



## (12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102221607 A

(43) 申请公布日 2011. 10. 19

(21) 申请号 201110085255. 9

(22) 申请日 2011. 04. 02

(66) 本国优先权数据

201110076786. 1 2011. 03. 29 CN

(71) 申请人 浙江大学医学院附属第一医院

地址 310003 浙江省杭州市庆春路 79 号

(72) 发明人 陈江华 彭文翰 茅幼英 寿张飞

姜虹 陈大进

(74) 专利代理机构 南京天华专利代理有限责任

公司 32218

代理人 徐冬涛

(51) Int. Cl.

G01N 33/53(2006. 01)

G01N 33/577(2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 8 页

(54) 发明名称

一种抗体组合物及其应用

(57) 摘要

本发明属于生物技术领域,公开了抗体组合物及其应用。本发明抗体组合物,含有BLC特异性抗体,或者含有Fractalkine特异抗体、Mig特异抗体及C4d特异抗体及BLC特异性抗体。利用本发明抗体组合物,可以一次性诊断肾移植后的急性排斥,并可准确诊断急性排斥的类型为细胞性排斥或是抗体介导的排斥。利用本发明抗体组合物制备的检测试剂克服了目前对于急性排斥类别的诊断仅限于肾组织活检的缺陷,为临床诊断移植肾急性排斥反应及移植肾急性排斥类别提供了一种无创性方法。

1. 一种抗体组合物,其特征在于该抗体组合物含有 BLC 特异抗体。
2. 一种抗体组合物,其特征在于该抗体组合物含有 Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体、及 C4d 特异抗体。
3. 一种抗体组合物,其特征在于该抗体组合物含有 BLC 特异性抗体、Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体及 C4d 特异抗体。
4. 根据权利要求 2 或 3 所述的抗体组合物,其特征在于该抗体组合物还含有 Granzyme B 特异抗体。
5. 根据权利要求 1、2 或 3 所述的抗体组合物,其特征在于所述的特异抗体为单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体或抗体片段,
6. 根据权利要求 5 所述的抗体组合物,其特征在于所述的特异抗体为单克隆抗体。
7. 权利要求 1 所述的抗体组合物在制备肾移植急性排斥类型鉴别试剂中的应用。
8. 权利要求 1 或 3 所述的抗体组合物在制备肾移植急性排斥反应诊断和 / 或肾移植急性排斥类型鉴别试剂中的应用。
9. 权利要求 2 所述的抗体组合物在制备肾移植急性排斥反应诊断试剂中的应用。
10. 权利要求 4 所述的抗体组合物在制备肾移植急性排斥反应诊断和 / 或肾移植急性排斥类型鉴别试剂中的应用。
11. 一种含有权利要求 1、2 或 3 所述抗体组合物的试剂盒。
12. 一种含有权利要求 4 所述抗体组合物的试剂盒。
13. 根据权利要求 11 或 12 所述的试剂盒,其特征在于所述的试剂盒是采用 ELISA、放射免疫分析、自动化免疫分析、免疫沉淀、流式微珠测定或液态芯片技术 (LUMINEX) 平台制备和测定的。

## 一种抗体组合物及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于生物技术领域,涉及一种抗体组合物及其应用,特别涉及可用于制备肾移植急性排斥反应诊断和鉴别诊断试剂的抗体组合物及其应用。

### 背景技术

[0002] 肾脏移植是治疗终末期肾病最理想的肾脏替代疗法。随着移植手术技术的进步和新型免疫抑制剂的应用,肾移植术后人和肾的存活率都有了很大的提高,但肾移植后的排斥反应仍然是影响肾移植预后的主要因素,并与移植肾和移植受者的长期存活率明显相关。

[0003] 排斥反应的诊断主要依靠肾组织病理活检,然而目前的病理活检还存在很多问题,首先它是有创性检查,不可避免存在活检相关并发症(如出血、移植物破裂)的危险,无法在短期内反复检查,也无法在门诊动态观察随访,而且随着移植术后的时间延长,为了监测移植受者的免疫状态的变化,需要定期的程序活检,但活检的费用和移植受者的接受程度也制约活检的开展;其次目前的移植病理缺乏敏感的手段发现早期的急性排斥,诊断往往是在出现明显的移植物损伤后,不能早期指导临床医生抗排斥治疗;第三病理检查较难预测抗排斥治疗的反应,不能有效预测移植物的长期存活;另外活检标本还存在代表性问题,穿刺局部的组织有时候并不能很好的代表整个移植物的状态。

[0004] 正是由于目前的病理活检还无法满足临床医生的要求,寻求无创性检查来辅助移植植物功能监测,对病理活检进行补充,尿液检查无疑是监测移植肾功能较好的选择,近年来尿蛋白组学研究发现正常尿蛋白除了 30%来自血浆蛋白,其余 70%均来自肾脏本身,能够很好的反映肾脏的病理生理过程,在生理性和病理性刺激下,肾小球和肾小管相应作出反应,引起尿蛋白排出的变化。

[0005] 如果通过尿液就可以无创性诊断移植肾排斥并区分排斥类型,从而取代病理活检将具有极大的应用前景,已有一些较少样本的研究显示了尿液细胞因子检测诊断急性排斥的可能。本发明人对 67 例急性排斥和 119 例肾功能稳定者的尿液细胞因子的分析的前期结果显示,Fractalkine 诊断急性排斥的敏感性和特异性分别为 82.1%和 76.5%(Peng WH et al, Kidney International 2008 74,1454-1460)。Granzyme B 诊断急性排斥的敏感性和特异性分别为 59.7%和 91.6%。Hu 等(American Journal of Transplantation 2004; 4:432-437) 研究针对 44 例急性肾功能障碍(28 例急性排斥,10 例急性肾小管坏死和 6 例 BK 病毒肾病),20 例慢性移植肾排斥,26 例肾功能稳定的尿液 Mig 测定分析显示,Mig 区分急性肾功能障碍和慢性排斥、肾功能稳定者的敏感性和特异性分别为 79.5%和 93.5%。Hu 等(Transplantation 2009;87:1814-1820) 后来的研究同样证实尿液 Mig 诊断移植肾损伤(包括急性排斥,急性肾小管坏死,BK 病毒肾病和慢性移植肾肾病)的敏感性和特异性分别为 85.2%和 89.7%。但是 Hu 等的研究说明尿液 Mig 可诊断移植肾功能障碍,并没有特异性针对急性排斥的诊断结果。Ingeborg A. Hauser 等(J Am Soc Nephrol 16:1849-1858, 2005) 对 54 例正常肾功能者和 15 例急性排斥者的研究显示尿液 Mig 可预测急性排斥,具

有较好的诊断价值,但是该研究样本量少,只纳入了 15 例急性排斥者。Stephan R. Lederer 等 (Nephron Clin Pract2003 ;94 :c19-c26) 等研究显示急性排斥和慢性移植肾失功时尿液 C4d 含量较正常者显著升高,尿液 C4d 分泌有可能成为诊断急性排斥的指标。

[0006] 从以上这些已有研究结果可见,利用尿液单个指标来诊断急性排斥,不能同时保证较好的敏感性和特异性;同时,目前的研究结果大都源于少量的研究样本,这样的研究结论因样本量少而使其结果具有很多的不确定因素,因此更适合于作为理论研究而使用,其与真正的应用于临床诊断还有较大的距离,无法应用于临床诊断。

[0007] BLC 是 B 淋巴细胞特异性趋化因子,又称为 CXCL13, BCA1, 已有研究报道移植肾急性排斥时,免疫组化染色肾间质有 BLC 阳性 B 细胞浸润,但目前尚未有尿液 BLC 细胞因子含量用于鉴别急性排斥类别(细胞性排斥还是抗体介导的排斥)的相关报道。目前对于急性排斥的诊断和排斥类型(细胞性排斥还是抗体介导的排斥)的鉴别仅依赖于肾组织活检,而上所述活检具有局限性和创伤性的缺点。因此利用无创性技术手段,联合尿液多个细胞因子达到急性排斥和排斥类型的无创性诊断具有非常重大的意义。

## 发明内容

[0008] 本发明的目的是提供一种可用于制备无创性肾急性排斥反应诊断和 / 或肾移植急性排斥类型鉴别试剂中的抗体组合物。

[0009] 本发明的另一目的是提供该抗体组合物的应用。

[0010] 本发明的又一目的是提供含有该抗体组合物的试剂盒。

[0011] 本发明的又一目的是提供制备含有该抗体组合物的试剂盒的方法。

[0012] 本发明的目的可通过如下技术方案实现:

[0013] 一种抗体组合物,含有 BLC 特异抗体。

[0014] 一种抗体组合物,含有 Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体及 C4d 特异抗体,在这三个特异抗体的基础上还可包含 Granzyme B 特异抗体。

[0015] 一种抗体组合物,含有 BLC 特异抗体、Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体及 C4d 特异抗体。

[0016] 一种抗体组合物,含有 BLC 特异抗体、Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体、GranzymeB 特异抗体及 C4d 特异抗体。

[0017] 所述的特异抗体为单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体或抗体片段。

[0018] 所述的特异抗体优选单克隆抗体。

[0019] 所述的含有 BLC 特异抗体的抗体组合物在制备肾移植急性排斥类型鉴别试剂中的应用。

[0020] 所述的含有 Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗及 C4d 特异抗体组合物在制备肾移植急性排斥反应诊断试剂中的应用。

[0021] 所述的含有 Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体、Granzyme B 特异抗体及 C4d 特异抗体组合物在制备肾移植急性排斥反应诊断试剂中的应用。

[0022] B LC 特异抗体、Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体及 C4d 特异抗体组合物在制备肾移植急性排斥反应诊断和 / 或肾移植急性排斥类型鉴别试剂中的应用。

[0023] BLC 特异抗体、Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体、Granzyme B 特异抗体及 C4d

特异抗体组合物在制备肾移植急性排斥反应诊断和 / 或肾移植急性排斥类型鉴别试剂中的应用。

[0024] 一种含有抗体组合物的试剂盒,所述的抗体组合物为 BLC 特异抗体。

[0025] 一种含有抗体组合物的试剂盒,为 Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体及 C4d 特异抗体。

[0026] 一种含有抗体组合物的试剂盒,为 Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体、Granzyme B 特异抗体及 C4d 特异抗体。

[0027] 一种含有抗体组合物的试剂盒,所述的抗体组合物为 BLC 特异抗体、Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体及 C4d 特异抗体。

[0028] 一种含有抗体组合物的试剂盒,所述的抗体组合物为 BLC 特异抗体、Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体、Granzyme B 特异抗体及 C4d 特异抗体。

[0029] 以上的抗体组合物的试剂盒,是采用 ELISA、放射免疫分析、自动化免疫分析、免疫沉淀、流式微珠测定或液态芯片技术 (LUMINEX) 平台制备和测定的。

[0030] 本发明的有益效果:

[0031] 本发明联合 Fractalkine、Mig 和 C4d 这三种细胞因子的特异抗体,对 81 例急性排斥和 167 例肾功能稳定者的尿液分析,可诊断急性排斥,敏感性和特异性分别达到 91.4%, 90.4%;当联合 Fractalkine、Mig、Granzyme B 和 C4d 这四种细胞因子的特异抗体,诊断急性排斥的敏感性和特异性分别达到 95.1%,84.4%。大样本量及敏感性特异性结果使得本发明的技术方案达到了临床诊断的要求,可进一步地用于制备肾急性排斥反应的诊断试剂,从而本发明克服了现有技术中单一细胞因子诊断试剂敏感性和特异性较低,难以达到临床诊断要求的缺陷。

[0032] 发明人对 81 例急性排斥(其中 28 例为抗体介导的排斥,53 例为 T 细胞介导的排斥)进行试验表明,BLC 可很好的鉴别细胞性排斥和抗体介导的排斥,敏感度和特异度分别为 89.3%,88.7%,说明 BLC 细胞因子能够鉴别急性排斥类别(细胞性排斥还是抗体介导的排斥)。

[0033] 本发明人进而发明联合 Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体及 C4d 特异抗体及 BLC 特异性抗体的抗体组合物,利用此抗体组合物,可以一次性诊断急性排斥,并可准确诊断急性排斥的类型为细胞性排斥或是抗体介导的排斥。若为了提高特异性,也可联合 Fractalkine 特异抗体、Mig 特异抗体、Granzyme B 特异抗体及 C4d 特异抗体及 BLC 特异性抗体的抗体组合物。利用此抗体组合物制备的检测试剂克服了目前对于急性排斥类别的诊断仅限于肾组织活检的缺陷,为临床诊断肾急性排斥反应及肾急性排斥类别提供了一种无创性方法。

[0034] 本发明还提供了制备试剂盒的方法,可以采用 ELISA(酶联免疫吸附测定)、放射免疫分析、自动化免疫分析、免疫沉淀、流式微珠测定或液态芯片技术 (LUMINEX) 平台制备和测定。优选液态芯片技术平台制备。液态芯片技术 (Luminex) 是一种新型生物分子高通量检测技术,也是目前唯一得到权威机构和 FDA 共同认可用于临床诊断应用的生物芯片平台,具有比传统 ELISA 更高的灵敏度和高通量的优势,本发明的抗体组合物运用液态芯片技术 (LUMINEX) 平台制备成试剂盒可进一步提高其敏感度和特异度。

## 具体实施方式

[0035] 实施例 1 :Fractalkine、Mig、Granzyme B、C4d 分别单独及联合诊断移植肾急性排斥反应

[0036] 实验方法：

[0037] 1. 各 ELISA 试剂盒购自公司及货号 :Mig(R&D Systems, DCX900), Fractalkine (R&D Systems, DY365), Granzyme B (Bender MedSystems, BMS202), C4d (QUIDEL, A008)

[0038] 2. 本实验研究对象为 :167 例非排斥,81 例急性排斥的尿液样本,尿标本均来自浙江大学医学院附属第一医院肾脏病中心的移植标本库。尿标本留取的原则 :移植术后 2、4、6、8 周及术后随访常规留取晨尿 ;所有移植肾活检者在活检之前即刻留取尿标本。留取的尿标本尽快放入  $-80^{\circ}\text{C}$  低温冰箱保存。

[0039] 3. ELISA 测定按照试剂盒说明书操作。

[0040] 4. 肾活检诊断根据 Banff2003 标准。

[0041] 5. 统计学方法 :利用软件 SPSS11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), ROC 分析评价单个因子诊断价值,平行诊断试验 (串联) 分析 4 个因子的联合诊断价值。

[0042] 实验结果：

[0043] 以移植肾病理活检结果为金标准,

[0044] Fractalkine 单个因子诊断的敏感性和特异性分别为 80.3%,81.4% ;

[0045] Mig 单个因子诊断的敏感性和特异性分别为 91.4%,66.5% ;

[0046] Granzyme B 单个因子诊断的敏感性和特异性分别为 43.2%,93.5% ;

[0047] C4d 单个因子诊断的敏感性和特异性分别为 67.9%,96.4%。

[0048] Fractalkine、Mig 及 C4d 这 3 个细胞因子联合诊断急性排斥的敏感性和特异性分别为 91.4%,90.4%。

[0049] Fractalkine、Mig、C4d、Granzyme B 这 4 个细胞因子联合诊断急性排斥的敏感性和特异性分别为 95.1%,84.4%。

[0050] 实施例 2 :联合 Fractalkine、Mig、C4d 和 BLC4 个细胞因子诊断移植肾急性排斥反应和鉴别排斥类型

[0051] 实验方法：

[0052] 1. 各 ELISA 试剂盒购自公司及货号 :Mig(R&D Systems, DCX900), Fractalkine (R&D Systems, DY365), C4d (QUIDEL, A008), BLC (R&D Systems, DCX130)

[0053] 2. 本实验研究对象为 :167 例非排斥,81 例急性排斥的尿液样本,其中 28 例抗体介导的排斥,53 例 T 细胞介导的排斥,尿标本均来自浙江大学医学院附属第一医院肾脏病中心的移植标本库。尿标本留取的原则 :移植术后 2、4、6、8 周及术后随访常规留取晨尿 ;所有移植肾活检者在活检之前即刻留取尿标本。留取的尿标本尽快放入  $-80^{\circ}\text{C}$  低温冰箱保存。

[0054] 3. ELISA 测定按照试剂盒说明书操作。

[0055] 4. 肾活检诊断根据 Banff2003 标准。

[0056] 5. 统计学方法 :利用软件 SPSS11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), ROC 分析评价单个因子诊断价值,平行诊断试验 (串联) 分析 4 个因子的联合诊断价值。

[0057] 实验结果：

[0058] 以移植肾病理活检结果为金标准,Fractalkine, Mig, C4d 3 个细胞因子联合诊断急性排斥的敏感性和特异性分别为 91.4%,90.4%。

[0059] BLC 鉴别诊断 T 细胞介导的排斥和抗体介导的排斥的敏感性和特异性分别为 89.3%,88.7%。

[0060] 实施例 3:联合 Fractalkine、Mig、Granzyme B、C4d 和 BLC5 个细胞因子诊断移植肾急性排斥反应和鉴别排斥类型

[0061] 实验方法:

[0062] 1. 各 ELISA 试剂盒购自公司及货号:Mig(R&D Systems, DCX900), Fractalkine (R&D Systems, DY365), Granzyme B (Bender MedSystems, BMS202), C4d (QUIDEL, A008), BLC (R&D Systems, DCX130)

[0063] 2. 本实验研究对象为:167 例非排斥,81 例急性排斥的尿液样本,其中 28 例抗体介导的排斥,53 例 T 细胞介导的排斥,尿标本均来自浙江大学医学院附属第一医院肾脏病中心的移植标本库。尿标本留取的原则:移植术后 2、4、6、8 周及术后随访常规留取晨尿;所有移植肾活检者在活检之前即刻留取尿标本。留取的尿标本尽快放入 -80℃ 低温冰箱保存。

[0064] 3. ELISA 测定按照试剂盒说明书操作。

[0065] 4. 肾活检诊断根据 Banff2003 标准。

[0066] 5. 统计学方法:利用软件 SPSS11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA), ROC 分析评价单个因子诊断价值,平行诊断试验(串联)分析 4 个因子的联合诊断价值。

[0067] 实验结果:

[0068] 以移植肾病理活检结果为金标准,Fractalkine, Mig, Granzyme B, C4d 4 个细胞因子联合诊断急性排斥的敏感性和特异性分别为 95.1%,84.4%。

[0069] BLC 鉴别诊断 T 细胞介导的排斥和抗体介导的排斥的敏感性和特异性分别为 89.3%,88.7%。

[0070] 实施例 4:制备含 Fractalkine、Mig、C4d 及 BLC 四种单抗的试剂盒

[0071] 试剂盒中抗体微珠的制备:(步骤 10 调整加减相应单抗来开发相应细胞因子的试剂盒,试剂盒中其他组分皆可由商业化途径购买或用常规技术配置)

[0072] 1、清洗微珠 (MicroPlex bead, Luminex), (涡旋,真空超声 30s);

[0073] 2、取 4 种不同微珠各  $5 \times 10^6$  个微珠(约 400ul) 到离心管中;

[0074] 3、8000g 离心 2min;

[0075] 4、弃上清,加 100ul ddH<sub>2</sub>O,涡旋,真空超声 30s;

[0076] 5、8000g 离心 2min;

[0077] 6、弃上清,加 80ul 100mM NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 10ul 50mg/ml Sulfo-NHS, 10ul 50mg/ml EDC,涡旋,真空超声 30s;

[0078] 7、避光室温放置 20min(每隔 10min 涡旋一下);

[0079] 8、8000g 离心 2min;

[0080] 9、250ul 50mM MES 缓冲液清洗两次;

[0081] 10、弃上清,加 100ul 50mM MES 缓冲液,加入相应 10ul BLC 抗体 (Cat.no MAB801, R&D systems, USA), 10ul Mig 抗体 (MAB392, R&D systems, USA), C4d 抗体 (Cat.no MA1-83988, Thermo Scientific), Fractalkine 抗体 (MAB 3652, R&D systems, USA) 和

350ul 50mM MES 缓冲液, 涡旋, 真空超声 30s

[0082] 11、在震荡仪 (500-600rpm) 上避光室温放置 2h ;

[0083] 12、8000g 离心 2min ;

[0084] 13、弃上清, 加入 500ul PBS-TBN, 涡旋, 真空超声 30s ;

[0085] 14、8000g 离心 2min ;

[0086] 15、弃上清, 加入 1ml PBS-TBN, 涡旋, 真空超声 30s ;

[0087] 16、8000g 离心 2min ;

[0088] 17、弃上清, 加 1ml PBS, 1% BSA, 0.05% 叠氮钠 ;

[0089] 18、4℃ 避光保存。

[0090] 试剂盒组成部分 :

[0091]

蛋白标准品 (Fractalkine、Mig、C4d、BLC)	1ml × 2 管
抗体微珠 (10×)	0.5ml × 1 管
生物素标记的抗体浓缩液 (10×)	1ml × 1 管
洗液 (10×) 即 PBS, 10%BSA 含 150mMsodium azide (10×)	30ml × 1 瓶
Biotin 稀释液	12ml × 1 瓶
Streptavidin-RPE 浓缩液 (10×)	1ml × 1 管
Streptavidin-RPE 稀释液	12ml × 1 管
96 空板	1 盒

[0092] 上述“(10×)”表示 10 倍浓度的浓缩液。

[0093] 试剂盒的使用

[0094] 1、已制备好的抗体微珠 (100 个珠子 /ul) 超声涡旋 20s ;

[0095] 2、1× 洗液预湿实验所需要的孔, 真空抽吸 ;

[0096] 3、每孔加 50ul 抗体珠子稀释液 ;

[0097] 4、Std 组按浓度梯度每孔均加入五种蛋白标准品 :Fractalkine、Mig、C4d 及 BLC, 对照组加入 PBS-1% BSA, 设立复孔 ; 实验组每孔加入 50ul 尿液 ; 轻轻混匀 ;

[0098] 5、避光震荡仪 (500-600rpm) 上震荡 30min ;

[0099] 6、真空抽吸上清 ;

[0100] 7、每孔加 100ul 洗液, 清洗两次 ;

[0101] 8、每孔加 50ul 洗液, 轻轻混匀 ;

[0102] 9、抗体先用 biotin 稀释液稀释, 每孔加入 50ul 4ug/ml 生物素标记的 Mig 抗体 (Cat. noBAF392, R&D systems, USA), C4d 抗体 (Cat. no ab48345, Abcam), Fractalkine 抗体 (Cat. no BAF3652, R&D systems, USA), BLC 抗体 (Cat. no BAF801, R&D systems, USA) 轻轻混匀 ;

[0103] 10、避光, 震荡仪 (500-600rpm) 上震荡 30min ;

[0104] 11、真空抽吸上清 ;

[0105] 12、每孔加 100ul 洗液, 清洗两次 ;

- [0106] 13、每孔加 50ul 洗液,轻轻混匀;
- [0107] 14、Streptavidin-RPE 浓缩液先用 Streptavidin-RPE 稀释液稀释,每孔加 50ul 稀释好的 Stretavidin-RPE (1×), (Cat. no 405203, Biologend, USA), 轻轻混匀;
- [0108] 15、避光,震荡仪 (500-600rpm) 上震荡 30min;
- [0109] 16、真空抽吸上清;
- [0110] 17、每孔加 100ul 洗液,清洗两次;
- [0111] 18、每孔加 100ul 洗液,轻轻混匀;
- [0112] 19、每孔吸 50ul,在 Luminex 上检测。
- [0113] 检测结果导入 Luminex 分析软件,按软件说明书操作,确定尿液中各因子的含量 (Luminex 给出的结果是各因子的含量),再利用 SPSS 统计分析,判断结果。
- [0114] 实施例 5:试剂盒的使用
- [0115] 基于实施例 4 制备的试剂盒 (每个单抗用量为 50ug/ml 10ul),检测肾移植术后受者发生肾急性排斥反应的情况。
- [0116] 1. 研究对象为肾移植术后受者,并且具有明确病理诊断,移植肾功能稳定者 (no-AR) 30 例,急性排斥 30 (AR) 例,其中细胞性排斥 (TMR) 20 例,抗体介导的排斥 (AMR) 10 例。
- [0117] 2. 检测样本为以上受者的尿液标本 1ml,同时利用生化仪测定尿液中肌酐浓度。
- [0118] 3. 按照试剂盒说明书检测分析,判断标准如下:
- [0119] Fractalkine 能检测浓度为 0-10ng/ml, Mig 为 0-2000pg/ml, C4d 为 0-0.4ug/ml, BLC 为 0-500pg/ml。
- [0120] 区分 AR 和 no-AR 的 cutoff 值分别为:Fractalkine 为 300ng/mmol creatinine, Mig 为 1.5ng/mmol creatinine, C4d 为 0.6ug/mmol creatinine;
- [0121] 区分 AMR 和 TMR 的 cutoff 值, BLC 为 6ng/mmol creatinine。
- [0122] 4. 结果如下表:
- [0123] 表 1

		敏感度	特异度	P 值
[0124]	AR vs no-AR	93.3%	93.3%	<0.01
	AMR vs TMR	90%	90%	<0.01

- [0125] 实施例 6:制备含 Fractalkine、Mig 和 C4d 三种单抗的试剂盒
- [0126] 利用基于 Luminex 平台联合 Fractalkine、Mig 和 C4d 开发的移植肾急性排斥诊断试剂盒检测肾移植术后受者发生肾急性排斥反应的情况。试剂盒制备方法同实施例 4,仅是加入的抗体为 Fractalkine、Mig 和 C4d 单抗,微珠种类为 3 种,每个单抗用量为 50ug/ml 10ul。
- [0127] 1,研究对象为肾移植术后受者,并且具有明确病理诊断,移植肾功能稳定者 (no-AR) 30 例,急性排斥 30 (AR) 例。
- [0128] 2,检测样本为以上受者的尿液标本 1ml,同时利用生化仪测定尿液中肌酐浓度。
- [0129] 3,按照试剂盒说明书检测分析,判断标准同实施例 4。

[0130] 4,结果如下表:

[0131] 表 2

		敏感度	特异度	P 值
[0132]	AR vs	93.3%	93.3%	<0.01
	no-AR			

专利名称(译)	一种抗体组合物及其应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN102221607A</a>	公开(公告)日	2011-10-19
申请号	CN201110085255.9	申请日	2011-04-02
[标]申请(专利权)人(译)	浙江大学医学院附属第一医院		
申请(专利权)人(译)	浙江大学医学院附属第一医院		
当前申请(专利权)人(译)	浙江大学医学院附属第一医院		
[标]发明人	陈江华 彭文翰 茅幼英 寿张飞 姜虹 陈大进		
发明人	陈江华 彭文翰 茅幼英 寿张飞 姜虹 陈大进		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/577		
CPC分类号	G01N33/6893 G01N2800/245		
优先权	201110076786.1 2011-03-29 CN		
其他公开文献	CN102221607B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)	蛋白标准品 (Fractalkine、Mig、C4d、BLC)	1ml × 2管
<p>本发明属于生物技术领域，公开了抗体组合物及其应用。本发明抗体组合物，含有BLC特异性抗体，或者含有Fractalkine特异抗体、Mig特异抗体及C4d特异抗体及BLC特异性抗体。利用本发明抗体组合物，可以一次性诊断肾移植后的急性排斥，并可准确诊断急性排斥的类型为细胞性排斥或是抗体介导的排斥。利用本发明抗体组合物制备的检测试剂克服了目前对于急性排斥类别的诊断仅限于肾组织活检的缺陷，为临床诊断移植肾急性排斥反应及移植肾急性排斥类别提供了一种无创性方法。</p>	抗体微珠 (10×)	0.5ml×1管
	生物素标记的抗体浓缩液 (10×)	1ml×1管
	洗液 (10×) 即 PBS, 10%BSA 含 150mMsodium azide (10×)	30ml×1瓶
	Biotin 稀释液	12ml×1瓶
	Streptavidin-RPE 浓缩液 (10×)	1ml×1管
	Streptavidin-RPE 稀释液	12ml×1管
	96 空板	1 盒