



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102295698 A

(43) 申请公布日 2011. 12. 28

(21) 申请号 201110130344. 0

(22) 申请日 2011. 05. 19

(71) 申请人 福州金域医学检验所有限公司

地址 350025 福建省福州市鼓楼区后县路
18 号

(72) 发明人 虞留明 蔡江丽 王金文 梁晓翠

(74) 专利代理机构 广州嘉权专利商标事务所有
限公司 44205

代理人 谭英强

(51) Int. Cl.

C07K 14/765 (2006. 01)

C07K 16/44 (2006. 01)

G01N 33/53 (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 10 页 附图 1 页

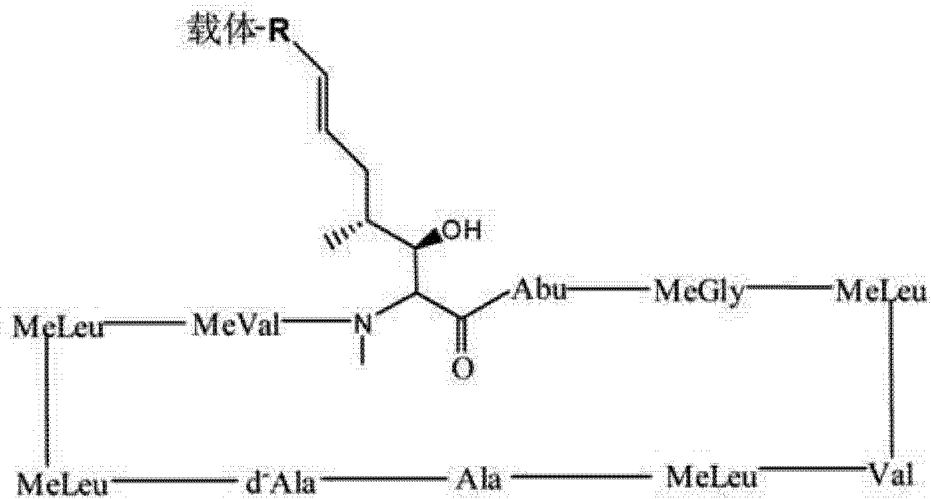
(54) 发明名称

环孢霉素 A 免疫原、特异性抗体、检测试剂及
检测试剂盒

(57) 摘要

本发明公开了环孢霉素 A 免疫原, 以及由此得到的环孢霉素 A 特异性抗体、检测试剂及检测试剂盒。本发明使用特异的环孢霉素 A 衍生物, 采用化学合成的方法制备出环孢霉素 A 酶标偶联物, 环孢霉素 A 免疫原, 以及由此免疫原制备的环孢霉素 A 特异性抗体, 并由以上各种物质制备出一种环孢霉素 A 均相酶免疫检测试剂。本发明中的检测试剂灵敏度高、特异性强且可借助全自动生化分析仪实现环孢霉素 A 的高通量、快速化和自动化检测。

1. 环孢霉素 A 免疫原,其结构式如式(I)所示:



式(I)

式中, R 为连接基团,载体具有免疫原性。

2. 根据权利要求 1 所述的环孢霉素 A 免疫原,其特征在于:载体为具有免疫原性的蛋白质。

3. 根据权利要求 1 所述的环孢霉素 A 免疫原,其特征在于:载体为牛血清白蛋白。

4. 根据权利要求 1 所述的环孢霉素 A 免疫原,其特征在于:R 为 $-O-(CH_2)_n-COO-$, n 是 1-20 之间的整数。

5. 根据权利要求 1 所述的环孢霉素 A 免疫原,其特征在于:R 为 $-O-(CH_2)_4-COO-$ 。

6. 一种抗环孢霉素 A 特异性抗体,由权利要求 1 ~ 5 任意一项所述的环孢霉素 A 免疫原免疫动物后生产得到。

7. 一种环孢霉素 A 检测试剂,含有权利要求 6 所述的抗环孢霉素 A 特异性抗体、环孢霉素 A 酶标偶联物和酶的底物。

8. 根据权利要求 7 所述的环孢霉素 A 检测试剂,其特征在于:环孢霉素 A 酶标偶联物包括葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-环孢霉素 A 酶标偶联物。

9. 环孢霉素 A 检测试剂盒,含有权利要求 6 所述的抗环孢霉素 A 特异性抗体以及检测抗环孢霉素 A 特异性抗体和环孢霉素 A 复合物的指示试剂。

10. 根据权利要求 9 所述的环孢霉素 A 检测试剂盒,其特征在于:指示试剂选自酶试剂、放射性同位素试剂、荧光试剂、发光试剂和化学发光试剂。

11. 根据权利要求 9 所述的环孢霉素 A 检测试剂盒,其特征在于:指示试剂由环孢霉素 A 酶标偶联物和酶的底物所组成。

12. 根据权利要求 11 所述的环孢霉素 A 检测试剂盒,其特征在于:环孢霉素 A 酶标偶联物包括葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-环孢霉素 A 酶标偶联物。

13. 根据权利要求 9 所述的环孢霉素 A 检测试剂盒,其特征在于:抗环孢霉素 A 特异性抗体结合在稳定的表面上,其指示试剂由环孢霉素 A 酶标偶联物和酶的底物所组成。

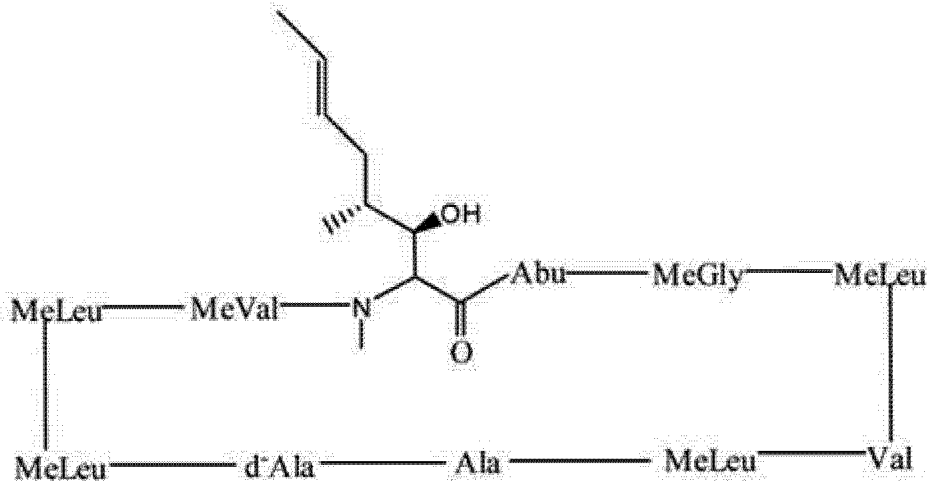
环孢霉素 A 免疫原、特异性抗体、检测试剂及检测试剂盒

技术领域

[0001] 本发明涉及环孢霉素 A 免疫原、抗环孢霉素 A 特异性抗体、检测试剂及检测试剂盒。

背景技术

[0002] 环孢霉素 A (Cyclosporine A) 结构式如(II)所示：



式(II)

环孢霉素 A 是一种环状十一氨基酸多肽,主要用于抑制肾脏、心脏和肝脏移植过程中的免疫排斥反应,也可用于治疗糖尿病、疟疾和自身免疫性疾病。但由于其有效治疗浓度范围较窄,浓度较低时不能抑制移植器官的免疫排斥反应而过量用药后又会导致一系列严重的副作用如:肾功能障碍,高血压,心血管痉挛,头痛,腹泻,淋巴瘤等。因此,在治疗过程中进行药物浓度监测是非常必要的。

[0003] 目前,对环孢霉素 A 进行药物浓度监测的方法主要是高效液相色谱法,放免法和荧光偏振法。高效液相色谱法耗用时间长,样品前处理和操作过程复杂,对人员要求高;放免法的放射性射线对操作人员的健康产生了极大的危害;荧光偏振法需要的试剂主要依赖进口且费用极其昂贵。

[0004] 均相酶免疫检验是一种竞争性反应,反应体系中游离的环孢霉素 A 可以与环孢霉素 A 酶标偶联物竞争性结合环孢霉素 A 特异性抗体,整个反应发生于一个液相均相体系中,无需通过固相分离。样本中游离的环孢霉素 A 越多,竞争结合的抗体越多,抗体释放出的环孢霉素 A 酶标偶联物也就越多,通过酶标偶联物与底物反应得到的信号也就越强。测定过程中,样品中的环孢霉素 A 和抗体反应后,再进一步加入酶标偶联物,通过 OD340nm 吸光值的变化即可计算出样品的含量。

[0005] 均相酶免疫检测法速度快、操作简单、灵敏度高、特异性强且可以在全自动生化分析仪上实现对监测药物的高通量快速化检测。在国际上已广泛的应用于违禁药品等小分子的高通量检测,由于环孢霉素 A 比一般小分子大,其特异性抗体及相关的酶标偶联物制备

难度较大,采用均相酶免疫检测试剂测定人体样品中的环孢霉素 A 含量具有重要的意义。

发明内容

[0006] 本发明的一个目的在于提供一种环孢霉素 A 免疫原。

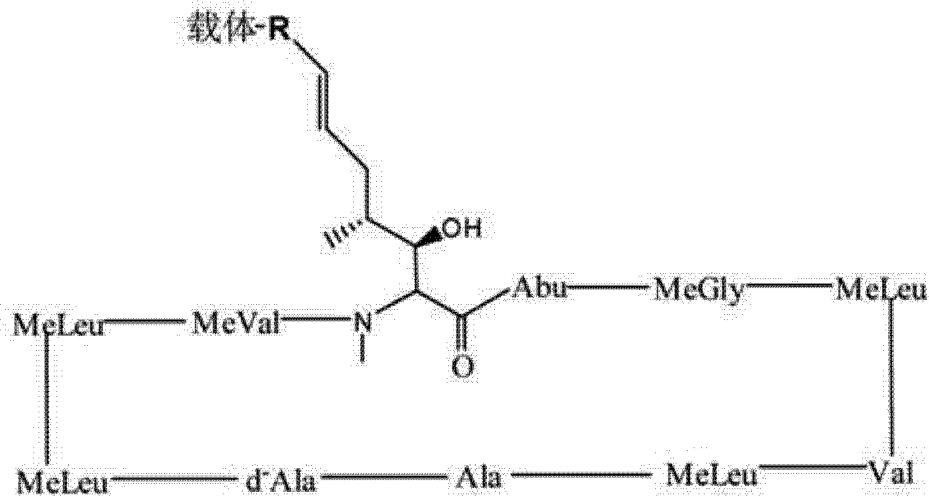
[0007] 本发明的另一个目的在于提供使用本发明环孢霉素 A 免疫原制备得到的抗环孢霉素 A 特异性抗体。

[0008] 本发明的再一个目的在于提供一种含有本发明抗环孢霉素 A 抗体的检测试剂。

[0009] 本发明的又一个目的在于提供一种环孢霉素 A 检测试剂盒。

[0010] 本发明所采取的技术方案是：

环孢霉素 A 免疫原,其结构式如式(I)所示：



式(I)

式中, R 为连接基团,载体具有免疫原性。

[0011] 优选的,载体为具有免疫原性的蛋白质。

[0012] R 优选为 $-O-(CH_2)_n-COO-$, n 是 1-20 之间的整数,特别的, R 为 $-O-(CH_2)_4-COO-$ 。

[0013] 一种抗环孢霉素 A 特异性抗体,由上述环孢霉素 A 免疫原免疫动物后生产得到。

[0014] 一种环孢霉素 A 检测试剂,含有上述抗环孢霉素 A 特异性抗体、环孢霉素 A 酶标偶联物和酶的底物。

[0015] 环孢霉素 A 检测试剂盒,含有上述抗环孢霉素 A 特异性抗体以及检测抗环孢霉素 A 特异性抗体和环孢霉素 A 复合物的指示试剂。

[0016] 本发明的环孢霉素 A 免疫原,免疫原性高,可制备出特异性的环孢霉素 A 抗体。

[0017] 本发明的抗环孢霉素 A 特异性抗体特异性强,与常见药物无任何交叉反应,灵敏度高,可达到 12.5 ng/ml,远低于环孢霉素 A 的临床用药范围 100 ng/ml ~ 450 ng/ml。

[0018] 本发明的环孢霉素 A 检测试剂和检测试剂盒可以方便、快速、准确地确定样品中的环孢霉素 A 含量。

[0019] 本发明的环孢霉素 A 检测试剂和检测试剂盒可以在全自动生化分析仪上同时测定多个样品,实现环孢霉素 A 的高通量快速化测定,灵敏度高,特异性强,精确度和检测效率相比之前都有了较大的提高,同时实现了检测过程的全自动化。

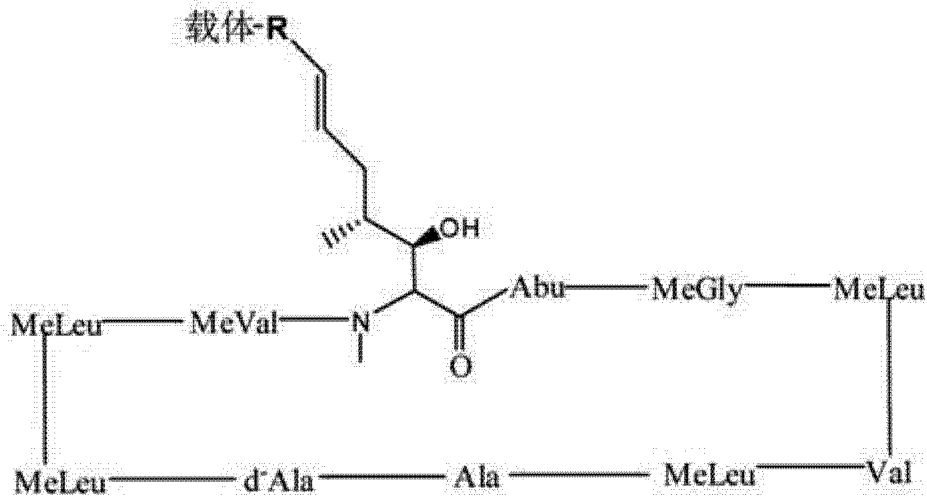
附图说明

[0020] 图 1 是环孢霉素 A 均相酶免疫反应标准曲线图。

具体实施方式

[0021] 本发明所采取的技术方案是：

环孢霉素 A 免疫原，其结构式如式 (I) 所示：



式 (I)

式中, R 为连接基团, 载体具有免疫原性。优选的, 载体为具有免疫原性的蛋白质。虽然其他足够大的具备免疫原性的物质也可以作为载体, 但通常情况下选用蛋白质作为载体。最常用的免疫原性载体包括血清蛋白, 血蓝蛋白 (KLH) 和甲状腺球蛋白。载体的选择是本领域技术人员的基本常识。

[0022] R 优选为 $-O-(CH_2)_n-COO-$, n 是 1-20 之间的整数, 特别的, R 为 $-O-(CH_2)_4-COO-$ 。

[0023] 一种抗环孢霉素 A 特异性抗体, 由上述环孢霉素 A 免疫原免疫动物得到。

[0024] 本发明中所指的“抗体”不仅仅指完整的抗体分子, 也包括保留完整抗体特异性结合能力的抗体片断或者衍生物。本发明的抗体可以是多克隆抗体也可以是单克隆抗体, 优选为多克隆抗体。

[0025] 本发明的抗体可以通过现有技术制备得到。获得多克隆抗体的典型方法是使用单一的免疫原, 在加或者不加佐剂后, 在动物的一个或者多个部位进行免疫, 宿主动物包括: 兔, 山羊, 小鼠, 绵羊, 豚鼠或马。持续免疫一直进行, 直至抗体效价达到最高。动物定时采血得到适量的特异抗血清, 抗血清可以纯化。单克隆抗体可通过体细胞杂交技术来制作。

[0026] 一种环孢霉素 A 检测试剂, 含有上述抗环孢霉素 A 特异性抗体、环孢霉素 A 酶标偶联物和酶的底物。其中, 环孢霉素 A 酶标偶联物可通过化学合成方法得到。

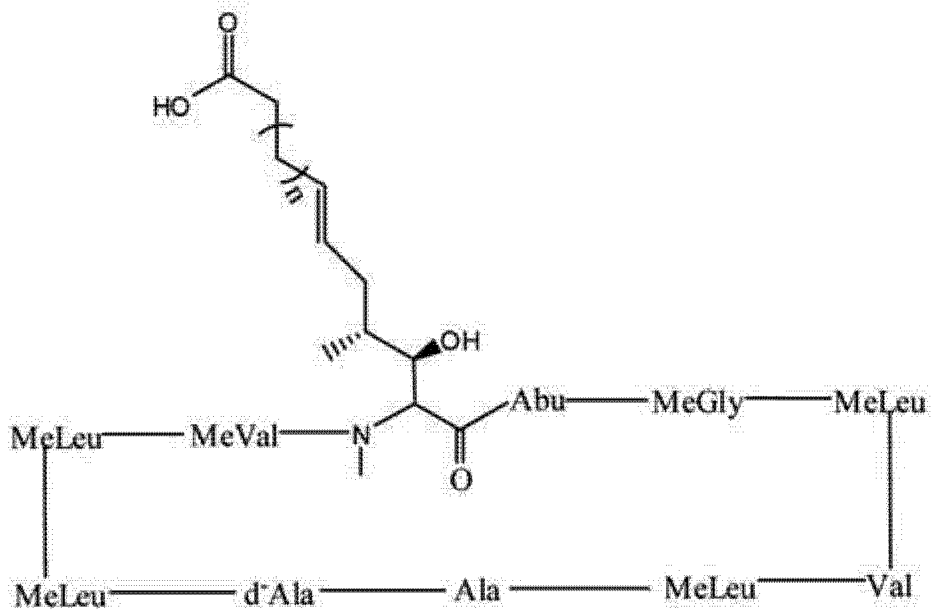
[0027] 环孢霉素 A 检测试剂盒, 含有上述抗环孢霉素 A 特异性抗体以及检测环孢霉素 A 特异性抗体和环孢霉素 A 复合物的指示试剂。

[0028] 指示试剂选自酶试剂、放射性同位素试剂、荧光试剂、发光试剂和化学发光试剂。优选的, 指示试剂由环孢霉素 A 酶标偶联物和酶的底物所组成。

[0029] 待测样本为各种生理样本,例如血液样本,测定前需进行血液样本的前处理。

[0030] 下面结合实施例,进一步说明本发明。

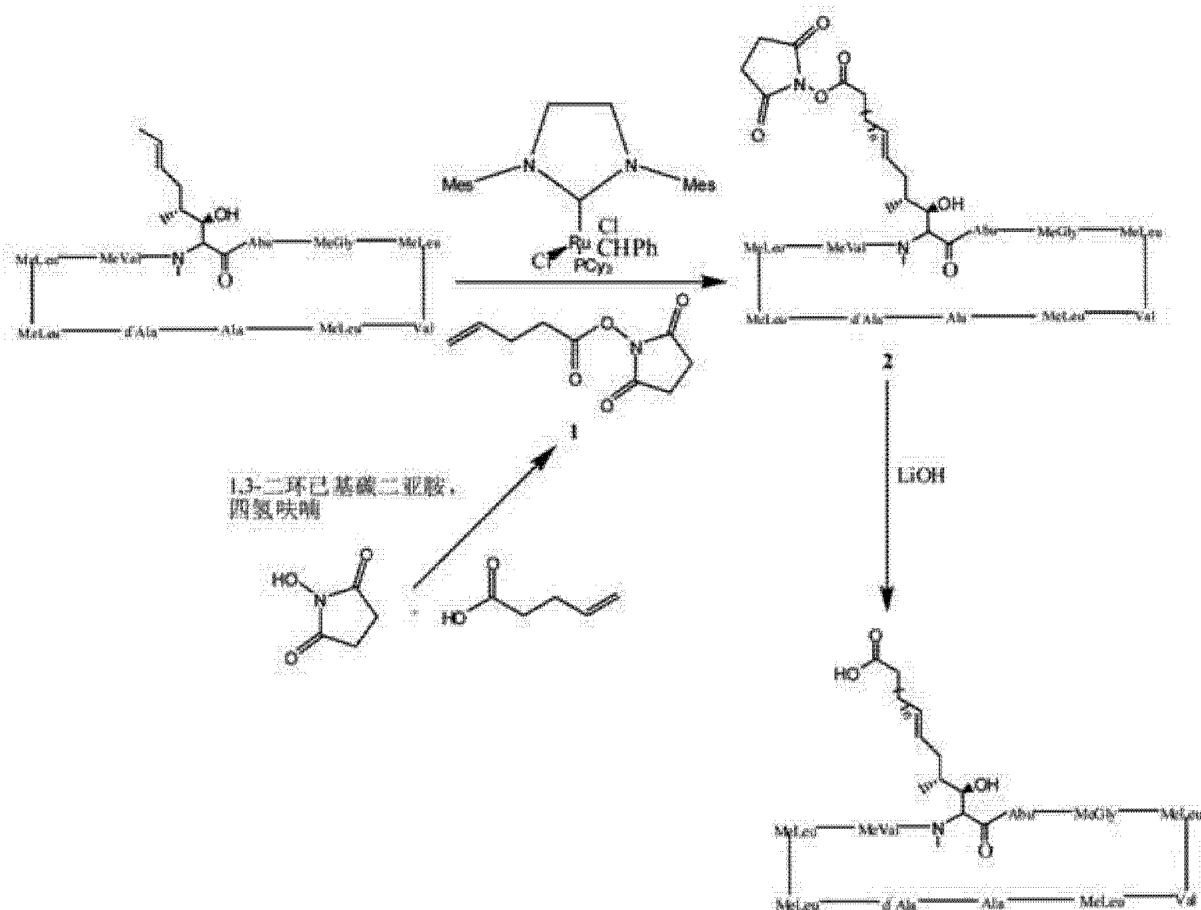
[0031] 以下实施例中使用的环孢霉素 A 衍生物化学结构如式(III)所示。



式(III)

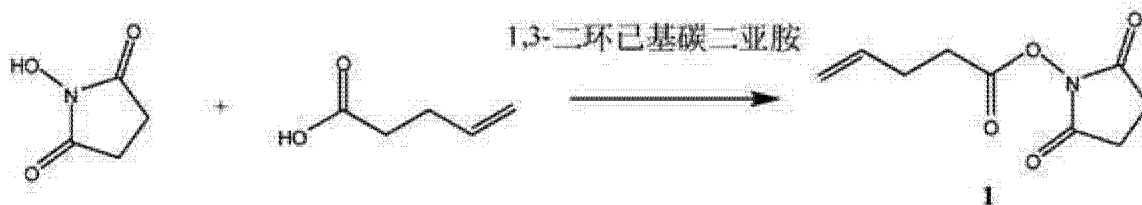
[0032] 本式及后续化学式中的 n 为 1-20 之间的整数。

[0033] 该环孢霉素衍生物的合成路线如下：



具体的合成步骤如下：

化合物 1 的合成



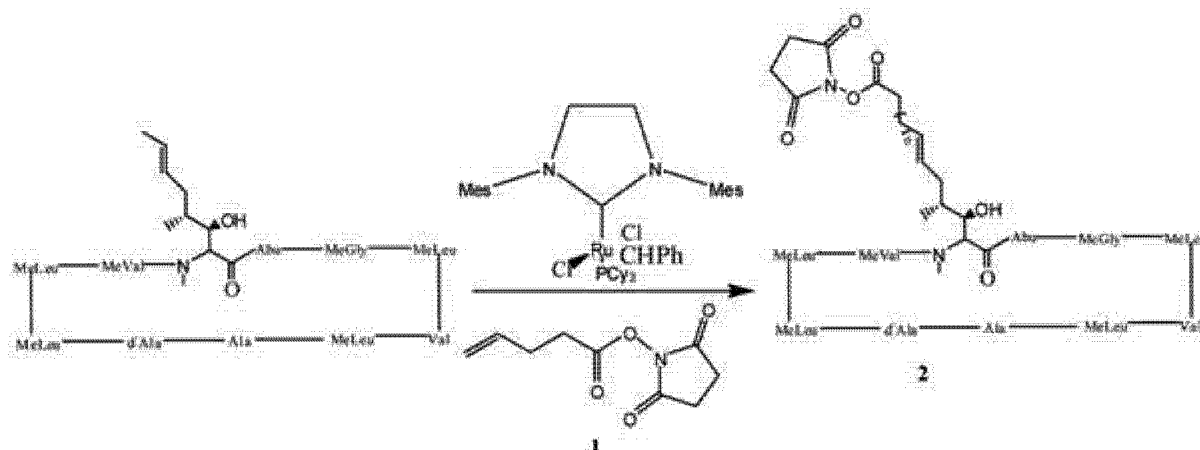
(1)准确称取 1.0 g 4-戊烯酸(10.0 mmol, 1.0 eq)和 1.6 g N-羟基琥珀酰亚胺(14.0 mmol, 1.4 eq)加入到含有 40 mL 四氢呋喃的干燥 100 mL 圆底烧瓶中,并置于磁力搅拌器上搅拌。

[0034] (2)准确称取 2.5 g 1,3-二环己基碳二亚胺(12.0 mmol, 1.2 eq),加入到 20 mL 四氢呋喃中,置于磁力搅拌器中充分混匀。

[0035] (3)在 23℃下,将步骤 2 中的混合物逐滴加入到步骤 1 的混合物中,并不断搅拌,所有的固体颗粒快速溶解,并迅速产生一种白色沉淀。

[0036] (4)将混合物搅拌过夜,过滤,真空浓缩并使用硅胶快速色谱纯化柱纯化(洗脱液:石油醚/乙酸乙酯=1/1),得到 1.5 g 白色固体化合物 1 (产率:75%)。

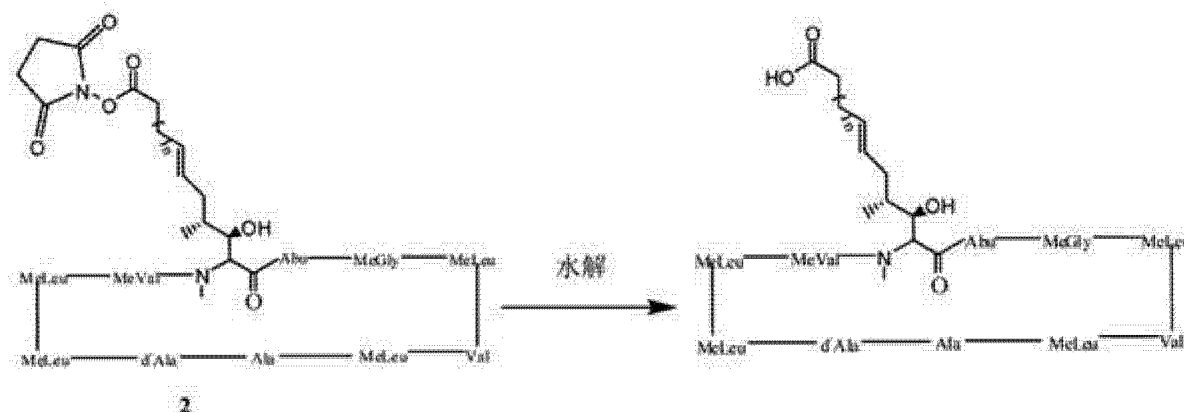
[0037] 化合物 2 的合成



(1) 准确称取如下化合物:400 mg 环孢霉素 A (0.332 mmol, 1.0 eq), 600 mg 化合物 1 (3.0 mmol, 9.0 eq) 和 56 mg 的 1,3-二异亚丙基丙酮-4,5-二氢咪唑-2-甲亚基-环己基膦-苯亚甲基二氯钌(0.0066 mmol, 0.2 mmol) 将其溶解于 10 ml CH_2Cl_2 中

(2) 将上述混合溶液加入到 100 ml 经火焰干燥的 Schlenk 管中, 经剧烈搅拌并回流冷凝 22 小时完成反应, 冷却后, 该混合液经真空浓缩后得到一种固体粗提物, 将该粗提物经快速色谱纯化(洗脱液:15% 乙腈-乙酸乙酯) 得到 400 mg 黄色化合物 2 (产率:85%)。

[0038] 环孢霉素衍生物的合成



(1) 称取 1 g 化合物 2 (0.739 mmol, 1 eq) 和 166 mg 氢氧化锂 ($\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$) (3.695 mmol, 5eq), 将其溶解于 5 ml 蒸馏水和 20 ml 四氢呋喃中, 室温下搅拌过夜后,

(2) 将该化合物经负压浓缩并用水稀释, 用 1N 盐酸精确调节该溶液 pH 至 5, 并用乙酸乙酯萃取。

[0039] (3) 萃取分层后, 将有机层分离并经 Na_2SO_4 吸水干燥, 经过滤、真空浓缩和高效液相色谱纯化后获得 300 mg 环孢霉素 A 衍生物白色固体(产率:32%)。

[0040] 利用 Bruker Avance III plus 400 MHz 对环孢霉素衍生物进行核磁共振光谱扫描, 内标采用 TMS。结果如下: ^1H NMR (CDCl_3 , 400MHz): 0.69-2.40 (72H, m), 2.48-2.60 (5H, m), 2.67-3.10 (12H, m), 3.25-3.48 (5H, m), 3.79-3.81 (1H, m), 4.43-4.46 (1H, m), 4.70-5.40 (13H, m), 5.58-5.67 (1H, m), 7.29-7.41 (1H, m), 7.80-7.82 (1H, m); 表征为式(III)所示的环孢霉素衍生物。

[0041] 利用色谱/质谱技术(LCMS)对得到的衍生物进行分析鉴定, 仪器为安捷伦公司的

串联四级杆质谱仪 LC/MSD1200 系列,离子源采用正离子或负离子化模式。色谱柱规格为: Welchrom XB-C18 (50 × 4.6 mm, 5 μm),柱温为 30℃,流速为 1.5 mL/min,流动相为乙腈-水比例为 30%-95%。

[0042] LCMS 结果显示:纯度 99.7%;保留时间 2.713 min;分子量 1259;分子离为: 1260 (M+1)。

[0043] BSA-环孢霉素 A 免疫原的合成

环孢霉素 A 免疫原由牛血清白蛋白与环孢霉素 A 衍生物通过 -O-(CH₂)₄-COO- 基团连接而成,具体的合成方法如下:

1) 将 BSA (200 mg) 溶解于 50 ml 0.2 M, pH 8.5 的磷酸缓冲液(Phosphate buffer solution, PBS) 中;

2) 将如下化学品加入到小烧杯中搅拌溶解:200 mg 环孢霉素 A 衍生物、3.5 ml 二甲基酰胺(dimethylformamide, DMF)、3.5 ml 乙醇、7.0 ml 10 mM, pH 5.0 的磷酸钾缓冲液、400 mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、50 mg N-羟基琥珀酰亚胺(N-hydroxysuccinimide, Sulfo-NHS),于室温下搅拌溶解反应 30 分钟;

3) 将溶解好的溶液滴加至 BSA 溶液中,并在 2 ~ 8℃ 下搅拌过夜,得到抗原;将合成好的抗原经过中性磷酸盐缓冲液透析(4×4L)纯化,得到环孢霉素 A 免疫原,储存于 -20℃。

[0044] 抗环孢霉素 A 特异性抗体的制备

将所得到的环孢霉素 A 免疫原采用常规方法接种实验动物兔,加强免疫后取抗血清,具体步骤如下:

用 PBS 将合成的环孢霉素 A 免疫原稀释至 1.0 mg/ml,然后用 1.0 ml 的抗原溶液与弗氏完全佐剂混合,对家兔进行注射;

2 ~ 3 周后,再用 1.0 ml 相同的抗原溶液与弗氏不完全佐剂对家兔注射一次,之后每隔四周一次,共两次,获得的抗体效价约为 1:30000。

[0045] 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-环孢霉素 A 偶联物的制备

1. 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(G6PDH)溶液的制备:

a) 称取 37.5 mg G6PDH(100KU)。室温溶解于 6 mL 0.05 M Tris, 3.3 mM MgCl₂, 0.85% NaCl, pH=9.0。G6PDH (100KU): ~0.04 μM;

b) 在酶溶液中加入 112.5 mg NADH, 67.5 mg G-6-P 以及 0.375 mL 卡必醇(Carbitol);

c) 逐滴加入 1.125 mL 二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)。

[0046] 2. 环孢霉素 A 衍生物的激活

a) 在无水状态下称取 10 mg 环孢霉素 A 衍生物溶解于 210 μL DMSO 和 90 μL DMF 中;

b) 使整个溶液温度降到 2-8℃;

c) 加入 6 μL 三丁胺(tributylamine);

d) 加入 3.5 μL 氯甲酸异丁酯(isobutylchloroformate);

e) 2-8℃ 搅拌 30 分钟。

[0047] 3. 酶与环孢霉素 A 的连接

a) 将激活的环孢霉素 A 衍生物溶液逐滴加入到溶解的酶溶液中;

b) 2-8℃ 搅拌过夜;

4. 通过 G-25 凝胶层析柱纯化得到酶标偶联物

5. 在酶标偶联物溶液中加入 BSA 至终浓度 0.5%, NaN_3 至 0.1%。储存于 2-8°C。

[0048] 环孢霉素 A 均相酶免疫试剂的制备

1. 试剂 A 的制备:将制备的环孢霉素 A 特异性抗体加到均相酶底物中(11.25 mM NAD 溶解于 pH8.55 mM Tris 缓冲液中),抗体与底物的比例为 1:100-1:10000。

[0049] 2. 试剂 B 的制备:将制备的酶标偶联物加到酶的缓冲液中(120 mM Tris, pH=8.2),酶标偶联物的比例为 1:100-1:10000。

[0050] 环孢霉素 A 均相酶免疫检验

通过全自动生化分析仪,先加样品,再加试剂 A (抗体与底物混合液),最后加入试剂 B (酶溶液),测定不同时间点的 OD_{340} 吸光值,算出不同样品浓度时的反应速率,实际操作过程中需不断调整试剂 A 和试剂 B 的比例,优化样品前处理过程,得出较理想的反应标准曲线图,如图 1 所示。

[0051] 通过均相酶免疫检测试剂得到的标准曲线,重复测定低、中、高浓度血液样本(将环孢霉素 A 标准品溶解于空白全血基质中,至浓度分别为 60.0, 300.0, 600.0 ng/ml) 5 次,发现样品的回收率高(> 90%)。

表 1 样品测定及回收率评估

血液样品	低	中	高
样品浓度 (ng/ml)	60.0	300.0	600.0
1	51.9	299.8	592.8
2	51.9	297.2	607.2
3	59.2	322.7	643.4
4	44.6	274.3	549.4
5	66.5	304.9	542.1
平均值(ng/ml)	54.8	299.8	587.0
标准差 (SD)	8.3	17.4	42.0
平均值±2SD	54.8±16.6	299.8±34.8	587.0±84
回收率 %	91.4	99.9	97.8

[0052] 利用测试样本(将环孢霉素 A 标准品溶解到 50.0 mM Tris 缓冲液中)进行环孢霉素 A 均相酶免疫试剂的灵敏度测试,试剂的灵敏度达到了 12.5 ng/mL (置信度为 99.73%, 12.5 ng/ml 样品在 3 倍标准差范围内与 0 ng/ml 样品无交叉)。

表 2 均相酶免疫试剂灵敏度测试

样品编号	1	2	3	4	5	6
样品浓度 (ng/ml)	0.0	6.3	12.5	25.0	50.0	100.0
测试 1(ng/ml)	0.0	6.4	9.0	23.6	45.5	107.0
测试 2(ng/ml)	0.0	8.0	8.5	21.6	45.5	110.5
测试 3(ng/ml)	0.8	6.4	10.0	23.1	45.5	103.6
测试 4(ng/ml)	0.0	3.4	14.1	23.6	43.7	102.4
测试 5(ng/ml)	0.0	2.4	14.1	26.0	48.4	101.3
平均值(ng/ml)	0.1	5.5	11.4	23.8	46.4	104.1
标准差 (SD)	0.4	2.3	2.8	1.6	1.7	3.8
2SD	0.7	4.7	5.5	3.2	3.4	7.5
3SD	1.1	7.0	8.3	4.7	5.1	11.3
平均值±2SD(ng/ml)	0.1±0.7	5.5±4.7	11.4±5.5	23.8±3.2	46.4±3.4	104.1±7.5
平均值±3SD(ng/ml)	0.1±1.1	5.5±7.0	11.4±8.3	23.8±4.7	46.4±5.1	104.1±11.3

[0053] 药物干扰试验

选取 32 种常用化合物和药物,调整其浓度为 10.0 $\mu\text{g/ml}$,进行干扰试验测定,试验结果如下表所示:

表3 药物干扰实验

ID#	化合物名称	等价于环孢霉素 A 的 浓度(ng/ml)	ID#	化合物名称	等价于环孢霉素 A 的 浓度(ng/ml)
1	乙酰水杨酸	0.0	17	(L)-麻黄素	0.0
2	苯巴比妥	0.0	18	利多卡因	0.0
3	异戊巴比妥	0.0	19	茶普生	0.0
4	氨基青霉素	0.0	20	烟酰胺	0.0
5	苯乙胺	0.0	21	青霉素	0.0
6	咖啡因	0.0	22	苯肾上腺素	0.0
7	甲氧二氮卓	0.0	23	苯丙醇胺	0.0
8	氯丙嗪	0.0	24	普鲁卡因胺	0.0
9	氯氮卓	0.0	25	普鲁卡因	0.0
10	d-甲基苯丙胺	0.0	26	奎尼丁	0.0
11	非诺洛芬	0.0	27	佐美酸	0.0
12	吉非贝齐	0.0	28	芽子碱甲基酯	0.0
13	龙胆酸	0.0	29	芽子碱	0.0
14	二氢可待因酮	0.0	30	安定	0.0
15	布洛芬	0.0	31	可替宁	0.0
16	丙咪嗪	0.0	32	反式-4-可替宁羧酸	0.0

按环孢霉素 A 均相酶免疫检验的方法对上述化合物进行测定,结果均为阴性。可见,本发明的抗体是抗环孢霉素 A 的特异性抗体。

[0054] 使用本发明的抗环孢霉素 A 特异性抗体,与环孢霉素 A 酶标偶联物和酶的底物进行组合,即可得到本发明的环孢霉素 A 检测试剂或试剂盒。

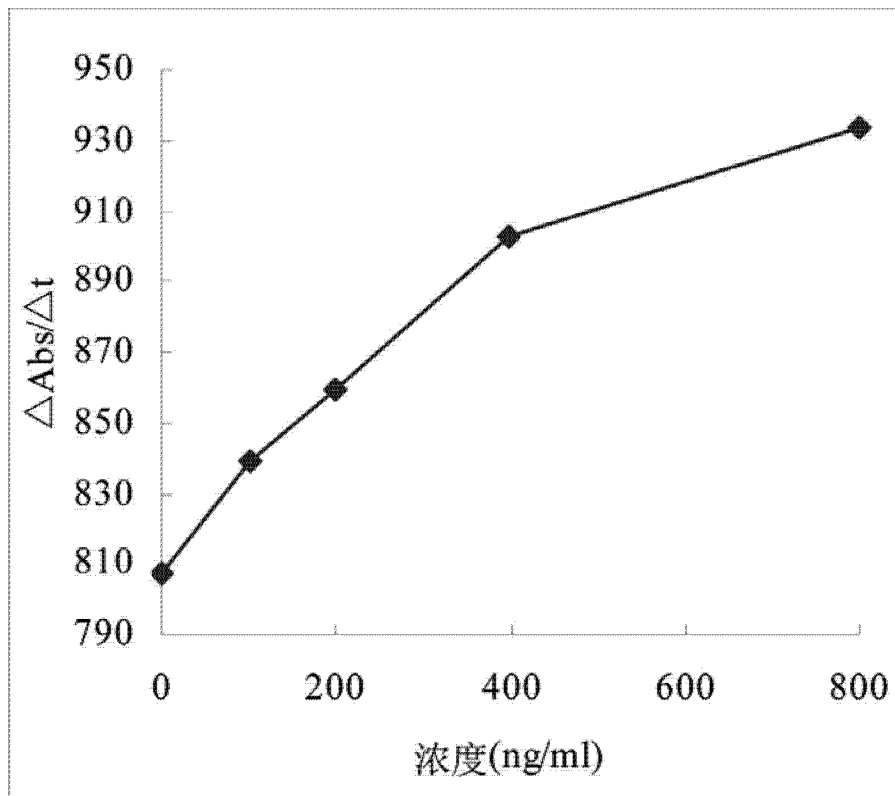


图 1

专利名称(译)	环孢霉素A免疫原、特异性抗体、检测试剂及检测试剂盒		
公开(公告)号	CN102295698A	公开(公告)日	2011-12-28
申请号	CN201110130344.0	申请日	2011-05-19
[标]申请(专利权)人(译)	福州金域医学检验所有限公司		
申请(专利权)人(译)	福州金域医学检验所有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	福州金域医学检验所有限公司		
[标]发明人	虞留明 蔡江丽 王金文 梁晓翠		
发明人	虞留明 蔡江丽 王金文 梁晓翠		
IPC分类号	C07K14/765 C07K16/44 G01N33/53		
其他公开文献	CN102295698B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了环孢霉素A免疫原，以及由此得到的环孢霉素A特异性抗体、检测试剂及检测试剂盒。本发明使用特异的环孢霉素A衍生物，采用化学合成的方法制备出环孢霉素A酶标偶联物，环孢霉素A免疫原，以及由此免疫原制备的环孢霉素A特异性抗体，并由以上各种物质制备出一种环孢霉素A均相酶免疫检测试剂。本发明中的检测试剂灵敏度高、特异性强且可借助全自动生化分析仪实现环孢霉素A的高通量、快速化和自动化检测。

