

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710107293.3

[51] Int. Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/577 (2006.01)

G01N 33/574 (2006.01)

C07K 7/08 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 12 月 3 日

[11] 公开号 CN 101315367A

[22] 申请日 2007.5.28

[21] 申请号 200710107293.3

[71] 申请人 丁恩雨

地址 200433 上海市政肃路 45 弄 9 号 402 室

共同申请人 丁荣新 桑恩典

[72] 发明人 丁恩雨 丁荣新 桑恩典

权利要求书 1 页 说明书 4 页

[54] 发明名称

癌抗原 125 酶联免疫吸附检测试剂盒的制备

[57] 摘要

一种癌抗原 125 (CA125) 酶联免疫吸附检测试剂盒, 能够直接从人血清中快速地检测出 CA125 的浓度。其主要技术特征是选择 CA125 外显子 1 中的特定氨基酸序列制备单克隆抗体; 选择 CA125 外显子 3 中的特定氨基酸序列制备兔抗 CA125 多克隆抗体。检测时, 样品可同时与固相单抗以及酶标兔抗 CA125 多克隆抗体相结合。血清中 CA125 水平升高多见于卵巢癌, 亦见于子宫内膜炎及其它癌症。该检测试剂盒可用于卵巢癌等检测以及治疗预后好坏的判定。

1. 一种应用酶联免疫吸附分析法 (ELISA) 的癌抗原 125 (CA125) 检测试剂盒, 其主要技术特征系采用完整 CA125 分子中的抗原决定簇所制备的单克隆抗体来包被反应板的微孔, 用辣根过氧化物酶 (horseradish peroxidase, HRP) 标记的兔抗 CA125 多克隆抗体作为抗体-酶结合溶液。被检样品能够同时与上述两种抗体起反应。

用以制备该检测试剂盒中所用 CA125 单克隆抗体的抗原决定簇, 系 CA125 分子外显子 (exon)1 中的特定多肽。其氨基酸序列(序列 1)为 Asp Met Arg His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Ala Thr Glu Arg。

2. 用以制备该检测试剂盒中所用兔抗 CA125 多克隆抗体的抗原决定簇, 系 CA125 分子外显子(exon)3 中的特定多肽。其氨基酸序列(序列 2)为 Thr His Arg Pro Asp Pro Glu Asp Leu Gly Leu Asp Arg Glu Leu Tyr。

癌抗原 125 酶联免疫吸附检测试剂盒的制备

所属技术领域

本发明专利涉及一种能够定量测定人血清或血浆中癌抗原 125 (CA125) 浓度的酶联免疫吸附 (ELISA) 检测试剂盒的制备。

背景技术

卵巢癌是妇女癌变中第八个常见的病种。目前, 仍没有标准的筛选方法来检测卵巢癌^[1]。血清中 CA125 是一种高分子量的糖蛋白^[3], 是一种与表皮卵巢癌相关的表面抗原。研究表明, 血清 CA125 水平的升高见于严重的子宫内膜炎和卵巢癌。60%以上患有卵巢癌的妇女, 其血清 CA125 的浓度高于 35 单位/毫升。血清 CA125 浓度的变化亦可用于术后监测与预后好坏的判定。迄今为止, CA125 是残留性(residual)表皮卵巢癌的非常敏感的标记物(marker)。此外, CA125 浓度的升高亦见于肺癌、宫颈癌、输卵管癌、子宫癌以及子宫内膜炎等。

目前, 国外有采用 ELISA 来检测人血清中 CA125 浓度的技术手段。一般采用双抗体夹芯法, 即样品同时与固相抗体以及酶联抗体结合。由于这些产品受到知识产权的限制, 我们不能自行生产。另外, 这些产品的特异性与敏感性有待进一步提高^[4]。

发明内容

为了生产我们拥有自主知识产权的产品, 本发明提供一种新的 CA125 ELISA 检测试剂盒。该检测试剂盒能够直接从人血清或血浆中快速地检测出 CA125 的浓度, 故能广泛应用于临床快速诊断。

该发明专利的主要技术特征是采用先进的生物科学技术、大量的计算分析和反复的科学试验等手段从 CA125 外显子 1 中选择特定的氨基酸序列 (序列 I: Asp Met Arg His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Ala Thr Glu Arg), 合成多肽作为抗原, 制备 CA125 单克隆抗体; 从 CA125 外显子 3 中选择特定的氨基酸序列 (序列 II: Thr His Arg Pro Asp Pro Glu Asp Leu Gly Leu Asp Arg Glu Leu Tyr), 合成多肽作为抗原, 制备兔抗 CA125 多克隆抗体。

具体实施方式

首先, 按照上述氨基酸序列 1 合成多肽, 与载体蛋白 (如 KLH) 结合, 制备 CA125 单克隆抗体, 将其包被于反应板的微孔内, 制成固相抗体。

其次, 按照上述氨基酸序列 2 合成多肽, 与载体蛋白 (如 KLH) 结合, 并与抗原佐剂混合, 通过免疫兔子制备兔抗 CA125 多克隆抗体, 再与辣根过氧化物酶 (HRP) 结合制得酶标抗体。检测时, 样品可同时与固相 CA125 单克隆抗体以及酶标兔抗 CA125 多克隆抗体结合, 其余则按常规方法进行。底物加入后, 显色程度与样品中 CA125 浓度成正相关。与标准 CA125 浓度相对照, 即可知样品中 CA125 的浓度。健康妇女的 CA125 正常值低于 35 单位/毫升。

该检测试剂盒应置于 2-8°C 冰箱中保存, 使用时应用 450nm 波长的光波测定其吸光度来进行检测。

参考文献:

1. Yurkovetsky ZR, Linkov FY, E Malehorn D, Lokshin AE. Multiple biomarker panels for early detection of ovarian cancer. *Future Oncol.* 2006 Dec; 2(6): 733-741.
2. Munkarah A, Chatterjee M, Tainsky MA. Update on ovarian cancer screening. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2007 Feb; 19(1): 22-26.
3. Bast RC Jr, Badgwell D, Lu Z, etc. New tumor markers: Ca125 and beyond. *Int J Gynecol Cancer* 2005 Nov-Dec; 15 suppl 3: 274-281.
4. Chatterjee SK, Zetter BR. Cancer biomarkers: knowing the present and predicting the future. *Future Oncology.* 2005. 1(1): 37-50.

氨基酸序列表**序列 I**

<110> 丁恩雨, 丁荣新, 桑恩典

<120> 癌抗原 125 酶联免疫吸附检测试剂盒的制备

<160> 1

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> 从 CA125 外显子 1 中选择的特定序列

<220>

<400> 1

Asp Met Arg His Pro Gly Ser Arg Lys Phe Asn Ala Thr Glu Arg

1

5

10

15

序列 II

<110> 丁恩雨, 丁荣新, 桑恩典

<120> 癌抗原 125 酶联免疫吸附检测试剂盒的制备

<160> 1

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> 从 CA125 外显子 3 中选择的特定序列

<220>

<400> 1

Thr His Arg Pro Asp Pro Glu Asp Leu Gly Leu Asp Arg Glu Leu Tyr

1

5

10

15

专利名称(译)	癌抗原125酶联免疫吸附检测试剂盒的制备		
公开(公告)号	CN101315367A	公开(公告)日	2008-12-03
申请号	CN200710107293.3	申请日	2007-05-28
[标]发明人	丁恩雨 丁荣新 桑恩典		
发明人	丁恩雨 丁荣新 桑恩典		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/577 G01N33/574 C07K7/08		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种癌抗原125(CA125)酶联免疫吸附检测试剂盒，能够直接从人血清中快速地检测出CA125的浓度。其主要技术特征是选择CA125外显子1中的特定氨基酸序列制备单克隆抗体；选择CA125外显子3中的特定氨基酸序列制备兔抗CA125多克隆抗体。检测时，样品可同时与固相单抗以及酶标兔抗CA125多克隆抗体相结合。血清中CA125水平升高多见于卵巢癌，亦见于子宫内膜炎及其它癌症。该检测试剂盒可用于卵巢癌等检测以及治疗预后好坏的判定。