



## (12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 104155440 B

(45) 授权公告日 2016.02.10

(21) 申请号 201410336883.3

(22) 申请日 2014.07.16

(73) 专利权人 广东药学院

地址 510006 广东省广州市番禺区大学城外  
环东路 280 号

(72) 发明人 王丽京 胡曦文 李江超 杨雪松  
章倩倩

(74) 专利代理机构 广州粤高专利商标代理有限  
公司 44102

代理人 陈卫

(51) Int. Cl.

G01N 33/532(2006.01)

C12Q 1/68(2006.01)

(56) 对比文件

WO 98/23760 A1, 1998.06.04, 全文.

CN 1220701 A, 1999.06.23, 全文.

Kent, Lindsey N. Phosphatidylinositol-3  
kinase/AKT and Fos like protein 1

regulation of trophoblast differentiation.  
《University of Kansas Ph.D.  
Dissertation》.2010,

Kent et al. Phosphatidylinositol 3  
kinase modulation of trophoblast cell  
differentiation. 《BMC Developmental  
Biology》.2010, 第 10 卷 (第 97 期),

审查员 王在竹

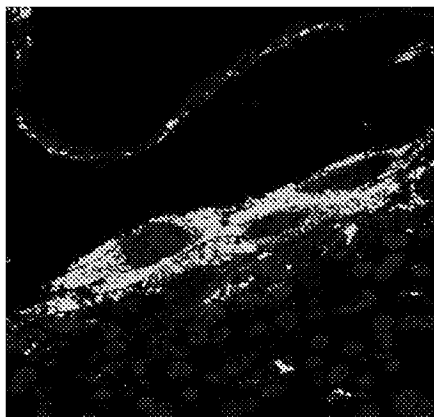
权利要求书1页 说明书6页  
序列表2页 附图3页

(54) 发明名称

p110 $\delta$  及其抗体在特异性标记滋养层巨细胞  
(pTGC) 中的应用

(57) 摘要

本发明公开了 p110 $\delta$  及其抗体在特异性标  
记早期滋养层巨细胞 (Parietal TGC, pTGC) 中的  
应用。所述 p110 $\delta$  为 p110 $\delta$  的片段, 该片段的氨  
基酸序列如 SEQ ID NO. 1 所示。根据本发明的记  
载, 以 p110 $\delta$  抗体作为检测媒介, 通过常规的免  
疫组化、免疫荧光或 PCR 等技术方法, 可以特异性  
地标识 pTGC, 且该标记更加简便、检测时间大大  
缩短、易于识别, 成功率更高, 使用者接受度更好,  
更加便于应用于临床。另外, 相比于原位杂交的核  
酸水平, 本发明的观测指标在于蛋白水平, 更能直  
接反应机体效应情况, 应用范围更广。



1. p110  $\delta$  在蛋白水平上特异性标记滋养层巨细胞中的应用,其特征在于,所述滋养层巨细胞是早期的滋养层巨细胞。

2. 根据权利要求 1 所述应用,其特征在于,所述应用是指 p110  $\delta$  在制备滋养层巨细胞的特异性生物标记物中的应用。

3. 根据权利要求 1 所述应用,其特征在于,所述 p110  $\delta$  为 p110  $\delta$  的片段,该片段的氨基酸序列如 SEQ ID NO. 1 所示。

4. p110  $\delta$  抗体作为滋养层巨细胞在蛋白水平上的特异性标记试剂的应用,其特征在于,所述 p110  $\delta$  抗体是以 p110  $\delta$  为抗原获得的抗体,所述滋养层巨细胞是早期的滋养层巨细胞。

5. 根据权利要求 4 所述应用,其特征在于,所述 p110  $\delta$  抗体是以 SEQ ID NO. 1 所示的 p110  $\delta$  片段为抗原获得。

6. 根据权利要求 4 所述应用,其特征在于,所述应用的方法为:以 p110  $\delta$  抗体作为检测标记试剂,利用免疫组化或免疫荧光的方法,对滋养层巨细胞进行特异性标记。

## p110 $\delta$ 及其抗体在特异性标记滋养层巨细胞(pTGC) 中的应用

### 技术领域

[0001] 本发明属于细胞检测标记技术领域。更具体地,涉及 p110  $\delta$  及其抗体在特异性标记滋养层巨细胞(pTGC) 中的应用。

### 背景技术

[0002] 胎盘是哺乳动物妊娠期间由胚胎的胚膜和母体子宫内膜联合长成的母子间交换物质的过渡性器官。对于在子宫中发育的胎儿来说,胎盘具有供给、代谢、排泄、分泌和免疫等功能,胎盘异常则会引起胎儿缺氧、窘迫、营养不良、发育迟缓、智力受损、甚至胎死腹中等现象。

[0003] 滋养层细胞中的滋养层巨细胞(Parietal TGC, pTGC) 为一类线性排列在植入位点及顶叶卵黄囊外侧的多核巨型细胞,根据其分化形成的不同,分为初级与次级(1° 与 2° ),pTGC 在胎盘形成与功能维持中的变化与胎盘异常的发生有密切联系。pTGC 的侵入是胎盘形成中一个非常关键的过程,且受着严格的时空调控(Cross et al., 1994)。在人类,滋养层侵入不足或过度侵入都会引起妊娠的异常,导致病理性妊娠,比如先兆子痫或绒毛膜癌(Karmakar et al., 2004)。因此, pTGC 的监测和标记对于胚胎以及妊娠过程的监测具有重要的意义。

[0004] 目前, pTGC 的标记方法的研究主要集中在原位杂交(in situ hybridization, ISH)检测法,相关特异性指标有 P11、P12 与 Plf(Simmons DG et al., Dev Biol, 2007)。ISH 是利用核酸分子单链之间有互补的碱基序列,将有放射性或非放射性的外源核酸(即探针)与组织、细胞或染色体上待测 DNA 或 RNA 互补配对,结合成专一的核酸杂交分子,经一定的检测手段将待测核酸在组织、细胞或染色体上的位置显示出来。ISH 是一项可以特异的检测目的基因表达的实验技术,但是要想检测到特定的基因表达,必须具备以下条件:(1) 必须专门设计的已知核酸序列的核酸片段-探针;(2) 简单而又可靠的探针标记方法;(3) 敏感性高且特异性强的检测方法。不仅如此,无论自探针设计、制备还是后期实验中,ISH 都体现诸多不便,操作步骤繁多,耗时长达三天,虽有试剂盒的出产以提高实验成功率和便利度,但相比免疫组化(IHC) 等实体结构定位标记方法,ISH 的“亲民度”仍不高。但是,免疫组化方法需要合适的标记抗体,才能保证标记的特异性和标记效果,因此标记靶标及其抗体的选择对免疫组化结果是至关重要的。

### 发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是克服现有滋养层巨细胞(pTGC) 的标记技术缺陷和不足,提供一种准确性好、特异性强、适用性广的 pTGC 早期标记物 p110delta (p110  $\delta$ )。

[0006] 本发明的目的是提供 p110  $\delta$  及其抗体在特异性标记滋养层巨细胞(pTGC) 中的应用。

[0007] 本发明上述目的通过以下技术方案实现:

- [0008] 本发明提供了 p110  $\delta$  在特异性标记早期滋养层巨细胞中的应用。
- [0009] 所述应用是指 p110  $\delta$  在制备滋养层巨细胞的特异性标记物中的应用。
- [0010] 所述 p110  $\delta$  为 p110  $\delta$  的片段,氨基酸序列如 SEQ ID NO. 1 所示。
- [0011] 本发明还提供了 p110  $\delta$  抗体作为滋养层巨细胞的特异性标记物的应用,所述 p110  $\delta$  抗体是以 SEQ ID NO. 1 所示序列为抗原获得的抗体。
- [0012] 优选地,所述 p110  $\delta$  抗体是以 SEQ ID NO. 1 所示的 p110  $\delta$  片段为抗原获得。
- [0013] 所述应用的方法为:以 p110  $\delta$  抗体作为检测标记物,利用免疫组化、免疫荧光或 PCR 的方法,对滋养层巨细胞进行特异性标记。
- [0014] 优选地,上述滋养层巨细胞是早期的滋养层巨细胞。
- [0015] SEQ ID NO. 1 所示序列即人源 N 端氨基酸 363~582,具体如下:
- [0016] ValSerValCysSerGluProValTrpLysGlnArgLeuGluPheAspIleAsnIleCysAspLeuProArgMetAlaArgLeuCysPheAlaLeuTyrAlaValIleGluLysAlaLysLysAlaArgSerThrLysLysLysSerLysLysAlaAspCysProIleAlaTrpAlaAsnLeuMetLeuPheAspTyrLysAspGlnLeuLysThrGlyGluArgCysLeuTyrMetTrpProSerValProAspGluLysGlyGluLeuLeuAsnProThrGlyThrValArgSerAsnProAsnThrAspSerAlaAlaAlaLeuLeuIleCysLeuProGluValAlaProHisProValTyrTyrProAlaLeuGluLysIleLeuGluLeuGlyArgHisSerGluCysValHisValThrGluGluGluGlnLeuGlnLeuArgGluIleLeuGluArgArgGlySerGlyGluLeuTyrGluHisGluLysAspLeuValTrpLysLeuArgHisGluValGlnGluHisPheProGluAlaLeuAlaArgLeuLeuLeuValThrLysTrpAsnLysHisGluAspValAlaGlnMetLeuTyrLeuLeuCysSerTrpProGluLeuProValLeuSerAlaLeuGluLeu。
- [0017] p110delta (p110  $\delta$ ) 是磷酸肌醇-3 激酶 (PI3K) 的一种,即为 p110  $\delta$  型磷酸肌醇-3 激酶。研究表明,p110  $\delta$  同工型牵涉在与免疫-炎症性疾病相关的生物学功能中,包括来自 B- 细胞受体、T 细胞受体的信号传导,肥大细胞和单核细胞/巨噬细胞的 FcR 信号传导和破骨细胞功能/RANKL 信号传导。p110  $\delta$  基因缺失或选择性引入 p110  $\delta$  的催化失活突变体导致 B 细胞增殖和信号传导的几乎完全缺失,还导致通过 T 细胞进行的信号传导受损。
- [0018] 本发明研究团队长期致力于胎盘相关研究工作,在对 pTGC 的研究工作中,为了克服现有 pTGC 的标记技术存在的操作复杂,耗时等问题,通过大量的研究和探索,发现 p110  $\delta$  特异性在 pTGC 中表达,可能与流产问题相关,进一步机制研究正在进行中。但是我们已非常明确的是,将 p110  $\delta$  抗体作为 pTGC 的特异性标记物,即以 p110  $\delta$  作为检测媒介,通过免疫组化、免疫荧光或 PCR 等技术方法,可以特异性地标识 pTGCs,以此可以辅助与胚胎发育相关的指标检测。并且该标记更加简便、易于识别,应用范围更广。另外,相比于原位杂交的核酸水平,本发明的观测指标在于蛋白水平,更能直接反应机体效应情况。
- [0019] 本发明对所涉及的实验检测方法并不做严格限制,我们强调的是通过 p110 delta (p110  $\delta$ ) 作为检测标记物,可以特异性标识 pTGC。检测方法可以是常用的免疫组化 (IHC)、免疫荧光 (IF)、聚合酶链反应 (PCR)、原位杂交 (ISH) 等等,其反应条件参数等参考任何一个可用的实验指导说明,均可获得相应的反应效果。
- [0020] 本发明具有以下有益效果:
- [0021] 本发明提供了 p110  $\delta$  及其抗体在特异性标记滋养层巨细胞 (pTGC) 中的应用,克服了现有 pTGC 的标记技术存在的操作复杂,耗时等问题,将 p110  $\delta$  抗体作为 pTGC 的特异

性标记物,即以 p110  $\delta$  作为检测媒介,通过免疫组化、免疫荧光或 PCR 等技术方法,可以特异性地标识 pTGCs,即可在胚胎中清晰辨别出 pTGCs,以此可以辅助与胚胎发育相关的指标检测。

[0022] 本发明以 p110  $\delta$  作为 pTGC 的特异性标记物,对所涉及的实验检测方法并不做严格限制;如免疫组化(IHC)、免疫荧光方法(IF)等均是更商业化的检测方法和试剂,实验技术应用广泛,且操作更易上手,实验时间可缩短为一天(原有的 ISH 检测三天一周),标记结果更易于识别,应用范围更广,这些方法均是广大实验室和临床监测中的常用特异性实体结构定位标记方法。拓展了对 pTGC 进行定位检测的技术手段,使得实验的完成比以往更便利,成功率更高,使用者接受度更好,更加便于应用于临床(目前 IHC 为临床诊断检测中一个核心检测技术)。

[0023] 除了监测手段上的优化之外,在特异性的标记物方面,我们的新发现 p110  $\delta$  作为一个经典的 PI3K 信号通路中的重要成员,以其作为特异性蛋白标记物,借助常用的 IHC 或 IF 等方法,即可特异识别出 p-TGCs,方便且实用,p110  $\delta$  可以是已商业化的抗体,应用更简便。另外,相比于原位杂交的核酸水平,本发明的观测指标在于蛋白水平,更能直接反应机体效应情况。

#### 附图说明

[0024] 图 1 为小鼠妊娠第 8.5 天时胚胎 HE 染色结果。

[0025] 图 2 为小鼠妊娠第 8.5 天胚胎 pTGCs 经 p110  $\delta$  IHC 检测显示细胞浆的特异性强阳性表达结果。

[0026] 图 3 为小鼠妊娠第 8.5 天胚胎 pTGCs 经 CK7 IHC 检测显示细胞浆的特异性强阳性表达结果。

[0027] 图 4 为小鼠妊娠第 10.5 天胚胎 pTGCs 经 p110  $\delta$  IHC 检测显示细胞浆的特异性弱阳性表达结果。

[0028] 图 5 为小鼠妊娠第 13.5 天胚胎 pTGCs 经 p110  $\delta$  IHC 检测显示细胞浆的无表达结果。

[0029] 图 6 为小鼠妊娠第 8.5 天胚胎 pTGCs 经 p110  $\delta$  IF 检测显示细胞浆的特异性表达结果(未共标 CK7)。

[0030] 图 7 为小鼠妊娠第 8.5 天胚胎 pTGCs 经 p110  $\delta$  IF 检测显示细胞浆的特异性表达结果(共标 CK7)。

#### 具体实施方式

[0031] 以下结合说明书附图和具体实施例来进一步说明本发明,但实施例并不对本发明做任何形式的限定。除非特别说明,本发明采用的试剂、方法和设备为本技术领域常规试剂、方法和设备。

[0032] 除非特别说明,本发明所用试剂和材料均为市购。

[0033] p110  $\delta$  (p110  $\delta$ ) 抗体购买于 Santa Cruz 公司(sc-55589)。按照抗体说明书的使用范围均可使用。本发明中应用的抗体体积稀释配比为 1:150,稀释液体为 1% (w/v) BSA 液体或 pH7.2~7.6 的 PBS。

[0034] 本发明研究发现 p110  $\delta$  特异性在滋养层巨细胞(pTGC)中表达,尤其是在早期的 pTGC,即自胚胎植入完成至胎盘形成期间(本发明中的检测时间点为第 7.5~8.5 天)的 pTGC 特异性地阳性表达,如附图 2~5 所示,胚胎发育早期 pTGC 为强阳性表达,随着胎盘发育, pTGC 迁移后,其 p110  $\delta$  阳性减弱。因此, p110  $\delta$  可以作为早期 pTGC 的特异性标记物。以下实施例利用常用的免疫组化和免疫荧光技术为例,以 p110  $\delta$  为检测媒介,来特异性标记早期 pTGC。

[0035] 实施例 1 免疫组化(IHC)检测 pTGC

[0036] 1、p110  $\delta$  抗体的制备

[0037] 以人源 p110  $\delta$  的部分片段,即 SEQ ID NO.1 所示氨基酸序列作为信息依据制备 p110  $\delta$  抗体。

[0038] 所述 p110  $\delta$  抗体购买于圣克鲁斯生物技术公司(Santa Cruz Biotechnology),商品名 PI3-kinase p110  $\delta$  抗体(A-8)(sc-55589),为单克隆小鼠来源抗体,可针对小鼠及人源性标本进行实验检测。

[0039] 2、获取小鼠胚胎/胎盘

[0040] 分别选取妊娠第 7.5~8.5 天、第 10.5~12.5 天和第 13.5~15.5 天的小鼠(C57BL/6J 小鼠,购于广东省医学实验动物中心,生产许可证号:SCXK(粤)2008-0002),按照以下方法获取小鼠胚胎/胎盘:

[0041] S1. 将小鼠颈部脱臼处死;

[0042] S2. 将小鼠仰卧,腹中间开口暴露腹腔,将肠道组织翻向外侧,暴露妊娠中子宫,用镊子夹住阴道部,子宫两侧将妊娠子宫分离出来,放入盛有磷酸盐缓冲液(PBS)的小皿中;

[0043] S3. 沿子宫系膜一侧,用精细的镊子与剪刀配合,将子宫剖开,分离出胚胎/胎盘,并将其放入专用小盒编号,后固定、脱水、包埋。

[0044] 3、将上述获得的胚胎/胎盘进行切片、染色,利用 IHC 的方法,以 p110  $\delta$  抗体(一抗)进行检测。以 CK7(细胞角蛋白 7)作为阳性对照,CK7 是滋养层细胞公认的标示物。

[0045] IHC 操作流程如下:

[0046] (1)脱蜡:按照如下顺序进行处理:二甲苯 I, II 各处理 20min,无水乙醇处理 15min,再换新的无水乙醇处理 10min,95%酒精处理 10min,90%酒精处理 10min,80%酒精处理 10min,70%酒精处理 10min,流水冲洗 3min。

[0047] (2)蒸馏水泡 2min。

[0048] (3)柠檬酸盐(PH=6.0)修复 3~3min30s(先将柠檬酸盐置于高压锅中煮沸,然后放入切片,待充气后 3~3min30s)。

[0049] (4)少量流水冲洗高压锅冷至室温(约 20~25min)。

[0050] (5)蒸馏水泡 2min。

[0051] (6)3%的  $H_2O_2$  常温 30min。

[0052] (7)蒸馏水泡洗 2min, PBS (pH=7.2~7.4) 10min, 重复 3 次。

[0053] (8)10%胎牛血清(PBS 稀释)室温封闭 1 小时。

[0054] (9)加入一抗,4℃过夜。

[0055] (10)蒸馏水泡洗 2min, 后 PBS (PH=7.2~7.6) 10min, 重复 3 次。

[0056] (11)加二抗(羊抗小鼠 IgG, 购于博士德公司, 1:150 稀释后使用)室温放置 1~2h。

[0057] (12) PBS 洗 3min, 重复 5 次。

[0058] (13) DAB 显色(使用 Thermo SCIENTIFIC 公司的 DAB 浓缩液 (10X), 配合 Thermo SCIENTIFIC 公司 DAB 稀释液, 进行 1:9 稀释后, 按照使用说明书进行)。

[0059] (14) 自来水涮洗 5~10 下。

[0060] (15) 苏木素复染 30 s。

[0061] (16) 自来水洗一下, 1% 盐酸分化 1~2s, 自来水再洗 2h

[0062] (17) 80% 酒精处理 2min, 95% 酒精处理 2min, 无水乙醇处理 2min (两次), 二甲苯处理 2min (两次)。

[0063] (18) 风干, 封片剂封片。所述封片剂为中性树胶, 购于国药集团化学试剂有限公司。

#### [0064] 4、检测结果

[0065] 结果分别如附图 1~5 所示, 附图 1 所示为小鼠妊娠第 8.5 天时胚胎 HE 染色结果。图 2 为小鼠妊娠第 8.5 天时胚胎 pTGCs 经 p110  $\delta$  IHC 检测显示细胞浆的特异性强阳性表达结果。图 3 为小鼠妊娠第 8.5 天时胚胎 pTGCs 经 CK7 IHC 检测显示细胞浆的特异性强阳性表达结果。图 4 为小鼠妊娠第 10.5 天时胚胎 pTGCs 经 p110  $\delta$  IHC 检测显示细胞浆的特异性弱阳性表达结果。图 5 为小鼠妊娠第 13.5 天时胚胎 pTGCs 经 p110  $\delta$  IHC 检测显示细胞浆的无表达结果。

[0066] 结果显示, 可在早期发育胚胎中(从小鼠胚胎植入开始, 至胎盘形成前) 清晰辨别出 pTGCs。另外本发明中分别检测了胚胎蜕膜发育前期(第 7.5~8.5 天)、胎盘初步形成期(第 10.5~12.5 天) 和胎盘期(本专利检测点为胚胎发育第 13.5~15.5 天的胎盘) 的小鼠 pTGCs 中 p110  $\delta$  的特异性表达, 结果显示, 仅在胎盘形成前的标本中(本发明中显示为第 7.5~8.5 天) 的 pTGC 特异性地阳性表达 p110  $\delta$ 。

[0067] 综上所述, 胚胎发育早期 pTGC 为强阳性表达, 随着胎盘发育, pTGC 迁移后, 其 p110  $\delta$  阳性减弱。

#### [0068] 实施例 2 免疫荧光技术(IF) 检测 pTGC

[0069] 1、p110  $\delta$  抗体的制备以及小鼠胚胎 / 胎盘的获取同实施例 1。

[0070] 2、将上述获得的胚胎进行切片、染色, 利用 IF 的方法, 以 p110  $\delta$  抗体(一抗) 进行检测。以 CK7 (细胞角蛋白 7) 作为阳性对照, CK7 是滋养层细胞公认的标示物。

[0071] IF 的操作流程如下:

[0072] (1) 石蜡切片正常脱蜡至水, PBS 洗 5 分钟, 3 次。

[0073] (2) 抗原修复: 0.01M 枸橼酸盐缓冲液 pH=6.0 (修复液), 沸水浴热修复 15 分钟。

[0074] (3) 10% 胎牛血清 (PBS 稀释) 室温封闭 1 小时

[0075] (4) 一抗孵育, 4℃过夜(抗体 1:200 倍稀释)。

[0076] (5) PBS 洗 5 分钟, 3 次。

[0077] (6) 二抗孵育 (AlexaFluor 488 标记的羊抗小鼠 IgG, 1:200 倍稀释), 37℃, 60 分钟。

[0078] (7) PBS 洗 5 分钟, 3 次。

[0079] (8) DAPI 复染 5~10 分钟, PBS 洗 5 分钟, 3 次。

[0080] (9) 防猝灭荧光封片剂封片。

[0081] (10) 镜检。

[0082] 其中,所述的 0.01M 枸橼酸盐缓冲液(Citrate buffer)的配制方法如下:

[0083] 储存液:A. 0.1M 枸橼酸溶液:称取 21.01g 枸橼酸( $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ )溶于 1000mL 蒸馏水中。

[0084] B. 0.1M 枸橼酸钠溶液:称取 29.41g 枸橼酸三钠( $C_6H_5Na_3O_7 \cdot 2H_2O$ )溶于 1000mL 蒸馏水中。

[0085] 工作液:取 9mL A 液和 41mL B 液加入 450mL 蒸馏水中,溶液 pH 值应为 5.9~6.1。

[0086] 所述防猝灭荧光封片剂为购于北京中杉金桥生物技术有限公司的 Mounting Medium。

[0087] 3、检测结果

[0088] 结果如附图 6 和附图 7 所示,可在胚胎中清晰辨别出 pTGCs,妊娠第 7.5~8.5 天的小鼠胚胎 pTGCs 可被 p110 $\delta$  特异标识。胚胎发育早期时 pTGC 为 p110 $\delta$  强阳性表达。

[0089] 经过以上两个实施例的验证,我们可以知道,p110 $\delta$  确实特异性地在早期 pTGC 中表达,可以作为早期 pTGC 的特异性标记物。但是本发明对所涉及的实验检测方法并不做严格限制,不仅仅限制于上述 IHC 或 IF。

## SEQUENCE LISTING

&lt;110&gt; 广东药学院

<120> p110  $\delta$  及其抗体在特异性标记滋养层巨细胞(pTGC)中的应用

&lt;130&gt;

&lt;160&gt; 1

&lt;170&gt; PatentIn version 3.3

&lt;210&gt; 1

&lt;211&gt; 220

&lt;212&gt; PRT

<213> p110  $\delta$  片段

&lt;400&gt; 1

Val Ser Val Cys Ser Glu Pro Val Trp Lys Gln Arg Leu Glu Phe Asp

1 5 10 15

Ile Asn Ile Cys Asp Leu Pro Arg Met Ala Arg Leu Cys Phe Ala Leu

20 25 30

Tyr Ala Val Ile Glu Lys Ala Lys Lys Ala Arg Ser Thr Lys Lys Lys

35 40 45

Ser Lys Lys Ala Asp Cys Pro Ile Ala Trp Ala Asn Leu Met Leu Phe

50 55 60

Asp Tyr Lys Asp Gln Leu Lys Thr Gly Glu Arg Cys Leu Tyr Met Trp

65 70 75 80

Pro Ser Val Pro Asp Glu Lys Gly Glu Leu Leu Asn Pro Thr Gly Thr

85 90 95

Val Arg Ser Asn Pro Asn Thr Asp Ser Ala Ala Ala Leu Leu Ile Cys

100 105 110

Leu Pro Glu Val Ala Pro His Pro Val Tyr Tyr Pro Ala Leu Glu Lys

115 120 125

Ile Leu Glu Leu Gly Arg His Ser Glu Cys Val His Val Thr Glu Glu

130 135 140

Glu Gln Leu Gln Leu Arg Glu Ile Leu Glu Arg Arg Gly Ser Gly Glu

145 150 155 160

Leu Tyr Glu His Glu Lys Asp Leu Val Trp Lys Leu Arg His Glu Val

165 170 175

Gln Glu His Phe Pro Glu Ala Leu Ala Arg Leu Leu Leu Val Thr Lys

180 185 190

Trp Asn Lys His Glu Asp Val Ala Gln Met Leu Tyr Leu Leu Cys Ser

195 200 205

Trp Pro Glu Leu Pro Val Leu Ser Ala Leu Glu Leu

---

|     |     |     |
|-----|-----|-----|
| 210 | 215 | 220 |
|-----|-----|-----|

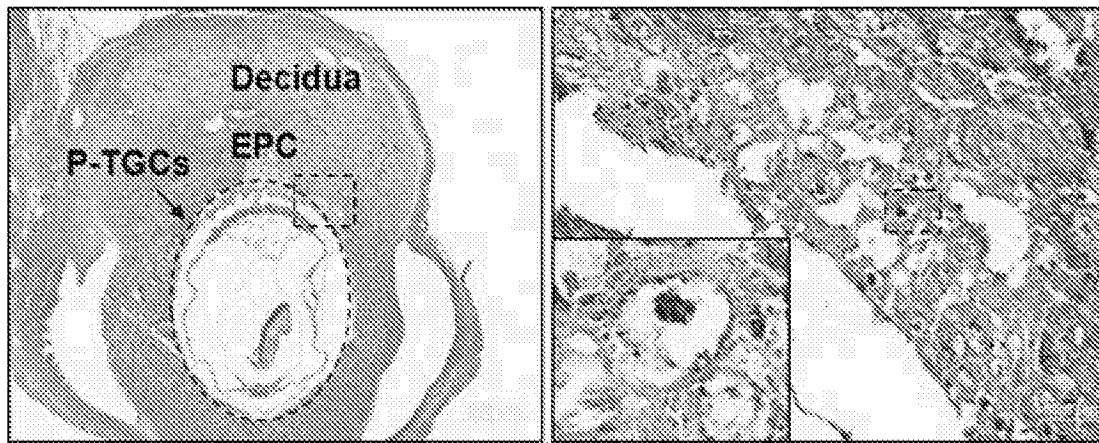


图 1

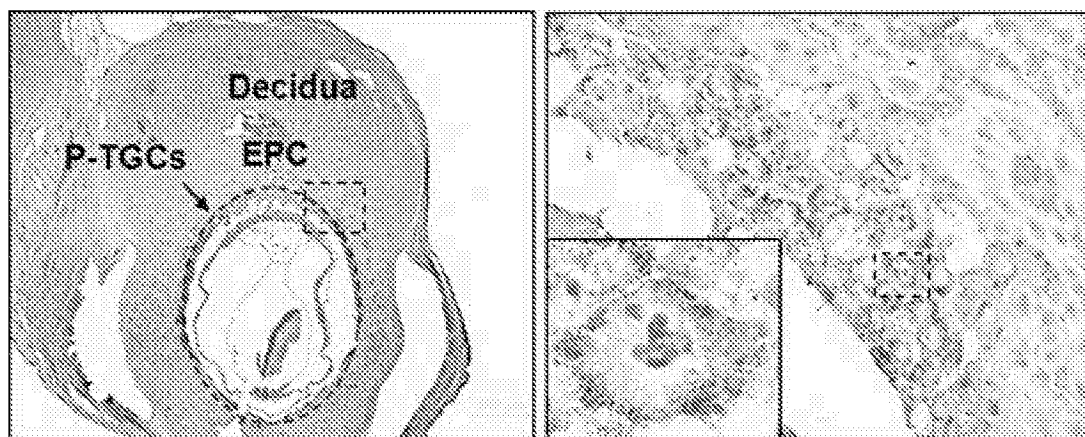


图 2

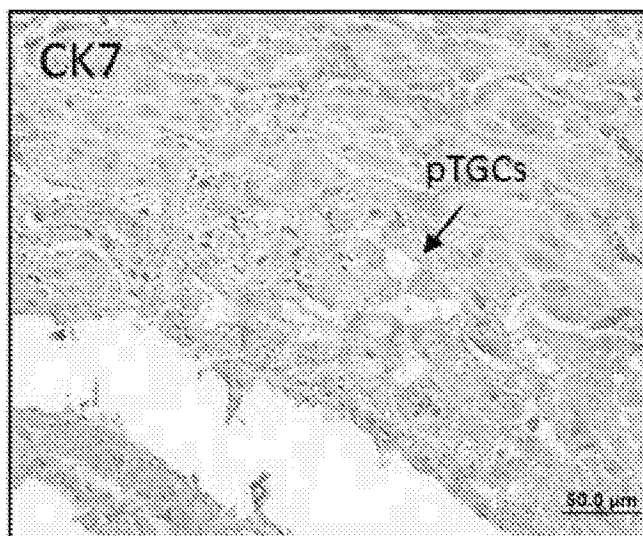


图 3

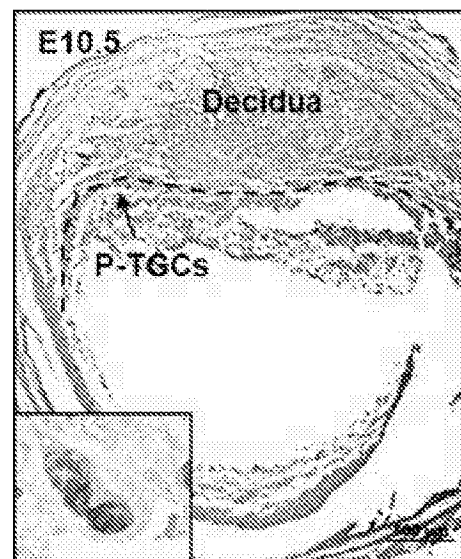


图 4

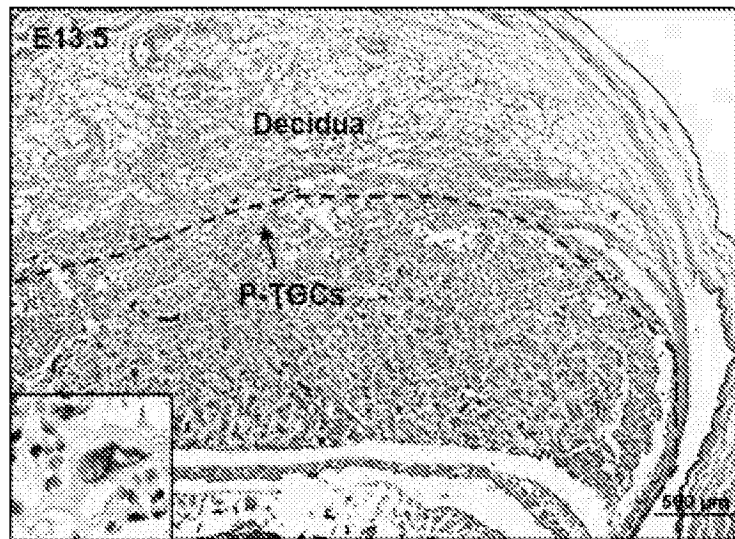


图 5

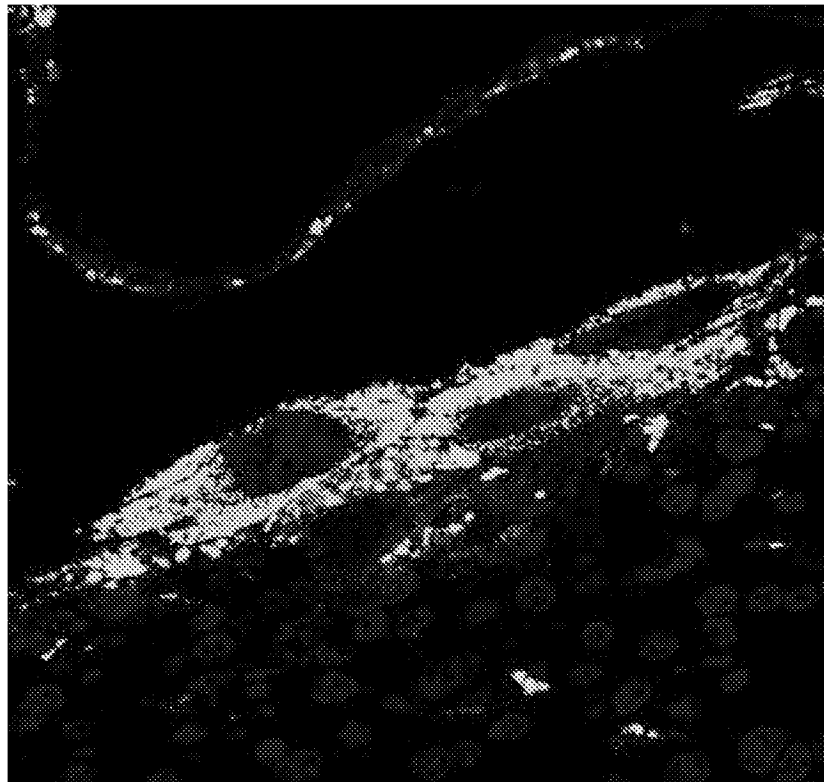


图 6

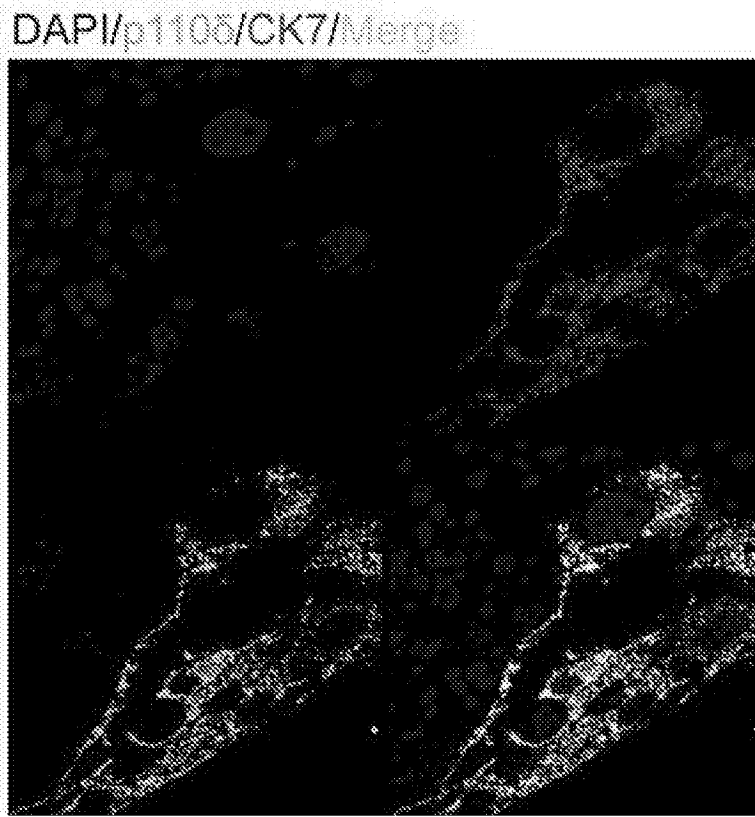


图 7

|                |                                                 |         |            |
|----------------|-------------------------------------------------|---------|------------|
| 专利名称(译)        | p110δ及其抗体在特异性标记滋养层巨细胞 ( pTGC ) 中的应用             |         |            |
| 公开(公告)号        | <a href="#">CN104155440B</a>                    | 公开(公告)日 | 2016-02-10 |
| 申请号            | CN201410336883.3                                | 申请日     | 2014-07-16 |
| [标]申请(专利权)人(译) | 广东药科大学                                          |         |            |
| 申请(专利权)人(译)    | 广东药学院                                           |         |            |
| 当前申请(专利权)人(译)  | 广东药学院                                           |         |            |
| [标]发明人         | 王丽京<br>胡曦文<br>李江超<br>杨雪松<br>章倩倩                 |         |            |
| 发明人            | 王丽京<br>胡曦文<br>李江超<br>杨雪松<br>章倩倩                 |         |            |
| IPC分类号         | G01N33/532 C12Q1/68                             |         |            |
| CPC分类号         | C12Q1/6888 C12Q2600/158 G01N33/532 G01N2800/368 |         |            |
| 代理人(译)         | 陈卫                                              |         |            |
| 其他公开文献         | CN104155440A                                    |         |            |
| 外部链接           | <a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>  |         |            |

#### 摘要(译)

本发明公开了p110δ及其抗体在特异性标记早期滋养层巨细胞 ( Parietal ? TGC , pTGC ) 中的应用。所述p110δ为p110δ的片段，该片段的氨基酸序列如SEQ ? ID ? NO.1所示。根据本发明的记载，以p110δ抗体作为检测媒介，通过常规的免疫组化、免疫荧光或PCR等技术方法，可以特异性地标识pTGC，且该标记更加简便、检测时间大大缩短、易于识别，成功率更高，使用者接受度更好，更加便于应用于临床。另外，相比于原位杂交的核酸水平，本发明的观测指标在于蛋白水平，更能直接反应机体效应情况，应用范围更广。

