



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104020291 A

(43) 申请公布日 2014. 09. 03

(21) 申请号 201410298037. 7

(22) 申请日 2014. 06. 26

(71) 申请人 南京大学

地址 210093 江苏省南京市鼓楼区汉口路
22 号

(72) 发明人 沈萍萍 丁森 卢彦

(74) 专利代理机构 南京知识律师事务所 32207

代理人 胡锡瑜

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/569(2006. 01)

G01N 33/535(2006. 01)

权利要求书1页 说明书7页

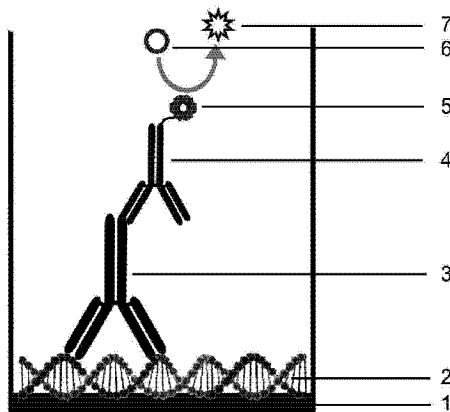
序列表2页 附图2页

(54) 发明名称

一种基于酶联免疫分析的 HPV 核酸检测试剂盒及其应用

(57) 摘要

本发明属于分子生物学、免疫学及核酸化学技术领域,具体涉及一种基于酶联免疫分析的 HPV 核酸检测试剂盒及其应用。该试剂盒基于一种利用 Sdr 单克隆抗体检测高危 HPV16 型 E6、E7RNA 的免疫检测方法,检测过程不需反转录和 PCR 等技术对靶序列进行扩增,而是利用不需标记的 DNA 探针与 HPV16 型 E6、E7RNA 进行杂交,形成 DNA :RNA 杂合体,然后利用 Sdr 单克隆抗体对杂合体进行识别和后续的信号放大。检测方法具有快速、低成本、高灵敏、不需复杂的扩增和检测仪器,以及可检测初始病毒载量的优点。



1. 一种基于酶联免疫分析的 HPV16 型 E6、E7RNA 检测试剂盒,其特征是试剂盒的组成部分为:

(1) 预包被的酶标板:PLL处理的聚苯乙烯微孔板,BSA封闭,储藏条件为4℃,保质期半年;

(2) 探针混合液 1:针对 HPV16E6RNA 片段的探针组合,E6DNA1、E6DNA2、E6DNA3,浓度均为 10uM;

(3) 探针混合液 2:针对 HPV16E7RNA 片段的探针组合,E7DNA1、E7DNA2,浓度均为 10uM;

(4) 10×退火缓冲液:Tris-HCl100mM, pH7.5, EDTA10mM, NaCl1M;

(5) 针对 DNA-RNA 的鼠源单克隆抗体 Sdr 溶液;

(6) 针对 Sdr 的酶标二抗溶液;

(7) 底物显色溶液:TMB 溶液;

(8) 洗涤缓冲液:10×PBS 溶液;

(9) 反应终止液:2M H₂SO₄。

2. 根据权利要求 1 所述试剂盒用于体外转录 RNA 模板或直接从病样中提取的 RNA 的检测方法,其特征是由以下步骤构成:

(1) 将体外转录 RNA 模板或直接从病样中提取的 RNA 与探针混合液 1 或 2 进行杂交,杂交体系:10uL10×退火缓冲液,3uL 或 2uL 探针混合液,RNA 模板溶液 10uL,补充 DEPC H₂O 至 100uL;杂交条件:95℃ 5min,65℃ 2h,冰上冷却 5min;

(2) 预包被的酶标板中,每孔加入 100uL 杂交产物,室温孵育 1h,300uL PBST 洗 5 次;每孔加入 100uL Sdr 单克隆抗体溶液,室温孵育 1h,如上洗涤;每孔加入 100uL 酶标二抗溶液,室温孵育 1h,如上洗涤;加入 100uL TMB 底物显色溶液,37℃孵育 20min;每孔加入 50uL 反应终止液终止反应,测 Abs 值,测量波长 450nm,参比波长 570nm。

3. 根据权利要求 1 所述试剂盒在高危 HPV16 型人乳头瘤病毒检测中的应用。

一种基于酶联免疫分析的 HPV 核酸检测试剂盒及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于分子生物学、免疫学及核酸化学技术领域。具体涉及一种基于酶联免疫分析的 HPV 核酸检测试剂盒及其应用。

背景技术

[0002] 人乳头瘤病毒（以下简称 HPV）是环状双链 DNA 病毒，属于乳头瘤病毒科， α 乳头瘤病毒属。自 20 世纪 70 年代被首次发现以来，现已公布 HPV 的基因型已有 100 种以上。其中一些基因型已经被证实与多种上皮或粘膜组织的恶性病变有关，尤其是是子宫颈癌。在全球的女性中，子宫颈癌是仅次于乳腺癌的普遍存在的恶性肿瘤。在美国，每年有 1.2 万名女性被诊断为宫颈癌。目前已经公认，HPV 是导致全球几乎所有宫颈癌的因素。HPV 导致了 99% 的宫颈癌，而高危 HPV 基因型 16 和 18 占到了 70%。更重要的是，该病毒中的 E6 和 E7 基因及其转录翻译产物是决定其侵袭和治病能力的关键因素。

[0003] 几十年来，女性一直依靠细胞学检查作为检测子宫颈癌存在与否的工具。女性需要获取更好的筛查工具，包括 HPV 初级筛查，以降低罹患子宫颈癌的风险。现在诊断 HPV 感染的方法很多，比如：组织学、血清学及分子生物学等。但是，目前为止基于 HPV 病毒本身的特点，还不能进行体外培养，因此培养法还不现实；另外，由于针对 HPV 的免疫分析缺乏足够的灵敏度和特异性，血清或蛋白检测也未能应用于临床。因此，目前用于 HPV 检测的方法还依赖于其核酸（DNA 或 RNA），例如，针对 DNA 的检测有基于原位杂交、DNA 测序方法的直接法，基于分枝 DNA 分析、杂交捕获系统和 Cervista 高危 HPV 检测方法的信号放大法，基于 Real-Time PCR、整合 HPV 序列 PCR (DIPS-PCR) 的靶扩增分析；针对 RNA 的检测有反转录 PCR、基于核酸序列扩增 (NASBA) 法和转录介导的扩增 (TMA) 法等。其中，值得注意的是 2003 年 FDA 批准的 Qiagen 公司的 Hybrid Capture2 法和 2014 年 FDA 批准的罗氏 (Roche) 公司的 cobas HPV Test 法。

[0004] 然而，以上针对 HPV 核酸的检测方法也有其不足之处，比如，有些方法操作相对复杂、困难导致成本较高，有些方法除需要相应的扩增和检测仪器还不能真实的反映出初始的病毒载量。而病毒载量却是与病人的病程和病毒传播危害程度相关的重要因素。目前研究表明，以高危 HPV 基因组 DNA > 1pg/ml (100, 000 HPV 拷贝) 为阈值，宫颈上皮肉瘤变 (CIN) II-III 期中阳性率为 97.5%，CIN III 期中阳性率为 100%，宫颈癌中阳性率为 100%。因此，理想的 HPV 的检测方法应该是基于核酸的杂交分析不需扩增 HPV 的靶核酸。

[0005] 单克隆抗体 Sdr 是鼠源的针对 DNA:RNA 杂合体的高特异性和亲和力的抗体。我们的专利技术即是建立了一种利用 Sdr 单克隆抗体检测高危 HPV16 型 E6、E7RNA 的免疫检测方法，该方法不需反转录和 PCR 技术对待检靶序列进行扩增，而是利用不需标记的 DNA 探针与 HPV16 型 E6、E7RNA 进行杂交，形成 DNA:RNA 杂合体，然后利用 Sdr 单克隆抗体进行识别和后续的信号放大。检测方法具有快速、低成本、高灵敏、不需复杂的扩增和检测仪器，以及可检测初始病毒载量的优点。

发明内容

[0006] 本发明需要解决的问题:针对现有 HPV 核酸的检测方法的不足之处,比如操作相对复杂、困难导致的成本较高,需要相应的扩增和检测仪器,不能真实的反映出初始的病毒载量。提供一种快速检测 HPV 的方法和试剂,并组装成检测试剂盒,并确定试剂盒的使用方法,可对高危 HPV16 型 E6、E7RNA 进行快速、低成本、高灵敏检测,检测过程不需复杂的扩增和检测仪器,可检测初始病毒载量。

[0007] 本发明的总体技术路线:样本的采集、处理,从病样(血液、组织,宫颈分泌物、细胞脱落物等)提取 HPV16 型 DNA 或 RNA;根据 GenBank 公布的标准序列设计的引物进行克隆,序列分析;根据 GenBank 公布的标准序列设计与靶核酸进行杂交的寡核苷酸片段(探针);在特定的杂交条件下,寡核苷酸探针与待检核酸进行杂交;杂交产物结合于 PLL 预先包被的酶标板上;加入针对 DNA-RNA 杂合体的单克隆抗体;加入抗单克隆抗体的酶标二抗;加入酶的底物显色,终止反应后测吸光度值。对实验流程中的关键反应条件、试剂成分及浓度进行优化,将探针混合液,退火缓冲液,一抗、二抗稀释液,底物显色液,反应终止液开发成检测 HPV16 型 E6、E7RNA 的试剂盒。

[0008] 使用本试剂盒对体外转录的 HPV16 型 E6、E7RNA 进行检测,并进行方法学考察。该检测方法可检测 HPV16E6 及 E7RNA 的检测限分别为 0.923pg/mL 及 0.424pg/mL,浓度线性范围分别是 92.3pg/mL 至 0.923pg/mL 及从 42.4pg/mL 至 0.424pg/mL。

[0009] 本发明的技术方案:1. 提取病样中的基因组 DNA;2. 根据 GenBank 公布的标准序列设计体外转录引物,对靶序列进行克隆,序列分析;3. 根据 GenBank 公布的标准序列设计与靶核酸进行杂交的寡核苷酸片段(探针);4. 建立 HPV16 型 E6、E7RNA 的免疫检测方法;5. 优化关键反应条件、试剂成分及浓度,确定其使用方法;6. HPV16 型 E6、E7RNA 的免疫检测方法的灵敏度实验。详述如下:

[0010] 1. 提取病样中的基因组 DNA 或 RNA

[0011] 酚/氯仿抽提法或基因组 DNA 或 RNA 提取试剂盒直接从病样(血液、组织,宫颈分泌物、细胞脱落物等)提取 HPV16 型病样的 DNA 或 RNA。测量核酸浓度,调整核酸浓度至 10ng/uL。

[0012] 2. 根据 GenBank 公布的标准序列设计体外转录引物,对靶序列进行克隆,序列分析

[0013] 根据 NCBI 公开的 HPV16 型完整基因组序列(参考序列:NC_001526.2)设计针对 E6、E7 整个基因片段的体外转录引物,引物序列(5'-3'):HPV16E6 基因上游引物 TAATACGACTCACTATAGGGATGCACAAAAGAGAACTGCAATGTTTCAG, HPV16E6 基因下游引物 TTACAGCTGGGTTTCTCTACGTGTTCTTG;HPV16E7 基因上游引物 TAATACGACTCACTATAGGGATGCATG GAGATACACCTACATTGCAT, HPV16E7 基因下游引物 TTATGGTTTCTGAGAACAGATGGGGCACAC。PCR 扩增上述提取的核酸模板;胶回收阳性 PCR 产物;连接到载体后转化入感受态细胞,挑取阳性克隆后扩大培养,提取质粒经鉴定阳性后进行测序分析。确定使用的模板为 HPV16 型 E6、E7 基因片段。

[0014] 3. 根据 GenBank 公布的标准序列设计与靶核酸进行杂交的寡核苷酸片段(探针)

[0015] 根据 NCBI 公开的 HPV16 型完整基因组序列(参考序列:NC_001526.2)设计针对 E6、E7 基因片段的寡核苷酸探针,序列如下:

[0016]

名称	序列 (5'-3')	位置
E6 DNA ₁	GCTCTGTGCATAACTGTGGTAACTTTCTGGGTCG	43-76
E6 DNA ₂	TCCCGAAAAGCAAAGTCAATATACCTCACGTCGCAGTAACT	128-167
E6 DNA ₃	CAGCTGGGTTTCTCTACGTGTTCTTGATGATCTGCAACAA	435-474
E7 DNA ₁	TACGCACAACCGAAGCGTAGAGTCACACTTGC	176-207
E7 DNA ₂	AGTGTGCCCATTAACAGGTCTTCCAAAGTACGAATGTCTACGTGTGTGC	212-260

[0017] 4. 建立 HPV16 型 E6、E7RNA 的免疫检测方法

[0018] 将步骤 2 中经过带有体外转录启动子的引物扩增的 PCR 产物进行体外转录；转录产物与步骤 3 中的探针中的一条或数条的组合在一定的退火缓冲液中、一定的退火温度等条件下进行杂交；将杂交产物与 PLL 预先处理的酶标板进行孵育后，加入针对 DNA-RNA 杂合体的鼠源单克隆抗体，再加入针对鼠源单抗的酶标二抗，最后加入底物显色，终止反应后检测吸光度值。

[0019] 5. 优化关键反应条件、试剂成分及浓度，确定其使用方法

[0020] 在验证该体系可用于检测样本中的 RNA 后，对探针浓度、数量，退火缓冲液，退火时间，退火温度，封闭液以及一抗、二抗浓度及其稀释液等指标进行优化。在优化的条件下，将检测体系中的组分组装成试剂盒，试剂盒的组成部分为：

[0021] 预包被的酶标板：PLL 处理的聚苯乙烯微孔板，BSA 封闭，储藏条件为 4℃，保质期半年。

[0022] 探针混合液 1：针对 HPV16E6RNA 片段的探针组合，E6DNA1、E6DNA2、E6DNA3，浓度均为 10uM。

[0023] 探针混合液 2：针对 HPV16E7RNA 片段的探针组合，E7DNA1、E7DNA2，浓度均为 10uM。

[0024] 10× 退火缓冲液：Tris-HCl100mM，pH7.5，EDTA10mM，NaCl1M。

[0025] 针对 DNA-RNA 的鼠源单克隆抗体 Sdr 溶液。

[0026] 针对 Sdr 的酶标二抗溶液：HRP-Goat anti-mouse IgG (H+L) 溶液。

[0027] 底物显色溶液：TMB 溶液。

[0028] 洗涤缓冲液：10×PBS 溶液。

[0029] 反应终止液：2M H₂SO₄。

[0030] 将优化的杂交反应条件及免疫分析过程作为该试剂盒的说明书，详述如下：

[0031] (1) 将体外转录 RNA 模板或直接从病样中提取的 RNA 与探针混合液 1 或 2 进行杂交，杂交体系：10uL10× 退火缓冲液，3uL 或 2uL 探针混合液，RNA 模板溶液 10uL，补充 DEPC H₂O 至 100uL；杂交条件：95℃ 5min，65℃ 2h，冰上冷却 5min。

[0032] (2) 预包被的酶标板中，每孔加入 100uL 杂交产物，室温孵育 1h，300uL PBS (pH7.4，含 1‰ Tween-20) 洗 5 次；每孔加入 100uL Sdr 单克隆抗体溶液，室温孵育 1h，如上洗涤；每孔加入 100uL 酶标二抗溶液，室温孵育 1h，如上洗涤；加入 100uL TMB 底物显色溶液，37℃ 孵育 20min；每孔加入 50uL 反应终止液终止反应，测 Abs 值，测量波长 450nm，参比波长 570nm。

[0033] 6. HPV16 型 E6、E7RNA 的免疫检测方法的灵敏度实验

[0034] 体外转录的 HPV16 型 E6、E7RNA 模板 10 倍梯度稀释后进行检测。

[0035] 本发明的有益效果：针对现有 HPV 核酸的检测方法的不足之处，本发明专利技术即是建立了一种利用 Sdr 单克隆抗体检测高危 HPV16 型 E6、E7RNA 的免疫检测方法，该方法

不需反转录和 PCR 技术对待检靶序列进行扩增,而是利用不需标记的 DNA 探针与 HPV16 型 E6、E7RNA 进行杂交,形成 DNA:RNA 杂合体,然后利用 Sdr 单克隆抗体进行识别和后续的信号放大。该检测方法可检测 HPV16E6 及 E7RNA 的检测限分别为 0.923pg/mL 及 0.424pg/mL,浓度线性范围分别是 92.3pg/mL 至 0.923pg/mL 及从 42.4pg/mL 至 0.424pg/mL。检测方法具有快速、低成本、高灵敏、不需复杂的扩增和检测仪器,以及可检测初始病毒载量的优点。

附图说明

[0036] 图 1 发明原理示意图

[0037] 1. 多聚 L 赖氨酸 2. DNA:RNA 杂合体 3. Sdr 单克隆抗体 4. 山羊抗小鼠抗体 5. 辣根过氧化物酶 6. TMB 底物 7. 显色产物

[0038] 图 2 HPV16E6、E7ORF 片段的 PCR 产物 (A) 及其体外转录产物电泳图 (B)

[0039] A1. HPV16E6 2. HPV16E7 3. DL2000DNA Marker

[0040] B1. HPV16E6 2. HPV16E6RNA 3. HPV16E7 4. HPV16E7RNA 5. DL2000DNA Marker

[0041] 图 3 该发明方法检测 HPV16 型 E6、E7RNA 灵敏度

[0042] A. E6DNA 探针 1/2/3 混合物与梯度稀释的 E6RNA 片段的杂交产物

[0043] B. E7DNA 探针 1/2 混合物与梯度稀释 E7RNA 杂交产物

具体实施方式

[0044] 下面提供具体实施例进一步阐述本发明的技术方案,但本发明技术的应用不限于实施例。

[0045] 1 HPV16 型 E6、E7 基因片段的克隆、序列分析及体外转录

[0046] 提取病样中的基因组 DNA,PCR 扩增 HPV16 型 E6、E7 基因 (296bp-477bp 长度范围),带有 T7RNA Polyase 启动子 (下划线部分) 的 HPV16 型 E6、E7ORF 引物序列 (5'-3'): HPV16E6 基因上游引物 TAATACGACTCACTATAGGGATGCACCAAAGAGAACTGCAATGTTTCAG, HPV16E6 基因下游引物 TTACAGCTGGGTTTCTCTACGTGTTCTTG; HPV16E7 基因上游引物 TAATACGACTCACTATAGGGATGCATGGAGATACCTACATTGCAT, HPV16E7 基因下游引物 TTATGGTTTCTGAGAACAGATGGGGCACAC。

[0047] PCR 反应体系: 单个反应含 2.5uL 10×PCR Buffer, 1uL 2.5mM each dNTP Mix, 2uL 25mM MgCl₂, 0.4uL Taq 聚合酶 (5U/μL), 1uL Sense primer (10uM), 1uL Anti-sense primer (10uM), 5uL 模板 DNA, 加 dd H₂O 补足 25uL; 扩增条件: 95℃ 预变性 5min, 1 个循环; 95℃ 变性 40s, HPV16E6 退火温度为 62.5℃、HPV16E7 退火温度为 71.0℃ 均退火 1min, 72℃ 延伸 1min, 以上三个步骤进行 40 个循环; 72℃ 补充延伸 8min, 1 个循环。跑 1% 琼脂糖凝胶回收 HPV16E6、E7 阳性片段。将胶回收片段连接于 pMD-19T Vector; 将 pMD-19T-HPV16E6、E7 转化入 DH5α 感受态细胞, 将其涂布含氨苄青霉素 (Amp) 的 LB 琼脂平板上, 37℃ 倒置培养 12~16h 至单菌落形成。挑单菌落接种于含 Amp 的 LB 培养基的试管中, 37℃, 200rpm 震荡培养 12~16h。提取 pMD-19T-HPV16E6、E7 质粒。质粒经 PCR 鉴定 (体系条件如前) 为阳性后进行测序分析。将序列与标准序列比对后, 选择与标准序列一致的基因片段进行体外转录实验。

[0048] 对上述 PCR 产物进行体外转录, PCR 产物浓度 HPV16E6、HPV16E7 均为 0.2ug/uL, 体

外转录体系,每个反应含有 2uL10×Transcription Buffer,ATP、GTP、CTP、UTP Solution 各 2uL,0.5uL RNase Inhibitor,2uL T7RNA Polymerase,5uL HPV16E6 或 E7DNA 模板,补充 DEPC H₂O 至 20uL。反应条件为 :42℃,反应 2h。产物置 -80℃冰箱备用。

[0049] 2HPV16 型 E6、E7RNA 的免疫检测方法的建立

[0050] 2.1 退火杂交

[0051] 根据 NCBI 公布的 HPV16 型 E6、E7 基因序列设计探针序列如表一所示。

[0052] 表一探针序列

[0053]

名称	序列 (5'-3')	位置
E6 DNA₁	GCTCTGTGCATAACTGTGGTAACTTTCTGGGTCG	43-76
E6 DNA₂	TCCCGAAAAGCAAAGTCAATACCTCACGTCGCAGTAACT	128-167
E6 DNA₃	CAGCTGGGTTTCTCTACGTGTTCTTGATGATCTGCAACAA	435-474
E7 DNA₁	TACGCACAACCGAAGCGTAGAGTACACTTGC	176-207
E7 DNA₂	AGTGTGCCCATTAACAGGTCTTCCAAAGTACGAATGTCTACGTGTGTGC	212-260

[0054] 将上述探针体系与体外转录模板或直接提取病样中的 RNA 进行杂交,杂交体系 : 10uL10× 退火缓冲液,3uL 或 2uL 探针混合液,RNA 模板溶液 10uL,补充 DEPC H₂O 至 100uL ; 杂交条件 :95℃ 5min,65℃ 2h,冰上冷却 5min。

[0055] 2.2 酶联免疫检测

[0056] 预包被的酶标板中,每孔加入 100uL 杂交产物,室温孵育 1h,300uL PBS (pH7.4,含 1% Tween-20) 洗 5 次 ;每孔加入 100uL Sdr 单克隆抗体溶液,室温孵育 1h,如上洗涤 ;每孔加入 100uL 酶标二抗溶液,室温孵育 1h,如上洗涤 ;加入 100uL TMB 底物显色溶液,37℃ 孵育 20min ;每孔加入 50uL 反应终止液终止反应,测 Abs 值,测量波长 450nm,参比波长 570nm。

[0057] 每次实验得到两次重复以上,视为重复性、稳定性良好。

[0058]

序列表

<110>南京大学

<120>一种基于酶联免疫分析的 HPV 核酸的检测试剂盒及其应用

<160>9

<210>1

<211>50

<212>DNA

<213>人工序列

<400>1

Taatacgaact cactataggg atgcacaaa agagaactgc aatgtttcag

<210>2

<211>29

<212>DNA

<213>人工序列

<400>2

Ttacagctgg gtttctctac gtgttcttg

<210>3

<211>47

<212>DNA

<213>人工序列

<400>3

Taatacgaact cactataggg atgcatggag atacacctac attgcat

<210>4

<211>30

<212>DNA

<213>人工序列

<400>4

Ttatggttfc tgagaacaga tggggcacac

<210>5

<211>34

<212>DNA

<213>人工序列

<400>5

Gctctgtgca taactgtggt aactttctgg gtcg

[0059]

<210>6

<211>40

<212>DNA

<213>人工序列

<400>6

Tcccgaaaag caaagtcata tacctcacgt cgcagtaact

<210>7

<211>40

<212>DNA

<213>人工序列

<400>7

Cagctggggtt tctctacgtg ttcttgatga tetgcaacaa

<210>8

<211>32

<212>DNA

<213>人工序列

<400>8

Tacgcacaac cgaagcgtag agtcacactt gc

<210>9

<211>49

<212>DNA

<213>人工序列

<400>9

Agtgtgccca ttaacaggtc ttccaaagta cgaatgtcta cgtgtgtgc

<110> 南京大学

<120> 一种基于酶联免疫分析的 HPV 核酸的检测试剂盒及其应用

<160>9

<210>1

<211>50

<212>DNA

<213> 人工序列

<400>1

taatacgact cactataggg atgcacaaa agagaactgc aatgtttcag

<210>2

<211>29

<212>DNA

<213> 人工序列

<400>2

ttacagctgg gtttctctac gtgttcttg

<210>3

<211>47

<212>DNA

<213> 人工序列

<400>3

taatacgact cactatag ggatgcatgg agatacacct acattgcat

<210>4

<211>30

<212>DNA

<213> 人工序列

<400>4

ttatggtttc tgagaacaga tggggcacac

<210>5

<211>34

<212>DNA

<213> 人工序列

<400>5

gctctgtgca taactgtggt aactttctgg gtcg

<210>6

<211>40

<212>DNA

<213> 人工序列

<400>6

tcccgaaaag caaagtcata tacctcacgt cgagtaact

<210>7

<211>40

<212>DNA

<213> 人工序列

<400>7

cagctgggtt tctctacgtg ttcttgatga tctgcaaca

<210>8

<211>32

<212>DNA

<213> 人工序列

<400>8

tacgcacaac cgaagcgtag agtcacactt gc

<210>9

<211>49

<212>DNA

<213> 人工序列

<400>9

agtgtgccca ttaacaggtc ttccaaagta cgaatgtcta cgtgtgtgc

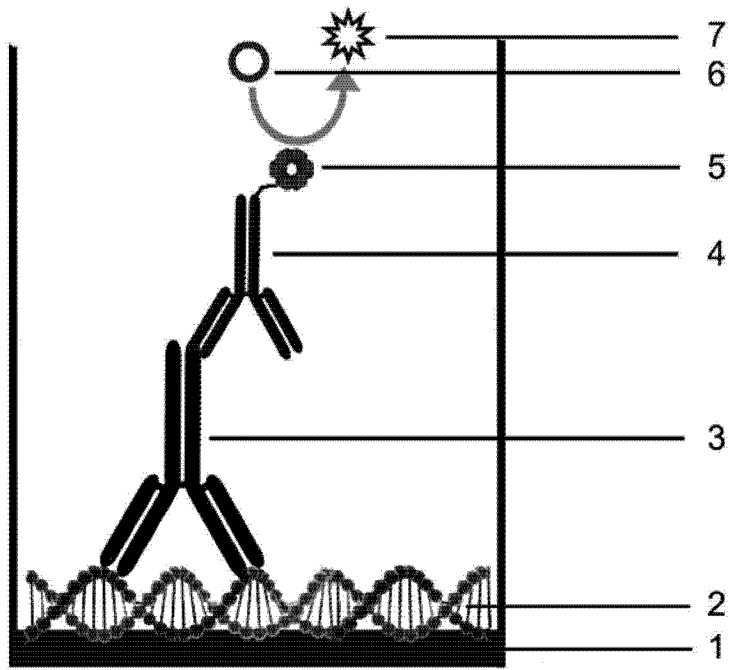


图 1

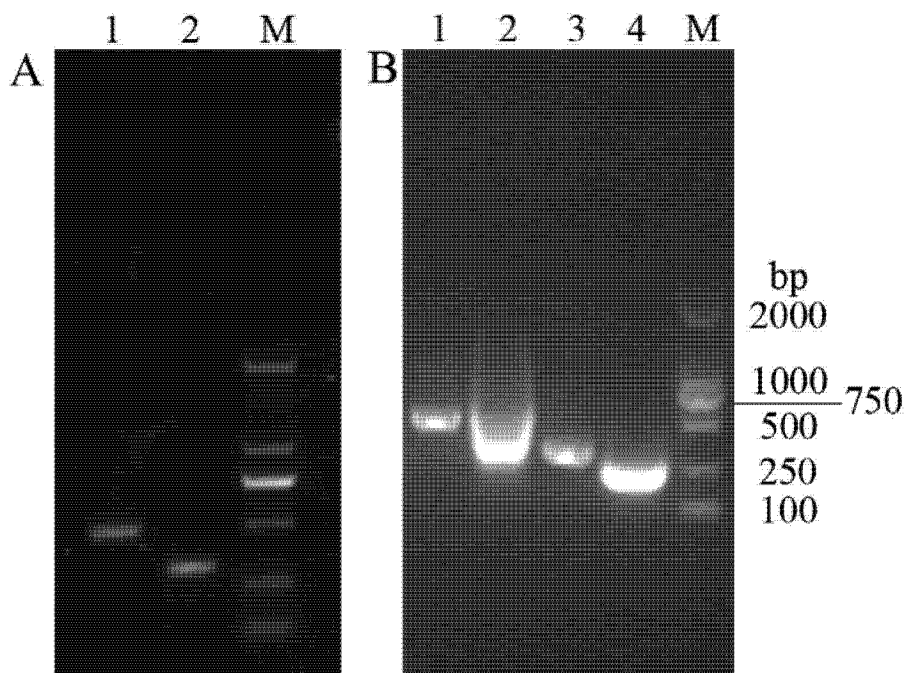


图 2

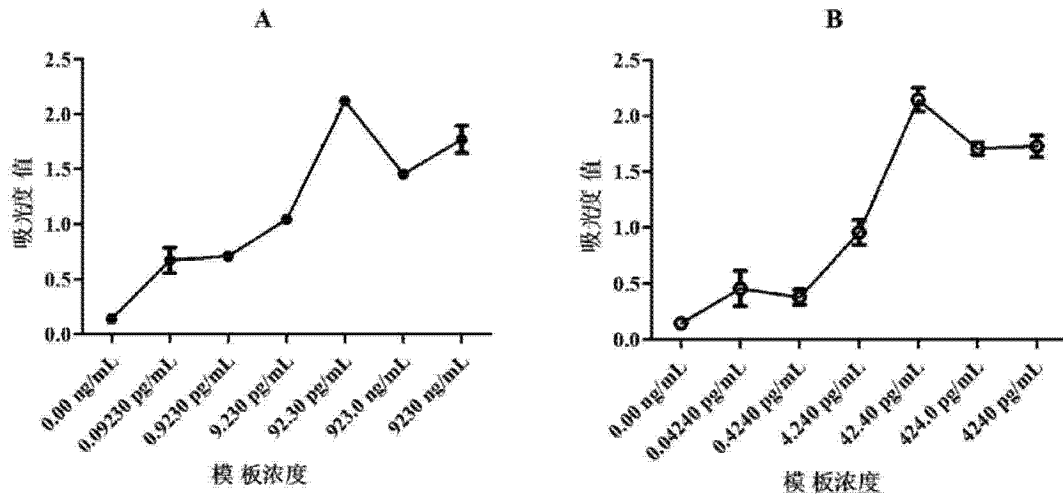


图 3

专利名称(译)	一种基于酶联免疫分析的HPV核酸检测试剂盒及其应用		
公开(公告)号	CN104020291A	公开(公告)日	2014-09-03
申请号	CN201410298037.7	申请日	2014-06-26
[标]申请(专利权)人(译)	南京大学		
申请(专利权)人(译)	南京大学		
当前申请(专利权)人(译)	南京大学		
[标]发明人	沈萍萍 丁森 卢彦		
发明人	沈萍萍 丁森 卢彦		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/569 G01N33/535		
CPC分类号	C12Q1/6804 C12Q1/70 C12Q2527/143 C12Q2527/101 C12Q2527/125		
其他公开文献	CN104020291B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于分子生物学、免疫学及核酸化学技术领域，具体涉及一种基于酶联免疫分析的HPV核酸检测试剂盒及其应用。该试剂盒基于一种利用Sdr单克隆抗体检测高危HPV16型E6、E7RNA的免疫检测方法，检测过程不需反转录和PCR等技术对靶序列进行扩增，而是利用不需标记的DNA探针与HPV16型E6、E7RNA进行杂交，形成DNA：RNA杂合体，然后利用Sdr单克隆抗体对杂合体进行识别和后续的信号放大。检测方法具有快速、低成本、高灵敏、不需复杂的扩增和检测仪器，以及可检测初始病毒载量的优点。

