



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107987167 A

(43)申请公布日 2018.05.04

(21)申请号 201711351912.3

(22)申请日 2017.12.15

(71)申请人 艾比玛特医药科技(上海)有限公司

地址 200233 上海市徐汇区桂平路333号1
号楼1-3楼

(72)发明人 翁炜宁 张玉娜 孟逊

(74)专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266

代理人 徐迅 崔佳佳

(51)Int.Cl.

C07K 16/40(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

权利要求书2页 说明书13页
序列表3页 附图2页

(54)发明名称

一种RNA聚合酶II转录亚基37e介体的单克隆抗体及其应用

(57)摘要

本发明提供了一种RNA聚合酶II转录亚基37e介体的单克隆抗体及其应用。实验结果表明,本发明抗体能够应用于针对该蛋白研究的抗体芯片反应、免疫沉淀、Western Blotting以及检测植物根部有毒致癌成分多环芳烃(PAHs)的含量。

1. 一种抗体的重链可变区,其特征在于,所述的重链可变区具有以下的一个或多个互补决定区CDR:

SEQ ID NO:1所示的CDR1,

SEQ ID NO:2所示的CDR2,和

SEQ ID NO:3所示的CDR3;

优选地,所述重链可变区具有SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。

2. 一种抗体的重链,其特征在于,所述的重链具有权利要求1所述的重链可变区和重链恒定区。

3. 一种抗体的轻链可变区,其特征在于,所述的轻链可变区具有以下的一个或多个互补决定区CDR:

SEQ ID NO:5所示的CDR1',

SEQ ID NO:6所示的CDR2',和

SEQ ID NO:7所示的CDR3';

优选地,所述的轻链可变区具有SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列。

4. 一种抗体的轻链,其特征在于,所述的轻链具有权利要求3所述的轻链可变区和轻链恒定区。

5. 一种抗体,其特征在于,所述抗体具有:

(1) 权利要求1所述的重链可变区;和/或

(2) 权利要求3所述的轻链可变区;

优选地,所述抗体具有:权利要求2所述的重链;和/或权利要求4所述的轻链。

6. 一种重组蛋白,其特征在于,所述的重组蛋白具有:

(i) 权利要求1所述的重链可变区的序列、权利要求2所述的重链的序列、权利要求3所述的轻链可变区的序列、权利要求4所述的轻链的序列、或权利要求5所述的抗体的序列;以及

(ii) 任选的协助表达和/或纯化的标签序列。

7. 一种多核苷酸,其特征在于,它编码选自下组的多肽:

(1) 权利要求1所述的重链可变区、权利要求2所述的重链、权利要求3所述的轻链可变区、权利要求4所述的轻链、或权利要求5所述的抗体;或

(2) 权利要求6所述的重组蛋白。

8. 一种载体,其特征在于,它含有权利要求7所述的多核苷酸。

9. 一种遗传工程化的宿主细胞,其特征在于,它含有权利要求8所述的载体或基因组中整合有权利要求7所述的多核苷酸。

10. 一种偶联物,其特征在于,所述偶联物包括:

(a) 权利要求5所述的抗体或权利要求6所述的重组蛋白;和

(b) 与(a)中所述抗体或重组蛋白相连的可检测标记物。

11. 一种检测制品,其特征在于,所述检测制品包括:

(1) 权利要求5所述的抗体、权利要求6所述的重组蛋白、或权利要求10所述的偶联物;和

(2) 任选的缓冲溶液或缓冲剂。

12. 权利要求1所述的重链可变区、权利要求2所述的重链、权利要求3所述的轻链可变区、权利要求4所述的轻链、权利要求5所述的抗体、权利要求6所述的重组蛋白、或权利要求10所述的偶联物、或权利要求11所述的检测制品的用途,用于制备检测植物中多环芳烃(PAHs)的检测制品或试剂盒。

13. 一种检测试剂盒,其特征在于,所述检测试剂盒包含权利要求5所述的抗体、权利要求6所述的重组蛋白、或权利要求10所述的偶联物或权利要求11所述的检测制品。

14. 一种检测植物中多环芳烃(PAHs)的方法,其特征在于,所述方法包括以下步骤:

(a) 提供待检测的样品;

(b) 将该样品与权利要求5所述的抗体、权利要求6所述的重组蛋白、权利要求10所述的偶联物、或权利要求11所述的检测制品混合,形成混合物;

(c) 检测所述混合物中“抗体-RNA聚合酶II转录亚基37e介体复合物”的存在与否,其中如果存在所述复合物,则表明所述样品中存在多环芳烃(PAHs);如果不存在所述复合物,则表明所述样品中不存在多环芳烃(PAHs)。

一种RNA聚合酶II转录亚基37e介体的单克隆抗体及其应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医药领域,具体地说,本发明涉及一种RNA聚合酶II转录亚基37e介体的单克隆抗体及其应用。

背景技术

[0002] RNA聚合酶II转录亚基37e介体是由MED37E基因编码的一种涉及几乎所有RNA聚合酶II依赖基因调控转录的共激活因子的组成成分。此蛋白是一种分子伴侣,属于热激蛋白70家族并广泛存在于植物中,特别是作物根部中。

[0003] 多环芳烃(PAHs)对人类具有潜在的致癌作用和毒性,人类通过摄入受污染的食物致病。目前市面上并没有专门针对作物中有毒致癌物质PAHs研究的RNA聚合酶II转录亚基37e介体的靶向抗体,对于该研究领域在蛋白组学层面缺乏有效的抗体工具。

[0004] 因此,本领域亟待开发靶向蛋白研究的工具,对不同植物类型、不同品系或不同发育时期的蛋白表达变化及蛋白网络图谱的进行更深层次研究。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种RNA聚合酶II转录亚基37e介体的单克隆抗体及其应用,实验结果表明,通过单克隆抗体制备工艺技术针对RNA聚合酶II转录亚基37e介体的多肽片段成功得到高亲和力,高特异性以及多应用场景等特点的单克隆抗体。

[0006] 在本发明的第一方面,提供了一种抗体的重链可变区,所述的重链可变区具有以下的一个或多个互补决定区CDR:

[0007] SEQ ID NO:1所示的CDR1,

[0008] SEQ ID NO:2所示的CDR2,和

[0009] SEQ ID NO:3所示的CDR3;

[0010] 优选地,所述重链可变区具有SEQ ID NO:4所示的氨基酸序列。

[0011] 在本发明的第二方面,提供了一种抗体的重链,所述的重链具有本发明的第一方面所述的重链可变区和重链恒定区。

[0012] 在另一优选例中,所述的重链恒定区为鼠源的。

[0013] 在本发明的第三方面,提供了一种抗体的轻链可变区,所述的轻链可变区具有以下的一个或多个互补决定区CDR:

[0014] SEQ ID NO:5所示的CDR1',

[0015] SEQ ID NO:6所示的CDR2',和

[0016] SEQ ID NO:7所示的CDR3';

[0017] 优选地,所述的轻链可变区具有SEQ ID NO:8所示的氨基酸序列。

[0018] 在本发明的第四方面,提供了一种抗体的轻链,所述的轻链具有本发明的第三方面所述的轻链可变区和轻链恒定区。

[0019] 在另一优选例中,所述轻链的恒定区为鼠源的。

- [0020] 在本发明的第五方面,提供了一种抗体,所述抗体具有:
- [0021] (1) 本发明的第一方面所述的重链可变区;和/或
- [0022] (2) 本发明的第三方面所述的轻链可变区;
- [0023] 优选地,所述抗体具有:本发明的第二方面所述的重链;和/或本发明的第四方面所述的轻链。
- [0024] 在另一优选例中,所述抗体为特异性抗RNA聚合酶II转录亚基37e介体多肽的抗体。
- [0025] 在另一优选例中,RNA聚合酶II转录亚基37e介体多肽选自下组:‘VGWQHDRV E’、‘MVNH FVQE FK’、‘CFDIDANG IL’、‘AIQWLDSNQL’或其组合。
- [0026] 在另一优选例中,所述的抗体包括:单链抗体(scFv)、双链抗体、单克隆抗体、嵌合抗体、鼠源抗体。
- [0027] 在本发明的第六方面,提供了一种重组蛋白,所述的重组蛋白具有:
- [0028] (i) 本发明的第一方面所述的重链可变区的序列、本发明的第二方面所述的重链的序列、本发明的第三方面所述的轻链可变区的序列、本发明的第四方面所述的轻链的序列、或本发明的第五方面所述的抗体的序列;以及
- [0029] (ii) 任选的协助表达和/或纯化的标签序列。
- [0030] 在另一优选例中,所述的标签序列选自下组:6×His标签、GGGS序列、FLAG标签。
- [0031] 在另一优选例中,所述的重组蛋白包括双特异性抗体、嵌合抗体。
- [0032] 在本发明的第七方面,提供了一种多核苷酸,它编码选自下组的多肽:
- [0033] (1) 本发明的第一方面所述的重链可变区、本发明的第二方面所述的重链、本发明的第三方面所述的轻链可变区、本发明的第四方面所述的轻链、或本发明的第五方面所述的抗体;或
- [0034] (2) 本发明的第六方面所述的重组蛋白。
- [0035] 在本发明的第八方面,提供了一种载体,它含有本发明的第七方面所述的多核苷酸。
- [0036] 在另一优选例中,所述的载体包括:细菌质粒、噬菌体、酵母质粒、植物细胞病毒、哺乳动物细胞病毒如腺病毒、逆转录病毒。
- [0037] 在本发明的第九方面,提供了一种遗传工程化的宿主细胞,它含有本发明的第八方面所述的载体或基因组中整合有本发明的第七方面所述的多核苷酸。
- [0038] 在本发明的第十方面,提供了一种偶联物,所述偶联物包括:
- [0039] (a) 本发明的第五方面所述的抗体或本发明的第六方面所述的重组蛋白;和
- [0040] (b) 与(a)中所述抗体或重组蛋白相连的可检测标记物。
- [0041] 在另一优选例中,所述可检测标记物选自下组:生物素、荧光素、化学发光基团、化学荧光基团、荧光蛋白、酶、胶体金、彩色磁珠、乳胶颗粒、生物素标记、放射性核素、抗体、配体、抗原、受体,纳米粒子或其组合。
- [0042] 在另一优选例中,所述纳米粒子选自下组:纳米金、纳米银、量子点或其组合。
- [0043] 在另一优选例中,所述酶选自下组:辣根过氧化物酶、酸性磷酸酶或其组合。
- [0044] 在本发明的第十一方面,提供了一种检测制品,所述检测制品包括:
- [0045] (1) 本发明的第五方面所述的抗体、本发明的第六方面所述的重组蛋白、或本发明

的第十方面所述的偶联物；和

[0046] (2) 任选的缓冲溶液或缓冲剂。

[0047] 在另一优选例中，所述检测制品用于检测多环芳烃 (PAHs)。

[0048] 在另一优选例中，所述的检测制品包括：检测试剂、侧流片、芯片、测试条、检测板、测试片。

[0049] 在另一优选例中，所述的测试片包括：检测区，所述检测区固定有抗RNA聚合酶II转录亚基37e介体的另一种抗体(抗体二)，所述抗体二用于捕获所述抗RNA聚合酶II转录亚基37e介体。

[0050] 在另一优选例中，所述的测试片包括：质控区，所述质控区固定有与针对RNA聚合酶II转录亚基37e介体的抗体(一抗)结合的抗体(二抗)，所述二抗用于捕获所述针对RNA聚合酶II转录亚基37e介体的抗体(一抗)。

[0051] 在另一优选例中，所述检测片选自：多孔板，较佳地为96孔板、PVDF膜。

[0052] 在另一优选例中，所述与针对RNA聚合酶II转录亚基37e介体的抗体(一抗)结合的抗体(二抗)选自：HRP标记的羊抗鼠IgG二抗。

[0053] 在本发明的第十二方面，提供了本发明的第一方面所述的重链可变区、本发明的第二方面所述的重链、本发明的第三方面所述的轻链可变区、本发明的第四方面所述的轻链、本发明的第五方面所述的抗体、本发明的第六方面所述的重组蛋白、或本发明的第十方面所述的偶联物、或本发明的第十一方面所述的检测制品的用途，用于制备检测植物中多环芳烃 (PAHs) 的检测制品或试剂盒。

[0054] 在另一优选例中，所述的检测制品包括芯片、包被抗体的免疫微粒。

[0055] 在本发明的第十三方面，提供了一种检测试剂盒，所述检测试剂盒包含本发明的第五方面所述的抗体、本发明的第六方面所述的重组蛋白、或本发明的第十方面所述的偶联物或本发明的第十一方面所述的检测制品。

[0056] 在本发明的第十四方面，提供了一种检测植物中多环芳烃 (PAHs) 的方法，所述方法包括以下步骤：

[0057] (a) 提供待检测的样品；

[0058] (b) 将该样品与本发明的第五方面所述的抗体、本发明的第六方面所述的重组蛋白、本发明的第十方面所述的偶联物、或本发明的第十一方面所述的检测制品混合，形成混合物；

[0059] (c) 检测所述混合物中“抗体-RNA聚合酶II转录亚基37e介体复合物”的存在与否，其中如果存在所述复合物，则表明所述样品中存在多环芳烃 (PAHs)；如果不存在所述复合物，则表明所述样品中不存在多环芳烃 (PAHs)。

[0060] 应理解，在本发明范围内中，本发明的上述各技术特征和在下文(如实施例)中具体描述的各技术特征之间都可以互相组合，从而构成新的或优选的技术方案。限于篇幅，在此不再一一累述。

附图说明

[0061] 图1为抗体生产的具体工艺路线。

[0062] 图2为抗体内源蛋白免疫印迹结果图。

[0063] 图3为抗体芯片荧光反应结果图。

[0064] 图4为多环芳烃含量检测标准曲线图。

具体实施方式

[0065] 本发明人通过广泛而深入的研究,意外地获得一株识别并结合RNA聚合酶II转录亚基37e介体的高亲和力单抗,该抗体能够应用于针对该蛋白研究的抗体芯片反应、免疫沉淀、Western Blotting以及检测植物根部有毒致癌成分多环芳烃(PAHs)的含量。在此基础上,完成了本发明。

[0066] 在描述本发明之前,应当理解本发明不限于所述的具体方法和实验条件,因为这类方法和条件可以变动。还应当理解本文所用的术语其目的仅在于描述具体实施方案,并且不意图是限制性的,本发明的范围将仅由所附的权利要求书限制。

[0067] 除非另外定义,否则本文中所用的全部技术与科学术语均具有如本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义。如本文所用,在提到具体列举的数值中使用术语“约”意指该值可以从列举的值变动不多于1%。例如,如本文所用,表述“约100”包括99和101和之间的全部值(例如,99.1、99.2、99.3、99.4等)。

[0068] 虽然在本发明的实施或测试中可以使用与本发明中所述相似或等价的任何方法和材料,本文在此处例举优选的方法和材料。

[0069] 抗体

[0070] 如本文所用,术语“抗体”,其由两个相同的轻链(L)和两个相同的重链(H)组成。每条轻链通过一个共价二硫键与重链相连。每条重链和轻链也有规则间隔的链内二硫键。每条重链的一端有可变区(VH),其后是多个恒定区。每条轻链的一端有可变区(VL),另一端有恒定区;轻链的恒定区与重链的第一个恒定区相对,轻链的可变区与重链的可变区相对。特殊的氨基酸残基在轻链和重链的可变区之间形成界面。

[0071] 如本文所用,术语“可变”表示抗体中可变区的某些部分在序列上有所不同,它形成了各种特定抗体对其特定抗原的结合和特异性。然而,可变性并不均匀地分布在整个抗体可变区中。它集中于轻链和重链可变区中称为互补决定区(CDR)或超变区中的三个片段中。可变区中较保守的部分称为构架区(FR)。天然重链和轻链的可变区中各自包含四个FR区,它们大致上呈 β -折叠构型,由形成连接环的三个CDR相连,在某些情况下可形成部分 β 折叠结构。每条链中的CDR通过FR区紧密地靠在一起并与另一链的CDR一起形成了抗体的抗原结合部位(参见Kabat等,NIH PubI.No.91-3242,卷I,647-669页(1991))。恒定区不直接参与抗体与抗原的结合,但是它们表现出不同的效应功能,例如参与抗体的依赖于抗体的细胞毒性。

[0072] 如本文所用,术语“单克隆抗体(单抗)”指从一类基本均一的群体获得的抗体,即该群体中包含的单个抗体是相同的,除少数可能存在的天然发生的突变外。单克隆抗体高特异性地针对单个抗原位点。而且,与常规多克隆抗体制剂(通常是具有针对不同决定簇的不同抗体)不同,各单克隆抗体是针对抗原上的单个决定簇。除了它们的特异性外,单克隆抗体的好处还在于它们是通过杂交瘤培养来合成的,不会被其它免疫球蛋白污染。修饰语“单克隆”表示了抗体的特性,是从基本均一的抗体群中获得的,这不应被解释成需要用任何特殊方法来生产抗体。

[0073] 本发明还包括具有所述的抗RNA聚合酶II转录亚基37e介体单克隆抗体的相应氨基酸序列的单克隆抗体、具有所述的抗RNA聚合酶II转录亚基37e介体单克隆抗体可变区链的单克隆抗体,以及具有这些链的其他蛋白质或蛋白质偶联物及融合表达产物。具体地,本发明包括具有含超变区(互补决定区,CDR)的轻链和重链的任何蛋白质或蛋白质偶联物及融合表达产物(即免疫偶联物及融合表达产物),只要该超变区与本发明的轻链和重链的超变区相同或至少90%同源性,较佳地至少95%同源性。

[0074] 如本领域技术人员所知,偶联物包括:可检测标记物例如胶体金标记、彩色磁珠或乳胶颗粒、生物素标记、辣根过氧化物酶标记、放射性核素标记、荧光素标记、纳米粒子标记与所述的抗RNA聚合酶II转录亚基37e介体单克隆抗体或其片段结合的而形成的偶联物。本发明还包括与所述的抗RNA聚合酶II转录亚基37e介体单克隆抗体或其片段结合的细胞表面标记物或抗原。

[0075] 本发明不仅包括完整的单克隆抗体,还包括具有免疫活性的抗体片段,如Fab或(Fab')₂片段;抗体重链;抗体轻链。

[0076] 如本文所用,术语“重链可变区”与“V_H”可互换使用。

[0077] 如本文所用,术语“可变区”与“互补决定区(complementarity determining region,CDR)”可互换使用。

[0078] 在本发明的一个优选的实施方式中,所述抗体的重链可变区,具有选自下组的互补决定区CDR:

[0079] CDR1,其氨基酸序列为SALEPGANI (SEQ ID NO.:1);

[0080] CDR2,其氨基酸序列为ISVAANEGPST (SEQ ID NO.:2);

[0081] CDR3,其氨基酸序列为TGGIP (SEQ ID NO.:3);

[0082] 在另一优选例中,所述重链可变区(85aa)的氨基酸序列为:

[0083]

TEGPSSVATQLESQPSALEPGANINIRRVANIMYFLQTTGAIISVAANEGPSTPLGTAANPSGITTNLQTGGIPTAVG
TTNISAVA (SEQ ID NO.:4);

[0084] 在本发明的一个优选的实施方式中,所述抗体的重链包括上述重链可变区和重链恒定区,所述重链恒定区可以为鼠源。

[0085] 如本文所用,术语“轻链可变区”与“V_L”可互换使用。

[0086] 在本发明的一个优选的实施方式中,根据本发明的抗体的轻链可变区,具有选自下组的互补决定区CDR:

[0087] CDR1',其氨基酸序列为GIRVTA (SEQ ID NO.:5);

[0088] CDR2',其氨基酸序列为IIRSVGGTA (SEQ ID NO.:6);

[0089] CDR3',其氨基酸序列为QYTIAANIR (SEQ ID NO.:7);

[0090] 在另一优选例中,所述的轻链可变区(90aa)的氨基酸序列为:

[0091]

RNAATGGISTMYFFTLEGIRVTALGPPVSGNMYFATAGSAIIIRSVGGTANPPLTVASTAGNIITQQGPSTVQYTIA
ANIRPVPEAAITQ (SEQ ID NO.:8);

[0092] 在本发明的一个优选的实施方式中,所述抗体的轻链包括上述轻链可变区和轻链恒定区,所述轻链恒定区可以为鼠源。

[0093] 在本发明中,术语“本发明抗体”、“本发明蛋白”、或“本发明多肽”可互换使用,都指特异性结合埃RNA聚合酶II转录亚基37e介体的抗体,例如具有重链可变区(如SEQ ID NO.4的氨基酸序列)和/或轻链可变区(如SEQ ID NO.8的氨基酸序列)的蛋白或多肽。它们可含有或不含起始甲硫氨酸。

[0094] 本发明还提供了具有本发明抗体的其他蛋白质或融合表达产物。具体地,本发明包括具有含可变区的重链和轻链的任何蛋白质或蛋白质偶联物及融合表达产物(即偶联物及融合表达产物),只要该可变区与本发明抗体的重链和轻链的可变区相同或至少约90%同源性,较佳地至少约95%同源性。

[0095] 一般,抗体的抗原结合特性可由位于重链和轻链可变区的3个特定的区域来描述,称为可变区域(CDR),将该段间隔成4个框架区域(FR),4个FR的氨基酸序列相对比较保守,不直接参与结合反应。这些CDR形成环状结构,通过其间的FR形成的 β 折叠在空间结构上相互靠近,重链上的CDR和相应轻链上的CDR构成了抗体的抗原结合位点。可以通过比较同类型的抗体的氨基酸序列来确定是哪些氨基酸构成了FR或CDR区域。

[0096] 本发明抗体的重链和/或轻链的可变区特别令人感兴趣,因为它们中至少部分涉及结合抗原。因此,本发明包括那些具有带CDR的单克隆抗体轻链和重链可变区的分子,只要其CDR与此处鉴定的CDR具有90%以上(较佳地95%以上,最佳地98%以上)的同源性。

[0097] 本发明不仅包括完整的单克隆抗体,还包括具有免疫活性的抗体的片段或抗体与其他序列形成的融合蛋白。因此,本发明还包括所述抗体的片段、衍生物和类似物。

[0098] 如本文所用,术语“片段”、“衍生物”和“类似物”是指基本上保持本发明抗体相同的生物学功能或活性的多肽。本发明的多肽片段、衍生物或类似物可以是(i)有一个或多个保守或非保守性氨基酸残基(优选保守性氨基酸残基)被取代的多肽,而这样的取代的氨基酸残基可以是也可以不是由遗传密码编码的,或(ii)在一个或多个氨基酸残基中具有取代基团的多肽,或(iii)成熟多肽与另一个化合物(比如延长多肽半衰期的化合物,例如聚乙二醇)融合所形成的多肽,或(iv)附加的氨基酸序列融合到此多肽序列而形成的多肽(如前导序列或分泌序列或用来纯化此多肽的序列或蛋白原序列,或与6His标签形成的融合蛋白)。根据本文的教导,这些片段、衍生物和类似物属于本领域熟练技术人员公知的范围。

[0099] 本发明抗体指具有RNA聚合酶II转录亚基37e介体结合活性的、包括上述CDR区的多肽。该术语还包括具有与本发明抗体相同功能的、包含上述CDR区的多肽的变异形式。这些变异形式包括(但不限于):一个或多个(通常为1-50个,较佳地1-30个,更佳地1-20个,最佳地1-10个)氨基酸的缺失、插入和/或取代,以及在C末端和/或N末端添加一个或数个(通常为20个以内,较佳地为10个以内,更佳地为5个以内)氨基酸。例如,在本领域中,用性能相近或相似的氨基酸进行取代时,通常不会改变蛋白质的功能。又比如,在C末端和/或N末端添加一个或数个氨基酸通常也不会改变蛋白质的功能。该术语还包括本发明抗体的活性片段和活性衍生物。

[0100] 该多肽的变异形式包括:同源序列、保守性变异体、等位变异体、天然突变体、诱导突变体、在高或低的严紧度条件下能与本发明抗体的编码DNA杂交的DNA所编码的蛋白、以及利用抗本发明抗体的抗血清获得的多肽或蛋白。

[0101] 本发明还提供了其他多肽,如包含人抗体或其片段的融合蛋白。除了几乎全长的多肽外,本发明还包括了本发明抗体的片段。通常,该片段具有本发明抗体的至少约50个连

续氨基酸,较佳地至少约50个连续氨基酸,更佳地至少约80个连续氨基酸,最佳地至少约100个连续氨基酸。

[0102] 在本发明中,“本发明抗体的保守性变异体”指与本发明抗体的氨基酸序列相比,有至多10个,较佳地至多8个,更佳地至多5个,最佳地至多3个氨基酸被性质相似或相近的氨基酸所替换而形成多肽。这些保守性变异多肽最好根据表A进行氨基酸替换而产生。

[0103] 表A

[0104]

最初的残基	代表性的取代	优选的取代
Ala (A)	Val;Leu;Ile	Val
Arg (R)	Lys;Gln;Asn	Lys
Asn (N)	Gln;His;Lys;Arg	Gln
Asp (D)	Glu	Glu
Cys (C)	Ser	Ser
Gln (Q)	Asn	Asn
Glu (E)	Asp	Asp
Gly (G)	Pro;Ala	Ala
His (H)	Asn;Gln;Lys;Arg	Arg
Ile (I)	Leu;Val;Met;Ala;Phe	Leu
Leu (L)	Ile;Val;Met;Ala;Phe	Ile
Lys (K)	Arg;Gln;Asn	Arg
Met (M)	Leu;Phe;Ile	Leu
Phe (F)	Leu;Val;Ile;Ala;Tyr	Leu
Pro (P)	Ala	Ala
Ser (S)	Thr	Thr
Thr (T)	Ser	Ser
Trp (W)	Tyr;Phe	Tyr
Tyr (Y)	Trp;Phe;Thr;Ser	Phe
Val (V)	Ile;Leu;Met;Phe;Ala	Leu

[0105] 本发明还提供了编码上述抗体或其片段或其融合蛋白的多核苷酸分子。本发明的多核苷酸可以是DNA形式或RNA形式。DNA形式包括cDNA、基因组DNA或人工合成的DNA。DNA可以是单链的或是双链的。DNA可以是编码链或非编码链。

[0106] 编码本发明的成熟多肽的多核苷酸包括:只编码成熟多肽的编码序列;成熟多肽的编码序列和各种附加编码序列;成熟多肽的编码序列(和任选的附加编码序列)以及非编码序列。

[0107] 术语“编码多肽的多核苷酸”可以是包括编码此多肽的多核苷酸,也可以是还包括附加编码和/或非编码序列的多核苷酸。

[0108] 本发明还涉及与上述的序列杂交且两个序列之间具有至少50%,较佳地至少70%,更佳地至少80%相同性的多核苷酸。本发明特别涉及在严格条件下与本发明所述多核苷酸可杂交的多核苷酸。在本发明中,“严格条件”是指:(1)在较低离子强度和较高温度

下的杂交和洗脱,如 $0.2\times\text{SSC}$, 0.1% SDS, 60°C ;或(2)杂交时加有变性剂,如 50% (v/v) 甲酰胺, 0.1% 小牛血清/ 0.1% FicoII, 42°C 等;或(3)仅在两条序列之间的相同性至少在 90% 以上,更好是 95% 以上时才发生杂交。并且,可杂交的多核苷酸编码的多肽与SEQ ID NO.:4和/或SEQ ID NO.:8所示的成熟多肽有相同的生物学功能和活性。

[0109] 本发明的抗体的核苷酸全长序列或其片段通常可以用PCR扩增法、重组法或人工合成的方法获得。一种可行的方法是用人工合成的方法来合成有关序列,尤其是片段长度较短时。通常,通过先合成多个小片段,然后再进行连接可获得序列很长的片段。此外,还可将重链的编码序列和表达标签(如6His)融合在一起,形成融合蛋白。

[0110] 一旦获得了有关的序列,就可以用重组法来大批量地获得有关序列。这通常是将其克隆入载体,再转入细胞,然后通过常规方法从增殖后的宿主细胞中分离得到有关序列。本发明所涉及的生物分子(核酸、蛋白等)包括以分离的形式存在的生物分子。

[0111] 目前,已经可以完全通过化学合成来得到编码本发明蛋白(或其片段,或其衍生物)的DNA序列。然后可将该DNA序列引入本领域中已知的各种现有的DNA分子(或如载体)和细胞中。此外,还可通过化学合成将突变引入本发明蛋白序列中。

[0112] 本发明还涉及包含上述的适当DNA序列以及适当启动子或者控制序列的载体。这些载体可以用于转化适当的宿主细胞,以使其能够表达蛋白质。

[0113] 宿主细胞可以是原核细胞,如细菌细胞;或是低等真核细胞,如酵母细胞;或是高等真核细胞,如哺乳动物细胞。代表性例子有:大肠杆菌,链霉菌属;鼠伤寒沙门氏菌的细菌细胞;真菌细胞如酵母;果蝇S2或Sf9的昆虫细胞;CHO、COS7、293细胞的动物细胞等。

[0114] 用重组DNA转化宿主细胞可用本领域技术人员熟知的常规技术进行。当宿主为原核生物如大肠杆菌时,能吸收DNA的感受态细胞可在指数生长期后收获,用 CaCl_2 法处理,所用的步骤在本领域众所周知。另一种方法是使用 MgCl_2 。如果需要,转化也可用电穿孔的方法进行。当宿主是真核生物,可选用如下的DNA转染方法:磷酸钙共沉淀法,常规机械方法如显微注射、电穿孔,脂质体包装等。

[0115] 获得的转化子可以用常规方法培养,表达本发明的基因所编码的多肽。根据所用的宿主细胞,培养中所用的培养基可选自各种常规培养基。在适于宿主细胞生长的条件下进行培养。当宿主细胞生长到适当的细胞密度后,用合适的方法(如温度转换或化学诱导)诱导选择的启动子,将细胞再培养一段时间。

[0116] 在上面的方法中的重组多肽可在细胞内、或在细胞膜上表达、或分泌到细胞外。如果需要,可利用其物理的、化学的和其它特性通过各种分离方法分离和纯化重组的蛋白。这些方法是本领域技术人员所熟知的。这些方法的例子包括但不限于:常规的复性处理、用蛋白沉淀剂处理(盐析方法)、离心、渗透破菌、超处理、超离心、分子筛层析(凝胶过滤)、吸附层析、离子交换层析、高效液相层析(HPLC)和其它各种液相层析技术及这些方法的结合。

[0117] 本发明的抗体可以单独使用,也可与可检测标记物(为检测目的)结合或偶联。

[0118] 用于检测目的的可检测标记物包括但不限于:生物素、荧光素、化学发光基团、化学荧光基团、荧光蛋白、酶、胶体金、彩色磁珠、乳胶颗粒、生物素标记、放射性核素、抗体、配体、抗原、受体,纳米粒子或其组合。

[0119] 典型地,所述纳米粒子选自下组:纳米金、纳米银、量子点或其组合。

[0120] 典型地,所述酶选自下组:辣根过氧化物酶、酸性磷酸酶或其组合。

[0121] 杂交瘤细胞株

[0122] 本发明还提供了可生产本发明针对RNA聚合酶介体单克隆抗体的杂交瘤细胞株；优选的，本发明提供了高效价的针对RNA聚合酶II转录亚基37e介体单克隆抗体的杂交瘤细胞株。

[0123] 在获得生产本发明的RNA聚合酶II转录亚基37e介体单克隆抗体的杂交瘤之后，本领域技术人员可以方便地利用该杂交瘤细胞株制备抗体。此外，本领域技术人员还可很方便地获知本发明的抗体的结构(比如抗体的重链可变区和轻链可变区)，然后可通过重组方法来制备本发明的单克隆抗体。

[0124] 单克隆抗体的制备

[0125] 本发明的抗体可以通过本领域内技术人员已知的各种技术进行制备。例如，本发明抗原，可被施用于动物以诱导单克隆抗体的产生。对于单克隆抗体，可利用杂交瘤技术来制备(见Kohler等人，Nature 256:495,1975;Kohler等人，Eur.J.Immunol.6:511,1976;Kohler等人，Eur.J.Immunol.6:292,1976;Hammerling等人，In Monoclonal Antibodies and T Cell Hybridomas,Elsevier,N.Y.,1981)或可用重组DNA法(美国专利号4,816,567)制备。

[0126] 代表性的骨髓瘤细胞是有效融合、通过选择的抗体产生细胞支持抗体的稳定高水平产生、且对培养基(HAT培养基基质)敏感的那些骨髓瘤细胞，包括骨髓瘤细胞株，例如鼠类的骨髓瘤细胞株，包括衍生自MOPC-21和MPC-11小鼠肿瘤的骨髓瘤细胞株(可购自Salk Institute Cell Distribution Center,圣地亚哥,加利福尼亚,美国)以及SP-2、NZO或X63-Ag8-653细胞(可购自American Type Culture Collection,洛克维尔,马里兰,美国)。人骨髓瘤和小鼠-人杂合骨髓瘤细胞株也已被描述用于产生人单克隆抗体[Kozbor, J.Immunol.,133:3001(1984);Brodeur等,单克隆抗体的生产技术和应用(Monoclonal Antibodies Production Techniques and Applications),51-63页(Marcel Dekker, Inc.,纽约,1987)]。

[0127] 对杂交瘤细胞生长于其中的培养基进行分析以检测具有所需特异性的单克隆抗体的产生，如，通过体外结合分析例如，酶联免疫吸附分析(ELISA)或放射免疫分析(RIA)。表达抗体的细胞的位置可用FACS进行检测。然后，可将杂交瘤克隆通过有限稀释步骤形成亚克隆(subcloned)，并通过标准方法生长(Goding,单克隆抗体(Monoclonal Antibodies):原则和实践(Principles and Practice),Academic Press(1986)59-103页)。为了达到这一目的而使用的适合的培养基包括，例如，DMEM或RPMI-1640培养基。此外，杂交瘤细胞可在动物体内作为腹水瘤生长。

[0128] 由亚克隆分泌的单克隆抗体从培养基、腹水或血清中通过常规的免疫球蛋白纯化工艺适当地得到分离，这些纯化工艺为例如，蛋白A-琼脂糖法(protein A-Sepharose)、羧基磷灰石层析、凝胶电泳、透析或亲和层析。

[0129] 本发明提供了一种针对RNA聚合酶介体的单克隆抗体，特别是针对RNA聚合酶II转录亚基37e介体的单克隆抗体。在本发明的一个优选的方案中，单克隆抗体采用培养杂交瘤细胞方法制备。取杂交瘤细胞培养的上清液，经饱和硫酸铵沉淀法粗提出IgG，再将粗提的抗体经亲和层析柱(Protein G-Sepharose)纯化。

[0130] 本发明的一个优选的方案中，单克隆抗体采用Balb/C小鼠腹水生产单克隆抗体的

方法制备。将杂交瘤细胞接种到致敏的小鼠腹腔内,10天左右可见腹部明显胀大。抽取腹水,经饱和硫酸铵沉淀法粗提后,再将粗提的抗体经亲和层析柱(Protein G-Sepharose)纯化。

[0131] 本发明的主要优点在于:

[0132] (1) 本发明抗体是已知第一个可以应用于作物RNA聚合酶II转录亚基37e介体的抗体;

[0133] (2) 本发明抗体具有高亲和力,高特异性,多应用场景等特点;

[0134] 下面结合具体实施例,进一步详陈本发明。应理解,这些实施例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围。下列实施例中未注明详细条件的实验方法,通常按照常规条件如美国Sambrook.J等著《分子克隆实验室指南》(黄培堂等译,北京:科学出版社,2002年)中所述的条件,或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明,否则百分比和份数按重量计算。以下实施例中所用的实验材料和试剂如无特别说明均可从市售渠道获得。

[0135] 材料和方法

[0136] 1抗体生产

[0137] 本抗体的生产路线,我们采用了艾比玛特公司的专利技术SEAL™。具体工艺路线如下(图1):

[0138] ①抗原制备

[0139] 合成RNA聚合酶II转录亚基37e介体多肽‘VGVWQHDRV E (SEQ ID NO.:9)’ ‘MVNHVQEFK (SEQ ID NO.:10)’ ‘CFDIDANGIL (SEQ ID NO.:11)’ ‘AIQWLDSNQL (SEQ ID NO.:12)’ 作为免疫原,多肽偶联了VLP以及传统KLH系统的免疫原性增强因子。

[0140] ②免疫小鼠

[0141] 每组抗原将用来免疫6只BaIb/c小鼠(8-12周龄),并监测其血清效价以决定最优的免疫次数。每个免疫原多肽混合成一组。优化了的佐剂和免疫方法能产生针对大多数抗原多肽的高亲和力的抗体(IgG亚型)。初次免疫后会经过3到4次的加强,加强后将取小鼠血清检测滴度(本发明发明人提供重组蛋白作为抗抗原包被)。滴度合格的小鼠将冲击一次并用于融合,不合格的小鼠将继续一到两次加强至滴度最高后融合。

[0142] ③血清检测和筛选

[0143] 免疫小鼠眼眶取血,并用ELISA检测血清滴度(重组蛋白作为抗原包被)。血清效价需大于10K,否则继续加强免疫。

[0144] ④融合及筛选

[0145] 取全脾和1/2的淋巴结,与骨髓瘤SP2/0细胞系融合。工艺为优化过的PEG融合。融合细胞铺到4块384孔板上(每孔细胞102到104),进行培养。收集所有孔的上清,用ELISA对多肽检测原进行筛选,镜检有细胞的阳性孔转到96孔板继续培养。生长几天后,收集所有孔的上清用ELISA检测与可溶片段检测原的反应。阳性孔进一步检测不同稀释度的可溶片段检测原结合,以进行亲和力排序。每个多肽免疫原亲和力最高的20个亲代克隆进入亚克隆。每个可溶片段免疫原亲和力最高的60个亲代克隆进入亚克隆。

[0146] ⑤亚克隆及筛选

[0147] 通过有限稀释法和ELISA筛选进行亚克隆,得到单克隆杂交瘤细胞。细胞铺96孔板,并培养至覆盖约1/6的底部。ELISA检测每个孔上清针对可溶片段检测原和相应多肽检

测原的反应,取OD值高且细胞状态良好的两个孔进入下轮亚克隆。重复上述步骤直到孔中细胞株阳性率100%。此时我们得到单克隆细胞株。经过最后一轮亚克隆后,所有阳性细胞立即扩大培养,一部分冻存供以后使用,另一部分进行上清或腹水制备。

[0148] ⑥抗体上清制备

[0149] 最终我们获得8株单克隆细胞株,并通过腹部注射到F1小鼠用于抗体生产。产生的腹水用Protein A/G纯化,并用于后续检测。

[0150] 2抗体验证

[0151] 对获得的8注单克隆抗体细胞株进行ELISA,Western blotting,免疫共沉淀加质谱,抗体芯片等验证,确定最有效抗体。

[0152] 实施例1抗体与抗原多肽的Elisa(免疫酶联)配对验证

[0153] 取待配对腹水抗体包被96孔ELISA板,孵育,洗涤后脱脂牛奶过夜封闭,PBS洗涤,4℃保存待用。抗原多肽孵育,PBS洗涤,同时设置对照。HRP标记检测抗体,加入到孵育有前述的ELISA板中。TMB显色反应,酶标仪读数。我们筛选得到8个细胞株的效价如下表1:

[0154] 表1 8个细胞株的效价

[0155]

抗体名称	克隆号	3.125K	6.25K	12.5K	25K	50K	100K	200K	400K	800K	1600K	PC	NC	是否合格	效价
抗-MED37E	2F12	2.989	2.914	2.853	2.689	1.969	1.407	0.805	0.427	0.244	0.187	2.896	0.183	合格	400K
抗-MED37E	8B10	2.875	2.763	2.554	1.675	1.075	0.579	0.377	0.218	0.185	0.134	2.734	0.094	合格	200K
抗-MED37E	4K7	3.001	3.014	2.998	2.675	2.343	1.254	1.02	0.687	0.402	0.239	3.02	0.172	合格	800K
抗-MED37E	3F12	3.012	2.961	2.92	2.954	2.852	2.607	1.993	1.085	0.643	0.447	2.965	0.127	合格	1600K
抗-MED37E	2C9	2.653	2.792	2.539	1.447	1.225	0.688	0.325	0.217	0.201	0.183	3.017	0.097	合格	200K
抗-MED37E	8F5	2.785	2.81	2.887	2.633	2.098	1.988	1.056	0.745	0.532	0.239	2.899	0.083	合格	800K
抗-MED37E	2M11	2.918	2.902	2.954	2.901	2.543	2.019	1.478	1.098	0.667	0.405	3.015	0.168	合格	1600K
抗-MED37E	3C2	3.107	3.059	3.172	2.804	1.907	1.554	0.98	0.452	0.24	0.135	3.128	0.096	合格	400K

[0156] 实施例2抗体的内源蛋白印记(WB)验证

[0157] 使用梨的全蛋白裂解液,抗体稀释浓度1:1000、1:2000及1:5000进行WB验证。实验结果显示(图2),anti-MED37E(克隆3F12)在WB验证中,可以特异性的识别69kd条带,与预期大小相符。

[0158] 实施例3抗体的免疫沉淀(IP)加质谱验证

[0159] 提取梨的全蛋白1mg,使用抗-MED37E(克隆3F12)进行免疫沉淀,免疫沉淀产物切取69kd大小条带进行质谱检测。质谱结果(如表2)显示,MED37E在免疫沉淀样品中大量富集,说明本抗体对MED37E识别的特异性高。并且,本抗体可以应用于免疫沉淀实验。

[0160] 表2IP产物69kd大小条带质谱检测结果

[0161]	质谱 打分	多肽 覆盖率 (%)	多肽 检测 条数	唯一多肽 检测条数	修饰性 注释	平均 分子量	蛋白 注释
	332.96	53	59	26	氧化修饰; 脱酰胺作用; 甲酯修饰; 质子交换; 钠加和物	69578	RNA聚合酶 II转录亚基 37e

[0162] 实施例4抗体芯片检测实验

[0163] 使用芯片点样仪将抗-MED37E (克隆3F12) 抗体及对照抗体点制于以NC膜为基质的玻璃片,形成直径为100um的抗体点。将梨的全蛋白进行生物素标记,按2ug/ml的浓度孵育在抗体芯片上,室温孵育半小时。PBS轻柔清洗三遍,再用CY3-SA荧光二抗进行孵育,PBS清洗三遍,使用GenePix荧光芯片扫描仪523nm扫描芯片。

[0164] 实验结果显示(图3)抗-MED37E抗体对目标蛋白有明显富集结合效果,荧光强度较强而对照抗体没有发生抗原抗体结合反应。

[0165] 实施例5作物根部多环芳烃含量检测

[0166] 该抗体因其对RNA聚合酶II转录亚基37e介体的独特特异性,可作为专门检测作物根部多环芳烃含量的检测抗体,或者更进一步的试剂盒开发。我们已经做了一些初步的探索性验证实验工作,比如针对不同作物根部的检测实验。

[0167] 标准品:RNA聚合酶II转录亚基37e介体的重组蛋白,通过BCA蛋白定量以及考染跑胶确认浓度并按10ug/ml,5ug/ml,2.5ug/ml,1.25ug/ml倍比稀释。

[0168] 检测抗体以固定浓度(1mg/ml)进行标准品的ELISA实验,得到数据绘制标准曲线(图4)用于后续待测样本检测的浓度计算参照。

[0169] 表3ELISA快速检测法:

[0170]

标准品浓度mg/ml	10	5	2.5	1.25
标准品OD值	3.079	2.404	1.678	0.968

[0171] 取得不同作物根部的组织液体样本进行ELISA实验,使用相同的固定抗体浓度(1mg/ml)进行检测,得到的OD值代入标准曲线计算得到作物根部的实际该蛋白含量,结果见下表4。

[0172] 表4不同作物根部的组织液体样本进行ELISA实验结果

[0173]

	检测OD值	蛋白浓度换算mg/ml	表达水平
马铃薯	1.003	0.79	低
大蒜	1.249	1.01	低
洋葱	0.878	0.70	低

胡萝卜	1.053	0.83	低
-----	-------	------	---

[0174] 在本发明提及的所有文献都在本申请中引用作为参考,就如同每一篇文献被单独引用作为参考那样。此外应理解,在阅读了本发明的上述讲授内容之后,本领域技术人员可以对本发明作各种改动或修改,这些等价形式同样落于本申请所附权利要求书所限定的范围。

序列表

<110> 艾比玛特医药科技(上海)有限公司

<120> 一种RNA聚合酶II转录亚基37e介体的单克隆抗体及其应用

<130> P2017-1732

<160> 12

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<400> 1

Ser Ala Leu Glu Pro Gly Ala Asn Ile

1 5

<210> 2

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<400> 2

Ile Ser Val Ala Ala Asn Glu Gly Pro Ser Thr

1 5 10

<210> 3

<211> 5

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<400> 3

Thr Gly Gly Ile Pro

1 5

<210> 4

<211> 85

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<400> 4

Thr Glu Gly Pro Ser Ser Val Ala Thr Gln Leu Glu Ser Gln Pro Ser

1 5 10 15

Ala Leu Glu Pro Gly Ala Asn Ile Asn Ile Arg Arg Val Ala Asn Ile

20 25 30

Met Tyr Phe Leu Gln Thr Thr Gly Ala Ile Ser Val Ala Ala Asn Glu

35 40 45

Gly Pro Ser Thr Pro Leu Gly Thr Ala Ala Asn Pro Ser Gly Ile Thr
 50 55 60
 Thr Asn Leu Gln Thr Gly Gly Ile Pro Thr Ala Val Gly Thr Thr Asn
 65 70 75 80
 Ile Ser Ala Val Ala
 85

<210> 5

<211> 6

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<400> 5

Gly Ile Arg Val Thr Ala

1 5

<210> 6

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<400> 6

Ile Ile Arg Ser Val Gly Gly Thr Ala

1 5

<210> 7

<211> 9

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<400> 7

Gln Tyr Thr Ile Ala Ala Asn Ile Arg

1 5

<210> 8

<211> 90

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<400> 8

Arg Asn Val Ala Ala Thr Gly Gly Ile Ser Thr Met Tyr Phe Phe Thr

1 5 10 15

Leu Glu Gly Ile Arg Val Thr Ala Leu Gly Pro Pro Val Ser Gly Asn

20 25 30

Met Tyr Phe Ala Thr Ala Gly Ser Ala Ile Ile Arg Ser Val Gly Gly

35 40 45

Thr Ala Asn Pro Pro Leu Thr Val Ala Ser Thr Ala Gly Asn Ile Ile

50	55	60
Thr GIn GIn GIy Pro Ser Thr VaI GIn Tyr Thr IIe AIa AIa Asn IIe		
65	70	75
Arg Pro VaI Pro GIu AIa AIa IIe Thr GIn		80
	85	90
<210> 9		
<211> 10		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial sequence)		
<400> 9		
VaI GIy VaI Trp GIn His Asp Arg VaI GIu		
1	5	10
<210> 10		
<211> 10		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial sequence)		
<400> 10		
Met VaI Asn His Phe VaI GIn GIu Phe Lys		
1	5	10
<210> 11		
<211> 10		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial sequence)		
<400> 11		
Cys Phe Asp IIe Asp AIa Asn GIy IIe Leu		
1	5	10
<210> 12		
<211> 10		
<212> PRT		
<213> 人工序列(Artificial sequence)		
<400> 12		
AIa IIe GIn Trp Leu Asp Ser Asn GIn Leu		
1	5	10

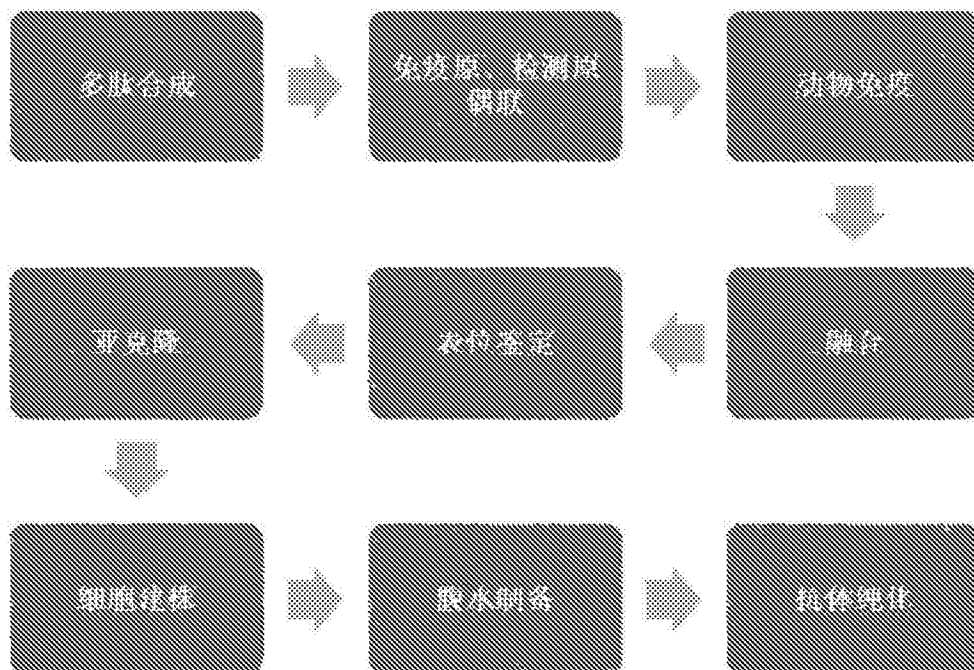


图1

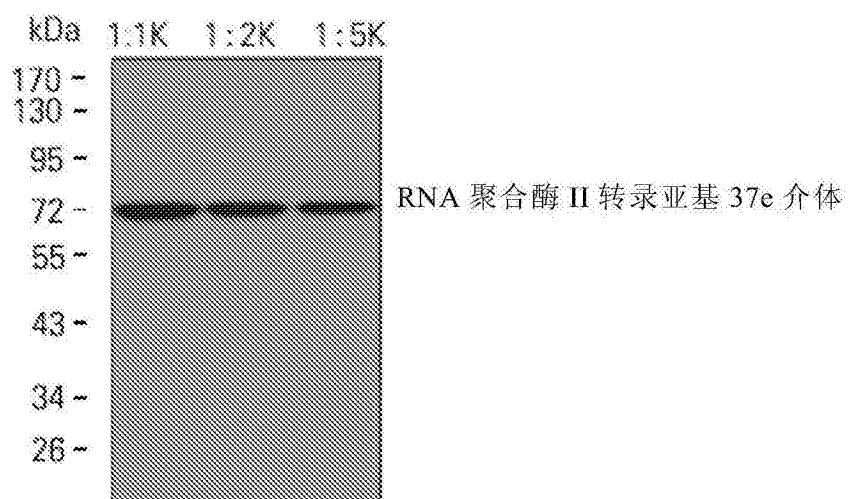


图2

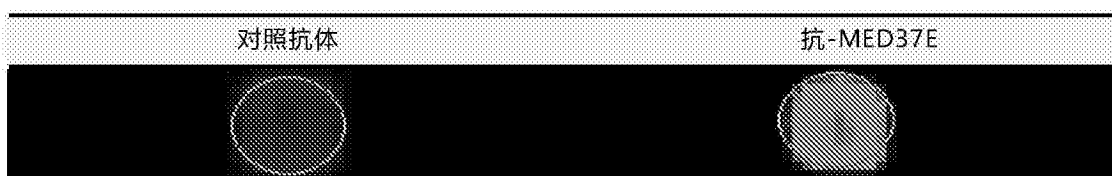


图3

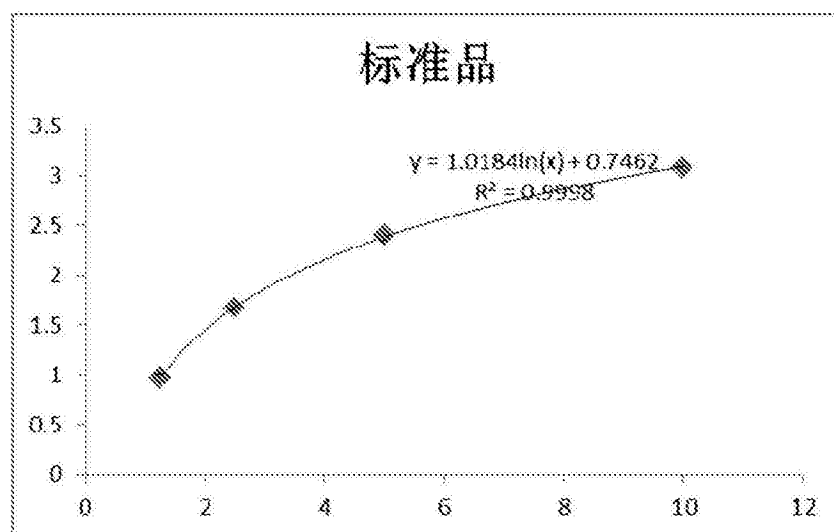


图4

专利名称(译) 一种RNA聚合酶II转录亚基37e介体的单克隆抗体及其应用

公开(公告)号 CN107987167A 公开(公告)日 2018-05-04

申请号 CN2017111351912.3 申请日 2017-12-15

[标]发明人 翁炜宁
张玉娜
孟逊

发明人 翁炜宁
张玉娜
孟逊

IPC分类号 C07K16/40 G01N33/577 G01N33/53

CPC分类号 C07K16/40 C07K2317/565 G01N33/5308 G01N33/577

代理人(译) 徐迅
崔佳佳

外部链接 [Espacenet](#) [SIPO](#)

摘要(译)

本发明提供了一种RNA聚合酶II转录亚基37e介体的单克隆抗体及其应用。实验结果表明，本发明抗体能够应用于针对该蛋白研究的抗体芯片反应、免疫沉淀、Western Blotting以及检测植物根部有毒致癌成分多环芳烃(PAHs)的含量。

抗体名称	克隆号	3.125K	6.25K	12.5K	25K	50K	100K	200K	400K	800K	1600K	PC	NC	是否合格	效价
抗-MED37E	2F12	2.989	2.914	2.853	2.689	1.969	1.407	0.805	0.427	0.244	0.187	2.896	0.183	合格	400K
抗-MED37E	8B10	2.875	2.783	2.554	1.675	1.075	0.579	0.377	0.218	0.185	0.134	2.734	0.094	合格	200K
抗-MED37E	4K7	3.001	3.014	2.998	2.675	2.343	1.254	1.02	0.687	0.402	0.229	3.02	0.172	合格	800K
抗-MED37E	3F12	3.012	2.961	2.92	2.954	2.852	2.807	1.993	1.085	0.643	0.447	2.965	0.127	合格	1600K
抗-MED37E	2F9	2.653	2.782	2.539	1.447	1.225	0.688	0.325	0.217	0.201	0.183	3.017	0.097	合格	200K
抗-MED37E	8F5	2.785	2.81	2.887	2.633	2.068	1.988	1.066	0.745	0.532	0.229	2.899	0.083	合格	800K
抗-MED37E	2H11	2.918	2.902	2.954	2.901	2.543	2.019	1.478	1.098	0.667	0.405	3.015	0.168	合格	1600K
抗-MED37E	3C2	3.107	3.059	3.172	2.804	1.907	1.554	0.98	0.452	0.24	0.135	3.128	0.096	合格	400K