



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105954518 B

(45)授权公告日 2018.06.26

(21)申请号 201610342788.3

G01N 33/533(2006.01)

(22)申请日 2016.05.23

审查员 周洋

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105954518 A

(43)申请公布日 2016.09.21

(73)专利权人 中国人民解放军总医院

地址 100853 北京市海淀区复兴路28号

专利权人 西北大学

(72)发明人 朱晗玉 张冬 于汉杰 李铮

刘沫言 耿文佳 陈香美 蔡广研

(74)专利代理机构 北京一格知识产权代理事务

所(普通合伙) 11316

代理人 滑春生 赵永伟

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

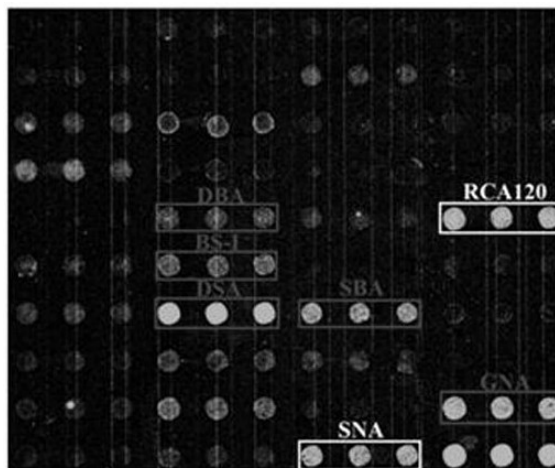
权利要求书2页 说明书5页 附图3页

(54)发明名称

凝集素芯片在尿蛋白糖链谱分析中的应用

(57)摘要

本发明涉及凝集素芯片用于区分不同程度的糖尿病肾病。凝集素采用DSA、SBA、GNA和SNA四种凝集素组合对CKD早期及晚期阶段的糖尿病肾病进行快速有效的区分。试剂盒是凝集素芯片试剂盒、包含凝集素的免疫试剂盒。所述试剂盒的检测样品为尿液。本发明具有以下优点：尿液分析检查有非侵袭性、简单、快速等优点，而且具有安全、无损伤、标本收集简便、容易保存等优点，检测过程灵敏度高、检测结论准确。



1.凝集素在制备区分早期、晚期糖尿病肾病患者的尿蛋白糖链谱分析试剂盒中的应用,其特征在于:所述凝集素选自由DSA、SBA、GNA和SNA组成的组;所述凝集素制备成为凝集素芯片而被使用;所述区分为以凝集素DSA原始荧光信号值为校正系数,当SNA校正值大于0.45,SBA校正值小于0.06,GNA校正值小于0.19时,满足至少2个上述条件时即可判断患者为GFR<60的CKD晚期糖尿病肾病;

所述凝集素芯片的制备方法如下:

1)取环氧化片基备用;

2)对应于尿液样本,选取以下4种凝集素DSA, SBA, GNA和SNA配制成浓度为1mg/ml的点样液;

3)将配制得到的点样液加到384孔板内;再使用芯片点样仪器将上述凝集素点样液点制在环氧化片基上制备成芯片;

4)将点制好的芯片在湿度为60%-70%的环境中避光孵育12小时;

5)将孵育后的芯片在37℃条件下抽真空干燥,使点制在芯片表面的凝集素充分固定在芯片上;

6)将固定好的凝集素芯片放置于干燥器中4℃避光保存,作为尿液样本检测的凝集素芯片。

2.如权利要求1所述凝集素在制备区分早期、晚期糖尿病肾病患者的尿蛋白糖链谱分析试剂盒中的应用,其特征在于:所述试剂盒的使用方法如下:

1)对尿液样本原液进行预处理,提取纯化尿蛋白,用荧光标记试剂进行标记,并用Sephadex G-25纯化柱去除未与尿蛋白结合的荧光,得到相应的尿蛋白待检测样本;

2)将尿蛋白待检测样本与制备好的凝集素芯片共孵育以获得样本中糖蛋白糖链谱:

2.1)将质量分数为1%牛血清白蛋白组分溶解于磷酸盐缓冲液-吐温20中配制成封闭液,将制备好的凝集素芯片置于封闭液中;

2.2)将封闭后的凝集素芯片依次用磷酸盐缓冲液-吐温20和磷酸盐缓冲液清洗,以去除步骤2.1)中未与芯片共价结合的凝集素及残留的牛血清白蛋白组分,再经甩干后备用;

2.3)对经步骤2.2)甩干后的凝集素芯片加入3-5μg待检测样本和500-600μL的孵育缓冲液,室温孵育;

2.4)将孵育后的凝集素芯片依次用磷酸盐缓冲液-吐温20和磷酸盐缓冲液清洗,以去除步骤2.3)中未与凝集素芯片特异结合的待检测样本蛋白,再经甩干后备用;

2.5)对经步骤2.4)甩干后的凝集素芯片用GenePix4000B芯片扫描仪扫描,得到凝集素与标记后糖蛋白糖链结合的荧光图像;

2.6)通过GenePix6.0软件对荧光图像进行中值分析。

3.如权利要求2所述的应用,其特征在于,步骤2.1)、2.2)和2.4)中的磷酸盐缓冲液pH7.4,含有NaCl 8.0g/L,KCl 0.2g/L,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>0.2g/L,Na<sub>2</sub>HP0<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 2.9g/L;磷酸盐缓冲液-吐温20:10mmol/L 磷酸盐缓冲液中含质量分数0.05-0.5%吐温20。

4.如权利要求2所述的应用,其特征在于,步骤2.3)中的孵育缓冲液:磷酸盐缓冲液-吐温20中含质量分数1%牛血清白蛋白组分和质量分数5-10%羟胺;荧光标记试剂采用Cy3。

5.如权利要求1所述的应用,其特征在于:步骤3)所述点样仪器采用晶芯smartarrayer 48点样系统。

6. 如权利要求2所述的应用,其特征在于:步骤2.3)是对甩干后的凝集素芯片加入5 $\mu$ g待检测样本和600 $\mu$ L的孵育缓冲液,并在室温孵育3小时。

7. 如权利要求1所述的应用,其特征在于:试剂盒中除凝集素外,还有用于区分GFR>60早期/ GFR<60晚期糖尿病肾病的抗原、抗体、小分子化合物、受体、配体、适配子。

## 凝集素芯片在尿蛋白糖链谱分析中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于分析尿蛋白糖链谱的方法,具体涉及凝集素芯片用于区分不同程度的糖尿病肾病。

### 背景技术

[0002] 糖尿病肾病是糖尿病引起的严重和危害性最大的一种慢性并发症,是糖尿病全身性微血管病变表现之一,临床特征为蛋白尿,渐进性肾功能损害,高血压,水肿,晚期出现严重肾功能衰竭。目前,糖尿病肾病已成为终末期肾脏病的第二位原因,仅次于各种肾小球肾炎。业已成为糖尿病患者的主要死亡原因之一。因此及时防治对于延缓糖尿病肾病的意义重大。

[0003] 目前糖尿病肾病的检测及病程监控指标主要分为以下几个方面:24小时蛋白尿量,内生肌酐清除率,肾小球滤过率(GFR)等。

[0004] 微量白蛋白尿是诊断糖尿病肾病的标志。早期肾病期,也叫微量白蛋白尿期,即尿白蛋白排泄率持续在20~200微克/分钟。临床糖尿病肾病期,尿蛋白逐渐增多,尿白蛋白排泄率超过200微克/分钟,也就是超过300毫克/24小时,相当于尿蛋白总量超过0.5克/24小时。6个月内进行尿液检查,有2~3次尿白蛋白排泄率在20~200微克/分钟之间,就可以诊断早期糖尿病肾病。但是,微量白蛋白尿并不能特异地作为糖尿病肾病的检测依据,它还与糖尿病的其他多种并发症有关,包括高血压、高脂血症、动脉粥样硬化和心血管疾病等。因此出现微量白蛋白尿不一定就代表发生了糖尿病肾病,其出现以后是否必然进展到明显蛋白尿进而慢性肾衰退尚存在争议。在几个较大系列的长期观察中发现有微量白蛋白尿的糖尿病病人,10年中仅有30%~45%转为临床显性蛋白尿,另有30%微量白蛋白尿消失,这在II型糖尿病中更明显。

[0005] 当糖尿病肾病发展到晚期时内生肌酐清除率降低,一般内生肌酐清除率降至10~15ml/min。内生肌酐清除率降低一方面反应肾小球滤过功能减退,另一方面,随着内生肌酐清除率的降低,也表明肾功能损伤程度的加重。

[0006] 早期糖尿病肾病表现为肾小球滤过率增加和B超测量肾体积增大,当糖尿病肾病发展为尿毒症时,GFR( $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1} \cdot 1.73 \text{ m}^2$ )减少但肾脏体积无明显缩小。肾功能改变是糖尿病肾病的重要表现,反映肾功能的主要指标是 GFR,根据 GFR 和其他肾脏损伤证据可进行慢性肾病(CKD)的分期,采取不同的治疗方法。GFR>60时,患者处于CKD 的1期,2期,一般认为GFR正常或轻度降低,伴随肾损伤,治疗方面一般采用延缓疾病进展的治疗手段,而当GFR<60时,患者处于CKD 的3期,4期,患者GFR中度或重度下降,一般采用评估和治疗并发症以及肾透析等手段。

[0007] 血清肌酐在估算 GFR 中存在灵敏度不足,受个体肌肉量、蛋白质摄入、体内代谢水平、溶血、脂血等因素干扰等局限性。因此,亟需一种能够快速、简便、准确的方法用于区分糖尿病肾病不同GFR阶段,以便对糖尿病肾病病程进行监控。

## 发明内容

[0008] 本发明提供一种凝集素芯片用于区分不同慢性肾病分期的糖尿病肾病的方法。

[0009] 本发明的技术方案如下：

[0010] 本发明通过大量实验研究发现

[0011] (1)通过对II型糖尿病患者及糖尿病肾病患者尿液的研究发现：凝集素MAL-II识别的Sia2-3Gal $\beta$ 1-4Glc (NAc) 糖链结构，凝集素PTL-I, PTL-II, SJA, DBA和SBA识别的末端GalNAc, 凝集素AAL识别的 $\alpha$ -Fucose结构，凝集素ConA识别的分枝状及末端GlcNAc及Mannose结构，及凝集素SNA识别的Sia2-6Gal $\beta$ 1-4Glc (NAc) 糖链结构在糖尿病肾病患者的尿液中丰度较高。而凝集素PSA, UEA-I和STL识别的Fucose $\alpha$ -1, 6GlcNAc, Fucose $\alpha$ 1-2Gal $\beta$ 1-4Glc (NAc) 和GlcNAc寡聚体糖链结构在II型糖尿病患者尿液中丰度较高。

[0012] (2)通过对GFR>60的CKD早期阶段的糖尿病肾病患者及GFR<60的CKD晚期阶段的糖尿病肾病患者尿液的研究发现：凝集素ConA, SNA和RCA120识别的分枝状及末端GlcNAc及Mannose, Sia2-3Gal $\beta$ 1-4Glc (NAc) 及 $\beta$ -gal糖链结构在CKD早期阶段的糖尿病肾病患者尿液中的丰度较高；凝集素DSA识别的GlcNAc糖链结构在CKD早期及晚期阶段的糖尿病患者尿液中的丰度基本相同；而凝集素SBA, BS-I和DBA识别的末端GalNAc结构及凝集素GNA识别的末端 $\alpha$ -1, 3 mannose糖链结构在GFR>60的CKD早期阶段的糖尿病肾病患者尿液中丰度较高。

[0013] 综合以上研究及申请人的进一步筛选，申请人提出了采用DSA、SBA、GNA和SNA四种凝集素组合对CKD早期及晚期阶段的糖尿病肾病进行快速有效的区分。

[0014] 凝集素在制备区分CKD早期及晚期阶段的糖尿病肾病的试剂盒中的应用：

[0015] 所述凝集素选自DSA、SBA、GNA、和SNA组成的组。

[0016] 所述试剂盒是凝集素芯片试剂盒、包含凝集素的免疫试剂盒。

[0017] 所述凝集素芯片试剂盒的制备方法如下：

[0018] 1)取环氧化片基备用；

[0019] 2)对应于尿液样本，选取以下4种凝集素SBA、GNA、DSA和SNA配制成浓度为1mg/ml的点样液；

[0020] 3)将配制得到的点样液加到384孔板内；再使用芯片点样仪器将上述凝集素点样液点制在环氧化片基上制备成芯片；

[0021] 4)将点制好的芯片在湿度为60%-70%的环境中避光孵育12小时；

[0022] 5)将孵育后的芯片在37℃条件下抽真空干燥，使点制在芯片表面的凝集素充分固定在芯片上；

[0023] 6)将固定好的凝集素芯片放置于干燥器中4℃避光保存，作为尿液样本检测的凝集素芯片。

[0024] 所述试剂盒的使用方法如下：

[0025] 1)对尿液样本原液进行预处理，提取纯化尿蛋白，用荧光标记剂进行标记，并用Sephadex G-25纯化柱去除未与尿蛋白结合的荧光，得到相应的尿蛋白待检测样本；

[0026] 2)将尿蛋白待检测样本与制备好的凝集素芯片共孵育以获得样本中糖蛋白糖链谱：

[0027] 2.1)将1%牛血清白蛋白组分V溶解于磷酸盐缓冲液-吐温20中配制成封闭液,将制备好的凝集素芯片置于封闭液中;

[0028] 2.2)将封闭后的凝集素芯片依次用磷酸盐缓冲液-吐温20和磷酸盐缓冲液清洗,以去除步骤2.1)中未与芯片共价结合的凝集素及残留的牛血清白蛋白组分V,再经甩干后备用;

[0029] 2.3)对经步骤2.2)甩干后的凝集素芯片加入3-5 $\mu$ g待检测样本和500-600 $\mu$ L的孵育缓冲液,室温孵育;

[0030] 2.4)将孵育后的凝集素芯片依次用10mM磷酸盐缓冲液-吐温20和磷酸盐缓冲液清洗,以去除步骤2.3)中未与凝集素芯片特异结合的待检测样本蛋白,再经甩干后备用;

[0031] 2.5)对经步骤2.4)甩干后的凝集素芯片用GenePix4000B芯片扫描仪扫描,得到凝集素与标记后尿蛋白糖链结合的荧光图像;

[0032] 2.6)通过GenePix6.0软件对荧光图像进行数据分析。

[0033] 所述步骤2.1)、2.2)和2.4)中的磷酸盐缓冲液pH7.4,含有NaCl 8.0g/L,KCl 0.2g/L,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2g/L,Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 2.9g/L;磷酸盐缓冲液-吐温20:10mmol/L 磷酸盐缓冲液中含质量分数0.05-0.5%吐温20。

[0034] 所述步骤2.3)中的孵育缓冲液:磷酸盐缓冲液-吐温20中含质量分数1%牛血清白蛋白组分V和质量分数5-10%羟胺。

[0035] 所述荧光试剂采用Cy3。

[0036] 所述步骤1.3)所述点样仪器采用晶芯smartarrayer 48点样系统。

[0037] 所述步骤2.3)是对甩干后的凝集素芯片加入5 $\mu$ g待检测样本和600 $\mu$ L的孵育缓冲液,并在室温孵育3小时。

[0038] 所述试剂盒的检测样品为尿液。

[0039] 本发明的另一个方面:所述包含凝集素的免疫试剂盒为:试剂盒中除凝集素外,还有用于区分CKD早期及晚期阶段的糖尿病肾病的抗原、抗体、小分子化合物,受体、配体、适配子。即本领域技术人员可以预知本发明发现的凝集素可以同时区分CKD早期及晚期阶段的糖尿病肾病的其他抗原、抗体、小分子化合物,受体、配体、适配子配合使用,进一步的提高检测灵敏度和准确度。

[0040] 本发明具有以下优点:尿液分析检查有非侵袭性、简单、快速等优点,而且具有安全、无损伤、标本收集简便、容易保存等优点,检测过程灵敏度高、检测结论准确。

## 附图说明

[0041] 图1GFR>60的早期糖尿病肾病肾病患者尿蛋白糖链谱

[0042] 图2GFR<60的中晚期糖尿病肾病患者尿蛋白糖链谱

[0043] 图3 ROC曲线分析评估凝集素SNA区分CKD早期/晚期阶段糖尿病肾病的诊断价值

[0044] 图4 ROC曲线分析评估凝集素SBA区分CKD早期/晚期阶段糖尿病肾病的诊断价值

[0045] 图5 ROC曲线分析评估凝集素GNA区分CKD早期/晚期阶段糖尿病肾病的诊断价值。

## 具体实施方式

[0046] 凝集素是一类具有糖链专一性、可促使细胞凝集的蛋白质,它具有与糖链专一性、

非共价、可逆结合的能力。凝集素芯片是将各种不同来源的凝集素固定于醛基化、环氧化或经其它方式修饰后的玻璃片基上,再与标记后的糖蛋白、菌体、细胞等待检测样品反应,经后续处理后,以检测待检测样品的糖链结构。凝集素芯片能简便、快速、高通量的检测分析蛋白质的糖基化修饰,在短时间内给出待检测样品的糖结构指纹图谱。

[0047] 实施例1

[0048] 凝集素芯片试剂盒的制备方法如下:

[0049] 1)取环氧化片基备用;

[0050] 2)对应于尿液样本,选取以下4种凝集素DSA、SBA、GNA和SNA配制成浓度为1mg/ml的点样液;

[0051] 3)将配制得到的点样液加到384孔板内;再使用芯片点样仪器将上述凝集素点样液点制在环氧化片基上制备成芯片,所述点样仪器采用晶芯smartarrayer 48点样系统;

[0052] 4)将点制好的芯片在湿度为60%-70%的环境中避光孵育12小时;

[0053] 5)将孵育后的芯片在37℃条件下抽真空干燥,使点制在芯片表面的凝集素充分固定在芯片上;

[0054] 6)将固定好的凝集素芯片放置于干燥器中4℃避光保存,作为尿液样本检测的凝集素芯片;

[0055] 实施例2:

[0056] 凝集素芯片试剂盒的使用方法和结果判定如下:

[0057] 1)收集晨尿50 mL(最好中间段),快速存放于4℃冰箱。4℃,14000 g离心60min除去杂质,收集上清。丙酮/三氯乙酸法沉淀尿蛋白,-20℃预冷丙酮清洗沉淀,磷酸盐缓冲液溶解沉淀。提取的尿蛋白经定量后,用荧光试标记剂进行标记,随后使用Sephadex G-25纯化柱去除未与尿蛋白结合的荧光,得到相应的尿蛋白待检测样本;

[0058] 2)将尿蛋白待检测样本与制备好的凝集素芯片共孵育,以获得尿蛋白待检测样本中糖蛋白糖链谱,根据不同患者尿蛋白糖链谱的差异即可区分轻度重度糖尿病肾病,具体操作步骤如下:

[0059] 2.1)将1%牛血清白蛋白组分V溶解于磷酸盐缓冲液-吐温20中配制成封闭液,将制备好的凝集素芯片置于封闭液中;

[0060] 2.2)将封闭后的凝集素芯片依次用磷酸盐缓冲液-吐温20和磷酸盐缓冲液清洗,以去除步骤2.1)中未与芯片共价结合的凝集素及残留的牛血清白蛋白组分V,再经甩干后备用;

[0061] 2.3)对经步骤2.2)甩干后的凝集素芯片加入5μg待检测样本和600μL的孵育缓冲液,室温孵育3小时;

[0062] 2.4)将孵育后的凝集素芯片依次用磷酸盐缓冲液-吐温20和磷酸盐缓冲液清洗,以去除步骤2.3)中未与凝集素芯片特异结合的待检测样本蛋白,再经甩干后备用;

[0063] 2.5)对经步骤2.4)甩干后的凝集素芯片用GenePix4000B芯片扫描仪扫描,得到凝集素与标记后糖蛋白糖链结合的荧光图像;参见图1,2。

[0064] 2.6)通过GenePix6.0软件对荧光图像进行中值分析,读取图像中4种凝集素荧光信号值并进行分析。

[0065] 所述步骤2.1)、2.2)和2.4)中的磷酸盐缓冲液pH7.4,含有NaCl 8.0g/L,KCl

0.2g/L, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.2g/L, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·12H<sub>2</sub>O 2.9g/L; 磷酸盐缓冲液-吐温20:10mmol/L 磷酸盐缓冲液中含质量分数0.05-0.5%吐温20。

[0066] 所述步骤2.3)中的孵育缓冲液:磷酸盐缓冲液-吐温20中含质量分数1%牛血清白蛋白组分V和质量分数5-10%羟胺。

[0067] 所述步骤1)中荧光试剂采用Cy3。

[0068] 前期研究结果表明,凝集素素DSA识别的糖蛋白糖链在CKD早期和晚期的糖尿病肾病患者尿蛋白中丰度相同,因此,为减少荧光偏差引起的系统误差,本实验以凝集素DSA原始荧光信号值为校正系数,当SNA校正值得大于0.45, SBA校正值得小于0.06, GNA校正值得小于0.19时,满足至少2个上述条件时即可判断患者为GFR<60的CKD晚期糖尿病肾病。

[0069] 实施例3:凝集素芯片试剂盒验证

[0070] 对两例患者尿液样本中4种凝集素进行检测,其原始信号及校正值得如下表一,二所示,通过对3种凝集素校正值得比较,结果显示受检者1为GFR>60的CKD早期糖尿病肾病,受检者2为GFR<60的CKD晚期糖尿病肾病,其与组织活检的确认的结果一致。

[0071] 表一:受检者1尿蛋白糖链谱

[0072]

凝集素	特异识别的糖链结构	原始信号值	校正值得
DSA	GlcNAc	3986	1
SBA	Terminal GalNAc (especially GalNAc $\alpha$ 1-3Gal)	730	0.183
GNA	Terminal $\alpha$ -1,3 mannos	838	0.210
SNA	Sia2-6Gal $\beta$ 1-4Glc (NAc)	1087	0.273

[0073] 表二:受检者2尿蛋白糖链谱

[0074]

凝集素	特异识别的糖链结构	原始信号值	校正值得
DSA	GlcNAc	4258	1
SBA	Terminal GalNAc (especially GalNAc $\alpha$ 1-3Gal)	123	0.029
GNA	Terminal $\alpha$ -1,3 mannose	443	0.104
SNA	Sia2-6Gal $\beta$ 1-4Glc (NAc)	3018	0.709

[0075] 实施例4:凝集素芯片特异性和敏感性ROC分析

[0076] 2.7)提取经肾穿刺组织活检确认的10例GFR>60的CKD早期糖尿病肾病及10例GFR<60的CKD晚期糖尿病肾病患者尿蛋白,利用上述方法检测四种凝集素的结合信号,并计算SNA, SBA和GNA结合信号校正值得,利用ROC曲线分析筛选标准的特异性及灵敏度,结果如图3-5所示:

[0077] 2.8)对23例确诊的糖尿病肾病患者(11例GFR>60的CKD早期糖尿病肾病,12例GFR<60的CKD晚期糖尿病肾病)尿蛋白根据上述标准进行盲测实验,结果显示,采用两种凝集素校正值得筛选对GFR>60的CKD早期糖尿病肾病诊断正确率 $\geq$ 81.82%,对GFR<60的CKD晚期糖尿病肾病患者诊断正确率 $\geq$ 83.33%。

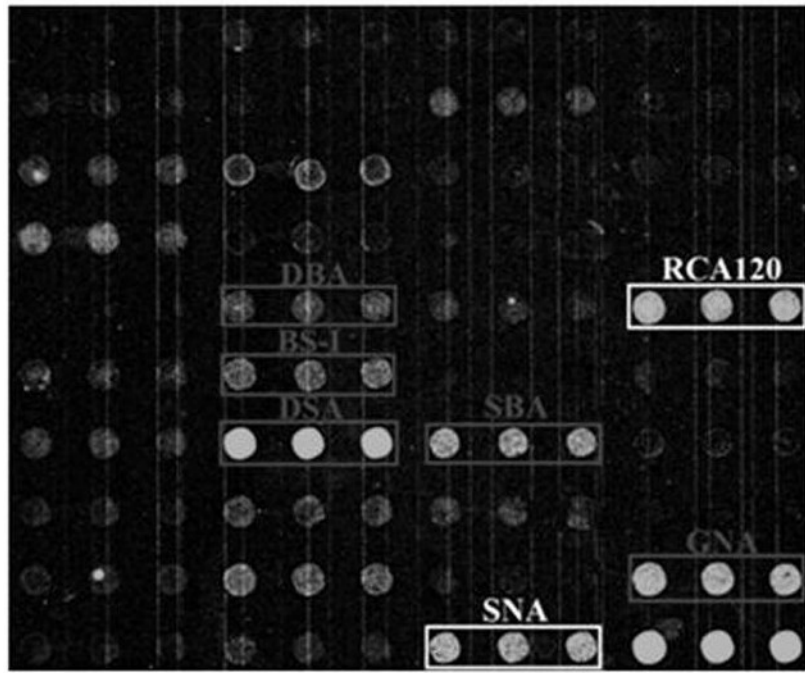


图1

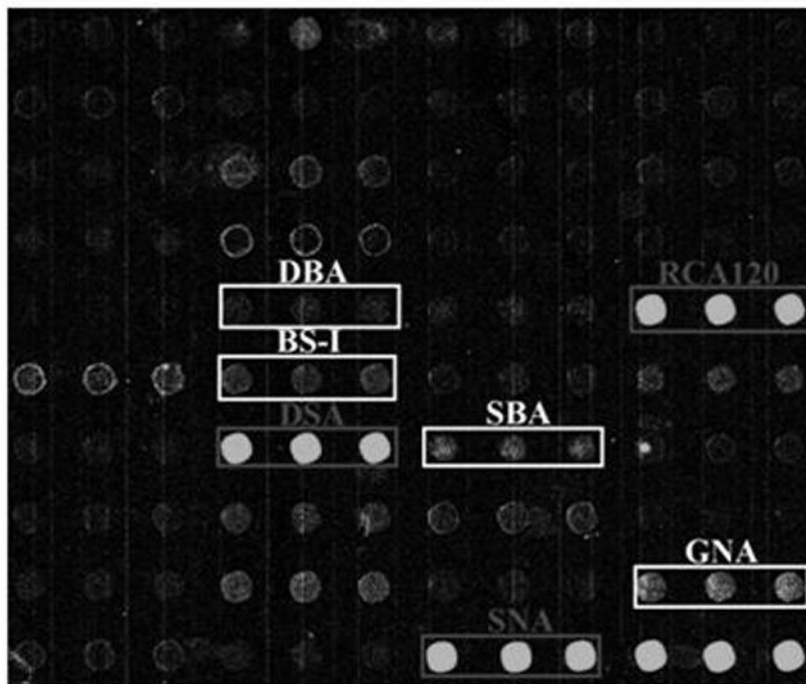


图2

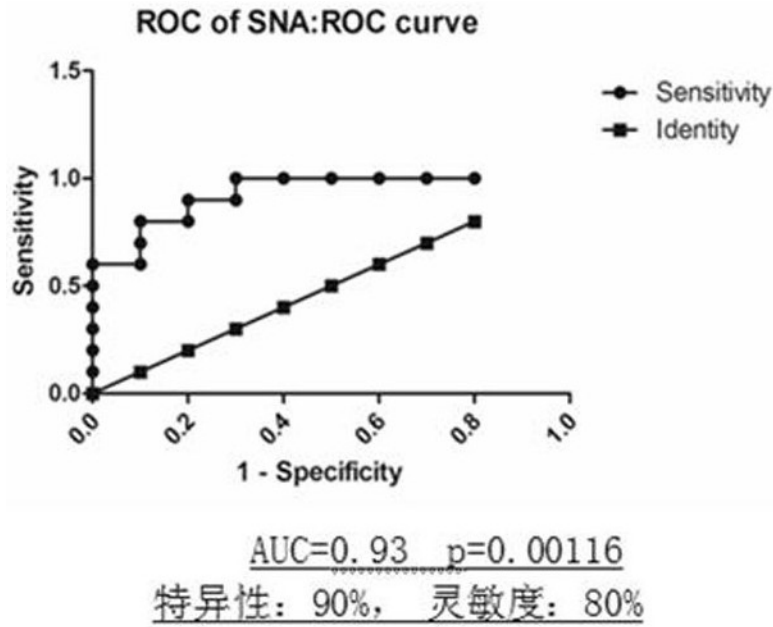


图3

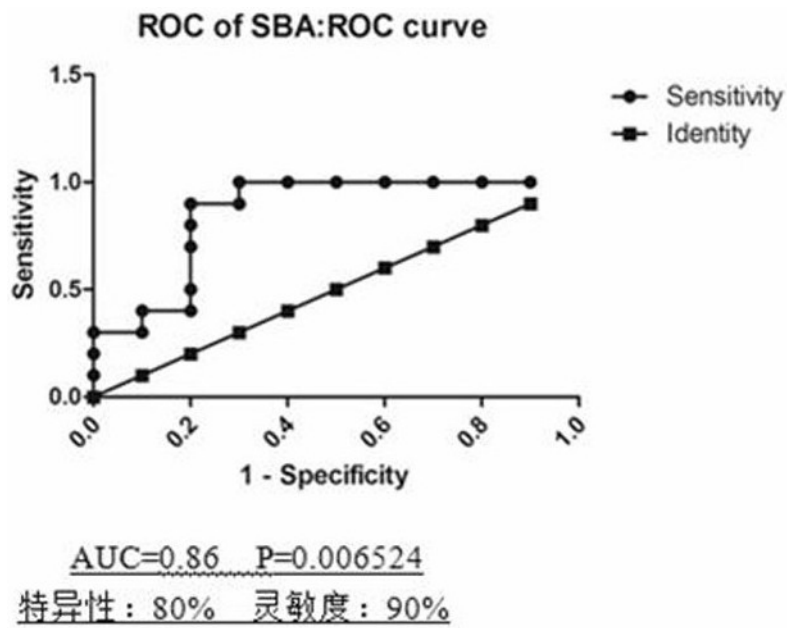


图4

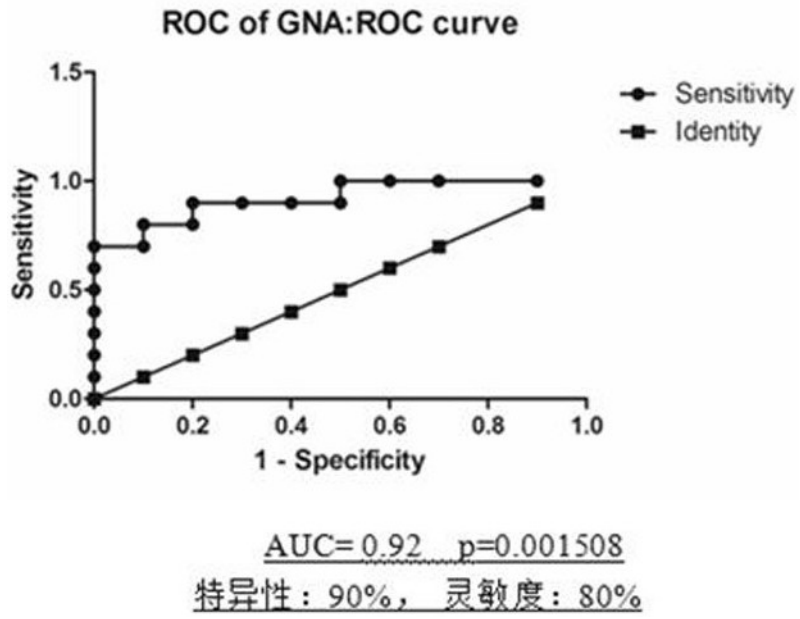


图5

专利名称(译)	凝集素芯片在尿蛋白糖链谱分析中的应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN105954518B</a>	公开(公告)日	2018-06-26
申请号	CN201610342788.3	申请日	2016-05-23
[标]申请(专利权)人(译)	中国人民解放军总医院		
申请(专利权)人(译)	中国人民解放军总医院 西北大学		
当前申请(专利权)人(译)	中国人民解放军总医院 西北大学		
[标]发明人	朱晗玉 张冬 于汉杰 李铮 刘沫言 耿文佳 陈香美 蔡广研		
发明人	朱晗玉 张冬 于汉杰 李铮 刘沫言 耿文佳 陈香美 蔡广研		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/6827 G01N2800/042 G01N2800/347		
代理人(译)	赵永伟		
审查员(译)	周洋		
其他公开文献	CN105954518A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明涉及凝集素芯片用于区分不同程度的糖尿病肾病。凝集素采用DSA、SBA、GNA和SNA四种凝集素组合对CKD早期及晚期阶段的糖尿病肾病进行快速有效的区分。试剂盒是凝集素芯片试剂盒、包含凝集素的免疫试剂盒。所述试剂盒的检测样品为尿液。本发明具有以下优点：尿液分析检查有非侵袭性、简单、快速等优点，而且具有安全、无损伤、标本收集简便、容易保存等优点，检测过程灵敏度高、检测结论准确。

