



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107688095 A
(43)申请公布日 2018.02.13

(21)申请号 201710715058.8

(22)申请日 2017.08.19

(71)申请人 杭州飞悦生物技术有限公司
地址 311121 浙江省杭州市余杭区文一西路1500号健康谷4号楼12楼

(72)发明人 章建东 韩峰 罗君燕 伍德丰
叶涛 张墨楠

(74)专利代理机构 杭州天欣专利事务所(普通合伙) 33209
代理人 张狄峰

(51)Int.Cl.
G01N 33/68(2006.01)
G01N 33/535(2006.01)
G01N 33/574(2006.01)

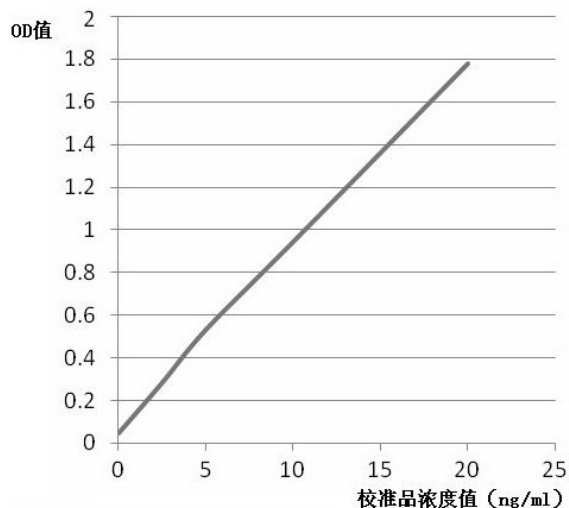
权利要求书2页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒及制备方法
方法及检测方法

(57)摘要

本发明涉及一种检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒及制备方法及检测方法。目前市场上还没有人朊抑素SN(CST1)酶联免疫检测试剂盒。本发明检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒的特点在于:包括包被酶标板、酶结合物、校准品、底物、洗液和终止液,包被酶标板为聚苯乙烯包被的CST1抗体,酶结合物为HRP标记的CST1抗体,校准品为CST1抗原,底物为TMB的显色剂,终止液为0.5mol/L的硫酸;洗液为PB的缓冲液,所述洗液如下:1000mL洗液中含有90g的NaCl、29g的Na₂HPO₄·12H₂O、2.97g的NaH₂PO₄·2H₂O、以及10ml的吐温20。本发明操作简便,检测快速,检测结果准确。



1. 一种检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒,其特征在于:包括包被酶标板、酶结合物、校准品、底物、洗液和终止液,包被酶标板为聚苯乙烯包被的CST1抗体,酶结合物为HRP标记的CST1抗体,校准品为CST1抗原,底物为TMB的显色剂,终止液为0.5mol/L的硫酸;洗液为PB的缓冲液,所述洗液如下:1000mL洗液中含有90g的NaCl、29g的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、2.97g的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、以及10ml的吐温20。

2. 一种制备如权利要求1所述的检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒的方法,其特征在于:所述制备方法的步骤如下:

A、板子制作:

1) 用碳酸盐包被缓冲液将CST1抗体稀释至工作浓度,包被96孔酶标板,每孔 $100\mu\text{l}$, $2\sim 8^\circ\text{C}$ 孵育过夜或 37°C 烘箱2小时;

2) 弃去孔中液体,每孔加入 $300\sim 350\mu\text{l}$ 的洗液,静置3分钟,弃去洗液,甩干,洗涤3遍;

3) 加入终止液,每孔 $200\mu\text{l}$, $2\sim 8^\circ\text{C}$ 孵育过夜或 37°C 烘箱2小时;

4) 弃去孔中液体,甩干, 37°C 烘箱过夜;密封; $2\sim 8^\circ\text{C}$ 保存;

B、酶结合物标记:

1) 取5mg HRP溶于0.5 ml 浓度为0.2mol/L、pH值为5.6的醋酸盐缓冲液中;加入0.25 ml新鲜配制的浓度为0.1mol/L的 NaIO_4 ;混匀; 4°C 保温30min;

2) 加入0.5ml体积百分浓度为2.5%的己二醇,混匀;室温置30min;

3) 加入5~10mg待标记的抗体,用浓度为1.0mol/L、pH值为9.5的CBS调节pH值至9.0,混匀;透析, 4°C 过夜;

4) 加入0.1ml或0.5mg NaHB_4 ,混匀; 4°C 放置2小时后,对浓度为0.01mol/L、pH值为7.4的PBS透析, 4°C 过夜;加入中性甘油后分装;

C、酶结合物配制:

用酶稀释液把标记好的酶稀释到 $1\mu\text{g}/\text{ml}$;

D、校准品配制:

用校准品稀释液把抗原稀释到 $20\text{ng}/\text{ml}$, $10\text{ng}/\text{ml}$, $5\text{ng}/\text{ml}$, $2.5\text{ng}/\text{ml}$, $0\text{ng}/\text{ml}$ 。

3. 根据权利要求2所述的检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒的制备方法,其特征在于:所述板子制作步骤的工序1)中,CST1抗体的工作浓度为 $1\sim 3\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

4. 根据权利要求3所述的检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒的制备方法,其特征在于:所述板子制作步骤的工序1)中,CST1抗体的工作浓度为 $2\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

5. 根据权利要求2所述的检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒的制备方法,其特征在于:所述板子制作步骤的工序1)中, $2\sim 8^\circ\text{C}$ 孵育过夜的时间为16~24小时;所述板子制作步骤的工序3)中, $2\sim 8^\circ\text{C}$ 孵育过夜的时间为16~24小时;所述板子制作步骤的工序4)中, 37°C 烘箱过夜的时间为16~24小时。

6. 根据权利要求2所述的检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒的制备方法,其特征在于:所述酶结合物标记步骤的工序3)中,过夜的时间为16~24小时;所述酶结合物标记步骤的工序4)中,过夜的时间为16~24小时。

7. 一种如权利要求1~6任一权利要求所述的检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒的检测方法,其特征在于:所述检测方法的步骤如下:

1) 取出试剂盒和血清样品,室温平衡15~30分钟;浓缩洗涤液用蒸馏水1:19稀释,待

用；

- 2) 取出包被板,每孔加入50 μ l标准品、质控血清和血清样品;
- 3) 每孔分别加入酶结合物50 μ l;
- 4) 微量振荡器振荡30秒使其混合均匀,封膜覆盖,置37 $^{\circ}$ C温育0.5小时;
- 5) 甩干孔内混合物,用洗涤液注满各孔,静置18~22秒,甩干孔内液体,重复5次,最后拍干;
- 6) 每孔加入底物2滴或100 μ l;
- 7) 微量振荡器振荡30秒,37 $^{\circ}$ C避光反应10分钟以内,用酶标仪测定各孔的OD值。
8. 根据权利要求7所述的检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒的检测方法,其特征在于:所述步骤2)中的标准品为S0~S6。

检测人胱抑素SN的酶联免疫试剂盒及制备方法及检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种检测人胱抑素SN的酶联免疫试剂盒及制备方法及检测方法。

背景技术

[0002] 人胱抑素SN (CST1) 最早在人的唾液中通过离子交换层析分离获得, 又称分泌型蛋白, 相对分子质量约14500, 由121个氨基酸构成, 包含3个外显子和2个内含子, 目前市场上还没有人胱抑素SN (CST1) 酶联免疫检测试剂盒。虽然现在有一些人胱抑素C的检测方法, 如公开日为2013年04月03日, 公开号为CN103018465A的中国专利中, 公开了一种人胱抑素C化学发光定量检测方法, 又如公开日为2011年01月05日, 公开号为CN101937000A的中国专利中, 公开了一种人胱抑素C的磁微粒分离化学发光免疫分析检测方法, 但是这些方法均不适用于人胱抑素SN (CST1) 的检测。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于克服现有技术中存在的上述不足, 而提供一种操作简便, 检测快速, 检测结果准确的检测人胱抑素SN的酶联免疫试剂盒及制备方法及检测方法。

[0004] 本发明解决上述问题所采用的技术方案是: 该检测人胱抑素SN的酶联免疫试剂盒的特点在于: 包括包被酶标板、酶结合物、校准品、底物、洗液和终止液, 包被酶标板为聚苯乙烯包被的CST1抗体, 酶结合物为HRP标记的CST1抗体, 校准品为CST1抗原, 底物为TMB的显色剂, 终止液为0.5mol/L的硫酸; 洗液为PB的缓冲液, 所述洗液如下: 1000mL洗液中含有90g的NaCl、29g的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、2.97g的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、以及10ml的吐温20。

[0005] 一种制备检测人胱抑素SN的酶联免疫试剂盒的方法, 其特点在于: 所述制备方法的步骤如下:

A、板子制作:

1) 用碳酸盐包被缓冲液将CST1抗体稀释至工作浓度, 包被96孔酶标板, 每孔100 μl , 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜或37 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱2小时;

2) 弃去孔中液体, 每孔加入300~350 μl 的洗液, 静置3分钟, 弃去洗液, 甩干, 洗涤3遍;

3) 加入终止液, 每孔200 μl , 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜或37 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱2小时;

4) 弃去孔中液体, 甩干, 37 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱过夜; 密封; 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存;

B、酶结合物标记:

1) 取5mg HRP溶于0.5 ml 浓度为0.2mol/L、pH值为5.6的醋酸盐缓冲液中; 加入0.25 ml新鲜配制的浓度为0.1mol/L的 NaIO_4 ; 混匀; 此时溶液颜色应由黄棕色变为墨绿色, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保温30min;

2) 加入0.5ml体积百分浓度为2.5%的已二醇, 混匀; 室温置30min; 此时溶液应恢复为黄色;

3) 加入5~10mg待标记的抗体, 用浓度为1.0mol/L、pH值为9.5的CBS调节pH值至9.0, 混匀; 透析, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;

4) 加入0.1ml或0.5mg NaHB₄,混匀;4℃放置2小时后,对浓度为0.01mol/L、pH值为7.4的PBS透析,4℃过夜;加入中性甘油后分装;

C、酶结合物配制:

用酶稀释液把标记好的酶稀释到1ug/ml;

D、校准品配制:

用校准品稀释液把抗原稀释到20ng/ml,10ng/ml,5ng/ml,2.5ng/ml,0ng/ml。

[0006] 作为优选,本发明所述板子制作步骤的工序1)中,CST1抗体的工作浓度为1~3μg/ml。

[0007] 作为优选,本发明所述板子制作步骤的工序1)中,CST1抗体的工作浓度为2μg/ml。

[0008] 作为优选,本发明所述板子制作步骤的工序1)中,2~8℃孵育过夜的时间为16~24小时;所述板子制作步骤的工序3)中,2~8℃孵育过夜的时间为16~24小时;所述板子制作步骤的工序4)中,37℃烘箱过夜的时间为16~24小时。

[0009] 作为优选,本发明所述酶结合物标记步骤的工序3)中,过夜的时间为16~24小时;所述酶结合物标记步骤的工序4)中,过夜的时间为16~24小时。

[0010] 一种检测人胱抑素SN的酶联免疫试剂盒的检测方法,其特点在于:所述检测方法的步骤如下:

1) 取出试剂盒和血清样品,室温平衡15~30分钟;浓缩洗涤液用蒸馏水1:19稀释,待用;

2) 取出包被板,每孔加入50μl标准品、质控血清和血清样品;

3) 每孔分别加入酶结合物50μl;

4) 微量振荡器振荡30秒使其混合均匀,封膜覆盖,置37℃温育0.5小时;

5) 甩干孔内混合物,用洗涤液注满各孔,静置18~22秒,甩干孔内液体,重复5次,最后拍干;

6) 每孔加入底物2滴或100μl;

7) 微量振荡器振荡30秒,37℃避光反应10分钟以内,用酶标仪测定各孔的OD值。

[0011] 作为优选,本发明所述步骤2)中的标准品为S0~S6。

[0012] 本发明与现有技术相比,具有以下优点和效果:本发明的试剂盒具有操作简便,仅需一步温育反应即可,还具有灵敏度高、特异性强、重复性好、定量准确、范围广、能在40分钟内得到检测结果,且成本低等优点。

附图说明

[0013] 图1是本发明实施例的CST1的标准曲线。

具体实施方式

[0014] 下面结合附图并通过实施例对本发明作进一步的详细说明,以下实施例是对本发明的解释而本发明并不局限于以下实施例。

[0015] 实施例。

[0016] 本实施例中检测人胱抑素SN的酶联免疫试剂盒包括包被酶标板、酶结合物、校准品、底物、洗液和终止液,包被酶标板为聚苯乙烯包被的CST1抗体,酶结合物为HRP标记的

CST1抗体,校准品为CST1抗原,底物为TMB的显色剂,终止液为0.5mol/L的硫酸;洗液为PB的缓冲液,所述洗液如下:1000mL洗液中含有90g的NaCl、29g的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、2.97g的 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、以及10ml的吐温20。

[0017] 本实施例中制备检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒的方法的步骤如下:

A、板子制作:

1) 用碳酸盐包被缓冲液将CST1抗体稀释至工作浓度,包被96孔酶标板,每孔100 μl ,2~8 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜或37 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱2小时;

2) 弃去孔中液体,每孔加入300~350 μl 的洗液,静置3分钟,弃去洗液,甩干,洗涤3遍;

3) 加入终止液,每孔200 μl ,2~8 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜或37 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱2小时;

4) 弃去孔中液体,甩干,37 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱过夜;密封;2~8 $^{\circ}\text{C}$ 保存;

B、酶结合物标记:

1) 取5mg HRP溶于0.5 ml 浓度为0.2mol/L、pH值为5.6的醋酸盐缓冲液中;加入0.25 ml新鲜配制的浓度为0.1mol/L的 NaIO_4 ;混匀;此时溶液颜色应由黄棕色变为墨绿色,4 $^{\circ}\text{C}$ 保温30min;

2) 加入0.5ml体积百分浓度为2.5%的己二醇,混匀;室温置30min;此时溶液应恢复为黄色;

3) 加入5~10mg待标记的抗体,用浓度为1.0mol/L、pH值为9.5的CBS调节pH值至9.0,混匀;透析,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;

4) 加入0.1ml或0.5mg NaHB_4 ,混匀;4 $^{\circ}\text{C}$ 放置2小时后,对浓度为0.01mol/L、pH值为7.4的PBS透析,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;加入中性甘油后分装;

C、酶结合物配制:

用酶稀释液把标记好的酶稀释到1 $\mu\text{g}/\text{ml}$;

D、校准品配制:

用校准品稀释液把抗原稀释到20ng/ml,10ng/ml,5ng/ml,2.5ng/ml,0ng/ml。

[0018] 本实施例的板子制作步骤的工序1)中,CST1抗体的工作浓度为1~3 $\mu\text{g}/\text{ml}$,优选为2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

[0019] 本实施例的板子制作步骤的工序1)中,2~8 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜的时间为16~24小时;板子制作步骤的工序3)中,2~8 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜的时间为16~24小时;板子制作步骤的工序4)中,37 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱过夜的时间为16~24小时。酶结合物标记步骤的工序3)中,过夜的时间为16~24小时;酶结合物标记步骤的工序4)中,过夜的时间为16~24小时。酶稀释液如下:1000mL酶稀释液中含有8g的NaCl、0.2g的KCl、3.63g的 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 、以及0.24g的 KH_2PO_4 。

[0020] 本实施例中检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒的检测方法的步骤如下:

1) 取出试剂盒和血清样品,室温平衡15~30分钟;浓缩洗涤液用蒸馏水1:19稀释,待用;

2) 取出包被板,每孔加入50 μl 标准品、质控血清和血清样品;标准品为S0~S6

3) 每孔分别加入酶结合物50 μl ;

4) 微量振荡器振荡30秒使其混合均匀,封膜覆盖,置37 $^{\circ}\text{C}$ 温育0.5小时;

5) 甩干孔内混合物,用洗涤液注满各孔,静置18~22秒,甩干孔内液体,重复5次,最后拍干;

6) 每孔加入底物2滴或100 μ l;

7) 微量振荡器振荡30秒,37 $^{\circ}$ C避光反应10分钟以内,用酶标仪测定各孔的OD值。

[0021] 如附图1所示,图1中X轴表示校准品浓度值,单位是ng/ml,Y轴表示OD值,曲线表示CST1的标准曲线,未知标本测得OD值可以通过标准曲线算出浓度值。

[0022] 本实施例可以采用ELISA双抗体酶联免疫夹心法定量检测人血清、血浆及相关液体样本中的人胱抑素SN(CST1)含量。cystatin SN最早在人的唾液中通过离子交换层析分离获得,又称分泌型蛋白,相对分子质量约14500,由121个氨基酸构成,包含3个外显子和2个内含子,定位于染色体20p11.2。

[0023] Cystatin SN在肿瘤中的表达及作用如下:

Cystatin SN与胃癌 choi等使用PcR方法分析了15例胃癌患者癌组织中cystatin SN mRNA转录水平,发现在胃癌组织中Cystatin SN mRNA转录水平较正常组织增加6倍多。对77例胃癌患者进行IHC分析,其中31例胃癌患者Cystatin SN表达水平增加,主要积聚于细胞质和细胞核周围区域,而在正常胃黏膜中弱表达。临床病理资料分析显示,cystatin SN在胃癌组织中的高表达与肿瘤TNM分期有关($P=0.044$),与淋巴结的转移可能相关($P=0.53$),而与患者性别、年龄、肿瘤大小、浸润深度、分化程度无关。研究发现,T细胞因子(T cell factor,TCF)/ β -连环蛋白信号介导肿瘤细胞增殖基因如c-Myc和cyclin D1,进而在肿瘤细胞增殖过程中起一定作用。choi等使用氯化锂作为糖原合成酶激酶-3 β 抑制剂和小干扰RNA(siRNA)模仿TcF/ β -连环蛋白信号,发现Cystatin SN可作为TcF靶点,高度参与细胞增殖,其表达水平上调可能与胃部肿瘤发生显著相关。

[0024] Cystatin SN与结直肠癌 cystatin SN被确认为新的结直肠癌的生物标志物,在结直肠癌中表达水平升高,它的上调通过中和CST3对组织蛋白酶B的蛋白水解活性导致结直肠癌的发生。Kim等在检测Cystatin SN cDNA序列时发现,在结肠癌组织中编码精氨酸-91的密码子CGC突变为CGA,IHC染色显示Cystatin SN在结肠癌组织中表达水平增高。Yoneda等使用western blotting法检测结直肠癌患者的尿液样本,发现在结直肠癌患者的尿液中cystatin SN的浓度与健康对照组相比是增高的,这一发现说明Cystatin SN在结直肠癌中可能通过尿液排泄。酶联免疫吸附法检测发现健康对照组中cystatin SN中位水平为1.12 ng/ml,结直肠癌患者血清中cystatin SN的水平为1.7 ng/ml,二者差异有统计学意义($P<0.0001$)。cystatin SN在结直肠癌中的诊断敏感性为27.7%,而癌胚抗原(carcinoembryonic antigen,cEA)和糖类抗原19-9(carbohydrate antigen 19_9,CA19-9)敏感性分别为50.3%、23.9%,三者结合敏感性为62.9%,特异性为90.0%,比CEA和CA19.9在结直肠癌I、II期诊断敏感性都高,提示检测结直肠癌患者血清中Cystatin SN表达水平可提高结直肠癌的诊断准确性,尤其是结合了cEA和CA19-9,有助于早期发现结直肠癌患者,增加手术治愈的可能性,减少结直肠癌患者的死亡率。

[0025] Cystatin SN与胰腺癌 Cystatin SN促进胰腺细胞增殖,是早期检测胰腺癌的有效生物标志物。Jiang等研究发现Cystatin SN在胰腺癌组织中表达水平增高。将CST1-siRNA 转染到人胰腺癌细胞(PANc-1)中,发现csT1-siRNA 组中PANc-1细胞平均克隆数减少,生存活力下降,恶性相关蛋白增殖细胞核抗原(PCNA)、cyclin D1、cyclin A和cyclin E明显减少。异种移植分析发现,转染CST1-siRNA一周后,肿瘤的大小比对照组明显减小,提示csT1促进肿瘤细胞增殖。研究还发现,在9种不同消化系统癌细胞株中,包括胰腺癌细

胞株 (PANC-1、Bxpc-3、SW1990), 肝癌细胞株 (HepG-2、Hep3B), 胃癌细胞株 (SCG7901), 结直肠癌细胞株 (HCT116、HT-29、SW480), CST1 mRNA和蛋白在胰腺癌、胃癌、结直肠癌细胞株中表达水平上调, 在胰腺癌细胞株中表达水平显著升高, 而在肝癌细胞株中无表达, 同时酶联免疫试剂盒检测发现CST1存在于胰腺癌患者血浆中, 其表达水平比健康对照组表达水平增高, 提示cst1过表达可能对胰腺癌的诊断起重要作用, 有望成为临床检测胰腺癌的生物标志物, 与其他常用的生物标志物如CA19-9、CA242、CEA联用, 可提高胰腺癌诊断的准确性。

[0026] Cystatin SN与肺癌 Mullaudi等研究发现, 在肺癌启动子区cST1低甲基化并且表达上调。Kim等利用RNA序列分析和质谱分析方法, 发现肺腺癌组织中cST1与CDH17的同义单核苷酸多态性和HNF1A在这些组织的突变基因中选择性富集, 因此其表达比邻近正常组织中更高。cao等使用IHC和荧光原位杂交方法, 回顾性分析了174例非小细胞肺癌患者术后标本, 其中鳞状细胞癌76例、腺癌98例, 发现52例腺癌、37例鳞状细胞癌组织中Cystatin SN表达水平上调, 其表达水平增高与肺癌侵袭脏胸膜密切相关 ($P < 0.05$)。临床病理资料分析显示, Cystatin sN表达水平下调的患者比表达水平增高的患者中位生存时间延长, 其表达水平上调使非小细胞肺癌的复发、转移和预后的风险增加。cox比例风险模型分析发现, cystatin sN的表达水平、肿瘤TNM分期、辅助化疗是非小细胞肺癌患者独立的预后因素和术后生存的重要预测指标。

[0027] 目前研究表明, cystatin sN在胃癌、结直肠癌、胰腺癌、肺癌等多种肿瘤组织中表达水平增高, 与肿瘤患者的复发和转移等不良预后密切相关。

[0028] 虽然本发明已以实施例公开如上, 但其并非用以限定本发明的保护范围, 任何熟悉该项技术的技术人员, 在不脱离本发明的构思和范围内所作的更动与润饰, 均应属于本发明的保护范围。

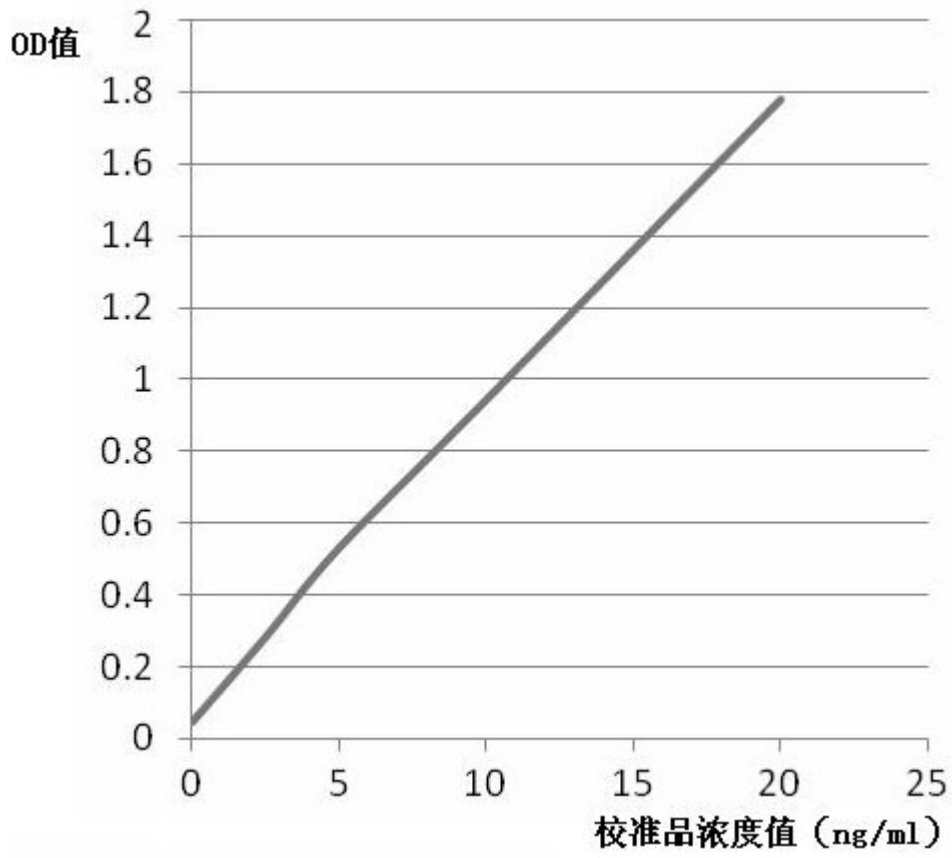


图1

专利名称(译)	检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒及制备方法及检测方法		
公开(公告)号	CN107688095A	公开(公告)日	2018-02-13
申请号	CN2017110715058.8	申请日	2017-08-19
[标]发明人	章建东 韩峰 罗君燕 叶涛 张墨楠		
发明人	章建东 韩峰 罗君燕 伍德丰 叶涛 张墨楠		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/535 G01N33/574		
CPC分类号	G01N33/6803 G01N33/535 G01N33/57484		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒及制备方法及检测方法。目前市场上还没有人朊抑素SN(CST1)酶联免疫检测试剂盒。本发明检测人朊抑素SN的酶联免疫试剂盒的特点在于：包括包被酶标板、酶结合物、校准品、底物、洗液和终止液，包被酶标板为聚苯乙烯包被的CST1抗体，酶结合物为HRP标记的CST1抗体，校准品为CST1抗原，底物为TMB的显色剂，终止液为0.5mol/L的硫酸；洗液为PB的缓冲液，所述洗液如下：1000mL洗液中含有90g的NaCl、29g的Na₂HPO₄·12H₂O、2.97g的NaH₂PO₄·2H₂O、以及10ml的吐温20。本发明操作简便，检测快速，检测结果准确。

