



1. 用于检测样品中是否存在脑脊液的装置,其包含:

样品施加区,

样品标记区,其包含针对 CSF 富集蛋白的第一抗体,其中所述第一抗体与流动颗粒缀合;

样品检测区,其包含针对所述 CSF 富集蛋白的第二抗体,其中将所述第二抗体固定到所述样品检测区,

其中在第二区存在可检测条带指示所述样品中存在脑脊液。

其中所述 CSF 富集蛋白是神经细胞粘附分子样蛋白同工型 1 (SEQ ID NO :1 ;登录号 gi:62088238) ;链 A,与牛胰蛋白酶抑制剂 (Bpti) 复合的人中胰蛋白酶 (SEQ ID NO :2 ;登录号 gi:162330095) ;CNTN2 接触蛋白 -2 前体 (SEQ ID NO :3 ;登录号 gi|4827022) ;CNTN1 接触蛋白 -1 的同工型 2 (SEQ ID NO :4 ;登录号 gi:28373119) ;与 SPARC 样蛋白 1 高度相似的 cDNA (未命名的蛋白质产物) (SEQ ID NO :5 ;登录号 :gi|194388050) ;NRCAM 蛋白 (神经元细胞粘附分子) [人 (Homo sapiens)] 可能的稍长片段 (~96kDa) (登录号 :SEQ ID NO :6 ;gi|68534652 和 SEQ ID NO :7 ;gi|109731501) ;NCAM2 神经细胞粘附分子 2,同工型 CRA\_a (SEQ ID NO :8 ;登录号 gi|119630409) ;SERPINA3 丝氨酸蛋白酶抑制因子肽酶抑制因子,进化枝 A,成员 3 前体 /  $\alpha$  1- 抗胰凝乳蛋白酶的同工型 1/ 生长抑制蛋白 25 [人] 或  $\alpha$  1- 抗胰凝乳蛋白酶前体的稍长片段 (SEQ ID NO :9 ;登录号 gi|46981961) ;AGT 血管紧张肽原 (SEQ ID NO :10 ;登录号 gi|553181) ;血管紧张肽原前体 (丝氨酸蛋白酶抑制因子 A8) (SEQ ID NO :11 ;登录号 gi|4557287) ;未命名的蛋白质产物,也称为免疫球蛋白超家族,成员 4B ;在人中也称为细胞粘附分子 3 (SEQ ID NO :12 ;登录号 gi|187608363) ;cDNA FLJ59893, dickkopf 同源物 3 前体 (SEQ ID NO :13 ;登录号 gi|40548389) ;SERPINF1 丝氨酸 (或半胱氨酸) 蛋白酶抑制因子,进化枝 F ( $\alpha$  -2 抗纤溶酶,色素上皮衍生因子, Pedf), 成员 1 同工型 4 因子 (SEQ ID NO :14 ;登录号 gi|15988024) ;与 GC 维生素 D 结合蛋白相似的人蛋白质,预测为维生素 D 结合蛋白 [黑猩猩 (Pan troglodytes)] (SEQ ID NO :15 ;登录号 181482) ;CD14 人单核细胞抗原 CD14 (CD14) (SEQ ID NO :16 ;登录号 gi|117646212) ;CADM3 人细胞粘附分子 3 (CADM3), 转录变体 1 (SEQ ID NO :17 ;登录号 gi|90080503 ;SEQ ID NO :18 ;gi|187608363 (人) ;神经细胞粘附分子变体 (SEQ ID NO :19 ;登录号 gi:62088238) ;与 CLU cDNA FLJ57622 相似的未命名蛋白质,与簇蛋白高度相似 (SEQ ID NO :20 ;登录号 gi|189054091) ;与簇蛋白高度相似的蛋白质 (SEQ ID NO :21 ;登录号 gi|193787502) ;LMAN2 囊泡整合膜蛋白 VIP36 (SEQ ID NO :22 ;登录号 gi|157834800) ;簇蛋白同工型 1 [人] (SEQ ID NO :23 ;登录号 NM\_001831.2) ;超氧化物歧化酶 3, 细胞外前体 (SEQ ID NO :24 ;登录号 gi|118582275) ;纤维蛋白  $\alpha$  C 端片段 (SEQ ID NO :25 ;登录号 gi|223057) ;链 A, 人激肽释放酶 6 (Hk6) 活化形式或 KLK6 激肽释放酶 6 的同工型 1 (SEQ ID NO :26 ;登录号 gi|21465970) ;APCS 血清淀粉样 P 成分 / 链 A 或五聚体人血清淀粉样 P 成分 (SEQ ID NO :27 ;登录号 gi|576259) ;FAM3C 蛋白 FAM3C/ 序列相似家族 3, 成员 C 前体 [人] note = " 预测的成骨细胞蛋白 ;白介素样 EMT 诱导因子 (SEQ ID NO :28 ;登录号 gi|55629272) ;与未命名蛋白质产物 [食蟹猴 (Macaca fascicularis)] 相似的蛋白质,也称为免疫球蛋白超家族,成员 4B, 在人中也称为细胞粘附分子 3 (SEQ ID NO :29 ;登录号 gi|187608363) ;上述 CSF 抗原的 CSF 富集磷酸化或去磷酸化形式 ;或者两种或更多种上述 CSF 抗原的组合。

2. 权利要求 1 的方法,其中所述装置包含 2 至 10 种不同的抗体,它们每种与不同的 CSF 富集蛋白特异地结合。

3. 权利要求 2 的方法,其中所述装置提供单个的组合结果,或者所述装置对每种抗体提供单独的结果。

4. 权利要求 2 的方法,其中使用低于阈值水平的每种抗体。

5. 权利要求 2 的方法,其中所述装置包含 4 至 10 种不同的抗体,它们每种与不同的 CSF 富集蛋白特异地结合,而且其中阳性测试不需要与所有抗体结合。

6. 权利要求 1 的方法,其还包括对所述样品中 CSF 富集蛋白的水平进行定量。

7. 权利要求 1 的方法,其中所述针对 CSF 富集蛋白的第一抗体与所述 CSF 富集蛋白中的翻译后修饰结合。

8. 检测样品中是否存在 CSF 的方法,其包括:

将所述样品与对 CSF 富集蛋白特异的结合伴侣接触,以及

检测结合伴侣-CSF 富集蛋白复合物是否存在,其中可检测复合物的存在指示所述样品中存在 CSF;

其中所述 CSF 富集蛋白是神经细胞粘附分子样蛋白同工型 1 (SEQ ID NO :1 ;登录号 gi:62088238) ;链 A,与牛胰蛋白酶抑制剂 (Bpti) 复合的人中胰蛋白酶 (SEQ ID NO :2 ;登录号 gi:162330095) ;CNTN2 接触蛋白 -2 前体 (SEQ ID NO :3 ;登录号 gi|4827022) ;CNTN1 接触蛋白 -1 的同工型 2 (SEQ ID NO :4 ;登录号 gi:28373119) ;与 SPARC 样蛋白 1 高度相似的 cDNA (未命名的蛋白质产物) (SEQ ID NO :5 ;登录号 :gi|194388050) ;NRCAM 蛋白 (神经元细胞粘附分子) [人 (Homo sapiens)] 可能的稍长片段 (~ 96kDa) (登录号 :SEQ ID NO :6 ;gi|68534652 和 SEQ ID NO :7 ;gi|109731501) ;NCAM2 神经细胞粘附分子 2,同工型 CRA\_a (SEQ ID NO :8 ;登录号 gi|119630409) ;SERPINA3 丝氨酸蛋白酶抑制因子肽酶抑制因子,进化枝 A,成员 3 前体 /  $\alpha$  1- 抗胰凝乳蛋白酶的同工型 1/ 生长抑制蛋白 25 [人] 或  $\alpha$  1- 抗胰凝乳蛋白酶前体的稍长片段 (SEQ ID NO :9 ;登录号 gi|46981961) ;AGT 血管紧张肽原 (SEQ ID NO :10 ;登录号 gi|553181) ;血管紧张肽原前体 (丝氨酸蛋白酶抑制因子 A8) (SEQ ID NO :11 ;登录号 gi|4557287) ;未命名的蛋白质产物,也称为免疫球蛋白超家族,成员 4B ;在人也称为细胞粘附分子 3 (SEQ ID NO :12 ;登录号 gi|187608363) ;cDNA FLJ59893, dickkopf 同源物 3 前体 (SEQ ID NO :13 ;登录号 gi|40548389) ;SERPINF1 丝氨酸 (或半胱氨酸) 蛋白酶抑制因子,进化枝 F ( $\alpha$  -2 抗纤溶酶,色素上皮衍生因子, Pedf), 成员 1 同工型 4 因子 (SEQ ID NO :14 ;登录号 gi|15988024) ;与 GC 维生素 D 结合蛋白相似的人蛋白质,预测为维生素 D 结合蛋白 [黑猩猩 (Pan troglodytes)] (SEQ ID NO :15 ;登录号 181482) ;CD14 人单核细胞抗原 CD14 (CD14) (SEQ ID NO :16 ;登录号 gi|117646212) ;CADM3 人细胞粘附分子 3 (CADM3), 转录变体 1 (SEQ ID NO :17 ;登录号 gi|90080503 ;SEQ ID NO :18 ;gi|187608363 (人) ;神经细胞粘附分子变体 (SEQ ID NO :19 ;登录号 gi:62088238) ;与 CLU cDNA FLJ57622 相似的未命名蛋白质,与簇蛋白高度相似 (SEQ ID NO :20 ;登录号 gi|189054091) ;与簇蛋白高度相似的蛋白质 (SEQ ID NO :21 ;登录号 gi|193787502) ;LMAN2 囊泡整合膜蛋白 VIP36 (SEQ ID NO :22 ;登录号 gi|157834800) ;簇蛋白同工型 1 [人] (SEQ ID NO :23 ;登录号 NM\_001831.2) ;超氧化物歧化酶 3, 细胞外前体 (SEQ ID NO :24 ;登录号 gi|118582275) ;纤维蛋白  $\alpha$  C 端片段 (SEQ ID NO :25 ;登录号 gi|223057) ;链 A,

人激肽释放酶 6 (Hk6) 活化形式或 KLK6 激肽释放酶 6 的同工型 1 (SEQ ID NO :26 ;登录号 gi |21465970) ;APCS 血清淀粉样 P 成分 / 链 A 或五聚体人血清淀粉样 P 成分 (SEQ ID NO :27 ;登录号 gi |576259) ;FAM3C 蛋白 FAM3C/ 序列相似家族 3, 成员 C 前体 [ 人 ]note = " 预测的成骨细胞蛋白 ;白介素样 EMT 诱导因子 (SEQ ID NO :28 ;登录号 gi |55629272) ;与未命名蛋白质产物 [ 食蟹猴 (*Macaca fascicularis*) ] 相似的蛋白质, 也称为免疫球蛋白超家族, 成员 4B, 在人中也称为细胞粘附分子 3 (SEQ ID NO :29 ;登录号 gi |187608363) ;上述 CSF 抗原的 CSF 富集磷酸化或去磷酸化形式 ;或者两种或更多种上述 CSF 抗原的组合。

9. 权利要求 8 的方法, 其中所述结合伴侣包含可检测标记。

10. 权利要求 9 的方法, 其还包括对所述样品中结合伴侣 -CSF 富集蛋白复合物进行定量。

11. 权利要求 8 的方法, 其中所述结合伴侣是抗体, 而且检测包括差异性抗体结合。

12. 权利要求 8 的方法, 其中所述结合伴侣是抗体而且检测包括原位免疫测定。

13. 权利要求 8 的方法, 其中所述样品是组织、血液、血清、血浆、尿液、鼻和耳流出物、唾液、汗液或泪液。

14. 权利要求 8 的方法, 其中所述样品来自怀疑有脑损伤的个体。

15. 权利要求 8 的方法, 其包括将所述样品与 2 至 10 种不同抗体接触, 每种所述抗体与不同的 CSF 富集蛋白特异地结合。

16. 权利要求 15 的方法, 其中使用低于阈值水平的每种抗体。

17. 权利要求 8 的方法, 其中所述结合伴侣是抗体, 而且所述测定包括将所述样品与 4 至 10 种不同抗体接触, 每种所述抗体与不同的 CSF 富集蛋白特异地结合, 而且其中阳性测试不需要与所有抗体结合。

18. 权利要求 8 的方法, 其中所述结合伴侣是与所述 CSF 富集蛋白中的翻译后修饰相结合的抗体。

19. 检测体液、组织或微生物中的反应物的方法, 其包括 :

将所述体液、组织或微生物与两种或更多种抗体接触, 其中每种抗体与所述反应物中的抗原特异地反应,

其中与单种抗体的反应不指示所述反应物的阳性测试, 以及

其中与所述两种或更多种抗体的反应指示所述反应物的阳性测试。

20. 权利要求 19 的方法, 其中所述两种或更多种抗体与 CSF 富集蛋白结合, 而且所述测试适于指示样品中 CSF 的存在。

## 免疫鉴定脑脊液的装置和方法

[0001] 与相关申请的交叉引用

[0002] 本申请是 2009 年 8 月 7 日提交的美国临时申请 No. 61/232, 033 (其通过整体引用并入本文) 的正式申请。

[0003] 公开领域

[0004] 本公开内容涉及样品中是否存在脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 的检测, 其通过检测与在其他体液中的水平相比在 CSF 中富集的一种或更多种蛋白质来进行。本文描述了用于检测来自跨种族、年龄、性别、健康状态和遗传变异的广泛人群的混合体液样品中是否存在脑脊液的装置和方法。

[0005] 背景

[0006] 脑脊液 (CSF) 或脑脊髓液 (liquor cerebrospinalis) 存在于蛛网膜下腔以及围绕并穿过中枢神经系统 (CNS) 的腔室中。脑和脊髓浸泡于 CSF 中, CSF 向神经元和胶质提供水分、营养、代谢废物的去除和静液冲击的缓冲。CSF 通过扩散、胞饮和主动转运的组合过程通过侧脑室和第四脑室的脉络丛从动脉血中产生。该流体还包含产生自神经元和胶质的成分。在通过脑室系统扩散至蛛网膜下腔后, 大部分 CSF 经硬脑膜静脉丛被蛛网膜颗粒重吸收进入血流。每天产生约 500ml 的脑脊液; 成人的总体积为 140-150ml, 总 CSF 每 6-8 小时更新。在整个 CNS 中 CSF 与硬脑膜连接。大部分流体在吻端 CNS 产生, 而且大部分最终在尾端脊髓排出, 形成吻端至尾端的净流体流。CSF 是等渗混合物, 大部分成分为盐、葡萄糖、蛋白质和水。来自腰区 (lumbar region) 的 CSF 含有 15 至 45mg/dl 蛋白质 (0.3-1% 血清蛋白质浓度) 和 50-80mg/dl 葡萄糖 (60% 血液葡萄糖)。脑池和脑室 CSF 中的蛋白质浓度较低。

[0007] CSF 中的蛋白质类型可以分为两类: 构成健康个体 CSF 的主要成分的血液来源蛋白, 以及脑来源蛋白。CSF 中约 20% 的蛋白质来源于脑实质, 但其中只有一部分是脑特有的。

[0008] 尽管事实上大部分脑脊液蛋白质也存在于血清中, 但是多种蛋白质来源是 CSF 特有的:

[0009] 从神经元和胶质细胞释放的蛋白质, 例如 tau 蛋白、S-100 和神经元特异性烯醇酶 (neuron-specific enolase, NSE)。

[0010] 从软脑膜 (leptomeninges) 释放的蛋白质, 例如  $\beta$ -微量蛋白 ( $\beta$ -trace protein) 和抑半胱氨酸蛋白酶蛋白 C (cystatin C)。

[0011] 在脉络丛中进行合成期间被糖基化或磷酸化差异性修饰的蛋白质, 例如运甲状腺素蛋白 (transthyretin, TTR)、血管紧张肽 II 和胰岛素样生长因子 II。

[0012] CSF 和血浆的蛋白质谱有很大的重合, 有相当数目的蛋白质是 CSF 特有的, 或者在 CNS 中通过磷酸化或糖基化独特地修饰。

[0013] 设计侧向流测试 (Lateral Flow Test) (或者也称为侧向流免疫色谱测定或试条测试) 来快速检测异质基质中是否存在给定分析物。目前市场上有多种侧向流测试用于家用测试、即时测试 (point of care testing) 或实验室使用, 例如怀孕测试 (例如

FirstResponse<sup>®</sup>, ClearBlue<sup>®</sup>)、HIV 测试 (例如 OraQuick ADVANCE<sup>®</sup>, Clearview<sup>®</sup> Complete) 或衣原体测试 (例如 Clearview<sup>®</sup> Chlamydia, inSTIcheck<sup>™</sup> Chlamydia)。

[0014] 需要与 HIV 测试 (如 OraQuick ADVANCE<sup>®</sup>或 Clearview<sup>®</sup> Complete) 类似的适于检测 CSF 的测试:它是即时测试;该测试仅是定性的;操作者使用该测试仅需最低程度的训练;该测试在试片上有内部对照以确认准确取样。

[0015] 概述

[0016] 在一个实施方案中,用于检测样品中是否存在脑脊液的装置包含:

[0017] 样品施加区,

[0018] 样品标记区,其包含针对 CSF 富集蛋白 (CSF-enriched protein) 的第一抗体,其中所述第一抗体与流动颗粒缀合;

[0019] 样品检测区,其包含针对所述 CSF 富集蛋白的第二抗体,其中将所述第二抗体固定到所述样品检测区,

[0020] 其中在第二区存在可检测条带指示所述样品中存在脑脊液。

[0021] 在另一实施方案中,检测样品中是否存在 CSF 的方法包括:

[0022] 将所述样品与对 CSF 富集蛋白特异的结合伴侣 (binding partner) 接触,以及

[0023] 检测结合伴侣-CSF 富集蛋白复合物是否存在,其中可检测复合物的存在指示所述样品中存在 CSF。

[0024] 在上述实施方案中,所述 CSF 抗原是神经细胞粘附分子样蛋白同工型 1 (SEQ ID NO:1;登录号 gi:62088238);链 A,与牛胰蛋白酶抑制剂 (Bpti) 复合的人中胰蛋白酶 (Mesotrypsin) (SEQ ID NO:2;登录号 gi:162330095);CNTN2 接触蛋白-2 前体 (SEQ ID NO:3;登录号 gi|4827022);CNTN1 接触蛋白-1 的同工型 2 (SEQ ID NO:4;登录号 gi:28373119);与 SPARC 样蛋白 1 高度相似的 cDNA (未命名的蛋白质产物) (SEQ ID NO:5;登录号:gi|194388050);NRCAM 蛋白 (神经元细胞粘附分子) [人 (Homo sapiens)] 可能的稍长片段 (~96kDa) (登录号:SEQ ID NO:6;gi|68534652 和 SEQ ID NO:7;gi|109731501);NCAM2 神经细胞粘附分子 2,同工型 CRA\_a (SEQ ID NO:8;登录号 gi|119630409);SERPINA3 丝氨酸蛋白酶抑制因子肽酶抑制因子,进化枝 A,成员 3 前体 /  $\alpha$ 1-抗胰凝乳蛋白酶的同工型 1 / 生长抑制蛋白 25 [人] 或  $\alpha$ 1-抗胰凝乳蛋白酶前体的稍长片段 (SEQ ID NO:9;登录号 gi|46981961);AGT 血管紧张肽原 (SEQ ID NO:10;登录号 gi|553181);血管紧张肽原前体 (丝氨酸蛋白酶抑制因子 (Serpin)A8) (SEQ ID NO:11;登录号 gi|4557287);未命名的蛋白质产物,也称为免疫球蛋白超家族,成员 4B;在人中也称为细胞粘附分子 3 (SEQ ID NO:12;登录号 gi|187608363);cDNA FLJ59893, dickkopf 同源物 3 前体 (SEQ ID NO:13;登录号 gi|40548389);SERPINF1 丝氨酸 (或半胱氨酸) 蛋白酶抑制因子,进化枝 F ( $\alpha$ -2 抗纤溶酶 (antiplasmin),色素上皮衍生因子, Pedf), 成员 1 同工型 4 因子 (SEQ ID NO:14;登录号 gi|15988024);与 GC 维生素 D 结合蛋白相似的人蛋白质,预测为维生素 D 结合蛋白 [黑猩猩 (Pan troglodytes)] (SEQ ID NO:15;登录号 181482);CD14 人单核细胞抗原 CD14 (CD14) (SEQ ID NO:16;登录号 gi|117646212);CADM3 人细胞粘附分子 3 (CADM3), 转录变体 1 (SEQ ID NO:17;登录号 gi|90080503;SEQ ID NO:18;gi|187608363 (人));神经细胞粘附分子变体 (SEQ ID NO:19;登录号 gi:62088238);与 CLU cDNA FLJ57622 相似的未命名蛋白质,与簇蛋白高度相似 (SEQ ID NO:20;登录

号 gi|189054091);与簇蛋白高度相似的蛋白质 (SEQ ID NO:21;登录号 gi|193787502); LMAN2 囊泡整合膜蛋白 (Vesicular integral-membrane protein) VIP36 (SEQ ID NO:22;登录号 gi|157834800);簇蛋白同工型 1 [人] (SEQ ID NO:23;登录号 NM\_001831.2);超氧化物歧化酶 3, 细胞外前体 (SEQ ID NO:24;登录号 gi|118582275);纤维蛋白  $\alpha$  C 端片段 (SEQ ID NO:25;登录号 gi|223057);链 A, 人激肽释放酶 6 (Hk6) 活化形式或 KLK6 激肽释放酶 6 的同工型 1 (SEQ ID NO:26;登录号 gi|21465970);APCS 血清淀粉样 P 成分 / 链 A 或五聚体人血清淀粉样 P 成分 (SEQ ID NO:27;登录号 gi|576259);FAM3C 蛋白 FAM3C/ 序列相似家族 3, 成员 C 前体 [人] note = " 预测的成骨细胞蛋白;白介素样 EMT 诱导因子 (SEQ ID NO:28;登录号 gi|55629272);与未命名蛋白质产物 [食蟹猴 (*Macaca fascicularis*)] 相似的蛋白质, 也称为免疫球蛋白超家族, 成员 4B, 在人中也称为细胞粘附分子 3 (SEQ ID NO:29;登录号 gi|187608363);上述 CSF 抗原的 CSF 富集磷酸化或去磷酸化形式;或者两种或更多种上述 CSF 抗原的组合。

[0025] 在另一实施方案中, 在体液、组织或微生物中检测反应物 (reactant) 的方法包括: 将所述体液、组织或微生物与两种或更多种抗体接触, 其中每种抗体与所述反应物中的抗原特异地反应, 其中与单抗体的反应不指示所述反应物的阳性测试, 以及其中与所述两种或更多种抗体的反应指示所述反应物的阳性测试。

[0026] 附图简述

[0027] 图 1 是侧向流测定。通过滴管或通过直接浸蘸来将分析物添加到试片的左端。液体 (约 75  $\mu$ l) 被吸过试片到达右端。缀合物垫包含与可视颗粒 (即金或胶乳微球) 结合的可溶 IgG。如果分析物溶液含有分析物, 抗体缀合并且复合物沿试片迁移。混合物首先接触测试试片, 其包含针对所述分析物的固定化抗体。然后分析物、可溶第一和可视标签与测试线结合。如果不存在分析物, 可溶成分流过测试线。无论是否存在分析物, 与指示剂结合的过量可溶 IgG 与结合至固定化抗球蛋白 IgG 相结合, 所述抗球蛋白 IgG 与对照试片结合。

[0028] 图 2 显示 CSF 检测的多抗原方法的优势。上图显示多种测试条件的单抗原测定结果, 下图显示多抗原测定的结果。沿 X 轴的柱表示不同的测定条件, Y 轴表示测定显示的免疫反应性程度。上方阴影区表示在侧向流测定的测试线上有阳性比色反应。免疫反应性进入阴影区的测定产生阳性测试结果。柱 1: 上图的 CSF 柱表明单个抗原的免疫反应性足以产生阳性测试结果。或者在多抗原图 (下方) 中, 每个产生部分信号的抗原组合累积产生阳性测定结果。柱 2: 被血液污染的 CSF 产生类似的阳性反应, 具有较小但叠加的血液免疫反应性 (上方粗边柱)。柱 3: 异常 CSF/ 血液样品, 其中抗原 1 免疫反应性弱。在单个抗原测定中, 测定产生假阴性, 但由于其他 5 种抗原的免疫反应性未减弱, 多抗原测定仍高于测定阈值。柱 4: 不具抗原 1 的免疫反应性的 CSF/ 血液。与柱 3 的结果相同。柱 5: 无 CSF 但血液中含有交叉反应性抗原。在这种情况下, 单个抗原测定产生加阳性, 但是由于单个抗原的免疫反应性不足以在多抗原测定中产生阳性信号, 测定产生正确的阴性结果。柱 6: 无 CSF 但抗原 1 的血液水平病理性升高。单抗原测定产生与升高的血液水平反应的假阳性。多抗原测定与血液中的病原性抗原 1 水平反应, 但未达到假阳性的阈值。该测定用 5 种抗原 / 抗体 1 / 抗体 2 的混合进行, 但另一些实施方案可以包含 2 至多达 10 种的抗原 / 抗体 1 / 抗体 2 混合。

[0029] 图 3: CSF 和血液蛋白质的二维凝胶电泳。单个试验的实例, 其中对 100  $\mu$ g 的 Cy

标签化 CSF 蛋白 (A) 与 100  $\mu$ g 的 Cy3 标签化血液蛋白 (B) 进行二维分离。A 和 B 是使用不同激发和发射条件的同一凝胶的灰度图。pH 范围为 4-8。C) 是两通道的 RGB 合并, 其中黄色点表示显著重叠。D) 是 CSF 或血液中富集 > 5 倍的点的自动提取。所有样品均 2 次耗尽 (depleted) 主要血清 /CSF 蛋白 (参见方法部分)。

[0030] 图 4: 一些图 3 凝胶所示的 CSF 富集点的液相色谱 - 质谱分析。

[0031] 图 5: CSF 富集蛋白 FLJ55 和 dickkopf 同源物 3 前体 (DKK3)。A) FLJ55 的免疫印迹。针对 FLJ55 的重组片段产生的亲和纯化多克隆兔抗人抗体在 CSF 样品但不在血清样品中在正确的分子量处产生免疫反应性。B) 针对 DKK3 的重组片段产生的亲和纯化多克隆兔抗人抗体也在 CSF 样品但不在血清样品中在正确的分子量处产生免疫反应性。在两种情况下, 过量的血清蛋白以高于血清的水平上样。C) 4 个独立的 CSF 样品表明 DKK2 与不同的亲和纯化抗体的免疫反应性 (左)。5 个血液样品未能产生免疫反应性。泳道 5 的血液有高的非特异性背景。

[0032] 图 6: CSF 中高度富集的血管紧张肽原的磷酸化形式。Cy3 血液 (绿色) 和 Cy5CSF (红色) 的 RGB 合并。我们鉴定出几种在血液中不存在的不重叠的新磷酸化形式 (右边 4 个红色点)。在 CSF 和血液中存在至少 3 个其他组合 (左边 3 个点)。

[0033] 图 7: CSF 特异性翻译后修饰。去除所有经提取蛋白质的二级修饰之前 (上图) 和之后 (中图), CSF 2D 凝胶蛋白质分布图谱的变化。下图的红点指示去除翻译后修饰后, 特定蛋白质信号的降低。

[0034] 图 8: 产生 CSF 检测测试试片的实验流程图。

[0035] 图 9: 磷酸化的 CSF 蛋白。进行单个 DIGE 凝胶电泳, 其中两个样品为耗尽血清蛋白的 CSF。A) 在碱性磷酸酶中孵育了 1 小时的 CSF 样品的 Cy3 标记蛋白质。B) 耗尽了血清蛋白的 CSF 的等同样品, 其未用碱性磷酸酶处理。C) 计算机生成的两个凝胶 (A 相比于 B) 点体积之间的差异 (蓝边)。所有蓝点代表磷酸化的 CSF 蛋白。

[0036] 详述

[0037] 本文描述了与在其他体液中相比在 CSF 中富集的蛋白质, 以及通过检测这些蛋白质来检测样品中是否存在脑脊液 (CSF) 的方法。本文还描述了在跨种族、年龄、性别、健康状况和遗传变异的广泛人群的混合体液样品中检测是否存在 CSF 的装置和方法。用特异性蛋白结合伴侣 (如抗体、配体、受体等) 检测 CSF 富集蛋白。结合伴侣可以是天然或合成的结合伴侣。

[0038] 可以直接或间接地检测结合, 例如用连接至结合伴侣的荧光标记。尽管所包含的几个实施方案使用抗体作为结合伴侣, 应理解可以使用其他结合伴侣替代抗体。

[0039] 在一些实施方案中, 对 CSF 富集蛋白的水平进行定量。该定量对鉴定脑损伤尤其有用。可以使用具有可检测标记之结合伴侣进行定量。“可检测部分”或“标记”是指可通过光谱、光化学、生物化学、免疫化学或化学方式检测的组合物。可用的标记包括  $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$ 、荧光染料、电子致密试剂、酶 (例如 ELISA 中通常使用的)、生物素 - 链霉亲和素、地高辛 (dioxigenin)、可获得抗血清或单克隆抗体的半抗原和蛋白质。可检测部分通常产生可测量的信号, 如可用来对样品中结合的可检测部分的量进行定量的放射活性、生色或荧光信号。可检测部分可以共价地或通过离子、范德华相互作用或氢键掺入或连接至结合伴侣。可检测部分可以被直接或间接地检测。间接检测可以包括将直接或间接第二可检测部分与所

述可检测部分结合。

[0040] 在一些实施方案中,使用侧向流测定使用如对目的 CSF 蛋白特异的抗体进行 CSF 检测。侧向流测定可以是单抗原测定或多抗原测定。在一个实施方案中,多抗原测试使用所有抗原一起提供单个易读结果(即试片测定中的单个条带)。在另一实施方案中,多抗原测定对几种抗原的每个进行定性或定量测试,以给出所存在抗原的更复杂图谱。该图谱可用于测定头部损伤的严重性,即当某些 CSF 特异蛋白质存在时头部损伤严重性低,当另一些 CSF 特异性蛋白质存在时严重性高,或者每种蛋白质的水平均给出损伤程度。

[0041] 单抗原测定

[0042] 尽管许多临床测定已成功地使用了侧向流技术,本文所述的独特和创新方法对该技术有如下扩展:i) 结合单种或多种 CSF 富集蛋白,从而增加测试的敏感性和特异性,和/或 ii) 检测 CSF 特异性翻译后修饰(例如磷酸化)。

[0043] 本文所用 CSF 富集蛋白或者 CSF 抗原或多肽是对 CSF 特异或者与其他体液相比在 CSF 中大量富集的抗原或多肽。表 1 给出了已知在 CSF 中浓度高的几种蛋白质。这些不是本申请鉴定出的蛋白质,尽管在一些实施方案中,它们可以在多抗原测定中与本文鉴定的一种或更多种本文鉴定的蛋白质在测定中组合。

[0044] 表 1

[0045]

蛋白质	MW (kDa)	CSF 浓度	CSF/ 血清比
$\beta$ 微量蛋白	25	16.6mg/l	34 : 1
抑半胱氨酸蛋白酶蛋白 C	13.3	3.1mg/l	5 : 1
Tau 蛋白	55-74	0.2 $\mu$ g/l	10 : 1
S-100B	21	1.5 $\mu$ g/l	18 : 1
NSE	78	8mg/l	1 : 1
运甲状腺素蛋白	55	17mg/l	1 : 18
白蛋白	67	245mg/l	1 : 205
IgG	150	25mg/l	1 : 440

[0046] 本文描述了与在其他体液中的水平相比在 CSF 中以足够的量存在并显著富集的蛋白质,其作为 CSF 的标志物。将在 CSF 合并样品中发现的蛋白质与血液、鼻涕、唾液、汗液、泪液和耳流出物(称为“其他体液”)中的蛋白质相比较。检测了一定年龄范围(1-70 岁)以及来自男性和女性的 CSF。在进行比较性 2D 凝胶电泳之前,处理全部流体以去除在大部分体液中存在的主要血清蛋白质(即白蛋白、IgG 等)。将来自 CSF 和其他体液的剩余蛋白

质用 Cy3 和 Cy5 进行差异标记并在二维 PAGE 上电泳。使用该方法,鉴定出了与在其他体液中相比在 CSF 中高度浓缩的新蛋白质的组。还鉴定了 CSF 富集的二级修饰蛋白质(即磷酸化)。CSF 提取物的去磷酸化证实 CSF 特有的点代表基于磷酸化的等电维度的差异性迁移。

[0047] 在一个实施方案中,在测定中(例如侧向流测定)使用在 CSF 中富集的蛋白质来检测 CSF。侧向流系统由层叠的膜组成,所述膜含有进行测试所需的干燥成份(图 1)。将这些膜组装成小试片,可以将其放置入塑料壳中以更好地操作。将患者的材料上样到样品垫(sample pad)。在全血/毛细血管血液样品的情况下,进行血细胞和血浆的分离。患者样品的液体级分扩散通过包含经标记抗体的缀合物垫(conjugate pad),所述抗体特异地靶向目的分析物。将抗体(缀合物)重新溶解,分析物与金(或胶乳)缀合物特异地结合。分析物-金缀合物复合物进一步扩散通过分析膜(analytical membrane)。在该膜上前后排布两条线:(i) 测试线,包含负责固定分析物-金缀合物复合物的第二组分析物特异性抗体,和(ii) 对照线,固定未结合的金抗体来指示缀合物已经流过测试线。如果获得高于检测限度的目的分析物,则检测线和对照线清晰可见;如果分析物低于检测限度,则在测试期间仅有对照线出现。该快速测试的最后组件是吸收(或接收)垫(wicking(or sink)pad),其简单地收集流出测试系统的流体并防止流体通过测试系统回流。

[0048] 侧向流免疫色谱测定被设计为夹心法测定或竞争性测定。夹心法测定使用针对相同分析物的两种不同抗体,一种对分析物进行染色,一种在测试线浓缩分析物。测试线将对阳性样品显示有色条带。竞争性测定在测试试片上提供已经有颜色的分析物和测试线处针对分析物的一组抗体。样品与提供的有色分析物一起流向测试线并竞争与抗体的结合。测试线将对阴性样品显示有色条带。

[0049] CSF 测定设计说明:

[0050] 当与多种非 CSF 体液混合时,本文所述的测定可用于准确地鉴定痕量的 CSF。这些“其他体液”为,例如鼻和耳流出物、唾液、泪液、汗液、尿液和血液。所述测定旨在将假阳性或假阴性结果减少到最少,无论对象的生理、代谢或病理状态、性别、年龄或种族为何。

[0051] 在一个实施方案中,检测限度是在纯流体或任意上述流体的混合物中 > 5% 的 CSF。可以得到更高的敏感性,但重要的是除增加敏感性外保持特异性。因此,在一些实施方案中,达到 > 1% CSF 的检测限度。

[0052] 多抗原 CSF “组织”测定:

[0053] 在一个实施方案中,所述测定是允许通过同时检测多种 CSF 富集蛋白来检测 CSF 的存在的测定。换言之,所述测试包含 CSF 的两种或更多种标志物以为 CSF 检测提供改进的可信性。与测试单“生物标志物”不同,多标志物测定是稳定的,并且在多种可能和未知环境下提供高选择性和敏感性的正确结果。例如,如果抗体识别非 CSF 流体(即血液)中的抗原,单抗原测定可能产生假阳性。如果测定所测试的抗原在 CSF 中“富集”但对 CSF 并非“特有的”,则异常的高血液水平会产生假阳性。这会产生问题,因为在所有可能的生理、病理、种族、性别、饮食、年龄相关等条件下测试试片以寻找错误结果是不可行的。此外,特定 CSF 抗原的水平可降低到检测水平之下,或者特定的 CSF 抗原可具有罕见的基因型差异,因此在某些人群中降低反应性,从而产生假阴性。这些全部是将测试基于一种 CSF 富集抗原可能产生的问题(见图 2)。在混合体液样品中检测 CSF 的新“多抗原”测定应提供超出单抗原检测的实质性改进。在某些实施方案中,多抗原检测包含针对与其他体液中的水平

相比在 CSF 中富集的 2、3、4、5、6、7、8、9 或 10 种抗原中每种至少一种特异性抗体。在另一些实施方案中,使用对每种抗原特异的至少两种抗体。

[0054] 如本文所述,提取并通过 LC-MS 分析了大量 CSF 富集蛋白点。该方法的原理见图 2。鉴定了几种 CSF 富集抗原,对每种抗原至少生产了两种不同抗体。将两组 IgG 各自的混合物分别添加到测试试片的流动和固定部分(见图 2)。多抗原测定这样进行,即施加当全部抗体分子结合时特定抗原低于检测阈值的抗体浓度。在测定中使用各自低于阈值水平的几种抗体的混合物。当添加 CSF 时,所有抗体结合并累积以产生阳性信号。一种最佳实施方案使用至少 5-6 种不同抗原并且检测阈值为 4,从而缺少单个抗原不会引起假阴性。在一个实施方案中,装置或测试包含 4 至 10 种不同抗体,它们各自特异地结合不同的 CSF 抗原,其中阳性测试不需要结合所有抗体。IgG/ 抗原在测试条上的累积是线性的,并且对各抗体的单独检测使用低于阈值的水平,只有添加其他阳性抗体会产生阳性反应。阳性反应需要累积至少 4 种 IgG/ 抗原,当面临任第一抗体原水平波动时测定将更稳定。当被污染液体中一种抗原的免疫反应性异常增加时,所述测定也将更稳定。1-3 种抗原的人为免疫反应性不会产生阳性测试,因此测试将更稳定并产生更少的假阳性。

[0055] 鉴定 CSF 富集蛋白

[0056] 合并来自 1-40 个个体的 CSF 样品,分析 200  $\mu$  l 合并的样品。合并来自 1-40 个个体的血清样品,分析 1ml 合并的血清。通过重复的亲色和色谱从两种样品中去除血液和 CSF 共有的主要蛋白质(即白蛋白、免疫球蛋白等)。

[0057] 用 GE Healthcare 的 Cy-3 和 Cy-5N- 羟基琥珀酰亚胺酯染料体外标记 50  $\mu$  g 对照蛋白提取物和 50  $\mu$  g 实验蛋白提取物。这些染料根据电荷和质量进行匹配——染料的单正电荷替代蛋白质因修饰赖氨酸或 N 端而缺少的电荷。Cy-3 和 Cy-5 标记的蛋白质共迁移——染料标记使每个样品中的蛋白质增加约 450Da。

[0058] 将对照、实验和内部标准样品混合在一起(即 150  $\mu$  g 的总蛋白质),然后添加等体积的 2 $\times$  样品缓冲液。

[0059] 用再水化缓冲液将体积增加至 450ul。将 Immobiline<sup>TM</sup>(IPG)Drystrips(GE Healthcare)24cm 再水化 10-24 小时,进行等电点聚焦。我们使用了多种不同 pH 范围,包括 3-7、4-7、3.5-4.5、4.0-5.0、4.5-5.5、5.0-6.0、5.5-6.7 和 6-9。在一侧包被有 Gelbond<sup>®</sup> 的 10 英寸宽  $\times$  7.5 英寸高  $\times$  1.0mm 厚的凝胶上进行第二维的 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳。我们使用 12.5% 的聚丙烯酰胺凝胶,其最佳地分离 12-100kD 的蛋白质。

[0060] 在 SDS PAGE 后,紧接着在 GE Healthcare Typhoon<sup>TM</sup>9410 成像仪上用全部 3 种波长同时扫描凝胶(其仍保持在两个玻璃板中间)。扫描后,使用 GE Healthcare DeCyder 软件包的凝胶内差异分析模式(differential in-gel analysis module)对每个颜色通道输出 16bit TIFF 文件进行图像分析。在对点进行检测后(其包含自动背景校正、点体积归一化和体积比计算),将用户定义的“滤尘器(dust filter)”施加到每个凝胶。它的作用是从凝胶中自动去除非蛋白质的点图像,然后重新计算实验参数。

[0061] 移除前面的玻璃板,然后固定凝胶并用 Sypro Ruby 染色,该荧光染料用于引导从凝胶中切取目的点。使用对凝胶中所有蛋白质进行染色的 Sypro Ruby 的原因在于,进行 Cy 染料标记以使掺入的程度对于每摩尔蛋白质的 Cy 染料摩尔数而言  $< 5\%$ 。由于 Cy 染料有约 580Da 的 MW,用 Cy 染料标记的低 MW 蛋白质(例如 10Kd)不会在 SDS PAGE 方向与未标记

的对应物准确地共迁移。

[0062] 用 GE Healthcare DeCyder™ 软件对凝胶图像进行定量,以鉴定待切取并进行基于 MS 之蛋白质鉴定的差异表达蛋白点的“选取名单”。DeCyder™ 软件可以分析任何两个同一凝胶或不同凝胶上的 Cy 染色凝胶图像,将两个图像上的点匹配,然后鉴定差异表达的蛋白质点。DeCyder™ 软件使用 Cy-2 内部标准,自动输出包含 t 检验值的蛋白质表达有统计学显著差异的名单。使用多种标准(包括面积、体积、3D 峰斜率、3D 峰高度和 / 或统计变异)来鉴定差异表达的点。通过软件高亮两个样品中显示不同强度程度的蛋白质点,并进行人工确认。DeCyder™ 软件还用于分析 Sypro Ruby 图像,将用 Sypro 染色发现的点与用 Cy 染料染色鉴定的点相匹配,然后从 Sypro 染色的凝胶图像中选择“选取名单”。

[0063] 将蛋白质点选取名单转移到 Ettan™ Spot Picker 仪器 (GE Healthcare),其自动从凝胶中切取所选的蛋白质点,并将它们转移到 96 孔微滴定板中。

[0064] 然后在 Ettan™ TA 消化器上对切取的蛋白质点进行自动的凝胶内胰酶消化。

[0065] 将每个消化物的等分试样点在(与基质一起)MALDI-MS 靶上。

[0066] 对每个靶获得高质量准确度、自动的 MALDI-MS/MS 谱(使用 Applied Biosystems 4800Tof/Tof 仪器),使用 Mascot 算法对所得的肽质量进行数据库搜索。

[0067] 对未通过该方法鉴定的蛋白质点消化物的剩余等分试样进行纳米喷雾(nanospray)或 LC/MS/MS 分析(Micromass Q-Tof),然后对所得的 MS/MS 谱进行 Sequest 数据库搜索以鉴定样品中存在的蛋白质。

[0068] 将 CSF 富集的蛋白磷酸化位点作为 CSF 测试试片的抗原

[0069] 在鉴定 CSF 富集蛋白的荧光差异凝胶电泳(Fluorescence Difference Gel Electrophoresis, DIGE)过程中,鉴定了在 CSF 中高度富集(即在血液样品中不存在)的在 pH 维分布的点,但是通过 LC-MS 鉴定蛋白质后,发现这些蛋白质中很多实际上存在于血液中,但在凝胶的 pH 维具有不同的图谱(图 6)。相同分子量的规律性间隔点通常表示相同蛋白质的不同磷酸化形式。pH 维的不同且规律的迁移指示  $PO_3^-$  基团负电荷大但量子化(quantal)的特性。在对这些点阵列进行磷酸化肽图谱后,认定事实就是这种情况。这些蛋白质中的几种(包括血管紧张肽原)(图 6)具有高度 CSF 富集的磷酸化。在一些情况下,这些磷酸化位点是丝氨酸 / 苏氨酸磷酸化,另一些情况下它们是酪氨酸磷酸化。总之,选择每个蛋白具有多个 CSF 富集位点的蛋白质(即血管紧张肽原)。由于可以生成仅在磷酸化时识别单个表位的抗体,在本文所述的测定中包含磷酸化位点来作为抗原。这些磷酸化表位作为候选是吸引人的,因为它们非常普遍,而且在单个蛋白质上存在 2 个 CSF 富集磷酸化位点使得可以制造针对不同位点的抗体对,将它们分别用于试片的流动和固定区以获取阳性反应的双磷酸化。我们进行 DIGE 电泳比较已用碱性磷酸酶去磷酸化的 CSF 蛋白(图 9)。这鉴定出了本文列出的在 CSF 中被差异性磷酸化的蛋白质。

[0070] 使用 2 维 DIGE 凝胶电泳然后通过胰酶消化和 LC-MS 来鉴定抗原。在电泳之前通过亲和柱去除血液和 CSF 中的主要蛋白质。这些蛋白质在体液中普遍存在(即白蛋白、免疫球蛋白等)。我们将所有样品过柱两次以去除 14 种主要血清蛋白质。我们在凝胶上对来自 1-2ml 全血的提取蛋白质和来自 200  $\mu$ l CSF 的蛋白质进行电泳。这富集了血液蛋白质以确保我们鉴定的蛋白质是在 CSF 中富集的。使用 Cy3 或 Cy5 荧光标记来自 CSF 的蛋白质。与之相反,血液蛋白质分别用 Cy5 或 Cy3 标记。然后混合样品,并上样到 2 维 PAGE 凝胶。

进行多种不同的凝胶电泳,它们集中于分子量维(Y维)和pH维(X维)的不同区域。凝胶电泳之后,通过自动化的计算机程序对可见差异性荧光标记的蛋白质的强度进行量化和比较。机械自动收集在CSF中富集至少5倍的那些点,用胰酶消化并通过LC-MS分析。将肽分子量与公开的数据库进行比较。选择富集的蛋白质作为候选,使用标准分子生物学方法在细菌中生产组氨酸标记的重组蛋白质,或者通过合成产生对应于蛋白质特定区域的肽。商业公司使用所提供的抗原生产单克隆和多克隆抗体。使用溴化氰活化柱通过标准柱技术进行亲和纯化,使用重组蛋白质进行免疫。通过胰酶和胰凝乳蛋白酶消化,然后通过LC-MS和磷酸化肽测定来鉴定CSF特异抗原。

[0071] 如下进行CSF富集抗体的确认:在SDS-PAGE上分离分离体积的全部体液蛋白质,转移到硝化纤维素膜,先用针对抗原的第一抗体进行免疫印迹,然后用HRP标记的第二抗体进行免疫印迹,然后进行ECL定量。与在更大体积的全血、鼻和耳流出物、泪液、唾液或汗液中水平相比,在CSF中的免疫反应性>5倍的抗原被选择。测试20至30个不同个体的体液样品中的每种抗原。从保证纯度的商业实验室购得流体样品或者直接采集。被测试体液的个体范围为:年龄从婴儿至老年(75岁),男性和女性,以及几种常见的病理状态(即晚期糖尿病、冠状动脉病、哮喘等)。

[0072] 为了鉴定具体抗原的磷酸化状态,如上所述进行二维凝胶,但生成3种标记的蛋白质级分(Cy2、Cy3和Cy5):CSF、全血和CSF蛋白,其中标记前在额外的步骤中通过碱性磷酸酶去除所有蛋白质的磷酸化。然后比较去磷酸化和正常CSF通道之间的差异。收集去磷酸化后消失以及在血液蛋白质荧光通道中不存在的点并进行测序。通过磷酸化肽和磷酸化氨基酸分析,体外磷酸化重组蛋白质和蛋白质片段和与磷酸化特异抗体的免疫反应性来对磷酸化位点进行确定性鉴定。

[0073] 抗体被选择用于测试试片后,通过使用重组抗原的纯样品测定稀释曲线来测定每种抗体的相对亲和力。这将指导待加入测试试片的抗体的混合。

[0074] 在一个实施方案中,本文包括在床边或伤员分类点(triage site)快速测试体液、手术部位或伤口是否存在脑脊液的装置和方法。在另一实施方案中,提出了允许检测血液、血浆或血清样品中的CSF富集蛋白以作为中枢神经系统(CNS)伤口、缺口或损伤之指示的测试。测试可以包含本文所述的一种或多种抗原作为CNS损伤的标志物。本文描述了新鉴定的CSF特异或富集抗原,它们可以单独或组合使用来检测多种(从儿童至老年)个体的CSF,而无需考虑可改变体液成分的疾病、个人习惯或个体遗传变异情况。

[0075] 在一个实施方案中,本文包括在样品(例如被怀疑含有脑脊液的样品)中检测脑脊液的装置,其中所述装置包含对上述一种或更多种CSF抗原特异的一种或更多种抗体。可以组合使用CSF抗原以提高信噪比,并且克服不同体液中上述抗原表达有个体差异的问题。在一些实施方案中,多抗原检测提供超过单CSF富集抗原检测的敏感性和选择性。

[0076] 在一个实施方案中,本文描述了在样品(例如被怀疑含有脑脊液的样品)中检测脑脊液的装置,其中所述装置包含对一种或更多种CSF抗原特异的一种或更多种抗体,所述CSF抗原为翻译后修饰状态,该状态对脑脊液特异,并且能通过翻译后修饰与其他体液中的相同抗原区分开。

[0077] 在一些实施方案中,本文描述了在样品(例如被怀疑含有脑脊液的样品)中检测脑脊液的装置,其中所述装置包含对一种或更多种CSF抗原特异的一种或更多种抗体,所

述 CSF 抗原为磷酸化状态,该状态对脑脊液特异,并且能通过磷酸化与其他体液中的相同抗原区分开。

[0078] 使用本文所公开的装置进行测试的样品可以获取自人体的不同部位,例如可能有 CSF 渗漏的手术部位(即头、颈、耳、咽、鼻或脊椎手术);硬脑膜外注射或脊椎抽液部位;或者可发生脑膜破损(即头、颈、脊髓、鼻腔、鼻、耳、咽、颅骨等)或受伤当事人显示出可能有脑膜破损或中枢神经系统严重损伤之征兆的区域中的损伤部位;或硬脑膜外注射、脊椎注射或脊椎抽液部位。本文鉴定的抗原尤其是脑损伤的良好标志物。另外的样品包括唾液和尿液样品。

[0079] 进行 2D-DIGE 研究以比较人 CSF 和血清的成分的独特方法得到了对 CSF 特异或在其中高度富集的多种抗原。对这些抗原特异的抗体是 CSF 在体液或伤口、手术或注射部位存在的标志物,CSF 在这些部位的存在是不正常的,并且潜在地威胁患者或外伤受害者的健康或生命。

[0080] 在一些实施方案中,上述 CSF 抗原具有翻译后修饰,如磷酸化、糖基化、SUMO 化(sumoylation)、泛素化、脂化、亚硝基化、酰化、类泛素化(neddylation),其中这些对 CSF 形式的抗原特异的翻译后修饰可用于侧向流测定、Western 印迹、ELISA 或免疫沉淀。

[0081] 在一些实施方案中,可以在任意的多种测定(侧向流、western 印迹、ELISA 或免疫沉淀)中使用多抗原,可以包括检测简单抗原(即未修饰抗原)的抗体与检测翻译后修饰抗原(如以上所述)的抗体的组合。

[0082] 在一个实施方案中,使用抗体测定样品中是否含有指示 CSF 是否存在的与 CSF 存在相关之多肽。抗体结合可以通过以下来检测,例如放射免疫测定、ELISA(酶联免疫吸附测定)、“夹心法”免疫测定、免疫放射性测定(immunoradiometric assay)、表面等离子共振、免疫细胞化学、免疫组织化学、凝胶扩散沉淀反应、免疫扩散测定、原位免疫测定(例如使用胶体金、酶或放射同位素标记)、western 印迹、沉淀反应、凝集测定(例如凝胶凝集测定、血凝素测定等)、补体结合测定(complement fixation assay)、免疫荧光测定、蛋白 A 测定和免疫电泳测定等。可以使用酶学、生色、荧光、生物发光、发光、有色胶乳珠、胶体金和/或银的方法进行抗体结合的检测。

[0083] 在一个实施方案中,通过检测第一抗体上的标记来检测抗体结合。在另一实施方案中,通过检测第二抗体或针对第一抗体的试剂的结合来检测第一抗体。在又一实施方案中,标记第二抗体。本领域已知许多在免疫测定中检测结合的方法。

[0084] 在一些实施方案中,使用自动化的检测测定。免疫测定的自动化方法包括美国专利 No. 5,885,530、4,981,785、6,159,750 和 5,358,691(每个均通过引用并入本文)中描述的那些。在一些实施方案中,分析和结果的提供也是自动化的。例如,在一些实施方案中,软件根据所使用的免疫测定的结果生成与特定多肽存在相关的分数和样品中存在 CSF 的可能性。

[0085] 在另一些实施方案中,免疫测定描述于美国专利 No. 5,599,677 和 5,672,480,它们每个通过引用并入本文。

[0086] 本文提供了分离的抗体或抗体片段(例如 Fab 片段、Fab<sub>2</sub> 片段等)。可以生成抗体以检测与 CSF 存在相关之多肽。使用多种与 CSF 存在相关之多肽、合成肽和/或重组蛋白质及其片段制备抗体。在一个实施方案中,免疫原是 CSF 存在相关之多肽、合成肽和/

或重组蛋白质,以生成识别与 CSF 存在相关之多肽的抗体。在一个实施方案中,抗体对天然或“折叠”蛋白质有反应性。在另一实施方案中,抗体对变性蛋白质(包括用去污剂增溶蛋白质)有反应性。这些抗体包括但不限于多克隆、单克隆、嵌合、单链、Fab 片段、Fab 表达文库或重组(例如嵌合、人源化等)抗体,前提是其可识别蛋白质。可以根据常规抗体或抗血清制备方法是用蛋白质或肽作为抗原生成抗体。

[0087] 使用多种方法生成靶向与 CSF 存在相关之多肽的多克隆抗体。对于抗体的生成,通过用与 CSF 存在相关之多肽、合成肽和 / 或重组蛋白质或其片段来注射免疫多种宿主动物,包括但不限于兔、小鼠、大鼠、绵羊、山羊、鸡、驴等。在一个具体的实施方案中,将肽与免疫原性载体(例如白喉类毒素、牛血清白蛋白(BSA)或匙孔帽贝血蓝蛋白(keyhole limpet hemocyanin, KLH))缀合。可以根据宿主物种使用多种佐剂来增加免疫应答,包括但不限于弗氏(完全或不完全)、矿物凝胶(例如氢氧化铝)、表面活性物质(例如溶血卵磷脂、普卢兰尼克多元醇类(pluronic polyols)、聚苯胺、肽、油乳剂、匙孔帽贝血蓝蛋白、二硝基苯酚,以及可用的人佐剂如 BCG(卡介苗)和短小棒杆菌)。

[0088] 对于靶向与 CSF 存在相关之多肽、合成肽和重组蛋白质的单克隆抗体的制备,考虑了本文可用通过培养的持续细胞系来提供抗体分子产生的技术。这些包括但不限于起初由 Kohler 和 Milstein 开发的杂交瘤技术,以及生产人单克隆抗体的三体瘤(trioma)技术、人 B 细胞杂交瘤技术和 EBV 杂交瘤技术。

[0089] 在另一些实施方案中,在无菌动物中生产单克隆抗体。此外,考虑了通过人杂交瘤或通过用 EBV 病毒体外转化 B 细胞来生产人抗体。

[0090] 此外,考虑使用被描述用于生产单链抗体的技术来生产单链抗体。一个另外的实施方案使用被描述用于构建 Fab 表达文库的技术来快速简便地鉴定具有期望特异性的单克隆 Fab 片段。

[0091] 在另一些实施方案中,考虑使用针对与 CSF 存在相关之多肽的重组抗体或其片段。重组抗体包括但不限于人源化和嵌合抗体。生成重组抗体的方法是本领域已知的。

[0092] 考虑使用适于生成抗体片段的技术来生成包含抗体分子的独特型(idiotype)(抗原结合区)的抗体片段。例如,这种片段包括但不限于:可以通过用胃蛋白酶消化抗体分子来产生的 F(ab')<sub>2</sub> 片段;可以通过还原 F(ab')<sub>2</sub> 片段的二硫桥产生的 Fab' 片段,以及可以通过用木瓜酶和还原剂处理抗体分子来产生的 Fab 片段。

[0093] 在一个实施方案中,通过检测第一抗体上的标记来检测抗体结合。在另一实施方案中,通过检测第二抗体或试剂与第一抗体的结合来检测第一抗体。在另一实施方案中,标记第二抗体。可以提供无任何免疫方案使用之载体分子的免疫原性肽。例如,如果肽与 KLH 缀合,它可以在筛选测定中与 BSA 缀合或直接使用。

[0094] 上述抗体可用于本领域已知的方法中,所述方法涉及与 CSF 存在相关之多肽的定位和结构(例如 Western 印迹)、在适合的生物样品中测量其水平等。可以使用抗体来检测个体生物样品中的与 CSF 存在相关之多肽。所述生物样品是生物流体,例如但不限于组织、血液、血清、血浆、尿液、鼻和耳流出物、唾液、汗液、泪液等。在一个实施方案中,样品来自被怀疑有脑损伤(例如运动、车祸、军事行动和摩托车车祸造成的轻微外伤性头部损伤)的个体。在损伤的严重程度为轻微至中度的情况下所述测试最有用。较严重的头部损伤包括穿刺性损伤,其通常已经获得所需水平的医疗关注。诊断外伤性脑损伤通常需要短神经测试

(short neurological exam, GCS)。轻微至中度损伤的精确诊断在没有近期的损伤前测试的情况下有时难于客观地鉴定。其他损伤或治疗(镇静剂、麻醉剂等)可干扰测试。本发明的抗原组合可以是可用其来对头部损伤的存在和严重性“采指纹”的“生物标志物”。在血液或其他体液(汗液、尿液、唾液等)中定性或定量检测这些抗原的亚组合是否存在的快速测试可以与 GCS 或任意这种神经测试联合使用来测量损伤的严重性。通常轻微至中度头部损伤的严重性以及当事人继续参与剧烈活动(即继续参与体育运动、继续工作或开车、继续留在战场、继续在战斗中担任领导、操作重型机械等)的程度未知。正常情况下仅在 CSF 中富集的血液负载物(blood borne)或分泌蛋白的更客观测试将代表损伤的诊断性测试。

[0095] 然后可以使用适合的策略(例如 ELISA 或放射免疫测定)和方式(例如微孔板、蘸棒(例如在国际专利公开 WO 93/03367 中描述的)等)直接测试生物样品中与 CSF 存在相关之多肽的存在。或者,可以对样品中的蛋白质进行大小分离(例如通过聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE),在存在或不存在十二烷基硫酸钠(SDS) Triton、Nonidet(或其他离子或非离子去污剂)的情况下),CSF 抗原的存在可以通过免疫印迹(western 印迹)检测。免疫印迹技术通常对对应于蛋白质表位的肽所产生的抗体更为有效,因此特别适于本公开内容。

[0096] 上述相关步骤可以在例如荧光或比色测定中定性或定量地实施。

[0097] 试剂盒和装置

[0098] 还提供了用于检测样品是否包含与 CSF 存在相关之多肽的试剂盒和装置。诊断试剂盒和装置以多种方式生产。在一些实施方案中,试剂盒和装置包含特异地检测与 CSF 存在相关之多肽的至少一种试剂。在一些具体的实施方案中,试剂盒和装置包含检测与 CSF 存在相关之多肽的多种试剂。在另一些实施方案中,试剂是优先结合与 CSF 存在相关之多肽的抗体。所述测试可以从对多种抗原的多个(2-10)测试中产生指示 CSF 存在的单个结果,或者每个测试可以产生不同的明确结果,它们可以被解释为指示 CSF 是否存在。

[0099] 在一些实施方案中,所述试剂盒或装置包含测定样品是否包含与 CSF 存在相关之多肽的说明。在一些具体的实施方案中,所述说明具体指出通过检测来自对象的样品中是否存在与 CSF 存在相关之多肽来测定是否存在 CSF。

[0100] 在一些实施方案中,所述试剂盒和装置包含辅助试剂,如缓冲剂、蛋白质稳定剂和信号产生系统(例如,荧光产生系统如 FRET 系统)。测试试剂盒或装置以适合的方式包装,通常按照需要将成分和进行测试的说明书放置在一种容器或多种容器中。在一些实施方案中,所述试剂盒或装置还包含阳性对照样品。在另一些实施方案中,所述试剂盒或装置包含比较性参照物质,其根据强度、色谱或指示剂的其他物理特性来显示与 CSF 存在相关之多肽是否存在。

[0101] 对可用于诊断 CSF 之健康保健中的快速、可重复、敏感和简单的诊断测试的需要非常重要。这样的测试有超过现有实验室测试(即免疫固定电泳、酶联免疫吸附测定(ELISA)和免疫印迹)的明显优势,即其可以在患者身边立即进行,在几分钟时间内给出结果,而不是将样品送至实验室分析所需要的几天时间。侧向流免疫色谱测试可用于制造在生物流体中检测 CSF 的诊断试剂盒。

[0102] 在一个实施方案中,装置包含含有第一区和第二区的固相,所述第一区包含适于结合 CSF 抗原的流动指示剂,所述第二区包含适于结合 CSF 抗原的固定指示剂。

[0103] 在一个实施方案中,侧向流装置包含测试试片,其任选地具有塑料测试盒。将抗体

连接到膜上的三个不同区域；样品区 (S)，其包含针对与 CSF 存在相关之多肽的第一单克隆抗体；测试区 (T)，其包含针对与 CSF 存在相关之多肽的第二单克隆或多克隆抗体，其被固定到膜上；和对照区 (C)，其包含对照抗体，例如固定的兔抗小鼠抗体。样品 (S) 区的第一单克隆抗体可以与流动颗粒（例如有色胶乳颗粒或金颗粒）缀合。或者，将第一单克隆抗体与生色指示剂缀合，如荧光分子或标签（绿色荧光蛋白 (GFP) 或 FP 同源物突变体和其他天然 GFP 样荧光和有色蛋白质、荧光素（及同源物）、罗丹明（及同源物）、Cy3、Cy5、Cy2、Cy7、Cy8、Alexa<sup>®</sup>染料、德克萨斯红等）。

[0104] 采用基于使用两种单克隆抗体的免疫色谱测试制成一个示例性装置。将样品加入 S 区，如果存在与 CSF 存在相关之多肽，则其与第一单克隆抗体结合以形成多肽-缀合物复合物。该复合物在膜上色谱迁移，当其到达 T 区的固定化抗体时，发生凝集并产生蓝色条带。

[0105] 简言之，在一个实施方案中，将第一单克隆抗体与流动颗粒（例如金或胶乳珠）缀合。这些珠有固有颜色，对于金是红色，如果使用胶乳珠则可以是不同颜色。当将样品施加到“S 区”时，标志物（与 CSF 存在相关之多肽（如果存在于样品中））与缀合有珠的第一单克隆抗体结合，然后通过放置珠的侧向流吸附垫，复合物（珠+抗体+多肽（如果在样品中存在））侧向迁移。一旦复合物到达“T 区”（其中第二抗体被固定到试片上），正与复合物一起迁移的标志物与第二固定化抗体结合。由于第二抗体是静止/固定/固定化的，整个复合物被捕获，由于复合物此时包含有色珠，固定的 T 区线根据所用的珠（对于金为红色，如果使用胶乳珠为不同颜色（如蓝色））生色。过量的复合物样品迁移到试片末端，在“C 区”与珠缀合的第一抗体被静止/固定/固定化的兔抗小鼠抗体捕获，并给出指示测试完成的有色线。因此，有色条带指示阳性结果。T 区无条带指示阴性结果。C 区的固定化多克隆抗体将结合与阳性和阴性样品缀合的胶乳。该蓝色条带确保测试的正确实施。

[0106] 在实践中，所述试剂盒和装置用于多种临床环境中以测定样品中 CSF 的存在。

[0107] 本发明通过以下非限制性实施例阐明。

## 实施例

[0108] 本文新鉴定的 CSF 特异性抗原包括神经细胞粘附分子样蛋白同工型 1（登录号 gi:62088238）；链 A，与牛胰蛋白酶抑制剂 (Bpti) 复合的人中胰蛋白酶（登录号 gi:162330095）；CNTN2 接触蛋白-2（登录号 gi|4827022）；CNTN1 接触蛋白-1 的同工型 2（登录号 gi:28373119）；与 SPARC 样蛋白 1 高度相似的 cDNA（登录号 gi|194388050）；NRCAM 蛋白（神经元细胞粘附分子）[人] 可能的稍长片段（~96kDa）（登录号 gi|68534652 和 gi|109731501）；NCAM2 神经细胞粘附分子 2（登录号 gi|119630409）；SERPINA3 丝氨酸蛋白酶抑制因子肽酶抑制因子，进化枝 A，成员 3 前体/ $\alpha$ 1-抗胰凝乳蛋白酶的同工型 1/生长抑制蛋白 25[人] 或  $\alpha$ 1-抗胰凝乳蛋白酶前体的稍长片段（登录号 gi|46981961）；AGT 血管紧张肽原（登录号 gi|553181）；血管紧张肽原前体（丝氨酸蛋白酶抑制因子 A8）（登录号 gi|4557287）；未命名的蛋白质产物，也称为免疫球蛋白超家族，成员 4B；在人中也称为细胞粘附分子 3；可能片段（登录号 gi|187608363）；cDNA FLJ59893，dickkopf 同源物 3 前体（登录号 gi|40548389）；SERPINF1 丝氨酸（或半胱氨酸）蛋白酶抑制因子，进化枝 F（ $\alpha$ -2 抗纤溶酶，色素上皮衍生因子），成员 1 同工型 4[黑

猩猩]因子(登录号 gi|15988024);GC 维生素 D 结合蛋白,预测为维生素 D 结合蛋白 [黑猩猩](登录号 181482);CD14 人单核细胞抗原 CD14(CD14)(登录号 gi|117646212);CADM3 人细胞粘附分子 3(CADM3),转录变体 1(登录号 gi|90080503;gi|187608363(人));神经细胞粘附分子变体(登录号 gi:62088238);CLU cDNA FLJ57622,与簇蛋白高度相似(登录号 gi|189054091);与簇蛋白高度相似的蛋白质(登录号 gi|193787502);LMAN2 囊泡整合膜蛋白 VIP36(登录号 gi|157834800);超氧化物歧化酶 3,细胞外前体(登录号 gi|118582275);纤维蛋白  $\alpha$  C 端片段(登录号 gi|223057);KLK6 激肽释放酶 6 的同工型 1(登录号 gi|21465970);APCS 血清淀粉样 P 成分 / 链 A 或五聚体人血清淀粉样 P 成分结构(登录号 gi|576259);FAM3C 蛋白 FAM3C/ 序列相似家族 3,成员 C 前体 [人]note = "预测的成骨细胞蛋白;白介素样 EMT 诱导因子(登录号 gi|55629272);链 A,人激肽释放酶 6(Hk6)活化形式,具有苯胺抑制因子(登录号 gi|21465970);未命名蛋白质产物 [食蟹猴],也称为免疫球蛋白超家族,成员 4B,在人中也称为细胞粘附分子 3;可能片段(登录号 gi|187608363);上述 CSF 抗原的 CSF 富集磷酸化或去磷酸化形式;或者两种或更多种上述 CSF 抗原的组合。

[0109] 本文在未使用数量词时不表示对数量的限制,而是表示存在至少一个所述项目。

[0110] 本文公开的所有范围是包含性和可组合的。尽管参照一个优选的实施方案描述了本发明,但本领域技术人员应理解可以进行多种变化,而且等价物可以被其要素替换而不背离本发明的范围。此外,可以将具体的情况或材料适用于本发明的教导来作出许多变化,而不背离其基本范围。因此,不旨在将本发明限制为作为实施本发明之最佳实施方式公开的具体实施方案,本发明将包括所有落入所附权利要求范围中的全部实施方案。

[0111] 所有引用的专利、专利申请和其他参考文献通过整体引用并入本文。

[0001]

## 序 列 表

<110> Pieribone, Vincent  
 <120> 免疫鉴定脑脊液的装置和方法  
 <130> AFI0004US2  
 <150> US 61/232,033  
 <151> 2009-08-07  
 <160> 29  
 <170> PatentIn version 3.5  
 <210> 1  
 <211> 1210  
 <212> PRT  
 <213> 人 (Homo sapiens)  
 <400> 1  
 Arg Ala Met Glu Pro Leu Leu Leu Gly Arg Gly Leu Ile Val Tyr Leu  
 1 5 10 15  
 Met Phe Leu Leu Leu Lys Phe Ser Lys Ala Ile Glu Ile Pro Ser Ser  
 20 25 30  
 Val Gln Gln Val Pro Thr Ile Ile Lys Gln Ser Lys Val Gln Val Ala  
 35 40 45  
 Phe Pro Phe Asp Glu Tyr Phe Gln Ile Glu Cys Glu Ala Lys Gly Asn  
 50 55 60  
 Pro Glu Pro Thr Phe Ser Trp Thr Lys Asp Gly Asn Pro Phe Tyr Phe  
 65 70 75 80  
 Thr Asp His Arg Ile Ile Pro Ser Asn Asn Ser Gly Thr Phe Arg Ile  
 85 90 95  
 Pro Asn Glu Gly His Ile Ser His Phe Gln Gly Lys Tyr Arg Cys Phe  
 100 105 110  
 Ala Ser Asn Lys Leu Gly Ile Ala Met Ser Glu Glu Ile Glu Phe Ile  
 115 120 125  
 Val Pro Ser Val Pro Lys Phe Pro Lys Glu Lys Ile Asp Pro Leu Glu  
 130 135 140  
 Val Glu Glu Gly Asp Pro Ile Val Leu Pro Cys Asn Pro Pro Lys Gly  
 145 150 155 160

[0002]

Leu Pro Pro Leu His Ile Tyr Trp Met Asn Ile Glu Leu Glu His Ile  
 165 170 175  
 Glu Gln Asp Glu Arg Val Tyr Met Ser Gln Lys Gly Asp Leu Tyr Phe  
 180 185 190  
 Ala Asn Val Glu Glu Lys Asp Ser Arg Asn Asp Tyr Cys Cys Phe Ala  
 195 200 205  
 Ala Phe Pro Arg Leu Arg Thr Ile Val Gln Lys Met Pro Met Lys Leu  
 210 215 220  
 Thr Val Asn Ser Ser Asn Ser Ile Lys Gln Arg Lys Pro Lys Leu Leu  
 225 230 235 240  
 Leu Pro Pro Thr Glu Ser Gly Ser Glu Ser Ser Ile Thr Ile Leu Lys  
 245 250 255  
 Gly Glu Ile Leu Leu Leu Glu Cys Phe Ala Glu Gly Leu Pro Thr Pro  
 260 265 270  
 Gln Val Asp Trp Asn Lys Ile Gly Gly Asp Leu Pro Lys Gly Arg Glu  
 275 280 285  
 Ala Lys Glu Asn Tyr Gly Lys Thr Leu Lys Ile Glu Asn Val Ser Tyr  
 290 295 300  
 Gln Asp Lys Gly Asn Tyr Arg Cys Thr Ala Ser Asn Phe Leu Gly Thr  
 305 310 315 320  
 Ala Thr His Asp Phe His Val Ile Val Glu Glu Pro Pro Arg Trp Thr  
 325 330 335  
 Lys Lys Pro Gln Ser Ala Val Tyr Ser Thr Gly Ser Asn Gly Ile Leu  
 340 345 350  
 Leu Cys Glu Ala Glu Gly Glu Pro Gln Pro Thr Ile Lys Trp Arg Val  
 355 360 365  
 Asn Gly Ser Pro Val Asp Asn His Pro Phe Ala Gly Asp Val Val Phe  
 370 375 380  
 Pro Arg Glu Ile Ser Phe Thr Asn Leu Gln Pro Asn His Thr Ala Val  
 385 390 395 400  
 Tyr Gln Cys Glu Ala Ser Asn Val His Gly Thr Ile Leu Ala Asn Ala  
 405 410 415

[0003]

Asn Ile Asp Val Val Asp Val Arg Pro Leu Ile Gln Thr Lys Asp Gly  
 420 425 430  
 Glu Asn Tyr Ala Thr Val Val Gly Tyr Ser Ala Phe Leu His Cys Glu  
 435 440 445  
 Phe Phe Ala Ser Pro Glu Ala Val Val Ser Trp Gln Lys Val Glu Glu  
 450 455 460  
 Val Lys Pro Leu Glu Gly Arg Arg Tyr His Ile Tyr Glu Asn Gly Thr  
 465 470 475 480  
 Leu Gln Ile Asn Arg Thr Thr Glu Glu Asp Ala Gly Ser Tyr Ser Cys  
 485 490 495  
 Trp Val Glu Asn Ala Ile Gly Lys Thr Ala Val Thr Ala Asn Leu Asp  
 500 505 510  
 Ile Arg Asn Ala Thr Lys Leu Arg Val Ser Pro Lys Asn Pro Arg Ile  
 515 520 525  
 Pro Lys Leu His Met Leu Glu Leu His Cys Glu Ser Lys Cys Asp Ser  
 530 535 540  
 His Leu Lys His Ser Leu Lys Leu Ser Trp Ser Lys Asp Gly Glu Ala  
 545 550 555 560  
 Phe Glu Ile Asn Gly Thr Glu Asp Gly Arg Ile Ile Ile Asp Gly Ala  
 565 570 575  
 Asn Leu Thr Ile Ser Asn Val Thr Leu Glu Asp Gln Gly Ile Tyr Cys  
 580 585 590  
 Cys Ser Ala His Thr Ala Leu Asp Ser Ala Ala Asp Ile Thr Gln Val  
 595 600 605  
 Thr Val Leu Asp Val Pro Asp Pro Pro Glu Asn Leu His Leu Ser Glu  
 610 615 620  
 Arg Gln Asn Arg Ser Val Arg Leu Thr Trp Glu Ala Gly Ala Asp His  
 625 630 635 640  
 Asn Ser Asn Ile Ser Glu Tyr Ile Val Glu Phe Glu Gly Asn Lys Glu  
 645 650 655  
 Glu Pro Gly Arg Trp Glu Glu Leu Thr Arg Val Gln Gly Lys Lys Thr  
 660 665 670

[0004]

Thr Val Ile Leu Pro Leu Ala Pro Phe Val Arg Tyr Gln Phe Arg Val  
 675 680 685  
 Ile Ala Val Asn Glu Val Gly Arg Ser Gln Pro Ser Gln Pro Ser Asp  
 690 695 700  
 His His Glu Thr Pro Pro Ala Ala Pro Asp Arg Asn Pro Gln Asn Ile  
 705 710 715 720  
 Arg Val Gln Ala Ser Gln Pro Lys Glu Met Ile Ile Lys Trp Glu Pro  
 725 730 735  
 Leu Lys Ser Met Glu Gln Asn Gly Pro Gly Leu Glu Tyr Arg Val Thr  
 740 745 750  
 Trp Lys Pro Gln Gly Ala Pro Val Glu Trp Glu Glu Glu Thr Val Thr  
 755 760 765  
 Asn His Thr Leu Arg Val Met Thr Pro Ala Val Tyr Ala Pro Tyr Asp  
 770 775 780  
 Val Lys Val Gln Ala Ile Asn Gln Leu Gly Ser Gly Pro Asp Pro Gln  
 785 790 795 800  
 Ser Val Thr Leu Tyr Ser Gly Glu Asp Tyr Pro Asp Thr Ala Pro Val  
 805 810 815  
 Ile His Gly Val Asp Val Ile Asn Ser Thr Leu Val Lys Val Thr Trp  
 820 825 830  
 Ser Thr Val Pro Lys Asp Arg Val His Gly Arg Leu Lys Gly Tyr Gln  
 835 840 845  
 Ile Asn Trp Trp Lys Thr Lys Ser Leu Leu Asp Gly Arg Thr His Pro  
 850 855 860  
 Lys Glu Val Asn Ile Leu Arg Phe Ser Gly Gln Arg Asn Ser Gly Met  
 865 870 875 880  
 Val Pro Ser Leu Asp Ala Phe Ser Glu Phe His Leu Thr Val Leu Ala  
 885 890 895  
 Tyr Asn Ser Lys Gly Ala Gly Pro Glu Ser Glu Pro Tyr Ile Phe Gln  
 900 905 910  
 Thr Pro Glu Gly Val Pro Glu Gln Pro Thr Phe Leu Lys Val Ile Lys

[0005]

915	920	925
Val Asp Lys Asp Thr Ala Thr Leu Ser Trp Gly Leu Pro Lys Lys Leu 930 935 940		
Asn Gly Asn Leu Thr Gly Tyr Leu Leu Gln Tyr Gln Ile Ile Asn Asp 945 950 955 960		
Thr Tyr Glu Ile Gly Glu Leu Asn Asp Ile Asn Ile Thr Thr Pro Ser 965 970 975		
Lys Pro Ser Trp His Leu Ser Asn Leu Asn Ala Thr Thr Lys Tyr Lys 980 985 990		
Phe Tyr Leu Arg Ala Cys Thr Ser Gln Gly Cys Gly Lys Pro Ile Trp 995 1000 1005		
Glu Glu Ser Ser Thr Leu Gly Glu Gly Ser Lys Gly Ile Gly Lys 1010 1015 1020		
Ile Ser Gly Val Asn Leu Thr Gln Lys Thr His Pro Val Glu Val 1025 1030 1035		
Phe Glu Pro Gly Ala Glu His Ile Val Arg Leu Met Thr Lys Asn 1040 1045 1050		
Trp Gly Asp Asn Asp Ser Ile Phe Gln Asp Val Ile Glu Thr Arg 1055 1060 1065		
Gly Arg Glu Tyr Ala Gly Leu Tyr Asp Asp Ile Ser Thr Gln Gly 1070 1075 1080		
Trp Phe Ile Gly Leu Met Cys Ala Ile Ala Leu Leu Thr Leu Leu 1085 1090 1095		
Leu Leu Thr Val Cys Phe Val Lys Arg Asn Arg Gly Gly Lys Tyr 1100 1105 1110		
Ser Val Lys Glu Lys Glu Asp Leu His Pro Asp Pro Glu Ile Gln 1115 1120 1125		
Ser Val Lys Asp Glu Thr Phe Gly Glu Tyr Ser Asp Ser Asp Glu 1130 1135 1140		
Lys Pro Leu Lys Gly Ser Leu Arg Ser Leu Asn Arg Asp Met Gln 1145 1150 1155		

[0006]

Pro Thr Glu Ser Ala Asp Ser Leu Val Glu Tyr Gly Glu Gly Asp  
1160 1165 1170

His Gly Leu Phe Ser Glu Asp Gly Ser Phe Ile Gly Ala Tyr Ala  
1175 1180 1185

Gly Ser Lys Glu Lys Gly Ser Val Glu Ser Asn Gly Ser Ser Thr  
1190 1195 1200

Ala Thr Phe Pro Leu Arg Ala  
1205 1210

<210> 2  
<211> 224  
<212> PRT  
<213> 人

<400> 2

Ile Val Gly Gly Tyr Thr Cys Glu Glu Asn Ser Leu Pro Tyr Gln Val  
1 5 10 15

Ser Leu Asn Ser Gly Ser His Phe Cys Gly Gly Ser Leu Ile Ser Glu  
20 25 30

Gln Trp Val Val Ser Ala Ala His Cys Tyr Lys Thr Arg Ile Gln Val  
35 40 45

Arg Leu Gly Glu His Asn Ile Lys Val Leu Glu Gly Asn Glu Gln Phe  
50 55 60

Ile Asn Ala Ala Lys Ile Ile Arg His Pro Lys Tyr Asn Arg Asp Thr  
65 70 75 80

Leu Asp Asn Asp Ile Met Leu Ile Lys Leu Ser Ser Pro Ala Val Ile  
85 90 95

Asn Ala Arg Val Ser Thr Ile Ser Leu Pro Thr Ala Pro Pro Ala Ala  
100 105 110

Gly Thr Glu Cys Leu Ile Ser Gly Trp Gly Asn Thr Leu Ser Phe Gly  
115 120 125

Ala Asp Tyr Pro Asp Glu Leu Lys Cys Leu Asp Ala Pro Val Leu Thr  
130 135 140

Gln Ala Glu Cys Lys Ala Ser Tyr Pro Gly Lys Ile Thr Asn Ser Met  
145 150 155 160

[0007]

Phe Cys Val Gly Phe Leu Glu Gly Gly Lys Asp Ser Cys Gln Arg Asp  
 165 170 175  
 Ala Gly Gly Pro Val Val Cys Asn Gly Gln Leu Gln Gly Val Val Ser  
 180 185 190  
 Trp Gly His Gly Cys Ala Trp Lys Asn Arg Pro Gly Val Tyr Thr Lys  
 195 200 205  
 Val Tyr Asn Tyr Val Asp Trp Ile Lys Asp Thr Ile Ala Ala Asn Ser  
 210 215 220  
 <210> 3  
 <211> 1040  
 <212> PRT  
 <213> 人  
 <400> 3  
 Met Gly Thr Ala Thr Arg Arg Lys Pro His Leu Leu Leu Val Ala Ala  
 1 5 10  
 Val Ala Leu Val Ser Ser Ser Ala Trp Ser Ser Ala Leu Gly Ser Gln  
 20 25 30  
 Thr Thr Phe Gly Pro Val Phe Glu Asp Gln Pro Leu Ser Val Leu Phe  
 35 40 45  
 Pro Glu Glu Ser Thr Glu Glu Gln Val Leu Leu Ala Cys Arg Ala Arg  
 50 55 60  
 Ala Ser Pro Pro Ala Thr Tyr Arg Trp Lys Met Asn Gly Thr Glu Met  
 65 70 75 80  
 Lys Leu Glu Pro Gly Ser Arg His Gln Leu Val Gly Gly Asn Leu Val  
 85 90 95  
 Ile Met Asn Pro Thr Lys Ala Gln Asp Ala Gly Val Tyr Gln Cys Leu  
 100 105 110  
 Ala Ser Asn Pro Val Gly Thr Val Val Ser Arg Glu Ala Ile Leu Arg  
 115 120 125  
 Phe Gly Phe Leu Gln Glu Phe Ser Lys Glu Glu Arg Asp Pro Val Lys  
 130 135 140  
 Ala His Glu Gly Trp Gly Val Met Leu Pro Cys Asn Pro Pro Ala His  
 145 150 155 160

[0008]

Tyr Pro Gly Leu Ser Tyr Arg Trp Leu Leu Asn Glu Phe Pro Asn Phe  
 165 170 175  
 Ile Pro Thr Asp Gly Arg His Phe Val Ser Gln Thr Thr Gly Asn Leu  
 180 185 190  
 Tyr Ile Ala Arg Thr Asn Ala Ser Asp Leu Gly Asn Tyr Ser Cys Leu  
 195 200 205  
 Ala Thr Ser His Met Asp Phe Ser Thr Lys Ser Val Phe Ser Lys Phe  
 210 215 220  
 Ala Gln Leu Asn Leu Ala Ala Glu Asp Thr Arg Leu Phe Ala Pro Ser  
 225 230 235 240  
 Ile Lys Ala Arg Phe Pro Ala Glu Thr Tyr Ala Leu Val Gly Gln Gln  
 245 250 255  
 Val Thr Leu Glu Cys Phe Ala Phe Gly Asn Pro Val Pro Arg Ile Lys  
 260 265 270  
 Trp Arg Lys Val Asp Gly Ser Leu Ser Pro Gln Trp Thr Thr Ala Glu  
 275 280 285  
 Pro Thr Leu Gln Ile Pro Ser Val Ser Phe Glu Asp Glu Gly Thr Tyr  
 290 295 300  
 Glu Cys Glu Ala Glu Asn Ser Lys Gly Arg Asp Thr Val Gln Gly Arg  
 305 310 315 320  
 Ile Ile Val Gln Ala Gln Pro Glu Trp Leu Lys Val Ile Ser Asp Thr  
 325 330 335  
 Glu Ala Asp Ile Gly Ser Asn Leu Arg Trp Gly Cys Ala Ala Ala Gly  
 340 345 350  
 Lys Pro Arg Pro Thr Val Arg Trp Leu Arg Asn Gly Glu Pro Leu Ala  
 355 360 365  
 Ser Gln Asn Arg Val Glu Val Leu Ala Gly Asp Leu Arg Phe Ser Lys  
 370 375 380  
 Leu Ser Leu Glu Asp Ser Gly Met Tyr Gln Cys Val Ala Glu Asn Lys  
 385 390 395 400  
 His Gly Thr Ile Tyr Ala Ser Ala Glu Leu Ala Val Gln Ala Leu Ala  
 405 410 415

[0009]

Pro Asp Phe Arg Leu Asn Pro Val Arg Arg Leu Ile Pro Ala Ala Arg  
 420 425 430

Gly Gly Glu Ile Leu Ile Pro Cys Gln Pro Arg Ala Ala Pro Lys Ala  
 435 440 445

Val Val Leu Trp Ser Lys Gly Thr Glu Ile Leu Val Asn Ser Ser Arg  
 450 455 460

Val Thr Val Thr Pro Asp Gly Thr Leu Ile Ile Arg Asn Ile Ser Arg  
 465 470 475 480

Ser Asp Glu Gly Lys Tyr Thr Cys Phe Ala Glu Asn Phe Met Gly Lys  
 485 490 495

Ala Asn Ser Thr Gly Ile Leu Ser Val Arg Asp Ala Thr Lys Ile Thr  
 500 505 510

Leu Ala Pro Ser Ser Ala Asp Ile Asn Leu Gly Asp Asn Leu Thr Leu  
 515 520 525

Gln Cys His Ala Ser His Asp Pro Thr Met Asp Leu Thr Phe Thr Trp  
 530 535 540

Thr Leu Asp Asp Phe Pro Ile Asp Phe Asp Lys Pro Gly Gly His Tyr  
 545 550 555 560

Arg Arg Thr Asn Val Lys Glu Thr Ile Gly Asp Leu Thr Ile Leu Asn  
 565 570 575

Ala Gln Leu Arg His Gly Gly Lys Tyr Thr Cys Met Ala Gln Thr Val  
 580 585 590

Val Asp Ser Ala Ser Lys Glu Ala Thr Val Leu Val Arg Gly Pro Pro  
 595 600 605

Gly Pro Pro Gly Gly Val Val Val Arg Asp Ile Gly Asp Thr Thr Ile  
 610 615 620

Gln Leu Ser Trp Ser Arg Gly Phe Asp Asn His Ser Pro Ile Ala Lys  
 625 630 635 640

Tyr Thr Leu Gln Ala Arg Thr Pro Pro Ala Gly Lys Trp Lys Gln Val  
 645 650 655

Arg Thr Asn Pro Ala Asn Ile Glu Gly Asn Ala Glu Thr Ala Gln Val  
 660 665 670

[0010]

Leu Gly Leu Thr Pro Trp Met Asp Tyr Glu Phe Arg Val Ile Ala Ser  
 675 680 685

Asn Ile Leu Gly Thr Gly Glu Pro Ser Gly Pro Ser Ser Lys Ile Arg  
 690 695 700

Thr Arg Glu Ala Ala Pro Ser Val Ala Pro Ser Gly Leu Ser Gly Gly  
 705 710 715 720

Gly Gly Ala Pro Gly Glu Leu Ile Val Asn Trp Thr Pro Met Ser Arg  
 725 730 735

Glu Tyr Gln Asn Gly Asp Gly Phe Gly Tyr Leu Leu Ser Phe Arg Arg  
 740 745 750

Gln Gly Ser Thr His Trp Gln Thr Ala Arg Val Pro Gly Ala Asp Ala  
 755 760 765

Gln Tyr Phe Val Tyr Ser Asn Glu Ser Val Arg Pro Tyr Thr Pro Phe  
 770 775 780

Glu Val Lys Ile Arg Ser Tyr Asn Arg Arg Gly Asp Gly Pro Glu Ser  
 785 790 795 800

Leu Thr Ala Leu Val Tyr Ser Ala Glu Glu Glu Pro Arg Val Ala Pro  
 805 810 815

Thr Lys Val Trp Ala Lys Gly Val Ser Ser Ser Glu Met Asn Val Thr  
 820 825 830

Trp Glu Pro Val Gln Gln Asp Met Asn Gly Ile Leu Leu Gly Tyr Glu  
 835 840 845

Ile Arg Tyr Trp Lys Ala Gly Asp Lys Glu Ala Ala Ala Asp Arg Val  
 850 855 860

Arg Thr Ala Gly Leu Asp Thr Ser Ala Arg Val Ser Gly Leu His Pro  
 865 870 875 880

Asn Thr Lys Tyr His Val Thr Val Arg Ala Tyr Asn Arg Ala Gly Thr  
 885 890 895

Gly Pro Ala Ser Pro Ser Ala Asn Ala Thr Thr Met Lys Pro Pro Pro  
 900 905 910

Arg Arg Pro Pro Gly Asn Ile Ser Trp Thr Phe Ser Ser Ser Ser Leu

[0011]

915	920	925
Ser Ile Lys Trp Asp Pro Val Val Pro Phe Arg Asn Glu Ser Ala Val 930 935 940		
Thr Gly Tyr Lys Met Leu Tyr Gln Asn Asp Leu His Leu Thr Pro Thr 945 950 955 960		
Leu His Leu Thr Gly Lys Asn Trp Ile Glu Ile Pro Val Pro Glu Asp 965 970 975		
Ile Gly His Ala Leu Val Gln Ile Arg Thr Thr Gly Pro Gly Gly Asp 980 985 990		
Gly Ile Pro Ala Glu Val His Ile Val Arg Asn Gly Gly Thr Ser Met 995 1000 1005		
Met Val Glu Asn Met Ala Val Arg Pro Ala Pro His Pro Gly Thr 1010 1015 1020		
Val Ile Ser His Ser Val Ala Met Leu Ile Leu Ile Gly Ser Leu 1025 1030 1035		
Glu Leu 1040		
<210> 4		
<211> 1007		
<212> PRT		
<213> 人		
<400> 4		
Met Lys Met Trp Leu Leu Val Ser His Leu Val Ile Ile Ser Ile Thr 1 5 10 15		
Thr Cys Leu Ala Val Ser Glu Glu Asp Lys Gly Phe Gly Pro Ile Phe 20 25 30		
Glu Glu Gln Pro Ile Asn Thr Ile Tyr Pro Glu Glu Ser Leu Glu Gly 35 40 45		
Lys Val Ser Leu Asn Cys Arg Ala Arg Ala Ser Pro Phe Pro Val Tyr 50 55 60		
Lys Trp Arg Met Asn Asn Gly Asp Val Asp Leu Thr Ser Asp Arg Tyr 65 70 75 80		
Ser Met Val Gly Gly Asn Leu Val Ile Asn Asn Pro Asp Lys Gln Lys		

[0012]



Leu Tyr Trp Pro Cys Val Ala Thr Gly Lys Pro Ile Pro Thr Ile Arg  
 340 345 350

Trp Leu Lys Asn Gly Tyr Ala Tyr His Lys Gly Glu Leu Arg Leu Tyr  
 355 360 365

Asp Val Thr Phe Glu Asn Ala Gly Met Tyr Gln Cys Ile Ala Glu Asn  
 370 375 380

Thr Tyr Gly Ala Ile Tyr Ala Asn Ala Glu Leu Lys Ile Leu Ala Leu  
 385 390 400

Ala Pro Thr Phe Glu Met Asn Pro Met Lys Lys Lys Ile Leu Ala Ala  
 405 410 415

Lys Gly Gly Arg Val Ile Ile Glu Cys Lys Pro Lys Ala Ala Pro Lys  
 420 425 430

Pro Lys Phe Ser Trp Ser Lys Gly Thr Glu Trp Leu Val Asn Ser Ser  
 435 440 445

Arg Ile Leu Ile Trp Glu Asp Gly Ser Leu Glu Ile Asn Asn Ile Thr  
 450 455 460

Arg Asn Asp Gly Gly Ile Tyr Thr Cys Phe Ala Glu Asn Asn Arg Gly  
 465 470 475 480

Lys Ala Asn Ser Thr Gly Thr Leu Val Ile Thr Asp Pro Thr Arg Ile  
 485 490 495

Ile Leu Ala Pro Ile Asn Ala Asp Ile Thr Val Gly Glu Asn Ala Thr  
 500 505 510

Met Gln Cys Ala Ala Ser Phe Asp Pro Ala Leu Asp Leu Thr Phe Val  
 515 520 525

Trp Ser Phe Asn Gly Tyr Val Ile Asp Phe Asn Lys Glu Asn Ile His  
 530 535 540

Tyr Gln Arg Asn Phe Met Leu Asp Ser Asn Gly Glu Leu Leu Ile Arg  
 545 550 555 560

Asn Ala Gln Leu Lys His Ala Gly Arg Tyr Thr Cys Thr Ala Gln Thr  
 565 570 575

Ile Val Asp Asn Ser Ser Ala Ser Ala Asp Leu Val Val Arg Gly Pro  
 580 585 590

[0014]

Pro Gly Pro Pro Gly Gly Leu Arg Ile Glu Asp Ile Arg Ala Thr Ser  
 595 600 605  
 Val Ala Leu Thr Trp Ser Arg Gly Ser Asp Asn His Ser Pro Ile Ser  
 610 615 620  
 Lys Tyr Thr Ile Gln Thr Lys Thr Ile Leu Ser Asp Asp Trp Lys Asp  
 625 630 635 640  
 Ala Lys Thr Asp Pro Pro Ile Ile Glu Gly Asn Met Glu Ala Ala Arg  
 645 650 655  
 Ala Val Asp Leu Ile Pro Trp Met Glu Tyr Glu Phe Arg Val Val Ala  
 660 665 670  
 Thr Asn Thr Leu Gly Arg Gly Glu Pro Ser Ile Pro Ser Asn Arg Ile  
 675 680 685  
 Lys Thr Asp Gly Ala Ala Pro Asn Val Ala Pro Ser Asp Val Gly Gly  
 690 695 700  
 Gly Gly Gly Arg Asn Arg Glu Leu Thr Ile Thr Trp Ala Pro Leu Ser  
 705 710 715 720  
 Arg Glu Tyr His Tyr Gly Asn Asn Phe Gly Tyr Ile Val Ala Phe Lys  
 725 730 735  
 Pro Phe Asp Gly Glu Glu Trp Lys Lys Val Thr Val Thr Asn Pro Asp  
 740 745 750  
 Thr Gly Arg Tyr Val His Lys Asp Glu Thr Met Ser Pro Ser Thr Ala  
 755 760 765  
 Phe Gln Val Lys Val Lys Ala Phe Asn Asn Lys Gly Asp Gly Pro Tyr  
 770 775 780  
 Ser Leu Val Ala Val Ile Asn Ser Ala Gln Asp Ala Pro Ser Glu Ala  
 785 790 795 800  
 Pro Thr Glu Val Gly Val Lys Val Leu Ser Ser Ser Glu Ile Ser Val  
 805 810 815  
 His Trp Glu His Val Leu Glu Lys Ile Val Glu Ser Tyr Gln Ile Arg  
 820 825 830  
 Tyr Trp Ala Ala His Asp Lys Glu Glu Ala Ala Asn Arg Val Gln Val  
 835 840 845

[0015]

Thr Ser Gln Glu Tyr Ser Ala Arg Leu Glu Asn Leu Leu Pro Asp Thr  
 850 855 860  
 Gln Tyr Phe Ile Glu Val Gly Ala Cys Asn Ser Ala Gly Cys Gly Pro  
 865 870 875 880  
 Pro Ser Asp Met Ile Glu Ala Phe Thr Lys Lys Ala Pro Pro Ser Gln  
 885 890 895  
 Pro Pro Arg Ile Ile Ser Ser Val Arg Ser Gly Ser Arg Tyr Ile Ile  
 900 905  
 Thr Trp Asp His Val Val Ala Leu Ser Asn Glu Ser Thr Val Thr Gly  
 915 920 925  
 Tyr Lys Val Leu Tyr Arg Pro Asp Gly Gln His Asp Gly Lys Leu Tyr  
 930 935 940  
 Ser Thr His Lys His Ser Ile Glu Val Pro Ile Pro Arg Asp Gly Glu  
 945 950 955 960  
 Tyr Val Val Glu Val Arg Ala His Ser Asp Gly Gly Asp Gly Val Val  
 965 970 975  
 Ser Gln Val Lys Ile Ser Gly Ala Pro Thr Leu Ser Pro Ser Leu Leu  
 980 985 990  
 Gly Leu Leu Leu Pro Ala Phe Gly Ile Leu Val Tyr Leu Glu Phe  
 995 1000 1005  
 <210> 5  
 <211> 490  
 <212> PRT  
 <213> 人  
 <400> 5  
 Met Lys Thr Gly Leu Phe Phe Leu Cys Leu Leu Gly Thr Ala Ala Ala  
 1 5 10 15  
 Ile Pro Thr Asn Ala Arg Leu Leu Ser Asp His Ser Lys Pro Thr Ala  
 20 25 30  
 Glu Thr Val Ala Pro Asp Asn Thr Ala Ile Pro Ser Leu Arg Ala Glu  
 35 40 45  
 Ala Glu Glu Asn Glu Lys Glu Thr Ala Val Ser Thr Glu Asp Asn Thr  
 50 55 60

[0016]

Gln Ser Asp Asp Ile Leu Glu Glu Ser Asp Gln Pro Thr Gln Val Ser  
 65 70 75 80  
 Lys Met Gln Glu Asp Glu Phe Asp Gln Gly Asn Gln Glu Gln Glu Asp  
 85 90 95  
 Asn Ser Asn Ala Glu Met Glu Glu Glu Asn Ala Ser Asn Val Asn Lys  
 100 105 110  
 His Ile Gln Glu Thr Glu Trp Gln Ser Gln Glu Gly Lys Thr Gly Leu  
 115 120 125  
 Glu Ala Ile Ser Asn His Lys Glu Thr Glu Glu Lys Thr Val Ser Glu  
 130 135 140  
 Ala Leu Leu Met Glu Pro Thr Asp Asp Gly Asn Thr Thr Pro Arg Asn  
 145 150 155 160  
 His Gly Val Asp Asp Asp Gly Asp Asp Asp Gly Asp Asp Gly Gly Thr  
 165 170 175  
 Asp Gly Pro Arg His Ser Ala Ser Asp Asp Tyr Phe Ile Pro Ser Gln  
 180 185 190  
 Ala Phe Leu Glu Ala Glu Arg Ala Gln Ser Ile Ala Tyr His Leu Lys  
 195 200 205  
 Ile Glu Glu Gln Arg Glu Lys Val His Glu Asn Glu Asn Ile Gly Thr  
 210 215 220  
 Thr Glu Pro Gly Glu His Gln Glu Ala Lys Lys Ala Glu Asn Ser Ser  
 225 230 235 240  
 Asn Glu Glu Glu Thr Ser Ser Glu Gly Asn Met Arg Val His Ala Val  
 245 250 255  
 Asp Ser Cys Met Ser Phe Gln Cys Lys Arg Gly His Ile Cys Lys Ala  
 260 265 270  
 Asp Gln Gln Gly Lys Pro His Cys Val Cys Gln Asp Pro Val Thr Cys  
 275 280 285  
 Pro Pro Thr Lys Pro Leu Asp Gln Val Cys Gly Thr Asp Asn Gln Thr  
 290 295 300  
 Tyr Ala Ser Ser Cys His Leu Phe Ala Thr Lys Cys Arg Leu Glu Gly

[0017]





Glu Gly Leu Pro Thr Pro Ile Ile Tyr Trp Ala Lys Glu Asp Gly Met  
 290 295 300

Leu Pro Lys Asn Arg Thr Val Tyr Lys Asn Phe Glu Lys Thr Leu Gln  
 305 310 315 320

Ile Ile His Val Ser Glu Ala Asp Ser Gly Asn Tyr Gln Cys Ile Ala  
 325 330 335

Lys Asn Ala Leu Gly Ala Ile His His Thr Ile Ser Val Arg Val Lys  
 340 345 350

Ala Ala Pro Tyr Trp Ile Thr Ala Pro Gln Asn Leu Val Leu Ser Pro  
 355 360 365

Gly Glu Asp Gly Thr Leu Ile Cys Arg Ala Asn Gly Asn Pro Lys Pro  
 370 375 380

Arg Ile Ser Trp Leu Thr Asn Gly Val Pro Ile Glu Ile Ala Pro Asp  
 385 390 395 400

Asp Pro Ser Arg Lys Ile Asp Gly Asp Thr Ile Ile Phe Ser Asn Val  
 405 410 415

Gln Glu Arg Ser Ser Ala Val Tyr Gln Cys Asn Ala Ser Asn Glu Tyr  
 420 425 430

Gly Tyr Leu Leu Ala Asn Ala Phe Val Asn Val Leu Ala Glu Pro Pro  
 435 440 445

Arg Ile Leu Thr Pro Ala Asn Thr Leu Tyr Gln Val Ile Ala Asn Arg  
 450 455 460

Pro Ala Leu Leu Asp Cys Ala Phe Phe Gly Ser Pro Leu Pro Thr Ile  
 465 470 475 480

Glu Trp Phe Lys Gly Ala Lys Gly Ser Ala Leu His Glu Asp Ile Tyr  
 485 490 495

Val Leu His Glu Asn Gly Thr Leu Glu Ile Pro Val Ala Gln Lys Asp  
 500 505 510

Ser Thr Gly Thr Tyr Thr Cys Val Ala Arg Asn Lys Leu Gly Met Ala  
 515 520 525

Lys Asn Glu Val His Leu Glu Ile Lys Asp Ala Thr Trp Ile Val Lys  
 530 535 540

[0020]

Gln Pro Glu Tyr Ala Val Val Gln Arg Gly Ser Met Val Ser Phe Glu  
 545 550 555 560  
 Cys Lys Val Lys His Asp His Thr Leu Ser Leu Thr Val Leu Trp Leu  
 565 570 575  
 Lys Asp Asn Arg Glu Leu Pro Ser Asp Glu Arg Phe Thr Val Asp Lys  
 580 585 590  
 Asp His Leu Val Val Ala Asp Val Ser Asp Asp Asp Ser Gly Thr Tyr  
 595 600  
 Thr Cys Val Ala Asn Thr Thr Leu Asp Ser Val Ser Ala Ser Ala Val  
 610 615 620  
 Leu Ser Val Val Asp Val Pro Asn Pro Pro Phe Asp Leu Glu Leu Thr  
 625 630 635  
 Asp Gln Leu Asp Lys Ser Val Gln Leu Ser Trp Thr Pro Gly Asp Asp  
 645 650 655  
 Asn Asn Ser Pro Ile Thr Lys Phe Ile Ile Glu Tyr Glu Asp Ala Met  
 660 665 670  
 His Lys Pro Gly Leu Trp His His Gln Thr Glu Val Ser Gly Thr Gln  
 675 680 685  
 Thr Thr Ala Gln Leu Lys Leu Ser Pro Tyr Val Asn Tyr Ser Phe Arg  
 690 695 700  
 Val Met Ala Val Asn Ser Ile Gly Lys Ser Leu Pro Ser Glu Ala Ser  
 705 710 715 720  
 Glu Gln Tyr Leu Thr Lys Ala Ser Glu Pro Asp Lys Asn Pro Thr Ala  
 725 730 735  
 Val Glu Gly Leu Gly Ser Glu Pro Asp Asn Leu Val Ile Thr Trp Lys  
 740 745 750  
 Pro Leu Asn Gly Phe Glu Ser Asn Gly Pro Gly Leu Gln Thr Ser Thr  
 755 760 765  
 Ala Ser Phe  
 770

<210> 7  
 <211> 1180

[0021]

<212> PRT  
 <213> 人  
 <400> 7  
 Met Gln Leu Lys Ile Met Pro Lys Lys Lys Arg Leu Ser Ala Gly Arg  
 1 5 10 15  
 Val Pro Leu Ile Leu Phe Leu Cys Gln Met Ile Ser Ala Leu Glu Val  
 20 25 30  
 Pro Leu Asp Pro Lys Leu Leu Glu Asp Leu Val Gln Pro Pro Thr Ile  
 35 40 45  
 Thr Gln Gln Ser Pro Lys Asp Tyr Ile Ile Asp Pro Arg Glu Asn Ile  
 50 55 60  
 Val Ile Gln Cys Glu Ala Lys Gly Lys Pro Pro Ser Phe Ser Trp  
 65 70 75 80  
 Thr Arg Asn Gly Thr His Phe Asp Ile Asp Lys Asp Pro Leu Val Thr  
 85 90 95  
 Met Lys Pro Gly Thr Gly Thr Leu Ile Ile Asn Ile Met Ser Glu Gly  
 100 105 110  
 Lys Ala Glu Thr Tyr Glu Gly Val Tyr Gln Cys Thr Ala Arg Asn Glu  
 115 120 125  
 Arg Gly Ala Ala Val Ser Asn Asn Ile Val Val Arg Pro Ser Arg Ser  
 130 135 140  
 Pro Leu Trp Thr Lys Glu Lys Leu Glu Pro Ile Thr Leu Gln Ser Gly  
 145 150 155 160  
 Gln Ser Leu Val Leu Pro Cys Arg Pro Pro Ile Gly Leu Pro Pro Pro  
 165 170 175  
 Ile Ile Phe Trp Met Asp Asn Ser Phe Gln Arg Leu Pro Gln Ser Glu  
 180 185 190  
 Arg Val Ser Gln Gly Leu Asn Gly Asp Leu Tyr Phe Ser Asn Val Leu  
 195 200 205  
 Pro Glu Asp Thr Arg Glu Asp Tyr Ile Cys Tyr Ala Arg Phe Asn His  
 210 215 220  
 Thr Gln Thr Ile Gln Gln Lys Gln Pro Ile Ser Val Lys Val Ile Ser  
 225 230 235 240

[0022]

Ala Lys Ser Ser Arg Glu Arg Pro Pro Thr Phe Leu Thr Pro Glu Gly  
 245 250 255  
 Asn Ala Ser Asn Lys Glu Glu Leu Arg Gly Asn Val Leu Ser Leu Glu  
 260 265 270  
 Cys Ile Ala Glu Gly Leu Pro Thr Pro Ile Ile Tyr Trp Ala Lys Glu  
 275 280 285  
 Asp Gly Met Leu Pro Lys Asn Arg Thr Val Tyr Lys Asn Phe Glu Lys  
 290 295 300  
 Thr Leu Gln Ile Ile His Val Ser Glu Ala Asp Ser Gly Asn Tyr Gln  
 305 310 315 320  
 Cys Ile Ala Lys Asn Ala Leu Gly Ala Ile His His Thr Ile Ser Val  
 325 330  
 Arg Val Lys Ala Ala Pro Tyr Trp Ile Thr Ala Pro Gln Asn Leu Val  
 340 345 350  
 Leu Ser Pro Gly Glu Asp Gly Thr Leu Ile Cys Arg Ala Asn Gly Asn  
 355 360 365  
 Pro Lys Pro Arg Ile Ser Trp Leu Thr Asn Gly Val Pro Ile Glu Ile  
 370 375 380  
 Ala Pro Asp Asp Pro Ser Arg Lys Ile Asp Gly Asp Thr Ile Ile Phe  
 385 390 395 400  
 Ser Asn Val Gln Glu Arg Ser Ser Ala Val Tyr Gln Cys Asn Ala Ser  
 405 410 415  
 Asn Glu Tyr Gly Tyr Leu Leu Ala Asn Ala Phe Val Asn Val Leu Ala  
 420 425 430  
 Glu Pro Pro Arg Ile Leu Thr Pro Ala Asn Thr Leu Tyr Gln Val Ile  
 435 440 445  
 Ala Asn Arg Pro Ala Leu Leu Asp Cys Ala Phe Phe Gly Ser Pro Leu  
 450 455 460  
 Pro Thr Ile Glu Trp Phe Lys Gly Ala Lys Gly Ser Ala Leu His Glu  
 465 470 475 480  
 Asp Ile Tyr Val Leu His Glu Asn Gly Thr Leu Glu Ile Pro Val Ala

[0023]



Leu Gly Ser Glu Pro Asp Asn Leu Val Ile Thr Trp Lys Pro Leu Asn  
 740 745 750

Gly Phe Glu Ser Asn Gly Pro Gly Leu Gln Tyr Lys Val Ser Trp Arg  
 755 760 765

Gln Lys Asp Gly Asp Asp Glu Trp Thr Ser Val Val Val Ala Asn Val  
 770 775 780

Ser Lys Tyr Ile Val Ser Gly Thr Pro Thr Phe Val Pro Tyr Leu Ile  
 785 790 795 800

Lys Val Gln Ala Leu Asn Asp Met Gly Phe Ala Pro Glu Pro Ala Val  
 805 810 815

Val Met Gly His Ser Gly Glu Asp Leu Pro Met Val Ala Pro Gly Asn  
 820 825 830

Val Arg Val Asn Val Val Asn Ser Thr Leu Ala Glu Val His Trp Asp  
 835 840 845

Pro Val Pro Leu Lys Ser Ile Arg Gly His Leu Gln Gly Tyr Arg Ile  
 850 855 860

Tyr Tyr Trp Lys Thr Gln Ser Ser Ser Lys Arg Asn Arg Arg His Ile  
 865 870 875 880

Glu Lys Lys Ile Leu Thr Phe Gln Gly Ser Lys Thr His Gly Met Leu  
 885 890 895

Pro Gly Leu Glu Pro Phe Ser His Tyr Thr Leu Asn Val Arg Val Val  
 900 905 910

Asn Gly Lys Gly Glu Gly Pro Ala Ser Pro Asp Arg Val Phe Asn Thr  
 915 920 925

Pro Glu Gly Val Pro Ser Ala Pro Ser Ser Leu Lys Ile Val Asn Pro  
 930 935 940

Thr Leu Asp Ser Leu Thr Leu Glu Trp Asp Pro Pro Ser His Pro Asn  
 945 950 955 960

Gly Ile Leu Thr Glu Tyr Thr Leu Lys Tyr Gln Pro Ile Asn Ser Thr  
 965 970 975

His Glu Leu Gly Pro Leu Val Asp Leu Lys Ile Pro Ala Asn Lys Thr  
 980 985 990

[0025]

Arg Trp Thr Leu Lys Asn Leu Asn Phe Ser Thr Arg Tyr Lys Phe Tyr  
 995 1000 1005  
 Phe Tyr Ala Gln Thr Ser Ala Gly Ser Gly Ser Gln Ile Thr Glu  
 1010 1015 1020  
 Glu Ala Val Thr Thr Val Asp Glu Ala Met Ala Ser Arg Gln Val  
 1025 1030 1035  
 Asp Ile Ala Thr Gln Gly Trp Phe Ile Gly Leu Met Cys Ala Val  
 1040 1045 1050  
 Ala Leu Leu Ile Leu Ile Leu Leu Ile Val Cys Phe Ile Arg Arg  
 1055 1060 1065  
 Asn Lys Gly Gly Lys Tyr Pro Val Lys Glu Lys Glu Asp Ala His  
 1070 1075 1080  
 Ala Asp Pro Glu Ile Gln Pro Met Lys Glu Asp Asp Gly Thr Phe  
 1085 1090 1095  
 Gly Glu Tyr Ser Asp Ala Glu Asp His Lys Pro Leu Lys Lys Gly  
 1100 1105 1110  
 Ser Arg Thr Pro Ser Asp Arg Thr Val Lys Lys Glu Asp Ser Asp  
 1115 1120 1125  
 Asp Ser Leu Val Asp Tyr Gly Glu Gly Val Asn Gly Gln Phe Asn  
 1130 1135 1140  
 Glu Asp Gly Ser Phe Ile Gly Gln Tyr Ser Gly Lys Lys Glu Lys  
 1145 1150 1155  
 Glu Pro Ala Glu Gly Asn Glu Ser Ser Glu Ala Pro Ser Pro Val  
 1160 1165 1170  
 Asn Ala Met Asn Ser Phe Val  
 1175 1180

<210> 8  
 <211> 818  
 <212> PRT  
 <213> 人

<400> 8

Leu Leu Gln Val Thr Ile Ser Leu Ser Lys Val Glu Leu Ser Val Gly  
 1 5 10 15

[0026]

Glu Ser Lys Phe Phe Thr Cys Thr Ala Ile Gly Glu Pro Glu Ser Ile  
 20 25 30  
 Asp Trp Tyr Asn Pro Gln Gly Glu Lys Ile Ile Ser Thr Gln Arg Val  
 35 40 45  
 Val Val Gln Lys Glu Gly Val Arg Ser Arg Leu Thr Ile Tyr Asn Ala  
 50 55 60  
 Asn Ile Glu Asp Ala Gly Ile Tyr Arg Cys Gln Ala Thr Asp Ala Lys  
 65 70 75 80  
 Gly Gln Thr Gln Glu Ala Thr Val Val Leu Glu Ile Tyr Gln Lys Leu  
 85 90 95  
 Thr Phe Arg Glu Val Val Ser Pro Gln Glu Phe Lys Gln Gly Glu Asp  
 100 105 110  
 Ala Glu Val Val Cys Arg Val Ser Ser Ser Pro Ala Pro Ala Val Ser  
 115 120 125  
 Trp Leu Tyr His Asn Glu Glu Val Thr Thr Ile Ser Asp Asn Arg Phe  
 130 135 140  
 Ala Met Leu Ala Asn Asn Asn Leu Gln Ile Leu Asn Ile Asn Lys Ser  
 145 150 155 160  
 Asp Glu Gly Ile Tyr Arg Cys Glu Gly Arg Val Glu Ala Arg Gly Glu  
 165 170 175  
 Ile Asp Phe Arg Asp Ile Ile Val Ile Val Asn Val Pro Pro Ala Ile  
 180 185 190  
 Ser Met Pro Gln Lys Ser Phe Asn Ala Thr Ala Glu Arg Gly Glu Glu  
 195 200 205  
 Met Thr Phe Ser Cys Arg Ala Ser Gly Ser Pro Glu Pro Ala Ile Ser  
 210 215 220  
 Trp Phe Arg Asn Gly Lys Leu Ile Glu Glu Asn Glu Lys Tyr Ile Leu  
 225 230 235  
 Lys Gly Ser Asn Thr Glu Leu Thr Val Arg Asn Ile Ile Asn Ser Asp  
 245 250 255  
 Gly Gly Pro Tyr Val Cys Arg Ala Thr Asn Lys Ala Gly Glu Asp Glu  
 260 265 270

[0027]

Lys Gln Ala Phe Leu Gln Val Phe Val Gln Pro His Ile Ile Gln Leu  
 275 280 285  
 Lys Asn Glu Thr Thr Tyr Glu Asn Gly Gln Val Thr Leu Val Cys Asp  
 290 295 300  
 Ala Glu Gly Glu Pro Ile Pro Glu Ile Thr Trp Lys Arg Ala Val Asp  
 305 310 315 320  
 Gly Phe Thr Phe Thr Glu Gly Asp Lys Ser Leu Asp Gly Arg Ile Glu  
 325 330  
 Val Lys Gly Gln His Gly Ser Ser Ser Leu His Ile Lys Asp Val Lys  
 340 345 350  
 Leu Ser Asp Ser Gly Arg Tyr Asp Cys Glu Ala Ala Ser Arg Ile Gly  
 355 360 365  
 Gly His Gln Lys Ser Met Tyr Leu Asp Ile Glu Tyr Ala Pro Lys Phe  
 370 375 380  
 Ile Ser Asn Gln Thr Ile Tyr Tyr Ser Trp Glu Gly Asn Pro Ile Asn  
 385 390 395 400  
 Ile Ser Cys Asp Val Lys Ser Asn Pro Pro Ala Ser Ile His Trp Arg  
 405 410 415  
 Arg Asp Lys Leu Val Leu Pro Ala Lys Asn Thr Thr Asn Leu Lys Thr  
 420 425 430  
 Tyr Ser Thr Gly Arg Lys Met Ile Leu Glu Ile Ala Pro Thr Ser Asp  
 435 440 445  
 Asn Asp Phe Gly Arg Tyr Asn Cys Thr Ala Thr Asn His Ile Gly Thr  
 450 455 460  
 Arg Phe Gln Glu Tyr Ile Leu Ala Leu Ala Asp Val Pro Ser Ser Pro  
 465 470 475 480  
 Tyr Gly Val Lys Ile Ile Glu Leu Ser Gln Thr Thr Ala Lys Val Ser  
 485 490 495  
 Phe Asn Lys Pro Asp Ser His Gly Gly Val Pro Ile His His Tyr Gln  
 500 505 510  
 Val Asp Val Lys Glu Val Ala Ser Glu Ile Trp Lys Ile Val Arg Ser

[0028]

515					520					525						
His	Gly	Val	Gln	Thr	Met	Val	Val	Leu	Asn	Asn	Leu	Glu	Pro	Asn	Thr	
	530					535					540					
Thr	Tyr	Glu	Ile	Arg	Val	Ala	Ala	Val	Asn	Gly	Lys	Gly	Gln	Gly	Asp	
545					550					555					560	
Tyr	Ser	Lys	Ile	Glu	Ile	Phe	Gln	Thr	Leu	Pro	Val	Arg	Glu	Pro	Ser	
				565					570					575		
Pro	Pro	Ser	Ile	His	Gly	Gln	Pro	Ser	Ser	Gly	Lys	Ser	Phe	Lys	Leu	
			580					585					590			
Ser	Ile	Thr	Lys	Gln	Asp	Asp	Gly	Gly	Ala	Pro	Ile	Leu	Glu	Tyr	Ile	
		595					600					605				
Val	Lys	Tyr	Arg	Ser	Lys	Asp	Lys	Glu	Asp	Gln	Trp	Leu	Glu	Lys	Lys	
	610					615					620					
Val	Gln	Gly	Asn	Lys	Asp	His	Ile	Ile	Leu	Glu	His	Leu	Gln	Trp	Thr	
625					630					635						640
Met	Gly	Tyr	Glu	Val	Gln	Ile	Thr	Ala	Ala	Asn	Arg	Leu	Gly	Tyr	Ser	
				645					650					655		
Glu	Pro	Thr	Val	Tyr	Glu	Phe	Ser	Met	Pro	Pro	Lys	Pro	Asn	Ile	Ile	
			660					665					670			
Lys	Asp	Thr	Leu	Phe	Asn	Gly	Leu	Gly	Leu	Gly	Ala	Val	Ile	Gly	Leu	
		675					680					685				
Gly	Val	Ala	Ala	Leu	Leu	Leu	Ile	Leu	Val	Val	Thr	Asp	Val	Ser	Cys	
	690						695				700					
Phe	Phe	Ile	Arg	Gln	Cys	Gly	Leu	Leu	Met	Cys	Ile	Thr	Arg	Arg	Met	
705					710					715						720
Cys	Gly	Lys	Lys	Ser	Gly	Ser	Ser	Gly	Lys	Ser	Lys	Glu	Leu	Glu	Glu	
				725					730					735		
Gly	Lys	Ala	Ala	Tyr	Leu	Lys	Asp	Gly	Ser	Lys	Glu	Pro	Ile	Val	Glu	
			740					745					750			
Met	Arg	Thr	Glu	Asp	Glu	Arg	Val	Thr	Asn	His	Glu	Asp	Gly	Ser	Pro	
		755					760					765				

[0029]

Val Asn Glu Pro Asn Glu Thr Thr Pro Leu Thr Glu Pro Glu Lys Leu  
770 775 780

Pro Leu Lys Glu Glu Asp Gly Lys Glu Ala Leu Asn Pro Glu Thr Ile  
785 790 795 800

Glu Ile Lys Val Ser Asn Asp Ile Ile Gln Ser Lys Glu Asp Asp Ser  
805 810 815

Lys Ala

<210> 9  
<211> 287  
<212> PRT  
<213> 人

<400> 9

Met Gly Asn Ala Met Phe Val Lys Glu Gln Leu Ser Leu Leu Asp Arg  
1 5 10 15

Phe Thr Glu Asp Ala Lys Arg Leu Tyr Gly Ser Glu Ala Phe Ala Thr  
20 25 30

Asp Phe Gln Asp Ser Ala Ala Ala Lys Lys Leu Ile Asn Asp Tyr Val  
35 40 45

Lys Asn Gly Thr Arg Gly Lys Ile Thr Asp Leu Ile Lys Asn Leu Asp  
50 55 60

Ser Gln Thr Met Met Val Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe Lys Ala Lys  
65 70 75 80

Trp Glu Met Pro Phe Asp Pro Gln Asp Thr His Gln Ser Arg Phe Tyr  
85 90 95

Leu Asn Lys Lys Lys Trp Val Met Val Pro Met Met Ser Leu His His  
100 105 110

Leu Thr Ile Pro Tyr Phe Arg Asp Glu Glu Leu Ser Cys Thr Val Val  
115 120 125

Glu Leu Lys Tyr Thr Gly Asn Ala Ser Ala Leu Phe Ile Leu Pro Asp  
130 135 140

Gln Asp Lys Met Glu Glu Val Glu Ala Met Leu Leu Pro Glu Thr Leu  
145 150 155 160

[0030]

Lys Arg Trp Arg Asp Ser Leu Glu Phe Arg Glu Ile Gly Glu Leu Tyr  
165 170 175

Leu Pro Lys Phe Ser Ile Ser Arg Asp Tyr Asn Leu Asn Asp Ile Leu  
180 185 190

Leu Gln Leu Gly Ile Glu Glu Ala Phe Thr Ser Lys Ala Asp Leu Ser  
195 200 205

Gly Ile Thr Gly Ala Arg Asn Leu Ala Val Ser Gln Val Val His Lys  
210 215 220

Ala Val Leu Asp Val Phe Glu Glu Gly Thr Glu Ala Ser Ala Ala Thr  
225 230 235 240

Ala Val Lys Ile Thr Leu Leu Ser Ala Leu Val Glu Thr Arg Thr Ile  
245 250 255

Val Arg Phe Asn Arg Pro Phe Leu Met Ile Ile Val Pro Thr Asp Thr  
260 265 270

Gln Asn Ile Phe Phe Met Ser Lys Val Thr Asn Pro Lys Gln Ala  
275 280 285

<210> 10  
<211> 338  
<212> PRT  
<213> 人

<400> 10

Met Arg Lys Arg Ala Pro Gln Ser Glu Met Ala Pro Ala Gly Val Ser  
1 5 10 15

Leu Arg Ala Thr Ile Leu Cys Leu Leu Ala Trp Ala Gly Leu Ala Ala  
20 25 30

Gly Asp Arg Val Tyr Ile His Pro Phe His Leu Val Ile His Asn Glu  
35 40 45

Ser Thr Cys Glu Gln Leu Ala Lys Ala Asn Ala Gly Lys Pro Lys Asp  
50 55 60

Pro Thr Phe Ile Pro Ala Pro Ile Gln Ala Lys Thr Ser Pro Val Asp  
65 70 75 80

Glu Lys Ala Leu Gln Asp Gln Leu Val Leu Val Ala Ala Lys Leu Asp  
85 90 95

[0031]

Thr Glu Asp Lys Leu Arg Ala Ala Met Val Gly Met Leu Ala Asn Phe  
 100 105 110  
 Leu Gly Phe Arg Ile Tyr Gly Met His Ser Glu Leu Trp Gly Val Val  
 115 120 125  
 His Gly Ala Thr Val Leu Ser Pro Thr Ala Val Phe Gly Thr Leu Ala  
 130 135 140  
 Ser Leu Tyr Leu Gly Ala Leu Asp His Thr Ala Asp Arg Leu Gln Ala  
 145 150 155 160  
 Ile Leu Gly Val Pro Trp Lys Asp Lys Asn Cys Thr Ser Arg Leu Asp  
 165 170 175  
 Ala His Lys Val Leu Ser Ala Leu Gln Ala Val Gln Gly Leu Leu Val  
 180 185  
 Ala Gln Gly Arg Ala Asp Ser Gln Ala Gln Leu Leu Leu Ser Thr Val  
 195 200 205  
 Val Gly Val Phe Thr Ala Pro Gly Leu His Leu Lys Gln Pro Phe Val  
 210 215 220  
 Gln Gly Leu Ala Leu Tyr Thr Pro Val Val Leu Pro Arg Ser Leu Asp  
 225 230 235 240  
 Phe Thr Glu Leu Asp Val Ala Ala Glu Lys Ile Asp Arg Phe Met Gln  
 245 250 255  
 Ala Val Thr Gly Trp Lys Thr Gly Cys Ser Leu Met Gly Ala Ser Val  
 260 265 270  
 Asp Ser Thr Leu Ala Phe Asn Thr Tyr Val His Phe Gln Gly Lys Met  
 275 280 285  
 Lys Gly Phe Ser Leu Leu Ala Glu Pro Gln Glu Phe Trp Val Asp Asn  
 290 295 300  
 Ser Thr Ser Val Ser Val Pro Met Leu Ser Gly Met Gly Thr Phe Gln  
 305 310 315 320  
 His Trp Ser Asp Ile Gln Asp Asn Phe Ser Val Thr Gln Val Pro Phe  
 325 330 335  
 Thr Glu

[0032]

<210> 11  
 <211> 485  
 <212> PRT  
 <213> 人  
  
 <400> 11  
 Met Arg Lys Arg Ala Pro Gln Ser Glu Met Ala Pro Ala Gly Val Ser  
 1 5 10 15  
  
 Leu Arg Ala Thr Ile Leu Cys Leu Leu Ala Trp Ala Gly Leu Ala Ala  
 20 25 30  
  
 Gly Asp Arg Val Tyr Ile His Pro Phe His Leu Val Ile His Asn Glu  
 35 40 45  
  
 Ser Thr Cys Glu Gln Leu Ala Lys Ala Asn Ala Gly Lys Pro Lys Asp  
 50 55 60  
  
 Pro Thr Phe Ile Pro Ala Pro Ile Gln Ala Lys Thr Ser Pro Val Asp  
 65 70 75 80  
  
 Glu Lys Ala Leu Gln Asp Gln Leu Val Leu Val Ala Ala Lys Leu Asp  
 85 90 95  
  
 Thr Glu Asp Lys Leu Arg Ala Ala Met Val Gly Met Leu Ala Asn Phe  
 100 105 110  
  
 Leu Gly Phe Arg Ile Tyr Gly Met His Ser Glu Leu Trp Gly Val Val  
 115 120 125  
  
 His Gly Ala Thr Val Leu Ser Pro Thr Ala Val Phe Gly Thr Leu Ala  
 130 135 140  
  
 Ser Leu Tyr Leu Gly Ala Leu Asp His Thr Ala Asp Arg Leu Gln Ala  
 145 150 155 160  
  
 Ile Leu Gly Val Pro Trp Lys Asp Lys Asn Cys Thr Ser Arg Leu Asp  
 165 170 175  
  
 Ala His Lys Val Leu Ser Ala Leu Gln Ala Val Gln Gly Leu Leu Val  
 180 185 190  
  
 Ala Gln Gly Arg Ala Asp Ser Gln Ala Gln Leu Leu Leu Ser Thr Val  
 195 200 205  
  
 Val Gly Val Phe Thr Ala Pro Gly Leu His Leu Lys Gln Pro Phe Val  
 210 215 220

[0033]

Gln Gly Leu Ala Leu Tyr Thr Pro Val Val Leu Pro Arg Ser Leu Asp  
 225 230 235 240  
 Phe Thr Glu Leu Asp Val Ala Ala Glu Lys Ile Asp Arg Phe Met Gln  
 245 250 255  
 Ala Val Thr Gly Trp Lys Thr Gly Cys Ser Leu Met Gly Ala Ser Val  
 260 265 270  
 Asp Ser Thr Leu Ala Phe Asn Thr Tyr Val His Phe Gln Gly Lys Met  
 275 280 285  
 Lys Gly Phe Ser Leu Leu Ala Glu Pro Gln Glu Phe Trp Val Asp Asn  
 290 295 300  
 Ser Thr Ser Val Ser Val Pro Met Leu Ser Gly Met Gly Thr Phe Gln  
 305 310 315 320  
 His Trp Ser Asp Ile Gln Asp Asn Phe Ser Val Thr Gln Val Pro Phe  
 325 330 335  
 Thr Glu Ser Ala Cys Leu Leu Leu Ile Gln Pro His Tyr Ala Ser Asp  
 340 345 350  
 Leu Asp Lys Val Glu Gly Leu Thr Phe Gln Gln Asn Ser Leu Asn Trp  
 355 360 365  
 Met Lys Lys Leu Ser Pro Arg Thr Ile His Leu Thr Met Pro Gln Leu  
 370 375 380  
 Val Leu Gln Gly Ser Tyr Asp Leu Gln Asp Leu Leu Ala Gln Ala Glu  
 385 390 395 400  
 Leu Pro Ala Ile Leu His Thr Glu Leu Asn Leu Gln Lys Leu Ser Asn  
 405 410 415  
 Asp Arg Ile Arg Val Gly Glu Val Leu Asn Ser Ile Phe Phe Glu Leu  
 420 425 430  
 Glu Ala Asp Glu Arg Glu Pro Thr Glu Ser Thr Gln Gln Leu Asn Lys  
 435 440 445  
 Pro Glu Val Leu Glu Val Thr Leu Asn Arg Pro Phe Leu Phe Ala Val  
 450 455 460  
 Tyr Asp Gln Ser Ala Thr Ala Leu His Phe Leu Gly Arg Val Ala Asn  
 465 470 475 480

[0034]

Pro Leu Ser Thr Ala  
485

<210> 12  
<211> 398  
<212> PRT  
<213> 人

<400> 12

Met Gly Ala Pro Ala Ala Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe Ala  
1 5 10 15

Cys Cys Trp Ala Pro Gly Gly Ala Asn Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gln  
20 25 30

Pro Trp Thr Ser Asp Glu Thr Val Val Ala Gly Gly Thr Val Val Leu  
35 40 45

Lys Cys Gln Val Lys Asp His Glu Asp Ser Ser Leu Gln Trp Ser Asn  
50 55 60

Pro Ala Gln Gln Thr Leu Tyr Phe Gly Glu Lys Arg Ala Leu Arg Asp  
65 70 75 80

Asn Arg Ile Gln Leu Val Thr Ser Thr Pro His Glu Leu Ser Ile Ser  
85 90 95

Ile Ser Asn Val Ala Leu Ala Asp Glu Gly Glu Tyr Thr Cys Ser Ile  
100 105 110

Phe Thr Met Pro Val Arg Thr Ala Lys Ser Leu Val Thr Val Leu Gly  
115 120 125

Ile Pro Gln Lys Pro Ile Ile Thr Gly Tyr Lys Ser Ser Leu Arg Glu  
130 135 140

Lys Asp Thr Ala Thr Leu Asn Cys Gln Ser Ser Gly Ser Lys Pro Ala  
145 150 155 160

Ala Arg Leu Thr Trp Arg Lys Gly Asp Gln Glu Leu His Gly Glu Pro  
165 170 175

Thr Arg Ile Gln Glu Asp Pro Asn Gly Lys Thr Phe Thr Val Ser Ser  
180 185 190

Ser Val Thr Phe Gln Val Thr Arg Glu Asp Asp Gly Ala Ser Ile Val  
195 200 205

[0035]

Cys Ser Val Asn His Glu Ser Leu Lys Gly Ala Asp Arg Ser Thr Ser  
 210 215 220  
 Gln Arg Ile Glu Val Leu Tyr Thr Pro Thr Ala Met Ile Arg Pro Asp  
 225 230 235 240  
 Pro Pro His Pro Arg Glu Gly Gln Lys Leu Leu Leu His Cys Glu Gly  
 245 250 255  
 Arg Gly Asn Pro Val Pro Gln Gln Tyr Leu Trp Glu Lys Glu Gly Ser  
 260 265 270  
 Val Pro Pro Leu Lys Met Thr Gln Glu Ser Ala Leu Ile Phe Pro Phe  
 275 280 285  
 Leu Asn Lys Ser Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Cys Thr Ala Thr Ser Asn  
 290 295 300  
 Met Gly Ser Tyr Lys Ala Tyr Tyr Thr Leu Asn Val Asn Asp Pro Ser  
 305 310 315 320  
 Pro Val Pro Ser Ser Ser Ser Thr Tyr His Ala Ile Ile Gly Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ala Phe Ile Val Phe Leu Leu Leu Ile Met Leu Ile Phe Leu Gly  
 340 345 350  
 His Tyr Leu Ile Arg His Lys Gly Thr Tyr Leu Thr His Glu Ala Lys  
 355 360 365  
 Gly Ser Asp Asp Ala Pro Asp Ala Asp Thr Ala Ile Ile Asn Ala Glu  
 370 375 380  
 Gly Gly Gln Ser Gly Gly Asp Asp Lys Lys Glu Tyr Phe Ile  
 385 390 395  
 <210> 13  
 <211> 350  
 <212> PRT  
 <213> 人  
 <400> 13  
 Met Gln Arg Leu Gly Ala Thr Leu Leu Cys Leu Leu Leu Ala Ala Ala  
 1 5 10 15  
 Val Pro Thr Ala Pro Ala Pro Ala Pro Thr Ala Thr Ser Ala Pro Val  
 20 25 30

[0036]

Lys Pro Gly Pro Ala Leu Ser Tyr Pro Gln Glu Glu Ala Thr Leu Asn  
 35 40 45  
 Glu Met Phe Arg Glu Val Glu Glu Leu Met Glu Asp Thr Gln His Lys  
 50 55 60  
 Leu Arg Ser Ala Val Glu Glu Met Glu Ala Glu Glu Ala Ala Ala Lys  
 65 70 75 80  
 Ala Ser Ser Glu Val Asn Leu Ala Asn Leu Pro Pro Ser Tyr His Asn  
 85 90 95  
 Glu Thr Asn Thr Asp Thr Lys Val Gly Asn Asn Thr Ile His Val His  
 100 105 110  
 Arg Glu Ile His Lys Ile Thr Asn Asn Gln Thr Gly Gln Met Val Phe  
 115 120 125  
 Ser Glu Thr Val Ile Thr Ser Val Gly Asp Glu Glu Gly Arg Arg Ser  
 130 135 140  
 His Glu Cys Ile Ile Asp Glu Asp Cys Gly Pro Ser Met Tyr Cys Gln  
 145 150 155 160  
 Phe Ala Ser Phe Gln Tyr Thr Cys Gln Pro Cys Arg Gly Gln Arg Met  
 165 170 175  
 Leu Cys Thr Arg Asp Ser Glu Cys Cys Gly Asp Gln Leu Cys Val Trp  
 180 185 190  
 Gly His Cys Thr Lys Met Ala Thr Arg Gly Ser Asn Gly Thr Ile Cys  
 195 200 205  
 Asp Asn Gln Arg Asp Cys Gln Pro Gly Leu Cys Cys Ala Phe Gln Arg  
 210 215 220  
 Gly Leu Leu Phe Pro Val Cys Thr Pro Leu Pro Val Glu Gly Glu Leu  
 225 230 235 240  
 Cys His Asp Pro Ala Ser Arg Leu Leu Asp Leu Ile Thr Trp Glu Leu  
 245 250 255  
 Glu Pro Asp Gly Ala Leu Asp Arg Cys Pro Cys Ala Ser Gly Leu Leu  
 260 265 270  
 Cys Gln Pro His Ser His Ser Leu Val Tyr Val Cys Lys Pro Thr Phe

[0037]

275 280 285

Val Gly Ser Arg Asp Gln Asp Gly Glu Ile Leu Leu Pro Arg Glu Val  
 290 295 300

Pro Asp Glu Tyr Glu Val Gly Ser Phe Met Glu Glu Val Arg Gln Glu  
 305 310 315 320

Leu Glu Asp Leu Glu Arg Ser Leu Thr Glu Glu Met Ala Leu Arg Glu  
 325 330 335

Pro Ala Ala Ala Ala Ala Ala Leu Leu Gly Gly Glu Glu Ile  
 340 345 350

<210> 14  
 <211> 398  
 <212> PRT  
 <213> 人

<400> 14

Asn Pro Ala Ser Pro Pro Glu Glu Gly Ser Pro Asp Pro Asp Ser Thr  
 1 5 10 15

Gly Ala Leu Val Glu Glu Glu Asp Pro Phe Phe Lys Val Pro Val Asn  
 20 25 30

Lys Leu Ala Ala Ala Val Ser Asn Phe Gly Tyr Asp Leu Tyr Arg Val  
 35 40 45

Arg Ser Ser Met Ser Pro Thr Thr Asn Val Leu Leu Ser Pro Leu Ser  
 50 55 60

Val Ala Thr Ala Leu Ser Ala Leu Ser Leu Gly Ala Asp Glu Arg Thr  
 65 70 75 80

Glu Ser Ile Ile His Arg Ala Leu Tyr Tyr Asp Leu Ile Ser Ser Pro  
 85 90 95

Asp Ile His Gly Thr Tyr Lys Glu Leu Leu Asp Thr Val Thr Ala Pro  
 100 105 110

Gln Lys Asn Leu Lys Ser Ala Ser Arg Ile Val Phe Glu Lys Lys Leu  
 115 120 125

Arg Ile Lys Ser Ser Phe Val Ala Pro Leu Glu Lys Ser Tyr Gly Thr  
 130 135 140

Arg Pro Arg Val Leu Thr Gly Asn Pro Arg Leu Asp Leu Gln Glu Ile

[0038]



<210> 15  
 <211> 474  
 <212> PRT  
 <213> 人  
  
 <400> 15  
 Met Lys Arg Val Leu Val Leu Leu Leu Ala Val Ala Phe Gly His Ala  
 1 5 10 15  
 Leu Glu Arg Gly Arg Asp Tyr Glu Lys Asn Lys Val Cys Lys Glu Phe  
 20 25 30  
 Ser His Leu Gly Lys Glu Asp Phe Thr Ser Leu Ser Leu Val Leu Tyr  
 35 40 45  
 Ser Arg Lys Phe Pro Ser Gly Thr Phe Glu Gln Val Ser Gln Leu Val  
 50 55 60  
 Lys Glu Val Val Ser Leu Thr Glu Ala Cys Cys Ala Glu Gly Ala Asp  
 65 70 75 80  
 Pro Asp Cys Tyr Asp Thr Arg Thr Ser Ala Leu Ser Ala Lys Ser Cys  
 85 90 95  
 Glu Ser Asn Ser Pro Phe Pro Val His Pro Gly Thr Ala Glu Cys Cys  
 100 105 110  
 Thr Lys Glu Gly Leu Glu Arg Lys Leu Cys Met Ala Ala Leu Lys His  
 115 120  
 Gln Pro Gln Glu Phe Pro Thr Tyr Val Glu Pro Thr Asn Asp Glu Ile  
 130 135 140  
 Cys Glu Ala Phe Arg Lys Asp Pro Lys Glu Tyr Ala Asn Gln Phe Met  
 145 150 155 160  
 Trp Glu Tyr Ser Thr Asn Tyr Glu Gln Ala Pro Leu Ser Leu Leu Val  
 165 170 175  
 Ser Tyr Thr Lys Ser Tyr Leu Ser Met Val Gly Ser Cys Cys Thr Ser  
 180 185 190  
 Ala Ser Pro Thr Val Cys Phe Leu Lys Glu Arg Leu Gln Leu Lys His  
 195 200 205  
 Leu Ser Leu Leu Thr Thr Leu Ser Asn Arg Val Cys Ser Gln Tyr Ala  
 210 215 220

[0040]

Ala Tyr Gly Glu Lys Lys Ser Arg Leu Ser Asn Leu Ile Lys Leu Ala  
 225 230 235 240

Gln Lys Val Pro Thr Ala Asp Leu Glu Asp Val Leu Pro Leu Ala Glu  
 245 250 255

Asp Ile Thr Asn Ile Leu Ser Lys Cys Cys Glu Ser Ala Ser Glu Asp  
 260 265 270

Cys Met Ala Lys Glu Leu Pro Glu His Thr Val Lys Leu Cys Asp Asn  
 275 280 285

Leu Ser Thr Lys Asn Ser Lys Phe Glu Asp Cys Cys Gln Glu Lys Thr  
 290 295 300

Ala Met Asp Val Phe Val Cys Thr Tyr Phe Met Pro Ala Ala Gln Leu  
 305 310 315 320

Pro Glu Leu Pro Asp Val Arg Leu Pro Thr Asn Lys Asp Val Cys Asp  
 325 330 335

Pro Gly Asn Thr Lys Val Met Asp Lys Tyr Thr Phe Glu Leu Ser Arg  
 340 345 350

Arg Thr His Leu Pro Glu Val Phe Leu Ser Lys Val Leu Glu Pro Thr  
 355 360 365

Leu Lys Ser Leu Gly Glu Cys Cys Asp Val Glu Asp Ser Thr Thr Cys  
 370 375 380

Phe Asn Ala Lys Gly Pro Leu Leu Lys Lys Glu Leu Ser Ser Phe Ile  
 385 390 395 400

Asp Lys Gly Gln Glu Leu Cys Ala Asp Tyr Ser Glu Asn Thr Phe Thr  
 405 410 415

Glu Tyr Lys Lys Lys Leu Ala Glu Arg Leu Lys Ala Lys Leu Pro Glu  
 420 425 430

Ala Thr Pro Thr Glu Leu Ala Lys Leu Val Asn Lys Arg Ser Asp Phe  
 435 440 445

Ala Ser Asn Cys Cys Ser Ile Asn Ser Pro Pro Leu Tyr Cys Asp Ser  
 450 455 460

Glu Ile Asp Ala Glu Leu Lys Asn Ile Leu  
 465 470

[0041]

<210> 16  
 <211> 375  
 <212> PRT  
 <213> 人  
  
 <400> 16  
 Met Glu Arg Ala Ser Cys Leu Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Val His  
 1 5 10 15  
  
 Val Ser Ala Thr Thr Pro Glu Pro Cys Glu Leu Asp Asp Glu Asp Phe  
 20 25 30  
  
 Arg Cys Val Cys Asn Phe Ser Glu Pro Gln Pro Asp Trp Ser Glu Ala  
 35 40 45  
  
 Phe Gln Cys Val Ser Ala Val Glu Val Glu Ile His Ala Gly Gly Leu  
 50 55 60  
  
 Asn Leu Glu Pro Phe Leu Lys Arg Val Asp Ala Asp Ala Asp Pro Arg  
 65 70 75 80  
  
 Gln Tyr Ala Asp Thr Val Lys Ala Leu Arg Val Arg Arg Leu Thr Val  
 85 90 95  
  
 Gly Ala Ala Gln Val Pro Ala Gln Leu Leu Val Gly Ala Leu Arg Val  
 100 105 110  
  
 Leu Ala Tyr Ser Arg Leu Lys Glu Leu Thr Leu Glu Asp Leu Lys Ile  
 115 120 125  
  
 Thr Gly Thr Met Pro Pro Leu Pro Leu Glu Ala Thr Gly Leu Ala Leu  
 130 135 140  
  
 Ser Ser Leu Arg Leu Arg Asn Val Ser Trp Ala Thr Gly Arg Ser Trp  
 145 150 155 160  
  
 Leu Ala Glu Leu Gln Gln Trp Leu Lys Pro Gly Leu Lys Val Leu Ser  
 165 170 175  
  
 Ile Ala Gln Ala His Ser Pro Ala Phe Ser Cys Glu Gln Val Arg Ala  
 180 185 190  
  
 Phe Pro Ala Leu Thr Ser Leu Asp Leu Ser Asp Asn Pro Gly Leu Gly  
 195 200 205  
  
 Glu Arg Gly Leu Met Ala Ala Leu Cys Pro His Arg Phe Pro Ala Ile  
 210 215 220

[0042]

Gln Asn Leu Ala Leu Arg Asn Thr Gly Met Glu Thr Pro Thr Gly Val  
225 230 235 240

Cys Ala Ala Leu Ala Ala Ala Gly Val Gln Pro His Ser Leu Asp Leu  
245 250 255

Ser His Asn Ser Leu Arg Ala Thr Val Asn Pro Ser Ala Pro Arg Cys  
260 265 270

Met Trp Ser Ser Ala Leu Asn Ser Leu Asn Leu Ser Phe Ala Gly Leu  
275 280 285

Glu Gln Val Pro Lys Gly Leu Pro Ala Lys Leu Arg Val Leu Asp Leu  
290 295 300

Ser Cys Asn Arg Leu Asn Arg Ala Pro Gln Pro Asp Glu Leu Pro Glu  
305 310 315 320

Val Asp Asn Leu Thr Leu Asp Gly Asn Pro Phe Leu Val Pro Gly Thr  
325 330 335

Ala Leu Pro His Glu Gly Ser Met Asn Ser Gly Val Val Pro Ala Cys  
340 345 350

Ala Arg Ser Thr Leu Ser Val Gly Val Ser Gly Thr Leu Val Leu Leu  
355 360 365

Gln Gly Ala Arg Gly Phe Ala  
370 375

<210> 17  
<211> 396  
<212> PRT  
<213> 人

<400> 17

Met Gly Ala Pro Val Ala Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe Ala Cys Cys  
1 5 10 15

Trp Ala Pro Ser Gly Ala Asn Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gln Pro Trp  
20 25 30

Thr Ser Asp Glu Thr Val Val Ala Gly Gly Thr Val Val Leu Lys Cys  
35 40 45

Gln Val Lys Asp His Glu Asp Ser Ser Leu Gln Trp Ser Asn Pro Ala  
50 55 60

[0043]

Gln Gln Thr Leu Tyr Phe Gly Glu Lys Arg Ala Leu Arg Asp Asn Arg  
 65 70 75 80  
 Ile Gln Leu Val Thr Ser Thr Pro His Glu Leu Ser Ile Ser Ile Ser  
 85 90 95  
 Asn Val Ala Leu Ala Asp Glu Gly Glu Tyr Thr Cys Ser Ile Phe Thr  
 100 105 110  
 Met Pro Val Arg Thr Ala Lys Ser Leu Val Thr Val Leu Gly Ile Pro  
 115 120 125  
 Gln Lys Pro Ile Ile Thr Gly Tyr Lys Ser Ser Leu Arg Glu Lys Asp  
 130 135 140  
 Thr Ala Thr Leu Asn Cys Gln Ser Ser Gly Ser Lys Pro Ala Ala Arg  
 145 150 155 160  
 Leu Thr Trp Arg Lys Gly Asp Gln Glu Leu His Gly Glu Pro Thr Arg  
 165 170 175  
 Ile Gln Glu Asp Pro Asn Gly Lys Thr Phe Thr Val Ser Ser Ser Val  
 180 185 190  
 Thr Phe Gln Val Thr Arg Glu Asp Asp Gly Ala Asn Ile Val Cys Ser  
 195 200 205  
 Val Asn His Glu Ser Leu Lys Gly Ala Asp Arg Ser Thr Ser Gln Arg  
 210 215 220  
 Ile Glu Val Leu Tyr Thr Pro Thr Ala Met Ile Arg Pro Asp Pro Pro  
 225 230 235 240  
 His Pro Arg Glu Gly Gln Lys Leu Leu Leu His Cys Glu Gly Arg Gly  
 245 250 255  
 Asn Pro Val Pro Gln Gln Tyr Leu Trp Glu Lys Glu Gly Ser Val Pro  
 260 265 270  
 Pro Leu Lys Met Thr Gln Glu Ser Ala Leu Ile Phe Pro Phe Leu Asn  
 275 280 285  
 Lys Ser Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Cys Thr Ala Thr Ser Asn Met Gly  
 290 295 300  
 Ser Tyr Lys Ala Tyr Tyr Thr Leu Asn Val Asn Asp Pro Ser Pro Val  
 305 310 315 320

[0044]

Pro Ser Ser Ser Ser Thr Tyr His Ala Ile Ile Gly Gly Ile Val Ala  
325 330 335

Phe Ile Val Phe Leu Leu Leu Ile Met Leu Ile Phe Leu Gly His Tyr  
340 345 350

Leu Ile Arg His Lys Gly Thr Tyr Leu Thr His Glu Ala Lys Gly Ser  
355 360 365

Asp Asp Ala Pro Asp Ala Asp Thr Ala Ile Ile Asn Ala Glu Gly Gly  
370 375 380

Gln Ser Gly Gly Asp Asp Lys Lys Glu Tyr Phe Ile  
385 390 395

<210> 18

<211> 398

<212> PRT

<213> 人

<400> 18

Met Gly Ala Pro Ala Ala Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe Ala  
1 5 10 15

Cys Cys Trp Ala Pro Gly Gly Ala Asn Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gln  
20 25 30

Pro Trp Thr Ser Asp Glu Thr Val Val Ala Gly Gly Thr Val Val Leu  
35 40 45

Lys Cys Gln Val Lys Asp His Glu Asp Ser Ser Leu Gln Trp Ser Asn  
50 55 60

Pro Ala Gln Gln Thr Leu Tyr Phe Gly Glu Lys Arg Ala Leu Arg Asp  
65 70 75 80

Asn Arg Ile Gln Leu Val Thr Ser Thr Pro His Glu Leu Ser Ile Ser  
85 90 95

Ile Ser Asn Val Ala Leu Ala Asp Glu Gly Glu Tyr Thr Cys Ser Ile  
100 105 110

Phe Thr Met Pro Val Arg Thr Ala Lys Ser Leu Val Thr Val Leu Gly  
115 120 125

Ile Pro Gln Lys Pro Ile Ile Thr Gly Tyr Lys Ser Ser Leu Arg Glu  
130 135 140

[0045]

Lys Asp Thr Ala Thr Leu Asn Cys Gln Ser Ser Gly Ser Lys Pro Ala  
 145 150 155 160  
 Ala Arg Leu Thr Trp Arg Lys Gly Asp Gln Glu Leu His Gly Glu Pro  
 165 170 175  
 Thr Arg Ile Gln Glu Asp Pro Asn Gly Lys Thr Phe Thr Val Ser Ser  
 180 185 190  
 Ser Val Thr Phe Gln Val Thr Arg Glu Asp Asp Gly Ala Ser Ile Val  
 195 200 205  
 Cys Ser Val Asn His Glu Ser Leu Lys Gly Ala Asp Arg Ser Thr Ser  
 210 215 220  
 Gln Arg Ile Glu Val Leu Tyr Thr Pro Thr Ala Met Ile Arg Pro Asp  
 225 230 235  
 Pro Pro His Pro Arg Glu Gly Gln Lys Leu Leu Leu His Cys Glu Gly  
 245 250 255  
 Arg Gly Asn Pro Val Pro Gln Gln Tyr Leu Trp Glu Lys Glu Gly Ser  
 260 265 270  
 Val Pro Pro Leu Lys Met Thr Gln Glu Ser Ala Leu Ile Phe Pro Phe  
 275 280 285  
 Leu Asn Lys Ser Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Cys Thr Ala Thr Ser Asn  
 290 295 300  
 Met Gly Ser Tyr Lys Ala Tyr Tyr Thr Leu Asn Val Asn Asp Pro Ser  
 305 310 315 320  
 Pro Val Pro Ser Ser Ser Ser Thr Tyr His Ala Ile Ile Gly Gly Ile  
 325 330 335  
 Val Ala Phe Ile Val Phe Leu Leu Leu Ile Met Leu Ile Phe Leu Gly  
 340 345 350  
 His Tyr Leu Ile Arg His Lys Gly Thr Tyr Leu Thr His Glu Ala Lys  
 355 360 365  
 Gly Ser Asp Asp Ala Pro Asp Ala Asp Thr Ala Ile Ile Asn Ala Glu  
 370 375 380  
 Gly Gly Gln Ser Gly Gly Asp Asp Lys Lys Glu Tyr Phe Ile

[0046]



210	215	220																							
Thr 225	Val	Asn	Ser	Ser	Asn 230	Ser	Ile	Lys	Gln	Arg 235	Lys	Pro	Lys	Leu	Leu 240										
Leu	Pro	Pro	Thr	Glu 245	Ser	Gly	Ser	Glu	Ser 250	Ser	Ile	Thr	Ile	Leu 255	Lys										
Gly	Glu	Ile	Leu 260	Leu	Leu	Glu	Cys	Phe 265	Ala	Glu	Gly	Leu	Pro 270	Thr	Pro										
Gln	Val	Asp 275	Trp	Asn	Lys	Ile	Gly 280	Gly	Asp	Leu	Pro	Lys 285	Gly	Arg	Glu										
Ala	Lys 290	Glu	Asn	Tyr	Gly	Lys 295	Thr	Leu	Lys	Ile	Glu 300	Asn	Val	Ser	Tyr										
Gln 305	Asp	Lys	Gly	Asn	Tyr 310	Arg	Cys	Thr	Ala	Ser 315	Asn	Phe	Leu	Gly	Thr 320										
Ala	Thr	His	Asp	Phe 325	His	Val	Ile	Val	Glu 330	Glu	Pro	Pro	Arg	Trp 335	Thr										
Lys	Lys	Pro	Gln 340	Ser	Ala	Val	Tyr	Ser 345	Thr	Gly	Ser	Asn	Gly 350	Ile	Leu										
Leu	Cys	Glu 355	Ala	Glu	Gly	Glu	Pro 360	Gln	Pro	Thr	Ile	Lys 365	Trp	Arg	Val										
Asn	Gly 370	Ser	Pro	Val	Asp	Asn 375	His	Pro	Phe	Ala	Gly 380	Asp	Val	Val	Phe										
Pro 385	Arg	Glu	Ile	Ser	Phe 390	Thr	Asn	Leu	Gln	Pro 395	Asn	His	Thr	Ala	Val 400										
Tyr	Gln	Cys	Glu	Ala 405	Ser	Asn	Val	His	Gly 410	Thr	Ile	Leu	Ala	Asn 415	Ala										
Asn	Ile	Asp	Val 420	Val	Asp	Val	Arg	Pro 425	Leu	Ile	Gln	Thr	Lys 430	Asp	Gly										
Glu	Asn	Tyr 435	Ala	Thr	Val	Val	Gly 440	Tyr	Ser	Ala	Phe	Leu 445	His	Cys	Glu										
Phe	Phe 450	Ala	Ser	Pro	Glu	Ala 455	Val	Val	Ser	Trp	Gln 460	Lys	Val	Glu	Glu										

[0048]

Val 465 Lys Pro Leu Glu 470 Gly Arg Arg Tyr His 475 Ile Tyr Glu Asn Gly Thr 480  
 Leu Gln Ile Asn 485 Arg Thr Thr Glu Glu Asp 490 Ala Gly Ser Tyr Ser Cys 495  
 Trp Val Glu Asn 500 Ala Ile Gly Lys Thr 505 Ala Val Thr Ala Asn Leu Asp 510  
 Ile Arg Asn 515 Ala Thr Lys Leu Arg 520 Val Ser Pro Lys Asn Pro Arg Ile 525  
 Pro Lys 530 Leu His Met Leu 535 Glu Leu His Cys Glu Ser 540 Lys Cys Asp Ser  
 His 545 Leu Lys His Ser 550 Leu Lys Leu Ser Trp Ser 555 Lys Asp Gly Glu Ala 560  
 Phe Glu Ile Asn 565 Gly Thr Glu Asp Gly Arg 570 Ile Ile Ile Asp Gly Ala 575  
 Asn Leu Thr 580 Ile Ser Asn Val Thr 585 Leu Glu Asp Gln Gly Ile Tyr Cys 590  
 Cys Ser Ala 595 His Thr Ala Leu Asp 600 Ser Ala Ala Asp Ile Thr Gln Val 605  
 Thr Val 610 Leu Asp Val Pro Asp 615 Pro Pro Glu Asn Leu His Leu Ser Glu 620  
 Arg Gln Asn Arg Ser 630 Val Arg Leu Thr Trp Glu 635 Ala Gly Ala Asp His 640  
 Asn Ser Asn Ile 645 Ser Glu Tyr Ile Val 650 Glu Phe Glu Gly Asn Lys Glu 655  
 Glu Pro Gly Arg Trp Glu Glu Leu Thr 665 Arg Val Gln Gly Lys Lys Thr 670  
 Thr Val 675 Ile Leu Pro Leu Ala Pro 680 Phe Val Arg Tyr Gln Phe Arg Val 685  
 Ile Ala Val 690 Asn Glu Val 695 Gly Arg Ser Gln Pro Ser 700 Gln Pro Ser Asp  
 His 705 His Glu Thr Pro Pro 710 Ala Ala Pro Asp Arg 715 Asn Pro Gln Asn Ile 720

[0049]

Arg Val Gln Ala Ser Gln Pro Lys Glu Met Ile Ile Lys Trp Glu Pro  
 725 730 735  
 Leu Lys Ser Met Glu Gln Asn Gly Pro Gly Leu Glu Tyr Arg Val Thr  
 740 745 750  
 Trp Lys Pro Gln Gly Ala Pro Val Glu Trp Glu Glu Glu Thr Val Thr  
 755 760 765  
 Asn His Thr Leu Arg Val Met Thr Pro Ala Val Tyr Ala Pro Tyr Asp  
 770 775 780  
 Val Lys Val Gln Ala Ile Asn Gln Leu Gly Ser Gly Pro Asp Pro Gln  
 785 790 795 800  
 Ser Val Thr Leu Tyr Ser Gly Glu Asp Tyr Pro Asp Thr Ala Pro Val  
 805 810 815  
 Ile His Gly Val Asp Val Ile Asn Ser Thr Leu Val Lys Val Thr Trp  
 820 825 830  
 Ser Thr Val Pro Lys Asp Arg Val His Gly Arg Leu Lys Gly Tyr Gln  
 835 840 845  
 Ile Asn Trp Trp Lys Thr Lys Ser Leu Leu Asp Gly Arg Thr His Pro  
 850 855 860  
 Lys Glu Val Asn Ile Leu Arg Phe Ser Gly Gln Arg Asn Ser Gly Met  
 865 870 875 880  
 Val Pro Ser Leu Asp Ala Phe Ser Glu Phe His Leu Thr Val Leu Ala  
 885 890 895  
 Tyr Asn Ser Lys Gly Ala Gly Pro Glu Ser Glu Pro Tyr Ile Phe Gln  
 900 905 910  
 Thr Pro Glu Gly Val Pro Glu Gln Pro Thr Phe Leu Lys Val Ile Lys  
 915 920 925  
 Val Asp Lys Asp Thr Ala Thr Leu Ser Trp Gly Leu Pro Lys Lys Leu  
 930 935 940  
 Asn Gly Asn Leu Thr Gly Tyr Leu Leu Gln Tyr Gln Ile Ile Asn Asp  
 945 950 955 960 965  
 Thr Tyr Glu Ile Gly Glu Leu Asn Asp Ile Asn Ile Thr Thr Pro Ser  
 965 970 975

[0050]

Lys Pro Ser Trp His Leu Ser Asn Leu Asn Ala Thr Thr Lys Tyr Lys  
 980 985 990  
 Phe Tyr Leu Arg Ala Cys Thr Ser Gln Gly Cys Gly Lys Pro Ile Thr  
 995 1000 1005  
 Glu Glu Ser Ser Thr Leu Gly Glu Gly Ser Lys Gly Ile Gly Lys  
 1010 1015 1020  
 Ile Ser Gly Val Asn Leu Thr Gln Lys Thr His Pro Val Glu Val  
 1025 1030 1035  
 Phe Glu Pro Gly Ala Glu His Ile Val Arg Leu Met Thr Lys Asn  
 1040 1045 1050  
 Trp Gly Asp Asn Asp Ser Ile Phe Gln Asp Val Ile Glu Thr Arg  
 1055 1060 1065  
 Gly Arg Glu Tyr Ala Gly Leu Tyr Asp Asp Ile Ser Thr Gln Gly  
 1070 1075 1080  
 Trp Phe Ile Gly Leu Met Cys Ala Ile Ala Leu Leu Thr Leu Leu  
 1085 1090 1095  
 Leu Leu Thr Val Cys Phe Val Lys Arg Asn Arg Gly Gly Lys Tyr  
 1100 1105 1110  
 Ser Val Lys Glu Lys Glu Asp Leu His Pro Asp Pro Glu Ile Gln  
 1115 1120 1125  
 Ser Val Lys Asp Glu Thr Phe Gly Glu Tyr Ser Asp Ser Asp Glu  
 1130 1135 1140  
 Lys Pro Leu Lys Gly Ser Leu Arg Ser Leu Asn Arg Asp Met Gln  
 1145 1150 1155  
 Pro Thr Glu Ser Ala Asp Ser Leu Val Glu Tyr Gly Glu Gly Asp  
 1160 1165 1170  
 His Gly Leu Phe Ser Glu Asp Gly Ser Phe Ile Gly Ala Tyr Ala  
 1175 1180 1185  
 Gly Ser Lys Glu Lys Gly Ser Val Glu Ser Asn Gly Ser Ser Thr  
 1190 1195 1200  
 Ala Thr Phe Pro Leu Arg Ala

[0051]

1205	1210
<210> 20	
<211> 449	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 20	
Met Met Lys Thr Leu Leu Leu Phe Val Gly Leu Leu Leu Thr Trp Glu 1 5 10 15	
Ser Gly Gln Val Leu Gly Asp Gln Thr Val Ser Asp Asn Glu Leu Gln 20 25 30	
Glu Met Ser Asn Gln Gly Ser Lys Tyr Val Asn Lys Glu Ile Gln Asn 35 40 45	
Ala Val Asn Gly Val Lys Gln Ile Lys Thr Leu Ile Glu Lys Thr Asn 50 55 60	
Glu Glu Arg Lys Thr Leu Leu Ser Asn Leu Glu Glu Ala Lys Lys Lys 65 70 75 80	
Lys Glu Asp Ala Leu Asn Glu Thr Arg Glu Ser Glu Thr Lys Leu Lys 85 90 95	
Glu Leu Pro Gly Val Cys Asn Glu Thr Met Met Ala Leu Trp Glu Glu 100 105 110	
Cys Lys Pro Cys Leu Lys Gln Thr Cys Met Lys Phe Tyr Ala Arg Val 115 120 125	
Cys Arg Ser Gly Ser Gly Leu Val Gly Arg Gln Leu Glu Glu Phe Leu 130 135 140	
Asn Gln Ser Ser Pro Phe Tyr Phe Trp Met Asn Gly Asp Arg Ile Asp 145 150 155 160	
Ser Leu Leu Glu Asn Asp Arg Gln Gln Thr His Met Leu Asp Val Met 165 170 175	
Gln Asp His Phe Ser Arg Ala Ser Ser Ile Ile Asp Glu Leu Phe Gln 180 185 190	
Asp Arg Phe Phe Thr Arg Glu Pro Gln Asp Thr Tyr His Tyr Leu Pro 195 200 205	
Phe Ser Leu Pro His Arg Arg Pro His Phe Phe Phe Pro Lys Ser Leu	

[0052]

210	215	220													
Ile 225	Val	Arg	Ser	Leu	Met 230	Pro	Phe	Ser	Pro	Tyr 235	Glu	Pro	Leu	Asn	Phe 240
His	Ala	Met	Phe	Gln 245	Pro	Phe	Leu	Glu	Met 250	Ile	His	Glu	Ala	Gln 255	Gln
Ala	Met	Asp	Ile 260	His	Phe	His	Ser	Pro 265	Ala	Phe	Gln	His	Pro 270	Pro	Thr
Glu	Phe	Ile 275	Arg	Glu	Gly	Asp	Asp 280	Asp	Arg	Thr	Val	Cys 285	Arg	Glu	Ile
Arg	His 290	Asn	Ser	Thr	Gly	Cys 295	Leu	Arg	Met	Lys	Asp 300	Gln	Cys	Asp	Lys
Cys 305	Arg	Glu	Ile	Leu	Ser 310	Val	Asp	Cys	Ser	Thr 315	Asn	Asn	Pro	Ser	Gln 320
Ala	Lys	Leu	Arg	Arg 325	Glu	Leu	Asp	Glu	Ser 330	Leu	Gln	Val	Ala	Glu 335	Arg
Leu	Thr	Arg	Lys 340	Tyr	Asn	Glu	Leu	Leu 345	Lys	Ser	Tyr	Gln	Trp 350	Lys	Met
Leu	Asn	Thr 355	Ser	Ser	Leu	Leu	Glu 360	Gln	Leu	Asn	Glu	Gln 365	Phe	Asn	Trp
Val	Ser 370	Arg	Leu	Ala	Asn	Leu 375	Thr	Gln	Gly	Glu	Asp 380	Gln	Tyr	Tyr	Leu
Arg 385	Val	Thr	Thr	Val	Ala 390	Ser	His	Thr	Ser	Asp 395	Ser	Asp	Val	Pro	Ser 400
Gly	Val	Thr	Glu	Val 405	Val	Val	Lys	Leu	Phe 410	Gly	Ser	Asp	Pro	Ile 415	Thr
Val	Thr	Val	Pro 420	Val	Glu	Val	Ser	Arg 425	Lys	Asn	Pro	Lys	Phe 430	Met	Glu
Thr	Val	Ala 435	Glu	Lys	Ala	Leu	Gln 440	Glu	Tyr	Arg	Lys	Lys 445	His	Arg	Glu
Glu															

[0053]

<210> 21  
 <211> 274  
 <212> PRT  
 <213> 人  
  
 <400> 21  
 Met Gln Asp His Phe Ser Arg Ala Ser Ser Ile Ile Asp Glu Leu Phe  
 1 5 10 15  
  
 Gln Asp Arg Phe Phe Thr Arg Glu Pro Gln Asp Thr Tyr His Tyr Leu  
 20 25 30  
  
 Pro Phe Ser Leu Pro His Arg Arg Pro His Phe Phe Phe Pro Lys Ser  
 35 40 45  
  
 Arg Ile Val Arg Ser Leu Met Pro Phe Ser Pro Tyr Glu Pro Leu Asn  
 50 55 60  
  
 Phe His Ala Met Phe Gln Pro Phe Leu Glu Met Ile His Glu Ala Gln  
 65 70 75 80  
  
 Gln Ala Met Asp Ile His Phe His Ser Pro Ala Phe Gln His Pro Pro  
 85 90 95  
  
 Thr Glu Phe Ile Arg Glu Gly Asp Asp Asp Arg Thr Val Cys Arg Glu  
 100 105 110  
  
 Ile Arg His Asn Ser Thr Gly Cys Leu Arg Met Lys Asp Gln Cys Asp  
 115 120 125  
  
 Lys Cys Arg Glu Ile Leu Ser Val Asp Cys Ser Thr Asn Asn Pro Ser  
 130 135 140  
  
 Gln Ala Lys Leu Arg Arg Glu Leu Asp Glu Ser Leu Gln Val Ala Glu  
 145 150 155 160  
  
 Arg Leu Thr Arg Lys Tyr Asn Glu Leu Leu Lys Ser Tyr Gln Trp Lys  
 165 170 175  
  
 Met Leu Asn Thr Ser Ser Leu Leu Glu Gln Leu Asn Glu Gln Phe Asn  
 180 185 190  
  
 Trp Val Ser Arg Leu Ala Asn Leu Thr Gln Gly Glu Asp Gln Tyr Tyr  
 195 200 205  
  
 Leu Arg Val Thr Thr Val Ala Ser His Thr Ser Asp Ser Asp Val Pro  
 210 215 220

[0054]

Ser Gly Val Thr Glu Val Val Val Lys Leu Phe Asp Ser Asp Pro Ile  
225 230 235 240

Thr Val Thr Val Pro Val Glu Val Ser Arg Lys Asn Pro Lys Phe Met  
245 250 255

Glu Thr Val Ala Glu Lys Ala Leu Gln Glu Tyr Arg Lys Lys His Arg  
260 265 270

Glu Glu

<210> 22  
<211> 253  
<212> PRT  
<213> 人

<400> 22

Gly Ser Ser Glu His Leu Lys Arg Glu His Ser Leu Ile Lys Pro Tyr  
1 5 10 15

Gln Gly Val Gly Ser Ser Ser Met Pro Leu Trp Asp Phe Gln Gly Ser  
20 25 30

Thr Ile Leu Thr Ser Gln Tyr Val Arg Leu Thr Pro Asp Glu Arg Ser  
35 40 45

Lys Glu Gly Ser Ile Trp Asn His Gln Pro Cys Phe Leu Lys Asp Trp  
50 55 60

Glu Met His Val His Phe Lys Val His Gly Thr Gly Lys Lys Asn Leu  
65 70 75 80

His Gly Asp Gly Ile Ala Leu Trp Tyr Thr Arg Asp Arg Leu Val Pro  
85 90 95

Gly Pro Val Phe Gly Ser Lys Asp Asn Phe His Gly Leu Ala Ile Phe  
100 105 110

Leu Asp Thr Tyr Pro Asn Asp Glu Thr Thr Glu Arg Val Phe Pro Tyr  
115 120 125

Ile Ser Val Met Val Asn Asn Gly Ser Leu Ser Tyr Asp His Ser Lys  
130 135 140

Asp Gly Arg Trp Thr Glu Leu Ala Gly Cys Thr Ala Asp Phe Arg Asn  
145 150 155 160

[0055]

Arg Asp His Asp Thr Phe Leu Ala Val Arg Tyr Ser Arg Gly Arg Leu  
165 170 175

Thr Val Met Thr Asp Leu Glu Asp Lys Asn Glu Trp Lys Asn Cys Ile  
180 185 190

Asp Ile Thr Gly Val Arg Leu Pro Thr Gly Tyr Tyr Phe Gly Ala Ser  
195 200 205

Ala Gly Thr Gly Asp Leu Ser Asp Asn His Asp Ile Ile Ser Met Lys  
210 215 220

Leu Phe Gln Leu Met Val Glu His Thr Pro Asp Glu Glu Asn Ile Asp  
225 230 235 240

Trp Thr Lys Ile Glu Pro Ser Val Asn Phe Leu Lys Ser  
245 250

<210> 23  
<211> 501  
<212> PRT  
<213> 人

<400> 23

Met Gln Val Cys Ser Gln Pro Gln Arg Gly Cys Val Arg Glu Gln Ser  
1 5 10 15

Ala Ile Asn Thr Ala Pro Pro Ser Ala His Asn Ala Ala Ser Pro Gly  
20 25 30

Gly Ala Arg Gly His Arg Val Pro Leu Thr Glu Ala Cys Lys Asp Ser  
35 40 45

Arg Ile Gly Gly Met Met Lys Thr Leu Leu Leu Phe Val Gly Leu Leu  
50 55 60

Leu Thr Trp Glu Ser Gly Gln Val Leu Gly Asp Gln Thr Val Ser Asp  
65 70 75 80

Asn Glu Leu Gln Glu Met Ser Asn Gln Gly Ser Lys Tyr Val Asn Lys  
85 90 95

Glu Ile Gln Asn Ala Val Asn Gly Val Lys Gln Ile Lys Thr Leu Ile  
100 105 110

Glu Lys Thr Asn Glu Glu Arg Lys Thr Leu Leu Ser Asn Leu Glu Glu  
115 120 125

[0056]

Ala Lys Lys Lys Lys Glu Asp Ala Leu Asn Glu Thr Arg Glu Ser Glu  
 130 135 140

Thr Lys Leu Lys Glu Leu Pro Gly Val Cys Asn Glu Thr Met Met Ala  
 145 150 155 160

Leu Trp Glu Glu Cys Lys Pro Cys Leu Lys Gln Thr Cys Met Lys Phe  
 165 170 175

Tyr Ala Arg Val Cys Arg Ser Gly Ser Gly Leu Val Gly Arg Gln Leu  
 180 185 190

Glu Glu Phe Leu Asn Gln Ser Ser Pro Phe Tyr Phe Trp Met Asn Gly  
 195 200 205

Asp Arg Ile Asp Ser Leu Leu Glu Asn Asp Arg Gln Gln Thr His Met  
 210 215 220

Leu Asp Val Met Gln Asp His Phe Ser Arg Ala Ser Ser Ile Ile Asp  
 225 230 235 240

Glu Leu Phe Gln Asp Arg Phe Phe Thr Arg Glu Pro Gln Asp Thr Tyr  
 245 250 255

His Tyr Leu Pro Phe Ser Leu Pro His Arg Arg Pro His Phe Phe Phe  
 260 265 270

Pro Lys Ser Arg Ile Val Arg Ser Leu Met Pro Phe Ser Pro Tyr Glu  
 275 280 285

Pro Leu Asn Phe His Ala Met Phe Gln Pro Phe Leu Glu Met Ile His  
 290 295 300

Glu Ala Gln Gln Ala Met Asp Ile His Phe His Ser Pro Ala Phe Gln  
 305 310 315

His Pro Pro Thr Glu Phe Ile Arg Glu Gly Asp Asp Asp Arg Thr Val  
 325 330 335

Cys Arg Glu Ile Arg His Asn Ser Thr Gly Cys Leu Arg Met Lys Asp  
 340 345 350

Gln Cys Asp Lys Cys Arg Glu Ile Leu Ser Val Asp Cys Ser Thr Asn  
 355 360 365

Asn Pro Ser Gln Ala Lys Leu Arg Arg Glu Leu Asp Glu Ser Leu Gln  
 370 375 380

[0057]

Val Ala Glu Arg Leu Thr Arg Lys Tyr Asn Glu Leu Leu Lys Ser Tyr  
385 390 395 400

Gln Trp Lys Met Leu Asn Thr Ser Ser Leu Leu Glu Gln Leu Asn Glu  
405 410 415

Gln Phe Asn Trp Val Ser Arg Leu Ala Asn Leu Thr Gln Gly Glu Asp  
420 425 430

Gln Tyr Tyr Leu Arg Val Thr Thr Val Ala Ser His Thr Ser Asp Ser  
435 440 445

Asp Val Pro Ser Gly Val Thr Glu Val Val Val Lys Leu Phe Asp Ser  
450 455 460

Asp Pro Ile Thr Val Thr Val Pro Val Glu Val Ser Arg Lys Asn Pro  
465 470 475 480

Lys Phe Met Glu Thr Val Ala Glu Lys Ala Leu Gln Glu Tyr Arg Lys  
485 490 495

Lys His Arg Glu Glu  
500

<210> 24  
<211> 240  
<212> PRT  
<213> 人

<400> 24

Met Leu Ala Leu Leu Cys Ser Cys Leu Leu Leu Ala Ala Gly Ala Ser  
1 5 10 15

Asp Ala Trp Thr Gly Glu Asp Ser Ala Glu Pro Asn Ser Asp Ser Ala  
20 25 30

Glu Trp Ile Arg Asp Met Tyr Ala Lys Val Thr Glu Ile Trp Gln Glu  
35 40 45

Val Met Gln Arg Arg Asp Asp Gly Ala Leu His Ala Ala Cys Gln  
50 55 60

Val Gln Pro Ser Ala Thr Leu Asp Ala Ala Gln Pro Arg Val Thr Gly  
65 70 75 80

Val Val Leu Phe Arg Gln Leu Ala Pro Arg Ala Lys Leu Asp Ala Phe  
85 90 95

[0058]

Phe Ala Leu Glu Gly Phe Pro Thr Glu Pro Asn Ser Ser Ser Arg Ala  
100 105 110

Ile His Val His Gln Phe Gly Asp Leu Ser Gln Gly Cys Glu Ser Thr  
115 120 125

Gly Pro His Tyr Asn Pro Leu Ala Val Pro His Pro Gln His Pro Gly  
130 135 140

Asp Phe Gly Asn Phe Ala Val Arg Asp Gly Ser Leu Trp Arg Tyr Arg  
145 150 155 160

Ala Gly Leu Ala Ala Ser Leu Ala Gly Pro His Ser Ile Val Gly Arg  
165 170 175

Ala Val Val Val His Ala Gly Glu Asp Asp Leu Gly Arg Gly Gly Asn  
180 185

Gln Ala Ser Val Glu Asn Gly Asn Ala Gly Arg Arg Leu Ala Cys Cys  
195 200 205

Val Val Gly Val Cys Gly Pro Gly Leu Trp Glu Arg Gln Ala Arg Glu  
210 215 220

His Ser Glu Arg Lys Lys Arg Arg Arg Glu Ser Glu Cys Lys Ala Ala  
225 230 235 240

<210> 25

<211> 134

<212> PRT

<213> 人

<400> 25

Asp Leu Gly Thr Leu Ser Gly Ile Gly Thr Leu Asp Gly Phe Arg His  
1 5 10 15

Arg His Pro Asp Glu Ala Ala Phe Phe Asp Thr Ala Ser Thr Gly Lys  
20 25 30

Thr Phe Pro Gly Phe Phe Ser Pro Met Leu Gly Glu Phe Val Ser Glu  
35 40 45

Thr Glu Ser Arg Gly Ser Glu Ser Gly Ile Phe Thr Asn Thr Lys Glu  
50 55 60

Ser Ser Ser His His Pro Gly Ile Ala Glu Phe Pro Ser Arg Gly Lys  
65 70 75 80

[0059]

Ser Ser Ser Tyr Ser Lys Gln Phe Thr Ser Ser Thr Ser Tyr Asn Arg  
85 90 95

Gly Asp Ser Thr Phe Glu Ser Lys Ser Tyr Lys Met Ala Asp Glu Ala  
100 105 110

Gly Ser Glu Ala Asp His Glu Gly Thr His Ser Thr Lys Arg Gly His  
115 120 125

Ala Lys Ser Arg Pro Val  
130

<210> 26  
<211> 223  
<212> PRT  
<213> 人

<400> 26

Leu Val His Gly Gly Pro Cys Asp Lys Thr Ser His Pro Tyr Gln Ala  
1 5 10 15

Ala Leu Tyr Thr Ser Gly His Leu Leu Cys Gly Gly Val Leu Ile His  
20 25 30

Pro Leu Trp Val Leu Thr Ala Ala His Cys Lys Lys Pro Asn Leu Gln  
35 40 45

Val Phe Leu Gly Lys His Asn Leu Arg Gln Arg Glu Ser Ser Gln Glu  
50 55 60

Gln Ser Ser Val Val Arg Ala Val Ile His Pro Asp Tyr Asp Ala Ala  
65 70 75 80

Ser His Asp Gln Asp Ile Met Leu Leu Arg Leu Ala Arg Pro Ala Lys  
85 90 95

Leu Ser Glu Leu Ile Gln Pro Leu Pro Leu Glu Arg Asp Cys Ser Ala  
100 105 110

Asn Thr Thr Ser Cys His Ile Leu Gly Trp Gly Lys Thr Ala Asp Gly  
115 120 125

Asp Phe Pro Asp Thr Ile Gln Cys Ala Tyr Ile His Leu Val Ser Arg  
130 135 140

Glu Glu Cys Glu His Ala Tyr Pro Gly Gln Ile Thr Gln Asn Met Leu  
145 150 155 160

[0060]

Cys Ala Gly Asp Glu Lys Tyr Gly Lys Asp Ser Cys Gln Gly Asp Ser  
165 170 175

Gly Gly Pro Leu Val Cys Gly Asp His Leu Arg Gly Leu Val Ser Trp  
180 185 190

Gly Asn Ile Pro Cys Gly Ser Lys Glu Lys Pro Gly Val Tyr Thr Asn  
195 200 205

Val Cys Arg Tyr Thr Asn Trp Ile Gln Lys Thr Ile Gln Ala Lys  
210 215 220

<210> 27

<211> 204

<212> PRT

<213> 人

<400> 27

His Thr Asp Leu Ser Gly Lys Val Phe Val Phe Pro Arg Glu Ser Val  
1 5 10 15

Thr Asp His Val Asn Leu Ile Thr Pro Leu Glu Lys Pro Leu Gln Asn  
20 25 30

Phe Thr Leu Cys Phe Arg Ala Tyr Ser Asp Leu Ser Arg Ala Tyr Ser  
35 40 45

Leu Phe Ser Tyr Asn Thr Gln Gly Arg Asp Asn Glu Leu Leu Val Tyr  
50 55 60

Lys Glu Arg Val Gly Glu Tyr Ser Leu Tyr Ile Gly Arg His Lys Val  
65 70 75 80

Thr Ser Lys Val Ile Glu Lys Phe Pro Ala Pro Val His Ile Cys Val  
85 90 95

Ser Trp Glu Ser Ser Ser Gly Ile Ala Glu Phe Trp Ile Asn Gly Thr  
100 105 110

Pro Leu Val Lys Lys Gly Leu Arg Gln Gly Tyr Phe Val Glu Ala Gln  
115 120 125

Pro Lys Ile Val Leu Gly Gln Glu Gln Asp Ser Tyr Gly Gly Lys Phe  
130 135 140

Asp Arg Ser Gln Ser Phe Val Gly Glu Ile Gly Asp Leu Tyr Met Trp  
145 150 155 160

[0061]

Asp Ser Val Leu Pro Pro Glu Asn Ile Leu Ser Ala Tyr Gln Gly Thr  
165 170 175

Pro Leu Pro Ala Asn Ile Leu Asp Trp Gln Ala Leu Asn Tyr Glu Ile  
180 185 190

Arg Gly Tyr Val Ile Ile Lys Pro Leu Val Trp Val  
195 200

<210> 28  
<211> 227  
<212> PRT  
<213> 人

<400> 28

Met Arg Val Ala Gly Ala Ala Lys Leu Val Val Ala Val Ala Val Phe  
1 5 10 15

Leu Leu Thr Phe Tyr Val Ile Ser Gln Val Phe Glu Ile Lys Met Asp  
20 25 30

Ala Ser Leu Gly Asn Leu Phe Ala Arg Ser Ala Leu Asp Thr Ala Ala  
35 40 45

His Ser Thr Lys Pro Pro Arg Tyr Lys Cys Gly Ile Ser Lys Ala Cys  
50 55 60

Pro Glu Lys His Phe Ala Phe Lys Met Ala Ser Gly Ala Ala Asn Val  
65 70 75 80

Val Gly Pro Lys Ile Cys Leu Glu Asp Asn Val Leu Met Ser Gly Val  
85 90 95

Lys Asn Asn Val Gly Arg Gly Ile Asn Val Ala Leu Ala Asn Gly Lys  
100 105 110

Thr Gly Glu Val Leu Asp Thr Lys Tyr Phe Asp Met Trp Gly Gly Asp  
115 120 125

Val Ala Pro Phe Ile Glu Phe Leu Lys Ala Ile Gln Asp Gly Thr Ile  
130 135 140

Val Leu Met Gly Thr Tyr Asp Asp Gly Ala Thr Lys Leu Asn Asp Glu  
145 150 155 160

Ala Arg Arg Leu Ile Ala Asp Leu Gly Ser Thr Ser Ile Thr Asn Leu  
165 170 175

[0062]

Gly Phe Arg Asp Asn Trp Val Phe Cys Gly Gly Lys Gly Ile Lys Thr  
180 185 190

Lys Ser Pro Phe Glu Gln His Ile Lys Asn Asn Lys Asp Thr Asn Lys  
195 200 205

Tyr Glu Gly Trp Pro Glu Val Val Glu Met Glu Gly Cys Ile Pro Gln  
210 215 220

Lys Gln Asp  
225

<210> 29  
<211> 398  
<212> PRT  
<213> 人

<400> 29

Met Gly Ala Pro Ala Ala Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Phe Ala  
1 5 10 15

Cys Cys Trp Ala Pro Gly Gly Ala Asn Leu Ser Gln Asp Asp Ser Gln  
20 25 30

Pro Trp Thr Ser Asp Glu Thr Val Val Ala Gly Gly Thr Val Val Leu  
35 40 45

Lys Cys Gln Val Lys Asp His Glu Asp Ser Ser Leu Gln Trp Ser Asn  
50 55 60

Pro Ala Gln Gln Thr Leu Tyr Phe Gly Glu Lys Arg Ala Leu Arg Asp  
65 70 75 80

Asn Arg Ile Gln Leu Val Thr Ser Thr Pro His Glu Leu Ser Ile Ser  
85 90 95

Ile Ser Asn Val Ala Leu Ala Asp Glu Gly Glu Tyr Thr Cys Ser Ile  
100 105 110

Phe Thr Met Pro Val Arg Thr Ala Lys Ser Leu Val Thr Val Leu Gly  
115 120 125

Ile Pro Gln Lys Pro Ile Ile Thr Gly Tyr Lys Ser Ser Leu Arg Glu  
130 135 140

Lys Asp Thr Ala Thr Leu Asn Cys Gln Ser Ser Gly Ser Lys Pro Ala  
145 150 155 160

[0063]

Ala Arg Leu Thr Trp Arg Lys Gly Asp Gln Glu Leu His Gly Glu Pro  
 165 170 175

Thr Arg Ile Gln Glu Asp Pro Asn Gly Lys Thr Phe Thr Val Ser Ser  
 180 185 190

Ser Val Thr Phe Gln Val Thr Arg Glu Asp Asp Gly Ala Ser Ile Val  
 195 200 205

Cys Ser Val Asn His Glu Ser Leu Lys Gly Ala Asp Arg Ser Thr Ser  
 210 215 220

Gln Arg Ile Glu Val Leu Tyr Thr Pro Thr Ala Met Ile Arg Pro Asp  
 225 230 235 240

Pro Pro His Pro Arg Glu Gly Gln Lys Leu Leu Leu His Cys Glu Gly  
 245 250 255

Arg Gly Asn Pro Val Pro Gln Gln Tyr Leu Trp Glu Lys Glu Gly Ser  
 260 265 270

Val Pro Pro Leu Lys Met Thr Gln Glu Ser Ala Leu Ile Phe Pro Phe  
 275 280 285

Leu Asn Lys Ser Asp Ser Gly Thr Tyr Gly Cys Thr Ala Thr Ser Asn  
 290 295 300

Met Gly Ser Tyr Lys Ala Tyr Tyr Thr Leu Asn Val Asn Asp Pro Ser  
 305 310 315 320

Pro Val Pro Ser Ser Ser Thr Tyr His Ala Ile Ile Gly Gly Ile  
 325 330 335

Val Ala Phe Ile Val Phe Leu Leu Leu Ile Met Leu Ile Phe Leu Gly  
 340 345 350

His Tyr Leu Ile Arg His Lys Gly Thr Tyr Leu Thr His Glu Ala Lys  
 355 360 365

Gly Ser Asp Asp Ala Pro Asp Ala Asp Thr Ala Ile Ile Asn Ala Glu  
 370 375 380

Gly Gly Gln Ser Gly Gly Asp Asp Lys Lys Glu Tyr Phe Ile  
 385 390 395

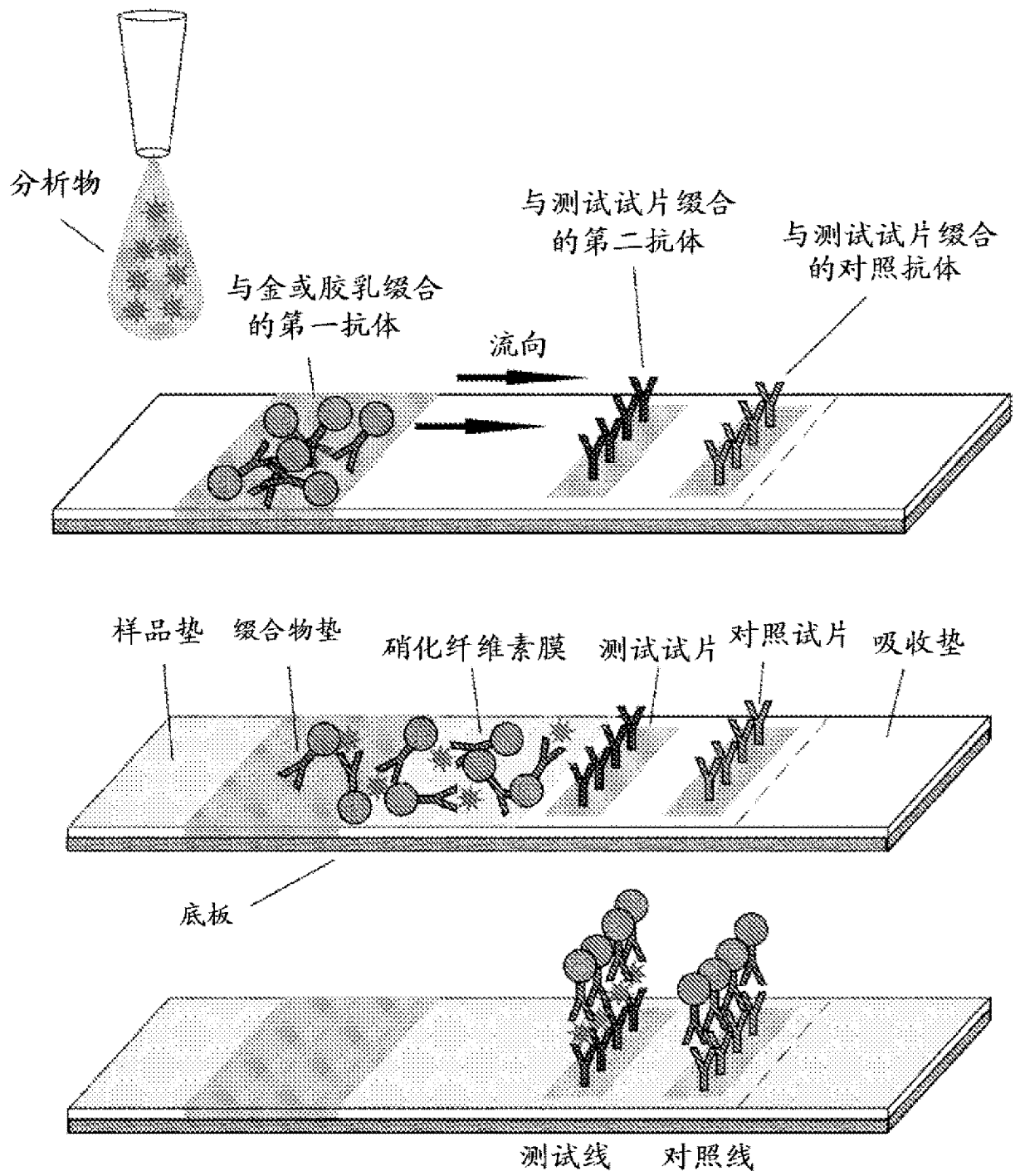


图 1

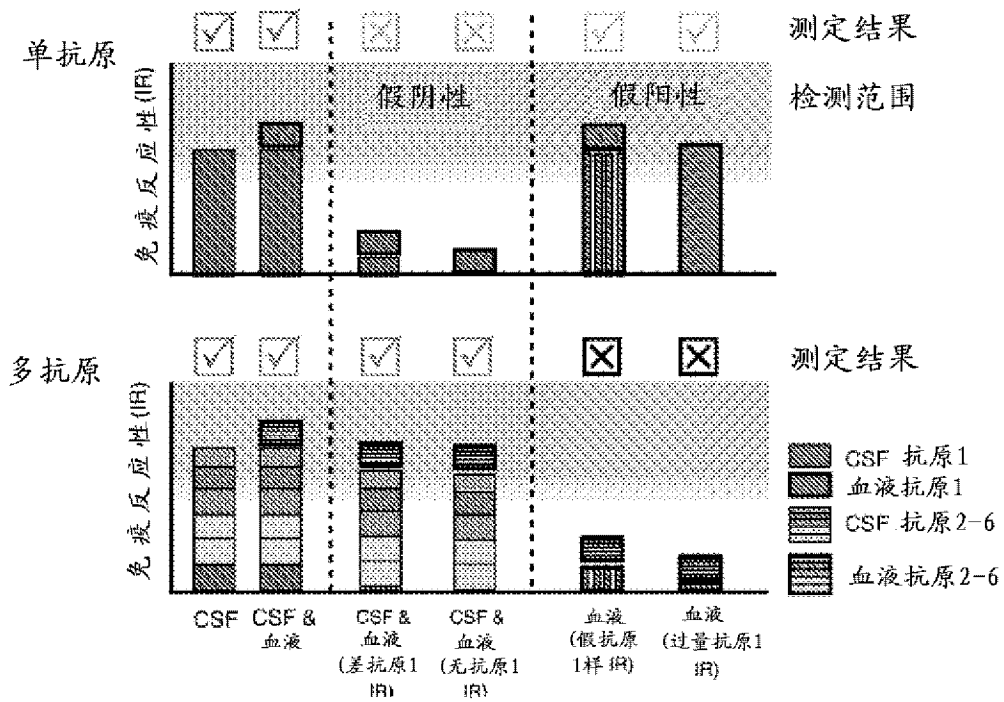


图 2

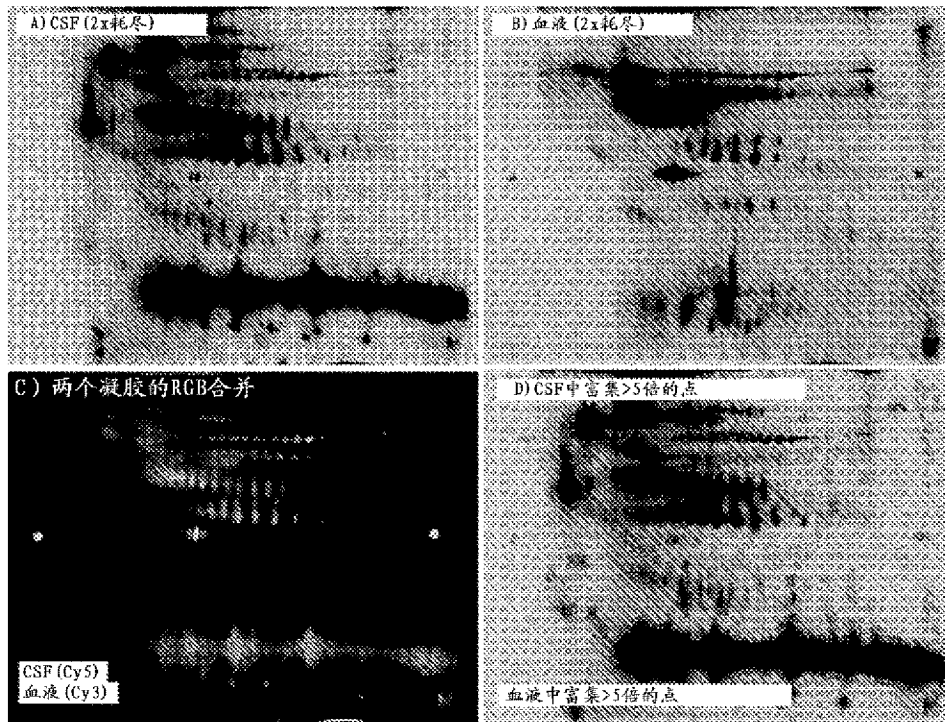


图 3

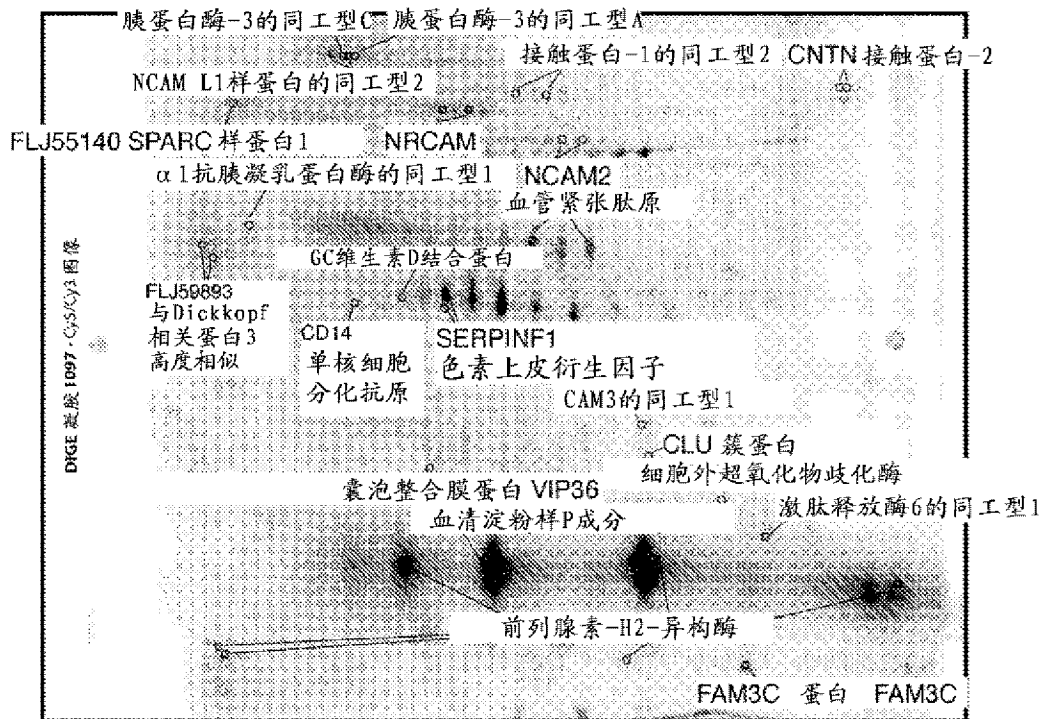


图 4

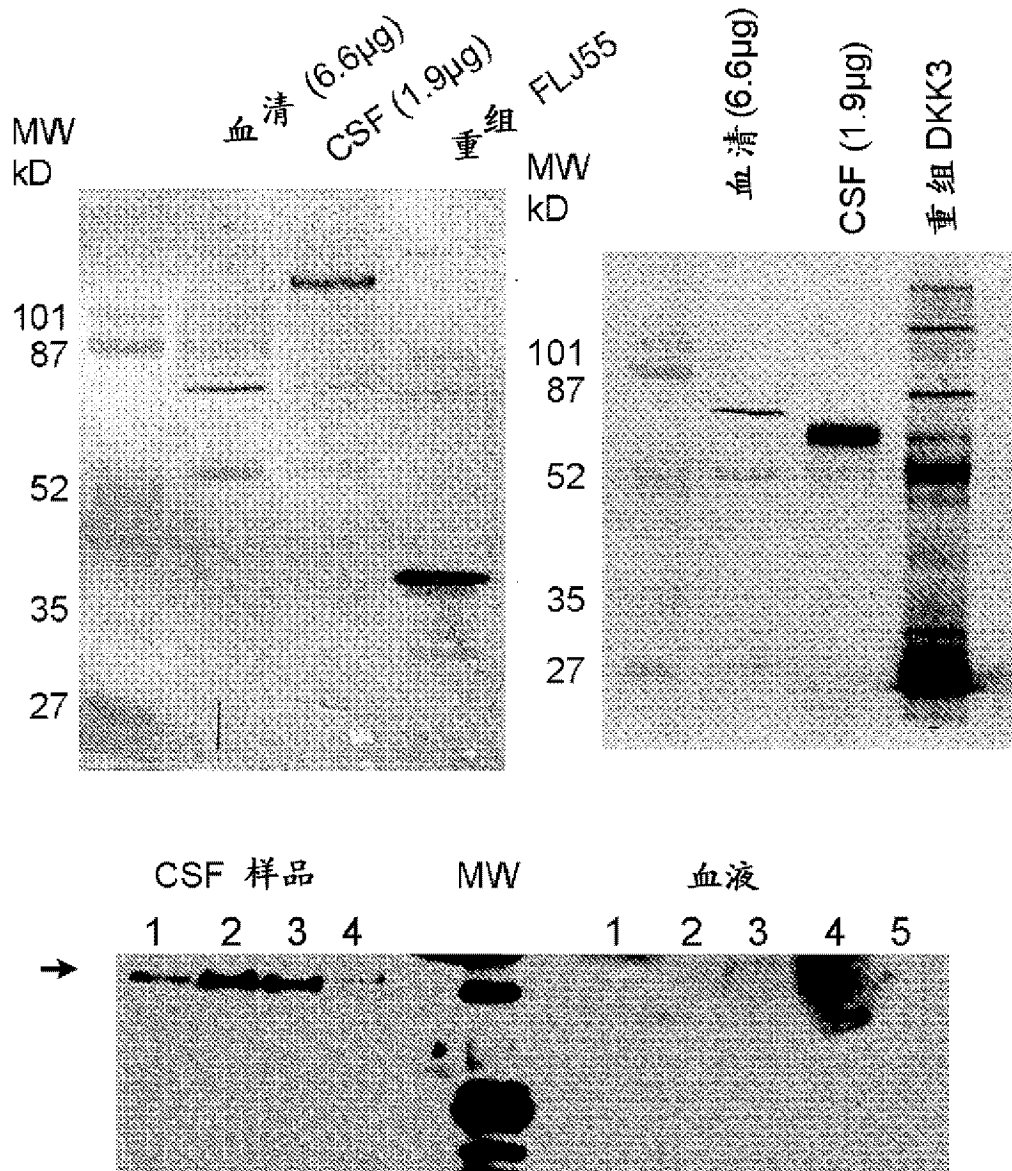


图 5

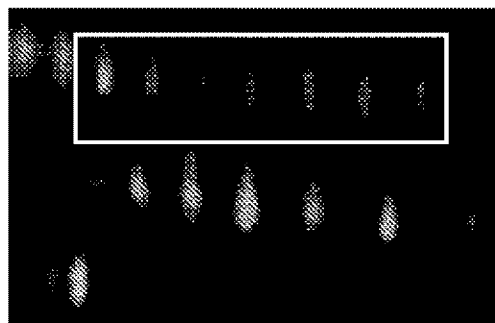


图 6

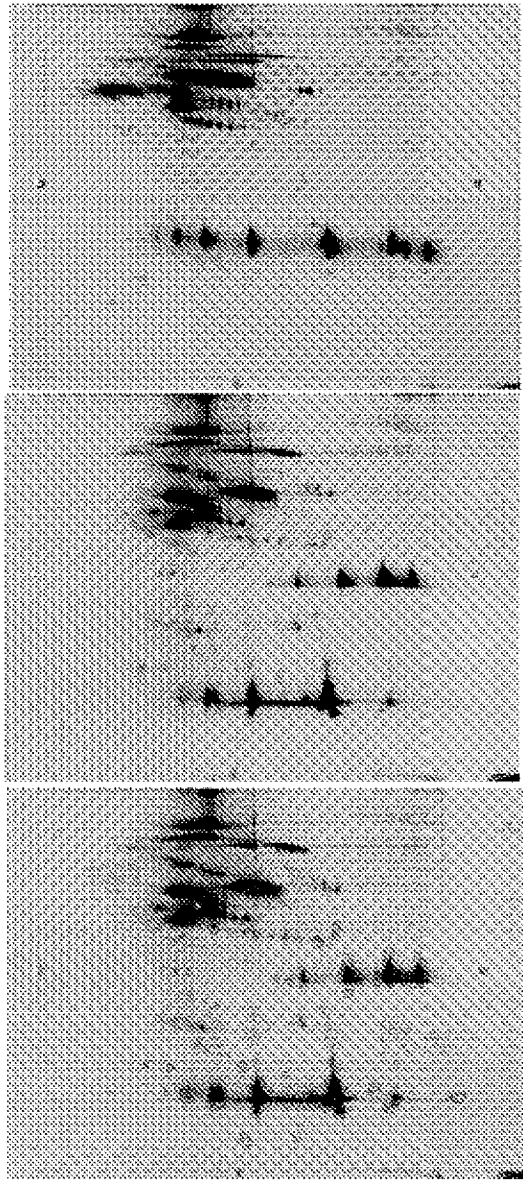


图 7

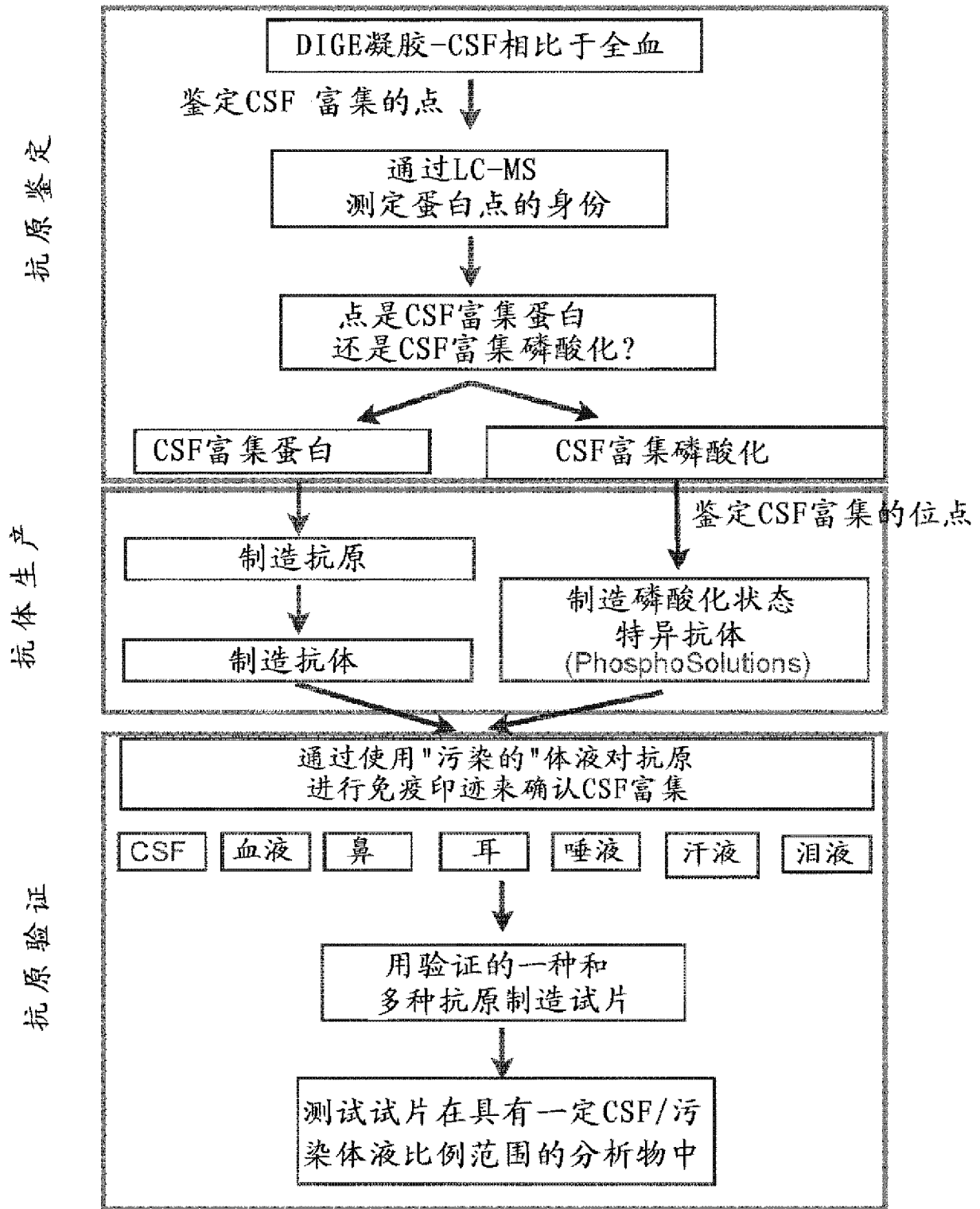


图 8

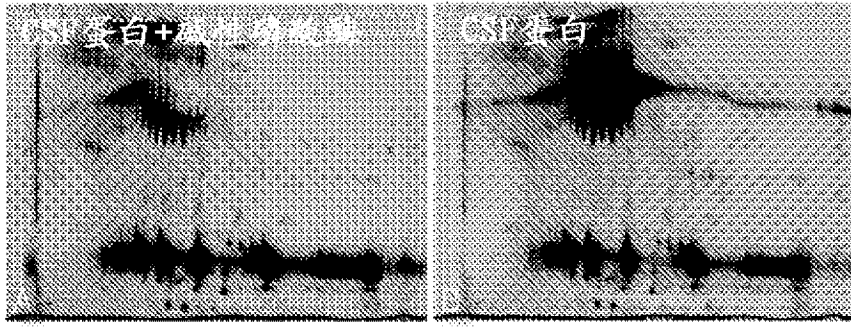


图 9

专利名称(译)	免疫鉴定脑脊液的装置和方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN102576019A</a>	公开(公告)日	2012-07-11
申请号	CN201080045270.4	申请日	2010-08-06
[标]发明人	文森特皮埃里博内		
发明人	文森特·皮埃里博内		
IPC分类号	G01N33/541 G01N33/538 G01N33/68		
CPC分类号	G01N33/57488 G01N33/53 G01N33/6896 G01N2410/02 G01N2800/28 G01N2800/2871		
优先权	61/232033 2009-08-07 US		
其他公开文献	CN102576019B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本公开内容涉及样品中是否存在脑脊液(cerebrospinal fluid, CSF)的检测，其通过检测与在其他体液中的水平相比在CSF中富集的一种或更多种抗原来进行。装置和方法适于在来自跨种族、年龄、性别、健康状况和遗传变异的广泛人群的混合体液样品中检测脑脊液是否存在。

