



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101724033 A

(43) 申请公布日 2010.06.09

(21) 申请号 200810305129.8

A61P 15/16(2006.01)

(22) 申请日 2008.10.24

A61P 31/00(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

(71) 申请人 李建远

地址 264000 山东省烟台市毓璜顶东路 20
号

(72) 发明人 李建远

(51) Int. Cl.

C07K 14/435(2006.01)

C12N 15/12(2006.01)

C12N 15/63(2006.01)

C12N 5/10(2006.01)

C07K 16/18(2006.01)

A61K 38/17(2006.01)

A61K 31/7088(2006.01)

A61K 48/00(2006.01)

A61K 35/12(2006.01)

权利要求书 1 页 说明书 20 页 附图 2 页

(54) 发明名称

人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28 及其编码基因与应用

(57) 摘要

本发明属于生物技术和医学领域。本发明公开了一种新的人附睾特异表达精子结合蛋白 HEL-28 及其制备和应用。公开了本发明编码 HEL-28 蛋白的氨基酸序列,提供携带编码本发明蛋白的 DNA 序列的重组表达载体。该蛋白定位于成熟精子的头后区。RT-PCR 结果显示该蛋白在附睾及人体各种组织表达量很低。用 Western blot 在附睾体部检测到一条 187KD 条带。HEL-28 蛋白可作为免疫性避孕药的研发,以及男性不育症的临床诊断与治疗的靶蛋白。基于 HEL-28 蛋白开发的相应基因或蛋白检测方法,将广泛用于生殖医学研究领域。

1. 一种人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28,其特征在於,它具有序列表中序列 2 的氨基酸序列或将序列 2 的氨基酸序列经过一个或几个氨基酸残基的取代、缺失或添加且具有与序列 2 的氨基酸残基序列相同活性的序列 2 衍生的蛋白质和通过化学方法合成的蛋白质。

2. 一种人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28 的编码基因,它是下列核苷酸序列之一:
序列表中序列 1 的核苷酸序列;

与序列表中序列 1 限定的 DNA 序列具有 90%以上同源性,且编码相同功能蛋白的 DNA 序列。

3. 含有权利要求 2 所述基因的真核和原核表达载体。

4. 含有权利要求 2 所述基因的细胞系。

5. 针对权利要求 1 所述蛋白质所制备的各种抗体以及以该抗体为活性成分的试剂。

6. 针对权利要求 1 所述蛋白质提供的药物组合物,所述组合物包含本发明所述的蛋白、核苷酸序列、构建物或细胞,以及药学上可接受的载体。

7. 根据权利要求 1 所述的蛋白在不育症诊断中的应用。

8. 根据权利要求 1 所述的蛋白在不育症治疗中的应用。

9. 根据权利要求 2 所述的基因在开发新的避孕药物中的应用。

10. 根据权利要求 1 所述的蛋白在制备新的抗生素中的应用。

人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28 及其编码基因与应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物技术与医学领域。具体地说,本发明涉及一种新的人类附睾表达精子结合蛋白以下简称 HEL-28 及其编码基因与应用

背景技术

[0002] 本世纪人类的发展面临着两个严峻的问题:一方面,全球人口在急速膨胀,预计在 2050 年将达到 90 亿;另一方面,据世界卫生组织调查,大约 15% 的夫妇存在着不育问题,发达国家不育症的发病率在最近 10 年飙升,欧洲发达国家可高达 30%,其中男性因素约占一半。世界卫生组织预测,随着环境污染和性传播疾病等致病因素的增加,本世纪,不育症将成为仅次于肿瘤和心脑血管病的第三大疾病。但男性不育并未引起社会和医学界的足够重视,因此有关男性生殖健康的研究进展缓慢,明显落后于其它学科。缺少分子生物学层面诊断与治疗不育症的有效方法。由于精子发育障碍不能自然受精,需要医生通过做试管婴儿获取后代。利用此种技术获取后代,不仅耗费了宝贵的时间与资金,而且存在很多影响健康的潜在因素,失去了正常生育过程中精卵天然结合、优势选择遗传后代的机会。给家庭与社会带来了沉重的精神和经济负担。

[0003] 全世界人口的急剧增长造成了资源耗竭和环境恶化,成为人类健康与生存的严重威胁。当前世界人口已超过 60 亿,据专家估计,中国资源环境能支撑的最大人口容量为 15-16 亿。目前可供人类选择的避孕措施还很有限,离“高效、安全、可逆”的标准还相差较远。发展安全有效、先进实用的避孕节育新技术、新产品,以满足不同人群、不同层次的避孕用药的个性化要求是近年来国内外避孕节育技术发展的总趋势。

[0004] 附睾是精子成熟的重要器官,睾丸产生的精子需要通过附睾管腔微环境相互作用才能获得运动、受精、防御和维持正常胚胎发育以及防御等生物学功能。附睾内大约有 200 余种分泌蛋白与精子相互作用,参与精子成熟过程,但是人们对这些蛋白的功能知之甚少。与精子成熟相关的附睾蛋白的研究将有助于推动男性生殖医学的研究进展,为男性不育症的诊断和治疗以及开发新型避孕药物提供候选分子靶标,同时有可能对附睾环节的男性避孕带来新的思路和突破。

发明内容

[0005] 本发明的第一个目的是提供一种新的人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28。

[0006] 一种人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28,它具有序列表中序列 2 的氨基酸序列或将序列 2 的氨基酸残基序列经过一个或几个氨基酸残基的取代、缺失或添加且具有与序列 2 的氨基酸残基序列相同活性的由序列 2 衍生的蛋白质或多肽。

[0007] 本发明的人附睾分泌蛋白命名为:HEL-28,由 1663 个氨基酸残基组成。HEL-1 蛋白存在有 3 个 N 糖基化位点,16 个 N-十四烷酰基化位点和 52 个磷酸化位点,包括 1 个 cAMP 依赖的蛋白激酶磷酸化位点,22 个酪蛋白激酶 II 磷酸化位点和 26 个蛋白激酶 C 磷酸化位点,3 个酪氨酸激酶磷酸化位点。而且,分子中含有 2 个 Anaphylatoxin 功能域,1 个 Bipartite

nuclearlocalization signal profile,1 个 NTR 功能域。

[0008] 本发明的第二个目的是提供编码人类附睾表达蛋白 HEL-28 的基因。它是下列核苷酸序列之一：

[0009] 序列表中序列 1 的 DNA 序列, GenBank 注册号为 :EU794602 ;

[0010] 编码序列表中 SEQ ID No. 2 蛋白质序列的多核苷酸 ;

[0011] 与序列表中序列 1 限定的 DNA 序列具有 90% 以上同源性, 且编码相同功能蛋白质的 DNA 序列。

[0012] 序列表中的 SEQID No. 1, 全长 cDNA 序列为 5091bp, 定位于人 19 号染色体上, 编码 1663 个氨基酸, 编码蛋白为 HEL-28, 含有信号肽, 其开放阅读框为 4992bp, 是一个完整的读码框。

[0013] 本发明的第三方面, 提供了采用基因工程技术制备具有人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28 活性多肽的方法, 它包括含有上述多核苷酸序列的载体, 以及被该载体转化或转导的宿主细胞。

[0014] 本发明的第四方面, 提供了与上述人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28 特异性结合的抗体, 以及由此开发的用于附睾功能异常所致的不育症的辅助诊断。

[0015] 本发明的第五方面, 提供了检测样本中是否存在人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28 的方法, 它包括 : 将待测样品与分泌蛋白的特异性抗体在一定条件下共同作用, 观察是否形成抗原抗体复合物, 有抗原抗体复合物形成就提示样品中存在分泌蛋白。

[0016] 本发明的第六方面, 提供了本发明蛋白和其编码序列的用途。例如本发明蛋白可被作为诊断不育症的分子靶点, 或作为有效药物成分用于治疗不育症, 或作为开发新型避孕药物的靶分子, 或被用于筛选促进人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28 活性的激动剂, 或被用于筛选抑制人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28 活性的拮抗剂, 或被用于肽指纹图谱鉴定。根据人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28 的编码序列或其片段, 可设计引物或探针用于 PCR 或核酸杂交, 或者用于制备基因芯片。本发明蛋白还可用于药物组合物, 以此作为有效活性成分, 用于生产一种对抗病原微生物感染以及肿瘤等疾病的药物。

[0017] 本发明的第七方面, 提供了一种药物组合物, 所述组合物包含本发明所述的蛋白、核苷酸序列、构建物或细胞, 以及药学上可接受的载体。

[0018] 本发明的蛋白能够在附睾内特异性表达, 定位于精子头后区域, 因此可能与精卵识别、运动、受精有关。因为它是一种天然的蛋白多肽, 可以预见可能具有较少的副作用, 本发明的其他优点可从以下的详细描述获知。

附图说明

[0019] 图 1. HEL-28 蛋白在人精子上的免疫荧光定位

[0020] 红色荧光显示精子核 ; 绿色荧光显示 HEL-28 蛋白在精子上的定位 ;

[0021] A 组 : 阳性对照, A3 显示 HEL-75 蛋白结合于整个精子 (文章已发表) ;

[0022] B 组 : 阴性对照。

[0023] C 组 : HEL-28 蛋白定位, C3. 显示 HEL-28 蛋白结合在精子头后区域。

[0024] 比例尺 : 5mm。

[0025] 图 2HEL-28 基因组织表达图谱

[0026] 1 附睾头 2 附睾体 3 附睾尾 4 睾丸 5 心 6 肝 7 脾 8 肾 9 胃 10 阴性对照

[0027] 图 3. HEL-28 蛋白在附睾液表达的 western blot 结果

[0028] M:Marker ;1 :阳性对照, HEL-75 蛋白 ;2 :阴性对照, 小鼠血清 ;3 :HEL-28 蛋白

[0029] 本发明的蛋白包括了所述蛋白多肽的具有相同或相似性生物活性或功能的变异形式, 这些变异形式包括 (但并不限于): 相对于天然蛋白的氨基酸序列有若干个 (通常为 1-50 个, 较佳地 1-30 个, 更佳地 1-20 个, 最佳的 1-10 个) 氨基酸的缺失、插入和取代。另外, 所述缺失或插入 (增加) 也可发生在 C 末端和 / 或 N 末端 (通常有 20 个以内, 较佳地为 10 个以内, 更佳地为 5 个以内的氨基酸缺失或增加), 在本领域中, 用性能相近或相似的氨基酸进行取代时, 通常不会改变氨基酸的功能, 提供功能相似氨基酸的保守性置换表是本领域所熟知的。下列 5 组各自含有能相互保守置换的氨基酸; 脂族: 甘氨酸 (G)、丙氨酸 (A)、缬氨酸 (V)、亮氨酸 (L)、异亮氨酸 (I); 芳族: 苯丙氨酸 (F)、酪氨酸 (Y)、色氨酸 (W); 含硫: 甲硫氨酸 (M)、半胱氨酸 (C); 碱性: 精氨酸 (R)、赖氨酸 (K)、组氨酸 (H); 酸性: 天冬氨酸 (D)、谷氨酰胺 (Q)。另外, 该术语还包括了蛋白的片段或衍生物, 条件是该片段或衍生物保留了所希望的蛋白生物活性。

[0030] 本发明的核苷酸序列通常可以用 PCR 扩增法、重组法或人工合成的方法获得。对于 PCR 扩增法, 可根据本发明所公开的有关核苷酸序列, 尤其是开放阅读框序列来设计引物, 用本领域技术人员已知的常规方法所制备的 cDNA 文库作为模板, 扩增而得有关序列。这通常是将其克隆入载体, 再转入细胞, 然后通过常规方法从增殖后的宿主细胞中分离得到有关序列。

[0031] 本发明中, 使用本领域技术人员已知的常规方法将包含编码本发明的蛋白的核苷酸序列插入到载体中, 这些方法包括但不限于体外重组 DNA 技术, 体内重组技术等。

[0032] 上述载体可用于转化或转染适当的原核和真核细胞, 以使其能够表达所编码的本发明的蛋白, 宿主细胞可以是原核细胞, 如细菌细胞, 或是低等真核细胞, 如酵母细胞; 或是高等真核细胞, 如昆虫细胞等。可采用的转化、转染方法包括但不限于: 磷酸钙共沉淀法、显微注射、电穿孔、脂质体介导等。

[0033] 本发明的蛋白在细胞内表达, 如果需要, 可利用其物理的、化学的和其他特性通过各种方法分离和纯化表达产物, 这些方法是本领域技术人员所熟知的。这些方法的例子包括但不限于: 常规的复性处理、用常规的蛋白沉淀剂处理 (盐析方法)、离心、渗透破菌、声波破菌、超离心、分子筛层析、吸附层析、离子交换层析、高效液相层析和其它各种层析技术及这些方法的结合。

[0034] 本发明还包括对蛋白或其片段具有特异性的多克隆抗体和单克隆抗体, 还包括具有免疫活性的抗体片段或嵌合抗体, 如具有鼠抗体结合特异性但仍保留来自人的抗体部分的抗体。

[0035] 本发明的抗体可以通过本领域内技术人员已知的各种技术进行制备。例如重组抗体、纯化的基因产物或者其具有抗原性的片段, 可被施用于动物以诱导多克隆抗体的产生, 本发明的抗体也可以是单克隆抗体。此类单克隆抗体可以利用杂交瘤技术来制备。

[0036] 发明人通过研究进一步发现, 该蛋白定位于成熟精子的头后区 (图 1)。RT-PCR 结果显示该蛋白在附睾及人体各种组织表达量很低 (图 2)。发明人在大肠杆菌中表达了人

HEL-28 蛋白,用其免疫小鼠,获得了其多抗血清。发明人用 Western blot 在附睾体部检测到一条 187KD 条带(图 3)。

[0037] 本发明的药物组合可根据各种需要制成各种剂型,通常可将药物组合物制成可注射剂,例如液体溶液或悬浮液;还可制成在注射前适合配入溶液或悬液中、溶液载体的固体形式,脂质体也包括在药学上可接受的载体的定义中,本发明的药物组合物可由医师根据患者种类、年龄、体重和大致疾病状况、给药方式等因素确定对病人有益的剂量进行施用,为了提高用药效果,本发明的蛋白也可以与其他药物共同使用。

[0038] 下面结合具体实例,进一步阐述本发明,应理解这些实例仅用于说明本发明而不适用于限制本发明的范围,除非另有描述,本发明的实施将采用分子生物学、微生物学、重组 DNA 和免疫学的常规技术,这些均是本领域技术人员所知的。这些技术在下面文献中有完整的描述:例如 Sambrook 《分子克隆实验指南》第二版(1989);《DNA 克隆》第 I 和第 II 卷(D. N. Glover 编辑,1985);《寡核苷酸合成》(M. J. Gait 编辑,1984);《核酸杂交》(B. D. Hames 和 S. J. Higgins 编辑,1984);《蛋白质纯化:原理和实践》第 2 版(Spring-Verlag, N. Y.), 以及《实验免疫学手册》I-IV 卷(D. C. Weir 和 C. C. Blackwell 编辑 1986) 或者,可以按照试剂生产商所提供的说明书进行。

具体实施方式

[0039] 实施例 1. 采用基因工程技术制备人类附睾表达蛋白 HEL-28

[0040] 基因克隆及序列分析

[0041] 对本实验室构建的人附睾 cDNA 文库进行大规模测序筛选,获取表达序列标签(EST),利用 Unigene 数据库进行电子克隆,获得人 HEL-28 全长 cDNA。使用 ExPasy Translate tool(<http://us.expasy.org>), InterProScan(<http://www.ebi.ac.uk/Tools/>) 和 Protein 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>) 等预测 HEL-28 肽序列及假定功能。SignalP(<http://www.cbs.dtu.dk>), PSORTII 和 WoLFPSORT(<http://psort.nibb.ac.jp>) 等软件分析预测该蛋白的信号肽及胞内定位。ProfileScan(<http://myhits.isb-sib.ch/cgi-bin/PFSCAN>) 预测 N 端糖基化和磷酸化位点。

[0042] 对获得的人 HEL-28 全长 cDNA,根据生物信息学预测编码 HEL-28 成熟肽的基因序列设计一对特异引物:F01:5'-TTGGTACCGACGACGACAAG GGACCCACCTCAGGTC-3', F02:5'-GCGGCGAATTC GTTGGGGCACCCAAA-3',上下游引物两端分别引进限制性内切酶位点 KpnI 和 EcoRI。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。以本实验室构建的人附睾 cDNA 文库为模板,PCR 扩增 HEL-28 基因片段。PCR 反应条件:94℃ 预变性 10min, (94℃, 40s; 55℃, 45s; 70℃, 30s) 30 个循环,70℃ 延伸 10min,4℃ 保存。反应结束后,1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测并分离回收目的片段,插入克隆载体 pMD-18T 中进行测序鉴定。

[0043] 重组 HEL-28 蛋白表达及纯化

[0044] 测序鉴定后 HEL-28 基因通过 KpnI 和 EcoRI 位点克隆至表达载体 pET-32b(+) 中,使其与融合标签阅读框一致。重组表达载体 pET32b(+)-HEL-28 转入 E. coli BL21(DE3) 感受态细胞,利用菌落 PCR 筛选阳性克隆,工程菌株在 1mM IPTG, 32℃ 条件下诱导 4h 后, N 端

带有 His-tag 的重组蛋白通过“两步镍亲和层析法”对重组 HEL-28 蛋白进行分离纯化。简单地说，“第一步亲和层析”用于纯化重组 Trx-HEL-28 融合蛋白。然后融合蛋白用重组肠激酶裂解，释放融合标签。最后，运用“第二步亲和层析”回收重组 HEL-28 蛋白。纯化后的重组蛋白用 Bradford (Bradford 1976) 法进行定量，然后用冷冻干燥进行保存。

[0045] 实施例 2. 抗 HEL-28 多克隆抗血清的制备

[0046] 用重组 HEL-28 蛋白免疫 BALB/C 小鼠制备多抗。简单地说，每只老鼠于第 1 天注射 50 μ g 重组蛋白与等量的完全福氏佐剂 (CFA)。然后在第 15, 30 和 45 天注射 25 μ g 重组蛋白和等量的不完全福氏佐剂 (IFA) 加强免疫。第 60 天从眼球取血，分离血清后用 ELISA 和 western blot 分析抗体的效价和特异性。ELISA 分析表明抗体效价达到 1 : 10000。Western blot 显示对重组蛋白和从人附睾液中抽取的天然 HEL-28 都具有良好的特异性。

[0047] 实施例 3. 人 HEL-28 mRNA 组织表达谱研究

[0048] 为了确定 HEL-28 的表达模式，采用半定量 RT-PCR 分析 HEL-28 基因在人附睾头、体、尾，睾丸，心，肝，脾，肺，肾，胃等组织中的表达差异。用 TRIzol (Tiangen, Beijing, China) 抽提总 RNA，1 μ g 总 RNA 用 20UAMV 逆转录酶 (Promega) 和 0.3 μ g oligod_T18 (Promega) 反转录成 cDNA。然后，2 μ l 合成的 cDNA 利用基因特异引物进行 PCR 扩增。20 μ l 反应体系含有：2 μ l 10 \times PCR buffer (with MgCl₂)，2 μ l dNTP Mix (10mmol/L)，1 μ l 每个引物 (25 μ mol/L)，1 μ l Taq DNA 聚合酶 (2.5U/ μ l)，2 μ l cDNA 模板以及 11 μ l ddH₂O。PCR 反应的程序为：94 $^{\circ}$ C，10min；94 $^{\circ}$ C，1min；54 $^{\circ}$ C (对 HEL-28)/49 $^{\circ}$ C (β -actin) 30s；72 $^{\circ}$ C，1min (35 循环)；72 $^{\circ}$ C 延伸 7min。 β -actin 的表达作为内参。所有 PCR 扩增产物用 1.5% 琼脂糖电泳分析。RT-PCR 结果显示该蛋白在附睾及人体各种组织表达量很低。

[0049] 实施例 4. 人 HEL-28 蛋白在组织的免疫荧光定位

[0050] 取人睾丸、附睾组织冰冻切片，进行免疫荧光染色，其中一抗为鼠抗 rHEL-28 多抗 (1 : 400)，二抗为 FITC- 标记羊抗鼠 IgG (1 : 200)，细胞核用 PI 染色。染色后所有的切片用 80% 甘油封片，然后用共聚焦显微镜 (Leica TCSSP2 AOBIS) 观察结果。实验同时以小鼠免疫前血清替代一抗作为阴性对照。

[0051] 实施例 5. 人附睾蛋白提取物与 Western blot

[0052] 将从人附睾液中提取的总蛋白抽提物 20 μ g，用 15% SDS-PAGE 分离，然后湿转到 PVDF 膜上进行 western blot。鼠抗人 HEL-28 多抗为一抗 (1 : 5000)，二抗为 HRP- 标记羊抗鼠 IgG (1 : 500)。辣根过氧化酶的活性用增强型 HRP-DAB 底物显色试剂盒分析 Western blot 显示抗人 HEL-28 多抗对重组蛋白和从人附睾液中抽取的天然 HEL-28 都具有良好的特异性。

[0053] 实施例 6. 人 HEL-28 蛋白在精子的免疫荧光定位

[0054] 收集精子用 PBS 洗涤后涂布于 1% 明胶包被的载玻片上，自然晾干，然后用甲醇固定 10 分钟。含有精子的载玻片用 3% BSA 在室温下封闭 1 小时，然后添加鼠抗 HEL-28 多抗 (1 : 200)，4 $^{\circ}$ C 过夜。免疫前小鼠血清做阴性对照。用 PBST (PBS containing 0.1% Tween-20) 洗涤三次，加入对应的 FITC- 标记羊抗鼠 IgG 二抗 (1 : 200)。载玻片用 PBST 洗涤三次，然后用 80% 甘油封片。用 Olympus BX-52 显微镜观察，HEL-28 蛋白结合在精子头后区，可能与精卵识别及运动、受精有关。

[0055] 实施例 7. HEL-28 重组蛋白的抗菌活性

[0056] 运用克隆菌落形成单位 (CFU) 分析抗菌活性。简单地说, 过夜培养的 E. coli XL-1blue 生长到对数期 (OD600 = 0.4-0.5) 后用 10mM PBS (pH 7.4) 稀释。大约 2×10^6 CFU/ml 细菌在与 12.5 ~ 100ug/ml 的 HEL-28 混合, 37°C 培养。在开始培养后的 15, 30, 60 和 120min 分别在取样。将样品用 10mMPBS (pH7.4) 做系列稀释, 每个稀释度取 100ul 涂布于 LB 琼脂平板, 37°C 培养过夜至形成单菌落。统计菌落个数, 抗菌活性用细菌存活的百分数表示, 公式为: %存活 = (蛋白处理后存活克隆数 / 未经蛋白处理后存活的克隆数) \times 100。实验以 10mM PBS (pH 7.4) 代替蛋白处理细菌作为阴性对照。

[0057] 实施例 8HEL-28 与精子运动性以及体外受精的关系研究

[0058] 利用 HEL-28 多抗封闭正常人精子, 然后进行精子运动性和体外受精分析。实验按照 vitro life 标准试剂盒提供的方法进行。简单地说, 精子先用 SpermRinse-30 于 37°C、5% CO₂ 培养 1 小时获能。然后按照 1 : 200 加入鼠抗 rHEL-28 多抗, 于 37°C、6% CO₂ 培养 2 小时进行封闭。封闭后的精子分成两部分, 一部分直接利用计算机辅助系统分析精子的运动性。另一部分用 G-Fert 洗涤 2 次, 并调整至终浓度为 1.0×10^7 cells/ml。加入 100ul 精子样品于 35mm 的培养皿中, 然后覆盖石蜡油放入 37°C、6% CO₂ 和饱和湿度培养箱内待用。经 G-MOPS 处理后成熟卵母细胞加入预先准备好的受精滴中, 在 37°C、6% CO₂ 和饱和湿度培养箱中培养观察受精情况, 每日记录胚胎发育情况。以上所有实验同时用免疫前小鼠血清作为阴性对照。

[0059] 序列表

[0060] <110> 李建远

[0061] <120> 人类附睾表达精子结合蛋白 HEL-28 及其编码基因与应用

[0062] <160>2

[0063] <170>PatentIn version 3.5

[0064] <210>1

[0065] <211>5091

[0066] <212>DNA

[0067] <213>Homo sapiens

[0068] <220>

[0069] <221>CDS

[0070] <222>(33)..(5024)

[0071] <400>1

[0072] ctgtccctct gaccctgcac tgtcccagca cc atg gga ccc acc tea ggt ccc 53

[0073] Met Gly Pro Thr Ser Gly Pro

[0074] 1 5

[0075] agc ctg ctg ctc ctg cta cta acc cac ctc ccc ctg gct ctg ggg agt 101

[0076] Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Thr His Leu Pro Leu Ala Leu Gly Ser

[0077] 10 15 20

[0078] ccc atg tac tct atc atc acc ccc aac atc ttg cgg ctg gag agc gag 149

[0079] Pro Met Tyr Ser Ile Ile Thr Pro Asn Ile Leu Arg Leu Glu Ser Glu

[0080] 25 30 35

[0081]	gag acc atg gtg ctg gag gcc cac gac gcg caa ggg gat gtt cca gtc	197
[0082]	Glu Thr Met Val Leu Glu Ala His Asp Ala Gln Gly Asp Val Pro Val	
[0083]	40 45 50 55	
[0084]	act gtt act gtc cac gac ttc cca ggc aaa aaa cta gtg ctg tcc agt	245
[0085]	Thr Val Thr Val His Asp Phe Pro Gly Lys Lys Leu Val Leu Ser Ser	
[0086]	60 65 70	
[0087]	gag aag act gtg ctg acc cct gcc acc aac cac atg ggc aac gtc acc	293
[0088]	Glu Lys Thr Val Leu Thr Pro Ala Thr Asn His Met Gly Asn Val Thr	
[0089]	75 80 85	
[0090]	ttc acg atc cca gcc aac agg gag ttc aag tca gaa aag ggg cgc aac	341
[0091]	Phe Thr Ile Pro Ala Asn Arg Glu Phe Lys Ser Glu Lys Gly Arg Asn	
[0092]	90 95 100	
[0093]	aag ttc gtg acc gtg cag gcc acc ttc ggg acc caa gtg gtg gag aag	389
[0094]	Lys Phe Val Thr Val Gln Ala Thr Phe Gly Thr Gln Val Val Glu Lys	
[0095]	105 110 115	
[0096]	gtg gtg ctg gtc agc ctg cag agc ggg tac ctc ttc atc cag aca gac	437
[0097]	Val Val Leu Val Ser Leu Gln Ser Gly Tyr Leu Phe Ile Gln Thr Asp	
[0098]	120 125 130 135	
[0099]	aag acc atc tac acc cct ggc tcc aca gtt ctc tat cgg atc ttc acc	485
[0100]	Lys Thr Ile Tyr Thr Pro Gly Ser Thr Val Leu Tyr Arg Ile Phe Thr	
[0101]	140 145 150	
[0102]	gtc aac cac aag ctg cta ccc gtg ggc cgg acg gtc atg gtc aac att	533
[0103]	Val Asn His Lys Leu Leu Pro Val Gly Arg Thr Val Met Val Asn Ile	
[0104]	155 160 165	
[0105]	gag aac ccg gaa ggc atc ccg gtc aag cag gac tcc ttg tct tct cag	581
[0106]	Glu Asn Pro Glu Gly Ile Pro Val Lys Gln Asp Ser Leu Ser Ser Gln	
[0107]	170 175 180	
[0108]	aac cag ctt ggc gtc ttg ccc ttg tct tgg gac att ccg gaa ctc gtc	629
[0109]	Asn Gln Leu Gly Val Leu Pro Leu Ser Trp Asp Ile Pro Glu Leu Val	
[0110]	185 190 195	
[0111]	aac atg ggc cag tgg aag atc cga gcc tac tat gaa aac tca cca cag	677
[0112]	Asn Met Gly Gln Trp Lys Ile Arg Ala Tyr Tyr Glu Asn Ser Pro Gln	
[0113]	200 205 210 215	
[0114]	cag gtc ttc tcc act gag ttt gag gtg aag gag tac gtg ctg ccc agt	725
[0115]	Gln Val Phe Ser Thr Glu Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu Pro Ser	
[0116]	220 225 230	
[0117]	ttc gag gtc ata gtg gag cct aca gag aaa ttc tac tac atc tat aac	773
[0118]	Phe Glu Val Ile Val Glu Pro Thr Glu Lys Phe Tyr Tyr Ile Tyr Asn	
[0119]	235 240 245	

[0120]	gag aag ggc ctg gag gtc acc atc acc gcc agg ttc ctc tac ggg aag	821
[0121]	Glu Lys Gly Leu Glu Val Thr Ile Thr Ala Arg Phe Leu Tyr Gly Lys	
[0122]	250 255 260	
[0123]	aaa gtg gag gga act gcc ttt gtc atc ttc ggg atc cag gat ggc gaa	869
[0124]	Lys Val Glu Gly Thr Ala Phe Val Ile Phe Gly Ile Gln Asp Gly Glu	
[0125]	265 270 275	
[0126]	cag agg att tcc ctg cct gaa tcc ctc aag cgc att ccg att gag gat	917
[0127]	Gln Arg Ile Ser Leu Pro Glu Ser Leu Lys Arg Ile Pro Ile Glu Asp	
[0128]	280 285 290 295	
[0129]	ggc tcg ggg gag gtt gtg ctg agc cga aag gta ctg ctg gac ggg gtg	965
[0130]	Gly Ser Gly Glu Val Val Leu Ser Arg Lys Val Leu Leu Asp Gly Val	
[0131]	300 305 310	
[0132]	cag aac ccc cga gca gaa gac ctg gtg ggg aag tct ttg tac gtg tct	1013
[0133]	Gln Asn Pro Arg Ala Glu Asp Leu Val Gly Lys Ser Leu Tyr Val Ser	
[0134]	315 320 325	
[0135]	gcc acc gtc atc ttg cac tca ggc agt gac atg gtg cag gca gag cgc	1061
[0136]	Ala Thr Val Ile Leu His Ser Gly Ser Asp Met Val Gln Ala Glu Arg	
[0137]	330 335 340	
[0138]	agc ggg atc ccc atc gtg acc tet ccc tac cag atc cac ttc acc aag	1109
[0139]	Ser Gly Ile Pro Ile Val Thr Ser Pro Tyr Gln Ile His Phe Thr Lys	
[0140]	345 350 355	
[0141]	aca ccc aag tac ttc aaa cca gga atg ccc ttt gac ctc atg gtg ttc	1157
[0142]	Thr Pro Lys Tyr Phe Lys Pro Gly Met Pro Phe Asp Leu Met Val Phe	
[0143]	360 365 370 375	
[0144]	gtg acg aac cct gat ggc tet cca gcc tac cga gtc ccc gtg gca gtc	1205
[0145]	Val Thr Asn Pro Asp Gly Ser Pro Ala Tyr Arg Val Pro Val Ala Val	
[0146]	380 385 390	
[0147]	cag ggc gag gac act gtg cag tet cta acc cag gga gat ggc gtg gcc	1253
[0148]	Gln Gly Glu Asp Thr Val Gln Ser Leu Thr Gln Gly Asp Gly Val Ala	
[0149]	395 400 405	
[0150]	aaa ctc agc atc aac aca cac ccc agc cag aag ccc ttg agc atc acg	1301
[0151]	Lys Leu Ser Ile Asn Thr His Pro Ser Gln Lys Pro Leu Ser Ile Thr	
[0152]	410 415 420	
[0153]	gtg cgc acg aag aag cag gag ctc tcg gag gca gag cag gct acc agg	1349
[0154]	Val Arg Thr Lys Lys Gln Glu Leu Ser Glu Ala Glu Gln Ala Thr Arg	
[0155]	425 430 435	
[0156]	acc atg cag gct ctg ccc tac agc acc gtg ggc aac tcc aac aat tac	1397
[0157]	Thr Met Gln Ala Leu Pro Tyr Ser Thr Val Gly Asn Ser Asn Asn Tyr	
[0158]	440 445 450 455	

[0159] ctg cat ctc tca gtg cta cgt aca gag ctc aga ccc ggg gag acc ctc 1445
 [0160] Leu His Leu Ser Val Leu Arg Thr Glu Leu Arg Pro Gly Glu Thr Leu
 [0161] 460 465 470
 [0162] aac gtc aac ttc ctc ctg cga atg gac cgc gcc cac gag gcc aag atc 1493
 [0163] Asn Val Asn Phe Leu Leu Arg Met Asp Arg Ala His Glu Ala Lys Ile
 [0164] 475 480 485
 [0165] cgc tac tac acc tac ctg atc atg aac aag ggc agg ctg ttg aag gcg 1541
 [0166] Arg Tyr Tyr Thr Tyr Leu Ile Met Asn Lys Gly Arg Leu Leu Lys Ala
 [0167] 490 495 500
 [0168] gga cgc cag gtg cga gag ccc ggc cag gac ctg gtg gtg ctg ccc ctg 1589
 [0169] Gly Arg Gln Val Arg Glu Pro Gly Gln Asp Leu Val Val Leu Pro Leu
 [0170] 505 510 515
 [0171] tcc atc acc acc gac ttc atc cct tcc ttc cgc ctg gtg gcg tac tac 1637
 [0172] Ser Ile Thr Thr Asp Phe Ile Pro Ser Phe Arg Leu Val Ala Tyr Tyr
 [0173] 520 525 530 535
 [0174] acg ctg atc ggt gcc agc ggc cag agg gag gtg gtg gcc gac tcc gtg 1685
 [0175] Thr Leu Ile Gly Ala Ser Gly Gln Arg Glu Val Val Ala Asp Ser Val
 [0176] 540 545 550
 [0177] tgg gtg gac gtc aag gac tcc tgc gtg ggc tgc ctg gtg gta aaa agc 1733
 [0178] Trp Val Asp Val Lys Asp Ser Cys Val Gly Ser Leu Val Val Lys Ser
 [0179] 555 560 565
 [0180] ggc cag tca gaa gac cgg cag cct gta cct ggg cag cag atg acc ctg 1781
 [0181] Gly Gln Ser Glu Asp Arg Gln Pro Val Pro Gly Gln Gln Met Thr Leu
 [0182] 570 575 580
 [0183] aag ata gag ggt gac cac ggg gcc cgg gtg gta ctg gtg gcc gtg gac 1829
 [0184] Lys Ile Glu Gly Asp His Gly Ala Arg Val Val Leu Val Ala Val Asp
 [0185] 585 590 595
 [0186] aag ggc gtg ttc gtg ctg aat aag aag aac aaa ctg aca cag agt aag 1877
 [0187] Lys Gly Val Phe Val Leu Asn Lys Lys Asn Lys Leu Thr Gln Ser Lys
 [0188] 600 605 610 615
 [0189] atc tgg gac gtg gtg gag aag gea gac atc ggc tgc acc ccg ggc agt 1925
 [0190] Ile Trp Asp Val Val Glu Lys Ala Asp Ile Gly Cys Thr Pro Gly Ser
 [0191] 620 625 630
 [0192] ggg aag gat tac gcc ggt gtc ttc tcc gac gea ggg ctg acc ttc acg 1973
 [0193] Gly Lys Asp Tyr Ala Gly Val Phe Ser Asp Ala Gly Leu Thr Phe Thr
 [0194] 635 640 645
 [0195] agc agc agt ggc cag cag acc gcc cag agg gea gaa ctt cag tgc ccg 2021
 [0196] Ser Ser Ser Gly Gln Gln Thr Ala Gln Arg Ala Glu Leu Gln Cys Pro
 [0197] 650 655 660

[0198] cag cca gcc gcc cgc cga cgc cgt tcc gtg cag ctc acg gag aag cga 2069
 [0199] Gln Pro Ala Ala Arg Arg Arg Arg Ser Val Gln Leu Thr Glu Lys Arg
 [0200] 665 670 675
 [0201] atg gac aaa gtc ggc aag tac ccc aag gag ctg cgc aag tgc tgc gag 2117
 [0202] Met Asp Lys Val Gly Lys Tyr Pro Lys Glu Leu Arg Lys Cys Cys Glu
 [0203] 680 685 690 695
 [0204] gac ggc atg cgg gag aac ccc atg agg ttc tcg tgc cag cgc cgg acc 2165
 [0205] Asp Gly Met Arg Glu Asn Pro Met Arg Phe Ser Cys Gln Arg Arg Thr
 [0206] 700 705 710
 [0207] cgt ttc atc tcc ctg ggc gag gcg tgc aag aag gtc ttc ctg gac tgc 2213
 [0208] Arg Phe Ile Ser Leu Gly Glu Ala Cys Lys Lys Val Phe Leu Asp Cys
 [0209] 715 720 725
 [0210] tgc aac tac atc aca gag ctg cgg cgg cag cac gcg cgg gcc agc cac 2261
 [0211] Cys Asn Tyr Ile Thr Glu Leu Arg Arg Gln His Ala Arg Ala Ser His
 [0212] 730 735 740
 [0213] ctg ggc ctg gcc agg agt aac ctg gat gag gac atc att gca gaa gag 2309
 [0214] Leu Gly Leu Ala Arg Ser Asn Leu Asp Glu Asp Ile Ile Ala Glu Glu
 [0215] 745 750 755
 [0216] aac atc gtt tcc cga agt gag ttc cca gag agc tgg ctg tgg aac gtt 2357
 [0217] Asn Ile Val Ser Arg Ser Glu Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Asn Val
 [0218] 760 765 770 775
 [0219] gag gac ttg aaa gag cca ccg aaa aat gga atc tct acg aag ctc atg 2405
 [0220] Glu Asp Leu Lys Glu Pro Pro Lys Asn Gly Ile Ser Thr Lys Leu Met
 [0221] 780 785 790
 [0222] aat ata ttt ttg aaa gac tcc atc acc acg tgg gag att ctg gct gtc 2453
 [0223] Asn Ile Phe Leu Lys Asp Ser Ile Thr Thr Trp Glu Ile Leu Ala Val
 [0224] 795 800 805
 [0225] agc atg tcg gac aag aaa ggg atc tgt gtg gca gac ccc ttc gag gtc 2501
 [0226] Ser Met Ser Asp Lys Lys Gly Ile Cys Val Ala Asp Pro Phe Glu Val
 [0227] 810 815 820
 [0228] aca gta atg cag gac ttc ttc atc gac ctg cgg cta ccc tac tct gtt 2549
 [0229] Thr Val Met Gln Asp Phe Phe Ile Asp Leu Arg Leu Pro Tyr Ser Val
 [0230] 825 830 835
 [0231] gtt cga aac gag cag gtg gaa atc cga gcc gtt ctc tac aat tac cgg 2597
 [0232] Val Arg Asn Glu Gln Val Glu Ile Arg Ala Val Leu Tyr Asn Tyr Arg
 [0233] 840 845 850 855
 [0234] cag aac caa gag ctc aag gtg agg gtg gaa cta ctc cac aat cca gcc 2645
 [0235] Gln Asn Gln Glu Leu Lys Val Arg Val Glu Leu Leu His Asn Pro Ala
 [0236] 860 865 870

[0237]	ttc tgc agc ctg gcc acc acc aag agg cgt cac cag cag acc gta acc	2693
[0238]	Phe Cys Ser Leu Ala Thr Thr Lys Arg Arg His Gln Gln Thr Val Thr	
[0239]	875 880 885	
[0240]	atc ccc ccc aag tcc tcg ttg tcc gtt cca tat gtc atc gtg ccg cta	2741
[0241]	Ile Pro Pro Lys Ser Ser Leu Ser Val Pro Tyr Val Ile Val Pro Leu	
[0242]	890 895 900	
[0243]	aag acc ggc ctg cag gaa gtg gaa gtc aag gct gcc gtc tac cat cat	2789
[0244]	Lys Thr Gly Leu Gln Glu Val Glu Val Lys Ala Ala Val Tyr His His	
[0245]	905 910 915	
[0246]	ttc atc agt gac ggt gtc agg aag tcc ctg aag gtc gtg ccg gaa gga	2837
[0247]	Phe Ile Ser Asp Gly Val Arg Lys Ser Leu Lys Val Val Pro Glu Gly	
[0248]	920 925 930 935	
[0249]	atc aga atg aac aaa act gtg gct gtt cgc acc ctg gat cca gaa cgc	2885
[0250]	Ile Arg Met Asn Lys Thr Val Ala Val Arg Thr Leu Asp Pro Glu Arg	
[0251]	940 945 950	
[0252]	ctg ggc cgt gaa gga gtg cag aaa gag gac atc cca cct gca gac ctc	2933
[0253]	Leu Gly Arg Glu Gly Val Gln Lys Glu Asp Ile Pro Pro Ala Asp Leu	
[0254]	955 960 965	
[0255]	agt gac caa gtc ccg gac acc gag tct gag acc aga att ctc ctg caa	2981
[0256]	Ser Asp Gln Val Pro Asp Thr Glu Ser Glu Thr Arg Ile Leu Leu Gln	
[0257]	970 975 980	
[0258]	ggg acc cca gtg gcc cag atg aca gag gat gcc gtc gac gcg gaa cgg	3029
[0259]	Gly Thr Pro Val Ala Gln Met Thr Glu Asp Ala Val Asp Ala Glu Arg	
[0260]	985 990 995	
[0261]	ctg aag cac ctc att gtg acc ccc tcg ggc tgc ggg gaa cag aac	3074
[0262]	Leu Lys His Leu Ile Val Thr Pro Ser Gly Cys Gly Glu Gln Asn	
[0263]	1000 1005 1010	
[0264]	atg atc ggc atg acg ccc acg gtc atc get gtg cat tac ctg gat	3119
[0265]	Met Ile Gly Met Thr Pro Thr Val Ile Ala Val His Tyr Leu Asp	
[0266]	1015 1020 1025	
[0267]	gaa acg gag cag tgg gag aag ttc ggc cta gag aag cgg cag ggg	3164
[0268]	Glu Thr Glu Gln Trp Glu Lys Phe Gly Leu Glu Lys Arg Gln Gly	
[0269]	1030 1035 1040	
[0270]	gcc ttg gag ctc atc aag aag ggg tac acc cag cag ctg gcc ttc	3209
[0271]	Ala Leu Glu Leu Ile Lys Lys Gly Tyr Thr Gln Gln Leu Ala Phe	
[0272]	1045 1050 1055	
[0273]	aga caa ccc agc tct gcc ttt gcg gcc ttc gtg aaa cgg gca ccc	3254
[0274]	Arg Gln Pro Ser Ser Ala Phe Ala Ala Phe Val Lys Arg Ala Pro	
[0275]	1060 1065 1070	

[0276]	agc acc tgg ctg acc gcc tac gtg gtc aag gtc ttc tct ctg gct	3299
[0277]	Ser Thr Trp Leu Thr Ala Tyr Val Val Lys Val Phe Ser Leu Ala	
[0278]	1075	1080 1085
[0279]	gtc aac ctc atc gcc atc gac tcc caa gtc ctc tgc ggg gct gtt	3344
[0280]	Val Asn Leu Ile Ala Ile Asp Ser Gln Val Leu Cys Gly Ala Val	
[0281]	1090	1095 1100
[0282]	aaa tgg ctg atc ctg gag aag cag aag ccc gac ggg gtc ttc cag	3389
[0283]	Lys Trp Leu Ile Leu Glu Lys Gln Lys Pro Asp Gly Val Phe Gln	
[0284]	1105	1110 1115
[0285]	gag gat gcg ccc gtg ata cac caa gaa atg att ggt gga tta cgg	3434
[0286]	Glu Asp Ala Pro Val Ile His Gln Glu Met Ile Gly Gly Leu Arg	
[0287]	1120	1125 1130
[0288]	aac aac aac gag aaa gac atg gcc ctc acg gcc ttt gtt ctc atc	3479
[0289]	Asn Asn Asn Glu Lys Asp Met Ala Leu Thr Ala Phe Val Leu Ile	
[0290]	1135	1140 1145
[0291]	tcg ctg cag gag gct aaa gat att tgc gag gag cag gtc aac agc	3524
[0292]	Ser Leu Gln Glu Ala Lys Asp Ile Cys Glu Glu Gln Val Asn Ser	
[0293]	1150	1155 1160
[0294]	ctg cca ggc agc atc act aaa gca gga gac ttc ctt gaa gcc aac	3569
[0295]	Leu Pro Gly Ser Ile Thr Lys Ala Gly Asp Phe Leu Glu Ala Asn	
[0296]	1165	1170 1175
[0297]	tac atg aac cta cag aga tcc tac act gtg gcc att gct ggc tat	3614
[0298]	Tyr Met Asn Leu Gln Arg Ser Tyr Thr Val Ala Ile Ala Gly Tyr	
[0299]	1180	1185 1190
[0300]	gct ctg gcc cag atg ggc agg ctg aag ggg cct ctt ctt aac aaa	3659
[0301]	Ala Leu Ala Gln Met Gly Arg Leu Lys Gly Pro Leu Leu Asn Lys	
[0302]	1195	1200 1205
[0303]	ttt ctg acc aca gcc aaa gat aag aac cgc tgg gag gac cct ggt	3704
[0304]	Phe Leu Thr Thr Ala Lys Asp Lys Asn Arg Trp Glu Asp Pro Gly	
[0305]	1210	1215 1220
[0306]	aag cag ctc tac aac gtg gag gcc aca tcc tat gcc ctc ttg gcc	3749
[0307]	Lys Gln Leu Tyr Asn Val Glu Ala Thr Ser Tyr Ala Leu Leu Ala	
[0308]	1225	1230 1235
[0309]	cta ctg cag cta aaa gac ttt gac ttt gtg cct ccc gtc gtg cgt	3794
[0310]	Leu Leu Gln Leu Lys Asp Phe Asp Phe Val Pro Pro Val Val Arg	
[0311]	1240	1245 1250
[0312]	tgg ctc aat gaa cag aga tac tac ggt ggt ggc tat ggc tct acc	3839
[0313]	Trp Leu Asn Glu Gln Arg Tyr Tyr Gly Gly Gly Tyr Gly Ser Thr	
[0314]	1255	1260 1265

[0315]	cag gcc acc ttc atg gtg ttc caa gcc ttg gct caa tac caa aag	3884
[0316]	Gln Ala Thr Phe Met Val Phe Gln Ala Leu Ala Gln Tyr Gln Lys	
[0317]	1270 1275 1280	
[0318]	gac gcc cct gac cac cag gaa ctg aac ctt gat gtg tcc ctc caa	3929
[0319]	Asp Ala Pro Asp His Gln Glu Leu Asn Leu Asp Val Ser Leu Gln	
[0320]	1285 1290 1295	
[0321]	ctg ccc agc cgc agc tcc aag atc acc cac cgt atc cac tgg gaa	3974
[0322]	Leu Pro Ser Arg Ser Ser Lys Ile Thr His Arg Ile His Trp Glu	
[0323]	1300 1305 1310	
[0324]	tct gcc agc ctc ctg cga tca gaa gag acc aag gaa aat gag ggt	4019
[0325]	Ser Ala Ser Leu Leu Arg Ser Glu Glu Thr Lys Glu Asn Glu Gly	
[0326]	1315 1320 1325	
[0327]	ttc aca gtc aca gct gaa gga aaa ggc caa ggc acc ttg tcg gtg	4064
[0328]	Phe Thr Val Thr Ala Glu Gly Lys Gly Gln Gly Thr Leu Ser Val	
[0329]	1330 1335 1340	
[0330]	gtg aca atg tac cat gct aag gcc aaa gat caa ctc acc tgt aat	4109
[0331]	Val Thr Met Tyr His Ala Lys Ala Lys Asp Gln Leu Thr Cys Asn	
[0332]	1345 1350 1355	
[0333]	aaa ttc gac ctc aag gtc acc ata aaa cca gca ccg gaa aca gaa	4154
[0334]	Lys Phe Asp Leu Lys Val Thr Ile Lys Pro Ala Pro Glu Thr Glu	
[0335]	1360 1365 1370	
[0336]	aag agg cct cag gat gcc aag aac act atg atc ctt gag atc tgt	4199
[0337]	Lys Arg Pro Gln Asp Ala Lys Asn Thr Met Ile Leu Glu Ile Cys	
[0338]	1375 1380 1385	
[0339]	acc agg tac cgg gga gac cag gat gcc act atg tct ata ttg gac	4244
[0340]	Thr Arg Tyr Arg Gly Asp Gln Asp Ala Thr Met Ser Ile Leu Asp	
[0341]	1390 1395 1400	
[0342]	ata tcc atg atg act ggc ttt gct cca gac aca gat gac ctg aag	4289
[0343]	Ile Ser Met Met Thr Gly Phe Ala Pro Asp Thr Asp Asp Leu Lys	
[0344]	1405 1410 1415	
[0345]	cag ctg gcc aat ggt gtt gac aga tac atc tcc aag tat gag ctg	4334
[0346]	Gln Leu Ala Asn Gly Val Asp Arg Tyr Ile Ser Lys Tyr Glu Leu	
[0347]	1420 1425 1430	
[0348]	gac aaa gcc ttc tcc gat agg aac acc ctc atc atc tac ctg gac	4379
[0349]	Asp Lys Ala Phe Ser Asp Arg Asn Thr Leu Ile Ile Tyr Leu Asp	
[0350]	1435 1440 1445	
[0351]	aag gtc tca cac tct gag gat gac tgt cta gct ttc aaa gtt cac	4424
[0352]	Lys Val Ser His Ser Glu Asp Asp Cys Leu Ala Phe Lys Val His	
[0353]	1450 1455 1460	

[0354]	caa tac ttt aat gta gag ctt atc cag cct gga gca gtc aag gtc	4469
[0355]	Gln Tyr Phe Asn Val Glu Leu Ile Gln Pro Gly Ala Val Lys Val	
[0356]	1465	1470 1475
[0357]	tac gcc tat tac aac ctg gag gaa agc tgt acc cgg ttc tac cat	4514
[0358]	Tyr Ala Tyr Tyr Asn Leu Glu Glu Ser Cys Thr Arg Phe Tyr His	
[0359]	1480	1485 1490
[0360]	ccg gaa aag gag gat gga aag ctg aac aag ctc tgc cgt gat gaa	4559
[0361]	Pro Glu Lys Glu Asp Gly Lys Leu Asn Lys Leu Cys Arg Asp Glu	
[0362]	1495	1500 1505
[0363]	ctg tgc cgc tgt gct gag gag aat tgc ttc ata caa aag tcg gat	4604
[0364]	Leu Cys Arg Cys Ala Glu Glu Asn Cys Phe Ile Gln Lys Ser Asp	
[0365]	1510	1515 1520
[0366]	gac aag gtc acc ctg gaa gaa cgg ctg gac aag gcc tgt gag cca	4649
[0367]	Asp Lys Val Thr Leu Glu Glu Arg Leu Asp Lys Ala Cys Glu Pro	
[0368]	1525	1530 1535
[0369]	gga gtg gac tat gtg tac aag acc cga ctg gtc aag gtt cag ctg	4694
[0370]	Gly Val Asp Tyr Val Tyr Lys Thr Arg Leu Val Lys Val Gln Leu	
[0371]	1540	1545 1550
[0372]	tcc aat gac ttt gac gag tac atc atg gcc att gag cag acc atc	4739
[0373]	Ser Asn Asp Phe Asp Glu Tyr Ile Met Ala Ile Glu Gln Thr Ile	
[0374]	1555	1560 1565
[0375]	aag tca ggc tcg gat gag gtg cag gtt gga cag cag cgc acg ttc	4784
[0376]	Lys Ser Gly Ser Asp Glu Val Gln Val Gly Gln Gln Arg Thr Phe	
[0377]	1570	1575 1580
[0378]	atc agc ccc atc aag tgc aga gaa gcc ctg aag ctg gag gag aag	4829
[0379]	Ile Ser Pro Ile Lys Cys Arg Glu Ala Leu Lys Leu Glu Glu Lys	
[0380]	1585	1590 1595
[0381]	aaa cac tac ctc atg tgg ggt ctc tcc tcc gat ttc tgg gga gag	4874
[0382]	Lys His Tyr Leu Met Trp Gly Leu Ser Ser Asp Phe Trp Gly Glu	
[0383]	1600	1605 1610
[0384]	aag ccc aac ctc agc tac atc atc ggg aag gac act tgg gtg gag	4919
[0385]	Lys Pro Asn Leu Ser Tyr Ile Ile Gly Lys Asp Thr Trp Val Glu	
[0386]	1615	1620 1625
[0387]	cac tgg ccc gag gag gac gaa tgc caa gac gaa gag aac cag aaa	4964
[0388]	His Trp Pro Glu Glu Asp Glu Cys Gln Asp Glu Glu Asn Gln Lys	
[0389]	1630	1635 1640
[0390]	caa tgc cag gac ctc ggc gcc ttc acc gag agc atg gtt gtc ttt	5009
[0391]	Gln Cys Gln Asp Leu Gly Ala Phe Thr Glu Ser Met Val Val Phe	
[0392]	1645	1650 1655

[0393] ggg tgc ccc aac tga ccacaccccc attccccac tccagataaa gcttcagtta 5064
 [0394] Gly Cys Pro Asn
 [0395] 1660
 [0396] taaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaa 5091
 [0397] <210>2
 [0398] <211>1663
 [0399] <212>PRT
 [0400] <213>Homo sapiens
 [0401] <400>2
 [0402] Met Gly Pro Thr Ser Gly Pro Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Thr His
 [0403] 1 5 10 15
 [0404] Leu Pro Leu Ala Leu Gly Ser Pro Met Tyr Ser Ile Ile Thr Pro Asn
 [0405] 20 25 30
 [0406] Ile Leu Arg Leu Glu Ser Glu Glu Thr Met Val Leu Glu Ala His Asp
 [0407] 35 40 45
 [0408] Ala Gln Gly Asp Val Pro Val Thr Val Thr Val His Asp Phe Pro Gly
 [0409] 50 55 60
 [0410] Lys Lys Leu Val Leu Ser Ser Glu Lys Thr Val Leu Thr Pro Ala Thr
 [0411] 65 70 75 80
 [0412] Asn His Met Gly Asn Val Thr Phe Thr Ile Pro Ala Asn Arg Glu Phe
 [0413] 85 90 95
 [0414] Lys Ser Glu Lys Gly Arg Asn Lys Phe Val Thr Val Gln Ala Thr Phe
 [0415] 100 105 110
 [0416] Gly Thr Gln Val Val Glu Lys Val Val Leu Val Ser Leu Gln Ser Gly
 [0417] 115 120 125
 [0418] Tyr Leu Phe Ile Gln Thr Asp Lys Thr Ile Tyr Thr Pro Gly Ser Thr
 [0419] 130 135 140
 [0420] Val Leu Tyr Arg Ile Phe Thr Val Asn His Lys Leu Leu Pro Val Gly
 [0421] 145 150 155 160
 [0422] Arg Thr Val Met Val Asn Ile Glu Asn Pro Glu Gly Ile Pro Val Lys
 [0423] 165 170 175
 [0424] Gln Asp Ser Leu Ser Ser Gln Asn Gln Leu Gly Val Leu Pro Leu Ser
 [0425] 180 185 190
 [0426] Trp Asp Ile Pro Glu Leu Val Asn Met Gly Gln Trp Lys Ile Arg Ala
 [0427] 195 200 205
 [0428] Tyr Tyr Glu Asn Ser Pro Gln Gln Val Phe Ser Thr Glu Phe Glu Val
 [0429] 210 215 220
 [0430] Lys Glu Tyr Val Leu Pro Ser Phe Glu Val Ile Val Glu Pro Thr Glu
 [0431] 225 230 235 240

[0432]	Lys Phe Tyr Tyr Ile Tyr Asn Glu Lys Gly Leu Glu Val Thr Ile Thr
[0433]	245 250 255
[0434]	Ala Arg Phe Leu Tyr Gly Lys Lys Val Glu Gly Thr Ala Phe Val Ile
[0435]	260 265 270
[0436]	Phe Gly Ile Gln Asp Gly Glu Gln Arg Ile Ser Leu Pro Glu Ser Leu
[0437]	275 280 285
[0438]	Lys Arg Ile Pro Ile Glu Asp Gly Ser Gly Glu Val Val Leu Ser Arg
[0439]	290 295 300
[0440]	Lys Val Leu Leu Asp Gly Val Gln Asn Pro Arg Ala Glu Asp Leu Val
[0441]	305 310 315 320
[0442]	Gly Lys Ser Leu Tyr Val Ser Ala Thr Val Ile Leu His Ser Gly Ser
[0443]	325 330 335
[0444]	Asp Met Val Gln Ala Glu Arg Ser Gly Ile Pro Ile Val Thr Ser Pro
[0445]	340 345 350
[0446]	Tyr Gln Ile His Phe Thr Lys Thr Pro Lys Tyr Phe Lys Pro Gly Met
[0447]	355 360 365
[0448]	Pro Phe Asp Leu Met Val Phe Val Thr Asn Pro Asp Gly Ser Pro Ala
[0449]	370 375 380
[0450]	Tyr Arg Val Pro Val Ala Val Gln Gly Glu Asp Thr Val Gln Ser Leu
[0451]	385 390 395 400
[0452]	Thr Gln Gly Asp Gly Val Ala Lys Leu Ser Ile Asn Thr His Pro Ser
[0453]	405 410 415
[0454]	Gln Lys Pro Leu Ser Ile Thr Val Arg Thr Lys Lys Gln Glu Leu Ser
[0455]	420 425 430
[0456]	Glu Ala Glu Gln Ala Thr Arg Thr Met Gln Ala Leu Pro Tyr Ser Thr
[0457]	435 440 445
[0458]	Val Gly Asn Ser Asn Asn Tyr Leu His Leu Ser Val Leu Arg Thr Glu
[0459]	450 455 460
[0460]	Leu Arg Pro Gly Glu Thr Leu Asn Val Asn Phe Leu Leu Arg Met Asp
[0461]	465 470 475 480
[0462]	Arg Ala His Glu Ala Lys Ile Arg Tyr Tyr Thr Tyr Leu Ile Met Asn
[0463]	485 490 495
[0464]	Lys Gly Arg Leu Leu Lys Ala Gly Arg Gln Val Arg Glu Pro Gly Gln
[0465]	500 505 510
[0466]	Asp Leu Val Val Leu Pro Leu Ser Ile Thr Thr Asp Phe Ile Pro Ser
[0467]	515 520 525
[0468]	Phe Arg Leu Val Ala Tyr Tyr Thr Leu Ile Gly Ala Ser Gly Gln Arg
[0469]	530 535 540
[0470]	Glu Val Val Ala Asp Ser Val Trp Val Asp Val Lys Asp Ser Cys Val

[0471]	545	550	555	560
[0472]	Gly Ser Leu Val Val Lys Ser Gly Gln Ser Glu Asp Arg Gln Pro Val			
[0473]		565	570	575
[0474]	Pro Gly Gln Gln Met Thr Leu Lys Ile Glu Gly Asp His Gly Ala Arg			
[0475]		580	585	590
[0476]	Val Val Leu Val Ala Val Asp Lys Gly Val Phe Val Leu Asn Lys Lys			
[0477]		595	600	605
[0478]	Asn Lys Leu Thr Gln Ser Lys Ile Trp Asp Val Val Glu Lys Ala Asp			
[0479]		610	615	620
[0480]	Ile Gly Cys Thr Pro Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Ala Gly Val Phe Ser			
[0481]	625	630	635	640
[0482]	Asp Ala Gly Leu Thr Phe Thr Ser Ser Ser Gly Gln Gln Thr Ala Gln			
[0483]		645	650	655
[0484]	Arg Ala Glu Leu Gln Cys Pro Gln Pro Ala Ala Arg Arg Arg Arg Ser			
[0485]		660	665	670
[0486]	Val Gln Leu Thr Glu Lys Arg Met Asp Lys Val Gly Lys Tyr Pro Lys			
[0487]		675	680	685
[0488]	Glu Leu Arg Lys Cys Cys Glu Asp Gly Met Arg Glu Asn Pro Met Arg			
[0489]		690	695	700
[0490]	Phe Ser Cys Gln Arg Arg Thr Arg Phe Ile Ser Leu Gly Glu Ala Cys			
[0491]	705	710	715	720
[0492]	Lys Lys Val Phe Leu Asp Cys Cys Asn Tyr Ile Thr Glu Leu Arg Arg			
[0493]		725	730	735
[0494]	Gln His Ala Arg Ala Ser His Leu Gly Leu Ala Arg Ser Asn Leu Asp			
[0495]		740	745	750
[0496]	Glu Asp Ile Ile Ala Glu Glu Asn Ile Val Ser Arg Ser Glu Phe Pro			
[0497]		755	760	765
[0498]	Glu Ser Trp Leu Trp Asn Val Glu Asp Leu Lys Glu Pro Pro Lys Asn			
[0499]		770	775	780
[0500]	Gly Ile Ser Thr Lys Leu Met Asn Ile Phe Leu Lys Asp Ser Ile Thr			
[0501]	785	790	795	800
[0502]	Thr Trp Glu Ile Leu Ala Val Ser Met Ser Asp Lys Lys Gly Ile Cys			
[0503]		805	810	815
[0504]	Val Ala Asp Pro Phe Glu Val Thr Val Met Gln Asp Phe Phe Ile Asp			
[0505]		820	825	830
[0506]	Leu Arg Leu Pro Tyr Ser Val Val Arg Asn Glu Gln Val Glu Ile Arg			
[0507]		835	840	845
[0508]	Ala Val Leu Tyr Asn Tyr Arg Gln Asn Gln Glu Leu Lys Val Arg Val			
[0509]		850	855	860

[0510] Glu Leu Leu His Asn Pro Ala Phe Cys Ser Leu Ala Thr Thr Lys Arg
 [0511] 865 870 875 880
 [0512] Arg His Gln Gln Thr Val Thr Ile Pro Pro Lys Ser Ser Leu Ser Val
 [0513] 885 890 895
 [0514] Pro Tyr Val Ile Val Pro Leu Lys Thr Gly Leu Gln Glu Val Glu Val
 [0515] 900 905 910
 [0516] Lys Ala Ala Val Tyr His His Phe Ile Ser Asp Gly Val Arg Lys Ser
 [0517] 915 920 925
 [0518] Leu Lys Val Val Pro Glu Gly Ile Arg Met Asn Lys Thr Val Ala Val
 [0519] 930 935 940
 [0520] Arg Thr Leu Asp Pro Glu Arg Leu Gly Arg Glu Gly Val Gln Lys Glu
 [0521] 945 950 955 960
 [0522] Asp Ile Pro Pro Ala Asp Leu Ser Asp Gln Val Pro Asp Thr Glu Ser
 [0523] 965 970 975
 [0524] Glu Thr Arg Ile Leu Leu Gln Gly Thr Pro Val Ala Gln Met Thr Glu
 [0525] 980 985 990
 [0526] Asp Ala Val Asp Ala Glu Arg Leu Lys His Leu Ile Val Thr Pro Ser
 [0527] 995 1000 1005
 [0528] Gly Cys Gly Glu Gln Asn Met Ile Gly Met Thr Pro Thr Val Ile
 [0529] 1010 1015 1020
 [0530] Ala Val His Tyr Leu Asp Glu Thr Glu Gln Trp Glu Lys Phe Gly
 [0531] 1025 1030 1035
 [0532] Leu Glu Lys Arg Gln Gly Ala Leu Glu Leu Ile Lys Lys Gly Tyr
 [0533] 1040 1045 1050
 [0534] Thr Gln Gln Leu Ala Phe Arg Gln Pro Ser Ser Ala Phe Ala Ala
 [0535] 1055 1060 1065
 [0536] Phe Val Lys Arg Ala Pro Ser Thr Trp Leu Thr Ala Tyr Val Val
 [0537] 1070 1075 1080
 [0538] Lys Val Phe Ser Leu Ala Val Asn Leu Ile Ala Ile Asp Ser Gln
 [0539] 1085 1090 1095
 [0540] Val Leu Cys Gly Ala Val Lys Trp Leu Ile Leu Glu Lys Gln Lys
 [0541] 1100 1105 1110
 [0542] Pro Asp Gly Val Phe Gln Glu Asp Ala Pro Val Ile His Gln Glu
 [0543] 1115 1120 1125
 [0544] Met Ile Gly Gly Leu Arg Asn Asn Asn Glu Lys Asp Met Ala Leu
 [0545] 1130 1135 1140
 [0546] Thr Ala Phe Val Leu Ile Ser Leu Gln Glu Ala Lys Asp Ile Cys
 [0547] 1145 1150 1155
 [0548] Glu Glu Gln Val Asn Ser Leu Pro Gly Ser Ile Thr Lys Ala Gly

[0549]	1160	1165	1170
[0550]	Asp Phe Leu Glu Ala Asn Tyr Met Asn Leu Gln Arg Ser Tyr Thr		
[0551]	1175	1180	1185
[0552]	Val Ala Ile Ala Gly Tyr Ala Leu Ala Gln Met Gly Arg Leu Lys		
[0553]	1190	1195	1200
[0554]	Gly Pro Leu Leu Asn Lys Phe Leu Thr Thr Ala Lys Asp Lys Asn		
[0555]	1205	1210	1215
[0556]	Arg Trp Glu Asp Pro Gly Lys Gln Leu Tyr Asn Val Glu Ala Thr		
[0557]	1220	1225	1230
[0558]	Ser Tyr Ala Leu Leu Ala Leu Leu Gln Leu Lys Asp Phe Asp Phe		
[0559]	1235	1240	1245
[0560]	Val Pro Pro Val Val Arg Trp Leu Asn Glu Gln Arg Tyr Tyr Gly		
[0561]	1250	1255	1260
[0562]	Gly Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Ala Thr Phe Met Val Phe Gln Ala		
[0563]	1265	1270	1275
[0564]	Leu Ala Gln Tyr Gln Lys Asp Ala Pro Asp His Gln Glu Leu Asn		
[0565]	1280	1285	1290
[0566]	Leu Asp Val Ser Leu Gln Leu Pro Ser Arg Ser Ser Lys Ile Thr		
[0567]	1295	1300	1305
[0568]	His Arg Ile His Trp Glu Ser Ala Ser Leu Leu Arg Ser Glu Glu		
[0569]	1310	1315	1320
[0570]	Thr Lys Glu Asn Glu Gly Phe Thr Val Thr Ala Glu Gly Lys Gly		
[0571]	1325	1330	1335
[0572]	Gln Gly Thr Leu Ser Val Val Thr Met Tyr His Ala Lys Ala Lys		
[0573]	1340	1345	1350
[0574]	Asp Gln Leu Thr Cys Asn Lys Phe Asp Leu Lys Val Thr Ile Lys		
[0575]	1355	1360	1365
[0576]	Pro Ala Pro Glu Thr Glu Lys Arg Pro Gln Asp Ala Lys Asn Thr		
[0577]	1370	1375	1380
[0578]	Met Ile Leu Glu Ile Cys Thr Arg Tyr Arg Gly Asp Gln Asp Ala		
[0579]	1385	1390	1395
[0580]	Thr Met Ser Ile Leu Asp Ile Ser Met Met Thr Gly Phe Ala Pro		
[0581]	1400	1405	1410
[0582]	Asp Thr Asp Asp Leu Lys Gln Leu Ala Asn Gly Val Asp Arg Tyr		
[0583]	1415	1420	1425
[0584]	Ile Ser Lys Tyr Glu Leu Asp Lys Ala Phe Ser Asp Arg Asn Thr		
[0585]	1430	1435	1440
[0586]	Leu Ile Ile Tyr Leu Asp Lys Val Ser His Ser Glu Asp Asp Cys		
[0587]	1445	1450	1455

[0588]	Leu Ala Phe Lys Val His Gln Tyr Phe Asn Val Glu Leu Ile Gln		
[0589]	1460	1465	1470
[0590]	Pro Gly Ala Val Lys Val Tyr Ala Tyr Tyr Asn Leu Glu Glu Ser		
[0591]	1475	1480	1485
[0592]	Cys Thr Arg Phe Tyr His Pro Glu Lys Glu Asp Gly Lys Leu Asn		
[0593]	1490	1495	1500
[0594]	Lys Leu Cys Arg Asp Glu Leu Cys Arg Cys Ala Glu Glu Asn Cys		
[0595]	1505	1510	1515
[0596]	Phe Ile Gln Lys Ser Asp Asp Lys Val Thr Leu Glu Glu Arg Leu		
[0597]	1520	1525	1530
[0598]	Asp Lys Ala Cys Glu Pro Gly Val Asp Tyr Val Tyr Lys Thr Arg		
[0599]	1535	1540	1545
[0600]	Leu Val Lys Val Gln Leu Ser Asn Asp Phe Asp Glu Tyr Ile Met		
[0601]	1550	1555	1560
[0602]	Ala Ile Glu Gln Thr Ile Lys Ser Gly Ser Asp Glu Val Gln Val		
[0603]	1565	1570	1575
[0604]	Gly Gln Gln Arg Thr Phe Ile Ser ProIle Lys Cys Arg Glu Ala		
[0605]	1580	1585	1590
[0606]	Leu Lys Leu Glu Glu Lys Lys His Tyr Leu Met Trp Gly Leu Ser		
[0607]	1595	1600	1605
[0608]	Ser Asp Phe Trp Gly Glu Lys Pro Asn Leu Ser Tyr Ile Ile Gly		
[0609]	1610	1615	1620
[0610]	Lys Asp Thr Trp Val Glu His Trp Pro Glu Glu Asp Glu Cys Gln		
[0611]	1625	1630	1635
[0612]	Asp Glu Glu Asn Gln Lys Gln Cys Gln Asp Leu Gly Ala Phe Thr		
[0613]	1640	1645	1650
[0614]	Glu Ser Met Val Val Phe Gly Cys Pro Asn		
[0615]	1655	1660	

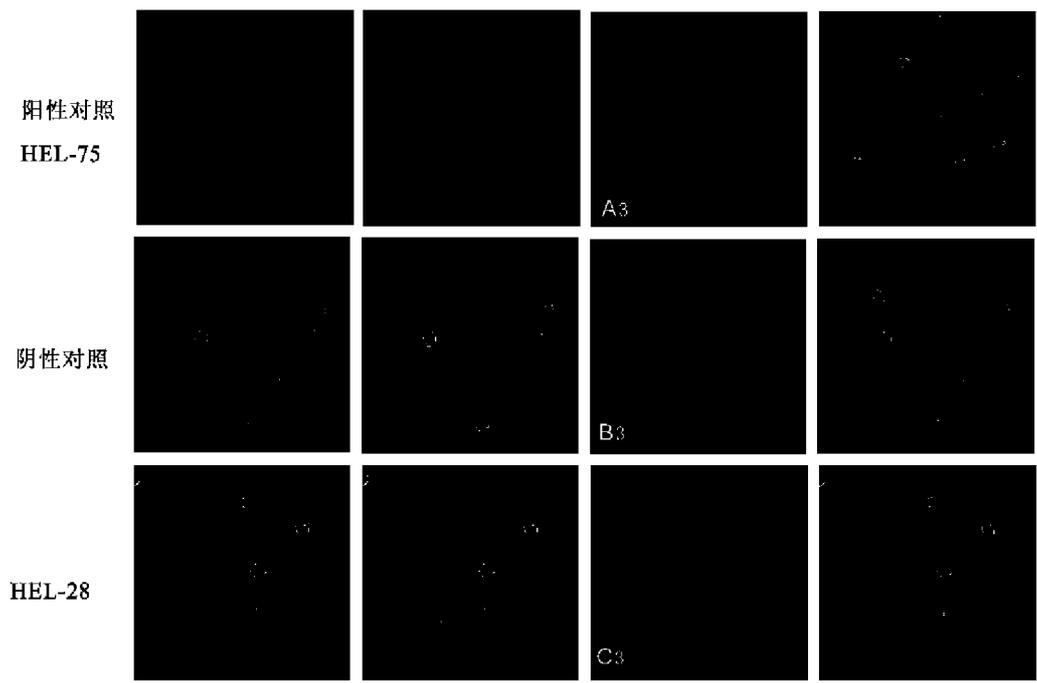


图 1

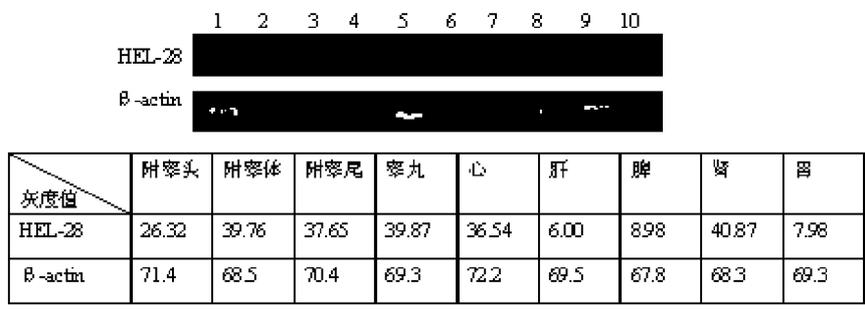


图 2

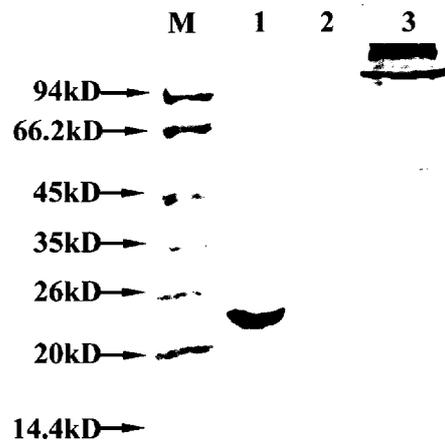


图 3

专利名称(译)	人类附睾表达精子结合蛋白HEL-28及其编码基因与应用		
公开(公告)号	CN101724033A	公开(公告)日	2010-06-09
申请号	CN200810305129.8	申请日	2008-10-24
[标]申请(专利权)人(译)	李建远		
申请(专利权)人(译)	李建远		
当前申请(专利权)人(译)	李建远		
[标]发明人	李建远		
发明人	李建远		
IPC分类号	C07K14/435 C12N15/12 C12N15/63 C12N5/10 C07K16/18 A61K38/17 A61K31/7088 A61K48/00 A61K35/12 A61P15/16 A61P31/00 G01N33/53 A61K35/48		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明属于生物技术和医学领域。本发明公开了一种新的人附睾特异表达精子结合蛋白HEL-28及其制备和应用。公开了本发明编码HEL-28蛋白的氨基酸序列，提供携带编码本发明蛋白的DNA序列的重组表达载体。该蛋白定位于成熟精子的头后区。RT-PCR结果显示该蛋白在附睾及人体各种组织表达量很低。用Western blot在附睾体部检测到一条187KD条带。HEL-28蛋白可作为免疫性避孕药的研发，以及男性不育症的临床诊断与治疗的靶蛋白。基于HEL-28蛋白开发的相应基因或蛋白检测方法，将广泛用于生殖医学研究领域。

