

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200510026506.0

[51] Int. Cl.
G01N 33/574 (2006.01)
G01N 33/531 (2006.01)

[43] 公开日 2006 年 12 月 13 日

[11] 公开号 CN 1877333A

[22] 申请日 2005.6.6

[21] 申请号 200510026506.0

[71] 申请人 上海富纯中南生物技术有限公司

地址 201203 上海市浦东新区哈雷路 1011 号
501 室

[72] 发明人 倪 健 彭 艳 杨子义 罗 鹏

[74] 专利代理机构 深圳中一专利商标事务所
代理人 张全文

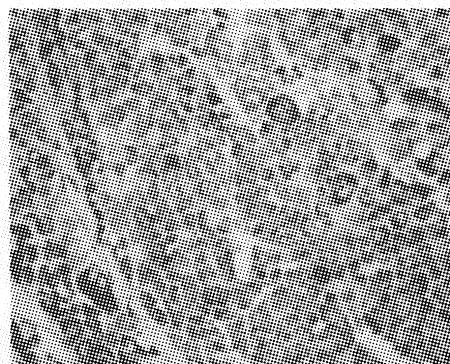
权利要求书 2 页 说明书 6 页 附图 4 页

[54] 发明名称

一种用 ATP 合成酶鉴定肿瘤前期和肿瘤状态的方法

[57] 摘要

本发明涉及一种鉴定肿瘤前期及/或肿瘤细胞的方法，该方法包括有下列步骤：a. 用抗原免疫动物，获得目标抗体；b. 使用哺乳动物细胞、组织，制作细胞芯片和组织芯片；c. 利用免疫组化方法，使用步骤 a 制备的抗体检测 ATP 合成酶在组织和细胞中的表达情况；以及，d. 确定哺乳动物细胞及/或组织的 ATP 合成酶表达图，并通过判断标准对结果进行定性。该方法诊断精度高，可以将假阴性率降到非常低的水平，诊断判断可靠性高并且简单，不需要相当的经验，并可以对异质性的癌组织进行随机和可控制的检验，从而提高切片检查结果的可信度。



1. 一种鉴定哺乳动物肿瘤前期和肿瘤状态的方法，其特征是包括有下列步骤：
 - a. 用抗原免疫动物，获得目标抗体；
 - b. 使用哺乳动物细胞、组织，制作细胞芯片和组织切片；
 - c. 利用免疫组化方法，使用步骤 a 制备的抗体检测 ATP 合成酶在组织和细胞中的表达情况；以及，
 - d. 确定哺乳动物细胞及/或组织的 ATP 合成酶表达图，并通过判断标准对结果进行定性。
2. 根据权力要求 1 所述的方法，其特征在于所述哺乳动物是人类。
3. 根据权力要求 1 所述的方法，其特征在于步骤 a 中所述抗体是单克隆抗体。
4. 根据权力要求 1 所述的方法，其特征在于步骤 a 中所述抗体是多克隆抗体。
5. 根据权力要求 1 所述的方法，其特征在于步骤 b 中所述组织是石蜡包埋组织。
6. 根据权力要求 3 所述的方法，其特征在于步骤 b 中所述组织是石蜡包埋组织。
7. 根据权力要求 4 所述的方法，其特征在于步骤 b 中所述组织是石蜡包埋组织。
8. 根据权力要求 1 所述的方法，其特征在于步骤 b 中所述组织是冰冻组织。
9. 根据权力要求 2 所述的方法，其特征在于步骤 b 中所述组织是冰冻组织。
10. 根据权力要求 3 所述的方法，其特征在于步骤 b 中所述组织是冰冻组织。
11. 根据权力要求 4 所述的方法，其特征在于步骤 b 中所述组织是冰冻组织。
12. 根据权力要求 1 所述的方法，其特征在于步骤 b 中所述的组织和所述的细胞是上皮组织和上皮细胞。
13. 根据权力要求 2 所述的方法，其特征在于步骤 b 中所述的组织和所述的细胞是上皮组织和上皮细胞。
14. 根据权力要求 1 所述的方法，其特征在于所述步骤 b 中所述的组织和所述的细胞是内皮组织和内皮细胞。
15. 根据权力要求 2 所述的方法，其特征在于所述步骤 b 中所述的组织和所述的细胞是内皮组织和内皮细胞。
16. 根据权力要求 1 所述的方法，其特征在于所述步骤 b 中所述的组织和所述的细胞来自前列腺。
17. 根据权力要求 1 所述的方法，其特征在于所述步骤 b 中所述的组织和所述的细胞来自乳腺。
18. 根据权力要求 1 所述的方法，其特征在于所述步骤 b 中所述的组织和所述的细胞来自结肠。
19. 根据权力要求 1 所述的方法，其特征在于所述步骤 b 中所述的组织和所述的细胞来自肝脏。
20. 根据权力要求 2 所述的方法，其特征在于所述步骤 b 中所述的组织和所述的细胞来自前列腺。
21. 根据权力要求 2 所述的方法，其特征在于所述步骤 b 中所述的组织和所述的细胞来自乳腺。
22. 根据权力要求 2 所述的方法，其特征在于所述步骤 b 中所述的组织和所述的细胞来自结肠。

23. 根据权利要求 2 所述的方法, 其特征在于所述步骤 b 中所述的组织和所述的细胞来自肝脏。

24. 根据权利要求 1 所述的方法, 其特征在于所述步骤 d 中所述的 ATP 合成酶表达图是 ATP 合成酶 α 亚单位的表达图。

25. 根据权利要求 1 所述的方法, 其特征在于所述步骤 d 中所述的 ATP 合成酶表达图是 ATP 合成酶 β 亚单位的表达图。

26. 根据权利要求 2 所述的方法, 其特征在于所述步骤 d 中所述的 ATP 合成酶表达图是 ATP 合成酶 α 亚单位的表达图。

27. 根据权利要求 2 所述的方法, 其特征在于所述步骤 d 中所述的 ATP 合成酶表达图是 ATP 合成酶 β 亚单位的表达图。

一种用ATP合成酶鉴定肿瘤前期和肿瘤状态的方法

技术领域

本发明属于生物医学领域，有关于鉴定哺乳动物肿瘤前期和肿瘤状态的方法，尤其有关于一种根据ATP合成酶的差异性表达鉴定细胞和组织肿瘤形成前期和肿瘤形成的方法。

背景技术

在进行肿瘤诊断时，常用的组织学染色剂是H&E（苏木精和伊红）染色，它们可差异性标记亚细胞成分。其它诊断方法还有采用针对细胞/组织中（通过细胞内表位）或细胞/组织表面（通过细胞外表位）的特定诊断性分子的抗体，再通过显色反应使这些分子在显微镜下可见，以达到鉴别诊断的目的。

三磷酸腺苷合成酶，即ATP合成酶（Adenosine Triphosphate Synthase）主要是 F_1F_0 型ATP合成酶，由 F_1 和 F_0 两个主要部分组成， F_1 在膜的外侧，由5个不同的亚基组成，用化学计量法表示为 $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ ，包含3个结合位点，在每一个 β 亚基上。 F_0 形成一个跨膜蛋白，由3个不同的亚基组成，化学计量法表示为 $a_1b_2c_{10-12}$ 。这个大分子蛋白复合体利用电子梯度和相关的膜电势来合成ATP，也可以逆过程水解ATP来产生一个电子梯度（参见Pederson, P. L., and L. M. Amzel. 1993. 《ATP synthases, Structure, reaction center, mechanism, and regulation of one of nature's most unique machines》，《J. Biol. Chem.》，268:9937.）。ATP合成酶主要存在于细菌的细胞膜、植物的叶绿体类囊膜和植物或动物的线粒体内膜上，在氧化磷酸化过程中催化ATP的合成。在人类内皮细胞的浆膜上也发现了 F_1F_0 型ATP合成酶。Das等研究发现ATP合成酶 β 亚单位表达于肿瘤细胞的细胞膜上，并且是淋巴细胞介导的细胞毒作用的配体，抗 β 亚单位处理将抑制NK细胞和LAK细胞对肿瘤细胞的杀伤作用（参见Das, B., Mondragon, M. O., Sadeghian, M., Hatcher, V. B. & Norin, A. J. 《A novel ligand in lymphocytemediated cytotoxicity: expression of the beta subunit of H. transporting ATPsynthase on the surface of tumour cell lines》，《J. Exp. Med.》，180, 273 - 281（1994））。

越来越多的研究发现细胞膜上的ATP合成酶具有重要的功能，如血管内皮细胞膜上的ATP合成酶是抗血管因子（angiostatin）的受体（参见Moser, T. L. et al. 《Angiostatin binds ATPsynthase on the surface of human endothelial cells》，《Proc. Natl Acad. Sci. USA》，96, 2811 - 2816（1999）），以及抗血管因子（angiostatin）与ATP合成酶结合而发挥其抗肿瘤作用（参见Moser, T. L. et al. 《Endothelial cell surface F_1F_0 ATPsynthase is active in ATPsynthesis and is inhibited by angiostatin》，《Proc. Natl Acad. Sci. USA》，98, 656 - 6661（2001））。

前列腺癌在欧美发病率极高，在老龄男性中仅次于肺癌，但在我国比较少见，近年发病率在增加。在西方国家中，前列腺癌的发生率正以惊人的速率增长，过去五年中，其增长超过1倍。在所有肿瘤中，它的发生率仅次于全世界男性癌症死亡最常见病因的肺癌，是澳大利亚的第一位癌症死亡病因。尽管这种情况很严重，但诊断方法却很少，而且不够精确。目前评估预后的方法，例如超声波法、前列腺酸性磷酸酶水平法、雄激

素剥夺法, 前列腺特异性抗原 (prostate specific antigen, PSA) 密度法、PSA 速变法 (参见 Stamey, T.A., N.Yang, A.R.Hay, J.E.McNeal, F.S.Freiha, and E.Redwine; 1987, 《Prostate-specific antigen as a serum marker for adenocarcinoma of the prostate》《N.Engl. J.Med.》, 317:909-916.)、PSA 年龄特异性参考范围法以及 Gleason 组织病理学分级法都不能对前列腺癌的临床结局提供可靠的预测信息。例如, 研究显示直肠指检法的结果有 36.9% 假阴性率。前列腺特异性抗原是与前列腺外许多组织相关的一种 33-kDa 的丝氨酸蛋白酶, 受雄激素、糖皮质激素和黄体酮的上调, 据认为参与生长因子的调节。然而, 血清前列腺特异性抗原水平的假阴性诊断率为 23%, 假阳性诊断率为 36.7%, 甚至有人提出超过半数的新筛检病例实际上为假阳性。试图通过引进其他的测试法, 例如前列腺特异性抗原密度、速率以及年龄特异性参考范围来改进筛检方法结果也是不确定的。由于这种不确定性, 常进行前列腺的活组织检查来证实恶性, 但这种检测方法很不令人满意, 存在 23% 的假阴性诊断率, 原因是未能直接采到发生癌变部位的样品。

治疗方法的选择在很大程度上取决于根据组织切片显微镜分析得出的临床阶段。这种技术依赖于对组织学表现与临床结局相关性的判断和相当的经验。然而, 前列腺癌组织是异质性的, 某些重要的诊断特征在切片检查时很容易被忽略。同时, 目前尚没有检验外科手术或是放射治疗结果的随机并可控的试验。可选择的治疗方法基本上包括有前列腺切除术、放射治疗法、雄激素剥夺法和“观测性等待”。“观测性等待”对根治性干预问题的明确回答需等待前列腺癌干预对观察试验的结论。这些决定的结果对于病人而言往往非常严重, 比如前列腺切除术法经常会导致小便失禁、膀胱颈狭窄、疼痛和消沉。

对于其他诸如乳腺癌或结肠癌等癌症, 采样可能由于若干原因而被错误诊断。全球每年 120 万妇女罹患乳腺癌, 且有 50 万死于该病。在西欧、北美等发达国家, 乳腺癌的发病率占女性恶性肿瘤首位。据 1992-1996 年统计, 美国每 10 万人中就有 110.6 个人患有乳癌。而处于相低发区的中国, 发病率更是呈逐年上升的趋势。乳腺肿瘤, 定位肿瘤的边界可能不很明确 (如果 H&E 染色判定), 组织学上明显癌瘤和正常组织之间的边界也是常常变化的, 从而往往在肿瘤的周围切下或多或少的会影响检测的正常组织。

通过本发明, ATP 合成酶可以容易地通过免疫组织化学方法而观察到, 并且已显示它们存在各种各样的表达模式, 如细胞表面、线粒体和斑点标记。这些表达模式可以用于鉴定癌发展的不同阶段, 从完全正常组织开始, 发展至肿瘤前期、肿瘤期。因此, 本发明为诊断癌症前期状态 (如增生) 至癌症阶段, 以及为研究癌症发生的生理学和病因学提供了一种新方法。

本发明所述的 ATP 合成酶及其抗体, 可以制作成试剂盒, 单独或联合其他指标来诊断肿瘤, 也可以 ATP 合成酶为靶标, 开发治疗性产品。

发明内容

本发明的主要目的在于提供一种鉴定肿瘤前期及/或肿瘤细胞的方法, 该方法诊断精度高, 可以将假阴性率降到非常低的水平。

本发明的另一目的在于提供一种鉴定肿瘤前期及/或肿瘤细胞的方法, 该方法诊断判断

可靠性高并且简单，不需要相当的经验。

本发明的另一目的在于提供一种鉴定肿瘤前期及/或肿瘤细胞的方法，该方法可以对异质性的癌组织进行随机和可控制的检验，从而提高切片检查结果的可信度。

为了达成上述目的，本发明提供一种鉴定哺乳动物肿瘤前期和肿瘤状态的方法，其特征是包括有下列步骤：

- a. 用抗原免疫动物，获得目标抗体；
- b. 使用哺乳动物细胞、组织，制作细胞芯片和组织切片；
- c. 利用免疫组化方法，使用步骤 a 制备的抗体检测 ATP 合成酶在组织和细胞中的表达情况；以及，
- d. 确定哺乳动物细胞及/或组织的 ATP 合成酶表达图，并通过判断标准对结果进行定性。

附图说明

图 1 为前列腺癌前期 ATP 合成酶的表达照片。

图 2 为前列腺癌组织 ATP 合成酶的表达照片。

图 3 为乳腺癌前期 ATP 合成酶的表达照片。

图 4 为乳腺癌组织 ATP 合成酶的表达照片。

图 5 为结肠癌前期 ATP 合成酶的表达照片。

图 6 为结肠癌组织 ATP 合成酶的表达照片。

图 7 为肝癌前期 ATP 合成酶的表达照片。以及，

图 8 为肝癌组织 ATP 合成酶的表达照片。

具体实施方式

本发明提供了一种鉴定哺乳动物肿瘤前期和肿瘤状态的方法，更确切的是通过检测 ATP 合成酶，为鉴定哺乳动物肿瘤前期和肿瘤状态的各阶段提供了一种方法，该方法也可用于确定哺乳动物癌发生的病因学。确定的 ATP 合成酶及其抗体，可以制作成试剂盒，单独或联合其他指标来诊断疾病，也可以 ATP 合成酶为靶标，开发治疗性产品。

本方法是通过以下步骤实现的：

- a. 用抗原免疫动物，获得目标抗体；
- b. 使用哺乳动物细胞、组织，制作细胞芯片和组织切片；
- c. 利用免疫组化方法，使用步骤 a 制备的抗体检测 ATP 合成酶在组织和细胞中的表达情况；以及，
- d. 确定哺乳动物细胞及/或组织的 ATP 合成酶表达图，并通过判断标准对结果进行定性。

步骤 a 所述的抗体可按下面文献中所揭露的方法制备：Chang, S. Y., Park, S. G., Kim, S., and Kang, C.-Y., 《Interaction of the C-terminal Domain of p43 and the α Subunit

of ATPSynthase. ITS FUNCTIONAL IMPLICATION IN ENDOTHELIAL CELL PROLIFERATION》, 《J. Biol. Chem.》, Mar 2002; 277:8388 - 8394。该抗体须为能鉴别肿瘤前期或肿瘤细胞和 P P / 或组织与正常细胞及/或组织的 ATP 合成酶的特异性抗体, 如对于 ATP 合成酶 α 亚单位和 ATP 合成酶 β 亚单位为特异性的抗体。ATP 合成酶特异性抗体是多克隆和单克隆抗体。抗体是一组抗体。该抗体用于分离哺乳动物细胞或组织。

步骤 b 中所使用的哺乳动物即可以是人类, 也可以是马、牛、羊、狗、猫、大鼠和小鼠等任何一种哺乳动物。细胞及/或组织可以用任何方法获得, 比如从活组织检查中得到, 例如通过细针抽取, 特别是从乳腺组织中抽取, 从体液中获得; 如果是前列腺细胞及/或组织, 则可从直肠指检渗出物或精液中获得。组织可以为石蜡包埋的组织 and 冰冻组织中的一种。细胞可以是上皮细胞、内皮细胞中的任何一种; 组织可以是前列腺、乳腺、结肠、直肠、肺、肝脏、肾脏中的任何一种。

在较佳实施例中的步骤 b 中, 在较佳实施例中的步骤 b 中, 肿瘤组织通过手术获得。手术组织大小为 2.0x1.5x0.5 立方厘米, 获得标本经 40 g/L 甲醛固定(formalin fixed), 常规石蜡包埋, 4 μ m 切片, 裱片, 烤片。

为了验证实验结果, 我们收集 20 份新鲜正常前列腺组织、40 份前列腺癌前病变组织和 40 份新鲜前列腺癌组织, 大小为 2.0x1.5x0.5 立方厘米, 标本经 40 g/L 甲醛固定, 常规石蜡包埋, 4 μ m 切片, HE 染色, 镜下选择不同程度的病变包括癌前病变组织和癌组织, 在供体蜡块上定位标记打孔靶位。可以使用组织芯片仪 MTA-1(Manual Tissue Arrayer, Beecher Instrument, Silver Spring, MD) 针吸组织直径为 0.6 mm, 靶位间距 1.0 mm. 为防止脱片每靶位组织重复装载一次。制成 10X20 阵列。最后将受体蜡块进行 4 μ m 连续切片, 进行常规 HE 染色和免疫组化染色。根据本发明的原理, 在该步骤中所收集的组织也包括来自乳腺, 结肠、肝癌等。

步骤 c 所述的免疫组化方法可以是酶联免疫吸附 (ELISA)、放射免疫分析 (Radioimmunoassay, RIA)、免疫组织化学 (Immunohistochemistry, IHC)、免疫印迹 (Western blotting) 和 Northern blotting。IHC 包括 ABC 法、S-P 法、Envision 法以及 DAB(二氨基联苯胺) 和 LSAB(标记的链霉亲和素生物素技术) 免疫酶联方法。

在较佳实施例的步骤 c 中, 可用如下方法对抗 ATP 合成酶进行前列腺石蜡组织芯片的免疫组化检测。

c. a. 脱蜡水化: 脱蜡前将组织芯片放在 60 恒温箱中烘烤 30 分钟, 置于二甲苯 I 中浸泡 10 分钟, 在二甲苯 II 中再浸泡 10 分钟; 无水乙醇 I 中浸泡 5 分钟, 在无水乙醇 II 中再浸泡 5 分钟, 95% 乙醇中浸泡 5 分钟, 85% 乙醇中浸泡 5 分钟, 70% 乙醇中浸泡 5 分钟。

c. b. 蒸馏水中洗 5 分钟

c. c. 用蒸馏水或 PBS 配置新鲜的 3% H_2O_2 , 室温封闭 5-10 分钟, 蒸馏水洗 1 次。

c. d. 抗原修复:

c. d. a. 高温高压热修复: 取一定量的 0.01M 柠檬酸盐缓冲液 (pH6.0), 于压力锅中大火加热至沸腾, 将脱蜡水化后的组织芯片置于耐高温塑料切片架上, 放入已沸腾的缓冲液中, 盖上锅盖扣上压力阀继续加热至喷气从喷气开始计时, 1-2 分钟后压力锅离开热源冷却至室温, 取出玻片, 先用蒸馏水洗两次后用 PBS 洗 5 分钟。

c. d. b. 微波热修复: 取一定量的 0.01M 柠檬酸盐缓冲液 (pH6.0), 于微波盒中微波加

热至沸腾，将脱蜡水化后的组织芯片置于耐高温塑料切片架上，放入已沸腾的缓冲液中，中高档继续处理10-15分钟。取出微波盒冷却至室温，取出玻片，先用蒸馏水洗两次后，用PBS洗5分钟。

c. d. c. 酶消化方法：常用0.1%胰蛋白酶和0.4%胃蛋白酶液。胰蛋白酶使用前预热至37℃，切片也预热至37℃，消化时间约为5~30分钟。胃蛋白酶消化，37℃，10-30分钟。

e. PBS洗5分钟。

f. 滴加正常山羊血清封闭液，室温10-20分钟，甩去多余液体。

g. 滴加1:100稀释的抗ATP合成酶，室温1小时或者4过夜，过夜后在37℃复温30分钟。

h. PBS洗2次，每次5分钟。

i. 滴加1:100稀释的HRP-偶联的山羊抗小鼠第二抗体(Dako)，对家兔第一抗体为HRP-偶联的抗兔第二抗体酶标二抗，室温孵育30分钟。

j. PBC洗2次，每次5分钟。

k. 滴加DAB显色液，镜下掌握显色程度。

l. 蒸馏水洗终止染色。苏木素复染，盐酸酒精分化。

m. 脱水、透明、封片、镜检。

对照切片与第一次培育稀释缓冲液一起培育，之后用与实验切片相同的方式进行处理。除了第一抗体用非免疫血清替代外，阴性对照切片用与实验切片相同的方式进行处理。证实了所有抗体的独特特异性。

步骤d所述的ATP合成酶表达图是ATP合成酶 α 亚单位和ATP合成酶 β 亚单位表达图。ATP合成酶表达图包括正常、癌前期、肿瘤阶段组织和细胞的ATP合成酶表达图。步骤d所述的判断标准是指那些能够在肿瘤前期或肿瘤细胞/组织与正常细胞/组织相比，在表达图强度的差异上产生最大对比的蛋白。表达强度按未着色、浅黄色、浅棕色和深棕色逐渐增强。该判断标准在用于肿瘤前期和肿瘤状态的诊断指标时，具体标准为：肿瘤前期或肿瘤状态时，与正常的前列腺细胞或组织的表达图相比，其前列腺细胞或组织中的ATP合成酶表达图强度增强，即定义为存在癌症前期或癌症的诊断指标。

在较佳实施例中，图1、2所示为对人前列腺癌组织和正常组织或良性前列腺中的ATP合成酶表达进行的差异判断。对该20个正常前列腺组织、40例前列腺癌前病例和40例前列腺癌病例的研究中，人前列腺癌组织中的ATP合成酶显著增加，本领域的技术人员可以判断，胞浆或胞膜棕褐色颗粒为阳性。正常组织或良性前列腺增生没有可见的标记，胞浆和胞膜未见棕褐色颗粒为阴性。实验证明使用本发明方法前列腺癌的ATP合成酶表达阳性率约为75%，高于正常前列腺组织的17.5%和前列腺癌前病例的22.5%，差异有显著性(P小于0.05%)。

根据本发明的原理，在该步骤中也可以使用抗ATP合成酶进行乳腺、结肠、肝脏等组织石蜡组织芯片的免疫组化检测。图3、4所示为对人乳腺癌组织和正常组织或良性乳腺中的ATP合成酶表达进行的差异判断。实验证明使用本发明方法乳腺癌的ATP合成酶表达阳性率约为90%，高于正常乳腺组织的10%和乳腺癌前病例的17.5%，差异有显著性(P小于0.05%)。图5、6所示为对人结肠癌组织和正常组织或良性结肠中的ATP合成酶表达进行的差异判断。实验证明使用本发明方法结肠癌的ATP合成酶表达阳性率约为90%，高于正常结肠组织的17.5%和结肠前病例的25%，差异有显著性(P小于0.05%)。

图 7、8 所示为对人肝癌组织和正常组织或良性肝癌中的 ATP 合成酶表达进行的差异判断。实验证明肝癌的 ATP 合成酶表达阳性率约为 82.5%，高于正常肝组织的 17.5% 和肝癌前病例的 27.5%，差异有显著性（P 小于 0.05%）。参照前面所述的免疫组化检测方法，用抗 ATP 合成酶进行石蜡组织芯片的免疫组化检测，组织胞浆或胞膜呈现棕褐色颗粒可初步为肿瘤阳性，在结合其他临床方法作出最后诊断。

本发明的方法和 ATP 合成酶特异性抗体可以与其他互补性检测方法例如肿瘤恶性试验方法联用，检测和诊断肿瘤。肿瘤恶性试验可以采用针对人端粒酶蛋白质(hTP1)的特异性抗体进行抗端粒酶抗体测试，或者任何其他适当的试验，例如抗肌腱蛋白试验。

本发明的 ATP 合成酶及其特异性抗体也可应用于疾病治疗过程之中的癌症检测和监测。

在本发明上下文中所述及的“肿瘤细胞”和“肿瘤组织”术语，按其普通含义理解，包括但不限于具有肿瘤细胞或组织特征的细胞或组织，例如，增生或肥大性生长模式以及被苏木精和伊红染料(即 H&E)特征性着染突现异常的细胞形状大小和细胞核大小。

在本发明上下文中所述及的“肿瘤前期细胞”和“肿瘤前期组织”术语，按其普通含义理解，包括但不限于增生或肥大性生长的细胞或组织。但是所述的细胞或组织并没有肿瘤细胞或组织的特征，例如被 H&E 特征性着染的肿瘤细胞或组织突现异常的细胞形状大小和细胞核大小。

在本发明上下文中所述及的“正常细胞”和“正常组织”的术语，按其普通含义理解，包括但不限于与既没有肿瘤前期形成也没有肿瘤形成的个体的细胞的 ATP 合成酶(相比)没有可见的实质性改变的细胞或组织。在本发明上下文中所述及的与前列腺状态相关的“正常细胞”术语还包括从良性前列腺增生的前列腺获得的细胞。

在本发明上下文中所述及的“一组抗体”术语包含多克隆抗体，其含有对相同或不同抗原具有特异性的几种不同抗体而能特异性辨别各种受体亚型。当此抗体为单克隆抗体时，“一组抗体”还包括能够特异性辨别每种 ATP 合成酶如 α 亚单位和 β 亚单位的抗体组。在本发明上下文中所述及的“表达图谱”的测定，包括表达模式或强度的测定。

如本技术领域的人所知，本发明的附图和实施例仅为说明本发明的功能、结构和原理而不应当成为对本发明理解上的限制；同时，本发明的目的均已经实现。上述实施例可能在不脱离本发明原理的情况下有所变更，故此，本发明的保护应以权利要求书中所描述的范围为准。

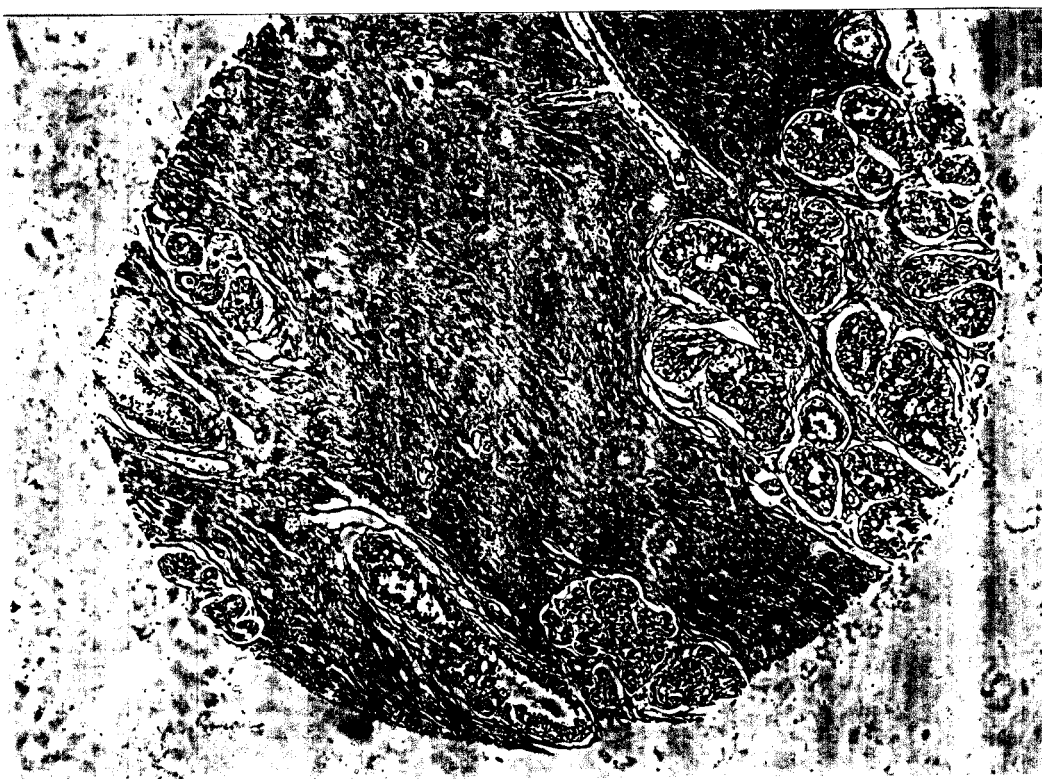


图 1

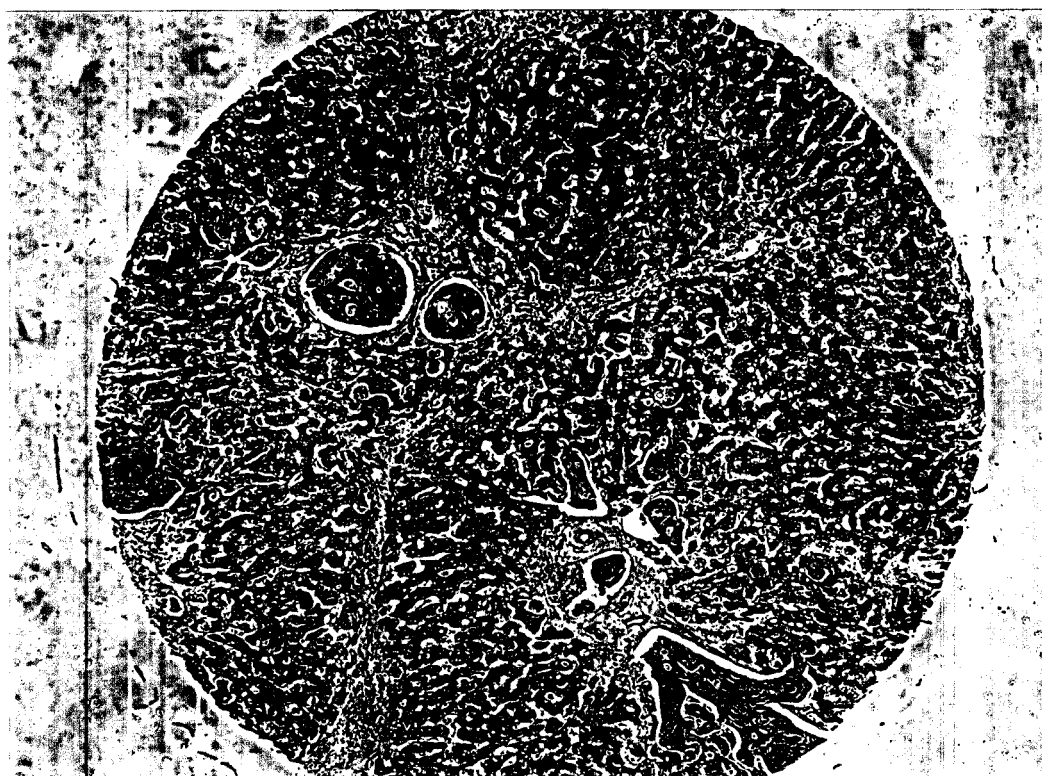


图 2



图 3

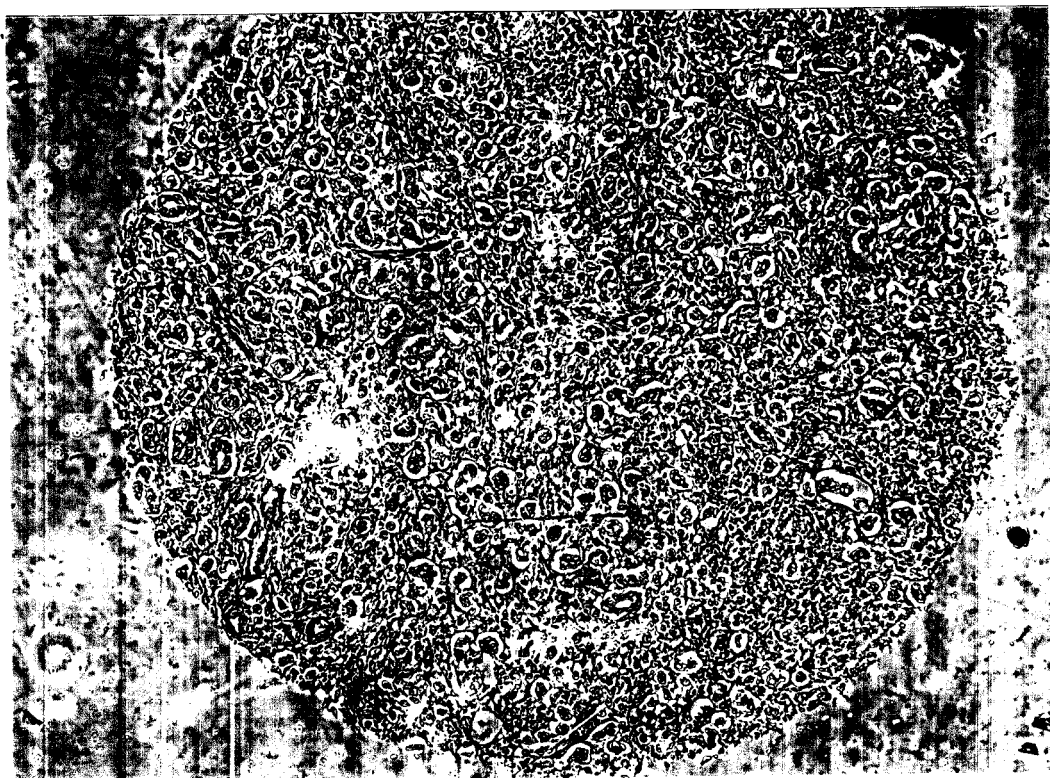


图 4

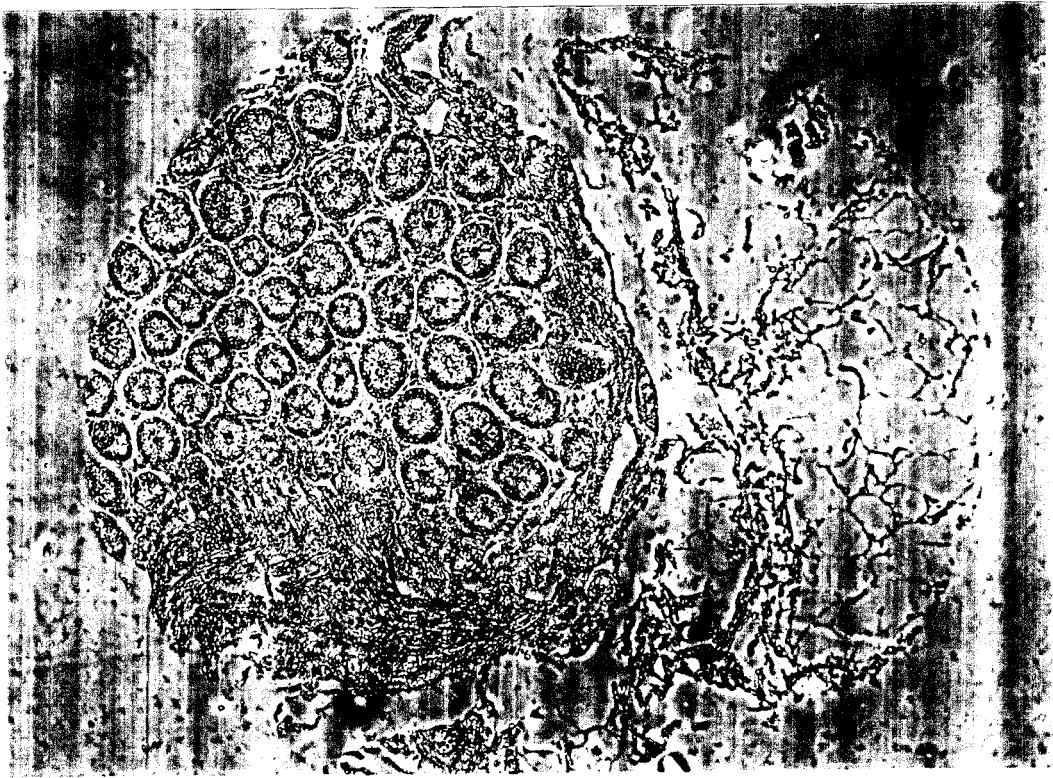


图 5

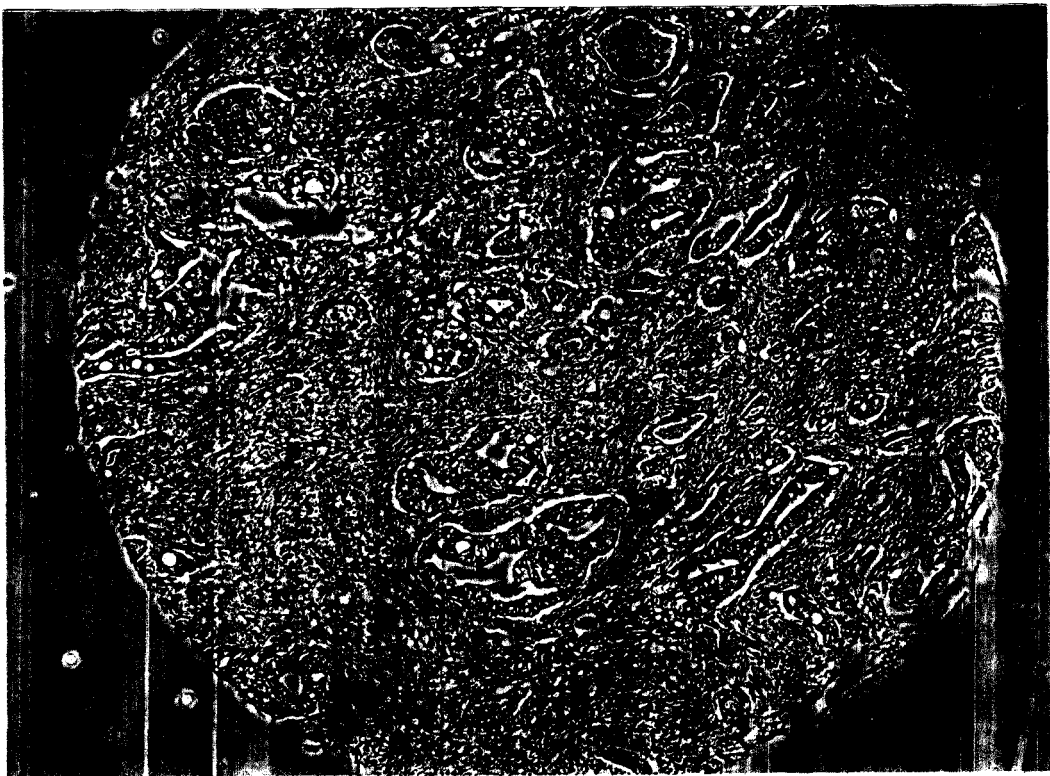


图 6

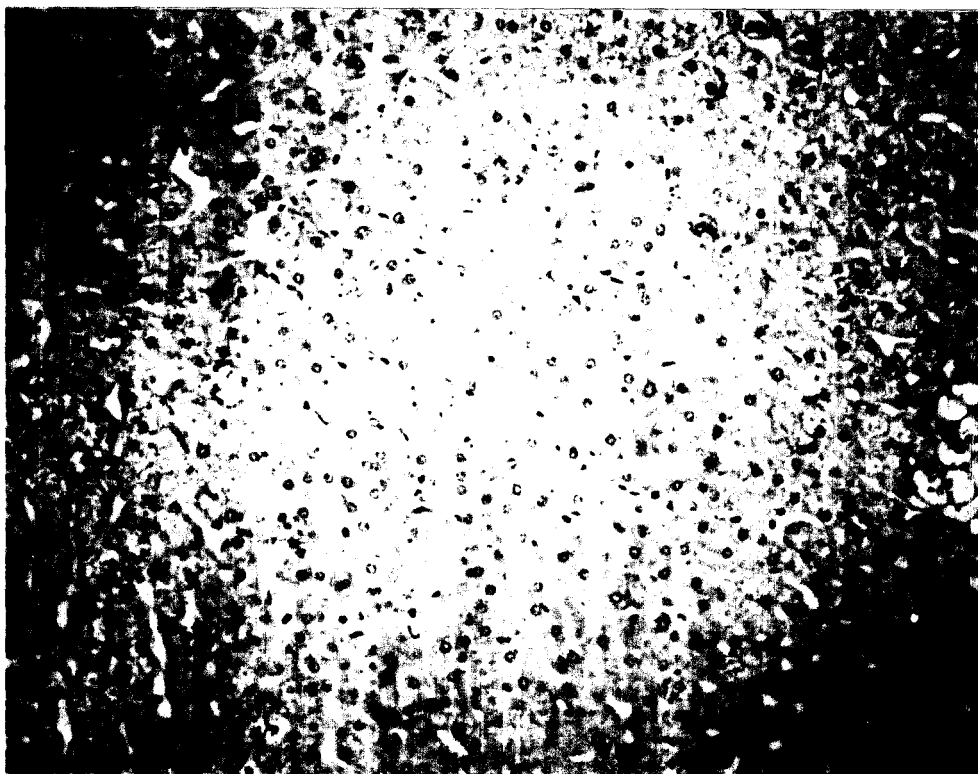


图 7

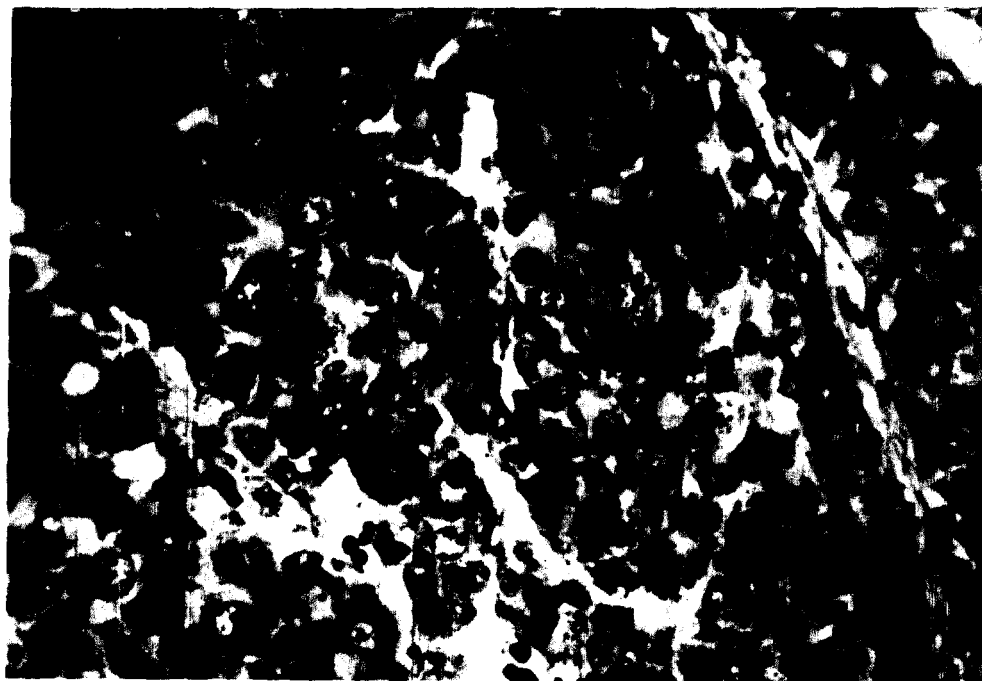


图 8

专利名称(译)	一种用ATP合成酶鉴定肿瘤前期和肿瘤状态的方法		
公开(公告)号	CN1877333A	公开(公告)日	2006-12-13
申请号	CN200510026506.0	申请日	2005-06-06
[标]申请(专利权)人(译)	上海富纯中南生物技术有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海富纯中南生物技术有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海富纯中南生物技术有限公司		
[标]发明人	倪健 彭艳 杨子义 罗鹏		
发明人	倪健 彭艳 杨子义 罗鹏		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/531		
代理人(译)	张全文		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及一种鉴定肿瘤前期及/或肿瘤细胞的方法，该方法包括有下列步骤：a.用抗原免疫动物，获得目标抗体；b.使用哺乳动物细胞、组织，制作细胞芯片和组织芯片；c.利用免疫组化方法，使用步骤a制备的抗体检测ATP合成酶在组织和细胞中的表达情况；以及，d.确定哺乳动物细胞及/或组织的ATP合成酶表达图，并通过判断标准对结果进行定性。该方法诊断精度高，可以将假阴性率降到非常低的水平，诊断判断可靠性高并且简单，不需要相当的经验，并可以对异质性的癌组织进行随机和可控制的检验，从而提高切片检查结果的可信度。

