



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 106771216 B

(45)授权公告日 2019.06.25

(21)申请号 201611090413.9

G01N 33/533(2006.01)

(22)申请日 2016.12.01

G01N 33/532(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 106771216 A

(56)对比文件

CN 103048465 A,2013.04.17,

CN 103048465 A,2013.04.17,

CN 103642781 A,2014.03.19,

CN 103642781 A,2014.03.19,

CN 102590517 A,2012.07.18,

(43)申请公布日 2017.05.31

(73)专利权人 上海科华生物工程股份有限公司

地址 200233 上海市徐汇区钦州北路1189

号

审查员 王在竹

(72)发明人 夏泽 张巍佳 沈丹 李基

(74)专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司

公司 31266

代理人 崔佳佳 陆凤

(51)Int.Cl.

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

提高免疫试剂检测特异性的方法及其应用

(57)摘要

本发明提供了一种免疫检测的方法,所述方法先利用胃蛋白酶处理鼠源单克隆抗体,再利用经处理得到的鼠源单克隆抗体进行免疫检测。本发明的免疫检测方法显著减少免疫检测的假阳性结果。同时,配套使用本发明的稀释液,可进一步降低假阳性样本的检测值,同时提高经处理的鼠源单克隆抗体标记物在工作浓度保存时的生物学稳定性。所述稀释液是4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液,其中含有酪蛋白、硫酸镁和复合酶稳定剂DPD,以氢氧化钠溶液调整pH至7.0~8.0。

1. 一种免疫检测的方法,所述方法包括以下步骤:

(a) 利用胃蛋白酶处理鼠源单克隆抗体;和

(b) 利用经过步骤(a)处理得到的鼠源单克隆抗体进行免疫检测;

所述步骤(b)是将经过步骤(a)处理得到的鼠源单克隆抗体与稀释液混合,然后用于免疫检测;

其中所述稀释液是以氢氧化钠溶液调整pH至7.0~8.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液,其中含有0.1~0.3%质量体积比的酪蛋白、0.05~0.25%质量体积比的硫酸镁和0.5~3%体积比的复合酶稳定剂DPD。

2. 如权利要求1所述的方法,其特征在于,在步骤(a)和步骤(b)之间还包括对经过步骤(a)处理的鼠源单克隆抗体进行可检测标记的步骤。

3. 一种免疫检测试剂,所述免疫检测试剂包含经过胃蛋白酶处理的鼠源单克隆抗体;

所述免疫检测试剂还包含稀释液,所述稀释液是4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液,其中含有0.1~0.3%质量体积比的酪蛋白、0.05~0.25%质量体积比的硫酸镁和0.5~3%体积比的复合酶稳定剂DPD,以氢氧化钠溶液调整pH至7.0~8.0。

4. 一种免疫检测试剂盒,所述试剂盒装有经过胃蛋白酶处理的鼠源单克隆抗体;

所述试剂盒还装有稀释液,所述稀释液是4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液,其中含有0.1~0.3%质量体积比的酪蛋白、0.05~0.25%质量体积比的硫酸镁和0.5~3%体积比的复合酶稳定剂DPD,以氢氧化钠溶液调整pH至7.0~8.0。

5. 一种免疫检测方法,所述方法包括利用权利要求3所述的免疫检测试剂或权利要求4所述的免疫检测试剂盒进行免疫检测。

提高免疫试剂检测特异性的方法及其应用

技术领域

[0001] 本发明涉及体外诊断试剂领域。具体地说,本发明涉及提高免疫试剂检测特异性的方法及其应用。

背景技术

[0002] 体外诊断试剂指用于对人体样本(各种体液、细胞、组织样本等)进行体外检测的试剂、试剂盒、校准品(物)、质控品(物)等,其检测结果对临床诊断及医生的用药处方有非常重要的提示作用。

[0003] 在体外诊断试剂中,以双抗体夹心为技术基础的免疫学方法是一种非常常用的检测抗原的方法,广泛应用于酶联免疫法、胶体金法、化学发光法试剂中。而在各种双抗体夹心法检测试剂的原料中,犹以鼠源单克隆抗体(以下简称鼠单抗)应用最为广泛。该种抗体应用优势非常明显:技术成熟、生产得到的抗体特异性高、批间差异小、成本较低、可比较方便地放大生产。

[0004] 但该方法也面临一些特殊样本的挑战。例如,某些患者其本身体内并没有被测项目的物质,因生活环境中有鼠类出没,或因接受单克隆抗体治疗,在其血液或体液样本中可能含有人抗鼠抗体(即HAMA),此类抗体在双鼠单抗夹心法的检测系统中可联接捕获抗体和标记抗体,从而产生阳性结果,即假阳性结果。同样的情况还会出现在某些自身免疫疾病患者的样本中。例如,类风湿关节炎患者的体内含有类风湿因子(RF)也能够联接捕获抗体和标记抗体,从而产生假阳性结果。而此类假阳性结果均有可能对临床诊断和医生处方造成一定的误导,并导致不能够对症下药或是贻误病情。

[0005] 对于双鼠单抗,即,捕获抗体与标记抗体均是鼠源单克隆抗体易引起假阳性的问题,业内已有关关注,并提供了如下所述的多种解决方案。但目前看来,各方案均有各自缺陷,具体是:

[0006] 1. 使用其他种属动物的多克隆抗体替代其中一株鼠单抗。但多克隆抗体的特异性往往差于单克隆抗体,且多克隆抗体不同批次之间的一致性会较单克隆抗体更差,因此在大规模生产时会有比较大的风险。

[0007] 2. 使用其他种属动物的单克隆抗体替代其中一株鼠单抗。目前有公开报道的除了鼠源单克隆抗体还有兔源单克隆抗体,但兔单抗的制备工艺并不成熟,目前只有少数公司拥有该种抗体的生产能力,且价格非常昂贵。

[0008] 3. 在试剂中添加更高浓度的无关游离鼠单抗通过竞争抑制的方法降低检测值。该方法价格便宜,但并不能完全消除样本带来的假阳性。

[0009] 4. 部分公司可以提供与无关游离鼠单抗结构类似或是在此基础上加工而成的阻断物质,添加在试剂中通过竞争抑制的方法起到降低检测值的作用。该方法是目前使用最普遍的方法,但其中也有相当大的风险存在。首先,商品化的阻断物质其成分组成并不完全公开,其保密的组分在试剂中是否会对其他类型的特殊样本检测结果有影响尚不得而知。其次,商品化的阻断物质只对部分特殊样本有效。再者,这样的阻断物质往往比较昂贵且用

量较大,不利于试剂生产企业大规模生产时的成本控制。

[0010] 综上所述,在双单抗夹心法测抗原为反应体系的免疫检测试剂中,如遇到样本中含有HAMA或RF,则极易产生假阳性结果,给临床诊断及医生处方带来一定的困扰。而目前业内常用的解决方案或是性能较差,对诊断试剂性能有影响;或是工艺不成熟,无法稳定重复生产;或是成本偏高,对企业负担较大。

[0011] 因此,本领域急需一种提高单克隆抗体在免疫类体外诊断试剂应用中的特异性,从而减少假阳性结果产生的方法。

发明内容

[0012] 本发明的目的在于提供一种免疫检测的方法,所述方法能够提高单克隆抗体在免疫类体外诊断试剂应用中的特异性,从而减少假阳性结果产生。

[0013] 在第一方面,本发明提供一种免疫检测的方法,所述方法包括以下步骤:

[0014] (a) 利用胃蛋白酶处理鼠源单克隆抗体;和

[0015] (b) 利用经过步骤(a)处理得到的鼠源单克隆抗体进行免疫检测。

[0016] 在具体的实施方式中,在步骤(a)和步骤(b)之间还包括对经过步骤(a)处理的鼠源单克隆抗体进行可检测标记的步骤。

[0017] 在优选的实施方式中,利用辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、金颗粒、吖啶酯、免疫荧光标记物;更优选辣根过氧化物酶进行可检测标记。

[0018] 在具体的实施方式中,所述步骤(b)是将经过步骤(a)处理得到的鼠源单克隆抗体与稀释液混合,然后用于免疫检测;

[0019] 其中所述稀释液是以氢氧化钠溶液调整pH至7.0~8.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液,其中含有酪蛋白、硫酸镁和复合酶稳定剂DPD。

[0020] 在第二方面,本发明提供一种稀释液,所述稀释液是4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液,其中含有酪蛋白、硫酸镁和复合酶稳定剂DPD,以氢氧化钠溶液调整pH至7.0~8.0。

[0021] 在第三方面,本发明提供一种免疫检测试剂,所述免疫检测试剂包含经过胃蛋白酶处理的鼠源单克隆抗体。

[0022] 在具体的实施方式中,所述免疫检测试剂还包含本发明第二方面所述的稀释液。

[0023] 在第四方面,本发明提供经过胃蛋白酶处理的鼠源单克隆抗体或本发明第二方面所述的稀释液在制备免疫检测试剂盒或免疫检测试剂中的应用。

[0024] 在第五方面,本发明提供一种免疫检测试剂盒,所述试剂盒装有经过胃蛋白酶处理的鼠源单克隆抗体。

[0025] 在具体的实施方式中,所述试剂盒还装有权利要求4所述的稀释液。

[0026] 在优选的实施方式中,所述试剂盒还装有使用说明书。

[0027] 在第六方面,本发明提供一种免疫检测方法,所述方法包括利用本发明第三方面所述的免疫检测试剂或本发明第五方面所述的免疫检测试剂盒进行免疫检测。

[0028] 在优选的实施方式中,所述免疫检测方法可以是非诊断目的的。

[0029] 应理解,在本发明范围内中,本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合,从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅,在此不再一一累述。

附图说明

[0030] 图1显示了鼠源单克隆抗体的SDS-PAGE电泳图谱,所述鼠源单克隆抗体经胃蛋白酶处理并经凝胶过滤层析纯化以及分段收集。其中,M泳道为高分子Marker,分子量由上往下依次是97.2KD,66.4KD,44.3KD,29.0KD,20.1KD;1-6号泳道为凝胶过滤层析时不同时间收集的抗体;7号泳道为完整鼠源单克隆抗体;8号泳道为经试验验证有较好检测结果的抗体留样;9号泳道为经胃蛋白酶处理后未经凝胶过滤纯化的抗体。

具体实施方式

[0031] 发明人经过广泛而深入的研究,出乎意料地发现利用特定的蛋白酶处理鼠源单克隆抗体后可以显著减少免疫检测的假阳性结果;同时配套使用本发明的稀释液,可进一步降低假阳性样本的检测值,同时提高经处理的鼠源单克隆抗体标记物在工作浓度保存时的生物学稳定性。在此基础上完成了本发明。

[0032] 本发明的术语

[0033] 本文所用的术语具有与本领域普通技术人员常规理解相同或相似的含义。例如,HAMA是指人抗鼠抗体(Human Anti Mouse Antibody);HAMA效应是指因人抗鼠抗体引起的假阳性;RF是指类风湿因子(Rheumatoid Factor);S/COV是指样本检测值与临界值(CutOff Value)的比值,用于对样本进行定性判断。

[0034] 本发明的提高免疫试剂检测特异性的方法

[0035] 为解决采用双鼠单抗夹心法进行免疫检测易产生假阳性结果的缺陷,本发明人创造性地利用特定的蛋白酶处理鼠源单克隆抗体,从而显著减少采用双鼠单抗夹心法进行免疫检测产生的假阳性结果。

[0036] 在本发明的具体的实施方式中,利用胃蛋白酶对单克隆抗体进行处理,将经处理的鼠源单克隆抗体用于双鼠单抗夹心法免疫检测,显著减少了产生的假阳性结果。

[0037] 进一步地,可以纯化得到经处理的鼠源单克隆抗体。在具体的实施方式中,本发明提供一种纯化加工鼠单抗的方法,包括:在酸性缓冲液环境中,利用胃蛋白酶对鼠源单克隆抗体进行处理,使用凝胶过滤层析对处理后的鼠源单克隆抗体溶液进行纯化。

[0038] 为进行免疫检测,可对经处理的鼠源单克隆抗体进行可检测标记。例如,可利用辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、金颗粒、吖啶酯、免疫荧光标记物进行可检测标记;更优选地,利用辣根过氧化物酶进行可检测标记。

[0039] 在获得胃蛋白酶处理的鼠源单克隆抗体之余,本发明人进一步地发现,将本发明制得的稀释液与纯化的、胃蛋白酶处理的鼠源单克隆抗体标记酶结合物配套使用,可以进一步降低假阳性样本的检测值。在具体的实施方式中,本发明的稀释液是以氢氧化钠溶液调整pH至7.0~8.0的4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液,其中含有酪蛋白、硫酸镁、复合酶稳定剂DPD(西宝生物科技(上海)股份有限公司,货号:ACE0073A)。

[0040] 在具体的实施方式中,本发明提供这样一种方法:以氢氧化钠溶液调整4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液的pH至7.0~8.0,加入酪蛋白、硫酸镁、复合酶稳定剂DPD,混匀后加入辣根过氧化物酶标记的经胃蛋白酶处理的鼠源单克隆抗体。

[0041] 本发明的关键技术点在于:

[0042] 1) 利用特定的蛋白酶处理常规的鼠源单克隆抗体;

[0043] 2) 在稀释液的配制过程中使用了能够较长时间控制恒定的pH范围的4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液,并配以一定浓度的酪蛋白、硫酸镁、复合酶稳定剂DPD作为辅助原料,确保该稀释液能够对经处理的鼠源单克隆抗体标记辣根过氧化物酶起到足够的辅助作用,以保证最终的体外诊断试剂不会对含有HAMA或RF的特殊样本有假阳性反应;

[0044] 通过上述二点可在双鼠单抗夹心法的检测体系中显著降低HAMA样本以及RF样本的检测值,从而达到避免因此二类情况导致假阳性的结果。

[0045] 本发明的经胃蛋白酶处理的鼠源单克隆抗体可用于制备免疫检测试剂或免疫检测试剂盒,利用这种所述免疫检测试剂或免疫检测试剂盒进行免疫检测能够有效降低假阳性结果。在优选的实施方式中,所述免疫检测试剂还包含本发明的稀释液;或者所述免疫检测试剂盒还装有稀释液。在进一步优选的实施方式中,所述免疫检测试剂盒还装有使用说明书。

[0046] 本领域技术人员知晓,可利用本发明的免疫检测试剂或免疫检测试剂盒进行免疫检测。但实施这种免疫检测方法可以是诊断目的,也可以是非诊断目的;例如,仅仅为科研目的,或仅仅提供商业检测服务。

[0047] 本发明的优点:

[0048] 1. 本发明以成本非常低廉的方法有效地减少因HAMA效应引起的假阳性检测结果;

[0049] 2. 本发明的方法可以在普通实验室中完成全部操作过程,因此非常简便;

[0050] 3. 利用本发明的稀释液,经处理的鼠源单克隆抗体标记物在工作浓度保存时能够具备优异的生物学稳定性;和

[0051] 4. 本发明的方法使用到的化学或生物试剂大多为普通实验室常规试剂,因此具备极好的适用性。

[0052] 下面结合具体实施例,进一步阐述本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明具体条件的实验方法,通常按照常规条件,或本领域已知的文献,例如各种教科书中所述的条件,例如分子克隆实验指南(第二版)(J. 萨姆布鲁克等著)中所述的条件;或者按照市售可得仪器或试剂的使用说明书,或按照制造厂商所建议的条件。

[0053] 材料与方法

[0054] 材料

[0055] 本申请的实施例中涉及的材料,例如各种试剂均是市售可得的试剂。

[0056] 方法

[0057] 纯化加工鼠源单克隆抗体的方法:

[0058] 1使用胃蛋白酶处理鼠源单克隆抗体;

[0059] 2对经过上一步骤处理的单克隆抗体进行标记,可以减少样本中的HAMA或RF导致的假阳性结果。

[0060] 具体步骤如下所述:

[0061] (1) 取鼠源单克隆抗体腹水,按照常规正辛酸-硫酸铵沉淀法纯化,获得鼠源单克隆抗体;

[0062] 其中,鼠源单克隆抗体腹水可以按照本领域已知的通用鼠单抗制备过程获得,其过程大致如下所述:

[0063] 小鼠免疫

[0064] 按常规方法对小鼠进行抗原免疫,三次免疫后测静脉血效价,如果效价达到10万,进行尾静脉加强免疫,三天后处死小鼠取脾脏融合。

[0065] 细胞融合

[0066] 骨髓瘤细胞制备

[0067] 在融合前7-10天复苏SP2/0细胞,扩大培养,融合前一天传代调整细胞密度,使之第二天处于对数生长期。收集 5×10^7 个骨髓瘤细胞在离心管中,用37℃温浴的无血清1640培养基离心洗细胞三次。

[0068] 免疫小鼠脾细胞制备

[0069] 免疫的小鼠眼眶放血,断颈处死。用75%酒精浸泡,超净台内无菌打开腹腔,取脾脏,去结缔组织,眼科剪刀剪成糊状过尼龙网,收集脾细胞。脾细胞加温浴的无血清1640培养基离心洗三次。

[0070] 细胞融合

[0071] 将制备好的脾细胞和SP2/0细胞混匀,离心沉淀。弹松细胞团,置于37℃水浴,用玻璃吸管滴加0.7-1ml PEG1500,边加边缓慢搅拌,再加10ml培养基终止细胞融合。离心去上清,融合细胞悬浮到完全培养基中,加96孔细胞培养板,37℃,5%CO₂培养箱培养。

[0072] 单抗细胞株的筛选和克隆

[0073] 单抗细胞株的筛选

[0074] 融合板细胞完全培养基中37℃连续培养7-10天,换培养液。第二天间接ELISA检测融合板的细胞培养上清,挑选OD值大于1.0的孔进行亚克隆。

[0075] 单抗细胞株的克隆

[0076] 取融合板阳性孔的细胞,显微镜计数,用完全培养基梯度稀释成200个/10ml,100个/10ml,50个/10ml,25个/10ml,按0.2ml/孔加到96孔板各24孔,放置于CO₂培养箱中培养。7-10天后仍然用ELISA间接法检测亚克隆(同上融合板检测)。之后阳性孔换完全培养基,连续亚克隆,直到单克隆细胞株阳性率连续两次达到100%为止。

[0077] 建株和冻存

[0078] 96孔板的单克隆细胞株扩大培养到24孔板,细胞培养瓶,取对数生长期的细胞,台盼蓝染色,活细胞比例达到90%以上的细胞株离心冻存,加冻存液(20%1640培养基+10%DMSO)调整细胞密度为 $3-5 \times 10^6$,注入冻存管中,每管1ml,置于-80℃冰箱,24小时后移入液氮罐中。

[0079] 单抗细胞株及其抗体的分析

[0080] 细胞株的复苏、传代培养

[0081] 常规复苏细胞,从液氮罐中取出细胞,立即投入37℃水浴中迅速融化,加细胞到10ml完全培养基中离心,去上清,取细胞传到培养瓶中37℃培养。每2-3天传代一次。

[0082] 小鼠腹水生产

[0083] 提前一周在F1代小鼠腹腔注射佛氏不完全佐剂,收集上述培养细胞,0.01MPBS调整细胞密度在 1×10^6 个/ml,0.5ml/只注射F1小鼠腹腔中,一般小鼠于7-10天开始采集腹水。

[0084] (2)取纯化后的鼠源单克隆抗体置于pH3.0~4.0,浓度为5~10mM的醋酸-醋酸钠缓冲液(以下简称醋酸缓冲液)中透析2-5小时;

[0085] (3) 自透析液中取出后,在鼠源单克隆抗体中加入使用醋酸缓冲液溶解的胃蛋白酶,每10~20mg鼠源单克隆抗体加入1mg胃蛋白酶(公司:SIGMA-ALDRICH,货号:77160),混匀后置37℃反应16-22小时;

[0086] (4) 反应结束后,使用1M氢氧化钠溶液调整该鼠源单克隆抗体溶液pH至8.0~8.5,终止反应;之后置于pH为8.0~8.5的20mM三羟甲基氨基甲烷-盐酸缓冲液(以下简称Tris缓冲液)中透析16~22小时;

[0087] (5) 透析结束后,使用凝胶过滤层析对鼠源单克隆抗体溶液进行纯化,层析填料为Sephadex G50,平衡液为Tris缓冲液。使用平衡液对层析柱平衡3-5个柱体积,上样后继续以平衡液淋洗,并在280nm波长紫外灯检测下收集第一个蛋白峰;

[0088] (6) 测定蛋白浓度后备用,可根据应用的不同方法学选择标记辣根过氧化物酶、金颗粒、碱性磷酸酶或吡啶酯等标记物。

[0089] 含有标记的鼠源单克隆抗体的稀释液的配制:

[0090] 1. 配制4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液,并以氢氧化钠溶液调整pH至7.0~8.0;

[0091] 2. 在上述缓冲液中加入酪蛋白0.1~0.3% (质量体积比)、硫酸镁0.05~0.25% (质量体积比)、复合酶稳定剂DPD 0.5~3% (体积比) 搅拌溶解、定容并混匀即可得稀释液;

[0092] 3. 将制得的抗体标记辣根过氧化物酶后,根据其生物活性,按比例加入稀释液中,即可制得含有标记的鼠源单克隆抗体的稀释液。

[0093] 实施例1.

[0094] 根据以上材料与方法所述,制备鼠源单克隆抗体、经胃蛋白酶处理的鼠源单克隆抗体、以及经凝胶过滤层析纯化的经处理鼠源单克隆抗体。对这些样品进行SDS-PAGE电泳,电泳结果示于图1。图中,M泳道为高分子Marker,分子量由上往下依次是97.2KD,66.4KD,44.3KD,29.0KD,20.1KD;1-6号泳道为凝胶过滤层析时不同时间收集的抗体;7号泳道为完整的鼠源单克隆抗体;8号泳道为经试验验证有较好检测结果的抗体留样;9号泳道为经胃蛋白酶处理后未经凝胶过滤纯化的抗体。

[0095] 具体地说,电泳图谱中,66.4KD附近的条带是完整的鼠源单克隆抗体长链,44.3KD附近的条带是经胃蛋白酶处理的鼠源单克隆抗体长链,20.1KD附近的条带是胃蛋白酶处理得到的杂蛋白等等。

[0096] 使用1号泳道对应的抗体溶液标记辣根过氧化物酶后,使用本发明所述配方配制成的稀释液稀释至工作浓度。检测HAMA样本、RF样本,以及阳性质控品,结果如下表所示:

[0097]

样本	标准	原工艺	本发明工艺	
公司内部质控标准品	1 [#]	s/cov>1	13.8	14.3
	2 [#]	s/cov>1	7.5	8.0
	3 [#]	s/cov>1	3.6	3.5
卫生部临检中心标准品	2NCU/ml	s/cov>1	3.2	3.4

[0098]

	阴性样品	15份标本全部阴性	15份阴性	15份阴性
中国食品药品检定研究院标准品	阳性样品	10份标本至少9份阳性	9份阳性	9份阳性
	1 [#] 1:128	s/cov>1	5.5	5.6
	2 [#] 1:256	s/cov>1	3.5	3.6
	3 [#] 1:64	s/cov>1	1.8	1.8
RF样本	1 [#]	s/cov<1	1.8	0.2
	2 [#]	s/cov<1	5.4	0.1
HAMA标本	1 [#]	s/cov<1	2.9	0.0
	2 [#]	s/cov<1	5.7	0.0
	3 [#]	s/cov<1	27.6	0.8
	4 [#]	s/cov<1	12.4	0.0
	5 [#]	s/cov<1	18.8	0.0
	6 [#]	s/cov<1	3.2	0.0

[0099] 注:各项数值为s/cov的值,≥1为阴性,<1为阳性。

[0100] 其中:

[0101] 1-4[#]HAMA样本为公司内部样本,使用表中原工艺从健康人群样本中筛选得到;

[0102] 5-6[#]为Roche公司提供的样本,分别为:HAMA Serum,TYPE I(货号:11767275103)以及HAMA Serum,TYPE II(货号:05167060103);

[0103] RF样本来自SeraCare,货号分别为:9248590和9268426。

[0104] 由表中数据可见,按照本发明所述的方法制备得到的试剂,在检测阳性样本时(分别来自卫生部临检中心、中国食品药品检定研究院以及我公司内部标准品),检测值基本无差异,从而能够满足阳性样本检测要求。

[0105] 在检测疑问样本时(包括RF样本和HAMA样本),检测值均降至临界值以下,即,检测为阴性结果。

[0106] 因此,本发明的方法可以有效地降低疑问样本的检测值,并消除了假阳性的结果。

[0107] 对比例

[0108] 发明人进一步利用其它蛋白酶处理鼠源单克隆抗体。当利用得到的鼠源单克隆抗体检测疑问样本时(包括RF样本和HAMA样本),得到假阳性结果。

[0109] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

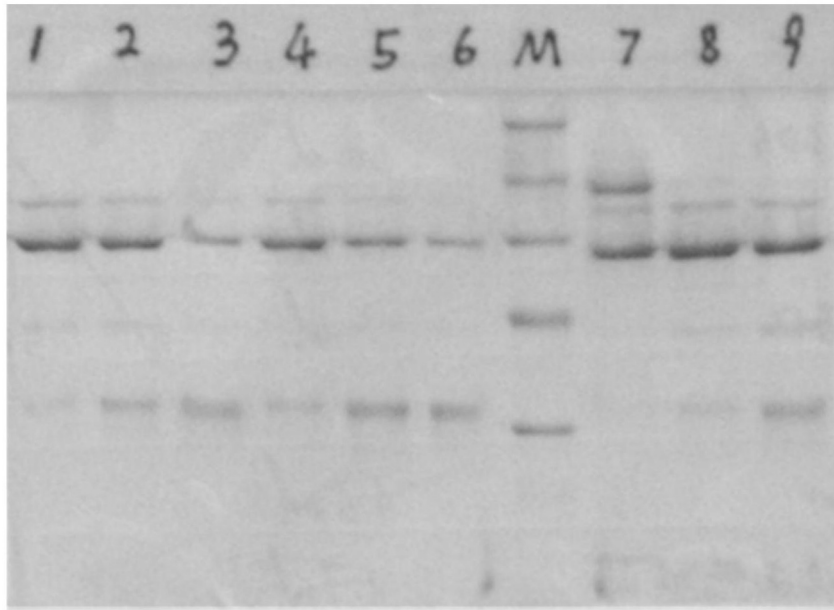


图1

专利名称(译)	提高免疫试剂检测特异性的方法及其应用		
公开(公告)号	CN106771216B	公开(公告)日	2019-06-25
申请号	CN201611090413.9	申请日	2016-12-01
[标]申请(专利权)人(译)	上海科华生物工程股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海科华生物工程股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海科华生物工程股份有限公司		
[标]发明人	夏泽 张巍佳 沈丹 李基		
发明人	夏泽 张巍佳 沈丹 李基		
IPC分类号	G01N33/577 G01N33/535 G01N33/533 G01N33/532		
CPC分类号	G01N33/532 G01N33/533 G01N33/535 G01N33/577		
代理人(译)	崔佳佳 陆凤		
其他公开文献	CN106771216A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种免疫检测的方法，所述方法先利用胃蛋白酶处理鼠源单克隆抗体，再利用经处理得到的鼠源单克隆抗体进行免疫检测。本发明的免疫检测方法显著减少免疫检测的假阳性结果。同时，配套使用本发明的稀释液，可进一步降低假阳性样本的检测值，同时提高经处理的鼠源单克隆抗体标记物在工作浓度保存时的生物学稳定性。所述稀释液是4-羟乙基哌嗪乙磺酸缓冲液，其中含有酪蛋白、硫酸镁和复合酶稳定剂DPD，以氢氧化钠溶液调整pH至7.0~8.0。

	样本	标准	原工艺	本发明工艺
公司内部质控标准品	1 [#]	s/cov>1	13.8	14.3
	2 [#]	s/cov>1	7.5	8.0
	3 [#]	s/cov>1	3.6	3.5
卫生部临检中心标准品	2NCU/ml	s/cov>1	3.2	3.4