



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109521193 A

(43)申请公布日 2019.03.26

(21)申请号 201811305886.5

(22)申请日 2018.11.05

(71)申请人 暨南大学

地址 510632 广东省广州市天河区黄埔大道西601号

(72)发明人 陈填烽 林智明 刘婷 贺利贞 张曦

(74)专利代理机构 广州市华学知识产权代理有限公司 44245

代理人 苏运贞

(51)Int.Cl.

G01N 33/533(2006.01)

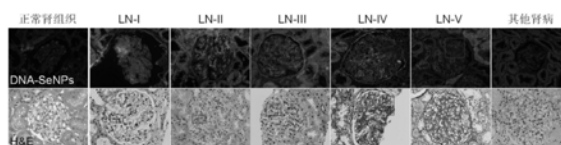
权利要求书2页 说明书7页 附图2页

(54)发明名称

DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用

(57)摘要

本发明公开了DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用。本发明DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用,是基于本发明发明人发现将DNA免疫吸附剂用于免疫荧光,可定性分析肾组织中沉积的抗dsDNA抗体,同时可特异性确认抗dsDNA抗体在肾组织中的沉积和分布,且方法简单易操作,适于制备检测和分析狼疮肾和红斑狼疮的试剂。



1. DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用。

2. 根据权利要求1所述的DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用,其特征在:

所述的DNA免疫吸附剂为DNA-SeNPs;

所述的DNA-SeNPs是通过纳米硒负载用于与抗dsDNA抗体结合的DNA得到的DNA-SeNPs。

3. 根据权利要求2所述的DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用,其特征在:

所述的DNA-SeNPs通过如下步骤制备得到:将用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液和纳米硒溶液混合,反应,纯化,得到DNA-SeNPs。

4. 根据权利要求3所述的DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用,其特征在:

所述的纳米硒是通过氧化还原法制备得到的纳米硒;

所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA为双链DNA;

所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA和所述的纳米硒的用量按0.1~5mg:1 μ mol配比计算;

所述的反应的温度为0~10 $^{\circ}$ C;

所述的纯化的方式为使用透析袋透析。

5. 根据权利要求1所述的DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用,其特征在:所述的抗dsDNA抗体检测试剂是用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂。

6. 一种用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂,其特征在:是在权利要求1中所述的DNA免疫吸附剂上标记荧光显示剂得到。

7. 根据权利要求6所述的用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂,其特征在:

所述的DNA免疫吸附剂为DNA-SeNPs;

所述的DNA-SeNPs是通过纳米硒负载用于与抗dsDNA抗体结合的DNA得到的DNA-SeNPs;

所述的荧光显示剂为香豆素-6。

8. 根据权利要求7所述的用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂,其特征在:所述的用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂通过如下步骤制备得到:

(1) 将无机硒溶液和荧光显示剂溶液混合,得到混合液A;

(2) 将混合液A和还原剂混合,反应,得到反应物A;

(3) 将用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液和反应物A混合,反应,纯化,得到用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂。

9. 根据权利要求6~8任一项所述的用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂,其特征在:

步骤(1)中所述的无机硒为亚硒酸、亚硒酸盐和二氧化硒中的一种或至少两种;

步骤(1)中所述的荧光显示剂的用量按其无机硒中硒的量=5~15mg:1mmol配比计算;

步骤(2)中所述的还原剂为维生素C、硼氢化钠、巯基乙醇、还原型谷胱甘肽、葡萄糖和五水硫代硫酸钠中的一种或至少两种;

步骤(2)中所述的还原剂和所述的无机硒的用量按按摩尔比3~10:1配比计算;

步骤(3)中所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA为双链DNA;

步骤(3)中所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA的用量按其与所述的反应物A中硒的量=0.1-5mg:1 μ mol配比计算;

步骤(3)中所述的反应的温度为0~10 $^{\circ}$ C;

步骤(3)中所述的纯化的方式为使用透析袋透析;

所述的透析袋的规格为6000~8000kDa;

所述的透析的时间为12~48h。

10. 权利要求6~9任一项所述的用于荧光免疫染色的抗ds-NA抗体检测试剂在非诊断目的的肾切片检测中的应用,其特征在于包括如下步骤:

(1) 脱蜡至水:将肾石蜡切片依次浸入脱水:二甲苯I 10min,二甲苯II 5min,无水乙醇I 10min,无水乙醇II 5min,95%乙醇I 5min,95%乙醇II 5min,90%乙醇I 5min,90%乙醇II 5min,80%乙醇5min;蒸馏水洗2min;

(2) 抗原修复:取12mL 50 \times EDTA抗原修复液,用超纯水稀释至600mL,95~110 $^{\circ}$ C预热1min,放入切片,95~100 $^{\circ}$ C加热1min,60~70 $^{\circ}$ C加热2min(4~5次),冷却,PBS缓冲液;洗涤;

(3) 封闭:去除多余液体,加入浓度为质量百分比为5%的牛血清蛋白溶液,封闭30min;

(4) 孵育:滴加100 μ L上述用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂,孵育2h,倾去液体;

(5) 观察:荧光显微镜下观察染色情况。

DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于DNA免疫吸附剂的应用,特别涉及DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用。

背景技术

[0002] 系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,SLE)是一种多系统损害的慢性自身性免疫性疾病,确切病因不明,常引起多器官系统的不可逆性损害,可累及皮肤、浆膜、关节、肾及中枢神经系统等,病理表现为自身抗体及免疫复合物沉积,影响患者的寿命和生活质量。SLE的患病率因人群而异,我国患病以女性多见,尤其是育龄女性。患者血清中出现以抗核抗体(ANA)、抗双链DNA抗体(抗dsDNA抗体)为代表的多种抗体,其中抗dsDNA抗体是参与SLE发病的主要抗体,其特异性可达90%,是SLE特异性抗体,与疾病的活动性明显相关。

[0003] 抗dsDNA抗体,结合临床症状和其它实验检查结果,可辅助诊断系统性红斑狼疮(SLE)以及狼疮肾的分型。在多种结缔组织疾病中,都可以检测到抗核抗体(ANA),抗核抗体的筛查是一种灵敏的结缔组织疾病检测方法。尽管这种筛查方法对于SLE是一种非常好的检测方法(阴性结果可以排除活动性SLE),但是这种方法不是一种特异性的检查方法。在SLE患者中,抗dsDNA抗体几乎可以排除其他疾病的可能性,因此该抗体被认为是该疾病的标志。抗dsDNA抗体阳性足以证明SLE;但是,这些抗体的检测阴性并不能在所有的病例当中完全排除SLE。

[0004] 目前,临床上检测肾组织的病变和分型最常使用的为苏木精—伊红(H&E)染色方法,免疫荧光的方法也被用来检测肾组织中的多种抗体沉积。但是H&E染色和普通的免疫荧光并不能特异性确认抗dsDNA抗体在肾组织中的沉积和分布。因此,提供一种简单快捷,既能诊断肾脏病变又能分析肾切片中抗dsDNA抗体的检测方法对于狼疮肾炎和红斑狼疮的诊断和治疗非常重要。

发明内容

[0005] 本发明的首要目的在于克服现有技术的缺点与不足,提供DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用。

[0006] 本发明的目的通过下述技术方案实现:DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用,是基于本发明发明人发现将DNA免疫吸附剂用于免疫荧光,可定性分析肾组织中沉积的抗dsDNA抗体,特异性确认抗dsDNA抗体在肾组织中的沉积和分布,方法简单易操作。

[0007] 所述的DNA免疫吸附剂优选为DNA-SeNPs。

[0008] 所述的DNA-SeNPs是通过纳米硒负载用于与抗dsDNA抗体结合的DNA得到的DNA-SeNPs,优选通过如下步骤制备得到:将用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液和纳米硒溶液混合,反应,纯化,得到DNA-SeNPs。

- [0009] 所述的纳米硒是通过氧化还原法制备得到的纳米硒,优选为通过如下步骤制备得到:将无机硒和还原剂混合,反应,得到纳米硒。
- [0010] 所述的混合的方式优选为:将无机硒溶液和还原剂溶液混合;更优选通过如下方式混合:将无机硒溶液滴加到还原剂溶液中,或是将还原剂溶液滴加入无机硒溶液中。
- [0011] 所述的反应的温度优选为0~10℃;更优选为3~5℃;最优选为4℃。
- [0012] 所述的无机硒优选为亚硒酸、亚硒酸盐和二氧化硒中的一种或至少两种。
- [0013] 所述的亚硒酸盐为亚硒酸钠(Na_2SeO_3)、亚硒酸钾(K_2SeO_3)和亚硒酸锌(ZnSeO_3)中的一种或至少两种。
- [0014] 所述的无机硒溶液的浓度优选为5~15mM;更优选为10mM。
- [0015] 所述的还原剂优选为维生素C、硼氢化钠、巯基乙醇、还原型谷胱甘肽、葡萄糖和五水硫代硫酸钠中的一种或至少两种。
- [0016] 所述的还原剂溶液的浓度优选为30~50mM;更优选为40mM。
- [0017] 所述的无机硒和所述的还原剂的用量按还原剂过量为宜,从而能将无机硒充分还原;更优选为按摩尔比1:3~10配比计算。
- [0018] 所述的纳米硒溶液的浓度优选为1~10mM;更优选为2~5mM。
- [0019] 所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA优选为双链DNA。
- [0020] 所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液的浓度优选为1~10mg/mL;更优选为1~5mg/mL。
- [0021] 所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液中的溶剂优选为pH值为7~9的缓冲液;更优选为pH值为7.2~8.2的缓冲液。
- [0022] 所述的缓冲液优选为Tris-HCl缓冲液。
- [0023] 所述的Tris-HCl缓冲液的浓度优选为0.01~0.1M;更优选为0.01~0.05M。
- [0024] 所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA和所述的纳米硒的用量优选为0.1~5mg:1 μ mol,更优选为0.5~2mg:1 μ mol。
- [0025] 所述的反应的温度优选为0~10℃;更优选为3~5℃;最优选为4℃。
- [0026] 所述的反应的时间为0.5~24h。
- [0027] 所述的纯化的方式优选为使用透析袋透析。
- [0028] 所述的透析袋的规格优选为6000~8000kDa。
- [0029] 所述的透析的时间为12~48h。
- [0030] 所述的抗dsDNA抗体检测试剂优选为用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂。
- [0031] 一种用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂,是在DNA免疫吸附剂上标记荧光显示剂得到。
- [0032] 所述的DNA免疫吸附剂为DNA-SeNPs。
- [0033] 所述的DNA-SeNPs是通过纳米硒负载用于与抗dsDNA抗体结合的DNA得到的DNA-SeNPs。
- [0034] 所述的荧光显示剂优选为香豆素-6。
- [0035] 所述的用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂,优选通过如下步骤制备得到:
- [0036] (1) 将无机硒溶液和荧光显示剂溶液混合,得到混合液A;
- [0037] (2) 将混合液A和还原剂混合,反应,得到反应物A;

[0038] (3) 将用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液和反应物A混合,反应,纯化,得到用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂。

[0039] 步骤(1)中所述的无机硒优选为亚硒酸、亚硒酸盐和二氧化硒中的一种或至少两种。

[0040] 所述的亚硒酸盐为亚硒酸钠(Na_2SeO_3)、亚硒酸钾(K_2SeO_3)和亚硒酸锌(ZnSeO_3)中的一种或至少两种。

[0041] 步骤(1)中所述的无机硒溶液的浓度优选为5~15mM;更优选为10mM。

[0042] 步骤(1)中所述的荧光显示剂的用量按荧光显示剂过量为宜,尽可能标记上荧光显示剂,优选按其无机硒中硒的量=5~15mg:1mmol配比计算;更优选按其无机硒中硒的量=10mg:1mmol配比计算。

[0043] 步骤(2)中所述的还原剂优选为维生素C、硼氢化钠、巯基乙醇、还原型谷胱甘肽、葡萄糖和五水硫代硫酸钠中的一种或至少两种。

[0044] 步骤(2)中所述的还原剂的溶液浓度优选为30~50mM;更优选为40mM。

[0045] 步骤(2)中所述的还原剂和所述的无机硒的用量按还原剂过量为宜,从而能将无机硒充分还原;更优选为按摩尔比3~10:1配比计算。

[0046] 步骤(3)中所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA优选为双链DNA。

[0047] 步骤(3)中所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液的浓度优选为1~10mg/mL;更优选为1~5mg/mL。

[0048] 步骤(3)中所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液中的溶剂优选为pH值为7~9的缓冲液;更优选为pH值为7.2~8.2的缓冲液。

[0049] 所述的缓冲液优选为Tris-HCl缓冲液。

[0050] 所述的Tris-HCl缓冲液的浓度优选为0.01~0.1M;更优选为0.01~0.05M。

[0051] 步骤(3)中所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA的用量按其所述的反应物A中硒的量=0.1~5mg:1 μmol 配比计算,更优选按其所述的反应物A中硒的量=0.5~2mg:1 μmol 配比计算。

[0052] 步骤(3)中所述的反应的温度优选为0~10 $^{\circ}\text{C}$;更优选为3~5 $^{\circ}\text{C}$;最优选为4 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0053] 步骤(3)中所述的纯化的方式优选为使用透析袋透析。

[0054] 所述的透析袋的规格优选为6000~8000kDa。

[0055] 所述的透析的时间为12~48h。

[0056] 所述的用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂在非诊断目的的肾切片检测中的应用,优选包括如下步骤:

[0057] (1) 脱蜡至水:将肾石蜡切片依次浸入脱水:二甲苯I 10min,二甲苯II 5min,无水乙醇I 10min,无水乙醇II 5min,95%乙醇I 5min,95%乙醇II 5min,90%乙醇I 5min,90%乙醇II 5min,80%乙醇5min;蒸馏水洗2min;

[0058] (2) 抗原修复:取12mL 50 \times EDTA抗原修复液,用超纯水稀释至600mL,95~110 $^{\circ}\text{C}$ 预热1min,放入切片,95~100 $^{\circ}\text{C}$ 加热1min,60~70 $^{\circ}\text{C}$ 加热2min(4~5次),冷却,PBS缓冲液洗涤;

[0059] (3) 封闭:去除多余液体,加入浓度为质量百分比为5%的牛血清蛋白溶液,封闭30min;

[0060] (4) 孵育:滴加100 μ L上述用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂,孵育2h,倾去液体;

[0061] (5) 观察:荧光显微镜下观察染色情况。

[0062] 本发明相对于现有技术具有如下的优点及效果:

[0063] 1. 本发明发明人发现将DNA免疫吸附剂用于检测肾切片中抗dsDNA抗体,DNA-SeNPs可以与肾脏切片中的抗dsDNA抗体特异性结合,因此能定性的分析肾组织中沉积的抗体种类,同时可确认抗dsDNA抗体在肾组织中的沉积和分布,因此,DNA免疫吸附剂可用于制备检测和分析狼疮肾和红斑狼疮的试剂。

[0064] 2. 本发明与临床上检测肾组织的病变和分型常用的苏木精—伊红(H&E)法相比,能特异性显示肾组织抗dsDNA抗体的沉积和分布,且更加简单快捷。

附图说明

[0065] 图1是DNA-SeNPs吸附病人血浆中抗dsDNA抗体前后的表征图;其中,图a是吸附前后的纳米粒径大小分布图,图b是吸附前后的电位图,图a和b中1~4分别为吸附61号、28号、70号和23号病例血浆后的DNA-SeNPs;图c是吸附前后的紫外光谱图,曲线1为DNA-SeNPs,曲线2~4分别为吸附19号、69号、109号病例血浆后的DNA-SeNPs;图d是吸附前后的红外光谱图,曲线1为DNA-SeNPs,曲线2~4分别为吸附14号、30号、34号病例血浆后的DNA-SeNPs。

[0066] 图2是DNA-SeNPs吸附病人血浆中抗dsDNA抗体前后的透射电子显微镜图;其中,图a是DNA-SeNPs的TEM图,图b是吸附17号病例血浆后的DNA-SeNPs的TEM,图c是吸附31号病例血浆后的DNA-SeNPs的TEM图,图d是吸附58号病例血浆后的DNA-SeNPs的TEM图。

[0067] 图3是DNA-SeNPs吸附病人血浆中抗dsDNA抗体前后的原子力显微镜和相应的厚度分析图;其中,图a是DNA-SeNPs的AFM图(上)及相应的厚度分析图(下),图b是吸附32号病例血浆后的DNA-SeNPs的AFM图(上)及相应的厚度分析图(下),图c是吸附33号病例血浆后的DNA-SeNPs的AFM图(上)及相应的厚度分析图(下)。

[0068] 图4是DNA-SeNPs和苏木精—伊红染色法(H&E)对肾切片的染色比较图。

具体实施例

[0069] 下面结合具体实施例和附图对本发明作进一步详细的描述,但本发明的实施方式不限于此。

[0070] 实施例1 DNA-SeNPs纳米粒子的制备

[0071] 4 $^{\circ}$ C下,将1mL浓度为10mM的Na₂SeO₃溶液放入小烧杯中,为了将DNA-SeNPs纳米粒子进行标记,放入Na₂SeO₃溶液的同时加入50 μ L浓度为2mg/mL的香豆素6溶液,得到混合液A;将混合液A缓慢滴加到1mL浓度为40mM的维生素C(Vc,阿拉丁公司)溶液,滴加完后加入1mL浓度为5mg/mL的DNA(D4522,Sigma公司)Tris-HCl溶液(0.05M,pH=7.2),再用超纯水定容到5mL,4 $^{\circ}$ C反应12h,用透析袋(6000~8000kDa)在超纯水中透析24h,得到DNA-SeNPs纳米粒子。

[0072] 实施例2 DNA-SeNPs吸附抗dsDNA抗体前后的表征

[0073] 分别将150 μ L实施例1制备的DNA免疫吸附剂加入300 μ L血浆中(分别来源于128个SLE病例),室温混匀(20rpm,试管旋转混匀器,TZL-5010,苏州珀西瓦尔实验设备有限公司)

吸附2h。通过粒度和电位(马尔文粒度仪)、紫外分光光度计、红外分光光度计、透射电子显微镜(TEM)以及原子力显微镜(AFM)对吸附抗dsDNA抗体前后的DNA-SeNPs进行表征,结果见图1-3。吸附前DNA-SeNPs的水合粒径大约为126nm,吸附4位病人血浆(由中山三院提供)后,将其离心(12000rpm,10min),去上清,重悬,检测吸附后DNA-SeNPs的水合粒径分别增加到189nm(病例1:吸附前抗dsDNA抗体的滴度为563)、254nm(病例2:吸附前抗dsDNA抗体的滴度为353)、405nm(病例3:吸附前抗dsDNA抗体的滴度为600)和259nm(病例4:吸附前抗dsDNA抗体的滴度为336)(图1a)。但是,由于抗dsDNA抗体和DNA-SeNPs的表面电位相近,吸附前后DNA-SeNPs的表面电位没有明显的变化(图1b)。吸附前后DNA-SeNPs的紫外可见和红外光谱相一致(图1c和d)。吸附前DNA-SeNPs的TEM图像表现为单分散的、大小约为107nm的球状纳米粒子,且表面可以清晰地看见一层DNA的修饰(图2a)。吸附病人血浆之后,DNA-SeNPs的大小基本没变,但是纳米粒子表面的DNA层变厚了(图2b-d,分别对应病例17、病例31和病例58)。AFM的结果显示吸附后DNA-SeNPs的高度明显的增加了(图3)。以上结果都说明抗dsDNA抗体被吸附至纳米粒子表面。

[0074] 实施例3 DNA-SeNPs检测肾切片中抗dsDNA抗体沉积的性能评价

[0075] (1) 将肾石蜡切片浸入以下溶液依次脱蜡至水:二甲苯I 10min,二甲苯II 5min,无水乙醇I 10min,无水乙醇II 5min,95%乙醇I 5min,95%乙醇II 5min,90%乙醇I 5min,90%乙醇II 5min,80%乙醇5min,经蒸馏水洗2min。

[0076] (2) 抗原修复:取12mL 50×EDTA抗原修复液(主要由EDTA、Tris等组成,pH=8.0,市购得到)用超纯水稀释到600mL,在微波炉(格兰仕,P70D20P-TD(W0))高火下预热1min,放入切片,高火加热1min,中火加热2min(4-5次),冷却,PBS缓冲液(0.01M,pH=7.4)洗一次。

[0077] (3) 封闭:甩干多余液体,加入浓度为质量百分比5%的牛血清蛋白溶液(溶质为BSA,溶剂为0.01M,pH=7.4的PBS),封闭30min。

[0078] (4) 孵育:滴加100μL香豆素6标记的DNA-SeNPs(实施例1制备得到)孵育2h,倾去液体。

[0079] (5) 观察:在荧光显微镜(Life Technologies,EVOS FL auto)下观察染色情况,拍照。

[0080] 对比例1苏木精—伊红染色法(H&E)

[0081] (1) 将肾石蜡切片放入以下溶液依次脱蜡至水:二甲苯I 10min,二甲苯II 5min,无水乙醇I 10min,无水乙醇II 5min,95%乙醇I 5min,95%乙醇II 5min,90%乙醇I 5min,90%乙醇II 5min,80%乙醇5min,经蒸馏水洗2min。

[0082] (2) 苏木素染色10min,水洗2min,1%盐酸乙醇(75%乙醇配制)分化3-5s,流水冲洗10min。

[0083] (3) 伊红染色2min,蒸馏水洗数秒。

[0084] (4) 切片脱水脱蜡:80%酒精3-5s,90%酒精I 3-5s,90%酒精II 5min,95%酒精I 5min,95%酒精II 5min,100%酒精I 5min,100%酒精II 10min,二甲苯I 5min,二甲苯II 10min。

[0085] (5) 中性树脂胶封片。

[0086] (6) 荧光显微镜(Life Technologies,EVOS FL auto)下观察染色情况,拍照,并将结果与实施例3的结果进行比较。

[0087] 比较实施例

[0088] 本发明发明人共检测了53例肾切片,包括正常人、狼疮肾以及其他肾脏疾病患者的肾组织切片(检测方法同实施例3),然后与H&E染色法(检测方法同对比例1)的检测结果相比较,判断狼疮肾的分型,其正确率为100%,准确率统计结果见表1。H&E染色法和抗dsDNA抗体检测试剂的检测结果如图4所示。

[0089] 正常肾小球:H&E染色:光镜下的正常的肾小球血管祥薄而清晰,内皮细胞和系膜细胞数目正常,周围的肾小管也正常;DNA-SeNPs:肾小球及肾小管区域未见明显荧光。

[0090] LN-I分型:H&E染色:肾小球几乎正常,系膜轻度节段性增生;DNA-SeNPs:肾小球系膜区域见少量荧光。

[0091] LN-II分型:H&E染色:系膜中度增生;DNA-SeNPs:肾小球系膜区域见DNA-SeNPs沉积。

[0092] LN-III分型:H&E染色:节段性毛细血管内细胞增生伴实质管腔较少,光镜下节段性内皮下沉积物;DNA-SeNPs:在肾小球毛细血管壁节段分布和伴随系膜沉积的DNA-SeNPs免疫沉积。

[0093] LN-IV分型:H&E染色:病变在活检组织检查中呈弥漫性,具有节段性内皮毛细血管增生;DNA-SeNPs:肾小球毛细血管壁节段分布和伴随系膜沉积的DNA-SeNPs免疫沉积呈弥漫性。

[0094] LN-V分型:H&E染色:肾小球毛细血管基底膜弥漫性“钉突”形成或增厚,毛细血管祥显著增厚,但细胞数目不增加;DNA-SeNPs:毛细血管壁中弥漫上皮DNA-SeNPs免疫沉积。

[0095] 其他肾病:HE染色,狼疮肾炎的HE染色时出现的光镜下表现在其他肾病患者中也可以出现类似的情况,此时结合Se-DNA染色结果,可以明确有无狼疮的特异性抗体抗dsDNA抗体的沉积,从而明确光镜下的改变是否由于抗dsDNA抗体引起,帮助诊断狼疮性肾炎。DNA-SeNPs:在其他肾病患者中,未见Se-DNA的沉积。

[0096] 综上所述,H&E染色的肾切片可以看出肾小球中组织结构的改变,而DNA-SeNPs可以检测到肾小球中沉积的抗dsDNA抗体,明确抗dsDNA抗体在肾组织中的沉积和分布,且检测的方法比H&E染色的方法更加简单易操作。因此,可以将DNA免疫吸附剂DNA-SeNPs用于制备检测和分析肾切片中抗dsDNA抗体沉积的试剂。

[0097] 表1

[0098]

分型	正常肾组织	LN-I	LN-II	LN-III	LN-IV	LN-V	LN-V+IV	其他肾病
数量(例)	8	3	5	4	12	14	3	4
H&E	8	3	5	4	12	14	3	4
DNA-SeNPs	8	3	5	4	12	14	3	4
准确率(%)	100	100	100	100	100	100	100	100

[0099] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的

限制,其他任何未背离本发明的精神实质与原理下所做的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

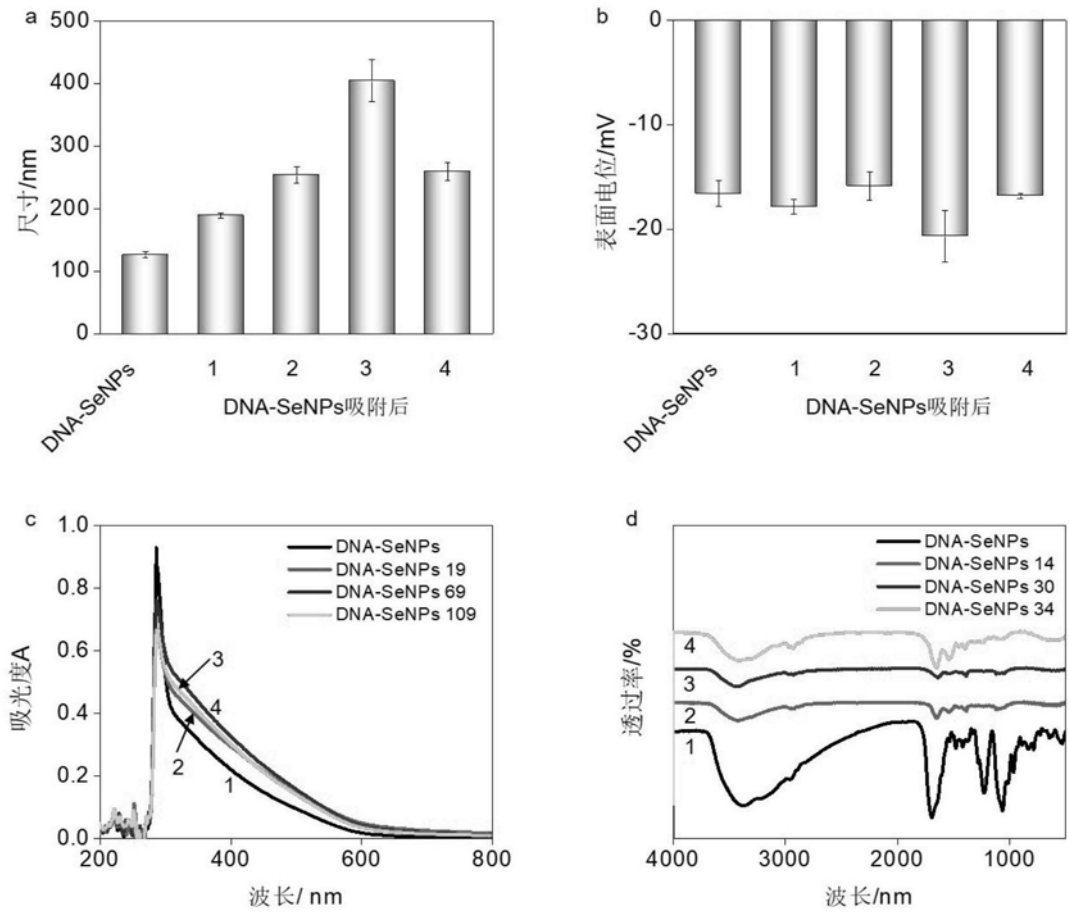


图1

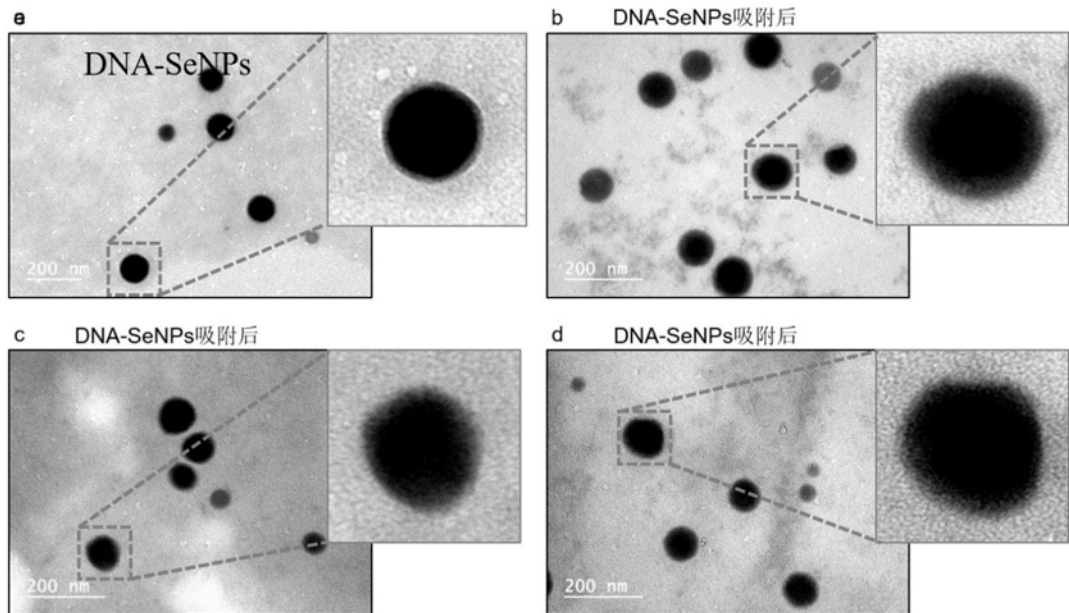


图2

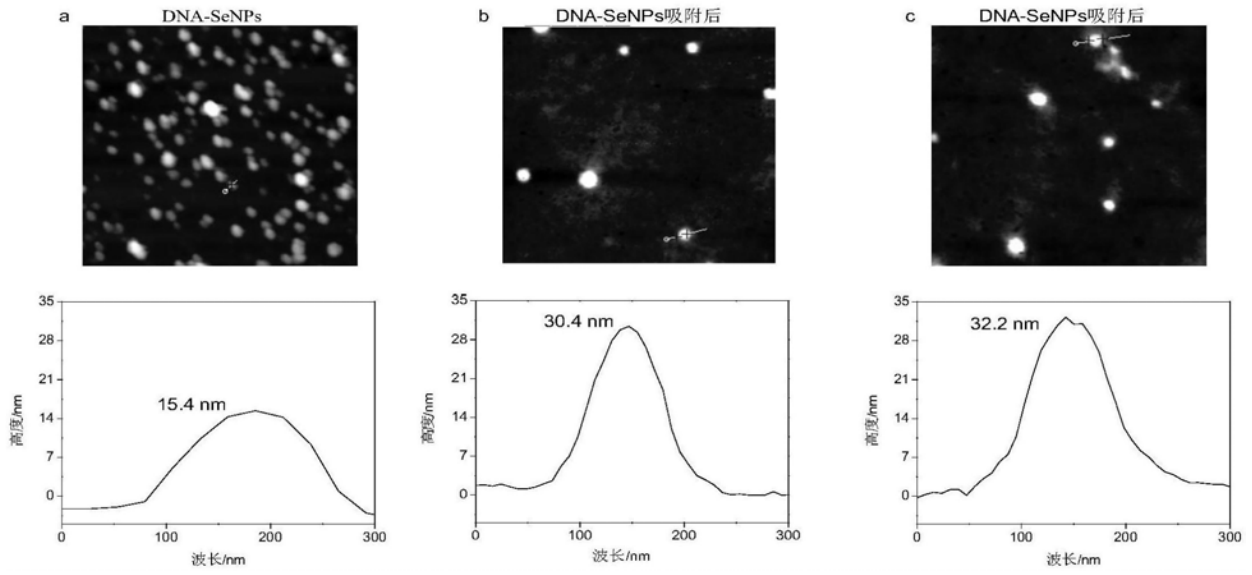


图3

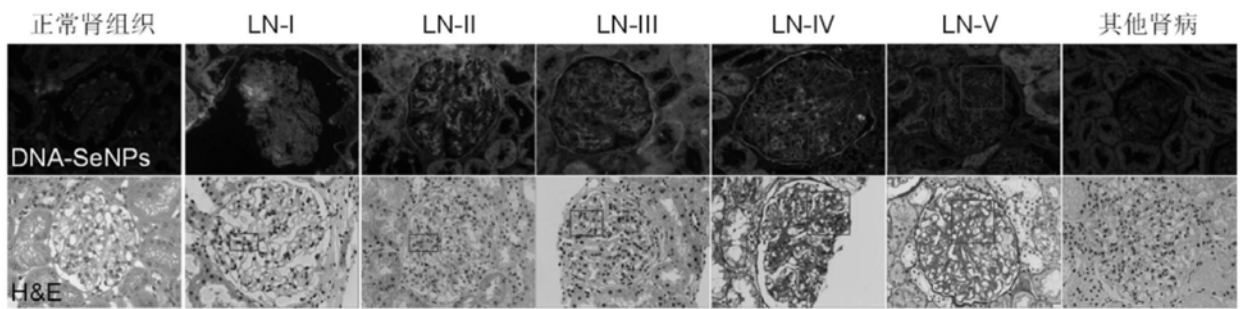


图4

专利名称(译)	DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用		
公开(公告)号	CN109521193A	公开(公告)日	2019-03-26
申请号	CN201811305886.5	申请日	2018-11-05
[标]申请(专利权)人(译)	暨南大学		
申请(专利权)人(译)	暨南大学		
当前申请(专利权)人(译)	暨南大学		
[标]发明人	陈填烽 林智明 刘婷 贺利贞 张曦		
发明人	陈填烽 林智明 刘婷 贺利贞 张曦		
IPC分类号	G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用。本发明DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用，是基于本发明发明人发现将DNA免疫吸附剂用于免疫荧光，可定性分析肾组织中沉积的抗dsDNA抗体，同时可特异性确认抗dsDNA抗体在肾组织中的沉积和分布，且方法简单易操作，适于制备检测和分析狼疮肾和红斑狼疮的试剂。

