

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101968482 A

(43) 申请公布日 2011.02.09

(21) 申请号 201010259270.6

(22) 申请日 2010.08.18

(71) 申请人 山西医科大学

地址 030001 山西省太原市新建南路 56 号

(72) 发明人 张苏丽 刘慧荣 杨丽红 田珏

郑荣华 杨晓丽 王瑾 燕子

(74) 专利代理机构 山西五维专利事务所(有限公司) 14105

代理人 杨耀田

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 2 页 序列表 1 页
附图 1 页

(54) 发明名称

一种血管紧张素 II 1 型受体自身抗体的形态学检测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种血管紧张素 II 1 型受体自身抗体(AT1-AA)的形态学检测方法,步骤包括:先合成 AT1R-EC₁₁₇肽段;再将合成的 AT1R-EC₁₁₇肽段标记上辣根过氧化物酶(HRP);待组织取出后,迅速浸入 4%多聚甲醛液中固定,24 小时后石蜡包埋,切片;组织切片经常规脱蜡、水化、高压抗原修复后,滴加 HRP 标记的 AT1R-EC₁₁₇肽段,4℃过夜;最后采用 DAB 显色。本发明利用免疫组织化学法原理,采用合成的抗原定位组织中的自身抗体,不仅能检测到该自身抗体的存在,还能显示自身抗体在组织中的分布特征,为临床相关疾病病理检测提供了新的方法。

1. 一种血管紧张素 II 1 型受体自身抗体的形态学检测方法,其特征在于,包括如下步骤:先合成 AT1R-EC_{II} 肽段;将合成的 AT1R-EC_{II} 肽段标记上辣根过氧化物酶 (HRP);待组织取出后,迅速浸入 4%多聚甲醛液中固定,24 小时后石蜡包埋,切片;组织切片经常规脱蜡、水化、高压抗原修复后,滴加 HRP 标记的 AT1R-EC_{II} 肽段,4℃过夜;最后采用 DAB 显色;所述的 AT1R-EC_{II} 肽段,其氨基酸序列为:SEQ ID NO:1。

2. 如权利要求 1 所述的一种血管紧张素 II 1 型受体自身抗体的形态学检测方法,其特征在于,所述的组织切片厚度为 3-50 μ m。

一种血管紧张素 II 1 型受体自身抗体的形态学检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及自身抗体的检测方法,具体是一种血管紧张素 II 1 型受体自身抗体(AT1-AA)的形态学检测方法。

背景技术

[0002] 传统的免疫组织化学法是用特异性抗体来显示目标蛋白在组织细胞中的分布及表达情况,而用形态学手段来确定一种特异性抗体在机体组织中分布特征的报道甚少。

[0003] 子痫前期是妊娠期特发的母婴皆受累的严重病症,病因复杂难明。近年来,患者血清中 AT1-AA 的发现为该病病因及发病机制的阐明提供了一条新思路。该自身抗体具有 AT1 受体类激动剂样效应,可引发多种与疾病密切相关的病理改变,并且证明 AT1-AA 属于 IgG3 类免疫球蛋白,提示其可能会通过胎盘/乳汁等途径由母体进入后代体内。尽管如此,由于技术问题,目前对于 AT1-AA 的检测主要采用生物学鉴定法,比如酶联免疫吸附法、激光共聚焦共定位、免疫共沉淀等,这些方法或可检测自身抗体的水平,或是通过观察 AT1-AA 与 AT1 受体的特异结合,间接证明该自身抗体的存在,但均不能定位自身抗体的分布。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供一种血管紧张素 II 1 型受体自身抗体的形态学检测方法,该方法能够定位自身抗体的分布。

[0005] 本发明是这样实现的,利用免疫组织化学法原理,先合成特异性识别 AT1-AA 的抗原决定簇——AT1 受体细胞外第二环(AT1R-EC_{II})肽段;将合成的 AT1R-EC_{II} 肽段标记上辣根过氧化物酶(HRP);待组织取出后,迅速浸入 4%多聚甲醛液中固定,24 小时后石蜡包埋,切片;组织切片经常规脱蜡、水化、高压抗原修复后,滴加 HRP 标记的 AT1R-EC_{II} 肽段,4℃过夜;最后采用 DAB 显色。

[0006] 所述的 AT1R-EC_{II} 肽段,起止位置为 I¹⁶⁵-T¹⁹¹,其氨基酸序列为:SEQ ID NO:1。

[0007] 所述的组织切片厚度为 3-50 μm。

[0008] 与现有技术相比本发明的优点:本发明利用免疫组织化学法原理,采用合成的抗原定位组织中的自身抗体,不仅能检测到该自身抗体的存在,还能显示自身抗体在组织中的分布特征,为临床相关疾病病理检测提供了新的方法。

附图说明

[0009] 图 1AT1-AA 在大鼠胎盘绒毛组织中的分布图

具体实施方式

[0010] 实施例 1

[0011] 检测大鼠胎盘组织中 AT1-AA:

[0012] 委托上海吉尔生化有限公司合成 AT1R-EC_{II} 肽段;

[0013] 采用济南泰天和生物科技有限公司生产的 Glue 活化辣根过氧化物酶 A 型试剂盒，将合成的 AT1R-EC_{II} 肽段标记上 HRP；

[0014] 大鼠怀孕 20 天时（临产前），腹腔注射 10% 水合氯醛（0.3ml/100g）进行麻醉。剖宫取出胎盘，用磷酸盐缓冲液（PBS, 0.01M, pH 7.2）经脐静脉充分灌流，待冲洗液彻底清亮后将胎盘组织浸入 4% 多聚甲醛液中固定，石蜡包埋。8 μm 切片，脱蜡水化，3% H₂O₂ 孵育 10min，PBS 冲洗 5min×3 次。高压抗原修复（0.01M 枸橼酸钠缓冲液，pH 6.0, 270℃, 10min），PBS 冲洗 5min×3 次，滴加 HRP 标记的 AT1R-EC_{II} 肽段 [5% PMT (0.01M PBS+5% BSA), 1:100 稀释] 后 4℃ 过夜。PBS 冲洗 5min×3 次。DAB 显色。脱水、透明、封片。常规免疫组化法检测胎盘中总 IgGs 作为阳性对照。

[0015] 结果见图 1，在含有大量 AT1-AA 的免疫组 Wistar 孕鼠胎盘绒毛的滋养层细胞及血管内皮细胞处均有明显黄染，证明有 AT1-AA 表达（短箭头），其分布与总 IgGs 一致（长箭头）；而不含 AT1-AA 的阴性组大鼠胎盘组织中有一般 IgGs 通过，却无特异性 AT1-AA 存在。直接证明母体中的 AT1-AA 可以通过胎盘转给其后代。

[0001]

SEQUENCE LISTING

<110> 山西医科大学

<120> 一种血管紧张素 II 1 型受体自身抗体的形态学检测方法

<130>

<160> 1

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 26

<212> PRT

<213> Human

<400> 1

Ile His Arg Asn Val Phe Phe Ile Glu Asn Thr Asn Ile Thr Val Cys
1 5 10 15

Ala Phe His Tyr Glu Ser Gln Asn Ser Thr
 20 25

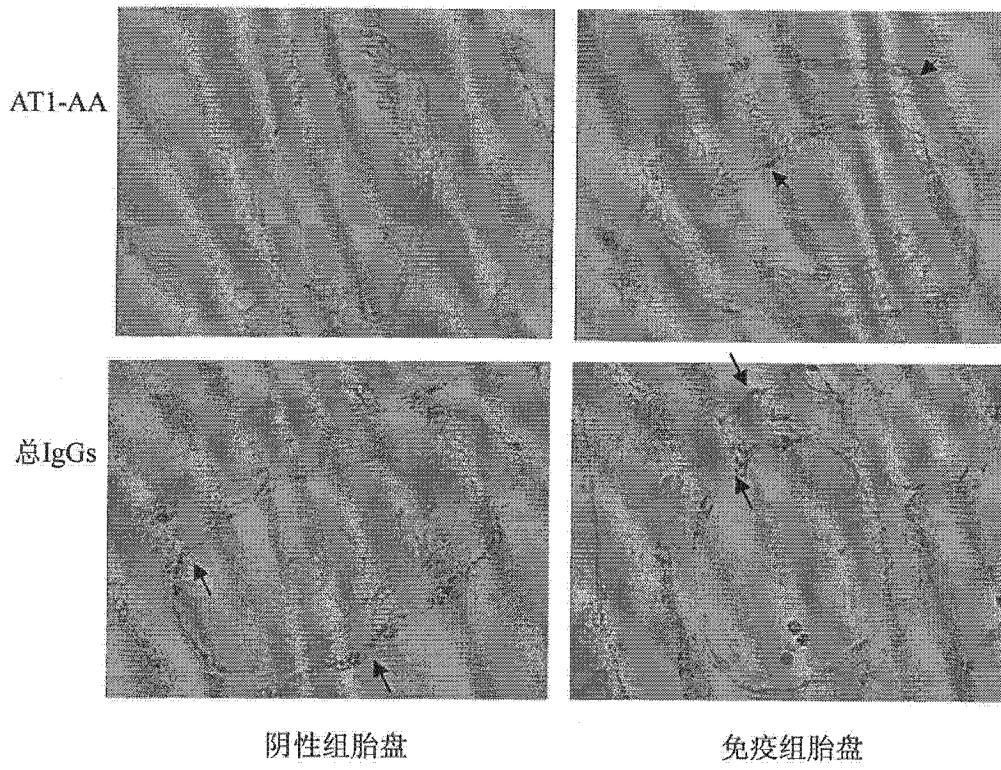


图 1

专利名称(译)	一种血管紧张素II1型受体自身抗体的形态学检测方法		
公开(公告)号	CN101968482A	公开(公告)日	2011-02-09
申请号	CN201010259270.6	申请日	2010-08-18
[标]申请(专利权)人(译)	山西医科大学		
申请(专利权)人(译)	山西医科大学		
当前申请(专利权)人(译)	山西医科大学		
[标]发明人	张苏丽 刘慧荣 杨丽红 田珏 郑荣华 杨晓丽 王瑾 燕子		
发明人	张苏丽 刘慧荣 杨丽红 田珏 郑荣华 杨晓丽 王瑾 燕子		
IPC分类号	G01N33/53		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种血管紧张素II 1型受体自身抗体(AT1-AA)的形态学检测方法,步骤包括:先合成AT1R-ECII肽段;再将合成的AT1R-ECII肽段标记上辣根过氧化物酶(HRP);待组织取出后,迅速浸入4%多聚甲醛液中固定,24小时后石蜡包埋,切片;组织切片经常规脱蜡、水化、高压抗原修复后,滴加HRP标记的AT1R-ECII肽段,4°C过夜;最后采用DAB显色。本发明利用免疫组织化学法原理,采用合成的抗原定位组织中的自身抗体,不仅能检测到该自身抗体的存在,还能显示自身抗体在组织中的分布特征,为临床相关疾病病理检测提供了新的方法。