

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

G01N 33/53

G01N 33/543 G01N 33/577

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 01145240.4

[43] 公开日 2002 年 10 月 16 日

[11] 公开号 CN 1374525A

[22] 申请日 2001.12.31 [21] 申请号 01145240.4

[71] 申请人 陕西超英生物医学研究开发有限公司

地址 710061 陕西省西安市长安南路 29 号

[72] 发明人 李 军 步 雪 王伟华

[74] 专利代理机构 西安新思维专利事务所有限公司

代理人 黄秦芳

权利要求书 2 页 说明书 12 页 附图页数 0 页

[54] 发明名称 一种抗体芯片、其制备技术及其检测方法

[57] 摘要

本发明涉及生物医学研究领域,进一步涉及一种用于检测体液中各种分子含量的抗体芯片、抗体芯片的制作方法及其应用。针对现有技术存在的不能同时提供、同时比较和分析数十个乃至数千个同一类型或不同类型的不同个体的相关分子的异同、变化及其相互关系的缺点。一种抗体芯片,其特征在于:在固相载体点样面积上至少点有一个或两个以上的抗体点阵,每一个抗体点阵的点样数目是 6 个~5100 个样点,每一个抗体点阵可以包含一种或两种以上的特异性抗体,可用于检测各种体液中一种或一种以上的相关的抗原分子的含量或水平的变化。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4

知识产权出版社出版

权利要求书

1、一种抗体芯片，其特征在于：在固相载体的点样面积上至少点有一个抗体点阵，每一个抗体点阵的点样数目从几个到数千个不等，每一个抗体点阵可以包含一种或两种以上的特异性抗体，可用于检测各种体液中一种或两种以上以上相关的抗原分子的含量或水平的变化。

2、如权利要求 1 所述的一种抗体芯片，其特征在于：所述固相载体的点样面积上至少点有两个以上的抗体点阵。

3、如权利要求 1 或 2 所述的一种抗体芯片，其特征在于：所述固相载体是 $25\text{mm} \times 75\text{mm} \times 1\text{mm}$ 的载玻片、 $5\text{mm} \sim 55\text{mm} \times 5\text{mm} \sim 75\text{mm}$ 的硝酸纤维素膜或尼龙膜。其上点样面积为 $3\text{mm} \sim 30\text{mm} \times 3\text{mm} \sim 50\text{mm}$ 。

4、如权利要求 3 所述的一种抗体芯片，其特征在于：一个抗体点阵的数目为 6 个 $\sim$ 5100 个样点。

5、如权利要求 4 所述的一种抗体芯片，其特征在于：用于点样的抗体浓度为 $0.01 \mu\text{g/ml} \sim 1\text{mg/ml}$ ，点样直径为 $0.01\text{mm} \sim 1.5\text{mm}$ ，相邻点的点样间距为 $0.01\text{mm} \sim 2.0\text{mm}$ ，每个点的点样量为 $1\text{nl} \sim 500\text{nl}$ ，每一种抗体重复点样 3 点到 6 点。

6、如权利要求 5 所述的一种抗体芯片的制备方法，其特征在于：用于点样的抗体是单克隆抗体、多克隆抗体；一种标志物的抗体、多种标志物的多种抗体；一种疾病的多种抗体、多种疾病的多种抗体。

7、如权利要求 1 所述的一种抗体芯片的制备方法，其特征在于：依序包括下述步骤，①、按照每种疾病标志物在体液中的不同浓度所表达的特定的临床信息，将标志物相应的抗体配制成合适的浓度，浓度范围在 $0.01 \mu\text{g/ml} \sim 1\text{mg/ml}$ 为宜；②、将已知的各种不同的抗体样品按不同的临床需要和科研需要进行特定的设计、组合、排序，然后用机器人点样系统将这些疾病标志物点在一张固相载体上，每种已知的抗体均重复点 3 点 $\sim$ 6 点。制成点样数目、点样种类、点阵大小、点阵多少均不同的系列化的各种各样的不同用途的抗体芯片。

8、如权利要求 1 所述的一种抗体芯片的应用方法，其特征在于：依序包括下述步骤，① 在抗体芯片上加足量待测血清或其他体液，反应后洗涤；② 加抗体芯片上所排列的各种抗体的混合性抗体，反应后洗涤；③ 加化学发光物质或

荧光物质或金、银或其他金属或放射性同位素标记的异种单克隆抗体，反应后洗涤；④ 用普通光学显微镜或特殊的显色捕获分析系统进行自动分析，也可直接用化学发光捕获分析系统、荧光捕获分析系统、金属显色灰度捕获分析系统以及放射线捕获分析系统进行自动阅读和分析。⑤ 根据光信号、金属显色灰度或放射线强度的不同和变化，来反映待测样本中各种抗原性物质的含量。

9、如权利要求 8 所述的一种抗体芯片的应用方法，其特征在于：第①步中，抗体芯片上加足量待测血清或其他体液，37℃反应 10 分钟~2 小时或 4℃反应保湿过夜或室温反应保湿 30 分钟~3 小时后洗涤；第②步中加抗体芯片上所排列的各种抗体的混合性抗体，若 4℃反应保湿过夜或室温反应保湿 30 分钟~3 小时或 37℃反应保湿 10 分钟~2 小时后洗涤；第③步加化学发光物质或荧光物质或金、银或其他金属或放射性同位素标记的异种单克隆抗体，4℃保湿过夜或室温保湿 30 分钟~3 小时或 37℃保湿 10 分钟~2 小时后洗涤。

一种抗体芯片、其制备技术及其检测方法

所属技术领域

本发明涉及生物医学研究领域，进一步涉及一种抗体芯片、其制备技术及其检测方法。

背景技术

由于高新技术的广泛应用，各种疾病标志物的检测已成为多种疾病早期诊断最有希望的突破口，因为疾病一旦发生，其相关抗原或代谢物即可出现在患者血液、组织液、分泌物、排泄物中而成为早期诊断的指标。由于标记物检测与其它诊断手段相比，具有简单易行、取样方便的特点，因此已广泛应用于医院门诊及住院病人的体检和某种疾病高发区人群的普查和筛选，检测患者体内存在的某种疾病的标志物的含量也已成为检测疾病的一种重要的实验室诊断方法，如利用检测肿瘤标志物的含量来用于辅助诊断肿瘤。

疾病的诊断和治疗均与组织细胞在不同生长时期所产生的各种基因和蛋白质分子的结构和数量变化有着密切的联系，只有当这些分子变化具有普遍性时才具有临床价值。然而目前的各种临床检验方法只能进行单个的、散在的、偶然的、孤立的试验研究。若要对一个分子标志进行正确的评价则需要同时对数百例甚至数千例不同病人以及不同发展时期的、不同病理类型的、甚至包括对不同治疗方法的各种体液标本进行检测才能得出正确的结论，该过程十分漫长和复杂，且则需花费大量的人力、物力和财力。

发明内容

针对上述现有技术存在的缺陷，本发明的目的之一是提供能同时比较和分析数十个乃至数千个同一类型或不同类型的不同个体的相关分子的异同、变化及其相互关系以及用于多种生物医学研究目的抗体芯片技术，目的之二是提供一种制备抗体芯片的方法，目的之三是提供一种上述芯片的检测方法。

为实现上述目的，本发明的技术解决方案是：

一种抗体芯片，其特殊之处在于：在固相载体的点样面积上至少点有一个抗体点阵，每一个抗体点阵的点样数目从几个到数千个不等，每一个抗体点

一种抗体芯片，其特殊之处在于：在固相载体的点样面积上至少点有一个抗体点阵，每一个抗体点阵的点样数目从几个到数千个不等，每一个抗体点阵可以包含一种或一种以上的特异性抗体，可用于检测各种体液中一种或两种以上以上相关的抗原分子的含量或水平的变化。

上述固相载体的点样面积上至少点有两个以上的抗体点阵。

上述固相载体是 $25\text{mm} \times 75\text{mm} \times 1\text{mm}$ 的载玻片、 $5\text{mm} \sim 55\text{mm} \times 5\text{mm} \sim 75\text{mm}$ 的硝酸纤维素膜或尼龙膜。其上点样面积为 $3\text{mm} \sim 30\text{mm} \times 3\text{mm} \sim 50\text{mm}$ 。

上述单个抗体点阵的数目为 6 个 $\sim$ 5100 个样点。

用于点样的抗体浓度为 $0.01 \mu\text{g/ml} \sim 1\text{mg/ml}$ ，点样直径为 $0.01\text{mm} \sim 1.5\text{mm}$ ，相邻点的点样间距为 $0.01\text{mm} \sim 2.0\text{mm}$ ，每个点的点样量为 $1\text{nL} \sim 500\text{nL}$ ，每一种抗体重复点样 3 点到 6 点。

用于点样的抗体可以是单克隆抗体，也可以是多克隆抗体，可以是针对一种标志物的抗体，也可以是针对多种标志物的多种抗体，可以是针对一种疾病的多种抗体，也可以是针对多种疾病的多种抗体。

一种抗体芯片的制备方法，其特殊之处在于：依序包括下述步骤，①、按照每种疾病标志物在体液中的不同浓度所表达的特定的临床信息，将标志物相应的抗体配制成合适的浓度，浓度范围在 $0.01 \mu\text{g/ml} \sim 1\text{mg/ml}$ 为宜；②、将已知的各种不同的抗体样品按不同的临床需要和科研需要进行特定的设计、组合、排序，然后用机器人点样系统将这些疾病标志物点在一块固相载体上，每种已知的抗体均重复点 3 点 $\sim$ 6 点。制成点样数目、点样种类、点阵大小、点阵多少均不同的系列化的各种各样的不同用途的抗体芯片。

制备抗体芯片所需要的材料有：① 各种抗原物质包括各种恶性肿瘤、各种良性肿瘤、各种癌前病变、各种炎症性疾病、各种自身免疫性疾病、各种其他疾病、各种正常组织、各种胚胎组织、各种血液和造血组织、各种胸水、腹水、尿液、痰液、渗出液中捕获的具有重要研究价值的肿瘤标志物、细胞因子、受体、酶、可溶性膜表面标记物、各种核酸、基因（DNA 和 RNA）和基因片段、各种蛋白质、多肽、多糖、激素、各种微生物（包括细菌、病毒、真菌及其他微生物和寄生虫）的各种抗原以及其他生物大分子或其他生物活性物质等等。② 针对上述各种抗原性物质所制备的各种各样的单克隆或多克隆抗

体包括来源于鼠、兔、羊、牛、马或其他动物。③ 点样系统包括点样用仪器和设备及其相关耗材如点样板等等。④ 固相载体包括特殊处理的载玻片、硝酸纤维素膜、尼龙膜等等。⑤ 其他包括硝酸纤维素膜、尼龙膜等的支撑材料以及抗体芯片的相关包装材料等等。

一种抗体芯片的应用方法，其特殊之处在于：依序包括下述步骤，① 在抗体芯片上加足量待测血清或其他体液，反应后洗涤；② 加抗体芯片上所排列的各种抗体的混合性抗体，反应后洗涤；③ 加化学发光物质或荧光物质或金、银或其他金属或放射性同位素标记的异种单克隆抗体，反应后洗涤；④ 用普通光学显微镜或特殊的显色捕获分析系统进行自动分析，也可直接用化学发光捕获分析系统、荧光捕获分析系统、金属显色灰度捕获分析系统以及放射线捕获分析系统进行自动阅读和分析。⑤ 根据光信号、金属显色灰度或放射线强度的不同和变化，来反映待测样本中各种抗原性物质的含量。

上述应用方法的第①步中，抗体芯片上加足量待测血清或其他体液，若 37℃反应则需 10 分钟~2 小时，若 4℃反应则需保湿过夜，若室温反应则需保湿 30 分钟~3 小时后洗涤；第②步中加抗体芯片上所排列的各种抗体的混合性抗体，若 4℃反应则需保湿过夜，室温反应则需保湿 30 分钟~3 小时，若 37℃反应则需保湿 10 分钟~2 小时后洗涤；第③步加化学发光物质或荧光物质或金、银或其他金属或放射性同位素标记的异种单克隆抗体，若 4℃反应则需保湿过夜，若室温反应则需保湿 30 分钟~3 小时，若 37℃保湿 10 分钟~2 小时后洗涤。

也可在第②步中直接加与抗体芯片上所排列抗体的特异性完全相同的用化学发光物质或荧光物质或金、银或其他金属或放射性同位素标记的异种单克隆抗体，4℃保湿过夜或室温保湿 30 分钟~3 小时或 37℃保湿 10 分钟~2 小时后洗涤。即在第①步完成后，将第②步中加的抗体芯片上所排列的各种抗体的混合性抗体和第③步中所加的与抗体芯片上所排列抗体的特异性完全相同的、用化学发光物质或荧光物质或金、银或其他金属或放射性同位素标记的异种单克隆抗体一起加入，然后 4℃保湿过夜或室温保湿 30 分钟~3 小时或 37℃保湿 10 分钟~2 小时后洗涤。将上述方案中第②步与第③步合为一步。

与现有技术相比,本发明的优点是:为生物医学研究目的提供了一种大容量,大样本的可溶性生物活性物质的检测方法,可同时对大量特定的抗原性物质进行含量测定和相关性分析;也可用于大量基因组表达产物的分析、定性和定量研究。可同时检测体液中多种相关的各种可溶性抗原的水平 and 含量,再通过其水平或含量的不同或变化来反映体内某种疾病的有无、发展、变化、转归、预后、机体的免疫状态、以及某种疾病与多种相关的可溶性抗原的相关关系等。

具体实施方式:

发明人给出了以下的实施例,但本发明不限于这些实施例。

本发明中抗体芯片的抗体点阵的排列顺序是预先设定的,并可进行多种组合排列,每张抗体芯片上可放置一个或数十个抗体阵列,进行多种不同的生物学分析,同时比较和分析数十个乃至数千个同一类型或不同类型的不同个体的相关分子的异同、变化及其相互关系和临床意义;

1) 单一疾病抗体芯片

(1) 单一肿瘤性疾病抗体芯片

①肺癌标志物抗体芯片:将针对所有肺癌标志物相应的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含有 54 个点的抗体芯片,其中每 3 个点为同一种抗体,所含有的抗体为:抗 MDR1-mRNA、mRP-mRNA、MDR1 产物、P-gp、P53 蛋白、nm23 蛋白、CD44v6、神经元特异性烯醇化酶、细胞角蛋白 19 可溶性片段、组织多肽抗原、细胞角蛋白 18 可溶性片段 M₃ 抗原决定簇、癌胚抗原、表皮生长因子、表皮生长因子受体、肌酸激酶同工酶、总唾液蛋白、降钙素、ACTH 抗体。

应用时,首先在抗体芯片上加 50 μ l 待测血清,37℃反应 1 小时,待反应完全后用 PBS 洗涤 2 次,加入与抗体芯片上所排列的抗体特异性相同的化学发光物质标记的鼠单克隆抗体 50 μ l,37℃保湿 1 小时后使用 PBS 洗涤 2 次,用普通光学显微镜进行自动分析,根据光信号的强弱计算出待测样品中相关的各种抗原的含量,

② 肝癌标志物抗体芯片:将针对各种肝癌标志物相应的羊多克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 84 个点的抗体芯片,其中 6 个点为同一种抗体,所含有的抗体为:抗甲胎蛋白、 γ -谷氨酰转移酶、异常凝血酶原、 α -

L-岩藻糖苷酶、碱性磷酸酶、AKP、醛缩酶、 β_2 -微球蛋白、5'-核苷酸酶、丙酮酸激酶、胎盘型谷胱甘肽 S 转移酶、 α_1 -抗胰蛋白酶、铁蛋白抗体。

应用时，加待测血清 100 μ l，37℃保湿 30 分钟后使用 PBS 洗涤 2 次，加与抗体芯片上所排列的抗体特异性相同的鼠单克隆抗体，37℃保湿 30 分钟后使用 PBS 洗涤 2 次，加荧光物质标记的羊抗鼠多克隆抗体 100 μ l，37℃保湿 30 分钟后使用 PBS 洗涤 2 次，用特殊的显色捕获分析系统进行自动分析，根据荧光信号的强弱计算出待测样品中相关的各种抗原的含量。

③ 胃癌标志物抗体芯片：将不同胃癌标志物相应的鼠的单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 72 个点的抗体芯片，其中每 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 MUC2mRNA、胃蛋白酶原、羧酸化 Tn 抗原、甘氨酸脯氨酰二肽氨基肽酶、巨分子肌酸激酶、胃泌素、组织多肽抗原、AFU、CEA、CA₅₀、CA₁₉₋₉、CA₇₂₋₄ 抗体。具体实验方法可参照肺癌或肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

④ 乳腺癌标志物抗体芯片：即将针对各种乳腺癌标志物的相应的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 108 个点的抗体芯片，其中每 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 CD15mRNA、P16 蛋白、nm23H1mRNA、nm23-H1、MUC1、CerbB-2、组织蛋白酶 D、bcl-2、表皮生长因子、CA15-3、CEA、铁蛋白、乳清蛋白、唾液酸转移酶、CD₄₄ 蛋白、P₅₃ 蛋白、CA₅₄₉、HCG 抗体等。具体实验方法可参照肺癌或肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

⑤ 卵巢癌标志物抗体芯片：即将针对各种卵巢癌标志物的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 48 个点的抗体芯片，其中每 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 CA125、CEA、卵巢囊腺癌抗原、卵巢癌抗原、NB/70K、HCG、SIEX、CA19-9 抗体。具体实验方法可参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容。

⑥ 白血病标志物抗体芯片：即将针对各种白血病标志物的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 48 个点的抗体芯片，其中每 3 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 CD44，HLA-DR，CD37，CD19，CD20，CD5，CD52，CD45RA，CD22，CD24，CD45，CD23，CD21，CD71，CD11c 和 CD9 的相应抗体等。具体实验方法可参照肺癌抗体芯片的相关内容。

(2) 单一炎症性疾病抗体芯片

① 溃疡性结肠炎的特异性抗原的抗体芯片：即将针对各种溃疡性结肠炎的特异性抗原的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 54 个点的抗体芯片，其中每 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 HLA-DR2, Nd, Inos, PANCA, PAF, 12-HETE, TGF β , 氧自由基, IL-1 的相应抗体。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

② 克隆病性结肠炎的特异性抗原的抗体芯片：即将针对各种克隆病性结肠炎的特异性抗原的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 42 个点的抗体芯片，其中每 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 HLA-DR1, PANCA, PAF, 12-HETE, TGF β , 氧自由基, IL-1 的相应抗体等。具体实验方法可参照肺癌抗体芯片的相关内容。

(3) 单一自身免疫性疾病抗体芯片

① 类风湿性关节炎特异性抗原的抗体芯片：即将针对各种类风湿性关节炎的特异性抗原的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 66 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗类风湿因子、IL-12、TNF、粘附分子、热休克蛋白、IL-4、转化生长因子(TGF)- α 、可溶性白细胞介素 2 受体(sIL-2R)、可溶性 Fas(sFas)、血管细胞粘附分子 1(vascular cell adhesion molecules 1, VCAM-1)、可溶性 E-选择素的相应抗体等。具体实验方法可参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容。

② 银屑病特异性抗原的抗体芯片：即将针对各种银屑病特异性抗原的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 27 个点的抗体芯片，其中每 3 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗银屑病蛋白、CD34、酪氨酸蛋白激酶(TPK)、降钙素基因相关肽(calcitonin gene-related peptide, CGRP)、P 物质(substance P, SP)、神经肽 Y(neuropeptide Y)、血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)、神经激肽、生长抑素的相应抗体等。具体实验方法可参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容。

(4) 单一其他疾病抗体芯片

即将针对某种疾病各种特异性抗原的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。然后按照相应的实验方法进行判定。

2) 多种疾病抗体芯片

(1) 多种肿瘤性疾病抗体芯片：将针对各种肿瘤标志物的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。再参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容进行相关的实验。

(2) 多种炎症性疾病标志物抗体芯片：即将针对各种相关炎症性疾病标志物的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。再参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容进行相关的实验。

(3) 多种自身免疫性疾病相关标志物的抗体芯片：即将针对各种自身免疫性疾病相关标志物的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。再参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容进行相关的实验。

4) 多类型疾病抗体芯片

即将针对各种不同类型疾病如乙型肝炎、肝硬化和肝癌等疾病的标志物的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 90 个点的抗体芯片，其中每 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 AFP，AFU，LDL，VLDL，GGT，可溶性 IL-6 受体，可溶性 gp130c-fos 基因表达产物，CD54，血浆内皮素-1，HA，LN，HPCIII、CIV，转化生长因子 β 1，血清转化生长因子 α 抗体等。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

5) 单一组织类型抗体芯片

① 腺癌标志物抗体芯片：即根据研究需要可将针对腺癌的各种标志物的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 30 个点的抗体芯片，其中每 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 CK/AE1，CK10，CK18，CK8，CK19 抗体等。具体实验方法可参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容。

② 鳞癌标志物抗体芯片：即根据研究需要可将针对鳞癌各种标志物的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 24 个点的抗体芯片，其中每 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 CK/AE3，CK10，CK13，CK14 抗体等。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

6) 多种组织类型抗体芯片，如：腺癌和鳞癌标志物抗体芯片，即将针对腺癌和鳞癌的所有标志物的鼠单克隆抗体按照上述的腺癌标志物抗体芯片和

鳞癌标志物抗体芯片的阵列组合排列在一张抗体芯片上。具体实验方法可参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容。

7) 不同性质抗原的抗体芯片

(1) 肿瘤胚胎性抗原抗体芯片：即将针对各种肿瘤性疾病的所有胚胎性抗原的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 42 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗肿瘤胚胎型抗原甲胎蛋白抗体、 β -癌胚抗原抗体、癌胚铁蛋白抗体、癌胚抗原抗体、胰癌胚抗原抗体、鳞状细胞抗原抗体、组织多肽抗原抗体。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

(2) 糖类抗原标志物抗体芯片：即将针对各种肿瘤性疾病的所有糖类抗原的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。其中又分为三种：a. 糖类高分子粘蛋白抗原肿瘤标志物抗体芯片；b. 血型类抗原肿瘤标志物抗体芯片；c. 混合糖类抗原标志物抗体芯片。

① 糖类高分子粘蛋白抗原肿瘤标志物抗体芯片：即将针对不同肿瘤的糖类高分子粘蛋白抗原标志物相应的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 42 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 CA125 抗体、CA15-3 抗体、CA549 抗体、CA27.29 抗体、类粘蛋白抗体、肿瘤相关抗原抗体、DU-PAN-2 抗体。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

② 血型类抗原肿瘤标志物抗体芯片：即将针对不同肿瘤的血型类抗原标志物相应的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 36 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 CA19-9 抗体、CA19-5 抗体、CA50 抗体、CA72-4 抗体、CA242 抗体、鳞状细胞抗原抗体。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

③ 混合糖类抗原标志物抗体芯片：即将针对不同肿瘤的糖类抗原标志物相应的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 78 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 CA125 抗体、CA15-3 抗体、CA549 抗体、CA27.29 抗体、类粘蛋白抗体、肿瘤相关抗原抗体、DU-PAN-2 抗体、CA19-9

抗体、CA19-5 抗体、CA50 抗体、CA72-4 抗体、CA242 抗体、鳞状细胞抗原抗体。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

(3) 酶类标志物抗体芯片：即将针对各种酶类标志物相应的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 72 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗醛缩酶抗体、碱性磷酸酶抗体、淀粉酶抗体、谷胱甘肽转移酶抗体、肌酸激酶抗体、 γ -谷氨酰转移酶抗体、乳酸脱氢酶抗体、神经元特异性烯醇化酶抗体、5-核苷酸酶抗体、 α -L 岩藻糖苷酶抗体、核糖核酸酶抗体、前列腺特异性抗原抗体等。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

(4) 蛋白或多肽类激素抗体芯片：即将针对各种蛋白或多肽类激素相应的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 60 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗抗利尿激素抗体、降钙素抗体、生长激素抗体、人绒毛膜促性腺激素抗体、人胎盘催乳素抗体、甲状旁腺素抗体、催乳素抗体、胰高糖素抗体、转化生长因子抗体等。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

(5) 其他蛋白质类标志物抗体芯片：即将针对各种其他蛋白质类标志物相应的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 42 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 β_2 -微球蛋白抗体、C 多肽抗体、铁蛋白抗体、本周蛋白抗体、免疫球蛋白抗体、铜蓝蛋白抗体、甲状腺球蛋白抗体等。具体实验方法可参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容。

8) 细胞因子抗体芯片

(1) 白细胞介素抗体芯片：即将针对各种白细胞介素的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 120 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 IL-1、IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-14、IL-15、IL-16、IL-17、IL-18、IL-19、IL-20 等抗体。具体实验方法可参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容。

(2) 集落刺激因子抗体芯片：即将针对各种集落刺激因子相应的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 48 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗粒细胞集落刺激因子抗体、巨噬细胞集落

刺激因子抗体、粒细胞和巨噬细胞击落刺激因子抗体、多集落刺激因子抗体、红细胞生成素抗体、干细胞因子抗体、白血病抑制因子抗体、LIF 抗体等。具体实验方法可参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容。

(3) 干扰素、肿瘤坏死因子抗体芯片：即将针对各种干扰素抗体、肿瘤坏死因子的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 30 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 IFN- α 抗体、IFN- α 抗体、IFN- β 抗体、TNF- α 抗体和 TNF- β 抗体等。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

(4) 淋巴因子抗体芯片：即将针对各种淋巴因子的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 84 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗淋巴细胞产生的各种细胞因子抗体，有抗 IL-2、IL-3、IL-4、IL-5、IL-6、IL-7、IL-8、IL-9、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13 等以及抗 TNF- α 和 IFN- α 抗体等。具体实验方法可参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容。

(5) 各种细胞因子抗体组合芯片：即将各种细胞因子相应的鼠单克隆抗体按特定组合排列在一张抗体芯片上。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

9) 可溶性细胞膜分子、受体抗体芯片

(1) 促有丝分裂原受体抗体芯片：即将针对各种促有丝分裂原受体的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 30 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗刀豆素 A、植物血凝素 A 和 E、美洲商陆丝裂原、大豆凝集素 (110)、大豆凝集素 (120) 等抗体。实验方法可参照肺癌标志物抗体芯片以及技术方案中相关内容。具体实验方法可参照肺癌抗体芯片的相关内容。

(2) IgFc 受体抗体芯片：即将针对各种 IgFc 受体的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 36 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 Fe γ RI 抗体、Fe γ RII 抗体、Fe γ RIII 抗体、Fc γ R 抗体、Fc γ RI 抗体、Fc γ RII 抗体等。具体实验方法可参照肺癌抗体芯片的相关内容。

(3) 细胞因子受体抗体芯片：即将针对各种细胞因子受体的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 72 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 IL-1R 抗体、IL-2R 抗体、IL-3R 抗体、IL-4R 抗体、IL-6R 抗体、IL-7R 抗体、IL-8R 抗体、IL-9R 抗体、IL-12R 抗体、TNF- α R、G-CSFR 和 TGF- β r 抗体等。具体实验方法可参照肺癌抗体芯片的相关内容。

(4) B 细胞膜表面受体抗体芯片：即将针对各种 B 细胞膜表面受体的鼠单克隆抗体排列在一张抗体芯片上。如含 90 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 mIgM 抗体、mIgD 抗体、mIgG 抗体、mIgA 抗体、mIgE 抗体、CD10 抗体、CD19 抗体、CD20 抗体、CD21 抗体、CD23 抗体、CD80 抗体、PC 抗体、补体受体抗体、EB 病毒受体抗体、致有丝分裂原受体抗体等。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

(5) 各种细胞膜分子和受体的组合抗体芯片：即将针对各种细胞膜分子和受体的鼠单克隆抗体按设计组合排列在一张抗体芯片上。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

10) 各种病原微生物特异性抗原的抗体芯片

(1) 各种细菌特异性抗原的抗体芯片：即将针对各种细菌特异性抗原的鼠单克隆抗体按设计组合排列在一张抗体芯片上。如含 138 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗内毒素 (LPS)、金黄色葡萄球菌肠毒素 A 和 B、A 群链球菌 M 蛋白、大肠杆菌耐热性肠毒素 II、大肠杆菌细胞致死肿胀毒素、肠凝聚性大肠杆菌毒素、细菌蛋白毒素、沙门氏菌肠毒素、白喉毒素、绿脓杆菌外毒素 A、破伤风毒素、魏氏梭菌肠毒素、败血梭菌 α -毒素、百日咳毒素、空肠弯曲菌细胞毒素、肉毒 E 型毒素、李斯特菌溶血素、幽门螺杆菌细胞毒素、Q 热立克次体内毒素、肺炎衣原体毒素、串珠镰刀毒素、腐马素抗体等。具体实验方法可参照肝癌标志物抗体芯片的相关内容。

(2) 各种病毒特异性抗原的抗体芯片：将针对各种病毒特异性抗原的鼠单克隆抗体按设计组合排列在一张抗体芯片上。如含 108 个点的抗体芯片，其中 6 个点为同一种抗体，所含有的抗体为：抗 LCM 病毒的 GP 蛋白 I 型和 II 型、LCM 病毒的 NP 蛋白、HSV-2 病毒的 gB 蛋白、腺病毒的 BIA 蛋白、流感

病毒的 HA 蛋白和 NP 蛋白、HIV-1 病毒的 No 蛋白、HIV-2 病毒的 P2 蛋白、EB 病毒的 EBNA 蛋白、HBV 病毒的 HBC 蛋白、乙型肝炎的 HBsAg、HBeAg、anti-HBsAg、anti-HBeAg、anti-HBcAg、豆病毒 p73k 外膜蛋白、核蛋白 4a 和 4b 抗体等。具体实验方法可参照肺癌抗体芯片的相关内容。

(3) 各种病原微生物特异性抗原的抗体组合芯片：将针对各种病原微生物特异性抗原的鼠单克隆抗体按需要设计，组合排列在一张抗体芯片上。具体实验方法可参照肺癌标志物抗体芯片的相关内容。

本发明的作用原理是：高效价单克隆或多克隆的针对各种疾病标志物的特异性抗体被固定于固相载体上，芯片上的所有抗体即可以是购买的也可以是自己制备的，即可以是单克隆抗体也可以是多克隆抗体。按照每种抗原或抗体物质在体液中的不同浓度所表达的特定的临床信息，将相应的特异性抗体配制成合适的浓度，然后将已知的各种不同的抗体或抗原样品按不同的临床需要和科研需要进行特定的设计、组合、排列，然后用机器人点样系统将这些抗体或抗原点在一张固相载体如玻片、硝酸纤维素膜或尼龙膜上，制成点样数目、点样种类、点阵大小、点阵多少均不同的系列化的各种各样的不同用途的抗体或抗原芯片。以捕获待测标本中的与其可起结合反应的特异性抗原或抗体，再用各种化学发光物质、荧光物质、金、银或其他金属、放射性同位素标记的具有相同特异性的抗体进行结合，也可以先用异种即不同种属的特异性抗体进行结合反应，再用各种化学发光物质、荧光物质、金、银或其他金属、放射性同位素标记的抗此种抗体的抗抗体进行结合，然后用普通光学显微镜或特殊的显色捕获分析系统进行自动分析，从而得出结论；也可直接用化学发光捕获分析系统、荧光捕获分析系统、金属显色灰度捕获分析系统以及放射线捕获分析系统进行自动阅读和分析并得出结论。

结果的判定可根据抗体相应的特异性抗原含量的不同和变化，辅助判断体内特定疾病的有无，组织类型、病情的发展、变化、转归、预后、治疗方式的选择及治疗效果的判定等。

专利名称(译)	一种抗体芯片、其制备技术及其检测方法		
公开(公告)号	CN1374525A	公开(公告)日	2002-10-16
申请号	CN01145240.4	申请日	2001-12-31
[标]申请(专利权)人(译)	陕西超英生物医学研究开发有限公司		
申请(专利权)人(译)	陕西超英生物医学研究开发有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	陕西超英生物医学研究开发有限公司		
[标]发明人	李军 步雪 王伟华		
发明人	李军 步雪 王伟华		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/543 G01N33/577		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及生物医学研究领域,进一步涉及一种用于检测体液中各种分子含量的抗体芯片、抗体芯片的制作方法及其应用。针对现有技术存在的不能同时提供、同时比较和分析数十个乃至数千个同一类型或不同类型的不同个体的相关分子的异同、变化及其相互关系的缺点。一种抗体芯片,其特征在于:在固相载体点样面积上至少点有一个或两个以上的抗体点阵,每一个抗体点阵的点样数目是6个~5100个样点,每一个抗体点阵可以包含一种或两种以上的特异性抗体,可用于检测各种体液中一种或一种以上的相关的抗原分子的含量或水平的变化。