



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115785263 A

(43) 申请公布日 2023.03.14

(21) 申请号 202210302646.X

(22) 申请日 2021.09.10

(62) 分案原申请数据

202111063235.1 2021.09.10

(71) 申请人 广东菲鹏生物有限公司

地址 523808 广东省东莞市松山湖高新技术产业开发区花莲路5号1号厂房7楼

申请人 菲鹏生物股份有限公司

(72) 发明人 刘春艳 张翼 易嘉乐 罗沛

钟振宇 李瑞净 刘旭霞 秦汤

吴仁贞 阳馨滢

(51) Int. Cl.

C07K 16/10 (2006.01)

G01N 33/577 (2006.01)

G01N 33/569 (2006.01)

权利要求书1页 说明书8页

(54) 发明名称

一种新冠抗体或其抗原结合片段及其应用

(57) 摘要

本发明涉及一种新冠抗体或其抗原结合片段及其应用。本发明提供的抗体灵敏度高、特异性好,无交叉反应,对新型冠状病毒的诊断具有重要作用。

1. 一种抗体对,其特征在于,所述抗体对包含抗体1和抗体2,所述抗体1和抗体2结合SARS-CoV-2核衣壳蛋白第44-180位氨基酸片段。

2. 如权利要求1所述的抗体对,其特征在于,所述抗体1和抗体2均不结合SARS-CoV-2核衣壳蛋白第44-84位氨基酸片段、第65-103位氨基酸片段、第96-136位氨基酸片段、及第130-180位氨基酸片段。

3. 一种抗体对,其特征在于,所述抗体对包含抗体1和抗体2,所述抗体1结合SARS-CoV-2核衣壳蛋白第44-180位氨基酸片段;所述抗体2结合SARS-CoV-2核衣壳蛋白第65-103位氨基酸片段。

4. 如权利要求3所述的抗体对,其特征在于,所述抗体1不结合SARS-CoV-2核衣壳蛋白第44-84位氨基酸片段、第65-103位氨基酸片段、第96-136位氨基酸片段、及第130-180位氨基酸片段。

5. 如权利要求4所述的抗体对,其特征在于,所述抗体2不结合SARS-CoV-2核衣壳蛋白第44-84位氨基酸片段和第96-136位氨基酸片段。

6. 如权利要求1-5任一项所述的抗体对,其特征在于,所述抗体1为包被抗体,抗体2为标记抗体。

7. 权利要求6所述的抗体对,其特征在于,所述标记抗体任选地用可检测的标记物标记。

8. 权利要求7所述的抗体对,其特征在于,所述可检测的标记例如胶体金、放射性标记、发光物质、有色物质、酶,例如荧光标记、发色团标记、电子致密标记,例如放射性同位素、荧光团、罗丹明及其衍生物、荧光素酶、荧光素、辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、葡糖淀粉酶、溶菌酶、糖类氧化酶、葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶,和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶,生物素/抗生物素蛋白,自旋标记。

9. 一种试剂盒,其特征在于,所述试剂盒包含如权利要求1-8任一项所述的抗体对。

10. 如权利要求1-8任一项所述的抗体对在制备试剂盒中的应用。

一种新冠抗体或其抗原结合片段及其应用

[0001] 本案是为分案申请，原申请的申请日为2021年9月10日，申请号为202111063235.1，发明名称为“一种新冠抗体或其抗原结合片段及其应用”。

技术领域

[0002] 本发明属于蛋白检测领域。更具体地，涉及一种新冠抗体或其抗原结合片段及其应用。

背景技术

[0003] 冠状病毒是一种有囊膜的单股正链RNA病毒。根据冠状病毒的遗传学进化、血清学和宿主特异性差异，冠状病毒分为四个属： α -冠状病毒属、 β -冠状病毒属、 γ 冠状病毒属和 δ 冠状病毒属。 β 冠状病毒属的病毒又可以分为A、B、C、D四个组群。 α 和 β 冠状病毒主要感染包括人类、家畜、宠物在内的哺乳动物， γ 和 δ 冠状病毒主要感染鸟类及哺乳动物。新型冠状病毒属于 β -冠状病毒属，从进化树位置上看，2019-nCoV与SARS和类SARS病毒的类群相邻，它们在进化上共同的外类群是一个寄生于果蝠的HKU9-1冠状病毒。2019-nCoV有包膜，颗粒呈圆形或椭圆形，常为多形性，直径50-200nm。

[0004] SARS-CoV-2属于冠状病毒科，为不分节段的单股正链RNA病毒。它编码两个大的重叠开放阅读框(ORF1a和ORF1b)，4种结构蛋白(S、E、M和N蛋白)，以及9种辅助蛋白。其中，N蛋白是病毒粒子的核心成分，它与病毒基因组RNA结合，将RNA包装成核糖核蛋白(RNP)复合物。除了组装外，N蛋白还在病毒mRNA转录和复制中发挥重要作用，并参与免疫调节。有研究报告N蛋白可以与双链RNA结合而具有RNAi抑制活性，可以对抗宿主RNAi介导的抗病毒反应，同时，N蛋白还可诱导感染后的体液和细胞免疫应答，使其成为早期快速诊断和疫苗研发的关键靶标。

[0005] SARS-CoV-2N蛋白全长419个氨基酸，大小为43-50kDa。N蛋白有三个相对保守的结构域，其中一域可与病毒基因组RNA相互缠绕形成病毒核衣壳，在病毒RNA的合成过程中发挥着重要的作用，与病毒基因组复制和调节细胞信号通路有关。N蛋白是一个磷酸化蛋白，磷酸化能够调节N蛋白的构象，增强与病毒蛋白的构象，增强与病毒RNA的亲合力。在核衣壳包装过程中，N蛋白可与M蛋白相互作用，促进核衣壳包装成病毒粒子。感染早期机体就能产生抗N蛋白的高水平抗体，可以利用N蛋白建立快速检测2019-nCoV血清抗体方法。因此N蛋白常作为冠状病毒诊断检测工具，是免疫学快速诊断试剂的核心原料。

[0006] 综上所述，2019-nCoV N蛋白检测对新型冠状病毒的诊断具有重要作用，开发用于2019-nCoV N蛋白检测的单克隆抗体具有重要意义。

发明内容

[0007] 本发明的目的是提供一种新冠抗体或其抗原结合片段及其应用。

[0008] 在一些实施方案中，本发明可以包括下述一项或多项：

[0009] 一种抗体或其抗原结合片段，其中，所述抗体或其抗原结合片段结合 SARS-CoV-2

核衣壳蛋白第44-180位氨基酸片段。

[0010] 以及在一些实施方案中,所述抗体或其抗原结合片段进一步地不结合 SARS-CoV-2核衣壳蛋白第44-84位氨基酸片段、第65-103位氨基酸片段、第 96-136位氨基酸片段、及第130-180位氨基酸片段。

[0011] 本发明的另一目的是提供了一种抗体对,包含如上所述的抗体或其抗原结合片段。

[0012] 本发明还提供了包含所述氨基酸片段的融合蛋白、核酸分子、表达载体构建物及宿主细胞。

[0013] 本发明还提供了一种试剂盒,包含上述所述的抗体、所述抗体对、所述融合蛋白、所述核酸分子、所述表达载体构建物或所述宿主细胞。

[0014] 本发明还提供了上述所述的抗体或其抗原结合片段,或者所述抗体对在制备试剂盒中的应用。

[0015] 本发明还提供了一种制备所述抗体的方法。

[0016] 本发明提供的抗体灵敏度高、特异性好,无交叉反应,对新型冠状病毒的诊断具有重要作用。

具体实施方式

[0017] 本发明涉及一种抗体或其抗原结合片段,其中,所述抗体或其抗原结合片段结合 SARS-CoV-2核衣壳蛋白第44-180位氨基酸片段,以及所述抗体或其抗原结合片段还可以进一步地不结合SARS-CoV-2核衣壳蛋白第44-84位氨基酸片段、第65-103位氨基酸片段、第96-136位氨基酸片段、及第130-180位氨基酸片段。

[0018] 在本发明中,术语“抗体”在最广义上使用,其可以包括全长单克隆抗体,双特异性或多特异性抗体,以及嵌合抗体,只要它们展示所需的生物学活性。术语“抗原结合片段”是包含抗体CDR的一部分或全部的物质,其缺乏至少一些存在于全长链中的氨基酸但仍能够特异性结合至抗原。此类片段具生物活性,因为其结合至抗原,且可与其他抗原结合分子(包括完整抗体)竞争结合至给定表位。此类片段选自Fab(由完整的轻链和Fd构成),Fv(由VH和VL构成),scFv(单链抗体,VH和VL之间由一连接肽连接而成)或单域抗体(仅由VH组成)。此类片段可通过重组核酸技术产生,或可通过抗原结合分子(包括完整抗体)的酶裂解或化学裂解产生。

[0019] 在一些实施方式中,抗体结合SARS-CoV-2核衣壳蛋白对应的氨基酸片段是指抗体能够结合所述氨基酸片段,但该氨基酸片段不一定是最小结合片段。

[0020] 在一些实施方式中,本发明还提供一种抗体对,其中,所述抗体对包含至少两种上述所述的抗体;在一些实施方式中,所述抗体对包含上述所述的抗体1及结合SARS-CoV-2核衣壳蛋白第65-103位氨基酸片段的抗体2。

[0021] 在一些实施方式中,本发明还提供一种融合蛋白,其中,所述融合蛋白包含 SARS-CoV-2核衣壳蛋白第44-180位氨基酸片段。

[0022] 在一些实施方式中,本发明还提供一种核酸分子,其中,所述核酸分子编码所述融合蛋白。

[0023] 核酸通常是RNA或DNA,核酸分子可以是单链或双链的。当将核酸与另一个核酸序

列置于功能关系中时,核酸是“有效连接的”。例如,如果启动子或增强子影响编码序列的转录,那么启动子或增强子有效地连接至所述编码序列。当其连入载体时采用DNA核酸。

[0024] 在一些实施方式中,本发明还提供一种表达载体构建物,其中,所述表达载体构建物包含所述核酸分子。

[0025] 在一些实施方式中,本发明还提供一种分离的宿主细胞,其中,所述宿主细胞包含所述表达载体构建物。

[0026] 在一些实施方式中,本发明还提供一种试剂盒,其中,所述试剂盒包含所述抗体,所述抗体对,所述融合蛋白,所述核酸分子,所述表达载体构建物,或者所述宿主细胞。

[0027] 在一些实施方式中,可以使用任何适当的体外测定,基于细胞的测定,体内测定,动物模型等检测本发明抗体的效果如结合活性和/交叉反应性。在一些实施方式中,所述测定可以包括例如ELISA,FACS结合测定,Biacore,竞争性结合测定等。在一些实施方式中,例如在ELISA中表征本发明的抗体与抗原(抗原肽)结合的反应性,例如通过过氧化物酶标记的ELISA法读取405nm处的反应值 ≥ 0.5 确定为有较好反应性,可用于免疫测定。

[0028] 在一些实施方式中,其中所述抗体任选地用可检测的标记物标记。在一些实施方式中,可检测的标记例如胶体金、放射性标记、发光物质、有色物质、酶,例如荧光标记、发色团标记、电子致密标记,例如放射性同位素、荧光团、罗丹明及其衍生物、荧光素酶、荧光素、辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、葡糖淀粉酶、溶菌酶、糖类氧化酶、葡萄糖氧化酶、半乳糖氧化酶,和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶,生物素/抗生物素蛋白,自旋标记。

[0029] 在一些实施方式中,本发明还提供所述抗体,或者所述抗体对在制备试剂盒中的应用。

[0030] 在一些实施方式中,本发明还提供制备所述抗体的方法。

[0031] 下面将结合实施例对本发明的实施方案进行详细描述。

[0032] 实施例1新冠N蛋白单克隆抗体的制备

[0033] 1、免疫动物

[0034] 取8~12周龄与骨髓瘤细胞同种系的BALB/c小鼠,以含蛋白质100 μ g/只的2019-nCoV N蛋白重组抗原与等量福氏完全佐剂充分混匀,注入小鼠腹腔内,每隔2周100 μ g/只的2019-nCoV N蛋白重组抗原与等量福氏不完全佐剂充分混匀,多次注入小鼠腹腔内加强免疫。经检测小鼠血清(间接ELISA法),滴度在1:2000以上者可用于融合,融合前3天经小鼠腹腔内再次加强免疫,剂量为50 μ g/只。

[0035] 2、饲养细胞的制备

[0036] 以BALB/c鼠腹腔巨噬细胞作饲养细胞。在融合前1天,BALB/c鼠拉颈处死,75%酒精全身浸泡,超净台内,无菌操作下用剪刀剪开腹部皮肤,暴露腹膜,用注射器腹腔注入RPMI 1640基础培养液5mL,反复冲洗,回收冲洗液,1000rpm,离心5分钟,留沉淀,用RPMI 1640筛选培养液(含HAT的RPMI 1640完全培养液中)重悬,调整细胞浓度 1×10^5 个/mL,加入96孔板,150 μ L/孔,37 $^{\circ}$ C,5%CO₂培养过夜。

[0037] 3、免疫脾细胞的制备

[0038] 小鼠末次免疫后三天,在无菌条件下取出脾脏,置于平皿中,RPMI 1640基础培养液冲洗一次,放于小烧杯的尼龙网上磨碎过滤,制成细胞悬液。离心,弃上清,RPMI 1640基础培养液重悬,如此重复三次,计数。

[0039] 4、细胞融合

[0040] (1) 取40mL HAT培养液,15mL DMEM无血清培养液和1mL 50%PEG (M12000) 分别置于37°C水浴中预温;

[0041] (2) 分别取小鼠骨髓瘤细胞Sp2/0 (菲鹏生物股份有限公司保存) ($2\sim 5\times 10^7$)、上述免疫脾细胞 (10^8) 悬液加入50mL离心管中混匀,并加DMEM无血清 培养液至40mL。离心10分钟,倒尽上清液,混匀;

[0042] (3) 将离心管置于37°C预温的水中,取0.7mL预温的50%PEG溶液,静置 90秒钟。立即滴加37°C15mL预温的无血清培养液;

[0043] (4) 补加DMEM无血清培养液至40mL,离心10分钟,倒尽上清液。加 40mL含15%~20%胎牛血清的HAT培养液。用吸管混匀,滴加到已含有饲养细 胞的4块96孔细胞培养板的小孔中,每孔2滴,置37°C、7%CO₂的培养箱中 培养。

[0044] 5、杂交瘤细胞的选择培养

[0045] 免疫小鼠脾细胞与小鼠骨髓瘤细胞,经PEG处理后,形成多种细胞成分的混 合体,其中包括未融合的骨髓瘤细胞和免疫脾细胞;骨髓瘤细胞的共核体和免疫 脾细胞的共核体,以及骨髓瘤细胞和免疫脾细胞的异核体。仅后者才能形成杂交 瘤细胞。为此,在这多种细胞混合物中必须除去未融合的细胞和同种融合的共核 体,并选择出真正的杂交细胞。因此,在细胞融合后第1,3,5,7天用前述的 HAT培养液换液培养。

[0046] 6、特异性抗体的检测及杂交瘤细胞克隆化

[0047] 吸取每个培养孔的上清液,用间接ELISA法检测出培养液中含特异性识别2019-nCoV N蛋白重组抗原的抗体的培养孔。采用间接ELISA法鉴定细胞培养 上清的交叉反应性,用2019-nCoV N蛋白重组抗原包被96孔板,封闭,加入 杂交瘤细胞培养液上清孵育,加二抗,测405nm反应值,挑选反应值(0.5以上) 比较高的细胞株制备抗体进行下一轮筛选实 验。筛选得到以下有较好反应性的抗 体。

[0048] 实施例2抗体结合片段的鉴定

[0049] 采用不同片段的2019-nCoV N蛋白重组抗原分别包被微孔,以 PBS+20%NBS为稀 释液,稀释单抗为一抗浓度到1ug/ml,以羊抗鼠IgG-HRP为 二抗,依据各单抗对不同抗原的 反应情况来确定单抗片段。经统计,筛选得到的 抗体分别是针对如下片段:

[0050] 表1

片段	细胞株
1-43aa	3B8, 6D9
44-180aa	6I3, 9D2, 4C9, 5C3, 1A6, 1E5
	8E4, 6K1, 6A5, 7R1, 5S7
181-247aa	4B7
248-364aa	1B5, 2F4, 7C5
365-419aa	4C6, 5D9, 4D1, 6D5

[0052] 其中结合44-180aa片段的十一株抗体对片段的反应情况摘取如表2:

[0053] 表2

[0054] 抗体	6I3	9D2	4C9	5C3	1A6	1E5	8E4	6K1	6A5	7R1	5S7
反应性	2.362	2.616	2.491	2.493	2.486	2.528	2.941	2.949	2.444	2.552	2.778

[0055] 表2中反应性即OD₄₀₅反应值。

[0056] 实施例3配对筛选

[0057] 将以上抗体分别用于包被以及标记,实验过程如下:

[0058] 1、新冠N抗体标记:取5ml浓度为4/万的胶体金,加入30-40ul 0.2M K₂CO₃, 搅拌5min,加入新冠N标记抗体(所加抗体体积=50μg/抗体浓度),搅拌5min, 再加入50ul 10% BSA封闭终止标记;离心10000rpm,7min,去上清,沉淀用金子复溶液复溶,最后用金子复溶液定容到0.5ml(即1/10胶体金溶液体积)。

[0059] 2、配制金子工作液:用金子复溶液将新冠N标记抗体浓缩金以20%的稀释比例配制成金子工作液,铺于玻璃纤维上。

[0060] 3、制备干燥好的金子:将铺好的金子放入冻干机冻干(1-2h)或者放37℃干燥房干燥过夜。

[0061] 4、新冠N抗体包被:将硝酸纤维素膜与PVC底板组装好备用;将新冠N包被抗体稀释至1.0-1.5mg/ml,用喷金画膜仪在NC膜上均匀地划线,放37℃恒温箱60min。

[0062] 5、制备金标条:用切条机将金标条按需要的宽度切条,组装后加样进行检测。

[0063] 6、检测

[0064] (1)质控品:2019-nCoV N蛋白重组抗原,使用PBS稀释到1ng/ml进行抗体配对初步筛选;

[0065] (2)检测方法:根据色卡比对,肉眼判读显色读值。

[0066] 7、结果(每个片段展示一个抗体的检测结果):

[0067] 表3-1 3B8作为包被抗体的检测结果

[0068] 标记抗体	6I3	9D2	4C9	5C3	1A6	1E5	8E4	6K1	6A5	7R1
质控品	C8	C8	C7	C8	C8	C8	C8	C8	C8	C7
PBS	C9	B	C8	C9	C9	B	C9	C9	B	B
标记抗体	5S7	6D9	4B7	1B5	2F4	7C5	5D9	4D1	6D5	4C6
质控品	C7	C8	C8	C8	C8	C8	C8	C8	C7	C7
PBS	B	C9	C9	B	C9	B	C9	C9	C8	C8

[0069] 表3-2 5C3作为包被抗体的检测结果

[0070] 标记抗体	6I3	9D2	4C9	3B8	1A6	1E5	8E4	6K1	6A5	7R1
质控品	C4	C4	C4	C8	C4	C3	C5	C5	C4	C3
PBS	B	B	B	C9	B	B	B	B	B	B
标记抗体	5S7	6D9	4B7	1B5	2F4	7C5	5D9	4D1	6D5	4C6
质控品	C3	C7	C7	C8	C8	C8	C7	C7	C8	C8
PBS	B	B	B	B	C9	B	B	B	C9	B

[0071] 表3-3 4B7作为包被抗体的检测结果

[0072] 标记抗体	6I3	9D2	4C9	5C3	1A6	1E5	8E4	6K1	6A5	7R1
-------------	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----	-----

质控品	C7	C7	C7	C7	C8	C7	C7	C7	C7	C7
PBS	C9	C9	C9	B	C9	C9	C9	C9	C9	B
标记抗体	5S7	6D9	3B8	1B5	2F4	7C5	5D9	4D1	6D5	4C6
质控品	C7	C8	C9	C9	C9	C9	C8	C9	C9	C9
PBS	B	B	C9	B	C9	B	B	C9	C9	B

[0073] 表3-4 1B5作为包被抗体的检测结果

标记抗体	6I3	9D2	4C9	5C3	1A6	1E5	8E4	6K1	6A5	7R1
质控品	C8	C6	C7	C6	C8	C6	C7	C9	C9	C6
PBS	C9	B	C9	B	C9	B	C9	C9	C9	B
标记抗体	5S7	6D9	4B7	3B8	2F4	7C5	5D9	4D1	6D5	4C6
质控品	C6	C7	C7	C7	C7	C8	C7	C7	C8	C8
PBS	B	C8	C9	C7	C8	C9	B	C9	B	B

[0075] 表3-5 4C6作为包被抗体的检测结果

标记抗体	6I3	9D2	4C9	5C3	1A6	1E5	8E4	6K1	6A5	7R1
质控品	C8	C7	C7	C7	C8	C9	C7	C9	C9	C8
PBS	B	C9	C9	B	B	C9	B	C9	B	B
标记抗体	5S7	6D9	4B7	1B5	2F4	7C5	5D9	4D1	6D5	3B8
质控品	C9	C7	C8	C8	C7	C8	C7	C7	C8	C8
PBS	B	C8	C9	C9	C8	C9	B	C9	B	B

[0077] 表3-1、3-2、3-3、3-4、3-5中，字母B代表不显色(未检出)，字母C后的数字代表显色，数字越大，显色越弱(活性越低)。

[0078] 从检测结果来看，结合44-180aa区段的抗体在检测性能上表现出了较高的活性，故对该区段内的抗体做进一步的片段鉴定。

[0079] 实施例4优势抗体进一步片段鉴定

[0080] 将2019-nCoV N蛋白重组抗原的44-180aa片段进行小片段表达，采用不同片段的2019-nCoV N蛋白重组抗原分别包被微孔，以PBS+20%NBS为稀释液，稀释单抗为一抗浓度到1 μ g/ml，以羊抗鼠IgG-HRP为二抗，依据各单抗对不同抗原的反应情况来确定单抗片段，具体数据如下：

[0081] 表4-1

抗体编号	6I3	9D2	4C9	5C3	1A6	1E5
44-180	2.362	2.616	2.491	2.493	2.486	2.528
44-84	0.034	0.032	0.070	0.059	0.020	0.018
65-103	0.067	2.819	0.037	0.035	0.017	0.019
96-136	0.012	0.015	0.017	0.016	0.008	0.014
130-180	0.028	0.012	0.064	0.044	0.013	0.015
抗体识别区段	44-180	65-103	44-180	44-180	44-180	44-180

[0083] 表4-2

抗体编号	8E4	6K1	6A5	7R1	5S7
------	-----	-----	-----	-----	-----

44-180	2.941	2.949	2.444	2.552	2.778
44-84	0.018	0.059	0.014	0.017	0.016
65-103	0.025	0.058	0.013	2.056	2.366
96-136	0.013	0.036	0.014	0.010	0.017
130-180	0.016	0.053	0.011	0.014	0.015
抗体识别区段	44-180	44-180	44-180	65-103	65-103

[0085] 从以上结果来看,9D2、7R1、5S7三株抗体进一步识别结合65-103aa,其余抗体均只识别44-180aa。

[0086] 实施例5优势抗体配对性能进一步验证

[0087] 抗体标记、包被及组装等制备过程参见实施例3步骤1-5。

[0088] 检测

[0089] (1) 质控品:2019-nCoV N蛋白重组抗原,使用PBS稀释到25ng/ml、2ng/ml、500pg/ml、100pg/ml、25pg/ml、10pg/ml;

[0090] (2) 检测方法:根据色卡比对,肉眼判读显色读值。

[0091] 结果

[0092] 1、活性:以下示例配对对大肠杆菌表达的重组抗原在100pg/ml时有明显检出(C7+显色),对25pg/ml能检出(C8或C8+显色),最低检测限可达10pg/ml。

[0093] 表5

抗原浓度	25ng/ml	2ng/ml	500pg/ml	100pg/ml	25pg/ml	10pg/ml
标记抗体: 1E5 包被抗体: 5C3	C1+	C3+	C5+	C7+	C8+	C9
标记抗体: 7R1 包被抗体: 5C3	C1+	C3+	C5+	C7+	C8+	C9
标记抗体: 5S7 包被抗体: 4C9	C1+	C3+	C5+	C7+	C8	C9

[0096] 2、特异性:

[0097] 上述三种示例配对分别对采集的300例正常人鼻拭子、300例正常人咽拭子、300例正常人唾液标本进行胶体金显色测试,特异性均为100%。

[0098] 3、交叉反应:

[0099] 分别将腺病毒、巨细胞病毒、EB病毒、麻疹病毒、流行性腮腺炎病毒、肺炎支原体、副流感病毒、呼吸道和胞病毒、轮状病毒、水痘-带状疱疹病毒、流感A/B病毒等多种病原体进行不同浓度的稀释,以上述三种示例配对测试,不存在交叉反应。

[0100] 4、正反配对:

[0101] 将上述三种示例配对进行标记抗体与包被抗体的互换,配对性能保持相当。

[0102] 实施例6优势抗体再制备

[0103] 本发明还通过以上所述的抗体制备方案,以SARS-CoV-2核衣壳蛋白第44-180位

氨基酸片段作为免疫原免疫制备得到结合44-180aa片段,但不结合 44-84aa片段、65-103aa片段、96-136aa片段、及130-180aa片段的抗体,例如经 反应性筛选为ELISA评价 $OD_{405} \geq 0.5$ 的抗体1COV19-8、3COV19-17等,性能 同样满足灵敏度高、特异性好,无交叉反应。

[0104] 上述实施例为本发明较佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施 例的限制,其他的任何未背离本发明的精神实质与原理下所作的改变、修饰、替 代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围之内。