



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104330562 B

(45)授权公告日 2016. 10. 26

(21)申请号 201410629879.6

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2014.11.10

G01N 33/571(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104330562 A

审查员 张绚

(43)申请公布日 2015.02.04

(73)专利权人 厦门大学附属中山医院

地址 361004 福建省厦门市思明区湖滨南路201-209号

专利权人 厦门市波生生物技术有限公司

(72)发明人 杨天赐 刘莉莉 张惠林 童曼莉

林丽蓉 张长弓

(74)专利代理机构 厦门南强之路专利事务所

(普通合伙) 35200

代理人 马应森

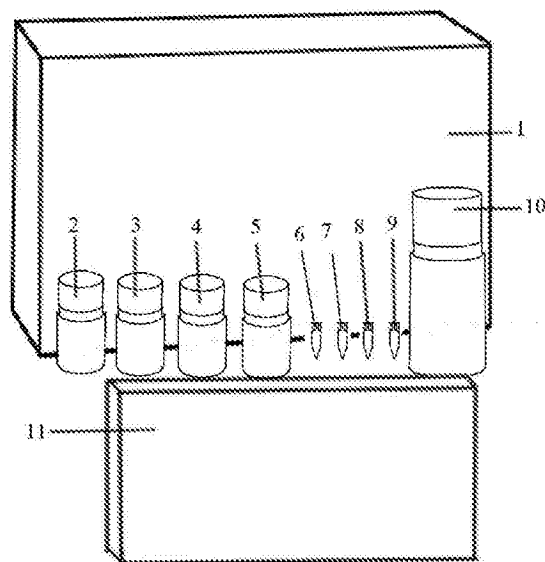
权利要求书2页 说明书5页 附图1页

(54)发明名称

梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒及其制备方法

(57)摘要

梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒及其制备方法,涉及梅毒螺旋体。试剂盒设有外包装盒、碱性磷酸酶标记抗人γ单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人μ单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶、发光底物瓶、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶、洗涤液瓶、重组抗原包被微孔板。先制备梅毒螺旋体特异性重组抗原、重组抗原包被微孔板、抗人γ链单克隆抗体、抗人μ链单克隆抗体、抗人Ig单克隆抗体;标记抗体的碱性磷酸酶,再制备发光底物、洗涤液、对照品,最后组装梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒。



1. 梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒,其特征在于设有外包装盒、碱性磷酸酶标记抗人 γ 链单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人 μ 链单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶、发光底物瓶、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶、洗涤液瓶、重组抗原包被微孔板;碱性磷酸酶标记抗人 γ 链单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人 μ 链单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶、发光底物瓶、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶、洗涤液瓶、重组抗原包被微孔板设在外包装盒内;碱性磷酸酶标记抗人 γ 链单克隆抗体瓶内装有碱性磷酸酶标记抗人 γ 链单克隆抗体,碱性磷酸酶标记抗人 μ 链单克隆抗体瓶内装有碱性磷酸酶标记抗人 μ 链单克隆抗体,碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶内装有碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体,发光底物瓶内装有发光底物,梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶内装有梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品,梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶内装有梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品,梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶内装有梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品,梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶内装有梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品,洗涤液瓶内装有洗涤液;

所述梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒由以下方法制备:

1)制备梅毒螺旋体特异性重组抗原:

采用基因克隆技术,PCR扩增编码梅毒螺旋体抗原的DNA,并插入大肠杆菌中使其表达,得梅毒螺旋体特异性抗原TPN17和TPN47;

2)制备重组抗原包被微孔板

将步骤1)中的梅毒螺旋体重组抗原TPN17和TPN47用包被缓冲液稀释至20 μ g/mL,以每孔0.1mL加入微孔板中,4 $^{\circ}$ C包被24h;取出抗原板,风干;用0.01mmol/L pH7.4磷酸盐缓冲液配制的1.0%脱脂奶粉,每孔0.2mL,4 $^{\circ}$ C封闭24h,取出用磷酸盐缓冲液洗涤5次,室温风干、消毒,制备重组抗原包被微孔板,密封备用;

3)制备抗人 γ 链单克隆抗体

以人 γ 链为抗原免疫BaIb/c小鼠,通过杂交瘤技术,筛选获得稳定分泌抗人 γ 链单克隆抗体的杂交瘤细胞株;

4)制备抗人 μ 链单克隆抗体

以人 μ 链为抗原免疫BaIb/c小鼠,通过杂交瘤技术,筛选获得稳定分泌抗人 μ 链单克隆抗体的杂交瘤细胞株;

5)制备抗人Ig单克隆抗体

以人Ig为抗原免疫BaIb/c小鼠,通过杂交瘤技术,筛选获得稳定分泌抗人Ig单克隆抗体的杂交瘤细胞株;

6)抗体的碱性磷酸酶标记

碱性磷酸酶经过碘酸钠活化,分别与步骤3)、4)、5)中所制备的单克隆抗体分子的-NH₂偶联,形成碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体、碱性磷酸酶标记抗人 μ 链单克隆抗体和碱性磷酸酶标记抗人 γ 链单克隆抗体;

7)发光底物制备

人工合成金刚烷胺类发光底物及其增强剂,均经无菌过滤,制备发光底物工作液;

8)洗涤液制备

洗涤液为溶有Tween-20的磷酸盐缓冲液,其中Tween-20的终浓度为0.01%;

9)对照品

梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品:由非梅毒感染的健康人群血清配制而成;

梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品:梅毒患者的特异性IgG抗体阳性血清配制而成;

梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品:梅毒患者的特异性IgM阳性血清配制而成;

梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品:梅毒患者的特异性总抗体阳性血清配制而成;

10)制备梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒

将碱性磷酸酶标记抗人 γ 链单克隆抗体、碱性磷酸酶标记抗人 μ 链单克隆抗体、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体、发光底物、洗涤液、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品分别装入瓶内,再将碱性磷酸酶标记抗人 γ 链单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人 μ 链单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶、发光底物瓶、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶、洗涤液瓶和重组抗原包被微孔板装入外包装箱,即得梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒。

2.如权利要求1所述梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒,其特征在于在步骤10)中,所述瓶采用聚乙烯瓶。

梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及梅毒螺旋体,尤其是涉及一种梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] 梅毒是由梅毒螺旋体引起的性传播性疾病,近年来在国内的发病率逐年上升,梅毒的防控已列为我国公共卫生服务的主要任务之一。

[0003] 梅毒螺旋体不能体外培养,而直接病原学暗视野显微镜检查阳性率不高,血清学实验包括心磷脂抗体和特异性抗体检测,心磷脂抗体的假阳性率高,灵敏度低。而梅毒特异性抗体检测方法包括梅毒螺旋体明胶颗粒凝集试验(TPPA)、荧光梅毒螺旋体抗体吸收试验(FTA-ABS)及免疫印迹法(Western-blot)等,其特异性均较高,但不能进行高通量的检测。

[0004] 中国专利CN101881772A公开一种基于流式微球载体技术的梅毒螺旋体(TP)抗体检验试剂盒及其制备和检测方法,具体包括用TP重组抗原包被高聚分子微球,用牛血清白蛋白封闭空白结合点,制成特异性TP探针-高聚分子微球;与待测标本共培养捕获TP抗体,洗涤离心除去未结合的TP抗体,再加入荧光标记的抗人IgG或IgM抗体;使用流式细胞仪检测微球的荧光强度,对受测抗体进行定性或定量分析。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供能现时检测梅毒螺旋体特异性IgG抗体、梅毒螺旋体特异性IgM抗体和梅毒螺旋体特异性总抗体的一种梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒及其制备方法。

[0006] 所述梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒设有外包装盒、碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶、发光底物瓶、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶、洗涤液瓶、重组抗原包被微孔板;碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶、发光底物瓶、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶、洗涤液瓶、重组抗原包被微孔板设在外包装盒内;碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体瓶内装有碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体,碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体瓶内装有碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体,碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶内装有碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体,发光底物瓶内装有发光底物,梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶内装有梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品,梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶内装有梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品,梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶内装有梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品,梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶内装有梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品,洗涤液瓶内

装有洗涤液。

[0007] 所述梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒的制备方法,包括以下步骤:

[0008] 1)制备梅毒螺旋体特异性重组抗原:

[0009] 采用基因克隆技术,PCR扩增编码梅毒螺旋体抗原的DNA,并插入大肠杆菌中使其表达,得梅毒螺旋体特异性抗原TPN17和TPN47;

[0010] 2)制备重组抗原包被微孔板

[0011] 将步骤1)中的梅毒螺旋重组抗原TPN17和TPN47用包被缓冲液稀释至20 μ g/mL,以每孔0.1mL加入微孔板中,4 $^{\circ}$ C包被24h;取出抗原板,风干;用0.01mmoI/L pH7.4磷酸盐缓冲液配制的1.0%脱脂奶粉,每孔0.2mL,4 $^{\circ}$ C封闭24h,取出用磷酸盐缓冲液洗涤5次,室温风干、消毒,制备重组抗原包被微孔板,密封备用;

[0012] 3)制备抗人 γ 链单克隆抗体

[0013] 以人 γ 链为抗原免交通岗BaIb/c小鼠,通过杂交瘤技术,筛选获得稳定分泌抗人 γ 链单克隆抗体的杂交瘤细胞株;

[0014] 4)制备抗人 μ 链单克隆抗体

[0015] 以人 μ 链为抗原免交通岗BaIb/c小鼠,通过杂交瘤技术,筛选获得稳定分泌抗人 μ 链单克隆抗体的杂交瘤细胞株;

[0016] 5)制备抗人Ig单克隆抗体

[0017] 以人Ig为抗原免交通岗BaIb/c小鼠,通过杂交瘤技术,筛选获得稳定分泌抗人Ig单克隆抗体的杂交瘤细胞株;

[0018] 6)抗体的碱性磷酸酶标记

[0019] 碱性磷酸酶经过碘酸钠活化,分别与步骤3)、4)、5)中所制备的单克隆抗体分子的-NH₂偶联,形成碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体和碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体;

[0020] 7)发光底物制备

[0021] 人工合成金刚烷胺类发光底物(AMPPD)及其增强剂,均经无菌过滤,制备发光底物工作液;

[0022] 8)洗涤液制备

[0023] 洗涤液为溶有Tween-20的磷酸盐缓冲液,其中Tween-20的终浓度为0.01%;

[0024] 9)对照品

[0025] 梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品:由非梅毒感染的健康人群血清配制而成;

[0026] 梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品:梅毒患者的特异性IgG抗体阳性血清配制而成;

[0027] 梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品:梅毒患者的特异性IgM阳性血清配制而成;

[0028] 梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品:梅毒患者的特异性总抗体阳性血清配制而成;

[0029] 10)制备梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒

[0030] 将碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体、发光底物、洗涤液、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品分别装入瓶内,再将碱

性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶、发光底物瓶、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶、洗涤液瓶和重组抗原包被微孔板装入外包装盒,即得梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒。

[0031] 在步骤10)中,所述瓶可采用聚乙烯瓶。

[0032] 本发明提供了一种梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒,可用于临床标本中梅毒螺旋体特异性IgG抗体、梅毒螺旋体特异性IgM抗体和梅毒螺旋体特异性总抗体的高能量检测,能准确地进梅毒感染性的检测和流行病学调查,操作简单,结果准确,环保无污染,具有长远的好处。

[0033] 本发明采用梅毒螺旋体重组抗原TPN15、TPN17作为梅毒诊断抗原,在同一试剂盒检测板上,实现梅毒螺旋体特异性IgG抗体、IgM抗体和总抗体,可同时作为梅毒感染性的检测和流行病学调查。且本发明的产品不仅可以灵敏检测出梅毒螺旋体IgG抗体、IgM抗体和总抗体,并且操作简单,结果准确,环保无污染,具有长远的好处。

附图说明

[0034] 图1为本发明所述梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒实施例的结构组成示意图。

具体实施方式

[0035] 以下实施例将结合附图对本发明作进一步的说明。

[0036] 实施例1

[0037] 参见图1,所述梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒实施例设有外包装盒1、碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体瓶2、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体瓶3、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶4、发光底物瓶5、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶6、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶7、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶8、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶9、洗涤液瓶10、重组抗原包被微孔板11;碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体瓶2、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体瓶3、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶4、发光底物瓶5、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶6、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶7、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶8、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶9、洗涤液瓶10、重组抗原包被微孔板11设在外包装盒1内;碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体瓶2内装有碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体,碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体瓶3内装有碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体,碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶4内装有碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体,发光底物瓶5内装有发光底物,梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶6内装有梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品,梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶7内装有梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品,梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶8内装有梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品,梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶9内装有梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品,洗涤液瓶10内装有洗涤液。

[0038] 所述梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒的制备方法,包括以下步骤:

- [0039] (1)制备梅毒螺旋体特异性重组抗原：
- [0040] 采用基因克隆技术,PCR扩增编码梅毒螺旋体抗原的DNA,并插入大肠杆菌中使其表达,得梅毒螺旋体特异性抗原TPN17和TPN47。
- [0041] (2)制备重组抗原包被微孔板
- [0042] 将步骤(1)中的梅毒螺旋重组抗原TPN17和TPN47用包被缓冲液稀释至20 μ g/mL,以每孔0.1mL加入微孔板中,4 $^{\circ}$ C包被24h;取出抗原板,风干;用0.01mmol/L pH7.4磷酸盐缓冲液配制的1.0%脱脂奶粉,每孔0.2mL,4 $^{\circ}$ C封闭24h,取出用磷酸盐缓冲液洗涤5次,室温风干、消毒,制备重组抗原包被微孔板,密封备用。
- [0043] (3)制备抗人 γ 链单克隆抗体
- [0044] 以人 γ 链为抗原免交通岗BaIb/c小鼠,通过杂交瘤技术,筛选获得稳定分泌抗人 γ 链单克隆抗体的杂交瘤细胞株;
- [0045] (4)制备抗人 μ 链单克隆抗体
- [0046] 以人 μ 链为抗原免交通岗BaIb/c小鼠,通过杂交瘤技术,筛选获得稳定分泌抗人 μ 链单克隆抗体的杂交瘤细胞株;
- [0047] (5)制备抗人Ig单克隆抗体
- [0048] 以人Ig为抗原免交通岗BaIb/c小鼠,通过杂交瘤技术,筛选获得稳定分泌抗人Ig单克隆抗体的杂交瘤细胞株;
- [0049] (6)抗体的碱性磷酸酶标记
- [0050] 碱性磷酸酶经过碘酸钠活化,分别与步骤(3)、(4)、(5)中所制备的单克隆抗体分子的-NH₂偶联,形成碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体和碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体。
- [0051] (7)发光底物制备
- [0052] 人工合成金刚烷胺类发光底物(AMPPD)及其增强剂,均经无菌过滤,制备发光底物工作液。
- [0053] (8)洗涤液制备
- [0054] 洗涤液为溶有Tween-20的磷酸盐缓冲液,其中Tween-20的终浓度为0.01%。
- [0055] (9)对照品
- [0056] 梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品:由非梅毒感染的健康人群血清配制而成;
- [0057] 梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品:梅毒患者的特异性IgG抗体阳性血清配制而成;
- [0058] 梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品:梅毒患者的特异性IgM阳性血清配制而成;
- [0059] 梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品:梅毒患者的特异性总抗体阳性血清配制而成;
- [0060] (10)制备梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒
- [0061] 重组抗原包被微孔板、碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体、发光底物、洗涤液、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品和外包装盒共同组成的梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒。

[0062] 步骤(10)所述碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体和碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体、发光底物、洗涤液、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品、梅毒螺旋体特异性总抗阳性对照品均装在相应的聚乙烯瓶中。

[0063] 实施例2

[0064] 以下给出采用梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒检测患者的临床标本中的梅毒螺旋体特异性抗体：

[0065] 1、标本处理：血清：静脉血5mL，置37℃水浴30min，3000g离心10min，上清为检测样品备用。

[0066] 2、加样：加100 μ L的标本于反应板中，同时作空白、阴性和阳性对照孔。37℃孵育1h。

[0067] 3、洗涤：37℃反应30min后，被测定的梅毒特异性抗体与微孔板上包被的梅毒特异性重组抗原结合，洗涤分离未结合的游离成分；

[0068] 4、再加入碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体(检测梅毒螺旋体特异性IgG抗体)、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体(检测梅毒螺旋体特异性IgM抗体)和碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体(检测梅毒螺旋体特异性总抗体)。加入发光底物工作液，碱性磷酸酶催化底物脱磷酸基，并发出463nm的可见光。于第10min测定各加样品孔的相对发光强度单位(relative light units,RLU)。样品的RLU与待测梅毒抗体浓度呈正相关。

[0069] 实施例3

[0070] 以下给出梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒的性能检定

[0071] (1)阳性标本符合率

[0072] 用梅毒特异性抗体阳性参比血清50份检定，计算阳性符合率。

[0073] (2)阴性标本符合率

[0074] 用梅毒特异性抗体阴性参比血清50份检定，计算阴性符合率。

[0075] (3)批内差异

[0076] 同一批次试剂盒，用特征性血清检测，要求 $CV \leq 10\%$ 。

[0077] (4)批间差异

[0078] 不同批次试剂盒，用特征性血清检测，要求 $CV \leq 12\%$ 。

[0079] (5)干扰试验

[0080] 用溶血、脂血和黄疸标本各50例进行的干扰实验检测。

[0081] (6)交叉反应

[0082] 采用本试剂盒，进行系统性红斑狼疮($n=50$)、类风湿病($n=50$)、免疫性肝炎($n=50$)等自身免疫系统疾病的检测，观察交叉反应。

[0083] (7)稳定性检测

[0084] 应用Arrhenius法则，将试剂盒放置37℃20天后检测，以上各项指标无显著变化，确保成品在室温干燥条件下保存，有效期为18个月。

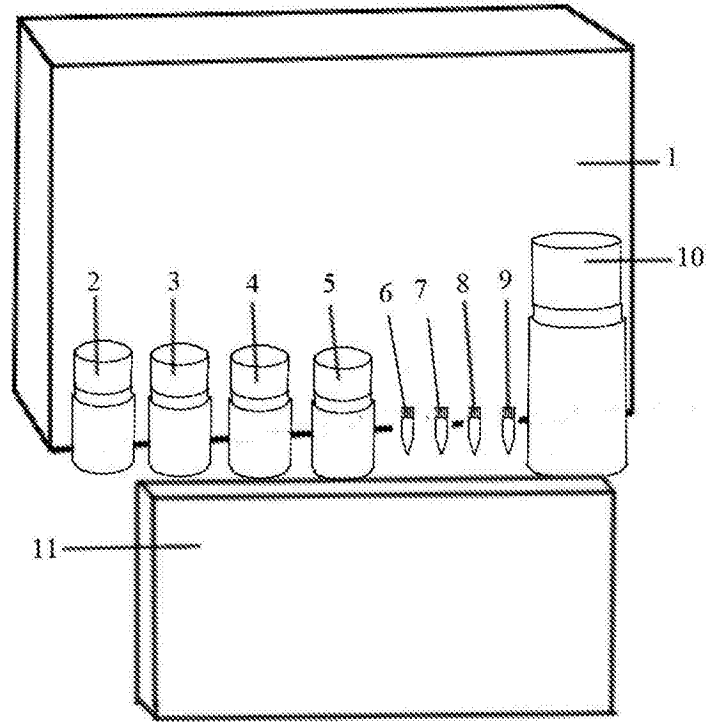


图1

专利名称(译)	梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN104330562B	公开(公告)日	2016-10-26
申请号	CN201410629879.6	申请日	2014-11-10
[标]申请(专利权)人(译)	厦门大学附属中山医院 厦门市波生生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	厦门大学附属中山医院 厦门市波生生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	厦门大学附属中山医院 厦门市波生生物技术有限公司		
[标]发明人	杨天赐 刘莉莉 张惠林 童曼莉 林丽蓉 张长弓		
发明人	杨天赐 刘莉莉 张惠林 童曼莉 林丽蓉 张长弓		
IPC分类号	G01N33/571 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/571		
审查员(译)	张绚		
其他公开文献	CN104330562A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒及其制备方法，涉及梅毒螺旋体。试剂盒设有外包装盒、碱性磷酸酶标记抗人 γ 单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人 μ 单克隆抗体瓶、碱性磷酸酶标记抗人Ig单克隆抗体瓶、发光底物瓶、梅毒螺旋体特异性抗体阴性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgG抗体阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性IgM阳性对照品瓶、梅毒螺旋体特异性总抗体阳性对照品瓶、洗涤液瓶、重组抗原包被微孔板。先制备梅毒螺旋体特异性重组抗原、重组抗原包被微孔板、抗人 γ 链单克隆抗体、抗人 μ 链单克隆抗体、抗人Ig单克隆抗体；标记抗体的碱性磷酸酶，再制备发光底物、洗涤液、对照品，最后组装梅毒螺旋体特异性抗体高通量检测试剂盒。

