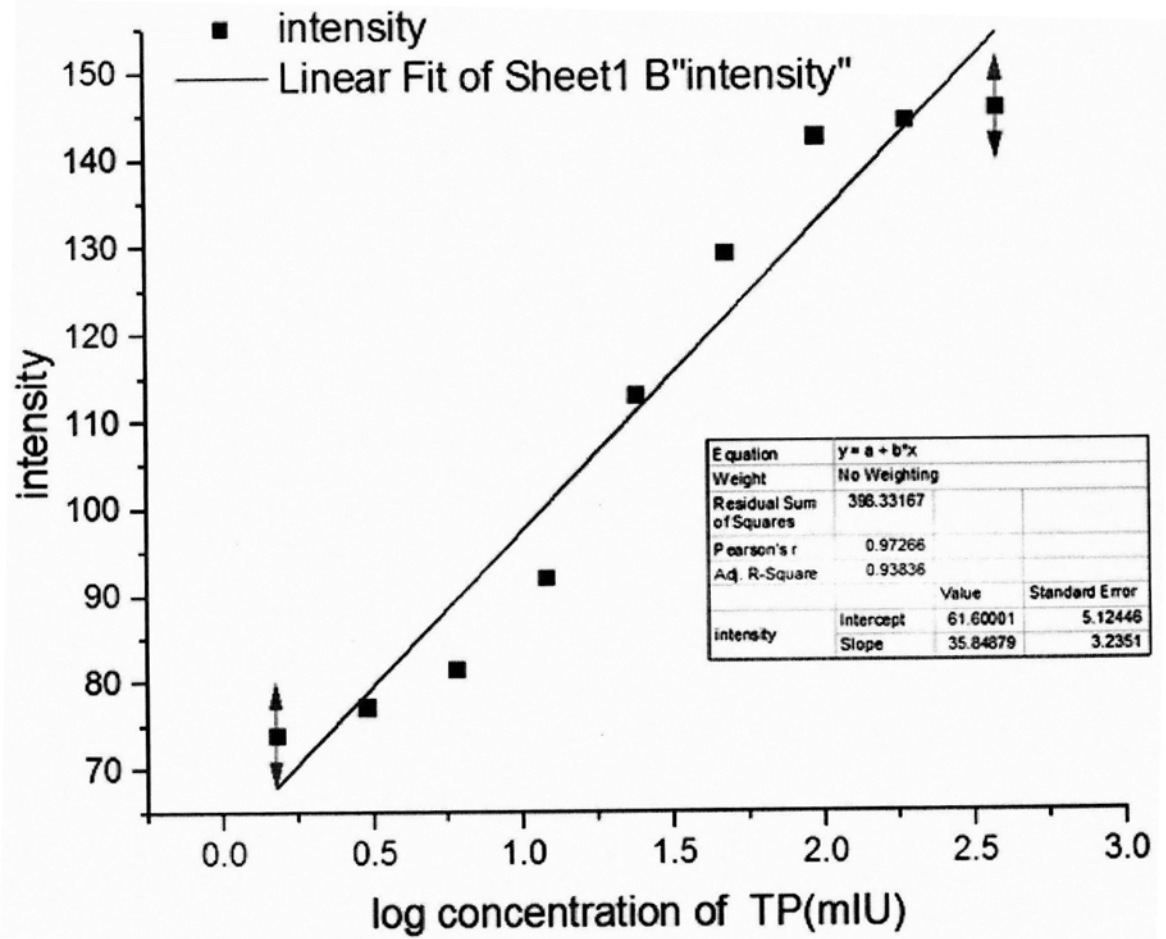


图9

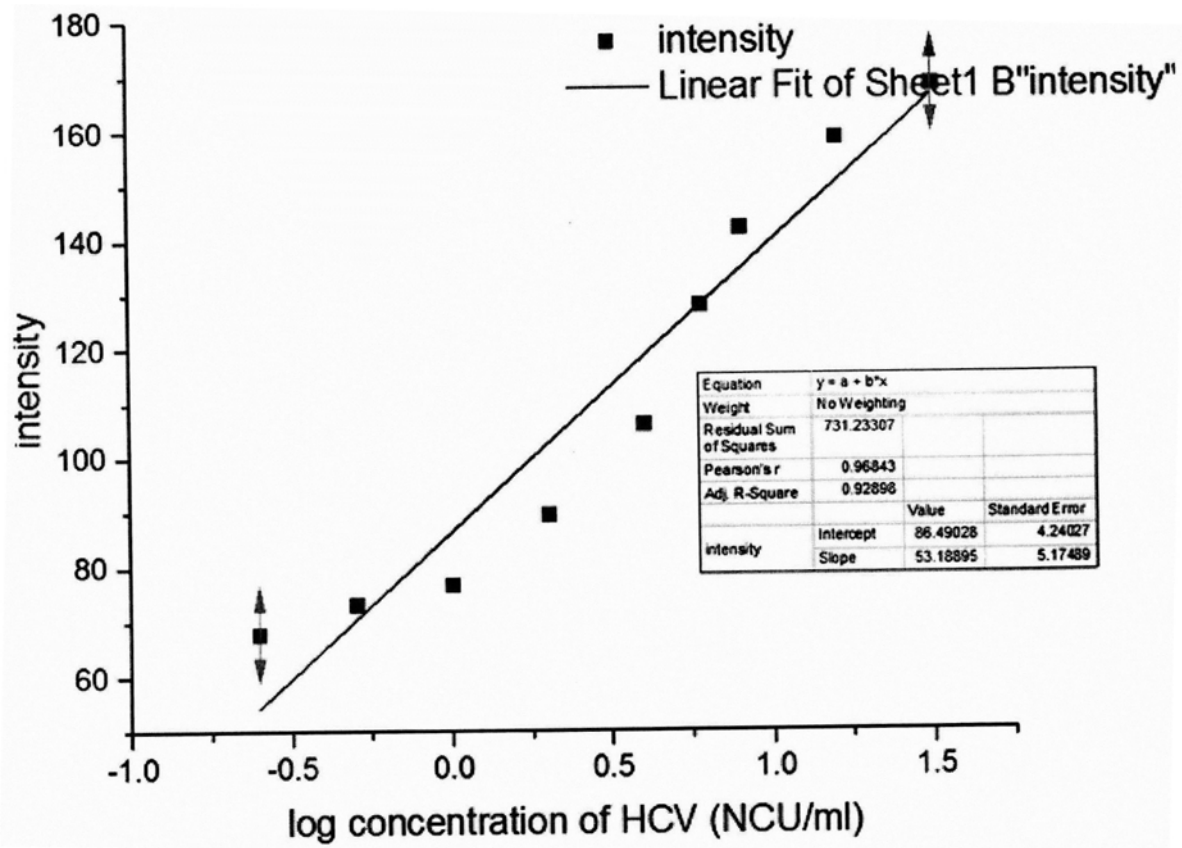


图10

专利名称(译)	用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片及方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN108761058A</a>	公开(公告)日	2018-11-06
申请号	CN201810528146.1	申请日	2018-05-19
[标]申请(专利权)人(译)	大连大学		
申请(专利权)人(译)	大连大学		
当前申请(专利权)人(译)	大连大学		
[标]发明人	郑国侠 王云华 王丹丹		
发明人	郑国侠 王云华 王丹丹		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/531 G01N33/574		
CPC分类号	G01N33/53 G01N33/531 G01N33/574		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及感染性疾病诊断标志物检测技术领域，具体涉及用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片及方法，包括上层滤纸芯片、中层滤纸芯片和下层硝酸纤维素膜；上层滤纸芯片和下层硝酸纤维素膜皆包括由中部向外辐射出的多个亲水区以及其余部分的疏水围堰，亲水区包括进样区和检测通道，上层纸芯片的检测通道包被各自对应的胶体金标记病原抗原及胶体金标记鼠IgG；下层硝酸纤维素膜的检测通道分别设有检测区和控制区，各检测区分别包被对应的非标记的病原体抗原，各控制区包被羊抗鼠IgG抗体。本发明所提供的用于平行检测多种感染性疾病标志物的纸芯片及方法，将免疫金标记技术与纸芯片相结合，实现了多重检测和半定量检测，检测结果及时准确。

