



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105699664 A

(43) 申请公布日 2016.06.22

(21) 申请号 201610211645.9

(22) 申请日 2016.04.05

(66) 本国优先权数据

201510175078.1 2015.04.13 CN

(71) 申请人 陈柏龄

地址 510000 广东省广州市越秀区中山二路
58号中山大学附属第一医院

申请人 广州菲康生物技术有限公司

(72) 发明人 陈柏龄 郭志程

(74) 专利代理机构 广州华进联合专利商标代理
有限公司 44224

代理人 万志香

(51) Int. Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

权利要求书2页 说明书7页
序列表2页 附图1页

(54) 发明名称

FGF23 检测试剂盒及其制备方法

(57) 摘要

本发明公开了一种 FGF23 检测试剂盒及其制备方法,该试剂盒主要包括有:生物素标记的兔抗 FGF23 多克隆抗体;效价为 1:4550 - 5050; FGF23 单克隆抗体溶液,该 FGF23 单克隆抗体效价为 1:950 - 1:1050;所述生物素标记的 FGF23 抗体与 FGF23 单克隆抗体溶液的用量比为 1:1。所述 FGF23 检测试剂盒具有特异性、灵敏度和精密度都非常好的优点。

1. 一种FGF23检测试剂盒,其特征是,主要包括有:

(A)生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体:兔抗FGF23多克隆抗体的效价为1:4550—5050;

(B)FGF23单克隆抗体预包被的微孔板,包被用FGF23单克隆抗体效价为1:950—1:1050;

所述生物素标记的FGF23抗体与FGF23单克隆抗体溶液的用量比为1:1。

2. 根据权利要求1所述的FGF23检测试剂盒,其特征是,还包括过氧化物酶与链霉亲和素偶联后得到的酶结合物,所述酶结合物的工作浓度为1.0—2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

3. 根据权利要求1所述的FGF23检测试剂盒,其特征是,所述兔抗FGF23多克隆抗体效价为1:5000。

4. 根据权利要求1-3任一项所述的FGF23检测试剂盒,其特征是,所述FGF23单克隆抗体效价为1:1000。

5. 一种FGF23检测试剂盒的制备方法,其特征是,主要包括以下步骤:

1) 制备生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体:取兔抗FGF23多克隆抗体,用TRIS缓冲液进行稀释,得到FGF23多克隆抗体浓度为0.9—1.0 mg/mL 的抗体稀释液,取浓度为1.20—1.30 mg/mL 的生物素,按抗体稀释液:生物素=9~11:1体积比混合,通过化学反应将生物素与兔抗FGF23多克隆抗体交联,得到生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体工作液,所述兔抗FGF23多克隆抗体的效价为1:4550—5050;

2) 制备FGF23单克隆抗体溶液:取FGF23单克隆抗体,加入TRIS与EDTA的混合液,得到FGF23单克隆抗体工作液,所述FGF23单克隆抗体工作液效价为1:950—1:1050。

6. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征是,制备所述兔抗FGF23多克隆抗体或所述FGF23单克隆抗体的FGF23抗原的氨基酸组成如SEQ ID NO.1所示。

7. 根据权利要求5或6所述的制备方法,其特征是,所述FGF23单克隆抗体的制备包括如下步骤:对小白鼠采用皮下注射方式,对其进行免疫接种,初次免疫注射FGF23抗原,第3周、第4周及第5周分别注射FGF23抗原与不完全弗氏佐剂等体积的混合溶液,免疫达到预期效果后拉颈处死小鼠,收集血液,适量分装后保存;同时,解剖小鼠,取其脾脏筛选淋巴B细胞,完成后与骨髓瘤细胞融合,通过有限稀释法挑选目标克隆融合细胞,最后接种培养以生产单克隆抗体。

8. 根据权利要求5或6所述的制备方法,其特征是,所述兔抗FGF23多克隆抗体制备包括如下步骤:取家兔采用皮下注射方式,对其进行免疫接种,初次免疫注射0.8—1.2 mg/mL 浓度的FGF23抗原0.2 \pm 0.05 $\text{mL}/\text{只}$,第3周、第4周及第5周分别注射浓度为0.8—1.2 mg/mL FGF23抗原与不完全弗氏佐剂等体积混合溶液;免疫达到预期效果后处死家兔,动脉采血,然后采用辛酸-硫酸铵法纯化即得兔抗FGF23多克隆抗体。

9. 根据权利要求5所述的制备方法,其特征是,所述FGF23检测试剂盒还包括酶结合物,该酶结合物的制备包括以下步骤:

1) 取链霉亲和素,溶解于TRIS缓冲液中;

2) 取HRP干粉,用去离子水稀释,采用简易过碘酸钠法将HRP与链霉亲和素交联,得到HRP标记链霉亲和素;

3) 取HRP标记链霉亲和素为酶结合物,用TRIS缓冲液和EDTA的混合液将酶结合物的工

作浓度稀释为1.0—2.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。

FGF23检测试剂盒及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明属于医疗器械领域,具体地是涉及一种FGF23检测试剂盒及其制备方法。

背景技术

[0002] FGF23(成纤维样细胞生长因子23)是一个功能蛋白分子,含251个氨基酸残基,分子量32KDa,在蛋白分子179位精氨酸和180位丝氨酸之间经蛋白酶水解成N-末端和C-末端两个片段。它主要是由分泌细胞分泌,用于调节磷酸盐和1,25(OH)₂D代谢。

[0003] FGF23(成纤维样细胞生长因子23)是最近发现的相关蛋白大家族中的新成员,其基因编码一个含250个氨基酸残基的蛋白。FGF-23的N-末端(aa 1-24)是疏水的且很可能作为其进入血液循环的信号肽;它的C-末端(aa 180-251)与FGF蛋白家族的其它成员仅有有限的同源性。FGF-23与FGF-21(~24%为同源序列)和FGF-19(~22%为同源序列)最接近。

[0004] 肾磷酸盐流失可导致低血磷症,是骨骼矿化和生长板发展缺陷的原因之一。常染色体显性低血磷性佝偻病(ADHR,一种罕见遗传疾病)患者体内携带一种FGF-23突变子,该突变子可使蛋白质免受水解断裂。而且,并发瘤源性骨软化(OOM)的肿瘤患者被证实有过量的FGF-23mRNA表达,似乎表明血液中FGF-23浓度的上升是导致这类病人磷酸盐流失的原因。对啮齿动物应用重组FGF-23后发现尿中磷的排泄量增加进而导致低血磷症和骨软化/佝偻病也印证了这一结论。总之,现有文献表明FGF-23直接或间接地与磷酸盐动态平衡的调节有关。

[0005] 测定人体血液循环中的全段FGF-23水平可能为以下不同程度的血磷酸盐流失障碍患者的实验室评估提供重要的诊断工具:瘤源性骨软化,X-连锁低血磷性佝偻病和常染色体遗传性低血磷性佝偻病。此外,对FGF-23的灵敏测定可能为骨骼调节和矿化动态提供新的见解。

发明内容

[0006] 本发明的目的之一是提供一种FGF23检测试剂盒。

[0007] 实现上述目的的技术方案如下:

[0008] 一种FGF23检测试剂盒,主要包括有:

[0009] (A)生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体:FGF23抗体的效价为1:4550—5050;

[0010] (B)FGF23单克隆抗体预包被微孔板,预包被用FGF23单克隆抗体溶液效价为1:950—1:1050;

[0011] 所述生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体与FGF23单克隆抗体溶液的用量比为1:1。

[0012] 在其中一个实施例中,所述的FGF23检测试剂盒,还包括过氧化物酶与链霉亲和素偶联后得到的酶结合物,所述酶结合物的工作浓度为1.0—2.0μg/ml。

[0013] 在其中一个实施例中,所述兔抗FGF23多克隆抗体的效价为1:5000,所述FGF23单克隆抗体的效价为1:1000。

[0014] 本发明另一目的是提供一种FGF23检测试剂盒的制备方法。

[0015] 实现上述目的的技术方案为：

[0016] 一种FGF23检测试剂盒的制备方法，主要包括以下步骤：

[0017] 1)制备生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体：取兔抗FGF23多克隆抗体，用10mmol/L的TRIS缓冲液稀释兔抗FGF23多克隆抗体至浓度约1.0mg/mL，取浓度为1.20-1.30mg/mL的活化生物素(N-羧基琥珀酰亚胺生物素)，按抗体稀释液：生物素=9-11:1体积比混合，通过化学反应将生物素与兔抗FGF23多克隆抗体交联；取制备后的生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体；所述兔抗FGF23多克隆抗体工作液的效价为1:4550—5050；

[0018] 2)制备FGF23单克隆抗体溶液：取FGF23单克隆抗体，加入10mmol/L的TRIS缓冲液与25mol/L EDTA的混合液，得到FGF23单克隆抗体工作液，所述FGF23单克隆抗体工作液效价为1:950—1:1050。

[0019] 在其中一个实施例中，兔抗FGF23多克隆抗体制备：取家兔采用皮下注射方式，对其进行免疫接种，初次免疫注射0.8—1.2mg/mL浓度的FGF23抗原0.2±0.05mL/只，第3周、第4周及第5周分别注射浓度为0.8—1.2mg/mL FGF23抗原与不完全弗氏佐剂等体积混合溶液；免疫达到预期效果后处死家兔，动脉采血，然后采用辛酸-硫酸铵法纯化即得兔抗FGF23多克隆抗体。

[0020] 在其中一个实施例中，所述FGF23单克隆抗体的制备操作为：对小白鼠采用皮下注射方式，对其进行免疫接种，初次免疫注射1mg/mL浓度的FGF23抗原0.2mL/只，第3周、第4周及第5周分别注射浓度为1mg/mL FGF23抗原与不完全弗氏佐剂等体积混合溶液；免疫达到预期效果后拉颈处死小鼠，收集血液，适量分装后保存；同时，在生物安全柜中解剖小鼠，取其脾脏筛选淋巴B细胞，完成后与骨髓瘤细胞融合，通过有限稀释法挑选目标克隆融合细胞，最后接种培养以生产单克隆抗体。

[0021] 在其中一个实施例中，所述FGF23检测试剂盒还包括有酶结合物，该酶结合物的制备操作为：取链霉亲和素0.1g，加入到10mL 10mmol/L TRIS缓冲液中溶解混匀；取HRP干粉(辣根过氧化物酶)用去离子水稀释为5mg/mL，采用简易过碘酸钠法将HRP与链霉亲和素交，得到HRP标记的链霉亲和素，加入防腐剂和稳定剂分装保存。用TRIS缓冲液和EDTA的混合液将酶结合物的工作浓度稀释为1.0—2.0μg/ml，优选为1.5μg/ml。

[0022] 在其中一个实施例中，制备所述兔抗FGF23多克隆抗体或所述FGF23单克隆抗体的FGF23抗原的氨基酸组成如SEQ ID NO.1所示。

[0023] 本发明所述试剂盒采用双抗体夹心酶联免疫法，是基于一种FGF23片段对包被于微孔板上的单克隆抗体结合，再与生物素标记的FGF23抗体结合的方法。

[0024] 首先，加入的标本/质控品/校准品中的FGF23与微孔板中的固相抗体(FGF23单克隆抗体)结合，然后加入生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体选择性结合目标物FGF23，生物素再与加入的HRP标记的链霉亲和素结合，形成酶标志的夹心复合物，经过洗涤后加入的底物TMB在酶催化下显色，最后加入终止液终止反应。颜色的深浅和标本中的FGF23呈正相关。在酶标仪450nm(参考波长620nm)下测定OD值。

[0025] 本发明所述的FGF23检测试剂盒具有特异性、灵敏度和精密度都非常好的优点。

附图说明

[0026] 图1实施例2中检测方法的标准曲线。

具体实施方式

[0027] 实施例1

[0028] (一)本实施例所述的FGF23检测试剂盒的主要组成成份如下:

[0029] 1.抗FGF23单克隆抗体包被的微孔板

[0030] 抗FGF23单克隆抗体预包被的条形微孔板(12条×8孔),置于框架中。

[0031] 制备FGF23单克隆抗体预包被微孔板:取FGF23单克隆抗体,用10mmol/L的TRIS缓冲液(含25mol/L EDTA)稀释,所得抗体溶液效价为1:1000;然后向微孔板各孔中加入100uL抗体溶液,置于37℃直至完全干燥。

[0032] 2.标准品1-7

[0033] 溶于人血清中的重组FGF23,浓度分别为0,0.2,0.6,1.8,5,10,20pmol/L,白色盖子,冻干粉,7瓶。

[0034] 3.FGF23质控品

[0035] 冻干粉(复溶后的精确浓度见标签),2瓶。

[0036] 4.检测缓冲液

[0037] 可以直接使用的10mmol/L的TRIS缓冲液1瓶(至少20.0ml)。

[0038] 5.生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体

[0039] 可直接使用的生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体1瓶(至少6.0mL)。

[0040] 6.酶结合物

[0041] 可直接使用的过氧化物酶偶联的链霉亲和素(溶于含去污剂、防腐剂的TRIS缓冲溶液中)1瓶(至少13.0mL)。

[0042] 7.底物溶液

[0043] 可直接使用的四甲基联苯胺(TMB)底物,1瓶(至少13.0mL)。

[0044] 8.终止液

[0045] 可直接使用的0.18M硫酸溶液,1瓶(至少7.0mL)。

[0046] 9.清洗溶液(20×)

[0047] 含有去污剂和防腐剂的浓缩清洗缓冲液,1瓶(至少50.0mL)。

[0048] 10.封板膜

[0049] 孵育时密封微孔板的粘性薄膜。

[0050] 所述试剂盒的制备如下:

[0051] 一)校准品与质控品

[0052] 1)来源:

[0053] FGF23合成肽冻干粉外购。

[0054] 2)质控品制备:

[0055] 用10mmol/L的TRIS缓冲液稀释FGF23合成肽冻干粉,质控品1中FGF23浓度约为1.50pmol/L,质控品2中FGF23浓度约为4.50pmol/L,并加入1%的BSA和0.018%的Bronidox 5L做为稳定剂和防腐剂,各取0.4mL分装,冻干后4℃密封保存。

[0056] 3)标准品制备:

[0057] 标准品1-7取FGF23合成肽冻干粉,分别用10mmol/L的TRIS缓冲液稀释至FGF23浓度为0pmol/L,0.20pmol/L,0.60pmol/L,1.80pmol/L,5.00pmol/L,10.00pmol/L和20.00pmol/L。各取0.4mL分装,冻干后4℃密封保存。

[0058] 二)生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体

[0059] FGF23抗原的氨基酸组成如SEQ ID NO:1所示,其可以通过诱导表达得到,也可以通过合成得到。

[0060] SEQ ID NO:1:

[0061]

MLGARLRLWVCALCSVCSMSVLRAYPNASPLLGSSWGGLIHLTYTATARNSYHLQ1HKNGHVDGAPHQT1YSALMIRS
EDAGFVV1TGVMSRRYL CMDFRGN1FGSHYFDPENCRFQHQTLENGYDVYHSPQYHFLVSLGRAKRAFLPGMNPPPY
SQFLSRRNE1PL1HFNTPIPRRHTRSAEDDSERDPLNVLKPRARMTAPASCSCQELPSAEDNSPMASDPLGVVRGR
VNTHAGGTGPEGCRPFAKF1

[0062] FGF23抗原通过诱导表达参照常规方法制备:获得编码FGF23的DNA片段,将该片段插入pET质粒载体中,然后转化入大肠杆菌中构建重组表达菌株(pET-FGF23/BL21),再利用IPTG进行诱导表达,通过Ni-NTA亲和层析法分离纯化融合蛋白,得到氨基酸组成如SEQ ID NO:1所示的FGF23抗原,纯度鉴定合格后即可用作抗原免疫动物。

[0063] 兔抗FGF23多克隆抗体制备:取家兔采用皮下注射方式,对其进行免疫接种,初次免疫注射1mg/mL浓度的上述FGF23抗原0.2mL/只,第3周、第4周及第5周分别注射浓度为1mg/mL FGF23抗原与不完全弗氏佐剂等体积混合溶液;免疫达到预期效果后处死家兔,动脉采血,然后采用辛酸-硫酸铵法纯化即得兔抗FGF23多克隆抗体。

[0064] 用10mmol/L的TRIS缓冲液稀释兔抗FGF23多克隆抗体至浓度约1.0mg/mL,取浓度为1.25mg/mL的活化生物素(N-羟基琥珀酰亚胺生物素),按抗体稀释液:生物素=10:1体积比混合,通过化学反应将生物素与兔抗FGF23多克隆抗体交联;取制备后的生物素标记FGF23抗体,加入1%的BSA和0.018%的Bronidox L做为稳定剂和防腐剂,4℃密封保存,所述FGF23多克隆抗体工作液的效价为1:5000。

[0065] 三)FGF23单克隆抗体溶液:

[0066] 取FGF23单克隆抗体,用10mmol/L的TRIS缓冲液与25mol/L EDTA混合,得到FGF23单克隆抗体工作液,所述FGF23单克隆抗体工作液效价为1:1000。

[0067] 所述FGF23单克隆抗体的制备操作为:对小白鼠采用皮下注射方式,对其进行免疫接种,初次免疫注射1mg/mL浓度的上述FGF23抗原0.2mL/只,第3周、第4周及第5周分别注射浓度为1mg/mL FGF23抗原与不完全弗氏佐剂等体积混合溶液;免疫达到预期效果后拉颈处死小鼠,收集血液,适量分装后保存(小鼠血液,可分离血清,其中含有鼠抗FGF23多抗)。

[0068] 同时,在生物安全柜中解剖小鼠,取其脾脏筛选淋巴B细胞,完成后与外购的骨髓瘤细胞融合,通过有限稀释法挑选目标克隆融合细胞,最后接种培养以生产单克隆抗体。

[0069] 四)酶结合物

[0070] 链霉亲和素冻干粉购自英国Abcam公司。取链霉亲和素冻干粉0.1g,加入到10mL 10mmol/L TRIS缓冲液中溶解混匀;取HRP固体用去离子水稀释为5mg/mL,采用简易过碘酸钠法将HRP与链霉亲和素交联。取制备后的HRP标记链霉亲和素,再加入1%的BSA、0.1%的Tween 20和0.0075%的Bronidox L做为稳定剂和防腐剂,取12mL分装,4℃密封保存。所述

酶结合物的工作浓度为1.5 μ g/ml。

[0071] 五)其他

[0072] 微孔板、底物液、终止液和冲洗液均由其他商业公司提供。

[0073] 实施例2:运用实施例1所述的试剂盒对FGF23检测

[0074] 使用前,将所有溶液平衡至室温(18-22 $^{\circ}$ C)。确定实验所需微孔板数量。每一样本设两个平行孔。另外,每轮实验共需要18孔用于标准品和质控。将适当数量的微孔板置于塑料框架上。将未使用的微孔板与干燥剂一起密封于锡箔袋中。具体包括以下步骤:

[0075] 1)一次孵育

[0076] 向适当的孔中加入50 μ L FGF23校准品(1-7),质控品或待测样本,再加入50 μ L生物素抗体溶液。用封口膜密封微孔板,室温(18-22 $^{\circ}$ C)孵育过夜20-24小时。

[0077] 2)清洗

[0078] 清洗缓冲溶液(20 \times)以1体积浓缩缓冲溶液+20体积蒸馏水的比例稀释。手工清洗微孔板5次。若使用自动洗板机,通常清洗5次。确保每次手工或自动清洗后将微孔中的溶液倒干净。进入下一步前,在吸水纸上拍干,弃去残余液体。

[0079] 3)二次孵育

[0080] 向各孔加入100 μ L酶结合物溶液。用封口膜密封微孔板,室温(18-22 $^{\circ}$ C)下避光孵育60 \pm 5分钟。

[0081] 4)清洗

[0082] 见第2步。

[0083] 5)与生色底物溶液孵育

[0084] 向各孔加入100 μ L底物溶液,用封口膜密封,室温(18-22 $^{\circ}$ C)下避光孵育10-30分钟。

[0085] 6)终止显色反应

[0086] 向各孔加入50 μ L终止溶液。

[0087] 7)测定吸光度

[0088] 在30min内以630nm为参照,测定450nm下的吸光度。

[0089] 检测范围

[0090] 如果待测样本的吸光度高于校准品7,我们推荐血清样本1:11稀释(1+10,如10 μ l样本+100 μ l检测缓冲液);血浆样本1:41稀释(1+40,10 μ l样本+400 μ l检测缓冲液)后重新检测。

[0091] 质量控制

[0092] **【参考值(参考范围)】**

[0093] 各类健康人样本的平均值举例如下。

[0094]

健康人的数值	血清平均值 (n=35): 0.8 pmol/l
	EDTA 血浆平均值 (n=22): 1.3 pmol/l
	肝素血浆平均值 (n=22): 1.2 pmol/l
	枸橼酸钠血浆平均值 (n=30): 1.4 pmol/l
	各实验室应该建立自己样本的参考值范围, 在研究过程中样本的类型不能改变。

[0095] 【检验结果的解释】

[0096] 结果处理

[0097] 450nm波长(参考630nm波长)读取吸光度(OD值)。可以使用软件或坐标纸根据校准品的吸光度数值建立标准曲线(参见图1)。可以从这个标准曲线上获得样本的浓度。检测结果使用4参数对数曲线回归拟合。不同的曲线拟合方法需要用户自己评价。计算样本的最终浓度还应该考虑各自的稀释倍数。

[0098] 实施例3:试剂盒质量分析

[0099] 一、批次间差异:<7.0%

[0100] 批次间差异:4个不同操作员使用2个不同批次的试剂盒(该试剂盒的制备和组成,使用方法如实施例1和2所示,以下实验中的用到试剂盒也同上)检测2个已知浓度FGF23参考品样本10次。

[0101]

批间检测 (n=10)	样本 1	样本 2	批间检测 (n=10)
平均值 (pmol/l)	0.6	9.9	平均值 (pmol/l)
SD (pmol/l)	0.06	0.5	SD (pmol/l)
CV (%)	10	5	CV (%)

[0102] 检测极限:0.08pmol/l

[0103] 检测极限为0.08pmol/l,此值为低于21个校准品0吸光度测定平均值加三个标准差所对应的浓度。

[0104] 二、精确度≤12%

[0105] 批内检测:1个操作员使用一个批次的试剂盒检测2个已知浓度FGF23参考品样本6次。

[0106] 批间检测:4个不同操作员使用2个不同批次的试剂盒检测2个已知浓度FGF23参考品样本10次。

[0107]

批内检测 (n=6)	样本 1	样本 2	批间检测 (n=10)	样本 1	样本 2
平均值 (pmol/l)	0.6	10	平均值 (pmol/l)	0.6	9.9

[0108]

SD (pmol/l)	0.07	0.6	SD (pmol/l)	0.06	0.5
CV (%)	12	6	CV (%)	10	5

[0109] 三、稀释/线性96%

[0110] 用本试剂盒检测筛选样本,分别挑取阳性样本血清、EDTA血浆、肝素血浆、枸缘酸钠血浆各一份,阴性样本血清、血浆各一份,然后用阴性血清分别以比例1:1、1:3、1:7稀释阳性样本血清,用阴性血浆分别以比例1:1、1:3、1:7稀释阳性样本EDTA血浆、肝素血浆、枸缘酸钠血浆,每个稀释样本作4次平行测试,计算其平均值,平均回收率=(稀释理论值-稀释测试均值)/稀释理论值(稀释理论值=原样本测试值/稀释倍数)。

[0111]

样 本	稀 释 比		
	1: 1	1: 3	1: 7
血清	105%	98%	108%
EDTA 血浆	103%	103%	96%
肝素血浆	107%	96%	104%
枸缘酸钠血浆	102%	106%	101%

[0112] 以上所述实施例仅用于说明本发明针对实际应用时的一种具体实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,做出的若干变形和改进都属于本发明的保护范围。

100

105

110

Cys Arg Phe Gln His Gln Thr Leu Glu Asn Gly Tyr Asp Val Tyr His
 115 120 125

Ser Pro Gln Tyr His Phe Leu Val Ser Leu Gly Arg Ala Lys Arg Ala
 130 135 140

Phe Leu Pro Gly Met Asn Pro Pro Pro Tyr Ser Gln Phe Leu Ser Arg
 145 150 155 160

Arg Asn Glu Ile Pro Leu Ile His Phe Asn Thr Pro Ile Pro Arg Arg
 165 170 175

[0002]

His Thr Arg Ser Ala Glu Asp Asp Ser Glu Arg Asp Pro Leu Asn Val
 180 185 190

Leu Lys Pro Arg Ala Arg Met Thr Pro Ala Pro Ala Ser Cys Ser Gln
 195 200 205

Glu Leu Pro Ser Ala Glu Asp Asn Ser Pro Met Ala Ser Asp Pro Leu
 210 215 220

Gly Val Val Arg Gly Gly Arg Val Asn Thr His Ala Gly Gly Thr Gly
 225 230 235 240

Pro Glu Gly Cys Arg Pro Phe Ala Lys Phe Ile
 245 250

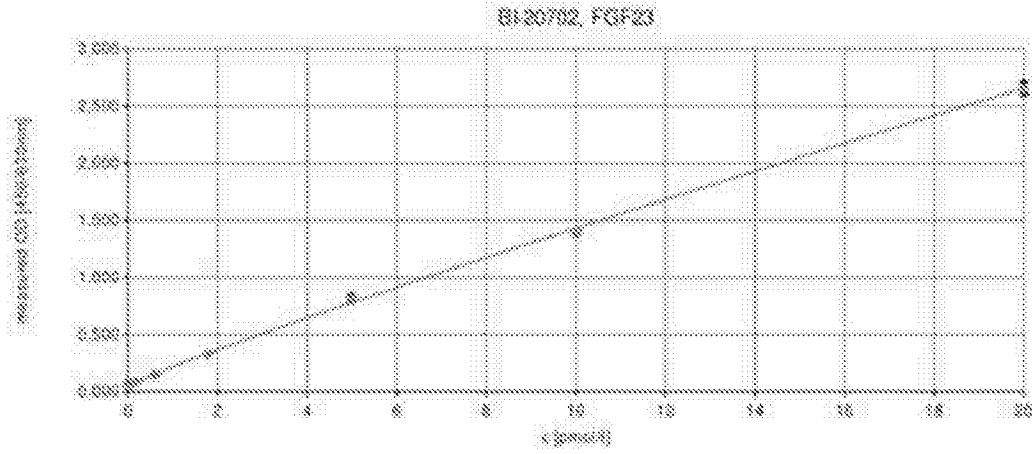


图1

专利名称(译)	FGF23检测试剂盒及其制备方法		
公开(公告)号	CN105699664A	公开(公告)日	2016-06-22
申请号	CN201610211645.9	申请日	2016-04-05
[标]申请(专利权)人(译)	陈柏龄 广州菲康生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	陈柏龄 广州菲康生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	陈柏龄 广州菲康生物技术有限公司		
[标]发明人	陈柏龄 郭志程		
发明人	陈柏龄 郭志程		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/577 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/6872 G01N33/535 G01N33/577 G01N2333/50		
优先权	201510175078.1 2015-04-13 CN		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种FGF23检测试剂盒及其制备方法，该试剂盒主要包括有：生物素标记的兔抗FGF23多克隆抗体：效价为1:4550 - 5050；FGF23单克隆抗体溶液，该FGF23单克隆抗体效价为1:950 - 1:1050；所述生物素标记的FGF23抗体与FGF23单克隆抗体溶液的用量比为1：1。所述FGF23检测试剂盒具有特异性、灵敏度和精密度都非常好的优点。

健康人的数值	血清平均值 (n=35): 0.8 pmol/l
	EDTA 血浆平均值 (n=22): 1.3 pmol/l
	肝素血浆平均值 (n=22): 1.2 pmol/l
	枸橼酸钠血浆平均值 (n=30): 1.4 pmol/l
	各实验室应该建立自己样本的参考值范围，在研究过程中样本的类型不能改变。