



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110922476 A

(43)申请公布日 2020.03.27

(21)申请号 201911295321.8

(22)申请日 2019.12.16

(71)申请人 蓝怡科技集团股份有限公司

地址 201108 上海市闵行区北横沙河路468  
弄152号

申请人 浙江蓝怡医药有限公司

(72)发明人 李子樵 胡百敏

(74)专利代理机构 北京品源专利代理有限公司  
11332

代理人 巩克栋

(51)Int.Cl.

C07K 16/00(2006.01)

C07K 1/107(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书2页 说明书6页

(54)发明名称

一种生物素偶联抗体及其制备方法和应用

(57)摘要

本发明涉及一种生物素偶联抗体及其制备方法和应用。所述制备方法包括通过酶切还原抗体以获得有固定反应位点的抗体,再将其与生物素进行偶联,获得生物素偶联抗体。本发明所涉及的获得生物素化抗体的方法克服了现有技术中通过修饰后的生物素直接与抗体连接的弊端,即能使抗体获得固定的精确的反应位点,从而控制每个抗体上连接的生物素的精确含量,最终使得酶促化学发光反应中的本底值降低。

1. 一种生物素偶联抗体的制备方法,其特征在于,所述制备方法包括通过酶切还原抗体以获得有固定反应位点的抗体,再将其与生物素进行偶联,获得生物素偶联抗体。

2. 如权利要求1所述的生物素偶联抗体的制备方法,其特征在于,所述制备方法包括:

(1) 将抗体与酶溶液混合,进行酶切反应,获得抗体F(ab)<sub>2</sub>片段;

(2) 将抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与还原剂溶液混合,进行还原反应,获得抗体Fab片段;

(3) 将抗体Fab片段与生物素溶液混合,进行偶联反应,获得所述生物素偶联抗体。

3. 如权利要求2所述的生物素偶联抗体的制备方法,其特征在于,步骤(1)所述酶包括胃蛋白酶、木瓜蛋白酶或无花果蛋白酶中的任意一种或至少两种的组合;

优选地,步骤(1)所述酶溶液是将酶溶解于醋酸-醋酸钠溶液中或柠檬酸-柠檬酸钠溶液中制备得到的;

优选地,所述醋酸-醋酸钠溶液或柠檬酸-柠檬酸钠溶液的pH值为2.0-5.0;

优选地,步骤(1)所述酶在酶溶液中的浓度为0.5-2mg/mL;

优选地,步骤(1)所述酶与抗体的质量比为1:(10-100);

优选地,步骤(1)所述酶切反应的温度为30-40℃;

优选地,步骤(1)所述酶切反应的时间为1-8h。

4. 如权利要求2或3所述的生物素偶联抗体的制备方法,其特征在于,步骤(2)所述还原剂包括半胱胺或半胱氨酸;

优选地,步骤(2)所述还原剂溶液的溶剂包括PBS溶液;

优选地,步骤(2)所述还原剂在还原剂溶液中的浓度为5-15mg/mL;

优选地,步骤(2)所述抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与还原剂的摩尔比为1:(10-100);

优选地,步骤(2)所述还原反应的温度为30-40℃;

优选地,步骤(2)所述还原反应的时间为10-120min。

5. 如权利要求2-4中任一项所述的生物素偶联抗体的制备方法,其特征在于,步骤(3)所述生物素包括马来酰亚胺;

优选地,步骤(3)所述生物素溶液的溶剂包括PBS溶液;

优选地,步骤(3)所述生物素在生物素溶液中的浓度为5-15mg/mL;

优选地,步骤(3)所述抗体Fab片段与生物素的摩尔比为1:(5-50);

优选地,步骤(3)所述偶联反应的温度为30-40℃;

优选地,步骤(3)所述偶联反应的时间为10-120min。

6. 如权利要求2-5中任一项所述的生物素偶联抗体的制备方法,其特征在于,步骤(1)所述获得抗体F(ab)<sub>2</sub>片段后进行纯化,所述纯化方法包括:将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的抗体F(ab)<sub>2</sub>片段。

7. 如权利要求2-6中任一项所述的生物素偶联抗体的制备方法,其特征在于,步骤(2)所述获得抗体Fab片段后进行纯化,所述纯化方法包括:将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的抗体Fab片段;

优选地,步骤(3)所述获得生物素偶联抗体后进行纯化,所述纯化方法包括:将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的生物素偶联抗体。

8. 如权利要求2-7中任一项所述的生物素偶联抗体的制备方法,其特征在于,所述制备

方法具体包括如下步骤：

(1) 将抗体与0.5-2mg/mL的酶溶液混合,酶与抗体的质量比为1:(10-100),在30-40℃下进行酶切反应1-8h,反应完成后进行纯化,获得抗体F(ab)<sub>2</sub>片段;

(2) 将抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与5-15mg/mL的半胱胺溶液混合,抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与半胱胺的摩尔比为1:(10-100),在30-40℃下进行还原反应10-120min,反应完成后进行纯化,获得抗体Fab片段;

(3) 将抗体Fab片段与5-15mg/mL的马来酰亚胺生物素溶液混合,抗体Fab片段与生物素的摩尔比为1:(5-50),在30-40℃下进行偶联反应10-120min,反应完成后进行纯化,获得所述生物素偶联抗体。

9. 如权利要求1-8中任一项所述的生物素偶联抗体的制备方法制备得到的生物素偶联抗体。

10. 如权利要求9所述的生物素偶联抗体在进行酶联免疫反应中的应用。

## 一种生物素偶联抗体及其制备方法和应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于免疫分析技术领域,具体涉及一种生物素偶联抗体及其制备方法和应用。

### 背景技术

[0002] 生物素偶联抗体常被用于亲和素-生物素体系的酶联免疫反应中,通过亲和素和生物素极强的亲和能力将生物素偶联抗体和亲和素偶联酶连接。常用的生物素偶联抗体方法是通过修饰后的生物素直接与抗体连接,此修饰后的生物素含有琥珀酰亚胺能够与氨基反应。但此种方法无法控制每个抗体上连接的生物素的含量,获得的是不同生物素含量的生物素偶联抗体。

[0003] CN108341867A公开了一种生物素化抗体及其制备方法和应用,所述制备方法包括以下步骤:制备待生物素化的抗体蛋白的缓冲液体系;向待生物素化的抗体蛋白的缓冲液体系中加入生物素溶液,进行反应;将反应后的体系在缓冲液中进行渗析,而后进行纯化处理,得到所述生物素化抗体。本发明制备的生物素化抗体可以显著增加免疫检测的灵敏度和信号强度,并且本方法操作简单,易于完成且不会引入其他不确定因素,对免疫检测试剂盒质量的提高有可预见的作用,具有广阔的应用前景。

[0004] CN103454411A公开了一种生物素标记兔抗罗非鱼IgM多克隆抗体的制备方法,含以下步骤:采集罗非鱼血清经纯化处理得纯化的罗非鱼IgM;将罗非鱼IgM免疫兔得兔抗罗非鱼IgM多克隆抗体,采用ELISA检测兔抗罗非鱼IgM多克隆抗体的抗罗非鱼血清效价;将纯化的罗非鱼IgM加强免疫后,收集、分离得含有兔抗罗非鱼IgM多克隆抗体的血清,经纯化处理,加入生物素混匀,得生物素标记兔抗罗非鱼IgM多克隆抗体;采用该法制成的生物素标记兔抗罗非鱼IgM多克隆抗体特异性好,纯度和效价高,能与罗非鱼IgM发生特异性结合反应。

[0005] CN103884837A公开了一种液相芯片检测动物源食品中硝基呋喃类代谢物的方法,通过将四种不同编码的微球与硝基呋喃类代谢物AHD、SEM、AOZ和AMAZ人工抗原耦联得到耦联微球;将四种AHD、SEM、AOZ和AMAZ单克隆抗体与BNHS溶液进行生物素化反应得到生物素化抗体;将硝基呋喃类代谢物、耦联微球、生物素化抗体以及链霉亲和素-藻红蛋白(SA-PE)反应得到各待检测液,最后检测反应液平均荧光强度值(MFI)以及进行数据分析。

[0006] 上述现有技术所涉及到的生物素偶联抗体均是通过修饰后的生物素直接与抗体连接,此种方法无法控制每个抗体上连接的生物素的含量,获得的是不同生物素含量的生物素偶联抗体,会导致酶促化学发光反应中的本底值较高。

### 发明内容

[0007] 针对现有技术的不足,本发明的目的在于提供一种生物素偶联抗体及其制备方法和应用。

[0008] 为达到此发明目的,本发明采用以下技术方案:

[0009] 一方面,本发明提供一种生物素偶联抗体的制备方法,所述制备方法包括通过酶切还原抗体以获得有固定反应位点的抗体,再将其与生物素进行偶联,获得生物素偶联抗体。

[0010] 本发明所涉及的生物素偶联抗体的制备方法通过酶切还原抗体使抗体获得固定的精确的反应位点,从而控制每个抗体上连接的生物素的精确含量,最终使得酶促化学发光反应中的本底值降低。

[0011] 优选地,所述制备方法包括:

[0012] (1) 将抗体与酶溶液混合,进行酶切反应,获得抗体F(ab)<sub>2</sub>片段;

[0013] (2) 将抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与还原剂溶液混合,进行还原反应,获得抗体Fab片段;

[0014] (3) 将抗体Fab片段与生物素溶液混合,进行偶联反应,获得所述生物素偶联抗体。

[0015] 优选地,步骤(1)所述酶包括胃蛋白酶、木瓜蛋白酶或无花果蛋白酶中的任意一种或至少两种的组合,所述至少两种的组合例如胃蛋白酶和木瓜蛋白酶的组合、木瓜蛋白酶和无花果蛋白酶的组合、胃蛋白酶和无花果蛋白酶的组合等,其他任意的组合方式均不在此一一赘述。

[0016] 所述胃蛋白酶、木瓜蛋白酶或无花果蛋白酶能够在特定位点将IgG抗体的Fc片段切除。

[0017] 优选地,步骤(1)所述酶溶液是将酶溶解于醋酸-醋酸钠溶液中或柠檬酸-柠檬酸钠溶液中制备得到的。

[0018] 所述醋酸-醋酸钠溶液的溶质浓度优选为0.1M,所述柠檬酸-柠檬酸钠溶液的溶质浓度优选为0.1M。

[0019] 优选地,所述醋酸-醋酸钠溶液或柠檬酸-柠檬酸钠溶液的pH值为2.0-5.0,例如pH=2.0、pH=2.5、pH=3.0、pH=3.5、pH=4.0、pH=4.5或pH=5.0等。

[0020] 优选地,步骤(1)所述酶在酶溶液中的浓度为0.5-2mg/mL,例如0.5mg/mL、0.8mg/mL、1mg/mL、1.2mg/mL、1.5mg/mL、1.8mg/mL或2mg/mL等。

[0021] 优选地,步骤(1)所述酶与抗体的质量比为1:(10-100),例如1:10、1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:70、1:80、1:90或1:100等。

[0022] 所述酶与抗体的质量比为1:(10-100)是因为若超过此范围,会使酶切反应过慢,反应时间太长,小于此范围会使酶切反应过快无法获得所需产物。

[0023] 优选地,步骤(1)所述酶切反应的温度为30-40℃,例如30℃、32℃、34℃、35℃、36℃、38℃或40℃等。

[0024] 优选地,步骤(1)所述酶切反应的时间为1-8h,例如1h、2h、3h、4h、5h、6h、7h或8h等。

[0025] 优选地,步骤(2)所述还原剂包括半胱胺或半胱氨酸。

[0026] 优选地,步骤(2)所述还原剂溶液的溶剂包括PBS溶液。

[0027] 所述PBS溶液的pH值优选为7.2,浓度为0.1M。

[0028] 优选地,步骤(2)所述还原剂在还原剂溶液中的浓度为5-15mg/mL,例如5mg/mL、6mg/mL、8mg/mL、10mg/mL、12mg/mL或15mg/mL等。

[0029] 优选地,步骤(2)所述抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与还原剂的摩尔比为1:(10-100),例如1:10、1:20、1:30、1:40、1:50、1:60、1:70、1:80、1:90或1:100等。

[0030] 所述抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与还原剂的摩尔比特定选择在1:(10-100)范围内是因为若超过此范围,会使还原反应过快,不利于反应控制,小于此范围会使还原反应过慢,反应时间太长。

[0031] 优选地,步骤(2)所述还原反应的温度为30-40℃,例如30℃、32℃、34℃、35℃、36℃、38℃或40℃等。

[0032] 优选地,步骤(2)所述还原反应的时间为10-120min,例如10min、20min、40min、50min、60min、80min、100min或120min等。

[0033] 优选地,步骤(3)所述生物素包括马来酰亚胺。

[0034] 优选地,步骤(3)所述生物素溶液的溶剂包括PBS溶液。

[0035] 所述PBS溶液的pH值优选为7.2,浓度为0.1M。

[0036] 优选地,步骤(3)所述生物素在生物素溶液中的浓度为5-15mg/mL,例如5mg/mL、6mg/mL、8mg/mL、10mg/mL、12mg/mL或15mg/mL等。

[0037] 优选地,步骤(3)所述抗体Fab片段与生物素的摩尔比为1:(5-50),例如1:5、1:10、1:15、1:20、1:25、1:30、1:35、1:40、1:45或1:50等。

[0038] 所述抗体Fab片段与生物素的摩尔比特定选择为1:(5-50),是因为若超过此范围,会使成本过高,小于此范围会使反应效率降低,产物减少。

[0039] 优选地,步骤(3)所述偶联反应的温度为30-40℃,例如30℃、32℃、34℃、35℃、36℃、38℃或40℃等。

[0040] 优选地,步骤(3)所述偶联反应的时间为10-120min,例如10min、20min、40min、50min、60min、80min、100min或120min等。

[0041] 优选地,步骤(1)所述获得抗体F(ab)<sub>2</sub>片段后进行纯化,所述纯化方法包括:将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的抗体F(ab)<sub>2</sub>片段。所述PBS溶液为pH7.2的0.1M PBS溶液。

[0042] 优选地,步骤(2)所述获得抗体Fab片段后进行纯化,所述纯化方法包括:将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的抗体Fab片段。所述PBS溶液为pH7.2的0.1M PBS溶液。

[0043] 优选地,步骤(3)所述获得生物素偶联抗体后进行纯化,所述纯化方法包括:将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的生物素偶联抗体。所述PBS溶液为pH7.2的0.1M PBS溶液。

[0044] 作为本发明的优选技术方案,所述制备方法具体包括如下步骤:

[0045] (1) 将抗体与0.5-2mg/mL的酶溶液混合,酶与抗体的质量比为1:(10-100),在30-40℃下进行酶切反应1-8h,反应完成后进行纯化,获得抗体F(ab)<sub>2</sub>片段;

[0046] (2) 将抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与5-15mg/mL的半胱胺溶液混合,抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与半胱胺的摩尔比为1:(10-100),在30-40℃下进行还原反应10-120min,反应完成后进行纯化,获得抗体Fab片段;

[0047] (3) 将抗体Fab片段与5-15mg/mL的马来酰亚胺生物素溶液混合,抗体Fab片段与生物素的摩尔比为1:(5-50),在30-40℃下进行偶联反应10-120min,反应完成后进行纯化,获得所述生物素偶联抗体。

[0048] 另一方面,本发明提供一种如上所述的生物素偶联抗体的制备方法制备得到的生

物素偶联抗体。

[0049] 再一方面,本发明提供一种如上所述的生物素偶联抗体在进行酶联免疫反应中的应用。

[0050] 相对于现有技术,本发明具有以下有益效果:

[0051] 本发明所涉及的获得生物素化抗体的方法克服了现有技术中通过修饰后的生物素直接与抗体连接的弊端,即能使抗体获得固定的精确的反应位点,从而控制每个抗体上连接的生物素的精确含量,最终使得酶促化学发光反应中的本底值降低。

## 具体实施方式

[0052] 为更进一步阐述本发明所采取的技术手段及其效果,以下结合本发明的优选实施例来进一步说明本发明的技术方案,但本发明并非局限在实施例范围内。

### [0053] 实施例1

[0054] 本实施例提供一种生物素偶联抗体,其制备方法如下:

[0055] (1) 将AFP抗体与1mg/mL的木瓜蛋白酶溶液(木瓜蛋白酶溶于0.1M醋酸-醋酸钠溶液中)混合,酶与抗体的质量比为1:50,在35°C下进行酶切反应4h,反应完成后将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用pH7.2 0.1M的PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的抗体F(ab)<sub>2</sub>片段;

[0056] (2) 将抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与10mg/mL的半胱胺溶液(将半胱胺溶于pH7.2 0.1M的PBS溶液中)混合,抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与半胱胺的摩尔比为1:60,在35°C下进行还原反应80min,反应完成后将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用pH7.2 0.1M的PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的抗体Fab片段;

[0057] (3) 将抗体Fab片段与10mg/mL的马来酰亚胺生物素溶液(将马来酰亚胺溶于pH7.2 0.1M的PBS溶液中)混合,抗体Fab片段与生物素的摩尔比为1:25,在35°C下进行偶联反应50min,反应完成后将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用pH7.2 0.1M的PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的生物素偶联抗体。

### [0058] 实施例2

[0059] 本实施例提供一种生物素偶联抗体,其制备方法如下:

[0060] (1) 将AFP抗体与2mg/mL的胃蛋白酶溶液(胃蛋白酶溶于0.1M柠檬酸-柠檬酸钠溶液中)混合,酶与抗体的质量比为1:100,在40°C下进行酶切反应1h,反应完成后将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用pH7.2 0.1M的PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的抗体F(ab)<sub>2</sub>片段;

[0061] (2) 将抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与15mg/mL的半胱胺溶液(将半胱胺溶于pH7.2 0.1M的PBS溶液中)混合,抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与半胱胺的摩尔比为1:10,在40°C下进行还原反应10min,反应完成后将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用pH7.2 0.1M的PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的抗体Fab片段;

[0062] (3) 将抗体Fab片段与15mg/mL的马来酰亚胺生物素溶液(将马来酰亚胺溶于pH7.2 0.1M的PBS溶液中)混合,抗体Fab片段与生物素的摩尔比为1:5,在40°C下进行偶联反应10min,反应完成后将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用pH7.2 0.1M的PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的生物素偶联抗体。

## [0063] 实施例3

[0064] 本实施例提供一种生物素偶联抗体,其制备方法如下:

[0065] (1) 将AFP抗体与0.5mg/mL的无花果蛋白酶溶液(无花果蛋白酶溶于0.1M柠檬酸-柠檬酸钠溶液中)混合,酶与抗体的质量比为1:10,在30℃下进行酶切反应8h,反应完成后将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用pH7.2 0.1M的PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的抗体F(ab)<sub>2</sub>片段;

[0066] (2) 将抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与5mg/mL的半胱胺溶液(将半胱胺溶于pH7.2 0.1M的PBS溶液中)混合,抗体F(ab)<sub>2</sub>片段与半胱胺的摩尔比为1:100,在30℃下进行还原反应120min,反应完成后将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用pH7.2 0.1M的PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的抗体Fab片段;

[0067] (3) 将抗体Fab片段与5mg/mL的马来酰亚胺生物素溶液(将马来酰亚胺溶于pH7.2 0.1M的PBS溶液中)混合,抗体Fab片段与生物素的摩尔比为1:50,在30℃下进行偶联反应120min,反应完成后将反应后的溶液加于Sephadex G-25层析柱,用pH7.2 0.1M的PBS溶液进行洗脱,收集第一洗脱峰即得到纯化的生物素偶联抗体。

## [0068] 对比例1

[0069] 本实施例提供一种生物素偶联抗体,其制备方法为:

[0070] (1) 使用溶质浓度为0.1mol/L、pH值为8.3的碳酸盐缓冲液将待生物素化的AFP抗体稀释至1mg/mL,而后在所述碳酸盐缓冲液中于4℃下渗析,每8h更换一次渗析缓冲液,渗析40h后得到所述待生物素化的AFP抗体的缓冲液体系;

[0071] (2) 向待生物素化的AFP抗体的缓冲液体系中加入浓度为1mg/mL的N-羟基琥珀酰亚胺生物素的二甲亚砜溶液,相对于1mL所述待生物素化的AFP抗体的缓冲液体系,加入的生物素溶液的体积为100μL,4℃下反应4h;

[0072] (3) 将步骤(2)反应后的体系在所述碳酸盐缓冲液中于4℃下渗析,每8h更换一次渗析缓冲液,渗析40h后,将渗析后的样品加于SephadexG-25层析柱上,使用含有1%BSA的溶质浓度为0.1mol/L、pH为7.4的PBS缓冲液洗脱,收集第一洗脱峰洗脱液,得到所述生物素偶联抗体。

## [0073] 评价试验:

[0074] 将实施例1-3和对比例1制得的生物素偶联抗体进行如下试验:

[0075] 将各实施例和对比例中得到的生物素偶联抗体用于AFP的化学发光酶免疫分析检测。向各梯度浓度的AFP样本中,分别加入等量的链霉亲和素包被的磁珠、生物素偶联抗体和AFP抗体-碱性磷酸酶结合物,孵育反应后清洗,加入化学发光液,用滨松9504化学发光仪测量发光值,结果见表1。

## [0076] 表1

AFP 浓度	实施例 1	实施例 2	实施例 3	对比例 1
0 ng/ml	152	201	187	809
5 ng/ml	14,356	14,428	15,271	15,347

[0077]

[0078]	25 ng/ml	73,514	71,148	74,286	74,821
	125 ng/ml	364,511	348,679	371,224	368,122
	500 ng/ml	1,533,687	1,473,628	1,554,839	1,532,081
	1000 ng/ml	3,125,869	3,028,581	3,285,497	3,096,443

[0079] 由表1数据可知：实施例1、2、3和对比例1在非零浓度下的发光值没有差别，但对于本底值（即零浓度下的发光值），实施例1、2、3比对比例1低很多，因此本发明所涉及的生物素偶联抗体能够有效地降低酶促化学发光反应中的本底值，提高灵敏度。

[0080] 申请人声明，本发明通过上述实施例来说明本发明的一种生物素偶联抗体及其制备方法和应用，但本发明并不局限于上述实施例，即不意味着本发明必须依赖上述实施例才能实施。所属技术领域的技术人员应该明了，对本发明的任何改进，对本发明产品各原料的等效替换及辅助成分的添加、具体方式的选择等，均落在本发明的保护范围和公开范围之内。

[0081] 以上详细描述了本发明的优选实施方式，但是，本发明并不限于上述实施方式中的具体细节，在本发明的技术构思范围内，可以对本发明的技术方案进行多种简单变型，这些简单变型均属于本发明的保护范围。

[0082] 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，本发明对各种可能的组合方式不再另行说明。

专利名称(译)	一种生物素偶联抗体及其制备方法和应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN110922476A</a>	公开(公告)日	2020-03-27
申请号	CN201911295321.8	申请日	2019-12-16
[标]申请(专利权)人(译)	浙江蓝怡医药有限公司		
申请(专利权)人(译)	浙江蓝怡医药有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	浙江蓝怡医药有限公司		
[标]发明人	李子樵 胡百敏		
发明人	李子樵 胡百敏		
IPC分类号	C07K16/00 C07K11/107 G01N33/53		
CPC分类号	C07K16/00 G01N33/53		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种生物素偶联抗体及其制备方法和应用。所述制备方法包括通过酶切还原抗体以获得有固定反应位点的抗体，再将其与生物素进行偶联，获得生物素偶联抗体。本发明所涉及的获得生物素化抗体的方法克服了现有技术中通过修饰后的生物素直接与抗体连接的弊端，即能使抗体获得固定的精确的反应位点，从而控制每个抗体上连接的生物素的精确含量，最终使得酶促化学发光反应中的本底值降低。

AFP 浓度	实施例 1	实施例 2	实施例 3	对比例 1
0 ng/ml	152	201	187	809
5 ng/ml	14,356	14,428	15,271	15,347