



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109813893 A

(43)申请公布日 2019.05.28

(21)申请号 201910081524.0

G01N 33/543(2006.01)

(22)申请日 2019.01.28

G01N 33/574(2006.01)

(71)申请人 深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司

地址 518116 广东省深圳市龙岗区宝龙街道宝龙二路亚辉龙生物科技厂区1栋

申请人 深圳市第二人民医院
中国科学院生物物理研究所

(72)发明人 胡鹏辉 钱纯亘 吴力强 张赛
谢妮 张德玺

(74)专利代理机构 广州华进联合专利商标代理有限公司 44224

代理人 潘霞

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

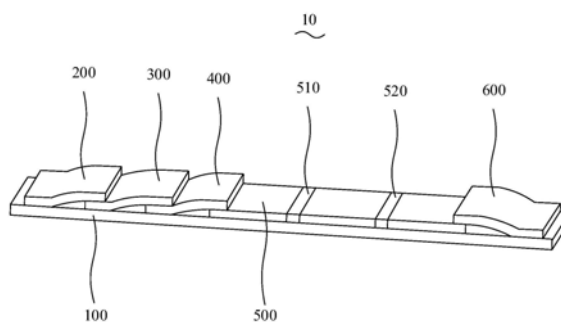
权利要求书2页 说明书20页 附图1页

(54)发明名称

CEA检测试纸条及其制备方法、CEA检测装置

(57)摘要

本发明涉及一种CEA检测试纸条及其制备方法、CEA检测装置。该CEA检测试纸条包括底板、以及设于底板上的上样垫、结合垫、缓冲垫、包被膜以及吸收垫，上样垫、结合垫、缓冲垫、包被膜以及吸收垫从底板的一端至另一端顺次连接，结合垫上设置有纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体，包被膜上设有检测线，检测线设置有第二CEA单克隆抗体，纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与第二CEA单克隆抗体能够结合CEA的不同表位。上述CEA检测试纸条的准确性较高。



1. 一种CEA检测试纸条, 其特征在于, 包括: 底板以及设于所述底板上的上样垫、结合垫、缓冲垫、包被膜以及吸收垫, 所述上样垫、所述结合垫、所述缓冲垫、所述包被膜以及所述吸收垫从所述底板的一端至另一端顺次连接, 所述结合垫上设有纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体, 所述包被膜上设有检测线, 所述检测线设有第二CEA单克隆抗体, 所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与所述第二CEA单克隆抗体能够结合CEA的不同表位。

2. 根据权利要求1所述的CEA检测试纸条, 其特征在于, 所述纳米酶能够催化3, 3', 5, 5'-四甲基联苯胺显色。

3. 根据权利要求1所述的CEA检测试纸条, 其特征在于, 所述纳米酶为磁性四氧化三铁纳米颗粒, 所述纳米酶表面具有结合基团, 所述结合基团能够与所述第一CEA单克隆抗体结合。

4. 根据权利要求1所述的CEA检测试纸条, 其特征在于, 所述结合垫上还设有纳米酶标记的亲合素, 所述包被膜上还设有与所述检测线间隔的质控线, 所述质控线位于所述检测线靠近所述吸收垫的一侧, 所述质控线设置有亲合素抗体。

5. 一种CEA检测试纸条的制备方法, 其特征在于, 包括如下步骤:

将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体设置于聚酯纤维素膜上, 干燥, 得到结合垫;

将第二CEA单克隆抗体设置于硝酸纤维素膜上, 干燥, 得到具有检测线的包被膜, 所述第二CEA单克隆抗体与所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体能够结合不同的CEA表位; 及

在底板上从所述底板的一端至另一端顺次连接上样垫、所述结合垫、缓冲垫、所述包被膜以及吸收垫, 得到CEA检测试纸条。

6. 根据权利要求5所述的CEA检测试纸条的制备方法, 其特征在于, 所述将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体设置于聚酯纤维素膜上之前, 还包括制备所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的步骤:

将纳米酶、碳二亚胺及N-羧基琥珀酰亚胺混合并反应, 固液分离, 收集沉淀; 将所述沉淀与第一CEA单克隆抗体进行反应, 得到所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体, 所述第一CEA单克隆抗体与所述纳米酶的质量比为0.1:1~1:1;

或者, 将纳米酶与第一CEA单克隆抗体混合并反应, 得到所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体, 所述第一CEA单克隆抗体与所述纳米酶的质量比为0.2:1~2:1。

7. 根据权利要求6所述的CEA检测试纸条的制备方法, 其特征在于, 所述向所述沉淀中加入第一CEA单克隆抗体进行反应之后, 还包括如下步骤: 向所述沉淀与所述第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应, 所述封闭液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白及质量百分含量为0.01%~0.1%的Triton X-100;

或者, 所述纳米酶与第一CEA单克隆抗体混合并反应之后, 包括如下步骤: 向所述纳米酶与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应, 所述封闭液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白及质量百分含量为0.01%~0.1%的Triton X-100。

8. 根据权利要求6所述的CEA检测试纸条的制备方法, 其特征在于, 所述第一CEA单克隆抗体由杂交瘤细胞分泌得到, 所述杂交瘤细胞的制备步骤为: 采用CEA免疫后的脾脏细胞与骨髓瘤细胞融合, 得到所述杂交瘤细胞。

9. 根据权利要求5~8中任一项所述的CEA检测试纸条的制备方法,其特征在于,所述将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体设置于聚酯纤维素膜上的步骤具体为:将所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与处理液混合,得到抗体喷涂液;将所述抗体喷涂液喷涂至所述聚酯纤维素膜上;所述处理液包括质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白、质量百分含量为5%~20%的海藻糖、质量百分含量为0.1%~2%的酪蛋白、质量百分含量为0.1%~1%的S9表面活性剂、0.01M~0.2M的pH7.4~9.0的Tris缓冲液;

及/或,所述将第二CEA单克隆抗体设置于硝酸纤维素膜上的步骤具体为:采用包被液调节所述第二CEA单克隆抗体的浓度至0.5mg/mL~2.0mg/mL后,再划到所述硝酸纤维素膜上,所述包被液包括0.01M~0.05M的PBS缓冲液、质量百分含量为5%~20%的海藻糖、质量百分含量为1%~3%的甲醇。

10. 一种CEA检测装置,其特征在于,包括权利要求1~4任一项所述的CEA检测试纸条或者权利要求5~9任一项所述的CEA检测试纸条的制备方法制备得到的CEA检测试纸条。

CEA检测试纸条及其制备方法、CEA检测装置

技术领域

[0001] 本发明涉及医学检测领域,特别是涉及一种CEA检测试纸条及其制备方法、CEA检测装置。

背景技术

[0002] 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen,CEA)是一种具有人类胚胎抗原特性的酸性糖蛋白,作为抗原可引起患者的免疫反应。癌胚抗原可广泛存在于内胚叶起源的消化系统癌,也存在于正常胚胎的消化管组织中,在正常人血清中也可有微量存在。癌胚抗原是一个广谱性肿瘤标志物,能够反映出多种肿瘤的存在,对大肠癌、乳腺癌和肺癌的疗效判断、病情发展、监测和预后估计是一个较好的肿瘤标志物。癌胚抗原可产生自乳腺组织,作为肿瘤标志物存在于癌组织内已被证实。有研究显示,乳头溢液中CEA的含量在恶性病变组、良性病变组以及健康对照组之间有显著差异。乳头溢液中CEA的测定对明确乳腺疾病的性质,辅助诊断乳腺癌具有重要意义。

[0003] 国外有研究表明,乳头溢液的采集是一种安全可靠、无创伤、无副作用的试验方法。近年来,发现乳头溢液中的肿瘤标记物,如癌胚抗原、前列腺特异抗原等与乳腺癌有关。在所有经外科治疗的乳腺疾病中,乳头溢液是继乳房肿块之后最常见的症状。大多数患者乳头溢液的起因是乳腺的良性病变。根据临床特性,乳头溢液分为病理性和生理性两种。常见的单纯的生理性溢液,它与恶性病变没有关系,也无需进行处理,如妊娠后期或哺乳期的乳头溢液。病理性溢液可能与恶性病变有关。

[0004] 乳腺癌是发达国家女性发病率最高的恶性肿瘤,我国大城市的乳腺癌发病率也呈逐年上升趋势。传统的乳腺癌筛查方法主要为乳腺X线摄影或测定血清的CEA含量等,但X射线对人体产生的不可逆损伤作用也不容忽视。传统的CEA检测方法主要有酶联免疫吸附法及化学发光法等,采用离体样本进行检测,安全性较高。然而,酶联免疫吸附法与化学发光法采用的标记物大多是天然酶,如辣根过氧化物酶(HRP)、碱性磷酸酶(AP)等。由于大多数天然酶都是蛋白质,遇到热、酸、碱等非生理条件,容易发生结构变化而失去催化活性。

[0005] 纳米酶是一类既有纳米材料的独特性能,又有催化功能的模拟酶。纳米酶具有催化效率高、酶活性稳定、经济和规模化制备的特点,能够通过纳米酶标记抗体来检测CEA,以克服天然酶的稳定性较差的问题。然而传统的采用纳米酶标记抗体对CEA进行检测中,假阴性现象比较严重,导致检测结果不准确。

发明内容

[0006] 基于此,有必要提供一种准确性较高的CEA检测试纸条。

[0007] 此外,还提供一种CEA检测试纸条的其制备方法和CEA检测装置。

[0008] 一种CEA检测试纸条,包括:底板以及设于所述底板上的上样垫、结合垫、缓冲垫、包被膜以及吸收垫,所述上样垫、所述结合垫、所述缓冲垫、所述包被膜以及所述吸收垫从所述底板的一端至另一端顺次连接,所述结合垫上设有纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体,

所述包被膜上设有检测线,所述检测线设有第二CEA单克隆抗体,所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与所述第二CEA单克隆抗体能够结合CEA的不同表位。

[0009] 经过研究发现,纳米酶标记的CEA抗体与CEA结合较为困难,并且,传统的检测试纸条的上样速度较快,待测样品中的CEA与纳米酶标记的CEA抗体的反应时间较短,导致待测样品中的CEA未能及时与纳米酶标记的CEA抗体结合而得到检测,容易出现假阴性现象。本研究主要通过结合垫的两侧分别设置上样垫与缓冲垫,待测样品中的CEA与纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体能够在缓冲垫上进一步反应,延长了CEA与纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的反应时间,使得纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与CEA充分结合,避免了出现假阴性,检测结果的准确性更高;并且,通过设置缓冲垫还能够使待测样品在进入包被膜前能够分布的更加均匀,以能够与检测线上的第二CEA抗体更充分地结合,进一步提高检测的准确性。此外,通过设置能够结合不同的CEA表位的使纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与第二CEA单克隆抗体,使得CEA的结合效果更好,提高检测的准确性。

[0010] 在其中一个实施例中,所述纳米酶能够催化3,3',5,5'-四甲基联苯胺显色。

[0011] 在其中一个实施例中,所述纳米酶为磁性四氧化三铁纳米颗粒,所述纳米酶表面具有结合基团,所述结合基团能够与所述第一CEA单克隆抗体结合。

[0012] 在其中一个实施例中,所述结合垫上还设有纳米酶标记的亲合素,所述包被膜上还设有与所述检测线间隔的质控线,所述质控线位于所述检测线靠近所述吸收垫的一侧,所述质控线设置有亲合素抗体。

[0013] 一种CEA检测试纸条的制备方法,包括如下步骤:

[0014] 将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体设置于聚酯纤维素膜上,干燥,得到结合垫;

[0015] 将第二CEA单克隆抗体设置于硝酸纤维素膜上,干燥,得到具有检测线的包被膜,所述第二CEA单克隆抗体与所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体能够结合不同的CEA表位;及

[0016] 在底板上从所述底板的一端至另一端顺次连接上样垫、所述结合垫、缓冲垫、所述包被膜以及吸收垫,得到CEA检测试纸条。

[0017] 在其中一个实施例中,所述将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体设置于聚酯纤维素膜上之前,还包括制备所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的步骤:

[0018] 将纳米酶、碳二亚胺及N-羟基琥珀酰亚胺混合并反应,固液分离,收集沉淀;将所述沉淀与第一CEA单克隆抗体进行反应,得到所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体,所述第一CEA单克隆抗体与所述纳米酶的质量比为0.1:1~1:1;

[0019] 或者,将纳米酶与第一CEA单克隆抗体混合并反应,得到所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体,所述第一CEA单克隆抗体与所述纳米酶的质量比为0.2:1~2:1。

[0020] 在其中一个实施例中,所述向所述沉淀中加入第一CEA单克隆抗体进行反应之后,还包括如下步骤:向所述沉淀与所述第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应,所述封闭液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白及质量百分含量为0.01%~0.1%的Triton X-100;

[0021] 或者,所述纳米酶与第一CEA单克隆抗体混合并反应之后,包括如下步骤:向所述纳米酶与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应,所述封闭液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白及质量百分含量为

0.01%~0.1%的Triton X-100。

[0022] 在其中一个实施例中,所述第一CEA单克隆抗体由杂交瘤细胞分泌得到,所述杂交瘤细胞的制备步骤为:采用CEA免疫后的脾脏细胞与骨髓瘤细胞融合,得到所述杂交瘤细胞。

[0023] 在其中一个实施例中,所述将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体设置于聚酯纤维素膜上的步骤具体为:将所述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与处理液混合,得到抗体喷涂液;将所述抗体喷涂液喷涂至所述聚酯纤维素膜上;所述处理液包括质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白、质量百分含量为5%~20%的海藻糖、质量百分含量为0.1%~2%的酪蛋白、质量百分含量为0.1%~1%的S9表面活性剂、0.01M~0.2M的pH7.4~9.0的Tris缓冲液;

[0024] 及/或,所述将第二CEA单克隆抗体设置于硝酸纤维素膜上的步骤具体为:采用包被液调节所述第二CEA单克隆抗体的浓度至0.5mg/mL~2.0mg/mL后,再划到所述硝酸纤维素膜上,所述包被液包括0.01M~0.05M的PBS缓冲液、质量百分含量为5%~20%的海藻糖、质量百分含量为1%~3%的甲醇。

[0025] 一种CEA检测装置,其特征在于,包括上述CEA检测试纸条或者上述CEA检测试纸条的制备方法制备得到的CEA检测试纸条。

附图说明

[0026] 图1为一实施方式的CEA检测试纸条的结构示意图。

具体实施方式

[0027] 为了便于理解本发明,下面将参照相关附图对本发明进行更全面的描述。附图中给出了本发明的较佳的实施例。但是,本发明可以以许多不同的形式来实现,并不限于本文所描述的实施例。相反地,提供这些实施例的目的是使对本发明的公开内容的理解更加透彻全面。

[0028] 除非另有定义,本文所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。本文中在本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的,不是旨在于限制本发明。

[0029] 如图1所示,一实施方式的CEA检测试纸条10能够准确检测待测样品中的CEA含量,能够应用于CEA检测装置中。在其中一个实施例中,待测样品为乳头溢液或血液。

[0030] 具体地,CEA检测试纸条10包括底板100、以及设于底板100上的上样垫200、结合垫300、缓冲垫400、包被膜500以及吸收垫600。上样垫200、结合垫300、缓冲垫400、包被膜500以及吸收垫600从底板100的一端至另一端顺次连接。结合垫300上设有纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。包被膜500上设有检测线510。检测线510设有第二CEA单克隆抗体。纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与第二CEA单克隆抗体能够结合CEA的不同表位。

[0031] 通过在结合垫300的两侧分别设置上样垫200与缓冲垫400,待测样品中的CEA与纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体能够在缓冲垫400上进一步反应,延长了CEA与纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的反应时间,使得纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与CEA充分结合,避免了出现假阴性,检测结果的准确性更高;并且,通过设置缓冲垫400还能够使待测样品

在进入包被膜500前能够分布的更加均匀,以能够与检测线510上的第二CEA抗体更充分地结合,进一步提高检测的准确性。此外,通过设置能够结合不同的CEA表位的使纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与第二CEA单克隆抗体,样本中的CEA能够分别与第一CEA单克隆抗体和第二CEA单克隆抗体结合形成双抗体夹心复合物,结合效果更好,提高检测的准确性。

[0032] 底板100为CEA检测试纸条10的承载体。在其中一个实施例中,底板100为PVC板(聚氯乙烯底板)或玻璃基板等。在图示实施例中,底板100为PVC板。PVC板轻薄,且具有良好的耐腐蚀性能以及良好的防水性能,避免抗体以及待检测样本渗漏。

[0033] 在其中一个实施例中,上样垫200为聚酯纤维素膜。结合垫300为聚酯纤维素膜。缓冲垫400为聚酯纤维素膜。包被膜500为硝酸纤维素膜。进一步地,包被膜500为密理博HF120硝酸纤维素膜。

[0034] 在其中一个实施例中,纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体中,纳米酶与第一CEA单克隆抗体的质量比为0.1~1。该比例下能够保证得到的反应曲线更加平滑,避免因抗体浓度过低导致低端灵敏度较低,也避免因抗体浓度过高而导致高端梯度不足。

[0035] 在其中一个实施例中,纳米酶能够催化3,3',5,5'-四甲基联苯胺显色。3,3',5,5'-四甲基联苯胺即TMB,为一种新型安全的色原试剂。

[0036] 在其中一个实施例中,纳米酶为磁性四氧化三铁纳米颗粒。进一步地,高分子聚合物为聚乙烯醇或聚苯乙烯。

[0037] 进一步地,纳米酶表面具有结合基团,结合基团能够与第一CEA单克隆抗体结合。具体地,结合基团选自有羧基(-COOH)、氨基(-NH₂)、甲苯磺酰基(-CH₃-C₆H₅-SO₂)及氯甲基(-C₆H₄-CH₂Cl)中的至少一种。

[0038] 在其中一个实施例中,纳米酶的粒径为90nm~200nm。

[0039] 在其中一个实施例中,纳米酶为采用专利201610416819.5公开的方法制备得到的纳米酶。

[0040] 在其中一个实施例中,第一CEA单克隆抗体由杂交瘤细胞分泌得到。进一步地,杂交瘤细胞的制备步骤为:采用CEA免疫后的脾脏细胞与骨髓瘤细胞融合,得到杂交瘤细胞。

[0041] 进一步地,CEA免疫后的脾脏细胞为CEA免疫后的小鼠脾脏细胞。骨髓瘤细胞为Sp2/0-Ag14小鼠骨髓瘤细胞。

[0042] 具体地,采用CEA免疫后的脾脏细胞与骨髓瘤细胞融合,得到融合细胞的步骤具体为:将CEA免疫后的脾脏细胞与骨髓瘤细胞以个数比为(5~10):1混合,加PEG融合剂溶液,静置80s~100s后,终止融合,用CEA筛选阳性融合细胞,得到杂交瘤细胞。其中,PEG融合剂溶液与脾细胞的比例为1mL:10⁸个。

[0043] 需要说明的是,第一CEA单克隆抗体不限于通过上述杂交瘤细胞分泌,可以通过市售购买,例如可以为Hytetst公司且克隆号为3C1的CEA单克隆抗体。

[0044] 在其中一个实施例中,纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的通过如下步骤制备得到:将纳米酶、碳二亚胺及N-羟基琥珀酰亚胺混合并反应,固液分离,收集沉淀;将沉淀与第一CEA单克隆抗体进行反应,得到纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。第一CEA单克隆抗体与纳米酶的质量比为0.1~1。

[0045] 具体地,将10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液与纳米酶混匀,得到纳米酶混合液,纳米酶混合液中纳米酶的浓度为0.2mg/mL~2mg/mL;加入终浓度为0.1mg/mL~5mg/mL

的碳二亚胺和终浓度为0.1mg/mL~5mg/mL的N-羟基琥珀酰亚胺,混匀,室温孵育20min~40min,孵育过程中进行搅拌以使纳米酶呈悬浮状态;固液分离,收集沉淀;采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将沉淀复溶后,加入第一CEA单克隆抗体于室温下反应2h~4h,固液分离,弃去上清,得到纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。第一CEA单克隆抗体与纳米酶的质量比为0.1~1。

[0046] 进一步地,将10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液与纳米酶混匀之前,还包括采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将纳米酶清洗1次~2次。

[0047] 采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将沉淀复溶后,加入第一CEA单克隆抗体于室温下反应2h~4h的步骤之前,还包括如下步骤:10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将沉淀清洗至少3次。

[0048] 采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将沉淀复溶后,加入第一CEA单克隆抗体进行反应的步骤之后,还包括如下步骤:清洗沉淀与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物,清洗液为10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液。

[0049] 在其中一个实施例中,向沉淀中加入第一CEA单克隆抗体进行反应之后,还包括如下步骤:向沉淀与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应。封闭液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白及质量百分含量为0.01%~0.1%的Triton X-100。采用此封闭液能够封闭纳米酶上未结合的基团位点,以降低纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的非特异性反应。进一步地,加入封闭液后的反应时间为至少1h。

[0050] 进一步地,向沉淀与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应的步骤具体为:将沉淀与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物固液分离,得到反应沉淀;向反应沉淀中加入封闭液进行反应。

[0051] 进一步地,向沉淀与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应的步骤之后,还包括采用封闭液清洗纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。清洗次数为1次~2次。更进一步地,向纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体中加入保存液,得到终浓度为0.1mg/mL~1mg/mL的抗体储备液。保存液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白、质量百分含量为0.01%~0.1%的Triton X-100及质量百分含量为1%~5%的海藻糖。

[0052] 在其中一个实施例中,结合垫300上还设置有纳米酶标记的亲合素。包被膜500上还设有与检测线510间隔的质控线520。质控线520位于检测线510靠近吸收垫600的一侧。质控线520设有亲合素抗体。

[0053] 在其中一个实施例中,纳米酶标记的亲合素中,纳米酶与亲合素的质量比为0.1~1。进一步地,纳米酶标记的亲合素的制备过程与纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的制备过程大致相同,不同之处在于,用亲合素替代第一CEA单克隆抗体。

[0054] 进一步地,检测线510从第一方向跨越包被膜500。第一方向为能够与缓冲垫400至吸收垫600的连线相交的方向。质控线520从第二方向跨越包被膜500。第二方向为能够与缓冲垫400至吸收垫600的连线相交的方向。例如检测线510和质控线520横跨或斜跨包被膜500,使得从缓冲垫400至吸收垫600,待检测样本必然要经过检测线510与质控线520,防止漏检,出现假阴性的结果。

[0055] 在图示实施例中,第一方向为与缓冲垫400至吸收垫600的连线的连线垂直的方向。第二方向为与缓冲垫400至吸收垫600的连线的连线垂直的方向。检测线510与质控线520平行设置。这种设计能够减少检测线510与质控线520上的抗体的用量,节约成本。

[0056] 进一步地,检测线510与质控线520之间的间距为4mm~8mm。

[0057] 在一个实施方式中,质控线520上的亲和素抗体为兔抗亲和素抗体。兔抗亲和素抗体与亲和素结合性能好,非特异性结合少。

[0058] 在一个实施方式中,吸收垫600为具有良好吸水性能的吸水纸,使得待检测的样本能够在吸收垫600的吸引下从上样垫200出发依次经过结合垫300、缓冲垫400以及包被膜500。

[0059] 在一个实施方式中,上样垫200、结合垫300、缓冲垫400、包被膜500以及吸收垫600从底板100的一端向另一端依次设置在底板100上,上样垫200与结合垫300重叠的长度为1mm~5mm。结合垫300与缓冲垫400重叠的长度为1mm~5mm。缓冲垫400与包被膜500重叠的长度为1mm~5mm。包被膜500与吸收垫600重叠的长度为1mm~5mm。此种设置下,待检测的样本加入上样垫200时,能够在吸收垫600的作用下依次经过结合垫300、缓冲垫400和包被膜500,并根据包被膜500的检测线510和质控线520的信号值变化,检测待检测样本中CEA的含量。

[0060] 进一步地,上样垫200、结合垫300、缓冲垫400、包被膜500以及吸收垫600从底板100的一端至另一端设置在底板100上。结合垫300与上样垫200部分重叠。缓冲垫400与结合垫300部分重叠。包被膜500与缓冲垫400部分重叠。吸收垫600与包被膜500部分重叠。

[0061] 更进一步地,上样垫200、结合垫300、缓冲垫400、包被膜500以及吸收垫600依次搭接。上样垫200部分位于结合垫300远离底板100的一侧上。结合垫300部分位于缓冲垫400远离底板100的一侧上。缓冲垫400部分位于包被膜500远离底板100的一侧上。吸收垫600部分位于包被膜500远离底板100的一侧上。这种设计使得待检测样本从上样垫200出发依次经过结合垫300、缓冲垫400和包被膜500,流动更加顺畅。

[0062] 具体地,在底板100上顺次相互搭接地黏贴上样垫200、结合垫300、缓冲垫400、包被膜500和吸水垫得到试纸板,按照切割要求切割成2.5mm~6mm宽度的试纸条,得到CEA检测试纸条10。

[0063] 在其中一个实施例中,上样垫200、结合垫300、缓冲垫400、包被膜500以及吸收垫600的长度比为(10~13):(13~16):(7~10):(25~25):(23~25)。进一步地,上样垫200、结合垫300、缓冲垫400、包被膜500以及吸收垫600的长度比为13:13:10:25:23。

[0064] 上述实施方式的CEA检测试纸条10的使用过程如下:

[0065] 使用时,将待测样本加入上述CEA检测试纸条10的上样垫200上。在吸收垫600的吸引下从上样垫200出发依次经过结合垫300、缓冲垫400以及包被膜500。若检测样品中含有CEA(抗原),则CEA在毛细管作用下与结合垫300上的纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体结合形成复合物。该复合物在毛细管作用下移动至包被膜500上的检测线510,并与检测线510上的第二CEA单克隆抗体反应而结合,形成双抗体夹心复合物,并聚集在检测线510。反应5min~10min后,加入TMB显色剂,反应完全后,检测线510呈深蓝色,且检测线510的颜色的深浅与待测样本中的CEA浓度呈正相关。

[0066] 结合垫300上的纳米酶标记的亲和素移动至包被膜500上的质控线520,与亲和素

抗体反应而结合,形成纳米酶-亲和素-抗体复合物,并聚集在质控线520。反应5min~10min后,加入TMB显色剂,反应完全后,质控线520呈深蓝色。正常情况下,无论待检测的样本是否含有CEA,质控线520都应当呈深蓝色,如质控线520无颜色变化则说明检测结果无效,避免假阴性或假阳性的检测结果。

[0067] 通过检测系统将色差信号转化为数字信号,以浓度点为横坐标,检测线510信号值比质控线520信号值(T/C)为纵坐标绘制标准曲线,从而可准确定量的计算出待测样本中CEA的浓度。

[0068] 研究发现,纳米酶标记的CEA抗体与CEA结合较为困难,并且,传统的检测试纸条的上样速度较快,待测样品中的CEA与纳米酶标记的CEA抗体的反应时间较短,导致待测样品中的CEA未能及时与纳米酶标记的CEA抗体结合而得到检测,容易出现假阴性现象。本研究主要通过结合在结合垫300的两侧分别设置上样垫200与缓冲垫400,待测样品中的CEA与纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体能够在缓冲垫400上进一步反应,延长了CEA与纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的反应时间,使得纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与CEA充分结合,避免了出现假阴性,检测结果的准确性更高;并且,通过设置缓冲垫400还能够使待测样品在进入包被膜500前能够分布的更加均匀,以能够与检测线510上的第二CEA抗体更充分地结合,进一步提高检测的准确性。此外,通过设置能够结合不同的CEA表位的使纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与第二CEA单克隆抗体,使得CEA的结合效果更好,提高检测的准确性。

[0069] 传统的胶体金法采用的标记物为胶体金,胶体金为无机物,性质稳定,但是胶体金法的灵敏度较差,样本量较少时检测结果的准确性较低。本研究采用纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体,并设置缓冲垫400,使得检测灵敏度较高,最低检测限可达0.1ng/mL,对CEA含量较少的待测样品也能够准确检测。

[0070] 传统地,通过检测血清中CEA含量来确定是否有乳腺癌。CEA可产生自乳腺肿瘤组织,由上皮细胞产生的CEA首先分泌到乳腺导管中,故而在早期乳腺癌和癌前病变患者血清中的CEA值并不明显升高,因此血清CEA值升高主要见于有转移的晚期癌症病例,主要用于乳腺癌晚期患者预后的判断,血清CEA检测难以对早期乳腺癌的诊断和筛查提供帮助。上述实施方式的CEA试纸条不仅能够检测血液中的CEA含量,还能够检测乳头溢液中的CEA含量,从而能够对早期乳腺癌进行诊断和筛查。

[0071] 上述CEA检测试纸条10中,检测线510与质控线520间隔,检测线510的颜色变化取决于样本中的CEA含量,质控线520的发光强度取决于亲和素,两者互不干扰和影响。可采用T/C值的方式进行定量,保证了测试结果的准确度。并且上试纸条使用时,操作简便,成本低。使用的检测仪无需专业操作人员,15分钟即可得到检测结果。

[0072] 可以理解,纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体不限于通过上述步骤制备,在其他实施例中,纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体可以通过如下步骤制备得到:将纳米酶与第一CEA单克隆抗体混合并反应,得到纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。第一CEA单克隆抗体与纳米酶的质量比为0.2~2。

[0073] 具体地,将10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液与纳米酶混匀,得到纳米酶混合液,纳米酶混合液中纳米酶的浓度为1mg/mL~10mg/mL;将10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液与第一CEA单克隆抗体混匀,得到抗体混合液;将纳米酶混合液与抗体混合液混合,于室温下反应2h~4h,得到纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。第一CEA单克隆抗体与纳米

酶的质量比为0.2:1~2:1。

[0074] 进一步地,将10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液与纳米酶混匀之前,还包括采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将纳米酶清洗1次~2次。

[0075] 在其中一个实施例中,纳米酶与第一CEA单克隆抗体混合并反应之后,还包括如下步骤:向纳米酶与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应。封闭液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白及质量百分含量为0.01%~0.1%的Triton X-100。采用此封闭液能够封闭纳米酶上未结合的基团位点,以降低纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的非特异性反应。进一步地,加入封闭液后的反应时间为至少1h。

[0076] 进一步地,向纳米酶与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应的步骤之后,还包括采用封闭液清洗纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。清洗次数为1次~2次。更进一步地,向纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体中加入保存液,得到终浓度为0.1mg/mL~1mg/mL的抗体储备液。保存液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白、质量百分含量为0.01%~0.1%的Triton X-100及质量百分含量为1%~5%的海藻糖。

[0077] 本研究还提供一实施方式的CEA检测试纸条的制备方法,包括如下步骤S110~S130:

[0078] S110、将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体设置于聚酯纤维素膜上,干燥,得到结合垫。

[0079] 在其中一个实施例中,S110具体为:将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与纳米酶标记的亲素分别设置于至聚酯纤维素膜上,干燥,得到结合垫。

[0080] 具体地,将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体设置于聚酯纤维素膜上的步骤具体为:将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与处理液混合,得到抗体喷涂液;将抗体喷涂液喷涂至聚酯纤维素膜上。处理液包括质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白、质量百分含量为5%~20%的海藻糖、质量百分含量为0.1%~2%的酪蛋白、质量百分含量为0.1%~1%的S9表面活性剂、0.01M~0.2M的pH7.4~9.0的Tris缓冲液。进一步地,将纳米酶标记的亲素设置于至聚酯纤维素膜上的步骤具体为:将纳米酶标记的亲素与处理液混合,得到亲素喷涂液;将亲素喷涂液喷涂至聚酯纤维素膜上。

[0081] 采用上述处理液将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体制成抗体喷涂液,使得纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体能够更好地附着于聚酯纤维素膜上,避免了因纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体脱离而出现假阴性的问题。需要说明的是,上述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与纳米酶标记的亲素不限于通过喷涂的方式设置于聚酯纤维膜上,还可以通过涂覆的方式设置于聚酯纤维膜上。

[0082] 进一步地,抗体喷涂液中纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的质量百分含量为5%~25%。抗体喷涂液的喷量为4 μ L/cm~8 μ L/cm。此种设置能够提高CEA检测试纸条的灵敏度和准确性。亲素喷涂液中纳米酶标记的亲素的质量百分含量为5%~25%。亲素喷涂液的喷量为4 μ L/cm~8 μ L/cm。

[0083] 在其中一个实施例中,对聚酯纤维素膜进行干燥的步骤具体为:将聚酯纤维素膜至于湿度小于15%、25℃~50℃下干燥12h~24h,得到结合垫。

[0084] 在其中一个实施例中,纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体中,纳米酶与第一CEA单克隆抗体的质量比为0.1~1。该比例下能够保证得到的反应曲线更加平滑,避免因抗体浓度过低导致低端灵敏度较低,也避免因抗体浓度过高而导致高端梯度不足。

[0085] 在其中一个实施例中,纳米酶能够催化3,3',5,5'-四甲基联苯胺显色。

[0086] 在其中一个实施例中,纳米酶为磁性四氧化三铁磁性纳米酶或者高分子聚合物纳米酶。纳米酶表面具有结合基团,结合基团能够与第一CEA单克隆抗体结合。进一步地,结合基团选自有羧基(-COOH)、氨基(-NH₂)、甲苯磺酰基(-CH₃-C₆H₅-SO₂)及氯甲基(-C₆H₄-CH₂Cl)中的至少一种。

[0087] 在其中一个实施例中,纳米酶的粒径为90nm~200nm。

[0088] 在其中一个实施例中,纳米酶为采用专利201610416819.5公开的方法制备得到的纳米酶。

[0089] 在其中一个实施例中,第一CEA单克隆抗体由杂交瘤细胞分泌得到。进一步地,第一CEA单克隆抗体的制备步骤包括S111~S113:

[0090] S111、采用CEA免疫后的脾脏细胞与骨髓瘤细胞融合,得到融合细胞。

[0091] 具体地,采用CEA免疫后的脾脏细胞与骨髓瘤细胞融合,得到融合细胞的步骤具体为:将CEA免疫后的脾脏细胞与骨髓瘤细胞以个数比为(5~10):1混合,加PEG融合剂溶液,静置90s后,终止融合,得到融合细胞。其中,PEG融合剂溶液与脾细胞的比例为1mL:10⁸个。

[0092] 进一步地,CEA免疫后的脾脏细胞为CEA免疫后小鼠的脾脏细胞。骨髓瘤细胞为Sp2/0-Ag14小鼠骨髓瘤细胞。

[0093] 在其中一个实施例中,CEA免疫后的脾脏细胞的制备过程包括S1111~S1114:

[0094] S1111、对小鼠初次免疫,得到初次免疫的小鼠。

[0095] 具体地,将CEA抗原乳化后,以90μg/只~110μg/只的抗原剂量免疫BALB/c小鼠,饲养1周,得到初次免疫的小鼠。抗原剂量是指CEA的含量。

[0096] 更具体地,将CEA与弗氏完全佐剂(FCA)按体积比1:1混合,得到乳化剂。将乳化剂以90μg/只~110μg/只的抗原剂量免疫BALB/c小鼠,饲养1周,得到初次免疫的小鼠。免疫方式为皮下(SQ)5点方式进行注射。

[0097] 在其中一个实施例中,CEA抗原为XEMA公司货号为R224的CEA抗原。

[0098] S1112、对初次免疫的小鼠进行第一加强免疫,得到第一加强免疫的小鼠。

[0099] 具体地,将CEA乳化后,以40μg/只~60μg/只的抗原剂量对初次免疫的小鼠进行第一加强免疫,饲养1周后,得到第一加强免疫的小鼠。

[0100] 更具体地,将CEA与弗氏不完全佐剂(FIA)混合后以40μg/只~60μg/只的抗原剂量对上述初次免疫的小鼠进行第一加强免疫,饲养2周后,得到第一加强免疫的小鼠。加强免疫的方式为腿部肌肉免疫。

[0101] S1113、按照S1112的操作对第一次加强免疫的小鼠进行一次或多次加强免疫,得到CEA免疫小鼠。相邻加强免疫的时间间隔为2周。

[0102] S1114、采集CEA免疫后小鼠的脾细胞,得到CEA免疫后的脾脏细胞,以进行细胞融合。

[0103] S112、采用酶联免疫法,用CEA包被酶标板,筛选融合细胞,得到阳性融合细胞,并将阳性融合细胞单克隆化,得到杂交瘤细胞。

[0104] 具体地,培养融合细胞至适宜浓度,用间接酶联免疫法筛选得到阳性融合细胞。将阳性融合细胞培养至适宜的细胞浓度后,通过有限稀释法将阳性融合细胞单克隆化,得到阳性杂交瘤细胞。

[0105] S113、将杂交瘤细胞体外培养,得到CEA单克隆抗体。

[0106] 具体地,将杂交瘤细胞在培养瓶或罐中培养一定时间,将培养液固液分离,收集上清,将上清液纯化,得到第一CEA单克隆抗体。

[0107] 其中,培养条件为37℃,5%二氧化碳,培养时间为24h~48h。纯化方式为亲和层析纯化。进一步地,纯化方式为蛋白A或蛋白G亲和层析。具体地,通过蛋白A或蛋白G与CEA单克隆抗体通过共价键连接到活化的固相载体上,然后通过改变pH的方式使抗CEA单克隆抗体洗脱分离。

[0108] 需要说明的是,第一CEA单克隆抗体不限于通过上述杂交瘤细胞分泌,可以通过市售购买,例如可以为Hytest公司且货号为3C1的CEA单克隆抗体。

[0109] 在其中一个实施例中,S110之前,还包括制备纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的步骤:将纳米酶、碳二亚胺及N-羟基琥珀酰亚胺混合并反应,固液分离,收集沉淀;将沉淀与第一CEA单克隆抗体进行反应,得到纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。第一CEA单克隆抗体与纳米酶的质量比为0.1~1。

[0110] 具体地,将10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液与纳米酶混匀,得到纳米酶混合液,纳米酶混合液中纳米酶的浓度为0.2mg/mL~2mg/mL;加入终浓度为0.1mg/mL~5mg/mL的碳二亚胺和终浓度为0.1mg/mL~5mg/mL的N-羟基琥珀酰亚胺,混匀,室温孵育20min~40min,孵育过程中进行搅拌以使纳米酶呈悬浮状态;固液分离,收集沉淀;采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将沉淀复溶后,加入第一CEA单克隆抗体于室温下反应2h~4h,固液分离,弃去上清,得到纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。第一CEA单克隆抗体与纳米酶的质量比为0.1:1~1:1。

[0111] 进一步地,将10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液与纳米酶混匀之前,还包括采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将纳米酶清洗1次~2次。

[0112] 采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将沉淀复溶后,加入第一CEA单克隆抗体于室温下反应2h~4h的步骤之前,还包括如下步骤:10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将沉淀清洗至少3次。

[0113] 采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将沉淀复溶后,加入第一CEA单克隆抗体进行反应的步骤之后,还包括如下步骤:清洗沉淀与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物,清洗液为10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液。

[0114] 在其中一个实施例中,向沉淀中加入第一CEA单克隆抗体进行反应之后,还包括如下步骤:向沉淀与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应。封闭液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白及质量百分含量为0.01%~0.1%的Triton X-100。采用此封闭液能够封闭纳米酶上未结合的基团位点,以降低纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的非特异性反应。进一步地,加入封闭液后的反应时间为至少1h。

[0115] 进一步地,向沉淀与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应的步骤具体为:将沉淀与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物固液分离,得到反应沉

淀;向反应沉淀中加入封闭液进行反应。

[0116] 进一步地,向沉淀与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应的步骤之后,还包括采用封闭液清洗纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。清洗次数为1次~2次。更进一步地,向纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体中加入保存液,得到终浓度为0.1mg/mL~1mg/mL的抗体储备液。保存液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白、质量百分含量为0.01%~0.1%的Triton X-100及质量百分含量为1%~5%的海藻糖。

[0117] 在其中一个实施例中,S110之前,还包括制备纳米酶标记的亲合素的步骤。纳米酶标记亲合素的制备过程与上述纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的制备过程大致相同,不同在于:将第一CEA单克隆抗体用亲合素替换。

[0118] S120、将第二CEA单克隆抗体设置于硝酸纤维素膜上,干燥,得到具有检测线的包被膜,第二CEA单克隆抗体与纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体能够结合CEA的不同表位。

[0119] 具体地,将第二CEA单克隆抗体设置于硝酸纤维素膜上,将亲合素抗体设置于硝酸纤维素膜上,干燥,得到包被膜,包被膜具有间隔的检测线和质控线。其中,检测线由第二CEA单克隆抗体干燥形成,质控线由亲合素抗体干燥形成。

[0120] 在其中一个实施例中,将第二CEA单克隆抗体设置于硝酸纤维素膜上的步骤具体为:采用包被液调节第二CEA单克隆抗体的浓度至0.5mg/mL~2.0mg/mL后,再划到硝酸纤维素膜上。包被液包括0.01M~0.05M的PBS缓冲液、质量百分含量为5%~20%的海藻糖、质量百分含量为1%~3%的甲醇。进一步地,将亲合素抗体设置于硝酸纤维素膜上的步骤具体为:采用包被液调节亲合素抗体的浓度至0.5mg/mL~2.0mg/mL后,再划到硝酸纤维素膜上。此种设置,使得第二CEA单克隆抗体与亲合素抗体能够更加牢固地固定于包被膜上。其中,采用喷膜剂进行划线。

[0121] 进一步地,含有第二CEA单克隆抗体的包被液在划线过程中的用量为0.05μL/mm~0.2μL/mm。含有亲合素抗体的包被液在划线过程中的用量为0.05μL/mm~0.2μL/mm。

[0122] 在其中一个实施例中,对划线后的硝酸纤维素膜进行干燥的操作具体为:将划线后的硝酸纤维素膜至于湿度小于15%、25℃~50℃下干燥12h~24h,得到包被膜。

[0123] 在其中一个实施例,第二CEA单克隆抗体的制备过程与第一CEA单克隆抗体的制备过程大致相同,不同之处在于:针对的CEA抗原的位点不同,选用不同的杂交瘤进行制备。

[0124] 需要说明的是,第二CEA单克隆抗体不限于通过上述杂交瘤细胞分泌,可以通过市售购买,例如可以为Hytest公司且货号为3C6的CEA单克隆抗体。

[0125] S130、在底板上从底板的一端至另一端顺次连接上样垫、结合垫、缓冲垫、包被膜以及吸收垫,结合垫与上样垫部分重叠,缓冲垫与结合垫部分重叠,包被膜与缓冲垫部分重叠,吸收垫与包被膜部分重叠,得到CEA检测试纸条。

[0126] 在其中一个实施例中,在S130之前,还包括制备上样垫的步骤:将聚酯纤维素膜用封闭液浸泡后,置于湿度为<15%、25℃~50℃下干燥12h~24h,得到上样垫。封闭液包括0.01M~0.2M的Tris、质量百分含量为0.1%~2%的Tritonx-100、质量百分含量为0.1%~1%的BSA(即牛血清白蛋白)及质量百分含量为0.1%~2%的PEG 1000。

[0127] 在其中一个实施例中,在S130之前,还包括制备缓冲垫的步骤。缓冲垫的制备过程与上样垫的制备过程相同。

[0128] 上述实施方式的CEA检测试纸条的制备方法中,通过选择合适的包被液、封闭液及处理液,并优化CEA检测试纸条的结果,能够制备检测结果准确性较高、灵敏度较高的CEA检测试纸条,进而能够应用于CEA检测装置中。

[0129] 可以理解,纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体不限于通过上述步骤制备,在其他实施例中,纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体可以通过如下步骤制备得到:将纳米酶与第一CEA单克隆抗体混合并反应,得到纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。第一CEA单克隆抗体与纳米酶的质量比为0.2:1~2:1。

[0130] 具体地,将10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液与纳米酶混匀,得到纳米酶混合液,纳米酶混合液中纳米酶的浓度为1mg/mL~10mg/mL;将10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液与第一CEA单克隆抗体混匀,得到抗体混合液;将纳米酶混合液与抗体混合液混合,于室温下反应2h~4h,得到纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。第一CEA单克隆抗体与纳米酶的质量比为0.2:1~2:1。

[0131] 进一步地,将10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液与纳米酶混匀之前,还包括采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将纳米酶清洗1次~2次。

[0132] 在其中一个实施例中,纳米酶与第一CEA单克隆抗体混合并反应之后,还包括如下步骤:向纳米酶与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应。封闭液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白及质量百分含量为0.01%~0.1%的Triton X-100。采用此封闭液能够封闭纳米酶上未结合的基团位点,以降低纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的非特异性反应。进一步地,加入封闭液后的反应时间为至少1h。

[0133] 进一步地,向纳米酶与第一CEA单克隆抗体反应得到的反应物中加入封闭液进行反应的步骤之后,还包括采用封闭液清洗纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。清洗次数为1次~2次。更进一步地,向纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体中加入保存液,得到终浓度为0.1mg/mL~1mg/mL的抗体储备液。保存液包括0.01M~0.1M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.1%~1%的牛血清白蛋白、质量百分含量为0.01%~0.1%的Triton X-100及质量百分含量为1%~5%的海藻糖。

[0134] 以下为具体实施例部分。

[0135] 实施例中采用药物和仪器如非特别说明,均为本领域常规选择。实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,例如文献、书本中所述的条件或者试剂盒生产厂家推荐的方法实现。

[0136] 如未特别说明,以下实施例中,CEA购于XEMA公司且货号为R224。亲和素购于武汉三渡公司。亲和素抗体为兔抗亲和素抗体,购于武汉三渡公司。底板为PVC板。1640培养基购于gibco公司。弗氏完全佐剂购于sigma公司。弗氏不完全佐剂购于sigma公司。

[0137] 实施例1

[0138] 杂交瘤细胞的制备:

[0139] (1) CEA与弗氏完全佐剂以体积比为1混合后,按每只小鼠100 μ g的剂量免疫BALB/c小鼠(BALB/c小鼠购自广东省医学实验动物中心公司)进行初次免疫。饲养1周后,得到初次免疫的小鼠。

[0140] (2) CEA与弗氏不完全佐剂以体积比为1混合后,按每只小鼠50 μ g的剂量对初次免

疫的小鼠进行加强免疫。饲养2周后,以同样的剂量再次加强,得到CEA免疫小鼠。

[0141] (3) 采集CEA免疫小鼠的脾脏,分离得到CEA免疫后的脾细胞。

[0142] (4) 将CEA免疫后的脾细胞和Sp2/0-Ag14小鼠骨髓瘤细胞以个数比为8:1混合,加1mL的PEG4000融合剂溶液(60s内加完),静置90s后,终止融合,离心,弃上清,轻轻重悬沉淀的细胞。将细胞悬液加入已铺有饲养细胞层的96孔培养板中。然后将培养板置37℃,含5% CO₂的培养箱内培养,得到融合细胞。

[0143] (5) 采用间接酶联免疫法,使用CEA包板,检测、筛选融合细胞,检测阳性细胞孔,通过有限稀释,得到能够分泌第一CEA单克隆抗体的杂交瘤细胞和能够分泌第二CEA单克隆抗体的杂交瘤细胞。

[0144] 实施例2

[0145] 单克隆抗体的制备

[0146] (1) 将实施例1的两种杂交瘤细胞置于1640培养基中进行培养,培养条件为37℃,5%二氧化碳,培养36h。收集培养液,1200rpm离心5min,收集上清液。

[0147] (2) 将上清液进行蛋白A亲和纯化,收集洗脱液,得到第一CEA单克隆抗体和第二CEA单克隆抗体。

[0148] 实施例3

[0149] 本实施例的纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的制备

[0150] (1) 采用50mM、pH7的MES缓冲液将纳米酶清洗1次。纳米酶为四氧化三铁包裹的纳米酶,纳米酶表面有羧基。纳米酶为采用专利201610416819.5公开的方法制备得到的纳米酶。

[0151] (2) 将50mM、pH7的MES缓冲液与纳米酶混匀,得到纳米酶混合液,纳米酶混合液中纳米酶的浓度为1mg/mL;加入终浓度为3mg/mL的碳二亚胺和终浓度为2.5mg/mL的N-羟基琥珀酰亚胺,混匀,室温孵育30min,孵育过程中进行搅拌以使纳米酶呈悬浮状态;固液分离,收集沉淀。

[0152] (3) 向沉淀中加入第一CEA单克隆抗体于室温下反应2h,固液分离,弃去上清,收集沉淀;采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液清洗沉淀三次,采用10mM~100mM、pH6.0~8.0的MES缓冲液将沉淀复溶后,加入封闭液进行反应1h,固液分离,收集反应沉淀。封闭液包括0.05M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.6%的牛血清白蛋白及质量百分含量为0.05%的Triton X-100。第一CEA单克隆抗体与纳米酶的质量比为0.6。采用封闭液清洗反应沉淀1次,固液分离,收集沉淀,即为纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。

[0153] (5) 向纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体中加入保存液,得到终浓度为0.6mg/mL的抗体储备液。保存液包括0.05M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.5%的牛血清白蛋白、质量百分含量为0.06%的Triton X-100及质量百分含量为3%的海藻糖。

[0154] 本实施例的纳米酶标记的亲合素的制备过程与本实施例的纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的制备过程相同,不同之处在于,用亲和素替代第一CEA单克隆抗体。

[0155] 本实施例的CEA检测试纸条的制备过程如下:

[0156] (1) 将纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与处理液混合,得到抗体喷涂液;将抗体喷涂液喷涂至聚酯纤维素膜上。处理液包括质量百分含量为0.5%的牛血清白蛋白、质量百分含量为12.5%的海藻糖、质量百分含量为0.6%的酪蛋白、质量百分含量为0.55%的S9表

面活性剂、0.1M的pH8的Tris缓冲液。抗体喷涂液中纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的质量百分含量为15%。抗体喷涂液的喷量为6 μ L/cm。将纳米酶标记的亲合素与上述处理液混合,得到亲合素喷涂液;将亲合素喷涂液喷涂至聚酯纤维素膜上。亲合素喷涂液中纳米酶标记的亲合素的质量百分含量为15%。亲合素喷涂液的喷量为6 μ L/cm。将喷涂后的聚酯纤维素膜至于湿度小于15%、50℃下干燥12h,得到结合垫。

[0157] (2) 采用包被液调节第二CEA单克隆抗体的浓度至1mg/mL后,再划到硝酸纤维素膜上。含有第二CEA单克隆抗体的包被液在划线过程中的用量为0.1 μ L/mm。包被液包括0.03M的PBS缓冲液、质量百分含量为13%的海藻糖、质量百分含量为2%的甲醇。采用包被液调节亲合素抗体的浓度至10mg/mL后,再划到硝酸纤维素膜上。含有亲合素抗体的包被液的用量为0.13 μ L/mm。将划线后的硝酸纤维素膜至于湿度小于15%、50℃下干燥12h,得到包被膜。包被膜具有间隔的检测线和质控线。其中,检测线由第二CEA单克隆抗体干燥形成,质控线由亲合素抗体干燥形成。

[0158] (3) 将聚酯纤维素膜用封闭液浸泡后,置于湿度为<15%、25℃下干燥24h,得到上样垫。封闭液包括0.1M的Tris、质量百分含量为1%的Tritonx-100、质量百分含量为0.6%的BSA(即牛血清白蛋白)及质量百分含量为1%的PEG1000。

[0159] (4) 将聚酯纤维素膜用封闭液浸泡后,置于湿度为<15%、50℃下干燥12h,得到缓冲垫。封闭液包括0.1M的Tris、质量百分含量为1%的Tritonx-100、质量百分含量为0.6%的BSA(即牛血清白蛋白)及质量百分含量为1%的PEG1000。

[0160] (5) 在底板上顺次相互搭接地黏贴上样垫、结合垫、缓冲垫、包被膜和吸水垫得到试纸板,按照切割要求切割成4mm宽度的试纸条,得到CEA检测试纸条。上样垫部分位于结合垫远离底板的一侧上,重叠的长度为2mm。结合垫部分位于缓冲垫远离底板的一侧上,重叠的长度为3mm。缓冲垫部分位于包被膜远离底板的一侧,重叠的长度为2mm。吸收垫部分位于包被膜远离底板的一侧上,重叠的长度为2mm。上样垫、结合垫、缓冲垫、包被膜和吸水垫的长度比为13:13:10:25:23。

[0161] 实施例4

[0162] 按照实施例3的制备纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与纳米酶标记的亲合素。

[0163] 本实施例的CEA检测试纸条的制备过程如下:

[0164] (1) 按照实施例3的操作制备结合垫。

[0165] (2) 采用包被液调节第二CEA单克隆抗体的浓度至10mg/mL后,再划到硝酸纤维素膜上。含有第二CEA单克隆抗体的包被液在划线过程中的用量为0.1 μ L/mm。包被液包括0.01M的PB缓冲液和质量百分含量为5%的海藻糖。采用包被液调节亲合素抗体的浓度至10mg/mL后,再划到硝酸纤维素膜上。含有亲合素抗体的包被液的用量为0.13 μ L/mm。将划线后的硝酸纤维素膜至于湿度小于15%、50℃下干燥12h,得到包被膜。包被膜具有间隔的检测线和质控线。其中,检测线由第二CEA单克隆抗体干燥形成,质控线由亲合素抗体干燥形成。

[0166] (3) 按照实施例3的操作制备上样垫及缓冲垫。

[0167] (4) 按照实施例3的操作组装底边、上样垫、结合垫、缓冲垫、包被膜和吸水垫,得到CEA检测试纸条。

[0168] 实施例5

[0169] 本实施例的纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的制备过程如下：

[0170] (1) 采用50mM、pH7.0的MES缓冲液将纳米酶清洗1次。纳米酶为聚苯乙烯包裹的纳米酶，纳米酶表面有甲苯磺酸基。纳米酶为采用专利201610416819.5公开的方法制备得到的纳米酶。

[0171] (2) 将50mM、pH7.0的MES缓冲液与纳米酶混匀，得到纳米酶混合液，纳米酶混合液中纳米酶的浓度为5mg/mL；将50mM、pH7.0的MES缓冲液与第一CEA单克隆抗体混匀，得到抗体混合液；将纳米酶混合液与抗体混合液混合，于室温下反应3h，得到反应液。第一CEA单克隆抗体与纳米酶的质量比为1.1。

[0172] (3) 向反应物中加入封闭液进行反应30min，固液分离，收集沉淀，即为纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体。封闭液包括0.06M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.5%的牛血清白蛋白及质量百分含量为0.05%的Triton X-100。

[0173] (4) 向纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体中加入保存液，得到终浓度为0.6mg/mL的抗体储备液。保存液包括0.05M的PBS缓冲液、质量百分含量为0.5%的牛血清白蛋白、质量百分含量为0.06%的Triton X-100及质量百分含量为3%的海藻糖。

[0174] 按照实施例3的制备与纳米酶标记的亲合素。

[0175] 按照实施例3的制备过程制备CEA检测试纸条。

[0176] 实施例6

[0177] 本实施例的纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的制备过程与实施例3的大致相同，不同之处在于，第一CEA单克隆抗体购于Hytest公司且货号为3C1的CEA单克隆抗体。

[0178] 按照实施例3的制备与纳米酶标记的亲合素。

[0179] 本实施例的CEA检测试纸条的制备过程与实施例3的大致相同，不同之处在于，第二CEA单克隆抗体购于Hytest公司且货号为3C6的CEA单克隆抗体。

[0180] 实施例7

[0181] 本实施例的纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体的制备过程与实施例3的大致相同，不同之处在于，封闭液包括：0.01M的PBS缓冲液、质量百分含量为1%的牛血清白蛋白及质量百分含量为0.01%的Triton X-100。

[0182] 按照实施例3的制备与纳米酶标记的亲合素。

[0183] 按照实施例3的制备过程制备CEA检测试纸条。

[0184] 实施例8

[0185] 按照实施例3的制备纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与纳米酶标记的亲合素。

[0186] 本实施例的CEA检测试纸条的制备过程与实施例3大致相同，不同之处在于：本实施例没有缓冲垫，本实施例的通过在底板上顺次相互搭接地黏贴上样垫、结合垫、包被膜和吸水垫得到试纸板。上样垫部分位于结合垫远离底板的一侧上，重叠的长度为2mm。结合垫部分位于包被膜远离底板的一侧上，重叠的长度为3mm。吸收垫部分位于包被膜远离底板的一侧上，重叠的长度为2mm。按照切割要求切割成4mm宽度的试纸条，得到CEA检测试纸条。上样垫、结合垫、包被膜和吸水垫的长度比为15:13:25:13。

[0187] 测试：

[0188] 测试例1

[0189] 用实施例3~8的CEA检测试纸条分别测定待测样品1和待测样品2中CEA的含量，并

采用罗氏公司的CEA试剂盒测定待测样品中CEA的含量(即为对比例),重复测定10次,求平均值,测定的结果用平均值 \pm 方差表示,测定结果详见表1。表1表示的实施例3~8的CEA检测试纸条、罗氏公司的CEA检测试剂盒测定的待测样品中CEA的含量。其中,待测样品1为含有30ng/mL的CEA的血清样品。待测样品2为含有200ng/mL的CEA的乳头溢液样品。

[0190] 具体地,CEA检测试纸定量检测待测样品中CEA的浓度的步骤如下:

[0191] (1) 标准曲线绘制

[0192] 将CEA抗原配制成1000ng/mL、400ng/mL、200ng/mL、100ng/mL、50ng/mL、25ng/mL、0ng/mL用测试卡,用同一批次的试剂,每个浓度点测试10次。以检测线(T带)、质控线(C带)的信号值的比值为纵坐标,CEA参考品浓度为横坐标,建立方程并拟合成标准曲线,将标曲信息用烧录软件写到ID芯片中。

[0193] (2) 样品的检测:

[0194] 从试剂盒中取出检测条,撕开铝箔袋包装后,平放检测条,平衡5分钟。采用稀释液将待测样品稀释100倍,然后取60 μ L稀释后的待测样本加入加样孔中,室温反应10分钟。反应结束后,加入20 μ L的TMB显色液至加样孔中,反应10分钟。将ID芯片插入免疫分析仪,将检测卡插入免疫分析仪插卡口,点击“测试”,仪器通过分析软件自动计算出待测样本中CEA的浓度。

[0195] 表1

[0196]

	待测样品 1 中 CEA 浓度 (ng/mL)	待测样品 2 中 CEA 浓度 (ng/mL)
实施例 3	28.82 \pm 2.06	189.21 \pm 16.2
实施例 4	15.54 \pm 2.13	132.72 \pm 16.87
实施例 5	27.17 \pm 2.96	187.69 \pm 21.14
实施例 6	11.75 \pm 2.65	98.32 \pm 13.85
实施例 7	65.71 \pm 10.71	178.55 \pm 20.59
实施例 8	31.22 \pm 5.08	215.08 \pm 27.77
对比例	30.59 \pm 1.56	202.38 \pm 10.11

[0197] 从表1可以看出,采用实施例3的试纸条测定的待测样品1中CEA浓度为(28.82 \pm 2.06) ng/mL,与30ng/mL没有显著差异;实施例3测定的待测样品2中的CEA浓度为(189.21 \pm 16.2) ng/mL,与200ng/mL没有显著差异,说明实施例8的的试纸条测定的待测样品1中CEA浓度为(31.22 \pm 5.08) ng/mL,与30ng/mL没有显著差异,但整体方差较大,精密性欠佳;实施例8测定的待测样品2中的CEA浓度为(215.08 \pm 27.77) ng/mL,与200ng/mL没有显著差异,但整体方差较大,精密性欠佳。说明上述实施方式中,通过在结合垫的两侧分别设置上样垫与缓冲垫,能够提高检测结果的准确性。

[0198] 其中,与实施例3相比,实施例6测定的待测样品1的CEA浓度明显低于30ng/mL,待

测样品2中的CEA浓度明显低于200ng/mL,说明采用上述实施方式制备的第一CEA单克隆抗体与第二CEA单克隆抗体更有利于提高检测结果的准确性。与实施例3相比,实施例4测定的待测样品1的CEA浓度明显低于30ng/mL,待测样品2中的CEA浓度明显低于200ng/mL,说明采用上述实施方式的包被液能够更加有效地将第二CEA单克隆抗体包被于包被膜上,从而保证检测的准确性。与实施例3相比,实施例7测定的待测样品1的CEA浓度明显低于30ng/mL,待测样品2中的CEA浓度明显低于200ng/mL,说明采用上述实施方式的封闭液能够更有效地将第一CEA单克隆抗体封闭于结合垫上,从而保证检测的准确性。

[0199] 测试例2

[0200] 对40例病人的乳头溢液样本进行测定。测定过程与测试例1相同,测定结果详见表2。其中,40例病人结合影像学以及病理学测定,临床诊断得出是否为乳腺癌。通过对比得出,病人的乳头溢液样本中CEA含量小于100ng/mL即为乳腺癌阴性,乳头溢液样本中CEA含量大于或等于100ng/mL即为乳腺癌阳性。

[0201] 表2实施例3的试纸条对乳头溢液样本进行测定的结果

[0202]

编号	病理学诊断	乳头溢液样本	
	阴阳性判断	(参考值<100ng/mL)	阴阳性判断
1	阴性	68.6	阴性

[0203]

2	阴性	58.34	阴性
3	阴性	95.27	阴性
4	阴性	20.47	阴性
5	阴性	74.99	阴性
6	阴性	61.13	阴性
7	阴性	73.23	阴性
8	阴性	38.69	阴性
9	阴性	24.94	阴性
10	阴性	47.81	阴性
11	阴性	94.77	阴性
12	阴性	91.1	阴性
13	阴性	39.68	阴性
14	阴性	41.03	阴性
15	阴性	92.95	阴性
16	阴性	73.9	阴性
17	阴性	91.92	阴性
18	阴性	67.53	阴性
19	阴性	79.37	阴性
20	阴性	18.95	阴性
21	阴性	20.22	阴性
22	阴性	75.69	阴性
23	阳性	534.61	阳性
24	阳性	326.13	阳性
25	阳性	471.31	阳性
26	阳性	614.78	阳性
27	阳性	981.85	阳性
28	阳性	569.92	阳性
29	阳性	751.58	阳性
30	阳性	977.17	阳性
31	阳性	1234.96	阳性
32	阳性	2097.41	阳性
33	阳性	233.81	阳性
34	阳性	423.33	阳性
35	阳性	978.93	阳性
36	阳性	154.41	阳性

[0204]

37	阳性	1942.2	阳性
38	阳性	1626.2	阳性
39	阳性	158.29	阳性
40	阳性	1859.86	阳性

[0205] 从表2可以看出,采用实施例3的试纸条对病人的乳头溢液进行检测,与病理学诊断得出的检测结果一致,说明上述实施方式的CEA检测试纸条能够用于检测乳头溢液中的CEA含量,从而判定是否患有乳腺癌。

[0206] 测试例3

[0207] 采用实施例3和实施例8的CEA检测试纸条分别对60例乳腺癌病人的血清样本和乳头溢液进行检测,并采用实施例3和实施例8的CEA检测试纸条、罗氏公司的CEA检测试剂盒分别对60例健康人的血清样本进行检测,检测结果详见表3。测试方法参考测试例1,测试标准参考测试例2。

[0208] 表3乳腺癌病人与健康人的测试结果

[0209]

	健康人的血清样本		乳腺癌病人的血清样本		乳腺癌病人的乳头溢液	
	阳性(个)	阴性(个)	阳性(个)	阴性(个)	阳性(个)	阴性(个)
实施例3	0	60	60	0	60	0
实施例8	0	60	58	2	59	1
对比例	0	60	--	--	--	--

[0210] 从表3可以看出,采用实施例3的试纸条对乳腺癌病人的血清样本和乳头溢液样本的检测的检出率高于实施例8的试纸条,进一步说明上述实施方式得到的试纸条的检测准确性和检出率更高。而实施例8中存在1~2例未检测,可能是低值灵敏度较低导致的。

[0211] 测试例4

[0212] 实验分为两组,分别为实验组和对照组。

[0213] 实验组中:采用实施例3的CEA检测试纸条对不同CEA浓度的乳头溢液进行检测,得到检测线与质控线(C带)的信号值的比值(即信号值),上述乳头溢液中CEA的含量低于10ng/mL,测定过程与测试例1相同。测定结果详见表4。

[0214] 对照组中,采用实施例3的CEA检测试纸条对实验组中相同的乳头溢液进行检测,得到检测线与质控线的信号值的比值(即信号值)。测定过程与测试例1大致相同,不同之处在于,将待测样品加入加样孔室温反应10分钟后,直接将ID芯片插入免疫分析仪,将检测卡插入免疫分析仪插卡口,点击“测试”,仪器通过分析软件自动计算出待测样本中CEA的浓度。即对照组中未加入TMB进行显色。测定结果详见表4。

[0215] 表4实验组和对照组的测定结果

[0216]

序号	样本试剂浓度 (ng/mL)	对照组的信号值	实验组的信号值
1	9.12	10.4	11.88
2	6.24	8.77	10.24
3	0.39	0.36	0.33
4	1.18	1.72	1.95
5	6.84	9.23	10.39
6	0.11	0.08	0.18
7	5.36	7.65	8.96
8	2.49	6.52	7.08
9	0.69	0.82	0.95
10	1.23	1.83	1.69
11	0.95	1.03	1.28
12	1.89	2.58	2.88
13	1.79	1.96	2.05
14	4.50	7.55	8.45
15	0.62	0.25	0.37
16	0.24	0.00	0.22
17	2.93	7.05	8.65
18	0.12	0.00	0.15
19	9.52	11.05	14.68
20	1.09	1.51	1.87
21	5.87	8.34	9.69
22	3.14	7.26	8.58
23	1.98	4.94	5.98
24	1.01	1.13	1.36
25	0.28	0.11	0.26
26	7.91	9.75	11.25
27	5.46	8.25	9.08
28	2.49	6.68	7.99
29	0.37	0.20	0.28
30	0.25	0.00	0.21

[0217] 从表4可以看出,在同一浓度下,实验组的信号值比对照组的信号值高,说明通过在上述试纸条中加入TMB显色剂能够放大检测信号。在样品浓度为0.11ng/mL时,实验组的信号值为0.18,说明通过上述实施方式的试剂盒结合TMB显色剂具有较高的灵敏度。

[0218] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0219] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明的保护范围应以所附权利要求为准。

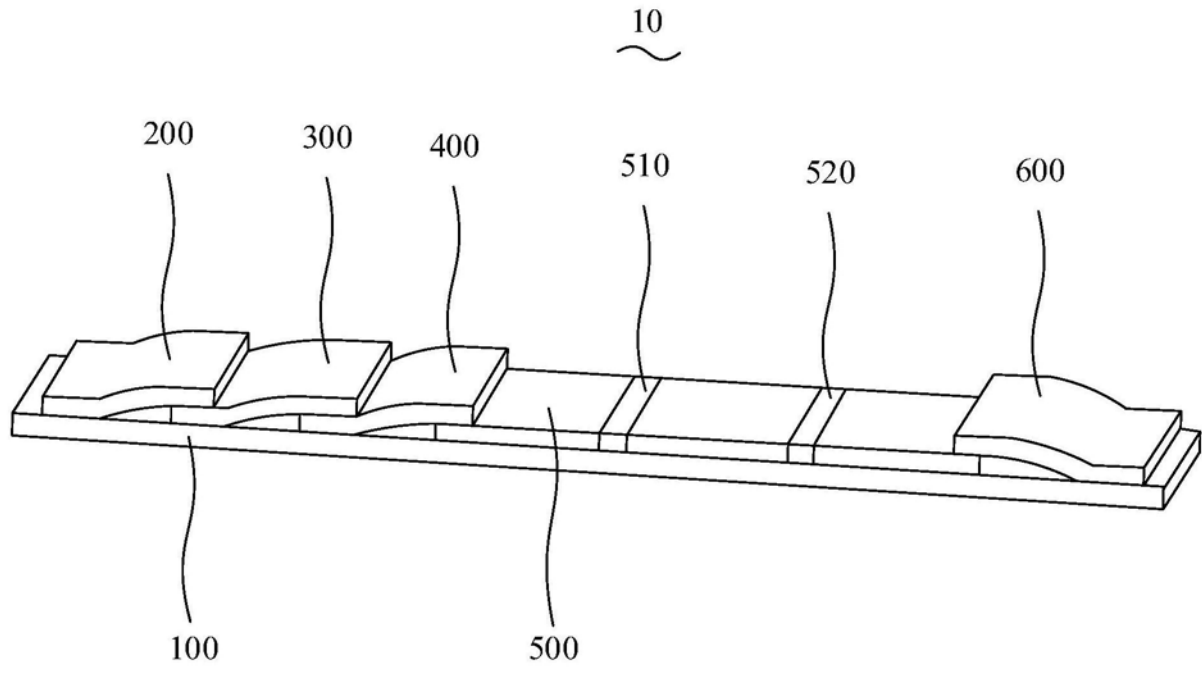


图1

专利名称(译)	CEA检测试纸条及其制备方法、CEA检测装置		
公开(公告)号	CN109813893A	公开(公告)日	2019-05-28
申请号	CN201910081524.0	申请日	2019-01-28
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市亚辉龙生物科技有限公司 深圳市第二人民医院 中国科学院生物物理研究所		
申请(专利权)人(译)	深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司 深圳市第二人民医院 中国科学院生物物理研究所		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市亚辉龙生物科技股份有限公司 深圳市第二人民医院 中国科学院生物物理研究所		
[标]发明人	胡鹏辉 钱纯亘 吴力强 张赛 谢妮 张德玺		
发明人	胡鹏辉 钱纯亘 吴力强 张赛 谢妮 张德玺		
IPC分类号	G01N33/535 G01N33/543 G01N33/574		
代理人(译)	潘霞		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种CEA检测试纸条及其制备方法、CEA检测装置。该CEA检测试纸条包括底板、以及设于底板上的上样垫、结合垫、缓冲垫、包被膜以及吸收垫，上样垫、结合垫、缓冲垫、包被膜以及吸收垫从底板的一端至另一端顺次连接，结合垫上设置有纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体，包被膜上设有检测线，检测线设置有第二CEA单克隆抗体，纳米酶标记的第一CEA单克隆抗体与第二CEA单克隆抗体能够结合CEA的不同表位。上述CEA检测试纸条的准确性较高。

