



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I867090 B

(45)公告日：中華民國 113 (2024) 年 12 月 21 日

(21)申請案號：109139541

(22)申請日：中華民國 109 (2020) 年 11 月 12 日

(51)Int. Cl. : C07K14/135 (2006.01)

C07K16/10 (2006.01)

G01N33/569 (2006.01)

(30)優先權：2019/11/12 日本

2019-204604

(71)申請人：日商電化股份有限公司 (日本) DENKA COMPANY LIMITED (JP)

日本

(72)發明人：桑原三和 KUWAHARA, MIWA (JP)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

CN 105753981A

期刊 Thuy Tien, T. T., Park, H., Tuong, H. T., Yu, S. T., Choi, D. Y., & Yeo, S. J. Development of a rapid fluorescent immunochromatographic test to detect respiratory syncytial virus. International Journal of Molecular Sciences 19 2018 1-16

審查人員：吳卓翰

申請專利範圍項數：7 項 圖式數：1 共 60 頁

(54)名稱

辨識抗 R S 病毒之 N 蛋白質之抗體、以及使用該抗體之免疫測定方法及免疫測定器具

(57)摘要

本發明提供一種感度較高之抗 RS 病毒抗體、及使用其之檢查試劑。

本發明之抗 RS 病毒之 N 蛋白質單株抗體或其抗原結合性片段之特徵在於：在基於 RS 病毒之 N 蛋白質之胺基酸序列所製作之 127 個肽點中，至少對包含序列編號 30、39、40、69、70、74、75、83、84、100、101 及 113 所表示之胺基酸序列之肽進行反應。



I867090

【發明摘要】

【中文發明名稱】

辨識抗RS病毒之N蛋白質之抗體、以及使用該抗體之免疫測定方法
及免疫測定器具

【中文】

本發明提供一種感度較高之抗RS病毒抗體、及使用其之檢查試劑。

本發明之抗RS病毒之N蛋白質單株抗體或其抗原結合性片段之特徵在於：在基於RS病毒之N蛋白質之胺基酸序列所製作之127個肽點中，至少對包含序列編號30、39、40、69、70、74、75、83、84、100、101及113所表示之胺基酸序列之肽進行反應。

【指定代表圖】

無

【代表圖之符號簡單說明】

無

【發明說明書】

【中文發明名稱】

辨識抗RS病毒之N蛋白質之抗體、以及使用該抗體之免疫測定方法及免疫測定器具

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種RS病毒之免疫測定方法及免疫測定器具以及用於其之抗RS病毒抗體。

【先前技術】

【0002】 單株抗體因僅辨識特定之抗原而被廣泛用於該特定抗原之檢測。RS病毒(respiratory syncytial virus，呼吸道融合病毒)之外套膜中存在作為糖蛋白之G蛋白質、及與細胞融合相關之F蛋白質(非專利文獻1)。已知RS病毒之亞型(A型、B型)間，G蛋白質之胺基酸序列之差異較大(非專利文獻1)。另一方面，已知即便於RS病毒之亞型(A型、B型)間，F蛋白質之胺基酸序列之差異亦較小，多數RS病毒檢查套組會檢測出F蛋白質。然而，僅藉由提高抗體對F蛋白質之親和性非常難以開發出能夠無遺漏地檢測出臨床分離株之表現出足以實用之陽性檢測率之RS病毒檢查套組(專利文獻1)。

【0003】 又，RS病毒之N蛋白質亦稱為核蛋白質，包含391個胺基酸殘基。N蛋白質係被稱為核酸蛋白殼(nucleocapsid)之核糖核蛋白質複合體之構成成分，包圍RS病毒之基因組RNA(ribonucleic acid，核糖核酸)而形成螺旋結構。已知於RS病毒之亞型(A型、B)間N蛋白質之胺基酸序列之差異最小。然而，僅利用針對N蛋白質之抗體無遺漏地檢測臨床分離株非常困難，能夠無遺漏地檢測出臨床分離株之RS病毒檢查套組之開

發需要將針對F蛋白質之抗體與針對N蛋白質之抗體加以混合(專利文獻1)。

先前技術文獻

專利文獻

【0004】 專利文獻1：日本專利第6454274號

非專利文獻

【0005】 非專利文獻1：Collins PL and Karron RA. Respiratory syncytial virus. In: Knipe DM et al., eds. Fields Virology, 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia: pp 1086-1123 (2013).

【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

【0006】 目前，市售有使用各種抗RS病毒抗體之檢查試劑。然而，於利用該等先前之RS病毒檢查試劑進行RS病毒之檢測之情形時，感度並不充分。

【0007】 鑒於上述現狀，本發明之目的在於提供一種感度較高之抗RS病毒抗體、及使用其之檢查試劑。

[解決問題之技術手段]

【0008】 本發明者們發現，為了由判定部位效率良好地捕捉檢體所含之RS病毒而提高免疫層析裝置之感度，藉由使用針對RS病毒之N蛋白質(核蛋白質)之抗體可提高RS病毒之檢測感度，從而完成本發明。

【0009】 即，本發明如以下所述。

[1]一種抗RS病毒之N蛋白質單株抗體或其抗原結合性片段，其特徵在於：在基於RS病毒之N蛋白質之胺基酸序列所製作之127個肽點中，至

少對包含序列編號30、39、40、69、70、74、75、83、84、100、101及113所表示之胺基酸序列之肽進行反應。

[2]如[1]之抗RS病毒之N蛋白質單株抗體或其抗原結合性片段，其中抗原結合性片段為選自由Fab、Fab'、F(ab')₂、單鏈抗體(scFv)、dsFv、雙功能抗體(diabody)及微型抗體(minibody)所組成之群之肽片段。

[3]一種RS病毒檢測用試劑，其包含如[1]或[2]之單株抗體或其抗原結合性片段。

[4]如[3]之RS病毒檢測用試劑，其係免疫層析法試劑。

[5]一種RS病毒檢測用套組，其包含如[1]或[2]之單株抗體或其抗原結合性片段。

[6]一種檢測RS病毒之方法，其使用如[1]或[2]之單株抗體或其抗原結合性片段並藉由免疫學檢測法檢測RS病毒。

[7]如[6]之方法，其係免疫層析法。

本說明書包含成為本案之優先權之基礎的日本專利申請號2019-204604號之揭示內容。

[發明之效果]

【0010】 本發明之方法因免疫測定使用抗RS病毒之N蛋白質抗體而感度較高。又，藉由本發明而提供一種用於本發明之新穎之檢測方法的免疫測定器具及單株抗體。

【圖式簡單說明】

【0011】 圖1-1係表示將包含RS病毒之N蛋白質之391個胺基酸之胺基酸序列(序列編號128)中包含15個胺基酸之部分肽每次錯開3個胺基酸所獲得之127個肽之胺基酸序列的圖(肽編號1～43)。

圖1-2係表示將包含RS病毒之N蛋白質之391個胺基酸之胺基酸序列(序列編號128)中包含15個胺基酸之部分肽每次錯開3個胺基酸所獲得之127個肽之胺基酸序列的圖(肽編號44~86)。

圖1-3係表示將包含RS病毒之N蛋白質之391個胺基酸之胺基酸序列(序列編號128)中包含15個胺基酸之部分肽每次錯開3個胺基酸所獲得之127個肽之胺基酸序列的圖(肽編號87~127)。

【實施方式】

【0012】 藉由本發明之方法檢測之受檢對象為RS病毒，使用以N蛋白質作為抗原而辨識之單株抗體。

【0013】 於本發明之方法中，使用以N蛋白質作為抗原而辨識之單株抗體或其抗原結合性片段進行免疫測定。此處，所謂「辨識」意指進行特異性反應、即進行抗原抗體反應。所謂「特異性」意指於蛋白質與該抗體混合之液體系統中，該抗體為能夠檢測為抗原之蛋白質成分之水平且不會引起抗原抗體反應，或者即便引起某種結合反應或締合反應亦僅引起明顯弱於該抗體與抗原之抗原抗體反應之反應。

【0014】 基於本發明之單株抗體而僅分離出抗原結合部位之抗原結合性片段亦可用於本發明之方法。即，於使用藉由公知之方法所製作之與RS病毒之N蛋白質結合之Fab、Fab'、F(ab')₂、單鏈抗體(scFv)、dsFv、雙功能抗體、微型抗體等具有特異之抗原結合性之片段(抗原結合性片段)之情形時，該等片段包含於單株抗體中，而亦包含於本發明之範圍中。又，單株抗體之類型不限定於IgG，亦可為IgM或IgY。

【0015】 本發明之方法所使用之單株抗體可藉由使用公知之免疫學方法，使包含目標抗原之複合體或萃取物、或者抗原或該等之部分肽對被

免疫動物進行免疫，並使用被免疫動物之細胞製作融合瘤而獲得。免疫所使用之肽之長度並無特別限定，可使用較佳為5個胺基酸以上、更佳為10個胺基酸以上之肽作為免疫原。免疫原可由培養液獲得，亦可藉由將編碼任意抗原之DNA(deoxyribonucleic acid，去氧核糖核酸)組入質粒載體，並將其導入宿主細胞中使其表現而獲得。作為免疫原之任意抗原或其部分肽亦可與如以下所例示之蛋白質形成融合蛋白質並使之表現，純化後或以未純化之狀態用作免疫原。融合蛋白質之製作可利用業者通常用作「蛋白質表現、純化標籤」之麴朊甘肽S-轉移酶(GST)、麥芽糖結合蛋白質(MBP)、硫氧化還原蛋白(TRX)、Nus標籤、S標籤、HSV(herpes simplex virus，疱疹單純型病毒)標籤、FRAG標籤、多組胺酸標籤等。與該等之融合蛋白質較佳為使用消化酶將任意抗原或其部分肽部分與其等以外之標籤部分切斷，分離純化後用作免疫原。

【0016】 由經免疫之動物製備單株抗體可藉由周知之Kohler等人之方法(Kohler et al., Nature, vol, 256, p495-497(1975))容易地進行。即，自經免疫之動物回收脾細胞或淋巴細胞等抗體產生細胞，藉由常規方法使其與小鼠骨髓瘤細胞融合而製作融合瘤，藉由限制稀釋法等選殖所獲得之融合瘤，並選擇所選殖之各融合瘤所產生之單株抗體中與動物之免疫所使用之抗原進行抗原抗體反應之單株抗體。

【0017】 自腹水或培養上清液純化單株抗體可使用公知之免疫球蛋白純化法。例如，可列舉藉由使用硫酸銨或硫酸鈉之鹽析進行之區分法、PEG(polyethylene glycol，聚乙二醇)區分法、乙醇區分法、DEAE(diethylaminoethyl，二乙胺基乙基)離子交換層析法、凝膠過濾法等。又，亦可根據免疫動物種類與單株抗體之類型，藉由使用結合有蛋白

質A、蛋白質G、蛋白質L之任一者之載體之親和層析法進行純化。

【0018】 於製作將包含RS病毒之N蛋白質之391個胺基酸之胺基酸序列(序列編號128)中包含15個胺基酸之部分肽每次錯開3個胺基酸所獲得之127個肽，研究與本發明之辨識RS病毒之N蛋白質之抗體的反應性之情形時，本發明之辨識RS病毒之N蛋白質之抗體對127個肽中第30、39、40、69、70、74、75、83、84、100、101及113號肽進行反應。將127個肽之胺基酸序列示於圖1-1～1-3。上述第1～127號之127個肽之胺基酸序列分別以序列編號1～127表示。

【0019】 本發明之辨識RS病毒之N蛋白質之抗體對以下之序列編號30、39、40、69、70、74、75、83、84、100、101及113進行反應。

序列編號30：YHVKANGVDVTTHRQ

序列編號39：TLASLTTEIQINIEI

序列編號40：SLTTEIQINIEIESR

序列編號69：IANSFYEVFEKHPHF

序列編號70：SFYEVFEKHPHFIDV

序列編號74：IDVVFVHFGIAQSSTR

序列編號75：FVHFGIAQSSTRGGS

序列編號83：FMNAYGAGQVMLRWG

序列編號84：AYGAGQVMLRWGVLA

序列編號100：AGFYHILNNPKASLL

序列編號101：YHILNNPKASLLSLT

序列編號113：YRGTPRNQDLYDAAK

【0020】 因此，本發明之辨識RS病毒之N蛋白質之抗體辨識包含序

列編號30、39、40、69、70、74、75、83、84、100、101及113之胺基酸序列之肽。認為本發明之辨識RS病毒之N蛋白質之抗體的反應性具有適應性，為廣泛辨識該等肽者。例如存在辨識由該等肽形成之立體結構之可能性。

【0021】 於本發明之免疫測定方法中，藉由利用以上述方式製作之單株抗體或其抗原結合性片段(以下，於實施例之前之記述中，除了根據上下文明確並非如此之情形以外，「抗體」意指「抗體或其抗原結合性片段」)與檢體中之抗原之抗原抗體反應之免疫測定進行測定。作為用於此之免疫測定法，可使用競爭法、凝集法、西方墨點法、免疫染色法、三明治法等業者周知之任一方法。再者，於本發明中，「測定」包含定量、半定量、檢測之任一者。

【0022】 作為免疫測定，較佳為三明治法。於三明治法中，以兩個抗體夾著抗原之形式形成複合體，並檢測該複合體。三明治法本身於免疫測定之領域為人周知，例如可藉由免疫層析法或ELISA(enzyme linked immunosorbent assay，酵素結合免疫吸附分析)法進行。該等三明治法本身均為周知，本發明之方法除了使用以上述N蛋白質作為抗原而辨識之單株抗體以外，可藉由周知之三明治法進行。

【0023】 三明治法使用辨識抗原之一種或兩種以上之抗體(被固定於固相之抗體與標記抗體)。於使用兩種以上之抗體之情形時，該等兩種抗體中至少任意一者為以上述N蛋白質作為抗原而辨識之單株抗體。又，亦可由相同之兩個抗體夾著抗原而形成複合體。較佳為使用辨識上述肽之一種或兩種抗體。

【0024】 於以三明治法作為檢測原理之免疫測定中，作為將抗體固

定之固相，可藉由公知技術固定抗體者均可使用，例如，可任意選擇具有毛細管作用之多孔性薄膜(membrane)、粒子狀物質、試管、樹脂平板等公知者。又，作為標記抗體之物質，可使用酶、放射性同位素、螢光物質、發光物質、有色粒子、膠體粒子等。於利用上文所述各種材料之免疫測定法中，尤其是就臨床檢查之簡便性及迅速性之觀點而言，較佳為使用薄膜之作為側流式免疫測定法之免疫層析法。

【0025】於本發明中，亦提供一種可使用以N蛋白質作為抗原而辨識之單株抗體而以側流式進行免疫測定之免疫測定器具。本發明所提供之免疫測定器具包含具有固定有捕捉測定對象物(抗原)之抗體(抗體1)之檢測區域之支持體、具有能夠移動之標記抗體(抗體2)之標記體區域、滴加檢體之樣品墊、吸收經展開之檢體液之吸收帶、用以將該等構件貼合為一體之背襯薄板，且抗體1及抗體2之至少一者為本發明之以N蛋白質作為抗原而辨識之單株抗體。亦將該免疫測定器具稱為免疫層析試片。

【0026】支持體係具有將用以捕捉被檢測物質(抗原)之抗體固定之性能之材料，且具有不妨礙液體沿水平方向通行之性能。較佳為具有毛細管作用之多孔性薄膜，為能夠藉由吸收而輸送液體及分散於其中之成分之材料。形成支持體之材質並無特別限定，例如可列舉：纖維素、硝化纖維素、乙酸纖維素、聚偏二氟乙烯(PVDF)、玻璃纖維、尼龍、聚酮等。其中，更佳為使用硝化纖維素製成薄膜者。將固定抗體之薄膜稱為抗體固定薄膜。

【0027】標記體區域包含含有標記抗體之多孔性基材，基材之材質可使用通常使用之玻璃纖維或不織布等。該基材為了含浸大量標記抗體，較佳為厚度0.3 mm～0.6 mm左右之墊狀。亦將含浸標記抗體並乾燥而成

之多孔性基材稱為乾燥墊。

【0028】 標記抗體之標記多數情況下使用鹼性磷酸酶或辣根過氧化酶之類之酶、金膠體之類之金屬膠體、二氧化矽粒子、纖維素粒子、著色聚苯乙烯粒子及著色乳膠粒子等之情況較多。於使用金屬膠體粒子、著色聚苯乙烯粒子或著色乳膠粒子等著色粒子之情形時，藉由該等標記試劑凝集而產生著色，因此對該著色進行測定。將固定抗體之粒子稱為抗體固定粒子。抗體之固定量並無特別限定，於標記區域存在數ng至數十μg即可。

【0029】 檢測區域係指固定有捕捉被檢測物質(抗原)之抗體之支持體之一部分區域。檢測區域設置至少1個固定有用以捕捉抗原之抗體之區域。檢測區域只要包含於支持體中即可，將抗體固定於支持體上即可。抗體之固定量並無特別限定，於檢測區域固定數ng至數十μg即可。

【0030】 樣品墊係用以滴加檢體之部位，為多孔性材料。樣品墊係處於免疫測定器具之最上游之部位。該材料可使用通常使用之濾紙、玻璃纖維、不織布等。為了將大量檢體用於免疫測定，較佳為厚度0.3 mm～1 mm左右之墊狀。檢體亦包含將檢體懸浮於其他溶液中所獲得之試樣等使用檢體所製備之試樣。

【0031】 吸收帶係用以將供給至支持體且於檢測區域不參與反應之成分吸收之構件。該材料可使用包含通常之天然高分子化合物、合成高分子化合物等之保水性較高之濾紙、海綿等，但為了促進檢體之展開，較佳為吸水性較高者。

【0032】 背襯薄板係用以將上文所述之全部材料、即支持體、樣品墊、標記體區域、吸收帶等以部分重疊之方式貼附固定之構件。只要該等

材料以最佳之間隔配置固定，則背襯薄板並非必需，但就製造上或使用上之便利性而言，通常使用為佳。

【0033】 本發明之免疫測定器具可進而存在對照顯示區域(構件)。對照顯示區域係顯示準確實施試驗之部位。例如，對照顯示區域存在於檢測區域之下游，於檢體試樣通過檢測區域而到達對照顯示區域時藉由著色等而發出訊號。於對照顯示區域可預先將與結合有標記載體之抗體結合之物質進行固相化，亦可預先將檢體到達時顏色變化之pH指示劑等試劑進行固相化。於結合有標記載體之抗體為小鼠單株抗體之情形時，使用抗小鼠IgG抗體即可。

【0034】 免疫測定器具之大小並無限定，例如縱向長度為數cm～十數cm左右，橫向長度為數mm～數cm左右。

【0035】 本發明之免疫測定器具可收容於收納容器內，藉由該收納容器，可防止例如紫外線或空氣中之濕氣導致之劣化。又，於使用具有污染性、感染性之檢體試樣之情形時，藉由收納容器可防止進行分析之試驗者污染或感染。例如使用適當大小之樹脂製盒作為收納容器，將本發明之器具收納於該盒中即可。存在將收納容器與收納於其中之免疫測定器具視為一體而稱為免疫測定設備之情形。

【0036】 本發明之含有抗RS病毒之N蛋白質單株抗體之RS病毒檢測用試劑包含上述免疫測定器具。又，本發明之含有抗RS病毒之N蛋白質單株抗體之RS病毒檢測用套組包含上述免疫測定器具。除此以外，該套組亦可包含手冊、檢體採集器具等。

【0037】 於本發明之方法中，利用毛細現象，使可與經著色聚苯乙烯粒子或金膠體等適當之標記物質標記之被檢測物質(標記試劑)結合之抗

體2與被檢測物質之複合體向固定有抗體1之固相支持體展開移動。其結果為，於固相支持體上形成經固定之物質-被檢測物質-標記試劑之複合體，對自該複合體發出之標記試劑之訊號(於金膠體之情形時，固定有可與被檢測物質結合之物質之固相支持體部分變紅)進行檢測，藉此可檢測出被檢測物質。該免疫測定方法可於5~35℃、較佳為室溫下進行。

【0038】再者，檢測區域之數量及標記體區域所含之標記抗體之種類並不限於1種，可藉由使用對應於複數個測定對象物之抗體，利用同一免疫測定器具檢測2種以上之抗原。

【0039】藉由本發明之方法可檢測是否感染RS病毒，於在受檢體試樣中檢測出N蛋白質之情形時，可判斷感染了RS病毒。

【0040】於使用辨識本發明之N蛋白質之抗體之情形時，可特異性辨識RS病毒，辨識N蛋白質之抗體不會辨識其他病毒、例如腺病毒(Adenovirus)、柯薩奇病毒(Coxsackievirus)、伊科病毒(Echo virus)、疱疹單純型病毒(Herpes simplex virus)、人類間質肺炎病毒(Human Metapneumovirus)、流行性感冒病毒(Influenza virus)、麻疹病毒(Measles virus)、腮腺炎病毒(Mumps virus)、副流行性感冒病毒(Parainfluenza virus)，不存在錯誤檢測出該等病毒之情況。

【0041】又，即便為使用辨識RS病毒之F蛋白質之抗體之情形時無法檢測出之臨床分離株，於使用本發明之辨識RS病毒之N蛋白質之抗體之情形時亦可檢測出。

【0042】關於受檢體試樣，作為檢體，使用咽部或鼻腔拭子、咽部或鼻腔沖洗液、鼻腔抽出液、唾液、血清、直腸拭子、糞便、糞便懸濁液、尿液、角膜拭子等即可。

實施例

【0043】 以下，基於實施例更具體地說明本發明。但本發明並不限定於下述實施例。

【0044】 實施例1 抗RS病毒之N蛋白質單株抗體之製作

1.RS病毒之N蛋白質抗原之製備

使RS病毒感染具有敏感性之哺乳類細胞，培養數天後利用紫外線照射將RS病毒感染細胞之培養液進行不活化，使用由此獲得者。

【0045】 2.抗RS病毒之N蛋白質單株抗體之製作

使用1.之RS病毒不活化抗原免疫BALB/c小鼠，藉由自飼養一定時間之小鼠摘除髖骨淋巴結之「小鼠髖骨淋巴結法」(Sado Y et al., Acta Histochem. Cytochem. 39: 89-94 (2006))獲得複數株產生抗RS病毒之N蛋白質抗體之融合瘤細胞株。

【0046】 將所獲得之細胞株投予至經姥鰵烷處理之BALB/c小鼠之腹腔，約2週後採集含有抗體之腹水。藉由使用蛋白質A管柱之親和層析法自所獲得之腹水純化IgG，而獲得複數個純化抗RS病毒之N蛋白質單株抗體(以下有時稱為「抗N蛋白質抗體」)。

【0047】 於以下之實施例中，使用所獲得之複數個抗RS病毒之N蛋白質單株抗體中考慮反應性及特異性而選擇之抗體。

【0048】 實施例2 測定RS病毒之免疫測定器具

1.抗RS病毒之N蛋白質抗體於硝化纖維素薄膜之固定

準備利用緩衝液將實施例1中所製作之抗N蛋白質抗體稀釋而成之液體及抗小鼠IgG抗體，分別以線狀，於經PET(polyethylene terephthalate，聚對苯二甲酸乙二酯)膜襯底之硝化纖維素薄膜之樣品墊側

塗佈抗N蛋白質抗體，於吸收體側塗佈抗小鼠IgG抗體。其後，於溫風下將硝化纖維素薄膜充分乾燥，而獲得抗N蛋白質抗體固定薄膜。

【0049】 2.抗RS病毒之N蛋白質抗體於著色聚苯乙烯粒子之固定

使實施例1中所製作之抗N蛋白質抗體共價鍵結於著色聚苯乙烯粒子，並懸濁於懸浮液中，藉由超音波處理而獲得充分分散之結合有抗N蛋白質抗體之著色聚苯乙烯粒子。於本說明書中，稱為抗N蛋白質抗體固定粒子。

【0050】 3.結合有抗RS病毒之N蛋白質抗體之著色聚苯乙烯粒子之塗佈及乾燥

將2中所製作之抗體固定粒子以特定量塗佈於玻璃纖維不織布，於溫風下充分乾燥。於本說明書中，稱為標記體墊。

【0051】 4.RS病毒檢查設備之製作

將1中所製作之抗體固定薄膜以及2及3中所製作之標記體墊與其他構件(背襯薄板、吸收帶、樣品墊)貼合併切斷為5 mm寬度，製成RS病毒檢查設備。

【0052】 5.RS病毒檢查設備之特異性及準確性之確認

於4中所製作之RS病毒檢查設備中滴加含有引起呼吸道感染症之病毒之檢體懸浮液(10 mM Tris(pH值為8.0)、1%(w/v)聚氧乙烯辛基苯基醚、3%(w/v)精胺酸、3%(w/v)BSA(Bovine Serum Albumin，牛血清白蛋白))50 μ L，並靜置5分鐘。

【0053】 於在抗小鼠IgG抗體及抗N蛋白質抗體兩者之塗佈位置可以目視確認到顯色之情形時判定為+。於僅在抗小鼠IgG抗體之塗佈位置可以目視確認到顯色而於抗N蛋白質抗體之塗佈位置無法以目視確認到顯色之情形時判定為-。又，於在抗小鼠IgG抗體之塗佈位置無法以目視確認到

顯色之情形時判定為無效。

【0054】 將結果示於表1。

【0055】 [表1]

病毒名	測定結果
RS病毒Long株(A型)	+
RS病毒A-2株(A型)	+
RS病毒CH-18株(B型)	+
腺病毒1型	-
腺病毒2型	-
腺病毒3型	-
腺病毒4型	-
腺病毒5型	-
腺病毒7型	-
腺病毒19型	-
柯薩奇病毒A9型	-
柯薩奇病毒B4型	-
柯薩奇病毒B5型	-
柯薩奇病毒B6型	-
伊科病毒2型	-
伊科病毒3型	-
伊科病毒4型	-
伊科病毒6型	-
伊科病毒9型	-
伊科病毒11型	-
伊科病毒30型	-
疱疹單純型病毒1型	-
人類間質肺炎病毒A型	-
人類間質肺炎病毒B型	-
流行性感冒病毒A/新喀里多尼亞/20/99 (H1N1)	-
流行性感冒病毒A/北京/262/95 (H1N1)	-
流行性感冒病毒A/紐約/55/2004 (H3N2)	-
流行性感冒病毒A/廣島/52/2005 (H3N2)	-
流行性感冒病毒B/上海/361/2002 (山形)	-
流行性感冒病毒B/馬來西亞/2506/2004 (維多利亞)	-
麻疹病毒	-
腮腺炎病毒	-
副流行性感冒病毒1型	-
副流行性感冒病毒2型	-
副流行性感冒病毒3型	-
副流行性感冒病毒4型	-

【0056】如表1所示，使用本發明之抗RS病毒之N蛋白質抗體之免疫測定器具雖然對RS病毒進行反應，但對其他呼吸道感染症之致病病毒未表現出交叉反應性，因此可確認對RS病毒特異性地反應。

【0057】實施例3 抗RS病毒之N蛋白質單株抗體之抗原辨識部位

1.使用PepSpot(商標)技術之解析

基於登錄於GenBank之RS病毒之N蛋白質之胺基酸序列(登錄號AHC94758.1)，使用JPT Peptide Technologies公司(Volmerstrasse 5 (UTZ), 12489柏林，德國)之PepSpot(商標)技術解析抗RS病毒之N蛋白質單株抗體之抗原辨識部位。PepSpot(商標)薄膜係由JPT公司製備。該方法之原理先前由Kramer等人之論文(Cell, 91:799-809 (1997))所介紹且說明。將固相於薄膜之肽之序列示於圖1-1、1-2及1-3。

【0058】2.使用PepSpot(商標)技術之解析方法

解析係依照JPT Peptide Technologies公司提出之操作說明實施。將與過氧化酶複合之抗小鼠第二抗體用於依照標準方法之訊號檢測。

【0059】3.使用PepSpot(商標)技術之解析結果

固相於薄膜之127個肽點中，實施例1中獲得之抗RS病毒之N蛋白質單株抗體至少對肽編號30、39、40、69、70、74、75、83、84、100、101、113進行反應。

【0060】本發明之抗RS病毒之N蛋白質抗體對圖1所示之肽序列中之至少30、39、40、69、70、74、75、83、84、100、101、113進行反應。

【0061】實施例4 抗RS病毒之N蛋白質抗體之感度比較

對於自臨床檢體分離並培養之3株RS病毒，將使用本發明之抗N蛋白

質抗體之抗原檢測試劑與使用市售之抗F蛋白質抗體之抗原檢測試劑之檢測感度進行比較。

【0062】 將自2016年採集之臨床檢體分離之3株RS病毒分別接種於Vero細胞並使其增殖。使用緩衝液製備RS病毒感染細胞培養上清液之2倍稀釋系列，以將其中特定量添加至檢體懸浮液中而成者作為試樣。

【0063】 將結果示於表2。

【0064】 [表2]

臨床分離株1	病毒濃度(TCID ₅₀ /mL)					
	5.6×10 ⁵	2.8×10 ⁵	1.4×10 ⁵	7.0×10 ⁴	3.5×10 ⁴	1.8×10 ⁴
抗N蛋白質抗體	+	+	+	+	+	-
抗F蛋白質抗體	+	+	+	+	-	-

臨床分離株2	病毒濃度(TCID ₅₀ /mL)					
	6.3×10 ⁶	3.2×10 ⁶	1.6×10 ⁶	7.9×10 ⁵	4.0×10 ⁵	2.0×10 ⁵
抗N蛋白質抗體	+	+	+	+	+	-
抗F蛋白質抗體	+	+	+	+	+	-

臨床分離株3	病毒濃度(TCID ₅₀ /mL)					
	5.6×10 ⁴	5.6×10 ³	2.8×10 ³	1.4×10 ³	7.0×10 ²	3.5×10 ²
抗N蛋白質抗體	+	+	+	+	+	-
抗F蛋白質抗體	-	-	-	-	-	-

【0065】 使用自臨床檢體分離之3株病毒實施感度比較試驗所得之結果為，於3株中之2株中，使用抗N蛋白質抗體之抗原檢測試劑表現出與使用抗F蛋白質抗體之抗原檢測試劑同等以上之感度。

【0066】 關於3株中之1株，使用抗F蛋白質抗體之抗原檢測試劑中完全未見反應，與此相對，使用抗N蛋白質抗體之抗原檢測試劑表現出較高之檢測感度。

[產業上之可利用性]

【0067】 使用本發明之抗體可特異性地檢測RS病毒感染症。

序列表非關鍵文字

【0068】 序列編號1～127 合成

本說明書中所引用之全部刊物、專利及專利申請案直接藉由引用而併入本說明書中。

【序列表】

<110> 日商電化股份有限公司(DENKA Company Limited)

<120> 辨識抗RS病毒之N蛋白質之抗體、以及使用該抗體之免疫測定方法及免疫測定器具

<130> PH 8635- PCT

<150> J P 2019- 204604

<151> 2019- 11- 12

<160> 128

<170> PatentIn第3.5版

<210> 1

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 1

Met Ala Leu Ser Lys Val Lys Leu Asn Asp Thr Leu Asn Lys Asp
1 5 10 15

<210> 2

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 2

Ser Lys Val Lys Leu Asn Asp Thr Leu Asn Lys Asp Gln Leu Leu
1 5 10 15

<210> 3

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 3

Lys Leu Asn Asp Thr Leu Asn Lys Asp G n Leu Leu Ser Ser Ser
1 5 10 15

<210> 4
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 4

Asp Thr Leu Asn Lys Asp G n Leu Leu Ser Ser Ser Lys Tyr Al a
1 5 10 15

<210> 5
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 5

Asn Lys Asp G n Leu Leu Ser Ser Ser Lys Tyr Al a Il e G n Arg
1 5 10 15

<210> 6
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 6

G n Leu Leu Ser Ser Ser Lys Tyr Al a Il e G n Arg Ser Thr G y
1 5 10 15

<210> 7
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 7

Ser Ser Ser Lys Tyr Al a Ile G n Arg Ser Thr G y Asp Ser Ile
1 5 10 15

<210> 8
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 8

Lys Tyr Al a Ile G n Arg Ser Thr G y Asp Ser Ile Asp Thr Pro
1 5 10 15

<210> 9
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 9

Ile G n Arg Ser Thr G y Asp Ser Ile Asp Thr Pro Asn Tyr Asp
1 5 10 15

<210> 10
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 10

Ser	Thr	Gly	Asp	Ser	Ile	Asp	Thr	Pro	Asn	Tyr	Asp	Val	Gln	Lys
1			5						10					15

<210> 11
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 11

Asp	Ser	Ile	Asp	Thr	Pro	Asn	Tyr	Asp	Val	Gln	Lys	His	Ile	Asn
1			5						10					15

<210> 12
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 12

Asp	Thr	Pro	Asn	Tyr	Asp	Val	Gln	Lys	His	Ile	Asn	Lys	Leu	Cys
1			5						10					15

<210> 13
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 13

Asn	Tyr	Asp	Val	Gln	Lys	His	Ile	Asn	Lys	Leu	Cys	Gly	Met	Leu
1			5						10					15

<210> 14
<211> 15

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 14

Val G n Lys H s I l e Asn Lys Leu Cys G y M t Leu Leu I l e Thr
1 5 10 15

<210> 15
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 15

H s I l e Asn Lys Leu Cys G y M t Leu Leu I l e Thr G u Asp Al a
1 5 10 15

<210> 16
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 16

Lys Leu Cys G y M t Leu Leu I l e Thr G u Asp Al a Asn H s Lys
1 5 10 15

<210> 17
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 17

Gly Met Leu Leu Ile Thr Glu Asp Ala Asn His Lys Phe Thr Gly
1 5 10 15

<210> 18
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 18

Leu Ile Thr Glu Asp Ala Asn His Lys Phe Thr Gly Leu Ile Gly
1 5 10 15

<210> 19
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 19

Glu Asp Ala Asn His Lys Phe Thr Gly Leu Ile Gly Met Leu Tyr
1 5 10 15

<210> 20
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 20

Asn His Lys Phe Thr Gly Leu Ile Gly Met Leu Tyr Ala Met Ser
1 5 10 15

<210> 21
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 21

Phe Thr Gly Leu Ile Gly Met Leu Tyr Ala Met Ser Arg Leu Gly
1 5 10 15

<210> 22
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 22

Leu Ile Gly Met Leu Tyr Ala Met Ser Arg Leu Gly Arg Glu Asp
1 5 10 15

<210> 23
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 23

Met Leu Tyr Ala Met Ser Arg Leu Gly Arg Glu Asp Thr Ile Lys
1 5 10 15

<210> 24
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 24

Ala Met Ser Arg Leu Gly Arg Glu Asp Thr Ile Lys Ile Leu Arg
1 5 10 15

<210> 25
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 25

Arg Leu G y Arg G u Asp Thr I l e Lys I l e Leu Arg Asp Al a G y
1 5 10 15

<210> 26
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 26

Arg G u Asp Thr I l e Lys I l e Leu Arg Asp Al a G y Tyr H s Val
1 5 10 15

<210> 27
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 27

Thr I l e Lys I l e Leu Arg Asp Al a G y Tyr H s Val Lys Al a Asn
1 5 10 15

<210> 28
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 28

I l e L e u A r g A s p A l a G y T y r H i s V a l L y s A l a A s n G y V a l A s p
1 5 10 15

<210> 29

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 29

A s p A l a G y T y r H i s V a l L y s A l a A s n G y V a l A s p V a l T h r T h r
1 5 10 15

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 30

T y r H i s V a l L y s A l a A s n G y V a l A s p V a l T h r T h r H i s A r g G n
1 5 10 15

<210> 31

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 31

L y s A l a A s n G y V a l A s p V a l T h r T h r H i s A r g G n A s p I l e A s n
1 5 10 15

<210> 32
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 32

G y Val Asp Val Thr Thr H i s Arg G n Asp I l e Asn G y Lys G u
1 5 10 15

<210> 33
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 33

Val Thr Thr H i s Arg G n Asp I l e Asn G y Lys G u M e t Lys Phe
1 5 10 15

<210> 34
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 34

H i s Arg G n Asp I l e Asn G y Lys G u M e t Lys Phe G u Val Leu
1 5 10 15

<210> 35
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 35

Asp Ile Asn Gly Lys Glu Met Lys Phe Glu Val Leu Thr Leu Ala
1 5 10 15

<210> 36
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 36

Gly Lys Glu Met Lys Phe Glu Val Leu Thr Leu Ala Ser Leu Thr
1 5 10 15

<210> 37
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 37

Met Lys Phe Glu Val Leu Thr Leu Ala Ser Leu Thr Thr Glu Ile
1 5 10 15

<210> 38
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 38

Glu Val Leu Thr Leu Ala Ser Leu Thr Thr Glu Ile Gln Ile Asn
1 5 10 15

<210> 39
<211> 15

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 39

Thr Leu Al a Ser Leu Thr Thr G u I l e G n I l e Asn I l e G u I l e
1 5 10 15

<210> 40
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 40

Ser Leu Thr Thr G u I l e G n I l e Asn I l e G u I l e G u Ser Arg
1 5 10 15

<210> 41
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 41

Thr G u I l e G n I l e Asn I l e G u I l e G u Ser Arg Lys Ser Tyr
1 5 10 15

<210> 42
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 42

G n I l e A s n I l e G u I l e G u S e r A r g L y s S e r T y r L y s L y s M e t
1 5 10 15

<210> 43
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 43

I l e G u I l e G u S e r A r g L y s S e r T y r L y s L y s M e t L e u L y s G u
1 5 10 15

<210> 44
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 44

G u S e r A r g L y s S e r T y r L y s L y s M e t L e u L y s G u M e t G y G u
1 5 10 15

<210> 45
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 45

L y s S e r T y r L y s L y s M e t L e u L y s G u M e t G y G u V a l A l a P r o
1 5 10 15

<210> 46
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 46

Lys Lys Met Leu Lys G u Met G y G u Val Al a Pro G u Tyr Arg
1 5 10 15

<210> 47
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 47

Leu Lys G u Met G y G u Val Al a Pro G u Tyr Arg H s Asp Ser
1 5 10 15

<210> 48
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 48

Met G y G u Val Al a Pro G u Tyr Arg H s Asp Ser Pro Asp Cys
1 5 10 15

<210> 49
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 49

Val Al a Pro G u Tyr Arg H s Asp Ser Pro Asp Cys G y Met Il e
1 5 10 15

<210> 50
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 50

G u Tyr Arg H s Asp Ser Pro Asp Cys G y M t Ile Ile Leu Cys
1 5 10 15

<210> 51
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 51

H s Asp Ser Pro Asp Cys G y M t Ile Ile Leu Cys Ile Al a Al a
1 5 10 15

<210> 52
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 52

Pro Asp Cys G y M t Ile Ile Leu Cys Ile Al a Al a Leu Val Ile
1 5 10 15

<210> 53
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 53

Gly Met Ile Ile Leu Cys Ile Ala Ala Leu Val Ile Thr Lys Leu
1 5 10 15

<210> 54

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 54

Ile Leu Cys Ile Ala Ala Leu Val Ile Thr Lys Leu Ala Ala Gly
1 5 10 15

<210> 55

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 55

Ile Ala Ala Leu Val Ile Thr Lys Leu Ala Ala Gly Asp Arg Ser
1 5 10 15

<210> 56

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 56

Leu Val Ile Thr Lys Leu Ala Ala Gly Asp Arg Ser Gly Leu Thr
1 5 10 15

<210> 57
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 57

Thr Lys Leu Al a Al a G y Asp Arg Ser G y Leu Thr Al a Val Il e
1 5 10 15

<210> 58
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 58

Al a Al a G y Asp Arg Ser G y Leu Thr Al a Val Il e Arg Arg Al a
1 5 10 15

<210> 59
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 59

Asp Arg Ser G y Leu Thr Al a Val Il e Arg Arg Al a Asn Asn Val
1 5 10 15

<210> 60
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 60

Gly Leu Thr Ala Val Ile Arg Arg Ala Asn Asn Val Leu Lys Asn
1 5 10 15

<210> 61
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 61

Ala Val Ile Arg Arg Ala Asn Asn Val Leu Lys Asn Glu Met Lys
1 5 10 15

<210> 62
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 62

Arg Arg Ala Asn Asn Val Leu Lys Asn Glu Met Lys Arg Tyr Lys
1 5 10 15

<210> 63
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 63

Asn Asn Val Leu Lys Asn Glu Met Lys Arg Tyr Lys Gly Leu Leu
1 5 10 15

<210> 64
<211> 15

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 64

Leu Lys Asn G u M t Lys A r g Tyr Lys G y Leu Leu Pro Lys Asp
1 5 10 15

<210> 65
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 65

G u M t Lys A r g Tyr Lys G y Leu Leu Pro Lys Asp I l e A l a Asn
1 5 10 15

<210> 66
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 66

A r g Tyr Lys G y Leu Leu Pro Lys Asp I l e A l a Asn Ser Phe Tyr
1 5 10 15

<210> 67
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 67

G y Leu Leu Pro Lys Asp Ile Al a Asn Ser Phe Tyr G u Val Phe
1 5 10 15

$\langle 210 \rangle$	68
$\langle 211 \rangle$	15
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	人工

<220>
<223> 合成

<400> 68

Pro Lys Asp Ile Ala Asn Ser Phe Tyr G u Val Phe G u Lys H s
1 5 10 15

$\langle 210 \rangle$	69
$\langle 211 \rangle$	15
$\langle 212 \rangle$	PRT
$\langle 213 \rangle$	人工

<220>
<223> 合成

<400> 69

I l e A l a A s n S e r P h e T y r G l u V a l P h e G l u L y s H i s P r o H i s P h e
1 5 10 15

<210>	70
<211>	15
<212>	PRT
<213>	人工

<220>
<223> 合成

<400> 70

Ser Phe Tyr Glu Val Phe Glu Lys His Pro His Phe Ile Asp Val
1 5 10 15

<210>	71
<211>	15
<212>	PRT
<213>	人工

<220>
<223> 合成

<400> 71

G u Val Phe G u Lys H s Pro H s Phe I l e Asp Val Phe Val H s
1 5 10 15

<210> 72
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 72

G u Lys H s Pro H s Phe I l e Asp Val Phe Val H s Phe G y I l e
1 5 10 15

<210> 73
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 73

Pro H s Phe I l e Asp Val Phe Val H s Phe G y I l e A l a G n Ser
1 5 10 15

<210> 74
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 74

I l e Asp Val Phe Val H s Phe G y I l e A l a G n Ser Ser Thr Arg
1 5 10 15

<210> 75
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 75

Phe Val H s Phe G y I l e A l a G n Ser Ser Thr Arg G y G y Ser
1 5 10 15

<210> 76
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 76

Phe G y I l e A l a G n Ser Ser Thr Arg G y G y Ser Arg Val G u
1 5 10 15

<210> 77
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 77

A l a G n Ser Ser Thr Arg G y G y Ser Arg Val G u G y I l e Phe
1 5 10 15

<210> 78
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 78

Ser Thr Arg Gly Gly Ser Arg Val Gu Gly Ile Phe Ala Gly Leu
1 5 10 15

<210> 79

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 79

Gly Gly Ser Arg Val Gu Gly Ile Phe Ala Gly Leu Phe Met Asn
1 5 10 15

<210> 80

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 80

Arg Val Gu Gly Ile Phe Ala Gly Leu Phe Met Asn Ala Tyr Gly
1 5 10 15

<210> 81

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 81

Gly Ile Phe Ala Gly Leu Phe Met Asn Ala Tyr Gly Ala Gly Gn
1 5 10 15

<210> 82
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 82

Al a G y Leu Phe M et Asn Al a Tyr G y Al a G y G n Val M et Leu
1 5 10 15

<210> 83
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 83

Phe M et Asn Al a Tyr G y Al a G y G n Val M et Leu Arg Trp G y
1 5 10 15

<210> 84
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 84

Al a Tyr G y Al a G y G n Val M et Leu Arg Trp G y Val Leu Al a
1 5 10 15

<210> 85
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 85

Ala Gly Gln Val Met Leu Arg Trp Gly Val Leu Ala Lys Ser Val
1 5 10 15

<210> 86
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 86

Val Met Leu Arg Trp Gly Val Leu Ala Lys Ser Val Lys Asn Ile
1 5 10 15

<210> 87
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 87

Arg Trp Gly Val Leu Ala Lys Ser Val Lys Asn Ile Met Leu Gly
1 5 10 15

<210> 88
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 88

Val Leu Ala Lys Ser Val Lys Asn Ile Met Leu Gly His Ala Ser
1 5 10 15

<210> 89
<211> 15

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 89

Lys Ser Val Lys Asn Ile Met Leu Gly His Ala Ser Val Gln Ala
1 5 10 15

<210> 90
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 90

Lys Asn Ile Met Leu Gly His Ala Ser Val Gln Ala Glu Met Glu
1 5 10 15

<210> 91
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 91

Met Leu Gly His Ala Ser Val Gln Ala Glu Met Glu Gln Val Val
1 5 10 15

<210> 92
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 92

H s A l a S e r V a l G n A l a G u M e t G u G n V a l V a l G u V a l T y r
1 5 10 15

<210> 93
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 93

V a l G n A l a G u M e t G u G n V a l V a l G u V a l T y r G u T y r A l a
1 5 10 15

<210> 94
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 94

G u M e t G u G n V a l V a l G u V a l T y r G u T y r A l a G n L y s L e u
1 5 10 15

<210> 95
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 95

G n V a l V a l G u V a l T y r G u T y r A l a G n L y s L e u G y G y G u
1 5 10 15

<210> 96
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 96

G u Val Tyr G u Tyr A l a G n Lys Leu G y G y G u A l a G y Phe
1 5 10 15

<210> 97
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 97

G u Tyr A l a G n Lys Leu G y G y G u A l a G y Phe Tyr H s I l e
1 5 10 15

<210> 98
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 98

G n Lys Leu G y G y G u A l a G y Phe Tyr H s I l e Leu Asn Asn
1 5 10 15

<210> 99
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 99

G y G y G u A l a G y Phe Tyr H s I l e Leu Asn Asn Pro Lys A l a
1 5 10 15

<210> 100
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 100

Al a G y Phe Tyr H i s I l e L e u A s n A s n P r o L y s A l a S e r L e u L e u
1 5 10 15

<210> 101
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 101

Tyr H i s I l e L e u A s n A s n P r o L y s A l a S e r L e u L e u S e r L e u T h r
1 5 10 15

<210> 102
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 102

L e u A s n A s n P r o L y s A l a S e r L e u L e u S e r L e u T h r G n P h e P r o
1 5 10 15

<210> 103
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 103

Pro Lys Al a Ser Leu Leu Ser Leu Thr G n Phe Pro H s Phe Ser
1 5 10 15

<210> 104

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 104

Ser Leu Leu Ser Leu Thr G n Phe Pro H s Phe Ser Ser Val Val
1 5 10 15

<210> 105

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 105

Ser Leu Thr G n Phe Pro H s Phe Ser Ser Val Val Leu G y Asn
1 5 10 15

<210> 106

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 106

G n Phe Pro H s Phe Ser Ser Val Val Leu G y Asn Al a Al a G y
1 5 10 15

<210> 107
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 107

H i s P h e S e r S e r V a l V a l L e u G y A s n A l a A l a G y L e u G y I l e
1 5 10 15

<210> 108
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 108

S e r V a l V a l L e u G y A s n A l a A l a G y L e u G y I l e M e t G y G u
1 5 10 15

<210> 109
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 109

L e u G y A s n A l a A l a G y L e u G y I l e M e t G y G u T y r A r g G y
1 5 10 15

<210> 110
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 110

Ala Ala Gly Leu Gly Ile Met Gly Gu Tyr Arg Gly Thr Pro Arg
1 5 10 15

<210> 111
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 111

Leu Gly Ile Met Gly Gu Tyr Arg Gly Thr Pro Arg Asn G n Asp
1 5 10 15

<210> 112
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 112

Met Gly Gu Tyr Arg Gly Thr Pro Arg Asn G n Asp Leu Tyr Asp
1 5 10 15

<210> 113
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 113

Tyr Arg Gly Thr Pro Arg Asn G n Asp Leu Tyr Asp Ala Ala Lys
1 5 10 15

<210> 114
<211> 15

<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 114

Thr Pro Arg Asn G n Asp Leu Tyr Asp Al a Al a Lys Al a Tyr Al a
1 5 10 15

<210> 115
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 115

Asn G n Asp Leu Tyr Asp Al a Al a Lys Al a Tyr Al a G u G n Leu
1 5 10 15

<210> 116
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 116

Leu Tyr Asp Al a Al a Lys Al a Tyr Al a G u G n Leu Lys G u Asn
1 5 10 15

<210> 117
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 117

Al a Al a Lys Al a Tyr Al a G u G n Leu Lys G u Asn G y Val Il e
1 5 10 15

<210> 118
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 118

Al a Tyr Al a G u G n Leu Lys G u Asn G y Val Il e Asn Tyr Ser
1 5 10 15

<210> 119
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 119

G u G n Leu Lys G u Asn G y Val Il e Asn Tyr Ser Val Leu Asp
1 5 10 15

<210> 120
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 120

Lys G u Asn G y Val Il e Asn Tyr Ser Val Leu Asp Leu Thr Al a
1 5 10 15

<210> 121
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 121

G y Val I l e Asn Tyr Ser Val Leu Asp Leu Thr Al a G u G u Leu
1 5 10 15

<210> 122
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 122

Asn Tyr Ser Val Leu Asp Leu Thr Al a G u G u Leu G u Al a Il e
1 5 10 15

<210> 123
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 123

Val Leu Asp Leu Thr Al a G u G u Leu G u Al a Il e Lys H s G n
1 5 10 15

<210> 124
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 124

Leu Thr Al a G u G u Leu G u Al a Il e Lys H s G n Leu Asn Pro
1 5 10 15

<210> 125
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 125

G u G u L e u G u A l a I l e L y s H i s G n L e u A s n P r o L y s A s p A s n
1 5 10 15

<210> 126
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 126

G u A l a I l e L y s H i s G n L e u A s n P r o L y s A s p A s n A s p V a l G u
1 5 10 15

<210> 127
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 127

A l a I l e L y s H i s G n L e u A s n P r o L y s A s p A s n A s p V a l G u L e u
1 5 10 15

<210> 128
<211> 391
<212> PRT
<213> 人類呼吸道融合病毒

<400> 128

Met Ala Leu Ser Lys Val Lys Leu Asn Asp Thr Leu Asn Lys Asp Gln
1 5 10 15

Leu Leu Ser Ser Ser Lys Tyr Ala Ile Gln Arg Ser Thr Gly Asp Ser
20 25 30

Ile Asp Thr Pro Asn Tyr Asp Val Gln Lys His Ile Asn Lys Leu Cys
35 40 45

Gly Met Leu Leu Ile Thr Glu Asp Ala Asn His Lys Phe Thr Gly Leu
50 55 60

Ile Gly Met Leu Tyr Ala Met Ser Arg Leu Gly Arg Glu Asp Thr Ile
65 70 75 80

Lys Ile Leu Arg Asp Ala Gly Tyr His Val Lys Ala Asn Gly Val Asp
85 90 95

Val Thr Thr His Arg Gln Asp Ile Asn Gly Lys Glu Met Lys Phe Glu
100 105 110

Val Leu Thr Leu Ala Ser Leu Thr Thr Glu Ile Gln Ile Asn Ile Glu
115 120 125

Ile Glu Ser Arg Lys Ser Tyr Lys Lys Met Leu Lys Glu Met Gly Glu
130 135 140

Val Ala Pro Glu Tyr Arg His Asp Ser Pro Asp Cys Gly Met Ile Ile
145 150 155 160

Leu Cys Ile Ala Ala Leu Val Ile Thr Lys Leu Ala Ala Gly Asp Arg
165 170 175

Ser Gly Leu Thr Ala Val Ile Arg Arg Ala Asn Asn Val Leu Lys Asn
180 185 190

Glu Met Lys Arg Tyr Lys Gly Leu Leu Pro Lys Asp Ile Ala Asn Ser

195					200					205							
Phe	Tyr	G u	Val	Phe	G u	Lys	H s	Pro	H s	Phe	I l e	Asp	Val	Phe	Val		
210					215					220							
H s	Phe	G y	I l e	Al a	G n	Ser	Ser	Thr	Arg	G y	G y	Ser	Arg	Val	G u		
225					230					235					240		
G y	I l e	Phe	Al a	G y	Leu	Phe	M et	Asn	Al a	Tyr	G y	Al a	G y	G n	Val		
					245					250					255		
M et	Leu	Arg	Trp	G y	Val	Leu	Al a	Lys	Ser	Val	Lys	Asn	I l e	M et	Leu		
					260					265					270		
G y	H s	Al a	Ser	Val	G n	Al a	G u	M et	G u	G n	Val	Val	G u	Val	Tyr		
					275					280					285		
G u	Tyr	Al a	G n	Lys	Leu	G y	G y	G u	Al a	G y	Phe	Tyr	H s	I l e	Leu		
					295					300							
Asn	Asn	Pro	Lys	Al a	Ser	Leu	Leu	Ser	Leu	Thr	G n	Phe	Pro	H s	Phe		
305					310					315					320		
Ser	Ser	Val	Val	Leu	G y	Asn	Al a	Al a	G y	Leu	G y	I l e	M et	G y	G u		
					325					330					335		
Tyr	Arg	G y	Thr	Pro	Arg	Asn	G n	Asp	Leu	Tyr	Asp	Al a	Al a	Lys	Al a		
					340					345					350		
Tyr	Al a	G u	G n	Leu	Lys	G u	Asn	G y	Val	I l e	Asn	Tyr	Ser	Val	Leu		
					355					360					365		
Asp	Leu	Thr	Al a	G u	G u	Leu	G u	Al a	I l e	Lys	H s	G n	Leu	Asn	Pro		
					375					380							
Lys	Asp	Asn	Asp	Val	G u	Leu											
385					390												

【發明申請專利範圍】

【請求項1】

一種抗RS病毒之N蛋白質單株抗體或其抗原結合性片段，其特徵在於：在基於RS病毒之N蛋白質之胺基酸序列所製作之127個肽點中，至少對包含序列編號30、39、40、69、70、74、75、83、84、100、101及113所表示之胺基酸序列之肽進行反應。

【請求項2】

如請求項1之抗RS病毒之N蛋白質單株抗體或其抗原結合性片段，其中抗原結合性片段為選自由Fab、Fab'、F(ab')₂、單鏈抗體(scFv)、dsFv、雙功能抗體及微型抗體所組成之群之肽片段。

【請求項3】

一種RS病毒檢測用試劑，其包含如請求項1或2之單株抗體或其抗原結合性片段。

【請求項4】

如請求項3之RS病毒檢測用試劑，其係免疫層析法試劑。

【請求項5】

一種RS病毒檢測用套組，其包含如請求項1或2之單株抗體或其抗原結合性片段。

【請求項6】

一種於生物體外檢測RS病毒之方法，其使用如請求項1或2之單株抗體或其抗原結合性片段並藉由免疫學檢測法檢測RS病毒。

【請求項7】

如請求項6之方法，其係免疫層析法。

【發明圖式】

肽編號	胺基酸序列	
1	MALSKVKLN DTL NKD	(序列編號1)
2	SKVKLN DTL NKDQLL	(序列編號2)
3	KLND TLN KDQLLSSS	(序列編號3)
4	DTLNKDQLLSSSKYA	(序列編號4)
5	NKDQLLSSSKYAIQR	(序列編號5)
6	QLLSSSKYAIQRSTG	(序列編號6)
7	SSSKYAIQRSTGDSI	(序列編號7)
8	KYAIQRSTGDSIDTP	(序列編號8)
9	IQRSTGDSIDTPNYD	(序列編號9)
10	STGDSIDTPNYDVQK	(序列編號10)
11	DSIDTPNYDVQKHIN	(序列編號11)
12	DTPNYDVQKHINKLC	(序列編號12)
13	NYDVQKHINKLCGML	(序列編號13)
14	VQKHINKLCGMLLIT	(序列編號14)
15	HINKLCGMLLITEDA	(序列編號15)
16	KLCGMLLITEDANHK	(序列編號16)
17	GMLLITEDANHKFTG	(序列編號17)
18	LITEDANHKFTGLIG	(序列編號18)
19	EDANHKFTGLIGMLY	(序列編號19)
20	NHKFTGLIGMLYAMS	(序列編號20)
21	FTGLIGMLYAMSRLG	(序列編號21)
22	LIGMLYAMSRLGRED	(序列編號22)
23	MLYAMSRLGREDTIK	(序列編號23)
24	AMSRLGREDTIKILR	(序列編號24)
25	RLGREDTIKILRDAG	(序列編號25)
26	REDTIKILRDAGYHV	(序列編號26)
27	TIKILRDAGYHVKAN	(序列編號27)
28	ILRDAGYHVKANGVD	(序列編號28)
29	DAGYHVKANGVDVTT	(序列編號29)
30	YHVKANGVDVTTHRQ	(序列編號30)
31	KANGVDVTTHRQDIN	(序列編號31)
32	GVDVTTHRQDINGKE	(序列編號32)
33	VTTHRQDINGKEMKF	(序列編號33)
34	HRQDINGKEMKFEVL	(序列編號34)
35	DINGKEMKFEVLTLA	(序列編號35)
36	GKEMKFEVLTLASLT	(序列編號36)
37	MKFEVLTLASLTTEI	(序列編號37)
38	EVLTLASLTTEIQIN	(序列編號38)
39	TLASLTTEIQINIEI	(序列編號39)
40	SLTTEIQINIEIESR	(序列編號40)
41	TEIQINIEIESRKS	(序列編號41)
42	QINIEIESRKS	(序列編號42)
43	IEIESRKS	(序列編號43)

【圖1-1】

肽編號	胺基酸序列	
44	ESRKS YKKMLKEMGE	(序列編號44)
45	KSYKKMLKEMGEVAP	(序列編號45)
46	KKMLKEMGEVAPEYR	(序列編號46)
47	LKEMGEVAPEYRHDS	(序列編號47)
48	MGEVAPEYRHDS PDC	(序列編號48)
49	VAPEYRHDS PDCGMI	(序列編號49)
50	EYRHDS PDCGMI ILC	(序列編號50)
51	HDSPDCGMI ILCIAA	(序列編號51)
52	PDCGMI ILCIAALVI	(序列編號52)
53	GMI ILCIAALVITKL	(序列編號53)
54	ILCIAALVITKLAAG	(序列編號54)
55	IAALVITKLAAGDRS	(序列編號55)
56	LVITKLAAGDRSGLT	(序列編號56)
57	TKLAAGDRSGLTAVI	(序列編號57)
58	AAGDRSGLTAVIRRA	(序列編號58)
59	DRSGLTAVIRRANNV	(序列編號59)
60	GLTAVIRRANNV LKN	(序列編號60)
61	AVIRRANNV LKNEMK	(序列編號61)
62	RRANNV LKNEMKRYK	(序列編號62)
63	NNV LKNEMKRYKGLL	(序列編號63)
64	LKNEMKRYKGLL PKD	(序列編號64)
65	EMKRYKGLL PKDIAN	(序列編號65)
66	RYKGLL PKDIANSFY	(序列編號66)
67	GLL PKDIANSFYEVF	(序列編號67)
68	PKDIANSFYEVFEKH	(序列編號68)
69	IAN SFYEVFEKHPHF	(序列編號69)
70	SFYEVFEKHPHFIDV	(序列編號70)
71	EVFEKHPHFIDVFVH	(序列編號71)
72	EKHPHFIDVFVHFGI	(序列編號72)
73	PHFIDVFVHFGIAQS	(序列編號73)
74	IDVFVHFGIAQSSTR	(序列編號74)
75	FVHFGIAQSSTRGGS	(序列編號75)
76	FGIAQSSTRGGS RVE	(序列編號76)
77	AQSSTRGGS RVEGIF	(序列編號77)
78	STRGGS RVEGIFAGL	(序列編號78)
79	GGSRVEGIFAGL FMN	(序列編號79)
80	RVEGIFAGL FMNAYG	(序列編號80)
81	GIFAGL FMNAYGAGQ	(序列編號81)
82	AGL FMNAYGAGQVML	(序列編號82)
83	FMNAYGAGQVMLRWG	(序列編號83)
84	AYGAGQVMLRWGVLA	(序列編號84)
85	AGQVMLRWGVLA KSV	(序列編號85)
86	VMLRWGVLA KSVKNI	(序列編號86)

【圖1-2】

肽編號	胺基酸序列	
87	RWGVLAKSVKNIMLG	(序列編號87)
88	VLAKSVKNIMLGHAS	(序列編號88)
89	KSVKNIMLGHASVQA	(序列編號89)
90	KNIMLGHASVQAEME	(序列編號90)
91	MLGHASVQAEMEQVV	(序列編號91)
92	HASVQAEMEQVVEVY	(序列編號92)
93	VQAEMEQVVEVYEYA	(序列編號93)
94	EMEQVVEVYEYAQKL	(序列編號94)
95	QVVEVYEYAQKLGGE	(序列編號95)
96	EVYEYAQKLGGEAGF	(序列編號96)
97	EYAQKLGGEAGFYHI	(序列編號97)
98	QKLGGEAGFYHILNN	(序列編號98)
99	GGEAGFYHILNNPKA	(序列編號99)
100	AGFYHILNNPKASLL	(序列編號100)
101	YHILNNPKASLLSLT	(序列編號101)
102	LNNPKASLLSLTQFP	(序列編號102)
103	PKASLLSLTQFPHFS	(序列編號103)
104	SLLSLTQFPHFSSVV	(序列編號104)
105	SLTQFPHFSSVVLGN	(序列編號105)
106	QFPHFSSVVLGNAAG	(序列編號106)
107	HFSSVVLGNAAGLGI	(序列編號107)
108	SVVLGNAAGLGIMGE	(序列編號108)
109	LGNAAGLGIMGEYRG	(序列編號109)
110	AAGLGIMGEYRGTPR	(序列編號110)
111	LGIMGEYRGTPRNQD	(序列編號111)
112	MGEYRGTPRNQDLYD	(序列編號112)
113	YRGTPRNQDLYDAAK	(序列編號113)
114	TPRNQDLYDAAKAYA	(序列編號114)
115	NQDLYDAAKAYAEQL	(序列編號115)
116	LYDAAKAYAEQLKEN	(序列編號116)
117	AAKAYAEQLKENGVI	(序列編號117)
118	AYAEQLKENGVINYS	(序列編號118)
119	EQLKENGVINYSVLD	(序列編號119)
120	KENGVINYSVLDLTA	(序列編號120)
121	GVINYSVLDLTAEEL	(序列編號121)
122	NYSVLDLTAEELEAI	(序列編號122)
123	VLDLTAEELEAIKHQ	(序列編號123)
124	LTAEELEAIKHQLNP	(序列編號124)
125	EELEAIKHQLNPKDN	(序列編號125)
126	EAIKHQLNPKDNDVE	(序列編號126)
127	AIKHQLNPKDNDVEL	(序列編號127)

【圖1-3】