



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106405091 A

(43)申请公布日 2017.02.15

(21)申请号 201610741921.2

(22)申请日 2016.08.28

(71)申请人 李献兵

地址 262100 山东省潍坊市安丘市南苑路
563号2号楼6单元211号

(72)发明人 李献兵 吕岩 田净净

(74)专利代理机构 贵阳派腾阳光知识产权代理
事务所(普通合伙) 52110

代理人 管宝伟

(51)Int.Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/574(2006.01)

G01N 33/559(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

权利要求书1页 说明书4页

(54)发明名称

一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析
试纸及其制备方法

(57)摘要

本发明提供了一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸,所述试纸由以下步骤制备而得:(1)制备胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物;(2)制备双抗体夹心试纸:a,制备结合垫:以玻璃纤维膜为材料,将其剪切成备选的规格,备用;b,制备样品吸收垫:将样品吸收垫用PBS缓冲液浸泡12h,烘干备用;c,硝酸纤维膜的制备:在硝酸纤维素膜上用滑膜仪依次在不同位置划出检测线1、检测线2和质控线,所述检测线1包被有胶体金-AFP抗体复合物,所述检测线2包被有胶体金-LDH抗体复合物,所述质控线包被有羊抗兔单克隆抗体,备用;d,试纸的组装:将样品吸收垫、结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫依次粘贴在PVC底板上,40℃下干燥处理40min后切成2cm宽的试纸条。

1. 一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸,其特征在于,所述试纸由以下步骤制备而得:

(1) 制备胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物:取胶体金溶液分成均等两份,记为第一份、第二份,调节pH在6-8,将AFP单克隆抗体以1:130的体积比加入到第一份胶体金溶液中,将LDH单克隆抗体以1:150的体积比加入到第二份胶体金溶液中,震荡使单克隆抗体与得以标记,再分别加入质量浓度为5%的胎牛血清,最后浓度分别为1.2%和1.5%,两份溶液4℃下先低速离心10min,取上清液再高速离心50min处理,弃去上清液,将沉淀物用硼酸盐缓冲液溶解离心2次,所得离心沉淀物溶解于硼酸盐缓冲液中,溶解量使其达到原体积,再次离心后所得上清液浓缩成原体积的1/12,4℃下保存,即得到所述胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物。

(2) 制备双抗体夹心试纸:

a, 制备结合垫:以玻璃纤维膜为材料,将其剪切成备选的规格,备用;

b, 制备样品吸收垫:将样品吸收垫用PBS缓冲液浸泡12h,烘干备用;

c, 硝酸纤维膜的制备:在硝酸纤维素膜上用滑膜仪依次在不同位置划出检测线1、检测线2和质控线,所述检测线1包被有胶体金-AFP抗体复合物,所述检测线2包被有胶体金-LDH抗体复合物,所述质控线包被有羊抗兔单克隆抗体,备用;

d, 试纸的组装:将样品吸收垫、结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫依次粘贴在PVC底板上,40℃下干燥处理40min后切成2cm宽的试纸条。

2. 如权利要求1所述的一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸,其特征在于,所述检测线1上胶体金-AFP抗体复合物的包被浓度为3mg/mL,所述检测线2上胶体金-LDH抗体复合物的包被浓度为3mg/mL,所述质控线羊抗兔单克隆抗体的包被浓度为3.5mg/mL。

3. 如权利要求1所述的一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸,其特征特征在于,所述(2)中PBS缓冲液中,PBS浓度为0.02mol/L,还含有1.5-2.5%的BSA,2-2.5%的海藻糖,0.6-0.8%的PVP。

4. 如权利要求1所述的一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸,其特征特征在于,所述胶体金的直径为30-40nm。

一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及心胸疾病检测技术领域,具体涉及一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸。

背景技术

[0002] 畸胎瘤是一种真实性肿瘤。有2个或3个胚层的几种不同类型的组织构成,这些组织可由成熟的、非成熟的或混合型成分所组成。偶尔也可见由1个胚层组织成分占优势,或由一种高度特异性的组织类型占绝对优势而成。畸胎瘤最常发生于卵巢,但也可见于睾丸、腹膜后、骶尾部、纵隔等处,其他部位少见。畸胎瘤良性和恶性的比率与发生部位有关。在卵巢囊肿畸胎瘤中恶性仅占1%~3%,而在睾丸则占95%,除发生在性腺外,纵隔也是其好发部位,绝大多数位于前纵隔,尤其是前下纵隔,位于后纵隔者仅为3%~8%。X线检查多为胸骨后方单发的块状阴影,畸胎瘤的特点是:①常见于青壮年;②良性畸胎瘤一般无明显症状,常在胸部X线检查时被发现,恶性者则可出现胸痛、刺激性咳嗽、呼吸困难等不适;③若肿瘤破裂穿入气管或支气管,则可咳出囊内容物(豆渣样皮脂、毛发、牙齿等),若穿破纵隔胸膜则出现胸腔积液,若穿破心包则可造成心脏压塞;④若肿瘤巨大并突入一侧胸腔,则会造成肺不张、上腔静脉综合征等;⑤X线检查表现为块影密度均匀不一,含脂肪组织部位密度明显降低,部分囊壁可出现钙化,甚至可出现骨或牙齿之阴影;⑥良性者肿瘤标志物检测为阴性,恶性者则可出现AFP、LDH不同的阳性表现,可为判断畸胎瘤恶化的标志。

[0003] 目前,良性畸胎瘤可经手术切除肿瘤治疗,但恶性畸胎瘤在就诊时大部分病人有转移无法切除,即使切除主要也是为了活检以明确诊断,而且病人大多在半年内复发或转移而死亡。临床上,一般这种分期在Ⅱ~Ⅲ期的病人已有周围组织侵犯和转移,主要以非手术治疗为主,目前多采用放疗、化疗,但疗效不佳。所以对于恶性畸胎瘤若可以早诊断,早发现,早治疗,才能避免病情的恶化。

发明内容

[0004] 本发明解决的技术问题就是提供一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸。

[0005] 本发明的技术方案为:一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸,所述试纸由以下步骤制备而得:

[0006] (1) 制备胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物:取胶体金溶液分成均等两份,记为第一份、第二份,调节pH在6-8,将AFP单克隆抗体以1:130的体积比加入到第一份胶体金溶液中,将LDH单克隆抗体以1:150的体积比加入到第二份胶体金溶液中,震荡使单克隆抗体与得以标记,再分别加入质量浓度为5%的胎牛血清,最后浓度分别为1.2%和1.5%,两份溶液4℃下先低速离心10min,取上清液再高速离心50min处理,弃去上清液,将沉淀物用硼酸盐缓冲液溶解离心2次,所得离心沉淀物溶解于硼酸盐缓冲液中,溶解量使其达到原体积,再次离心后所得上清液浓缩成原体积的1/12,4℃下保存,即得到所述胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物。

[0007] (2) 制备双抗体夹心试纸:

[0008] a, 制备结合垫: 以玻璃纤维膜为材料, 将其剪切成备选的规格, 备用;

[0009] b, 制备样品吸收垫: 将样品吸收垫用PBS缓冲液浸泡12h, 烘干备用;

[0010] c, 硝酸纤维膜的制备: 在硝酸纤维素膜上用滑膜仪依次在不同位置划出检测线1、检测线2和质控线, 所述检测线1包被有胶体金-AFP抗体复合物, 所述检测线2包被有胶体金-LDH抗体复合物, 所述质控线包被有羊抗兔单克隆抗体, 备用;

[0011] d, 试纸的组装: 将样品吸收垫、结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫依次粘贴在PVC底板上, 40℃下干燥处理40min后切成2cm宽的试纸条。

[0012] 进一步地, 所述检测线1上胶体金-AFP抗体复合物的包被浓度为3mg/mL, 所述检测线2上胶体金-LDH抗体复合物的包被浓度为3mg/mL, 所述质控线羊抗兔单克隆抗体的包被浓度为3.5mg/mL。

[0013] 进一步地, 所述(2)中PBS缓冲液中, PBS浓度为0.02mol/L, 还含有1.5-2.5%的BSA, 2-2.5%的海藻糖, 0.6-0.8%的PVP, 可加快样品区的层析缓释作用。

[0014] 进一步地, 所述胶体金的直径为30-40nm。

[0015] 本发明的试纸使用方法: 按临床检验常规取血分离得到血清, 用吸管吸取100-120ul血清滴加到制备的试纸的样品吸收垫上, 10分钟左右判读结果: 如果检测线1和质控线均有红色显示则判定AFP为阳性, 反之为阴性; 如果检测线2和质控线均有红色显示则判定LDH为阳性, 反之为阴性; 如果质控线未见显色反应, 则判断检测无效。

[0016] 本发明的有益效果体现在: 本发明操作简单, 特异性强, 灵敏度高, 通过AFP和LDH双抗体夹心法判断畸胎瘤是否转化为恶性, 为畸胎瘤的诊治提供重要的参考依据。

具体实施方式

[0017] 实施例1: 一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸, 所述试纸由以下步骤制备而得:

[0018] (1) 制备胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物: 取胶体金溶液分成均等两份, 记为第一份、第二份, 调节pH在6, 将AFP单克隆抗体以1:130的体积比加入到第一份胶体金溶液中, 将LDH单克隆抗体以1:150的体积比加入到第二份胶体金溶液中, 震荡使单克隆抗体与得以标记, 再分别加入质量浓度为5%的胎牛血清, 最后浓度分别为1.2%和1.5%, 两份溶液4℃下先低速离心10min, 取上清液再高速离心50min处理, 弃去上清液, 将沉淀物用硼酸盐缓冲液溶解离心2次, 所得离心沉淀物溶解于硼酸盐缓冲液中, 溶解量使其达到原体积, 再次离心后所得上清液浓缩成原体积的1/12, 4℃下保存, 即得到所述胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物。

[0019] (2) 制备双抗体夹心试纸:

[0020] a, 制备结合垫: 以玻璃纤维膜为材料, 将其剪切成备选的规格, 备用;

[0021] b, 制备样品吸收垫: 将样品吸收垫用PBS缓冲液浸泡12h, 烘干备用;

[0022] c, 硝酸纤维膜的制备: 在硝酸纤维素膜上用滑膜仪依次在不同位置划出检测线1、检测线2和质控线, 所述检测线1包被有胶体金-AFP抗体复合物, 所述检测线2包被有胶体金-LDH抗体复合物, 所述质控线包被有羊抗兔单克隆抗体, 备用;

[0023] d, 试纸的组装: 将样品吸收垫、结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫依次粘贴在PVC底板

上,40℃下干燥处理40min后切成2cm宽的试纸条。

[0024] 其中,所述检测线1上胶体金-AFP抗体复合物的包被浓度为3mg/mL,所述检测线2上胶体金-LDH抗体复合物的包被浓度为3mg/mL,所述质控线羊抗兔单克隆抗体的包被浓度为3.5mg/mL;所述(2)中PBS缓冲液中,PBS浓度为0.02mol/L,还含有1.5%的BSA,2%的海藻糖,0.6%的PVP,可加快样品区的层析缓释作用;所述胶体金的直径为30nm。

[0025] 实施例2:一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸,所述试纸由以下步骤制备而得:

[0026] (1) 制备胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物:取胶体金溶液分成均等两份,记为第一份、第二份,调节pH在7,将AFP单克隆抗体以1:130的体积比加入到第一份胶体金溶液中,将LDH单克隆抗体以1:150的体积比加入到第二份胶体金溶液中,震荡使单克隆抗体与得以标记,再分别加入质量浓度为5%的胎牛血清,最后浓度分别为1.2%和1.5%,两份溶液4℃下先低速离心10min,取上清液再高速离心50min处理,弃去上清液,将沉淀物用硼酸盐缓冲液溶解离心2次,所得离心沉淀物溶解于硼酸盐缓冲液中,溶解量使其达到原体积,再次离心后所得上清液浓缩成原体积的1/12,4℃下保存,即得到所述胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物。

[0027] (2) 制备双抗体夹心试纸:

[0028] a,制备结合垫:以玻璃纤维膜为材料,将其剪切成备选的规格,备用;

[0029] b,制备样品吸收垫:将样品吸收垫用PBS缓冲液浸泡12h,烘干备用;

[0030] c,硝酸纤维膜的制备:在硝酸纤维素膜上用滑膜仪依次在不同位置划出检测线1、检测线2和质控线,所述检测线1包被有胶体金-AFP抗体复合物,所述检测线2包被有胶体金-LDH抗体复合物,所述质控线包被有羊抗兔单克隆抗体,备用;

[0031] d,试纸的组装:将样品吸收垫、结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫依次粘贴在PVC底板上,40℃下干燥处理40min后切成2cm宽的试纸条。

[0032] 其中,所述检测线1上胶体金-AFP抗体复合物的包被浓度为3mg/mL,所述检测线2上胶体金-LDH抗体复合物的包被浓度为3mg/mL,所述质控线羊抗兔单克隆抗体的包被浓度为3.5mg/mL;所述(2)中PBS缓冲液中,PBS浓度为0.02mol/L,还含有2.0%的BSA,2.25%的海藻糖,0.7%的PVP,可加快样品区的层析缓释作用;所述胶体金的直径为35nm。

[0033] 实施例3:一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸,所述试纸由以下步骤制备而得:

[0034] (1) 制备胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物:取胶体金溶液分成均等两份,记为第一份、第二份,调节pH在8,将AFP单克隆抗体以1:130的体积比加入到第一份胶体金溶液中,将LDH单克隆抗体以1:150的体积比加入到第二份胶体金溶液中,震荡使单克隆抗体与得以标记,再分别加入质量浓度为5%的胎牛血清,最后浓度分别为1.2%和1.5%,两份溶液4℃下先低速离心10min,取上清液再高速离心50min处理,弃去上清液,将沉淀物用硼酸盐缓冲液溶解离心2次,所得离心沉淀物溶解于硼酸盐缓冲液中,溶解量使其达到原体积,再次离心后所得上清液浓缩成原体积的1/12,4℃下保存,即得到所述胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物。

[0035] (2) 制备双抗体夹心试纸:

[0036] a,制备结合垫:以玻璃纤维膜为材料,将其剪切成备选的规格,备用;

[0037] b,制备样品吸收垫:将样品吸收垫用PBS缓冲液浸泡12h,烘干备用;

[0038] c,硝酸纤维膜的制备:在硝酸纤维素膜上用滑膜仪依次在不同位置划出检测线1、检测线2和质控线,所述检测线1包被有胶体金-AFP抗体复合物,所述检测线2包被有胶体金-LDH抗体复合物,所述质控线包被有羊抗兔单克隆抗体,备用;

[0039] d,试纸的组装:将样品吸收垫、结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫依次粘贴在PVC底板上,40℃下干燥处理40min后切成2cm宽的试纸条。

[0040] 其中,所述检测线1上胶体金-AFP抗体复合物的包被浓度为3mg/mL,所述检测线2上胶体金-LDH抗体复合物的包被浓度为3mg/mL,所述质控线羊抗兔单克隆抗体的包被浓度为3.5mg/mL;所述(2)中PBS缓冲液中,PBS浓度为0.02mol/L,还含有2.5%的BSA,2.5%的海藻糖,0.8%的PVP,可加快样品区的层析缓释作用;所述胶体金的直径为40nm。

[0041] 临床统计试验:

[0042] 发明人收集40例恶性畸胎瘤患者,40例良性畸胎瘤患者,用本发明实施例2制备的试纸检测,仅有1例良性畸胎瘤患者检测无效,本发明灵敏度为97.5,特异性100%,表明本发明的检测试纸条具有较高的灵敏度和特异性,适合临床应用。

[0043] 最后应说明的是:以上实施例仅用以说明本发明的技术方案,而非对其限制;尽管参照前述实施例对本发明进行了详细的说明,本领域的普通技术人员应当理解:其依然可以对前述实施例所记载的技术方案进行修改,或者对其中部分技术特征进行等同替换;而这些修改或者替换,并不使相应技术方案的本质脱离本发明实施例技术方案的精神和范围。

专利名称(译)	一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸及其制备方法		
公开(公告)号	CN106405091A	公开(公告)日	2017-02-15
申请号	CN201610741921.2	申请日	2016-08-28
[标]申请(专利权)人(译)	李献兵		
申请(专利权)人(译)	李献兵		
当前申请(专利权)人(译)	李献兵		
[标]发明人	李献兵 吕岩 田净净		
发明人	李献兵 吕岩 田净净		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/574 G01N33/559 G01N33/532		
CPC分类号	G01N33/577 G01N33/532 G01N33/559 G01N33/57407		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种纵隔恶性畸胎瘤检测胶体金免疫层析试纸，所述试纸由以下步骤制备而得：（1）制备胶体金-AFP和胶体金-LDH抗体复合物；（2）制备双抗体夹心试纸：a,制备结合垫：以玻璃纤维膜为材料，将其剪切成备选的规格，备用；b,制备样品吸收垫：将样品吸收垫用PBS缓冲液浸泡12h，烘干备用；c,硝酸纤维膜的制备：在硝酸纤维素膜上用滑膜仪依次在不同位置划出检测线1、检测线2和质控线，所述检测线1包被有胶体金-AFP抗体复合物，所述检测线2包被有胶体金-LDH抗体复合物，所述质控线包被有羊抗兔单克隆抗体，备用；d,试纸的组装：将样品吸收垫、结合垫、硝酸纤维膜、吸水垫依次粘贴在PVC底板上，40℃下干燥处理40min后切成2cm宽的试纸条。