



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109116020 A

(43)申请公布日 2019.01.01

(21)申请号 201810885783.4

(22)申请日 2018.08.06

(71)申请人 文珊

地址 421431 湖南省衡阳市衡东县石湾镇  
光明村4组

(72)发明人 文珊

(51) Int. Cl.

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页

(54)发明名称

一种库波热病毒抗原抗体检测试剂盒

(57)摘要

本发明提供了一种库波热病毒抗原抗体检测试剂盒,包括库波热病毒抗原检测试纸卡和/或库波热病毒抗体检测试纸卡和层析稀释液,其中,库波热病毒抗原检测试纸卡包含库波热病毒抗原胶体金层析检测试剂,库波热病毒抗体检测试纸卡包含库波热抗体胶体金层析检测试剂,所述层析稀释液由终浓度1%casein,0.4%Tween-20和10mMPBS缓冲系统组成;所述试剂盒具有特异性、敏感性等特点,在消除、控制库波热病的工作中可起到重要作用。

1. 一种库波热病毒抗原抗体检测试剂盒,其特征在于:包括库波热病毒抗原检测试纸卡和/或库波热病毒抗体检测试纸卡和层析稀释液,其中,库波热病毒抗原检测试纸卡包含库波热病毒抗原胶体金层析检测试剂,库波热病毒抗体检测试纸卡包含库波热抗体胶体金层析检测试剂,所述层析稀释液由终浓度1% casein,0.4% Tween-20和10mMPBS缓冲系统组成,其中,

所述库波热病毒抗原检测试纸卡是由下述方法得到的:

病毒亲和纯化抗体的标记:选择胶体金用0.2M  $K_2CO_3$ 调节其pH值,加入库波热病毒亲和纯化抗体,室温标记和封闭,离心后用复溶液悬浮;

鸡IgY的标记:选择胶体金用0.2M  $K_2CO_3$ 调节其pH值,用鸡IgY室温标记,标记后室温封闭,离心后用复溶液悬浮;

免疫金的制备:将病毒亲和纯化抗体免疫金和鸡IgY免疫金混合铺金,过夜烘干;

包被:

C线:在NC膜上包被抗鸡IgY多抗,加入保护剂做保护;

T线:在NC膜上包被重组抗原亲和纯化抗体,加入保护剂做保护;

所述库波热病毒抗体检测试纸卡是由下述方法得到的:

病毒抗原的标记:选择胶体金用0.2M  $K_2CO_3$ 调节其pH值,加入库波热病毒抗原,室温标记和封闭,离心后用复溶液将沉淀复溶;

鸡IgY的标记:选择胶体金用0.2M  $K_2CO_3$ 调节其pH值,用鸡IgY室温标记,标记后室温封闭,离心后用复溶液悬浮;

免疫金的制备:将病毒抗原免疫金和鸡IgY免疫金混合铺金,过夜烘干;

包被:

C线:在NC膜上包被抗鸡IgY多抗,并加入抗体保护剂保护;

G线:在NC膜上包被抗人IgG单抗,并加入保护剂进行保护;

M线:在NC膜上包被抗人IgM单抗,并加入保护剂进行保护。

2. 根据权利要求1所述的库波热病毒抗原抗体检测试剂盒,其特征在于:库波热病毒抗原检测试剂盒包含30 $\mu$ l滴管,库波热病毒抗原检测试纸卡,层析稀释液及库波热病毒抗原检测试剂盒说明书,其库波热病毒抗体检测试剂盒包含5 $\mu$ l直吸管,库波热病毒抗体检测试纸卡,层析稀释液及库波热病毒抗体检测试剂盒说明书;或者为抗原抗体二合一检测试剂盒,即包括30 $\mu$ l滴管+5 $\mu$ l直吸管,库波热病毒抗原检测试纸卡+库波热病毒抗体检测试纸卡,层析稀释液及库波热病毒抗原抗体检测试剂盒说明书。

3. 根据权利要求1所述的库波热病毒抗原抗体检测试剂盒的制备方法,其特征在于:步骤如下:

(1) 通过分子克隆、蛋白表达好验证以及蛋白纯化的方式获得NP蛋白;

(2) SFTSV病毒免疫豚鼠,制得的多抗血清经过NP蛋白亲和纯化得到抗SFTSV NP豚鼠多抗;

(3) NP蛋白免疫豚鼠获得NP蛋白多抗血清后与NP蛋白亲和纯化抗NP蛋白多抗;

(4) 利用步骤(2)中产物进行库波热病毒抗原诊断免疫金的制备;利用步骤(3)中产物进行库波热病毒抗原诊断包被膜的制备;利用步骤(1)中产物进行库波热病毒抗体检测免疫金的制备。

## 一种库波热病毒抗原抗体检测试剂盒

### 技术领域

[0001] 本发明涉及试剂盒领域,尤其是一种库波热病毒抗原抗体检测试剂盒。

### 背景技术

[0002] 库波热病毒(Ekpoma virus)是2015年在西非尼日利亚新发现的病毒,分1型(EKV1)和2型(EKV2)两个亚型,主要感染牛,媒介为库蠓,全球仅有1次报道。同时该病毒与另外一种引起出血热病死率高的下刚果热病毒(Bas-congo virus)高度同源,且因病例少,病源生物形状不明。发热表现为上午体温正常,下午有低热,凌晨高烧至40℃,早晚体温有波动。库蠓是一种寄生在灌木林的吸血小虫,容易传播人畜共患疾病。因为是库蠓传播、体温波动,所以我们把它中文命名为库波热。

[0003] 根据案例的流行病学调查表明,患者携带病毒时间长达3周以上,而在我国存在该病的传播媒介——库蠓,且分布种类多、地区广,一旦传入可能造成流行风险。检验检疫部门一直都在关注其生物学性状和致病机制的研究。

[0004] 可以通过抗原与抗体的特异性结合,判断是否感染库波热病毒,用于库波热病毒感染的临床辅助诊断,可以快速、敏感的检测出人体的感染情况。现有对库波热病毒的检测试剂盒存在制备方法复杂、耗时长、价格昂贵等问题。

### 发明内容

[0005] 本发明所要解决的技术问题在于提供一种库波热病毒抗原抗体检测试剂盒。

[0006] 为实现上述目的,本发明提供如下技术方案:

[0007] 一种库波热病毒抗原抗体检测试剂盒,包括库波热病毒抗原检测试纸卡和/或库波热病毒抗体检测试纸卡和层析稀释液,其中,库波热病毒抗原检测试纸卡包含库波热病毒抗原胶体金层析检测试剂,库波热病毒抗体检测试纸卡包含库波热抗体胶体金层析检测试剂,所述层析稀释液由终浓度1%casein,0.4%Tween-20和10mMPBS缓冲系统组成,其中,

[0008] 所述库波热病毒抗原检测试纸卡是由下述方法得到的:

[0009] 病毒亲和纯化抗体的标记:选择胶体金用0.2M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>调节其pH值,加入库波热病毒亲和纯化抗体,室温标记和封闭,离心后用复溶液悬浮;

[0010] 鸡IgY的标记:选择胶体金用0.2M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>调节其pH值,用鸡IgY室温标记,标记后室温封闭,离心后用复溶液悬浮;

[0011] 免疫金的制备:将病毒亲和纯化抗体免疫金和鸡IgY免疫金混合铺金,过夜烘干;

[0012] 包被:

[0013] C线:在NC膜上包被抗鸡IgY多抗,加入保护剂做保护;

[0014] T线:在NC膜上包被重组抗原亲和纯化抗体,加入保护剂做保护;

[0015] 所述库波热病毒抗体检测试纸卡是由下述方法得到的:

[0016] 病毒抗原的标记:选择胶体金用0.2M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>调节其pH值,加入库波热病毒抗原,室温标记和封闭,离心后用复溶液将沉淀复溶;

- [0017] 鸡IgY的标记:选择胶体金用0.2M K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>调节其pH值,用鸡IgY室温标记,标记后室温封闭,离心后用复溶液悬浮;
- [0018] 免疫金的制备:将病毒抗原免疫金和鸡IgY免疫金混合铺金,过夜烘干;
- [0019] 包被:
- [0020] C线:在NC膜上包被抗鸡IgY多抗,并加入抗体保护剂保护;
- [0021] G线:在NC膜上包被抗人IgG单抗,并加入保护剂进行保护;
- [0022] M线:在NC膜上包被抗人IgM单抗,并加入保护剂进行保护。
- [0023] 优选地,上述的库波热病毒抗原抗体检测试剂盒,其库波热病毒抗原检测试剂盒包含30 $\mu$ l滴管,库波热病毒抗原检测试纸卡,层析稀释液及库波热病毒抗原检测试剂盒说明书,其库波热病毒抗体检测试剂盒包含5 $\mu$ l直吸管,库波热病毒抗体检测试纸卡,层析稀释液及库波热病毒抗体检测试剂盒说明书;或者为抗原抗体二合一检测试剂盒,即包括30 $\mu$ l滴管+5 $\mu$ l直吸管,库波热病毒抗原检测试纸卡+库波热病毒抗体检测试纸卡,层析稀释液及库波热病毒抗原抗体检测试剂盒说明书。
- [0024] 上述的库波热病毒抗原抗体检测试剂盒的制备方法,步骤如下:
- [0025] (1)通过分子克隆、蛋白表达好验证以及蛋白纯化的方式获得NP蛋白;
- [0026] (2)SFTSV病毒免疫豚鼠,制得的多抗血清经过NP蛋白亲和纯化得到抗SFTSV NP豚鼠多抗;
- [0027] (3)NP蛋白免疫豚鼠获得NP蛋白多抗血清后与NP蛋白亲和纯化抗NP蛋白多抗;
- [0028] (4)利用步骤(2)中产物进行库波热病毒抗原诊断免疫金的制备;利用步骤(3)中产物进行库波热病毒抗原诊断包被膜的制备;利用步骤(1)中产物进行库波热病毒抗体检测免疫金的制备。
- [0029] 本发明的有益效果是:
- [0030] 所述库波热病毒抗原抗体检测试剂盒能够检测库波热病毒抗原抗体。其中,库波热病毒抗原检测试剂盒能够方便、快捷地检测出病例血清中是否含有库波热病毒抗原,可为病情诊断提供依据;库波热病毒抗体检测试剂盒可以为人群免疫监测提供灵敏快捷的工具;IgM抗体检测痛抗原检测联合使用具有早期诊断的价值,具有特异性、敏感性等特点,在消除、控制库波热疾病的工作中可起到重要作用。

## 具体实施方式

- [0031] 为使本发明目的、技术方案及效果更加清楚、明确,以下对本发明进行详细说明。
- [0032] 实施例1
- [0033] 一种库波热病毒抗原抗体检测试剂盒,具有如下:
- [0034] 材料方法与结果
- [0035] 1.NP蛋白的制备
- [0036] 1.1序列合成:
- [0037] NCBI上搜索基因序列(GenBank:KC292285.1),送往金唯智生物科技有限公司合成。
- [0038] 1.2分子克隆:
- [0039] (1)将合成的含有目的基因序列对应的穿刺菌扩增,获得扩增质粒;

[0040] (2) 将质粒进行双酶切 (BamHI&NdeI), 同时使用相同的限制性内切酶酶切表达质粒 pET-28a, 37°C 酶切 1 小时;

[0041] (3) 核酸电泳, 将母的片段回收, 方法参考天根琼脂糖凝胶回收试剂盒说明书;

[0042] (4) 连接;

[0043] 体系如下:

[0044]

Gene NP	3 $\mu$ l
pEt-28a	2 $\mu$ l
5 $\times$ T4 ligase buffer	2 $\mu$ l
T4 Ligase	1 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	2 $\mu$ l

[0045] 室温连接 25 分钟;

[0046] (5) 转化 T1 感受态

[0047] 将连接产物加入 T1 感受态中, 冰浴 30min; 42°C 热激 90sec, 迅速放入冰上, 静置 2min; 加入 1ml LB 液体培养基, 37°C 培养 1 小时; 5000rpm, 离心 3min, 弃 900 $\mu$ l 上清, 重悬菌体, 涂布于含有卡那霉素的 LB 固体培养基上; 37°C 培养过夜;

[0048] (6) 挑取单克隆, 37°C 过夜震荡培养;

[0049] (7) 提取质粒, 具体步骤参考天根质粒小提试剂盒说明书;

[0050] (8) 双酶切验证:

[0051] 酶切体系如下:

[0052]

pET-28a-NP	6 $\mu$ l
10 $\times$ Green Buffer	2 $\mu$ l
BamH I	1 $\mu$ l
Nde I	1 $\mu$ l
ddH <sub>2</sub> O	10 $\mu$ l

[0053] 1.3 表达验证

[0054] (1) 将酶切正确的质粒转化入表达菌株 BL21 (DE3), 转化方法同转化 T1 感受态;

[0055] (2) 挑取三个单克隆于 5ml LB 液体培养基, 37°C 过夜震荡培养;

[0056] (3) 吸取 1ml 培养物转接至 50ml LB 液体培养基, 37°C 震荡培养至 OD<sub>600</sub> 为 0.6 左右;

[0057] (4) 加入终浓度为 1mM IPTG, 25°C 诱导过夜;

[0058] (5) 收集菌体, 9500rpm, 5min, 4°C;

[0059] (6) 用 10ml Lysis Buffer (T20N200) 重悬菌体, 超声破碎 10min, 取破碎液 1ml, 离心, 12000rpm, 10min, 4°C, 取上清, 沉淀用等体积的 8M 尿素重悬, 将上清与沉淀进行 SDS-PAGE 电泳。

[0060] 1.4 蛋白纯化

[0061] (1) 按照上述表达条件扩大培养至 1L 表达体系;

[0062] (2) 培养 4L 合并纯化, 25°C 过夜诱导后, 收集菌体, 5000rpm, 15min, 4°C;

[0063] (3) 30ml/L Lysis Buffer 重悬菌体, 超声破碎 30min, 然后高压破碎 4 轮;

- [0064] (4) 离心分离沉淀:4℃,18000rpm,40min,收集上清,记为Load;
- [0065] (5) Ni柱亲和纯化,上样前先用Lysis Buffer平衡,上样流速:2ml/min,流穿液记为Flow;
- [0066] (6) Lysis Buffer冲洗三个柱体积;
- [0067] (7) 含20mM咪唑的Lysis Buffer冲洗三个柱体积;
- [0068] (8) 含50mM咪唑的Lysis Buffer冲洗三个柱体积;
- [0069] (9) 然后用含500mM咪唑的Lysis Buffer洗脱目的蛋白NP;
- [0070] (10) SDS-PAGE检测蛋白纯度;
- [0071] (11) 取纯度较高,蛋白量较大的第三管蛋白进行阳离子交换层析;
- [0072] (12) 平衡离子柱,平衡buffer (T20N50);
- [0073] (13) 稀释蛋白至盐浓度为50mM,稀释蛋白记为Load,上样,流速为2ml/min,流穿液记为Flow;
- [0074] (14) 用平衡buffer冲洗3个柱体积,记为Wash;
- [0075] (15) 用A buffer (T20N80) 冲洗3个柱体积,样品编号An;
- [0076] (16) 用B buffer (T20N150) 冲洗3个柱体积,样品编号Bn;
- [0077] (17) 用C buffer (T20N200) 冲洗3个柱体积,样品编号Cn;
- [0078] (18) 用D buffer (T20N1000) 冲洗3个柱体积,样品编号Dn;
- [0079] (19) SDS-PAGE电泳检测纯度。
- [0080] 1.5结论
- [0081] 得到纯度为100%目的蛋白NP:B3、浓度为2.1mg/ml,体积为12ml;B2、浓度为0.256mg/ml,体积为9ml;B4、浓度为0.35mg/ml,体积为11.5ml。
- [0082] 2.SFTSV纯化病毒的制备
- [0083] 2.1病毒液的获得
- [0084] 1.5L灭活病毒液,滴度 $1 \times 10^7$ IFU/ml。
- [0085] 2.2病毒纯化
- [0086] (1) 过滤:Vero细胞培养的SFTSV病毒液1.5L,4500rpm离心40min,去沉淀,再用过滤器过滤至澄清;
- [0087] (2) 浓缩:用100kd 0.1m<sup>2</sup>的膜包超滤浓缩病毒液至60ml。用TNE buffer洗膜。得到的60ml浓缩液再经4500rpm离心30min,弃沉淀置4℃备用;
- [0088] (3) 蔗糖梯度密度离心:蔗糖梯度60%,30%,15%,35000rpm,离心22h;
- [0089] (4) 离心后收样,用分部收集器收集样品,用紫外检测仪扫描280蛋白图谱。对各管样本进行蔗糖含量及抗原含量测定,绘制曲线;
- [0090] (5) 合并抗原含量高峰管,用Sephacryl-100HR进行脱糖,上样及洗脱流速3.5ml/min;
- [0091] (6) 再纯化:用4FF柱层析进行分离,上样速度10ml/min,柱50cm×1.6cm,280nmA=1.0,收集第一峰,再用100kd膜包超滤浓缩;
- [0092] (7) 最终得到纯化病毒。
- [0093] 3.豚鼠抗NP蛋白和SFTSV多抗血清制备
- [0094] 3.1实验动物:豚鼠,雌性,6-8周龄,体重250-300g;完全弗氏佐剂,货号F5881,批

号SLBN9312V;不完全弗氏佐剂,货号:F5506,批号:SLBM7414V。

[0095] 3.2免疫程序:初免——二免(初免两周后)——三免(二免两周后)——终免(三免三周后)——采血,期间,每次免疫前都采血留样检测抗体水平。

[0096] 3.3免疫剂量和方式:按照0.5ml/只,腹部皮下免疫。

[0097] 3.4采血及血清效价检测:最终心脏采血,将血液室温放置1-3小时,3000rpm/min离心15min,收集血清,测定NP蛋白和SFTSV多抗血清效价均可达到1:1000000以上。

[0098] 4.豚鼠抗NP蛋白和SFTSV多抗血清纯化

[0099] 4.1辛酸-硫酸铵法粗纯:

[0100] (1)以0.06M醋酸-醋酸钠溶液4倍稀释血清,调节pH值4.5;

[0101] (2)按照每ml血清体积加入40微升滴加辛酸,室温搅拌30分钟;

[0102] (3)10000g离心力4度离心30分钟,弃沉淀,上清加入等体积的0.2M PBS并调节pH7.4;

[0103] (4)加入等量体积的饱和硫酸铵溶液4℃过夜静置;

[0104] (5)次日离心3000rpm30分钟,收集沉淀;

[0105] (6)透析于0.01M磷酸盐缓冲液pH7.4。

[0106] 4.2亲和层析

[0107] 4.2.1NP抗原偶联CNBr-activated Sepharose 4B柱材

[0108] (1)调整NP蛋白浓度3-5mg/ml;

[0109] (2)称取需要重量的柱材干粉,1:100(W/V)溶解于溶胀液中,可使用玻璃棒轻柔搅拌至完全溶解;

[0110] (3)使用抽滤系统用溶胀液进行充分的洗涤;

[0111] (4)待洗涤结尾溶胀液接近抽干时加入偶联液,洗涤并换液为偶联液;

[0112] (5)室温放置2h,间歇轻柔混匀(15min一次),之后4℃静置过夜;

[0113] (6)利用抽滤装置抽去多余溶液,并使用少量偶联液流洗,收集这些液体,确定偶联效率使用;

[0114] (7)使用封闭液1:20(W/V)重悬柱材,4℃封闭2h,间歇轻柔混匀(15min一次);

[0115] (8)用酸性洗液、碱性洗液1:50-1:100(W/V)交替流洗3次,最终将柱材1:10(W/V)重悬于重悬液中,长期不使用可加入终浓度0.1%的叠氮钠;

[0116] (9)联柱材装入层析柱中;

[0117] (10)偶联效率的测定:本次试验偶联效率为90%。

[0118] 4.2.2豚鼠多抗利用偶联柱的亲和纯化

[0119] (1)使用5-10倍柱体积的平衡液充分平衡,使检测基线平直;

[0120] (2)上样,观察检测峰收集流穿液;

[0121] (3)使用平衡液洗涤杂蛋白,同时继续根据检测峰收集流穿液;

[0122] (4)利用洗脱液洗脱目的蛋白,根据检测峰收集洗脱峰;

[0123] (5)加入约1/10洗脱峰体积的中和液,并配合pH检测最终调节pH至7.4;

[0124] (6)待基线平直,改换平衡液中和柱材pH;

[0125] (7)改换保存液,将柱子上下口封闭4℃保存;

[0126] 5.库波热病毒抗体胶体金层析检测试剂

- [0127] 5.1标记的优化
- [0128] (1) 0.2M  $K_2CO_3$ 加量的优化;
- [0129] 0,2.5,7.5,10,12.5,15,17.5,20ul/ml设置梯度试验;
- [0130] (2) NP抗原加入量:使用12ug/ml进行标记;
- [0131] (3) 标记方式的优化:搭桥标记与直接标记,性能相近,选择直接标记;
- [0132] (4) 悬浮体积的优化:250,500,750,1000ul/ml设置梯度试验悬浮免疫金;
- [0133] 标记条件的初步确认:40nm胶体金,0.2M  $K_2CO_3$ 15ug/ml,NP抗原12ug/ml,标记20min RT;封闭液100ul/ml,封闭15min RT;500ul/ml利用pH8.5的金标悬浮液悬浮;55℃ 5h/45℃过夜烘干。
- [0134] 5.2包被条件的初步确认:
- [0135] 抗鸡IgY多抗1mg/ml,终浓度0.1%BSA,20mM PB pH7.4补足体系。
- [0136] 抗人IgG单抗0.5mg/ml,20mM PB pH7.4补足体系。
- [0137] 抗人IgM单抗1mg/ml,20mM PB pH7.4补足体系。
- [0138] 5.3加样方式及判读时间
- [0139] 5ul血清+3d层析稀释液,10-15min判读。(d=滴)
- [0140] 5.4层析稀释液配方确定
- [0141] 终浓度1%casein,0.4%Tween-20,10mM PBS缓冲系统。
- [0142] 6.库波热病毒抗原胶体金层析检测试剂
- [0143] 6.1标记的优化
- [0144] (1) 0.2M  $K_2CO_3$ 加量的优化:0,5,10,15,20,25,30ul/ml设置梯度试验。
- [0145] (2) 病毒免疫豚鼠多抗NP亲和纯化抗体加入量:使用12ug/ml进行标记。
- [0146] (3) 标记方式的优化:选择直接标记。
- [0147] (4) 悬浮体积的优化:500,1000,1500,2000,2500,3000ul/ml设置梯度试验悬浮免疫金。
- [0148] 病毒亲和纯化抗体的标记:40nm胶体金,0.2M  $K_2CO_3$ 25ul/ml,库波热病毒抗原12ug/ml,标记20min RT;封闭液100ul/ml,封边15min RT;2.5ul/ml利用pH8.5的金标悬浮液悬浮;
- [0149] 鸡IgY的标记:40nm胶体金,0.2M  $K_2CO_3$ 12ul/ml,鸡IgY 8ug/ml,标记20min RT;封闭液100ul/ml,封边15min RT;160ul/ml利用pH8.5的金标悬浮液悬浮;
- [0150] 免疫金的制备:1份病毒亲和纯化抗体免疫金+1份鸡IgY免疫金混合铺金,55℃ 5h/45℃过夜烘干。
- [0151] 6.2包被条件的确认:
- [0152] 抗鸡IgY多抗1mg/ml,终浓度0.1%BSA,20nM PB pH7.4补足体系。
- [0153] NP蛋白亲和纯化抗体0.7mg/ml,20nM PB pH7.4补足体系。
- [0154] 6.3加样方式及判读时间
- [0155] 30ul血清+2d层析稀释液,10-15min判读。(d=滴)
- [0156] 6.4层析稀释液配方的确认
- [0157] 终浓度1%casein,0.4%Tween-20,10mM PBS缓冲系统。
- [0158] 采用上述自制试剂盒盒库波热病毒核酸检测试剂盒(PCR法)共同检测100份急性

期病人血清,抗原检测试剂盒检出率为20%,IgM检出率为46%,IgG检出率为12%。抗原和IgM抗体联合用于检测早期病毒感染检测率为58%,库波热核酸检测试剂盒PCR检出率为75%。

[0159] 以上实施例仅仅是本发明的几个实施例,但本发明并非局限于此。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出任何创造性劳动的前提下所得到的所有其他实施方式,都属于本发明所保护的范围。

专利名称(译)	一种库波热病毒抗原抗体检测试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">CN109116020A</a>	公开(公告)日	2019-01-01
申请号	CN201810885783.4	申请日	2018-08-06
[标]申请(专利权)人(译)	文珊		
申请(专利权)人(译)	文珊		
当前申请(专利权)人(译)	文珊		
[标]发明人	文珊		
发明人	文珊		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/532 G01N33/543 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/56983 G01N33/531 G01N33/532 G01N33/54306 G01N2333/435		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明提供了一种库波热病毒抗原抗体检测试剂盒，包括库波热病毒抗原检测试纸卡和/或库波热病毒抗体检测试纸卡和层析稀释液，其中，库波热病毒抗原检测试纸卡包含库波热病毒抗原胶体金层析检测试剂，库波热病毒抗体检测试纸卡包含库波热抗体胶体金层析检测试剂，所述层析稀释液由终浓度1%casein，0.4% Tween-20和10mMPBS缓冲系统组成；所述试剂盒具有特异性、敏感性等特点，在消除、控制库波热病的工作中可起到重要作用。

[0042] 试剂盒；

[0043] 体系如下：

[0044]

Gene NP	3μl
pEt-28a	2μl
5×T4 ligase buffer	2μl
T4 Ligase	1μl
ddH <sub>2</sub> O	2μl

[0045] 室温连接25分钟；

[0046] (5) 转化T1感受态