



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105319371 A

(43) 申请公布日 2016. 02. 10

(21) 申请号 201410366066. 2

(22) 申请日 2014. 07. 29

(83) 生物保藏信息

CCTCC NO :C2014112 2014. 05. 29

(71) 申请人 广州瑞博奥生物科技有限公司

地址 510663 广东省广州市萝岗区瑞和路
79 号

(72) 发明人 罗树红 方建民 吕志强 张文姬
张玉明 黄若磐

(74) 专利代理机构 广州三环专利代理有限公司
44202

代理人 刘宇峰

(51) Int. Cl.

G01N 33/577(2006. 01)

G01N 33/535(2006. 01)

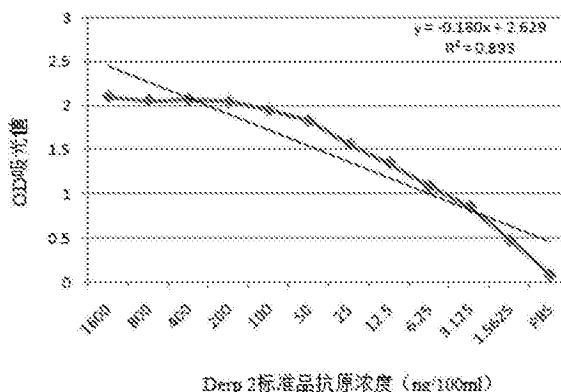
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

用于定量检测尘螨过敏原的酶联免疫试剂盒

(57) 摘要

本发明提供了一种能识别过敏原 DerP2 的单克隆抗体,是由保藏号为 CCTCC NO :C2014112 的杂交瘤细胞株 DerP2 所分泌的。本发明还提供了一种用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒,包括酶标板、标本稀释液、包被抗体、检测抗体、检测抗体稀释液、标准品、洗涤液、底物显色液、终止液;其中,包被抗体为如权利要求 1 所述的单克隆抗体;检测抗体为已标记 HRP 的抗 DerP2 多克隆抗体。本发明所述的抗 DerP2 单抗具有良好的特异性,与 DerP1 蛋白无交叉反应,以此为基础建立了快速、特异、敏感的检测过敏原的体外诊断试剂盒。



1. 一种能识别过敏原 DerP2 的单克隆抗体,是由保藏号为 CCTCC NO:C2014112 的杂交瘤细胞株 DerP2 所分泌的。

2. 一种用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒,包括酶标板、标本稀释液、包被抗体、检测抗体、检测抗体稀释液、标准品、洗涤液、底物显色液、终止液;其特征在于:包被抗体为如权利要求 1 所述的单克隆抗体;检测抗体为已标记 HRP 的抗 DerP2 多克隆抗体。

3. 根据权利要求 1 所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒,其特征在于:所述酶标板的包被抗体封闭液为 pH7.2,含 5%脱脂奶粉的 0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液。

4. 根据权利要求 1 所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒,其特征在于:所述标本稀释液为 15mM, pH6.5 的 PBS 缓冲液,溶质及其在所述标本稀释液中的质量浓度或摩尔浓度或体积浓度如下:0.1-1%几丁质酶,2-4%蔗糖,150mM NaCl,0.2%吐温 20。

5. 根据权利要求 1 所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒,其特征在于:所述检测抗体稀释液为 15mM, pH7.4 的 PBS 缓冲液,溶质及其在所述抗体稀释液中的质量浓度或摩尔浓度或体积浓度如下:0.5%酪蛋白,2-4%蔗糖,150mM NaCl,0.2%吐温 20。

6. 根据权利要求 1 所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒,其特征在于:所述洗涤液为 pH7.2,含 0.5%吐温 20、0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液。

7. 根据权利要求 1 所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒,其特征在于:所述底物显色液由显色液 A 和显色液 B 组成,显色液 A 液为过氧化氢,显色液 B 液为邻苯二胺或四甲基联苯胺。

8. 根据权利要求 1 所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒,其特征在于:所述终止液为 2M 硫酸溶液。

用于定量检测尘螨过敏原的酶联免疫试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于生物技术领域,涉及一种用于检测尘螨过敏原的酶联免疫试剂盒,具体是涉及一种用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒。

背景技术

[0002] 尘螨是引起哮喘,过敏性皮炎和婴儿湿疹等多种变态反应性疾病的一种强烈过敏原。DerP2 是来自尘螨 (*Dermatophagoides pteronyssinus*) 的一种最主要的特异性过敏原,80%—90%对尘螨过敏的病人对该过敏原都有很强烈的反应。检测尘螨裂解液中 DerP2 指标能够计算到空气中尘螨的含量,从而及时的预防过敏的发生,同时也为环境检测提供数据支持。

[0003] 目前研发的检测螨类裂解液中过敏原的技术有毛细管电泳电化学检测技术和纳米磁性粒子酶联免疫测定技术。已有实例显示毛细管电泳电化学检测技术可高效的分离和检测粉尘螨制剂中 DerP2 含量,而纳米磁性粒子酶联免疫测定技术可以检测空气滤网和吸尘器中的灰尘中尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的含量。

[0004] 目前已有的相关检测技术中,毛细管电泳电化学检测技术需要非常专业且比较昂贵的检测器,推广起来不是很方便,而纳米磁性粒子酶联免疫测定成本较高,用碱性磷酸酶标记检测抗体进行检测灵敏性不够,因此采用夹心法 ELISA,并且用生物素标记的抗体可以方便,快捷,灵敏的实现检测尘螨裂解液中过敏原的含量,该技术成熟且应用平台广泛,推广方便。

发明内容

[0005] 本发明的第一个目的在于提供一种能识别尘螨过敏原 DerP2 的单克隆抗体。

[0006] 本发明所述的一种能识别过敏原 DerP2 的单克隆抗体,是由保藏号为 CCTCC NO:C2014112 的杂交瘤细胞株 DerP2 所分泌的。该杂交瘤细胞株 DerP2 保藏在武汉大学中国典型培养物保藏中心 (CCTCC),地址是中国湖北省武汉市 武汉大学,保藏日期为 2014 年 5 月 29 日。

[0007] 本发明的第二个目的在于提供一种用于检测定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒,该试剂盒能通过本发明所述的能识别过敏原 DerP2 的单克隆抗体来检测样本中的尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2,具有简便、快捷、实用、灵敏、高效的特点。

[0008] 本发明所述的一种用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒,包括酶标板、标本稀释液、包被抗体、检测抗体、检测抗体稀释液、标准品、洗涤液、底物显色液、终止液;包被抗体为本发明所述的能识别过敏原 DerP2 的单克隆抗体;检测抗体为已标记 HRP 的抗 DerP2 多克隆抗体。

[0009] 根据本发明所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒的进一步特征,所述酶标板的包被抗体封闭液为 pH7.2,含 5%脱脂奶粉的 0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液。

[0010] 根据本发明所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒的进一步特征,所述标本稀释液为 15mM, pH6.5 的 PBS 缓冲液,溶质及其在所述标本稀释液中的质量浓度或摩尔浓度或体积浓度如下:0.1-1% 几丁质酶,2-4% 蔗糖,150mM NaCl,0.2% 吐温 20。

[0011] 根据本发明所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒的进一步特征,所述检测抗体稀释液为 15mM, pH7.4 的 PBS 缓冲液,溶质及其在所述抗体稀释液中的质量浓度或摩尔浓度或体积浓度如下:0.5% 酪蛋白,2-4% 蔗糖,150mM NaCl,0.2% 吐温 20。

[0012] 根据本发明所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒的进一步特征,所述洗涤液为 pH7.2,含 0.5% 吐温 20、0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液。

[0013] 根据本发明所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒的进一步特征,所述底物显色液由显色液 A 和显色液 B 组成,显色液 A 液为过氧化氢,显色液 B 液为邻苯二胺或四甲基联苯胺。

[0014] 根据本发明所述的用于定量检测尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2 的酶联免疫试剂盒的进一步特征,所述终止液为 2M 硫酸溶液。

[0015] 本发明所述的能识别过敏原 DerP2 的单克隆抗体,是由保藏号为 CCTCC NO:C2014112 的杂交瘤细胞株 DerP2 所分泌的。

[0016] 本发明的第二个目的在于提供一种用于定量检测尘螨过敏原的酶联免疫试剂盒,该试剂盒能检测空气中收集的样本里尘螨过敏原 DerP2 和 Derf2,具有简便、快捷、实用、灵敏、高效的特点。

[0017] 本发明以上单抗和多抗为核心试剂与常规试剂组合,制成了能检测 DerP2 的酶联免疫试剂盒,结合上述酶联免疫方法,实现了对 DerP2 的酶联免疫检测。

[0018] 本发明所述试剂盒能同时检测不同种属的 DerP2。

[0019] 本发明的有益效果是:

[0020] (1) 本发明制备的单克隆抗体能识别与 DerP2 同类的过敏原,现有技术中还没有抗体能同时识别 DerP2 和 Derf2。

[0021] (2) 本发明酶联免疫试剂盒操作简单,耗时少,灵敏度高,适合大量样品的快速检测。

[0022] (3) 该试剂盒成本低,易推广,能够进行定量检测空气中尘螨过敏原,从而可以检测室内尘螨的污染状况,有助于提前预防相关过敏疾病如哮喘,过敏性鼻炎等的发生。

[0023] 本发明所述的针对过敏原诊断的抗 DerP2 单抗,是由杂交瘤细胞株 DerP2 所分泌,杂交瘤细胞株 DerP2 的保藏号为 CCTCC C2014112。该单抗具有良好的特异性,与 DerP1 蛋白无交叉反应,可以以此为基础建立检测过敏原的体外诊断试剂盒,为临床与实践的不同需要提供了建立快速、特异、敏感的检测方法。

附图说明

[0024] 图 1 为本发明所述的用于定量检测尘螨过敏原的酶联免疫试剂盒的检测标准曲线,显示该试剂盒的灵敏度。

[0025] 图 2 是本发明所述的用于定量检测尘螨过敏原的酶联免疫试剂盒的检测标准曲

线,显示该试剂盒的特异性。

[0026] 图 3 是本发明所述用于定量检测尘螨过敏原的酶联免疫试剂盒的样本测试相关性曲线。

具体实施方式

[0027] 实施例 1 :过敏原 DerP2 基因克隆表达及蛋白纯化

[0028] 1. 过敏原 DerP2 基因核苷酸序列和重组表达的氨基酸序列。

[0029] 根据 DerP2 基因序列 (Genbank 登录号为 AM263560),设计引物,

[0030] 引物序列为:

[0031] 上游引物 :GATCAAGTCGATGTCAAA

[0032] 下游引物 :GCTAAAATCCGCGATTAA

[0033] 将 DerP2 基因克隆到表达载体 pET28a 上,用测序法验证该基因是否克隆成功。

[0034] 2、表达质粒的构建和高表达工程菌株的获得

[0035] 表达载体构建方法:通过 PCR 扩增得到目的 DerP2 基因,用 NdeI+XhoI 双切酶 PCR 产物及 pET28a 质粒将两个片段用 T4DNA 连接酶进行连接,连接产物转化进入大肠杆菌 top10,在含有卡那抗生素的 LB 平板上挑选单克隆,进行菌落 PCR 鉴定。通过菌落 PCR 鉴定的阳性克隆挑至 LB 液体培养基过夜培养,少量抽提质粒,再通过双酶切和测序确定阳性克隆菌株,完成表达载体的构建。

[0036] pET28a/DerP2 质粒转化进入大肠杆菌表达菌株 BL21 (DE3),在含有卡那抗生素的 LB 平板上挑选单克隆过夜培养,获得表达菌株,并将表达菌株保存。将过夜培养的表达菌株按照 120:4000 比例转接新鲜培养基,培养至 OD600 到 0.6 左右时,加入 0.5mM IPTG 在 30 度条件下培养 12-16h,收集菌体。将菌体进行超声破碎,通过 SDS-PAGE 分别检测破碎后上清和沉淀,检测目的基因表达情况。DerP2 基因在沉淀中高量表达,表达量达到总蛋白的 80% 左右。

[0037] 3、DerP2 蛋白的纯化

[0038] 用 0.5mM 的 Isopropyl β -D-1-thiogalactopyranoside (IPTG) 诱导上述 DerP2 表达菌株 300mL,30℃ 培养 16h。收集细菌并将菌体悬浮在悬浮液中,经溶菌酶破壁后,再采用超声波破碎菌体,经离心 (7500g,4℃) 分离上清和沉淀。沉淀部分通过分别含有 2M, 4M, 6M 尿素的包涵体洗涤液梯度洗涤,将洗涤成分通过 SDS-PAGE 鉴定。在 4M 尿素洗涤液里发现 DerP2 以高量存在,为了获得纯度 95% 以上的蛋白,洗涤液再通过 GE Healthcare 公司的镍柱进行亲和层析纯化。最后得到纯度在 95% 以上,产量高达 5mg/100mL 蛋白。

[0039] 表达的 DerP2 蛋白的氨基酸长度为 129aa,为去掉信号肽 (划线部分为信号肽序列) 后的成熟序列,表达范围为 Asp18-Asp146,蛋白大小为 16.5KDa。

[0040] 实施例 2 :过敏原 DerP2 单克隆抗体的制备

[0041] 1、DerP2 单抗细胞株的制备

[0042] 用上述纯化的 DerP2 蛋白免疫 BalB/c 小鼠:初次免疫时将弗氏完全佐剂与抗原 150 μ l (50 μ g) 等体积混合,充分乳化后,皮下多点注射。2 周后,对小鼠进行再次免疫,并改用弗氏不完全佐剂,注射体积和方法不变,此后每隔 2 周用同样方法对小鼠继续免疫,共免疫 3 次。待小鼠血清效价达到要求后准备进行细胞融合,融合前三天对小鼠腹腔注射

50 μ g 抗原进行冲击免疫。

[0043] 在免疫小鼠的同时准备小鼠骨髓瘤细胞 SP2/0。

[0044] 将致敏的 B 淋巴细胞与骨髓瘤细胞进行融合,用 HAT 培养基进行选择培养(以小鼠腹腔巨噬细胞为滋养细胞)。

[0045] 接着,用 ELISA 方法检测杂交瘤细胞的培养上清:以纯化的 DerP2 蛋白 1 μ g/ml 包被酶标板,每孔 100 μ l,4 $^{\circ}$ C 过夜。第二天洗涤 3 遍后,用 5%脱脂牛奶封闭,37 $^{\circ}$ C 孵育 2h。加待测上清 100 μ l,37 $^{\circ}$ C 孵育 1h。洗涤 6 遍,加生物素化二抗(抗鼠 IgG-Biotin),37 $^{\circ}$ C 孵育 1h。洗涤 6 遍,加入酶标记的链酶亲和素 (Streptavidin-HRP),37 $^{\circ}$ C 孵育 1h。洗涤 6 遍,加底物显色液 100 μ l,室温避光静置 10min,加终止液 50 μ l。结果用酶标仪测定波长 450nm 值,OD 值高于阴性对照 2 倍以上者视为阳性。

[0046] 然后,将选出的阳性杂交瘤细胞经 2-3 轮的克隆化培养(有限稀释法),获得稳定的能够产生高效价单抗的杂交瘤细胞克隆,并检测其抗体亚型均为 IgG1。将杂交瘤细胞克隆扩大培养,并冻存保种。

[0047] 将筛选获得的杂交瘤细胞株 DerP2 送交中国典型培养物保藏中心(CCTCC)进行保藏,地址是中国湖北省武汉市武汉大学,保藏号为 CCTCC NO:C2014112,保藏日期为 2014 年 5 月 29 日。

[0048] 2、DerP2 单克隆抗体的制备纯化

[0049] 将上述杂交瘤细胞分别接种至用石蜡油处理过的小鼠腹腔,制备腹水。抽取腹水后,采用 GE Healthcare 公司的 HiTrap Protein G HP 进行纯化,并将纯化后的抗体进行分装冻干。

[0050] 实施例 3:过敏原 DerP2 多克隆抗体的制备

[0051] 1、DerP2 多克隆抗体的制备

[0052] 用上述纯化的 DerP2 蛋白免疫 SPF 级新西兰兔子:通过弗氏佐剂乳化抗原,从 SPF 级兔子背部多点注射的方法免疫动物。三次免疫后从耳缘静脉采集小量血清进行 ELISA 检测。如效价达到要求,对动物进行最后一次加强免疫,三天后从心脏采集大量血清。

[0053] 2、ELISA 酶联免疫吸附方法检测血清效价

[0054] 包被每孔 100ng 免疫原于酶标板,依次加入 5%脱脂奶粉,不同浓度多克隆抗体,生物素标记的种属二抗羊抗兔,HRP-链亲和素和 TMB 底物显色。Bio-Tek 酶标仪读数,根据 OD 值绘制标准曲线。

[0055] 抗原抗体的相对亲和力将使用抗原来包被的直接酶联免疫吸附试验检测,抗原 0.1 μ g/ml 包被 96 孔板,5%脱脂奶粉的磷酸盐缓冲液封闭后,加入针对包被抗原的抗体孵育。洗涤后,加入 10ng/ml 的辣根过氧化物酶标记的抗兔 IgG 抗体,清洗后,加入 TMB 将产生颜色。扣除背景后,信号强度表明了抗体抗原的结合。

[0056] 3、多克隆抗体的纯化

[0057] ProteinG/A 预装柱纯化血清抗体:大量采取的血清用 50%饱和硫酸铵沉淀初步纯化后,与磷酸盐缓冲液混合通过 ProteinG/A 预装柱,再用洗脱缓冲液收集高纯度的抗体蛋白。使用 Bradford 法检测抗体定量,分装冻干制作抗体制品。

[0058] Western Blotting 免疫印迹检测多克隆抗体特异性:生产出来的抗体将用免疫印迹分析来测试特异性。

- [0059] 实施例 4 :检测 DerP2 的酶联免疫试剂盒的组建
- [0060] 组建检测 DerP2 的酶联免疫试剂盒,使其所含下述组分 :
- [0061] (1) 已包被抗 DerP2 单抗作为捕获抗体的酶标板 ;
- [0062] (2)pH 值为 7.2,含 5%脱脂奶粉,0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液为封闭液 ;
- [0063] (3)pH 值为 7.2,含 0.5%吐温 20,0.05%叠氮化钠,0.1mol/L 的磷酸盐缓冲液的洗涤液 ;
- [0064] (4)DerP2 标准品溶液 ;
- [0065] (5) 底物显色液由显色液 A 和显色液 B 组成,显色液 A 液为过氧化氢,显色液 B 液为邻苯二胺或四甲基联苯胺 ;
- [0066] (6) 终止液为 2M 硫酸溶液 ;
- [0067] (7) 制备生物素化的抗 DerP2 多克隆抗体作为检测抗体 ;
- [0068] (8) 辣根过氧化物酶标记的链亲和素。
- [0069] 实施例 5 :检测 DerP2 双抗体夹心法的建立
- [0070] 1) 加入梯度稀释的 DerP2 蛋白标准品与待检测样品,每个样品做两个重复,每孔加 100ul,37℃反应 40 分钟。
- [0071] 2) 配置洗涤液于洗板机上洗板 5 次共 10 分钟。
- [0072] 3) 加入生物素标记的抗 DerP2 多克隆抗体,加入微孔板中孵育 40 分钟。
- [0073] 4) 洗涤,加入链霉亲和素孵育 40 分钟。
- [0074] 5) 再次洗涤并加入底物反应 10 分钟,加入终止液显色,于酶标板上读数。
- [0075] 根据读数计算标准曲线,可以得出读数与 DerP2 蛋白标准品之间的线性关系,将样品的 OD 值代入线性公式得出样品的含量。
- [0076] 实施例 6 DerP2 酶联免疫试剂盒的质量分析
- [0077] 1、本发明试剂盒的灵敏度
- [0078] 将抗原稀释 10 个梯度,按照试剂盒操作流程测试吸光值。将吸光值代入标准曲线方程计算得出的浓度为检测量。
- [0079]

稀释倍数	OD
1600	2.097
800	2.059
400	2.066
200	2.048
100	1.947
50	1.828
25	1.565
12.5	1.3485
6.25	1.0885
3.125	0.857
1.5625	0.482
PBS	0.0875

[0080]

[0081] 将 DerP2 标准品配制成 1.5625,3.125,6.25,12.5,25,50,100,200,400,800,1600ng/ml10 个浓度梯度,按照优化后的 ELISA 条件测定,绘制标准曲线。如下图所标,

ELISA 检测方法的回归方程 $y = 0.18x + 2.629$, $R^2 = 0.893$, 线性范围为 1.56 至 1600ng/ml, 由数据可知此试剂盒的最低检测值为 1.5625ng/ml。参见图 1。

[0082] 2、本发明试剂盒的特异性

[0083] 正确检定不存在的被检物质的能力（无假阳性），取决于捕获抗体和检测抗体的纯度及特异性。

[0084] (1) 将同一种属尘螨的 Derp1 蛋白倍比稀释成浓度梯度进行 ELISA 检测，按照试剂盒操作流程得到检测值，结果如下：

[0085]

稀释倍数	OD
1600	0.387
800	0.3275
400	0.32
200	0.2375
100	0.2045
50	0.1585
25	0.1515
12.5	0.113
6.25	0.1055
3.125	0.096
PBS	0.0875

[0086] 由结果可知，需 Derp1 蛋白达到 100ng/ml 才与对照有明显区别，可知此试剂盒对同一种属不同蛋白 Derp1 的没有明显的交叉反应。

[0087] (2) 将不同种属尘螨的 Derf2 蛋白倍比稀释成浓度梯度进行 ELISA 检测，按照试剂盒操作流程得到检测值，结果如下：

[0088]

稀释倍数	OD
1600	2.125
800	1.944
400	1.845
200	1.7105
100	1.6145
50	1.156
25	0.818
12.5	0.586
6.25	0.39
3.125	0.2655
PBS	0.0875

[0089] 如图 2 所示，ELISA 检测方法的回归方程 $y = -0.221x + 2.466$, $R^2 = 0.975$, 线性范围为 3.125 至 1600ng/ml, 由数据可知此试剂盒的最低检测值为 3ng/ml。

[0090] 由结果可知，此试剂盒还可同时检测不同种属尘螨过敏原的 Derf2 蛋白，由 NCBI 数据库所对比的氨基酸序列可知 DerP2 与 Derf2 具有同源性。

[0091] 3、本发明试剂盒的稳定性

[0092] 试剂盒在规定条件下能储存的时间，一般采用破坏性试验。即将试剂存放于 37℃ 保存，过 4 天后测定其灵敏度，特异性和精密度等指标，通常认为 37℃ 每稳定一天相当于 4 ~ 10℃ 保存一个半月。

[0093]

DerP2 抗体	第 1 天	第 5 天
50ng	1.9365	1.697
25ng	1.5945	1.406
12.5ng	1.385	1.176
6.25ng	1.048	0.875
3.125ng	0.8675	0.703
1.5625ng	0.508	0.4685
PBS	0.0765	0.075

[0094]

[0095] 如上表所示,本发明所述的 DerP2 抗体在 37℃ 保藏 4 天后检测的效价与第 1 天的数值相差不大,具有一定的稳定性。

[0096] 4、本发明所述试剂盒的应用

[0097] 将待测样本(尘螨裂解液)按照试剂盒的操作流程(参见实施例 5)加入,得到结果如下:

[0098]

稀释倍数	OD
200	2.074
100	2.054
50	1.7185
25	1.217
12.5	0.7695
6.25	0.5175
PBS	0.2235
重组 DerP2	3.0945

[0099] 绘制折线图如图 3,样本值与对照呈明显的线性关系,可知此试剂盒可应用于过敏原尘螨的检测。

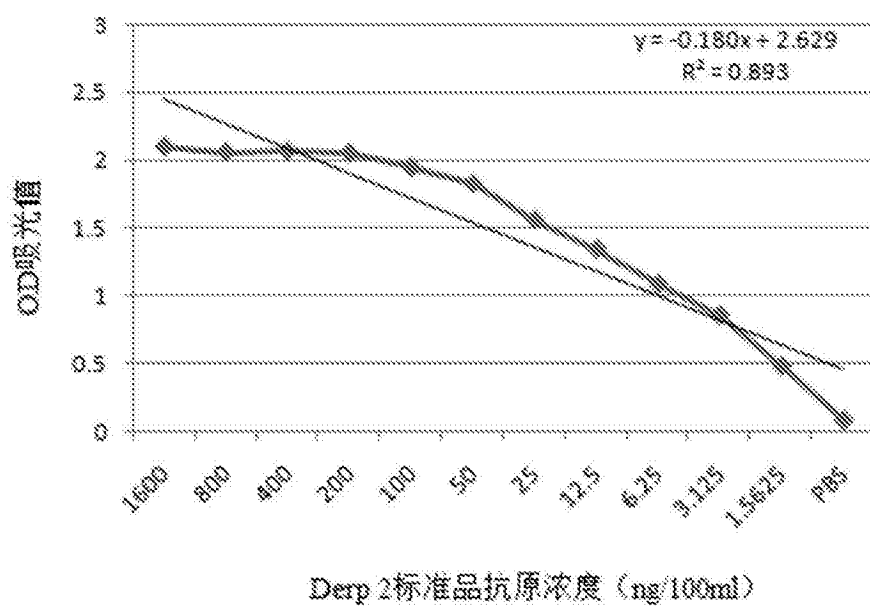


图 1

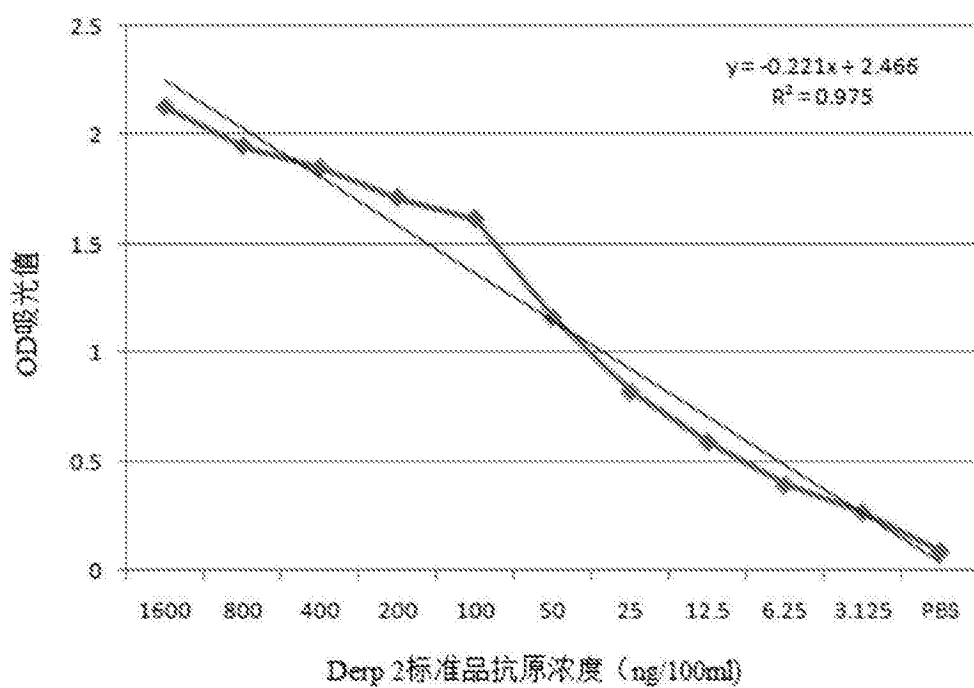


图 2

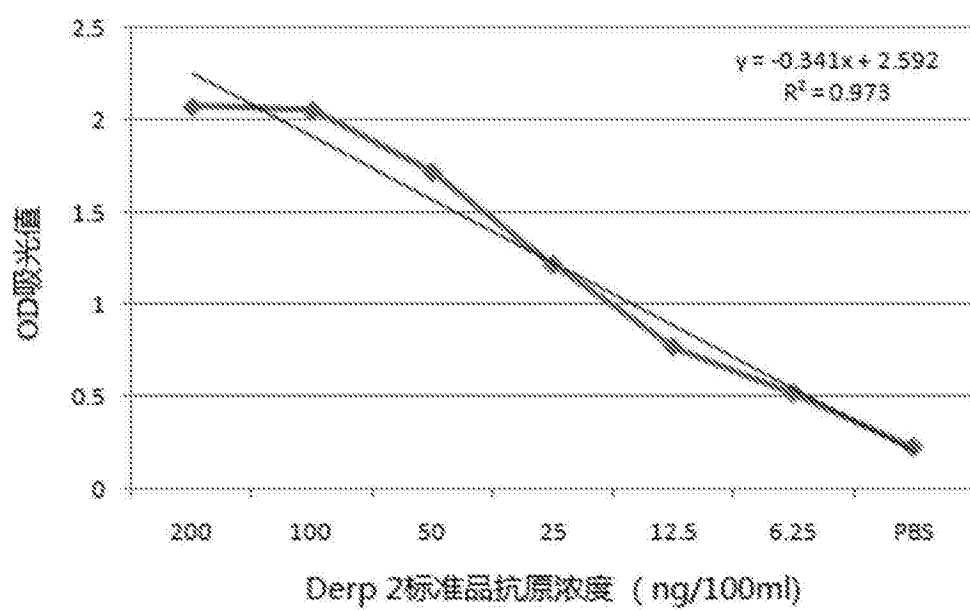


图 3

专利名称(译)	用于定量检测尘螨过敏原的酶联免疫试剂盒		
公开(公告)号	CN105319371A	公开(公告)日	2016-02-10
申请号	CN201410366066.2	申请日	2014-07-29
[标]申请(专利权)人(译)	广州瑞博奥生物科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	广州瑞博奥生物科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	广州瑞博奥生物科技有限公司		
[标]发明人	罗树红 方建民 吕志强 张文姬 张玉明 黄若磐		
发明人	罗树红 方建民 吕志强 张文姬 张玉明 黄若磐		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/535		
代理人(译)	刘宇峰		
其他公开文献	CN105319371B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种能识别过敏原DerP2的单克隆抗体，是由保藏号为CCTCC ? NO : C2014112的杂交瘤细胞株DerP2所分泌的。本发明还提供了一种用于定量检测尘螨过敏原DerP2和Derf2的酶联免疫试剂盒，包括酶标板、标本稀释液、包被抗体、检测抗体、检测抗体稀释液、标准品、洗涤液、底物显色液、终止液；其中，包被抗体为如权利要求1所述的单克隆抗体；检测抗体为已标记HRP的抗DerP2多克隆抗体。本发明所述的抗DerP2单抗具有良好的特异性，与DerP1蛋白无交叉反应，以此为基础建立了快速、特异、敏感的检测过敏原的体外诊断试剂盒。

