

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810121853.5

[51] Int. Cl.

C07K 14/045 (2006.01)

C07K 16/08 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/68 (2006.01)

A61K 39/42 (2006.01)

A61P 31/20 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 4 月 1 日

[11] 公开号 CN 101397334A

[22] 申请日 2008.10.30

[21] 申请号 200810121853.5

[71] 申请人 浙江大学

地址 310027 浙江省杭州市西湖区浙大路 38 号

[72] 发明人 马伟杭 范 骏 姚航平 张 旋
陈晓明 杨美芳 高海女

[74] 专利代理机构 杭州中成专利事务所有限公司
代理人 唐银益

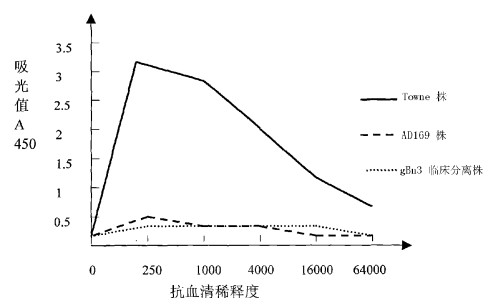
权利要求书 2 页 说明书 10 页 附图 3 页

[54] 发明名称

一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体及制备方法与专用抗原

[57] 摘要

本发明公开了一种制备抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的专用抗原，其氨基酸序列是 SEQ NO.1 或 SEQ NO.2；本发明还公开了一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体，用上述的其中一种专用抗原免疫动物，再从所免疫的动物中分离、纯化血清所得到的抗体；本发明还公开了一种制备抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的方法；本发明还提供了一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的制备疫苗的应用，作为抗体芯片的应用，和用于研究 CMV gB 蛋白及其抗体结构及功能的应用。本发明制备出的抗 HCMV gBn1 抗体，其优点为特异性强、灵敏度高。



1、一种制备抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的专用抗原，其特征在于：其氨基酸序列为：SEQ NO. 1。

2、一种制备抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的专用抗原，其特征在于：是氨基酸序列 SEQ NO. 1 与 KLH 交联的多肽。

3、一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体，其特征在于：用权利要求 1 或 2 所述的专用抗原免疫动物，再从所免疫的动物中分离、纯化血清所得到的抗体。

4、一种制备抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的方法，其特征在于包括以下步骤：

(1) 用权利要求 1 或 2 所述的专用抗原免疫动物，将 gBn1 专用抗原 100ug 与弗氏完全佐剂等体积混合，充分乳化后经动物背部皮内组织进行多点注射；4 周后加强免疫，改用弗氏不完全佐剂，注射方法不变；2 周后再经过两次加强免疫，每次间隔 2 周；第四次免疫后两周再加强免疫一次；

(2) 从步骤 (1) 得到的免疫动物中取血，分离、纯化血清，得到 gBn1 抗体。

5、根据权利要求 4 所述的制备抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的方法，其特征在于所述步骤 (2) 中血清的纯化方法为：

(1) 血清用冷 PBS 液稀释 5 倍后，于 10000 转离心 30min，去沉淀；

(2) 将预装有 Sepharose-protein G 的抗体纯化柱用 10 倍柱床体积的 Binding Buffer 充分流洗；

(3) 将稀释的血清上柱，控制流速 8~10 滴/分钟；

(4) 将流穿的血清重复上柱；

(5) 用 20 倍柱床体积的 Binding Buffer 充分洗涤，直至流穿液 A280 吸光值小于 0.01；

(6) 用 Elution Buffer 洗脱结合的抗体，控制流速 8~10 滴/分钟，收集洗脱液于预加有 0.1ml 的磷酸钾缓冲液 (PH7.9, 0.5M) 的收集管中，每管收集 0.5ml 洗脱液；

(7) 于 A280nm 检测每管洗脱液的吸光度，并收集吸光值大于 0.2 的洗脱液；

(8) 将收集的洗脱液置于透析卡中，并于 0.1M PH7.0 的 PBS 中透析；每隔 6 小时换液一次，共透析 48 小时；

(9) 将纯化的抗体溶液按 1:100 稀释后，于 280nm 测蛋白含量；

(10) 将纯化的抗体加叠氮钠防腐后分装于小管中，置于低温冰箱备用。

-
- 6、抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体在检测 HCMV 感染患者的 gB 分型的应用。
 - 7、抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的制备疫苗的应用。
 - 8、抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体作为抗体芯片的应用。
 - 9、抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体用于研究 CMV gB 蛋白及其抗体结构及功能的应用。

一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体及制备方法与专用抗原

技术领域

本发明属于细胞免疫学领域，特别涉及一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体及制备方法与专用抗原。

背景技术

人巨细胞病毒 (human cytomegalovirus, HCMV) 在人群中普遍感染。大多数人原发感染无症状，成为无症状携带者，但若免疫缺损或免疫抑制可造成严重后果，如白血球减少症，肺炎，胃肠疾病，移植物功能减弱及排异，脑炎，视网膜炎等；在优生优育方面，若宫内 HCMV 感染，可致婴儿严重后遗症。

gB 是 HCMV 最重要的包膜糖蛋白之一，是 HCMV 编码蛋白中最具有免疫原性的一个，是中和抗体的关键靶目标并且参加细胞应答。HCMV 亚型分类也通常以 gB 的型别来划分。目前大量临床研究认为，不同的 gB 基因型与临床有着密切的联系。我国 HCMV 感染者中 gBn1 型占有明显优势。因此对于抗 gBn1 抗体的制备具有良好的研究及应用前景。

目前国内外尚无有效的人巨细胞病毒 (HCMV) 疫苗，国内曾制备出 pp65 蛋白质疫苗，但其方法技术难度高，而且应用效果并不佳（公开号 1686541 申请号 200510038861 人巨细胞病毒 pp65 蛋白质疫苗的制备方法）。迄今，减毒活疫苗、灭活疫苗、亚单位疫苗及重组疫苗在安全性、抗原的免疫原性、保护性中和抗体的滴度方面效果均不佳，其原因就是抗原表位的研究还不够，虽然大部分抗原表位具有高度恒定性，但 gB 糖蛋白 N 末端区域表现出不同型别的差异；而且 gB 糖蛋白可诱导中和抗体和细胞免疫，是疫苗研究的首选靶位，因此研究 gB N 端抗原型是研究 HCMV 感染、免疫的关键，是将来成功研制疫苗的关键技术基础。

发明内容

本发明的目的在于克服现有技术中的不足，提供一种制备抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的专用抗原，其氨基酸序列为：SEQ NO. 1。

本发明还提供了一种制备抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的专用抗原，是氨基酸序列 SEQ NO.1 与 KLH 交联的多肽。

本发明还提供了一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体，用上述的其中一种专用抗原免疫动物，再从所免疫的动物中分离、纯化血清所得到的抗体。

本发明还提供了一种制备抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的方法，包括以下步骤：

(1) 用上述其中一种专用抗原免疫动物，将 gBn1 专用抗原 100ug 与弗氏完全佐剂等体积混合，充分乳化后经动物背部皮内组织进行多点注射；4 周后加强免疫，改用弗氏不完全佐剂，注射方法不变；2 周后再经过两次加强免疫，每次间隔 2 周；第四次免疫后两周再加强免疫一次；

(2) 从步骤 (1) 得到的免疫动物中取血，分离、纯化血清，得到 gBn1 抗体。

所述步骤 (2) 中血清的纯化方法为：

(1) 血清用冷 PBS 液稀释 5 倍后，于 10000 转离心 30min，去沉淀；

(2) 将预装有 Sepharose-protein G 的抗体纯化柱用 10 倍柱床体积的 Binding Buffer 充分流洗；

(3) 将稀释的血清上柱，控制流速 8~10 滴/分钟；

(4) 将流穿的血清重复上柱；

(5) 用 20 倍柱床体积的 Binding Buffer 充分洗涤，直至流穿液 A280 吸光值小于 0.01；

(6) 用 Elution Buffer 洗脱结合的抗体，控制流速 8~10 滴/分钟，收集洗脱液于预加有 0.1ml 的磷酸钾缓冲液 (PH7.9, 0.5M) 的收集管中，每管收集 0.5ml 洗脱液；

(7) 于 A280nm 检测每管洗脱液的吸光度，并收集吸光值大于 0.2 的洗脱液；

(8) 将收集的洗脱液置于透析卡中，并于 0.1M PH7.0 的 PBS 中透析；每隔 6 小时换液一次，共透析 48 小时；

(9) 将纯化的抗体溶液按 1:100 稀释后，于 280nm 测蛋白含量；

(10) 将纯化的抗体加叠氮钠防腐后分装于小管中，置于低温冰箱备用。

本发明还提供了一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体在检测 HCMV 感染患者的 gB 分型的应用。

本发明还提供了一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的制备疫苗的应用。

本发明还提供了一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体作为抗体芯片的应用。

本发明还提供了一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体用于研究 CMV gB 蛋白及其抗体结构及功能的应用。

本发明具有以下有益效果：此发明中制备出抗 HCMV gBn1 抗体，其优点为特异性强、灵敏度高。

目前大量临床研究认为，不同的 gB 基因型与临床有着密切的联系。gBn1 型阳性者有较好的临床转归，gBn2 型的患者易出现临床症状并伴有较高的抗原血症，gBn3 型阳性者术后与移植物抗宿主病的严重程度呈负相关。另外，不同的 gB 基因型表现出不同的细胞趋向性，不同的亚型也有着不同水平的神经亲和力：感染体内外周血白细胞时，gB1 亚型在体内不感染淋巴细胞，而 gB2 和 gB3 亚型感染单核和淋巴细胞；中枢神经系统是 gB2 的优先感染位点。关于 gB 基因型的分布，各个地区有所差异。其原因可能是由于病毒株地理分布的不同，及人种不同等原因造成的。在我国，HCMV 感染者中 gBn1 型占有明显优势。

抗 HCMV gBn1 抗体的成功制备，可用于以下四方面：

1，诊断应用：临床检测 HCMV 感染患者的 gB 分型，评估患者的预后。

2，治疗应用：由于 gB 已经成为制备 CMV 疫苗的主要候选位点，我国 HCMV 感染人群中 gBn1 型占有绝对优势，因此抗 HCMV gBn1 抗体的成功制备可为疫苗制备奠定坚实基础，可作为研制疫苗的参考评价体系。

3，分析应用：抗体芯片等。

4，结构及功能研究：用于研究 CMV gB 蛋白及其抗体结构及功能。

附图说明

图 1 是本发明实施例中不同型 HCMV gBn 与不同稀释度抗血清反应在 450nm 处的吸光值；

图 2 是本发明实施例中不同型 HCMV gBn 与不同稀释度抗血清反应在 450nm 处的吸光值；

图 3 是本发明实施例中不同型 HCMV gBn 与不同稀释度抗血清反应在 450nm 处的吸光值；

图 4 是本发明实施例中 HCMVgBn1、HCMVgBn2、HCMVgBn3 样本的免疫染色图；

图 5 是本发明实施例中 SDS-PAGE Western-blot 免疫沉淀法中的电泳图。

具体实施方式

下面结合实施例来说明本发明的技术方案：

一、材料：

（一）主要细胞株、实验动物：

细胞株：人胚肺成纤维 HFL-1、MRC-5 细胞，购自中国科学院上海细胞所。
HCMV AD169 株购自北京病毒所，HCMV Towne 株为临床分离株购自美国 ATCC 公司。

免疫动物：新西兰兔，购自中科院上海实验动物中心。

（二）主要试剂：

弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂：美国 Sigma 公司

DMEM 和 RPMI-1640 培养基：美国 Invitrogen 公司

胎牛血清（FCS）：美国 Invitrogen 公司

100×HT，50×HAT：美国 Invitrogen 公司

羊抗兔 IgG-HRP：美国 Santa Cruz 公司

TMB 底物：美国 KPL 公司

10X 包被缓冲液：美国 KPL 公司

PBS 洗液：美国 KPL 公司

ECL 化学发光底物：美国 Cell Signaling Tech 公司

细胞蛋白裂解液：美国 Cell Signaling Tech 公司

免疫沉淀 Agarose Protein-G：美国 Santa Cruz 公司

SDS-PAGE 试剂：上海生工生物工程有限公司

电泳及转膜缓冲液：上海生工生物工程有限公司

IgG 免疫球蛋白纯化试剂 Protein G Fast Flow：美国 GE 公司

细胞免疫组化染色系统（EnVision system）：DAKO 公司

X-Film：美国 KODAK

PCR/RT-PCR 试剂：美国 Invitrogen 公司

（三）主要材料：

细胞培养板（96，24，6 孔）、培养瓶：美国 Corning 公司

离心管（15ml，50ml）、移液管：美国 Corning 公司

可拆卸高吸附酶标板：美国 Coring 公司

PVDF 膜：Millipore 公司

（四）主要设备：

二氧化碳培养箱：Thermo 3110

生物安全柜：Thermo

深低温冰箱-86℃：Thermo

液氮罐：Thermo

台式冷冻高速离心机：Thermo

全自动酶标仪：Bio-Rad

蛋白垂直电泳及转膜系统：Bio-Rad

化学发光/荧光成像分析系统 VersaDoc5000MP：Bio-Rad

AKAT 100 蛋白纯化系统：GE

荧光显微镜：Olympus IX81

二. 抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的制备方法：

（一）人巨细胞病毒人 gBn1 抗原多肽设计和合成：

根据 GenBank 公布的序列（M60929）利用计算机辅助设计，确定人巨细胞病毒人 gBn1 抗原多肽氨基酸序列：SEQ NO. 1，多肽序列由杭州中肽生物技术公司合成。合成肽分子量：3998.2，经 RP-HPLC 分析，肽纯度 95.1%。为了增强 gBn1 抗原多肽的免疫原性，部分多肽用 Keyhole Limpet Hemocyanin (KLH) 交联。所有合成肽置于-20℃保存备用。

（二）gBn1 抗原免疫兔子和抗血清制备：

初次免疫时，每只兔（新西兰兔，购自中科院上海实验动物中心，下同）注射约 100ug 抗原。将交联 KLH 的 gBn1 抗原肽 100ug 与弗氏完全佐剂（美国 Sigma 公司）等体积混合，充分乳化后经背部皮内组织进行多点注射。4 周后加强免疫，改用弗氏不完全佐剂（美国 Sigma 公司），注射方法不变。2 周后再经过两次加强免疫（每次间隔 2 周）。第四次免疫后取少量血用 ELISA 法检测抗体的水平。第四次免疫后两周再加强免疫一次，3 天后免疫兔子取血，分离血清，备检。

（三）抗体的纯化：

采用目前最有效的亲和纯化法(蛋白 G 交联纯化柱)纯化兔血清中抗 gBn1 抗

体。制备亲和层析柱将抗体结合后洗脱，回收率可达 90% 以上。

操作方法：

(1) 血清用冷 PBS 液稀释 5 倍后，于 10000 转离心 30min，去沉淀。

(2) 将蛋白 G 交联的抗体纯化柱（购自美国 GE 公司）用 10 倍柱床体积的结合缓冲液充分流洗。

(3) 将稀释的血清上柱，控制流速 8~10 滴/分钟。

(4) 将流穿的血清重复上柱。

(5) 用 20 倍柱床体积的结合缓冲液充分洗涤，直至流穿液 A280 吸光值小于 0.01。

(6) 用洗脱液洗脱结合的抗体，控制流速 8~10 滴/分钟，收集洗脱液于预加有 0.1ml 的磷酸钾缓冲液 (pH7.9, 0.5M) 的收集管中，每管收集 0.5ml 洗脱液。

(7) 于 A280nm 检测每管洗脱液的吸光度，并收集吸光值大于 0.2 的洗脱液。

(8) 将收集的洗脱液置于透析卡中，并于 0.1M pH7.0 的 PBS 中透析。每隔 6 小时换液一次，共透析 48 小时。

(9) 将纯化的抗体溶液稀释 (1:100) 后，于 280nm 测蛋白含量。

1A 280unit=0.8mg 蛋白质

(10) 将纯化的抗体加叠氮钠防腐后分装于小管中，置于低温冰箱备用。

(四) 直接 ELISA 法检测血清中和纯化后抗体水平：

(1) gBn1 抗原的包被：

将合成的 gBn1 抗原肽稀释于包被缓冲液中，浓度 100ng/ml，加于 96 孔酶标板中 100ul/孔 (15~30ng/孔)，4℃包被过夜。次日酶标板用 PBS 洗后加 1%BSA—PBS 封闭液 300ul/孔室温封闭 2 小时，PBS 洗板 3 次。

(2) 抗体检测：

于已包被 gBn1 抗原肽的酶标板中加入适当稀释的兔血清或纯化的抗体 100ul/孔，室温反应 2 小时；PBS 洗板 3 次后每孔加入 100 ul 羊抗兔 IgG—HRP（购自美国 Santa Cruz 公司）(1:5000)，室温反应 2 小时；PBS 洗板 4 次后每孔加入 100ul TMB 底物液（购自美国 KPL 公司），避光反应 10 分钟，用 2N H₂SO₄ 终止反应，于全自动酶标仪 450nm 处读取吸光值。

图 1: 该图为 HCMV Towne 株、AD169 株、gBn3 型临床分离株裂解液 (30ng/孔) 与不同稀释度抗血清 (分别为空白孔, 1: 250, 1: 1000, 1: 4000, 1: 16000, 1: 64000) 反应的吸光值。其中二抗稀释度为 1: 3000。结果显示, Towne 株组吸光值较另外两组有明显差异, 制备的抗血清对 Towne 株有良好的特异性。

图 2: 该图为 HCMV Towne 株、AD169 株、gBn3 型临床分离株裂解液 (15ng/孔) 与不同稀释度抗血清 (分别为空白孔, 1: 2000, 1: 8000, 1: 32000, 1: 128000, 1: 512000) 反应的吸光值。其中二抗稀释度为 1: 5000。结果显示, Towne 株组吸光值较另外两组有明显差异, 制备的抗血清对 Towne 株有良好的特异性。

图 3: 该图为 HCMV Towne 株、AD169 株、gBn3 型临床分离株裂解液 (15ng/孔) 与不同稀释度抗血清 (分别为空白孔, 1: 4000, 1: 16000, 1: 64000, 1: 256000, 1: 1024000) 反应的吸光值。其中二抗稀释度 1: 8000。结果显示, Towne 株组吸光值较另外两组有明显差异, 制备的抗血清对 Towne 株有良好的特异性。

通过 ELISA 法、抗原交叉反应试验, 结果表明抗 gBn1 抗体能够高敏感性、特异性识别 gBn1, 而不与 HCMV gBn2 及 gBn3 型交叉反应, 效价达到 1: 64000。本研究成功制备了高敏感性和特异性的抗 HCMV gBn1 的抗体。

(五) 免疫细胞化学染色法:

(1) 取临床病人外周血单个核细胞 PBMCs (已被确证有 CMV 感染 gBn1 型、gBn2 型、gBn3 型的病例), 经离心涂片后, 空气略干燥后, 即用冷甲醇固定细胞 20 分钟。

(2) PBS 洗涤后, 加 0.3% H_2O_2 室温封闭 15 分钟。

(3) PBS 洗涤后, 加 3% BSA (牛血清白蛋白, 购自美国 Sigma) 室温封闭 30 分钟。

(4) 加 1: 1000 稀释的纯化的抗 gBn1 抗体, 室温反应 40 分钟。

(5) PBS 洗涤后, 加 EnVision (兔) System (购自上海基因有限公司), 室温反应 20 分钟。

(6) 加入 DAB 底物液避光显色 3 分钟, 水洗后苏木素复染。

(7) 显微镜下观察染色结果, 判断阳性反应。

图 4: 细胞免疫染色鉴定抗 gBn1 抗体与临床 HCMV gBn1, gBn2, gBn3 阳性样本的反应性; 图中 1—gBn1, 2—gBn1, 3—gBn2, 4—gBn3。

免疫染色结果显示:本发明制备的抗 gBn1 抗体能特异地与临床 HCMV gBn1 阳性的样本反应,与 PCR 分型法测定为 gBn1 基因型的结果符合,而且抗 gBn1 抗体与其它两型均不反应,表明本研究成功制备了高特异性的抗 HCMV gBn1 型抗体。

(六) SDS-PAGE Western-blot 免疫沉淀法鉴定抗体

(1) 取 HCMV Towne 株(gBn1 型) 10 μ g 和 50 μ g、HCMVAD169 株 (gBn2 型)、HCMV gBn3 临床分离株和正常人胚肺成纤维 HFL1 细胞株(购自中国科学院细胞库),裂解蛋白,加纯化的抗 gBn1 抗体 1 μ g,用 PBS 稀释至 500 μ l, 4 $^{\circ}$ C 缓慢摇动 2 小时;再加入 20 微升充分重悬的 Protein G Agarose (蛋白 G 交联的琼脂糖,购自美国 Santa Cruz 公司), 4 $^{\circ}$ C 缓慢摇动过夜。

(2) 2500rpm(约 1000g)离心 5 分钟,小心吸除上清,注意不能吸掉 Protein G Agarose。

(3) 用 1 毫升 PBS 洗涤沉淀 5 次。

(4) 完成最后一次洗涤后,去除上清,加入 40 微升 1X SDS-PAGE 电泳上样缓冲液重悬沉淀,瞬时高速离心把样品离心至管底。

(5) 100 $^{\circ}$ C 或沸水浴处理 3-5 分钟,取部分样品用于 SDS-PAGE 电泳,暂时不用的样品-20 $^{\circ}$ C 保存。

(6) 电泳结束后,将蛋白转移至 PVDF 膜。

(7) 转膜结束后,将膜置于 5%脱脂奶粉-PBS,室温封闭 2 小时;加 1:1000 稀释的 gBn1 抗体,室温反应 2 小时。

(8) 洗膜 4 次后加 1:5000 稀释的羊抗兔 IgG-HRP (购自美国 Santa Cruz 公司),室温反应 1 小时。

(9) 洗膜 4 次后于 ECL 显色, VersaDoc 5000 全自动化学发光分析仪(美国 Bio-Rad)曝光成像。

图 5: 电泳图;图中: 1-HCMV Towne 病毒株 (gBn1) (10 μ g); 2-HCMV Towne 病毒株 (50 μ g); 3-细胞株 (未感染 HCMV); 4-HCMV gBn3 临床分离株; 5-HCMVAD169 (gBn2) 病毒株。

以 HCMV Towne 株、HCMVAD169 株、HCMVgBn3 临床分离株和正常人胚肺成纤维 HFL1 细胞株 (中购自中国科学院细胞库) 为抗原,以抗 gBn1 抗体作为一抗进行免疫沉淀分析,结果显示,抗 gBn1 抗体能与 Towne 株制备的蛋白反应,在相

对分子质量约 116KD 处出现 1 条清晰条带，符合 HCMV gB 的分子量；其他则无条带出现。说明所制备的 gBn1 抗体可识别含有合成多肽相同片断的 HCMV，即 gBn1 型 HCMV。显示了抗 gBn1 抗体具有的特异性。

最后，还需要注意的是，以上列举的仅是本发明的具体实施例子。显然，本发明不限于以上实施例子，还可以有许多变形。本领域的普通技术人员能从本发明公开的内容直接导出或联想到的所有变形，均应认为是本发明的保护范围。

序列表

<110> 浙江大学

<120> 一种抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体及制备方法与专用抗原

<160> 1

<210> 1

<211> 39

<212> PRT

<213> 抗人巨细胞病毒 gBn1 抗体的专用抗原氨基酸序列

<400> 1

Ala Gly Thr Ser Ala Thr His Ser His His

1 5 10

Ser Ser His Thr Thr Ser Ala Ala His Ser

15 20

Arg Ser Gly Ser Val Ser Gln Arg Val Thr

25 30

Ser Ser Gln Thr Val Ser His Gly Val

35 39

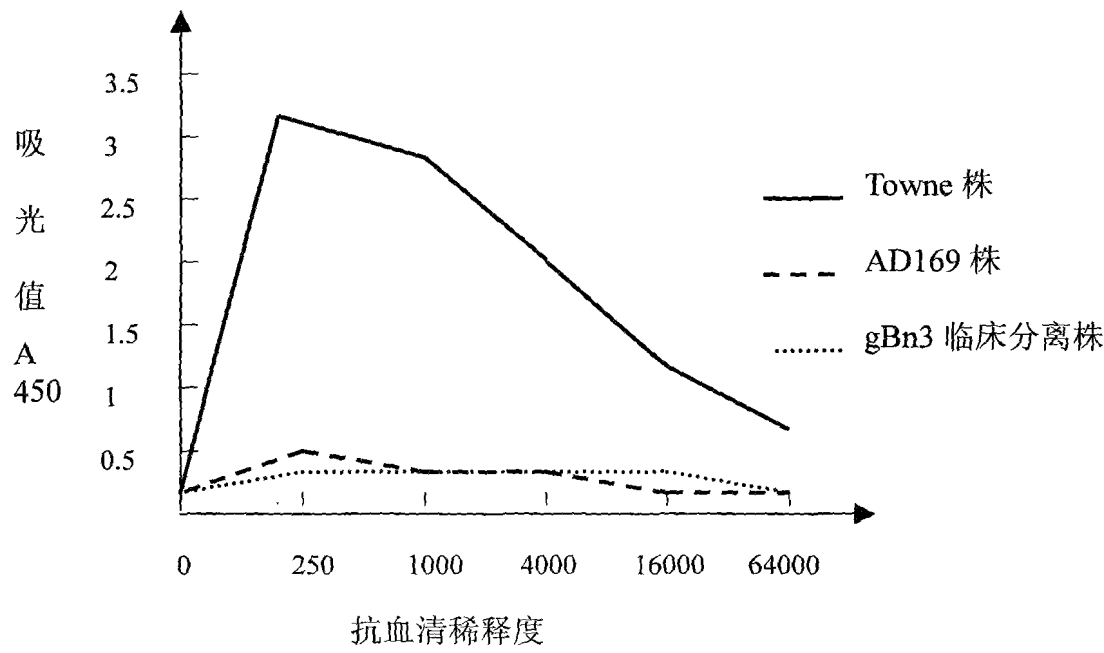


图 1

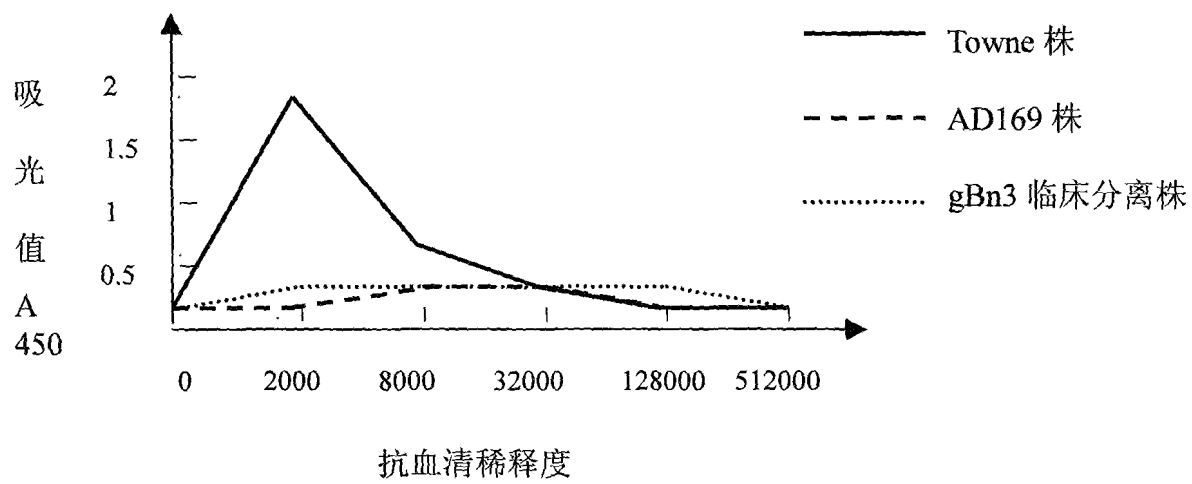


图 2

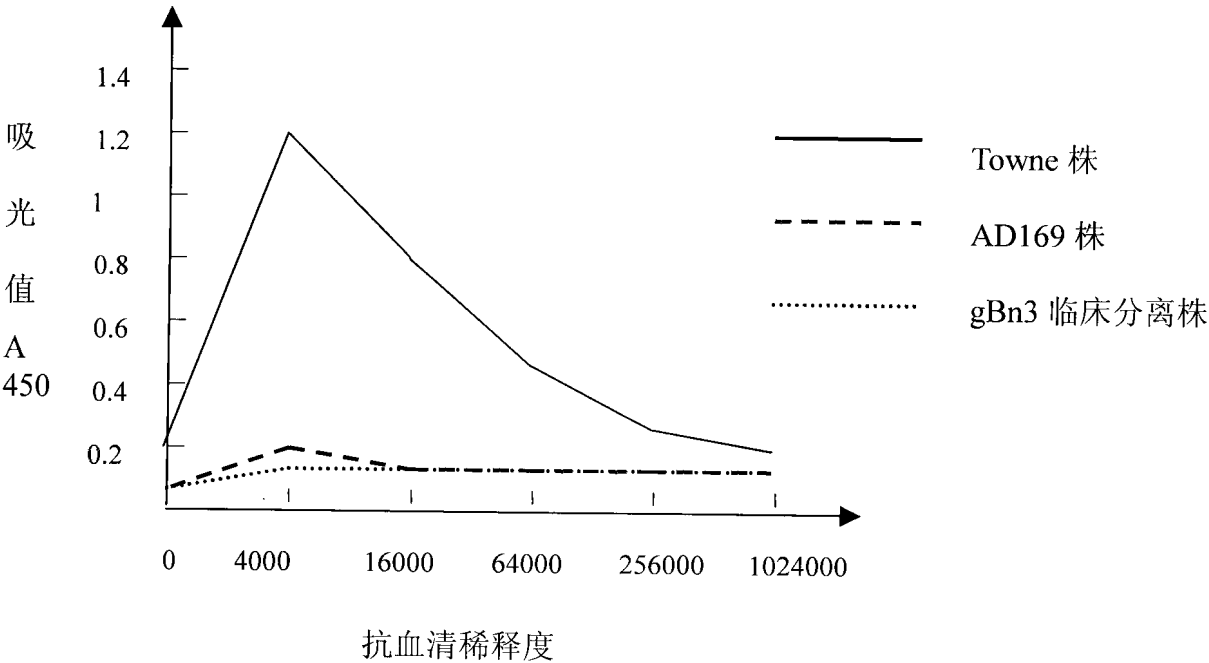


图 3

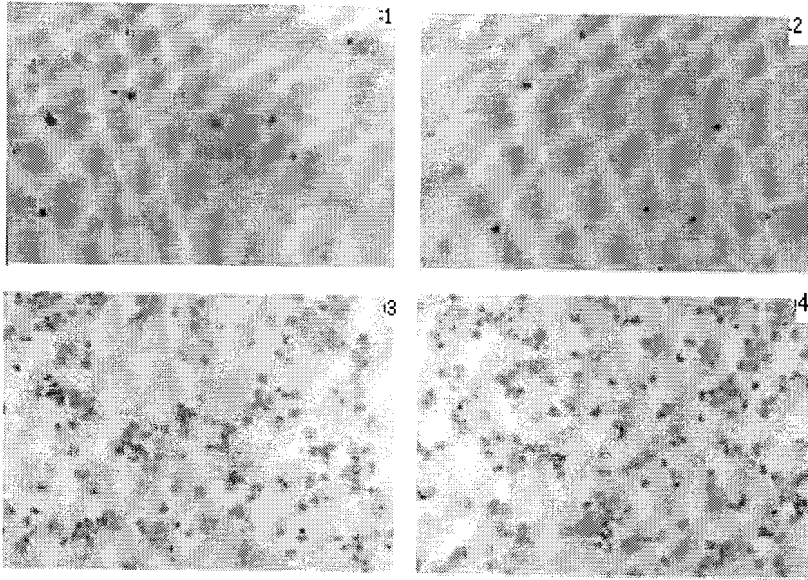


图 4

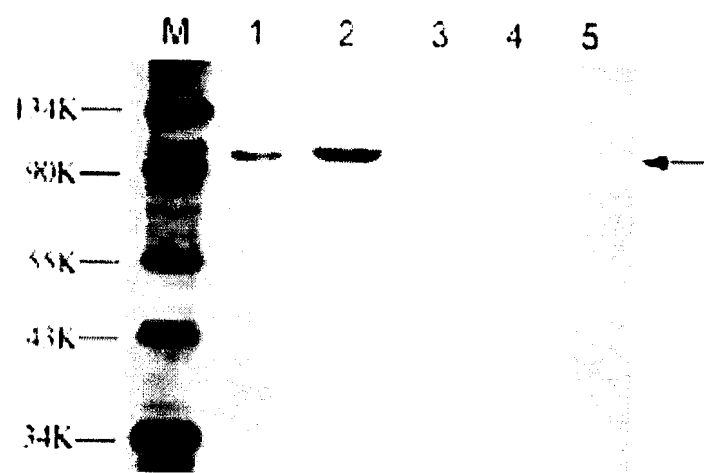


图 5

专利名称(译)	一种抗人巨细胞病毒gBn1抗体及制备方法与专用抗原		
公开(公告)号	CN101397334A	公开(公告)日	2009-04-01
申请号	CN200810121853.5	申请日	2008-10-30
[标]申请(专利权)人(译)	浙江大学		
申请(专利权)人(译)	浙江大学		
当前申请(专利权)人(译)	浙江大学		
[标]发明人	马伟杭 范骏 姚航平 张旋 陈晓明 杨美芳 高海女		
发明人	马伟杭 范骏 姚航平 张旋 陈晓明 杨美芳 高海女		
IPC分类号	C07K14/045 C07K16/08 G01N33/53 G01N33/68 A61K39/42 A61P31/20		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种制备抗人巨细胞病毒gBn1抗体的专用抗原，其氨基酸序列是SEQ NO.1或SEQ NO.2；本发明还公开了一种抗人巨细胞病毒gBn1抗体，用上述的其中一种专用抗原免疫动物，再从所免疫的动物中分离、纯化血清所得到的抗体；本发明还公开了一种制备抗人巨细胞病毒gBn1抗体的方法；本发明还提供了一种抗人巨细胞病毒gBn1抗体的制备疫苗的应用，作为抗体芯片的应用，和用于研究CMV gB蛋白及其抗体结构及功能的应用。本发明制备出的抗HCMV gBn1抗体，其优点为特异性强、灵敏度高。

