



(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 I822683 B

(45)公告日：中華民國 112 (2023) 年 11 月 21 日

(21)申請案號：107121845

(22)申請日：中華民國 107 (2018) 年 06 月 26 日

(51)Int. Cl. : G01N33/566 (2006.01)

G01N33/577 (2006.01)

(30)優先權：2017/06/26 日本

2017-124578

(71)申請人：日商榮研化學股份有限公司 (日本) EIKEN KAGAKU KABUSHIKI KAISHA (JP)
日本

(72)發明人：旭由香里 ASAHI, YUKARI (JP)；和田厚文 WADA, ATSUFUMI (JP)

(74)代理人：陳長文

(56)參考文獻：

TW 201625682A

TW 201708254A

JP H0967398A

期刊 Christensen, M., Jacobsen, S., Ichiyanagi, T., & Kjelgaard-Hansen, M. Evaluation of an automated assay based on monoclonal anti-human serum amyloid A (SAA) antibodies for measurement of canine, feline, and equine SAA. The Veterinary Journal 194(3) ELSEVIER 2012 332-337.

審查人員：謝育桓

申請專利範圍項數：8 項 圖式數：10 共 37 頁

(54)名稱

各種動物之血清澱粉狀蛋白 A 之測定方法及其測定試劑

(57)摘要

本發明之目的在於提供一種可測定源自各種動物物種之血清澱粉狀蛋白 A 之試劑，具體而言，本發明係關於一種包含動物物種交叉性抗血清澱粉狀蛋白 A 單株抗體或其片段之複數種動物物種之血清澱粉狀蛋白 A 測定試劑。



I822683

【發明摘要】

【中文發明名稱】

各種動物之血清澱粉狀蛋白A之測定方法及其測定試劑

【中文】

本發明之目的在於提供一種可測定源自各種動物物種之血清澱粉狀蛋白A之試劑，具體而言，本發明係關於一種包含動物物種交叉性抗血清澱粉狀蛋白A單株抗體或其片段之複數種動物物種之血清澱粉狀蛋白A測定試劑。

【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】

各種動物之血清澱粉狀蛋白A之測定方法及其測定試劑

【技術領域】

【0001】 本發明係關於一種各種動物之血清澱粉狀蛋白A(以下，稱為「SAA」)之測定方法及其測定試劑。

【先前技術】

【0002】 SAA係於澱粉樣變性病中沈積於組織中之澱粉狀蛋白A之前驅蛋白，為分子量約12000之血清蛋白(非專利文獻1)。已明確該SAA之血清值於澱粉樣變性病以外之炎症性疾病中上升，而被評價為靈敏之炎症標記物(非專利文獻2)。

【0003】 又，已知SAA於人類以外之動物物種中亦為重要之炎症標記物(非專利文獻3～7)。

【0004】 例如，專利文獻1揭示自泌乳哺乳類(牛等)之乳房獲得之乳汁之樣品中之SAA蛋白質之量與乳房組織之炎症應答(乳腺炎)水準明確地存在相互關係。專利文獻2揭示基於表現出異常之症狀或行動之哺乳動物(馬等)之血液樣品中之SAA濃度，可區分感染症與非感染性病因。

【0005】 且說，例如專利文獻3記載與人類SAA特異性地結合之單株抗體，又，專利文獻4記載與馬SAA特異性地結合之單株抗體。然而，先前尚未知可使用單株抗體測定源自包含人類在內之各種動物物種之SAA之試劑。

[先前技術文獻]

[專利文獻]

【0006】 專利文獻1：日本專利特表2003-507725號公報

專利文獻2：國際公開第2014/118764號

專利文獻3：日本專利特開平9-67398號公報

專利文獻4：日本專利特開2008-239511號公報

[非專利文獻]

【0007】 非專利文獻1：Husby G.及Natvig J.B., J. Clin. Invest., 1974年, Vol. 53, pp. 1054-1061

非專利文獻2：山田俊幸等人, 臨床檢查, 1988年, 32: 2, pp. 167-172

非專利文獻3：Nunokawa Y.等人, J. Vet. Med. Sci., 1993年, 55 (6), pp. 1011-1016

非專利文獻4：Kajikawa T.等人, J. Vet. Med. Sci., 1996年, 58 (11), pp. 1141-1143

非專利文獻5：Tamamoto T.等人, J. Vet. Med. Sci., 2008年, 70 (11), pp. 1247-1252

非專利文獻6：Petersen H. H.等人, Vet. Res., 2004年, 35 (2), pp. 163-187

非專利文獻7：玉本隆司, 北獸會志, 2014年, 58, pp. 539-543

【發明內容】

[發明所欲解決之問題]

【0008】 鑒於上述實際情況，本發明之目的在於提供一種可測定源自各種動物物種之SAA之試劑。

[解決問題之技術手段]

【0009】 本發明者等人為了解決上述課題而進行了努力研究，結果

於抗人類SAA單株抗體中發現識別源自各種動物物種之SAA之動物物種交叉性單株抗體，從而完成本發明。

【0010】 即，本發明包含以下。

(1)一種SAA之免疫學測定方法，其包括使用包含動物物種交叉性抗SAA單株抗體或其片段之複數種動物物種之SAA測定試劑，而測定SAA之步驟。

(2)如(1)中所記載之方法，其中動物物種交叉性抗SAA單株抗體或其片段係將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近或其他成熟型SAA蛋白質中之其對應之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合。

(3)如(2)中所記載之方法，其中上述抗原決定位係包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第80～90號之胺基酸殘基或其他成熟型SAA蛋白質中之其對應之胺基酸殘基。

(4)如(1)至(3)中任一項所記載之方法，其中複數種動物物種係選自由人類、牛、狗、貓、兔、馬、猴、豬、綿羊、驢及鼠所組成之群中之複數種動物物種。

(5)如(1)至(4)中任一項所記載之方法，其中免疫學測定方法為乳膠免疫凝集法。

(6)一種複數種動物物種之SAA測定試劑，其包含動物物種交叉性抗SAA單株抗體或其片段。

(7)如(6)中所記載之測定試劑，其中動物物種交叉性抗SAA單株抗體或其片段係將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近或其他成熟型SAA蛋白質中之

其對應之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合。

(8)如(7)中所記載之測定試劑，其中上述抗原決定位係包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第80～90號之胺基酸殘基或其他成熟型SAA蛋白質中之其對應之胺基酸殘基。

(9)如(6)至(8)中任一項所記載之測定試劑，其中複數種動物物種係選自由人類、牛、狗、貓、兔、馬、猴、豬、綿羊、驢及鼠所組成之群中之複數種動物物種。

(10)一種動物物種交叉性抗SAA單株抗體或其片段，其係將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近或其他成熟型SAA蛋白質中之其對應之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合。

(11)如(10)中所記載之抗體或其片段，其中上述抗原決定位係包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第80～90號之胺基酸殘基或其他成熟型SAA蛋白質中之其對應之胺基酸殘基。

(12)如(10)或(11)中所記載之抗體或其片段，其中動物物種係選自由人類、牛、狗、貓、兔、馬、猴、豬、綿羊、驢及鼠所組成之群中之複數種動物物種。

(13)一種動物SAA測定用試劑，其包含如(10)至(12)中任一項所記載之抗體或其片段。

【0011】 本說明書包含成為本案之優先權之基礎之日本專利申請編號2017-124578號之揭示內容。

[發明之效果]

【0012】 根據本發明之SAA測定試劑，可於各種動物物種中容易地檢測或測定作為炎症標記物之SAA。

【圖式簡單說明】

【0013】 圖1係表示利用將抗人類SAA多株抗體固定化於粒徑130 nm之聚苯乙烯乳膠所得之乳膠試劑，測定牛檢體之結果之圖。

圖2係表示利用牛檢體之抗人類SAA單株抗體之篩選結果之圖。

圖3係表示利用將確認到與牛SAA之反應之單株抗體(殖株(Clone)15)固定化於粒徑130 nm之聚苯乙烯乳膠所得之乳膠試劑，測定已知人類SAA濃度之血清檢體之稀釋系列之結果之圖。

圖4係表示利用將動物物種交叉性抗SAA單株抗體(殖株15)固定化於粒徑220 nm與粒徑80 nm之兩種聚苯乙烯乳膠並將該等以2：1混合所得之乳膠試劑(SAA-M)，測定已知人類SAA濃度之血清檢體之稀釋系列之結果(校準曲線)之圖，該動物物種交叉性抗SAA單株抗體(殖株15)係將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近或其他成熟型SAA蛋白質中之其對應之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合。

圖5係表示利用將動物物種交叉性抗SAA單株抗體(殖株15)固定化於粒徑220 nm與粒徑80 nm之兩種乳膠並將該等以2：1混合所得之乳膠試劑(SAA-M)，測定牛、狗、貓血清檢體之結果之圖。

圖6表示利用將動物物種交叉性抗SAA單株抗體(殖株15)固定化於粒徑215 nm之聚苯乙烯乳膠所得之乳膠試劑，測定各種動物(牛、馬、猴、驢、綿羊、豬、水豚、鼠及兔)之血清中之SAA之結果。

圖7表示確認基於各種動物(人類、貓、狗、馬、牛、猴、水豚、鼠)之血清檢體之抗人類SAA單株抗體(殖株15、18及21)之反應性之結果。

圖8表示用於抗人類SAA單株抗體(殖株15、18及21)之抗原決定位定位之陣列圖。

圖9表示確認抗人類SAA單株抗體(殖株15、18及21)對於源自成熟型人類SAA1蛋白質之各肽之反應性之結果。

圖10表示確認抗人類SAA單株抗體(殖株15、18及21)對於源自成熟型人類SAA1蛋白質之各肽之反應性之結果。(A)：表示用於抗原決定位定位之陣列中之螢光影像。(B)：表示用於抗原決定位定位之陣列圖。(C)：表示源自成熟型人類SAA1蛋白質之各肽之胺基酸序列比較。

【實施方式】

【0014】 以下，詳細地說明本發明。

本發明之複數種(即，2種以上)動物物種之SAA測定試劑(以下，稱為「本發明之SAA測定試劑」)係包含動物物種交叉性抗SAA單株抗體或其片段者。此處，於本發明中所使用之動物物種交叉性抗SAA單株抗體或其片段(以下，稱為「本發明之單株抗體或其片段」)係可識別源自各種動物物種之SAA並與該蛋白質結合之單株抗體或其片段。根據本發明之SAA測定方法及其SAA測定試劑，可於各種動物物種中以免疫學方式測定作為炎症標記物之SAA。

【0015】 作為本發明之單株抗體或其片段所可識別之SAA，例如可列舉源自人類、牛、狗、貓、兔、馬、猴、豬、綿羊、驢及鼠等動物物種之SAA。

【0016】 又，本發明之單株抗體或其片段較佳為將包含序列編號1

所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近(例如N末端至第76~94號之胺基酸殘基、尤其是N末端至第80~90號之胺基酸殘基)或其他成熟型SAA蛋白質中之其對應之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合者。與該抗原決定位結合之本發明之單株抗體或其片段對複數種動物物種SAA顯示出較高之結合性。關於本發明之單株抗體或其片段作為抗原決定位而結合之與包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近相對應之其他成熟型SAA蛋白質(例如源自人類以外之動物物種之成熟型SAA蛋白質)中之胺基酸殘基，例如可藉由利用先前公知之方法利用成熟型人類SAA1蛋白質之胺基酸序列與其他成熟型SAA蛋白質之胺基酸序列之對準進行之比較而決定。

【0017】 本發明之單株抗體可為任一種免疫球蛋白(Ig)類(IgA、IgG、IgE、IgD、IgM、IgY等)及亞類(IgG1、IgG2、IgG3、IgG4、IgA1、IgA2等)者。又，免疫球蛋白之輕鏈可為 κ 鏈或 λ 鏈中之任一種。

【0018】 又，本發明之單株抗體片段例如包含Fab、Fab'、F(ab')₂、Fv、Fd、Fabc等。此種片段之製作方法於本技術領域中為公知，例如可藉由利用木瓜酶、胃蛋白酶等蛋白酶之抗體分子之消化、或公知之基因工程方法而獲得。

【0019】 本發明之單株抗體可藉由如下方法而獲得：藉由融合法由自經抗原(人類SAA)免疫之非人類哺乳動物獲得之抗體產生細胞(例如脾臟細胞、淋巴系細胞等)與骨髓瘤細胞製作融合瘤，使用包含次黃嘌呤、胺基喋呤及胸苷之選擇培養基(「HAT培養基」)使所獲得之融合瘤增殖，對產生對免疫中所使用之抗原(人類SAA)或該等之片段肽抗原(例如包含

含有序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近之肽抗原)顯示出特異親和性之單株抗體之細胞進行選殖，而獲得抗人類SAA單株抗體產生細胞株，使該抗人類單株抗體產生細胞於小鼠之腹腔內增殖而獲得腹水，自該腹水中將抗體純化。非人類哺乳動物之例為小鼠、大鼠等嚙齒類。又，作為骨髓瘤細胞，較佳地使用源自與進行了免疫致敏之動物相同之動物之細胞，例如可列舉：小鼠骨髓瘤細胞、大鼠骨髓瘤細胞等。抗體產生細胞與骨髓瘤細胞之融合可使用聚乙二醇(PEG)，或使用電融合法進行。

【0020】 所製作之單株抗體可藉由適當組合於本技術領域中公知之方法、例如利用蛋白A或蛋白G管柱之層析法、離子交換層析法、疏水層析法、硫酸銨鹽析法、凝膠過濾、親和層析法等而進行純化。

【0021】 又，本發明係關於一種SAA之免疫學測定方法，其包括使用本發明之SAA測定試劑，而測定SAA之步驟。具體而言，使源自各種動物物種之生物學樣品中之SAA與本發明之SAA測定試劑中之本發明之單株抗體或其片段進行接觸，產生抗原抗體反應，並基於所形成之免疫複合體檢測或測定該樣品中之SAA。

【0022】 此處，作為生物學樣品，只要為含有或有可能含有SAA之生物學樣品即可，例如可列舉：全血、血清、血漿、尿、穿刺液、汗、唾液、淋巴液、腦脊髓液等。

【0023】 又，作為免疫學測定法，例如可列舉：於瓊脂平板內確認由本發明之單株抗體或其片段與生物學樣品中之SAA之結合所引起之免疫複合體之沈澱線之表現之單向放射狀免疫擴散法、使用利用酵素或放射性元素進行標記之本發明之單株抗體或其片段之酵素免疫測定法(EIA)或放

射免疫測定法、以及使用將本發明之單株抗體或其片段固定化所得之不溶性載體之方法等。作為不溶性載體，例如可列舉：聚乙烯或聚苯乙烯等乳膠粒子、氧化鋁粒子、二氧化矽粒子、金膠體、磁性粒子等粒子。該等不溶性載體之中，可適宜地使用乳膠粒子、尤其是聚苯乙烯乳膠粒子。

【0024】 又，作為不溶性載體粒子之粒徑，較佳為50～500 nm，進而較佳為75～350 nm。

【0025】 進而，作為固定化於不溶性載體之方法，可進行作為公知之技術之藉由將抗體或其片段與不溶性載體混合，進行抗體或其片段向不溶性載體之表面之物理吸附，而進行抗體或其片段向不溶性載體之固定化。

【0026】 又，於使用於表面導入有胺基或羧基之不溶性載體之情形時，藉由使用戊二醛或碳二醯亞胺試劑之化學鍵結，可進行抗體或其片段向不溶性載體之表面之固定化。

【0027】 作為使用不溶性載體之方法，例如可列舉：使用將本發明之單株抗體或其片段固定化於乳膠而成之乳膠粒子之乳膠免疫凝集法；使用將本發明之單株抗體或其片段固定化於金膠體而成之金膠體粒子之金膠體凝集比色法；於硝基纖維素膜等薄膜中，使用利用金屬膠體等進行標記之本發明之單株抗體或其片段及捕捉該本發明之單株抗體或其片段與SAA之免疫複合體之捕捉抗體之免疫層析法等。具體而言，於乳膠免疫凝集法中，使將本發明之單株抗體或其片段固定化於乳膠而成之乳膠粒子與生物學樣品中之SAA進行反應，因免疫複合體之形成，乳膠粒子進行凝集，並基於由該乳膠之凝集所引起之濁度之變化而測定SAA。又，於免疫層析法中，於硝基纖維素膜等薄膜中，供給生物學樣品，該生物學樣品中之SAA

於保持利用金屬膠體等進行標記之本發明之單株抗體或其片段之標記試劑保持部與本發明之單株抗體或其片段進行反應而形成免疫複合體，進而免疫複合體因毛細管現象而於薄膜中移動，利用固定於薄膜之特定位置之捕捉抗體捕捉該免疫複合體，並基於由該捕捉所引起之顯色而檢測SAA。

【0028】 如此，本發明之SAA測定試劑係用於SAA之免疫學測定方法者，例如，於免疫學測定法係使用不溶性載體之方法之情形時，本發明之SAA測定試劑可包含含有將本發明之單株抗體或其片段固定化之不溶性載體、例如乳膠之乳膠溶液。於免疫學測定法為免疫層析法之情形時，本發明之SAA測定試劑可用於包含將本發明之單株抗體或其片段固定化之不溶性載體、例如金膠體；及將本發明之單株抗體或其片段固定化之硝基纖維素膜等薄膜之免疫層析裝置(例如具有試樣供給部、保持利用金屬膠體等進行標記之本發明之單株抗體或其片段之標記試劑保持部、及包含固定於特定位置之捕捉抗體之檢測部，且擔載於支持體而成之硝基纖維素膜等薄膜)。

【0029】 又，本發明之SAA測定試劑除本發明之單株抗體或其片段以外，可包含提供免疫反應所需之pH值之緩衝劑、促進免疫反應之反應增強劑、抑制非特異性反應之反應穩定劑或阻斷劑、提高試劑之保存性之疊氮化鈉等防腐劑等。

【0030】 作為緩衝劑，例如可列舉如下所述者。

GOOD緩衝劑：

2-嗎啉基乙磺酸(2-(N-Morpholino)ethanesulfonic acid；簡稱為「MES」)；

哌嗪-雙(2-乙磺酸)(Piperazine-N,N'-bis(2-ethanesulfonic acid)；簡

稱為「PIPES」)；

(2-乙醯胺)-2-胺基乙磺酸(N-(2-Acetamido)-2-aminoethanesulfonic acid；簡稱為「ACES」)；

雙(2-羥基乙基)-2-胺基乙磺酸(N,N-Bis(2-hydroxyethyl)-2-aminoethanesulfonic acid；簡稱為「BES」)；

雙(2-羥基乙基)亞胺基三(羥基甲基)甲烷(Bis(2-hydroxyethyl)iminotris(hydroxymethyl)methane；簡稱為「Bis-Tris」)；

3-[雙(2-羥基乙基)胺基]-2-羥基丙磺酸(3-[N,N-Bis(2-hydroxyethyl)amino]-2-hydroxypropanesulfonic acid；簡稱為「DIPSO」)；

2-羥基乙基哌啶-3-丙磺酸(N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-3-propanesulfonic acid；簡稱為「EPPS」)；

羥基乙基哌啶-2-乙磺酸(N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-ethanesulfonic acid；簡稱為「HEPES」)；

2-羥基乙基哌啶-2-羥基-3-丙磺酸(N-2-Hydroxyethylpiperazine-N'-2-hydroxypropane-3-sulfonic acid；簡稱為「HEPPSO」)；

3-嗎啉基丙磺酸(3-(N-Morpholino)propanesulfonic acid；簡稱為「MOPS」)；

3-嗎啉基-2-羥基丙磺酸(3-(N-Morpholino)-2-hydroxypropanesulfonic acid；簡稱為「MOPSO」)；

哌啶-雙(2-羥基丙磺酸)(Piperazine-N,N'-bis(2-hydroxypropanesulfonic acid)；簡稱為「POPSO」)；

三(羥基甲基)甲基-3-胺基丙磺酸(N-Tris(hydroxymethyl)methyl-3-

aminopropanesulfonic acid；簡稱為「TAPS」)；

三(羥基甲基)甲基-2-羥基-3-胺基丙磺酸(N-Tris(hydroxymethyl)methyl-2-hydroxy-3-aminopropanesulfonic acid；簡稱為「TAPSO」)；

三(羥基甲基)甲基-2-胺基甲磺酸(N-Tris(hydroxymethyl)methyl-2-aminoethanesulfonic acid；簡稱為「TES」)。

其他緩衝劑：

2-胺基-2-羥基甲基-1,3-丙二醇(2-Amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol)(亦稱為三(羥基甲基)胺基甲烷(Tris(hydroxymethyl)aminomethane))；

磷酸緩衝液；

鉍緩衝液。

【0031】該等緩衝劑之中，HEPES或PIPES等GOOD緩衝劑不僅提供對免疫反應有利之pH值，且對蛋白質之影響較小，故而可作為尤佳之緩衝劑而列舉。作為免疫反應所需之pH值，只要為pH值5～11即可，較佳為pH值6～9。

【0032】又，作為反應增強劑，已知有聚乙二醇或硫酸葡聚糖等。進而，作為反應穩定劑或阻斷劑，已知有BSA(牛血清白蛋白)、動物血清、IgG、IgG片段(Fab或Fc)、白蛋白、乳蛋白、胺基酸、聚胺基酸、膽鹼、蔗糖等多糖類、明膠、明膠分解物、酪蛋白、甘油等多元醇等於免疫反應中對反應之穩定化或非特異性反應之抑止較有效。

【0033】包含該等各種成分之本發明之SAA測定試劑可於溶液狀態下、或於乾燥狀態下供給。於在溶液狀態下流通時，為了提高蛋白質之穩

定性，亦可進而添加各種界面活性劑、糖、惰性蛋白質等。該等穩定劑於使試劑乾燥時亦作為穩定劑、或作為賦形劑而較有效。

[實施例]

【0034】 以下，使用實施例更詳細地說明本發明，但本發明之技術範圍並不限定於該等實施例。

【0035】 於以下之比較例及實施例中所使用之各單株抗體針對成熟型人類SAA1蛋白質(序列編號1所表示之胺基酸序列)之抗原決定位係如下所述：

殖株17：N末端至第30號之胺基酸殘基附近；

殖株14：N末端至第15號之胺基酸殘基附近；

殖株15、18：N末端至第90號之胺基酸殘基附近；

殖株21、25：尚不明確。但是，根據與牛SAA之反應推測殖株21係與殖株15等相同。

【0036】 [比較例1]利用固定化有抗人類SAA多株抗體之乳膠試劑之牛檢體之測定

1.目的

利用使抗人類SAA多株抗體固定化於聚苯乙烯乳膠而成之乳膠試劑，確認是否可測定牛SAA。

(1)抗人類SAA多株抗體向聚苯乙烯乳膠粒子之固定化

將抗人類SAA多株抗體固定化於粒徑130 nm之聚苯乙烯乳膠。

上述向聚苯乙烯乳膠粒子之固定化係藉由公知之方法而進行。即，藉由將抗人類SAA多株抗體與聚苯乙烯乳膠混合，使抗人類SAA多株抗體以物理方式吸附於聚苯乙烯乳膠之表面而進行固定化。

【0037】 2.材料、方法

使用上述乳膠試劑，利用日立7170S型自動分析裝置(Hitachi High-Technologies股份有限公司製造)，測定於手術前及手術後經時地採集之牛血漿檢體。測定方法係向血漿檢體2.0 μ L中混合第1試劑(50 mM HEPES緩衝液 pH值7.4)100 μ L，並於37°C下培養5分鐘後，向該混合液中混合第2試劑(包含10 mM HEPES緩衝液 pH值7.4之多株抗體固定化乳膠溶液)100 μ L，於37°C下使之反應，並測定混合第2試劑後約5分鐘之波長800/570 nm(副波長/主波長)之二波長下之吸光度變化。

血漿檢體中之SAA濃度係根據測定已知SAA濃度之試樣所獲得之校準曲線而算出。

【0038】 3.結果

於手術前及手術後經時地採集之牛血漿檢體之SAA值為0.62～1.72 mg/L，而為利用多株抗體製作之SAA試劑之測定範圍(5～500 mg/L)以下(圖1)。

【0039】 4.結論

利用抗人類SAA多株抗體製作之SAA試劑與牛SAA之反應性較低，無法測定牛SAA。如實施例1所示，於使用有多株抗體之EIA中，可測定牛SAA，但於乳膠凝集法中，無法測定。

【0040】 [實施例1]利用牛檢體之單株抗體之篩選**1.目的**

進行與牛SAA反應之單株抗體之篩選。

【0041】 2.材料、方法

將手術前後之牛血漿檢體固相化於微量盤(抗原之固相化)，使抗人類

SAA多株抗體及抗人類SAA單株抗體(專利文獻3之表1所示之殖株14、15、17、18、21、25)反應，其後藉由使POD(peroxidase，過氧化物酶)標記抗兔IgG抗體或POD標記抗大鼠IgG抗體反應之EIA法而確認反應性。

【0042】 3.結果

於與術後第2天之牛血漿檢體之反應性中，按殖株18、殖株21、殖株15、多株抗體之順序增高，於其他殖株中於手術前後之反應性方面未確認到差異(圖2)。

【0043】 4.結論

確認到抗人類SAA多株抗體雖然反應較弱但與牛血漿反應，但單株抗體(殖株17、殖株25)不與急性期之牛血漿檢體反應。篩選中所使用之單株抗體之中，確認到與急性期之牛血漿檢體反應之單株抗體3種殖株(殖株18、殖株21、殖株15)。

【0044】 [實施例2]動物SAA測定用試劑(「SAA-M」)之製作研究與檢體測定

1.目的

進行動物SAA測定用之乳膠試劑之研究。

【0045】 2.材料、方法

使用抗人類SAA單株抗體(殖株15)及聚苯乙烯乳膠(粒徑130 nm或粒徑220 nm與粒徑80 nm)而製作乳膠試劑，測定已知SAA濃度之血清檢體之稀釋系列、及牛、狗、貓血清檢體。作為比較例，亦進行利用市售之LZ Test '榮研'SAA(榮研化學股份有限公司製造)之測定。

【0046】 上述向聚苯乙烯乳膠粒子之固定化係藉由公知之方法而進行。即，藉由將抗人類SAA單株抗體與聚苯乙烯乳膠混合，使抗人類

SAA單株抗體以物理方式吸附於聚苯乙烯乳膠之表面而進行固定化。

【0047】 上述已知SAA濃度之血清檢體(人類SAA)之稀釋系列及牛、狗、貓血清檢體之測定係利用日立7170S型自動分析裝置(Hitachi High-Technologies股份有限公司製造)進行測定。測定方法係向血清檢體2.0 μ L中混合第1試劑(50 mM HEPES緩衝液 pH值7.4)100 μ L，並於37℃下培養5分鐘後，向該混合液中混合第2試劑(包含10 mM HEPES緩衝液 pH值7.4之單株抗體固定化乳膠溶液)100 μ L，於37℃下使之反應，並測定混合第2試劑後約5分鐘之波長800/570 nm(副波長/主波長)之二波長下之吸光度變化。

【0048】 牛、狗、貓血清檢體中之SAA濃度係根據測定已知SAA濃度之試樣所獲得之校準曲線而算出。

【0049】 3.結果

3-1.利用單株抗體之試劑化

利用使單株抗體(殖株15)固定化於粒徑130 nm之聚苯乙烯乳膠所得之SAA試劑，測定已知SAA濃度之血清檢體(人類SAA)之稀釋系列之結果示於圖3。於固定化有殖株15之SAA試劑中，確認到稀釋系列之吸光度變化量(Δ Abs)之變動，而可製作校準曲線。

【0050】 製作將殖株15之單株抗體固定化於粒徑220 nm與粒徑80 nm之兩種乳膠並將該等以2：1混合所得之乳膠試劑(SAA-M)，將測定已知SAA濃度之血清檢體之稀釋系列之結果(校準曲線)示於圖4。

【0051】 3-2.動物檢體之測定

將測定牛、狗、貓血清檢體之結果示於圖5。又，於將殖株15之單株抗體固定化於粒徑220 nm與粒徑80 nm之兩種乳膠而製作之乳膠試劑

(SAA-M)，可測定牛、狗、貓之SAA。相對於此，關於利用LZ Test '榮研' SAA(LZ-SAA)之牛及狗血清，不管是任一種血清檢體，均為LZ Test '榮研' SAA之測定範圍以下，利用LZ Test '榮研'SAA未能測定牛及狗SAA。又，於狗檢體中，變動大於使用市售之狗用CRP(C Reactive Protein，C-反應性蛋白質)測定試劑所得之值，且於貓檢體中，與利用LZ Test '榮研'SAA測定之結果相比，亦顯示出較大之變動。

【0052】 4.結論

藉由使用將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合之單株抗體(殖株15)，可製作與牛、狗、貓反應之SAA乳膠試劑。

【0053】 [實施例3]各種動物之檢體中之SAA之測定

1.目的

確認是否可利用將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合之單株抗體(殖株15)而測定各種動物之SAA。

【0054】 2.材料、方法

使用擔載有殖株15之單株抗體之乳膠試劑(動物SAA試劑)而測定各種動物之檢體中之SAA。

【0055】 又，作為比較例，使用實施例2中所記載之LZ Test '榮研'SAA(LZ-SAA)，同樣地進行測定。關於未確認到於LZ Test '榮研'SAA(LZ-SAA)中之反應之動物物種(兔)，作為參考而與SAA同樣地進行於炎症性疾病中上升之CRP之測定。

【0056】 上述動物SAA試劑除使用粒徑215 nm之聚苯乙烯乳膠以

外，與實施例2同樣地製備。

【0057】 各種動物之檢體中之SAA測定係利用日立7170S型自動分析裝置(Hitachi High-Technologies股份有限公司製造)而進行測定。測定方法係向各種檢體3.0 μL 中混合第1試劑(50 mM HEPES緩衝液 pH值7.4)100 μL ，並於37°C下培養5分鐘後，向該混合液中混合第2試劑(包含10 mM HEPES緩衝液 pH值7.4之單株抗體固定化乳膠溶液)100 μL ，於37°C下使之反應，並測定混合第2試劑後約5分鐘之波長600 nm下之吸光度變化。

【0058】 各種動物之檢體中之SAA濃度係根據測定已知SAA濃度之試樣所獲得之校準曲線而算出。

【0059】 3.結果

將測定結果示於圖6。

於比較例(LZ Test '榮研'SAA)中無法測定(測定感度以下)，相對於此，藉由使用動物SAA試劑(將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合之殖株15之單株抗體：相當於「本發明之SAA測定試劑」)，可測定各種動物(牛、馬、猴、驢、綿羊、豬、鼠、兔)之檢體中之SAA。

【0060】 4.結論

藉由使用動物SAA試劑(殖株15之單株抗體)，可測定各種動物之檢體中之SAA。

【0061】 [實施例4]使用自各種殖株獲得之抗體之SAA試劑之評價

1.目的

確認由將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合之殖株18及殖株21獲得之單株抗體是否可與殖株15之單株抗體同樣地，測定各種動物之檢體中之SAA。

【0062】 2.材料、方法

將各種動物血清(人類、貓、狗、馬、牛、猴、水豚、鼠)固相化於微量盤(抗原之固相化)，使由殖株15、殖株18及殖株21獲得之抗SAA單株抗體反應，其後藉由使POD標記抗大鼠IgG抗體反應之EIA法而確認反應性。

【0063】 3.結果

將測定結果示於圖7。圖7之表中之「○」、「×」表示反應之有無(有：○、無：×)。又，關於圖7之表中之「盲檢修正值」，亦考慮偏差，於盲檢修正值為0.020以上之情形時判斷為反應(+)。

【0064】 「本發明之將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合之殖株18之單株抗體」及「本發明之將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合之殖株21之單株抗體」與「本發明之將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質中之N末端至第90號之胺基酸殘基附近作為抗原決定位而與SAA結合之殖株15之單株抗體」同樣地可測定各種動物之檢體中之SAA。進而，如圖7之圖表所示，殖株18相對於殖株15之相關係數為0.982，殖株21相對於殖株15之相關係數為0.975。

【0065】 4.結論

提示殖株18之單株抗體與殖株21之單株抗體顯示出與殖株15之單株

抗體同等之性能。

【0066】 [實施例5]由各種殖株獲得之抗體之抗原決定位定位

1.目的

確認由殖株15、殖株18及殖株21獲得之單株抗體將哪種胺基酸序列作為抗原決定位而與包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類SAA1蛋白質結合。

【0067】 2.材料、方法

如表1及圖8所示，藉由將源自成熟型人類SAA1蛋白質之各肽固相化於載玻片(抗原之固相化)，而製作陣列。

【0068】 繼而，於使由殖株15、殖株18及殖株21獲得之抗SAA單株抗體與陣列上之各肽反應後，使生物素標記山羊抗大鼠IgG抗體反應。其後，使螢光標記抗生蛋白鏈菌素與陣列反應，並確認抗SAA單株抗體對於各肽之反應性。

【0069】 [表1]

No.	序列	SEQ ID NO：1 中之位置	SEQ ID NO：
肽#1	HGAEDSLADQAANEWGRSGKDPNHF	71～95	2
肽#2	HGAEDSLADQAANEW	71～85	3
肽#3	GAEDSLADQAANEWG	72～86	4
肽#4	AEDSLADQAANEWGR	73～87	5
肽#5	EDSLADQAANEWGRS	74～88	6
肽#6	DSLADQAANEWGRSG	75～89	7
肽#7	SLADQAANEWGRSGK	76～90	8
肽#8	LADQAANEWGRSGKD	77～91	9
肽#9	ADQAANEWGRSGKDP	78～92	10
肽#10	DQAANEWGRSGKDPN	79～93	11
肽#11	QAANEWGRSGKDPNH	80～94	12
肽#12	AANEWGRSGKDPNHF	81～95	13

陽性對照
生物素-BSA
大鼠IgG(Raybiotech)
陰性對照
0.1% BSA-PBS

【0070】再者，表1及圖8中之陽性對照係如下所述：

生物素-BSA：代替源自成熟型人類SAA1蛋白質之各肽，將生物素標記BSA固相化於載玻片而成者；

大鼠IgG(Raybiotech)：代替源自成熟型人類SAA1蛋白質之各肽，將生物素標記山羊抗大鼠IgG抗體固相化於載玻片而成者。

【0071】 3.結果

將結果示於圖9及10。

如圖9及10所示，由殖株15、殖株18及殖株21獲得之抗SAA單株抗體對肽#7～#11顯示出良好之結合性。

【0072】 4.結論

由於由殖株15、殖株18及殖株21獲得之抗SAA單株抗體對肽#7～#11顯示出良好之結合性，故而提示將於肽#7～#11中共通之胺基酸序列(QAANEWGRSGK：序列編號14)作為抗原決定位而與成熟型人類SAA1蛋白質結合(圖10C)。該抗原決定位相當於序列編號1所表示之胺基酸序列中之N末端至第80～90號之胺基酸序列。

【0073】本說明書中所引用之所有刊物、日本專利及日本專利申請係直接藉由引用而併入至本說明書中。

【序列表】

- <110> 日商榮研化學股份有限公司
- <120> 各種動物之血清澱粉狀蛋白A之測定方法及其測定試劑
- <130> PH-7359-PCT
- <150> JP 2017-124578
- <151> 2017-06-26
- <160> 14
- <170> PatentIn第3.5版
- <210> 1
- <211> 104
- <212> PRT
- <213> 智人
- <400> 1

Arg Ser Phe Phe Ser Phe Leu Gly Glu Ala Phe Asp Gly Ala Arg Asp
1 5 10 15

Met Trp Arg Ala Tyr Ser Asp Met Arg Glu Ala Asn Tyr Ile Gly Ser
20 25 30

Asp Lys Tyr Phe His Ala Arg Gly Asn Tyr Asp Ala Ala Lys Arg Gly
35 40 45

Pro Gly Gly Val Trp Ala Ala Glu Ala Ile Ser Asp Ala Arg Glu Asn
50 55 60

Ile Gln Arg Phe Phe Gly His Gly Ala Glu Asp Ser Leu Ala Asp Gln
65 70 75 80

Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly Lys Asp Pro Asn His Phe Arg
85 90 95

Pro Ala Gly Leu Pro Glu Lys Tyr
100

<210> 2
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 2

His Gly Ala Glu Asp Ser Leu Ala Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly
1 5 10 15

Arg Ser Gly Lys Asp Pro Asn His Phe
20 25

<210> 3
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 3

His Gly Ala Glu Asp Ser Leu Ala Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp
1 5 10 15

<210> 4
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 4

Gly Ala Glu Asp Ser Leu Ala Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly
1 5 10 15

<210> 5
<211> 15
<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 5

Ala Glu Asp Ser Leu Ala Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg
1 5 10 15

<210> 6

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 6

Glu Asp Ser Leu Ala Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser
1 5 10 15

<210> 7

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 7

Asp Ser Leu Ala Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly
1 5 10 15

<210> 8

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 8

Ser Leu Ala Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly Lys

1

5

10

15

<210> 9

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 9

Leu Ala Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly Lys Asp

1 5 10 15

<210> 10

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 10

Ala Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly Lys Asp Pro

1 5 10 15

<210> 11

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>

<223> 合成

<400> 11

Asp Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly Lys Asp Pro Asn

1 5 10 15

<210> 12

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 12

Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly Lys Asp Pro Asn His
1 5 10 15

<210> 13
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工

<220>
<223> 合成

<400> 13

Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly Lys Asp Pro Asn His Phe
1 5 10 15

<210> 14
<211> 11
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14

Gln Ala Ala Asn Glu Trp Gly Arg Ser Gly Lys
1 5 10

【發明申請專利範圍】

【第1項】

一種血清澱粉狀蛋白A之免疫學測定方法，其包括使用包含動物物種交叉性抗血清澱粉狀蛋白A單株抗體或其片段之複數種動物物種之血清澱粉狀蛋白A測定試劑，而測定血清澱粉狀蛋白A之步驟，

上述動物物種交叉性抗血清澱粉狀蛋白A單株抗體或其片段係將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類血清澱粉狀蛋白A1蛋白質中之N末端至第80～90號之胺基酸殘基或源自人類以外之動物物種之成熟型血清澱粉狀蛋白A蛋白質中之其對應之胺基酸殘基作為抗原決定位而與血清澱粉狀蛋白A結合。

【第2項】

如請求項1之方法，其中複數種動物物種係選自由人類、牛、狗、貓、兔、馬、猴、豬、綿羊、驢及鼠所組成之群中之複數種動物物種。

【第3項】

如請求項1或2之方法，其中免疫學測定方法為乳膠免疫凝集法。

【第4項】

一種複數種動物物種之血清澱粉狀蛋白A測定試劑，其包含動物物種交叉性抗血清澱粉狀蛋白A單株抗體或其片段，

上述動物物種交叉性抗血清澱粉狀蛋白A單株抗體或其片段係將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類血清澱粉狀蛋白A1蛋白質中之N末端至第80～90號之胺基酸殘基或源自人類以外之動物物種之成熟型血清澱粉狀蛋白A蛋白質中之其對應之胺基酸殘基作為抗原決定位而與血清澱粉狀蛋白A結合。

【第5項】

如請求項4之測定試劑，其中複數種動物物種係選自由人類、牛、狗、貓、兔、馬、猴、豬、綿羊、驢及鼠所組成之群中之複數種動物物種。

【第6項】

一種動物物種交叉性抗血清澱粉狀蛋白A單株抗體或其片段，其係將包含序列編號1所表示之胺基酸序列之成熟型人類血清澱粉狀蛋白A1蛋白質中之N末端至第80～90號之胺基酸殘基或源自人類以外之動物物種之成熟型血清澱粉狀蛋白A蛋白質中之其對應之胺基酸殘基作為抗原決定位而與血清澱粉狀蛋白A結合。

【第7項】

如請求項6之抗體或其片段，其中動物物種係選自由人類、牛、狗、貓、兔、馬、猴、豬、綿羊、驢及鼠所組成之群中之複數種動物物種。

【第8項】

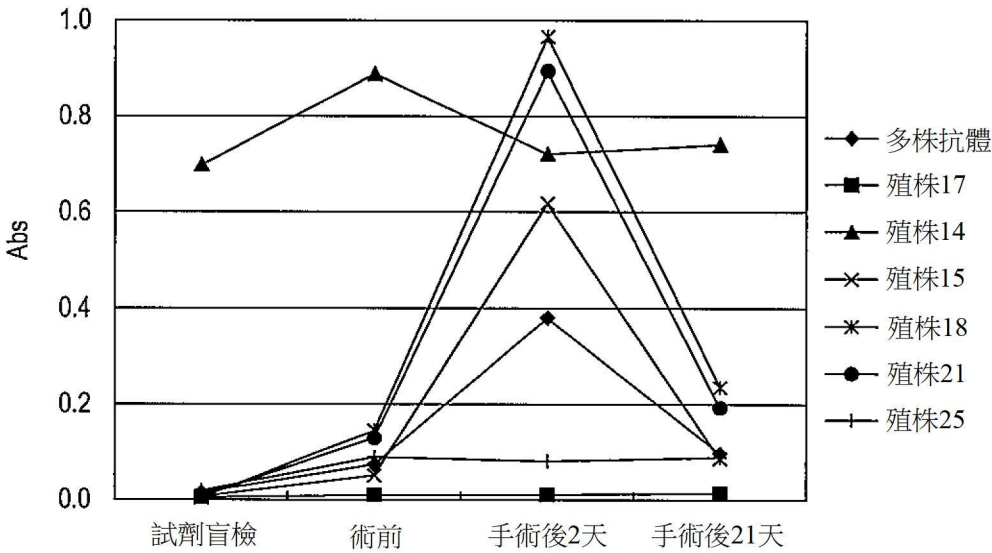
一種動物血清澱粉狀蛋白A測定用試劑，其包含如請求項6或7之抗體或其片段。

【發明圖式】

牛	經過	檢體	SAA測定值 (mg/L)
1	術前	血漿	0.76
	手術	血漿	0.62
	手術後0小時	血漿	0.63
	手術後3小時	血漿	0.62
	手術後6小時	血漿	0.94
	手術後9小時	血漿	1.32
	手術後1天	血漿	1.62
	手術後2天	血漿	1.72
	手術後3天	血漿	1.67
	手術後4天	血漿	1.57
	手術後5天	血漿	1.66
	手術後6天	血漿	1.69
	手術後7天	血漿	1.60
	手術後14天	血漿	1.06
	手術後21天	血漿	1.09

【圖1】

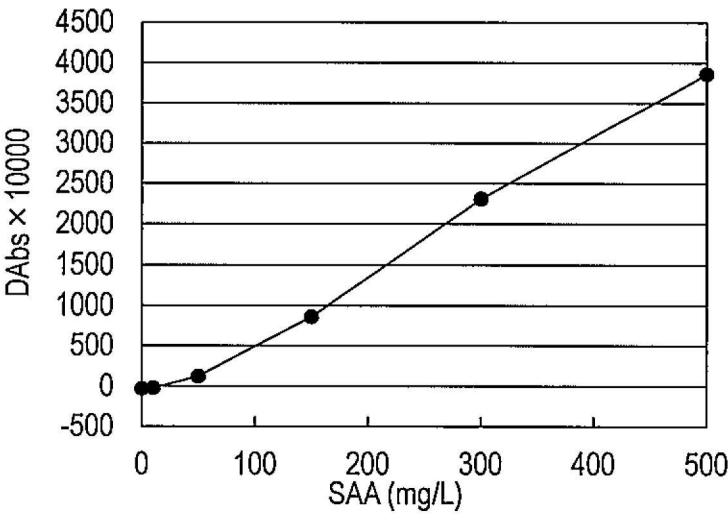
牛1	多株抗體	單株抗體					
		殖株17	殖株14	殖株15	殖株18	殖株21	殖株25
測定結果(Abs)							
試劑盲檢	0.0155	0.0050	0.6990	0.0075	0.0055	0.0070	0.0200
術前	0.0740	0.0100	0.8885	0.0515	0.1450	0.1295	0.0890
手術後2天	0.3805	0.0110	0.7220	0.6180	0.9665	0.8940	0.0805
手術後21天	0.0970	0.0145	0.7420	0.0860	0.2360	0.1925	0.0885
測定結果-試劑盲檢(ΔAbs)							
試劑盲檢	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
術前	0.0585	0.0050	0.1895	0.0440	0.1395	0.1225	0.0690
手術後2天	0.3650	0.0060	0.0230	0.6105	0.9610	0.8870	0.0605
手術後21天	0.0815	0.0095	0.0430	0.0785	0.2305	0.1855	0.0685



【圖2】

植株	植株15
乳膠濃度	0.10%
SAA濃度(mg/L)	
0	-29
10	-20
50	128
150	864
300	2312
500	3864

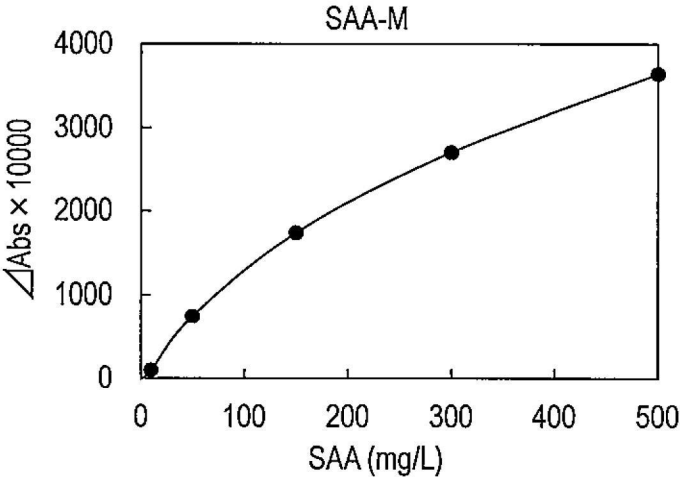
單位： Δ Abs $\times$ 10000



【圖3】

標準品 (mg/L)	SAA-M (Δ Abs*)
0	-10
0	-8
10	108
10	106
50	729
50	772
150	1743
150	1744
300	2701
300	2705
500	3615
500	3678

*: Δ Abs $\times$ 10000



【圖4】

動物 物種	檢體No.	參考(CRP)		SAA測定值	
		狗用CRP	人類用CRP	LZ-SAA	SAA-M
		mg/dL	mg/dL	mg/L	mg/L
牛	1			0.9	23.2
	2		0.00	2.3	172.9
狗	1	0.00	3.97	0.9	191.8
	2	0.10	0.00	0.3	1.0
	3	0.00	0.01	0.4	0.7
	4	0.20	0.00	0.4	0.4
	5	0.15	0.00	0.3	0.6
	6	OR	3.59	1.0	101.5
	7	9.40	4.02	1.1	299.6
	8	5.50	3.85	1.1	166.8
	9	9.40	3.98	1.1	5.9
	10	3.65	1.82	0.8	19.5
	11	8.00	4.11	1.3	132.4
	12	5.00	3.80	1.1	98.2
	13	4.80	3.54	0.6	41.5
	14	12.00	3.94	1.5	185.4
	15	7.80	4.12	0.7	778.2
	16	12.00	3.76	1.1	47.1
	17		0.00	1.1	55.6
	18		3.87	0.9	584.7
	19		4.19	1.0	142.8
	20		3.67	1.5	236.1
貓	1		0.00	0.5	4.5
	2		0.00	0.6	3.1
	3		0.00	0.5	2.8
	4		0.01	0.7	5.3
	5		0.00	1.0	21.7
	6		0.01	70.3	255.4
	7		0.00	76.1	473.4
	8		0.00	75.3	441.2
	9		0.00	7.1	315.7
	10		0.00	12.6	447.3
	11		0.00	13.4	314.5
	12		0.00	10.2	304.8
	13		0.00	57.3	668.2
	14		0.00	91.4	710.3
	15		0.00	105.9	367.2

空欄表示未進行測定。

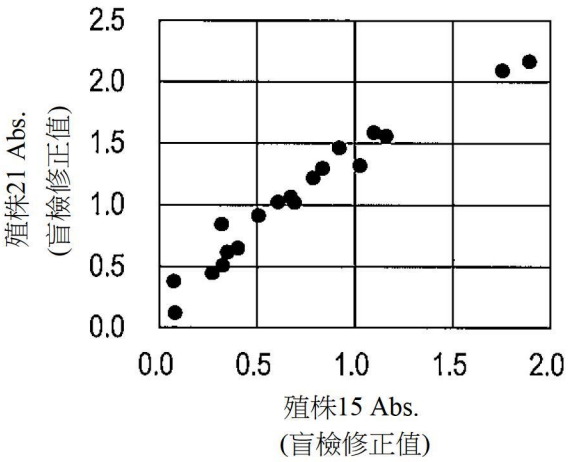
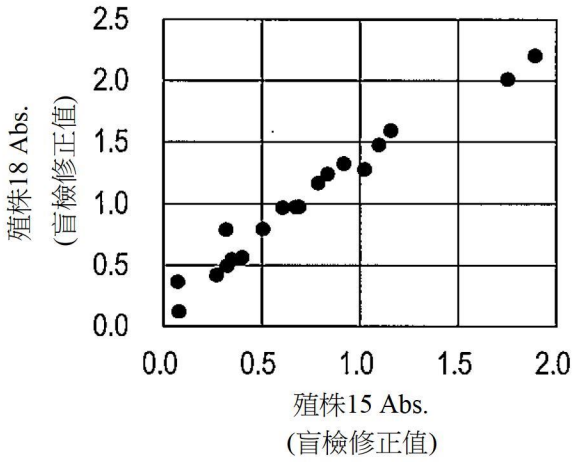
【圖5】

動物物種	檢體 No.	動物SAA 試劑 (mg/L)	比較例* (LZ-SAA) (mg/L)	參考例 (CRP) (mg/L)	動物物種	檢體 No.	動物SAA 試劑 (mg/L)	比較例* (LZ-SAA) (mg/L)	參考例 (CRP) (mg/L)
牛	1	42.9	2.1		猴	1	0.8	0.0	
	2	138.6	0.8			2	1.5	0.2	
	3	11.9	1.2			3	7.6	0.8	
	4	49.7	1.1			4	22.1	1.2	
	5	92.7	1.2			5	15.0	0.8	
	6	46.0	1.3			6	20.3	8.6	
	7	40.8	0.0			7	1180.5	0.1	
	8	174.1	0.0			8	198.5	1.6	
	9	61.6	0.0			9	1.4	0.0	
	10	12.6	0.0			10	0.6	0.0	
	11	28.2	0.0			11	0.9	0.0	
	12	40.7	0.0			12	30.0	13.4	
	13	111.9	0.0			13	3.0	0.0	
	14	138.8	0.0		驢		6.5	0.0	
	15	28.9	0.7		綿羊		0.1	0.7	
	16	6.5	0.4		豬		2.6	0.0	
馬	1	3.5	3.0		水豚	1	0.6	0.0	
	2	23.3	7.5			2	0.9	0.0	
	3	3.1	1.8		鼠	1	0.6	0.0	
	4	0.0	2.0			4	2.4	1.0	
	5	15.1	11.5			3	1.3	0.0	
	6	4.8	0.8			2	0.9	0.0	
	7	2.1	1.5			5	0.5	0.0	
	8	1.8	0.0			6	1.0	0.0	
	9	4257.4	3624.9		兔	1	1.7		0.3
	10	223.2	293.6			2	25.5		56.7
	11	56.3	85.2			3	18.1		97.6
	12	2055.0	1804.8			4	613.7		53.5
	13	352.9	394.5			5	28.3		57.0
	14	67.0	78.7			6	0.0		7.1
	15	60.8	72.0			7	7.9		14.6
	16	45.7	44.2			8	52.5		10.1
	17	109.3	153.4			9	62.2		77.2
	18	199.5	251.0			10	19.0		71.6
	19	75.3	72.5			11	349.5		213.4
	20	3791.1	5492.7			12	10.0		8.3

*比較例(LZ Test '榮研'SAA)
空欄表示未進行測定。

【圖6】

		動物SAA 試劑	LZ-SAA 試劑	殖株15		殖株18		殖株21	
				測定結果 (Abs.)	盲檢 修正値	測定結果 (Abs.)	盲檢 修正値	測定結果 (Abs.)	盲檢 修正値
盲檢(n3平均)		-	-	0.008	-	0.084	-	0.092	-
人類	A	○	○	1.097	1.097	1.477	1.477	1.587	1.587
	B	○	○	1.158	1.158	1.592	1.592	1.557	1.557
貓	A	○	○	0.400	0.400	0.566	0.566	0.649	0.649
	B	○	○	1.024	1.024	1.280	1.280	1.321	1.321
狗	A	○	×	0.506	0.506	0.795	0.795	0.915	0.915
	B	○	×	0.834	0.834	1.243	1.243	1.297	1.297
馬	A	○	○	0.786	0.786	1.168	1.168	1.220	1.220
	B	○	○	0.271	0.271	0.422	0.422	0.448	0.448
牛	A	○	×	1.753	1.753	2.011	2.011	2.092	2.092
	B	○	×	0.318	0.318	0.791	0.791	0.843	0.843
猴	A	○	○	0.606	0.606	0.970	0.970	1.025	1.025
	B	○	○	0.323	0.323	0.496	0.496	0.512	0.512
	C	○	×	0.918	0.918	1.325	1.325	1.462	1.462
	D	○	×	0.348	0.348	0.548	0.548	0.616	0.616
	E	○	×	0.690	0.690	0.978	0.978	1.021	1.021
	F	○	×	0.671	0.671	0.975	0.975	1.065	1.065
水豚	A	○	×	0.079	0.079	0.121	0.121	0.120	0.120
鼠	A	○	×	1.892	1.892	2.204	2.204	2.168	2.168
	B	○	×	0.073	0.073	0.365	0.365	0.380	0.380



【圖7】

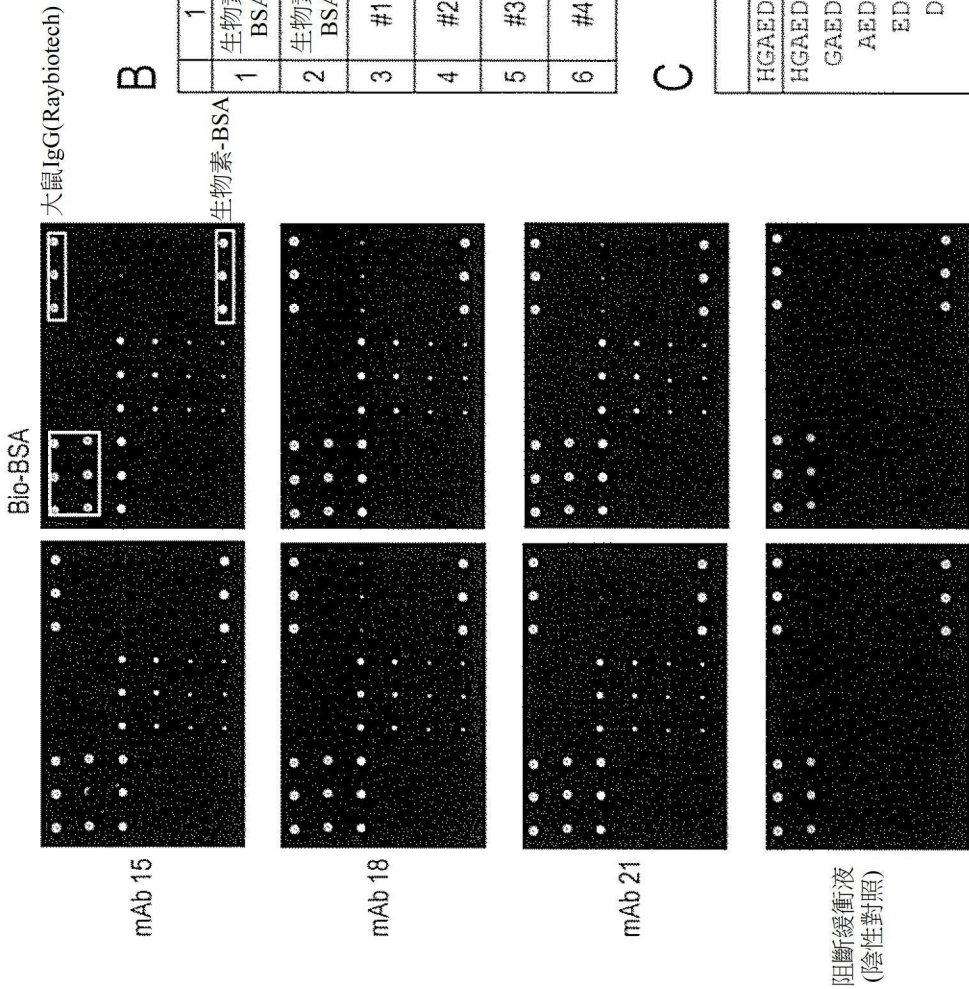
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	生物素-BSA	生物素-BSA	生物素-BSA	#5	#5	#5	大鼠IgG (Raybio)	大鼠IgG (Raybio)	大鼠IgG (Raybio)
2	生物素-BSA	生物素-BSA	生物素-BSA	#6	#6	#6			
3	#1	#1	#1	#7	#7	#7	#11	#11	#11
4	#2	#2	#2	#8	#8	#8	#12	#12	#12
5	#3	#3	#3	#9	#9	#9	0.1% BSA-PBS	0.1% BSA-PBS	0.1% BSA-PBS
6	#4	#4	#4	#10	#10	#10	生物素-BSA	生物素-BSA	生物素-BSA

【圖8】

信號雜音比						
目標名稱	15 50μg/mL	15 50μg/mL	18 50μg/mL	18 50μg/mL	21 50μg/mL	21 50μg/mL
	無背景	無背景	無背景	無背景	無背景	無背景
POS	136809.21	136809.21	136809.21	136809.21	136809.21	136809.21
#1	671.82	1422.39	915.90	1330.47	810.13	1255.83
#2	5.57	7.65	7.39	7.42	7.85	8.82
#3	0.18	0.18	0.42	0.49	0.30	0.33
#4	0.02	0.50	0.77	1.92	0.16	0.37
#5	2.00	4.78	8.24	12.02	1.49	4.92
#6	2.15	4.30	8.17	15.03	1.54	2.43
#7	757.19	1155.59	425.54	928.40	323.44	935.53
#8	822.75	1548.83	738.62	1143.15	673.33	1380.64
#9	325.52	394.50	306.34	550.46	371.41	630.65
#10	374.18	599.71	374.32	509.00	470.01	805.49
#11	40.74	54.10	104.97	148.58	65.94	99.02
#12	0.32	2.21	0.58	2.29	0.24	0.28

【圖9】

A



B

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	生物素-BSA	生物素-BSA	生物素-BSA	#5	#5	#5	大鼠IgG (Raybio)	大鼠IgG (Raybio)	大鼠IgG (Raybio)
2	生物素-BSA	生物素-BSA	生物素-BSA	#6	#6	#6			
3	#1	#1	#1	#7	#7	#7	#11	#11	#11
4	#2	#2	#2	#8	#8	#8	#12	#12	#12
5	#3	#3	#3	#9	#9	#9	0.1% BSA-PBS	0.1% BSA-PBS	0.1% BSA-PBS
6	#4	#4	#4	#10	#10	#10	生物素-BSA	生物素-BSA	生物素-BSA

C

序列		肽	SEQ ID NO:
HGAEDSLADQAANEWGRSGKDPNHE	#1	#1	2
HGAEDSLADQAANEW	#2	#2	3
GAEDSLADQAANEWG	#3	#3	4
AEDSLADQAANEWGR	#4	#4	5
EDSLADQAANEWGRS	#5	#5	6
DSLADQAANEWGRSG	#6	#6	7
SLADQAANEWGRSGK	#7	#7	8
LADQAANEWGRSGKD	#8	#8	9
ADQAANEWGRSGKDP	#9	#9	10
DQAANEWGRSGKDPN	#10	#10	11
QAANEWGRSGKDPNH	#11	#11	12
AAANEWGRSGKDPNHE	#12	#12	13

【圖10】