

瞿成龙, 向雨欣, 明胜利, 等. ODF1单克隆、多克隆抗体的制备及特异性检测[J]. 山西农业科学, 2025, 53(6): 159-165.

QU C L, XIANG Y X, MING S L, et al. Preparation and specificity detection of monoclonal and polyclonal antibodies to ODF1[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2025, 53(6): 159-165.

doi:10.26942/j.cnki.issn.1002-2481.2025.06.19

ODF1单克隆、多克隆抗体的制备及特异性检测

瞿成龙^{1,2,3}, 向雨欣^{1,2,3}, 明胜利^{1,2,3}, 曾磊¹, 王江^{1,2,3}, 褚贝贝^{1,2,3}

(1.河南农业大学 动物医学院, 河南 郑州 450046; 2.河南农业大学 农业农村部动物生化与营养重点开放实验室, 河南 郑州 450046; 3.河南农业大学 河南省兽医生物技术重点实验室, 河南 郑州 450046)

摘要:为探究ODF1蛋白的生物学功能, 制备并鉴定其特异性抗体工具, 采用原核表达系统表达重组ODF1蛋白, 将高纯度的重组ODF1蛋白作为免疫原, 利用杂交瘤技术制备鼠源单克隆抗体, 通过免疫新西兰兔制备多克隆抗体。采用Western blot和免疫荧光(IFA)对抗体性能进行系统评价。结果成功筛选出1A1-7、5C6-4等2株稳定分泌抗ODF1单克隆抗体的杂交瘤细胞株, 亚型均为IgM, 同时获得了高效价的兔源多克隆抗体。Western blot和免疫荧光分析结果表明, 单克隆、多克隆抗体均能特异性识别内源性、外源性ODF1蛋白, 表现出良好的特异性和应用潜力。综上, 该试验成功制备了特异性良好的ODF1单克隆、多克隆抗体。

关键词:原核表达; ODF1蛋白; 单克隆抗体; Western blot; 多克隆抗体; 杂交瘤技术; 免疫荧光

中图分类号:S859.79⁺7 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2481(2025)06-0159-07

Preparation and Specificity Detection of Monoclonal and Polyclonal Antibodies to ODF1

QU Chenglong^{1,2,3}, XIANG Yuxin^{1,2,3}, MING Shengli^{1,2,3}, ZENG Lei¹,
WANG Jiang^{1,2,3}, CHU Beibei^{1,2,3}

(1.College of Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China;

2.Key Laboratory of Animal Biochemistry and Nutrition, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,

Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China; 3.Key Laboratory of Veterinary

Biotechnology of Henan Province, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: Aiming to investigate the biological function of the ODF1 protein, prepare, and detect its specific antibody tools, in this study, ODF1 protein was recombined using a prokaryotic expression system, taking the high-purity recombinant ODF1 protein as an immunogen, hybridoma technology was used to prepare mouse-derived monoclonal antibodies and immune New Zealand white rabbits were used to prepare polyclonal antibodies. Western blot and immunofluorescence(IFA) were used to systematically evaluate the antibody performance. Two hybridoma cell strains, 1A1-7 and 5C6-4, which stable secreted monoclonal antibodies against ODF1 were successfully screened, both of the subtypes were IgM, and highly efficient rabbit-derived polyclonal antibodies were obtained. Western blot and immunofluorescence assays confirmed that all of the two antibodies could specifically recognize endogenous and exogenous ODF1 proteins, exhibiting good specificity and potential applications. In conclusion, monoclonal and polyclonal antibodies with good specificity to ODF1 were successfully prepared in this study.

Keywords: prokaryotic expression; ODF1 protein; monoclonal antibody; Western blot; polyclonal antibody; hybridoma technology; immunofluorescence

动物的繁殖性能是其种群延续与发展的生物学基础, 也是衡量畜牧业经济效益的核心指标^[1]。

在现代养殖业中, 以人工授精技术为核心的繁殖改良手段已广泛应用于猪、牛、奶山羊、马等家畜

收稿日期: 2025-11-11

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32573380); 国家重点研发计划青年科学家项目(2023YFD1801600)

作者简介: 瞿成龙, 在读硕士, 研究方向: 动物传染病与分子免疫学, E-mail: 1191064620@qq.com。瞿成龙、向雨欣为同等贡献作者

通信作者: 王江, 教授, 博士生导师, 主要从事动物生物化学与分子生物学研究, E-mail: wangjiang@henau.edu.cn

褚贝贝, 教授, 博士生导师, 主要从事动物生物化学与分子生物学研究, E-mail: chubeibei@henau.edu.cn

生产中^[2-4],其成功与否依赖于精液品质,精子活力是精液品质的决定性因素^[5-7],因此,深入探究影响精子活力的关键分子机制,对提升动物繁殖效率具有重要的理论与实践意义。

精子呈独特的蝌蚪状,由头部、颈部和尾部构成^[8-9]。精子尾部是驱动精子运动的关键执行器官,其核心结构为轴丝,并包裹着线粒体鞘、外致密纤维(Outer dense fibers,ODF)和纤维鞘等重要附属结构^[10-11]。在精子发生晚期,转录活性终止后ODF蛋白仍持续合成的现象,提示这类尾部关键结构蛋白的表达调控依赖翻译后水平的调控机制。ODF家族蛋白是构成外致密纤维的核心组分,对维持精子鞭毛的结构稳定性与弹性至关重要^[12],目前,已在多个物种中鉴定出14种ODF成员,其中,对ODF1-4的功能研究相对深入^[13]。研究表明,该家族蛋白的表达高峰集中于精子发生的晚期阶段(减数分裂后至精子成形期)^[14-15],其对于精子鞭毛的正常形成与运动能力是不可或缺的^[16-17],已有研究证明,ODF蛋白的表达水平与精子活力密切相关^[18]。然而,关于ODF蛋白如何精确调控鞭毛结构进而影响精子运动能力的分子机制,仍缺乏系统性研究^[19]。

为深入解析ODF1蛋白的功能及其对雄性动物精子活力和存活率的具体影响,本研究首先利用原核表达系统制备了高纯度的ODF1重组蛋白,并进一步成功制备了其鼠源单克隆抗体和兔源多克隆抗体。这些高特异性抗体的获得,为后续开展ODF1蛋白的定位、表达调控及功能缺失研究奠定了关键的试验基础。

1 材料和方法

1.1 供试材料

1.1.1 菌株、载体及细胞 *E.coli* BL21(DE3)菌株购自北京擎科生物科技有限公司,*E.coli* Top10感受态细胞、pGEX-4T-3原核表达载体及SP2/0小鼠骨髓瘤细胞系均由河南省兽医生物技术重点实验室保存。

1.1.2 实验动物 42~56日龄雌性BALB/c小鼠及成年雄性新西兰大白兔购自郑州大学实验动物中心。动物试验获得河南农业大学动物伦理委员会批准(批准号为HNND2024030805)。

1.1.3 试剂 SanPrep柱式DNA胶回收试剂盒(生工生物工程(上海)股份有限公司)、MD55透析

袋(截留分子量:8~14 ku)、高亲和力GST纯化介质及GST融合蛋白纯化试剂盒(Genscript公司)。弗氏完全佐剂、弗氏不完全佐剂、HT Media Supplement(50×)、HAT Media Supplement(50×)、PEG-1450(Sigma公司)、HRP标记的山羊抗小鼠/兔IgG二抗(SA00012-5,Proteintech)、Alexa Fluor 405 goat anti-mouse IgG(H+L)二抗(A11029,Invitrogen)、单克隆抗体亚型鉴定试剂盒(SEK003,Sino biological)。

1.2 试验方法

1.2.1 重组表达载体pGEX-4T-3-ODF1的构建 参考NCBI数据库中小鼠*ODF1*基因序列(NM_008757.3),设计并合成引物。引物5'端分别引入*Bam*H I、*Xho* I酶切位点及同源重组臂。正向引物:5'-gatctggttcgcgtggatccATGGCCGCACT-GAGTTGTCT-3',反向引物:5'-gtcacgatgcggcc-gctcgagTTATAAGATCATCTTCCTACAGGA GAATC-3'。通过PCR扩增*ODF1*编码序,将pGEX-4T-3载体经*Bam*H I、*Xho* I于37℃双酶切3h,凝胶回收后与PCR产物进行同源重组连接。连接产物转化至*E.coli* Top10感受态细胞,37℃培养过夜。挑取单克隆菌落进行测序验证,将正确构建的重组质粒命名为pGEX-4T-3-ODF1。

1.2.2 重组ODF1蛋白诱导表达 将重组质粒pGEX-4T-3-ODF1转化至*E.coli* BL21(DE3)感受态细胞。挑取单菌落接种于LB培养基中,37℃振荡培养至菌液OD₆₀₀约0.6时,加入IPTG至终浓度0.5 mmol/L,分别置于16、25℃诱导表达10h。离心收集菌体,经超声破碎后,再次离心分离上清与沉淀,通过SDS-PAGE凝胶电泳检测蛋白表达情况。

1.2.3 重组ODF1蛋白纯化及鉴定 按照GST融合蛋白纯化试剂盒说明书对目的蛋白进行纯化。取少量纯化产物进行SDS-PAGE电泳,分析其纯度。采用BCA法测定蛋白浓度。将纯化后的蛋白分装(1 mL/管),于-80℃冻存备用。

1.2.4 动物免疫试验 单克隆抗体制备。选取3只42~56日龄雌性BALB/c小鼠。将50 μg重组ODF1蛋白与等体积弗氏完全佐剂乳化后,进行皮下多点注射作为初次免疫。后续第14天和第28天,使用弗氏不完全佐剂进行第2、3次免疫,剂量与途径不变。第3次免疫后14d,尾静脉取血,采用间接ELISA法检测血清抗体效价。选择效价

最高的小鼠,于融合前3 d进行加强免疫(腹腔注射100 μ g蛋白,不含佐剂)。

多克隆抗体制备。选取3只成年雄性新西兰大白兔。将500 μ g重组ODF1蛋白与等体积弗氏完全佐剂乳化后,进行皮下多点注射。第1次免疫后,每隔14 d免疫一次,共免疫3~4次。末次免疫7 d后,心脏采血。室温静置30 min后,3 000 r/min离心5 min分离血清,分装后于-80 $^{\circ}$ C保存。

1.2.5 细胞融合与阳性杂交瘤细胞株筛选 取加强免疫后的小鼠,无菌分离脾细胞。在PEG-1450作用下,将脾细胞与对数生长期的SP2/0细胞按比例混合进行融合。将融合后的细胞接种于含HAT选择性培养基的96孔板中,置于37 $^{\circ}$ C、5% CO₂培养箱培养。培养7 d后,收集各孔细胞上清,采用间接ELISA法筛选分泌特异性抗体的阳性孔。对阳性孔进行连续2~3次有限稀释法亚克隆,直至获得能稳定分泌抗ODF1抗体的单克隆杂交瘤细胞株。扩大培养阳性细胞株并进行液氮冻存保种。

1.2.6 单克隆抗体亚型鉴定 用包被液分别将抗小鼠IgG1、IgG2a、IgG2b、IgG3、IgM的亚型特异性抗体稀释后包被ELISA板。加入待测的杂交瘤细胞培养上清作为一抗,以HRP标记的山羊抗小鼠IgG作为二抗,TMB显色后测定OD₄₅₀,判定抗体亚型。

1.2.7 抗体特异性鉴定 Western Blot分析。复苏并培养HeLa、PK-15、MARC-145、L929细胞,提取总蛋白并进行变性处理。经SDS-PAGE电泳分离后,将蛋白转移至PVDF膜上。分别以制备的单抗细胞培养上清、多抗血清作为一抗,HRP标记的山羊抗小鼠、兔IgG作为二抗,进行化学发光显色,检测抗体识别目标蛋白的能力。

免疫荧光分析。将HeLa、PK-15、MARC-145、L929细胞接种于24孔板内的爬片上。待细胞贴壁后,用4%多聚甲醛固定,0.1% Triton X-100通透,并以10%胎牛血清封闭。分别加入一抗(单抗上清、多抗血清)和Alexa Fluor 405标记的二抗进行孵育。最后用DAPI染细胞核,在Zeiss LSM 800共聚焦显微镜下观察并采集图像。

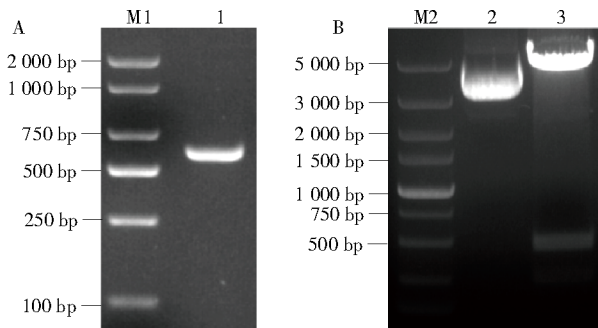
1.2.8 免疫荧光检测ODF1单克隆、多克隆抗体可用性 将HeLa、PK-15、MARC-145、L929细胞铺至24孔板中,用4%多聚甲醛在室温下固定30 min,0.1% Triton X-100通透10 min,含10%胎

牛血清的PBS封闭1 h,单克隆、多克隆抗体为一抗孵育1 h,Alexa Fluor 405 goat anti-mouse IgG(H+L)为二抗避光孵育1 h,DAPI避光染细胞核10 min,使用Zeiss LSM 800共聚焦显微镜观察并采集图像。

2 结果与分析

2.1 重组表达质粒pGEX-4T-3-ODF1的构建与鉴定

重组表达质粒pGEX-4T-3-ODF1经双酶切后,产物凝胶电泳结果显示,有2条与理论预期大小完全相符的片段(图1),初步表明载体构建成功。对重组质粒进行测序分析,结果显示,ODF1基因的阅读框准确无误,序列完全正确,表明重组原核表达质粒pGEX-4T-3-ODF1构建成功。



A. ODF1基因PCR扩增结果;B.双酶切鉴定结果;M1.DNA相对分子量标准(DL 2000);M2.DNA相对分子量标准(DL 5000);1.ODF1基因;2.空载质粒对照;3.重组质粒pGEX-4T-3-ODF1

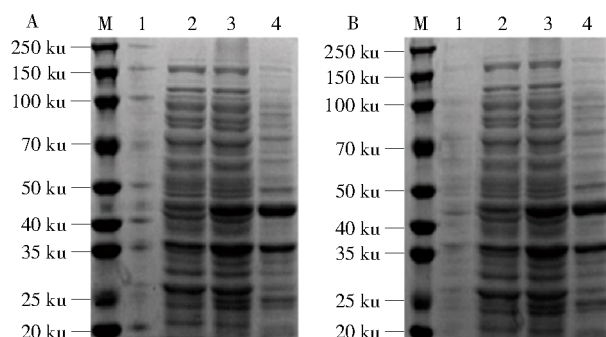
A. PCR amplification of ODF1 gene; B. Double enzyme digestion identification results; M1. DNA relative molecular weight standard(DL 2000); M2. DNA relative molecular weight standard(DL 5000); 1. ODF1 gene; 2. Empty plasmid control; 3. Recombinant plasmid pGEX-4T-3-ODF1

图1 ODF1基因PCR扩增及双酶切鉴定结果

Fig.1 PCR amplification and double-enzyme digestion identification results of the ODF1 gene

2.2 重组ODF1蛋白的诱导表达

重组ODF1蛋白诱导表达后,菌体上清、沉淀的SDS-PAGE结果如图2所示,在约48 ku处(与GST-ODF1融合蛋白的理论分子量相符)有1条明显的特异性条带,且该条带主要存在于超声破碎后的上清液中,表明重组ODF1蛋白获得了高效表达,并且主要以可溶形式存在,有利于后续的纯化。



A. 重组 ODF1 蛋白 16 °C 条件下诱导表达结果; B. 重组 ODF1 蛋白 25 °C 条件下诱导表达结果; M. 蛋白质相对质量标准; 1. 未诱导菌液; 2. 诱导后菌液; 3. 破碎后上清; 4. 破碎后沉淀

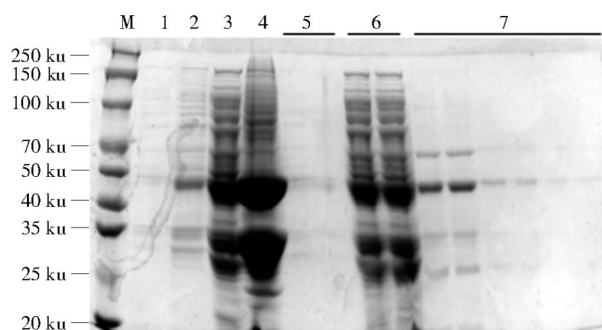
A. Induction of recombinant ODF1 protein at 16 °C; B. Induction of recombinant ODF1 protein at 25 °C; M. Protein relative molecular weight standard; 1. Uninduced bacterial solution; 2. Bacteria solution after induction; 3. Supernatant after crushing; 4. Precipitation after crushing

图 2 重组 ODF1 蛋白的诱导表达情况

Fig.2 Induction rxpression of recombinant ODF1 protein

2.3 重组 ODF1 蛋白的纯化与鉴定

SDS-PAGE 结果清晰地展示了重组 ODF1 蛋白纯化过程各阶段的蛋白组分(图 3),流穿液和洗杂液中几乎没有目的蛋白,而洗脱液在 48 ku 处呈现清晰的条带,且该条带为洗脱液中占比最高的蛋白条带,表明通过亲和层析获得了高纯度的重组 ODF1 蛋白,满足了后续免疫试验的要求。



M. 蛋白质相对质量标准; 1. 未诱导菌液; 2. 诱导后菌液; 3. 破碎后上清; 4. 破碎后沉淀; 5. 流穿液; 6. Wash buffer; 7. Elution buffer

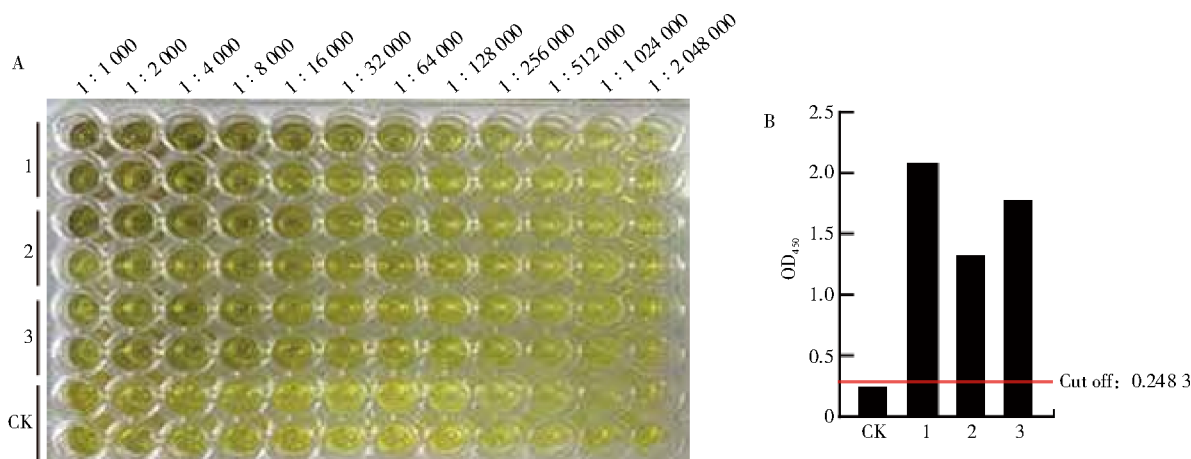
M. Protein relative molecular weight standard; 1. Uninduced bacterial solution; 2. Bacteria solution after induction; 3. Supernatant after crushing; 4. Precipitation after crushing; 5. Flow through the liquid; 6. Wash buffer; 7. Elution buffer

图 3 重组 ODF1 蛋白的纯化及鉴定

Fig.3 Purification and identification of recombinant ODF1 protein

2.4 免疫动物血清中 ODF1 抗体效价测定

为评估免疫效果,在 3 次免疫后分别采集小鼠、新西兰兔的血清,通过间接 ELISA 法检测抗 ODF1 抗体效价。由图 4 可知,3 只免疫小鼠均产生了高水平的特异性抗体。其中,1、2、3 号小鼠的血清抗体效价分别为 1.024×10^6 、 2.560×10^5 和 5.120×10^5 。选择效价最高的 1 号小鼠用于后续的细胞融合试验。



1~3.1、2、3 号小鼠血清; CK. 空白对照小鼠血清

1-3. Rabbit serum of number 1, 2, 3; CK. Blank control mouse serum

图 4 小鼠血清抗体效价

Fig.4 Antibody titer of mouse serum

3 只新西兰兔血清 ELISA 检测结果也显示,新西兰兔均产生了针对 ODF1 的特异性抗体,1、2、3 号

抗体效价分别为 5.12×10^5 、 2.56×10^5 、 1.28×10^5 , 均达到制备高质量多克隆抗体标准(图 5)。

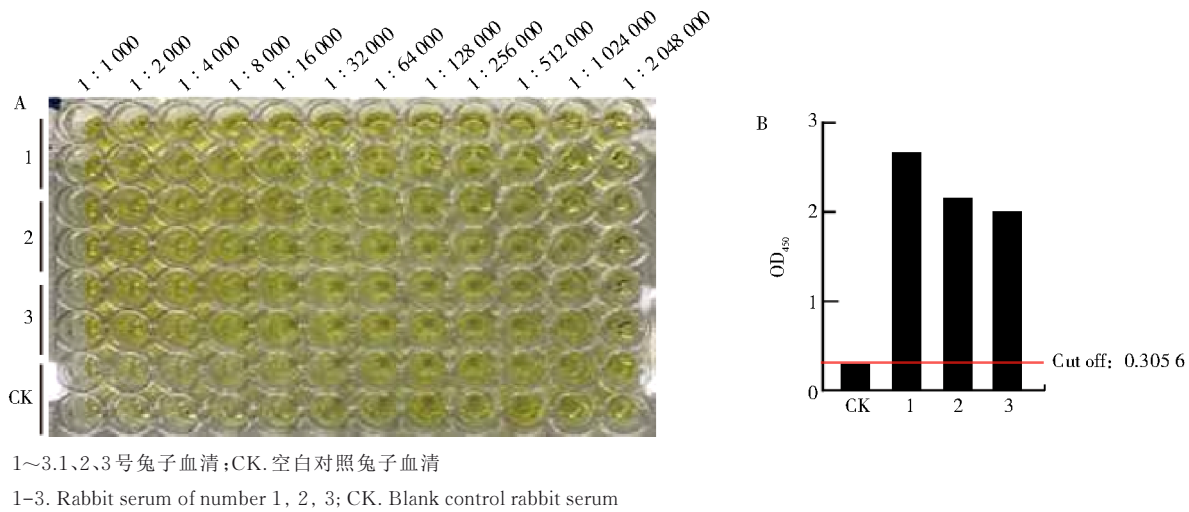


图5 新西兰兔血清抗体效价

Fig.5 Antibody titer of New Zealand white rabbit serum

2.5 单克隆抗体的制备与亚型鉴定

ODF1单克隆抗体亚型如图6所示。

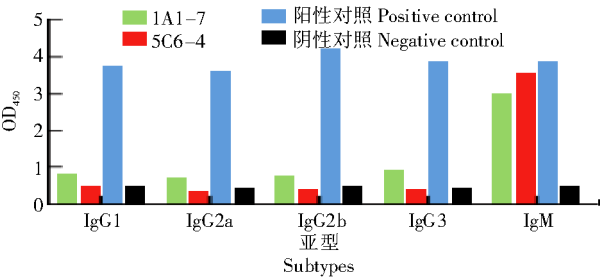


图6 ODF1单克隆抗体亚型

Fig.6 ODF1 monoclonal antibody subtypes

由图6可知,经过细胞融合、HAT筛选和多次亚克隆,最终获得2株能稳定分泌抗ODF1抗体的杂交瘤细胞株,分别命名为1A1-7和5C6-4。亚型鉴定结果表明,这2株细胞分泌的单克隆抗体亚型均为IgM。

2.6 单克隆、多克隆抗体的特异性鉴定

为验证所制备抗体的特异性与实用性,采用Western blot和细胞免疫荧光技术对ODF1单克隆抗体和多克隆抗体进行功能鉴定。Western blot结果显示,制备的单克隆抗体能够特异性识别L929、HeLa细胞裂解液中约48 ku的目标蛋白(图7-A)。

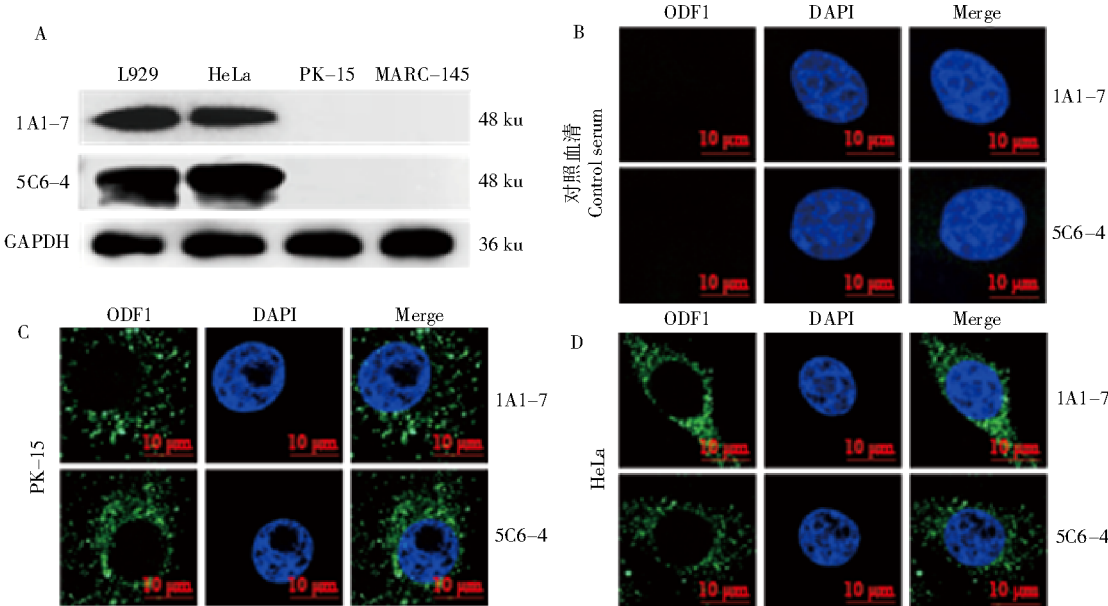


图7 Western blot和免疫荧光检测ODF1单克隆抗体的特异性

Fig.7 The specificity of ODF1 monoclonal antibody detected by Western blot and immunofluorescence

免疫荧光分析进一步证实,该抗体可在 HeLa、PK-15 细胞内与 ODF1 蛋白结合,呈现出清晰的荧光信号,表明其具有良好的细胞内抗原识别能力(图 7-B~D)。

1、2 号兔制备的多克隆抗体能特异性结合 L929、HeLa、PK-15、MARC-145 细胞中的 ODF1

蛋白(图 8-A),且结合效果优于 3 号兔多克隆抗体。免疫荧光结果也显示,多克隆抗体可在 MARC-145(图 8-B)、PK-15(图 8-C)、HeLa(图 8-D)细胞中检测到显著的荧光信号,其广泛的反应谱和强烈的信号证实了多克隆抗体优异的特异性。

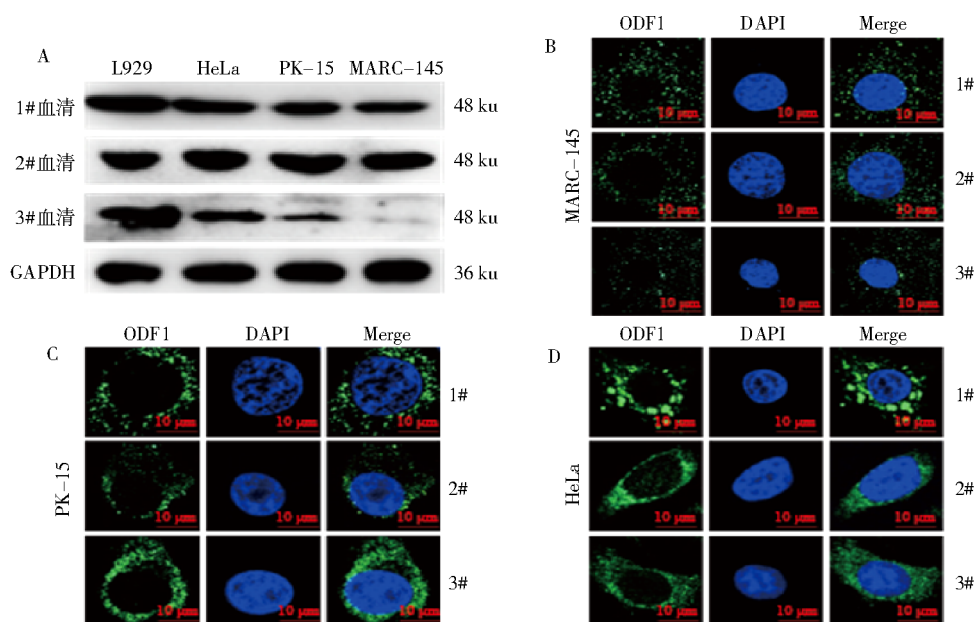


图 8 Western blot 和免疫荧光检测 ODF1 多克隆抗体的特异性

Fig.8 The specificity of ODF1 polyclonal antibody detected by Western blot and immunofluorescence.

3 结论与讨论

哺乳动物精子的正常形态和运动能力是保障雄性生育力的关键,而外致密纤维作为其核心骨架结构,在维持精子尾部弹性、抵抗附睾传输过程中的剪切力方面发挥着至关重要的作用^[2-3,6,20]。在构成 ODF 的多种蛋白中,ODF1 被公认为是一种关键的骨架蛋白^[4]。对 ODF1 的蛋白结构分析显示,其 N 端具有与亮氨酸拉链结构相似的两性 α -螺旋结构^[12],而 C 端含有 PCX 重复序列^[20]。研究表明,ODF1 不仅对精子尾部的机械稳定性关重要,其表达水平的异常或缺失更是与特发性雄性不育直接相关,被视为男性不育研究的一个重要分子靶点^[21-24]。然而,深入研究 ODF1 的生物学功能、调控网络及其在不育症中的具体作用机制,高度依赖于高质量、特异性的抗体工具。

本研究开发并鉴定了特异性抗 ODF1 抗体。首先通过原核表达系统,成功实现了 GST-ODF1 融合蛋白的高效可溶性表达,为后续纯化和免疫提供了高质量抗原,是试验成功的关键前提。利用纯化

蛋白作为免疫原,不仅通过常规免疫获得了高效价的兔源多克隆抗体,还通过经典的杂交瘤技术,成功筛选并建立了 1A1-7、5C6-4 等 2 株能稳定分泌抗 ODF1 抗体的杂交瘤细胞株,其亚型均为 IgM。

本研究的核心发现是,所制备的抗体在应用层面展现出优异的性能。Western blot 结果显示,单克隆、多克隆抗体均能精确识别在 L929、HeLa 细胞中内源性表达的、分子量约 27 ku 的 ODF1 蛋白(除去 GST 标签),而非其融合前体,证明了其高度的特异性。更重要的是,免疫荧光试验进一步证实,这些抗体能够有效应用于细胞内抗原的定位检测,在 HeLa、PK-15 细胞中均观察到与 ODF1 预期定位相符的清晰荧光信号。这表明制备的抗体不仅能识别变性蛋白,更能识别天然构象的蛋白,具备了用于更复杂生物学研究的潜力。

本试验所制备的单克隆、多克隆抗体为 ODF1 的功能研究提供了强有力的技术支撑。首先,它们是后续在精子细胞中对 ODF1 进行精确亚细胞定位、研究其在精子发生、成熟及运动过程中动态变化的理想工具。其次,利用这些抗体尤其是多抗,

可以通过免疫共沉淀(Co-IP)或质谱分析等技术,筛选与ODF1相互作用的新蛋白,从而进一步揭示其在精子尾部骨架网络中的调控通路。此外,特异性单克隆抗体的获得,也为未来开发基于ODF1的免疫诊断试剂盒或靶向治疗策略奠定了基础。

综上所述,本研究成功开发了特异性良好、应用价值高的ODF1单克隆、多克隆抗体,并通过体外试验系统验证了其有效性。这不仅为深入阐明ODF1在雄性生殖过程中的具体作用机制奠定了坚实的基础,也为相关男性不育症的病理研究和诊断治疗提供了新的研究工具与思路。

参考文献:

- [1] 杜明,刘源壹,李昕俞,等. 动物精子的发生研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2024, 60(1): 36-43.
DU M, LIU Y Y, LI X Y, et al. Research progress on animal spermatogenesis[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2024, 60(1): 36-43.
- [2] YANG K F, GRZMIL P, MEINHARDT A. Haplo-deficiency of ODF1/HSPB10 in mouse sperm causes relaxation of head-to-tail linkage[J]. Reproduction, 2014, 148(5): 499-506.
- [3] HOYER-FENDER S. Development of the connecting piece in ODF1-deficient mouse spermatids[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(18): 10280.
- [4] SUDA T, TAKAHASHI N, UDAGAWA N, et al. The molecular mechanism of osteoclastogenesis: ODF/RANKL-dependent and independent pathways[J]. Arthritis Research & Therapy, 2001, 3(2): L024.
- [5] 魏宏彦, 彭健. 公猪精液品质营养调控研究进展[J]. 动物营养学报, 2020, 32(10): 4540-4549.
WEI H K, PENG J. Research progress on nutrition regulation of semen quality for boars[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(10): 4540-4549.
- [6] YANG K F, MEINHARDT A, ZHANG B, et al. The small heat shock protein ODF1/HSPB10 is essential for tight linkage of sperm head to tail and male fertility in mice[J]. Molecular and Cellular Biology, 2012, 32(1): 216-225.
- [7] HE X Q, MU W Y, WANG Z Q. Deficiency of the Tmem232 gene causes male infertility with morphological abnormalities of the sperm flagellum in mice[J]. Cells, 2023, 12(12): 1614.
- [8] 李征征. Odf家族蛋白在弱精子症中的作用及机制研究[D]. 上海: 上海交通大学, 2018.
LI Z Z. The functions and mechanisms of odf family proteins in asthenospermia[D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2018.
- [9] CABRILLANA M E, MONCLUS M L Á, LANCELOTTI T E S, et al. Thiols of flagellar proteins are essential for progressive motility in human spermatozoa[J]. Reproduction, Fertility, and Development, 2017, 29(7): 1435-1446.
- [10] CABRILLANA M E, BOCANEGRA V, MONCLUS M A, et al. ODF1, sperm flagellar protein is expressed in kidney collecting ducts of rats[J]. Heliyon, 2019, 5(12): e02932.
- [11] LI B C, LI X J. Overexpression of ODF1 in gastrointestinal tract neuroendocrine neoplasms: a novel potential immunohistochemical biomarker for well-differentiated neuroendocrine tumors[J]. Endocrine Pathology, 2021, 32(2): 301-308.
- [12] 李鹏飞, 孟金柱, 郝庆玲, 等. PDF2和ODF1转录组测序筛选牛卵泡发育相关基因[J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49(2): 300-309.
LI P F, MENG J Z, HAO Q L, et al. Screening and analysing of genes associated with follicular development in bovine ODF1 and PDF2 transcriptome[J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2018, 49(2): 300-309.
- [13] DADUCCI A, VAN DE VILLE D, THIRAN J P, et al. Sparse regularization for fiber ODF reconstruction: from the suboptimality of ℓ_2 and ℓ_1 priors to ℓ_0 [J]. Medical Image Analysis, 2014, 18(6): 820-833.
- [14] TAPIA CONTRERAS C. CCDC42 localizes to manchette, HTCA and tail and interacts with ODF1 and ODF2 in the formation of the male germ cell cytoskeleton[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2019, 7: 151.
- [15] ZHANG D, HUANG W J, CHEN G Y, et al. Pathogenesis of acephalic spermatozoa syndrome caused by SUN5 variant[J]. Molecular Human Reproduction, 2021, 27(5): gaab028.
- [16] CABRILLANA M E, MARTINEZ M, RUIZ ESTRABON M, et al. Relation between the thiol status of odf1 and the sperm motility. comparison between normo and asthenozoospermic samples[J]. Biocell, 2013, 37(3): A177.
- [17] HETHERINGTON L, SCHNEIDER E K, SCOTT C, et al. Deficiency in outer dense fiber 1 is a marker and potential driver of idiopathic male infertility[J]. Molecular & Cellular Proteomics, 2016, 15(12): 3685-3693.
- [18] HOYER-FENDER S, BURFEIND P, HAMEISTER H. Sequence of mouse Odf1 cDNA and its chromosomal localization: extension of the linkage group between human chromosome 8 and mouse chromosome 15[J]. Cytogenetics and Cell Genetics, 1995, 70(3/4): 200-204.
- [19] OOSTERHUIS J H, VAN DER HOORN F A. Testis-specific TTF-D binds to single-stranded DNA in the c-mos and Odf1 promoters and Activates Odf1[J]. Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(17): 11708-11712.
- [20] KLEENE K C, BAGAROVA J. Comparative genomics reveals gene-specific and shared regulatory sequences in the spermatid-expressed mammalian Odf1, Prm1, Prm2, Tnp1, and Tnp2 genes[J]. Genomics, 2008, 92(2): 101-106.
- [21] WANG J, FAN Y, ZHAO Z, et al. Expression of ODF and ICAM-1 of bone marrow mesenchymal stem cells is enhanced with osteogenic differentiation[J]. Key Engineering Materials, 2008, 361: 1173-1176.
- [22] ZARSKY H A, TARNASKY H A, CHENG M, et al. Novel RING finger protein OIP1 binds to conserved amino acid repeats in sperm tail protein ODF1[J]. Biology of Reproduction, 2003, 68(2): 543-552.
- [23] WU Y Q, RAO M, HU S F, et al. Effect of transient scrotal hyperthermia on human sperm: an iTRAQ-based proteomic analysis[J]. Reproductive Biology and Endocrinology, 2020, 18(1): 83.
- [24] SHAO X, XUE J, VAN DER HOORN F A. Testicular protein Spag5 has similarity to mitotic spindle protein Deepest and binds outer dense fiber protein Odf1[J]. Molecular Reproduction and Development, 2001, 59(4): 410-416.