



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104237502 B

(45) 授权公告日 2016. 05. 04

(21) 申请号 201310641505. 1

审查员 李倩

(22) 申请日 2013. 12. 03

(73) 专利权人 华中科技大学

地址 430074 湖北省武汉市洪山区珞喻路
1037 号

(72) 发明人 骆清铭 张智红 刘顺

(74) 专利代理机构 北京华沛德权律师事务所

11302

代理人 刘杰

(51) Int. Cl.

G01N 33/533(2006. 01)

(56) 对比文件

US 2011/0003974 A1, 2011. 01. 06,
Haiming Luo et al. Tetrameric far-red
fluorescent protein as a scaffold to
assemble an octavalent peptide nanoprobe
for enhanced tumor targeting and
intracellular uptake in vivo. 《The FASEB
Journal》. 2011, 第 25 卷

权利要求书1页 说明书6页

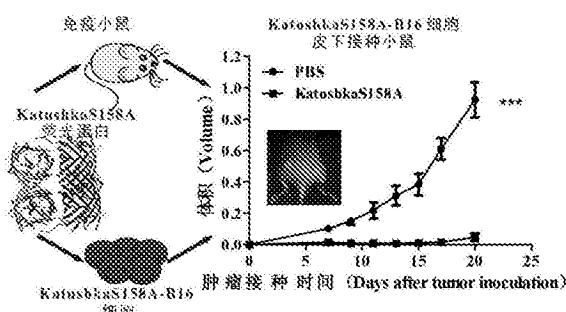
序列表1页 附图9页

(54) 发明名称

KatushkaS158A 荧光蛋白的应用

(57) 摘要

本发明公开了一种 KatushkaS158A 荧光蛋白的新应用, 属于免疫学和光学成像领域。所述 KatushkaS158A 荧光蛋白既可以作为模型抗原用于免疫学的活体光学成像, 又可以用于荧光标记成像, 有望替代传统 OVA 等模型抗原, 更直接且无干扰地用于免疫光学成像研究。



1. KatushkaS158A 荧光蛋白的应用, 其特征在于, 所述 KatushkaS158A 荧光蛋白作为模型抗原用于免疫应答的光学成像研究和 / 或用于细胞的光学标记成像 ; 其中, 所述 KatushkaS158A 荧光蛋白中起到模型抗原作用的蛋白质序列为 :TSLQNGCLI。

2. 根据权利要求 1 所述的 KatushkaS158A 荧光蛋白的应用, 其特征在于, 所述 KatushkaS158A 荧光蛋白可以与树突状细胞进行孵育, 从而获得树突状细胞疫苗。

3. 根据权利要求 1 所述的 KatushkaS158A 荧光蛋白的应用, 其特征在于, 所述 KatushkaS158A 荧光蛋白可以与任何抗原肽相偶联, 作为免疫辅助蛋白以增强抗原肽的特异性免疫应答。

4. 根据权利要求 1 所述的 KatushkaS158A 荧光蛋白的应用, 其特征在于, 所述 KatushkaS158A 荧光蛋白可由 KatushkaS158A 的突变体替换。

KatushkaS158A 荧光蛋白的应用

技术领域

[0001] 本发明属于免疫学和光学成像领域,具体涉及一种 KatushkaS158A 荧光蛋白的新应用。

背景技术

[0002] 荧光蛋白作为优秀的报告分子,在生物学的各个领域中都得到了广泛的应用。1962 年第一次从水母中发现绿色荧光蛋白 GFP 开始,荧光蛋白的应用已经深入到生物学研究的各个领域。荧光蛋白已广泛应用于蛋白质的标记与定位研究、蛋白质与蛋白质的相互作用、各类细胞的迁移、以及发展用于探测细胞生理病理状态的探针,为生物学问题的解决提供了极大的方便。随着新的荧光蛋白不断被发现及其突变的改进,目前已经报道的荧光蛋白的发射光谱几乎涵盖了整个可见光谱范围,甚至已到达近红外波段。如此种类繁多的各色荧光蛋白出现,同时也为实时动态的多色成像提供了重要的标记物。

[0003] 我们知道,在活体内的成像相比于细胞成像而言,具有更大的难度,对荧光蛋白的要求更高。因为组织对光的吸收和散射作用,以及背景信号的干扰,GFP 起源的荧光蛋白由于其发射峰波长相对较短,在活体成像上就没有发射峰波长更长的红色荧光蛋白有优势。因此,为了达到更好的活体成像的目的,需要理化性能更稳定、亮度更高的红色荧光蛋白。随着 Katushka 以及其突变体 KatushkaS158A 等一批优秀的深红色荧光蛋白(发射峰大于 600nm)的发现与改造,由于其发射峰波长位于 620nm 以上,相比于绿色和红色荧光蛋白(例如,发射峰小于 600nm 的荧光蛋白 DsRED)而言,在活体光学成像时具有更好的组织穿透深度,因而备受关注。随着光学成像技术的发展,以及活体动态研究的需要,Katushka 以及 KatushkaS158A 等荧光蛋白越来越多地用于小鼠体内动态观察细胞与分子的运动和研究其行为规律。

[0004] 在肿瘤免疫学的研究中,由于很多肿瘤相关抗原并不能引起机体产生足够的免疫响应并且达到显著抑制肿瘤生长的效果,而且肿瘤相关抗原在一些正常组织细胞中仍然有表达。为了更好地研究机体对于某一种已知抗原产生特异性免疫响应的过程,研究者们通过基因工程的手段,在肿瘤细胞中引入某一种外来的具有强烈免疫原性的蛋白作为抗原,这种蛋白被称为模型抗原,它在研究机体对特定抗原产生免疫应答的过程及其机制中发挥了重要的作用。由于模型抗原相对于研究个体(例如,小鼠)来说是外来蛋白,在其体内是完全不表达的,在肿瘤免疫的研究中可通过表达该抗原的肿瘤细胞引入到小鼠体内,可以很好地研究机体对于单一抗原产生免疫响应的过程。常见的模型抗原包括来自于鸡蛋的卵清蛋白(OVA)、淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒(LCMV)的糖蛋白、流感病毒核蛋白、来自于流感 A 病毒的血细胞凝集素、以及来自于大肠杆菌的 β -半乳糖苷酶等。模型抗原同样需要具备一些基本的条件:首先是稳定表达抗原的肿瘤细胞,且其生长速度没有受到明显的影响,而且对于生物体的致死特性也没有改变;再次,对生物体免疫模型抗原后,能够刺激机体产生针对表达同样抗原的肿瘤细胞的特异性免疫应答,能够显著抑制肿瘤细胞的生长。

[0005] 当应用光学成像研究模型抗原诱导的特异性免疫应答时,由于目前的模型抗原均

不具有产生荧光的性质,因此模型抗原需要额外偶联荧光蛋白基因后再转染入肿瘤细胞内,以便达到标记肿瘤模型抗原的目的。荧光蛋白尤其是 KatushkaS158A 等红色荧光蛋白在 C57BL/6 小鼠中的免疫原性尚未见报道,但是不得不承认的是,荧光蛋白作为外源蛋白,其免疫原性的确是不可以忽视的,通过肿瘤细胞这种外源引入小鼠体内的荧光蛋白,可能会被小鼠的免疫系统所识别,在一定程度上激发机体产生特异性体液免疫或者细胞免疫。虽然这种免疫响应可能较弱,但也是不可忽视的,也许会对某些研究过程中产生明显的干扰。因此将 KatushkaS158A 开发成一种模型抗原,由于其自身带有荧光,不需要其它额外的蛋白进行标记,在肿瘤免疫学的活体光学成像研究中具有重要的意义。

发明内容

[0006] 本发明的目的是解决上述问题而提供了一种 KatushkaS158A 荧光蛋白的新应用,该荧光蛋白 KatushkaS158A 不仅仅可以用于光学标记成像,而是可以替代传统 OVA 等模型抗原,用于肿瘤免疫学的光学成像研究。

[0007] 本发明所采用的技术方案是:

[0008] KatushkaS158A 荧光蛋白的应用,所述 KatushkaS158A 荧光蛋白既可以作为模型抗原用于免疫应答的光学成像研究,又可以用于细胞的光学标记成像。

[0009] 进一步地,所述 KatushkaS158A 荧光蛋白中起到模型抗原作用的蛋白质序列为: TSLQNGCLI。

[0010] 进一步地,所述 KatushkaS158A 荧光蛋白可以与树突状细胞进行孵育,从而获得树突状细胞疫苗。

[0011] 进一步地,所述 KatushkaS158A 荧光蛋白可以与任何抗原肽相偶联,作为免疫辅助蛋白以增强抗原肽的特异性免疫应答。

[0012] 进一步地,不仅仅局限于 KatushkaS158A,还包括 KatushkaS158A 的突变体。

[0013] 本发明具有以下优点:

[0014] 本发明提出了四聚体荧光蛋白 KatushkaS158A 的一种新的功能,即作为模型抗原用于免疫光学成像研究,而不再需要其它额外的模型抗原。也就是说,荧光蛋白可以直接作为模型抗原诱导特异性的免疫响应,同时也可以作为荧光标记分子用于成像研究。这样不仅可以简化实验方案,更重要的是它充分利用了荧光蛋白的免疫原性,同时也就避免了其它模型抗原需要偶联荧光蛋白标记时所带来的潜在干扰。

附图说明

[0015] 图 1 为 KatushkaS158A 的作为模型抗原应用的基本技术路线图;

[0016] 图 2 为 KatushkaS158A 的电泳鉴定结果图;

[0017] 图 3 为 KatushkaS158A 的光谱数据图;

[0018] 图 4 为 KatushkaS158A 候选抗原肽与 RMA-S 细胞的亲和力检测结果图;

[0019] 图 5 为 KatushkaS158A 候选抗原肽体外刺激免疫小鼠脾脏细胞增殖能力检测结果图;

[0020] 图 6 为 KatushkaS158A 抗原体外诱导免疫小鼠的脾脏细胞产生细胞因子 IFN- γ 的检测图;

- [0021] 图 7 为酶联免疫吸附测定(ELISA)检测免疫小鼠血清中 KatushkaS158A 特异性抗体的产生图；
- [0022] 图 8 为流式细胞仪分析免疫小鼠和免疫小鼠脾脏细胞 CD8+/CD4+ 比例的差异图；
- [0023] 图 9 为 KatushkaS158A 表达的 B16 肿瘤细胞株(简称 KatushkaS158A-B16)的光学成像图；
- [0024] 图 10 为 KatushkaS158A-B16 肿瘤细胞株的流式分析表征图；
- [0025] 图 11 为 KatushkaS158A-B16 肿瘤细胞在 C57BL/6 的生长的整体荧光成像结果图；
- [0026] 图 12 为 KatushkaS158A 免疫组小鼠和 PBS 对照组小鼠接种 KatushkaS158A-B16 肿瘤细胞后肿瘤体积生长变化图；
- [0027] 图 13 为 KatushkaS158A 免疫组小鼠和 PBS 对照组小鼠接种 KatushkaS158A-B16 肿瘤细胞后第 20 天剥离肿瘤后拍照结果图；
- [0028] 图 14 为 KatushkaS158A 免疫小鼠和 PBS 对照小鼠接种 B16 肿瘤细胞后肿瘤体积生长变化图；
- [0029] 图 15 为 KatushkaS158A 免疫组小鼠和 PBS 对照组小鼠皮窗中接种 KatushkaS158A-B16 后的成像显示结果图；
- [0030] 图 16 为 KatushkaS158A-B16 肿瘤接种后第二天和第七天时 KatushkaS158A 免疫组和 PBS 对照组小鼠中淋巴细胞的运动趋向性规律变化差异图；
- [0031] 图 17 为培养的 DC 与 KatushkaS158A 抗原孵育 1 小时后显微镜成像图；
- [0032] 图 18 为培养的 DC 与 KatushkaS158A 孵育后,流式细胞仪检测 DC 表面 CD80/CD86 表达水平的变化图；
- [0033] 图 19 为负载抗原的 DC 疫苗免疫处理的小鼠在皮下接种 KatushkaS158A-B16 肿瘤细胞后肿瘤体积生长变化图；
- [0034] 图 20 为负载抗原的 DC 疫苗免疫小鼠皮下接种 KatushkaS158A-B16 肿瘤后小鼠生存率的统计图。

具体实施方式

- [0035] 下面结合附图和实施方式对本发明做进一步详细的说明。
- [0036] 实施例 1
- [0037] 本实施例提出了 KatushkaS158A 荧光蛋白新功能,通过相应实验证实其能够作为模型抗原用于肿瘤免疫学的研究。该功能的揭示首先需要找到 KatushkaS158A (见序列表 1) 序列中的抗原表位 TSLQNGCLI,命名为 K112 (见序列表 1),继而证实 KatushkaS158A 蛋白能够诱导体液免疫(产生 KatushkaS158A 特异性抗体)和细胞免疫(诱导淋巴细胞增殖和 IFN- γ 的产生),并且能够使经过 KatushkaS158A 免疫的小鼠产生免疫保护作用从而抑制 KatushkaS158A-B16 肿瘤的生长速度。
- [0038] 图 1 描述了本实施例的技术路线, KatushkaS158A 荧光蛋白通过基因工程的手段导入 B16 细胞,得到 KatushkaS158A-B16 肿瘤细胞株,能够在 C57BL/6 小鼠中形成肿瘤。将纯化得到的 KatushkaS158A 蛋白免疫至正常的 C57BL/6 小鼠中,使小鼠产生特异性针对 KatushkaS158A 蛋白的免疫保护作用,通过测定免疫组小鼠和对照组小鼠接种 KatushkaS158A-B16 后肿瘤的生长速度差异而表征出来。

[0039] 从图 2 和图 3 中可以看出为, KatushkaS158A 蛋白大小在 95kD 和 130kD 之间, 符合四聚体蛋白的大小(单体为 28kD, 四聚体为 112kD)。而且通过光谱图可以发现, KatushkaS158A 激发峰为 587nm, 发射峰为 624nm, 属于深红色荧光蛋白, 非常利于活体光学成像。

[0040] 通过 BIMAS 和 SYFPEITHI 程序预测出 KatushkaS158A 的 H2-Db 特异性的表位肽, 综合两者的结合, 最后筛选出了 5 条候选表位肽进行后续的验证。

[0041] 预测出的 KatushkaS158A 候选表位肽

[0042]

名称	起始氨基酸	序列
K20	20	EGTVNDHHF
K66	66	FMYGSKTFI
K112	112	TSLQNGCLI
K129	129	NFPSNGPVM
K156	156	SGLRGHAQM

[0043] 图 4 对候选的 5 条表位肽进行亲和力实验。选择已知的表位肽 gp100₂₅₋₃₃ 作为阳性对照。结果显示, 相比于其余 4 条候选表位肽, K112 多肽亲和力最强, 甚至高于阳性对照肽。图 5 为对候选抗原表位肽进行进一步的淋巴细胞增殖实验。结果发现, 同样是 K112 多肽, 在体外具有非常强的刺激经 KatushkaS158A 免疫过的小鼠脾脏细胞增殖能力, 而其余四条抗原肽刺激增殖能力不明显。同样发现, 完整的抗原 KatushkaS158A 刺激脾脏细胞增殖能力最强, 这是因为完整的抗原相比于单一抗原肽, 能够降解产生多条可刺激产生免疫应答的抗原肽。图 6 通过检测 KatushkaS158A 诱导脾脏细胞产生 IFN- γ 的, 表示 KatushkaS158A 可以刺激机体产生有效的免疫应答。图 7 检测了 KatushkaS158A 免疫小鼠血清中特异性抗体的产生。通过 ELISA 半定量的检测, 表明免疫小鼠体内能够产生大量的 KatushkaS158A 特异性的 IgG 抗体。图 8 分析了在 KatushkaS158A 免疫小鼠后, 小鼠体内 CD8+/CD4+ 比例的变化。结果表明免疫小鼠的体内, 产生了更多数量的 CD8+ 细胞, 这对于活体上肿瘤的清除是非常有利的。图 9 至图 11 为筛选出稳定表达的 B16-KatushkaS158A 肿瘤细胞株, 该细胞株为 100% 的 KatushkaS158A 表达, 为红色荧光, 该细胞株成瘤性能未受到影响, 在 C57BL/6 小鼠中能够生长起来, 而且通过整体荧光成像, 可以明显看到 KatushkaS158A 的红色荧光信号与肿瘤区域完全吻合。图 12 至图 14 为活体实验结果。免疫 KatushkaS158A 的小鼠可以起到显著的免疫保护作用, 当接种 KatushkaS158A-B16 肿瘤后, 相比于未免疫组, 肿瘤生长速度明显变慢, 而且还有部分小鼠肿瘤未生长起来。为了证实该免疫效果是 KatushkaS158A 抗原特异的, 当接种 B16 肿瘤时, 免疫组小鼠和未免疫组小鼠之间没有明显差异。这说明 KatushkaS158A 抗原免疫小鼠可以使其产生抗原特异性的免疫保护作用。

[0044] 实施例 2

[0045] 本实施例旨在利用 KatushkaS158A 为模型抗原, 表明其在肿瘤免疫光学成像研究中应用。我们通过在 C57BL/6 小鼠上人工制作皮窗模型, 利用光学成像技术, 观察经

过 KatushkaS158A 免疫组小鼠和 PBS 对照组小鼠上淋巴细胞的运动规律的差异,说明 KatushkaS158A 可以作为模型抗原,在 C57BL/6 小鼠上建立起很好的肿瘤免疫研究模型。

[0046] 图 15 是显示建立起来的 KatushkaS158A 模型抗原的免疫成像模型。在图 15 中分布的红色细胞为 KatushkaS158A-B16 肿瘤细胞,而绿色的细胞为 EGFP 标记的淋巴细胞等,肿瘤细胞和淋巴细胞可以非常清楚的展示出来,通过连续时间成像,可以用于分析淋巴细胞的运动规律以及与肿瘤细胞的接触等行为规律。

[0047] 图 16 是对图 15 所获取的成像结果中,具体分析淋巴细胞群体的运动规律,从而表征 KatushkaS158A 免疫组小鼠和 PBS 对照组之间淋巴细胞运动规律的差异。我们可以发现,从细胞运动的轨迹上可以判断出细胞具有显著的向肿瘤部位趋化的现象。趋化运动过程中,运动轨迹的线性程度能够反映出趋化的强烈程度。我们定义直线程度大于 0.5 的为直线运动的细胞,而直线程度小于 0.5 为曲线运动的细胞,对第二天和第七天两个时间点上,两组不同处理的小鼠肿瘤周围细胞的趋化运动进行分析发现,在第二天的时候,KatushkaS158A 免疫组的小鼠中肿瘤局部淋巴细胞的直线运动的细胞数量较曲线运动的细胞多,而 PBS 对照组反而是做曲线运动的细胞要多于直线运动的细胞。这是因为对于 PBS 对照组的小鼠来说,KatushkaS158A 作为陌生抗原,机体尚未产生对其具有特异性的记忆性免疫细胞,机体仅仅只有单核细胞、NK 细胞等响应迅速的固有免疫细胞;而由于 KatushkaS158A 免疫组的小鼠已经由于提前免疫从而获得了对 KatushkaS158 蛋白的特异性免疫,机体一旦发现 KatushkaS158A 抗原表达的肿瘤细胞存在,不仅单核细胞、NK 细胞等固有免疫细胞会迅速响应而趋化至肿瘤微环境,同时小鼠免疫系统中的特异性记忆 T/B 细胞会迅速分化增殖并直奔肿瘤,导致具有明显趋化性直线运动的细胞比例相对会更高,因而可以看到上述细胞运动的差异。

[0048] 在第七天的时候,KatushkaS158 免疫组小鼠肿瘤微环境中细胞直线和曲线运动的细胞所占比例相当,且与 PBS 对照组之间也没有显著性的差异。这是由于抗原进入小鼠体内,仅需 5-7 天即可产生特异性免疫;通过 KatushkaS158-B16 肿瘤细胞进入小鼠体内,小鼠也会产生特异性针对 KatushkaS158A 的免疫响应,第七天的时候诱导产生具有趋化运动的特异性淋巴细胞从淋巴器官向肿瘤迁移;而这时 KatushkaS158 免疫组小鼠体内的肿瘤生长已经进入了相对平衡的阶段,从而使得所呈现出来的趋化性降低,并没有第二天时候的显著。

[0049] 这些结果说明了经过 KatushkaS158A 免疫的小鼠,较早的在体内诱导产生有效的免疫响应,而 PBS 对照组中,产生的免疫响应较晚。这些差异均可以通过肿瘤局部微环境中淋巴细胞的运动行为差异,从而直接的表征出来。这种模型的建立可以帮助研究者们,通过实时的成像观察到肿瘤特异性响应的过程中淋巴细胞的运动行为规律,这对于成像观察免疫响应过程中细胞的具体行为规律具有非常重要的意义。

[0050] 实施例 3

[0051] 本实施例以 KatushkaS158A 为抗原制备成树突状细胞(DC)疫苗,发现 KatushkaS158A 蛋白抗原可以很好地被 DC 摄取降解,从而激发特异性的免疫应答,同时也发现 KatushkaS158A 可以作为融合蛋白与抗原肽偶联,增强其免疫效果。本实施例将主要针对基于 KatushkaS158A 蛋白抗原的 DC 疫苗进行详述,并表征其在活体内的免疫保护作用。同时还将 KatushkaS158A 与黑色素瘤的抗原肽 gp100₂₅₋₃₃相融合,形成融合蛋白

Octa-gp100, 起到增强的黑色素瘤特异性免疫保护作用。图 17 表征了体外培养的 DC 与 KatushkaS158A 孵育 1 小时, 通过荧光成像观察 DC 中 KatushkaS158A 荧光信号的分布。结果表明, 经过 1 小时的孵育, KatushkaS158A 可以很好的被 DC 摄取, 荧光信号分布于细胞质中。图 18 通过流式检测结果表征了 DC 摄取抗原后的成熟情况。通过 CD80/CD86 双阳性的细胞比例表征 DC 对抗原摄取后成熟的比例, 可以发现 DC 摄取 KatushkaS158A 以及 Octa-gp100 后, 大约 60% 左右的 DC 都成熟, 略低于阳性对照 LPS 刺激, 但是也明显高于空白对照组。图 19 和图 20 检测了 DC 疫苗给小鼠带来的特异性的免疫保护作用。结果发现, 经过 KatushkaS158A 或者 Octa-gp100 处理的 DC 疫苗能够给小鼠带来显著的免疫保护作用, 能够明显地抑制 KatushkaS158A-B16 肿瘤的生长。其中 Octa-gp100 更能够起到更长久的免疫保护作用, 这是由于 KatushkaS158A 和 gp100₂₅₋₃₃ 双抗原起到联合免疫增强的效应, 这也说明 KatushkaS158A 融合抗原肽具有显著的增强免疫的效果。

[0052] 本发明提出了四聚体荧光蛋白 KatushkaS158A 的一种新的功能, 即作为模型抗原用于肿瘤免疫光学成像研究。使得在活体光学成像领域, 不再需要其它额外的模型抗原, 荧光蛋白可以直接作为模型抗原诱导特异性的免疫响应, 同时也可以作为标记分子用于成像研究。这样不仅可以简化实验方案, 更重要的是它充分的利用了荧光蛋白的免疫原性, 而同时也就避免了荧光蛋白的免疫原性所带来的潜在的影响。

[0053] 最后应说明的是, 以上实施例仅用以说明本发明的技术方案而非限制, 尽管参照较佳实施例对本发明进行了详细说明, 本领域的普通技术人员应当理解, 可以对本发明的技术方案进行修改或者等同替换, 而不脱离本发明技术方案的精神和范围, 其均应涵盖在本发明的权利要求范围当中。

SWQMENCE LISTINE

〈110〉 华中科技大学

〈120〉 KatushkaS158A 荧光蛋白的新应用

〈160〉 2

〈210〉 1

〈211〉 235

〈212〉 PRT

〈213〉 KatushkaS158A

〈400〉 1

MVGEDSVLITENMHMKLYMEGTVNDHHFKCTSEGEGLPYEGTQTMKIKVVEGGPLPFAFD 60

ILATSFMYGSKTFINHTQGIPDFFKQSFPEGFTWERITTYEDGGVLTATQDTSLQNGCLI 120

YNVKINGVNFPNSNGPVMQKKTLGWEASTEMLYPADSGLRGHAQMALKLVGGGYLHCSLKT 180

TYRSKKPAKNLKMPGFYFVDRRLERIKEADKETYVEQHEMAVARYCDLPSKLGHS 235

〈210〉 2

〈211〉 9

〈212〉 应当指出 K112 的分子类型, 有 DNA、RNA 或 PRT 三种类型

PRT 类型

〈213〉 K112

〈400〉 2

TSLQNGCLI 9

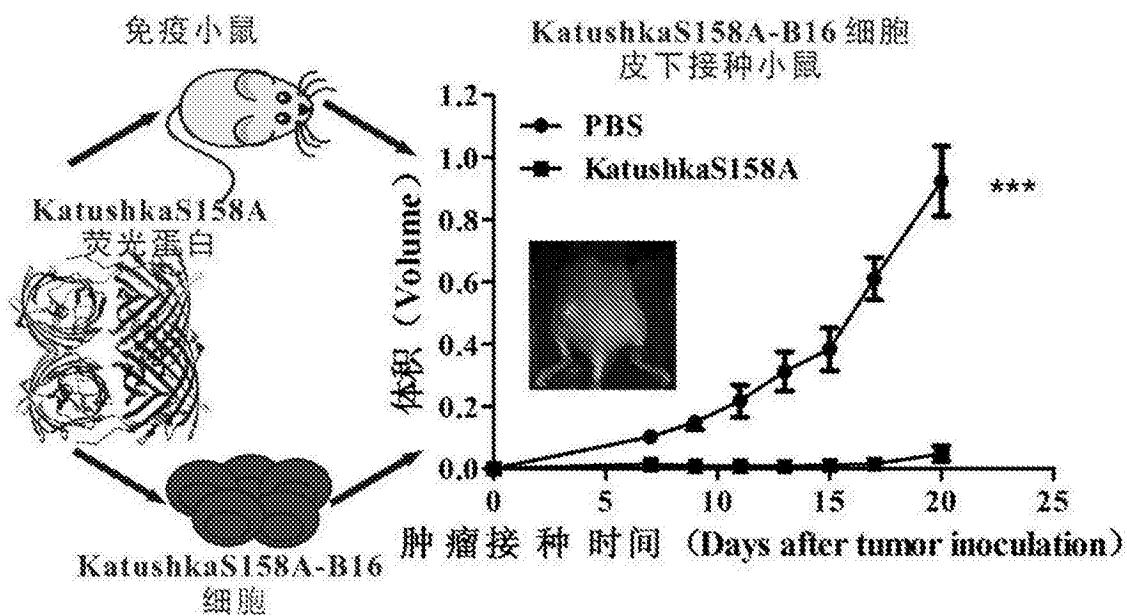


图 1

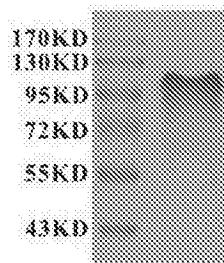


图 2

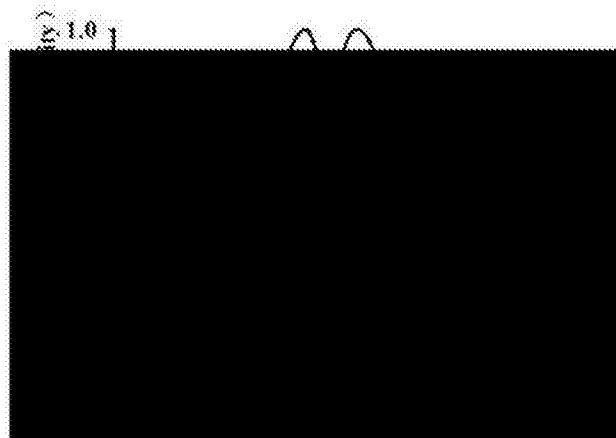


图 3

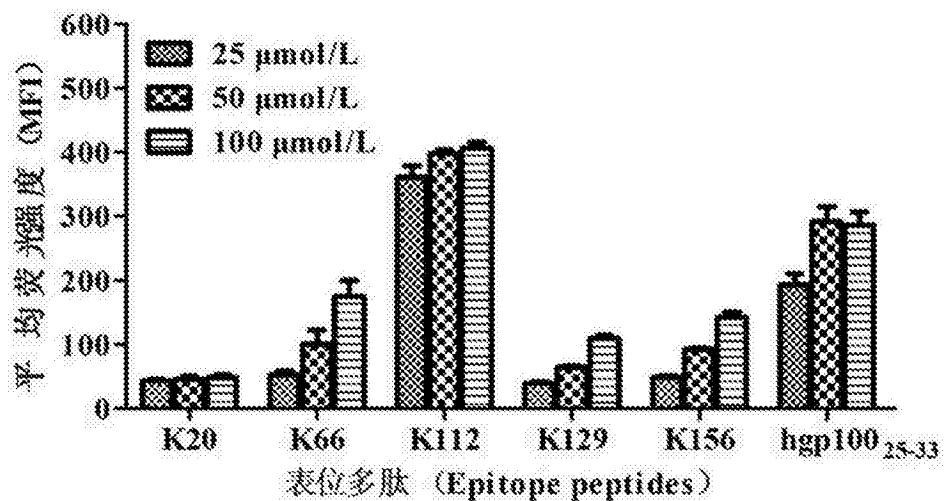


图 4

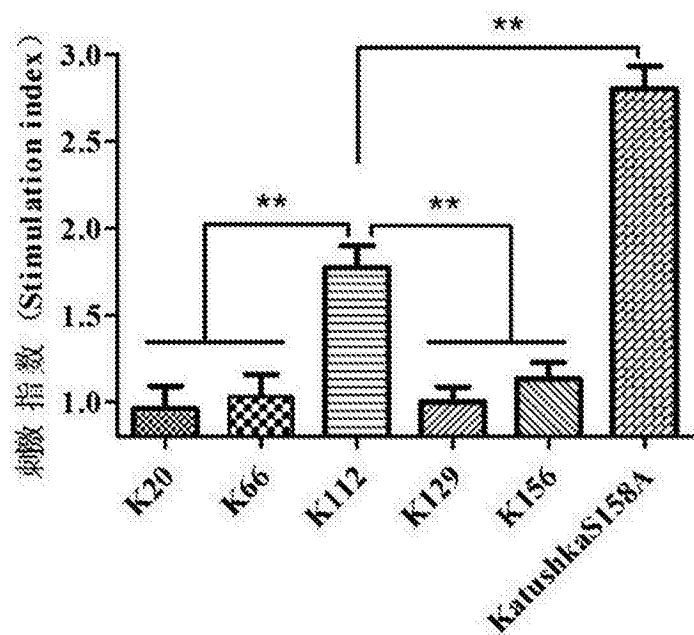


图 5

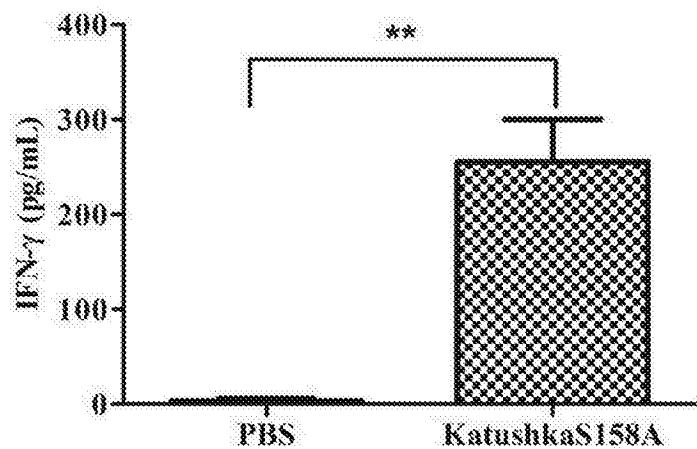


图 6

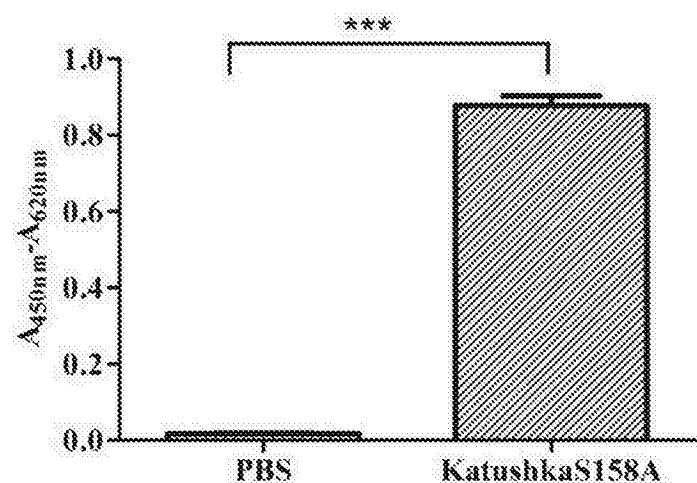


图 7

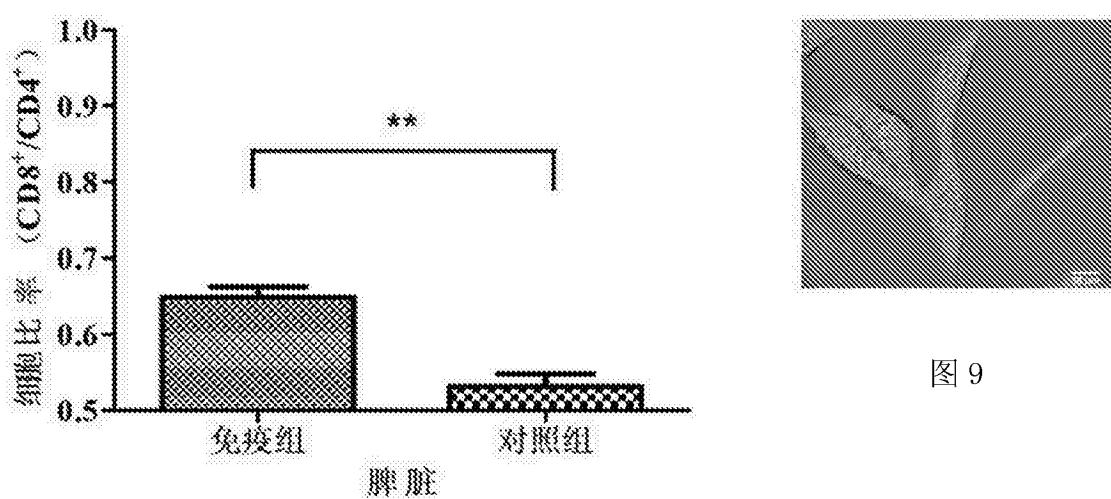


图 9

图 8

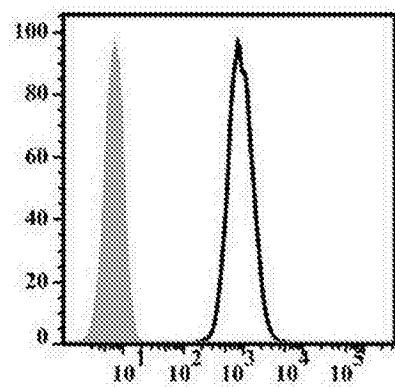


图 10



图 11

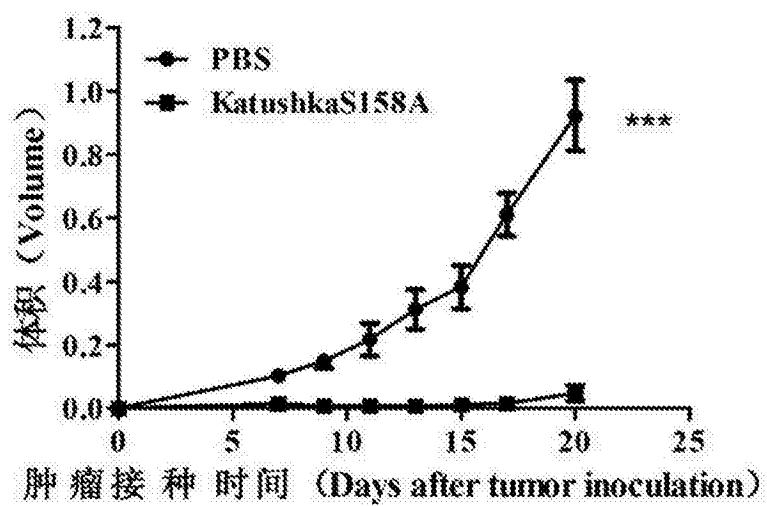


图 12

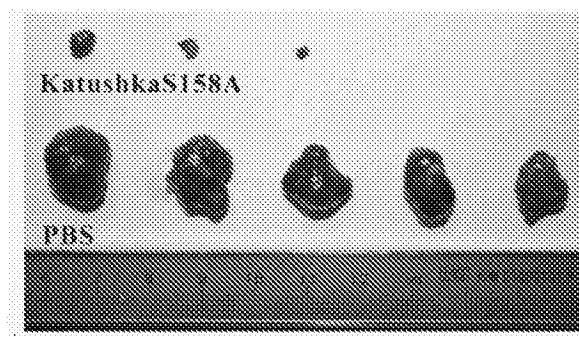


图 13

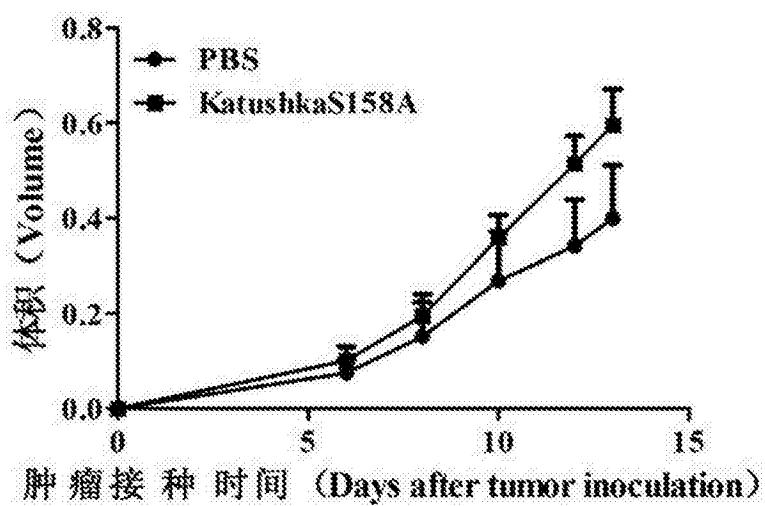


图 14

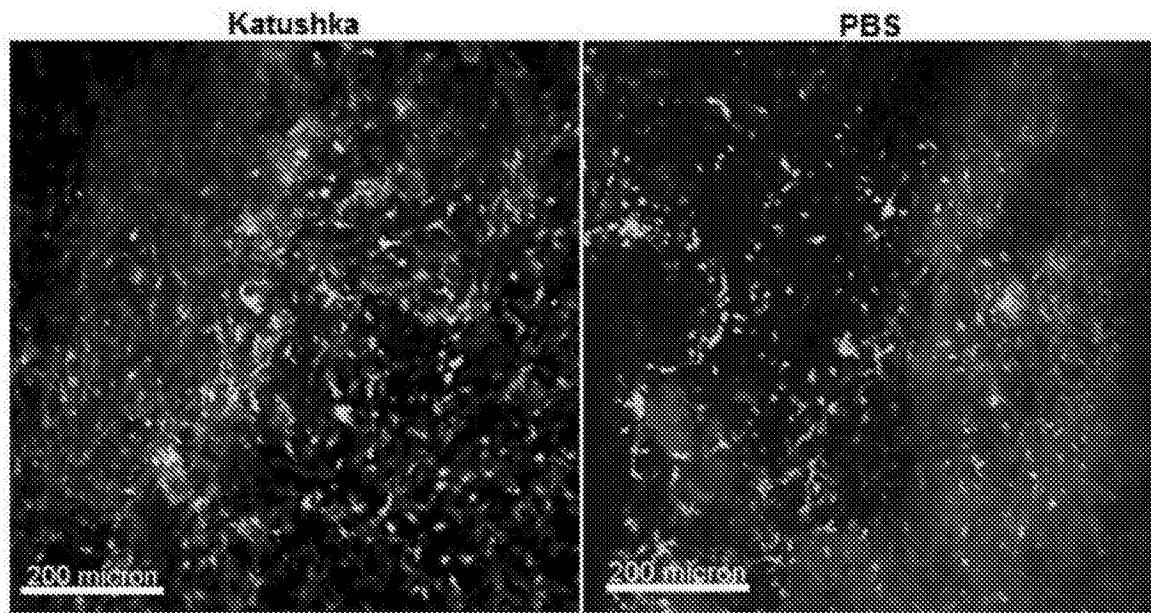


图 15

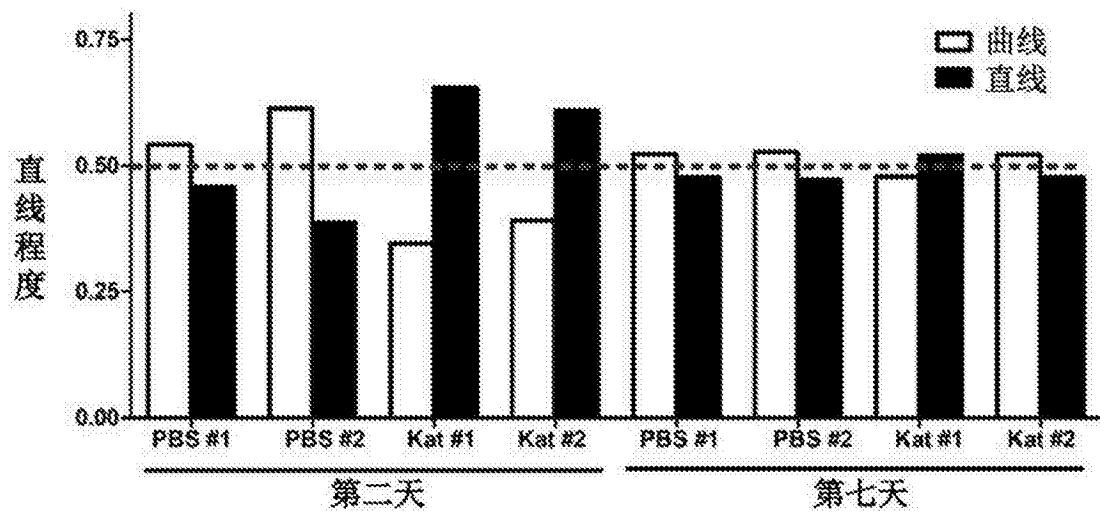


图 16

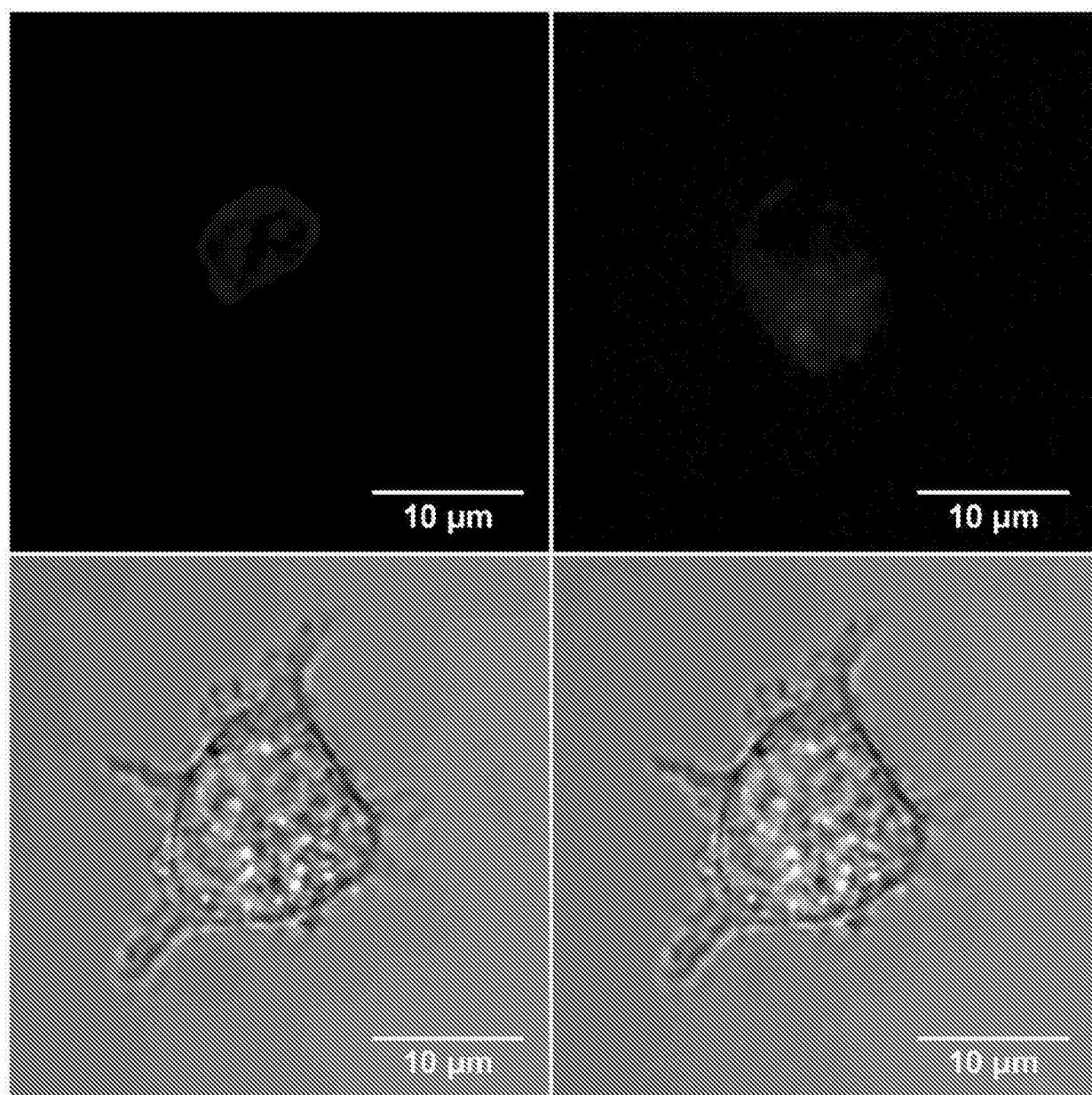


图 17

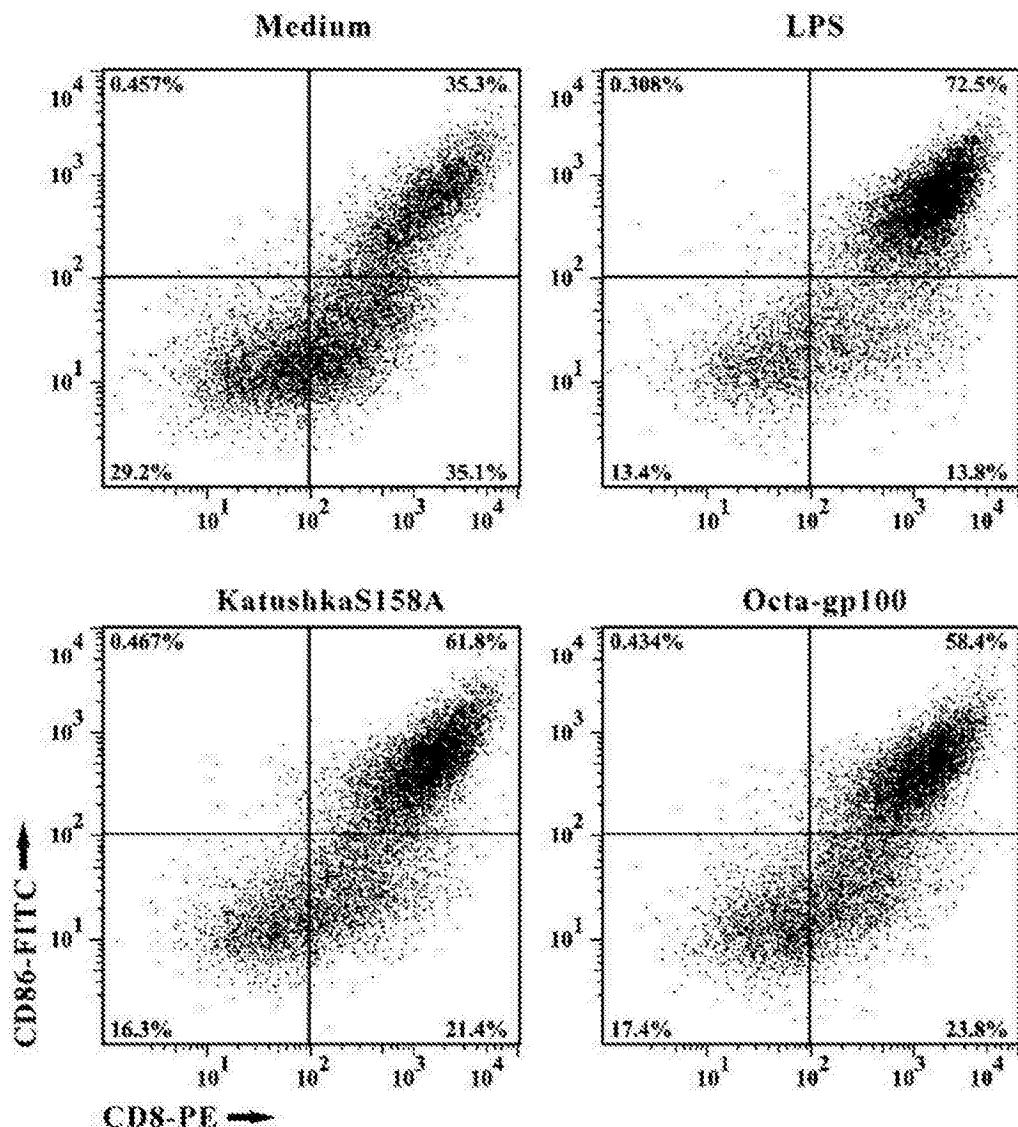
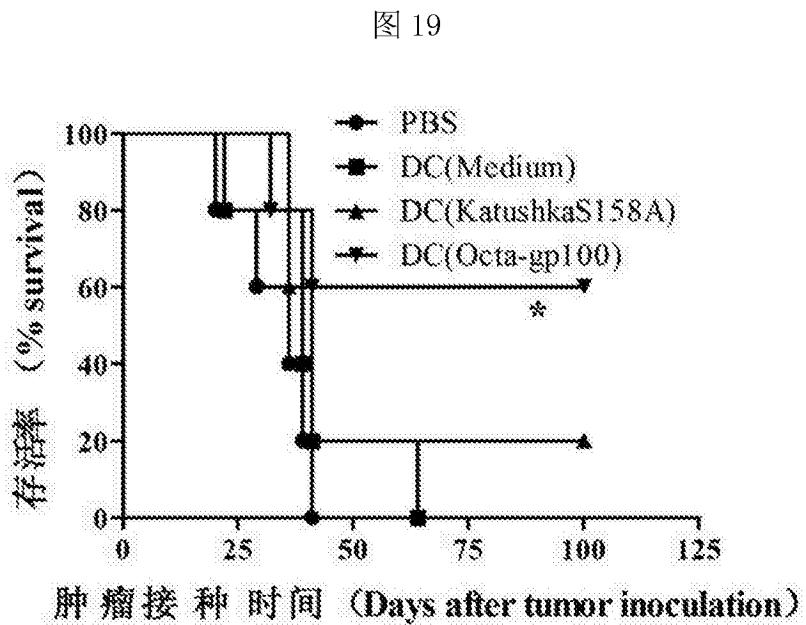
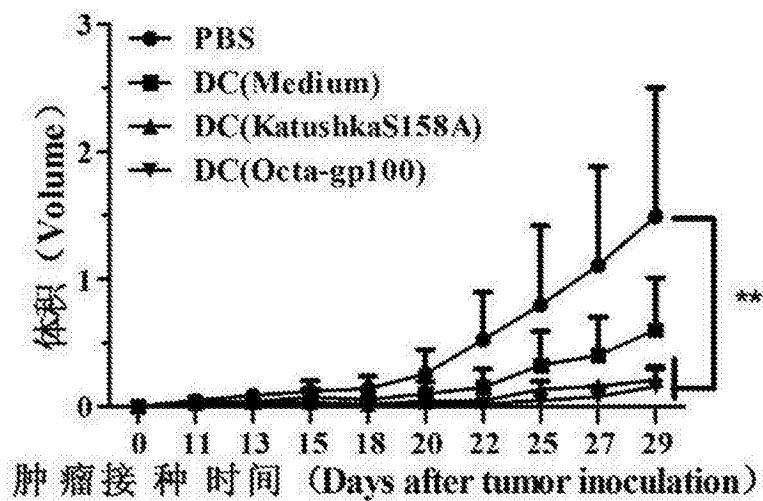


图 18



专利名称(译)	KatushkaS158A荧光蛋白的应用		
公开(公告)号	CN104237502B	公开(公告)日	2016-05-04
申请号	CN201310641505.1	申请日	2013-12-03
[标]申请(专利权)人(译)	华中科技大学		
申请(专利权)人(译)	华中科技大学		
当前申请(专利权)人(译)	华中科技大学		
[标]发明人	骆清铭 张智红 刘顺		
发明人	骆清铭 张智红 刘顺		
IPC分类号	G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533		
代理人(译)	刘杰		
审查员(译)	李倩		
其他公开文献	CN104237502A		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明公开了一种KatushkaS158A荧光蛋白的新应用，属于免疫学和光学成像领域。所述KatushkaS158A荧光蛋白既可以作为模型抗原用于免疫学的活体光学成像，又可以用于荧光标记成像，有望替代传统OVA等模型抗原，更直接且无干扰地用于免疫光学成像研究。

