

## 人源全分子抗 c-Met 抗体的制备及对鼻咽癌细胞生物学特性的影响

白璐月<sup>1</sup>, 刘金荣<sup>2</sup>, 唐奇<sup>3</sup>, 熊四平<sup>3</sup>, 陈雅<sup>3</sup>, 杜银娟<sup>1</sup>, 周莹<sup>1</sup>, 朱进<sup>4</sup>, 陈仁杰<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学第二附属医院耳鼻咽喉科, 江苏 南京 210011; <sup>2</sup>南京医科大学附属南京妇幼保健院妇产科, 江苏 南京 210004; <sup>3</sup>南京医科大学卫生部抗体技术重点实验室 江苏 南京 211166; <sup>4</sup>南京军区军事医学研究所, 江苏 南京 210002)

**[摘要]** 目的:利用基因工程技术制备全分子人源抗 c-Met 抗体,分析该抗体免疫学特性,并观察该全分子抗体对鼻咽癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响。方法:设计引物扩增抗 c-Met Fab 抗体的重轻链可变区序列,将其分别克隆到真核表达载体 pFUSE-CHIg-hG1 和 pFUSE-CLIg-hκ 中。转染真核细胞,表达产物用 Protein A 柱纯化。通过 ELISA、Western blot 和免疫荧光等方法鉴定该抗体的免疫学特性。CCK-8 检测抗体对人鼻咽癌细胞增殖的抑制作用,划痕实验、Transwell 侵袭实验分析抗体对人鼻咽癌细胞迁移和侵袭的影响。结果:成功重组全分子人源抗 c-Met 抗体的表达载体,获得的全分子抗体保留了与抗原的特异性结合活性。CCK-8 实验中结果显示全分子抗体能抑制 c-Met 阳性鼻咽癌细胞 CNE2 和 HONE1 的增殖。细胞划痕和 Transwell 侵袭实验结果显示全分子抗体能抑制 c-Met 阳性细胞 CNE2 和 HONE1 的迁移和侵袭能力。结论:本研究成功制备人源全分子抗 c-Met 抗体,该抗体有明显的中和活性,为探索鼻咽癌分子靶向治疗奠定了基础。

**[关键词]** 鼻咽癌; c-Met; 人源抗体

**[中图分类号]** R739.63

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2016)06-687-06

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20160609

## Preparation of full molecule human anti-c-Met antibody and its effects on nasopharyngeal carcinoma cells

Bai Luyue<sup>1</sup>, Liu Jinrong<sup>2</sup>, Tang Qi<sup>3</sup>, Xiong Siping<sup>3</sup>, Chen Ya<sup>3</sup>, Du Yinjuan<sup>1</sup>, Zhou Ying<sup>1</sup>, Zhu Jin<sup>4</sup>, Chen Renjie<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Otolaryngology, the Second Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210011; <sup>2</sup>Obstetrics and Gynecology Department, Nanjing Maternity and Child Care Hospital Affiliated to NJMU, Nanjing 210004; <sup>3</sup>Key Laboratory of Antibody Technique of Ministry of Health, NJMU, Nanjing 211166; <sup>4</sup>Medical Research Institute of Nanjing Military Region, Nanjing 210002, China)

**[Abstract]** **Objective:** To produce a full molecule human anti-c-Met antibody with genetic engineering, and analyze the biological activity of the antibody and observe its influence on proliferation, migration and invasion of nasopharyngeal carcinoma cells. **Methods:** We designed a primer for amplifying the variable region of anti-c-Met Fab antibody. VH and VL genes were cloned into pFUSE-CHIg-hG1 and pFUSE-CLIg-hκ expression vectors, respectively, and were both transfected into eukaryotic cells. The expression product was purified using protein A column. The identification and immunological characteristics of antibody were analyzed by enzyme-linked immune sorbent assay (ELISA), Western blotting assay and immunofluorescence assay. The inhibition function of the antibody in nasopharyngeal carcinoma cells was analyzed by CCK-8. The effects of the antibody on the invasion and migration of nasopharyngeal carcinoma cells was determined by wound-healing assay and Transwell invasion assay. **Results:** The results demonstrated that the full molecule human anti-c-Met antibody was successfully produced, and the antibody effectively recognized c-Met protein. In nasopharyngeal carcinoma cell experiment, CCK8 assay demonstrated that the antibody played a significant role in proliferation of CNE2 and HONE1. Wound-healing assay and Transwell invasion assay demonstrated that the antibody could suppressed the migration and invasion of CNE2 and HONE1. **Conclusion:** In this study, full molecule human anti-c-Met antibody was established successfully and has obvious neutralizing effect. The antibody is expected to become a candidate molecule for molecular targeted therapy of nasopharyngeal carcinoma.

**[基金项目]** 江苏省科技厅临床医学科技专项计划(BL2013038);国家自然科学基金(81502673)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: renjiechenent@aliyun.com

[Key words] nasopharyngeal carcinoma; c-Met; full molecule human antibody

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(06): 687-692]

鼻咽癌是我国十大高发恶性肿瘤之一,在南方地区发生率极高。目前鼻咽癌的治疗方法主要采用放疗联合化疗,但其疗效不佳,5 年生存率不足 60%,并且治疗产生的不良反应可进一步损伤机体免疫系统功能<sup>[1-2]</sup>。随着分子生物学的发展,人们对鼻咽癌的研究进入基因水平,有研究发现 c-Met 与鼻咽癌的发生、转移和预后有关<sup>[3]</sup>。c-Met 与其体内的唯一配体肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)结合而激活 HGF/c-Met 通路,该信号通路既能调控细胞生长与运动,又能破坏 E-钙蛋白和细胞骨架的连接,从而降低细胞间黏附能力而利于肿瘤扩散<sup>[4]</sup>。目前有关 HGF/c-Met 信号通路拮抗剂的研究已经在体外和动物实验中证明能有效抑制肿瘤的发生、侵袭和转移<sup>[5-6]</sup>,因此以 c-Met 作为靶点的肿瘤靶向治疗成为临床治疗肿瘤前景较好的方法之一。

单克隆抗体治疗在体内具有较好的靶向性,能特异性结合到靶细胞表面,经过受体介导的内化过程进入细胞,呈现对靶细胞的选择性杀伤作用,既是一种治疗药物,也可以作为传递药物的载体<sup>[7]</sup>。同时单克隆抗体的制备具有免疫原性弱、组织穿透能力强、便于大规模生产等优点<sup>[8]</sup>,因此制备以 c-Met 为靶点的抗体药物具有较好的临床应用价值。

本研究拟在实验室已制备抗 c-Met Fab 抗体的基础上<sup>[9]</sup>,通过基因工程技术制备人源全分子抗 c-Met 抗体,观察该抗体对鼻咽癌细胞生物学特性的影响,为探索以 c-Met 作为靶点进行鼻咽癌的分子靶向治疗奠定基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

大肠杆菌 DH5- $\alpha$ 、293Free style(293F)细胞、真核表达载体 pFUSE-CHIg-hG1 和 pFUSE-CLIg-h $\kappa$  (Invitrogen 公司,美国)。肝癌细胞株 HepG2、鼻咽癌细胞株 CNE2、HONE1 和 SUNE1 为本实验室保存。

DNA 聚合酶 DNA Marker、蛋白 Marker、质粒小量提取试剂盒和胶回收试剂盒 (TaKaRa 公司,日本)。限制性内切酶 *Fsp* I、*Bmt* I (NEB 公司,美国)。Protein A 镍亲和纯化柱(GE 公司,美国)。HRP 标记抗人 Fab 和 HRP 标记抗人 IgG (Sigma 公司,

美国),重组人 c-Met 蛋白(R&D 公司,美国),过氧化酶底物显示液(TMB)购自(Pierce 公司,美国),DNA Transfection Reagent 购自(Roche 公司,瑞士)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 全分子人源抗 c-Met 抗体表达载体的构建

根据 Infusion PCR 原理设计抗 c-Met 抗体的重、轻链 PCR 扩增引物,以 c-Met Fab 为模版扩增抗体的重轻链可变区。重链:上游引物 5'-GGT-GTCCACTCGCTACAGGTGCAGCTGGTGGAG-3',下游引物 5'-GCCCTTGCTGGATGCAGAGGAGACCGTGACCAG-3';轻链:上游引物 5'-ACAGACGCTCGCTGCGATATCCAGATGACCCAG-3',下游引物 5'-TGCAGCCACCGTACGTCGTTTGTATCTCCAG-3'。

使用限制性内切酶 *Fsp* I 和 *Bmt* I 酶切真核表达载体 pFUSE-CHIg-hG1、pFUSE-CLIg-h $\kappa$ ,两种载体含 IgG1 型人源重、轻链恒定区基因序列。使用 Infusion PCR Cloning Kit 将抗体可变区基因 PCR 产物克隆到抗体真核表达质粒中。重组后的载体转化 DH5 $\alpha$  后,筛选阳性克隆酶切鉴定,对鉴定正确的克隆送南京金斯瑞公司测序。

#### 1.2.2 全分子人源抗 c-Met 抗体表达和纯化

培养 293 Free style 细胞,分别取重、轻链重组载体转染 293F 细胞,继续培养 6 d,收集细胞培养上清,使用 AKTA 蛋白纯化系统和 Protein A 预装柱纯化,分别收集流穿液和洗脱液。后者浓缩后用 0.22  $\mu$ m 滤膜过滤,定容到 1 mg/mL,分装,于 -70 $^{\circ}$ C 保存。

#### 1.2.3 全分子人源抗 c-Met 抗体免疫学特性分析

ELISA 检测:用 1  $\mu$ g/mL 的 c-Met 重组蛋白包被 96 孔板,5%脱脂奶粉先后封闭过夜,倍比稀释纯化后的抗体,4 $^{\circ}$ C 过夜。HRP 标记的抗人 Fab(1:4 000)室温孵育 1 h,酶标仪测定 450 nm 处的吸光度值。

Western blot 检测:培养 HepG2、CNE2、HONE1 和 SUNE1 细胞至对数生长期 (HepG2 在前期实验中证实高表达 c-Met 蛋白;用流式细胞术筛选,CNE2、HONE1 高表达 c-Met,SUNE1 基本不表达 c-Met)。裂解细胞提取总蛋白,用 2 $\times$ loading buffer 等体积混合加热后上样进行蛋白电泳,转 PVDF 膜后 5%脱脂奶粉封闭 2 h,纯化后的抗体 1:100 稀释,4 $^{\circ}$ C 过夜,PBST 洗涤后加入 HRP 标记抗人 Fab(1:4 000),室温

孵育 1 h,化学发光法显色。

**免疫荧光检测:**将 HepG2、CNE2、HONE1、SUNE1 细胞培养于 6 孔板中,细胞生长至 80%。4%多聚甲醛固定 20 min;PBS 洗涤加入 5%脱脂奶粉室温封闭 1 h;加入纯化后的抗体 50  $\mu\text{L}/\text{孔}$ ,孵育 2 h;PBS 洗涤后加入 FITC 标记的羊抗人 IgG(1:200),室温避光孵育 30 min;PBS 洗涤 5 次后加入 DAPI (1 g/L) 工作液,室温避光孵育 10 min,PBS 冲洗;荧光倒置显微镜下观察并拍照。

### 1.2.4 全分子人源抗 c-Met 抗体对鼻咽癌细胞生物学特性的影响

**CCK-8 法检测:**细胞生长至对数期,按  $1 \times 10^4$  个/孔铺 96 孔板,全分子抗体浓度分别为 400、300、200、100、0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,同时设置调零孔。继续培养 48 h,各培养孔加入 CCK8 (10 mg/mL)10  $\mu\text{L}$ ,继续培养 2 h,用全自动酶标仪测各孔的光密度,检测波长 450 nm。抑制率(%)=(1-实验组吸光值/对照组吸光值) $\times 100\%$ 。

**细胞划痕实验:**将 HepG2、CNE2、HONE1 和 SUNE1 细胞在 24 孔板中培养至 80%,用 200  $\mu\text{L}$  枪头沿孔底直径笔直划痕,PBS 洗涤划落的多余细胞。加入浓度 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  纯化后的抗体,继续培养,并于 0、24、48 h 在显微镜下拍照和测量划痕闭合宽度。

**Transwell 侵袭实验:**将按比例稀释好的 Matrigel 铺在 Transwell 上室底部聚碳酸酯膜上,在培养箱内孵育风干,备用。细胞饥饿处理过夜,每种细胞分为实验组和对照组,无血清培养基重悬细胞并调整其密度为  $2 \times 10^5$  个/mL,取细胞  $4 \times 10^4$  个/孔加入到成胶的 Transwell 上室,实验组加入纯化后全分子人源抗 c-Met 抗体 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,对照组不加抗体,同时在 Transwell 下室加入含 10%FBS 的培养基,继续培养 48 h 取出。用棉签头擦掉 Matrigel 和上室中未迁移的细胞,甲醇固定,PBS 洗涤,0.1%结晶紫染色,洗涤后倒置荧光显微镜观察,计数拍照分析。

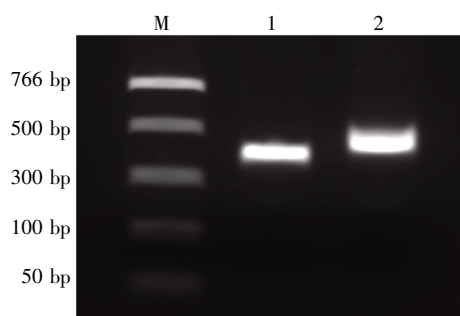
### 1.3 统计学方法

使用 SPSS21.0 统计软件,计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 检验, $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 全分子人源抗 c-Met 抗体重组表达载体的构建与鉴定

经凝胶电泳鉴定结果 c-Met Fab 轻重链可变区和预期大小相符,分别为 324 bp 和 348 bp(图 1)。重组后的载体送公司测序,结果均正确。



M:Marker NEB N0475S;1:V $\kappa$ 链;2:VH链。

图 1 抗 c-Met Fab 重、轻链可变区

Figure 1 Variable region of heavy and light chain of anti-c-Met Fab antibody

### 2.2 全分子人源抗 c-Met 抗体效价检测

ELISA 检测结果表明:全分子人源抗 c-Met 抗体能与重组 c-Met 蛋白特异性结合,两者之间具有较好的量效关系,在抗体浓度低至 0.016  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,仍可较好地识别 c-Met 抗原(图 2)。

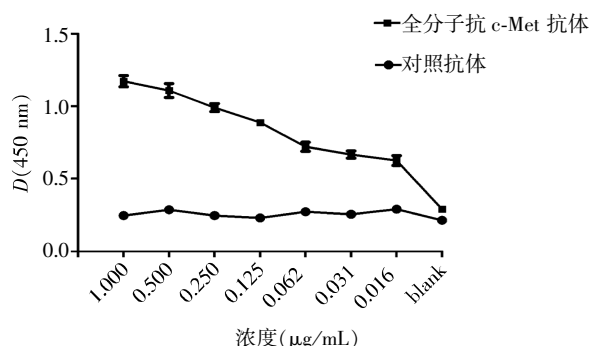


图 2 ELISA 检测抗体与 c-Met 重组蛋白的结合活性

Figure 2 Binding activity of antibody to c-Met recombinant protein by ELISA

### 2.3 Western blot 鉴定

结果提示全分子人源抗 c-Met 抗体可与 HepG2、CNE2、HONE1 细胞中的 c-Met 蛋白特异性结合,在 170 kDa 和 140 kDa 位置可检测 c-Met 蛋白的前体和成熟体(图 3)

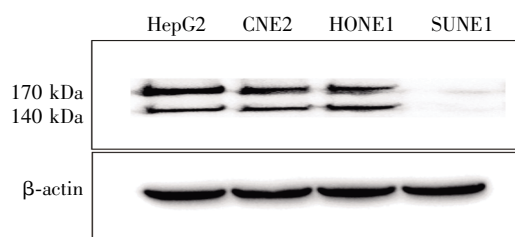


图 3 抗体的 Western blot 鉴定

Figure 3 Identification of antibody by Western blot

### 2.4 免疫荧光检测

在荧光显微镜下观察全分子抗 c-Met 抗体与阳性细胞的结合特性及其在细胞中的定位。结果显示:

阳性信号主要存在于细胞膜上(绿色),说明该全分子抗体可以与细胞膜上的 c-Met 蛋白特异性结合(图 4)。

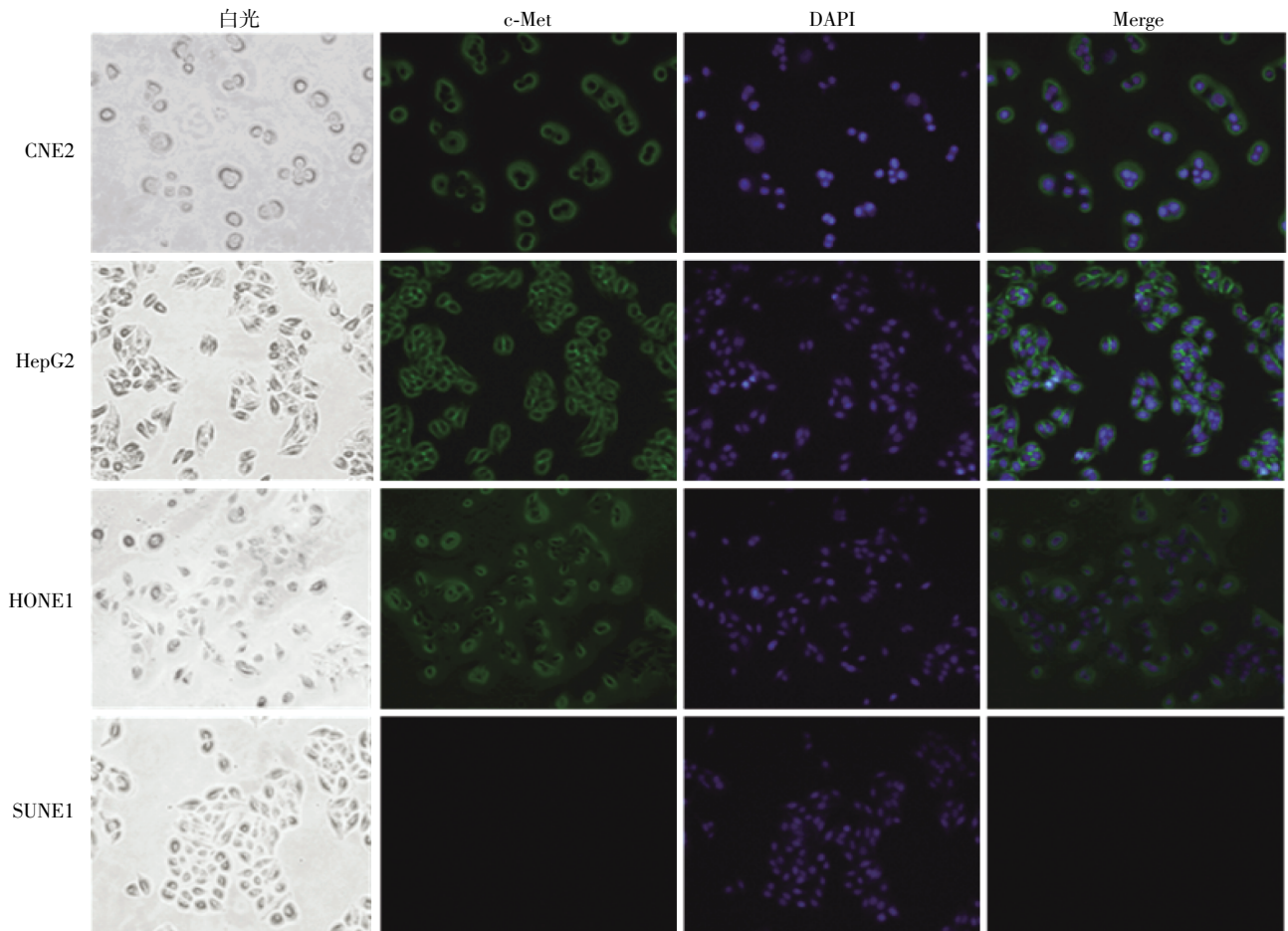
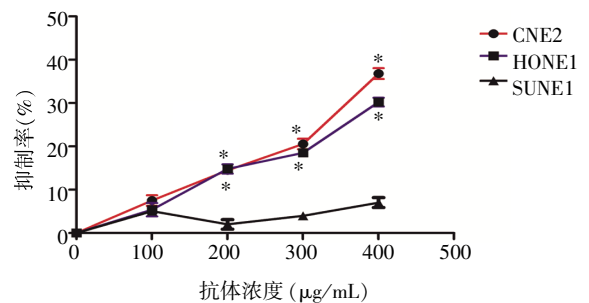


图 4 抗体与细胞特异性结合的免疫荧光检测

Figure 4 Combination of antibody with cell specifically by immunofluorescence microscopy

### 2.5 CCK-8 检测细胞增殖抑制情况

全分子抗 c-Met 抗体浓度较高时,对 c-Met 阳性细胞 CNE2 和 HONE1 有明显抑制作用。全分子抗体浓度为 400 μg/mL 时,抗体对 CNE2 和 HONE1 的抑制率分别为 36.8%和 30.2%。该抗体对未表达 c-Met 的 SUNE1 细胞增殖的抑制率为 4.3%,两组 c-Met 阳性细胞与 SUNE1 细胞比较差异均有统计学意义( $P$ 均 < 0.01,图 5)。



与 SUNE1 比较, \* $P$  < 0.01,  $n=3$ 。

图 5 不同浓度抗体作用 48 h 对细胞增殖的影响

Figure 5 Effect of antibody on proliferation of cells in different concentrations

### 2.6 细胞划痕实验

选定浓度为 400 μg/mL 的全分子抗体加入细胞中,结果显示细胞划痕 48 h 后,CNE2 细胞划痕愈合率约为 35.77%,HONE1 细胞划痕愈合率约为 30.61%,SUNE1 细胞划痕愈合率达 95.10%,两组 c-Met 阳性细胞与 SUNE1 细胞比较,差异均有统计学意义( $P$ 均 < 0.05,图 6)。

### 2.7 Transwell 侵袭实验

结果显示,400 μg/mL 全分子抗体作用 48 h 后,CNE2 细胞对照组每视野平均穿膜细胞数 ( $256 \pm 18$ ) 个,明显多于实验组 ( $131 \pm 12$ ) 个;HONE1 细胞

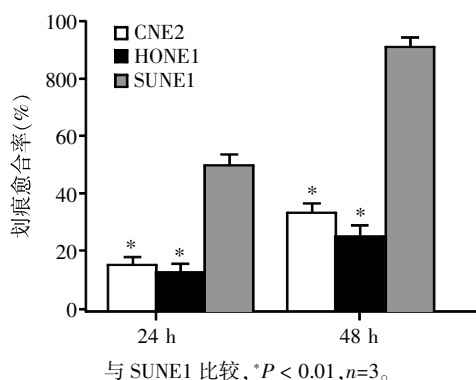


图 6 划痕实验检测抗体抑制细胞的迁移

Figure 6 Antibody inhibited the migration of cells detected by wound healing assay

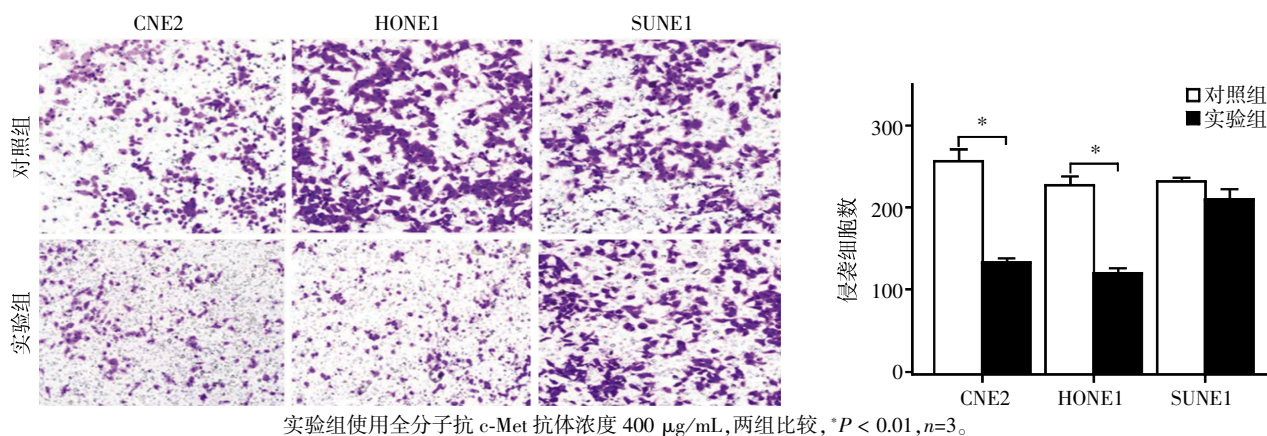


图 7 抗体对细胞侵袭能力的影响

Figure 7 Effect of antibody on invasion of cells

胃癌、大肠癌、肝外胆道癌和胰腺癌中均表现为过度表达,且与肿瘤的浸润深度、临床分期、淋巴转移及远处转移密切相关<sup>[13-14]</sup>。

实验室前期从噬菌体抗体库中已筛选出高效抗 c-Met Fab 抗体<sup>[9]</sup>,本研究以抗 c-Met Fab 抗体为模板扩增该克隆的可变区序列,使用基因抗体工程和分子生物学技术构建全分子抗体的表达载体,在 293F 细胞中表达,并经过蛋白纯化系统获得高纯度的抗体,ELISA 证实全分子抗体与 c-Met 重组蛋白之间有较好的量效关系,Western blot 和细胞免疫荧光实验证实全分子抗 c-Met 抗体不仅与 c-Met 特异性结合,同时可以有效识别 c-Met 在细胞中的空间表位。

在本研究 CCK8 实验中,抗体浓度与鼻咽癌阳性细胞的增殖抑制率呈现一定的剂量依赖关系,全分子抗体浓度为 400  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时,抗体对 CNE2 和

对照组每视野平均穿膜细胞数(226  $\pm$  16)个,明显多于实验组(119  $\pm$  10)个;差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ,图 7)。

### 3 讨论

c-Met 是由原癌基因 c-Met 编码的蛋白产物,具有酪氨酸激酶活性,初级转录本生成 150 kDa 的多肽,然后部分糖基化形成 170 kDa 的单链前体蛋白,该前体蛋白进一步糖基化形成由 50 kDa 的胞外链( $\alpha$  链)与 145 kDa 的跨膜链( $\beta$  链)连结而成约 190 kDa 的异二聚体<sup>[10-11]</sup>。新近研究发现 HGF/c-Met 信号通路广泛存在各种细胞中,并具有多种细胞生物学功能,在生理情况下促进细胞增殖、分化和运动,在某些病理情况下能促进恶性肿瘤的发生、侵袭与转移<sup>[12]</sup>。研究显示,c-Met 在消化道恶性肿瘤如

HONE1 细胞的增殖抑制率均超过 30%,而对未表达 c-Met 的 SUNE1 抑制率未见显著变化。在细胞划痕实验中,抗体作用 24 h 后,c-Met 阳性细胞的划痕愈合率明显小于 c-Met 阴性细胞( $P < 0.05$ )。Transwell 侵袭实验中,抗体作用后,与不加抗体组相比,c-Met 阳性细胞的穿膜细胞数明显减少( $P < 0.05$ ),而 SUNE1 细胞未见明显差别。以上研究结果表明高浓度的全分子抗 c-Met 抗体可以明显抑制 c-Met 阳性鼻咽癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。目前分子靶向治疗是鼻咽癌临床治疗研究中的一个重要方向,因此 c-Met 或许可以作为鼻咽癌分子靶向治疗中的一个候选靶点,利用特异性中和抗体去杀伤肿瘤细胞。

本研究是在抗 c-Met Fab 的基础上制备全分子人源抗 c-Met 抗体,此抗体亲和力较高,稳定性较好,而且全分子抗体可以激活 Fc 受体介导的生物

效应。另外, Fc段可以特异性结合人血管内皮细胞上的Fc受体而使抗体不能很快被降解, 明显延长了药物半衰期, 从而避免临床治疗中重复多次用药的问题<sup>[15-17]</sup>。

基于上述研究, 全分子人源抗c-Met抗体既可作为生物药直接用于鼻咽癌的分子靶向治疗, 也可偶联核素或免疫毒素, 利用抗体的靶向性进行精准治疗<sup>[18-19]</sup>, 降低用药剂量, 减轻化疗的不良反应, 提高肿瘤化疗效果, 为鼻咽癌的临床治疗提供了一个较好的候选分子。

#### [参考文献]

- [1] Farias TP, Dias FL, Lima RA, et al. Prognostic factors and outcome for nasopharyngeal carcinoma[J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2003, 129(7): 794-799
- [2] 王雪峰, 付宁, 曹建国. 鼻咽癌的临床进展[J]. 江西中医药, 2010, 41(3): 78-80
- [3] 程红蕾, 王若雨. 鼻咽癌相关基因研究进展[J]. 国际肿瘤学杂志, 2013, 40(9): 662-665
- [4] Oshima Y, Yajima S, Yamazaki K, et al. Angiogenesis-related factors are molecular targets for diagnosis and treatment of patients with esophageal carcinoma[J]. Ann Thorac Cardiovasc Surg, 2010, 16(6): 389-393
- [5] Matsumoto K, Nakamura T. NK4(HGF-antagonist/angiogenesis inhibitor) in cancer biology and therapeutics[J]. Cancer Sci, 2003, 94(4): 321-327
- [6] Ma PC, Schaefer E, Christensen JG, et al. A selective small molecule c-MET inhibitor, PHA665752, cooperates with rapamycin[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(6): 2312-2319
- [7] Deckert PM. Current constructs and targets in clinical development for antibody-based cancer therapy[J]. Curr Drug Targets, 2009, 10(2): 158-175
- [8] 朱进, 王辛, 焦永军, 等. 高亲和力抗Met人源基因工程抗体scFv的筛选与特性分析[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2006, 13(6): 417-422
- [9] Chen X, Ding G, Gao Q, et al. A human anti-c-Met Fab fragment conjugated with doxorubicin as targeted chemotherapy for hepatocellular carcinoma[J]. PLoS One, 2013, 8(5): e63093
- [10] Maulik G, Shrikhande A, Kijima T, et al. Role of the hepatocyte growth factor receptor, c-Met, in oncogenesis and potential for therapeutic inhibition[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2002, 13(1): 41-59
- [11] Bottaro DP, Rubin JS, Faletto DL, et al. Identification of the hepatocyte growth factor receptor as the c-Met proto-oncogene product[J]. Science, 1991, 251(4995): 802-804
- [12] Mizuno S, Nakamura T. HGF-MET cascade, a key target for inhibiting cancer metastasis: the impact of NK4 discovery on cancer biology and therapeutics[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(1): 888-919
- [13] 陈伟, 黄力, 华贲鹏, 等. 肝细胞生长因子受体和表皮生长因子受体在胰腺癌中的表达及临床意义[J]. 中华肝胆外科杂志, 2012, 18(6): 447-451
- [14] You H, Ding W, Dang H, et al. c-Met represents a potential therapeutic target for personalized treatment in hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2011, 54(3): 879-889
- [15] 王欢, 刘琼琼, 唐小军, 等. 人源抗TROP2全分子抗体IgG的真核表达及对胰腺癌细胞增殖的抑制作用[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2014(7): 863-869, 882
- [16] 孙逊. 小分子抗体在肿瘤诊治方面的应用[J]. 实用肿瘤杂志, 2003, 18(1): 71-75
- [17] 贺江, 樊明涛, 梁颖, 等. 抗独特型抗体在小分子物质免疫检测中的应用[J]. 分析化学, 2010, 38(9): 1366-1370
- [18] Beck A, Haeuw JF, Wurch T, et al. The next generation of antibody-drug conjugates comes of age[J]. Discov Med, 2010, 10(53): 329-339
- [19] Polakis P. Antibody drug conjugates for cancer therapy[J]. Pharmacol Rev, 2016, 68(1): 3-19

[收稿日期] 2015-11-03