



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108445230 A

(43)申请公布日 2018.08.24

(21)申请号 201810235448.X

(22)申请日 2018.03.21

(71)申请人 北京科卫临床诊断试剂有限公司

地址 100000 北京市怀柔区雁栖经济开发
区雁栖河西一路7号

(72)发明人 王保君 万亚坤 冯长访 张希忠
汤双双 史素娟 刘耀飞 郑德森
李良红 聂章林

(74)专利代理机构 北京冠和权律师事务所
11399

代理人 朱健 陈国军

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/535(2006.01)

G01N 21/76(2006.01)

权利要求书2页 说明书7页
序列表2页

(54)发明名称

基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂及检测方法

(57)摘要

本发明涉及生物医学和生物检测技术领域，具体涉及一种测定血清中降钙素原的试剂及其检测方法，尤其是一种基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂、检测方法以及其在诊断中的应用。本发明检测试剂由发光底物液A、发光底物液B、包被板、酶结合物、浓缩洗涤液、校准品和质控品组成；其中包被板上包被有降钙素原纳米抗体，酶结合物中包含酶标记的降钙素原纳米抗体。实验表明，本发明检测试剂及检测方法具有操作简便、特异性强、灵敏度高、检测速度快、获得检测结果时间短、检测结果准确可靠等特点，实验中的检测准确率达到了100%。

1. 一种基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂,其特征在于:所述检测试剂由发光底物液A、发光底物液B、包被板、酶结合物、浓缩洗涤液、校准品和质控品组成;

其中,所述包被板上包被有降钙素原纳米抗体,所述酶结合物中包含酶标记的降钙素原纳米抗体;

所述降钙素原纳米抗体具有如SEQ ID NO.1或SEQ ID NO.2所示的氨基酸序列的VHH链。

2. 如权利要求1所述的基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂,其中所述包被板经下述步骤制备而成:

(1) 将5.8g十二水磷酸氢二钠和0.59g二水磷酸二氢钠混合后溶解在1L纯化水中,搅拌均匀得到包被缓冲液;

(2) 向所得包被缓冲液中加入降钙素原纳米抗体1ml,混匀后按每孔100 μ l加入到空白包被板中,4 $^{\circ}$ C静置过夜;

(3) 倾倒出包被板中的液体,用纯化水洗板1次,按每孔150 μ l加入酪蛋白封闭液,室温放置2小时,然后倒出酪蛋白封闭液,室温晾干后即得。

3. 如权利要求1所述的基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂,其中所述酶结合物经下述步骤制备而成:将6.057g三羟甲基氨基甲烷、10g酪蛋白钠、3.35ml浓度为37.5%的盐酸、0.5ml防腐剂Proclin300、100ml新生牛血清、1ml酶标记的降钙素原纳米抗体混合后溶解在500ml纯化水中,充分搅拌均匀后用纯化水定容至1L,即得到酶结合物。

4. 如权利要求1所述的基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂,其中所述酶标记的降钙素原纳米抗体为辣根过氧化物酶标记的降钙素原纳米抗体。

5. 如权利要求1所述的基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂,其中所述发光底物液A和发光底物液B分别经下述步骤制备而成:

(1) 将5.8g十二水磷酸氢二钠、0.59g二水磷酸二氢钠、8.5g氯化钠、0.1g鲁米诺、3g对碘苯酚、0.5ml防腐剂Proclin300混合后溶解在1L纯化水中,搅拌均匀即得到发光底物液A;

(2) 将5.8g十二水磷酸氢二钠、0.59g二水磷酸二氢钠、8.5g氯化钠、0.1g过氧化氢脲、0.5ml防腐剂Proclin300混合后溶解在1L纯化水中,搅拌均匀即得到发光底物液B。

6. 如权利要求1所述的基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂,其中所述浓缩洗涤液为含有吐温-20的磷酸盐缓冲液。

7. 如权利要求1所述的基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂,其中所述校准品和质控品均为含有降钙素原的磷酸盐缓冲液。

8. 如权利要求1-7任一项所述的基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂在制备降钙素原检测试剂盒中的用途。

9. 如权利要求1所述的基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂的检测方法,其特征在于包括以下步骤:

(1) 用纯化水将所述浓缩洗涤液稀释20倍,配制成工作浓度洗涤液,备用;

(2) 取预先包被有降钙素原纳米抗体的包被板,在其上布设质控品孔1个、校准品孔6个,以及待检血液样品孔多个;

(3) 将质控品、校准品、待检血液样品各50 μ l分别加入到对应的孔中;

(4) 然后向每个孔中分别加入所述酶结合物50 μ l,将包被板用封板膜封好,在42-47 $^{\circ}$ C

条件下振荡温育10分钟；

(5) 用上述工作浓度洗涤液洗板5次,然后向各个孔中加入至少350 μ l的工作浓度洗涤液,静置30-60秒后倒出工作浓度洗涤液,室温晾干；

(6) 向各个孔中加入所述发光底物液A 50 μ l和发光底物液B 50 μ l,振荡混合均匀,室温避光放置5-10分钟,用化学发光免疫分析仪测量每孔的RLU值,即得到结果。

10. 如权利要求9所述的检测方法,其中第(4)步骤中振荡温育的温度条件为45℃。

基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂及检测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及生物医学和生物检测技术领域,具体涉及一种测定血清中降钙素原的试剂及其检测方法,尤其是一种基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂、检测方法以及其在诊断中的应用。

背景技术

[0002] 降钙素原(procalcitonin,简称为PCT)是一种人体血液中的蛋白质,当严重细菌、真菌、寄生虫感染以及脓毒症和多脏器功能衰竭时它在血浆中的水平升高,而自身免疫、过敏和病毒感染时PCT不会升高,同时,局部有限的细菌感染、轻微的感染和慢性炎症不会导致其升高。PCT反映了全身炎症反应的活跃程度,影响PCT水平的因素包括被感染器官的大小和类型、细菌的种类、炎症的程度和免疫反应的状况。

[0003] PCT的检测对于指导临床治疗和评价治疗效果具有重要的意义。传统的检测方法主要采用双抗体夹心法的酶联免疫技术或者化学发光技术,例如,发明专利“一种降钙素原的化学发光定量检测试剂盒及其制备方法和检测方法”(CN201410143487.9)公开了一种包括降钙素原系列标准品、偶联有链霉亲和素的磁微粒悬浮液、羟基琥珀酰亚胺生物素酯标记的抗降钙素原单克隆抗体溶液和含碱性磷酸酶标记的抗降钙素原单克隆抗体溶液的降钙素原化学发光定量检测试剂盒;发明专利“一种检测降钙素原的试剂盒及降钙素原的检测方法”(CN201110201457.5)公开了一种包括发光底物、磁微粒偶联抗体、降钙素原单克隆抗体和辣根过氧化物酶标记链霉亲和素的降钙素原检测试剂盒。然而,上述方法皆需要分别包被和标记一对针对PCT的单克隆抗体,而单克隆抗体在高温和强酸强碱条件下会分解,需要在零度以下保存,否则会在数周内失去活性,稳定性差,另外传统的单克隆抗体还有溶解度低及制备困难等方面的问题,同时,传统单克隆抗体的大分子特性等也严重制约了其广泛应用。

[0004] 不仅如此,除了检测稳定性和灵敏度还有待提高外,现有的采用单克隆抗体检测试剂的化学发光检测方法还存在操作过程复杂、耗时较长、获得检测结果较慢等缺陷。

发明内容

[0005] 为了克服现有降钙素原检测方法中存在的上述不足,本发明旨在提供一种基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂及检测方法,本发明检测试剂及方法可快速、准确的测定血清中的降钙素原,进而可用于临床诊断。

[0006] 截止目前,尚未见到基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂和检测方法的相关报道,也没有适用于临床诊断的类似检测试剂盒产品问世。

[0007] 首先,本发明提供了一种基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂,该检测试剂由发光底物液A、发光底物液B、包被板、酶结合物、浓缩洗涤液、校准品和质控品组成;

[0008] 其中,所述包被板上包被有降钙素原纳米抗体,所述酶结合物中包含酶标记的降钙素原纳米抗体;

[0009] 所述降钙素原纳米抗体具有如SEQ ID NO.1或SEQ ID NO.2所示的氨基酸序列的VHH链。

[0010] 进一步地,本发明检测试剂中所述的包被板经下述步骤制备而成:

[0011] (1) 将5.8g十二水磷酸氢二钠和0.59g二水磷酸二氢钠混合后溶解在1L纯化水中,搅拌均匀得到包被缓冲液;

[0012] (2) 向所得包被缓冲液中加入降钙素原纳米抗体1ml,混匀后按每孔100 μ l加入到空白包被板中,4℃静置过夜;

[0013] (3) 倾倒入包被板中的液体,用纯化水洗板1次,按每孔150 μ l加入酪蛋白封闭液,室温放置2小时,然后倒出酪蛋白封闭液,室温晾干后即得。

[0014] 进一步地,本发明检测试剂中所述的酶结合物经下述步骤制备而成:将6.057g三羟甲基氨基甲烷、10g酪蛋白钠、3.35ml浓度为37.5%的盐酸、0.5ml防腐剂Proclin300、100ml新生牛血清、1ml酶标记的降钙素原纳米抗体混合后溶解在500ml纯化水中,充分搅拌均匀后用纯化水定容至1L,即得到酶结合物。

[0015] 进一步地,本发明检测试剂中所述的酶标记的降钙素原纳米抗体为辣根过氧化物酶标记的降钙素原纳米抗体。

[0016] 进一步地,本发明检测试剂中所述的发光底物液A和发光底物液B分别经下述步骤制备而成:

[0017] (1) 将5.8g十二水磷酸氢二钠、0.59g二水磷酸二氢钠、8.5g氯化钠、0.1g鲁米诺、3g对碘苯酚、0.5ml防腐剂Proclin300混合后溶解在1L纯化水中,搅拌均匀即得到发光底物液A;

[0018] (2) 将5.8g十二水磷酸氢二钠、0.59g二水磷酸二氢钠、8.5g氯化钠、0.1g过氧化氢脲、0.5ml防腐剂Proclin300混合后溶解在1L纯化水中,搅拌均匀即得到发光底物液B。

[0019] 进一步地,本发明检测试剂中所述的浓缩洗涤液为含有吐温-20的磷酸盐缓冲液。

[0020] 进一步地,本发明检测试剂中所述的校准品和质控品均为含有降钙素原的磷酸盐缓冲液。

[0021] 其次,本发明还涉及上述基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂在制备降钙素原检测试剂盒中的用途。

[0022] 此外,本发明还提供了一种上述基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂的检测方法,包括以下步骤:

[0023] (1) 用纯化水将所述浓缩洗涤液稀释20倍,配制成工作浓度洗涤液,备用;

[0024] (2) 取预先包被有降钙素原纳米抗体的包被板,在其上布设质控品孔1个、校准品孔6个,以及待检血液样品孔多个;

[0025] (3) 将质控品、校准品、待检血液样品各50 μ l分别加入到对应的孔中;

[0026] (4) 然后向每个孔中分别加入所述酶结合物50 μ l,将包被板用封板膜封好,在42-47℃条件下振荡温育10分钟;

[0027] (5) 用上述工作浓度洗涤液洗板5次,然后向各个孔中加入至少350 μ l的工作浓度洗涤液,静置30-60秒后倒出工作浓度洗涤液,室温晾干;

[0028] (6) 向各个孔中加入所述发光底物液A50 μ l和发光底物液B 50 μ l,振荡混合均匀,室温避光放置5-10分钟,用化学发光免疫分析仪测量每孔的RLU值,即得到结果。

[0029] 进一步优选地,上述检测方法第(4)步骤中振荡温育的温度条件为45℃。

[0030] 综上,本发明基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂及检测方法,采用纳米抗体作为包被和酶标记用原料,通过适度提高反应温度加快反应速度,缩短反应时间,实验表明,本发明检测试剂及检测方法具有操作简便、特异性强、灵敏度高、检测速度快、获得检测结果时间短、检测结果准确可靠等特点,实验中的检测准确率达到了100%。此外,本发明检测试剂不使用传统单克隆抗体,因此克服了单克隆抗体试剂开发周期长、稳定性差、保存条件苛刻等缺陷,具有很好的开发应用前景。

具体实施方式

[0031] 以下通过特定的具体实例说明本发明的实施方式,本领域技术人员可由本说明书所揭露的内容轻易地了解本发明的其他优点与功效。本发明还可以通过另外不同的具体实施方式加以实施或应用,本说明书中的各项细节也可以基于不同观点与应用,在没有背离本发明的精神下进行各种修饰或改变。

[0032] 在进一步描述本发明具体实施方式之前,应理解,本发明的保护范围不局限于下述特定的具体实施方案;还应当理解,本发明实施例中使用的术语是为了描述特定的具体实施方案,而不是为了限制本发明的保护范围。

[0033] 除非另外定义,本发明中使用的所有技术和科学术语与本技术领域技术人员通常理解的意义相同。除实施例中使用的具体方法、设备、材料外,根据本技术领域的技术人员对现有技术的掌握及本发明的记载,还可以使用与本发明实施例中所述的方法、设备、材料相似或等价的现有技术的任何方法、设备和材料来实现本发明。

[0034] 实施例:基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂及检测方法

[0035] (1) 发光底物液A的制备:将5.8g十二水磷酸氢二钠、0.59g二水磷酸二氢钠、8.5g氯化钠、0.1g鲁米诺、3g对碘苯酚、0.5ml防腐剂Proclin300混合后溶解在1L纯化水中,搅拌均匀即得到发光底物液A。

[0036] (2) 发光底物液B的制备:将5.8g十二水磷酸氢二钠、0.59g二水磷酸二氢钠、8.5g氯化钠、0.1g过氧化氢脲、0.5ml防腐剂Proclin300混合后溶解在1L纯化水中,搅拌均匀即得到发光底物液B。

[0037] (3) 包被板的制备:将5.8g十二水磷酸氢二钠和0.59g二水磷酸二氢钠混合后溶解在1L纯化水中,搅拌均匀得到包被缓冲液;向所得包被缓冲液中加入降钙素原纳米抗体(具有如SEQ ID NO.1或SEQ ID NO.2所示的氨基酸序列的VHH链)1ml,混匀后按每孔100μl加入到空白包被板中,4℃静置过夜;倾倒出包被板中的液体,用纯化水洗板1次,按每孔150μl加入酪蛋白封闭液,室温放置2小时,然后倒出酪蛋白封闭液,室温晾干后即得。

[0038] (4) 酶结合物的制备:将6.057g三羟甲基氨基甲烷、10g酪蛋白钠、3.35ml浓度为37.5%的盐酸、0.5ml防腐剂Proclin300、100ml新生牛血清、1ml辣根过氧化物酶标记的降钙素原纳米抗体混合后溶解在500ml纯化水中,充分搅拌均匀后用纯化水定容至1L,即得到酶结合物。

[0039] (5) 用含有吐温-20的磷酸盐缓冲液配制成浓缩洗涤液。

[0040] (6) 用含有降钙素原的磷酸盐缓冲液分别配制成校准品和质控品。

[0041] (7) 将上述各个组分平衡温度至室温。

- [0042] (8) 用纯化水将所述浓缩洗涤液稀释20倍,配制成工作浓度洗涤液,备用。
- [0043] (9) 取上述包被板,在其上布设质控品孔1个、校准品孔6个,以及待检血液样品孔多个。
- [0044] (10) 将质控品、校准品、待检血液样品各50 μ l分别加入到对应的孔中。
- [0045] (11) 然后向每个孔中分别加入上述酶结合物50 μ l,将包被板用封板膜封好,在45 $^{\circ}$ C条件下振荡温育10分钟。
- [0046] (12) 用上述工作浓度洗涤液洗板5次,然后向各个孔中加入至少350 μ l的工作浓度洗涤液,静置40秒后倒出工作浓度洗涤液,室温晾干。
- [0047] (13) 向各个孔中加入上述发光底物液A50 μ l和发光底物液B 50 μ l,振荡混合均匀,室温避光放置8分钟,用BK-L96C型化学发光免疫分析仪测量每孔的RLU值,即得到结果。
- [0048] 以上对本发明优选的具体实施方式和实施例作了详细说明,但是本发明并不限于上述实施方式和实施例,在本领域技术人员所具备的知识范围内,还可以在不脱离本发明构思的前提下作出各种变化。

序列表

<110> 北京科卫临床诊断试剂有限公司
<120> 基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂及检测方法
<130> 2018
<160> 2
<170> PatentIn version 3.3

<210> 1
<211> 194
<212> PRT
<213> 人工序列
<400> 1

[0049] Glu Val Leu Gly Ser Glu Val Gly Pro Gly Gly Leu Ser Arg Cys Ala
1 5 10 15
Leu Ala Thr Ser Val Trp Gln Arg Ala Val Gly Pro Lys Arg Leu Glu
20 25 30
Gly Val Ser Thr Ile Ser Asp Leu Lys Gly Lys Phe Asn Ile Asp Arg
35 40 45
Asn Gly Lys Glu Thr Ile Tyr Leu Glu Leu Asp Thr Leu Arg Ser Gln
50 55 60
Asp Ser Ala Met Trp Thr Cys Gly Trp Gln Thr Glu Val Ser Val Ser
65 70 75 80
Thr Gly Leu Thr Phe Asn Ser Trp Ala Gly Ser Leu Asn Lys Ser Gly
85 90 95
Arg Thr Pro Gln Val Glu Leu Glu Gln Thr Gly Pro Gly Thr Val Glu
100 105 110
Ser Val Gly Ser Ile Asp Leu Ser Ala Thr Gly Ser Gly Val Asp Phe
115 120 125

Asn Asp Trp Gly Met Ala Trp Phe Arg Glu Gly Pro Ala Tyr Glu Arg
 130 135 140
 Gln Gly Val Gly Gln Gly Arg Phe Ser Ile Thr Phe Asn Asp Ala Lys
 145 150 155 160
 Asp Ser Leu Phe Ile Glu Met Asp Thr Leu Lys Pro Gln Asp Ser Gly
 165 170 175
 Met Tyr Arg Asp Val Ser His Trp Ala Glu Gly Ser Gln Ile Ser Val
 180 185 190
 Thr Ser

<210> 2
 <211> 195
 <212> PRT
 <213> 人工序列

[0050] <400> 2

Gln Val Gly Ser Val Glu His Gly Ser Cys Gly Leu Arg Thr Val Ser
 1 5 10 15
 Ala Cys Ser Glu Val Gly Trp Tyr Gln Ala Glu Pro Ala Arg Lys Leu
 20 25 30
 Glu Val Ser Val Cys Ile Ser Asp Leu Lys Gly Lys Phe Asn Ile Asp
 35 40 45
 Arg Asn Gly Lys Glu Thr Ile Tyr Leu Glu Leu Asp Thr Leu Arg Thr
 50 55 60
 Gln Asp Ser Gly Met Trp Thr Cys Arg Trp Gln Thr Glu Val Thr Val
 65 70 75 80
 Ser Thr Gly Pro Thr Phe Asp Ser Trp Ala Met Ser Leu Pro Lys Ser
 85 90 95
 Gly Glu Thr Pro Gln Val Glu Leu Glu Ala Thr Gly Pro Gly Thr Val
 100 105 110

Glu Pro Val Gly Ser Ile Asp Leu Ser Ala Thr Gly Ser Ala Ala Asp
115 120 125

Phe Asn Arg Trp Gly Met Ala Trp Phe Arg Glu Gly Gly Ala Tyr Glu
130 135 140

Arg Gln Gly Val Gly Gln Gly Arg Phe Pro Ile Thr Phe Glu Asp Ala
145 150 155 160

[0051] Lys Thr Ser Leu Phe Ile Glu Met Asp Thr Leu Lys Leu Glu Asp Ser
165 170 175

Gly Met Tyr Arg Asp Val Ser His Asn Ala Glu Gly Ser Gln Ile Ser
180 185 190

Pro Thr Ser
195

序列表

〈110〉 北京科卫临床诊断试剂有限公司

〈120〉 基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂及检测方法

<130> 2018

<160> 2

<170> SIP0SequenceListing 1.0

 $\langle 210 \rangle$ 1

<211> 194

<212> PRT

〈213〉 人工序列()

<400> 1

Glu Val Leu Gly Ser Glu Val Gly Pro Gly Gly Leu Ser Arg Cys Ala
1 5 10 15

Leu Ala Thr Ser Val Trp Gln Arg Ala Val Gly Pro Lys Arg Leu Glu
20 25 30

Gly Val Ser Thr Ile Ser Asp Leu Lys Gly Lys Phe Asn Ile Asp Arg
35 40 45

Asn Gly Lys Glu Thr Ile Tyr Leu Glu Leu Asp Thr Leu Arg Ser Gln
50 55 60

Asp Ser Ala Met Trp Thr Cys Gly Trp Gln Thr Glu Val Ser Val Ser
65 70 75 80

Thr Gly Leu Thr Phe Asn Ser Trp Ala Gly Ser Leu Asn Lys Ser Gly
85 90 95

Arg Thr Pro Gln Val Glu Leu Glu Gln Thr Gly Pro Gly Thr Val Glu
100 105 110

Ser Val Gly Ser Ile Asp Leu Ser Ala Thr Gly Ser Gly Val Asp Phe
115 120 125

Asn Asp Trp Gly Met Ala Trp Phe Arg Glu Gly Pro Ala Tyr Glu Arg
130 135 140

Gln Gly Val Gly Gln Gly Arg Phe Ser Ile Thr Phe Asn Asp Ala Lys
145 150 155 160

Asp Ser Leu Phe Ile Glu Met Asp Thr Leu Lys Pro Gln Asp Ser Gly
165 170 175

Met Tyr Arg Asp Val Ser His Trp Ala Glu Gly Ser Gln Ile Ser Val
180 185 190

Thr Ser

 $\langle 210 \rangle$ 2

<211> 195

<212> PRT

<213> 人工序列()

<400> 2

Gln	Val	Gly	Ser	Val	Glu	His	Gly	Ser	Cys	Gly	Leu	Arg	Thr	Val	Ser
1				5					10					15	
Ala	Cys	Ser	Glu	Val	Gly	Trp	Tyr	Gln	Ala	Glu	Pro	Ala	Arg	Lys	Leu
			20					25					30		
Glu	Val	Ser	Val	Cys	Ile	Ser	Asp	Leu	Lys	Gly	Lys	Phe	Asn	Ile	Asp
		35					40					45			
Arg	Asn	Gly	Lys	Glu	Thr	Ile	Tyr	Leu	Glu	Leu	Asp	Thr	Leu	Arg	Thr
	50					55					60				
Gln	Asp	Ser	Gly	Met	Trp	Thr	Cys	Arg	Trp	Gln	Thr	Glu	Val	Thr	Val
65				70					75					80	
Ser	Thr	Gly	Pro	Thr	Phe	Asp	Ser	Trp	Ala	Met	Ser	Leu	Pro	Lys	Ser
			85					90				95			
Gly	Glu	Thr	Pro	Gln	Val	Glu	Leu	Glu	Ala	Thr	Gly	Pro	Gly	Thr	Val
			100					105				110			
Glu	Pro	Val	Gly	Ser	Ile	Asp	Leu	Ser	Ala	Thr	Gly	Ser	Ala	Ala	Asp
		115					120					125			
Phe	Asn	Arg	Trp	Gly	Met	Ala	Trp	Phe	Arg	Glu	Gly	Gly	Ala	Tyr	Glu
	130					135				140					
Arg	Gln	Gly	Val	Gly	Gln	Gly	Arg	Phe	Pro	Ile	Thr	Phe	Glu	Asp	Ala
145				150					155					160	
Lys	Thr	Ser	Leu	Phe	Ile	Glu	Met	Asp	Thr	Leu	Lys	Leu	Glu	Asp	Ser
			165					170					175		
Gly	Met	Tyr	Arg	Asp	Val	Ser	His	Asn	Ala	Glu	Gly	Ser	Gln	Ile	Ser
			180					185					190		
Pro	Thr	Ser													
			195												

专利名称(译)	基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂及检测方法		
公开(公告)号	CN108445230A	公开(公告)日	2018-08-24
申请号	CN201810235448.X	申请日	2018-03-21
[标]申请(专利权)人(译)	北京科卫临床诊断试剂有限公司		
申请(专利权)人(译)	北京科卫临床诊断试剂有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	北京科卫临床诊断试剂有限公司		
[标]发明人	王保君 万亚坤 冯长访 张希忠 汤双双 史素娟 刘耀飞 郑德森 李良红 聂章林		
发明人	王保君 万亚坤 冯长访 张希忠 汤双双 史素娟 刘耀飞 郑德森 李良红 聂章林		
IPC分类号	G01N33/68 G01N33/535 G01N21/76		
CPC分类号	G01N21/763 G01N33/535 G01N33/6893 G01N2333/4727		
代理人(译)	朱健 陈国军		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及生物医学和生物检测技术领域，具体涉及一种测定血清中降钙素原的试剂及其检测方法，尤其是一种基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂、检测方法以及其在诊断中的应用。本发明检测试剂由发光底物液A、发光底物液B、包被板、酶结合物、浓缩洗涤液、校准品和质控品组成；其中包被板上包被有降钙素原纳米抗体，酶结合物中包含酶标记的降钙素原纳米抗体。实验表明，本发明检测试剂及检测方法具有操作简便、特异性强、灵敏度高、检测速度快、获得检测结果时间短、检测结果准确可靠等特点，实验中的检测准确率达到了100%。

序列表

<110> 北京科卫临床诊断试剂有限公司
 <120> 基于纳米抗体的降钙素原化学发光检测试剂及检测方法
 <130> 2018
 <160> 2
 <170> PatentIn version 3.3

 <210> 1
 <211> 194
 <212> PRT
 <213> 人工序列
 <400> 1
 Glu Val Leu Gly Ser Glu Val Gly Pro Gly Gly Leu Ser Arg Cys Ala
 1 5 10 15
 Leu Ala Thr Ser Val Trp Gln Arg Ala Val Gly Pro Lys Arg Leu Glu
 20 25 30
 Gly Val Ser Thr Ile Ser Asp Leu Lys Gly Lys Phe Asn Ile Asp Arg
 35 40 45
 Asn Gly Lys Glu Thr Ile Tyr Leu Glu Leu Asp Thr Leu Arg Ser Gln
 50 55 60
 Asp Ser Ala Met Trp Thr Cys Gly Trp Gln Thr Glu Val Ser Val Ser
 65 70 75 80
 Thr Gly Leu Thr Phe Asn Ser Trp Ala Gly Ser Leu Asn Lys Ser Gly
 85 90 95
 Arg Thr Pro Gln Val Glu Leu Glu Gln Thr Gly Pro Gly Thr Val Glu
 100 105 110
 Ser Val Gly Ser Ile Asp Leu Ser Ala Thr Gly Ser Gly Val Asp Phe
 115 120 125