

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510030961.8

[51] Int. Cl.

G01N 33/574 (2006.01)

G01N 33/531 (2006.01)

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 21/31 (2006.01)

[43] 公开日 2006年5月17日

[11] 公开号 CN 1773284A

[22] 申请日 2005.11.2

[21] 申请号 200510030961.8

[71] 申请人 崔大祥

地址 200233 上海市徐汇区钦州路 840 号 105 室

[72] 发明人 崔大祥

[74] 专利代理机构 上海天翔知识产权代理有限公司

代理人 高泉生

权利要求书 1 页 说明书 2 页

[54] 发明名称

一种人血清乳腺癌特异抗原检测酶联免疫吸附试剂盒

[57] 摘要

本发明的人血清乳腺癌特异抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，涉及乳腺癌的早期筛查、诊断、防治技术领域，该试剂盒是通过 ELISA 试验，检测人血清中相应抗原 BRCAA1 与特异抗原表位 SSKQKRSBK 的微量诊断方法，用于检测人血清中的乳腺癌抗原，具有足够高的灵敏性和特异性，能满足乳腺癌的早期筛查、诊断、防治工作；经改进，现已制成有效的乳腺癌特异抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，这种试剂盒为乳腺癌的防治、早期筛查、诊断工作提供了准确、简便、有效的检测工具。

1. 一种人血清乳腺癌特异性抗原检测酶联免疫吸附试剂盒, 盒内成分有:

用抗体包被了的微孔反应板	1 块;
小牛血清	3 ml × 1 瓶;
酶标记抗体	3.2 ml × 1 瓶;
阳性对照	1 ml × 1 瓶;
阴性对照	1 ml × 1 瓶;
浓缩 25 倍的洗涤液	30 ml × 1 瓶;
显色剂 A	4 ml × 1 瓶;
显色剂 B	4 ml × 1 瓶;
终止剂	3.5 ml × 1 瓶;
封板片	3 片
血清标本保存液	1 瓶;

其特征是包被微孔反应板的抗体是由两种抗体组成的, 其中抗体 I 是用大肠杆菌表达的 BRCA1 蛋白免疫新西兰白兔得到的抗体; 抗体 II 是用筛选出特异性乳腺癌抗原表位 **SSKQKRSHK** 免疫家兔得到的抗体。

2. 一种人血清乳腺癌特异抗原检测酶联免疫吸附试剂盒, 其特征是所述试剂盒的操作方法是:

取待检血清, 加入保存液的试管中, 充分混匀后, 2500 转/分钟离心 10 分钟;

孔中加入小牛血清和待检血清标本各一滴, 设阴/阳性对照各两孔, 每孔加入阴性对照或阳性对照各两滴, 在 37℃ 下封板 1 小时;

洗板甩去孔内液体, 注入洗液, 放 10 秒钟, 甩干, 重复 4 次, 拍干;

每孔加酶结合抗体 1 滴, 在 37 度下封板 1 小时;

洗板同前;

加显色剂 A 显色剂 B 各一滴, 在 37℃ 下停放 20 分钟, 每孔加终止液 1 滴;

读取 450 nm 激发光时的 OD 光密度值。

## 一种人血清乳腺癌特异抗原检测酶联免疫吸附试剂盒

### 技术领域:

本发明的人血清乳腺癌特异抗原检测酶联免疫吸附试剂盒,涉及防治乳腺癌的早期筛查、诊断技术领域。

### 背景技术:

乳腺癌是妇科最常见的恶性肿瘤,寻找乳腺癌的特异性抗原有助于乳腺癌的早期筛查、诊断、治疗,我们在科研工作中发现了乳腺癌的相应抗原 BRCA1 基因,并筛选出一个新的乳腺癌特异抗原表位 SSKQKRSHK,经临床血清标本筛查发现对乳腺癌的检测具有较强的灵敏度与特异性,据此,我们开发出相应检测试剂盒。

### 发明内容:

本发明的目的是提出乳腺癌特异性抗原和特异性抗原表位检测酶联免疫吸附试剂盒。

本发明的技术方案是通过 ELISA 试验,检测人血清中的乳腺癌抗原 BRCA1 与特异抗原表位 SSKQKRSHK 的微量诊断方法,该方法的主要技术方案是:

1. 大肠杆菌表达 BRCA1 抗原 → 提取 BRCA1 抗原 → 免疫新西兰白兔 → 从血清中提取 IgG 抗体 → 亲和层析法纯化 IgG 抗体,作为诊断抗体 I;
2. 一个新的抗原表位 SSKQKRSHK 人工合成 → 免疫家兔 → 从血清中提取 IgG 抗体 → 亲和层析法纯化 IgG 抗体作为诊断抗体 II;
3. 将诊断抗体 I 和诊断抗体 II 用辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶标记,作为诊断的二抗,即标记抗体。经多次改进,现已制成成品。
4. 用抗体 I 和抗体 II 包被酶标板,加待检人血清标本,加标记抗体,加底物显示试验结果;即双抗体夹心酶联免疫吸附试验。

通过 ELISA 试验检测人血清中乳腺癌抗原与特异性抗原表位的微量诊断方法的实施方案:

#### 1. 确定试剂盒成分:

- 用抗体包被了的微孔反应板 1 块;
- 小牛血清 3 ml × 1 瓶;

酶标记抗体	3.2 ml × 1 瓶;
阳性对照	1 ml × 1 瓶;
阴性对照	1 ml × 1 瓶;
浓缩 25 倍的洗涤液	30 ml × 1 瓶;
显色剂 A	4 ml × 1 瓶;
显色剂 B	4 ml × 1 瓶;
终止剂	3.5 ml × 1 瓶;
封板片	3 片
血清标本保存液	1 瓶;

## 2. 确定实施操作方法:

取待检血清,加入保存液的试管中,立分混匀后,2500 转/分钟离心 10 分钟;

孔中加入小牛血清和待检血清标本各一滴,设阴/阳性对照各两孔,每孔加入阴性对照或阳性对照各两滴,在 37 度下封板 1 小时;

酶标板甩去孔内液体,注入洗液,放 10 秒钟,甩干,重复 4 次,甩干;

每孔加酶标记的抗体 1 滴,在 37 度下封板 1 下时;洗板同前;

加显色剂 A 与显色剂 B 各 1 滴,在 37 度下静置 20 分钟,每孔加终止剂 1 滴;

读取 450 nm 处激发光时的 OD 光密度值。

## 具体实施方式:

试剂盒成分有:用抗体包被了的微孔反应板 1 块;小牛血清 3 ml × 1 瓶;酶标记抗体 3.2 ml × 1 瓶;阳性对照 1 ml × 1 瓶;阴性对照 1 ml × 1 瓶;浓缩 25 倍的洗涤液 30 ml × 1 瓶;显色剂 A 4 ml × 1 瓶;显色剂 B 4 ml × 1 瓶;终止剂 3.5 ml × 1 瓶;封板片 3 片;血清标本保存液 1 瓶;

按照实施操作方法:取待检血清,加入保存液的试管中,立分混匀后,2500 转/分离心 10 分钟;孔中加入小牛血清和待检血清标本各一滴,设阴/阳性对照各两孔,每孔加入阴性对照或阳性对照各两滴,在 37 度下封板 1 小时;微孔板甩去孔内液体,注入洗液,放 10 秒钟,甩干,重复 4 次,甩干;每孔加酶标记的抗体 1 滴,在 37 度下封板 1 下时;洗板同前;加显色剂 A 与显色剂 B 各一滴,在 37 度下静置 20 分钟,每孔加终止剂 1 滴;读取 450nm 处激发光时的 OD 光密度值。

此试剂盒可在 2~5℃ 下,保存一年,性质不变,适用于各大医院与基层医院开展乳腺癌的早期筛查,辅助诊断工作。

专利名称(译)	一种人血清乳腺癌特异抗原检测酶联免疫吸附试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">CN1773284A</a>	公开(公告)日	2006-05-17
申请号	CN200510030961.8	申请日	2005-11-02
[标]申请(专利权)人(译)	崔大祥		
申请(专利权)人(译)	崔大祥		
当前申请(专利权)人(译)	崔大祥		
[标]发明人	崔大祥		
发明人	崔大祥		
IPC分类号	G01N33/574 G01N21/31 G01N33/531 G01N33/543		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明的人血清乳腺癌特异抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，涉及乳腺癌的早期筛查、诊断、防治技术领域，该试剂盒是通过ELISA试验，检测人血清中相应抗原BRCAA1与特异抗原表位SSKQKRSHK的微量诊断方法，用于检测人血清中的乳腺癌抗原，具有足够高的灵敏性和特异性，能满足乳腺癌的早期筛查、诊断、防治工作；经改进，现已制成有效的乳腺癌特异抗原检测酶联免疫吸附试剂盒，这种试剂盒为乳腺癌的防治、早期筛查、诊断工作提供了准确、简便、有效的检测工具。