



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109521194 A

(43)申请公布日 2019.03.26

(21)申请号 201811451062.9

(22)申请日 2018.11.30

(71)申请人 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 贺利贞 林智明 刘婷
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)

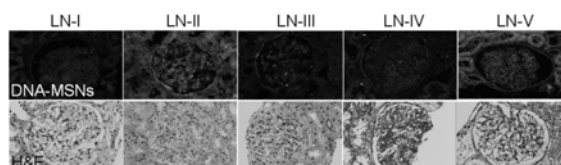
权利要求书3页 说明书11页
序列表1页 附图4页

(54)发明名称

DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA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ds-DNA抗体检测试剂中的应用。本发明DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA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ds-DNA抗体,同时可特异性确认抗ds-DNA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. DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA抗体检测试剂中的应用,其特征在于:所述的DNA免疫吸附剂为DNA负载在二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂。

2. 根据权利要求1所述的DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA抗体检测试剂中的应用,其特征在于:

所述的二氧化硅纳米粒子为介孔二氧化硅纳米粒子和实心二氧化硅纳米粒子中的一种或至少两种;

所述的DNA为双链DNA。

3. 根据权利要求2所述的DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA抗体检测试剂中的应用,其特征在于:

所述的介孔二氧化硅纳米粒子通过如下步骤制备得到:以正硅酸乙酯为硅源,十六烷基三甲基溴化铵为表面活性剂,三乙胺为有机溶胀剂,搅拌回流反应,得到介孔二氧化硅纳米粒子;

所述的实心二氧化硅纳米粒子通过如下步骤制备得到:以硅酸四乙酯为硅源,加入到氨水、乙醇和水制备的混合溶液中,搅拌反应,离心,洗涤,干燥,得到实心二氧化硅纳米粒子。

4. 根据权利要求2所述的DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA抗体检测试剂中的应用,其特征在于:

所述的DNA免疫吸附剂通过如下步骤制备得到:将二氧化硅纳米粒子表面修饰氨基和羧基,再加入催化剂和DNA混合,反应,得到DNA免疫吸附剂。

5. 根据权利要求4所述的DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA抗体检测试剂中的应用,其特征在于:所述的二氧化硅纳米粒子为介孔二氧化硅时,所述的DNA免疫吸附剂通过如下步骤制备得到:

(1) 将介孔二氧化硅纳米粒子分散在有机溶剂中,加入3-氨丙基三乙氧基硅烷,搅拌,反应,离心,得到表面含氨基的介孔二氧化硅纳米粒子;

(2) 洗涤步骤(1)获得的表面含氨基的介孔硅纳米粒子分散在有机溶剂中,加入丁二酸酐,反应,离心,洗涤,干燥,研磨,得到含羧基修饰的介孔二氧化硅纳米粒子;

(3) 将步骤(2)获得的含羧基修饰的介孔二氧化硅纳米粒子分散,加入催化剂,搅拌,加入用于与抗DNA抗体结合的DNA溶液,反应,离心,洗涤,干燥,研磨,得到DNA负载在介孔二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂;

步骤(1)中所述的3-氨丙基三乙氧基硅烷的用量按其与所述的介孔硅纳米粒子=1~3mL:100mg配比计算;

步骤(2)中所述的丁二酸酐的用量为与所述的介孔二氧化硅纳米粒子=质量比1~4:1配比计算;

步骤(3)中所述的催化剂为1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐和N-羟基琥珀酰亚胺中的至少一种;

所述的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐的质量用量为按其与所述含羧基修饰的介孔二氧化硅纳米粒子的质量比=1:1~5计算;

所述的N-羟基琥珀酰亚胺的质量用量为按其与所述含羧基修饰的介孔二氧化硅纳米粒子的质量比=1:1~5计算;

步骤(3)中所述的DNA的质量用量为按其与所述含羧基修饰的介孔二氧化硅纳米粒子的质量比=1:10~30计算;

所述的二氧化硅纳米粒子为实心二氧化硅纳米粒子时,所述的DNA免疫吸附剂通过如下步骤制备得到:

(A) 将实心二氧化硅纳米粒子分散在有机溶剂中,加入3-氨丙基三乙氧基硅烷,搅拌,反应,离心,洗涤,得到表面含氨基的实心二氧化硅纳米粒子;

(B) 将步骤(A)得到的表面含氨基的实心二氧化硅纳米粒子分散在有机溶剂中,加入丁二酸酐,反应,离心,洗涤,干燥,研磨,得到含羧基修饰的实心二氧化硅纳米粒子;

(C) 将步骤(B)得到的含羧基修饰的实心二氧化硅纳米粒子分散,加入催化剂,搅拌,加入用于与抗DNA抗体结合的DNA溶液,反应,离心,洗涤,干燥,研磨,得到DNA负载在实心二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂;

步骤(A)中所述的3-氨丙基三乙氧基硅烷的用量按其与所述的实心二氧化硅纳米粒子=1~3mL:100mg配比计算;

步骤(B)中所述的丁二酸酐的用量按其与所述的实心二氧化硅纳米粒子=质量比1~4:1配比计算;

步骤(C)中所述的催化剂为1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐和N-羟基琥珀酰亚胺中的至少一种;

所述的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐的用量按其与所述的MSNs=1mL:20~30mg配比计算;

所述的N-羟基琥珀酰亚胺的用量按其与所述的MSNs=1mL:20~30mg配比计算;

步骤(C)中所述的DNA的质量用量按其与所述的SiO₂的质量比=1:10~30计算。

6. 根据权利要求1所述的DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA抗体检测试剂中的应用,其特征在于:所述的抗ds-DNA抗体检测试剂是用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂。

7. 一种用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂,其特征在于:是在权利要求1中所述的DNA免疫吸附剂上标记荧光显示剂得到。

8. 根据权利要求7所述的用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂,其特征在于:

所述的DNA免疫吸附剂通过如下步骤制备得到:将二氧化硅纳米粒子表面修饰氨基和羧基,再加入催化剂和DNA,混合,反应,将用于与抗ds-DNA抗体结合的DNA溶液和二氧化硅纳米粒子混合,反应,得到DNA免疫吸附剂;

所述的荧光显示剂为香豆素-6。

9. 根据权利要求8所述的用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂,其特征在于:所述的用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂通过如下步骤制备得到:将免疫吸附剂分散,加入荧光显示剂,反应,离心,得到用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂;

所述的分散为采用超纯水或磷酸盐缓冲液分散;

所述的磷酸盐缓冲液为浓度为0.01~0.1M、pH为7.2~7.4的磷酸盐缓冲液;

所述的荧光显示剂的用量按其与所述的免疫吸附剂的质量比=1:150~250配比计算;

所述的反应为避光反应;

所述的反应的时间为24h;

所述的离心的转速为10000~15000rpm。

10. 权利要求7~9任一项所述的用于荧光免疫染色的抗ds-DNA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 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;

(2) 抗原修复:取500-600mL 1×EDTA抗原修复液,用超纯水稀释至600mL,95~110℃预热1min,放入切片,95~100℃加热1min,60~70℃加热2min(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30min;

(4) 孵育:滴加100μL上述用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂,孵育2h,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ds-DNA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ds-DNA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ds-DNA抗体)为代表的多种抗体,其中抗ds-DNA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ds-DNA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ds-DNA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ds-DNA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ds-DNA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ds-DNA抗体检测试剂中的应用。

[0006] 本发明的另一目的在于提供一种用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂。

[0007] 本发明的再一目的在于提供上述用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂在非诊断目的的肾切片检测中的应用。

[0008] 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ds-DNA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ds-DNA抗体,特异性确认抗ds-DNA抗体在肾组织中的沉积和分布,方法简单易操作。

[0009] 所述的DNA免疫吸附剂为DNA负载在二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂;

优选为DNA负载在介孔二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂(DNA-MSNs)和DNA负载在实心二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂(DNA-SiO₂)中的一种或至少两种;更优选为DNA负载在介孔二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂(DNA-MSNs)。

[0010] 所述的DNA免疫吸附剂通过如下步骤制备得到:将二氧化硅纳米粒子表面修饰氨基和羧基,再加入催化剂和DNA混合,反应,得到DNA免疫吸附剂。

[0011] 所述的二氧化硅纳米粒子优选为介孔二氧化硅纳米粒子(MSNs)和实心二氧化硅纳米粒子(SiO₂)中的一种或至少两种;更优选为介孔二氧化硅纳米粒子(MSNs)。

[0012] 所述的用于与抗ds-DNA抗体结合的DNA优选为双链DNA;更优选为小牛胸腺DNA。

[0013] 所述的DNA-MSNs优选通过如下步骤制备得到:

[0014] (1) 将介孔二氧化硅纳米粒子分散在有机溶剂中,加入3-氨丙基三乙氧基硅烷,搅拌,反应,离心,得到表面含氨基的介孔二氧化硅纳米粒子;

[0015] (2) 洗涤步骤(1)获得的表面含氨基的介孔硅纳米粒子分散在有机溶剂中,加入丁二酸酐,反应,离心,洗涤,干燥,研磨,得到含羧基修饰的介孔二氧化硅纳米粒子(MSNs);

[0016] (3) 将步骤(2)获得的MSNs分散,加入催化剂,搅拌,加入用于与抗DNA抗体结合的DNA溶液,反应,离心,洗涤,干燥,研磨,得到DNA负载在介孔二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂(DNA-MSNs)。

[0017] 步骤(1)中所述的3-氨丙基三乙氧基硅烷的用量按其与所述的介孔硅纳米粒子=1~3mL:100mg配比计算;更优选为按其与所述的介孔二氧化硅纳米粒子=2mL:100mg配比计算。

[0018] 步骤(1)中所述的有机溶剂优选为乙腈、甲苯;更优选为甲苯。

[0019] 步骤(1)中所述的搅拌的时间优选为15~45min;更优选为30min。

[0020] 步骤(1)中所述的反应优选为加热回流反应。

[0021] 所述的加热回流反应的温度优选为100~120℃;更优选为110℃。

[0022] 所述的加热回流反应的时间优选为20~30h;更优选为24h。

[0023] 步骤(1)与步骤(2)中所述的离心的转速优选为10000~15000rpm;更优选为12000rpm。

[0024] 步骤(1)与步骤(2)中所述的有机溶剂的作用是分散物质,其自身不参与反应。

[0025] 步骤(2)中所述的有机溶剂优选为甲醇、乙醇;更优选为乙醇。

[0026] 步骤(2)中所述的丁二酸酐的用量优选为与所述的介孔二氧化硅纳米粒子=1~4:1(质量比)配比计算;更优选为与所述的介孔二氧化硅纳米粒子=4:1配比计算。

[0027] 步骤(2)中所述的反应优选为搅拌反应。

[0028] 所述的搅拌反应的时间优选为2~10h;更优选为5h。

[0029] 所述的搅拌反应的温度优选为20~40℃;更优选为37℃。

[0030] 步骤(2)中所述的洗涤优选为先后采用乙醇和水分别洗涤3~5遍。

[0031] 步骤(2)和(3)中所述的干燥的方式优选为冷冻干燥。

[0032] 步骤(3)中所述的分散优选为采用超纯水或磷酸盐缓冲溶液分散。

[0033] 所述的磷酸盐缓冲溶液优选为pH值为7.2~7.4、浓度为0.01~0.1M的磷酸盐缓冲液。

[0034] 步骤(3)中所述的催化剂为1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)和

N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)中的至少一种;优选为EDC和NHS的混合物。

[0035] 所述的EDC的质量用量优选为按其与所述的MSNs的质量比=1:1~5计算;更优选为按其与所述的MSNs的质量比=1:2.5计算。

[0036] 所述的NHS的质量用量优选为按其与所述的MSNs的质量比=1:1~5计算;更优选为按其与所述的MSNs的质量比=1:2.5计算。

[0037] 步骤(3)中所述的搅拌的时间优选为1~5h;更优选为2h。

[0038] 所述的用于与抗DNA抗体结合的DNA溶液的浓度优选为1~5mg/mL;更优选为2.5mg/mL。

[0039] 步骤(3)中所述的用于与抗DNA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7.8~8.2的缓冲液。

[0040] 所述的缓冲液优选为Tris-HCl缓冲液。

[0041] 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。

[0042] 步骤(3)中所述的DNA的质量用量优选为按其与所述的MSNs的质量比=1:10~30计算;更优选为按其与所述的MSNs的质量比=1:20计算。

[0043] 步骤(3)中的所述的反应优选为搅拌反应。

[0044] 所述的搅拌反应的时间优选为20~30h;更优选为24h。

[0045] 步骤(3)中的所述的离心的转速优选为10000~15000rpm;更优选为12000rpm。

[0046] 步骤(3)中所述的洗涤优选为采用超纯水洗涤。

[0047] 所述的介孔二氧化硅纳米粒子优选通过如下步骤制备得到:以正硅酸乙酯(TEOS)为硅源,十六烷基三甲基溴化铵为表面活性剂,三乙胺为有机溶胀剂,搅拌回流反应,得到介孔二氧化硅纳米粒子。

[0048] 所述的十六烷基三甲基溴化铵的用量优选为按其与所述的TEOS=1~1.5g:1mL配比计算;更优选为按其与所述的TEOS=4g:3mL配比计算。

[0049] 所述的三乙胺的用量优选按其相当于所述的TEOS体积的32~38倍计算;更优选为按其相当于所述的TEOS体积的35.6倍计算。

[0050] 所述的反应的温度优选为85~95℃;更优选为90℃。

[0051] 所述的反应的时间优选为1.5~2.5h;更优选为2h。

[0052] 所述的介孔二氧化硅纳米粒子要通过一系列步骤进行后处理,之后才能用于制备介孔二氧化硅纳米粒子负载DNA的免疫吸附剂。

[0053] 所述的洗涤优选为先后采用乙醇和水分别洗涤3~5遍。

[0054] 所述的干燥优选为50~80℃烘干。

[0055] 所述的煅烧优选为550℃煅烧5h。

[0056] 所述的DNA-SiO₂优选通过如下步骤制备得到:

[0057] (A) 将实心二氧化硅纳米粒子分散在有机溶剂中,加入3-氨丙基三乙氧基硅烷,搅拌,反应,离心,洗涤,得到表面含氨基的实心二氧化硅纳米粒子;

[0058] (B) 将步骤(A)得到的表面含氨基的实心二氧化硅纳米粒子分散在有机溶剂中,加入丁二酸酐,反应,离心,洗涤,干燥,研磨,得到含羧基修饰的实心二氧化硅纳米粒子(SiO₂);

[0059] (C) 将步骤(B)得到的SiO₂分散,加入催化剂,搅拌,加入用于与抗DNA抗体结合的

DNA溶液,反应,离心,洗涤,干燥,研磨,得到DNA负载在实心二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂(DNA-SiO₂)。

[0060] 步骤(A)中所述的3-氨丙基三乙氧基硅烷的用量按其与所述的实心二氧化硅纳米粒子=1~3mL:100mg配比计算;更优选为按其与所述的实心二氧化硅纳米粒子=2mL:100mg配比计算。

[0061] 步骤(A)中所述的有机溶剂优选为乙腈、甲苯;更优选为甲苯。

[0062] 步骤(A)中所述的搅拌的时间优选为15~45min;更优选为30min。

[0063] 步骤(A)中所述的反应优选为加热回流反应。

[0064] 所述的加热回流反应的温度优选为100~120℃;更优选为110℃。

[0065] 所述的加热回流反应的时间优选为20~30h;更优选为24h。

[0066] 步骤(A)与步骤(B)中所述的离心的转速优选为10000~15000rpm;更优选为12000rpm。

[0067] 步骤(A)与步骤(B)中所述的有机溶剂的作用是分散物质,其自身不参与反应。

[0068] 步骤(B)中所述的有机溶剂优选为甲醇、乙醇;更优选为乙醇。

[0069] 步骤(B)中所述的丁二酸酐的用量优选为与所述的实心二氧化硅纳米粒子=质量比1~4:1配比计算;更优选为与所述的实心二氧化硅纳米粒子=4:1配比计算。

[0070] 步骤(B)中所述的反应优选为搅拌反应。

[0071] 所述的搅拌反应的时间优选为2~10h;更优选为5h。

[0072] 所述的搅拌反应的温度优选为20~40℃;更优选为37℃。

[0073] 步骤(B)中所述的洗涤优选为先后采用乙醇和水分别洗涤3~5遍。

[0074] 步骤(B)和(C)中所述的干燥的方式优选为冷冻干燥。

[0075] 步骤(C)中所述的分散优选为采用超纯水或磷酸盐缓冲溶液分散。

[0076] 所述的磷酸盐缓冲溶液优选为pH值为7.2~7.4、浓度为0.01~0.1M的磷酸盐缓冲液。

[0077] 步骤(C)中所述的催化剂为1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC)和N-羟基琥珀酰亚胺(NHS)中的至少一种;优选为EDC和NHS的混合物。

[0078] 所述的EDC的质量用量优选为按其与所述的MSNs的质量比=1:1~5计算;更优选为按其与所述的MSNs的质量比=1:2.5计算。

[0079] 所述的NHS的质量用量优选为按其与所述的MSNs的质量比=1:1~5计算;更优选为按其与所述的MSNs的质量比=1:2.5计算。

[0080] 步骤(C)中所述的搅拌的时间优选为1~5h;更优选为2h。

[0081] 步骤(C)中所述的用于与抗DNA抗体结合的DNA溶液的浓度优选为1~5mg/mL;更优选为2.5mg/mL。

[0082] 步骤(C)中所述的用于与抗DNA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8的缓冲液。

[0083] 所述的缓冲液优选为Tris-HCl缓冲液。

[0084] 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。

[0085] 步骤(C)中所述的DNA的质量用量优选为按其与所述的SiO₂的质量比=1:10~30计算;更优选为按其与所述的SiO₂的质量比=1:20计算。

- [0086] 步骤(C)中的所述的反应优选为搅拌反应。
- [0087] 所述的搅拌反应的时间优选为2~30h;更优选为2h。
- [0088] 步骤(C)中的所述的离心的转速优选为10000~15000rpm;更优选为12000rpm。
- [0089] 步骤(C)中所述的洗涤优选为采用超纯水洗涤。
- [0090] 所述的实心二氧化硅纳米粒子优选通过如下步骤制备得到:以硅酸四乙酯为硅源,加入到氨水、乙醇和水制备的混合溶液中,搅拌反应,离心,洗涤,干燥,得到实心二氧化硅纳米粒子。
- [0091] 所述的氨水的用量优选按其与所述的硅酸四乙酯=体积比2~4:5~7配比计算;更优选为按其与所述的硅酸四乙酯=3.14:6配比计算。
- [0092] 所述的乙醇的用量优选按其相当于所述的硅酸四乙酯体积的20~25倍计算;更优选为按其相当于所述的硅酸四乙酯体积的23.8倍计算。
- [0093] 所述的蒸馏水的用量优选按其与所述的硅酸四乙酯体积的2~4倍计算;更优选为按其相当于所述的硅酸四乙酯体积的3.3倍计算。
- [0094] 所述的搅拌反应的时间优选为1~5h;更优选为2h。
- [0095] 所述的洗涤优选为先后采用蒸馏水和乙醇分别洗3~5次。
- [0096] 所述的干燥的方式优选为冷冻干燥。
- [0097] 所述的抗ds-DNA抗体检测试剂优选为用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂。
- [0098] 一种用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂,是在DNA免疫吸附剂上标记荧光显示剂得到。
- [0099] 所述的DNA免疫吸附剂为DNA负载在二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂;优选为DNA负载在介孔二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂(DNA-MSNs)和DNA负载在实心二氧化硅纳米粒子上得到的DNA免疫吸附剂(DNA-SiO₂)中的一种或至少两种;更优选为DNA-MSNs。
- [0100] 所述的DNA免疫吸附剂通过如下步骤制备得到:将二氧化硅纳米粒子表面修饰氨基和羧基,再加入催化剂和DNA,混合,反应,将用于与抗ds-DNA抗体结合的DNA溶液和二氧化硅纳米粒子混合,反应,得到DNA免疫吸附剂。
- [0101] 所述的二氧化硅纳米粒子优选为介孔二氧化硅纳米粒子(MSNs)和实心二氧化硅纳米粒子(SiO₂)中的一种或至少两种;更优选为介孔二氧化硅纳米粒子。
- [0102] 所述的荧光显示剂优选为香豆素-6。
- [0103] 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:将免疫吸附剂分散,加入荧光显示剂,反应,离心,得到用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂。
- [0104] 所述的分散优选为采用超纯水或磷酸盐缓冲液分散。
- [0105] 所述的磷酸盐缓冲液优选为浓度为0.01~0.1M、pH为7.2~7.4的磷酸盐缓冲液。
- [0106] 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,优选按其与所述的免疫吸附剂的质量比=1:150~250配比计算;更优选按其与所述的免疫吸附剂的质量比=1:200配比计算。
- [0107] 所述的反应优选为搅拌反应。

[0108] 所述的反应优选为避光反应。

[0109] 所述的反应的时间优选为24h。

[0110] 所述的离心的转速优选为10000~15000rpm;更优选为12000rpm。

[0111] 所述的用于荧光免疫染色的抗ds-DNA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:

[0112] (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;

[0113] (2)抗原修复:取500~600mL 1×EDTA抗原修复液,用超纯水稀释至600mL,95~110℃预热1min,放入切片,95~100℃加热1min,60~70℃加热2min(4~5次),冷却,PBS缓冲液洗涤;

[0114] (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;

[0115] (4)孵育:滴加100μL上述用于荧光免疫染色的抗ds-DNA抗体检测试剂,孵育2h,倾去液体;

[0116] (5)观察:荧光显微镜下观察染色情况。

[0117] 本发明相对于现有技术具有如下的优点及效果:

[0118] 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ds-DNA抗体,DNA免疫吸附剂可以与肾脏切片中的抗ds-DNA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ds-DNA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。

[0119] 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ds-DNA抗体的沉积和分布,且更加简单快捷。

附图说明

[0120] 图1是不同的纳米粒子对病例血清中抗ds-DNA抗体的清除率对比图。

[0121] 图2是DNA-MSNs吸附病人血清中抗ds-DNA抗体前后透射电子显微镜的表征图;其中,图a是DNA-MSNs在吸附前自身的形貌图,图b~d分别是DNA-MSNs在吸附病例1~3血清中抗ds-DNA抗体后的形貌图。

[0122] 图3是DNA-MSNs吸附病人血清中抗ds-DNA抗体前后纳米粒径大小分布图;其中,图a是DNA-MSNs在吸附前自身的粒径分布图,图b~d分别是DNA-MSNs在吸附病例1~3血清中抗ds-DNA抗体后的粒径分布图。

[0123] 图4是DNA-MSNs吸附病人血清中抗ds-DNA抗体前后的电位图;其中,图a是DNA-MSNs在吸附前自身的电位图,图b~d分别是DNA-MSNs在吸附病例1~3血清中抗ds-DNA抗体后的电位图。

[0124] 图5是DNA-MSNs吸附病人血清中抗ds-DNA抗体前后的红外光谱图;其中,图a是DNA-MSNs在吸附前自身的红外光谱图,图b~d分别是DNA-MSNs在吸附病例1~3血清中抗ds-DNA抗体后的红外光谱图。

[0125] 图6是DNA-MSNs吸附病人血清中抗ds-DNA抗体前后的拉曼光谱图;其中,图a是

DNA-MSNs在吸附前自身的拉曼光谱图,图b~d分别是DNA-MSNs在吸附病例1~3血清中抗ds-DNA抗体后的拉曼光谱图。

[0126] 图7是DNA-MSNs的安全性评价结果图;其中,图A是不同浓度的DNA-MSNs与阳性对照Triton X-100分别孵育血红细胞2h后的溶血率对比图,图B是不同浓度的DNA-MSNs、阳性对照Triton X-100分别孵育血红细胞2h后的血红细胞形貌图。

[0127] 图8是DNA-MSNs和苏木精—伊红染色法对肾切片中抗ds-DNA抗体沉积的染色比较图。

具体实施例

[0128] 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。

[0129] 实施例1 DNA-MSNs的制备

[0130] (1) 将4.0g十六烷基三甲基氯化铵(阿拉丁公司)在40mL水中超声分散均匀,滴加106.8mL三乙胺(阿拉丁公司),搅拌1h,逐滴加入3mL正硅酸乙酯(阿拉丁公司),90℃搅拌回流2h。反应完成后,收集样品,12000rpm离心,获得介孔二氧化硅纳米粒子。

[0131] (2) 将介孔二氧化硅纳米粒子用乙醇和超纯水分别清洗三遍,60℃烘箱烘干,碾成粉末,550℃马弗炉煅烧5h。

[0132] (3) 取100mg步骤(2)处理后的介孔二氧化硅纳米粒子分散在20mL甲苯中,加入2mL 3-氨丙基三乙氧基硅烷(阿拉丁公司),搅拌30min,升温至110℃回流24h,12000rpm离心,获得白色固体,用乙醇和水分别洗3遍。

[0133] (4) 将100mg步骤(3)中得到的白色固体用乙醇分散,然后加入用乙醇分散的400mg 丁二酸酐(阿拉丁公司),37℃下搅拌5h,12000rpm离心,用乙醇和水分别洗三遍沉淀,冷冻干燥,研磨成粉末,获得含羧基修饰的介孔二氧化硅纳米粒子MSNs-COOH。

[0134] (5) 将50mg步骤(4)得到的粉末在15mL水中分散均匀,分别加入浓度为10mg/mL的N-羟基琥珀酰亚胺(NHS,阿拉丁公司)和浓度为1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC,阿拉丁公司)各2mL,室温搅拌2h,加入Tris-HCl溶液(0.05M,pH=8.0)溶解的DNA(购自美国Sigma公司,CAS号:73049-39-5)溶液(浓度为2.5mg/mL,加入量为1mL),室温搅拌24h,12000rpm离心,用水洗3遍,冷冻干燥,研磨至粉末,即得DNA-MSNs纳米粒子。

[0135] (6) 取20mg DNA-MSNs在5mL超纯水中分散均匀,加入50μL 2mg/mL香豆素-6

[0136] (Sigma公司),避光搅拌24h,12000rpm离心,除去上清,得到用于荧光免疫染色的DNA-MSNs,4℃避光保存。

[0137] 实施例2 DNA-SiO₂的制备

[0138] (1) 将142.8mL乙醇、20mL水以及3.14mL氨水溶液混合搅拌10min,然后缓慢加入6mL硅酸四乙酯(阿拉丁公司),搅拌反应2h后12000rpm离心,先后用水和乙醇分别各洗3次,冷冻干燥获得实心二氧化硅纳米粒子。

[0139] (2) 将100mg实心二氧化硅纳米粒子分散在20mL甲苯中,加入2mL 3-氨丙基三乙氧基硅烷(阿拉丁公司),搅拌30min,升温至110℃回流24h,12000rpm离心,用乙醇和水分别洗3遍,获得表面含氨基的实心二氧化硅纳米粒子。

[0140] (3) 将100mg步骤(2)中得到的表面含氨基的实心二氧化硅纳米粒子用乙醇分散,

然后加入用乙醇分散的400mg丁二酸酐(阿拉丁公司),37℃下搅拌5h,12000rpm离心,用乙醇和水分别洗三遍沉淀,冷冻干燥,研磨成粉末,得到含羧基修饰的实心二氧化硅纳米粒子(SiO_2)。

[0141] (4) 将50mg含羧基修饰的实心二氧化硅纳米粒子在15mL水中分散均匀,分别加入浓度为10mg/mL的N-羟基琥珀酰亚胺(NHS,阿拉丁公司)和浓度为10mg/mL的1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC,阿拉丁公司)各2mL,搅拌2h,加入Tris-HCl溶液(0.05M,pH=8.0)溶解的DNA(购自美国Sigma公司)溶液(浓度为2.5mg/mL,加入量为1mL),搅拌24h,12000rpm离心,用水洗3遍,冷冻干燥,研磨至粉末,即得DNA- SiO_2 。

[0142] 实施例3 AS1411-MSNs的制备

[0143] 将实施例1步骤(4)中获得的含羧基修饰的介孔二氧化硅纳米粒子(MSNs-COOH)取50mg在15mL水中分散均匀,分别加入10mg/mL N-羟基琥珀酰亚胺(NHS,阿拉丁公司)和1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐(EDC,阿拉丁公司)各2mL,室温搅拌2h,加入Tris-HCl溶液(0.05M,pH=8.0)溶解的AS1411核酸适配体(购自美国Sigma公司,核苷酸序列如SEQ ID NO:1所示)溶液(浓度为2.5mg/mL,加入量为1mL),室温搅拌24h,12000rpm离心,用水洗3遍,冷冻干燥,研磨至粉末,即得AS1411-MSNs纳米粒子。

[0144] 实施例4对病人血清中抗ds-DNA抗体吸附性能的评价

[0145] 利用酶联免疫试剂盒(QUANTA Liteds-DNA ELISA,708510,Inova Diagnostics,A Werfen Company,检测步骤按说明书操作)检测抗ds-DNA抗体的滴度。抗ds-DNA抗体清除率的计算方法如下:抗ds-DNA抗体清除率=(吸附前样本数值-吸附后样本数值)/吸附前样本数值*100%。

[0146] 取10mg介孔二氧化硅纳米粒子(MSNs,实施例1制备)、实心二氧化硅纳米粒子(SiO_2 ,实施例2制备)、DNA修饰的实心二氧化硅纳米粒子(DNA- SiO_2 ,实施例2制备)、DNA修饰的介孔二氧化硅纳米粒子(DNA-MSNs,实施例1制备)以及AS1411核酸适配体修饰的介孔二氧化硅纳米粒子(AS1411-MSNs,实施例3制备)分别加入0.5mL红斑狼疮病人血清(来自中山大学第三附属医院),使5种纳米材料的浓度为20mg/mL,室温下混匀吸附2h。吸附结束后,8000rpm离心10min,分离上清和沉淀,并对上清中抗ds-DNA抗体的滴度进行检测,计算各种纳米材料对抗ds-DNA抗体的清除率。结果如图1所示, SiO_2 和MSNs对抗ds-DNA抗体的清除率分别为0%和6.7%,吸附前抗体滴度为409,吸附后抗体滴度分别为409和381。而DNA修饰这两种纳米粒子得到的DNA- SiO_2 和DNA-MSNs吸附血清后,抗ds-DNA抗体的滴度大大下降,分别下降到75和104,抗体清除率分别达到81.4%和74.4%,表明介孔和实心的二氧化硅进行DNA修饰后均具有高效的抗ds-DNA抗体清除率。而利用AS1411核酸适配体修饰的介孔二氧化硅纳米粒子MSNs-AS1411进行血清吸附后,抗体滴度降低为354,吸附率为16.5%,表明这种核酸适配体的修饰也具有一定的抗ds-DNA抗体清除率,但是清除效果远远低于DNA修饰的二氧化硅纳米粒子。

[0147] 实施例5 DNA-MSNs吸附抗ds-DNA抗体前后的表征

[0148] 将10mg实施例1制备的DNA-MSNs纳米粒子加入0.5mL红斑狼疮病人血清(分别来源于3个SLE病例)至DNA-MSNs纳米粒子浓度为20mg/mL,在室温下混匀(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。吸附结束后,通过8000rpm离心10min,分离上清和沉淀。

[0149] 对实施例1制备的DNA-MSNs和吸附3个病例血浆中抗ds-DNA抗体后的沉淀物进行化学结构的表征(通过透射电子显微镜(Hitachi, H-7650)、粒度和电位(马尔文粒度仪)、红外分光光度计(Equinox 55, Bruker)、拉曼光谱仪(LabRAM HR Evolution)), 对比DNA-MSNs纳米粒子在吸附抗ds-DNA抗体前后的化学结构变化, 结果见图2。本发明实施例1制备的DNA-MSNs纳米粒子分散均匀, 粒径均一, 且纳米粒子的尺寸大约在100nm左右(图2a); 该纳米粒子吸附抗ds-DNA抗体后, 明显看出纳米粒子表面出现蛋白晕(图2b~d), 并且高吸附率的病例1和2表面的蛋白晕明(箭头所示)明显多于低吸附率的病例3。病例1~3在吸附前抗ds-DNA抗体的滴度分别为: 701、257、633, 吸附后滴度下降为: 118、12、519。吸附前DNA-MSNs的水合粒径大约为161nm, 吸附病人血浆后DNA-MSNs的水合粒径分别增加到293nm、399nm和372nm(图3)。DNA-MSNs的电位为-16.06mV, 在吸附病人血浆后, 纳米粒子的电位变为-42.13、-38.5和-39.9mV(图4), 这主要是由于血浆中蛋白为负电位, 因此吸附血浆后, 纳米粒子变成更强的负电位, 进一步证明了病人血清中抗ds-DNA抗体被成功吸附到纳米粒子表面。从红外光谱可知, 纳米粒子吸附血浆后, 其特征吸收峰 2942.42cm^{-1} , 1402.67cm^{-1} 分别为蛋白质肽链骨架亚甲基($-\text{CH}_2-$)的伸缩振动和弯曲振动的特征峰(图5)。拉曼光谱的特征吸收峰 2942.42cm^{-1} , 1402.67cm^{-1} 分别为蛋白质肽链骨架亚甲基($-\text{CH}_2-$)的伸缩振动和弯曲振动的特征峰(图6)。以上结果均说明病人血浆中抗ds-DNA抗体被成功吸附到了DNA-MSNs纳米粒子表面。

[0150] 实施例6 DNA-MSNs安全性评价

[0151] 将实施例1步骤(5)制备的DNA-MSNs纳米粒子采用磷酸盐缓冲溶液(pH7.4, 浓度为0.01mol/L)配制成2.5mg/mL和5mg/mL两个浓度的溶液各2mL, 取0.5mL两个浓度的DNA-MSNs纳米粒子溶液分别与0.5mL的血红细胞悬浮液混合, 并用0.5mL磷酸盐缓冲溶液和0.5mL Triton X-100(10g/L)分别与0.5mL血红细胞孵育, 作为阴性对照和阳性对照, 在37℃水浴中孵育2h。孵育结束后, 各取100μL红细胞在显微镜(Life technologies, EVOS®FL Auto)下检查红细胞形貌变化并拍照, 剩下的混合液3000rpm离心10min, 取100μL上清液到96孔板, 平行做三个复孔。用酶标仪(美国, Moleculare Devices)540nm处收集吸光值, 并计算溶血率。溶血率计算方法: $\text{溶血率}\% = (\text{样本OD}_{540\text{nm}} - \text{阴性对照OD}_{540\text{nm}}) / (\text{阳性对照OD}_{540\text{nm}} - \text{阴性对照OD}_{540\text{nm}}) \times 100$ 。结果如图7所示, 2.5mg/mL和5mg/mL浓度下的DNA-MSNs纳米粒子对血红细胞并没有表现出明显的溶血现象, 同时从血红细胞表面形貌来看, 两个浓度的DNA-MSNs纳米粒子孵育血红细胞2h后, 血红细胞依然和阴性对照组一样表现出表面光滑形状圆滑的正常形貌, 阳性对照组则完全溶血, 在显微镜下拍不到红细胞。表明该产品具有良好的生物安全性。

[0152] 实施例7 DNA-MSNs检测肾切片中抗ds-DNA抗体沉积的性能评价

[0153] (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。

[0154] (2) 抗原修复: 取500~600mL 1×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。

[0155] (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。

[0156] (4) 孵育:滴加100 μ L用于荧光免疫染色的DNA-MSNs(实施例1制备得到)孵育2h,倾去液体。

[0157] (5) 观察:在荧光显微镜(Life Technologies,EVOS FL auto)下观察染色情况,拍照,结果如图8所示。

[0158] 对比例1苏木精—伊红染色法(H&E)

[0159] (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。

[0160] (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。

[0161] (3) 伊红染色2min,蒸馏水洗数秒。

[0162] (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。

[0163] (5) 中性树胶封片。

[0164] (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6的结果进行比较,结果如图8所示。

[0165] 比较实施例

[0166] 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7),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ds-DNA抗体检测试剂的检测结果如图7所示。

[0167] 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-MSNs:肾小球及肾小管区域未见明显荧光。

[0168] 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-MSNs:肾小球系膜区域见少量荧光。

[0169] 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-MSNs沉积。

[0170] 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-MSNs免疫沉积。

[0171] 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-MSNs:肾小球毛细血管壁节段分布和伴随系膜沉积的DNA-MSNs免疫沉积呈弥漫性。

[0172] 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-MSNs:毛细血管壁中弥漫上皮下DNA-MSNs免疫沉积。

[0173] 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MSNs-DNA染色结果,可以明确有无狼疮的特异性抗体抗ds-DNA抗体的沉积,从而明确光镜下的改变是否由于抗ds-DNA抗体引起,帮助诊断狼疮性肾炎。DNA-MSNs:在其他肾病患者中,未见MSNs-DNA的沉积。

[0174] 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-MSNs可以检测到肾小球中沉积的抗ds-DNA抗体,明确抗ds-DNA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-MSNs用于制备检测和分析肾切片中抗ds-DNA抗体沉积的试剂。

[0175] 表1

[0176]

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-MSNs	8	3	5	4	12	14	3	4
准确率(%)	100	100	100	100	100	100	100	100

[0177] 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。

序列表

<110> 暨南大学

<120> DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA抗体检测试剂中的应用

<160> 1

<170> SIP0SequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列 (Artificial Sequence)

<220>

<223> AS1411核酸适配体的核苷酸序列

<400> 1

ggtggtggtg gttgtggtgg tggtagg 26

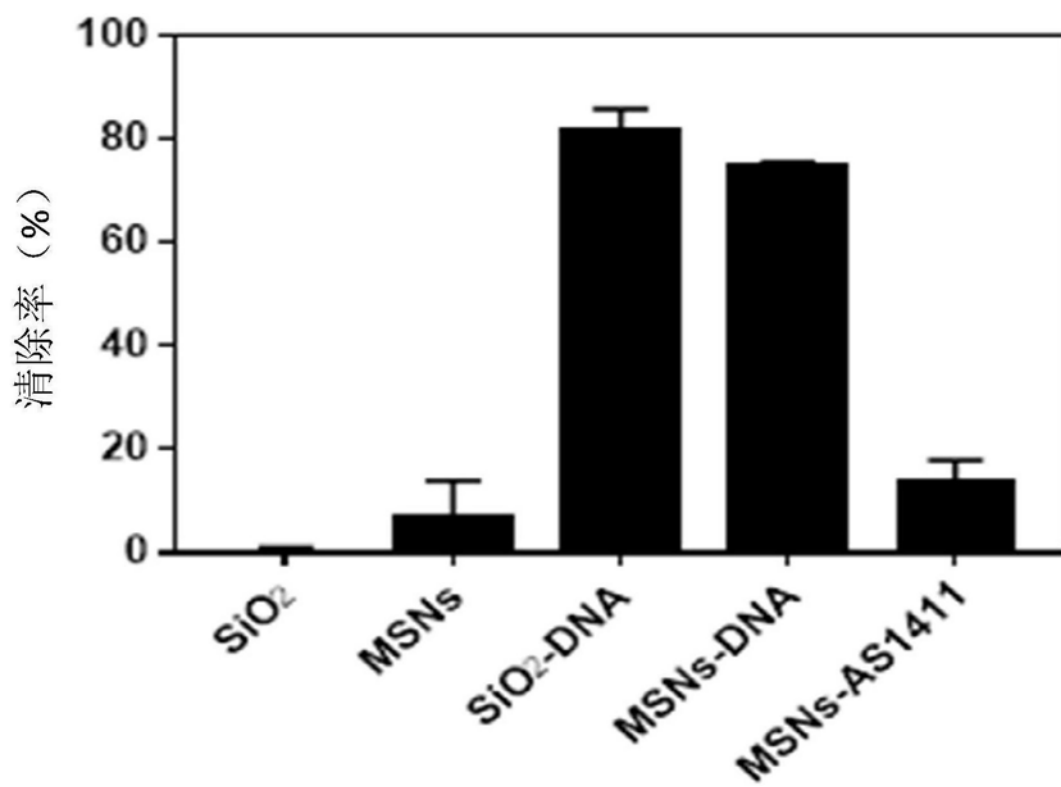


图1

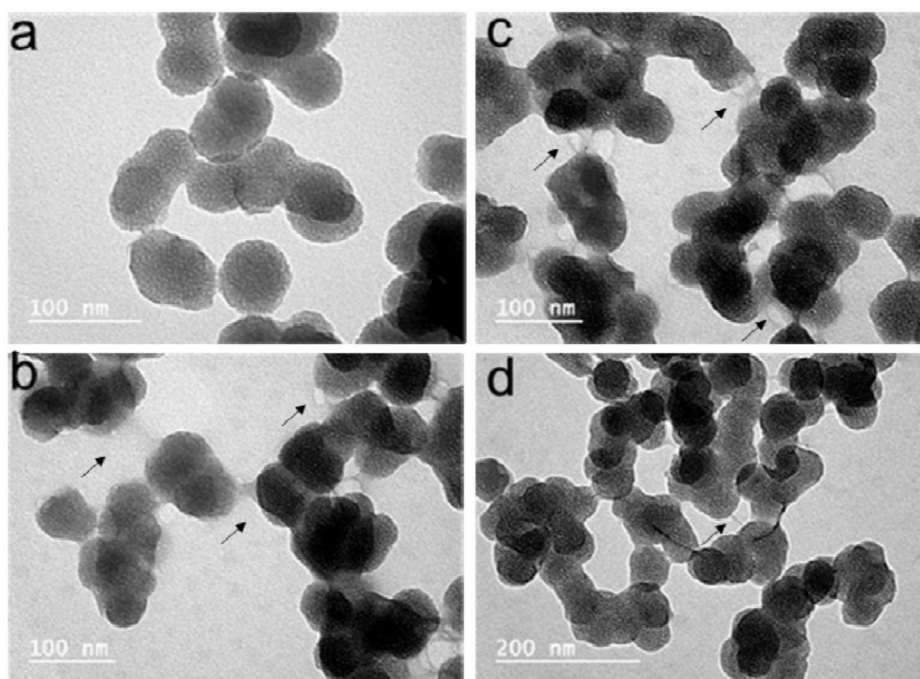


图2

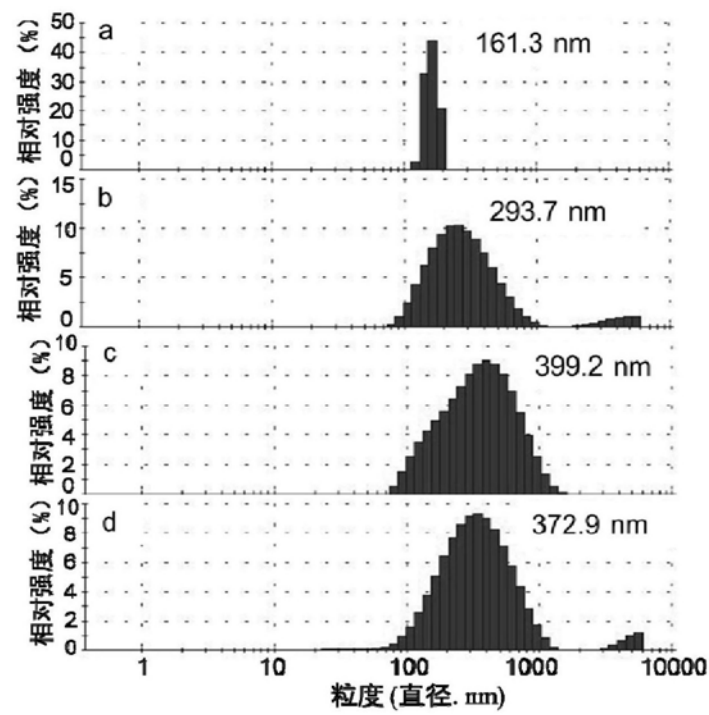


图3

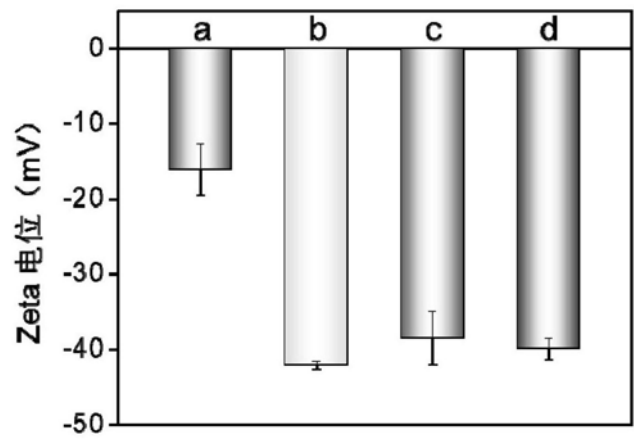


图4

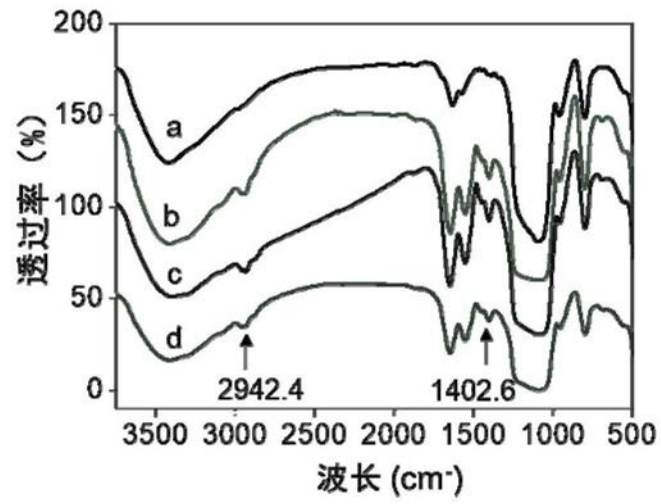


图5

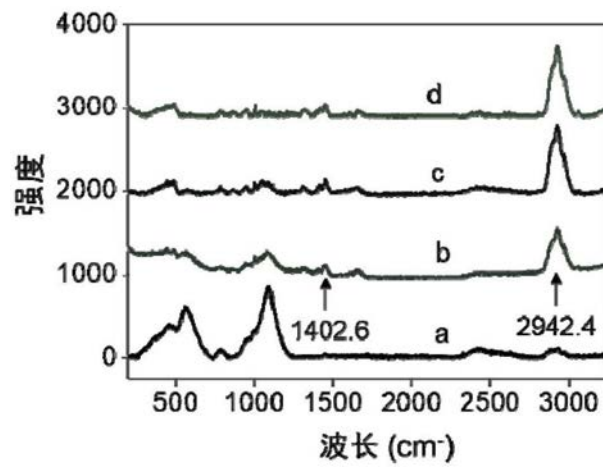
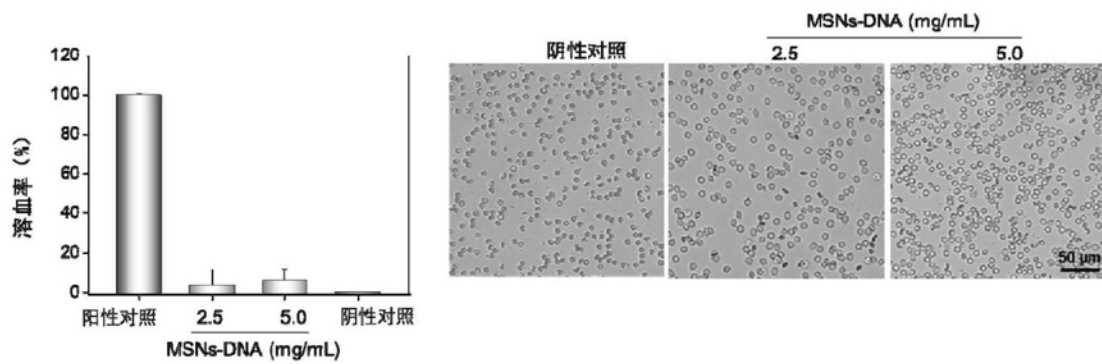


图6



A

B

图7

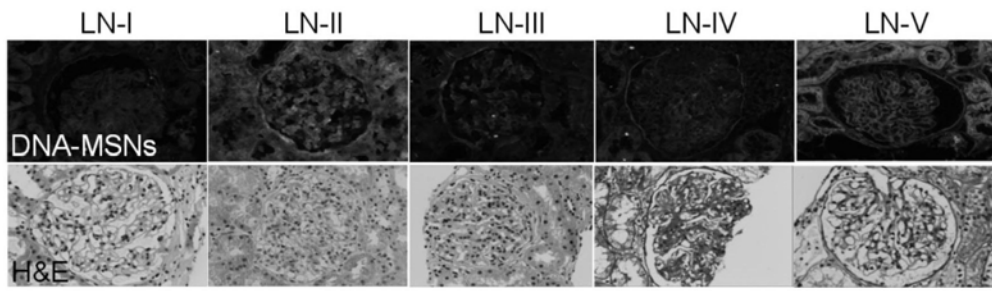


图8

专利名称(译)	DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA抗体检测试剂中的应用		
公开(公告)号	CN109521194A	公开(公告)日	2019-03-26
申请号	CN201811451062.9	申请日	2018-11-30
[标]申请(专利权)人(译)	暨南大学		
申请(专利权)人(译)	暨南大学		
当前申请(专利权)人(译)	暨南大学		
[标]发明人	陈填烽 贺利贞 林智明 刘婷 张曦		
发明人	陈填烽 贺利贞 林智明 刘婷 张曦		
IPC分类号	G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA抗体检测试剂中的应用。本发明DNA免疫吸附剂在制备抗ds-DNA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ds-DNA抗体，同时可特异性确认抗ds-DNA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。

