



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115524488 A

(43) 申请公布日 2022. 12. 27

(21) 申请号 202210642745.2

(22) 申请日 2022.06.08

(71) 申请人 中国医学科学院医学生物学研究所
地址 650106 云南省昆明市五华区茭菱路
935号

(72) 发明人 刘红旗 徐婧雯 鲁帅尧 丁开云
禹文海 陈泓宇 杨云 刘建生

(74) 专利代理机构 北京高沃律师事务所 11569
专利代理师 张梦泽

(51) Int. Cl.

G01N 33/569 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

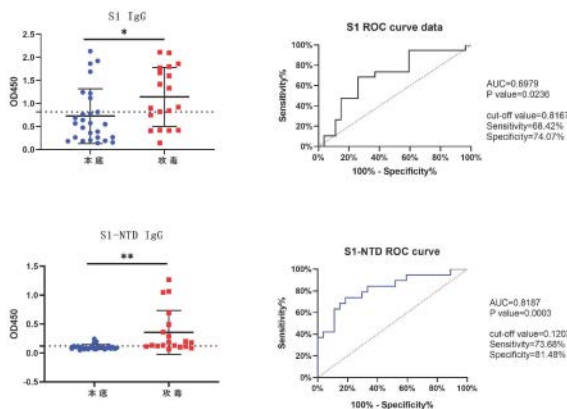
权利要求书1页 说明书6页
序列表2页 附图6页

(54) 发明名称

SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白在制备新冠肺炎的检测试剂中的应用

(57) 摘要

本发明属于血清学检测技术领域,具体涉及 SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白在制备新冠肺炎的检测试剂中的应用。本发明以SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白为包被抗原对新冠肺炎进行检测,其灵敏度和特异性显著高于以SARS-CoV-2 S1蛋白作为包被抗原的试剂盒,可以有效区分阳性和阴性样本,为 SARS-CoV-2 实验感染模型、疫苗研发和药物筛选等工作提供数据支持,并为实验动物的 SARS-CoV-2 排查、溯源检测等疾病防控提供检测工具。



1. SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白在制备新冠肺炎的检测试剂中的应用。
2. 根据权利要求1所述的应用,其特征在于,所述SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.1所示。
3. 一种检测动物样本抗SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白-IgG抗体的试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白、固相载体和免疫学检测试剂。
4. 根据权利要求3所述的试剂盒,其特征在于,所述动物包括灵长类动物。
5. 根据权利要求4所述的试剂盒,其特征在于,所述灵长类动物包括猴子。
6. 根据权利要求5所述的试剂盒,其特征在于,所述动物样本包括血清或血浆。
7. 根据权利要求3~6任一项所述的试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包括酶联免疫吸附剂测定试剂盒。
8. 根据权利要求7所述的试剂盒,其特征在于,所述免疫学检测试剂包括标记抗体、抗原包被液、洗液、封闭液、样本稀释液、显色剂和终止液。
9. 根据权利要求8所述的试剂盒,其特征在于,所述标记抗体包括辣根过氧化物酶标记的羊抗猴IgG。

SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白在制备新冠肺炎的检测试剂中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于血清学检测技术领域,具体涉及SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白在制备新冠肺炎的检测试剂中的应用。

背景技术

[0002] 现有研究表明SARS-CoV-2特异性IgG和IgM抗体的检测,作为与核酸检测和病毒基因测序等方法的共同确诊证据,表明SARS-CoV-2血清学检测的重要性。目前市面上有多种获批应用于人群的新冠血清检测试剂盒,但是尚缺少关于动物尤其是实验猴的血清背景研究,实验猴作为新冠疫苗研发和新冠药物筛选至关重要的动物模型,对其血清背景及SARS-CoV-2的感染情况进行分析和评价具有重要意义。

[0003] SARS-CoV-2基因组全长为29891个核苷酸,病毒基因组由冠状病毒常见的6个主要开放阅读框(ORFs)及4个结构蛋白基因组成,共编码9860个氨基酸。编码的结构蛋白包括刺突蛋白S(spike,1273aa)、包膜蛋白E(envelope,75aa)、外膜蛋白M(membrane,222aa)和核衣壳蛋白N(nucleocapsid,419aa)。SARS-CoV-2的S蛋白通过结合黏膜细胞上的血管紧张素转化酶受体2(ACE2)进入宿主细胞内,在感染过程中,S蛋白被宿主蛋白酶如TMPRSS2裂解为S1亚基和S2亚基,S1亚基和S2亚基分别介导受体结合和膜融合。其中S1亚基包含NTD和RBD,RBD与ACE2受体结合,而NTD和RBD在确定组织向性和宿主范围方面至关重要。因此SARS-CoV-2的S蛋白是新冠血清学检测的重要靶点,常规检测SARS-CoV-2的血清IgG是使用SARS-CoV-2 S1蛋白进行包被,但是检测的灵敏度和特异性较低。

发明内容

[0004] 本发明的目的在于提供SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白在制备新冠肺炎的检测试剂中的应用,以SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白为包被抗原可以对新冠肺炎病毒进行检测,有效区分阳性和阴性样本,灵敏度和特异性更高。

[0005] 本发明提供了SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白在制备新冠肺炎的检测试剂中的应用。

[0006] 优选的,所述SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.1所示。

[0007] 本发明还提供了一种检测动物样本抗SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白-IgG抗体的试剂盒,所述试剂盒包括SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白、固相载体和免疫学检测试剂。

[0008] 优选的,所述动物包括灵长类动物。

[0009] 优选的,所述灵长类动物包括猴子。

[0010] 优选的,所述动物样本包括血清或血浆。

[0011] 优选的,所述试剂盒包括酶联免疫吸附剂测定试剂盒。

[0012] 优选的,所述免疫学检测试剂包括标记抗体、抗原包被液、洗液、封闭液、样本稀释液、显色剂和终止液。

[0013] 优选的,所述标记抗体包括辣根过氧化物酶标记的羊抗猴IgG。

[0014] 有益效果:

[0015] 本发明提供了SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白在制备新冠肺炎的检测试剂中的应用,本发明以SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白为包被抗原对新冠肺炎进行检测,其灵敏度和特异性显著高于以SARS-CoV-2 S1蛋白作为包被抗原的试剂盒,可以有效区分阳性和阴性样本,为SARS-CoV-2实验感染模型、疫苗研发和药物筛选等工作提供数据支持,并为实验动物的SARS-CoV-2排查、溯源检测等疾病防控提供检测工具。

附图说明

[0016] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例中所需要使用的附图作简单地介绍。

[0017] 图1-1-图1-4为实施例2中不同SARS-CoV-2 S1蛋白浓度和血清稀释倍数对血清OD₄₅₀值的影响;

[0018] 图2为实施例2中标记抗体的稀释倍数对血清样本OD₄₅₀值的影响;

[0019] 图3为实施例2中本底血清和攻毒血清样本的OD₄₅₀结果;

[0020] 图4为实施例2中血清稀释液配方摸索结果;

[0021] 图5为实施例3中不同年龄实验猴血清样本的OD₄₅₀结果;

[0022] 图6为以4种HCoV的S1蛋白作为包被抗原的80份实验猴血清的检测结果;

[0023] 图7为不同包被抗原实验猴血清样本的OD₄₅₀结果;

[0024] 图8为SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白作为包被抗原的ELISA检测结果。

具体实施方式

[0025] 本发明提供了SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白在制备新冠肺炎的检测试剂盒或试剂中的应用。

[0026] 本发明所述SARS-CoV-2 S1-NTD(下述简称为:S1-NTD)蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.1所示,具体为 MFVFLVLLPLVSSQCVNLTTRTQLPPAYTNSFTRGVYYPDKVFRSSVLHSTQD LFL PFFSNVTWFHAIHVSGTNGTKRFDNPVLPFNDGVYFASTEKSNIIRGWIFG TTLDSKTQSLIIVNNATNVVIKVC EFQFCNDPFLGVYHKNKSWMESEFRV YSSANNCTFEYVSQPFLMDLEGKQGNFKNLREFVFKNIDGYFKIYSK HTPINL VRDLPQGFSALEPLVDLPIGINITRFQTLALHRSYLTGPDSSSGWTAGAAAYY VGYLQPRTFLLKYN ENGTITDAVDCALDPLSETKCTLKS。本发明以 SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白为包被抗原对包括血清样本在内的新冠肺炎样本进行检测,其灵敏度和特异性显著高于以SARS-CoV-2 S1蛋白作为包被抗原的试剂盒,可以有效区分阳性和阴性样本。

[0027] 本发明还提供了一种检测动物样本抗SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白-IgG抗体的试剂盒,所述试剂盒包括SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白、固相载体和免疫学检测试剂。本发明所述SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白的浓度优选为1~8μg/mL,更优选为 1~2μg/mL,进一步优选为1μg/mL。本发明所述动物样本优选包括灵长类动物,更优选为猴子,更进一步优选为实验猴。本发明所述样本优选包括血清或血浆,更优选包括血清。当本发明所述样本为血清样本时,所述血清的稀释倍数优选为1:20~1:100,进一步优选为1:50~1:100,更优选为1:100。本发明所述试剂盒优选包括酶联免疫吸附试剂盒。本发明对所述固相载体的来源和类型没有特殊限定,采用本领域常规固相载体即可。

[0028] 当本发明所述试剂盒为酶联免疫吸附剂测定试剂盒时,所述试剂盒中的免疫学检测试剂优选包括标记抗体、抗原包被液、洗液、封闭液、样本稀释液、显色剂和终止液。本发明所述标记抗体(二抗)优选依据动物类型的不同而略有差异,当所述动物为猴子时,所述标记抗体优选为辣根过氧化物酶标记的羊抗猴IgG(HRP标记的goat anti monkey IgG(H+L))。本发明所述标记抗体的稀释比例优选为1:10000~1:80000,更优选为1:40000。本发明所述抗原包被液优选为碳酸盐缓冲液,所述碳酸盐缓冲液优选包括 Na_2CO_3 1.59g/L, NaHCO_3 2.93g/L;所述碳酸盐缓冲液的pH值优选为9.6。本发明所述洗液优选为PBST,所述PBST优选为含有0.05% (v/v) Tween-20的磷酸盐缓冲液。本发明所述封闭液优选为含有2% (m/v) BSA的PBS缓冲液。本发明所述样本稀释液优选为血清稀释液,所述血清稀释液优选为含有0.5% (m/v) BSA的PBST。本发明所述显色剂优选为TMB,终止液优选为摩尔浓度为0.3M的 H_2SO_4 。

[0029] 本发明还提供一种动物的新冠酶联免疫检测方法,以SARS-CoV-2 S1-NTD 蛋白为包被抗原或以上技术方案任一项所述的试剂盒对动物样本进行酶联免疫检测。本发明所述动物优选为猴子,更优选为实验猴。本发明对所述酶联免疫检测的步骤没有特殊限定,采用本领域常规酶联免疫步骤即可。采用本发明提供的新冠酶联免疫检测方法对动物样本进行检测的cut-off值相对更低,ROC 曲线下面积相对更高,较以SARS-CoV-2 S1为包被抗原的酶联免疫检测方法更能有效区分阳性和阴性样本。在本发明中,当检测目标样本的OD值大于0.1203 或高于同组阴性样本OD值的2.1倍时,所述目标样本被判定为阳性。

[0030] 为了进一步说明本发明,下面结合附图和实施例对本发明提供的技术方案进行详细地描述,但不能将它们理解为对本发明保护范围的限定。

[0031] 实施例1

[0032] 一种检测动物样本抗SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白-IgG抗体的试剂盒,由以下组分组成:

[0033] SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白(Sino Biological,Cat:40591-V49H),1 $\mu\text{g}/\text{mL}$;

[0034] ELISA抗原包被液为pH 9.6的碳酸盐缓冲液(每1000mL包被缓冲液中含 Na_2CO_3 1.59g、 NaHCO_3 2.93g);

[0035] 洗液PBST为含有0.05% (v/v) Tween-20的磷酸盐缓冲液;

[0036] 封闭液为PBS中加入2% (m/v) BSA;

[0037] 血清稀释液为PBST+0.5% (m/v) BSA;

[0038] 标记抗体为HRP标记的goat anti monkey IgG(H+L)(Abcam,Cat: ab112767);

[0039] 显色剂为TMB(博奥龙,Cat:BF06007);

[0040] 终止液为0.3M H_2SO_4 。

[0041] 实施例2

[0042] 建立以SARS-CoV-2 S1蛋白为包被抗原的ELISA检测方法

[0043] 常规使用于检测血清中SARS-CoV-2 IgG的包被抗原为SARS-CoV-2 S1蛋白,所以首先建立用SARS-CoV-2 S1蛋白包被的ELISA检测方法。

[0044] 首先用棋盘法进行实验条件摸索:SARS-CoV-2 S1蛋白(Sino Biological, Cat: 40591-V08B1)包被浓度按2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和8 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 进行抗原包被,包被液使用pH7.5的PBS和pH9.6的碳酸盐缓冲液对抗原进行稀释,分别使用2份阴性血清(编号97和98),和2份攻

毒后阳性血清(编号99和100)进行ELISA实验,二抗为HRP标记的goat anti monkey IgG(H+L),稀释比例为1:10000。本发明对所述攻毒后阳性血清的操作步骤没有特殊限定,本领域中常规步骤得到的攻毒血清或者用新冠病毒含S蛋白成分免疫后的血清均可。本发明试验用攻毒血清为从中国医学科学院医学生物学研究所高等级生物安全实验室中获得。

[0045] 结果如图1所示:SARS-CoV-2 S1蛋白2 μ g/mL、4 μ g/mL和8 μ g/mL包被浓度对于同一阴性或阳性血清的OD450值影响不大,阴性血清读数范围为0.8~2.0之间,阳性血清读数范围基本接近3附近,所以选择2 μ g/mL包被浓度更为经济;血清样品的稀释度对于阳性血清OD450读数影响不大,均为3左右;但阴性血清的OD450读数随着血清稀释度的增加呈现下降趋势,所以1:100的稀释度能较好的拉开阴性血清和阳性血清之间的OD450读数;pH7.5的PBS缓冲液和pH9.6的碳酸盐缓冲液包被效果差不多,之后采用pH9.6的碳酸盐缓冲液包被。由于在2 μ g/mL SARS-CoV-2 S1蛋白包被浓度及二抗稀释比例为1:10000条件下阴性血清的OD450读数仍有些偏高,因此通过调整SARS-CoV-2 S1蛋白包被浓度和二抗的稀释比例来对ELISA检测体系进行优化。

[0046] SARS-CoV-2 S1蛋白分别采用1 μ g/mL和2 μ g/mL进行包被;二抗goat anti monkey IgG H&L(HRP)采用1:10000、1:20000、1:40000和1:80000进行稀释。结果如图2所示:在SARS-CoV-2 S1蛋白包被浓度为1 μ g/mL条件下,二抗稀释比例为1:40000的条件下阴性血清和阳性血清OD450数值较合适。

[0047] 以SARS-CoV-2 S1蛋白作为包被抗原对20份实验猴本底血清和22份实验猴攻毒后血清进行ELISA检测,本底血清和攻毒后血清的OD值通过非配对t检验分析有统计学差异($P=0.0134$),说明以SARS-CoV-2 S1-His作为包被抗原可以检测出特异性的SARS-CoV-2感染血清,但是本底血清OD平均值较高(Mean=0.59),部分本底血清OD值超过1.0(图3),若以阴性血清平均OD值加2个标准差来确定cut-off值,则该检测方法的cut-off值较高,为1.35,这个数值甚至超过了检测中攻毒后血清OD平均值0.89。

[0048] 有文献报道人群血清样品中类风湿因子IgM(Rheumatoid factor IgM,RF-IgM)及抗核抗体(Antinuclear antibody,ANA)为阳性时,会干扰SARS-CoV-2的IgM和IgG检测,造成假阳性结果。但可通过在血清稀释液中添加适量尿素进行解离,能有效降低假阳性结果的发生概率。因此选择终浓度为2mol/L和4mol/L的尿素添加在血清稀释液中,探讨能否降低实验猴血清本底血清OD值,并提高P/N值(攻毒后血清OD值/本底血清OD值)以提高检测的特异性。通过使用三种血清稀释液配方(A:PBST+5%BSA、B:PBST+5%BSA+2mol/L尿素、C:PBST+5%BSA+4mol/L尿素)来检测三只实验猴本底血清和攻毒后血清的IgG(149、151、159分别为三只实验猴的本底血清编号,相对应的99、100、93为该实验猴的攻毒后血清编号),结果发现添加尿素方法虽然可以降低本底血清OD值,但同时也降低了攻毒后血清OD值,且未能提高P/N值,没有达到预期目的,之后仍选择PBST+5%BSA为血清稀释液配方。(表1和图4):

[0049] 表1实施例2中血清稀释液配方摸索结果

		P/N	
稀释液配方	PBST+0.5%BSA	PBST+0.5%BSA+2mol/L	PBST+0.5%BSA+4mol/L
		尿素	尿素
[0050]			
	03027	1.06	1.10
	05114	1.52	1.34
	w1002037	2.89	2.31

[0051] 到目前为止,已确定以SARS-CoV-2 S1蛋白进行ELISA检测的实验条件,后续均以此条件进行ELISA实验,增加实验结果的可比性。酶标板中加入100 μ L/孔用ELISA抗原包被液稀释到终浓度为1 μ g/mL的包被蛋白,贴封板膜放4 $^{\circ}$ C过夜;用PBST洗板(洗3次,每次300 μ L/孔,在纸巾上轻拍酶标板去除残余液体),加入封闭液200 μ L/孔,贴封板膜在37 $^{\circ}$ C恒温振荡器中200rpm孵育1小时。洗板后加入1:100稀释好的待检血清100 μ L/孔,贴封板膜在37 $^{\circ}$ C恒温振荡器中200rpm孵育1小时。再次洗板后,加入1:40000稀释好的二抗100 μ L/孔,贴封板膜在37 $^{\circ}$ C恒温振荡器中200rpm孵育1小时。洗去二抗后,加入100 μ L/孔TMB溶液,37 $^{\circ}$ C恒温振荡器中孵育5分钟,加入100 μ L/孔0.3M H₂SO₄终止显示,终止后5分钟之内检测,在酶标仪上检测OD₄₅₀。使用GraphPad Prism软件进行统计(P<0.05,标注*;P<0.01,标注**;P<0.001,标注***)。

[0052] 实施例3

[0053] 验证以SARS-CoV-2 S1蛋白为包被抗原的ELISA检测方法

[0054] 为了进一步验证本底血清OD值中存在这些过高的数值是否为个别现象,使用SARS-CoV-2 S1蛋白进一步检测82份实验猴本底血清样品(其中大于9岁8只,6-8岁16只,5岁26只,4岁12只,小于3岁20只),发现新增加的82份本底血清中仍然存在较高的OD值,但不同年龄段的实验猴本底血清OD值差异较大,年龄小于3岁的实验猴本底血清OD平均值最低,仅为0.26;但年龄为4岁的实验猴本底血清OD平均值最高,为1.41(图5),这提示可能较年长的实验猴在成长过程中可能存在其他感染,导致血清中的交叉反应较高。

[0055] 考虑到实验猴在饲养和成长过程中可能接触和感染其他冠状病毒,使其本底血清中存在其他HCoV的抗体,可能影响到SARS-CoV-2 S1-His的ELISA检测,造成一定的假阳性率,所以选择常见的4种HCoV对实验猴的血清样品进行排查,4种HCoV分别为alphacoronavirus:HCoV-229E和HCoV-NL63;betacoronavirus:HCoV-OC43和HCoV-HKU1。由于不同冠状病毒S蛋白在氨基酸序列上存在同源性,目前已有多项研究提示不同冠状病毒S蛋白存在免疫交叉反应。通过使用SnapGene对4种HCoV和SARS-CoV-2的S1蛋白氨基酸序列进行比对,我们也发现4种HCoV和SARS-CoV-2的S1蛋白氨基酸序列存在不同程度的相似度。

[0056] 接下来通过ELISA实验进行验证,4种HCoV的S1蛋白:HCoV-229E S1蛋白(Sino Biological,Cat:40601-V08H)、HCoV-NL63 S1蛋白(Sino Biological,Cat:40600-V08H)、HCoV-OC43 S1蛋白(Sino Biological,Cat:40607-V08H1)和HCoV-HKU1 S1蛋白(Sino

Biological, Cat:40602-V08H) 分别以 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 浓度进行包被,检测80份实验猴血清中4种HCoV IgG的情况,发现部分实验猴可能曾感染过HCoV的情况,因为其OD值较高,超过空白孔5倍以上(一般以超过阴性OD值2.1倍以上判定为阳性)(图6),在图6的热图中,每行为20只实验猴的本底血清样品,4行共80只实验猴,同一行中同一列的4小格为同一只实验猴血清样品。每一个小方格代表一个ELISA的OD值,如第一行第一列的第一个小方格,代表以HCoV-229E S1蛋白包被后进行ELISA,加样为某只实验猴的本底血清样品,测定 OD_{450} 的值,以此类推,最后将测定的OD值进行均一化处理得出图6,颜色越深代表OD值越高。但HCoV检测OD值较高的本底血清样品,与SARS-CoV-2 S1蛋白包被检测到OD值较高的本底血清样品,并不完全匹配,因此可能为还存在其他感染导致的交叉反应,也有可能 SARS-CoV-2 S1蛋白并不是很合适的包被抗原。

[0057] 实施例4

[0058] 建立更优的SARS-CoV-2实验猴血清IgG ELISA检测方法

[0059] 由于以SARS-CoV-2 S1蛋白检测实验猴本底血清效果不是很理想,所以考虑更换包被抗原对ELISA检测方法进行优化。

[0060] 为了更好的反应出包被抗原是否适合检测实验猴本底血清,分别使用 SARS-CoV-2的S1蛋白、RBD蛋白和S1-NTD蛋白以终浓度为 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 进行包被,检测9份存在交叉反应的实验猴本底血清和1份不存在交叉反应的实验猴本底血清,共10份样品。

[0061] 结果显示检测相同的10份实验猴本底血清,S1-NTD蛋白包被检测得到的 OD平均值 $=0.088$,较RBD蛋白包被检测得到的OD平均值 $=0.85$ 和S1蛋白包被检测得到的OD平均值 $=1.095$ 低很多,说明相对于RBD蛋白和S1蛋白作为包被抗原,S1-NTD蛋白可能为更优的检测包被抗原(图7)。

[0062] 为进一步验证SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白作为包被抗原的检测效果,分别以 SARS-CoV-2 S1蛋白和SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白以终浓度为 $1\mu\text{g}/\text{mL}$ 作为包被抗原进行ELISA,检测27份实验猴本底血清样品和19份攻毒后血清,并做出 ROC曲线(图8)。ROC曲线下面积AUC的范围一般在 $0.5\sim 1$ 之间,AUC约接近1说明该检测方法性能越好。

[0063] 结果显示S1-NTD蛋白作为包被抗原的ROC曲线下面积为 $\text{AUC}=0.8187$,高于S1蛋白作为包被抗原的ROC曲线下面积 $\text{AUC}=0.6979$,说明S1-NTD蛋白包被的方法性能更优。ROC曲线的灵敏度数值和特异性数值越接近100%,则该方法的灵敏度越高,特异性越好。S1-NTD蛋白ELISA检测方法的灵敏度为 73.68% ,特异性为 81.48% ,这两个数值均高于S1蛋白ELISA检测方法的灵敏度 68.42% 和特异性 74.07% 。评价ELISA方法还有一个重要指标为cut-off值,在检测相同样品时,cut-off值较低的方法更优,在这两个方法中,S1-NTD蛋白的ELISA检测cut-off值 0.1203 也显著低于S1蛋白的ELISA检测cut-off值 0.8167 。综上所述可以得出,以S1-NTD蛋白作为ELISA检测包被抗原为一种更优的实验猴SARS-CoV-2血清IgG检测方法。

[0064] 尽管上述实施例对本发明做出了详尽的描述,但它仅仅是本发明一部分实施例,而不是全部实施例,人们还可以根据本实施例在不经创造性前提下获得其他实施例,这些实施例都属于本发明保护范围。

序列表

<110> 中国医学科学院医学生物学研究所

<120> SARS-CoV-2 S1-NTD蛋白在制备新冠肺炎的检测试剂中的应用

<160> 1

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 305

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial Sequence)

<400> 1

```

Met Phe Val Phe Leu Val Leu Leu Pro Leu Val Ser Ser Gln Cys Val
1           5           10           15
Asn Leu Thr Thr Arg Thr Gln Leu Pro Pro Ala Tyr Thr Asn Ser Phe
           20           25           30
Thr Arg Gly Val Tyr Tyr Pro Asp Lys Val Phe Arg Ser Ser Val Leu
           35           40           45
His Ser Thr Gln Asp Leu Phe Leu Pro Phe Phe Ser Asn Val Thr Trp
           50           55           60
Phe His Ala Ile His Val Ser Gly Thr Asn Gly Thr Lys Arg Phe Asp
65           70           75           80
Asn Pro Val Leu Pro Phe Asn Asp Gly Val Tyr Phe Ala Ser Thr Glu
           85           90           95
Lys Ser Asn Ile Ile Arg Gly Trp Ile Phe Gly Thr Thr Leu Asp Ser
           100          105          110
Lys Thr Gln Ser Leu Leu Ile Val Asn Asn Ala Thr Asn Val Val Ile
           115          120          125
Lys Val Cys Glu Phe Gln Phe Cys Asn Asp Pro Phe Leu Gly Val Tyr
           130          135          140
Tyr His Lys Asn Asn Lys Ser Trp Met Glu Ser Glu Phe Arg Val Tyr
145          150          155          160
Ser Ser Ala Asn Asn Cys Thr Phe Glu Tyr Val Ser Gln Pro Phe Leu
           165          170          175
Met Asp Leu Glu Gly Lys Gln Gly Asn Phe Lys Asn Leu Arg Glu Phe
           180          185          190
Val Phe Lys Asn Ile Asp Gly Tyr Phe Lys Ile Tyr Ser Lys His Thr
           195          200          205
Pro Ile Asn Leu Val Arg Asp Leu Pro Gln Gly Phe Ser Ala Leu Glu
210          215          220

```

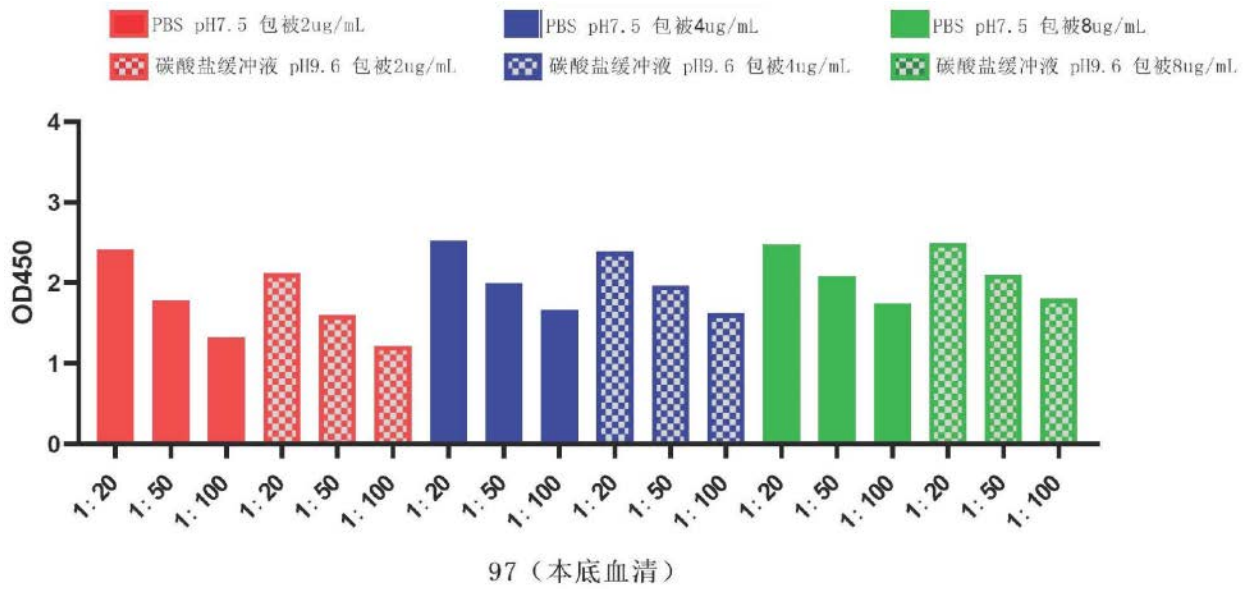



图1-1

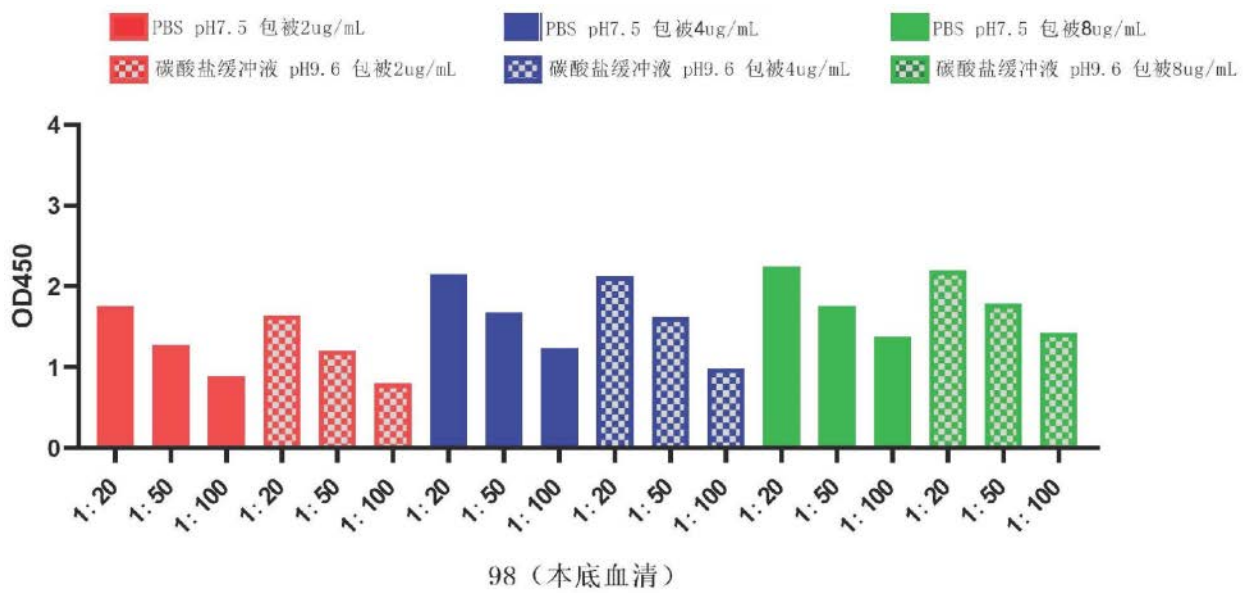


图1-2

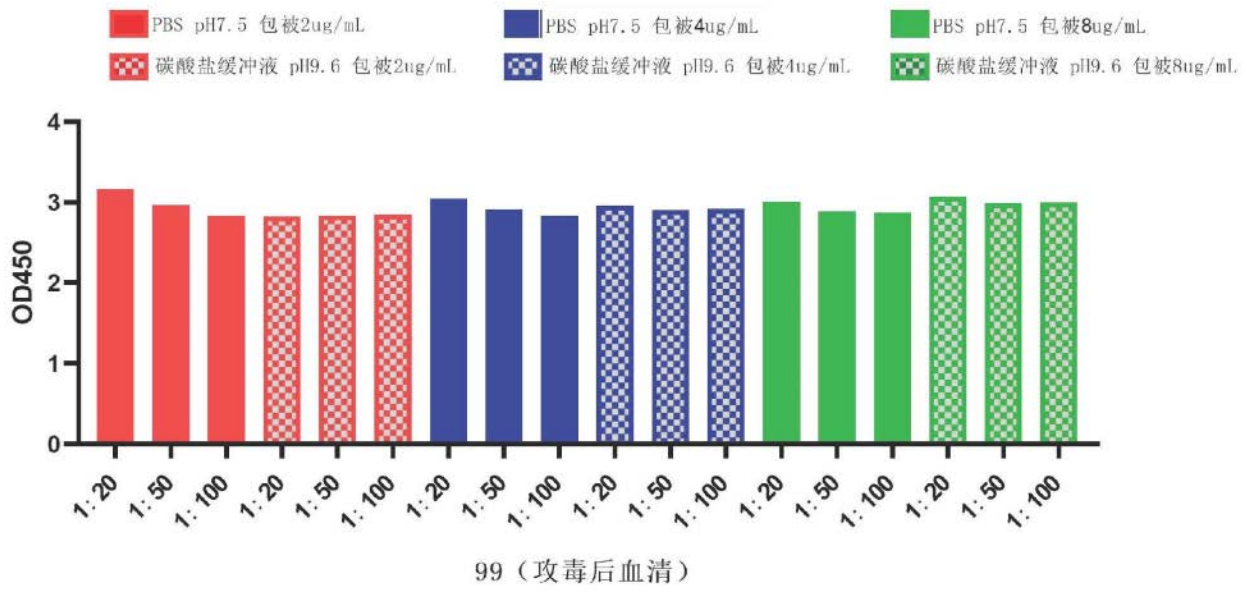


图1-3

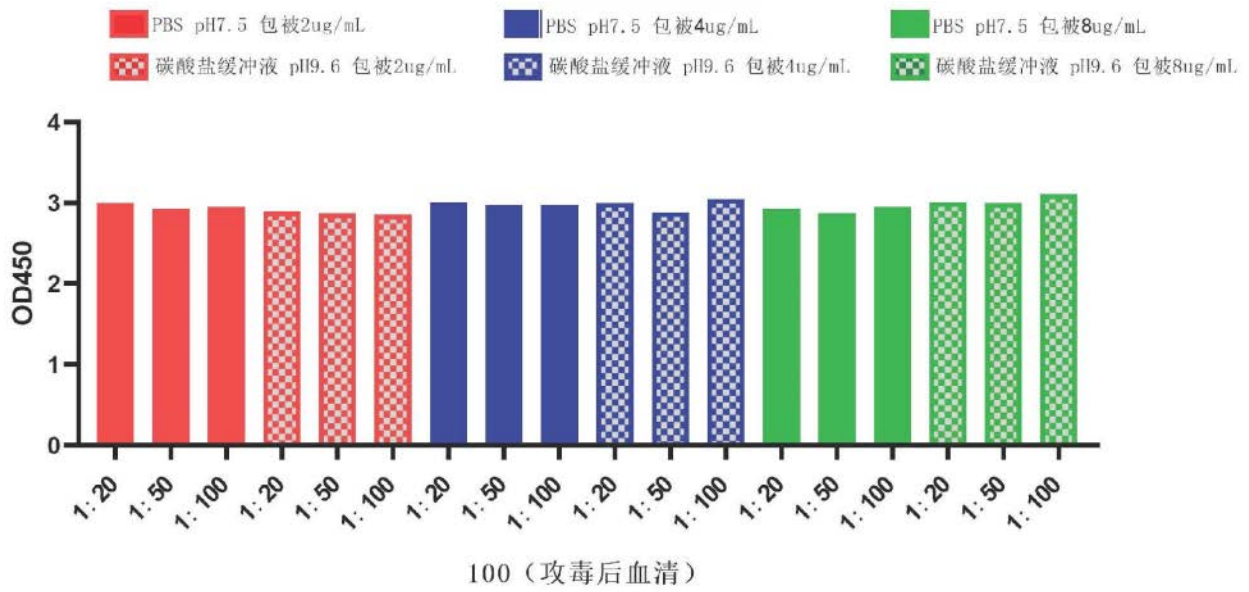


图1-4

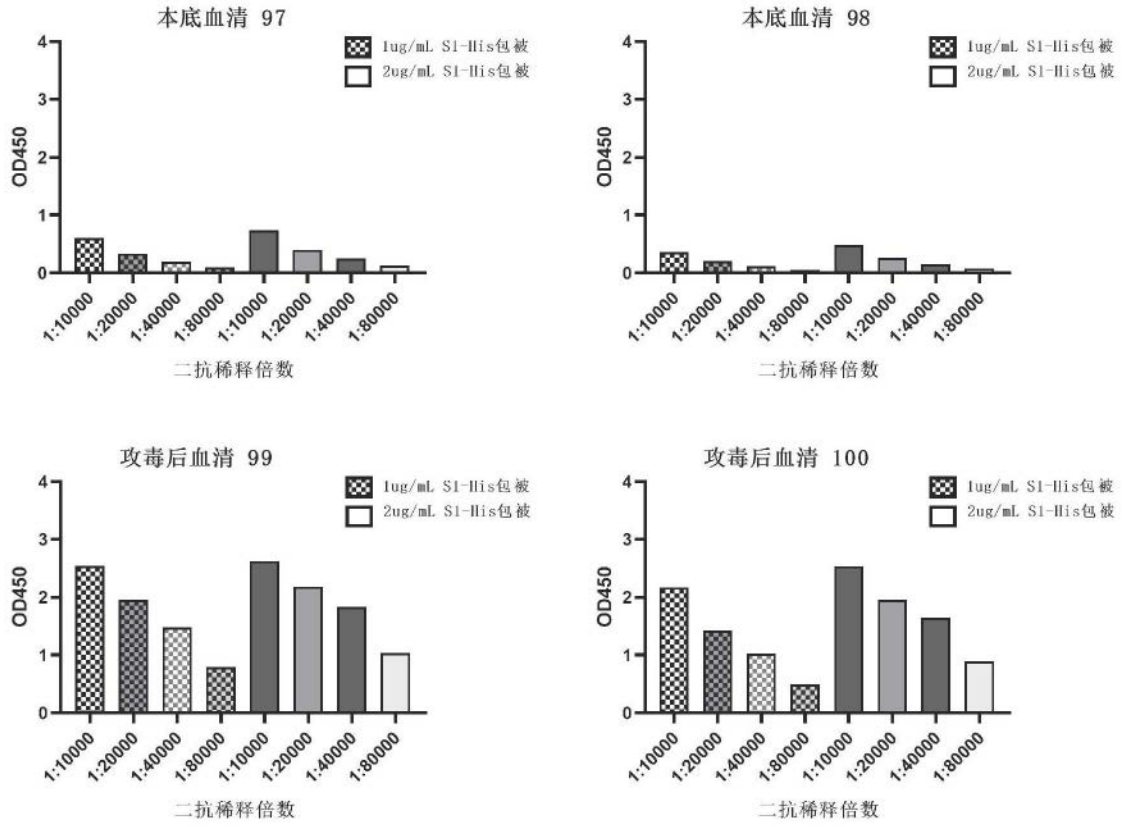


图2

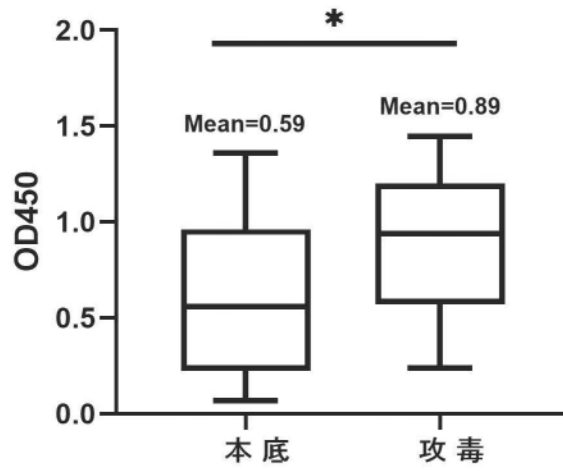


图3

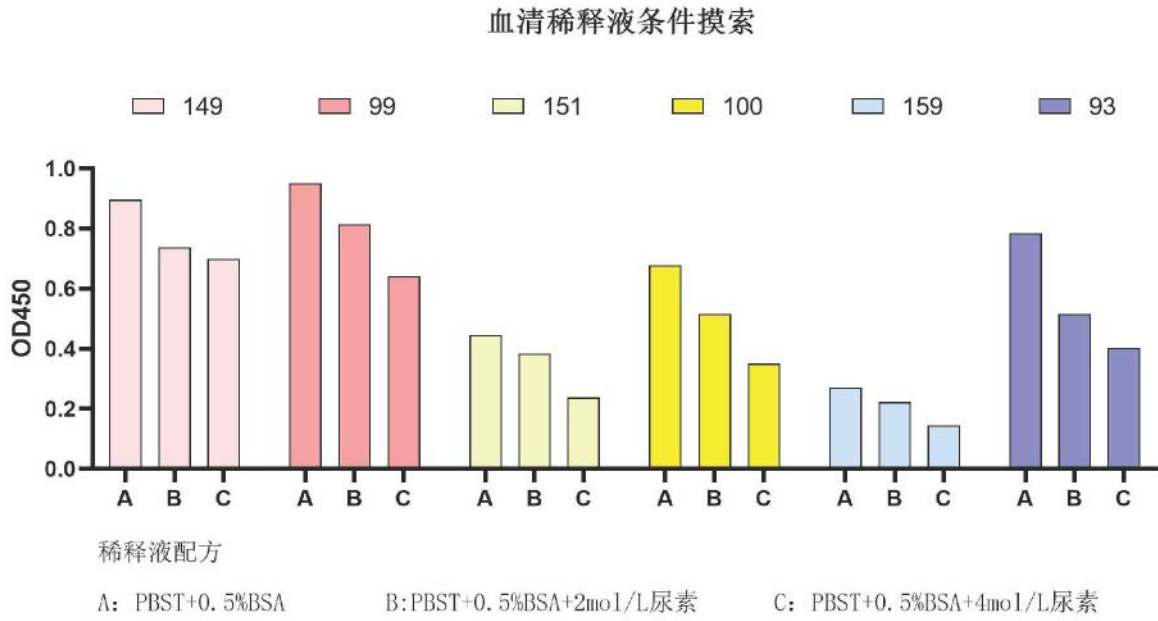


图4

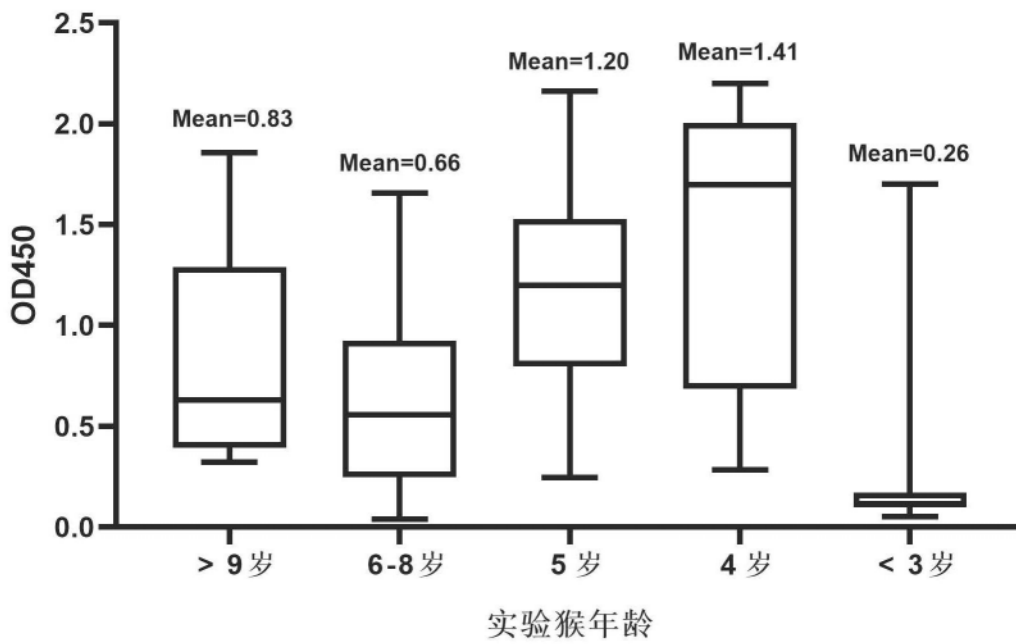


图5

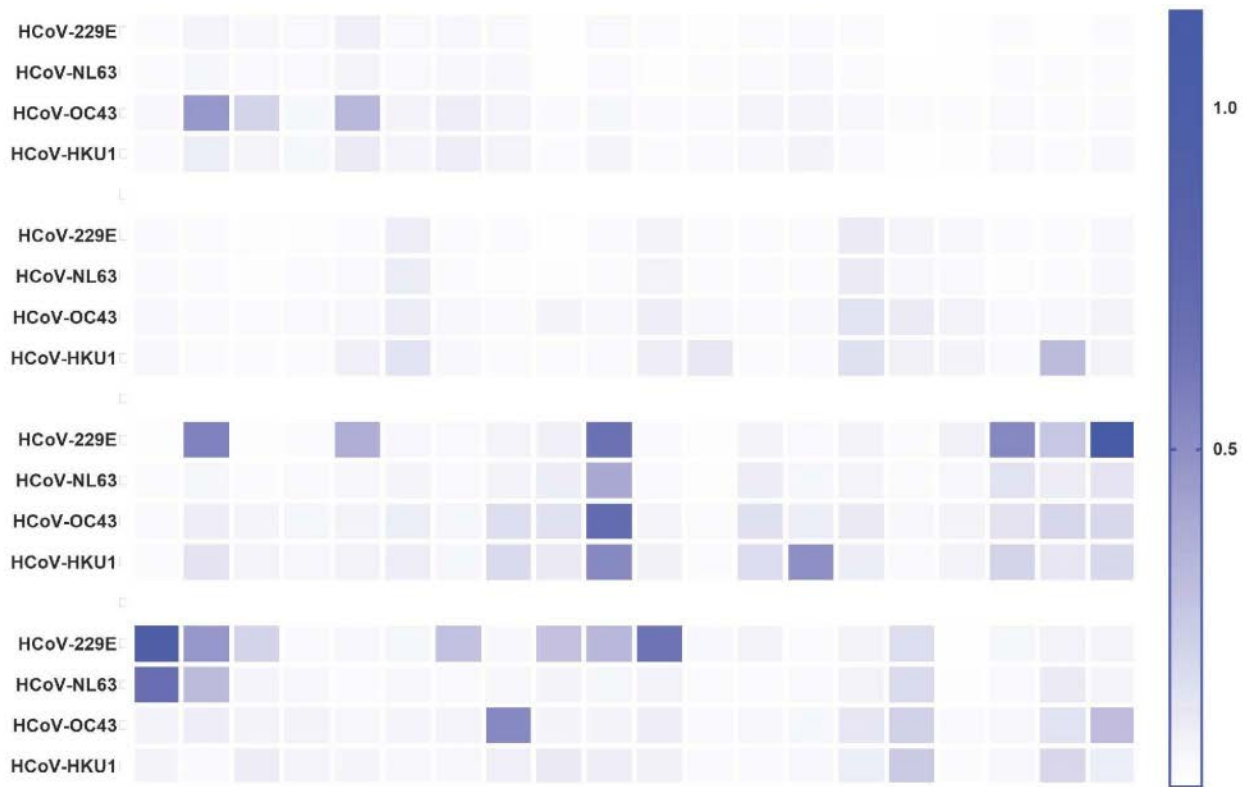


图6

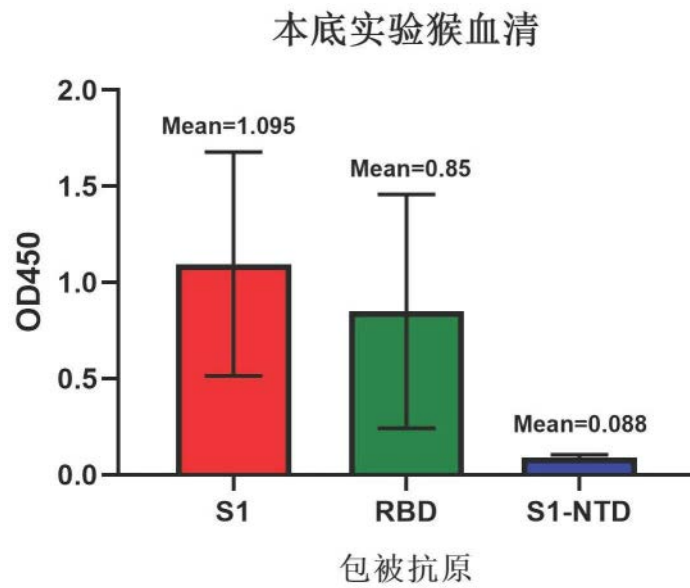


图7

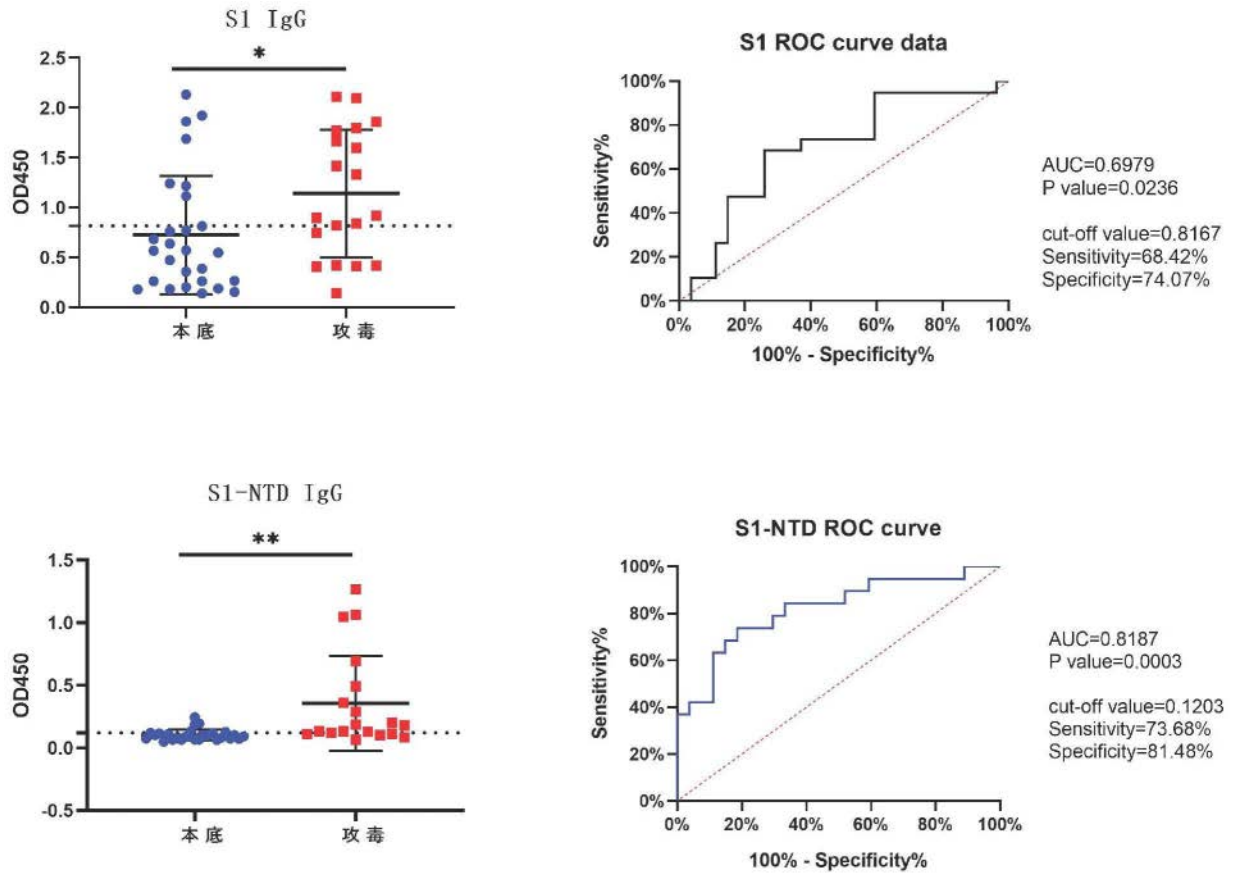


图8