



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110187094 A

(43)申请公布日 2019.08.30

(21)申请号 201910567947.3

(22)申请日 2019.06.27

(71)申请人 贵州盛世康生物科技有限公司

地址 550003 贵州省贵阳市贵安新区高端
装备制造产业园南部园区标准厂房

(72)发明人 赵海峰 蒙凯 李俊英 李家维

(51)Int.Cl.

G01N 33/53(2006.01)

C07K 16/06(2006.01)

C07K 16/18(2006.01)

权利要求书2页 说明书12页

(54)发明名称

一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂

(57)摘要

本发明提供了一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂;含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;本发明的5-羟基吡啶乙酸免疫原特异性强、免疫原性高,制备出的抗5-羟基吡啶乙酸特异性抗体特异性强、效价高,并且与常见的62种药物无任何交叉反应;本发明可以在全自动生化分析仪上同时测定多个样品,实现5-羟基吡啶乙酸的高通量快速化测定,准确度高,特异性强,精确度和检测效率相比之前都有了较大的提高,同时实现了检测过程的全自动化,对检测人员的要求不高,易于实现和推广使用。

1. 一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂,其特征在于,含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;

所述的指示试剂选自酶试剂、放射性同位素试剂、荧光试剂或发光试剂中的任意两种按质量比为1:1混合而成;其中,所述的酶试剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成,酶标偶联物为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-半抗原酶标偶联物,酶的底物为葡萄糖-6-磷酸。

2. 如权利要求1所述的5-羟基吡啶乙酸测定试剂,其特征在于,所述完整的抗体分子为采用单一的5-羟基吡啶乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

3. 如权利要求1所述的5-羟基吡啶乙酸测定试剂,其特征在于,所述5-羟基吡啶乙酸免疫原的制备方法,包括如下步骤:

步骤1,将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中;

步骤2,将5-羟基吡啶乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺,按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解,在室温下搅拌溶解反应,得溶液A;

步骤3,将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中,搅拌过夜,得到抗原;将合成好的抗原经过透析进行纯化,得到5-羟基吡啶乙酸免疫原。

4. 如权利要求3所述的5-羟基吡啶乙酸测定试剂,其特征在于,步骤1中,所述蛋白的质量为100 ~ 300g。

5. 如权利要求3所述的5-羟基吡啶乙酸测定试剂,其特征在于,步骤1中,所述磷酸缓冲液为25 ~ 75ml 0.2M, pH 8.5。

6. 如权利要求3所述的5-羟基吡啶乙酸测定试剂,其特征在于,步骤2中,所述一定配比如下:50-100mg 5-羟基吡啶乙酸、0.5-1.5ml 二甲基甲酰胺、0.5-1.5ml 乙醇、2.5-7.5ml 10mM, pH5.0 的磷酸钾缓冲液50-100mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、15-20mg N-羟基琥珀酰亚胺。

7. 如权利要求3所述的5-羟基吡啶乙酸测定试剂,其特征在于,步骤2中,所述搅拌溶解反应 30 ~ 60min。

8. 如权利要求3所述的5-羟基吡啶乙酸测定试剂,其特征在于,步骤3中,所述搅拌温度为2~8℃。

9. 如权利要求1所述的5-羟基吡啶乙酸测定试剂,其特征在于,所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下:

步骤一,用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释,得到抗原溶液,然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合,对实验动物进行注射;

步骤二,1周后,再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次,之后每隔2周注射一次;

步骤三,对步骤二的实验动物取血,分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

10. 如权利要求9所述的5-羟基吡啶乙酸测定试剂,其特征在于,所述5-羟基吡啶乙

酸免疫原稀释至 0.1 ~ 3.0mg/ml。

一种5-羟基吲哚乙酸测定试剂

技术领域

[0001] 本发明涉一种生物试剂领域；尤其涉及一种5-羟基吲哚乙酸测定试剂。

背景技术

[0002] 5-羟基吲哚乙酸 (5-HIAA) 作为5-羟色胺 (5-HT) 的代谢产物,是由单胺氧化酶催化经5-羟基吲哚乙醛转变而来。5-HIAA在肝脏中代谢,并随尿液排泄至体外。5-HT水平在中午时分最高,午夜最低,故其代谢产物5-HIAA的含量 白天较夜晚高,因此测定24h尿液更能准确的反应5-HIAA的含量水平。临床上 5-HIAA含量升高常见于类癌瘤、热带口炎性腹泻、支气管燕麦细胞癌等疾病；而其含量降低常见于肾病、抑郁症、强迫性神经症。因此,测定尿液中5-HIAA 含量可为多种疾病的诊断、治疗以及发病机制的研究提供重要依据。

[0003] 目前用于5-HIAA含量检测的方法主要有:高效液相色谱法、离子色谱法等。但是这些方法耗时长、成本高、检测规模小,并不适用于临床患者尿液中5-HIAA含量的检测。目前市场上缺乏稳定性好、灵敏度高、特异性强的5-HIAA检测试剂,尤其是质量好的自动化检验试剂。因此,研发一种质量达到临床检验要求、实用性强、性价比高,可应用于全自动生化分析仪的5-HIAA检测试剂势在必行。

发明内容

[0004] 本发明的目的是提供了调控一种5-羟基吲哚乙酸测定试剂。

[0005] 第一方面,本发明是通过以下技术方案实现的:

本发明涉及一种5-羟基吲哚乙酸测定试剂,含有5-羟基吲哚乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吲哚乙酸特异性抗体为5-羟基吲哚乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;

所述的指示试剂选自酶试剂、放射性同位素试剂、荧光试剂或发光试剂中的任意两种按质量比为1:1混合而成;其中,所述的酶试剂由5-羟基吲哚乙酸酶标偶联物和酶的底物组成,酶标偶联物为葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶 - 半抗原酶标偶联物,酶的底物为葡萄糖 -6-磷酸。

[0006] 优选地,所述完整的抗体分子为采用单一的 5-羟基吲哚乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

[0007] 优选地,所述5-羟基吲哚乙酸免疫原的制备方法,包括如下步骤:

步骤1,将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中;

步骤2,将5-羟基吲哚乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基)碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺,按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解,在室温下搅拌溶解反应,得溶液A;

步骤3,将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中,搅拌过夜,得到抗原;将合成好的抗原经过透析进行纯化,得到 5-羟基吲哚乙酸免疫原。

[0008] 优选地,步骤1中,所述蛋白的质量为100 ~ 300g。

[0009] 优选地,步骤1中,所述磷酸缓冲液为25 ~ 75ml 0.2M,pH 8.5。

[0010] 优选地,步骤2中,所述一定配比如下:50-100mg 5-羟基吡啶乙酸、0.5-1.5ml 二甲基甲酰胺、0.5-1.5ml 乙醇、2.5-7.5ml 10mM,pH5.0 的磷酸钾缓冲液50-100mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、15-20mg N-羟基琥珀酰亚胺。

[0011] 优选地,步骤2中,所述搅拌溶解反应 30 ~ 60min。

[0012] 优选地,步骤3中,所述搅拌温度为2~8℃。

[0013] 所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下:

步骤一,用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释,得到抗原溶液,然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合,对实验动物进行注射;

步骤二,1周后,再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次,之后每隔2周注射一次;

步骤三,对步骤二的实验动物取血,分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

[0014] 优选地,所述5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释至 0.1 ~ 3.0mg/ml。

[0015] 本发明说涉及的5-羟基吡啶乙酸检测试剂的制备方法,包含以下步骤:

(1) 试剂 A :将 2-3g、4-9mM 氧化态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 0.6-2.1g、3.5-15.8mM 葡萄糖-6-磷酸用 0.1-0.5L 30mM、pH = 8.0 的 Tris 缓冲液溶解制成均相酶底物;将所述的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体加到上述均相酶底物中,抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体与均相酶底物的体积比为 1:500;

(2) 试剂 B :将 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物加到0.1-0.5L 30mM、pH = 8.0 Tris 缓冲液中,5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物与 Tris 缓冲液的体积比为 1:1000。

[0016] 在本发明的方法有以下优点:

(1) 本发明的5-羟基吡啶乙酸免疫原特异性强、免疫原性高,制备出的抗5-羟基吡啶乙酸特异性抗体特异性强、效价高,并且与常见的 62 种药物无任何交叉反应;

(2) 本发明含有上述抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的均相酶免疫检测试剂可以方便、快速、准确地确定尿液等生物样品中的 5-羟基吡啶乙酸含量,并且可以在全自动生化分析仪上同时测定多个样品,实现 5-羟基吡啶乙酸的高通量快速化测定,准确度高,特异性强,精确度和检测效率相比之前都有了较大的提高,同时实现了检测过程的全自动化,对检测人员的要求不高,易于实现和推广使用。

[0017]

具体实施方式

[0018] 下面结合具体实施例对本发明进行详细说明。应当指出的是,以下的实施实例只是对本发明的进一步说明,但本发明的保护范围并不限于以下实施例。

[0019] 实施例1

本发明涉及一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂,含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完

整抗体分子；

所述的指示试剂选自酶试剂、放射性同位素试剂按质量比为1:1混合而成；其中，所述的酶试剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成，酶标偶联物为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-半抗原酶标偶联物，酶的底物为葡萄糖-6-磷酸。

[0020] 所述完整的抗体分子为采用单一的5-羟基吡啶乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

[0021] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原的制备方法，包括如下步骤：

步骤1，将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中；

步骤2，将5-羟基吡啶乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺，按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解，在室温下搅拌溶解反应，得溶液A；

步骤3，将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中，搅拌过夜，得到抗原；将合成好的抗原经过透析进行纯化，得到5-羟基吡啶乙酸免疫原。

[0022] 步骤1中，所述蛋白的质量为100g，所述磷酸缓冲液为75ml 0.2M，pH 8.5。

[0023] 步骤2中，所述一定配比如下：50mg 5-羟基吡啶乙酸、0.5ml 二甲基甲酰胺、0.5ml 乙醇、2.5ml 10mM，pH5.0 的磷酸钾缓冲液50mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、15mg N-羟基琥珀酰亚胺，步骤2中，所述搅拌溶解反应 30min。

[0024] 步骤3中，所述搅拌温度为2℃。

[0025] 所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下：

步骤一，用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释，得到抗原溶液，然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合，对实验动物进行注射；

步骤二，1周后，再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次，之后每隔2周注射一次；

步骤三，对步骤二的实验动物取血，分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

[0026] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释至 0.1mg/ml。

[0027] 本发明说涉及的5-羟基吡啶乙酸检测试剂的制备方法，包含以下步骤：

(1) 试剂 A：将 2g、4mM 氧化态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 0.6g、3.5mM 葡萄糖-6-磷酸用 0.1L 30mM、pH = 8.0 的 Tris 缓冲液溶解制成均相酶底物；将所述的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体加到上述均相酶底物中，抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体与均相酶底物的体积比为 1:500；

(2) 试剂 B：将 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物加到0.1L 30mM、pH = 8.0 Tris 缓冲液中，5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物与 Tris 缓冲液的体积比为 1:1000。

[0028] 实施例2

本发明涉及一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂，含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂；

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子；

所述的指示试剂选自荧光试剂、发光试剂按质量比为1:1混合而成；其中，所述的酶试

剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成,酶标偶联物为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-半抗原酶标偶联物,酶的底物为葡萄糖-6-磷酸。

[0029] 所述完整的抗体分子为采用单一的5-羟基吡啶乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

[0030] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原的制备方法,包括如下步骤:

步骤1,将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中;

步骤2,将5-羟基吡啶乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺,按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解,在室温下搅拌溶解反应,得溶液A;

步骤3,将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中,搅拌过夜,得到抗原;将合成好的抗原经过透析进行纯化,得到5-羟基吡啶乙酸免疫原。

[0031] 步骤1中,所述蛋白的质量为300g,所述磷酸缓冲液为75ml 0.2M, pH 8.5。

[0032] 步骤2中,所述一定配比如下:100mg 5-羟基吡啶乙酸、1.5ml 二甲基甲酰胺、1.5ml 乙醇、7.5ml 10mM, pH5.0 的磷酸钾缓冲液100mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、20mg N-羟基琥珀酰亚胺,步骤2中,所述搅拌溶解反应 60min。

[0033] 步骤3中,所述搅拌温度为8℃。

[0034] 所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下:

步骤一,用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释,得到抗原溶液,然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合,对实验动物进行注射;

步骤二,1周后,再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次,之后每隔2周注射一次;

步骤三,对步骤二的实验动物取血,分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

[0035] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释至3.0mg/ml。

[0036] 本发明说涉及的5-羟基吡啶乙酸检测试剂的制备方法,包含以下步骤:

(1) 试剂 A :将 3g、9mM 氧化态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 2.1g、3.5-15.8mM 葡萄糖-6-磷酸用 0.5L 30mM、pH = 8.0 的 Tris 缓冲液溶解制成均相酶底物;将所述的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体加到上述均相酶底物中,抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体与均相酶底物的体积比为 1:500;

(2) 试剂 B :将 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物加到0.5L 30mM、pH = 8.0 Tris 缓冲液中,5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物与 Tris 缓冲液的体积比为 1:1000。

[0037] 实施例3

本发明涉及一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂,含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;

所述的指示试剂选自酶试剂、荧光试剂按质量比为1:1混合而成;其中,所述的酶试剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成,酶标偶联物为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-半抗原酶标偶联物,酶的底物为葡萄糖-6-磷酸。

[0038] 所述完整的抗体分子为采用单一的 5-羟基吡啶乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

[0039] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原的制备方法,包括如下步骤:

步骤1,将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中;

步骤2,将5-羟基吡啶乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺,按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解,在室温下搅拌溶解反应,得溶液A;

步骤3,将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中,搅拌过夜,得到抗原;将合成好的抗原经过透析进行纯化,得到 5-羟基吡啶乙酸免疫原。

[0040] 步骤1中,所述蛋白的质量为200g,所述磷酸缓冲液为50ml 0.2M, pH 8.5。

[0041] 步骤2中,所述一定配比如下:60mg 5-羟基吡啶乙酸、0.8ml 二甲基甲酰胺、0.8ml 乙醇、3ml 10mM, pH5.0 的磷酸钾缓冲液60mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、16mg N-羟基琥珀酰亚胺,步骤2中,所述搅拌溶解反应40min。

[0042] 步骤3中,所述搅拌温度为3℃。

[0043] 所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下:

步骤一,用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释,得到抗原溶液,然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合,对实验动物进行注射;

步骤二,1周后,再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次,之后每隔2周注射一次;

步骤三,对步骤二的实验动物取血,分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

[0044] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释至 0.5mg/ml。

[0045] 本发明说涉及的5-羟基吡啶乙酸检测试剂的制备方法,包含以下步骤:

(1) 试剂 A :将 2.5g、5mM 氧化态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 0.8g、4.5mM 葡萄糖-6-磷酸用 0.45L 30mM、pH = 8.0 的 Tris 缓冲液溶解制成均相酶底物;将所述的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体加到上述均相酶底物中,抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体与均相酶底物的体积比为 1:500;

(2) 试剂 B :将 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物加到0.2L 30mM、pH = 8.0 Tris 缓冲液中,5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物与 Tris 缓冲液的体积比为 1:1000。

[0046] 实施例4

本发明涉及一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂,含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;

所述的指示试剂选自酶试剂、发光试剂按质量比为1:1混合而成;其中,所述的酶试剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成,酶标偶联物为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-半抗原酶标偶联物,酶的底物为葡萄糖-6-磷酸。

[0047] 所述完整的抗体分子为采用单一的 5-羟基吡啶乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

[0048] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原的制备方法,包括如下步骤:

步骤1,将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中;

步骤2,将5-羟基吡啶乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺,按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解,在室温下搅拌溶解反应,得溶液A;

步骤3,将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中,搅拌过夜,得到抗原;将合成好的抗原经过透析进行纯化,得到 5-羟基吡啶乙酸免疫原。

[0049] 步骤1中,所述蛋白的质量为100 ~ 300g,所述磷酸缓冲液为25 ~ 75ml 0.2M, pH 8.5。

[0050] 步骤2中,所述一定配比如下:70mg 5-羟基吡啶乙酸、0.7ml 二甲基甲酰胺、0.7ml 乙醇、3.5ml 10mM, pH5.0 的磷酸钾缓冲液80mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、17mg N-羟基琥珀酰亚胺,步骤2中,所述搅拌溶解反应50min。

[0051] 步骤3中,所述搅拌温度为5℃。

[0052] 所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下:

步骤一,用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释,得到抗原溶液,然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合,对实验动物进行注射;

步骤二,1周后,再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次,之后每隔2周注射一次;

步骤三,对步骤二的实验动物取血,分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

[0053] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释至 0.1mg/ml。

[0054] 本发明说涉及的5-羟基吡啶乙酸检测试剂的制备方法,包含以下步骤:

(1) 试剂 A :将 2g、6mM 氧化态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 1.6g、5.5mM 葡萄糖-6-磷酸用 0.45L 30mM、pH = 8.0 的 Tris 缓冲液溶解制成均相酶底物 ;将所述的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体加到上述均相酶底物中,抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体与均相酶底物的体积比为 1:500;

(2) 试剂 B :将 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物加到0.45L 30mM、pH = 8.0 Tris 缓冲液中,5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物与 Tris 缓冲液的体积比为 1:1000。

[0055] 实施例5

本发明涉及一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂,含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;

所述的指示试剂选自酶试剂、荧光试剂按质量比为1:1混合而成;其中,所述的酶试剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成,酶标偶联物为葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶 - 半抗原酶标偶联物,酶的底物为葡萄糖 -6- 磷酸。

[0056] 所述完整的抗体分子为采用单一的 5-羟基吡啶乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

[0057] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原的制备方法,包括如下步骤:

步骤1,将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中;

步骤2,将5-羟基吡啶乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基)碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺,按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解,在室温下搅拌溶解反应,得溶液A;

步骤3,将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中,搅拌过夜,得到抗原;将合成好的抗原经过透析进行纯化,得到 5-羟基吡啶乙酸免疫原。

[0058] 步骤1中,所述蛋白的质量为200g,所述磷酸缓冲液为60ml 0.2M,pH 8.5。

[0059] 步骤2中,所述一定配比如下:85mg 5-羟基吡啶乙酸、0.5ml 二甲基甲酰胺、0.5ml 乙醇、7.5ml 10mM,pH5.0 的磷酸钾缓冲液85mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基)碳二亚胺、16mg N-羟基琥珀酰亚胺,步骤2中,所述搅拌溶解反应 30min。

[0060] 步骤3中,所述搅拌温度为2℃。

[0061] 所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下:

步骤一,用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释,得到抗原溶液,然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合,对实验动物进行注射;

步骤二,1周后,再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次,之后每隔2周注射一次;

步骤三,对步骤二的实验动物取血,分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

[0062] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释至 3.0mg/ml。

[0063] 本发明说涉及的5-羟基吡啶乙酸检测试剂的制备方法,包含以下步骤:

(1) 试剂 A :将3g、9mM 氧化态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 2.1g、15.8mM 葡萄糖-6-磷酸用 0.1L 30mM、pH = 8.0 的 Tris 缓冲液溶解制成均相酶底物;将所述的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体加到上述均相酶底物中,抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体与均相酶底物的体积比为 1:500;

(2) 试剂 B :将 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物加到0.1L 30mM、pH = 8.0 Tris 缓冲液中,5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物与 Tris 缓冲液的体积比为 1:1000。

[0064] 实施例6

本发明涉及一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂,含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;

所述的指示试剂选自荧光试剂、发光试剂按质量比为1:1混合而成;其中,所述的酶试剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成,酶标偶联物为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-半抗原酶标偶联物,酶的底物为葡萄糖-6-磷酸。

[0065] 所述完整的抗体分子为采用单一的 5-羟基吡啶乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

[0066] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原的制备方法,包括如下步骤:

步骤1,将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中;

步骤2,将5-羟基吡啶乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基

丙基) 碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺, 按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解, 在室温下搅拌溶解反应, 得溶液A;

步骤3, 将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中, 搅拌过夜, 得到抗原; 将合成好的抗原经过透析进行纯化, 得到 5-羟基吡啶乙酸免疫原。

[0067] 步骤1中, 所述蛋白的质量为250g, 所述磷酸缓冲液为70ml 0.2M, pH 8.5。

[0068] 步骤2中, 所述一定配比如下: 90mg 5-羟基吡啶乙酸、1.4ml 二甲基甲酰胺、0.2ml 乙醇、6.5ml 10mM, pH5.0 的磷酸钾缓冲液90mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基) 碳二亚胺、15-20mg N-羟基琥珀酰亚胺, 步骤2中, 所述搅拌溶解反应 30min。

[0069] 步骤3中, 所述搅拌温度为7℃。

[0070] 所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下:

步骤一, 用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释, 得到抗原溶液, 然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合, 对实验动物进行注射;

步骤二, 1周后, 再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次, 之后每隔2周注射一次;

步骤三, 对步骤二的实验动物取血, 分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

[0071] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释至 0.1 ~ 3.0mg/ml。

[0072] 本发明说涉及的5-羟基吡啶乙酸检测试剂的制备方法, 包含以下步骤:

(1) 试剂 A : 将 2-3g、4-9mM 氧化态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 1.9g、14.6mM 葡萄糖-6-磷酸用 0.5L 30mM、pH = 8.0 的 Tris 缓冲液溶解制成均相酶底物; 将所述的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体加到上述均相酶底物中, 抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体与均相酶底物的体积比为 1:500;

(2) 试剂 B : 将 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物加到0.5L 30mM、pH = 8.0 Tris 缓冲液中, 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物与 Tris 缓冲液的体积比为 1:1000。

[0073] 实施例7

本发明涉及一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂, 含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;

所述的指示试剂选自放射性同位素试剂、荧光试剂按质量比为1:1混合而成; 其中, 所述的酶试剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成, 酶标偶联物为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-半抗原酶标偶联物, 酶的底物为葡萄糖-6-磷酸。

[0074] 所述完整的抗体分子为采用单一的 5-羟基吡啶乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

[0075] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原的制备方法, 包括如下步骤:

步骤1, 将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中;

步骤2, 将5-羟基吡啶乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基) 碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺, 按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解, 在室温下搅拌溶解反应, 得溶液A;

步骤3,将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中,搅拌过夜,得到抗原;将合成好的抗原经过透析进行纯化,得到 5-羟基吡啶乙酸免疫原。

[0076] 步骤1中,所述蛋白的质量为300g,所述磷酸缓冲液为75ml 0.2M,pH 8.5。

[0077] 步骤2中,所述一定配比如下:50mg 5-羟基吡啶乙酸、0.5ml 二甲基甲酰胺、0.5ml 乙醇、2.5ml 10mM,pH5.0 的磷酸钾缓冲液50mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、15-20mg N-羟基琥珀酰亚胺,步骤2中,所述搅拌溶解反应60min。

[0078] 步骤3中,所述搅拌温度为2℃。

[0079] 所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下:

步骤一,用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释,得到抗原溶液,然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合,对实验动物进行注射;

步骤二,1周后,再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次,之后每隔2周注射一次;

步骤三,对步骤二的实验动物取血,分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

[0080] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释至 3.0mg/ml。

[0081] 本发明说涉及的5-羟基吡啶乙酸检测试剂的制备方法,包含以下步骤:

(1) 试剂 A :将 2-3g、4-9mM 氧化态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 0.6-2.1g、15.8mM 葡萄糖-6-磷酸用0.5L 30mM、pH = 8.0 的 Tris 缓冲液溶解制成均相酶底物 ;将所述的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体加到上述均相酶底物中,抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体与均相酶底物的体积比为 1:500;

(2) 试剂 B :将 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物加到0.5L 30mM、pH = 8.0 Tris 缓冲液中,5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物与 Tris 缓冲液的体积比为 1:1000。

[0082] 实施例8

本发明涉及一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂,含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;

所述的指示试剂选自酶试剂、发光试剂按质量比为1:1混合而成;其中,所述的酶试剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成,酶标偶联物为葡萄糖 -6- 磷酸脱氢酶 -半抗原酶标偶联物,酶的底物为葡萄糖 -6- 磷酸。

[0083] 所述完整的抗体分子为采用单一的 5-羟基吡啶乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

[0084] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原的制备方法,包括如下步骤:

步骤1,将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中;

步骤2,将5-羟基吡啶乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺,按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解,在室温下搅拌溶解反应,得溶液A;

步骤3,将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中,搅拌过夜,得到抗原;将合成好的抗原经过透析进行纯化,得到 5-羟基吡啶乙酸免疫原。

[0085] 步骤1中,所述蛋白的质量为300g,所述磷酸缓冲液为25ml 0.2M,pH 8.5。

[0086] 步骤2中,所述一定配比如下:50mg 5-羟基吡啶乙酸、0.5ml 二甲基甲酰胺、1.5ml 乙醇、2.5ml 10mM,pH5.0 的磷酸钾缓冲液50-100mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、15-20mg N-羟基琥珀酰亚胺,步骤2中,所述搅拌溶解反应 60min。

[0087] 步骤3中,所述搅拌温度为8℃。

[0088] 所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下:

步骤一,用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释,得到抗原溶液,然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合,对实验动物进行注射;

步骤二,1周后,再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次,之后每隔2周注射一次;

步骤三,对步骤二的实验动物取血,分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

[0089] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释至3.0mg/ml。

[0090] 本发明说涉及的5-羟基吡啶乙酸检测试剂的制备方法,包含以下步骤:

(1) 试剂 A :将 2g、9mM 氧化态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 2.1g、15.8mM 葡萄糖-6-磷酸用0.5L 30mM、pH = 8.0 的 Tris 缓冲液溶解制成均相酶底物;将所述的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体加到上述均相酶底物中,抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体与均相酶底物的体积比为 1:500;

(2) 试剂 B :将 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物加到0.5L 30mM、pH = 8.0 Tris 缓冲液中,5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物与 Tris 缓冲液的体积比为 1:1000。

[0091] 实施例9

本发明涉及一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂,含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;

所述的指示试剂选自酶试剂、荧光试剂按质量比为1:1混合而成;其中,所述的酶试剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成,酶标偶联物为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-半抗原酶标偶联物,酶的底物为葡萄糖-6-磷酸。

[0092] 优选地,所述完整的抗体分子为采用单一的 5-羟基吡啶乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

[0093] 优选地,所述5-羟基吡啶乙酸免疫原的制备方法,包括如下步骤:

步骤1,将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中;

步骤2,将5-羟基吡啶乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺,按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解,在室温下搅拌溶解反应,得溶液A;

步骤3,将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中,搅拌过夜,得到抗原;将合成好的抗原经过透析进行纯化,得到 5-羟基吡啶乙酸免疫原。

[0094] 步骤1中,所述蛋白的质量为150g,所述磷酸缓冲液为45ml 0.2M,pH 8.5。

[0095] 步骤2中,所述一定配比如下:75mg 5-羟基吡啶乙酸、1.0ml 二甲基甲酰胺、0.8ml

乙醇、4.5ml 10mM, pH5.0 的磷酸钾缓冲液80mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、15mg N-羟基琥珀酰亚胺,步骤2中,所述搅拌溶解反应 30min。

[0096] 步骤3中,所述搅拌温度为8℃。

[0097] 所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下:

步骤一,用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释,得到抗原溶液,然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合,对实验动物进行注射;

步骤二,1周后,再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次,之后每隔2周注射一次;

步骤三,对步骤二的实验动物取血,分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

[0098] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释至3.0mg/ml。

[0099] 本发明说涉及的5-羟基吡啶乙酸检测试剂的制备方法,包含以下步骤:

(1) 试剂 A:将3g、9mM 氧化态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和2.1g、3.5mM 葡萄糖-6-磷酸用 0.5L 30mM、pH = 8.0 的 Tris 缓冲液溶解制成均相酶底物;将所述的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体加到上述均相酶底物中,抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体与均相酶底物的体积比为 1:500;

(2) 试剂 B:将 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物加到0.5L 30mM、pH = 8.0 Tris 缓冲液中,5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物与 Tris 缓冲液的体积比为 1:1000。

[0100] 实施例10

本发明涉及一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂,含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;

所述的指示试剂选自酶试剂、发光试剂按质量比为1:1混合而成;其中,所述的酶试剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成,酶标偶联物为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-半抗原酶标偶联物,酶的底物为葡萄糖-6-磷酸。

[0101] 所述完整的抗体分子为采用单一的 5-羟基吡啶乙酸免疫原对动物加强免疫所获得的多克隆抗体。

[0102] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原的制备方法,包括如下步骤:

步骤1,将载体蛋白溶解于磷酸缓冲液中;

步骤2,将5-羟基吡啶乙酸、二甲基甲酰胺、乙醇、磷酸钾缓冲液1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、N-羟基琥珀酰亚胺,按着一定配比加入到小烧杯中搅拌溶解,在室温下搅拌溶解反应,得溶液A;

步骤3,将溶解好的溶液A滴加至载体蛋白溶液中,搅拌过夜,得到抗原;将合成好的抗原经过透析进行纯化,得到 5-羟基吡啶乙酸免疫原。

[0103] 步骤1中,所述蛋白的质量为300g,所述磷酸缓冲液为75ml 0.2M, pH 8.5。

[0104] 步骤2中,所述一定配比如下:100mg 5-羟基吡啶乙酸、1.5ml 二甲基甲酰胺、1.5ml 乙醇、7.5ml 10mM, pH5.0 的磷酸钾缓冲液100mg 1-乙基-3-(3-二甲氨基丙基)碳二亚胺、20mg N-羟基琥珀酰亚胺,步骤2中,所述搅拌溶解反应 60min。

[0105] 步骤3中,所述搅拌温度为8℃。

[0106] 所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的制备方法如下:

步骤一,用 PBS 将 5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释,得到抗原溶液,然后用 0.1ml 抗原溶液与等量弗氏完全佐剂混合,对实验动物进行注射;

步骤二,1周后,再用0.1ml相同的抗原溶液与等量弗氏不完全佐剂对上述实验动物注射一次,之后每隔2周注射一次;

步骤三,对步骤二的实验动物取血,分离纯化得到效价为 1:20000的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体。

[0107] 所述5-羟基吡啶乙酸免疫原稀释至3.0mg/ml。

[0108] 本发明说涉及的5-羟基吡啶乙酸检测试剂的制备方法,包含以下步骤:

(1) 试剂 A :将3g、8mM 氧化态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸和 0.85g、15.8mM 葡萄糖-6-磷酸用 0.5L 30mM、pH = 8.0 的 Tris 缓冲液溶解制成均相酶底物;将所述的抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体加到上述均相酶底物中,抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体与均相酶底物的体积比为 1:500;

(2) 试剂 B :将 5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物加到0.5L 30mM、pH = 8.0 Tris 缓冲液中,5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物与 Tris 缓冲液的体积比为 1:1000。

[0109] 实施例11

本发明涉及一种5-羟基吡啶乙酸测定试剂,含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂;

所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子;

所述的指示试剂选自酶试剂;其中,所述的酶试剂由5-羟基吡啶乙酸酶标偶联物和酶的底物组成,酶标偶联物为葡萄糖-6-磷酸脱氢酶-半抗原酶标偶联物,酶的底物为葡萄糖-6-磷酸。

[0110] 综上所述:本发明的5-羟基吡啶乙酸免疫原特异性强、免疫原性高,制备出的抗5-羟基吡啶乙酸特异性抗体特异性强、效价高,并且与常见的 62 种药物无任何交叉反应;本发明含有上述抗 5-羟基吡啶乙酸特异性抗体的均相酶免疫检测试剂可以方便、快速、准确地确定尿液等生物样品中的 5-羟基吡啶乙酸含量,并且可以在全自动生化分析仪上同时测定多个样品,实现 5-羟基吡啶乙酸的高通量快速化测定,准确度高,特异性强,精确度和检测效率相比之前都有了较大的提高,同时实现了检测过程的全自动化,对检测人员的要求不高,易于实现和推广使用。

[0111] 以上对本发明的具体实施例进行了描述。需要理解的是,本发明并不局限于上述特定实施方式,本领域技术人员可以在权利要求的范围内做出各种变形或修改,这并不影响本发明的实质。

专利名称(译)	一种5 - 羟基吡啶乙酸测定试剂		
公开(公告)号	CN110187094A	公开(公告)日	2019-08-30
申请号	CN201910567947.3	申请日	2019-06-27
[标]发明人	赵海峰 蒙凯 李俊英 李家维		
发明人	赵海峰 蒙凯 李俊英 李家维		
IPC分类号	G01N33/53 C07K16/06 C07K16/18		
CPC分类号	C07K16/06 C07K16/18 G01N33/5306		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种5 - 羟基吡啶乙酸测定试剂；含有5-羟基吡啶乙酸特异性抗体和指示试剂；所述5-羟基吡啶乙酸特异性抗体为5-羟基吡啶乙酸免疫原免疫实验动物后产生的完整抗体分子；本发明的5-羟基吡啶乙酸免疫原特异性强、免疫原性高，制备出的抗5-羟基吡啶乙酸特异性抗体特异性强、效价高，并且与常见的62种药物无任何交叉反应；本发明可以在全自动生化分析仪上同时测定多个样品，实现5-羟基吡啶乙酸的高通量快速化测定，准确度高，特异性强，精确度和检测效率相比之前都有了较大的提高，同时实现了检测过程的全自动化，对检测人员的要求不高，易于实现和推广使用。