



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109507417 A

(43)申请公布日 2019.03.22

(21)申请号 201811499962.0

(22)申请日 2018.12.07

(71)申请人 华侨大学

地址 362000 福建省泉州市丰泽区城东城
华北路269号

(72)发明人 林雪霞 俞彩云 林洪贵

(74)专利代理机构 厦门市首创君合专利事务所
有限公司 35204

代理人 张松亭 姜谧

(51)Int.Cl.

G01N 33/535(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

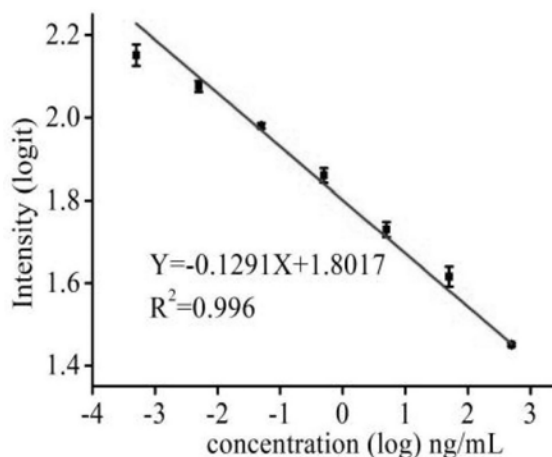
权利要求书1页 说明书3页
序列表1页 附图1页

(54)发明名称

一种检测体液中IgE的试剂盒

(57)摘要

本发明公开了一种检测体液中IgE的试剂盒,包括至少一酶标板和一检测试剂组。至少一酶标板包被有如SEQ ID NO 01所示的功能核酸;检测试剂组包括血红素溶液、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐溶液、过氧化氢溶液、十二烷基磺酸钠溶液、不同浓度的标准IgE溶液和缓冲液。本发明的试剂盒采用基于功能寡核苷酸链的免疫法结合可见吸收检测技术对体液样品检测,能够定量检测体液中的IgE的含量,其使用方法简单快捷,使用寿命长。



1. 一种检测体液中IgE的试剂盒,其特征在于:包括:
至少一酶标板,包被有如SEQ ID NO 01所示的功能核酸;
和一检测试剂组,包括血红素溶液、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐溶液、过氧化氢溶液、十二烷基磺酸钠溶液、不同浓度的标准IgE溶液和缓冲液;
其使用方法包括如下步骤:
(1) 将待测体液离心后,获得上清液;
(2) 将上述不同浓度的标准IgE溶液与上述缓冲液混合后,滴入上述酶标板的反应孔中进行孵育,再用缓冲液进行清洗;
(3) 将上述上清液与上述缓冲液混合后,滴加入上述酶标板的其余的反应孔的至少其中之一进行孵育,再用缓冲液进行清洗;
(4) 将血红素溶液滴入步骤(2)和(3)的清洗后的酶标板的反应孔,接着加入2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐溶液和过氧化氢溶液的混合液构成反应体系进行反应,然后加入十二烷基磺酸钠溶液终止反应,最后通过肉眼进行颜色的辨别或者通过酶标仪进行波长的检测,根据不同浓度的标准IgE溶液制作定量标准曲线,再根据该定量标准曲线获得待测体液中的IgE的浓度。
2. 如权利要求1所述的试剂盒,其特征在于:所述缓冲液为含有0.08~0.12wt%吐温20的0.008~0.012mM NaCl-KCl-Na₂HPO₄-KH₂PO₄溶液。
3. 如权利要求1所述的试剂盒,其特征在于:所述十二烷基磺酸钠溶液的浓度为4~6wt%。
4. 如权利要求1至3中任一权利要求所述的试剂盒,其特征在于:所述反应体系中,血红素、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐和过氧化氢的摩尔比为1:3~18:36~216。
5. 如权利要求4所述的试剂盒,其特征在于:所述反应体系中,血红素、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐和过氧化氢的摩尔比为1:18:108。
6. 如权利要求4所述的试剂盒,其特征在于:所述反应体系中,血红素的浓度为0.1mM,2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐的浓度为0.3~1.8mM,过氧化氢的浓度为3.6~21.6mM。
7. 如权利要求6所述的试剂盒,其特征在于:所述反应体系中,血红素的浓度为0.1mM,2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐的浓度为1.8mM,过氧化氢的浓度为10.8mM。

一种检测体液中IgE的试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于生物技术领域,具体涉及一种检测体液中IgE的试剂盒。

背景技术

[0002] 免疫球蛋白E (IgE), 是医院常规检测项目, 在过敏性疾病的炎症反应中发挥了重要作用, 是哮喘的主要临床特征, 也是引起哮喘发生发展的关键环节之一。研究还表明, IgE 与包括AIDS在内的免疫缺陷疾病相关。所以, 快速、准确地检测IgE, 在疾病预防、诊断和治疗方面意义重大。传统的IgE检测分析基于抗体-抗原的免疫分析方法, 如放射免疫法、酶联免疫法、免疫投射比浊法、免疫印迹法等。但IgE的抗体制备比较繁琐, 固定的生物活性抗体保存时间有限且易失活, 系统进行测量反应时对含IgE的样品纯度要求又比较高, 因而限制了这两种免疫分析的发展。

发明内容

[0003] 本发明的目的在于克服现有技术缺陷, 提供一种检测体液中IgE的试剂盒。

[0004] 本发明的技术方案如下:

[0005] 一种检测体液中IgE的试剂盒, 包括:

[0006] 至少一酶标板, 包被有如SEQ ID NO 01所示的功能核酸;

[0007] 和一检测试剂组, 包括血红素溶液、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐溶液、过氧化氢溶液、十二烷基磺酸钠溶液、不同浓度的标准IgE溶液和缓冲液;

[0008] 其使用方法包括如下步骤:

[0009] (1) 将待测体液离心后, 获得上清液;

[0010] (2) 将上述不同浓度的标准IgE溶液与上述缓冲液混合后, 滴入上述酶标板的反应孔中进行孵育, 再用缓冲液进行清洗;

[0011] (3) 将上述上清液与上述缓冲液混合后, 滴加入上述酶标板的其余的反应孔的至少其中之一进行孵育, 再用缓冲液进行清洗;

[0012] (4) 将血红素溶液滴入步骤(2)和(3)的清洗后的酶标板的反应孔, 接着加入2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐溶液和过氧化氢溶液的混合液构成反应体系进行反应, 然后加入十二烷基磺酸钠溶液终止反应, 最后通过肉眼进行颜色的辨别或者通过酶标仪进行波长的检测, 根据不同浓度的标准IgE溶液制作定量标准曲线, 再根据该定量标准曲线获得待测体液中的IgE的浓度。

[0013] 在本发明的一个优选实施方案中, 所述缓冲液为含有0.08~0.12wt%吐温20的0.008~0.012mM NaCl-KCl-Na₂HPO₄-KH₂PO₄溶液。

[0014] 在本发明的一个优选实施方案中, 所述十二烷基磺酸钠溶液的浓度为4~6wt%。

[0015] 在本发明的一个优选实施方案中, 所述反应体系中, 血红素、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐和过氧化氢的摩尔比为1:3~18:36~216。

[0016] 进一步优选的, 所述反应体系中, 血红素、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺

酸)二铵盐和过氧化氢的摩尔比为1:18:108。

[0017] 进一步优选的,所述反应体系中,血红素的浓度为0.1mM,2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐的浓度为0.3~1.8mM,过氧化氢的浓度为3.6~21.6mM。

[0018] 更进一步优选的,所述反应体系中,血红素的浓度为0.1mM,2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐的浓度为1.8mM,过氧化氢的浓度为10.8mM。

[0019] 本发明的有益效果是:本发明的试剂盒采用基于功能寡核苷酸链的免疫法结合可见吸收检测技术对体液样品检测,能够定量检测体液中的IgE的含量,其使用方法简单快捷,使用寿命长。

附图说明

[0020] 图1为本发明实施例2中的定量标准曲线。

具体实施方式

[0021] 以下通过具体实施方式对本发明的技术方案进行进一步的说明和描述。

[0022] 实施例1

[0023] 一种检测体液中IgE的试剂盒,包括:

[0024] 至少一酶标板,包被有如SEQ ID NO 01所示的功能核酸;

[0025] 和一检测试剂组,包括血红素溶液、2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐溶液、过氧化氢溶液、十二烷基磺酸钠溶液、不同浓度的标准IgE溶液和缓冲液;缓冲液为含有0.01wt%吐温20的0.01mM NaCl-KCl-Na₂HP0₄-KH₂PO₄溶液,所述十二烷基磺酸钠溶液的浓度为5wt%;

[0026] 其使用方法包括如下步骤:

[0027] (1)将待测体液离心后,获得上清液;

[0028] (2)将上述不同浓度的标准IgE溶液与上述缓冲液混合后,滴入上述酶标板的反应孔中进行孵育,再用缓冲液进行清洗;

[0029] (3)将上述上清液与上述缓冲液混合后,滴加入上述酶标板的其余的反应孔的至少其中之一进行孵育,再用缓冲液进行清洗;

[0030] (4)将血红素溶液滴入步骤(2)和(3)的清洗后的酶标板的反应孔,接着加入2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐溶液和过氧化氢溶液的混合液构成反应体系进行反应,然后加入十二烷基磺酸钠溶液终止反应,最后通过肉眼进行颜色的辨别或者通过酶标仪进行波长的检测,根据不同浓度的标准IgE溶液制作定量标准曲线,再根据该定量标准曲线获得待测体液中的IgE的浓度。所述反应体系中,血红素的浓度为0.1mM,2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐的浓度为1.8mM,过氧化氢的浓度为10.8mM。

[0031] 实施例2

[0032] 用实施例1的试剂盒检测尿液中的IgE含量,包括如下步骤:

[0033] (1)将尿液样品4000rpm离心3min后,获得上清液;

[0034] (2)将上述不同浓度的标准IgE溶液与上述缓冲液以1:1的体积比混合后,以100μL/孔的量滴入上述酶标板的反应孔中于37℃孵育5min,再用缓冲液以200μL/孔的量清洗3次;

[0035] (3) 将上述上清液与上述缓冲液以1:1的体积比混合后(可将其保存在-70℃冰箱备用),以100μL/孔的量滴加入上述酶标板的其余的反应孔的至少其中之一于37℃孵育5min孵育,再用缓冲液以200μL/孔的量清洗3次;

[0036] (4) 将100μL血红素溶液滴入步骤(2)和(3)的清洗后的酶标板的反应孔,接着加入100μL 2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐溶液和过氧化氢溶液的混合液构成反应体系室温下进行反应10min,然后加入十二烷基磺酸钠溶液终止反应,最后通过酶标仪进行420nm波长的检测,根据不同浓度的标准IgE溶液制作如图1所示的定量标准曲线,从图1中可见,当IgE浓度增加时,检测信号明显增加,并且在 10^{-3} 和 10^3 之间形成良好的线性,线性范围宽。利用图1所得的结果,与待测样本的检测结果进行回代分析,可以对待测样本中IgE进行快速、及时的定量检测。上述各反应体系中,血红素的浓度为0.1mM,2,2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐的浓度为1.8mM,过氧化氢的浓度为10.8mM。

[0037] 在对尿液样本进行检测前,先使用实施例1中的试剂盒及其方法和其它蛋白的特异性性考察,用交叉反应率表示,交叉反应率越低,所用功能核酸的特异性越高,方法的测定结果越真实。其中PDGF-BB、VEGF、EGF、IgG浓度为IgE浓度的10倍,结果说明本发明的方法具有良好的选择性,具体结果见表1:

[0038] 表1其他蛋白与IgE在本发明中的交叉反应

[0039]

名称	交叉率(%)
IgE	100
IgG	0.32
BSA	<0.10
VEGF	<0.10
EGF	<0.10
PDGF-BB	<0.10

[0040] 以上所述,仅为本发明的较佳实施例而已,故不能依此限定本发明实施的范围,即依本发明专利范围及说明书内容所作的等效变化与修饰,皆应仍属本发明涵盖的范围内。

序列表

<110> 华侨大学

<120> 一种检测体液中IgE的试剂盒

<160> 1

<170> SIP0SequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 77

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 1

aactcagggg cacgtttatc cgtccctcct agtggcgtgc cccgcgctat atagtgggtc 60

attgtgggtg ggtgtgg 77

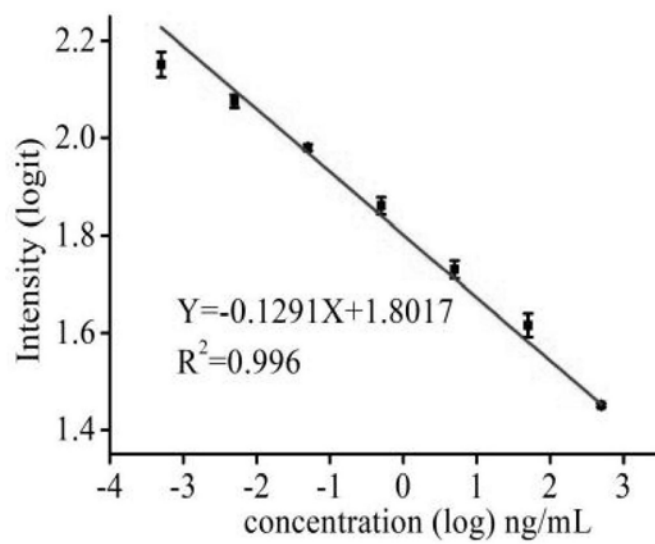


图1

专利名称(译)	一种检测体液中IgE的试剂盒		
公开(公告)号	CN109507417A	公开(公告)日	2019-03-22
申请号	CN201811499962.0	申请日	2018-12-07
申请(专利权)人(译)	华侨大学		
当前申请(专利权)人(译)	华侨大学		
[标]发明人	林雪霞 俞彩云 林洪贵		
发明人	林雪霞 俞彩云 林洪贵		
IPC分类号	G01N33/535 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/535 G01N33/6854		
代理人(译)	张松亭 姜谧		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种检测体液中IgE的试剂盒，包括至少一酶标板和一检测试剂组。至少一酶标板包被有如SEQ ID NO 01所示的功能核酸；检测试剂组包括血红素溶液、2，2-联氮-二(3-乙基-苯并噻唑-6-磺酸)二铵盐溶液、过氧化氢溶液、十二烷基磺酸钠溶液、不同浓度的标准IgE溶液和缓冲液。本发明的试剂盒采用基于功能寡核苷酸链的免疫法结合可见吸收检测技术对体液样品检测，能够定量检测体液中的IgE的含量，其使用方法简单快捷，使用寿命长。

