



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109283335 A

(43)申请公布日 2019.01.29

(21)申请号 201810010011.6

(22)申请日 2018.01.05

(71)申请人 上海领潮生物新材料有限公司

地址 200233 上海市松江区南乐路1276弄
115号10栋201

(72)发明人 罗朝领 茅柳娟 王莹 曹雪姣
任调

(74)专利代理机构 上海宣宣专利代理事务所
(普通合伙) 31288

代理人 刘君

(51)Int.Cl.

G01N 33/574(2006.01)

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

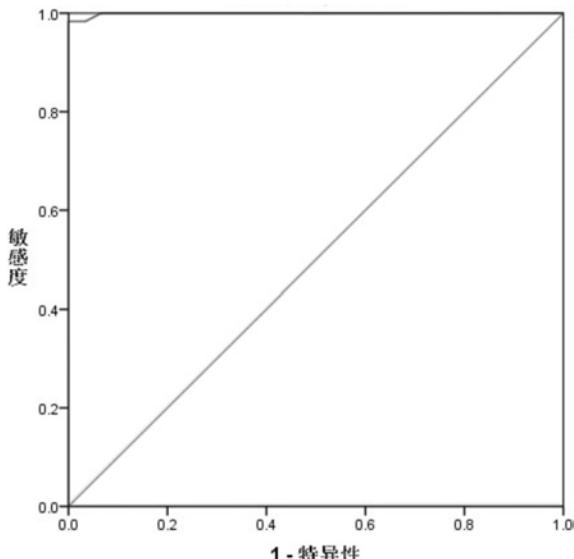
权利要求书2页 说明书6页 附图2页

(54)发明名称

用于定量检测卵巢癌外泌体抗原的试剂盒
及其配制方法

(57)摘要

本发明涉及ELISA检测试剂盒技术领域,具体地说是一种高容量沥青/环氧树脂基改性硬炭负极材料及其制备方法,包括试剂盒体,其特征在于,所述的试剂盒体内放置有2块抗CD63的克隆抗体包被的酶标板、1块抗CA125的克隆抗体包被的酶标板、10ml的HPR标记的CA125抗体、10ml的HPR标记的CD63抗体、作为显色剂A液的20ml的H₂O₂、作为显色剂B液的20ml的TMB,2瓶5ml的终止液。本发明同现有技术相比,该试剂盒利用外泌体的酶联免疫吸附方法来快速检测卵巢癌抗原,对卵巢癌能进行早期诊断;检测的准确度高、特异性强,检测样品范围广泛,包括血清、腹水、血浆、组织液等,反应周期短,效果好。



1. 一种用于定量检测卵巢癌外泌体抗原的试剂盒,包括试剂盒体,其特征在于,所述的试剂盒体内放置有2块抗CD63的克隆抗体包被的酶标板、1块抗CA125的克隆抗体包被的酶标板、10ml的HPR标记的CA125抗体、10ml的HPR标记的CD63抗体、作为显色剂A液的20ml的H₂O₂、作为显色剂B液的20ml的TMB,2瓶5ml的终止液。

2. 如权利要求1所述试剂盒的配制方法,其特征在于,所述终止液采用浓度为1mol/L的H₂SO₄溶液。

3. 如权利要求1所述试剂盒的配制方法,其特征在于,包括配制抗CD63的克隆抗体包被的酶标板、配制抗CA125的克隆抗体包被的酶标板、配制HPR标记的CA125抗体;配制HPR标记的CD63抗体;

——所述制抗CD63的克隆抗体包被的酶标板采用如下步骤:

a1、取96T空白酶标板,按每孔100μl分别包被抗CD63的单克隆抗体,4℃孵育过夜后,移除上清液;

a2、按每孔200μl加入封闭液,封闭液为10wt%大牛血清和90wt%10mM PBS,37℃恒温培养箱放置2小时,重复洗涤数次后拍干;

a3、封闭结束,将封闭液甩出,板子在吸水纸上拍干,备用;

——所述配制抗CA125的克隆抗体包被的酶标板采用如下步骤:

b1、另取96T空白酶标板,按每孔100μl分别包被抗CA125的单克隆抗体,4℃孵育过夜后,移除上清液;

b2、按每孔200μl加入封闭液,封闭液为10%大牛血清和90%10mM PBS,37℃恒温培养箱放置2小时,重复洗涤数次后拍干;

b3、封闭结束,将封闭液甩出,板子在吸水纸上拍干,备用;

——采用过碘酸钠法配制HPR标记的CA125抗体;

——采用过碘酸钠法配制HPR标记的CD63抗体;

将制备的2块抗CD63的克隆抗体包被的酶标板、1块抗CA125的克隆抗体包被的酶标板、10ml的HPR标记的CA125抗体、10ml的HPR标记的CD63抗体分别密封包装后装入试剂盒体,并将显色剂A液、显色剂B液,2瓶终止液,一起放入试剂盒体内冷藏。

4. 如权利要求2所述试剂盒的配制方法,其特征在于,所述配制HPR标记的CA125抗体采用如下步骤:

c1、称HRP 5mg溶于1ml蒸馏水中,配制成5mg/ml溶液;

c2、再加入0.2ml新配的0.1mol/L NaIO₄溶液,室温避光搅20min;

c3、再加入20ul 0.2M PH9.6 CBS,混匀;立即加入5mg CA125抗体,室温避光搅2h,CBS中透析2h;

c4、再加入0.1ml新配的4mg/ml NaBH₄,混匀,在4℃下放置2h;

c5、再边搅拌边逐滴加入等体积的饱和硫酸铵,4℃过夜;

c6、然以6500rpm 4℃下离心30min,取其沉淀溶于200ul 0.15M PBS中得混合溶液;

c7、混合溶液用PBS透析液透析5~6个小时,期间换2-3次透析液;

c8、将透析好的溶液以6500rpm离心5min,取上清液,则得HPR标记的CA125抗体,其浓度按以下公式计算:CA125-HRP浓度=(OD280-OD403×0.3)×0.62。

5. 如权利要求2所述试剂盒的配制方法,其特征在于,所述配制HPR标记的CD63抗体采

用如下步骤：

- d1、称HRP 5mg溶于1ml蒸馏水中,配制成5mg/ml溶液;
- d2、再加入0.2ml新配的0.1mol/L NaIO₄溶液,室温避光搅20min;
- d3、再加入20ul 0.2M PH9.6 CBS,混匀;立即加入5mg CD63抗体,室温避光搅2h,CBS中透析2h;
- d4、再加入0.1ml新配的4mg/ml NaBH₄,混匀,在4℃下放置2h;
- d5、再边搅拌边逐滴加入等体积的饱和硫酸铵,4℃过夜;
- d6、然以6500rpm 4℃下离心30min,取其沉淀溶于200ul 0.15M PBS中得混合溶液;
- d7、混合溶液用PBS透析液透析5~6个小时,期间换2-3次透析液;
- d8、将透析好的溶液以6500rpm离心5min,取上清液,则得HPR标记的CD63抗体,其浓度按以下公式计算:CD63-HRP浓度 = (OD280-OD403×0.3) × 0.62。

用于定量检测卵巢癌外泌体抗原的试剂盒及其配制方法

技术领域

[0001] 本发明涉及ELISA检测试剂盒技术领域,具体地说是一种高容量沥青/环氧树脂基改性硬炭负极材料及其制备方法。

背景技术

[0002] 卵巢癌是继子宫内膜癌及宫颈癌发生率居第三的妇科恶性肿瘤,其死亡率居妇科恶性肿瘤之首。卵巢癌发病隐匿,缺乏早期的典型症状和成熟的早期诊断方法,当出现临床症状引起患者重视就诊时,往往已属晚期,当出现广泛的腹腔转移,根治性手术已难以实施。

[0003] 外泌体存在于各种体液中,可以作为细胞间信息传递的载体,在细胞交流中发挥着重要作用,特别是在疾病标志物筛查领域具有重要作用。外泌体(exosome)是大小为50到150nm直径的分泌膜封闭囊泡(细胞外囊泡或者EV),囊泡中包裹着核酸和蛋白质。各种细胞都能分泌外泌体,外泌体分泌后被释放到细胞外空间并进入循环。各种细胞类型,如免疫细胞,血小板或内皮细胞将外泌体释放到血液中。上皮肿瘤细胞分泌携带上皮细胞粘附分子(EpCAM)的外泌体;黑素瘤衍生的外泌体含有肿瘤相关抗原Mart-1和酪氨酸酶相关蛋白-2(TYRP2);来自胃癌,乳腺癌和胰腺癌的外泌体携带人表皮生长因子受体(HER)家族的成员。然而,这些标志物对于癌症外泌体来说都不是特异性的,识别和分离体液中的癌症特异性外泌体将有助于癌症的检测和监测,并能够特异性鉴定癌症外泌体中DNA, RNA和蛋白质含量,而不会污染非癌症外泌体。这使癌症和辅助治疗的早期监测成为可能。

[0004] 外泌体检测的方法主要有纳米粒子追踪分析技术、流式细胞仪技术、动态光散射技术等:

[0005] 纳米粒子追踪分析是一种能够对表征纳米颗粒分布的光散射技术,对于液体中悬浮的纳米颗粒,其布朗运动与大小有直接相关关系,根据这个原理,能够实时追踪每个颗粒的布朗运动并给出颗粒大小和个数信息,由于外泌体的生物样本中颗粒都是分散的,因此用纳米粒子追踪分析不能区分外泌体的亚型;

[0006] 流式细胞术是一种采用激光束激发单行流动的细胞,对它的散射光和携带的荧光进行探测,从而完成细胞分析和分选的技术,但是由于外泌体微泡的体积较少,常规的流式方法不好检测;

[0007] 动态光散射是通过研究散射光在某一固定空间位置上散射光强随时间的涨落现象来获取混杂在其中的待测颗粒粒径的有效技术,但是对于外泌体样本复杂,因此不适合对大小不一的外泌体进行测量。在外泌体分离和检测技术过程中消耗的试剂过多,且外泌体损失较大,时间较长。

[0008] 因此,发展一种经济的、快速检测外泌体尤其是卵巢癌患者的外泌体是非常必要的,而且对于死亡率极高的卵巢癌迫切需要提高早期诊断方法。

[0009] 酶联免疫吸附法ELISA:免疫诊断中的一项新技术,由于酶的高效催化作用,一个酶分子在数分钟内可以催化几十几百个底物分子发生反应,产生了放大作用,使得原来极

其微乎的抗原或抗体在数分钟后可被识别出来,这种技术被称为酶联免疫吸附试验方法。

发明内容

[0010] 本发明的目的是克服现有技术的不足,提供一种利用外泌体的酶联免疫吸附方法来快速检测卵巢癌抗原的试剂盒,以及早的、简便的用于早期卵巢癌的检测。

[0011] 为实现上述目的,设计一种用于定量检测卵巢癌外泌体抗原的试剂盒,包括试剂盒体,其特征在于,所述的试剂盒体内放置有2块抗CD63的克隆抗体包被的酶标板、1块抗CA125的克隆抗体包被的酶标板、10ml的HPR标记的CA125抗体、10ml的HPR标记的CD63抗体、作为显色剂A液的20ml的H₂O₂、作为显色剂B液的20ml的TMB,2瓶5ml的终止液。

[0012] 所述终止液采用浓度为1mol/L的H₂SO₄溶液。

[0013] 包括配制抗CD63的克隆抗体包被的酶标板、配制抗CA125的克隆抗体包被的酶标板、配制HPR标记的CA125抗体;配制HPR标记的CD63抗体;

[0014] ——所述制抗CD63的克隆抗体包被的酶标板采用如下步骤:

[0015] a1、取96T空白酶标板,按每孔100μl分别包被抗CD63的单克隆抗体,4℃孵育过夜后,移除上清液;

[0016] a2、按每孔200μl加入封闭液,封闭液为10wt%大牛血清和90wt%10mM PBS,37℃恒温培养箱放置2小时,重复洗涤数次后拍干;

[0017] a3、封闭结束,将封闭液甩出,板子在吸水纸上拍干,备用;

[0018] ——所述配制抗CA125的克隆抗体包被的酶标板采用如下步骤:

[0019] b1、另取96T空白酶标板,按每孔100μl分别包被抗CA125的单克隆抗体,4℃孵育过夜后,移除上清液;

[0020] b2、按每孔200μl加入封闭液,封闭液为10%大牛血清和90%10mM PBS,37℃恒温培养箱放置2小时,重复洗涤数次后拍干;

[0021] b3、封闭结束,将封闭液甩出,板子在吸水纸上拍干,备用;

[0022] ——采用过碘酸钠法配制HPR标记的CA125抗体;

[0023] ——采用过碘酸钠法配制HPR标记的CD63抗体;

[0024] 将制备的2块抗CD63的克隆抗体包被的酶标板、1块抗CA125的克隆抗体包被的酶标板、10ml的HPR标记的CA125抗体、10ml的HPR标记的CD63抗体分别密封包装后装入试剂盒体,并将作为显色剂A液的20ml的H₂O₂、作为显色剂B液的20ml的TMB,2瓶5ml的终止液,一起放入试剂盒体内冷藏。

[0025] 所述HPR标记的CA125抗体配制采用如下步骤:

[0026] c1、称HRP 5mg溶于1ml蒸馏水中,配制成5mg/ml溶液;

[0027] c2、再加入0.2ml新配的0.1mol/L NaI₀溶液,室温避光搅20min;

[0028] c3、再加入20ul 0.2M PH9.6CBS,混匀;立即加入5mg CA125抗体,室温避光搅2h,CBS中透析2h;

[0029] c4、再加入0.1ml新配的4mg/ml NaBH₄,混匀,在4℃下放置2h;

[0030] c5、再边搅拌边逐滴加入等体积的饱和硫酸铵,4℃过夜;

[0031] c6、然以6500rpm 4℃下离心30min,取其沉淀溶于200ul 0.15M PBS中得混合溶液;

- [0032] c7、混合溶液用PBS透析液透析5~6个小时,期间换2-3次透析液;
- [0033] c8、将透析好的溶液以6500rpm离心5min,取上清液,则得HPR标记的CA125抗体,其浓度按以下公式计算:CA125-HRP浓度=(OD280-OD403×0.3)×0.62。
- [0034] 所述配制HPR标记的CD63抗体采用如下步骤:
- [0035] d1、称HRP 5mg溶于1ml蒸馏水中,配制成5mg/ml溶液;
- [0036] d2、再加入0.2ml新配的0.1mol/L NaIO₄溶液,室温避光搅20min;
- [0037] d3、再加入20ul 0.2M PH9.6CBS,混匀;立即加入5mg CD63抗体,室温避光搅2h,CBS中透析2h;
- [0038] d4、再加入0.1ml新配的4mg/ml NaBH₄,混匀,在4℃下放置2h;
- [0039] d5、再边搅拌边逐滴加入等体积的饱和硫酸铵,4℃过夜;
- [0040] d6、然以6500rpm 4℃下离心30min,取其沉淀溶于200ul 0.15M PBS中得混合溶液;
- [0041] d7、混合溶液用PBS透析液透析5~6个小时,期间换2-3次透析液;
- [0042] d8、将透析好的溶液以6500rpm离心5min,取上清液,则得HPR标记的CD63抗体,其浓度按以下公式计算:CD63-HRP浓度=(OD280-OD403×0.3)×0.62。
- [0043] 本发明同现有技术相比,该试剂盒利用外泌体的酶联免疫吸附方法来快速检测卵巢癌抗原,对卵巢癌能进行早期诊断;检测的准确度高、特异性强,检测样品范围广泛,包括血清、腹水、血浆、组织液等,反应周期短,效果好。

附图说明

- [0044] 图1是本发明中实施例中CD63抗体包板检测卵巢腹水和正常血清的ROC曲线图。
- [0045] 图2是本发明实施例中CA125抗体包板检测卵巢腹水和正常血清的ROC曲线图。

具体实施方式

- [0046] 现结合附图及实施例对本发明作进一步地说明。
- [0047] 实施例1
- [0048] 一、按下列方法配制试剂盒:
- [0049] (一)、抗CD63的克隆抗体包被的酶标板的配制采用如下步骤:
- [0050] a1、取96T空白酶标板,按每孔100μl分别包被抗CD63的单克隆抗体,4℃孵育过夜后,移除上清液;
- [0051] a2、按每孔200μl加入封闭液,封闭液为10wt%大牛血清和90wt%10mM PBS,37℃恒温培养箱放置2小时,重复洗涤数次后拍干;
- [0052] a3、封闭结束,将封闭液甩出,板子在吸水纸上拍干,备用;
- [0053] (二)、抗CA125的克隆抗体包被的酶标板的配制采用如下步骤:
- [0054] b1、另取96T空白酶标板,按每孔100μl分别包被抗CA125的单克隆抗体,4℃孵育过夜后,移除上清液;
- [0055] b2、按每孔200μl加入封闭液,封闭液为10%大牛血清和90%10mM PBS,37℃恒温培养箱放置2小时,重复洗涤数次后拍干;
- [0056] b3、封闭结束,将封闭液甩出,板子在吸水纸上拍干,备用;

- [0057] (三)、HPR标记的CA125抗体；
- [0058] c1、称HPR 5mg溶于1ml蒸馏水中,配制成5mg/ml溶液；
- [0059] c2、再加入0.2ml新配的0.1mol/L NaIO₄溶液,室温避光搅20min；
- [0060] c3、再加入20ul 0.2M PH9.6 CBS,混匀；立即加入5mg CA125抗体,室温避光搅2h, CBS中透析2h；
- [0061] c4、再加入0.1ml新配的4mg/ml NaBH₄,混匀,在4℃下放置2h；
- [0062] c5、再边搅拌边逐滴加入等体积的饱和硫酸铵,4℃过夜；
- [0063] c6、然以6500rpm 4℃下离心30min,取其沉淀溶于200ul 0.15M PBS中得混合溶液；
- [0064] c7、混合溶液用PBS透析液透析5~6个小时,期间换2-3次透析液；
- [0065] c8、将透析好的溶液以6500rpm离心5min,取上清液,则得HPR标记的CA125抗体,其浓度按以下公式计算:CA125-HRP浓度=(OD₂₈₀-OD₄₀₃×0.3)×0.62。
- [0066] 所述配制HPR标记的CD63抗体采用如下步骤：
- [0067] d1、称HPR 5mg溶于1ml蒸馏水中,配制成5mg/ml溶液；
- [0068] d2、再加入0.2ml新配的0.1mol/L NaIO₄溶液,室温避光搅20min；
- [0069] d3、再加入20ul 0.2M PH9.6 CBS,混匀；立即加入5mg CD63抗体,室温避光搅2h, CBS中透析2h；
- [0070] d4、再加入0.1ml新配的4mg/ml NaBH₄,混匀,在4℃下放置2h；
- [0071] d5、再边搅拌边逐滴加入等体积的饱和硫酸铵,4℃过夜；
- [0072] d6、然以6500rpm 4℃下离心30min,取其沉淀溶于200ul 0.15M PBS中得混合溶液；
- [0073] d7、混合溶液用PBS透析液透析5~6个小时,期间换2-3次透析液；
- [0074] d8、将透析好的溶液以6500rpm离心5min,取上清液,则得HPR标记的CD63抗体,其浓度按以下公式计算:CD63-HRP浓度=(OD₂₈₀-OD₄₀₃×0.3)×0.62。
- [0075] 将制备的2块抗CD63的克隆抗体包被的酶标板、1块抗CA125的克隆抗体包被的酶标板、10ml的HPR标记的CA125抗体、10ml的HPR标记的CD63抗体分别密封包装后装入试剂盒体,并将作为显色剂A液的20ml的H₂O₂、作为显色剂B液的20ml的TMB,2瓶5ml的终止液,一起放入试剂盒体内冷藏。
- [0076] 二、采用本发明制备的试剂盒进行检测时,进行如下操作:
- [0077] (一)先从阳性卵巢癌腹水提取卵巢癌外泌体
- [0078] 1、取阳性卵巢癌腹水2ml,4℃环境下,以14000rpm旋转40min,弃沉淀；
- [0079] 2、再向上述阳性卵巢癌腹水中加入等体积的16%PEG6000,混合均匀,4℃过夜；
- [0080] 3、将上述混合液以12000rpm旋转20min后,在4℃环境下沉淀,并留下沉淀物,用1ml高压PBS重悬,再加入等体积的12%PEG6000混合均匀,然后4℃过夜。此步骤再重复2次；
- [0081] 4、再将上述混合液以12000rpm旋转20min后,在4℃环境下沉淀,并留下沉淀物,用1ml高压PBS重悬,得到卵巢癌外泌体悬液；
- [0082] 5、测其光密度,也即OD值后备用。
- [0083] (二)检测卵巢癌外泌体中是否含有CD63抗原
- [0084] 1、取试剂盒中的1块CD63酶标板,在其A1~E1孔加100μl/孔的CD63用作对照,最后

一孔作为阴性孔加入100 μ l高压PBS,其余孔每孔以100 μ l/孔的量加入待检测患者的卵巢腹水样本,然后以37度孵育1小时;

[0085] 2、孵育结束,将液体甩出,用自来水冲洗6-10次,拍干;

[0086] 3、取试剂盒中CD63-HRP恢复至室温,使用二抗稀释液配制浓度为2 μ g/ml的HRP溶液。再在该CD63酶标板的每孔中以100 μ l/孔的量加入HRP溶液,再37度孵育1小时;

[0087] 4、孵育结束,将液体甩出,用自来水冲洗6-10次,拍干;

[0088] 5、将显色剂A液、显色剂B液恢复室温,以1:1的比例配制显色液TMB,加样量100 μ l/孔,在37度环境下显色15min;

[0089] 6、每孔加50 μ l的终止液进行终止,并用酶标仪在450nm波长依序测量各孔的OD值;

[0090] 7、若卵巢腹水样本的OD值高于阴性孔的OD值,可视该卵巢腹水样本含有CD63抗原。

[0091] (三) 检测卵巢癌外泌体中是否含有CA125抗原

[0092] 1、取试剂盒中1块CA125酶标板,将A1~E1孔以100 μ l/孔加入CA125抗原作对照,最后一孔作为阴性孔加入100 μ l的高压PBS,其余孔以100 μ l/孔加入待检测患者的卵巢腹水样本;再在每一个孔中加入100 μ l的CA125-HRP,然后以37度孵育2个小时;

[0093] 2、孵育结束,将液体甩出,用自来水冲洗6-10次,拍干;

[0094] 3、将显色剂A液、显色剂B液恢复室温,并以1:1的比例配制10ml显色液TMB,然后在该CA125酶标板的每个孔中加入100 μ l显色液TMB,并以37度显色15min;

[0095] 4、再在每孔中加50 μ l的进行终止,并用酶标仪在450nm波长依序测量各孔的OD值;

[0096] 5、若卵巢腹水样本的OD值高于阴性孔的OD值,可视该卵巢腹水样本含有CA125抗原。

[0097] (四) 准备腹水样本

[0098] 另取待检测的卵巢腹水样本60份,每份卵巢腹水样本300ml;正常血清30份,血清每份1.5ml;其中卵巢癌腹水样本是知情及伦理委员会同意的前提下,收集的临床活检已证实为卵巢癌患者的腹水样本。

[0099] (五) 检测

[0100] 1、取试剂盒中余下的另一块CD63酶标板,在CD63酶标板的A1~E1这5个孔中,每孔添加100 μ l所制备的卵巢癌外泌体,且5个孔中的稀释比分别是1:2、1:4、1:8、1:12,0这5个梯度稀释;该CD63酶标板的另60孔每孔添加100 μ l卵巢腹水样本,另30孔分别放入100 μ l正常血清,再在37℃下孵育2个小时,重复洗涤数次后拍干;

[0101] 2、然后再在该CD63酶标板的每孔中加入100 μ l的CA125-HRP,37℃孵育1个小时,重复洗涤数次后拍干;

[0102] 3、该CD63酶标板按每孔50 μ l加入终止反应液,在酶标仪内测OD₄₅₀值,并记录结果;

[0103] 4、以卵巢癌外泌体浓度梯度为横坐标,以卵巢癌外泌体相应浓度的OD值为纵坐标,在坐标纸上绘出MMF曲线,再将卵巢腹水样本和正常血清样本的OD值代入MMF曲线方程式,计算出卵巢腹水样本的浓度,即为卵巢腹水样本的实际浓度,通过实际浓度来判断是否为卵巢癌,一般正常的人体其浓度为60~200U/ml,而如果是卵巢癌其浓度一般大于200U/ml。另外试剂盒中的正常血清也是用来判断此次检测的正确性的,以防本次检测有误操作的地方,比如正常血清测试其浓度一般为小于20U/ml,如果进行本次测试时其浓度大大超

过该数值，则有可能考虑试剂盒被污染或有误操作的地方，需要重新进行检测。

[0104] 5、以该样本实际浓度来构建CD63抗体包板检测卵巢腹水样本和正常血清的ROC曲线图，以及CA125抗体包板检测卵巢腹水样本和正常血清的ROC曲线图，参见1和图2。

[0105] 本发明制备的试剂盒，对卵巢癌进行早期诊断，准确度高、检测方便、检测时间短，效果好，本发明提供的试剂盒能够用于疾病早期诊断。

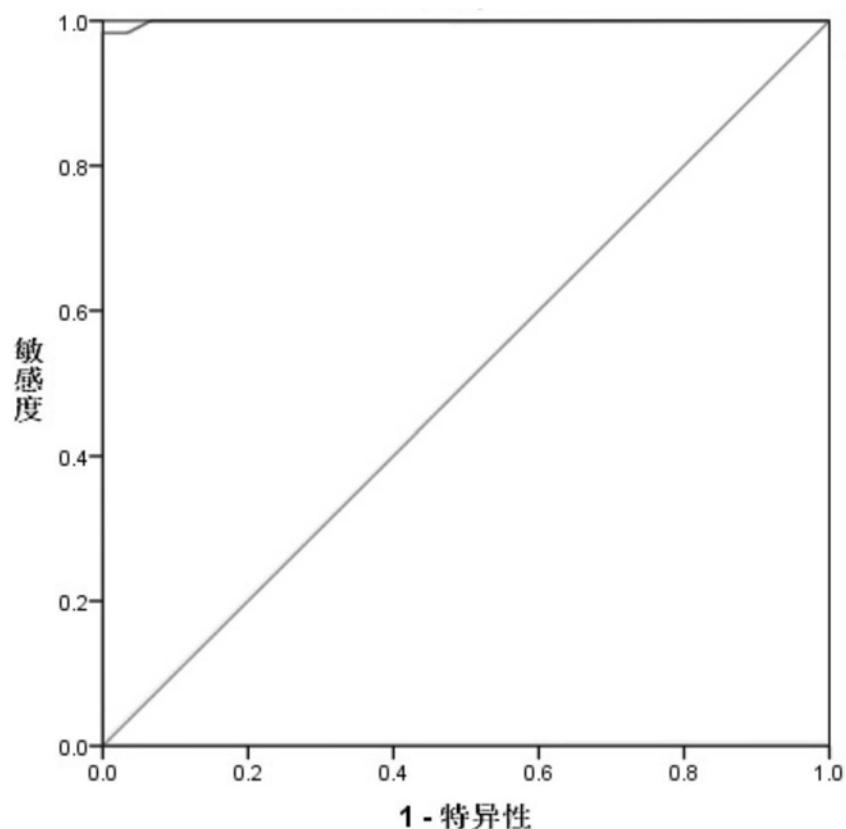


图1

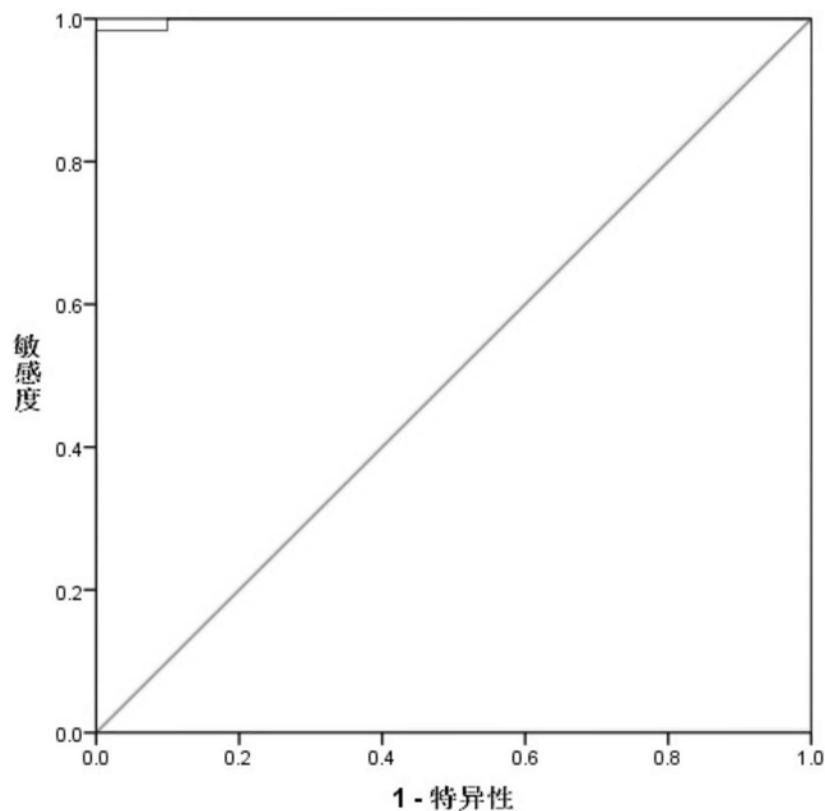


图2

专利名称(译)	用于定量检测卵巢癌外泌体抗原的试剂盒及其配制方法		
公开(公告)号	CN109283335A	公开(公告)日	2019-01-29
申请号	CN201810010011.6	申请日	2018-01-05
[标]发明人	罗朝领 茅柳娟 王莹 曹雪姣 任调		
发明人	罗朝领 茅柳娟 王莹 曹雪姣 任调		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/558 G01N33/577 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/57449 G01N33/535 G01N33/558 G01N33/577		
代理人(译)	刘君		
外部链接	Espacenet	Sipo	

摘要(译)

本发明涉及ELISA检测试剂盒技术领域，具体地说是一种高容量沥青/环氧树脂基改性硬炭负极材料及其制备方法，包括试剂盒体，其特征在于，所述的试剂盒体内放置有2块抗CD63的克隆抗体包被的酶标板、1块抗CA125的克隆抗体包被的酶标板、10ml的HPR标记的CA125抗体、10ml的HPR标记的CD63抗体、作为显色剂A液的20ml的H₂O₂、作为显色剂B液的20ml的TMB，2瓶5ml的终止液。本发明同现有技术相比，该试剂盒利用外泌体的酶联免疫吸附方法来快速检测卵巢癌抗原，对卵巢癌能进行早期诊断；检测的准确度高、特异性强，检测样品范围广泛，包括血清、腹水、血浆、组织液等，反应周期短，效果好。

