



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110799841 A

(43)申请公布日 2020.02.14

(21)申请号 201880042773.2

(22)申请日 2018.06.29

(30)优先权数据

2017-129941 2017.06.30 JP

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2019.12.25

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2018/024806 2018.06.29

(87)PCT国际申请的公布数据

W02019/004430 JA 2019.01.03

(71)申请人 国立研究开发法人医药基盘·健

康·营养研究所

地址 日本大阪

申请人 电化生研株式会社

(72)发明人 朝长毅 白水崇

(74)专利代理机构 北京康信知识产权代理有限

责任公司 11240

代理人 纪秀凤

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

C07K 14/47(2006.01)

C07K 14/705(2006.01)

G12N 9/64(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

G01N 33/574(2006.01)

权利要求书2页 说明书14页

序列表65页 附图25页

(54)发明名称

用于检测大肠癌的生物标志物

(57)摘要

提供一种用于早期检测大肠癌的生物标志物。一种用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物，其由下面的1至22的22个蛋白质中的至少一个蛋白质或者1至22的蛋白质的部分肽中的至少一个肽构成：1.膜联蛋白A11；2.膜联蛋白A3；3.膜联蛋白A4；4.腱生蛋白-N；5.转铁蛋白受体蛋白1；6.葡萄糖转运蛋白1；7.补体成分C9；8.CD88抗原；9.78kDa葡萄糖调节蛋白；10.α-1-酸性糖蛋白；11.基质金属蛋白酶9；12.血管生成素-1；13.CD67抗原；14.粘蛋白-5B；15.衔接蛋白GRB2；16.膜联蛋白A5；17.嗅觉介导素-4；18.中性氨基酸转运蛋白B(0)；19.三肽基肽酶1；20.热休克相关70kDa蛋白2；21.蛋白酶体亚基α型-5；以及22.中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白。

1. 一种用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其特征在於,由下面的1至22的22个蛋白质中的至少一个蛋白质或者1至22的蛋白质的部分肽中的至少一个肽构成:

1. 通过序列号1表示的膜联蛋白A11 (ANXA 11);
2. 通过序列号2表示的膜联蛋白A3 (ANXA 3);
3. 通过序列号3表示的膜联蛋白A4 (ANXA 4);
4. 通过序列号4表示的腱生蛋白N (TNN);
5. 通过序列号5表示的转铁蛋白受体蛋白1 (TFRC);
6. 通过序列号6表示的葡萄糖转运蛋白-1即GLUT-1 (SLC2A1);
7. 通过序列号7表示的补体成分C9 (C9);
8. 通过序列号8表示的CD88抗原 (C5AR1);
9. 通过序列号9表示的78kDa葡萄糖调节蛋白 (HSPA5);
10. 通过序列号10表示的 $\alpha$ -1-酸性糖蛋白 (ORM1);
11. 通过序列号11表示的基质金属蛋白酶9 (MMP9);
12. 通过序列号12表示的血管生成素-1 (ANGPT1);
13. 通过序列号13表示的CD67抗原 (CEACAM8);
14. 通过序列号14表示的粘蛋白-5B (MUC5B);
15. 通过序列号15表示的衔接蛋白GRB2 (GRB2);
16. 通过序列号16表示的膜联蛋白A5 (ANXA 5);
17. 通过序列号17表示的嗅觉介导素-4 (OLFM4);
18. 通过序列号18表示的中性氨基酸转运蛋白B (0) (SLC1A5);
19. 通过序列号19表示的三肽基肽酶1 (TPP1);
20. 通过序列号20表示的热休克相关70kDa蛋白2 (HSPA2);
21. 通过序列号21表示的蛋白酶体亚基 $\alpha$ 型-5 (PSMA5);或者
22. 通过序列号22表示的中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (LCN2)。

2. 根据权利要求1所述的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其特征在於,所述大肠癌生物标志物是将权利要求1所述的1至22的22个蛋白质中的两个以上的蛋白质或者1至22的蛋白质的部分肽中的两个以上的肽组合而成的。

3. 根据权利要求1或2所述的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其特征在於,权利要求1所述的1至22的蛋白质的部分肽是由通过序列号23至59表示的氨基酸序列构成的肽。

4. 根据权利要求1所述的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其特征在於,所述大肠癌生物标志物由下面的12个蛋白质中的至少一个蛋白质或者所述12个蛋白质的部分肽中的至少一个肽构成:

1. 通过序列号1表示的膜联蛋白A11;
2. 通过序列号2表示的膜联蛋白A3;
3. 通过序列号3表示的膜联蛋白A4;
4. 通过序列号4表示的腱生蛋白-N;
5. 通过序列号5表示的转铁蛋白受体蛋白1;
6. 通过序列号6表示的葡萄糖转运蛋白-1;

8. 通过序列号8表示的CD88抗原;
11. 通过序列号11表示的基质金属蛋白酶9;
16. 通过序列号16表示的膜联蛋白A5;
17. 通过序列号17表示的嗅觉介导素-4;
19. 通过序列号19表示的三肽基肽酶1; 或者
22. 通过序列号22表示的中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白。
5. 根据权利要求4所述的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物, 其特征在于, 所述大肠癌生物标志物是将权利要求4所述的12个蛋白质中的2个以上的蛋白质或者所述12个蛋白质的部分肽中的2个以上的肽组合而成的。
6. 根据权利要求4或5所述的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物, 其特征在于, 权利要求4所述的部分肽是由通过序列号23~34、37、38、43、44、53、54、56及59表示的氨基酸序列构成的肽。
7. 根据权利要求1所述的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物, 其特征在于, 所述大肠癌生物标志物由膜联蛋白A4或膜联蛋白A11或者它们的部分肽构成。
8. 根据权利要求7所述的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物, 其特征在于, 所述大肠癌生物标志物是将膜联蛋白A4和膜联蛋白A11或者将膜联蛋白A4的部分肽和膜联蛋白A11的部分肽组合而成的。
9. 根据权利要求7或8所述的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物, 其特征在于, 膜联蛋白A4及膜联蛋白A11的部分肽是由通过序列号23、24、27及28表示的氨基酸序列构成的肽。
10. 一种用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物, 其特征在于, 是将权利要求1至9中任一项所述的大肠癌生物标志物和CEA组合而成的。
11. 一种大肠癌的检测方法, 其特征在于, 包括对生物体试样中的权利要求1至10中任一项所述的大肠癌生物标志物进行测定。
12. 一种大肠癌检测方法, 其特征在于, 对生物体试样中的权利要求1至10中任一项所述的大肠癌生物标志物进行测定, 当所述生物标志物与健康正常人相比较以高浓度存在时, 判断为患有大肠癌。
13. 根据权利要求11或12所述的大肠癌检测方法, 其特征在于, 生物体试样为血液中的细胞外囊泡EV。
14. 根据权利要求11至13中任一项所述的大肠癌检测方法, 其特征在于, 检测通过免疫学测定法或者质谱法来进行。
15. 一种大肠癌的检测试剂盒, 其特征在于, 包含针对生物体试样中的权利要求1至10中任一项所述的大肠癌生物标志物的抗体。

## 用于检测大肠癌的生物标志物

### 技术领域

[0001] 本发明涉及能够用于检测大肠癌的新型的蛋白质或者肽生物标志物。

### 背景技术

[0002] 大肠癌 (CRC) 是在世界中频率最高的癌症之一,用于CRC的有效的生物标志物的开发对于提高人的生存率是不可或缺的。但是,目前使用的大肠癌的诊断法都是便潜血、CEA等精度非常低的诊断法,并未找到能够在早期高精度地诊断大肠癌的新的生物标志物,迫切需求血中生物标志物。

[0003] 迄今为止,尽管通过大规模的组学研究而发现了多个癌症相关因子以及癌症的生物标志物候选,但尚未存在达到临床应用的血中生物标志物。作为证实这一点的证据,近年来的由美国食品药品监督管理局 (FDA) 承认的生物标志物极少,为每年两件以下。一般认为,该停滞的原因之一是在生物标志物开发的策略上存在严重的问题。

[0004] 以往,在许多临床检查中,蛋白质生物标志物的检测通过基于抗体的定量分析法(主要使用酶联抗体免疫测定法 (ELISA)) 来进行。这些方法大大地依赖于抗体的品质,因此精度、特别是特异性存在问题,并且难以同时评价多项目的标志物候选。

[0005] 由于质谱仪 (MS) 的最近进展,临床检查法已出现发生重大变化的可能性。作为其理由,是因为作为代表定向蛋白质组学的方法的选择反应监测/多重反应监测法 (SRM/MRM) 不仅能够以高精度进行生物标志物蛋白质的定量,还能够对多项目的标志物同时进行定量。在以前的报告中,Whiteaker等人使用SRM/MRM法来实施患者血浆中的多项目的乳腺癌生物标志物候选蛋白质的定量(参照非专利文献1)。除此以外,也包括本发明人等的课题组的报告在内,还报告了一些使用SRM/MRM法而验证了各种癌症的生物标志物候选蛋白质的例子(参照非专利文献2~4)。

[0006] 因此,使用了SRM/MRM法的定向蛋白质组学成为用于发现生物标志物的强有力的工具。

[0007] 现有技术文献

[0008] 非专利文献

[0009] 非专利文献1:Whiteaker,J.et al.,Nat.BIotechnol.29,625-634 (2011)

[0010] 非专利文献:2:Kume,H.et al.,Mol.Cell.Proteomics 13,1471-1484 (2014)

[0011] 非专利文献3:Muraoka,S.et al.,J.Proteome Res.11,4201-4210 (2012)

[0012] 非专利文献4:Narumi,R.et al.,J.Proteome Res.11,5311-5322 (2012)。

### 发明内容

[0013] 发明要解决的课题

[0014] 本发明的目的在于提供一种用于早期检测大肠癌的生物标志物。

[0015] 用于解决课题的方案

[0016] 本发明人等首先从PubMed的文献检索中检索CRC生物标志物候选蛋白质。为了在

血中检测这些生物标志物候选蛋白质,着眼于血中的细胞外囊泡(EV)。这是因为,EV不仅作为细胞间通信的中介者而起作用这点最近备受关注,而且EV被认为与各种疾病的发病和进展有关,一般认为包含较多的生物标志物候选。另外,在要使用质谱仪来检测血液中的微量的蛋白质时,由于白蛋白等血液中大量存在的夹杂蛋白质,有时会阻碍微量的标志物候选蛋白质的检测。但是,当对血液中的EV进行纯化时,大量的夹杂蛋白质被除去,因此能够检测出EV中的微量的生物标志物候选蛋白质。因此,EV含有蛋白质被认为是有希望的生物标志物候选。

[0017] 本发明人等在通过文献检索而找到的生物标志物候选蛋白质中对有存在于血中EV的可能性的蛋白质缩减候选,使用SRM/MRM法来进行这些蛋白质的定量。作为其结果,确定了用于CRC的早期诊断的一些生物标志物候选,从而完成了本发明。

[0018] 即,本发明的方案如下所述:

[0019] [1]一种用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其由下面的1至22的22个蛋白质中的至少一个蛋白质或者1至22的蛋白质的部分肽中的至少一个肽构成:

[0020] 1.膜联蛋白A11(Annexin A11)(ANXA 11)(序列号1);

[0021] 2.膜联蛋白A3(Annexin A3)(ANXA 3)(序列号2);

[0022] 3.膜联蛋白A4(Annexin A4)(ANXA 4)(序列号3);

[0023] 4.腱生蛋白-N(Tanascin-N)(TNN)(序列号4);

[0024] 5.转铁蛋白受体蛋白1(Transferrin receptor protein 1)(TFRC)(序列号5);

[0025] 6.葡萄糖转运蛋白-1(GLUT-1)(SLC2A1)(序列号6);

[0026] 7.补体成分C9(Complement component C9)(C9)(序列号7);

[0027] 8.CD88抗原(CD88 antigen)(C5AR1)(序列号8);

[0028] 9. 78kDa葡萄糖调节蛋白(78kDa glucose-regulated protein)(HSPA5)(序列号9);

[0029] 10. $\alpha$ -1-酸性糖蛋白( $\alpha$ -1-acid glycoprotein)(ORM1)(序列号10);

[0030] 11.基质金属蛋白酶9(Matrix metalloproteinase-9)(MMP9)(序列号11);

[0031] 12.血管生成素-1(Angiopoietin-1)(ANGPT1)(序列号12);

[0032] 13.CD67抗原(CD67 antigen)(CEACAM8)(序列号13);

[0033] 14.粘蛋白-5B(Mucin-5B)(MUC5B)(序列号14);

[0034] 15.衔接蛋白GRB2(Adapter protein GRB2)(GRB2)(序列号15);

[0035] 16.膜联蛋白A5(Annexin A5)(ANXA 5)(序列号16);

[0036] 17.嗅觉介导素-4(Olfactomedin-4)(OLFM4)(序列号17);

[0037] 18.中性氨基酸转运蛋白B(0)(Neutral amino acid transporter B(0))(SLC1A5)(序列号18);

[0038] 19.三肽基肽酶-1(Tripeptidyl-peptidase 1)(TPP1)(序列号19);

[0039] 20.热休克相关70kDa蛋白2(Heat shock-related 70kDa protein 2)(HSPA2)(序列号20);

[0040] 21.蛋白酶体亚基 $\alpha$ 型-5(Proteasome subunit alpha type-5)(PSMA5)(序列号21);或者

[0041] 22.中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(Neutrophil gelatinase-associated

lipocalin) (LCN2) (序列号22)。

[0042] [2]根据[1]的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其中,是将[1]的1至22的22个蛋白质中的两个以上的蛋白质或者1至22的蛋白质的部分肽中的两个以上的肽组合而成的。

[0043] [3]根据[1]或[2]的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其中,[1]的1至22的蛋白质的部分肽是由通过序列号23至59表示的氨基酸序列构成的肽。

[0044] [4]根据[1]的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其中,由下面的12个蛋白质中的至少一个蛋白质或者该12个蛋白质的部分肽中的至少一个肽构成:

[0045] 1.膜联蛋白A11(序列号1);

[0046] 2.膜联蛋白A3(序列号2);

[0047] 3.膜联蛋白A4(序列号3);

[0048] 4.腱生蛋白-N(序列号4);

[0049] 5.转铁蛋白受体蛋白1(序列号5);

[0050] 6.葡萄糖转运蛋白-1(序列号6);

[0051] 8.CD88抗原(序列号8);

[0052] 11.基质金属蛋白酶9(序列号11);

[0053] 16.膜联蛋白A5(序列号16);

[0054] 17.嗅觉介导素-4(序列号17);

[0055] 19.三肽基肽酶1(序列号19);或者

[0056] 22.中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(序列号22)

[0057] [5]根据[4]的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其中,是将[4]的12个蛋白质中的2个以上的蛋白质或者该12个蛋白质的部分肽中的2个以上的肽组合而成的。

[0058] [6]根据[4]或[5]的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其中,[4]的12个蛋白质的部分肽是由通过序列号23~34、37、38、43、44、53、54、56及59表示的氨基酸序列构成的肽。

[0059] [7]根据[1]的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其中,所述大肠癌生物标志物由膜联蛋白A4或膜联蛋白A11或者它们的部分肽构成。

[0060] [8]根据[7]的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其中,是将膜联蛋白A4和膜联蛋白A11或者将膜联蛋白A4的部分肽和膜联蛋白A11的部分肽组合而成的。

[0061] [9]根据[7]或[8]记载的用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其中膜联蛋白A4及膜联蛋白A11的部分肽是由通过序列号23、24、27及28表示的氨基酸序列构成的肽。

[0062] [10]一种用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物,其是将[1]至[9]中任一项的大肠癌生物标志物和CEA组合而成的。

[0063] [11]一种大肠癌的检测方法,其包括对生物体试样中的[1]~[10]任一项的大肠癌生物标志物进行测定。

[0064] [12]一种大肠癌检测方法,其对生物体试样中的[1]~[10]任一项的大肠癌生物标志物进行测定,当该生物标志物与健康正常人相比较以高浓度存在时,判断为患有大肠癌。

[0065] [13]根据[11]或[12]的大肠癌检测方法,其中,生物体试样为血液中的细胞外囊

泡 (EV)。

[0066] [14]根据[11]~[13]中任一项的大肠癌检测方法,其中,检测通过免疫学测定法或者质谱法来进行。

[0067] [15]一种大肠癌检测试剂盒,其包含针对生物体试样中的[1]~[10]中任一项的大肠癌生物标志物的抗体。

[0068] 本说明书包含作为本申请的优先权的基础的日本专利申请第2017-129941号的公开内容。

[0069] 发明的效果

[0070] 能够通过本发明的生物标志物来高灵敏度且高特异性地检测大肠癌,特别是能够检测早期的大肠癌。并且,通过将生物标志物进行组合,能够进一步高灵敏度且高特异性地进行检测。

## 附图说明

[0071] 图1是示出用于探索细胞外囊泡 (EV) 中的大肠癌标志物的策略的图。在图中示出在各个工序中挑选出的候选蛋白质的数量。

[0072] 图2是示出在EV中的、用于CRC生物标志物候选蛋白质的鸟枪法蛋白质组学分析的方法的图。图2a示出EV的制备及MS分析的工序,图2b示出通过鸟枪法蛋白质组分析而鉴定的生物标志物候选蛋白质及EV蛋白质的文氏图分析的结果。在根据血清或者细胞培养上清鉴定的EV蛋白质中,356个大肠癌生物标志物候选蛋白质被鉴定为EV蛋白质。

[0073] 图3是示出SRM目标蛋白质 (46) 和肽 (71) 的图。

[0074] 图4是示出以高度的准确性 ( $AUC > 0.7$ ) 所验证的蛋白质的列表的图。

[0075] 图5-1是示出基于SRM分析的三组 (N、C及Cm) 之间的血清中肽的相对定量的结果的图。N表示非癌对照患者,C表示没有转移的癌症患者,Cm表示有转移的癌症患者。圆点图是表示内源性肽对SI肽的峰面积比 (\*表示 $p < 0.05$ , \*\*表示 $p < 0.01$ , N.S表示无显著差异)。纵轴表示Area Ratio (面积比)。

[0076] 图5-2是示出基于SRM分析的三组 (N、C及Cm) 之间的肽的相对定量的结果的图 (图5-1的接续)。

[0077] 图5-3是示出基于SRM分析的三组 (N、C及Cm) 之间的肽的相对定量的结果的图 (图5-2的接续)。

[0078] 图5-4是示出基于SRM分析的三组 (N、C及Cm) 之间的肽的相对定量的结果的图 (图5-3的接续)。

[0079] 图5-5是示出基于SRM分析的三组 (N、C及Cm) 之间的肽的相对定量的结果的图 (图5-4的接续)。

[0080] 图5-6是示出基于SRM分析的三组 (N、C及Cm) 之间的肽的相对定量的结果的图 (图5-5的接续)。

[0081] 图6-1是示出目标肽的统计分析的结果的图 (其一)。图6-1a示出基于SRM分析的三组 (N、C及Cm) 之间的肽的相对定量的结果。N表示非癌对照,C表示没有转移的癌症,Cm表示有转移的癌症。圆点图是表示内源性肽对SI肽的峰面积比 (\*表示 $p < 0.05$ , \*\*表示 $p < 0.01$ , N.S表示无显著差异)。纵轴表示Area Ratio (面积比)。图6-1b表示用于识别N和C的ROC曲线

分析的结果(1)及用于识别C和C<sub>m</sub>的ROC曲线分析的结果(2)。将用于识别的曲线下的面积(AUC)示于各自的曲线图中。纵轴表示sensitivity(灵敏度),横轴表示1-specificity(特异性)。

[0082] 图6-2是示出目标肽的统计分析的结果的图(其二)。图6-2c示出基于SRM分析的三组(N、C及C<sub>m</sub>)之间的肽的相对定量的结果。N表示非癌对照,C表示没有转移的癌症,C<sub>m</sub>表示有转移的癌症。圆点图是表示内源性肽对SI肽的峰面积比(\*表示 $p < 0.05$ ,\*\*表示 $p < 0.01$ ,N.S表示无显著差异)。纵轴表示Area Ratio(面积比)。图6-2d示出用于识别N和C的ROC曲线分析的结果(1)及用于识别C和C<sub>m</sub>的ROC曲线分析的结果(2)。将用于识别的曲线下的面积(AUC)示于各自的曲线图中。纵轴表示sensitivity(灵敏度),横轴表示1-specificity(特异性)。

[0083] 图7-1是示出用于识别N和C的ROC曲线(1)及用于识别C和C<sub>m</sub>的ROC曲线(2)的图(其一)。将用于识别的曲线下的面积(AUC)示于各自的曲线图中。纵轴表示sensitivity(灵敏度),横轴表示1-specificity(特异性)。

[0084] 图7-2是示出用于识别N和C的ROC曲线(1)及用于识别C和C<sub>m</sub>的ROC曲线(2)的图(图7-1的接续)。

[0085] 图7-3是示出用于识别N和C的ROC曲线(1)及用于识别C和C<sub>m</sub>的ROC曲线(2)的图(图7-2的接续)。

[0086] 图7-4是示出用于识别N和C的ROC曲线(1)及用于识别C和C<sub>m</sub>的ROC曲线(2)的图(图7-3的接续)。

[0087] 图7-5是示出用于识别N和C的ROC曲线(1)及用于识别C和C<sub>m</sub>的ROC曲线(2)的图(图7-4的接续)。

[0088] 图7-6是示出用于识别N和C的ROC曲线(1)及用于识别C和C<sub>m</sub>的ROC曲线(2)的图(图7-5的接续)。

[0089] 图8-1是示出目标肽的组的ROC曲线分析的结果的图(其一)。在N与C之间评价当将肽进行了组合时的诊断的灵敏度。将曲线下的面积(AUC)、灵敏度(sensitivity)及特异性(specificity)示于各自的曲线图。

[0090] 图8-2是示出目标肽的组的ROC曲线分析的结果的图(其二)。在N与C之间评价当将肽进行了组合时的诊断的灵敏度。将曲线下的面积(AUC)、灵敏度(sensitivity)及特异性(specificity)示于各自的曲线图。

[0091] 图9是示出目标肽的组的ROC曲线分析的结果的图。在N与C之间评价当将肽进行了组合时的诊断的灵敏度。将曲线下的面积(AUC)、灵敏度(sensitivity)及特异性(specificity)示于各自的曲线图。图9示出了较高的准确性( $AUC > 0.9$ )的组合。其他组合示于图8-1及图8-2。

[0092] 图10-1是示出目标肽与CEA的灵敏度(sensitivity)的比较结果的图。把将截止值设定为N的最大峰面积时的灵敏度作为样品的比例而算出(虚线表示特异度为100%)。纵轴表示Area Ratio(面积比)。

[0093] 图10-2是示出目标肽与CEA的灵敏度(sensitivity)的比较结果的图(图10-1的接续)。

[0094] 图10-3是示出目标肽与CEA的灵敏度(sensitivity)的比较结果的图(图10-2的接

续)。

[0095] 图11是示出目标肽与CEA的灵敏度的比较结果的图。把将截止值 (Cutoff) 设定为N的最大峰值面积时的灵敏度 (sensitivity) 作为样品的比例而算出 (虚线表示特异性为100%)。在图11中示出了在N和C的识别中的灵敏度为最高的三个肽。关于三个肽的曲线图的纵轴表示Area Ratio (面积比)。灵敏度高于CEA的其他肽在图10-1~10-3中示出。

## 具体实施方式

[0096] 下面,详细说明本发明。

[0097] 本发明是作为用于检测大肠癌 (CRC:colorectal cancer) 的生物标志物的蛋白质或者其部分肽。另外,本发明是使用该生物标志物来检测大肠癌的方法。进一步,本发明是取得用于使用该生物标志物来诊断大肠癌的辅助数据的方法。通过使用本发明的生物标志物,能够早期检测大肠癌。

[0098] 本发明中使用的生物标志物能够通过例如蛋白质组分析技术来探索。例如能够利用下面的工序来进行探索。

[0099] 首先,使用大肠癌患者的组织,通过定量鸟枪法蛋白质组学来探索成为生物标志物的候选的蛋白质。此时,在健康正常人的大肠组织或大肠的良性肿瘤组织和无转移的大肠癌病例的组织 and 具有转移的大肠癌病例的组织之间进行比较定量,能够将在组织间发现变动的蛋白质锁定作为候选蛋白质。另外,生物标志物候选蛋白质的探索也能够通过使用在现有研究中被认为与大肠癌的发病和进展相关联的蛋白质来进行。能够通过使用了SRM/MRM ((Selected reaction monitoring (选择性反应监测) /Multiple reaction monitoring (多重反应监测)) 法 (Gillette MA et al., Nat Methods. 2013;10:28-34) 的定向蛋白质组学法,来进行表达量在组织间的变动的验证,其中SRM/MRM法是针对这些生物标志物候选,选择性地破坏特定质量的母离子,检测所生成的子离子中的特定的离子,由此能够从复杂的样品内高灵敏度地检测出作为目标的来自蛋白质的肽。通过该验证,能够挑选大肠癌生物标志物的最终候选。接下来,确认这些生物标志物候选能否在血液等生物体试样中检测、定量。此时,优选在血中的细胞外囊泡 (EV) 级分中进行检测、定量。

[0100] 在本发明的方法中,下面的蛋白质作为用于检测大肠癌的生物标志物而列举:

[0101] 1. 膜联蛋白A11 (Annexin A11) (ANXA 11) (序列号1);

[0102] 2. 膜联蛋白A3 (Annexin A3) (ANXA 3) (序列号2);

[0103] 3. 膜联蛋白A4 (Annexin A4) (ANXA 4) (序列号3);

[0104] 4. 腱生蛋白N (Tanascin-N) (TNN) (序列号4);

[0105] 5. 转铁蛋白受体蛋白1 (Transferrin receptor protein 1) (TFRC) (序列号5);

[0106] 6. 葡萄糖转运蛋白-1 (GLUT-1) (SLC2A1) (序列号6);

[0107] 7. 补体成分C9 (Complement component C9) (C9) (序列号7);

[0108] 8. CD88抗原 (CD88 antigen) (C5AR1) (序列号8);

[0109] 9. 78kDa葡萄糖调节蛋白 (78kDa glucose-regulated protein) (HSPA5) (序列号9);

[0110] 10.  $\alpha$ -1-酸性糖蛋白 ( $\alpha$ -1-acid glycoprotein) (ORM1) (序列号10);

[0111] 11. 基质金属蛋白酶9 (Matrix metalloproteinase-9) (MMP9) (序列号11);

- [0112] 12. 血管生成素-1 (Angiopoietin-1) (ANGPT1) (序列号12);
- [0113] 13. CD67 抗原 (CD67 antigen) (CEACAM8) (序列号13);
- [0114] 14. 粘蛋白-5B (Mucin-5B) (MUC5B) (序列号14);
- [0115] 15. 衔接蛋白 GRB2 (Adapter protein GRB2) (GRB2) (序列号15)
- [0116] 16. 膜联蛋白 A5 (Annexin A5) (ANXA 5) (序列号16);
- [0117] 17. 嗅觉介导素-4 (Olfactomedin-4) (OLFM4) (序列号17);
- [0118] 18. 中性氨基酸转运蛋白 B(0) (Neutral amino acid transporter B(0)) (SLC1A5) (序列号18);
- [0119] 19. 三肽基肽酶1 (Tripeptidyl-peptidase 1) (TPP1) (序列号19);
- [0120] 20. 热休克相关70kDa蛋白2 (Heat shock-related 70kDa protein 2) (HSPA2) (序列号20);
- [0121] 21. 蛋白酶体亚基 $\alpha$ 型-5 (Proteasome subunit alpha type-5) (PSMA5) (序列号21); 或者
- [0122] 22. 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白 (Neutrophil gelatinase-associated lipocalin) (LCN2) (序列号22)。
- [0123] 另外, 作为可用作大肠癌检测用的生物标志物的上述蛋白质的部分肽, 可列举出:
- [0124] 由通过序列号23或24表示的氨基酸序列构成的肽 (膜联蛋白A11的部分肽),
- [0125] 由通过序列号25或26表示的氨基酸序列构成的肽 (膜联蛋白A3的部分肽),
- [0126] 由通过序列号27或28表示的氨基酸序列构成的肽 (膜联蛋白A4的部分肽),
- [0127] 由通过序列号29或30表示的氨基酸序列构成的肽 (肌腱蛋白-N的部分肽),
- [0128] 由通过序列号31或32表示的氨基酸序列构成的肽 (转铁蛋白受体蛋白1的部分肽),
- [0129] 由通过序列号33或34表示的氨基酸序列构成的肽 (葡萄糖转运蛋白-1的部分肽),
- [0130] 由通过序列号35或36表示的氨基酸序列构成的肽 (补体成分C9的部分肽),
- [0131] 由通过序列号37或38表示的氨基酸序列构成的肽 (CD88抗原的部分肽),
- [0132] 由通过序列号39或40表示的氨基酸序列构成的肽 (78kDa 葡萄糖调节蛋白的部分肽),
- [0133] 由通过序列号41或42表示的氨基酸序列构成的肽 ( $\alpha$ -1-酸性糖蛋白的部分肽),
- [0134] 由通过序列号43或44表示的氨基酸序列构成的肽 (基质金属蛋白酶9的部分肽)
- [0135] 由通过序列号45或46表示的氨基酸序列构成的肽 (血管生成素-1的部分肽),
- [0136] 由通过序列号47或48表示的氨基酸序列构成的肽 (CD67抗原的部分肽),
- [0137] 由通过序列号49或50表示的氨基酸序列构成的肽 (粘蛋白-5B的部分肽),
- [0138] 由通过序列号51或52表示的氨基酸序列构成的肽 (衔接蛋白GRB2的部分肽),
- [0139] 由通过序列号53表示的氨基酸序列构成的肽 (膜联蛋白A5的部分肽);
- [0140] 由通过序列号54表示的氨基酸序列构成的肽 (嗅觉介导素-4的部分肽),
- [0141] 由通过序列号55表示的氨基酸序列构成的肽 (中性氨基酸转运蛋白-B(0)的部分肽),
- [0142] 由通过序列号56表示的氨基酸序列构成的肽 (三肽基肽酶1的部分肽),
- [0143] 由通过序列号57表示的氨基酸序列构成的肽 (热休克相关70kDa蛋白2的部分肽),

[0144] 由通过序列号58表示的氨基酸序列构成的肽(蛋白酶体亚基 $\alpha$ -5的部分肽),

[0145] 由通过序列号59表示的氨基酸序列构成的肽(中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白的部分肽)等。

[0146] 在本发明中,虽然使用上述的蛋白质或该蛋白质的部分肽作为生物标志物,但也包括由在序列号1~59所表示的氨基酸序列中一个或数个氨基酸缺失、置换、添加而得的氨基酸序列构成的蛋白质或者肽,这些蛋白质或者肽也能够在本发明的方法中用作生物标志物。在此,“一个或数个”是指“一个或三个”、“一个或两个”或者“一个”。

[0147] 肽一般是指分子量1万以下的由氨基酸通过肽键连结而成的物质,作为氨基酸残基的数量,是指数个至50个以下左右。本说明书中,可以使用蛋白质或者其部分肽作为生物标志物,在称为部分肽的情况下是指如下的肽:具有蛋白质所具有的氨基酸序列中的一部分的部分氨基酸序列,分子量没有限制,但优选为1万以下。部分肽也有在基于转录、翻译的表达合成过程中生成的情况,另外,也有在被合成为蛋白质后在生物体内受到消化分解而作为消化分解产物肽生成的情况。

[0148] 在这些蛋白质和肽中,优选将下面的蛋白质和肽用作大肠癌检测用的生物标志物:ROC分析的结果已明确能够以良好的检测灵敏度和特异度检测大肠癌的葡萄糖转运蛋白-1、转铁蛋白受体蛋白1、膜联蛋白A5、基质金属蛋白酶9、膜联蛋白A4、膜联蛋白A11、腱生蛋白-N、膜联蛋白A3、嗅觉介导素-4、CD88抗原、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白或三肽基肽酶1或者它们的部分肽。进一步优选使用膜联蛋白A4或膜联蛋白A11或者它们的部分肽作为用于检测大肠癌的生物标志物。

[0149] 在本发明中,作为生物标志物,可以使用上述22个蛋白质和部分肽中的至少一个蛋白质及/或者部分肽,但优选使用2种以上,进一步优选使用3种以上、4种以上、5种以上、6种以上、7种类以上、8种以上、9种以上、10种以上、11种以上、12种以上、13种以上、14种以上、15种以上、16种以上、17种以上、18种以上、19种以上、20种以上、21种以上或者22种蛋白质或者部分肽,这样一来,能够以更高的精度检测大肠癌。在该情况下,可以是不同蛋白质的组合,也可以是某一蛋白质与除该蛋白质以外的蛋白质的部分肽或部分肽的组合。另外,也可以仅将多个完整蛋白质作为生物标志物。这样,通过使用多个蛋白质或者部分肽作为生物标志物,能够更准确地检测大肠癌,并且,能够准确地判断大肠癌的发展状态。

[0150] 例如可列举出:葡萄糖转运蛋白-1与转铁蛋白受体蛋白1的组合、葡萄糖转运蛋白-1与血管生成素-1的组合、基质金属蛋白酶9与转铁蛋白受体蛋白1的组合、转铁蛋白受体蛋白1与中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白的组合、转铁蛋白受体蛋白1与血管生成素1的组合、转铁蛋白受体蛋白1与衔接蛋白的组合、78kDa葡萄糖调节蛋白与三肽基肽酶1、腱生蛋白N与中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白的组合、转铁蛋白受体蛋白1和中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白以及血管生成素-1的组合、转铁蛋白受体蛋白1与嗅觉介导素-4的组合、腱生蛋白-N与血管生成素-1的组合、嗅觉介导素-4与血管生成素-1的组合、腱生蛋白-N与嗅觉介导素-4的组合、嗅觉介导素-4与三肽基肽酶1的组合。也可以是各个蛋白质的部分肽的组合。

[0151] 另外,通过将上述的蛋白质或者部分肽与以往作为大肠癌的生物标志物而已知的CEA(癌胚抗原)组合起来使用作为用于检测大肠癌的生物标志物,与单独使用相比,能够以更高灵敏度且更高特异性进行检测。

[0152] 大肠癌患者中,上述蛋白质或者部分肽的表达上升。因此,只要对血液中的这些蛋白质或者部分肽进行定量即可。在此,血液包含血清和血浆。另外,上述蛋白质存在于细胞外囊泡(EV)中。因此,可以将血中存在的EV分离,必要时浓缩后检测EV中的蛋白质或者部分肽。EV能够通过例如超离心分离而分离为EV级分。另外,能够通过EV特异性标志物来进行分离。作为EV的标志物,可列举出CD9、CD63、CD81等,能够利用结合有针对这些标志物的抗体的磁珠等来进行分离。另外,作为其他EV的标志物可举出磷脂酰丝氨酸(PS),能够利用结合有对磷脂酰丝氨酸具有亲和性的磷脂酰丝氨酸结合蛋白的磁珠等来进行分离。作为磷脂酰丝氨酸结合蛋白,例如具有:含有T细胞免疫球蛋白/粘蛋白结构域的分子4(Tim4)、膜联蛋白A5(Annexin A5)、膜联蛋白V(Annexin V)、乳脂肪球-EGF因子蛋白8(MFG-E8)等。

[0153] 在本发明的方法中,研究生物体试样中的蛋白质/部分肽图谱,但所使用的生物体试样并不受限制。例如,可举出能够从生物体采集的液体试样例如全血、血清、血浆、尿、唾液等体液。需要说明的是,根据生物体试样的保存状态,生物体试样中的蛋白质、部分蛋白质及部分肽也有时会进一步受到分解,因此生物体试样优选不反复进行冻结融化而使用。另外,也可以在生物体试样中添加蛋白酶抑制剂等。或者,也能够使用FACS(荧光激活细胞分类仪)或者流式细胞仪并以上述标志物为指标来分离外泌体。

[0154] 从分离出的外泌体提取蛋白质、肽,测定上述蛋白质或者肽即可。

[0155] 蛋白质或者部分肽可以通过各种方法来检测。下面进行例示,但并不限制于这些方法。

[0156] 例如,能够通过使用了针对要检测的各个蛋白质或者部分肽的抗体的免疫学测定法来进行测定。作为免疫学测定法,例如,可列举出固相免疫测定法(RIA、EIA、FIA、CLIA等)、斑点印迹法、胶乳凝集法(LA:Latex Agglutination-Turbidimetric Immunoassay)、免疫层析法等。抗体可以在基板上固定化而使用。

[0157] 其中,从定量性的观点出发,优选作为EIA(Enzyme Immunoassay:酶免疫测定)法的一种的ELISA(Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay:酶联免疫吸附测定)法。在ELISA法中,可以是,向将抗体固相化了的微量滴定板的孔中添加检体,使它们进行抗原抗体反应,再添加酶标记抗体,使它们进行抗原抗体反应,清洗后,使它们与酶基质反应、显色,测定吸光度来检测样品中的标志物蛋白质或者部分肽,并且根据该测定值来算出检体中的蛋白质或者部分肽浓度。另外,也可以使用荧光标记抗体来使它们进行抗原抗体反应后测定荧光。抗原抗体反应可以在4℃~45℃、更优选在20℃~40℃、进一步优选在25℃~38℃下进行,另外,反应时间为10分钟~18小时左右,更优选为10分钟~1小时左右,进一步优选为30分钟~1小时左右。

[0158] 在免疫学方法中使用的针对标志物蛋白质或者部分肽的抗体可以是单克隆抗体,也可以是多克隆抗体,还能够使用单克隆抗体的Fab、F(ab')、F(ab')<sub>2</sub>等结合活性片段。

[0159] 本发明还包含一种大肠癌检测用检查试剂或者试剂盒,其包含针对上述22种蛋白质或其部分肽中的一个或者多个的抗体。

[0160] 也可以通过使用了质谱仪的质谱分析法来对用于检测大肠癌的生物标志物蛋白质或者其部分肽进行分析。质谱分析法特别适用于部分肽的检测。

[0161] 另外,也可以使用质谱仪进行检测。特别是对于生物标志物蛋白质的部分肽的检测,质谱仪的使用是合适的。质谱仪包括试样导入部、电离室、分析部、检测部、记录部等。作

为电离法,可以使用电子碰撞电离(EI)法、化学电离(CI)法、场解吸(FD)法、二次离子质谱(SIMS)法、快速原子轰击(FAB)法、基质辅助激光解吸电离(matrix-assisted laser desorption ionization:MALDI)法、电喷雾电离(ESI)法等。另外,该分析部还能够使用双聚焦质谱仪、四极杆型质谱仪、飞行时间型质谱仪、傅立叶变换质谱仪、离子回旋加速质谱仪等。为了进行精密的分析,也可以使用将两台质谱仪结合起来的串联质谱仪(MS/MS)。

[0162] 质谱仪可以单独使用,也可以与液相色谱等分离设备或测定设备等连接,能够通过高效液相色谱法组合而成的液相色谱法-质谱联用(LC/MS、LC/MS/MS)来进行分析。质谱分析能够通过为了肽的定量性检测而在本领域中广泛使用的LC/MS(LC/MS/MS)系统的、利用了三重四极杆型质谱仪的选择反应监测(SRM:Selected reaction monitoring,SRM)或者多重反应监测(MRM:Multiple reaction monitoring)来进行。通过SRM/MRM,能够同时测定多因子,通过一次测定就能够同时测定数百种蛋白质、肽。

[0163] 在从受试者采集的样品中大量存在有上述生物标志物蛋白质或者部分肽的情况即为阳性的情况下,可以判断为该受试者患有大肠癌。

[0164] 在本发明中,也可以将从健康正常人采集的样品作为阴性对象来同时测定。在该情况下,当受试者患有大肠癌时,受试者的检体中的生物标志物蛋白质或者部分肽浓度相比于健康正常人上升,因此当受试者中的生物标志物蛋白质或者部分肽浓度比健康正常人多时,将生物标志物蛋白质或者部分肽判断为阳性,能够判断为受试者患有大肠癌。关于样品中的生物标志物蛋白质或者部分肽是否为阳性,预先对通过SRM/MRM法检测出的生物标志物肽的峰的面积值与作为内部标准的稳定同位素标记肽的峰的面积值之比或者抗体测定值确定截止值,以该截止值为基准,在超过了截止值的情况下,能够判断为是阳性。

[0165] 截止值例如通过ROC(receiver operating characteristic curve:受试者工作特征曲线)分析来确定。另外,能够通过ROC分析来决定基于本发明的方法的诊断精度(灵敏度以及特异性)。ROC分析对作为试样而从大肠癌患者采集的试样和从健康正常人采集的试样测定生物标志物蛋白质或者部分肽,计算在各截止值的灵敏度和假阳性率(1-特异性),在将横轴设为1-特异性、将纵轴设为灵敏度的坐标上进行作图。

[0166] 通过ROC分析来对本发明的方法的测定结果分析了诊断精度的情况下的曲线下面积(AUC:area under the curve)高达0.9以上,灵敏度为70%以上,优选为80%以上,进一步优选为85%以上,进一步优选为90%以上,特异性为70%以上,优选为75%以上,进一步优选为80%以上。通过本发明的方法,能够以非常高的精度检测初期的大肠癌。

[0167] 实施例

[0168] 通过下面的实施例来具体说明本发明,但本发明并不受这些实施例限制。

[0169] 方法

[0170] 大肠癌患者及健康正常人血清及大肠癌培养细胞

[0171] 采集大肠癌患者51名和健康正常人26名的血清(在千叶大医学部采集)。各检体血清样品在分析前保存在-80℃。

[0172] 四个大肠癌细胞株HCT116(ATCC;CCL-247)、DLD-1(ATCC;CCL-221)、SW480(ATCC;CCL-228)和SW620(ATCC;CCL-227)在含有10%牛血清(FBS)及抗生素的RPMI-1640培养基(Gibco Laboratories)中培养。

[0173] 将各细胞在5%CO<sub>2</sub>的培养箱中维持在37℃的基础上进行培养,直至细胞增殖到亚

融合状态为止,使各细胞增殖到了亚融合状态。然后,将这些培养细胞用不含FBS的培养基清洗,添加新鲜不含FBS的培养基。再在培养箱中培养48小时,然后收集驯化上清培养基,将EV (extracellular vesicle) 作为分离用的样品。

[0174] EV (extracellular vesicle:细胞外囊泡) 的分离

[0175] EV的分离通过超离心法来进行。通过在离心管的底铺设蔗糖缓冲剂,能够在EV回收时高效地分离低密度的夹杂物。作为超离心前的处理,将血清100 $\mu$ l以300g离心分离10分钟,除去大的夹杂物。然后,使回收的上清通过0.22 $\mu$ m旋转过滤器 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA),以100,000g、90分钟、30%的蔗糖/D<sub>2</sub>O缓冲剂进行离心分离。回收缓冲剂,再以100,000g、70分钟在超离心分离机中进行两次离心分离,然后回收沉淀于离心管的EV级分。

[0176] 从EV进行的蛋白质提取及消化

[0177] 蛋白质提取及蛋白质消化通过相转移溶解剂 (PTS:Phase transfer surfactant) 方案 (Masuda T et al. J. Proteome Res. 7, 731-740 (2008)) 来进行。EV级分蛋白质在MPEX PTS试剂盒 (GL Science, 日本) 中溶解后,以终浓度5mM加入二硫苏糖醇,在室温下进行30分钟还原反应,再以终浓度20mM加入碘乙酰胺,进行烷基化反应。

[0178] 然后,对样品添加1% (w/w) 胰蛋白酶 (蛋白质组学级;Roche Mannheim, 德国), 37 $^{\circ}$ C下过夜消化。消化后,加入与液量等量的乙酸乙酯和终浓度1%的三氟乙酸并进行涡旋,将液体中的表面活性剂分离成有机层。离心分离后,回收含有肽的水相,进行基于Stage Tips (Rappsilber J. et al., Nat. Protoc. 2, 1896-1906 (2007)) 的脱盐。

[0179] 液相色谱 (LC)-质谱仪 (MS/MS) 和蛋白质组的数据分析

[0180] 消化后的肽通过C18-SCX StageTip色谱柱进行七分级。然后,用连结了LC (UltiMate 3000 Nanoflow HPLC system (Dionex, Sunnyvale, CA) 的质谱仪 (Q-Exactive (Thermo Scientific, 不莱梅, 德国)) 进行分析。样品向质量分析器的导入使用在内径75 $\mu$ m、长度300mm的针中封入1.9 $\mu$ m的C18-AQ树脂的自制分析柱。LC的流动相由缓冲液A (0.1%甲酸和2%乙腈) 和B (0.1%甲酸和90%乙腈) 构成。将消化后的肽溶解于缓冲液A,装载到捕获柱0.075 $\times$ 20mm, Acclaim PepMap RSLC Nano-Trap Column; Thermo Scientific) 中。纳米LC以280nL/分钟送液,流动相以120分钟、5~35%B的梯度展开。质谱通过Full MS扫描 (350~1800m/z、离子累计 $3 \times 10^6$ 、分辨率70,000) 和MS/MS扫描 (Top10前驱体离子、注射时间120ms、分辨率35,000、MS/MS离子选择阈值 $5 \times 10^4$ 计数、分离宽度3.0Da) 测定。数据文件的分析通过MaxQuant软件 (Ver1.5.1.2) 进行。在搜索引擎中,对于Andromeda、UniProt人蛋白质数据库,进行了峰值列表的检索。前驱体质量误差范围设定为7ppm,碎片离子质量误差范围设定为0.01Da。鉴定蛋白质和肽以不足相对于反向数据库的1%的假阳性率 (FDR 1% >) 进行判定。

[0181] LC-SRM/MRM分析

[0182] LC-SRM/MRM分析通过以前报告过的方法来进行 (Kume, H. et al., Mol. Cell. Proteomics 13, 1471-1484 (2014); Muraoka, S. et al., J. Proteome Res. 11, 4201-4210 (2012); Narumi, R. et al., J. Proteome Res. 11, 5311-5322 (2012))。将消化肽溶解于含有0.1%三氟乙酸 (TFA) 的2%乙腈溶液中,然后,使用连结了Nano-flow LC ParadigmMS2 (Michrom BioResources, Auburn, CA) 的三重四极杆质谱仪TSQ-Vantage

(Thermo Fisher Scientific, 不莱梅, 德国) 进行分析。样品向质量分析器的导入使用在内径 75 $\mu\text{m}$ 、长度 100mm 的针中封入了 1.9 $\mu\text{m}$  的 C18-AQ 树脂的自制分析柱。LC 的流动相由缓冲液 A (0.1% 甲酸和 2% 乙腈) 和 B (0.1% 甲酸和 90% 乙腈) 构成。将消化后的肽溶解于缓冲液 A, 加载到捕获柱 (0.075 $\times$ 20mm, Acclaim PepMap RSLC Nano-Trap Column; Thermo Scientific) 中。纳米 LC 以 280nL/分钟送液, 流动相以 60 分钟、5~35%B 的梯度展开。SRM 模式下的分析在下面的条件下进行 (Q1 峰宽度 0.7FWHM, 循环时间: 1sec, 碰撞气体压力 1.8mTorr)。碰撞能量按每个 SRM 跃迁优化, 各跃迁的强度以峰值时间宽度 5 分钟的时间表模式进行测定。

[0183] 使用了 SI-肽的目标肽的定量

[0184] 基于 SRM 的目标肽的定量, 是将作为内部标准的与目标肽相同序列的稳定同位素标记 (SI-肽) 混合到由各检测体血清制备的 EV 中, 并根据通过 SRM 分析而检测出的内源性肽/SI-肽的峰面积比 (Peak Area Ratio) 算出。与目标肽相同序列的 SI-肽的尖峰量通过执行事先分析而调整为接近内源性肽。

[0185] 基于 SRM 分析的峰面积比率的统计分析

[0186] 为了根据通过 SRM 分析算出的各样品的峰面积比而进行作为目标肽的大肠生物标志物的评价, 进行了 SRM 数据的统计分析。统计分析使用 SPSS 软件 (版本 23) (SPSS Inc., Chicago, IL)。首先, 通过算出基于 ROC 分析 (ROC: Receiver Operating Characteristic) 的 AUC (AUC: Area under the Curve, 曲线下面积) 的值来进行作为各个目标肽单独的生物标志物的评价。并且, 还进行组合了多个目标肽的作为多标志物的评价。在目标肽的组合中使用 SPSS 软件制作逻辑回归模型, 进行评价。对于模型有效的肽的组合, 同样地利用通过 ROC 分析算出的 AUC 的值进行了评价。

[0187] 结果

[0188] CRC 相关生物标志物候选蛋白质的探索

[0189] 图 1 示出了本发明的生物标志物候选探索的策略。从医学和生物学文献的 PubMed Database 得到 CRC 生物标志物候选蛋白质的列表。作为检索式, 使用 “cancer” AND “colorectal” AND “expression”, 进行从 2003 年至 2014 年为止的数据库上的文献检索, 对于大肠癌相关的 687 个蛋白质, 作为 CRC 生物标志物候选进行列表化。候选蛋白质的选择通过下面的 (1)~(4) 的基准进行:

[0190] (1) 通过蛋白质印迹法、ELISA 或者免疫组织化学确认了人 CRC 组织或者血液中的蛋白质表达。

[0191] (2) 确认了目标蛋白质在癌症中表达上升。(表达上升的蛋白质与表达减少的蛋白质相比更容易检测, 因此适于生物标志物)。

[0192] (3) 与癌症的表达和发展相关联的目标蛋白质的分子功能通过 RNAi 或者分子的过量表达而在实验上予以确认。

[0193] (4) 仅通过大规模的分析 (例如组学分析) 确定的蛋白质除外。

[0194] 并且, 本发明人等以前通过临床检体的目标蛋白质组学, 确定了 44 个 CRC 生物标志物候选蛋白质 (Kume, H. et al., Mol. Cell. Proteomics 13, 1471-1484 (2014))。将这些 44 个蛋白质与上述的生物标志物候选对照, 选择将重复的蛋白质除去后的、合计 725 个蛋白质作为 CRC 生物标志物候选。

[0195] 基于鸟枪法蛋白质组学分析的含EV生物标志物候选的选择

[0196] 为了从所选择的生物标志物候选蛋白质中选择存在于EV的蛋白质,使用从血清和培养细胞上清中制备的EV,通过鸟枪法蛋白质组学分析进行了EV蛋白质的定性分析。将鸟枪法蛋白质组学的工作流程示于图2a。

[0197] EV从血清和细胞上清中的制备通过超离心法来进行。血清EV从健康正常人、没有转移的癌症患者、有转移的癌症患者各八人采集。培养细胞上清从四个CRC细胞(HCT116、DLD-1、SW480、SW620)采集。提取出的蛋白质通过使用相关移动溶解剂(PTS)法而消化,然后利用C-18Stage SCX Tip柱进行分级(Masuda,T et al.,J.Proteome Res.7,731-740(2008);Adachi,J.et al.Anal.Chem.88,7899-7903(2016))。用LC-MS/MS来对分级样品进行分析,通过Mascot数据库检索,分别鉴定702个(血清EV)和4749个(细胞上清EV)蛋白质。通过比较这些EV鉴定蛋白质与生物标志物候选蛋白质,鉴定为356个蛋白质是含有EV蛋白质的生物标志物候选(图2b)。

[0198] 从在EV中被鉴定的生物标志物候选蛋白质进行的SRM目标肽的选择

[0199] 为了验证候选蛋白质作为生物标志物是否有效,进行从CRC患者血清采集的EV分级的SRM分析。SRM候选肽从通过鸟枪法蛋白质组学确定的肽中选择。作为候选肽选择的基准,使用下面的(1)~(3):

[0200] (1)所鉴定的蛋白质是蛋白质固有的肽序列,在具有多个的情况下,选择在鸟枪法分析中强度高的目标。

[0201] (2)将具有胰蛋白酶切割错误、不适于SRM分析的氨基酸修饰(例如已被氧化的蛋氨酸等)的肽除外。

[0202] (3)过于长的肽(>20个氨基酸)被排除在目标肽之外,因为很难合成稳定同位素标记肽(SI-肽)。

[0203] 满足这些基准的肽在所有已被鉴定的肽中存在3316个肽(346个蛋白质)。

[0204] 接着,为了从这些候选中选择SRM目标肽,使用由非癌对照的健康正常者(N)池(混合)血清(n=26)、没有转移的癌症患者(C)的池血清(n=26)、具有转移的癌症患者(Cm)的池血清(n=25)制备的EV级分来进行SRM分析。根据鸟枪法分析的结果,每一个肽选择三个或者四个跃迁(前驱体离子与产物离子的对)。SRM分析针对各个池重复测定三次,肽峰面积使用Skyline软件来进行了定量化。选择峰面积在池样品(N对C或者C对Cm)之间显著( $p < 0.01$ )地增加了两倍以上的目标肽作为标志物候选肽。对于检测出了两个以上的候选肽的蛋白质,选择SRM分析中的峰强度高的两个肽。考虑这些基准,选择71个肽(46个蛋白质)作为生物标志物候选的目标肽(图3)。

[0205] 血清EV级分中的目标肽的基于SRM的定量

[0206] 对由各个患者的血清制备的EV级分中的37个生物标志物候选肽进行基于SRM的定量分析。各个EV级分由三个组的患者血清(健康正常者(N),n=26;无转移癌症患者(C),n=26;有转移癌症患者(Cm),n=25)的组制备。在各检体中加入等量的SI-peptide作为内部标准,使用Skyline软件来算出相对于内源性的目标肽的峰面积比。对于各个目标肽,通过t检验而进行N、C及Cm组间的定量值的比较,结果在N与C或者C与Cm之间发现了显著的定量值增加( $p < 0.05$ ) (图4及图5-1、5-2、5-3、5-4、5-5和5-6)。

[0207] 基于目标肽的统计分析的生物标志物的评价

[0208] 为了评价生物标志物的候选肽,对37个肽进行ROC (Receiver Operating Characteristic,受试者工作特征曲线)分析。对于各候选肽,评价N与C之间及C与Cm之间的区别。四个肽(三个蛋白质)是灵敏度非常高的蛋白质(AUC>0.9、图6-1a、b)。而且,22个肽用于识别N与C的灵敏度十分高(0.7-0.9AUC、图7-1、7-2、7-3、7-4、7-5和7-6)。另一方面,11个肽用于识别C与Cm(图6-2c、d)的灵敏度十分高。

[0209] 接着,通过逻辑回归分析来研究将候选肽进行组合作为多标志物是否可得到更高的灵敏度。针对肽的有意义的组合,使用SPSS软件进行了评价。通过多标志物的ROC曲线的AUC来评价两个以上的肽的逻辑分析的结果。对于候选肽的14个组合,AUC相比于单个标志物的值增加(图8-1及8-2),特别是对于8个组合,AUC大于0.9(图9)。最高的AUC(0.97)是通过3个肽(转铁蛋白受体蛋白1、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白和血管生成素-1)的组合而得到的。这些结果表明,多个标志物的组合对于改善大肠癌的诊断精度是有效的。

[0210] 正在广泛使用的肿瘤标志物(癌胚抗原CEA)与目标肽的灵敏度的比较

[0211] CEA是当今最为广泛利用的大肠癌的血中标志物之一。但是,CEA的灵敏度对于发现早期阶段患者并不足够,已报告,对阶段2的患者的灵敏度为30%左右。因此,进行新建立的37个生物标志物候选与CEA的比较。因为CEA特异性几乎为100%,因此各目标肽的SRM定量值的截止点设定为100%的特异性。CEA对用于验证的检体组C的灵敏度为38.8%。另一方面,37个目标肽中17个肽(12个蛋白质:膜联蛋白A3、膜联蛋白A4、膜联蛋白A5、膜联蛋白A11、腱生蛋白N、转铁蛋白受体蛋白1、GLUT-1、基质金属蛋白酶-9、嗅觉介导素-4、CD88抗原、三肽基肽酶1、中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白)的灵敏度大大超过CEA(图10-1、图10-2和10-3)。特别是膜联蛋白A4及A11的三个肽的灵敏度大于80%(图11)。

[0212] 产业上的利用可能性

[0213] 利用本发明的方法,能够早期检测大肠癌。

[0214] 序列表自由文本

[0215] 序列号23~59合成

[0216] 本说明书中引用的全部刊行物、专利及专利申请通过原样引用而编入本说明书中。

## 序列表

<110> 国立研究开发法人医药基盘健康营养研究所

电化生研株式会社

<120> 用于检测大肠癌的生物标志物

<130> PH-7502-PCT

<150> JP 2017-129941

<151> 2017-06-30

<160> 59

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 505

<212> PRT

<213> 人

<400> 1

```

Met Ser Tyr Pro Gly Tyr Pro Pro Pro Pro Gly Gly Tyr Pro Pro Ala
1           5           10           15
Ala Pro Gly Gly Gly Pro Trp Gly Gly Ala Ala Tyr Pro Pro Pro Pro
           20           25           30
Ser Met Pro Pro Ile Gly Leu Asp Asn Val Ala Thr Tyr Ala Gly Gln
           35           40           45
Phe Asn Gln Asp Tyr Leu Ser Gly Met Ala Ala Asn Met Ser Gly Thr
           50           55           60
Phe Gly Gly Ala Asn Met Pro Asn Leu Tyr Pro Gly Ala Pro Gly Ala
65           70           75           80
Gly Tyr Pro Pro Val Pro Pro Gly Gly Phe Gly Gln Pro Pro Ser Ala
           85           90           95
Gln Gln Pro Val Pro Pro Tyr Gly Met Tyr Pro Pro Pro Gly Gly Asn
           100          105          110
Pro Pro Ser Arg Met Pro Ser Tyr Pro Pro Tyr Pro Gly Ala Pro Val
           115          120          125
Pro Gly Gln Pro Met Pro Pro Pro Gly Gln Gln Pro Pro Gly Ala Tyr
           130          135          140
Pro Gly Gln Pro Pro Val Thr Tyr Pro Gly Gln Pro Pro Val Pro Leu
145          150          155          160
Pro Gly Gln Gln Gln Pro Val Pro Ser Tyr Pro Gly Tyr Pro Gly Ser
           165          170          175
Gly Thr Val Thr Pro Ala Val Pro Pro Thr Gln Phe Gly Ser Arg Gly
           180          185          190

```

Thr Ile Thr Asp Ala Pro Gly Phe Asp Pro Leu Arg Asp Ala Glu Val  
 195 200 205  
 Leu Arg Lys Ala Met Lys Gly Phe Gly Thr Asp Glu Gln Ala Ile Ile  
 210 215 220  
 Asp Cys Leu Gly Ser Arg Ser Asn Lys Gln Arg Gln Gln Ile Leu Leu  
 225 230 235 240  
 Ser Phe Lys Thr Ala Tyr Gly Lys Asp Leu Ile Lys Asp Leu Lys Ser  
 245 250 255  
 Glu Leu Ser Gly Asn Phe Glu Lys Thr Ile Leu Ala Leu Met Lys Thr  
 260 265 270  
 Pro Val Leu Phe Asp Ile Tyr Glu Ile Lys Glu Ala Ile Lys Gly Val  
 275 280 285  
 Gly Thr Asp Glu Ala Cys Leu Ile Glu Ile Leu Ala Ser Arg Ser Asn  
 290 295 300  
 Glu His Ile Arg Glu Leu Asn Arg Ala Tyr Lys Ala Glu Phe Lys Lys  
 305 310 315 320  
 Thr Leu Glu Glu Ala Ile Arg Ser Asp Thr Ser Gly His Phe Gln Arg  
 325 330 335  
 Leu Leu Ile Ser Leu Ser Gln Gly Asn Arg Asp Glu Ser Thr Asn Val  
 340 345 350  
 Asp Met Ser Leu Ala Gln Arg Asp Ala Gln Glu Leu Tyr Ala Ala Gly  
 355 360 365  
 Glu Asn Arg Leu Gly Thr Asp Glu Ser Lys Phe Asn Ala Val Leu Cys  
 370 375 380  
 Ser Arg Ser Arg Ala His Leu Val Ala Val Phe Asn Glu Tyr Gln Arg  
 385 390 395 400  
 Met Thr Gly Arg Asp Ile Glu Lys Ser Ile Cys Arg Glu Met Ser Gly  
 405 410 415  
 Asp Leu Glu Glu Gly Met Leu Ala Val Val Lys Cys Leu Lys Asn Thr  
 420 425 430  
 Pro Ala Phe Phe Ala Glu Arg Leu Asn Lys Ala Met Arg Gly Ala Gly  
 435 440 445  
 Thr Lys Asp Arg Thr Leu Ile Arg Ile Met Val Ser Arg Ser Glu Thr  
 450 455 460  
 Asp Leu Leu Asp Ile Arg Ser Glu Tyr Lys Arg Met Tyr Gly Lys Ser  
 465 470 475 480  
 Leu Tyr His Asp Ile Ser Gly Asp Thr Ser Gly Asp Tyr Arg Lys Ile  
 485 490 495  
 Leu Leu Lys Ile Cys Gly Gly Asn Asp

	500	505
<210>	2	
<211>	323	
<212>	PRT	
<213>	人	
<400>	2	
Met Ala Ser Ile Trp Val Gly His Arg Gly Thr Val Arg Asp Tyr Pro		
1	5	10 15
Asp Phe Ser Pro Ser Val Asp Ala Glu Ala Ile Gln Lys Ala Ile Arg		
	20	25 30
Gly Ile Gly Thr Asp Glu Lys Met Leu Ile Ser Ile Leu Thr Glu Arg		
	35	40 45
Ser Asn Ala Gln Arg Gln Leu Ile Val Lys Glu Tyr Gln Ala Ala Tyr		
	50	55 60
Gly Lys Glu Leu Lys Asp Asp Leu Lys Gly Asp Leu Ser Gly His Phe		
65	70	75 80
Glu His Leu Met Val Ala Leu Val Thr Pro Pro Ala Val Phe Asp Ala		
	85	90 95
Lys Gln Leu Lys Lys Ser Met Lys Gly Ala Gly Thr Asn Glu Asp Ala		
	100	105 110
Leu Ile Glu Ile Leu Thr Thr Arg Thr Ser Arg Gln Met Lys Asp Ile		
	115	120 125
Ser Gln Ala Tyr Tyr Thr Val Tyr Lys Lys Ser Leu Gly Asp Asp Ile		
	130	135 140
Ser Ser Glu Thr Ser Gly Asp Phe Arg Lys Ala Leu Leu Thr Leu Ala		
145	150	155 160
Asp Gly Arg Arg Asp Glu Ser Leu Lys Val Asp Glu His Leu Ala Lys		
	165	170 175
Gln Asp Ala Gln Ile Leu Tyr Lys Ala Gly Glu Asn Arg Trp Gly Thr		
	180	185 190
Asp Glu Asp Lys Phe Thr Glu Ile Leu Cys Leu Arg Ser Phe Pro Gln		
	195	200 205
Leu Lys Leu Thr Phe Asp Glu Tyr Arg Asn Ile Ser Gln Lys Asp Ile		
	210	215 220
Val Asp Ser Ile Lys Gly Glu Leu Ser Gly His Phe Glu Asp Leu Leu		
225	230	235 240
Leu Ala Ile Val Asn Cys Val Arg Asn Thr Pro Ala Phe Leu Ala Glu		
	245	250 255
Arg Leu His Arg Ala Leu Lys Gly Ile Gly Thr Asp Glu Phe Thr Leu		



Phe Asp Glu Tyr Lys Arg Ile Ser Gln Lys Asp Ile Glu Gln Ser Ile  
 210 215 220  
 Lys Ser Glu Thr Ser Gly Ser Phe Glu Asp Ala Leu Leu Ala Ile Val  
 225 230 235 240  
 Lys Cys Met Arg Asn Lys Ser Ala Tyr Phe Ala Glu Lys Leu Tyr Lys  
 245 250 255  
 Ser Met Lys Gly Leu Gly Thr Asp Asp Asn Thr Leu Ile Arg Val Met  
 260 265 270  
 Val Ser Arg Ala Glu Ile Asp Met Leu Asp Ile Arg Ala His Phe Lys  
 275 280 285  
 Arg Leu Tyr Gly Lys Ser Leu Tyr Ser Phe Ile Lys Gly Asp Thr Ser  
 290 295 300  
 Gly Asp Tyr Arg Lys Val Leu Leu Val Leu Cys Gly Gly Asp Asp  
 305 310 315  
 <210> 4  
 <211> 1299  
 <212> PRT  
 <213> 人  
 <400> 4  
 Met Ser Leu Gln Glu Met Phe Arg Phe Pro Met Gly Leu Leu Leu Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Val Leu Leu Val Ala Ser Ala Pro Ala Thr Leu Glu Pro Pro Gly  
 20 25 30  
 Cys Ser Asn Lys Glu Gln Gln Val Thr Val Ser His Thr Tyr Lys Ile  
 35 40 45  
 Asp Val Pro Lys Ser Ala Leu Val Gln Val Asp Ala Asp Pro Gln Pro  
 50 55 60  
 Leu Ser Asp Asp Gly Ala Ser Leu Leu Ala Leu Gly Glu Ala Arg Glu  
 65 70 75 80  
 Glu Gln Asn Ile Ile Phe Arg His Asn Ile Arg Leu Gln Thr Pro Gln  
 85 90 95  
 Lys Asp Cys Glu Leu Ala Gly Ser Val Gln Asp Leu Leu Ala Arg Val  
 100 105 110  
 Lys Lys Leu Glu Glu Glu Met Val Glu Met Lys Glu Gln Cys Ser Ala  
 115 120 125  
 Gln Arg Cys Cys Gln Gly Val Thr Asp Leu Ser Arg His Cys Ser Gly  
 130 135 140  
 His Gly Thr Phe Ser Leu Glu Thr Cys Ser Cys His Cys Glu Glu Gly  
 145 150 155 160

Arg Glu Gly Pro Ala Cys Glu Arg Leu Ala Cys Pro Gly Ala Cys Ser  
 165 170 175  
 Gly His Gly Arg Cys Val Asp Gly Arg Cys Leu Cys His Glu Pro Tyr  
 180 185 190  
 Val Gly Ala Asp Cys Gly Tyr Pro Ala Cys Pro Glu Asn Cys Ser Gly  
 195 200 205  
 His Gly Glu Cys Val Arg Gly Val Cys Gln Cys His Glu Asp Phe Met  
 210 215 220  
 Ser Glu Asp Cys Ser Glu Lys Arg Cys Pro Gly Asp Cys Ser Gly His  
 225 230 235 240  
 Gly Phe Cys Asp Thr Gly Glu Cys Tyr Cys Glu Glu Gly Phe Thr Gly  
 245 250 255  
 Leu Asp Cys Ala Gln Val Val Thr Pro Gln Gly Leu Gln Leu Leu Lys  
 260 265 270  
 Asn Thr Glu Asp Ser Leu Leu Val Ser Trp Glu Pro Ser Ser Gln Val  
 275 280 285  
 Asp His Tyr Leu Leu Ser Tyr Tyr Pro Leu Gly Lys Glu Leu Ser Gly  
 290 295 300  
 Lys Gln Ile Gln Val Pro Lys Glu Gln His Ser Tyr Glu Ile Leu Gly  
 305 310 315 320  
 Leu Leu Pro Gly Thr Lys Tyr Ile Val Thr Leu Arg Asn Val Lys Asn  
 325 330 335  
 Glu Val Ser Ser Ser Pro Gln His Leu Leu Ala Thr Thr Asp Leu Ala  
 340 345 350  
 Val Leu Gly Thr Ala Trp Val Thr Asp Glu Thr Glu Asn Ser Leu Asp  
 355 360 365  
 Val Glu Trp Glu Asn Pro Ser Thr Glu Val Asp Tyr Tyr Lys Leu Arg  
 370 375 380  
 Tyr Gly Pro Met Thr Gly Gln Glu Val Ala Glu Val Thr Val Pro Lys  
 385 390 395 400  
 Ser Ser Asp Pro Lys Ser Arg Tyr Asp Ile Thr Gly Leu His Pro Gly  
 405 410 415  
 Thr Glu Tyr Lys Ile Thr Val Val Pro Met Arg Gly Glu Leu Glu Gly  
 420 425 430  
 Lys Pro Ile Leu Leu Asn Gly Arg Thr Glu Ile Asp Ser Pro Thr Asn  
 435 440 445  
 Val Val Thr Asp Arg Val Thr Glu Asp Thr Ala Thr Val Ser Trp Asp  
 450 455 460  
 Pro Val Gln Ala Val Ile Asp Lys Tyr Val Val Arg Tyr Thr Ser Ala

465		470		475		480
Asp Gly Asp Thr Lys Glu Met Ala Val His Lys Asp Glu Ser Ser Thr						
		485		490		495
Val Leu Thr Gly Leu Lys Pro Gly Glu Ala Tyr Lys Val Tyr Val Trp						
		500		505		510
Ala Glu Arg Gly Asn Gln Gly Ser Lys Lys Ala Asp Thr Asn Ala Leu						
		515		520		525
Thr Glu Ile Asp Ser Pro Ala Asn Leu Val Thr Asp Arg Val Thr Glu						
		530		535		540
Asn Thr Ala Thr Ile Ser Trp Asp Pro Val Gln Ala Thr Ile Asp Lys						
545		550		555		560
Tyr Val Val Arg Tyr Thr Ser Ala Asp Asp Gln Glu Thr Arg Glu Val						
		565		570		575
Leu Val Gly Lys Glu Gln Ser Ser Thr Val Leu Thr Gly Leu Arg Pro						
		580		585		590
Gly Val Glu Tyr Thr Val His Val Trp Ala Gln Lys Gly Asp Arg Glu						
		595		600		605
Ser Lys Lys Ala Asp Thr Asn Ala Pro Thr Asp Ile Asp Ser Pro Lys						
		610		615		620
Asn Leu Val Thr Asp Arg Val Thr Glu Asn Met Ala Thr Val Ser Trp						
625		630		635		640
Asp Pro Val Gln Ala Ala Ile Asp Lys Tyr Val Val Arg Tyr Thr Ser						
		645		650		655
Ala Gly Gly Glu Thr Arg Glu Val Pro Val Gly Lys Glu Gln Ser Ser						
		660		665		670
Thr Val Leu Thr Gly Leu Arg Pro Gly Met Glu Tyr Met Val His Val						
		675		680		685
Trp Ala Gln Lys Gly Asp Gln Glu Ser Lys Lys Ala Asp Thr Lys Ala						
		690		695		700
Gln Thr Asp Ile Asp Ser Pro Gln Asn Leu Val Thr Asp Arg Val Thr						
705		710		715		720
Glu Asn Met Ala Thr Val Ser Trp Asp Pro Val Arg Ala Thr Ile Asp						
		725		730		735
Arg Tyr Val Val Arg Tyr Thr Ser Ala Lys Asp Gly Glu Thr Arg Glu						
		740		745		750
Val Pro Val Gly Lys Glu Gln Ser Ser Thr Val Leu Thr Gly Leu Arg						
		755		760		765
Pro Gly Val Glu Tyr Thr Val His Val Trp Ala Gln Lys Gly Ala Gln						
		770		775		780

Glu Ser Lys Lys Ala Asp Thr Lys Ala Gln Thr Asp Ile Asp Ser Pro  
 785 790 795 800  
 Gln Asn Leu Val Thr Asp Trp Val Thr Glu Asn Thr Ala Thr Val Ser  
 805 810 815  
 Trp Asp Pro Val Gln Ala Thr Ile Asp Arg Tyr Val Val His Tyr Thr  
 820 825 830  
 Ser Ala Asn Gly Glu Thr Arg Glu Val Pro Val Gly Lys Glu Gln Ser  
 835 840 845  
 Ser Thr Val Leu Thr Gly Leu Arg Pro Gly Met Glu Tyr Thr Val His  
 850 855 860  
 Val Trp Ala Gln Lys Gly Asn Gln Glu Ser Lys Lys Ala Asp Thr Lys  
 865 870 875 880  
 Ala Gln Thr Glu Ile Asp Gly Pro Lys Asn Leu Val Thr Asp Trp Val  
 885 890 895  
 Thr Glu Asn Met Ala Thr Val Ser Trp Asp Pro Val Gln Ala Thr Ile  
 900 905 910  
 Asp Lys Tyr Met Val Arg Tyr Thr Ser Ala Asp Gly Glu Thr Arg Glu  
 915 920 925  
 Val Pro Val Gly Lys Glu His Ser Ser Thr Val Leu Thr Gly Leu Arg  
 930 935 940  
 Pro Gly Met Glu Tyr Met Val His Val Trp Ala Gln Lys Gly Ala Gln  
 945 950 955 960  
 Glu Ser Lys Lys Ala Asp Thr Lys Ala Gln Thr Glu Leu Asp Pro Pro  
 965 970 975  
 Arg Asn Leu Arg Pro Ser Ala Val Thr Gln Ser Gly Gly Ile Leu Thr  
 980 985 990  
 Trp Thr Pro Pro Ser Ala Gln Ile His Gly Tyr Ile Leu Thr Tyr Gln  
 995 1000 1005  
 Phe Pro Asp Gly Thr Val Lys Glu Met Gln Leu Gly Arg Glu Asp  
 1010 1015 1020  
 Gln Arg Phe Ala Leu Gln Gly Leu Glu Gln Gly Ala Thr Tyr Pro  
 1025 1030 1035  
 Val Ser Leu Val Ala Phe Lys Gly Gly Arg Arg Ser Arg Asn Val  
 1040 1045 1050  
 Ser Thr Thr Leu Ser Thr Val Gly Ala Arg Phe Pro His Pro Ser  
 1055 1060 1065  
 Asp Cys Ser Gln Val Gln Gln Asn Ser Asn Ala Ala Ser Gly Leu  
 1070 1075 1080  
 Tyr Thr Ile Tyr Leu His Gly Asp Ala Ser Arg Pro Leu Gln Val

1085	1090	1095
Tyr Cys Asp Met Glu Thr Asp Gly Gly Gly Trp Ile Val Phe Gln		
1100	1105	1110
Arg Arg Asn Thr Gly Gln Leu Asp Phe Phe Lys Arg Trp Arg Ser		
1115	1120	1125
Tyr Val Glu Gly Phe Gly Asp Pro Met Lys Glu Phe Trp Leu Gly		
1130	1135	1140
Leu Asp Lys Leu His Asn Leu Thr Thr Gly Thr Pro Ala Arg Tyr		
1145	1150	1155
Glu Val Arg Val Asp Leu Gln Thr Ala Asn Glu Ser Ala Tyr Ala		
1160	1165	1170
Ile Tyr Asp Phe Phe Gln Val Ala Ser Ser Lys Glu Arg Tyr Lys		
1175	1180	1185
Leu Thr Val Gly Lys Tyr Arg Gly Thr Ala Gly Asp Ala Leu Thr		
1190	1195	1200
Tyr His Asn Gly Trp Lys Phe Thr Thr Phe Asp Arg Asp Asn Asp		
1205	1210	1215
Ile Ala Leu Ser Asn Cys Ala Leu Thr His His Gly Gly Trp Trp		
1220	1225	1230
Tyr Lys Asn Cys His Leu Ala Asn Pro Asn Gly Arg Tyr Gly Glu		
1235	1240	1245
Thr Lys His Ser Glu Gly Val Asn Trp Glu Pro Trp Lys Gly His		
1250	1255	1260
Glu Phe Ser Ile Pro Tyr Val Glu Leu Lys Ile Arg Pro His Gly		
1265	1270	1275
Tyr Ser Arg Glu Pro Val Leu Gly Arg Lys Lys Arg Thr Leu Arg		
1280	1285	1290
Gly Arg Leu Arg Thr Phe		
1295		
<210> 5		
<211> 760		
<212> PRT		
<213> 人		
<400> 5		
Met Met Asp Gln Ala Arg Ser Ala Phe Ser Asn Leu Phe Gly Gly Glu		
1	5	10
Pro Leu Ser Tyr Thr Arg Phe Ser Leu Ala Arg Gln Val Asp Gly Asp		
	20	25
		30
Asn Ser His Val Glu Met Lys Leu Ala Val Asp Glu Glu Glu Asn Ala		

35	40	45
Asp Asn Asn Thr Lys Ala Asn Val Thr Lys Pro Lys Arg Cys Ser Gly		
50	55	60
Ser Ile Cys Tyr Gly Thr Ile Ala Val Ile Val Phe Phe Leu Ile Gly		
65	70	75
Phe Met Ile Gly Tyr Leu Gly Tyr Cys Lys Gly Val Glu Pro Lys Thr		
85	90	95
Glu Cys Glu Arg Leu Ala Gly Thr Glu Ser Pro Val Arg Glu Glu Pro		
100	105	110
Gly Glu Asp Phe Pro Ala Ala Arg Arg Leu Tyr Trp Asp Asp Leu Lys		
115	120	125
Arg Lys Leu Ser Glu Lys Leu Asp Ser Thr Asp Phe Thr Gly Thr Ile		
130	135	140
Lys Leu Leu Asn Glu Asn Ser Tyr Val Pro Arg Glu Ala Gly Ser Gln		
145	150	155
Lys Asp Glu Asn Leu Ala Leu Tyr Val Glu Asn Gln Phe Arg Glu Phe		
165	170	175
Lys Leu Ser Lys Val Trp Arg Asp Gln His Phe Val Lys Ile Gln Val		
180	185	190
Lys Asp Ser Ala Gln Asn Ser Val Ile Ile Val Asp Lys Asn Gly Arg		
195	200	205
Leu Val Tyr Leu Val Glu Asn Pro Gly Gly Tyr Val Ala Tyr Ser Lys		
210	215	220
Ala Ala Thr Val Thr Gly Lys Leu Val His Ala Asn Phe Gly Thr Lys		
225	230	235
Lys Asp Phe Glu Asp Leu Tyr Thr Pro Val Asn Gly Ser Ile Val Ile		
245	250	255
Val Arg Ala Gly Lys Ile Thr Phe Ala Glu Lys Val Ala Asn Ala Glu		
260	265	270
Ser Leu Asn Ala Ile Gly Val Leu Ile Tyr Met Asp Gln Thr Lys Phe		
275	280	285
Pro Ile Val Asn Ala Glu Leu Ser Phe Phe Gly His Ala His Leu Gly		
290	295	300
Thr Gly Asp Pro Tyr Thr Pro Gly Phe Pro Ser Phe Asn His Thr Gln		
305	310	315
Phe Pro Pro Ser Arg Ser Ser Gly Leu Pro Asn Ile Pro Val Gln Thr		
325	330	335
Ile Ser Arg Ala Ala Ala Glu Lys Leu Phe Gly Asn Met Glu Gly Asp		
340	345	350

Cys Pro Ser Asp Trp Lys Thr Asp Ser Thr Cys Arg Met Val Thr Ser  
 355 360 365  
 Glu Ser Lys Asn Val Lys Leu Thr Val Ser Asn Val Leu Lys Glu Ile  
 370 375 380  
 Lys Ile Leu Asn Ile Phe Gly Val Ile Lys Gly Phe Val Glu Pro Asp  
 385 390 395 400  
 His Tyr Val Val Val Gly Ala Gln Arg Asp Ala Trp Gly Pro Gly Ala  
 405 410 415  
 Ala Lys Ser Gly Val Gly Thr Ala Leu Leu Leu Lys Leu Ala Gln Met  
 420 425 430  
 Phe Ser Asp Met Val Leu Lys Asp Gly Phe Gln Pro Ser Arg Ser Ile  
 435 440 445  
 Ile Phe Ala Ser Trp Ser Ala Gly Asp Phe Gly Ser Val Gly Ala Thr  
 450 455 460  
 Glu Trp Leu Glu Gly Tyr Leu Ser Ser Leu His Leu Lys Ala Phe Thr  
 465 470 475 480  
 Tyr Ile Asn Leu Asp Lys Ala Val Leu Gly Thr Ser Asn Phe Lys Val  
 485 490 495  
 Ser Ala Ser Pro Leu Leu Tyr Thr Leu Ile Glu Lys Thr Met Gln Asn  
 500 505 510  
 Val Lys His Pro Val Thr Gly Gln Phe Leu Tyr Gln Asp Ser Asn Trp  
 515 520 525  
 Ala Ser Lys Val Glu Lys Leu Thr Leu Asp Asn Ala Ala Phe Pro Phe  
 530 535 540  
 Leu Ala Tyr Ser Gly Ile Pro Ala Val Ser Phe Cys Phe Cys Glu Asp  
 545 550 555 560  
 Thr Asp Tyr Pro Tyr Leu Gly Thr Thr Met Asp Thr Tyr Lys Glu Leu  
 565 570 575  
 Ile Glu Arg Ile Pro Glu Leu Asn Lys Val Ala Arg Ala Ala Glu  
 580 585 590  
 Val Ala Gly Gln Phe Val Ile Lys Leu Thr His Asp Val Glu Leu Asn  
 595 600 605  
 Leu Asp Tyr Glu Arg Tyr Asn Ser Gln Leu Leu Ser Phe Val Arg Asp  
 610 615 620  
 Leu Asn Gln Tyr Arg Ala Asp Ile Lys Glu Met Gly Leu Ser Leu Gln  
 625 630 635 640  
 Trp Leu Tyr Ser Ala Arg Gly Asp Phe Phe Arg Ala Thr Ser Arg Leu  
 645 650 655  
 Thr Thr Asp Phe Gly Asn Ala Glu Lys Thr Asp Arg Phe Val Met Lys

660	665	670
Lys Leu Asn Asp Arg Val Met Arg Val Glu Tyr His Phe Leu Ser Pro		
675	680	685
Tyr Val Ser Pro Lys Glu Ser Pro Phe Arg His Val Phe Trp Gly Ser		
690	695	700
Gly Ser His Thr Leu Pro Ala Leu Leu Glu Asn Leu Lys Leu Arg Lys		
705	710	715
Gln Asn Asn Gly Ala Phe Asn Glu Thr Leu Phe Arg Asn Gln Leu Ala		
725	730	735
Leu Ala Thr Trp Thr Ile Gln Gly Ala Ala Asn Ala Leu Ser Gly Asp		
740	745	750
Val Trp Asp Ile Asp Asn Glu Phe		
755	760	
<210> 6		
<211> 492		
<212> PRT		
<213> 人		
<400> 6		
Met Glu Pro Ser Ser Lys Lys Leu Thr Gly Arg Leu Met Leu Ala Val		
1	5	10
Gly Gly Ala Val Leu Gly Ser Leu Gln Phe Gly Tyr Asn Thr Gly Val		
20	25	30
Ile Asn Ala Pro Gln Lys Val Ile Glu Glu Phe Tyr Asn Gln Thr Trp		
35	40	45
Val His Arg Tyr Gly Glu Ser Ile Leu Pro Thr Thr Leu Thr Thr Leu		
50	55	60
Trp Ser Leu Ser Val Ala Ile Phe Ser Val Gly Gly Met Ile Gly Ser		
65	70	75
Phe Ser Val Gly Leu Phe Val Asn Arg Phe Gly Arg Arg Asn Ser Met		
85	90	95
Leu Met Met Asn Leu Leu Ala Phe Val Ser Ala Val Leu Met Gly Phe		
100	105	110
Ser Lys Leu Gly Lys Ser Phe Glu Met Leu Ile Leu Gly Arg Phe Ile		
115	120	125
Ile Gly Val Tyr Cys Gly Leu Thr Thr Gly Phe Val Pro Met Tyr Val		
130	135	140
Gly Glu Val Ser Pro Thr Ala Leu Arg Gly Ala Leu Gly Thr Leu His		
145	150	155
Gln Leu Gly Ile Val Val Gly Ile Leu Ile Ala Gln Val Phe Gly Leu		

	165		170		175
Asp Ser Ile Met Gly Asn Lys Asp Leu Trp Pro Leu Leu Leu Ser Ile					
	180		185		190
Ile Phe Ile Pro Ala Leu Leu Gln Cys Ile Val Leu Pro Phe Cys Pro					
	195		200		205
Glu Ser Pro Arg Phe Leu Leu Ile Asn Arg Asn Glu Glu Asn Arg Ala					
	210		215		220
Lys Ser Val Leu Lys Lys Leu Arg Gly Thr Ala Asp Val Thr His Asp					
225		230		235	240
Leu Gln Glu Met Lys Glu Glu Ser Arg Gln Met Met Arg Glu Lys Lys					
	245		250		255
Val Thr Ile Leu Glu Leu Phe Arg Ser Pro Ala Tyr Arg Gln Pro Ile					
	260		265		270
Leu Ile Ala Val Val Leu Gln Leu Ser Gln Gln Leu Ser Gly Ile Asn					
	275		280		285
Ala Val Phe Tyr Tyr Ser Thr Ser Ile Phe Glu Lys Ala Gly Val Gln					
	290		295		300
Gln Pro Val Tyr Ala Thr Ile Gly Ser Gly Ile Val Asn Thr Ala Phe					
305		310		315	320
Thr Val Val Ser Leu Phe Val Val Glu Arg Ala Gly Arg Arg Thr Leu					
	325		330		335
His Leu Ile Gly Leu Ala Gly Met Ala Gly Cys Ala Ile Leu Met Thr					
	340		345		350
Ile Ala Leu Ala Leu Leu Glu Gln Leu Pro Trp Met Ser Tyr Leu Ser					
	355		360		365
Ile Val Ala Ile Phe Gly Phe Val Ala Phe Phe Glu Val Gly Pro Gly					
	370		375		380
Pro Ile Pro Trp Phe Ile Val Ala Glu Leu Phe Ser Gln Gly Pro Arg					
385		390		395	400
Pro Ala Ala Ile Ala Val Ala Gly Phe Ser Asn Trp Thr Ser Asn Phe					
	405		410		415
Ile Val Gly Met Cys Phe Gln Tyr Val Glu Gln Leu Cys Gly Pro Tyr					
	420		425		430
Val Phe Ile Ile Phe Thr Val Leu Leu Val Leu Phe Phe Ile Phe Thr					
	435		440		445
Tyr Phe Lys Val Pro Glu Thr Lys Gly Arg Thr Phe Asp Glu Ile Ala					
	450		455		460
Ser Gly Phe Arg Gln Gly Gly Ala Ser Gln Ser Asp Lys Thr Pro Glu					
465		470		475	480

Glu Leu Phe His Pro Leu Gly Ala Asp Ser Gln Val  
 485 490  
 <210> 7  
 <211> 559  
 <212> PRT  
 <213> 人  
 <400> 7  
 Met Ser Ala Cys Arg Ser Phe Ala Val Ala Ile Cys Ile Leu Glu Ile  
 1 5 10 15  
 Ser Ile Leu Thr Ala Gln Tyr Thr Thr Ser Tyr Asp Pro Glu Leu Thr  
 20 25 30  
 Glu Ser Ser Gly Ser Ala Ser His Ile Asp Cys Arg Met Ser Pro Trp  
 35 40 45  
 Ser Glu Trp Ser Gln Cys Asp Pro Cys Leu Arg Gln Met Phe Arg Ser  
 50 55 60  
 Arg Ser Ile Glu Val Phe Gly Gln Phe Asn Gly Lys Arg Cys Thr Asp  
 65 70 75 80  
 Ala Val Gly Asp Arg Arg Gln Cys Val Pro Thr Glu Pro Cys Glu Asp  
 85 90 95  
 Ala Glu Asp Asp Cys Gly Asn Asp Phe Gln Cys Ser Thr Gly Arg Cys  
 100 105 110  
 Ile Lys Met Arg Leu Arg Cys Asn Gly Asp Asn Asp Cys Gly Asp Phe  
 115 120 125  
 Ser Asp Glu Asp Asp Cys Glu Ser Glu Pro Arg Pro Pro Cys Arg Asp  
 130 135 140  
 Arg Val Val Glu Glu Ser Glu Leu Ala Arg Thr Ala Gly Tyr Gly Ile  
 145 150 155 160  
 Asn Ile Leu Gly Met Asp Pro Leu Ser Thr Pro Phe Asp Asn Glu Phe  
 165 170 175  
 Tyr Asn Gly Leu Cys Asn Arg Asp Arg Asp Gly Asn Thr Leu Thr Tyr  
 180 185 190  
 Tyr Arg Arg Pro Trp Asn Val Ala Ser Leu Ile Tyr Glu Thr Lys Gly  
 195 200 205  
 Glu Lys Asn Phe Arg Thr Glu His Tyr Glu Glu Gln Ile Glu Ala Phe  
 210 215 220  
 Lys Ser Ile Ile Gln Glu Lys Thr Ser Asn Phe Asn Ala Ala Ile Ser  
 225 230 235 240  
 Leu Lys Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asn Lys Ala Glu Gln Cys Cys Glu  
 245 250 255

Glu Thr Ala Ser Ser Ile Ser Leu His Gly Lys Gly Ser Phe Arg Phe  
 260 265 270  
 Ser Tyr Ser Lys Asn Glu Thr Tyr Gln Leu Phe Leu Ser Tyr Ser Ser  
 275 280 285  
 Lys Lys Glu Lys Met Phe Leu His Val Lys Gly Glu Ile His Leu Gly  
 290 295 300  
 Arg Phe Val Met Arg Asn Arg Asp Val Val Leu Thr Thr Thr Phe Val  
 305 310 315 320  
 Asp Asp Ile Lys Ala Leu Pro Thr Thr Tyr Glu Lys Gly Glu Tyr Phe  
 325 330 335  
 Ala Phe Leu Glu Thr Tyr Gly Thr His Tyr Ser Ser Ser Gly Ser Leu  
 340 345 350  
 Gly Gly Leu Tyr Glu Leu Ile Tyr Val Leu Asp Lys Ala Ser Met Lys  
 355 360 365  
 Arg Lys Gly Val Glu Leu Lys Asp Ile Lys Arg Cys Leu Gly Tyr His  
 370 375 380  
 Leu Asp Val Ser Leu Ala Phe Ser Glu Ile Ser Val Gly Ala Glu Phe  
 385 390 395 400  
 Asn Lys Asp Asp Cys Val Lys Arg Gly Glu Gly Arg Ala Val Asn Ile  
 405 410 415  
 Thr Ser Glu Asn Leu Ile Asp Asp Val Val Ser Leu Ile Arg Gly Gly  
 420 425 430  
 Thr Arg Lys Tyr Ala Phe Glu Leu Lys Glu Lys Leu Leu Arg Gly Thr  
 435 440 445  
 Val Ile Asp Val Thr Asp Phe Val Asn Trp Ala Ser Ser Ile Asn Asp  
 450 455 460  
 Ala Pro Val Leu Ile Ser Gln Lys Leu Ser Pro Ile Tyr Asn Leu Val  
 465 470 475 480  
 Pro Val Lys Met Lys Asn Ala His Leu Lys Lys Gln Asn Leu Glu Arg  
 485 490 495  
 Ala Ile Glu Asp Tyr Ile Asn Glu Phe Ser Val Arg Lys Cys His Thr  
 500 505 510  
 Cys Gln Asn Gly Gly Thr Val Ile Leu Met Asp Gly Lys Cys Leu Cys  
 515 520 525  
 Ala Cys Pro Phe Lys Phe Glu Gly Ile Ala Cys Glu Ile Ser Lys Gln  
 530 535 540  
 Lys Ile Ser Glu Gly Leu Pro Ala Leu Glu Phe Pro Asn Glu Lys  
 545 550 555

<210> 8

<211> 350  
 <212> PRT  
 <213> 人  
 <400> 8  
 Met Asp Ser Phe Asn Tyr Thr Thr Pro Asp Tyr Gly His Tyr Asp Asp  
 1                   5                   10                   15  
 Lys Asp Thr Leu Asp Leu Asn Thr Pro Val Asp Lys Thr Ser Asn Thr  
                   20                   25                   30  
 Leu Arg Val Pro Asp Ile Leu Ala Leu Val Ile Phe Ala Val Val Phe  
                   35                   40                   45  
 Leu Val Gly Val Leu Gly Asn Ala Leu Val Val Trp Val Thr Ala Phe  
                   50                   55                   60  
 Glu Ala Lys Arg Thr Ile Asn Ala Ile Trp Phe Leu Asn Leu Ala Val  
 65                   70                   75                   80  
 Ala Asp Phe Leu Ser Cys Leu Ala Leu Pro Ile Leu Phe Thr Ser Ile  
                   85                   90                   95  
 Val Gln His His His Trp Pro Phe Gly Gly Ala Ala Cys Ser Ile Leu  
                   100                   105                   110  
 Pro Ser Leu Ile Leu Leu Asn Met Tyr Ala Ser Ile Leu Leu Leu Ala  
                   115                   120                   125  
 Thr Ile Ser Ala Asp Arg Phe Leu Leu Val Phe Lys Pro Ile Trp Cys  
                   130                   135                   140  
 Gln Asn Phe Arg Gly Ala Gly Leu Ala Trp Ile Ala Cys Ala Val Ala  
 145                   150                   155                   160  
 Trp Gly Leu Ala Leu Leu Leu Thr Ile Pro Ser Phe Leu Tyr Arg Val  
                   165                   170                   175  
 Val Arg Glu Glu Tyr Phe Pro Pro Lys Val Leu Cys Gly Val Asp Tyr  
                   180                   185                   190  
 Ser His Asp Lys Arg Arg Glu Arg Ala Val Ala Ile Val Arg Leu Val  
                   195                   200                   205  
 Leu Gly Phe Leu Trp Pro Leu Leu Thr Leu Thr Ile Cys Tyr Thr Phe  
                   210                   215                   220  
 Ile Leu Leu Arg Thr Trp Ser Arg Arg Ala Thr Arg Ser Thr Lys Thr  
 225                   230                   235                   240  
 Leu Lys Val Val Val Ala Val Val Ala Ser Phe Phe Ile Phe Trp Leu  
                   245                   250                   255  
 Pro Tyr Gln Val Thr Gly Ile Met Met Ser Phe Leu Glu Pro Ser Ser  
                   260                   265                   270  
 Pro Thr Phe Leu Leu Leu Lys Lys Leu Asp Ser Leu Cys Val Ser Phe

	275		280		285														
	Ala	Tyr	Ile	Asn	Cys	Cys	Ile	Asn	Pro	Ile	Ile	Tyr	Val	Val	Ala	Gly			
	290						295					300							
	Gln	Gly	Phe	Gln	Gly	Arg	Leu	Arg	Lys	Ser	Leu	Pro	Ser	Leu	Leu	Arg			
	305					310					315				320				
	Asn	Val	Leu	Thr	Glu	Glu	Ser	Val	Val	Arg	Glu	Ser	Lys	Ser	Phe	Thr			
					325					330					335				
	Arg	Ser	Thr	Val	Asp	Thr	Met	Ala	Gln	Lys	Thr	Gln	Ala	Val					
				340					345					350					
<210>	9																		
<211>	654																		
<212>	PRT																		
<213>	人																		
<400>	9																		
	Met	Lys	Leu	Ser	Leu	Val	Ala	Ala	Met	Leu	Leu	Leu	Leu	Ser	Ala	Ala			
	1				5					10					15				
	Arg	Ala	Glu	Glu	Glu	Asp	Lys	Lys	Glu	Asp	Val	Gly	Thr	Val	Val	Gly			
					20				25					30					
	Ile	Asp	Leu	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ser	Cys	Val	Gly	Val	Phe	Lys	Asn	Gly			
					35				40					45					
	Arg	Val	Glu	Ile	Ile	Ala	Asn	Asp	Gln	Gly	Asn	Arg	Ile	Thr	Pro	Ser			
							55					60							
	Tyr	Val	Ala	Phe	Thr	Pro	Glu	Gly	Glu	Arg	Leu	Ile	Gly	Asp	Ala	Ala			
	65					70					75				80				
	Lys	Asn	Gln	Leu	Thr	Ser	Asn	Pro	Glu	Asn	Thr	Val	Phe	Asp	Ala	Lys			
							85				90				95				
	Arg	Leu	Ile	Gly	Arg	Thr	Trp	Asn	Asp	Pro	Ser	Val	Gln	Gln	Asp	Ile			
							100					105			110				
	Lys	Phe	Leu	Pro	Phe	Lys	Val	Val	Glu	Lys	Lys	Thr	Lys	Pro	Tyr	Ile			
							115								125				
	Gln	Val	Asp	Ile	Gly	Gly	Gly	Gln	Thr	Lys	Thr	Phe	Ala	Pro	Glu	Glu			
							135								140				
	Ile	Ser	Ala	Met	Val	Leu	Thr	Lys	Met	Lys	Glu	Thr	Ala	Glu	Ala	Tyr			
	145						150					155				160			
	Leu	Gly	Lys	Lys	Val	Thr	His	Ala	Val	Val	Thr	Val	Pro	Ala	Tyr	Phe			
							165								175				
	Asn	Asp	Ala	Gln	Arg	Gln	Ala	Thr	Lys	Asp	Ala	Gly	Thr	Ile	Ala	Gly			
							180								190				
	Leu	Asn	Val	Met	Arg	Ile	Ile	Asn	Glu	Pro	Thr	Ala	Ala	Ala	Ile	Ala			

195	200	205
Tyr Gly Leu Asp Lys Arg Glu Gly Glu Lys Asn Ile Leu Val Phe Asp		
210	215	220
Leu Gly Gly Gly Thr Phe Asp Val Ser Leu Leu Thr Ile Asp Asn Gly		
225	230	235
Val Phe Glu Val Val Ala Thr Asn Gly Asp Thr His Leu Gly Gly Glu		
245	250	255
Asp Phe Asp Gln Arg Val Met Glu His Phe Ile Lys Leu Tyr Lys Lys		
260	265	270
Lys Thr Gly Lys Asp Val Arg Lys Asp Asn Arg Ala Val Gln Lys Leu		
275	280	285
Arg Arg Glu Val Glu Lys Ala Lys Arg Ala Leu Ser Ser Gln His Gln		
290	295	300
Ala Arg Ile Glu Ile Glu Ser Phe Tyr Glu Gly Glu Asp Phe Ser Glu		
305	310	315
Thr Leu Thr Arg Ala Lys Phe Glu Glu Leu Asn Met Asp Leu Phe Arg		
325	330	335
Ser Thr Met Lys Pro Val Gln Lys Val Leu Glu Asp Ser Asp Leu Lys		
340	345	350
Lys Ser Asp Ile Asp Glu Ile Val Leu Val Gly Gly Ser Thr Arg Ile		
355	360	365
Pro Lys Ile Gln Gln Leu Val Lys Glu Phe Phe Asn Gly Lys Glu Pro		
370	375	380
Ser Arg Gly Ile Asn Pro Asp Glu Ala Val Ala Tyr Gly Ala Ala Val		
385	390	395
Gln Ala Gly Val Leu Ser Gly Asp Gln Asp Thr Gly Asp Leu Val Leu		
405	410	415
Leu Asp Val Cys Pro Leu Thr Leu Gly Ile Glu Thr Val Gly Gly Val		
420	425	430
Met Thr Lys Leu Ile Pro Arg Asn Thr Val Val Pro Thr Lys Lys Ser		
435	440	445
Gln Ile Phe Ser Thr Ala Ser Asp Asn Gln Pro Thr Val Thr Ile Lys		
450	455	460
Val Tyr Glu Gly Glu Arg Pro Leu Thr Lys Asp Asn His Leu Leu Gly		
465	470	475
Thr Phe Asp Leu Thr Gly Ile Pro Pro Ala Pro Arg Gly Val Pro Gln		
485	490	495
Ile Glu Val Thr Phe Glu Ile Asp Val Asn Gly Ile Leu Arg Val Thr		
500	505	510

Ala Glu Asp Lys Gly Thr Gly Asn Lys Asn Lys Ile Thr Ile Thr Asn  
515 520 525

Asp Gln Asn Arg Leu Thr Pro Glu Glu Ile Glu Arg Met Val Asn Asp  
530 535 540

Ala Glu Lys Phe Ala Glu Glu Asp Lys Lys Leu Lys Glu Arg Ile Asp  
545 550 555 560

Thr Arg Asn Glu Leu Glu Ser Tyr Ala Tyr Ser Leu Lys Asn Gln Ile  
565 570 575

Gly Asp Lys Glu Lys Leu Gly Gly Lys Leu Ser Ser Glu Asp Lys Glu  
580 585 590

Thr Met Glu Lys Ala Val Glu Glu Lys Ile Glu Trp Leu Glu Ser His  
595 600 605

Gln Asp Ala Asp Ile Glu Asp Phe Lys Ala Lys Lys Lys Glu Leu Glu  
610 615 620

Glu Ile Val Gln Pro Ile Ile Ser Lys Leu Tyr Gly Ser Ala Gly Pro  
625 630 635 640

Pro Pro Thr Gly Glu Glu Asp Thr Ala Glu Lys Asp Glu Leu  
645 650

<210> 10  
<211> 201  
<212> PRT  
<213> 人  
<400> 10

Met Ala Leu Ser Trp Val Leu Thr Val Leu Ser Leu Leu Pro Leu Leu  
1 5 10 15

Glu Ala Gln Ile Pro Leu Cys Ala Asn Leu Val Pro Val Pro Ile Thr  
20 25 30

Asn Ala Thr Leu Asp Gln Ile Thr Gly Lys Trp Phe Tyr Ile Ala Ser  
35 40 45

Ala Phe Arg Asn Glu Glu Tyr Asn Lys Ser Val Gln Glu Ile Gln Ala  
50 55 60

Thr Phe Phe Tyr Phe Thr Pro Asn Lys Thr Glu Asp Thr Ile Phe Leu  
65 70 75 80

Arg Glu Tyr Gln Thr Arg Gln Asp Gln Cys Ile Tyr Asn Thr Thr Tyr  
85 90 95

Leu Asn Val Gln Arg Glu Asn Gly Thr Ile Ser Arg Tyr Val Gly Gly  
100 105 110

Gln Glu His Phe Ala His Leu Leu Ile Leu Arg Asp Thr Lys Thr Tyr  
115 120 125

Met Leu Ala Phe Asp Val Asn Asp Glu Lys Asn Trp Gly Leu Ser Val  
 130 135 140  
 Tyr Ala Asp Lys Pro Glu Thr Thr Lys Glu Gln Leu Gly Glu Phe Tyr  
 145 150 155 160  
 Glu Ala Leu Asp Cys Leu Arg Ile Pro Lys Ser Asp Val Val Tyr Thr  
 165 170 175  
 Asp Trp Lys Lys Asp Lys Cys Glu Pro Leu Glu Lys Gln His Glu Lys  
 180 185 190  
 Glu Arg Lys Gln Glu Glu Gly Glu Ser  
 195 200

<210> 11

<211> 707

<212> PRT

<213> 人

<400> 11

Met Ser Leu Trp Gln Pro Leu Val Leu Val Leu Leu Val Leu Gly Cys  
 1 5 10 15  
 Cys Phe Ala Ala Pro Arg Gln Arg Gln Ser Thr Leu Val Leu Phe Pro  
 20 25 30  
 Gly Asp Leu Arg Thr Asn Leu Thr Asp Arg Gln Leu Ala Glu Glu Tyr  
 35 40 45  
 Leu Tyr Arg Tyr Gly Tyr Thr Arg Val Ala Glu Met Arg Gly Glu Ser  
 50 55 60  
 Lys Ser Leu Gly Pro Ala Leu Leu Leu Leu Gln Lys Gln Leu Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Pro Glu Thr Gly Glu Leu Asp Ser Ala Thr Leu Lys Ala Met Arg Thr  
 85 90 95  
 Pro Arg Cys Gly Val Pro Asp Leu Gly Arg Phe Gln Thr Phe Glu Gly  
 100 105 110  
 Asp Leu Lys Trp His His His Asn Ile Thr Tyr Trp Ile Gln Asn Tyr  
 115 120 125  
 Ser Glu Asp Leu Pro Arg Ala Val Ile Asp Asp Ala Phe Ala Arg Ala  
 130 135 140  
 Phe Ala Leu Trp Ser Ala Val Thr Pro Leu Thr Phe Thr Arg Val Tyr  
 145 150 155 160  
 Ser Arg Asp Ala Asp Ile Val Ile Gln Phe Gly Val Ala Glu His Gly  
 165 170 175  
 Asp Gly Tyr Pro Phe Asp Gly Lys Asp Gly Leu Leu Ala His Ala Phe  
 180 185 190

Pro Pro Gly Pro Gly Ile Gln Gly Asp Ala His Phe Asp Asp Asp Glu  
 195 200 205  
 Leu Trp Ser Leu Gly Lys Gly Val Val Val Pro Thr Arg Phe Gly Asn  
 210 215 220  
 Ala Asp Gly Ala Ala Cys His Phe Pro Phe Ile Phe Glu Gly Arg Ser  
 225 230 235 240  
 Tyr Ser Ala Cys Thr Thr Asp Gly Arg Ser Asp Gly Leu Pro Trp Cys  
 245 250 255  
 Ser Thr Thr Ala Asn Tyr Asp Thr Asp Asp Arg Phe Gly Phe Cys Pro  
 260 265 270  
 Ser Glu Arg Leu Tyr Thr Gln Asp Gly Asn Ala Asp Gly Lys Pro Cys  
 275 280 285  
 Gln Phe Pro Phe Ile Phe Gln Gly Gln Ser Tyr Ser Ala Cys Thr Thr  
 290 295 300  
 Asp Gly Arg Ser Asp Gly Tyr Arg Trp Cys Ala Thr Thr Ala Asn Tyr  
 305 310 315 320  
 Asp Arg Asp Lys Leu Phe Gly Phe Cys Pro Thr Arg Ala Asp Ser Thr  
 325 330 335  
 Val Met Gly Gly Asn Ser Ala Gly Glu Leu Cys Val Phe Pro Phe Thr  
 340 345 350  
 Phe Leu Gly Lys Glu Tyr Ser Thr Cys Thr Ser Glu Gly Arg Gly Asp  
 355 360 365  
 Gly Arg Leu Trp Cys Ala Thr Thr Ser Asn Phe Asp Ser Asp Lys Lys  
 370 375 380  
 Trp Gly Phe Cys Pro Asp Gln Gly Tyr Ser Leu Phe Leu Val Ala Ala  
 385 390 395 400  
 His Glu Phe Gly His Ala Leu Gly Leu Asp His Ser Ser Val Pro Glu  
 405 410 415  
 Ala Leu Met Tyr Pro Met Tyr Arg Phe Thr Glu Gly Pro Pro Leu His  
 420 425 430  
 Lys Asp Asp Val Asn Gly Ile Arg His Leu Tyr Gly Pro Arg Pro Glu  
 435 440 445  
 Pro Glu Pro Arg Pro Pro Thr Thr Thr Thr Pro Gln Pro Thr Ala Pro  
 450 455 460  
 Pro Thr Val Cys Pro Thr Gly Pro Pro Thr Val His Pro Ser Glu Arg  
 465 470 475 480  
 Pro Thr Ala Gly Pro Thr Gly Pro Pro Ser Ala Gly Pro Thr Gly Pro  
 485 490 495  
 Pro Thr Ala Gly Pro Ser Thr Ala Thr Thr Val Pro Leu Ser Pro Val

500	505	510
Asp Asp Ala Cys Asn Val Asn Ile Phe Asp Ala Ile Ala Glu Ile Gly		
515	520	525
Asn Gln Leu Tyr Leu Phe Lys Asp Gly Lys Tyr Trp Arg Phe Ser Glu		
530	535	540
Gly Arg Gly Ser Arg Pro Gln Gly Pro Phe Leu Ile Ala Asp Lys Trp		
545	550	555
Pro Ala Leu Pro Arg Lys Leu Asp Ser Val Phe Glu Glu Arg Leu Ser		
565	570	575
Lys Lys Leu Phe Phe Phe Ser Gly Arg Gln Val Trp Val Tyr Thr Gly		
580	585	590
Ala Ser Val Leu Gly Pro Arg Arg Leu Asp Lys Leu Gly Leu Gly Ala		
595	600	605
Asp Val Ala Gln Val Thr Gly Ala Leu Arg Ser Gly Arg Gly Lys Met		
610	615	620
Leu Leu Phe Ser Gly Arg Arg Leu Trp Arg Phe Asp Val Lys Ala Gln		
625	630	635
Met Val Asp Pro Arg Ser Ala Ser Glu Val Asp Arg Met Phe Pro Gly		
645	650	655
Val Pro Leu Asp Thr His Asp Val Phe Gln Tyr Arg Glu Lys Ala Tyr		
660	665	670
Phe Cys Gln Asp Arg Phe Tyr Trp Arg Val Ser Ser Arg Ser Glu Leu		
675	680	685
Asn Gln Val Asp Gln Val Gly Tyr Val Thr Tyr Asp Ile Leu Gln Cys		
690	695	700
Pro Glu Asp		
705		
<210> 12		
<211> 498		
<212> PRT		
<213> 人		
<400> 12		
Met Thr Val Phe Leu Ser Phe Ala Phe Leu Ala Ala Ile Leu Thr His		
1	5	10
Ile Gly Cys Ser Asn Gln Arg Arg Ser Pro Glu Asn Ser Gly Arg Arg		
20	25	30
Tyr Asn Arg Ile Gln His Gly Gln Cys Ala Tyr Thr Phe Ile Leu Pro		
35	40	45
Glu His Asp Gly Asn Cys Arg Glu Ser Thr Thr Asp Gln Tyr Asn Thr		

50	55	60
Asn Ala Leu Gln Arg Asp	Ala Pro His Val Glu Pro Asp Phe Ser Ser	
65	70	75
Gln Lys Leu Gln His Leu Glu His Val Met Glu Asn Tyr Thr Gln Trp		80
	85	90
Leu Gln Lys Leu Glu Asn Tyr Ile Val Glu Asn Met Lys Ser Glu Met		95
	100	105
Ala Gln Ile Gln Gln Asn Ala Val Gln Asn His Thr Ala Thr Met Leu		110
	115	120
Glu Ile Gly Thr Ser Leu Leu Ser Gln Thr Ala Glu Gln Thr Arg Lys		125
	130	135
Leu Thr Asp Val Glu Thr Gln Val Leu Asn Gln Thr Ser Arg Leu Glu		140
145	150	155
Ile Gln Leu Leu Glu Asn Ser Leu Ser Thr Tyr Lys Leu Glu Lys Gln		160
	165	170
Leu Leu Gln Gln Thr Asn Glu Ile Leu Lys Ile His Glu Lys Asn Ser		175
	180	185
Leu Leu Glu His Lys Ile Leu Glu Met Glu Gly Lys His Lys Glu Glu		190
	195	200
Leu Asp Thr Leu Lys Glu Glu Lys Glu Asn Leu Gln Gly Leu Val Thr		205
	210	215
Arg Gln Thr Tyr Ile Ile Gln Glu Leu Glu Lys Gln Leu Asn Arg Ala		220
225	230	235
Thr Thr Asn Asn Ser Val Leu Gln Lys Gln Gln Leu Glu Leu Met Asp		240
	245	250
Thr Val His Asn Leu Val Asn Leu Cys Thr Lys Glu Gly Val Leu Leu		255
	260	265
Lys Gly Gly Lys Arg Glu Glu Glu Lys Pro Phe Arg Asp Cys Ala Asp		270
	275	280
Val Tyr Gln Ala Gly Phe Asn Lys Ser Gly Ile Tyr Thr Ile Tyr Ile		285
	290	295
Asn Asn Met Pro Glu Pro Lys Lys Val Phe Cys Asn Met Asp Val Asn		300
305	310	315
Gly Gly Gly Trp Thr Val Ile Gln His Arg Glu Asp Gly Ser Leu Asp		320
	325	330
Phe Gln Arg Gly Trp Lys Glu Tyr Lys Met Gly Phe Gly Asn Pro Ser		335
	340	345
Gly Glu Tyr Trp Leu Gly Asn Glu Phe Ile Phe Ala Ile Thr Ser Gln		350
	355	360
		365

Arg Gln Tyr Met Leu Arg Ile Glu Leu Met Asp Trp Glu Gly Asn Arg  
 370 375 380  
 Ala Tyr Ser Gln Tyr Asp Arg Phe His Ile Gly Asn Glu Lys Gln Asn  
 385 390 395 400  
 Tyr Arg Leu Tyr Leu Lys Gly His Thr Gly Thr Ala Gly Lys Gln Ser  
 405 410 415  
 Ser Leu Ile Leu His Gly Ala Asp Phe Ser Thr Lys Asp Ala Asp Asn  
 420 425 430  
 Asp Asn Cys Met Cys Lys Cys Ala Leu Met Leu Thr Gly Gly Trp Trp  
 435 440 445  
 Phe Asp Ala Cys Gly Pro Ser Asn Leu Asn Gly Met Phe Tyr Thr Ala  
 450 455 460  
 Gly Gln Asn His Gly Lys Leu Asn Gly Ile Lys Trp His Tyr Phe Lys  
 465 470 475 480  
 Gly Pro Ser Tyr Ser Leu Arg Ser Thr Thr Met Met Ile Arg Pro Leu  
 485 490 495  
 Asp Phe  
 <210> 13  
 <211> 349  
 <212> PRT  
 <213> 人  
 <400> 13  
 Met Gly Pro Ile Ser Ala Pro Ser Cys Arg Trp Arg Ile Pro Trp Gln  
 1 5 10 15  
 Gly Leu Leu Leu Thr Ala Ser Leu Phe Thr Phe Trp Asn Pro Pro Thr  
 20 25 30  
 Thr Ala Gln Leu Thr Ile Glu Ala Val Pro Ser Asn Ala Ala Glu Gly  
 35 40 45  
 Lys Glu Val Leu Leu Leu Val His Asn Leu Pro Gln Asp Pro Arg Gly  
 50 55 60  
 Tyr Asn Trp Tyr Lys Gly Glu Thr Val Asp Ala Asn Arg Arg Ile Ile  
 65 70 75 80  
 Gly Tyr Val Ile Ser Asn Gln Gln Ile Thr Pro Gly Pro Ala Tyr Ser  
 85 90 95  
 Asn Arg Glu Thr Ile Tyr Pro Asn Ala Ser Leu Leu Met Arg Asn Val  
 100 105 110  
 Thr Arg Asn Asp Thr Gly Ser Tyr Thr Leu Gln Val Ile Lys Leu Asn  
 115 120 125  
 Leu Met Ser Glu Glu Val Thr Gly Gln Phe Ser Val His Pro Glu Thr

130	135	140
Pro Lys Pro Ser Ile Ser Ser Asn Asn Ser Asn Pro Val Glu Asp Lys		
145	150	155
Asp Ala Val Ala Phe Thr Cys Glu Pro Glu Thr Gln Asn Thr Thr Tyr		
	165	170
Leu Trp Trp Val Asn Gly Gln Ser Leu Pro Val Ser Pro Arg Leu Gln		
	180	185
Leu Ser Asn Gly Asn Arg Thr Leu Thr Leu Leu Ser Val Thr Arg Asn		
	195	200
Asp Val Gly Pro Tyr Glu Cys Glu Ile Gln Asn Pro Ala Ser Ala Asn		
	210	220
Phe Ser Asp Pro Val Thr Leu Asn Val Leu Tyr Gly Pro Asp Ala Pro		
225	230	235
Thr Ile Ser Pro Ser Asp Thr Tyr Tyr His Ala Gly Val Asn Leu Asn		
	245	250
Leu Ser Cys His Ala Ala Ser Asn Pro Pro Ser Gln Tyr Ser Trp Ser		
	260	270
Val Asn Gly Thr Phe Gln Gln Tyr Thr Gln Lys Leu Phe Ile Pro Asn		
	275	280
Ile Thr Thr Lys Asn Ser Gly Ser Tyr Ala Cys His Thr Thr Asn Ser		
	290	295
Ala Thr Gly Arg Asn Arg Thr Thr Val Arg Met Ile Thr Val Ser Asp		
305	310	315
Ala Leu Val Gln Gly Ser Ser Pro Gly Leu Ser Ala Arg Ala Thr Val		
	325	330
Ser Ile Met Ile Gly Val Leu Ala Arg Val Ala Leu Ile		
	340	345

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 5762

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 人

&lt;400&gt; 14

Met Gly Ala Pro Ser Ala Cys Arg Thr Leu Val Leu Ala Leu Ala Ala		
1	5	10
Met Leu Val Val Pro Gln Ala Glu Thr Gln Gly Pro Val Glu Pro Ser		
	20	25
Trp Glu Asn Ala Gly His Thr Met Asp Gly Gly Ala Pro Thr Ser Ser		
	35	40
Pro Thr Arg Arg Val Ser Phe Val Pro Pro Val Thr Val Phe Pro Ser		

50	55	60													
Leu	Ser	Pro	Leu	Asn	Pro	Ala	His	Asn	Gly	Arg	Val	Cys	Ser	Thr	Trp
65					70					75					80
Gly	Asp	Phe	His	Tyr	Lys	Thr	Phe	Asp	Gly	Asp	Val	Phe	Arg	Phe	Pro
				85						90					95
Gly	Leu	Cys	Asn	Tyr	Val	Phe	Ser	Glu	His	Cys	Arg	Ala	Ala	Tyr	Glu
			100							105					110
Asp	Phe	Asn	Val	Gln	Leu	Arg	Arg	Gly	Leu	Val	Gly	Ser	Arg	Pro	Val
			115												125
Val	Thr	Arg	Val	Val	Ile	Lys	Ala	Gln	Gly	Leu	Val	Leu	Glu	Ala	Ser
			130												140
Asn	Gly	Ser	Val	Leu	Ile	Asn	Gly	Gln	Arg	Glu	Glu	Leu	Pro	Tyr	Ser
145					150										160
Arg	Thr	Gly	Leu	Leu	Val	Glu	Gln	Ser	Gly	Asp	Tyr	Ile	Lys	Val	Ser
					165										175
Ile	Arg	Leu	Val	Leu	Thr	Phe	Leu	Trp	Asn	Gly	Glu	Asp	Ser	Ala	Leu
			180												190
Leu	Glu	Leu	Asp	Pro	Lys	Tyr	Ala	Asn	Gln	Thr	Cys	Gly	Leu	Cys	Gly
			195												205
Asp	Phe	Asn	Gly	Leu	Pro	Ala	Phe	Asn	Glu	Phe	Tyr	Ala	His	Asn	Ala
			210												220
Arg	Leu	Thr	Pro	Leu	Gln	Phe	Gly	Asn	Leu	Gln	Lys	Leu	Asp	Gly	Pro
225					230										240
Thr	Glu	Gln	Cys	Pro	Asp	Pro	Leu	Pro	Leu	Pro	Ala	Gly	Asn	Cys	Thr
					245										255
Asp	Glu	Glu	Gly	Ile	Cys	His	Arg	Thr	Leu	Leu	Gly	Pro	Ala	Phe	Ala
			260												270
Glu	Cys	His	Ala	Leu	Val	Asp	Ser	Thr	Ala	Tyr	Leu	Ala	Ala	Cys	Ala
			275												285
Gln	Asp	Leu	Cys	Arg	Cys	Pro	Thr	Cys	Pro	Cys	Ala	Thr	Phe	Val	Glu
			290												300
Tyr	Ser	Arg	Gln	Cys	Ala	His	Ala	Gly	Gly	Gln	Pro	Arg	Asn	Trp	Arg
305					310										320
Cys	Pro	Glu	Leu	Cys	Pro	Arg	Thr	Cys	Pro	Leu	Asn	Met	Gln	His	Gln
					325										335
Glu	Cys	Gly	Ser	Pro	Cys	Thr	Asp	Thr	Cys	Ser	Asn	Pro	Gln	Arg	Ala
			340												350
Gln	Leu	Cys	Glu	Asp	His	Cys	Val	Asp	Gly	Cys	Phe	Cys	Pro	Pro	Gly
			355												365

Thr Val Leu Asp Asp Ile Thr His Ser Gly Cys Leu Pro Leu Gly Gln  
 370 375 380  
 Cys Pro Cys Thr His Gly Gly Arg Thr Tyr Ser Pro Gly Thr Ser Phe  
 385 390 395 400  
 Asn Thr Thr Cys Ser Ser Cys Thr Cys Ser Gly Gly Leu Trp Gln Cys  
 405 410 415  
 Gln Asp Leu Pro Cys Pro Gly Thr Cys Ser Val Gln Gly Gly Ala His  
 420 425 430  
 Ile Ser Thr Tyr Asp Glu Lys Leu Tyr Asp Leu His Gly Asp Cys Ser  
 435 440 445  
 Tyr Val Leu Ser Lys Lys Cys Ala Asp Ser Ser Phe Thr Val Leu Ala  
 450 455 460  
 Glu Leu Arg Lys Cys Gly Leu Thr Asp Asn Glu Asn Cys Leu Lys Ala  
 465 470 475 480  
 Val Thr Leu Ser Leu Asp Gly Gly Asp Thr Ala Ile Arg Val Gln Ala  
 485 490 495  
 Asp Gly Gly Val Phe Leu Asn Ser Ile Tyr Thr Gln Leu Pro Leu Ser  
 500 505 510  
 Ala Ala Asn Ile Thr Leu Phe Thr Pro Ser Ser Phe Phe Ile Val Val  
 515 520 525  
 Gln Thr Gly Leu Gly Leu Gln Leu Leu Val Gln Leu Val Pro Leu Met  
 530 535 540  
 Gln Val Phe Val Arg Leu Asp Pro Ala His Gln Gly Gln Met Cys Gly  
 545 550 555 560  
 Leu Cys Gly Asn Phe Asn Gln Asn Gln Ala Asp Asp Phe Thr Ala Leu  
 565 570 575  
 Ser Gly Val Val Glu Ala Thr Gly Ala Ala Phe Ala Asn Thr Trp Lys  
 580 585 590  
 Ala Gln Ala Ala Cys Ala Asn Ala Arg Asn Ser Phe Glu Asp Pro Cys  
 595 600 605  
 Ser Leu Ser Val Glu Asn Glu Asn Tyr Ala Arg His Trp Cys Ser Arg  
 610 615 620  
 Leu Thr Asp Pro Asn Ser Ala Phe Ser Arg Cys His Ser Ile Ile Asn  
 625 630 635 640  
 Pro Lys Pro Phe His Ser Asn Cys Met Phe Asp Thr Cys Asn Cys Glu  
 645 650 655  
 Arg Ser Glu Asp Cys Leu Cys Ala Ala Leu Ser Ser Tyr Val His Ala  
 660 665 670  
 Cys Ala Ala Lys Gly Val Gln Leu Ser Asp Trp Arg Asp Gly Val Cys

675	680	685
Thr Lys Tyr Met Gln Asn Cys Pro Lys Ser Gln Arg Tyr Ala Tyr Val		
690	695	700
Val Asp Ala Cys Gln Pro Thr Cys Arg Gly Leu Ser Glu Ala Asp Val		
705	710	715
Thr Cys Ser Val Ser Phe Val Pro Val Asp Gly Cys Thr Cys Pro Ala		
725	730	735
Gly Thr Phe Leu Asn Asp Ala Gly Ala Cys Val Pro Ala Gln Glu Cys		
740	745	750
Pro Cys Tyr Ala His Gly Thr Val Leu Ala Pro Gly Glu Val Val His		
755	760	765
Asp Glu Gly Ala Val Cys Ser Cys Thr Gly Gly Lys Leu Ser Cys Leu		
770	775	780
Gly Ala Ser Leu Gln Lys Ser Thr Gly Cys Ala Ala Pro Met Val Tyr		
785	790	795
Leu Asp Cys Ser Asn Ser Ser Ala Gly Thr Pro Gly Ala Glu Cys Leu		
805	810	815
Arg Ser Cys His Thr Leu Asp Val Gly Cys Phe Ser Thr His Cys Val		
820	825	830
Ser Gly Cys Val Cys Pro Pro Gly Leu Val Ser Asp Gly Ser Gly Gly		
835	840	845
Cys Ile Ala Glu Glu Asp Cys Pro Cys Val His Asn Glu Ala Thr Tyr		
850	855	860
Lys Pro Gly Glu Thr Ile Arg Val Asp Cys Asn Thr Cys Thr Cys Arg		
865	870	875
Asn Arg Arg Trp Glu Cys Ser His Arg Leu Cys Leu Gly Thr Cys Val		
885	890	895
Ala Tyr Gly Asp Gly His Phe Ile Thr Phe Asp Gly Asp Arg Tyr Ser		
900	905	910
Phe Glu Gly Ser Cys Glu Tyr Ile Leu Ala Gln Asp Tyr Cys Gly Asp		
915	920	925
Asn Thr Thr His Gly Thr Phe Arg Ile Val Thr Glu Asn Ile Pro Cys		
930	935	940
Gly Thr Thr Gly Thr Thr Cys Ser Lys Ala Ile Lys Leu Phe Val Glu		
945	950	955
Ser Tyr Glu Leu Ile Leu Gln Glu Gly Thr Phe Lys Ala Val Ala Arg		
965	970	975
Gly Pro Gly Gly Asp Pro Pro Tyr Lys Ile Arg Tyr Met Gly Ile Phe		
980	985	990

Leu Val Ile Glu Thr His Gly Met Ala Val Ser Trp Asp Arg Lys Thr	995	1000	1005
Ser Val Phe Ile Arg Leu His Gln Asp Tyr Lys Gly Arg Val Cys	1010	1015	1020
Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Asp Asn Ala Ile Asn Asp Phe Ala	1025	1030	1035
Thr Arg Ser Arg Ser Val Val Gly Asp Ala Leu Glu Phe Gly Asn	1040	1045	1050
Ser Trp Lys Leu Ser Pro Ser Cys Pro Asp Ala Leu Ala Pro Lys	1055	1060	1065
Asp Pro Cys Thr Ala Asn Pro Phe Arg Lys Ser Trp Ala Gln Lys	1070	1075	1080
Gln Cys Ser Ile Leu His Gly Pro Thr Phe Ala Ala Cys Arg Ser	1085	1090	1095
Gln Val Asp Ser Thr Lys Tyr Tyr Glu Ala Cys Val Asn Asp Ala	1100	1105	1110
Cys Ala Cys Asp Ser Gly Gly Asp Cys Glu Cys Phe Cys Thr Ala	1115	1120	1125
Val Ala Ala Tyr Ala Gln Ala Cys His Asp Ala Gly Leu Cys Val	1130	1135	1140
Ser Trp Arg Thr Pro Asp Thr Cys Pro Leu Phe Cys Asp Phe Tyr	1145	1150	1155
Asn Pro His Gly Gly Cys Glu Trp His Tyr Gln Pro Cys Gly Ala	1160	1165	1170
Pro Cys Leu Lys Thr Cys Arg Asn Pro Ser Gly His Cys Leu Val	1175	1180	1185
Asp Leu Pro Gly Leu Glu Gly Cys Tyr Pro Lys Cys Pro Pro Ser	1190	1195	1200
Gln Pro Phe Phe Asn Glu Asp Gln Met Lys Cys Val Ala Gln Cys	1205	1210	1215
Gly Cys Tyr Asp Lys Asp Gly Asn Tyr Tyr Asp Val Gly Ala Arg	1220	1225	1230
Val Pro Thr Ala Glu Asn Cys Gln Ser Cys Asn Cys Thr Pro Ser	1235	1240	1245
Gly Ile Gln Cys Ala His Ser Leu Glu Ala Cys Thr Cys Thr Tyr	1250	1255	1260
Glu Asp Arg Thr Tyr Ser Tyr Gln Asp Val Ile Tyr Asn Thr Thr	1265	1270	1275
Asp Gly Leu Gly Ala Cys Leu Ile Ala Ile Cys Gly Ser Asn Gly			

1280	1285	1290
Thr Ile Ile Arg Lys Ala	Val Ala Cys Pro Gly	Thr Pro Ala Thr
1295	1300	1305
Thr Pro Phe Thr Phe Thr	Thr Ala Trp Val Pro	His Ser Thr Thr
1310	1315	1320
Ser Pro Ala Leu Pro Val	Ser Thr Val Cys Val	Arg Glu Val Cys
1325	1330	1335
Arg Trp Ser Ser Trp Tyr	Asn Gly His Arg Pro	Glu Pro Gly Leu
1340	1345	1350
Gly Gly Gly Asp Phe Glu	Thr Phe Glu Asn Leu	Arg Gln Arg Gly
1355	1360	1365
Tyr Gln Val Cys Pro Val	Leu Ala Asp Ile Glu	Cys Arg Ala Ala
1370	1375	1380
Gln Leu Pro Asp Met Pro	Leu Glu Glu Leu Gly	Gln Gln Val Asp
1385	1390	1395
Cys Asp Arg Met Arg Gly	Leu Met Cys Ala Asn	Ser Gln Gln Ser
1400	1405	1410
Pro Pro Leu Cys His Asp	Tyr Glu Leu Arg Val	Leu Cys Cys Glu
1415	1420	1425
Tyr Val Pro Cys Gly Pro	Ser Pro Ala Pro Gly	Thr Ser Pro Gln
1430	1435	1440
Pro Ser Leu Ser Ala Ser	Thr Glu Pro Ala Val	Pro Thr Pro Thr
1445	1450	1455
Gln Thr Thr Ala Thr Glu	Lys Thr Thr Leu Trp	Val Thr Pro Ser
1460	1465	1470
Ile Arg Ser Thr Ala Ala	Leu Thr Ser Gln Thr	Gly Ser Ser Ser
1475	1480	1485
Gly Pro Val Thr Val Thr	Pro Ser Ala Pro Gly	Thr Thr Thr Cys
1490	1495	1500
Gln Pro Arg Cys Gln Trp	Thr Glu Trp Phe Asp	Glu Asp Tyr Pro
1505	1510	1515
Lys Ser Glu Gln Leu Gly	Gly Asp Val Glu Ser	Tyr Asp Lys Ile
1520	1525	1530
Arg Ala Ala Gly Gly His	Leu Cys Gln Gln Pro	Lys Asp Ile Glu
1535	1540	1545
Cys Gln Ala Glu Ser Phe	Pro Asn Trp Thr Leu	Ala Gln Val Gly
1550	1555	1560
Gln Lys Val His Cys Asp	Val His Phe Gly Leu	Val Cys Arg Asn
1565	1570	1575

Trp Glu Gln Glu Gly Val Phe Lys Met Cys Tyr Asn Tyr Arg Ile	1580	1585	1590
Arg Val Leu Cys Cys Ser Asp Asp His Cys Arg Gly Arg Ala Thr	1595	1600	1605
Thr Pro Pro Pro Thr Thr Glu Leu Glu Thr Ala Thr Thr Thr Thr	1610	1615	1620
Thr Gln Ala Leu Phe Ser Thr Pro Gln Pro Thr Ser Ser Pro Gly	1625	1630	1635
Leu Thr Arg Ala Pro Pro Ala Ser Thr Thr Ala Val Pro Thr Leu	1640	1645	1650
Ser Glu Gly Leu Thr Ser Pro Arg Tyr Thr Ser Thr Leu Gly Thr	1655	1660	1665
Ala Thr Thr Gly Gly Pro Thr Thr Pro Ala Gly Ser Thr Glu Pro	1670	1675	1680
Thr Val Pro Gly Val Ala Thr Ser Thr Leu Pro Thr Arg Ser Ala	1685	1690	1695
Leu Pro Gly Thr Thr Gly Ser Leu Gly Thr Trp Arg Pro Ser Gln	1700	1705	1710
Pro Pro Thr Leu Ala Pro Thr Thr Met Ala Thr Ser Arg Ala Arg	1715	1720	1725
Pro Thr Gly Thr Ala Ser Thr Ala Ser Lys Glu Pro Leu Thr Thr	1730	1735	1740
Ser Leu Ala Pro Thr Leu Thr Ser Glu Leu Ser Thr Ser Gln Ala	1745	1750	1755
Glu Thr Ser Thr Pro Arg Thr Glu Thr Thr Met Ser Pro Leu Thr	1760	1765	1770
Asn Thr Thr Thr Ser Gln Gly Thr Thr Arg Cys Gln Pro Lys Cys	1775	1780	1785
Glu Trp Thr Glu Trp Phe Asp Val Asp Phe Pro Thr Ser Gly Val	1790	1795	1800
Ala Gly Gly Asp Met Glu Thr Phe Glu Asn Ile Arg Ala Ala Gly	1805	1810	1815
Gly Lys Met Cys Trp Ala Pro Lys Ser Ile Glu Cys Arg Ala Glu	1820	1825	1830
Asn Tyr Pro Glu Val Ser Ile Asp Gln Val Gly Gln Val Leu Thr	1835	1840	1845
Cys Ser Leu Glu Thr Gly Leu Thr Cys Lys Asn Glu Asp Gln Thr	1850	1855	1860
Gly Arg Phe Asn Met Cys Phe Asn Tyr Asn Val Arg Val Leu Cys			

1865	1870	1875
Cys Asp Asp Tyr Ser His	Cys Pro Ser Thr Pro	Ala Thr Ser Ser
1880	1885	1890
Thr Ala Thr Pro Ser Ser	Thr Pro Gly Thr Thr	Trp Ile Leu Thr
1895	1900	1905
Lys Pro Thr Thr Thr Ala	Thr Thr Thr Ala Ser	Thr Gly Ser Thr
1910	1915	1920
Ala Thr Pro Thr Ser Thr	Leu Arg Thr Ala Pro	Pro Pro Lys Val
1925	1930	1935
Leu Thr Thr Thr Ala Thr	Thr Pro Thr Val Thr	Ser Ser Lys Ala
1940	1945	1950
Thr Pro Ser Ser Ser Pro	Gly Thr Ala Thr Ala	Leu Pro Ala Leu
1955	1960	1965
Arg Ser Thr Ala Thr Thr	Pro Thr Ala Thr Ser	Val Thr Pro Ile
1970	1975	1980
Pro Ser Ser Ser Leu Gly	Thr Thr Trp Thr Arg	Leu Ser Gln Thr
1985	1990	1995
Thr Thr Pro Thr Ala Thr	Met Ser Thr Ala Thr	Pro Ser Ser Thr
2000	2005	2010
Pro Glu Thr Ala His Thr	Ser Thr Val Leu Thr	Ala Thr Ala Thr
2015	2020	2025
Thr Thr Gly Ala Thr Gly	Ser Val Ala Thr Pro	Ser Ser Thr Pro
2030	2035	2040
Gly Thr Ala His Thr Thr	Lys Val Pro Thr Thr	Thr Thr Thr Gly
2045	2050	2055
Phe Thr Ala Thr Pro Ser	Ser Ser Pro Gly Thr	Ala Leu Thr Pro
2060	2065	2070
Pro Val Trp Ile Ser Thr	Thr Thr Thr Pro Thr	Thr Arg Gly Ser
2075	2080	2085
Thr Val Thr Pro Ser Ser	Ile Pro Gly Thr Thr	His Thr Ala Thr
2090	2095	2100
Val Leu Thr Thr Thr Thr	Thr Thr Val Ala Thr	Gly Ser Met Ala
2105	2110	2115
Thr Pro Ser Ser Ser Thr	Gln Thr Ser Gly Thr	Pro Pro Ser Leu
2120	2125	2130
Thr Thr Thr Ala Thr Thr	Ile Thr Ala Thr Gly	Ser Thr Thr Asn
2135	2140	2145
Pro Ser Ser Thr Pro Gly	Thr Thr Pro Ile Pro	Pro Val Leu Thr
2150	2155	2160

Thr Thr Ala Thr Thr Pro Ala Ala Thr Ser Asn Thr Val Thr Pro 2165	2170	2175
Ser Ser Ala Leu Gly Thr Thr His Thr Pro Pro Val Pro Asn Thr 2180	2185	2190
Met Ala Thr Thr His Gly Arg Ser Leu Pro Pro Ser Ser Pro His 2195	2200	2205
Thr Val Arg Thr Ala Trp Thr Ser Ala Thr Ser Gly Ile Leu Gly 2210	2215	2220
Thr Thr His Ile Thr Glu Pro Ser Thr Val Thr Ser His Thr Leu 2225	2230	2235
Ala Ala Thr Thr Gly Thr Thr Gln His Ser Thr Pro Ala Leu Ser 2240	2245	2250
Ser Pro His Pro Ser Ser Arg Thr Thr Glu Ser Pro Pro Ser Pro 2255	2260	2265
Gly Thr Thr Thr Pro Gly His Thr Thr Ala Thr Ser Arg Thr Thr 2270	2275	2280
Ala Thr Ala Thr Pro Ser Lys Thr Arg Thr Ser Thr Leu Leu Pro 2285	2290	2295
Ser Ser Pro Thr Ser Ala Pro Ile Thr Thr Val Val Thr Met Gly 2300	2305	2310
Cys Glu Pro Gln Cys Ala Trp Ser Glu Trp Leu Asp Tyr Ser Tyr 2315	2320	2325
Pro Met Pro Gly Pro Ser Gly Gly Asp Phe Asp Thr Tyr Ser Asn 2330	2335	2340
Ile Arg Ala Ala Gly Gly Ala Val Cys Glu Gln Pro Leu Gly Leu 2345	2350	2355
Glu Cys Arg Ala Gln Ala Gln Pro Gly Val Pro Leu Arg Glu Leu 2360	2365	2370
Gly Gln Val Val Glu Cys Ser Leu Asp Phe Gly Leu Val Cys Arg 2375	2380	2385
Asn Arg Glu Gln Val Gly Lys Phe Lys Met Cys Phe Asn Tyr Glu 2390	2395	2400
Ile Arg Val Phe Cys Cys Asn Tyr Gly His Cys Pro Ser Thr Pro 2405	2410	2415
Ala Thr Ser Ser Thr Ala Met Pro Ser Ser Thr Pro Gly Thr Thr 2420	2425	2430
Trp Ile Leu Thr Glu Leu Thr Thr Thr Ala Thr Thr Thr Glu Ser 2435	2440	2445
Thr Gly Ser Thr Ala Thr Pro Ser Ser Thr Pro Gly Thr Thr Trp		

2450	2455	2460
Ile Leu Thr Glu Pro Ser Thr Thr Ala Thr Val Thr Val Pro Thr		
2465	2470	2475
Gly Ser Thr Ala Thr Ala Ser Ser Thr Gln Ala Thr Ala Gly Thr		
2480	2485	2490
Pro His Val Ser Thr Thr Ala Thr Thr Pro Thr Val Thr Ser Ser		
2495	2500	2505
Lys Ala Thr Pro Phe Ser Ser Pro Gly Thr Ala Thr Ala Leu Pro		
2510	2515	2520
Ala Leu Arg Ser Thr Ala Thr Thr Pro Thr Ala Thr Ser Phe Thr		
2525	2530	2535
Ala Ile Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Thr Trp Thr Arg Leu Ser		
2540	2545	2550
Gln Thr Thr Thr Pro Thr Ala Thr Met Ser Thr Ala Thr Pro Ser		
2555	2560	2565
Ser Thr Pro Glu Thr Val His Thr Ser Thr Val Leu Thr Thr Thr		
2570	2575	2580
Ala Thr Thr Thr Gly Ala Thr Gly Ser Val Ala Thr Pro Ser Ser		
2585	2590	2595
Thr Pro Gly Thr Ala His Thr Thr Lys Val Leu Thr Thr Thr Thr		
2600	2605	2610
Thr Gly Phe Thr Ala Thr Pro Ser Ser Ser Pro Gly Thr Ala Arg		
2615	2620	2625
Thr Leu Pro Val Trp Ile Ser Thr Thr Thr Thr Pro Thr Thr Arg		
2630	2635	2640
Gly Ser Thr Val Thr Pro Ser Ser Ile Pro Gly Thr Thr His Thr		
2645	2650	2655
Pro Thr Val Leu Thr Thr Thr Thr Thr Thr Val Ala Thr Gly Ser		
2660	2665	2670
Met Ala Thr Pro Ser Ser Ser Thr Gln Thr Ser Gly Thr Pro Pro		
2675	2680	2685
Ser Leu Thr Thr Thr Ala Thr Thr Ile Thr Ala Thr Gly Ser Thr		
2690	2695	2700
Thr Asn Pro Ser Ser Thr Pro Gly Thr Thr Pro Ile Pro Pro Val		
2705	2710	2715
Leu Thr Thr Thr Ala Thr Thr Pro Ala Ala Thr Ser Ser Thr Val		
2720	2725	2730
Thr Pro Ser Ser Ala Leu Gly Thr Thr His Thr Pro Pro Val Pro		
2735	2740	2745

Asn Thr Thr Ala Thr Thr His Gly Arg Ser Leu Ser Pro Ser Ser	2750	2755	2760
Pro His Thr Val Arg Thr Ala Trp Thr Ser Ala Thr Ser Gly Thr	2765	2770	2775
Leu Gly Thr Thr His Ile Thr Glu Pro Ser Thr Gly Thr Ser His	2780	2785	2790
Thr Pro Ala Ala Thr Thr Gly Thr Thr Gln His Ser Thr Pro Ala	2795	2800	2805
Leu Ser Ser Pro His Pro Ser Ser Arg Thr Thr Glu Ser Pro Pro	2810	2815	2820
Ser Pro Gly Thr Thr Thr Pro Gly His Thr Arg Ala Thr Ser Arg	2825	2830	2835
Thr Thr Ala Thr Ala Thr Pro Ser Lys Thr Arg Thr Ser Thr Leu	2840	2845	2850
Leu Pro Ser Ser Pro Thr Ser Ala Pro Ile Thr Thr Val Val Thr	2855	2860	2865
Met Gly Cys Glu Pro Gln Cys Ala Trp Ser Glu Trp Leu Asp Tyr	2870	2875	2880
Ser Tyr Pro Met Pro Gly Pro Ser Gly Gly Asp Phe Asp Thr Tyr	2885	2890	2895
Ser Asn Ile Arg Ala Ala Gly Gly Ala Val Cys Glu Gln Pro Leu	2900	2905	2910
Gly Leu Glu Cys Arg Ala Gln Ala Gln Pro Gly Val Pro Leu Arg	2915	2920	2925
Glu Leu Gly Gln Val Val Glu Cys Ser Leu Asp Phe Gly Leu Val	2930	2935	2940
Cys Arg Asn Arg Glu Gln Val Gly Lys Phe Lys Met Cys Phe Asn	2945	2950	2955
Tyr Glu Ile Arg Val Phe Cys Cys Asn Tyr Gly His Cys Pro Ser	2960	2965	2970
Thr Pro Ala Thr Ser Ser Thr Ala Thr Pro Ser Ser Thr Pro Gly	2975	2980	2985
Thr Thr Trp Ile Leu Thr Glu Gln Thr Thr Ala Ala Thr Thr Thr	2990	2995	3000
Ala Thr Thr Gly Ser Thr Ala Ile Pro Ser Ser Thr Pro Gly Thr	3005	3010	3015
Ala Pro Pro Pro Lys Val Leu Thr Ser Thr Ala Thr Thr Pro Thr	3020	3025	3030
Ala Thr Ser Ser Lys Ala Thr Ser Ser Ser Ser Pro Arg Thr Ala			

3035	3040	3045
Thr Thr Leu Pro Val Leu	Thr Ser Thr Ala Thr	Lys Ser Thr Ala
3050	3055	3060
Thr Ser Phe Thr Pro Ile	Pro Ser Phe Thr Leu	Gly Thr Thr Gly
3065	3070	3075
Thr Leu Pro Glu Gln Thr	Thr Thr Pro Met Ala	Thr Met Ser Thr
3080	3085	3090
Ile His Pro Ser Ser Thr	Pro Glu Thr Thr His	Thr Ser Thr Val
3095	3100	3105
Leu Thr Thr Lys Ala Thr	Thr Thr Arg Ala Thr	Ser Ser Met Ser
3110	3115	3120
Thr Pro Ser Ser Thr Pro	Gly Thr Thr Trp Ile	Leu Thr Glu Leu
3125	3130	3135
Thr Thr Ala Ala Thr Thr	Thr Ala Ala Thr Gly	Pro Thr Ala Thr
3140	3145	3150
Pro Ser Ser Thr Pro Gly	Thr Thr Trp Ile Leu	Thr Glu Pro Ser
3155	3160	3165
Thr Thr Ala Thr Val Thr	Val Pro Thr Gly Ser	Thr Ala Thr Ala
3170	3175	3180
Ser Ser Thr Arg Ala Thr	Ala Gly Thr Leu Lys	Val Leu Thr Ser
3185	3190	3195
Thr Ala Thr Thr Pro Thr	Val Ile Ser Ser Arg	Ala Thr Pro Ser
3200	3205	3210
Ser Ser Pro Gly Thr Ala	Thr Ala Leu Pro Ala	Leu Arg Ser Thr
3215	3220	3225
Ala Thr Thr Pro Thr Ala	Thr Ser Val Thr Ala	Ile Pro Ser Ser
3230	3235	3240
Ser Leu Gly Thr Ala Trp	Thr Arg Leu Ser Gln	Thr Thr Thr Pro
3245	3250	3255
Thr Ala Thr Met Ser Thr	Ala Thr Pro Ser Ser	Thr Pro Glu Thr
3260	3265	3270
Val His Thr Ser Thr Val	Leu Thr Thr Thr Thr	Thr Thr Thr Arg
3275	3280	3285
Ala Thr Gly Ser Val Ala	Thr Pro Ser Ser Thr	Pro Gly Thr Ala
3290	3295	3300
His Thr Thr Lys Val Pro	Thr Thr Thr Thr Thr	Gly Phe Thr Ala
3305	3310	3315
Thr Pro Ser Ser Ser Pro	Gly Thr Ala Leu Thr	Pro Pro Val Trp
3320	3325	3330

Ile Ser Thr Thr Thr Thr Pro Thr Thr Arg Gly Ser Thr Val Thr 3335	3340	3345
Pro Ser Ser Ile Pro Gly Thr Thr His Thr Ala Thr Val Leu Thr 3350	3355	3360
Thr Thr Thr Thr Thr Val Ala Thr Gly Ser Met Ala Thr Pro Ser 3365	3370	3375
Ser Ser Thr Gln Thr Ser Gly Thr Pro Pro Ser Leu Thr Thr Thr 3380	3385	3390
Ala Thr Thr Ile Thr Ala Thr Gly Ser Thr Thr Asn Pro Ser Ser 3395	3400	3405
Thr Pro Gly Thr Thr Pro Ile Pro Pro Val Leu Thr Thr Thr Ala 3410	3415	3420
Thr Thr Pro Ala Ala Thr Ser Ser Thr Val Thr Pro Ser Ser Ala 3425	3430	3435
Leu Gly Thr Thr His Thr Pro Pro Val Pro Asn Thr Thr Ala Thr 3440	3445	3450
Thr His Gly Arg Ser Leu Pro Pro Ser Ser Pro His Thr Val Arg 3455	3460	3465
Thr Ala Trp Thr Ser Ala Thr Ser Gly Ile Leu Gly Thr Thr His 3470	3475	3480
Ile Thr Glu Pro Ser Thr Val Thr Ser His Thr Pro Ala Ala Thr 3485	3490	3495
Thr Ser Thr Thr Gln His Ser Thr Pro Ala Leu Ser Ser Pro His 3500	3505	3510
Pro Ser Ser Arg Thr Thr Glu Ser Pro Pro Ser Pro Gly Thr Thr 3515	3520	3525
Thr Pro Gly His Thr Arg Gly Thr Ser Arg Thr Thr Ala Thr Ala 3530	3535	3540
Thr Pro Ser Lys Thr Arg Thr Ser Thr Leu Leu Pro Ser Ser Pro 3545	3550	3555
Thr Ser Ala Pro Ile Thr Thr Val Val Thr Thr Gly Cys Glu Pro 3560	3565	3570
Gln Cys Ala Trp Ser Glu Trp Leu Asp Tyr Ser Tyr Pro Met Pro 3575	3580	3585
Gly Pro Ser Gly Gly Asp Phe Asp Thr Tyr Ser Asn Ile Arg Ala 3590	3595	3600
Ala Gly Gly Ala Val Cys Glu Gln Pro Leu Gly Leu Glu Cys Arg 3605	3610	3615
Ala Gln Ala Gln Pro Gly Val Pro Leu Arg Glu Leu Gly Gln Val		

3620	3625	3630
Val Glu Cys Ser Leu Asp	Phe Gly Leu Val Cys	Arg Asn Arg Glu
3635	3640	3645
Gln Val Gly Lys Phe Lys	Met Cys Phe Asn Tyr	Glu Ile Arg Val
3650	3655	3660
Phe Cys Cys Asn Tyr Gly	His Cys Pro Ser Thr	Pro Ala Thr Ser
3665	3670	3675
Ser Thr Ala Thr Pro Ser	Ser Thr Pro Gly Thr	Thr Trp Ile Leu
3680	3685	3690
Thr Lys Leu Thr Thr Thr	Ala Thr Thr Thr Glu	Ser Thr Gly Ser
3695	3700	3705
Thr Ala Thr Pro Ser Ser	Thr Pro Gly Thr Thr	Trp Ile Leu Thr
3710	3715	3720
Glu Pro Ser Thr Thr Ala	Thr Val Thr Val Pro	Thr Gly Ser Thr
3725	3730	3735
Ala Thr Ala Ser Ser Thr	Gln Ala Thr Ala Gly	Thr Pro His Val
3740	3745	3750
Ser Thr Thr Ala Thr Thr	Pro Thr Val Thr Ser	Ser Lys Ala Thr
3755	3760	3765
Pro Phe Ser Ser Pro Gly	Thr Ala Thr Ala Leu	Pro Ala Leu Arg
3770	3775	3780
Ser Thr Ala Thr Thr Pro	Thr Ala Thr Ser Phe	Thr Ala Ile Pro
3785	3790	3795
Ser Ser Ser Leu Gly Thr	Thr Trp Thr Arg Leu	Ser Gln Thr Thr
3800	3805	3810
Thr Pro Thr Ala Thr Met	Ser Thr Ala Thr Pro	Ser Ser Thr Pro
3815	3820	3825
Glu Thr Ala His Thr Ser	Thr Val Leu Thr Thr	Thr Ala Thr Thr
3830	3835	3840
Thr Arg Ala Thr Gly Ser	Val Ala Thr Pro Ser	Ser Thr Pro Gly
3845	3850	3855
Thr Ala His Thr Thr Lys	Val Pro Thr Thr Thr	Thr Thr Gly Phe
3860	3865	3870
Thr Val Thr Pro Ser Ser	Ser Pro Gly Thr Ala	Arg Thr Pro Pro
3875	3880	3885
Val Trp Ile Ser Thr Thr	Thr Thr Pro Thr Thr	Ser Gly Ser Thr
3890	3895	3900
Val Thr Pro Ser Ser Val	Pro Gly Thr Thr His	Thr Pro Thr Val
3905	3910	3915

Leu Thr Thr Thr Thr Thr Thr Val Ala Thr Gly Ser Met Ala Thr  
 3920 3925 3930  
 Pro Ser Ser Ser Thr Gln Thr Ser Gly Thr Pro Pro Ser Leu Ile  
 3935 3940 3945  
 Thr Thr Ala Thr Thr Ile Thr Ala Thr Gly Ser Thr Thr Asn Pro  
 3950 3955 3960  
 Ser Ser Thr Pro Gly Thr Thr Pro Ile Pro Pro Val Leu Thr Thr  
 3965 3970 3975  
 Thr Ala Thr Thr Pro Ala Ala Thr Ser Ser Thr Val Thr Pro Ser  
 3980 3985 3990  
 Ser Ala Leu Gly Thr Thr His Thr Pro Pro Val Pro Asn Thr Thr  
 3995 4000 4005  
 Ala Thr Thr His Gly Arg Ser Leu Ser Pro Ser Ser Pro His Thr  
 4010 4015 4020  
 Val Arg Thr Ala Trp Thr Ser Ala Thr Ser Gly Thr Leu Gly Thr  
 4025 4030 4035  
 Thr His Ile Thr Glu Pro Ser Thr Gly Thr Ser His Thr Pro Ala  
 4040 4045 4050  
 Ala Thr Thr Gly Thr Thr Gln His Ser Thr Pro Ala Leu Ser Ser  
 4055 4060 4065  
 Pro His Pro Ser Ser Arg Thr Thr Glu Ser Pro Pro Ser Pro Gly  
 4070 4075 4080  
 Thr Thr Thr Pro Gly His Thr Thr Ala Thr Ser Arg Thr Thr Ala  
 4085 4090 4095  
 Thr Ala Thr Pro Ser Lys Thr Arg Thr Ser Thr Leu Leu Pro Ser  
 4100 4105 4110  
 Ser Pro Thr Ser Ala Pro Ile Thr Thr Val Val Thr Thr Gly Cys  
 4115 4120 4125  
 Glu Pro Gln Cys Ala Trp Ser Glu Trp Leu Asp Tyr Ser Tyr Pro  
 4130 4135 4140  
 Met Pro Gly Pro Ser Gly Gly Asp Phe Asp Thr Tyr Ser Asn Ile  
 4145 4150 4155  
 Arg Ala Ala Gly Gly Ala Val Cys Glu Gln Pro Leu Gly Leu Glu  
 4160 4165 4170  
 Cys Arg Ala Gln Ala Gln Pro Gly Val Pro Leu Gly Glu Leu Gly  
 4175 4180 4185  
 Gln Val Val Glu Cys Ser Leu Asp Phe Gly Leu Val Cys Arg Asn  
 4190 4195 4200  
 Arg Glu Gln Val Gly Lys Phe Lys Met Cys Phe Asn Tyr Glu Ile

4205	4210	4215
Arg Val Phe Cys Cys Asn Tyr Gly His Cys Pro Ser Thr Pro Ala		
4220	4225	4230
Thr Ser Ser Thr Ala Met Pro Ser Ser Thr Pro Gly Thr Thr Trp		
4235	4240	4245
Ile Leu Thr Glu Leu Thr Thr Thr Ala Thr Thr Thr Ala Ser Thr		
4250	4255	4260
Gly Ser Thr Ala Thr Pro Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ala Pro Pro		
4265	4270	4275
Pro Lys Val Leu Thr Ser Pro Ala Thr Thr Pro Thr Ala Thr Ser		
4280	4285	4290
Ser Lys Ala Thr Ser Ser Ser Ser Pro Arg Thr Ala Thr Thr Leu		
4295	4300	4305
Pro Val Leu Thr Ser Thr Ala Thr Lys Ser Thr Ala Thr Ser Val		
4310	4315	4320
Thr Pro Ile Pro Ser Ser Thr Leu Gly Thr Thr Gly Thr Leu Pro		
4325	4330	4335
Glu Gln Thr Thr Thr Pro Val Ala Thr Met Ser Thr Ile His Pro		
4340	4345	4350
Ser Ser Thr Pro Glu Thr Thr His Thr Ser Thr Val Leu Thr Thr		
4355	4360	4365
Lys Ala Thr Thr Thr Arg Ala Thr Ser Ser Thr Ser Thr Pro Ser		
4370	4375	4380
Ser Thr Pro Gly Thr Thr Trp Ile Leu Thr Glu Leu Thr Thr Ala		
4385	4390	4395
Ala Thr Thr Thr Ala Ala Thr Gly Pro Thr Ala Thr Pro Ser Ser		
4400	4405	4410
Thr Pro Gly Thr Thr Trp Ile Leu Thr Glu Leu Thr Thr Thr Ala		
4415	4420	4425
Thr Thr Thr Ala Ser Thr Gly Ser Thr Ala Thr Pro Ser Ser Thr		
4430	4435	4440
Pro Gly Thr Thr Trp Ile Leu Thr Glu Pro Ser Thr Thr Ala Thr		
4445	4450	4455
Val Thr Val Pro Thr Gly Ser Thr Ala Thr Ala Ser Ser Thr Gln		
4460	4465	4470
Ala Thr Ala Gly Thr Pro His Val Ser Thr Thr Ala Thr Thr Pro		
4475	4480	4485
Thr Val Thr Ser Ser Lys Ala Thr Pro Ser Ser Ser Pro Gly Thr		
4490	4495	4500

Ala Thr Ala Leu Pro Ala Leu Arg Ser Thr Ala Thr Thr Pro Thr 4505	4510	4515
Ala Thr Ser Phe Thr Ala Ile Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Thr 4520	4525	4530
Trp Thr Arg Leu Ser Gln Thr Thr Thr Pro Thr Ala Thr Met Ser 4535	4540	4545
Thr Ala Thr Pro Ser Ser Thr Pro Glu Thr Val His Thr Ser Thr 4550	4555	4560
Val Leu Thr Ala Thr Ala Thr Thr Thr Gly Ala Thr Gly Ser Val 4565	4570	4575
Ala Thr Pro Ser Ser Thr Pro Gly Thr Ala His Thr Thr Lys Val 4580	4585	4590
Pro Thr Thr Thr Thr Thr Gly Phe Thr Ala Thr Pro Ser Ser Ser 4595	4600	4605
Pro Gly Thr Ala Leu Thr Pro Pro Val Trp Ile Ser Thr Thr Thr 4610	4615	4620
Thr Pro Thr Thr Thr Thr Pro Thr Thr Ser Gly Ser Thr Val Thr 4625	4630	4635
Pro Ser Ser Ile Pro Gly Thr Thr His Thr Ala Arg Val Leu Thr 4640	4645	4650
Thr Thr Thr Thr Thr Val Ala Thr Gly Ser Met Ala Thr Pro Ser 4655	4660	4665
Ser Ser Thr Gln Thr Ser Gly Thr Pro Pro Ser Leu Thr Thr Thr 4670	4675	4680
Ala Thr Thr Ile Thr Ala Thr Gly Ser Thr Thr Asn Pro Ser Ser 4685	4690	4695
Thr Pro Gly Thr Thr Pro Ile Thr Pro Val Leu Thr Ser Thr Ala 4700	4705	4710
Thr Thr Pro Ala Ala Thr Ser Ser Lys Ala Thr Ser Ser Ser Ser 4715	4720	4725
Pro Arg Thr Ala Thr Thr Leu Pro Val Leu Thr Ser Thr Ala Thr 4730	4735	4740
Lys Ser Thr Ala Thr Ser Phe Thr Pro Ile Pro Ser Ser Thr Leu 4745	4750	4755
Trp Thr Thr Trp Thr Val Pro Ala Gln Thr Thr Thr Pro Met Ser 4760	4765	4770
Thr Met Ser Thr Ile His Thr Ser Ser Thr Pro Glu Thr Thr His 4775	4780	4785
Thr Ser Thr Val Leu Thr Thr Thr Ala Thr Met Thr Arg Ala Thr		

4790	4795	4800
Asn Ser Thr Ala Thr Pro	Ser Ser Thr Leu Gly	Thr Thr Arg Ile
4805	4810	4815
Leu Thr Glu Leu Thr Thr	Thr Ala Thr Thr Thr	Ala Ala Thr Gly
4820	4825	4830
Ser Thr Ala Thr Leu Ser	Ser Thr Pro Gly Thr	Thr Trp Ile Leu
4835	4840	4845
Thr Glu Pro Ser Thr Ile	Ala Thr Val Met Val	Pro Thr Gly Ser
4850	4855	4860
Thr Ala Thr Ala Ser Ser	Thr Leu Gly Thr Ala	His Thr Pro Lys
4865	4870	4875
Val Val Thr Thr Met Ala	Thr Met Pro Thr Ala	Thr Ala Ser Thr
4880	4885	4890
Val Pro Ser Ser Ser Thr	Val Gly Thr Thr Arg	Thr Pro Ala Val
4895	4900	4905
Leu Pro Ser Ser Leu Pro	Thr Phe Ser Val Ser	Thr Val Ser Ser
4910	4915	4920
Ser Val Leu Thr Thr Leu	Arg Pro Thr Gly Phe	Pro Ser Ser His
4925	4930	4935
Phe Ser Thr Pro Cys Phe	Cys Arg Ala Phe Gly	Gln Phe Phe Ser
4940	4945	4950
Pro Gly Glu Val Ile Tyr	Asn Lys Thr Asp Arg	Ala Gly Cys His
4955	4960	4965
Phe Tyr Ala Val Cys Asn	Gln His Cys Asp Ile	Asp Arg Phe Gln
4970	4975	4980
Gly Ala Cys Pro Thr Ser	Pro Pro Pro Val Ser	Ser Ala Pro Leu
4985	4990	4995
Ser Ser Pro Ser Pro Ala	Pro Gly Cys Asp Asn	Ala Ile Pro Leu
5000	5005	5010
Arg Gln Val Asn Glu Thr	Trp Thr Leu Glu Asn	Cys Thr Val Ala
5015	5020	5025
Arg Cys Val Gly Asp Asn	Arg Val Val Leu Leu	Asp Pro Lys Pro
5030	5035	5040
Val Ala Asn Val Thr Cys	Val Asn Lys His Leu	Pro Ile Lys Val
5045	5050	5055
Ser Asp Pro Ser Gln Pro	Cys Asp Phe His Tyr	Glu Cys Glu Cys
5060	5065	5070
Ile Cys Ser Met Trp Gly	Gly Ser His Tyr Ser	Thr Phe Asp Gly
5075	5080	5085

Thr Ser Tyr Thr Phe Arg Gly Asn Cys Thr Tyr Val Leu Met Arg		
5090	5095	5100
Glu Ile His Ala Arg Phe Gly Asn Leu Ser Leu Tyr Leu Asp Asn		
5105	5110	5115
His Tyr Cys Thr Ala Ser Ala Thr Ala Ala Ala Ala Arg Cys Pro		
5120	5125	5130
Arg Ala Leu Ser Ile His Tyr Lys Ser Met Asp Ile Val Leu Thr		
5135	5140	5145
Val Thr Met Val His Gly Lys Glu Glu Gly Leu Ile Leu Phe Asp		
5150	5155	5160
Gln Ile Pro Val Ser Ser Gly Phe Ser Lys Asn Gly Val Leu Val		
5165	5170	5175
Ser Val Leu Gly Thr Thr Thr Met Arg Val Asp Ile Pro Ala Leu		
5180	5185	5190
Gly Val Ser Val Thr Phe Asn Gly Gln Val Phe Gln Ala Arg Leu		
5195	5200	5205
Pro Tyr Ser Leu Phe His Asn Asn Thr Glu Gly Gln Cys Gly Thr		
5210	5215	5220
Cys Thr Asn Asn Gln Arg Asp Asp Cys Leu Gln Arg Asp Gly Thr		
5225	5230	5235
Thr Ala Ala Ser Cys Lys Asp Met Ala Lys Thr Trp Leu Val Pro		
5240	5245	5250
Asp Ser Arg Lys Asp Gly Cys Trp Ala Pro Thr Gly Thr Pro Pro		
5255	5260	5265
Thr Ala Ser Pro Ala Ala Pro Val Ser Ser Thr Pro Thr Pro Thr		
5270	5275	5280
Pro Cys Pro Pro Gln Pro Leu Cys Asp Leu Met Leu Ser Gln Val		
5285	5290	5295
Phe Ala Glu Cys His Asn Leu Val Pro Pro Gly Pro Phe Phe Asn		
5300	5305	5310
Ala Cys Ile Ser Asp His Cys Arg Gly Arg Leu Glu Val Pro Cys		
5315	5320	5325
Gln Ser Leu Glu Ala Tyr Ala Glu Leu Cys Arg Ala Arg Gly Val		
5330	5335	5340
Cys Ser Asp Trp Arg Gly Ala Thr Gly Gly Leu Cys Asp Leu Thr		
5345	5350	5355
Cys Pro Pro Thr Lys Val Tyr Lys Pro Cys Gly Pro Ile Gln Pro		
5360	5365	5370
Ala Thr Cys Asn Ser Arg Asn Gln Ser Pro Gln Leu Glu Gly Met		

5375	5380	5385
Ala Glu Gly Cys Phe Cys Pro Glu Asp Gln Ile Leu Phe Asn Ala		
5390	5395	5400
His Met Gly Ile Cys Val Gln Ala Cys Pro Cys Val Gly Pro Asp		
5405	5410	5415
Gly Phe Pro Lys Phe Pro Gly Glu Arg Trp Val Ser Asn Cys Gln		
5420	5425	5430
Ser Cys Val Cys Asp Glu Gly Ser Val Ser Val Gln Cys Lys Pro		
5435	5440	5445
Leu Pro Cys Asp Ala Gln Gly Gln Pro Pro Pro Cys Asn Arg Pro		
5450	5455	5460
Gly Phe Val Thr Val Thr Arg Pro Arg Ala Glu Asn Pro Cys Cys		
5465	5470	5475
Pro Glu Thr Val Cys Val Cys Asn Thr Thr Thr Cys Pro Gln Ser		
5480	5485	5490
Leu Pro Val Cys Pro Pro Gly Gln Glu Ser Ile Cys Thr Gln Glu		
5495	5500	5505
Glu Gly Asp Cys Cys Pro Thr Phe Arg Cys Arg Pro Gln Leu Cys		
5510	5515	5520
Ser Tyr Asn Gly Thr Phe Tyr Gly Val Gly Ala Thr Phe Pro Gly		
5525	5530	5535
Ala Leu Pro Cys His Met Cys Thr Cys Leu Ser Gly Asp Thr Gln		
5540	5545	5550
Asp Pro Thr Val Gln Cys Gln Glu Asp Ala Cys Asn Asn Thr Thr		
5555	5560	5565
Cys Pro Gln Gly Phe Glu Tyr Lys Arg Val Ala Gly Gln Cys Cys		
5570	5575	5580
Gly Glu Cys Val Gln Thr Ala Cys Leu Thr Pro Asp Gly Gln Pro		
5585	5590	5595
Val Gln Leu Asn Glu Thr Trp Val Asn Ser His Val Asp Asn Cys		
5600	5605	5610
Thr Val Tyr Leu Cys Glu Ala Glu Gly Gly Val His Leu Leu Thr		
5615	5620	5625
Pro Gln Pro Ala Ser Cys Pro Asp Val Ser Ser Cys Arg Gly Ser		
5630	5635	5640
Leu Arg Lys Thr Gly Cys Cys Tyr Ser Cys Glu Glu Asp Ser Cys		
5645	5650	5655
Gln Val Arg Ile Asn Thr Thr Ile Leu Trp His Gln Gly Cys Glu		
5660	5665	5670

Thr Glu Val Asn Ile Thr Phe Cys Glu Gly Ser Cys Pro Gly Ala			
5675	5680	5685	
Ser Lys Tyr Ser Ala Glu Ala Gln Ala Met Gln His Gln Cys Thr			
5690	5695	5700	
Cys Cys Gln Glu Arg Arg Val His Glu Glu Thr Val Pro Leu His			
5705	5710	5715	
Cys Pro Asn Gly Ser Ala Ile Leu His Thr Tyr Thr His Val Asp			
5720	5725	5730	
Glu Cys Gly Cys Thr Pro Phe Cys Val Pro Ala Pro Met Ala Pro			
5735	5740	5745	
Pro His Thr Arg Gly Phe Pro Ala Gln Glu Ala Thr Ala Val			
5750	5755	5760	
<210> 15			
<211> 217			
<212> PRT			
<213> 人			
<400> 15			
Met Glu Ala Ile Ala Lys Tyr Asp Phe Lys Ala Thr Ala Asp Asp Glu			
1	5	10	15
Leu Ser Phe Lys Arg Gly Asp Ile Leu Lys Val Leu Asn Glu Glu Cys			
	20	25	30
Asp Gln Asn Trp Tyr Lys Ala Glu Leu Asn Gly Lys Asp Gly Phe Ile			
	35	40	45
Pro Lys Asn Tyr Ile Glu Met Lys Pro His Pro Trp Phe Phe Gly Lys			
	50	55	60
Ile Pro Arg Ala Lys Ala Glu Glu Met Leu Ser Lys Gln Arg His Asp			
65	70	75	80
Gly Ala Phe Leu Ile Arg Glu Ser Glu Ser Ala Pro Gly Asp Phe Ser			
	85	90	95
Leu Ser Val Lys Phe Gly Asn Asp Val Gln His Phe Lys Val Leu Arg			
	100	105	110
Asp Gly Ala Gly Lys Tyr Phe Leu Trp Val Val Lys Phe Asn Ser Leu			
	115	120	125
Asn Glu Leu Val Asp Tyr His Arg Ser Thr Ser Val Ser Arg Asn Gln			
	130	135	140
Gln Ile Phe Leu Arg Asp Ile Glu Gln Val Pro Gln Gln Pro Thr Tyr			
145	150	155	160
Val Gln Ala Leu Phe Asp Phe Asp Pro Gln Glu Asp Gly Glu Leu Gly			
	165	170	175

Phe Arg Arg Gly Asp Phe Ile His Val Met Asp Asn Ser Asp Pro Asn  
 180 185 190  
 Trp Trp Lys Gly Ala Cys His Gly Gln Thr Gly Met Phe Pro Arg Asn  
 195 200 205  
 Tyr Val Thr Pro Val Asn Arg Asn Val  
 210 215  
 <210> 16  
 <211> 320  
 <212> PRT  
 <213> 人  
 <400> 16  
 Met Ala Gln Val Leu Arg Gly Thr Val Thr Asp Phe Pro Gly Phe Asp  
 1 5 10 15  
 Glu Arg Ala Asp Ala Glu Thr Leu Arg Lys Ala Met Lys Gly Leu Gly  
 20 25 30  
 Thr Asp Glu Glu Ser Ile Leu Thr Leu Leu Thr Ser Arg Ser Asn Ala  
 35 40 45  
 Gln Arg Gln Glu Ile Ser Ala Ala Phe Lys Thr Leu Phe Gly Arg Asp  
 50 55 60  
 Leu Leu Asp Asp Leu Lys Ser Glu Leu Thr Gly Lys Phe Glu Lys Leu  
 65 70 75 80  
 Ile Val Ala Leu Met Lys Pro Ser Arg Leu Tyr Asp Ala Tyr Glu Leu  
 85 90 95  
 Lys His Ala Leu Lys Gly Ala Gly Thr Asn Glu Lys Val Leu Thr Glu  
 100 105 110  
 Ile Ile Ala Ser Arg Thr Pro Glu Glu Leu Arg Ala Ile Lys Gln Val  
 115 120 125  
 Tyr Glu Glu Glu Tyr Gly Ser Ser Leu Glu Asp Asp Val Val Gly Asp  
 130 135 140  
 Thr Ser Gly Tyr Tyr Gln Arg Met Leu Val Val Leu Leu Gln Ala Asn  
 145 150 155 160  
 Arg Asp Pro Asp Ala Gly Ile Asp Glu Ala Gln Val Glu Gln Asp Ala  
 165 170 175  
 Gln Ala Leu Phe Gln Ala Gly Glu Leu Lys Trp Gly Thr Asp Glu Glu  
 180 185 190  
 Lys Phe Ile Thr Ile Phe Gly Thr Arg Ser Val Ser His Leu Arg Lys  
 195 200 205  
 Val Phe Asp Lys Tyr Met Thr Ile Ser Gly Phe Gln Ile Glu Glu Thr  
 210 215 220

Ile Asp Arg Glu Thr Ser Gly Asn Leu Glu Gln Leu Leu Leu Ala Val															
225					230					235					240
Val Lys Ser Ile Arg Ser Ile Pro Ala Tyr Leu Ala Glu Thr Leu Tyr															
					245					250					255
Tyr Ala Met Lys Gly Ala Gly Thr Asp Asp His Thr Leu Ile Arg Val															
					260					265					270
Met Val Ser Arg Ser Glu Ile Asp Leu Phe Asn Ile Arg Lys Glu Phe															
					275					280					285
Arg Lys Asn Phe Ala Thr Ser Leu Tyr Ser Met Ile Lys Gly Asp Thr															
					290					295					300
Ser Gly Asp Tyr Lys Lys Ala Leu Leu Leu Leu Cys Gly Glu Asp Asp															
305					310					315					320
<210> 17															
<211> 510															
<212> PRT															
<213> 人															
<400> 17															
Met Arg Pro Gly Leu Ser Phe Leu Leu Ala Leu Leu Phe Phe Leu Gly															
1					5					10					15
Gln Ala Ala Gly Asp Leu Gly Asp Val Gly Pro Pro Ile Pro Ser Pro															
					20					25					30
Gly Phe Ser Ser Phe Pro Gly Val Asp Ser Ser Ser Ser Phe Ser Ser															
					35					40					45
Ser Ser Arg Ser Gly Ser Ser Ser Ser Arg Ser Leu Gly Ser Gly Gly															
					50					55					60
Ser Val Ser Gln Leu Phe Ser Asn Phe Thr Gly Ser Val Asp Asp Arg															
65					70					75					80
Gly Thr Cys Gln Cys Ser Val Ser Leu Pro Asp Thr Thr Phe Pro Val															
					85					90					95
Asp Arg Val Glu Arg Leu Glu Phe Thr Ala His Val Leu Ser Gln Lys															
					100					105					110
Phe Glu Lys Glu Leu Ser Lys Val Arg Glu Tyr Val Gln Leu Ile Ser															
					115					120					125
Val Tyr Glu Lys Lys Leu Leu Asn Leu Thr Val Arg Ile Asp Ile Met															
					130					135					140
Glu Lys Asp Thr Ile Ser Tyr Thr Glu Leu Asp Phe Glu Leu Ile Lys															
145					150					155					160
Val Glu Val Lys Glu Met Glu Lys Leu Val Ile Gln Leu Lys Glu Ser															
					165					170					175

Phe Gly Gly Ser Ser Glu Ile Val Asp Gln Leu Glu Val Glu Ile Arg  
 180 185 190  
 Asn Met Thr Leu Leu Val Glu Lys Leu Glu Thr Leu Asp Lys Asn Asn  
 195 200 205  
 Val Leu Ala Ile Arg Arg Glu Ile Val Ala Leu Lys Thr Lys Leu Lys  
 210 215 220  
 Glu Cys Glu Ala Ser Lys Asp Gln Asn Thr Pro Val Val His Pro Pro  
 225 230 235 240  
 Pro Thr Pro Gly Ser Cys Gly His Gly Gly Val Val Asn Ile Ser Lys  
 245 250 255  
 Pro Ser Val Val Gln Leu Asn Trp Arg Gly Phe Ser Tyr Leu Tyr Gly  
 260 265 270  
 Ala Trp Gly Arg Asp Tyr Ser Pro Gln His Pro Asn Lys Gly Leu Tyr  
 275 280 285  
 Trp Val Ala Pro Leu Asn Thr Asp Gly Arg Leu Leu Glu Tyr Tyr Arg  
 290 295 300  
 Leu Tyr Asn Thr Leu Asp Asp Leu Leu Leu Tyr Ile Asn Ala Arg Glu  
 305 310 315 320  
 Leu Arg Ile Thr Tyr Gly Gln Gly Ser Gly Thr Ala Val Tyr Asn Asn  
 325 330 335  
 Asn Met Tyr Val Asn Met Tyr Asn Thr Gly Asn Ile Ala Arg Val Asn  
 340 345 350  
 Leu Thr Thr Asn Thr Ile Ala Val Thr Gln Thr Leu Pro Asn Ala Ala  
 355 360 365  
 Tyr Asn Asn Arg Phe Ser Tyr Ala Asn Val Ala Trp Gln Asp Ile Asp  
 370 375 380  
 Phe Ala Val Asp Glu Asn Gly Leu Trp Val Ile Tyr Ser Thr Glu Ala  
 385 390 395 400  
 Ser Thr Gly Asn Met Val Ile Ser Lys Leu Asn Asp Thr Thr Leu Gln  
 405 410 415  
 Val Leu Asn Thr Trp Tyr Thr Lys Gln Tyr Lys Pro Ser Ala Ser Asn  
 420 425 430  
 Ala Phe Met Val Cys Gly Val Leu Tyr Ala Thr Arg Thr Met Asn Thr  
 435 440 445  
 Arg Thr Glu Glu Ile Phe Tyr Tyr Tyr Asp Thr Asn Thr Gly Lys Glu  
 450 455 460  
 Gly Lys Leu Asp Ile Val Met His Lys Met Gln Glu Lys Val Gln Ser  
 465 470 475 480  
 Ile Asn Tyr Asn Pro Phe Asp Gln Lys Leu Tyr Val Tyr Asn Asp Gly

	485	490	495
Tyr Leu Leu Asn Tyr Asp Leu Ser Val Leu Gln Lys Pro Gln			
	500	505	510
<210> 18			
<211> 541			
<212> PRT			
<213> 人			
<400> 18			
Met Val Ala Asp Pro Pro Arg Asp Ser Lys Gly Leu Ala Ala Ala Glu			
1	5	10	15
Pro Thr Ala Asn Gly Gly Leu Ala Leu Ala Ser Ile Glu Asp Gln Gly			
	20	25	30
Ala Ala Ala Gly Gly Tyr Cys Gly Ser Arg Asp Gln Val Arg Arg Cys			
	35	40	45
Leu Arg Ala Asn Leu Leu Val Leu Leu Thr Val Val Ala Val Val Ala			
	50	55	60
Gly Val Ala Leu Gly Leu Gly Val Ser Gly Ala Gly Gly Ala Leu Ala			
65	70	75	80
Leu Gly Pro Glu Arg Leu Ser Ala Phe Val Phe Pro Gly Glu Leu Leu			
	85	90	95
Leu Arg Leu Leu Arg Met Ile Ile Leu Pro Leu Val Val Cys Ser Leu			
	100	105	110
Ile Gly Gly Ala Ala Ser Leu Asp Pro Gly Ala Leu Gly Arg Leu Gly			
	115	120	125
Ala Trp Ala Leu Leu Phe Phe Leu Val Thr Thr Leu Leu Ala Ser Ala			
	130	135	140
Leu Gly Val Gly Leu Ala Leu Ala Leu Gln Pro Gly Ala Ala Ser Ala			
145	150	155	160
Ala Ile Asn Ala Ser Val Gly Ala Ala Gly Ser Ala Glu Asn Ala Pro			
	165	170	175
Ser Lys Glu Val Leu Asp Ser Phe Leu Asp Leu Ala Arg Asn Ile Phe			
	180	185	190
Pro Ser Asn Leu Val Ser Ala Ala Phe Arg Ser Tyr Ser Thr Thr Tyr			
	195	200	205
Glu Glu Arg Asn Ile Thr Gly Thr Arg Val Lys Val Pro Val Gly Gln			
	210	215	220
Glu Val Glu Gly Met Asn Ile Leu Gly Leu Val Val Phe Ala Ile Val			
225	230	235	240
Phe Gly Val Ala Leu Arg Lys Leu Gly Pro Glu Gly Glu Leu Leu Ile			

	245	250	255
Arg Phe Phe Asn Ser Phe Asn Glu Ala Thr Met Val Leu Val Ser Trp			
	260	265	270
Ile Met Trp Tyr Ala Pro Val Gly Ile Met Phe Leu Val Ala Gly Lys			
	275	280	285
Ile Val Glu Met Glu Asp Val Gly Leu Leu Phe Ala Arg Leu Gly Lys			
	290	295	300
Tyr Ile Leu Cys Cys Leu Leu Gly His Ala Ile His Gly Leu Leu Val			
305	310	315	320
Leu Pro Leu Ile Tyr Phe Leu Phe Thr Arg Lys Asn Pro Tyr Arg Phe			
	325	330	335
Leu Trp Gly Ile Val Thr Pro Leu Ala Thr Ala Phe Gly Thr Ser Ser			
	340	345	350
Ser Ser Ala Thr Leu Pro Leu Met Met Lys Cys Val Glu Glu Asn Asn			
	355	360	365
Gly Val Ala Lys His Ile Ser Arg Phe Ile Leu Pro Ile Gly Ala Thr			
	370	375	380
Val Asn Met Asp Gly Ala Ala Leu Phe Gln Cys Val Ala Ala Val Phe			
385	390	395	400
Ile Ala Gln Leu Ser Gln Gln Ser Leu Asp Phe Val Lys Ile Ile Thr			
	405	410	415
Ile Leu Val Thr Ala Thr Ala Ser Ser Val Gly Ala Ala Gly Ile Pro			
	420	425	430
Ala Gly Gly Val Leu Thr Leu Ala Ile Ile Leu Glu Ala Val Asn Leu			
	435	440	445
Pro Val Asp His Ile Ser Leu Ile Leu Ala Val Asp Trp Leu Val Asp			
	450	455	460
Arg Ser Cys Thr Val Leu Asn Val Glu Gly Asp Ala Leu Gly Ala Gly			
465	470	475	480
Leu Leu Gln Asn Tyr Val Asp Arg Thr Glu Ser Arg Ser Thr Glu Pro			
	485	490	495
Glu Leu Ile Gln Val Lys Ser Glu Leu Pro Leu Asp Pro Leu Pro Val			
	500	505	510
Pro Thr Glu Glu Gly Asn Pro Leu Leu Lys His Tyr Arg Gly Pro Ala			
	515	520	525
Gly Asp Ala Thr Val Ala Ser Glu Lys Glu Ser Val Met			
	530	535	540

&lt;210&gt; 19

&lt;211&gt; 563



Thr Trp Val Tyr Ser Ser Pro Gly Arg His Glu Gly Gln Glu Pro Phe  
 290 295 300  
 Leu Gln Trp Leu Met Leu Leu Ser Asn Glu Ser Ala Leu Pro His Val  
 305 310 315 320  
 His Thr Val Ser Tyr Gly Asp Asp Glu Asp Ser Leu Ser Ser Ala Tyr  
 325 330 335  
 Ile Gln Arg Val Asn Thr Glu Leu Met Lys Ala Ala Ala Arg Gly Leu  
 340 345 350  
 Thr Leu Leu Phe Ala Ser Gly Asp Ser Gly Ala Gly Cys Trp Ser Val  
 355 360 365  
 Ser Gly Arg His Gln Phe Arg Pro Thr Phe Pro Ala Ser Ser Pro Tyr  
 370 375 380  
 Val Thr Thr Val Gly Gly Thr Ser Phe Gln Glu Pro Phe Leu Ile Thr  
 385 390 395 400  
 Asn Glu Ile Val Asp Tyr Ile Ser Gly Gly Gly Phe Ser Asn Val Phe  
 405 410 415  
 Pro Arg Pro Ser Tyr Gln Glu Glu Ala Val Thr Lys Phe Leu Ser Ser  
 420 425 430  
 Ser Pro His Leu Pro Pro Ser Ser Tyr Phe Asn Ala Ser Gly Arg Ala  
 435 440 445  
 Tyr Pro Asp Val Ala Ala Leu Ser Asp Gly Tyr Trp Val Val Ser Asn  
 450 455 460  
 Arg Val Pro Ile Pro Trp Val Ser Gly Thr Ser Ala Ser Thr Pro Val  
 465 470 475 480  
 Phe Gly Gly Ile Leu Ser Leu Ile Asn Glu His Arg Ile Leu Ser Gly  
 485 490 495  
 Arg Pro Pro Leu Gly Phe Leu Asn Pro Arg Leu Tyr Gln Gln His Gly  
 500 505 510  
 Ala Gly Leu Phe Asp Val Thr Arg Gly Cys His Glu Ser Cys Leu Asp  
 515 520 525  
 Glu Glu Val Glu Gly Gln Gly Phe Cys Ser Gly Pro Gly Trp Asp Pro  
 530 535 540  
 Val Thr Gly Trp Gly Thr Pro Asn Phe Pro Ala Leu Leu Lys Thr Leu  
 545 550 555 560  
 Leu Asn Pro  
 <210> 20  
 <211> 639  
 <212> PRT  
 <213> 人

&lt;400&gt; 20

Met Ser Ala Arg Gly Pro Ala Ile Gly Ile Asp Leu Gly Thr Thr Tyr  
 1                   5                   10                   15  
 Ser Cys Val Gly Val Phe Gln His Gly Lys Val Glu Ile Ile Ala Asn  
                   20                   25                   30  
 Asp Gln Gly Asn Arg Thr Thr Pro Ser Tyr Val Ala Phe Thr Asp Thr  
           35                   40                   45  
 Glu Arg Leu Ile Gly Asp Ala Ala Lys Asn Gln Val Ala Met Asn Pro  
           50                   55                   60  
 Thr Asn Thr Ile Phe Asp Ala Lys Arg Leu Ile Gly Arg Lys Phe Glu  
 65                   70                   75                   80  
 Asp Ala Thr Val Gln Ser Asp Met Lys His Trp Pro Phe Arg Val Val  
                   85                   90                   95  
 Ser Glu Gly Gly Lys Pro Lys Val Gln Val Glu Tyr Lys Gly Glu Thr  
                   100                   105                   110  
 Lys Thr Phe Phe Pro Glu Glu Ile Ser Ser Met Val Leu Thr Lys Met  
           115                   120                   125  
 Lys Glu Ile Ala Glu Ala Tyr Leu Gly Gly Lys Val His Ser Ala Val  
           130                   135                   140  
 Ile Thr Val Pro Ala Tyr Phe Asn Asp Ser Gln Arg Gln Ala Thr Lys  
 145                   150                   155                   160  
 Asp Ala Gly Thr Ile Thr Gly Leu Asn Val Leu Arg Ile Ile Asn Glu  
                   165                   170                   175  
 Pro Thr Ala Ala Ala Ile Ala Tyr Gly Leu Asp Lys Lys Gly Cys Ala  
                   180                   185                   190  
 Gly Gly Glu Lys Asn Val Leu Ile Phe Asp Leu Gly Gly Gly Thr Phe  
           195                   200                   205  
 Asp Val Ser Ile Leu Thr Ile Glu Asp Gly Ile Phe Glu Val Lys Ser  
           210                   215                   220  
 Thr Ala Gly Asp Thr His Leu Gly Gly Glu Asp Phe Asp Asn Arg Met  
 225                   230                   235                   240  
 Val Ser His Leu Ala Glu Glu Phe Lys Arg Lys His Lys Lys Asp Ile  
                   245                   250                   255  
 Gly Pro Asn Lys Arg Ala Val Arg Arg Leu Arg Thr Ala Cys Glu Arg  
                   260                   265                   270  
 Ala Lys Arg Thr Leu Ser Ser Ser Thr Gln Ala Ser Ile Glu Ile Asp  
           275                   280                   285  
 Ser Leu Tyr Glu Gly Val Asp Phe Tyr Thr Ser Ile Thr Arg Ala Arg  
           290                   295                   300



610	615	620
Gly Gly Ser Gly Ala Ser Gly Gly Pro Thr Ile Glu Glu Val Asp		
625	630	635
<210> 21		
<211> 241		
<212> PRT		
<213> 人		
<400> 21		
Met Phe Leu Thr Arg Ser Glu Tyr Asp Arg Gly Val Asn Thr Phe Ser		
1	5	10
Pro Glu Gly Arg Leu Phe Gln Val Glu Tyr Ala Ile Glu Ala Ile Lys		
	20	25
Leu Gly Ser Thr Ala Ile Gly Ile Gln Thr Ser Glu Gly Val Cys Leu		
	35	40
Ala Val Glu Lys Arg Ile Thr Ser Pro Leu Met Glu Pro Ser Ser Ile		
	50	55
Glu Lys Ile Val Glu Ile Asp Ala His Ile Gly Cys Ala Met Ser Gly		
65	70	75
Leu Ile Ala Asp Ala Lys Thr Leu Ile Asp Lys Ala Arg Val Glu Thr		
	85	90
Gln Asn His Trp Phe Thr Tyr Asn Glu Thr Met Thr Val Glu Ser Val		
	100	105
Thr Gln Ala Val Ser Asn Leu Ala Leu Gln Phe Gly Glu Glu Asp Ala		
	115	120
Asp Pro Gly Ala Met Ser Arg Pro Phe Gly Val Ala Leu Leu Phe Gly		
	130	135
Gly Val Asp Glu Lys Gly Pro Gln Leu Phe His Met Asp Pro Ser Gly		
145	150	155
Thr Phe Val Gln Cys Asp Ala Arg Ala Ile Gly Ser Ala Ser Glu Gly		
	165	170
Ala Gln Ser Ser Leu Gln Glu Val Tyr His Lys Ser Met Thr Leu Lys		
	180	185
Glu Ala Ile Lys Ser Ser Leu Ile Ile Leu Lys Gln Val Met Glu Glu		
	195	200
Lys Leu Asn Ala Thr Asn Ile Glu Leu Ala Thr Val Gln Pro Gly Gln		
	210	215
Asn Phe His Met Phe Thr Lys Glu Glu Leu Glu Glu Val Ile Lys Asp		
225	230	235
Ile		240

<210> 22  
 <211> 198  
 <212> PRT  
 <213> 人  
 <400> 22  
 Met Pro Leu Gly Leu Leu Trp Leu Gly Leu Ala Leu Leu Gly Ala Leu  
 1                   5                   10                   15  
 His Ala Gln Ala Gln Asp Ser Thr Ser Asp Leu Ile Pro Ala Pro Pro  
                   20                   25                   30  
 Leu Ser Lys Val Pro Leu Gln Gln Asn Phe Gln Asp Asn Gln Phe Gln  
                   35                   40                   45  
 Gly Lys Trp Tyr Val Val Gly Leu Ala Gly Asn Ala Ile Leu Arg Glu  
                   50                   55                   60  
 Asp Lys Asp Pro Gln Lys Met Tyr Ala Thr Ile Tyr Glu Leu Lys Glu  
 65                   70                   75                   80  
 Asp Lys Ser Tyr Asn Val Thr Ser Val Leu Phe Arg Lys Lys Lys Cys  
                   85                   90                   95  
 Asp Tyr Trp Ile Arg Thr Phe Val Pro Gly Cys Gln Pro Gly Glu Phe  
                   100                   105                   110  
 Thr Leu Gly Asn Ile Lys Ser Tyr Pro Gly Leu Thr Ser Tyr Leu Val  
                   115                   120                   125  
 Arg Val Val Ser Thr Asn Tyr Asn Gln His Ala Met Val Phe Phe Lys  
                   130                   135                   140  
 Lys Val Ser Gln Asn Arg Glu Tyr Phe Lys Ile Thr Leu Tyr Gly Arg  
 145                   150                   155                   160  
 Thr Lys Glu Leu Thr Ser Glu Leu Lys Glu Asn Phe Ile Arg Phe Ser  
                   165                   170                   175  
 Lys Ser Leu Gly Leu Pro Glu Asn His Ile Val Phe Pro Val Pro Ile  
                   180                   185                   190  
 Asp Gln Cys Ile Asp Gly  
                   195  
 <210> 23  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> 人工的  
 <220>  
 <223> 合成的  
 <400> 23  
 Gly Thr Ile Thr Asp Ala Pro Gly Phe Asp Pro Leu Arg

1	5	10
<210> 24		
<211> 9		
<212> PRT		
<213> 人工的		
<220>		
<223> 合成的		
<400> 24		
Ser Glu Thr Asp Leu Leu Asp Ile Arg		
1	5	
<210> 25		
<211> 16		
<212> PRT		
<213> 人工的		
<220>		
<223> 合成的		
<400> 25		
Gly Ala Gly Thr Asn Glu Asp Ala Leu Ile Glu Ile Leu Thr Thr Arg		
1	5	10
15		
<210> 26		
<211> 13		
<212> PRT		
<213> 人工的		
<220>		
<223> 合成的		
<400> 26		
Ser Asp Thr Ser Gly Asp Tyr Glu Ile Thr Leu Leu Lys		
1	5	10
<210> 27		
<211> 16		
<212> PRT		
<213> 人工的		
<220>		
<223> 合成的		
<400> 27		
Gly Ala Gly Thr Asp Glu Gly Cys Leu Ile Glu Ile Leu Ala Ser Arg		
1	5	10
15		
<210> 28		
<211> 12		

<212> PRT  
<213> 人工的  
<220>  
<223> 合成的  
<400> 28  
Asp Glu Gly Asn Tyr Leu Asp Asp Ala Leu Val Arg  
1                    5                    10  
<210> 29  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> 人工的  
<220>  
<223> 合成的  
<400> 29  
Glu Glu Gln Asn Ile Ile Phe Arg  
1                    5  
<210> 30  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> 人工的  
<220>  
<223> 合成的  
<400> 30  
Ala Gln Thr Glu Ile Asp Gly Pro Lys  
1                    5  
<210> 31  
<211> 10  
<212> PRT  
<213> 人工的  
<220>  
<223> 合成的  
<400> 31  
Leu Leu Asn Glu Asn Ser Tyr Val Pro Arg  
1                    5                    10  
<210> 32  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> 人工的  
<220>



1	5	10
<210>	37	
<211>	7	
<212>	PRT	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	37	
Ser Leu Pro Ser Leu Leu Arg		
1	5	
<210>	38	
<211>	10	
<212>	PRT	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	38	
Asn Val Leu Thr Glu Glu Ser Val Val Arg		
1	5	10
<210>	39	
<211>	8	
<212>	PRT	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	39	
Val Leu Glu Asp Ser Asp Leu Lys		
1	5	
<210>	40	
<211>	14	
<212>	PRT	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	合成的	
<400>	40	
Ser Asp Ile Asp Glu Ile Val Leu Val Gly Gly Ser Thr Arg		
1	5	10
<210>	41	
<211>	15	





1	5	10	15
<210> 50			
<211> 19			
<212> PRT			
<213> 人工的			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 50			
Val Cys Gly Leu Cys Gly Asn Phe Asp Asp Asn Ala Ile Asn Asp Phe			
1	5	10	15
Ala Thr Arg			
<210> 51			
<211> 7			
<212> PRT			
<213> 人工的			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 51			
Tyr Phe Leu Trp Val Val Lys			
1	5		
<210> 52			
<211> 7			
<212> PRT			
<213> 人工的			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 52			
Asn Gln Gln Ile Phe Leu Arg			
1	5		
<210> 53			
<211> 9			
<212> PRT			
<213> 人工的			
<220>			
<223> 合成的			
<400> 53			
Ser Glu Ile Asp Leu Phe Asn Ile Arg			
1	5		
<210> 54			





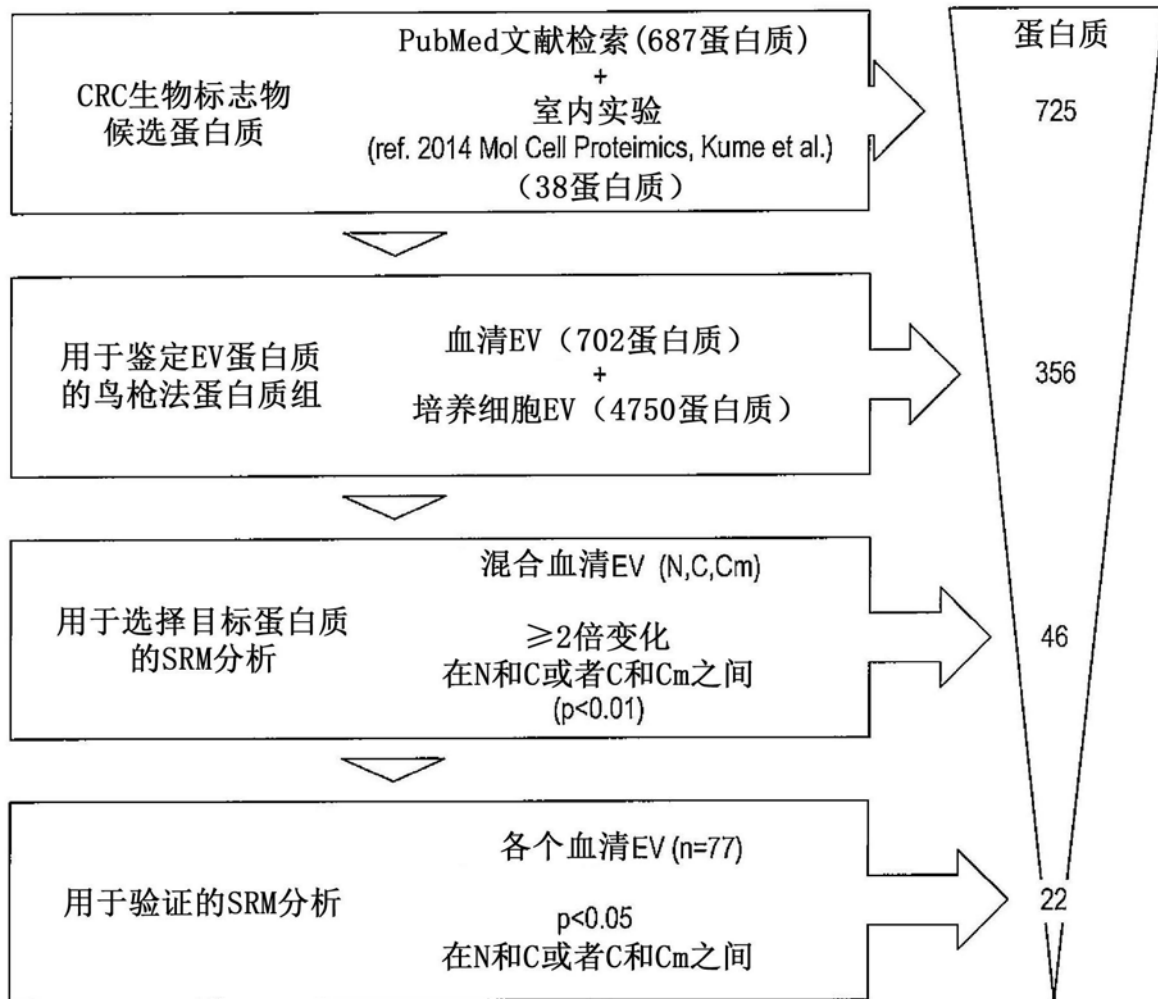


图1

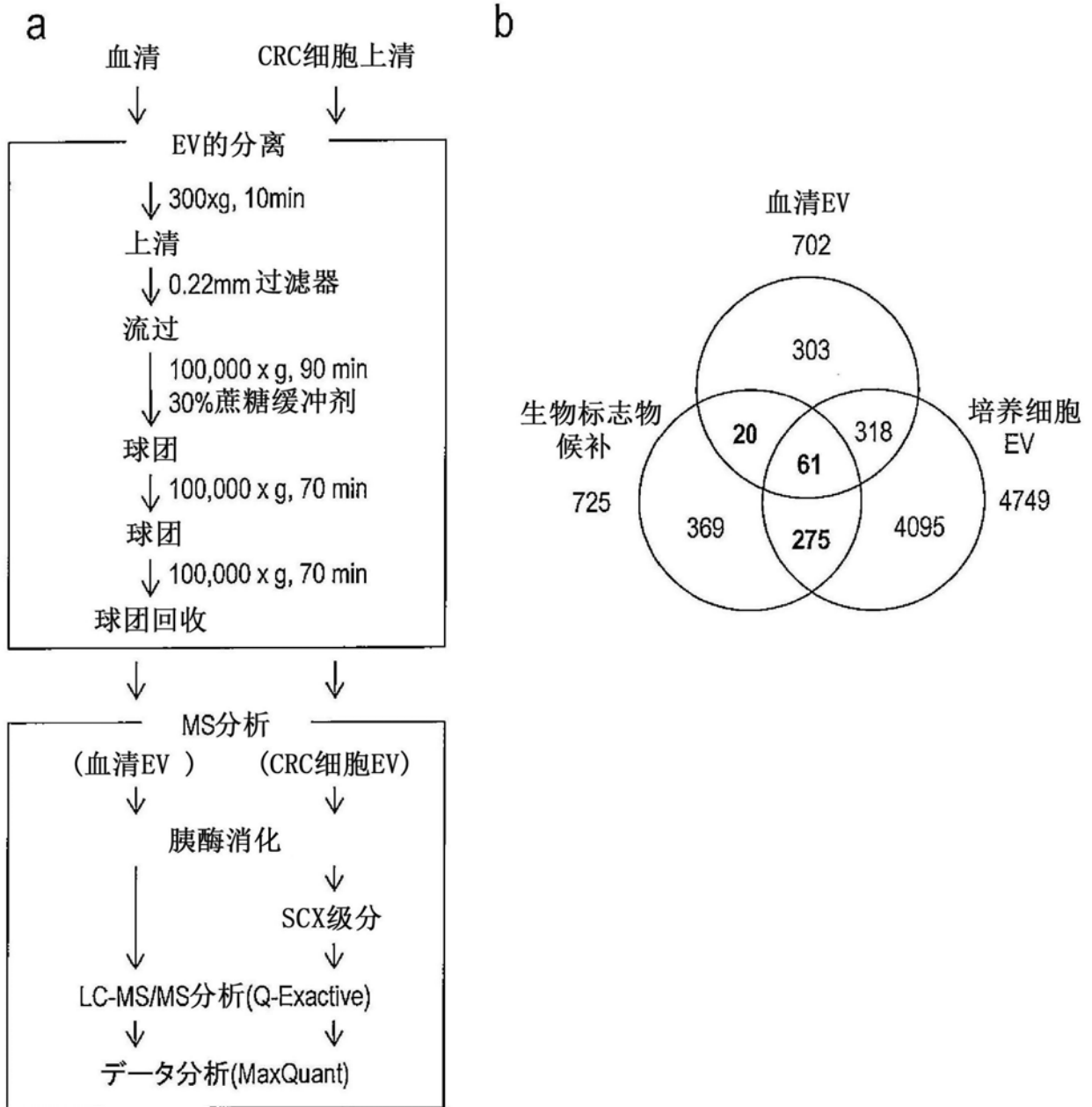


图2

ID	蛋白质名称	肽1	肽2
P31947	14-3-3蛋白质- $\sigma$	GEELSCEER	YLAEVATGDDK
P11021	78kDa葡萄糖调节蛋白	SDIDEIVLVGGSTR	VLEDSDLK
P02763	$\alpha$ -1-酸性糖蛋白1	YVGGQEHFHLLILR	EQLGEFYEALDCLR
Q15389	血管生成素-1	LEIQLLENSLSTYK	ENLQGLVTR
P50995	膜联蛋白A11	GTITDAPGFDPLR	SETDLLDIR
P12429	膜联蛋白A3	GAGTNEDALIEILTTR	SDTSGDYEITLLK
P09525	膜联蛋白A4	GAGTDEGCLIEILASR	DEGNYLDDALVR
Q8N6Q3	CD177抗原	GGGIFSNLR	QIGIFSAR
P31997	CD67抗原	EVLLL VHNL PQDPR	LFIPNITTK
P21730	CD88抗原	SLPSLLR	NVLTEESVVR
P01024	补体C3	TGLQEVEVK	AAVYHHFISDQVR
P02748	补体成分C9	AIEDYINEFSVR	LSPIYNLVPVK
P27487	二肽基肽酶4	IISNEEGYR	IQLSDYTK
P46934	E3泛素蛋白连接酶NEDD4	DFVLHPR	FIIDEELFGQTHQHELK
P55060	输出蛋白-2	TGNIPALVR	SANVNEFPVLK
P49327	脂肪酸合成酶	EGGFLLHLLR	FPQLDSTSFANSR
P11166	GLUT-1	VTILELFR	TFDEIASGFR
P62993	生长因子受体蛋白结合蛋白2	YFLWVVK	NQQIFLR
P04792	热休克蛋白 $\beta$ -1	QDEHGYISR	DGVVEITGK
P14780	基质金属蛋白酶-9	QSTLVLPFGDLR	FQTFEGDLK
Q9HC84	粘蛋白-5B	VCGLCGNFDDNAINDFATR	AAGGAVCEQPLGLECR
P31949	蛋白质S100-A11	DGNYNTLSK	CIESLIAVFQK
P06702	蛋白质S100-A9	LGHPTLNQGEFK	DLQNFLK
Q9UQP3	腱生蛋白-N	AQTEIDGPK	EEQNIIFR
P02786	转铁蛋白受体蛋白1	LLNENSYVPR	VSASPLLYTLIEK
P08758	膜联蛋白A5	SEIDLFNIR	
Q15717	ELAV样蛋白1	NVALLSQLYHSPAR	
P60228	真核细胞翻译起始因子3亚基E	LFIFETFCR	
Q96PY5	Formin样蛋白2	VEELEENISHLSEK	
P06396	凝溶胶蛋白	EVQGFESATFLGYFK	
P54652	热休克相关70kDa蛋白2	NALESYTYNIK	
P05362	细胞间粘附分子1	VELAPLPSWQPVGK	
P50579	甲硫氨酰氨肽酶2	HLLNVINENFGTLAFCR	
O15427	单羧酸运载蛋白4	AVSVFFK	
Q15758	中性氨基酸转运蛋白B(0)	GPAGDATVASEK	
P80188	中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白	ELTSELK	
O00592	足细胞标志蛋白	ATFNPAQDK	
P28066	蛋白酶体亚基 $\alpha$ -5	PFGVALLFGGVDEK	
P05109	蛋白质S100-A8	ALNSIIDVYHK	
P00352	视黄醛脱氢酶1	TIPIDGNFFTYTR	
P36952	丝氨酸蛋白酶抑制蛋白B5	ELETVDFK	
P42224	信号转导与转录激活因子1- $\alpha/\beta$	FNILGHTK	
P24557	血栓素-A合成酶	EAAQDCEVLGQR	
O14773	三肽基肽酶1	LFGGNFAHQASVAR	
P12956	X射线损伤修复交叉互补蛋白6	DSLIFLVDASK	
Q6UX06	嗅觉介导素-4	VQSINYNPFDQK	

图3

	蛋白质名称	接入码	肽	P值		AUC	
				N vs C	C vs Cm	N and C	C and Cm
1	膜联蛋白A11	P50995	GTITDAPGFDPLR	P<0.01	N.S.	0.99	0.53
			SETDLLDIR	P<0.01	N.S.	0.97	0.54
2	膜联蛋白A3	P12429	GAGTNEDALIEILTTR	P<0.01	P<0.01	0.84	0.75
			SDTSGDYIEITLLK	P<0.01	N.S.	0.95	0.58
3	膜联蛋白A4	P09525	GAGTDEGCLIEILASR	P<0.01	P<0.05	0.82	0.70
			DEGNYLDDALVR	P<0.01	N.S.	0.96	0.60
4	腱生蛋白-N	Q9UQP3	EEQNIIFR	P<0.01	N.S.	0.85	0.57
			AQTEIDGPK	P<0.01	N.S.	0.85	0.55
5	转铁蛋白受体蛋白1	P02786	LLNENSYVPR	P<0.01	N.S.	0.85	0.50
			VSASPLLYTLIEK	P<0.01	N.S.	0.74	0.61
6	GLUT-1	P11166	VTILELFR	P<0.05	P<0.05	0.67	0.71
			TFDEIASGFR	P<0.01	N.S.	0.88	0.53
7	补体成分C9	P02748	LSPIYNLVPVK	P<0.01	P<0.05	0.81	0.64
			AIEDYINEFSVR	P<0.05	P<0.05	0.74	0.63
8	CD88抗原	P21730	SLPSELLR	P<0.05	N.S.	0.71	0.59
			NVLTEESVVR	P<0.01	P<0.01	0.78	0.71
9	78kDa葡萄糖调节蛋白	P11021	VLEDSDLK	P<0.01	P<0.05	0.74	0.63
			SDIDEIVLVGGSTR	P<0.05	P<0.01	0.71	0.72
10	$\alpha$ -1-酸性糖蛋白1	P02763	YVGGQEHFAHLLILR	N.S.	P<0.05	0.51	0.70
			EQLGEFYEALDCLR	N.S.	P<0.05	0.60	0.62
11	基质金属蛋白酶9	P14780	QSTLVLFPGDLR	N.S.	P<0.01	0.59	0.72
			FQTFEGDLK	P<0.01	N.S.	0.87	0.52
12	血管生成素-1	Q15389	LEIQLLNSLSTYK	N.S.	P<0.05	0.55	0.68
			ENLQGLVTR	P<0.01	N.S.	0.77	0.53
13	CD67抗原	P31997	EVLLLHNLPPQDPR	N.S.	P<0.01	0.56	0.83
			LFIPNITTK	P<0.01	P<0.01	0.70	0.70
14	粘蛋白-5B	Q9HC84	AAGGAVCEQPLGLECR	N.S.	P<0.05	0.61	0.67
			VCGLCGNFDDNAINDFATR	N.S.	P<0.01	0.64	0.85
15	衔接蛋白GRB2	P62993	YFLWVVK	N.S.	P<0.05	0.51	0.68
			NQQIFLR	P<0.01	N.S.	0.74	0.56
16	膜联蛋白A5	P08758	SEIDLFNIR	P<0.01	N.S.	0.84	0.61
17	嗅觉介导素-4	Q6UX06	VQSINYNPFDQK	P<0.01	N.S.	0.78	0.50
18	中性氨基酸转运蛋白B(0)	Q15758	GPAGDATVASEK	P<0.05	N.S.	0.77	0.55
19	三肽基肽酶1	O14773	LFGGNFAHQASVAR	P<0.01	P<0.05	0.72	0.65
20	热休克相关70kDa蛋白2	P54652	NALESYTYNIK	P<0.05	N.S.	0.53	0.64
21	蛋白酶体亚基 $\alpha$ 型-5	P28066	PFGVALLFGGVDEK	N.S.	P<0.05	0.63	0.71
22	中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白	P80188	ELTSELK	P<0.01	N.S.	0.78	0.53

图4

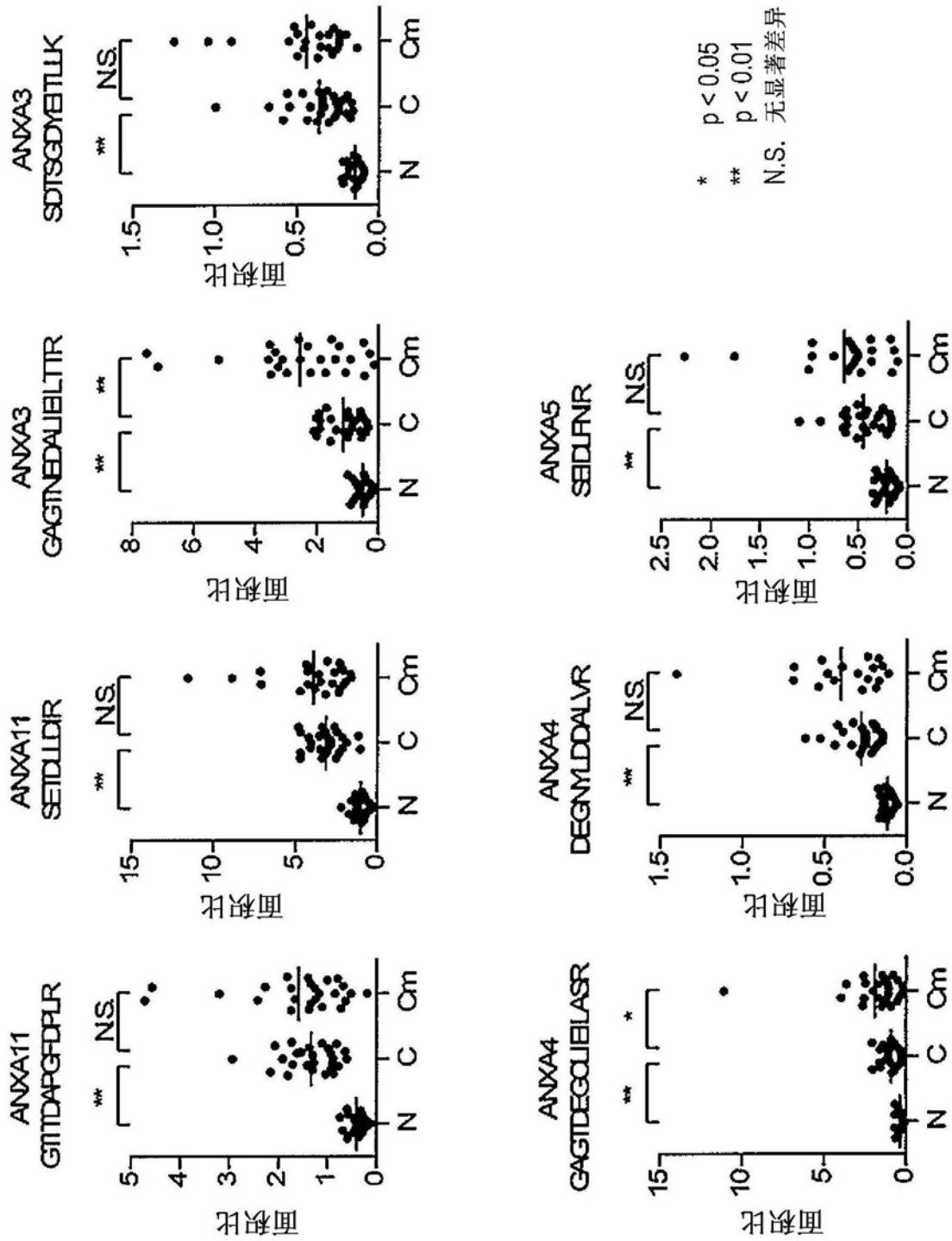


图5-1

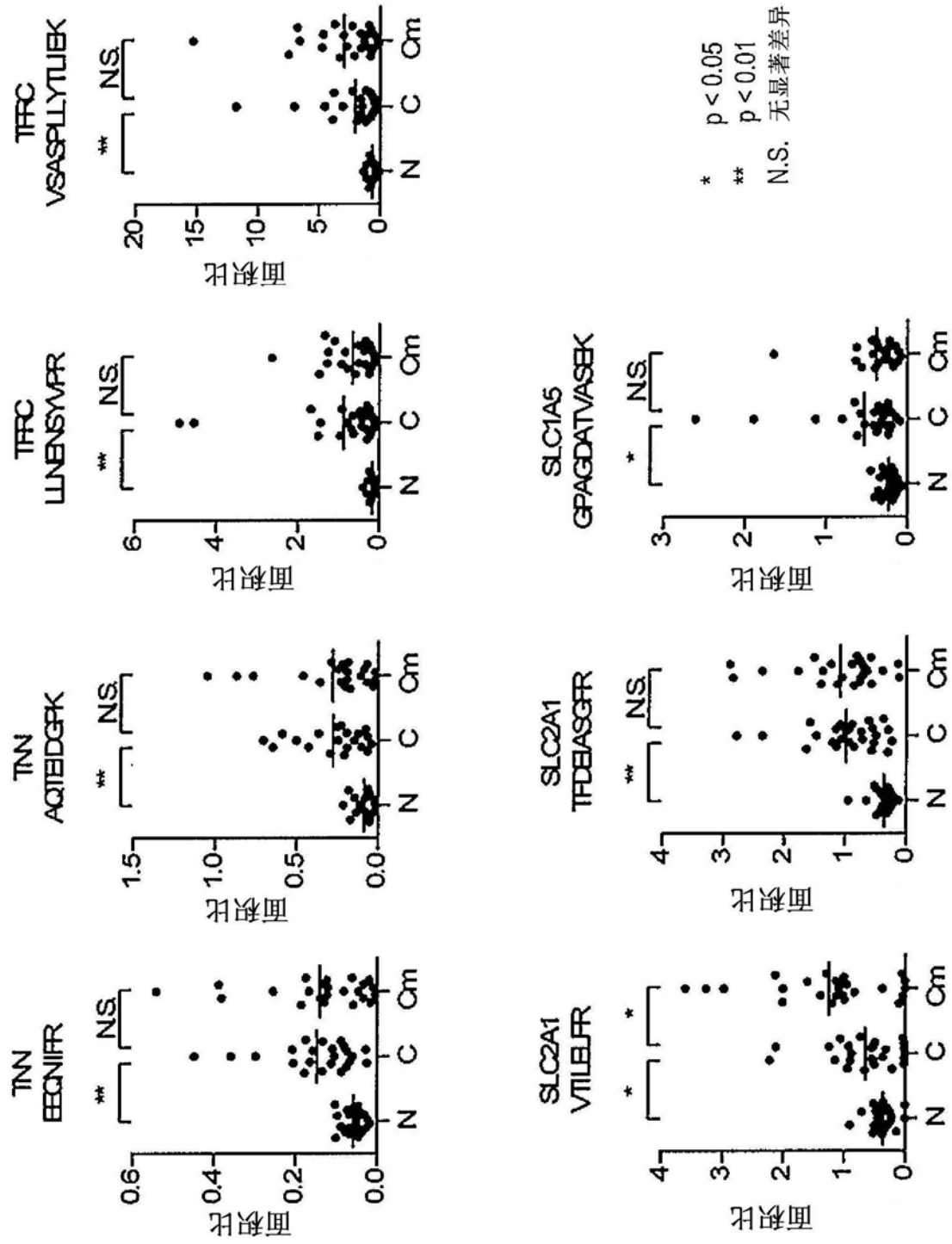


图5-2

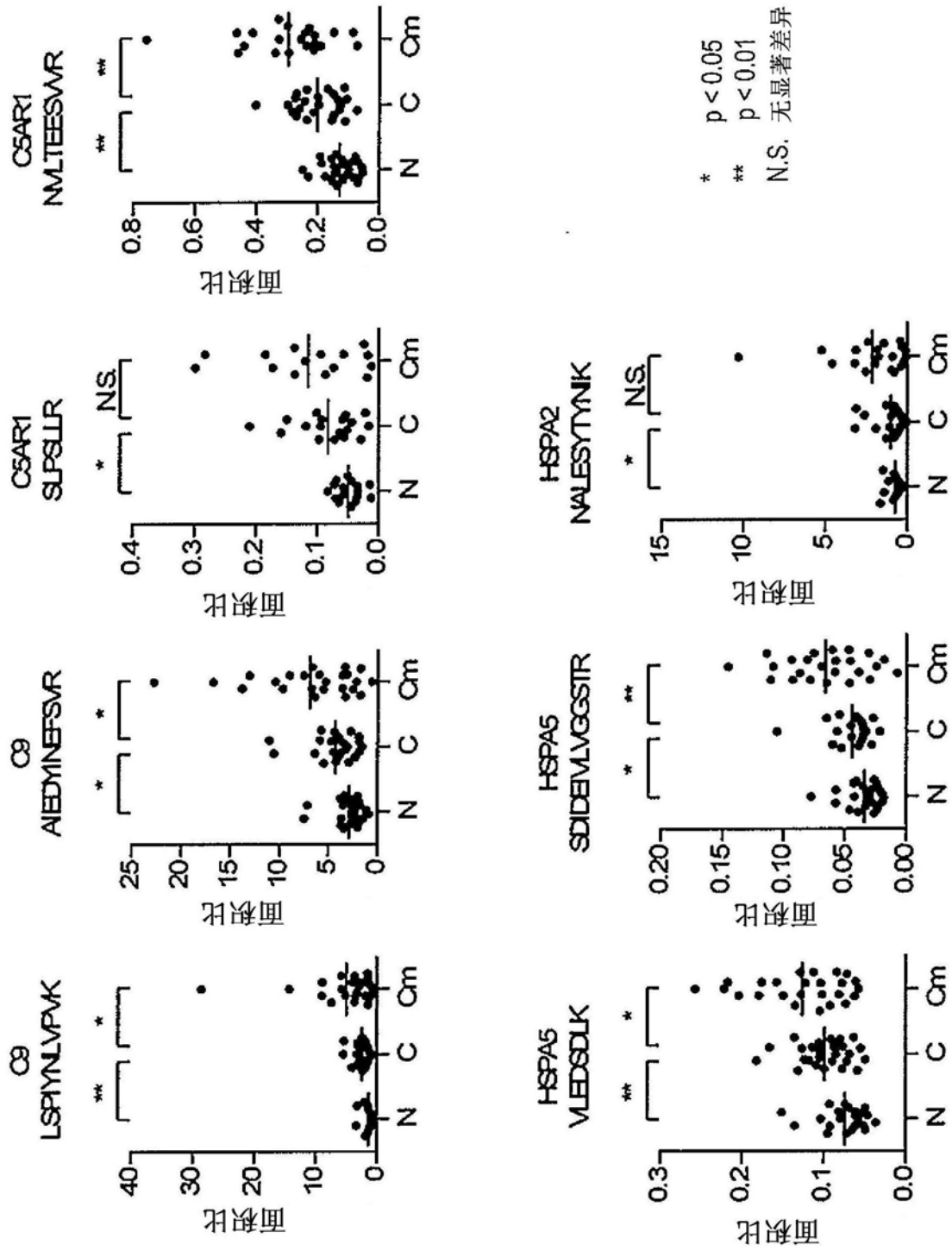


图5-3

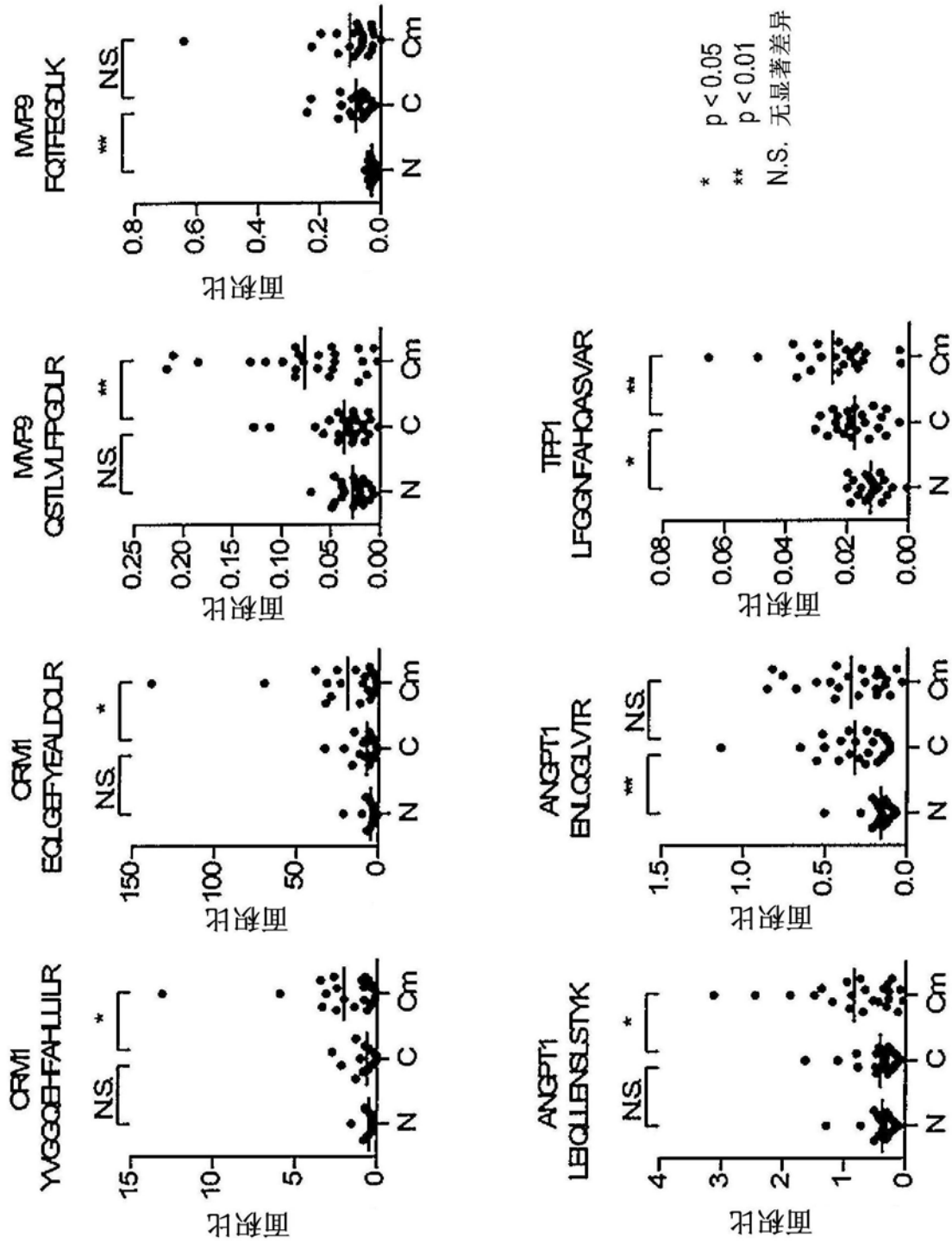


图5-4

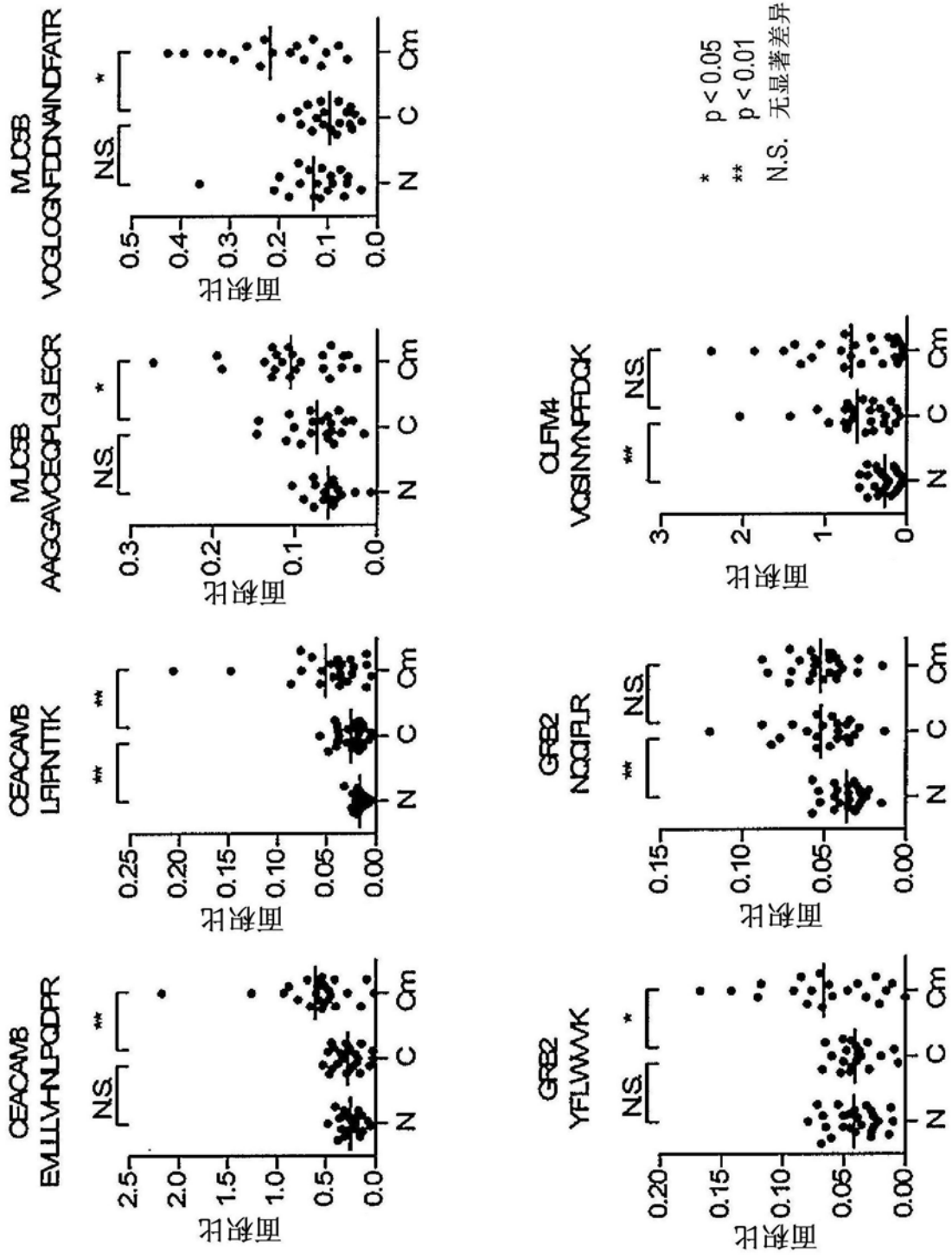
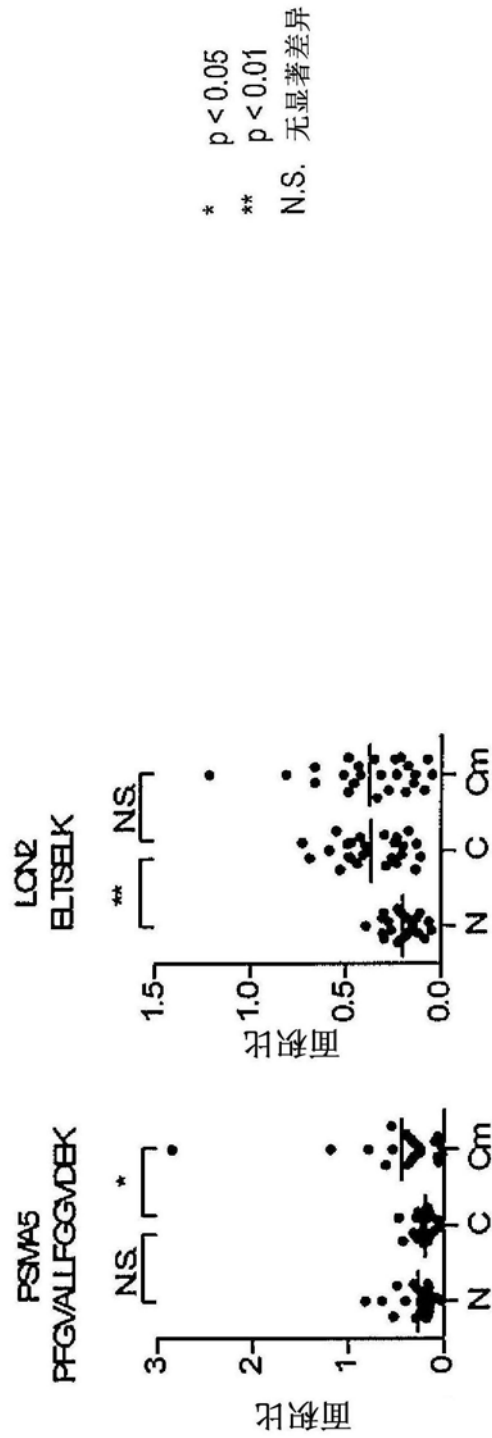


图5-5



\*  $p < 0.05$   
\*\*  $p < 0.01$   
N.S. 无显著差异

图5-6

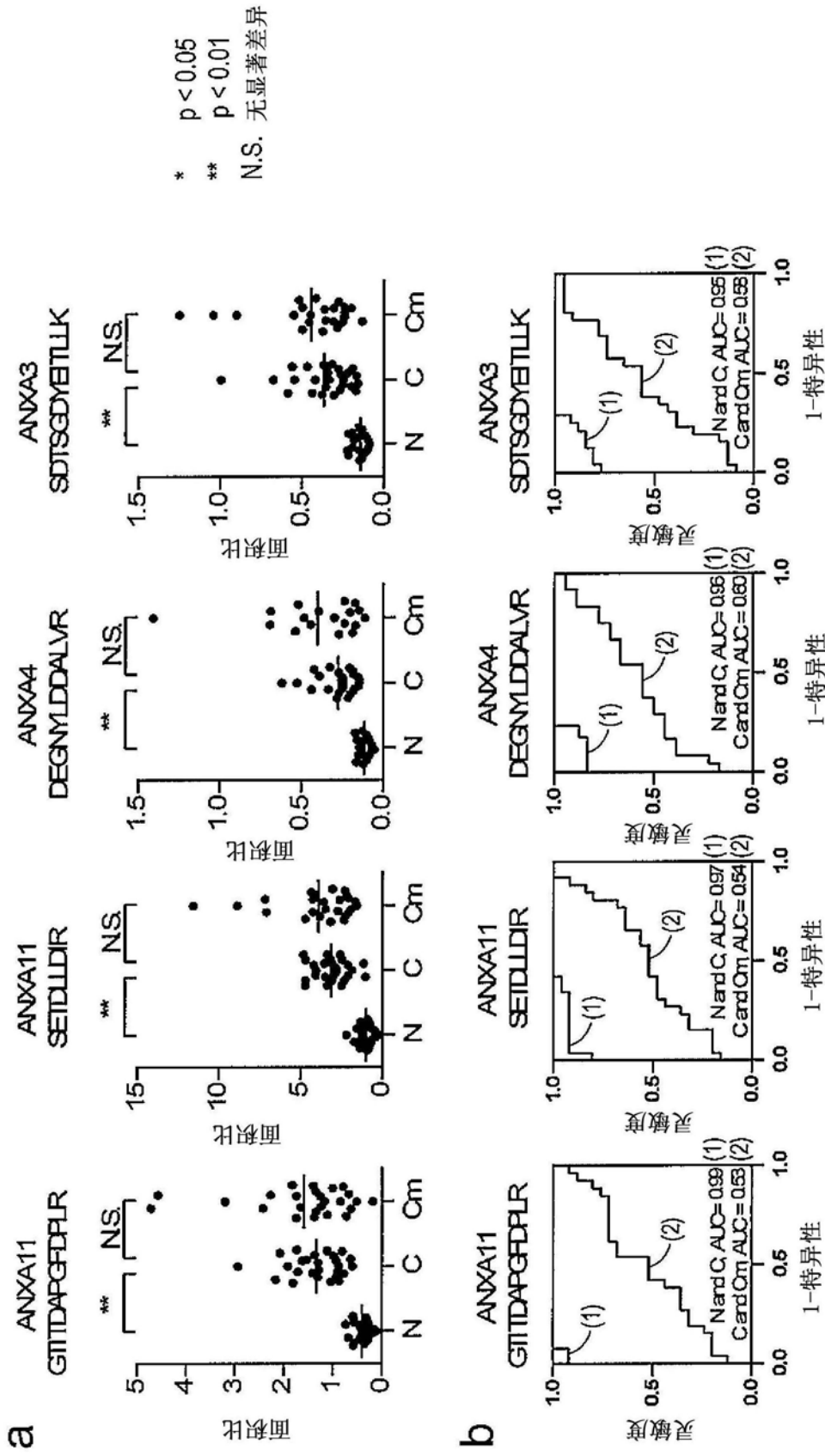


图6-1

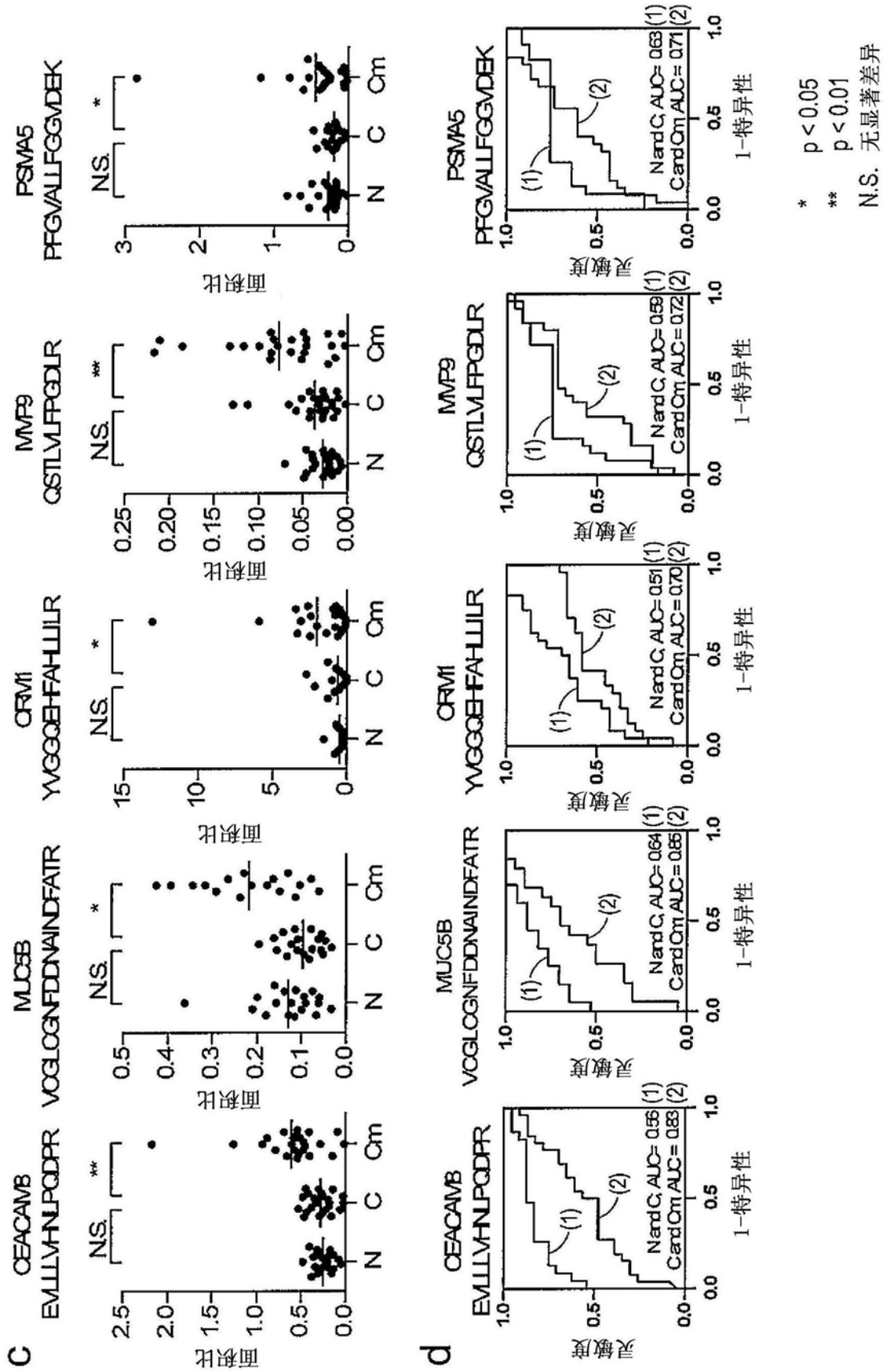


图6-2

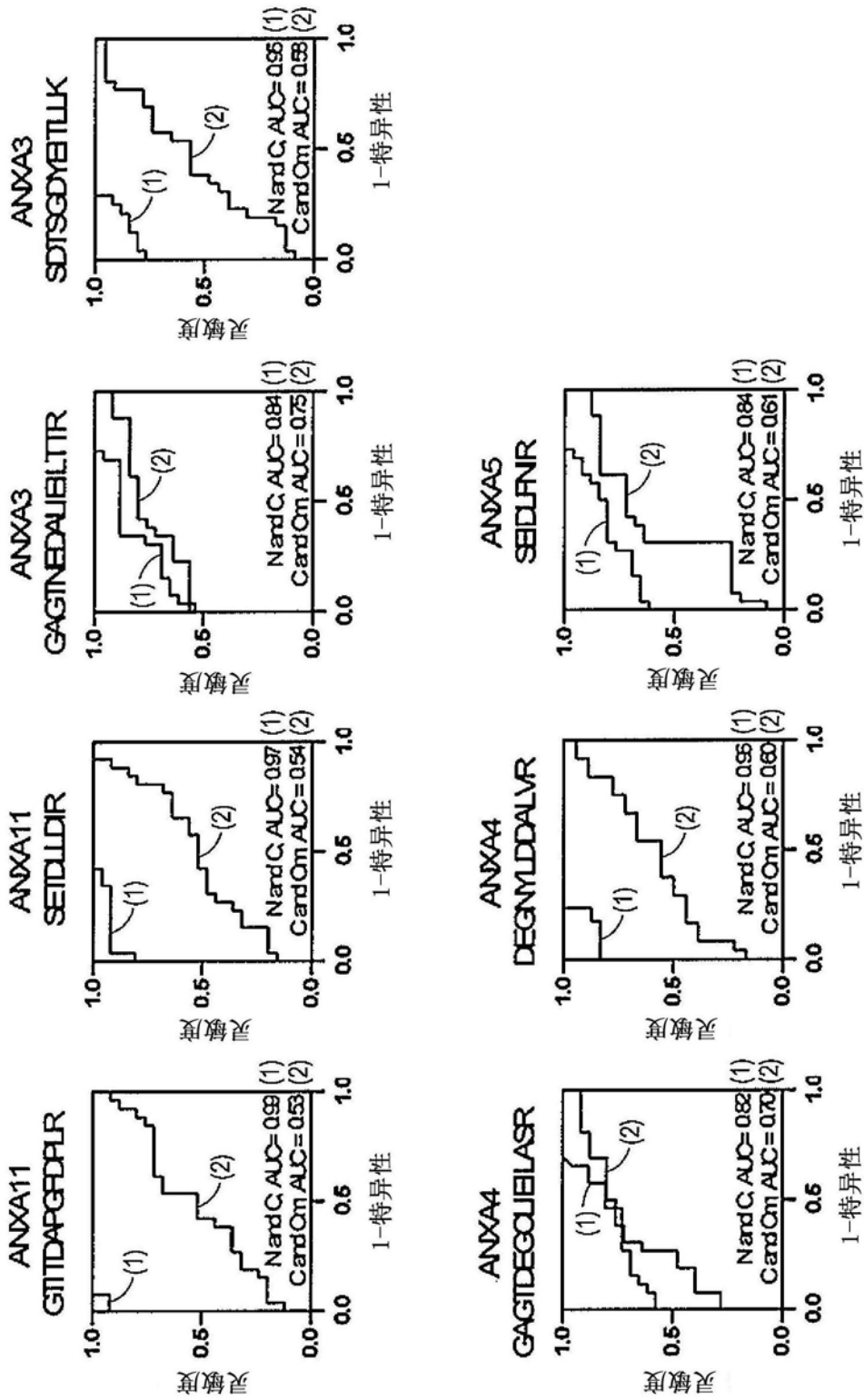


图7-1

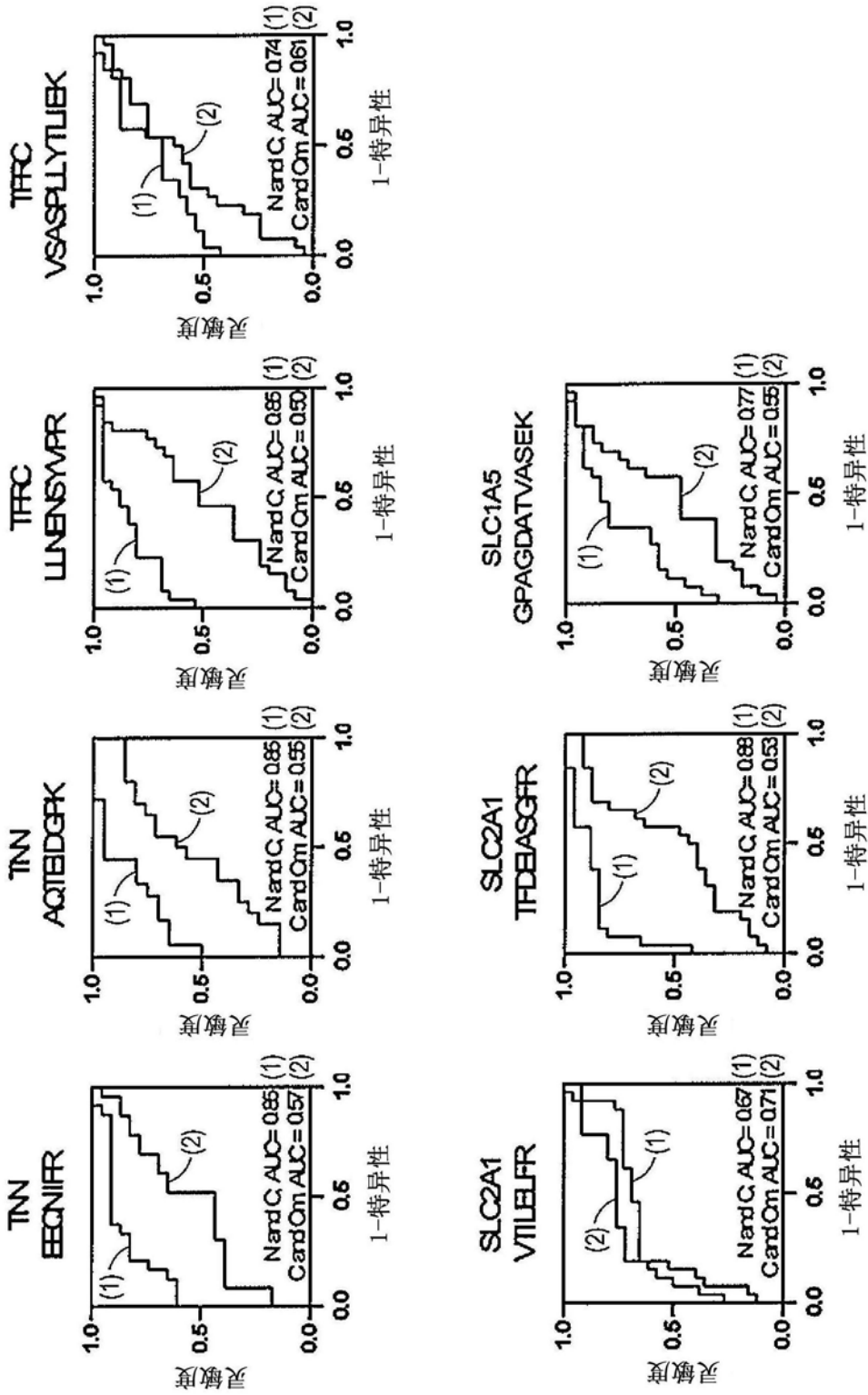


图7-2

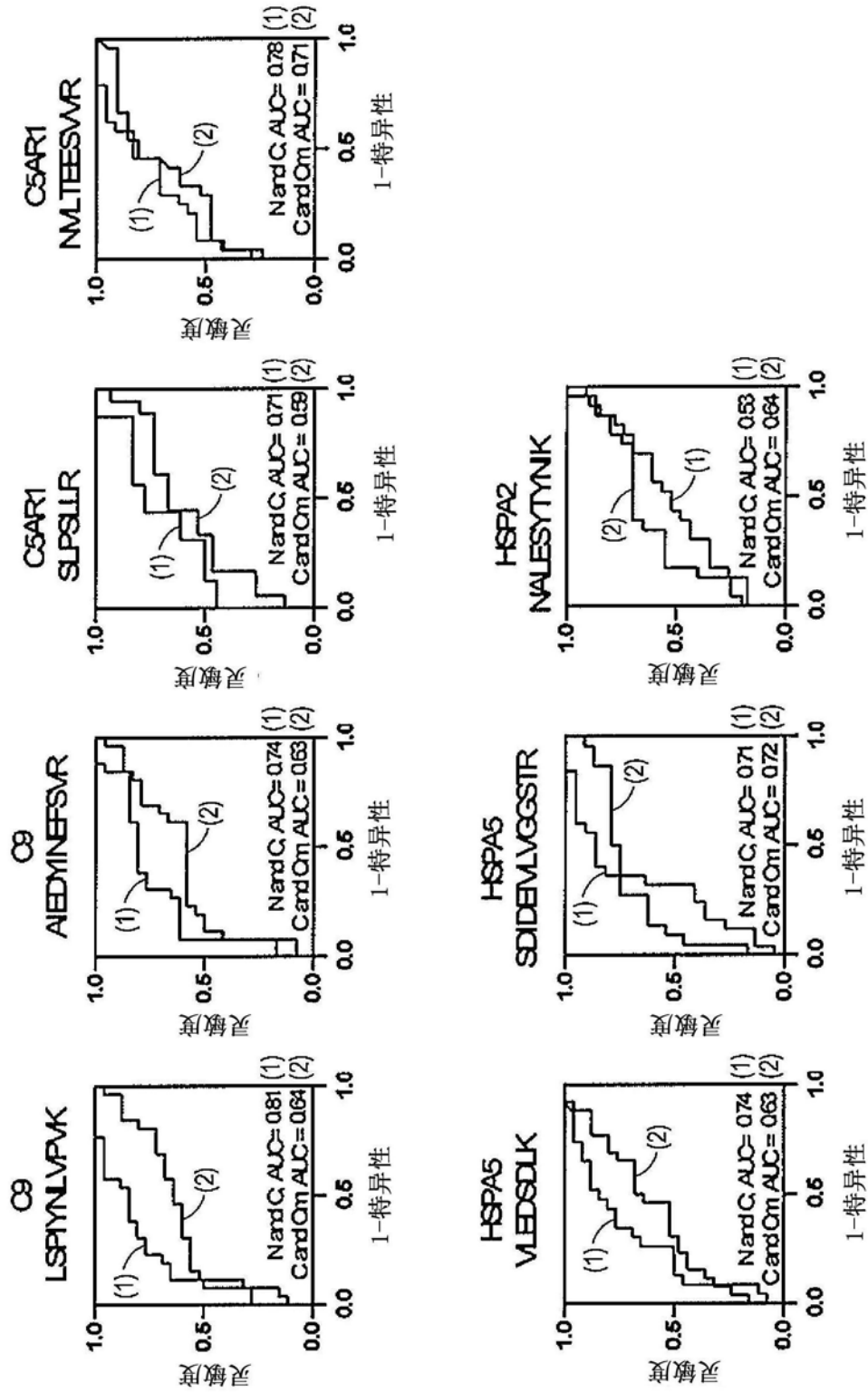


图7-3

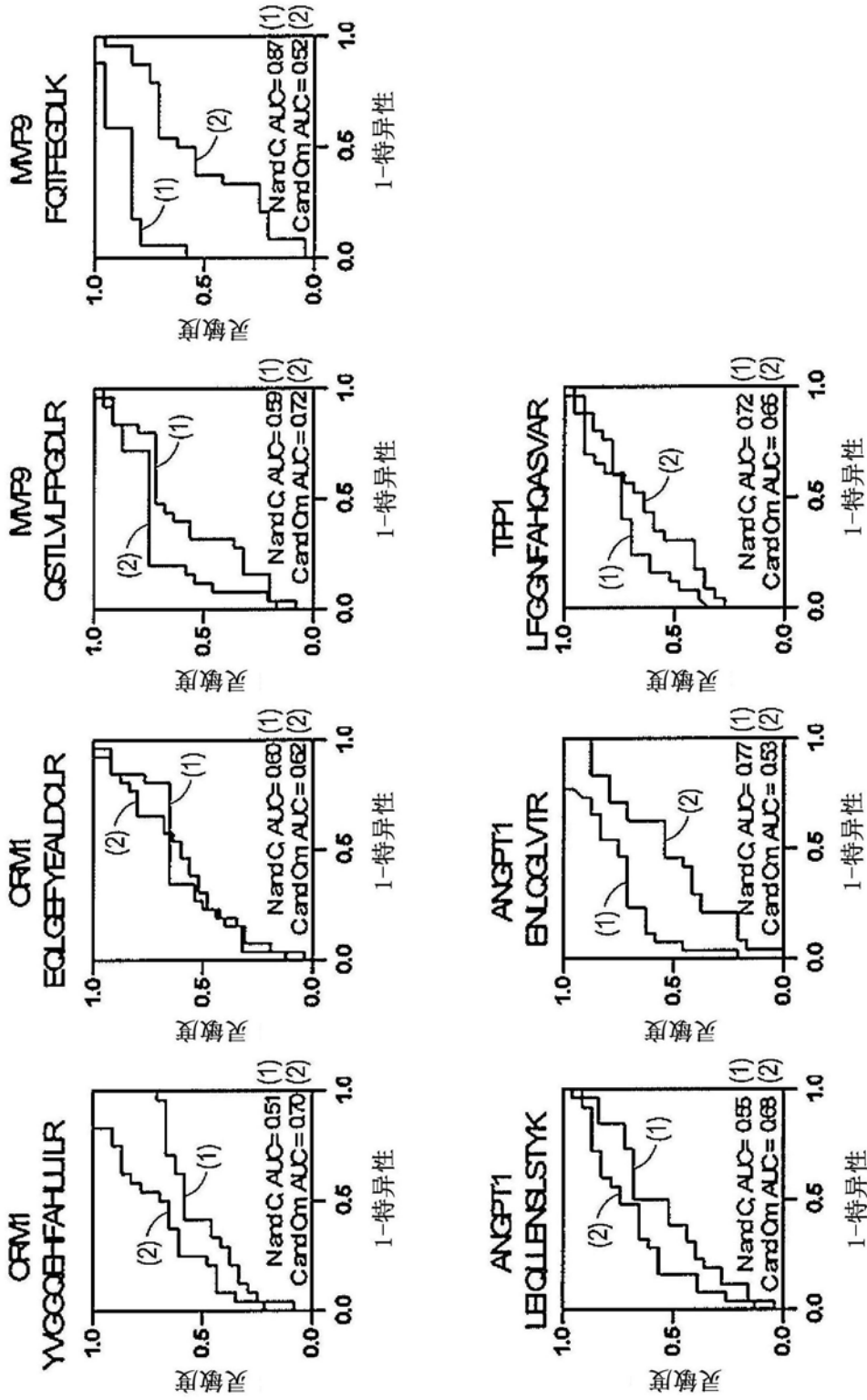


图7-4

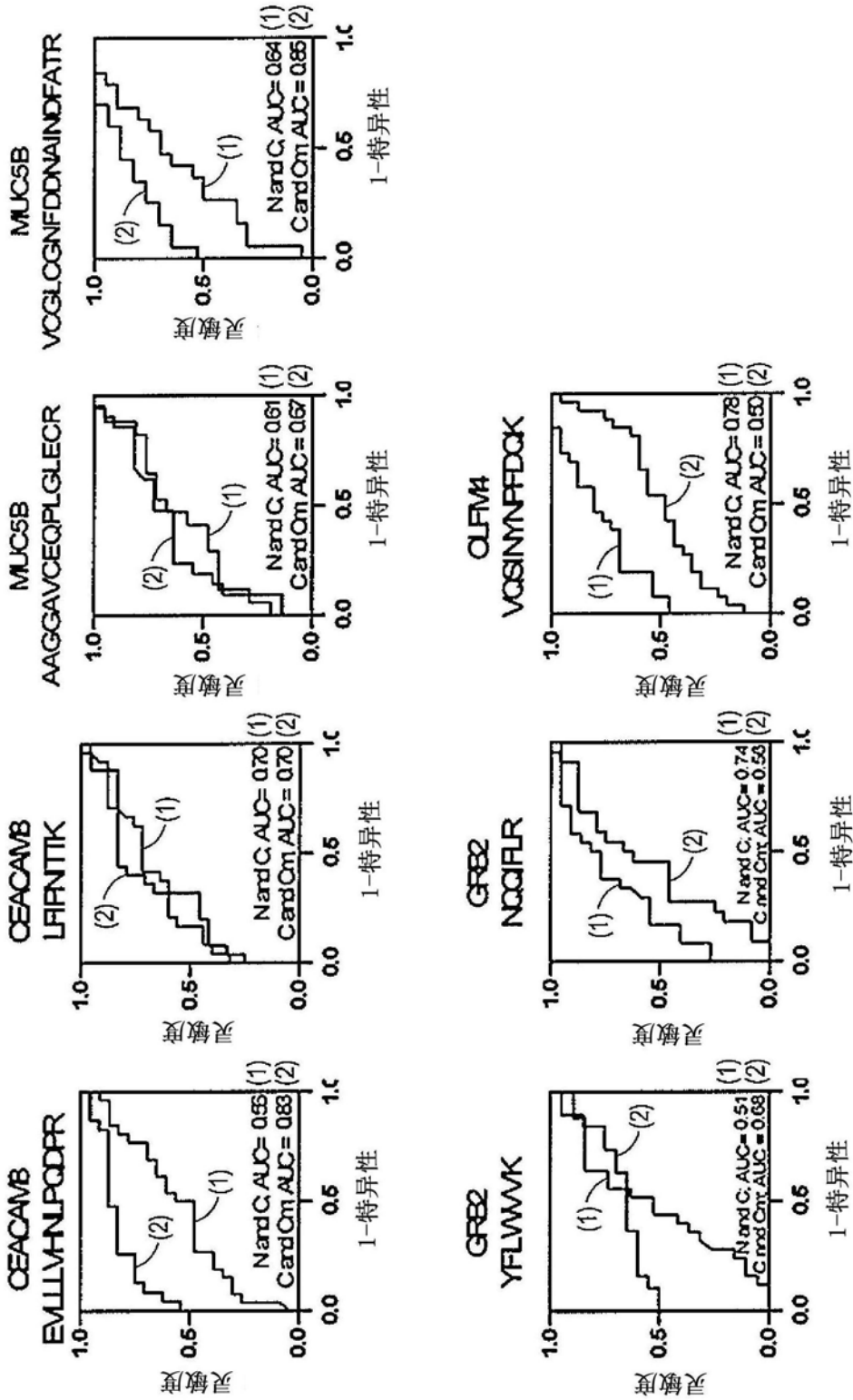


图7-5

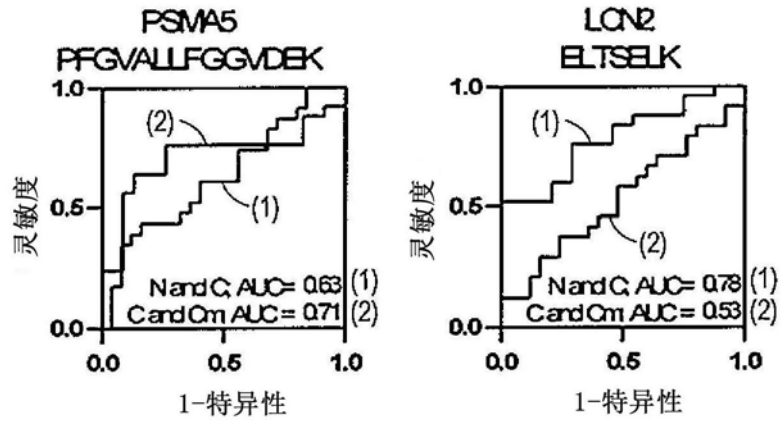


图7-6

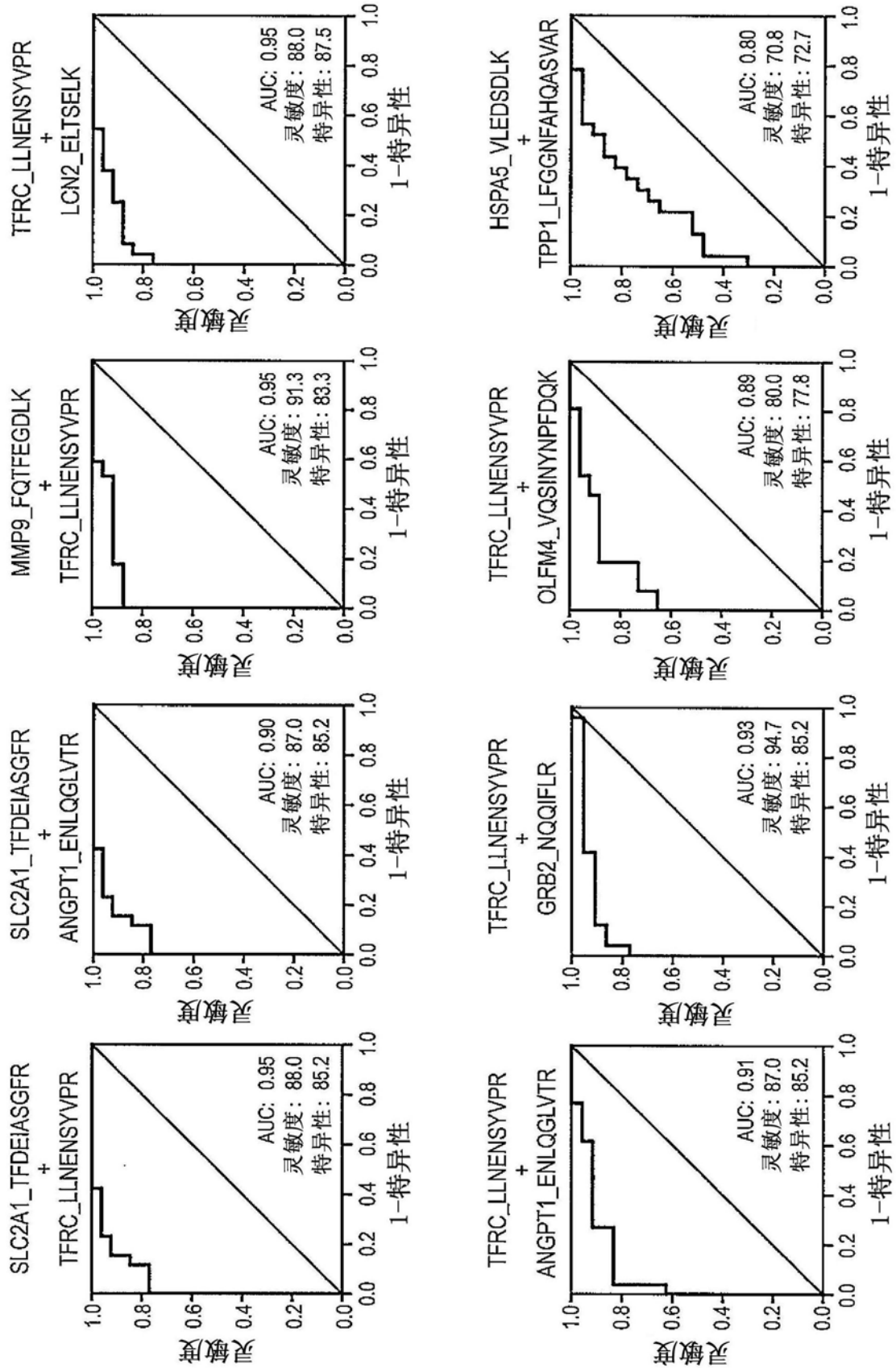


图8-1

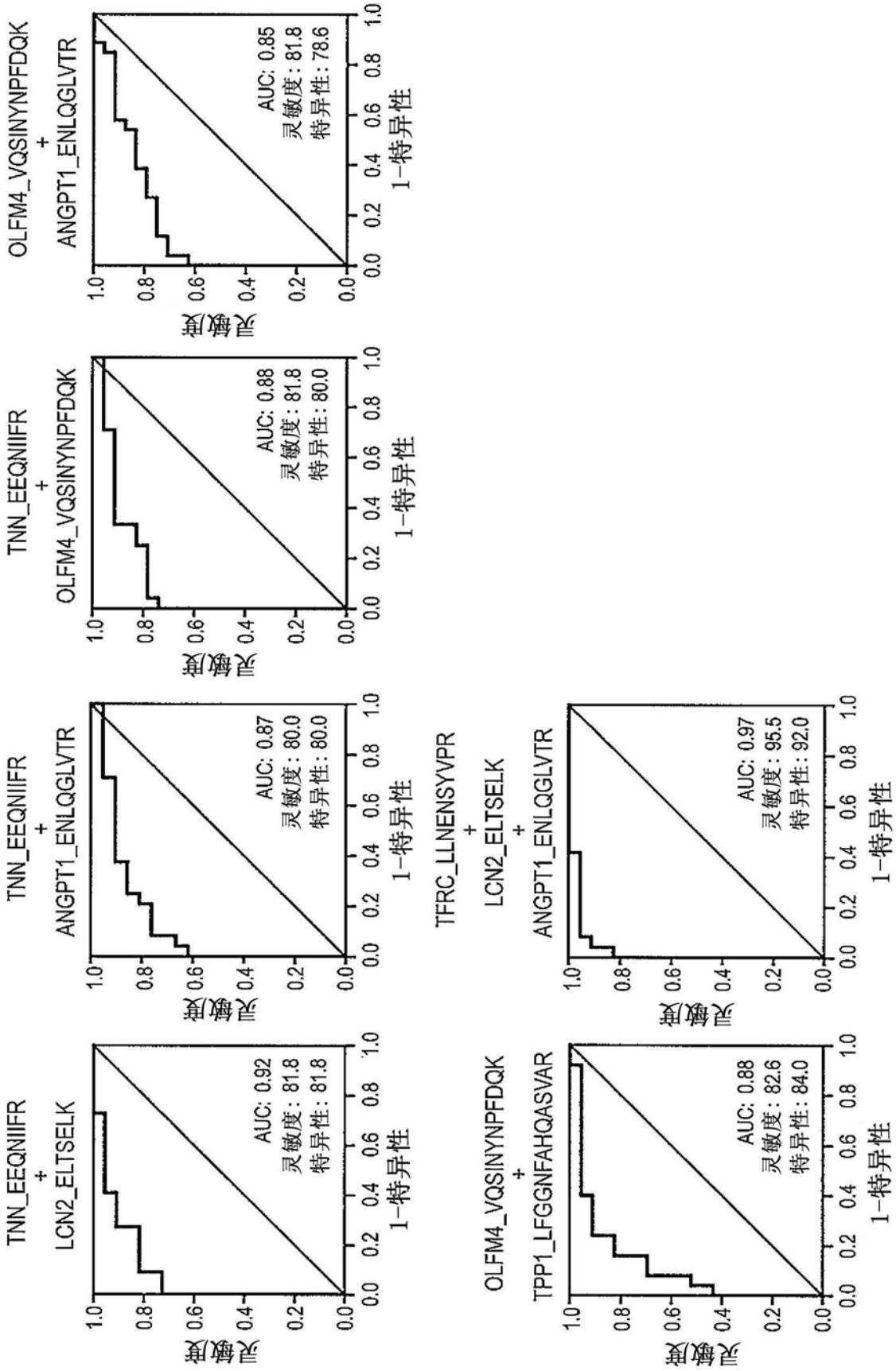


图8-2

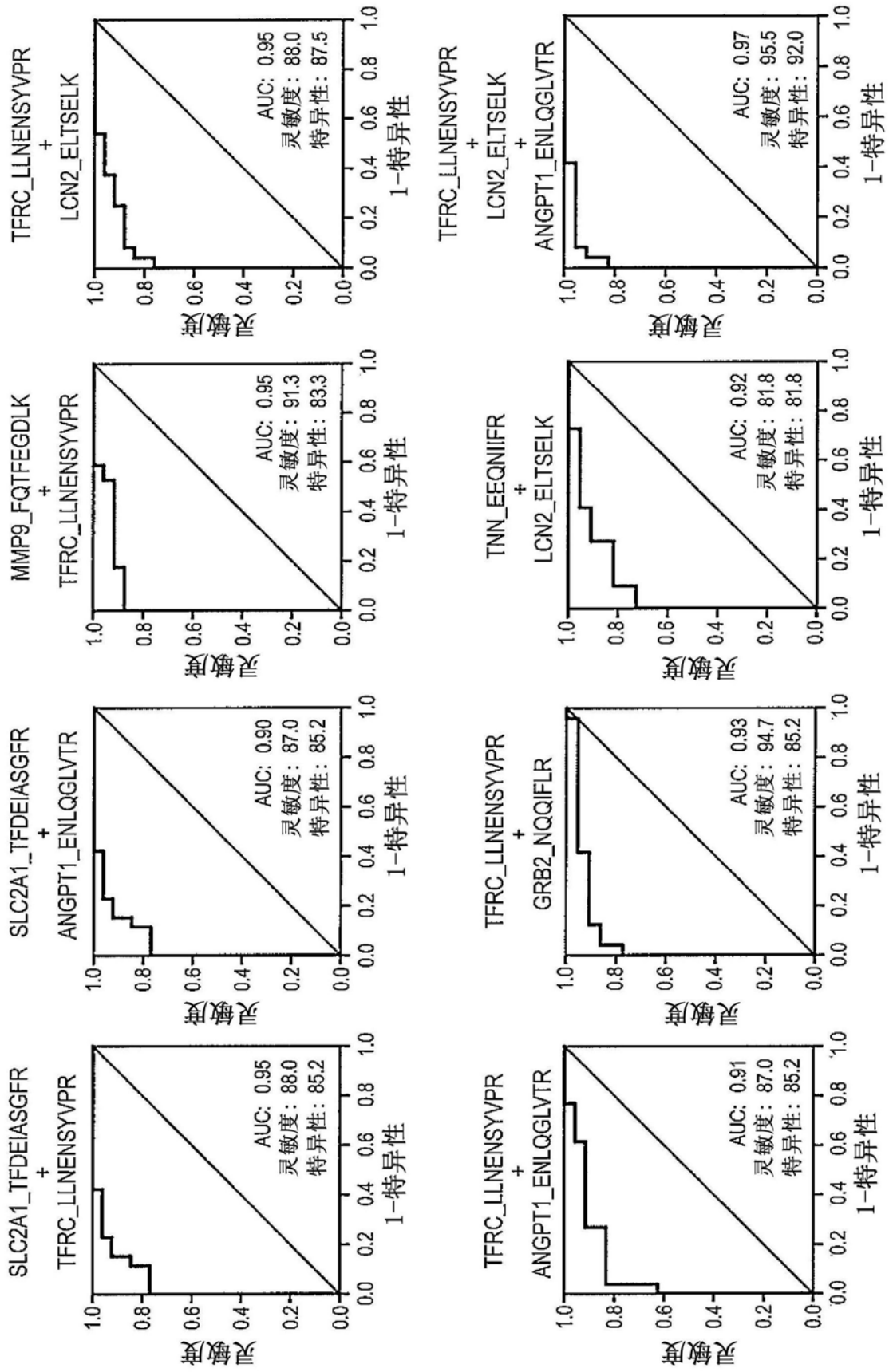


图9

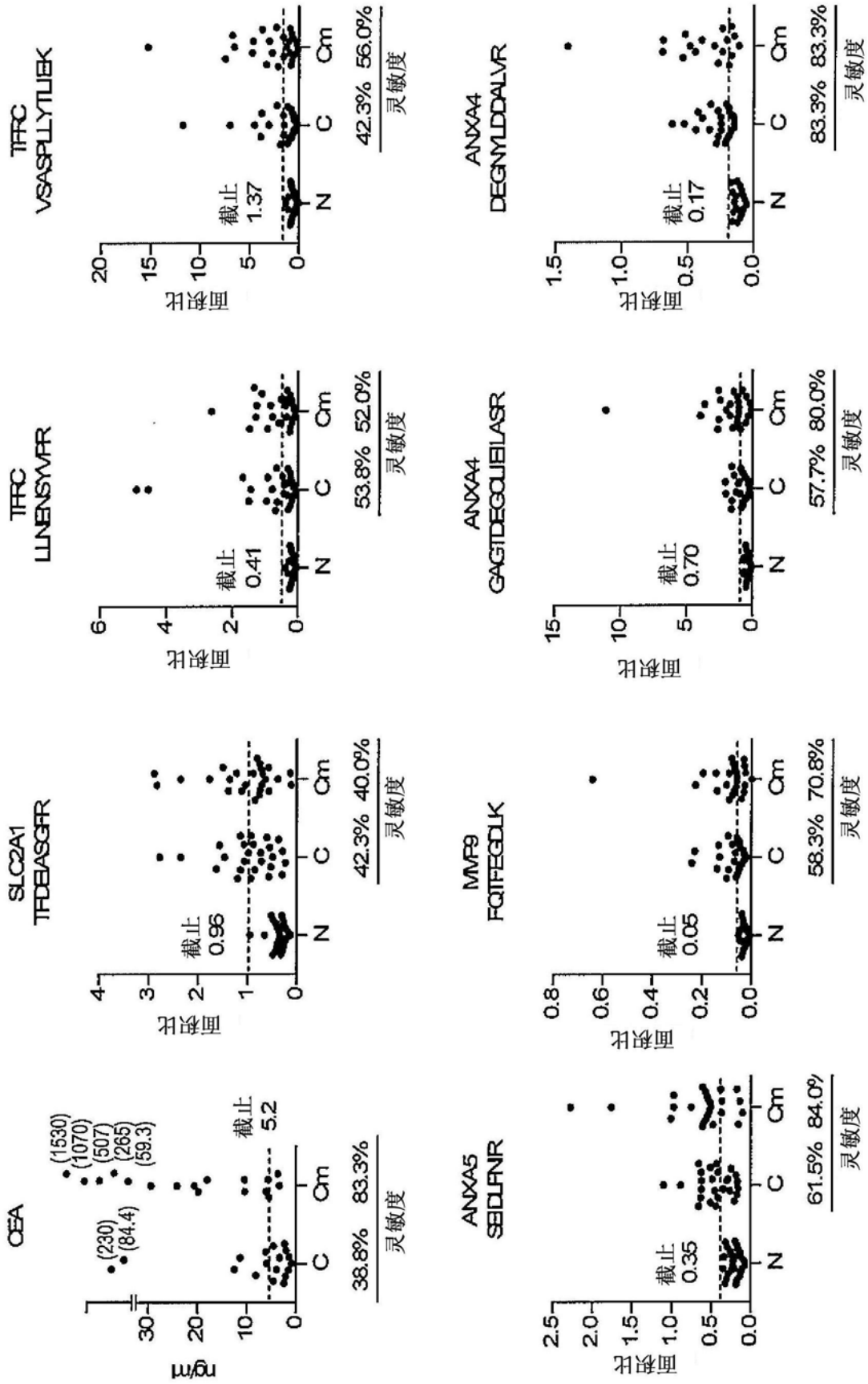


图10-1

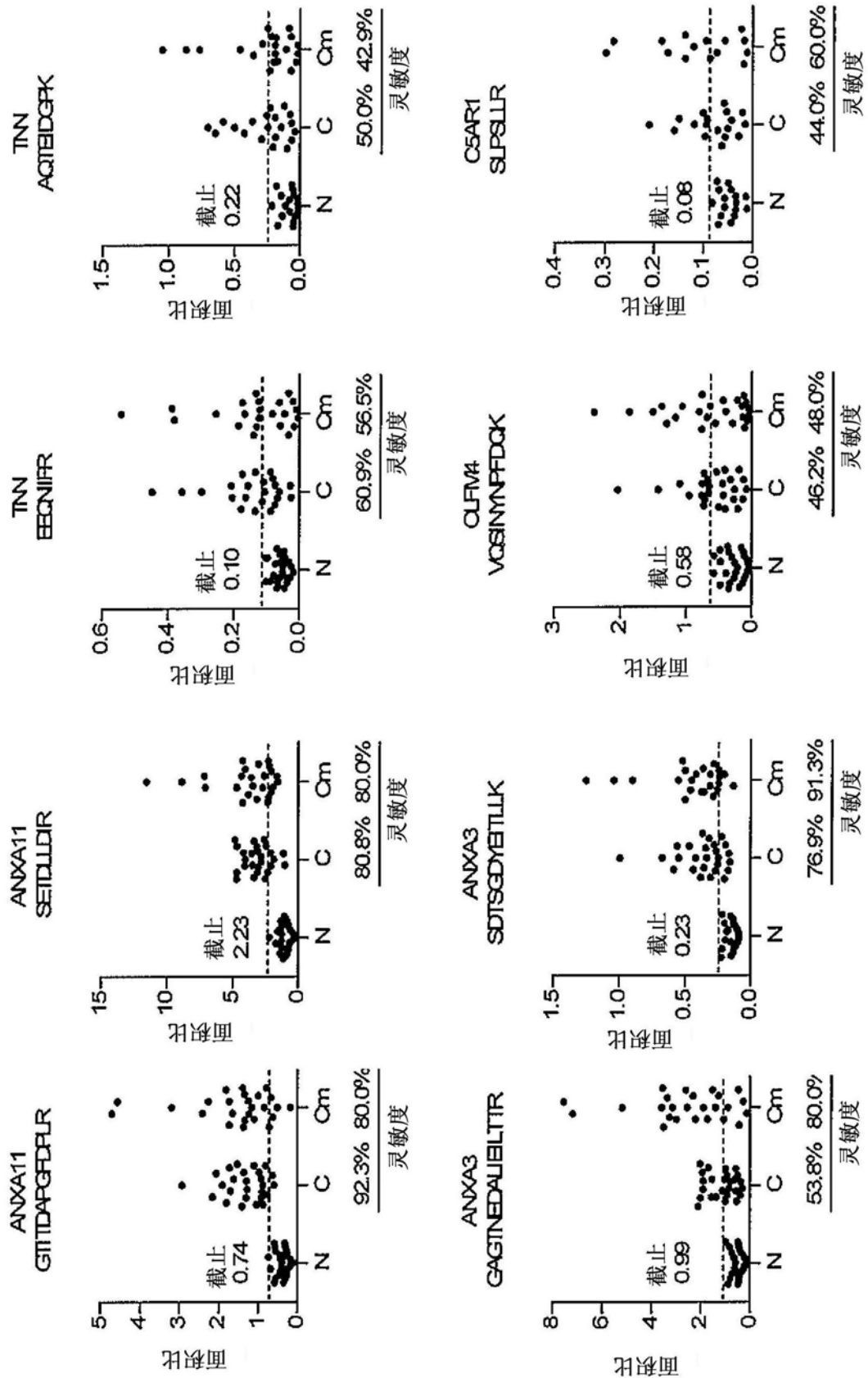


图10-2

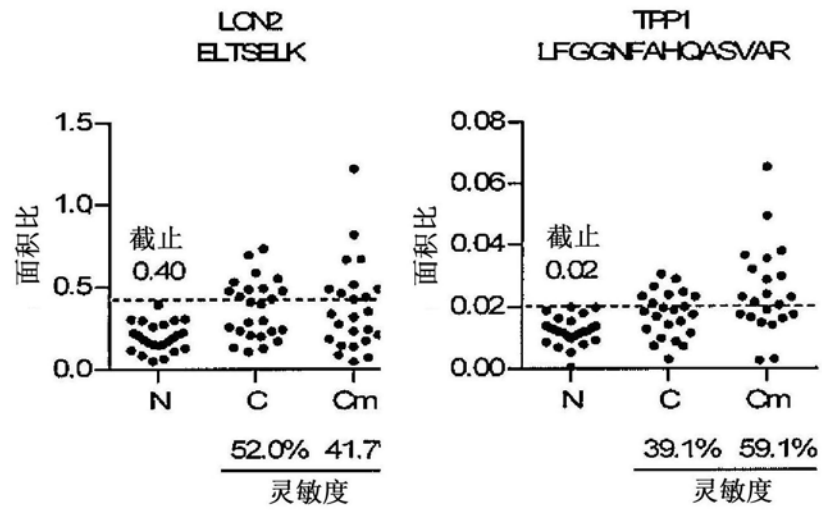


图10-3

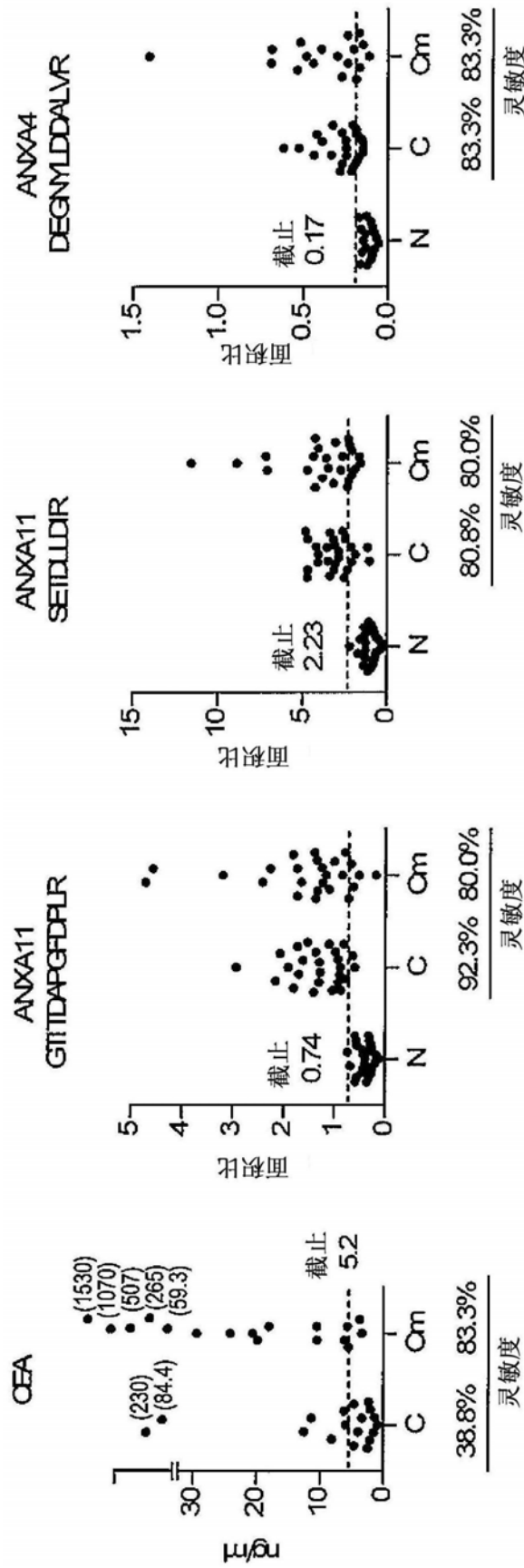


图11

专利名称(译)	用于检测大肠癌的生物标志物		
公开(公告)号	<a href="#">CN110799841A</a>	公开(公告)日	2020-02-14
申请号	CN201880042773.2	申请日	2018-06-29
[标]申请(专利权)人(译)	电化生研株式会社		
申请(专利权)人(译)	国立研究开发法人医药基盘·健康·营养研究所 电化生研株式会社		
当前申请(专利权)人(译)	国立研究开发法人医药基盘·健康·营养研究所 电化生研株式会社		
[标]发明人	朝长毅 白水崇		
发明人	朝长毅 白水崇		
IPC分类号	G01N33/68 C07K14/47 C07K14/705 C12N9/64 G01N33/53 G01N33/574		
CPC分类号	C07K14/47 C07K14/705 C12N9/64 G01N33/53 G01N33/574 G01N33/68 G01N33/57419 G01N33/6848		
代理人(译)	纪秀凤		
优先权	2017129941 2017-06-30 JP		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

提供一种用于早期检测大肠癌的生物标志物。一种用于检测大肠癌的大肠癌生物标志物，其由下面的1至22的22个蛋白质中的至少一个蛋白质或者1至22的蛋白质的部分肽中的至少一个肽构成：1.膜联蛋白A11；2.膜联蛋白A3；3.膜联蛋白A4；4.腱生蛋白-N；5.转铁蛋白受体蛋白1；6.葡萄糖转运蛋白1；7.补体成分C9；8.CD88抗原；9.78kDa葡萄糖调节蛋白；10.α-1-酸性糖蛋白；11.基质金属蛋白酶9；12.血管生成素-1；13.CD67抗原；14.粘蛋白-5B；15.衔接蛋白GRB2；16.膜联蛋白A5；17.嗅觉介导素-4；18.中性氨基酸转运蛋白B(0)；19.三肽基肽酶1；20.热休克相关70kDa蛋白2；21.蛋白酶体亚基α型-5；以及22.中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白。

