(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108132347 A
(43)申请公布日 2018.06.08

(21)申请号 201810135356.4

(22)申请日 2018.02.09

(71)申请人 河南省生物工程技术研究中心有限公司
地址 450001 河南省郑州市高新技术产业开发区科学大道53号4号楼7层84号

(72)发明人 王云龙 米亚双 李玉林 王继创 程蕾

(74)专利代理机构 郑州铭晟知识产权代理事务所(特殊普通合伙) 41134
代理人 李静雅

(51)Int.Cl.
G01N 33/533(2006.01)
G01N 33/558(2006.01)
G01N 33/577(2006.01)
G01N 33/574(2006.01)
G01N 33/68(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页 附图3页

(54)发明名称

联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条及试剂盒

(57)摘要

本发明涉及一种联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条，所述试纸条包括底板、硝酸纤维素膜、玻璃纤维棉和吸水纸，在所述硝酸纤维素膜上包被有CA19-9单克隆抗体作为检测1线(T1线)、CEA单克隆抗体作为检测2线(T2线)、以及羊抗鼠多克隆抗体作为质控线(C线)，在所述玻璃纤维棉上分为点样区和结合区，在所述结合区上喷涂有时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物、CEA单克隆抗体复合物。本发明针对CA19-9与CEA联合检测的时间分辨荧光免疫层析试纸条及试剂盒，能够实现在较短时间内完成对CA19-9与CEA的浓度检测，检测结果准确度高、灵敏性好，能够满足临床床旁快速检测和基层社区医院的需要。

CN 108132347 A

1.一种联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条，所述试纸条包括底板、硝酸纤维素膜、玻璃纤维棉和吸水纸，在所述硝酸纤维素膜上包被有CA19-9单克隆抗体作为检测1线(T1线)、CEA单克隆抗体作为检测2线(T2线)、以及羊抗鼠多克隆抗体作为质控线(C线)，在所述玻璃纤维棉上分为点样区和结合区，在所述结合区上喷涂有时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物、CEA单克隆抗体复合物。

2.根据权利要求1所述的联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条，其特征在于，用于标记的CA19-9单克隆抗体亚型为IgG3，效价为1:256，标记量为10-100ug、优选40-80ug，更优选地，包被的CA19-9单克隆抗体亚型为IgG1，效价为1:128，包被量为0.5-2.5mg/mL、优选0.5-1.5mg/mL。

3.根据权利要求1所述的联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条，其特征在于，用于标记的CEA单克隆抗体亚型为IgG3，效价为1:128，标记量为10-100ug、优选30-65ug，更优选地，包被的CEA单克隆抗体亚型为IgG2a，效价为1:256，包被量为0.5-2.5mg/mL、优选0.5-1.5mg/mL。

4.根据权利要求1所述的联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条，其特征在于，所述时间分辨荧光微球为羧基、氨基基团荧光微球，优选为镧系元素螯合物，其粒径为100-500nm、优选180-300nm。

5.根据权利要求1所述的联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条，其特征在于，所述时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体和CEA单克隆抗体通过以下方法进行制备：将时间分辨荧光微球用缓冲液清洗后，加入碳二亚胺，恒温振荡活化，加入有机溶剂混匀后离心洗涤除去碳二亚胺，用缓冲液重悬微球，再分别加入用于标记的CA19-9单克隆抗体和CEA单克隆抗体，恒温振荡标记，离心后用复溶缓冲液重悬，加入封闭液封闭，得到时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物和CEA单克隆抗体复合物。

6.根据权利要求5所述的联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条，其特征在于，所述缓冲液选自于Tris-Hcl缓冲液、硼酸缓冲液、MES缓冲液或PB缓冲液，优选为pH7.5-8.5的0.02-0.1M硼酸缓冲液；所述有机溶剂为乙醇、异丙醇或丙酮等；所述复溶缓冲液成分包括Tris-Hcl、BSA、T-20、PVP、PEG20000、海藻糖、NaN_3；所述封闭液成分包括BSA。

7.权利要求1-6中任一项所述的联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条的制备方法，所述方法包括如下步骤：

(1)分别制备时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物和CEA单克隆抗体复合物；

(2)检测线、质控线抗体的包被：将硝酸纤维素膜粘贴在底板的中间位置，并与上端的吸水纸重叠接触，将稀释的CA19-9单克隆抗体、CEA单克隆抗体及羊抗鼠多克隆抗体分别包被在硝酸纤维素膜上的T1线、T2线和C线位置，烘干；

(3)结合区喷涂：将玻璃纤维棉浸泡在处理液中，捞出后烘干，将步骤(1)制备的荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物和CEA单克隆抗体复合物混合后，喷涂在烘干的玻璃纤维棉上的结合区内，烘干；

(4)组条：将步骤(3)喷涂后的玻璃纤维棉粘贴在PVC底板上，结合区一端压在所述硝酸纤维素膜上，重叠接触。

8.联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试剂盒，所述试剂盒包含权利要求

1-6中任一项所述的联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条，或由权利要求7所述的制备方法获得的联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条。

联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条及试剂盒

[0001]

技术领域

[0002] 本发明属于诊断试剂盒技术领域，具体涉及一种联合检测肿瘤标志物糖链抗原19-9与癌胚抗原的时间分辨荧光免疫层析试纸条、包含所述试纸条的试剂盒，以及它们在胰腺癌诊断中的应用。

背景技术

[0003] 糖链抗原19-9(Carbohydrate antigen 19-9，CA19-9)是一种由消化系统肿瘤组织所产生的特异性糖蛋白，也被称为唾液酸化的Lewis^{a}抗原。CA19-9属于消化系统相关抗原，主要表达于胰腺上皮细胞，正常人体血清中的含量小于37 U/ml。研究表明，CA19-9在消化系统恶性肿瘤患者体内有异常表达，其中，在胰腺癌、胆道癌、胃癌、结肠癌、食管癌、肝癌中存在较高的阳性率，而胰腺癌患者中CA19-9的阳性率最高，达到86-96%，并且在胰腺癌初期，血清中CA19-9的含量达到406 U/ml，CA19-9可作为胰腺癌重要的早期诊断指标之一。

[0004] 癌胚抗原(CEA)是一种人胚胎原性酸性蛋白，在正常人的血液中含量小于3.4ng/mL，其含量的异常升高与肿瘤细胞的增殖密切相关。CEA是一种广谱性肿瘤标志物，在目前已经广泛应用于临床中肿瘤的检测诊断。

[0005] 血清中CA19-9与CEA对于胰腺癌的诊断具有一定的价值，单独检测CA19-9与CEA时，对于胰腺癌的确诊率较低，而当两者联合检测时对于胰腺癌的诊断显著提高，几乎为100%。因此CA19-9与CEA联合检测胰腺癌时敏感性高、特异性强，检测方便，对于胰腺癌的早期诊断具有显著意义。

[0006] 目前，国内针对CA19-9与CEA的检测方法有放射免疫测定法、化学发光法、电化学发光法、酶联免疫法等，然而，这些方法需要在实验室借助设备进行，均不适宜用于床旁快速诊断。荧光快速层析检测技术具有安全、费用低、操作简便、可实现床旁快速检测等优点，其中，时间分辨荧光免疫层析无放射性污染、无背景荧光干扰，其原理为：利用时间分辨荧光微球的荧光强度实现对待测物的定量分析。以硝酸纤维素膜为固相载体，待测液为流动相，在吸水纸的吸引下，流动相在硝酸纤维素膜的虹吸作用下与固定在硝酸纤维素膜上的抗体结合形成免疫复合物，形成检测线。待测物的含量与检测线的荧光强度呈现一定的关系，通过检测荧光信号，实现对待测物的定量检测。该方法作为POCT发展的新方向之一，成为目前的研究热点，在临床检测中具有广阔的发展前景。基于此，本发明研究开发出针对CA19-9与CEA联合检测的时间分辨荧光免疫层析试纸条及试剂盒，能够实现在较短时间内完成对CA19-9与CEA的浓度检测，检测结果准确度高、灵敏性好，能够满足临床床旁快速检测和基层社区医院的需要。

发明内容

[0007] 为解决上述技术问题，发明人采用小鼠腹腔接种法制备获得CA19-9单克隆和CEA单克隆抗体，并采用时间分辨荧光层析方法对不同亚型和效价组合的抗体进行配对筛选，获得了线性范围宽，R^2值最大的配对结果，同时，对荧光微球进行筛选，制备获得了质量稳定可控的时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物、CEA单克隆抗体复合物，所制备的试纸条质量稳定，荧光强度高，检测性能好，为胰腺癌的临床诊断提供了有效工具。

[0008] 具体而言，本发明提供了如下技术方案：

一种联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条，所述试纸条包括底板、硝酸纤维素膜、玻璃纤维棉和吸水纸，在所述硝酸纤维素膜上包被有CA19-9单克隆抗体作为检测1线(T1线)、CEA单克隆抗体作为检测2线(T2线)、以及羊抗鼠多克隆抗体作为质控线(C线)，在所述玻璃纤维棉上分为点样区和结合区，在所述结合区上喷涂有时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物、CEA单克隆抗体复合物。

[0009] 所述CA19-9单克隆抗体均采用小鼠腹腔接种法制备获得，并采用时间分辨荧光层析方法进行配对筛选，最终，用于标记的CA19-9单克隆抗体亚型为IgG3，效价为1:256，标记量为10-100ug、优选40-80 ug，更优选地，包被的CA19-9单克隆抗体亚型为IgG1，效价为1:128，包被量为0.5-2.5 mg/mL、优选0.5-1.5mg/mL。

[0010] 所述CEA单克隆抗体同样采用小鼠腹腔接种法制备获得，并采用时间分辨荧光层析方法进行配对筛选，最终，用于标记的CEA单克隆抗体亚型为IgG3，效价为1:128，标记量为10-100ug、优选30-65 ug，更优选地，包被的CEA单克隆抗体亚型为IgG2a，效价为1:256，包被量为0.5-2.5 mg/mL、优选0.5-1.5mg/mL。

[0011] 优选地，所述时间分辨荧光微球为羧基或氨基基团荧光微球，优选羧基基团荧光微球，聚苯乙烯-羧基铕螯合物，例如镧系元素螯合物，固含量为1%，其粒径为100-500nm、优选180-300nm。

[0012] 所述时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体和CEA单克隆抗体通过以下方法进行制备：将时间分辨荧光微球用缓冲液清洗后，加入碳二亚胺，恒温振荡活化，加入有机溶剂混匀后离心洗涤除去碳二亚胺，用缓冲液重悬微球，再分别加入用于标记的CA19-9单克隆抗体和CEA单克隆抗体，恒温振荡标记，离心后用复溶缓冲液重悬，加入封闭液封闭，得到时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物和CEA单克隆抗体复合物。

[0013] 具体地，将时间分辨荧光微球用活化缓冲液清洗2次，用活化缓冲液重悬后，加入碳二亚胺，在20-45℃、优选25-37℃振荡活化10-80min、优选20-80min，加入10%乙醇10-50ul、优选20ul，混匀后离心洗涤除去碳二亚胺，加入缓冲液重悬微球，混匀后再分别加入10-100ug、优选40-80ug CA19-9单克隆抗体和10-100ug、优选30-65ug CEA单克隆抗体，20-40℃、优选25-37℃振荡标记1-6h，离心后用复溶缓冲液重悬，加入10%BSA 50ul封闭10-60min，得到时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物和CEA单克隆抗体复合物。

[0014] 其中，所述缓冲液选自于Tris-Hcl缓冲液、硼酸缓冲液、MES缓冲液或PB缓冲液，优选为pH7.5-8.5的0.02-0.1M硼酸缓冲液；所述有机溶剂为乙醇、异丙醇或丙酮等；所述复溶缓冲液包括Tris-Hcl、BSA、T-20、PVP、PEG20000、海藻糖、NaN_3；所述封闭液包括BSA。优选地，所述缓冲液为pH7.5-8.5的0.02-0.05M硼酸缓冲液；所述复溶缓冲液为0.01-0.05MTris-Hcl(pH7.5-8.5)、0.05-0.1%BSA、0.05-0.1%T-20、0.05-0.1%PVP、0.05-0.1%PEG20000、3-5%海藻糖、0.05%NaN_3。

[0015] 本发明还提供了上述时间分辨荧光免疫层析试纸条的制备方法，所述方法包括如下步骤：

(1)分别制备时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物和CEA单克隆抗体复合物；

(2)检测线、质控线抗体的包被：将硝酸纤维素膜粘贴在底板的中间位置，并与上端的吸水纸进行重叠接触1-4mm，将稀释的CA19-9单克隆抗体、CEA单克隆抗体及羊抗鼠多克隆抗体分别包被在硝酸纤维素膜上的T1线、T2线和C线位置，烘30-180min；

(3)结合区喷涂：将玻璃纤维棉浸泡在处理液中，捞出后烘干，将步骤(1)制备的荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物和CEA单克隆抗体复合物混合后，喷涂在烘干的玻璃纤维棉上的结合区内，烘干；

(4)组条：将步骤(3)喷涂后的玻璃纤维棉粘贴在PVC底板上，结合区一端压在所述硝酸纤维素膜上，重叠接触1-4mm。

[0016] 其中，步骤(2)中使用具有如下组成的抗体稀释液对抗体进行稀释：0.01-0.2M、优选0.01-0.05M PBS、0.1-2%BSA、0.05%NaN_3，优选地，包被抗体后的硝酸纤维素膜的烘干条件为在20-40℃、优选25-37℃，10-60%、优选30-60%湿度下，干燥0.5-6h、优选0.5-3h。

[0017] 步骤(3)中，所述处理液具有如下组成：0.01-0.05MTris-Hcl(pH6.5-9.5、优选7.5-8.5)、0.05-0.1%BSA、0.05-0.1% T-20、0.05-0.1% PVP、0.05-0.1% PEG20000、3-5%海藻糖、3-5%蔗糖、0.05%NaN_3，更优选地，荧光微球标记的抗体的总喷涂量为2-12 ul/cm、优选4-6 ul/cm，喷涂后的玻璃纤维棉的干燥条件为在20-40℃(优选25-37℃)、10-60%(优选30-60)湿度下，干燥0.5-6h。

[0018] 另一方面，本发明还提供包含上述联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条的试剂盒。

[0019] 本发明的试纸条在使用时，以血清作为样本，取待检测样本(血清)60-120ul，点样在试纸条的点样区内，静置5-20min，将试纸条插入与试纸条配套的荧光分析仪中，分别读取C线、T1线和T2线的荧光强度值，计算T1/C、T2/C的值，将T1/C、T2/C的值分别代入CA19-9浓度—T1/C值标准曲线和CEA浓度—T2/C值标准曲线中，计算出CA19-9与CEA的含量值。当CA19-9含量高于37U/ml，CEA含量高于3.5ng/ml时，初步怀疑有患胰腺癌的风险。

[0020] 本发明采用时间分辨荧光免疫层析检测方法，开发出能够联合定量检测CA19-9与CEA的试纸条和包含所述试纸条的试剂盒，本发明的试纸条检测线性范围宽，质量稳定，荧光强度高，检测性能好，检测所需设备简单，为胰腺癌的临床诊断提供了有效工具，可用于胰腺癌的床旁快速诊断。

附图说明

[0021] 图1为本发明的联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条的结构示意图；

附图标记：1. 玻璃纤维棉；2. 硝酸纤维素膜；3. 吸水纸；4. 点样区；5. 结合区；6. 检测线T2；7. 检测线T1；8. 质控线C。

[0022] 图2为本发明实施例4中建立的CA19-9浓度—T1/C值标准曲线。

[0023] 图3为本发明实施例4中建立的CEA浓度—T2/C值标准曲线。

[0024] 图4示出了本发明实施例5中40份CA19-9临床样本与罗氏试剂盒检测比对结果。

[0025] 图5示出了本发明实施例5中40份CEA临床样本与罗氏试剂盒检测比对结果。

具体实施方式

[0026] 下面结合具体实施例对本发明进行进一步说明。

[0027] 实施例1

采用羧基基团荧光微球作为复合原料，聚苯乙烯-羧基铕螯合物，固含量为1%，其粒径为210nm，最大发射波长为613nm，最大激发波长为365nm。

[0028] 将时间分辨荧光微球用活化缓冲液(pH 8.0的0.05M硼酸缓冲液)清洗2次，用活化缓冲液重悬后，加入碳二亚胺，在30℃振荡活化60min，加入10%乙醇20ul，混匀后离心洗涤除去碳二亚胺，加入标记缓冲液(pH8.0的0.05M硼酸缓冲液)，混匀后再分别加入80ug CA19-9单克隆抗体和65ug CEA单克隆抗体，37℃振荡标记2h，离心后用复溶缓冲液(0.01MTris-Hcl(pH8.5)、0.1%BSA、0.1%T-20、0.1% PVP、0.1%PEG20000、3%海藻糖、0.05% NaN_3)重悬，加入10%BSA 50ul封闭30min，得到时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体复合物和CEA单克隆抗体复合物。

[0029] 实施例2

CA19-9单克隆抗体(记为S1(亚型为IgG2a，效价为1:128)、S2(亚型为IgG3，效价为1:256)、S3(亚型为IgG2a，效价为1:256)、S4(亚型为IgG1，效价为1:128))与CEA单克隆抗体(记为M1(亚型为IgG3，效价为1:128)、M2(亚型为IgG2a，效价为1:256)、M3(亚型为IgG2a，效价为1:128)、M4(亚型为IgG2a，效价为1:64))均由河南省生物工程技术研究中心提供。分别采用实施例1的方法与时间分辨荧光微球偶联，制成标记的CA19-9单克隆抗体复合物(记为S1复合物、S2复合物、S3复合物、S4复合物)和CEA单克隆抗体复合物(记为M1复合物、M2复合物、M3复合物、M4复合物)。将标记的CA19-9单克隆抗体复合物和CEA单克隆抗体复合物混合后喷涂在玻璃纤维棉上，并将CA19-9单克隆抗体和CEA单克隆抗体分别包被在在硝酸纤维素膜上，将标记与包被的单克隆抗体采用时间分辨荧光免疫层析法进行配对筛选，检测CA19-9、CEA线性才考品，读取检测线荧光强度，计算与质控线(C线)的比值，采用最小二乘法拟合获得线性方程，线性范围和R^2值如表1、表2所示：

表1

包被	标记			
	S1 复合物	S2 复合物	S3 复合物	S4 复合物
S1	/	12.5-400U/mL R^2=0.9356±0.023	无梯度	12.5-400U/mL R^2=0.9532±0.036
S2	12.5-400U/mL R^2=0.9856±0.023	/	12.5-400U/mL R^2=0.9444±0.056	12.5-600U/mL R^2=0.9436±0.066
S3	12.5-600U/mL R^2=0.9822±0.043	12.5-600U/mL R^2=0.9837±0.021	/	12.5-800U/mL R^2=0.9366±0.037
S4	12.5-200U/mL R^2=0.9564±0.078	12.5-800U/mL R^2=0.9878±0.044	12.5-600U/mL R^2=0.9576±0.042	/

表2

包被	标记			
	M1 复合物	M2 复合物	M3 复合物	M4 复合物
M1	/	4-150ng/mL R^2=0.9474±0.035	4-150ng/mL R^2=0.9536±0.035	8-150ng/mL R^2=0.9674±0.033
M2	2-200ng/mL R^2=0.9875±0.065	/	2-200ng/mL R^2=0.9522±0.053	8-50ng/mL R^2=0.9754±0.035
M3	4-200ng/mL R^2=0.9553±0.034	4-50ng/mL R^2=0.9643±0.026	/	4-200ng/mL R^2=0.9574±0.053
M4	8-150ng/mL R^2=0.9764±0.025	4-200ng/mL R^2=0.9654±0.046	8-200ng/mL R^2=0.9844±0.035	/

根据以上表1和表2的结果，根据线性范围和拟合决定系数筛选出最优配对结果。其中，将CA19-9单克隆抗体S2作为标记抗体，CA19-9单克隆抗体S4作为包被抗体时，结果最优，线性范围达12.5-800U/mL，R^2=0.9878±0.044；将CEA单克隆抗体M1作为标记抗体，CEA单克隆抗体M2作为包被抗体时，结果最优，线性范围达2-200ng/mL，R^2=0.9875±0.065。

[0030] 实施例3：联合检测CA19-9与CEA的时间分辨荧光免疫层析试纸条的制备

(1)采用实施例1的方法，分别制备时间分辨荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体S2复合物和CEA单克隆抗体M1复合物；

(2)检测线、质控线抗体的包被：将硝酸纤维素膜粘贴在底板的中间位置，并与上端的吸水纸进行重叠接触1-2mm，将由0.05M PBS、1%BSA、0.05%NaN_3组成的稀释液稀释的CA19-9单克隆抗体S4、CEA单克隆抗体M2及羊抗鼠多克隆抗体分别包被在硝酸纤维素膜上的T1线、

T2线和C线位置，在37℃、40%湿度下，干燥4h；

(3)结合区喷涂：将玻璃纤维棉浸泡在处理液(0.01MTris-Hcl(pH8.5)、0.1%BSA、0.1% T-20、0.1% PVP、0.1% PEG20000、3%海藻糖、3%蔗糖、0.05%NaN_3)中，捞出后烘干，将步骤(1)制备的荧光微球标记的CA19-9单克隆抗体S2复合物和CEA单克隆抗体M1复合物混合后，以6ul/cm喷涂在烘干的玻璃纤维棉上的结合区内，在37℃、40%湿度下，干燥5h；

(4)组条：将步骤(3)喷涂后的玻璃纤维棉粘贴在PVC底板上，结合区一端压在所述硝酸纤维素膜上，重叠接触1 mm组装后的试纸条结构如图1所示。

[0031] 实施例4：样本检测

取出实施例3制备的试纸条，恢复室温，采用CA19-9线性参考品(12.5、25、50、100、200、400、600、800、1000U/mL)、CEA线性参考品(2、4、8、16、32、50、150、200ng/mL)，分别在点样区点样65ul，静置15min，将试纸条插入与本试纸条配套的荧光分析仪(干式荧光定量仪)中，读取C线、T1线、T2线的荧光强度值，计算出T1/C、T2/C的值，将T1/C与CA19-9线性参考品浓度建立标准曲线(如图2所示)，获得线性方程，将T2/C与CEA线性参考品浓度建立标准曲线(如图3所示)，获得线性方程。

[0032] 取待检测样本(血清)65ul，点样在试纸条的点样区内，静置15min，将试纸条插入与试纸条配套的荧光分析仪中，分别读取C线、T1线和T2线的荧光强度值，计算T1/C、T2/C的值，将T1/C、T2/C的值分别代入CA19-9浓度—T1/C值标准曲线和CEA浓度—T2/C值标准曲线中，计算出CA19-9与CEA的含量值。

[0033] 当CA19-9含量高于37U/ml，CEA含量高于3.5ng/ml时，初步怀疑有患胰腺癌的风险。

[0034] 实施例5：检测结果验证

在某医院取CA19-9与CEA血清临床样本各40份，并用罗氏试剂盒通过电化学发光法检测各样本中CA19-9与CEA的含量。采用实施例4的方法，采用本发明的试纸条对样本进行平行检测，以本发明试纸条的CA19-9检测结果为横坐标，罗氏试剂盒的CA19-9检测结果为纵坐标，拟合获得标准曲线，如图4所示，同样地，以本发明试纸条的CEA检测结果为横坐标，罗氏试剂盒的CEA检测结果为纵坐标，拟合获得标准曲线，如图5所示。结果显示，本发明试纸条检测结果与罗氏试剂盒检测结果相关性好，说明本发明实施例3制备的试纸条定量检测结果准确度高。

[0035] 以上仅描述了本发明的较佳实施方式，但本发明并不限于上述实施例。本领域技术人员可以理解的是，能够实现本发明技术效果的任何相同或相似手段，均应落入本发明的保护范围内。

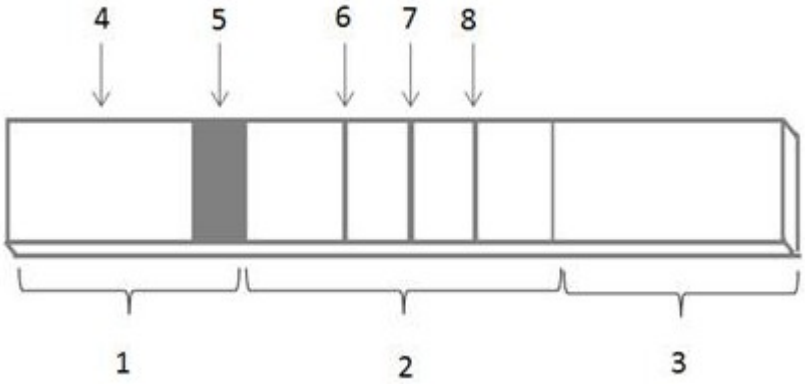
4
5
6
7
8
1
2
3

图1

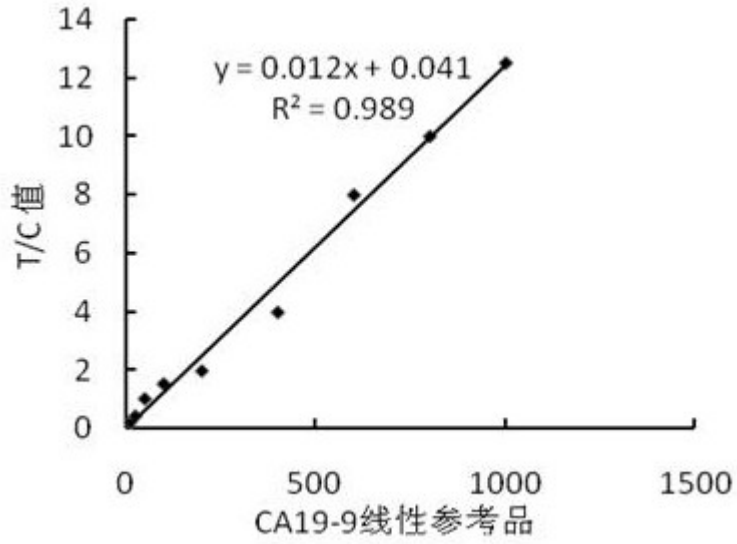
y = 0.012x + 0.041
R² = 0.989
T/C值
14
12
10
8
6
4
2
0
0
500
1000
1500
CA19-9线性参考品

图2

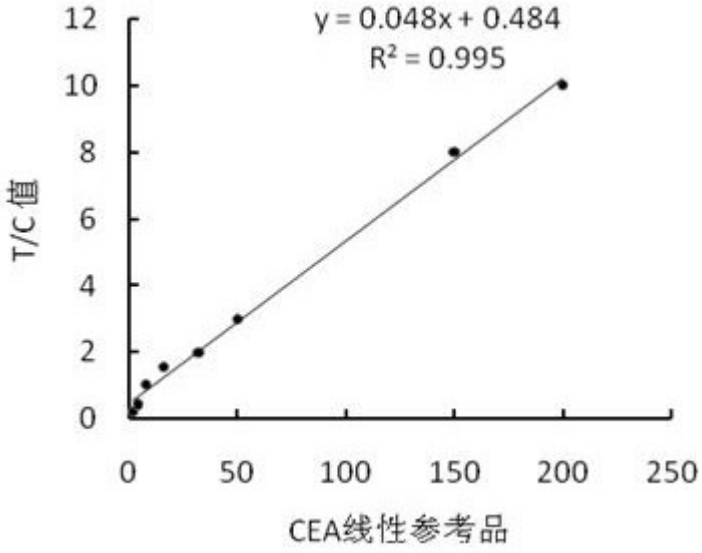
y = 0.048x + 0.484
R² = 0.995
T/C 值
CEA线性参考品
0
2
4
6
8
10
12
0
50
100
150
200
250

图3

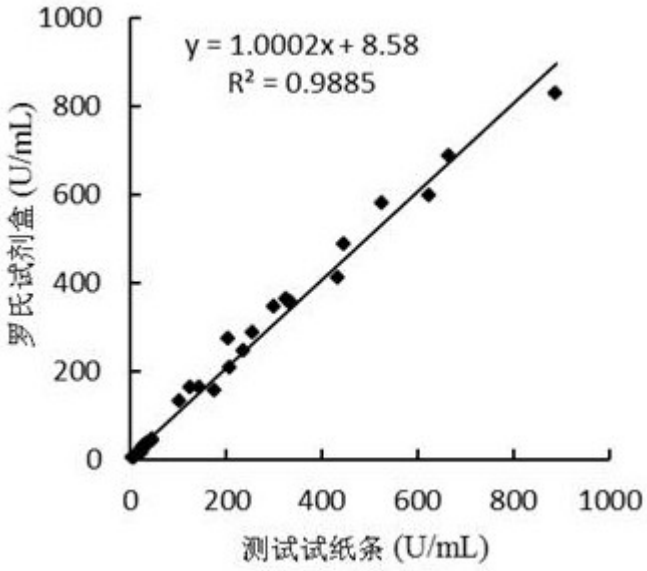
y = 1.0002x + 8.58
R² = 0.9885
罗氏试剂盒 (U/mL)
测试试纸条 (U/mL)
0
200
400
600
800
1000

图4

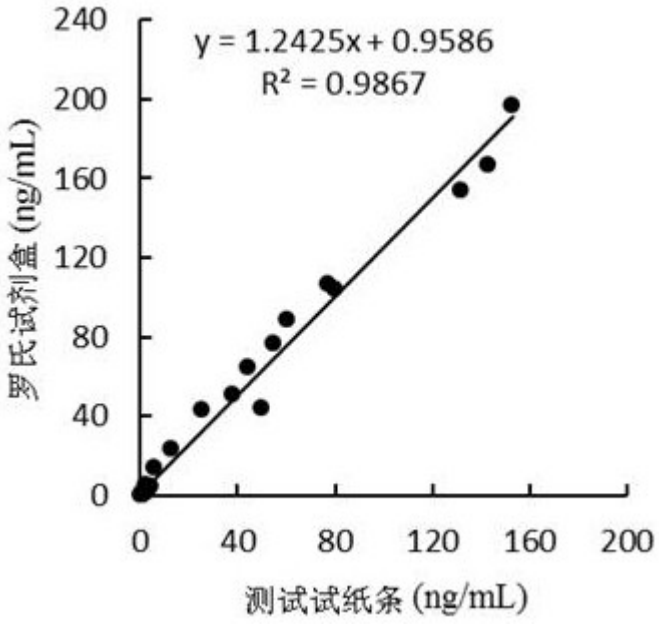
y = 1.2425x + 0.9586
R² = 0.9867
罗氏试剂盒 (ng/mL)
测试试纸条 (ng/mL)
0
40
80
120
160
200
240

图5