



## (12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108218983 A

(43)申请公布日 2018.06.29

(21)申请号 201810170372.7

(22)申请日 2018.03.01

(71)申请人 珠海美华医疗科技有限公司

地址 519000 广东省珠海市唐家湾镇港湾  
大道科技一路10号副楼三层3B-3单元

(72)发明人 乌月恒 张志伟

(74)专利代理机构 北京轻创知识产权代理有限公司 11212

代理人 谈杰

(51)Int.Cl.

C07K 16/08(2006.01)

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

G01N 33/52(2006.01)

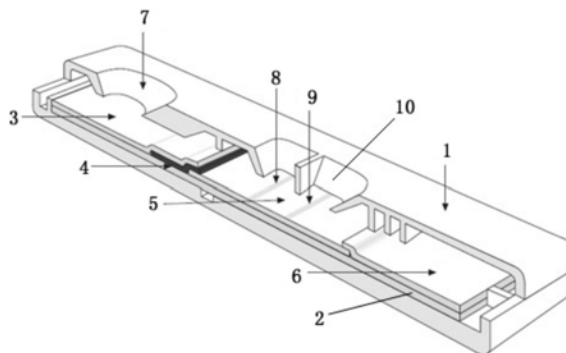
权利要求书2页 说明书7页 附图1页

### (54)发明名称

抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体、检测试纸和检测试剂盒

### (57)摘要

一种抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体、检测试纸和检测试剂盒。抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体,其与HPV18型E7蛋白的结合位点是:HPV18型E7蛋白第10-20氨基酸、HPV18型E7蛋白第22-39氨基酸、HPV18型E7蛋白第61-67氨基酸或HPV18型E7蛋白第73-79氨基酸。该免疫层析试纸包括背衬以及固定于背衬上的样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫;结合垫贴合固定于样品垫下方,NC膜的一端贴合固定于结合垫下方,另一端与吸水垫相连;所述NC膜上喷涂有检测抗体,所述检测抗体包括所述的抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体和羊抗鼠二抗,所述抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体用作检测线,所述羊抗鼠二抗用作质控线;所述结合垫上包被有荧光微球标记抗体。本申请可简单快速地检测出HPV18型E7蛋白。



1. 一种抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体,其与HPV18型E7蛋白的结合位点是:HPV18型E7蛋白第10-20氨基酸、HPV18型E7蛋白第22-39氨基酸、HPV18型E7蛋白第61-67氨基酸或HPV18型E7蛋白第73-79氨基酸。

2. 一种免疫层析试纸条,其特征在于:

包括背衬以及固定于背衬上的样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫;结合垫贴合固定于样品垫下方,NC膜的一端贴合固定于结合垫下方,另一端与吸水垫相连;所述NC膜上喷涂有检测抗体,所述检测抗体包括权利要求1所述的抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体和羊抗鼠二抗,所述抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体用作检测线,所述羊抗鼠二抗用作质控线;所述结合垫上包被有荧光微球标记抗体。

3. 根据权利要求2所述的免疫层析试纸条,其特征在于:

所述荧光微球标记抗体为用荧光微球偶联权利要求1所述的抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体的偶联物。

4. 根据权利要求2所述的免疫层析试纸条,其特征在于:

所述NC膜上检测抗体的包被量为0.05~0.5 $\mu$ g,所述结合垫上荧光微球标记抗体的包被量为0.05~0.5 $\mu$ g。

5. 根据权利要求2所述的免疫层析试纸条,其特征在于,所述荧光微球标记抗体通过如下方法制备获得:

用活化液替换微球原有保存液;加入EDC和Sulfo-NHS进行活化:称取一定量的EDC和Sulfo-NHS,溶解后加入微球溶液中旋转反应15-20min;去除未反应或残余的反应物;用反应液超声重悬微球,然后加入一定量的待标记单克隆抗体,避光反应1-4小时;去除未偶联的单克隆抗体;封闭微球上未偶联的反应基团:用封闭液反应0.5-1小时或用封闭液重复进行去除未偶联的单克隆抗体操作;用保存液重悬微球至原体积,2-8 $^{\circ}$ C保存备用。

6. 一种HPV18型E7蛋白的免疫层析试纸条的制备方法,其特征在于,包括如下本步骤:

使用点膜仪将如权利要求1所述的抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体及羊抗鼠二抗喷涂在NC膜上,分别作为检测线与质控线,经36-38 $^{\circ}$ C干燥箱干燥过夜;同时将荧光微球标记抗体喷涂在结合垫上,常温下真空干燥2h;将NC膜、结合垫、样品垫、吸水垫及背衬组装好后,切割成试纸条,加干燥剂于4~30 $^{\circ}$ C密封保存。

7. 一种HPV18型E7蛋白的检测试剂盒,其特征在于:

包括盒体以及设置在盒体内的如权利要求2-5任意一项所述的HPV18型E7蛋白的免疫层析试纸条。

8. 一种HPV18型E7蛋白的检测方法,其特征在于,包括如下步骤:

制备人体宫颈脱落细胞裂解液,获取待检测的人体宫颈脱落细胞样本,加入所述裂解液中,涡旋震荡1-5min,放入冰箱冻融1-3次,再次震荡1-5min,离心5-10min,收集上清液,加入到权利要求7所述的检测试剂盒中,并将所述检测试剂盒置于荧光检测仪孵育仓;

荧光检测仪自动检测,读取检测试剂盒上的发光值;

荧光检测仪依据所述发光值确定样本中HPV18型E7蛋白含量,当HPV18型E7蛋白含量大于预定值时,确定样本中HPV18型E7蛋白呈阳性,否则,确定样本中HPV18型E7蛋白呈阴性。

9. 根据权利要求8所述的检测方法,其特征在于:

制备人体宫颈脱落细胞裂解液的过程包括如下步骤:用1mM-100mM的缓冲液配置体积

百分比为0.1%-5%的表面活性剂;用之前加入终浓度为0.1mM-1mM的蛋白酶抑制剂;所述的表面活性剂为Tween 20、Triton-100和十二烷基磺酸钠中的至少一种,所述的缓冲液为硼酸盐溶液、Tris-HCL或碳酸盐溶液,所述的蛋白酶抑制剂为PMSF和Antipain中的至少一种。

10. 根据权利要求8所述的方法,其特征在于:

所述预定值为6.85ng/ml。

## 抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体、检测试纸和检测试剂盒

### 技术领域

[0001] 本申请涉及抗体领域,尤其是一种抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体、检测试纸和检测试剂盒。

### 背景技术

[0002] 宫颈癌是全球妇女中仅次于乳腺癌和结直肠癌的第3个常见的恶性肿瘤,在发展中国家是仅次于乳腺癌居第2位常见的恶性肿瘤,是最常见的女性生殖道恶性肿瘤。宫颈癌是目前唯一一个病因明确的妇科恶性肿瘤,与高危型人乳头瘤病毒(human papillomaviruses,HPV)的持续感染相关。根据HPV病毒与宫颈癌的关系分为高危型和低危型,其中,低危险型HPV包括HPV6、11、42、43、44等,常引起外生殖器湿疣等良性病变包括宫颈上皮内低度病变(CIN I),高危险型HPV包括HPV16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68,CP8304等亚型,与宫颈癌及宫颈上皮内高度病变(CIN II/III)的发生相关,尤其是HPV16和18型。

[0003] 人乳头瘤病毒(Human Papillomavirus,HPV)是一种嗜上皮性病毒,共有3个基因区组成,包括早期区(Early Region,E区)、晚期区(Late Region,L区)与非编码区(Uncoding Region,UCR)或上游调控区(URR)。E区按顺序为E6、E7、E1、E2、E3、E4和E5共7个基因,参与病毒DNA的复制、转录、编码病毒蛋白、维持细胞内病毒的高拷贝数的基因,其中E6和E7是HPV的主要致癌基因,与病毒细胞转化功能及致癌性有关。E6和E7蛋白使肿瘤抑制蛋白p53和pRB钝化,分别解除细胞周期控制和抑制细胞凋亡。因此,用于测定肿瘤中的HPV状态的最佳方法是测量肿瘤细胞中的E6/E7蛋白。

[0004] 高危型人乳头瘤病毒(HPV)已被确认为导致宫颈癌的诱因,但90%以上的HPV感染是一过性的,在2年内会被免疫系统清除。当HPV病毒发生持续性感染后,特别是HPV的DNA和人类宫颈上皮细胞的DNA发生整合后,E6,E7基因会大量表达一种称为mRNA的物质,从而大量产生致癌蛋白,使人类细胞逐渐发生癌变。

[0005] 目前宫颈癌的筛查方法有3类:

[0006] 1.传统的形态学方法检测HPV

[0007] 包括巴氏涂片细胞病理学检测、阴道镜检查、宫颈活检组织病理学检查等。宫颈细胞学筛查特异性高,但是灵敏度较低,同时花费很高。细胞出现病变前已经有HPV感染,所以必须结合其他方法。

[0008] 2.HPV DNA的检测

[0009] 以上已经提到高危型HPV的持续感染时宫颈癌的直接病因,在细胞学筛查正常前,HPV DNA的检测很重要。目前应用最多的是PCR,其次是杂交捕获技术。PCR灵敏度高,可以同时诊断多个亚型,但会出现假阳性,特异性低;杂交捕获技术没有假阳性,但需要专业设备、专业人才,目前不能推广使之受到限制。

[0010] 3.血清学方法和免疫学方法

[0011] 主要是检测患者血清中的L1抗体或是用抗体检测抗原。但L1抗体在HPV清除后几

个月到1年后都有较高的效价,所以血清中的L1抗体的检测无法确定具体感染日期。用ELISA检测血清中的HPV E6、E7特异性抗体,目前在HPV18阳性的口腔癌患者血清中可以检测到E6、E7特异性抗体,在其他HPV相关癌症中没有研究过。用抗体检测抗原的方法主要指免疫组化法,因为该方法的时间很长,操作繁琐。所以血清学和免疫学方法检测的应用受到限制。

[0012] 以上检测HPV的方法在宫颈癌及癌前病变筛查和癌前预报中发挥了重要作用。但是有一个共同的局限性:操作程序复杂、需要专业的仪器设备、成本高,不易推广。因此建立一种简单快速的检测方法迫在眉睫。

## 发明内容

[0013] 本申请提供一种抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体、检测试纸和检测试剂盒,可简单地快速检测出HPV18型E7蛋白。

[0014] 根据本申请的第一方面,本申请提供一种抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体,其与HPV18型E7蛋白的结合位点是:HPV18型E7蛋白第10-20氨基酸、HPV18型E7蛋白第22-39氨基酸、HPV18型E7蛋白第61-67氨基酸或HPV18型E7蛋白第73-79氨基酸。

[0015] 根据本申请的第二方面,本申请提供一种免疫层析试纸条,包括背衬以及固定于背衬上的样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫;结合垫贴合固定于样品垫下方,NC膜的一端贴合固定于结合垫下方,另一端与吸水垫相连;所述NC膜上喷涂有检测抗体,所述检测抗体包括上述的抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体和羊抗鼠二抗,所述抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体用作检测线,所述羊抗鼠二抗用作质控线;所述结合垫上包被有荧光微球标记抗体。

[0016] 进一步的,所述荧光微球标记抗体为用荧光微球偶联权利要求1所述的抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体的偶联物。

[0017] 优选的,所述NC膜上检测抗体的包被量为0.05~0.5 $\mu$ g,所述结合垫上荧光微球标记抗体的包被量为0.05~0.5 $\mu$ g。

[0018] 优选的,所述荧光微球标记抗体通过如下方法制备获得:用活化液替换微球原有保存液;加入EDC和Sulfo-NHS进行活化:称取一定量的EDC和Sulfo-NHS,溶解后加入微球溶液中旋转反应15-20min;去除未反应或残余的反应物;用反应液超声重悬微球,然后加入一定量的待标记单克隆抗体,避光反应1-4小时;去除未偶联的单克隆抗体;封闭微球上未偶联的反应基团:用封闭液反应0.5-1小时或用封闭液重复进行去除未偶联的单克隆抗体操作;用保存液重悬微球至原体积,2-8 $^{\circ}$ C保存备用。

[0019] 根据本申请的第三方面,本申请提供一种HPV18型E7蛋白的免疫层析试纸条的制备方法,包括如下步骤:使用点膜仪将上述的抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体及羊抗鼠二抗喷涂在NC膜上,分别作为检测线与质控线,经36-38 $^{\circ}$ C干燥箱干燥过夜;同时将荧光微球标记抗体喷涂在结合垫上,常温下真空干燥2h;将NC膜、结合垫、样品垫、吸水垫及背衬组装好后,切割成试纸条,加干燥剂于4~30 $^{\circ}$ C密封保存。

[0020] 根据本申请的第四方面,本申请提供一种HPV18型E7蛋白的检测试剂盒,包括盒体以及设置在盒体内的上述的HPV18型E7蛋白的免疫层析试纸条。

[0021] 根据本申请的第五方面,本申请提供一种HPV18型E7蛋白的检测方法,包括如下步骤:制备人体宫颈脱落细胞裂解液,获取待检测的人体宫颈脱落细胞样本,加入所述裂解液

中,涡旋震荡1-5min,放入冰箱冻融1-3次,再次震荡1-5min,离心5-10min,收集上清液,加入到权利要求7所述的检测试剂盒中,并将所述检测试剂盒置于荧光检测仪孵育仓;荧光检测仪自动检测,读取检测试剂盒上的发光值;荧光检测仪依据所述发光值确定样本中HPV18型E7蛋白含量,当HPV18型E7蛋白含量大于预定值时,确定样本中HPV18型E7蛋白呈阳性,否则,确定样本中HPV18型E7蛋白呈阴性。

[0022] 优选的,所述预定值为6.85ng/ml。

[0023] 优选的,制备人体宫颈脱落细胞裂解液的过程包括如下步骤:用1mM-100mM的缓冲液配置体积百分比为0.1%-5%的表面活性剂;用之前加入终浓度为0.1mM-1mM的蛋白酶抑制剂;所述的表面活性剂为Tween 20、Triton-100和十二烷基磺酸钠中的至少一种,所述的缓冲液为硼酸盐溶液、Tris-HCL或碳酸盐溶液,所述的蛋白酶抑制剂为PMSF和Antipain中的至少一种。

[0024] 本申请的有益效果是,样本加入到样本垫后,经层析作用,HPV18型E7蛋白先后与荧光微球标记抗体和检测抗体结合,最后用配套的荧光检测仪检测荧光信号,由于荧光信号与HPV18型E7蛋白含量呈正相关,由此实现对人体宫颈脱落细胞中的HPV18型E7蛋白的定量检测。相比于原有检测方法,本申请的检测方法无需操作人员进行繁多的操作程序,更加简单、快捷。本发明直接检测高危型HPV18型E7致癌蛋白的表达量,从而对于高危型HPV的感染程度有了精准的判断,方便了后续的治疗。

## 附图说明

[0025] 图1为本申请一种实施例的HPV18型E7蛋白的检测试剂盒的结构示意图;

[0026] 图2为本申请一种实施例的通过拟合法得到的HPV18型E7蛋白的标准曲线。

## 具体实施方式

[0027] 下面通过具体实施方式结合附图对本发明作进一步详细说明。

[0028] 本申请实施例提供一种抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体,其与HPV18型E7蛋白的结合位点是:HPV18型E7蛋白第10-20氨基酸、HPV18型E7蛋白第22-39氨基酸、HPV18型E7蛋白第61-67氨基酸或HPV18型E7蛋白第73-79氨基酸。

[0029] 本申请实施例提供一种HPV18型E7蛋白的检测试剂盒,如图1所示,包括盒体1以及设置在盒体1内的免疫层析试纸条,所述免疫层析试纸条包括背衬2以及固定于背衬2上的样品垫3、结合垫4、NC膜5和吸水垫6;结合垫4贴合固定于样品垫3下方,NC膜5的一端贴合固定于结合垫4下方,另一端与吸水垫6相连;所述盒体1的表面在样品垫3的上方开设有采样口7;所述NC膜5上喷涂有检测抗体,所述检测抗体包括上述的抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体和羊抗鼠二抗,所述抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体用作检测线8,所述羊抗鼠二抗用作质控线9;所述结合垫4上包被有荧光微球标记抗体。所述盒体1的表面在检测线8与质控线9上方开设有观察口10,通过该观察口10可观察到NC膜5上的反应结果。在使用时,将待检测样品经采样口7滴加到样品垫3,待检测样品依次经过样品垫3、结合垫4、NC膜5,并在NC膜5上发生免疫反应,最后从观察口10观察检测线8和质控线9的反应结果。

[0030] 所述荧光微球标记抗体为用荧光微球偶联上述的抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体的偶联物。

[0031] 为了保证反应的充分进行,使反应结果可见,所述NC膜上检测抗体的包被量为0.05~0.5 $\mu$ g,所述结合垫上荧光微球标记抗体的包被量为0.05~0.5 $\mu$ g。

[0032] 在一种实施例中,所述荧光微球标记抗体通过如下方法制备获得:用活化液替换微球原有保存液:依次进行离心、去上清和活化液超声重悬操作;加入EDC和Sulfo-NHS进行活化:称取一定量的EDC和Sulfo-NHS,溶解后加入微球溶液中旋转反应15-20min;去除未反应或残余的反应物:依次进行离心、去上清和活化液超声重悬操作;用反应液超声重悬微球,然后加入一定量的待标记单克隆抗体,避光反应1-4小时;去除未偶联的单克隆抗体:依次进行离心、去上清和活化液超声重悬操作;封闭微球上未偶联的反应基团:用封闭液反应0.5-1小时或用封闭液重复进行去除未偶联的单克隆抗体操作;用保存液重悬微球至原体积,2-8℃保存备用。

[0033] 本申请实施例提供一种HPV18型E7蛋白的免疫层析试纸条的制备方法,包括如下步骤:使用点膜仪将上述的抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体及羊抗鼠二抗喷涂在NC膜上,分别作为检测线与质控线,经36-38℃干燥箱干燥过夜;同时将荧光微球标记抗体喷涂在结合垫上,常温下真空干燥2h;将NC膜、结合垫、样品垫、吸水垫及背衬组装好后,切割成试纸条,加干燥剂于4~30℃密封保存。

[0034] 具体的,上述的点膜仪可以是Bio-Dot XYZ3000型点膜仪,或者其他型号的点膜仪。NC膜的干燥温度可以选用近似人体体温的37℃。结合垫的干燥温度可以选用30℃左右的常温。

[0035] 本申请实施例还提供一种HPV18型E7蛋白的检测方法,包括如下步骤:制备人体宫颈脱落细胞裂解液,获取待检测的人体宫颈脱落细胞样本,加入所述裂解液中,涡旋震荡1-5min,放入冰箱冻融1-3次,冰箱的温度可以在-20℃左右,再次震荡1-5min,以10000rpm的转速离心5-10min,收集上清液,加入到上述的检测试剂盒中,并将所述检测试剂盒置于荧光检测仪孵育仓;荧光检测仪自动检测,读取检测试剂盒上的发光值;荧光检测仪依据所述发光值确定样本中HPV18型E7蛋白含量,当HPV18型E7蛋白含量大于预定值时,确定样本中HPV18型E7蛋白呈阳性,否则,确定样本中HPV18型E7蛋白呈阴性。

[0036] 其中,在将待检测的样本加入到所述检测试剂盒之前,还应将免疫层析试纸条抽出,并在室温下放置10-20min,具体可以是15min。从而使免疫层析试纸条做好反应准备,以提升检测的准确性。在检测过程中,需要使用大量检测试剂盒,每个检测试剂盒中可加入100 $\mu$ l的待检测样品,加入样品后的检测试剂盒均放置在荧光检测仪,从而可以一次性检测多个样品,提升检测效率。

[0037] HPV18型E7蛋白会被荧光微球标记抗体标记,从而发出一定的荧光,荧光检测仪可自动检测其发出荧光的发光值。具体的,如图2所示,荧光检测仪中的内部程序,自动以校准品浓度为横坐标,发光值为纵坐标,采用四参数逻辑拟合法得到HPV18型E7蛋白含量的标准曲线方程,再根据标准曲线方程计算待检样本中HPV18型E7蛋白含量。检测结果的判读如下表:

[0038]

| 宫颈脱落细胞样本中HPV18E7蛋白含量水平 | (ng/ml) |
|------------------------|---------|
| 阴性                     | <6.85   |
| 阳性                     | >6.85   |

[0039] 在一种实施例中,制备人体宫颈脱落细胞裂解液的过程包括如下步骤:用1mM-100mM的缓冲液配置体积百分比为0.1%-5%的表面活性剂;用之前加入终浓度为0.1mM-1mM的蛋白酶抑制剂;所述的表面活性剂为Tween 20、Triton-100和十二烷基磺酸钠中的至少一种,所述的缓冲液为硼酸盐溶液、Tris-HCL或碳酸盐溶液,所述的蛋白酶抑制剂为PMSF和Antipain中的至少一种。

[0040] 用本发明检测试剂盒检测部分经临床确认为HPV18型E7蛋白阴性的人群的宫颈脱落细胞(以下简称正常人宫颈脱落细胞)和经临床确认为HPV18型E7蛋白阳性的人群的宫颈脱落细胞(以下简称病人宫颈脱落细胞),检测结果如表1和表2所示:

[0041] 表1正常人宫颈脱落细胞检测结果

[0042]

| 样本标号     | HPV18 E7 抗原检测浓度 (ng/ml) |
|----------|-------------------------|
| 正常人 1 号  | 2.18                    |
| 正常人 2 号  | 1.75                    |
| 正常人 3 号  | 1.23                    |
| 正常人 4 号  | 2.11                    |
| 正常人 5 号  | 1.79                    |
| 正常人 6 号  | 1.24                    |
| 正常人 7 号  | 3.46                    |
| 正常人 8 号  | 2.77                    |
| 正常人 9 号  | 3.28                    |
| 正常人 10 号 | 2.13                    |
| 正常人 11 号 | 5.46                    |
| 正常人 12 号 | 3.74                    |
| 正常人 13 号 | 1.78                    |
| 正常人 14 号 | 2.35                    |
| 正常人 15 号 | 3.28                    |

[0043]

|          |      |
|----------|------|
| 正常人 16 号 | 2.01 |
| 正常人 17 号 | 5.41 |
| 正常人 18 号 | 5.47 |
| 正常人 19 号 | 3.01 |
| 正常人 20 号 | 4.12 |
| 正常人 21 号 | 1.42 |
| 正常人 22 号 | 3.88 |
| 正常人 23 号 | 4.75 |
| 正常人 24 号 | 4.68 |
| 正常人 25 号 | 4.19 |
| 正常人 26 号 | 6.54 |
| 正常人 27 号 | 7.21 |
| 正常人 28 号 | 5.89 |
| 正常人 29 号 | 3.67 |
| 正常人 30 号 | 4.99 |

[0044] 表2病人宫颈脱落细胞检测结果

[0045]

| 样本标号  | DNA检测结果 | 病理资料    | HPV18E7抗原检测浓度 (ng/ml) |
|-------|---------|---------|-----------------------|
| 病人1号  | HPV18阳性 | CIN III | 53.67                 |
| 病人2号  | HPV18阳性 | CIN III | 45.21                 |
| 病人3号  | HPV18阳性 | CIN III | 79.86                 |
| 病人4号  | HPV18阳性 | CIN II  | 5.79                  |
| 病人5号  | HPV18阳性 | CIN II  | 4.83                  |
| 病人6号  | HPV18阳性 | CIN III | 70.76                 |
| 病人7号  | HPV18阳性 | CIN II  | 30.18                 |
| 病人8号  | HPV18阳性 | 宫颈鳞癌    | 98.45                 |
| 病人9号  | HPV18阳性 | CIN II  | 31.16                 |
| 病人10号 | HPV18阳性 | CIN II  | 35.41                 |

[0046] 数据分析

[0047] 1、根据正常人检测值,计算出平均值,标准方差,Cut-off值。算取30例正常人宫颈脱落细胞检测结果的平均数,并计算标准方差SD,本试剂盒在确定Cut-off值时选择正常人平均值加上两倍的标准方差作为HPV18E7蛋白表达阴阳性的判断标准,Cut-off计算公式为:cut-off=平均值+2\*SD标准方差,结果如下:

[0048]

|         |           |
|---------|-----------|
| 平均值     | 3.53      |
| SD标准方差  | 1.66      |
| Cut-off | 6.85ng/ml |

[0049] 2、通过Cut-off值,判断待检样本HPV18E7蛋白表达的阴阳性,超过这个Cut-off值的即认为是阳性,即认为表达了HPV18E7蛋白,同时与病理资料对比。

[0050] 3、根据Cut-off值判断表2病人宫颈脱落细胞诊断结果(“+”表示检测结果阳性;“-”表示检测结果阴性)

[0051]

| 样本标号    | DNA 检测结果 | 病理资料    | HPV18 E7 抗原检测浓度<br>(ng/ml) | 根据 Cut-off 值判断<br>阴阳性 |
|---------|----------|---------|----------------------------|-----------------------|
| 病人 1 号  | HPV18 阳性 | CIN III | 53.67                      | +                     |
| 病人 2 号  | HPV18 阳性 | CIN III | 45.21                      | +                     |
| 病人 3 号  | HPV18 阳性 | CIN III | 79.86                      | +                     |
| 病人 4 号  | HPV18 阳性 | CIN II  | 5.79                       | -                     |
| 病人 5 号  | HPV18 阳性 | CIN II  | 4.83                       | -                     |
| 病人 6 号  | HPV18 阳性 | CIN III | 70.76                      | +                     |
| 病人 7 号  | HPV18 阳性 | CIN II  | 30.18                      | +                     |
| 病人 8 号  | HPV18 阳性 | 宫颈鳞癌    | 98.45                      | +                     |
| 病人 9 号  | HPV18 阳性 | CIN II  | 31.16                      | +                     |
| 病人 10 号 | HPV18 阳性 | CIN II  | 35.41                      | +                     |

[0052] 根据表2病人宫颈脱落细胞诊断结果阴阳性制定准确率比例表:

[0053]

| 病理资料<br>结果 | 人数 | HPV18 E7 蛋白检测 |    |
|------------|----|---------------|----|
|            |    | 阳性            | 阴性 |
| CIN II     | 5  | 3 (60%)       | 2  |

[0054]

|         |   |          |   |
|---------|---|----------|---|
| CIN III | 4 | 4 (100%) | 0 |
| 宫颈癌     | 1 | 1 (100%) | 0 |

[0055] 在表2实验中所检测的病人宫颈脱落细胞共计10例,该试剂盒HPV18E7蛋白检测结果为阳性的为8例,诊断灵敏度高达80%。

[0056] 以上内容是结合具体的实施方式对本发明所作的进一步详细说明,不能认定本发明的具体实施只局限于这些说明。对于本发明所属技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干简单推演或替换。

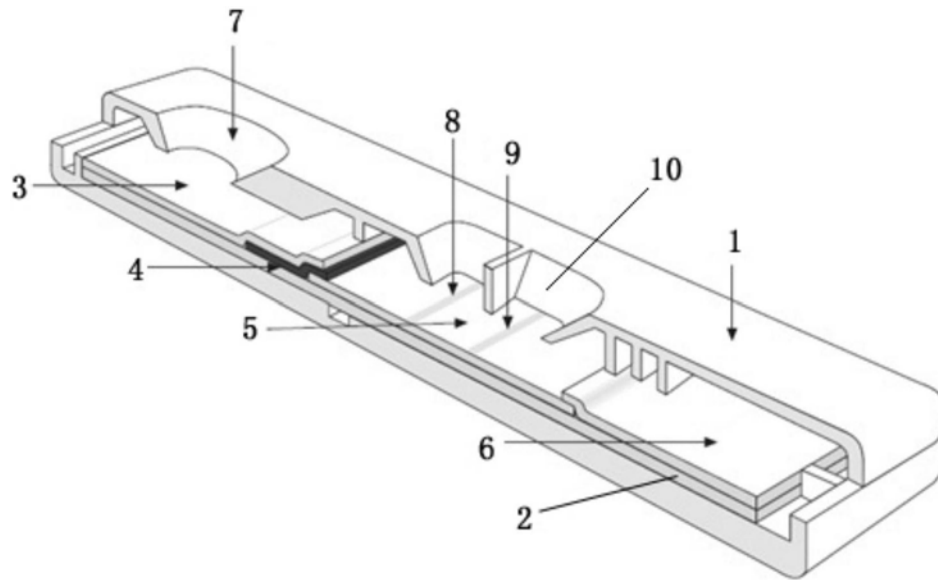


图1

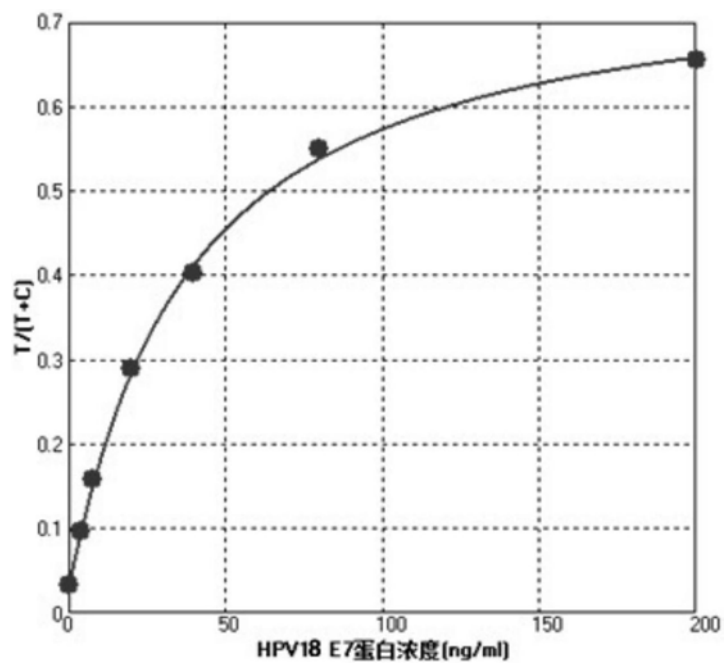


图2

|                |                                                      |         |            |
|----------------|------------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译)        | 抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体、检测试纸和检测试剂盒                         |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">CN108218983A</a>                         | 公开(公告)日 | 2018-06-29 |
| 申请号            | CN201810170372.7                                     | 申请日     | 2018-03-01 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 珠海美华医疗科技有限公司                                         |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 珠海美华医疗科技有限公司                                         |         |            |
| 当前申请(专利权)人(译)  | 珠海美华医疗科技有限公司                                         |         |            |
| [标]发明人         | 乌月恒<br>张志伟                                           |         |            |
| 发明人            | 乌月恒<br>张志伟                                           |         |            |
| IPC分类号         | C07K16/08 G01N33/569 G01N33/558 G01N33/533 G01N33/52 |         |            |
| 代理人(译)         | 谈杰                                                   |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>       |         |            |

#### 摘要(译)

一种抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体、检测试纸和检测试剂盒。抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体，其与HPV18型E7蛋白的结合位点是：HPV18型E7蛋白第10-20氨基酸、HPV18型E7蛋白第22-39氨基酸、HPV18型E7蛋白第61-67氨基酸或HPV18型E7蛋白第73-79氨基酸。该免疫层析试纸包括背衬以及固定于背衬上的样品垫、结合垫、NC膜和吸水垫；结合垫贴合固定于样品垫下方，NC膜的一端贴合固定于结合垫下方，另一端与吸水垫相连；所述NC膜上喷涂有检测抗体，所述检测抗体包括所述的抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体和羊抗鼠二抗，所述抗HPV18型E7蛋白的单克隆抗体用作检测线，所述羊抗鼠二抗用作质控线；所述结合垫上包被有荧光微球标记抗体。本申请可简单快速地检测出HPV18型E7蛋白。

