

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
C07K 14/705 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710064227.2

[43] 公开日 2007 年 8 月 15 日

[11] 公开号 CN 101016336A

[22] 申请日 2007.3.7

[21] 申请号 200710064227.2

[71] 申请人 中国人民解放军军事医学科学院微生物
流行病学研究所

地址 100071 北京市丰台区东大街 20 号

[72] 发明人 王 慧 史 晶 荫 俊 包士中
侯晓军 蔡 昆

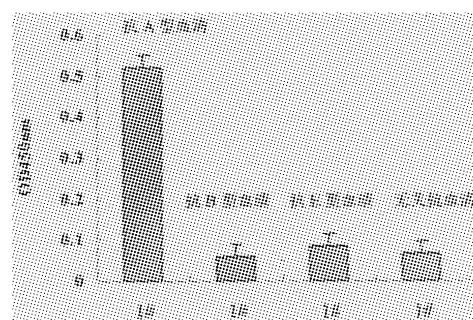
权利要求书 1 页 说明书 12 页 附图 2 页

[54] 发明名称

A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽及其用途

[57] 摘要

本发明公开了 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽，作为核心的免疫抗原，可有效激发机体免疫保护效应，预防肉毒毒素感染；同时作为特征性抗原标识，可有效识别 A 型肉毒毒素特异抗体，将人肉毒毒素感染血清型中 A 型与其它型甄别。这些短肽与全毒素抗原、重组毒素抗原具有相同或相似的功能，更具有制备工艺简单、成本低、无毒副作用、与其它血清型肉毒毒素抗原无交叉的特点，而且消除了类毒素抗原易引起的过敏反应，克服了全毒素抗原或重组抗原血清型间交叉反应的问题，具有良好的应用前景。本发明同时提供了这些短肽以及具有相同特征的蛋白质、多肽及其组合物在肉毒毒素感染诊断、新型肽疫苗制备中以及作为抗肉毒毒素药物筛选靶标的用途。



1. A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽，其特征在于具有序列表中序列 1、2 或 3 所示的氨基酸序列。
2. 多组分 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽，其特征在于包含权利要求 1 所述三种 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽中的至少两种。
3. 根据权利要求 2 所述多组分抗原表位肽，其特征在于包含权利要求 1 所述三种 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽。
4. 根据权利要求 3 所述多组分抗原表位肽，其特征在于权利要求 1 所述三种 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽以等比例混合。
5. 权利要求 1 或 2 所述的 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽或多组分抗原表位肽在制备 A 型肉毒毒素感染的特异抗体诊断试剂中的用途。
6. 权利要求 1 或 2 所述的 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽或多组分抗原表位肽在制备肉毒毒素新型肽疫苗中的用途。
7. 权利要求 1 或 2 所述的 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽或多组分抗原表位肽作为抗肉毒毒素药物筛选靶标的用途。
8. 含有权利要求 1 所述 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽的多肽或蛋白质在制备 A 型肉毒毒素感染的特异抗体诊断试剂中的用途。
9. 含有权利要求 1 所述 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽的多肽或蛋白质在制备肉毒毒素新型肽疫苗中的用途。
10. 含有权利要求 1 所述 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽的多肽或蛋白质作为抗肉毒毒素药物筛选靶标的用途。

A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽及其用途

技术领域

本发明涉及生物毒素 B 细胞抗原表位肽，具体地说涉及肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽，还涉及上述抗原表位肽的用途。

背景技术

肉毒神经毒素 (Clostridium Botulinum Neurotoxins, BoNT, 简称肉毒毒素) 是由肉毒梭状芽孢杆菌在厌氧条件下产生的外毒素, 有 7 个血清型(A-G), 是目前已知毒力最强的蛋白质, 其中 A, B, E 型肉毒毒素是引起人类中毒的常见型别, 临床观察表明 A 型肉毒毒素比其它血清型可引起更严重的病症和导致更高的死亡率。

A 型肉毒毒素的前体是分子量为 150kD 的无毒单链蛋白, 经菌体蛋白酶或体外蛋白酶切割成为具有双链形式才具有毒性, 即轻链 (L) 与重链 (H) 通过一个二硫键连接, H 链是肉毒毒素的结合区, 是进入神经细胞所必需的, 其与神经细胞毒素受体结合的部位是 C 端分子量约 50kD 的片段 (Hc 抗原), 研究表明 Hc 抗原是肉毒毒素的主要保护性抗原, 含有中和性 B 细胞表位, 其在一定程度上可以替代肉毒毒素标准类毒素, 诱导产生针对天然活毒素的保护性抗体, 产生有效的免疫保护性作用。同时, 作为主要的毒素抗原结构, Hc 抗原在肉毒毒素的感染诊断和治疗性抗体等制剂的研制中, 也发挥着重要作用。

目前, 在疫苗研制方面, 肉毒毒素重要保护性抗原的获得, 方法一是 Siegel

等 1988 年报道的通过肉毒梭菌的产毒培养，从培养物中提取肉毒毒素，灭活制备类毒素抗原。这样不但需要带毒操作，而且无法完全去除甲醛和菌体蛋白等成分，存在安全性隐患（Siegel, L S . J Clin Microbiol. 1988 November; 26(11): 2351-2356）；方法二，Michael A 等 1995 年报道的主要针对 Hc 抗原及其片段，应用基因工程技术方法，通过原核和酵母表达系统的构建、重组表达与纯化，制备重组毒素抗原。因为 Hc 抗原是一个大蛋白，其基因结构 A+T%含量高达 76%，密码子偏性很高，重组表达水平较低，需要通过基因修饰方法提高表达量，重组表达与纯化的成本较高（Michael A, Clayton J, M. Clayton, et al. J. Infection and Immunity, 1995, 63(7):2738-2742）。考虑到抗原在体内诱导免疫反应中起决定作用的核心结构是抗原表位，因此优势抗原表位或是包含抗原表位的短肽以及它们的组合，可以具有与完整抗原蛋白相似或相同的功能。在通常情况下，表位长度从几个到几十个氨基酸，可以应用实验方法，避开肉毒毒素复杂的结构，直接获得抗原表位，表位肽是含有一个或几个抗原表位序列的短肽，有其独特的特点：分子量小，结构简单，易于合成制备；重要的是作为抗原核心结构的功能明确，具有抗原性和免疫原性，可以刺激 B 细胞产生特异抗体；相比较全毒素抗原，表位肽几乎没有任何毒性，使用更为安全。含有表位的短肽的应用价值还体现在：针对 A 型肉毒毒素的表位短肽可以和针对其它血清型肉毒毒素的表位短肽进行随意的组合或串联设计，能够很容易地应用于不同保护范围的肉毒毒素疫苗的制备；同样的，如果与针对其它病原体的抗原或表位短肽组合，能够进一步拓宽其疫苗用途。

在肉毒毒素感染诊断方面，主要采用双抗体夹心法检测肉毒毒素抗原的方法，由于检测灵敏度要求，主要适用于严重中毒者，而对既往感染和低剂量感染者不适用。而针对其它大多数病原抗原感染诊断非常实用的双抗原夹

心抗体检测法，在肉毒毒素特异抗体检测中存在的问题。主要是因为肉毒毒素的血清型复杂，毒素抗原的氨基酸同源性较高，彼此存在明显的抗原抗体交叉反应（Ferreira J, Maslanka S, Johnson E, et al, J AOAC Int. 2003;86:314–31.）。

目前采用的抗原表位或表位短肽鉴定方法主要有以下几种：一、采用肽段扫描（peptide scan）或基因分段表达的方法：1996 年 Markt.T 和 Dertzbaugh 等通过基因重组方法分段表达 A 型肉毒毒素 Hc 的一系列重叠的蛋白片段，研究确定了 BoNT/A 产生保护性免疫的序列片段 H455-661 和 H1150-1289（Mark T,Dertzbaugh,and Michael WW. J.Vaccine, 1996, 14(16):1538-1544.），对其在肉毒毒素疫苗构建中的应用进行探索研究，并且申请了美国专利 20030185850；1996 年 Atassi 通过体外化学合成一系列相互重叠 5 个氨基酸的十九肽，采用抗毒素血清筛选了 BoNT/A-Hc 可能的表位，结果显示不同免疫来源的抗毒素血清识别的肽序列有一定的差别（Atassi MZ, Dolimbek BZ, Hayakari M, et al. J Protein Chem 1996 Oct;15(7):691-700）。二、利用噬菌体展示技术或蛋白芯片技术，通过多轮淘筛，最终分离鉴定获得模拟表位：2001 年 Wu HC 应用毒素中和单抗从噬菌体随机肽库中筛选到 A 型肉毒毒素的模拟中和表位 CXDC（Wu HC,Yeh CT,Tarn LJ, et al. Appl Environ Microbiol 2001 Jul;67(7):3201-7），2001 年 Mullaney BP 等运用噬菌体展示技术对 BoNT/A 进行了中和表位绘图，推测毒素存在多个优势抗原表位，其中神经节苷脂结合位点在 Glu1202，His1252，Trp1265，受体蛋白结合区位于 1115-1223 序列（Mullaney BP, Pallavicini MG, Marks JD. Infect Immun. 2001 Oct;69(10):6511-4），为毒素治疗药物设计提供可能的靶点。三、制备一系列针对抗原分子的单克隆抗体，通过竞争分析确定表位存在的范围：1997 年 Toru 等采用单抗进行表位绘图，确定了 BoNT/E 的中和表位序列（Toru Kubota, Toshihiro Watanabe, Noriko Yokosawa, et al. Applied and

Environmental, Microbiology, 1997,63(4):1214-1218)。但这些方法费事，费力且所需周期较长，而且不适于复杂表位的研究，因而制约了肉毒毒素防治研究的发展。生物信息学的发展，以及包括 A 型肉毒毒素在内的许多蛋白质三维晶体结构的确定，为抗原表位的分析提供了新的线索，也为新型的肽疫苗研究等提供了思路和途径。

发明内容

针对现有 A 型肉毒毒素抗原表位的不确定，以及肉毒毒素疫苗研究和检测诊断技术的不足，本发明提供了一组含有 A 型肉毒毒素保护性抗原表位的短肽，这些短肽的氨基酸序列如序列表中序列 1、2 和 3 所示。

这些短肽与全毒素抗原、重组毒素抗原具有相同或相似的功能，可以有效激发机体的免疫保护效应，可以有效识别 A 型肉毒毒素感染后特异抗体的存在，具有制备简单、成本低、无毒副作用、与其它血清型肉毒毒素抗原无交叉的特点。

本发明还提供了包含上述三种 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽中至少两种的多组分抗原表位肽，还公开了包含上述三种 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽的多组分抗原表位肽，还公开了包含以等比例混合的上述三种 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位肽的多组分抗原表位肽。

本发明同时提供了上述短肽以及具有相同序列和结构特征的蛋白质、多肽及其组合物在肉毒毒素新型疫苗研制中的应用。通过鉴定获得有效的 A 型肉毒毒素保护性表位或表位肽，提供新的更为精确、有效的核心抗原基序或短肽，将其作为重要抗原组分应用于肉毒毒素新型肽疫苗的制备。

本发明同时提供了这些短肽以及具有相同特征的蛋白质、多肽及其组合

物在肉毒毒素感染诊断中的应用。通过鉴定获得有效的 A 型肉毒毒素抗原表位或表位短肽，提供新的型特异的核心抗原基序或短肽，同时利用其与型特异抗体捕获结合的功能，将其作为重要抗原组分应用于 A 型肉毒毒素感染的特异抗体的检测，将肉毒毒素感染诊断确定到血清型的标准。

本发明通过 ELISA 实验对表位短肽与 A 型肉毒抗毒素马血清特异结合进行分析。用表位肽包被酶联板，BSA 作为阴性对照，BSA 封闭后，加入抗 A 型肉毒毒素的马血清进行结合；洗涤后加入酶标兔抗马 IgG，孵育后洗涤，然后进行底物显色，检测 OD₄₅₀。结果显示本发明的表位肽均能与 A 型肉毒毒素抗毒素马血清特异地结合。

本发明同时提供了这些短肽以及具有相同特征的多肽及其组合物在肉毒毒素作为抗肉毒毒素药物筛选靶标的用途。因为本发明的短肽是肉毒毒素的核心的免疫抗原，也是肉毒毒素的特征性抗原标识，因此可以将这些短肽作为靶标进行抗肉毒毒素药物的筛选。

本发明同时提供了以 A 型肉毒毒素的晶体结构为模板，应用生物信息学和蛋白结构解析计算等的综合分析方法，筛选获得 B 细胞抗原表位或表位短肽的方法。

因此本发明通过鉴定获得有效的 A 型肉毒毒素保护性表位或表位肽，提供新的更为精确、有效的核心抗原基序或短肽，同时将其作为重要抗原组分应用于肉毒毒素新型肽疫苗的制备，是本发明的主要创新点之一。本发明通过鉴定获得有效的 A 型肉毒毒素抗原表位或表位短肽，提供新的型特异的核心抗原基序或短肽，同时利用其与型特异抗体捕获结合的功能，将其作为重要抗原组分应用于 A 型肉毒毒素感染的特异抗体的检测，将肉毒毒素感染诊断确定到血清型的标准，是本发明的主要创新点之二。本发明以 A 型肉毒毒

素的晶体结构为模板，应用生物信息学和蛋白结构解析计算等的综合分析方法，筛选获得 B 细胞抗原表位或表位短肽，也是本发明的创新点。

附图说明

图 1 为表位短肽与 A 型肉毒毒素抗毒素马血清的特异结合

图 2 为表位短肽与不同血清型抗毒素马血清的交叉结合实验

图 3 为单一表位肽疫苗的免疫保护实验

图 4 为组合表位肽疫苗的免疫保护实验

具体实施方式

实施例 1 A 型肉毒毒素表位肽的确定

一、材料：

SEPHADEX G-15；SEPHAROSE 亲和柱；HPLC 购自 Pharmacia 公司；

Insight II 软件，SGI 图形工作站是 Neotrident 公司产品。

二、方法与结果：

1. A 型肉毒毒素 Hc 片段 B 细胞抗原表位的筛选

1998 年 RC Stevens & DB Lacy 通过高分辨率多维晶体 X 衍射光谱分析获得了由 1285 氨基酸残基组成的双链 A 型肉毒毒素的晶体结构（PDB structure : 3BTA , 2.3Å ）；本发明利用蛋白质数据库 PDB（<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>）中 A 型肉毒毒素的三维晶体结构，应用 Insight II 软件及 SGI 图形工作站，进行 A 型肉毒毒素 B 细胞抗原表位的分析，选择至少连续三个氨基酸残基暴露面积大于 30%，而且其所对应的空间结构为转角或者无规则卷曲结构的序列为可能的 B 细胞抗原表位，单个

氨基酸的表位特征分析的部分结果见表 1。

表 1 A 型肉毒毒素抗原表位分析结果

monomer	area	fraction/SAS	structure
SER A884	64.355	0.479	TURN
ASN A885	111.117	0.741	TURN
LEU A918	82.383	0.517	TURN
GLU A919	113.383	0.652	TURN
SER A920	57.455	0.462	TURN
SER A1041	72.583	0.587	TURN
ASN A1042	132.387	0.851	TURN
LYS A1186	188.055	0.894	TURN
ASN A1187	154.142	0.935	TURN

2. 含有保护性抗原表位的短肽的设计与制备

根据上述表位筛选结果，进行含有保护性抗原表位的短肽的设计，不同表位进行有效的串联，并且在表位之间引入适当的氨基酸间隔序列，延长表位区域，结果设计了 3 条表位肽，长度为 20 个氨基酸左右，表位肽 1#、2# 和 3# 的氨基酸序列分别如序列表中序列 1、2 和 3 所示。

表位肽的合成采用固相合成法，为了增加表位肽的生物学活性，在合成过程中肽序列 N 端采用乙酰化封闭，可以增强多肽的稳定性，防止体内蛋白酶解，延长体内的半衰期。C 端引入了 D 型氨基酸，其不会影响多肽的空间结构，同样能提高体内的稳定性和活性。初步合成的产物经过 SEPHADEX G-15 或 SEPHAROSE 亲和柱纯化。纯化产物应用 HPLC (high performance liquid chromatography) 做氨基酸分析。

实施例 2 表位肽免疫学分析及其在肉毒毒素血清型鉴定中的应用

一、材料：

抗 A、B、E 型肉毒毒素马血清，酶标兔抗马 IgG (中国生物制品检定所)

二、方法与结果:

1. 表位短肽与 A 型肉毒抗毒素马血清特异结合的 ELISA 分析

表位肽 1#、2# 和 3# (10 μ g/孔) 包被酶联板, 包被液为 NaHCO₃ pH8.6, 包被 BSA 作为阴性对照, 4℃过夜包被。去除包被液, 加入 100 μ l 3% BSA (0.02mol/L PBS, pH7.2 配制) 37℃封闭 1h, 加入抗 A 型肉毒毒素的马血清 (1: 3000 稀释), 100 μ l/孔, 37℃结合 1h; 用 PBST (0.05%Tween 20) 洗涤; 加入酶标兔抗马 IgG (1: 1000 稀释) 100 μ l/孔, 室温孵育 30 分钟; 用 PBST (0.05%Tween 20) 洗涤, 排尽残液, 加入 A、B 液底物显色, 室温反应 3-5 分钟, 加入 2N H₂SO₄ 终止反应, 检测 OD₄₅₀。

结果: 如附图 1 显示, 设计合成的 3 条表位肽均能与 A 型肉毒毒素抗毒素马血清特异地结合。

2. 表位肽与不同血清型肉毒抗毒素马血清的交叉结合实验

选择与 A 型肉毒毒素抗毒素马血清特异结合的 1#表位肽进行不同血清型之间的交叉结合实验, 验证在人感染主要血清型抗体检测中有无交叉反应。表位肽 1# (10 μ g/孔) 包被酶联板, 包被液为 NaHCO₃ pH8.6, 包被 BSA 作为阴性对照, 4℃过夜包被。去除包被液, 加入 100 μ l 3% BSA (0.02mol/L PBS, pH7.2 配制) 37℃封闭 1h, 分别加入抗 A、B、E 型肉毒毒素的马血清 (1: 3000 稀释), 以无关抗血清做对照, 100 μ l/孔, 37℃结合 1h; 用 PBST (0.05%Tween 20) 洗涤; 加入酶标兔抗马 IgG (1: 1000 稀释) 100 μ l/孔, 室温孵育 30 分钟; 用 PBST (0.05%Tween 20) 洗涤, 排尽残液, 加入 A、B 液底物显色, 室温反应 3-5 分钟, 加入 2N H₂SO₄ 终止反应, 检测 OD₄₅₀。

结果如附图 2 显示, 1#表位肽可以与 A 型肉毒毒素抗毒素血清特异结合, 而与其它血清型抗毒素血清没有交叉, 在采用酶联免疫吸附试验(ELISA)

双抗原夹心法对临床肉毒中毒病人血清样品的抽样检测中也发现, 采用表位肽检测与肉毒毒素标准类毒素检测判定结果一致, 1# 表位肽可以取代肉毒毒素标准类毒素或重组抗原, 作为肉毒毒素不同血清型感染鉴别和诊断的特征性抗原。

实施例3 表位肽疫苗的配制及其免疫保护效应

一、材料:

表位肽, 按上述实施例制备;

BALB/C 小鼠, 购自军事医学科学院实验动物中心。

二、方法与结果

1. 单一或多组分表位肽疫苗的配制

单一表位肽抗原: 纯度>85%的表位肽 1#、2# 和 3#, 分别用 0.02 mol/L PBS pH7.2 溶解, 配制成浓度为 0.8mg/ml 的表位肽抗原。

多组分表位肽抗原: 纯度>85%的表位肽 1#、2# 和 3#, 以 1: 1: 1 的比例混合均匀, 用 0.02 mol/L PBS pH7.2 溶解, 配制成每种表位肽浓度仍为 0.8mg/ml 的表位肽抗原。

表位肽疫苗: 单一或多组分表位肽抗原分别与等体积的 $\text{Al}(\text{OH})_3$ 佐剂混合, 配制成单一表位肽疫苗或多组分表位肽疫苗。

2. 表位肽疫苗的免疫及抗体检测

7-8 周龄 BALB/C 小鼠, 雌性, 随机分为 A、B、C、D 四组, 每组 8 只。

分组结果如下:

A 正常组: 未注射抗原 (腹腔注射相同剂量的生理盐水)

B 阳性对照组: A 型肉毒毒素标准类毒素免疫

C 阴性对照组: 无关抗原免疫

D 实验组：a： 单一表位肽免疫（1#或2#或3#）

b： 表位肽组合免疫（1#+2#+3#）

采取腹腔注射的免疫方式，每只注射 200 μ l（相当于抗原 80 μ g/只）。隔周后加强免疫，剂量同首免。分别于第 3、4 次免疫后的 4 天采血，ELISA 检测血清中特异抗体的效价变化。

结果显示，两个实验组在免疫 3 次后的特异抗体阳性率分别为 87.5%（7/8）和 100%（8/8），在免疫 4 次后的特异抗体阳性率均为 100%。

3. 表位肽疫苗免疫的攻毒保护性实验

加强免疫 4 次后用 A 型肉毒毒素活毒素对所有实验小鼠进行攻毒，腹腔注射 10^3 LD₅₀/只，分别观察各组的保护情况，各实验组保护情况如附图 3，附图 3 显示的是表位肽免疫小鼠的攻毒后存活情况，从图中可以看出阴性对照组小鼠 8 只在 18h 内全部死亡，标准类毒素免疫组完全保护，与阴性对照组相比，单一表位肽免疫小鼠均能不同程度地保护 10^3 LD₅₀A 型肉毒毒素的攻毒，不同的免疫保护程度可能与不同表位短肽所包含表位在免疫识别中所起的作用大小有关，附图 3 显示表位肽免疫小鼠的存活率较未免疫组有明显的延长作用。附图 4 表位肽的组合免疫结果显示，表位肽有明显的叠加免疫保护作用，与单一表位肽相比较，组合免疫具有更好的免疫保护效果，证明肉毒毒素存在多个优势抗原表位。虽然本试验的多组分表位肽仅以表位肽 1#、2#、3#，以 1:1:1 的比例混合进行实验，但可以通过实验结果推断表位肽 1#、2#、3# 以不同的比例混合的多组分表位肽，或表位肽 1#、2#、3# 中的任意两个以不同比例混合的多组分表位肽也能得到类似结果。仅以本发明提供的短肽为基础，通过适当添加其它免疫原组分，或是通过重组连接构建多表位串联疫苗，可以进一步提高免疫保护效果，制备高效的肉毒

毒素新型疫苗。

4. 表位肽疫苗的安全性实验

7-8 周龄 BALB/C 小鼠，雌性，用上述组分分别腹腔注射各 8 只，用量是 0.4mg/只（免疫剂量的 5 倍），三周内观察实验小鼠有无异常反应，安全性检验的实验小鼠在实验期间没有出现任何异常反应，说明本表位肽疫苗不会产生任何不良反应。

序 列 表

<110> 中国人民解放军军事医学科学院微生物流行病研究所

<120> A型肉毒毒素B细胞抗原表位肽及其用途

<130>

<160> 3

<170> PatentIn version 3.2

<210> 1

<211> 22

<212> PRT

<213>

<400> 1

Asn Asn Val Gly Ile Arg Gly Tyr Met Tyr Leu Lys Gly Pro Arg Gly
1 5 10 15

Ser Val Met Thr Thr Asn
20

<210> 2

<211> 17

<212> PRT

<213>

<400> 2

Asn Trp Tyr Asn Arg Gln Ile Glu Arg Ser Ser Arg Thr Leu Gly Cys
1 5 10 15

Ser

<210> 3

<211> 21

<212> PRT

<213>

<400> 3

Arg Thr Leu Gly Cys Ser Trp Glu Phe Ile Pro Val Asp Asp Gly Trp
1 5 10 15

Gly Glu Arg Pro Leu
20

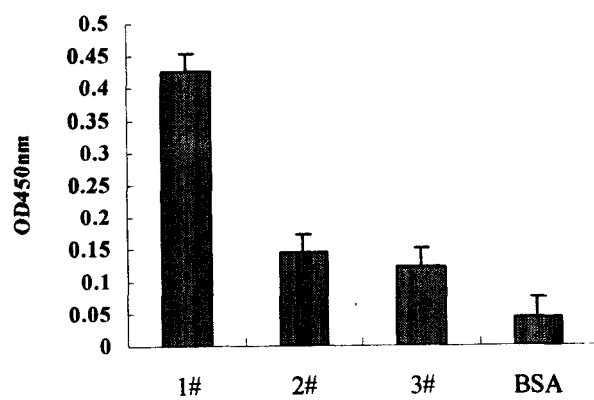


图 1

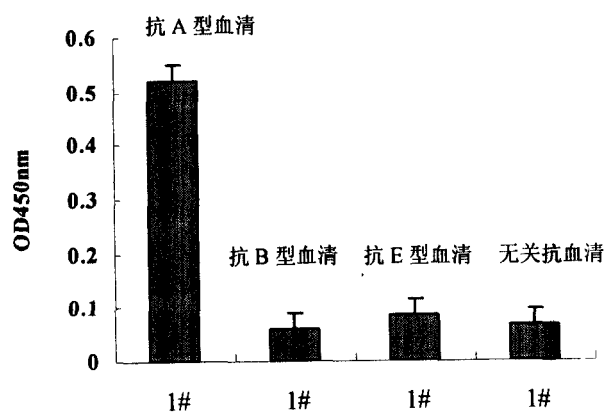


图 2

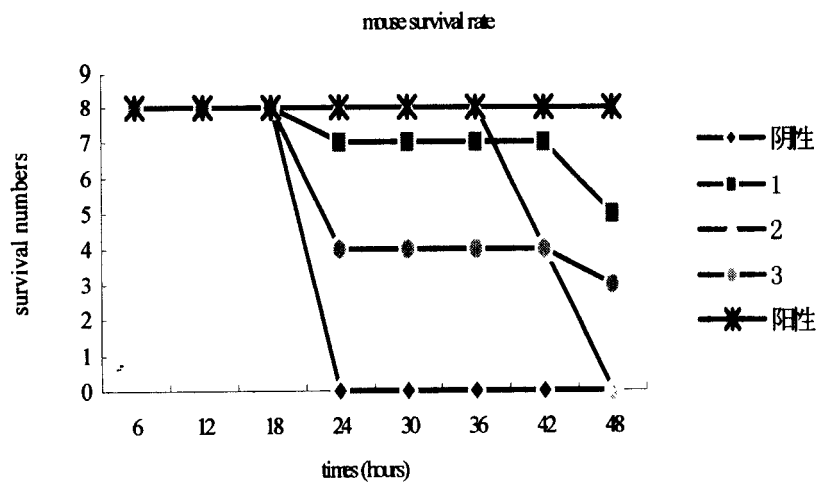


图 3

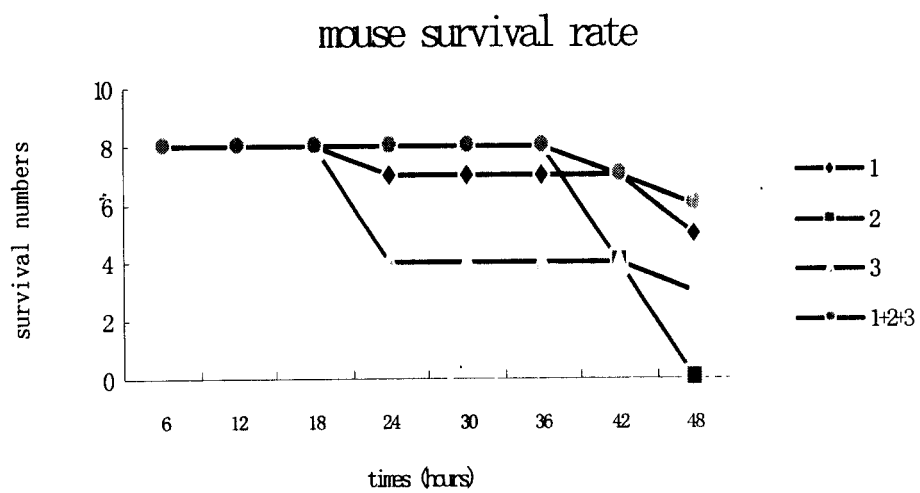


图 4

专利名称(译)	A型肉毒毒素B细胞抗原表位肽及其用途		
公开(公告)号	CN101016336A	公开(公告)日	2007-08-15
申请号	CN200710064227.2	申请日	2007-03-07
[标]申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院微生物流行病研究所		
申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院微生物流行病研究所		
当前申请(专利权)人(译)	中国人民解放军军事医学科学院微生物流行病研究所		
[标]发明人	王慧 史晶 荫俊 包士中 侯晓军 蔡昆		
发明人	王慧 史晶 荫俊 包士中 侯晓军 蔡昆		
IPC分类号	C07K14/705 G01N33/53		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了A型肉毒毒素B细胞抗原表位肽，作为核心的免疫抗原，可有效激发机体免疫保护效应，预防肉毒毒素感染；同时作为特征性抗原标识，可有效识别A型肉毒毒素特异抗体，将人肉毒毒素感染血清型中A型与其它型甄别。这些短肽与全毒素抗原、重组毒素抗原具有相同或相似的功能，更具有制备工艺简单、成本低、无毒副作用、与其它血清型肉毒毒素抗原无交叉的特点，而且消除了类毒素抗原易引起的过敏反应，克服了全毒素抗原或重组抗原血清型间交叉反应的问题，具有良好的应用前景。本发明同时提供了这些短肽以及具有相同特征的蛋白质、多肽及其组合物在肉毒毒素感染诊断、新型肽疫苗制备中以及作为抗肉毒毒素药物筛选靶标的用途。

