



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102830223 A

(43) 申请公布日 2012. 12. 19

(21) 申请号 201210288033. 1

(22) 申请日 2012. 08. 14

(71) 申请人 四川汇宇制药有限公司
地址 641000 四川省内江市市中区双苏路综合楼 126 号附 1 号

(72) 发明人 丁兆 朱仲玉

(74) 专利代理机构 成都行之专利代理事务所
(普通合伙) 51220

代理人 谭新民

(51) Int. Cl.
G01N 33/53(2006. 01)

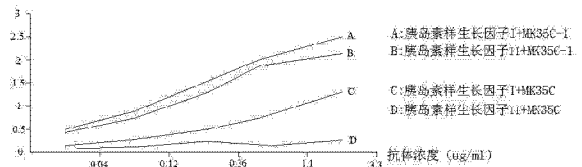
权利要求书 1 页 说明书 5 页
序列表 8 页 附图 2 页

(54) 发明名称

一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法

(57) 摘要

本发明公开了一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,在受测体给药前后分别提取包含疑似含有肿瘤细胞的细胞群的样本一和样本二,然后在样本一和样本二中加入含有 SEQIDNO :1, SEQIDNO :2, SEQIDNO :3, SEQIDNO :4, SEQIDNO :5, SEQIDNO :6, SEQIDNO :7 或 SEQIDNO :8 中记载的氨基酸序列的抗体,所述抗体用于标记胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II,以判断样本一和样本二中是否含有肿瘤细胞,如有,则对肿瘤细胞进行识别,比较样本一和样本二中的肿瘤细胞量,如样本二的肿瘤细胞量小于样本一,则说明所用药物对肿瘤疾病具有治疗效果。



1. 一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,其特征在于,它包括以下步骤:

A. 在一个疑似患有肿瘤的个体的血液或组织中取样,得到样本一,样本一包括一个疑似含有肿瘤细胞的细胞群;

B. 将候选药物给药至所述个体;

C. 在所述个体的血液或组织中取样,得到样本二,样本二包括一个疑似含有肿瘤细胞的细胞群;

D. 在样本一和样本二中加入含有 SEQ ID NO :1, SEQ ID NO :2, SEQ ID NO :3, SEQ ID NO :4, SEQ ID NO :5, SEQ ID NO :6, SEQ ID NO :7 或 SEQ ID NO :8 中记载的氨基酸序列的抗体;

所述抗体特异性地结合到胰岛素样生长因子 I 或胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 上,标记胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II;

E. 检测样本一和样本二中是否存在胰岛素样生长因子 I 标记物或胰岛素样生长因子 I 标记物和胰岛素样生长因子 II 标记物;

F. 如样本一和样本二中含有胰岛素样生长因子 I 标记物或胰岛素样生长因子 I 标记物和胰岛素样生长因子 II 标记物,则对样本一和样本二进行分析,识别样本一和样本二中的肿瘤细胞,如样本二中的肿瘤细胞数量相较于样本一减少,说明所述的候选药物对于哺乳动物肿瘤疾病具有疗效。

2. 根据权利要求 1 所述的一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,其特征在于:所述的抗体与显像成分连接。

3. 根据权利要求 2 所述的一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,其特征在于:所述的显像成分为荧光染料、放射性标记物、微泡造影剂、酶或热量法标记物。

4. 根据权利要求 3 所述的一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,其特征在于:所述的荧光染料为硫氰酸荧光素、罗丹明或得克萨斯红。

5. 根据权利要求 3 所述的一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,其特征在于:所述的放射性标记物为 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{125}I 、 ^{121}I 、 ^{112}In 或 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 。

6. 根据权利要求 3 所述的一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,其特征在于:所述的酶为辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶或水解酶。

7. 根据权利要求 3 所述的一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,其特征在于:所述的所述的热量法标记物为纳米金珠、有色玻璃珠或塑料珠。

8. 根据权利要求 1 所述的一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,其特征在于:所述的肿瘤为转移性肿瘤或早期阶段肿瘤。

一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法

技术领域

[0001] 本发明属于生物技术领域,具体涉及一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法。

背景技术

[0002] 传统的治疗肿瘤疾病药物的筛选方式为:将肿瘤细胞株植入免疫缺陷鼠体内,待肿瘤长成后再给予不同剂量的筛选化合物,然后观察所试化合物是否能抑制肿瘤细胞的生长,甚至使肿瘤细胞死亡或消失。然后再作计算分析,得出最小抑制剂量、中位抑制剂量、LC50 等指标,以这些指标作为衡量受试化合物的抗癌作用强度。这一方法的优点是得到的药物可穿过细胞膜以及某些生理屏障,缺点是所得到的药物仅对快速分裂的肿瘤(如白血病或淋巴瘤)疗效较好,而对实体瘤的治疗远不尽人意。而且,这种筛选方式只能针对确定患有肿瘤疾病的个体,而不能判断受测个体是否患有肿瘤,整个筛选所耗时间大部分用于肿瘤的培育,导致这种筛选方法效率低下。

[0003] 细胞分裂和细胞增殖速率加快会导致肿瘤疾病的发病几率提高。近年来的临床研究表明,胰岛素样生长因子与多种常见肿瘤疾病(如乳腺癌、前列腺癌、肺癌和结肠癌等)的发病有直接关系。胰岛素样生长因子在有丝分裂中发挥调节细胞增殖、分化和凋亡的作用,它不仅刺激细胞酶原还抑制细胞凋亡,这对肿瘤的产生有直接影响。

[0004] 所以有必要发展一种通过胰岛素样生长因子判断受测个体是否患有肿瘤疾病并筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,以缩短筛选时间,提高筛选效率。

发明内容

[0005] 本发明所需要解决的技术问题是提供一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法。通过将具有本申请所记载的特定氨基酸序列的抗体作用于样本,可判断样本是否含有肿瘤细胞,从而缩短筛选时间,提高筛选效率。

[0006] 本发明解决上述技术问题所采用的技术方案如下:

一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,它包括以下步骤:

A. 在一个疑似患有肿瘤的个体的血液或组织中取样,得到样本一,样本一包括一个疑似含有肿瘤细胞的细胞群;

B. 将候选药物给药至所述个体;

C. 在所述个体的血液或组织中取样,得到样本二,样本二包括一个疑似含有肿瘤细胞的细胞群;

D. 在样本一和样本二中加入含有 SEQ ID NO :1, SEQ ID NO :2, SEQ ID NO :3, SEQ ID NO :4, SEQ ID NO :5, SEQ ID NO :6, SEQ ID NO :7 或 SEQ ID NO :8 中记载的氨基酸序列的抗体;

所述抗体特异性地结合到胰岛素样生长因子 I 或胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 上,标记胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II;

E. 检测样本一和样本二中是否存在胰岛素样生长因子 I 标记物或胰岛素样生长因子 I 标记物和胰岛素样生长因子 II 标记物；

F. 如样本一和样本二中含有胰岛素样生长因子 I 标记物或胰岛素样生长因子 I 标记物和胰岛素样生长因子 II 标记物,则对样本一和样本二进行分析,识别样本一和样本二中的肿瘤细胞,如样本二中的肿瘤细胞数量相较于样本一减少,说明所述的候选药物对于哺乳动物肿瘤疾病具有疗效。

[0007] 所述的抗体与显像成分连接。

[0008] 具体地,所述显像成分为荧光染料、放射性标记物、微泡造影剂、酶或热量法标记物。

[0009] 进一步地,所述的荧光染料为硫氰酸荧光素、罗丹明或得克萨斯红。

[0010] 所述的放射性标记物为 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{125}I 、 ^{121}I 、 ^{112}In 或 $^{99\text{m}}\text{Tc}$ 。

[0011] 所述的酶为辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶或水解酶。

[0012] 所述的所述的热量法标记物为纳米金珠、有色玻璃珠或塑料珠。

[0013] 所述的肿瘤为转移性肿瘤或早期阶段肿瘤。

[0014] 本发明的有益效果是:本发明将具有特定氨基酸序列的抗体用于标记胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II,以判断所述样本中是否包含肿瘤细胞,避免了肿瘤的培养,从而缩短筛选时间,提高筛选效率。

附图说明

[0015] 图 1 展示了 MK35A、MK35B 和 MK35C 结合到胰岛素样生长因子 I 的情况

图 2 展示了 MK35A、MK35B 和 MK35C 结合到胰岛素样生长因子 II 的情况

图 3 展示了 MK35C 和 MK35C-1 结合到胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 的情况示。

具体实施方式

[0016] 下面结合具体实施例对本发明作进一步详细描述,本发明的保护范围不仅限于下述实施例。

[0017] 实施例 1:

目前,大部分可用的胰岛素样生长因子抗体都不是来自人类,而是来自鼠类。发明人利用包含 1010 个不同噬菌体展示的人源性 Fab 库开发出针对胰岛素样生长因子的单克隆抗体。通过本领域技术人员所熟知的酶联免疫吸附法,利用胰岛素样生长因子 I 作为靶抗原,经过三轮筛选,得到 200 个随机个体噬菌体克隆。对能明显结合到胰岛素样生长因子 I 的单克隆抗体进行测序,其中 3 个单克隆抗体具有独特的序列,它们在噬菌体内以可溶性 Fab 表达。其中一个单克隆抗体 MK35C 在上述的酶联免疫吸附法检测中,对胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 都显示出较强的结合特异性,另外两个单克隆抗体, MK35A 和 MK35B 则只对胰岛素样生长因子 I 显示出结合特异性。

[0018] 人源性 Fab 库作为打乱库中特异性抗体轻链可变区基因 VL 全部组成部分的来源。在从人源性 Fab 库进行噬菌体的制备时,首先用 Nco I 和 Spe I 进行酶切,然后进行琼脂糖凝胶电泳,以去除所有的特异性抗体重链可变区基因 VH。对单克隆抗体 MK35C 的 VH 区

的基因编码进行扩增,引入随机突变,然后与 CHI 的基因片段相融合。融合片段通过 Nco I 和 Spe I 进行酶切,然后将其从凝胶中纯化出来,并连接到纯化的主体载体,得到打乱库中特异性抗体轻链可变区基因 VL 的全部组成部分。从打乱库中得到 2×10^8 个独立的单克隆抗体,所述单克隆抗体为 MK35C 的变异体。通过针对胰岛素样生长因子 I 共轭珠的两轮筛选,并通过酶联免疫吸附法进行第二轮筛选后得到 200 个单克隆抗体。对能明显结合到胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 的单克隆抗体进行测序,其中 5 个单克隆抗体 MK35C-1 具有独特的序列,他对胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 都显示出很强的结合特异性。

[0019] 其中, MK35A 的特异性抗体重链可变区基因 VH 包含 SEQ ID NO :1 中记载的氨基酸序列, MK35A 的特异性抗体轻链可变区基因 VL 包含 SEQ ID NO :2 中记载的氨基酸序列;

MK35B 的特异性抗体重链可变区基因 VH 包含 SEQ ID NO :3 中记载的氨基酸序列, MK35B 的特异性抗体轻链可变区基因 VL 包含 SEQ ID NO :4 中记载的氨基酸序列;

MK35C 的特异性抗体重链可变区基因 VH 包含 SEQ ID NO :5 中记载的氨基酸序列, MK35C 的特异性抗体轻链可变区基因 VL 包含 SEQ ID NO :6 中记载的氨基酸序列;

MK35C-1 的特异性抗体重链可变区基因 VH 包含 SEQ ID NO :7 中记载的氨基酸序列, MK35C-1 的特异性抗体轻链可变区基因 VL 包含 SEQ ID NO :8 中记载的氨基酸序列。

[0020] 上述 4 种抗体与胰岛素样生长因子 I 或胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 特异性结合, 抗体与胰岛素样生长因子受体存在竞争关系, 从而阻止胰岛素样生长因子与胰岛素样生长因子受体结合, 使得细胞增殖所需的信号介导被抑制。

[0021] 如图 1 和图 2 所示, 通过酶联免疫吸附法测试, MK35A 和 MK35B 与胰岛素样生长因子 I 特异性结合, 并不与胰岛素样生长因子 II 结合, MK35C 与胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 特异性结合, 并且其结合能力优于 MK35A 和 MK35B。

[0022] 如图 3 所示, 通过酶联免疫吸附法测试, 随着抗体浓度的提高, 抗体与胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 的结合量逐渐增大, 在浓度相同的情况下, MK35C-1 的结合能力优于 MK35C 的结合能力。从中可以看出, MK35C-1 是本发明的一个较佳实施方式。

[0023] 实施例 2:

本实施例在实施例 1 的基础上, 选择 MK35C-1 对显像成分进行说明, 所述显像成分不能对抗体与胰岛素样生长因子 I 或胰岛素样生长因子 II 的特异性结合产生重大影响。

[0024] MK35C-1 与荧光染料共价结合, 可选择的荧光染料有硫氰酸荧光素、罗丹明或得克萨斯红, 上述荧光染料不会对 MK35C-1 与胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 的特异性结合产生重大影响。MK35C-1 与胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 特异性结合后, 荧光染料即可对胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 实现标记。硫氰酸荧光素溶于碱性溶液后会发出强烈的绿色荧光, 可以通过肉眼进行观察。罗丹明和得克萨斯红可以通过感光胶片或电子检测器件(如 CCD、光电倍增管等)进行检测。

[0025] MK35C-1 与放射性标记物共价结合, 可选择的放射性标记物有 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、 ^{125}I 、 ^{121}I 、 ^{112}In 或 $^{99\text{m}}\text{Tc}$, 上述放射性标记物不会影响 MK35C-1 与胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 的特异性。MK35C-1 与胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 特异性结合后, 放射性标记物即可对胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 实现标记。放射性标记物的检测可以通过含有一个闪烁计数器或感光胶片的放射自显影技术进行, 该技术为本领

域技术人员所熟知,此处不再赘述。

[0026] MK35C-1 与酶共价结合,可选择的酶有辣根过氧化物酶、碱性磷酸酶或水解酶。上述酶不会影响 MK35C-1 与胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 的特异性。MK35C-1 与胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 特异性结合后,酶即可对胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 实现标记。对酶的检测可以通过给酶提供合适的底物,然后检测其反应产物来进行,根据酶的种类的不同,底物和反应产物也有所区别。由于该技术为本领域技术人员所熟知,此处不再赘述。

[0027] MK35C-1 与热量法标记物结合,可选择的热量法标记物有纳米金珠、有色玻璃珠或塑料珠。热量法标记物不会影响抗体与抗原的特异性。对于标记物的检测可以通过观察与标记物有关的颜色进行。

[0028] MK35C-1 中还可以加入微泡造影剂,微泡造影剂同样不会对 MK35C-1 与胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 的特异性造成影响。对微泡造影剂的检测可通过本领域技术人员所熟知的超声波成像来完成。

[0029] 实施例 3:

本实施例用于说明本方法的实际效果,所以本实施例所使用的受测个体为植入转移性乳腺癌细胞株并成瘤的小鼠。

[0030] 本实施例在实施例 1 和实施例 2 的基础上进行。

[0031] 一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,它包括以下步骤:

- A. 在所述小鼠的血液或组织中取样,得到样本一,样本一包括一个小鼠细胞群;
- B. 对所述小鼠注射环磷酰胺 100mg,并培养 6h;
- C. 在所述小鼠的血液或组织中取样,得到样本二,样本二包括一个小鼠细胞群;
- D. 在样本一和样本二中加入 MK35C-1, MK35C-1 与实施例 2 中所述的任意一种显影成分连接;

MK35C-1 特异性结合到胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 上,标记胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II;

E. 对样本一和样本二进行洗涤,去除其中未与胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 结合的 MK35C-1,然后检测样本一和样本二中是否存在胰岛素样生长因子 I 标记物和胰岛素样生长因子 II 标记物,检测方法根据步骤 D 中所选择的显影成分确定。检测结果发现样本一和样本二中都存在胰岛素样生长因子 I 标记物和胰岛素样生长因子 II 标记物,说明该小鼠体内含有肿瘤细胞,其检测方法根据所述显像成分不同而有所区别,但都是本领域技术人员所熟知的,此处不再赘述;

F. 对样本一和样本二进行分析,识别样本一和样本二中的肿瘤细胞,发现样本二中的肿瘤细胞数量为样本一中的肿瘤细胞数量的 60%,说明环磷酰胺对转移性乳腺癌具有治疗效果。

[0032] 实施例 4:

本实施例为实施例 2 的对比例。本实施例所使用的受测个体为健康的小鼠。

[0033] 一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,它包括以下步骤:

- A. 在所述小鼠的血液或组织中取样,得到样本一,样本一包括一个小鼠细胞群;
- B. 对所述小鼠注射环磷酰胺 100mg,并培养 6h;

C. 在所述小鼠的血液或组织中取样,得到样本二,样本二包括一个小鼠细胞群;

D. 在样本一和样本二中加入含有实施例 1 所述的 MK35C-1, MK35C-1 与实施例 2 中所述的任意一种显影成分连接;由于小鼠为健康小鼠,样本一和样本二中不含有胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II;

E. 对样本一和样本二进行洗涤,去除所有 MK35C-1,然后检测样本一和样本二,在样本一和样本二中未发现胰岛素样生长因子 I 的标记物和胰岛素样生长因子 II 的标记物,说明所述小鼠为健康小鼠,其体内不含有肿瘤细胞。

[0034] 实施例 5:

本实施例用于说明本方法的实际效果,所以本实施例所使用的受测个体为植入转移性乳腺癌细胞株并成瘤的小鼠。

[0035] 一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,它包括以下步骤:

A. 在所述小鼠的血液或组织中取样,得到样本一,样本一包括一个小鼠细胞群;

B. 对所述小鼠注射青霉素 100mg,并培养 6h;

C. 在所述小鼠的血液或组织中取样,得到样本二,样本二包括一个小鼠细胞群;

D. 在样本一和样本二中加入含有实施例 1 所述的 MK35C-1, MK35C-1 与实施例 2 中所述的任意一种显影成分连接;

MK35C-1 特异性结合到胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 上,标记胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II;

E. 对样本一和样本二进行洗涤,去除其中未与胰岛素样生长因子 I 和胰岛素样生长因子 II 结合的 MK35C-1,然后检测样本一和样本二中是否存在胰岛素样生长因子 I 标记物和胰岛素样生长因子 II 标记物,检测方法根据步骤 D 中所选择的显影成分确定。检测结果发现样本一和样本二中都存在胰岛素样生长因子 I 标记物和胰岛素样生长因子 II 标记物,说明该小鼠体内含有肿瘤细胞;

F. 对样本一和样本二进行分析,识别样本一和样本二中的肿瘤细胞,发现样本二中的肿瘤细胞数量与样本一中的肿瘤细胞数量几乎相同,说明青霉素对转移性乳腺癌没有治疗效果。

[0036] 本发明所述的一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法,其原理并不针对于某一特定肿瘤疾病或某一特定药物。使用本发明所述方法即可实现对治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的筛选。说明书中所述实施例已足以说明本发明的效果。未针对其它肿瘤疾病或药物进行说明并不能视为本发明的公开不充分。

SEQUENCE LISTING

- <110> 四川汇宇制药有限公司
- <120> 一种治疗哺乳动物体内肿瘤疾病的方法
- <130> 一种治疗哺乳动物体内肿瘤疾病的方法
- <160> 8
- <170> PatentIn version 3.3
- <210> 1
- <211> 121
- <212> PRT
- <213> MK35A VH
- <400> 1

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Pro Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Tyr
 20 25 30

Tyr Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Ile Ile Asn Pro Ser Gly Gly Ser Thr Ser Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Arg Asp Thr Ser Thr Ser Thr Val Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Asp Asp Phe Trp Ser Gly Ala Val Gly Met Asp Val Trp Gly
 100 105 110

Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 2

<211> 110

<212> PRT

<213> MK35A VL

<400> 2

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Leu Ser Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Val Gly Ser Asp
 20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Val
 35 40 45

Ser Asp Ala Ser Asn Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Lys Leu Thr Ile Asn Ser Leu Glu Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Arg Arg Arg Trp Pro Pro
 85 90 95

Gly Ala Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105 110

<210> 3

<211> 120

<212> PRT

<213> MK35B VH

<400> 3

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Val Asp Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Ser Gly Tyr Glu Gly Pro Leu Trp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Met Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 4

<211> 112

<212> PRT

<213> MK35B VL

<400> 4

Gln Ala Ser Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala
 1 5 10 15

Pro Gly Gln Arg Val Ser Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile
 20 25 30

Gly Asn Tyr His Val Ser Trp Tyr Gln His Leu Pro Gly Arg Ala Pro
 35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Asp Asn Ser Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp
 50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Asp Ile Thr
 65 70 75 80

Gly Leu Gln Thr Gly Asp Glu Gly Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp
 85 90 95

Thr Ser Leu Arg Trp Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
 100 105 110

<210> 5

<211> 120

<212> PRT

<213> MK35C VH

<400> 5

Gln Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45

Gly Gly Ile Ile Pro Ile Leu Gly Ile Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80

Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Arg Gly Pro Arg Gly Tyr Ser Tyr Asn Phe Asp Tyr Trp Gly Gln
 100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 6

<211> 108

<212> PRT

<213> MK35C VL

<400> 6

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
 1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Tyr
 20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
 35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
 50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
 65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ser Tyr Ser Thr Pro Ser
 85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg
 100 105

胰岛素样生长因子I

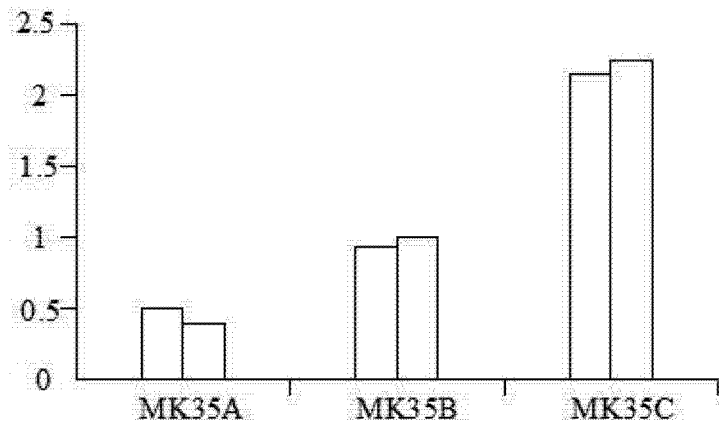


图 1

胰岛素样生长因子II

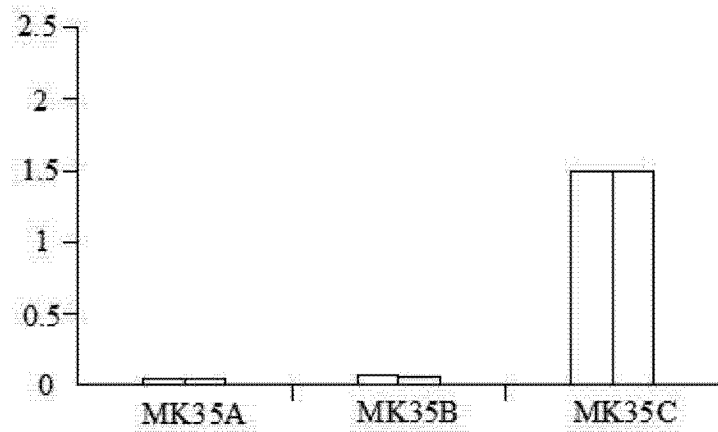


图 2

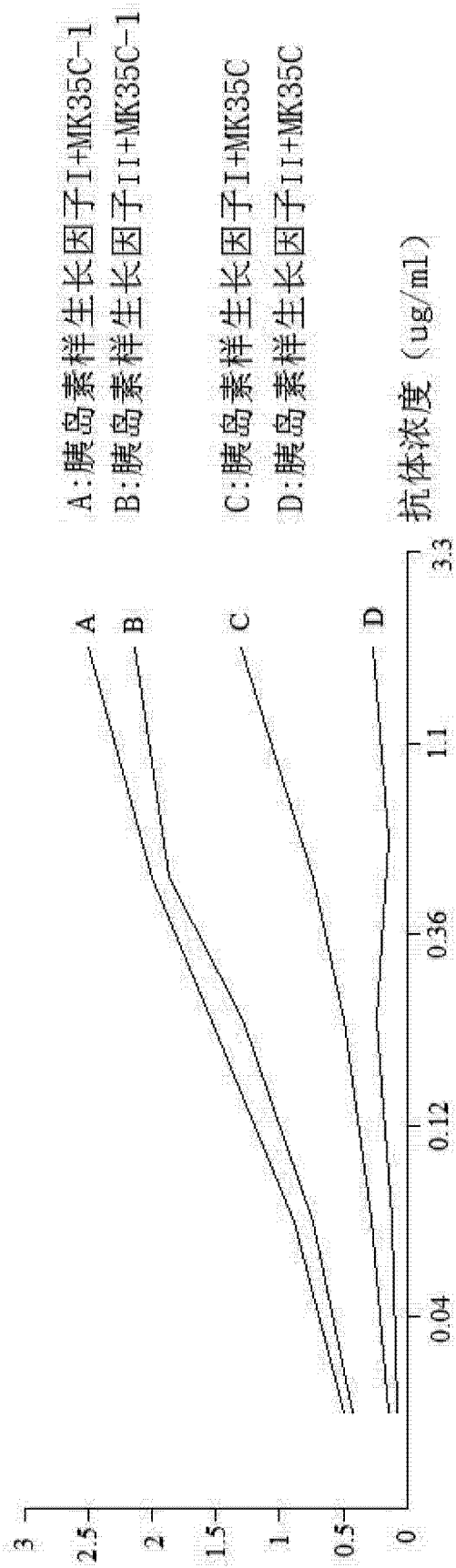


图 3

专利名称(译)	一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法		
公开(公告)号	CN102830223A	公开(公告)日	2012-12-19
申请号	CN201210288033.1	申请日	2012-08-14
[标]申请(专利权)人(译)	四川汇宇制药有限公司		
申请(专利权)人(译)	四川汇宇制药有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	四川汇宇制药有限公司		
[标]发明人	丁兆 朱仲玉		
发明人	丁兆 朱仲玉		
IPC分类号	G01N33/53		
代理人(译)	谭新民		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种筛选治疗哺乳动物肿瘤疾病药物的方法，在受测体给药前后分别提取包含疑似含有肿瘤细胞的细胞群的样本一和样本二，然后在样本一和样本二中加入含有SEQIDNO：1，SEQIDNO：2，SEQIDNO：3，SEQIDNO：4，SEQIDNO：5，SEQIDNO：6，SEQIDNO：7或SEQIDNO：8中记载的氨基酸序列的抗体，所述抗体用于标记胰岛素样生长因子I和胰岛素样生长因子II，以判断样本一和样本二中是否含有肿瘤细胞，如有，则对肿瘤细胞进行识别，比较样本一和样本二中的肿瘤细胞量，如样本二的肿瘤细胞量小于样本一，则说明所用药物对肿瘤疾病具有治疗效果。

