



(12)发明专利



(10)授权公告号 CN 105738624 B

(45)授权公告日 2018.07.10

(21)申请号 201511002956.6

(22)申请日 2015.12.28

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105738624 A

(43)申请公布日 2016.07.06

(73)专利权人 中华人民共和国上海出入境检验检疫局

地址 200135 上海市浦东新区民生路1208号

(72)发明人 李深伟 田桢干 杨志俊 周娴
张子龙 李平

(74)专利代理机构 上海泰能知识产权代理事务所 31233

代理人 宋纓 孙健

(51)Int.Cl.

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

(56)对比文件

CN 105002302 A,2015.10.28,

CN 104388584 A,2015.03.04,

CN 101487064 A,2009.07.22,

J. Morvan et al.Rift Valley fever
epizootic in the central highlands of
Madagascar.《Res. ViroL》.1992,第143卷

审查员 李倩

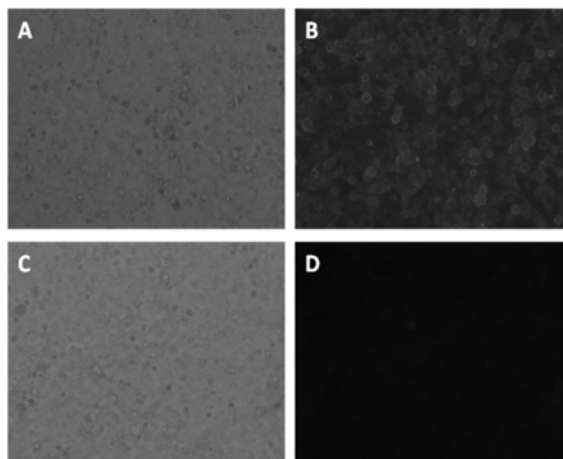
权利要求书2页 说明书5页 附图3页

(54)发明名称

一种裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法

(57)摘要

本发明涉及一种快速、简便、灵敏的裂谷热病毒(Rift Valley fever Virus)IgG抗体的间接免疫荧光检测方法。本发明的检测方法原理是以间接免疫荧光法检测人抗裂谷热病毒糖蛋白抗体。载玻片上是包被能表达裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞,阳性对照或阳性样品中抗糖蛋白抗体在结合到细胞表面后,用荧光染料标记二抗捕获后在荧光显微镜下观察,可见绿色的荧光细胞,判定为裂谷热病毒IgG抗体阳性。若样本中无裂谷热病毒抗体,细胞不显示荧光。检测方法包括如下步骤:293F细胞载波片的制备,载波片上加入样本,荧光标记二抗的结合,洗涤,荧光检测,结果判定。本发明能对裂谷热病毒进行快速灵敏的检测,操作简便,通过本发明可大幅度提高出入境口岸一线检验检疫人员的检测效率,对防控外来烈性传染病的输入具有重要意义。



1. 一种非诊断目的的裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法,其特征在于:包括以下检测步骤:

(1) 表达裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞载玻片的制备:

将Expi293F细胞经贴壁培养至细胞状态良好时,经胰酶消化后细胞计数,将细胞密度调整至 4×10^5 个/毫升后,在腔室玻片Chamber Slide板上以250ul/孔加入细胞悬液,轻柔摇晃,置于细胞培养箱中培养24小时;此时细胞基本铺满孔底,再用裂谷热病毒糖蛋白的全长基因表达质粒进行细胞转染;用脂质体2000转染质粒,以1ug质粒/2ul脂质体2000转染试剂的比例进行;细胞转染48小时后,得到表达的裂谷热病毒糖蛋白GP,用多聚甲醛进行细胞固定,固定完成再进行5%山羊血清封闭,封闭后用10%甘油封片2-8℃冷藏保存;所用的裂谷热病毒为病毒株200803170;

(2) 样品稀释液和洗液的配置;

(3) 表达裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞载玻片的平衡:将表达有裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞载玻片Chamber Slide从2-8℃取至室温中,放置10分钟;

(4) 加入待测样品、阳性对照、阴性对照;所述阳性对照为抗裂谷热病毒糖蛋白GP的兔阳性血清,其制备包括如下步骤:将表达裂谷热病毒毒株200803170糖蛋白GP的全长基因经分子克隆的方法克隆到Inertor™载体后,用基因免疫的方法免疫新西兰大白兔,经首次免疫、二次免疫后,耳静脉采血收集少量抗血清,经间接ELISA的方法检测抗血清的效价,效价检测 $>1:64000$ 后进行加强免疫,二次免疫间隔3周后,10天之后收集抗血清;所述的阴性对照为未免疫新西兰大白兔,制备过程同阳性对照;

(5) 吸掉上清液,每孔加入300ul洗液,10秒左右吸掉洗液,再重复一次;

(6) 加入荧光标记二抗;

(7) 吸掉样品溶液,每孔加入300ul洗液,10秒左右吸掉洗液,再重复一遍;

(8) 结果判定:将载玻片Chamber Slide置于荧光显微镜下观察荧光,判定结果,有绿色荧光的为阳性反应,无绿色荧光则未有免疫反应,表示样本中不含有裂谷热病毒抗体。

2. 根据权利要求1所述的非诊断目的的裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法,其特征在于:步骤(2)所述的稀释液成分为5%山羊血清溶于0.01M的磷酸盐缓冲液PBS中,所述的洗液成分为0.05%吐温20溶于0.01M磷酸盐缓冲液中。

3. 根据权利要求1所述的非诊断目的的裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法,其特征在于:步骤(4)所述阳性对照用稀释液1:100稀释,阴性对照用稀释液1:100稀释。

4. 根据权利要求1所述的非诊断目的的裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法,其特征在于:步骤(4)所述的待测样品、阳性对照、阴性对照,每孔加入200ul,盖上Chamber Slide盖子,室温放置60分钟。

5. 根据权利要求1所述的非诊断目的的裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法,其特征在于:步骤(6)中所述的荧光标记二抗为羊抗兔与羊抗人二抗混合液。

6. 根据权利要求1所述的非诊断目的的裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法,其特征在于:步骤(6)中所述的荧光二抗混合液加入前用样品稀释液1:2000倍稀释。

7. 根据权利要求1所述的非诊断目的的裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法,其特征在于:步骤(6)中所述的荧光二抗每孔加入200ul,室温避光放置1小时,此步骤之后做避光处理。

8. 根据权利要求1所述的非诊断目的的裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法, 其特征在于: 与在载玻片外进行与步骤(1)同步的裂谷热病毒糖蛋白GP制备与纯化验证实验, 包括如下过程:

将Expi293FTM细胞在Expi293FTM表达培养基中进行悬浮培养, 待细胞浓度增长到合适浓度时进行细胞转染实验; 细胞使用ExpiFectamineTM293转染试剂进行细胞转染; 以30ml的培养体系进行转染时, 取两个1.5ml的离心管A/B, A管中加入RPMI1640细胞培养液、200803170毒株GP DNA 30ug, 总体积1.5ml, 轻柔混匀; B管中加入RPMI1640细胞培养液、ExpiFectamineTM转染试剂80ul, 总体积1.5ml, 轻柔混匀, 室温孵育5分钟后, 把A加入B中, 轻柔混匀, 室温孵育20分钟加入细胞中; 在转染后96小时左右后收集蛋白; 在蛋白制备过程中无需改变培养基或添加培养基, 收集的细胞上清经Ni柱纯化, 得到表达的裂谷热病毒糖蛋白GP。

一种裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及体外诊断试剂技术领域,具体涉及一种裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法。

[0002] 背景介绍

[0003] 随着全球经济一体化和贸易自由化,国外的医学媒介生物通过先进的交通工具和国际贸易,可以迅速把传染病从一个国家或地区传向全球,造成国际间传播。近年来,烈性病毒性传染病在世界各国频频暴发流行,对人类健康带来严重威胁,给社会造成巨大经济损失。这些烈性病毒性传染病的频发给我们敲响了警钟,加强对其的研究和监测以及早预防控制是至关重要的。

[0004] 裂谷热(Rift Valley fever)是由裂谷热病毒引起的人畜共通病,以蚊虫类为媒介或接触传播的急性病毒性感染病。早在1912年在肯尼亚就有关于裂谷热的报告,但直到1930年在肯尼亚裂谷绵羊、牛群发生广泛流行此病才受到瞩目。历史上最出名的动物大流行是发生在1950年的肯尼亚,疫情持续约一年,根据估计当时约有10万只绵羊死亡。1977年在埃及亦发现裂谷热病毒,爆发了动物和人的大规模流行,猜测可能是因为从苏丹进口的牲畜受到感染。西非首次爆发人的裂谷热流行在1987年,其原因可能是塞内加尔河的整建计划导致地势较低的区淹水,改变动物和人之间的交互作用,造成裂谷热病毒传播至人类。2000年9月,沙特阿拉伯和也门爆发流行,是其首次在出现在非洲以外的确定案例。2006年11月,肯尼亚再度传出爆发裂谷热疫情,截至2007年1月7日,已有大约75人因此死亡,另外有183人受到感染。2007年1月20日,报告指出疫情已经由肯尼亚传至索马里,在当地造成14人死亡。

[0005] 裂谷热有人体疫苗,然而直到2010年为止,尚未广泛使用。一旦感染,则没有特定的治疗方法。裂谷热病毒属于白蛉热病毒属。此疾病由接触染病动物的血液、生乳、或是受到已感染蚊子的叮咬而传播。牛、绵羊、山羊与骆驼等动物也会被裂谷热感染,最常见的病媒为蚊子(通常为黑斑蚊属)。目前尚无发现人传人的病例。所以切断传播途径是最有效的预防人类感染裂谷热的方式。在诊断该疾病方面,可借由寻找血液中病毒或病毒所产生的抗体而确诊。

[0006] 裂谷热病毒在我国尚未流行,但随着我国商贸、旅游业的快速发展,境内外人员交往日益密切,以及动物的进口等影响,烈性病毒输入的危险性日益增高,因此,尽快建立快速简便、特异敏感的检测方法防范裂谷热病毒输入并控制其暴发流行具有重要意义。对裂谷热病毒的检测技术的国内目前研究不多,目前已知的相关研究均采用核酸方法对病毒进行检测,均不够简便、快速。本发明提供的IgG抗体间接免疫荧光法可检测人抗裂谷热病毒糖蛋白抗体,为裂谷热病毒的检测提供了快速,简便,灵敏的免疫荧光检测方法,本发明可大幅度提高进出口口岸一线检验检疫人员的检测效率,最大限度地防止外来输入性传染病的发生。

发明内容

[0007] 本发明所要解决的技术问题是提供一种快速、灵敏的裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法。本发明的裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法,包括如下步骤:

[0008] 1.表达裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞载波片的制备:

[0009] 将Expi293F细胞经贴壁培养至细胞状态良好时,经胰酶消化后细胞计数,将细胞密度调整至 4×10^5 个/毫升后,在Chamber Slide板上以250ul/孔加入细胞悬液,轻柔摇晃,置于细胞培养箱中培养24小时。此时细胞基本铺满孔底,再用裂谷热病毒糖蛋白的全长基因表达质粒进行细胞转染。用脂质体2000转染质粒,以1ug质粒/2ul脂质体2000转染试剂的比例进行。细胞转染48小时后,得到表达的裂谷热病毒糖蛋白GP,用多聚甲醛进行细胞固定,固定完成再进行5%山羊血清封闭,封闭后用10%甘油封片2-8℃冷藏保存。

[0010] 2.样品稀释液和洗液的配置;

[0011] 3.表达裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞载波片的平衡:将表达有裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞载波片Chamber Slide从2-8℃取至室温中,放置10分钟。

[0012] 4.加入待测样品、阳性对照、阴性对照:每孔加入200ul,盖上Chamber Slide盖子,室温放置60分钟。

[0013] 5.吸掉上清液,每孔加入300ul洗液,10秒左右吸掉洗液,再重复一次。

[0014] 6.加入荧光标记二抗:每孔加入200ul,室温避光放置1小时,此步骤之后均需做避光处理,防止荧光衰退。

[0015] 7.吸掉样品溶液,每孔加入300ul洗液,10秒左右吸掉洗液,再重复一遍。

[0016] 8.结果判定:将Chamber Slide置于荧光显微镜下观察荧光,判定结果,有绿色荧光的为阳性反应,无绿色荧光则未有免疫反应,表示样本中不含有裂谷热病毒抗体。

[0017] 步骤1所述的裂谷热病毒为病毒株200803170;

[0018] 步骤2所述的样品稀释液为5%山羊血清溶于0.01M PBS缓冲液中;洗液为0.05%的吐温20溶于0.01M PBS缓冲液中。

[0019] 步骤4所述的阳性对照为抗裂谷热病毒糖蛋白GP的兔阳性血清,其制备包括如下步骤:将表达裂谷热病毒糖蛋白GP的全长基因(200803170)经分子克隆的方法克隆到GInerator™载体后,用基因免疫的方法免疫新西兰大白兔,经首次免疫、二次免疫后,耳静脉采血收集少量抗血清,经间接ELISA的方法检测抗血清的效价,效价检测合格后(>1:64000)进行加强免疫(二次免疫间隔3周后),10天之后收集抗血清;未免疫新西兰大白兔作为阴性对照,同时进行与阳性对照制备一样的操作和检测。

[0020] 步骤4所述阳性对照用稀释液1:100稀释,阴性对照用稀释液1:100稀释。

[0021] 步骤6所述的荧光标记二抗为羊抗兔与羊抗人二抗混合液;荧光二抗混合液加入前用样品稀释液1:2000倍稀释。

[0022] 裂谷热病毒在我国尚未流行,由于阳性样品的来源受限使得对裂谷热病毒的快速检测技术的相关研究较少,尤其免疫检测方法,但做为口岸一线检验检疫,需有裂谷热病毒检测方法的技术储备。本发明以间接免疫荧光法检测人抗裂谷热病毒糖蛋白抗体。载玻片上是包被能表达裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞,阳性对照或阳性样品中抗糖蛋白抗体在结合到细胞表面后,用荧光染料标记的二抗捕获后在荧光显微镜下观察,可见绿色的荧光细胞,判定为裂谷热病毒IgG抗体阳性。此检测方法操作简单、节省时间、灵敏度高、特异性好,

为裂谷热病毒的检测提供了快速,简便,灵敏的免疫荧光检测方法。通过本发明可大幅度提高进出口口岸一线检验检疫人员的检测效率,既可减少工作量、又可最大限度地解决传统检测方法可能存在的阳性漏检问题,从而最大限度地防止外来输入性传染病的发生。

附图说明

[0023] 图1实施例1中载波片外裂谷热病毒糖蛋白表达后纯化的蛋白电泳图。

[0024] 图2实施例1中裂谷热病毒检测阴性和阳性对照荧光检测图。

[0025] 图中,A为阳性对照的可见光图,B为阳性对照的荧光图,C为阴性对照的可见光图,D为阴性对照的荧光图。

[0026] 图3实施例1中裂谷热病毒检测阳性模拟样本不同稀释浓度荧光检测结果。

[0027] 图中,A为高滴度阳性模拟样本(1:200)的可见光图,B为高滴度阳性模拟样本(1:200)的荧光图;C为中滴度阳性模拟样本(1:500)的可见光图,D为中滴度阳性模拟样本(1:500)的荧光图;E为低滴度阳性模拟样本(1:1000)的可见光图,F为低滴度阳性模拟样本(1:1000)的荧光图。

[0028] 图4实施例1中裂谷热病毒检测阴性样本荧光检测结果图。

[0029] 图中,A、C、E为健康人血清样本的可见光图,B、D、F为相应的健康人血清样本荧光图。

具体实施方式

[0030] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而并不用于限制本发明的范围。此外应理解,在阅读了本发明讲授的内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

[0031] 实施例1裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法

[0032] 一、实验步骤

[0033] 1. 样本准备

[0034] 本实施例中,由于阳性样本来源受限,故用抗裂谷热病毒糖蛋白GP的兔阳性血清用不同的稀释浓度做为模拟阳性样本和阳性对照,阴性对照样本为健康人的血清。

[0035] 2. 材料、试剂、仪器

[0036] Lab-Tek II Chamber Slide腔室玻片购自Nunc公司,GInerator™表达载体购自Immune Technology公司,Expi293F™表达系统所有试剂购自Thermo Fisher Scientific公司,荧光照相显微镜AXIO SCOPE A1购自蔡司公司,羊抗兔和人的混合荧光二抗购自Jackson ImmunoResearch公司。

[0037] 3. 方法

[0038] 3.1裂谷热病毒糖蛋白(GP)的制备与纯化

[0039] 3.1抗裂谷热病毒糖蛋白GP的兔阳性血清制备

[0040] 将表达裂谷热病毒糖蛋白GP的全长基因(200803170)经分子克隆的方法克隆到GInerator™载体后,用基因免疫的方法免疫新西兰大白兔,经首次免疫、二次免疫后,耳静脉采血收集少量抗血清,经间接ELISA的方法检测抗血清的效价,效价检测合格后(>1:

64000) 进行加强免疫(二次免疫间隔3周后),10天之后收集抗血清。未免疫新西兰大白兔作为阴性对照,同时进行完全一样的操作和检测。

[0041] 3.2裂谷热病毒抗体免疫荧光检测方法的建立

[0042] (1) 表达裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞载波片的制备:

[0043] 将293F细胞经贴壁培养至细胞状态良好时,经胰酶消化后细胞计数,将细胞密度调整至 4×10^5 个/毫升后,在Chamber Slide板上以250ul/孔加入细胞悬液,轻柔摇晃,置于细胞培养箱中培养24小时。此时细胞基本铺满孔底,再用裂谷热病毒糖蛋白的全长基因表达质粒进行细胞转染。用脂质体2000转染质粒,以1ug质粒/2ul脂质体2000转染试剂的比例进行。细胞转染48小时后,得到表达的裂谷热病毒糖蛋白GP,用多聚甲醛进行细胞固定,固定完成再进行5%山羊血清封闭,封闭后用10%甘油封片2-8℃冷藏保存。

[0044] (2) 样品稀释液和洗液的配置:5%山羊血清溶于0.01M PBS缓冲液中。洗液为0.05%的吐温20溶于0.01M PBS缓冲液中。

[0045] (3) 表达裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞载波片的平衡:将表达有裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞载波片Chamber Slide从2-8℃取至室温中,放置10分钟。

[0046] (4) 分别加入模拟阳性样本、阴性样本、阳性对照、阴性对照:模拟阳性样本为兔抗阳性血清用样品稀释液作1:10稀释,阴性对照样本为健康人的血清,阳性对照为兔抗阳性血清用样品稀释液作1:100稀释,阴性对照为用样品稀释液作1:100稀释的兔对照血清。每孔加入200ul。盖上Chamber Slide盖子,室温放置60分钟。

[0047] (5) 吸掉上清液,每孔加入300ul洗液,10秒左右吸掉洗液,再重复一次。

[0048] (6) 用样品稀释液1:2000倍稀释荧光标记二抗,每孔加入200ul,室温避光放置1小时。此步骤之后均需做避光处理,防止荧光衰退。荧光标记二抗为羊抗兔与羊抗人二抗混合液,这种二抗的混合液可保证兔抗阳性血清对照及真正阳性样本中的人抗裂谷热病毒糖蛋白IgG均能结合被标记表现出阳性荧光信号。

[0049] (7) 吸掉样品溶液,每孔加入300ul洗液,10秒左右吸掉洗液,再重复一遍。

[0050] (8) 将Chamber Slide置于荧光显微镜下观察荧光,判定结果,有绿色荧光的为阳性反应,无绿色荧光则未有免疫反应,表示样本中不含有裂谷热病毒抗体。

[0051] 3.3 293F细胞载波片上裂谷热病毒糖蛋白GP表达的验证:

[0052] 为了验证所制备的表达裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞载波片上糖蛋白的表达情况,在载波片外进行了裂谷热病毒糖蛋白GP制备与纯化的同步实验,考虑到表达量的问题,实验过程中的实验条件稍有变动,但不影响最后的表达结果,具体实验如下:

[0053] 将Expi293F™细胞在Expi293F™表达培养基中进行悬浮培养,待细胞浓度增长到合适浓度时进行细胞转染实验。细胞使用ExpiFectamine™293转染试剂进行细胞转染。以30ml的培养体系进行转染时,取两个1.5ml的离心管A/B,A管中加入RPMI 1640细胞培养液、GP DNA(200803170毒株,Genebank#ACX45275) 30ug,总体积1.5ml,轻柔混匀。B管中加入RPMI 1640细胞培养液、ExpiFectamine™转染试剂80ul,总体积1.5ml,轻柔混匀,室温孵育5分钟后,把A加入B中,轻柔混匀,室温孵育20分钟加入细胞中。在转染后96小时左右后收集蛋白。在蛋白制备过程中无需改变培养基或添加培养基。收集的细胞上清经Ni柱纯化,得到表达的裂谷热病毒糖蛋白GP。

[0054] 二、实验结果

[0055] 1.293F细胞载波片上裂谷热病毒糖蛋白GP表达的验证结果:

[0056] 载波片外进行的裂谷热病毒糖蛋白GP制备与纯化的同步实验中,在30ml的Expi293F™表达系统中制备裂谷热病毒糖蛋白GP,收集的细胞上清经Ni柱纯化后,进行蛋白电泳得到的蛋白电泳图,裂谷热病毒株200803170糖蛋白的分子量应54KD,蛋白电泳图在50-75KD间见明显条带,具体见图1。

[0057] 2.抗裂谷热病毒糖蛋白GP的兔阳性血清制备与检测

[0058] 用基因免疫的方法制备抗血清,使用1只新西兰大白兔,最终收集的抗血清有50ml,其效价检测结果见表1。由检测结果可见该抗血清的效价可达1:1000000以上。

[0059] 表1抗血清滴度测定结果

[0060]

稀释 倍数	1:1000		1:4000		1:16000		1:64000		1:256000		1:10240 00	Blank
OD 450	3.356	2.909	3.152	3.242	2.941	3.055	2.925	2.976	1.344	1.433	0.454	0.061

[0061] 3.裂谷热病毒抗体免疫荧光检测方法的建立

[0062] (1) 阴、阳性对照检测结果

[0063] 利用阳性兔抗血清1:100稀释液作为本检测方法中的阳性对照,未免疫兔血清1:100稀释作为阴性对照。阴性和阳性对照的荧光检测结果见图2。A为阳性对照的可见光图,B为阳性对照的荧光图,C为阴性对照的可见光图,D为阴性对照的荧光图。从图2可以看出,阳性对照孔荧光信号很强,而对应的阴性对照孔无任何荧光。

[0064] (2) 阳性模拟样本检测结果

[0065] 将阳性模拟样本分别进行1:200,1:500和1:1000稀释,分别得到高、中、低三个梯度低度的阳性模拟样本,经检测得到荧光信号图,具体见图3。从荧光信号强度来说,滴度越高,荧光信号越强。

[0066] (3) 裂谷热阴性样本检测结果

[0067] 健康人血清样本为阴性样本进行检测,得到荧光信号图。所有阴性样本均未检测到荧光,说明检测特异性较好,无交叉反应,具体见图4。

[0068] 本发明使用了表达裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞来提供检测靶位,真核细胞表达的糖蛋白具有天然构象的特点,能够有效地检测到抗血清中抗裂谷热病毒糖蛋白(GP)抗体。本方法具有专一性强(检测不同背景的人血清阴性对照10个,无交叉反应问题),灵敏度较高(抗血清在1:1000稀释是仍有较强信号),使用简单的特点,为检测裂谷热病毒的感染提供了一个简单,快速,准确的方法。这表明本发明的裂谷热病毒IgG抗体免疫荧光方法的检测性能良好,能准确地区分阴性及阳性样本,特异性良好,没有出现错判现象。

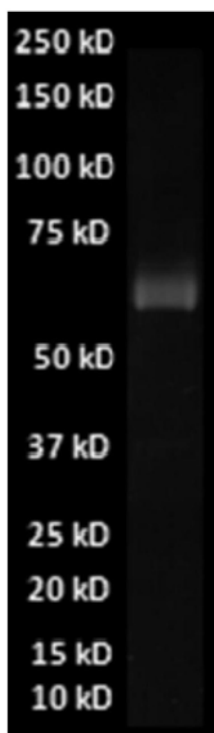


图1

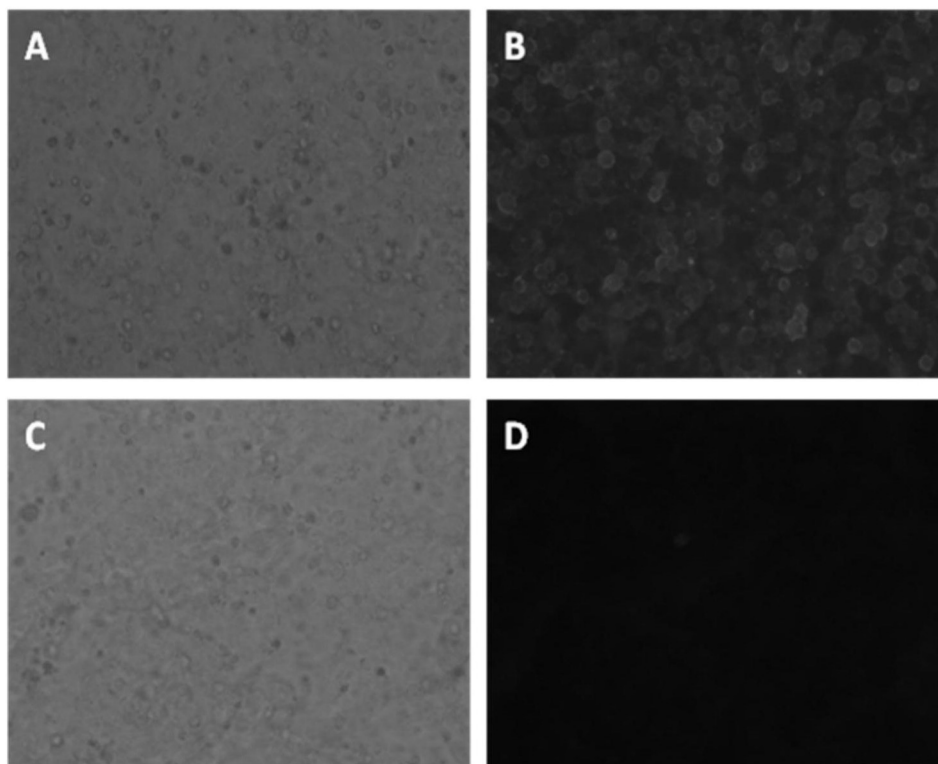


图2

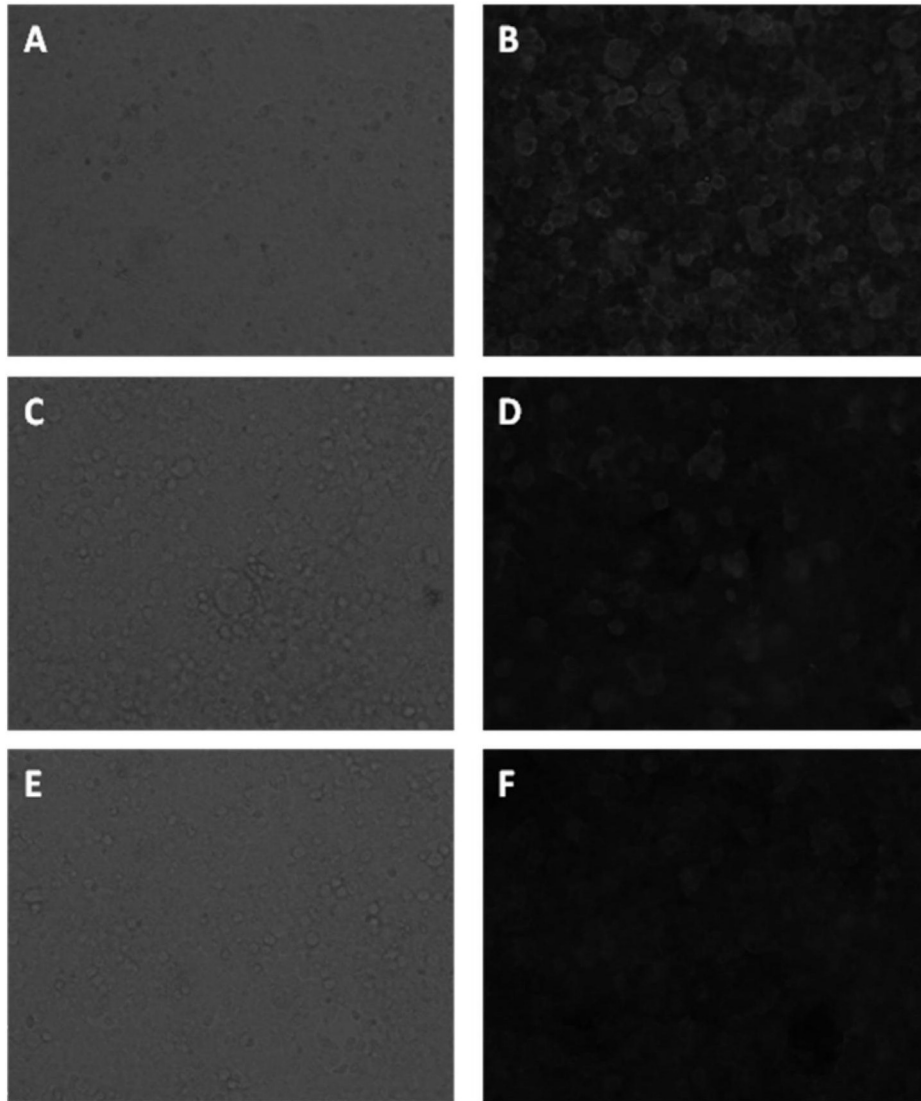


图3

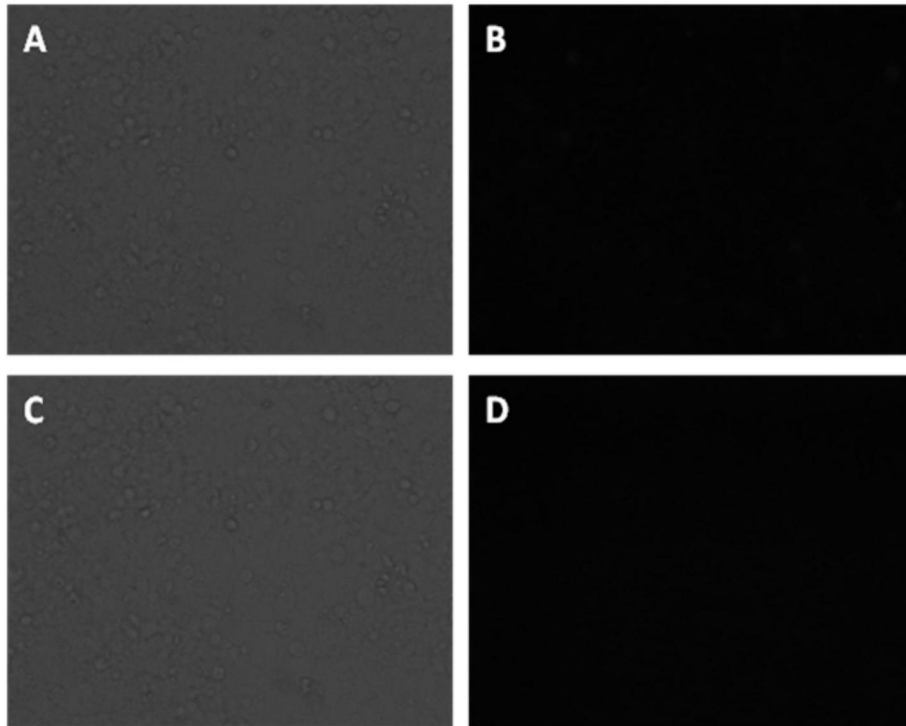


图4

专利名称(译)	一种裂谷热病毒IgG抗体的间接免疫荧光检测方法		
公开(公告)号	CN105738624B	公开(公告)日	2018-07-10
申请号	CN201511002956.6	申请日	2015-12-28
[标]申请(专利权)人(译)	中华人民共和国上海出入境检验检疫局		
申请(专利权)人(译)	中华人民共和国上海出入境检验检疫局		
当前申请(专利权)人(译)	中华人民共和国上海出入境检验检疫局		
[标]发明人	李深伟 田桢干 杨志俊 周娴 张子龙 李平		
发明人	李深伟 田桢干 杨志俊 周娴 张子龙 李平		
IPC分类号	G01N33/569 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/56983 G01N2469/20		
代理人(译)	孙健		
审查员(译)	李倩		
其他公开文献	CN105738624A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种快速、简便、灵敏的裂谷热病毒(Rift Valley fever Virus) IgG抗体的间接免疫荧光检测方法。本发明的检测方法原理是以间接免疫荧光法检测人抗裂谷热病毒病毒糖蛋白抗体。载玻片上是包被能表达裂谷热病毒糖蛋白的293F细胞，阳性对照或阳性样品中抗糖蛋白抗体在结合到细胞表面后，用荧光染料标记二抗捕获后在荧光显微镜下观察，可见绿色的荧光细胞，判定为裂谷热病毒IgG抗体阳性。若样本中无裂谷热病毒抗体，细胞不显示荧光。检测方法包括如下步骤：293F细胞载波片的制备，载波片上加入样本，荧光标记二抗的结合，洗涤，荧光检测，结果判定。本发明能对裂谷热病毒进行快速灵敏的检测，操作简便，通过本发明可大幅度提高出入境口岸一线检验检疫人员的检测效率，对防控外来烈性传染病的输入具有重要意义。

