



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109342731 A

(43)申请公布日 2019.02.15

(21)申请号 201811496854.8

(22)申请日 2018.12.07

(71)申请人 江苏省原子医学研究所

地址 214063 江苏省无锡市钱荣路20号

申请人 无锡市江原实业技贸总公司

(72)发明人 张艺 范俊 周彬 张珏 韩婷婷
谢敏浩

(74)专利代理机构 北京三聚阳光知识产权代理有限公司 11250

代理人 李静

(51)Int.Cl.

G01N 33/574(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

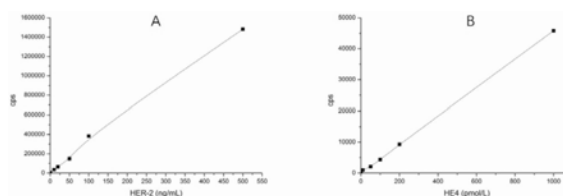
权利要求书1页 说明书9页
序列表8页 附图1页

(54)发明名称

同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒

(57)摘要

本发明属于免疫测定技术领域,具体涉及同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒及用途,所述的试剂盒包括:含有示踪物标记HER-2抗体和示踪物标记HE4抗体的试剂;上述采用示踪物标记的HER-2抗体和示踪物标记的HE4抗体可以高度特异性的与妇科肿瘤标志物HER-2或HE4抗原结合,进而可以利用所述试剂盒,采用双标记时间分辨荧光免疫分析方法能够同时检测人HER-2和HE4两个肿瘤标志物,有助于乳腺癌、卵巢癌和子宫内膜癌的同时分析,从而提高了筛查和临床判读的效率。基于该试剂盒一次操作可获得两个结果,因而,提高了检验效率,减少了单独检验造成的误差,有利于妇科肿瘤的筛查和诊断。



1. 一种同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒,其特征在于:含有示踪物标记HER-2抗体和示踪物标记HE4抗体的试剂。

2. 根据权利要求1所述的试剂盒,其特征在于,包括各自独立包装的:含有示踪物标记第一HER-2抗体和示踪物标记第一HE4抗体的试剂、采用第二HER-2抗体和第二HE4抗体包被的抗体包被板、采用HER-2和HE4抗原制备成系列浓度的校准品溶液、反应缓冲液、浓缩洗板液和/或增强液。

3. 根据权利要求1或2所述的试剂盒,其特征在于,所述示踪物为含有镧系元素的物质。

4. 根据权利要求3所述的试剂盒,其特征在于,所述镧系元素包括但不限于铈、钐、铽或镱。

5. 根据权利要求3所述的试剂盒,其特征在于,所述镧系元素为铈和钐。

6. 根据权利要求2所述的试剂盒,其特征在于,校准品溶液中HER-2抗原系列浓度范围为0-1000ng/mL,优选的,为0-500ng/mL;校准品溶液中HE4抗原系列浓度范围为0-20000pmol/L,优选的,为0-1000pmol/L;优选的,反应缓冲液含有质量浓度为0.1-1%的牛血清白蛋白,优选的,含质量浓度为0.2%的牛血清白蛋白;优选的,所述浓缩洗板液含有体积浓度为1-10%的表面活性剂,优选的,含体积浓度为5%的表面活性剂;优选的,所述增强液为含有 β -二酮体、三辛基氧化膦和醋酸的溶液。

7. 根据权利要求1-6任一项所述的试剂盒,其特征在于,所述第一HER-2抗体或第二HER-2抗体由如下任一抗原多肽制备而成,且制备所述第二HER-2抗体与所述第一HER-2抗体的抗原多肽不同:

(1) 所述抗原多肽如SEQ ID NO:1所示;或

(2) 所述抗原多肽如SEQ ID NO:2所示。

8. 根据权利要求1-7任一项所述的试剂盒,其特征在于,所述第一HE4抗体或第二HE4抗体由如下任一抗原多肽制备而成,且制备所述第一HE4抗体与第二HE4抗体的抗原多肽不同:

(1) 所述抗原多肽如SEQ ID NO:3所示;或

(2) 所述抗原多肽如SEQ ID NO:4所示。

9. 根据权利要求1-8任一项所述的试剂盒,其特征在于,所述试剂盒中试剂的组分为:

所述含有示踪物标记HER-2抗体和示踪物标记HE4抗体的试剂,2mL;

所述HER-2抗体和HE4抗体的抗体包被板;

6×所述校准品溶液,每瓶1mL;

所述的反应缓冲液,50mL;

所述的浓缩洗板液,40mL;或

所述的增强液,30mL。

10. 权利要求1-9任一项所述的同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒在体外诊断或检测妇科肿瘤中的用途。优选的,所述妇科肿瘤包括乳腺癌、卵巢癌和子宫内膜癌。

同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒

技术领域

[0001] 本发明属于免疫测定技术领域,具体涉及一种同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒及用途。

背景技术

[0002] 癌症已经成为威胁公众健康的重大问题。近年来,与男性相比,中国女性肿瘤发病率呈现年均2.2%的显著增长。其中,女性特发的乳腺癌、卵巢癌和子宫癌的发病率和死亡率逐年上升,乳腺癌占女性新发癌症的15%,子宫癌占3.6%,卵巢癌占3%,城市发病率较农村明显升高。为应对中国妇女特发性肿瘤乳腺癌、卵巢癌和子宫癌的高发现状,早发现、早诊断和早治疗是提高患者生存率的有效手段之一。基于肿瘤标志物的血清学检测具有快捷有效和简单易行的显著优势,其已经成为癌症早期筛查、检测和随访的重要手段。

[0003] 新发现的肿瘤标志物使得肿瘤的靶向性、准确性提高,有助于增加诊断效率。作为一种新型的肿瘤标志物,人附睾蛋白4(human epididymis protein 4,HE4)在正常卵巢组织上皮中不表达,而在卵巢癌、子宫癌组织中高表达,在癌旁组织、正常组织及良性肿瘤中不同程度的低水平表达,是卵巢、子宫恶性肿瘤诊断及鉴别的重要指标。美国国立卫生研究院将HE4的检测作为筛查盆腔肿块良恶性的重要手段。与常规的筛查指标CA125比较,HE4蛋白在上皮性卵巢癌中100%表达,良性肿瘤患者中,8%呈阳性,而CA125阳性率29%;在子宫内膜异位症患者中,前者有3%,后者却高达67%,假阳性率显著。因此,HE4在子宫内膜癌和卵巢癌筛查中的价值明显优于传统的CA125。人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2,HER-2)在人类乳腺癌等肿瘤中,呈现过度表达,且HER-2阳性者的复发率、转移率均高于阴性乳腺癌患者。2014年中国乳腺癌检测指南告知:正确检测和评定HER-2表达水平,对乳腺癌的临床诊断、治疗和预后判断至关重要。

[0004] 目前,国内有HER-2免疫组织化学诊断试剂盒,如中国专利200410020546.X中公开的乳腺癌的HER-2免疫组织化学诊断试剂盒;有HE4的酶联免疫试剂盒,如中国专利201410348798.9中公开的一种用于检测HE4的酶联免疫试剂盒。上述试剂盒存在仅能检测单一的妇科肿瘤标志物的缺陷,前者仅针对乳腺癌的检测,后者仅针对卵巢癌、子宫癌开展检测,造成人妇科肿瘤的临床诊断、治疗和预后判断需要花费时间多,效率低。同时上述试剂盒灵敏度和特异性不高,多次单独检测容易产生较大的误差,继而导致检测结果可信度低。

发明内容

[0005] 因此,本发明要解决的技术问题在于现有检测妇科肿瘤标志物的试剂盒仅能定量或半定量测试,且进行HER-2和HE4检测必须进行两次实验等,进而本发明提供了一种同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒。

[0006] 为此,本发明提供了一种同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒,包括:含有示踪物标记HER-2抗体和示踪物标记HE4抗体的试剂。

[0007] 在所述的试剂盒中,包括各自独立包装的:含有示踪物标记第一HER-2抗体和示踪物标记第一HE4抗体的试剂、采用第二HER-2抗体和第二HE4抗体包被的抗体包被板、采用HER-2和HE4抗原制备成系列浓度的校准品溶液、反应缓冲液、浓缩洗板液和/或增强液。

[0008] 在所述的试剂盒中,所述示踪物为含镧系元素的物质。

[0009] 在所述的试剂盒中,所述镧系元素包括但不限于铈、钐、铽或镱。

[0010] 在所述的试剂盒中,所述镧系元素为铈和钐。

[0011] 在所述的试剂盒中,校准品溶液中HER-2抗原系列浓度范围为0-1000ng/mL,优选的,为0-500ng/mL;校准品溶液中HE4抗原系列浓度范围为0-20000pmol/L,优选的,为0-1000pmol/L;优选的,反应缓冲液含有质量浓度为0.1-1%的牛血清白蛋白,优选的,含质量浓度为0.2%的牛血清白蛋白;优选的,所述浓缩洗板液含有体积浓度为1-10%的表面活性剂,优选的,含体积浓度为5%的表面活性剂;优选的,所述增强液为含有 β -二酮体、三辛基氧化膦和醋酸的溶液。

[0012] 在所述的试剂盒中,所述第一HER-2抗体或第二HER-2抗体由如下任一抗原多肽制备而成,且制备所述第一HER-2抗体与第二HER-2抗体的抗原多肽不同:

[0013] (1) 所述抗原多肽如SEQ ID NO:1所示;或

[0014] (2) 所述抗原多肽如SEQ ID NO:2所示。

[0015] 在所述的试剂盒中,所述第一HE4抗体或第二HE4抗体由如下任一抗原多肽制备而成,且制备所述第一HE4抗体与第二HE4抗体的抗原多肽不同:

[0016] (1) 所述抗原多肽如SEQ ID NO:3所示;或

[0017] (2) 所述抗原多肽如SEQ ID NO:4所示。

[0018] 在所述的试剂盒中,所述试剂盒中试剂的组分为:

[0019] 所述含有示踪物标记HER-2抗体和示踪物标记HE4抗体的试剂,2mL;

[0020] 所述HER-2抗体和HE4抗体的抗体包被板;

[0021] 6×所述校准品溶液,每瓶1mL;

[0022] 所述的反应缓冲液,50mL;

[0023] 所述的浓缩洗板液,40mL;或

[0024] 所述的增强液,30mL。

[0025] 本发明提供了同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒在体外诊断或检测妇科肿瘤中的用途。优选的,所述妇科肿瘤包括乳腺癌、卵巢癌和子宫内膜癌。

[0026] 本发明技术方案,具有如下优点:

[0027] 1、本发明提供的检测妇科肿瘤标志物的试剂盒,包括含有示踪物标记HER-2抗体和示踪物标记HE4抗体的试剂;上述采用示踪物标记的HER-2抗体和示踪物标记的HE4抗体可以分别高度特异性的与妇科肿瘤标志物HER-2和HE4抗原结合,进而可以利用所述试剂盒,采用双标记时间分辨荧光免疫分析方法能够同时检测人HER-2和HE4两个肿瘤标志物,有助于乳腺癌、卵巢癌和子宫内膜癌的同时检验,进而提高了筛查和临床判读的效率。基于该试剂盒,一次操作可获得两个结果,因而,提高了检验效率,减少了单独检验造成的误差,有利于妇科肿瘤的筛查和诊断。

[0028] 2、本发明提供的检测妇科肿瘤标志物的试剂盒,所述第一HER-2抗体或第二HER-2抗体由如下任一抗原多肽制备而成,且制备所述第一HER-2抗体与第二HER-2抗体的抗

原多肽不同：(1)所述抗原多肽如SEQ ID NO:1所示；或(2)所述抗原多肽如SEQ ID NO:2所示；SEQ ID NO:1选自HER-2的第23-1255位氨基酸序列，SEQ ID NO:2选自HER-2的第23-640位氨基酸序列，上述两抗原多肽具有良好的抗原性、高活性和高特异性，通过其制备的HER-2抗体能够高度特异性的与妇科肿瘤标志物HER-2抗原结合，其特异性结合能力显著高于普通的HER-2单克隆抗体与HER-2抗原的结合能力，将其应用到妇科肿瘤标志物HER-2的检测，可以提高检测灵敏度、特异性，最大程度上减少背景噪音，进一步提高结果可信度。

[0029] 3、本发明提供的检测妇科肿瘤标志物试剂盒，所述第一HE4抗体或第二HE4抗体由如下任一抗原多肽制备而成，且制备所述第一HE4抗体与第二HE4抗体的抗原多肽不同：(1)所述抗原多肽如SEQ ID NO:3所示；或(2)所述抗原多肽如SEQ ID NO:4所示；SEQ ID NO:3选自HE4的第31-124位氨基酸序列，SEQ ID NO:4选自HE4的第32-123位氨基酸序列，上述两多肽片段具有良好的抗原性、高活性和高特异性，通过其制备的HE4抗体可以高度特异性的与妇科肿瘤标志物HE4抗原结合，其特异性结合能力显著高于普通的HE4单克隆抗体与HE4抗原的结合能力，因此，将其应用到妇科肿瘤标志物HE4的检测，可以提高检测灵敏度、特异性，最大程度上减少背景噪音，进一步的提高结果可信度。

附图说明

[0030] 为了更清楚地说明本发明具体实施方式或现有技术中的技术方案，下面将对具体实施方式或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍，显而易见地，下面描述中的附图是本发明的一些实施方式，对于本领域普通技术人员来讲，在不付出创造性劳动的前提下，还可以根据这些附图获得其他的附图。

[0031] 图1是实验例1中HER-2和HE4的标准曲线；

[0032] 图2是实验例2中HER-2和HE4的标准曲线。

具体实施方式

[0033] 下述实施例中涉及试剂或仪器的均为市售产品，不同厂家的产品在技术效果上并不会带来明显差别，其中 Eu^{3+} -N₂-[P-异氰酸-苄基]-二乙烯三胺四乙酸钠、 Sm^{3+} -N₂-[P-异氰酸-苄基]-二乙烯三胺四乙酸钠，购自美国PE公司；

[0034] 待测血清由江苏省江原医院提供；

[0035] 如SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4所示氨基酸序列委托上海生工公司合成；

[0036] HER-2抗原、HE4抗原、Tween-20、Triton X-100和BSA，均购自Sigma公司；

[0037] 交联琼脂糖凝胶6B柱，购自美国GE公司；

[0038] 时间分辨荧光免疫分析仪，美国PE公司，型号Auto DELFIA 1235。

[0039] 实施例1HER-2-T抗体和HE4-T抗体的制备

[0040] 分别利用SEQ ID NO:1和SEQ ID NO:2所示氨基酸序列作为HER-2-T-1抗原和HER-2-T-2抗原免疫动物，从而利用上述抗原制备特异性的HER-2-T-1和HER-2-T-2抗体。同理，分别利用SEQ ID NO:3和SEQ ID NO:4所示氨基酸序列作为HE4-T-1抗原和HE4-T-2抗原免疫动物，从而利用上述抗原制备特异性的HE4-T-1和HE4-T-2抗体。HER-2-T-1和HER-2-T-2简称为HER-2-T-1/2，HE4-T-1和HE4-T-2简称为HE4-T-1/2。

[0041] 1. 免疫动物制备单克隆抗体:

[0042] 1.1. 取上述的HER-2-T-1抗原、HER-2-T-2抗原、HE4-T-1抗原和HE4-T-2抗原(免疫原)分别与等体积的弗氏完全佐剂(购自Sigma公司)充分混合后,免疫Balb/c小鼠,50 μ g抗原/只,皮下多点注射。4周后测血清效价,选择免疫反应性好的小鼠再加强免疫:取抗原与等体积的弗氏不完全佐剂(购自Sigma公司)充分混合后,抗原剂量25 μ g/只,皮下多点注射,加强免疫的次数为3次;再连续冲击免疫两次,之后取脾细胞与Sp2/0骨髓瘤细胞按常规方法用50%PEG(MW4000)(购自中原化工公司)介导进行融合,并用HAT条件培养基(购自Sigma公司)选择培养。融合后放入CO₂培养箱中37℃培养9~11天后,孔内出现较大的细胞克隆。11天开始用间接ELISA进行筛选。对初筛阳性的孔利用有限稀释法进行4次克隆化培养(即使筛选后的细胞大量分裂繁殖),之后扩增细胞、冻存。

[0043] 1.2. 制备腹水:将Balb/c小鼠用降植烷(购自Sigma公司)0.5ml/只处理,一周后腹腔接种杂交瘤细胞2 \times 10⁶个/只,10天后收集腹水。

[0044] 1.3. 测定抗体效价:用间接ELISA方法测定利用HER-2-T-1抗原制备的HER-2-T-1单克隆抗体的效价,结果显示单抗的效价达到1:33000以上。

[0045] 同理,测得利用HER-2-T-2抗原制备的HER-2-T-2单克隆抗体的效价达到1:33000以上;利用HE4-T-1抗原制备的HE4-T-1单克隆抗体的效价达到1:33000以上;利用HE4-T-2抗原制备的HE4-T-2单克隆抗体的效价达到1:33000以上。

[0046] 2. 免疫动物制备多克隆抗体:

[0047] 2.1. 选用三个月龄、体重约为2kg左右的新西兰白兔作为免疫动物。基础免疫中,将1-2mg上述制备的HER-2-T-1抗原、HER-2-T-2抗原、HE4-T-1抗原和HE4-T-2抗原(免疫原)分别与等体积的弗氏完全佐剂混合,充分乳化后在兔子背部进行多点皮下注射。每隔4周加强免疫一次,抗原与不完全弗氏佐剂充分乳化后,以100 μ g/只于背部多点皮下注射。末次加强免疫后第10天颈动脉插管取血,分离血清。

[0048] 2.2. 测定抗体效价:用间接ELISA法测定利用HER-2-T-1抗原制备的HER-2-T-1多克隆抗体的效价,结果显示抗体效价达到1:30000以上。

[0049] 同理,测得利用HER-2-T-2抗原制备的HER-2-T-2多克隆抗体的效价达到1:30000以上;利用HE4-T-1抗原制备的HE4-T-1多克隆抗体的效价达到1:30000以上;利用HE4-T-2抗原制备的HE4-T-2多克隆抗体的效价达到1:30000以上。

[0050] 3. 分离纯化抗体:腹水/血清经硫酸铵沉淀后,再经Protein G(购自Sigma公司)亲和纯化。

[0051] 4. 抗体分装后冻干,低温保存。

[0052] 实施例2:人HER-2-T-1/2抗体和HE4-T-1/2抗体的特异性鉴定

[0053] 以ELISA进行检测。分别以人HER-2、人HE4、癌胚抗原(CEA)、神经元特异性烯醇化酶(NSE)(均购自Sigma公司)为检测抗原包被ELISA板,再分别检测所制备的HER-2-T-1/2单克隆抗体和HE4-T-1/2单克隆抗体与抗原板的特异性反应,以正常BALB/c小鼠血清作阴性对照,PBS液作空白对照。

[0054] 结果:HER-2-T-1/2单克隆抗体只与HER-2反应为阳性(P/N>2.1),HE4-T-1/2单克隆抗体只与HE4反应为阳性(P/N>2.1),而与CEA、NSE反应为阴性,说明本发明的HER-2-T-1/2单克隆抗体和HE4-T-1/2单克隆抗体具有特异性。

[0055] 利用上述方法鉴定HER-2-T-1/2多克隆抗体和HE4-T-1/2多克隆抗体的特异性,结果为HER-2-T-1/2多克隆抗体只与HER-2反应为阳性($P/N > 2.1$),HE4-T-1/2多克隆抗体只与HE4反应为阳性($P/N > 2.1$),而与CEA、NSE反应为阴性,说明本发明的HER-2-T-1/2多克隆抗体和HE4-T-1/2多克隆抗体具有特异性。

[0056] 实施例3同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4试剂盒的制备

[0057] 本实施例提供了一种同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒,包括各自独立包装的:含有镧系元素标记HER-2-T-1抗体和镧系元素标记HE4-T-1抗体的试剂、采用HER-2-T-2抗体和HE4-T-2抗体包被的抗体包被板、采用HER-2和HE4抗原制备成系列浓度的校准品溶液、反应缓冲液、浓缩洗板液和/或增强液。

[0058] 镧系元素标记HER-2-T-1抗体溶液(Eu-HER-2-T)的制备:向1mg HER-2-T-1单克隆抗体中加入0.2mg铕标记试剂(Eu^{3+} - N_2 -[P-异氰酸-苄基]-二乙烯三胺四乙酸钠),混合后于30℃磁力搅拌20小时。次日,将该混合物经交联琼脂糖凝胶6B柱层析,按照1ml/管的流速收集洗脱液,测定每管的Eu荧光强度,收集第一个Eu洗脱峰,将获得的Eu-HER-2-T溶液按照体积比1:200稀释。

[0059] 镧系元素标记HE4-T-1抗体溶液(Sm-HE4-T)的制备:取1mg HE4-T-1单克隆抗体加入0.2mg的钐标记试剂(Sm^{3+} - N_2 -[P-异氰酸-苄基]-二乙烯三胺四乙酸钠),于30℃磁力搅拌20小时。之后,将该混合物经交联琼脂糖凝胶6B柱层析,按照1ml/管的流速收集洗脱液,测定每管的Sm荧光强度,收集第一个Sm洗脱峰,将获得的Sm-HE4-T溶液按照体积比1:100稀释。

[0060] 含有镧系元素标记HER-2-T-1抗体和镧系元素标记HE4-T-1抗体的试剂由上述制备的镧系元素标记的HER-2-T-1抗体溶液(Eu-HER-2-T)与镧系元素标记的HE4-T-1抗体溶液(Sm-HE4-T)等体积混合制成,分装后-20℃保存备用。

[0061] 抗体包被板的制备:将HER-2-T-2单克隆抗体和HE4-T-2单克隆抗体用pH9.6的0.05M碳酸盐缓冲液均稀释至5μg/mL,每孔100μL包被过夜;次日弃去包被液,再于每孔加入150μL含有2%BSA的上述碳酸盐缓冲液封闭2小时,随后弃去,真空抽干包被板,-20℃保存。

[0062] HER-2和HE4抗原校准品溶液的制备:校准品是用含有牛血清白蛋白的缓冲液稀释HER-2和HE4抗原成系列浓度制成。所述校准品溶液为含2g/L BSA和1g/L NaN_3 的50mmol/L Tris-HCl反应缓冲液(pH7.8)。将所述HER-2和HE4抗原配制成含所述HER-2抗原浓度为0ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、50ng/mL、100ng/mL、500ng/mL以及含所述HE4抗原浓度为0pmol/L、10pmol/L、50pmol/L、100pmol/L、200pmol/L、1000pmol/L的混合校准品溶液。

[0063] 所述的浓缩洗板液含体积浓度1-10%表面活性剂。在本实施例中,所述的浓缩洗板液为含12.1g/L的Tris,312.43g/L的NaCl,体积浓度5%的Tween-20,以盐酸调节pH至7.8的缓冲溶液。

[0064] 所述增强液为含有β-二酮体、三辛基氧化膦和醋酸的溶液。在本实施例中,所述的增强液为含体积浓度为3.7‰的冰醋酸,0.5g/L的醋酸钠,0.05g/L的β-萘甲酰三氟丙酮,0.03g/L的三辛基氧化膦和和体积浓度为1‰的Triton X-100的混合溶液。

[0065] 所述反应缓冲液含有质量浓度为0.1-1%的牛血清白蛋白。在本实施例中,所述的反应缓冲液为含6.06g/L的Tris,8.8g/L的NaCl,质量浓度为0.2%的BSA,体积浓度为1g/L的 NaN_3 ,以盐酸调节pH至7.8的缓冲溶液。

[0066] 所述试剂盒中试剂的配方为:

[0067] 所述含有示踪物标记HER-2抗体和示踪物标记HE4抗体的试剂, 2mL;

[0068] 所述HER-2抗体和HE4抗体的抗体包被板;

[0069] 6×所述校准品溶液, 每瓶1mL;

[0070] 所述的反应缓冲液, 50mL;

[0071] 所述的浓缩洗板液, 40mL; 或

[0072] 所述的增强液, 30mL。

[0073] 实施例4同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒

[0074] 本实施例提供了一种同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒, 包括各自独立包装的: 含有镧系元素标记HER-2-T-2抗体和镧系元素标记HE4-T-2抗体的试剂、采用HER-2-T-1抗体和HE4-T-1抗体包被的抗体包被板、采用HER-2和HE4抗原制备成系列浓度的校准品溶液、反应缓冲液、浓缩洗板液和/或增强液。

[0075] 镧系元素标记HER-2-T-2抗体溶液 (Eu-HER-2-T) 的制备: 向1mg HER-2-T-2单克隆抗体中加入0.2mg Eu标记试剂 (Eu^{3+} -N₂-[P-异氰酸-苄基]-二乙烯三胺四乙酸钠), 混合后于30℃磁力搅拌20小时。次日, 将该混合物经交联琼脂糖凝胶6B柱层析, 按照1ml/管的流速收集洗脱液, 测定每管的Eu荧光强度, 收集第一个Eu洗脱峰, 将获得的Eu-HER-2-T溶液按照体积比1:200稀释。

[0076] 镧系元素标记HE4-T-2抗体溶液 (Sm-HE4-T) 的制备: 取1mg HE4-T-2单克隆抗体加入0.2mg的Sm标记试剂 (Sm^{3+} -N₂-[P-异氰酸-苄基]-二乙烯三胺四乙酸钠), 于30℃磁力搅拌20小时。之后, 将该混合物经交联琼脂糖凝胶6B柱层析层析, 按照1ml/管的流速收集洗脱液, 测定每管的Sm荧光强度, 收集第一个Sm洗脱峰, 将获得的Sm-HE4-T溶液按照体积比1:100稀释。

[0077] 含有镧系元素标记HER-2-T-2抗体和镧系元素标记HE4-T-2抗体的试剂由上述制备的镧系元素标记HER-2-T-2抗体溶液 (Eu-HER-2-T溶液) 与镧系元素标记HE4-T-2抗体溶液 (Sm-HE4-T溶液) 等体积混合制成, 分装后-20℃保存备用。

[0078] 抗体包被板的制备: 将HER-2-T-1单克隆抗体和HE4-T-1单克隆抗体用pH9.6的0.05M碳酸盐缓冲液均稀释至5μg/mL, 每孔100μL包被过夜; 次日弃去包被液, 每孔加入150μL含有2%BSA的上述缓冲液封闭2小时, 随后弃去, 真空抽干包被板, -20℃保存。

[0079] HER-2和HE4抗原校准品溶液的制备: 校准品是用含有牛血清白蛋白的缓冲液稀释HER-2和HE4抗原成系列浓度制备。所述校准品溶液为含2g/L BSA和1g/L NaN₃的50mmol/L Tris-HCl缓冲液 (pH7.8)。将所述HER-2和HE4抗原配制成含所述HER-2抗原浓度为0ng/mL、10ng/mL、20ng/mL、50ng/mL、100ng/mL、500ng/mL以及含所述HE4抗原浓度为0pmol/L、10pmol/L、50pmol/L、100pmol/L、200pmol/L、1000pmol/L的混合校准品溶液。

[0080] 所述的浓缩洗板液含体积浓度1-10%表面活性剂。在本实施例中, 所述的浓缩洗板液为: 含12.1g/L的Tris, 312.43g/L的NaCl, 体积浓度0.5%的Tween-20, 以盐酸调节pH至7.8的缓冲溶液。

[0081] 所述增强液为含有β-二酮体、三辛基氧化膦和醋酸的溶液。在本实施例中, 所述的增强液为含体积浓度为3.7‰的冰醋酸, 0.5g/L的醋酸钠, 0.05g/L的β-萘甲酰三氟丙酮, 0.03g/L的三辛基氧化膦和和体积浓度为1‰的Triton X-100的混合溶液。

[0082] 所述反应缓冲液含有质量浓度为0.1-1%的牛血清白蛋白。在本实施例中,所述的反应缓冲液为含6.06g/L的Tris,8.8g/L的NaCl,质量浓度为0.2%的BSA,体积浓度为1g/L的NaN₃,以盐酸调节pH至7.8的缓冲溶液。

[0083] 所述试剂盒中试剂的配方为:

[0084] 所述含有示踪物标记的HER-2抗体和示踪物标记的HE4抗体试剂,2mL;

[0085] 所述HER-2抗体和HE4抗体的包被板;

[0086] 6×所述校准品溶液,每瓶1mL;

[0087] 所述的反应缓冲液,50mL;

[0088] 所述的浓缩洗板液,40mL;或

[0089] 所述的增强液,30mL。

[0090] 对比例1

[0091] 本对比例1与实施例3基本相同,区别仅在于,将其中的HER-2-T-1抗体和HE4-T-1抗体替换为美国Abcam公司的HER-2抗体、HE4抗体,所述抗体包括单克隆抗体和多克隆抗体。

[0092] 实验例1

[0093] 利用实施例3所述的试剂盒同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的含量,包括如下步骤:

[0094] 样品制备:血清样本为用血清管收集的静脉血,离心取上清使用。

[0095] 洗板液由1瓶浓缩洗板液(40mL)加蒸馏水至1L混匀制成。

[0096] 分别取所述校准品溶液和待测样品各50μL,以及50μL反应缓冲液,25℃反应1小时,用洗板液洗涤4次;再加入100μL含有镧系元素标记HER-2-T-1抗体和镧系元素标记HE4-T-1抗体的试剂(Eu-HER-2-T和Sm-HE4-T抗体的混合液),25℃反应1小时,用洗板液洗涤6次,每孔加入100μL增强液,振荡5分钟后,用时间分辨荧光免疫分析仪器检测荧光信号值,分别获得所述校准品溶液和待测样品的荧光值,校准品溶液中的检测结果见下表1、2,然后根据所述校准品溶液的浓度和所述浓度的所述校准品溶液对应的荧光值绘制标准曲线,以荧光信号值为纵坐标,校准品溶液中对应的HER-2抗原或HE4抗原的浓度为横坐标,拟合标准曲线,HER-2标准曲线见图1-A,HE4标准曲线见图1-B,然后将所述待测样品检测得到的荧光值分别为HER-2(24135、101195、435217),HE4(1266、3571、18435)代入对应的所述HER-2或HE4标准曲线中,计算得到所述待测样品中HER-2含量分别为6.4ng/mL、30.5ng/mL、139ng/mL,HE4的含量分别为22.7pmol/L、83.8pmol/L、387.2pmol/L。

[0097] 表1HER-2校准品的检测结果

[0098]

HER-2 校准品 浓度 (ng/mL)	荧光值					
	1	2	3	均值	标准差	变异系数
0	2713	2895	2980	2863	136	4.76%
10	36691	34960	37709	36453	1390	3.81%
20	65921	64013	64428	64787	1003	1.55%
50	146820	158912	140419	148717	9391	6.31%
100	371212	387160	390404	382925	10273	2.68%
500	1427450	1581903	1440017	1483123	85776	5.78%

[0099] 表2HE4校准品的检测结果

[0100]

HE4 校准品浓度 (pmol/L)	荧光值					
	1	2	3	均值	标准差	变异系数
0	213	200	222	212	11	5.23%
10	1068	985	939	997	65	6.56%
50	2074	1984	2208	2089	113	5.40%
100	4303	4310	4467	4360	93	2.13%
200	9515	8912	9513	9313	348	3.73%
1000	47867	43990	45670	45842	1944	4.24%

[0101] 实验例2

[0102] 利用对比例1的试剂盒,按照实验例1的方法同时检测实验例1中的待测样品中妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的含量,用时间分辨荧光免疫分析仪器检测荧光信号值,分别获得所述校准品溶液和待测样品的荧光值,校准品溶液中的检测结果见下表3、4,然后根据所述校准品溶液的浓度和其对应的荧光值绘制标准曲线,以荧光信号值为纵坐标,校准品溶液中对应的HER-2抗原或HE4抗原的浓度为横坐标,拟合标准曲线,HER-2标准曲线见图2-A, HE4标准曲线见图2-B,然后将所述待测样品检测得到的荧光值分别为HER-2 (16228、37910、165219), HE4 (783、2671、8435),代入对应的所述HER-2或HE4标准曲线中,计算得到所述待测样品中HER-2含量分别为5.4ng/mL、26.4ng/mL、117.1ng/mL, HE4的含量分别为15.9pmol/L、74.1pmol/L、328.1pmol/L。

[0103] 表3HER-2校准品的检测结果

[0104]

HER-2 校准品 浓度 (ng/mL)	荧光值					
	1	2	3	均值	标准差	变异系数
0	12207	11690	10573	11490	835	7.27%
10	21095	20099	19584	20259	768	3.79%
20	27935	29763	30132	29277	1176	4.02%
50	76321	77070	75031	76141	1031	1.35%
100	149905	140775	138570	143083	6010	4.20%
500	602713	699213	595782	632569	57819	9.14%

[0105] 表4HE4校准品的检测结果

[0106]

HE4 校准品浓度 (pmol/L)	荧光值					
	1	2	3	均值	标准差	变异系数
0	200	210	214	208	7	3.47%
10	300	270	281	284	15	5.35%
50	1755	1795	1917	1822	84	4.63%
100	3191	3076	3570	3279	258	7.88%
200	5752	5234	5619	5535	269	4.86%
1000	24363	23501	27890	25251	2325	9.21%

[0107] 实验例3

[0108] 样品制备：血清样本为用血清管收集的静脉血，离心取上清使用（与实验例1中的样品相同）。

[0109] 采用HER-2和HE4电化学发光法（ECLI）（试剂盒购自罗氏公司）和实验例1中的方法检测所述待测样品，重复三次，验证本发明试剂盒的正确性，结果见下表5。

[0110] 表5检测结果

[0111]

HER-2	低值样本		中值样本		高值样本	
	ECLI	本试剂盒	ECLI	本试剂盒	ECLI	本试剂盒
1	7.3	7.5	30.1	31.1	135.4	136.3
2	6.8	5.5	32.5	29.4	140.9	147.5
3	7.1	6.3	30.7	30.9	132.3	133.3
均值	7.1	6.4	31.1	30.5	136.2	139.0
误差	109.84%		102.08%		97.96%	
HE4	低值样本		中值样本		高值样本	

[0112]

	ECLI	本试剂盒	ECLI	本试剂盒	ECLI	本试剂盒
1	23.7	23.5	81.2	90.5	372.3	364.2
2	25.2	22	80.5	79	401.5	398.5
3	23.4	22.6	77.3	81.9	381.9	399
均值	24.1	22.7	79.7	83.8	385.2	387.2
误差	106.17%		95.07%		99.48%	

[0113] 显然，上述实施例仅仅是为清楚地说明所作的举例，而并非对实施方式的限定。对于所属领域的普通技术人员来说，在上述说明的基础上还可以做出其它不同形式的变化或变动。这里无需也无法对所有的实施方式予以穷举。而由此所引申出的显而易见的变化或变动仍处于本发明创造的保护范围之内。

SEQUENCE LISTING

<110> 江苏省原子医学研究所

<120> 同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒

<130> WXHA201800203

<160> 4

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 1233

<212> PRT

<213> 人工合成

<400> 1

```

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

```

210	215	220
Pro Lys His Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu His Phe Asn His Ser Gly		
225	230	235
Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val Thr Tyr Asn Thr Asp Thr		240
245	250	255
Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ser		
260	265	270
Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu Ser Thr Asp Val Gly Ser		
275	280	285
Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln Glu Val Thr Ala Glu Asp		
290	295	300
Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys Pro Cys Ala Arg Val Cys		
305	310	315
Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu Val Arg Ala Val Thr Ser		
325	330	335
Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys Lys Ile Phe Gly Ser Leu		
340	345	350
Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp Pro Ala Ser Asn Thr Ala		
355	360	365
Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe Glu Thr Leu Glu Glu Ile		
370	375	380
Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro Asp Ser Leu Pro Asp Leu		
385	390	395
Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg Gly Arg Ile Leu His Asn		
405	410	415
Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu Gly Ile Ser Trp Leu Gly		
420	425	430
Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly Leu Ala Leu Ile His His		
435	440	445
Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val Pro Trp Asp Gln Leu Phe		
450	455	460
Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr Ala Asn Arg Pro Glu Asp		
465	470	475
Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His Gln Leu Cys Ala Arg Gly		
485	490	495
His Cys Trp Gly Pro Gly Pro Thr Gln Cys Val Asn Cys Ser Gln Phe		
500	505	510
Leu Arg Gly Gln Glu Cys Val Glu Glu Cys Arg Val Leu Gln Gly Leu		
515	520	525

Pro Arg Glu Tyr Val Asn Ala Arg His Cys Leu Pro Cys His Pro Glu		
530	535	540
Cys Gln Pro Gln Asn Gly Ser Val Thr Cys Phe Gly Pro Glu Ala Asp		
545	550	555 560
Gln Cys Val Ala Cys Ala His Tyr Lys Asp Pro Pro Phe Cys Val Ala		
	565	570 575
Arg Cys Pro Ser Gly Val Lys Pro Asp Leu Ser Tyr Met Pro Ile Trp		
	580	585 590
Lys Phe Pro Asp Glu Glu Gly Ala Cys Gln Pro Cys Pro Ile Asn Cys		
	595	600 605
Thr His Ser Cys Val Asp Leu Asp Asp Lys Gly Cys Pro Ala Glu Gln		
	610	615 620
Arg Ala Ser Pro Leu Thr Ser Ile Ile Ser Ala Val Val Gly Ile Leu		
625	630	635 640
Leu Val Val Val Leu Gly Val Val Phe Gly Ile Leu Ile Lys Arg Arg		
	645	650 655
Gln Gln Lys Ile Arg Lys Tyr Thr Met Arg Arg Leu Leu Gln Glu Thr		
	660	665 670
Glu Leu Val Glu Pro Leu Thr Pro Ser Gly Ala Met Pro Asn Gln Ala		
	675	680 685
Gln Met Arg Ile Leu Lys Glu Thr Glu Leu Arg Lys Val Lys Val Leu		
690	695	700
Gly Ser Gly Ala Phe Gly Thr Val Tyr Lys Gly Ile Trp Ile Pro Asp		
705	710	715 720
Gly Glu Asn Val Lys Ile Pro Val Ala Ile Lys Val Leu Arg Glu Asn		
	725	730 735
Thr Ser Pro Lys Ala Asn Lys Glu Ile Leu Asp Glu Ala Tyr Val Met		
	740	745 750
Ala Gly Val Gly Ser Pro Tyr Val Ser Arg Leu Leu Gly Ile Cys Leu		
	755	760 765
Thr Ser Thr Val Gln Leu Val Thr Gln Leu Met Pro Tyr Gly Cys Leu		
770	775	780
Leu Asp His Val Arg Glu Asn Arg Gly Arg Leu Gly Ser Gln Asp Leu		
785	790	795 800
Leu Asn Trp Cys Met Gln Ile Ala Lys Gly Met Ser Tyr Leu Glu Asp		
	805	810 815
Val Arg Leu Val His Arg Asp Leu Ala Ala Arg Asn Val Leu Val Lys		
	820	825 830
Ser Pro Asn His Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Arg Leu Leu		

835	840	845
Asp Ile Asp Glu Thr Glu Tyr His Ala Asp Gly Gly Lys Val Pro Ile		
850	855	860
Lys Trp Met Ala Leu Glu Ser Ile Leu Arg Arg Arg Phe Thr His Gln		
865	870	875
Ser Asp Val Trp Ser Tyr Gly Val Thr Val Trp Glu Leu Met Thr Phe		
885	890	895
Gly Ala Lys Pro Tyr Asp Gly Ile Pro Ala Arg Glu Ile Pro Asp Leu		
900	905	910
Leu Glu Lys Gly Glu Arg Leu Pro Gln Pro Pro Ile Cys Thr Ile Asp		
915	920	925
Val Tyr Met Ile Met Val Lys Cys Trp Met Ile Asp Ser Glu Cys Arg		
930	935	940
Pro Arg Phe Arg Glu Leu Val Ser Glu Phe Ser Arg Met Ala Arg Asp		
945	950	955
Pro Gln Arg Phe Val Val Ile Gln Asn Glu Asp Leu Gly Pro Ala Ser		
965	970	975
Pro Leu Asp Ser Thr Phe Tyr Arg Ser Leu Leu Glu Asp Asp Asp Met		
980	985	990
Gly Asp Leu Val Asp Ala Glu Glu Tyr Leu Val Pro Gln Gln Gly Phe		
995	1000	1005
Phe Cys Pro Asp Pro Ala Pro Gly Ala Gly Gly Met Val His His		
1010	1015	1020
Arg His Arg Ser Ser Ser Thr Arg Ser Gly Gly Gly Asp Leu Thr		
1025	1030	1035
Leu Gly Leu Glu Pro Ser Glu Glu Glu Ala Pro Arg Ser Pro Leu		
1040	1045	1050
Ala Pro Ser Glu Gly Ala Gly Ser Asp Val Phe Asp Gly Asp Leu		
1055	1060	1065
Gly Met Gly Ala Ala Lys Gly Leu Gln Ser Leu Pro Thr His Asp		
1070	1075	1080
Pro Ser Pro Leu Gln Arg Tyr Ser Glu Asp Pro Thr Val Pro Leu		
1085	1090	1095
Pro Ser Glu Thr Asp Gly Tyr Val Ala Pro Leu Thr Cys Ser Pro		
1100	1105	1110
Gln Pro Glu Tyr Val Asn Gln Pro Asp Val Arg Pro Gln Pro Pro		
1115	1120	1125
Ser Pro Arg Glu Gly Pro Leu Pro Ala Ala Arg Pro Ala Gly Ala		
1130	1135	1140

Thr Leu Glu Arg Pro Lys Thr Leu Ser Pro Gly Lys Asn Gly Val		
1145	1150	1155
Val Lys Asp Val Phe Ala Phe Gly Gly Ala Val Glu Asn Pro Glu		
1160	1165	1170
Tyr Leu Thr Pro Gln Gly Gly Ala Ala Pro Gln Pro His Pro Pro		
1175	1180	1185
Pro Ala Phe Ser Pro Ala Phe Asp Asn Leu Tyr Tyr Trp Asp Gln		
1190	1195	1200
Asp Pro Pro Glu Arg Gly Ala Pro Pro Ser Thr Phe Lys Gly Thr		
1205	1210	1215
Pro Thr Ala Glu Asn Pro Glu Tyr Leu Gly Leu Asp Val Pro Val		
1220	1225	1230
<210> 2		
<211> 618		
<212> PRT		
<213> 人工合成		
<400> 2		
Thr Gln Val Cys Thr Gly Thr Asp Met Lys Leu Arg Leu Pro Ala Ser		
1	5	10
Pro Glu Thr His Leu Asp Met Leu Arg His Leu Tyr Gln Gly Cys Gln		
20	25	30
Val Val Gln Gly Asn Leu Glu Leu Thr Tyr Leu Pro Thr Asn Ala Ser		
35	40	45
Leu Ser Phe Leu Gln Asp Ile Gln Glu Val Gln Gly Tyr Val Leu Ile		
50	55	60
Ala His Asn Gln Val Arg Gln Val Pro Leu Gln Arg Leu Arg Ile Val		
65	70	75
Arg Gly Thr Gln Leu Phe Glu Asp Asn Tyr Ala Leu Ala Val Leu Asp		
85	90	95
Asn Gly Asp Pro Leu Asn Asn Thr Thr Pro Val Thr Gly Ala Ser Pro		
100	105	110
Gly Gly Leu Arg Glu Leu Gln Leu Arg Ser Leu Thr Glu Ile Leu Lys		
115	120	125
Gly Gly Val Leu Ile Gln Arg Asn Pro Gln Leu Cys Tyr Gln Asp Thr		
130	135	140
Ile Leu Trp Lys Asp Ile Phe His Lys Asn Asn Gln Leu Ala Leu Thr		
145	150	155
Leu Ile Asp Thr Asn Arg Ser Arg Ala Cys His Pro Cys Ser Pro Met		
165	170	175

Cys Lys Gly Ser Arg Cys Trp Gly Glu Ser Ser Glu Asp Cys Gln Ser		
180	185	190
Leu Thr Arg Thr Val Cys Ala Gly Gly Cys Ala Arg Cys Lys Gly Pro		
195	200	205
Leu Pro Thr Asp Cys Cys His Glu Gln Cys Ala Ala Gly Cys Thr Gly		
210	215	220
Pro Lys His Ser Asp Cys Leu Ala Cys Leu His Phe Asn His Ser Gly		
225	230	235
Ile Cys Glu Leu His Cys Pro Ala Leu Val Thr Tyr Asn Thr Asp Thr		
245	250	255
Phe Glu Ser Met Pro Asn Pro Glu Gly Arg Tyr Thr Phe Gly Ala Ser		
260	265	270
Cys Val Thr Ala Cys Pro Tyr Asn Tyr Leu Ser Thr Asp Val Gly Ser		
275	280	285
Cys Thr Leu Val Cys Pro Leu His Asn Gln Glu Val Thr Ala Glu Asp		
290	295	300
Gly Thr Gln Arg Cys Glu Lys Cys Ser Lys Pro Cys Ala Arg Val Cys		
305	310	315
Tyr Gly Leu Gly Met Glu His Leu Arg Glu Val Arg Ala Val Thr Ser		
325	330	335
Ala Asn Ile Gln Glu Phe Ala Gly Cys Lys Lys Ile Phe Gly Ser Leu		
340	345	350
Ala Phe Leu Pro Glu Ser Phe Asp Gly Asp Pro Ala Ser Asn Thr Ala		
355	360	365
Pro Leu Gln Pro Glu Gln Leu Gln Val Phe Glu Thr Leu Glu Glu Ile		
370	375	380
Thr Gly Tyr Leu Tyr Ile Ser Ala Trp Pro Asp Ser Leu Pro Asp Leu		
385	390	395
Ser Val Phe Gln Asn Leu Gln Val Ile Arg Gly Arg Ile Leu His Asn		
405	410	415
Gly Ala Tyr Ser Leu Thr Leu Gln Gly Leu Gly Ile Ser Trp Leu Gly		
420	425	430
Leu Arg Ser Leu Arg Glu Leu Gly Ser Gly Leu Ala Leu Ile His His		
435	440	445
Asn Thr His Leu Cys Phe Val His Thr Val Pro Trp Asp Gln Leu Phe		
450	455	460
Arg Asn Pro His Gln Ala Leu Leu His Thr Ala Asn Arg Pro Glu Asp		
465	470	475
Glu Cys Val Gly Glu Gly Leu Ala Cys His Gln Leu Cys Ala Arg Gly		

485								490				495					
His	Cys	Trp	Gly	Pro	Gly	Pro	Thr	Gln	Cys	Val	Asn	Cys	Ser	Gln	Phe		
500								505				510					
Leu	Arg	Gly	Gln	Glu	Cys	Val	Glu	Glu	Cys	Arg	Val	Leu	Gln	Gly	Leu		
515								520				525					
Pro	Arg	Glu	Tyr	Val	Asn	Ala	Arg	His	Cys	Leu	Pro	Cys	His	Pro	Glu		
530								535				540					
Cys	Gln	Pro	Gln	Asn	Gly	Ser	Val	Thr	Cys	Phe	Gly	Pro	Glu	Ala	Asp		
545								550				555				560	
Gln	Cys	Val	Ala	Cys	Ala	His	Tyr	Lys	Asp	Pro	Pro	Phe	Cys	Val	Ala		
565								570				575					
Arg	Cys	Pro	Ser	Gly	Val	Lys	Pro	Asp	Leu	Ser	Tyr	Met	Pro	Ile	Trp		
580								585				590					
Lys	Phe	Pro	Asp	Glu	Glu	Gly	Ala	Cys	Gln	Pro	Cys	Pro	Ile	Asn	Cys		
595								600				605					
Thr	His	Ser	Cys	Val	Asp	Leu	Asp	Asp	Lys								
610								615									

 $\langle 210 \rangle$ 3

<211> 94

<212> PRT

〈213〉 人工合成

 $\langle 400 \rangle$ 3

Glu	Lys	Thr	Gly	Val	Cys	Pro	Glu	Leu	Gln	Ala	Asp	Gln	Asn	Cys	Thr
1				5					10					15	
Gln	Glu	Cys	Val	Ser	Asp	Ser	Glu	Cys	Ala	Asp	Asn	Leu	Lys	Cys	Cys
			20					25					30		
Ser	Ala	Gly	Cys	Ala	Thr	Phe	Cys	Ser	Leu	Pro	Asn	Asp	Lys	Glu	Gly
		35					40					45			
Ser	Cys	Pro	Gln	Val	Asn	Ile	Asn	Phe	Pro	Gln	Leu	Gly	Leu	Cys	Arg
	50					55					60				
Asp	Gln	Cys	Gln	Val	Asp	Ser	Gln	Cys	Pro	Gly	Gln	Met	Lys	Cys	Cys
65					70					75					80
Arg	Asn	Gly	Cys	Gly	Lys	Val	Ser	Cys	Val	Thr	Pro	Asn	Phe		
				85					90						

 $\langle 210 \rangle$ 4

⟨211⟩ 92

<212> PRT

〈213〉 人工合成

 $\langle 400 \rangle$ 4

Lys	Thr	Gly	Val	Cys	Pro	Glu	Leu	Gln	Ala	Asp	Gln	Asn	Cys	Thr	Gln
1				5					10					15	
Glu	Cys	Val	Ser	Asp	Ser	Glu	Cys	Ala	Asp	Asn	Leu	Lys	Cys	Cys	Ser
			20					25					30		
Ala	Gly	Cys	Ala	Thr	Phe	Cys	Ser	Leu	Pro	Asn	Asp	Lys	Glu	Gly	Ser
			35					40					45		
Cys	Pro	Gln	Val	Asn	Ile	Asn	Phe	Pro	Gln	Leu	Gly	Leu	Cys	Arg	Asp
			50				55				60				
Gln	Cys	Gln	Val	Asp	Ser	Gln	Cys	Pro	Gly	Gln	Met	Lys	Cys	Cys	Arg
65					70					75					80
Asn	Gly	Cys	Gly	Lys	Val	Ser	Cys	Val	Thr	Pro	Asn				
				85						90					

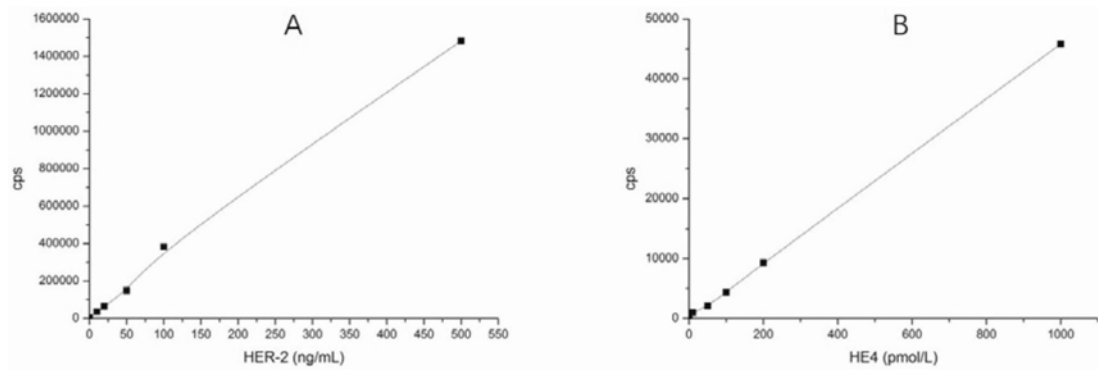


图1

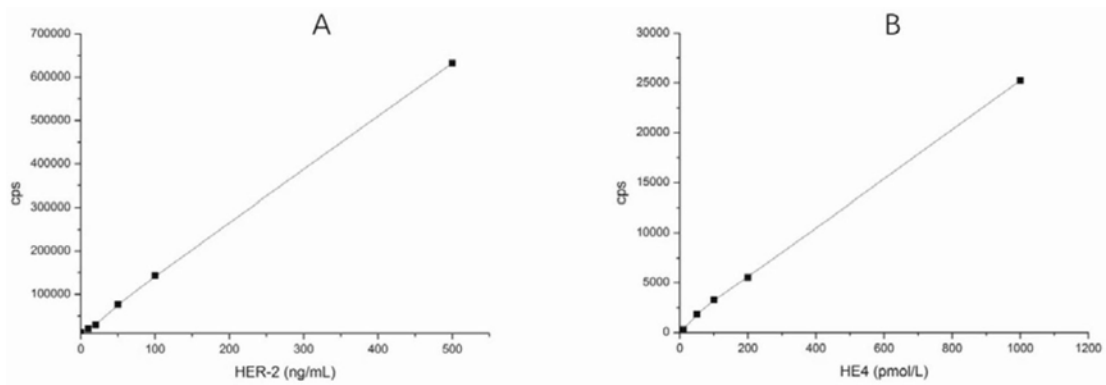


图2

专利名称(译)	同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒		
公开(公告)号	CN109342731A	公开(公告)日	2019-02-15
申请号	CN201811496854.8	申请日	2018-12-07
[标]申请(专利权)人(译)	江苏省原子医学研究所 无锡市江原实业技贸总公司		
申请(专利权)人(译)	江苏省原子医学研究所 无锡市江原实业技贸总公司		
当前申请(专利权)人(译)	江苏省原子医学研究所 无锡市江原实业技贸总公司		
[标]发明人	张艺 范俊 周彬 张珏 韩婷婷 谢敏浩		
发明人	张艺 范俊 周彬 张珏 韩婷婷 谢敏浩		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/57484 G01N33/533		
代理人(译)	李静		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于免疫测定技术领域，具体涉及同时检测妇科肿瘤标志物HER-2和HE4的试剂盒及用途，所述的试剂盒包括：含有示踪物标记HER-2抗体和示踪物标记HE4抗体的试剂；上述采用示踪物标记的HER-2抗体和示踪物标记的HE4抗体可以高度特异性的与妇科肿瘤标志物HER-2或HE4抗原结合，进而可以利用所述试剂盒，采用双标记时间分辨荧光免疫分析方法能够同时检测人HER-2和HE4两个肿瘤标志物，有助于乳腺癌、卵巢癌和子宫内膜癌的同时分析，从而提高了筛查和临床判读的效率。基于该试剂盒一次操作可获得两个结果，因而，提高了检验效率，减少了单独检验造成的误差，有利于妇科肿瘤的筛查和诊断。

