

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/546

G01N 33/535

G01N 21/76



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200410051395.4

[43] 公开日 2005 年 5 月 11 日

[11] 公开号 CN 1614420A

[22] 申请日 2004.9.9

[21] 申请号 200410051395.4

[71] 申请人 深圳大学

地址 518060 广东省深圳市南山区南油大道
2336 号

[72] 发明人 刘志刚 吉坤美 刘晓宇 王广伟
蔡成郁 喻海琼 高波 黄志坚
康敏雄

权利要求书 1 页 说明书 6 页

[54] 发明名称 一种检测空调滤网和吸尘器灰尘中
尘螨变应原的方法

[57] 摘要

过敏性疾病是由于吸入或接触各种变应原引起的,其中,屋尘螨和粉尘螨引起的变应疾病约占 70%。本发明运用纳米磁性粒子酶联免疫测定技术检测空调空气过滤网灰尘和吸尘器收集灰尘中尘螨变应原的含量。具体地说通过 PBS 提取收集的灰尘作为检测样品。分别采用 Der p II、Der fII 单抗包裹纳米磁性粒子,与待测样品结合,再加入碱性磷酸酶标记的 Der p II、Der fII 多抗,经温育后形成固相包被的复合物。洗涤、分离后加入底物 AMP-PD 作为化学发光剂,AMPPD 在碱性磷酸酶的催化作用下,迅速去磷酸,生产中介体 AMPD。AMPD 分解后发射光子。通过阅读系统记录发光强度,并从标准曲线上计算出待测样品的浓度。

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

1、一种检测空调空气滤网灰尘和吸尘器收集灰尘中尘螨变应原的方法。具体地说通过 PBS 缓冲液提取收集的灰尘作为检测样品。分别采用 Der p II、Der f II 单抗包裹纳米磁性粒子，与待测样品结合，再加入碱性磷酸酶标记的 Der p II、Der f II 多抗，经 37℃ 温育后形成固相包被抗体-抗原-酶标记二抗复合物。洗涤、分离后加入底物 AMPPD 作为化学发光剂，AMPPD 在碱性磷酸酶的催化作用下，迅速去磷酸，生产中介体 AMPD。AMPD 很快分解，从高能激发状态，回到低能量的稳定态，同时发射光子，这种发光稳定、持续时间可长达 1 小时。通过光量子阅读系统记录发光强度，并从标准曲线上计算出待测样品中过敏原 Der p II 和 Der f II 的含量。

2、根据权利要求 1 所述的方法检测空调空气滤网灰尘中尘螨变应原 Der p II 和 Der f II 含量的方法。

3、根据权利要求 1 所述的检测吸尘器收集灰尘中尘螨变应原 Der p II 和 Der f II 含量的方法。

4、根据权利要求 1 和 2 所述的方法应用于评估空调防治尘螨功效的测试。

5、根据权利要求 1 和 3 所述的方法应用于评估吸尘器清除室内尘螨功效的测试。

一种检测空调滤网和吸尘器灰尘中尘螨变应原的方法

技术领域

本发明涉及尘螨变应原检测的方法，具体地说是一种运用纳米磁性粒子酶联免疫测定技术检测空调空气过滤网灰尘和吸尘器收集灰尘中尘螨变应原 Der pII 和 Der fII 含量的方法。

背景技术

过敏性疾病（如哮喘、过敏性鼻炎、过敏性皮炎等）是临床上的常见病、多发病，据 2000 年 WHO/IAACI 报告指出近些年来哮喘的发病率和死亡率呈上升趋势。全国部分城市对青少年哮喘流行病学统计（ISSAC 调查）哮喘发病率为 3.3%-5.1%，远较 10 年前（约 1%）升高；目前全国至少有一千万以上儿童患哮喘。

过敏性疾病是由于各种接触或吸入变应原引起的，变应原大部分为蛋白质，也可多肽或糖类以及人工合成的物质如药物等。最常见的变应原是尘螨。尘螨是强烈的变应原之一，可引起的全身性变态反应疾病包括变应性哮喘、变应性鼻结膜炎、特应性湿疹 / 皮炎、变应性荨麻疹等。螨性变应疾病占各种变态反应疾病的 70% 左右。在我国和世界的大部分地区，分布最广泛的、研究最深入的两种引起全身性变态反应疾病的尘螨包括户尘螨和粉尘螨。它们喜好在温暖、潮湿环境中繁衍，经深圳大学生命科学院刘志刚教授领导的课题组调查发现空调空气滤网也是它们嗜好的栖居场所之一。空调使用一段时间

后，空气滤网上就会有許多絮状的附着物，这些附着物来源于人体脱落的皮屑、棉质纤维、打扫卫生、花粉、脱换衣服、吸烟等产生的悬浮物集聚而成。粉尘螨和户尘螨喜欢生长在这种温暖、潮湿并且有皮屑等食物的环境中。如果不定期或从未清洗空气滤网，那么，空调一开，空气滤网上的尘螨以及尘螨分泌排泄物等致敏物就会吹出来，附在人体皮肤上或吸入后沉积在呼吸道中，从而产生皮肤瘙痒、鼻塞、打喷嚏或哮喘等过敏性疾病。人们在密封空调室内工作、生活和学习时间越来越多，因而室内空调空气滤网灰尘中尘螨变应原也可成为室内主要的致敏因素之一。

室内环境一般泛指人们的生活居室、劳动、工作的办公室和室内场所、进行其他室内活动的公共场所等。室内环境已成为现代人类生活、工作和进行其他活动的主要场所。近年的国内外研究资料表明，城市居民每天约 70%-90%的时间在各种室内环境中度过，因此，室内空气环境质量的好坏，对人体健康的影响越来越大。

室内生物性污染主要有生物性过敏原和病原微生物等。生物性过敏原主要是尘螨、真菌、细菌和花粉等室内的空气微生物，诱发人体出现过敏性变态反应疾病，如过敏性鼻炎、哮喘等。其中尘螨是最主要的过敏原之一。

为了预防和控制室内尘螨生物性过敏原污染，深圳大学生命科学学院刘志刚教授领导的课题组进行了新一代健康家电的研制，主要包括防治尘螨的空调和带 HEPA 滤网的除螨吸尘器。

为了监控空调和室内其它地方尘螨污染状况，并能定量反映出

来,本发明运用纳米磁性粒子酶联免疫测定技术检测空调空气滤网灰尘和吸尘器收集灰尘中尘螨变应原 Der p II 和 Der fII 的含量。

尘螨 II 组过敏原 (Der p II 和 Der fII) 是分子量为 15KDa, 有几乎相同的 N-端氨基酸序列的蛋白, 也是通过螨虫的胃肠道排泄的最主要的尘螨过敏原之一。

本发明通过纳米磁性粒子酶联免疫测定技术, 测定空调空气滤网灰尘和吸尘器收集灰尘中尘螨变应原 Der p II 和 Der fII 的含量来对室内尘螨污染状况进行监控。具体地说通过 PBS 缓冲液提取空调空气滤网灰尘和吸尘器收集灰尘中 Der p II 和 Der fII 作为检测样品。分别采用 Der p II 和 Der fII 单克隆抗体包裹纳米磁性粒子, 与待测样品结合, 再加入碱性磷酸酶标记的 Der p II、Der fII 多抗, 经 37℃ 温育后形成固相包被抗体-抗原-酶标记二抗复合物。洗涤、分离后加入底物 AMPPD 作为化学发光剂, AMPPD 在碱性磷酸酶的催化作用下, 迅速去磷酸, 产生中介体 AMPD。AMPD 很快分解, 从高能激发状态, 回到低能量的稳定态, 同时发射光子, 这种发光稳定、持续时间可长达 1 小时。通过光量子阅读系统记录发光强度, 并从标准曲线上计算出待测过敏原 Der p II 和 Der fII 的含量。通过灰尘总量分别计算出空调空气滤网灰尘和吸尘器收集灰尘中尘螨变应原 Der p II 和 Der fII 总含量。

本发明不仅提供了室内尘螨污染状况的检测的技术手段, 而且为健康家电包括空调和吸尘器的研制提供技术基础。

发明内容

本发明通过纳米磁性粒子酶联免疫测定技术,测定空调空气滤网灰尘和吸尘器收集灰尘中尘螨变应原 Der p II 和 Der f II 的含量来对室内尘螨污染状况进行监控。具有地说通过 PBS 缓冲液提取空调空气滤网灰尘和吸尘器收集灰尘中 Der p II 和 Der f II 作为检测样品。分别采用 Der p II 和 Der f II 单克隆抗体包裹纳米磁性粒子,与待测样品结合,再加入碱性磷酸酶标记的 Der p II、Der f II 多抗,经 37℃ 温育后形成固相包被抗体-抗原-酶标记二抗复合物。洗涤、分离后加入底物 AMPPD 作为化学发光剂,AMPPD 在碱性磷酸酶的催化作用下,迅速去磷酸,生产中介体 AMPD。AMPD 很快分解,从高能激发状态,回到低能量的稳定态,同时发射光子,这种发光稳定、持续时间可长达 1 小时。通过光量子阅读系统记录发光强度,并从标准曲线上计算出待测过敏原 Der p II 和 Der f II 的含量。通过灰尘总量分别计算出空调空气滤网灰尘和吸尘器收集灰尘中尘螨变应原 Der p II 和 Der f II 总含量。

本发明不仅提供了室内尘螨污染状况检测的技术手段,而且为健康家电包括空调和吸尘器的研制提供技术基础。

具体实施方式

本发明的内容,通过以下的实施例作具体说明:

实施例 1: 空调空气滤网灰尘的收集及其尘螨过敏原 Der p II 和 Der f II 的提取

打开家用分体空调室内进气口盖子,轻轻取出空气滤网,将其放

在一张大的干净的白纸上，用干净的刷子将滤网上的灰尘刷下，收集并称量总重量。先将总收集的灰尘研磨，再按每毫克灰尘加入 200ul PBS (pH7.4) 缓冲液，搅拌 30 分钟，将其转入收集管中，在 8℃ 条件按每分钟 200 转振荡 24 小时，按 5000g 离心 20 分钟，收集离心上清，用 0.45um 膜过滤除去漂浮物。过滤后液体即为待测样品。

实施例 2：吸尘器收集灰尘中尘螨过敏原 Der p II 和 Der f II 的提取

用带 HEPA 滤网的家用吸尘器对室内地面、墙面、床下、床被、家具表面等地方进行吸尘，轻轻取出灰尘收集装置并将其中的灰尘收集一起称量其总重量。先将总收集的灰尘研磨，再按每毫克灰尘加入 200ul PBS (pH7.4) 缓冲液，搅拌 30 分钟，将其转入收集管中，在 8℃ 条件按每分钟 200 转振荡 24 小时，按 5000g 离心 20 分钟，收集离心上清，用 0.45um 膜过滤除去漂浮物。过滤后液体即为待测样品。

实施例 3 空调空气滤网灰尘提取样品中 Der p II 和 Der f II 含量的测定

取实施例 1 提取的待测样品 100ul 进行测定。分别采用 Der p II、Der f II 单抗包裹纳米磁性粒子，与待测样品结合，再加入碱性磷酸酶标记的 Der p II、Der f II 多抗，经 37℃ 温育后形成固相包被抗体-抗原-酶标记二抗复合物。洗涤、分离后加入底物 AMPPD 作为化学发光剂，AMPPD 在碱性磷酸酶的催化作用下，迅速去磷酸，生产中介

体 AMPD。AMPD 很快分解，从高能激发状态，回到低能量的稳定态，同时发射光子，这种发光稳定、持续时间可长达 1 小时。通过光子量子阅读系统记录发光强度，并从标准曲线上计算出待测过敏原 Der p II 和 Der fII 的含量。标准曲线绘制采用深圳大学生命科学学院刘志刚教授领导的课题组通过基因工程表达的 Der p II 和 Der fII 重组蛋白作标准品。通过灰尘总量分别计算出空调空气滤网灰尘中尘螨变应原 Der p II 和 Der fII 总含量。

实施例 4 吸尘器收集灰尘提取样品中 Der p II 和 Der fII 含量的测定

取实施例 2 提取的待测样品 100ul 进行测定。分别采用 Der p II、Der fII 单抗包裹纳米磁性粒子，与待测样品结合，再加入碱性磷酸酶标记的 Der p II、Der fII 多抗，经 37℃温育后形成固相包被抗体-抗原-酶标记二抗复合物。洗涤、分离后加入底物 AMPPD 作为化学发光剂，AMPPD 在碱性磷酸酶的催化作用下，迅速去磷酸，生产中介体 AMPD。AMPD 很快分解，从高能激发状态，回到低能量的稳定态，同时发射光子，这种发光稳定、持续时间可长达 1 小时。通过光子量子阅读系统记录发光强度，并从标准曲线上计算出待测过敏原 Der p II 和 Der fII 的含量。标准曲线绘制采用深圳大学生命科学学院刘志刚教授领导的课题组通过基因工程表达的 Der p II 和 Der fII 重组蛋白作标准品。通过灰尘总量分别计算出吸尘器收集灰尘中尘螨变应原 Der p II 和 Der fII 总含量。

专利名称(译)	一种检测空调滤网和吸尘器灰尘中尘螨变应原的方法		
公开(公告)号	CN1614420A	公开(公告)日	2005-05-11
申请号	CN200410051395.4	申请日	2004-09-09
[标]申请(专利权)人(译)	深圳大学		
申请(专利权)人(译)	深圳大学		
当前申请(专利权)人(译)	深圳大学		
[标]发明人	刘志刚 吉坤美 刘晓宇 王广伟 蔡成郁 喻海琼 高波 黄志坚 康敏雄		
发明人	刘志刚 吉坤美 刘晓宇 王广伟 蔡成郁 喻海琼 高波 黄志坚 康敏雄		
IPC分类号	G01N21/76 G01N33/535 G01N33/546		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

过敏性疾病是由于吸入或接触各种变应原引起的，其中，屋尘螨和粉尘螨引起的变应疾病约占70%。本发明运用纳米磁性粒子酶联免疫测定技术检测空调空气过滤网灰尘和吸尘器收集灰尘中尘螨变应原的含量。具体地说通过PBS提取收集的灰尘作为检测样品。分别采用Der p II、Der fII单抗包裹纳米磁性粒子，与待测样品结合，再加入碱性磷酸酶标记的Der p II、Der fII多抗，经温育后形成固相包被的复合物。洗涤、分离后加入底物AMPPD作为化学发光剂，AMPPD在碱性磷酸酶的催化作用下，迅速去磷酸，生成中介体AMPD。AMPD分解后发射光子。通过阅读系统记录发光强度，并从标准曲线上计算出待测样品的浓度。