

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
G01N 33/531 (2006.01)
G01N 33/569 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200510104867.2

[43] 公开日 2007年3月28日

[11] 公开号 CN 1936582A

[22] 申请日 2005.9.21
[21] 申请号 200510104867.2
[71] 申请人 台塑生医科技股份有限公司
地址 中国台湾
[72] 发明人 詹尔昌 杨明荧

[74] 专利代理机构 北京科龙寰宇知识产权代理有限
责任公司
代理人 孙皓晨

权利要求书2页 说明书10页 附图6页

[54] 发明名称

一种侦测体液中结核菌抗原的方法

[57] 摘要

一种侦测结核液中结核菌抗原的方法，包括下列各方面内容：(a) 选择和制备任何以抗原抗体结合反应法可检测的、结核菌所分泌于各种体液中的特异抗原；(b) 制备对抗结核菌特异性抗原的单株及多株抗体；(c) 制备检测结核菌所分泌的特异抗原的试剂药盒；(d) 利用以上所述的抗体或药盒进行结核菌抗原侦测。 借由上述步骤达到检验快速且正确率高的检验目的。



1.一种侦测体液中结核菌抗原的方法，其特征在于，其包括：

(a) 选择和制备一种结核菌特异性抗原，该抗原系可以用任何以抗原抗体结合反应法检测的、结核菌所分泌于各种体液中的特异抗原；

(b) 制备对抗该结核菌特异性抗原的单株及多株抗体；

(c) 制备检测结核菌所分泌的特异抗原的试剂药盒；以及

(d) 利用以上所述的抗体或试剂药盒进行结核菌抗原的侦测。

2.如权利要求1所述的侦测体液中结核菌抗原的方法，其特征在于，所述的结核菌特异性抗原包含结核菌 RD1、RD2、RD3 基因群转译出的任何蛋白；合成的 RDs 区域多肽 利用细菌培养或基因工程等技术纯化的任何以上所述的抗原片段。

3.如权利要求1所述的侦测体液中结核菌抗原的方法，其特征在于，所述结核菌特异性抗体最主要是针对 culture filtrated protein-10 (CFP-10)、early secretion antigene-6 (ESAT-6) 及两者的融合蛋白 (CFP-10/ESAT-6) 所衍生出的多株和单株抗体。

4.如权利要求1所述的侦测体液中结核菌抗原的方法，其特征在于，利用抗原抗体结合反应法，其包括酶免疫分析法、荧光免疫分析法、冷光免疫分析法、放射线免疫分析法、免疫凝胶法、快速免疫色层分析法、免疫印迹法及抗体芯片法等。

5.如权利要求4所述的侦测体液中结核菌抗原的方法，其特征在于，快速免疫色层分析，是将一级抗体吸附在膜上，并将带有荧光物质的二级抗体标示在具颜色的颗粒小球上。

6.如权利要求1所述的侦测体液中结核菌抗原的方法，其特征在于，所侦测的检测样本包括血液、血浆、血清、痰液、尿液、脑脊髓液、肋膜液及组织液等各种生物性体液。

7.如权利要求1所述的侦测体液中结核菌抗原的方法，其特征在于，所述的试剂药盒包括：

(a) 固定相的抗体，有能力辨识结核菌中 RD1、RD2、RD3 基因群所转译

出的抗原或合成的多肽；

(b) 二级抗体上所接的标志，可以包含酶、荧光、冷光、放射性物质标志；
以及

(c) 可做为标准品或阳性对照用的重组蛋白和合成的多肽。

8.如权利要求1所述的侦测体液中结核菌抗原的方法，其特征在于，所述的试剂药盒可包括：

(a) 固定相上的抗体，有能力辨识结核菌中 RD1、RD2、RD3 基因群所转译出的抗原或合成的多肽；

(b) 固定抗体的材料，包括颜色的颗粒球、胶态金粒、磁性颗粒、生物感测换能器例如：压电式晶体、表面微波声换能器、电极、半导体和任何光电换能器；以及

(c) 可做为标准品或阳性对照用的重组蛋白和合成的多肽。

一种侦测体液中结核菌抗原的方法

技术领域

本发明涉及一种侦测体液中结核菌抗原的方法，尤其涉及一种可以直接检测体液中结核菌所分泌特异性抗原的侦测方法。

背景技术

结核病的感染途径主要是经由空气中飞沫传染，而造成结核病的主要致病菌为结核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)，根据世界卫生组织的报告，目前每年约有八百多万的结核病新增病例，且每年约有 3 百万人因结核病死亡，而全世界约有 33%的人口为潜伏性结核病患，因此如何快速正确的侦测诊断出结核病患是非常重要的。

目前常见的结核病诊断方法不外乎下列几种：

1、皮肤测试 (Skin test)：这是检测结核病最常见的初步诊断方法，在前臂以皮下注射约 0.1ml 的结核菌的纯化抗原 (Tuberculin purified protein derivate, PPD)，在注射 48~72 小时后该处皮肤会出现肿胀的情状，此方法侦测为阳性的病患代表此人曾受过结核菌感染，若要确定是否为活动性结核病 (active TB) 则需再配合 X 光检查及其它诊断方法。结核素皮肤测试的灵敏度大约 65%。

2、胸部 X 光 (Chest x-ray)：胸部 X 光检查对于肺部结核病的诊断是十分重要的，此方法除可以判断是否感染肺部结核病外，也可以帮助皮肤测试阳性的病患做更进一步的确认，但对于非肺部结核病则无法诊断。胸部 X 光检测的灵敏度大约 50%。

3、抗酸性染色 (Acid-fast stain, AFB)：由于结核菌的细胞壁含有较厚的脂质层，故当以酸性的染剂进行染色后，染剂较不易脱色，可在显微镜下观察到粉红色的杆菌存在，且此方法检测十分快速。痰液检测样本最好是从肺部咳出的深层痰液，若病患无法自行咳出痰液，可以雾状高渗透压的食盐水

帮助引流，或可以胃部抽取液、支气管冲洗液为检测物。抗酸性染色的灵敏度约 50%。

4、细菌培养 (Culture): 为了正确的诊断结核病目前最准确的方法仍为细菌培养，且细菌培养后可做抗药性测试，提供医师给药的依据，但结核菌的生长十分缓慢，实验室诊断需费时 4~6 周，再加上抗药性测试约需 2~3 周，是一种十分耗时的诊断方法。细菌培养的特异度大约 95%。

5、聚合酶链反应 (Polymerase Chain Reaction, PCR): 聚合酶链反应是目前积极发展的诊断工具之一，它对于诊断初期的结核病感染较其它方法灵敏，因此有些医院机构也开始以此方法做为结核病诊断方法，但此方法所需花费较高，操作人员需经训练，故此方法仍然较适合应用于研发工作上。聚合酶链反应的灵敏度大约 95%。

6、血清学测试 (Serology test): 近十年来很多的研发团队都在发展诊断结核病的血清检验，但发现此方法无法分辨活动性结核病患或曾经感染的结核病患；且对于接种过卡介苗的人们容易产生伪阳性的情形。血清测试的灵敏度大约 60~85%。

全世界约有三分之一的人口受到结核菌的感染，因此如何早期诊断出结核病及其相关疾病是非常重要的，特别是如何隔离结核病患者或感染多重抗药性结核菌的病患是控制结核病传染的一大难题，但由于目前在临床上诊断结核病的方法仍不够完备，故造成诊断正确率偏低。

因此，本发明人为了改善目前结核病诊断方法正确率偏低的缺点选择了结核菌所分泌的蛋白为特异抗原，并制作其多株和单株抗体。由于结核菌所分泌的蛋白可经过体液交换后而存在于人体的各种体液中，因此，利用特异性的抗原抗体反应，本发明为一种可以直接检测体液中结核菌所分泌特异抗原的方法。

发明内容

本发明的主要目的在提供一种可以直接检测体液中结核菌所分泌特异抗原并提高检测正确率的结核病侦测方法。

本发明涉及一种侦测体液中结核菌抗原的方法，其特征在于，其包括：

- (a) 选择和制备一种结核菌特异性抗原，该抗原系可以用任何以抗原抗体结合反应法检测的、结核菌分泌于各种体液中的特异抗原；
- (b) 制备对抗该结核菌特异性抗原的单株及多株抗体；
- (c) 制备检测该结核菌所分泌的特异抗原的试剂药盒；以及
- (d) 利用以上所述的抗体或试剂药盒进行结核菌抗原的侦测。

本发明所侦测的各种体液包括全血、血浆、血清、痰液、尿液、脑脊髓液、肋膜液及组织液等各种生物性体液，更具体来说，所述侦测方法步骤如下：

1、结核菌分泌的特异抗原的选择：所述结核菌分泌的特异抗原是由结核菌基因中的 RD1、RD2 或 RD3 等基因群转译的。

2、该抗原的制备：可以现有技术基因工程的方式由大肠杆菌生产重组蛋白的方法来制备。

该重组蛋白抗原可以由 RD1、RD2 或 RD3 等基因群克隆出的单一蛋白或融合蛋白。具体说来主要选定的抗原为 RDs 基因上所转译的 CFP-10 (culture filtrated protein-10) (编码 CFP-10 蛋白的核苷酸序列见 SEQ ID NO.1 所示)、ESAT-6 (编码 ESAT-6 蛋白的核苷酸序列见 SEQ ID NO.2 所示) 及 CFP10/ESAT6 (early secreting antigen-6) 融合蛋白 (编码 CFP10/ESAT-6 融合蛋白的核苷酸序列见 SEQ ID NO.3 所示)。

3、单株抗体及多株抗体的制备：可经由上述重组蛋白抗原或其片段做为抗原来免疫动物而制造出来。本发明制备了 anti-CFP-10、anti-ESAT-6 及 anti-CFP10/ESAT6 的单株及多株抗体。

4、检测结核菌所分泌的特异抗原的试剂药盒的制备：所述药盒包括固定相上的上述抗体、二级抗体上所接的标志、做为标准品或阳性对照用的重组蛋白和合成的多肽。

5、免疫检测方法：可用上述单株及多株抗体进行包括酶免疫分析法、荧光免疫分析法、冷光免疫分析法、免疫凝胶法、快速免疫色层分析及抗体芯片等方法来进行检测。此研究最终理想的免疫分析法为酶免疫分析法或快速免疫色层分析，将一级的反应抗体吸附在固体上，并以颜色物质或酶结合于另一抗体做为显色侦测之用。

上述方法中，所述的 RD1、RD2 和 RD3 基因序列通过登录 GenBank 即查到其全部序列，其查阅代码及其它信息如下：

RD	ORF(open reading frames)	Start (segment: bp)	End (segment: bp)
RD1	Rv3871-Rv3879c	160: 7,534	160: 16,989
RD2	Rv1978-Rv1988	88: 14,211	89: 8,598
RD3	Rv1573-Rv1586c	70: 7677	70:16,923

本发明可检测结核菌分泌于体液中的特异抗原，体液包括血液、血浆、血清、痰液、尿液、脑脊髓液、肋膜液及组织液等各种生物性体液。

接下来举一较佳实施例做进一步的说明，以使对本发明有更详尽的了解，以下所述仅用来解释本发明的较佳实施例，并非据以对本发明做任何形式上的限制，因此，凡以本发明为基础所做的任何形式的修饰或变更，皆仍应属于本发明权利要求保护的范畴。

附图说明

图 1 为本发明重组蛋白 ESAT-6 及 CFP-10 的制备示意图，A 表现重组蛋白 CFP-10，B 表现重组蛋白 CFP-10/ESAT-6 融合蛋白，C 纯化重组蛋白 CFP-10 及 CFP-10/ESAT-6；

图 2 为本发明以“Westen 印迹法”侦测体液中 CFP-10 及 ESAT-6 的存在示意图，A 为血清，B 为肋膜液；

图 3 为本发明以酶结合免疫吸附法侦测培养物滤液（culture filtrate）并与 PCR 及细菌培养法结果进行比较的表格；

图 4 为本发明以酶结合免疫吸附法侦测肋膜液结果的示意图；

图 5 为本发明以酶结合免疫吸附法侦测血清结果的示意图；

图 6 为本发明以酶结合免疫吸附法侦测痰液并与抗酸性染色抹片法及细菌培养法结果进行比较的示意图；

图 7 为本发明以酶结合免疫吸附法侦测健康者的血清结果示意图。

具体实施方式

本发明是一种侦测体液中结核菌抗原的方法，其主要包括下列各方面内容：

(a) 任何以抗原抗体结合反应法检测结核菌所分泌于各种体液中的特异抗原;

(b) 对抗结核菌特异性抗原的单株及多株抗体;

(c); 结核菌所分泌的特异抗原的试剂药盒, 以及

(d) 利用以上所述的抗体或药盒进行结核菌抗原侦测。

其中, 所述试剂药盒包括:

(a) 固定相的抗体, 有能力辨识结核菌中 RD1、RD2、RD3 基因群所转译出的抗原或合成的多肽;

(b) 二级抗体上所接的标志, 可以包含酶、荧光、冷光、放射性物质标志; 以及;

(c) 可做为标准品或阳性对照用的重组蛋白和合成的多肽。

该试剂药盒亦可包括:

(a) 固定相上的抗体, 有能力辨识结核菌中 RD1、RD2、RD3 基因群所转译出的抗原或合成的多肽;

(b) 固定抗体的材料, 包括颜色的颗粒球、胶态金粒、磁性颗粒、生物感测换能器例如: 压电式晶体、表面微波声换能器、电极、半导体和任何光电换能器; 以及

(c) 可做为标准品或阳性对照用的重组蛋白和合成的多肽。

以下对本发明的内容更详细分述如下:

1、结核菌所分泌于各种体液中的特异抗原的选择: 请配合参阅图 1 至图 7 所示, 为提高结核病检测的准确性, 近年来不断有研究再寻找结核菌特异性抗原, 研究报告指出结核菌在感染的老鼠组织中会表达 ESAT-6 (early-secreted antigenic target 6-kDa protein) 蛋白, 此蛋白属分泌性蛋白, 且可引起 T 细胞发生免疫反应, 而 *esat-6* 基因只存在于 *M. tuberculosis* 和会致病的 *M. bovis* 中, 在 *M. bovis* BCG (*Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin) 疫苗和其它许多非典型肺结核菌种中则不具此基因, 因此推论 ESAT-6 的存在可以区分真正的结核病与 BCG 疫苗接种的不同。为了更清楚地知道 ESAT-6 的调控表达机制, 便有学者以分子生物的方法分析会致病的 *M. bovis* 与 *M. bovis* BCG, 发现二者在 RD1 (region of deletion 1)、RD2 与 RD3 三区的基因有所差异, 这些

RDs 只存在于致病性分支杆菌，在所有的 BCG 中皆没有 RDs 的存在，RDs operon 有许多基因，而 *esat-6* 基因即位于 RD1，另外发现 *esat-6* 基因的启动子除调控 *esat-6* 基因外还调控另一 *lhp* 基因，此基因可转译出另一蛋白 CFP-10 (culture filtrate protein)，此蛋白亦为分泌性蛋白，可引起 T 细胞引发的免疫反应。本发明中以已知常规基因克隆方法表达出 ESAT-6 及 CFP-10 两种蛋白，并以已知常规方法制造对抗此两种蛋白的单株及双株抗体，进而利用各式免疫检测方法，包括酶免疫分析法、免疫凝胶法、快速免疫色层分析及抗体芯片等，这些体外检测方法可以在人体各种体液中侦测到结核菌所分泌的特异性抗原，进而提高诊断的速度及正确性。

本发明所使用的结核菌抗原包含了重组蛋白 CFP-10、ESAT-6 及 CFP10/ESAT-6 融合蛋白。利用已知常规聚合酶链反应 (PCR) 以特异性的引物放大结核菌上 *lhp* 及 *esat-6* 基因。将 PCR 产物接入 pGEM-T 载体并送入 *E.coli* (DH5a)，接着在具有抗生素的培养基中挑取代有 *lhp* 及 *esat-6* 基因的单一菌落，并以基因定序方法确认序列无误，以限制酶切下基因并进行接合反应，使两基因接合在一起，最后分别将 *lhp*、*esat-6* 结合后的基因与表达载体 pET29b 结合送入 *E.coli* (BL21DE3)。

上面所涉及的基因重组、表达、融合、及聚合酶链反应等方法，均为现有技术常用之方法，故此不再赘述。

很多研究显示了结核菌、BCG 菌株及环境中的结核杆菌类菌种具有很多相同的抗原，而这些抗原或许能够应用于疫苗的设计上，但可能因为交叉反应所以无法作为诊断用途上的抗原，因此，越来越多的研究在寻找结核菌的特异抗原，而目前所使用的结核菌纯化抗原 (PPD) 就会与卡介苗发生交叉反应，故如要预测抗原是否会与疫苗或环境菌株发生交叉反应是较困难的，因此，所要寻找作为诊断结核病的抗原必须具有极高的特异性，需为疫苗或环境菌株所没有的。

Mahairas 等人利用新颖的生物技术定义结核菌特异性抗原，并利用基因杂交反应比对出致病性的结核杆菌属和 1925 年所发展出的 BCG 菌株在某些基因上是有所差异的，这些在 BCG 菌株上所不存在的基因分别被命名为 RD1、RD2 及 RD3，因此，有很多研究便想利用这些区域所转译出的蛋白作为疫苗

或检验诊断上的候选抗原。而 RD2 尚可转译一种名为 MPT64 的分泌蛋白，此蛋白大小约为 32kD，很多研究发现此蛋白可刺激 T 细胞而发生迟发性过敏反应 (delayed type hypersensitivity, DTH)，由于 BCG 菌株不具有 *mpt64* 基因，故利用 MPT64 作为皮肤测试的抗原，可分辨受结核菌感染的病患及接受卡介苗注射的健康者。*Mpt64* 基因可存在于下列菌株：*M. tuberculosis* H37Rv、*M. tuberculosis* H37Ra、*M. bovis* BCG substrans Tokyo, Moreau, Russian 等；而下列菌株则不具有 *mpt64* 基因：*M. leprae*、*M. bovis* BCG substrans Glaxo, Pasteur, Canadian, Tice, Danish 1331。但对于原始的 BCG 菌株 (Pasteur) 来说，MPT64 是一种非常有效的皮肤测试抗原。

在结核菌的 RD1 基因群中，ESAT-6 是目前特性被了解最多的蛋白，而在所有的 BCG 菌株中皆不具有 *esat-6* 基因，ESAT-6 为一分泌性蛋白，经研究发现 ESAT-6 可以刺激受结核菌感染后的记忆性免疫细胞，使其释放出大量的 IFN_{γ} ，且 ESAT-6 是结核菌中一种主要引起 Th1 免疫反应的抗原，在细胞学实验中发现，ESAT-6 可以区分由 *M. tuberculosis* 或 *M. avium* 所引起的肺部疾病，故 ESAT-6 极具有作为诊断结合的特异性抗原的潜力。

另外，RD1 基因群上共有 13 个基因，除 *esat-6* 基因位于 RD1，同时并发现 *esat-6* 基因的启动子除调控 *esat-6* 基因外还调控另一 *lbp* 基因，此基因可转译出另一蛋白 CFP-10，此蛋白大小约为 10kD，也是一种分泌性的蛋白。越来越多的研究发现一群属于 ESAT-6 家族 (ESAT-6、CFP-10、TB10.4) 的蛋白皆具有引发人类免疫反应，刺激大量 IFN_{γ} 释出的功能，而在血清测试上这些家族成员皆能增加诊断上的特异性，因此本发明选择 ESAT-6 以及 CFP-10 蛋白作为特异抗原模式，以描述所研发的试剂在诊断结核病上的新颖性、进步性以及实用性。

本发明抗体的制备主要包括多株抗体与单株抗体的制备与分析。

2、抗结核菌抗原的多株抗体制备与分析：以上述结核菌抗原免疫 NZW 母兔，第一次免疫以完全性的佐剂混合定量的抗原进行皮下注射 (500 μ g/次)，之后每两周以非完全性的佐剂混合定量的抗原进行肌肉注射 (500 μ g/次)，再最后一次注射后两周即可大量抽取兔血，已获取具抗体的兔子血清，并以硫酸氨沉淀法及透析法使抗体存于 PBS 中冷冻于 -20 $^{\circ}$ C。以 ELISA 法测

定抗体的效价，并与各种抗原检测该抗体的特异性与亲和性，最后再以现有技术方法将抗体加以定量。

3、抗结核菌抗原的单株抗体制备与分析：以结核菌抗原免疫老鼠后再取其脾脏，使脾脏中的淋巴球细胞与骨髓瘤细胞进行细胞融合，所产生的融合瘤细胞便会分泌抗体于培养液中，以极限稀释法将融合瘤细胞稀释，筛选辨识单一抗原位置的单株抗体，将单一的细胞株注射到 Balb/c 老鼠腹腔，使其产生腹水，由腹水中即可分离纯化获得的单株抗体。以 ELISA 法测定抗体的效价，并与各种抗原检测该抗体的特异性与亲和性，最后再将抗体加以定量。

4、制备检测结核菌所分泌的特异抗原的试剂药盒：为满足更方便、快捷地测试需要，可将本发明测试方法所用试剂制成试剂药盒。用现有技术方法将上面制备的单株抗体或多株抗体吸附于固定相上，这些抗体有能力辨识结核菌中 RD1、RD2、RD3 基因群所转译出的抗原或合成的多肽；再用现有技术方法制作二级抗体上所接的标志，可以包含酶、荧光、冷光、放射性物质标志；并选择可做为标准品或阳性对照用的现有技术重组蛋白和合成的多肽；将上述抗体固定相、标志物、对照物分别包装好，置于同一药盒中。

5、免疫测试方法：本发明使用的测试方法为抗原抗体结合反应法，包括酶免疫分析法、荧光免疫分析法、冷光免疫分析法、放射线免疫分析法、免疫凝胶法、快速免疫层析、免疫印迹法及抗体芯片等，以下针对免疫层析法、免疫凝胶法、酶免疫分析法以及免疫芯片法，兹分述如下：

(1)、免疫层析法：免疫层析法是一种定性的分析方法，此方法所需的检测样本体积很少、只需单一步骤、不需要特殊仪器、非常的快速且结果十分容易判读。是将一级抗体吸附在膜上，并将带有荧光物质的二级抗体标示在具颜色的颗粒小球上。当检测样本滴到分析膜上，检测样本中的结核菌抗原会与接有抗体的有颜色颗粒球发生反应，形成抗原抗体复合物，并借由毛细管扩散原理将复合物带到具有二级抗体吸附的固定相，再次借由抗原抗体的接合使有色颗粒球在固定相上形成可以判读的颜色线。

(2)、免疫凝胶法：免疫凝胶法是一种定性的分析方法，此方法所需的检测样本体积很少、只需单一步骤、不需要特殊仪器、非常的快速且结果十分容易判读。当检测样本中的抗原与表面附着结合菌抗体的凝胶发生反应，由

于抗原与抗体的接合或使得微小的凝胶连结在一起，形成凝集反应，使检测样本浊度增加，以吸光度的改变便可得知是否有抗原存在。

(3)、酶免疫分析法：利用亲和性管柱纯化获得两种对抗结核菌抗原的抗体，使一种抗体吸附在固定相上，加入检测样本，检测样本中的抗原会被一级抗体所辨认，因此也会吸附于固定相，接着加入带有酶标示的二级抗体，二级抗体亦会与固定相上的抗原发生接合反应，最后利用酶特定的底物显色，以显色的深浅进行判读，此方法的一级与二级抗体最好来自不同物种所制造的，可增加专一性。

(4)、免疫芯片法：结核菌特异性抗体可以特殊技术接合在一些电子传导器上，例如压电式晶体、液浆传导器、声波共振传导器、电极、热能或光能侦测器等，当检测样本中的抗原与固定相上的抗体接合，抗原抗体反应造成电子讯号的变动，便可进行检测。

SEQUENCE LISTING

<110> 台湾台塑生医科技股份有限公司
 <120> 一种侦测体液中结核菌抗原的方法
 <130> p00008
 <160> 3
 <170> PatentIn version 3.3
 <210> 1
 <211> 288
 <212> DNA
 <213> Mycobacterium tuberculosis
 <400> 1
 atgacagagc agcagtgga tttcgcgggt atcgaggccg cggcaagcgc aatccaggga 60
 aatgtcacgt ccattcattc cctccttgac gaggggaagc agtccttgac caagctcgca 120
 gcggcctggg gcggtagcgg ttcggaggcg taccagggtg tccagcaaaa atgggacgcc 180
 acggctaccg agctgaacaa cgcgctgcag aacctggcgc ggacgatcag cgaagccggt 240
 caggcaatgg cttcgaccga aggcaacgtc actgggatgt tcgcatag 288

 <210> 2
 <211> 303
 <212> DNA
 <213> Mycobacterium tuberculosis
 <400> 2
 atggcagaga tgaagaccga tgccgctacc ctcgcgaggc aggcaggtaa tttcagcgg 60
 atctccggcg acctgaaaac ccagatcgac caggtggagt cgacggcagg ttcggttcag 120
 ggccagtggc gcggcgcggc ggggacggcc gccagggccg cgggtggtgcg cttccaagaa 180
 gcagccaata agcagaagca ggaactcgac gagatctcga cgaatattcg tcaggccggc 240
 gtccaatact cgagggccga cgaggagcag cagcaggcgc tgcctcgcga aatgggcttc 300
 tga 303

 <210> 3
 <211> 588
 <212> DNA
 <213> Mycobacterium tuberculosis
 <400> 3
 atggcagaga tgaagaccga tgccgctacc ctcgcgaggc aggcaggtaa tttcagcgg 60
 atctccggcg acctgaaaac ccagatcgac caggtggagt cgacggcagg ttcggttcag 120
 ggccagtggc gcggcgcggc ggggacggcc gccagggccg cgggtggtgcg cttccaagaa 180
 gcagccaata agcagaagca ggaactcgac gagatctcga cgaatattcg tcaggccggc 240
 gtccaatact cgagggccga cgaggagcag cagcaggcgc tgcctcgcga aatgggcttc 300
 atgacagagc agcagtgga tttcgcgggt atcgaggccg cggcaagcgc aatccaggga 360
 aatgtcacgt ccattcattc cctccttgac gaggggaagc agtccttgac caagctcgca 420
 gcggcctggg gcggtagcgg ttcggaggcg taccagggtg tccagcaaaa atgggacgcc 480
 acggctaccg agctgaacaa cgcgctgcag aacctggcgc ggacgatcag cgaagccggt 540
 caggcaatgg cttcgaccga aggcaacgtc actgggatgt tcgcatag 588

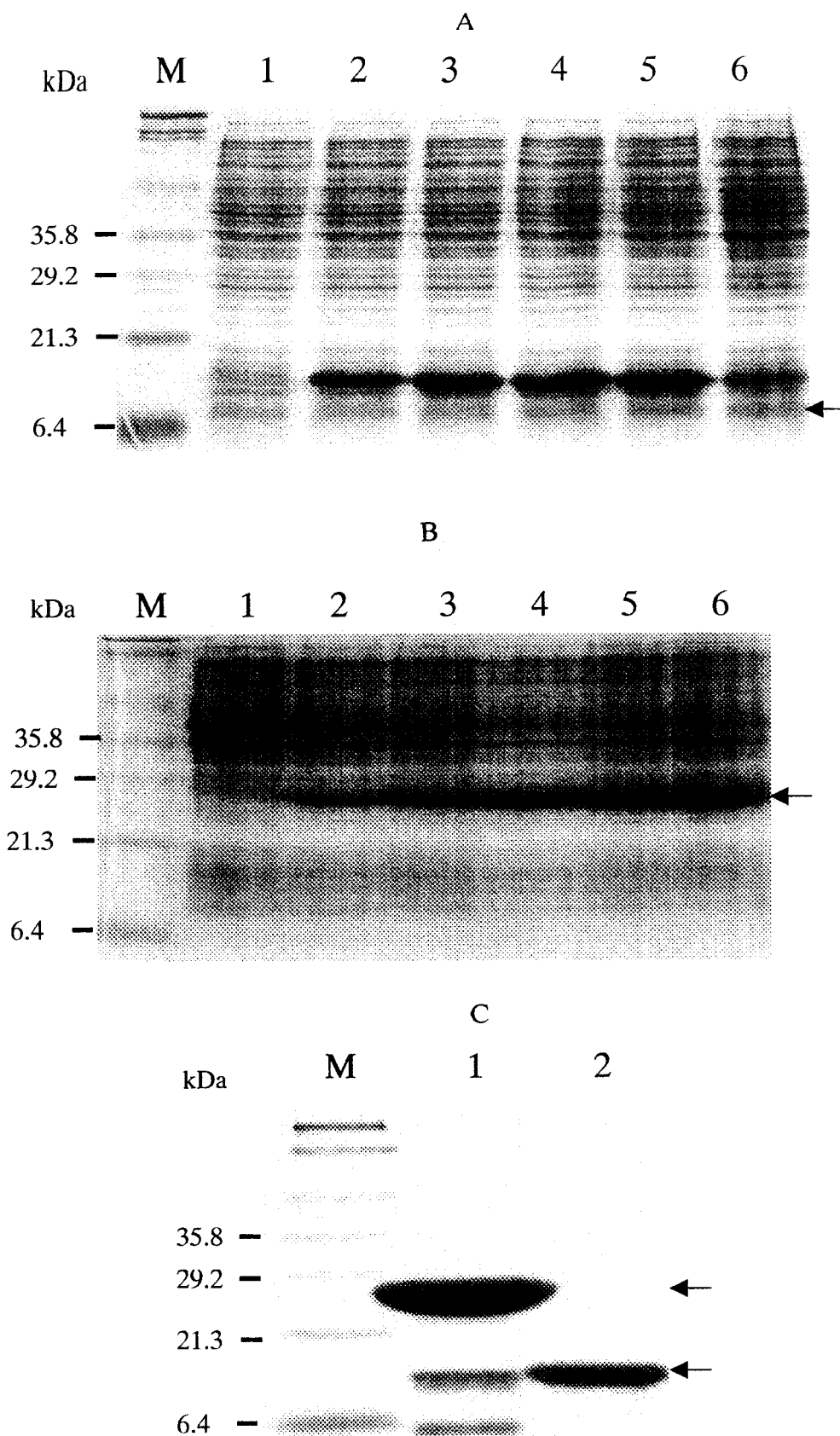


图 1

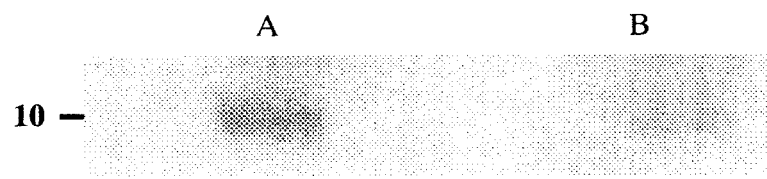


图 2

No.	PCR	ELISA
C001	-	-
C002	+	+
C003	+	+
C004	+	+
C005	-	-
C006	+	+
C007	+	-
C008	+	+
C009	+	-
C010	+	-
C011	-	-
C012	+	+
C013	+	+
C014	+	+
C015	-	-
C016	+	+
C017	+	+
C018	+	+

No.	PCR	ELISA
C019	+	+
C020	+	+
C021	+	+
C022	-	-
C023	+	+
C024	+	+
C025	-	-
C026	+	+
C027	+	+
C028	+	-
C029	+	+
C030	+	-
C031	-	-
C032	+	-
C033	-	-
C034	+	+
C035	+	+

图 3

No.	ELISA	History
P001	-	Patient control
P002	-	Patient control
P003	-	Patient control
P004	-	Patient control
P005	-	Patient control
P006	-	Patient control
P007	-	Old TB
P008	+	TB
P009	-	Patient control
P010	-	Patient control

No.	ELISA	History
P011	-	Old TB
P012	-	Old TB
P013	+	TB
P014	+	TB
P015	-	Old TB
P016	-	Patient control
P017	-	Patient control
P018	-	Patient control
P019	-	Patient control
P020	-	TB

图 4

No.	AFS	ELISA	Culture
Sp001	+	-	+
Sp002	+	-	+
Sp003	+	+	+
Sp004	+	-	+

图 6

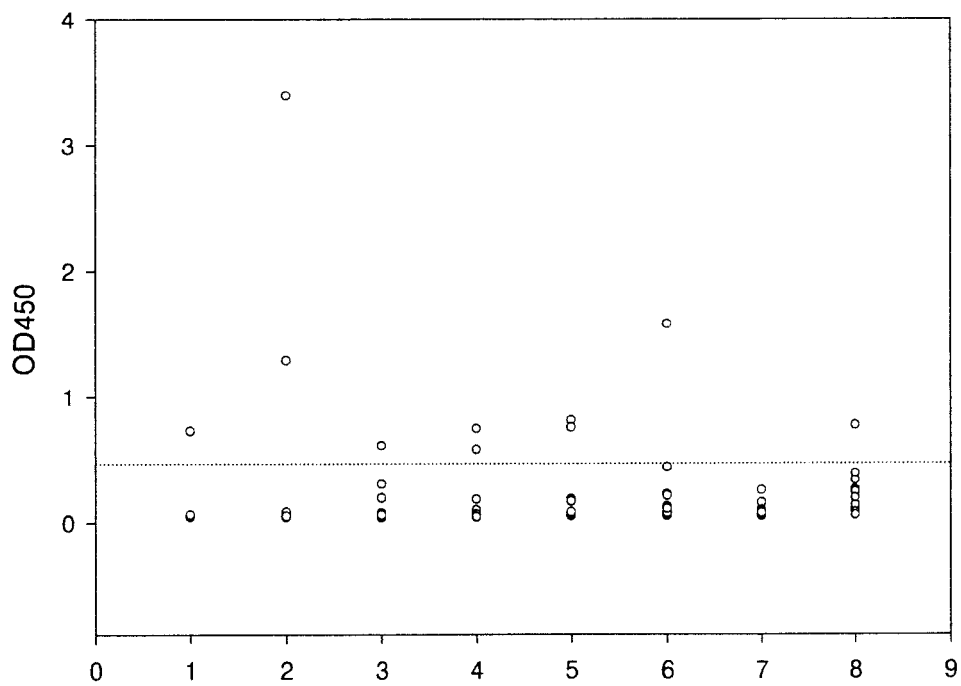


图 7

专利名称(译)	一种检测体液中结核菌抗原的方法		
公开(公告)号	CN1936582A	公开(公告)日	2007-03-28
申请号	CN200510104867.2	申请日	2005-09-21
申请(专利权)人(译)	台塑生医科技股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	台塑生医科技股份有限公司		
[标]发明人	詹尔昌 杨明荧		
发明人	詹尔昌 杨明荧		
IPC分类号	G01N33/531 G01N33/569		
代理人(译)	孙皓晨		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

一种检测结核液中结核菌抗原的方法，包括下列各方面内容：(a)选择和制备任何以抗原抗体结合反应法可检测的、结核菌所分泌于各种体液中的特异抗原；(b)制备对抗结核菌特异性抗原的单株及多株抗体；(c)制备检测结核菌所分泌的特异抗原的试剂药盒；(d)利用以上所述的抗体或药盒进行结核菌抗原检测。借由上述步骤达到检验快速且正确率高的检验目的。

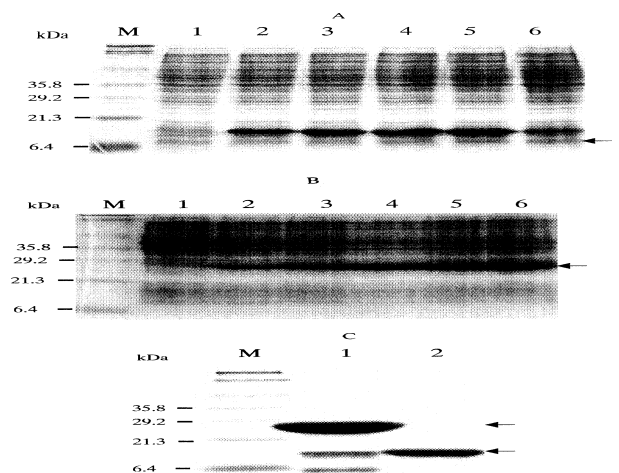


图 1