



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 106546733 A

(43) 申请公布日 2017. 03. 29

(21) 申请号 201510597807. 2

(22) 申请日 2015. 09. 18

(71) 申请人 天津红枫湾医疗科技有限公司

地址 300457 天津市滨海新区天津开发区  
第四大街 5 号泰达生物医药研发大厦  
A405

(72) 发明人 梁青

(51) Int. Cl.

G01N 33/569(2006. 01)

G01N 33/531(2006. 01)

权利要求书1页 说明书5页

### (54) 发明名称

一种人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒

### (57) 摘要

本发明涉及生物检测领域,特别是涉及一种人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒及其制备方法和用途。本发明提供一种人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒,包括试纸卡,试纸卡包括底板、及位于底板表面的从加样端开始依次排列的样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述金标垫上包含胶体金标记的 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原和鼠 IgG,所述硝酸纤维素膜上包被有检测线和质控线。本发明所提供的人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒兼具灵敏性和特异性,具有操作快速简便、结果准确、经济适用等优点。

1. 一种人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒,包括试纸卡,试纸卡包括底板、及位于底板表面的从加样端开始依次排列的样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述金标垫上包含胶体金标记的 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原和鼠 IgG,所述硝酸纤维素膜上包被有检测线和质控线。

2. 如权利要求 1 所述的胶体金检测试剂盒,其特征在于,所述硝酸纤维素膜上,检测线位于离加样端较近一侧,质控线位于离加样端较远一侧。

3. 如权利要求 1 所述的胶体金检测试剂盒,其特征在于,所述检测线上包被有 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原。

4. 如权利要求 1 所述的胶体金检测试剂盒,其特征在于,质控线上包被羊抗鼠 IgG。

5. 如权利要求 1 所述的胶体金检测试剂盒,其特征在于,所述样品垫采用缓冲液处理,所述缓冲液选自 PBS 缓冲液、Tris-HCl 缓冲液、甘氨酸缓冲液、硼酸盐缓冲液和柠檬酸-磷酸盐缓冲液中的一种或多种的组合,缓冲液的浓度为 60 ~ 100mM。

6. 如权利要求 1 所述的胶体金检测试剂盒,其特征在于,所述金标垫采用缓冲液处理,所述缓冲液选自甘氨酸缓冲液、Tris-HCl 缓冲液、硼酸盐缓冲液的一种或多种的组合,缓冲液的浓度为 20 ~ 40mM。

7. 根据权利要求 6 所述的胶体金检测试剂盒,其特征在于,所述缓冲液中还包括反应增强剂,所述反应增强剂选自 PEG4000、PEG6000、PEG8000 和 PEG20000 中的任意一种,所述反应增强剂的浓度为 20 ~ 50g/L。

8. 如权利要求 1 所述的胶体金检测试剂盒,其特征在于,还包括卡壳,所述卡壳包括背卡和上盖,所述背卡设有试纸卡卡槽,所述试纸卡嵌于所述试纸卡卡槽内,所述上盖设有测试窗和加样孔,所述测试窗的位置与所述检测线和质控线的位置相配合,所述加样孔的位置与所述样品垫的位置相配合。

9. 如权利要求 1 所述的胶体金检测试剂盒,其特征在于,所述检测试剂盒用于定性检测尿液中人类免疫缺陷病毒抗体。

10. 根据权利要求 1~9 任一权利要求所述的胶体金检测试剂盒的制备方法,具体包括如下步骤:

1) 用胶体金标记的 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原和鼠 IgG 溶液喷涂经预处理的金标垫,制得包含 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原和鼠 IgG 的金标垫;

2) 在硝酸纤维素膜的检测线和质控线上分别喷涂 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原及羊抗鼠 IgG,制得包被后的硝酸纤维素膜;

3) 将样品垫、步骤 1) 制备金标垫、步骤 2) 制备的硝酸纤维素膜、吸水垫依次粘贴在底板上,切裁制得检测试纸卡;最后将检测试纸卡装入卡壳制得检测试剂盒。

## 一种人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒

### 技术领域

[0001] 本发明涉及生物检测领域,特别是涉及一种人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒及其制备方法和用途。

### 背景技术

[0002] 艾滋病的病原体,即人类免疫缺陷病毒,根据序列和血清反应的不同,可分为 HIV-1 和 HIV-2 两种类型。

[0003] HIV-1 的包膜来自宿主细胞膜,包膜中的两种糖蛋白 gp120 和 gp41 是 HIV-1 重要的抗原标志,均由 env 基因编码。gp160 分子为糖蛋白前体,可裂解为 gp120 和 gp41。gp120 分子称外膜蛋白,能与 T 细胞 CD4 分子特异性结合而识别靶细胞。gp41 平时镶嵌在包膜内,当 gp120 与 CD4 分子结合时, gp120 发生构象变化,暴露出 HIV 辅助受体的结合位点,然后与辅助受体结合后, gp41 介导 HIV 与 CD4 细胞融合,从而 HIV 进入细胞内。HIV 表面包膜蛋白的免疫原性比病毒核心蛋白强。几乎 97%~100% 艾滋病患者血清中可检测到针对 gp120、gp160 的抗体。gp 41 抗体稳定而持久,对 HIV-1 的诊断有重要意义。

[0004] gp36 是 HIV-2 的跨膜蛋白,是 HIV-2 重要的抗原标志,对 HIV-2 的诊断有重要意义。

[0005] 因此,采用 gp120、gp41 和 gp36 作为 HIV 诊断的联合抗原标志,具有非常重要的临床意义。现有技术中,尚未有此类试剂盒。

### 发明内容

[0006] 鉴于以上所述现有技术的缺点,本发明的目的在于提供一种人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒及其制备方法和用途,用于解决现有技术中的问题。

[0007] 为实现上述目的及其他相关目的,本发明采用以下技术方案:

本发明的第一方面,提供一种人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒,包括试纸卡,所述试纸卡包括底板、及位于底板表面的从加样端开始依次排列的样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水垫,所述金标垫上包含胶体金标记的 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原和鼠 IgG,所述硝酸纤维素膜上包被有检测线和质控线。

[0008] 优选的,所述底板为 PVC 底板。

[0009] 优选的,所述硝酸纤维素膜上,检测线位于离加样端较近一侧,质控线位于离加样端较远一侧。

[0010] 优选的,所述检测线上包被有 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原。

[0011] 优选的,质控线上包被羊抗鼠 IgG。

[0012] 优选的,所述样品垫采用缓冲液处理,所述缓冲液选自 PBS 缓冲液、Tris-HCl 缓冲液、甘氨酸缓冲液、硼酸盐缓冲液和柠檬酸-磷酸盐缓冲液中的一种或多种的组合,缓冲液的浓度为 60-100mM。

[0013] 优选的,本发明所述的金标垫还经过预处理,预处理时所使用的预处理缓冲液选

自甘氨酸缓冲液、Tris-HCl 缓冲液、硼酸盐缓冲液的一种或多种的组合,缓冲液的浓度为 20-40mM。

[0014] 优选的,所述缓冲液还包括反应增强剂,所述反应增强剂选自 PEG4000、PEG6000、PEG8000 和 PEG20000 中的任意一种,所述反应增强剂的浓度为 20 ~ 50g/L。

[0015] 优选的,所述缓冲溶液还包括表面活性剂,所述表面活性剂选自 S-19 TWEEN 20、S-20 TWEEN 80、S-13 TRITON X-45、S-14 TRITON X-100、S-15 TRITON X305 中的任意一种或多种的组合,所述表面活性剂的浓度为 25 ~ 40g/L。

[0016] 优选的,为了使得试剂盒具有更佳的灵敏度和显色效果,本发明所述的金标垫在预处理时所使用的预处理缓冲液包括下列组分:蔗糖、氢氧化钠、氯化钠和甘氨酸,且蔗糖、氢氧化钠、氯化钠和甘氨酸的总浓度为 5.0 — 7.0g/L,缓冲液的 pH 值为 7.2 — 7.6。

[0017] 优选的,各组分在缓冲液中的浓度为:

蔗糖 1.5-2.5g/L;氢氧化钠 0.25-0.5 g/L;氯化钠 0.25-0.75g/L;甘氨酸 3.0-3.25g/L。

[0018] 所述预处理缓冲液的溶剂为水。

[0019] 所述预处理的具体步骤为:将金标垫在预处理液中浸泡 1.5~2 h,取出放于 36~38℃烘干。

[0020] 所述预处理缓冲液可使用本领域各种常用的 pH 调节剂进行 pH 值的调节。

[0021] 优选的,所述试剂盒还包括卡壳,所述卡壳包括背卡和上盖,所述背卡设有试纸卡卡槽,所述试纸卡嵌于所述试纸卡卡槽内,所述上盖设有测试窗和加样孔,所述测试窗的位置与所述检测线和质控线的位置相配合,所述加样孔的位置与所述样品垫的位置相配合。

[0022] 更优选的,所述卡壳为塑料卡壳。

[0023] 优选的,所述检测试剂盒用于定性检测人尿液中人类免疫缺陷病毒抗体。

[0024] 本发明第二方面提供所述人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒的制备方法,包括如下步骤:

1) 用胶体金标记的 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原和鼠 IgG 溶液喷涂金标垫,制得包含 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原和鼠 IgG 的金标垫;

2) 在硝酸纤维素膜的检测线和质控线上分别喷涂 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原及羊抗鼠 IgG,制得包被后的硝酸纤维素膜;

3) 将样品垫、步骤 1) 制备金标垫、步骤 2) 制备的硝酸纤维素膜、吸水垫依次粘贴在底板上,切裁制得检测试纸卡;最后将检测试纸卡装入卡壳制得检测试剂盒。

[0025] 优选的,本发明所述的金标垫还经过预处理,预处理时所使用的预处理缓冲液选自甘氨酸缓冲液、Tris-HCl 缓冲液、硼酸盐缓冲液的一种或多种的组合,缓冲液的浓度为 20-40mM。

[0026] 优选的,所述缓冲液还包括反应增强剂,所述反应增强剂选自 PEG4000、PEG6000、PEG8000 和 PEG20000 中的任意一种,所述反应增强剂的浓度为 20 ~ 50g/L。

[0027] 优选的,所述缓冲溶液还包括表面活性剂,所述表面活性剂选自 S-19 TWEEN 20、S-20 TWEEN 80、S-13 TRITON X-45、S-14 TRITON X-100、S-15 TRITON X305 中的任意一种或多种的组合,所述表面活性剂的浓度为 25 ~ 40g/L。

[0028] 优选的,为了使得试剂盒具有更佳的灵敏度和显色效果,本发明所述的金标垫在

预处理时所使用的预处理缓冲液包括下列组分：蔗糖、氢氧化钠、氯化钠和甘氨酸，且蔗糖、氢氧化钠、氯化钠和甘氨酸的总浓度为 5.0 — 7.0g/L，缓冲液的 pH 值为 7.2 — 7.6。

[0029] 优选的，各组分在缓冲液中的浓度为：

蔗糖 1.5-2.5g/L；氢氧化钠 0.25-0.5 g/L；氯化钠 0.25-0.75g/L；甘氨酸 3.0-3.25g/L。

[0030] 所述预处理缓冲液的溶剂为水。

[0031] 所述预处理的具体步骤为：将金标垫在预处理液中浸泡 1.5~2 h，取出放于 36~38℃ 烘干。

[0032] 所述预处理缓冲液可使用本领域各种常用的 pH 调节剂进行 pH 值的调节。

[0033] 本发明第三方面提供所述人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒在人类免疫缺陷病毒抗体检测领域的用途。

[0034] 本发明的有益效果为：

本发明所提供的人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒兼具高灵敏性和高特异性，能够快速检测人类免疫缺陷病毒抗体。此外，所述检测试剂盒具有操作快速简便、结果准确、经济适用等优点。

## 具体实施方式

[0035] 以下通过特定的具体实例说明本发明的实施方式，本领域技术人员可由本说明书所揭露的内容轻易地了解本发明的其他优点与功效。本发明还可以通过另外不同的具体实施方式加以实施或应用，本说明书中的各项细节也可以基于不同观点与应用，在没有背离本发明的精神下进行各种修饰或改变。

[0036] 在进一步描述本发明具体实施方式之前，应理解，本发明的保护范围不局限于下述特定的具体实施方案；还应当理解，本发明实施例中使用的术语是为了描述特定的具体实施方案，而不是为了限制本发明的保护范围；在本发明说明书和权利要求书中，除非文中另外明确指出，单数形式“一个”、“一”和“这个”包括复数形式。

[0037] 当实施例给出数值范围时，应理解，除非本发明另有说明，每个数值范围的两个端点以及两个端点之间任何一个数值均可选用。除非另外定义，本发明中使用的所有技术和科学术语与本技术领域技术人员通常理解的意义相同。除实施例中使用的具体方法、设备、材料外，根据本技术领域的技术人员对现有技术的掌握及本发明的记载，还可以使用与本发明实施例中所述的方法、设备、材料相似或等同的现有技术的任何方法、设备和材料来实现本发明。

[0038] 除非另外说明，本发明中所公开的实验方法、检测方法、制备方法均采用本技术领域常规的分子生物学、生物化学、染色质结构和分析、分析化学、细胞培养、重组 DNA 技术及相关领域的常规技术。这些技术在现有文献中已有完善说明，具体可参见 Sambrook 等 MOLECULAR CLONING :A LABORATORY MANUAL, Second edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 and Third edition, 2001; Ausubel 等, CURRENT PROTOCOLS IN MOLECULAR BIOLOGY, John Wiley & Sons, New York, 1987 and periodic updates ; the series METHODS IN ENZYMOLOGY, Academic Press, San Diego; Wolf, CHROMATIN STRUCTURE AND FUNCTION, Third edition, Academic Press, San Diego, 1998; METHODS

IN ENZYMOLOGY, Vol. 304, Chromatin (P. M. Wassarman and A. P. Wolffe, eds.), Academic Press, San Diego, 1999; 和 METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY, Vol. 119, Chromatin Protocols (P. B. Becker, ed.) Humana Press, Totowa, 1999 等。

**[0039] 实施例 1 本发明试纸卡的制备**

1) 使用预处理缓冲液对金标垫进行预处理, 预处理缓冲液为: 蔗糖 1.5g/L, 氢氧化钠 0.5g/L, 氯化钠 0.5g/L, 甘氨酸 3.0g/L 的水溶液, pH=7.4, 预处理的具体步骤为: 将金标垫在预处理液中浸泡 1.5 h, 取出放于 37 °C 烘干; 然后用胶体金标记的 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原和鼠 IgG 溶液喷涂经预处理的金标垫, 制得包被 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原和鼠 IgG 的金标垫, 溶液中胶体金与抗原的质量比为 4.5:1, 胶体金与鼠 IgG 的质量比为 4.5:1, 溶液的总浓度为 10mg/mL, 喷涂量为 4.5uI/cm;

2) 在硝酸纤维素膜的检测线和质控线上分别喷涂浓度均为 1mg/mL 的 gp120 抗原溶液、gp41 抗原溶液、gp36 抗原溶液和羊抗鼠 IgG 溶液, 喷涂量为 1uI/cm, 制得包被后的硝酸纤维素膜;

3) 将样品垫、步骤 1) 制备金标垫、步骤 2) 制备的硝酸纤维素膜、吸水垫依次粘贴在 PVC 底板上, 切裁制得宽 3-5mm 的检测试纸卡; 最后将检测试纸卡装入卡壳制得检测试剂盒。

**[0040] 实施例 2 对比试剂盒的制备**

对比试纸卡的制备: 采用 25mM 甘氨酸缓冲液预处理金标垫, 其他试剂及实验方法均同实施例 1。

[0041] ) 采用 25mM 甘氨酸缓冲液预处理金标垫, 然后用胶体金标记的 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原和鼠 IgG 溶液喷涂经预处理的金标垫, 制得包被 gp120 抗原、gp41 抗原、gp36 抗原和鼠 IgG 的金标垫, 溶液中胶体金与抗原的质量比为 4.5:1, 胶体金与鼠 IgG 的质量比为 4.5:1, 溶液的总浓度为 10mg/mL, 喷涂量为 4.5uI/cm;

2) 在硝酸纤维素膜的检测线和质控线上分别喷涂浓度均为 1mg/mL 的 gp120 抗原溶液、gp41 抗原溶液、gp36 抗原溶液和羊抗鼠 IgG 溶液, 喷涂量为 1uI/cm, 制得包被后的硝酸纤维素膜;

3) 将样品垫、步骤 1) 制备金标垫、步骤 2) 制备的硝酸纤维素膜、吸水垫依次粘贴在 PVC 底板上, 切裁制得宽 3-5mm 的检测试纸卡; 最后将检测试纸卡装入卡壳制得检测试剂盒。

**[0042] 实施例 3 检测试剂盒的特异性实验**

检测方法:

1. 取实施例 1 制备的本发明试剂盒和实施例 2 的对比试剂盒, 将试剂盒放置在水平台面上。

[0043] 待测样品的制备: 按表 1 的四类实验对象, 以检测者的尿液为样本, 使用 0.02M pH7.4 的 PBS 缓冲液稀释, 稀释比例为 1:1。

[0044] 每类实验对象为 100 人, 对比实验所用的样品相同, 检测结果如表 1:

表 1 检测试剂盒特异性试验结果

检验对象	本发明试剂盒检测结果	
	阳性（例）	阴性（例）
正常人	0	100
感染乙肝病毒患者	0	100
感染人类免疫缺陷病毒患者	99	1

检验对象	对比试剂盒检测结果	
	阳性（例）	阴性（例）
正常人	0	100
感染乙肝病毒患者	5	95
感染人类免疫缺陷病毒患者	92	8

由上表可知，本发明的检测试剂盒对其他病毒例如乙肝病毒均无交叉反应，特异性良好。

[0045] 综上所述，本发明所提供的检测试剂盒具有良好的抗干扰性和特异性，且具有很好的灵敏性，阴性本底更低，有效克服了现有技术中的种种缺点而具高度产业利用价值。

[0046] 上述实施例仅例示性说明本发明的原理及其功效，而非用于限制本发明。任何熟悉此技术的人士皆可在不违背本发明的精神及范畴下，对上述实施例进行修饰或改变。因此，举凡所属技术领域中具有通常知识者在未脱离本发明所揭示的精神与技术思想下所完成的一切等效修饰或改变，仍应由本发明的权利要求所涵盖。

专利名称(译)	一种人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">CN106546733A</a>	公开(公告)日	2017-03-29
申请号	CN201510597807.2	申请日	2015-09-18
[标]申请(专利权)人(译)	天津红枫湾医疗科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	天津红枫湾医疗科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	天津红枫湾医疗科技有限公司		
[标]发明人	梁青		
发明人	梁青		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/56988 G01N33/531 G01N2333/16 G01N2800/24		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及生物检测领域，特别是涉及一种人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒及其制备方法和用途。本发明提供一种人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒，包括试纸卡，试纸卡包括底板、及位于底板表面的从加样端开始依次排列的样品垫、金标垫、硝酸纤维素膜和吸水垫，所述金标垫上包含胶体金标记的gp120抗原、gp41抗原、gp36抗原和鼠IgG，所述硝酸纤维素膜上包被有检测线和质控线。本发明所提供的人类免疫缺陷病毒抗体胶体金检测试剂盒兼具灵敏性和特异性，具有操作快速简便、结果准确、经济适用等优点。