



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 102869681 B

(45) 授权公告日 2015. 04. 08

(21) 申请号 201180020713. 9

(22) 申请日 2011. 04. 28

(30) 优先权数据

10161375. 0 2010. 04. 28 EP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2012. 10. 24

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2011/056763 2011. 04. 28

(87) PCT国际申请的公布数据

W02011/135035 EN 2011. 11. 03

(73) 专利权人 欧罗诊断股份公司

地址 瑞典马尔默

(72) 发明人 麦茨·斯特里斯贝格 英韦·索马林

(74) 专利代理机构 中原信达知识产权代理有限

责任公司 11219

代理人 张颖 谢丽娜

(51) Int. Cl.

*C07K 16/18*(2006. 01)

*G01N 33/53*(2006. 01)

*G01N 33/577*(2006. 01)

*G01N 33/68*(2006. 01)

(56) 对比文件

US 6632624 B1, 2003. 10. 14,

Tartaglia A. 等. Chromogranin A in gastric neuroendocrine tumours: an immunohistochemical and biochemical study with region-specific antibodies. 《Virchows Arch》. 2006, 第 448 卷第 399 - 406 页.

审查员 马静

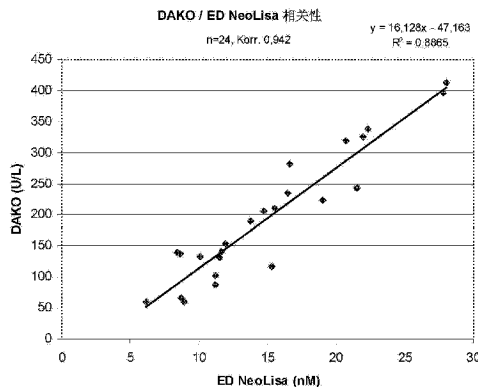
权利要求书1页 说明书8页  
序列表4页 附图4页

(54) 发明名称

嗜铬粒蛋白 A 的免疫测定法、抗体和试剂盒

(57) 摘要

本发明涉及与人 CGA 氨基酸序列的第 236 到 251 位或第 264 到 279 位氨基酸序列表示的多肽中的表位有反应性的单克隆抗体。本发明还涉及这些单克隆抗体在 CGA 的免疫测定中的应用、包含这两种抗体的任一种的免疫试剂、以及用于测定 CGA 的含有基于这两种单克隆抗体的免疫试剂的检验试剂盒。



1. 一组单克隆抗体在制备检验试剂盒中的应用,所述试剂盒用于在夹心测定法中测定循环 CGA 多肽,其中每种单克隆抗体或者被用作捕获抗体或者被用作检测抗体,以及其中至少一种单克隆抗体与人 CGA 氨基酸序列的第 236 至 251 位氨基酸序列表示的 CGA 多肽(由 SEQ ID NO 2 表示)中的表位有反应性;并且其中至少一种其他单克隆抗体与人 CGA 氨基酸序列的第 264 至 279 位氨基酸序列表示的 CGA 多肽(由 SEQ ID NO 3 表示)中的表位有反应性。

2. 权利要求 1 的应用,其中所述单克隆抗体中的至少一种与下列任一种结合

- a) 固体支持物,或者
- b) 可检测标记物,或者
- c) 特异性连接剂。

3. 权利要求 2 的应用,其中所述固体支持物是微量滴定板的壁。

4. 权利要求 2 或 3 的应用,其中所述可检测标记物选自酶、放射性元素或放射性化合物。

5. 权利要求 2 或 3 的应用,其中所述特异性连接剂是生物素或链霉亲和素。

6. 用于在夹心测定法中检测循环 CGA 的检验试剂盒,其包含一组单克隆抗体,其中每种单克隆抗体或者被用作捕获抗体或者被用作检测抗体,以及其中所述一组单克隆抗体仅包含:

a) 与人 CGA 氨基酸序列的第 236 到 251 位氨基酸表示的多肽(由 SEQ ID NO 2 表示)中的表位有反应性的单克隆抗体;和

b) 与人 CGA 氨基酸序列的第 264 到 279 位氨基酸表示的多肽(由 SEQ ID NO 3 表示)中的表位有反应性的单克隆抗体。

## 嗜铬粒蛋白 A 的免疫测定法、抗体和试剂盒

### 发明领域

[0001] 本发明涉及用于测定嗜铬粒蛋白 A (CGA) 的方法。它还涉及针对 CGA 的单克隆抗体和以其为基础的、可被用于本发明的测定法的免疫试剂, 以及用于 CGA 的测定方法中的检验试剂盒。

[0002] 发明背景

[0003] 嗜铬粒蛋白 (CG) 和分泌粒蛋白组成了与神经递质和肽类激素共同储存在大脑和弥散神经内分泌系统中的酸性蛋白质家族 (Winkler, H. & Fischer-Colbrie, R., 1992)。虽然这些蛋白质是不同基因的产物, 但它们共有一些总体结构特性, 例如丰富的酸性氨基酸残基和作为翻译后切割的潜在位置的几对碱性氨基酸。CG 与神经肽和激素在全身神经内分泌细胞中共同储存和共同释放。已经提出了 CG 在激素颗粒产生和激素包装中的作用。此外, CG 可以被切割成较小的片段, 所述片段表现出生物活性, 例如抑制激素释放、血管扩张和抗微生物作用 (Stridsberg M, 2000)。

[0004] 神经内分泌起源的肿瘤通常表现出 CGA 血清 / 血浆水平的提高 (O' Connor, DT, Deftos LJ, 1986)。神经内分泌肿瘤起源于神经内分泌细胞, 典型的神经内分泌肿瘤是类癌瘤、嗜铬细胞瘤、神经母细胞瘤、小细胞肺癌、甲状旁腺机能亢进腺瘤、垂体瘤和胰岛瘤, 并包括 MEN1 和 MEN2 综合征。这还包括不同的神经内分泌瘤综合征, 即胃泌素瘤、胰岛素瘤、胰高血糖素瘤、生长抑素瘤、产胰多肽 (PP) 瘤 (PPomas) 和无功能性神经内分泌瘤 (Eriksson, B. 等, 2000)。对于这些肿瘤, 已经证明 CGA 是最好的循环标志物 (Bajetta, E. 等, 1999)。

[0005] 为此原因, 希望有用于 CGA 的定性和定量测定的特异性的、准确而快速的测定法。

[0006] 已经报告了几种 CGA 测定法。US 4, 758, 522 涉及基于竞争分析法, 使用标记的 CGA 和针对 CGA 的抗体来测量样品中人 CGA 的方法。测定与抗体结合或未结合的标记 CGA 的量作为样品中 CGA 的度量。CGA 样品可以得自内分泌腺或肾上腺来源的组织。

[0007] EP1078266B1 涉及基于使用与人 CGA 的 145-234 位序列中的表位特异性结合的至少一种 (单克隆或多克隆) 抗体的 CGA 免疫测定法。更具体地, 它涉及在 CGA 的免疫测定法中使用与人 CGA 的 145-197 位序列中的表位特异性结合的抗体和 / 或与 219-234 位序列中的表位特异性结合的抗体。任选, 这两种抗体的任一种都可以在 CGA 测定法中与特异性结合人 CGA 的 250-301 位序列中表位的抗体相组合。

[0008] 本技术领域已知方法的缺点是假阳性或假阴性结果, 这主要是由于与通常也靠近天然 CGA 存在的 CGA 衍生肽的交叉反应所致。使用多克隆抗体的测定法尤其苦于这样的缺点。已经建议过使用单克隆抗体以便克服这个问题, 然而, 现有技术中所述的基于单克隆抗体的 CGA 测定法事实上执行起来甚至还不如基于多克隆抗体的测定法。

### 发明内容

[0009] 本发明涉及克服或改善这些缺点的方法。

[0010] 本发明的免疫化学测定法基于 CGA 多肽与两种新的和独特的抗体的特异性结合,

对其进行检测。一种抗体与 CGA 多肽的一个表位特异性结合,另一种抗体 CGA 多肽的另一个表位特异性结合。

[0011] 在一种实施方式中,本发明涉及 CGA 多肽的测定方法,所述方法包括:将准备测定 CGA 的存在或量的样品与一组单克隆抗体反应,其中至少一种单克隆抗体与人 CGA 氨基酸序列的 236 至 251 位氨基酸序列表示的 CGA 多肽(由 SEQ ID NO 2 表示)中的表位有反应性;并且其中至少一种其他单克隆抗体与人 CGA 氨基酸序列的 264 至 279 位氨基酸序列表示的 CGA 多肽(由 SEQ ID NO 3 表示)中的表位有反应性。

[0012] 人 CGA 的氨基酸序列在此是指 Konecki 等人在 1987 年报告的 439 个氨基酸长的序列,并由 SEQ ID NO 1 表示。术语 CGA 多肽意在指示人 CGA 的全长多肽序列或者其可用于诊断上面提到的任何疾病的片段。这样的片段应该优选至少包含与 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 所涵盖的氨基酸序列的反应性单克隆抗体起反应的表位。

[0013] 本发明的免疫化学测定法可以具有各种样式。优选,所述免疫测定法基于夹心样式 - CGA 蛋白被夹在所述两种独特的抗体之间。用于检测抗体与 CGA 特异性结合的适合的样式举例为酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 和放射免疫测定法 (RIA)。其他检测方法也可以适当地使用。

[0014] 根据另一种实施方式,本发明涉及针对 CGA 并与人 CGA 氨基酸序列的 236 至 251 位氨基酸表示的多肽中的表位有反应性的单克隆抗体。

[0015] 根据再一种实施方式,本发明涉及针对 CGA 并与人 CGA 氨基酸序列的 264 至 279 位氨基酸表示的多肽中的表位有反应性的单克隆抗体。

[0016] 本发明的又一种实施方式涉及用于本发明方法中的检验试剂盒。这样的检验试剂盒包含基于至少两种单克隆抗体的免疫试剂,一种与人 CGA 氨基酸序列的 236 至 251 位氨基酸表示的多肽中的表位有反应性,另一种与人 CGA 氨基酸序列的 264 至 279 位氨基酸表示的多肽中的表位有反应性。

[0017] 每种抗体都可以作为捕获抗体或作为检测抗体使用。检验试剂盒中包含的免疫试剂取决于所述测定法的方法和样式。

[0018] 在一种实施方式中,至少一种抗体可以直接或间接同标记物结合,例如酶或放射性标志物。

[0019] 在另一种实施方式中,至少一种抗体可以同适合的固相结合,例如微量滴定板。

[0020] 在另一种实施方式中,至少一种抗体可以同通用的连接剂结合,例如生物素或链霉亲和素(已知它们能够互相结合)。在所述测定法之前或过程期间,可以应用这样的连接剂将抗体与固相或与标记物间接结合。

[0021] 生产针对一种所指定的 CGA 表位的单克隆抗体的细胞可以通过例如 Köhler 和 Milstein 在 1975 年描述的方法获得。

[0022] 本发明还涉及分别与人 CGA 氨基酸序列的 236 至 251 位和 264 至 279 位氨基酸序列表示的多肽中的表位有反应性的单克隆抗体。

[0023] 总之,本发明提供了与使用单克隆抗体的现有技术方法相比具有改善的特异性和灵敏度、同时避免了使用多克隆抗体的测定法的缺点的方法。

[0024] 附图

[0025] 图 1/4CGA 校准曲线

- [0026] 图 2/4 本发明的检验与商业检验 (Dako) 之间的比较
- [0027] 图 3/4 本发明的检验与商业检验 (CIS-BIO) 之间的比较
- [0028] 图 4/4 在 NEOLISA 中分析的,来自于 107 份神经内分泌患者血浆和 120 份献血者血浆的血浆。基准面 <3.0 (红线)。
- [0029] 实施例
- [0030] 材料
- [0031] - 涂有针对 CGA 的 236-251 位肽的单克隆抗体的微量滴定板 (12x8)。
- [0032] - 含有在稀释剂中的人 CGA 的校准品。Ca1 1=0nmol/L (稀释剂), Ca1 2=1nmol/L, Ca1 3=5nmol/L, Ca1 4=15nmol/L, Ca1 5=30nmol/L, Ca1 6=50nmol/L。
- [0033] - 冻干的低对照 (L)。
- [0034] - 冻干的高对照 (H)。
- [0035] -30mL 稀释剂 (Di1)。
- [0036] -150  $\mu$  L 含有针对 CGA 的 264-279 位肽的 HRP 标记抗体的结合物。100x 浓缩。
- [0037] -15mL 结合缓冲液
- [0038] -15mL 底物 TMB。
- [0039] -15mL 终止溶液 (0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)。
- [0040] -35mL 洗涤溶液, 20x 浓缩
- [0041] 嗜铬粒蛋白 A 的 ELISA 方法
- [0042] 程序
- [0043] 所有溶液都在室温下使用。在室温 (20-30° C) 下执行温育。
- [0044] 样品稀释和温育
- [0045] 所有样品在转移到检验板之前都在单独的稀释板中稀释 5x。校准品、低对照、高对照和患者血浆在使用之前全部用 50  $\mu$  L 血浆 +200  $\mu$  L 稀释剂稀释。然后,将其通过上下吸取进行彻底混合,然后一式两份转移 100  $\mu$  L 到检验板。将检验板温育 60 分钟。
- [0046] 样品温育后
- [0047] 将检验板用 300  $\mu$  L 洗涤液 / 孔洗涤三 (3) 次,每次注满和倒空所述孔。在最后一次洗涤后,通过在吸水薄纸上轻敲所述板来排空孔。
- [0048] 加入结合物
- [0049] 每孔加入 100  $\mu$  L 结合物。
- [0050] 将检验板温育 30 分钟。
- [0051] 结合物温育之后
- [0052] 如前洗涤检验板。
- [0053] 加入底物溶液
- [0054] 每孔加入 100  $\mu$  L 底物 TMB,并将检验板在黑暗中温育 15 分钟。
- [0055] 添加终止溶液
- [0056] 每孔加入 100  $\mu$  L 终止溶液。在 2h 以内酶标仪上读出 450nm 下的 OD (光密度)。读出参考波长 620nm 下的 OD。
- [0057] 实施例 1
- [0058] 单克隆抗体

[0059] 已经基本上通过Köhler和Milstein在1975年的方法制备了分别与人CGA氨基酸序列的第236到251位氨基酸序列表示的多肽特异性反应的单克隆抗体(在此还表示为抗体2E8),和与第264到279位氨基酸序列表示的多肽特异性反应的单克隆抗体(在此还表示为抗体1H6)。

[0060] 抗体2E8在Elisa中用作捕获抗体;抗体1H6被用作与HRP结合的检测抗体。

[0061] 实施例2

[0062] CGA酶联免疫测定法的校准曲线

[0063] 提供了一组6个校准品,其值分别为校准品1:0nmol/L,校准品2:1nmol/L,校准品3:5nmol/L,校准品4:15nmol/L,校准品5:30nmol/L,校准品6:50nmol/L。

[0064] 试剂盒中的校准品是对应于CGA的合成肽。设置肽校准品以产生与纯化的天然CGA片段相等的响应(Stridsberg, M等1993, Stridsberg等1995)

[0065] 将六个校准品的OD对nmol/L值作图,构建校准曲线。

[0066] 校准品测量的结果在表1和图1中描述。

[0067] 表1

实施例标准品	nmol/l CGA	OD
1	0	0.056
2	1	0.178
3	5	0.785
4	15	1.743
5	30	2.423
6	50	2.886

[0069] 实施例3

[0070] 实施例1的检验体系与商业检验试剂盒(Dako)之间的相关性

[0071] 为了该比较,在从Dako(Dako Denmark A/S;Produktionsvej 42;DK-2600Glostrup;Denmark)商购的嗜铬粒蛋白A ELISA试剂盒(编码K0025)的检验试剂盒旁边,使用本发明的实施例1的检验系统对一批患者样品进行检验。所述商购检验试剂盒被广泛使用,并基于简化的双多克隆抗体夹心测定法,其中将样品与结合有过氧化物酶的抗嗜铬粒蛋白A抗体同时在涂有抗嗜铬粒蛋白A抗体的微孔中温育。这种检验试剂盒中的所有抗体据报告都是兔多克隆抗体。按照制造商的说明书使用Dako检验试剂盒。在所述测定法中,读取450nm和650nm下的OD。

[0072] 该比较的结果显示在图2中。在此,X轴的值是从本发明的检验试剂盒(ED NeoLisa)获得的以nmol/l为单位的数据,Y轴的值是用Dako检验试剂盒(Dako)获得的以U/l为单位的数据。

[0073] 可以得出结论,本发明的检验试剂盒和Dako ELISA之间的相关性是极好的。相关系数:0.942。

[0074] 实施例4

[0075] 实施例 1 的检验体系与第二种商业检验试剂盒 (CIS-BIO) 之间的相关性

[0076] 为了该比较,在从 CIS BIO 商购的 CIS-BIO 嗜铬粒蛋白 A ELISA 检验试剂盒 (Chromo@; 产品号 :CGA-ELISA) 的旁边,使用本发明的实施例 1 的检验系统对一批患者样品进行检验。所述商购检验试剂盒相当于 EP1078266B1 中描述的检验试剂盒。它基于夹心测定法,其中捕获抗体是特异性结合人嗜铬粒蛋白序列的 145 到 197 位氨基酸序列中的表位的小鼠单克隆抗体,检测抗体是特异性结合人嗜铬粒蛋白序列的 219 到 234 位氨基酸序列中的表位的小鼠单克隆抗体。按照制造商的说明书使用所述 CIS-BIO 检验试剂盒。

[0077] 该比较的结果显示在图 3 中。在此,X 轴的值是用 CIS-BIO 检验试剂盒 (CIS-BIO) 获得的以 ng/l 为单位的数据,Y 轴的值是从本发明的检验试剂盒 (ED NeoLISA) 获得的以 nmol/l 为单位的数据。

[0078] 我们的 NEOLISA 与 CisBio CgA ELISA 之间的相关性差。相关系数 :0.451。

[0079] 实施例 5

[0080] 临床灵敏度

[0081] 紧接着 120 份献血者血浆样品对总共 107 份具有临床特征的肝素 - 血浆样品进行测定。表 2 和图 4 概括了结果。

[0082] 表 2. 临床灵敏度和特异性

[0083]

诊断	总计	阳性	阴性	灵敏度 (%)
肠嗜铬样肿瘤	4	3	1	75
内分泌胰腺肿瘤	30	19	11	63
前肠类癌瘤	10	7	3	70
肺类癌瘤	9	4	5	44
肠类癌瘤	47	28	19	60
神经分泌分化	6	2	4	33
副神经节瘤	1	1	0	100
合计	107	64	43	60
诊断	总计	阳性	阴性	灵敏度 (%)
献血者 (对照)	120	2	118	98

[0084] 序列表

[0085] <110> 欧罗诊断股份公司

[0086] <120> 嗜铬粒蛋白 A 的免疫测定法、抗体和试剂盒

[0087] <130>156W0

[0088] <150>EP10161375.0

[0089] <151>2010-04-28

[0090] <160>3  
 [0091] <170>PatentIn version 3.5  
 [0092] <210>1  
 [0093] <211>439  
 [0094] <212>PRT  
 [0095] <213>Homo sapiens  
 [0096] <400>1  
 [0097] Leu Pro Val Asn Ser Pro Met Asn Lys Gly Asp Thr Glu Val Met Lys  
 [0098] 1 5 10 15  
 [0099] Cys Ile Val Glu Val Ile Ser Asp Thr Leu Ser Lys Pro Ser Pro Met  
 [0100] 20 25 30  
 [0101] Pro Val Ser Gln Glu Cys Phe Glu Thr Leu Arg Gly Asp Glu Arg Ile  
 [0102] 35 40 45  
 [0103] Leu Ser Ile Leu Arg His Gln Asn Leu Leu Lys Glu Leu Gln Asp Leu  
 [0104] 50 55 60  
 [0105] Ala Leu Gln Gly Ala Lys Glu Arg Ala His Gln Gln Lys Lys His Ser  
 [0106] 65 70 75 80  
 [0107] Gly Phe Glu Asp Glu Leu Ser Glu Val Leu Glu Asn Gln Ser Ser Gln  
 [0108] 85 90 95  
 [0109] Ala Glu Leu Lys Glu Ala Val Glu Glu Pro Ser Ser Lys Asp Val Met  
 [0110] 100 105 110  
 [0111] Glu Lys Arg Glu Asp Ser Lys Glu Ala Glu Lys Ser Gly Glu Ala Thr  
 [0112] 115 120 125  
 [0113] Asp Gly Ala Arg Pro Gln Ala Leu Pro Glu Pro Met Gln Glu Ser Lys  
 [0114] 130 135 140  
 [0115] Ala Glu Gly Asn Asn Gln Ala Pro Gly Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu  
 [0116] 145 150 155 160  
 [0117] Glu Ala Thr Asn Thr His Pro Pro Ala Ser Leu Pro Ser Gln Lys Tyr  
 [0118] 165 170 175  
 [0119] Pro Gly Pro Gln Ala Glu Gly Asp Ser Glu Gly Leu Ser Gln Gly Leu  
 [0120] 180 185 190  
 [0121] Val Asp Arg Glu Lys Gly Leu Ser Ala Glu Pro Gly Trp Gln Ala Lys  
 [0122] 195 200 205  
 [0123] Arg Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Glu Ala Gly Glu Glu  
 [0124] 210 215 220  
 [0125] Ala Val Pro Glu Glu Glu Gly Pro Thr Val Val Leu Asn Pro His Pro  
 [0126] 225 230 235 240  
 [0127] Ser Leu Gly Tyr Lys Glu Ile Arg Lys Gly Glu Ser Arg Ser Glu Ala  
 [0128] 245 250 255

[0129]	Leu Ala Val Asp Gly Ala Gly Lys Pro Gly Ala Glu Glu Ala Gln Asp
[0130]	260 265 270
[0131]	Pro Glu Gly Lys Gly Glu Gln Glu His Ser Gln Gln Lys Glu Glu Glu
[0132]	275 280 285
[0133]	Glu Glu Met Ala Val Val Pro Gln Gly Leu Phe Arg Gly Gly Lys Ser
[0134]	290 295 300
[0135]	Gly Glu Leu Glu Gln Glu Glu Arg Leu Ser Lys Glu Trp Glu Asp
[0136]	305 310 315 320
[0137]	Ser Lys Arg Trp Ser Lys Met Asp Gln Leu Ala Lys Glu Leu Thr Ala
[0138]	325 330 335
[0139]	Glu Lys Arg Leu Glu Gly Gln Glu Glu Glu Asp Asn Arg Asp Ser
[0140]	340 345 350
[0141]	Ser Met Lys Leu Ser Phe Arg Ala Arg Ala Tyr Gly Phe Arg Gly Pro
[0142]	355 360 365
[0143]	Gly Pro Gln Leu Arg Arg Gly Trp Arg Pro Ser Ser Arg Glu Asp Ser
[0144]	370 375 380
[0145]	Leu Glu Ala Gly Leu Pro Leu Gln Val Arg Gly Tyr Pro Glu Glu Lys
[0146]	385 390 395 400
[0147]	Lys Glu Glu Glu Gly Ser Ala Asn Arg Arg Pro Glu Asp Gln Glu Leu
[0148]	405 410 415
[0149]	Glu Ser Leu Ser Ala Ile Glu Ala Glu Leu Glu Lys Val Ala His Gln
[0150]	420 425 430
[0151]	Leu Gln Ala Leu Arg Arg Gly
[0152]	435
[0153]	<210>2
[0154]	<211>16
[0155]	<212>PRT
[0156]	<213>synthetic
[0157]	<400>2
[0158]	Leu Asn Pro His Pro Ser Leu Gly Tyr Lys Glu Ile Arg Lys Gly Glu
[0159]	1 5 10 15
[0160]	<210>3
[0161]	<211>16
[0162]	<212>PRT
[0163]	<213>synthetic
[0164]	<400>3
[0165]	Lys Pro Gly Ala Glu Glu Ala Gln Asp Pro Glu Gly Lys Gly Glu Gln
[0166]	1 5 10 15
[0167]	<u>参考文献</u>

- [0168] 1. Bajetta, E., Ferrari, L., Martinetti, A., Celio, L., Procopio, G., Artale, S., Zilembo, N., Di Bartolomeo, M., Seregni, E. and Bombardieri, E. Chromogranin A, neuron specific enolase, carcinoembryonic antigen, and hydroxyindole acetic acid evaluation in patient with neuroendocrinetumours (在神经内分泌肿瘤患者中评价嗜铬粒蛋白A、神经元特异性烯醇酶、癌胚抗原和羟吲哚乙酸). *Cancer* 1999, 86:858-865.
- [0169] 2. Eriksson, B., Öberg, K. and Stridsberg, M. Tumour markers inneuroendocrine tumours (神经内分泌肿瘤中的肿瘤标志物). *Digestion* 2000, 62:33-38.
- [0170] 3. Köhler and Milstein. *Nature* 1975, 256:495.
- [0171] 4. Konecki et al. *Biol. Chem.* 1987, 262:17026-17030.
- [0172] 5. O' Connor, D. T. and Deftos, L. J. Secretion of chromogranin A by peptide-producing endocrine neoplasms (产肽内分泌瘤分泌嗜铬粒蛋白A). *New England Journal of Medicine* 1986, 314:1145-1151.
- [0173] 6. Stridsberg, M., Hellman, U., Wilander, E., Lundqvist, G., Hellsing, K. and Öberg, K. Fragments of chromogranin A are present in the urine of patients with carcinoid tumours: Development of a specific radioimmunoassay for chromogranin A and its fragments (类癌患者的尿中存在嗜铬粒蛋白A的片段: 开发嗜铬粒蛋白A及其片段的特异性放射免疫测定法). *Journal of Endocrinology* 1993, 139:329-337.
- [0174] 7. Stridsberg, M., Öberg, K., Li, Q., Engström, U. and Lundqvist, G. Measurements of chromogranin A, chromogranin B (secretogranin I), chromogranin C (secretogranin II) and pancreastatin in plasma and urine from patients with carcinoid tumours and endocrine pancreatic tumours (从类癌瘤和内分泌胰腺肿瘤患者的血浆和尿中测量嗜铬粒蛋白A、嗜铬粒蛋白B、(分泌粒蛋白I)、嗜铬粒蛋白C(分泌粒蛋白II)和胰抑制素). *Journal of Endocrinology* 1995, 144:49-59.
- [0175] 8. Stridsberg, M. Measurements of chromogranins and chromogranin-related peptides by immunological methods (通过免疫方法测量嗜铬粒蛋白以及和嗜铬粒蛋白相关的肽). *Advanced Experimental and Medical Biology* 2000, 482:319-327.
- [0176] 9. Winkler, H. and Fischer-Colbrie, R. The chromogranin A and B: The first 25 years and future perspectives (嗜铬粒蛋白A和B: 第一个25年和未来展望). *Neuroscience* 1992, 49:497-528.



Ala Glu Leu Lys Glu Ala Val Glu Glu Pro Ser Ser Lys Asp Val Met  
 100 105 110

Glu Lys Arg Glu Asp Ser Lys Glu Ala Glu Lys Ser Gly Glu Ala Thr  
 115 120 125

Asp Gly Ala Arg Pro Gln Ala Leu Pro Glu Pro Met Gln Glu Ser Lys  
 130 135 140

Ala Glu Gly Asn Asn Gln Ala Pro Gly Glu Glu Glu Glu Glu Glu  
 145 150 155 160

Glu Ala Thr Asn Thr His Pro Pro Ala Ser Leu Pro Ser Gln Lys Tyr  
 165 170 175

Pro Gly Pro Gln Ala Glu Gly Asp Ser Glu Gly Leu Ser Gln Gly Leu  
 180 185 190

Val Asp Arg Glu Lys Gly Leu Ser Ala Glu Pro Gly Trp Gln Ala Lys  
 195 200 205

Arg Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Ala Glu Ala Gly Glu Glu  
 210 215 220

Ala Val Pro Glu Glu Glu Gly Pro Thr Val Val Leu Asn Pro His Pro  
 225 230 235 240

Ser Leu Gly Tyr Lys Glu Ile Arg Lys Gly Glu Ser Arg Ser Glu Ala  
 245 250 255

Leu Ala Val Asp Gly Ala Gly Lys Pro Gly Ala Glu Glu Ala Gln Asp  
 260 265 270

[0003]

Pro Glu Gly Lys Gly Glu Gln Glu His Ser Gln Gln Lys Glu Glu Glu  
 275 280 285

Glu Glu Met Ala Val Val Pro Gln Gly Leu Phe Arg Gly Gly Lys Ser  
 290 295 300

Gly Glu Leu Glu Gln Glu Glu Glu Arg Leu Ser Lys Glu Trp Glu Asp  
 305 310 315 320

Ser Lys Arg Trp Ser Lys Met Asp Gln Leu Ala Lys Glu Leu Thr Ala  
 325 330 335

Glu Lys Arg Leu Glu Gly Gln Glu Glu Glu Glu Asp Asn Arg Asp Ser  
 340 345 350

Ser Met Lys Leu Ser Phe Arg Ala Arg Ala Tyr Gly Phe Arg Gly Pro  
 355 360 365

Gly Pro Gln Leu Arg Arg Gly Trp Arg Pro Ser Ser Arg Glu Asp Ser  
 370 375 380

Leu Glu Ala Gly Leu Pro Leu Gln Val Arg Gly Tyr Pro Glu Glu Lys  
 385 390 395 400

Lys Glu Glu Glu Gly Ser Ala Asn Arg Arg Pro Glu Asp Gln Glu Leu  
 405 410 415

Glu Ser Leu Ser Ala Ile Glu Ala Glu Leu Glu Lys Val Ala His Gln  
 420 425 430

Leu Gln Ala Leu Arg Arg Gly  
 435

[0004]



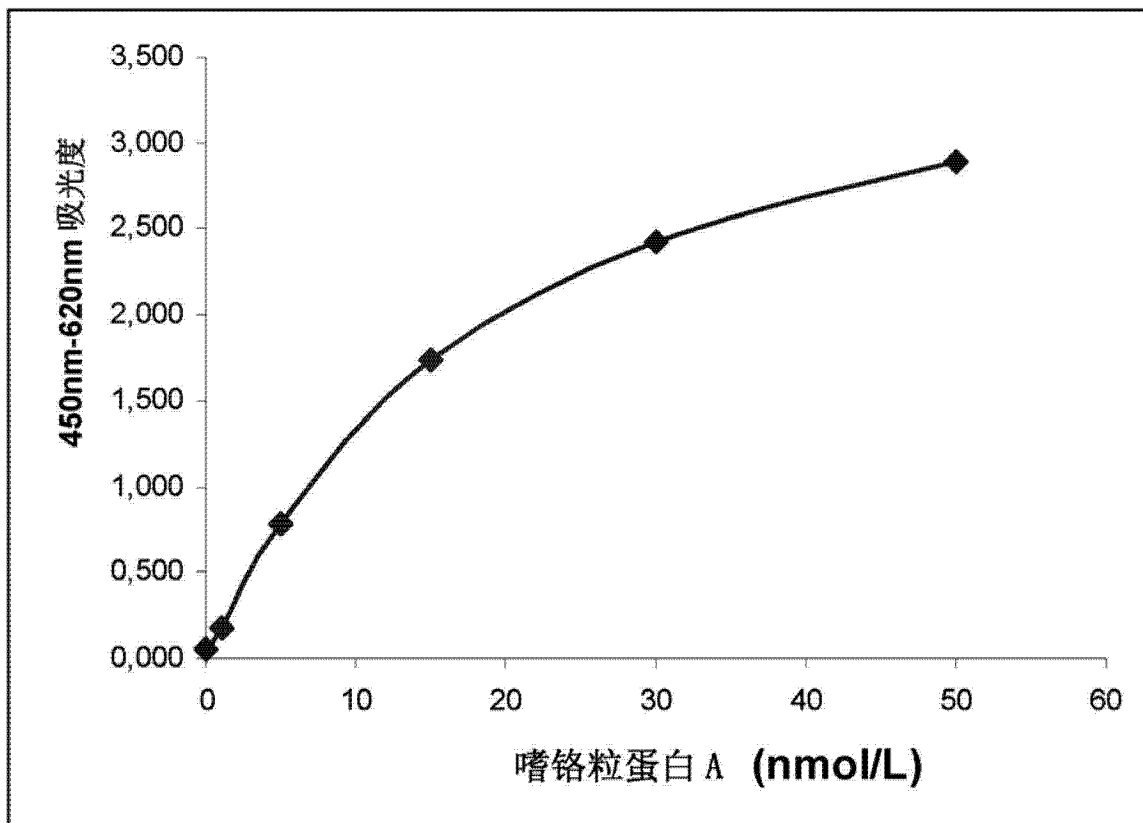


图 1

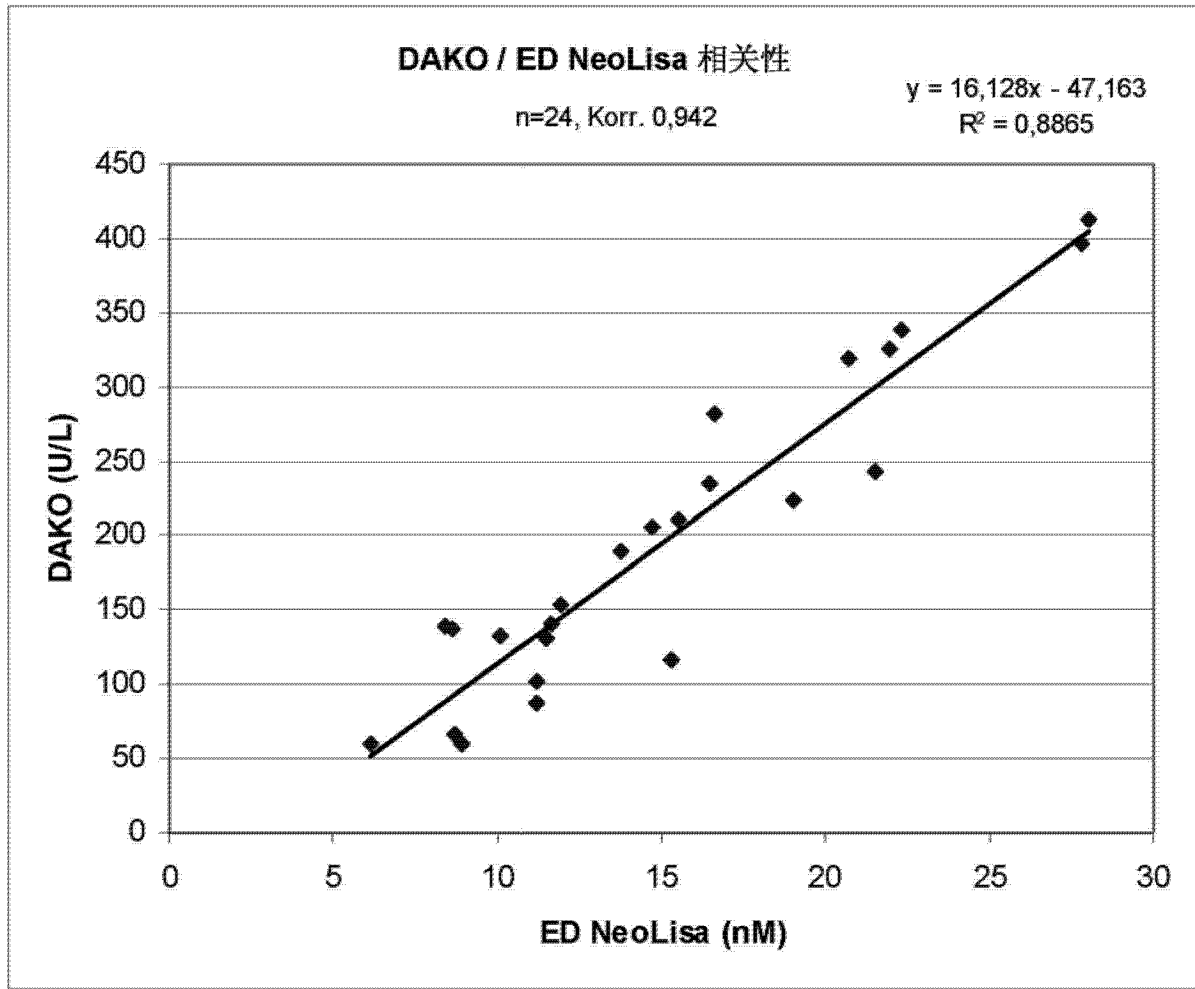


图 2

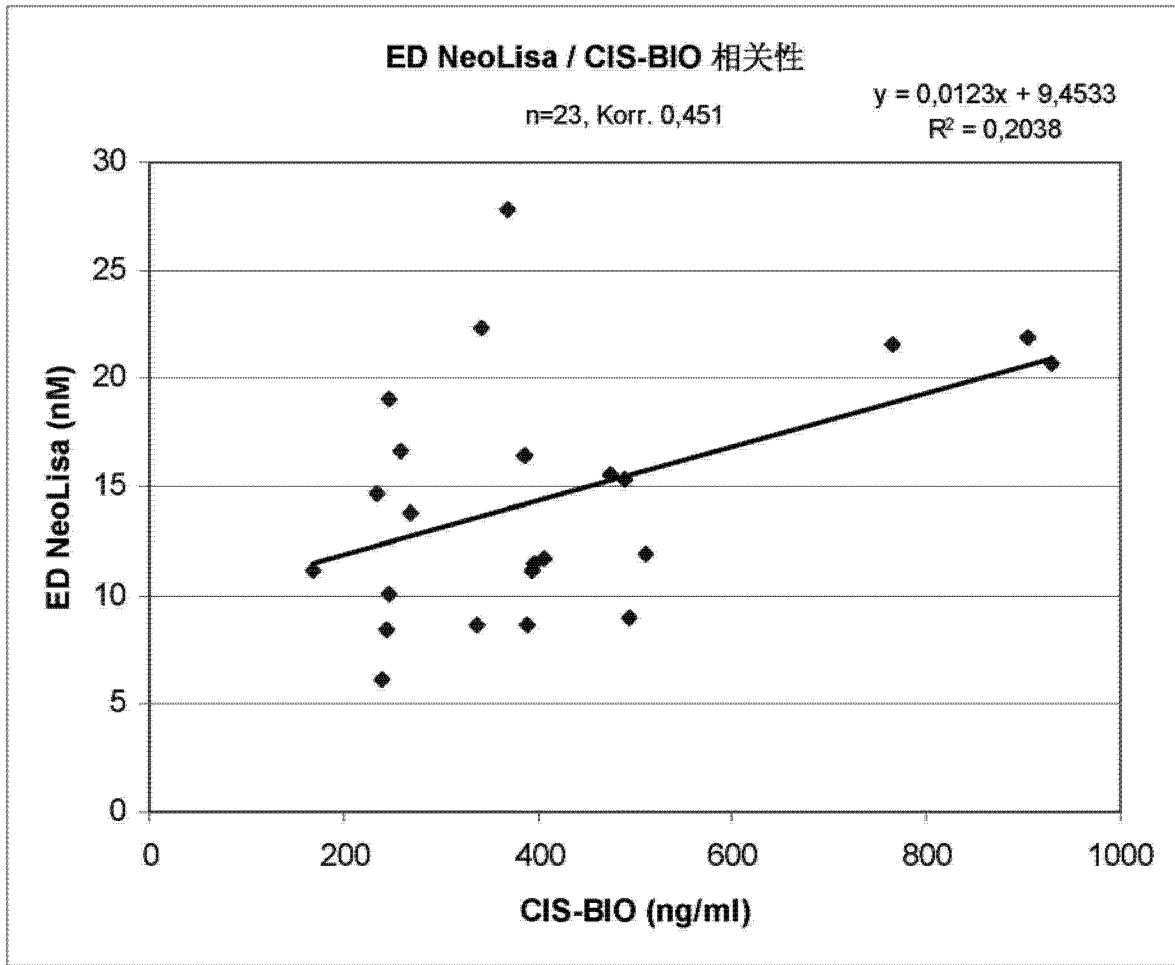


图 3

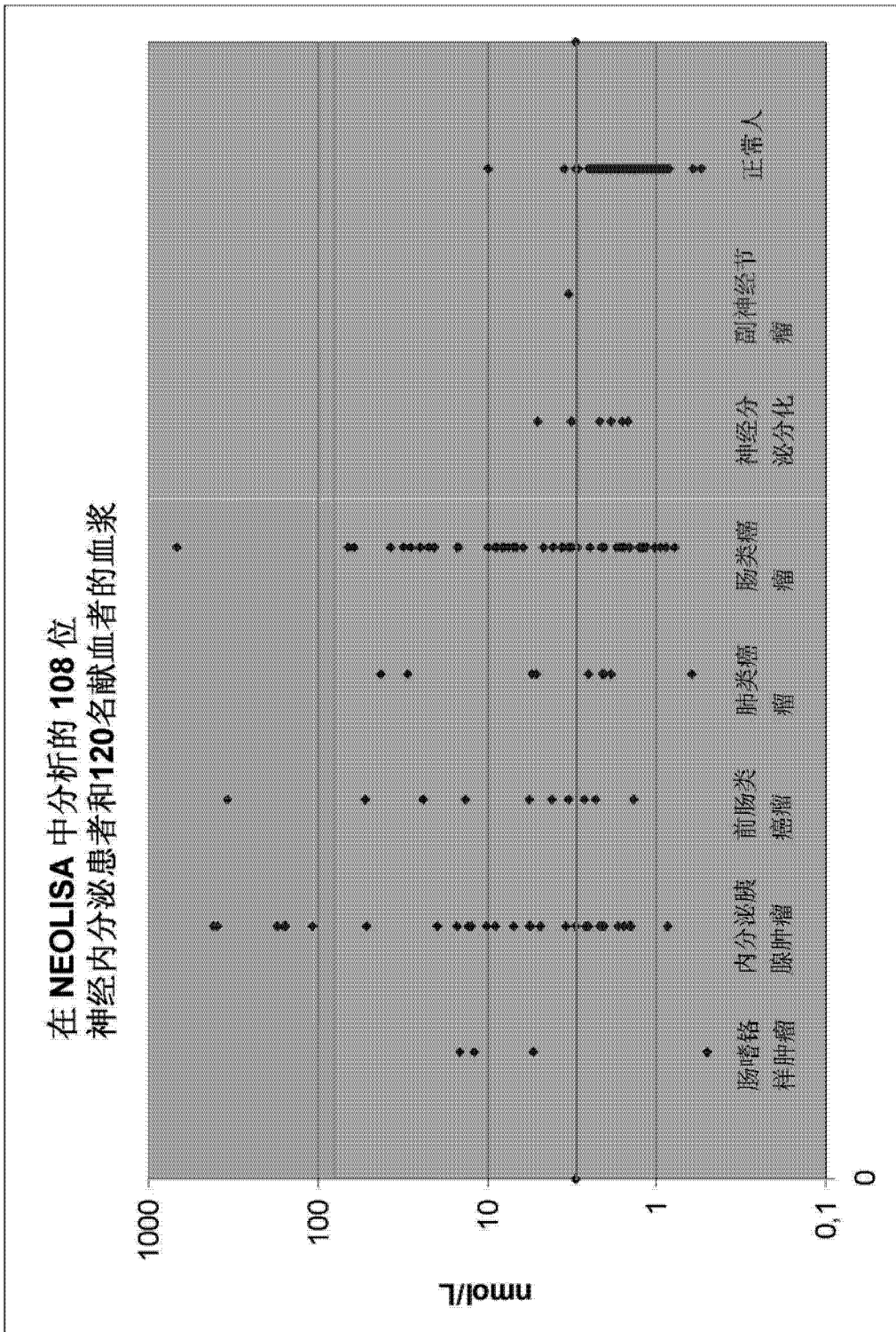


图 4

专利名称(译)	嗜铬粒蛋白A的免疫测定法、抗体和试剂盒		
公开(公告)号	<a href="#">CN102869681B</a>	公开(公告)日	2015-04-08
申请号	CN201180020713.9	申请日	2011-04-28
[标]申请(专利权)人(译)	欧罗诊断股份公司		
申请(专利权)人(译)	欧罗诊断股份公司		
当前申请(专利权)人(译)	欧罗诊断股份公司		
[标]发明人	麦茨斯特里斯贝格 英韦索马林		
发明人	麦茨·斯特里斯贝格 英韦·索马林		
IPC分类号	C07K16/18 G01N33/53 G01N33/577 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/74 C07K2317/34 G01N33/577 G01N33/68 C07K16/18 C07K16/26 C07K16/30 G01N33/53		
代理人(译)	张颖 谢丽娜		
审查员(译)	马静		
优先权	2010161375 2010-04-28 EP		
其他公开文献	CN102869681A		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及与人CGA氨基酸序列的第236到251位或第264到279位氨基酸序列表示的多肽中的表位有反应性的单克隆抗体。本发明还涉及这些单克隆抗体在CGA的免疫测定中的应用、包含这两种抗体的任一种的免疫试剂、以及用于测定CGA的含有基于这两种单克隆抗体的免疫试剂的检验试剂盒。

