



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104345142 A

(43) 申请公布日 2015. 02. 11

(21) 申请号 201310343749. 1

(22) 申请日 2013. 08. 08

(71) 申请人 北京和杰创新生物医学科技有限公司

地址 100000 北京市昌平区回龙观镇生命园路 29 号孵化科研生产大楼 B 座 203 — 204

(72) 发明人 贾江涛

(74) 专利代理机构 天津三元专利商标代理有限公司 12203

代理人 胡婉明

(51) Int. Cl.

G01N 33/531 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书3页

(54) 发明名称

提升包被核周因子抗原活性的工艺方法

(57) 摘要

本发明提供一种提升包被核周因子抗原活性的工艺方法,其包括以下步骤:(1) 将取自正常人待脱落的颊粘膜细胞进行分离纯化,选用涂片方法将颊粘膜细胞包被于载玻片对应的孔径内;(2) 将恒温干燥箱调至 $35\pm 5^{\circ}\text{C}$,使涂好的细胞载片在干燥箱内恒温干燥 40 分钟至 100 分钟,干燥后的成品为颊粘膜细胞载片,即获得包被的核周因子抗原;通过改变抗原的处理方式,使抗原的高级结构得以保存,保留更多的抗原决定簇,能够结合更多的特异性抗体,从而有效提升抗原的反应活性。

1. 一种提升包被核周因子抗原活性的工艺方法,其特征在于,包括以下步骤:(1) 将取自正常人待脱落的颊粘膜细胞进行分离纯化,选用涂片方法将颊粘膜细胞包被于载玻片对应的孔径内;(2) 将恒温干燥箱调至 $35 \pm 5^{\circ}\text{C}$,使涂好的细胞载片在干燥箱内恒温干燥 40 分钟至 100 分钟,干燥后的成品为颊粘膜细胞载片,即获得包被的核周因子抗原。

2. 根据权利要求 1 所述的提升包被核周因子抗原活性的工艺方法,其特征在于,所述选用涂片方法将颊粘膜细胞包被于载玻片对应的孔径内的操作步骤是,用高压灭菌后海绵刮取口腔内待脱落颊粘膜细胞,采用离心方式将颊粘膜细胞纯化计数,按 10 万细胞 /ml 的浓度进行涂片,每孔涂片量为 5 至 20 微升。

3. 根据权利要求 1 所述的提升包被核周因子抗原活性的工艺方法,其特征在于,所述干燥箱的型号为 LEICA 3420。

4. 如权利要求 1 所述提升包被核周因子抗原活性的工艺方法在间接免疫荧光试验纯化中的应用。

提升包被核周因子抗原活性的工艺方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种提升包被核周因子抗原活性的工艺方法。

背景技术

[0002] 目前,免疫学检测技术及其产品已广泛应用于重大传染性疾病、自身免疫性疾病、肿瘤标志物、食品安全及优生优育等众多检测领域,在这些检测技术如间接免疫荧光试验、酶联免疫吸附试验、酶联免疫斑点法试验以及胶体金快速检测等试验中,抗原的包被都是检测前必不可少的重要环节。目前抗原的包被都是根据抗原自身的特点,如等电点、自身结构、所带电荷等选择相应的包被方法,包被的结果是通过物理或化学作用使抗原吸附于包被载体表面,使得后续的免疫反应得以进行。现有包被技术所忽略的问题是抗原吸附于载体表面后所产生的空间结构变化,这种变化会导致位于抗原表面的一部分抗原决定簇埋藏于抗原结构内部,无法与其对应的特异性抗体发生结合,由此而产生的特异性结合的抗体数量就会减少,最终导致检测灵敏度水平有所下降。因而如何解决抗原表面的抗原决定簇减少这个问题,成为提升抗原反应活性、提高检测灵敏度水平以及改善产品性能的关键。因此,有待研究提升抗原反应活性的方法。

发明内容

[0003] 本发明的主要目的在于克服现有产品存在的上述缺点,而提供一种提升包被核周因子抗原活性的工艺方法,通过改变抗原的处理方式,使抗原的高级结构得以保存,保留更多的抗原决定簇,能够结合更多的特异性抗体,从而有效提升抗原的反应活性。

[0004] 本发明的目的是由以下技术方案实现的。

[0005] 本发明提升包被核周因子抗原活性的工艺方法,其特征在于,包括以下步骤:(1)将取自正常人待脱落的颊粘膜细胞进行分离纯化,选用涂片方法将颊粘膜细胞包被于载玻片对应的孔径内;(2)将恒温干燥箱调至 $35\pm 5^{\circ}\text{C}$,使涂好的细胞载片在干燥箱内恒温干燥40分钟至100分钟,干燥后的成品为颊粘膜细胞载片,即获得包被的核周因子抗原。

[0006] 前述的提升包被核周因子抗原活性的工艺方法,其中,所述选用涂片方法将颊粘膜细胞包被于载玻片对应的孔径内的操作步骤是,用高压灭菌后海绵刮取口腔内待脱落颊粘膜细胞,采用离心方式将颊粘膜细胞纯化计数,按10万细胞/ml的浓度进行涂片,每孔涂片量为5至20微升。

[0007] 前述的提升包被核周因子抗原活性的工艺方法,其中,所述干燥箱的型号为LEICA 3420。

[0008] 本发明权利要求1所述提升包被核周因子抗原活性的工艺方法在间接免疫荧光试验纯化中的应用。

[0009] 本发明提升包被核周因子抗原活性的工艺方法的有益效果,通过改变抗原的处理方式,使抗原的高级结构得以保存,保留更多的抗原决定簇,能够结合更多的特异性抗体,从而有效提升抗原的反应活性。影响包被核周因子抗原活性的因素有很多,其中颊粘膜细

胞纯化方法、细胞涂片密度、干燥方法、干燥温度、干燥时间的选择至关重要,本发明采用特定的涂片密度、有效的干燥方法和干燥条件获得的包被核周因子抗原阳性检出率提高到 83.3%,可见与现有技术相比,采用本发明工艺方法能够有效提升包被核周因子抗原的反应活性。

具体实施方式

[0010] 本发明提升包被核周因子抗原活性的工艺方法,其包括以下步骤:(1) 将取自正常人待脱落的颊粘膜细胞进行分离纯化,选用涂片方法将颊粘膜细胞包被于载玻片对应的孔径内;(2) 将恒温干燥箱调至 $35 \pm 5^{\circ}\text{C}$,使涂好的细胞载片在干燥箱内恒温干燥 40 分钟至 100 分钟,干燥后的成品为颊粘膜细胞载片,即获得包被的核周因子抗原。

[0011] 本发明提升包被核周因子抗原活性的工艺方法,其中,所述选用涂片方法将颊粘膜细胞包被于载玻片对应的孔径内的操作步骤是,用高压灭菌后海绵刮取口腔内待脱落颊粘膜细胞,采用离心方式将颊粘膜细胞纯化计数,按 10 万细胞/ml 的浓度进行涂片,每孔涂片量为 5 至 20 微升。所述干燥箱的型号为 LEICA 3420。

[0012] 本发明权利要求 1 所述提升包被核周因子抗原活性的工艺方法在间接免疫荧光试验纯化中的应用。

[0013] 实施例 1

[0014] 采用 ELISA 方法检测的核周因子抗体阴阳性血清,其中 1 至 30 例为阳性样本血清,31 至 50 例为阴性样本血清。

[0015] A 组:使用现有技术包被抗原后的检测结果。

[0016] B 组:取材用高压灭菌后海绵刮取口腔内待脱落颊粘膜细胞,采用离心方式将颊粘膜细胞纯化计数,按 10 万细胞/ml 的浓度进行涂片,每孔涂片量为 10 微升,获得的颊粘膜细胞载片就是所要的包被核周因子抗原。

[0017] C 组:(1) 包被:取材用高压灭菌后海绵刮取口腔内待脱落颊粘膜细胞,采用离心方式将颊粘膜细胞纯化计数,按 10 万细胞/ml 的浓度进行涂片,每孔涂片量为 10 微升。

[0018] (2) 干燥:选用型号为 3420 LEICA 干燥箱,干燥温度为 35 度,干燥时间 1h,采用恒温干燥方式,通过此方法获得本发明的包被核周因子抗原。

[0019] 通过抗原抗体反应对比以上三组实验的效果。结果见表 1。

[0020] 表 1:

		核周因子阳性	核周因子阴性	阳性检出率
		(30 例)	(20 例)	
[0021]	A	16 例	20 例	53.3%
	B	20 例	20 例	66.7%
	C (本发明)	25 例	20 例	83.3%

[0022] 表 1 结果表明：本发明提升包被核周因子抗原活性的工艺方法可有效提升包被核周因子抗原的反应活性，提高检测灵敏度水平。

[0023] 本发明实施例中未进行说明的内容为现有技术，故，不再进行赘述。

[0024] 本发明提升包被核周因子抗原活性的工艺方法的特点：通过提取正常人待脱落颊粘膜细胞的纯化方法，将阳性细胞数大于 5 个的细胞提供者细胞包被到载体吸附后在一定温度烘干后处理来达到提升包被抗原的反应活性，提高检测灵敏度的目的。正常人类粘膜细胞纯化过程比较简单，细胞中的活性成分能够有效保存，细胞不经固定即可进行涂片，操作时间段细胞没有丧失水分和收缩，易保持体内原有状态，可有效保存抗原的高级结构，弥补吸附载体后产生的构象变化所引起的抗原表面抗原决定簇减少的问题，同时又避免了对于抗原高级结构整体性地破坏，不会干扰免疫反应。烘干的处理方式会使抗原在处理过程中保持活性稳定，较长的处理时间会使处理效果达到最终的平衡，使差异化降到最低的程度。

[0025] 以上所述，仅是本发明的较佳实施例而已，并非对本发明作任何形式上的限制，凡是依据本发明的技术实质对以上实施例所作的任何简单修改、等同变化与修饰，均仍属于本发明技术方案的范围内。

专利名称(译)	提升包被核周因子抗原活性的工艺方法		
公开(公告)号	CN104345142A	公开(公告)日	2015-02-11
申请号	CN201310343749.1	申请日	2013-08-08
[标]申请(专利权)人(译)	北京和杰创新生物医学科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京和杰创新生物医学科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京和杰创新生物医学科技有限公司		
[标]发明人	贾江涛		
发明人	贾江涛		
IPC分类号	G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531		
代理人(译)	胡婉明		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种提升包被核周因子抗原活性的工艺方法，其包括以下步骤：(1)将取自正常人待脱落的颊粘膜细胞进行分离纯化，选用涂片方法将颊粘膜细胞包被于载玻片对应的孔径内；(2)将恒温干燥箱调至 $35\pm5^{\circ}\text{C}$ ，使涂好的细胞载片在干燥箱内恒温干燥40分钟至100分钟，干燥后的成品为颊粘膜细胞载片，即获得包被的核周因子抗原；通过改变抗原的处理方式，使抗原的高级结构得以保存，保留更多的抗原决定簇，能够结合更多的特异性抗体，从而有效提升抗原的反应活性。

	核周因子阳性 (30 例)	核周因子阴性 (20 例)	阳性检出率
A	16 例	20 例	53.3%
B	20 例	20 例	66.7%
C (本发明)	25 例	20 例	83.3%