



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103739703 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 15

(21) 申请号 201410047903. 5

CN 101503454 A, 2009. 08. 12, 全文.

(22) 申请日 2014. 02. 11

US 6060465 A, 2011. 05. 09, 全文.

(73) 专利权人 苏州博源医疗科技有限公司
地址 215163 江苏省苏州市高新区锦峰路 8 号

徐红梅. 免疫透射比浊法测定血清甘胆酸. 《放射免疫学杂志》. 2013, 第 26 卷 (第 3 期), 第 358-359 页.

(72) 发明人 虞留明 李冬 余琳 张曼 胡瑜

审查员 李洋

(74) 专利代理机构 南京纵横知识产权代理有限公司 32224

代理人 董建林

(51) Int. Cl.

C07K 14/765(2006. 01)

C07K 14/795(2006. 01)

C07K 14/435(2006. 01)

C07K 16/44(2006. 01)

C07J 41/00(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

(56) 对比文件

CN 101307088 A, 2008. 11. 19, 全文.

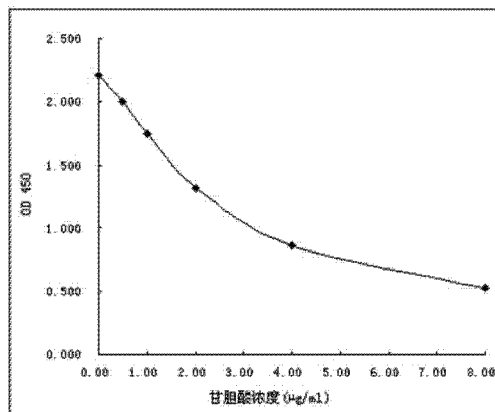
权利要求书2页 说明书12页 附图2页

(54) 发明名称

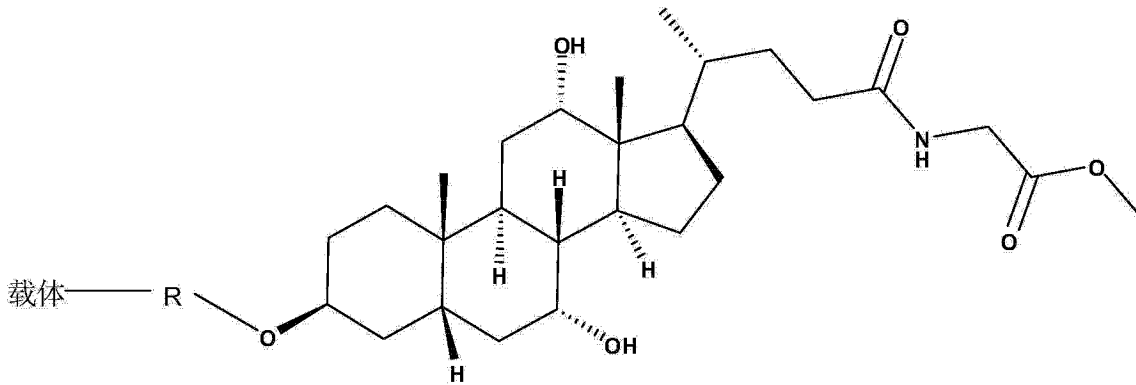
甘胆酸免疫原、抗甘胆酸特异性抗体及检测试剂

(57) 摘要

本发明涉及甘胆酸免疫检测领域, 具体涉及一种甘胆酸免疫原、抗甘胆酸特异性抗体及检测试剂。甘胆酸免疫原免疫原性强, 抗甘胆酸特异性抗体特异性高, 用本发明的高效价的抗甘胆酸特异性抗体研制的免疫试剂可以精确地测定血清或血浆样本中甘胆酸的含量。与放射免疫等传统方法相比, 本发明提供的免疫检测试剂灵敏度高、特异性强, 结合自动化分析仪使用, 具有操作简便、高通量、检测结果准确等优点。



1. 甘胆酸免疫原,其结构式如式(I)所示:



式(I)

式中, R 为连接基团 $-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}-$, n 是 1 至 20 之间的任意整数,载体具有免疫原性。

2. 根据权利要求 1 所述的甘胆酸免疫原,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 所述的甘胆酸免疫原,其特征在于:R 为 $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}-$ 。

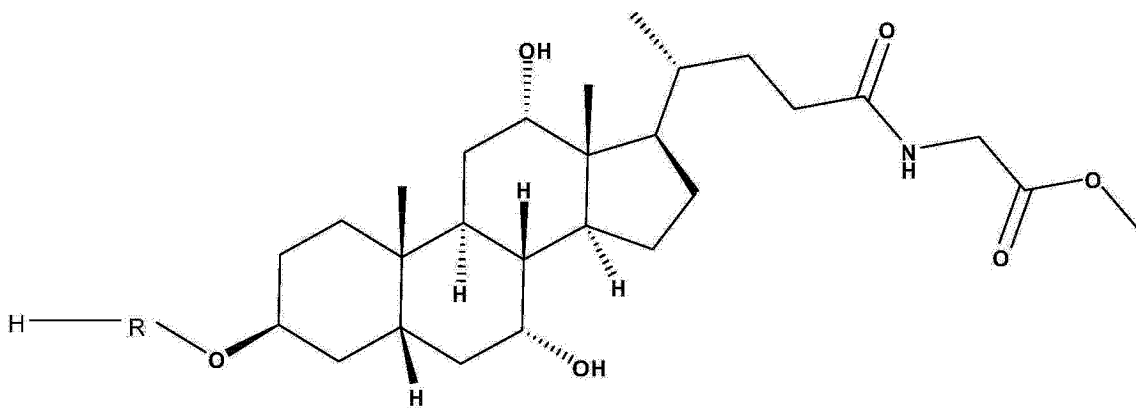
4. 根据权利要求 2 所述的甘胆酸免疫原,其特征在于:所述的载体为血清蛋白、血蓝蛋白或甲状腺球蛋白。

5. 一种抗甘胆酸特异性抗体,由权利要求 1~4 任意一项所述的甘胆酸免疫原免疫宿主动物后分离纯化得到。

6. 根据权利要求 5 所述的一种抗甘胆酸特异性抗体,其特征在于:所述的抗体为完整的抗体分子,或者为,保留与甘胆酸特异性结合的能力的抗体片段或抗体衍生物。

7. 根据权利要求 5 所述的一种抗甘胆酸特异性抗体,其特征在于:所述的抗体为采用单一的甘胆酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体,或者为免疫后经体细胞杂交获得的单克隆抗体;所述的宿主动物为兔、山羊、小鼠、绵羊、豚鼠或马。

8. 一种甘胆酸衍生物,其结构式如式(II)所示:

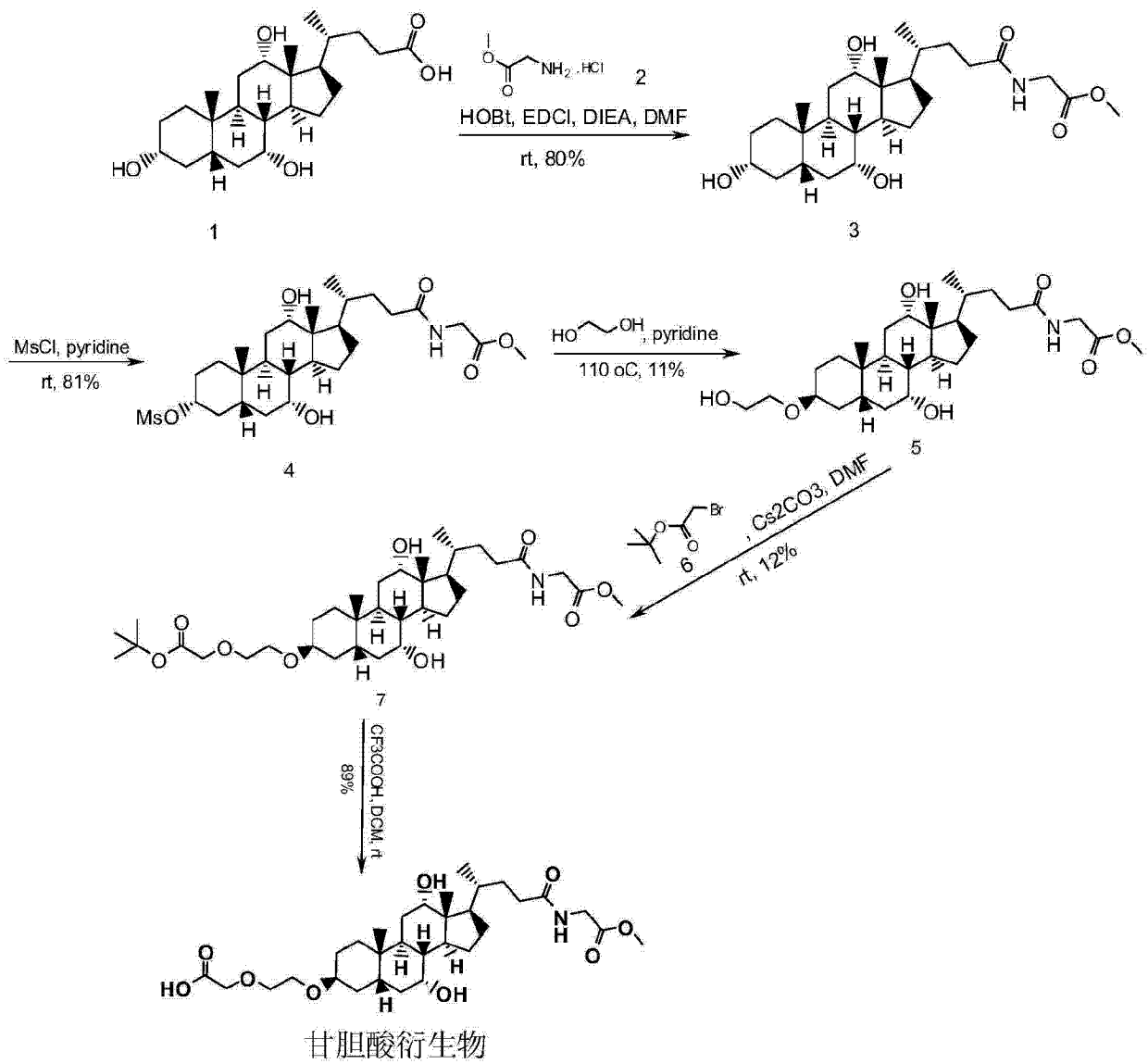


式(II)

式中 R 为 $-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}-$, n 为 1 至 20 之间的整数。

9. 一种甘胆酸检测试剂,含有权利要求 5 所述的抗甘胆酸特异性抗体、甘胆酸衍生物的酶标偶联物和酶的底物。

10. 甘胆酸免疫原的制备方法,由载体和权利要求 8 所述的甘胆酸衍生物连接而成,取 $n=2$ 时,其特征在于,其中甘胆酸衍生物的制备步骤如下:



甘胆酸免疫原、抗甘胆酸特异性抗体及检测试剂

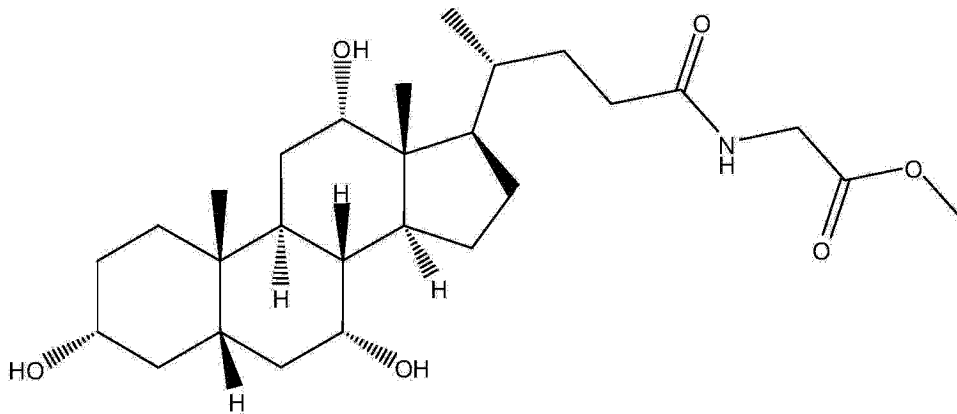
技术领域

[0001] 本发明涉及甘胆酸免疫检测领域,具体涉及一种甘胆酸免疫原、抗甘胆酸特异性抗体及检测试剂。

背景技术

[0002] 甘胆酸(Cholyglycine, CG),其结构式如式(III)所示。

[0003]



式 (III)

[0004] 甘胆酸是胆酸与甘氨酸结合而成的结合型胆酸之一,由肝细胞合成,同胆汁进入肠道,经门静脉再回肝脏,当肝细胞受损时,肝细胞摄取甘胆酸能力下降,致使血中含量增加,因此,甘胆酸是评价肝细胞功能及其肝胆系物质循环功能的敏感指标之一。研究显示,肝硬化、肝癌、急性肝炎和慢性活动性肝炎等肝病患者的甘胆酸含量明显高于正常人,甘胆酸也是检测胆汁郁积和早期酒精肝损伤的重要指标,同时甘胆酸的检测对孕妇妊娠期肝内胆汁淤积症(ICP)的诊断具有重要的临床意义。

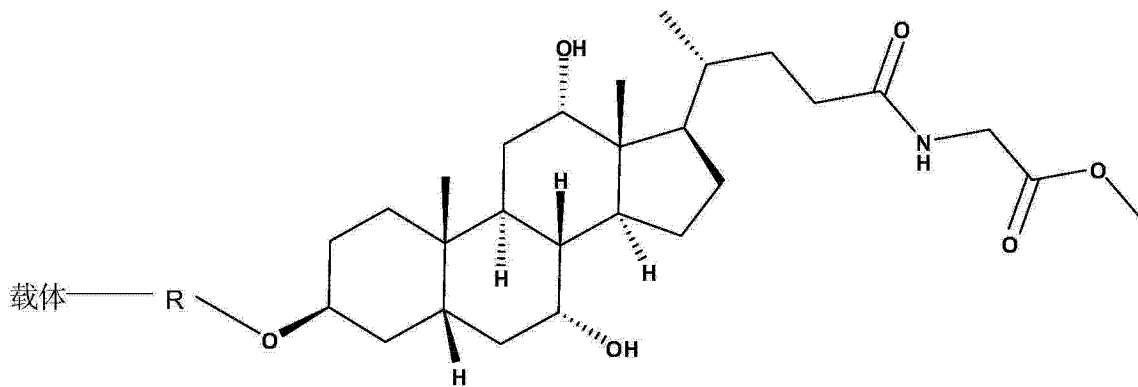
[0005] 直接用甘胆酸免疫动物无法获得抗甘胆酸特异性抗体。目前市场上缺乏灵敏度高、特异性强的甘胆酸检测试剂,尤其是质量好的自动化检验试剂。

[0006] 目前,体外定量测定甘胆酸主要使用放射免疫分析法(RIA),化学发光免疫分析法(CLIA)、酶联免疫吸附法(ELISA)等。放射免疫法需要有专业放免设施,普通实验室难以开展,且放免法准确度低,放射性射线还会对操作人员的健康产生极大的危害,国际上已很少使用。化学发光法灵敏度较高,但是测定速度较慢,测试结果的准确度和试剂稳定性较差,而且需要昂贵的专用化学发光检测设备,不利于常规实验室开展,临床应用局限性明显。酶联免疫法一般用于半定量测定,且操作繁琐,检测时间长,自动化程度低,重复性较差,不利于广泛应用于临床检验。

[0007] 均相酶免疫检测法,以其检测速度快、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小分子物质的高通量快速化检测的优点,开始得到越来越多的关注。

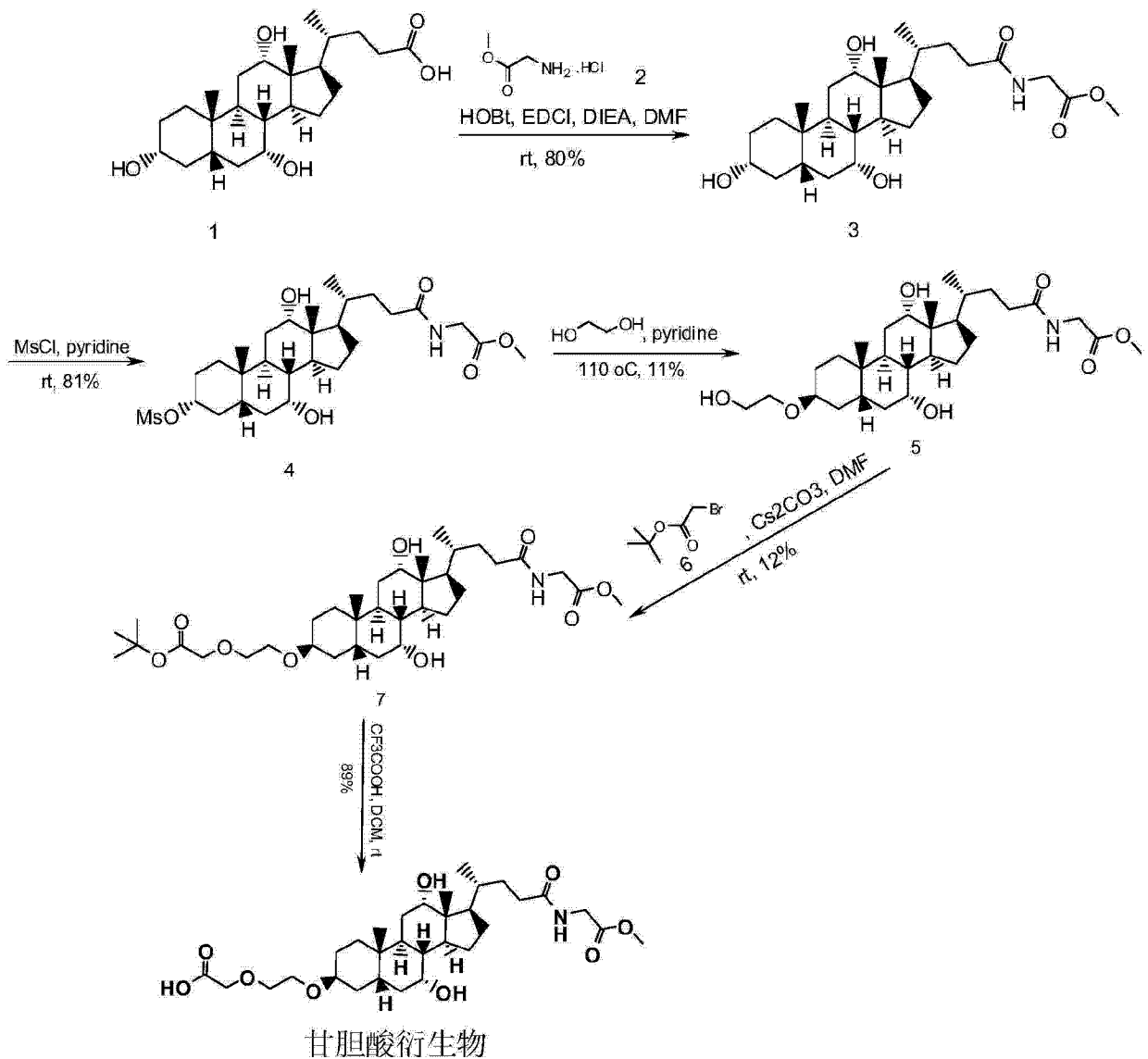
发明内容

- [0008] 本发明的一个目的在于提供一种甘胆酸衍生物。
- [0009] 本发明的一个目的在于提供一种甘胆酸免疫原。
- [0010] 本发明的另一个目的在于提供使用本发明甘胆酸免疫原制备得到的抗甘胆酸特异性抗体。
- [0011] 本发明的又一个目的在于提供一种甘胆酸检测试剂。
- [0012] 本发明的最后一个目的在于提供一种甘胆酸免疫原的制备方法。
- [0013] 本发明所采取的技术方案是：
- [0014] 甘胆酸免疫原，其结构式如式(I)所示：
- [0015]



式(I)

- [0016] 式中，R为连接基团，载体具有免疫原性。
- [0017] 优选的，载体为具有免疫原性的蛋白质。更优选的，所述的载体为血清蛋白、血蓝蛋白或甲状腺球蛋白。
- [0018] R优选为 $-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}-$ ，n是1至20之间的整数，特别的，R为 $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}-$ 。
- [0019] 一种抗甘胆酸特异性抗体，由上述的甘胆酸免疫原免疫宿主动物后分离纯化得到。
- [0020] 优选的，所述的抗体为完整的抗体分子，或者为，保留与甘胆酸特异性结合的能力的抗体片段或抗体衍生物。
- [0021] 优选的，所述的抗体为采用单一的甘胆酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体，或者为免疫后经体细胞杂交获得的单克隆抗体。
- [0022] 宿主动物为兔、山羊、小鼠、绵羊、豚鼠或马。
- [0023] 一种甘胆酸衍生物，其结构式如式(II)所示：
- [0024]



[0029] n=2 时,甘胆酸衍生物的制备在合成化合物 5 时选用了乙二醇为合成原料,故所得的最终产物甘胆酸衍生物的链接基团 R 为 $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}-$,选用其它乙二醇类似物进行实验时,除 n 取值不同外,合成方法完全一致。

[0030] 本发明的甘胆酸免疫原,免疫原性高,可以诱导得到高效价的抗甘胆酸特异性抗体。免疫原性高与所合成的甘胆酸衍生物分子结构及所选载体种类有关,现有技术中甘胆酸免疫原的免疫原性较弱,所产抗体的特异性、与甘胆酸的结合力,敏感度都不如本发明。

[0031] 同理,本发明的抗甘胆酸特异性抗体,特异性高,与甘胆酸的结合力强,敏感度远高于现有的抗甘胆酸抗体。

[0032] 本发明的甘胆酸检测试剂,可以方便、准确地确定样品中的甘胆酸含量。

[0033] 本发明的甘胆酸检测试剂可以在全自动生化分析仪上实现检验的快速化、批量化和自动化。

附图说明

[0034] 图 1 是甘胆酸 ELISA 检测反应曲线;

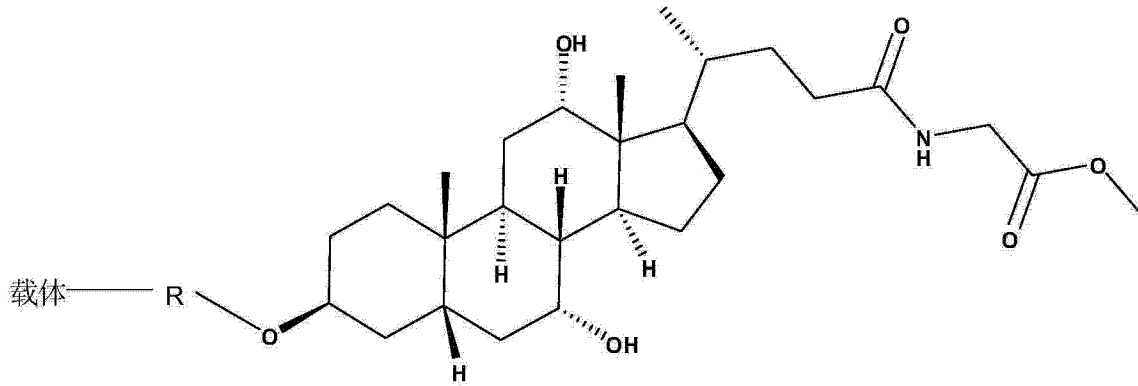
[0035] 图 2 是甘胆酸均相酶免疫反应曲线。

具体实施方式

[0036] 本发明所采取的技术方案是：

[0037] 甘胆酸免疫原，其结构式如式(I)所示：

[0038]



式(I)

[0039] 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。免疫原性载体一般是蛋白质或多肽;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。本发明中的载体优选为血清蛋白。

[0040] R 优选为 $-(\text{CH}_2)_n-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}-$, n 是 1 至 20 之间的整数,特别的,R 为 $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}-$ 。

[0041] 一种抗甘胆酸特异性抗体,由上述甘胆酸免疫原免疫动物后生产得到。

[0042] 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。

[0043] 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。

[0044] 一种甘胆酸检测试剂,含有上述抗甘胆酸特异性抗体、甘胆酸酶标偶联物和酶标底物。

[0045] 甘胆酸检测试剂盒,含有上述抗甘胆酸特异性抗体以及检测抗甘胆酸特异性抗体和甘胆酸复合物的指示试剂。

[0046] 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。优选的,指示试剂由甘胆酸酶标偶联物和酶的底物所组成。

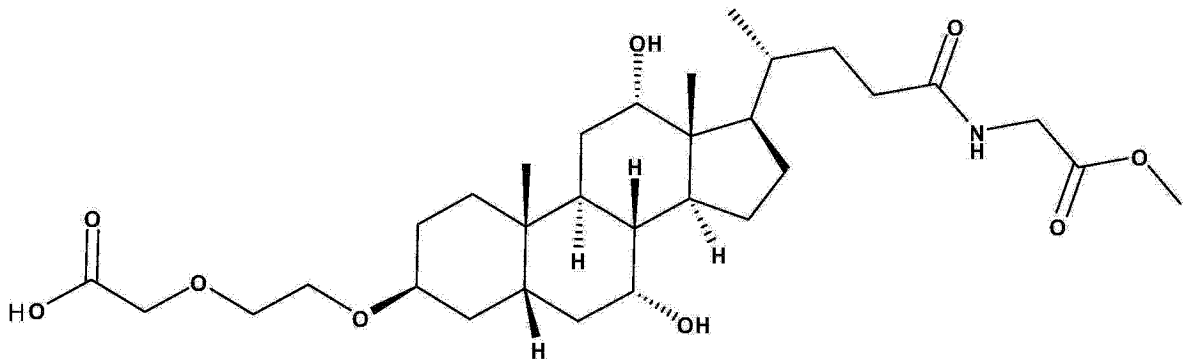
[0047] 优选的,上述酶标偶联物为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-半抗原酶标偶联物;上述酶的底物为葡萄糖-6-磷酸。

[0048] 下面结合实施例,进一步说明本发明。

[0049] 实施例一:甘胆酸衍生物的合成及其结构确认

[0050] 以下实施例中使用的甘胆酸衍生物化学结构如式(IV)所示：

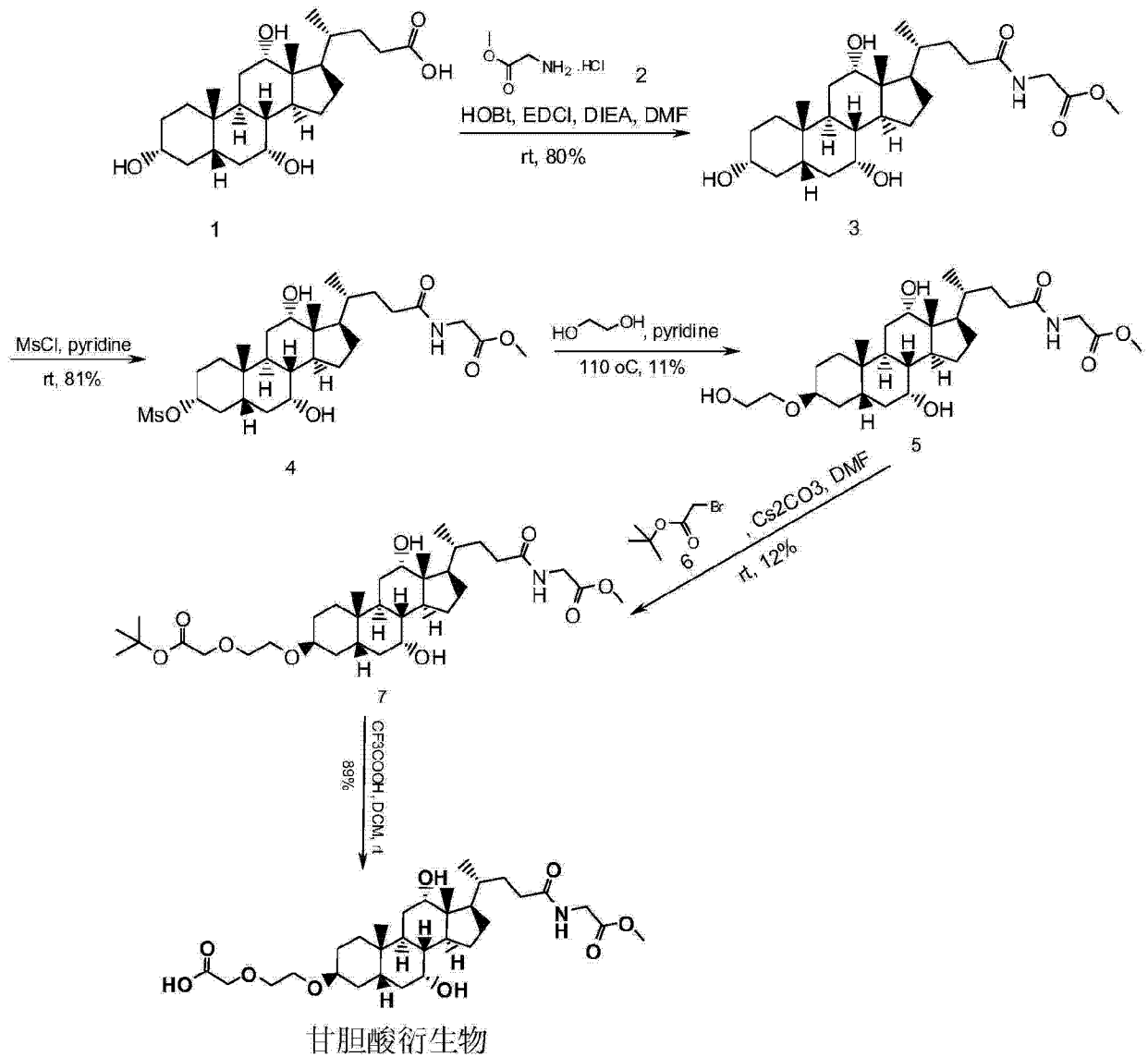
[0051]



式 (IV)

[0052] 该甘胆酸衍生物的合成路线如下：

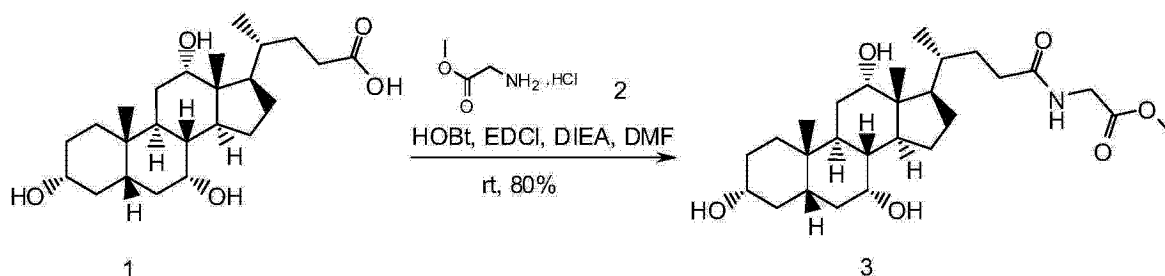
[0053]



[0054] 具体的合成步骤如下：

[0055] 化合物 3 的合成

[0056]

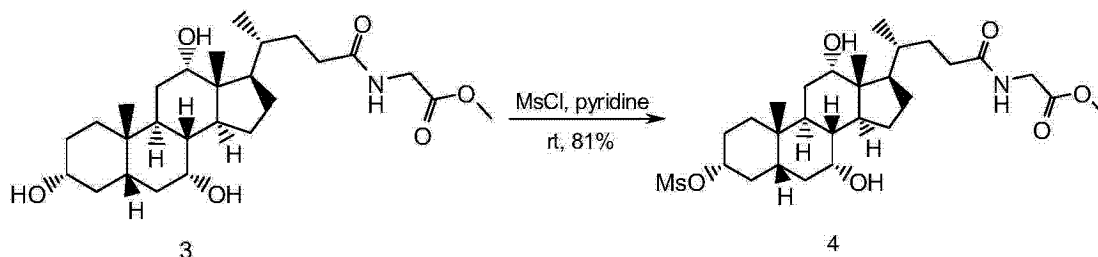


[0057] 1) 称取 10.0g (24.5mmol) 化合物 1 胆酸, 将化合物 1 溶解于 100mL 无水二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 室温下加入 7.04g (36.7mmol) 碳二亚胺盐酸盐 (EDCI)、4.96g (36.7mmol) 羟基苯并三氮唑 (HOBt) 和 10.7mL (61.2mmol) 二异丙基乙胺 (DIEA), 再加入 3.07g (24.5mmol) 化合物 2 甘氨酸, 搅拌 4 小时, 得到合成溶液;

[0058] 2) 将上述合成溶液用水稀释后再用乙酸乙酯 (EtOAc) 萃取, 使用水和卤水冲洗有机层, 加入 Na_2SO_4 干燥, 通过减压方法使溶剂蒸发, 最后得到 9.38g 白色固体化合物 3, 即甘氨酸胆酸, 产率 80%。

[0059] 化合物 4 的合成

[0060]

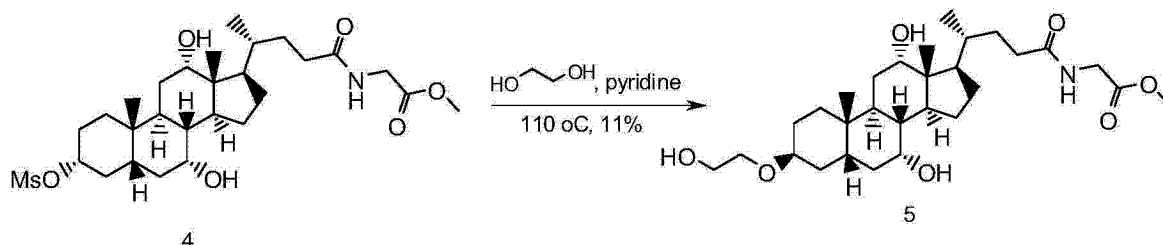


[0061] 1) 称取 8.27g (17.2mmol) 化合物 3 溶解于 90mL 的吡啶中, 0°C 下加入 2.37g (20.7mmol) 甲基磺酰氯 (MsCl), 将此溶液在室温下搅拌 1 小时, 得到合成溶液。

[0062] 2) 将上述合成溶液用水稀释后再用乙酸乙酯 (EtOAc) 萃取, 使用水和卤水冲洗有机层, 加入 Na_2SO_4 干燥, 通过减压方法使溶剂蒸发, 最后得到 6.67g 白色固体化合物 4, 产率 81%。

[0063] 化合物 5 的合成

[0064]



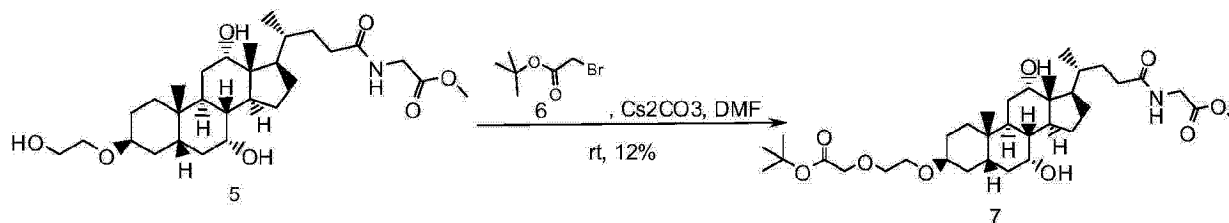
[0065] 1) 称取 10.0g (18.0mmol) 化合物 4 溶解于 100mL 的吡啶中, 室温下加入 20mL 的乙二醇, 将此反应混合液加热至 110°C 过夜。

[0066] 2) 将上述反应混合液除去溶剂, 残留物用水稀释后再用乙酸乙酯 (EtOAc) 萃取, 使用卤水冲洗有机层, 加入 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩并通过 FCC (DCM/MeOH=30/1) 方法纯化得

到 1.33g 粗提白色固体化合物 5, 产率 11%。

[0067] 化合物 7 的合成

[0068]

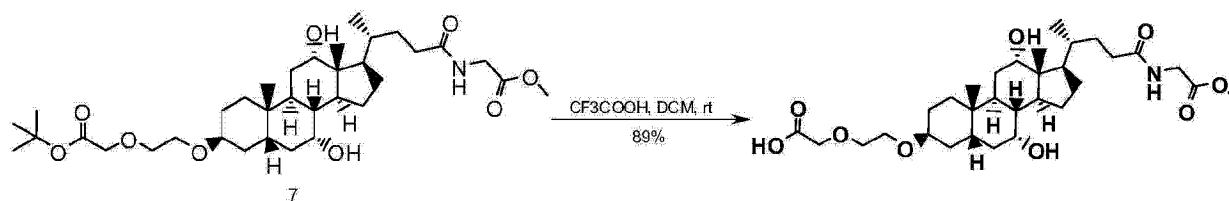


[0069] 1) 称取 100mg (0.191mmol) 化合物 5 和 64mg (0.21mmol) 碳酸铯 (Cs_2CO_3), 共同悬浮于 5mL 的无水二甲基甲酰胺 (DMF) 中, 冰浴条件下加入 41mg (0.21mmol) 化合物 6 (溴乙酸叔丁酯), 室温下搅拌反应过夜。

[0070] 2) 将上述反应液用水稀释后再用乙酸乙酯 (EtOAc) 萃取, 使用水和卤水冲洗有机层, 加入 Na_2SO_4 干燥, 过滤, 浓缩并通过 FCC (DCM/MeOH=35/1) 方法纯化得到 15mg 黄色固体化合物 7, 产率 12%。

[0071] 甘胆酸衍生物的合成

[0072]



[0073] 1) 称取 80mg (0.13mmol) 化合物 7 溶解于 5mL 的二氯甲烷 (DCM) 中, 冰浴条件下加入 1mL 三氟乙酸 (CF_3COOH), 室温下搅拌反应 2 小时。

[0074] 2) 将上述反应液除去溶剂后用 1N 的氢氧化钠 (NaOH) 调节 pH 值至 9.0, 再用乙酸乙酯 (EtOAc) 萃取。将水相用 1N 的盐酸 (HCl) 调节 pH 值至 6.0, 再用乙酸乙酯 (EtOAc) 萃取。

[0075] 3) 使用卤水冲洗有机层, 加入 Na_2SO_4 干燥, 浓缩得到 65mg 无色固体产物, 即式 (IV) 所示的甘胆酸衍生物, 产率 89%, 纯度 >95%。

[0076] 本实施例中甘胆酸衍生物的制备在合成化合物 5 时选用了乙二醇为合成原料, 故所得的最终产物甘胆酸衍生物的链接基团 R 为 $-(\text{CH}_2)_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COO}-$, 选用其它乙二醇类似物进行实验时, 除 n 取值不同外, 合成方法完全一致。

[0077] 对上述无色固体纯化产物进行结构鉴定

[0078] 1、利用 Bruker Avance III plus400MHz 和 VARIAN MERCURYplus300M 对上述无色固体化合物进行核磁共振光谱扫描, 采用 TMS 作为内标。结果如下: ^1H NMR (400MHz, CD_3OD): δ 4.61 (s, 2H), 4.27 (t, $J=5.2\text{Hz}$, 2H), 3.95 (s, 1H), 3.90 (s, 2H), 3.79 (s, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.60-3.61 (m, 3H), 2.14-2.43 (m, 4H), 1.73-1.92 (m, 6H), 1.55-1.65 (m, 7H), 1.28-1.45 (m, 7H), 1.03 (d, $J=6.4\text{Hz}$, 3H), 0.92 (s, 3H), 0.71 (s, 3H)。表征为式 (IV) 所示的甘胆酸衍生物。

[0079] 2、利用色谱 / 质谱技术 (LCMS) 对得到的衍生物进行分析鉴定, 采用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:

Symmetry C18 (50×4.6mm, 5 μm), 柱温为 30℃, 流速为 1.5mL/min, 检测波长为 214nm, 流动相为 5-60% 乙腈-0.02%NH₄OAc。LCMS 结果显示:纯度 >95%;保留时间 3.637min。

[0080] 综合上述结果,可以确定该无色固体化合物为式(IV)所示的甘胆酸衍生物。

[0081] 实施例二:BSA-甘胆酸衍生物免疫原的合成

[0082] BSA-甘胆酸免疫原由牛血清白蛋白 BSA 与式(II)所示的甘胆酸衍生物的 $-(CH_2)_n-O-CH_2-COO-$ 基团连接而成,在本实施例中,以 n=2 为例详细说明该免疫原的合成方法,具体步骤如下:

[0083] 1) 将牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin,BSA)(200mg)溶解于 50ml0.2M,pH8.5 的磷酸缓冲液中;

[0084] 2) 将如下化学品加入到小烧杯中搅拌溶解:200mg 合成的甘胆酸衍生物、3.5ml 二甲基酰胺(dimethylformamide,DMF)、3.5ml 乙醇、7.0ml10mM,pH5.0 的磷酸钾缓冲液、200mg1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、50mg N-羟基琥珀酰亚胺(N-hydroxysulfosuccinimide,Sulfo-NHS),将这些化学品在室温下搅拌溶解反应 30min;

[0085] 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透析进行纯化,得到甘胆酸免疫原。

[0086] 类似的,n 取 1~20 范围内的其他整数时,用同样的方法可以制备出如式(I)所示的甘胆酸免疫原。当然,载体仍为具有免疫原性的蛋白质,可以是血清蛋白,血蓝蛋白(KLH)和甲状腺球蛋白。优选的,载体为牛血清白蛋白。

[0087] 本发明中仅合成了连接基团 R 为 $-(CH_2)_n-O-CH_2-COO-$,且 n=2 的甘胆酸衍生物并进行了后续实验,由于连接基团主要起小分子衍生物与载体的连接作用,免疫原性强弱与所合成的甘胆酸衍生物分子结构及所选载体种类有关,理论上 n 取 1 至 20 之间的任意整数时,实验结果并无显著差异。

[0088] 实施例三:抗甘胆酸特异性抗体的制备

[0089] 将上述制得的 BSA-甘胆酸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:

[0090] 用 PBS 将上述合成的 BSA-甘胆酸免疫原稀释至 1.0mg/ml,得到抗原溶液,然后用 1.0ml 抗原溶液与弗氏完全佐剂混合,对实验动物兔进行注射。

[0091] 2~3 周后,再用 1.0ml 相同的抗原溶液与弗氏不完全佐剂对上述实验动物兔注射一次,之后每隔四周注射一次,共计注射 4 次。

[0092] 对上述实验动物兔取血,分离纯化得到抗甘胆酸特异性抗体,经测定,该抗甘胆酸特异性抗体的效价为 1:30000。

[0093] 实施例四:甘胆酸 ELISA 检验

[0094] 采用制得的抗体进行甘胆酸的 ELISA 检验。

[0095] 该检验是利用竞争性免疫分析法来测定液体样本中的甘胆酸含量。

[0096] 样本中的甘胆酸与偶联的甘胆酸衍生物(HRP-甘胆酸衍生物酶偶联物)竞争结合包被在酶联板中抗体上的有限位点。如果液体样本中几乎没有或没有甘胆酸,HRP 酶偶联的甘胆酸衍生物就会与酶标板中的抗体结合。相反的,如果液体样本中含有大量或一定数量的甘胆酸,那么酶-甘胆酸衍生物偶联体就会减少与抗体的结合,从而使显色信号减弱。因此,检验产生的吸光度与液体样本中的甘胆酸含量成反比。其剂量效应曲线如图 1 所示,

其中横坐标为甘胆酸浓度 ($\mu\text{g/ml}$), 纵坐标为 OD 值。

[0097] 实施例五: 甘胆酸均相酶免疫检验

[0098] 采用制得的抗体进行甘胆酸的均相酶免疫检验 (Homogeneous Enzyme Immunoassay)。

[0099] 该检验是一种竞争性反应, 反应体系中与抗体结合的甘胆酸和游离的甘胆酸不需要通过固相来分离。该检验的基本原理是, 液体样本中游离的甘胆酸与偶联在葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase, G6PDH) 上的甘胆酸衍生物对特异性抗体的结合位点进行竞争。液体样本中的甘胆酸竞争性的取代与抗体结合的甘胆酸酶偶联物, 并使其从抗体的结合位点上释放出来, 从而使酶恢复活性。因此, 液体样本中甘胆酸的含量越多, 游离的甘胆酸衍生物-G6PDH 酶偶联物就越多, 从而能得到更强的信号。

[0100] 其均相酶免疫检验得到的剂量效应曲线如图 2 所示, 其中横坐标为甘胆酸浓度 ($\mu\text{g/ml}$), 纵坐标为 OD 值。

[0101] 实施例六: 药物干扰试验

[0102] 选取 45 种常见药物, 调整浓度至 $10.0 \mu\text{g/ml}$, 进行干扰试验测定。常见的 45 种药物以及测定结果具体参见表 1。

[0103] 表 1 常见干扰药物

ID#	化合物名称	等价于甘胆酸的 浓度 ($\mu\text{g/ml}$)	ID#	化合物名称	等价于甘胆酸的 浓度 ($\mu\text{g/ml}$)
1	阿司匹林	0.0	24	苯丙醇胺	0.0
2	β -苯基乙胺	0.0	25	普鲁卡因胺	0.0
3	安非他命	0.0	26	普鲁卡因	0.0
4	氨基青霉素	0.0	27	奎尼丁	0.0
5	甲氨二氮卓	0.0	28	佐美酸	0.0
6	氯丙嗪	0.0	29	苯肾上腺素	0.0
7	氯拉卓酸	0.0	30	桂皮酰艾克宁	0.0
8	二甲苯氧庚酸	0.0	31	芽子碱	0.0
9	非诺洛芬	0.0	32	地西洋	0.0
10	甲基苯丙胺	0.0	33	可替宁	0.0
11	龙胆酸	0.0	34	阿替洛尔	0.0
12	吉非贝齐	0.0	35	心得安	0.0
13	氢可酮	0.0	36	苯乙哌啶酮	0.0
14	布洛芬	0.0	37	苯基丁氮酮	0.0
15	丙咪嗪	0.0	38	麦角酸二乙基酰胺	0.0
16	二氨基二苯砒	0.0	39	大麻酚	0.0
17	萘普生	0.0	40	洛哌丁胺	0.0
18	氢氯噻嗪	0.0	41	异克舒令	0.0
19	哌替啶	0.0	42	苯基丙氨酸	0.0
20	烯丙羟吗啡酮	0.0	43	盐酸氟西汀	0.0
21	麻黄素	0.0	44	柳丁氮醇	0.0
22	烟酰胺	0.0	45	青霉素	0.0
23	甲胺呋硫	0.0			

[0104]

[0105] 测定结果：上述 45 种常见药物等价于甘胆酸的浓度均小于 $0.1 \mu\text{g/ml}$ 。可见，本发明的抗体是抗甘胆酸的特异性抗体。

[0106] 需要说明的是，以上所述仅为本发明的实施例，并非因此限制本发明的专利范围，凡是利用本发明说明书及附图内容所做的等效结构或等效流程变换，或直接或间接运用在

其他相关技术领域,均同理包括在本发明的专利保护范围内。

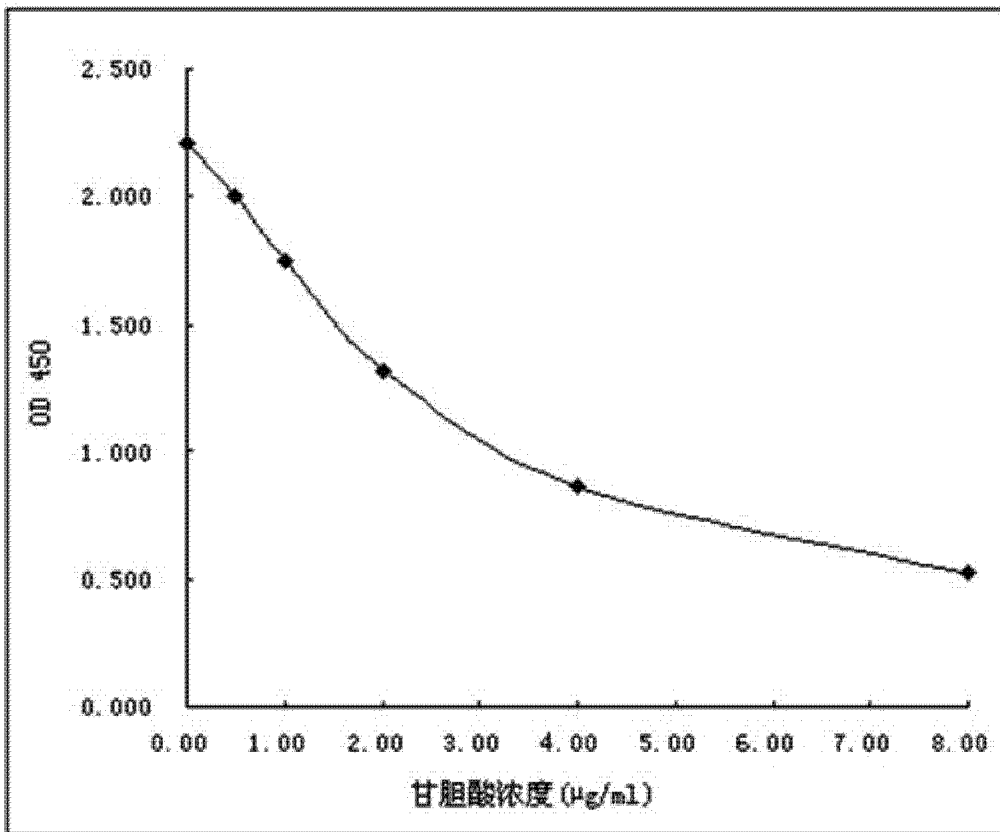


图 1

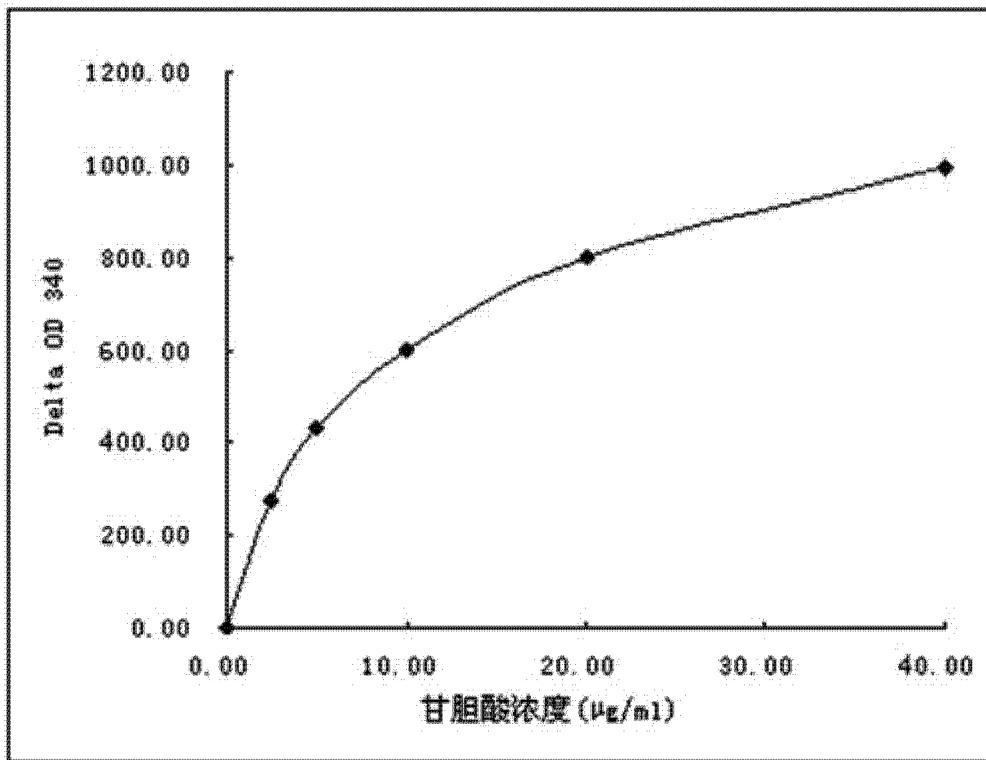


图 2

专利名称(译)	甘胆酸免疫原、抗甘胆酸特异性抗体及检测试剂		
公开(公告)号	CN103739703B	公开(公告)日	2015-07-15
申请号	CN201410047903.5	申请日	2014-02-11
[标]申请(专利权)人(译)	苏州博源医疗科技有限公司		
申请(专利权)人(译)	苏州博源医疗科技有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	苏州博源医疗科技有限公司		
[标]发明人	虞留明 李冬 余琳 张曼 胡瑜		
发明人	虞留明 李冬 余琳 张曼 胡瑜		
IPC分类号	C07K14/765 C07K14/795 C07K14/435 C07K16/44 C07J41/00 G01N33/53		
CPC分类号	C07K14/435 C07K14/765 C07K14/795 C07K16/44 C07K19/00 G01N33/5308		
代理人(译)	董建林		
审查员(译)	李洋		
其他公开文献	CN103739703A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及甘胆酸免疫检测领域，具体涉及一种甘胆酸免疫原、抗甘胆酸特异性抗体及检测试剂。甘胆酸免疫原免疫原性强，抗甘胆酸特异性抗体特异性高，用本发明的高效价的抗甘胆酸特异性抗体研制的免疫试剂可以精确地测定血清或血浆样本中甘胆酸的含量。与放射免疫等传统方法相比，本发明提供的免疫检测试剂灵敏度高、特异性强，结合自动化分析仪使用，具有操作简便、高通量、检测结果准确等优点。

