



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107082784 B

(45)授权公告日 2019.08.09

(21)申请号 201710229076.5

(22)申请日 2017.04.10

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107082784 A

(43)申请公布日 2017.08.22

(73)专利权人 中国农业大学
地址 100193 北京市海淀区圆明园西路2号

(72)发明人 王战辉 沈建忠 李红芳 张素霞
史为民 温凯 杨慧娟

(74)专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司 11245

代理人 关畅 何叶喧

(51)Int.Cl.

C07D 493/22(2006.01)

C07K 14/765(2006.01)

C07K 14/77(2006.01)

C07K 1/107(2006.01)

C07K 16/44(2006.01)

C07K 16/06(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

(56)对比文件

CN 1830547 A,2006.09.13,权利要求,实施例,发明内容部分.

RU 2554350 C1,2015.06.27,参见摘要,实施例,权利要求.

RU 2554074 C1,2015.06.27,摘要,权利要求,实施例.

CN 87103559 A,1988.01.27,参见全文.

Samsonova, Jeanne V.等.Determination of ivermectin in bovine liver by optical immunobiosensor.《Biosensors and Bioelectronics》.2001,第17卷(第6-7期),第523-529页,参见全文.

米铁军等.阿维菌素类药物免疫分析检测的研究进展.《中国畜牧兽医学学会兽医药理毒理学分会第十次研讨会》.2009,全文,特别是第1部分,参考文献中的内容.

崔恒华.依维菌素免疫学检测技术研究.《扬州大学硕士学位论文》.2008,正文第24页1.2节.

审查员 黄凯

权利要求书1页 说明书7页 附图4页

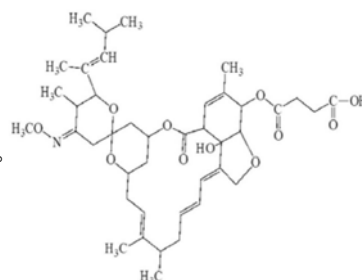
(54)发明名称

一种用于检测莫西菌素的多克隆抗体及其制备方法和应用

(57)摘要

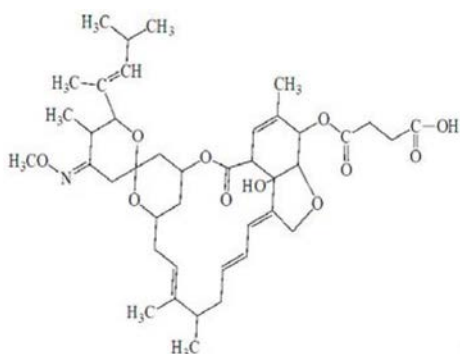
本发明公开了一种用于检测莫西菌素的多克隆抗体及其制备方法和应用。本发明首先保护一种化合物(一种半抗原),结构式如式(I)所示。本发明还保护式(I)所示化合物与载体蛋白偶联得到的偶联物。本发明还保护以所述偶联物为免疫原得到的抗体。所述抗体具体可为多克隆抗体。本发明还保护一种用于检测莫西菌素的试剂盒,包括所述多克隆抗体。本发明首次对莫西菌素结构进行了改造,得到半抗原,制备了莫西菌素的多克隆抗体,填补了国内外空白。利用本发明提供的半抗原与载体蛋白的偶联物制备莫西菌素抗体,制备过程简单、经济、灵敏度高、实用

价值高。本发明在兽药残留检测中具有良好的应用前景。



式(I)

1. 一种偶联物,是采用活化酯法将载体蛋白偶联于式(I)所示化合物的羧基碳上得到的;



式 (I);

所述载体蛋白为BSA。

2. 权利要求1所述的偶联物的制备方法,其特征在于,所述式(I)所示化合物是由包括如下步骤的方法制备得到的:莫西菌素与琥珀酸酐反应,得到所述化合物。

3. 一种制备权利要求1所述偶联物的方法,包括如下步骤:采用活化酯法将所述载体蛋白偶联于所述式(I)所示化合物的羧基碳上。

4. 以权利要求1所述偶联物为免疫原得到的抗体。

5. 如权利要求4所述的抗体,其特征在于:所述抗体为多克隆抗体。

6. 一种制备用于检测莫西菌素的多克隆抗体的方法,包括如下步骤:用权利要求1或2所述偶联物作为免疫原,得到多克隆抗体。

7. 权利要求5所述多克隆抗体在制备产品中的应用,所述产品的功能为检测莫西菌素。

8. 权利要求5所述多克隆抗体在检测莫西菌素中的应用。

9. 一种用于检测莫西菌素的试剂盒,包括权利要求5所述多克隆抗体。

一种用于检测莫西菌素的多克隆抗体及其制备方法和应用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于检测莫西菌素的多克隆抗体及其制备方法和应用。

背景技术

[0002] 莫西菌素 (Moxidectin, MXD) 是由一种链霉菌发酵产生的半合成的新型大环内酯类药物。莫西菌素具有广谱驱虫活性, 对犬、牛、绵羊、马的线虫和节肢动物寄生虫均有高度驱除活性。由于驱虫活性高, 药效时间长等, 莫西菌素在国内外的应用越来越广泛, 有取代阿维菌素的趋势。

[0003] 在促进畜牧业发展的同时, 由于不合理使用甚至滥用, 导致莫西菌素在动物性食品中残留甚至引起耐药虫体的产生, 严重威胁着人类的健康以及生态环境的稳定。

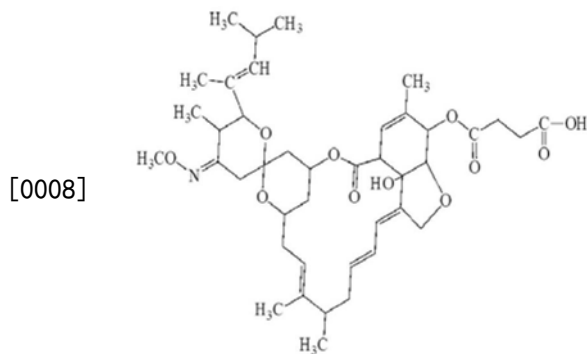
[0004] 1990年欧盟2377/90规定, 在动物(牛、羊、马)肝脏中莫西菌素最高含量为0.1mg/kg, 在动物(牛、羊、马)肌肉和肾脏中莫西菌素最高含量为0.05mg/kg, 在奶(牛奶、羊奶)中莫西菌素最高含量为0.04mg/kg。

[0005] 开发一种简单、快捷、用于检测莫西菌素的多克隆抗体显得尤为重要。

发明内容

[0006] 本发明的目的是提供一种用于检测莫西菌素的多克隆抗体及其制备方法和应用。

[0007] 本发明首先保护一种化合物(一种半抗原), 结构式如式(I)所示;



式(I)。

[0009] 本发明还保护一种制备式(I)所示化合物的方法, 包括如下步骤: 莫西菌素与琥珀酸酐反应, 得到所述化合物。

[0010] 所述方法为琥珀酸酐法。

[0011] 莫西菌素与琥珀酸酐的配比为1.012g:0.5g。

[0012] 所述反应在无水吡啶中进行。

[0013] 所述反应的反应条件为: 48℃、240rpm、避光、9h。

[0014] 本发明还保护式(I)所示化合物与载体蛋白偶联得到的偶联物。所述载体蛋白为BSA或OVA。当载体蛋白为BSA时, 偶联物命名为MXD-BSA。当载体蛋白为OVA时, 偶联物命名为MXD-OVA。所述偶联物中, 一个载体蛋白分子上平均偶联4.5个式(I)所示化合物。

[0015] 本发明还保护一种制备所述偶联物的方法, 包括如下步骤: 采用活化酯法将载体

蛋白偶联于式(I)所示化合物的羧基碳上。

[0016] 所述偶联物的制备方法如下：

[0017] (1) 式(I)所示化合物溶解于DMF中,得到半抗原溶液；

[0018] (2) 取半抗原溶液,加入EDC和NHS,反应；

[0019] (3) 载体蛋白溶于含DMF的PBS缓冲液中,得到蛋白溶液；

[0020] (4) 将完成步骤(2)的液相逐滴加入到步骤(3)制备的蛋白溶液中。

[0021] 所述偶联物的制备方法具体如下：

[0022] (1) 20mg式(I)所示化合物溶解于1mL DMF中,得到半抗原溶液；

[0023] (2) 取半抗原溶液,加入20mg EDC和20mg NHS,400rpm室温反应2h；

[0024] (3) 50mg载体蛋白溶于3mL含10% (体积百分含量) DMF的PBS缓冲液中,得到蛋白溶液；

[0025] (4) 将完成步骤(2)的液相逐滴加入到步骤(3)制备的蛋白溶液中。

[0026] 本发明还保护以所述偶联物为免疫原得到的抗体。所述抗体具体可为多克隆抗体。所述偶联物的免疫对象为动物,具体可为新西兰大白兔。

[0027] 本发明还保护一种制备用于检测莫西菌素的多克隆抗体的方法,包括如下步骤：用所述偶联物作为免疫原,得到多克隆抗体。

[0028] 所述偶联物具体可为MXD-BSA。

[0029] 所述偶联物的免疫对象为动物,具体可为新西兰大白兔。

[0030] 所述多克隆抗体的制备方法或所述方法中,免疫的次数为7-8次。所述多克隆抗体的制备方法或所述方法中,第一次免疫为初次免疫、采用弗氏完全佐剂,其他免疫均为加强免疫、采用弗氏不完全佐剂。所述多克隆抗体的制备方法或所述方法中,每次免疫MXD-BSA的剂量为1mg。

[0031] 所述多克隆抗体的制备方法或所述方法包括如下步骤：

[0032] 对新西兰大白兔进行八次免疫,免疫方式为颈背部免疫4-8点；

[0033] 第一次免疫:每只免疫1ml首免制剂(每1ml首免制剂含有1mg MXD-BSA)；

[0034] 第二次至第八次免疫(加强免疫):从首次免疫开始计天数,每21天进行一次加强免疫,共进行7次加强免疫;每次加强免疫每只免疫1ml加强免制剂(每1ml加强免制剂含有1mg MXD-BSA)；

[0035] 第八次免疫1周后,采血,收集血清。

[0036] 首免制剂的制备方法:取MXD-BSA,用PBS缓冲液稀释,然后与等体积的弗氏完全佐剂混合并乳化。加强免制剂的制备方法:取MXD-BSA,用PBS缓冲液稀释,然后与等体积的弗氏不完全佐剂混合并乳化。

[0037] 所述方法还包括将收集的血清进行纯化的步骤。

[0038] 所述纯化依次包括如下步骤：

[0039] (1) 饱和硫酸铵一次沉淀:取待纯化的血清,加入生理盐水,然后滴加饱和硫酸铵水溶液,混匀后静置；

[0040] (2) 饱和硫酸铵二次沉淀:收集液相,离心弃除上清液,加入生理盐水,然后滴加饱和硫酸铵水溶液,混匀后静置,然后离心弃除上清液,加入PBS缓冲液溶解；

[0041] (3) 透析:转移到截留分子量为7KDa的透析袋中,将透析袋置于PBS缓冲液中透析；

[0042] (4) 收集透析袋内的液体,即为纯化后的多克隆抗体。

[0043] 所述纯化依次包括如下步骤:

[0044] (1) 饱和硫酸铵一次沉淀

[0045] 取10ml待纯化的血清,加入10ml生理盐水,然后室温下边搅拌边缓慢滴加饱和硫酸铵水溶液20ml,然后搅拌3-5分钟,然后4℃静置12小时;

[0046] (2) 饱和硫酸铵二次沉淀及透析

[0047] 完成步骤(1)后,收集液相,5000rpm离心15min,弃除上清液,加入12ml生理盐水,然后室温下缓慢滴加8ml饱和硫酸铵水溶液,充分混匀,然后4℃静置3h,然后5000rpm离心15min,弃除上清液,加入2ml-3ml PBS缓冲液,进行吹打使之完全溶解;

[0048] (3) 透析

[0049] 将步骤(2)得到的溶液转移到截留分子量为7KDa的透析袋中,然后将透析袋置于PBS缓冲液中4℃透析(每2-3小时换液,换液3-4次);

[0050] (4) 收集透析袋内的液体,即为纯化后的多克隆抗体。

[0051] 本发明还保护所述多克隆抗体在制备产品中的应用;所述产品的功能为检测莫西菌素。

[0052] 本发明还保护所述多克隆抗体在检测莫西菌素中的应用。

[0053] 本发明还保护一种用于检测莫西菌素的试剂盒,包括所述多克隆抗体。所述试剂盒还包括MXD-OVA。所述试剂盒还包括包被有MXD-OVA的酶标板。

[0054] 本发明首次对莫西菌素结构进行了改造,得到半抗原,制备了莫西菌素的多克隆抗体,填补了国内外空白。在此之前没有莫西菌素抗体制备的相关信息。利用本发明提供的半抗原与载体蛋白的偶联物制备莫西菌素抗体,开始免疫后抗体效价上升速度较快、然后慢慢趋向稳定,抗体的灵敏度逐渐提高、最终达到稳定。利用本发明提供的半抗原与载体蛋白的偶联物制备莫西菌素抗体,制备过程简单、经济、灵敏度高、实用价值高。本发明在兽药残留检测中具有良好的应用前景。

附图说明

[0055] 图1为莫西菌素结构图。

[0056] 图2为半抗原质谱图。

[0057] 图3为免疫原基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱图。

[0058] 图4为偶联物结构示意图。

[0059] 图5为抗体效价变化趋势图。

具体实施方式

[0060] 以下的实施例便于更好地理解本发明,但并不限定本发明。下述实施例中的实验方法,如无特殊说明,均为常规方法。下述实施例中所用的试验材料,如无特殊说明,均为自常规生化试剂商店购买得到的。以下实施例中的定量试验,均设置五次重复实验,结果取平均值。

[0061] 莫西菌素的结构式见图1,分子量为639.4。莫西菌素购自百灵威科技公司,产品目录号为113507-06-5。

[0062] NHS为N-羟基琥珀酰亚胺的缩写。EDC为1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐的缩写。DMF为N,N-二甲基甲酰胺的缩写。N-羟基琥珀酰亚胺、1-(3-二甲氨基丙基)-3-乙基碳二亚胺盐酸盐均购自sigma公司。无水吡啶、琥珀酸酐、乙酸乙酯、N,N-二甲基甲酰胺、硫酸钠、盐酸、甲醇等购自国药集团。弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂均购自Sigma公司,产品目录号分别为F-5881和F-5506。羊抗兔IgG酶标抗体购自jacksonimmunoresearch,产品目录号为111-035-003。96孔酶标板购自costar公司,产品目录号为2592。

[0063] 牛血清白蛋白(Albumin from bovine serum,BSA)购自sigma公司,产品目录号为9048-46-18。白蛋白(ovalbumin,OVA)购自sigma公司,产品目录号为9006-59-1。

[0064] 新西兰大白兔购自山东豪瑞牧业。

[0065] 如无特殊说明,实施例中所用的PBS缓冲液均为pH7.4、0.01M的PBS缓冲液。

[0066] PBST溶液:含有0.05% (体积百分含量) Tween-20的PBS缓冲液 (pH7.2)。

[0067] 实施例1、半抗原的合成和鉴定

[0068] 一、半抗原的合成

[0069] 1、取50mL锥形瓶,依次加入1.012g莫西菌素、20mL无水吡啶和0.5g琥珀酸酐,将瓶口用封口膜封好后置于48℃、240rpm、避光条件下反应9h。

[0070] 2、完成步骤1后,通过旋转蒸发除去吡啶,得到产物。

[0071] 3、将步骤2的产物溶解于50mL乙酸乙酯,然后加入15mL 1g/100mL氢氧化钠水溶液,充分混匀后静置分层,弃除有机相,收集水相,用2M盐酸溶液调pH至4-5。

[0072] 4、取步骤3得到的液相,用乙酸乙酯萃取三次(每次加入与液相等体积的乙酸乙酯,每次萃取收集有机相),合并有机相。

[0073] 5、取步骤4得到的有机相,加入过量无水硫酸钠,然后过滤并收集滤液。

[0074] 6、取步骤5得到的滤液,4500g离心15min,收集上清液。

[0075] 7、取步骤6得到的上清液,进行旋转蒸干后,得到产物(黄色油状体)。

[0076] 8、取步骤7得到的产物,进行三次重结晶,得到产物(棕色粉末)。

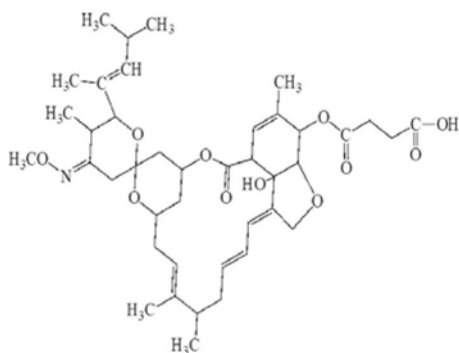
[0077] 每次重结晶,采用4体积份石油醚和1体积份丙酮的混合液。

[0078] 二、半抗原的鉴定

[0079] 将步骤一的8得到的产物进行质谱鉴定。

[0080] 鉴定结果见图2。可以明显看到m/z 740.37的峰(M+H⁺),同时可以看到m/z 762.35的峰(M+Na⁺),与目标分子量(739.4)相符。

[0081] 结果表明,步骤一的8得到的产物的结构式见式(I)。



[0082]

式(I)。

[0083] 式(I)所示化合物即为半抗原。

[0084] 实施例2、免疫原和包被抗原的制备(活化酯法)

[0085] 将半抗原与BSA的偶联物命名为MXD-BSA,作为免疫原。将半抗原与OVA的偶联物命名为MXD-OVA,作为包被原。

[0086] 一、免疫原的制备

[0087] 1、称取20mg半抗原,溶解于1mL DMF中,得到半抗原溶液。

[0088] 2、取步骤1制备的半抗原溶液,加入20mg EDC和20mg NHS,置于磁力搅拌器上,400rpm室温反应2h。

[0089] 3、取50mg BSA,溶于3mL含10% (体积百分含量) DMF的PBS缓冲液中,得到蛋白溶液。

[0090] 4、将完成步骤2的液相逐滴加入到步骤3制备的蛋白溶液中,然后转移到截留分子量为7KDa的透析袋中,然后将透析袋置于PBS缓冲液中4℃透析72h(每12小时换液一次)。

[0091] 5、完成步骤4后,取所述透析袋,取出其中的液相,3000rpm离心5min,收集上清液,即为含有MXD-BSA的溶液,将其命名为MXD-BSA溶液。

[0092] 6、用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF-MS)法测定MXD-BSA溶液中BSA与半抗原的结合比。结果见图3。

[0093] 结合比 = $\{M(\text{偶联物}) - M(\text{蛋白质})\} / M(\text{半抗原})$

[0094] BSA的分子量为66420,半抗原的分子量为739.4。由质谱最高峰值分析偶联物的分子量为69724.219,经计算得出BSA与半抗原的结合比为4.5,即一个BSA分子上平均偶联4.5个半抗原。

[0095] 二、包被原的制备

[0096] 用OVA代替BSA,得到MXD-OVA溶液。

[0097] 免疫原和包被原的结构示意图见图4。

[0098] 实施例3、多克隆抗体的制备

[0099] MXD-BSA的加入量,以总蛋白量计,即bradford法检测MXD-BSA溶液的总蛋白浓度,总蛋白浓度乘以加入体积即为MXD-BSA的加入量。

[0100] 一、多克隆抗体的制备

[0101] 取2只新西兰大白兔,编号分别为MXD-BSA-3和MXD-BSA-5。首免制剂的制备方法:取实施例2制备的MXD-BSA溶液,用PBS缓冲液稀释,然后与等体积的弗氏完全佐剂混合并乳化。加强免制剂的制备方法:取实施例2制备的MXD-BSA溶液,用PBS缓冲液稀释,然后与等体积的弗氏不完全佐剂混合并乳化。

[0102] 对新西兰大白兔进行八次免疫,具体步骤如下(免疫方式为颈背部免疫4-8点):

[0103] 第一次免疫(首次免疫):每只免疫1ml首免制剂(每1ml首免制剂含有1mgMXD-BSA)。

[0104] 第二次至第八次免疫(加强免疫):从首次免疫开始计天数,每21天进行一次加强免疫,共进行7次加强免疫;每次加强免疫每只免疫1ml加强免制剂(每1ml加强免制剂含有1mgMXD-BSA)。

[0105] 从第三次免疫开始,免疫1周后采血(耳缘静脉血采血,每只0.5ml),离心收集血清。

[0106] 二、多克隆抗体的效价的测定

[0107] 待测多克隆抗体为步骤一得到的血清(分别为第三次免疫免疫1周后的血清、第四次免疫免疫1周后的血清、第五次免疫免疫1周后的血清、第六次免疫免疫1周后的血清、第七次免疫免疫1周后的血清和第八次免疫免疫1周后的血清)。

[0108] 取96孔酶标板,依次进行如下步骤:

[0109] 1、包被

[0110] 每孔加入100 μ L包被液,37 $^{\circ}$ C孵育2h,然后用PBST溶液洗板3次。

[0111] 包被液:用pH9.6、0.05M的碳酸盐缓冲液稀释实施例2制备的MXD-OVA溶液,使MXD-OVA的浓度为0.2 μ g/ml(以总蛋白浓度计)。

[0112] 2、封闭

[0113] 每孔加入150 μ L封闭液,37 $^{\circ}$ C孵育1h,然后用PBST溶液洗涤3次,拍干。

[0114] 封闭液:0.4g/100ml脱脂牛奶水溶液。

[0115] 3、加待测抗体

[0116] 试验孔:每孔加入50 μ LPBS缓冲液和50 μ L待测多克隆抗体的稀释液;

[0117] 对照孔:每孔加入50 μ LPBS缓冲液和50 μ L第一次免疫前的血清;

[0118] 37 $^{\circ}$ C孵育30min,然后用PBST溶液洗涤3次,拍干。

[0119] 稀释液:从1:4000稀释度开始,以2为梯度,共8个稀释度;采用PBS缓冲液作为溶剂。

[0120] 4、加酶标二抗

[0121] 每孔加入100 μ L酶标二抗稀释液,37 $^{\circ}$ C孵育30min,然后用PBST溶液洗涤3次,拍干。

[0122] 酶标二抗稀释液:羊抗兔IgG酶标抗体稀释至5000倍体积。

[0123] 5、显色

[0124] 每孔加入100 μ L显色液,37 $^{\circ}$ C孵育15min。

[0125] 显色液:将2%3,3',5,5'-四甲基联苯胺溶液和30%过氧化氢等体积混合。

[0126] 6、终止

[0127] 每孔加入50 μ L 2mol/L浓硫酸。

[0128] 7、读数

[0129] 以OD450nm波长测定各孔OD值。以阴性OD值不大于0.15,以最大OD值在1.5-1.8之间对应的抗体稀释度为抗体效价。

[0130] 结果见图5。从第三次免疫至第八次免疫,莫西菌素多克隆抗体效价呈现逐渐上升、然后趋向稳定或略有下降的趋势。第八次免疫后,MXD-BSA-3和MXD-BSA-5的血清的效价分别为120000和100000。

[0131] 三、多克隆抗体的纯化(饱和硫酸铵沉淀法)

[0132] 根据步骤二的结果,第八次免疫免疫1周后,用心脏采血的方法大量采血。取血后,将血液放置37 $^{\circ}$ C静置2h,然后4 $^{\circ}$ C静置过夜,然后3000rpm离心20min,收集上清液,即为待纯化的血清,-20 $^{\circ}$ C分装保存。

[0133] 1、饱和硫酸铵一次沉淀

[0134] 取10ml待纯化的血清,加入10ml生理盐水,然后室温下边搅拌边缓慢滴加饱和硫酸铵水溶液20ml,然后搅拌3-5分钟,然后4 $^{\circ}$ C静置12小时。

[0135] 2、饱和硫酸铵二次沉淀

[0136] 完成步骤1后,收集液相,5000rpm离心15min,弃除上清液,加入12ml生理盐水,然后室温下缓慢滴加8ml饱和硫酸铵水溶液,充分混匀,然后4℃静置3h,然后5000rpm离心15min,弃除上清液,加入2ml-3ml PBS缓冲液,进行吹打使之完全溶解。

[0137] 3、透析

[0138] 将步骤2得到的溶液转移到截留分子量为7KDa的透析袋中,然后将透析袋置于PBS缓冲液中4℃透析(每2-3小时换液,换液3-4次)。

[0139] 收集透析袋内的液体,即为纯化后的多克隆抗体,分装,-20℃保存备用。

[0140] 四、纯化后的多克隆抗体的稀释

[0141] 用步骤三制备的纯化后的多克隆抗体代替步骤二中的“待测多克隆抗体”,按照步骤二进行操作。得到最大OD值在1.5-1.8之间对应的抗体稀释度。

[0142] 采用PBS缓冲液作为溶剂,按照上述得到的抗体稀释度稀释步骤三制备的纯化后的多克隆抗体,得到抗体稀释液。

[0143] 五、多克隆抗体灵敏度的测定

[0144] 1、包被

[0145] 每孔加入100μL包被液,37℃孵育2h,然后用PBST溶液洗板3次。

[0146] 2、封闭

[0147] 每孔加入150μL封闭液,37℃孵育1h,然后用PBST溶液洗涤3次,拍干。

[0148] 3、加标准品和抗体

[0149] 每孔加入50μL莫西菌素标准品溶液和50μL步骤四制备的抗体稀释液,37℃孵育30min,然后用PBST溶液洗涤3次,拍干。

[0150] 莫西菌素标准品溶液的溶剂为PBS缓冲液,莫西菌素标准品浓度分别为0、0.01、0.03、0.09、0.27、0.81、2.43和7.29ng/mL的溶液,每个浓度三个平行。

[0151] 4、加酶标二抗

[0152] 每孔加入100μL酶标二抗稀释液,37℃孵育30min,然后用PBST溶液洗涤3次,拍干。

[0153] 5、显色

[0154] 每孔加入100μL显色液,37℃孵育15min。

[0155] 6、终止

[0156] 每孔加入50μL 2mol/L浓硫酸。

[0157] 7、读数

[0158] 以OD450nm波长测定各孔OD值。

[0159] 以 $-\log_{10}$ (莫西菌素浓度)值为横坐标,以OD值(测定OD450nm)为纵坐标,利用Origin 8.0的四参数方程进行拟合,建立标准曲线获得IC₅₀值。

[0160] MXD-BSA-3得到的纯化后的多克隆抗体的IC₅₀值为0.18ng/mL。

[0161] MXD-BSA-5得到的纯化后的多克隆抗体的IC₅₀值为0.96ng/mL。

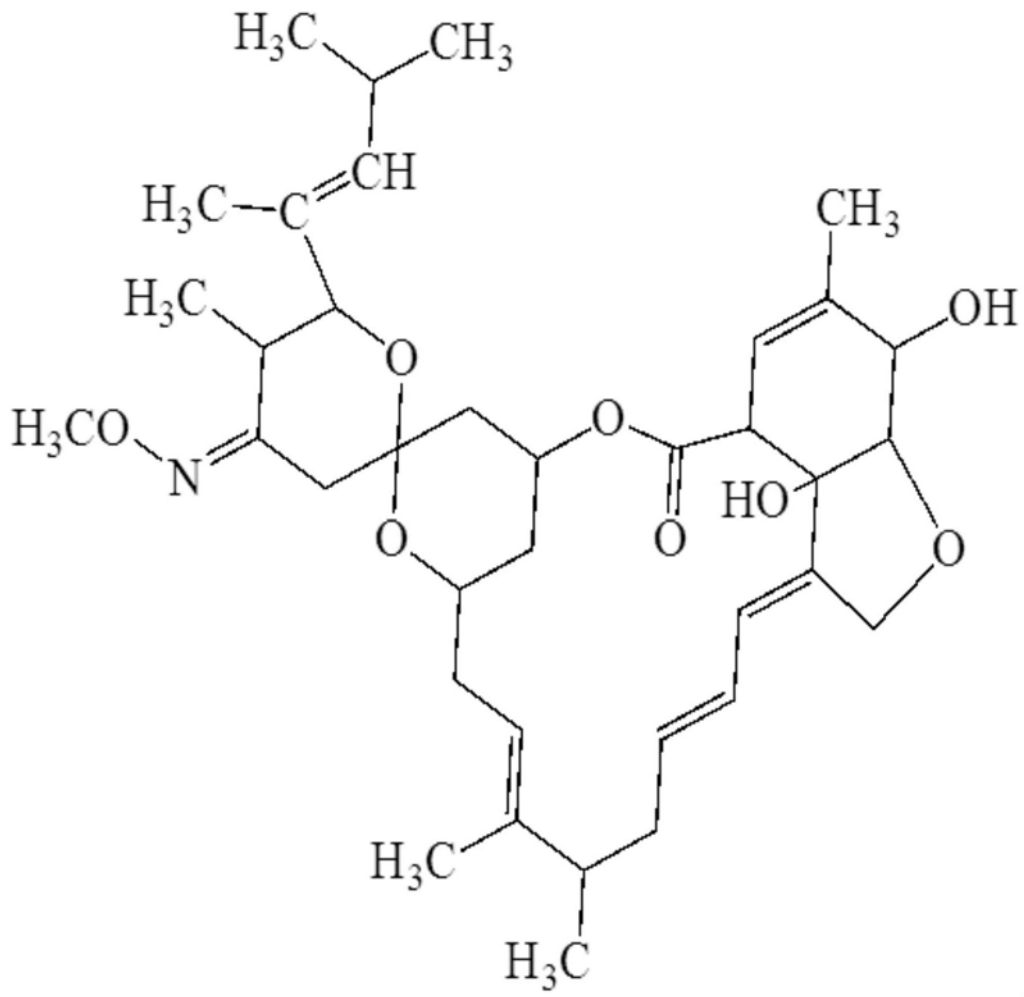


图1

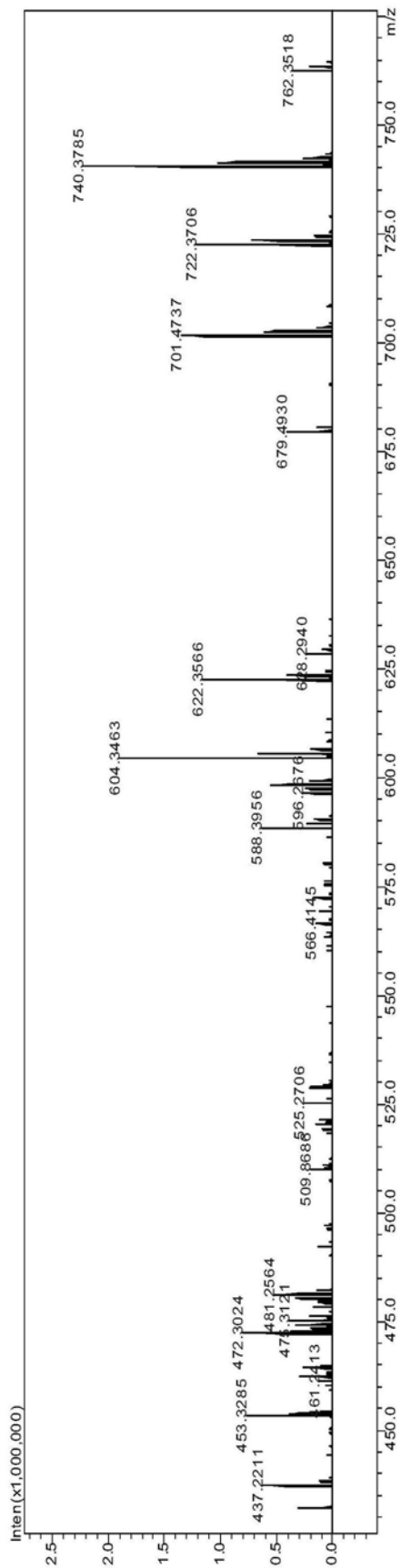


图2

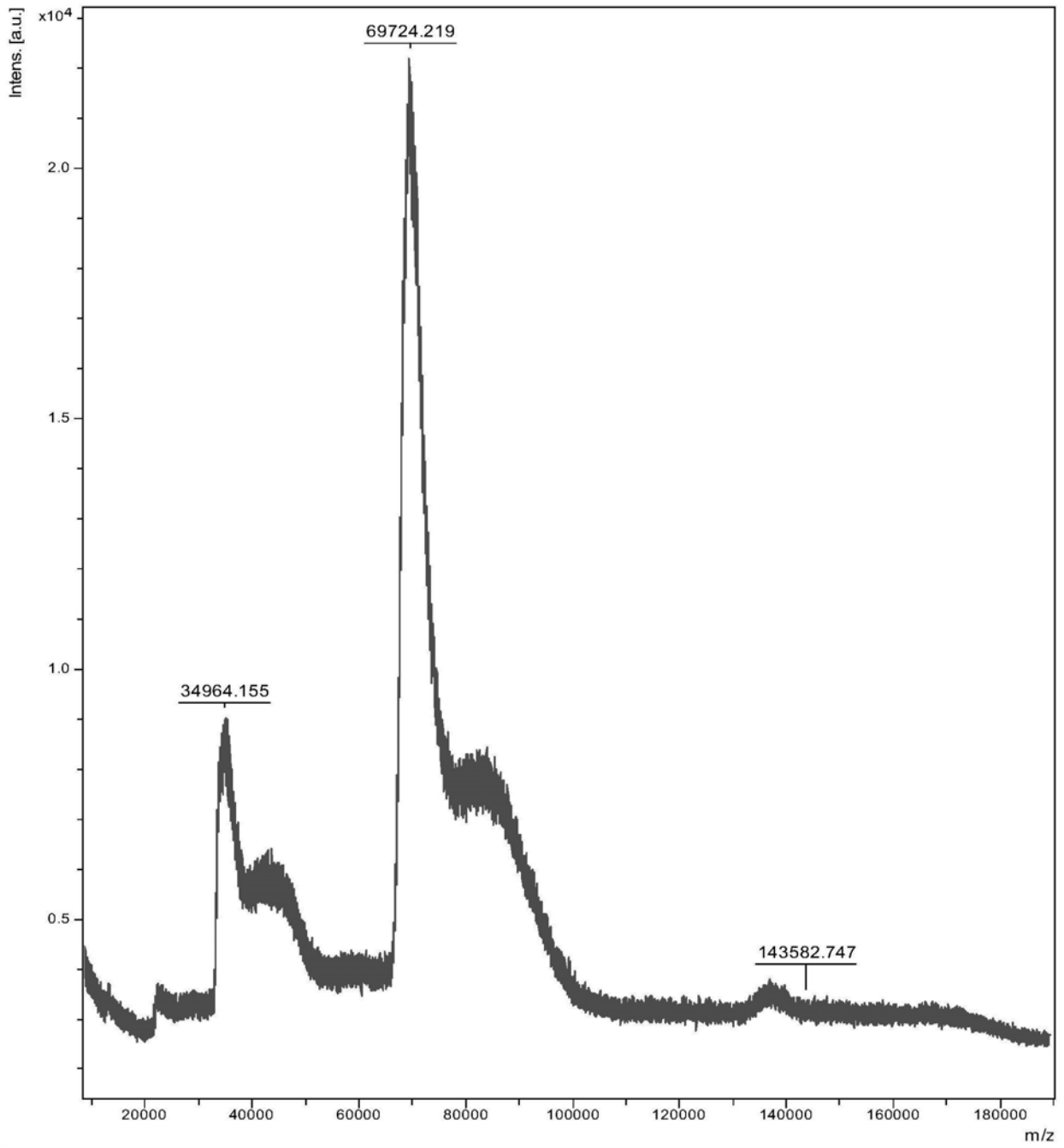


图3

