

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/53

G01N 33/535 G01N 33/577



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200310108725.4

[43] 公开日 2004 年 11 月 10 日

[11] 公开号 CN 1544942A

[22] 申请日 2003.11.20

[21] 申请号 200310108725.4

[71] 申请人 中国人民解放军第二军医大学

地址 200433 上海市杨浦区翔殷路 800 号

[72] 发明人 梅长林 赵海丹

[74] 专利代理机构 上海新天专利代理有限公司

代理人 丁振英

权利要求书 1 页 说明书 10 页

[54] 发明名称 人多囊蛋白-1 定量检测试剂盒

[57] 摘要

本发明涉及医学免疫学检测技术领域，是一种用于定量检测人体体液中多囊蛋白-1 含量的试剂盒。本发明利用抗人多囊蛋白-1 N 端单克隆抗体和抗人多囊蛋白-1 N 端多克隆抗体，采用免疫学技术建立了定量检测体液及组织裂解液中多囊蛋白-1 含量的双抗体夹心酶联免疫吸附实验(ELISA)方法。通过比较体液中多囊蛋白-1 含量的差异，判断是否患有常染色体显性遗传性多囊肾病，对临床诊断该病具有重要参考价值，为及早防治该病提供了一个有效途径。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

1. 一种人多囊蛋白-1 定量检测试剂盒，其组成如下：
 - (1) 96 孔酶标板 1 块，已包被抗人多囊蛋白-1 N 端单克隆抗体 MA7B1；
 - (2) 样品稀释液 1 瓶，5ml，其为含 0.05%吐温-20 和 1%牛血清白蛋白的 PBS 缓冲液；
 - (3) 检测抗体工作液 1 瓶，10ml，其含抗人多囊蛋白-1 N 端多克隆抗体 PAPC1 1 μ g/ml；
 - (4) 酶标抗体工作液 1 瓶，10ml，其含辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG；
 - (5) 底物稀释液 1 瓶，20ml，其含 pH5.0 磷酸盐-柠檬酸盐缓冲液和过氧化氢；
 - (6) 终止液 1 瓶，5ml，为 2M H₂SO₄；
 - (7) 洗涤液 (20 \times) 1 瓶，50ml，其为含 1.0%吐温-20 的 pH7.4 磷酸盐缓冲液；
 - (8) 标准品 2 管，每管含 PC-1-e2 冻干粉 400ng；
 - (9) 邻苯二胺片 3 片，每片 2mg；
 - (10) 坐标纸 1 张。
2. 权利要求 1 所述的人多囊蛋白-1 定量检测试剂盒在检测常染色体显性遗传性多囊肾病中的应用。

人多囊蛋白-1 定量检测试剂盒

技术领域

本发明涉及医学免疫学检测技术领域，是一种用于定量检测人体液中多囊蛋白-1 含量的双抗体夹心 ELISA 试剂盒。

背景技术

常染色体显性遗传性多囊肾病 (autosomal dominant polycystic kidney disease, ADPKD) 是人类最常见的致死性单基因遗传病之一，累及所有种族，在世界范围的发病率为 1/500~1/1000，在全球约有 1300 万人受累。其特征是双侧肾囊肿呈进行性发生并增大，疾病逐渐进展，常在患者中年后期即发展为终末期肾衰竭。ADPKD 引起的肾衰竭占肾脏替代治疗患者总数的 10%以上。这种囊性疾病危害甚大，不仅发生在肾脏，也常累及肾外器官，引发多囊肝、胰管及胆管扩张、结肠憩室、颅内动脉瘤、心脏瓣膜异常等。

国际上至今对 ADPKD 的临床诊断指标还没有统一标准，多根据家族史、临床表现，结合影像学检查结果做出诊断。患者常因常规体检的影像学检查发现本病，发现时肾脏囊肿往往已非常明显。基因诊断结果确切可靠，但技术条件、辅助检查设备要求较高，操作繁琐，目前临床上还没有一个 ADPKD 的体液诊断指标，迫切需要一个简单、方便、易于推广、敏感和特异的临床诊断 ADPKD 的检测方法。

发明内容

鉴于 ADPKD 是由于 16 号染色体的 *PKD1* 基因和 (或) 4 号染色体的 *PKD2* 基因突变引起的，其 85~90% 的发生系由于 *PKD1* 的编码产物——多囊蛋白-1 (PC-1) 的结构和功能异常所致。所以，可以通过定量检测体液中 PC-1 的含量，初步诊断 ADPKD。PC-1 是一个分子量约 460kD 的跨膜糖蛋白，由 1 个庞大的胞外区 (N 端)、11 个跨膜区和 1 个相对小的胞浆尾 (C 端) 组成。胞外区所拥有的众多复杂的蛋白基序决定了 PC-1 的胞外部分对其行使正常的生理功能的重要性。本发明从胞外区的 N 端着手对 PC-1 进行检测。

本发明利用抗人多囊蛋白-1 N 端单克隆抗体和抗人多囊蛋白-1 N 端多克隆抗体，采

用双抗体夹心酶联免疫吸附实验（ELISA）方法，制备了双抗体夹心 PC-1-ELISA 试剂盒，用该试剂盒定量检测人体液中 PC-1 的含量。通过比较体液中 PC-1 含量的差异判断是否患 ADPKD，为及早防治该病提供一个重要的参考依据。

本发明试剂盒的主要试剂为抗 PC-1 N 端单克隆抗体 MA7B1（已包被在酶标板上）和抗 PC-1 N 端多克隆抗体 PAPC1，用于制备两种抗体的抗原均为 PC-1 胞外区 N 端融合蛋白 PC-1-e2，该融合蛋白对应于 PC-1 的第 46~202 位氨基酸残基。通过检测样品中 PC-1 N 端的含量，就可以代表 PC-1 在受检样品中的水平。

本发明试剂盒组成如下：

1. 96 孔酶标板 1 块，其已包被抗人 PC-1 N 端单克隆抗体 MA7B1，包被浓度 $5\mu\text{g}/\text{ml}$ 。
2. 样品稀释液 1 瓶，5ml，其为含 0.05%吐温-20 和 1%牛血清白蛋白的 PBS 缓冲液。
3. 检测抗体工作液 1 瓶，10ml，其含抗人 PC-1 N 端多克隆抗体 PAPC1 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ 。
4. 酶标抗体工作液 1 瓶，10ml，其含辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG。
5. 底物稀释液 1 瓶，20ml，其含 pH5.0 磷酸盐-柠檬酸盐缓冲液和过氧化氢（ H_2O_2 ）。
6. 终止液 1 瓶，5ml，其为 2M H_2SO_4 。
7. 洗涤液（ $20\times$ ）1 瓶，50ml，其为含 1.0%吐温-20 的 pH7.4 磷酸盐缓冲液。
8. 标准品 2 管，每管含 PC-1-e2 冻干粉 400ng。
9. 邻苯二胺（OPD）片 3 片，每片 2mg。
10. 坐标纸 1 张。

本发明试剂盒酶标板和各试剂的制备以及用本试剂盒检测人体液样品中 PC-1 含量的方法详见具体实施方式部分。

具体实施方式

人 PC-1 定量检测试剂盒中各试剂的制备及来源

1. 标准品蛋白即融合蛋白 PC-1-e2 的制备

标准品蛋白为人 PC-1 N 端融合蛋白 PC-1-e2 冻干粉，该蛋白对应于人 PC-1 胞外区 N 端的 flank-LRR-flank 区和部分 WSC 区的第 46~202 位氨基酸残基，纯度在 97%以上。该标

准品蛋白的制备过程详见 2003 年 9 月 25 日申请的发明专利“人多囊蛋白-1 N 端融合蛋白 PC-1-e2”，专利申请号为 03151184.8。现将其制备过程简述如下：

(1) 制备人肾组织总 RNA

取新鲜的健康成人肾组织，用上海华舜公司总 RNA 抽提试剂盒，按常规的异硫氰酸胍法提取总 RNA。

(2) 合成引物

根据已知的人类 *PKD1* cDNA 序列 (GenBank L33243)，设计并合成引物。

正向引物：5'-ATAGGATCCGTGCCGCGTCAAC-3'，其 5'端引入 BamH I 酶切位点 GGATCC；

反向引物：5'-TATAAGCTTCGTGGGCAGCTG-3'，其 5'端引入 HindIII 酶切位点 AAGCTT。

(3) RT-PCR 扩增 *PKD1e2* 基因

以人肾组织总 RNA 为模板，用上述引物通过 RT-PCR 扩增编码 PC-1 N 端 flank-LRR-flank 区和部分 WSC 区的 *PKD1* cDNA 序列 *PKD1e2* 基因，其全长 474 bp。

(4) 构建表达载体 pQE30-*PKD1e2* 和工程菌 M15/ pQE30-*PKD1e2*

将融合蛋白表达载体 pQE30 (德国 Qiagen 公司产品，其阅读框的 5'端含连续编码 6 个组氨酸的核苷酸序列) 和 *PKD1e2* 基因分别用 BamH I 和 HindIII 双酶切，将两种酶切产物胶回收后用 T₄ DNA 连接酶连接，然后转化感受态大肠杆菌 M15，其转化子重组质粒通过 BamH I /HindIII 双酶切和 DNA 序列分析鉴定，重组表达载体为 pQE30-*PKD1e2*，工程菌为 M15/pQE30-*PKD1e2*。

(5) 融合蛋白 PC-1-e2 的诱导表达

工程菌 M15/pQE30-*PKD1e2* 在 LB 培养基中 37℃ 培养过夜，以 1:20 体积比接种在 2 ×YT 培养基中，继续培养至 OD₆₀₀ 值为 0.5~0.6，加异丙基硫代半乳糖苷 (IPTG) 至终浓度为 1mM/L，32℃ 诱导表达 4~5 小时。经破菌和 Ni-NTA Agarose 纯化后，行 SDS-PAGE 电泳，显示表达的融合蛋白分子量为 19.0kD，即为融合蛋白 PC-1-e2。

(6) 融合蛋白 PC-1-e2 的纯化及 SDS-PAGE 分析

4℃ 离心收集步骤 (5) 诱导表达后的菌体，经 8M/L 尿素裂解液 (pH8.0) 充分裂解后

离心，将上清与 50% Ni-NTA Agarose（德国 Qiagen 公司产品）混合，用 8M 尿素 pH 梯度缓冲液（pH6.3，pH 5.9，pH 4.5）洗涤并洗脱融合蛋白 PC-1-e2。12% SDS-PAGE 分析融合蛋白 PC-1-e2，经蛋白薄层扫描分析，该融合蛋白占菌体总蛋白的 47.11%。

（7）融合蛋白 PC-1-e2 的冻干分装

将纯化的融合蛋白 PC-1-e2 用 Lowry 法定量，分装于数个 1.5ml 塑料离心管中，使每管 PC-1-e2 含量为 400ng，然后用冻干机冻干至成为冻干粉，置 4℃ 保存。

2. 样品稀释液的配制

样品稀释液为含 0.05%吐温-20 和 1%牛血清白蛋白的磷酸盐（PBS）缓冲液（pH7.4）。其配制方法如下：

（1）配制 PBS 缓冲液（pH7.4）：

NaCl		8.0g
KH ₂ PO ₄		0.2g
Na ₂ HPO ₄ □12H ₂ O		2.9g
KCl		0.2g
双蒸水	加至	1000ml
调 pH 值至 7.4		

（2）配制含 0.05%吐温-20 和 1%牛血清白蛋白的 PBS 缓冲液

吐温-20		500 μ l
牛血清白蛋白		10g
PBS	加至	1000ml

分装成 5ml / 瓶，置 4℃ 保存。

3. 酶标抗体工作液的配制

辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG，购自美国 Sigma 公司。将该抗体原液用样品稀释液稀释 10,000 倍后分装于瓶中，每瓶 10ml，置 4℃ 保存。

4. 底物稀释液的配制

(1) 配制磷酸盐-柠檬酸盐缓冲液 (pH5.0):

0.1 M 柠檬酸 (19.2g/1000ml)	24.3 ml
0.2 M Na ₂ HPO ₄ (28.4g/1000ml)	25.7 ml
双蒸水	50 ml

(2) 配制底物稀释液: 在上述 100ml 磷酸盐-柠檬酸盐缓冲液中加入 30 %H₂O₂ 160 μl, 混匀后分装, 每瓶 20ml, 置 4℃ 保存。

5. 终止液的配制

终止液为 2 M H₂SO₄。取 H₂SO₄ 22.2 ml, 缓慢加入 177.8 ml 双蒸水中。分装成每瓶 5ml。

6. 洗涤液 (20×) 的配制

洗涤液为含 1.0 %吐温-20 的 20×PBS 缓冲液 (pH7.4)。其配制方法如下:

NaCl	160.0g
KH ₂ PO ₄	4.0g
Na ₂ HPO ₄ □12H ₂ O	58.0g
KCl	4.0g
吐温-20	10ml
双蒸水	加至 1000ml

调 pH 值至 7.4, 分装成 50ml / 瓶。当配制工作液时只需将浓缩液作 20 倍稀释。

7. 单克隆抗体 MA7B1 的制备及 96 孔酶标板的包被和封闭

捕获抗体为鼠源抗人 PC-1 N 端单克隆抗体 MA7B1 (抗体亚型为 IgG₁, 纯度在 97%以上)。其制备采用杂交瘤技术, 方法详见 2003 年 9 月 25 日申请的发明专利“抗人多囊蛋白-1 N 端单克隆抗体 MA7B1”, 专利申请号为 03151183. X。现将其制备过程简述如下:

(1) 免疫 Balb/C 小鼠

将前面所述的融合蛋白 PC-1-e2 按常规皮下免疫雄性 Balb/C 小鼠, 多次免疫至小鼠多抗血清的效价达 1 : 6,000~1 : 10,000 时即可用于制备单克隆抗体。

(2) 单克隆抗体 MA7B1 的制备

取上述免疫成功的 Balb/c 小鼠脾脏细胞在聚乙二醇 4000 (PEG 4000) 诱导下与骨髓瘤细胞株 SP2/0 进行细胞融合, HAT 选择性培养筛选出融合细胞, 用间接酶联免疫吸附试验 (间接 ELISA 法) 筛选出分泌抗 PC-1 N 端抗体的杂交瘤细胞, 再以有限稀释法进行克隆化培养, 得到稳定分泌抗 PC-1 N 端单克隆抗体 MA7B1 的杂交瘤细胞株 7B1。按常规将该株 7B1 杂交瘤细胞接种于同系小鼠腹腔, 诱导产生腹水, 抽取腹水, 通过亲和层析法纯化, 得到纯化的 IgG₁ 型抗体 MA7B1。将抗体做冻干处理后得 MA7B1 冻干粉, 置 -80℃ 保存。

8. 抗体包被和封闭 96 孔酶标板

96 孔酶标板购自丹麦 NUNC 公司, 抗体的包被和封闭过程如下:

(1) 包被酶标板

① 配制酶标板包被缓冲液:

Na ₂ CO ₃	1.59g
NaHCO ₃	2.93g
双蒸水加至	1000ml

调 pH 值至 9.6。

- ② 再用包被缓冲液将单克隆抗体 MA7B1 冻干粉稀释至终浓度 5μg/ml (Lowry 法蛋白定量), 将其作为捕获抗体在酶标板每孔加 100μl 进行包被, 置 4℃ 过夜。包被过的酶标板密封后可在 4℃ 条件下保存 6 个月。

(2) 封闭

将酶标板按常规用 1× 洗涤液洗 3 次, 每次 3~5 分钟, 甩干。再每孔加 200μl 封闭液 (pH7.4 的含 1%BSA 的 PBS 缓冲液), 37℃ 湿盒封闭 2 小时或 4℃ 过夜。

9. 检测抗体工作液的配制

检测抗体为兔源抗人 PC-1 N 端多克隆抗体 PAPC1 (纯度在 95%以上)。为标准品蛋白 PC-1-e2 免疫新西兰大白兔后得到的抗血清的纯化物。其制备过程详见 2003 年 9 月 25 日申请的发明专利“抗人多囊蛋白-1 N 端多克隆抗体 PAPC1”, 专利申请号为 03151182.1。

现将其制备过程简述如下：

将前面所述的融合蛋白 PC-1-e2 皮下免疫 3 只雌性新西兰大白兔（代号分别为 A、B、C），多次免疫至兔多抗血清的效价达 $1.5 \times 10^5 \sim 2.0 \times 10^5$ ，取兔血清，再用亲和层析法行 IgG 纯化，得到纯化的多克隆抗体 PAPC1。此后，将抗体用 Lowry 法定量，分装后冻干处理得冻干粉，置 -80°C 保存。配制抗体工作液时，将冻干粉用样品稀释液稀释至浓度为 $1\mu\text{g}/\text{ml}$ ，分装成每瓶 10ml。

10. 邻苯二胺（OPD）片

3 片，每片 2mg，购自上海华美生物技术公司。

人 PC-1 定量检测试剂盒标准曲线的建立

建立检测人 PC-1 含量的标准曲线，这是制备、组装定量检测人 PC-1 含量的双抗体夹心 ELISA 试剂盒的关键一步。具体操作步骤如下：

（一）相关试剂的配制

1. 洗涤液：将前面所述的 $20\times$ 洗涤液用双蒸水作 20 倍稀释，并调 pH 值至 7.4。
2. 底物溶液：取前面所述的底物稀释液 5ml，加入 2mg OPD 片，即为 40%邻苯二胺 (OPD)- H_2O_2 溶液，临用前新鲜配制，配后立即使用。

（二）标准曲线的建立

1. 标准品 PC-1-e2 的稀释和加样

将用单克隆抗体 MA7B1 包被好的酶标板用洗涤液洗 3 次，每次 3~5 分钟，甩干。用抗体稀释液按一定梯度稀释 PC-1-e2 冻干粉，共稀释 8 个浓度： $1000.00\text{ng}/\text{ml}$ 、 $500.00\text{ng}/\text{ml}$ 、 $250.00\text{ng}/\text{ml}$ 、 $125.00\text{ng}/\text{ml}$ 、 $62.50\text{ng}/\text{ml}$ 、 $31.25\text{ng}/\text{ml}$ 、 $15.63\text{ng}/\text{ml}$ 、 $0.00\text{ng}/\text{ml}$ 。每种浓度的 PC1-e2 吸取 $100\mu\text{l}$ 加入到上述 MA7B1 抗体包被孔中（每种浓度做 8 个复孔）， 37°C 湿盒温育 2 小时。

2. 滴加检测抗体 PAPC1

将酶标板用洗涤液洗 3 次，每次 3~5 分钟，甩干。在含标准品 PC-1-e2 的酶标板孔中每孔加检测抗体 PAPC1 $100\mu\text{l}$ ， 37°C 湿盒温育 60 分钟。

5. 滴加酶标抗体

将酶标板用洗涤液洗3次，每次3~5分钟，甩干。酶标板每孔加酶标抗体工作液（辣根过氧化物酶标记的羊抗兔 IgG）100 μ l，37 $^{\circ}$ C湿盒温育60分钟。

6. 显色反应及光密度值的检测

将酶标板用洗涤液洗3次，每次3~5分钟，甩干。酶标板每孔加入40% OPD 底物溶液100 μ l，在震荡器上低频震荡15秒，室温避光反应15分钟后，每孔滴加50 μ l 终止液，5分钟内用酶联检测仪测定 OD₄₉₂ 值。

7. 建立标准曲线

以标准品（PC-1-e2）浓度 1000.00、500.00、250.00、125.00、62.50、31.25、15.63、0.00 ng/ml 为横坐标，以相应浓度的 OD₄₉₂ 减去空白值后为纵坐标，在坐标纸上作图，画出标准曲线，该曲线线性范围较理想。该试剂盒除有8个孔用于建立标准曲线外，共可检测88份体液标本。

用本发明试剂盒检测 ADPKD 患者及正常对照组体液中 PC-1 含量的方法

一、体液标本的制备

全血标本置4 $^{\circ}$ C冰箱过夜，低温离心机（4 $^{\circ}$ C）3000g 离心10分钟，收集血清，分装后-80 $^{\circ}$ C保存。对于尿液和肝、肾囊肿中囊液标本，均在4 $^{\circ}$ C，3000g 离心10分钟，收集上清，分装后于-80 $^{\circ}$ C保存。

二、ADPKD 患者及正常对照组体液中 PC-1 的定量检测

1. 准备试剂

（1）洗涤液：将20 \times 洗涤液用双蒸水做1:20稀释。

（2）标准品液配制：使用前在标准品管内加入200 μ l 双蒸水溶解，PC-1-e2 溶液浓度为2ng/ μ l。

（3）底物工作液的配制：使用前将OPD片放入底物稀释液中溶解，每片加溶液5ml。

2. 标准品的加样

酶标板上设标准孔8孔，每孔先各加样品稀释液100 μ l，再于第1孔加标准品 PC-1-e2

溶液 100 μ l，混匀后用加样器吸出 100 μ l 移至第 2 孔。依次作对倍稀释至第 7 孔，最后，从第 7 孔中吸出 100 μ l 弃去，每孔均为 100 μ l。第 8 孔为空白对照。37 $^{\circ}$ C 湿盒温育 2 小时。

3. 体液标本的加样

按需设待测样品孔若干，将体液标本分别加入待测样品孔，上样量均为 100 μ l/孔，阴性对照孔加入等体积抗体稀释液，加样后置 37 $^{\circ}$ C 湿盒温育 2 小时。

4. 滴加检测抗体

将上述酶标板用洗涤液洗 3 次，每次 3~5 分钟，甩干。在酶标板每孔加入 100 μ l 检测抗体工作液，37 $^{\circ}$ C 湿盒温育 60 分钟。

5. 滴加酶标抗体

将上述酶标板用洗涤液洗 3 次，每次 3~5 分钟，甩干。再加酶标抗体工作液 100 μ l/孔，37 $^{\circ}$ C 湿盒温育 60 分钟。

6. 显色反应及光密度值的检测

将上述酶标板用洗涤液洗 3 次，每次 3~5 分钟，甩干。酶标板每孔加底物工作液 100 μ l，在震荡器上低频震荡 15 秒，室温避光反应 15 分钟，每孔滴加 50 μ l 终止液，5 分钟内用酶联检测仪测定标准品和待测样品 OD₄₉₂ 值。

7. 结果计算与判断

(1) 建立标准曲线：以标准品 PC-1-e2 的浓度 (0.00、15.63、31.25、62.50、125.00、250.00、500.00、1000.00ng/ml) 为横坐标，酶标仪测得的 OD₄₉₂ 值减去空白值后为纵坐标，建立标准曲线。在标准曲线上，随着标准品浓度的升高，测得的 OD₄₉₂ 值也随之升高。

(2) 体液标本样品检测值的计算：根据检测样品 OD₄₉₂ 值减除空白值后在上述标准曲线上查出相应 PC-1 含量。如空白孔 OD₄₉₂ 平均值为 0.201，检测样品 OD₄₉₂ 值为 0.54，减去空白值后为 0.339，该值在标准曲线上对应的 PC-1 含量为 82.68ng/ml。

本发明试剂盒质检相关指标的检测

1. 线性范围：该试剂盒检测 PC-1 含量的线性范围为 370pg/ml~1000ng/ml。
2. 回收率：将 60ng/ml 的 PC-1-e2 加入检测样品中，回收率为 98.94% (n=8)。
3. 批内差异：平均为 12.02%。
4. 批间差异：平均为 13.15%。
5. 敏感性：检测 ADPKD 尿液标本敏感性为 91.25%，检测 ADPKD 血清标本敏感性为 91.67%。
6. 特异性：检测正常组尿液特异性为 90.10%；检测正常组血清特异性为 88.7%。

经临床试用，该试剂盒检测 110 例正常人和 101 例 ADPKD 患者血清 PC-1 以及 114 例正常人和 120 例 ADPKD 患者尿液 PC-1 的结果如表 1 所示。

表 1 血清和尿液中 PC-1 的检测结果 ($\bar{x} \pm s$, ng/ml)

	正常人	ADPKD 患者	P
血清 (ng/ml)	98.76 ± 37.36 (n=111)	53.19 ± 16.90 (n=101)	<0.05
尿液 (ng/ml)	47.31 ± 35.71 (n=114)	222.10 ± 146.22 (n=120)	<0.05

n: 例数

表 1 结果显示：ADPKD 患者尿液中 PC-1 含量明显高于正常人，差异显著 ($p < 0.05$)；ADPKD 患者血清中 PC-1 含量明显低于正常人，差异显著 ($p < 0.05$)。以上结果表明，利用本发明试剂盒能定量检测出体液标本中 PC-1 的含量，对临床检测 ADPKD 具有较高的敏感性和特异性，对诊断该病具有重要参考价值，为及早防治该病提供了一个有效途径。

专利名称(译)	人多囊蛋白 - 1定量检测试剂盒		
公开(公告)号	CN1544942A	公开(公告)日	2004-11-10
申请号	CN200310108725.4	申请日	2003-11-20
申请(专利权)人(译)	中国人民解放军第二军医大学		
当前申请(专利权)人(译)	中国人民解放军第二军医大学		
[标]发明人	梅长林 赵海丹		
发明人	梅长林 赵海丹		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/535 G01N33/577		
其他公开文献	CN1236312C		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及医学免疫学检测技术领域，是一种用于定量检测人体体液中多囊蛋白 - 1含量的试剂盒。本发明利用抗人多囊蛋白 - 1 N端单克隆抗体和抗人多囊蛋白 - 1 N端多克隆抗体，采用免疫学技术建立了定量检测体液及组织裂解液中多囊蛋白 - 1含量的双抗体夹心酶联免疫吸附实验(ELISA)方法。通过比较体液中多囊蛋白 - 1含量的差异，判断是否患有常染色体显性遗传性多囊肾病，对临床诊断该病具有重要参考价值，为及早防治该病提供了一个有效途径。