



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107765001 A

(43)申请公布日 2018.03.06

(21)申请号 201711004447.6

(22)申请日 2017.10.24

(71)申请人 中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所

地址 215123 江苏省苏州市苏州工业园区
独墅湖高教区若水路398号

(72)发明人 马宏伟

(74)专利代理机构 南京利丰知识产权代理事务所(特殊普通合伙) 32256

代理人 王锋

(51)Int.Cl.

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

权利要求书2页 说明书9页

(54)发明名称

禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫分型试剂盒

(57)摘要

本发明涉及禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫分型试剂盒。本发明的检测试剂盒包括一个或多个固体载体,以及独立地连接于所述一个或多个固体载体上的特定多肽集合。

1. 一种检测试剂盒,其包括一个或多个固体载体,以及独立地连接于所述一个或多个固体载体上的下述多肽集合1:

SEQ ID NO:1所示的多肽;

SEQ ID NO:2所示的多肽;

SEQ ID NO:3所示的多肽;和

SEQ ID NO:4所示的多肽。

2. 根据权利要求1所述的检测试剂盒,其用于检测对象生物来源的生物样本中是否存在抗禽流感病毒的HA2蛋白的抗体,其中,所述HA2蛋白为H5亚型或H7亚型。

3. 根据权利要求1所述的检测试剂盒,其用于对对象生物的禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫进行分型。

4. 根据权利要求2或3所述的检测试剂盒,其中,所述对象生物是禽类。

5. 根据权利要求4所述的检测试剂盒,其中,所述对象生物是鸡。

6. 根据权利要求2或3所述的检测试剂盒,其中,所述生物样本是全血、血浆或血清。

7. 下述多肽集合1在制备用于检测对象生物来源的生物样本中是否存在抗禽流感病毒的HA2蛋白的抗体的试剂盒中的用途,其中,所述HA2蛋白为H5亚型或H7亚型;

多肽集合1

SEQ ID NO:1所示的多肽;

SEQ ID NO:2所示的多肽;

SEQ ID NO:3所示的多肽;和

SEQ ID NO:4所示的多肽。

8. 下述多肽集合1在制备用于对对象生物的禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫进行分型的试剂盒中的用途。

9. 一种检测对象生物来源的生物样本中是否存在抗禽流感病毒的HA2蛋白的抗体的方法,该方法包括:

使用权利要求1~6中任一项所述的检测试剂盒检测SEQ ID NO:1~4所示的多肽是否对对象生物来源的生物样本有响应;

其中,

当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽均无响应时,判定为存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体,但不存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体;

当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽无响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时,判定为存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体,但不存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体;

当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时,判定为存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体且存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体;以及

当检测到SEQ ID NO:1~4所示的多肽均无响应时,判定为不存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体且不存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体。

10. 一种对对象生物的禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫进行分型的方法,该方法包

括：

使用权利要求1~6中任一项所述的检测试剂盒检测SEQ ID NO:1~4所示的多肽是否对对象生物来源的生物样本有响应；

其中，

当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽均无响应时，判定为对象生物已被H5亚型禽流感病毒感染或已被H5亚型禽流感疫苗免疫；

当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽无响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时，判定为对象生物已被H7亚型禽流感病毒感染或已被H7亚型禽流感疫苗免疫；

当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时，判定为对象生物已被H5亚型禽流感病毒感染或已被H5亚型禽流感疫苗免疫、且已被H7亚型禽流感病毒感染或已被H7亚型禽流感疫苗免疫；以及

当检测到SEQ ID NO:1~4所示的多肽均无响应时，判定为对象生物没有被H5亚型禽流感病毒感染和被H5亚型禽流感疫苗免疫、且没有被H7亚型禽流感病毒感染和被H7亚型禽流感疫苗免疫。

禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫分型试剂盒

技术领域

[0001] 本发明主要涉及禽用试剂盒及诊断方法。具体而言,本发明涉及可用于对感染禽流感病毒和/或禽流感疫苗免疫进行分型的试剂盒以及诊断方法。

背景技术

[0002] 禽流感是由A型流感病毒引起的家禽和野禽的疾病综合症。本病于1878年首次在意大利被发现,当时称为“鸡瘟”,直到1955年才被证实为A型流感病毒中的H7毒株感染。

[0003] 近年来,鸡禽流感在世界各国均呈上升趋势,特别是1997年以来香港爆发的禽流感已经对人类的健康构成威胁。鸡禽流感具有发病急、流行广、死亡快、危害大等热点,是国际兽医局(OIE)和中国农业部列出的一类传染病,对给养鸡业构成巨大威胁。可以说,鸡禽流感防治的效果关系到养鸡业的成败。

[0004] 禽流感病毒(Avian Influenza Virus)根据其血凝素(HA)型和神经氨酸酶(NA)型的不同,可分为许多亚型。目前已知HA有17个亚型(H1~H17),NA有10个亚型(N1~N10),二者可在理论上组成几百个血清亚型(HnNn)。禽流感病毒中,H5、H7、H9亚型可以传染给人。这其中,对于鸡而言,H5亚型为高致病性,会导致鸡的成批死亡;H7亚型致死率高,且近年感染呈增加趋势;H9亚型虽是低致病性的,但会显著影响蛋鸡的产蛋量。

[0005] 另一方面,为了有效预防鸡感染禽流感,需要用疫苗对雏鸡进行免疫,目前使用的疫苗一般是特定亚型的灭活全病毒疫苗,而接种疫苗后抗体水平的监测是疫苗效价评估及鸡场风险管理的重要参考指标。

[0006] 因此,能够有效地对区分各种亚型的禽流感病毒感染、或者各种亚型病毒禽流感疫苗的免疫的分型试剂盒的研发,成为当前的重大课题。

发明内容

[0007] 本发明的目的在于提供新的可用于判定对象生物(例如鸡等禽类)被哪种亚型的禽流感病毒感染、或者被哪种亚型病毒禽流感疫苗免疫(即对感染或免疫进行分型)的检测试剂盒。

[0008] 本发明人令人惊奇地发现,通过使用SEQ ID NO:1~4所示的4条多肽作为检测分子、以对象生物的生物样本对上述4条多肽的响应模式作为判定对象生物被感染或被免疫的指标的情况下,能够以较高的灵敏度及较低的假阳性率对感染或免疫进行分型。

[0009] 因此,本发明包括:

[0010] 1.一种检测试剂盒,其包括一个或多个固体载体,以及独立地连接于所述一个或多个固体载体上的下述多肽集合1:

[0011] SEQ ID NO:1所示的多肽;

[0012] SEQ ID NO:2所示的多肽;

[0013] SEQ ID NO:3所示的多肽;和

[0014] SEQ ID NO:4所示的多肽。

[0015] 2. 根据项1所述的检测试剂盒,其用于检测对象生物来源的生物样本中是否存在抗禽流感病毒的HA2蛋白的抗体,其中,所述HA2蛋白为H5亚型或H7亚型。

[0016] 3. 根据项1所述的检测试剂盒,其用于对对象生物的禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫进行分型。

[0017] 4. 根据项2或3所述的检测试剂盒,其中,所述对象生物是禽类。

[0018] 5. 根据项4所述的检测试剂盒,其中,所述对象生物是鸡。

[0019] 6. 根据项2或3所述的检测试剂盒,其中,所述生物样本是全血、血浆或血清。

[0020] 7. 下述多肽集合1在制备用于检测对象生物来源的生物样本中是否存在抗禽流感病毒的HA2蛋白的抗体的试剂盒中的用途,其中,所述HA2蛋白为H5亚型或H7亚型;

[0021] 多肽集合1

[0022] SEQ ID NO:1所示的多肽;

[0023] SEQ ID NO:2所示的多肽;

[0024] SEQ ID NO:3所示的多肽;和

[0025] SEQ ID NO:4所示的多肽。

[0026] 7-1. 根据项7所述的检测试剂盒,其中,所述对象生物是禽类。

[0027] 7-2. 根据项7所述的检测试剂盒,其中,所述对象生物是鸡。

[0028] 7-3. 根据项7所述的检测试剂盒,其中,所述生物样本是全血、血浆或血清。

[0029] 8. 下述多肽集合1在制备用于对对象生物的禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫进行分型的试剂盒中的用途。

[0030] 8-1. 根据项7所述的检测试剂盒,其中,所述对象生物是禽类。

[0031] 8-2. 根据项7所述的检测试剂盒,其中,所述对象生物是鸡。

[0032] 8-3. 根据项7所述的检测试剂盒,其中,所述生物样本是全血、血浆或血清。

[0033] 9. 一种检测对象生物来源的生物样本中是否存在抗禽流感病毒的HA2蛋白的抗体的方法,该方法包括:

[0034] 使用项1~6中任一项所述的检测试剂盒检测SEQ ID NO:1~4所示的多肽是否对对象生物来源的生物样本有响应;

[0035] 其中,

[0036] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽均无响应时,判定为存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体,且不存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体;

[0037] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽无响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时,判定为存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体,且不存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体;

[0038] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时,判定为存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体且存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体;以及

[0039] 当检测到SEQ ID NO:1~4所示的多肽均无响应时,判定为不存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体且不存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体。

[0040] 9-1. 根据项9所述的方法,其中,所述对象生物是禽类。

[0041] 9-2. 根据项9所述的方法, 其中, 所述对象生物是鸡。

[0042] 9-3. 根据项9所述的方法, 其中, 所述生物样本是全血、血浆或血清。

[0043] 10. 一种对对象生物的禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫进行分型的方法, 该方法包括:

[0044] 使用项1~6中任一项所述的检测试剂盒检测SEQ ID NO:1~4所示的多肽是否对对象生物来源的生物样本有响应;

[0045] 其中,

[0046] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽均无响应时, 判定为对象生物已被H5亚型禽流感病毒感染或已被H5亚型禽流感疫苗免疫;

[0047] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽无响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时, 判定为对象生物已被H7亚型禽流感病毒感染或已被H7亚型禽流感疫苗免疫;

[0048] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时, 判定为对象生物已被H5亚型禽流感病毒感染或已被H5亚型禽流感疫苗免疫、且已被H7亚型禽流感病毒感染或已被H7亚型禽流感疫苗免疫; 以及

[0049] 当检测到SEQ ID NO:1~4所示的多肽均无响应时, 判定为对象生物没有被H5亚型禽流感病毒感染和被H5亚型禽流感疫苗免疫、且没有被H7亚型禽流感病毒感染和被H7亚型禽流感疫苗免疫。

[0050] 10-1. 根据项10所述的方法, 其中, 所述对象生物是禽类。

[0051] 10-2. 根据项10所述的方法, 其中, 所述对象生物是鸡。

[0052] 10-3. 根据项10所述的方法, 其中, 所述生物样本是全血、血浆或血清。

[0053] 发明的具体实施方式

[0054] 多肽集合

[0055] 本说明书中, 多肽集合1是下述SEQ ID NO:1~4所示的多肽的全部:

[0056] SEQ ID NO:1的序列为(LMENERTLDFHDSNVKNLYD);

[0057] SEQ ID NO:2的序列为(QQFELIDNEFNEVEKQIGNV);

[0058] SEQ ID NO:3的序列为(ADSEMDKLYERVKRQLRENA); 和

[0059] SEQ ID NO:4的序列为(FHKDDDCMASIRNNTYDHR)。

[0060] 本发明人发现, 通过使用多肽集合1的4条多肽作为检测分子、以对象生物的生物样本对上述4条多肽的响应模式作为判定对象生物被感染或被免疫的指标的情况下, 能够以较高的灵敏度及较低的假阳性率对禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫进行分型。

[0061] 这里, 灵敏度是指: 用“金标准”方法确认的阳性样本中, 被其他方法测定为阳性样本的比例。假阳性率是指: 用“金标准”方法确认的阴性样本中, 被其他方法测定为阳性样本的比例。本技术领域, 对禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫进行分型的“金标准”方法是血球凝集(HA) 试验。

[0062] 所述多肽可以适宜采用(1) 化学合成方法、或(2) 酶反应合成方法等公知方法来获得, 其中化学合成更为简便。在化学合成本发明的多肽情况下, 通过使用肽合成仪合成或者半合成该多肽来进行。作为化学合成方法, 可以列举出例如肽固相合成法等。这样合成的肽可以采用常规手段例如离子交换色谱、反相高效液体色谱、亲和色谱等进行纯化。这样的肽

固相合成方法以及其后的肽纯化都是本技术领域公知的。

[0063] 此外,在通过酶反应生产本发明的多肽的情况下,可以采用例如国际公开小册子W02004/011653号所述的方法。即,可以这样来生产:将一方的氨基酸或二肽的羧基末端被酯化或酰胺化而得到的氨基酸或二肽、与氨基酸处于游离状态的氨基酸(例如羧基保护的氨基酸)在肽合成酶的存在下进行反应,生成的二肽或三肽。作为肽合成酶,可以列举出:具有生成肽的能力的微生物的培养物、由该培养物分离的微生物菌体、或该微生物的菌体处理物、或该微生物来源的肽合成酶。

[0064] 特别是多肽的化学合成已经实现了商业化,可以容易地委托专业的多肽合成公司来合成所述多肽。

[0065] 试剂盒

[0066] 本发明提供一种检测试剂盒(本发明的试剂盒),其包括

[0067] 一个或多个固体载体,以及独立地连接于所述一个或多个固体载体上的上述多肽集合1。

[0068] 本发明的试剂盒可用于检测对象生物来源的生物样本中是否存在抗禽流感病毒的HA2蛋白的抗体,其中,所述HA2蛋白为H5亚型或H7亚型。此外,本发明的试剂盒还可用于对对象生物的禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫进行分型,特别是可用于区分对象生物的H5亚型的禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫、H7亚型的禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫、与其它亚型(例如H9亚型)的禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫。

[0069] 在本说明书中,所述对象生物优选可以是禽类,例如可以是家禽或野禽,具体例如鸡、鸭、鹅、鸽等。

[0070] 在本说明书中,所述生物样本优选可以是血液样本,具体例如全血、血浆或血清。

[0071] 本发明的试剂盒中的固体载体可以是一个,也可以是多个,但优选为一个,即全部多肽独立地连接于同一固体载体上。

[0072] 在本发明中,对固体载体没有特殊限制,只要是作为固体或不溶性材料的载体即可。

[0073] 多肽与固体载体的连接可以采用本领域技术人员公知的多肽与固体载体的连接方法来进行。例如,对于蛋白质/多肽与改性硅胶表面的连接而言,可以通过1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)-碳化二亚胺[1-ethyl-3-(3-dimethyl aminopropyl) carbodiimide,EDC]和N-羟基琥珀酰亚胺(N-hydroxysuccinimide,NHS)的反应将改性硅胶表面高分子链上的羧基(-COOH)基团改为活化基团,该活化基团可与蛋白/多肽上所带的氨基(-NH₂)反应从而实现将蛋白/多肽固定于固体载体表面。

[0074] 对于点样时使用的点样液中多肽的浓度没有特殊限制,本领域技术人员可以依常规选择,优选为1 μ g~1000 μ g/mL,更优选10 μ g~500 μ g/mL。此外,对于多肽在固体载体上分布的密度没有特殊限制,本领域技术人员可以依常规选择,优选为1~100点/10mm²,更优选5~50点/10mm²。

[0075] 检测方法和分型方法

[0076] 本发明还提供一种检测对象生物来源的生物样本中是否存在抗禽流感病毒的HA2蛋白的抗体的方法,该方法包括:

[0077] 使用项1~6中任一项所述的检测试剂盒检测SEQ ID NO:1~4所示的多肽是否对

对象生物来源的生物样本有响应；

[0078] 其中，

[0079] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽均无响应时，判定为存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体，且不存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体；

[0080] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽无响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时，判定为存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体，且不存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体；

[0081] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时，判定为存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体且存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体；以及

[0082] 当检测到SEQ ID NO:1~4所示的多肽均无响应时，判定为不存在抗H5亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体且不存在抗H7亚型的禽流感病毒的HA2蛋白的抗体。

[0083] 在本说明书中，“响应”是指：信噪比(SNR)大于或等于2，其中，信噪比 = (多肽点信号值 - 阴性对照点信号值) / 阴性对照点信号值。

[0084] 此外，本发明还提供一种对对象生物的禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫进行分型的方法，该方法包括：

[0085] 使用项1~6中任一项所述的检测试剂盒检测SEQ ID NO:1~4所示的多肽是否对对象生物来源的生物样本有响应；

[0086] 其中，

[0087] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽均无响应时，判定为对象生物已被H5亚型禽流感病毒感染或已被H5亚型禽流感疫苗免疫；

[0088] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽无响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时，判定为对象生物已被H7亚型禽流感病毒感染或已被H7亚型禽流感疫苗免疫；

[0089] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时，判定为对象生物已被H5亚型禽流感病毒感染或已被H5亚型禽流感疫苗免疫、且已被H7亚型禽流感病毒感染或已被H7亚型禽流感疫苗免疫；以及

[0090] 当检测到SEQ ID NO:1~4所示的多肽均无响应时，判定为对象生物没有被H5亚型禽流感病毒感染和被H5亚型禽流感疫苗免疫、且没有被H7亚型禽流感病毒感染和被H7亚型禽流感疫苗免疫。

[0091] 需要说明的是，在上述本发明的检测方法或分型方法中，所述生物样本可以是全血、血浆或血清，优选为血浆或血清，更优选为血清。

实施例

[0092] 1. 多肽的制备与确认

[0093] 实施例中使用的多肽由吉尔生化(上海)有限公司合成，并通过质谱对其进行了确认。其中，

[0094] SEQ ID NO:1:LMENERTLDFHDSNVKNLYD。

[0095] SEQ ID NO:2:QQFELIDNEFNEVEKQIGNV。

[0096] SEQ ID NO:3:ADSEMDKLYERVKRQLRENA。

[0097] SEQ ID NO:4:FHKCDDDCMASIRNNTYDHR。

[0098] 2. 试剂盒(检测芯片)的制备

[0099] 采用常规方法在常规的ELISA用固相载体上分别点样上述SEQ ID NO:1~4所示的多肽的溶液,另外点样一个鸡IgY点作为阳性质控点以及一个PB点作为阴性质控点,制备了检测芯片。

[0100] 3. 用试剂盒进行检测

[0101] 检验步骤

[0102] (1)、开始检测前,将浓缩清洗液按1:10的比例加入纯化水或蒸馏水进行稀释,稀释完成后直接使用。使用移液枪将2mL清洗液加到检测芯片表面,浸泡检测芯片3分钟,保证检测芯片表面被完全浸润。

[0103] (2)、将待测血清样本用样本稀释液按照1:200稀释混匀。

[0104] (3)、弃去浸泡检测芯片的清洗液,在检测芯片表面完全湿润的状态下,每个血清样本吸取200 μ L稀释后的血清加入到检测芯片上。

[0105] (4)、将检测芯片室温孵育30分钟。

[0106] (5)、弃去检测芯片上血清样本,用洗液将检测芯片表面清洗干净。

[0107] (6)、清洗完成后,每个检测芯片上加入200 μ L酶标抗体溶液,将检测芯片室温孵育30分钟。

[0108] (7)、弃去检测芯片上的酶标抗体溶液,用洗液将检测芯片表面清洗干净。

[0109] (8)、清洗完成后,每个检测芯片表面分别加入15 μ L发光底物液,使发光液能均匀的铺于检测芯片表面。

[0110] (9)、将加入了发光液的芯片置于凝胶成像仪中化学发光成像并判定结果。

[0111] (10)、结果判定:对于每一份血清,分别统计该试剂盒中的每一条多肽是否有响应(即,信噪比(SNR)大于等于2),并进行判定。即,

[0112] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽均无响应时,判定为对象生物已被H5亚型禽流感病毒感染或已被H5亚型禽流感疫苗免疫;

[0113] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽无响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时,判定为对象生物已被H7亚型禽流感病毒感染或已被H7亚型禽流感疫苗免疫;

[0114] 当检测到SEQ ID NO:1所示的多肽有响应、且SEQ ID NO:2~4所示的多肽中的任意一条或多条有响应时,判定为对象生物已被H5亚型禽流感病毒感染或已被H5亚型禽流感疫苗免疫、且已被H7亚型禽流感病毒感染或已被H7亚型禽流感疫苗免疫;以及

[0115] 当检测到SEQ ID NO:1~4所示的多肽均无响应时,判定为对象生物没有被H5亚型禽流感病毒感染和被H5亚型禽流感疫苗免疫、且没有被H7亚型禽流感病毒感染和被H7亚型禽流感疫苗免疫。

[0116] 其中,信噪比=(多肽点信号值-阴性对照点信号值)/阴性对照点信号值。多肽点信号值是指成像仪配套软件读取的多肽点的化学发光强度值,阴性对照点信号值是指成像仪配套软件读取的阴性对照点的化学发光强度值。

[0117] 对于388份鸡血清样本,分别采用上述步骤2中制备的试剂盒(按上述3的步骤)以及传统的HA试验进行检测,检测结果如下所示。

[0118] 表1

[0119]

试剂盒	HA 试验		合计
	阳性	阴性	
H5 阳性	97	1	98
H5 阴性	2	288	290
H5 合计	99	289	388
H7 阳性	211	3	214
H7 阴性	2	172	174
H7 合计	213	175	388
双阳性	20	0	20
双阴性	0	96	96
双重合计	20	96	116

[0120] 对于H5

[0121] 灵敏度 $=97/99*100\%=98\%$

[0122] 假阳性率 $=1/289=0.4\%$

[0123] 对于H7

[0124] 灵敏度 $=211/213*100\%=99\%$

[0125] 假阳性率 $=3/175=1.7\%$

[0126] 对于双重

[0127] 灵敏度 $=20/20*100\%=100\%$

[0128] 假阳性率 $=0/96=0\%$

[0129] 由此可知,上述试剂盒的检测数据与HA试验检测数据基本一致,其符合作为检测试剂盒的要求。

[0130] 以下,通过实施例对本发明进行更具体的说明,但并不是对本发明技术范围的限定。通过本说明书的记载,本领域技术人员可以容易的对本发明进行修饰/改变,这些包含在本发明的技术范围内。

序列表

<110> 中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所

<120> 禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫分型试剂盒

<160> 2

<170> PatentIn version 3.2

[0131]

<210> 1

<211> 20

<212> 多肽

<213> 人工序列

<400> 1

LMENERTLDFHDSNVKNLYD

20

<210> 2

<211> 20

<212> 多肽

<213> 人工序列

<400> 2

QQFELIDNEFNEVEKQIGNV 20

<210> 3

<211> 20

<212> 多肽

[0132] <213> 人工序列

<400> 3

ADSEMDKLYERVKRQLRENA 20

<210> 4

<211> 20

<212> 多肽

<213> 人工序列

<400> 4

FHKCDDDCMASIRNNTYDHR 20

专利名称(译)	禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫分型试剂盒		
公开(公告)号	CN107765001A	公开(公告)日	2018-03-06
申请号	CN201711004447.6	申请日	2017-10-24
[标]申请(专利权)人(译)	中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所		
申请(专利权)人(译)	中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国科学院苏州纳米技术与纳米仿生研究所		
[标]发明人	马宏伟		
发明人	马宏伟		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/68 G01N33/535		
代理人(译)	王锋		
其他公开文献	CN107765001B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及禽流感病毒感染或禽流感疫苗免疫分型试剂盒。本发明的检测试剂盒包括一个或多个固体载体，以及独立地连接于所述一个或多个固体载体上的特定多肽集合。

试剂盒	HA 试验		合计
	阳性	阴性	
H5 阳性	97	1	98
H5 阴性	2	288	290
H5 合计	99	289	388
H7 阳性	211	3	214
H7 阴性	2	172	174
H7 合计	213	175	388
双阳性	20	0	20
双阴性	0	96	96
双重合计	20	96	116