



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110501509 A

(43)申请公布日 2019.11.26

(21)申请号 201910828147.2

(22)申请日 2019.09.03

(71)申请人 长春西诺生物科技有限公司
地址 130000 吉林省长春市高新开发区普天路58号

(72)发明人 石晶 李雪 殷玉和 赵健
金宏丽 张馨月

(74)专利代理机构 长春众邦菁华知识产权代理有限公司 22214

代理人 刘微

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

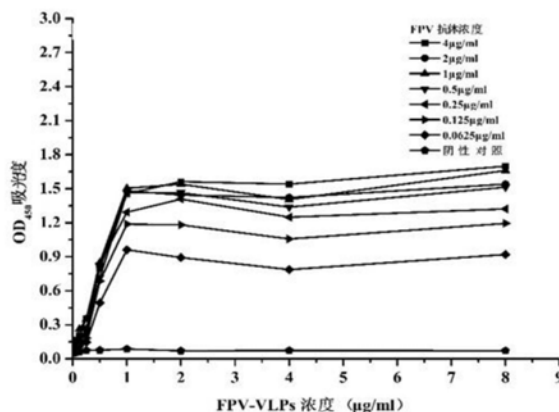
权利要求书1页 说明书6页
序列表2页 附图2页

(54)发明名称

一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒及其检测方法

(57)摘要

本发明公开了一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒及其检测方法,属于基因工程抗体分析检测技术领域,该试剂盒包括包被有抗原的酶标板和酶标抗体;所述抗原为FPV-VLPs纯化抗原,所述酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的山羊抗猫IgG抗体。该检测方法包括:包被酶标板,绘制标准曲线,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗猫IgG抗体,TMB显示,终止液终止,测定反应各孔OD₄₅₀值,根据判定标准进行判断等步骤。本发明提供的试剂盒及其检测方法对抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体的检测具有非常高的敏感性、特异性及稳定性,为检测紧急免疫前后的动物体内抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体水平的研究提供有力支持。



1. 一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括包被有抗原的酶标板和酶标抗体,所述抗原为FPV-VLPs纯化抗原,所述酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的山羊抗猫IgG抗体。

2. 如权利要求1所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒,其特征在于,所述FPV-VLPs纯化抗原的工作浓度为 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 。

3. 如权利要求1所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒,其特征在于,所述酶标抗体的稀释倍数为1:6000。

4. 如权利要求1所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒,其特征在于,所述试剂盒还包括封闭液和漂洗液,所述封闭液为包含2%BSA的PBS缓冲液,所述漂洗液为包含0.05%Tween-20的PBS缓冲液。

5. 如权利要求1所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒,其特征在于,所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体的包括鼠源可变区和猫源化恒定区,其重链可变区的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示,其重链恒定区基因序列如SEQ ID NO.3所示,其轻链可变区的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示,其轻链恒定区基因序列如SEQ ID NO.4所示。

6. 一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法,其特征在于,包括以下步骤:

S1、以制备的FPV-VLPs纯化抗原为包被抗原,用碳酸盐缓冲液稀释为 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ 包被酶标板;

S2、标准品抗体用PBS稀释为 $0.25\mu\text{g}/\text{mL}$,作为标准曲线起始浓度,之后2倍比稀释7个梯度,绘制标准曲线;

S3、漂洗三次后,加入1:6000倍稀释的辣根过氧化物酶标记的山羊抗猫IgG抗体;

S4、TMB显色,终止液终止,测定反应各孔 OD_{450} 值,根据判定标准进行判断,其中终止液为2M的硫酸溶液。

7. 如权利要求6所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法,其特征在于,步骤S1包被的温度为 4°C ,包被时间为12h。

8. 如权利要求6所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法,其特征在于,步骤S1还包括对包被的酶标板进行封闭和漂洗的步骤,封闭过程具体为包含2%BSA的碳酸盐缓冲液在 37°C 下封闭2h,封闭过程结束后,加入包含0.05%Tween-20的PBS缓冲液洗涤三次。

9. 如权利要求6所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法,其特征在于,步骤S4所述判定标准的确定方法如下:以一组阴性对照样品 OD_{450} 的平均值加3倍标准差作为阳性阈值,以终点滴度表示,即将样品做连续稀释,最高稀释度能出现阳性反应者确定判定标准,阳性反应者的 $\text{OD}_{450} > \text{阳性阈值}$ 或 $\text{P/N} \geq 2$ 。

10. 如权利要求6所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法,其特征在于,所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体包括鼠源可变区和猫源化恒定区,其重链可变区的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示,其重链恒定区基因序列如SEQ ID NO.3所示,其轻链可变区的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示,其轻链恒定区基因序列如SEQ ID NO.4所示。

一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒及其检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及基因工程抗体分析检测技术领域,尤其涉及一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒及其检测方法。

背景技术

[0002] 猫细小病毒(Feline parvovirus,FPV),又名猫泛白细胞减少症病毒、猫传染性肠炎病毒或猫瘟病毒。猫细小病毒是细小病毒科、细小病毒属成员。猫细小病毒能在猫及猫科动物脾、心、肾、肺、肠、睾丸、骨骼、肾上腺和淋巴结等多种组织细胞中复制增殖,猫细小病毒主要感染猫及猫科动物(如虎、豹)及鼬科动物(貂、雪貂)、浣熊科(长吻浣熊、浣熊)动物。可感染各种年龄的猫,主要引起1岁以下的幼猫发病。其中又以3月龄至5月龄未经预防接种的幼猫易感,感染率可达70%,病死率为50%~60%,最高可达80%-90%,通常表现为整窝小猫同时发病或者先后陆续发病。猫细小病毒感染的几率随易感动物年龄增长发病率逐渐降低,但成年猫也可能发生隐性感染。幼猫通过初乳获得的免疫保护通常可达3个月。病猫与康复带毒猫是主要传染源。妊娠母猫受到病毒感染后能以垂直传播方式将染病毒传给胎儿,造成死胎、木乃伊胎、畸形胎等。

[0003] 目前针对猫细小病毒的预防主要是疫苗免疫,有效的疫苗接种和彻底的消毒对预防多猫家庭和动物收容所的疾病传播至关重要。最常见的有灭活疫苗和减毒活疫苗,灭活疫苗安全性高,但总体上弱毒疫苗在控制疾病扩散方面比灭活疫苗效果好。在一些欧洲国家已有商品化的马源抗体制剂,可以预防幼猫及成年猫免受FPV感染。但如果使用马源抗体,易导致致命的过敏反应。抗猫细小基因工程抗体与FPV良好的结合,同时与马源抗体相比更接近天然猫源抗体降低了异源性,进而使其更能发挥效果。

[0004] 申请号(201910535002.3)专利申请提供了一种抗猫细小病毒的猫源化基因工程抗体,有望应用于感染猫细小病毒猫的治疗。因此,检测抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体水平的研究对保护猫有着重要的应用价值。目前市售的拜奥高猫三联抗体试剂盒并未提及可以检测抗猫细小病毒基因工程抗体,针对其检测范围不能适用猫细小病毒基因工程抗体,本申请专门设计的一种能够抗猫细小病毒基因工程抗体的检测方法以及试剂盒,旨在检测紧急免疫前后的动物体内抗猫细小病毒基因工程抗体水平,评估它们的免疫机能,分析动物免疫效果,判断免疫是否成功,使病程达到可控的效果,对疾病的诊断与预后提供帮助。

发明内容

[0005] 本发明的目的是针对猫细小病毒基因工程抗体,提供一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒及一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法,为检测紧急免疫前后的动物体内抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体水平的研究提供有力支持。

[0006] 为了实现上述目的,本发明提供的技术方案如下:

[0007] 本发明首先提供了一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒,所述试剂盒包括包被有抗原的酶标板和酶标抗体,所述抗原为FPV-VLPs (FPV的病毒样颗粒) 纯化抗原,所述酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的山羊抗猫IgG抗体。

[0008] 优选地,上述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒中,所述FPV-VLPs 纯化抗原的工作浓度为2 μ g/mL。

[0009] 优选地,上述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒中,所述酶标抗体的稀释倍数为1:6000。

[0010] 优选地,上述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒中,所述试剂盒还包括封闭液和漂洗液,所述封闭液为包含2%BSA的PBS缓冲液,所述漂洗液为包含0.05% Tween-20的PBS缓冲液。

[0011] 优选地,上述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒中,所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体的包括鼠源可变区和猫源化恒定区,其重链可变区的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示,其重链恒定区基因序列如SEQ ID NO.3所示,其轻链可变区的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示,其轻链恒定区基因序列如SEQ ID NO.4所示。

[0012] 本发明还提供了一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法,包括以下步骤:

[0013] S1、以制备的FPV-VLPs纯化抗原为包被抗原,用碳酸盐缓冲液稀释为2 μ g/mL包被酶标板;

[0014] S2、标准品抗体用PBS稀释为0.25 μ g/mL,作为标准曲线起始浓度,之后2倍比稀释7个梯度,绘制标准曲线;

[0015] 标准品抗体制备方法为:从感染FPV的猫血中分离血清,经鉴定为中和FPV的抗体,采用纯化Protein A亲和层析柱对FPV抗体进行纯化;首先用10倍柱体积的结合缓冲液(20mM Na₂HPO₄ 0.15M NaCl pH7.0)平衡层析柱,然后上样,样品为离心及0.22 μ m滤膜过滤的细胞表达上清,流速为1mL/min;最后加入洗脱缓冲液(0.1M甘氨酸盐酸缓冲液pH2.7)洗脱;用5mL EP管收集洗脱的样品,2.4mL/管,每个EP管内需预先加入中和缓冲液(pH=9.0 1M Tris-HCl) 600 μ L,收集,利用30KD蛋白超滤管浓缩,即得;

[0016] S3、漂洗三次后,加入1:6000倍稀释的辣根过氧化物酶标记的山羊抗猫IgG抗体;

[0017] S4、TMB显色,终止液终止,测定反应各孔OD₄₅₀值,根据判定标准进行判断,其中终止液为2M的硫酸溶液。

[0018] 优选地,上述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法中,步骤S1包被的温度为4 $^{\circ}$ C,包被时间为12h。

[0019] 优选地,上述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法中,步骤S1还包括对包被的酶标板进行封闭和漂洗的步骤,封闭过程具体为包含2%BSA的碳酸盐缓冲液在37 $^{\circ}$ C下封闭2h,封闭过程结束后,加入包含0.05% Tween-20的PBS缓冲液洗涤三次。

[0020] 优选地,上述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法中,步骤S3还包括对酶标板进行漂洗的步骤,孵育酶标抗体过程结束后,加入包含0.05% Tween-20的PBS缓冲液洗涤三次。

[0021] 优选地,上述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法中,步骤S4所述判定标准的确定方法如下:以一组阴性对照样品OD₄₅₀的平均值加3倍标准差作为阳性阈值,

以终点滴度表示,即将样品做连续稀释,最高稀释度能出现阳性反应者确定判定标准,阳性反应者的 $OD_{450} >$ 阳性阈值或 $P/N \geq 2$ 。

[0022] 优选地,上述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法中,所述的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体包括鼠源可变区和猫源化恒定区,其重链可变区的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示,其重链恒定区基因序列如SEQ ID NO.3所示,其轻链可变区的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示,其轻链恒定区基因序列如SEQ ID NO.4所示。

[0023] 与现有技术相比,本发明的技术效果:

[0024] 本发明提供的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒及其检测方法,对猫细小病毒猫源化基因工程抗体的检测具有非常高的敏感性、特异性和稳定性,对检测紧急免疫前后的动物体内抗猫细小病毒基因工程抗体水平,评估它们的免疫机能,分析动物免疫效果,判断免疫是否成功,提供有力的支持,使病程达到可控的效果,对疾病的诊断与预后提供帮助,对推动猫源化抗体药物的发展具有重要意义。

附图说明

[0025] 为了更清楚地说明本申请实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明中记载的一些实施例,对于本领域普通技术人员来讲,还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0026] 图1为本发明提供的不同工作浓度的抗原和不同浓度的标准抗体的 OD_{450} 值图;

[0027] 图2为本发明提供的不同稀释倍数的酶标抗体的 OD_{450} 值图;

[0028] 图3为本发明提供的特异性实验结果图;

[0029] 图4为本发明提供的敏感性实验结果图。

具体实施方式

[0030] 本发明首先提供了一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒,所述试剂盒包括包被有抗原的酶标板和酶标抗体,所述抗原为FPV-VLPs纯化抗原,所述酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的山羊抗猫IgG抗体。所述试剂盒还包括封闭液、漂洗液和终止液,所述封闭液为包含2%BSA的PBS缓冲液,所述漂洗液为包含0.05%Tween-20的PBS缓冲液,终止液为2M的硫酸溶液。

[0031] 本发明还提供了一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA检测方法,包括以下步骤:

[0032] S1、以制备的FPV-VLPs纯化抗原为包被抗原,用碳酸盐缓冲液稀释包被酶标板;

[0033] S2、标准品抗体用PBS稀释2倍比稀释7个梯度,绘制标准曲线;

[0034] S3、漂洗三次后,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗猫IgG抗体;

[0035] S4、TMB显色,终止液终止,测定反应各孔 OD_{450} 值,根据判定标准进行判断,其中终止液为2M的硫酸溶液。

[0036] 其中,步骤S1包被的温度为 4°C ,包被时间为12h;步骤S1还包括对包被的酶标板进行封闭和漂洗的步骤,封闭过程具体为包含2%BSA的碳酸盐缓冲液在 37°C 下封闭2h,封闭过程结束后,加入包含0.05%Tween-20的PBS缓冲液洗涤三次;步骤S3还包括对酶标板进行漂洗的步骤,孵育酶标抗体过程结束后,加入包含0.05%Tween-20的PBS缓冲液洗涤三次;

步骤S4所述判定标准的确定方法如下:以一组阴性对照样品OD₄₅₀的平均值加3倍标准差作为阳性阈值,以终点滴度表示,即将样品做连续稀释,最高稀释度能出现阳性反应者确定判定标准,阳性反应者的OD₄₅₀>阳性阈值或P/N≥2。

[0037] 优选地,待检测的抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体,包括鼠源可变区和猫源化恒定区,其重链可变区的核苷酸序列如SEQ ID NO.1所示,其重链恒定区基因序列如SEQ ID NO.3所示,其轻链可变区的核苷酸序列如SEQ ID NO.2所示,其轻链恒定区基因序列如SEQ ID NO.4所示。

[0038] 为了使本领域的技术人员更好地理解本发明的技术方案,下面将结合附图对本发明作进一步的详细介绍。显然,所描述的实施例仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部的实施例。基于本发明中的实施例,本领域普通技术人员在没有做出创造性劳动前提下所获得的所有其他实施例,都属于本发明保护的范围。下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的试验材料,如无特殊说明,均为自常规生化试剂商店购买得到的。

[0039] 实施例1抗原包被浓度和标准曲线起始浓度确定

[0040] 标准抗原FPV-VLPs蛋白的制备方法为:将重组杆状病毒按MOI=0.1分别接种悬浮Sf9细胞,培养4天后收获。将接种了FPV抗原的Sf9细胞直接3000rpm离心30min,弃上清,细胞用等体积25mM NaHCO₃悬浮,冰上作用30min,3000rpm离心30min,获得上清,即为含有FPV病毒样颗粒的收获液,使用猪血进行血凝效价的测定,HA为1:216。将其作为本实验的标准抗原蛋白。

[0041] 标准品抗体制备方法为:从感染FPV的猫血中分离血清,经鉴定为中和FPV的抗体,采用纯化Protein A亲和层析柱对FPV抗体进行纯化;首先用10倍柱体积的结合缓冲液(20mM Na₂HPO₄ 0.15M NaCl pH7.0)平衡层析柱,然后上样,样品为离心及0.22μm滤膜过滤的细胞表达上清,流速为1mL/min;最后加入洗脱缓冲液(0.1M甘氨酸盐酸缓冲液pH2.7)洗脱;用5mL EP管收集洗脱的样品,2.4mL/管,每个EP管内需预先加入中和缓冲液(pH=9.0 1M Tris-HCl) 600μL,收集,利用30KD蛋白超滤管浓缩,即得;

[0042] 将标准抗原FPV-VLPs蛋白按8μg/mL、4μg/mL、2μg/mL……0.00390625μg/mL浓度,从左至右倍比稀释,每孔100μL放置于4℃12h。标准品抗体按4μg/mL、2μg/mL、1μg/mL、0.5μg/mL……0.0625μg/mL,从上至下倍比稀释,以PBS作为阴性对照。按单因素变量法,同一标准抗原稀释度加入不同稀释度的阳性抗体标准品,每孔加入100μL,组成方阵。按照上述ELISA检测方法操作步骤进行测定,阳性组OD₄₅₀值≥1.0,阴性对照OD₄₅₀值<0.1-0.2时确定最适抗原包被浓度2μg/mL和标准曲线起始浓度0.25μg/mL,如图1所示。

[0043] 实施例2辣根过氧化物酶标记的山羊抗猫IgG抗体最佳工作浓度的确定

[0044] 按照上述ELISA检测方法操作步骤和确定最适抗原包被浓度2μg/mL和标准曲线起始浓度0.25μg/mL,仅将HRP标记的山羊抗猫IgG抗体稀释成1:3000、1:4000、1:5000、1:6000、1:7000、1:8000进行试验,其余操作不变。重复测试3次,根据阴阳性血清的OD₄₅₀值,测定OD₄₅₀值接近1时,确定HRP标记的山羊抗猫IgG抗体的最佳工作浓度。即当HRP标记的山羊抗猫IgG抗体按1:6000倍稀释时,OD₄₅₀值接近1,确定为最佳工作浓度,如图2所示。

[0045] 实施例3抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒制备

[0046] 根据之前实施例确定的最佳优化条件,以2μg/mL工作浓度将抗原FPV-VLPs蛋白按

照100 μ l/孔加入酶标板,4 $^{\circ}$ C放置12h;以0.05%Tween-20的PBS洗涤液洗涤三次后,加入2%BSA 100 μ L/孔封闭2h;拍干,放置于密封袋。按照用量将酶标抗体试剂,阳性对照样品和阴性对照样品,漂洗液,显色液,终止液分装于试剂瓶。将酶标板和试剂,封板膜组装成试剂盒,2-8 $^{\circ}$ C保存,实验备用。

[0047] 实施例4特异性实验

[0048] 采用实施例3制备的试剂盒按照上述ELISA检测方法操作步骤和已优化条件,分别加入猫细小病毒猫源化基因工程抗体样品(采用申请号201910535002.3的方法制备,浓度为100.58 μ g/mL)、猫疱疹病毒(Feline herpesvirus, FHV)和猫杯状病毒(Feline calicivirus, FCV)阳性对照血清(经猫FHV疫苗,猫FCV疫苗免疫8-9月龄幼猫,采血分离血清制得阳性血清),进行检测,结果如图3,从图中可以看出,FPV组为阳性,FHV组、FCV组均为阴性。由此得出,本发明提供的ELISA试剂盒及其检测方法对FPV病毒抗体具有良好的特异性。

[0049] 实施例5敏感性实验

[0050] 采用实施例3制备的试剂盒按照上述ELISA检测方法操作步骤和已优化条件,仅将制备的抗体(采用申请号201910535002.3的方法制备)按照1:400、1:800、1:1600、1:3200、1:6400、1:12800比例稀释,其他操作不变。从图4中可以看出,本发明提供的检测方法对样品的敏感性大于1:1600。说明利用本发明提供的试剂盒及其检测方法检测样品的敏感性良好。

[0051] 实施例6重复试验

[0052] 分别采用同一批次和不同一批次实施例3方法制备的试剂盒,分别检测FPV基因工程抗体样品1-4(采用申请号201910535002.3的方法制备),每份样品重复3次,结果见表1所示。

[0053] 表1重复性实验结果

[0054]

样品	OD450			平均值	标准差	CV(%)
	A	B	C			
1	1.406	1.468	1.383	1.419	0.044	3.1
2	1.059	1.018	1.074	1.050	0.029	2.8
	D	E	F	—	—	—
3	1.405	1.471	1.351	1.410	0.059	4.2
4	1.274	1.372	1.382	1.343	0.060	4.5

[0055] 表中A、B、C表示待检样品批次内重复测量OD₄₅₀值;D、E和F表示待检样品批次间重复测量OD₄₅₀值。从表中可以看出,批次内试剂盒和批次间试剂盒的检测结果变异系数分别为2.8%-3.1%和4.2%-4.5%,由此看出建立的ELISA检测方法和试剂盒具有良好的精密度。

[0056] 以上只通过说明的方式描述了本发明的某些示范性实施例,毋庸置疑,对于本领域

域的普通技术人员,在不偏离本发明的精神和范围的情况下,可以用各种不同的方式对所描述的实施例进行修正。因此,上述附图和描述在本质上是说明性的,不应理解为对本发明权利要求保护范围的限制。

序列表

<110> 长春西诺生物科技有限公司

<120> 一种抗猫细小病毒的猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒及其检测方法

<160> 4

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 3

<211> 369

<212> DNA

<213> 犬细小病毒 (canine parvovirus)

<400> 3

```
cagggtgcagc tgaagcagtc aggacctggc ctagtgcagc cctcacagag cctgtccatc 60
acctgcacag tctctggttt ctattaact agctatgggt tacactgggt tcgccactct 120
ccaggaaagg gtctggagtg gctgggagtg atatggagtg gtggaagcac agactataat 180
gcagctttca tatccagact gagcatcacc aaggacaatt ccaagacca agttttcttt 240
aaaatgaaca gtctgcaagc taatgacaca gccatatatt actgtgccag aaactccttc 300
tacgggagta cgccagggtc ctatgctatg gactactggg gtcaaggaac ctcagtcacc 360
gtctcctca 369
```

<210> 4

<211> 321

<212> DNA

<213> 犬细小病毒 (canine parvovirus)

<400> 4

```
caaattgttc tcaccagtc tccagcatcc ctgtccatgg ctataggaga aaaagtcacc 60
atcagatgca tagccagcac tgatattgat gatgatatga actggtacca gcagaagcca 120
gggaaacctc ctaacctcct tatttcagaa ggcaatactc ttcgtcctgg agtcccatcc 180
cgattctcca gcagtggtc taagtacagat tttgttttta caattcaaaa catgctctca 240
gaagatgttg cagattacta ctgtttgcaa agtgataact tgccgctcac gttcggtgct 300
gggaccaagc tggagctgaa a 321
```

<210> 9

<211> 1005

<212> DNA

<213> Feline parvovirus

<400> 9

```
gcctccacca cgccccatc ggtgttccca ctggccccca gctgcgggac cacatctggc 60
gccaccgtgg ccctggcctg cctggtgtta ggctacttec ctgagccggt gaccgtgtcc 120
tggaaactcc gcgccctgac cagcgggtgt cacaccttec cgccctctct gcaggcctcg 180
gggctgtact ctctcagcag catggtgaca gtgccctcca gcaggtggct cagtgcaccc 240
ttcacctgca acgtggccca cccgcccagc aacaccaagg tggacaagac cgtgcgcaaa 300
```

acagaccacc caccgggacc caaacctgc gactgtccca aatgcccacc ccctgagatg 360
 cttggaggac cgtccatctt catctttccc caaaaccca aggacaccct ctcgatttcc 420
 cggacgcccc aggtcacatg cttggtggtg gacttgggcc cagatgactc cgatgtccag 480
 atcacatggt ttgtggataa caccaggtg tacacagcca agacgagtcc gcgtgaggag 540
 cagttcaaca gcacctaccg tgtggtcagt gtctcccca tcctgcacca ggactggctc 600
 aaggggaagg agttcaagtg caaggtcaac agcaaatccc tcccctcccc catcgagagg 660
 accatctcca aggacaaaagg acagccccac gagccccagg tgtacgtcct gcctccagcc 720
 caggaggagc tcagcaggaa caaagtcagt gtgacctgcc tgatcgaagg cttctaccg 780
 tctgacattg ccgtcgagtg ggagatcacc ggacagccgg agccagagaa caactaccg 840
 acgaccccg cccagctgga cagcgacggg acctacttcc tgtacagcag gctctcggtg 900
 gacaggtccc gctggcagag gggaaacacc tacacctgct cgggtgtcaca cgaagctctg 960
 cacagccacc acacacagaa atccctcacc cagtctccgg gtaaa 1005

<210> 6

<211> 330

<212> DNA

<213> Feline parvovirus

<400> 6

cggagtgatg ctcagccatc tgtctttctc ttccaacat ctctggacga gttacataca 60
 ggaagtgcct ctatcgtgtg catattgaat gacttctacc ccaaagaggt caatgtcaag 120
 tggaaagtgg atggcgtagt caaaacaaa ggcattcagg agagcaccac agagcagaac 180
 agcaaggaca gcacctacag cctcagcagc acctgacga tgtccagtac ggagtaccaa 240
 agtcatgaaa agttctcctg cgaggctact cacaagagcc tggcctccac cctcgtcaag 300
 agcttcaaca ggagcgagtg tcagagagag 330

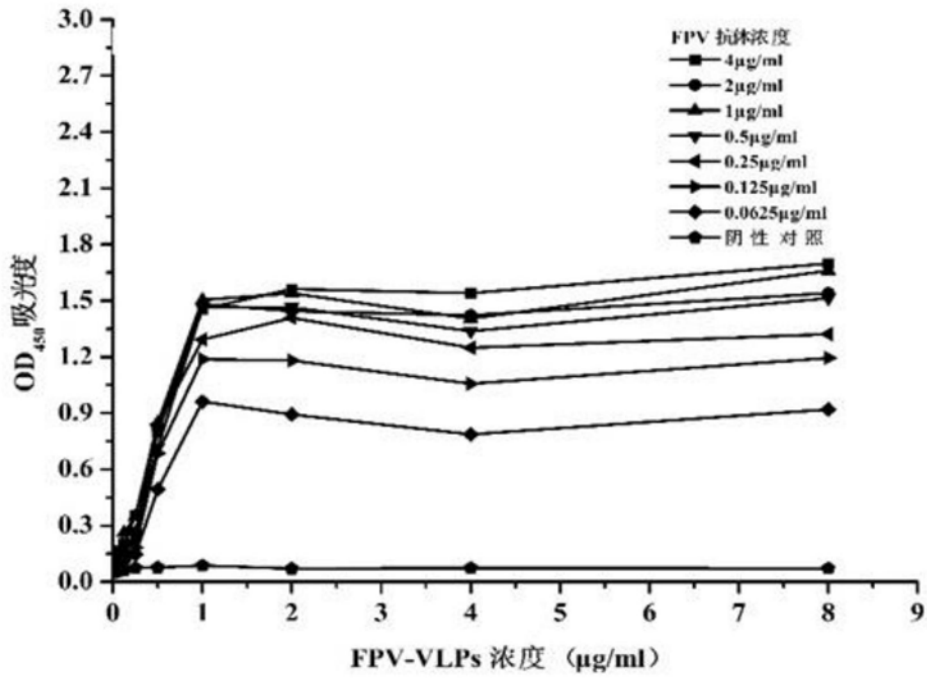


图1

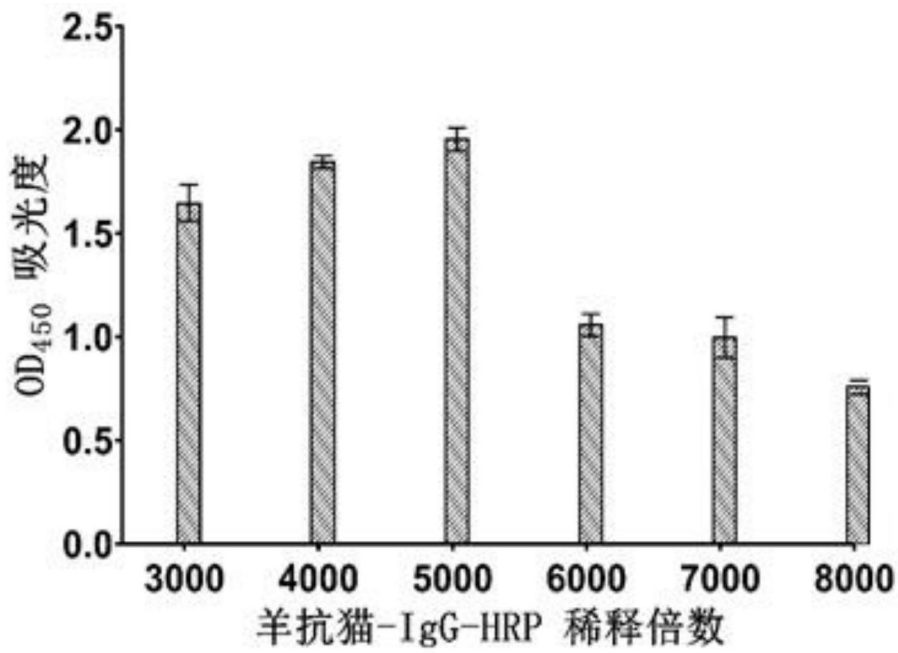


图2

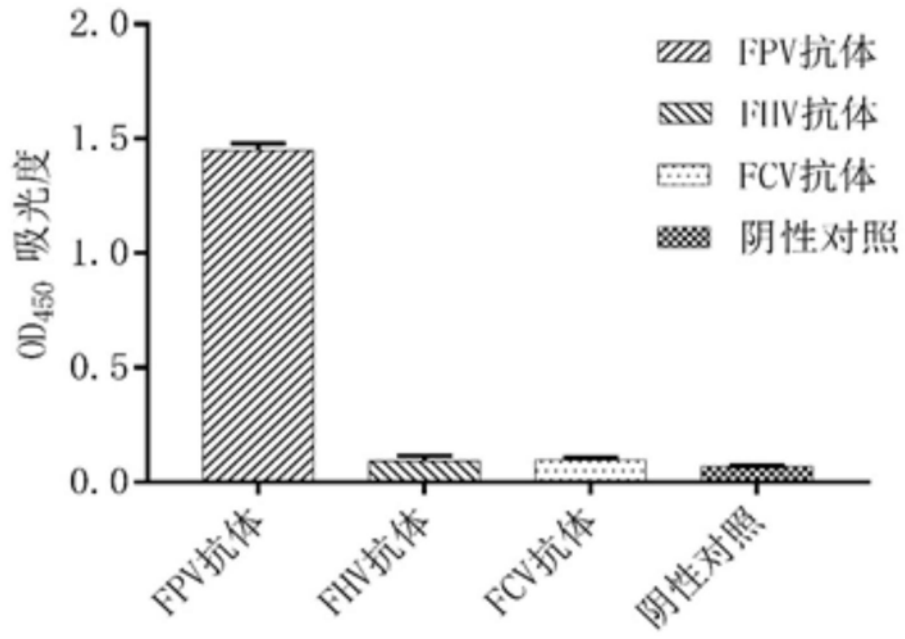


图3

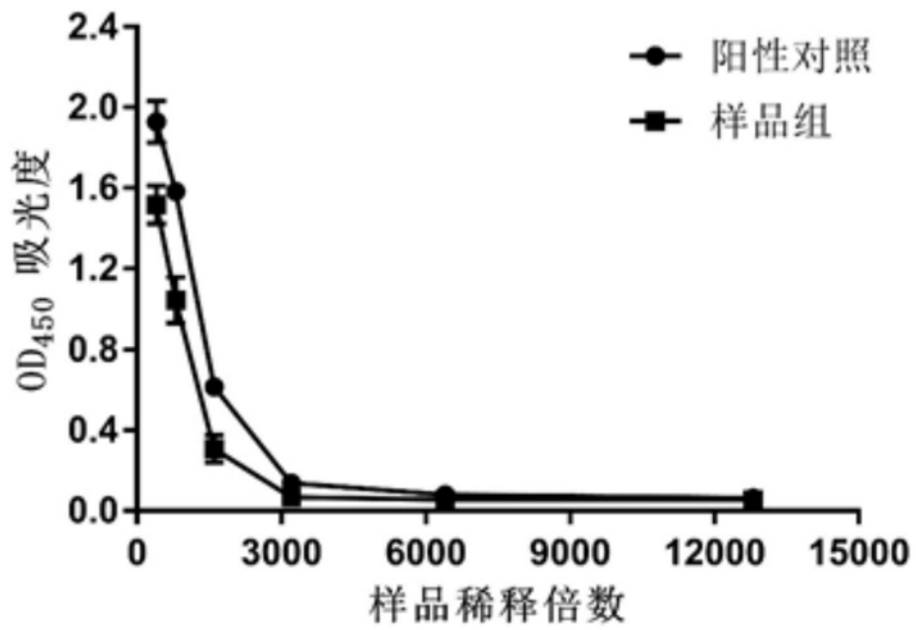


图4

专利名称(译)	一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒及其检测方法		
公开(公告)号	CN110501509A	公开(公告)日	2019-11-26
申请号	CN201910828147.2	申请日	2019-09-03
[标]申请(专利权)人(译)	长春西诺生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	长春西诺生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	长春西诺生物科技有限公司		
[标]发明人	石晶 李雪 殷玉和 赵健 金宏丽 张馨月		
发明人	石晶 李雪 殷玉和 赵健 金宏丽 张馨月		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/569 G01N33/535 G01N33/543		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/543 G01N33/56983 G01N33/6854 G01N2333/015 G01N2333/47		
代理人(译)	刘微		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体ELISA试剂盒及其检测方法，属于基因工程抗体分析检测技术领域，该试剂盒包括包被有抗原的酶标板和酶标抗体；所述抗原为FPV-VLPS纯化抗原，所述酶标抗体为辣根过氧化物酶标记的山羊抗猫IgG抗体。该检测方法包括：包被酶标板，绘制标准曲线，加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗猫IgG抗体，TMB显示，终止液终止，测定反应各孔OD450值，根据判定标准进行判断等步骤。本发明提供的试剂盒及其检测方法对抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体的检测具有非常高的敏感性、特异性及稳定性，为检测紧急免疫前后的动物体内抗猫细小病毒猫源化基因工程抗体水平的研究提供有力支持。

