



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 111217910 A

(43)申请公布日 2020.06.02

(21)申请号 201811408364.8

(22)申请日 2018.11.23

(83)生物保藏信息

CGMCC NO.16382 2018.09.14

CGMCC NO.16383 2018.09.14

(71)申请人 福建普立辰生物技术有限公司

地址 350015 福建省福州市马尾区湖里路

27号1#楼2-33B室(自贸试验区内)

申请人 郑乐民

(72)发明人 郑乐民 段学军 贾志磊 路美玲

祖凌云 郭延松 邱玲 赵明明

何萌萌

(74)专利代理机构 北京英创嘉友知识产权代理

事务所(普通合伙) 11447

代理人 苏瑞 耿超

(51)Int.Cl.

C07K 16/40(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/573(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

C12N 5/20(2006.01)

C12R 1/91(2006.01)

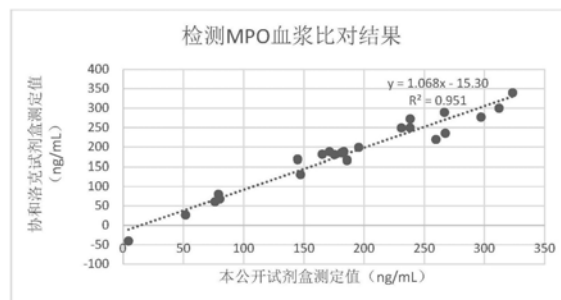
权利要求书1页 说明书7页 附图1页

(54)发明名称

单克隆抗体对及其在检测髓过氧化物酶蛋白中的应用

(57)摘要

本公开涉及一种单克隆抗体对及其在检测髓过氧化物酶蛋白中的应用,该单克隆抗体对包括独立存放的第一单克隆抗体和第二单克隆抗体;所述第一单克隆抗体由第一杂交瘤细胞株产生;所述第二单克隆抗体由第二杂交瘤细胞株产生;所述第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382;所述第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383。本公开的单克隆抗体对能够用于检测髓过氧化物酶蛋白,具有特异性强、灵敏度高、稳定性好、与商业化试剂盒检测结果的一致性好的特点,可用于体外诊断领域。



1. 一种单克隆抗体对, 其特征在于, 该单克隆抗体对包括独立存放的第一单克隆抗体和第二单克隆抗体; 所述第一单克隆抗体由第一杂交瘤细胞株产生; 所述第二单克隆抗体由第二杂交瘤细胞株产生; 所述第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382; 所述第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383。

2. 权利要求1所述的单克隆抗体对在制备用于检测髓过氧化物酶蛋白的试剂盒中的应用。

3. 根据权利要求2所述的应用, 其中, 所述试剂盒为化学发光免疫试剂盒、酶联免疫检测试剂盒、胶体金免疫试剂盒或荧光免疫检测试剂盒。

4. 一种荧光免疫试条, 该荧光免疫试条包括设置于PVC板(7)上并依次相连接的样品垫(1)、标记抗体垫(2)、硝酸纤维素膜(4)和吸收垫(6); 所述抗体包被硝酸纤维素膜(4)上设置有检测线(3)和质控线(5), 所述质控线(5)上包被有羊抗鼠IgG的抗体, 所述检测线(3)上包被有第一单克隆抗体; 所述标记抗体垫(2)中含有荧光标记的第二单克隆抗体; 所述第一单克隆抗体和所述第二单克隆抗体构成单克隆抗体对, 其特征在于, 所述单克隆抗体对为权利要求1所述的单克隆抗体对。

5. 根据权利要求4所述的荧光免疫试条, 其中, 所述第一单克隆抗体的包被浓度为0.5~2mg/mL, 所述羊抗鼠IgG的抗体的包被浓度为0.5~1mg/mL, 所述第二单克隆抗体的标记浓度为5~20ng/mL, 所述检测线(3)和质控线(5)之间的间距为4~6mm。

6. 权利要求1所述的单克隆抗体对在制备用于冠心病辅助诊断的试剂盒中的用途。

7. 一种用于冠心病辅助诊断的试剂盒, 其特征在于, 该试剂盒包括权利要求1所述的单克隆抗体对。

8. 一种杂交瘤细胞对, 其特征在于, 该杂交瘤细胞对包括独立存放的第一杂交瘤细胞株和第二杂交瘤细胞株; 所述第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382; 所述第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383。

9. 一种MPO单克隆抗体MPO-3, 其特征在于, 所述MPO-3由第一杂交瘤细胞株产生; 所述第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382。

10. 一种MPO单克隆抗体MPO-4, 其特征在于, 所述MPO-4由第二杂交瘤细胞株产生; 所述第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383。

单克隆抗体对及其在检测髓过氧化物酶蛋白中的应用

技术领域

[0001] 本公开涉及生物技术领域,具体地,涉及一种单克隆抗体对及其在检测髓过氧化物酶蛋白中的应用。

背景技术

[0002] 髓过氧化物酶(MPO)是一种由2条重链(466个氨基酸残基)和2条轻链(108个氨基酸残基)组成的白细胞酶,是糖基化的血红素蛋白。MPO来源于多形核中性粒细胞(PMN)、单核细胞及巨噬细胞,贮存在嗜天青颗粒中,当白细胞激活及脱颗粒时,MPO被释放。PMN是血管内MPO最主要的细胞来源。

[0003] 研究发现MPO有促进冠心病形成的作用,MPO可以产生自由基和多种反应性物质,促进斑块形成和不稳定性增加,加速冠心病进展,进而引起多种并发症。MPO缺陷的个体罹患心血管疾病的危险性明显下降。MPO水平的升高与患冠状动脉疾病易感性相关。所以,MPO是预测冠心病患者发生不良心血管事件的一个新的预测因子,临床用于冠心病辅助诊断。

发明内容

[0004] 本公开的目的是提供一种能稳定分泌特异性识别髓过氧化物酶蛋白不同位点的单克隆抗体MP0-3及MP0-4的杂交瘤细胞株及该两种单克隆抗体在检测髓过氧化物酶蛋白中的应用。

[0005] 为了实现上述目的,一方面,本公开提供了一种单克隆抗体对,该单克隆抗体对包括独立存放的第一单克隆抗体和第二单克隆抗体;所述第一单克隆抗体由第一杂交瘤细胞株产生;所述第二单克隆抗体由第二杂交瘤细胞株产生;所述第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382;所述第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383。

[0006] 再一方面,本公开提供如上所述的单克隆抗体对在制备用于检测髓过氧化物酶蛋白的试剂盒中的应用。

[0007] 可选地,所述试剂盒为化学发光免疫试剂盒、酶联免疫检测试剂盒、胶体金免疫试剂盒或荧光免疫检测试剂盒。

[0008] 再一方面,本公开提供一种荧光免疫试条,该荧光免疫试条包括设置于PVC板上并依次相连接的样品垫、标记抗体垫、硝酸纤维素膜和吸收垫;所述抗体包被硝酸纤维素膜上设置有检测线和质控线,所述质控线上包被有羊抗鼠IgG的抗体,所述检测线上包被有第一单克隆抗体;所述标记抗体垫中含有荧光标记的第二单克隆抗体;所述第一单克隆抗体和所述第二单克隆抗体构成单克隆抗体对,所述单克隆抗体对为如上所述的单克隆抗体对。

[0009] 可选地,所述第一单克隆抗体的包被浓度为0.5~2mg/mL,所述羊抗鼠IgG的抗体的包被浓度为0.5~1mg/mL,所述第二单克隆抗体的标记浓度为5~20ng/mL,所述检测线和质控线之间的间距为4~6mm。

[0010] 再一方面,本公开提供如上所述的单克隆抗体对在制备用于冠心病辅助诊断的试剂盒中的用途。

[0011] 再一方面,本公开提供一种用于冠心病辅助诊断的试剂盒,该试剂盒包括如上所述的单克隆抗体对。

[0012] 再一方面,本公开提供一种杂交瘤细胞对,该杂交瘤细胞对包括独立存放的第一杂交瘤细胞株和第二杂交瘤细胞株;所述第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382;所述第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383。

[0013] 再一方面,本公开提供一种MP0单克隆抗体MP0-3,所述MP0-3由第一杂交瘤细胞株产生;所述第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382。

[0014] 再一方面,本公开提供一种MP0单克隆抗体MP0-4,所述MP0-4由第二杂交瘤细胞株产生;所述第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383。

[0015] 通过上述技术方案,本公开的杂交瘤细胞对能稳定高效的分泌特异性强的抗髓过氧化物酶蛋白单克隆抗体,将其进行配对,建立了荧光免疫层析方法。该方法特异性强、灵敏度高、稳定性好、与商业化试剂盒检测结果的一致性好,可用于体外诊断领域。

[0016] 本公开的其他特征和优点将在随后的具体实施方式部分予以详细说明。

[0017] 生物材料保藏

[0018] 本公开的第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382,保藏日期为2018年9月14日,保藏单位为中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,地址位于北京市朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所,分类命名为:可分泌抗MP0单克隆抗体的杂交瘤细胞株。

[0019] 本发明的第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383,保藏日期为2018年9月14日,保藏单位为中国微生物菌种保藏管理委员会普通微生物中心,地址位于北京市朝阳区北辰西路1号院3号中国科学院微生物研究所,分类命名为:可分泌抗MP0单克隆抗体的杂交瘤细胞株。

附图说明

[0020] 附图是用来提供对本公开的进一步理解,并且构成说明书的一部分,与下面的具体实施方式一起用于解释本公开,但并不构成对本公开的限制。在附图中:

[0021] 图1是人髓过氧化物酶荧光免疫试条的组装结构示意图。

[0022] 图2是实施例1中本公开的试条与商业化试剂盒检测血样中髓过氧化物酶蛋白浓度的比对结果。

[0023] 附图标记说明

[0024]	1	样品垫	2	标记抗体垫
[0025]	3	检测线	4	硝酸纤维素膜
[0026]	5	质控线	6	吸收垫
[0027]	7	PVC板		

具体实施方式

[0028] 以下结合附图对本公开的具体实施方式进行详细说明。应当理解的是,此处所描述的具体实施方式仅用于说明和解释本公开,并不用于限制本公开。

[0029] 一方面,本公开提供了一种单克隆抗体对,该单克隆抗体对包括独立存放的第一

单克隆抗体和第二单克隆抗体；所述第一单克隆抗体由第一杂交瘤细胞株产生；所述第二单克隆抗体由第二杂交瘤细胞株产生；所述第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382；所述第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383。

[0030] 本公开的单克隆抗体对能够用于检测髓过氧化物酶蛋白。因此，再一方面，本公开提供如上所述的单克隆抗体对在制备用于检测髓过氧化物酶蛋白的试剂盒中的应用。

[0031] 其中，所述试剂盒可以为化学发光免疫试剂盒、酶联免疫检测试剂盒、胶体金免疫试剂盒或荧光免疫检测试剂盒。

[0032] 本公开的单克隆抗体对尤其适用于通过荧光免疫层析方法检测髓过氧化物酶蛋白。因此，再一方面，本公开提供一种荧光免疫试条，该荧光免疫试条包括设置于PVC板上并依次相连接的样品垫、标记抗体垫、硝酸纤维素膜和吸收垫；所述抗体包被硝酸纤维素膜上设置有检测线(T线)和质控线(C线)，所述质控线上包被有羊抗鼠IgG的抗体，所述检测线上包被有第一单克隆抗体；所述标记抗体垫中含有荧光标记的第二单克隆抗体；所述第一单克隆抗体和所述第二单克隆抗体构成单克隆抗体对，所述单克隆抗体对为如上所述的单克隆抗体对。

[0033] 其中，所述第一单克隆抗体的包被浓度优选为0.5~2mg/mL，最优选为1mg/mL。所述羊抗鼠IgG的抗体的包被浓度优选为0.5~1mg/mL，最优选为0.5mg/mL。所述第二单克隆抗体的标记浓度优选为5~20ng/mL，最优选为10ng/mL。所述检测线和质控线之间的间距优选为4~6mm，最优选为4.5mm。

[0034] 本公开的单克隆抗体能够特异性地检测髓过氧化物酶蛋白，进而可在临床用于冠心病的辅助诊断。因此，再一方面，本公开提供如上所述的单克隆抗体对在制备用于冠心病辅助诊断的试剂盒中的用途。

[0035] 再一方面，本公开提供一种用于冠心病辅助诊断的试剂盒，该试剂盒包括如上所述的单克隆抗体对。

[0036] 再一方面，本公开提供一种杂交瘤细胞对，该杂交瘤细胞对包括独立存放的第一杂交瘤细胞株和第二杂交瘤细胞株；所述第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382；所述第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383。

[0037] 本公开的杂交瘤细胞对能稳定高效的分泌特异性强的如上所述的抗髓过氧化物酶蛋白单克隆抗体。

[0038] 再一方面，本公开提供一种MPO单克隆抗体MPO-3，所述MPO-3由第一杂交瘤细胞株产生；所述第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382。

[0039] 再一方面，本公开提供一种MPO单克隆抗体MPO-4，所述MPO-4由第二杂交瘤细胞株产生；所述第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383。

[0040] 以下，通过实施例进一步详细说明本发明。以下实施例中，所用的试剂均为商购获得。

[0041] 实施例

[0042] 一、杂交瘤细胞的制备及筛选

[0043] 1) 动物免疫

[0044] 免疫原为人髓过氧化物酶(MPO)天然蛋白，购自美国Lee Biosolutions公司，货号为426-10。用此天然蛋白免疫6-8周龄的BALB/c雌性小鼠。将MPO天然蛋白100μg/只与福氏

完全佐剂混合,充分乳化后,经背腹部皮下多点注射0.3mL/只,后每间隔2周,取80μg/只抗原和福氏不完全佐剂充分乳化后,腹腔注射0.3mL/只,免疫第4次的一周后,对小鼠进行尾末端取血,检测血清效价,取效价达到1:27000及以上的小鼠进行脾脏加强免疫,脾脏免疫时,MP0抗原量为30μg/只,3天后取脾细胞进行细胞融合。

[0045] 2) 饲养层细胞的制备

[0046] 以正常的8-10周龄BALB/c鼠腹腔巨噬细胞作饲养细胞。在融合前1天,取BALB/c小鼠,眼球放血后拉颈处死,75%酒精体表消毒后,用消毒后的剪刀和镊子从后腹剪开腹部皮肤,暴露腹膜。用注射器取4mL RPMI1640培养基至腹腔,轻轻推拉注射器,进行反复冲洗,将腹腔中的细胞悬液吸出,放到待用的培养基中。即得到饲养层细胞。

[0047] 3) 免疫脾细胞的制备

[0048] 小鼠加强免疫三天后,在无菌条件下取出脾脏,置于平皿中,RPMI1640基础培养液冲洗一次,剪碎、研磨、过滤后得到分散的脾细胞,1000rpm离心5分钟留沉淀,RPMI1640基础培养液重悬,计数。

[0049] 4) 骨髓瘤细胞的制备

[0050] 小鼠骨髓瘤细胞sp2/0经8-氮鸟嘌呤筛选后,培养至对数生长期,取6大瓶(75cm²)制成细胞悬液,1000rpm离心5分钟留沉淀,用RPMI1640基础培养液重悬、计数,按(0.5~2)×10⁵个/mL的细胞浓度进行分瓶培养。

[0051] 5) 细胞融合及HAT选择培养杂交瘤

[0052] 将骨髓瘤细胞与免疫脾细胞按1:8-1:10的比例混合,在50mL离心管内用RPMI1640基础培养液洗1次,1000rpm离心5分钟留沉淀。将细胞混匀,缓慢加入1mL 50%的PEG4000融合,融合1分钟后加入30mL的RPMI1640基础培养液终止细胞融合。700rpm/min离心5分钟后重悬于含有1%HAT与20%新生牛血清的1640培养基中,平均滴入30板已加入饲养层细胞的96孔细胞培养板。37℃,5%CO₂培养。

[0053] 6) 杂交瘤细胞的筛选及其克隆

[0054] 细胞培养箱中培养5天后,用间接ELISA方法筛选分泌抗体的阳性孔,即以MP0蛋白为抗原,用CB稀释到1μg/mL包被96孔酶标板,100μL/孔,4℃包被过夜,拍干后,用含2%BSA的PBS缓冲液封闭(200μL/孔),37℃封闭2小时,拍干备用;加入细胞培养上清,50μL/孔,37℃反应30min后洗涤并拍干;加入100μL/孔的HRP标记的羊抗鼠IgG,37℃孵育30min后洗涤并拍干,加入100μL/孔的TMB显色液,37℃避光显色10min,加入50μL/孔的2M H₂SO₄终止反应,并于OD₄₅₀处读取数值。阳性孔的确定原则:OD₄₅₀值/阴性对照值≥2.1。选择呈强阳性反应的细胞孔,进行有限稀释法克隆。经过三至四次的克隆化筛选后,单克隆细胞株阳性率100%即确定为稳定细胞株。经扩大培养后,用于腹水制备和液氮保存。

[0055] 二、单克隆抗体的制备及纯化

[0056] 选取6-8周健康的BALB/c小鼠,每只小鼠腹腔注射0.5mL液体石蜡(国药集团化学试剂有限公司),7天后每只小鼠腹腔注射(0.5~1)×10⁶个杂交瘤细胞株。接种细胞7-10天后产生腹水,密切观察小鼠的健康状况与腹水征象,待腹水尽可能多,用9#针头收集腹水,反复多次收集,直至小鼠死亡。收集的腹水3000rpm离心10min后取上清,分别取小样放于-20℃冰箱保存。腹水用饱和硫酸氨沉淀后,再用蛋白A亲和层析柱纯化。

[0057] 三、配对抗体的筛选

[0058] 1) 抗体的HRP标记

[0059] 称取5mg HRP溶解于1mL蒸馏水中,加入0.2mL新配的0.1M NaIO₄溶液,室温下避光搅拌20分钟。将上述溶液装入透析袋中,对1mM pH4.4的醋酸钠缓冲液透析,4℃过夜。加20μL 0.2M pH9.5碳酸盐缓冲液,使以上醛化HRP的pH升高到9.0~9.5,然后立即加入10mg IgG在1mL 0.01M碳酸盐缓冲液中,室温避光轻轻搅拌2小时。加0.1mL新配的4mg/mL NaBH₄液,混匀,4℃放置2小时。将上述液装入透析袋中,对0.15M PH7.4PBS透析,4℃过夜。缓慢加入等体积的饱和硫酸铵溶液,混匀并置于4℃避光条件下30min。10000rpm离心10min去上清,以200μL的PBS重溶沉淀,然后置于PBS中透析12-18h,期间换液一次。取出溶液并测量体积,加入等体积的甘油,充分混匀后于-20℃保存备用。

[0060] 2) 配对抗体的筛选

[0061] 用CB将包被抗体稀释到2μg/mL,以每孔100μL加入到酶标板孔中,4℃包被过夜。将酶标板拍干,每孔加入200μL封闭液(含2%BSA的PBS),于37℃下封闭2h并拍干。将阳性血样用牛血清稀释至50ng/mL,每孔加样100μL,以阴性血样为对照。37℃孵育1h后洗板3次,洗液为0.05%的PBST。用含1%BSA的洗液将酶标抗体稀释成1000倍的工作液,每孔加100μL,37℃孵育1h,然后洗板4次并拍干。每孔加入100μL TMB显色液,37℃孵育10min。每孔加50μL加入终止液,在酶标仪上用450nm读取OD值。单克隆抗体的配对筛选结果如表1所示。

[0062] 表1

血样	标记抗体	包被抗体		
		MPO-3	MPO-4	MPO-5
阳性血清	MPO-3	0.070	0.287	0.054
	MPO-4	0.668	0.061	0.060
	MPO-5	0.059	0.054	0.059
阴性血清	MPO-3	0.061	0.055	0.052
	MPO-4	0.075	0.097	0.070
	MPO-5	0.159	0.080	0.055

[0064] 由表1可见,阳性血清中,当标记抗体为MPO-4,包被抗体为MPO-3时,OD值最大(0.668),因此,筛选出针对髓过氧化物酶蛋白的以第一单克隆抗体(MPO-3)为包被抗体、第二单克隆抗体(MPO-4)为标记抗体的配对单抗。

[0065] 四、检测试条的制备和应用

[0066] (1) 按图1制备免疫荧光试条。第一单克隆抗体(MPO-3)的包被浓度为0.5~2mg/mL,羊抗鼠IgG的抗体的包被浓度为0.5~1mg/mL,第二单克隆抗体(MPO-4)的标记浓度为5~20ng/mL,检测线(T线)和质控线(C线)之间的间距为4~6mm。

[0067] 将样本和稀释液滴入检测卡加样孔,液体在毛细管效应下向上层析。样本中的待检物MPO(抗原)在层析过程中先与标记垫上荧光标记的抗MPO抗体结合,然后继续往上层析,随后结合物会被包被在T线上的MPO抗体结合,在T线位置会形成固相MPO抗体-MPO-标记MPO抗体-荧光微球复合物。在C线则形成固相羊抗鼠IgG抗体-MPO标记抗体-荧光微球复合物。荧光微球在激发光下发出荧光信号。样本中的MPO抗原越多,检测线上积聚的荧光复合物越多,荧光复合物数量与荧光信号值呈相关性,经仪器测定即可计算出样本中MPO蛋白的浓度。

[0068] (2) 检测试条的特异性

[0069] 同一样品分三份，一份作为本底，其它两份中分别加入50g/L的白蛋白 (ALB)、1.6g/L的高密度脂蛋白 (HDL) 做交叉反应。每个样品检测3次，计算出平均值。如果上述两种交叉反应物的测定值不高于25ng/mL，则判定合格，检测结果见表2。交叉反应物浓度按下述公式计算：

[0070] 特异性=加入干扰物质后样品的检测浓度-本底样品的检测浓度。

[0071] 表2

特异性试验	ALB			HDL		
	本底 (ng/mL)	本底+ALB (ng/mL)	企业标准	本底 (ng/mL)	本底+HDL (ng/mL)	企业标准
[0072] 检测结果	38.49	42.24	/	70.77	88.45	/
特异性	/	3.75	不高于 25ng/mL	/	17.68	不高于 25ng/mL

[0073] 结果表明，本公开的单克隆抗体对制备的试剂盒具有较好的特异性。

[0074] (3) 检测试条的灵敏度

[0075] 平行测定20次新生牛血清的浓度值，计算浓度值的平均值 (Mean) 和标准差 (SD)， $\text{Mean}+2\times\text{SD}$ 时的浓度值为空白检出限，结果见表3。

[0076] 表3

序号	浓度值 (ng/mL)	序号	浓度值 (ng/mL)
1	0.195	11	0.044
2	0.044	12	0.044
3	1.657	13	0.044
4	0.044	14	0.414
5	0.153	15	0.533
[0077] 6	4.165	16	0.044
7	0.044	17	0.24
8	0.076	18	0.044
9	0.119	19	0.044
10	0.044	20	0.044
$\bar{X}$	0.402		
SD	0.959		
$\bar{X}+2\text{SD}$	2.320		

[0078] 结果表明，本公开的单克隆抗体对制备的试剂盒具有较高的灵敏度，其空白限为2.32ng/mL。

[0079] (4) 检测试条的稳定性

[0080] 将本公开制备的检测试条放入37℃恒温培养箱中热加速21天，检测企业质控品A、B，各重复测定10次，计算测定结果的平均浓度 (Mean) 与标准差 (SD)。变异系数 (CV) = $\text{SD}/\text{Mean}\times 100\%$ 。如果质控品A、B的CV均不大于15%，则判定合格，结果见表4。

[0081] 表4

[0082]	序号	质控 A	质控 B	企业标准
	1	58.87	128.53	CV 均应小于 15%
	2	69.32	112.90	
	3	72.62	102.15	
	4	66.62	107.64	
[0083]	5	58.87	105.45	
	6	58.08	121.04	
	7	65.69	106.51	
	8	60.18	135.27	
	9	60.56	105.74	
	10	65.22	136.67	
	$\bar{x}$ ng/ml	63.60	116.19	
	SD	5.02	13.16	
	CV%	8%	11%	

[0084] 结果表明,经过放置37℃环境21天后,本公开的单克隆抗体对制备的试剂盒测定企业质控品, CV均小于15%,符合要求。

[0085] (5) 与商业化试剂盒的比对

[0086] 采用商业化的髓过氧化物酶 (MPO) 定量检测试剂盒 (酶联免疫吸附法, 北京协和洛克生物技术有限责任公司) 和本公开的单克隆抗体对制备的试剂盒同时检测23例血浆样本, 结果见图2。结果表明, 本公开的单克隆抗体对制备的试剂盒与商业化的髓过氧化物酶 (MPO) 定量检测试剂盒 (酶联免疫吸附法, 北京协和洛克生物技术有限责任公司) 检测MPO的浓度值, 一致性较好。

[0087] 根据实施例的结果可以看出, 本公开的单克隆抗体制备的免疫荧光试条对髓过氧化物酶蛋白检测灵敏度达2.32ng/mL, 对白蛋白 (ALB)、高密度脂蛋白 (HDL) 不呈现交叉反应, 具有较高的敏感度和特异性。

[0088] 以上结合附图详细描述了本公开的优选实施方式, 但是, 本公开并不限于上述实施方式中的具体细节, 在本公开的技术构思范围内, 可以对本公开的技术方案进行多种简单变型, 这些简单变型均属于本公开的保护范围。

[0089] 另外需要说明的是, 在上述具体实施方式中所描述的各个具体技术特征, 在不矛盾的情况下, 可以通过任何合适的方式进行组合, 为了避免不必要的重复, 本公开对各种可能的组合方式不再另行说明。

[0090] 此外, 本公开的各种不同的实施方式之间也可以进行任意组合, 只要其不违背本公开的思想, 其同样应当视为本公开所公开的内容。

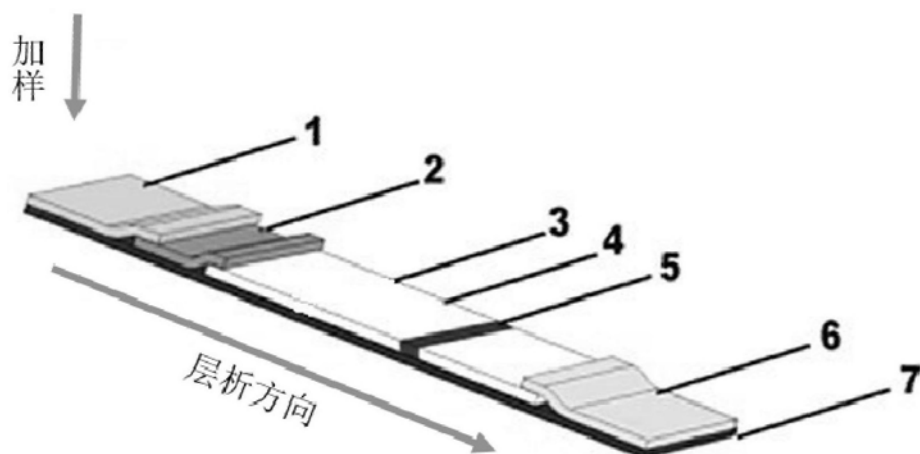


图1

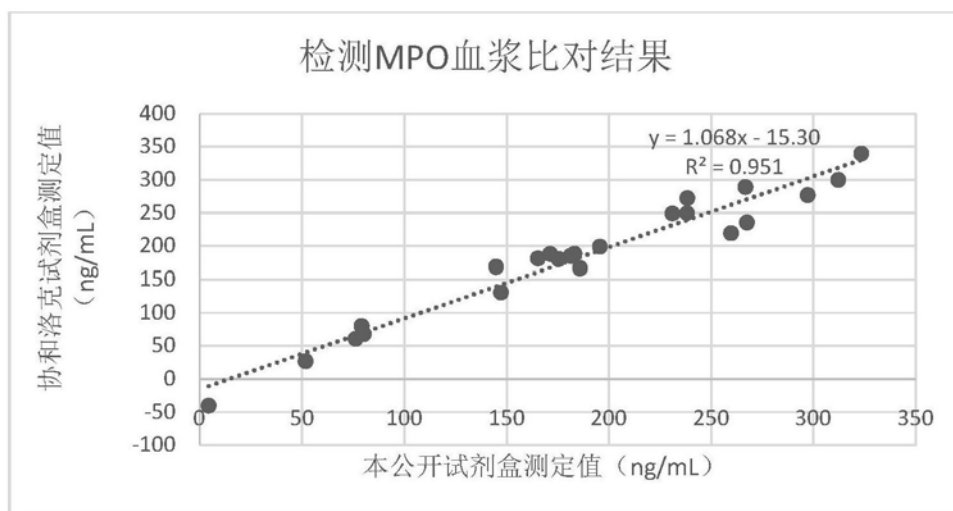


图2

专利名称(译)	单克隆抗体对及其在检测髓过氧化物酶蛋白中的应用		
公开(公告)号	CN111217910A	公开(公告)日	2020-06-02
申请号	CN201811408364.8	申请日	2018-11-23
[标]申请(专利权)人(译)	郑乐民		
申请(专利权)人(译)	郑乐民		
当前申请(专利权)人(译)	郑乐民		
[标]发明人	郑乐民 段学军 贾志磊 路美玲 祖凌云 郭延松 邱玲 赵明明 何萌萌		
发明人	郑乐民 段学军 贾志磊 路美玲 祖凌云 郭延松 邱玲 赵明明 何萌萌		
IPC分类号	C07K16/40 G01N33/577 G01N33/573 G01N33/533 C12N5/20 C12R1/91		
代理人(译)	苏瑞 耿超		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本公开涉及一种单克隆抗体对及其在检测髓过氧化物酶蛋白中的应用，该单克隆抗体对包括独立存放的第一单克隆抗体和第二单克隆抗体；所述第一单克隆抗体由第一杂交瘤细胞株产生；所述第二单克隆抗体由第二杂交瘤细胞株产生；所述第一杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16382；所述第二杂交瘤细胞株的保藏编号为CGMCC NO.16383。本公开的单克隆抗体对能够用于检测髓过氧化物酶蛋白，具有特异性强、灵敏度高、稳定性好、与商业化试剂盒检测结果的一致性好的特点，可用于体外诊断领域。

检测MPO血浆比对结果

