



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 109521193 B

(45) 授权公告日 2021.03.19

(21) 申请号 201811305886.5

(22) 申请日 2018.11.05

(65) 同一申请的已公布的文献号  
申请公布号 CN 109521193 A

(43) 申请公布日 2019.03.26

(73) 专利权人 暨南大学  
地址 510632 广东省广州市天河区黄埔大道西601号

(72) 发明人 陈填烽 林智明 刘婷 贺利贞 张曦

(74) 专利代理机构 广州市华学知识产权代理有限公司 44245  
代理人 苏运贞

(51) Int. Cl.  
G01N 33/533 (2006.01)

(56) 对比文件  
CN 102327620 A, 2012.01.25  
CN 101165491 A, 2008.04.23  
Domljanovic I等.Complexes of DNA with Fluorescent Dyes are Effective Reagents

for Detection of Autoimmune Antibodies.《Scientific Reports》.2017,第7卷  
Ezhuthupurakkal P.B.等.Selenium Nanoparticles Synthesized in Aqueous Extract of Allium Sativum Perturbs the Structural Integrity of Calf Thymus DNA through Intercalation and Groove Binding.《Materials Science and Engineering C》.2017,第74卷

范瑾瑾等.石蜡切片多重免疫荧光染色优化条件探讨.《中山大学学报(医学版)》.2018,第39卷(第5期),参见1.2部分和第3部分.

Pansare A.V.等.hsDNA Groove Binding, Photocatalytic Activity, and in vitro Breast and Colon Cancer Cell Reducing Function of Greener SeNPs.《Dalton Transactions》.2016,第45卷

靖静.纳米硒的制备及其在侧向免疫层析中的应用.《全国优秀硕士论文全文数据库》.2018,参见1.2.3和第二部分.

审查员 毕秀华

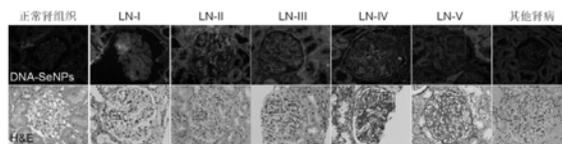
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54) 发明名称

DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用

(57) 摘要

本发明公开了DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用。本发明DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用,是基于本发明发明人发现将DNA免疫吸附剂用于免疫荧光,可定性分析肾组织中沉积的抗dsDNA抗体,同时可特异性确认抗dsDNA抗体在肾组织中的沉积和分布,且方法简单易操作,适于制备检测和分析狼疮肾和红斑狼疮的试剂。



1. 一种用于荧光免疫染色的抗 dsDNA 抗体检测试剂,其特征在在于:是在 DNA 免疫吸附剂上标记荧光显示剂得到;

所述的 DNA 免疫吸附剂为 DNA-SeNPs;

所述的 DNA-SeNPs 是通过纳米硒负载用于与抗 dsDNA 抗体结合的 DNA 得到的 DNA-SeNPs;

所述的用于荧光免疫染色的抗 dsDNA 抗体检测试剂通过如下步骤制备得到:

(1) 将无机硒溶液和荧光显示剂溶液混合,得到混合液 A;

(2) 将混合液 A 和还原剂混合,反应,得到反应物 A;

(3) 将用于与抗 dsDNA 抗体结合的 DNA 溶液和反应物 A 混合,反应,纯化,得到用于荧光免疫染色的抗 dsDNA 抗体检测试剂;

步骤(1)中所述的无机硒为亚硒酸、亚硒酸盐和二氧化硒中的一种或至少两种;

步骤(1)中所述的荧光显示剂的用量按其与无机硒中硒的量=5~15 mg:1 mmol 配比计算;

步骤(2)中所述的还原剂为维生素 C、硼氢化钠、巯基乙醇、还原型谷胱甘肽、葡萄糖和五水硫代硫酸钠中的一种或至少两种;

步骤(2)中所述的还原剂和所述的无机硒的用量按摩尔比 3~10:1 配比计算;

步骤(3)中所述的用于与抗 dsDNA 抗体结合的 DNA 的用量按其与所述的反应物 A 中

硒的量=0.1~5 mg:1  $\mu$ mol 配比计算。

2. 根据权利要求 1 所述的用于荧光免疫染色的抗 dsDNA 抗体检测试剂,其特征在在于:所述的荧光显示剂为香豆素-6。

3. 根据权利要求 1 或 2 所述的用于荧光免疫染色的抗 dsDNA 抗体检测试剂,其特征在在于:

步骤(3)中所述的用于与抗 dsDNA 抗体结合的 DNA 为双链 DNA;

步骤(3)中所述的反应的温度为 0~10°C;

步骤(3)中所述的纯化的方式为使用透析袋透析;

所述的透析袋的规格为 6000~8000 kDa;

所述的透析的时间为 12~48 h。

4. 权利要求 1~3 任一项所述的用于荧光免疫染色的抗 dsDNA 抗体检测试剂在非诊断目的的肾切片检测中的应用,其特征在在于包括如下步骤:

(1) 脱蜡至水:将肾石蜡切片依次浸入脱水:二甲苯 I 10 min,二甲苯 II 5 min,无水乙醇 I 10 min,无水乙醇 II 5 min,95%乙醇 I 5 min,95%乙醇 II 5 min,90%乙醇 I 5 min,

90%乙醇 II 5 min,80%乙醇 5 min;蒸馏水洗 2 min;

(2) 抗原修复:取 12 mL 50  $\times$  EDTA 抗原修复液,用超纯水稀释至 600 mL,95~110°C 预热 1 min,放入切片,95~100°C 加热 1 min,60~70°C 加热 2 min 4~5 次,冷却, PBS 缓冲液;洗涤;

(3) 封闭:去除多余液体,加入浓度为质量百分比为 5%的牛血清蛋白溶液,封闭 30

min;

(4) 孵育:滴加 100 权利要求 1~3所述用于荧光免疫染色的抗 dsDNA 抗体检测试剂,孵育 2 h,倾去液体;

(5) 观察:荧光显微镜下观察染色情况。

## DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于DNA免疫吸附剂的应用,特别涉及DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用。

### 背景技术

[0002] 系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus,SLE)是一种多系统损害的慢性自身性免疫性疾病,确切病因不明,常引起多器官系统的不可逆性损害,可累及皮肤、浆膜、关节、肾及中枢神经系统等,病理表现为自身抗体及免疫复合物沉积,影响患者的寿命和生活质量。SLE的患病率因人群而异,我国患病以女性多见,尤其是育龄女性。患者血清中出现以抗核抗体(ANA)、抗双链DNA抗体(抗dsDNA抗体)为代表的多种抗体,其中抗dsDNA抗体是参与SLE发病的主要抗体,其特异性可达90%,是SLE特异性抗体,与疾病的活动性明显相关。

[0003] 抗dsDNA抗体,结合临床症状和其它实验检查结果,可辅助诊断系统性红斑狼疮(SLE)以及狼疮肾的分型。在多种结缔组织疾病中,都可以检测到抗核抗体(ANA),抗核抗体的筛查是一种灵敏的结缔组织疾病检测方法。尽管这种筛查方法对于SLE是一种非常好的检测方法(阴性结果可以排除活动性SLE),但是这种方法不是一种特异性的检查方法。在SLE患者中,抗dsDNA抗体几乎可以排除其他疾病的可能性,因此该抗体被认为是该疾病的标志。抗dsDNA抗体阳性足以证明SLE;但是,这些抗体的检测阴性并不能在所有的病例当中完全排除SLE。

[0004] 目前,临床上检测肾组织的病变和分型最常使用的为苏木精—伊红(H&E)染色方法,免疫荧光的方法也被用来检测肾组织中的多种抗体沉积。但是H&E染色和普通的免疫荧光并不能特异性确认抗dsDNA抗体在肾组织中的沉积和分布。因此,提供一种简单快捷,既能诊断肾脏病变又能分析肾切片中抗dsDNA抗体的检测方法对于狼疮肾炎和红斑狼疮的诊断和治疗非常重要。

### 发明内容

[0005] 本发明的首要目的在于克服现有技术的缺点与不足,提供DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用。

[0006] 本发明的目的通过下述技术方案实现:DNA免疫吸附剂在制备抗dsDNA抗体检测试剂中的应用,是基于本发明发明人发现将DNA免疫吸附剂用于免疫荧光,可定性分析肾组织中沉积的抗dsDNA抗体,特异性确认抗dsDNA抗体在肾组织中的沉积和分布,方法简单易操作。

[0007] 所述的DNA免疫吸附剂优选为DNA-SeNPs。

[0008] 所述的DNA-SeNPs是通过纳米硒负载用于与抗dsDNA抗体结合的DNA得到的DNA-SeNPs,优选通过如下步骤制备得到:将用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液和纳米硒溶液混合,反应,纯化,得到DNA-SeNPs。

- [0009] 所述的纳米硒是通过氧化还原法制备得到的纳米硒,优选为通过如下步骤制备得到:将无机硒和还原剂混合,反应,得到纳米硒。
- [0010] 所述的混合的方式优选为:将无机硒溶液和还原剂溶液混合;更优选通过如下方式混合:将无机硒溶液滴加到还原剂溶液中,或是将还原剂溶液滴加入无机硒溶液中。
- [0011] 所述的反应的温度优选为0~10℃;更优选为3~5℃;最优选为4℃。
- [0012] 所述的无机硒优选为亚硒酸、亚硒酸盐和二氧化硒中的一种或至少两种。
- [0013] 所述的亚硒酸盐为亚硒酸钠( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ )、亚硒酸钾( $\text{K}_2\text{SeO}_3$ )和亚硒酸锌( $\text{ZnSeO}_3$ )中的一种或至少两种。
- [0014] 所述的无机硒溶液的浓度优选为5~15mM;更优选为10mM。
- [0015] 所述的还原剂优选为维生素C、硼氢化钠、巯基乙醇、还原型谷胱甘肽、葡萄糖和五水硫代硫酸钠中的一种或至少两种。
- [0016] 所述的还原剂溶液的浓度优选为30~50mM;更优选为40mM。
- [0017] 所述的无机硒和所述的还原剂的用量按还原剂过量为宜,从而能将无机硒充分还原;更优选为按摩尔比1:3~10配比计算。
- [0018] 所述的纳米硒溶液的浓度优选为1~10mM;更优选为2~5mM。
- [0019] 所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA优选为双链DNA。
- [0020] 所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液的浓度优选为1~10mg/mL;更优选为1~5mg/mL。
- [0021] 所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液中的溶剂优选为pH值为7~9的缓冲液;更优选为pH值为7.2~8.2的缓冲液。
- [0022] 所述的缓冲液优选为Tris-HCl缓冲液。
- [0023] 所述的Tris-HCl缓冲液的浓度优选为0.01~0.1M;更优选为0.01~0.05M。
- [0024] 所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA和所述的纳米硒的用量优选为0.1~5mg:1 $\mu$ mol,更优选为0.5~2mg:1 $\mu$ mol。
- [0025] 所述的反应的温度优选为0~10℃;更优选为3~5℃;最优选为4℃。
- [0026] 所述的反应的时间为0.5~24h。
- [0027] 所述的纯化的方式优选为使用透析袋透析。
- [0028] 所述的透析袋的规格优选为6000~8000kDa。
- [0029] 所述的透析的时间为12~48h。
- [0030] 所述的抗dsDNA抗体检测试剂优选为用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂。
- [0031] 一种用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂,是在DNA免疫吸附剂上标记荧光显示剂得到。
- [0032] 所述的DNA免疫吸附剂为DNA-SeNPs。
- [0033] 所述的DNA-SeNPs是通过纳米硒负载用于与抗dsDNA抗体结合的DNA得到的DNA-SeNPs。
- [0034] 所述的荧光显示剂优选为香豆素-6。
- [0035] 所述的用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂,优选通过如下步骤制备得到:
- [0036] (1) 将无机硒溶液和荧光显示剂溶液混合,得到混合液A;
- [0037] (2) 将混合液A和还原剂混合,反应,得到反应物A;

[0038] (3) 将用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液和反应物A混合,反应,纯化,得到用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂。

[0039] 步骤(1)中所述的无机硒优选为亚硒酸、亚硒酸盐和二氧化硒中的一种或至少两种。

[0040] 所述的亚硒酸盐为亚硒酸钠( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ )、亚硒酸钾( $\text{K}_2\text{SeO}_3$ )和亚硒酸锌( $\text{ZnSeO}_3$ )中的一种或至少两种。

[0041] 步骤(1)中所述的无机硒溶液的浓度优选为5~15mM;更优选为10mM。

[0042] 步骤(1)中所述的荧光显示剂的用量按荧光显示剂过量为宜,尽可能标记上荧光显示剂,优选按其无机硒中硒的量=5~15mg:1mmol配比计算;更优选按其无机硒中硒的量=10mg:1mmol配比计算。

[0043] 步骤(2)中所述的还原剂优选为维生素C、硼氢化钠、巯基乙醇、还原型谷胱甘肽、葡萄糖和五水硫代硫酸钠中的一种或至少两种。

[0044] 步骤(2)中所述的还原剂的溶液浓度优选为30~50mM;更优选为40mM。

[0045] 步骤(2)中所述的还原剂和所述的无机硒的用量按还原剂过量为宜,从而能将无机硒充分还原;更优选为按摩尔比3~10:1配比计算。

[0046] 步骤(3)中所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA优选为双链DNA。

[0047] 步骤(3)中所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液的浓度优选为1~10mg/mL;更优选为1~5mg/mL。

[0048] 步骤(3)中所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA溶液中的溶剂优选为pH值为7~9的缓冲液;更优选为pH值为7.2~8.2的缓冲液。

[0049] 所述的缓冲液优选为Tris-HCl缓冲液。

[0050] 所述的Tris-HCl缓冲液的浓度优选为0.01~0.1M;更优选为0.01~0.05M。

[0051] 步骤(3)中所述的用于与抗dsDNA抗体结合的DNA的用量按其所述的反应物A中硒的量=0.1~5mg:1 $\mu$ mol配比计算,更优选按其所述的反应物A中硒的量=0.5~2mg:1 $\mu$ mol配比计算。

[0052] 步骤(3)中所述的反应的温度优选为0~10 $^{\circ}\text{C}$ ;更优选为3~5 $^{\circ}\text{C}$ ;最优为4 $^{\circ}\text{C}$ 。

[0053] 步骤(3)中所述的纯化的方式优选为使用透析袋透析。

[0054] 所述的透析袋的规格优选为6000~8000kDa。

[0055] 所述的透析的时间为12~48h。

[0056] 所述的用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂在非诊断目的的肾切片检测中的应用,优选包括如下步骤:

[0057] (1) 脱蜡至水:将肾石蜡切片依次浸入脱水:二甲苯I 10min,二甲苯II 5min,无水乙醇I 10min,无水乙醇II 5min,95%乙醇I 5min,95%乙醇II 5min,90%乙醇I 5min,90%乙醇II 5min,80%乙醇5min;蒸馏水洗2min;

[0058] (2) 抗原修复:取12mL 50 $\times$ EDTA抗原修复液,用超纯水稀释至600mL,95~110 $^{\circ}\text{C}$ 预热1min,放入切片,95~100 $^{\circ}\text{C}$ 加热1min,60~70 $^{\circ}\text{C}$ 加热2min(4~5次),冷却,PBS缓冲液洗涤;

[0059] (3) 封闭:去除多余液体,加入浓度为质量百分比为5%的牛血清蛋白溶液,封闭30min;

[0060] (4) 孵育:滴加100 $\mu$ L上述用于荧光免疫染色的抗dsDNA抗体检测试剂,孵育2h,倾去液体;

[0061] (5) 观察:荧光显微镜下观察染色情况。

[0062] 本发明相对于现有技术具有如下的优点及效果:

[0063] 1. 本发明发明人发现将DNA免疫吸附剂用于检测肾切片中抗dsDNA抗体,DNA-SeNPs可以与肾脏切片中的抗dsDNA抗体特异性结合,因此能定性的分析肾组织中沉积的抗体种类,同时可确认抗dsDNA抗体在肾组织中的沉积和分布,因此,DNA免疫吸附剂可用于制备检测和分析狼疮肾和红斑狼疮的试剂。

[0064] 2. 本发明与临床上检测肾组织的病变和分型常用的苏木精—伊红(H&E)法相比,能特异性显示肾组织抗dsDNA抗体的沉积和分布,且更加简单快捷。

## 附图说明

[0065] 图1是DNA-SeNPs吸附病人血浆中抗dsDNA抗体前后的表征图;其中,图a是吸附前后的纳米粒径大小分布图,图b是吸附前后的电位图,图a和b中1~4分别为吸附61号、28号、70号和23号病例血浆后的DNA-SeNPs;图c是吸附前后的紫外光谱图,曲线1为DNA-SeNPs,曲线2~4分别为吸附19号、69号、109号病例血浆后的DNA-SeNPs;图d是吸附前后的红外光谱图,曲线1为DNA-SeNPs,曲线2~4分别为吸附14号、30号、34号病例血浆后的DNA-SeNPs。

[0066] 图2是DNA-SeNPs吸附病人血浆中抗dsDNA抗体前后的透射电子显微镜图;其中,图a是DNA-SeNPs的TEM图,图b是吸附17号病例血浆后的DNA-SeNPs的TEM,图c是吸附31号病例血浆后的DNA-SeNPs的TEM图,图d是吸附58号病例血浆后的DNA-SeNPs的TEM图。

[0067] 图3是DNA-SeNPs吸附病人血浆中抗dsDNA抗体前后的原子力显微镜和相应的厚度分析图;其中,图a是DNA-SeNPs的AFM图(上)及相应的厚度分析图(下),图b是吸附32号病例血浆后的DNA-SeNPs的AFM图(上)及相应的厚度分析图(下),图c是吸附33号病例血浆后的DNA-SeNPs的AFM图(上)及相应的厚度分析图(下)。

[0068] 图4是DNA-SeNPs和苏木精—伊红染色法(H&E)对肾切片的染色比较图。

## 具体实施例

[0069] 下面结合具体实施例和附图对本发明作进一步详细的描述,但本发明的实施方式不限于此。

[0070] 实施例1 DNA-SeNPs纳米粒子的制备

[0071] 4 $^{\circ}$ C下,将1mL浓度为10mM的Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>溶液放入小烧杯中,为了将DNA-SeNPs纳米粒子进行标记,放入Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>溶液的同时加入50 $\mu$ L浓度为2mg/mL的香豆素6溶液,得到混合液A;将混合液A缓慢滴加到1mL浓度为40mM的维生素C(Vc,阿拉丁公司)溶液,滴加完后加入1mL浓度为5mg/mL的DNA(D4522,Sigma公司)Tris-HCl溶液(0.05M,pH=7.2),再用超纯水定容到5mL,4 $^{\circ}$ C反应12h,用透析袋(6000~8000kDa)在超纯水中透析24h,得到DNA-SeNPs纳米粒子。

[0072] 实施例2 DNA-SeNPs吸附抗dsDNA抗体前后的表征

[0073] 分别将150 $\mu$ L实施例1制备的DNA免疫吸附剂加入300 $\mu$ L血浆中(分别来源于128个SLE病例),室温混匀(20rpm,试管旋转混匀器,TZL-5010,苏州珀西瓦尔实验设备有限公司)

吸附2h。通过粒度和电位(马尔文粒度仪)、紫外分光光度计、红外分光光度计、透射电子显微镜(TEM)以及原子力显微镜(AFM)对吸附抗dsDNA抗体前后的DNA-SeNPs进行表征,结果见图1-3。吸附前DNA-SeNPs的水合粒径大约为126nm,吸附4位病人血浆(由中山三院提供)后,将其离心(12000rpm,10min),去上清,重悬,检测吸附后DNA-SeNPs的水合粒径分别增加到189nm(病例1:吸附前抗dsDNA抗体的滴度为563)、254nm(病例2:吸附前抗dsDNA抗体的滴度为353)、405nm(病例3:吸附前抗dsDNA抗体的滴度为600)和259nm(病例4:吸附前抗dsDNA抗体的滴度为336)(图1a)。但是,由于抗dsDNA抗体和DNA-SeNPs的表面电位相近,吸附前后DNA-SeNPs的表面电位没有明显的变化(图1b)。吸附前后DNA-SeNPs的紫外可见和红外光谱相一致(图1c和d)。吸附前DNA-SeNPs的TEM图像表现为单分散的、大小约为107nm的球状纳米粒子,且表面可以清晰地看见一层DNA的修饰(图2a)。吸附病人血浆之后,DNA-SeNPs的大小基本没变,但是纳米粒子表面的DNA层变厚了(图2b-d,分别对应病例17、病例31和病例58)。AFM的结果显示吸附后DNA-SeNPs的高度明显的增加了(图3)。以上结果都说明抗dsDNA抗体被吸附至纳米粒子表面。

[0074] 实施例3 DNA-SeNPs检测肾切片中抗dsDNA抗体沉积的性能评价

[0075] (1) 将肾石蜡切片浸入以下溶液依次脱蜡至水:二甲苯I 10min,二甲苯II 5min,无水乙醇I 10min,无水乙醇II 5min,95%乙醇I 5min,95%乙醇II 5min,90%乙醇I 5min,90%乙醇II 5min,80%乙醇5min,经蒸馏水洗2min。

[0076] (2) 抗原修复:取12mL 50×EDTA抗原修复液(主要由EDTA、Tris等组成,pH=8.0,市购得到)用超纯水稀释到600mL,在微波炉(格兰仕,P70D20P-TD(W0))高火下预热1min,放入切片,高火加热1min,中火加热2min(4-5次),冷却,PBS缓冲液(0.01M,pH=7.4)洗一次。

[0077] (3) 封闭:甩干多余液体,加入浓度为质量百分比5%的牛血清蛋白溶液(溶质为BSA,溶剂为0.01M,pH=7.4的PBS),封闭30min。

[0078] (4) 孵育:滴加100μL香豆素6标记的DNA-SeNPs(实施例1制备得到)孵育2h,倾去液体。

[0079] (5) 观察:在荧光显微镜(Life Technologies,EVOS FL auto)下观察染色情况,拍照。

[0080] 对比例1苏木精—伊红染色法(H&E)

[0081] (1) 将肾石蜡切片放入以下溶液依次脱蜡至水:二甲苯I 10min,二甲苯II 5min,无水乙醇I 10min,无水乙醇II 5min,95%乙醇I 5min,95%乙醇II 5min,90%乙醇I 5min,90%乙醇II 5min,80%乙醇5min,经蒸馏水洗2min。

[0082] (2) 苏木素染色10min,水洗2min,1%盐酸乙醇(75%乙醇配制)分化3-5s,流水冲洗10min。

[0083] (3) 伊红染色2min,蒸馏水洗数秒。

[0084] (4) 切片脱水脱蜡:80%酒精3-5s,90%酒精I 3-5s,90%酒精II 5min,95%酒精I 5min,95%酒精II 5min,100%酒精I 5min,100%酒精II 10min,二甲苯I 5min,二甲苯II 10min。

[0085] (5) 中性树脂胶封片。

[0086] (6) 荧光显微镜(Life Technologies,EVOS FL auto)下观察染色情况,拍照,并将结果与实施例3的结果进行比较。

[0087] 比较实施例

[0088] 本发明发明人共检测了53例肾切片,包括正常人、狼疮肾以及其他肾脏疾病患者的肾组织切片(检测方法同实施例3),然后与H&E染色法(检测方法同对比例1)的检测结果相比较,判断狼疮肾的分型,其正确率为100%,准确率统计结果见表1。H&E染色法和抗dsDNA抗体检测试剂的检测结果如图4所示。

[0089] 正常肾小球:H&E染色:光镜下的正常的肾小球血管祥薄而清晰,内皮细胞和系膜细胞数目正常,周围的肾小管也正常;DNA-SeNPs:肾小球及肾小管区域未见明显荧光。

[0090] LN-I分型:H&E染色:肾小球几乎正常,系膜轻度节段性增生;DNA-SeNPs:肾小球系膜区域见少量荧光。

[0091] LN-II分型:H&E染色:系膜中度增生;DNA-SeNPs:肾小球系膜区域见DNA-SeNPs沉积。

[0092] LN-III分型:H&E染色:节段性毛细血管内细胞增生伴实质管腔较少,光镜下节段性内皮下沉积物;DNA-SeNPs:在肾小球毛细血管壁节段分布和伴随系膜沉积的DNA-SeNPs免疫沉积。

[0093] LN-IV分型:H&E染色:病变在活检组织检查中呈弥漫性,具有节段性内皮毛细血管增生;DNA-SeNPs:肾小球毛细血管壁节段分布和伴随系膜沉积的DNA-SeNPs免疫沉积呈弥漫性。

[0094] LN-V分型:H&E染色:肾小球毛细血管基底膜弥漫性“钉突”形成或增厚,毛细血管祥显著增厚,但细胞数目不增加;DNA-SeNPs:毛细血管壁中弥漫上皮DNA-SeNPs免疫沉积。

[0095] 其他肾病:HE染色,狼疮肾炎的HE染色时出现的光镜下表现在其他肾病患者中也可以出现类似的情况,此时结合Se-DNA染色结果,可以明确有无狼疮的特异性抗体抗dsDNA抗体的沉积,从而明确光镜下的改变是否由于抗dsDNA抗体引起,帮助诊断狼疮性肾炎。DNA-SeNPs:在其他肾病患者中,未见Se-DNA的沉积。

[0096] 综上所述,H&E染色的肾切片可以看出肾小球中组织结构的改变,而DNA-SeNPs可以检测到肾小球中沉积的抗dsDNA抗体,明确抗dsDNA抗体在肾组织中的沉积和分布,且检测的方法比H&E染色的方法更加简单易操作。因此,可以将DNA免疫吸附剂DNA-SeNPs用于制备检测和分析肾切片中抗dsDNA抗体沉积的试剂。

[0097] 表1

分型	正常肾组织	LN-I	LN-II	LN-III	LN-IV	LN-V	LN-V+IV	其他肾病
数量(例)	8	3	5	4	12	14	3	4
H&E	8	3	5	4	12	14	3	4
DNA-SeNPs	8	3	5	4	12	14	3	4
准确率(%)	100	100	100	100	100	100	100	100

[0099] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他任何未背离本发明的精神实质与原理下所做的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。

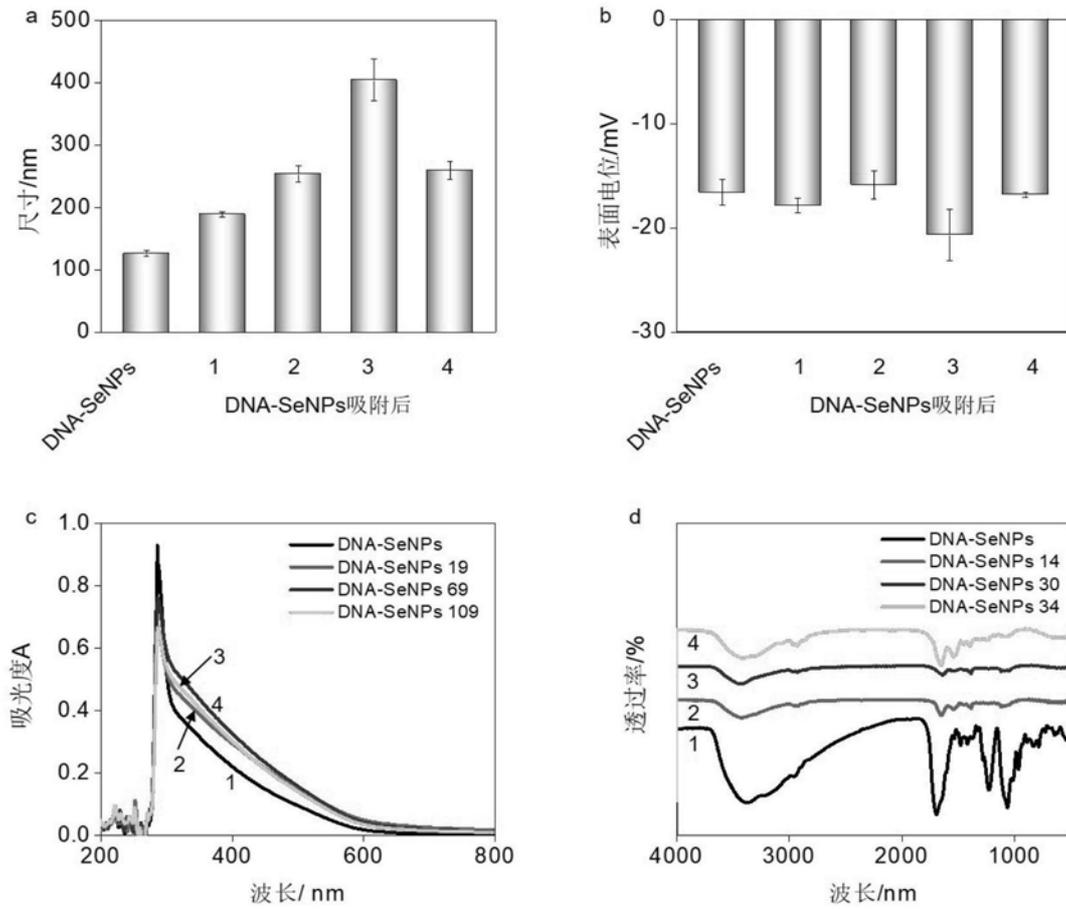


图1

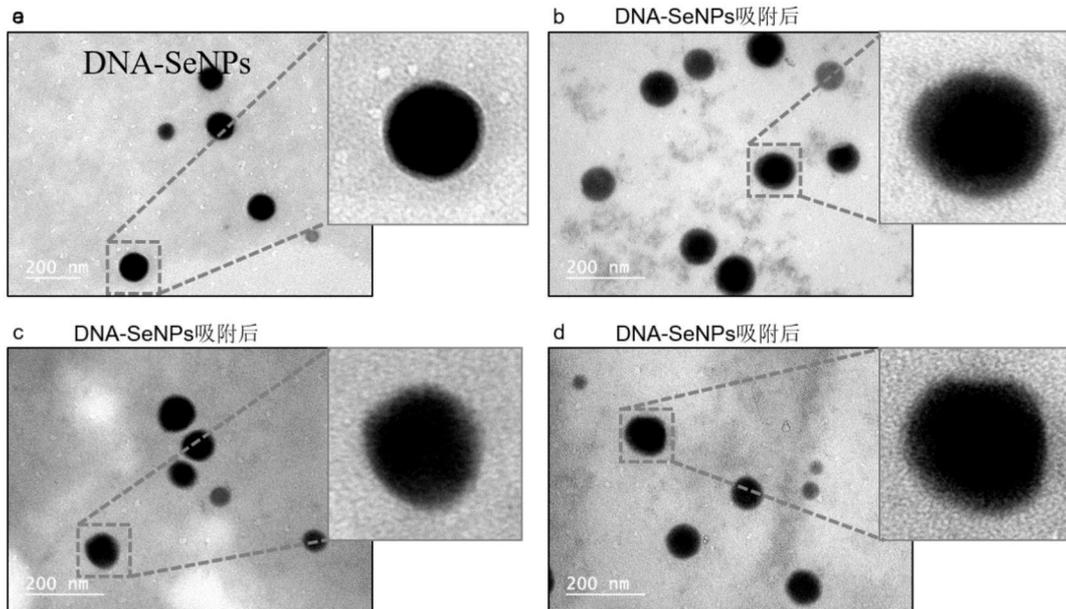


图2

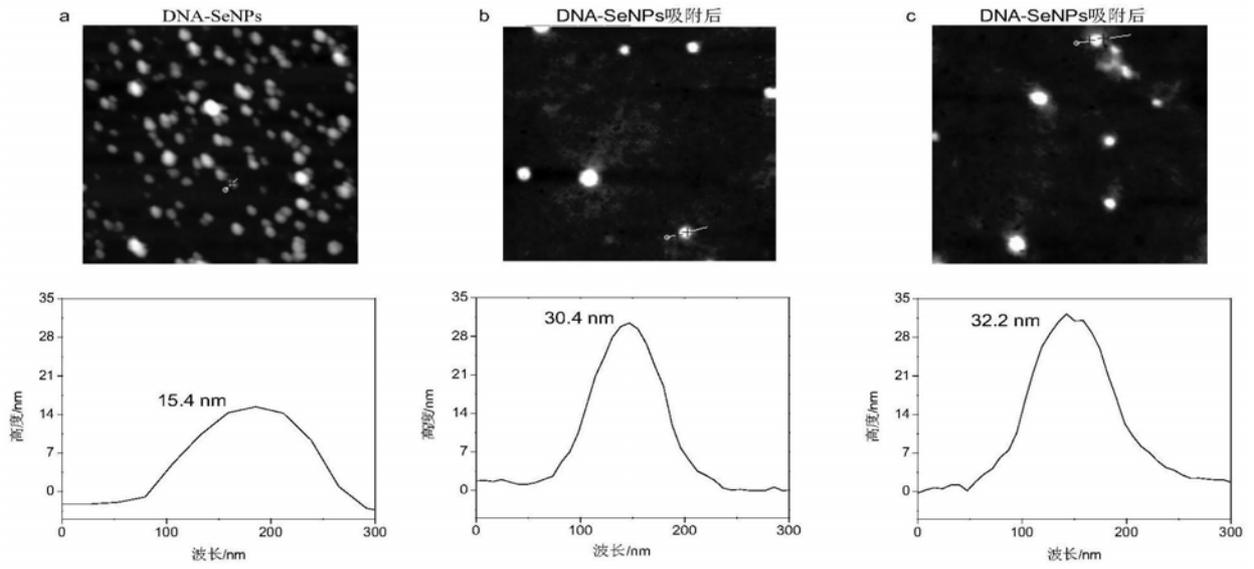


图3

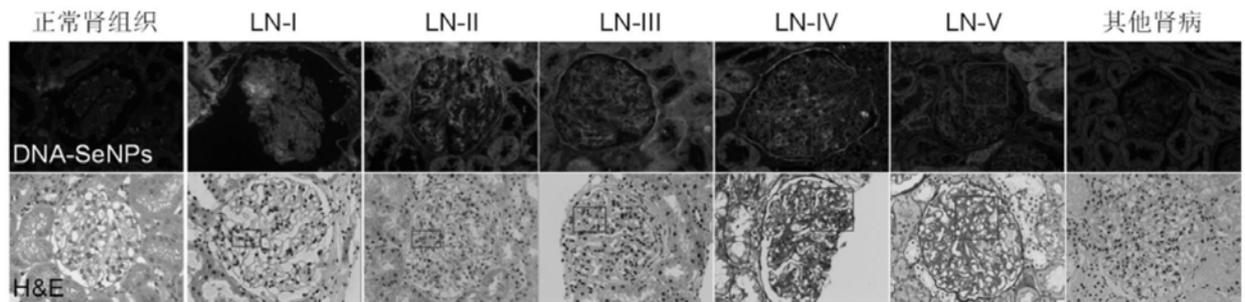


图4