



(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 105294849 B

(45)授权公告日 2019.09.20

(21)申请号 201510641728.7

G01N 33/53(2006.01)

(22)申请日 2015.09.29

C07K 16/28(2006.01)

(65)同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 105294849 A

(43)申请公布日 2016.02.03

(73)专利权人 中山大学

地址 510275 广东省广州市海珠区新港西路135号

(72)发明人 黄军就 松阳洲 林卓桁

(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.

C07K 14/47(2006.01)

C12N 15/12(2006.01)

(56)对比文件

Okazaki, Y. et al..Analysis of the mouse transcriptome based on functional annotation of 60,770 full-length cDNAs.《Nature》.2002,第420卷第563-573页.

Carninci, P. et al..unnamed protein product [Mus musculus].《GenBank: BAC26859.1》.2010,全文.

审查员 段珊

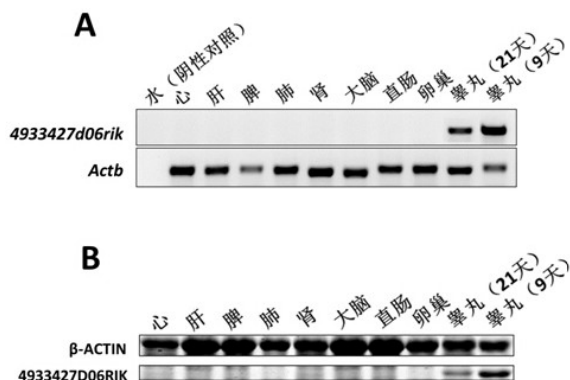
权利要求书1页 说明书6页
序列表3页 附图6页

(54)发明名称

小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK及其抗体和应用

(57)摘要

本发明公开了一种小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK及其抗体和应用。所述抗原4933427D06RIK由4933427d06rik基因(序列如SEQ ID NO.1所示)编码得到,其氨基酸序列如SEQ ID NO.2所示,并特异性表达于睾丸中精原干细胞表面。本发明所述4933427D06RIK蛋白特异性的表达于睾丸中精原干细胞表面,利用该蛋白制备出相应的抗体,可成功定位精原干细胞,进而可利用流式细胞术等方法高效分离出表达4933427D06RIK蛋白的SSCs细胞,从而实现SSCs细胞的识别、分离和纯化,为SSCs细胞的培养、诱导分化、移植等科研或临床应用提供支持。



1. 4933427D06RIK蛋白在作为小鼠精原干细胞特异性抗原方面的应用,其特征在于,所述4933427D06RIK蛋白的氨基酸序列如SEQ ID NO.2所示,所述应用是指用于制备精原干细胞特异性识别抗4933427D06RIK蛋白抗体。

2. 权利要求1中所述4933427D06RIK蛋白在制备能够特异性识别、分离和/或纯化精原干细胞的制剂中的应用。

3. 一种精原干细胞特异性识别抗小鼠4933427D06RIK蛋白的抗体,其特征在于,是利用权利要求1中所述4933427D06RIK为抗原制备得到。

4. 根据权利要求3所述抗体,其特征在于,所述抗体为多克隆抗体。

5. 根据权利要求4所述抗体,其特征在于,其制备方法包括如下步骤:

S1. 原核表达和纯化4933427D06RIK蛋白;

S2. 免疫家兔,获得含抗小鼠4933427D06RIK蛋白的多克隆抗体的血清;

S3. 纯化血清,获得纯化的抗小鼠4933427D06RIK蛋白的多克隆抗体。

6. 权利要求3~5任一所述抗体在制备能够特异性的识别、分离和/或纯化精原干细胞的制剂方面的应用。

小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK及其抗体和应用

技术领域

[0001] 本发明属于细胞分离纯化技术领域。更具体地,涉及小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK及其抗体和应用。

背景技术

[0002] 男性不育症的发生率为14%左右,是目前生殖医学面临的重要问题之一,精原干细胞(Spermatogonial stem cells,SSCs)是雄性动物体内一类具有自我更新和分化产生精子能力的细胞群;SSCs的研究发展治疗男性不育提供了新的策略和方法。精原干细胞是维持精子发生的基础,也是成体哺乳动物体内唯一一种被证明能够将遗传信息传递给下一代的细胞。

[0003] 成功识别、分离、纯化精原干细胞是进行细胞培养、诱导分化、移植等科研或临床应用的前提。利用抗体通过流式细胞术可以高效分离出表达某种蛋白的细胞,而该方法的关键与核心是蛋白的选择及其抗体的制备。

[0004] 现有的研究显示,小鼠精原干细胞能够表达THY1、GFRa1、CD9等细胞表面蛋白,细胞表面分子是SSCs分选理想的标记物,但是,这些已知的分子并非在SSCs特异性表达;比如,THY1是熟知的淋巴细胞标记物,因此会严重影响SSCs的分离纯化效果。由于目前缺乏对精原干细胞的特异性分子标记物的认识,无法对SSCs进行准确鉴别、分离和纯化。

发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是克服上述现有技术的缺陷和不足,提供一种小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK,该蛋白特异性的表达于睾丸中的精原干细胞表面,利用该蛋白制备出相应的抗体,可成功定位精原干细胞,进而可利用流式细胞术等方法高效分离表达4933427D06RIK蛋白的SSCs细胞,从而实现SSCs细胞的识别、分离和纯化,为SSCs细胞的培养、诱导分化、移植等科研或临床应用提供支持。

[0006] 本发明的目的是提供一种小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK。

[0007] 本发明另一目的是提供利用所述抗原4933427D06RIK制备的精原干细胞特异性识别抗体。

[0008] 本发明的再一目的是提供所述小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK及其抗体在小鼠精原干细胞的特异性识别、分离、纯化中的应用。

[0009] 本发明上述目的通过以下技术方案实现:

[0010] 一种4933427d06rik基因,该基因特异性表达于小鼠睾丸中精原干细胞表面,该基因的序列如SEQ ID NO.1所示。

[0011] 一种小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK,由上述4933427d06rik基因编码得到,其氨基酸序列如SEQ ID NO.2所示,并特异性表达于睾丸中精原干细胞表面。

[0012] 所述4933427D06RIK特异性的表达于睾丸中精原干细胞表面,因此可作为精原干细胞的标示物,应用于精原干细胞的识别、分离和/或纯化。

[0013] 因此,所述抗原4933427D06RIK在作为精原干细胞的标示物中的应用,即所述抗原4933427D06RIK在特异性识别、分离和/或纯化精原干细胞方面的应用,均在本发明的保护范围之内。

[0014] 另外,利用上述抗原4933427D06RIK制备得到的精原干细胞特异性识别抗体4933427D06RIK,也在本发明的保护范围之内。

[0015] 具体优选地,所述精原干细胞特异性识别抗体4933427D06RIK为多克隆抗体。

[0016] 作为一种可实施的优选方案,该抗体的制备方法包括如下步骤:

[0017] S1. 原核表达和纯化4933427D06RIK蛋白;

[0018] S2. 免疫家兔,获得含小鼠4933427D06RIK蛋白多克隆抗体的血清;

[0019] S3. 纯化血清,获得纯化的小鼠4933427D06RIK蛋白多克隆抗体。

[0020] 更具体地,制备方法如下:

[0021] S1. 将4933427d06rik基因编码区克隆进pDEST17载体,转化BL21感受态细菌;待细菌生长至对数生长期前期,以0.5mM IPTG诱导表达6×His-4933427D06RIK融合蛋白,37℃诱导4小时后离心收集菌体;

[0022] S2. 以PBS将菌体重悬,超声裂解BL21细菌,离心取裂解液上清。通过镍柱纯化6×His-4933427D06RIK融合蛋白,以咪唑溶液洗脱蛋白;以SDS-PAGE确定蛋白浓度与纯度;将纯度高于80%的蛋白用于下一步实验;

[0023] S3. 纯化后的蛋白用于免疫家兔,多次免疫一个半月后,获得含小鼠4933427D06RIK蛋白多克隆抗体的血清;

[0024] S4. 将6×His-4933427D06RIK融合蛋白共价偶联于AminoLink Plus Coupling Resin;以等体积TBS稀释血清与抗原柱孵育纯化血清,最后以pH2.50.2M甘氨酸洗脱得到抗体。

[0025] 得到的抗体立刻以1M Tris-HCl pH9.0中和至pH8.0;浓缩并添加等体积甘油于-20℃保存。

[0026] 另外,取上述获得的纯化后的6×His-4933427D06RIK融合蛋白进行SDS-PAGE,转印至NC膜;用S4中得到的纯化抗体进行孵育,以IRDye 680驴抗兔IgG (H+L) 抗体作为二抗,用Odyssey双色红外激发光成像系统检测并记录。

[0027] 本发明利用该抗体,通过流式细胞术等方法,可分离出表达4933427D06RIK蛋白的精原干细胞(该阳性细胞类群高表达精原干细胞自我更新的标志基因,而低丰度表达精原干细胞分化的标志基因)。

[0028] 因此,所述精原干细胞特异性识别抗体4933427D06RIK在特异性的识别、分离和/或纯化精原干细胞方面的应用,也都在本发明的保护范围之内。

[0029] 本发明具有以下有益效果:

[0030] 本发明公开了一种小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK及其抗体和应用。所述抗原4933427D06RIK由4933427d06rik基因(序列如SEQ ID NO.1所示)编码得到,其氨基酸序列如SEQ ID NO.2所示,并特异性表达于睾丸中精原干细胞表面。

[0031] 本发明提供的4933427D06RIK蛋白特异性的表达于睾丸中精原干细胞表面,利用该蛋白制备出相应的抗体,可成功定位精原干细胞,进而可利用流式细胞术等方法,可高效分离表达4933427D06RIK蛋白的SSCs细胞,分离得到的SSCs细胞类群可以用于培养、扩增

等,从而实现SSCs细胞的识别、分离和纯化,为SSCs细胞的培养、诱导分化、移植等科研或临床应用提供支持,进而SSCs的研究发展为治疗男性不育提供新的策略和方法。

附图说明

[0032] 图1为4933427d06rik基因(A)及其蛋白的表达情况;图中,A为4933427d06rik基因在各个组织的表达情况,B为蛋白在各个组织的表达情况。

[0033] 图2为4933427d06rik基因和plzf基因的表达随小鼠日龄增长的变化趋势;图中。

[0034] 图3为4933427D06RIK蛋白、PLZF蛋白、GFRa1蛋白、GATA4蛋白阳性细胞在曲细精管上的定位;图中,A为4933427D06RIK以及PLZF蛋白、B为GFRa1蛋白、C为GATA4蛋白,D为其细胞重叠性统计。

[0035] 图4为利用4933427D06RIK抗体进行流式细胞分选4933427D06RIK阳性细胞的结果。

[0036] 图5为4933427D06RIK阳性细胞类群的plzf,bcl6b,etv5等精原干细胞自我更新相关基因表达情况。

[0037] 图6为4933427D06RIK阳性细胞类群的c-kit,sohlh1,sohlh2等精原细胞分化基因表达情况。

[0038] 图7为4933427D06RIK阳性细胞类群在体外培养体系中的生长情况。

[0039] 图8为抗体用Odyssey双色红外激发光成像系统检测的记录图。

具体实施方式

[0040] 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。

[0041] 除非特别说明,以下实施例所用试剂和材料均为市购。

[0042] 实施例1 4933427d06rik基因及其蛋白的表达情况

[0043] 1、实验方法

[0044] 取小鼠睾丸组织于Trizol中,苯-氯仿法提取RNA,反转录为cDNA。设计上下游引物进行PCR,产物进行凝胶电泳分析。

[0045] 取小鼠睾丸组织于蛋白裂解液中裂解,离心后取上清,加入上样缓冲液,进行SDS-PAGE电泳。随后将蛋白质样品转印至NC膜上,孵育对应的一抗、二抗,用Odyssey双色红外激发光成像系统检测并记录。

[0046] 2、结果如图1和2所示,4933427d06rik基因及其蛋白在睾丸中特异性表达,4933427d06rik基因和plzf基因的表达随小鼠日龄增长的变化趋势近似。

[0047] 实施例2免疫荧光实验

[0048] 1、利用免疫荧光实验检测4933427D06RIK阳性细胞在曲细精管上的定位,以及该细胞类群与其他标志蛋白的关系。

[0049] 免疫荧光实验的方法如下:

[0050] 将小鼠睾丸组织——曲细精管片段置于4%多聚甲醛中固定15min,再用PBS洗两次,置于水平摇床5min,加入10%FBS封闭1h;孵一抗4℃过夜,实验第二天用封闭液清洗三

次,每次10min,再在室温下孵育二抗1-2h;PBST洗一次,置于水平摇床5min,Hoechst33343染色5min,PBS洗一次,置于水平摇床5min;加封片液,涂指甲油封片,荧光显微镜检测。

[0051] 2、结果如附图3所示,所述的4933427D06RIK蛋白,其标记的细胞类群,与小鼠精原干细胞标记蛋白PLZF,在不同发育时期均高度重叠。

[0052] 4933427D06RIK蛋白标记的细胞类群,与As、Apr精原细胞标记蛋白GFRa1,随小鼠周龄增大而重叠比例下降

[0053] 4933427D06RIK蛋白标记的细胞类群,与睾丸体细胞标记蛋白GATA4,几乎没有重叠。

[0054] 实施例3制备4933427D06RIK多克隆抗体

[0055] 制备方法

[0056] S1.将4933427d06rik基因编码区克隆进pDEST17载体,转化BL21感受态细菌。待细菌生长至对数生长期前期,以0.5mM IPTG诱导表达6×His-4933427D06RIK融合蛋白,37℃诱导4小时后离心收集菌体。

[0057] S2.以PBS将菌体重悬,超声裂解BL21细菌,离心取裂解液上清。通过镍柱纯化6×His-4933427D06RIK融合蛋白,以包含咪唑溶液洗脱蛋白。以SDS-PAGE确定蛋白浓度与纯度。将纯度高于80%的蛋白用于下一步实验。

[0058] S3.纯化后的蛋白用于免疫家兔,多次免疫一个半月后,获得含小鼠4933427D06RIK蛋白多克隆抗体的血清。

[0059] S4.将6×His-4933427D06RIK融合蛋白共价偶联于AminoLink Plus Coupling Resin。以等体积TBS稀释血清与抗原柱孵育纯化血清,最后以pH2.50.2M甘氨酸洗脱得到抗体。得到的抗体立刻以1M Tris-HCl pH9.0中和至pH8.0。浓缩并添加等体积甘油于-20℃保存。

[0060] S5.取纯化后的6×His-4933427D06RIK融合蛋白进行SDS-PAGE,转印至NC膜;用S4中得到的纯化抗体进行孵育,以IRDye 680驴抗兔IgG (H+L) 抗体作为二抗,用Odyssey双色红外激发光成像系统检测并记录。得到的图如附图8所示。

[0061] 实施例4流式细胞术分离4933427D06RIK阳性细胞

[0062] 1.利用流式细胞术,分离4933427D06RIK阳性细胞,表达各种精原干细胞标志基因,而不表达分化精原细胞的标志基因。

[0063] 流式细胞分选实验方法如下:

[0064] (1)用0.25%胰酶和DNaseI将小鼠睾丸组织消化成单细胞悬液,10%FBS终止消化;

[0065] (2)离心去除上清,在冰上孵育一抗30min;

[0066] (3)10%FBS洗两次,冰上孵育二抗30min;

[0067] (4)10%FBS洗两次;

[0068] (5)流式检测前5min加入Hoechst33343,进行流式检测;

[0069] (6)流式分选时,以SSC/FSC设门,去除细胞碎片和部分死细胞;以Hoechst33343通道设门,去除死细胞;以PE-A通道设门,分离4933427D06RIK阳性或阴性细胞类群。

[0070] 2、结果如附图4所示,利用4933427D06RIK抗体进行流式细胞分选,分离出4933427D06RIK阳性细胞。

[0071] 3、对分离出的4933427D06RIK阳性细胞类群的相关基因表达情况进行检测。结果如附图5和6所示,分离得到的4933427D06RIK阳性细胞类群表达plzf,bcl6b,etv5等精原干细胞自我更新相关基因(图5),而低表达c-kit,sohlh1,sohlh2等精原细胞分化基因(图6)。

[0072] 实施例5 4933427D06RIK阳性细胞类群的体外培养

[0073] 1、检测4933427D06RIK阳性细胞类群在体外培养体系中的生长情况。具体方法如下:

[0074] (1) 按照下表配制SSCs无血清培养基:

[0075]

试剂	浓度
基础培养基 MEMa	-
牛血清白蛋白	0.2%
HEPES	10mM
L-谷氨酰胺	2mM
青霉素/链霉素	1×
β -巯基乙醇	50 μ M
转铁蛋白	10 μ g/ml

[0076]

腐胺	60 μ M
胰岛素	5 μ g/ml
亚麻酸	425.6 μ M
十八烯酸	1018.4 μ M
棕榈油酸	212.8 μ M
亚油酸	2705.6 μ M
软脂酸	2356.0 μ M
硬脂酸	5844.4 μ M
亚硒酸钠	30nM
GDNF	20ng/ml
GFRa1	150ng/ml
bFGF	10ng/ml

[0077] (2) 选择对数生长期的MEF,在培养基中加入丝裂霉素C处理2~3h。处理结束后,用PBS清洗细胞两次后,加入4933427D06RIK阳性细胞群,以SSCs无血清培养基培养。

[0078] 2、结果如附图7所示,该细胞类群可以在体外培养体系中形成克隆。

[0079] 综上所述研究表明,4933427D06RIK蛋白特异性的表达于睾丸中的精原干细胞表面,利用该蛋白制备出相应的抗体,可成功定位精原干细胞,进而可利用流式细胞术等方法,可高效分离表达4933427D06RIK蛋白的SSCs细胞,从而实现SSCs细胞的识别、分离和纯化,为SSCs细胞的培养、诱导分化、移植等科研或临床应用提供支持。

[0001]	SEQUENCE LISTING					
[0002]	<110>	中山大学				
[0003]	<120>	小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK及其抗体和应用				
[0004]	<130>					
[0005]	<160>	2				
[0006]	<170>	PatentIn version 3.3				
[0007]	<210>	1				
[0008]	<211>	2621				
[0009]	<212>	DNA				
[0010]	<213>	4933427d06rik基因序列				
[0011]	<400>	1				
[0012]	gaatcccget	ctccttgca	ggaggacttc	cctttcgcta	gggcagactc	accggaagct 60
[0013]	cactcaggca	caagttctct	ctagctgagc	tgccgtgct	cctcctcctc	ctcttcccag 120
[0014]	gtgattgatt	ccagcttggt	tcaagttgac	agacagacaa	acaaacaaaa	acaggagaga 180
[0015]	agaatctgac	ggagacctca	tggcagaagg	cccaagtcca	agtcagcttc	cctctgagat 240
[0016]	gcccgatcaa	gactcagatg	agcgacctgg	agagcaaggt	gatccctgtg	tggacaaca 300
[0017]	agaccagtg	gaagtagacg	agcctaaaga	gtcaggccag	cctgccagac	ccattgctta 360
[0018]	tgtacgttcg	cagaggtctg	agcccacaga	gcccacagag	ccagccggag	ctgcaggacg 420
[0019]	tcatgctggt	agaggaaacg	atgaagaaca	aagagcttac	cctggaaggc	agagacggag 480
[0020]	gtggaggcag	aggcagaggc	agaggcagtg	ggcagagaca	ggcagccact	cacaggcagc 540
[0021]	cttcaggag	tggcaggaac	cctctgagga	actggttcta	cagacatact	tcagccacag 600
[0022]	tgaagaaaca	ggggctgcca	tgaacctgta	tcccaccttg	actccagtag	tccctgtgcc 660
[0023]	agcagggatg	gcccagtggc	cacctatagt	ttatgggtac	tgggctgcca	tggctacct 720
[0024]	cccctatgtt	accttcatcc	ctgtggccaa	catagtcccg	tgttcatgt	cattcagggc 780
[0025]	ccccatgttc	ttagcctaca	tcccttggtg	actggtatcc	cttggtgctg	gccctccctg 840
[0026]	gctatgtttg	tttcccctga	ggaggaggaa	agcttacagt	tgaaaagggt	tattctttct 900
[0027]	catagtttag	gttccagttc	atcccagcca	ggaaccagg	taccagcac	ttacagctgg 960
[0028]	tcttgacaca	ccccaaatca	gaagcacgaa	tgcacctag	gtccccagat	ggcttttagat 1020
[0029]	ttggtgacat	tgacagttaa	cactaacat	tagactat	gtccctcctg	ggtttattat 1080
[0030]	ttgaaaaaaa	atatttttat	ggtccagtg	ccccttaaca	cttccccctc	ccacttctc 1140
[0031]	tctctattct	atttttttta	aatctgtca	tacagcctca	aatgcatgac	tctgggatca 1200
[0032]	tccactagag	tatggataac	taatactgca	gaaaaatgac	tctattctat	ttttttaaaa 1260
[0033]	atctgtcata	cagcctcaaa	tgcattgact	tgggatcatc	cactagagta	tggataacta 1320
[0034]	atactgcaga	aaaatgactc	tctctccta	gcaaccatca	ttcaccacca	gcaacttagc 1380
[0035]	tgggggtgga	gcctcatgag	ccccctccc	atccatgctg	caatgggtgac	tggcttgaac 1440
[0036]	ttgcagcata	aggttttccc	aggaatttta	taccctcagg	gaaatggagt	gatgctgtac 1500
[0037]	ccctgaaatc	gtgtatttgt	gtatagaaag	agcaagttac	agagctcagg	tgggaattggg 1560
[0038]	atgcaagatt	acagatttga	accaacaacg	gatgggactg	aacatctgat	agccccgact 1620

[0039]	atcacagagg ggagccagga aggaagcaaa cggccccaga agccgaccca gccgtgccta	1680
[0040]	gagctgggga ggatgagtgt atgtatgtat gaagttctct gaagcaggat atcctgatgt	1740
[0041]	ggacccttat agtttggagg cagcagtagc tgttgctgaa tagtagtagt agtagtagta	1800
[0042]	gtagtagtag tagtagtagt agtactagtt gttgttgttg tttttactat gatatcttat	1860
[0043]	tgtgtgtatc tgtgtgggca tgtatgtggc acagtctgtc tatggaggtc agaggacaac	1920
[0044]	ttgcagagac agctcttaaat ttttaccctg tgcagaccg agccttgaac ccaggcctgt	1980
[0045]	aggcttggca gaacgttttt accggaagca ctgtcccacc agcccaggat ccccaagtga	2040
[0046]	gttgaaaggc actagaagtt cagactagat tgaaaatgag taagtcaaag aaaattggac	2100
[0047]	aaattgaaca aaaggcacgg gggtttatga aaggaaacaa agagagttag ccacatttaa	2160
[0048]	aacaccgagt aagaggctgg gcgatagtgg cgcacacctt taatcccage acttgtgagg	2220
[0049]	cagaggcagg tggatctttg ttaattctat gccaacctgg tctgcagagt tacatgatga	2280
[0050]	gacctgtctc aacagaaggc taagtgtgga atagtttgggt aataatagcc ttttggcctc	2340
[0051]	agtgagaata ttttaaatgt cttctctctc tttttttttt tttaattatc attaatggga	2400
[0052]	atttctgtc agttttctca tggatgtctc tgatcaagtt aaaatagttc ctgtcttcag	2460
[0053]	tactcctaaa ggtgaattat aaattggatt ttgtatttat gaagtttgta tttgtttcta	2520
[0054]	agaaaaatgt ccaagaagag tttttatcat gaatcttgt atgtgtgtgt gtgtgtgtag	2580
[0055]	ttaactatcc ttttaataaa atcctcctct tgggctttgg t	2621
[0056]	<210> 2	
[0057]	<211> 203	
[0058]	<212> PRT	
[0059]	<213> 4933427D06RIK蛋白氨基酸序列	
[0060]	<400> 2	
[0061]	Met Ala Glu Gly Pro Ser Pro Ser Gln Leu Pro Ser Glu Met Pro Asp	
[0062]	1 5 10 15	
[0063]	Gln Asp Ser Asp Glu Arg Pro Gly Glu Gln Gly Asp Pro Cys Val Glu	
[0064]	20 25 30	
[0065]	Gln Gln Asp Pro Val Glu Val Asp Glu Pro Lys Glu Ser Gly Gln Pro	
[0066]	35 40 45	
[0067]	Ala Arg Pro Ile Ala Tyr Val Arg Ser Gln Arg Ser Glu Pro Thr Glu	
[0068]	50 55 60	
[0069]	Pro Thr Glu Pro Ala Gly Ala Ala Gly Arg His Ala Gly Arg Gly Asn	
[0070]	65 70 75 80	
[0071]	Asp Glu Glu Gln Arg Ala Tyr Pro Gly Arg Gln Arg Arg Arg Trp Arg	
[0072]	85 90 95	
[0073]	Gln Arg Gln Arg Gln Arg Gln Trp Ala Glu Thr Gly Ser His Ser Gln	
[0074]	100 105 110	
[0075]	Ala Ala Phe Gln Glu Trp Gln Glu Pro Ser Glu Glu Leu Val Leu Gln	
[0076]	115 120 125	
[0077]	Thr Tyr Phe Ser His Ser Glu Glu Thr Gly Ala Ala Met Asn Leu Tyr	

[0078]	130	135	140
[0079]	Pro Thr Leu Thr Pro Val Val Pro Val Pro Ala Gly Met Ala Gln Trp		
[0080]	145	150	155 160
[0081]	Pro Pro Ile Val Tyr Gly Tyr Trp Ala Ala Met Ala Thr Tyr Pro Tyr		
[0082]	165	170	175
[0083]	Val Thr Phe Ile Pro Val Ala Asn Ile Val Pro Cys Phe Met Ser Phe		
[0084]	180	185	190
[0085]	Arg Ala Pro Met Phe Leu Ala Tyr Ile Pro Trp		
[0086]	195	200	

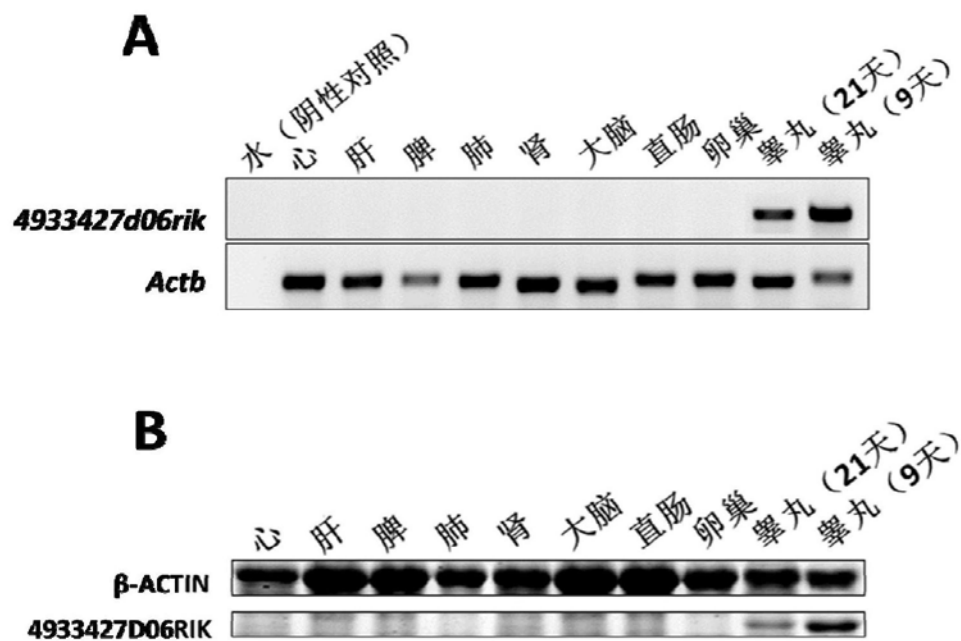


图1

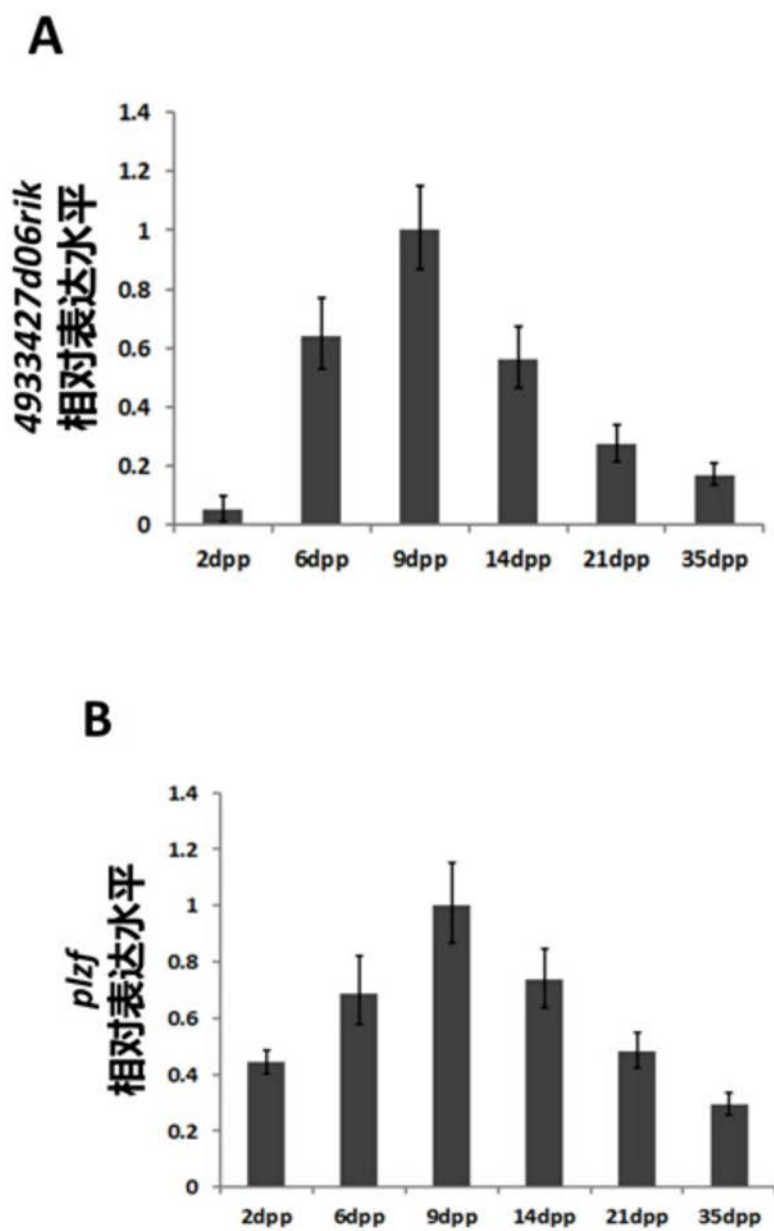


图2

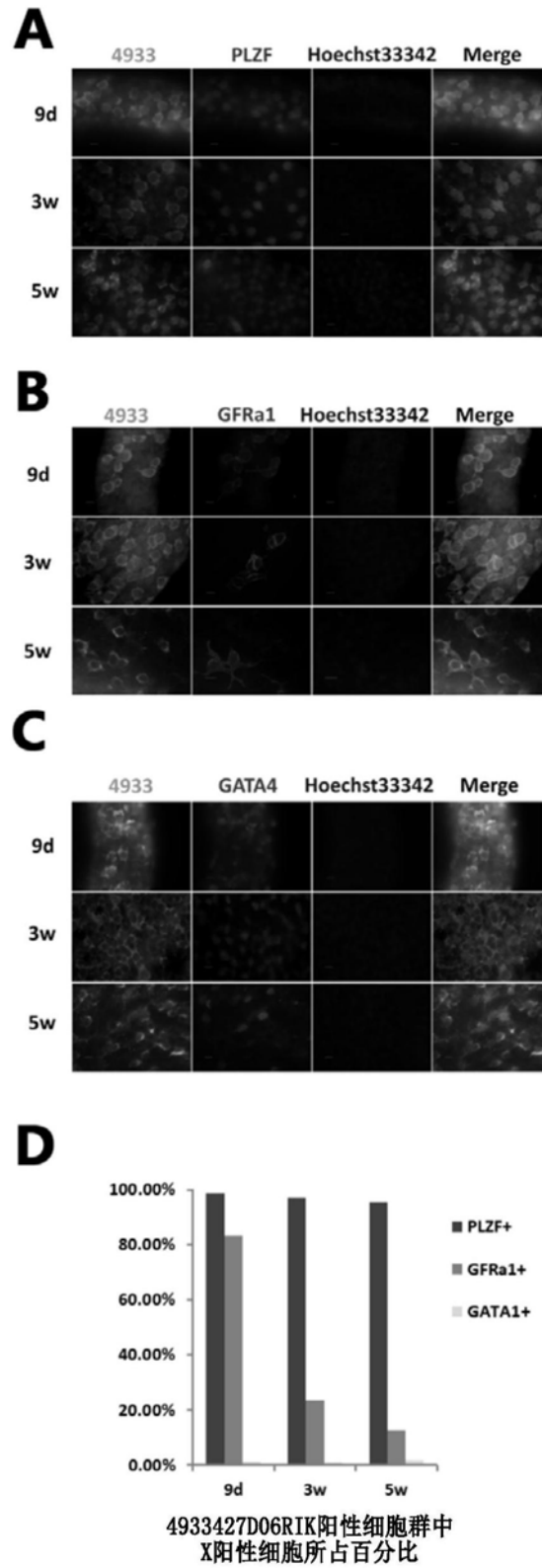


图3

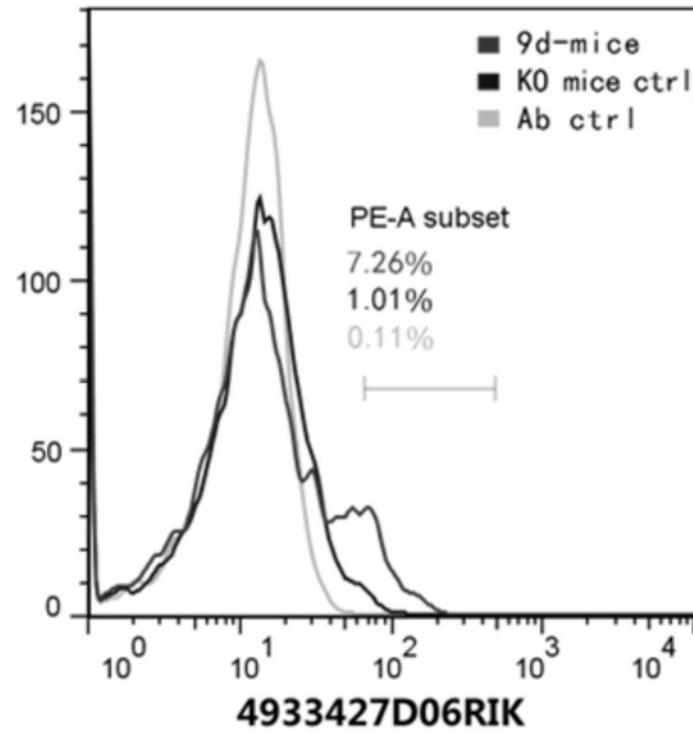


图4

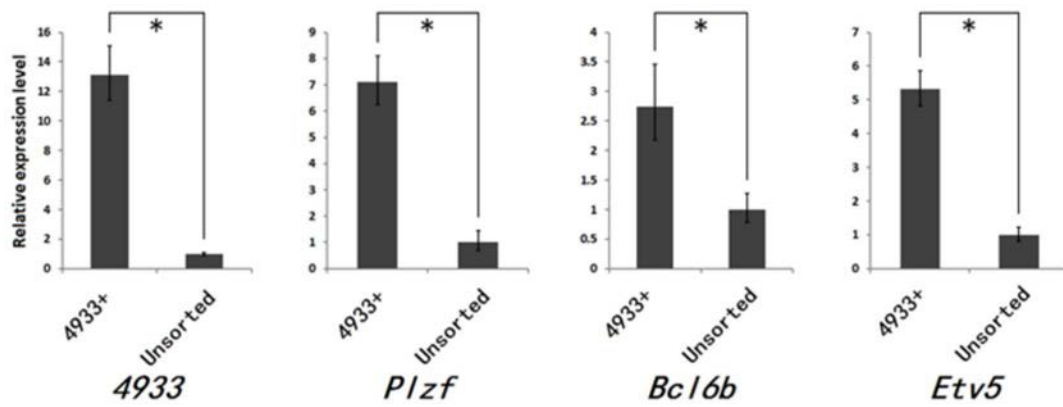


图5

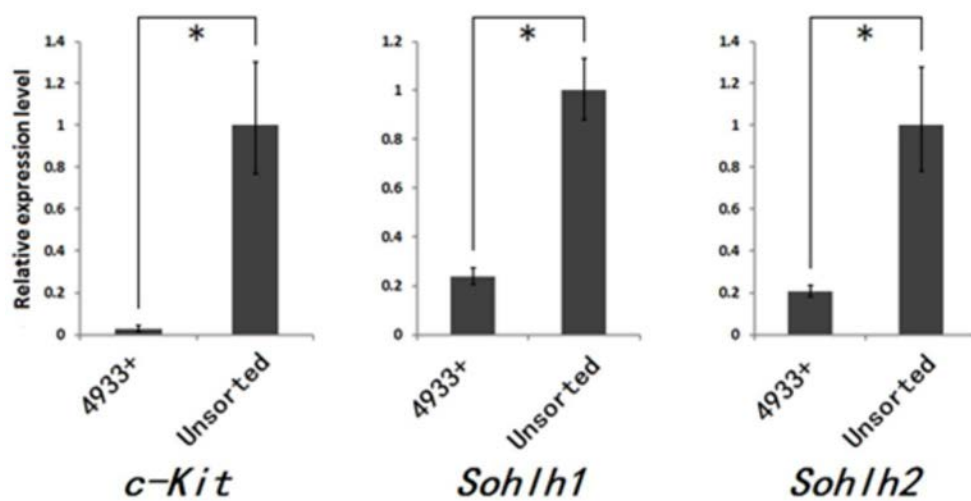


图6

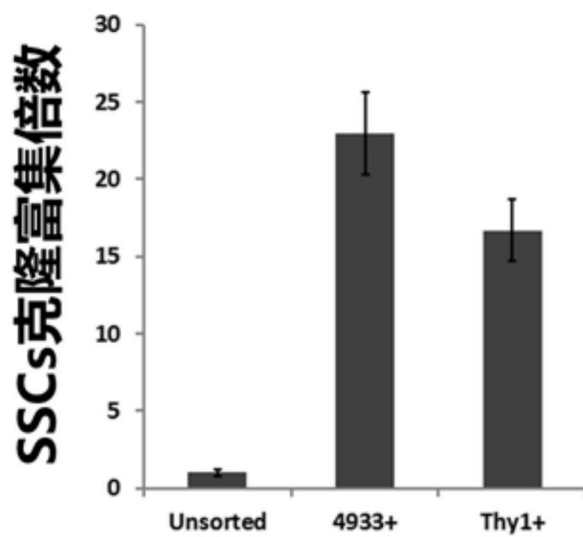
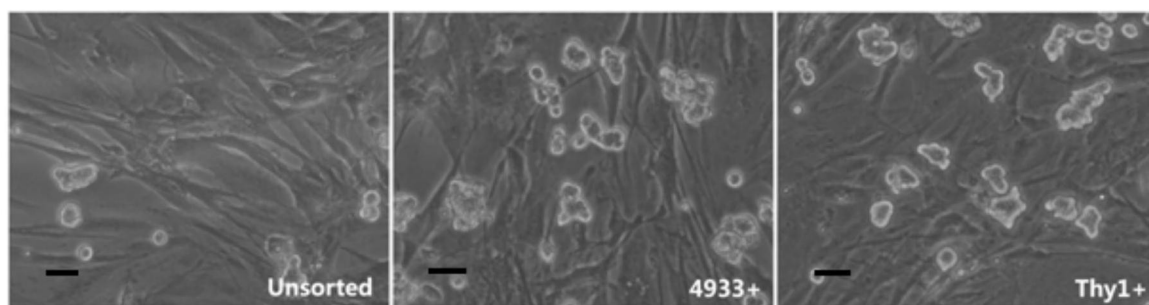


图7

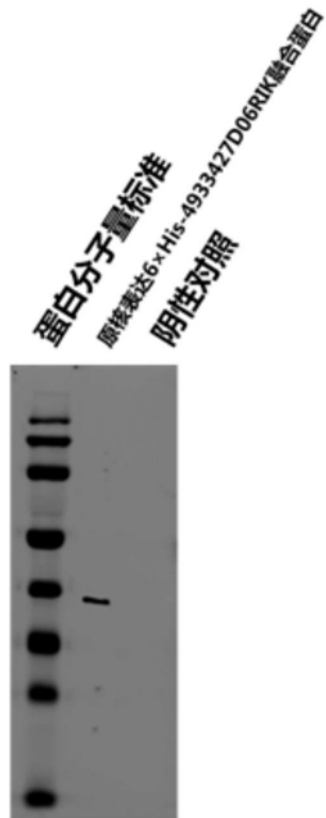


图8

专利名称(译)	小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK及其抗体和应用		
公开(公告)号	CN105294849B	公开(公告)日	2019-09-20
申请号	CN201510641728.7	申请日	2015-09-29
[标]申请(专利权)人(译)	中山大学		
申请(专利权)人(译)	中山大学		
当前申请(专利权)人(译)	中山大学		
[标]发明人	黄军就 松阳洲 林卓桁		
发明人	黄军就 松阳洲 林卓桁		
IPC分类号	C07K14/47 C12N15/12 G01N33/53 C07K16/28		
代理人(译)	陈卫		
审查员(译)	段珊		
其他公开文献	CN105294849A		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种小鼠精原干细胞特异性抗原4933427D06RIK及其抗体和应用。所述抗原4933427D06RIK由4933427d06rik基因(序列如SEQ ID NO.1所示)编码得到,其氨基酸序列如SEQ ID NO.2所示,并特异性表达于睾丸中精原干细胞表面。本发明所述4933427D06RIK蛋白特异性的表达于睾丸中精原干细胞表面,利用该蛋白制备出相应的抗体,可成功定位精原干细胞,进而可利用流式细胞术等方法高效分离出表达4933427D06RIK蛋白的SSCs细胞,从而实现SSCs细胞的识别、分离和纯化,为SSCs细胞的培养、诱导分化、移植等科研或临床应用提供支持。

