



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 104109197 B

(45)授权公告日 2017.05.10

(21)申请号 201310571300.0

审查员 段珊

(22)申请日 2013.11.13

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 104109197 A

(43)申请公布日 2014.10.22

(73)专利权人 叶森

地址 210000 江苏省南京市浦口区高新技术开发区星火路10号人才大厦E栋

(72)发明人 叶森

(74)专利代理机构 北京布瑞知识产权代理有限公司

11505

代理人 张丹

(51)Int.Cl.

C07K 14/46(2006.01)

G01N 33/532(2006.01)

权利要求书1页 说明书6页 附图4页

(54)发明名称

一种双识别抗体片段的制备方法及其应用

(57)摘要

本发明涉及医药卫生领域,提供了一种双识别抗体片段的制备方法。本发明得到的抗体由两个不同单抗的Fab'片段组成,一端可识别待测抗原,另一端识别运载示踪物的无关蛋白。通过结合高比例示踪物的无关蛋白,放大检测信号,提高检测灵敏度。通过本发明提供的方法制备的抗体,可应用于化学发光、荧光、酶联免疫分析领域。

1. 一种双识别抗体,其特征在于,其具有两端不同的Fab'区域,可同时识别两种不同抗原;

所述两端不同的Fab'区域中,其中一端Fab'-a识别待测抗原,另一端Fab'-b识别运载示踪物的无关蛋白,Fab'-a及Fab'-b较链区的巯基经氧化形成二硫键,从而构成重组抗体片段;

所述的无关蛋白是牛血清白蛋白、卵清白蛋白,分子量在10KDa到300KDa之间,与待测抗原无相互作用,能标记示踪物;

当待测物质中存在抗原时,此抗体片段会和待测抗原以及另外一株针对该抗原的捕获抗体反应形成夹心复合物,此时携带高比例示踪物无关蛋白也会通过免疫反应介入到夹心复合物中,由于其结合了高比例的示踪物,从而保证了检测信号极大幅度的增强,同时解决了示踪物对抗体识别能力的影响,根据标记物质的不同选择特定的示踪方法,再结合标准曲线计算出待测物质中抗原的含量;

所述待测抗原是降钙素原、心肌肌钙蛋白I、心肌肌钙蛋白T或N-端脑钠肽前体。

2. 根据权利要求1所述的双识别抗体,其特征在于,所述的示踪物可以在特定的示踪方法下发射信号,包含吡啶酯、ABEI、LuminoI、HRP、AP、Cy3、Cy5、FITC物质中的一种或几种。

3. 根据权利要求1所述的双识别抗体,其特征在于,所述待测物质包括人或动物体尿液、脑脊液、血液、唾液。

4. 根据权利要求1所述的双识别抗体的制备方法,其特征在于,Fab'-a抗体片段是由一株针对待测抗原的单克隆抗体的F(ab')₂-a通过还原剂只打开较链区的二硫键得到的抗体片段;所述Fab'-b抗体片段,是由一株针对无关蛋白的单克隆抗体的F(ab')₂-b通过还原剂只打开较链区的二硫键得到的抗体片段;所述的还原剂为β-巯基乙醇、二硫苏糖醇。

5. 根据权利要求4所述的双识别抗体的制备方法,其特征在于,所述的F(ab')₂-a是由胃蛋白酶消化完整的待测抗原的单克隆抗体得到的抗体片段;所述的F(ab')₂-b,其特征在于其是由胃蛋白酶消化完整的无关蛋白的单克隆抗体得到的抗体片段。

一种双识别抗体片段的制备方法及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于医药领域,涉及到一种双识别抗体抗体的制备方法,通过该方法得到的双识别抗体,可广泛应用于化学发光免疫法检测、荧光免疫层析法检测、酶联免疫法检测等领域,能够大幅度提高原有方法学的检测灵敏度。

背景技术

[0002] 传统的免疫分析法如化学发光免疫法、酶联免疫法以及荧光免疫层析法都是将示踪物直接标记抗体或抗原用于免疫检测,而示踪物与抗原、抗体的偶联,会在一定程度上影响原物质的活性,从而对检测敏感性造成一定的影响。酶联免疫吸附剂测定法(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)简称酶联免疫法,其中心是让抗原或抗体与酶连接形成酶标抗体,通过显色来检测。这种酶标抗原或者抗体既保留其免疫活性,又保留酶的活性。但在标记的过程中,首先过碘酸钠氧化酶形成醛化酶,醛化酶再与抗体或抗原分子氨基相连,该过程中过碘酸钠会对抗体或抗原的免疫活性造成影响,同样会影响免疫灵敏度。同样,化学发光免疫法标记到抗体上的吡啶酯、异鲁米诺等发光物以及荧光免疫层析法中标记到抗体上的荧光物Cy3、Cy5,当标记比例小的时候不影响抗体的活性,但是发光或者荧光的信号比较小,导致试剂的灵敏度不够高,但标记比例大的时候这些示踪物会结合到抗体识别抗原的Fv区域,从而导致其识别能力下降。因此,一种既能高效识别抗原又能携带高比例示踪物的改造抗体便成为了解决上述种种矛盾的必需。

[0003] 以降钙素原(Piocalcitonin, PCT)为例,PCT作为近些年来新发现的炎症指标,目前已经发现它在细菌感染时升高,并且其升高程度与感染严重程度、病情预后密切相关。近年来随着研究的深入,发现在细菌感染初期,已经有PCT低水平的升高,当PCT水平大于50pg/mL而小于250pg/mL时,预示着病人有局部感染,当PCT水平大于0.25ng/mL时,建议进行抗生素治疗。正常人体内PCT的含量极低,小于50pg/mL。因此在感染初期,尤其是呼吸道感染的病人,大部分为轻微感染,普通的检测方法很难及时的测定PCT的含量变化,从而会给医生的判断带来困惑,耽误了及时的治疗方案。

[0004] 本发明利用被胃蛋白酶消化后的抗体中铰链区的二硫键比Fab'中连接H链和L链的二硫键容易断裂为基础,利用低浓度的还原剂进行切割,从而制备两种识别不同抗原的抗体Fab',将两种Fab'按一定比例混合并让其铰链区的二硫键氧化重新形成二硫键,从而构成重组抗体片段F(ab')₂。这种重组抗体,一端识别待测抗原,另一端识别运载示踪物的无关蛋白,无关蛋白上携带高比例的示踪物,进而相当于间接的将示踪物标记到检测用的抗体上,高比例的示踪信号保证了检测信号极大幅度的增强,同时解决了示踪物对抗体识别能力的影响。

发明内容

[0005] 本发明的目的是提供一种双识别抗体片段的制备方法,该方法能够应用于化学发光免疫法检测、荧光免疫层析法检测、酶联免疫法检测等领域,能够大幅度提高原有方法学

的检测灵敏度。

[0006] 所述的双识别抗体片段,可同时识别两种不同抗原,其中一端Fab'-a识别待测抗原,另一端Fab'-b识别运载示踪物的无关蛋白,无关蛋白上携带高比例的示踪物,进而相当于间接的将示踪物标记到检测用的抗体上,当待测物质中存在抗原时,此抗体片段会和待测抗原以及另外一株针对该抗原的捕获抗体反应形成夹心复合物,此时介入到夹心复合物中的无关蛋白,由于其结合了高比例的示踪物,从而保证了检测信号极大幅度的增强,同时解决了示踪物对抗体识别能力的影响,根据标记物质的不同选择特定的示踪方法,再结合标准曲线计算出待测物质中抗原的含量。

[0007] 该双识别抗体片段由两个来自不同的单抗的Fab' (Fab'-a和Fab'-b) 组成。所述的Fab'-a片段来源于一株待测抗原的单克隆抗体,是经胃蛋白酶消化及还原试剂打开铰链区二硫键得到的Fab'片段。

[0008] 所述的Fab'-b来源于一种无关蛋白的单克隆抗体,是经胃蛋白酶消化及还原试剂打开铰链区二硫键得到的Fab'片段。

[0009] 所述的待测抗原是降钙素原、心肌肌钙蛋白I、心肌肌钙蛋白T或N-端脑钠肽前体等生物标志物。

[0010] 所述的无关蛋白为牛血清白蛋白、卵清白蛋白等天然或重组蛋白,是指分子量在10KDa到300KDa之间的,与待测抗原无相互作用的,能标记示踪物的蛋白。

[0011] 所述示踪物为吖啶酯、ABEI、IuminoI、HRP、AP、Cy3、Cy5、647、FITC等物质中的一种或几种。

[0012] 根据本发明所述的双识别抗体制备方法,所得的双识别抗体可应用于化学发光免疫法检测、荧光免疫层析法检测、酶联免疫法检测等领域,可用于定量检测人体尿液、脑积液、血液等体液或以其他形式存在的待检抗原,能够大幅度提高原有方法学的检测灵敏度。

[0013] 所述的双识别抗体的制备方法,以制备抗降钙素原-抗BSA双识别抗体为例,如图1所示,包括如下步骤:

[0014] 1.取NHS-sepharose4FF(购自GE公司)10mL,用200mL1mM HCl溶液洗涤,除去异丙醇,平均分成两份;将40mg pH7.4PBS平衡的PCT抗原(购自Fitzgerald公司)及BSA(购自Sigma公司)分别与预先洗好的5mLNHS活化树脂混匀,室温孵育2h。

[0015] 2.0.1M Tris-HCl(pH8.0)缓冲液封闭1h。用5倍柱体0.1M HAc-NaAc(0.5M NaCl, pH4.0)和0.1M Tris-HCl(0.5M NaCl, pH8.0)缓冲液交替洗,重复5次,即为做好的PCT抗原抗体亲和柱和BSA抗原抗体亲和柱。

[0016] 3.将一株抗降钙素原(PCT)的单抗1与另一株抗BSA的单抗2,在0.1M HAc-NaAc(pH4.5)透析3h,按照抗体与胃蛋白酶50:1比例,加入新配制的2mg/mL胃蛋白酶溶液,37℃震荡反应1h。

[0017] 4.反应结束后,加入1MTris-HCl(pH8.5)进行终止反应。将单抗1、单抗2反应液分别上样预先平衡好的PCT抗原抗体亲和柱和BSA抗原抗体亲和柱(平衡缓冲液均为0.1M Tris-HCl, pH8.5, 2M NaCl)。用50倍体积Tris-HCl缓冲液进行流洗,至洗出的蛋白含量不再减少为止。

[0018] 5.用洗脱缓冲液(Gly缓冲液, pH2.0)分别对两亲和柱进行洗脱,准备两支装有中和缓冲液(1M Tris-HCl, pH8.0)的离心管分别收集蛋白含量高的部分,即为单抗1和单抗2

的F(ab')₂片段(图1所示的3和4),其中中和缓冲液以收集蛋白体积1/10加入。将收集抗体片段于20mM PBS(pH7.4)透析4次,每次4-6h。

[0019] 6.将透析后的3和4分别加入还原剂β-巯基乙醇(终浓度为5mM),37℃孵育30min。取少量的还原反应液,经非还原SDS-PAGE鉴定还原效果。3和4还原后的片段即为5和6。

[0020] 7.将5和6片段等摩尔量混合,在含0.1mM氧化型谷胱甘肽的20mMPBS缓冲液中4℃透析过夜,使片段5和6随机组合。

[0021] 8.将透析后的5和6组合液上样于预先用20mM PBS(pH7.4,2MNaCl)平衡的PCT抗原抗体亲和柱,用20mM PBS洗亲和柱,直至洗出的蛋白含量不再减少为止。

[0022] 9.同步步骤5,用洗脱缓冲液洗脱并收集抗体。用PBS透析抗体共三次,每次间隔至少4h。

[0023] 10.按照步骤8、9所述纯化方法,将透析后的溶液再次上样包被BSA的抗原抗体亲和柱。洗脱收集,并用PBS透析。

[0024] 11.透析后,抗体片段于4℃,12000rpm离心10min,取上清,即得到本发明所述的双识别抗体7。分别留样测效价和电泳,然后将双识别抗体分装并冻存于-20℃,备用。

附图说明

[0025] 图1为双识别抗体片段的结构示意图

[0026] 图2为双识别抗体在检测过程中的交联示意图(a为化学发光法;b为亲和层析法;c为ELISA法)

[0027] 图3为化学发光法测定PCT灵敏度

[0028] 图4为免疫层析法测定PCT灵敏度

[0029] 图5为ELISA法检测PCT的灵敏度

具体实施方式

[0030] 下面结合具体实施例对本发明进行进一步的描述,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。

[0031] 实施例1

[0032] 化学发光免疫分析法检测PCT

[0033] 应用于化学发光检测PCT试剂盒,包括致敏磁性微粒1,即共价偶联了抗PCT单抗5的磁性微粒悬浮液;双识别抗体片段6,即可同时识别PCT和BSA的抗体,制备方法如发明内容所述;标记吖啶酯(4)的BSA(3)溶液;激发物I和激发物II。将抗原2加入含有磁性微粒1和双识别抗体6及标记发光物的无关蛋白3的溶液中时,通过抗体-抗原-抗体-抗原的相互作用,形成磁性微粒-抗体-待测抗原-双识别抗体-标记蛋白复合物,使用磁性分离技术捕获所述的复合物,加入配置好的激发物I和激发物II,利用化学发光检测仪检测发光强度,即可计算出待测抗原浓度。所述的复合物的交联方式结构示意图如图2(a)所示。

[0034] 其中标记发光物的无关蛋白3是标记了吖啶酯(AE)的BSA,吖啶酯购于上海迈拓崑化工新材料科技有限公司。取1.0mg/mL BSA溶液50μL,加入5mg/mL浓度的AE1μL,49μL50mM pH9.5的碳酸盐缓冲液,37℃标记1h,后对20mM pH7.4的磷酸盐缓冲液4℃透析5次,加入抗体储存液及甘油,-20℃保存。其中抗体储存液为0.1M pH7.4PBS、2%酪蛋白、1‰Tween-20

及2‰NaN₃。

[0035] 抗体5为抗PCT单克隆抗体,购于Fitzgerald公司,编号10-7942。与构建双识别抗体的抗PCT单抗是配对的,即针对人PCT氨基酸序列的不同抗原决定簇。

[0036] 使用碳化二亚胺(EDAC)法共价偶联酶标抗体以制备致敏磁性微球1悬浮液:磁性微球(羧基化磁性微球,1.0μm,购于BangsLab公司)20mM MES水溶液(pH5.6)清洗磁性微球两次,重悬磁性微球在此缓冲液中,添加EDAC和SuIfu-NHS使微球:EDAC:SuIfu-NHS的质量比为1:1:0.6,24℃活化1小时,20mM磷酸盐缓冲液(pH7.5)清洗三遍微球后,添加微球等质量1/20的抗PCT单抗5。24℃反应12小时后添加1/20体积甘氨酸封闭液(1mol/L甘氨酸水溶液)24℃封闭1小时。100mM磷酸盐缓冲液(pH7.0,150mM NaCl,0.05%Tween-20)清洗微球三次,溶于100mM磷酸盐缓冲液(pH7.0,150mMNaCl,0.05%Tween-20,0.1%酪蛋白)中,使磁性微球的浓度为0.25%(W/V,g/100mI)。

[0037] 激发物1溶液配制:HNO₃使用纯水稀释到浓度为0.1M,并加入1‰H₂O₂,混匀。

[0038] 激发物2溶液的配制:配制0.25M的NaOH水溶液,并加入1‰TritonX-100,混匀。

[0039] 化学发光法灵敏度的考察:将PCT校准品(购于Fitzgerald公司,30-1379),依次稀释到0pg/mL、2pg/mL、5pg/mL、10pg/mL、30pg/mL、100pg/mL、1000pg/mL、10000pg/mL,稀释缓冲液为抗体稀释液。取20μL致敏磁性微球1,加入校准品稀释液50μL。37℃反应10min,磁性分离,清洗1次。加入100μLAEL标记的BSA及100μL抗PCT-抗BSA抗体6,37℃反应10min,磁性分离,清洗三次,在全自动发光仪(新产业MagLumi)上测定发光值。

[0040] 为对比该方法的优越性,同时使用常规抗体直接标记吡啶酯,标记过程如上所述。反应时使用直接标记的常规抗体替代双识别抗体6及标记吡啶酯的BSA,按上述的实验方案测定PCT校准品稀释液。

[0041] 实施例2

[0042] 免疫层析法检测PCT

[0043] 应用于免疫层析法检测PCT试剂盒,包括致敏胶乳颗粒1,即共价偶联了双识别抗体6的胶乳悬浮液;双识别抗体片段6,即可同时识别PCT和BSA的抗体,制备方法如发明内容所述;标记荧光素Cy5-NHS酯(4)的BSA蛋白(3)溶液;醋酸纤维膜,划有抗PCT单克隆抗体及抗双识别抗体Fab段的单抗。将抗原2与致敏胶乳微粒1及标记荧光素的无关蛋白3溶液混合时,通过抗体-抗原-抗体-抗原的相互作用,形成胶乳微粒-双识别抗体-待测抗原/标记蛋白复合物,并通过标记在纤维素膜上的另一株抗PCT单抗与抗原作用,捕获复合物。在荧光分析仪中检测荧光强度,即可得到待测抗原浓度。所述的复合物交联方式如图2(b)所示。

[0044] 其中标记荧光素的无关蛋白3是标记了Cy5的BSA。Cy5购于上海迈拓崑化工新材料科技有限公司。使用25mM pH9.0的CB缓冲液将BSA稀释到20mg/mL,溶液放置冰浴内。取抗体1/100的Cy5-NHS酯溶于所用CB量1/10的0.5M pH9.5的CB中。在缓慢搅拌中,将Cy5-NHS酯滴加入BSA溶液中,5-10min内完成。将容器加塞封闭后,连同搅拌装置置于4℃,继续搅拌,是Cy5-NHS酯与BSA结合12-18h。3000rpm离心20min后取上清,置于透析袋中,流水透析5min后,用10mM pH7.2的PBS4℃透析,得到Cy5-NHS酯标记的BSA。

[0045] 使用碳化二亚胺(EDAC)法共价偶联酶标抗体以制备致敏胶乳微粒1悬浮液:胶乳微粒(26nm,购于BangsLab公司)20mM MES水溶液(pH5.6)清洗胶乳微粒两次,重悬胶乳在此缓冲液中,添加EDAC和SuIfu-NHS使胶乳:EDAC:SuIfu-NHS的质量比为1:1:0.6,24℃活化1

小时,20mM磷酸盐缓冲液(pH7.5)清洗三遍微球后,添加胶乳等质量的双识别抗体6。24℃反应12小时后添加1/20体积甘氨酸封闭液(1mol/L甘氨酸水溶液)24℃封闭1小时。100mM磷酸盐缓冲液(pH7.0,150mM NaCl,0.05%Tween-20)清洗胶乳三次,溶于100mM磷酸盐缓冲液(pH7.0,150mMNaCl,0.05%Tween-20,0.1%酪蛋白)中,使胶乳微粒的浓度为0.25%(W/v,g/100mL)。

[0046] 抗体5为抗PCT单克隆抗体,购于Fitzgerald公司,编号10-7942。与构建双识别抗体的抗PCT单抗是配对的,即针对人PCT氨基酸序列的不同抗原决定簇。

[0047] 醋酸纤维膜的制备:将抗PCT单克隆抗体5以1.0mg/mL的浓度,蠕动泵授液量0.2mL/min,划线速度50m/20min,在干燥箱内20℃鼓风干燥12h,完成检测线的制备。将一株抗双识别抗体6Fab段的单抗以4mg/mL的浓度,蠕动泵授液量0.2mL/min,划线速度50m/20min,该线与检测线平行,在干燥箱内20℃鼓风干燥12h,完成质控线的制备。

[0048] 亲和层析法测定PCT灵敏度的考察:将PCT校准品用校准品稀释液稀释,浓度依次为10pg/mL、200pg/mL、50pg/mL、100pg/mL、300pg/mL、1ng/mL、3ng/mL、10ng/mL、30ng/mL。取30μL不同浓度的PCT校准品,加入50μL的荧光微球,室温下充分混合1min,取75μL的混合样本加入测试卡加样孔中,室温放置15min。将测试卡插入免疫荧光检测仪中,进行荧光检测。

[0049] 为对比该方法的优越性,同时使用常规抗体直接标记Cy5,标记过程如上所述。反应时使用直接标记的常规抗体替代双识别抗体6及标记Cy5的BSA,按上述的实验方案测定PCT校准品稀释液。

[0050] 实施例3

[0051] ELISA法测定降钙素原(PCT)

[0052] 应用于酶联免疫检测PCT试剂盒,包括抗PCT的单抗5溶液及包被液,用于包被酶标板;双识别抗体片段6,即可同时识别PCT和BSA的抗体,制备方法如发明内容所述;标记辣根过氧化物酶HRP的BSA(3)溶液;清洗液和封闭液;显色液A、B及终止液。将抗原2加入包被抗PCT单抗5的酶标板中,并加入双识别抗体6及标记辣根过氧化物酶的无关蛋白3的溶液中时,通过抗体-抗原-抗体-抗原的相互作用,形成固相-抗体-待测抗原-双识别抗体-标记蛋白复合物,加入配置好的显色液A及显色液B,利用酶标仪检测OD值,即可计算出待测抗原浓度。所述的复合物的交联方式结构示意图如图2(c)所示。

[0053] 其中,标记HRP的BSA溶液配制方法:取1mL5mg/mL的HRP溶液,加入0.2mL新配的0.1M NaIO₄溶液,室温下搅拌20min。将上述溶液对1mM pH4.4的醋酸钠缓冲液透析,4℃过夜。加入20μL0.2M pH9.5的碳酸盐缓冲液,使醛化的HRP pH上升到9.0-9.5。后立即加入10mg BSA在1mL0.01M碳酸盐缓冲液中,室温避光轻轻搅拌2h。加入0.1mL新配的4mg/mL NaBH₄溶液,混匀,4℃放置2h。然后对0.15M pH7.4的PBS透析,即得到HRP标记的BSA溶液。

[0054] 显色液A配制:配制4.2g/L的柠檬酸溶液,调节pH到2.6。高温灭菌后加入TMB至终浓度为0.476g/L,避光保存。

[0055] 清洗液和封闭液配制:纯水中加入NaH₂P₂O₄·2H₂O2.65g/L,Na₂HPO₄·12H₂O29g/L,NaCl9g/L,再加入1%Tween-20,即得到清洗液。在清洗液中加入1%的酪蛋白及1%P300,即得到酪蛋白封闭液。将封闭液用清洗液稀释至酪蛋白浓度0.1%,即为反应过程中实用的稀释液。

[0056] 显色液B配制:配制8.4g/L的柠檬酸溶液,调节pH到5.2。加入Na₂HPO₄·12H₂O至终

浓度30.38g/L,高温灭菌后,按1:1000添加30%的双氧水。

[0057] 终止液配制:2M H₂SO₄溶液。

[0058] ELISA法测定PCT灵敏度考察:将PCT校准品依次稀释到0pg/mL、10pg/mL、20pg/mL、50pg/mL、200pg/mL、500pg/mL、1000pg/mL,稀释缓冲液为0.1%酪蛋白。以100μL10μg/mL的PCT单抗5的碳酸盐溶液包被96孔板,37℃包被1h,使用1%的酪蛋白200μL37℃封闭30min,清洗并排干后加入PCT校准品稀释液100μL,37℃孵育1h。清洗3次排干,加入抗PCT-抗BSA双识别抗体,37℃反应1h,清洗后拍干,加入1:5000倍稀释的HRP标记的BSA,37℃反应30min,清洗并排干后加入显色液A和显色液B各50μL,37℃反应10min,加入50μL终止液,在酶标仪上测定450nm处的吸光值。

[0059] 为对比该方法的优越性,同时使用常规抗体直接标记HRP,标记过程如上所述。反应时使用直接标记的常规抗体替代双识别抗体6及标记HRP的BSA,按上述的实验方案测定PCT校准品稀释液。

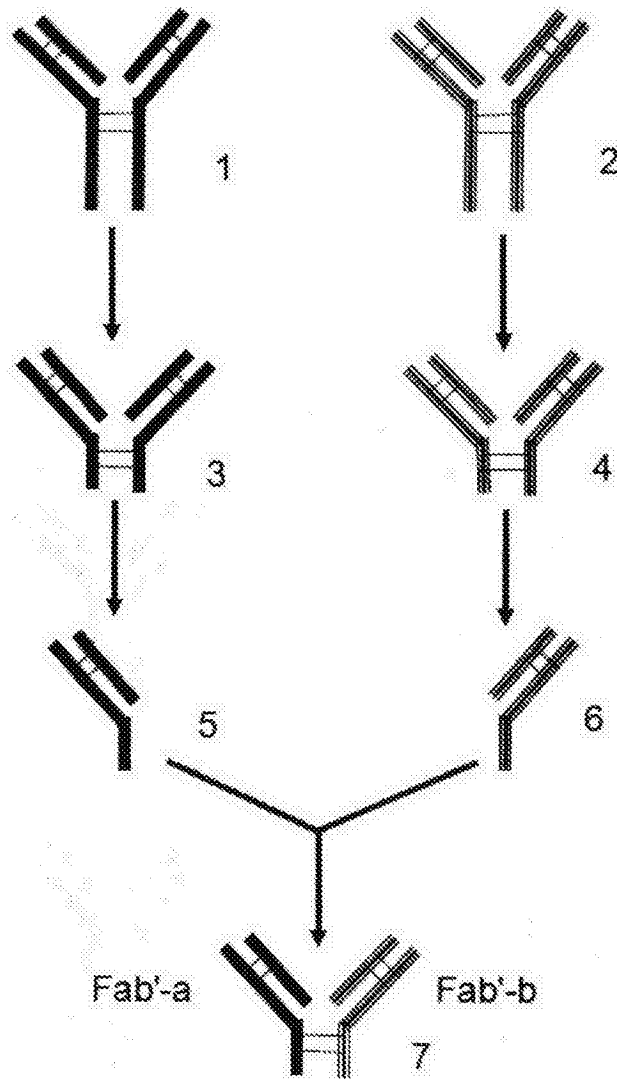


图1

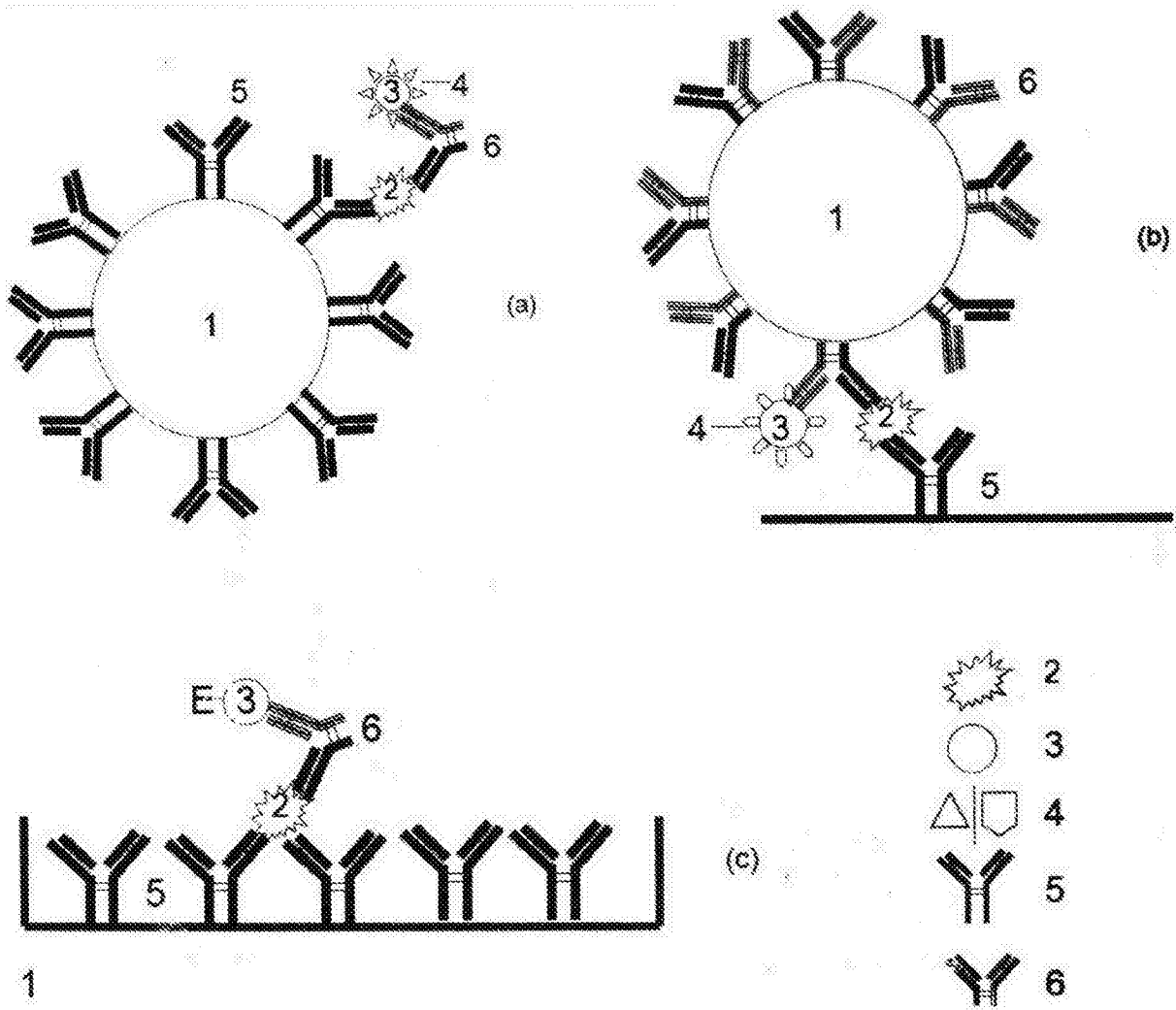


图2

化学发光法测定PCT

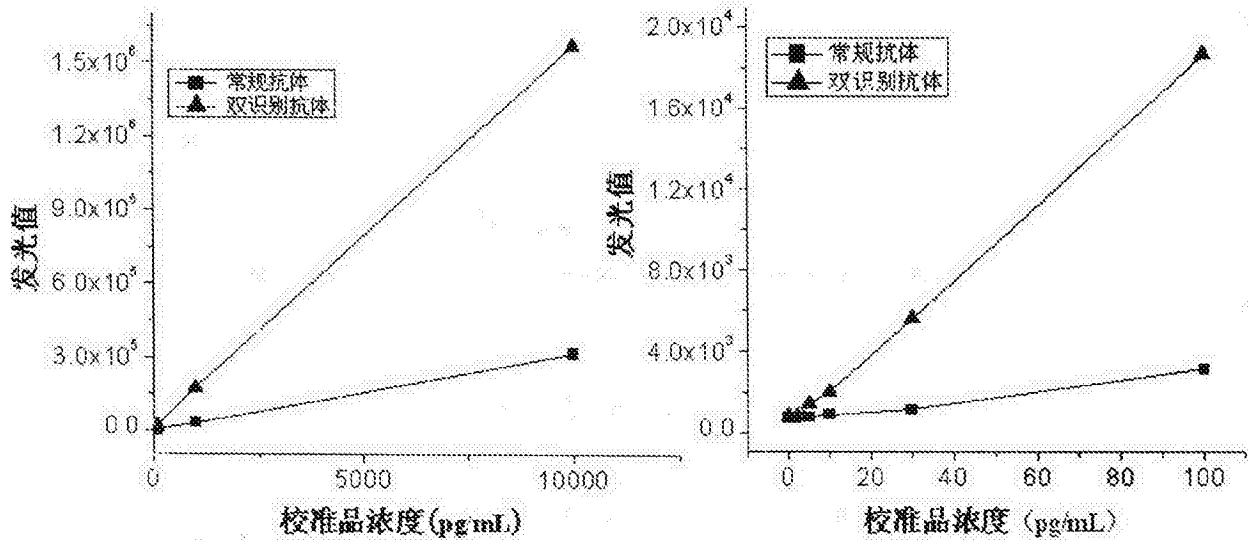


图3

免疫层析法测定PCT

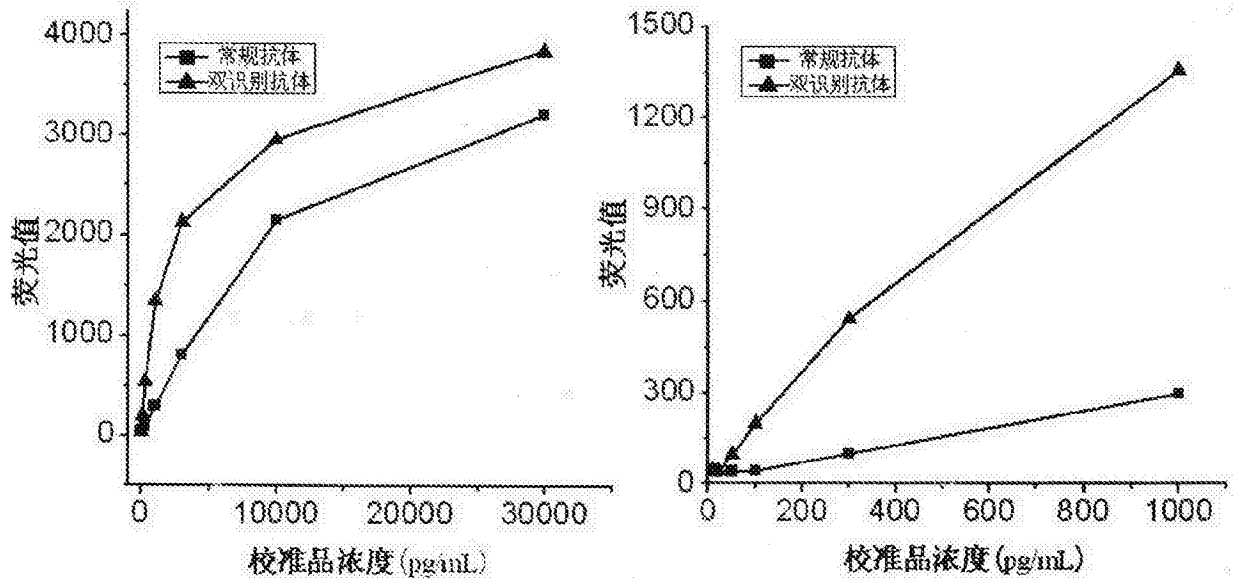


图4

ELISA法测定PCT

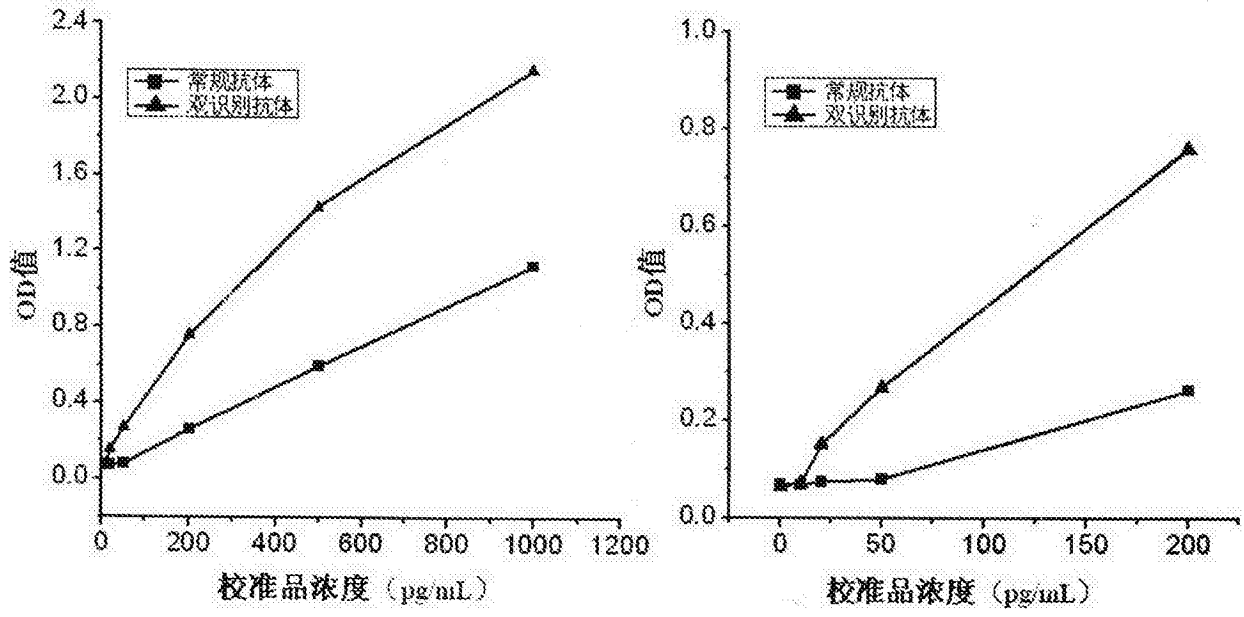


图5

专利名称(译)	一种双识别抗体片段的制备方法及其应用		
公开(公告)号	CN104109197B	公开(公告)日	2017-05-10
申请号	CN201310571300.0	申请日	2013-11-13
[标]申请(专利权)人(译)	叶森		
申请(专利权)人(译)	叶森		
当前申请(专利权)人(译)	叶森		
[标]发明人	叶森		
发明人	叶森		
IPC分类号	C07K14/46 G01N33/532		
CPC分类号	C07K16/468 C07K2317/55		
代理人(译)	张丹		
审查员(译)	段珊		
其他公开文献	CN104109197A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及医药卫生领域，提供了一种双识别抗体片段的制备方法。本发明得到的抗体由两个不同单抗的Fab'片段组成，一端可识别待测抗原，另一端识别运载示踪物的无关蛋白。通过结合高比例示踪物的无关蛋白，放大检测信号，提高检测灵敏度。通过本发明提供的方法制备的抗体，可应用于化学发光、荧光、酶联免疫分析领域。

