



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101520458 B

(45) 授权公告日 2014. 04. 16

(21) 申请号 200810026435. 8

(22) 申请日 2008. 02. 25

(73) 专利权人 广州天美生物技术有限公司

地址 510510 广东省广州市白云区京溪路
226 号 1402 室

(72) 发明人 苏殿杰 韩苏 魏桂梅

(74) 专利代理机构 北京鼎佳达知识产权代理事
务所(普通合伙) 11348

代理人 王伟锋 刘铁生

刘彦慧等. 检测尿液 CK20 的胶体金试条研
制及初步应用. 《临床检验杂志》. 2007, 第 25 卷
(第 3 期), 174-176.

王玉金等. 胶体金免疫层析法检测血清癌胚
抗原. 《标记免疫分析与临床》. 2003, 第 10 卷(第
3 期), 167-170.

张正雷等. 甲胎蛋白胶体金检测试剂的研
制. 《微生物学免疫进展》. 2002, 第 30 卷(第 3
期), 46-48.

审查员 欧阳石文

(51) Int. Cl.

G01N 33/574(2006. 01)

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/532(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 2499836 Y, 2002. 07. 10, 全文.

CN 1425775 A, 2003. 06. 25, 全文.

CN 101082059 A, 2007. 12. 05, 全文.

权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54) 发明名称

金标免疫分析检测 HLA-G 及其抗体的简易方
法

(57) 摘要

本发明公开了金标免疫分析检测 HLA-G 及其
抗体的简易方法。本发明利用 HLA-G 的单抗和
HLA-G 抗原片段和 / 或 HLA-G 研制成功金标免疫
渗滤分析试剂盒和金标免疫层析夹心法和竞争法
试剂盒, 供群众简便、快速、廉价地自检自测血液、
唾液、尿液等体液中 HLA-G, 用于诊断早期恶性肿
瘤。为了诊断更早期恶性肿瘤, 我们还研制了金标
免疫层析间接法检测 HLA-G 抗体试剂盒, 用于诊
断更早期恶性肿瘤。以上试剂盒统称为“广谱肿
瘤诊断试剂盒”。本发明的目的是研制简便、快速、
廉价的“广谱肿瘤诊断试剂盒”供群众自检自测,
实现肿瘤基层普查, 达到肿瘤早发现、早治疗的目
的, 拯救肿瘤患者的生命, 降低肿瘤死亡率。

1. 一种制备胶体金标记的 HLA-G 单抗的方法,其特征在于包含如下的步骤:

(1)待标记 HLA-G 单抗的预处理:将待标记的 HLA-G 单抗预先对 0.005mol/L pH8.0 的 NaCl 溶液 4℃透析过夜除去多余的盐离子,然后 100000g 4℃离心 1h,去除聚合物;

(2)待标胶体金溶液的准备:以 0.1mol/l K_2CO_3 和 0.1mol/l HCl 溶液调整胶体金溶液 pH 值至 8.0-9.0;

(3)胶体金与 HLA-G 单抗用量比的确定:胶体金调好 pH 值后,分装 10 管,每管 1ml;将待标记的 HLA-G 单抗以 0.005mol/l pH8.0-8.2 硼酸盐缓冲液做系列稀释为 5 μ g/ml ~ 50 μ g/ml,分别取 1ml,加入上列胶体金溶液中,混匀,对照管只加 1ml 稀释液;5min 后,在上述各管中加入 0.1ml 10%NaCl 溶液,混匀后静置 2h,观察结果;对照管和加入蛋白质的量不足以稳定胶体金的各管,均呈现出由红变蓝的聚沉现象;而加入蛋白质达到或超过最低稳定量的各管仍保持红色不变,以稳定 1ml 胶体金溶液红色不变的最低蛋白质用量,即为该标记蛋白质的最低用量,最低用量增加 10-20% 为标记蛋白的实际用量;

(4)胶体金与 HLA-G 单抗的结合:将胶体金和 HLA-G 单抗溶液分别以 0.1mol/l K_2CO_3 和 0.1mol/l HCl 溶液调 pH 至 8.0-9.0;HLA-G 单抗溶液在电磁搅拌下,按胶体金与 HLA-G 单抗用量之比滴入胶体金溶液,加完后继续搅拌 10min,加入聚乙二醇溶液,最终浓度达到 1% 以稳定胶体金溶液,以防止抗体蛋白质与胶体金聚合发生沉淀;

(5)胶体金标记 HLA-G 单抗的纯化:上述胶体金与 HLA-G 单抗的结合液经 15000r/min 4℃离心 30min,弃上清,沉淀用含聚乙二醇的上述缓冲液恢复原体积后反复洗涤 2-3 次,彻底除去未结合的 HLA-G 单抗,将沉淀重悬为原体积的 1/10,4℃保存,或在结合物内加 50% 甘油储存于 -18℃,可保存一年以上。

金标免疫分析检测 HLA-G 及其抗体的简易方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物医学免疫分析领域。利用金标免疫分析技术检测 HLA-G 及其抗体,建立简便、快速诊断恶性肿瘤新方法,用于基层筛查早期恶性肿瘤。此外本发明也可用于生理、病理、药理、免疫、生殖、肿瘤、器官移植等多方面研究。

[0002] 技术背景

[0003] 肿瘤是一种常见病和多发病,发病率居第二位。据世界卫生组织 1997 年报告称全球肿瘤患者每年死亡人数高达 660 万,到 2020 年全球的肿瘤患者将达到 1500 万。各种恶性肿瘤严重地威胁着人类的身体健康。

[0004] 目前研究人员已经发现了多种恶性肿瘤标志物,例如 AFP(甲胎蛋白)、CEA(癌胚抗原)、CA15-3、CA19-9、CA50、CA125、PSA 等等。然而,这些肿瘤标志物均具有高度的特异性,利用某种肿瘤标志物只能检测其对应的一类肿瘤,对其它肿瘤则无能为力。如果要检查体内是否存在某些常见的恶性肿瘤就必须作多项检查。

[0005] 1987 年 Geraghty 等 (1) 发现并克隆了 HLA-G。HLA-G 是人类白细胞抗原 (HLA) I 组中非经典的组织相容性抗原。在正常组织中不存在。HLA-G 最初发现于胎盘绒毛细胞滋养层。初期有关 HLA-G 的研究集中于胎儿同母亲之间的免疫耐受 (2)。由于胎盘分泌 HLA-G 使母体产生免疫耐受,从而使胎儿避免了母体的排斥作用。近 20 年,HLA-G 已成为重要的免疫分子,在免疫、生殖、肿瘤、器官移植等方面作为一种免疫抑制剂发挥着重要作用 (3)。免疫组化检测结果证实在喉癌、食道癌、胃癌、结肠癌、直肠癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫癌等多种恶性肿瘤组织中都能表达 HLA-G。由于恶性肿瘤细胞能够表达和分泌 HLA-G,恶性肿瘤才得以逃避人体免疫监视,使其快速生长和扩散。大量的实验证明,HLA-G 是一个具有高度肿瘤特异性的肿瘤标志物,在恶性肿瘤表达具有普遍性。在恶性肿瘤发生和发展过程中其水平在血液、其它体液及肿瘤组织中增高。因此检测 HLA-G 能广泛地应用于诊断各种常见恶性肿瘤。通过检测 HLA-G 便可探明受检者体内是否存在常见的恶性肿瘤。

[0006] 然而在肿瘤发病的早期往往没有自觉症状,不能引起人们的警觉。可是一旦发觉自觉症状时已到无法根治的中晚期。如果在肿瘤发病的早期,在未发觉自觉症状之前能够早期发现早期肿瘤,进行早期治疗,就能拯救千千万万肿瘤患者的生命。为了实现早发现早治疗的目标开展肿瘤基层普查是必要的。但是我国地域广大人口众多,根据我国目前实际情况开展肿瘤基层普查,在技术上、人力上、物力上都存在一定的困难。并且目前检测肿瘤常用的设备比较复杂,在实验室内需要专人操作,不适合基层流动性工作。

[0007] 金标免疫分析技术是一种简便、快速、廉价并且具有一定灵敏度的免疫分析技术,很适合在基层应用。我们利用 HLA-G 单抗、HLA-G 抗原片段和 / 或 HLA-G 研制出金标免疫渗滤分析试剂盒、金标免疫层析夹心法和竞争法试剂盒用于检测 HLA-G。此外我们还研制出金标免疫层析间接法检测 HLA-G 抗体试剂盒。供群众简便、快速、廉价、定期地进行自检自测,收到肿瘤基层普查的效果,达到肿瘤早发现,早治疗的目的。

[0008] 参考文献:

[0009] 1、Geraghty DE,Koller BH,Orr HT.A human major histocompatibility complex

classI gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. Proc Natl Acad Sci U S A 1987 ;84 :9145-9149.

[0010] 2. Yan WH, Fan LA. HLA-G and maternal-fetal immunology. Chin J Obstet Gynecol (Chin) 2002 ;37 :567-569.

[0011] 3. Yan WH, Fan LA. HLA-G and transplacental. Immunol J (Chin) 2004 ;20 :1-3.

发明内容

[0012] 一、HLA-G 单抗的制备

[0013] 用人工合成的 HLA-G 多肽抗原片段和 / 或 HLA-G 作为免疫原免疫 BALB/c 小鼠, 经细胞杂交筛选获得 2 个杂交瘤细胞株, 制备两种同 HLA-G 反应具有不同结合位点的单抗。具体方法参见本文作者申请的专利 (专利申请号为 200610130403.3)。

[0014] 二、胶体金的制备方法

[0015] 1、将 HauCl_4 先配制成 0.01% 水溶液, 取 100ml 加热至沸。

[0016] 2、搅动下逐滴准确加入 1% 柠檬酸三钠 ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) 水溶液 1.00-1.50ml。

[0017] 3、继续加热煮沸 15min。此时可观察到淡黄色的氯金酸水溶液在柠檬酸钠加入后很快变灰色, 继而转成黑色, 随后逐渐稳定成橙红-红色-紫红。全过程约 2~3min。

[0018] 4、冷却至室温后用蒸馏水恢复至 100ml。

[0019] 三、胶体金标记 HLA-G 单抗

[0020] 1、待标记单抗 A 的预处理: 将待标记单抗 A 预先对 0.005Mol/L pH8.0 的 NaCl 溶液 4℃ 透析过夜, 以除去多余的盐离子, 然后 100000g 4℃ 离心 1h, 去除聚合物。

[0021] 2、待标胶体金溶液的准备: 以 0.1Mol/L K_2CO_3 和 0.1mol/L HCL 溶液调整胶体金溶液 pH 值调至 8.0-9.0 (用精密 pH 试纸测定)。

[0022] 3、胶体金与单抗 A 用量之比的确定

[0023] (1) 胶体金调好 pH 之后, 分装 10 管, 每管 1ml。

[0024] (2) 将待标记的单抗 A 以 0.005Mol/L pH 8.0-8.2 硼酸盐缓冲液做系列稀释为 5 $\mu\text{g/ml}$ ~ 50 $\mu\text{g/ml}$, 分别取 1ml, 加入上列金胶溶液中, 混匀。对照管只加 1ml 稀释液。

[0025] (3) 5min 后, 在上述各管中加入 0.1ml 10% NaCl 溶液, 混匀后静置 2h, 观察结果。

[0026] (4) 结果观察, 对照管 (未加蛋白质) 和加入蛋白质的量不足以稳定胶体金的各管, 均呈现出由红变蓝的聚沉现象; 而加入蛋白量达到或超过最低稳定量的各管仍保持红色不变。以稳定 1ml 胶体金溶液红色不变的最低蛋白质用量, 即为该标记蛋白质的最低用量, 在实际工作中, 可适当增加 10%~20%。

[0027] 4、胶体金与单抗 A 的结合: 将胶体金和单抗 A 溶液分别以 0.1Mol/L K_2CO_3 和 0.1mol/L HCL 溶液调 pH 至 8.0-9.0。单抗 A 溶液在电磁搅拌下, 按胶体金与单抗 A 用量之比滴加胶体金溶液, 加完后继续搅拌 10min, 加入 1% 聚乙二醇溶液 (分子量 20000) 最终浓度达 0.1% 以稳定胶体金溶液, 防止抗体蛋白与胶体金聚合发生沉淀。

[0028] 5、胶体金标记单抗 A 的纯化: 上述胶体金与单抗 A 的结合液经 15000r/min 4℃ 离心 30min。弃上清, 沉淀用含 PEG 的上述缓冲液恢复原体积后反复洗涤 2-3 次, 彻底除去未结合的单抗 A。将沉淀重悬为原体积的 1/10, 4℃ 保存。如在结合物内加 50% 甘油可贮存于 -18℃ 保存一年以上。

[0029] 四、胶体金标记 HLA-G :胶体金标记 HLA-G 参照胶体金标记 HLA-G 单抗的方法进行。

[0030] 五、胶体金标记人工合成的 HLA-G 抗原片段

[0031] 参照胶体金标记 HLA-G 单抗的方法进行。考虑到人工合成的 HLA-G 抗原片段分子量低的特点,具体操作稍作修改:

[0032] 1、HLA-G 抗原片段的预处理经过脱盐透析后离心处理同单抗 A。

[0033] 2、确定胶体金与 HLA-G 抗原片段用量之比的方法同单抗 A。

[0034] 3、标记后的纯化方法,由于 HLA-G 抗原片段分子量低,可用层析分离的方法。将胶体金蛋白结合物装入透析袋,风吹脱水浓缩至原体积的 1/5 ~ 1/10。再经 1500r/min 离心 20min,取上清加至 Sephacryl S-400 (丙烯葡聚糖凝胶 S-400) 层析柱纯化。层析柱为 0.8cm×20cm,加样量为床体积的 1/10,以 0.02mol/L PBS 液洗脱 (含 0.05% NaN₃),流速为 8ml/h。按红色深浅分管收集洗脱液。一般先滤出的液体为微黄色,有时略混浊,内含大颗粒聚合物等杂质。继之为纯化的胶体金蛋白结合物,随浓度的增加而红色逐渐加深,清亮透明。将纯化的胶体金标记物过滤除菌、分装,4℃ 保存。最终可得到 70% ~ 80% 的产量。

[0035] 六、金标免疫渗滤分析检测 HLA-G

[0036] 金标免疫渗滤装置见图一及图二。把 HLA-G 的单抗 A 结合在硝酸纤维膜上。检测时在膜上滴加样品,待样品渗透完后滴加金标单抗 B,待金标单抗 B 渗透后,滴加洗涤液洗涤。如果样品中含有 HLA-G,在纤维膜上应出现红色斑点。

[0037] 注释:如果用全血样品,则在滤膜上层加一个红细胞过滤膜,以阻止红细胞干扰试验。

[0038] 七、金标免疫层析夹心法检测 HLA-G

[0039] 金标免疫层析夹心法测试装置参见示意图三。为了用全血作为待测样品,在加样处放置一个红细胞滤膜以防止红细胞沿硝酸纤维膜移动干扰试验。硝酸纤维膜采用通用的型号。金线 G 包被金标单抗 A,测定线 T 固定单抗 B、质控线 C 固定免抗鼠 IgG。测试时样品滴到 A 端 S 处。

[0040] 如果样品中含有 HLA-G,经层析作用 HLA-G 运动到金线 G 同包被的金标单抗 A 结合形成金标单抗 A-HLAG 复合物。该复合物继续运动至测定线 T,同固定在 T 线的单抗 B 结合形成双单抗夹心红色复合物:金标单抗 A-HLAG- 单抗 B。该复合物停留在 T 线形成红色的测定线。过剩的金标单抗 A 越过 T 线到达质控线 C,同固定在 C 线的免抗鼠 IgG 结合形成红色复合物:金标单抗 A- 免抗鼠 IgG。成阳性反应。阳性结果判断标准是:T 线红色,C 线红色。

[0041] 若样品中无 HLA-G,在 T 线不能形成红线,在 C 线形成金标单抗 A- 免抗鼠 IgG 红色线。反应成阴性。阴性结果判断标准是:T 线不显红色,C 线产生红色。

[0042] 若试剂失效在 T 线和 C 线均不能形成红色线。

[0043] 如果在质控线 C 处固定 HLA-G 抗原片段和 / 或 HLA-G,可以排除样品中的无关 IgG 对免抗鼠 IgG 的竞争结合,使质控结果更特异,将能提高质控试剂的敏感度,改善试剂盒的质量。但是包被 HLA-G 的抗原片段会提高试剂盒的成本。包被免抗鼠 IgG 虽然成本低廉,但是降低了质控试剂的敏感度,使整个试剂盒的质量降低。

[0044] 八、金标免疫层析竞争法检测 HLA-G

[0045] 金标免疫层析竞争法测试装置参见示意图四。如图四所示,G 线包被金标 HLA-G 单抗 A,测定线 T 固定 HLA-G 抗原片段和 / 或 HLA-G,质控线 C 固定兔抗鼠 IgG。试验时样品滴在 A 端 S 处。

[0046] 如果样品中含有 HLA-G, HLA-G 流经 G 线同金标单抗结合形成金标单抗 A-HLAG 复合物。该复合物继续前进到达 T 线时,由于无足够的游离金标单抗 A 与膜上固定的 HLA-G 抗原片段和 / 或 HLA-G 结合,T 处无红色线出现。复合物越过 T 线继续前进到 C 线,C 线固定的兔抗鼠 IgG 同该复合物形成红色复合物:兔抗鼠 IgG- 金标单抗 A-HLAG。试验结果为阳性。阳性结果的判断标准是:T 线无色,C 线红色。

[0047] 若样品中无 HLA-G,金标单抗 A 将同 T 线固定的 HLA-G 抗原片段和 / 或 HLA-G 结合形成红色的复合物:金标单抗 A-HLAG。过剩的金标单抗 A 越过 T 线到达 C 线形成红色复合物:兔抗鼠 IgG- 金标单抗 A。试验结果成阴性反应。阴性结果判断标准是:T 线红色,C 线红色。

[0048] 如果在质控线 C 处固定单抗 B,可以排除样品中的无关 IgG 对兔抗鼠 IgG 的竞争结合,使质控结果更特异,更敏感,将能提高试剂的质量。但是,包被单抗 B 会提高试剂的成本。包被兔抗鼠 IgG 虽然成本低廉,但是降低了质控试剂的敏感度,使整个试剂盒的质量降低。

[0049] 九、金标免疫层析间接法检测 HLA-G 的抗体

[0050] 在恶性肿瘤发生的最早期,当恶性肿瘤分泌 HLA-G 后,人体免疫器官将立刻回应其产生 HLA-G 的抗体。当恶性肿瘤分泌的 HLA-G 进一步增多时,人体的免疫组织逐渐被抑制,则 HLA-G 抗体的浓度将随之逐步下降,取而代之 HLA-G 的浓度将逐步升高。在人体发生肿瘤的最早期将会出现一过性 HLA-G 抗体升高。所以检测 HLA-G 的抗体有助于诊断最早期恶性肿瘤。

[0051] 用金标免疫分析检测 HLA-G 的抗体时,人体的无关 IgG 严重干扰金标抗人 IgG 同被测 IgG 的结合,使检测敏感度降低,甚至出现假阳性结果。为了排除人体无关 IgG 的干扰作用,金标免疫层析检测 HLA-G 抗体时须采用金标免疫层析间接法。

[0052] 图五为金标免疫层析间接法检测 HLA-G 抗体测试卡示意图。金标层析间接法检测 HLA-G 抗体测试卡分为左右可折叠的两个部分。测试卡的右面中央纵向贴有硝酸纤维膜条。膜的 T 线固定 HLA-G 抗原片段和 / 或 HLA-G。E 为加样处,含有蛋白染料。F 区为吸水材料;测试卡的左面 A 区和 D 区为吸水材料。B 为观察窗口。C 区包被了金标羊抗人 IgG。测定时先将缓冲液加在 D 区,在毛细管作用下,缓冲液层析至 C 区将金标羊抗人 IgG 复溶。这时将样品加在 E 处与蛋白染料一起向 F 端移动。若样品中含有 HLA-G 抗体,当样品移动至 T 线后,样品中的 HLA-G 抗体与固定在 T 线的 HLA-G 抗原片段和 / 或 HLA-G 结合成抗体抗原复合物:HLA-G 抗体-HLAG 抗原片段。当染料移动到 G 处时,在 F 处滴加缓冲液,立即合上测试卡。在 A 端吸水材料的吸引下,膜上的液体向反向 A 端流动。样品中无关 IgG 及其它无关物质流回 E 处,随后而来的金标羊抗人 IgG 与 T 线的抗体抗原复合物相遇,形成金标羊抗人 IgG-HLAG 抗体-HLAG 抗原片段红色复合物,在 T 处显示红色线条为阳性结果。若样品中无 HLA-G 抗体,在 T 处不显示红色线条,成为阴性结果。为了用金标免疫层析测定样品中的抗体,本法有效地排除了样品中无关 IgG 对测定的干扰作用,有效地提高了检测的灵敏度。

[0053] 十、免疫分析检测 HLA-G 及其抗体用于诊断恶性肿瘤的试剂盒我们命名为“广谱

肿瘤诊断试剂盒”。我们称 HLA-G 为“肿瘤共同抗原”。

[0054] 十一、金标免疫分析的检测样品及检测周期

[0055] 金标免疫分析检测 HLA-G 可选用血清、全血、唾液、尿液等作为检测样品。此外免疫组化定性试验的组织切片、细胞涂片等样品均可作为金标免疫试剂的样品。为了发现早期恶性肿瘤,达到早发现早治疗的目的,作者建议最好每月自检自测一次。

[0056] 十二、金标免疫分析检测 HLA-G 的应用范围

[0057] 金标免疫分析试剂不但用于检测体液(全血、血清、唾液、尿液)中 HLA-G 以诊断恶性肿瘤。同时也可用于组织切片、细胞涂片金标免疫染色,用光学显微镜或电镜定性测定其中所含 HLA-G 以诊断恶性肿瘤细胞的存在。

[0058] 附图说明:

[0059] 一、图 1 所示金标免疫渗滤操作示意图。

[0060] 二、图 2 所示金标免疫渗滤装置分解图。

[0061] 三、图 3 所示金标免疫层析夹心法示意图。其中(1)为加样后反应前的状态。(2)为样品中含有 HLA-G 的反应结果。(3)为样品中无 HLA-G 的反应结果。

[0062] 四、图 4 所示金标免疫层析竞争法示意图。其中(1)为加样后反应前的状态。(2)为样品中含有 HLA-G 的反应结果。(3)为样品中无 HLA-G 的反应结果。

[0063] 五、图 5 所示金标免疫层析间接法检测 HLA-G 抗体原理图。

[0064] 具体实施方案

[0065] 一、金标免疫渗滤分析检测 HLA-G

[0066] 随机选择正常人(无偿献血者)105 名,用金标免疫渗滤分析检测其血液、唾液中的 HLA-G。测定结果表明血液、唾液中 HLA-G 均为阴性,同金标免疫层析夹心法、竞争法的测定结果相符。

[0067] 病例检测:26 例临床确诊的恶性肿瘤患者用本法检测其血液、唾液中 HLA-G,检测结果表明其血液、唾液中 HLA-G 均为阳性,同金标免疫层析夹心法、竞争法检测结果相符。

[0068] 二、金标免疫层析夹心法检测 HLA-G

[0069] 随机选择 105 名正常人(无偿献血者)用本法检测其血液、唾液中 HLA-G,检测结果表明其血液、唾液中的 HLA-G 均为阴性,同金标免疫渗滤分析、金标层析竞争法测定结果相符。

[0070] 检测 26 例经临床确诊的恶性肿瘤患者血液、唾液中 HLA-G,检测结果表明 26 例恶性肿瘤患者的血液、唾液中的 HLA-G 均为阳性,同金标免疫渗滤分析、金标层析竞争法测定结果相符。

[0071] 三、金标免疫层析竞争法检测 HLA-G

[0072] 随机选择 105 例正常人(无偿献血者)用本法检测其血液、唾液中 HLA-G,检测结果表明 105 例正常人的血液、唾液中 HLA-G 均为阴性,同金标免疫渗滤分析、金标免疫层析夹心法测定结果相符。

[0073] 用本法检测 26 例经临床确诊的恶性肿瘤患者血液、唾液中 HLA-G,测定结果表明 26 例恶性肿瘤患者的血液、唾液中的 HLA-G 全为阳性,其结果同金标免疫渗滤分析、金标免疫层析夹心法测定结果相符。

[0074] 四、上述三种金标免疫分析方法同化学发光免疫分析方法测定结果的比较

[0075] 105 例正常人（无偿献血者）用上述三种金标免疫分析方法测定其血液、唾液中的 HLA-G 的结果均为阴性，同化学发光免疫分析测定结果相符。

[0076] 26 例恶性肿瘤病例用上述三种金标免疫分析方法测定其血液、唾液中 HLA-G 的结果均为阳性，其结果同化学发光免疫分析测定结果相符。

[0077] 五、金标免疫层析间接法检测 HLA-G 的抗体

[0078] 在食管癌高发区随机检测 1576 人血液、唾液中 HLA-G 抗体，共检出 HLA-G 抗体阳性者 2 例，其余 HLA-G 抗体均为阴性。经追踪随访证实，3 个月后 HLA-G 抗体阳性者最终被医院确诊为食管癌。在 26 例住院接受治疗的恶性肿瘤患者的血液、唾液中 HLA-G 均为阳性，未检出 HLA-G 抗体。

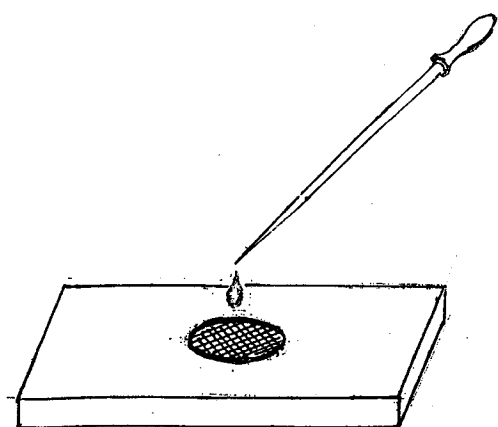


图 1

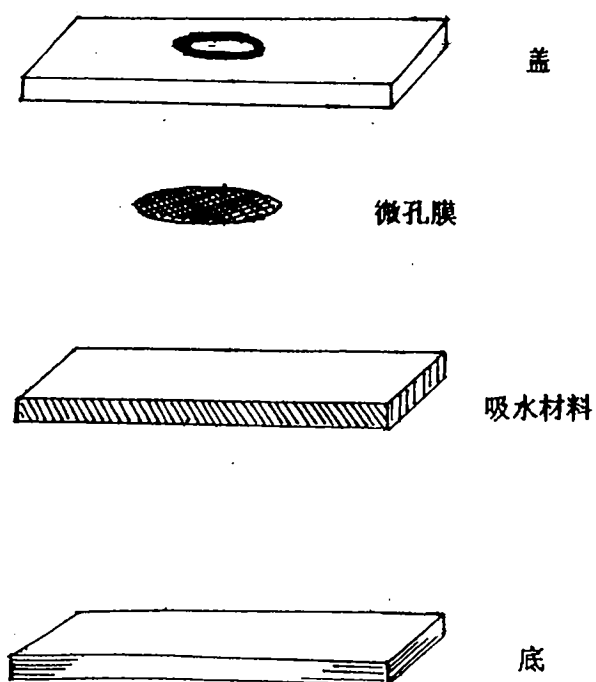


图 2

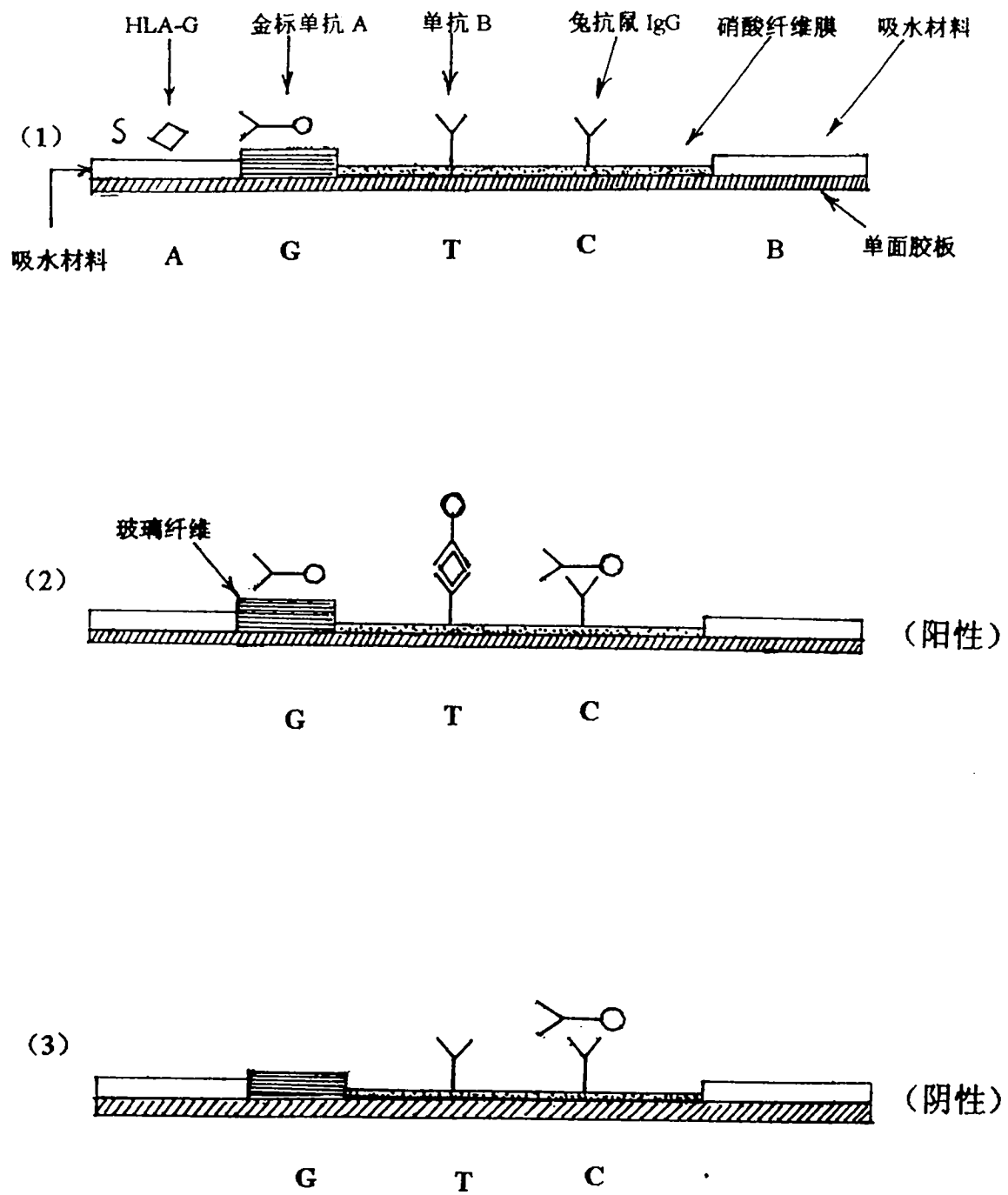


图 3

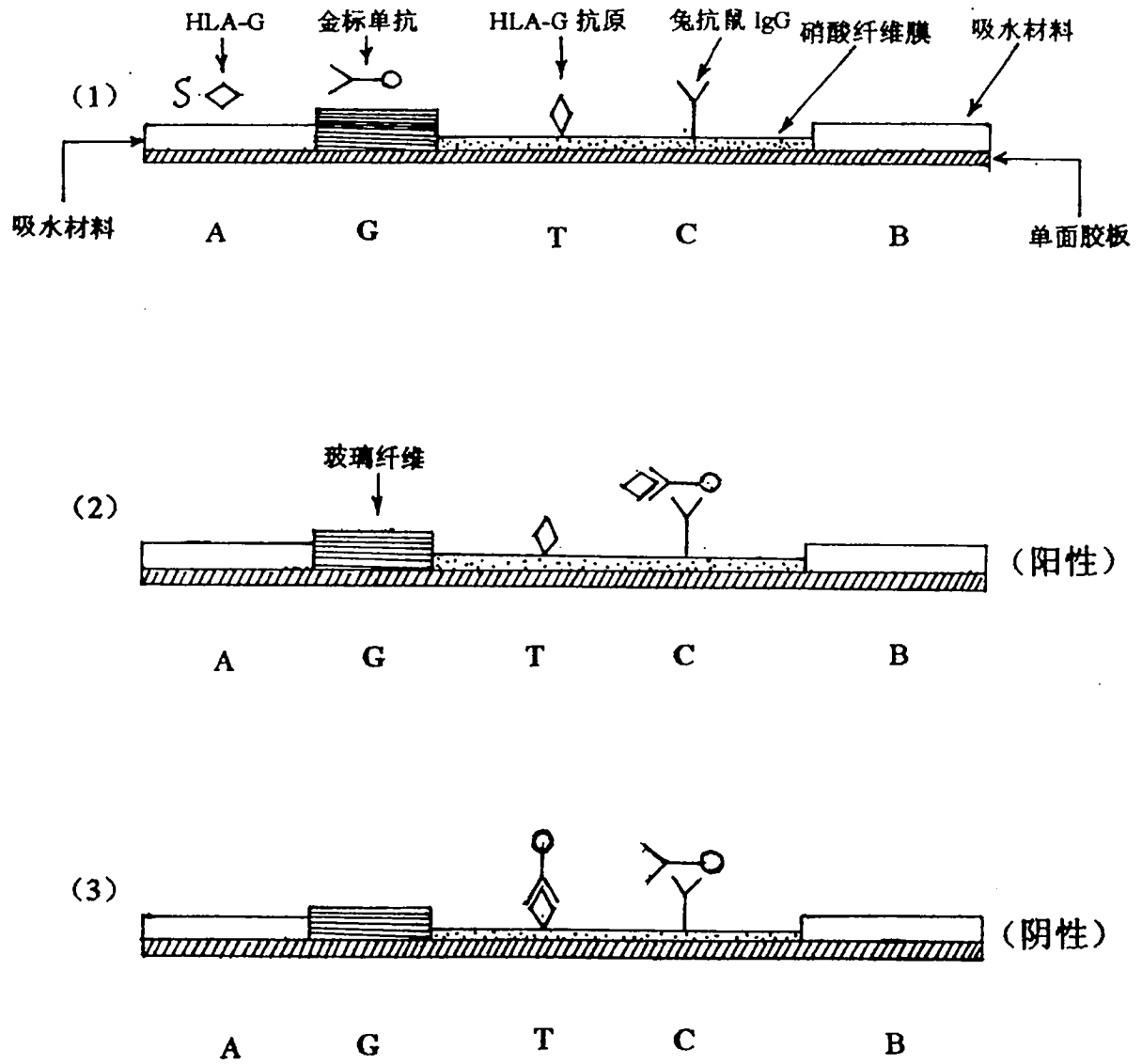


图 4

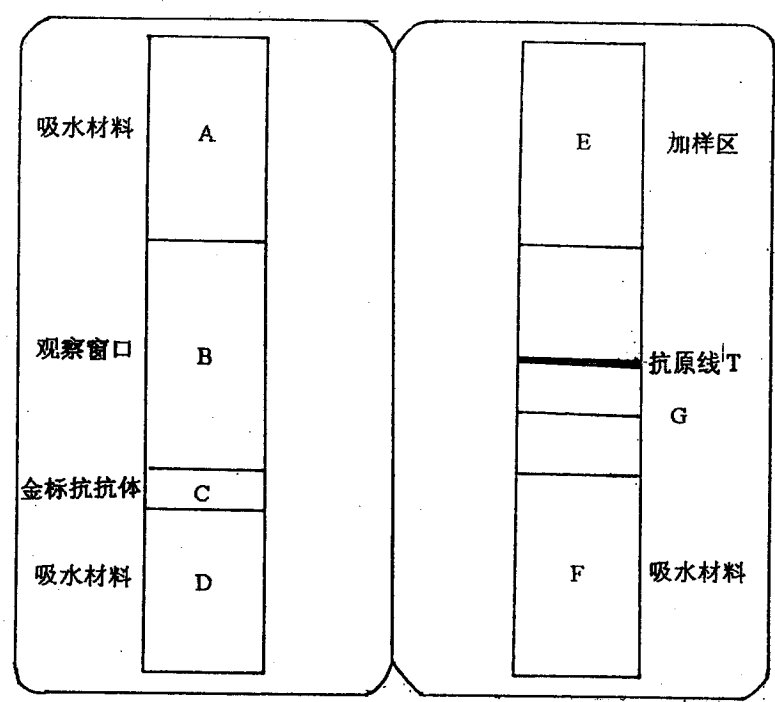


图 5

专利名称(译)	金标免疫分析检测HLA-G及其抗体的简易方法		
公开(公告)号	CN101520458B	公开(公告)日	2014-04-16
申请号	CN200810026435.8	申请日	2008-02-25
[标]申请(专利权)人(译)	广州天美生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州天美生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州天美生物技术有限公司		
[标]发明人	苏殿杰 韩苏 魏桂梅		
发明人	苏殿杰 韩苏 魏桂梅		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/577 G01N33/532		
代理人(译)	王伟锋 刘铁生		
其他公开文献	CN101520458A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了金标免疫分析检测HLA-G及其抗体的简易方法。本发明利用HLA-G的单抗和HLA-G抗原片段和/或HLA-G研制成功金标免疫渗滤分析试剂盒和金标免疫层析夹心法和竞争法试剂盒，供群众简便、快速、廉价地自检自测血液、唾液、尿液等体液中HLA-G，用于诊断早期恶性肿瘤。为了诊断更早期恶性肿瘤，我们还研制了金标免疫层析间接法检测HLA-G抗体试剂盒，用于诊断更早期恶性肿瘤。以上试剂盒统称为“广谱肿瘤诊断试剂盒”。本发明的目的是研制简便、快速、廉价的“广谱肿瘤诊断试剂盒”供群众自检自测，实现肿瘤基层普查，达到肿瘤早发现、早治疗的目的，拯救肿瘤患者的生命，降低肿瘤死亡率。

