



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104020291 B

(45) 授权公告日 2016. 03. 30

(21) 申请号 201410298037. 7

测宫颈高度病变的临床评价. 《中华医院感染学杂志》. 2009, 第 19 卷 (第 22 期),

(22) 申请日 2014. 06. 26

审查员 段晓露

(73) 专利权人 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)

(56) 对比文件

US 2010/0105060 A1, 2010. 04. 29,

CN 102286641 A, 2011. 12. 21,

卢文波 等. 人乳头状瘤病毒 E6/E7 mRNA 检

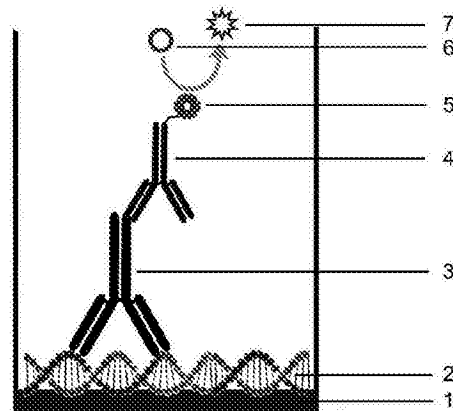
权利要求书1页 说明书7页
序列表2页 附图2页

(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、E7 RNA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HPV16 E6 RNA片段的探针组合,E6 DNA1、E6 DNA2、E6 DNA3,浓度均为10μM ;

探针混合液1探针E6 DNA1:SEQ ID NO5,序列(5'-3'): GCTCTGTGCATAACTGTGGTAACTTTCTGGGTCG;

探针混合液1探针E6 DNA2:SEQ ID NO6,序列(5'-3'): TCCCGAAAAGCAAAGTCATATACCTCACGTCGCAGTAACT;

探针混合液1探针E6 DNA3:SEQ ID NO7,序列(5'-3'): CAGCTGGGTTTCTCTACGTGTTCTTGATGATCTGCAACAA;

(3) 探针混合液2:针对HPV16 E7 RNA片段的探针组合,E7 DNA1、E7 DNA2,浓度均为10μM ;

探针混合液2 E7 DNA1:SEQ ID NO8,序列(5'-3'): TACGCACAACCGAAGCGTAGAGTCACACTTGC;

探针混合液2 E7 DNA2:SEQ ID NO9,序列(5'-3'): AGTGTGCCCATTAACAGGTCTTCCAAAGTACGAATGTCTACGTGTGTGC;

(4) 10×退火缓冲液:Tris-HCl 100mM,pH 7.5,EDTA 10mM,NaCl 1M;

(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模板与探针混合液1或2进行杂交,杂交体系:10μL 10×退火缓冲液,3μL 或2μL 探针混合液,RNA模板溶液10μL ,补充DEPC H₂O至100μL ;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100μL 杂交产物,室温孵育1h,300μL PBST洗5次;每孔加入100μL Sdr单克隆抗体溶液,室温孵育1h,如上洗涤;每孔加入100μL 酶标二抗溶液,室温孵育1h,如上洗涤;加入100μL TMB底物显色溶液,37℃孵育20min;每孔加入50μL 反应终止液终止反应,测Abs值,测量波长450nm,参比波长570nm。

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 $>1\text{pg/ml}$ (100,000HPV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TAATACGACTCACTATAGGGATGCATGGAGATACACCTACATTGCAT,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	TCCCGAAAAGCAAAGTCATATACCTCACGTCCGAGTAACT	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.HPV16E62.HPV16E7M.DL2000DNA Marker

[0040] B1.HPV16E62.HPV16E6RNA3.HPV16E74.HPV16E7RNA M.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] 1HPV16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TAATACGACTCACTATAGGGATGCACAAAAGAGAAGCTGCAATGTTTCAG,HPV16E6基因下游引物TTACAGCTGGGTTTCTCTACGTGTCTTG;HPV16E7基因上游引物TAATACGACTCACTATAGGGATGCATGGAGATACACCTACATTGCAT,HPV16E7基因下游引物TTATGGTTTCTGAGAACAGATGGGGCACAC。

[0047] PCR反应体系:单个反应含2.5uL10×PCR Buffer,1uL2.5mM each dNTP Mix,2uL25mM 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°C, 反应2h。产物置-80°C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	TCCCGAAAAGCAAAGTCATATACCTCACGTCCGAGTAACT	128-167
E6 DNA₃	CAGCTGGGTTTCTCTACGTGTTCTTGATGATCTGCAACAA	435-474
E7 DNA₁	TACGCACAACCGAAGCGTAGAGTCACACTTGC	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°C5min, 65°C2h, 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°C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。

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

Taatacgact cactataggg atgcacaaa agagaactgc aatgttcag

<210>2

<211>29

<212>DNA

<213>人工序列

<400>2

Ttacagctgg gtttctctac gtgtcttg

[0058]

<210>3

<211>47

<212>DNA

<213>人工序列

<400>3

Taatacgact cactataggg atgcatggag atacacctac atfgcat

<210>4

<211>30

<212>DNA

<213>人工序列

<400>4

Ttatggtffc 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 tacctcactg cgcagtaact

<210>7

<211>40

<212>DNA

<213>人工序列

<400>7

Cagctgggtt tctctactg ttcttgatga tctgcaaca

[0059]

<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 cgaatgteta 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 cactataggg atgcatggag atacacctac attgcat

<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

tccccgaaaag caaagtcata tacctcacgt cgcagtaact

<210>7

<211>40

<212>DNA

<213>人工序列

<400>7

cagctggggtt tctctacgtg ttcttgatga tetgcaaca

<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

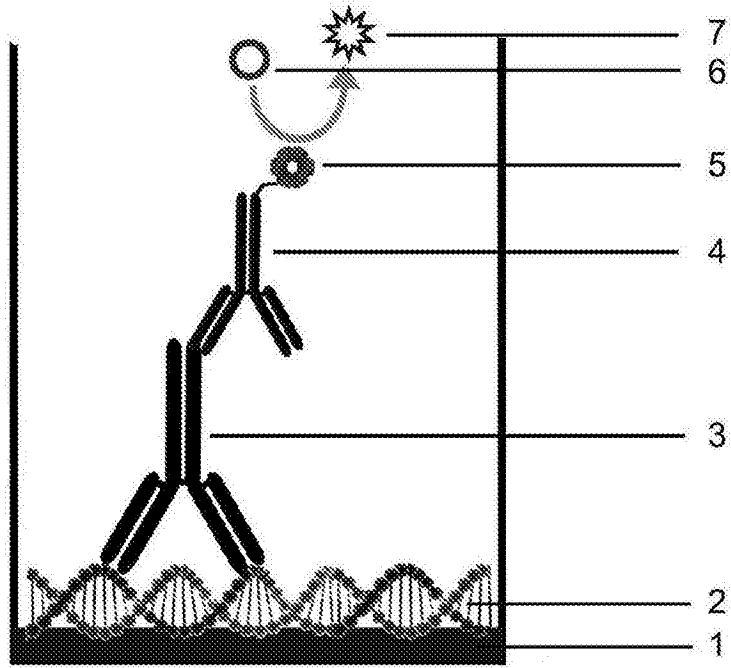


图1

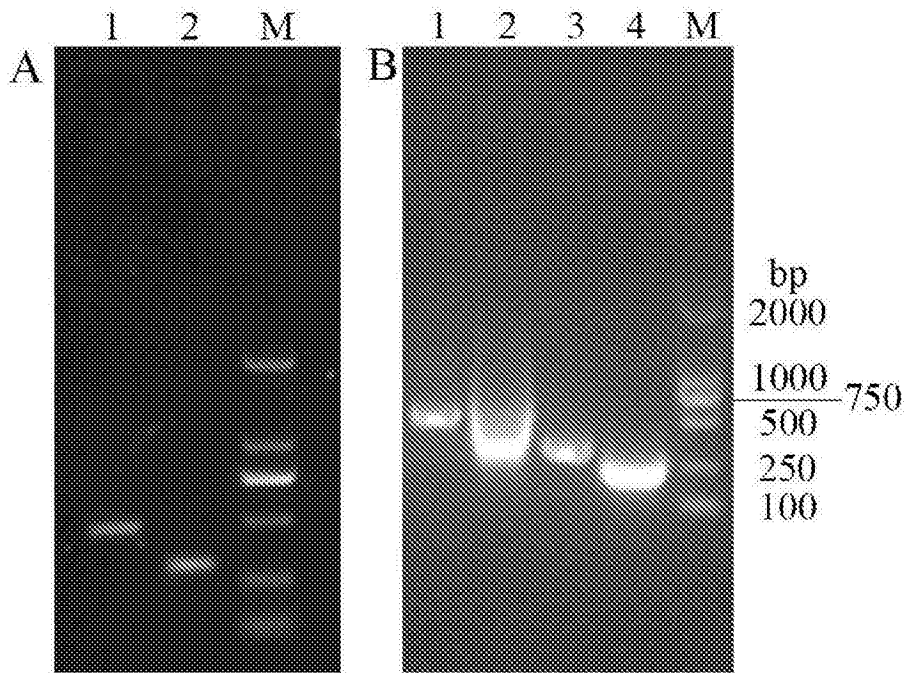


图2

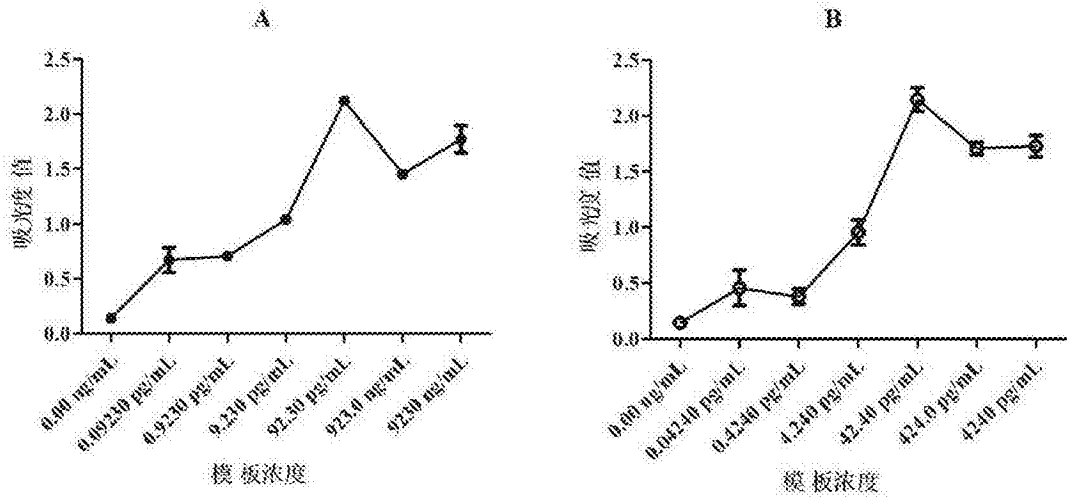


图3

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	CN104020291B	公开(公告)日	2016-03-30
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		
审查员(译)	段晓露		
其他公开文献	CN104020291A		
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。

