

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510078209.0

[51] Int. Cl.

G01N 33/543 (2006.01)

G01N 33/531 (2006.01)

G01N 33/544 (2006.01)

[43] 公开日 2006年12月13日

[11] 公开号 CN 1877329A

[22] 申请日 2005.6.7

[21] 申请号 200510078209.0

[71] 申请人 徐军杰

地址 350025 福建省福州市鼓楼区西环北路  
156号10号楼203室

[72] 发明人 徐军杰

权利要求书1页 说明书2页

[54] 发明名称

检测抗DNA抗体的试剂盒

[57] 摘要

本发明提供了一种不受抗组蛋白抗体干扰的检测抗DNA抗体的酶免疫或胶体金免疫检测试剂盒。其特点是先用鱼精蛋白包被固相载体，加强吸附DNA抗原，再用肝素封闭鱼精蛋白上未与DNA结合位点，从而防止鱼精蛋白与干扰物(如抗组蛋白抗体)结合。本发明的优点是DNA与鱼精蛋白结合比较接近自然状况下的DNA与组蛋白结合；加用结合力强、不易产生抗体、分子量较大(有位阻效应)的肝素封闭鱼精蛋白上未与DNA结合位点，可大大减少干扰物的非特异性结合，防止假阳性。

- 
1. 一种检测抗 DNA 抗体的酶免疫法或胶体金免疫法试剂盒,其特点在于先用鱼精蛋白(或粗制品、类似物)包被于固相载体表面,使 DNA 与鱼精蛋白结合,再用肝素或类似物来封闭鱼精蛋白上未与 DNA 结合的位点。
  2. 根据权利要求 1 所述试剂盒,可用塑料板或微孔滤膜作固相载体。

### 检测抗 DNA 抗体的试剂盒

**技术领域** 本发明涉及一种医用免疫学检测配套试剂（试剂盒），特别是涉及一种酶免疫法或胶体金免疫法检测血清抗 DNA 抗体的试剂盒。

**背景技术** 已知常用的检测血清抗 DNA 抗体的酶免疫法或胶体金免疫法，是将鱼精蛋白或多聚赖氨酸等“包被物”预先结合（包被）于一固相载体（如塑料孔板或微孔滤膜等）；再将 DNA 抗原与包被物结合，这样使原本不易与固相载体结合的 DNA（如双链 DNA）能够结合于固相载体表面，进而制成试剂盒。使用时，先加待测血清，使血清中抗 DNA 抗体与固相载体上的 DNA 抗原特异结合；再用能与抗 DNA 抗体结合的酶标记（或金标记）的抗人 Ig 抗体或葡萄球菌 A 蛋白（SPA）与已结合于固相载体上的抗 DNA 抗体结合；再加酶底物反应显色或直接观察胶体金颗粒在滤膜上结合沉积的颜色，从而特异地检测出血清中抗 DNA 抗体。这些已知的检测抗 DNA 抗体的免疫学方法的缺点之一是有非特异结合产生的假阳性。由于包被于固相载体的鱼精蛋白或多聚赖氨酸等物在结构上与人体组蛋白相似，故抗组蛋白抗体（这种抗体可与抗 DNA 抗体同时出现）也可与包被的鱼精蛋白或多聚赖氨酸结合，出现交叉免疫反应（假阳性）。

本发明的目的是提供一种不受抗组蛋白抗体干扰的检测抗 DNA 抗体的酶免疫或胶体金免疫检测试剂盒。其特点是先用鱼精蛋白（或粗制品、类似物）包被于固相载体，吸附 DNA，再用肝素（或类似物）封闭鱼精蛋白上未与 DNA 结合的部位，从而防止鱼精蛋白与干扰物（如抗组蛋白抗体）结合，防止假阳性。

已知 DNA 链带有较多负电荷，在染色体中 DNA 链是与带正电荷的碱性蛋白质（如组蛋白或鱼精蛋白）相结合。在异常情况下，机体有时会产生抗自身 DNA 或/和抗组蛋白抗体，导致自身免疫性疾病（如系统性红斑狼疮，SLE）。一般认为检出抗双链 DNA 抗体是诊断 SLE 的特异性指标。已知

肝素是一种多聚阴离子（带较多负电荷）的多糖类物质。人体某些细胞中含大量肝素，在某些过敏反应时会释放入血液。肝素极易与鱼精蛋白结合，临床上常用鱼精蛋白来对抗肝素用量过大。鱼精蛋白结合肝素后，可能会封闭鱼精蛋白上的结合位点。利用此原理，本发明在用鱼精蛋白包被的检测法中，加用肝素来结合封闭鱼精蛋白未结合 DNA 的位点，从而封闭固相载体表面暴露的鱼精蛋白，防止鱼精蛋白与干扰物（如抗组蛋白抗体）结合。上述鱼精蛋白和肝素也可用其它类似物替代。肝素不易与 DNA 结合（都带负电荷），故用适量肝素来封闭鱼精蛋白不会影响抗 DNA 抗体与 DNA 抗原结合。引入的肝素会不会产生抗肝素抗体从而导致新的假阳性呢？据文献报道肝素属半抗原，临床上罕见对肝素过敏（I 型过敏反应），而且此时产生的抗体是结合于某些细胞表面的 IgE 类抗体。即使在过敏时有可能产生进入血循环的 IgG 类抗体，但停用肝素后循环抗体会很快消失。故在对肝素过敏的病人，只要停用肝素就可排除抗肝素抗体的干扰。

本发明的优点是保持 DNA 与鱼精蛋白的结合比较接近自然状况下 DNA 与组蛋白的结合；加用结合力强、不易产生抗体、分子量较大（有位阻效应）的肝素来封闭鱼精蛋白上未与 DNA 结合的位点，由此防止干扰物与鱼精蛋白结合，防止假阳性。

#### 具体实施方式

实施例 1 酶免疫法（ELISA）：(1) 用 5mg/ml 硫酸鱼精蛋白生理盐水（NS）溶液 0.2ml 包被塑料孔板，37℃5 小时，洗五遍；(2) 加 5mg/ml 小牛胸腺 DNA 或质粒 DNA 溶液（用 pH 7.4 或 pH 9.6, 0.05mol 的缓冲液配制）0.2ml，37℃3 小时，洗五遍；(3) 加 100 单位/ml 肝素钠（NS 配制）0.2ml，37℃1 小时，洗五遍；(4) 加封闭液 4 mg/ml 明胶或 10% 小牛血清 0.2ml，室温 1 小时，洗五遍。其余方法与一般 ELISA 相似。

实施例 2 酶标或金标斑点免疫渗滤法：(1) 用 5mg/ml 硫酸鱼精蛋白生理盐水（NS）溶液浸泡或点样于微孔滤膜，37℃3 小时，漂洗五遍；(2) 用 5mg/ml 的小牛胸腺 DNA 或质粒 DNA 溶液（配法同实施例 1）点样于微孔滤膜，37℃3 小时，漂洗五遍；(3) 和(4) 同实施例 1。其余方法与一般斑点免疫渗滤法相似。

专利名称(译)	检测抗DNA抗体的试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">CN1877329A</a>	公开(公告)日	2006-12-13
申请号	CN200510078209.0	申请日	2005-06-07
[标]申请(专利权)人(译)	徐军杰		
申请(专利权)人(译)	徐军杰		
当前申请(专利权)人(译)	徐军杰		
[标]发明人	徐军杰		
发明人	徐军杰		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/531 G01N33/544		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

#### 摘要(译)

本发明提供了一种不受抗组蛋白抗体干扰的检测抗DNA抗体的酶免疫或胶体金免疫检测试剂盒。其特点是先用鱼精蛋白包被固相载体，加强吸附DNA抗原，再用肝素封闭鱼精蛋白上未与DNA结合位点，从而防止鱼精蛋白与干扰物(如抗组蛋白抗体)结合。本发明的优点是DNA与鱼精蛋白结合比较接近自然状况下的DNA与组蛋白结合；加用结合力强、不易产生抗体、分子量较大(有位阻效应)的肝素封闭鱼精蛋白上未与DNA结合位点，可大大减少干扰物的非特异性结合，防止假阳性。