

[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 200610095367.1

[51] Int. Cl.

C07K 16/18 (2006.01)

C12N 5/12 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

C07K 14/265 (2006.01)

[43] 公开日 2008 年 10 月 22 日

[11] 公开号 CN 101289508A

[22] 申请日 2006.12.27

[21] 申请号 200610095367.1

[71] 申请人 中国人民解放军第三军医大学

地址 400038 重庆市沙坪坝区高滩岩正街 30 号

[72] 发明人 毛旭虎 余 抒 邹全明 罗 萍
张卫军 陈洪章 李海侠 王庆旭

[74] 专利代理机构 重庆华科专利事务所

代理人 康海燕

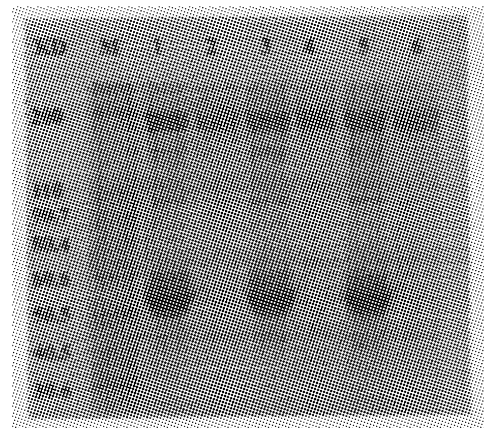
权利要求书 1 页 说明书 8 页 附图 2 页

[54] 发明名称

抗肠出血性大肠杆菌 O157: H7A/E 损伤形成的单克隆抗体

[57] 摘要

本发明提供了一种抗肠出血性大肠杆菌 O157: H7 的单克隆抗体及其在研究肠出血性大肠杆菌 O157: H7 的致病机理、纯化出血性大肠杆菌 O157: H7 的 EspA 抗原及其偶联蛋白、检测生物学样品中肠出血性大肠杆菌 O157: H7 的存在中的应用。



-
1. 一种抗肠出血性大肠杆菌 O157: H7A/E 损伤形成的单克隆抗体, 其特征在于: 以重组肠出血性大肠杆菌 O157: H7 espA 为免疫原, 用该抗原免疫哺乳动物, 应用杂交瘤技术, 筛选阳性克隆, 制备腹水及获得识别肠出血性大肠杆菌 O157: H7 espA 的单克隆抗体。
 2. 权利要求 1 所述的单克隆抗体在建立 O157: H7 体外细胞黏附模型中的应用。
 3. 权利要求 1 所述的单克隆抗体在检测肠出血性大肠杆菌 O157: H7 存在中的应用。
 4. 权利要求 1 所述的单克隆抗体在纯化出血性大肠杆菌 O157: H7 的 EspA 抗原及其偶联蛋白中的应用。

抗肠出血性大肠杆菌 O157:H7 A/E 损伤形成的单克隆抗体

技术领域

本发明涉及微生物工程技术领域，尤其涉及一种能够识别肠出血性大肠杆菌 O157:H7 EspA 的单克隆抗体及其应用。

背景技术

自 1982 年在美国俄勒冈州和密执安州出现肠出血性大肠杆菌 O157:H7 引起的出血性肠炎暴发流行以来，在各个国家和地区包括中国都出现不同程度的暴发流行。中国已将肠出血性大肠杆菌列为 21 世纪可能对国人卫生健康有重大影响的 12 种病原微生物之一。目前，防止 O157:H7 大肠杆菌感染已成为世界性问题。

EHEC 在肠上皮细胞的粘附是疾病发展的第一步，介导这一粘附的主要是 III 型分泌蛋白 Esp (E.coli secreted protein 的缩写)。细菌利用包括 EspA, EspB, EspD, EspF, EscR, EscS, EscT, EscU, EscV, EscJ 和 EscC 在内的 III 型分泌蛋白转移效应蛋白，促使宿主细胞肌动蛋白聚集，造成细胞骨架结构发生改变，最终导致肠上皮细胞形成粘附和擦拭损伤 (A/E 损伤)。

III 型分泌蛋白中，EspA 具有中空的三维立体结构，效应蛋白 Tir 以及其他 III 型分泌蛋白都是通过此通道进入宿主的。成熟的 EspA 管丝是使细菌与宿主细胞黏附的重要黏附因子，它能够在细菌与细胞之间建立瞬间的连接使效应蛋白易位。在易位完成过后，由 EspA 管丝及其他 III 型蛋白共同形成的针状复合物一并消失，此时细菌直接通过跨膜蛋白 Tir 和由 O157:H7 毒力岛编码的肠道黏附因子 intimin 相互作用完成黏附 (此处简要说明了 Tir 和 intimin)。因此，EspA 不仅在细菌粘附中发挥关键性的启动作用，也在形成 A/E 损伤的效应分子传递中起到桥梁作用，应用相应抗体作为研究 EspA 的生物学功能及其在粘附定植中作用的工具对阐明 O157 的致病机理，寻找预防、控制和治疗 O157 感染的手段具有重要意义。

EspA 基因为 579bp，表达的蛋白约为 25Kda，EspA 具有表面表达和多聚体形式存在的特点，通过 DNASTAR 软件分析 EspA 具有很强的免疫原性。目前国内外尚未有应用单克隆抗体进行 O157:H7 致病机理研究的报道，将 EspA 作为抗原制备的单克隆抗体具有

较高的特异性和敏感性，可弥补多克隆抗体敏感度特异性差的缺陷，对于深入研究肠出血性大肠杆菌 O157: H7 的致病机理有较好的应用前景。

另外，可将制备的单抗用于大规模 EspA 及与 EspA 融合蛋白的提纯，可提高回收率和工作效率。目前国内外用于诊断肠出血性大肠杆菌 O157: H7 的商品化试剂盒种类很多，准确有效的主要为基因诊断，但该方法要求技术条件较高。把 EspA 这一高效表达的蛋白制备的单抗用于快速鉴别肠出血性大肠杆菌 O157: H7 的感染有一定的可行性。

本发明人经过长期大量的克隆筛选，获得了三株针对 EspA 高亲和性和高特异性的杂交瘤细胞株，成功地制备了抗肠出血性大肠杆菌 O157: H7 espA 的单克隆抗体并证明了该抗体的生物学活性，从而完成了本发明。

发明内容

本发明的目的之一是提供一种具有抗肠出血性大肠杆菌 O157 : H7 导致 A/E 损伤形成的单克隆抗体；本发明的另一个目的是提供该单克隆抗体应用。

本发明的单克隆抗体是以重组肠出血性大肠杆菌 O157: H7 espA 为免疫原，用该抗原免疫哺乳动物，应用杂交瘤技术，筛选阳性克隆，制备腹水及获得识别肠出血性大肠杆菌 O157: H7 espA 的单克隆抗体。

制备发明单克隆抗体采用的本领域已知的杂交瘤技术（例如参见 Kohler and Milstein, Nature 265:495-497, 1975）。本发明的免疫原是使用具有强免疫原活性的 III 型分泌蛋白 EspA 作为免疫原材料，EspA 抗原为本实验室采用基因工程方法制备，该抗原已通过文献形式对外公开并申请专利，发明专利申请公开号 CN1748791，外界人员可以通过购买或惠赠方法得到此抗原。

本发明获得的 EspA 抗体可作为一种研究 EHEC O157 致病机理的工具，方法是以制备的单克隆抗体作为第一抗体，与 O157: H7 特异性结合，异硫氰酸荧光素（FITC）标记的羊抗兔 IgG（由 SIGMA 公司购买）作为第二抗体，构建体外细胞黏附模型。使用该模型，可通过对大肠杆菌 O157: H7 菌在上皮细胞的黏附定植情况的研究与观察，为进一步阐明 O157 的致病机理和寻找预防、控制和治疗 O157 感染的手段提供条件。

本发明获得的抗体也可用于制备亲和层析柱，用来纯化 EspA 及与 EspA 偶联蛋白。本发明的单克隆抗体经用 Protein-A 柱纯化后纯度达 95%，与 Sepharose-4B 偶联制备单抗亲和柱，每毫升 Sepharose-4B 凝胶可结合 30mg 抗体，每毫升亲和层析介质可洗脱 3mg 蛋白，

纯度达95%以上。可见，本发明的单克隆抗体为大规模生产EspA及偶联蛋白提供很好的分离纯化工具。

本发明获得抗体还可用于初筛肠出血性大肠杆菌 O157: H7。本发明的单克隆抗体，均能与出血性大肠杆菌 O157: H7 菌株发生凝集反应。该单克隆抗体与 8 株鼠伤寒沙门氏菌、9 株伤寒杆菌、3 株痢疾杆菌、2 株致病性大肠杆菌、2 株产毒性大肠杆菌、2 株侵袭性大肠杆菌、1 株出血性大肠杆菌 O26: H11 和 O111、12 株非定血清型大肠杆菌、4 株霍乱弧菌 O1 群不发生凝集反应；ELISA 结果显示 3 株单克隆抗体阳性细胞株与粪链球菌、变形杆菌、粘质沙雷氏菌、肺炎克雷伯杆菌均无交叉反应。因此可见，本发明的抗 EspA 单克隆抗体具有很好的特异性和敏感性，对于检出肠出血性大肠杆菌 O157: H7 具有较好的应用价值。

综上所述，该抗体具有对抗肠出血性大肠杆菌 O157: H7 造成黏附和擦拭损伤 (*attaching and effacing A/E*) 的功能，可用于肠出血性大肠杆菌 O157: H7 黏附和擦拭损伤形成的研究，此外该抗体亦可用于蛋白纯化和初步诊断肠出血性大肠杆菌 O157: H7 的感染。

附图说明

图1 显示被接种小鼠腹水经纯化后的SDS电泳结果。其中泳道1、3、5分别为纯化前的杂交瘤1H10、2A3、3E5分泌的腹水单克隆抗体。泳道2、4、6分别为纯化后杂交瘤1H10、2A3、3E5分泌的腹水单克隆抗体。

图2 显示1H10腹水的Western blotting分析结果。泳道 1为杂交瘤细胞系1H10分泌的腹水单克隆抗体,泳道2为阴性对照,。

图3 显示O157: H7与HeLa细胞粘附的免疫荧光检测。其中途图3A为O157: H7与HeLa细胞粘附的阳性结果；图3B为DH5 α 与HeLa细胞粘附的阴性对照

图4 显示O157: H7与HeLa细胞粘附的双荧光检测。图4A为O157: H7未与抗体提前中和组；图4B为O157: H7与抗体提前中和组；图4C为空白对照。

图5 显示O157: H7与HeLa细胞粘附的FAS检测。图5A为未加抗体组；图5B为加抗intimin抗体组；图5C为加抗EspA多抗组；图5D为加抗EspA单抗组。

具体实施方式

以下通过实施例进一步说明本发明，但并不是对本发明范围的限制。

实施例 1: 单克隆抗体的制备

1、杂交瘤细胞株的建立和杂交瘤细胞的制备

所使用的免疫原是本发明人使用 DNA 重组技术制备的肠出血性大肠杆菌 O157: H7 EspA 蛋白 (espA 的克隆表达见专利申请公开文本 CN1748791)。该蛋白质经纯化后, 用于免疫 6~8 周龄 Balb/c 小鼠 (100ug/只, 每次每只剂量 1.0ml)。分别在小鼠腋窝淋巴结和腹腔内五点注射。共免疫三次每次间隔 10-14 天。第一次接种使用抗原加完全弗氏佐剂, 第二和第三次加不完全弗氏佐剂。融合前三天, 作为加强免疫再腹腔内注射接种一次。

细胞融合: 取已加强免疫 3 天的小鼠脾脏在不完全培养基中制成脾细胞悬液。离心后, 将脾细胞与骨髓瘤 SP2/0 细胞混合 (10: 1 比例)。吸取 0.7ml 预加温的聚乙二醇/二甲基亚砷 (PEG/DMSO) 溶液, 缓慢加入离心管中。静置 1 分钟后再滴加不完全培养基。将细胞团摇散并加入 10ml HAT 培养基混匀。然后将融合后的细胞接种至已铺有饲养细胞的 96 孔细胞培养板小孔 (100 μ l/孔) 中, 置 37 $^{\circ}$ C 5%CO₂ 培养箱中培养。

杂交瘤细胞的筛选: 融合后 2 周, 用 ELISA 法检测各细胞培养物上清。筛选抗体分泌阳性克隆, 并再次克隆化。经三次亚克隆和 ELISA 检测, 筛选得到 3 株分泌抗 EspA 单克隆抗体的阳性细胞株, 分别定名为杂交瘤 1H10、2A3 和 3E5。

阳性杂交瘤细胞的稳定性: 3 株单克隆抗体细胞株在细胞培养瓶内连续传代 3 个月 (20 代), 同时在 Balb/c 小鼠体内传代 3 个月, ELISA 检测培养物上清和腹水效价均为阳性。细胞冻存 1, 3, 6, 9, 11 个月后复苏细胞生长形态、细胞活力和抗体分泌均正常。

2、单克隆抗体的纯化:

采用辛酸-硫酸铵分步沉淀法进行纯化: 取腹水 8ml, 离心 (2500 转/分) 去杂质后, 加入 NaAc-Hac 缓冲液 (0.06mol/L, pH4.0) 8ml。调 pH 至 4.8, 加入 264 μ l 正辛酸 (33 μ l/ml 腹水), 室温搅拌。4 $^{\circ}$ C 离心分离上清, 滴加等体积饱和硫酸铵 (pH7.2-7.4) 溶液达到 50% 饱和度, 以沉淀蛋白质。将沉淀物溶于 PBS 中并透析过夜 (4 $^{\circ}$ C)。

3、纯化后的单克隆抗体生物学特性检测

lowyer 法测腹水单克隆抗体纯化后蛋白含量: 1H10 为 5.91mg/ml, 2A3 为 4.8 mg/ml, 3E5 为 5.4 mg/ml。

单克隆抗体纯度检测: 经用 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳法检测, 如上纯化的抗体蛋白质纯度达 95% (参见图 1)。该单克隆抗体被鉴定为为 IgG1 类。

单克隆抗体特异性检测: 以接种杂交瘤细胞小鼠的腹水液作为第一抗体, 以第二抗体为辣根过氧化物酶标记兔抗小鼠 IgG 作为第二抗体, 对重组 EspA, 重组 stx2B 样品进行

Westren blotting 分析。结果显示，单克隆抗体只与重组 EspA 蛋白样品呈显色反应，而不与重组 stx2B 反应，表明本发明的单抗特异性可识别重组 EspA（参见图 2）。

实施例2：应用本发明的单克隆抗体在O157：H7黏附定植机理中的初步研究

1、建立细胞粘附模型

O157：H7感染宿主后，主要作用于小肠上皮细胞，通过A/E损伤的形成，造成肠上皮细胞屏障的破坏，从而引起腹泻。因此，建立O157：H7与HeLa的细胞粘附模型，对探讨O157：H7感染粘附定植机理，研究重组EspA蛋白的生物学功能无疑具有重要意义。

O157：H7与HeLa细胞粘附的荧光抗体染色：取1.5×1.5cm盖玻片，经浓H₂SO₄和K₂MnO₄浸泡并洗涤后高压灭菌备用。然后，取6孔灭菌的培养板，每孔加入2×10⁵ HeLa细胞，补加RPMI 1640培养液(含100U/ml青霉素和链霉素，10%FCS，100mmol/l HEPES，20%Glu)至大约2.5ml。于37℃，5%CO₂培养24小时，使HeLa细胞贴壁至盖玻片上。当O157：H7细菌(44828)于HEPES-DMEM培养液中培养至对数生长期时，取1ml离心（1000rpm）5分钟。沉淀用新鲜1640完全培养液(1ml，不含抗生素)混悬。同时以培养的DH5α细菌作为阴性对照，37℃ 5%下孵育4小时。然后，取出盖玻片，用PBS洗涤5次，洗去未结合细菌后，晾干。滴加适量1:1000稀释的抗EspA单抗腹水，置于湿盒内，37℃保温1小时。PBS洗涤3次后，滴加适当稀释的荧光标记抗体(FITC标记羊抗小鼠IgG)，于湿盒内37℃保温1小时。用50%缓冲甘油封片后立即于荧光显微镜(BX51)下观察并照像（参见图3）。

荧光显微镜观察可见，O157：H7细菌与细胞粘附并嵌入细胞内中，推测可能与粘附座和A/E损伤有关。对照组DH5α细胞则未见此现象。

2、体外抗体中和实验

O157：H7细菌经下表所示的不同处理后，检测（CFU计数）细菌在HeLa细胞表面上的粘附，结果如表1所示：

表1：经不同方法处理的O157细菌与HeLa细胞间的粘附

组别	处理方式	菌落数(CFU,×10 ⁶)
实验1组	同时加入培养的O157细胞和抗EspA单克隆抗体	8.04±0.84*
实验2组	同时加入培养的O157细胞和抗EspA多克隆抗体	8.35±1.02*☆
实验3组	只加培养的O157细胞	9.27±1.23*☆
对照组	只加培养的DH5α细胞	1.50±1.12*

*:P<0.01 vs DH5α; ☆:P>0.05 vs group 1st;

经spss13.0统计软件分析(t检验)

实验1、2、3组与对照组之间具有非常显著的差异($P < 0.01$): O157:H7粘附HeLa细胞的能力大大强于对照组DH5 α 细胞;实验2、3组与实验1组之间没有显著性差异($P > 0.05$),无论是抗体与O157:H7预先中和,还是同时加入,都不减少O157对细胞的粘附。因此可以认为,本发明的抗EspA单克隆抗体不能阻断肠出血性大肠杆菌O157:H7与宿主细胞的黏附,并且抗EspA单克隆抗体与抗EspA多克隆抗体在阻断黏附上没有明显区别。

3、双荧光检测:

将大肠杆菌O157:H7细菌细胞分为抗EspA单抗体外中和和未中和两组,并以不加细菌孔作空白对照,以双荧光方法检测大肠杆菌O157:H7在HeLa细胞上的粘附。

用4%多聚甲醛(pH7.2-7.6)室温固定上述已粘附了O157:H7细菌的HeLa细胞(20分钟);细胞用PBS洗涤3次后,加0.2%Triton X-100/PBS,然后用1%BSA/PBS室温封闭30分钟。弃去封闭液并洗涤后,加抗EspA多克隆鼠血清(1:2000)。抗体中和的O157粘附不加抗体,4℃过夜;PBS洗涤3次,加羊抗鼠IgG-FITC(1:200),37℃孵育1h;PBS洗涤3次,加抗 β -actin抗体(1:100),37℃孵育1小时;PBS洗涤3次,加羊抗兔IgG-TRITC(1:200)继续37℃孵育1小时;PBS洗涤后自然干燥,40%甘油封片。用普通荧光显微镜(BX51)观察染色结果(参见图4)。

图4显示以FAS方法观察到的O157:H7细菌与HeLa细胞的粘附现象。图4A是O157:H7未经抗体中和而直接与HeLa细胞粘附后,进行常规免疫荧光检测的结果。图4B是大肠杆菌O157:H7用本发明的抗体于体外中和后,再加入到HeLa细胞中进行常规免疫荧光检测的结果。图4C为对照组,细胞周围未见到强荧光标记物。

由图4所示的结果可以看出,无论O157:H7细菌是否与本发明的抗EspA单克隆抗体预先中和,均不会影响O157:H7细菌与宿主细胞的黏附。

4. FAS检测:

以FAS方法检测大肠杆菌O157:H7在HeLa细胞上的粘附。试验分为四组:组A为未加抗体组;组B为加抗intimin抗体组;组C为加抗EspA多抗组;组D为加抗EspA单抗组。

将上述已粘附O157:H7细菌的HeLa细胞用4%的多聚甲醛(pH7.2-7.6)室温固定。经PBS洗涤后,组B, C, D,分别加入抗intimin多克隆鼠血清(1:100),本发明的抗EspA单克隆抗体(1:100)和抗EspA多克隆鼠血清(1:100),4℃过夜。PBS洗涤3次,四组均加入异硫氰酸荧光素标记HeLa细胞的肌动蛋白抗体,室温放置30分钟、洗涤并封片(40%甘油)后

于高倍荧光显微镜下观察结果（参见图5）。

由图5所示的结果可以看出，组A，B明显可见有荧光标记的肌动蛋白聚集；组C可隐约见到肌动蛋白聚集；组D则未见到肌动蛋白聚集。

因此，经FAS试验证明，本发明的抗EspA单克隆抗体具有阻断宿主细胞肌动蛋白聚集、从而抑制A/E损伤形成的活性。而组C和组D可能因所使用的多克隆抗体敏感度和特异结合活性较差，而难以完全阻断肌动蛋白的聚集。

实施例 3、使用本发明的单克隆抗体在检测肠出血性大肠杆菌 O157：H7 存在中的应用

凝集试验：将使用本发明的3株杂交瘤制备的单克隆抗体（腹水）的1:10稀释液，分别与出血性大肠杆菌O157：H7标准株（本实验室提供），鼠伤寒沙门氏菌（8株）、伤寒杆菌（9株）、痢疾杆菌（3株）、致病性大肠杆菌（2株）、产毒性大肠杆菌（2株）、侵袭性大肠杆菌（2株）、出血性大肠杆菌O26：H11 和O111（各1株）、非定血清型大肠杆菌（12株）、霍乱弧菌（4株）进行常规凝集试验，结果如下列表2所示：

表2：本发明的单克隆抗体与不同菌株的反应性试验

试验菌株	1H10	2A3	3E5
致病性大肠杆菌（2株）	—	—	—
产毒性大肠杆菌（2株）	—	—	—
侵袭性大肠杆菌（2株）	—	—	—
出血性大肠杆菌O26：H11	—	—	—
出血性大肠杆菌O111	—	—	—
鼠伤寒沙门氏菌（8株）	—	—	—
伤寒沙门氏菌（9株）	—	—	—
痢疾杆菌福氏株	—	—	—
痢疾杆菌志贺氏标准株	—	—	—
非定血清型大肠杆菌（12株）	—	—	—
O157：H7 标准株	+	+	+

由表2可见，本发明制备的3株单抗均能与出血性大肠杆菌O157：H7发生凝集反应，而与其他试验菌株不发生凝集。此实验足以证明本发明单克隆抗体的抗原结合特异性。

实施例 4：使用本发明的单克隆抗体纯化出血性大肠杆菌 O157：H7 的 EspA 抗原及其偶

联蛋白

1、抗出血性大肠杆菌 O 157:H7 EspA单抗亲和层析柱的制备

用盐酸 (1 mmol/L) 浸泡并抽洗亲和柱填料CNBr-Act-Sepharose 4B (1g树脂/10盐酸), 然后用偶联缓冲液 (0.1 mol/L pH 8.3NaHCO₃ /0.5 mol/L NaCl) 洗涤凝胶并加入本发明的单克隆抗体进行偶联 (单克隆抗体与凝胶的体积比为2:1) (室温4小时)。用偶联液漂洗以除去剩余的配体, 然后加入甘氨酸 (pH8.0) 封闭活性基团。收集洗柱前的流出液并测定抗体蛋白量。结果可见, 1毫升CNBr-Act-Sepharose 4B凝胶可结合30mg 1H10单抗 (结合率大于96%)。

2、用单抗亲和层析柱纯化EspA及EspA偶联蛋白

重组EspA, 重组EspA-intimin和重组EspA-intimin-stx2B用阴离子离子交换初步纯化后, 再用Sepharose-4B偶联的单克隆抗体亲和层析柱纯化。

用PBS缓冲液 (pH7.0) 平衡亲和层析柱, 上样完成后, 用PBS-T20缓冲液 (pH7.0) 洗柱, 并用甘氨酸/盐酸缓冲液 (pH2.5) 洗脱。收集洗脱峰并调pH值至7.0。

对亲和纯化后的EspA 重组蛋白、EspA-intimin重组偶联蛋白和EspA-intimin-stx2B重组偶联蛋白进行纯度、蛋白含量和生物活性检测, 以判断本发明单克隆抗体及其亲和层析柱的使用效果。结果可见, 所得到的EspA蛋白的纯度达95%以上, 比活为 2.2×10^7 IU/mg, 重组蛋白活性回收率为100% (参见图3); 每毫升亲和层析介质可洗脱2.9mg EspA-intimin重组偶联蛋白, 获得的蛋白纯度95%以上 (如图4), 比活为 2.5×10^8 IU/mg, 蛋白活性回收率为100%; 所得到的EspA-intimin-stx2B重组偶联蛋白的纯度达95%以上 (参见图5), 比活为 2.8×10^8 IU/mg, 蛋白活性回收率为100%。

纯化后的蛋白中残余鼠IgG含量均小于100ng/剂量。使用本发明的单克隆抗体 (1H10) 制备亲和层析柱提纯重组EspA及EspA偶联蛋白, 连续使用100次后的纯化效果仍无明显降低。

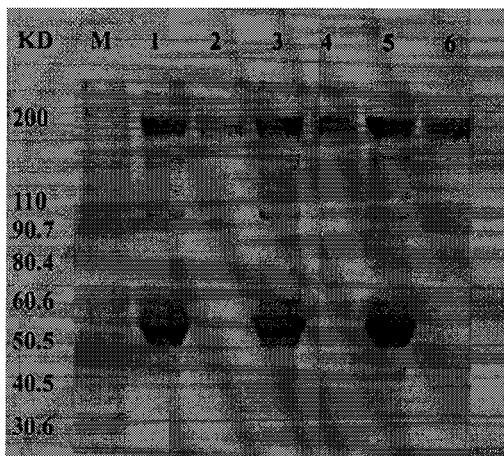


图1

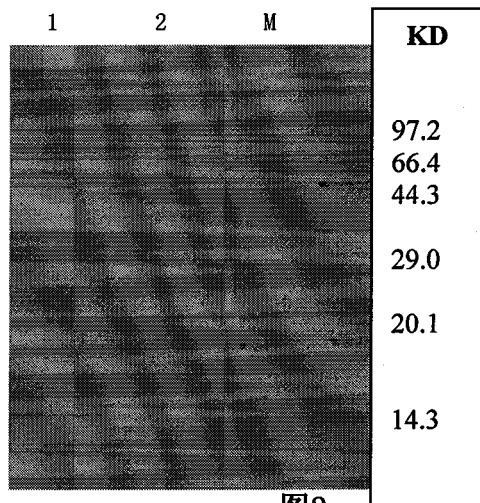


图2



图3A

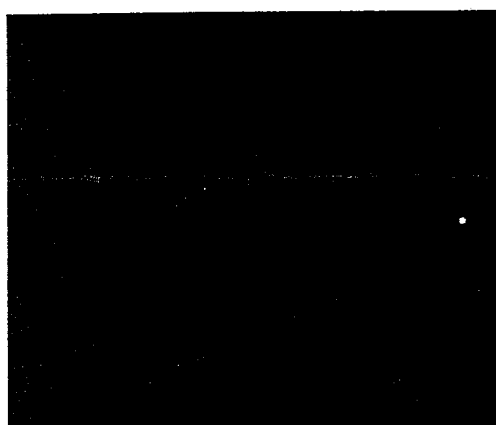


图3B

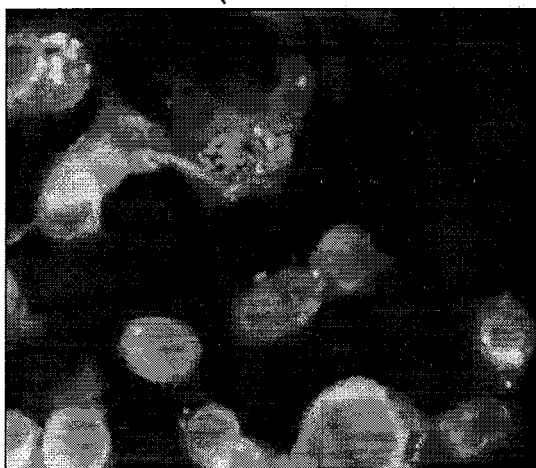


图4A

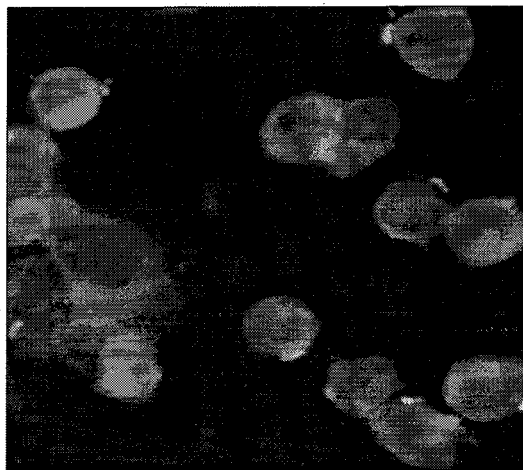


图4B

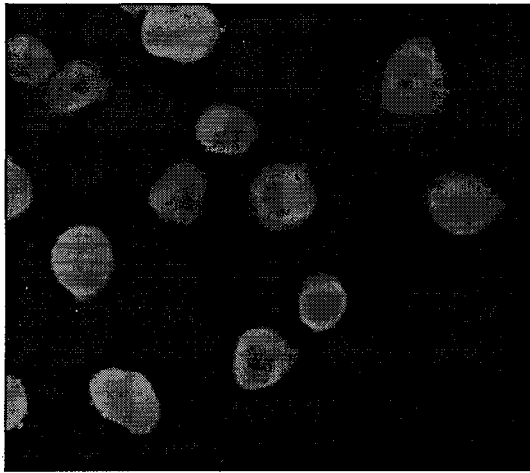


图4C

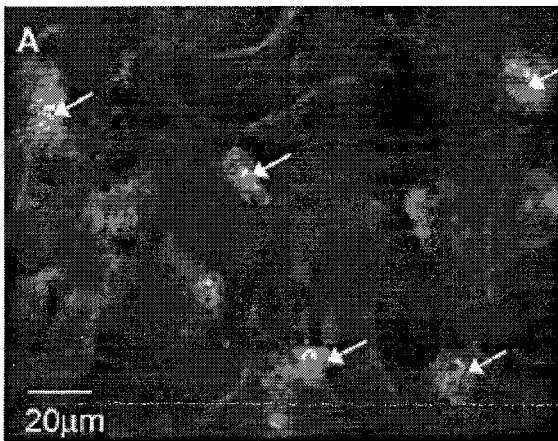


图5A

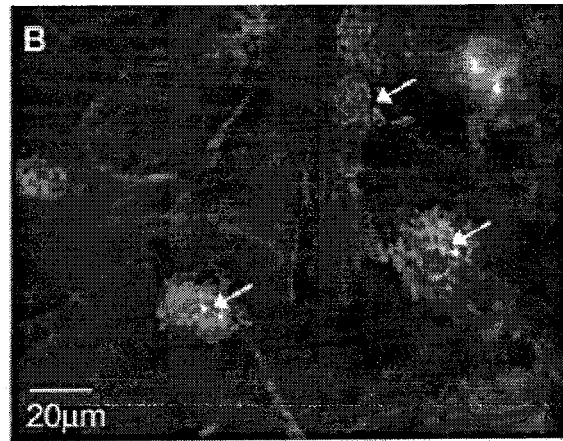


图5B

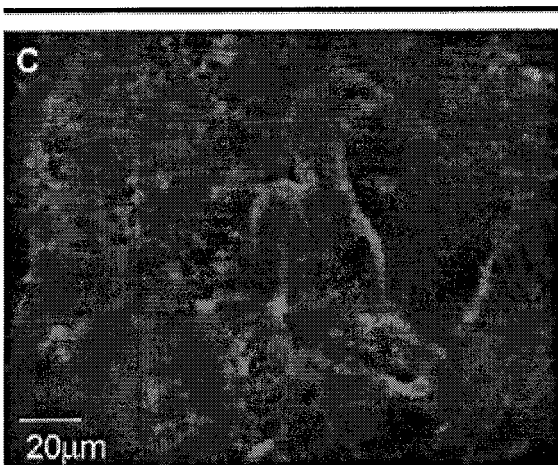


图5C

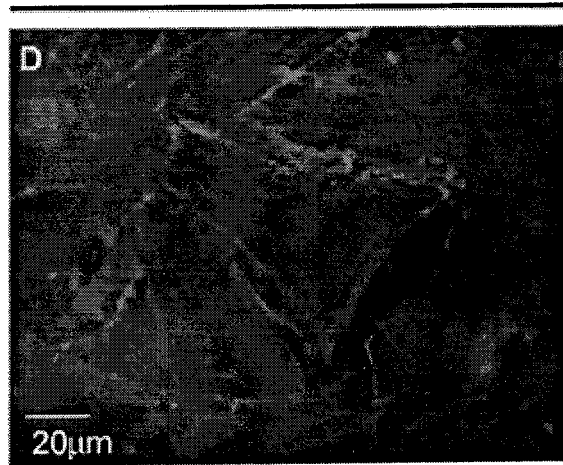


图5D

专利名称(译)	抗肠出血性大肠杆菌O157 : H7A/E损伤形成的单克隆抗体		
公开(公告)号	CN101289508A	公开(公告)日	2008-10-22
申请号	CN200610095367.1	申请日	2006-12-27
[标]申请(专利权)人(译)	中国人民解放军第三军医大学		
申请(专利权)人(译)	中国人民解放军第三军医大学		
当前申请(专利权)人(译)	中国人民解放军第三军医大学		
[标]发明人	毛旭虎 余抒 邹全明 罗萍 张卫军 陈洪章 李海侠 王庆旭		
发明人	毛旭虎 余抒 邹全明 罗萍 张卫军 陈洪章 李海侠 王庆旭		
IPC分类号	C07K16/18 C12N5/12 G01N33/53 C07K14/265		
代理人(译)	康海燕		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了一种抗肠出血性大肠杆菌O157:H7的单克隆抗体及其在研究肠出血性大肠杆菌O157:H7的致病机理、纯化出血性大肠杆菌O157:H7的EspA抗原及其偶联蛋白、检测生物学样品中肠出血性大肠杆菌O157:H7的存在中的应用。

