(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 112567028 A
(43)申请公布日 2021.03.26

(21)申请号 201980053139.3
(22)申请日 2019.06.12
(30)优先权数据
62/684,014 2018.06.12 US
(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2021.02.09
(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2019/036844 2019.06.12
(87)PCT国际申请的公布数据
WO2019/241438 EN 2019.12.19
(71)申请人 普洛麦格公司
地址 美国威斯康辛州
(72)发明人 M•霍尔 L•P•恩塞尔 M•基洛兰 K•伍德 T•史密斯 V•金凯德 T•科克兰德 M•达特
(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494
代理人 封新琴
(51)Int.Cl.
C12N 9/02(2006.01)
C12N 15/53(2006.01)
C12N 15/62(2006.01)
C12Q 1/66(2006.01)
G01N 21/76(2006.01)
G01N 33/68(2006.01)
G01N 33/58(2006.01)

权利要求书22页 说明书159页
序列表284页 附图200页

(54)发明名称

多部分萤光素酶

(57)摘要

本文提供了用于组装三部分或多部分生物发光复合物的组合物和方法。特别地，生物发光复合物在两个或更多个肽标签(例如，单独地或以二肽或三肽形式融合的)和多肽组分相互作用时形成。

CN 112567028 A

1.一种肽,其包含与SEQ ID NO:23具有高于40％但低于100％的序列同一性并且与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9和/或SEQ ID NO:29具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列,其中当所述肽接触由SEQ ID NO:25组成的第二肽和由SEQ ID NO:17组成的多肽互补物时,当与单独由所述肽和腔肠素底物产生的生物发光信号相比时,在所述腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号得以显著增强。

2.如权利要求1所述的肽,其中当所述肽与所述第二肽和所述多肽互补物缔合时,所述生物发光信号得以显著增强。

3.如权利要求1所述的肽,其中所述肽与SEQ ID NO:6和/或SEQ ID NO:9的肽相比,表现出一种或多种特性的增强,其中所述特性选自:当与所述第二肽和所述多肽互补物组合时,对所述第二肽和所述多肽互补物的亲和力、表达、溶解度、稳定性和生物发光活性。

4.如权利要求1所述的肽,其中所述氨基酸序列不是天然存在的蛋白质或其片段。

5.如权利要求4所述的肽,其中所述氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

6.一种核酸,其包含编码权利要求1所述的肽的序列。

7.一种融合多肽,其包含权利要求1所述的肽和附加氨基酸序列。

8.如权利要求7所述的融合多肽,其中所述附加氨基酸序列选自由以下组成的组:目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。

9.如权利要求8所述的融合多肽,其中所述附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

10.如权利要求8所述的融合多肽,其中所述附加氨基酸序列是第一相互作用多肽,其被配置成在所述第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与所述第二相互作用多肽形成复合物。

11.如权利要求8所述的融合多肽,其中所述附加氨基酸序列是第一共定位多肽,其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。

12.如权利要求8所述的融合多肽,其中所述附加氨基酸序列是目标蛋白质,并且是候选药物靶标。

13.一种核酸,其包含编码权利要求7所述的融合多肽的序列。

14.一种肽,其包含与SEQ ID NO:25具有高于40％但低于100％的序列同一性并且与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列,其中当所述肽接触由SEQ ID NO:23组成的第二肽和由SEQ ID NO:17组成的多肽互补物时,当与单独由所述肽和腔肠素底物产生的生物发光信号相比时,在所述腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号得以显著增强。

15.如权利要求14所述的肽,其中当所述肽与所述第二肽和所述多肽互补物缔合时,所述生物发光信号得以显著增强。

16.如权利要求14所述的肽,其中所述肽与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10的肽相比,

表现出一种或多种特性的增强，其中所述特性选自：当与所述第二肽和所述多肽互补物组合时，对所述第二肽和所述多肽互补物的亲和力、表达、溶解性、稳定性和生物发光活性。

17.如权利要求14所述的肽，其中所述氨基酸序列不是天然存在的蛋白质或其片段。

18.如权利要求17所述的肽，其中所述氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

19.一种核酸，其包含编码权利要求14所述的肽的序列。

20.一种融合多肽，其包含权利要求14所述的肽和附加氨基酸序列。

21.如权利要求20所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列选自由以下组成的组：目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。

22.如权利要求21所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分：抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

23.如权利要求21所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是第一相互作用多肽，其被配置成在所述第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与所述第二相互作用多肽形成复合物。

24.如权利要求21所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是第一共定位多肽，其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。

25.如权利要求21所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是目标蛋白质，并且是候选药物靶标。

26.一种核酸，其包含编码权利要求20所述的融合多肽的序列。

27.一种组合物，其包含：

(a)第一肽，其包含与SEQ ID NO:25具有高于40％但低于100％的序列同一性并且与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；和

(b)第二肽，其包含与SEQ ID NO:23具有高于40％但低于100％的序列同一性并且与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:29具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；

其中当所述第一肽接触所述第二肽和由SEQ ID NO:17组成的多肽互补物时，当与单独由所述第一肽和/或所述第二肽和腔肠素底物产生的生物发光信号相比时，在所述腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号得以显著增强。

28.如权利要求27所述的组合物，其中当所述第一肽与所述第二肽和所述多肽互补物缔合时，所述生物发光信号得以显著增强。

29.如权利要求27所述的组合物，其中与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10的肽相比，所述第一肽表现出一种或多种特性的增强，并且与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:29的肽相比，所述第二肽表现出一种或多种特性的增强，其中所述特性选自：当与所述第二肽和所述多肽互补物组合时，对所述第二肽和所述多肽互补物的亲和力、表达、溶解度、稳定性和生物发光活性。

30.如权利要求27所述的组合物，其中所述第一肽和/或第二肽的氨基酸序列不是天然

存在的蛋白质或其片段。

31.如权利要求30所述的组合物，其中所述第一肽和/或第二肽的氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

32.一种包含核酸的组合物，所述核酸包含编码权利要求27所述的第一肽和第二肽的序列。

33.一种包含融合多肽的组合物，所述融合多肽包含权利要求27所述的第一肽和第二肽以及附加氨基酸序列。

34.如权利要求33所述的组合物，其中所述附加氨基酸序列选自由以下组成的组：目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。

35.如权利要求34所述的组合物，其中所述附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分：抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

36.如权利要求34所述的组合物，其中所述附加氨基酸序列是第一相互作用多肽，其被配置成在所述第一相互作用多肽和第二相互作用多肽接触时与所述第二相互作用多肽形成复合物。

37.如权利要求34所述的组合物，其中所述附加氨基酸序列是第一共定位多肽，其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。

38.如权利要求34所述的组合物，其中所述附加氨基酸序列是目标蛋白质，并且是候选药物靶标。

39.一种包含核酸的组合物，所述核酸包含编码权利要求33所述的组合物的序列。

40.一种多肽，其包含与SEQ ID NO:17具有高于40％但低于100％的序列同一性并且与SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:8和/或SEQ ID NO:27具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，其中当所述多肽接触由SEQ ID NO:23组成的第一肽和由SEQ ID NO:25组成的第二肽时，当与单独由所述肽和腔肠素底物产生的生物发光信号相比时，在所述腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号得以显著增强。

41.如权利要求40所述的多肽，其中当所述多肽与所述第一肽和所述第二肽缔合时，所述生物发光信号得以显著增强。

42.如权利要求40所述的多肽，其中与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8的多肽相比，所述多肽表现出一种或多种特性的增强，其中所述特性选自：当与所述第一肽和第二肽组合时，对所述第一肽和/或第二肽的亲和力、表达、溶解度、稳定性和生物发光活性。

43.如权利要求40所述的多肽，其中所述氨基酸序列不是天然存在的蛋白质或其片段。

44.如权利要求43所述的多肽，其中所述氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

45.一种核酸，其包含编码权利要求40所述的多肽的序列。

46.一种融合多肽，其包含权利要求40所述的多肽和附加氨基酸序列。

47.如权利要求46所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列选自由以下组成的组：目

标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。

48.如权利要求47所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分：抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin，适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

49.如权利要求47所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是第一相互作用多肽，其被配置成在所述第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与所述第二相互作用多肽形成复合物。

50.如权利要求47所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是第一共定位多肽，其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。

51.如权利要求47所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是目标蛋白质，并且是候选药物靶标。

52.一种核酸，其包含编码权利要求46所述的融合多肽的序列。

53.一种多肽，其包含与SEQ ID NO:51和/或302具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性并且与SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:8和SEQ ID NO:27具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，其中当所述多肽接触由SEQ ID NO:23组成的第一肽和由SEQ ID NO:25组成的第二肽时，当与单独由所述肽和腔肠素底物产生的生物发光信号相比时，在所述腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号得以显著增强。

54.如权利要求53所述的多肽，其中当所述多肽与所述第一肽和所述第二肽缔合时，所述生物发光信号得以显著增强。

55.如权利要求53所述的多肽，其中与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8的多肽相比，所述多肽表现出一种或多种特性的增强，其中所述特性选自：当与所述第一肽和第二肽组合时，对所述第一肽和/或第二肽的亲和力、表达、溶解度、稳定性和生物发光活性。

56.如权利要求53所述的多肽，其中所述氨基酸序列不是天然存在的蛋白质或其片段。

57.如权利要求56所述的多肽，其中所述氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

58.一种核酸，其包含编码权利要求53所述的多肽的序列。

59.一种融合多肽，其包含权利要求53所述的多肽和附加氨基酸序列。

60.如权利要求59所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列选自由以下组成的组：目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。

61.如权利要求60所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分：抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

62.如权利要求60所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是第一相互作用多肽，其被配置成在所述第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与所述第二相互作用多肽形成复合物。

63.如权利要求60所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是第一共定位多肽，其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。

64.如权利要求60所述的融合多肽，其中所述附加氨基酸序列是目标蛋白质，并且是候选药物靶标。

65.一种核酸，其包含编码权利要求59所述的融合多肽的序列。

66.一种生物发光复合物，其包含：

(a)多肽，其包含与SEQ ID NO:17、21或302具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性并且与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8具有小于100％的序列同一性的氨基酸序列；

(b)第一肽，其包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性并且与SEQ ID NO:6和/或SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；和

(c)第二肽，其包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性并且与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；

其中当在单独的所述多肽、单独的所述第一肽、单独的所述第二肽以及所述多肽、所述第一肽和所述第二肽中的任意两种存在的情况下与腔肠素或腔肠素类似物底物相比时，所述生物发光复合物在所述腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生显著增强的生物发光。

67.如权利要求66所述的生物发光复合物，其中所述第一肽是第一肽标签，其中所述第二肽是第二肽标签，并且其中所述第一肽标签和所述第二肽标签各自连接至独立地选自由以下组成的组的部分：目标分子、目标肽、目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件或结合部分。

68.如权利要求67所述的生物发光复合物，其中所述第一肽标签或所述第二肽标签连接至药物或药物候选物，并且另一肽标签连接至药物靶标或候选药物靶标，并且其中来自所述生物发光复合物的生物发光的强度与所述药物或药物候选物对所述药物靶标或候选药物靶标的亲和力相关。

69.如权利要求67所述的生物发光复合物，其中所述第一肽标签连接至第一相互作用元件，并且所述第二肽标签连接至第二相互作用元件，并且其中在所测定的条件下，来自所述生物发光复合物的生物发光的强度与所述第一相互作用元件对所述第二相互作用元件的亲和力相关。

70.如权利要求67所述的生物发光复合物，其中所述第一肽标签连接至第一共定位元件，并且所述第二肽标签连接至第二共定位元件，并且其中在所测定的条件下，显著增强的生物发光指示所述第一共定位元件和所述第二共定位元件的共定位，但不一定是相互作用。

71.一种方法，其包括：

(a)组合：

(i)第一肽，其包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，

(ii)第二肽，其包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，

(iii)多肽组分，其包含与SEQ ID NO:17、21和/或302具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在第一分子实体与第二分子实体相互作用时产生生物发光复合物，和

(iv)腔肠素或腔肠素类似物底物；以及

(b)检测发光，其中与单独由所述多肽组分和腔肠素或腔肠素类似物产生的发光水平相比，更高的发光水平指示所述多肽组分和所述第一肽及第二肽的生物发光复合物的形成。

72.如权利要求71所述的方法，其中使所述多肽组分以及所述第一肽和第二肽中的一种或多种在细胞中表达，外源性添加到细胞中，并且/或者添加到样品中。

73.一种检测第一分子实体与第二分子实体之间相互作用的方法，所述方法包括：

(a)用第一肽标签给所述第一分子实体加标签，所述第一肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:6和/或SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；

(b)用第二肽标签给所述第二分子实体加标签，所述第二肽标签包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；

(c)组合所述加标签的第一分子实体和所述加标签的第二分子实体；

(d)添加多肽组分，所述多肽组分包含与SEQ ID NO:17、21和/或302具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在所述第一分子实体与所述第二分子实体相互作用时产生生物发光复合物；

(e)添加腔肠素或腔肠素类似物底物；以及

(f)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号，其中所述发光信号的量值与所述第一分子实体和所述第二分子实体之间的相互作用的强度相关。

74.如权利要求73所述的方法，其中所述第一分子实体和/或所述第二分子实体是目标蛋白质或目标肽，并且加标签包括产生所述第一分子实体和/或所述第二分子实体与所述第一肽标签和/或第二肽标签的融合物。

75.如权利要求73所述的方法,其中所述第一分子实体和/或所述第二分子实体是小分子,并且加标签包括将所述第一分子实体和/或所述第二分子实体与所述第一肽标签和/或第二肽标签直接或间接连接。

76.如权利要求73所述的方法,其中所述第一分子实体和所述第二分子实体之一是药物或药物候选物,而另一者是药物靶标或候选药物靶标,并且所述生物发光信号指示所述药物或药物候选物与作为药物靶标或候选药物靶标的另一者的结合。

77.如权利要求73所述的方法,其中组合所述加标签的第一分子实体和所述加标签的第二分子实体包括在细胞内表达一者或两者并且/或者将一者或两者添加到细胞中。

78.一种用细胞检测第一蛋白质或肽实体与第二蛋白质或肽实体之间的相互作用的方法,所述方法包括:

(a)在所述细胞内表达包含所述第一蛋白质或肽实体和第一肽标签的融合物,所述第一肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列;

(b)在细胞内表达包含第二蛋白质或肽实体和第二肽标签的融合物,所述第二肽标签包含与SEQ ID NO:25具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列;

(c)用所述细胞表达多肽组分,所述多肽组分包含与SEQ ID NO:17、21和/或302具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列,其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在所述第一蛋白质或肽实体与所述第二蛋白质或肽实体相互作用时产生生物发光复合物;

(d)向所述细胞中添加腔肠素或腔肠素类似物底物;以及

(e)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号,其中所述发光信号的量值与所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体之间的相互作用的强度相关。

79.一种检测第一分子实体和第二分子实体的共定位的方法,所述方法包括:

(a)用第一肽标签给所述第一分子实体加标签,所述第一肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:6和/或SEQ ID NO:9具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列;

(b)用第二肽标签给所述第二分子实体加标签,所述第二肽标签包含与SEQ ID NO:25具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列;

(c)在同一系统中组合所述加标签的第一分子实体和所述加标签的第二分子实体;

(d)向所述系统中添加多肽组分,所述多肽组分包含与SEQ ID NO:17、21和/或302具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100%的序列同一性的氨

基酸序列，其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在所述第一分子实体和所述第二分子实体共定位时产生生物发光复合物；

(e)向所述系统中添加腔肠素或腔肠素类似物底物；以及

(f)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号，其中高于背景的发光信号的存在指示所述第一分子实体和所述第二分子实体在所述系统内的共定位，并且/或者其中所述发光信号的量值与所述第一分子实体和所述第二分子实体在所述系统内的共定位的量相关。

80.如权利要求79所述的方法，其中所述系统包括细胞样品、组织样品、器官样品、整个生物体样品、生化样品、非细胞样品。

81.如权利要求79所述的方法，其中所述第一分子实体和/或所述第二分子实体是目标蛋白质或目标肽，并且加标签包括产生所述第一分子实体和/或所述第二分子实体与所述第一肽标签和/或第二肽标签的融合物。

82.如权利要求79所述的方法，其中所述第一分子实体和/或所述第二分子实体是小分子，并且加标签包括将所述第一分子实体和/或所述第二分子实体与所述第一肽标签和/或第二肽标签直接或间接连接。

83.如权利要求79所述的方法，其中组合所述加标签的第一分子实体和所述加标签的第二分子实体包括在所述系统中表达一者或两者并且/或者向所述系统中添加一者或两者。

84.一种用细胞检测第一蛋白质或肽实体和第二蛋白质或肽实体的共定位的方法，所述方法包括：

(a)在所述细胞内表达包含所述第一蛋白质或肽实体和第一肽标签的融合物，所述第一肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:6和/或SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；

(b)在所述细胞内表达包含所述第二蛋白质或肽实体和第二肽标签的融合物，所述第二肽标签包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；

(c)用所述细胞表达多肽组分，所述多肽组分包含与SEQ ID NO:17、21和/或302具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体共定位时产生生物发光复合物；

(d)向所述细胞中添加腔肠素或腔肠素类似物底物；以及

(e)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号，其中高于背景的发光信号的存在指示所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体在所述细胞内的共定位，并且/或者其中所述发光信号的量值与所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体在所述系统内的共定位的量相关。

85.一种试剂盒，其包含：

(a)与第一肽标签缀合的第一结合部分，所述第一肽标签包含与SEQ ID NO:23具有

40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:6和/或SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列;和

(b)与第二肽标签缀合的第二结合部分,所述第二肽标签包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列。

78.如权利要求77所述的试剂盒,其中所述第一结合部分独立地选自由以下组成的组:抗体(例如,多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

79.如权利要求78所述的试剂盒,其中所述第一结合部分和第二结合部分是初级结合部分,其被配置成结合相同靶实体上的抗原、表位或序列。

80.如权利要求78所述的试剂盒,其中所述第一结合部分和第二结合部分是次级结合部分,其被配置成结合初级结合部分上的抗原、表位或序列。

81.如权利要求78所述的试剂盒,所述试剂盒还包含多肽试剂,所述多肽试剂包含与SEQ ID NO:17、21和/或302具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列。

82.如权利要求81所述的试剂盒,所述试剂盒还包含腔肠素或腔肠素类似物。

83.一种检测靶分子的方法,其中所述靶分子展示第一抗原、第一表位或第一序列以及不同的第二抗原、第二表位或第二序列,所述方法包括:

(a)使含有所述靶分子的样品与(i)识别第一抗原、第一表位或第一序列的第一初级结合部分和(ii)识别所述第二抗原、第二表位或第二序列的第二初级结合部分接触,并使所述第一初级结合部分和第二初级结合部分与所述第一抗原、第一表位或第一序列和第二抗原、第二表位或第二序列结合;

(b)使所述样品与(i)与第一肽标签缀合的第一次级结合部分和(ii)与第二肽标签缀合的第二次级结合部分接触,其中所述第一次级结合部分识别所述第一初级结合部分,并且所述第二次级结合部分识别所述第二初级结合部分,其中所述第一肽标签或第二肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:6和/或SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列,并且其中所述第一肽标签或第二肽标签中的另一者包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列,并且使所述第一次级结合部分和第二次级结合部分与所述第一初级结合部分和第二初级结合部分结合;

(c)使所述样品与多肽组分接触,所述多肽组分与SEQ ID NO:17、21和/或302具有40％

或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8具有低于100%的序列同一性,其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在相互作用时产生生物发光复合物;

(d)使所述样品与腔肠素或腔肠素类似物底物接触;以及

(e)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号,其中高于背景的发光信号的存在指示所述靶分子的存在,并且/或者其中所述发光信号的量值与所述样品中靶分子的量相关。

84.如权利要求83所述的方法,其中所述结合部分独立地选自由以下组成的组:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

85.如权利要求83所述的方法,其中所述靶分子是蛋白质、核酸或小分子。

86.如权利要求83所述的方法,其中所述样品是体外的或体内的。

87.一种检测靶分子的方法,其中所述靶分子展示第一抗原、第一表位或第一序列以及不同的第二抗原、第二表位或第二序列,所述方法包括:

(a)使所述样品与(i)与第一肽标签缀合的第一结合部分和(ii)与第二肽标签缀合的第二结合部分接触,其中所述第一次级结合部分识别所述第一抗原、第一表位或第一序列,并且所述第二结合部分识别所述第二抗原、第二表位或第二序列,其中所述第一肽标签或第二肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:6和/或SEQ ID NO:9具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列,并且其中所述第一肽标签或第二肽标签中的另一者包含与SEQ ID NO:25具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列,并且使所述第一结合部分和第二结合部分与所述第一抗原、第一表位或第一序列和第二抗原、第二表位或第二序列结合;

(c)使所述样品与多肽组分接触,所述多肽组分与SEQ ID NO:17、21和/或302具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8具有低于100%的序列同一性,其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在相互作用时产生生物发光复合物;

(d)使所述样品与腔肠素或腔肠素类似物底物接触;以及

(e)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号,其中高于背景的发光信号的存在指示所述靶分子的存在,并且/或者其中所述发光信号的量值与所述样品中靶分子的量相关。

88.如权利要求87所述的方法,其中所述结合部分独立地选自由以下组成的组:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述

分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

89.如权利要求87所述的方法,其中所述靶分子是蛋白质、核酸或小分子。

90.如权利要求87所述的方法,其中所述样品是体外样品、体内样品或生化样品。

91.一种β9/β10样二肽,其包含与SEQ ID NO:35具有高于40%但低于100%的序列同一性并且与SEQ ID NO:205和SEQ ID NO:206具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列,其中当所述肽接触由SEQ ID NO:17、21和/或302组成的多肽互补物时,当与单独由所述肽和腔肠素底物产生的生物发光信号相比时,在所述腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号得以显著增强。

92.如权利要求91所述的β9/β10样二肽,其中当所述肽与所述多肽互补物缔合时,所述生物发光信号得以显著增强。

93.如权利要求91所述的β9/β10样二肽,其中所述肽与SEQ ID NO:205和/或SEQ ID NO:206的肽相比,表现出一种或多种特性的增强,其中所述特性选自:当与所述多肽互补物组合时,对所述多肽互补物的亲和力、表达、溶解度、稳定性和生物发光活性。

94.如权利要求91所述的β9/β10样二肽,其中所述氨基酸序列不是天然存在的蛋白质或其片段。

95.如权利要求94所述的β9/β10样二肽,其中所述氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

96.一种核酸,其包含编码权利要求91所述的β9/β10样二肽的序列。

97.一种融合多肽,其包含权利要求91所述的β9/β10样二肽和附加氨基酸序列。

98.如权利要求97所述的融合多肽,其中所述附加氨基酸序列选自由以下组成的组:目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。

99.如权利要求98所述的融合多肽,其中所述附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

100.如权利要求98所述的融合多肽,其中所述附加氨基酸序列是第一相互作用多肽,其被配置成在所述第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与所述第二相互作用多肽形成复合物。

101.如权利要求98所述的融合多肽,其中所述附加氨基酸序列是第一共定位多肽,其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。

102.如权利要求98所述的融合多肽,其中所述附加氨基酸序列是目标蛋白质,并且是候选药物靶标。

103.一种核酸,其包含编码权利要求97所述的融合多肽的序列。

104.一种进行竞争性测定以检测第一分子实体与第二分子实体之间的相互作用的方法,所述方法包括:

(a)组合:

(i)包含用第一肽标签加标签的所述第一分子实体的示踪剂,所述第一肽标签包含与

SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列,

(ii)用第二肽标签加标签的所述第二分子实体,所述第二肽标签包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列,

(iii)腔肠素或腔肠素类似物底物,

(iv)多肽组分,其包含与SEQ ID NO:17、21和/或302具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列,和

(v)怀疑含有未加标签的第一分子实体的样品;其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在所述腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生生物发光复合物并产生生物发光信号;

(b)检测由所述生物发光复合物产生的所述生物发光信号;

(c)将在所述样品存在的情况下产生的所述生物发光信号与在所述样品不存在的情况下产生的对照生物发光信号进行比较,其中所述生物发光信号的减弱指示所述样品中未加标签的第一分子实体的存在或量。

105.如权利要求104所述的方法,其中所述第一分子实体是小分子或肽。

106.如权利要求104所述的方法,其中所述第二分子实体是药物靶标或候选药物靶标。

107.一种系统或试剂盒,其包含:

(a)多肽组分,其包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的多肽片段的序列同一性;和

(b)一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽,其共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的互补部分的序列同一性;

其中当与单独由所述多肽组分或一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽和腔肠素底物产生的生物发光信号相比时,在所述腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下,由所述多肽组分和一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽组装的生物发光复合物产生的生物发光信号得以显著增强。

108.如权利要求107所述的系统或试剂盒,其中所述多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:794的序列同一性。

109.如权利要求107所述的系统或试剂盒,其中所述多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共

同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与[SEQ ID NO:795的序列同一性。

110.如权利要求107所述的系统或试剂盒,其中所述多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:796的序列同一性。

111.如权利要求107所述的系统或试剂盒,其中所述多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:797的序列同一性。

112.如权利要求107所述的系统或试剂盒,其中所述多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:798的序列同一性。

113.如权利要求107所述的系统或试剂盒,其中所述多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:799的序列同一性。

114.如权利要求107所述的系统或试剂盒,其中所述多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:800的序列同一性。

115.如权利要求107所述的系统或试剂盒,其中所述多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID 801的序列同一性。

116.如权利要求107所述的系统或试剂盒,其中当所述多肽组分与所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽缔合时,所述生物发光信号得以显著增强。

117.如权利要求107所述的系统或试剂盒,其中所述多肽组分和/或一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽包含不是天然存在的序列或其片段的氨基酸序列。

118.如权利要求117所述的系统或试剂盒,其中所述多肽组分和/或一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

119.如权利要求107所述的系统或试剂盒，其中所述多肽组分和/或一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽以与一种或多种附加氨基酸序列的融合物的形式存在。

120.如权利要求119所述的系统或试剂盒，其中所述附加氨基酸序列选自由以下组成的组：目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。

121.如权利要求119所述的系统或试剂盒，其中所述附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分：抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸，DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

122.如权利要求119所述的系统或试剂盒，其中所述附加氨基酸序列是第一相互作用多肽，其被配置成在所述第一相互作用多肽和第二相互作用多肽接触时与所述第二相互作用多肽形成复合物。

123.如权利要求119所述的系统或试剂盒，其中所述附加氨基酸序列是第一共定位多肽，其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。

124.如权利要求119所述的系统或试剂盒，其中所述附加氨基酸序列是目标蛋白质，并且是候选药物靶标。

125.一种生物发光复合物，其包含权利要求107-124中任一项所述的系统或试剂盒的多肽组分和一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽。

126.一种系统或试剂盒，其包含共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的序列同一性的两种或更多种肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分；其中与单独由所述多肽或一种或多种互补肽和腔肠素底物产生的生物发光信号相比，在所述腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下由所述生物发光复合物产生的生物发光信号得以显著增强。

127.如权利要求126所述的系统或试剂盒，所述系统或试剂盒包含与SEQ ID NO:790具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性的多肽组分和共同与SEQ ID NO:794具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性的一种或多种互补肽、互补二肽和/或互补三肽。

128.如权利要求126所述的系统或试剂盒，其中所述多肽包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性，并且所述一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:795的序列同一性。

129.如权利要求126所述的系统或试剂盒，其中所述多肽包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性，并且所述一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、

50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:796的序列同一性。

130.如权利要求126所述的系统或试剂盒,其中所述多肽包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:797的序列同一性。

131.如权利要求126所述的系统或试剂盒,其中所述多肽包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:798的序列同一性。

132.如权利要求126所述的系统或试剂盒,其中所述多肽包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:799的序列同一性。

133.如权利要求126所述的系统或试剂盒,其中所述多肽包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:800的序列同一性。

134.如权利要求126所述的系统或试剂盒,其中所述多肽包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:801的序列同一性。

135.如权利要求126所述的系统或试剂盒,其中当所述多肽与所述一种或多种互补肽缔合时,所述生物发光信号得以显著增强。

136.如权利要求126所述的系统或试剂盒,其中多肽和/或一种或多种互补肽包含不是天然存在的序列或其片段的氨基酸序列。

137.如权利要求136所述的系统或试剂盒,其中多肽和/或一种或多种互补肽包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

138.如权利要求126所述的系统或试剂盒,其中所述多肽和/或一种或多种互补肽以与一种或多种附加氨基酸序列的融合物的形式存在。

139.如权利要求138所述的系统或试剂盒,其中所述附加氨基酸序列选自由以下组成的组:目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。

140.如权利要求138所述的系统或试剂盒,其中所述附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig

结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

141.如权利要求138所述的系统或试剂盒,其中所述附加氨基酸序列是第一相互作用多肽,其被配置成在所述第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与所述第二相互作用多肽形成复合物。

142.如权利要求138所述的系统或试剂盒,其中所述附加氨基酸序列是第一共定位多肽,其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。

143.如权利要求138所述的系统或试剂盒,其中所述附加氨基酸序列是目标蛋白质,并且是候选药物靶标。

144.一种方法,其包括:

(a)组合:

(i)多肽组分,其包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的多肽片段的序列同一性;

(ii)一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽,其共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的互补部分的序列同一性;和

(iii)腔肠素或腔肠素类似物底物;以及

(b)检测发光,其中与单独由所述多肽组分和腔肠素或腔肠素类似物产生的发光水平相比,更高的发光水平表明所述多肽组分和所述一种或多种互补肽的生物发光复合物的形成。

145.如权利要求144所述的方法,其中使所述多肽组分以及所述第一肽和第二肽中的一种或多种在细胞中表达,外源性添加到细胞中,并且/或者添加到样品中。

146.如权利要求144所述的方法,其中:

(i)所述多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:794的序列同一性;

(ii)所述多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:795的序列同一性;

(iii)所述多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、

50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:796的序列同一性；

(iv)所述多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性，并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:797的序列同一性；

(v)所述多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性，并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:798的序列同一性；

(vi)所述多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性，并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:799的序列同一性；

(vii)所述多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性，并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:800的序列同一性；或者

(viii)所述多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性，并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID 801的序列同一性。

147.一种方法，其包括：

(a)组合：

(i)两种或更多种肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分，其共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的全长的序列同一性；和

(ii)腔肠素或腔肠素类似物底物；以及

(b)检测发光，其中与由所述肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分和腔肠素或腔肠素类似物产生的发光水平相比，更高的发光水平指示所述肽和多肽组分的生物发光复合物的形成。

148.如权利要求147所述的方法，其中使所述多肽组分以及所述第一肽和第二肽中的一种或多种在细胞中表达，外源性添加到细胞中，并且/或者添加到样品中。

149.如权利要求147所述的方法，其中：

(i)所述多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:794的序列同一性;

(ii)所述多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:795的序列同一性;

(iii)所述多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:796的序列同一性;

(iv)所述多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:797的序列同一性;

(v)所述多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:798的序列同一性;

(vi)所述多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:799的序列同一性;

(vii)所述多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:800的序列同一性;或者

(viii)所述多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性,并且所述一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID 801的序列

同一性。

150.一种检测第一分子实体与第二分子实体之间的相互作用的方法,所述方法包括:

(a)用第一肽标签、第一二肽标签或第一三肽标签给所述第一分子实体加标签;

(b)用第二肽标签、第二二肽标签或第二三肽标签给所述第二分子实体加标签;

(c)组合所述加标签的第一分子实体和所述加标签的第二分子实体并且/或者使所述加标签的第一分子实体和所述加标签的第二分子实体彼此接触;

(d)添加肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分,其中所述第一肽标签、第一二肽标签或第一三肽标签、所述第二肽标签、第二二肽标签或第二三肽标签,以及所述肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分共同包含与SEQ ID NO:788或789的整体具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性的氨基酸序列,并且能够组装形成生物发光复合物;

(e)添加腔肠素或腔肠素类似物底物;以及

(f)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号,其中所述发光信号的量值与所述第一分子实体和所述第二分子实体之间的相互作用的强度相关。

151.如权利要求150所述的方法,其中所述第一分子实体和/或所述第二分子实体是目标蛋白质或目标肽,并且加标签包括产生所述第一分子实体和/或所述第二分子实体与所述第一标签和/或第二标签的融合物。

152.如权利要求150所述的方法,其中所述第一分子实体和/或所述第二分子实体是小分子,并且加标签包括将所述第一分子实体和/或所述第二分子实体与所述第一标签和/或第二标签直接或间接连接。

153.如权利要求150所述的方法,其中所述第一分子实体和所述第二分子实体之一是药物或药物候选物,而另一者是药物靶标或候选药物靶标,并且所述生物发光信号指示所述药物或药物候选物与作为药物靶标或候选药物靶标的另一者的结合。

154.如权利要求150所述的方法,其中组合所述加标签的第一分子实体和所述加标签的第二分子实体包括在细胞内表达一者或两者并且/或者将一者或两者添加到细胞中。

155.一种用细胞检测第一蛋白质或肽实体与第二蛋白质或肽实体之间的相互作用的方法,所述方法包括:

(a)在所述细胞内表达包含所述第一蛋白质或肽实体和第一肽标签、第一二肽标签或第一三肽标签的融合物,所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第一部分具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性的氨基酸序列;

(b)在所述细胞内表达包含所述第二蛋白质或肽实体和第二肽标签、第二二肽标签或第二三肽标签的融合物,所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第二部分具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性的氨基酸序列;

(c)用所述细胞表达肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分,所述组分包含与SEQ ID NO:788或789的第三部分具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性的氨基酸序列,其中所述第一标签、所述第二标签和所述组分共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、

65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或789的整体的序列同一性,并且被配置成在所述第一蛋白质或肽实体与所述第二蛋白质或肽实体相互作用时产生生物发光复合物;

(d)向所述细胞中添加腔肠素或腔肠素类似物底物;以及

(e)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号,其中所述发光信号的量值与所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体之间的相互作用的强度相关。

156.一种检测第一分子实体和第二分子实体的共定位的方法,所述方法包括:

(a)用第一肽标签、第一二肽标签或第一三肽标签给所述第一分子实体加标签,所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第一部分具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性的氨基酸序列;

(b)用第二肽标签、第二二肽标签或第二三肽标签给所述第二分子实体加标签,所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第二部分具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性的氨基酸序列;

(c)在同一系统中组合所述加标签的第一分子实体和所述加标签的第二分子实体;

(d)向所述系统中加入肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分,所述组分与SEQ ID NO:788或789的第三部分具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性,其中所述第一标签、所述第二标签和所述组分共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或789的整体的序列同一性,其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和组分被配置成在所述第一分子实体和所述第二分子实体共定位时产生生物发光复合物;

(e)向所述系统中添加腔肠素或腔肠素类似物底物;以及

(f)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号,其中高于背景的发光信号的存在指示所述第一分子实体和所述第二分子实体在所述系统内的共定位,并且/或者其中所述发光信号的量值与所述第一分子实体和所述第二分子实体在所述系统内的共定位的量相关。

157.如权利要求156所述的方法,其中所述系统包括细胞样品、组织样品、器官样品、整个生物体样品、生化样品、非细胞样品。

158.如权利要求156所述的方法,其中所述第一分子实体和/或所述第二分子实体是目标蛋白质或目标肽,并且加标签包括产生所述第一分子实体和/或所述第二分子实体与所述第一标签和/或肽标签的融合物。

159.如权利要求156所述的方法,其中所述第一分子实体和/或所述第二分子实体是小分子,并且加标签包括将所述第一分子实体和/或所述第二分子实体与所述第一标签和/或第二标签直接或间接连接。

160.如权利要求156所述的方法,其中组合所述加标签的第一分子实体和所述加标签的第二分子实体包括在所述系统中表达一者或两者并且/或者向所述系统中添加一者或两者。

161.一种用细胞检测第一蛋白质或肽实体和第二蛋白质或肽实体的共定位的方法,所述方法包括:

(a)在所述细胞内表达包含所述第一蛋白质或肽实体和第一肽标签、第一二肽标签或

第一三肽标签的融合物，所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第一部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性的氨基酸序列；

(b)在所述细胞内表达包含所述第二蛋白质或肽实体和第二肽标签、第二二肽标签或第二三肽标签的融合物，所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第二部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性的氨基酸序列；

(c)用所述细胞表达一种或多种肽组分、二肽组分、三肽组分或多肽组分，所述组分与SEQ ID NO:788或789的第三部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，其中所述第一标签、所述第二标签和所述组分共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或789的整体的序列同一性，其中所述第一标签、所述第二标签和所述组分被配置成在所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体共定位时产生生物发光复合物；

(d)向所述细胞中添加腔肠素或腔肠素类似物底物；以及

(e)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号，其中高于背景的发光信号的存在指示所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体在所述细胞内的共定位，并且/或者其中所述发光信号的量值与所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体在所述系统内的共定位的量相关。

170.一种检测靶分子的方法，其中所述靶分子展示第一抗原、第一表位或第一序列以及不同的第二抗原、第二表位或第二序列，所述方法包括：

(a)使含有所述靶分子的样品与(i)识别所述第一抗原、第一表位或第一序列的第一初级结合部分和(ii)识别所述第二抗原、第二表位或第二序列的第二初级结合部分接触，并使所述第一初级结合部分和第二初级结合部分与所述第一抗原、第一表位或第一序列和第二抗原、第二表位或第二序列结合；

(b)使所述样品与(i)与第一标签缀合的第一次级结合部分和(ii)与第二标签缀合的第二次级结合部分接触，其中所述第一次级结合部分识别所述第一初级结合部分，并且所述第二次级结合部分识别所述第二初级结合部分，其中所述第一标签或所述第二标签包含与SEQ ID NO:788或789的第一部分和第二部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性的氨基酸序列；

(c)使所述第一次级结合部分和所述第二次级结合部分与所述第一初级结合部分和所述第二初级结合部分结合；

(d)使所述肽样品与一种或多种肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分接触，所述组分与SEQ ID NO:788或789的第三部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性；其中所述第一标签、所述第二标签和所述组分共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或789的整体的序列同一性，其中所述第一标签、所述第二标签和所述组分被配置成在相互作用时产生生物发光复合物；

(d)使所述样品与腔肠素或腔肠素类似物底物接触;以及

(e)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号,其中高于背景的发光信号的存在指示所述靶分子的存在,并且/或者其中所述发光信号的量值与所述样品中靶分子的量相关。

171.如权利要求170所述的方法,其中所述结合部分独立地选自由以下组成的组:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

172.如权利要求170所述的方法,其中所述靶分子是蛋白质、核酸或小分子。

173.如权利要求170所述的方法,其中所述样品是体外的或体内的。

174.一种检测靶分子的方法,其中所述靶分子展示第一抗原、第一表位或第一序列以及不同的第二抗原、第二表位或第二序列,所述方法包括:

(a)使所述样品与(i)与第一标签缀合的第一结合部分和(ii)与第二标签缀合的第二结合部分接触,其中所述第一次级结合部分识别所述第一抗原、第一表位或第一序列,并且所述第二结合部分识别所述第二抗原、第二表位或第二序列,其中所述第一标签包含与SEQ ID NO:788或789的第一部分具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性的氨基酸序列,并且其中所述第二标签包含具有SEQ ID NO:788或789的第一部分的氨基酸序列;

(b)使所述第一结合部分和所述第二结合部分与所述第一抗原、第一表位或第一序列和所述第二抗原、第二表位或第二序列结合;

(c)使所述样品与肽组分、二肽组分、三肽组分或多肽组分接触,所述组分与SEQ ID NO:788或789的第三部分具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,其中所述第一标签、所述第二标签和所述组分共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:788或789的整体的序列同一性,其中所述第一标签、所述第二标签和所述组分被配置成在相互作用时产生生物发光复合物;

(d)使所述样品与腔肠素或腔肠素类似物底物接触;以及

(e)检测由所述生物发光复合物产生的发光信号,其中高于背景的发光信号的存在指示所述靶分子的存在,并且/或者其中所述发光信号的量值与所述样品中靶分子的量相关。

175.如权利要求174所述的方法,其中所述结合部分独立地选自由以下组成的组:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(所述分析物本身或与所述分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。

176.如权利要求174所述的方法,其中所述靶分子是蛋白质、核酸或小分子。

177.如权利要求174所述的方法,其中所述样品是体外样品、体内样品或生化样品。

多部分萤光素酶

发明领域

[0001] 本文提供了用于组装三部分或多部分生物发光复合物的组合物和方法。特别地，生物发光复合物在两个或更多个肽标签(例如，单独地或以二肽或三肽形式融合的)和多肽组分的相互作用时形成。

[0002] 发明背景

[0003] 生物过程和分析物检测依赖于分子、大分子和分子复合物之间的共定位和相互作用。为了理解此类过程以及开发技术和化合物来操纵它们用于研究、临床和其它实际应用，有可用的工具来检测和监测这些共定位/相互作用是必要的。对这些相互作用(特别是在生理条件下(例如，在用于监测蛋白质相互作用的正常表达水平下)或在复杂的样品基质(例如，血液样品、环境样品)中)的研究，需要高灵敏度。

发明内容

[0004] 本文提供了用于组装三部分或多部分生物发光复合物的组合物和方法。特别地，生物发光复合物在两个或更多个肽标签(例如，单独地或以二肽或三肽形式融合的)和多肽组分的相互作用时形成。

[0005] 在本文的实施方案开发过程中进行的实验显示了由一种或多种互补多肽和一种或多种互补肽进行的生物发光复合物的组装，所述生物发光复合物能够在合适的底物(例如，腔肠素或腔肠素类似物底物)存在的情况下产生发光，所述互补多肽和互补肽共同跨越萤光素酶基本序列的长度(或>长度的75％、>长度的80％、>长度的85％、>长度的90％、>长度的95％或更长)(或共同包含至少40％的与萤光素酶基本序列的序列同一性(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％>80％、>85％、>90％、>95％或更高))。在一些实施方案中，一种或多种“互补”多肽和一种或多种互补肽是单独的分子，所述分子各自对应于萤光素酶基本序列的一部分。通过结构互补性，它们组装形成生物发光复合物。

[0006] 在一些实施方案中，一种或多种互补多肽和一种或多种肽是萤光素酶基本序列的片段，所述片段组装形成生物发光复合物。在一些实施方案中，片段共同包含萤光素酶基本序列的全长。在一些实施方案中，片段共同包含萤光素酶基本序列全长的至少75％(例如，>长度的75％、>长度的80％、>长度的85％、>长度的90％、>长度的95％或更长)。

[0007] 在一些实施方案中，一种或多种互补多肽和一种或多种互补肽是萤光素酶基本序列的部分的变体，其各自包含至少40％的与萤光素酶基本序列的相应部分的序列同一性(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％>80％、>85％、>90％、>95％或更高)，所述变体组装形成生物发光复合物。在一些实施方案中，一种或多种互补多肽和一种或多种互补肽是萤光素酶基本序列的部分的变体，其共同包含至少40％的与整个萤光素酶基本序列的序列同一性(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％>80％、>85％、>90％、>95％或更高)，所述变体组装形成生物发光复合物。在一些实施方案中，片段共同包含萤光素酶基本序列的全长。在一些实施方案中，一种或多种互补多肽和一

种或多种肽共同包含萤光素酶基本序列全长的至少75％(例如,>长度的75％、>长度的80％、>长度的85％、>长度的90％、>长度的95％或更长)。

[0008] 萤光素酶基本序列的实例包括SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:788和SEQ ID NO:789。本文的一些实施方案提供了为萤光素酶基本序列(例如,SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:788和SEQ ID NO:789)的片段或其变体(例如,>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％>80％、>85％、>90％、>95％的序列同一性)的多肽组分,和共同跨越萤光素酶基本序列的其余部分的一种或多种互补肽和/或一种或多种互补多肽。例如,如果萤光素酶基本序列的长度为170个氨基酸残基,则示例性多肽组分的长度可以是例如102个、124个、133个或148个氨基酸,互补的1个、2个、3个、4个、5个或更多个互补肽对应于剩余的68个、46个、37个或22个氨基酸。在一些实施方案中,每个多肽组分各自包含至少40％(例如,>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％或更高)的与萤光素酶基本序列的相应部分的序列同一性。

[0009] 在一些实施方案中,本文提供了系统或试剂盒,其包含:(a)多肽组分,其包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的多肽片段的序列同一性;和(b)一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽,其共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的互补部分的序列同一性;其中当与单独由多肽组分或一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽和腔肠素底物产生的生物发光信号相比时,在腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下,由多肽组分和一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽组装的生物发光复合物产生的生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中,多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性,并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:794的序列同一性。在一些实施方案中,多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性,并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:795的序列同一性。在一些实施方案中,多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性,并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:796的序列同一性。在一些实施方案中,多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性,并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:797的序列同一性。在一些实施方案中,多肽组分包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:790的序

列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:798的序列同一性。在一些实施方案中，多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:799的序列同一性。在一些实施方案中，多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:800的序列同一性。在一些实施方案中，多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID 801的序列同一性。在一些实施方案中，当多肽组分与一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽缔合时，生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中，多肽组分和/或一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽包含不是天然存在的序列或其片段的氨基酸序列。在一些实施方案中，多肽组分和/或一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。在一些实施方案中，多肽组分和/或一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽以与一种或多种附加氨基酸序列的融合物的形式存在。在一些实施方案中，附加氨基酸序列选自由以下组成的组：目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分：抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是第一相互作用多肽，其被配置成在第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与第二相互作用多肽形成复合物。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是第一共定位多肽，其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是目标蛋白质，并且是候选药物靶标。在一些实施方案中，本文提供了生物发光复合物，其包含本文所述的系统或试剂盒的多肽组分和一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽。

[0010] 在一些实施方案中，本文提供了系统或试剂盒，所述系统或试剂盒包含两种或更多种肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分，所述组分共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的序列同一性；其中当与单独由多肽或一种或多种互补肽和腔肠素底物产生的生物发光信号相比时，在腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下，由生物发光复合物产生的生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中，试剂盒的系统包括多

肽组分和一种或多种互补肽、互补二肽和/或互补三肽，所述多肽组分与SEQ ID NO:790具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，所述一种或多种互补肽、互补二肽和/或互补三肽共同与SEQ ID NO:794具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性。在一些实施方案中，多肽包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性，并且一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:795的序列同一性。在一些实施方案中，多肽包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性，并且一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:796的序列同一性。在一些实施方案中，多肽包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性，并且一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:797的序列同一性。在一些实施方案中，多肽包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性，并且一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:798的序列同一性。在一些实施方案中，多肽包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性，并且一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:799的序列同一性。在一些实施方案中，多肽包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性，并且一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:800的序列同一性。在一些实施方案中，多肽包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性，并且一种或多种互补肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:801的序列同一性。在一些实施方案中，当多肽与一种或多种互补肽缔合时，生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中，多肽和/或一种或多种互补肽包含不是天然存在的序列或其片段的氨基酸序列。在一些实施方案中，多肽和/或一种或多种互补肽包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。在一些实施方案中，多肽和/或一种或多种互补肽以与一种或多种附加氨基酸序列的融合物的形式存在。在一些实施方案中，附加氨基酸序列选自由以下组成的组：目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分：抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探

针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中,附加氨基酸序列是第一相互作用多肽,其被配置成在第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与第二相互作用多肽形成复合物。在一些实施方案中,附加氨基酸序列是第一共定位多肽,其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。在一些实施方案中,附加氨基酸序列是目标蛋白质,并且是候选药物靶标。在一些实施方案中,本文提供了包含本文所述的系统或试剂盒的两种或更多种肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分的生物发光复合物。

[0011] 在一些实施方案中,本文提供的方法包括:(a)组合:(i)包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的多肽片段的序列同一性的多肽组分;(ii)一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽,其共同包含40%或更多(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更多)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的互补部分的序列同一性;和(iii)腔肠素或腔肠素类似物底物;以及(b)检测发光,其中与单独由多肽组分和腔肠素或腔肠素类似物产生的发光水平相比时,更高的发光水平表明所述多肽组分和所述一种或多种互补肽的生物发光复合物的形成。在一些实施方案中,使多肽组分以及第一肽和第二肽中的一种或多种在细胞中表达,外源性添加到细胞中,并且/或者添加到样品中。在一些实施方案中,(i)多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性,并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:794的序列同一性;(ii)多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性,并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:795;(iii)多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性,并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:796的序列同一性;(iv)多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性,并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:797的序列同一性;(v)多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性,并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:798的序列同一性;(vi)多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性,并且一种或多种互

补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:799的序列同一性；(vii)多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:800的序列同一性；或者(viii)多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性，以及一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID 801的序列同一性。

[0012] 在一些实施方案中，本文提供了方法，所述方法包括：(a)组合：(i)两种或多种肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分，所述组分共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或SEQ ID NO:789的全长的序列同一性；和(ii)腔肠素或腔肠素类似物底物；以及(b)检测发光，其中与由肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分和腔肠素或腔肠素类似物产生的发光水平相比，更高的发光水平表明所述肽和所述多肽组分的生物发光复合物的形成。在一些实施方案中，使多肽组分以及第一肽和第二肽中的一种或多种在细胞中表达，外源性添加到细胞中，并且/或者添加到样品中。在一些实施方案中，(i)多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:794的序列同一性；(ii)多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:795；(iii)多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:796的序列同一性；(iv)多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:797的序列同一性；(v)多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:790的序列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:798的序列同一性；(vi)多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、

65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:791的序列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:799的序列同一性；(vii)多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:792的序列同一性，并且一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:800的序列同一性；或者(viii)多肽组分包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:793的序列同一性以及一种或多种互补肽、互补二肽、互补三肽和/或互补多肽共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID 801的序列同一性。

[0013] 在一些实施方案中，本文提供了检测第一分子实体与第二分子实体之间相互作用的方法，所述方法包括：(a)用第一肽标签、第一二肽标签或第一三肽标签给第一分子实体加标签；(b)用第二肽标签、第二二肽标签或第二三肽标签给第二分子实体加标签；(c)组合所述加标签的第一分子实体和所述加标签的第二分子实体并且/或者使所述加标签的第一分子实体与所述加标签的第二分子实体彼此接触；(d)添加肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分，其中第一肽标签、第一二肽标签或第一三肽标签、第二肽标签、第二二肽标签或第二三肽标签，以及肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分共同包含与SEQ ID NO:788或789的整体具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的氨基酸序列，并且能够组装形成生物发光复合物；(e)添加腔肠素或腔肠素类似物底物；以及(f)检测由生物发光复合物产生的发光信号，其中发光信号的量值与第一分子实体与第二分子实体之间的相互作用的强度相关。在一些实施方案中，第一分子实体和/或第二分子实体是目标蛋白质或目标肽，并且加标签包括产生第一分子实体和/或第二分子实体与第一标签和/或第二标签的融合物。在一些实施方案中，第一分子实体和/或第二分子实体是小分子，并且加标签包括将第一分子实体和/或第二分子实体与第一标签和/或第二标签直接或间接连接。在一些实施方案中，第一分子实体和第二分子实体之一是药物或药物候选物，另一者是药物靶标或候选药物靶标，并且生物发光信号指示药物或药物候选物与作为药物靶标或候选药物靶标的另一者的结合。在一些实施方案中，组合加标签的第一分子实体和加标签的第二分子实体包括在细胞内表达一者或两者并且/或者将一者或两者添加到细胞中。

[0014] 在一些实施方案中，本文提供了用细胞检测第一蛋白质或肽实体与第二蛋白质或肽实体之间的相互作用的方法，所述方法包括：(a)在细胞内表达包含第一蛋白质或肽实体和第一肽标签、第一二肽标签或第一三肽标签的融合物，所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第一部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的氨基酸序列；(b)在细胞内表达包含第二蛋白质或肽实体和第二肽标签、第二二肽标签或第二三肽标签的融合物，所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第二部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的氨基酸序列；(c)在细胞内表达肽

组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分，所述组分包含与SEQ ID NO:788或789的第三部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性的氨基酸序列，其中所述第一标签、所述第二标签和所述组分共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或789的整体的序列同一性，并且被配置成在所述第一蛋白质或肽实体与所述第二蛋白质或肽实体相互作用时产生生物发光复合物；(d)向细胞中加入腔肠素或腔肠素类似物底物；以及(e)检测由生物发光复合物产生的发光信号，其中发光信号的量值与第一蛋白质或肽实体与第二蛋白质或肽实体之间的相互作用的强度相关。

[0015] 在一些实施方案中，本文提供了检测第一分子实体和第二分子实体的共定位的方法，所述方法包括：(a)用第一肽标签、第一二肽标签或第一三肽标签给第一分子实体加标签，所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第一部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的氨基酸序列；(b)用第二肽标签、第二二肽标签或第二三肽标签给第二分子实体加标签，所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第二部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的氨基酸序列；(c)在同一系统中组合加标签的第一分子实体和加标签的第二分子实体；(d)向系统中加入肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分，所述组分与SEQ ID NO:788或789的第三部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，其中第一标签、第二标签和组分共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或789的整体的序列同一性，其中第一肽标签、第二肽标签和组分被配置成在所述第一分子实体和所述第二分子实体共定位时产生生物发光复合物；(e)向系统中加入腔肠素或腔肠素类似物底物；以及(f)检测由生物发光复合物产生的发光信号，其中高于背景的发光信号的存在指示所述第一分子实体和所述第二分子实体在系统内的共定位，并且/或者其中发光信号的量值与所述第一分子实体和所述第二分子实体在系统内的共定位的量相关。在一些实施方案中，所述系统包括细胞样品、组织样品、器官样品、整个生物体样品、生化样品、非细胞样品。在一些实施方案中，第一分子实体和/或第二分子实体是目标蛋白质或目标肽，并且加标签包括产生第一分子实体和/或第二分子实体与第一标签和/或肽标签的融合物。在一些实施方案中，第一分子实体和/或第二分子实体是小分子，并且加标签包括将第一分子实体和/或第二分子实体与第一标签和/或第二标签直接或间接连接。在一些实施方案中，组合加标签的第一分子实体和加标签的第二分子实体包括在系统中表达一者或两者并且/或者向系统中添加一者或两者。

[0016] 在一些实施方案中，本文提供了用细胞检测第一蛋白质或肽实体与第二蛋白质或肽实体的共定位的方法，所述方法包括：(a)在细胞内表达包含第一蛋白质或肽实体和第一肽标签、第一二肽标签或第一三肽标签的融合物，所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第一部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的氨基酸序列；(b)在细胞内表达包含第二蛋白质或肽实体和第二肽标签、第二二肽标签或第二三肽标签的融合物，所述标签包含与SEQ ID NO:788或789的第二部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、

75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的氨基酸序列;(c)在细胞内表达一种或多种肽组分、二肽组分、三肽组分或多肽组分,所述组分与SEQ ID NO:788或789的第三部分具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性,其中第一标签、第二标签和组分共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或789的整体的序列同一性,其中第一标签、第二标签和组分被配置成在所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体共定位时产生生物发光复合物;(d)向细胞中加入腔肠素或腔肠素类似物底物;以及(e)检测由生物发光复合物产生的发光信号,其中高于背景的发光信号的存在指示所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体在细胞内的共定位,并且/或者其中发光信号的量值与所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体在系统内的共定位的量相关。

[0017] 在一些实施方案中,本文提供了检测靶分子的方法,其中靶分子展示第一抗原、第一表位或第一序列和不同的第二抗原、第二表位或第二序列,所述方法包括:(a)使含有靶分子的样品与(i)识别第一抗原、第一表位或第一序列的第一初级结合部分和(ii)识别第二抗原、第二表位或第二序列的第二初级结合部分接触,并使第一初级结合部分和第二初级结合部分与第一抗原、第一表位或第一序列和第二抗原、第二表位或第二序列结合;(b)使样品与(i)与第一标签缀合的第一次级结合部分和(ii)与第二标签缀合的第二次级结合部分接触,其中第一次级结合部分识别第一初级结合部分,并且第二次级结合部分识别第二初级结合部分,其中第一标签或第二标签包含与SEQ ID NO:788或789的第一部分和第二部分具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的氨基酸序列;(c)使第一次级结合部分和第二次级结合部分与第一初级结合部分和第二初级结合部分结合;(d)使样品与一种或多种肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分接触,所述组分与SEQ ID NO:788或789的第三部分具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性;其中第一标签、第二标签和组分共同包含40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或789的整体的序列同一性,其中第一标签、第二标签和组分被配置成在相互作用时产生生物发光复合物;(d)使样品与腔肠素或腔肠素类似物底物接触;以及(e)检测由生物发光复合物产生的发光信号,其中高于背景的发光信号的存在表明靶分子的存在,并且/或者其中发光信号的量值与样品中靶分子的量相关。在一些实施方案中,结合部分独立地选自由以下组成的组:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中,靶分子是蛋白质、核酸或小分子。在一些实施方案中,样品是体外或体内的。

[0018] 在一些实施方案中,本文提供了检测靶分子的方法,其中靶分子展示第一抗原、第一表位或第一序列和不同的第二抗原、第二表位或第二序列,所述方法包括:(a)使样品与(i)与第一标签缀合的第一结合部分和(ii)与第二标签缀合的第二结合部分接触,其中第

一结合部分识别第一抗原、第一表位或第一序列，并且第二结合部分识别第二抗原、第二表位或第二序列，其中第一标签包含与SEQ ID NO:788或789的第一部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的氨基酸序列，并且其中第二标签包含具有SEQ ID NO:788或789的第一部分的氨基酸序列；(b)使第一结合部分和第二结合部分与第一抗原、第一表位或第一序列和第二抗原、第二表位或第二序列结合；(c)使样品与肽组分、二肽组分、三肽组分或多肽组分接触，所述组分与SEQ ID NO:788或789的第三部分具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，其中第一标签、第二标签和组分共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:788或789的整体的序列同一性，其中第一标签、第二标签和组分被配置成在相互作用时产生生物发光复合物；(d)使样品与腔肠素或腔肠素类似物底物接触；以及(e)检测由生物发光复合物产生的发光信号，其中高于背景的发光信号的存在表明靶分子的存在，并且/或者其中发光信号的量值与样品中靶分子的量相关。在一些实施方案中，结合部分独立地选自由以下组成的组：抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中，靶分子是蛋白质、核酸或小分子。在一些实施方案中，样品是体外样品、体内样品或生化样品。

[0019] 在一些实施方案中，本文提供了表1、表9或表10中所列的肽、二肽、三肽和/或多肽。在一些实施方案中，提供了表1、表9或表10中所列的单一肽、单一二肽、单一三肽或单一多肽(例如，作为试剂、作为标签等)。在一些实施方案中，提供了表1、表9或表10中所列的一对(2种)或一组(例如，2种、3种、4种、5种或更多种)肽、二肽、三肽和/或多肽。特别地，提供了成对或成组的肽、二肽、三肽和/或多肽，它们是互补的，并且能够在彼此相互作用(例如，促进的、非促进的)时形成生物发光复合物。

[0020] 在一些实施方案中，本文提供了与表1、表9或表10中所列的肽、二肽、三肽和/或多肽中的一种或多种具有至少40％(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的肽、二肽、三肽和/或多肽。在一些实施方案中，提供了与表1、表9或表10中所列的肽、二肽、三肽和/或多肽中的一种或多种具有至少40％(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的单一肽、单一二肽、单一三肽或单一多肽(例如，作为试剂、作为标签等)。在一些实施方案中，提供了与表1、表9或表10中所列的肽、二肽、三肽和/或多肽中的一种或多种具有至少40％(例如40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的一对(2种)或一组(例如，2种、3种、4个种、5种或更多种)肽、二肽、三肽和/或多肽。特别地，提供了成对或成组的肽、二肽、三肽和/或多肽，它们是互补的，并且能够在彼此相互作用(例如，促进的、非促进的)时形成生物发光复合物。

[0021] 在一些实施方案中，本文提供了多肽，所述多肽包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:790、791、792或793之一的序列同一性。在一些实施方案中，多肽单独提供或与一种或多种

互补肽、互补二肽和/或互补三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，提供了本文的多肽与目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件等的融合物。在一些实施方案中，提供了编码多肽及其融合物的核酸和载体。

[0022] 在一些实施方案中，本文提供了包含SEQ ID NO:817、818、819、13、15、23或25的肽。在一些实施方案中，本文提供了肽，所述肽包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的与SEQ ID NO:817、818、819、13、15、23或25之一的序列同一性。在一些实施方案中，肽单独提供或与互补多肽和/或其它肽、二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，提供了本文中的肽与目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件等的融合物。在一些实施方案中，提供了编码肽及其融合物的核酸和载体。在一些实施方案中，用本文中的肽给目标分子和/或目标蛋白质加标签。

[0023] 在一些实施方案中，本文提供了包含SEQ ID NO:817和818的β6-7样二肽。在一些实施方案中，本文提供了与SEQ ID NO:817和818具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的β6-7样二肽。在一些实施方案中，二肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，提供了编码二肽及其融合物的核酸和载体。在一些实施方案中，用本文中的二肽给目标分子和/或目标蛋白质加标签。

[0024] 在一些实施方案中，本文提供了包含SEQ ID NO:818和819的β7-8样二肽。在一些实施方案中，本文提供了与SEQ ID NO:818和819具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的β7-8样二肽。在一些实施方案中，二肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，二肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，提供了编码二肽及其融合物的核酸和载体。在一些实施方案中，用本文中的二肽给目标分子和/或目标蛋白质加标签。

[0025] 在一些实施方案中，本文提供了包含SEQ ID NO:819/23或819/25的β8-9样二肽。在一些实施方案中，本文提供了与NO:819/23或819/25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的β8-9样二肽。在一些实施方案中，二肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，二肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，提供了编码二肽及其融合物的核酸和载体。在一些实施方案中，用本文中的二肽给目标分子和/或目标蛋白质加标签。

[0026] 在一些实施方案中，本文提供了包含SEQ ID NO:23/13、23/15、25/13或25/15的β9-10样二肽。在一些实施方案中，本文提供了与NOS:SEQ ID NO:23/13、23/15、25/13或25/15具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的β8-9样二肽。在一些实施方案中，二肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光

复合物。在一些实施方案中，二肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，提供了编码二肽及其融合物的核酸和载体。在一些实施方案中，用本文中的二肽给目标分子和/或目标蛋白质加标签。

[0027] 在一些实施方案中，本文提供了包含SEQ ID NO:817-819的β6-8样三肽。在一些实施方案中，本文提供了与NOS:SEQ ID NO:817-819具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的β6-8样三肽。在一些实施方案中，三肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，三肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，提供了编码三肽及其融合物的核酸和载体。在一些实施方案中，用本文的三肽给目标分子和/或目标蛋白质加标签。

[0028] 在一些实施方案中，本文提供了包含SEQ ID NO:818/819/23或818/819/25的β7-9样三肽。在一些实施方案中，本文提供了与NOS:SEQ ID NOS:818/819/23或818/819/25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的β7-9样三肽。在一些实施方案中，三肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，三肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，提供了编码三肽及其融合物的核酸和载体。在一些实施方案中，用本文的三肽给目标分子和/或目标蛋白质加标签。

[0029] 在一些实施方案中，本文提供了包含SEQ ID NO:819/23/13、819/23/15、819/25/13或819/25/15的β8-10样三肽。在一些实施方案中，本文提供了与NOS:SEQ ID NO:819/23/13、819/23/15、819/25/13或819/25/15具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性的β7-9样三肽。在一些实施方案中，三肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，三肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，三肽单独提供或与互补多肽和/或其它的一种或多种肽、一种或多种二肽和/或三肽成对/成组提供，用于形成生物发光复合物。在一些实施方案中，提供了编码三肽及其融合物的核酸和载体。在一些实施方案中，用本文的三肽给目标分子和/或目标蛋白质加标签。

[0030] 在一些实施方案中，本文提供了肽，其包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100％序列同一性的氨基酸序列，其中当所述肽接触由SEQ ID NO:25组成的第二肽和由SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:302组成的多肽互补物时，与单独由所述肽和所述腔肠素或腔肠素类似物底物产生的生物发光信号相比时，在腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中，当所述肽与第二肽和多肽互补物缔合时，生物发光信号得以显

著增强。在一些实施方案中，与SEQ ID NO:6和/或SEQ ID NO:9的肽相比，所述肽表现出一种或多种特性的增强，其中所述特性选自：当与第二肽和多肽互补物组合时，对第二肽和多肽互补物的亲和力、表达、溶解度、稳定性和/或生物发光活性。在一些实施方案中，氨基酸序列不是天然存在的蛋白质(例如，不是SEQ ID NO:1)，不是其突变形式(例如，不是SEQ ID NO:3)，不是天然存在的蛋白质的片段(例如，不是SEQ ID NO:5-7)，也不是其突变形式的片段(例如，不是SEQ ID NO:8-10之一)。在一些实施方案中，所述氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。在一些实施方案中，肽与接头、反应性部分、检测元件(例如，荧光团)、相互作用/结合元件等化学缀合。

[0031] 在一些实施方案中，本文提供了融合多肽(例如，基因融合物(或者可选地，化学缀合物或合成产生的))，其包含前述段落中描述的肽和附加氨基酸序列或化合物(例如，小分子药物)。在一些实施方案中，附加氨基酸序列选自由以下组成的组：目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和/或结合部分。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分：抗体(例如，多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、肽核酸、DARPin、affimer、纯化的蛋白质(例如，分析物或结合分析物的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是第一相互作用多肽，其被配置成在第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与第二相互作用多肽形成复合物。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是第一共定位多肽，其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是目标蛋白质，并且是候选药物靶标。

[0032] 在一些实施方案中，本文提供了肽，其包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100％序列同一性的氨基酸序列，其中当所述肽接触由SEQ ID NO:23组成的第二肽和由SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:302组成的多肽互补物时，当与单独由所述肽和所述腔肠素或腔肠素类似物底物产生的生物发光信号相比时，在腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号在显著增强。在一些实施方案中，当所述肽与第二肽和多肽互补物缔合时，生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中，与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10的肽相比，所述肽表现出一种或多种特性的增强，其中所述特性选自：当与第二肽和多肽互补物组合时，对第二肽和多肽互补物的亲和力、表达、溶解度、稳定性和/或生物发光活性。在一些实施方案中，氨基酸序列不是天然存在的蛋白质(例如，不是SEQ ID NO:1)，不是其突变形式(例如，不是SEQ ID NO:3)，不是天然存在的蛋白质的片段(例如，不是SEQ ID NO:5-7)，也不是其突变形式的片段(例如，不是SEQ ID NO:8-10之一)。在一些实施方案中，所述氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。在一些实施方案中，肽与接头、反应性部分、检测元件(例如，荧光团)、相互作用/结合元件等化学缀合。

[0033] 在一些实施方案中，本文提供了融合多肽(例如，基因融合物、合成产生的融合物、化学缀合物或酶促缀合物等)，其包含前述段落中描述的肽和附加氨基酸序列。在一些实施方案中，附加氨基酸序列选自由以下组成的组：目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分：抗体

(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白质L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白质M、蛋白质M的Ig结合结构域、肽核酸、DARPin、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中,附加氨基酸序列是第一相互作用多肽,其被配置成在第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与第二相互作用多肽形成复合物。在一些实施方案中,附加氨基酸序列是第一共定位多肽,其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。在一些实施方案中,附加氨基酸序列是目标蛋白质,并且是候选药物靶标。

[0034] 在一些实施方案中,本文提供了组合物,其包含:(a)第一肽,其包含与SEQ ID NO:25具有高于40%(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)但低于100%的序列同一性,但与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列;和(b)第二肽,其包含与SEQ ID NO:23具有高于40%(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)但低于100%的序列同一性,但与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:29具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列;其中当所述第一肽接触所述第二肽和由SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:302组成的多肽互补物时,当与单独由所述第一肽和/或所述第二肽和所述腔肠素底物产生的生物发光信号相比时,在腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中,当第一肽与第二肽和多肽互补物缔合时,生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中,与SEQ ID NO:7和/或SEQ ID NO:10的肽相比,第一肽表现出一种或多种特性的增强,并且与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:9和SEQ ID NO:29的肽相比,第二肽表现出一种或多种特性的增强,其中所述特性选自:当与第二肽和多肽互补物组合时,对第二肽和多肽互补物的亲和力、表达、溶解度、稳定性和生物发光活性。在一些实施方案中,第一肽和/或第二肽的氨基酸序列不是天然存在的蛋白质或其片段。在一些实施方案中,第一肽和/或第二肽的氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

[0035] 在一些实施方案中,本文提供了包含融合多肽的组合物,所述融合多肽包含前述段落所述的第一肽和第二肽以及附加氨基酸序列。在一些实施方案中,附加氨基酸序列选自由以下组成的组:目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。在一些实施方案中,附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白质L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白质M、蛋白质M的Ig结合结构域、肽核酸、DARPin、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中,附加氨基酸序列是第一相互作用多肽,其被配置成在第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与第二相互作用多肽形成复合物。在一些实施方案中,附加氨基酸序列是第一共定位多肽,其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。在一些实施方案中,附加氨基酸序列是目标蛋白质,并且是候选药物靶标。

[0036] 在一些实施方案中,本文提供了多肽,其包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:302具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、

80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列,其中当所述多肽接触由SEQ ID NO:23组成的第一肽和由SEQ ID NO:25组成的第二肽时,当与单独由所述肽和腔肠素或腔肠素类似物底物产生的生物发光信号相比时,在腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中,当多肽与第一肽和第二肽缔合时,生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中,与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8的多肽相比,所述多肽表现出一种或多种特性的增强,其中所述特性选自:当与第一肽和第二肽组合时,对第一肽和/或第二肽的亲和力、表达、溶解度、稳定性和生物发光活性。在一些实施方案中,氨基酸序列不是天然存在的蛋白质(例如,不是SEQ ID NO:1),不是其突变形式(例如,不是SEQ ID NO:3),不是天然存在的蛋白质的片段(例如,不是SEQ ID NO:5-7),也不是其突变形式的片段(例如,不是SEQ ID NO:8-10之一)。在一些实施方案中,所述氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

[0037] 在一些实施方案中,本文提供了融合多肽(例如,基因融合物、合成产生的融合物、化学缀合物、酶促缀合物等),其包含前述段落所述的多肽和附加氨基酸序列、核酸序列或其它融合或附加分子。在一些实施方案中,附加序列或其它分子选自由以下组成的组:目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。在一些实施方案中,附加序列或其它分子是选自由以下组成的组的结合部分:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、肽核酸、DARPin、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或结合分析物的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中,附加序列或其它融合或附加分子是第一相互作用多肽,其被配置成在第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与第二相互作用多肽形成复合物。在一些实施方案中,附加序列或其它融合或附加分子是第一共定位多肽,其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。在一些实施方案中,附加序列或其它融合或附加分子是目标蛋白质,并且是候选药物靶标。

[0038] 在一些实施方案中,本文提供了多肽,其包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21和/或SEQ ID NO:302具有40％或更高(例如,40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列,其中当所述多肽接触由SEQ ID NO:23组成的第一肽和由SEQ ID NO:25组成的第二肽时,当与单独由所述肽和腔肠素或腔肠素类似物底物产生的生物发光信号相比时,在腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中,当多肽与第一肽和第二肽缔合时,生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中,与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8的多肽相比,所述多肽表现出一种或多种特性的增强,其中所述特性选自:当与第一肽和第二肽组合时,对第一肽和/或第二肽的亲和力、表达、溶解度、稳定性和生物发光活性。在一些实施方案中,氨基酸序列不是天然存在的蛋白质(例如,不是SEQ ID NO:1),不是其突变形式(例如,不是SEQ ID NO:3),不是天然存在的蛋白质的片段(例如,不是SEQ ID NO:5-7),也不是其突变形式的片段(例如,不是SEQ ID NO:8-10之一)。在一些实施方案中,所述氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

[0039] 在一些实施方案中，本文提供了融合多肽(例如，基因融合物、合成产生的融合物、化学缀合物或酶促缀合物等)，其包含前述段落中描述的肽和附加氨基酸序列。在一些实施方案中，附加氨基酸序列选自由以下组成的组：目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是选自由以下组成的组的结合部分：抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白质L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白质M、蛋白质M的Ig结合结构域、肽核酸、DARPin、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是第一相互作用多肽，其被配置成在第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与第二相互作用多肽形成复合物。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是第一共定位多肽，其被配置成与第二共定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。在一些实施方案中，附加氨基酸序列是目标蛋白质，并且是候选药物靶标。

[0040] 在一些实施方案中，本文提供了β9/β10样二肽，其包含与SEQ ID NO:35具有高于40％(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)但低于100％的序列同一性并且与SEQ ID NO:205和SEQ ID NO:206具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，其中当所述肽接触由SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:302组成的多肽互补物时，当与单独由所述肽和腔肠素或腔肠素类似物底物产生的生物发光信号相比时，在腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生的生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中，二肽(例如，β_9/β_{10}样二肽)与本文所述的多肽组分(例如，β_{1-8}样多肽)在无促进作用(例如，来自相互作用元件)的情况下缔合(例如，形成生物发光复合物)。在其它实施方案中，本文所述的二肽(例如，β_9/β_{10}样二肽)和多肽组分(例如，β_{1-8}样多肽)在无促进作用(例如，来自相互作用元件)的情况下将不会形成生物发光复合物，但将在来自适当相互作用元件的促进作用下缔合(例如，形成生物发光复合物)。在一些实施方案中，当肽与多肽互补物缔合时，生物发光信号得以显著增强。在一些实施方案中，与SEQ ID NO:205和/或SEQ ID NO:206的肽相比，所述肽表现出一种或多种特性的增强，其中所述特性选自：当与多肽互补物组合时，对多肽互补物的亲和力、表达、溶解度、稳定性和生物发光活性。在一些实施方案中，氨基酸序列不是天然存在的蛋白质或其片段。在一些实施方案中，所述氨基酸序列包含非天然氨基酸、氨基酸类似物和/或类肽氨基酸。

[0041] 在一些实施方案中，本文提供了融合多肽(例如，基因融合物、合成产生的融合物、化学缀合物、酶促缀合物等)，其包含本文所述的β9/β10样二肽和附加氨基酸序列。在一些实施方案中，附加氨基酸序列选自由以下组成的组：目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件和结合部分。在一些实施方案中，附加氨基酸序列或其它融合或附加分子是选自由以下组成的组的结合部分：抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、肽核酸、DARPin、affimer，纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合域。在一些实施方案中，附加氨基酸序列或其它融合或附加分子是第一相互作用多肽，其被配置成在第一相互作用多肽与第二相互作用多肽接触时与第二相互作用多肽形成复合物。在一些实施方案中，附加氨基酸序列或其它融合或附加分子是第一共定位多肽，其被配置成与第二共

定位多肽在细胞区室、细胞、组织或生物体内共定位。在一些实施方案中，附加氨基酸序列或其它融合或附加分子是目标蛋白质，并且是候选药物靶标。

[0042] 在一些实施方案中，本文提供了编码本文所述的肽、多肽和/或融合多肽的核酸和/或载体。在一些实施方案中，本文提供了表达编码本文所述的肽、多肽和/或融合多肽的核酸和/或载体的细胞。在一些实施方案中，提供了本文所述的肽、多肽和/或融合多肽的合成产生。在一些实施方案中，本文所述的肽、多肽和/或融合多肽化学缀合于另外的部分(例如，相互作用元件、共定位元件、目标蛋白质、目标分子等)。

[0043] 在一些实施方案中，本文提供了生物发光复合物，其包含：(a)多肽，其包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:302具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；(b)第一肽，其包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；和(c)第二肽，其包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与EQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；其中当在单独的多肽、单独的第一肽、单独的第二肽以及所述多肽、所述第一肽和所述第二肽中的任意两种存在的情况下与腔肠素或腔肠素类似物底物相比时，所述生物发光复合物在腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生显著增强的生物发光。在一些实施方案中，第一肽是第一肽标签，其中第二肽是第二肽标签，并且其中第一肽标签和第二肽标签各自与独立地选自由以下组成的组的部分连接：目标分子、目标肽、目标蛋白质、相互作用元件、共定位元件或结合部分。在一些实施方案中，第一肽标签或第二肽标签与药物或药物候选物连接，而另一肽标签与药物靶标或候选药物靶标连接，并且其中来自生物发光复合物的生物发光强度与药物或药物候选物对药物靶标或候选药物靶标的亲和力相关。在一些实施方案中，第一肽标签与第一相互作用元件连接，第二肽标签与第二相互作用元件连接，并且其中在所测定的条件下，来自生物发光复合物的生物发光强度与第一相互作用元件对第二相互作用元件的亲和力相关(例如，在一些实施方案中，在相互作用元件之间不存在相互作用的情况下，第一肽、第二肽、多肽组分和底物的组合不形成生物发光复合物(并且不产生显著的光输出(例如，高于背景))。在一些实施方案中，第一肽标签与第一共定位元件连接，第二肽标签与第二共定位元件连接，并且其中在所测定的条件下，显著增强的生物发光指示所述第一共定位元件和所述第二共定位元件的共定位，但不一定是相互作用。

[0044] 在一些实施方案中，本文提供的肽和多肽不是较大(例如，先前存在的)蛋白质的片段。在其它实施方案中，本文提供的一种或多种肽和/或多肽是较大(例如，先前存在的)蛋白质的片段。

[0045] 在一些实施方案中，本文提供的方法包括：(a)组合：(i)第一肽，其包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，(ii)第二肽，其包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且

与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，(iii)肽组分，其包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:302具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在所述第一分子实体与所述第二分子实体相互作用时产生生物发光复合物，(iv)腔肠素或腔肠素类似物底物；以及(b)检测发光，其中与单独由多肽组分和腔肠素或腔肠素类似物产生的发光水平相比，更高的发光水平指示所述多肽组分和所述第一肽及第二肽的生物发光复合物的形成。在一些实施方案中，使多肽组分以及第一肽和第二肽中的一种或多种在细胞中表达，外源性添加到细胞中，并且/或者添加到样品中。

[0046] 在一些实施方案中，本文提供了检测第一分子实体与第二分子实体之间相互作用的方法，所述方法包括：(a)用第一肽标签给第一分子实体加标签，所述第一肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；(b)用第二肽标签给第二分子实体加标签，所述第二肽标签包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；(c)组合加标签的第一分子实体和加标签的第二分子实体；(d)添加多肽组分，所述多肽组分包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:302具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在所述第一分子实体与所述第二分子实体相互作用时产生生物发光复合物；(e)添加腔肠素或腔肠素类似物底物；以及(f)检测由生物发光复合物产生的发光信号，其中发光信号的量值与第一分子实体和第二分子实体之间的一种或多种相互作用的数量、强度、有利性和/或稳定性相关(例如，成比例、成正比等)。在一些实施方案中，所得生物发光复合物的催化效率、底物周转和/或比活性与第一分子实体和第二分子实体之间的一种或多种相互作用的数量、强度、有利性和/或稳定性相关(例如，成比例、成正比等)。在一些实施方案中，第一分子实体和/或第二分子实体是目标蛋白质或目标肽，并且加标签包括产生第一分子实体和/或第二分子实体与第一肽标签和/或第二肽标签的融合物(或合成缀合物)。在一些实施方案中，第一分子实体和/或第二分子实体是小分子，并且加标签包括将第一分子实体和/或第二分子实体与第一肽标签和/或第二肽标签直接或间接连接。在一些实施方案中，第一分子实体和第二分子实体之一是药物或药物候选物，而另一者是药物靶标或候选药物靶标，并且生物发光信号指示药物或药物候选物与作为药物靶标或候选药物靶标的另一者的结合。在一些实施方案中，组合加标签的第一分子实体和加标签的第二分子实体包括在细胞内表达一者或两者并且/或者将一者或两者添加到细胞中。在一些实施方案中，组合加标签的第一分子实体和加标签的第二分子实体在体外、在非细胞样品中等进行。在一些实施方案中，使用本文的系统和方法，通过将未标记的药物靶标或候选药物靶标滴定到系统中，来确定药物或候选药物对药物靶标或候选药物靶标的亲和力。在一些实施方案中，同时执行

步骤(a)-(f)中的两个或更多个步骤。在一些实施方案中,分开执行步骤(a)-(f)中的两个或更多个步骤。

[0047] 在一些实施方案中,本文提供了进行竞争性测定以检测第一分子实体与第二分子实体之间的相互作用的方法,所述方法包括:(a)组合:(i)包含用第一肽标签加标签的第一分子实体的示踪剂,所述第一肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)序列同一性,并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列,(ii)用第二肽标签加标签的第二分子实体,所述第二肽标签包含与SEQ ID NO:25具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)序列同一性,并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列,(iii)腔肠素或腔肠素类似物底物,(iv)多肽组分,其包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:302具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)序列同一性,并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列,和(v)怀疑含有未加标签的第一分子实体的样品;其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在所述腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下产生生物发光复合物并产生生物发光信号;(b)检测由生物发光复合物产生的生物发光信号;以及(c)将在样品存在的情况下产生的生物发光信号与在样品不存在的情况下产生的对照生物发光信号进行比较,其中生物发光信号的减弱指示样品中未加标签的第一分子实体的存在或量。在一些实施方案中,第一分子实体是小分子或肽(例如,药物或候选药物)。在一些实施方案中,第二分子实体是药物靶标或候选药物靶标(例如,蛋白质)。

[0048] 在一些实施方案中,本文提供了检测细胞内第一蛋白质、第一肽或第一分子实体与第二蛋白质、第二肽或第二分子实体之间的相互作用的方法,所述方法包括:(a)在细胞内表达(或添加到细胞或其它系统(例如,非细胞样品)中)包含第一蛋白质、第一肽或第一分子实体和第一肽标签的融合物(例如,基因融合物、合成融合物、化学缀合物等),所述第一肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列;(b)在细胞内表达(或添加到细胞或其它系统(例如,非细胞样品)中)包含第二蛋白质、第二肽或第二分子实体和第二肽标签的融合物(例如,基因融合物、合成融合物、化学缀合物等),所述第二肽标签包含与SEQ ID NO:25具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)的序列同一性,并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列;(c)在细胞内表达(或添加到细胞或其它系统(例如,非细胞样品)中)多肽组分,所述多肽组分包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:302具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)序列同一性,并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100%的序列同一性的氨基酸序列,其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在所述第一蛋白质、第一肽或第一分子实体与所述第二蛋白质、第二肽或第二分子实体相互作用时产生生物发光复合物;(d)向细胞中添加腔肠素或腔肠素类似物底物;以及(e)检测由生物发光复合物产生的发光信号,其中发光信号的量值与第一蛋白质、第一肽或第一分子实体与第二蛋白质、第

二肽或第二分子实体之间的相互作用的强度相关。在一些实施方案中，同时执行步骤(a)-(e)中的两个或更多个步骤。在一些实施方案中，分开执行步骤(a)-(e)中的两个或更多个步骤。

[0049] 在一些实施方案中，本文提供了检测第一分子实体和第二分子实体的共定位的方法，所述方法包括：(a)用第一肽标签给第一分子实体加标签，所述第一肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；(b)用第二肽标签给第二分子实体加标签，所述第二肽标签包与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；(c)在同一系统中组合加标签的第一分子实体和加标签的第二分子实体；(d)向系统中添加多肽组分，所述多肽组分包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21或SEQ ID NO:302具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在所述第一分子实体和所述第二分子实体共定位时产生生物发光复合物；(e)向系统中添加腔肠素或腔肠素类似物底物；以及(f)检测由生物发光复合物产生的发光信号，其中高于背景的发光信号的存在指示所述第一分子实体和所述第二分子实体在系统内的共定位，并且/或者其中发光信号的量值与所述第一分子实体和所述第二分子实体在系统内的共定位的量相关。在一些实施方案中，所述系统包括细胞、组织、器官或整个生物体。在一些实施方案中，第一分子实体和/或第二分子实体是目标蛋白质或目标肽，并且加标签包括产生第一分子实体和/或第二分子实体与第一肽标签和/或第二肽标签的融合物(例如，基因融合物、合成融合物、化学缀合物、酶促缀合物等)。在一些实施方案中，第一分子实体和/或第二分子实体是小分子，并且加标签包括将第一分子实体和/或第二分子实体与第一肽标签和/或第二肽标签直接或间接连接。在一些实施方案中，组合加标签的第一分子实体和加标签的第二分子实体在体外、在非细胞样品等中进行。在一些实施方案中，组合加标签的第一分子实体和加标签的第二分子实体包括在系统中表达一者或两者并且/或者向系统中添加一者或两者。在一些实施方案中，同时执行步骤(a)-(f)中的两个或更多个步骤。在一些实施方案中，分开执行步骤(a)-(f)中的两个或更多个步骤。

[0050] 在一些实施方案中，本文提供了检测第一蛋白质、第一肽或第一分子实体和第二蛋白质、第二肽或第二分子实体在细胞内共定位的方法，所述方法包括：(a)在细胞内表达包含第一蛋白质或肽实体和第一肽标签的融合物，所述第一肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；(b)在细胞内表达包含第二蛋白质或肽实体和第二肽标签的融合物，所述第二肽标签包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)的序列同一性，并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10；具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；(c)在细胞内表达多肽组分，所述多肽组分包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21和/或SEQ ID NO:302具有40％或更高(例如，

40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体共定位时产生生物发光复合物；(d)向细胞中添加腔肠素或腔肠素类似物底物；以及(e)检测由生物发光复合物产生的发光信号，其中高于背景的发光信号的存在指示细胞内所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体的共定位，并且/或者其中发光信号的量值与所述第一蛋白质或肽实体和所述第二蛋白质或肽实体在系统内的共定位的量相关。在一些实施方案中，同时执行步骤(a)-(e)中的两个或更多个步骤。在一些实施方案中，分开执行步骤(a)-(e)中的两个或更多个步骤。

[0051] 在一些实施方案中，本文提供了试剂盒，其包含：(a)与第一肽标签缀合的第一结合部分，所述第一肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列；和(b)与第二肽标签缀合的第二结合部分，所述第二肽标签包含与SEQ ID NO:25具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，第一结合部分和第二结合部分独立地选自由以下组成的组：抗体(例如，多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中，第一结合部分和第二结合部分是初级结合部分，其被配置成结合相同靶实体上的抗原、表位或序列。在一些实施方案中，第一结合部分和第二结合部分是次级结合部分，其被配置成结合初级结合部分上的抗原、表位或序列。在一些实施方案中，试剂盒还包含多肽试剂，所述多肽试剂包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21和/或SEQ ID NO:302具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列。在一些实施方案中，试剂盒还包含腔肠素或腔肠素类似物。

[0052] 在一些实施方案中，本文提供了检测靶分子的方法，其中靶分子展示第一抗原、第一表位或第一序列和不同的第二抗原、第二表位或第二序列，所述方法包括：(a)使含有靶分子的样品与(i)识别第一抗原、第一表位或第一序列的第一初级结合部分和(ii)识别第二抗原、第二表位或第二序列的第二初级结合部分接触，并使第一初级结合部分和第二初级结合部分与第一抗原、第一表位或第一序列和第二抗原、第二表位或第二序列结合；(b)使样品与(i)与第一肽标签缀合或融合的第一次级结合部分和(ii)与第二肽标签缀合或融合的第二次级结合部分接触，其中第一次级结合部分识别第一初级结合部分，并且第二次级结合部分识别第二初级结合部分，其中第一肽标签或第二肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性(并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100％的序列同一性)的氨基酸序列，并且其中第一肽标签或第二肽标签中的另一者包含与SEQ ID NO:25具有40％

或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)序列同一性(并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100%的序列同一性)的氨基酸序列,并且使第一次级结合部分和第二次级结合部分与第一级结合部分和第二初级结合部分结合;(c)使样品与多肽组分接触,所述多肽组分与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21和/或SEQ ID NO:302具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)序列同一性(并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100%的序列同一性),其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在相互作用时产生生物发光复合物;(d)使样品与腔肠素或腔肠素类似物底物接触;以及(e)检测由生物发光复合物产生的发光信号,其中高于背景的发光信号的存在指示靶分子的存在,并且/或者其中发光信号的量值与样品中靶分子的量相关。在一些实施方案中,结合部分独立地选自由以下组成的组:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中,靶分子是蛋白质、肽、核酸、化学物质或药物。在一些实施方案中,样品是体外或体内的。

[0053] 在一些实施方案中,本文提供了检测靶分子的方法,其中靶分子展示第一抗原、第一表位或第一序列和不同的第二抗原、第二表位或第二序列,所述方法包括:(a)使样品与(i)与第一肽标签缀合或融合的第一结合部分和(ii)与第二肽标签缀合或融合的第二结合部分接触,其中第一结合部分识别第一抗原、第一表位或第一序列,并且第二结合部分识别第二抗原、第二表位或第二序列,其中第一肽标签或第二肽标签包含与SEQ ID NO:23具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)序列同一性(并且与SEQ ID NO:6和SEQ ID NO:9具有低于100%的序列同一性)的氨基酸序列,并且其中第一肽标签或第二肽标签中的另一者包含与SEQ ID NO:25具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)序列同一性(并且与SEQ ID NO:7和SEQ ID NO:10具有低于100%的序列同一性)的氨基酸序列,并使第一结合部分和第二结合部分与第一抗原、第一表位或第一序列和第二抗原、第二表位或第二序列结合;(c)使样品与多肽组分接触,所述多肽组分与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21和/或SEQ ID NO:302具有40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%或更高)序列同一性(并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100%的序列同一性),其中所述第一肽标签、所述第二肽标签和所述多肽组分被配置成在相互作用时产生生物发光复合物;(d)使样品与腔肠素或腔肠素类似物底物接触;以及(e)检测由生物发光复合物产生的发光信号,其中高于背景的发光信号的存在指示靶分子的存在,并且/或者其中发光信号的量值与样品中靶分子的量相关。在一些实施方案中,结合部分独立地选自由以下组成的组:抗体(多克隆的、单克隆的和/或重组的)、抗体片段、蛋白A、蛋白A的Ig结合结构域、蛋白G、蛋白G的Ig结合结构域、蛋白A/G、蛋白A/G的Ig结合结构域、蛋白L、蛋白L的Ig结合结构域、蛋白M、蛋白M的Ig结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域。在一些实施方案中,靶分子是蛋白质、肽、核酸、化学物

质或药物。在一些实施方案中，样品是体外或体内的。

[0054] 在一些实施方案中，本文提供的方法包括：(a)组合：(i)肽组分，其包含与SEQ ID NO:35具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:205和SEQ ID NO:206具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，(ii)多肽组分，其包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21和/或SEQ ID NO:302具有40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或更高)序列同一性，并且与SEQ ID NO:5和SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性的氨基酸序列，和(iii)腔肠素或腔肠素类似物底物，其中肽组分和多肽组分被配置成在相互作用时产生生物发光复合物；以及(b)检测发光，其中与单独由多肽组分和腔肠素或腔肠素类似物产生的发光水平相比，更高的发光水平指示多肽组分与肽的生物发光复合物的形成。在一些实施方案中，所述肽是与第一相互作用元件的融合物(例如，基因缀合物、合成缀合物、化学缀合物、酶促缀合物等)，并且多肽组分是与第二相互作用元件融合物(例如，基因缀合物、合成缀合物、化学缀合物、酶促缀合物等)，其中所述肽组分和所述多肽组分在相互作用元件的相互作用时形成生物发光复合物，但在不存在相互作用元件之间的相互作用的情况下不形成生物发光复合物。在一些实施方案中，肽和多肽组分在不存在促进作用(例如，通过相互作用元件)的情况下形成生物发光复合物。在一些实施方案中，所述肽是与目标蛋白质、目标肽或目标分子(例如，不是相互作用元件)的融合物或缀合物(例如，基因缀合物、合成缀合物、化学缀合物、酶促缀合物等)，并且/或者所述多肽组分是与目标蛋白质、目标肽或目标分子(例如，不是相互作用元件)的融合物或缀合物(例如，基因缀合物、合成缀合物、化学缀合物、酶促缀合物等)。在一些实施方案中，肽组分和多肽组分在共定位(例如，在样品、细胞、组织、受试者等中)时，在没有通过相互作用元件产生的促进作用的情况下形成生物发光复合物。在一些实施方案中，肽组分和多肽组分在通过相互作用元件产生的促进作用(但并非无促进作用)时形成生物发光复合物。

附图说明

[0055] 本专利或申请文件包含至少一幅用彩色绘制的图。带有彩色附图的本专利或专利申请出版物的副本将按请求并在支付必要的费用后由专利局提供。

[0056] 图1.演示缺乏β9和β10部分的多肽(LgTrip 2098;SEQ ID NO:17)显示出与LgBiT(SEQ ID NO:11)相比减弱的背景发光，并且通过与对应于β9和β10的肽互补而被激活的图。

[0057] 图2.演示LgTrip 2098(SEQ ID NO:17)被分别对应于β9和β10的单独肽激活的图。

[0058] 图3.描绘示例性LgTrip 2098突变体的相对稳定性的图。

[0059] 图4.描绘LgTrip 2098突变体的位置42处的氨基酸位点饱和度的相对发光活性的图。

[0060] 图5.描绘LgTrip 2098突变体的位置42处的氨基酸变化的相对稳定性的图。

[0061] 图6A-图6C.描绘LgTrip 2098突变体的(A)位置4、(B)位置30和(C)位置106处的氨基酸变化的相对发光活性的图。

[0062] 图7.描绘LgTrip 3092突变体的(A)位置101、(B)位置117、(C)位置127、(D)位置120和(E)位置126处的氨基酸变化的相对发光活性的图。

[0063] 图8.描绘LgTrip 2098(WT)(SEQ ID NO:31)、LgTrip 3092(SEQ ID NO:19)和

LgBiT(SEQ ID NO:11)在37℃下的相对稳定性的图。

[0064] 图9.描绘LgTrip变体在(A)42℃和(B)60℃下的相对稳定性的图。

[0065] 图10.描绘(A)用SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)滴定各种LgTrip变体,(B)用SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)滴定各种LgTrip变体,和(C)各种LgTrip变体对SmTrip9 pep286和SmTrip10 pep86的亲和力的图。

[0066] 图11A-图11B.描绘各种LgTrip变体在60℃下的(A)稳定性(半衰期)和(B)相对稳定性的图。

[0067] 图12A-图12B.描绘(A)在TBS+0.01％BSA中测定的以及(B)用NanoGlo®测定缓冲液测定的在SmTrip9pep286(SEQ ID NO:37)和SmTrip10 pep86(HiBiT;SEQ ID NO:25)存在的情况下相较于在NanoLuc(SEQ ID NO:3)和LgBiT(SEQ ID NO:11)和SmTrip10 pep86(HiBiT;SEQ ID NO:25)存在的情况下的LgTrip变体的动力学曲线的图。

[0068] 图13A-图13B.描绘通过雷帕霉素诱导的FRB/FKBP复合物形成产生的各种三部分系统的促进性互补作用的图:(A)SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)、SmTrip9 pep245(SEQ ID NO:23)和LgTrip 2098(SEQ ID NO:31);和(B)SmBiT(SEQ ID NO:13)、SmTrip9 pep245(SEQ ID NO:23)和LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)。

[0069] 图14A-图14B.比较LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 2098(WT)(SEQ ID NO:31)在(A)TBS+0.01％BSA和(B)被动裂解缓冲液(PLB)中于37℃下的稳定性的图。

[0070] 图15A-图15B.比较LgBiT(SEQ ID NO:11)、LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和NanoLuc(SEQ ID NO:31)在60℃下的稳定性的图;(A)时间过程和(B)半衰期。

[0071] 图16A-图16B.比较(A)在NaCl存在的情况下和(B)在暴露于NaCl 26小时后的LgBiT(SEQ ID NO:11)、NanoLuc(SEQ ID NO:3)、LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和LgTrip 2098(WT)(SEQ ID NO:31)的图。

[0072] 图17A-图17B.比较(A)在尿素存在的情况下和(B)在暴露于尿素26小时后的LgBiT(SEQ ID NO:11)、NanoLuc(SEQ ID NO:3)、LgTrip3546(SEQ ID NO:51)和LgTrip 2098(WT)(SEQ ID NO:31)的图。

[0073] 图18A-图18B.比较(A)在不同pH值下和(B)在暴露于不同的pH值26小时后的LgBiT(SEQ ID NO:11)、NanoLuc(SEQ ID NO:3)、LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和LgTrip 2098(WT)(SEQ ID NO:31)变体的图。

[0074] 图19.比较LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的自发光的图。

[0075] 图20A-图20B.比较LgBiT(SEQ ID NO:11)+SmTrip10 pep86(HiBiT;SEQ ID NO:25)、LgBiT(SEQ ID NO:11)+pep263(SEQ ID NO:35)(β9/β10二肽)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)+pep263(β9/β10二肽)(SEQ ID NO:35)的发光的图:(A)RLU和(B)信号/背景(S/B)。

[0076] 图21A-图21C.LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)分别与SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)和SmTrip9 pep245(SEQ ID NO:23)的促进性互补作用:(A)测定系统的示意图,(B)RLU和(C)信号/背景(S/B)。

[0077] 图22.比较各种SmTrip10序列对LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)的亲和力的图和表。

[0078] 图23.比较标准取向(pep263)(SEQ ID NO:35)和反向取向(pep326)(SEQ ID NO:179)二肽对LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的激活的图和表。

[0079] 图24.描绘包含HiBiT或SmBiT序列的二肽对互补多肽的激活的图和表。具有HiBiT序列pep263(SEQ ID NO:35)的二肽或具有SmBiT序列pep274(SEQ ID NO:147)的二肽

[0080] 图25A-图25B.(A)描绘由多肽组分(相对于LgTrip 3546具有添加或缺失)与SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)和各种β10样肽(SmTrip10肽)的各种组合的互补作用产生的发光的图;(B)描绘由LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)与各种β10样肽(SmTrip10肽)的互补作用产生的发光的图。

[0081] 图26A-图26C.(A-C)描绘由在多肽组分与对应于β9链的肽之间或β9与β10样肽之间具有重叠(相对于基本萤光素酶序列)的多肽/肽组合产生的发光的图。

[0082] 图27A-图27B.描绘了由(A)在恒定的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)浓度存在的情况下滴定各种β9样肽(SmTrip9肽),以及(B)在恒定的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和各种β9样肽(SmTrip9肽)浓度存在的情况下滴定SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)产生的发光的图和表。

[0083] 图28.描绘了由在恒定浓度的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)存在的情况下滴定各种β10样肽(SmTrip 10肽)产生的发光的图和表。

[0084] 图29A-图29B.描绘在恒定浓度的各种β10样肽(SmTrip10肽)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)多肽组分存在的情况下滴定β9样肽(A)SmTrip9 pep286(SEQ.ID 37)和(B)SmTrip9 pep287(SEQ ID NO:148)的图和表。

[0085] 图30.描绘在HEK293细胞中构建体取向(β9-FKBP、FKBP-β9、β10-FKBP、FKBP-β10、β9-FRB、FRB-β9、β10-FRB或FRB-β10)对促进性互补作用的影响的图。

[0086] 图31.描绘在大肠杆菌(E.Coli)细胞中构建体取向(β9-FKBP、FKBP-β9、β10-FKBP、FKBP-β10、β9-FRB、FRB-β9、β10-FRB或FRB-β10)对促进性互补作用的影响的图。

[0087] 图32.描绘各种β10样肽与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)的计算的Kd值的图。

[0088] 图33.描绘来自在多肽组分LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)与β9样肽之间具有不同分裂位点的组分的组合的发光的图和表。

[0089] 图34.描绘来自在各种LgTrip多肽组分与SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)之间具有序列间隙和/或重叠的组分的组合的发光的图。

[0090] 图35.描绘在SmTrip10 pep86(HiBiT;SEQ ID NO:25)存在的情况下,来自在β9样肽(SmTrip9肽)与多肽组分LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)之间在序列中具有间隙和/或重叠的Nano Trip组分组合的发光的图。

[0091] 图36.描绘用LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip10 pep86对β9样肽(SmTrip9肽)长度对β9样肽亲和力和最大光输出的影响的生化分析的表。

[0092] 图37.描绘用LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)对β9样肽(SmTrip9肽)长度对HiBiT亲和力和最大光输出的影响的生化分析的表。

[0093] 图38.描绘β9样SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)点突变体与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)的Kd和Bmax的表。

[0094] 图39.描绘不同溶解度标签对β9样肽与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip9 pep86(SEQ ID NO:25)的亲和力的影响的表。

[0095] 图40.描绘各种C末端延伸序列对β9样肽或β10样肽的亲和力和最大光输出的影响

的表。描绘了β9样肽滴定(pep286(SEQ ID NO:37)、pep292(SEQ ID NO:153)、pep297(SEQ ID NO:157)、pep302(SEQ ID NO:161))和β10样肽SmTrip10 pep86(HiBiT;SEQ ID NO:25)。

[0096] 图41.描绘在具有LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的大肠杆菌裂解物中FRB-β10构建体接头长度(15个、10个或5个Gly/Ser残基)、接头组成(含有或未含Ala-Ile)、六组氨酸标签包含(hexahistidine tag inclusion)和β10组成(SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)或SmTrip10pep289(SEQ ID NO:150))对促进性互补作用的影响的图。

[0097] 图42.描绘在具有LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的HEK裂解物中FRB-β10构建体接头长度(15个、10个或5个Gly/Ser残基)、接头组成(含有或未含Ala-Ile)、六组氨酸标签包含和β10组成SmTrip10pep86(SEQ ID NO:25)或SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)对促进性互补作用的影响的图。

[0098] 图43.描绘在具有LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的大肠杆菌裂解物中β9序列截短和延伸以及构建体取向(β9-FKBP或FKBP-β9)对与FRB-SmTrip10 pep86(β10)(SEQ ID NO:25)的促进性互补作用的影响的图。

[0099] 图44.描绘在具有LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的大肠杆菌裂解物中β9序列截短和延伸以及构建体取向(β9-FKBP或FKBP-β9)对与FRB-SmTrip10 pep289(β10)(SEQ ID NO:150)的促进性互补作用的影响的图。

[0100] 图45.描绘在具有LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的大肠杆菌裂解物中β9序列截短、延伸和构建体取向(β9-FKBP或FKBP-β9)对与FRB-SmTrip10 pep86(β10)(SEQ ID NO:25)的促进性互补作用的影响的图。

[0101] 图46.描绘在具有LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的大肠杆菌裂解物中β9序列截短、延伸和构建体取向(β9-FKBP或FKBP-β9)对与FRB-SmTrip10 pep289(β10)(SEQ ID NO150)的促进性互补作用的图。

[0102] 图47.描绘在具有LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的大肠杆菌裂解物(图45和图46的概述)中,β9序列截短、延伸和构建体取向(β9-FKBP或FKBP-β9)对通过FRB-β10(SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)或SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150))产生的诱导倍数(促进性互补作用/自发互补作用)的影响的图。

[0103] 图48.描绘在具有LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的HEK293裂解物中β9序列截短和延伸以及构建体取向(β9-FKBP或FKBP-β9)对与FRB-SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)的促进性互补作用的影响的图。

[0104] 图49.描绘在HEK293裂解物中β9序列截短和延伸以及构建体取向(β9-FKBP或FKBP-β9)对与FRB-SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)的促进性互补作用的影响的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)。

[0105] 图50.描绘在HEK293裂解物(图48和图49的概述)中β9序列截短、延伸和构建体取向(β9-FKBP或FKBP-β9)对通过FRB-β10(SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)或SmTrip10pep289(SEQ ID NO:150))产生的诱导倍数(促进性互补作用/自发互补作用)的影响的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0106] 图51A-图51D.描绘使用用肽加标签的结合部分的示例性蛋白质-蛋白质相互作用测定或分析物检测测定的示意图。

[0107] 图51E-图51H.描绘使用本文所述组分和试剂的示例性免疫测定的示意图:(A)直

接免疫测定，(B)间接免疫测定，(C)竞争性直接免疫测定和(D)竞争性间接免疫测定。

[0108] 图52.示例性多重三部分侧向流测定的示意图。例如，这种测定可用于检测病原体。

[0109] 图53.示例性多重三部分侧向流测定的示意图。例如，这种测定可用于检测抗病毒抗体。

[0110] 图54.示例性抗体检测测定的示意图。

[0111] 图55.示例性基于珠粒的测定的示意图。

[0112] 图56.示例性核酸检测测定的示意图。

[0113] 图57.描绘大肠杆菌裂解物中FRB-FKBP促进性互补作用的图，其中在由**表示的构建体中接头不存在AI(Ala-Ile)二肽。(LgTrip3546(SEQ ID NO:51))。

[0114] 图58.描绘HEK293裂解物中FRB-FKBP促进性互补作用的图，其中在由**表示的构建体中接头不存在AI序列二肽。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0115] 图59.描绘在大肠杆菌裂解物中FRB-SmTrip10 pep86和C末端延伸的FKBP-SmTrip9肽对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0116] 图60.描绘在大肠杆菌裂解物中FRB-SmTrip10 pep289和C末端延伸的FKBP-SmTrip9肽对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0117] 图61.描绘在HEK293裂解物中FRB-SmTrip10 pep86和C末端延伸的FKBP-SmTrip9肽对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))

[0118] 图62.描绘在大肠杆菌裂解物中FRB-SmTrip10 pep86和FKBP融合物中的SmTrip9肽序列截短和延伸对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0119] 图63.描绘在大肠杆菌裂解物中FRB-SmTrip10 pep289和FKBP融合物中的SmTrip9肽序列截短和延伸对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0120] 图64.描绘在HEK293裂解物中FRB-SmTrip10 pep86和FKBP融合物中的SmTrip9肽序列截短和延伸对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0121] 图65.描绘在HEK293裂解物中FRB-SmTrip10 pep86和FKBP融合物中的SmTrip9肽序列截短和延伸对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0122] 图66.描绘在大肠杆菌裂解物中FKBP-SmTrip9溶解度变体和FRB-SmTrip10 pep86对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0123] 图67.描绘在大肠杆菌裂解物中FKBP-SmTrip9溶解度变体和FRB-SmTrip10 pep289对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0124] 图68.描绘在HEK293裂解物中FKBP-SmTrip9溶解度变体和FRB-SmTrip10 pep86对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0125] 图69.描绘在HEK293裂解物中FKBP-SmTrip9溶解度变体和FRB-SmTrip10 pep289对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0126] 图70.描绘在大肠杆菌裂解物中FKBP-SmTrip9溶解度变体和FRB-SmTrip pep86对

发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0127] 图71.描绘在大肠杆菌裂解物中FKBP-SmTrip9溶解度变体和FRB-SmTrip pep289对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0128] 图72.描绘在HEK293裂解物中FKBP-SmTrip9溶解度变体和FRB-SmTrip pep86对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0129] 图73.描绘在HEK293裂解物中FKBP-SmTrip9溶解度变体和FRB-SmTrip pep289对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0130] 图74.列出了具有C末端延伸的合成SmTrip9溶解度变体的亲和力和Bmax的表。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0131] 图75.列出了具有C末端延伸的合成SmTrip9溶解度变体的亲和力和Bmax的表。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0132] 图76.列出了具有差异封闭的末端的合成SmTrip9变体的Kd和Bmax的表。(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0133] 图77.列出了合成SmTrip9肽的溶解度的表。

[0134] 图78A-图78B.(A)描绘SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)对SmTrip10 pep86(HiBiT)/LgTrip融合物(SEQ ID NO:210和212)的亲和力的图。(B)描绘SmTrip9 pep759(SEQ ID NO:496)对各种SmTrip10pep86(HiBiT)/LgTrip融合物的亲和力的图。

[0135] 图79.描绘暴露于浓度递增的去垢剂18小时后的生物发光的图。NanoLuc(SEQ ID NO:3)、LgBiT(SEQ ID NO:11)、(LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))。

[0136] 图80.描绘在浓度递增的去垢剂存在的情况下的酶活性的图。NanoLuc(SEQ ID NO:3)、LgBiT(SEQ ID NO:11)、LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)。

[0137] 图81.演示利用LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的FRB-FKBP促进的生物发光复合物形成的可逆性的图。

[0138] 图82.列出了在恒定的SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)存在的情况下各种SmTrip10肽的滴定结果的表。

[0139] 图83.列出了在恒定的SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)存在的情况下各种SmTrip10肽的滴定结果的表。

[0140] 图84.描绘来自Antares型融合物(LgTrip 3546)与SmTrip9pep263(SEQ ID NO:35)以及与SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)的结合或者与SmTrip10 pep86+SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)的生物发光的图。

[0141] 图85.描绘来自Antares型融合物(LgTrip 3546)(SEQ ID NO:51)与SmTrip9 pep263(SEQ ID NO:35)以及与SmTrip pep 86(HiBiT;SEQ ID NO:25)或者与SmTrip 10pep 86(HiBiT;SEQ ID NO:25)+SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)的发射光谱的图。

[0142] 图86.描绘在二肽pep263(SEQ ID NO:35)存在的情况下,用“暗”二肽272(SEQ ID NO:146)滴定LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip3546(SEQ ID NO:51)的图。

[0143] 图87.比较LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和LgBiT(SEQ ID NO:11)对暗二肽272(SEQ ID NO:146)和273(SEQ ID NO:298)的抑制作用的图。

[0144] 图88.描绘dark BiT167(SEQ ID NO:300)对LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的抑制作用的图。

[0145] 图89.描绘在大肠杆菌裂解物中,FKBP-SmTrip9 pep434(SEQ ID NO:230)变体与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和FRB-HiBiT(SEQ ID NO:25)的互补作用对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。

[0146] 图90.描绘在大肠杆菌裂解物中,SmTrip9 pep434(SEQ ID NO:230)变体与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和FRB-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的互补作用对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。

[0147] 图91.(A)描绘在HEK293裂解物中,SmTrip9 pep435(SEQ ID NO:231)和SmTrip9 pep434(SEQ ID NO:230)变体与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和FRB-SmTrip10 pep86(HiBiT;SEQ ID NO:25)的互补作用对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。(B)描绘在HEK293裂解物中,SmTrip9 pep435(SEQ ID NO:231)和SmTrip9 pep434(SEQ ID NO:230)变体与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和FRB-SmTrip10pep289(SEQ ID NO:150)的互补作用对发光复合物形成的FRB-FKBP促进作用的图。

[0148] 图92.描绘利用SmTrip9s 823和840的FRB-FKBP测定筛选的结果的表

[0149] 图93.列出合成的SmTrip9 pep435(SEQ ID NO:231)和SmTrip9pep434(SEQ ID NO:230)变体与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的Kd和Bmax的表。

[0150] 图94.wt LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)与pep263(SEQ ID NO:35)或pep331(SEQ ID NO:301)一起作为生物发光试剂用于检测内源加标签(例如,通过CRISPR/Cas9)的GAPDH的图表显示。

[0151] 图95.示例性SmTrip10化学缀合物。(A)具有N末端半胱氨酸修饰的SmTrip10的实例,所述N末端半胱氨酸修饰用于在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子或用马来酰亚胺(用于与硫醇诸如半胱氨酸反应)或N-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS-酯)(用于与胺诸如赖氨酸反应)制备的蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上的暴露于溶剂的或受保护的半胱氨酸靶标上形成二硫键。(B)具有N末端叠氮基-赖氨酸修饰的示例性SmTrip10,所述N-末端叠氮基-赖氨酸修饰用于铜催化的或无铜的1,3-偶极环加成反应(“点击”),其中在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上分别安装未应变或应变炔烃靶标。(C)具有N末端N-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS-酯)的示例性SmTrip10,所述N末端N-羟基琥珀酰亚胺酯用于与蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上的亲核物质(例如,赖氨酸、其它伯胺)的一般缀合。亲核物质可以存在于未修饰的蛋白质/寡聚体/小分子上,或者可出于这种缀合的目的而化学添加。(D)具有N末端炔丙基甘氨酸修饰的示例性SmTrip10,所述N末端炔丙基甘氨酸修饰用于铜催化的或无铜的1,3-偶极环加成反应(“点击”),其中以化学或生物学方式在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上分别引入叠氮化物、重氮基或四嗪靶标。(E)具有N末端炔丙基甘氨酸修饰和C末端荧光团(例如,BODIPY染料)的示例性SmTrip10,所述N末端炔丙基甘氨酸修饰用于铜催化或无铜的1,3-偶极环加成反应(“点击”)。

[0152] 图96.示例性的SmTrip9 pep286化学缀合物。(A)具有C末端叠氮基-赖氨酸修饰的SmTrip9-286的实例,所述C末端叠氮基-赖氨酸修饰用于铜催化的或无铜的1,3-偶极环加成反应(“点击”),其中以化学或生物学方式在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上分别引入未应变或应变炔烃靶。(B)具有C末端炔丙基甘氨酸修饰的SmTrip9pep286的实例,所述C末端炔丙基甘氨酸修饰用于铜催化的或无铜的1,3-偶极环加成反应(“点击”),其中以化学或生物学方式在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上分别引入叠氮化物、重氮基、

四嗪靶标。(C)具有C末端半胱氨酸修饰的SmTrip9 pep286的实例,所述C末端半胱氨酸修饰用于在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子或已用马来酰亚胺柄或N-羟基琥珀酰亚胺酯制备的蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上的暴露于溶剂的或受保护的半胱氨酸靶上形成二硫键。(D)具有C末端半胱氨酸修饰和N末端BODIPY染料的SmTrip9 pep286的实例。染料不限于BODIPY,可以是任何荧光团、BRET配偶体或FRET染料/淬灭剂配偶体。染料可与在C末端上制备的缀合柄的任何其它组合一起并入。(E)具有C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS-酯)的SmTrip9 pep286的实例,所述C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS-酯)用于与蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上的亲核靶标(例如赖氨酸)或蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子的一般缀合。(F)具有C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS-酯)的SmTrip9 pep286的实例,所述C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯用于与蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上的亲核靶标(即赖氨酸)或蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子的一般缀合。

[0153] 图97.示例性SmTrip9 pep521化学缀合物。(A)具有C末端叠氮基-赖氨酸修饰和N末端BODIPY染料的SmTrip9 pep521的实例。染料不限于BODIPY,可以是任何荧光团、BRET配偶体或FRET染料/淬灭剂配偶体。染料可与在C末端上制备的缀合柄的任何其它组合一起并入。(B)具有C末端叠氮基-赖氨酸修饰的SmTrip9 pep521的实例,所述C末端叠氮基-赖氨酸用于铜催化的或无铜的1,3-偶极环加成反应(“点击”),其中以化学或生物学方式在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上分别引入未应变或应变炔烃靶标。(C)具有C末端炔丙基甘氨酸修饰的SmTrip9 pep521的实例,所述C末端炔丙基甘氨酸修饰用于铜催化的或无铜的1,3-偶极环加成反应(“点击”),其中以化学或生物学方式在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上分别引入叠氮化物、重氮基、四嗪靶标。(D)具有C末端半胱氨酸修饰的SmTrip9 pep521的实例,所述C末端半胱氨酸修饰用于在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子或已用马来酰亚胺柄或NHS-酯制备的蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上的暴露于溶剂或受保护的半胱氨酸靶上形成二硫键。(E)具有C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS-酯)的SmTrip9 pep521的实例,所述C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS-酯)用于与蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上的亲核靶标(即赖氨酸)的一般缀合。(F)具有C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS-酯)的SmTrip9 pep521的实例,所述C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯用于与蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上的亲核靶标(即赖氨酸)的一般缀合。

[0154] 图98.示例性SmTrip9 pep524化学缀合物。(A)具有C末端叠氮基-赖氨酸修饰和N末端BODIPY染料的SmTrip9 pep524的实例。染料不限于BODIPY,可以是任何荧光团、BRET配偶体或FRET染料/淬灭剂配偶体。染料可与C末端上的缀合柄的任何其它组合一起并入。(B)具有C末端叠氮基-赖氨酸修饰的SmTrip9 pep524的实例,所述C末端叠氮基-赖氨酸修饰用于铜催化的或无铜的1,3-偶极环加成反应(“点击”),其中以化学或生物学方式在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上分别引入未应变或应变炔烃靶标。(C)具有C末端炔丙基甘氨酸修饰的SmTrip9 pep524的实例,所述C末端炔丙基甘氨酸修饰用于铜催化或无铜的1,3-偶极环加成反应(“点击”),其中以化学或生物学方式在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上分别引入叠氮化物、重氮、四嗪靶标。(D)具有C末端半胱氨酸修饰的SmTrip9pep524的实例,所述C末端半胱氨酸修饰用于在蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子或已用马来酰亚胺柄或NHS-酯制备的蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上的暴露于溶剂的或受保护的半胱氨酸靶标上形成二硫键。(E)具有C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯

(NHS-酯)的SmTrip9 pep524的实例,所述C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯用于与蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上的亲核靶标(即赖氨酸)的一般缀合。(F)具有C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯(NHS-酯)的SmTrip9pep524的实例,所述C末端N-羟基琥珀酰亚胺酯用于与蛋白质/肽/DNA和RNA寡核苷酸/小分子上的亲核靶标(即赖氨酸)一般缀合。

[0155] 图99A-图99B.示例性肽寡聚体探针。展示反应性叠氮基的肽与展示反应性炔基的寡核苷酸缀合,形成示例性肽-寡聚体探针。(A)通过铜"点击"1,3-环加成与含有5'末端炔烃官能度的DNA寡聚体缀合的SmTrip9 pep286(含叠氮基)的肽寡聚体缀合物。(B)通过铜"点击"1,3-环加成与含有3'-末端炔烃官能度的DNA寡聚体缀合的SmTrip 10pep 86(HiBiT)(含叠氮基)的肽寡聚体缀合物。

[0156] 图100.描绘SmTrip9 G147位点饱和变体的筛选的图。

[0157] 图101.描绘SmTrip9 K148位点饱和变体的筛选的图。

[0158] 图102.描绘SmTrip9 M149位点饱和变体的筛选的图。

[0159] 图103.描绘SmTrip9 L150位点饱和变体的筛选的图。

[0160] 图104.描绘SmTrip9 F151位点饱和变体的筛选的图。

[0161] 图105.描绘SmTrip9 R152位点饱和变体的筛选的图。

[0162] 图106.描绘SmTrip9 V153位点饱和变体的筛选的图。

[0163] 图107.描绘SmTrip9 T154站点饱和变体的筛选的图。

[0164] 图108.描绘SmTrip9 I155位点饱和变体的筛选的图。

[0165] 图109.描绘SmTrip9 N156位点饱和变体的筛选的图。

[0166] 图110.描绘SmTrip9 S157位点饱和变体的筛选的图。

[0167] 图111.描绘SmTrip9 W158位点饱和变体的筛选的图。

[0168] 图112.描绘SmTrip9 K149位点饱和变体的筛选的图。

[0169] 图113.具有SmTrip9 pep435/434的大肠杆菌裂解物中的FRB-FKBP促进性互补作用的结果表。

[0170] 图114.具有SmTrip9 pep435/434的大肠杆菌裂解物中的FRB-FKBP促进性互补作用的结果表。

[0171] 图115.具有SmTrip9 pep435/434的大肠杆菌裂解物中的FRB-FKBP促进性互补作用的结果表。

[0172] 图116.利用组合SmTrip9变体的FRB-FKBP促进性互补作用测定筛选的结果表。

[0173] 图117.利用组合SmTrip9变体的FRB-FKBP促进性互补作用测定筛选的结果表。

[0174] 图118.利用组合SmTrip9变体的FRB-FKBP促进性互补作用测定筛选的结果表。

[0175] 图119.利用组合SmTrip9变体的FRB-FKBP促进性互补作用测定筛选的结果表。

[0176] 图120.利用组合SmTrip9变体的FRB-FKBP促进性互补作用测定筛选的结果表。

[0177] 图121.利用组合SmTrip9变体的FRB-FKBP促进性互补作用测定筛选的结果表。

[0178] 图122.利用组合SmTrip9变体的FRB-FKBP促进性互补作用测定筛选的结果表。

[0179] 图123.SmTrip9合成肽的Kd和Bmax表。

[0180] 图124.SmTrip9合成肽的Kd和Bmax表。

[0181] 图125.SmTrip9合成肽的Kd和Bmax表。

[0182] 图126.SmTrip9合成肽的Kd和Bmax表。

[0183] 图127.SmTrip9合成肽的Kd和Bmax表。

[0184] 图128.SmTrip9合成肽的Kd和Bmax表。

[0185] 图129.SmTrip9合成肽的Kd和Bmax表。

[0186] 图130.SmTrip9合成肽的Kd和Bmax表。

[0187] 图131.合成SmTrip9肽的溶解度表。

[0188] 图132.SmTrip9合成肽和pep289的生化共滴定图。

[0189] 图133.SmTrip9合成肽与pep289的生化共滴定图。

[0190] 图134.SmTrip9和SmTrip 10合成肽的生化共滴定图。

[0191] 图135.pep521和替代SmTrip 10合成肽的生化共滴定图。

[0192] 图136.从LgTrip 3546模板中去除(纯化)链的SDS PAGE凝胶。

[0193] 图137.具有不同肽组合的链去除蛋白质的图。

[0194] 图138.从LgTrip 3546模板中去除(纯化)链6、链7、链8、链9或链10的图。

[0195] 图139.二肽滴定的Kd和Bmax值的图。

[0196] 图140.描绘被采用来使用三部分蛋白G和TNFa融合蛋白开发用于抗TNFa生物剂Remicade、Humira和Enbrel的基于溶液的均相、定量测定的方法的示意图。

[0197] 图141.描绘在基于溶液的均相测定中,通过SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)和TNFa-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)融合蛋白以及纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的促进性互补作用对TNFa抑制剂的剂量反应进行定量分析的图。

[0198] 图142.描绘使用基于溶液的均相测定,在包括人血清和尿液在内的复杂样品基质存在的情况下,通过SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)和TNFa-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)融合蛋白以及纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的促进性互补作用对10nM英夫利昔单抗进行定量分析的图。

[0199] 图143.描绘在基于溶液的均相测定中,通过SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)和TNFa-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)融合蛋白以及纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的促进性互补作用测量100pM的英夫利昔单抗的信号产生的结合动力学的图。

[0200] 图144.描绘在基于溶液的均相测定中,通过不同的SmTrip9pep(X)-蛋白G变体和TNFa-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)融合蛋白以及纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的促进性互补作用测量10nM的英夫利昔单抗的信号产生的图。

[0201] 图145.描绘被采用来使用SmTrip 9-G蛋白融合蛋白和表达SmTrip10 pep289-EGFR(SEQ ID NO:150)的HEK293细胞开发用于抗EGFR生物剂帕尼单抗和西妥昔单抗的基于细胞的均相定量测定的方法的示意图。

[0202] 图146.描绘在基于细胞的均相测定中,通过SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)融合蛋白和表达SmTrip10 pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的细胞以及纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的促进性互补作用定量帕尼单抗的图。

[0203] 图147.描绘在基于细胞的均相测定中,通过SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)融合蛋白和表达SmTrip10 pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的细胞以及纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的促进性互补作用测量西妥昔单抗的信号产生的实时结合动力学的图。

[0204] 图148.描绘在基于细胞的均相测定中,通过不同的SmTrip9pep(X)-蛋白G变体和与纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)配对的表达SmTrip10 pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的细胞的促进性互补作用测量1nM帕尼单抗的信号产生的图。

[0205] 图149.描绘在基于细胞的均相测定中,通过不同SmTrip9pep(X)-蛋白G变体和与纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)配对的表达SmTrip10 pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的细胞的促进性互补作用对帕尼单抗剂量反应进行定量的图。

[0206] 图150.描绘在基于溶液的均相测定中,使用Halotag-SmTrip9pep521(SEQ ID NO:268)和HaloTag-SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)化学标记的成对抗体对人IL-1β进行定量的图。使用NanoTrip化学标记的成对抗体的人肌钙蛋白的实时结合动力学。

[0207] 图151.描绘在基于溶液的均相测定中,使用Halotag-SmTrip9pep521(SEQ ID NO:268)和HaloTag-SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)化学标记的成对抗体对人肌钙蛋白进行定量的实时结合动力学的图。

[0208] 图152.将负责将蛋白质导向特定细胞区室的特化肽与LgBiT-Halo标签融合。(A)LgBiT-膜传感器:LgBiT为绿色,细胞核为蓝色。(B)LgBiT-核传感器:LgBiT为绿色,细胞核为蓝色。(C)LgBiT-线粒体传感器:LgBiT为绿色,有丝分裂跟踪器(MitoTracker)为红色,细胞核为蓝色。(D)LgBiT-ER传感器:LgBiT为绿色,ER标志物为红色,细胞核为蓝色。

[0209] 图153.易位测定。POI被HiBiT内源性加标签。刺激后,POI易位到不同的细胞区室,例如细胞核。LgBiT-核传感器可用来检测该易位事件,因为HiBiT遇到LgBiT产生发光信号。

[0210] 图154.利用野生型LgBiT传感器的膜易位测定。用野生型LgBiT膜传感器转染PKCα-HiBiT细胞系。由于LgBiT与HiBiT之间的强相互作用,自发互补作用发生,导致对PMA刺激没有反应。

[0211] 图155.利用LgBiT*传感器的膜易位测定。用不同量的编码LgBiT*-膜传感器的DNA转染PKCα-HiBiT细胞系。经PMA处理后,PKCα-HiBiT迁移至质膜,在质膜中锚定有LgBiT*-膜传感器。HiBiT与LgBiT*之间的组装产生发光信号,所述信号与膜上PKCα-HiBiT的量成比例。该测定灵敏可靠。无论传感器输入量如何,PMA滴定都产生相似的EC_{50}(EC_{50}=2.0nM)。根据传感器输入的量,响应倍数在12倍与19倍之间变化。

[0212] 图156.利用LgBiT*传感器的核易位测定。用编码LgBiT*-核传感器的DNA转染p65-HiBiT细胞系。TNFα的添加将p65募集到LgBiT*-核传感器定位的细胞核。HiBiT与LgBiT*之间发生互补作用,从而产生光。信号强度反映了p65在细胞核中的浓度。TNFα的滴定产生为0.7ng/mL的EC_{50},其中响应倍数为4。实时测量显示,刺激后需要30分钟才能在细胞核中达到p65的最大积累。

[0213] 图157A-图157B.描绘LgBiT突变体与HiBiT的亲和力和Bmax的(A)图和(B)表。

[0214] 图158.描绘LgBiT突变体裂解物对HiBiT的亲和力的图。

[0215] 定义

[0216] 尽管与本文所述的方法和材料相似或等同的任何方法和材料可用于本文所述的实施方案的实践或测试,但本文描述了一些优选方法、组合物、装置和材料。然而,在描述本发明的材料和方法之前,应当理解,本发明不限于本文所述的特定分子、组合物、方法或方案,因为这些可以根据常规实验和优化而变化。还应当理解,说明书中使用的术语仅用于描述特定形式或实施方案的目的,并不旨在限制本文所述的实施方案的范围。

[0217] 除非另有定义，否则本文使用的所有技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常理解的含义相同的含义。然而，在发生冲突的情况下，以本说明书(包括定义)为准。因此，在本文所述的实施方案的上下文中，采用以下定义。

[0218] 如本文和所附权利要求书中所用，除非上下文另有明确规定，否则单数形式“一个/种(a)”、“一个/种(an)”和“该(the)”包括复数的指代物。因此，例如，提及“肽”是指本领域技术人员已知的一种或多种肽及其等同物，等等。

[0219] 如本文中所用，术语“和/或”包括所列项的任何和所有组合，包括单独列出的任何项。例如，“A、B和/或C”包括A、B、C、AB、AC、BC和ABC，其每一个都被认为是由语句“A、B和/或C”单独描述的。

[0220] 如本文中所用，术语“包含”及其语言变化形式表示所列举的一个或多个特征、一个或多个要素、一个或多个方法步骤等的存在，而不排除另外的一个或多个特征、一个或多个要素、一个或多个方法步骤等的存在。相反地，术语“由.....组成”及其语言变化形式表示所列举的一个或多个特征、一个或多个要素、一个或多个方法步骤等的存在，并且除通常伴随的杂质外，排除任何未列举的一个或多个特征、一个或多个要素、一个或多个方法步骤等。短语“基本上由.....组成”表示所列举的一个或多个特征、一个或多个要素、一个或多个方法步骤等，以及不会对组合物、系统或方法的基本性质产生实质性影响的任何另外的一个或多个特征、一个或多个要素、一个或多个方法步骤等。本文中的许多实施方案是使用开放性“包含”语言来描述的。此类实施方案涵盖多个封闭性“由实施方案组成”和/或“基本由实施方案组成”，所述实施方案可替代地使用这样的语言来声明或描述。

[0221] 如本文中所用，术语“基本上”意指所列举的特征、参数和/或值不需要精确地实现，但偏差或变化，包括例如公差、测量误差、测量精度限制和本领域技术人员已知的其它因素，可以以不排除该特征旨在提供的效果的量出现。基本上不存在的特征或特性(例如，基本上不发光)可以是在噪声内、在背景下、在所使用的测定的检测能力之下的特性或特征，或者是显著特征(例如，生物发光蛋白或生物发光复合物的发光强度)的一小部分(例如，<1%、<0.1%、<0.01%、<0.001%、<0.00001%、<0.000001%、<0.0000001%)。

[0222] 如本文中所用，术语“生物发光”是指通过由酶、蛋白质、蛋白质复合物或其它生物分子(例如，生物发光复合物)催化或实现的化学反应产生和发射光。在典型的实施方案中，生物发光实体(例如，生物发光蛋白或生物发光复合物)的底物被生物发光实体转化为不稳定的形式；底物随后发光。

[0223] 如本文中所用，术语“互补的”是指两种或更多种结构元件(例如，肽、多肽、核酸、小分子等)的能够相互杂交、二聚或以其它方式形成复合物的特征。例如，“互补肽和多肽”能够结合在一起形成复合物。互补元件可能需要辅助(促进作用)来形成复合物(例如，由相互作用元件)，例如，以将元件放置在适当的构象中以实现互补，将元件放置在适当的近处以实现互补，共定位互补元件，降低用于互补的相互作用能量，克服彼此之间的亲和力不足等。

[0224] 如本文中所用，术语“复合物”是指彼此直接和/或间接接触的分子(例如，肽、多肽等)的组装体(assemblage)或聚集体。一方面，“接触”，或者更具体地说，“直接接触”意指两个或更多个分子足够接近，使得吸引性非共价相互作用，诸如范德华力、氢键合、离子和疏水相互作用等，主导分子的相互作用。在这一方面，在测定条件下形成分子(例如，肽和多

肽)的复合物,使得所述复合物在热力学上是有利的(例如,与其组分分子的非聚集或非复合状态相比)。如本文中所用,术语“复合物”,除非另有说明,否则是指两种或更多种分子(例如,肽、多肽或其组合)的组装体。

[0225] 如本文中所用,术语“非发光的”是指如下实体(例如,肽、多肽、复合物、蛋白质等),其表现出(例如,在底物存在的情况下)不发射可检测量的可见光谱中的光的特性。例如,如果实体在给定的测定中未表现出可检测的发光,则所述实体可被称为非发光的。如本文中所用,术语“非发光的”与术语“基本非发光的”同义。在一些实施方案中,如果任何光发射足够小以至于不会对特定测定产生干扰背景,则实体被认为是“不发光的”。

[0226] 如本文中所用,术语“非发光肽”和“非发光多肽”是指基本上不显示发光(例如,在底物存在的情况下)或者当与在标准条件(例如,生理条件、测定条件等)下利用典型仪器(例如,光度计等)测得的显著信号(例如,生物发光复合物)相比时,低于噪声(例如,100倍、200倍、500倍、$1x10^3$倍、$1x10^4$倍、$1x10^5$-倍、$1x10^6$倍、$1x10^7$倍等)的量的肽和多肽。在一些实施方案中,根据本文所述的标准,此类非发光肽和多肽组装形成生物发光复合物。

[0227] 如本文中所用,术语“相互作用元件”是指帮助或促进非发光元件聚集在一起形成生物发光复合物的部分。在一些实施方案中,将一对相互作用元件(又称为“相互作用对”)附接至一对非发光元件(例如,非发光肽),并且两个相互作用元件之间的吸引相互作用促进生物发光复合物的形成;尽管本发明不限于这种机制,并且实施本发明不需要理解该机制。相互作用元件可通过任何合适的机制(例如,使非发光元件紧密接近,将非发光元件放置在合适的构象中以实现稳定的相互作用,降低复合物形成的活化能,其组合等)促进生物发光复合物的形成。相互作用元件可以是蛋白质、多肽、肽、小分子、辅因子、核酸、脂质、碳水化合物、抗体等。相互作用对可由两个相同的相互作用元件(即,同对(homopair))或两个不同的相互作用元件(即,异对(heteropair))组成。在异对的情况下,相互作用元件可以是相同类型的部分(例如,多肽),或者可以是两种不同类型的部分(例如,多肽和小分子)。在研究相互作用对形成复合物的一些实施方案中,相互作用对可被称为“靶对”或“目标对”,并且单个相互作用元件被称为“靶元件”(例如,“靶肽”、“靶多肽”等)或“目标元件”(例如,“目标肽”、“目标多肽”等)。

[0228] 如本文中所用,术语“低亲和力”描述了两个或更多个(例如,三个)实体之间的分子间相互作用,除非在比生理或测定条件高得多(例如,2倍、5倍、10倍、100倍、1000倍或更多倍)的浓度下或者借助于来自附接元件(例如,相互作用元件)的第二复合物的形成的促进作用,所述相互作用太弱而不能导致实体之间显著的复合物形成。

[0229] 如本文中所用,术语“高亲和力”描述了两个或更多个(例如三个)实体之间的分子间相互作用,所述相互作用强至足以在生理或测定条件下产生可检测的复合物形成,而无需来自附接元件(例如,相互作用元件)的第二复合物的形成的促进作用。

[0230] 如本文中所用,术语“共定位元件”是指促进非发光元件的共定位的部分。在一些实施方案中,当一组非发光元件以足够的浓度共定位时,则该组非发光元件具有足够的亲和力来形成复合物。在此类实施方案中,一组(例如,一对)共定位元件(也称为“共定位对”)附接至一对非发光元件(例如,非发光肽),并且两个共定位元件的共定位(例如,在细胞区室内、在组织内、在溶液内、在固体基质支持物上等)促进非发光元件的共定位,从而促进生物发光复合物的形成;尽管本发明不限于这种机制,并且实施本发明不需要理解该机制。在

一些实施方案中，由于非发光元件自组装成发光复合物的能力，因此共定位元件不需要直接相互作用来促进复合物的形成。共定位元件可以是蛋白质、多肽、肽、小分子、辅因子、核酸、脂质、碳水化合物、抗体等。共定位对可由两个相同的共定位元件(即，同对)或两个不同的共定位元件(即，异对)组成。在异对的情况下，共定位元件可以是相同类型的部分(例如，多肽)，或者可以是两种不同类型的部分(例如，多肽和小分子)。在一些研究共定位对的定位的实施方案中，共定位对可被称为“靶对”或“目标对”，单个共定位元件被称为“靶元件”(例如，“靶肽”、“靶多肽”等)或“目标元件”(例如，“目标肽”、“目标多肽”等)。

[0231] 如本文中所用，术语“腔肠素”是指天然存在的(“天然的”)腔肠素。如本文中所用，除了WO 2003/040100、第12/056,073号美国申请序列(段落[0086])、美国专利第8,669,103号、WO 2012/061529、美国专利公布2017/0233789和美国专利公布2018/0030059(它们的公开内容通过引用以其整体并入本文)中公开的那些以外，术语“腔肠素类似物”或“腔肠素衍生物”还指其合成(例如，衍生物或变体)和天然类似物，包括furimazine、腔肠素-n、腔肠素-f、腔肠素-h、腔肠素-hcp、腔肠素-cp、腔肠素-c、腔肠素-e、腔肠素-fcp、双脱氧腔肠素(“腔肠素-hh”)、腔肠素-i、腔肠素-icp、腔肠素-v和2-甲基腔肠素。在一些实施方案中，腔肠素类似物包括前底物(pro-substrate)，例如第12/056,073号美国申请序列、美国公布第2012/0707849号、美国公布第2014/0099654号(通过引用以它们的整体并入本文)中描述的那些。

[0232] 如本文中所用，术语“先前存在的蛋白质”是指在某一事件或日期之前物理存在的氨基酸序列。“不是先前存在的蛋白质的片段的肽”是这样的短氨基酸链，其不是在肽的设计和/或合成之前物理存在的蛋白质(例如，合成的或天然存在的)的片段或子序列。

[0233] 如本文中所用，术语“片段”是指由更大的完整实体(例如，蛋白质、多肽、酶等)的切开或“片段化”产生的肽或多肽，或者被制备成具有这样的相同序列的肽或多肽。因此，片段是整个实体(例如，蛋白质、多肽、酶等)的子序列，所述子序列是由所述整个实体制成的和/或设计的。不是先前存在的完整蛋白质的子序列的肽或多肽不是片段(例如，不是先前存在的蛋白质的片段)。“不是先前存在的生物发光蛋白质的片段”的肽或多肽是这样的氨基酸链，其并非蛋白质(例如，天然的或合成的)的子序列，所述蛋白质：(1)在所述肽或多肽的设计和/或合成之前是物理存在的，以及(2)表现出显著的生物发光活性。

[0234] 如本文中所用，术语“子序列”是指与另一种更大的肽或多肽的一部分具有100％序列同一性的肽或多肽。子序列是较大氨基酸链的一部分的完美序列匹配。

[0235] 除非另外指出，否则术语“氨基酸”是指天然氨基酸、非天然氨基酸和氨基酸类似物，全部均为其D和L立体异构体，如果它们的结构允许此类立体异构体形式的话。

[0236] 天然氨基酸包括丙氨酸(Ala或A)、精氨酸(Arg或R)、天冬酰胺(Asn或N)、天冬氨酸(Asp或D)、半胱氨酸(Cys或C)、谷氨酰胺(Gln或Q)、谷氨酸(Glu或E)、甘氨酸(Gly或G)、组氨酸(His或H)、异亮氨酸(Ile或I)、亮氨酸(Leu或L)、赖氨酸(Lys或K)、甲硫氨酸(Met或M)、苯丙氨酸(Phe或F)、脯氨酸(Pro或P)、丝氨酸(Ser或S)、苏氨酸(Thr或T)、色氨酸(Trp或W)、酪氨酸(Tyr或Y)和缬氨酸(Val或V)。

[0237] 非天然氨基酸包括但不限于五氟苯丙氨酸(“Z”)、氮杂环丁烷羧酸、2-氨基己二酸、3-氨基己二酸、β-丙氨酸、萘丙氨酸(“naph”)、氨基丙酸、2-氨基丁酸、4-氨基丁酸、6-氨基己酸、2-氨基庚酸、2-氨基异丁酸、3-氨基异丁酸、2-氨基庚二酸、叔丁基甘氨酸

(“tBuG”)、2,4-二氨基异丁酸、锁链素、2,2’-二氨基庚二酸、2,3-二氨基丙酸、N-乙基甘氨酸、N-乙基天冬酰胺、高脯氨酸(“hPro”或“homoP”)、羟基赖氨酸、别羟基赖氨酸、3-羟基脯氨酸(“3Hyp”)、4-羟基脯氨酸(“4Hyp”)、异锁链素、别异亮氨酸、N-甲基丙氨酸(“MeAla”或“Nime”)、包括N-甲基甘氨酸在内的N-烷基甘氨酸(“NAG”)、N-甲基异亮氨酸、包括N-甲基戊基甘氨酸在内的N-烷基戊基甘氨酸(“NAPG”)。N-甲基缬氨酸、萘丙氨酸、正缬氨酸(“Norval”)、正亮氨酸(“Norleu”)、辛基甘氨酸(“OctG”)、鸟氨酸(“Orn”)、戊基甘氨酸(“pG”或“PGly”)、哌可酸(pipecolic acid)、硫代脯氨酸(“ThioP”或“tPro”)、高赖氨酸(“hLys”)和高精氨酸(“hArg”)。非天然反应性氨基酸描述于例如Boutureira,O.and G.J.Bernardes(2015)″Advances in chemical protein modification.”Chem Rev 115(5):2174-2195;通过引用以其整体并入本文。

[0238] 术语“氨基酸类似物”是指其中C末端羧基、N末端氨基和侧链生物活性基团中的一种或多种已被可逆或不可逆地化学封闭或者以其它方式修饰成另一种生物活性基团的天然或非天然氨基酸。例如,天冬氨酸-(β-甲基酯)是天冬氨酸的氨基酸类似物;N-乙基甘氨酸是甘氨酸的氨基酸类似物;或者丙氨酸甲酰胺是丙氨酸的氨基酸类似物。其它氨基酸类似物包括甲硫氨酸亚砜、甲硫氨酸砜、S-(羧基甲基)-半胱氨酸、S-(羧基甲基)-半胱氨酸亚砜和S-(羧基甲基)-半胱氨酸砜。氨基酸类似物可包括具有各种保护基团的氨基酸(Isidro-Llobet,A.等人(2009)。″Amino Acid-Protecting Groups.″Chemical Reviews 109(6):2455-2504;通过引用以其整体并入本文)。

[0239] 如本文中所用,除非另有说明,否则术语“肽”和“多肽”是指通过肽酰胺键(--C(O)NH--)通过主链连接的两个或更多个氨基酸的聚合物化合物。术语“肽”通常指短氨基酸聚合物(例如,具有少于30个氨基酸的链),而术语“多肽”通常指较长的氨基酸聚合物(例如,具有多于30个氨基酸的链)。

[0240] 如本文中所用,除非另有说明,否则术语“二肽”是指包含两个肽区段(例如,对应于直接或间接(例如,通过接头(例如,肽接头(例如,1-10个氨基酸(例如,单个甘氨酸))融合/附接的萤光素酶的两条β链(例如,“β9/β10二肽”,对应于OgLuc萤光素酶多肽的β9和β10链))的肽或小的多肽(例如,<70个氨基酸、<60个氨基酸、<50个氨基酸等)。

[0241] 如本文中所用,除非另有说明,否则术语“三肽”是指如下的肽或小的多肽(例如,<100个氨基酸、<90个氨基酸、<80个氨基酸等),其包含三个肽区段(例如,对应于萤光素酶的三条β链(例如,对应于OgLuc萤光素酶多肽的β8-10链的“β8-10三肽”),其直接或间接(例如,通过接头(例如,肽接头(例如,1-10个氨基酸(例如,单个甘氨酸))融合/附接)。

[0242] 如本文中所用,术语“拟肽”和“肽模拟物”是指模拟源自蛋白质或肽的序列的肽样或多肽样分子。拟肽可以仅包含氨基酸类似物、类肽氨基酸和/或非氨基酸成分,或者包含氨基酸类似物、肽样氨基酸和/或非氨基酸成分与氨基酸(例如,天然或非天然氨基酸)的组合。拟肽的实例包括化学修饰的肽/多肽、类肽(侧链附加在肽主链的氮原子上而不是α碳上)、β肽(氨基键合至β碳上而不是α碳上)等。

[0243] 如本文中所用,术语“类肽”是指一类其中侧链在肽主链的氮原子上而非在α-碳上被官能化的拟肽。

[0244] 如本文中所用,术语“人工的”是指由人设计或制备的并且不是天然存在的组合物和系统。例如,人工肽、类肽或核酸是包含非天然序列的肽(例如,与天然存在的蛋白质或其

片段没有100％同一性的肽)。

[0245] 如本文中所用,“保守”氨基酸取代是指肽或多肽中的氨基酸被另一个具有相似化学性质(诸如大小或电荷)的氨基酸取代。出于本公开的目的,以下八组中的每一组都包含为彼此的保守取代的氨基酸:

[0246] 1)丙氨酸(A)和甘氨酸(G);

[0247] 2)天冬氨酸(D)和谷氨酸(E);

[0248] 3)天冬酰胺(N)和谷氨酰胺(Q);

[0249] 4)精氨酸(R)和赖氨酸(K);

[0250] 5)异亮氨酸(I)、亮氨酸(L)、甲硫氨酸(M)和缬氨酸(V);

[0251] 6)苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)和色氨酸(W);

[0252] 7)丝氨酸(S)和苏氨酸(T);和

[0253] 8)半胱氨酸(C)和甲硫氨酸(M)。

[0254] 天然存在的残基可根据例如以下的常见侧链性质进行分类:极性为正(或碱性)(组氨酸(H)、赖氨酸(K)和精氨酸(R));极性为负(或酸性)(天冬氨酸(D)、谷氨酸(E));极性为中性(丝氨酸(S)、苏氨酸(T)、天冬酰胺(N)、谷氨酰胺(Q));非极性脂肪族(丙氨酸(A)、缬氨酸(V)、亮氨酸(L)、异亮氨酸(I)、甲硫氨酸(M));非极性芳族(苯丙氨酸(F)、酪氨酸(Y)、色氨酸(W));脯氨酸和甘氨酸;以及半胱氨酸。如本文中所用,“半保守”氨基酸取代是指肽或多肽中的氨基酸被同一类中的另一个氨基酸取代。

[0255] 在一些实施方案中,除非另有说明,否则保守或半保守氨基酸取代也可涵盖具有与天然残基相似的化学性质的非天然存在的氨基酸残基。这些非天然残基通常是通过化学肽合成而不是在生物系统中合成掺入的。这些包括,但不限于,拟肽和其它氨基酸部分的反向或倒转形式。在一些实施方案中,本文的实施方案可以限于天然氨基酸、非天然氨基酸和/或氨基酸类似物。

[0256] 非保守取代可涉及用一个种类的成员交换来自另一个种类的成员。

[0257] 如本文中所用,术语“序列同一性”是指两个聚合物序列(例如,肽、多肽、核酸等等)具有相同的单体亚基的顺序组成的程度。术语“序列相似性”是指两个聚合物序列(例如,肽、多肽、核酸等)具有相似的聚合物序列的程度。例如,相似的氨基酸是那些具有相同生物物理特性的氨基酸,并且可以分成不同的家族,例如酸性(例如,天冬氨酸、谷氨酸)、碱性(例如,赖氨酸、精氨酸、组氨酸)、非极性(例如,丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸)和不带电荷的极性(例如,甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸)。“序列同一性百分比”(或“序列相似性百分比”)的计算方法是:(1)在比较窗口内(例如,较长序列的长度、较短序列的长度、指定的窗口)比较两个最佳比对的序列,(2)确定含有相同(或相似)单体的位置(例如,在两个序列中均出现相同的氨基酸,在两个序列中均出现相似的氨基酸)的数量,以产生匹配位置的数量,(3)将匹配位置的数量除以比较窗口(例如,较长序列的长度、较短序列的长度、指定的窗口)中的位置总数,以及(4)将结果乘以100,得到序列同一性百分比或序列相似性百分比。例如,如果肽A和肽B的长度均为20个氨基酸,并且除了1个位置之外都具有相同的氨基酸,那么肽A与肽B具有95％序列同一性。如果不同位置处的氨基酸共有相同的生物物理特征(例如,两者都是酸性的),那么肽A和肽B将具有100％序列相似性。作为另一个实例,如果肽C的长度为20个氨

基酸，肽D的长度为15个氨基酸，并且肽D的15个氨基酸中有14个与肽C的一部分的氨基酸相同，那么肽C与肽D具有70％序列同一性，但肽D与肽C的最佳比较窗口具有93.3％序列同一性。出于计算本文中的“序列同一性百分比”(或“序列相似性百分比”)的目的，比对序列中的任何缺口都被视为该位置的错配。

[0258] 本文所述的与参考序列ID号具有特定序列同一性或相似性百分比(例如，至少70％)的任何肽/多肽，也可以表示为相对于该参考序列具有最大数量的取代(或末端缺失)。例如，与SEQ ID NO:Z(例如，100个氨基酸)具有至少Y％(例如，90％)序列同一性的序列相对于SEQ ID NO:Z可以具有最多X个取代(例如，10个)，因此也可以表示为“相对于SEQ ID NO:Z具有X个(例如，10个)或更少的取代”。

[0259] 如本文中所用，术语“野生型”是指这样的基因或基因产物(例如，蛋白质、多肽、肽等)，其具有从天然存在的来源分离的该基因或基因产物的特征(例如，序列)，并且在群体中最常见。相反，术语“突变体”或“变体”是指与野生型基因或基因产物相比时，在序列上显示出修改的基因或基因产物。要注意的是，“天然存在的变体”是指存在于自然界中的，但与野生型基因或基因产物相比，序列发生了改变的基因或基因产物；它们不是最常见的序列。“人工变体”是指当与野生型基因或基因产物相比时，序列发生改变，并在自然界中不存在的基因或基因产物。变异基因或基因产物可以是存在于自然界中的天然存在的序列，但不是该基因或基因产物最常见的变体，或者是由人或实验干预产生的“合成的”。

[0260] 如本文中所用，术语“生理条件”涵盖与活细胞相容的任何条件，例如与活细胞相容的温度、pH、盐度、化学组成等主要含水条件。

[0261] 如本文中所用，术语“样品”以其最广泛的含义使用。在某种意义上，其意味着包括从任何来源获得的样本或培养物，以及生物和环境样品。生物样品可从动物(包括人)获得，并且涵盖液体、固体、组织和气体。生物样品包括血液制品，诸如血浆、血清等。样品也可以指细胞裂解物或本文所述的酶、肽和/或多肽的纯化形式。细胞裂解物可包括已经用裂解剂裂解的细胞或裂解物诸如兔网织红细胞或小麦胚芽裂解物。样品还可包括无细胞表达系统。环境样品包括诸如表面物质、土壤、水、晶体和工业样品等的环境材料。然而，此类实例不应被解释为限制适用于本发明的样品类型。

[0262] 如本文中所用，术语“融合”、“融合多肽”和“融合蛋白”是指含有第一种目标蛋白质或多肽(例如，基本上不发光的肽)与第二不同的肽、多肽或蛋白质(例如，相互作用元件)连接的嵌合蛋白。

[0263] 如本文中所用，术语“缀合的”和“缀合”是指两个分子实体的共价附接(例如，合成后和/或在合成生产过程中)。肽或小分子标签与蛋白质或小分子的化学(例如，“通过化学方式”缀合的)或酶促附接是缀合的实例。

[0264] 术语“结合部分”是指独立于不同的表位或抗原结合结构域而特异性结合抗原或表位的结构域。结合部分可以是抗体、抗体片段、结合靶配体的受体结构域、结合免疫球蛋白的蛋白质(例如，蛋白A、蛋白G、蛋白A/G、蛋白L、蛋白M)、结合免疫球蛋白的蛋白质(例如，蛋白A、蛋白G、蛋白A/G、蛋白L、蛋白M)的结合结构域、寡核苷酸探针、肽核酸、DARPin、适体、affimer、纯化的蛋白质(分析物本身或与分析物结合的蛋白质)和蛋白质的一个或多个分析物结合结构域等。表A提供了可在本文的方法、系统和测定(例如，免疫测定)中单独或以各种组合使用的示例性结合部分的列表。

[0265] 表A.示例性结合部分

结合部分 A	结合部分 B
蛋白 A	蛋白 A
蛋白 A 的 Ig 结合结构域	蛋白 A 的 Ig 结合结构域
蛋白 G	蛋白 G
蛋白 G 的 Ig 结合结构域	蛋白 G 的 Ig 结合结构域
蛋白 L	蛋白 L
蛋白 L 的 Ig 结合结构域	蛋白 L 的 Ig 结合结构域
蛋白 M	蛋白 M
蛋白 M 的 Ig 结合结构域	蛋白 M 的 Ig 结合结构域
针对分析物 X 的多克隆抗体	多克隆抗体：识别同一靶分析物 X 的相同抗体或第二多克隆抗体
单克隆抗体	识别同一靶分析物 X 上不同表位的单克隆抗体
重组抗体	识别同一靶分析物 X 上不同表位的重组抗体
scFv	识别同一靶分析物 X 上不同表位的 scFv
识别靶分析物 X 的抗体(单克隆的、重组的、多克隆的)的可变轻链(V_L)	识别靶分析物 X 的相同抗体(单克隆的、重组的、多克隆的)的可变重链(V_H)
与分析物 X 结合的蛋白质(例如，受体)结合结构域 1	与分析物 X 结合的蛋白质(例如，受体)结合结构域 2
(Fab)片段	来自识别同一靶分析物 X 的不同表位的不同抗体的(Fab)片段
Fab'片段	来自识别同一靶分析物 X 的不同表位的不同抗体的 Fab'
Fv 片段	来自识别同一靶分析物 X 的不同表位的不同抗体的 Fv
F(ab')2 片段	来自识别同一靶分析物 X 的不同表位的不同抗体的 F(ab')2
寡核苷酸探针	针对同一 DNA 或 RNA 靶标但识别非重叠序列的寡核苷酸探针
DARPin	识别同一靶标的非重叠结构域的 DARPin
肽核酸	识别同一 DNA 或 RNA 靶标(但非重叠序列)的肽核酸
适体	与同一靶分析物 X 结合，但识别非重叠序列或表位的适体
affimer	与同一靶分析物 X 结合但识别不同表位的适体

[0266]

[0267] 如本文中所用，术语“抗体”是指完整的抗体分子或其片段(例如，片段诸如Fab、Fab'和$F(ab')_2$、可变轻链、可变重链、Fv，其可以是多克隆抗体或单克隆抗体或重组抗体、

嵌合抗体、人源化抗体、人抗体等。如本文所用，当抗体或其它实体“特异性识别”或“特异性结合”抗原或表位时，其优先识别蛋白质和/或大分子的复杂混合物中的抗原，并以比与未展现抗原或表位的其它实体的亲和力显著更高的亲和力结合抗原或表位。在这点上，“明显更高的亲和力”意指高到足以使得能够使用期望的测定或测量设备检测与实体不同的抗原或表位的亲和力。通常，其意指结合常数(K_a)至少为10^7M^{-1}(例如，$>10^7M^{-1}$、$>10^8M^{-1}$、$>10^9M^{-1}$、$>10^{10}M^{-1}$、$>10^{11}M^{-1}$、$>10^{12}M^{-1}$、$>10^{13}M^{-1}$等)的结合亲和力。在某些此类实施方案中，抗体能够结合不同的抗原，只要不同的抗原包含该特定的表位即可。在某些情况下，例如，来自不同物种的同源蛋白质可包含相同的表位。

[0268] 如本文中所用，术语“抗体片段”是指全长抗体的一部分，包括抗原结合区或可变区的至少一部分。抗体片段包括但不限于Fab、Fab’、$F(ab')_2$、Fv、scFv、Fd、可变轻链、可变重链、双链抗体(diabody)和保留完整抗体的可变区的至少一部分的其它抗体片段。参见，例如，Hudson等人((2003)Nat.Med.9:129-134；通过引用以其整体并入本文。在某些实施方案中，抗体片段是通过酶促或化学裂解由重组DNA技术或化学多肽合成产生的完整抗体(例如，抗体的木瓜蛋白酶消化和胃蛋白酶消化)产生的。例如，“Fab”片段包含一条轻链和一条重链的C_{H1}和可变区。Fab分子的重链不能与另一个重链分子形成二硫键。“Fab”片段包含一条轻链和一条重链，所述重链包含在C_{H1}与C_{H2}结构域之间延伸的另外的恒定区。Fab’片段的两条重链之间可以形成链间二硫键，以形成“$F(ab')_2$”分子。“Fv”片段包含来自重链和轻链两者的可变区，但缺少恒定区。单链Fv(scFv)片段包含通过柔性接头连接的重链可变区和轻链可变区，以形成具有抗原结合区的单个多肽链。WO 88/01649和美国专利第4,946,778号和第5,260,203号(通过引用以它们的整体并入本文)中详细论述了示例性单链抗体。在某些情况下，单个可变区(例如，重链可变区或轻链可变区)可具有识别和结合抗原的能力。熟练的技术人员将理解其它抗体片段。

[0269] 如本文中所用，术语“肽标签”是指可以附接(例如，合成后或在合成生产期间)或融合至另一个实体(例如，目标蛋白质、目标分子、相互作用元件、共定位元件等)的肽。肽标签可以连接或可以不附接至另一个实体。通常，如本文中所用，肽标签能够在适当的条件下与另一个肽标签和多肽形成生物发光复合物。在肽标签附接至另一个实体的实施方案中，将肽标签化学缀合至另一个分子(例如，肽、多肽、核酸、其它小分子或大分子)，化学合成为另一个分子的一部分，或者基因融合至另一个肽或多肽分子，等等。

[0270] 如本文中所用，术语“多肽组分”可与术语“生物发光复合物的多肽组分”同义使用。通常，如本文中所用，多肽组分能够在适当的条件下与一对肽标签形成生物发光复合物。

[0271] 如本文中所用，术语“刺虾萤光素酶”(“an OgLuc”)是指具有由深海虾细角刺虾(Oplophorus gracilirostris)产生的以及源自其的萤光素酶的显著序列同一性、结构保守性和/或功能活性的发光多肽。特别地，OgLuc多肽是指具有刺虾萤光素酶蛋白质复合物的成熟19kDa亚基(例如，无信号序列)的显著序列同一性、结构保守性和/或功能活性的发光多肽，诸如SEQ ID NO:1(WT OgLuc)和3(NanoLuc)，所述发光多肽包含10条β链(β1、β2、β3、β4、β5、β6、β7、β8、β9、β10)，并利用诸如腔肠素或腔肠素衍生物等的底物来产生发光。

[0272] 如本文中所用，术语“β9样肽”是指包含OgLuc多肽的β(beta)9链的显著序列同一性、结构保守性和/或功能活性的肽(或肽标签)。具体地说，β9样肽是如下的肽，其能够在结

构上与缺乏β9链的OgLuc多肽互补从而导致与不存在β9样肽时的OgLuc多肽相比复合物的发光增强。其它“βX样肽”也可类似命名(例如,β1样、β2样、β3样、β4样、β5样、β6样、β7样、β8样、β9样)。

[0273] 如本文中所用,术语“β10样肽”是指包含OgLuc多肽的β(beta)10链的显著序列同一性、结构保守性和/或功能活性的肽(或肽标签)。具体地说,β10样肽是如下的肽,其能够在结构上与缺少β10链的OgLuc多肽互补从而导致与不存在β10样肽时的OgLuc多肽相比复合物的发光增强。其它“βX样肽”也可类似命名(例如,β1样、β2样、β3样、β4样、β5样、β6样、β7样、β8样、β9样)。

[0274] 如本文中所用,术语“β_{1-8}样多肽”是指与OgLuc多肽的β(beta)链1-8具有序列和结构相似性,但缺少β(beta)链9和10的多肽。其它“β_{Y-Z}样多肽”也可以类似命名(例如,β_{1-4}样多肽、β_{2-8}样多肽、β_{5-10}样多肽等)。

[0275] 如本文中所用,术语“NANOLUC”是指由Promega Corporation商业生产的并且对应于SEQ ID NO:3的人工萤光素酶或生物发光多肽。

[0276] 如本文中所用,术语“LgBiT”是指对应于β_{1-9}样多肽的多肽,其可用于例如二元互补以形成生物发光复合物,并对应于SEQ ID NO:11。

[0277] 如本文中所用,术语“SmBiT”是指对应于β_{10}样肽的肽,其可用于例如二元互补以形成生物发光复合物,但对LgBiT具有低亲和力(例如,需要促进作用来形成复合物),并且对应于SEQ ID NO:13。

[0278] 如本文中所用,术语“HiBiT”是指对应于β_{10}样肽的肽,其用于例如二元互补以形成生物发光复合物,但对LgBiT具有低亲和力(例如,需要促进作用来形成复合物),并且对应于SEQ ID NO:15。HiBiT与“SmHiTrip10”(SEQ ID NO:25)和“pep86”具有相同的序列,所述术语可互换使用(也可以是SmTrip10 pep86等)。

[0279] 如本文中所用,术语“LgTrip”是指对应于β_{1-8}样多肽的多肽,其对应于SEQ ID NO:17,并与β_9样肽和β_{10}样肽一起用于三部分互补以形成生物发光复合物,或者与β_{9-10}样二肽一起用于二元互补以形成生物发光复合物。LgTrip变体包括:LgTrip 2098(具有His标签:SEQ ID NO:31;不具有His标签:SEQ ID NO:304)和LgTrip 3546(具有His标签:SEQ ID NO:51;不具有His标签:SEQ ID NO:302)。

[0280] 如本文中所用,术语“SmTrip10”是指对应于β_{10}样肽的肽,其可用于例如三部分互补,以形成生物发光复合物。

[0281] 如本文中所用,术语“SmTrip9”是指对应于β_9样肽的肽,其可用于例如三部分互补,以形成生物发光复合物。

具体实施方式

[0282] 本文提供了用于组装三部分或多部分生物发光复合物的组合物和方法。特别地,生物发光复合物在两个或更多个肽标签(例如,单独地或以二肽或三肽形式融合的)和多肽组分的相互作用时形成。

[0283] 在本文实施方案开发期间进行的实验证明,包含两个小肽元件(例如,β10样肽和β9样肽)和一个多肽元件(例如,β_{1-8}样多肽)的三部分萤光素酶组装形成发光复合物。在本文实施方案开发过程中进行的实验进一步证明了生物发光复合物的形成,所述复合物由多达

五个萤光素酶的片段(或此类片段的变体),诸如多肽片段(或其变体)和一个或多个肽、二肽或三肽片段(或此类片段的变体)形成。

[0284] 商购可得的NANOLUC萤光素酶(Promega Corporation)包含10条β(beta)链(β1、β2、β3、β4、β5、β6、β7、β8、β9、β10)。美国专利第9,797,889号(通过引用以其整体并入本文)描述了包含β_{1-9}样多肽和β_{10}样肽(美国专利第9,797,889号中的实际多肽和肽序列与NANOLUC和野生型天然OgLuc中的相应序列不同)的互补系统的开发和用途。

[0285] 在本文实施方案的开发过程中进行的实验中,通过去除β9链进一步拆分β_{1-9}样多肽。剩余部分(β_{1-8}样多肽)在本文中称为LgTrip 2098(SEQ ID NO:17;或SEQ ID NO:31(具有His标签))。实验试图从LgTrip和对应于β9链(SmTrip9 pep245;SEQ ID No:23)和β10链(SmTrip10pep86;HiBit,经优化用于高亲和力二部分系统的β10序列;SEQ ID NO:15)的两种肽重构发光复合物。实验证明,LgTrip 2098(SEQ ID NO:17;或SEQ ID NO:31(具有His标签))在大肠杆菌中表达差,不稳定,并且易受表面失活的影响。在本文实施方案的开发过程中进行实验,以开发人工变体,所述人工变体表现出增强的稳定性、增强的表达、增强的活性、增强的分子相互作用等中的一种或多种(例如,全部),并且能够用于系统中,以与对应于β9(例如,β9样肽(例如,SmTrip9 pep245;SEQ ID NO:23))和β10(例如,β10样肽(例如,SmTrip10 pep86;HiBiT;SEQ ID NO:25))的肽一起重建生物发光复合物。例如,在本文实施方案开发过程中进行的实验证明LgTrip 3092(SEQ ID NO:19)或LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)能够与合适的β9样肽(例如,SmTrip9 pep245;SEQ ID NO:23)和β10样肽(如SmTrip10pep86;HiBiT;SEQ ID NO:25)一起形成发光复合物。在本文实施方案的开发过程中进行实验以开发人工多肽组分(例如,SEQ ID NO:19、21、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129、131及其附加变体)以及具有增强的用于发光复合物重构的特征的肽标签(例如,表1中列出的肽及其附加变体)。

[0286] 在本文实施方案的开发过程中进行的进一步实验证明,可使用构建体形成基于NANOLUC的生物发光复合物,所述构建体包含其它多肽组分(例如,β_{1-5}样、β_{1-6}样、β_{1-7}样等)和源自本文所述的基于NANOLUC、基于NanoBiT和基于NanoTrip的系统、多肽和肽的互补肽(例如,β_6样、β_7样、β_8样、β_9样、β_{10}样)、二肽(例如,β_{6-7}样、β_{7-8}样、β_{8-9}样、β_{9-10}样)、三肽(例如,β_{6-8}样、β_{7-9}样、β_{8-10}样)、多肽(例如,β_{6-10}样、β_{6-9}样、β_{7-10}样等)的相应组合。在本文实施方案的开发过程中进行的实验证明了由两种或更多种(例如2种、3种、4种、5种等)肽和多肽组分形成生物发光复合物,所述肽和多肽组分共同包含萤光素酶构建体的全长(例如,包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%或其间的范围)的与SEQ ID NO:788或789的序列同一性的全长萤光素酶多肽)。

[0287] 在一些实施方案中,本文提供了用于从两个肽标签(例如,β9样肽(例如,SmTrip9)和β10样肽(例如,SmTrip10))和多肽组分(例如,β_{1-8}样多肽(例如,LgTrip))组装生物发光复合物的组合物和方法。

[0288] 在一些实施方案中,本文提供了用于从多肽组分(例如,β_{1-5}样多肽、β_{1-6}样多肽、β_{1-7}样多肽或β_{1-8}样多肽)和一种或多种互补肽(例如,β_6样、β_7样、β_8样、β_9样、β_{10}样)、一种或多种互补二肽(例如,β_{6-7}样、β_{7-8}样、β_{8-9}样、β_{9-10}样)、互补三肽(例如,β_{6-8}样、β_{7-9}样、β_{8-10}样)和/或互补多肽(例如,β_{6-10}样、β_{6-9}样、β_{7-10}样等)组装生物发光复合物的组合物和方法。

[0289] 在一些实施方案中，肽标签和多肽组分中的一种或多种(例如，两种、三种、四种、五种等)不是先前存在的蛋白质的片段(例如，不是已知多肽序列的结构互补子序列)。然而，在其它实施方案中，肽标签和多肽组分中的一种或多种可以是已知或现有的蛋白质、多肽或肽的片段。在某些实施方案中，(生物发光复合物的)多肽组分的生物发光活性通过与两个肽标签的结构互补而得以增强(例如，2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、10^2倍、10^3倍、10^4倍、10^5倍、10^6倍或更多)。在一些实施方案中，本文提供了肽(肽标签)/多肽元件，其能够组装成生物发光复合物，用于例如检测和监测分子相互作用(例如，蛋白质-蛋白质、蛋白质-DNA、蛋白质-RNA相互作用、RNA-DNA、蛋白质-小分子、RNA-小分子、DNA-DNA、RNA-RNA、PNA-DNA、PNA-RNA等)的目的。在一些实施方案中，肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)与相互作用元件融合，或以其它方式连接至相互作用元件。在特定的实施方案中，肽/二肽/三肽标签和多肽组分，当用于检测/监测分子相互作用的目的时，如果没有相互作用元件之间的相互作用的促进，不会形成完整的生物发光复合物。然而，在相互作用元件彼此(或与靶分子或复合物)相互作用(例如，结合)时，促进了生物发光复合物的形成。在一些实施方案中，来自生物发光复合物的生物发光信号(或在底物存在的情况下产生这种信号的能力)用作相互作用元件形成复合物的报告子(reporter)。如果形成相互作用复合物，则形成生物发光复合物，并且检测/测量/监测生物发光信号(例如，在底物存在的情况下)。如果相互作用复合物未能形成(例如，由于不利的条件，由于相互作用元件之间不稳定的相互作用，由于不相容的相互作用元件)，则生物发光复合物不形成，并且不产生生物发光信号(例如，在底物存在的情况下)。在一些实施方案中，来自生物发光复合物的生物发光信号(或在底物存在的情况下产生这种信号的能力)用作相互作用元件与靶标结合的报告子。如果发生靶标结合，则形成生物发光复合物，并且检测到/测量到/监测到(例如，在底物存在的情况下)生物发光信号。如果靶标结合未能发生(例如，由于不利的条件、由于相互作用元件与靶标之间不稳定的相互作用、由于靶标的不存在等)，则不会形成生物发光复合物，也不会产生生物发光信号。

[0290] 在某些实施方案中，相互作用元件是两种目标分子(例如，一种或多种目标蛋白质、一种或多种目标小分子等)。例如，可通过将每一个分子系连至单独的肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)，进行测定来检测两个目标分子的相互作用。如果目标分子相互作用(例如，瞬时相互作用、稳定相互作用等)，则肽/二肽/三肽标签以合适的构象紧密接近，并且在生物发光复合物的肽/二肽/三肽标签与多肽组分之间形成生物发光复合物(并且产生/检测生物发光信号(例如，在底物存在的情况下))。在目标分子之间不存在相互作用的情况下，肽/二肽/三肽标签不紧密接近并且/或者不以促进与生物发光复合物的多肽组分形成复合物的取向排列，没有形成生物发光复合物，并且没有产生生物发光信号(在底物存在的情况下)。此类实施方案可用于研究抑制剂对复合物形成的影响、突变对复合物形成的影响、条件(例如，温度、pH度等)对复合物形成的影响、小分子(例如，潜在治疗剂)与靶分子的相互作用等。

[0291] 在一些实施方案中，提供了能够组装成生物发光复合物而无需相互作用元件的促进作用的肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β

10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))。在此类实施方案中,当肽/二肽/三肽标签和多肽组分一起存在于相同的样品、亚细胞区室、细胞、组织等中(例如,共定位)时,将形成生物发光复合物。在一些实施方案中,本文提供了肽/二肽/三肽(标签)/多肽元件,所述肽/二肽/三肽(标签)/多肽元件能够组装成生物发光复合物,以用于检测和监测分子元件(例如,一种或多种蛋白质、一种或多种核酸、一种或多种小分子、脂质、碳水化合物、细胞结构等)的共定位(例如,无分子相互作用)。在一些实施方案中,生物发光复合物由肽/二肽/三肽标签和多肽组分形成,所述肽/二肽/三肽标签和多肽组分共同跨越完全β1样至β10样序列。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签与共定位元件融合或以其它方式连接至共定位元件。在特定的实施方案中,特别是出于检测/监测共定位(例如,无分子相互作用)的目的,肽/二肽/三肽标签和多肽组分能够在没有促进作用(例如,无相互作用元件)的情况下形成生物发光复合物。在共定位元件(例如,融合至肽/二肽/三肽标签的)共定位(例如,在同一细胞内、在同一表面上、在同一细胞区室中、在同一组织内等)时,在存在或不存在共定位元件的相互作用的情况下,促进了生物发光复合物(由肽/二肽/三肽标签和多肽组分)形成。在一些实施方案中,来自生物发光复合物的生物发光信号(或在底物存在的情况下产生这种信号的能力)用作共定位元件共定位的报告子。如果共定位元件共定位,则形成多肽组分和融合至共定位元件的肽/二肽/三肽标签的生物发光复合物,并且检测/测量/监测生物发光信号(例如,在底物存在的情况下)。如果共定位元件不共定位,则不形成生物发光复合物,并且不产生生物发光信号(例如,在底物存在的情况下)。

[0292] 在某些实施方案中,共定位对包括两个目标分子(例如,一个或多个目标蛋白质、一个或多个目标小分子等)。例如,可通过将每一个分子系连至单独的二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10)肽,和/或其二肽和三肽),进行测定来检测两个目标分子的共定位(例如,在细胞内、在细胞区室内、在组织内等)。如果目标分子共定位,则肽标签以合适的构象紧密接近,并且与多肽组分多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))一起形成生物发光复合物,并且产生/检测生物发光信号(例如,在底物存在的情况下)。在不存在目标分子共定位的情况下,多肽组分和肽/二肽/三肽标签不相互作用形成复合物,并且不产生生物发光信号(例如,在底物存在的情况下)。此类实施方案可用于研究在各种条件下目标分子的共定位。

[0293] 在一些实施方案中,提供了包含二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))的系统、测定和装置,以用于检测样品中的分析物(例如,小分子、肽、蛋白质、抗体、核酸等)。在一些实施方案中,将肽/二肽/三肽标签与识别靶分析物的检测剂/结合剂(例如,结合部分、结合序列等)、多种靶分析物、被靶分析物结合的第二分析物、与第一结合剂结合的第二结合剂等系连或融合。在一些实施方案中,与前述检测/结合剂系连/融合的肽/二肽/三肽标签的各种组合用于检测/定量/鉴定样品中的分析物的测定和装置中。用于测定和装置的示例性系统描述于例如图51-图56中,并且描述于本文中。

[0294] 在一些实施方案中,本文提供了用于从二肽(例如β9/β10样二肽)和多肽组分(例

如，β_{1-8}样多肽(例如，LgTrip))组装生物发光复合物的组合物和方法。在一些实施方案中，二肽和多肽组分不是先前存在的蛋白质的片段(例如，不是已知多肽序列的结构互补子序列)。然而，在其它实施方案中，二肽和/或多肽组分可以是已知或现有的蛋白质、多肽或肽的片段。在某些实施方案中，(生物发光复合物的)多肽组分的生物发光活性通过与二肽的结构互补而得以增强(例如，2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、10^2倍、10^3倍、10^4倍、10^5倍、10^6倍或更多倍)。在一些实施方案中，β_{1-8}样多肽显示出比β_{1-9}样多肽更低的背景发光。在一些实施方案中，与β_{1-9}样多肽相比，β_{1-8}样多肽表现出增加的热稳定性和化学稳定性。

[0295] 在一些实施方案中，本文提供了生物发光复合物，包括但不限于包含以下肽、二肽、三肽和多肽组分的组合中的任一种的那些复合物：

[0296] • β1-5样多肽+β6样肽+β7样肽+β8样肽+β9样肽+β10样肽；

[0297] • β1-5样多肽+β6样肽+β7样肽+β8样肽+β9/10样二肽；

[0298] • β1-5样多肽+β6样肽+β7/8样二肽+β9/10样二肽；

[0299] • β1-5样多肽+β6/7/8样三肽+β9/10样二肽；

[0300] • β1-5样多肽+β6样肽+β7/8/9样三肽+β10样肽；

[0301] • β1-6样多肽+β7样肽+β8样肽+β9样肽+β10样肽；

[0302] • β1-6样多肽+β7样肽+β8样肽+β9/10样二肽；

[0303] • β1-6样多肽+β7/8样二肽+β9/10样二肽；

[0304] • β1-6样多肽+β6/7/8样二肽+β9样肽+β10样肽；

[0305] • β1-6样多肽+β7/8/9样三肽+β10样肽；

[0306] • β1-7样多肽+β8样肽+β9样肽+β10样肽；

[0307] • β1-7样多肽+β8样肽+β9/10样二肽；

[0308] • β1-7样多肽+8/9样二肽+β10样肽；

[0309] • β1-7样多肽+β8/9/10样三肽；

[0310] • β1-8样多肽+β9样肽+β10样肽；

[0311] • β1-8样多肽+β9/10样二肽；

[0312] • β1-5样多肽+β6-10样多肽；

[0313] • β1-5样多肽+β6-9样多肽+β10样肽；和

[0314] • β1-5样多肽+β7-10样多肽+β6样肽。

[0315] 上述组合不是限制性的，并且肽、二肽、三肽和多肽组分的其它组合也在本文的范围内。

[0316] 在一些实施方案中，β1-5样多肽包含SEQ ID NO:788的位置1-102。在一些实施方案中，β1-6样多肽包含SEQ ID NO:788的位置1-124。在一些实施方案中，β1-7样多肽包含SEQ ID NO:788的位置1-133。在一些实施方案中，β1-8样多肽包含SEQ ID NO:788的位置1-148。

[0317] 在一些实施方案中，一组β5-10样肽/二肽/三肽/多肽共同包含SEQ ID NO:788或789的位置103-170。在一些实施方案中，一组β6-10样肽/二肽/三肽/多肽共同包含SEQ ID NO:788或789的位置125-170。在一些实施方案中，一组β7-10样肽/二肽/三肽/多肽共同包含SEQ ID NO:788或789的位置134-170。在一些实施方案中，一组β8-10样肽/二肽/三肽/多肽共同包含SEQ ID NO:788或789的位置149-170。

[0318] 在一些实施方案中，生物发光复合物的一种或多种组分跨越本文所述的基本萤光素酶(例如，OgLuc、NANOLUC、SEQ ID NO:788、SEQ ID NO:789等)的部分β链。肽、二肽、三肽和多肽组分之间的分离可存在于β链之间的分裂点上，或者可出现在距离由本文序列所鉴定的分裂点的位置-1、位置-2、位置-3、位置-4、位置-5、位置+1、位置+2、位置+3、位置+4、位置+5或更远的位置上。在一些实施方案中，本文所述的跨越基本萤光素酶(例如，OgLuc、NANOLUC、SEQ ID NO:788、SEQ ID NO:789等)的全长序列的肽、二肽、三肽和多肽组分能够形成生物发光复合物，即使组分的分裂点不在β链之间亦如此。

[0319] 例如，β5与β6之间的分裂位点可出现在SEQ ID NO:788的位置102与位置103之间，或者在一些实施方案中，这种分裂位点可出现在该位置之前或之后最多5个残基的位置(例如，在位置96、位置97、位置98、位置99、位置100、位置101、位置103、位置104、位置105、位置106、位置107之后)。在一些实施方案中，β6与β7之间的分裂位点可出现在SEQ ID NO:788的位置124与位置125之间，或者在一些实施方案中，这种分裂位点可出现在该位置之前或之后最多5个残基的位置(例如，在位置118、位置119、位置120、位置121、位置122、位置123、位置125、位置126、位置127、位置128、位置129之后)。在一些实施方案中，β7与β8之间的分裂位点可出现在SEQ ID NO:788的位置133与位置134之间，或者在一些实施方案中，这种分裂位点可出现在该位置之前或之后最多5个残基的位置(例如，在位置127、位置128、位置129、位置130、位置131、位置132、位置134、位置135、位置136、位置137、位置138之后)。在一些实施方案中，β8与β9之间的分裂位点可出现在SEQ ID NO:788的位置148与位置149之间，或者在一些实施方案中，这种分裂位点可出现在该位置之前或之后最多5个残基的位置(例如，在位置142、位置143、位置144、位置145、位置146、位置147、位置149、位置150、位置151、位置152、位置153之后)。

[0320] 在一些实施方案中，依次相邻地位于基本萤光素酶(例如，OgLuc、NANOLUC、SEQ ID NO:788、SEQ ID NO:789等)序列内的两个肽、二肽、三肽和多肽组分包含所述基本序列的该相应部分的所有氨基酸。在一些实施方案中，对应的肽组分、二肽组分、三肽组分和/或多肽组分中不存在一个或多个(例如，1个、2个、3个、4个、5个或更多个)与基本序列中的分裂点相邻的氨基酸。

[0321] 在一些实施方案中，本文提供了肽，其包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％)的与下列序列之一的序列同一性：

[0322] • β6样-GVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDG(SEQ ID NO:802)；

[0323] • β7样-KKITTTGTL(SEQ ID NO:803

[0324] • β8样-WNGNKIIDERLITPD(SEQ ID NO:804

[0325] • β9样-GSMLFRVTINS(SEQ ID NO:805

[0326] • β10样(高亲和力)-VSGWRLFKKIS(SEQ ID NO:806和

[0327] • β10样(低亲和力)-VTGYRLFEEIL(SEQ ID NO:807

[0328] 在一些实施方案中，本文提供了二肽，其包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％)的与下列序列之一的同一性：

[0329] • β6/7样-GVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTL(SEQ ID NO:808

[0330] • β7/8样-KKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD(SEQ ID NO:809)；

[0331] • β8/9样-WNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINS(SEQ ID NO:810)；

[0332] • β9/10样(高亲和力)-GSMLFRVTINSVSGWRLFKKIS(SEQ ID NO:811)；和

[0333] • β9/10样(低亲和力)-GSMLFRVTINSVTGYRLFEEIL(SEQ ID NO:812)。

[0334] 在一些实施方案中，本文提供了三肽，其包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％)的与下列序列之一的序列同一性：

[0335] • β6/7/8样-GVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD(SEQ ID NO:813)；

[0336] • β7/8/9样-KKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINS(SEQ ID NO:814)；

[0337] • B8/9/10样(高亲和力)-WNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSVSGWRLFKKIS(SEQ ID NO:815)；和

[0338] • B8/9/10样(低亲和力)-WNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSVTGYRLFEEIL(SEQ ID NO:816)。

[0339] 在一些实施方案中，本文提供了多肽，其包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％)的与以下序列之一的序列同一性：

[0340] • β1-5样-MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVID(SEQ ID NO:790)；

[0341] • β6-10样(高亲和力)-GVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSVSGWRLFKKIS(SEQ ID NO:794)；

[0342] • β6-10样(低亲和力)-GVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSVTGYRLFEEIL(SEQ ID NO:798)；

[0343] • β6-9样-GVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINS(SEQ ID NO:829)；

[0344] • β7-10样(高亲和力)-KKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSVSGWRLFKKIS(SEQ ID NO:795)；和

[0345] • β7-10样(低亲和力)-KKITTTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSVTGYRLFEEIL(SEQ ID NO:799)。

[0346] 在一些实施方案中，多肽组分(例如，一组肽/多肽，或生物发光复合物等的)包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％)的与SEQ ID NO:788、789、790、791、792和793之一的序列同一性。

[0347] 在一些实施方案中，肽/二肽/三肽组分(例如，标签)(例如，一组肽/多肽，或生物发光复合物等的)共同包含40％或更高(例如，40％、45％、50％、55％、60％、65％、70％、75％、80％、85％、90％、95％或100％)的与SEQ ID NO:794、795、796、797、798、799、800和801之一的序列同一性。

[0348] 在一些实施方案中，本文提供了成组的上文所列的肽、二肽、三肽和多肽的组分和复合物。在特定的实施方案中，选择跨越基本萤光素酶序列的全部十条β链的组分的组。

[0349] 在一些实施方案中，所述的用于本文的双肽标签系统(例如，β9样肽(例如，SmTrip9)、β10样肽(例如，SmTrip10)和多肽组分(例如，β1-8样多肽(例如，LgTrip)))的相

互作用、共定位、检测以及其它方法、测定和技术也可用于本文所述的双肽系统(例如,β9/10样二肽和多肽组分)。在一些实施方案中,二肽对多肽组分具有高亲和力;在此类实施方案中,当二肽和多肽组分接触(例如,共定位,添加到样品中,等等)而无促进作用时,形成生物发光复合物。在一些实施方案中,二肽对多肽组分具有低亲和力;在此类实施方案中,当二肽和多肽组分接触(例如,共定位,加入样品样品中,等等)而无促进作用时,不会形成生物发光复合物。如同本文中的双肽标签系统(例如,β9样肽(例如,SmTrip9)、β10样肽(例如,SmTrip10)和多肽组分(例如,β1-8样多肽(例如,LgTrip)))一样,可以针对不同的应用选择具有不同亲和力的二肽/多肽对。在一些实施方案中,在美国专利第9,797,890号(通过引用以其整体并入本文)中描述了用于双组分互补系统的系统、方法和测定,并且所有此类系统、方法和测定都可与本文所述的二肽/多肽系统一起使用。

[0350] 在一些实施方案中,本文所述的用于双肽标签系统(例如,β9样肽(例如,SmTrip9)、β10样肽(例如,SmTrip10)和多肽组分((例如,β1-8样多肽(例如,LgTrip)))的相互作用、共定位、检测以及其它方法、测定和技术也可用于包含如本文所述的肽、二肽、三肽和多肽的任何合适组合的系统。在一些实施方案中,组分彼此具有高亲和力;在此类实施方案中,当组分接触(例如,共定位,加入到样品中,等等)而无促进作用时,形成生物发光复合物。在一些实施方案中,组分中的一种或多种对另外的组分中的一种或多种具有低亲和力;在此类实施方案中,当组分接触(例如,共定位,加入到样品中,等等)而无促进作用时,不会形成生物发光复合物。如同本文中的双肽标签系统(例如,β9样肽(例如,SmTrip9)、β10样肽(例如,SmTrip10)和多肽组分(例如,β1-8样多肽(例如,LgTrip)))一样,可针对不同应用为本文所述的另外的系统提供不同的亲和力。在一些实施方案中,美国专利第9,797,890号(通过引用以其整体并入本文)中描述了用于双组分互补系统的系统、方法和测定,并且所有此类系统、方法和测定都可用于本文所述的各种肽、二肽、三肽和多肽系统。

[0351] 在一些实施方案中,本文提供了可互换的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10)和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))的互补小组,所述互补小组在由其形成生物发光复合物时具有可变的亲和力和发光度(例如,高亲和力/高发光度,中等亲和力/高发光度,低亲和力/中度发光度,等等)。利用肽/二肽/三肽标签和多肽组分的不同组合提供了可适应系统,所述系统包括在较低至较高的范围内的亲和力、发光度、表达水平、稳定性、溶解度和其它可变特征的各种组。这种适应性允许对待针对一种或多种特定目标分子和/或待研究的条件进行微调(fine-tuned)的分析物、分子相互作用、共定位和/或其它特征进行检测/监测/鉴定/定量,并扩大了可被检测/监测/鉴定/定量的分子相互作用和/或共定位的范围,以包括具有非常高或非常低的亲和力的相互作用。本文还提供了籍以开发和测试非发光元件和成组的非发光元件的方法。

[0352] 在一些实施方案中,由于本文中标签(例如,肽标签)的尺寸小(例如,与较大的多肽和蛋白质相比),因此它们对变性具有抗性(它们没有功能所需的三级结构)。

[0353] 在一些实施方案中,可以基于待研究的目标分子或蛋白质选择肽/二肽/三肽标签和多肽组分。在一些实施方案中,不同的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))可能需要相互作

用复合物(例如,相互作用元件的复合物)的不同的强度、持续时间和/或稳定性,来导致生物发光复合物形成。在一些实施方案中,需要高度稳定的相互作用复合物来产生可检测的生物发光信号(例如,在底物存在的情况下)。在其它实施方案中,甚至微弱或短暂的相互作用复合物也会导致生物发光复合物形成。在其它实施方案中,只要肽/二肽/三肽标签和多肽组分是共定位的,即使在相互作用复合物不存在的情况下将形成生物发光复合物。在一些实施方案中,相互作用复合物的强度或程度与所得生物发光信号的强度成正比。一些肽/二肽/三肽标签/多肽组分组在与具有高毫摩尔解离常数(例如,K_d>100mM)的相互作用复合物组合时产生可检测的信号。其它肽/二肽/三肽标签/多肽组分组需要具有低毫摩尔(例如,K_d<100mM)、微摩尔(例如,K_d<1mM)、纳摩尔(例如,K_d<1μM)或甚至皮摩尔(例如,K_d<1nM)的解离常数的相互作用对,以便产生具有可检测信号的生物发光复合物。

[0354] 在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签和/或多肽组分不是先前存在的蛋白质(例如,先前存在的生物发光蛋白质)的片段。在一些实施方案中,用于形成复合物的肽/二肽/三肽标签和多肽组分都不是先前存在的蛋白质(例如,相同的先前存在的蛋白质、先前存在的生物发光蛋白质等)的片段。在一些实施方案中,组装在一起形成生物发光复合物的肽标签(例如,β9样肽(例如,SmTrip9)和β10样肽(例如,SmTrip10);β9/β10样二肽;等等)和多肽组分(例如,β_{1-8}样多肽(例如,LgTrip))都不是先前存在的蛋白质(例如,相同的先前存在的蛋白质、先前存在的生物发光蛋白质等)的片段。在一些实施方案中,用于本发明的实施方案的生物发光复合物的肽/二肽/三肽标签或多肽组分不是先前存在的蛋白质的子序列。在一些实施方案中,用于本文所述的实施方案的非发光元件不包含先前存在的蛋白质的结构互补子序列。

[0355] 在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)在分离时(例如,在底物存在或不存在的情况下)是不发光的或基本上不发光的。在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签,当在多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))不存在的情况下缔合在一起时(例如,在底物存在或不存在的情况下)是不发光的或基本上不发光的。在一些实施方案中,多肽组分在分离时是不发光的或基本上不发光的(例如,在底物存在或不存在的情况下)。在一些实施方案中,单个肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分在第二或第三或第四肽/二肽/三肽标签不存在的情况下(例如,在底物的存在或不存在情况下)是不发光的或基本不发光的。在某些实施方案中,当置于合适的条件(例如,生理条件)时,多个肽/二肽/三肽标签和多肽组分相互作用形成生物发光复合物,并在底物存在的情况下产生生物发光信号。

[0356] 在某些实施方案中,将相互作用元件和/或共定位元件与肽/二肽/三肽标签进行附接、融合、连接、联接等。在典型的实施方案中,第一肽/二肽/三肽标签与第一相互作用元件(或第一共定位元件)相互附接,并将第二肽/二肽/三肽标签与第二相互作用元件(或第二共定位元件)相互附接。肽/二肽/三肽标签与相互作用元件(或共定位元件)的附接可通过任何合适的机制、化学物质、接头等来实现。相互作用元件(或共定位元件)与肽/二肽/三肽标签通常通过共价连接来附接,但也提供了两个元件的非共价连接。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签与相互作用元件(或共定位元件)直接连接,在其它实施方案中,它们通

过接头连接。在一些实施方案中，肽/二肽/三肽标签与相互作用元件(或共定位元件)被作为基因/重组融合物提供。在一些实施方案中，利用本文的肽/二肽/三肽标签内源性加标签(例如，在内源调节控制下)，允许用本文所述的工具监测正常细胞功能。例如，目标蛋白质可用高亲和力β9/β10样二肽内源性加标签(例如，使用CRISPR/Cas9)，然后在细胞、动物、裂解物等中监测与LgTrip(或其变体)的自发互补作用。在其它实施方案中，肽标签与相互作用元件(或共定位元件)通过化学修饰/缀合，诸如通过天然化学连接、Staudinger连接、“无痕迹”Staudinger连接、酰胺偶联、采用活化酯的方法、靶向赖氨酸、酪氨酸和半胱氨酸残基的方法、亚胺键形成(利用和不利用原硼酸)、硼酸/二醇相互作用、二硫键形成、铜/无铜叠氮化物、重氮基和四嗪“点击”化学、紫外线促进的硫醇烯缀合、双吖丙啶光标记(diazirine photolabeling)、Diels-Alder环加成、复分解反应、Suzuki交叉偶联、噻唑烷(步骤-4(Step-4))偶联、链霉亲和素/生物素互补、HaloTag/氯代烷烃底物互补等来连接。在一些实施方案中，肽/二肽/三肽标签和相互作用元件(或共定位元件)是合成(例如，固态合成、液相合成等)产生的。在一些实施方案中，通过任何合适的方式产生(例如，合成或重组方式)或获得(例如，从粗裂解物、提取的蛋白质、纯化的蛋白质等)相互作用元件(或共定位元件)。

[0357] 在其中相互作用元件(或共定位元件)为肽或多肽的一些实施方案中，肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和相互作用元件(或共定位元件)包含在单个氨基酸链内。在一些实施方案中，单个氨基酸链包含肽/二肽/三肽标签和相互作用元件(或共定位元件)、由其组成或基本上由其组成。在一些实施方案中，单个氨基酸链包含肽/二肽/三肽标签、相互作用元件(或共定位元件)、任选的一个或多个N末端序列、C末端序列、调控元件(例如，启动子、翻译起始位点等)和接头序列、由其组成或基本由其组成。在一些实施方案中，肽/二肽/三肽标签和相互作用元件(或共定位元件)包含在融合多肽中。在一些实施方案中，分别表达肽/二肽/三肽标签与相互作用元件(或共定位元件)的第一融合物和肽/二肽/三肽标签和相互作用元件(或共定位元件)的第二融合物；然而，在其它实施方案中，表达包含两种所述相互作用(或共定位)和肽/二肽/三肽标签或由所述两种相互作用(或共定位)和肽/二肽/三肽标签组成的融合蛋白。

[0358] 在一些实施方案中，在同一细胞中表达第一融合蛋白以及第二融合蛋白，所述第一融合蛋白包含第一肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和第一相互作用元件，所述第二融合蛋白包含第二肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和第二相互作用元件。在一些实施方案中，在同一细胞中表达第一融合蛋白以及第二融合蛋白，所述第一融合蛋白包含第一肽/二肽/三肽标签和第一共定位元件，所述第二融合蛋白包含第二肽/二肽/三肽标签和第二共定位元件。在一些实施方案中，从细胞中纯化并且/或者分离第一融合蛋白和第二融合蛋白。在一些实施方案中，在细胞内测定融合蛋白的相互作用和/或共定位。在一些实施方案中，在细胞的裂解物中测定融合蛋白的相互作用和/或共定位。在其它实施方案中，在单独的细胞中表达第一融合蛋白和第二融合蛋白，并将其组合(例如，在纯化和/或分离后，在细胞或细胞的部分融合后，通过将融合蛋白从一个细胞转移到另一个细胞，或通过

将一种或多种融合蛋白分泌到细胞外介质中)用于信号检测。在一些实施方案中,在细胞裂解物(例如,兔网织红细胞裂解物)或无细胞系统中表达一种或多种融合蛋白。在一些实施方案中,从病毒或其它细胞病原体的基因组中表达一种或多种融合蛋白。在一些实施方案中,将用于(与第一融合蛋白和第二融合蛋白)形成复合物的多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))和任何其它肽/二肽/三肽组分(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)在同一细胞或细胞裂解物中表达为含标签的融合蛋白之一或两者。在一些实施方案中,将用于与肽/二肽/三肽标签(在第一融合蛋白和第二融合蛋白内)形成复合物的肽/二肽/三肽/多肽组分在不同的细胞或细胞裂解物中表达为含肽-标签的融合蛋白之一或两者。在一些实施方案中,将用于与肽/二肽/三肽标签(在第一融合蛋白和第二融合蛋白内)形成复合物的肽/二肽/三肽/多肽组分添加到包含含肽-标签的融合蛋白的细胞、细胞裂解物或其它样品中。

[0359] 在一些实施方案中,本文的系统(例如,肽/二肽/三肽标签、肽/二肽/三肽/多肽组分、底物、载体等)和方法可用于样品分析(例如,共定位、分子相互作用、靶标等的检测/定量/鉴定/监测)。在一些实施方案中,将本文的系统的一个或多个组分添加到样品中,并且/或者提供于样品中或在样品中表达。可用于本文的实施方案的合适样品包括但不限于:血液、血浆、血清、尿液、唾液、细胞、细胞裂解物、组织、组织匀浆物、纯化的核酸、粪便、阴道分泌物、脑脊液、尿囊液、水、生物膜、土壤、灰尘、食物、饮料、农产品、植物等。

[0360] 在某些实施方案中,提供了核酸、DNA、RNA、载体等,所述核酸、DNA、RNA、载体等编码本文所述的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))、融合多肽、融合蛋白等。此类核酸和载体可用于表达、转化、转染、注射等。

[0361] 在一些实施方案中,通过接头连接肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和相互作用元件、共定位元件或结合剂。在一些实施方案中,接头连接信号元件和相互作用元件或共定位元件,同时在元件之间提供所需量的空间/距离。在一些实施方案中,接头允许信号元件和相互作用元件同时形成它们各自的复合物(例如,发光复合物和相互作用复合物)。在一些实施方案中,接头协助相互作用元件促进发光复合物的形成。在一些实施方案中,当形成相互作用复合物时,将每个肽/二肽/三肽标签与它们各自的相互作用元件连接的接头以适当的距离和构象定位肽标签,以形成生物发光复合物。在一些实施方案中,相互作用或共定位元件和肽/二肽/三肽标签通过接头保持非常接近(例如,<4个单体单元)。在一些实施方案中,接头在肽标签与相互作用元件之间提供了期望量的距离(例如,1个、2个、3个、4个、5个、6个…10个…20个或更多个单体单元)(例如,以防止肽/二肽/三肽标签与相互作用或共定位元件之间不期望的相互作用,出于空间考虑,以在形成相互作用复合物时允许非发光元件的正确取向,以允许复合物形成从相互作用复合物传播到发光复合物,等等)。在某些实施方案中,接头在肽/二肽/三肽标签与相互作用元件之间提供适当的附接化学(attachment chemistry)。接头还可改进制备肽/二肽/三肽标签和相互作用或共定位元件的合成过程(例如,允许它们作为单个单元合成,从而允许两个元件的合成后连接等)。

[0362] 在一些实施方案中，接头是能够将肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)或多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))与相互作用元件或共定位元件连接、联接或系连的任何合适的化学部分。在一些实施方案中，接头是一种或多种重复或非重复单体单元的聚合物(例如，核酸、氨基酸、含碳聚合物、碳链等)。当肽/二肽/三肽标签和相互作用元件、共定位元件或结合剂是融合蛋白的一部分时，接头(当存在时)通常是氨基酸链。当肽/二肽/三肽标签和相互作用元件、共定位元件或结合剂在单个元件表达后系连在一起时，接头可以包含任何化学部分，其在任一末端处具有分别与肽标签和相互作用元件或共定位元件上的官能团反应的官能(或反应性)基团。能够系连信号和相互作用元件、共定位元件和/或结合剂的任何合适的部分都可用作接头。

[0363] 可使用多种接头。在一些实施方案中，接头是单个共价键。在一些实施方案中，接头包括具有1-20个非氢原子(例如，C、N、P、O和S)的直链或支链、环状或杂环、饱和或不饱和结构，并且由烷基、醚、硫醚、亚胺、羧酸、胺、酯、甲酰胺、磺酰胺、酰肼键和芳族或杂芳族键的任意组合组成。在一些实施方案中，接头长于20个非氢原子(例如21个非氢原子、25个非氢原子、30个非氢原子、40个非氢原子、50个非氢原子、100个非氢原子等)。在一些实施方案中，接头包含1-50个选自C、N、P、O和S的组的非氢原子(除了氢原子以外)(例如1个、2个、3个、4个、5个、6个、7个、8个、9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个、18个、19个、20个、21个、22个、23个、24个、25个、26个、27个、28个、29个、30个、31个、32个、33个、34个、35个、36个、37个、38个、39个、40,41个、42个、43个、44个、45个、46个、47个、48个、49个或50个非氢原子)。

[0364] 本文实施方案的范围不受可用接头类型的限制。肽/二肽/三肽标签、多肽组分和相互作用元件、共定位元件或结合剂直接连接(例如，接头由单个共价键组成)，或者通过合适的接头连接。实施方案不限于任何特定的接头基团。设想了多种接头基团，合适的接头可包括但不限于烷基、亚甲基碳链、醚、聚醚、烷基酰胺接头、肽接头、经修饰的肽接头、聚(乙二醇)(PEG)接头、链霉抗生物素蛋白-生物素或抗生物素蛋白-生物素接头、聚氨基酸(例如聚赖氨酸)、官能化的PEG、多糖、糖胺聚糖、树枝状聚合物(WO93/06868和Tomalia等人，Angew.Chem.Int.Ed.Engl.29:138-175(1990)中，通过引用以其整体并入本文)、PEG螯合剂聚合物(W94/08629、WO94/09056和WO96/26754，通过引用以其整体并入本文))、寡核苷酸接头、磷脂衍生物、烯基链、炔基链、二硫化物或其组合。在一些实施方案中，接头是可裂解的(例如，酶促(例如，TEV蛋白酶位点)、化学、光诱导的等)。在一些实施方案中，肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))、识别元件、相互作用元件、共定位元件、结合剂、分析物、底物等附接(例如，通过任何合适的化学物质)至固体表面或基质，或者包含在固体表面或基质内。在一些实施方案中，一个或多个系统组分附接(例如，通过任何合适的化学物质)至固体表面或基质，或者包含在固体表面或基质中，并且向固体表面或基质中加入(例如，在溶液中(例如，在样品中))其它组分。合适的固体表面包括但不限于：珠粒(例如，磁珠)、碎片、管、板、颗粒、膜、纸等。在一些实施方案中，固体表面/基质由任何合适的材料制成，所述材料为诸如：Ahlstrom CytoSep、硝酸纤维素、醋酸纤维素、纤维素(例如，Whatman FTA-DMPK-

A、B、C卡;Whatman ET 3/Chr;Whatman protein saver 903卡;Whatman 1级滤纸;Whatman FTA Elute;Ahlstrom 226样本采集纸;等)、Noviplex血浆制备卡、聚丙烯膜、PVDF、硝酸纤维素膜(Millipore Nitrocellular Hi Flow Plus)聚四氟乙烯膜、混合纤维素酯、玻璃纤维介质(例如,Whatman uniflter plates玻璃纤维滤膜、Agilent干燥的基质点样卡、Ahlstrom 8950级等)、塑料(例如,聚酯、聚丙烯、Polythersulfene、聚(甲基丙烯酸酯)、丙烯酸聚合物、聚四氟乙烯等)、天然和合成聚合物(例如,聚合物的混合物、共嵌段聚合物等)、糖类(例如,普鲁兰糖、海藻糖、麦芽糖、蔗糖、纤维素等)、聚酰胺(例如,天然的(例如,羊毛、丝绸等)、合成的(例如,芳族聚酰胺、尼龙等),等等)、金属(例如,铝、镉、铬、钴、铜、铁、锰、镍、铂、钯、铑、银、金、锡、钛、钨、钒、锌等)、合金(例如,铝合金(例如,Al-Li、镍铝合金、硬铝、镁诺克斯合金(magnox)、扎马克压铸锌合金(zamak)等)、铁合金(例如,钢、不锈钢、外科用不锈钢、硅钢、工具钢、铸铁、镜铁等)、钴合金(例如,钨铬钴合金、talonite等)、镍合金(例如,德国银、铬镍合金、μ金属、蒙乃尔合金、镍铬合金、镍铬硅(nicrosil)、镍硅(nisil)、镍钛诺等)、铜合金(例如,铍铜、金合金(billon)、黄铜、青铜、磷青铜、康铜、白铜、钟形金属、德瓦达铜铝锌合金(Devarda's alloy)、仿金合金、镍银、北欧金(nordic gold)、高锌黄铜(prince's metal)、图帕伽(tumbaga)等)、银合金(例如,标准纯银等)、锡合金(例如,铜锡合金(Britannium)、白镴(pewter)、焊剂等)、金合金(金银合金、白金等)、汞合金等)、ELISPot板、免疫测定板,组织培养板等。

[0365] 在一些实施方案中,为发光复合物的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9),和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))提供了低于100%的与现有的萤光素酶(例如,如美国专利申请2010/0281552和美国专利申请2012/0174242中所述的萤火虫萤光素酶、海肾萤光素酶、刺虾萤光素酶、增强型刺虾萤光素酶,所述美国专利申请通过引用以其整体并入本文)的任何部分的序列同一性和/或相似性。某些实施方案涉及肽/二肽/三肽标签和多肽组分的生物发光复合物的形成,所述肽/二肽/三肽标签和多肽组分与SEQ ID NO:1(例如,完整野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SEQ ID NO:3(例如,完整NANOLUC序列)的全部或一部分(例如,8个或更多个氨基酸,对于肽,少于约25个氨基酸)具有低于100%的序列同一性。某些实施方案涉及由肽/二肽/三肽标签和多肽组分形成生物发光复合物,所述肽/二肽/三肽标签和多肽组分与SEQ ID NO:1(例如,完整野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SEQ ID NO:3(例如,完整NANOLUC序列)的全部或一部分(例如,8个或更多个氨基酸,对于肽,少于约25个氨基酸)具有低于100%,但高于40%(例如,>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>98%、>99%)的序列同一性。在一些实施方案中,为肽/二肽/三肽标签和多肽组分提供了低于100%的与SEQ ID NO:1(例如,完整野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SEQ ID NO:3(例如,完整NANOLUC序列)一部分(例如,8个或更多个氨基酸,对于肽,少于约25个氨基酸)的序列相似性。在一些实施方案中,为肽/二肽/三肽标签和多肽组分提供了低于100%,但高于40%(例如,>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>98%、>99%)的与SEQ ID NO:1(例如,完整野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SE Q ID NO:3(例如,完整NANOLUC序列)一部分(例如,8个或更多个氨基酸,对于肽,少于约25个氨基酸)的序列相似性。在一些实施方案中,提供了肽/二肽/三肽标签,其与SEQ ID NO:1(例如,

完整野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SEQ ID NO:3(例如,完整NAN OLUC序列)的约25个氨基酸或更少的部分具有低于100%的序列同一性和/或相似性,此类肽中的两个肽当在适当条件下与多肽组分组合(例如,通过相互作用对稳定,通过共定位元件接近,等等)时形成生物发光复合物,所述多肽组分与SEQ ID NO:1(例如,完整野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SEQ ID NO:3(例如,完整NANOLUC序列)的另一部分具有低于100%,但高于40%(例如,>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>98%、>99%)的序列同一性和/或相似性。在一些实施方案中,提供了肽/二肽/三肽标签,其与SEQ ID NO:1(例如,完整的野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SEQ ID NO:3(例如,完整的NANOLUC序列)的约25个氨基酸或更少部分具有低于100%的序列同一性和/或相似性,其中一对此类肽标签在适当条件下与多肽组分组合(例如,通过相互作用对稳定,通过共定位元件接近等)时形成生物发光复合物,所述多肽组分与SEQ ID NO:1(例如,完整野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SEQ ID NO:3(例如,完整NANOLUC序列)的另一部分具有低于100%,但高于40%(例如,>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>98%、>99%)的序列同一性和/或与相似性。在一些实施方案中,提供了肽/二肽/三肽标签,其与SEQ ID NO:1(例如,完整野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SEQ ID NO:3(例如,完整NANOLUC序列)的约25个氨基酸或更少的部分具有低于100%,但高于40%(例如,>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>98%、>99%)的序列同一性和/或与相似性,其中一对此类肽在适当条件下与多肽组合(例如,通过相互作用对稳定,通过共定位元件接近,等等)时形成生物发光复合物,所述多肽与SEQ ID NO:1(例如,完整野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SEQ ID NO:3(例如,完整NANOLUC序列)的另一部分具有低于100%,但高于40%(例如,>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>98%、>99%)的序列同一性和/或与相似性。类似地,所提供的多肽组分与SEQ ID NO:1(例如,完整野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SEQ ID NO:3(例如,完整N ANOLUC序列)的部分具有低于100%,但高于40%(例如,>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>98%、>99%)的序列同一性或相似性,其中此类多肽组分,当在适当的条件下与一对肽标签组合时形成生物发光复合物,所述肽标签与SEQ ID NO:1(例如,完整野生型刺虾萤光素酶序列)和/或SEQ ID NO:3(例如,完整NANOLUC序列)的另一部分具有低于100%,但任选地高于40%(例如,>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>98%、>99%)的序列同一性和/或相似性。在一些实施方案中,提供了与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9和/或SEQ ID NO:10具有低于100%的序列同一性或相似性的肽标签。在一些实施方案中,提供了肽标签,所述肽标签与SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SE Q ID NO:9和/或SEQ ID NO:10具有低于100%,但高于40%(例如,>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>98%、>99%)的序列同一性或相似性。在一些实施方案中,提供了肽标签,所述肽标签与SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25和/或SEQ ID NO:29具有低于100%的序列同一性或相似性。在一些实施方案中,提供了肽标签,所述肽标签与SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25和/或SEQ ID NO:29具有低于100%、但高于40%(例如,>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>98%、>99%)的序列同一性或相似性。在一些实施方案中,提供了多肽组分,所述多

肽组分与SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8具有低于100％的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，提供了多肽组分，所述多肽组分与SEQ ID NO:17和/或SEQ ID NO:27具有低于100％的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，提供了多肽组分，所述多肽组分与S EQ ID NO:5、SEQ ID NO:8和/或SEQ ID NO:27具有低于100％但高于40％(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％、>98％、>99％)的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，提供了多肽组分，所述多肽组分与SEQ ID NO:17具有低于100％但高于40％(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％、>98％、>99％)的序列同一性或相似性。

[0366] 在一些实施方案中，本文的组、试剂盒或系统中的一种或多种(例如，全部)肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))包含100％的与萤光素酶(例如，SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3等)的一部分的序列同一性。

[0367] 在一些实施方案中，本发明的实施方案中使用的肽标签(例如，β9样肽(例如，SmTrip9)和β10样肽(例如，SmTrip10)；β9/β10样二肽；等等)包括自SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:29具有一个或多个氨基酸取代、缺失或添加的肽。在一些实施方案中，肽标签包含至少40％(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％、>98％、>99％)的与SEQ ID NO:13的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，肽标签相对于SEQ ID NO:13包含6个或更少(例如，6个、5个、4个、3个、2个、1个或其间的范围)的取代(例如，保守取代、半保守取代、非保守取代等)。在一些实施方案中，肽标签包含至少40％(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％、>98％、>99％)的与SEQ ID NO:25的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，肽标签相对于SEQ ID NO:25包含6个或更少(例如，6个、5个、4个、3个、2个、1个或其间的范围)的取代(例如，保守取代、半保守取代、非保守取代等)。在一些实施方案中，肽标签包含至少40％(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％、>98％、>99％)的与SEQ ID NO:23的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，肽标签相对于SEQ ID NO:23包含6个或更少(例如，6个、5个、4个、3个、2个、1个或其间的范围)的取代(例如，保守取代、半保守取代、非保守取代等)。在一些实施方案中，肽标签包含至少40％(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％、>98％、>99％)的与SEQ ID NO:25的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，肽标签相对于SEQ ID NO:25包含6个或更少(例如，6个、5个、4个、3个、2个、1个或其间的范围)的取代(例如，保守取代、半保守取代、非保守取代等)。

[0368] 在一些实施方案中，本发明的实施方案中使用的肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))包括本文中和本文提供的表中公开的肽、二肽、三肽和多肽。在一些实施方案中，本发明的实施方案中使用的肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如，β1-5

样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))相对于本文中和本文提供的表中公开的肽、二肽、三肽和多肽,包含一个或多个氨基酸取代、缺失或添加。在一些实施方案中,本发明的实施方案中使用的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))包含至少40%(例如,>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>98%、>99%)的与本文中和本文提供的表中公开的肽、二肽、三肽和多肽的序列同一性或相似性。

[0369] 在一些实施方案中,本文实施方案中使用的二肽和三肽包含本文所述和/或本文表中所列的肽的任何合适的组合。

[0370] 在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)或多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))连接(例如,通过化学方式)或融合至一个或多个附加元件(例如,识别元件、相互作用元件、共定位元件、可检测元件(例如,荧光团(例如,以便于BRET))、目标蛋白质、HALOTAG等)。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签或多肽组分连接或融合至cyOFP(例如,在Antares构建体诸如美国专利第9,908,918号(通过引用以其整体并入本文)中描述的那些中)或其它荧光蛋白(例如,以便于BRET)。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签或多肽组分包含一种或多种化学修饰和/或非天然氨基酸或氨基酸类似物,以促进多肽组分与附加元件的化学缀合。在一些实施方案中,本文提供了与受体荧光蛋白融合的单个肽/二肽/三肽标签或多肽组分。在一些实施方案中,两种或更多种肽/二肽/三肽和/或多肽组分融合至受体荧光蛋白(例如,夹心融合物)。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签或多肽组分融合至两种或更多种受体荧光蛋白(例如,夹心融合)。在一些实施方案中,LgTrip多肽(例如,本文所述的β_{1-8}样多肽)融合至单个荧光蛋白(例如,cyOFP)或者被置于夹心融合物中的两个荧光蛋白(例如,cyOFP的两个拷贝)之间。

[0371] 在一些实施方案中,本发明中使用的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)并入了适于与附加元件(例如,识别元件、相互作用元件等)化学缀合的反应性基团。这些反应性基团可存在于序列的N末端、C末端或序列内部。这些反应性基团可以任选地用接头附接至肽。在一些情况下,这些具有反应性基团的肽/二肽/三肽可使用标准合成法合成,并且并入具有所需基团的非天然氨基酸上。在一些情况下,反应性基团可存在于天然氨基酸(例如半胱氨酸的巯基)上。旨在与具有反应性基团的肽标签反应的附加元件可以是蛋白质、抗体、核酸、小分子诸如药物或荧光团或表面。肽/二肽/三肽标签可并入反应性基团,所述反应性基团被设计成与反应性配偶体特异性反应,所述反应性配偶体已被使用生物正交或点击化学以化学或生物学方式引入到附加元件上。示例性点击反应是铜催化的点击,其中肽标签具有炔烃或叠氮化物,并且附加元件具有互补基团。在合适的铜催化剂存在的情况下,将这两种种类混合在一起,可使肽通过三唑与附加元件共价缀合。还报道了许多其它生物正交反应(例如Patterson,D.M.等人(2014)。"Finding the Right(Bioorthogonal)Chemistry." ACS Chemical Biology 9(3):592-605.),并且并入互补反应性种类的肽标签和附加元件

是本发明的实施方案。

[0372] 本发明的另一个实施方案是具有与天然存在的氨基酸反应的反应性基团的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和/或多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))。示例性反应性基团包括用于与半胱氨酸反应的马来酰亚胺和用于与赖氨酸反应的琥珀酰亚胺酯。反应基团的更全面的列表可见于Koniev,O和A.Wagner(2015)."Developments and recent advancements in the field of endogenous amino acid selective bond forming reactions for bioconjugation." Chem Soc Rev 44:5495-5551中。这些反应性基团可通过肽合成或通过肽标签的其它化学修饰以化学或生物学方式引入到肽/二肽/三肽/多肽上。在一些实施方案中,肽标签以受保护的形式存在(Isidro-Llobet,A.等人(2009)."Amino Acid-Protecting Groups." Chemical Reviews 109(6):2455-2504;通过引用以其整体并入本文),从而防止肽/二肽/三肽/多肽本身与反应性基团反应。这些反应基团可以以选择性方式或以随机方式与蛋白质反应,产生一种缀合物或缀合物的混合物。在一些实施方案中,在本发明中可以成功使用确定的单一缀合物或混合物。

[0373] 图95-图98中显示了本文描述的具有适合于与附加元件(例如,识别元件、相互作用元件等)化学缀合的反应性基团的肽(例如,β9样肽(例如,SmTrip9)和β10样肽(例如,SmTrip10);β9/β10样二肽;等等)的实例。反应基团和肽/二肽/三肽/多肽的其它组合也在本文的范围内。

[0374] 在一些实施方案中,本文描述的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))融合或缀合至可检测元件诸如荧光团或荧光蛋白。在此类实施方案中,互补形成生物发光复合物,以及由此产生的生物发光,导致附接的可检测元件(例如,荧光团或荧光蛋白)的BRET和激发/发射。在此类实施方案中,生物发光复合物是BRET能量供体,并且附接至复合物组分(例如,肽标签或多肽组分)的可检测元件(例如,荧光团或荧光蛋白)是BRET能量受体。

[0375] 与本文所述的三部分/多部分互补系统一起用于BRET系统的合适的荧光团包括但不限于:呫吨衍生物(例如,萤光素、罗丹明、Oregon green、曙红、德克萨斯红(Texas red)等)、青色素衍生物(例如,青色素、吲哚羰花青、氧杂羰花青、硫羰花青(thiacarbocyanine)、部花青等)、萘衍生物(例如,丹磺酰基和普罗丹衍生物)、噁二唑衍生物(例如,吡啶噁唑(pyridyloxazole)、硝基苯并噁二唑、苯并噁二唑等)、芘衍生物(例如,级联蓝)、噁嗪衍生物(例如,Nile red、Nile blue、甲酚紫、噁嗪170等)、吖啶衍生物(例如,原黄素(proflavin)、吖啶橙、吖啶黄等)、芳基次甲基衍生物(例如,金胺、结晶紫、孔雀石绿等)、四吡咯衍生物(例如,卟吩、酞菁、胆红素等)、CF染料(Biotium)、BODIPY(Invitrogen)、ALEXA FLOUR(Invitrogen)、DYLIGHT FLUOR(Thermo Scientific,Pierce)、ATTO和TRACY(Sigma Aldrich)、FluoProbes(Interchim)、DY和MEGASTOKES(Dyomics)、SULFO CY染料(CYANDYE,LLC)、SETAU和SQUARE染料(SETA BioMedicals)、QUASAR和CAL FLUOR染料(Biosearch Technologies)、SURELIGHT染料(APC、RPE、PerCP、藻胆体)(Columbia Biosciences)、APC、APCXL、RPE、BPE(Phyco-Biotech)、自发荧光蛋白(例如,YFP、RFP、

mCherry、mKate)、量子点纳米晶体等。在一些实施方案中,荧光团是罗丹明类似物(例如,羧基罗丹明类似物),诸如第13/682,589号美国专利申请序列(通过引用以其整体并入本文)中描述的那些。

[0376] 在其它实施方案中,本文描述的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))融合或缀合至可检测元件诸如荧光团或荧光蛋白(例如,绿色荧光蛋白、增强型GFP(EGFP)、青色荧光蛋白(CFP)、黄色荧光蛋白(YFP)及其变体。在其它实施方案中,本文所述的肽标签或多肽组分融合或缀合至青色可激发的橙红色荧光蛋白(CyOFP),诸如美国专利第9,908,918号(通过引用以其整体并入本文)中所述的那些。在一些实施方案中,在美国专利第9,908,918号中描述的CyOFP和BRET系统可与本文所述的肽标签和/或多肽组分(例如,CyOFP-(β_9样肽)、CyOFP-(β_{10}样肽)、CyOFP-(β_{1-8}样多肽)、CyOFP-(β_{9-10}样肽)、CyOFP-(β_9样肽)-CyOFP、CyOFP-(β_{10}样肽)-CyOFP、CyOFP-(β_{1-8}样多肽)-CyOFP、CyOFP-(β_{9-10}样肽)-CyOFP,等等)一起使用。在一些实施方案中,此类包含与本文的肽/二肽/三肽标签和/或多肽组分连接的CyOFP的系统在本文中可被称为“Antares构建体”或“Antares系统”。此类BRET系统在某些成像应用中特别有用(Schaub,F.X.等人(2015)"Fluorophore-NanoLuc BRET Reporters Enable Sensitive In Vivo Optical Imaging and Flow Cytometry for Monitoring Tumorigenesis."Cancer Research 75(23):5023-5033;通过引用以其整体并入本文)。

[0377] 在其它实施方案中,本文描述的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))连接至荧光团(例如,直接地或通过接头)以用于组成型BRET系统(例如,Antares样系统)。在组成型BRET系统中,发射光谱从生物发光光谱向荧光团的光谱移动(例如,为了更好的灵敏度、更低的散射、期望的发射波长等)。在其它实施方案中,本文所述的肽/二肽/三肽标签和/或多肽组分用作功能性传感器(例如,用于监测细胞/细胞内/细胞间过程(例如,用于检测钙通量或电压)(Suzuki,K.等人(2016)."Five colour variants of bright luminescent protein for real-time multicolour bioimaging."Nature Communications 7:13718.;Inagaki,S.等人(2017)."Genetically encoded bioluminescent voltage indicator for multi-purpose use in wide range of bioimaging."Sci Rep 7:42398;通过引用以其整体并入本文)),用于成像,用于光遗传学,等等)。

[0378] 在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))中的两种或更多种附接至可进入多个构象的单个相互作用元件。在一种构象中,肽/二肽/三肽标签和多肽不能形成发光复合物。在改变构象时,即响应于刺激,肽/二肽/三肽标签被带入一种构象,在该构象中它们可以形成生物发光复合物。例如,SmTrip9肽和SmTrip10肽可以缀合至钙调蛋白,使得它们即使在LgTrip和furimazine存在的情况下也不会形成发光复合物。当暴露于钙时,钙调蛋白的构象变化将SmTrip9肽和SmTrip10肽带入一个位置,由此在furimazine存在的情况下添加LgTrip可使复合物生物发光。许多其它用于钙和其它刺激(pH、电压等)的生物传

感器在文献中是已知的。

[0379] 在一些实施方案中，本文的系统可用于多重分析物检测。在一些实施方案中，本发明中使用的肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)缀合至相互作用元件和报告元件两者。在一些实施方案中，相互作用元件是抗体等，并且报告元件是小分子荧光团。在一些实施方案中，将针对不同病原体(例如，寨卡病毒、登革热病毒等)的抗体缀合至肽/二肽/三肽标签(例如，SmTrip9肽)和具有不同且可区分的波长的荧光团。在该实施方案中，在抗体与其抗原结合时形成的发光复合物由于生物发光共振能量转移而以结合的荧光团的发射波长发射光。这允许抗体全部存在于同一孔、装置等中，并且通过所形成的发光复合物发出的光的颜色来确定所检测抗原的身份。

[0380] 在一些实施方案中，本发明的实施方案中使用的多肽组分(例如β1-8样多肽(例如，LgTrip))包括具有自SEQ ID NO:5和/或SEQ ID NO:8的一个或多个氨基酸取代、缺失或添加的多肽。在一些实施方案中，多肽组分包含至少40％(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％、>98％、>99％)的与SEQ ID NO:11的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，多肽组分相对于SEQ ID NO:11包含100个或更少(例如，100个、90个、80个、70个、60个、50个、40个、30个、25个、20个、15个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个、1个或其间的范围)的取代(例如，保守取代、半保守取代、非保守取代等)。在一些实施方案中，多肽组分包含至少40％(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％、>98％、>99％)的与SEQ ID NO:17的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，多肽组分相对于SEQ ID No:17包含100个或更少(例如，100个、90个、80个、70个、60个、50个、40个、30个、25个、20个、15个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个、1个或其间的范围)的取代(例如，保守取代、半保守取代、非保守取代等)。在一些实施方案中，多肽组分包含至少40％(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％、>98％、>99％)的与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21和/或SEQ ID NO:302的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，多肽组分相对于SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21和/或SEQ ID NO:302包含100个或更少(例如，100个、90个、80个、70个、60个、50个、40个、30个、25个、20个、15个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个、1个或其间的范围)的取代(例如，保守取代、半保守取代、非保守取代等)。在一些实施方案中，多肽组分包含至少40％(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％、>98％、>99％)的与SEQ ID NO:788的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，多肽组分相对于SEQ ID NO:788包含100个或更少(例如，100个、90个、80个、70个、60个、50个、40个、30个、25个、20个、15个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个、1个或其间的范围)的取代(例如，保守取代、半保守取代、非保守取代等)。在一些实施方案中，多肽组分包含至少40％(例如，>40％、>45％、>50％、>55％、>60％、>65％、>70％、>75％、>80％、>85％、>90％、>95％、>98％、>99％)的与SEQ ID NO:789的序列同一性或相似性。在一些实施方案中，多肽组分相对于SEQ ID NO:789包含100个或更少(例如，100个、90个、80个、70个、60个、50个、40个、30个、25个、20个、15个、10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个、1个或其间的范围)的取代(例如，保守取代、半保守取代、非保守取代等)。

[0381] 在一些实施方案中，多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))连接(例如，通过化学方式)或融合至一个或多个附加元件(例如，识别元件、相互作用元件、共定位元件、可检测元件(例如，荧光团(例如，以促进BRET))、目标蛋白质、HALOTAG等)。在一些实施方案中，多肽组分连接或融合至cyOFP(例如，在Antares构建体，诸如美国专利第9,908,918中描述的那些中；通过引用以其整体并入本文)或其它荧光蛋白(例如，以便于BRET)。在一些实施方案中，多肽组分包含一种或多种化学修饰和/或非天然氨基酸或氨基酸类似物，以促进多肽组分与附加元件的化学缀合。

[0382] 在一些实施方案中，肽标签(例如，β9样肽(例如，SmTrip9)和β10样肽(例如，SmTrip10)；β9/β10样二肽；等等)和/或肽组分与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:302(或其任意组合)中的一个或多个(例如，全部)不同并且/或者不是其精确的子序列。在其它实施方案中，肽标签和/或肽组分与SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:27和/或SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:51、SEQ ID NO:302(或其任意组合)中的一个或多个(例如，全部)相同并且/或者为其精确的子序列。

[0383] 在一些实施方案中，多肽组分(例如，β1-8样多肽(例如，LgTrip))对应于SEQ ID NO:3的一部分并包含与所述部分的基本序列同一性(例如，>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>99%、100%)。例如，在一些实施方案中，多肽组分对应于SEQ ID NO:3的位置1、位置2、位置3、位置4、位置5、位置6、位置7、位置8、位置9、位置10、位置11或12至位置142、位置143、位置144、位置145、位置146、位置147、位置148、位置149、位置150、位置152、位置153(例如，位置1-148)并包含与所述位置的基本序列同一性(例如，>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>99%、100%)。

[0384] 在一些实施方案中，肽标签(β10样肽(例如，SmTrip10))对应于SEQ ID NO:3的一部分并包含与所述部分的基本序列同一性(例如，>40%、>50%、>60%、>70%、>80%、>90%、100%)。例如，在一些实施方案中，肽标签对应于SEQ ID NO:3的位置154、位置155、位置156、位置157、位置158、位置159、位置160、位置161、位置162、位置163、位置163或位置164至166、位置167、位置168、位置169、位置170或位置171(例如，位置160-171)并包含与所述位置的基本序列同一性(例如，>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>99%、100%)。

[0385] 在一些实施方案中，肽标签(β9样肽(例如，SmTrip9))对应于SEQ ID NO:3的一部分并包含与所述部分的基本序列同一性(例如，>40%、>50%、>60%、>70%、>80%、>90%、100%)。例如，在一些实施方案中，肽标签对应于SEQ ID NO:3的位置142、位置143、位置144、位置145、位置146、位置147、位置148、位置149、位置150、位置152、位置153至位置154、位置155、位置156、位置157、位置158、位置159、位置160、位置161、位置162、位置163、位置163或位置164并包含与所述位置的基本序列同一性(例如，>40%、>45%、>50%、>55%、>60%、>65%、>70%、>75%、>80%、>85%、>90%、>95%、>99%、100%)。

[0386] 在一些实施方案中，多肽组分例如，β1-8样多肽(例如，LgTrip))、第一肽标签(β9

样肽(例如,SmTrip9))和第二肽标签(β10样肽(例如,SmTrip10))一起对应于SEQ ID NO:3的长度的至少90%,并包含与所述SEQ ID NO:3的长度的至少90%的基本序列同一性(例如,>40%、>50%、>60%、>70%、>80%、>90%、100%)。

[0387] 在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))相对于SEQ ID NO:1和/或SEQ ID NO:3.包含一个或多个取代。例如,在一些实施方案中,多肽组分包含40%或更高(例如,40%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、99%)的与SEQ ID NO:3或其一部分(例如,SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:17等)的序列同一性,但相对于SEQ ID NO:17在位置4、位置30、位置42和/或位置106中的一个或多个位置处包含取代。在一些实施方案中,多肽组分相对于SEQ ID NO:17包含E4D取代。在一些实施方案中,多肽组分相对于SEQ ID NO:17在位置30处包含A、D、E、G、K、L、M、N、Q、S、T、V或Y。在一些实施方案中,多肽组分相对于SEQ ID NO:17在位置42处包A含A、C、F、G、I、L、M、S、T或V。在一些实施方案中,多肽组分相对于SEQ ID NO:17在位置106处包含D、K或Q。

[0388] 在一些实施方案中,多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))是人工序列,其包含70%或更高(例如,75%、80%、85%、90%、95%、100%或其间的范围)的与SEQ ID NO:19、21、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129和131中的一个或多个(或其rβ1-5样部分、β1-6样部分或β1-7样部分)的序列同一性和/或序列相似性。在一些实施方案中,多肽组分是人工序列,其包含SEQ ID NO:19、21、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129和131之一(或其rβ1-5样部分、β1-6样部分或β1-7样部分)的全部或一部分(例如,50个氨基酸、60个氨基酸、70个氨基酸、80个氨基酸、90个氨基酸、100个氨基酸、110个氨基酸、120个氨基酸、130个氨基酸、140个或更多个,或其间的范围)。在一些实施方案中,多肽组分是由SEQ ID NO:19、21、39、41、43、45、47、49、51、53、55、57、59、61、63、65、67、69、71、73、75、77、79、81、83、85、87、89、91、93、95、97、99、101、103、105、107、109、111、113、115、117、119、121、123、125、127、129和131之一(或其rβ1-5样部分、β1-6部分或β1-7样部分)组成的序列。

[0389] 在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签((例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)是人工序列或其二肽/三肽组合,所述人工序列包含70%或更高(例如,75%、80%、85%、90%、95%、100%或其间的范围)的与表1、表9、表10中所列的肽序列中的一个或多个的同一性和/或序列相似性。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签组分是人工序列或其二肽/三肽组合,所述人工序列包含表1、表9、表10中所列的肽序列之一的全部或一部分(例如,5个氨基酸、6个氨基酸、7个氨基酸、8个氨基酸、9个氨基酸、10个氨基酸、11个氨基酸、12个氨基酸、13个氨基酸、14个或更多,或其间的范围)。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签组分是由表1、表9、表10中所列的肽序列之一组成的序列或其二肽/三肽组合。

[0390] 尽管在本文中被称为肽/二肽/三肽,例如β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,

SmTrip9)和/或β10样(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽,但在一些实施方案中,在本文范围内的生物发光复合物的肽/二肽/三肽组分中的一者或多者不附接于相互作用元件、共定位元件、结合剂、目标蛋白质、目标分子或任何其它部分。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽组分中的一者或两者与多肽和其它肽/二肽/三肽组分相互作用以形成发光复合物,而不与另一种元件融合或以其它方式与其系连。

[0391] 在一些实施方案中,发光复合物、共定位元件和/或相互作用元件的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))包括合成的肽/多肽、含有一种或多种非天然氨基酸的肽/多肽、含有一种或多种氨基酸类似物的肽/多肽、肽/多肽模拟物、缀合的合成肽(例如,缀合至官能团(例如,荧光团、发光底物等)),等等。

[0392] 本文提供了可用于包括基础研究、医学研究、分子诊断等在内的多种领域的组合物和方法。尽管本文所述的试剂和测定不限于任何特定的应用,并且任何有用的应用都应被视为在本发明的范围内,但以下是利用了当前要求保护的发明的示例性测定、试剂盒、领域、实验设置等。

[0393] 利用本文实施方案的典型应用包括监测/检测蛋白质二聚化(例如,异二聚体、同二聚体)、蛋白质-蛋白质相互作用、蛋白质-RNA相互作用、蛋白质-DNA相互作用、与靶标结合的抗体(或其它识别元件)、核酸杂交、蛋白质-小分子相互作用、分析物定量或检测、或者分子实体的任何其它组合。在示例性实施方案中,第一目标实体附接至第一肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽),并且第二目标实体附接至第二肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)。如果在特定的测定条件下(例如,在发光复合物的多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))和腔肠素或腔肠素类似物底物存在的情况下)产生可检测的信号,则推断第一实体和第二实体的相互作用和/或共定位。此类测定可用于在任何合适的条件下(例如,体外、体内、原位、整个动物等)监测分子相互作用和/或定位,并可用于例如药物发现、阐明分子途径、研究复合物组装的平衡或动力学方面、高通量筛选、接近传感器(proximity sensor)等。

[0394] 在一些实施方案中,本文提供的系统和方法可用于一种或多种分析物、分析物的共定位和/或分析物的分子相互作用的检测、定量、分析、表征等。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)系连/融合至分析物。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签系连/融合至与靶分析物结合的识别元件剂。

[0395] 本文中的实施方案中使用(例如,被分析)的合适的分析物包括但不限于:核酸(例如,DNA、RNA、miRNA等)、蛋白质(例如:细菌抗原、病毒抗原、生物标志物、抗体等)、小分子、毒素、生物标志物、环境或食物污染物、表面活性剂、病原体(例如,病毒抗原和蛋白质、细菌抗原和蛋白质等)、药物(例如,治疗药物、滥用药物等)、维生素、细胞因子、抗体(例如,自身抗体、传染病暴露、治疗药物监测、抗HLA移植排斥反应等)、细胞、细胞受体蛋白、基于生物标志物的诊断剂、无细胞核酸和非细胞游离核酸(例如,DNA、RNA、mRNA、miRNA等)、核酸SNP、

提取的核酸、非扩增的核酸样品、基因组DNA、ssDNA、细菌抗性基因、免疫复合物(例如,抗原:抗体复合物;抗原:补体复合物等)、血糖、激素、代谢产物、微生物、寄生虫、酶、转录因子、金属离子/重金属等。

[0396] 本文中的实施方案中使用(例如,与肽标签融合/系连,与分析物结合等)的合适的识别元件或结合部分,包括但不限于:抗体(例如,单克隆抗体、多克隆抗体、重组抗体、动物来源的抗体、自身抗体、生物治疗剂等)、抗体可变重链,抗体可变轻链,抗体结合片段(Fab)[F(ab)'2],骆驼科动物抗体、单链可变片段(scFv)、单体蛋白、受体结构域、亲合体(affibody)、单体(monobody)、天然和衍生的核酸适体(例如,RNA适体、DNA适体、化学修饰的适体等)、肽核酸(PNA)、锁核酸(LNA)、己糖醇核酸(HNA)、蛋白A、蛋白G、蛋白L、蛋白M和/或其结构域、序列特异性寡核苷酸探针(例如,DNA探针、RNA探针等)、小分子药物、抗体-寡核苷酸缀合物、锚蛋白重复蛋白(darpin)、纳米抗体、affimer、adhiron、anticalin、噬菌体、磁性颗粒(例如,直接标记的或用加标签的识别元件标记的)、直接标记的或用加标签的识别元件、链霉抗生物素蛋白、抗原等标记的纳米颗粒(例如,聚苯乙烯纳米球等)。

[0397] 在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))连接至寡核苷酸识别元件或结合部分。此类构建体可用于核酸(如DNA、RNA等)互补和/或检测。示例性肽/寡聚体探针是如图99所描绘的。在此类示例性构建体中,包含反应性基团(例如,叠氮基(例如,N末端、C末端、内部等)或本文中的其它反应性基团)的肽/二肽/三肽缀合至寡核苷酸,所述寡核苷酸包含互补反应性基团(例如,炔烃基团(例如,5'-末端、3'-末端、内部等)或本文中的其它反应性基团)。在示例性实施方案中,肽寡核苷酸探针通过以下方式制备:将组分和试剂(例如,寡核苷酸(1mg,161nmol,于水中)、乙酸三乙基铵缓冲液(40uL,1M,于水中)、氨基胍盐酸盐(8uL,50mM,于水中)、肽(2.8mg,1.93umol,于DMSO中)、铜(II)TBTA溶液(10mM,于1:1的水/DMSO中)、抗坏血酸溶液(50mM,于水中),终体积为300uL,1:1水:DMSO)组合;涡旋并在60℃下加热30分钟;使用Illustra NAP-5柱进行过滤;将缓冲液换成不含RNA酶和DNA酶的TE缓冲液;以及在-20℃下储存。在监测/检测分子相互作用的实施方案中,选择彼此具有亲和力的肽/二肽/三肽标签和多肽组分,使得在相关联的第一实体与第二实体相互作用(例如,结合)时,信号的显著增强是可检测/可测量的。在一些实施方案中,一种或两种(或更多种)肽/二肽/三肽标签对另一种肽标签和/或多肽组分具有足够低的亲和力,使得在相关联的第一实体与第二实体之间不存在相互作用(例如结合)的情况下仅检测到背景发光。在其它实施方案中,肽/二肽/三肽标签和多肽组分将形成复合物,并在相关联的第一实体与第二实体之间不存在相互作用的情况下产生信号,但所述信号在所述关联的第一实体与第二实体相互作用(例如,结合)时增加(例如,2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、10^2倍、10^3倍、10^4倍、10^5倍、10^6倍或更多倍或其间的范围)。

[0398] 在其中监测/检测共定位的实施方案中,选择彼此具有亲和力的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip)),使得来自发光复合物的信号即使在相关联的第一实体与第二实体不存在相互作用(例如,结合)的情况下也是可检测/可测量的。在此类实施方案中,如果相关联的

第一实体和第二实体共同定位(例如,在同一组织中,在同一细胞中,在同一亚细胞区室中,等等),则肽/二肽/三肽标签和多肽组分将形成复合物并发射信号(在腔肠素或腔肠素类似物存在的情况下),无论第一实体和第二实体是否相互作用。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签中的两种或更多种(例如,两种,全部)对另外的组分具有足够高的亲和力,使得在相关联的第一实体与第二实体之间不存在相互作用(例如,结合)的情况下检测到发光。在一些实施方案中,在第一实体与第二实体相互作用时,未检测到信号的显著增强。在其它实施方案中,肽/二肽/三肽标签和多肽组分将形成复合物,并在相关联的第一实体与第二实体之间不存在相互作用的情况下产生信号,但所述信号在所述相关联的第一实体与第二实体相互作用(例如,结合)时增加(例如,2倍、3倍、4倍、5倍、6倍、7倍、8倍、9倍、10倍、10^2倍、10^3倍、10^4倍、10^5倍、10^6倍或更多倍或其间的范围)。

[0399] 在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和具有已知特征(例如,光谱特性、相互亲和力等)的多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))用于阐明目标相互作用对的亲和力或理解目标相互作用对的相互作用。在其它实施方案中,使用良好表征的相互作用对来确定一组肽/二肽/三肽标签和多肽组分的一种或多种元件的特征(例如,光谱特征、相互亲和力等)。在一些实施方案中,具有已知的特征(例如,光谱特征、相互亲和力等)的肽/二肽/三肽标签和多肽组分用于表征/监测目标共定位对的共定位(例如,在期望的条件下)。

[0400] 本文所述的实施方案可用于药物筛选和/或药物开发。例如,在一种或多种相关条件(例如,生理条件、疾病条件等)下,监测小分子药物或整个小分子文库与目标靶蛋白(例如,治疗靶标)的相互作用。这种测定可包括附接至药物候选物(或候选物库)的第一肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如SmTrip9)和/或β10样肽(例如SmTrip10)和/或其二肽和三肽)和附接至治疗靶标的第二肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽);在多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))和底物存在时的发光表明候选物与靶标的相互作用和/或共定位。

[0401] 本文的一些实施方案在诊断或犯罪场景(criminal setting)中用于监测药物(例如,人中滥用的药物)以及用于在生物样品中进行患者的治疗药物监测。例如,两个识别药物分析物的加有肽/二肽/三肽标签的结合部分(例如,单独用肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样(例如,SmTrip9),和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)加标签的结合部分)促进了此类实施方案。在一些实施方案中,在本文所述的系统中利用加有肽/二肽/三肽标签的靶标来鉴定样品中未加标签的靶标的竞争性置换测定用于本文的实施方案。一些实施方案可用于检测环境污染,例如被特定药物或其它特定污染物(例如,小分子污染物)污染的土壤样品、供水等。

[0402] 在其它实施方案中,测定(例如,通过生物发光信号的增益或损失)药物(例如,小分子药物)或整个药物(例如,小分子)库增强或抑制两个实体(例如,受体和配体、蛋白质-蛋白质等)之间的相互作用的能力。在一些实施方案中,药物筛选应用以高通量形式进行,以允许检测数千或数万个不同分子与靶标的结合,或者测试这些分子对其它实体的结合的影响。

[0403] 在一些实施方案中，本文提供了在活生物体(例如，细菌、酵母、真核生物、哺乳动物、灵长类动物、人等)和/或细胞中检测分子相互作用。在一些实施方案中，融合至相互作用(靶标)多肽的pep肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)在细胞或整个生物体中共表达，并且在多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))和底物(例如，腔肠素或腔肠素类似物)存在的情况下检测到信号，其中信号与相互作用复合物的形成相关。在一些实施方案中，用一种或多种编码包含肽标签和相互作用元件的融合物的载体瞬时和/或稳定地转化或转染细胞。在一些实施方案中，CRISPR用于产生表达包含肽/二肽/三肽标签和相互作用元件的融合物的细胞。在一些实施方案中，由CRISPR产生的融合物(例如，细胞靶标与本文所述的肽/二肽/三肽或多肽的)替代内源蛋白质(例如，非融合细胞靶标)，并以与内源蛋白质相似的方式受到调节。在一些实施方案中，这种内源加标签用于监测内源加标签的蛋白质的水平，特别是在复杂的系统诸如活细胞、完整生物体等中。在一些实施方案中，产生了转基因生物，其编码进行本文所述的测定所必需的融合物(例如，包含肽标签和相互作用元件的融合物)。在其它实施方案中，载体被注射到整个生物体中。

[0404] 在一些实施方案中，本文提供了在活生物体(例如，细菌、酵母、真核生物、哺乳动物、灵长类动物、人等)和/或细胞中的分子共定位的检测。在一些实施方案中，融合至共定位(靶标)多肽的肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)在细胞或整个生物体中共表达，并且在多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))和底物(例如，腔肠素或腔肠素类似物)存在的情况下检测信号，其中信号与共定位元件的共定位相关。在一些实施方案中，用一种或多种编码包含肽标签和共定位元件的融合物的载体瞬时和/或稳定地转化或转染细胞。在一些实施方案中，CRISPR用于产生表达包含肽标签和共定位元件的融合物的细胞。在一些实施方案中，产生转基因生物，其编码进行本文所述测定所必需的融合物(例如，包含肽标签和共定位元件的融合物)。在其它实施方案中，载体被注射到整个生物体中。

[0405] 在某些实施方案中，使用基因转移技术或其它工程技术对细胞进行工程改造，以表达一种或多种肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)、多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8多样(例如，LgTrip))或其融合物(例如，与细胞靶标的)。例如，可使用基因编辑方法诸如CRISPR(规律间隔成簇短回文重复序列)对细胞进行基因工程改造，以表达一种或多种肽/二肽/三肽标签、多肽组分或其融合物(例如，与细胞靶标的)。如本文中所用，术语“CRISPR”或“CRISPR-Cas9”是指各种CRISPR-Cas9和-CPF1(和其它)系统，所述系统可被编程以靶向基因组的特定区段并在精确的位置编辑DNA。CRISPR-Cas9基因编辑系统基于来自II型原核生物的规律间隔成簇短回文重复序列(CRISPR)适应性免疫系统的RNA引导的Cas9核酸酶(参见，例如，Jinek等人，Science，337:816(2012)；Gasiunas等人，Proc.Natl.Acad.Set U.S.A.，109，E2579(2012)；Garneau等人，Nature，468:67(2010)；Deveau等人，Annu.Rev.Microbiol，64:475(2010)；Horvath和Barrangou，Science，327:167(2010)；Makarova等人，Nat.Rev.Microbiol.，9，467(2011)；Bhaya等人，Annu.Rev.Genet.，

45,273(201 1)以及Cong等人,Science,339:819-823(2013);通过引用以其整体并入本文)。CRISPR基因编辑系统已经被开发出来,使得能够对真核细胞中特定目标基因进行靶向修饰(参见,例如,Cong等人,同上;Xiao-Jie等人,J.Med.Genet.,52(5):289-96(2015);美国专利8,697,359;Xie等人,Genome Res.,24(9):1526-1533(2014);Huang等人,Stem Cells,33(5):1470-1479(2015);Smith等人,Molecular Therapy,23(3):570-577(2015);和美国专利申请公布2014/0068797;通过引用以其整体并入本文)。利用CRISPR技术进行基因编辑的方法描述于例如Barrangou等人,Science 315,1709-1712(2007);Bolotin等人,Microbiology,151,2551-2561(2005);Brouns等人,Science 321,960-964(2008);Cong等人,同上;Deltcheva等人,Nature 471,602-607(2011);Gasiunas等人,同上;Hale等人,Cell 139,945-956(2009);Jinek等人,Science 337,816-821(2012);Makarova等人,Biology Direct 2006,1:7(2006);Mali等人,Science 339,823-826(2013);Marraffini等人,Science 322,1843-1845(2008);Mojica等人,J Mol Evol 60,174-182(2005);Pourcel等人,Microbiology 151,653-663(2005);和Sapranauskas等人,Nucl.Acids Res.39,gkr606-gkr9282(2011)中,所述文献通过引用以其整体并入本文。

[0406] 在一些实施方案中,一种或多种肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)被用作蛋白质标签(例如,在细胞内、在整个动物内)。在此类实施方案中,一种或多种肽/二肽/三肽标签的互补组分(例如,多肽成分、另一肽/二肽/三肽标签、底物)被应用于系统(例如,细胞、动物等)(例如,作为试剂的一部分)来检测/定量加标签的蛋白的存在。

[0407] 在一些实施方案中,本文的肽标签(例如,β9样肽(例如,SmTrip9)和β10样肽(例如,SmTrip10))的小尺寸对于蛋白质加标签是有用的。

[0408] 在一些实施方案中,本文的生物发光复合物的组分(例如,本文的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)、多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))足够稳定,以在合适的缓冲液中长时间存在(例如,在腔肠素或腔肠素类似物(例如,furimazine)底物存在的情况下)。在某些实施方案中,本文的生物发光复合物的组分(例如,肽/二肽/三肽标签、多肽组分等)在互补组分不存在的情况下(例如,甚至在腔肠素或腔肠素类似物(例如,furimazine)底物存在的情况下)表现出最小的可检测发光。在一些实施方案中,利用优化的缓冲液条件来满足蛋白质加标签所必需的标准。

[0409] 本文提供的组合物和方法以及基于此的任何一种或多种技术可用于多种应用和领域。

[0410] 本文提供了用于设计和/或优化肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))以及由其形成的生物发光复合物的方法。与本文描述的实施方案和/或其小组一致的用于设计非发光对/组的任何合适的方法都在本文的范围内。在一些实施方案中,肽/二肽/三肽标签和多肽组分及其组合的特征通过取代(例如,天然氨基酸、非天然氨基酸、氨基酸类似物等的取代)来优化;此类特征包括但不限于结构稳定性(例如,肽/二肽/三肽标签或多肽组分的、复合物等的)、表达、粘性(例如,对管、孔等的)、亮度(或由其形成的复合物)、对生物发光复合物的

其它组分的亲和力、溶解度、热和化学稳定性、低自发光等。

[0411] 在某些实施方案中，肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))被从头设计成单独不发光，但在缔合时显示发光。在此类实施方案中，非发光元件之间的相互作用强度不足以在促进生物发光复合物形成的相互作用元件不存在的情况下产生生物发光信号。在其它实施方案中，例如，使用生物发光蛋白作为起点，合理地设计肽/二肽/三肽标签和多肽组分和/或其生物发光复合物。例如，此类方法可包括：(a)比对三种或更多种相关蛋白质的序列；(b)确定相关蛋白质的共有序列；(c)提供生物发光蛋白的片段(例如，一种或多种肽/二肽/三肽和多肽)，所述生物发光蛋白与从其确定共有序列的蛋白相关，其中所述片段单独基本上不发光，但在片段相互作用时显示发光；以及(d)测试片段在未缔合时的发光缺失和非发光对缔合时的发光。在一些实施方案中，在一个或多个位置(例如，在体外、在计算机中，等等)对片段进行突变，其中所述突变改变片段的序列并导致特征的优化。

[0412] 在一些实施方案中，肽/二肽/三肽标签为‘暗肽’或与另外的肽标签和多肽组分(例如，以低亲和力或高亲和力)形成复合物，但产生最少的发光或不发光的肽标签。在一些实施方案中，高亲和力暗肽/二肽/三肽可用于生物传感器或测量抑制剂的反向互补或信号增益测定。在一些实施方案中，低亲和力暗肽/二肽/三肽用于减弱复合物的背景发光，以检测高亲和力亮肽/二肽/三肽标签与复合物的结合。

[0413] 在一些实施方案中，肽/二肽/三肽标签是“淬灭剂肽”，或包含淬灭剂部分(例如，DAB)的肽，并且淬灭剂吸收由多肽组分(例如，独立于互补肽/二肽/三肽标签产生的信号)和/或生物发光复合物中的任一者或两者产生的光/能量。

[0414] 在一些实施方案中，本文的发光复合物可用于利用复合物与荧光团(例如，小分子荧光团、荧光蛋白(例如，cyOFP))之间的BRET的系统、方法、测定、装置等。在一些实施方案中，荧光团(例如，小分子荧光团、荧光蛋白(例如，cyOFP))连接或融合至分析物、细胞靶标等。在一些实施方案中，荧光团(例如，小分子荧光团、荧光蛋白(例如，cyOFP))连接或融合至肽/二肽/三肽标签和/或多肽组分。在一些实施方案中，能量从生物发光复合物转移到能量受体。在某些实施方案中，能量受体是荧光团或其它可检测的发色团。合适的荧光团包括但不限于：呫吨衍生物(例如，萤光素、罗丹明、Oregon green、曙红、Texas red等)、青色素衍生物(例如，青色素、吲哚羰花青、氧杂羰花青、硫羰花青(thiacarbocyanine)、部花青等)、萘衍生物(例如，丹磺酰基和普罗丹衍生物)、噁二唑衍生物(例如，吡啶噁唑(pyridyloxazole)、硝基苯并噁二唑、苯并噁二唑等)、芘衍生物(例如，级联蓝)、噁嗪衍生物(例如，Nile red、Nile blue、甲酚紫、噁嗪170等)、吖啶衍生物(例如，原黄素(proflavin)、吖啶橙、吖啶黄等)、芳基次甲基衍生物(例如，金胺、结晶紫、孔雀石绿等)、四吡咯衍生物(例如，卟吩、酞菁、胆红素等)、CF染料(Biotium)、BODIPY(Invitrogen)、ALEXA FLOUR(Invitrogen)、DYLIGHT FLUOR(Thermo Scientific,Pierce)、ATTO和TRACY(Sigma Aldrich)、FluoProbes(Interchim)、DY和MEGASTOKES(Dyomics)、SULFO CY染料(CYANDYE,LLC)、SETAU和SQUARE染料(SETA BioMedicals)、QUASAR和CAL FLUOR染料(Biosearch Technologies)、SURELIGHT染料(APC、RPE、PerCP、藻胆体)(Columbia Biosciences)、APC、APCXL、RPE、BPE(Phyco-Biotech)、自发荧光蛋白(例如，YFP、RFP、mCherry、mKate)、量子点

纳米晶体等。在一些实施方案中，荧光团是罗丹明类似物(例如，羧基罗丹明类似物)，诸如第13/682,589号美国专利申请序列(通过引用以其整体并入本文)中描述的那些。在一些实施方案中，荧光团是小分子荧光团；本文列举荧光团的实施方案可以理解为或限于小分子荧光团。在一些实施方案中，荧光团是荧光蛋白(例如，cyOFP、GFP、CFP等；本文列举荧光团的实施方案可以理解为或限于荧光蛋白(例如，cyOFP、GFP、CFP等)。

[0415] 在各种实施方案中，本文所述的生物发光复合物及其组分可用于各种不同的免疫测定概念。例如，在一些实施方案中，肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)系连/融合至一抗或二抗，以提供检测特定分析物的方法。作为另一个实例，肽标签系连/融合至抗体结合蛋白(例如，蛋白A或蛋白G)，并用于检测与特定分析物(例如，其中分析物与互补肽标签结合)结合的特定抗体。作为另一个实例，肽/二肽/三肽标签系连/融合至链霉抗生物素蛋白，并用于检测结合至特定分析物(例如，其中分析物结合至互补肽标签)的特定生物素化抗体。作为又一个实例，肽/二肽/三肽标签系连/融合至一抗和二抗，其中一抗识别特定的分析物，二抗识别一抗。作为又一个实例，肽/二肽/三肽标签系连/融合至分析物，并用于竞争性夹心ELISA形式。肽/二肽/三肽标签系连/融合至分析物，也可用于检测能够结合分析物的抗体。

[0416] 本文的各种实施方案用于通过免疫测定进行的小分子检测。示例性实施方案包括使用用本文所述的第一肽/二肽/三肽标签直接标记的小分子(例如，与目标小分子相同或相似)，以及与本文所述的肽/二肽/三肽融合或连接的目标小分子的结合部分。在多肽组分和底物(例如，腔肠素或腔肠素类似物)存在的情况下，系统产生生物发光信号。当系统暴露于样品(例如，生物样品、环境样品等)时，如果小分子靶标存在于样品中，则生物发光信号将减弱(标记的小分子将从复合物中竞争出来，从而在一些情况下，允许对小分子靶标定量)。此类测定的替代配置也在本文的范围内。在一些实施方案中，目标小分子是毒素(例如，真菌毒素等)、代谢产物(例如，氨基酸、葡萄糖分子、脂肪酸、核苷酸、胆固醇、类固醇等)、维生素(例如，维生素A、维生素B1、维生素B2、维生素B3、维生素B5、维生素B7、维生素B9、维生素B12、维生素C、维生素D、维生素E、维生素H或维生素K等)、辅酶或辅因子(例如，辅酶A、辅酶B、辅酶M、辅酶Q、胞苷三磷酸、乙酰辅酶A、还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)、烟酰胺腺嘌呤(NAD+)、核苷酸腺苷单磷酸、核苷酸腺苷三磷酸、谷胱甘肽、血红素、硫辛酰胺、钼蝶呤(molybdopterin)、3′-磷酸腺苷-5′-磷磺酸盐、吡咯喹啉醌、四氢生物蝶呤等)、生物标志物或抗原(例如，促红细胞生成素(EPO)、铁蛋白、叶酸、血红蛋白、碱性磷酸酶、转铁蛋白、载脂蛋白E、CK、CKMB、甲状旁腺激素、胰岛素、胆固醇酯转移蛋白(CETP)、细胞因子、细胞色素c、载脂蛋白AI、载脂蛋白AII、载脂蛋白BI、载脂蛋白B-100、载脂蛋白B48、载脂蛋白CII、载脂蛋白CIII、载脂蛋白E、甘油三酯、HD胆固醇、LDL胆固醇、卵磷脂胆固醇酰基转移酶、对乙酰氧酶(paraxonase)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸转移酶(AST)、CEA、HER-2、膀胱肿瘤抗原、甲状腺球蛋白、甲胎蛋白、PSA、CA 125、CA 19.9、CA 15.3、瘦素、催乳素、骨桥蛋白、CD 98、fascin、肌钙蛋白I、CD20、HER2、CD33、EGFR、VEGFA等)、药物(大麻素(例如，四氢大麻酚(THC)、大麻二酚(CBD)和大麻酚(CBN)等)、阿片样物质(例如，海洛因、鸦片、芬太尼等)、兴奋剂(例如，可卡因，苯丙胺、甲基苯丙胺等)、娱乐用药(club drug)(例如MDMA，氟硝西泮、γ-羟基丁酸酯等)、解离药物(例如，氯胺酮、苯环利定、丹参(salvia)、右

美沙芬等)、致幻剂(例如,LSD、墨斯卡林、赛洛西宾等)、炸药(例如,2,4,6-三硝基甲苯(TNT)和六氢-1,3,5-三硝基-1,3,5-三嗪(RDX)、季戊四醇四硝酸酯(PETN)等)、有毒化学品(例如,塔崩(GA)、沙林(GB)、索曼(GD)、环沙林(GF)、2-(二甲基氨基)乙基N,N-二甲基磷酰胺基氟酸酯(GV)、VE、VG、VM、VP、VR、VS或VX神经剂)等。

[0417] 本文描述的系统和方法可用于多种应用和形式。下面是利用本文所述的系统的方法和形式的非穷举示例性实例。

[0418] • 在一些实施方案中,本文提供了用于动态蛋白质-蛋白质相互作用分析的细胞内双蛋白系统,其中SmTrip肽标记的蛋白质通过常规转染表达为融合物,或者通过CRISPR表达为内源性加标签的蛋白质;通过共转染LgTrip,提供表达LgTrip的稳定细胞系,或者在检测试剂中提供LgTrip并将其添加到表达SmTrip标记蛋白质的裂解细胞中,可将LgTrip用作检测试剂(图51A)。

[0419] • 在一些实施方案中,本文提供了用于动态蛋白质-蛋白质相互作用分析的细胞内三蛋白系统,其中SmTrip标记的和LgTrip标记的蛋白质通过常规转染表达为融合物,或者表达为通过CRISPR产生的内源性加标签的蛋白质(图51B)。

[0420] • 在一些实施方案中,本文提供了用于信号增益测定(例如非细胞的诊断测试,等等)的测量具有结合部分A和结合部分B(参见表A;纯化的基因融合物或化学缀合的SmTrip9或SmTrip10肽)的分析物X的靶特异性测定(图51C)。

[0421] • 在一些实施方案中,本文提供了用于通过信号损失进行分析物测量的靶标特异性竞争测定(例如,非细胞的诊断测试,等等)(图51D)。这种系统使用纯化的结合部分A(例如,纯化的基因融合物或包含合成的SmTrip9或SmTrip10肽的化学缀合物),其结合加标签的靶分析物,以在LgTrip和腔肠素底物或腔肠素类似物存在的情况下产生光,所述腔肠素底物或腔肠素类似物可以作为检测试剂的一部分提供。在样品分析物X存在的情况下,SmTrip9或SmTrip10肽将与样品分析物X竞争,导致信号损失,所述信号损失是对样品中存在样品分析物所特有的,所述与分析物的浓度成比例。

[0422] • 在一些实施方案中,两个或三个肽标签肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))连接(或融合)至识别元件,所述识别元件为相同靶分析物上的邻近但不重叠(互斥或分离)的表位的识别元件。由发光复合物产生的信号(例如,在底物存在的情况下)指示靶分析物的存在。

[0423] • 在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))用于免疫测定或各种形式。本文中采用肽/二肽/三肽标签和多肽组分的免疫测定不限于全长抗体,并且还可使用抗体片段或非抗体结合部分(例如,DARPin、适体、affimer等)。在示例性直接免疫测定(例如,参见图51E)中,用β9样肽标签(例如,SmTrip9)和β10样肽标签(例如,SmTrip10)标记针对分析物的两种单克隆或重组抗体(mAb或rAb);将发光复合物的多肽组分(例如,β1-8样多肽(如,LgTrip))包括在内作为检测试剂的一部分(例如,与底物一起)。对于示例性间接免疫测定法(参见,例如,图51F),将用β9样肽标签(例如,SmTrip9)和β10样肽标签

(SmTrip10)标记的通用试剂与任何对分析物特异的配对抗体系统(例如,mAb或rAb+生物素-pAb,生物素-mAb或生物素-rAb等)组合使用;将发光复合物的多肽组分包括在内作为检测试剂的一部分(例如,与底物一起)。通过用第一肽标签(β9样肽(例如,SmTrip9)或β10样肽(例如,SmTrip10))标记一种抗体并用第二肽标签(β10样肽(例如,SmTrip10)或β9样肽(例如,SmTrip9))标记分析物来提供示例性的竞争直接免疫测定(例如,参见图51G);将发光复合物的多肽组分(如β1-8样多肽(例如,LgTrip))包括在内作为检测试剂的一部分(例如,与底物一起);信号缺失表明存在未标记的靶分析物。为了提供竞争性间接免疫测定(参见,例如,图51H),用第一肽标签(β9样肽(例如,SmTrip9)或β10样肽(例如,SmTrip10))标记一种抗体,用第二肽标签(β10样肽(例如,SmTrip10)或β9样肽(例如,SmTrip9))标记通用结合试剂(例如,链霉抗生物素蛋白),并用通用结合试剂的结合部分(例如,生物素)标记分析物;将发光复合物的多肽组分包括在内作为检测试剂的一部分(例如,与底物一起);信号缺失表明存在未标记的测试分析物。利用本文所述的其它肽/二肽/三肽/多肽组合的替代免疫测定法也在本发明的范围内。

[0424] • 在一些实施方案中,本文提供了使用肽/二肽/三肽标签标记的肽(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)识别元件和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))作为检测试剂的组分(例如,与发光复合物的底物一起)的均相测定。

[0425] • 在一些实施方案中,本文提供了利用肽/二肽/三肽标签标记的(例如,SmTrip9、SmTrip10等)和/或多肽组分标记的(例如,LgTrip变体)识别元件的均相测定。在一些实施方案中,提供了用于单种分析物或多种分析物的检测/定量的均相测定。

[0426] • 在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))用于夹心杂交测定(例如,非靶扩增的、扩增的,等等)。

[0427] • 在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))用于检测液体/溶液相或固相中的一种或多种分析物。

[0428] • 在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))用于基于表面的测定(例如,基于平板的(例如,微量滴定板)、基于纸的(例如,Whatman蛋白保存903卡(Whatman protein saver 903cards))、基于塑料的、基于拭子的、基于比色杯的、基于膜的(例如,PVDF、硝酸纤维素等),等等。

[0429] • 在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))用于侧向流和其它基于毛细管驱动的方法。在一些实施方案中,此类侧向流测定允许分析物(例如,病原体)的多重检测/鉴定/表征。在一些实施方案中,侧向流测定可用于进行本文所述的免疫测定。

[0430] o图52中描绘了在直接免疫测定中使用三部分抗体融合物检测和鉴定病原体的示例性多重三部分侧向流测定。在该实施例中，将一组各自与肽标签(例如，β10样肽(例如，SmTrip10))融合的单克隆或重组抗体(mAb或rAb)添加到液体样品中，使样品通过包含第二组各自与肽标签(例如，β9样肽(例如，SmTrip9))融合的mAb或rAb的检测窗，所述第二组抗体被固定在检测窗内的泳道中，并且每种抗体识别与液体样品中的mAb或rAb之一相同的靶标上的不同表位。当液体样品在多肽组分和底物存在(例如，预装载在检测窗中的、与样品一起添加的、单独加入装置中的，等等)的情况下通过检测窗时，特定泳道中的发光指示mAb或rAb与靶标上的单独表位的结合，从而提供靶标的检测和鉴定。上述测定及其利用本文系统和方法的替代方案可用于提供各种检测小组(detection panel)(例如，呼吸小组：链球菌属(Streptococcus)、假单胞菌属(Pseudomonas)、分枝杆菌属(Mycobacterium)、葡萄球菌属(Staphylococcus)；泌尿道小组：大肠杆菌(E.Coli)、克雷伯氏菌属(Klebsiella)、肠杆菌属(Enterobacter)、链球菌属；食源性小组：志贺氏菌属(Shigella)、弯曲杆菌属(Campylobacter)、沙门菌属(Salmonella)、大肠杆菌、李斯特菌属(Listeria)；废水管理：大肠菌组；一种类型细菌内的菌株鉴定小组；等等)，以及用于其它应用(例如，毒素检测)。

[0431] o图53描绘了用于在直接免疫测定中使用三部分抗体融合物检测和鉴定抗病毒抗体(例如，用于疾病诊断)的示例性多重三部分侧向流测定。在该实例中，将样品添加到侧向流动装置中，并使其流入缀合区(例如，垫)。缀合区包含系连或融合至第一肽标签(例如，β10样肽(例如，SmTrip10))的通用抗体结合剂(例如，蛋白L)。如果抗体存在于样品中，它们将被标记的抗体结合剂结合。所述装置的检测窗包括单独的泳道，每个泳道包含系连或融合至第二肽标签(例如，β9样肽(例如，SmTrip9))的不同的固定化病毒抗原。当标记的抗体从缀合区流入检测窗时，抗体将与合适的抗原结合，使肽标签靠近，并在多肽组分和底物(例如，预装载在检测窗中的，与样品一起添加的，单独添加到装置中的，等等)存在的情况下产生发光信号。这种装置和测定将允许使用单个装置/测定来检测和区分多种病毒和病毒感染。例如，寨卡病毒、登革热和奇昆古病毒(Chicungkunga)都可通过使用单一测试独立地检测出来。

[0432] • 在一些实施方案中，对于溶液相测定，以基于平板的形式进行上述侧向流测定的细节(例如，在与图谱一起提供的孔中利用结合部分的组合)。在一些实施方案中，以多重点印迹/点阵列测定形式进行这种测定。在一些实施方案中，本文以特定形式(例如，侧向流动)描述的任何多重测定也可以以本文描述的或本领域理解的替代形式(例如，斑点印迹、点阵列等)进行。

[0433] • 在一些实施方案中，本文的肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))用于基于气溶胶的检测(例如，(1)蛋白酶裂解细胞，(2)喷洒检测试剂，(3)可视化检测/定量)。

[0434] • 在一些实施方案中，本文的肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))用于核酸的等温扩增。

[0435] • 在一些实施方案中，本文的肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β

9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))用于核酸的快速循环PCR检测。

[0436] • 在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))用于检测蛋白质-蛋白质相互作用(例如,两种蛋白质之间,3种蛋白质之间,等等)。

[0437] • 在一些实施方案中,使用固定或便携式设备和读取器、光度计板读取器或手持式读取器、智能手机照相机或CCD照相机等来执行本文所述的测定和方法的分析。

[0438] • 在一些实施方案中,通过光度计或基于成像的技术,经由通过识别元件的信号增益来检测/定量分析物。

[0439] • 在一些实施方案中,通过光度计或基于成像的技术,经由通过竞争性置换的信号损失来检测/定量测量分析物。

[0440] • 在一些实施方案中,本文的系统和方法允许在每个识别元件上有多个标签(通过遗传或者通过化学缀合),从而通过增加每个识别元件的肽标签的化学计量来提供信号放大。

[0441] • 在一些实施方案中,本文的系统和方法可用于检测非均相溶液中的天然蛋白质。

[0442] • 在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))用于核酸检测,例如,加有肽标签的互补识别元件与串联的核酸靶序列杂交。

[0443] • 在一些实施方案中,本文提供了用于检测抗体(例如,作为分析物的抗体)的测定。图54中描绘了一种这样的测定。第一肽标签(例如,β9样肽(例如,SmTrip9))融合或系连至抗体结合蛋白(例如,蛋白L),第二肽标签(例如,β10样肽(例如,SmTrip10))融合或系连至抗体对其具有特异性的分析物;将发光复合物的多肽组分(例如,β1-8样多肽(例如,LgTrip))包括在内来作为检测试剂的一部分(例如,与底物一起);样品中分析物特异性抗体的存在导致复合物的形成和发光。

[0444] • 在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))用于利用生物发光或BRET的FISH样应用以用于检测/定量。

[0445] • 在一些实施方案中,本文的肽/二肽/三肽标签(例如,β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如,SmTrip9)和/或β10样肽(例如,SmTrip10),和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如,β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如,LgTrip))用于核酸(例如,单链和/或双链DNA和/或RNA)的检测,通过例如核酸的无扩增检测。例如,如图56所描绘的,一对肽标签标记的核酸探针,当与核酸靶标上的邻近位置杂交时,将允许形成发光复合物,这通过与核酸靶标的互补作用来促进。这种测定可以在固体表面上、溶液中、针对单个核酸靶标进行,或者可以是多重的(例如,使用阵列)。

[0446] • 在一些实施方案中，本文的肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))用于芯片实验室和/或微流体应用。

[0447] • 在一些实施方案中，本文的系统和方法可用于非均相测定，诸如免疫测定(例如，PCR扩增与均相免疫测定分析组合)。

[0448] 在一些实施方案中，提供了基于肽/二肽/三肽的传感器，所述传感器需要化学(例如，去除封闭部分)或酶促(例如，蛋白水解切割)事件来使肽标签能够形成生物发光复合物。例如，需要蛋白酶来将封闭的二肽(例如，不能形成生物发光复合物)切割成两个能够互补的非封闭肽。

[0449] 在一些实施方案中，本文的肽/二肽/三肽标签(例如，β6样肽、β7样肽、β8样肽、β9样肽(例如，SmTrip9)和/或β10样肽(例如，SmTrip10)，和/或其二肽和三肽)和多肽组分(例如，β1-5样多肽、β1-6样多肽、β1-7样多肽、β1-8样多肽(例如，LgTrip))用于基于珠粒的测定，所述测定利用磁性富集来提高测定灵敏度。图55中描绘了一种这样的测定。在这样的测定中，磁性颗粒缀合至第一肽标签(例如，β9样肽(例如，SmTrip9))和针对分析物上第一表位的第一结合剂；非磁性颗粒(例如，聚苯乙烯颗粒)缀合至第二肽标签(例如，β10样肽(例如，SmTrip10))和针对分析物上的第一表位或第二表位的第二结合剂。将珠粒与样品以及发光复合物的多肽组分(例如，β1-8样多肽(例如，LgTrip))组合。磁分离用于捕获磁性珠粒和结合到其上的样品的任何组分或其它试剂。然后，在发光复合物的基质存在的情况下，检测磁性捕获的元件的发光。如果样品中存在分析物，则磁性和非磁性珠粒都将被捕获，导致发光复合物的捕获。在分析物不存在的情况下，非磁性珠粒将不被捕获，并且不会形成发光复合物。上述应用和形式是示例性的而非限制性的。与本文的描述一致的其它实施方案在本发明的范围内。本文描述了包含肽、二肽和多肽的系统和利用肽、二肽和多肽的方法，以及通过其互补作用形成的生物发光复合物，所述肽、二肽和多肽与NanoLuc®商业萤光素酶和/或来自细角刺虾的天然萤光素酶的部分具有结构(尽管不一定是序列同一性)和功能相关性。特别是，提供了β_{1-8}样多肽(例如，LgTrip)与β_9样肽(例如，SmTrip9)和β_{10}样肽(例如，SmTrip10)或$\beta_{9/10}$样二肽之间的互补作用的详细描述。然而，本文的实施方案不限于β_{1-8}样多肽(例如，LgTrip)和β_9样肽(例如，SmTrip9)和β_{10}样肽(例如，SmTrip10)或$\beta_{9/10}$样二肽之间的互补作用。在一些实施方案中，提供了与NanoLuc®商业萤光素酶和/或来自细角刺虾的天然萤光素酶的部分具有结构(尽管不一定是序列同一性)和功能相关性的肽、二肽和多肽。例如，本文还提供了用于β_{1-5}样多肽与β_{6-10}样多肽之间；β_{1-2}样二肽与β_{3-10}样多肽之间；β_1样肽、β_2样肽与β_{3-10}样多肽之间；β_{7-8}样二肽与$\beta_{9-10/1-6}$样多肽融合物之间；在β_{1-7}样多肽与β_8样肽、β_9样肽与β_{10}样肽之间；和/或β_{1-6}样多肽与β_7样肽、β_8样肽、β_9样和β_{10}样肽之间的互补作用的系统和方法。

[0450] 在一些实施方案中，本文的肽、二肽、三肽和/或多肽可用于易位测定。在一些实施方案中，易位测定由以下两个组分组成：互补多肽传感器(例如，基于LgBiT的、基于LgTrip的，等等)和加有肽/二肽/三肽标签的目标蛋白质(POI)。产生了多种定位于诸如质膜、细胞核、线粒体和内质网(ER)等的特定细胞区室的LgBiT传感器(图152)。这些LgBiT传感器可通过转染或建立稳定的细胞系来引入细胞。POI是用与多肽(例如，LgBiT)互补的肽/二肽/三

肽内源性标记的。在刺激下,POI转移到多肽(例如,LgBiT)传感器所在的不同细胞区室,发生互补作用,导致肽/多肽复合物(例如,HiBiT•LgBiT)的组装以产生发光信号(图153)。因此,POI的易位活性是通过发光输出定量测量的。在实施例89中描述了在易位测定的实施方案的开发过程中进行的实验。

[0451] 实验

[0452] 实施例1

[0453] (LgBiT)的进一步截短形式由肽激活

[0454] 将LgBiT(背景和在互补SmTrip10 pep86存在的情况下)(SEQ ID NO:15,25)与进一步截短的多肽(LgTrip 2098,SEQ ID NO:17)的发光进行比较,所述进一步截短的多肽缺乏全长萤光素酶的β10链和β9链两者(背景和在互补pep263(SEQ.ID 35)存在的情况下)(图1)。

[0455] 使具有LgBiT(SEQ ID NO:11)或LgTrip 2098(SEQ ID NO:17)的大肠杆菌KRX在50mL的体积中在30℃(275rpm)下于LB+amp(50ug/mL)中从单个菌落生长20小时。从这些培养物中,将100倍的稀释液制成相同的培养基,并使培养物在37C(275rpm)下生长3小时,然后冷却至25℃,然后加入鼠李糖(蛋白质过表达的诱导剂)至终浓度为0.2%。然后使培养物在25℃(275rpm)下生长(诱导)22小时,此时收获培养物,将所得沉淀物在-20℃下储存直至处理。为了溶解细胞,从-20℃取出沉淀,重新悬浮在50mL的PBS(pH 7.2)中,并经过3个连续的冻融循环(-70℃至22℃),离心以产生可溶性部分,然后保持低温(在冰上)直至分析。将裂解物和一种或多种肽(终浓度为25nM)在25℃下一起孵育10分钟,然后加入NanoGlo®试剂。添加试剂后,将平板在35℃下再孵育5分钟,并使用Tecan Infinite F500板读数器随时间推移读取以测量发光(RLU)。

[0456] 在本文实施方案的开发过程中进行的实验证明,LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 2098(SEQ ID NO:17)都产生一定的背景发光,但LgBiT的水平高得多。数据显示,LgBiT和LgTrip 2098在它们各自的互补肽存在的情况下都产生更多的发光。LgTrip 2098在肽存在的情况下信号增益的幅度更大。这些数据表明,进一步截短的LgBiT(以及A51G取代)被单一互补肽激活,该互补肽对应于从LgTrip 2098中缺失的β10和9β链。

[0457] 实施例2

[0458] LgTrip 2098由一对单独的β9和β10样肽激活

[0459] 在对应于全长萤光素酶(SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)和SmTrip9 pep245)(SEQ ID NO:23)的β10和β9部分的单独的肽存在的情况下随时间推移监测LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)的发光(图2)。使用与实施例1中类似的实验方案;然而,使用了10x浓缩的裂解物,以500nM使用肽SmTrip10 pep86和SmTrip9 pep245,并且将0.001%Prionex加入到反应中。在本文实施方案的开发过程中进行的实验证明,通过添加SmTrip10 pep86和SmTrip9 pep245激活了LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)。未添加肽或仅添加所述肽之一的对照在平板读数器背景附近产生。

[0460] 实施例3

[0461] LgTrip诱变-第1轮(发光)

[0462] 将用于测序的过夜培养物用于接种培养物(30ul细胞,于3ml培养基+0.1%鼠李糖+0.15%葡萄糖中)。使细胞在25℃下过夜生长20小时。将10ul细胞稀释至250ul被动裂解缓

冲液(PLB)中,并让其裂解5分钟。将裂解物混合,然后以1:100稀释至PLB裂解缓冲液(0.3X PLB,25mM HEPES pH 7.5,0.001U/ml RQ DNA酶1(10ul于990ul中)中。将50ul稀释的裂解物与50ul NanoGlo®缓冲液+2uM pep263(SmTrip9-10二肽)(SEQ ID NO:35)(终浓度为1uM(饱和二肽浓度))混合。将样品孵育5分钟,在GloMax®Multi+(GMM+)光度计上进行读取,并以LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)作归一化(表2)。

[0463] 表2.LgTrip变体相较于LgTrip 2098的相对发光度。

[0464]

克隆#	细胞板	序列	二次筛选(以2098作归一化)
#7		F1L	1.1
#10		Q42L	1.8
#14		I44V, E63D, L142Q	2.5
#16		L30S	8.3
#19		N17D	3.0
#22		Y16C, I56T	2.6
#35		L142Q	1.8
#38		T2S, M106K	1.8
#39		E4D, V27A	3.7
#42		E4D	2.5

[0465] 实施例4

[0466] LgTrip诱变-第1轮(稳定性)

[0467] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以确定HisLink纯化的LgTrip突变体的稳定性。将LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)、LgTrip2098(RH)(SEQ ID NO:31)(柱纯化的LgTrip 2098)、#10、#14、#16、#19、#22、#35、#38、#39和#42多肽(表3)以1:1000稀释至PLB裂解缓冲液中(2ul至2ml中)。将100ul的每种样品转移到96孔PCR托盘中的一列孔中。将样品在37℃孵育,并且在不同时间点取出等分试样。热处理完成后,将样品置于冰上。处理完所有样品后,将PCR托盘平衡至室温。将样品混合,然后在PLB裂解缓冲液中以1:100稀释(5ul至495ul缓冲液中)。将50ul每种样品与50ul NanoGlo®缓冲剂+2uM pep263混合。将平板孵育5分钟,然后在GMM+上进行读取。结果描绘于图3中。稳定性研究将LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)的位置42鉴定为用于进一步分析的目标位置。

[0468] 表3.LgTrip突变体(相对于LgTrip 2098的突变)的实验命名法。

[0469]

克隆#	序列
#10	Q42L
#14	I44V,E63D,L142Q
#16	L30S
#19	N17D
#22	Y16C,1S67
#35	L142O
#38	T2S,M106K
#39	E4D,V27A

#42	E4D

[0470] 实施例5

[0471] 位置42的位点饱和度(发光)

[0472] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以优化LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)的位置42处的氨基酸的同一性(图4)。为每种样品制备大肠杆菌培养物(3ml),并使其在LB培养基+100ug/ml氨苄青霉素中于37℃下生长过夜。然后将培养物一式四份以20X浓度稀释(10μl于200μl中)至诱导培养基(LB+氨苄青霉素+0.1%鼠李糖)中。使样品在37℃下生长6小时。然后用0.3X PLB,25mM HEPES(pH 7.5)和0.001U/ml RQ1 DNA酶裂解样品(10μl细胞至250μl裂解缓冲液中)。然后,将50μl裂解物与50μl NanoGlo®缓冲液+50μM Furimazine+20nM二肽263(SEQ ID NO:35)组合。在BMG Clariostar光度计上测量样品。将RLU值以LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)作归一化。(图4)

[0473] 实施例6

[0474] 纯化的LgTrip位置42突变体的37℃稳定性

[0475] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以确定LgTrip 2098突变体中位置42的稳定性(图5)。将多肽在TBS+0.01%BSA中稀释至20nM。以一式三份将每种样品的100μl等分试样装载到200μl薄壁PCR管中。将样品在热循环仪中于37℃下孵育。在不同的时间点取出样品,置于冰上,然后让其平衡至室温。将样品在PLB裂解缓冲液(0.3X PLB+25mM HEPES pH 7.5)中稀释至0.2nM(5μl于495μl中)。将50μl每份稀释的样品与50μl的50μM Furimazine+6μM的于NanoGlo®缓冲液中的pep263(SEQ ID NO:35)组合。将样品孵育10分钟,然后在GMM+上进行读取。通过非线性回归计算半衰期(图5)。

[0476] 实施例7

[0477] LgTrip的位点饱和度

[0478] 在本文实施方案的开发过程中进行了实验,以优化LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)的不同位置处的氨基酸的同一性(图6)。为每种样品制备大肠杆菌培养物(3ml),并使其在LB培养基+100μg/ml氨苄青霉素中于37℃下生长过夜。然后将培养物一式四份在诱导培养基(LB+氨苄青霉素+0.1%鼠李糖)中稀释至20X浓度(10μl于200μl中)。使样品在37℃下生长6小时。然后用0.3X PLB+25mM HEPES pH7.5+0.001U/ml DNA酶(10μl细胞对250μl裂解缓冲液)裂解样品。然后,将50μl裂解物与50μl NanoGlo®缓冲液+50μM Furimazine+20nM二肽263(SEQ ID NO:35)组合。在BMG Clariostar光度计上测量样品。将RLU值以LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)作归一化(图6)。

[0479] 实施例8

[0480] LgTrip 3092模板上的突变

[0481] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以确定相对于LgTrip3092(SEQ ID NO:19)变体的各种氨基酸取代的效果(表4)。为每种样品制备大肠杆菌培养物(3ml),并使其在LB培养基+100ug/ml氨苄青霉素中于37℃下生长过夜。然后将培养物一式四份在诱导培养基(LB+氨苄青霉素+0.1%鼠李糖)中稀释至20X浓度(10μl于200μl中)。使样品在37℃下生长6小时。然后用0.3X PLB+25mM HEPES(pH 7.5)+0.001U/ml DNA酶裂解样品。(10μl细胞对250μl裂解缓冲液)。然后将50μl裂解物与50μl NanoGlo®缓冲液+50μM Furimazine+2nM二肽263(SEQ ID NO:35)组合。将突变体裂解物在PLB中以1:100进一步稀释(5μl于495μl

中)。将50μl稀释的裂解物加入到50μl NanoGlo®缓冲液+50μM furimazine+6μM pep263或50μl TBS+20μM LCS(furimazine)+6μM pep263(SEQ ID NO:35)中。孵育10分钟后,在GMM+上测量样品。将RLU以LgTrip 3092(SEQ ID NO:19)作归一化

[0482] 表4.LgTrip变体相较于LgTrip 3092的相对发光度。

[0483]

样品	LCS 6uM 263	Nglo 6uM 263	Nglo 2nM 263
ATG3092	1.0	1.0	1.0
V127A	4.2	3.5	3.7
Y16S	1.3	1.3	3.1
V119A	1.4	1.2	2.0
V127A+T128A	4.9	3.7	3.7
I117N	2.9	2.1	2.5
F120S	2.0	1.6	2.1
G122D	1.2	1.3	2.3
N105S	1.2	1.4	1.6
T126S	2.3	1.4	2.1
G101E	2.3	1.4	3.9
V36E+V102D+E115D	2.4	1.4	1.7

[0484] 实施例9

[0485] LgTrip 3092模板的位点饱和度

[0486] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以优化LgTrip 3092(SEQ ID NO:19)的不同位置处的氨基酸的同一性。为每种样品制备大肠杆菌培养物(3ml),并使其在LB培养基+100ug/ml氨苄青霉素中于37℃下生长过夜。然后将培养物一式四份在诱导培养基(LB+氨苄青霉素+0.1%鼠李糖)中稀释至20X浓度(10μl于200μl中)。使样品在37℃下生长6小时。然后用0.3X PLB+25mM HEPES(pH 7.5)+0.001U/ml DNA酶(10μl细胞至250μl裂解缓冲液中)裂解样品。然后将50μl裂解物与50μl NanoGlo®缓冲液+50μM Furimazine+2nM二肽263(最终为1nM)组合。在BMG Clariostar光度计上测量样品。将RLU值以LgTrip 3092作归一化(图7)。

[0487] 实施例10

[0488] LgTrip 2098和LgTrip 3092相较于LgBiT的稳定性

[0489] 在本文实施方案的开发过程中进行了实验,以比较LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)和LgTrip 3092(SEQ ID NO:33)与LgBiT(SEQ ID NO:11)中位置的稳定性(图8)。将纯化的LgTrip 2098、LgTrip 3092和LgBiT样品在TBS+0.01%BSA中稀释至20nM。将100μl的每种样品等分至200μl薄壁PCR管中。将样品在热循环仪中于37℃下孵育。在不同的时间点取出样品并置于冰上。将样品平衡至室温,然后在PLB裂解缓冲液(0.3X PLB+25mM HEPES pH 7.5)中稀释至0.2nM(5μl于495μl中)。将50μl的每种样品用50μl的于NanoGlo®缓冲液中的50μM Furimazine+6μM的pep263(SEQ ID NO:35)进行稀释。将样品孵育10分钟,然后在GMM+上进行读取(图8)。

[0490] 实施例11

[0491] LgTrip变体在42℃和60℃下的稳定性

[0492] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以比较LgTrip变体在42℃和60℃下的稳定性(图9)。将LgTrip变体样品在TBS+0.01%BSA中稀释至20nM。将100μl等分试样加入200μl薄壁PCR管中。将样品在热循环仪中于42℃或60℃孵育。在不同的时间点取出样品并置于冰上。将样品平衡至室温,然后在PLB裂解缓冲液(0.3X PLB+25mM HEPES pH 7.5)中稀释至0.2nM(5μl于495μl中)。将50μl的每份稀释的样品与50μl的于NanoGlo®缓冲液中的50uM Furimazine+6μM pep263(SEQ ID NO:35)组合。将样品孵育10分钟,然后在GMM+上进行读取(图9)。

[0493] 实施例12

[0494] LgTrip变体对SmTrip9和SmTrip10的亲和力

[0495] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以确定各种LgTrip变体对SmTrip9样肽和SmTrip10样肽的亲和力(图10)。

[0496] 对于SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)滴定,将纯化的LgTrip样品在TBS+0.01%BSA+0.005%IGEPAL中稀释至2nM。制备含有TBS+0.01%BSA+0.005%IGEPAL+20μM furimazine+200μM SmTrip 10pep 86(SmHiTrip;SEQ ID No:25)的测定试剂。将4uM的SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)加入到测定试剂中,然后在含有Furimazine+200μM SmTrip10 pep86(HiBiT;SEQ ID NO:15)的测定试剂中连续稀释(500μl对500μl)。将25ul的每份肽滴定液加入25ul稀释的LgTrip溶液中。在10分钟和15分钟时,在平板读数器上读取发光。

[0497] 对于SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)滴定,将纯化的LgTrip样品在TBS+0.01%BSA+0.005%IGEPAL中稀释至2nM。制备含有TBS+0.01%BSA+0.005%IGEPAL+20μM furimazine+4μM SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)的测定试剂。然后向测定试剂中加入200uM的SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25),然后在含有Furimazine+4μM SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)的测定试剂中连续稀释(500μl对500μl)。将25ul的每份肽滴定液加入25ul稀释的LgTrip溶液中。在10分钟和15分钟时,在平板读数器上读取发光。

[0498] 实施例13

[0499] LgTrip变体的稳定性(60℃)

[0500] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以比较LgTrip变体在60℃下的稳定性(图11)。将纯化的LgTrip突变体在TBS+0.01%BSA稀释至20nM。将100μl的每种样品等分到200μl薄壁PCR管中。将样品在热循环仪中于60℃下孵育,然后在不同时间点取出,置于冰上,平衡至室温,然后在PLB裂解缓冲液(0.3X PLB+25mM HEPES pH 7.5)中稀释至0.2nM(5μl于495μl中)。将50μl的每种稀释的样品与50μl的于NanoGlo®缓冲液中的50μM Furimazine+6μM pep263(SEQ ID NO:35)混合。将样品孵育10分钟,然后在GMM+上进行读取。使用GraphPad Prism非线性回归(将单相衰减平台设置为0)计算半衰期。

[0501] 实施例14

[0502] LgBiT和LgTrip变体的动力学特征的比较

[0503] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以比较各种LgTrip变体与NanoLuc®萤光素酶(SEQ ID NO:3)和LgBiT(SEQ ID NO:11)/HiBiT(SmTrip10 pep86)(SEQ ID NO:25)双组分系统的动力学特征(图12)。将NanoLuc、LgBiT、LgTrip 2098(SEQ ID

NO:31)、LgTrip 3092(SEQ ID NO:33)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)在TBS+0.01％BSA+0.005％IGEPAL中稀释至20μM。将样品以1:100(2μl于198μl中)稀释，然后以1:1000(10μl于10ml中)或总共10E^{-5}的稀释度稀释至0.2nM的终浓度。向LgBiT多肽中加入200nM的SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)。向LgTrip变体中加入200μM SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)和20μM SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)。将样品孵育15分钟，将50ul的每种酶/肽稀释液与TBS+0.01％BSA+20μM活细胞基质(LCS;Promega目录号N205)或NanoGlo®缓冲液+50μM Furimazine组合，并立即在GMM+光度计上进行读取。

[0504] 实施例15

[0505] 用三部分系统检测蛋白质-蛋白质相互作用

[0506] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验，以证明三部分互补系统在检测蛋白质-蛋白质相互作用中的用途(图13)。将含有各自与SmTrip9 pep245和SmTrip10 pep86中的每一个(图13A)或SmTrip9 pep245和SmBiT中的每一个(图13B)融合的FRB和FKBP的裂解物加入到纯化的LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)中。用雷帕霉素诱导FRB/FKBP复合物的形成，并通过发光监测三部分系统的促进性互补作用。

[0507] 细胞和裂解物的制备。使每种FRB-FKBP构建体的培养物在LB+100ug/ml氨苄青霉素中生长过夜。在LB+0.1％鼠李糖+0.15％葡萄糖+100ug/ml氨苄青霉素中诱导培养物(30μl于3ml培养物中)，并在25℃下生长24小时。将200μl的10X快速裂解细胞裂解试剂(Fastbreak Cell Lysis Reagent)(Promega)加入到2ml的0.001U/ml RQ1 DNA酶培养物中。将培养物在旋转混合器中于4℃下孵育30分钟，然后在4℃下以3500rpm旋转30分钟。将经清除的裂解物取出，放入新试管中，冷冻，并在-70℃下储存。

[0508] 测定。将裂解物解冻，以1:10稀释至TBS+0.1％BSA，并组合适当的裂解物。裂解物被分成份，并将30nM雷帕霉素加入到其中一个等分试样中。将25μl的每种裂解物与25μl的LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)组合，在TBS+0.01％BSA中稀释至200nM，并孵育1小时。加入50μl的NanoGlo®缓冲液+50μM Furimazine，并在GMM+上读取发光。

[0509] 实施例16

[0510] 随机文库的制备和筛选

[0511] 产生变体LgTrip多肽的随机文库(使用模板LgTrip 2098)(SEQ ID NO:31)，并筛选与β9/β10二肽(SEQ ID NO:35)(pep263)的互补作用。

[0512] 将LgTrip 2098(SEQ ID NO:32)的模板DNA在水中稀释至10ug/ml。Diversify^{TM}PCR随机诱变试剂盒(63070-ClonTech)用于制备突变体的随机文库。使用WIZARD SV凝胶和PCR Clean-Up系统(A9281;Promega)对文库扩增产物进行条带分离并纯化，克隆到pF4Ag中，转化入KRX感受态细胞(Promega)，并铺在LB琼脂糖平板上。挑取菌落，置于含有LB+氨苄青霉素的96孔板的孔中，并使样品在37℃下振荡生长过夜。将过夜培养物以1:20稀释至诱导培养基(LB+0.1％鼠李糖+0.15％葡萄糖+100ug/ml氨苄青霉素)，将培养物在37℃下生长2-6小时。将10ul细胞加入到250ul PLB裂解缓冲液(0.3X PLB,25mM HEPES pH 7.0,0.001U/ml DNA酶)中。将50ul细胞裂解物与50ul测定缓冲液(NanoGlo®缓冲液+50uM Furimazine+0.2nM pep263)组合。加入试剂后，将平板孵育5分钟，然后在ClarioStar光度计上读取样品。选择与模板克隆相比发光增强的克隆进行额外筛选。

[0513] 进一步筛选了约6,000个基于LgTrip 2098的变体克隆，并用位点饱和诱变评估了

有利的突变位点。将饱和诱变后的有利突变组合，获得LgTrip克隆LgTrip 3092(SEQ ID NO:19)。使用LgTrip 3092(SEQ ID NO:19)作为模板重复筛选，所得克隆是LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)。

[0514] 实施例17

[0515] LgTrip克隆的纯化

[0516] 在LB+0.1％鼠李糖+0.15％葡萄糖+amp中诱导50ml LgTrip突变体的培养物。将培养物旋转并重新悬浮在4.5ml Hepes(pH7.5)+0.001U/ml DNA酶中。加入500ul FastBreak™细胞裂解试剂(Promega;V8571)，并将样品在旋转混合器上于4℃下孵育1小时。旋转样品以清除裂解物，并将上清液转移到新管中。使用HisLink™Spin蛋白纯化系统，将500ul HisLink™蛋白纯化树脂(Promega;V8821)加入到样品中，在旋转混合器上于4℃下孵育2小时，用HisLink洗涤/结合缓冲液洗涤，并用洗脱缓冲液洗脱。将载玻片-A-Lyzer透析柱用于将缓冲液交换至TBS。

[0517] 实施例18

[0518] 稳定性比较

[0519] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验，以比较LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)随时间推移的活性的稳定性(图14)。将纯化的LgTrip 2098和LgBiT在TBS+0.01％BSA或0.3X PLB+25mM HEPES pH 7.5中稀释至20nM。将100μl的每种样品等分至200μl薄壁PCR管中。在热循环仪中于37℃下孵育样品，在不同时间点取出，并置于冰上。将样品平衡至室温，然后将每种样品在PLB裂解缓冲液(0.3X PLB+25mM HEPES pH 7.5)中稀释至0.2nM(5μl于495μl中)。将50μl的每份稀释的样品与50μl的50μM Furimazine+6μM的于NanoGlo®缓冲液中的pep263(SEQ ID NO:35)组合。将样品孵育10分钟，然后在GMM+上进行读取。使用GraphPad Prism非线性回归(将单相衰减平台设置为0)计算半衰期。

[0520] 实施例19

[0521] LgTrip在TBS+最小BSA载体中的稳定性

[0522] 在本文实施方案的开发过程中进行了实验，以确定TBS中的NanoLuc® (SEQ ID NO:3)、LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)以及最小BSA载体随时间推移的活性的稳定性(图15)。将NanoLuc、LgBiT和LgTrip 3546在TBS+0.01％BSA中稀释至20nM。将100μl的每种物质等分至200μl薄壁PCR管中。将样品在热循环仪中于60℃下孵育，在不同时间点取出，并置于冰上。将样品平衡至室温，并在PLB裂解缓冲液(0.3X PLB+25mM HEPES pH7.5)中稀释至0.2nM(5μl于495μl中)。将50μl的每种稀释的样品与50μl的于NanoGlo®缓冲液中的50μM Furimazine+6μM pep263(SEQ ID NO:35)组合。将样品孵育10分钟，然后在GMM+上进行读取。使用GraphPad Prism非线性回归(将单相衰减平台设置为0)计算半衰期。

[0523] 实施例20

[0524] 盐对活性的影响

[0525] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验，以确定盐浓度对NanoLuc® (SEQ ID NO:3)、LgBiT(SEQ ID NO:11)、LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的活性的影响(图16)。

[0526] 为了测试盐存在下的活性,将每种酶在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol稀释至1uM,并在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中进一步稀释至2nM。将4uM的pep 263(SEQ ID NO:35)加入到LgBiT、LgTrip3546(SEQ ID NO:51)和LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)中并孵育30分钟。从5M的于25mM Tris pH 7.5+0.01％Tergitol中的NaCl开始,为每种样品制备两倍滴定系列。向滴定系列的每种样品中加入10uM furimazine,将5ul的每种酶或酶+pep263(SEQ ID NO:35)与45ul的每种底物添加剂混合物组合。将平板孵育3分钟,然后在GMM+上进行读取。

[0527] 为了测试长期暴露于盐中的影响,将每种酶稀释至1uM,并从5M的于25mM Tris pH 7.5+0.01％Tergitol中的NaCl开始制备两倍滴定系列。将2ul的每种酶加入到198ul的NaCl滴定液(每种酶最终为10nM)中。“无”添加剂对照为TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol。将样品孵育26小时。孵育后,将样品以1:10,000稀释至TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中(10ul于990中,两次)。在第二次稀释中,将4uM pep263(SEQ ID NO:35)添加到LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)、LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和LgBiT(SEQ ID NO:11)中。将50ul的每种样品与50ul的NanoGlo®缓冲液+50uM Furimazine组合。将平板孵育3分钟,然后在GMM+上进行读取。

[0528] 实施例21

[0529] 尿素对活性的影响

[0530] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以确定尿素浓度对NanoLuc(SEQ ID NO:3)、LgBiT(SEQ ID NO:11)、LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的活性的影响(图17)。

[0531] 为了测试尿素存在下的活性,将每种酶在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至1uM,并在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中进一步稀释至2nM。将4uM的pep263(SEQ ID NO:35)加入到LgBiT(SEQ ID NO:11)、LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和LgTrip2098(SEQ ID NO:31)中并孵育30分钟。从10M的于25mM Tris pH7.5+0.01％Tergitol中的尿素开始,为每种样品制备了两倍滴定系列。向滴定系列的每种样品中加入10uM furimazine,将5ul的每种酶或酶+pep263(SEQ ID NO:35)与45ul的每种底物添加剂混合物组合。将平板孵育3分钟,然后在GMM+上进行读取。

[0532] 为了测试长期暴露于尿素的影响,将每种酶稀释至1uM,并从10M的于25mM Tris pH 7.5+0.01％Tergitol中的尿素开始制备两倍滴定系列。将2ul的每种酶加入到198ul的尿素滴定液中(每种酶的终浓度为10nM)。“无”添加剂对照为TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol。将样品孵育26小时。孵育后,将样品以1:10,000稀释至TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中(10ul于990ul中,两次)。在第二次稀释中,将4uM pep263(SEQ ID NO:35)添加到LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)、LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和LgBiT(SEQ ID NO:11)中。将50ul的每种样品与50ul的NanoGlo®缓冲液+50uM Furimazine组合。将平板孵育3分钟,然后在GMM+上进行读取。

[0533] 结果表明,与LgTrip 3546相比,NanoLuc和NanoBiT更容易被尿素灭活,而LgTrip 2098受尿素影响最小。暴露结果表明,LgTrip3546、LgTrip 2098和LgBiT在用尿素长期处理后恢复了活性,表明这些多肽的活性可能受到污染蛋白质的负面影响,并且这些污染物的变性增强了活性。

[0534] 实施例22

[0535] pH值对活性的影响

[0536] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验，以确定pH值对NanoLuc®(SEQ ID NO:3)、LgBiT(SEQ ID NO:11)、LgTrip 2098(WT)(SEQ ID NO:31)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的活性的影响(图18)。

[0537] 制备了通用缓冲液，其含有25mM的以下每一种：柠檬酸钠、MES、PIPES、HEPES、TAPS和于0.5％Tergitol中的硫脲。将缓冲液分成8份20ml的等份，加入NaOH或HCl，形成pH滴定系列。

[0538] 为了测试pH值对活性的影响，将每种酶稀释至1uM，然后在3ml的TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至0.4nM。向LgBiT、LgTrip2098和LgTrip 3546中加入4uM pep263(SEQ ID NO:35)。用于每个所测pH缓冲液的测定试剂(表5)(20ul于980缓冲液中的furimazine)。将10ul的每种酶/肽稀释液与50ul的测定试剂组合。将平板孵育3分钟，并在GMM+上进行读取。

[0539] 表5.缓冲液。

[0540]

组分	MW(g/mol)	g
柠檬酸钠	294.1	1.47
MES	195.24	0.98
PIPES	302.37	1.51
Hepes	238.3	1.19
TAPS	243.3	1.22
硫脲	76.12	0.53

[0541] 为了测试长时间暴露于不同pH的影响，将每种酶在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至1uM，然后在每种缓冲液中稀释至20nM。T＝0混合样品，然后以1:10稀释至200mM HEPES pH 7.5+0.01％BSA+0.01％Tergitol中，并于4℃下储存。T＝8混合样品，然后以1:10稀释至200mM HEPES pH 7.5+0.01％BSA+0.01％Tergitol中，于4℃下储存。T＝24混合样品，然后以1:10稀释至200mM HEPES pH 7.5+0.01％BSA+0.01％Tergitol中，于4℃下储存。为了进行测定，将LgTrip和LgBiT在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol+4uM SmTrip10 pep286(SEQ ID NO:35)中以1:10稀释，并将NanoLuc稀释至TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中。用40ulNanoGlo®缓冲液+40uM furimazine稀释40ul的每种样品，孵育3分钟，然后在GMM+上进行读取。

[0542] 结果表明，LgTrip对宽的pH范围具有抗性。

[0543] 实施例23

[0544] 自发光

[0545] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验，以比较LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的自发光。将每种在DPBS+0.01％BSA中稀释至3uM。在DPBS+0.01％BSA(300ul对700ul)中制备每种的三倍系列稀释液，并置于96孔板的孔中。平板的最后一行包含furimazine对照(n＝12)。将50ul的每种滴定液(或对照)与50ulNanoGlo®缓冲液+50uM furimazine组合，孵育3分钟，然后在GMM+上进行读取。与LgBiT相比，LgTrip(即，LgTrip 3546)的自发光显著减弱(图19)。

[0546] 实施例24

[0547] LgTrip与β9/β10二肽的互补作用

[0548] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验，以确定β9/β10二肽(例如，pep263)(SEQ ID NO:35)与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)或LgBiT(SEQ ID NO:11)形成生物发光复合物的能力。将这种复合物的发光与LgTrip 3546与β9/β10二肽和LgBiT与SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)或二肽pep263(SEQ ID NO:35)的复合物的发光进行比较(图20)。将SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)和pep263(SEQ ID NO:35)在H_2O中稀释至2nM。从300nM开始，在TBS+0.01％BSA中制备每种肽的3X稀释系列。在NanoGlo®缓冲液+50uM furimazine(NanoGLo®试剂)中制备200nM LgTrip 3546和LgBiT的溶液。将50ul的每种滴定液与50ul的每种NanoGlo®试剂混合，孵育5分钟后读取发光。信号/背景通过用肽依赖性RLU的量除以背景读数来计算。结果表明二肽的K_d为HiBiT的约2-3倍，这是低肽浓度下RLU低的原因。LgBiT的背景将信号减弱到背景。LgBiT/二肽和LgTrip/二肽的RLU值相等。

[0549] 实施例25

[0550] LgTrip 2098和LgTrip 3546与SmTrip10和SmTrip9互补作用的比较

[0551] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验，以证明由雷帕霉素诱导的SmTrip9 pep245结合的FKBP与SmTrip10 pep86结合的Frb的结合所促进的LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)分别与SmTrip10和SmTrip9肽的互补作用(图21)。将FKBP-SmTrip9 pep245、SmTrip10 pep86-Frb和LgTrip 3546或LgTrip2098瞬时转染入HEK293细胞(20,000个细胞/孔/96孔板)。将样品暴露于雷帕霉素(以诱导FKBP/Frb复合物形成)和10μM furimazine的系列稀释液中，并测量发光。结果表明，SmTrip10 pep86对LgTrip 3546的亲和力为对LgTrip 2098的亲和力的约1/10。

[0552] 实施例26

[0553] 各种SmTrip10序列的亲和力

[0554] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验，在各种SmTrip10pep286(HiBiT;SEQ ID NO:25)序列与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)/SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)之间形成发光复合物(图22)。将酶在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至200nM，在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol(2X制成2nM)中制备系列稀释液(100ul至900ul中)，并将2nM样品以1:10稀释至TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol(500ul至4.5ml中)。从100uM开始，在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol+20uM的SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)中制备每份SmTrip10样肽的2倍稀释系列。将50ul的稀释的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)与50ul的肽滴定液组合，并在室温下孵育10分钟。向每种样品中加入100ul的TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol+20uM Furimazine，将样品孵育10分钟，然后在GMM+上进行读取。

[0555] 实施例27

[0556] 反向二肽

[0557] 在本文实施方案的开发过程中进行实验，以比较具有相反β链顺序的二肽(例如，β9-β10对β10-β9)激活互补多肽的能力(图23)。将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至200nM，并在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中制备(100ul至900ul中)每种的系列稀释液。将2nM样品以1:10稀释至TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中(500ul至4.5ml中)。在TBS+0.01％BSA+0.01％

Tergitol中制备每种二肽(pep326(SEQ ID NO:179)和pep263(SEQ ID NO:35))的20uM原液。在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中制备(250ul于250ul中)每种肽的2X系列稀释液。将50ul稀释的LgTrip 2098和LgTrip 3546与50ul的每个肽系列组合,并在室温下孵育20分钟。加入100ul的于TBS(20uM)中的LCS(活细胞基质;Promega目录号N205),并将样品孵育3分钟,然后在GMM+上进行读取。

[0558] 实施例28

[0559] 由SmTrip9(SEQ ID NO:23)和SmHiTrip(SEQ ID NO:25)或SmBiT(SEQ ID NO:13)组成的二肽针对SmTrip10组分的比较

[0560] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以比较包含SmHiTrip(SEQ ID NO:25)或SmBiT(SEQ ID NO:13)序列的二肽激活互补多肽的能力(图24)。将LgBiT、LgTrip 2098和LgTrip 2899(SEQ ID NO:364)在TBS+0.01％BSA中稀释至200nM。将多肽进一步以1:100稀释到NanoGlo®缓冲液+50uM Furimazine(30ul于3ml中)中。将Pep263(SEQ ID NO:35)和pep274(SEQ ID NO:147)在TBS+0.01％BSA中稀释至5uM。将50ul的每份LgBiT/LgTrip稀释液与50ul的肽稀释液组合,孵育5分钟,然后在GMM+上读取。

[0561] 实施例29

[0562] LGTrip 3546的C末端的添加/缺失

[0563] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以确定对肽标签的C末端添加/缺失和/或相应的添加/缺失对互补作用和发光的影响(图25)。表6列出了示例性测试肽和多肽。

[0564] 表6.肽标签和包含添加/缺失的多肽组分

SmTrip9 SmTrip10
LITPDGSMLFRVTINSVSGWRLFKKIS 注意: SmTrip9肽在其N末端含有附加SSWKR序列。

[0565]

LgTrip	C末端	SmTrip9	ID	SmTrip10	ID
ATG-3575 (又名 LgTrip+GS)	--LITPDGS	MLFRVTINS	292	VSGWRLFKKIS	86
ATG-3572 (又名 LgTrip+G)	--LITPDG	SMLFRVTINS	291	VSGWRLFKKIS	86
ATG-3573 (又名 LgTrip-D)	--LITP DGSMLFRVTINS		293	VSGWRLFKKIS	86
ATG-3574 (又名 LgTrip-PD	--LIT PDGSMLFRVTINS		294	VSGWRLFKKIS	86
ATG-3575 (又名 LgTrip+GS)	--LITPDGS	MLFRVTINSV	297	SGWRLFKKIS	219
ATG-3572 (又名 LgTrip+G)	--LITPDG	SMLFRVTINSV	296	SGWRLFKKIS	219
ATG-3573 (又名 LgTrip-D)	--LITP DGSMLFRVTINSV		298	SGWRLFKKIS	219
ATG-3574 (又名 LgTrip-PD	--LIT PDGSMLFRVTINSV		299	SGWRLFKKIS	219
ATG-3575 (又名 LgTrip+GS)	--LITPDGS	MLFRVTINSVS	302	GWRLFKKIS	206
ATG-3572 (又名 LgTrip+G)	--LITPDG	SMLFRVTINSVS	301	GWRLFKKIS	206
ATG-3573 (又名 LgTrip-D)	--LITP DGSMLFRVTINSVS		303	GWRLFKKIS	206
ATG-3574 (又名 LgTrip-PD	--LIT PDGSMLFRVTINSVS		304	GWRLFKKIS	206
ATG-3575 (又名 LgTrip+GS)	--LITPDGS	MLFRVTIN	308	SVSGWRLFKKIS	157
ATG-3572 (又名 LgTrip+G)	--LITPDG	SMLFRVTIN	307	SVSGWRLFKKIS	157
ATG-3573 (又名 LgTrip-D)	--LITP DGSMLFRVTIN		309	SVSGWRLFKKIS	157
ATG-3574 (又名 LgTrip-PD)	--LIT PDGSMLFRVTIN		310	SVSGWRLFKKIS	157
ATG-3575 (又名 LgTrip+GS)	--LITPDGS	MLFRVTI	312	NSVSGWRLFKKIS	158
ATG-3572 (又名 LgTrip+G)	--LITPDG	SMLFRVTI	311	NSVSGWRLFKKIS	158
ATG-3573 (又名 LgTrip-D)	--LITP DGSMLFRVTI		313	NSVSGWRLFKKIS	158
ATG-3574 (又名 LgTrip-PD)	--LIT PDGSMLFRVTI		314	NSVSGWRLFKKIS	158
ATG-3546 (又名 LgTrip)	--LITPD	GSMLFRVTINSV	295	SGWRLFKKIS	219
ATG-3546 (又名 LgTrip)	--LITPD	GSMLFRVTINSVS	300	GWRLFKKIS	206
ATG-3546 (又名 LgTrip)	--LITPD	GSMLFRVTIN	305	SVSGWRLFKKIS	157
ATG-3546 (又名 LgTrip)	--LITPD	GSMLFRVTI	306	NSVSGWRLFKKIS	158

[0566] 使添加/缺失多肽在50ml培养物中生长,沉淀,并重新悬浮在10ml的100mm HEPES pH 7.5+0.001U/ml DNA酶中。加入1ml的快速裂解细胞裂解试剂(Promega Corporation)和1ml的HisLink树脂(Promega Corporation),并在旋转摇床上于4℃下孵育3小时。使树脂沉降,并用100mM HEPES pH 7.5+10mM咪唑洗涤样品4次。将多肽在500ul HisLink洗脱缓冲液

中洗脱两次。使用热透析管来平衡至1X TBS。

[0567] 将酶在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至200nM,并且在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中制备系列稀释液(100ul至900ul中)。将2nM样品以1:10稀释至TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol(500ul至4.5ml中)中。根据表7,将SmTrip9样肽和SmTrip10样肽与多肽互补物组合,并在室温下孵育10分钟。加入100ul TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol+20uM furimazine,孵育10分钟,然后在GMM+上读取。

[0568] 表7.测试多肽/肽组合。

[0569]

组 1	SmTrip 9	SmTrip10
3546	286	86
3575	292	86
3572	291	86
3573	293	86
3574	294	86

组 2	SmTrip 9	SmTrip10
3546	286	86
3575	297	219
3572	296	219
3573	298	219
3574	299	219

组 3	SmTrip 9	SmTrip10
3546	286	86
3575	302	206
3572	302	206
3573	303	206
3574	304	206

组 4	SmTrip 9	SmTrip10
3546	286	86
3575	312	158
3572	312	158
3573	312	158
3574	312	158

组 5	SmTrip 9	SmTrip10
3546	286	86
3546	295	219
3546	300	206
3546	305	157
3546	306	158

[0570] 实施例30

[0571] 多肽/肽和/或肽/肽重叠

[0572] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以确定多肽组分与对应于β链的肽之间或两种肽之间的序列重叠(图26)。在此类实验中,多肽组分和肽或者两种肽各自包含对应于基本萤光素酶中的相同氨基酸的氨基酸。

[0573] 将多肽在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至200nM。在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中制备系列稀释液(100ul至900ul中)。将2nM的每份多肽样品以1:10稀释至TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中(500至4.5ml中)。根据表8,组合多肽和肽,即,50ul的每种LgTrip突变体与50ul的肽。将反应物在室温下孵育10分钟。接着,加入100ul的TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol+20uM Furimazine,将反应物再孵育10分钟,然后在GMM+光度计上进行读取。

[0574] 表8.测试多肽/肽组合。

[0575]

组1	SmTrip9	SmTrip10
3546	286	86
3546	286	219
3546	286	206
3546	286	157
3546	286	158

组2	SmTrip9	SmTrip10
3575	286	86
3575	286	219
3575	286	206
3575	286	157
3575	286	158

组3	SmTrip9	SmTrip10
3546	293	86
3546	293	219
3546	293	206
3546	293	157
3546	293	158

组4	SmTrip9	SmTrip10
3575	293	86
3575	293	86
3575	293	86
3575	293	86
3575	293	86

组5	SmTrip9	SmTrip10
3546	294	86
3546	294	219
3546	294	206
3546	294	157
3546	294	158

组6	SmTrip9	SmTrip10
3575	294	86
3575	294	219
3575	294	206
3575	294	157
3575	294	158

[0576] 实施例31

[0577] β9肽的同一性改变了β10肽的亲和力

[0578] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以确定多肽组分与对应于β链的肽之间或两种肽之间的序列重叠(图27)。这些结果表明β9链肽(SmTrip9)的序列可以影响β10链肽(SmTrip10)的亲和力。

[0579] SmTrip9滴定

[0580] 将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol稀释至200nM,并在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中制备系列稀释液(100ul至900ul中)。将2nM多肽样品以1:10稀释至TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中(500至4.5ml中)。

[0581] 从20uM开始,在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+100uM的SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)中制备每种SmTrip9肽的2倍稀释系列。将50ul稀释的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)与50ul的每种肽滴定液组合。将反应物在室温下孵育10分钟。加入100ul的TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+20uM furimazine,将反应物再孵育10分钟,并在GMM+上进行读取。

[0582] SmTrip10滴定

[0583] 将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中稀释至200nM,并在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中制备系列稀释液(100ul至900ul中)。将2nM多肽样品以1:10稀释至TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中(500至4.5ml中)。

[0584] 从100uM开始,在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+20uM的SmTrip9样肽中制备SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)的2倍稀释系列。将50ul稀释的LgTrip 3546与50ul的每种肽滴定液组合。将反应物在室温下孵育10分钟。加入100ul的TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+20uM furimazine,将反应物再孵育10分钟,然后在GMM+上进行读取。

[0585] 结果(图27)

[0586] 在恒定的SmTrip10 ep86(SEQ ID 15)存在的情况下滴定SmTrip 9肽变体(图27a),然后在饱和量的每种SmTrip9变体肽存在的情况下滴定SmTrip10 pep86。(图27b)这表明SmTrip10序列的亲和力可以根据SmTrip9序列而改变。实验证明,β9样肽(例如,SmTrip9)的同一性可以影响β10样肽(例如,SmTrip10)对多肽组分的亲和力。SmTrip9 pep293(SEQ ID NO:154)和SmTrip9 pep294(SEQ ID NO:155)序列与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的C末端有重叠,并显示与SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)(无重叠)相比,亲和力降低,但SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)对LgTrip 3546的亲和力也降低。SmTrip9 pep298(SEQ ID NO:158)和SmTrip9 pep299(SEQ ID NO:159)序列与LgTrip 3546的C末端和SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)的N末端重叠,并降低SmTrip10 pep86(HiBiT)对LgTrip 3546的亲和力。

[0587] 实施例32

[0588] β10肽同一性对β10肽组分对多肽和β9肽的亲和力的影响。

[0589] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以确定多肽组分与对应于β链的肽之间或两种肽之间的序列重叠或序列间隙如何影响β10样肽(例如,SmTrip10)的亲和力(图28)。将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中稀释至200nM,并在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中制备系列稀释液(100ul至900ul中)。将2nM多肽样品以1:10稀释至TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中(500于4.5ml中)。从100uM开始,在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+20uM的SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)中制备每种SmTrip10样肽的2倍稀释系列。将50ul稀释的LgTrip 3546与50ul的每种肽滴定液组合。将反应物在室温下孵育10分钟。加入100ul的TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+20uM furimazine,将反应物再孵育10分钟,然后在GMM+上进行读取。

[0590] 实施例33

[0591] 在各种饱和β10样肽存在的情况下,测量β9样肽的亲和力

[0592] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以确定在恒定浓度的各种β10样肽(例如,SmTrip10)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)存在的情况下,β9样肽(例如,SmTrip9)的亲和力如何受到影响(图29)。将多肽组分LgTrip 3546在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中稀释至200nM,在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol(2X制成2nM)中制备系列稀释液(100ul至900ul中),并将2nM样品以1:10稀释至TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol(500ul至4.5ml中)。从20uM开始,在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+100uM的每种SmTrip10样肽中制备每种β9样肽(SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)和SmTrip9 pep287(SEQ ID NO:148))的2倍稀释系列。将50ul稀释的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)与50ul的每种肽滴定液组合。将反应物在室温下孵育10分钟,加入100ul的TBS+0.01%BSA+0.01%Tegitol+20uM furimazine,将反应物再孵育10分钟,然后在GMM+上进行读取。

[0593] 实施例34

[0594] 构建体取向在HEK293细胞中对促进性互补作用的影响

[0595] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以确定相互作用元件(FRB和FKBP)相对于肽标签的取向对与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的互补作用的影响(图30)。大于100,000RLU的未诱导信号表示背景污染,这会降低明显的响应倍数。

[0596] 使HEK293细胞在37℃和5％CO_2下生长过夜。使用FuGENE方案，用每孔3ug DNA(SmTrip9 pep245-FKBP、FKBP-SmTrip9 pep245、SmTrip10 pep86-FKBP、FKBP-SmTrip10 pep86、SmTrip9 pep245-FRB、FRB-SmTrip9 pep245、SmTrip10 pep86-FRB或FRB-SmTrip10 pep86构建体)转染细胞。将细胞在DPBS清洗。加入1ml DPBS，将细胞在-80C冷冻约10分钟，并在室温下解冻。通过离心10分钟清洁裂解物，将其在TBS+200nM LgTrip(+/-30nM RAP)中以1:10稀释，并在室温下孵育30分钟。将50ul的每种样品与50ul的TBS+20uM Furimazine组合，并在5分钟时读取发光。

[0597] 实施例35

[0598] 构建体取向在大肠杆菌中对促进性互补作用的影响

[0599] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验，以确定相互作用元件(FRB和FKBP)相对于肽标签的取向对与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的互补作用的影响(图31)。

[0600] 在LB+100ug/ml氨苄青霉素中制备每种构建体的过夜培养物。将培养物以1:100稀释到诱导培养基(LB+amp+0.1％鼠李糖+0.15％葡萄糖)中，使细胞在25℃下生长20小时，并用PLB裂解缓冲液(0.3X PLB,25mM Hepes pH 7.5,0.001U/ul Rq1 DNA酶;250ul的细胞，750ul PLB)裂解15分钟。将细胞5倍稀释到不依赖于CO_2的培养基+10％FBS中，所述培养基含有200nM LgTrip 3546和+/-30nM RAP。将反应物在室温下孵育30分钟，与等体积的NanoGLo+50uM furimazine组合(50ul对50ul)，孵育5分钟，然后在GMM+上进行读取

[0601] 实施例36

[0602] 各种β10样肽的Kd测定

[0603] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验，以用LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)测量各种β10样肽的Kd值(图32)。将20uM SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)在TBS+0.005％+0.01％BSA中制成溶液。制备SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)、SmTrip10 pep288(SEQ ID NO:149)、SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)和SmTrip10 pep290(SEQ ID NO:151)的3X系列稀释液(150ul于350ul TBS+0.01％BSA+286溶液中，从100uM开始)。在TBS+0.01％BSA中制备20nM LgTrip 3546溶液，然后在TBS+0.01％BSA中以1:10稀释。将25ul的每种肽溶液与2.5ul LgTrip 3546溶液组合。将反应物孵育10分钟，加入28ul TBS+20uM LCS(Promega目录编号N205)，孵育10分钟，然后在GMM+上读取。该实验表明，与SmTrip10 pep86(HiBiT)相比，在SEQ ID NO:25的N末端添加“V”或“VS”增加了SmTrip10样肽的亲和力。

[0604] 实施例37

[0605] 多肽/β9分裂点对萤光素酶光输出的影响

[0606] 在本文实施方案的开发过程中进行实验，以分析在多肽组分与SmTrip9样肽之间移动分裂位点的影响(图33)。将具有各种C末端延伸或缺失的多肽组分在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至0.2nM，并向每种组分中加入50uM SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)。将SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)加入至在SmTrip10pep86+LgTrip溶液中为10uM，并将样品孵育10分钟。以1:1加入TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol+20uM furimazine检测试剂，并读取发光。所有合成的SmTrip9肽都含有N末端溶解度标签SSWKR。

[0607] 实施例38

[0608] LgTrip C末端与SmTrip9 pep286之间的序列间隙和重叠对萤光素酶光输出的影

响

[0609] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以分析多肽组分与SmTrip9样肽之间的间隙和/或重叠的影响(图34)。将具有各种C末端延伸或缺失的多肽组分在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中稀释至0.2nM,并向每种组分中加入50uM SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)。将10uM的SmTrip9 pep286加入到SmTrip10 pep86+LgTrip溶液中,并将反应物孵育10分钟。以1:1加入TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+20uM furimazine检测试剂,并读取发光。

[0610] 实施例39

[0611] SmTrip9与LgTrip 3546和SmTrip10 pep 86(HiBiT)的序列间隙和重叠对萤光素酶光输出的影响

[0612] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以分析SmTrip9样肽与多肽组分(例如,LgTrip)和/或SmTrip10样肽之间的间隙和/或重叠的影响(图35)。将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中稀释至0.2nM,并向每种中加入50uM SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)。在SmTrip10 pep86+LgTrip溶液中加入SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)至10uM,并将样品孵育10分钟。以1:1加入TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+20uM furimazine检测试剂,并读取发光。所有合成的SmTrip9肽都含有N末端溶解度标签,SSWKR。

[0613] 实施例40

[0614] SmTrip9肽长度变体的生化分析(Kd和Bmax)

[0615] 在本文的实施方案的开发过程中进行实验,以分析不同长度的SmTrip9肽与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:15)的互补作用(图36-37)。

[0616] SmTrip9滴定(图36)

[0617] 将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)多肽在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中稀释至0.2nM。在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中制备100uM SmTrip10 pep86。将20uM的每种SmTrip9样肽溶液加入到SmTrip10 pep86溶液中。使用SmTrip10 pep86溶液作为稀释剂,制备每种SmTrip9肽溶液的2X系列稀释液。将肽稀释液和LgTrip 3546溶液以1:1组合,并孵育10分钟。加入TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+20uM furimazine检测试剂(1:1),并检测发光。

[0618] HiBiT(SmTrip10)滴定(图37)

[0619] 将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)多肽在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中稀释至0.2nM。对于待测试的每一种SmTrip9样肽,在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中制备20uM SmTrip9样肽溶液。将100uM的SmTrip10 pep86溶液加入到每种SmTrip9样肽溶液中。使用每种SmTrip9样肽溶液作为稀释剂,制备SmTrip10 pep86的2X系列稀释液。将肽稀释液和LgTrip 3546溶液以1:1组合,并孵育10分钟。加入TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+20uM furimazine检测试剂(1:1),并检测发光。

[0620] 实施例41

[0621] SmTrip9 pep286点突变体的生化亲和力和Bmax

[0622] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以分析SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)

点突变体对LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)的亲和力。将LgTrip 3546多肽在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至0.2nM。在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中制备100uM SmTrip10 pep86。将20uM的每种SmTrip9样肽溶液加入到SmTrip10 pep86溶液中。使用SmTrip10 pep86溶液作为稀释剂,制备每种SmTrip9样肽溶液的2X系列稀释液。将等体积的肽稀释液和LgTrip溶液组合并孵育10分钟。加入TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol+20uM furimazine检测试剂(1:1,体积:体积),并检测发光(图38)以测定每种SmTrip9样肽的Kd和Bmax。

[0623] 实施例42

[0624] SmTrip9溶解度标签对生化亲和力和Bmax的影响

[0625] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以分析具有备选溶解度标签的SmTrip9样肽的亲和力(图39)。将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至0.2nM。在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中制备100uM SmTrip10/pep86溶液。在SmTrip10 pep86溶液中制备每种SmTrip9样肽的20uM溶液。使用SmTrip10 pep86溶液作为稀释剂,制备每种SmTrip9样肽的2X系列稀释液。将等体积的肽稀释液与LgTrip 3546溶液组合,并将反应物孵育10分钟。将TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol+20uM furimazine检测试剂以1:1体积:体积加入到反应中,孵育10分钟后读取发光。

[0626] 实施例43

[0627] C末端延伸序列

[0628] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以分析具有C末端序列延伸的SmTrip9样肽的亲和力(图40)。

[0629] SmTrip9肽滴定

[0630] 将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)多肽在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至0.2nM。在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中制备100uM SmTrip10 pep86。将20uM的每种SmTrip9样肽溶液加入到SmTrip10 pep86溶液中。使用SmTrip10 pep86溶液作为稀释剂,制备每种SmTrip9样肽溶液的2X系列稀释液。将肽稀释液和LgTrip 3546溶液以1:1组合,并孵育10分钟。加入TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol+20uM furimazine检测试剂(1:1),并检测发光。

[0631] SmTrip10 pep 86(HiBiT)滴定

[0632] 将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)多肽在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至0.2nM。对于待测试的SmTrip9样肽,在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中制备20uM SmTrip9样肽溶液。将100uM的SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)溶液加入到每个SmTrip9样溶液中。使用每种SmTrip9样肽溶液作为稀释剂,制备SmTrip10 pep86的2X系列稀释液。将肽稀释液和LgTrip 3546溶液以1:1组合,并孵育10分钟。加入TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol+20uM furimazine检测试剂(1:1),并检测发光。

[0633] 实施例44

[0634] 在KRX大肠杆菌裂解物中使用FRB-SmTrip10变体和融合有FKBP的SmTrip9 pep245测量FRB-FKBP促进性互补作用

[0635] 使FRB-SmTrip10变体、FKBP-SmTrip9 pep245和SmTrip9 pep245-FKBP的过夜培养物在来自甘油原液的LB+100ug/ml氨苄青霉素中生长。将细胞在LB+0.15％葡萄糖+0.1％鼠

李糖+Amp中以1:100稀释，并在25℃下振荡20小时。将培养物在PLB中以1:4稀释，并在室温下孵育15分钟以裂解细胞。将SmTrip9/SmTrip10肽组合以1:1(体积:体积)混合。将混合物以1:5稀释至含有或未含30nM雷帕霉素的PLB+200nM LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)中，并将反应物在室温下孵育30分钟。将每种反应物与50ul的NanoGlo®缓冲液+50uM Furimazine组合，并在5分钟时测量发光。诱导倍数(+rap信号/-rap信号)的结果如图41所示。FRB-SmTrip10变体肽构建体具有不同的接头长度、接头含量(有或没有丙氨酸-异亮氨酸)，并且含有或缺少六组氨酸标签。

[0636] 实施例45

[0637] 在HEK裂解物中使用FRB-SmTrip10变体和FKBP融合的SmTrip9 pep245测量FRB-FKBP的促进性互补作用

[0638] 使FRB-SmTrip10变体、FKBP-SmTrip9 pep245和SmTrip9 pep245-FKBP的过夜培养物在37℃和5％CO_2下生长。使用FuGENE方案，用1ug DNA(FKBP或FRB构建体)/孔转染细胞。将细胞在1ml DPBS中洗涤。加入1ml DPBS，将培养物在-80℃冷冻10分钟。将培养物在室温下解冻以裂解细胞。通过离心10分钟清洁裂解物，并在PLB中稀释2倍。将SmTrip9/SmTrip10肽组合以1:1(体积:体积)混合。将混合物以1:5稀释至含有或未含30nM雷帕霉素的PLB+200nM LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)中，并将反应物在室温下孵育30分钟。将每份反应物与50ul的NanoGlo®缓冲液+50uM Furimazine组合，并在5分钟时测量发光。诱导倍数(+rap信号/-rap信号)的结果如图42所示。FRB-SmTrip10变体肽构建体具有不同的接头长度、接头含量(有或没有丙氨酸-异亮氨酸)，并且含有或缺少六组氨酸标签。

[0639] 实施例46

[0640] 在KRX大肠杆菌裂解物中，使用FRB-SmTrip10 pep86(HiBiT)/SmTrip10 pep289(VS-HiBiT)和在两个方向上与FKBP融合的SmTrip9序列来测量FRB-FKBP促进性互补作用

[0641] 使FRB-SmTrip10 pep86(HiBiT;SEQ ID NO:25)或FRB-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)和与FKBP融合的SmTrip9样肽序列的过夜培养物在来自甘油原液的LB+100ug/ml氨苄青霉素中生长。将细胞在LB+0.15％葡萄糖+0.1％鼠李糖+Amp中以1:100稀释，并在25℃下振荡20小时。将培养物在PLB中以1:4稀释，并在室温下孵育15分钟以裂解。将SmTrip9/SmTrip10肽组合以1:1(体积:体积)混合。将混合物以1:5稀释至含有或未含30nM雷帕霉素的PLB+200nM LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)中，并将反应物在室温下孵育30分钟。将每种反应物与50ul的NanoGlo®缓冲液+50uM Furimazine组合，并在5分钟时测量发光。结果如图43-47所示。

[0642] 实施例47

[0643] 在HEK裂解物中使用FRB-SmTrip10 pep86(HiBiT)/SmTrip10 pep289(VS-HiBiT)和在两个方向上与FKBP融合的SmTrip9序列来测量FRB-FKBP促进性互补作用

[0644] 使FRB-SmTrip10 pep86(HiBiT;SEQ ID NO:25)或FRB-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)和与FKBP融合的SmTrip9样肽序列的过夜培养物在37℃和5％CO_2下生长。使用FuGENE方案，用1ug DNA(FKBP或FRB构建体)/孔转染细胞。将细胞在1ml DPBS中洗涤。加入1ml DPBS，并将培养物在-80℃下冷冻10分钟。将培养物在室温下解冻以裂解细胞。通过离心10分钟清洁裂解物，并在PLB中稀释2倍。将SmTrip9/SmTrip10肽组合以1:1(体积:体积)混合。将混合物以1:5稀释至含有或未含30nM雷帕霉素的PLB+200nM LgTrip 3546

(SEQ ID NO:51)中,并将反应物在室温下孵育30分钟。将每种反应物与50ul的NanoGlo®缓冲液+50uM Furimazine组合,并在5分钟时测量发光。结果如图48-50所示。

[0645] 实施例48

[0646] 在大肠杆菌裂解物中使用FRB-SmTrip10 pep86(HiBiT)/SmTrip10 pep289(VS-HiBiT)和与FKBP融合的SmTrip9序列测量FRB-FKBP促进性互补作用

[0647] 使FRB-SmTrip10 pep86(HiBiT;SEQ ID NO:25)或FRB-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)和与FKBP融合的SmTrip9样肽序列的过夜培养物在来自甘油原液的LB+100ug/ml氨苄青霉素中生长。将细胞在LB+0.15%葡萄糖+0.1%鼠李糖+Amp中以1:100稀释,并在25℃下振荡20小时。将培养物在PLB中以1:4稀释,并在室温下孵育15分钟以裂解。将SmTrip9/SmTrip10肽组合以1:1(体积:体积)混合。将混合物以1:5稀释至含有或未含30nM雷帕霉素的PLB+200nM LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)中,并将反应物在室温下孵育30分钟。将每种反应物与50ul的NanoGlo®缓冲液+50uM Furimazine组合,并在5分钟时测量发光。结果如图57、图59、图60、图62-63、图66-67和图70-71所示。在图57中,**表示紧接SmTrip9肽或SmTrip10肽的上游的接头中的丙氨酸-异亮氨酸(AI)已被去除。在所有随后的图中,丙氨酸-异亮氨酸分别不存在于与SmTrip9肽或SmTrip10肽的C末端FKBP或FRB融合物中。

[0648] 实施例49

[0649] 在HEK293裂解物中,使用FRB-SmTrip10 pep86(HiBiT)/SmTrip10 pep289(VS-HiBiT)和与FKBP融合的SmTrip9序列来测量FRB-FKBP促进性互补作用

[0650] 使FRB-SmTrip10 pep86(HiBiT;SEQ ID NO:25)或FRB SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)和与FKBP融合的SmTrip9样肽序列的过夜培养物在37℃和5%CO_2下生长。使用FuGENE方案,用3ug DNA(FKBP或FRB构建体)/孔转染细胞。将细胞在1ml DPBS中洗涤。加入1ml DPBS,并将培养物在-80℃下冷冻10分钟。将培养物在室温下解冻以裂解细胞。通过离心10分钟清洁裂解物,并在PLB中稀释2倍。将SmTrip9/SmTrip10肽组合以1:1(体积:体积)混合。将混合物以1:5稀释至含有或未含30nM雷帕霉素的PLB+200nM LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)中,并将反应物在室温下孵育30分钟。将每种反应物与50ul的NanoGlo®缓冲液+50uM Furimazine组合,并在5分钟时测量发光。结果如图58、图61、图64-65、图68-69和图72-73所示。在图58中,**表示紧接SmTrip9肽或SmTrip10肽的上游的接头中的丙氨酸-异亮氨酸(AI)已被去除。在所有随后的图中,丙氨酸-异亮氨酸分别不存在于与SmTrip9肽或SmTrip10肽的C末端FKBP或FRB融合物中。

[0651] 实施例50

[0652] 不同的SmTrip9序列的生化分析(Kd和Bmax)

[0653] 结果如图74-图76所示。

[0654] SmTrip9样肽滴定

[0655] 将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中稀释至0.2nM。在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中制备100uM SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)。在SmTrip10 pep86溶液中制备每种SmTrip9样肽的20uM溶液。使用SmTrip10 pep86溶液作为稀释剂,制备每种SmTrip9样肽的2X系列稀释液。将肽稀释液与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)溶液以1:1组合,并孵育10分钟。以1:1加入TBS+0.01%BSA+0.01%

Tergitol+20uM Furimazine(Fz)检测试剂。在10分钟时读取发光。

[0656] SmTrip10 pep86(HiBiT)滴定

[0657] 将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中稀释至0.2nM。在TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol中制备20uM的SmTrip9样肽溶液。将SmTrip10 pep86在每种SmTrip9样肽溶液中加入到100uM。使用SmTrip9样肽溶液作为稀释剂,制备每种SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)的2X系列稀释液。将肽稀释液与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)溶液以1:1组合,并孵育10分钟。以1:1加入TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol+20uM Furimazine(Fz)检测试剂。在10分钟时读取发光。

[0658] 实施例51

[0659] 合成SmTrip9肽的溶解度

[0660] 除非另有说明,否则合成肽由Peptide2.0合成,其中末端封闭(N末端乙酰化和C末端酰胺化)。将肽溶解在无核酸酶的水中至约1mM,并在4℃下在旋转器上混合30分钟。以最高速度离心10分钟后,将肽在水中以1:50稀释,并在NanoDrop上定量。将肽于-20℃下储存直至使用。如果肽在3次冷冻/解冻循环后仍保留在溶液中,则认为肽是可溶的,其中将肽在22℃水浴中解冻,保持在4℃,并在-20℃下冷冻。合成肽的溶解度如图77所示。

[0661] 实施例52

[0662] 环形排列的LgBiT

[0663] SmTrip9/pep286对SmTrip10 pep 86(HiBiT)-LgTrip 3546融合物的亲和力和和Bmax

[0664] 产生包含与LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的前面融合的SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)序列的融合多肽,并进行实验以监测SmTrip10 pep86 HiBiT-LgTrip融合物与SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)的复合物形成和发光(图78)。

[0665] 使过夜培养物在来自甘油原液的LB+100ug/ml氨苄青霉素中生长。将细胞在LB+0.15％葡萄糖+0.1％鼠李糖+Amp中以1:100稀释,并在25℃下振荡20小时。在FastBreak中裂解800μl培养物,并使用HisLink方案纯化每种SmTrip10 pep86-LgTrip融合物。从10uM开始,在含0.2nM SmTrip10 pep86-LgTrip融合物(ATG 3745(SEQ ID NO:211)或ATG 3746(SEQ ID NO:213))的TBS+0.01％Tergitol+0.01％BSA中制备2倍SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)系列稀释液。将反应物在室温下预孵育10分钟。以1:1(体积:体积)向样品中加入TBS+0.01％Tergitol+0.01％BSA和20uM Furimazine(Fz)。在10分钟时,在GloMax®光度计上读取发光。

[0666] SmTrip9/pep759对各种SmTrip10 pep 86(HiBiT)-LgTrip 3546融合物的亲和力

[0667] 使用1X TBS+0.01％BSA,从诱导的细胞培养物的沉淀物中,将沉淀物重悬于原始培养体积的1/10中(例如,将50mL培养物重悬于5mL中)。使用100份FastBreak®缓冲液、10份不含RNA酶的RQ1 DNA酶和1份1M DTT(例如,650μL FastBreak®缓冲液+65μL不含RNA酶的RQ1 DNA酶,和6.5μL 1M DTT或同等比例)制备裂解缓冲液。将1份裂解缓冲液加入到15mL管中的9份细胞悬浮液(例如33.3μL裂解缓冲液+300ul混悬液)中。在混合(使用旋转振荡器)的同时在4℃下孵育30分钟。在1X TBS+0.01％BSA中制备pep 759的4μM溶液。一式三份将50uL的4μM pep759加入到96孔板中的50μL的每种裂解物中。将50μL的每种裂解物一式三

份分别与50μL的1X TBS+0.01％BSA缓冲液混合。通过将100份NanoGlo®缓冲液与1份Furimazine(例如10mL缓冲液+100uLfurimazine)混合制备NanoGlo®试剂。向每个孔中加入100uL NanoGlo®试剂。使用Glomax® Multi仪动力学循环测量发光。约29分钟后比较发光测量值。将具有pep759的样品的发光读数除以没有pep759的相同裂解物的相应测量值。结果如图78B所示。使用两批培养物来产生数据:一批来自50mL培养物的诱导(右侧,ATG-4808至ATG-4632并包括ATG-4632),另一批来自3mL培养物的诱导(左侧,从ATG-4815开始至ATG-3746并包括ATG-3746)。在两个测试中都存在一些构建体(ATG-2623、ATG-3745、ATG-3746、ATG-4632)。

[0668] 实施例53

[0669] 去垢剂滴定

[0670] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以确定各种去垢剂对NanoLuc(SEQ ID NO:3)、LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)与二肽pep263(SEQ ID NO:35)的复合物的影响。

[0671] 暴露实验

[0672] 将500ul的20mM SDS或2mM CDTA或5％Tergitol加入到深孔板中。在TBS+0.01％BSA中制备每种去垢剂的3X系列稀释液(150ul于350ul中)。将100ul的每种稀释液与100ul的2nM NanoLuc、LgBiT或LgTrip组合,并将样品孵育18小时。将样品在TBS+0.01％BSA中以1:100稀释(5ul于495ul中)。一式三份将50ul的每种样品与50ul的TBS+0.01％BSA+20uM Furimazine(Fz)(对于NanoLuc)或TBS+0.01％BSA+20uM Furimazine(Fz)+2uM pep263(对于LgBiT和LgTrip)组合。加入试剂后3分钟,在GMM+上读取样品的发光。对去垢剂的长期暴露对LgBiT、LgTrip 3546和NanoLuc的结果如图79所示。

[0673] 活性实验

[0674] 在TBS+0.01％BSA中制备20ml 20uM Fz。将2ml 20mM SDS和2mM CDTA和5％Tergitol加入到深孔板中。向每种样品(8ul)中加入20uM Fz。在20uM Fz溶液中制备每种去垢剂的2X系列稀释液(1ml至1ml)。制备了于TBS+0.01％BSA中的400pM的NanoLuc溶液。制备了于TBS+0.01％BSA中的400pM的LgBiT+1uM pep 263(SEQ ID NO:35)溶液。制备了于TBS+0.01％BSA中的400pm的LgTrip3546(SEQ ID NO:51)+1uM pep263(SEQ ID NO:35)溶液。将50ul的每种酶溶液与50ul的去污剂滴定液组合,置于光度计中,在室温下孵育3分钟后进行读取。在去垢剂存在的情况下的LgBiT、LgTrip和NanoLuc活性结果如图80所示。

[0675] 实施例54

[0676] FRB-FKBP促进的复合物形成的可逆性

[0677] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以证明生物发光复合物形成的可逆性。从HEK293细胞的T75生长瓶中吸取培养基。用10ml DPBS洗涤细胞,并通过加入3ml Tryple Express胰蛋白酶进行胰蛋白酶处理。在37℃下孵育3分钟后,向烧瓶中加入10ml生长培养基(DMDM+10％FBS),用移液管混合细胞。将细胞以200rpm沉淀5分钟。将培养基吸出并用新鲜培养基替换。将细胞在T20细胞计数仪上计数,并稀释至200,000个细胞/ml。向六孔板的每个孔中加入3ml细胞悬浮液。使细胞在37℃和5％CO_2下生长过夜。为了转染细胞,将每种构建体的DNA稀释至100ng/ul的浓度,并且对于每种构建体(FKBP-SmBiT、FRB-LgBiT、FRB-

SmTrip10 pep86(HiBiT)、FKBP-SmTrip9 pep245)，向终体积为155ul的OptiMEM中加入3.3ug DNA。向稀释的DNA中加入9.9ul的FugeneHd，并孵育15分钟。然后将150ul的每种DNA复合物加入到铺在6孔板中的细胞中。使细胞在37℃和5％CO_2下生长过夜。抽吸培养基后，用DPBS(Life Technologies目录号14190)洗涤细胞一次，然后在-80℃下冷冻在新鲜的1ml DPBS中。然后将样品解冻以溶解细胞。将NanoBiT(FKBP-SmBiT+FRB-LgBiT)和NanoTrip(FRB-SmTrip10 pep86(HiBiT)+FKBP-SmTrip9 pep245+200nM纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51))的FRB和FKBP构建体组合，并与30nM雷帕霉素一起孵育30分钟。从10mM开始，在DMSO中制备FK506的稀释系列。在DMSO中进行3倍系列稀释(30ul至70ul中)。将200ul的每种FRB-FKBP组合等分到96孔PCR托盘中的8个孔中。加入2ul FK506稀释系列后，将每种样品在37℃孵育6小时。将50ul的每种样品与50ul的TBS+0.01％BSA+20uM Ffurimazine(Fz)组合，孵育3分钟，并在GMM+上进行读取。结果如图81所示。

[0678] 实施例55

[0679] 用SmTrip10肽进行LgTrip/SmTrip9滴定

[0680] 在本文实施方案的开发过程中进行实验，以分析利用各种SmTrip10肽进行的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)和SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)的滴定。将数据以SmTrip10 pep86(HiBiT)值作归一化。SmTrip10 pep86(HiBiT)为SmHiTrip10(SEQ ID NO:25)。

[0681] 将肽原液在水中稀释至250uM。在OptiMEM+10％FBS中制备了SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)溶液(在终反应中为10uM)。在含有SmTrip9 pep286的OptiMEM溶液中对每种SmTrip10肽进行2倍系列稀释。SmTrip10肽的最高浓度为15uM(反应中的终浓度)。在OptiMEM+10％FBS中制备LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的10X原液(1nM)，并将10ul加入到90ul的每种SmTrip10肽滴定液中。将样品在设定为500rpm的轨道振荡器上孵育30分钟。制备2ml检测试剂(OptiMEM+10％FBS+20ul 1M DTT+80ul的5mM Furimazine)。将10ul检测试剂添加到每一LgTrip 3546:肽溶液中，并将平板置于轨道振荡器上。在5分钟和10分钟时读取板。SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)和SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)被用作4个板中每一个的对照。结果如图82-图83所示。

[0682] 实施例56

[0683] Antares构建体

[0684] 在本文实施方案的开发过程中进行实验，以在Antares BRET系统的背景中显示本文所述的互补系统，所述Antares BRET系统包含一种或多种与本文所述系统的组分连接的CyOFP荧光蛋白。

[0685] 使用HisLink树脂纯化样品：加入10ml的100mM HEPES pH 7.5、1ml的FastBreak细胞裂解试剂和50u DNA酶，将样品置于旋转混合器上进行45分钟，然后以7,000rpm旋转20分钟。接着，向每种样品中加入1ml的HisLink树脂，将样品用5ml结合洗涤缓冲液洗涤3次，用300ul洗脱缓冲液进行洗脱，并针对TBS透析(2小时，更换TBS，再进行2小时)。将样品在TBS+0.01％BSA中稀释至100nM，然后通过将4ul添加至996ul TBS+0.01％BSA中进一步稀释至0.4nM。通过将300ul转移至700ul来制备3倍系列稀释液。在TBS+0.01％BSA中制备10ml的2uM二肽pep263(SEQ ID NO:35)。在TBS+0.01％BSA中制备10ml的400pM SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)。制备10ml的1uM SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)和10uM SmTrip10

pep86。将50ul的每种酶与TBS或二肽溶液组合(将所有样品以一式三份加至两个平板上)。将与LgBiT和LgTrip 3546的Antares融合物样品与SmTrip9 pep286+SmTrip10 pep86组合。将样品在室温下孵育1小时。将100ul的20um furimazine加入到TBS+0.01％BSA+2mM ATT中。将平板孵育3分钟,然后在GMM+上进行读取。结果如图84-85所示。

[0686] 实施例57

[0687] “暗”二肽272

[0688] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以在0.1nM pep 263存在的情况下,将具有“暗”二肽272(SEQ ID NO:146)的滴定系列与LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)进行比较。将LgBiT和LgTrip 3456在TBS+0.01％BSA和+/-0.4nM的二肽pep263(SEQ ID NO:35)中稀释至200nM,并孵育10分钟。从40nM(在该浓度下,LgBiT在高浓度下表现出抑制作用,因此Kd值无法计算;对于LgBiT,从4nM pep272开始产生新的滴定系列,以获得Kd值)开始制备二肽pep272的3X稀释系列。将50ul的肽稀释系列加入测定板中,然后加入50ul的LgBiT和LgTrip 3546稀释液。将样品在室温下孵育1小时。加入100ul的NanoGlo+50uM Furimazine(Fz)后,将平板孵育5分钟,在GMM+上读取发光。结果如图86所示。

[0689] 实施例58

[0690] 暗二肽pep272与pep273的比较

[0691] 将LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)在含有+/-0.4nM的二肽pep263(SEQ ID NO:35)或+/-0.4nM二肽pep264(SEQ ID NO:299)的TBS+0.01％BSA中稀释至200nM,并孵育10分钟。使用二肽pep263稀释液作为pep272的稀释液以及二肽pep264稀释液作为pep273的稀释液,从40nM开始制备二肽pep272(SEQ ID NO:146)和二肽pep273(SEQ ID NO:298)的3X稀释液系列。将50ul的LgBiT和LgTrip 3546稀释液与50ul的pep272/273滴定系列组合,在室温下孵育2小时。在加入100ul的NanoGlo®缓冲液+50uM Fz后,将平板在室温下孵育5分钟,并在GMM+上读取发光。结果如图87所示。

[0692] 实施例59

[0693] DarkBiT pep167

[0694] 制备含有200nM LgBiT(SEQ ID NO:11)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的溶液。将0.2nM SmTrip10 pep86(SmHiTrip;SEQ ID NO:25)添加到LgBiT溶液中,并将1uM的SmTrip9 pep286(SEQ ID NO:37)和200nM的SmTrip10 pep86添加到LgTrip 3546溶液中。从12uM开始,在TBS+0.01％BSA中制备暗点(dark bit)(pep167)(SEQ ID NO:300)滴定液。将50ul的暗点滴定液与50ul的LgBiT或LgTrip3546/pep167稀释液组合,并孵育1小时。加入100ul的NanoGlo®缓冲液+50uM Furimazine(Fz)后,将平板孵育10分钟,并在GMM+上读取发光。结果如图88所示。

[0695] 实施例60

[0696] SmTrip9 pep435/434变体在大肠杆菌裂解物中的FRB-FKBP促进性互补作用

[0697] 使培养物在来自甘油原液的LB+100ug/ml氨苄青霉素中生长过夜,并将细胞在LB+0.15％葡萄糖+0.1％鼠李糖+Amp中以1:100稀释。在25℃下振荡20小时后,将细胞在PLB中以1:4稀释,并在室温下孵育15分钟以裂解。将目标SmTrip9/SmTrip10肽组合的裂解物以1:1体积:体积混合,并在含有或未含30nM雷帕霉素的PLB+200nM LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)中以1:5稀释。将样品在室温下孵育30分钟,并与含有50uM Furimazine的NanoGlo®

缓冲液以1:1(体积:体积)组合。在5分钟时读取发光。结果如图89-90所示。

[0698] 实施例61

[0699] FRB-FKBP促进性互补作用

[0700] SmTrip9 pep435和pep434变体在HEK裂解物中的FRB-FKBP促进性互补作用

[0701] 将600,000个细胞添加到DMEM+1%FBS中的6孔板的每个孔中。使细胞在37℃和5%CO_2下生长过夜,并使用FuGENE方案用每孔3μg DNA(FKBP或FRB构建体)进行转染。在37℃和5%CO_2下孵育过夜后,用DPBS洗涤细胞。抽吸后,向每个孔中加入1ml新鲜DPBS,并将平板在-80℃下冷冻约10分钟。将平板在室温下解冻以裂解细胞,通过离心10分钟并除去上清液来清洁裂解物。将裂解物在PLB中稀释2倍,并将目标SmTrip9/SmTrip10肽组合以1:1(体积:体积)混合。然后将混合物在含有或未含30nM雷帕霉素的PLB+200nM LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)中以1:5稀释。将样品在室温下孵育30分钟,并与含有50uM Furimazine的NanoGlo®缓冲液以1:1体积:体积组合。在5分钟时读取发光。结果如图91所示。

[0702] 利用SmTrip9s 823和840进行的FRB-FKBP测定筛选

[0703] 使FKBP_SmTrip9变体和FRB-SmTrip10s的培养物在37℃下于LB+100ug/ml氨苄青霉素中过夜生长。将细胞在含有0.15%葡萄糖、0.1%鼠李糖和100ug/ml氨苄青霉素的LB中以1:20稀释。在25℃下振荡诱导培养物约20小时。用444nM LgTrip 3546,90x稀释的FRB-SmTrip10培养物、+/-35nM雷帕霉素制备PLB测定试剂。将90微升测定试剂添加到96孔分析板的每个孔中。将FKBP_SmTrip9培养物在PLB中以1:10稀释,并将10ul加入到测定板中。将样品在室温下孵育30分钟。将100微升含有50uM furimazine的NanoGlo加入到测定板孔中,并且5分钟后在GloMax上读取发光。结果如图92所示。

[0704] 实施例62

[0705] pep434和pep435变体Kd的测定

[0706] 将LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中稀释至0.2nM。用100um SmTrip10 pep86(SEQ ID NO:25)在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中制备每种SmTrip9样肽的20uM溶液。使用100uM SmTrip10 pep86溶液作为稀释剂,对每种SmTrip9样肽进行2倍系列稀释。将肽稀释液与LgTrip 3546溶液以1:1(体积:体积)组合并孵育10分钟。将TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol+20uM furimazine(Fz)检测试剂以1:1体积:体积加入到LgTrip/肽溶液中,并在10分钟时读取发光。结果如图93所示。

[0707] 实施例63

[0708] 使用LgTrip 3546检测加有CRISPR标签的二肽GAPDH

[0709] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以证明LgTrip 2098(SEQ ID NO:31)和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)均可用作生物发光试剂,用于检测内源性加标签的GAPDH(加有SMtrip 10pep 86(SMHiTrip;SEQ ID NO:25)标签的)。

[0710] 使用CRISPR/Cas9编辑HeLa细胞,以表达与指定的肽C末端融合的内源性GAPDH。将经编辑的HeLa细胞以约20,000个细胞/孔的密度接种在100μl的DMEM/10%FBS中的纯白色测定板中。然后将细胞在100μl含有NanoGlo®HiBiT裂解缓冲液和200nM LgTrip的NanoGlo® HiBiT裂解缓冲液(Promega)存在的情况下孵育10分钟。使用GloMax® Discover记录发光,积分时间为0.5s。根据制造商的方案,使用CellTiter® Glo

Luminescent细胞活力测定(Promega)来测定相对细胞数。数据表示为以细胞数作归一化的平均相对光单位,其中可变性表示为标准偏差。

[0711] 结果如图94所示。

[0712] 实施例64

[0713] SmTrip9的位点饱和筛选

[0714] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以鉴定SmTrip9中的有益氨基酸取代。

[0715] 遗传位点饱和文库是使用在SmTrip9中指定位置处具有随机密码子的引物产生的。将KRX大肠杆菌用混合的遗传变体转化,铺在LB+氨苄青霉素琼脂上,并在37℃下生长过夜。挑取单个菌落,并放入含LB+100ug/ml氨苄青霉素的96孔培养板中。使培养物在37℃下振荡生长过夜。将细胞在含有0.15%葡萄糖、0.1%鼠李糖和100ug/ml氨苄青霉素的LB中以1:20稀释。在25℃下振荡诱导培养物约20小时。通过将444nM LgTrip(SEQ ID NO:51)、90x稀释的FRB-VS-HiBiT培养物和+/-35nM雷帕霉素加入到含有0.3x被动裂解缓冲液(PLB)和DNA酶的25mM HEPES中来制备测定试剂。将90微升测定试剂添加到96孔分析板的每个孔中。将FKBP_SmTrip9培养物在PLB中以1:10稀释,并将10ul加入到测定板中。将样品在室温下孵育30分钟。将100微升含有50uM furimazine的NanoGlo®缓冲液加入到测定板孔中,并在5分钟后在GloMax®光度计上读取发光。

[0716] 结果如图100-112所示。

[0717] 实施例65

[0718] SmTrip9 pep435/434变体在大肠杆菌裂解物中的FRB-FKBP促进性互补作用

[0719] 使FKBP_SmTrip9变体和FRB-SmTrip10s的培养物在37℃下于LB+100ug/ml氨苄青霉素中过夜生长。将细胞在含有0.15%葡萄糖、0.1%鼠李糖和100ug/ml氨苄青霉素的LB中以1:20稀释。在25℃下振荡诱导培养物约20小时。将培养物在PLB中以1:4稀释,并在室温下孵育15分钟以裂解细胞。对于目标组合,将SmTrip9和SmTrip10稀释液以1:1(体积:体积)混合。将混合物以1:5稀释至含有或不含30nM雷帕霉素的PLB+200nM LgTrip中。将样品在室温下孵育30分钟。将50微升含有50uM furimazine的NanoGlo®缓冲液加入到测定板孔中,并在5分钟后在GloMax®光度计上读取发光。结果如图113-115所示。

[0720] 实施例66

[0721] 利用组合SmTrip9变体的FRB-FKBP促进性互补测定筛选

[0722] 使FKBP_SmTrip9变体和FRB-SmTrip10s的培养物在37℃下于LB+100ug/ml氨苄青霉素中过夜生长。将细胞在含有0.15%葡萄糖、0.1%鼠李糖和100ug/ml氨苄青霉素的LB中以1:20稀释。在25℃下振荡诱导培养物约20小时。用444nM LgTrip,90x稀释的FRB-SmTrip10培养物、+/-35nM雷帕霉素来制备PLB测定试剂。将90微升测定试剂添加到96孔分析板的每个孔中。将FKBP_SmTrip9培养物在PLB中以1:10稀释,并将10ul加入到测定板中。将样品在室温下孵育30分钟。将100微升含有50uM furimazine的NanoGlo®缓冲液加入到测定板孔中,并在5分钟后在GloMax®光度计上读取发光。结果如图116-122所示。

[0723] 实施例67

[0724] SmTrip9合成肽的Kd和Bmax的测定

[0725] 将LgTrip在TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol中稀释至0.2nM,并将pep289添加至

25uM。该溶液用作SmTrip9肽的5倍连续稀释系列的稀释剂。将样品在室温下平衡10分钟，并以一式三份等分至测定板中。将含有20uM furimazine的TBS+0.01％BSA+0.01％Tergitol以1:1体积:体积的比例加入样品中。将平板孵育10分钟，并读取发光。为了测定VS-HiBiT Kd，遵循相同的方案，但利用饱和SmTrip9(25um)以及VS-HiBiT的滴定。结果如图123-130所示。

[0726] 实施例68

[0727] 合成SmTrip9肽的溶解度测定

[0728] 除非另有说明，合成肽从Peptide2.0开始排序，其中末端封闭(N末端乙酰化和C末端酰胺化)。将肽溶解在无核酸酶的水中，并在-20℃储存。将原液在22℃水浴中解冻，离心，并保持在4℃直至使用。结果如图131所示。

[0729] 实施例69

[0730] SmTrip9合成肽与pep289的生化共滴定

[0731] 将LgTrip在含有0.3x被动裂解缓冲液(PLB)和DNA酶的25mM HEPES中稀释至200nM。将SmTrip9肽和pep289稀释至100uM，并在PLB中连续共滴定6倍。将样品在室温下孵育10分钟。将大多数浓缩样品在PLB中稀释50-100倍。将样品一式三份等分至测定板中，并以1:1体积:体积与NanoGlo®缓冲液+50uM furimazine混合。10分钟后在ClarioStar或GloMax®仪上读取发光。结果如图132-133所示。

[0732] 实施例70

[0733] SmTrip9和SmTrip 10合成肽的生化共滴定

[0734] 将LgTrip在含有0.3x被动裂解缓冲液(PLB)和DNA酶的25mM HEPES中稀释至200nM。将SmTrip9和SmTrip10肽稀释至100uM，并在PLB中连续共滴定6倍。将样品在室温下孵育10分钟。将大多数浓缩样品在PLB中稀释50-100倍。将样品一式三份等分至测定板中，并以1:1体积:体积与NanoGlo®缓冲液+50uM furimazine混合。10分钟后在ClarioStar或GloMax®仪上读取发光。结果如图134所示。

[0735] 实施例71

[0736] pep521和替代SmTrip 10合成肽的生化共滴定

[0737] 将LgTrip在含有0.3x被动裂解缓冲液(PLB)和DNA酶的25mM HEPES中稀释至200nM。将SmTrip10肽和pep521稀释至100uM，并在PLB中连续共滴定6倍。将样品在室温下孵育10分钟。将大多数浓缩样品在PLB中稀释50-100倍。将样品一式三份等分至测定板中，并以1:1体积:体积与NanoGlo®缓冲液+50uM furimazine混合。10分钟后在ClarioStar或GloMax®仪上读取发光。结果如图135所示。

[0738] 实施例72

[0739] 从LgTrip 3546模板中去除链(纯化)

[0740] 使来自每个克隆的单个菌落在LB+100ug/ml氨苄青霉素中于37℃下生长18小时。将过夜培养物以1:100稀释到50ml的Terrific液体培养基+0.1％鼠李糖+100ug/ml氨苄青霉素中。在15℃下生长48小时后，将细胞沉淀并重新悬浮于10ml的100mM HEPES pH 7.5+0.001U/ml DNA酶中。向每种样品中加入1ml FastBreak®裂解缓冲液，然后将样品在旋转混合器上于4℃下孵育1小时。通过以7000RPM离心10分钟来制备澄清的裂解物。

[0741] 使用MagneHis纯化系统纯化链:向每种样品中加入300ul MagneHis树脂(Promega),然后将样品混合20次,并放置在磁性支架上。除去上清液,然后用柱洗涤缓冲液洗涤树脂两次。将样品在600ul洗脱缓冲液中洗脱。然后将样品置于透析仪中,与TBS交换。通过如图136中描绘的SDS PAGE观察到链去除蛋白的鉴定。

[0742] 实施例73

[0743] 具有不同肽组合的链去除蛋白

[0744] 将200μl的OptiMEM+10%FBS加入到多孔板的多个孔中。将肽组合添加至10μM的最终浓度,其中每种肽组合用每种链去除蛋白分别进行测定。在OptiMEM+10%FBS中,将每条链去除蛋白稀释至20nM(LgTrip 3546为2nM)。将20μl的每条链去除肽添加到指定的肽组合中,混合样品,并将45μl一式三份等分到白色测定板(Costar 3600)的孔中。室温下孵育15分钟后,向每种样品中加入5μl检测试剂(100um Fz(Promega LCS N205))。将样品置于轨道振荡器上持续30秒,然后每2分钟测量一次发光,持续1小时。发光被报告为动力学读数的峰值高度。背景是OptiMEM+10%FBS+检测试剂。

[0745] 如图137所示,当作为单独的肽加入时,链去除蛋白7、8、9、10没有高于背景的信号。三种肽组合中的两种给出为背景的约2倍的信号((8+9)二肽+7+10)或((7+8)二肽+9+10)。3种肽组合中的一种给出为背景的约10倍的信号((9+10)二肽+7+8)。(10+9)+(7+8)的两个二肽组合给出高出背景约4.5log的信号。给出最大信号的肽组合可能具有最高的亲和力。较低亲和力的组合可在促进性互补作用测定中产生光。图137D证明了具有替代分裂位点的肽(例如,中β链)能够形成生物发光复合物。

[0746] 实施例74

[0747] 从LgTrip 3546模板中去除链6、链7、链8、链9或链10(纯化)

[0748] 将400μl的OptiMEM+10%FBS加入到深孔96孔板的多个孔中。将肽组合添加至终浓度为10μM,用ATG-3929或LgTrip分别测定每种肽。然后将肽溶液分份。向其中一个肽等分试样中,将20ul的20nM ATG-3929或2nM LgTrip加入到指定的肽组合中,混合样品,并将45μl的+/-肽样品一式三份等分到白色测定板(Costar 3600)的孔中。在室温下孵育15分钟后,向每种样品中加入5μl检测试剂(100uM Fz于OptiMEM+10%FBS(Promega LCS N205)中)。将样品在轨道振荡器上放置5分钟。每种样品的背景是OptiMEM+10%FBS+肽稀释液+检测试剂。

[0749] 如图138所示,具有链(9+10)+(7+8)+6的样品ATG-3929显示为背景的约2倍的信号。另一方面,具有两个肽(6+7+8)+(9+10)的样品显示为背景的约300倍。

[0750] 请注意,对于具有超过3种肽的样品,自发互补作用是不可见的。有可能亲和力不够高,肽的亲和力不够高,以至不能产生光。有可能的是,如果肽通过与融合配偶体的促进性互补作用而聚集在一起,就有可能获得信号。

[0751] 实施例75

[0752] 二肽滴定

[0753] 将二肽稀释至5uM,并使用TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol和0.2nM LgTrip作为稀释剂进行5倍连续稀释。样品在室温下孵育10分钟,并一式三份加入到测定板的孔中。将1比1体积:体积的TBS+0.01%BSA+0.01%Tergitol和20x稀释的活细胞基质加入样品中,并在10分钟后在GloMax光度计上读取平板。图139A-图139B显示了来自二肽滴定的Kd和Bmax

值。

[0754] 哺乳动物细胞中二元NanoTrip的倍数反应

[0755] 从细胞的汇合烧瓶中取出生长培养基。(HEK293和Hela)。用10ml DPBS洗涤细胞，然后向细胞中加入3ml TrypLE Express胰蛋白酶。将细胞在37℃下孵育3分钟。加入10ml生长培养基，然后将细胞以200RCF旋转5分钟。更换培养基，并将细胞重悬于10ml生长培养基中。对细胞进行计数并将其稀释至200,000/ml。将100ul细胞接种到白色测定板的每个孔中，并在37℃下用CO_2培养过夜。第二天，将来自LgTrip(3546)和每个方向上的各种二肽的FRB和FKBP融合物的100ng/ul DNA组合。263份样品在载体DNA中以1:10稀释或10ng/ul开始。然后将DNA样品连续稀释到载体DNA(10ul对90μl，于100ng/ul载体DNA中)中。接下来，将20ul的每份DNA稀释液加入83ul的OptiMEM中。将样品混合，然后向每种样品中加入6.6ul Viafect转染剂。将样品在室温下孵育20分钟，然后针对每个FRB-FKBP取向，将5ul转染复合物添加到6个细胞孔中。然后使平板在37℃和CO_2下生长过夜。第二天，将雷帕霉素(RAP)添加到每样品3个孔中，终浓度为100nM。将样品置于轨道振荡器上1分钟，然后在$_{37C}$下孵育30分钟。孵育后，向每种样品(+RAP和-RAP)中加入100ul NanoGlo+50uM Fz，然后将样品置于轨道振荡器上进行5分钟。使用Glomax Discover光度计获取发光测量值。通过将+RAP样品的RLU值除以-RAP样品的RLU值来计算响应倍数。结果如图139C-图139E所示。与具有较高亲和力的样品相比，对LgTrip亲和力较低的二肽融合物产生更大的响应倍数。

[0756] 实施例76

[0757] 使用三部分融合蛋白开发抗TNFa生物制剂的三部分定量测定

[0758] 英夫利昔单抗(Remicade)、阿达木单抗(Humira)和依那西普(Enbrel)是TNFa抑制剂，它们都结合人TNFa，并且都含有人IgG1 Fc。通过表达和纯化SmTrip9-或SmTrip 10-蛋白G和TNFa融合蛋白(其用作TNFa抑制剂的结合组分)，开发了针对所有3种TNFa抑制剂的定量测定(图140)。蛋白G融合蛋白将与TNFa抑制剂的保守IgG1 Fc区结合。所述抑制剂将与TNFa融合蛋白结合，使SmTrip9和SmTrip10非常接近。在LgTrip存在的情况下，生物发光复合物将形成，从而产生与TNFa抑制剂的存在量成比例的信号。所有的报告标签构型都是用SmTrip9或SmTrip10进行测试的，所述SmTriP9或SmTriP10通过4gly-ser或15gly-ser接头在蛋白G和TNFa的N末端或C末端上表达。从所有方向筛选得到的最佳配对是SmTrip 9-15gly/ser-蛋白G与TNFa-15gly/ser-SmTrip10。

[0759] 制备融合蛋白的方法

[0760] 表达并纯化了融合蛋白，所述融合蛋白包含SmTrip9 pep521(SEQ ID NO:268)序列，随后是15个甘氨酸-丝氨酸重复序列的接头，该接头与蛋白G的N末端融合。还表达和纯化了第二融合蛋白，所述第二融合蛋白包含SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)序列，其融合至人TNFa的C末端，由15个甘氨酸-丝氨酸重复序列的接头隔开。在含有氨苄青霉素(100ug/ml)的LB平板上产生来自KRX转化的大肠杆菌细胞的甘油贮存物的划线平板，并使其在37℃下孵育过夜。将单个菌落接种到3ml SOC培养基+AMP中，并在37℃下振荡(275rpm)孵育过夜。裂解细胞并收集质粒DNA。用100ng质粒DNA转化Shuffle感受态大肠杆菌细胞，将其铺在预热的选择平板上，并使其在30℃下孵育过夜。选择菌落并接种到50ml体积的含有氨苄青霉素的LB培养基中。将培养物在37℃下振荡培养过夜，然后以1:100稀释到500mL含氨苄青霉素的LB培养基中。使这些烧瓶在37℃下孵育，同时振荡，直至OD600达到0.6-0.8。

通过添加终浓度为1mM的IPTG诱导细胞，并使其在25℃下振荡孵育过夜。收集细胞，离心，并在4℃下于混合的情况下重悬于50mL提取和裂解缓冲液中。进行三次冷冻/解冻循环，然后加入RQI DNA酶。将全部裂解物转移到think50mL离心管中，并在4℃下以10,000xg旋转30分钟。加入20mM咪唑/350mM NaCl，然后将其装载到镍柱上。在5步洗脱过程中，随着咪唑的增加，融合蛋白被洗涤并洗脱出柱子。将样品针对TBS进行透析，并将最终的储备蛋白在-20℃下储存在50％的于TBS中的甘油中。

[0761] 实施例77

[0762] 使用SmTrip9 pep521-蛋白G和TNFa-SmTrip10 pep289融合蛋白对TNFa抑制剂英夫利昔单抗、阿达木单抗和依那西普进行均相定量分析

[0763] 在本文实施方案的开发过程中进行实验，以确定NanoTrip融合蛋白在均相测定中定量TNFa抑制剂的能力。结果表明，蛋白G和TNFa NanoTrip融合蛋白与LgTrip一起显示出对定量英夫利昔单抗、阿达木单抗和依那西普的高度灵敏性和宽范围。

[0764] 在测定缓冲液中产生TNFa抑制剂的2X原液，以1:2连续稀释以产生剂量反应，并以50ul/孔加入到非结合表面处理的96孔固体-白色平板(Costar 3600)中。在测定缓冲液中制备2X纯化LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)(终浓度1uM)+SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)(最终为10nM)+TNFa-SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)(最终为10nM)，并以50ul/孔加入。使平板在室温下孵育90分钟。将测定缓冲液中的Nano-Glo®活细胞基质的5X原液以25ul/孔加入到平板中，获得为10uM的终浓度，使其孵育约5分钟，并使用GloMax® Discover测量萤光。测定缓冲液由在PBS(pH 7.0)中稀释至最终为0.01％的于PBS中的BSA的封闭BSA(10％)(Thermo)组成。将样品每板一式三份进行测试，n＝3个独立实验运行。对图141中显示的数据进行了检测限(LOD)、定量限(LOQ)和定量上限(ULOQ)分析。

[0765] 实施例78

[0766] 对诸如人血清和尿液等的复杂样品基质中英夫利昔单抗的均相定量分析

[0767] 在本文实施方案的开发过程中进行实验，以确定在均相测定中，在正常人IgG贫化血清、正常汇集人AB血清和汇集的正常人尿液的复杂样品基质存在的情况下，NanoTrip融合蛋白定量英夫利昔单抗的能力。结果表明，NanoTrip系统很大程度上不受尿液和血清蛋白存在的影响，但内源性IgG除外。

[0768] 通过用测定缓冲液稀释，形成含有20nM英夫利昔单抗的存在待测人样品基质的2X原液，并将50ul/孔加入经非结合表面处理的96孔固体白板(Costar 3600)中。在测定缓冲液中产生纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)(终浓度为1uM)+SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)(最终为10nM)+TNFa-SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)(最终为10nM)的2X预混合物，并以50ul/孔加入。使平板在室温下孵育90分钟。将测定缓冲液中的Nano-Glo®活细胞基质的5X原液以25ul/孔加入到平板中，获得为10uM的终浓度，使其孵育约5分钟，并使用GloMax®Discover测量萤光。测定缓冲液由在PBS(pH7.0)中稀释至最终为0.01％的于PBS中的BSA的封闭BSA(10％)(Thermo)组成。将样品一式三份进行测试。图142所示的数据显示为信号/背景。

[0769] 实施例79

[0770] 在溶液相均相测定中，在100pM英夫利昔单抗存在的情况下，通过SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)和TNFa-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)融合

蛋白以及纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的促进性互补作用进行的信号产生的动力学分析。

[0771] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以测定蛋白G/TNFa NanoTrip系统的结合动力学,从而在溶液相均相分析中定量100pM英夫利昔单抗。结果表明,信号产生是立即和持续的,表明融合蛋白与英夫利昔单抗以及LgTrip与SmTrip9和SmTrip10融合蛋白的快速结合动力学。

[0772] 在测定缓冲液中产生2X英夫利昔单抗原液(最终为100pM),并以50ul/孔加入到非结合表面处理的96孔固体-白色平板(Costar 3600)中。在测定缓冲液中制备纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)(终浓度为1uM)+SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)(最终为10nM)+TNFa-SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)(最终为10nM)的2X预混合物,并以50ul/孔加入。将测定缓冲液中的Nano-Glo®活细胞基质的5X原液以25ul/孔加入到平板中,终浓度为10uM。加入所有试剂,并将板立即放在GloMax®Discover上,以读取随时间推移的发光。测定缓冲液由在PBS(pH 7.0)中稀释至最终为0.01%的于PBS中的BSA的封闭BSA(10%)(Thermo)组成。将样品一式三份进行测试。

[0773] 结果如图143所示。

[0774] 实施例80

[0775] 在溶液相均相测定中,测试SmTrip9-蛋白G变体通过与TNFa-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)融合蛋白纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的促进性互补作用来测量英夫利昔单抗的能力

[0776] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以确定在溶液相均相测定中,作为与蛋白G的融合蛋白表达的其它SmTrip9变体通过与TNFa-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)融合蛋白纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的促进性互补作用测量英夫利昔单抗的能力。结果显示所有测试的SmTrip9 pep(x)-蛋白G变体都能够产生信号。

[0777] 在测定缓冲液中产生英夫利昔单抗的2X原液(最终为10nM),并以50ul/孔加入到经非结合表面处理的96孔纯白色平板(Costar 3600)中。在测定缓冲液中制备纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)(终浓度为1uM)+SmTrip9 pep(x)-蛋白G(最终为10nM)+TNFa-SmTrip10pep289(SEQ ID NO:150)(最终为10nM)的2X预混合物,并以50ul/孔加入。使平板在室温下孵育90分钟。将测定缓冲液中的Nano-Glo®活细胞基质的5X原液以25ul/孔加入到平板中至终浓度为10uM,使其孵育约5分钟,并使用GloMax® Discover测量发光。测定缓冲液由在PBS(pH 7.0)中稀释至最终为0.01%的于PBS中的BSA的封闭BSA(10%)(Thermo)组成。将样品一式三份进行测试。结果如图144所示。

[0778] 实施例81

[0779] 均相定量英夫利昔单抗测试SmTrip9 pep(X)-蛋白G变体和TNFa-SmTrip10 pep289融合蛋白

[0780] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以证明在溶液相均相测定中,不同SmTrip9 pep(X)-蛋白G变体通过与TNFa-SmTrip10 pep289(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)融合蛋白以及纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的促进性互补作用定量英夫利昔单抗的能力。结果显示所有SmTrip9变体都能够定量英夫利昔单抗。

[0781] 在测定缓冲液中产生英夫利昔单抗的2X原液(终浓度为10nM),并以50ul/孔加入

到经非结合表面处理的96孔纯白色平板(Costar 3600)中。在测定缓冲液中制备纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)(终浓度为1uM)+SmTrip9 pep(x)-蛋白G(最终为10nM)+TNFa-SmTrip10pep289(SEQ ID NO:150)(最终为10nM)的2X预混合物,并以50ul/孔加入。使平板在室温下孵育90分钟。将测定缓冲液中的Nano-Glo®活细胞基质的5X原液以25ul/孔加入到平板中至终浓度为10uM,使其孵育约5分钟,并使用GloMax®Discover测量发光。测定缓冲液由在PBS(pH 7.0)中稀释至最终为0.01%的于PBS中的BSA的封闭BSA(10%)(Thermo)组成。将样品一式三份进行测试。

[0782] 实施例82

[0783] 在基于细胞的测定中使用三部分融合蛋白开发用于抗EGFR生物制剂的三部分定量测定。

[0784] 我们开发了用于帕尼单抗和西妥昔单抗的定量的、基于细胞的测定,其代表了相分离或类似表面化学的测定。通过使用将结合EGFR抑制剂的保守人IgG Fc区的纯化的SmTrip9-蛋白G融合蛋白,所述抑制剂将结合在细胞表面表达的SmTrip10-EGFR融合蛋白,这使得SmTrip 9和SmTrip10紧密接近。在LgTrip存在的情况下,生物发光复合物将形成,从而产生与存在的EGFR抑制剂的量成比例的信号。所有的报告标签构型都是用在蛋白G的N或C末端或EGFR的N末端上表达的具有4gly-ser接头或15gly-ser接头的SmTrip9或SmTrip10进行测试的。从所有方向筛选得到的最佳配对是SmTrip9-4gly/ser-蛋白G与EGFR-15gly/ser-SmTrip10。

[0785] 结果如图145所示。

[0786] 实施例83

[0787] 在基于细胞的均相测定中,通过与SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)融合蛋白和具有纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的表达SmTrip10 pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的细胞的促进性互补作用定量帕尼单抗。

[0788] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以在基于细胞的均相测定中确定NanoTrip融合蛋白定量EGFR抑制剂帕尼单抗的能力。结果表明,SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)纯化的蛋白、表达SmTrip10 pep289-EGFR(SEQ ID NO:150)的细胞和LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)对于定量帕尼单抗表现出极高的灵敏度和极大的范围。

[0789] 在湿润的组织培养箱中,在37℃/5%CO_2下将HEK293细胞保持在补充有10%胎牛血清(FBS,Hyclone)的生长培养基(DMEM)中。通过首先将SmTrip10 pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的表达构建体以1:10的质量比稀释到含有载体DNA(PGEM-3ZF(-))的Opti-MEM中来进行瞬时反向转染。转染剂:DNA复合物是通过以1:3的比例(mg DNA/mL FuGENE HD)加入FuGENE HD转染剂,然后在室温下孵育15分钟来制备的。然后将所得的转染:DNA复合物与HEK293细胞悬浮液(2×10^5个细胞/ml)在生长培养基中以1:20(体积/体积)的比例混合,然后在湿润的组织培养箱中于37℃/5%CO_2下孵育18-20小时。

[0790] 将表达SmTrip10 pep289-EGFR(SEQ ID NO:150)融合蛋白的HEK293细胞使用胰蛋白酶-EDTA来收获,在生长培养基中洗涤,并以$4.5x10^5$个细胞/ml的浓度重悬于Opti-MEM中。将50ul细胞/孔(20,000个细胞/孔)加入到非结合表面、纯白色96孔板(Costar 3600)中。在Opti-MEM中产生帕尼单抗的4X原液,将所述原液于Opti-MEM中连续稀释以产生剂量反应,并以25ul/孔加入。在Opti-MEM中制备了纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)(终浓度

为1uM)+SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)(最终为5nM)的4X预混合物,并以25ul/孔加入。使平板在37℃下孵育1小时将测定缓冲液中的Nano-Glo®活细胞基质的5X原液,以25ul/孔加入到平板中,终浓度为10uM,并在GloMax®Discover上测量发光。将样品一式三份进行测试。N=3个独立实验。

[0791] 结果如图146所示。

[0792] 实施例84

[0793] 在基于细胞的均相测定中,在剂量递增的西妥昔单抗存在的情况下,通过SmTrip9 pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)纯化的融合蛋白和与纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)配对的表达SmTrip10pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的HEK293细胞的促进性互补作用进行的信号产生的实时结合动学分析。

[0794] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以确定在基于细胞的均相测定中蛋白G/EGFR NanoTrip系统定量西妥昔单抗的结合动力学。结果表明,随着萤光素酶复合物的形成,发光信号随时间而增加。信号产生也是剂量依赖性的。

[0795] 在湿润的组织培养箱中,在37℃/5%CO_2下将HEK293细胞保持在补充有10%胎牛血清(FBS,Hyclone)的生长培养基(DMEM)中。通过首先将SmTrip10 pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的表达构建体以1:10的质量比稀释到含有载体DNA(PGEM-3ZF(-))的Opti-MEM中来进行瞬时反向转染。转染剂:DNA复合物是通过以1:3的比例(mg DNA/mL FuGENE HD)加入FuGENE HD转染剂,然后在室温下孵育15分钟来制备的。然后将所得转染:DNA复合物与HEK293细胞悬浮液(2x10^5个细胞/ml)在生长培养基中以1:20(体积/体积)的比例混合,然后在湿润的组织培养箱中于37℃/5%CO_2下孵育18-20小时。

[0796] 将表达SmTrip10 pep289-EGFR融合蛋白的HEK293细胞用胰蛋白酶-EDTA来收获,在生长培养基中洗涤,并以4.5x10^5个细胞/ml的浓度重悬于Opti-MEM中。将50ul的细胞/孔(20,000个细胞/孔)加入到非结合表面、纯白色96孔板(Costar 3600)中。在Opti-MEM中产生了西妥昔单抗的4X原液,并以25ul/孔加入。在Opti-MEM中产生了纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)(终浓度为10uM)+SmTrip9pep521-蛋白G(SEQ ID NO:268)(最终为780pM)的4X预混合物,并以25ul/孔加入。将测定缓冲液中的Nano-Glo®活细胞基质的5X原液以25ul/孔加入到平板中,终浓度为10uM。加入所有试剂,并将平板立即放在GloMax®Discover上,以读取随时间推移的发光。将样品一式三份进行测试。

[0797] 结果如图147所示。

[0798] 实施例85

[0799] 在基于细胞的均相测定中,测试SmTrip9-蛋白G变体通过和与纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)配对的表达SmTrip10pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID No:150)的细胞的促进性互补作用测量帕尼单抗的能力。

[0800] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以确定在基于细胞的均相测定中,作为与蛋白G的融合蛋白表达的其它SmTrip9变体通过和与纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)配对的表达SmTrip10pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的细胞的促进性互补作用测量帕尼单抗的能力。结果表明,所有测试的SmTrip9 pep(x)-蛋白G变体都能够产生信号。

[0801] 在湿润的组织培养箱中,在37℃/5%CO_2下将HEK293细胞保持在补充有10%胎牛血清(FBS,Hyclone)的生长培养基(DMEM)中。通过首先将SmTrip10 pep289-EGFR(VS-

HiBiT;SEQ ID NO:150)的表达构建体以1:10的质量比稀释到含有载体DNA(PGEM-3ZF(-))的Opti-MEM中来进行瞬时反向转染。转染剂:DNA复合物是通过以1∶3的比例(mg DNA/mL FuGENE HD)加入FuGENE HD转染剂,然后在室温下孵育15分钟来制备的。然后将所得的转染:DNA复合物与HEK293细胞悬浮液(2×10^5个细胞/ml)在生长培养基中以1∶20(体积/体积)的比例混合,然后在湿润的组织培养箱中于37℃/5%CO_2下孵育18-20小时。

[0802] 将表达SmTrip10 pep289-EGFR(SEQ ID NO:150)融合蛋白的HEK293细胞用胰蛋白酶-EDTA来收获,在生长培养基中洗涤,并以4.5x10^5个细胞/ml的浓度重悬于Opti-MEM。将50ul的细胞/孔(20,000个细胞/孔)加入到非结合表面、纯白色96孔板(Costar 3600)中。在Opti-MEM中产生了帕尼单抗(最终为1nM)的4X原液,并以25ul/孔加入。在Opti-MEM中产生了纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)(终浓度为1uM)+SmTrip9 pep(X)-蛋白G(最终为10nM)的4X预混合物,并以25ul/孔加入。使平板在37℃下孵育1小时。将测定缓冲液中的Nano-Glo®活细胞基质的5X原液,以25ul/孔加入到平板中,终浓度为10uM,并在GloMax®Discover上测量发光。将样品一式三份进行测试。N=3个独立实验。结果如图148所示。

[0803] 实施例86

[0804] 在基于细胞的均相测定中,测试SmTrip9-蛋白G变体通过和与纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)配对的表达SmTrip10 pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的细胞的促进性互补作用测量帕尼单抗的能力。

[0805] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以确定在基于细胞的均相测定中,作为与蛋白G的融合蛋白表达的其它SmTrip9变体通过和与纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)配对的表达SmTrip10 pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的细胞的促进性互补作用测量帕尼单抗的能力。结果表明,所有测试的Smtrip9 pep(x)-蛋白G变体都能够在剂量反应分析中定量帕尼单抗。

[0806] 在湿润的组织培养箱中,在37℃/5%CO_2下将HEK293细胞保持在补充有10%胎牛血清(FBS,Hyclone)的生长培养基(DMEM)中。通过首先将SmTrip10 pep289-EGFR(VS-HiBiT;SEQ ID NO:150)的表达构建体以1:10的质量比稀释到含有载体DNA(PGEM-3ZF(-))的Opti-MEM中来进行瞬时反向转染。转染剂:DNA复合物是通过以1:3的比例(mg DNA/mL FuGENE HD)加入FuGENE HD转染剂,然后在室温下孵育15分钟来制备的。然后将所得转染:DNA复合物与HEK293细胞悬浮液(2x10^5个细胞/ml)在生长培养基中以1:20(体积/体积)的比例混合,然后在湿润的组织培养箱中于37℃/5%CO_2下孵育18-20小时。

[0807] 将表达SmTrip10 pep289-EGFR(SEQ ID NO:150)融合蛋白的HEK293细胞使用胰蛋白酶-EDTA来收获,在生长培养基中洗涤,并以4.5×10^5个细胞/ml的浓度重悬于Opti-MEM中。将50ul的细胞/孔(20,000个细胞/孔)加入到非结合表面、纯白色96孔板(Costar 3600)中。在Opti-MEM中产生了帕尼单抗(最终为1nM)的4X原液,并以25ul/孔加入。在Opti-MEM中产生了纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)(终浓度为1uM)+SmTrip9 pep(X)-蛋白G(最终为10nM)的4X预混合物,并以25ul/孔加入。使平板在37℃下孵育1小时将测定缓冲液中的Nano-Glo®活细胞基质的5X原液,以25ul/孔加入到平板中,终浓度为10uM,并在GloMax®Discover上测量发光。将样品一式三份进行测试。结果如图149所示。

[0808] 实施例87

[0809] 使用NanoTrip化学标记的配对抗体定量人IL-1β

[0810] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以证明已与NanoTrip肽化学缀合的配对单克隆抗体用于定量人IL-1β的用途。该模型系统由两种在不同表位处识别IL-1β的小鼠单克隆抗体组成。HaloTag-SmTrip9 pep521(SEQ ID NO:268)与所述抗体之一化学缀合,并且HaloTag-SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)与另一抗体化学缀合。在IL-1β存在的情况下,所述两种抗体与IL-1β结合,从而使所述两种标签非常接近。LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的添加完成互补,并产生发光信号。

[0811] 表达并纯化HaloTag-SmTrip9和HaloTag-SmTrip10融合蛋白。将抗IL-1β小鼠单克隆抗体克隆508A 4A2(Thermo)用HaloTag-SmTrip9pep521(SEQ ID NO:268)标记,并且将抗IL-1β小鼠单克隆抗体克隆508A 7G8(Thermo)用HaloTag-SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)标记。通过首先使用Zeba柱将缓冲液交换成10mM $NaHCO_3$(pH 8.5)来制备未标记的抗体。然后用20倍过量的HaloTag®琥珀酰亚胺酯(04)配体(Promega)激发抗体,并将其在室温下孵育2小时。使用Zeba柱进行2次缓冲液交换,以去除游离的接头。在混合的同时,将激发抗体与4倍过量的HaloTag-SmTrip9或HaloTag-SmTrip10在4C下孵育过夜。将HaloLink®树脂用于去除任何游离的HaloTag®融合蛋白。

[0812] 在测定缓冲液中产生重组人IL-1β的2X原液,将其以1:2连续稀释以产生剂量反应,并以50ul/孔加入到非结合表面处理的96孔纯白色平板(Costar 3600)中。在测定缓冲液中制备了纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)(终浓度为1uM)+SmTrip9 pep521标记的4A2克隆(SEQ ID NO:268)(最终为100ng/ml)+SmTrip10 pep289标记的7G8克隆(SEQ ID NO:150)(最终为100ng/ml)的2X预混合物,并以50ul/孔加入。将测定缓冲液中的Nano-Glo®活细胞基质的5X原液以25ul/孔添加到平板中至终浓度为10uM,并使用GloMax®Discover实时测量发光。测定缓冲液由在PBS(pH 7.0)中稀释至最终为0.01%的于PBS中的BSA的封闭BSA(10%)(Thermo)组成。将样品一式三份进行测试。显示的数据是在20分钟时间点读取的信号。

[0813] 结果如图150所示。

[0814] 实施例88

[0815] 使用NanoTrip化学标记的配对抗体研究人肌钙蛋白的实时结合动力学

[0816] 在本文实施方案的开发过程中进行实验,以证明已与NanoTrip肽化学缀合的配对单克隆抗体用于定量人肌钙蛋白的用途。该模型系统由两种在不同表位处识别肌钙蛋白的小鼠单克隆抗体组成。HaloTag-SmTrip9 pep521(SEQ ID NO:268)与所述抗体之一化学缀合,并且HaloTag-SmTrip10 pep289(SEQ ID NO:150)与另一抗体化学缀合。在肌钙蛋白存在的情况下,所述两种抗体与肌钙蛋白结合,从而使所述两个标签非常接近。LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)的加入完成互补,并产生发光信号。

[0817] 表达并纯化HaloTag-SmTrip9和HaloTag-SmTrip10融合蛋白。将抗肌钙蛋白小鼠单克隆抗体10-T79C(Fitzgerald)用HaloTag-SmTrip10pep289(SEQ ID NO:150)标记,并且将抗肌钙蛋白小鼠单克隆抗体10-T79F(Fitzgerald)用HaloTag-SmTrip9 pep521(SEQ ID NO:268)标记。通过首先使用Zeba柱将缓冲液交换成10mM NaHCO3(pH 8.5)来制备未标记的

抗体。然后用20倍过量的HaloTag®琥珀酰亚胺酯(04)配体(Promega)激发抗体，并将其在室温下孵育2小时。使用Zeba柱进行2次缓冲液交换，以去除游离的接头。在混合的同时，将激发抗体与4倍过量的HaloTag-SmTrip9或HaloTag-SmTrip10在4℃下孵育过夜。将HaloLink®树脂用于去除任何游离的HaloTag®融合蛋白。

[0818] 在检测缓冲液中产生重组人肌钙蛋白(最终为1ug/ml)的2X原液，并以50ul/孔加入到非结合表面处理的96孔纯白色平板(Costar 3600)中。在检测缓冲液中制备纯化的LgTrip 3546(SEQ ID NO:51)(终浓度为1uM)+SmTrip9 pep521标记的10-T79F克隆(SEQ ID NO:268)(最终为1ug/ml)+SmTrip10 pep289标记的10-T79C克隆(SEQ ID NO:150)(最终为1ug/ml)的2X预混合物，并以50ul/孔加入。将测定缓冲液中的Nano-Glo®活细胞基质的5X原液以25ul/孔加入到平板中至终浓度为10uM，并使用GloMax®Discover实时测量发光。测定缓冲液由在PBS(pH 7.0)中稀释至最终为0.01％的于PBS中的BSA的封闭BSA(10％)(Thermo)组成。将样品一式三份进行测试。

[0819] 结果如图151所示。

[0820] 实施例89

[0821] 易位测定

[0822] HiBiT表现出非常高的对LgBiT多肽(K_D＝1nM)和其它类似的互补多肽的亲和力。两个片段之间的强相互作用将在没有任何刺激的情况下驱动互补作用(图154)，这不适用于易位测定。进行了一项研究，以确定易位测定的两个组分(例如，肽和多肽)之间的最佳亲和力。发现最佳亲和力在280nM至1300nM的范围内。LgBiT(E11K/I44M/N135V/L150S)中的四重突变，称为LgBiT*，将其与HiBiT的相互作用减弱约1000倍($K_{D=}$1296nM)，使得HiBiT/LgBiT*对非常适合易位测定。设计并测试了两种不同的易位测定。

[0823] 开发了测量在PMA刺激下PKCα从胞质溶胶易位至质膜的膜易位测定(membrane translocation assay)。在HeLa细胞中，PKCα在C末端处被HiBiT内源性加标签。分离经编辑的细胞的克隆，选择具有最高发光信号的最佳克隆来进行测定。使用转染法将LgBiT*-膜传感器引入克隆。PMA的加入将PKCα-HiBiT募集至质膜上，在质膜上HiBiT与LgBiT*相遇，从而产生光。取决于转染的LgBiT*的量，PMA的滴定在响应方面产生12至19倍的增加(图155)。

[0824] 开发了测量在TNFα刺激下p65从胞质溶胶向细胞核的移动的核易位测定。类似于膜易位测定，建立了核易位测定。具体而言，在HeLa细胞中，p65在C末端处被内源性加标签，并且LgBiT*-核传感器通过转染方法被引入p65-HiBiT细胞系。TNFα的处理促进p65-HiBiT向细胞核易位，在细胞核中HiBiT与LgBiT*之间发生互补作用，从而产生发光信号。TNFα的滴定导致响应增加至4倍(图156A)。所述测定允许实时测量蛋白质易位。如图156B所示，在TNFα的刺激下，p65迁移到细胞核大约需要30分钟，这与文献中的发现一致。

[0825] 实施例90

[0826] LgBiT突变体与HiBiT的Kd和Bmax值比较

[0827] 从1.22uM开始，在OptiMEM+10％FBS中制备HiBiT肽的溶液。将肽稀释液连续3倍稀释至OptiMEM+10％FBS中。(300ul于700ul中)。将纯化的LgBiT或LgBiT突变体稀释至OptiMEM+10％FBS中，直至2nM的浓度。将90ul肽溶液与10ul LgBiT稀释液(最终为0.2nM LgBiT)组合。将样品在轨道振荡器上孵育30分钟，然后加入11ul的100uM的于OptiMEM+10％

FBS中的furimazine。将样品置于轨道振荡器上5分钟，然后使用GloMax Multi+光度计读取发光。使用一位点特异性结合非线性回归，用GraphPad Prism计算Bmax和Kd(图157A-图157B)。

[0828] 实施例91

[0829] LgBiT突变体裂解物对HiBiT的亲和力

[0830] 在37℃下生长LgBiT和每种LgBiT突变体的过夜培养物。将每种培养物以1:100稀释至LB+0.1％鼠李糖和0.15％葡萄糖中。在25℃下生长20小时通过用PLB裂解缓冲液稀释等体积的诱导培养物来制备每种培养物的裂解物。(PLB裂解缓冲液为0.3X PLB+25mM HEPES pH 7.5)。然后将每种裂解物以10,000X稀释至PLB裂解缓冲液中。将起始于300nM的合成HiBiT肽的稀释系列制备成NanoGlo®测定缓冲液+50uM furimazine。将50ul每种稀释的裂解物与50ul的肽/NanoGLo®滴定液组合。将样品孵育3分钟，然后在GloMax® multi+光度计上读取样品的发光(图158)。

[0831] 序列

[0832] 下列多肽序列各自包含N末端甲硫氨酸残基或相应的ATG密码子；缺少N-末端甲硫氨酸残基或相应的ATG密码子的多肽序列也在本文的范围内，并通过引用并入本文。

[0833] 下列肽序列(和表1的肽序列)各自缺少N末端甲硫氨酸残基；包含N-末端甲硫氨酸残基的肽序列也在本文的范围内，并通过引用并入本文。

[0834] 本文描述的一些实施方案参考了表1中的加有His标签(或加有非His标签的)序列；利用序列的加有非His标签(或加有His标签的)形式的替代实施方案(出现在表1中，或者未列出)都在本文的范围内。

[0835] 表1.示例性肽、二肽和多肽序列。

[0836]

SEQ ID NO	名称	序列
1	WT OgLuc	MFTLADFVGDWQQTAGYNQDQVLEQGGLSSLFQALGVSVT PIQKVVLSGENGLKADIHVIIPYEGLSGFQMGLIEMIFKVVYP VDDHHFKIILHYGTLVIDGVTPNMIDYFGRPYPGIAVFDGKQI TVTGTLWNGNKIYDERLINPDGSLLFRVTINGVTGWRLCENIL A
2	WT OgLuc	atggtgtttaccttggcagatttcgttggagactggcaacagacagctggatacaaccaagatcaa gtgttagaacaaggaggattgtctagtctgttccaagccctgggagtgtcagtcaccccaatccag aaagttgtgctgtctggggagaatgggttaaaagctgatattcatgtcatcatcccttacgagggac tcagtggttttcaaatgggtctgattgaaatgatcttcaaagttgtttacccagtggatgatcatcattt caagattattctccattatggtacactcgttattgacggtgtgacaccaaacatgattgactactttgg acgcccttaccctggaattgctgtgtttgacggcaagcagatcacagttactggaactctgtggaa cggcaacaagatctatgatgagcgcctgatcaacccagatggttcactcctcttccgcgttactatc aatggagtcaccggatggcgcctttgcgagaacattcttgcc
3	NanoLuc	MKHHHHHHAIAMVFTLEDFVGDWRQTAGYNLDQVLEQGG VSSLFQNLGVSVTPIQRIVLSGENGLKIDIHVIIPYEGLSGDQM GQIEKIFKVVYPVDDHHFKVILHYGTLVIDGVTPNMIDYFGRP YEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLINPDGSLLFRVTING VTGWRLCERILAV
4	NanoLuc	atgaaacatcaccatcaccatcatgcgatcgccatggtcttcacactcgaagatttcgttggggact ggcgacagacagccggctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgttt cagaatctcggggtgtccgtaactccgatccaaaggattgtcctgagcggtgaaaatgggctgaa gatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcggcgaccaaatgggccagatcgaa aaaatttttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgcactatggcacact ggtaatcgacggggttacgccgaacatgatcgactatttcggacggccgtatgaaggcatcgcc gtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacg agcgcctgatcaaccccgacggctccctgctgttccgagtaaccatcaacggagtgaccggctg gcggctgtgcgaacgcattctggcggtt
5	WT OgLuc Lg	MFTLADFVGDWQQTAGYNQDQVLEQGGLSSLFQALGVSVT PIQKVVLSGENGLKADIHVIIPYEGLSGFQMGLIEMIFKVVYP VDDHHFKIILHYGTLVIDGVTPNMIDYFGRPYPGIAVFDGKQI TVTGTLWNGNKIYDERLINPD

[0837]

6	WT OgLuc β9	GSLLFRVTIN
7	WT OgLuc β10	GVTGWRLCENILA
8	WT NanoLuc Lg	MVFTLEDFVGDWRQTAGYNLDQVLEQGGVSSLFQNLGVSV TPIQRIVLSGENGLKIDIHVIIPYEGLSGDQMGQIEKIFKVVYP VDDHHFKVILHYGTLVIDGVTPNMIDYFGRPYEGIAVFDGKKI TVTGTLWNGNKIIDERLINPD
9	WT NanoLuc β9	GSLLFRVTINV
10	WT NanoLuc β10	GVTGWRLCERILA
11	LgBit	MVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT VTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
12	LgBit	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctg ttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccac
13	SmBit	VTGYRLFEEIL
14	SmBit	gtgaccggctaccggctgttcgaggagattctg
15	HiBit	VSGWRLFKKIS
16	HiBit	gtgagcggctggcggctgttcaagaagattagc
17	LgTrip 2098	MVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT VTGTLWNGNKIIDERLITPD
18	LgTrip 2098	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggattgtccggagcggtgaaaatgCcctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgac
19	LgTrip 3092 His	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPD

[0838]

20	LgTrip 3092 His	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatccaaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggc aaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatca ccccccgac
21	LgTrip 3092	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT VTGTLWNGNKIIDERLITPD
22	LgTrip 3092	atggtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcat gaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagct gaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacag ggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgac
23	SmTrip9	GSMLFRVTINS
24	SmTrip9	ggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagc
25	SmHiTrip 10	VSGWRLFKKIS
26	SmHiTrip 10	gtgagcggctggcggctgttcaagaagattagc
27	5P-B9	MVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLFQNLAVSVT PIQRIVLSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEKIFKVVYPV DDHHFKVILHYGTLVIDGVTPNMINYFGRPYEGIAVFDGKKIT VTGTLWNGNKIIDERLITPD
28	5P-B9	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgtttcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaa aggattgtcctgagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggt ctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaaaaaatttttaaggtggtgtaccctgtggatgatcat cactttaaggtgatcctgcactatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgatcaac tatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacaggga ccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgac
29	5P(147-157)	GSMLFRVTINV
30	5P(147-157)	ggctccatgctgttccgagtaaccatcaac
31	LgTrip 2098 His	MKHHHHHHVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGI AVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPD

	32	LgTrip 2098 His	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatccaaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggc aaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatca ccccccgac
	35	SmTrip9/ 10 二肽 (pep263)	GSMLFRVTINSVSGWRLFKKIS
	36	SmTrip9/ 10 二肽 (pep263)	ggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagcgtgagcggctggcggctgttcaagaagattag c
	37	SmTrip9+ (pep286)	SSWKRGSMLFRVTINS
	38	SmTrip9+ (pep286)	Agcagctggaagcgcggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagc
	39	LgTrip 3440	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGDTPNKLNYFGRPYDGI AVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPD
[0839]	40	LgTrip 3440	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggatacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgatggcatcgccgtgttcgacgg caaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatc acccccgac
	41	LgTrip 3121	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPSKLNYFGRPYEGIA VFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPD
	42	LgTrip 3121	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgagcaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacgg caaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatc acccccgac
	43	LgTrip 3482	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGF AVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPD

[0840]

44	LgTrip 3482	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcttcgccgtgttcgacggc aaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatca ccccccgac
45	LgTrip 3497	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVCDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPD
46	LgTrip 3497	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgtgcgacgg caaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatc acccccgac
47	LgTrip 3125	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKISVTGTLWNGNKIIDERLITPD
48	LgTrip 3125	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacaagctgaactatttcgggcggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacgg caaaaagatctctgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatc acccccgac
49	LgTrip 3118	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKITATGTLWNGNKIIDERLITPD
50	LgTrip 3118	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacgg caaaaagatcactgcaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgat caccccgac
51	LgTrip 3546	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD

[0841]

52	LgTrip 3546	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacgg caaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatc acccccgac
53	LgTrip 3546+G (ATG 3572)	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT TTGTLWNGNKIIDERLITPDG
54	LgTrip 3546+G (ATG 3572)	atggtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcat gaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagct gaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccaca gggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggc
55	LgTrip 3546-D (ATG 3573)	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT TTGTLWNGNKIIDERLITP
56	LgTrip 3546-D (ATG 3573)	atggtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcat gaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagct gaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccaca gggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcaccccc
57	LgTrip 3546-PD (ATG 3574)	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT TTGTLWNGNKIIDERLIT
58	LgTrip 3546-PD (ATG 3574)	atggtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcat gaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagct gaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccaca gggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacc
59	LgTrip 3546+GS (ATG 3575)	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT TTGTLWNGNKIIDERLITPDGS

	60	LgTrip 3546+GS (ATG 3575)	atggtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcat gaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagct gaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccaca gggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggcagc
	61	-V_LgBi T (ATG361 8)	MFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPI QRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVD DHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKITV TGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
	62	-V_LgBi T (ATG361 8)	atgttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagt ccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaaag gattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtct gagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatc actttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctgaact atttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagggac cctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctgttcc gagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
	63	-VF_LgB iT (ATG361 9)	MTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPI QRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVD DHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKITV TGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
[0842]	64	-VF_LgB iT (ATG361 9)	atgacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtcc ttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaaagga ttgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctga gcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcac tttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctgaactatt tcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagggaccct gtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctgttccga gtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
	65	-VFT_Lg BiT (ATG362 0)	MLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIQ RIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDD HHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKITVT GTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
	66	-VFT_Lg BiT (ATG362 0)	atgctcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttga acagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaaaggattgt ccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcg ccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcacttta aggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctgaactatttcg gacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagggaccctgtg gaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctgttccgagta accatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
	67	-VFTL_L gBiT (ATG362 1)	MEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIQRI VRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDH HFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKITVTG TLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH

[0843]

68	-VFTL_LgBiT (ATG3621)	atggaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
69	(M)FKKIS-GSSG-LgBiT (ATG3632)	MFKKISGSSGVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
70	(M)FKKIS-GSSG-LgBiT (ATG3632)	atgttcaagaagattagcggctcgagcggtgtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
71	(M)KKIS-GSSG-LgBiT (ATG3633)	MKKISGSSGVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
72	(M)KKIS-GSSG-LgBiT (ATG3633)	atgaagaagattagcggctcgagcggtgtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
73	(M)KIS-GSSG-LgBiT (ATG3634)	MKISGSSGVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
74	(M)KIS-GSSG-LgBiT (ATG3634)	atgaagattagcggctcgagcggtgtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacgcaaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa

[0844]

75	(M)IS-GSSG-LgBiT (ATG3635)	MISGSSGVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
76	(M)IS-GSSG-LgBiT (ATG3635)	atgattagcggctcgagcggtgtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacgggttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcaccccgacggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
77	(M)S-GSSG-LgBiT (ATG3636)	MSGSSGVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
78	(M)S-GSSG-LgBiT (ATG3636)	atgagcggctcgagcggtgtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcaccccgacggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
79	LgTrip + GSM (ATG3722)	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSM
80	LgTrip + GSM (ATG3722)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacgggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggcagcatgtaa
81	LgTrip + GSML (ATG3723)	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSML
82	LgTrip + GSML (ATG3723)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacgggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatc

[0845]

		accccccgacggcagcatgctgtaa
83	LgTrip + GSMLF (ATG3724)	MKHHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLF
84	LgTrip + GSMLF (ATG3724)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacgg caaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatc accccgacggcagcatgctgttctaa
85	LgTrip – TPD (ATG3725)	MKHHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLI
86	LgTrip – TPD (ATG3725)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacgg caaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatc taa
87	LgTrip – ITPD (ATG3726)	MKHHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERL
88	LgTrip – ITPD (ATG3726)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacgg caaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgtaa
89	LgTrip – LITPD (ATG3727)	MKHHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDER
90	LgTrip – LITPD (ATG3727)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagaca gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacgg caaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgctaa

[0846]

91	FRB-15GS-AI-86 (ATG1634)	MVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISGGSGGGGSGGSSSGGAIVSGWRLFKKIS
92	FRB-15GS-AI-86 (ATG1634)	atggtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtactttggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggggccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaagagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctctattatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtggcgggagcggtggctcgagcagcggtggagcgatcgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagctaa
93	FRB-15GS-AI-289 (ATG3586)	MVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISGGSGGGGSGGSSSGGAIVSVSGWRLFKKIS
94	FRB-15GS-AI-289 (ATG3586)	atggtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtactttggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggggccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaagagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctctattatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtggcgggagcggtggctcgagcagcggtggagcgatcgttagcgttagcggctggcgcctgttcaagaagatcagctaa
95	FRB-15GS-AI-86-His6 (ATG3743)	MVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISGGSGGGGSGGSSSGGAIVSGWRLFKKISHHHHHH
96	FRB-15GS-AI-86-His6 (ATG3743)	atggtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtactttggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggggccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaagagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctctattatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtggcgggagcggtggctcgagcagcggtggagcgatcgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagccatcatcaccatcaccactaa
97	FRB-15GS-AI-289-His6 (ATG3744)	MVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISGGSGGGGSGGSSSGGAIVSVSGWRLFKKISHHHHHH
98	FRB-15GS-AI-289-His6 (ATG3744)	atggtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtactttggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggggccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaagagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctctattatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtggcgggagcggtggctcgagcagcggtggagcgatcgttagcgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagccatcatcaccatcaccactaa
99	His6-FRB-5GS-86 (ATG3760)	MKHHHHHHVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISGGSGGVSGWRLFKKIS

[0847]

100	His6-FRB-5GS-86 (ATG3760)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtactttggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggggccccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaagagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctctattatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagctaa
101	His6-FRB-10GS-86 (ATG3761)	MKHHHHHHVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISGGSGGGGSGGVSGWRLFKKIS
102	His6-FRB-10GS-86 (ATG3761)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtactttggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggggccccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaagagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctctattatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtggcgggagcggtggcgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagctaa
103	His6-FRB-15GS-86 (ATG3762)	MKHHHHHHVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISGGSGGGGSGGSSSGGVSGWRLFKKIS
104	His6-FRB-15GS-86 (ATG3762)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtactttggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggggccccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaagagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctctattatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtggcgggagcggtggctcgagcagcggtggagtgagcggctggcggctgttcaagaagattagctaa
105	His6-FRB-5GS-289 (ATG3763)	MKHHHHHHVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISGGSGGVSVSGWRLFKKIS
106	His6-FRB-5GS-289 (ATG3763)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtactttggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggggccccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaagagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctctattatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtgttagcgttagcggctggcgcctgttcaagaagatcagctaa
107	His6-FRB-10GS-289 (ATG3764)	MKHHHHHHVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISGGSGGGGSGGVSVSGWRLFKKIS

[0848]

108	His6-FRB-10GS-289 (ATG3764)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtactttggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggggccccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaagagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctctattatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtggcgggagcggtggcgttagcgttagcggctggcgcctgttcaagaagatcagctaa
109	His6-FRB-15GS-289 (ATG3765)	MKHHHHHHVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAMMERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDLTQAWDLYYHVFRRISGGSGGGGSGGSSSGGVSVSGWRLFKKIS
110	His6-FRB-15GS-289 (ATG3765)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtactttggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggggccccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaagagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctctattatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtggcgggagcggtggctcgagcagcggtggagttagcgttagcggctggcgcctgttcaagaagatcagctaa
111	SmTrip9-FKBP 融合模板 (ATG780)	M— GSMLFRVTINS—SSSGGGGSGGGSSGGGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTG MLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLE
112	SmTrip9-FKBP 融合模板 (ATG780)	atgggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagctcgagttcaggtggtggcgggagcggtggagggagcagcggtggaggagtgcaggtggaaaccatctccccaggagacgggcgcaccttccccaagcgcggccagacctgcgtggtgcactacaccgggatgcttgaagatggaaagaaatttgattcctcccgggacagaaacaagccctttaagtttatgctaggcaagcaggaggtgatccgaggctgggaagaagggttgcccagatgagtgtgggtcagagagccaaactgactatatctccagattatgcctatggtgccactgggcacccaggcatcatcccaccacatgccactctcgtcttcgatgtggagcttctaaaactggaataa
113	FKBP-SmTrip9 融合模板 (ATG777)	MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSRDRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYAYGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLEGGSGGGGSGGSSSGGAI— GSMLFRVTINS
114	FKBP-SmTrip9 融合模板 (ATG777)	Atgggagtgcaggtggaaaccatctccccaggagacgggcgcaccttccccaagcgcggccagacctgcgtggtgcactacaccgggatgcttgaagatggaaagaaatttgattcctcccgggacagaaacaagccctttaagtttatgctaggcaagcaggaggtgatccgaggctgggaagaaggggttgcccagatgagtgtgggtcagagagccaaactgactatatctccagattatgcctatggtgccactgggcacccaggcatcatcccaccacatgccactctcgtcttcgatgtggagcttctaaaactggaaggtggttcaggtggtggcgggagcggtggctcgagcagcggtggagcgatcggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagc
115	LgBiT (ATG2623)	MVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH

[0849]

116	LgBiT (ATG2623)	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacaggggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
133	pep78	NVSGWRLFKKISN
134	pep79	NVTGYRLFKKISN
135	pep80	VSGWRLFKKISN
136	pep81	SGWRLFKKISN
137	pep82	GWRLFKKISN
138	pep99	VTGYRLFEKIS
139	pep219	SGWRLFKKIS
140	pep225	VSGWRL
141	pep226	VSGWRLF
142	pep227	VSGWRLFK
143	pep228	VSGWRLFKK
144	pep229	VSGWRLFKKI
145	pep243	VSGWRLYKKIS
146	pep272	GSMLFRVTINSVSGWALFKKIS
147	pep274	GSMLFRVTINSVTGYRLFEEIL
148	pep 287(WT SmTrip 9)+Cterm 溶解度标签	GSMLFRVTINSSSWKR
149	pep288	VSGVSGWRLFKKIS
150	pep289	VSVSGWRLFKKIS
151	pep290	VVSGWRLFKKIS
152	pep291	SSWKRSMLFRVTINS
153	pep292	SSWKRMLFRVTINS
154	pep293	SSWKRDGSMLFRVTINS
155	pep294	SSWKRPDGSMLFRVTINS
156	pep296	SSWKRSMLFRVTINSV
157	pep297	SSWKRMLFRVTINSV
158	pep298	SSWKRDGSMLFRVTINSV
159	pep299	SSWKRPDGSMLFRVTINSV
160	pep301	SSWKRSMLFRVTINSVS
161	pep302	SSWKRMLFRVTINSVS
162	pep303	SSWKRDGSMLFRVTINSVS
163	pep304	SSWKRPDGSMLFRVTINSVS

[0850]

164	pep305	SSWKRGSMLFRVTIN
165	pep306	SSWKRGSMLFRVTI
166	pep307	SSWKRSMLFRVTIN
167	pep308	SSWKRMLFRVTIN
168	pep309	SSWKRDGSMLFRVTIN
169	pep310	SSWKRPDGSMLFRVTIN
170	pep311	SSWKRSMLFRVTI
171	pep312	SSWKRMLFRVTI
172	pep313	SSWKRDGSMLFRVTI
173	pep314	SSWKRPDGSMLFRVTI
174	pep316	VSGWRLFKKISVFTL
175	pep317	VSGWRLFKKISVFT
176	pep318	VSGWRLFKKISVF
177	pep319	VSGWRLFKKISV
178	pep320	VSGWRLCKKIS
179	pep326	VSGWRLFKKISGSMLFRVTINS
180	pep380	SSWKRLFRVTINS
181	pep383	SSWKRFRVTINS
182	pep386	SSWKRRVTINS
183	pep389	SSWKRTPDGSMLFRVTINS
184	pep392	SSWKRITPDGSMLFRVTINS
185	pep395	SSWKRLITPDGSMLFRVTINS
186	pep396	SSRGSMLFRVTINSWK
187	pep397	SKRGSMLFRVTINSWS
188	pep398	SWRGSMLFRVTINS
189	pep400	SSRGSMLFRVTIWK
190	pep401	SSWKRGSMLYRVTINS
191	pep402	SSWKRGSMLWRVTINS
192	pep403	SSWKRGSMLHRVTINS
193	pep404	SSWKRGSLLFRVTINS
194	pep405	SSWKRGSKLFRVTINS
195	pep406	SSWKRGSRLFRVTINS
196	pep407	SSWKRGSFLFRVTINS
197	pep408	SSWKRGSWLFRVTINS
198	pep409	SSWKRGSMLFRVSINS
199	pep410	SSWKRGSMLFRVQINS
200	pep411	SSWKRGSMLFRVNINS
201	含半胱氨酸的SmTrip9-286	SSWKRGSMLFRVTINSC
202	含半胱氨酸的	CVSGWRLFKKIS

[0851]

	HiBit	
203	含叠氮化物的SmTrip9-286	SSWKRGSMLFRVTINSK(氮杂)
204	含叠氮化物的HiBit	(氮杂)KVSGWRLFKKIS
205	WT OgLuc 二肽	GSLLFRVTINGVTGWRLCENILA
206	WT NanoLuc 二肽	GSLLFRVTINVGVTGWRLCERILA
207	pep157	SVSGWRLFKKIS
208	pep158	NSVSGWRLFKKIS
209	pep206	GWRLFKKIS
210	HiBiT-His-LgTrip3546 (ATG3745)	Atggtgagcggctggcggctgttcaagaagattagccaccatcaccatcaccatcatcacttcac actcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaa cagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtc cggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgc cgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaa ggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcg gacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgt ggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgactaa
211	HiBiT-His-LgTrip3546 (ATG3745)	MVSGWRLFKKISHHHHHHHHFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQ VLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEG LSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNK LNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD
212	His-HiBiT-GSSG-LgTrip3546 (ATG3746)	Atgaaacatcaccatcaccatcatgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggcagct ccggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcat gaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagct gaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccaca gggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgactaa
213	His-HiBiT-GSSG-LgTrip3546 (ATG3746)	MKHHHHHHVSGWRLFKKISGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYN LDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIP YEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVT PNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD

	214	FRB-15GS-86，接头中无AI (ATG3768)	Atggtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtacttt ggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggg gcccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaa gagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctct attatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtggcgggagcggtggctcgagcagc ggtggagtgagcggctggcggctgttcaagaagattagctaa
	215	FRB-15GS-86，接头中无AI (ATG3768)	MVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAM MERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDL TQAWDLYYHVFRRISGGSGGGGSGGSSSGGVSGWRLFKKIS
	216	FRB-15GS-289 (ATG3769)	Atggtggccatcctctggcatgagatgtggcatgaaggcctggaagaggcatctcgtttgtacttt ggggaaaggaacgtgaaaggcatgtttgaggtgctggagcccttgcatgctatgatggaacggg gcccccagactctgaaggaaacatcctttaatcaggcctatggtcgagatttaatggaggcccaa gagtggtgcaggaagtacatgaaatcagggaatgtcaaggacctcacccaagcctgggacctct attatcatgtgttccgacgaatcagtggtggttcaggtggtggcgggagcggtggctcgagcagc ggtggagttagcgttagcggctggcgcctgttcaagaagatcagctaa
	217	FRB-15GS-289 (ATG3769)	MVAILWHEMWHEGLEEASRLYFGERNVKGMFEVLEPLHAM MERGPQTLKETSFNQAYGRDLMEAQEWCRKYMKSGNVKDL TQAWDLYYHVFRRISGGSGGGGSGGSSSGGVSVSGWRLFKKI S
[0852]	218	FKBP-SmTrip9融合模板，接头中无AI (ATG3770)	atgggagtgcaggtggaaaccatctccccaggagacgggcgcaccttccccaagcgcggcca gacctgcgtggtgcactacaccgggatgcttgaagatggaaagaaatttgattcctcccgggaca gaaacaagccctttaagtttatgctaggcaagcaggaggtgatccgaggctgggaagaaggggt tgcccagatgagtgtgggtcagagagccaaactgactatatctccagattatgcctatggtgccac tgggcacccaggcatcatcccaccacatgccactctcgtcttcgatgtggagcttctaaaactgga aggtggttcaggtggtggcgggagcggtggctcgagcagcggtgga
	219	FKBP-SmTrip9融合模板，接头中无AI (ATG3770)	MGVQVETISPGDGRTFPKRGQTCVVHYTGMLEDGKKFDSSR DRNKPFKFMLGKQEVIRGWEEGVAQMSVGQRAKLTISPDYA YGATGHPGIIPPHATLVFDVELLKLEGGSGGGGSGGSSSGG
	220	295	GSMLFRVTINSV
	221	300	GSMLFRVTINSVS
	222	412	MLFRVTINSVSG
	223	413	MLFRVTINSVSGW
	224	415	MLFRVTINSVSGWK
	225	416	MLFRVTINSVSGWR
	226	418	GSMLFRVTINSVSG
	227	419	GSMLFRVTINSVSGW
	228	422	GSMLFRVTINSVSGWR
	229	423	GSMLFRVTINSVSGWK

[0853]

230	434	GSMLFRVTIWK
231	435	GSMLFRVTINSWK
232	477	MLFRVTINSWK
233	478	MLFRVTINSWS
234	479	MLFRVTIWS
235	480	MLFRVTIWK
236	481	MLFRVKINS
237	482	GSMLFRVTINSWS
238	483	GSMLFRVKINS
239	484	GSMLFRVTIWS
240	485	MLFRVNINS
241	486	MLFRVWINS
242	487	LLFRVKINS
243	488	FLFRVTINS
244	295	SSWKRGSMLFRVTINSV
245	300	SSWKRGSMLFRVTINSVS
246	412	SSWKRMLFRVTINSVSG
247	413	SSWKRMLFRVTINSVSGW
248	414	SSWKRMLFRVTINSVSGWR
249	415	SSWKRMLFRVTINSVSGWK
250	417	MLFRVTINSVSGWK
251	418	SSWKRGSMLFRVTINSVSG
252	419	SSWKRGSMLFRVTINSVSGW
253	420	SSWKRGSMLFRVTINSVSGWR
254	421	SSWKRGSMLFRVTINSVSGWK
255	424	SSWKRGSYLFRVTINS
256	425	SSWKRGSMLFRVKINS
257	426	SSWKRGSMLFRVRINS
258	427	SSWKRGSMLFRVWINS
259	428	SSKRGSMLFRVTIWSV
260	429	SSKRGSMLFRVTIWSVS
261	430	SSWRGSMLFRVTIKS
262	431	KRSSGSMLFRVTIWS
263	432	SSKRMLFRVTIWS
264	433	KRSSMLFRVTIWS
265	445	GSMKFRVTINSWK
266	450	GSMLFRKTINSWK
267	455	GSMLFRVTKNSWK
268	521	GKMLFRVTINSWK
269	522	GKMLFRVTIWK
270	523	GSMKFRVTINSWK
271	524	GSMKFRVTIWK

[0854]

272	525	GRMLFRVTINSWK
273	526	GRMLFRVTIWK
274	527	GSMRFRVTINSWK
275	528	GSMRFRVTIWK
276	529	GDMLFRVTINSWK
277	530	GDMLFRVTIWK
278	531	GSMDFRVTINSWK
279	532	GSMDFRVTIWK
280	533	GEMLFRVTINSWK
281	535	GSMEFRVTINSWK
282	536	GSMEFRVTIWK
283	538	GSMLFRVTIWKVK
284	539	GSMLFRVTIWSVK
285	540	GSMLFRVTIWSK
286	541	GSMLFRVTIWKWK
287	542	GSMLFRVTIWKK
288	245	GSMLFRVTINS
289	292.x	MLFRVTINS
290	297.x	MLFVTINSV
291	302.x	MLFRVTINSVS
292	305.x	GSMLFRVTIN
293	306.x	GSMLFRVTI
294	307.x	SMLFRVTIN
295	308.x	MLFRVTIN
296	312.x	MLFRVTI
297	399	SSKRGSMLFRVTIWS
298	273	GSMLFRVTINSGVSGWALFKKIS
299	264	GSMLFRVTINSGVSGWRLFKKIS
300	167	VSGWALFKKIS
301	331	GSMLFRVTINSVSGVSGWRLFKKIS
302	LgTrip 3546（无His6）	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT TTGTLWNGNKIIDERLITPD
303	LgTrip 3546（无His6）	atggtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcat gaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagct gaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccaca gggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgac
304	LgTrip 2098（无His6）	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT

[0855]

		VTGTLWNGNKIIDERLITPD
305	LgTrip 2098 (无 His6)	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgac
306	157	SVSGWRLFKKIS
307	158	NSVSGWRLFKKIS
308	206	GWRLFKKIS
309	264	GSMLFRVTINSGVSGWRLFKKIS
310	489	GSMLFRVTINSWK (N 末端未封闭)
311	490	GSMLFRVTINSWK (C 末端未封闭)
312	491	GSMLFRVTINSWK (两端均未封闭)
313	492	GSMLFRVTINKWK
314	493	GSMLFRVTIKSWK
315	494	GSMLFRVTINRWK
316	495	GSMLFRVTIRSWK
317	496	GSMLFRVTINDWK
318	497	GSMLFRVTIDSWK
319	498	GSMLFRVTINEWK
320	499	GSMLFRVTIESWK
321	465	GSMRFRVTINSWK(两个末端均未封闭)
322	466	GSMDFRVTINSWK (两个末端均未封闭)
323	467	GSMEFRVTINSWK (两个末端均未封闭)
324	468	GSMLFRRTINSWK (两个末端均未封闭)
325	469	GSMLFRDTINSWK (两个末端均未封闭)
326	470	GSMLFRETINSWK (两个末端均未封闭)
327	472	GSMLFRVTDNSWK (两个末端均未封闭)
328	473	GSMLFRVTENSWK (两个末端均未封闭)
329	474	GSMKFRVTINSWK (两个末端均未封闭)
330	475	GSMLFRKTINSWK (两个末端均未封闭)
331	476	GSMLFRVTKNSWK (两个末端均未封闭)
332	436	GSMLFRVTINS (N 末端未封闭)
333	437	GSMLFRVSINS (N 末端未封闭)
334	438	GSMLFRVNINS (N 末端未封闭)
335	439	GSKLFRVTINS (N 末端未封闭)
336	440	GSRLFRVTINS (N 末端未封闭)
337	441	GSMWFRVTINS (N 末端未封闭)

	338	442	GSMSFRVTINS (N 末端未封闭)
	339	443	GSMNFRVTINS (N 末端未封闭)
	340	444	GSMKFRVTINS (N 末端未封闭)
	341	446	GSMLFRWTINS (N 末端未封闭)
	342	447	GSMLFRSTINS (N 末端未封闭)
	343	448	GSMLFRNTINS (N 末端未封闭)
	344	449	GSMLFRKTINS (N 末端未封闭)
	345	451	GSMLFRVTWNS (N 末端未封闭)
	346	452	GSMLFRVTSNS (N 末端未封闭)
	347	453	GSMLFRVTNNS (N 末端未封闭)
	348	454	GSMLFRVTKNS (N 末端未封闭)
	349	456	GSMLFRVTIKS (N 末端未封闭)
[0856]	350	Antares ATG 3802	MKHHHHHHVSKGEELIKENMRSKLYLEGSVNGHQFKCTHEG EGKPYEGKQTNRIKVVEGGPLPFAFDILATHFMYGSKVFIKYP ADLPDYFKQSFPEGFTWERVMVFEDGGVLTATQDTSLQDGEL IYNVKVRGVNFPANGPVMQKKTLGWEPSTETMYPADGGLEG RCDKALKLVGGGHLHVNFKTTYKSKKPVKMPGVHYVDRRL ERIKEADNETYVEQYEHAVARYSNLGGGFTLEDFVGDWRQT AGYNLDQVLEQGGVSSLFQNLGVSVTPIQRIVLSGENGLKIDI HVIIPYEGLSGDQMGQIEKIFKVVYPVDDHHFKVILHYGTLVI DGVTPNMIDYFGRPYEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERL INPDGSLLFRVTINGVTGWRLCERILARHELIKENMRSKLYLE GSVNGHQFKCTHEGEGKPYEGKQTNRIKVVEGGPLPFAFDIL ATHFMYGSKVFIKYPADLPDYFKQSFPEGFTWERVMVFEDGG VLTATQDTSLQDGELIYNVKVRGVNFPANGPVMQKKTLGWE PSTETMYPADGGLEGRCDKALKLVGGGHLHVNFKTTYKSKK PVKMPGVHYVDRRLERIKEADNETYVEQYEHAVARYSNLGG GMDELYK

[0857]

351	Antares ATG 3802	atgaaacatcaccatcaccatcatgtgagcaagggagaagaacttataaaagaaaacatgcggt ctaaactgtacctcgagggctccgtcaatgggcaccagtttaagtgtacccacgagggtgaggg aaagccctatgaggggaagcagacaaaccgcatcaaggtcgtcgaagggggacccctcccgtt tgcctttgatatcttggctactcactttatgtacggaagcaaagttttcataaagtatcctgccgacctt cctgattattttaaacagtcatttcccgagggtttcacatgggaaagggtcatggtgtttgaggatgg aggcgtgctcactgcaactcaggacacctcactgcaggacggcgagctgatctacaatgtgaag gtccggggtgtaaacttccctgccaacgggcctgtaatgcagaagaagaccctgggatgggag ccgtccaccgaaaccatgtaccctgctgatggtgggctggagggccgatgtgacaaggctctga agctcgttggaggtggtcatttgcacgtaaatttcaagacaacttacaagagcaaaaaacccgtaa aaatgcccggggttcattacgttgacagaaggcttgaacgcataaaggaagctgataacgagac atacgtggagcagtacgagcacgccgttgcccggtactcaaacctgggggtggctttacactg gaggattttgtgggagattggagacagacagccggctacaatctggatcaggtgctggaacaag gaggagtgtcttctctgtttcagaatctgggagtgagcgtgacacctatccagaggatcgtgctgt ctggcgagaatggactgaagatcgatattcacgtgatcatcccctacgaaggcctgtctggagac cagatgggccagattgagaagatcttcaaagtggtgtatcctgtggacgatcaccacttcaaggtg atcctgcactacggcaccctggtgattgatggagtgacacctaacatgatcgactacttcggaaga ccttacgagggaatcgccgtgttcgacggaaagaagatcaccgtgacaggaacactgtggaatg gaaacaagatcatcgacgagcggctgatcaaccctgatggatctctgctgttcagagtgaccatc aacggagtgacaggatggagactgtgcgagagaattctggctagacatgagctaatcaaggaa aatatgagaagtaagctatacttagaggggtccgtcaacggtcaccagtttaaatgcactcatgaa ggtgaggggaaaccttatgaaggtaagcagactaatcgaataaaagtggtcgagggcggtcctc tgccattcgctttcgatattctggccactcactttatgtatgggtctaaggtctttattaaataccccgct gatttgccagactactttaaacagtccttccctgaaggattcacatgggagcgggtgatggtgttcg aggatggaggcgttcttactgcaactcaggatacttccttgcaagacggggaactgatctacaac gttaaggtccgcggcgtcaatttcccagccaatggtccagtgatgcagaagaaaaccttggggtg ggagccctcaacggagacaatgtaccctgcggacggcgggcttgagggtagatgtgataaggc attgaaactcgtcgggggcggccaccttcatgtgaatttcaagactacatataaaagtaaaaaacc agtcaagatgcctggagtgcactacgtggatcgtaggttggagaggataaaagaagccgacaa cgaaacttatgtagagcaatatgagcacgccgtggctcgttattccaacttgggcggaggaatgg atgaactgtacaag
352	Antares (LgBiT) ATG 3803	MKHHHHHHVSKGEELIKENMRSKLYLEGSVNGHQFKCTHEG EGKPYEGKQTNRIKVVEGGPLPFAFDILATHFMYGSKVFIKYP ADLPDYFKQSFPEGFTWERVMVFEDGGVLTATQDTSLQDGEL IYNVKVRGVNFPANGPVMQKKTLGWEPSTETMYPADGGLEG RCDKALKLVGGGHLHVNFKTTYKSKKPVKMPGVHYVDRRL ERIKEADNETYVEQYEHAVARYSNLGGGFTLEDFVGDWEQT AAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIQRIVRSGENALKIDI HVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVI DGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDER LITPDGSMLFRVTINSRHELIKENMRSKLYLEGSVNGHQFKCT HEGEGKPYEGKQTNRIKVVEGGPLPFAFDILATHFMYGSKVFI KYPADLPDYFKQSFPEGFTWERVMVFEDGGVLTATQDTSLQD GELIYNVKVRGVNFPANGPVMQKKTLGWEPSTETMYPADGG LEGRCDKALKLVGGGHLHVNFKTTYKSKKPVKMPGVHYVD RRLERIKEADNETYVEQYEHAVARYSNLGGGMDELYK

[0858]

353	Antares (LgBiT) ATG 3803	atgaaacatcaccatcaccatcatgtgagcaagggagaagaacttataaaagaaaacatgcggt ctaaactgtacctcgagggctccgtcaatgggcaccagtttaagtgtacccacgagggtgaggg aaagccctatgaggggaagcagacaaaccgcatcaaggtcgtcgaagggggacccctcccgtt tgcctttgatatcttggctactcactttatgtacggaagcaaagttttcataaagtatcctgccgacctt cctgattattttaaacagtcatttcccgagggtttcacatgggaaagggtcatggtgtttgaggatgg aggcgtgctcactgcaactcaggacacctcactgcaggacggcgagctgatctacaatgtgaag gtccggggtgtaaacttccctgccaacgggcctgtaatgcagaagaagaccctgggatgggag ccgtccaccgaaaccatgtaccctgctgatggtgggctggagggccgatgtgacaaggctctga agctcgttggaggtggtcatttgcacgtaaatttcaagacaacttacaagagcaaaaaacccgtaa aaatgcccggggttcattacgttgacagaaggcttgaacgcataaaggaagctgataacgagac atacgtggagcagtacgagcacgccgttgcccggtactcaaacctgggggtggcttcacactc gaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagg gaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatccaaaggattgtccgga gcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgac caaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtg atcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctgaactatttcggacg gccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaac ggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctgttccgagtaaccat caacagcagacatgagctaatcaaggaaaatatgagaagtaagctatacttagaggggtccgtc aacggtcaccagtttaaatgcactcatgaaggtgaggggaaaccttatgaaggtaagcagactaa tcgaataaaagtggtcgagggcggtcctctgccattcgctttcgatattctggccactcactttatgt atgggtctaaggtctttattaaatacccccgctgatttgccagactactttaaacagtccttccctgaag gattcacatgggagcgggtgatggtgttcgaggatggaggcgttcttactgcaactcaggatactt ccttgcaagacggggaactgatctacaacgttaaggtccgcggcgtcaatttcccagccaatggt ccagtgatgcagaagaaaaccttggggtgggagccctcaacggagacaatgtaccctgcggac ggcgggcttgagggtagatgtgataaggcattgaaactcgtcgggggcggccaccttcatgtga atttcaagactacatataaaagtaaaaaaccagtcaagatgcctggagtgcactacgtggatcgta ggttggagaggataaaagaagccgacaacgaaacttatgtagagcaatatgagcacgccgtgg ctcgttattccaacttgggcggaggaatggatgaactgtacaag
354	Antares (LgTrip 3546) ATG 3804	MKHHHHHHVSKGEELIKENMRSKLYLEGSVNGHQFKCTHEG EGKPYEGKQTNRIKVVEGGPLPFAFDILATHFMYGSKVFIKYP ADLPDYFKQSFPEGFTWERVMVFEDGGVLTATQDTSLQDGEL IYNVKVRGVNFPANGPVMQKKTLGWEPSTETMYPADGGLEG RCDKALKLVGGGHLHVNFKTTYKSKKPVKMPGVHYVDRRL ERIKEADNETYVEQYEHAVARYSNLGGGFTLDDFVGDWEQT AAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDI HVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVI DGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERL ITPDRHELIKENMRSKLYLEGSVNGHQFKCTHEGEGKPYEGK QTNRIKVVEGGPLPFAFDILATHFMYGSKVFIKYPADLPDYFK QSFPEGFTWERVMVFEDGGVLTATQDTSLQDGELIYNVKVRG VNFPANGPVMQKKTLGWEPSTETMYPADGGLEGRCDKALKL VGGGHLHVNFKTTYKSKKPVKMPGVHYVDRRLERIKEADN ETYVEQYEHAVARYSNLGGGMDELYK

[0859]

355	Antares (LgTrip 3546) ATG 3804	atgaaacatcaccatcaccatcatgtgagcaagggagaagaacttataaaagaaaacatgcggt ctaaactgtacctcgagggctccgtcaatgggcaccagtttaagtgtacccacgagggtgaggg aaagccctatgaggggaagcagacaaaccgcatcaaggtcgtcgaaggggaccccctcccgtt tgcctttgatatcttggctactcactttatgtacggaagcaaagttttcataaagtatcctgccgacctt cctgattattttaaacagtcatttcccgagggtttcacatgggaaagggtcatggtgtttgaggatgg aggcgtgctcactgcaactcaggacacctcactgcaggacggcgagctgatctacaatgtgaag gtccggggtgtaaacttccctgccaacgggcctgtaatgcagaagaagaccctgggatgggag ccgtccaccgaaaccatgtaccctgctgatggtgggctggagggccgatgtgacaaggctctga agctcgttggaggtggtcatttgcacgtaaatttcaagacaacttacaagagcaaaaaacccgtaa aaatgcccggggttcattacgttgacagaaggcttgaacgcataaaggaagctgataacgagac atacgtggagcagtacgagcacgccgttgcccggtactcaaacctgggggtggcttcacactc gacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagg gaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccgga gcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgac caaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtg atcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacg gccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaa cggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacagacatgagctaatcaaggaaaat atgagaagtaagctatacttagaggggtccgtcaacggtcaccagtttaaatgcactcatgaaggt gaggggaaaccttatgaaggtaagcagactaatcgaataaaagtggtcgagggcggtcctctgc cattcgctttcgatattctggccactcactttatgtatgggtctaaggtctttattaaataccccgctgat ttgccagactactttaaacagtccttccctgaaggattcacatgggagcgggtgatggtgttcgag gatggaggcgttcttactgcaactcaggatacttccttgcaagacggggaactgatctacaacgtt aaggtccgcggcgtcaatttcccagccaatggtccagtgatgcagaagaaaaccttggggtggg agccctcaacggagacaatgtaccctgcggacggcgggcttgagggtagatgtgataaggcatt gaaactcgtcgggggcggccaccttcatgtgaatttcaagactacatataaaagtaaaaaaccag tcaagatgcctggagtgcactacgtggatcgtaggttggagaggataaaagaagccgacaacg aaacttatgtagagcaatatgagcacgccgtggctcgttattccaacttgggcggaggaatggat gaactgtacaag
356	ATG 3815	MKHHHHHHFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQ NLAVSVTPIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEV FKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIA VFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSGGSG GSSGELIKENMRSKLYLEGSVNGHQFKCTHEGEGKPYEGKQT NRIKVVEGGPLPFAFDILATHFMYGSKVFIKYPADLPDYFKQS FPEGFTWERVMVFEDGGVLTATQDTSLQDGELIYNVKVRGV NFPANGPVMQKKTLGWEPSTETMYPADGGLEGRCDKALKLV GGGHLHVNFKTTYKSKKPVKMPGVHYVDRRLERIKEADNET YVEQYEHAVARYSNLGGGMDELYK

[0860]

357	ATG 3815	atgaaacatcaccatcaccatcatttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagcc gcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgt gtccgtaactccgatccaaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatg tcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtg gtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggg gttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaa aaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacc cccgacggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagcggaggctcaggtggatcctcaggtg agctaatcaaggaaaatatgagaagtaagctatacttagaggggtccgtcaacggtcaccagttta aatgcactcatgaaggtgaggggaaaccttatgaaggtaagcagactaatcgaataaaagtggtc gagggcggtcctctgccattcgctttcgatattctggccactcactttatgtatgggtctaaggtcttt attaaataccccgctgatttgccagactactttaaacagtccttccctgaaggattcacatgggagc gggtgatggtgttcgaggatggaggcgttcttactgcaactcaggatacttccttgcaagacggg gaactgatctacaacgttaaggtccgcggcgtcaatttcccagccaatggtccagtgatgcagaa gaaaaccttggggtgggagccctcaacggagacaatgtaccctgcggacggcgggcttgagg gtagatgtgataaggcattgaaactcgtcgggggcggccaccttcatgtgaatttcaagactacat ataaaagtaaaaaaccagtcaagatgcctggagtgcactacgtggatcgtaggttggagaggat aaaagaagccgacaacgaaacttatgtagagcaatatgagcacgccgtggctcgttattccaact tgggcggaggaatggatgaactgtacaag
358	ATG 3816	MKHHHHHHFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQ NLAVSVTPIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEV FKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIA VFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSRHELI KENMRSKLYLEGSVNGHQFKCTHEGEGKPYEGKQTNRIKVV EGGPLPFAFDILATHFMYGSKVFIKYPADLPDYFKQSFPEGFT WERVMVFEDGGVLTATQDTSLQDGELIYNVKVRGVNFPANG PVMQKKTLGWEPSTETMYPADGGLEGRCDKALKLVGGGHL HVNFKTTYKSKKPVKMPGVHYVDRRLERIKEADNETYVEQY EHAVARYSNLGGGMDELYK
359	ATG 3816	Atgaaacatcaccatcaccatcatttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagc cgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccg tgtccgtaactccgatccaaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccat gtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggt ggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacgg ggttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggca aaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcac ccccgacggctccatgctgttccgagtaaccatcaacagcagacatgagctaatcaaggaaaat atgagaagtaagctatacttagaggggtccgtcaacggtcaccagtttaaatgcactcatgaaggt gaggggaaaccttatgaaggtaagcagactaatcgaataaaagtggtcgagggcggtcctctgc cattcgctttcgatattctggccactcactttatgtatgggtctaaggtctttattaaataccccgctgat ttgccagactactttaaacagtccttccctgaaggattcacatgggagcgggtgatggtgttcgag gatggaggcgttcttactgcaactcaggatacttccttgcaagacggggaactgatctacaacgtt aaggtccgcggcgtcaatttcccagccaatggtccagtgatgcagaagaaaaccttggggtggg agccctcaacggagacaatgtaccctgcggacggcgggcttgagggtagatgtgataaggcatt gaaactcgtcgggggcggccaccttcatgtgaatttcaagactacatataaaagtaaaaaaccag tcaagatgcctggagtgcactacgtggatcgtaggttggagaggataaaagaagccgacaacg aaacttatgtagagcaatatgagcacgccgtggctcgttattccaacttgggcggaggaatggat gaactgtacaag

[0861]

360	ATG 3817	MKHHHHHHFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQ NLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEV FKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIA VFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGGSGGSSGELIKENM RSKLYLEGSVNGHQFKCTHEGEGKPYEGKQTNRIKVVEGGP LPFAFDILATHFMYGSKVFIKYPADLPDYFKQSFPEGFTWERV MVFEDGGVLTATQDTSLQDGELIYNVKVRGVNFPANGPVMQ KKTLGWEPSTETMYPADGGLEGRCDKALKLVGGGHLHVNF KTTYKSKKPVKMPGVHYVDRRLERIKEADNETYVEQYEHAV ARYSNLGGGMDELYK
361	ATG 3817	Atgaaacatcaccatcaccatcatttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagc cgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccg tgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccat gtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggt ggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacgg ggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggc aaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatca cccccgacggaggctcaggtggatcctcaggtgagctaatcaaggaaaatatgagaagtaagct atacttagaggggtccgtcaacggtcaccagtttaaatgcactcatgaaggtgaggggaaaccttt atgaaggtaagcagactaatcgaataaaagtggtcgagggcggtcctctgccattcgctttcgata ttctggccactcactttatgtatgggtctaaggtctttattaaataccccgctgatttgccagactacttt aaacagtccttccctgaaggattcacatgggagcgggtgatggtgttcgaggatggaggcgttct tactgcaactcaggatacttccttgcaagacggggaactgatctacaacgttaaggtccgcggcg tcaatttcccagccaatggtccagtgatgcagaagaaaaccttggggtgggagccctcaacgga gacaatgtaccctgcggacggcgggcttgagggtagatgtgataaggcattgaaactcgtcggg ggcggccaccttcatgtgaatttcaagactacatataaaagtaaaaaaccagtcaagatgcctgga gtgcactacgtggatcgtaggttggagaggataaaagaagccgacaacgaaacttatgtagagc aatatgagcacgccgtggctcgttattccaacttgggcggaggaatggatgaactgtacaag
362	ATG 3818	MKHHHHHHFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQ NLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEV FKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIA VFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDRHELIKENMRSKLYL EGSVNGHQFKCTHEGEGKPYEGKQTNRIKVVEGGPLPFAFDI LATHFMYGSKVFIKYPADLPDYFKQSFPEGFTWERVMVFEDG GVLTATQDTSLQDGELIYNVKVRGVNFPANGPVMQKKTLGW EPSTETMYPADGGLEGRCDKALKLVGGGHLHVNFKTTYKSK KPVKMPGVHYVDRRLERIKEADNETYVEQYEHAVARYSNLG GGMDELYK

363	ATG 3818	Atgaaacatcaccatcaccatcatttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagc cgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccg tgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccat gtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggt ggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacgg ggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggc aaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatca cccccgacagacatgagctaatcaaggaaaatatgagaagtaagctatacttagaggggtccgt caacggtcaccagtttaaatgcactcatgaaggtgaggggaaaccttatgaaggtaagcagacta atcgaataaaagtggtcgagggcggtcctctgccattcgctttcgatattctggccactcactttatg tatgggtctaaggtctttattaaataccccgctgatttgccagactactttaaacagtccttccctgaa ggattcacatgggagcgggtgatggtgttcgaggatggaggcgttcttactgcaactcaggatac ttccttgcaagacggggaactgatctacaacgttaaggtccgcggcgtcaatttcccagccaatg gtccagtgatgcagaagaaaaccttggggtgggagccctcaacggagacaatgtaccctgcgg acggcgggcttgagggtagatgtgataaggcattgaaactcgtcgggggcggccaccttcatgt gaatttcaagactacatataaaagtaaaaaaccagtcaagatgcctggagtgcactacgtggatc gtaggttggagaggataaaagaagccgacaacgaaacttatgtagagcaatatgagcacgccgt ggctcgttattccaacttgggcggaggaatggatgaactgtacaag
364	LgTrip 2899 (LgTrip 2098+Q42L)	MKHHHHHHVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPILRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGI AVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPD
365	LgTrip 2899 (LgTrip 2098+Q42L)	atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacc gccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgc cgtgtccgtaactccgatcctaaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatcc atgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaag gtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacg gggttacgccgaacatgctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggc aaaaagatcactgtaacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatca cccccgac
820	ATG-3930	atgAAACATCACCATCACCATCATgtcTTCACACTCGACGATTT CGTTGGGGACTGGGAACAGACAGCCGCCTACAACCTGGAC CAAGTCCTTGAACAGGGAGGTGTGTCCAGTTTGCTGCAGA ATCTCGCCGTGTCCGTAACTCCGATCATGAGGATTGTCCGG AGCGGTGAAAATGCCCTGAAGATCGACATCCATGTCATCAT CCCGTATGAAGGTCTGAGCGCCGACCAAATGGCCCAGATC GAAGAGGTGTTTAAGGTGGTGTACCCTGTGGATGATCATCA CTTTAAGGTGATCCTGCCCTATGGCACACTGGTAATCGACG GGGTTACGCCGAACAAGCTGAACTATTTCGGACGGCCGTAT GAAGGCATCGCCGTGTTCGACGGCTAA
821	ATG-3930	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDG

[0862]

[0863]

822	SmTrip9-15GS-蛋白G (ATG4002)	gggagctccGGTGGTGGCGGGAGCGGAGGTGGAGGctcgAGCGGTATGACGTATAAGTTAATCCTTAATGGTAAAACATTGAAAGGCGAGACAACTACTGAAGCTGTTGATGCTGCTACTGCAGAAAAAGTCTTCAAACAATACGCTAACGACAACGGTGTTGACGGTGAATGGACTTACGACGATGCGACGAAAACCTTTACGGTCACCGAAAAACCAGAAGTGATCGATGCGTCTGAATTAACACCAGCCGTGACAACTTACAAACTTGTTATTAATGGTAAAACATTGAAAGGCGAAACAACTACTGAGGCTGTTGATGCTGCTACTGCAGAGAAGGTGTTCAAACAATATGCGAATGACAACGGTGTTGACGGTGAGTGGACTTACGACGATGCGACTAAGACCTTTACAGTTACTGAAAAACCAGAAGTGATCGATGCGTCTGAGTTAACACCAGCCGTGACAACTTACAAACTTGTTATTAATGGTAAAACATTGAAAGGCGAAACAACTACTAAAGCAGTAGACGCAGAAACTGCGGAGAAGGCCTTCAAACAATACGCTAACGACAACGGTGTTGATGGTGTTTGGACTTATGATGATGCCACAAAAACCTTTACGGTAACTGAGCATCATCACCATCACCACTAA
823	SmTrip9-15GS-蛋白G (ATG4002)	GSSGGGGSGGGGSSGMTYKLILNGKTLKGETTTEAVDAATAEKVFKQYANDNGVDGEWTYDDATKTFTVTEKPEVIDASELTPAVTTYKLVINGKTLKGETTTEAVDAATAEKVFKQYANDNGVDGEWTYDDATKTFTVTEKPEVIDASELTPAVTTYKLVINGKTLKGETTTKAVDAETAEKAFKQYANDNGVDGVWTYDDATKTFTVTEHHHHHH
830	ATG-3929	atgAAACATCACCATCACCATCATgtcTTCACACTCGACGATTTCGTTGGGGACTGGGAACAGACAGCCGCCTACAACCTGGACCAAGTCCTTGAACAGGGAGGTGTGTCCAGTTTGCTGCAGAATCTCGCCGTGTCCGTAACTCCGATCATGAGGATTGTCCGGAGCGGTGAAAATGCCCTGAAGATCGACATCCATGTCATCATCCCGTATGAAGGTCTGAGCGCCGACCAAATGGCCCAGATCGAAGAGGTGTTTAAGGTGGTGTACCCTGTGGATGATCATCACTTTAAGGTGATCCTGCCCTATGGCACACTGGTAATCGACGGGGTTACGCCGAACAAGCTGAACTATTTCGGATAA
831	ATG-3929	Mkhhhhhhvftlddfvgdweqtaaynldqvleqggvssllqnlavsvtpimrivrsgenalkidihviipyeglsadqmaqieevfkvvypvddhhfkvilpygtlvidgvtpnklnyfg
832	ATG-3930	atgAAACATCACCATCACCATCATgtcTTCACACTCGACGATTTCGTTGGGGACTGGGAACAGACAGCCGCCTACAACCTGGACCAAGTCCTTGAACAGGGAGGTGTGTCCAGTTTGCTGCAGAATCTCGCCGTGTCCGTAACTCCGATCATGAGGATTGTCCGGAGCGGTGAAAATGCCCTGAAGATCGACATCCATGTCATCATCCCGTATGAAGGTCTGAGCGCCGACCAAATGGCCCAGATCGAAGAGGTGTTTAAGGTGGTGTACCCTGTGGATGATCATCACTTTAAGGTGATCCTGCCCTATGGCACACTGGTAATCGACGGGGTTACGCCGAACAAGCTGAACTATTTCGGACGGCCGTATGAAGGCATCGCCGTGTTCGACGGCTAA

[0864]

833	ATG-3930	Mkhhhhhhvftlddfvgdweqtaaynldqvleqggvssllqnlavsvtpimrivrsgenal kidihviipyeglsadqmaqieevfkvvypvddhhfkvilpygtlvidgvtpnklnyfgrpy egiavfdg
834	ATG-3931	atgAAACATCACCATCACCATCATgtcTTCACACTCGACGATTT CGTTGGGGACTGGGAACAGACAGCCGCCTACAACCTGGAC CAAGTCCTTGAACAGGGAGGTGTGTCCAGTTTGCTGCAGA ATCTCGCCGTGTCCGTAACTCCGATCATGAGGATTGTCCGG AGCGGTGAAAATGCCCTGAAGATCGACATCCATGTCATCAT CCCGTATGAAGGTCTGAGCGCCGACCAAATGGCCCAGATC GAAGAGGTGTTTAAGGTGGTGTACCCTGTGGATGATCATCA CTTTAAGGTGATCCTGCCCTATGGCACACTGGTAATCGACG GGGTTACGCCGAACAAGCTGAACTATTTCGGACGGCCGTAT GAAGGCATCGCCGTGTTCGACGGCAAAAAGATCACTACCA CAGGGACCCTGTAA
835	ATG-3931	Mkhhhhhhvftlddfvgdweqtaaynldqvleqggvssllqnlavsvtpimrivrsgenal kidihviipyeglsadqmaqieevfkvvypvddhhfkvilpygtlvidgvtpnklnyfgrpy egiavfdgkkitttgtl
836	ATG-3932	atgAAACATCACCATCACCATCATgtcTTCACACTCGACGATTT CGTTGGGGACTGGGAACAGACAGCCGCCTACAACCTGGAC CAAGTCCTTGAACAGGGAGGTGTGTCCAGTTTGCTGCAGA ATCTCGCCGTGTCCGTAACTCCGATCATGAGGATTGTCCGG AGCGGTGAAAATGCCCTGAAGATCGACATCCATGTCATCAT CCCGTATGAAGGTCTGAGCGCCGACCAAATGGCCCAGATC GAAGAGGTGTTTAAGGTGGTGTACCCTGTGGATGATCATCA CTTTAAGGTGATCCTGCCCTATGGCACACTGGTAATCGACG GGGTTACGCCGAACAAGCTGAACTATTTCGGACGGCCGTAT GAAGGCATCGCCGTGTTCGACGGCAAAAAGATCACTACCA CAGGGACCCTGTGGAACGGCTAA
837	ATG-3932	Mkhhhhhhvftlddfvgdweqtaaynldqvleqggvssllqnlavsvtpimrivrsgenal kidihviipyeglsadqmaqieevfkvvypvddhhfkvilpygtlvidgvtpnklnyfgrpy egiavfdgkkitttgtlwng
838	ATG-4808	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcttcacactcgacgatttcgttggg gactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtt tgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgcc ctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagat cgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggc acactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggca tcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattat

[0865]

		cgacgagcgcctgatcacccccgactaa
839	ATG-4808	Mvsvsgwrlfkkisftlddfvgdweqtaaynldqvleqggvssllqnlavsvtpimrivrsgenalkidihviipyeglsadqmaqieevfkvvypvddhhfkvilpygtlvidgvtpnklnyfgrpyegiavfdgkkitttgtlwngnkiiderlitpd
840	ATG-4809	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggcagctccggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgactaa
841	ATG-4809	MVSVSGWRLFKKISGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD
842	ATG-4810	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggctcgagcggtggctcgagcggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgactaa
843	ATG-4810	MVSVSGWRLFKKISGSSGGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD

[0866]

844	ATG-4811	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatccccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgactaa
845	ATG-4811	MVSVSGWRLFKKISGSSGGSSGGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD
846	ATG-4812	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgactaa
847	ATG-4812	MVSVSGWRLFKKISGSSGGSSGGSSGGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD
848	ATG-4813	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgcccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgactaa
849	ATG-4813	MVSVSGWRLFKKISGSSGGSSGGSSGGSSGGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD

[0867]

850	ATG-4814	Atggtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtttcacactcgacgatttcgttggggactggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgactaa
851	ATG-4814	MVSGWRLFKKISGSSGGSSGGSSGGSSGGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD
852	ATG-4815	Atggtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacgtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagctaa
853	ATG-4815	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDVSVSGWRLFKKIS
854	ATG-4816	Atggtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctcgagcggtgtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagctaa
855	ATG-4816	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSSGVSVSGWRLFKKIS

[0868]

856	ATG-4817	Atggtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctcgagcggtggctcgagcggtgtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagctaa
857	ATG-4817	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSSGGSSGVSVSGWRLFKKIS
858	ATG-4818	Atggtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctcgagcggtggctcgagcggtgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagctaa
859	ATG-4818	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSSGGSSGVSGWRLFKKIS
860	ATG-4819	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgaccatcaccatcaccatcattaa
861	ATG-4819	MVSVSGWRLFKKISFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDHHHHHH

[0869]

862	ATG-4820	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggcagctccggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgaccatcaccatcaccatcattaa
863	ATG-4820	MVSVSGWRLFKKISGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDHHHHHH
864	ATG-4821	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggctcgagcggtggctcgagcggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgaccatcaccatcaccatcattaa
865	ATG-4821	MVSVSGWRLFKKISGSSGGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDHHHHHH
866	ATG-4822	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgaccatcaccatcaccatcattaa
867	ATG-4822	MVSVSGWRLFKKISGSSGGSSGGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDHHHHHH

[0870]

868	ATG-4823	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgaccatcaccatcaccatcattaa
869	ATG-4823	MVSVSGWRLFKKISGSSGGSSGGSSGGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDHHHHHH
870	ATG-4824	Atggtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtttcacactcgacgatttcgttggggactggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgaccatcaccatcaccatcattaa
871	ATG-4824	MVSGWRLFKKISGSSGGSSGGSSGGSSGGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDHHHHHH
872	ATG-4825	Atggtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtggctcgagcggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgaccatcaccatcaccatcattaa
873	ATG-4825	MVSVSGWRLFKKISGSSGGSSGGSSGGSSGGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDHHHHHH

[0871]

874	ATG-4826	Atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagac agccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcg ccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatc catgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaa ggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgac ggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacg gcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctga tcacccccgacgtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagctaa
875	ATG-4826	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDVSVSGWRLFKKIS
876	ATG-4827	Atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagac agccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcg ccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatc catgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaa ggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgac ggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacg gcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctga tcacccccgacggctcgagcggtgtttccgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagctaa
877	ATG-4827	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSSGVSVSGWRLFK KIS
878	ATG-4828	Atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagac agccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcg ccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatc catgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaa ggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgac ggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacg gcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctga tcacccccgacggctcgagcggtggctcgagcggtgtgagcggctggcggctgttcaagaaga ttagctaa
879	ATG-4828	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSSGGSSGVSGWRL FKKIS

[0872]

880	ATG-4829	Atgaaacatcaccatcaccatcatgtcttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagac agccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcg ccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatc catgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaa ggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgac ggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacg gcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctga tcacccccgacggctcgagcggtggctcgagcggtgtttccgtgagcggctggcggctgttcaa gaagattagctaa
881	ATG-4829	MKHHHHHHVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLL QNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEE VFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFGRPYEGI AVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSSGGSSGVSVSGW RLFKKIS
882	ATG-2623	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctg ttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
883	ATG-2623	MVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT VTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
884	ATG-3745	atggtgagcggctggcggctgttcaagaagattagccaccatcaccatcaccatcatcacttcac actcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaa cagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtc cggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgc cgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaa ggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcg gacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgt ggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgactaa
885	ATG-3745	MVSGWRLFKKISHHHHHHHHFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQ VLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEG LSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNK LNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD

[0873]

886	ATG-3746	atgaaacatcaccatcaccatcatgtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggcagctc cggtttcacactcgacgatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaa gtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatg aggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaagg tctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatc atcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacag ggaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgactaa
887	ATG-3746	MKHHHHHHVSGWRLFKKISGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYN LDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIP YEGLSADQMAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVT PNKLNYFGRPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD
888	ATG-4632	atggtgagcggctggcggctgttcaagaagattagcggcagctccggtttcacactcgacgattt cgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggaccaagtccttgaacagggaggtgt gtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcatgaggattgtccggagcggtga aaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaaggtctgagcgccgaccaaatgg cccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgatcatcactttaaggtgatcctgcc ctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacaagctgaactatttcggacggccgtatg aaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactaccacagggaccctgtggaacggcaaca aaattatcgacgagcgcctgatcacccccgaccatcaccatcaccatcattaa
889	ATG-4632	MVSGWRLFKKISGSSGFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQG GVSSLLQNLAVSVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQ MAQIEEVFKVVYPVDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNKLNYFG RPYEGIAVFDGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDHHHHHH
890	ATG-2757	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacgagaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctg ttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
891	ATG-2757	MVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT VTGTLWNENKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH

[0874]

892	ATG-2760	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggattgtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacggcgttaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctgt tccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
893	ATG-2760	MVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIQRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYPV DDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKKIT VTGTLWNGVKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
894	ATG-3882	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactgggaacagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggatggtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctg ttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
895	ATG-3882	MVFTLEDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIQRMVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYP VDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKK ITVTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
896	ATG-3901	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactggaagcagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggatggtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctg ttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
897	ATG-3901	MVFTLEDFVGDWKQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIQRMVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYP VDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKK ITVTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH

[0875]

898	ATG-3945	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactggaagcagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggatggtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacgacgtcaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgctg ttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
899	ATG-3945	MVFTLEDFVGDWKQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIQRMVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYP VDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKK ITVTGTLWNDVKIIDERLITPDGSMLFRVTINSHHHHHH
890	ATG-3984	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactggaagcagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggatggtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacgacgtcaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgtcct tccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
891	ATG-3984	MVFTLEDFVGDWKQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIQRMVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYP VDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKK ITVTGTLWNDVKIIDERLITPDGSMSFRVTINSHHHHHH
892	ATG-4147	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactggaagcagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggatggtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacggcaacaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgtcc ttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
893	ATG-4147	MVFTLEDFVGDWKQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIQRMVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYP VDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKK ITVTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMSFRVTINSHHHHHH

[0876]

894	ATG-4166	atggtcttcacactcgaagatttcgttggggactggaagcagacagccgcctacaacctggacca agtccttgaacagggaggtgtgtccagtttgctgcagaatctcgccgtgtccgtaactccgatcca aaggatggtccggagcggtgaaaatgccctgaagatcgacatccatgtcatcatcccgtatgaag gtctgagcgccgaccaaatggcccagatcgaagaggtgtttaaggtggtgtaccctgtggatgat catcactttaaggtgatcctgccctatggcacactggtaatcgacggggttacgccgaacatgctg aactatttcggacggccgtatgaaggcatcgccgtgttcgacggcaaaaagatcactgtaacagg gaccctgtggaacggcgtcaaaattatcgacgagcgcctgatcacccccgacggctccatgtcc ttccgagtaaccatcaacagccatcatcaccatcaccactaa
895	ATG-4166	MVFTLEDFVGDWKQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAVSVT PIQRMVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVFKVVYP VDDHHFKVILPYGTLVIDGVTPNMLNYFGRPYEGIAVFDGKK ITVTGTLWNGVKIIDERLITPDGSMSFRVTINSHHHHHH

[0877] 表9.示例性肽序列。

[0878]

Pep ID	SEQ ID NO.	序列
86	824	VSGWRLFKKIS
229	825	VSGWRLFKKI
289	826	VSVSGWRLFKKIS
521	827	GKMLFRVTINSWK
543	366	WNGNKIIDERLITPD
544	367	KKITTTGTLWNGR
545	368	RPYEGIAVFDGK
591	369	GKMLFRVTIWKVSVSGWRLFKKIS
592	370	GKMLFRVTIWKVSGWRLFKKIS
593	371	GSMKFRVTINSWKVSVSGWRLFKKIS
594	372	GSMKFRVTINSWKVSGWRLFKKIS
595	373	GSMKFRVTINSWKNVTGYRLFKKISN
596	374	GSMKFRVTINSWKVTGYRLFEKIS
597	375	GSMKFRVTIWKVSVSGWRLFKKIS
598	376	GSMKFRVTIWKVSGWRLFKKIS
599	377	GRMLFRVTINSWKVSVSGWRLFKKIS
600	378	GRMLFRVTINSWKVSGWRLFKKIS
601	379	GRMLFRVTIWKVSVSGWRLFKKIS
602	380	GRMLFRVTIWKVSGWRLFKKIS
603	381	GSMLFRVTINSVSVSGWRLFKKIS
604	382	GSMLFKVTINSVSGWRLFKKIS
605	383	GSMLFQVTINSVSGWRLFKKIS

[0879]

606	384	GSMLFEVTINSVSGWRLFKKIS
607	385	GSMLFNVTINSVSGWRLFKKIS
608	386	GRPYEGIAVFDGKKITTTGTL
609	387	GSMKFRVTINSWKVTGYRLFEKES
610	388	GSMKFRVTINSWKVEGYRLFEKIS
611	389	KKITTTGTLWNGNKIIDERLITPD
612	390	WNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINS
671	391	GKMLFRVTIQKWK
668	392	GKMLFRVTIGKWK
727	393	GKMLFRVTIGRWK
669	394	GKMLFRVTIGNWK
674	395	GKMLFRVTIQNWK
702	396	GKMLFRVTIDKWK
703	397	GKMLFRVTIEKWK
705	810	EKMLFRVTIESWK
724	811	EKLLFRVTIESWK
725	812	EKLLFRVTIESYK
730	398	GKMLFRVTIERWK
731	399	GKMLFRVTIDRWK
738	400	DKMLFRVTIQKWK
739	401	DKMLFRVTIGKWK
848	402	DKMLFRVTIGRWK
740	403	DKMLFRVTIGNWK
741	404	DKMLFRVTIQNWK
732	405	DKMLFRVTIDKWK
742	406	DKMLFRVTIEKWK
735	407	DKMLFRVTIERWK
733	408	DKMLFRVTIDRWK
759	816	DKLLFTVTIEKYK
798	409	RPYEGIAVFDGKKITVTGTLWNGNKIIDERLITPD
849	410	EKMLFRVTIQKWK
708	411	EKMLFRVTIGKWK
709	412	EKMLFRVTIGRWK
775	413	DKMLFTVTIQKVSGWRLFKKIS
788	414	DKLLFTVTIEKVSGWRLFKKIS
789	415	DKLLFTVTIEKWKVSGWRLFKKIS
790	416	DKLLFTVTIEKYKVSGWRLFKKIS
792	417	DKLLFTVTIEKYKVSVSGWRLFKKIS
795	418	KKMLFRVTIQKVSGWRLFKKIS

[0880]

797	419	KKMLFRVTIQKWKVSVSGWRLFKKIS
796	420	KKMLFRVTIQKWKVSGWRLFKKIS
804	421	DKLLFTVTIGKVSGWRLFKKIS
805	422	DKLLFTVTIGKYKVSGWRLFKKIS
806	423	DKLLFTVTIGKYKVSVSGWRLFKKIS
807	424	DKLLFTVTIGKWKVSVSGWRLFKKIS
808	425	DKLLFTVTIQKVSGWRLFKKIS
813	426	KKMLFTVTIQKVSGWRLFKKIS
816	427	KKLLFRVTIQKVSGWRLFKKIS
825	428	DKLLFTVTIEKVSGWRLFKKI
826	429	DKLLFTVTIEKYKVSVSGWRLFKKI
827	430	DRLLFTVTIERVSGWRLFKKIS
831	431	EKLLFTVTIEKVSGWRLFKKIS
832	432	KKLLFTVTIGKVSGWRLFKKIS
833	433	GSMRFRVTINSWRVTGYRLFERES
834	434	GSMKFRVTINSVTGYRLFEKES
844	435	KKITTTGTLWNGNKIID
845	436	ERLITPDGSMLFRVTINSVSGWRLFKKIS
846	437	GRPYEGIAVDFGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSVSGWRLFKKIS
847	438	GVTPNKLNYFGRPYEGIAVDFGKKITTTGTLWNGNKIIDERLITPDGSMLFRVTINSVSGWRLFKKIS
850	439	EKMLFRVTIGNWK
851	440	EKMLFRVTIQNWK
706	441	EKMLFRVTIDKWK
707	442	EKMLFRVTIEKWK
737	443	EKMLFRVTIERWK
736	444	EKMLFRVTIDRWK
760	445	KKMLFRVTIQKWK
852	446	KKMLFRVTIGKWK
853	447	KKMLFRVTIGRWK
854	448	KKMLFRVTIGNWK
855	449	KKMLFRVTIQNWK
856	450	KKMLFRVTIDKWK
857	451	KKMLFRVTIEKWK
858	452	KKMLFRVTIERWK
859	453	KKMLFRVTIDRWK
860	454	RKMLFRVTIQKWK
861	455	RKMLFRVTIGKWK
862	456	RKMLFRVTIGRWK

[0881]

863	457	RKMLFRVTIGNWK
864	458	RKMLFRVTIQNWK
865	459	RKMLFRVTIDKWK
866	460	RKMLFRVTIEKWK
867	461	RKMLFRVTIERWK
868	462	RKMLFRVTIDRWK
656	463	EQMLFRVTINSWK
869	464	SRMLFRVTINSWK
533	465	GEMLFRVTINSWK
690	466	GKMKFRVTINSWK
678	467	GKMLFRVKINSWK
679	468	GKMLFRVRINSWK
681	469	GKMLFRVDINSWK
663	470	GKMLFRVTIDSWK
743	471	GKMLFRVTINKWK
714	472	EKMLFKVTIQKWK
870	473	EKMLFTVTIQKWK
871	474	EKMLFKVTIDKWK
872	475	EKMLFTVTIDKWK
873	476	EKMLFKVTIGRWK
744	477	DKMLFKVTIQKWK
745	478	DKMLFTVTIQKWK
874	479	DKMLFKVTIDKWK
875	480	DKMLFTVTIDKWK
876	481	GKMLFKVTIEKWK
877	482	GKMLFTVTIEKWK
748	483	DKMLFKVTIGKWK
749	484	DKMLFTVTIGKWK
878	485	DKMLFKVTIGNWK
879	486	DKMLFKVTIQNWK
781	487	GKMLFKVTINKWK
782	488	GKMLFTVTINKWK
752	489	DKMLFKVTIEKWK
753	490	DKMLFTVTIEKWK
750	491	DKLLFKVTIGKWK
786	492	DKMLFTVTINKWK
756	493	DKLLFTVTIQKWK
757	494	DKLLFTVTIQKYK
758	495	DKLLFTVTIEKWK

[0882]

759	496	DKLLFTVTIEKYK
793	497	DKLLFTVTIGKWK
794	498	DKLLFTVTIGKYK
799	499	DKLLFTVTINKWK
800	500	DKLLFTVTINKYK
780	501	GKMLFRVTINS
765	502	DKMLFTVTIQK
779	503	DKMLFKVTIQK
820	504	DKLLFTVTIGK
819	505	DKMLFTVTIGK
822	506	DKMLFTVTIEK
821	507	DKLLFTVTIEK
627	508	*DKMLFRVTINSWK
628	509	*EKMLFRVTINSWK
629	510	*RKMLFRVTINSWK
630	511	*KKMLFRVTINSWK
631	512	*HKMLFRVTINSWK
632	513	*GLMLFRVTINSWK
633	514	*GQMLFRVTINSWK
634	515	*GTMLFRVTINSWK
635	516	*GKLLFRVTINSWK
636	517	*GKMLFKVTINSWK
637	518	*GKMLFRVTIQSWK
638	519	*GKMLFRVTIDSWK
639	520	*GKMLFRVTIGSWK
640	521	*GKMLFRVTINTWK
641	522	*GKMLFRVTINNWK
642	523	*GKMLFRVTINQWK
643	524	*GKMLFRVTINPWK
644	525	*GKMLFRVTINKWK
645	526	*GKMLFRVTINSWQ
646	527	*GKMLFRVTINSWN
647	528	*GKMLFRVTINSWT
648	529	*GKMLFRVTINSWH
649	530	*GKMLFRVTINSWP
650	531	*GKMLFRVTINSWR
677	532	GKMKFRVTIDSWK
680	533	GKMLFRVEINSWK
682	534	GKMLFRVQINSWK

[0883]

683	535	GKMKFRVKINSWK
684	536	GKMKFRVRINSWK
685	537	GKMKFRVEINSWK
686	538	GKMKFRVDINSWK
687	539	GKMKFRVQINSWK
688	540	GKMKFRVNINSWK
689	541	GKMKFRVSINSWK
613	542	GKMLFRVNINSWK
614	543	GKMLFRVSINSWK
615	544	GKMLFRVWINSWK
616	545	GKMSFRVTINSWK
617	546	GKMWFRVTINSWK
618	547	GKMNFRVTINSWK
619	548	GSMLFRVTINSYK
620	549	GKMLFRVTINSYK
621	550	GKMLFRVTIKSWK
622	551	GKMLFRVTIESWK
716	552	GKMKFRVTIQSWK
717	553	GKMKFRVTIESWK
718	554	GKMKFRVTIKSWK
719	555	GKMKFRVTIRSWK
651	556	RLMLFRVTINSWK
652	557	RQMLFRVTINSWK
653	558	KLMLFRVTINSWK
654	559	KQMLFRVTINSWK
655	560	ELMLFRVTINSWK
657	561	DLMLFRVTINSWK
658	562	DQMLFRVTINSWK
659	563	DKMLFRVTINSWK
660	564	EKMLFRVTINSWK
661	565	RKMLFRVTINSWK
662	566	KKMLFRVTINSWK
665	567	GKMLFRVTIGSWK
667	568	GKMLFRVTINKWK
670	569	GKMLFRVTISKWK
671	570	GKMLFRVTIQKWK
672	571	GKMLFRVTITKWK
673	572	GKMLFRVTIKKWK
675	573	GKMLFKVTINSWK

676	574	RLMLFRVTIGKWK
701	575	GKMLFRVTINRWK
710	576	EKMLFTVTIGKWK
711	577	EKLLFTVTIGKWK
712	578	EKMLFTVTIGRWK
720	579	EKMLFTVTIEKWK
722	580	DKMLFRVTIESWK
726	581	EKLLFRVTIGKYK
746	582	DKLLFKVTIQKWK
747	583	DKLLFKVTIQKYK
751	584	DKLLFKVTIGKYK
754	585	DKLLFKVTIEKWK
755	586	DKLLFKVTIEKYK
761	587	KKLLFRVTIQKWK
762	588	DRMLFRVTIQRWR
766	589	ERMLFRVTIGRWR
768	590	GRMLFRVTINRWR
770	591	DRMLFRVTIERWR
783	592	DKMLFKVTIQKYK
784	593	DKMLFRVTINKWK
785	594	DKMLFKVTIEKYK
787	595	DKMLFKVTINKWK
*末端未封闭的		

[0884]

[0885] 表10示例性萤光素酶基本序列

Pep ID	SEQ ID NO.	序列
LgTrip 3546–WT 链 9–HiBiT	788	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAV SVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVF KVVYPVDDHHFKVILPYGTLVID**GVTPNKLNYFGRPYE GIAVFDG**KKITTTGTL**WNGNKIIDERLITPD**GSMLFRVTI NS**VSGWRLFKKIS**
Lg trip 3546–WT 链 9–SmbiT	789	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAV SVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVF KVVYPVDDHHFKVILPYGTLVID**GVTPNKLNYFGRPYE GIAVFDG**KKITTTGTL**WNGNKIIDERLITPD**GSMLFRVTI NS**VTGYRLFEEIL**
LgTrip 3546 (1-5)	790	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAV SVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVF KVVYPVDDHHFKVILPYGTLVID

[0886]

[0887]

LgTrip 3546 (1-6)	791	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAV SVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVF KVVYPVDDHHFKVILPYGTLVID**GVTPNKLNYFGRPYE GIAVFDG**
LgTrip 3546 (1-7)	792	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAV SVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVF KVVYPVDDHHFKVILPYGTLVID**GVTPNKLNYFGRPYE GIAVFDG**KKITTTGTL
LgTrip 3546 (1-8)	793	MVFTLDDFVGDWEQTAAYNLDQVLEQGGVSSLLQNLAV SVTPIMRIVRSGENALKIDIHVIIPYEGLSADQMAQIEEVF KVVYPVDDHHFKVILPYGTLVID**GVTPNKLNYFGRPYE GIAVFDG**KKITTTGTL**WNGNKIIDERLITPD**
LgTrip 3546(链 6-8)–WT 链 9–HiBiT	794	**GVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDG**KKITTTGTL**WNGNKII DERLITPD**GSMLFRVTINS**VSGWRLFKKIS**
LgTrip 3546(链 7-8)–WT 链 9–HiBiT	795	KKITTTGTL**WNGNKIIDERLITPD**GSMLFRVTINS**VSGW RLFKKIS**
LgTrip 3546 (链 8) – WT 链 9 – HiBiT	796	**WNGNKIIDERLITPD**GSMLFRVTINS**VSGWRLFKKIS**
WT 链 9–HiBiT	797	GSMLFRVTINS**VSGWRLFKKIS**
LgTrip 3546 (链 6-8) – WT 链 9 – SmBiT	798	**GVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDG**KKITTTGTL**WNGNKII DERLITPD**GSMLFRVTINS**VTGYRLFEEIL**
LgTrip 3546 (链 7-8) – WT 链 9 – SmBiT	799	KKITTTGTL**WNGNKIIDERLITPD**GSMLFRVTINS**VTGY RLFEEIL**
LgTrip 3546 (链 8) – WT 链 9 – SmBiT	800	**WNGNKIIDERLITPD**GSMLFRVTINS**VTGYRLFEEIL**
WT 链 9 – SmBiT	801	GSMLFRVTINS**VTGYRLFEEIL**
β6 样	817	**GVTPNKLNYFGRPYEGIAVFDG**

[0888]

β7 样	818	KKITTTGTL
β8 样	819	**WNGNKIIDERLITPD**

[0889] 表11.示例性多肽

名称	多肽构建体描述
ATG-2623	LgBiT-6His
ATG-3745	HiBiT-8His-LgTrip
ATG-3746	6His-HiBiT-4GS-LgTrip
ATG-4632	HiBiT-4GS-LgTrip-6His
ATG-4808	VS-HiBiT-0GS-LgTrip
ATG-4809	VS-HiBiT-4GS-LgTrip
ATG-4810	VS-HiBiT-8GS-LgTrip
ATG-4811	VS-HiBiT-12GS-LgTrip
ATG-4812	VS-HiBiT-16GS-LgTrip
ATG-4813	VS-HiBiT-20GS-LgTrip
ATG-4814	HiBiT-20GS-LgTrip
ATG-4815	LgTrip-0GS-VS-HiBiT
ATG-4816	LgTrip-4GS-VS-HiBiT
ATG-4817	LgTrip-8GS-VS-HiBiT
ATG-4818	LgTrip-8GS-HiBiT
ATG-4819	VS-HiBIT-0GS-LgTrip-6His
ATG-4820	VS-HiBiT-4GS-LgTrip-6His
ATG-4821	VS-HiBiT-8GS-LgTrip-6His
ATG-4822	VS-HiBiT-12GS-LgTrip-6His
ATG-4823	VS-HiBiT-16GS-LgTrip-6His
ATG-4824	HiBiT-20GS-LgTrip-6His
ATG-4825	VS-HiBiT-20GS-LgTrip-6His
ATG-4826	6His-LgTrip-0GS-VS-HiBiT
ATG-4827	6His-LgTrip-4GS-VS-HiBiT
ATG-4828	6His-LgTrip-8GS-HiBiT
ATG-4829	6His-LgTrip-8GS-VS-HiBiT

[0890]

序列表

<110> 普洛麦格公司(PROMEGA CORPORATION)

<120> 多部分萤光素酶

<130> PRMG-35432/WO-1/ORD

<150> US 62/684,014

<151> 2018-06-12

<160> 899

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 170

<212> PRT

<213> 细角刺虾(Oplophorus gracilirostris)

<400> 1

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

<210> 2

<211> 513

<212> DNA

<213> 细角刺虾(Oplophorus gracilirostris)

<400> 2

atggtgttta ccttggcaga tttcgttgga gactggcaac agacagctgg atacaaccaa 60
gatcaagtgt tagaacaagg aggattgtct agtctgttcc aagccctggg agtgtcagtc 120
accccaatcc agaaagttgt gctgtctggg gagaatgggt taaaagctga tattcatgtc 180
atcatccctt acgagggact cagtggtttt caaatgggtc tgattgaaat gatcttcaaa 240
gttgtttacc cagtggatga tcatcatttc aagattattc tccattatgg tacactcgtt 300
attgacggtg tgacaccaaa catgattgac tactttggac gcccttaccc tggaattgct 360
gtgtttgacg gcaagcagat cacagttact ggaactctgt ggaacggcaa caagatctat 420
gatgagcgcc tgatcaaccc agatggttca ctcctcttcc gcgttactat caatggagtc 480
accggatggc gcctttgcga gaacattctt gcc 513

<210> 3

<211> 183

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 3

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

165 170 175

Cys Glu Arg Ile Leu Ala Val
180

<210> 4
<211> 549
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 4

atgaaacatc accatcacca tcatgcgatc gccatggtct tcacactcga agatttcgtt 60
ggggactggc gacagacagc cggctacaac ctggaccaag tccttgaaca gggaggtgtg 120
tccagtttgt ttcagaatct cggggtgtcc gtaactccga tccaaaggat tgtcctgagc 180
ggtgaaaatg ggctgaagat cgacatccat gtcatcatcc cgtatgaagg tctgagcggc 240
gaccaaatgg gccagatcga aaaaattttt aaggtggtgt accctgtgga tgatcatcac 300
tttaaggtga tcctgcacta tggcacactg gtaatcgacg gggttacgcc gaacatgatc 360
gactatttcg gacggccgta tgaaggcatc gccgtgttcg acggcaaaaa gatcactgta 420
acagggaccc tgtggaacgg caacaaaatt atcgacgagc gcctgatcaa ccccgacggc 480
tccctgctgt tccgagtaac catcaacgga gtgaccggct ggcggctgtg cgaacgcatt 540
ctggcggtt 549

<210> 5
<211> 147
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 5

Met Phe Thr Leu Ala Asp Phe Val Gly Asp Trp Gln Gln Thr Ala Gly
1 5 10 15
Tyr Asn Gln Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Leu Ser Ser Leu Phe
20 25 30
Gln Ala Leu Gly Val Ser Val Thr Pro Ile Gln Lys Val Val Leu Ser
35 40 45
Gly Glu Asn Gly Leu Lys Ala Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu
50 55 60
Gly Leu Ser Gly Phe Gln Met Gly Leu Ile Glu Met Ile Phe Lys Val
65 70 75 80
Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Ile Ile Leu His Tyr Gly
85 90 95

Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Met Ile Asp Tyr Phe Gly
100 105 110
Arg Pro Tyr Pro Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Gln Ile Thr Val
115 120 125
Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Tyr Asp Glu Arg Leu Ile
130 135 140
Asn Pro Asp
145

<210> 6
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 6
Gly Ser Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn
1 5 10

<210> 7
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 7
Gly Val Thr Gly Trp Arg Leu Cys Glu Asn Ile Leu Ala
1 5 10

<210> 8
<211> 148
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 8
Met Val Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly Asp Trp Arg Gln Thr Ala
1 5 10 15
Gly Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Phe Gln Asn Leu Gly Val Ser Val Thr Pro Ile Gln Arg Ile Val Leu
35 40 45

Ser Gly Glu Asn Gly Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Gly Asp Gln Met Gly Gln Ile Glu Lys Ile Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu His Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Met Ile Asp Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Asn Pro Asp
145

<210> 9
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 9
Gly Ser Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Val
1 5 10

<210> 10
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 10
Gly Val Thr Gly Trp Arg Leu Cys Glu Arg Ile Leu Ala
1 5 10

<210> 11
<211> 165
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 11

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

<210> 12
<211> 495
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 12
atggtcttca cactcgaaga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatcc aaaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa catgctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggctcc atgctgttcc gagtaaccat caacagccat 480
catcaccatc accac 495
<210> 13

<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 13
Val Thr Gly Tyr Arg Leu Phe Glu Glu Ile Leu
1 5 10
<210> 14
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 14
gtgaccggct accggctgtt cgaggagatt ctg 33
<210> 15
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 15
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10
<210> 16
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 16
gtgagcggct ggcggctgtt caagaagatt agc 33
<210> 17
<211> 148
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 17

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

<210> 18

<211> 444

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 18

atggtcttca cactcgaaga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatcc aaaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa catgctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgac 444

<210> 19

<211> 155

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 19

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

<210> 20
<211> 465
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 20

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgaag atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc caaaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acatgctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactgtaac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgac 465

<210> 21
<211> 148
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 21

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

<210> 22
<211> 444
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 22

atggtcttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300

atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgac 444

<210> 23
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 23
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10

<210> 24
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 24
ggctccatgc tgttccgagt aaccatcaac agc 33

<210> 25
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 25
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10

<210> 26
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 26
gtgagcggct ggcggctgtt caagaagatt agc 33

<210> 27
<211> 148

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 27

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

<210> 28
<211> 444
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 28

atggtcttca cactcgaaga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgtttc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatcc aaaggattgt cctgagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaaa aatttttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgcactatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa catgatcaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420

gacgagcgcc tgatcacccc cgac 444

<210> 29

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 29

Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Val
1 5 10

<210> 30

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 30

ggctccatgc tgttccgagt aaccatcaac 30

<210> 31

<211> 155

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 31

Met Lys His His His His His His Val Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val
1 5 10 15
Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30
Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr
35 40 45
Pro Ile Gln Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp
50 55 60
Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala
65 70 75 80
Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His
85 90 95
Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr
100 105 110

Pro Asn Met Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val
115 120 125
Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn
130 135 140
Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp
145 150 155

<210> 32
<211> 465
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 32
atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgaag atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc caaaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acatgctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactgtaac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgac 465

<210> 33
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 33
000 3

<210> 34
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 34
000 3

<210> 35
<211> 22

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 35
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 36
<211> 66
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 36
ggctccatgc tgttccgagt aaccatcaac agcgtgagcg gctggcggct gttcaagaag 60
attagc 66
<210> 37
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 37
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
<210> 38
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 38
agcagctgga agcgcggctc catgctgttc cgagtaacca tcaacagc 48
<210> 39
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 39

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

<210> 40
<211> 465
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 40

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gatacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg atggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactgtaac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgac 465

<210> 41

<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 41

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

<210> 42
<211> 465
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 42

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga gcaagctgaa ctatttcgga 360

cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactgtaac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgac 465

<210> 43
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 43

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

<210> 44
<211> 465
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 44

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180

ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcttcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactgtaac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgac 465

<210> 45
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 45

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

<210> 46
<211> 465
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 46

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgtgcgac ggcaaaaaga tcactgtaac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgac 465

<210> 47
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 47

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

<210> 48
<211> 465
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 48
atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcggg 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tctctgtaac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgac 465
<210> 49
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 49
Met Lys His His His His His His Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val
1 5 10 15
Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30
Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr
35 40 45
Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp
50 55 60
Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala
65 70 75 80
Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His
85 90 95
Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr
100 105 110
Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val
115 120 125
Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Ala Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn
130 135 140
Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp
145 150 155
<210> 50

<211> 465
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 50
atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactgcaac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgac 465
<210> 51
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 51
Met Lys His His His His His His Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val
1 5 10 15
Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30
Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr
35 40 45
Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp
50 55 60
Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala
65 70 75 80
Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His
85 90 95
Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr
100 105 110
Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val
115 120 125
Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn
130 135 140

Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp
145 150 155

<210> 52
<211> 465
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 52

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgac 465

<210> 53
<211> 149
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 53

Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr

115 120 125
Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp Gly
145
<210> 54
<211> 447
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 54
atggtcttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggc 447
<210> 55
<211> 147
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 55
Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95

Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro
145

<210> 56
<211> 441
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 56

atggtcttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc c 441

<210> 57
<211> 146
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 57

Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys

65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr
145

<210> 58
<211> 438
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 58
atggtcttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacc 438

<210> 59
<211> 150
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 59
Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45

Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp Gly Ser
145 150

<210> 60
<211> 450
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 60
atggtcttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggcagc 450

<210> 61
<211> 164
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 61
Met Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala
1 5 10 15
Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu

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

<210> 62
<211> 495
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 62
atgttcacac tcgaagattt cgttggggac tgggaacaga cagccgccta caacctggac 60
caagtccttg aacagggagg tgtgtccagt ttgctgcaga atctcgccgt gtccgtaact 120
ccgatccaaa ggattgtccg gagcggtgaa aatgccctga agatcgacat ccatgtcatc 180
atcccgtatg aaggtctgag cgccgaccaa atggcccaga tcgaagaggt gtttaaggtg 240
gtgtaccctg tggatgatca tcactttaag gtgatcctgc cctatggcac actggtaatc 300
gacggggtta cgccgaacat gctgaactat ttcggacggc cgtatgaagg catcgccgtg 360
ttcgacggca aaaagatcac tgtaacaggg accctgtgga acggcaacaa aattatcgac 420
gagcgcctga tcacccccga cggctccatg ctgttccgag taaccatcaa cagccatcat 480
caccatcacc actaa 495

<210> 63
<211> 163
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的

<400> 63

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

<210> 64

<211> 492

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 64

atgacactcg aagatttcgt tggggactgg gaacagacag ccgcctacaa cctggaccaa 60
gtccttgaac agggaggtgt gtccagtttg ctgcagaatc tcgccgtgtc cgtaactccg 120
atccaaagga ttgtccggag cggtgaaaat gccctgaaga tcgacatcca tgtcatcatc 180
ccgtatgaag gtctgagcgc cgaccaaatg gcccagatcg aagaggtgtt taaggtggtg 240
taccctgtgg atgatcatca ctttaaggtg atcctgccct atggcacact ggtaatcgac 300
ggggttacgc cgaacatgct gaactatttc ggacggccgt atgaaggcat cgccgtgttc 360
gacggcaaaa agatcactgt aacagggacc ctgtggaacg gcaacaaaat tatcgacgag 420
cgcctgatca cccccgacgg ctccatgctg ttccgagtaa ccatcaacag ccatcatcac 480
catcaccact aa 492

<210> 65
<211> 162
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 65

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

<210> 66
<211> 489
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 66

atgctcgaag atttcgttgg ggactgggaa cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc 60
cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc 120
caaaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg 180
tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac 240

cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg 300
gttacgccga acatgctgaa ctatttcgga cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac 360
ggcaaaaaga tcactgtaac agggaccctg tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc 420
ctgatcaccc ccgacggctc catgctgttc cgagtaacca tcaacagcca tcatcaccat 480
caccactaa 489

<210> 67
<211> 161
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 67

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

<210> 68
<211> 486
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 68

atggaagatt tcgttgggga ctgggaacag acagccgcct acaacctgga ccaagtcctt 60
gaacagggag gtgtgtccag tttgctgcag aatctcgccg tgtccgtaac tccgatccaa 120
aggattgtcc ggagcggtga aaatgccctg aagatcgaca tccatgtcat catcccgtat 180
gaaggtctga gcgccgacca aatggcccag atcgaagagg tgtttaaggt ggtgtaccct 240
gtggatgatc atcactttaa ggtgatcctg ccctatggca cactggtaat cgacggggtt 300
acgccgaaca tgctgaacta tttcggacgg ccgtatgaag gcatcgccgt gttcgacggc 360
aaaaagatca ctgtaacagg gaccctgtgg aacggcaaca aaattatcga cgagcgcctg 420
atcacccccg acggctccat gctgttccga gtaaccatca acagccatca tcaccatcac 480
cactaa 486

<210> 69

<211> 174

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 69

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

<210> 70
<211> 525
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 70
atgttcaaga agattagcgg ctcgagcggt gtcttcacac tcgaagattt cgttggggac 60
tgggaacaga cagccgccta caacctggac caagtccttg aacagggagg tgtgtccagt 120
ttgctgcaga atctcgccgt gtccgtaact ccgatccaaa ggattgtccg gagcggtgaa 180
aatgccctga agatcgacat ccatgtcatc atcccgtatg aaggtctgag cgccgaccaa 240
atggcccaga tcgaagaggt gtttaaggtg gtgtaccctg tggatgatca tcactttaag 300
gtgatcctgc cctatggcac actggtaatc gacggggtta cgccgaacat gctgaactat 360
ttcggacggc cgtatgaagg catcgccgtg ttcgacggca aaaagatcac tgtaacaggg 420
accctgtgga acggcaacaa aattatcgac gagcgcctga tcacccccga cggctccatg 480
ctgttccgag taaccatcaa cagccatcat caccatcacc actaa 525
<210> 71
<211> 173
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 71
Met Lys Lys Ile Ser Gly Ser Ser Gly Val Phe Thr Leu Glu Asp Phe
1 5 10 15
Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu
20 25 30
Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val
35 40 45
Thr Pro Ile Gln Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile
50 55 60
Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met
65 70 75 80
Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His
85 90 95
His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val
100 105 110
Thr Pro Asn Met Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala
115 120 125

Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly
130 135 140
Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu
145 150 155 160
Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser His His His His His His
165 170

<210> 72
<211> 522
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 72
atgaagaaga ttagcggctc gagcggtgtc ttcacactcg aagatttcgt tggggactgg 60
gaacagacag ccgcctacaa cctggaccaa gtccttgaac agggaggtgt gtccagtttg 120
ctgcagaatc tcgccgtgtc cgtaactccg atccaaagga ttgtccggag cggtgaaaat 180
gccctgaaga tcgacatcca tgtcatcatc ccgtatgaag gtctgagcgc cgaccaaatg 240
gcccagatcg aagaggtgtt taaggtggtg taccctgtgg atgatcatca ctttaaggtg 300
atcctgccct atggcacact ggtaatcgac ggggttacgc cgaacatgct gaactatttc 360
ggacggccgt atgaaggcat cgccgtgttc gacggcaaaa agatcactgt aacagggacc 420
ctgtggaacg gcaacaaaat tatcgacgag cgcctgatca cccccgacgg ctccatgctg 480
ttccgagtaa ccatcaacag ccatcatcac catcaccact aa 522

<210> 73
<211> 172
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 73
Met Lys Ile Ser Gly Ser Ser Gly Val Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val
1 5 10 15
Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30
Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr
35 40 45
Pro Ile Gln Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp
50 55 60
Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala
65 70 75 80

Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His
85 90 95
Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr
100 105 110
Pro Asn Met Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val
115 120 125
Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn
130 135 140
Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe
145 150 155 160
Arg Val Thr Ile Asn Ser His His His His His His
165 170

<210> 74
<211> 519
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 74

atgaagatta gcggctcgag cggtgtcttc acactcgaag atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc caaaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acatgctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactgtaac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgacggctc catgctgttc 480
cgagtaacca tcaacagcca tcatcaccat caccactaa 519

<210> 75
<211> 171
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 75

Met Ile Ser Gly Ser Ser Gly Val Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly
1 5 10 15
Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln
20 25 30

Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro
35 40 45
Ile Gln Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile
50 55 60
His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln
65 70 75 80
Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe
85 90 95
Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro
100 105 110
Asn Met Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe
115 120 125
Asp Gly Lys Lys Ile Thr Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys
130 135 140
Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg
145 150 155 160
Val Thr Ile Asn Ser His His His His His His
165 170

<210> 76
<211> 516
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 76
atgattagcg gctcgagcgg tgtcttcaca ctcgaagatt tcgttgggga ctgggaacag 60
acagccgcct acaacctgga ccaagtcctt gaacagggag gtgtgtccag tttgctgcag 120
aatctcgccg tgtccgtaac tccgatccaa aggattgtcc ggagcggtga aaatgccctg 180
aagatcgaca tccatgtcat catcccgtat gaaggtctga gcgccgacca aatggcccag 240
atcgaagagg tgtttaaggt ggtgtaccct gtggatgatc atcactttaa ggtgatcctg 300
ccctatggca cactggtaat cgacggggtt acgccgaaca tgctgaacta tttcggacgg 360
ccgtatgaag gcatcgccgt gttcgacggc aaaaagatca ctgtaacagg gaccctgtgg 420
aacggcaaca aaattatcga cgagcgcctg atcacccccg acggctccat gctgttccga 480
gtaaccatca acagccatca tcaccatcac cactaa 516
<210> 77
<211> 170
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的

<400> 77

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

<210> 78

<211> 513

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 78

atgagcggct cgagcggtgt cttcacactc gaagatttcg ttggggactg ggaacagaca 60
gccgcctaca acctggacca agtccttgaa cagggaggtg tgtccagttt gctgcagaat 120
ctcgccgtgt ccgtaactcc gatccaaagg attgtccgga gcggtgaaaa tgccctgaag 180
atcgacatcc atgtcatcat cccgtatgaa ggtctgagcg ccgaccaaat ggcccagatc 240
gaagaggtgt ttaaggtggt gtaccctgtg gatgatcatc actttaaggt gatcctgccc 300
tatggcacac tggtaatcga cggggttacg ccgaacatgc tgaactattt cggacggccg 360
tatgaaggca tcgccgtgtt cgacggcaaa aagatcactg taacagggac cctgtggaac 420
ggcaacaaaa ttatcgacga gcgcctgatc acccccgacg gctccatgct gttccgagta 480

accatcaaca gccatcatca ccatcaccac taa 513

<210> 79

<211> 158

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 79

Met Lys His His His His His His Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val
1 5 10 15

Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30

Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr
35 40 45

Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp
50 55 60

Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala
65 70 75 80

Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His
85 90 95

Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr
100 105 110

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

Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn
130 135 140

Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met
145 150 155

<210> 80

<211> 477

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 80

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60

cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120

cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180

ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240

cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgacggcag catgtaa 477

<210> 81
<211> 159
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 81

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

<210> 82
<211> 480
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 82

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60

cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgacggcag catgctgtaa 480

<210> 83
<211> 160
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 83

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

<210> 84
<211> 483
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的

<400> 84

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgacggcag catgctgttc 480
taa 483

<210> 85

<211> 152

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 85

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

<210> 86

<211> 459
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 86
atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatctaa 459
<210> 87
<211> 151
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 87
Met Lys His His His His His His Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val
1 5 10 15
Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30
Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr
35 40 45
Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp
50 55 60
Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala
65 70 75 80
Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His
85 90 95
Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr
100 105 110
Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val
115 120 125
Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn
130 135 140

Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
145 150

<210> 88
<211> 456
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 88

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgtaa 456

<210> 89
<211> 150
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 89

Met Lys His His His His His His Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val
1 5 10 15
Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30
Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr
35 40 45
Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp
50 55 60
Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala
65 70 75 80
Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His
85 90 95
Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr
100 105 110
Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val

115 120 125
Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn
130 135 140
Lys Ile Ile Asp Glu Arg
145 150
<210> 90
<211> 453
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 90
atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc taa 453
<210> 91
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 91
Met Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu
1 5 10 15
Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu
20 25 30
Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu
35 40 45
Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala
50 55 60
Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu
65 70 75 80
Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly
85 90 95

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Ser Gly Gly Ala Ile
100 105 110
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
115 120

<210> 92
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 92

atggtggcca tcctctggca tgagatgtgg catgaaggcc tggaagaggc atctcgtttg 60
tactttgggg aaaggaacgt gaaaggcatg tttgaggtgc tggagccctt gcatgctatg 120
atggaacggg gcccccagac tctgaaggaa acatccttta atcaggccta tggtcgagat 180
ttaatggagg cccaagagtg gtgcaggaag tacatgaaat cagggaatgt caaggacctc 240
acccaagcct gggacctcta ttatcatgtg ttccgacgaa tcagtggtgg ttcaggtggt 300
ggcgggagcg gtggctcgag cagcggtgga gcgatcgtga gcggctggcg gctgttcaag 360
aagattagct aa 372

<210> 93
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 93

Met Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu
1 5 10 15
Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu
20 25 30
Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu
35 40 45
Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala
50 55 60
Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu
65 70 75 80
Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly
85 90 95
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Ser Gly Gly Ala Ile
100 105 110

Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
115 120 125

<210> 94
<211> 378
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 94

atggtggcca tcctctggca tgagatgtgg catgaaggcc tggaagaggc atctcgtttg 60
tactttgggg aaaggaacgt gaaaggcatg tttgaggtgc tggagccctt gcatgctatg 120
atggaacggg gcccccagac tctgaaggaa acatccttta atcaggccta tggtcgagat 180
ttaatggagg cccaagagtg gtgcaggaag tacatgaaat cagggaatgt caaggacctc 240
acccaagcct gggacctcta ttatcatgtg ttccgacgaa tcagtggtgg ttcaggtggt 300
ggcgggagcg gtggctcgag cagcggtgga gcgatcgtta gcgttagcgg ctggcgcctg 360
ttcaagaaga tcagctaa 378

<210> 95
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 95

Met Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu
1 5 10 15
Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu
20 25 30
Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu
35 40 45
Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala
50 55 60
Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu
65 70 75 80
Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly
85 90 95
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Ser Gly Gly Ala Ile
100 105 110
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser His His His His His
115 120 125

His
<210> 96
<211> 390
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 96
atggtggcca tcctctggca tgagatgtgg catgaaggcc tggaagaggc atctcgtttg 60
tactttgggg aaaggaacgt gaaaggcatg tttgaggtgc tggagccctt gcatgctatg 120
atggaacggg gccccccagac tctgaaggaa acatccttta atcaggccta tggtcgagat 180
ttaatggagg cccaagagtg gtgcaggaag tacatgaaat cagggaatgt caaggacctc 240
acccaagcct gggacctcta ttatcatgtg ttccgacgaa tcagtggtgg ttcaggtggt 300
ggcgggagcg gtggctcgag cagcggtgga gcgatcgtga gcggctggcg gctgttcaag 360
aagattagcc atcatcacca tcaccactaa 390
<210> 97
<211> 131
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 97
Met Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu
1 5 10 15
Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu
20 25 30
Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu
35 40 45
Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala
50 55 60
Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu
65 70 75 80
Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly
85 90 95
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Ser Gly Gly Ala Ile
100 105 110
Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser His His His
115 120 125
His His His

130

<210> 98

<211> 396

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 98

atggtggcca tcctctggca tgagatgtgg catgaaggcc tggaagaggc atctcgtttg 60
tactttgggg aaaggaacgt gaaaggcatg tttgaggtgc tggagccctt gcatgctatg 120
atggaacggg gccccccagac tctgaaggaa acatccttta atcaggccta tggtcgagat 180
ttaatggagg cccaagagtg gtgcaggaag tacatgaaat cagggaatgt caaggacctc 240
acccaagcct gggacctcta ttatcatgtg ttccgacgaa tcagtggtgg ttcaggtggt 300
ggcgggagcg gtggctcgag cagcggtgga gcgatcgtta gcgtgagcgg ctggcggctg 360
ttcaagaaga ttagccatca tcaccatcac cactaa 396

<210> 99

<211> 118

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 99

Met Lys His His His His His His Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met
1 5 10 15
Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg
20 25 30
Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met
35 40 45
Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr
50 55 60
Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys
65 70 75 80
Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His
85 90 95
Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Ser Gly Trp Arg
100 105 110
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
115

<210> 100

<211> 357
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 100
atgaaacatc accatcacca tcatgtggcc atcctctggc atgagatgtg gcatgaaggc 60
ctggaagagg catctcgttt gtactttggg gaaaggaacg tgaaaggcat gtttgaggtg 120
ctggagccct tgcatgctat gatggaacgg ggcccccaga ctctgaagga aacatccttt 180
aatcaggcct atggtcgaga tttaatggag gcccaagagt ggtgcaggaa gtacatgaaa 240
tcagggaatg tcaaggacct cacccaagcc tgggacctct attatcatgt gttccgacga 300
atcagtggtg gttcaggtgg tgtgagcggc tggcggctgt tcaagaagat tagctaa 357
<210> 101
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 101
Met Lys His His His His His His Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met
1 5 10 15
Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg
20 25 30
Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met
35 40 45
Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr
50 55 60
Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys
65 70 75 80
Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His
85 90 95
Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
115 120
<210> 102
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 102
atgaaacatc accatcacca tcatgtggcc atcctctggc atgagatgtg gcatgaaggc 60
ctggaagagg catctcgttt gtactttggg gaaaggaacg tgaaaggcat gtttgaggtg 120
ctggagccct tgcatgctat gatggaacgg ggcccccaga ctctgaagga aacatccttt 180
aatcaggcct atggtcgaga tttaatggag gcccaagagt ggtgcaggaa gtacatgaaa 240
tcagggaatg tcaaggacct cacccaagcc tgggacctct attatcatgt gttccgacga 300
atcagtggtg gttcaggtgg tggcgggagc ggtggcgtga gcggctggcg gctgttcaag 360
aagattagct aa 372
<210> 103
<211> 128
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 103
Met Lys His His His His His His Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met
1 5 10 15
Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg
20 25 30
Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met
35 40 45
Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr
50 55 60
Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys
65 70 75 80
Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His
85 90 95
Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110
Ser Ser Ser Gly Gly Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
115 120 125
<210> 104
<211> 387
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 104
atgaaacatc accatcacca tcatgtggcc atcctctggc atgagatgtg gcatgaaggc 60
ctggaagagg catctcgttt gtactttggg gaaaggaacg tgaaaggcat gtttgaggtg 120
ctggagccct tgcatgctat gatggaacgg ggcccccaga ctctgaagga aacatccttt 180
aatcaggcct atggtcgaga tttaatggag gcccaagagt ggtgcaggaa gtacatgaaa 240
tcagggaatg tcaaggacct cacccaagcc tgggacctct attatcatgt gttccgacga 300
atcagtggtg gttcaggtgg tggcgggagc ggtggctcga gcagcggtgg agtgagcggc 360
tggcggctgt tcaagaagat tagctaa 387
<210> 105
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 105
Met Lys His His His His His His Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met
1 5 10 15
Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg
20 25 30
Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met
35 40 45
Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr
50 55 60
Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys
65 70 75 80
Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His
85 90 95
Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly Gly Ser Gly Gly Val Ser Val Ser Gly
100 105 110
Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
115 120
<210> 106
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 106
atgaaacatc accatcacca tcatgtggcc atcctctggc atgagatgtg gcatgaaggc 60

ctggaagagg catctcgttt gtactttggg gaaaggaacg tgaaaggcat gtttgaggtg 120
ctggagccct tgcatgctat gatggaacgg ggcccccaga ctctgaagga aacatccttt 180
aatcaggcct atggtcgaga tttaatggag gcccaagagt ggtgcaggaa gtacatgaaa 240
tcagggaatg tcaaggacct cacccaagcc tgggacctct attatcatgt gttccgacga 300
atcagtggtg gttcaggtgg tgttagcgtt agcggctggc gcctgttcaa gaagatcagc 360
taa 363

<210> 107
<211> 125
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 107

Met Lys His His His His His His Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met
1 5 10 15
Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg
20 25 30
Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met
35 40 45
Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr
50 55 60
Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys
65 70 75 80
Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His
85 90 95
Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110
Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
115 120 125

<210> 108
<211> 378
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 108

atgaaacatc accatcacca tcatgtggcc atcctctggc atgagatgtg gcatgaaggc 60
ctggaagagg catctcgttt gtactttggg gaaaggaacg tgaaaggcat gtttgaggtg 120
ctggagccct tgcatgctat gatggaacgg ggcccccaga ctctgaagga aacatccttt 180

aatcaggcct atggtcgaga tttaatggag gcccaagagt ggtgcaggaa gtacatgaaa 240
tcagggaatg tcaaggacct cacccaagcc tgggacctct attatcatgt gttccgacga 300
atcagtggtg gttcaggtgg tggcgggagc ggtggcgtta gcgttagcgg ctggcgcctg 360
ttcaagaaga tcagctaa 378

<210> 109
<211> 130
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 109

Met Lys His His His His His His Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met
1 5 10 15
Trp His Glu Gly Leu Glu Glu Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg
20 25 30
Asn Val Lys Gly Met Phe Glu Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met
35 40 45
Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr
50 55 60
Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys
65 70 75 80
Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His
85 90 95
Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
100 105 110
Ser Ser Ser Gly Gly Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys
115 120 125
Ile Ser
130

<210> 110
<211> 393
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 110

atgaaacatc accatcacca tcatgtggcc atcctctggc atgagatgtg gcatgaaggc 60
ctggaagagg catctcgttt gtactttggg gaaaggaacg tgaaaggcat gtttgaggtg 120
ctggagccct tgcatgctat gatggaacgg ggcccccaga ctctgaagga aacatccttt 180

aatcaggcct atggtcgaga tttaatggag gcccaagagt ggtgcaggaa gtacatgaaa 240
tcagggaatg tcaaggacct cacccaagcc tgggacctct attatcatgt gttccgacga 300
atcagtggtg gttcaggtgg tggcgggagc ggtggctcga gcagcggtgg agttagcgtt 360
agcggctggc gcctgttcaa gaagatcagc taa 393

<210> 111
<211> 134
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 111

Met Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Ser Ser Ser Gly
1 5 10 15
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Ser Gly Gly Gly Val Gln Val Glu
20 25 30
Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe Pro Lys Arg Gly Gln Thr
35 40 45
Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Glu Asp Gly Lys Lys Phe Asp
50 55 60
Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys Phe Met Leu Gly Lys Gln
65 70 75 80
Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val Ala Gln Met Ser Val Gly
85 90 95
Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr
100 105 110
Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala Thr Leu Val Phe Asp Val
115 120 125
Glu Leu Leu Lys Leu Glu
130

<210> 112
<211> 405
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 112

atgggctcca tgctgttccg agtaaccatc aacagctcga gttcaggtgg tggcgggagc 60
ggtggaggga gcagcggtgg aggagtgcag gtggaaacca tctccccagg agacgggcgc 120
accttcccca agcgcggcca gacctgcgtg gtgcactaca ccgggatgct tgaagatgga 180

aagaaatttg attcctcccg ggacagaaac aagcccttta agtttatgct aggcaagcag 240
gaggtgatcc gaggctggga agaaggggtt gcccagatga gtgtgggtca gagagccaaa 300
ctgactatat ctccagatta tgcctatggt gccactgggc acccaggcat catcccacca 360
catgccactc tcgtcttcga tgtggagctt ctaaaactgg aataa 405

<210> 113
<211> 136
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 113

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

<210> 114
<211> 408
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 114

atgggagtgc aggtggaaac catctcccca ggagacgggc gcaccttccc caagcgcggc 60
cagacctgcg tggtgcacta caccgggatg cttgaagatg gaaagaaatt tgattcctcc 120
cgggacagaa acaagccctt taagtttatg ctaggcaagc aggaggtgat ccgaggctgg 180

gaagaagggg ttgcccagat gagtgtgggt cagagagcca aactgactat atctccagat 240
tatgcctatg gtgccactgg gcacccaggc atcatcccac cacatgccac tctcgtcttc 300
gatgtggagc ttctaaaact ggaaggtggt tcaggtggtg gcgggagcgg tggctcgagc 360
agcggtggag cgatcggctc catgctgttc cgagtaacca tcaacagc 408

<210> 115
<211> 165
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 115

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

<210> 116
<211> 498
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 116
atggtcttca cactcgaaga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatcc aaaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa catgctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggctcc atgctgttcc gagtaaccat caacagccat 480
catcaccatc accactaa 498
<210> 117
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 117
000 3
<210> 118
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 118
000 3
<210> 119
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 119
000 3
<210> 120
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 120
000 3
<210> 121
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 121
000 3
<210> 122
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 122
000 3
<210> 123
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 123
000 3
<210> 124
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 124
000 3
<210> 125
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 125
000 3
<210> 126
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 126
000 3
<210> 127
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 127
000 3
<210> 128
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 128
000 3
<210> 129
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 129
000 3
<210> 130
<211> 0
<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 130
000 3
<210> 131
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 131
000 3
<210> 132
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 132
000 3
<210> 133
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 133
Asn Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Asn
1 5 10
<210> 134
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 134
Asn Val Thr Gly Tyr Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Asn
1 5 10

<210> 135
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 135
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Asn
1 5 10
<210> 136
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 136
Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Asn
1 5 10
<210> 137
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 137
Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Asn
1 5 10
<210> 138
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 138
Val Thr Gly Tyr Arg Leu Phe Glu Lys Ile Ser
1 5 10
<210> 139
<211> 10
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 139
Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10
<210> 140
<211> 6
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 140
Val Ser Gly Trp Arg Leu
1 5
<210> 141
<211> 7
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 141
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe
1 5
<210> 142
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 142
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys
1 5
<210> 143
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 143
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys
1 5
<210> 144
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 144
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile
1 5 10
<210> 145
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 145
Val Ser Gly Trp Arg Leu Tyr Lys Lys Ile Ser
1 5 10
<210> 146
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 146
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Ala
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 147
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 147

Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Thr Gly Tyr Arg
1 5 10 15
Leu Phe Glu Glu Ile Leu
20

<210> 148
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 148
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Ser Ser Trp Lys Arg
1 5 10 15

<210> 149
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 149
Val Ser Gly Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10

<210> 150
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 150
Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10

<210> 151
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 151
Val Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser

1 5 10

<210> 152
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 152
Ser Ser Trp Lys Arg Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15

<210> 153
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 153
Ser Ser Trp Lys Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10

<210> 154
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 154
Ser Ser Trp Lys Arg Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn
1 5 10 15
Ser

<210> 155
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 155
Ser Ser Trp Lys Arg Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile
1 5 10 15
Asn Ser

<210> 156
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 156
Ser Ser Trp Lys Arg Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val
1 5 10 15
<210> 157
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 157
Ser Ser Trp Lys Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val
1 5 10 15
<210> 158
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 158
Ser Ser Trp Lys Arg Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn
1 5 10 15
Ser Val
<210> 159
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 159
Ser Ser Trp Lys Arg Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile
1 5 10 15
Asn Ser Val
<210> 160

<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 160
Ser Ser Trp Lys Arg Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val
1 5 10 15
Ser
<210> 161
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 161
Ser Ser Trp Lys Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser
1 5 10 15
<210> 162
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 162
Ser Ser Trp Lys Arg Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn
1 5 10 15
Ser Val Ser
<210> 163
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 163
Ser Ser Trp Lys Arg Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile
1 5 10 15
Asn Ser Val Ser
20

<210> 164
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 164
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn
1 5 10 15
<210> 165
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 165
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile
1 5 10
<210> 166
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 166
Ser Ser Trp Lys Arg Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn
1 5 10
<210> 167
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 167
Ser Ser Trp Lys Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn
1 5 10
<210> 168
<211> 16
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 168
Ser Ser Trp Lys Arg Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn
1 5 10 15
<210> 169
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 169
Ser Ser Trp Lys Arg Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile
1 5 10 15
Asn
<210> 170
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 170
Ser Ser Trp Lys Arg Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile
1 5 10
<210> 171
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 171
Ser Ser Trp Lys Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile
1 5 10
<210> 172
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 172
Ser Ser Trp Lys Arg Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile
1 5 10 15
<210> 173
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 173
Ser Ser Trp Lys Arg Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile
1 5 10 15
<210> 174
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 174
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Val Phe Thr Leu
1 5 10 15
<210> 175
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 175
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Val Phe Thr
1 5 10
<210> 176
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 176
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Val Phe

1 5 10

<210> 177

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 177

Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Val

1 5 10

<210> 178

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 178

Val Ser Gly Trp Arg Leu Cys Lys Lys Ile Ser

1 5 10

<210> 179

<211> 22

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 179

Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Gly Ser Met Leu Phe

1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Asn Ser

20

<210> 180

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 180

Ser Ser Trp Lys Arg Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser

1 5 10

<210> 181
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 181
Ser Ser Trp Lys Arg Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 182
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 182
Ser Ser Trp Lys Arg Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 183
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 183
Ser Ser Trp Lys Arg Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr
1 5 10 15
Ile Asn Ser
<210> 184
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 184
Ser Ser Trp Lys Arg Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val
1 5 10 15
Thr Ile Asn Ser
20

<210> 185
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 185
Ser Ser Trp Lys Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg
1 5 10 15
Val Thr Ile Asn Ser
20
<210> 186
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 186
Ser Ser Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10 15
<210> 187
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 187
Ser Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Ser
1 5 10 15
<210> 188
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 188
Ser Trp Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 189

<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 189
Ser Ser Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys
1 5 10
<210> 190
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 190
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Tyr Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
<210> 191
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 191
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Trp Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
<210> 192
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 192
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu His Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
<210> 193
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 193
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
<210> 194
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 194
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Lys Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
<210> 195
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 195
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Arg Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
<210> 196
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 196
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Phe Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
<210> 197
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 197

Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Trp Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15

<210> 198
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 198
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Ser Ile Asn Ser
1 5 10 15

<210> 199
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 199
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Gln Ile Asn Ser
1 5 10 15

<210> 200
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 200
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Asn Ile Asn Ser
1 5 10 15

<210> 201
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 201
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
Cys

<210> 202
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 202
Cys Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10
<210> 203
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 203
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
Lys
<210> 204
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 204
Lys Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10
<210> 205
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 205
Gly Ser Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Gly Val Thr Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Cys Glu Asn Ile Leu Ala
20

<210> 206
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 206
Gly Ser Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Val Gly Val Thr Gly Trp
1 5 10 15
Arg Leu Cys Glu Arg Ile Leu Ala
20
<210> 207
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 207
Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10
<210> 208
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 208
Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10
<210> 209
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 209
Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5
<210> 210

<211> 501
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 210
atggtgagcg gctggcggct gttcaagaag attagccacc atcaccatca ccatcatcac 60
ttcacactcg acgatttcgt tggggactgg gaacagacag ccgcctacaa cctggaccaa 120
gtccttgaac agggaggtgt gtccagtttg ctgcagaatc tcgccgtgtc cgtaactccg 180
atcatgagga ttgtccggag cggtgaaaat gccctgaaga tcgacatcca tgtcatcatc 240
ccgtatgaag gtctgagcgc cgaccaaatg gcccagatcg aagaggtgtt taaggtggtg 300
taccctgtgg atgatcatca ctttaaggtg atcctgccct atggcacact ggtaatcgac 360
ggggttacgc cgaacaagct gaactatttc ggacggccgt atgaaggcat cgccgtgttc 420
gacggcaaaa agatcactac cacagggacc ctgtggaacg gcaacaaaat tatcgacgag 480
cgcctgatca cccccgacta a 501
<210> 211
<211> 166
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 211
Met Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser His His His His
1 5 10 15
His His His His Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln
20 25 30
Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser
35 40 45
Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile
50 55 60
Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile
65 70 75 80
Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val
85 90 95
Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu
100 105 110
Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn
115 120 125
Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys

130 135 140
Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu
145 150 155 160
Arg Leu Ile Thr Pro Asp
165

<210> 212
<211> 510
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 212
atgaaacatc accatcacca tcatgtgagc ggctggcggc tgttcaagaa gattagcggc 60
agctccggtt tcacactcga cgatttcgtt ggggactggg aacagacagc cgcctacaac 120
ctggaccaag tccttgaaca gggaggtgtg tccagtttgc tgcagaatct cgccgtgtcc 180
gtaactccga tcatgaggat tgtccggagc ggtgaaaatg ccctgaagat cgacatccat 240
gtcatcatcc cgtatgaagg tctgagcgcc gaccaaatgg cccagatcga agaggtgttt 300
aaggtggtgt accctgtgga tgatcatcac tttaaggtga tcctgcccta tggcacactg 360
gtaatcgacg gggttacgcc gaacaagctg aactatttcg gacggccgta tgaaggcatc 420
gccgtgttcg acggcaaaaa gatcactacc acagggaccc tgtggaacgg caacaaaatt 480
atcgacgagc gcctgatcac ccccgactaa 510

<210> 213
<211> 169
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 213
Met Lys His His His His His His Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys
1 5 10 15
Lys Ile Ser Gly Ser Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp
20 25 30
Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly
35 40 45
Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile
50 55 60
Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His
65 70 75 80
Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile

85 90 95
Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys
100 105 110
Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn
115 120 125
Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp
130 135 140
Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile
145 150 155 160
Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp
165

<210> 214
<211> 366
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 214
atggtggcca tcctctggca tgagatgtgg catgaaggcc tggaagaggc atctcgtttg 60
tactttgggg aaaggaacgt gaaaggcatg tttgaggtgc tggagccctt gcatgctatg 120
atggaacggg gcccccagac tctgaaggaa acatccttta atcaggccta tggtcgagat 180
ttaatggagg cccaagagtg gtgcaggaag tacatgaaat cagggaatgt caaggacctc 240
acccaagcct gggacctcta ttatcatgtg ttccgacgaa tcagtggtgg ttcaggtggt 300
ggcgggagcg gtggctcgag cagcggtgga gtgagcggct ggcggctgtt caagaagatt 360
agctaa 366
<210> 215
<211> 121
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 215
Met Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu
1 5 10 15
Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu
20 25 30
Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu
35 40 45
Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala

50 55 60
Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu
65 70 75 80
Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly
85 90 95
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Ser Gly Gly Val Ser
100 105 110
Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
115 120

<210> 216
<211> 372
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 216
atggtggcca tcctctggca tgagatgtgg catgaaggcc tggaagaggc atctcgtttg 60
tactttgggg aaaggaacgt gaaaggcatg tttgaggtgc tggagccctt gcatgctatg 120
atggaacggg gcccccagac tctgaaggaa acatccttta atcaggccta tggtcgagat 180
ttaatggagg cccaagagtg gtgcaggaag tacatgaaat cagggaatgt caaggacctc 240
acccaagcct gggacctcta ttatcatgtg ttccgacgaa tcagtggtgg ttcaggtggt 300
ggcgggagcg gtggctcgag cagcggtgga gttagcgtta gcggctggcg cctgttcaag 360
aagatcagct aa 372

<210> 217
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 217
Met Val Ala Ile Leu Trp His Glu Met Trp His Glu Gly Leu Glu Glu
1 5 10 15
Ala Ser Arg Leu Tyr Phe Gly Glu Arg Asn Val Lys Gly Met Phe Glu
20 25 30
Val Leu Glu Pro Leu His Ala Met Met Glu Arg Gly Pro Gln Thr Leu
35 40 45
Lys Glu Thr Ser Phe Asn Gln Ala Tyr Gly Arg Asp Leu Met Glu Ala
50 55 60
Gln Glu Trp Cys Arg Lys Tyr Met Lys Ser Gly Asn Val Lys Asp Leu

65 70 75 80
Thr Gln Ala Trp Asp Leu Tyr Tyr His Val Phe Arg Arg Ile Ser Gly
85 90 95
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Ser Gly Gly Val Ser
100 105 110
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
115 120

<210> 218
<211> 369
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 218
atgggagtgc aggtggaaac catctcccca ggagacgggc gcaccttccc caagcgcggc 60
cagacctgcg tggtgcacta caccgggatg cttgaagatg gaaagaaatt tgattcctcc 120
cgggacagaa acaagccctt taagtttatg ctaggcaagc aggaggtgat ccgaggctgg 180
gaagaagggg ttgcccagat gagtgtgggt cagagagcca aactgactat atctccagat 240
tatgcctatg gtgccactgg gcacccaggc atcatcccac cacatgccac tctcgtcttc 300
gatgtggagc ttctaaaact ggaaggtggt tcaggtggtg gcgggagcgg tggctcgagc 360
agcggtgga 369

<210> 219
<211> 123
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 219
Met Gly Val Gln Val Glu Thr Ile Ser Pro Gly Asp Gly Arg Thr Phe
1 5 10 15
Pro Lys Arg Gly Gln Thr Cys Val Val His Tyr Thr Gly Met Leu Glu
20 25 30
Asp Gly Lys Lys Phe Asp Ser Ser Arg Asp Arg Asn Lys Pro Phe Lys
35 40 45
Phe Met Leu Gly Lys Gln Glu Val Ile Arg Gly Trp Glu Glu Gly Val
50 55 60
Ala Gln Met Ser Val Gly Gln Arg Ala Lys Leu Thr Ile Ser Pro Asp
65 70 75 80
Tyr Ala Tyr Gly Ala Thr Gly His Pro Gly Ile Ile Pro Pro His Ala

85 90 95

Thr Leu Val Phe Asp Val Glu Leu Leu Lys Leu Glu Gly Gly Ser Gly

100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Ser Gly Gly

115 120

<210> 220

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 220

Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val

1 5 10

<210> 221

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 221

Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser

1 5 10

<210> 222

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 222

Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly

1 5 10

<210> 223

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 223

Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp
1 5 10

<210> 224
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 224
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Lys
1 5 10

<210> 225
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 225
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10

<210> 226
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 226
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly
1 5 10

<210> 227
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 227
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp
1 5 10 15

<210> 228

<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 228
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
<210> 229
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 229
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Lys
1 5 10 15
<210> 230
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 230
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys
1 5 10
<210> 231
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 231
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 232
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 232
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 233
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 233
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Ser
1 5 10
<210> 234
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 234
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Ser
1 5
<210> 235
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 235
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys
1 5
<210> 236
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 236

Met Leu Phe Arg Val Lys Ile Asn Ser
1 5
<210> 237
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 237
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Ser
1 5 10
<210> 238
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 238
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Lys Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 239
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 239
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Ser
1 5 10
<210> 240
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 240
Met Leu Phe Arg Val Asn Ile Asn Ser
1 5
<210> 241

<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 241
Met Leu Phe Arg Val Trp Ile Asn Ser
1 5
<210> 242
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 242
Leu Leu Phe Arg Val Lys Ile Asn Ser
1 5
<210> 243
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 243
Phe Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5
<210> 244
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 244
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
Val
<210> 245
<211> 18
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 245
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
Val Ser
<210> 246
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 246
Ser Ser Trp Lys Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser
1 5 10 15
Gly
<210> 247
<211> 18
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 247
Ser Ser Trp Lys Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser
1 5 10 15
Gly Trp
<210> 248
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 248
Ser Ser Trp Lys Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser
1 5 10 15
Gly Trp Arg
<210> 249
<211> 19

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 249
Ser Ser Trp Lys Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser
1 5 10 15
Gly Trp Lys
<210> 250
<211> 14
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 250
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Lys
1 5 10
<210> 251
<211> 19
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 251
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
Val Ser Gly
<210> 252
<211> 20
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 252
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
Val Ser Gly Trp
20
<210> 253

<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 253
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
Val Ser Gly Trp Arg
20
<210> 254
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 254
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
Val Ser Gly Trp Lys
20
<210> 255
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 255
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Tyr Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10 15
<210> 256
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 256
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Lys Ile Asn Ser
1 5 10 15

<210> 257
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 257
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Arg Ile Asn Ser
1 5 10 15
<210> 258
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 258
Ser Ser Trp Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Trp Ile Asn Ser
1 5 10 15
<210> 259
<211> 16
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 259
Ser Ser Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Ser Val
1 5 10 15
<210> 260
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 260
Ser Ser Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Ser Val
1 5 10 15
Ser
<210> 261
<211> 15

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 261
Ser Ser Trp Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Lys Ser
1 5 10 15
<210> 262
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 262
Lys Arg Ser Ser Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Ser
1 5 10 15
<210> 263
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 263
Ser Ser Lys Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Ser
1 5 10
<210> 264
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 264
Lys Arg Ser Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Ser
1 5 10
<210> 265
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 265
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 266
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 266
Gly Ser Met Leu Phe Arg Lys Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 267
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 267
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Lys Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 268
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 268
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 269
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 269
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys

1 5 10

<210> 270

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 270

Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys

1 5 10

<210> 271

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 271

Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys

1 5 10

<210> 272

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 272

Gly Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys

1 5 10

<210> 273

<211> 11

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 273

Gly Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys

1 5 10

<210> 274

<211> 13

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 274
Gly Ser Met Arg Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 275
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 275
Gly Ser Met Arg Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys
1 5 10
<210> 276
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 276
Gly Asp Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 277
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 277
Gly Asp Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys
1 5 10
<210> 278
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 278
Gly Ser Met Asp Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 279
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 279
Gly Ser Met Asp Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys
1 5 10
<210> 280
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 280
Gly Glu Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 281
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 281
Gly Ser Met Glu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 282
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 282
Gly Ser Met Glu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys

1 5 10

<210> 283

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 283

Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys Val Lys

1 5 10

<210> 284

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 284

Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Ser Val Lys

1 5 10

<210> 285

<211> 12

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 285

Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Ser Lys

1 5 10

<210> 286

<211> 13

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 286

Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys Trp Lys

1 5 10

<210> 287

<211> 12

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 287
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys Lys
1 5 10
<210> 288
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 288
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 289
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 289
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5
<210> 290
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 290
Met Leu Phe Val Thr Ile Asn Ser Val
1 5
<210> 291
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 291
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser
1 5 10
<210> 292
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 292
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn
1 5 10
<210> 293
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 293
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile
1 5
<210> 294
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 294
Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn
1 5
<210> 295
<211> 8
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 295
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn

1 5

<210> 296

<211> 7

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 296

Met Leu Phe Arg Val Thr Ile

1 5

<210> 297

<211> 15

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 297

Ser Ser Lys Arg Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Ser

1 5 10 15

<210> 298

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 298

Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Gly Val Ser Gly Trp

1 5 10 15

Ala Leu Phe Lys Lys Ile Ser

20

<210> 299

<211> 23

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 299

Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Gly Val Ser Gly Trp

1 5 10 15

Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 300
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 300
Val Ser Gly Trp Ala Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10

<210> 301
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 301
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Val Ser
1 5 10 15
Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20 25

<210> 302
<211> 148
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 302
Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80

Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp
145

<210> 303
<211> 444
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 303
atggtcttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgac 444

<210> 304
<211> 148
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 304
Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr

50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp
145

<210> 305
<211> 444
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 305
atggtcttca cactcgaaga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatcc aaaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa catgctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgac 444

<210> 306
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 306
Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10

<210> 307
<211> 13

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 307
Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10
<210> 308
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 308
Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5
<210> 309
<211> 23
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 309
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Gly Val Ser Gly Trp
1 5 10 15
Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 310
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 310
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 311
<211> 13
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 311
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 312
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 312
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 313
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 313
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 314
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 314
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Lys Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 315
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 315
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 316
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 316
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Arg Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 317
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 317
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Asp Trp Lys
1 5 10
<210> 318
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 318
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 319
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 319
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Glu Trp Lys
1 5 10

<210> 320
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 320
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 321
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 321
Gly Ser Met Arg Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 322
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 322
Gly Ser Met Asp Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 323
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 323
Gly Ser Met Glu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 324
<211> 13
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 324
Gly Ser Met Leu Phe Arg Arg Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 325
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 325
Gly Ser Met Leu Phe Arg Asp Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 326
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 326
Gly Ser Met Leu Phe Arg Glu Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 327
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 327
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Asp Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 328
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 328
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Glu Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 329
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 329
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 330
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 330
Gly Ser Met Leu Phe Arg Lys Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 331
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 331
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Lys Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 332
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 332
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10

<210> 333
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 333
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Ser Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 334
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 334
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Asn Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 335
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 335
Gly Ser Lys Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 336
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 336
Gly Ser Arg Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 337
<211> 11
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 337
Gly Ser Met Trp Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 338
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 338
Gly Ser Met Ser Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 339
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 339
Gly Ser Met Asn Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 340
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 340
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 341
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 341
Gly Ser Met Leu Phe Arg Trp Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 342
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 342
Gly Ser Met Leu Phe Arg Ser Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 343
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 343
Gly Ser Met Leu Phe Arg Asn Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 344
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 344
Gly Ser Met Leu Phe Arg Lys Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 345
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 345
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Trp Asn Ser
1 5 10

<210> 346
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 346
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ser Asn Ser
1 5 10
<210> 347
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 347
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Asn Asn Ser
1 5 10
<210> 348
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 348
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Lys Asn Ser
1 5 10
<210> 349
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 349
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Lys Ser
1 5 10
<210> 350
<211> 634
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 350

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

275 280 285

Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Gly Asp Gln

290 295 300

Met Gly Gln Ile Glu Lys Ile Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp

305 310 315 320

His His Phe Lys Val Ile Leu His Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly

325 330 335

Val Thr Pro Asn Met Ile Asp Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile

340 345 350

Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn

355 360 365

Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Asn Pro Asp Gly Ser Leu

370 375 380

Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Gly Val Thr Gly Trp Arg Leu Cys Glu

385 390 395 400

Arg Ile Leu Ala Arg His Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Arg Ser Lys

405 410 415

Leu Tyr Leu Glu Gly Ser Val Asn Gly His Gln Phe Lys Cys Thr His

420 425 430

Glu Gly Glu Gly Lys Pro Tyr Glu Gly Lys Gln Thr Asn Arg Ile Lys

435 440 445

Val Val Glu Gly Gly Pro Leu Pro Phe Ala Phe Asp Ile Leu Ala Thr

450 455 460

His Phe Met Tyr Gly Ser Lys Val Phe Ile Lys Tyr Pro Ala Asp Leu

465 470 475 480

Pro Asp Tyr Phe Lys Gln Ser Phe Pro Glu Gly Phe Thr Trp Glu Arg

485 490 495

Val Met Val Phe Glu Asp Gly Gly Val Leu Thr Ala Thr Gln Asp Thr

500 505 510

Ser Leu Gln Asp Gly Glu Leu Ile Tyr Asn Val Lys Val Arg Gly Val

515 520 525

Asn Phe Pro Ala Asn Gly Pro Val Met Gln Lys Lys Thr Leu Gly Trp

530 535 540

Glu Pro Ser Thr Glu Thr Met Tyr Pro Ala Asp Gly Gly Leu Glu Gly

545 550 555 560

Arg Cys Asp Lys Ala Leu Lys Leu Val Gly Gly Gly His Leu His Val

565 570 575

Asn Phe Lys Thr Thr Tyr Lys Ser Lys Lys Pro Val Lys Met Pro Gly

580 585 590

Val His Tyr Val Asp Arg Arg Leu Glu Arg Ile Lys Glu Ala Asp Asn
595 600 605
Glu Thr Tyr Val Glu Gln Tyr Glu His Ala Val Ala Arg Tyr Ser Asn
610 615 620
Leu Gly Gly Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
625 630

<210> 351
<211> 1902
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 351

atgaaacatc accatcacca tcatgtgagc aagggagaag aacttataaa agaaaacatg 60
cggtctaaac tgtacctcga gggctccgtc aatgggcacc agtttaagtg tacccacgag 120
ggtgagggaa agccctatga ggggaagcag acaaaccgca tcaaggtcgt cgaaggggga 180
cccctcccgt ttgcctttga tatcttggct actcacttta tgtacggaag caaagttttc 240
ataaagtatc ctgccgacct tcctgattat tttaaacagt catttcccga gggtttcaca 300
tgggaaaggg tcatggtgtt tgaggatgga ggcgtgctca ctgcaactca ggacacctca 360
ctgcaggacg gcgagctgat ctacaatgtg aaggtccggg gtgtaaactt ccctgccaac 420
gggcctgtaa tgcagaagaa gaccctggga tgggagccgt ccaccgaaac catgtaccct 480
gctgatggtg ggctggaggg ccgatgtgac aaggctctga agctcgttgg aggtggtcat 540
ttgcacgtaa atttcaagac aacttacaag agcaaaaaac ccgtaaaaat gcccggggtt 600
cattacgttg acagaaggct tgaacgcata aaggaagctg ataacgagac atacgtggag 660
cagtacgagc acgccgttgc ccggtactca aacctggggg gtggctttac actggaggat 720
tttgtgggag attggagaca gacagccggc tacaatctgg atcaggtgct ggaacaagga 780
ggagtgtctt ctctgtttca gaatctggga gtgagcgtga cacctatcca gaggatcgtg 840
ctgtctggcg agaatggact gaagatcgat attcacgtga tcatccccta cgaaggcctg 900
tctggagacc agatgggcca gattgagaag atcttcaaag tggtgtatcc tgtggacgat 960
caccacttca aggtgatcct gcactacggc accctggtga ttgatggagt gacacctaac 1020
atgatcgact acttcggaag accttacgag ggaatcgccg tgttcgacgg aaagaagatc 1080
accgtgacag gaacactgtg gaatggaaac aagatcatcg acgagcggct gatcaaccct 1140
gatggatctc tgctgttcag agtgaccatc aacggagtga caggatggag actgtgcgag 1200
agaattctgg ctagacatga gctaatcaag gaaaatatga gaagtaagct atacttagag 1260
gggtccgtca acggtcacca gtttaaatgc actcatgaag gtgaggggaa accttatgaa 1320
ggtaagcaga ctaatcgaat aaaagtggtc gagggcggtc ctctgccatt cgctttcgat 1380
attctggcca ctcactttat gtatgggtct aaggtcttta ttaaataccc cgctgatttg 1440
ccagactact ttaaacagtc cttccctgaa ggattcacat gggagcgggt gatggtgttc 1500
gaggatggag gcgttcttac tgcaactcag gatacttcct tgcaagacgg ggaactgatc 1560

tacaacgtta aggtccgcgg cgtcaatttc ccagccaatg gtccagtgat gcagaagaaa 1620
accttggggt gggagccctc aacggagaca atgtaccctg cggacggcgg gcttgagggt 1680
agatgtgata aggcattgaa actcgtcggg ggcggccacc ttcatgtgaa tttcaagact 1740
acatataaaa gtaaaaaacc agtcaagatg cctggagtgc actacgtgga tcgtaggttg 1800
gagaggataa aagaagccga caacgaaact tatgtagagc aatatgagca cgccgtggct 1860
cgttattcca acttgggcgg aggaatggat gaactgtaca ag 1902

<210> 352
<211> 622
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 352

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

Arg Ile Lys Glu Ala Asp Asn Glu Thr Tyr Val Glu Gln Tyr Glu His
210 215 220
Ala Val Ala Arg Tyr Ser Asn Leu Gly Gly Gly Phe Thr Leu Glu Asp
225 230 235 240
Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val
245 250 255
Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser
260 265 270
Val Thr Pro Ile Gln Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys
275 280 285
Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln
290 295 300
Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp
305 310 315 320
His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly
325 330 335
Val Thr Pro Asn Met Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile
340 345 350
Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn
355 360 365
Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met
370 375 380
Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Arg His Glu Leu Ile Lys Glu Asn
385 390 395 400
Met Arg Ser Lys Leu Tyr Leu Glu Gly Ser Val Asn Gly His Gln Phe
405 410 415
Lys Cys Thr His Glu Gly Glu Gly Lys Pro Tyr Glu Gly Lys Gln Thr
420 425 430
Asn Arg Ile Lys Val Val Glu Gly Gly Pro Leu Pro Phe Ala Phe Asp
435 440 445
Ile Leu Ala Thr His Phe Met Tyr Gly Ser Lys Val Phe Ile Lys Tyr
450 455 460
Pro Ala Asp Leu Pro Asp Tyr Phe Lys Gln Ser Phe Pro Glu Gly Phe
465 470 475 480
Thr Trp Glu Arg Val Met Val Phe Glu Asp Gly Gly Val Leu Thr Ala
485 490 495
Thr Gln Asp Thr Ser Leu Gln Asp Gly Glu Leu Ile Tyr Asn Val Lys
500 505 510
Val Arg Gly Val Asn Phe Pro Ala Asn Gly Pro Val Met Gln Lys Lys

515 520 525

Thr Leu Gly Trp Glu Pro Ser Thr Glu Thr Met Tyr Pro Ala Asp Gly
530 535 540

Gly Leu Glu Gly Arg Cys Asp Lys Ala Leu Lys Leu Val Gly Gly Gly
545 550 555 560

His Leu His Val Asn Phe Lys Thr Thr Tyr Lys Ser Lys Lys Pro Val
565 570 575

Lys Met Pro Gly Val His Tyr Val Asp Arg Arg Leu Glu Arg Ile Lys
580 585 590

Glu Ala Asp Asn Glu Thr Tyr Val Glu Gln Tyr Glu His Ala Val Ala
595 600 605

Arg Tyr Ser Asn Leu Gly Gly Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
610 615 620

<210> 353

<211> 1866

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 353

atgaaacatc accatcacca tcatgtgagc aagggagaag aacttataaa agaaaacatg 60
cggtctaaac tgtacctcga gggctccgtc aatgggcacc agtttaagtg tacccacgag 120
ggtgagggaa agccctatga ggggaagcag acaaaccgca tcaaggtcgt cgaaggggga 180
cccctcccgt ttgcctttga tatcttggct actcacttta tgtacggaag caaagttttc 240
ataaagtatc ctgccgacct tcctgattat tttaaacagt catttcccga gggtttcaca 300
tgggaaaggg tcatggtgtt tgaggatgga ggcgtgctca ctgcaactca ggacacctca 360
ctgcaggacg gcgagctgat ctacaatgtg aaggtccggg gtgtaaactt ccctgccaac 420
gggcctgtaa tgcagaagaa gaccctggga tgggagccgt ccaccgaaac catgtaccct 480
gctgatggtg ggctggaggg ccgatgtgac aaggctctga agctcgttgg aggtggtcat 540
ttgcacgtaa atttcaagac aacttacaag agcaaaaaac ccgtaaaaat gcccggggtt 600
cattacgttg acagaaggct tgaacgcata aaggaagctg ataacgagac atacgtggag 660
cagtacgagc acgccgttgc ccggtactca aacctggggg gtggcttcac actcgaagat 720
ttcgttgggg actgggaaca gacagccgcc tacaacctgg accaagtcct tgaacaggga 780
ggtgtgtcca gtttgctgca gaatctcgcc gtgtccgtaa ctccgatcca aaggattgtc 840
cggagcggtg aaaatgccct gaagatcgac atccatgtca tcatcccgta tgaaggtctg 900
agcgccgacc aaatggccca gatcgaagag gtgtttaagg tggtgtaccc tgtggatgat 960
catcacttta aggtgatcct gccctatggc acactggtaa tcgacggggt tacgccgaac 1020
atgctgaact atttcggacg gccgtatgaa ggcatcgccg tgttcgacgg caaaaagatc 1080
actgtaacag ggaccctgtg gaacggcaac aaaattatcg acgagcgcct gatcaccccc 1140

gacggctcca tgctgttccg agtaaccatc aacagcagac atgagctaat caaggaaaat 1200
atgagaagta agctatactt agaggggtcc gtcaacggtc accagtttaa atgcactcat 1260
gaaggtgagg ggaaacctta tgaaggtaag cagactaatc gaataaaagt ggtcgagggc 1320
ggtcctctgc cattcgcttt cgatattctg gccactcact ttatgtatgg gtctaaggtc 1380
tttattaaat accccgctga tttgccagac tactttaaac agtccttccc tgaaggattc 1440
acatgggagc gggtgatggt gttcgaggat ggaggcgttc ttactgcaac tcaggatact 1500
tccttgcaag acggggaact gatctacaac gttaaggtcc gcggcgtcaa tttcccagcc 1560
aatggtccag tgatgcagaa gaaaaccttg gggtgggagc cctcaacgga gacaatgtac 1620
cctgcggacg gcgggcttga gggtagatgt gataaggcat tgaaactcgt cgggggcggc 1680
caccttcatg tgaatttcaa gactacatat aaaagtaaaa aaccagtcaa gatgcctgga 1740
gtgcactacg tggatcgtag gttggagagg ataaaagaag ccgacaacga aacttatgta 1800
gagcaatatg agcacgccgt ggctcgttat tccaacttgg gcggaggaat ggatgaactg 1860
tacaag 1866

<210> 354
<211> 611
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 354

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

145 150 155 160
Ala Asp Gly Gly Leu Glu Gly Arg Cys Asp Lys Ala Leu Lys Leu Val
165 170 175
Gly Gly Gly His Leu His Val Asn Phe Lys Thr Thr Tyr Lys Ser Lys
180 185 190
Lys Pro Val Lys Met Pro Gly Val His Tyr Val Asp Arg Arg Leu Glu
195 200 205
Arg Ile Lys Glu Ala Asp Asn Glu Thr Tyr Val Glu Gln Tyr Glu His
210 215 220
Ala Val Ala Arg Tyr Ser Asn Leu Gly Gly Gly Phe Thr Leu Asp Asp
225 230 235 240
Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val
245 250 255
Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser
260 265 270
Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys
275 280 285
Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln
290 295 300
Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp
305 310 315 320
His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly
325 330 335
Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile
340 345 350
Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn
355 360 365
Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Arg His Glu
370 375 380
Leu Ile Lys Glu Asn Met Arg Ser Lys Leu Tyr Leu Glu Gly Ser Val
385 390 395 400
Asn Gly His Gln Phe Lys Cys Thr His Glu Gly Glu Gly Lys Pro Tyr
405 410 415
Glu Gly Lys Gln Thr Asn Arg Ile Lys Val Val Glu Gly Gly Pro Leu
420 425 430
Pro Phe Ala Phe Asp Ile Leu Ala Thr His Phe Met Tyr Gly Ser Lys
435 440 445
Val Phe Ile Lys Tyr Pro Ala Asp Leu Pro Asp Tyr Phe Lys Gln Ser
450 455 460

Phe Pro Glu Gly Phe Thr Trp Glu Arg Val Met Val Phe Glu Asp Gly
465 470 475 480
Gly Val Leu Thr Ala Thr Gln Asp Thr Ser Leu Gln Asp Gly Glu Leu
485 490 495
Ile Tyr Asn Val Lys Val Arg Gly Val Asn Phe Pro Ala Asn Gly Pro
500 505 510
Val Met Gln Lys Lys Thr Leu Gly Trp Glu Pro Ser Thr Glu Thr Met
515 520 525
Tyr Pro Ala Asp Gly Gly Leu Glu Gly Arg Cys Asp Lys Ala Leu Lys
530 535 540
Leu Val Gly Gly Gly His Leu His Val Asn Phe Lys Thr Thr Tyr Lys
545 550 555 560
Ser Lys Lys Pro Val Lys Met Pro Gly Val His Tyr Val Asp Arg Arg
565 570 575
Leu Glu Arg Ile Lys Glu Ala Asp Asn Glu Thr Tyr Val Glu Gln Tyr
580 585 590
Glu His Ala Val Ala Arg Tyr Ser Asn Leu Gly Gly Gly Met Asp Glu
595 600 605
Leu Tyr Lys
610

<210> 355
<211> 1833
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 355

atgaaacatc accatcacca tcatgtgagc aagggagaag aacttataaa agaaaacatg 60
cggtctaaac tgtacctcga gggctccgtc aatgggcacc agtttaagtg tacccacgag 120
ggtgagggaa agccctatga ggggaagcag acaaaccgca tcaaggtcgt cgaaggggga 180
cccctcccgt ttgcctttga tatcttggct actcacttta tgtacggaag caaagttttc 240
ataaagtatc ctgccgacct tcctgattat tttaaacagt catttcccga gggtttcaca 300
tgggaaaggg tcatggtgtt tgaggatgga ggcgtgctca ctgcaactca ggacacctca 360
ctgcaggacg gcgagctgat ctacaatgtg aaggtccggg gtgtaaactt ccctgccaac 420
gggcctgtaa tgcagaagaa gaccctggga tgggagccgt ccaccgaaac catgtaccct 480
gctgatggtg ggctggaggg ccgatgtgac aaggctctga agctcgttgg aggtggtcat 540
ttgcacgtaa atttcaagac aacttacaag agcaaaaaac ccgtaaaaat gcccggggtt 600
cattacgttg acagaaggct tgaacgcata aaggaagctg ataacgagac atacgtggag 660
cagtacgagc acgccgttgc ccggtactca aacctggggg gtggcttcac actcgacgat 720

ttcgttgggg actgggaaca gacagccgcc tacaacctgg accaagtcct tgaacaggga 780
ggtgtgtcca gtttgctgca gaatctcgcc gtgtccgtaa ctccgatcat gaggattgtc 840
cggagcggtg aaaatgccct gaagatcgac atccatgtca tcatcccgta tgaaggtctg 900
agcgccgacc aaatggccca gatcgaagag gtgtttaagg tggtgtaccc tgtggatgat 960
catcacttta aggtgatcct gccctatggc acactggtaa tcgacggggt tacgccgaac 1020
aagctgaact atttcggacg gccgtatgaa ggcatcgccg tgttcgacgg caaaaagatc 1080
actaccacag ggaccctgtg gaacggcaac aaaattatcg acgagcgcct gatcaccccc 1140
gacagacatg agctaatcaa ggaaaatatg agaagtaagc tatacttaga ggggtccgtc 1200
aacggtcacc agtttaaatg cactcatgaa ggtgagggga aaccttatga aggtaagcag 1260
actaatcgaa taaaagtggt cgagggcggt cctctgccat tcgctttcga tattctggcc 1320
actcacttta tgtatgggtc taaggtcttt attaaatacc ccgctgattt gccagactac 1380
tttaaacagt ccttccctga aggattcaca tgggagcggg tgatggtgtt cgaggatgga 1440
ggcgttctta ctgcaactca ggatacttcc ttgcaagacg gggaactgat ctacaacgtt 1500
aaggtccgcg gcgtcaattt cccagccaat ggtccagtga tgcagaagaa aaccttgggg 1560
tgggagccct caacggagac aatgtaccct gcggacggcg ggcttgaggg tagatgtgat 1620
aaggcattga aactcgtcgg gggcggccac cttcatgtga atttcaagac tacatataaa 1680
agtaaaaaac cagtcaagat gcctggagtg cactacgtgg atcgtaggtt ggagaggata 1740
aaagaagccg acaacgaaac ttatgtagag caatatgagc acgccgtggc tcgttattcc 1800
aacttgggcg gaggaatgga tgaactgtac aag 1833

<210> 356
<211> 401
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 356

Met Lys His His His His His His Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly
1 5 10 15
Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln
20 25 30
Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro
35 40 45
Ile Gln Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile
50 55 60
His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln
65 70 75 80
Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe
85 90 95
Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro

100 105 110

Asn Met Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe
115 120 125

Asp Gly Lys Lys Ile Thr Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys
130 135 140

Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg
145 150 155 160

Val Thr Ile Asn Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser Ser Gly Glu Leu Ile
165 170 175

Lys Glu Asn Met Arg Ser Lys Leu Tyr Leu Glu Gly Ser Val Asn Gly
180 185 190

His Gln Phe Lys Cys Thr His Glu Gly Glu Gly Lys Pro Tyr Glu Gly
195 200 205

Lys Gln Thr Asn Arg Ile Lys Val Val Glu Gly Gly Pro Leu Pro Phe
210 215 220

Ala Phe Asp Ile Leu Ala Thr His Phe Met Tyr Gly Ser Lys Val Phe
225 230 235 240

Ile Lys Tyr Pro Ala Asp Leu Pro Asp Tyr Phe Lys Gln Ser Phe Pro
245 250 255

Glu Gly Phe Thr Trp Glu Arg Val Met Val Phe Glu Asp Gly Gly Val
260 265 270

Leu Thr Ala Thr Gln Asp Thr Ser Leu Gln Asp Gly Glu Leu Ile Tyr
275 280 285

Asn Val Lys Val Arg Gly Val Asn Phe Pro Ala Asn Gly Pro Val Met
290 295 300

Gln Lys Lys Thr Leu Gly Trp Glu Pro Ser Thr Glu Thr Met Tyr Pro
305 310 315 320

Ala Asp Gly Gly Leu Glu Gly Arg Cys Asp Lys Ala Leu Lys Leu Val
325 330 335

Gly Gly Gly His Leu His Val Asn Phe Lys Thr Thr Tyr Lys Ser Lys
340 345 350

Lys Pro Val Lys Met Pro Gly Val His Tyr Val Asp Arg Arg Leu Glu
355 360 365

Arg Ile Lys Glu Ala Asp Asn Glu Thr Tyr Val Glu Gln Tyr Glu His
370 375 380

Ala Val Ala Arg Tyr Ser Asn Leu Gly Gly Gly Met Asp Glu Leu Tyr
385 390 395 400

Lys

<210> 357

<211> 1203
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 357
atgaaacatc accatcacca tcatttcaca ctcgaagatt tcgttgggga ctgggaacag 60
acagccgcct acaacctgga ccaagtcctt gaacagggag gtgtgtccag tttgctgcag 120
aatctcgccg tgtccgtaac tccgatccaa aggattgtcc ggagcggtga aaatgccctg 180
aagatcgaca tccatgtcat catcccgtat gaaggtctga gcgccgacca aatggcccag 240
atcgaagagg tgtttaaggt ggtgtaccct gtggatgatc atcactttaa ggtgatcctg 300
ccctatggca cactggtaat cgacggggtt acgccgaaca tgctgaacta tttcggacgg 360
ccgtatgaag gcatcgccgt gttcgacggc aaaaagatca ctgtaacagg gaccctgtgg 420
aacggcaaca aaattatcga cgagcgcctg atcacccccg acggctccat gctgttccga 480
gtaaccatca acagcggagg ctcaggtgga tcctcaggtg agctaatcaa ggaaaatatg 540
agaagtaagc tatacttaga ggggtccgtc aacggtcacc agtttaaatg cactcatgaa 600
ggtgagggga aaccttatga aggtaagcag actaatcgaa taaaagtggt cgagggcggt 660
cctctgccat tcgctttcga tattctggcc actcacttta tgtatgggtc taaggtcttt 720
attaaatacc ccgctgattt gccagactac tttaaacagt ccttccctga aggattcaca 780
tgggagcggg tgatggtgtt cgaggatgga ggcgttctta ctgcaactca ggatacttcc 840
ttgcaagacg gggaactgat ctacaacgtt aaggtccgcg gcgtcaattt cccagccaat 900
ggtccagtga tgcagaagaa aaccttgggg tgggagccct caacggagac aatgtaccct 960
gcggacggcg ggcttgaggg tagatgtgat aaggcattga aactcgtcgg gggcggccac 1020
cttcatgtga atttcaagac tacatataaa agtaaaaaac cagtcaagat gcctggagtg 1080
cactacgtgg atcgtaggtt ggagaggata aaagaagccg acaacgaaac ttatgtagag 1140
caatatgagc acgccgtggc tcgttattcc aacttgggcg gaggaatgga tgaactgtac 1200
aag 1203
<210> 358
<211> 395
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 358
Met Lys His His His His His His Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly
1 5 10 15
Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln
20 25 30
Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro

35 40 45

Ile Gln Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile
50 55 60

His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln
65 70 75 80

Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe
85 90 95

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

Asn Met Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe
115 120 125

Asp Gly Lys Lys Ile Thr Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys
130 135 140

Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg
145 150 155 160

Val Thr Ile Asn Ser Arg His Glu Leu Ile Lys Glu Asn Met Arg Ser
165 170 175

Lys Leu Tyr Leu Glu Gly Ser Val Asn Gly His Gln Phe Lys Cys Thr
180 185 190

His Glu Gly Glu Gly Lys Pro Tyr Glu Gly Lys Gln Thr Asn Arg Ile
195 200 205

Lys Val Val Glu Gly Gly Pro Leu Pro Phe Ala Phe Asp Ile Leu Ala
210 215 220

Thr His Phe Met Tyr Gly Ser Lys Val Phe Ile Lys Tyr Pro Ala Asp
225 230 235 240

Leu Pro Asp Tyr Phe Lys Gln Ser Phe Pro Glu Gly Phe Thr Trp Glu
245 250 255

Arg Val Met Val Phe Glu Asp Gly Gly Val Leu Thr Ala Thr Gln Asp
260 265 270

Thr Ser Leu Gln Asp Gly Glu Leu Ile Tyr Asn Val Lys Val Arg Gly
275 280 285

Val Asn Phe Pro Ala Asn Gly Pro Val Met Gln Lys Lys Thr Leu Gly
290 295 300

Trp Glu Pro Ser Thr Glu Thr Met Tyr Pro Ala Asp Gly Gly Leu Glu
305 310 315 320

Gly Arg Cys Asp Lys Ala Leu Lys Leu Val Gly Gly Gly His Leu His
325 330 335

Val Asn Phe Lys Thr Thr Tyr Lys Ser Lys Lys Pro Val Lys Met Pro
340 345 350

Gly Val His Tyr Val Asp Arg Arg Leu Glu Arg Ile Lys Glu Ala Asp
355 360 365
Asn Glu Thr Tyr Val Glu Gln Tyr Glu His Ala Val Ala Arg Tyr Ser
370 375 380
Asn Leu Gly Gly Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
385 390 395

<210> 359
<211> 1185
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 359

atgaaacatc accatcacca tcatttcaca ctcgaagatt tcgttgggga ctgggaacag 60
acagccgcct acaacctgga ccaagtcctt gaacagggag gtgtgtccag tttgctgcag 120
aatctcgccg tgtccgtaac tccgatccaa aggattgtcc ggagcggtga aaatgccctg 180
aagatcgaca tccatgtcat catcccgtat gaaggtctga gcgccgacca aatggcccag 240
atcgaagagg tgtttaaggt ggtgtaccct gtggatgatc atcactttaa ggtgatcctg 300
ccctatggca cactggtaat cgacggggtt acgccgaaca tgctgaacta tttcggacgg 360
ccgtatgaag gcatcgccgt gttcgacggc aaaaagatca ctgtaacagg gaccctgtgg 420
aacggcaaca aaattatcga cgagcgcctg atcacccccg acggctccat gctgttccga 480
gtaaccatca acagcagaca tgagctaatc aaggaaaata tgagaagtaa gctatactta 540
gaggggtccg tcaacggtca ccagtttaaa tgcactcatg aaggtgaggg gaaaccttat 600
gaaggtaagc agactaatcg aataaaagtg gtcgagggcg gtcctctgcc attcgctttc 660
gatattctgg ccactcactt tatgtatggg tctaaggtct ttattaaata ccccgctgat 720
ttgccagact actttaaaca gtccttccct gaaggattca catgggagcg ggtgatggtg 780
ttcgaggatg gaggcgttct tactgcaact caggatactt ccttgcaaga cggggaactg 840
atctacaacg ttaaggtccg cggcgtcaat ttcccagcca atggtccagt gatgcagaag 900
aaaaccttgg ggtgggagcc ctcaacggag acaatgtacc ctgcggacgg cgggcttgag 960
ggtagatgtg ataaggcatt gaaactcgtc gggggcggcc accttcatgt gaatttcaag 1020
actacatata aaagtaaaaa accagtcaag atgcctggag tgcactacgt ggatcgtagg 1080
ttggagagga taaaagaagc cgacaacgaa acttatgtag agcaatatga gcacgccgtg 1140
gctcgttatt ccaacttggg cggaggaatg gatgaactgt acaag 1185

<210> 360
<211> 390
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 360

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

Glu Thr Met Tyr Pro Ala Asp Gly Gly Leu Glu Gly Arg Cys Asp Lys
305 310 315 320
Ala Leu Lys Leu Val Gly Gly Gly His Leu His Val Asn Phe Lys Thr
325 330 335
Thr Tyr Lys Ser Lys Lys Pro Val Lys Met Pro Gly Val His Tyr Val
340 345 350
Asp Arg Arg Leu Glu Arg Ile Lys Glu Ala Asp Asn Glu Thr Tyr Val
355 360 365
Glu Gln Tyr Glu His Ala Val Ala Arg Tyr Ser Asn Leu Gly Gly Gly
370 375 380
Met Asp Glu Leu Tyr Lys
385 390

<210> 361
<211> 1170
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 361

atgaaacatc accatcacca tcatttcaca ctcgacgatt tcgttgggga ctgggaacag 60
acagccgcct acaacctgga ccaagtcctt gaacagggag gtgtgtccag tttgctgcag 120
aatctcgccg tgtccgtaac tccgatcatg aggattgtcc ggagcggtga aaatgccctg 180
aagatcgaca tccatgtcat catcccgtat gaaggtctga gcgccgacca aatggcccag 240
atcgaagagg tgtttaaggt ggtgtaccct gtggatgatc atcactttaa ggtgatcctg 300
ccctatggca cactggtaat cgacggggtt acgccgaaca agctgaacta tttcggacgg 360
ccgtatgaag gcatcgccgt gttcgacggc aaaaagatca ctaccacagg gaccctgtgg 420
aacggcaaca aaattatcga cgagcgcctg atcacccccg acggaggctc aggtggatcc 480
tcaggtgagc taatcaagga aaatatgaga agtaagctat acttagaggg gtccgtcaac 540
ggtcaccagt ttaaatgcac tcatgaaggt gaggggaaac cttatgaagg taagcagact 600
aatcgaataa aagtggtcga gggcggtcct ctgccattcg ctttcgatat tctggccact 660
cactttatgt atgggtctaa ggtctttatt aaataccccg ctgatttgcc agactacttt 720
aaacagtcct tccctgaagg attcacatgg gagcgggtga tggtgttcga ggatggaggc 780
gttcttactg caactcagga tacttccttg caagacgggg aactgatcta caacgttaag 840
gtccgcggcg tcaatttccc agccaatggt ccagtgatgc agaagaaaac cttggggtgg 900
gagccctcaa cggagacaat gtaccctgcg gacggcgggc ttgagggtag atgtgataag 960
gcattgaaac tcgtcggggg cggccacctt catgtgaatt tcaagactac atataaaagt 1020
aaaaaaccag tcaagatgcc tggagtgcac tacgtggatc gtaggttgga gaggataaaa 1080
gaagccgaca acgaaactta tgtagagcaa tatgagcacg ccgtggctcg ttattccaac 1140
ttgggcggag gaatggatga actgtacaag 1170

<210> 362
<211> 384
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 362

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

Thr Ala Thr Gln Asp Thr Ser Leu Gln Asp Gly Glu Leu Ile Tyr Asn
260 265 270
Val Lys Val Arg Gly Val Asn Phe Pro Ala Asn Gly Pro Val Met Gln
275 280 285
Lys Lys Thr Leu Gly Trp Glu Pro Ser Thr Glu Thr Met Tyr Pro Ala
290 295 300
Asp Gly Gly Leu Glu Gly Arg Cys Asp Lys Ala Leu Lys Leu Val Gly
305 310 315 320
Gly Gly His Leu His Val Asn Phe Lys Thr Thr Tyr Lys Ser Lys Lys
325 330 335
Pro Val Lys Met Pro Gly Val His Tyr Val Asp Arg Arg Leu Glu Arg
340 345 350
Ile Lys Glu Ala Asp Asn Glu Thr Tyr Val Glu Gln Tyr Glu His Ala
355 360 365
Val Ala Arg Tyr Ser Asn Leu Gly Gly Gly Met Asp Glu Leu Tyr Lys
370 375 380

<210> 363
<211> 1152
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 363

atgaaacatc accatcacca tcatttcaca ctcgacgatt tcgttgggga ctgggaacag 60
acagccgcct acaacctgga ccaagtcctt gaacagggag gtgtgtccag tttgctgcag 120
aatctcgccg tgtccgtaac tccgatcatg aggattgtcc ggagcggtga aaatgccctg 180
aagatcgaca tccatgtcat catcccgtat gaaggtctga gcgccgacca aatggcccag 240
atcgaagagg tgtttaaggt ggtgtaccct gtggatgatc atcactttaa ggtgatcctg 300
ccctatggca cactggtaat cgacggggtt acgccgaaca agctgaacta tttcggacgg 360
ccgtatgaag gcatcgccgt gttcgacggc aaaaagatca ctaccacagg gaccctgtgg 420
aacggcaaca aaattatcga cgagcgcctg atcacccccg acagacatga gctaatcaag 480
gaaaatatga gaagtaagct atacttagag gggtccgtca acggtcacca gtttaaatgc 540
actcatgaag gtgaggggaa accttatgaa ggtaagcaga ctaatcgaat aaaagtggtc 600
gagggcggtc ctctgccatt cgctttcgat attctggcca ctcactttat gtatgggtct 660
aaggtcttta ttaaataccc cgctgatttg ccagactact ttaaacagtc cttccctgaa 720
ggattcacat gggagcgggt gatggtgttc gaggatggag gcgttcttac tgcaactcag 780
gatacttcct tgcaagacgg ggaactgatc tacaacgtta aggtccgcgg cgtcaatttc 840
ccagccaatg gtccagtgat gcagaagaaa accttggggt gggagccctc aacggagaca 900
atgtaccctg cggacggcgg gcttgagggt agatgtgata aggcattgaa actcgtcggg 960

ggcggccacc ttcatgtgaa tttcaagact acatataaaa gtaaaaaacc agtcaagatg 1020
cctggagtgc actacgtgga tcgtaggttg gagaggataa aagaagccga caacgaaact 1080
tatgtagagc aatatgagca cgccgtggct cgttattcca acttgggcgg aggaatggat 1140
gaactgtaca ag 1152

<210> 364
<211> 155
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 364

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

<210> 365
<211> 465
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 365

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgaag atttcgttgg ggactgggaa 60

cagaccgccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc ctaaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acatgctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactgtaac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgac 465

<210> 366
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 366

Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp
1 5 10 15

<210> 367
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 367

Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Arg
1 5 10

<210> 368
<211> 12
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 368

Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys
1 5 10

<210> 369
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 369
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys Val Ser Val Ser Gly
1 5 10 15
Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 370
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 370
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 371
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 371
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys Val Ser Val
1 5 10 15
Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20 25
<210> 372
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 372
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys Val Ser Gly
1 5 10 15
Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 373
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 373
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys Asn Val Thr
1 5 10 15
Gly Tyr Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Asn
20 25
<210> 374
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 374
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys Val Thr Gly
1 5 10 15
Tyr Arg Leu Phe Glu Lys Ile Ser
20
<210> 375
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 375
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys Val Ser Val Ser Gly
1 5 10 15
Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 376
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 376
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 377
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 377
Gly Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys Val Ser Val
1 5 10 15
Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20 25
<210> 378
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 378
Gly Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys Val Ser Gly
1 5 10 15
Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 379
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 379
Gly Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys Val Ser Val Ser Gly
1 5 10 15
Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 380

<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 380
Gly Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Trp Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 381
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 381
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Val Ser Gly
1 5 10 15
Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 382
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 382
Gly Ser Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 383
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 383

Gly Ser Met Leu Phe Gln Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 384
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 384
Gly Ser Met Leu Phe Glu Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 385
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 385
Gly Ser Met Leu Phe Asn Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 386
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 386
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
1 5 10 15
Thr Thr Gly Thr Leu
20

<210> 387
<211> 24

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 387
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys Val Thr Gly
1 5 10 15
Tyr Arg Leu Phe Glu Lys Glu Ser
20
<210> 388
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 388
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys Val Glu Gly
1 5 10 15
Tyr Arg Leu Phe Glu Lys Ile Ser
20
<210> 389
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 389
Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile
1 5 10 15
Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp
20
<210> 390
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 390
Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly

1 5 10 15
Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
20 25
<210> 391
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 391
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 392
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 392
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 393
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 393
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 394
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 394
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Asn Trp Lys
1 5 10

<210> 395
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 395
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Asn Trp Lys
1 5 10
<210> 396
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 396
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 397
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 397
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 398
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 398
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 399
<211> 13
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 399
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 400
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 400
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 401
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 401
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 402
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 402
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 403
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 403
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Asn Trp Lys
1 5 10
<210> 404
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 404
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Asn Trp Lys
1 5 10
<210> 405
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 405
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 406
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 406
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 407
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 407
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Arg Trp Lys
1 5 10

<210> 408
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 408
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 409
<211> 35
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 409
Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Val
1 5 10 15
Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile
20 25 30
Thr Pro Asp
35
<210> 410
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 410
Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 411
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 411
Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys

1 5 10

<210> 412
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 412
Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Arg Trp Lys
1 5 10

<210> 413
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 413
Asp Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Gln Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 414
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 414
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 415
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 415

Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys Val Ser Gly
1 5 10 15
Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 416
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 416
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Tyr Lys Val Ser Gly
1 5 10 15
Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 417
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 417
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Tyr Lys Val Ser Val
1 5 10 15
Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20 25

<210> 418
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 418
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 419
<211> 26

<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 419
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys Val Ser Val
1 5 10 15
Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20 25
<210> 420
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 420
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys Val Ser Gly
1 5 10 15
Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 421
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 421
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 422
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 422
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys Tyr Lys Val Ser Gly

1 5 10 15
Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 423
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 423
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys Tyr Lys Val Ser Val
1 5 10 15
Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20 25
<210> 424
<211> 26
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 424
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys Val Ser Val
1 5 10 15
Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20 25
<210> 425
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 425
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gln Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 426
<211> 22
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 426
Lys Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Gln Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 427
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 427
Lys Lys Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 428
<211> 21
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 428
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile
20
<210> 429
<211> 25
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 429
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Tyr Lys Val Ser Val
1 5 10 15

Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile
20 25

<210> 430
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 430
Asp Arg Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Arg Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 431
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 431
Glu Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 432
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 432
Lys Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20

<210> 433
<211> 24
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 433
Gly Ser Met Arg Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Arg Val Thr Gly
1 5 10 15
Tyr Arg Leu Phe Glu Arg Glu Ser
20
<210> 434
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 434
Gly Ser Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Thr Gly Tyr Arg
1 5 10 15
Leu Phe Glu Lys Glu Ser
20
<210> 435
<211> 17
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 435
Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile
1 5 10 15
Asp
<210> 436
<211> 29
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 436
Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile
1 5 10 15
Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20 25

<210> 437
<211> 58
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 437

Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Asp Phe Gly Lys Lys Ile Thr
1 5 10 15
Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
20 25 30
Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val
35 40 45
Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
50 55

<210> 438
<211> 68
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 438

Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly
1 5 10 15
Ile Ala Val Asp Phe Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp
20 25 30
Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser
35 40 45
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe
50 55 60
Lys Lys Ile Ser
65

<210> 439
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 439

Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Asn Trp Lys
1 5 10

<210> 440
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 440
Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Asn Trp Lys
1 5 10

<210> 441
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 441
Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 442
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 442
Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 443
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 443
Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Arg Trp Lys
1 5 10

<210> 444

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 444
Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 445
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 445
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 446
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 446
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 447
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 447
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 448
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 448
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Asn Trp Lys
1 5 10
<210> 449
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 449
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Asn Trp Lys
1 5 10
<210> 450
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 450
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 451
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 451
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 452
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 452

Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Arg Trp Lys
1 5 10

<210> 453
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 453
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Arg Trp Lys
1 5 10

<210> 454
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 454
Arg Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 455
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 455
Arg Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 456
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 456
Arg Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Arg Trp Lys
1 5 10

<210> 457

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 457
Arg Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Asn Trp Lys
1 5 10
<210> 458
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 458
Arg Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Asn Trp Lys
1 5 10
<210> 459
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 459
Arg Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 460
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 460
Arg Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 461
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 461
Arg Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 462
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 462
Arg Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 463
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 463
Glu Gln Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 464
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 464
Ser Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 465
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 465

Gly Glu Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 466
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 466
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 467
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 467
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Lys Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 468
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 468
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Arg Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 469
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 469
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Asp Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 470

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 470
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 471
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 471
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 472
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 472
Glu Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 473
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 473
Glu Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 474
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 474
Glu Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Asp Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 475
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 475
Glu Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Asp Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 476
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 476
Glu Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Gly Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 477
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 477
Asp Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 478
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 478

Asp Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 479
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 479
Asp Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Asp Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 480
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 480
Asp Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Asp Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 481
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 481
Gly Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 482
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 482
Gly Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 483

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 483
Asp Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 484
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 484
Asp Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 485
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 485
Asp Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Gly Asn Trp Lys
1 5 10
<210> 486
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 486
Asp Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Gln Asn Trp Lys
1 5 10
<210> 487
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 487
Gly Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Asn Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 488
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 488
Gly Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Asn Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 489
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 489
Asp Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 490
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 490
Asp Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 491
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 491

Asp Lys Leu Leu Phe Lys Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 492
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 492
Asp Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Asn Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 493
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 493
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 494
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 494
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gln Lys Tyr Lys
1 5 10

<210> 495
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 495
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 496

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 496
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Tyr Lys
1 5 10
<210> 497
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 497
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 498
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 498
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys Tyr Lys
1 5 10
<210> 499
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 499
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Asn Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 500
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 500
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Asn Lys Tyr Lys
1 5 10
<210> 501
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 501
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser
1 5 10
<210> 502
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 502
Asp Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Gln Lys
1 5 10
<210> 503
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 503
Asp Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Gln Lys
1 5 10
<210> 504
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 504

Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys
1 5 10

<210> 505
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 505
Asp Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys
1 5 10

<210> 506
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 506
Asp Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys
1 5 10

<210> 507
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 507
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys
1 5 10

<210> 508
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 508
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 509

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 509
Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 510
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 510
Arg Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 511
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 511
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 512
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 512
His Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 513
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 513
Gly Leu Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 514
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 514
Gly Gln Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 515
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 515
Gly Thr Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 516
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 516
Gly Lys Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 517
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 517

Gly Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 518
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 518
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 519
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 519
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asp Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 520
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 520
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 521
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 521
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Thr Trp Lys
1 5 10

<210> 522

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 522
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Asn Trp Lys
1 5 10
<210> 523
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 523
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Gln Trp Lys
1 5 10
<210> 524
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 524
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Pro Trp Lys
1 5 10
<210> 525
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 525
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 526
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 526
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Gln
1 5 10
<210> 527
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 527
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Asn
1 5 10
<210> 528
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 528
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Thr
1 5 10
<210> 529
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 529
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp His
1 5 10
<210> 530
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 530

Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Pro
1 5 10

<210> 531
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 531
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Arg
1 5 10

<210> 532
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 532
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Asp Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 533
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 533
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Glu Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 534
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 534
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Gln Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 535

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 535
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Lys Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 536
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 536
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Arg Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 537
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 537
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Glu Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 538
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 538
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Asp Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 539
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 539
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Gln Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 540
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 540
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Asn Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 541
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 541
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Ser Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 542
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 542
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Asn Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 543
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 543

Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Ser Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 544
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 544
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Trp Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 545
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 545
Gly Lys Met Ser Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 546
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 546
Gly Lys Met Trp Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 547
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 547
Gly Lys Met Asn Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 548

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 548
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Tyr Lys
1 5 10
<210> 549
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 549
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Tyr Lys
1 5 10
<210> 550
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 550
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Lys Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 551
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 551
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 552
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 552
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Gln Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 553
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 553
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Glu Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 554
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 554
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Lys Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 555
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 555
Gly Lys Met Lys Phe Arg Val Thr Ile Arg Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 556
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 556

Arg Leu Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 557
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 557
Arg Gln Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 558
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 558
Lys Leu Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 559
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 559
Lys Gln Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 560
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 560
Glu Leu Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 561

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 561
Asp Leu Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 562
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 562
Asp Gln Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 563
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 563
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 564
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 564
Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 565
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 565
Arg Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 566
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 566
Lys Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 567
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 567
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 568
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 568
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 569
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 569

Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Ser Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 570
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 570
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 571
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 571
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Thr Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 572
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 572
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Lys Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 573
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 573
Gly Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10

<210> 574

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 574
Arg Leu Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 575
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 575
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 576
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 576
Glu Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 577
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 577
Glu Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 578
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 578
Glu Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Gly Arg Trp Lys
1 5 10
<210> 579
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 579
Glu Lys Met Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 580
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 580
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 581
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 581
Glu Lys Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Lys Tyr Lys
1 5 10
<210> 582
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 582

Asp Lys Leu Leu Phe Lys Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 583
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 583
Asp Lys Leu Leu Phe Lys Val Thr Ile Gln Lys Tyr Lys
1 5 10

<210> 584
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 584
Asp Lys Leu Leu Phe Lys Val Thr Ile Gly Lys Tyr Lys
1 5 10

<210> 585
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 585
Asp Lys Leu Leu Phe Lys Val Thr Ile Glu Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 586
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 586
Asp Lys Leu Leu Phe Lys Val Thr Ile Glu Lys Tyr Lys
1 5 10

<210> 587

<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 587
Lys Lys Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 588
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 588
Asp Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gln Arg Trp Arg
1 5 10
<210> 589
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 589
Glu Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Gly Arg Trp Arg
1 5 10
<210> 590
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 590
Gly Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Arg Trp Arg
1 5 10
<210> 591
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 591
Asp Arg Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Arg Trp Arg
1 5 10
<210> 592
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 592
Asp Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Gln Lys Tyr Lys
1 5 10
<210> 593
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 593
Asp Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Lys Trp Lys
1 5 10
<210> 594
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 594
Asp Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Glu Lys Tyr Lys
1 5 10
<210> 595
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 595

Asp Lys Met Leu Phe Lys Val Thr Ile Asn Lys Trp Lys
1 5 10

<210> 596
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 596
Glu Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Tyr Lys
1 5 10

<210> 597
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 597
Gly Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Tyr Lys
1 5 10

<210> 598
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 598
aagtcgagaa ccatgaccac 20

<210> 599
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 599
cgccgcgtcc gccgaagttg 20

<210> 600
<211> 0
<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 600
000 3
<210> 601
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 601
000 3
<210> 602
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 602
000 3
<210> 603
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 603
000 3
<210> 604
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 604
000 3
<210> 605
<211> 0

<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 605
000 3
<210> 606
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 606
000 3
<210> 607
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 607
000 3
<210> 608
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 608
000 3
<210> 609
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 609
000 3
<210> 610

<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 610
000 3
<210> 611
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 611
000 3
<210> 612
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 612
000 3
<210> 613
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 613
000 3
<210> 614
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 614
000 3

<210> 615
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 615
000 3
<210> 616
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 616
000 3
<210> 617
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 617
000 3
<210> 618
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 618
000 3
<210> 619
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 619

000 3
<210> 620
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 620
000 3
<210> 621
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 621
000 3
<210> 622
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 622
000 3
<210> 623
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 623
000 3
<210> 624
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 624
000 3
<210> 625
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 625
000 3
<210> 626
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 626
000 3
<210> 627
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 627
000 3
<210> 628
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 628
000 3
<210> 629
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 629
000 3
<210> 630
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 630
000 3
<210> 631
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 631
000 3
<210> 632
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 632
000 3
<210> 633
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 633
000 3
<210> 634
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 634
000 3
<210> 635
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 635
000 3
<210> 636
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 636
000 3
<210> 637
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 637
000 3
<210> 638
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 638
000 3
<210> 639
<211> 0
<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 639
000 3
<210> 640
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 640
000 3
<210> 641
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 641
000 3
<210> 642
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 642
000 3
<210> 643
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 643
000 3
<210> 644
<211> 0

<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 644
000 3
<210> 645
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 645
000 3
<210> 646
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 646
000 3
<210> 647
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 647
000 3
<210> 648
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 648
000 3
<210> 649

<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 649
000 3
<210> 650
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 650
000 3
<210> 651
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 651
000 3
<210> 652
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 652
000 3
<210> 653
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 653
000 3

<210> 654
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 654
000 3
<210> 655
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 655
000 3
<210> 656
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 656
000 3
<210> 657
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 657
000 3
<210> 658
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 658

000 3
<210> 659
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 659
000 3
<210> 660
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 660
000 3
<210> 661
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 661
000 3
<210> 662
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 662
000 3
<210> 663
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 663
000 3
<210> 664
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 664
000 3
<210> 665
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 665
000 3
<210> 666
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 666
000 3
<210> 667
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 667
000 3
<210> 668
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 668
000 3
<210> 669
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 669
000 3
<210> 670
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 670
000 3
<210> 671
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 671
000 3
<210> 672
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 672
000 3
<210> 673
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 673
000 3
<210> 674
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 674
000 3
<210> 675
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 675
000 3
<210> 676
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 676
000 3
<210> 677
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 677
000 3
<210> 678
<211> 0
<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 678
000 3
<210> 679
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 679
000 3
<210> 680
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 680
000 3
<210> 681
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 681
000 3
<210> 682
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 682
000 3
<210> 683
<211> 0

<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 683
000 3
<210> 684
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 684
000 3
<210> 685
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 685
000 3
<210> 686
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 686
000 3
<210> 687
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 687
000 3
<210> 688

<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 688
000 3
<210> 689
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 689
000 3
<210> 690
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 690
000 3
<210> 691
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 691
000 3
<210> 692
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 692
000 3

<210> 693
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 693
000 3
<210> 694
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 694
000 3
<210> 695
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 695
000 3
<210> 696
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 696
000 3
<210> 697
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 697

000 3
<210> 698
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 698
000 3
<210> 699
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 699
000 3
<210> 700
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 700
000 3
<210> 701
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 701
000 3
<210> 702
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 702
000 3
<210> 703
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 703
000 3
<210> 704
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 704
000 3
<210> 705
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 705
000 3
<210> 706
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 706
000 3
<210> 707
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 707
000 3
<210> 708
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 708
000 3
<210> 709
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 709
000 3
<210> 710
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 710
000 3
<210> 711
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 711
000 3
<210> 712
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 712
000 3
<210> 713
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 713
000 3
<210> 714
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 714
000 3
<210> 715
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 715
000 3
<210> 716
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 716
000 3
<210> 717
<211> 0
<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 717
000 3
<210> 718
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 718
000 3
<210> 719
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 719
000 3
<210> 720
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 720
000 3
<210> 721
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 721
000 3
<210> 722
<211> 0

<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 722
000 3
<210> 723
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 723
000 3
<210> 724
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 724
000 3
<210> 725
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 725
000 3
<210> 726
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 726
000 3
<210> 727

<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 727
000 3
<210> 728
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 728
000 3
<210> 729
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 729
000 3
<210> 730
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 730
000 3
<210> 731
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 731
000 3

<210> 732
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 732
000 3
<210> 733
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 733
000 3
<210> 734
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 734
000 3
<210> 735
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 735
000 3
<210> 736
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 736

000 3
<210> 737
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 737
000 3
<210> 738
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 738
000 3
<210> 739
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 739
000 3
<210> 740
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 740
000 3
<210> 741
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 741
000 3
<210> 742
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 742
000 3
<210> 743
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 743
000 3
<210> 744
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 744
000 3
<210> 745
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 745
000 3
<210> 746
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 746
000 3
<210> 747
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 747
000 3
<210> 748
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 748
000 3
<210> 749
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 749
000 3
<210> 750
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 750
000 3
<210> 751
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 751
000 3
<210> 752
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 752
000 3
<210> 753
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 753
000 3
<210> 754
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 754
000 3
<210> 755
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 755
000 3
<210> 756
<211> 0
<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 756
000 3
<210> 757
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 757
000 3
<210> 758
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 758
000 3
<210> 759
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 759
000 3
<210> 760
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 760
000 3
<210> 761
<211> 0

<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 761
000 3
<210> 762
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 762
000 3
<210> 763
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 763
000 3
<210> 764
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 764
000 3
<210> 765
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 765
000 3
<210> 766

<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 766
000 3
<210> 767
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 767
000 3
<210> 768
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 768
000 3
<210> 769
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 769
000 3
<210> 770
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 770
000 3

<210> 771
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 771
000 3
<210> 772
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 772
000 3
<210> 773
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 773
000 3
<210> 774
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 774
000 3
<210> 775
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 775

000 3
<210> 776
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 776
000 3
<210> 777
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 777
000 3
<210> 778
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 778
000 3
<210> 779
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 779
000 3
<210> 780
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 780
000 3
<210> 781
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 781
000 3
<210> 782
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 782
000 3
<210> 783
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 783
000 3
<210> 784
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 784
000 3
<210> 785
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 785
000 3
<210> 786
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 786
000 3
<210> 787
<211> 0
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 787
000 3
<210> 788
<211> 170
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 788

Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe

100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val
145 150 155 160
Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
165 170

<210> 789
<211> 170
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 789
Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val
145 150 155 160
Thr Gly Tyr Arg Leu Phe Glu Glu Ile Leu
165 170

<210> 790

<211> 102
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 790

Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp
100

<210> 791
<211> 124
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 791

Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95

Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly
115 120

<210> 792
<211> 133
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 792

Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Thr Thr Gly Thr Leu
130

<210> 793
<211> 148
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 793

Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu

20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp
145

<210> 794
<211> 68
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 794
Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly
1 5 10 15
Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp
20 25 30
Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser
35 40 45
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe
50 55 60
Lys Lys Ile Ser
65

<210> 795
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 795
Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile
1 5 10 15
Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr
20 25 30
Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
35 40 45
<210> 796
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 796
Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly
1 5 10 15
Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu
20 25 30
Phe Lys Lys Ile Ser
35
<210> 797
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 797
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Ser Gly Trp Arg
1 5 10 15
Leu Phe Lys Lys Ile Ser
20
<210> 798
<211> 68
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 798

Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly
1 5 10 15
Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp
20 25 30
Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser
35 40 45
Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Thr Gly Tyr Arg Leu Phe
50 55 60
Glu Glu Ile Leu
65

<210> 799
<211> 46
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 799
Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile
1 5 10 15
Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr
20 25 30
Ile Asn Ser Val Thr Gly Tyr Arg Leu Phe Glu Glu Ile Leu
35 40 45

<210> 800
<211> 37
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 800
Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly
1 5 10 15
Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Thr Gly Tyr Arg Leu
20 25 30
Phe Glu Glu Ile Leu
35

<210> 801
<211> 22
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 801
Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Val Thr Gly Tyr Arg
1 5 10 15
Leu Phe Glu Glu Ile Leu
20
<210> 802
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 802
<210> 803
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 803
<210> 804
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 804
<210> 805
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 805
<210> 806
<211> 0
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 806
<210> 807
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 807
<210> 808
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 808
<210> 809
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 809
<210> 810
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 810
Glu Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 811
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 811
Glu Lys Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 812
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 812
Glu Lys Leu Leu Phe Arg Val Thr Ile Glu Ser Tyr Lys
1 5 10
<210> 813
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 813
<210> 814
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 814
<210> 815
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 815
<210> 816
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的
<400> 816
Asp Lys Leu Leu Phe Thr Val Thr Ile Glu Lys Tyr Lys
1 5 10
<210> 817
<211> 22
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 817
Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly
1 5 10 15
Ile Ala Val Phe Asp Gly
20
<210> 818
<211> 9
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 818
Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu
1 5
<210> 819
<211> 15
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 819
Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp
1 5 10 15
<210> 820
<211> 396
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 820
atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggctaa 396
<210> 821
<211> 131
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 821
Met Lys His His His His His His Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val
1 5 10 15
Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30
Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr
35 40 45
Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp
50 55 60
Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala
65 70 75 80
Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His
85 90 95
Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr
100 105 110
Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val
115 120 125
Phe Asp Gly
130
<210> 822
<211> 654
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 822

gggagctccg gtggtggcgg gagcggaggt ggaggctcga gcggtatgac gtataagtta 60
atccttaatg gtaaaacatt gaaaggcgag acaactactg aagctgttga tgctgctact 120
gcagaaaaag tcttcaaaca atacgctaac gacaacggtg ttgacggtga atggacttac 180
gacgatgcga cgaaaacctt tacggtcacc gaaaaaccag aagtgatcga tgcgtctgaa 240
ttaacaccag ccgtgacaac ttacaaactt gttattaatg gtaaaacatt gaaaggcgaa 300
acaactactg aggctgttga tgctgctact gcagagaagg tgttcaaaca atatgcgaat 360
gacaacggtg ttgacggtga gtggacttac gacgatgcga ctaagacctt tacagttact 420
gaaaaaccag aagtgatcga tgcgtctgag ttaacaccag ccgtgacaac ttacaaactt 480
gttattaatg gtaaaacatt gaaaggcgaa acaactacta aagcagtaga cgcagaaact 540
gcggagaagg ccttcaaaca atacgctaac gacaacggtg ttgatggtgt ttggacttat 600
gatgatgcca caaaaacctt tacggtaact gagcatcatc accatcacca ctaa 654

<210> 823

<211> 217

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 823

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

Val Ile Asn Gly Lys Thr Leu Lys Gly Glu Thr Thr Thr Lys Ala Val
165 170 175
Asp Ala Glu Thr Ala Glu Lys Ala Phe Lys Gln Tyr Ala Asn Asp Asn
180 185 190
Gly Val Asp Gly Val Trp Thr Tyr Asp Asp Ala Thr Lys Thr Phe Thr
195 200 205
Val Thr Glu His His His His His His
210 215

<210> 824
<211> 11
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 824
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10

<210> 825
<211> 10
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 825
Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile
1 5 10

<210> 826
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 826
Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
1 5 10

<210> 827
<211> 13
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 827
Gly Lys Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser Trp Lys
1 5 10
<210> 828
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 828
<210> 829
<211> 0
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 829
<210> 830
<211> 363
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 830
atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
taa 363
<210> 831
<211> 120
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 831

Met Lys His His His His His His Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val
1 5 10 15
Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30
Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr
35 40 45
Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp
50 55 60
Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala
65 70 75 80
Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His
85 90 95
Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr
100 105 110
Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly
115 120

<210> 832

<211> 396

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 832

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggctaa 396

<210> 833

<211> 131

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 833

Met Lys His His His His His His Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val

1 5 10 15
Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30
Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr
35 40 45
Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp
50 55 60
Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala
65 70 75 80
Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His
85 90 95
Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr
100 105 110
Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val
115 120 125
Phe Asp Gly
130

<210> 834
<211> 423
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 834
atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
taa 423
<210> 835
<211> 140
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 835

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

<210> 836
<211> 432
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 836
atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggct aa 432
<210> 837
<211> 143
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 837

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

<210> 838

<211> 483

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 838

atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcttcacact cgacgatttc 60
gttggggact gggaacagac agccgcctac aacctggacc aagtccttga acagggaggt 120
gtgtccagtt tgctgcagaa tctcgccgtg tccgtaactc cgatcatgag gattgtccgg 180
agcggtgaaa atgccctgaa gatcgacatc catgtcatca tcccgtatga aggtctgagc 240
gccgaccaaa tggcccagat cgaagaggtg tttaaggtgg tgtaccctgt ggatgatcat 300
cactttaagg tgatcctgcc ctatggcaca ctggtaatcg acggggttac gccgaacaag 360
ctgaactatt tcggacggcc gtatgaaggc atcgccgtgt tcgacggcaa aaagatcact 420
accacaggga ccctgtggaa cggcaacaaa attatcgacg agcgcctgat caccccccgac 480
taa 483

<210> 839

<211> 160

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 839

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

<210> 840
<211> 495
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 840

atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcggcagctc cggtttcaca 60
ctcgacgatt tcgttgggga ctgggaacag acagccgcct acaacctgga ccaagtcctt 120
gaacagggag gtgtgtccag tttgctgcag aatctcgccg tgtccgtaac tccgatcatg 180
aggattgtcc ggagcggtga aaatgccctg aagatcgaca tccatgtcat catcccgtat 240
gaaggtctga gcgccgacca aatggcccag atcgaagagg tgtttaaggt ggtgtaccct 300
gtggatgatc atcactttaa ggtgatcctg ccctatggca cactggtaat cgacggggtt 360
acgccgaaca agctgaacta tttcggacgg ccgtatgaag gcatcgccgt gttcgacggc 420
aaaaagatca ctaccacagg gaccctgtgg aacggcaaca aaattatcga cgagcgcctg 480
atcaccccg actaa 495

<210> 841
<211> 164
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 841

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

<210> 842
<211> 507
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 842

atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcggctcgag cggtggctcg 60
agcggtttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 120
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 180
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 240

atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 300
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 360
atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 420
gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 480
gacgagcgcc tgatcacccc cgactaa 507

<210> 843
<211> 168
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 843

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

<210> 844
<211> 519
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的

<400> 844

atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcggctcgag cggtggctcg 60
agcggtggct cgagcggttt cacactcgac gatttcgttg gggactggga acagacagcc 120
gcctacaacc tggaccaagt ccttgaacag ggaggtgtgt ccagtttgct gcagaatctc 180
gccgtgtccg taactccgat catgaggatt gtccggagcg gtgaaaatgc cctgaagatc 240
gacatccatg tcatcatccc gtatgaaggt ctgagcgccg accaaatggc ccagatcgaa 300
gaggtgttta aggtggtgta ccctgtggat gatcatcact ttaaggtgat cctgccctat 360
ggcacactgg taatcgacgg ggttacgccg aacaagctga actatttcgg acggccgtat 420
gaaggcatcg ccgtgttcga cggcaaaaag atcactacca cagggaccct gtggaacggc 480
aacaaaatta tcgacgagcg cctgatcacc cccgactaa 519

<210> 845

<211> 172

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 845

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

165 170

<210> 846
<211> 531
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 846

atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcggctcgag cggtggctcg 60
agcggtggct cgagcggtgg ctcgagcggt ttcacactcg acgatttcgt tggggactgg 120
gaacagacag ccgcctacaa cctggaccaa gtccttgaac agggaggtgt gtccagtttg 180
ctgcagaatc tcgccgtgtc cgtaactccg atcatgagga ttgtccggag cggtgaaaat 240
gccctgaaga tcgacatcca tgtcatcatc ccgtatgaag gtctgagcgc cgaccaaatg 300
gcccagatcg aagaggtgtt taaggtggtg taccctgtgg atgatcatca ctttaaggtg 360
atcctgccct atggcacact ggtaatcgac ggggttacgc cgaacaagct gaactatttc 420
ggacggccgt atgaaggcat cgccgtgttc gacggcaaaa agatcactac cacagggacc 480
ctgtggaacg gcaacaaaat tatcgacgag cgcctgatca ccccccgacta a 531

<210> 847
<211> 176
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 847

Met Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Gly Ser
1 5 10 15
Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Gly Phe Thr
20 25 30
Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu
35 40 45
Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu
50 55 60
Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn
65 70 75 80
Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser
85 90 95
Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro
100 105 110
Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val

115 120 125
Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr
130 135 140
Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr
145 150 155 160
Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp
165 170 175

<210> 848
<211> 543
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 848
atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcggctcgag cggtggctcg 60
agcggtggct cgagcggtgg ctcgagcggt ggctcgagcg gtttcacact cgacgatttc 120
gttggggact gggaacagac agccgcctac aacctggacc aagtccttga acagggaggt 180
gtgtccagtt tgctgcagaa tctcgccgtg tccgtaactc cgatcatgag gattgtccgg 240
agcggtgaaa atgccctgaa gatcgacatc catgtcatca tcccgtatga aggtctgagc 300
gccgaccaaa tggcccagat cgaagaggtg tttaaggtgg tgtaccctgt ggatgatcat 360
cactttaagg tgatcctgcc ctatggcaca ctggtaatcg acggggttac gccgaacaag 420
ctgaactatt tcggacggcc gtatgaaggc atcgccgtgt tcgacggcaa aaagatcact 480
accacaggga ccctgtggaa cggcaacaaa attatcgacg agcgcctgat caccccgac 540
taa 543

<210> 849
<211> 180
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 849
Met Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Gly Ser
1 5 10 15
Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser
20 25 30
Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
35 40 45
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
50 55 60

Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
65 70 75 80
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
85 90 95
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
100 105 110
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
115 120 125
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
130 135 140
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
145 150 155 160
Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
165 170 175
Ile Thr Pro Asp
180

<210> 850
<211> 537
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 850
atggtgagcg gctggcggct gttcaagaag attagcggct cgagcggtgg ctcgagcggt 60
ggctcgagcg gtggctcgag cggtggctcg agcggtttca cactcgacga tttcgttggg 120
gactgggaac agacagccgc ctacaacctg gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc 180
agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta actccgatca tgaggattgt ccggagcggt 240
gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac 300
caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt 360
aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac 420
tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca 480
gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc gacgagcgcc tgatcacccc cgactaa 537
<210> 851
<211> 178
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 851

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

<210> 852
<211> 486
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 852

atggtcttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacgtttcc gtgagcggct ggcggctgtt caagaagatt 480
agctaa 486

<210> 853
<211> 161
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 853

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

<210> 854
<211> 498
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 854

atggtcttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240

gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggctcg agcggtgttt ccgtgagcgg ctggcggctg 480
ttcaagaaga ttagctaa 498

<210> 855
<211> 165
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 855

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

<210> 856
<211> 510
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>

<223> 合成的

<400> 856

atggtcttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggctcg agcggtggct cgagcggtgt ttccgtgagc 480
ggctggcggc tgttcaagaa gattagctaa 510

<210> 857

<211> 169

<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 857

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

165

<210> 858
<211> 504
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 858

atggtcttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggctcg agcggtggct cgagcggtgt gagcggctgg 480
cggctgttca agaagattag ctaa 504

<210> 859
<211> 167
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 859

Met Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr

115 120 125
Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Gly Val Ser Gly Trp
145 150 155 160
Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
165

<210> 860
<211> 501
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 860
atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcttcacact cgacgatttc 60
gttggggact gggaacagac agccgcctac aacctggacc aagtccttga acagggaggt 120
gtgtccagtt tgctgcagaa tctcgccgtg tccgtaactc cgatcatgag gattgtccgg 180
agcggtgaaa atgccctgaa gatcgacatc catgtcatca tcccgtatga aggtctgagc 240
gccgaccaaa tggcccagat cgaagaggtg tttaaggtgg tgtaccctgt ggatgatcat 300
cactttaagg tgatcctgcc ctatggcaca ctggtaatcg acggggttac gccgaacaag 360
ctgaactatt tcggacggcc gtatgaaggc atcgccgtgt tcgacggcaa aaagatcact 420
accacaggga ccctgtggaa cggcaacaaa attatcgacg agcgcctgat caccccccgac 480
catcaccatc accatcatta a 501

<210> 861
<211> 166
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 861
Met Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Phe Thr
1 5 10 15
Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu
20 25 30
Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu
35 40 45
Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn
50 55 60
Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser

65 70 75 80
Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro
85 90 95
Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val
100 105 110
Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr
115 120 125
Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr
130 135 140
Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp
145 150 155 160
His His His His His His
165

<210> 862
<211> 513
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 862
atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcggcagctc cggtttcaca 60
ctcgacgatt tcgttgggga ctgggaacag acagccgcct acaacctgga ccaagtcctt 120
gaacagggag gtgtgtccag tttgctgcag aatctcgccg tgtccgtaac tccgatcatg 180
aggattgtcc ggagcggtga aaatgccctg aagatcgaca tccatgtcat catcccgtat 240
gaaggtctga gcgccgacca aatggcccag atcgaagagg tgtttaaggt ggtgtaccct 300
gtggatgatc atcactttaa ggtgatcctg ccctatggca cactggtaat cgacggggtt 360
acgccgaaca agctgaacta tttcggacgg ccgtatgaag gcatcgccgt gttcgacggc 420
aaaaagatca ctaccacagg gaccctgtgg aacggcaaca aaattatcga cgagcgcctg 480
atcacccccg accatcacca tcaccatcat taa 513
<210> 863
<211> 170
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 863
Met Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Gly Ser
1 5 10 15
Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala

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

<210> 864
<211> 525
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 864
atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcggctcgag cggtggctcg 60
agcggtttca cactcgacga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 120
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 180
actccgatca tgaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 240
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 300
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 360
atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 420
gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 480
gacgagcgcc tgatcacccc cgaccatcac catcaccatc attaa 525
<210> 865
<211> 174
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 865

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

<210> 866
<211> 537
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 866

atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcggctcgag cggtggctcg 60
agcggtggct cgagcggttt cacactcgac gatttcgttg gggactggga acagacagcc 120
gcctacaacc tggaccaagt ccttgaacag ggaggtgtgt ccagtttgct gcagaatctc 180
gccgtgtccg taactccgat catgaggatt gtccggagcg gtgaaaatgc cctgaagatc 240
gacatccatg tcatcatccc gtatgaaggt ctgagcgccg accaaatggc ccagatcgaa 300
gaggtgttta aggtggtgta ccctgtggat gatcatcact ttaaggtgat cctgccctat 360
ggcacactgg taatcgacgg ggttacgccg aacaagctga actatttcgg acggccgtat 420

gaaggcatcg ccgtgttcga cggcaaaaag atcactacca cagggaccct gtggaacggc 480
aacaaaatta tcgacgagcg cctgatcacc cccgaccatc accatcacca tcattaa 537

<210> 867
<211> 178
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 867

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

<210> 868
<211> 549
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 868

atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcggctcgag cggtggctcg 60
agcggtggct cgagcggtgg ctcgagcggt ttcacactcg acgatttcgt tggggactgg 120
gaacagacag ccgcctacaa cctggaccaa gtccttgaac agggaggtgt gtccagtttg 180
ctgcagaatc tcgccgtgtc cgtaactccg atcatgagga ttgtccggag cggtgaaaat 240
gccctgaaga tcgacatcca tgtcatcatc ccgtatgaag gtctgagcgc cgaccaaatg 300
gcccagatcg aagaggtgtt taaggtggtg taccctgtgg atgatcatca ctttaaggtg 360
atcctgccct atggcacact ggtaatcgac ggggttacgc cgaacaagct gaactatttc 420
ggacggccgt atgaaggcat cgccgtgttc gacggcaaaa agatcactac cacagggacc 480
ctgtggaacg gcaacaaaat tatcgacgag cgcctgatca cccccgacca tcaccatcac 540
catcattaa 549

<210> 869
<211> 182
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 869

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

His His His His His His
180

<210> 870
<211> 555
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 870

atggtgagcg gctggcggct gttcaagaag attagcggct cgagcggtgg ctcgagcggt 60
ggctcgagcg gtggctcgag cggtggctcg agcggtttca cactcgacga tttcgttggg 120
gactgggaac agacagccgc ctacaacctg gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc 180
agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta actccgatca tgaggattgt ccggagcggt 240
gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac 300
caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt 360
aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta atcgacgggg ttacgccgaa caagctgaac 420
tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc gtgttcgacg gcaaaaagat cactaccaca 480
gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc gacgagcgcc tgatcacccc cgaccatcac 540
catcaccatc attaa 555

<210> 871
<211> 184
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 871

Met Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Gly Ser Ser Gly
1 5 10 15
Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Gly
20 25 30
Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr
35 40 45
Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln
50 55 60
Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly
65 70 75 80
Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly
85 90 95
Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val

100 105 110

Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr
115 120 125

Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg
130 135 140

Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr
145 150 155 160

Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr
165 170 175

Pro Asp His His His His His His
180

<210> 872
<211> 561
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 872

atggtttccg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gcggctcgag cggtggctcg 60
agcggtggct cgagcggtgg ctcgagcggt ggctcgagcg gtttcacact cgacgatttc 120
gttggggact gggaacagac agccgcctac aacctggacc aagtccttga acagggaggt 180
gtgtccagtt tgctgcagaa tctcgccgtg tccgtaactc cgatcatgag gattgtccgg 240
agcggtgaaa atgccctgaa gatcgacatc catgtcatca tcccgtatga aggtctgagc 300
gccgaccaaa tggcccagat cgaagaggtg tttaaggtgg tgtaccctgt ggatgatcat 360
cactttaagg tgatcctgcc ctatggcaca ctggtaatcg acggggttac gccgaacaag 420
ctgaactatt tcggacggcc gtatgaaggc atcgccgtgt tcgacggcaa aaagatcact 480
accacaggga ccctgtggaa cggcaacaaa attatcgacg agcgcctgat caccccgac 540
catcaccatc accatcatta a 561

<210> 873
<211> 186
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 873

Met Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser Gly Ser
1 5 10 15

Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser Ser Gly Gly Ser
20 25 30

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

<210> 874
<211> 507
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 874
atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgacgtttc cgtgagcggc 480
tggcggctgt tcaagaagat tagctaa 507
<210> 875
<211> 168
<212> PRT

<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 875

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

<210> 876
<211> 519
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 876

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360

cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgacggctc gagcggtgtt 480
tccgtgagcg gctggcggct gttcaagaag attagctaa 519

<210> 877
<211> 172
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 877

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

<210> 878
<211> 525
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 878

atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgacggctc gagcggtggc 480
tcgagcggtg tgagcggctg gcggctgttc aagaagatta gctaa 525

<210> 879
<211> 174
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 879

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

<210> 880

<211> 531
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 880
atgaaacatc accatcacca tcatgtcttc acactcgacg atttcgttgg ggactgggaa 60
cagacagccg cctacaacct ggaccaagtc cttgaacagg gaggtgtgtc cagtttgctg 120
cagaatctcg ccgtgtccgt aactccgatc atgaggattg tccggagcgg tgaaaatgcc 180
ctgaagatcg acatccatgt catcatcccg tatgaaggtc tgagcgccga ccaaatggcc 240
cagatcgaag aggtgtttaa ggtggtgtac cctgtggatg atcatcactt taaggtgatc 300
ctgccctatg gcacactggt aatcgacggg gttacgccga acaagctgaa ctatttcgga 360
cggccgtatg aaggcatcgc cgtgttcgac ggcaaaaaga tcactaccac agggaccctg 420
tggaacggca acaaaattat cgacgagcgc ctgatcaccc ccgacggctc gagcggtggc 480
tcgagcggtg tttccgtgag cggctggcgg ctgttcaaga agattagcta a 531
<210> 881
<211> 176
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 881
Met Lys His His His His His His Val Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val
1 5 10 15
Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu
20 25 30
Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr
35 40 45
Pro Ile Met Arg Ile Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp
50 55 60
Ile His Val Ile Ile Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala
65 70 75 80
Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His
85 90 95
Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr
100 105 110
Pro Asn Lys Leu Asn Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val
115 120 125
Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn

130 135 140

Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu Ile Thr Pro Asp Gly Ser Ser Gly Gly
145 150 155 160

Ser Ser Gly Val Ser Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser
165 170 175

<210> 882
<211> 498
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 882

atggtcttca cactcgaaga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatcc aaaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa catgctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggctcc atgctgttcc gagtaaccat caacagccat 480
catcaccatc accactaa 498

<210> 883
<211> 165
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 883

Met Val Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15

Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30

Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Gln Arg Ile Val Arg
35 40 45

Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60

Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80

Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr

85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Met Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser His
145 150 155 160
His His His His His
165

<210> 884
<211> 501
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 884
atggtgagcg gctggcggct gttcaagaag attagccacc atcaccatca ccatcatcac 60
ttcacactcg acgatttcgt tggggactgg gaacagacag ccgcctacaa cctggaccaa 120
gtccttgaac agggaggtgt gtccagtttg ctgcagaatc tcgccgtgtc cgtaactccg 180
atcatgagga ttgtccggag cggtgaaaat gccctgaaga tcgacatcca tgtcatcatc 240
ccgtatgaag gtctgagcgc cgaccaaatg gcccagatcg aagaggtgtt taaggtggtg 300
taccctgtgg atgatcatca ctttaaggtg atcctgccct atggcacact ggtaatcgac 360
ggggttacgc cgaacaagct gaactatttc ggacggccgt atgaaggcat cgccgtgttc 420
gacggcaaaa agatcactac cacagggacc ctgtggaacg gcaacaaaat tatcgacgag 480
cgcctgatca cccccgacta a 501

<210> 885
<211> 166
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 885
Met Val Ser Gly Trp Arg Leu Phe Lys Lys Ile Ser His His His His
1 5 10 15
His His His His Phe Thr Leu Asp Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln
20 25 30
Thr Ala Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser

35 40 45
Ser Leu Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Met Arg Ile
50 55 60
Val Arg Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile
65 70 75 80
Pro Tyr Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val
85 90 95
Phe Lys Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu
100 105 110
Pro Tyr Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Lys Leu Asn
115 120 125
Tyr Phe Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys
130 135 140
Ile Thr Thr Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu
145 150 155 160
Arg Leu Ile Thr Pro Asp
165

<210> 886
<211> 510
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 886
atgaaacatc accatcacca tcatgtgagc ggctggcggc tgttcaagaa gattagcggc 60
agctccggtt tcacactcga cgatttcgtt ggggactggg aacagacagc cgcctacaac 120
ctggaccaag tccttgaaca gggaggtgtg tccagtttgc tgcagaatct cgccgtgtcc 180
gtaactccga tcatgaggat tgtccggagc ggtgaaaatg ccctgaagat cgacatccat 240
gtcatcatcc cgtatgaagg tctgagcgcc gaccaaatgg cccagatcga agaggtgttt 300
aaggtggtgt accctgtgga tgatcatcac tttaaggtga tcctgcccta tggcacactg 360
gtaatcgacg gggttacgcc gaacaagctg aactatttcg gacggccgta tgaaggcatc 420
gccgtgttcg acggcaaaaa gatcactacc acagggaccc tgtggaacgg caacaaaatt 480
atcgacgagc gcctgatcac ccccgactaa 510
<210> 887
<211> 169
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的

<400> 887

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

<210> 888

<211> 507

<212> DNA

<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>

<223> 合成的

<400> 888

atggtgagcg gctggcggct gttcaagaag attagcggca gctccggttt cacactcgac 60
gatttcgttg gggactggga acagacagcc gcctacaacc tggaccaagt ccttgaacag 120
ggaggtgtgt ccagtttgct gcagaatctc gccgtgtccg taactccgat catgaggatt 180
gtccggagcg gtgaaaatgc cctgaagatc gacatccatg tcatcatccc gtatgaaggt 240
ctgagcgccg accaaatggc ccagatcgaa gaggtgttta aggtggtgta ccctgtggat 300
gatcatcact ttaaggtgat cctgccctat ggcacactgg taatcgacgg ggttacgccg 360
aacaagctga actatttcgg acggccgtat gaaggcatcg ccgtgttcga cggcaaaaag 420
atcactacca cagggaccct gtggaacggc aacaaaatta tcgacgagcg cctgatcacc 480
cccgaccatc accatcacca tcattaa 507

<210> 889
<211> 168
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 889

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

<210> 890
<211> 498
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 890

atggtcttca cactcgaaga tttcgttggg gactgggaac agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatcc aaaggattgt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180

atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa catgctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacgagaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggctcc atgctgttcc gagtaaccat caacagccat 480
catcaccatc accactaa 498

<210> 891
<211> 165
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 891

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

<210> 892
<211> 498
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)

<220>
<223> 合成的
<400> 892
atggtcttca cactcgaaga tttcgttggg gactggaagc agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatcc aaaggatggt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa catgctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggctcc atgtccttcc gagtaaccat caacagccat 480
catcaccatc accactaa 498
<210> 893
<211> 165
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 893
Met Val Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly Asp Trp Lys Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Gln Arg Met Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Met Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Ser Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser His
145 150 155 160

His His His His His
165

<210> 894
<211> 498
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 894

atggtcttca cactcgaaga tttcgttggg gactggaagc agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatcc aaaggatggt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa catgctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacggcgt caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggctcc atgtccttcc gagtaaccat caacagccat 480
catcaccatc accactaa 498

<210> 895
<211> 165
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 895

Met Val Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly Asp Trp Glu Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Gln Arg Met Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60
Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Met Leu Asn Tyr Phe
100 105 110

Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser His
145 150 155 160
His His His His His
165

<210> 896
<211> 498
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 896
atggtcttca cactcgaaga tttcgttggg gactggaagc agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatcc aaaggatggt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa catgctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacggcaa caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggctcc atgctgttcc gagtaaccat caacagccat 480
catcaccatc accactaa 498

<210> 897
<211> 165
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 897
Met Val Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly Asp Trp Lys Gln Thr Ala
1 5 10 15
Ala Tyr Asn Leu Asp Gln Val Leu Glu Gln Gly Gly Val Ser Ser Leu
20 25 30
Leu Gln Asn Leu Ala Val Ser Val Thr Pro Ile Gln Arg Met Val Arg
35 40 45
Ser Gly Glu Asn Ala Leu Lys Ile Asp Ile His Val Ile Ile Pro Tyr
50 55 60

Glu Gly Leu Ser Ala Asp Gln Met Ala Gln Ile Glu Glu Val Phe Lys
65 70 75 80
Val Val Tyr Pro Val Asp Asp His His Phe Lys Val Ile Leu Pro Tyr
85 90 95
Gly Thr Leu Val Ile Asp Gly Val Thr Pro Asn Met Leu Asn Tyr Phe
100 105 110
Gly Arg Pro Tyr Glu Gly Ile Ala Val Phe Asp Gly Lys Lys Ile Thr
115 120 125
Val Thr Gly Thr Leu Trp Asn Gly Asn Lys Ile Ile Asp Glu Arg Leu
130 135 140
Ile Thr Pro Asp Gly Ser Met Leu Phe Arg Val Thr Ile Asn Ser His
145 150 155 160
His His His His His
165

<210> 898
<211> 498
<212> DNA
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 898
atggtcttca cactcgaaga tttcgttggg gactggaagc agacagccgc ctacaacctg 60
gaccaagtcc ttgaacaggg aggtgtgtcc agtttgctgc agaatctcgc cgtgtccgta 120
actccgatcc aaaggatggt ccggagcggt gaaaatgccc tgaagatcga catccatgtc 180
atcatcccgt atgaaggtct gagcgccgac caaatggccc agatcgaaga ggtgtttaag 240
gtggtgtacc ctgtggatga tcatcacttt aaggtgatcc tgccctatgg cacactggta 300
atcgacgggg ttacgccgaa catgctgaac tatttcggac ggccgtatga aggcatcgcc 360
gtgttcgacg gcaaaaagat cactgtaaca gggaccctgt ggaacgacgt caaaattatc 420
gacgagcgcc tgatcacccc cgacggctcc atgctgttcc gagtaaccat caacagccat 480
catcaccatc accactaa 498
<210> 899
<211> 165
<212> PRT
<213> 人工序列(Artificial sequence)
<220>
<223> 合成的
<400> 899
Met Val Phe Thr Leu Glu Asp Phe Val Gly Asp Trp Lys Gln Thr Ala
1 5 10 15

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

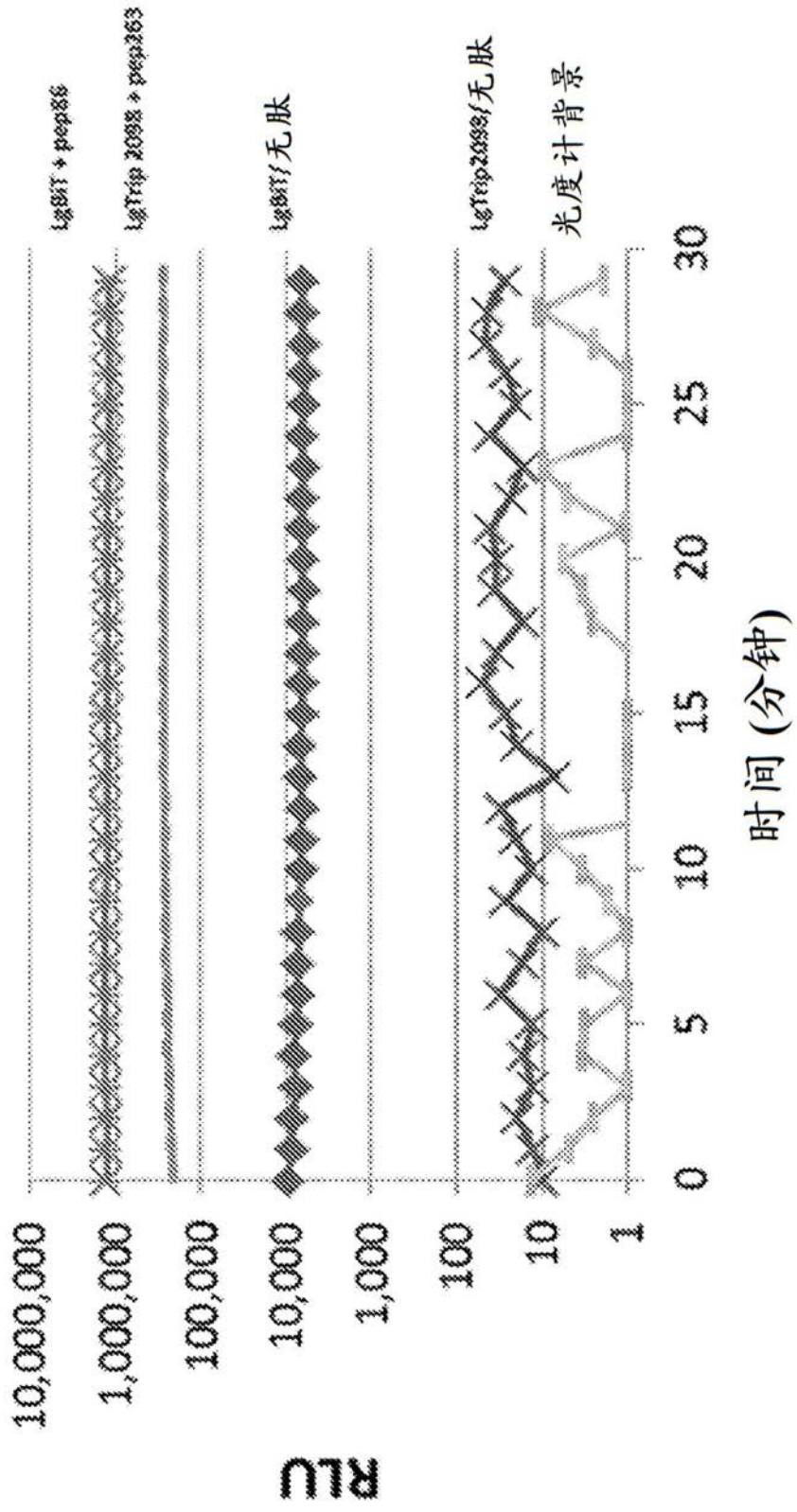

RLU
10,000,000
1,000,000
100,000
10,000
1,000
100
10
1
0
5
10
15
20
25
30
时间 (分钟)
光度计背景
LgBiT + pep86
LgTrip 2098 + pep263
LgBiT/无肽
LgTrip2098/无肽

图1

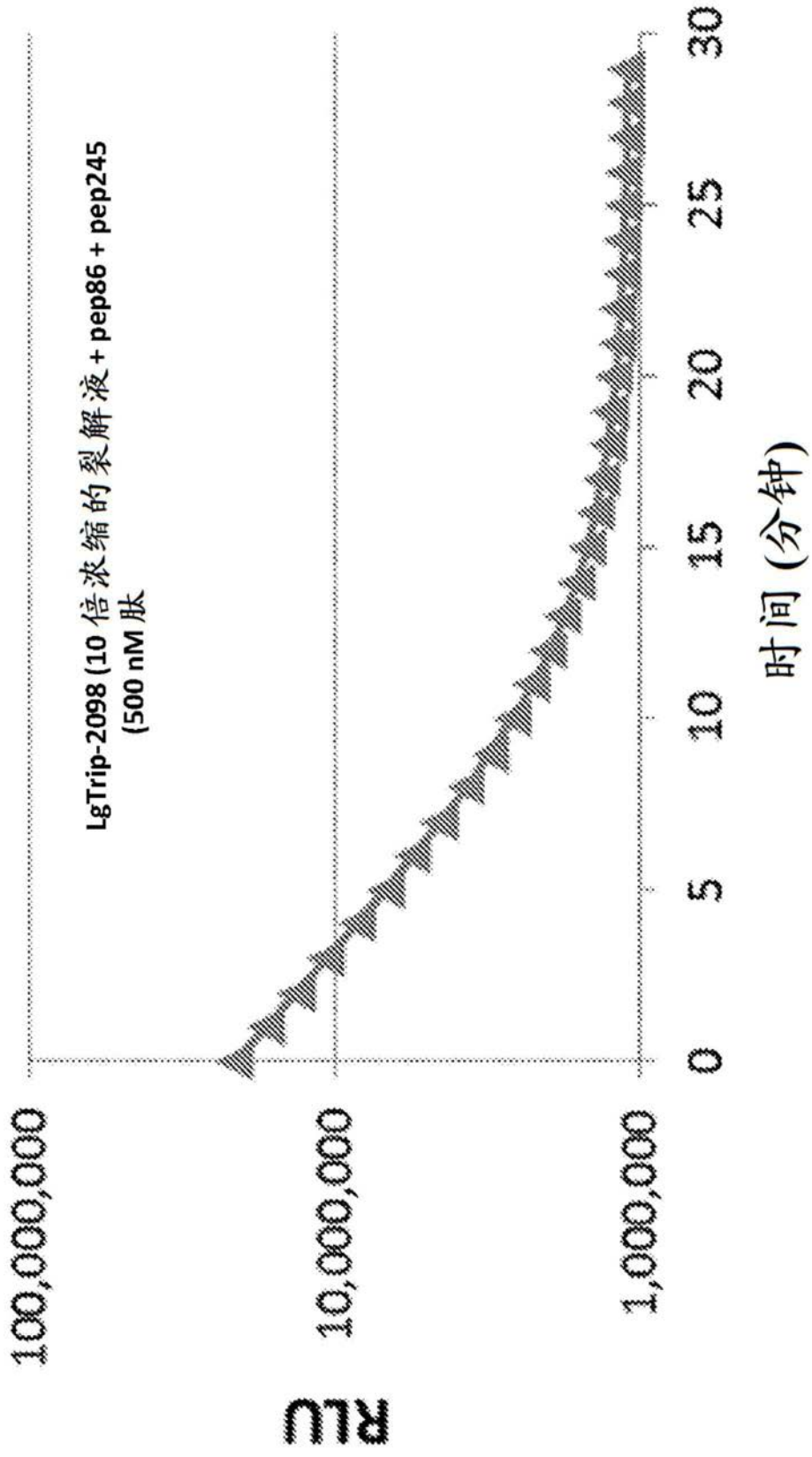

LgTrip-2098 (10 倍浓缩的裂解液 + pep86 + pep245
(500 nM 肽
RLU
100,000,000
10,000,000
1,000,000
0
5
10
15
20
25
30
时间 (分钟)

图2

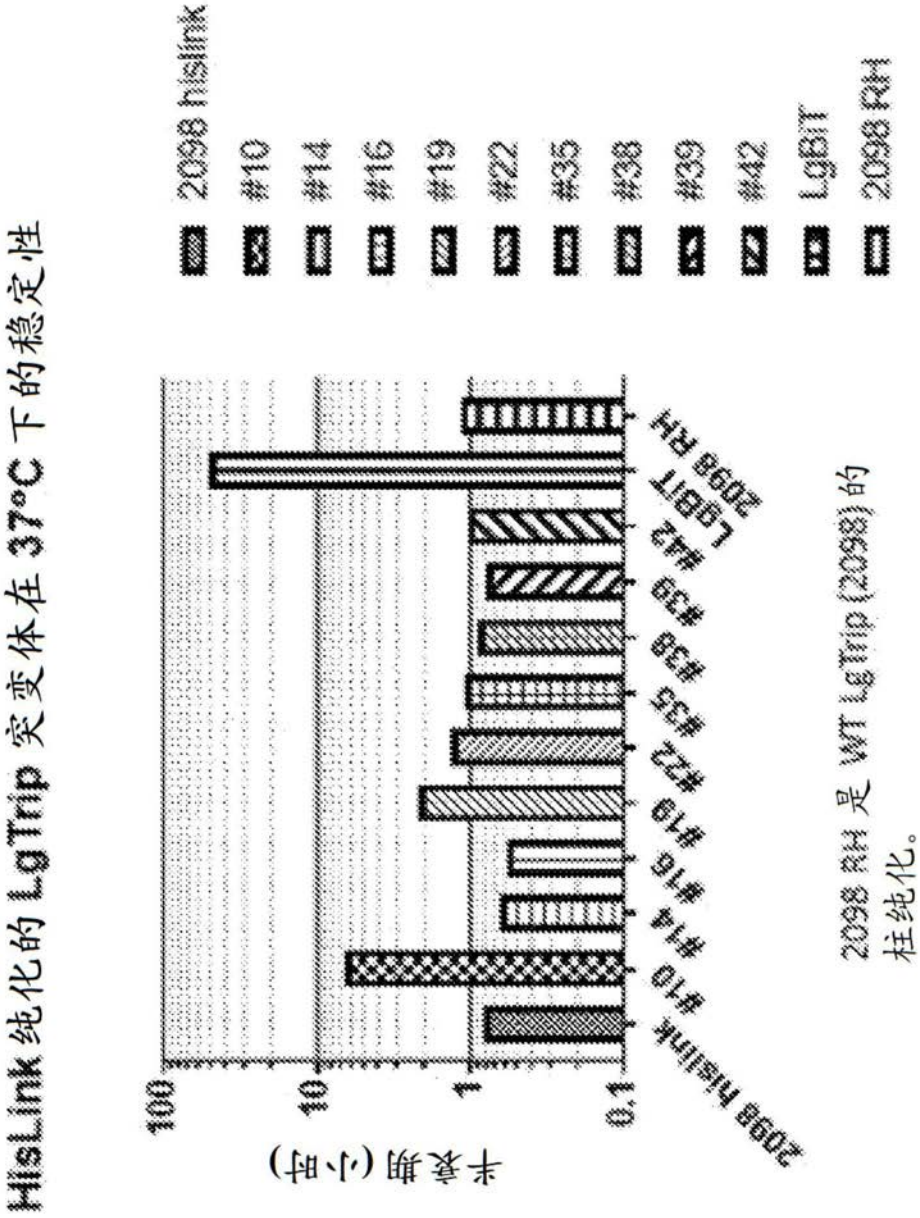

HisLink 纯化的 LgTrip 突变体在 37°C 下的稳定性
半衰期 (小时)
100
10
1
0.1
2098 hislink
#10
#14
#16
#19
#22
#35
#38
#39
#42
LgBIT
2098 RH
2098 RH 是 WT LgTrip (2098) 的
柱纯化。

图3

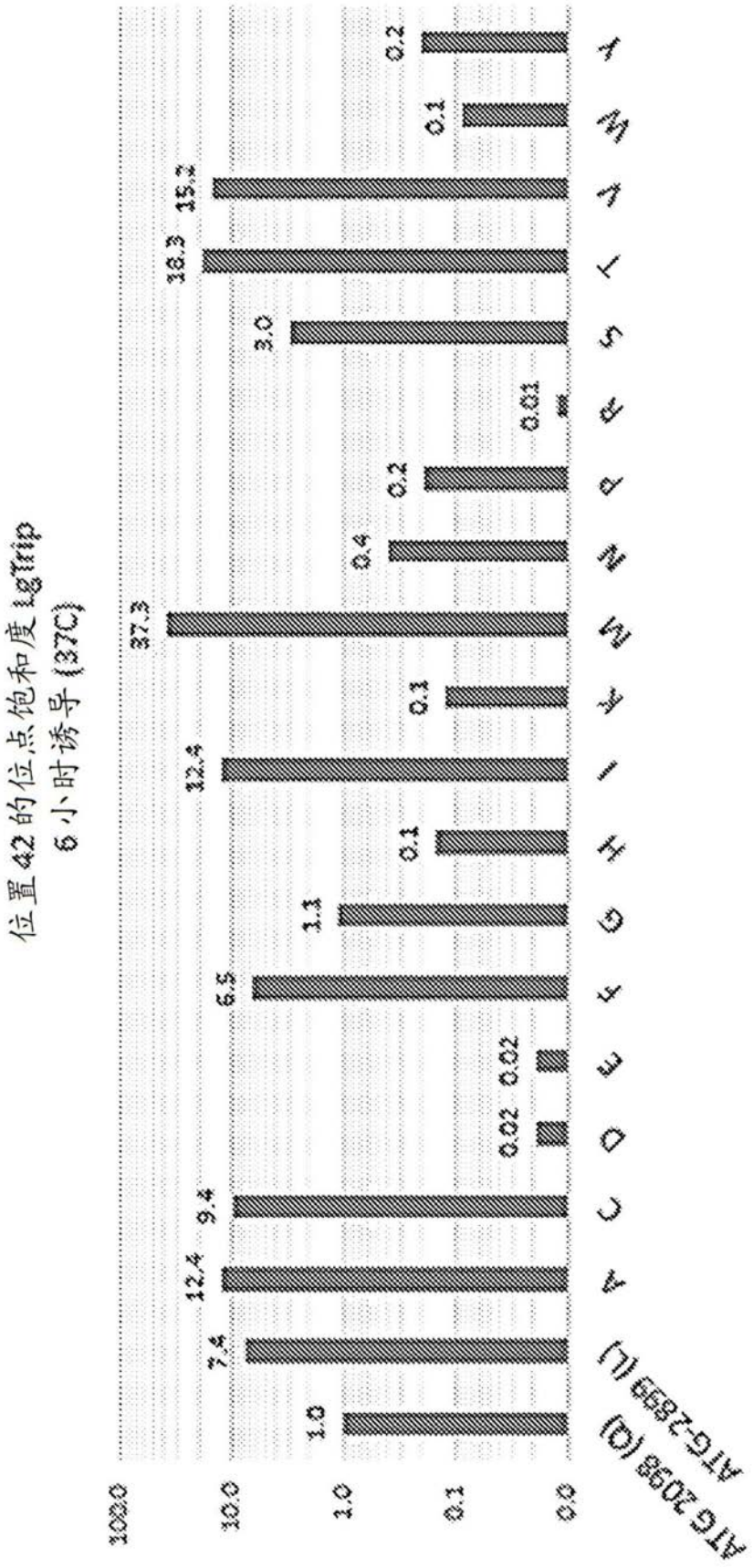

位置42的位点饱和度 LgTrip
6小时诱导(37C)
ATG-2038 (Q)
ATG-2899 (L)
A C D E F G H I K M N P R S T V W Y
100.0
10.0
1.0
0.1
0.0
1.0
7.4
12.4
9.4
0.02
0.02
0.02
6.5
1.1
0.1
12.4
0.1
37.3
0.4
0.2
0.01
3.0
18.3
15.2
0.1
0.2

图4

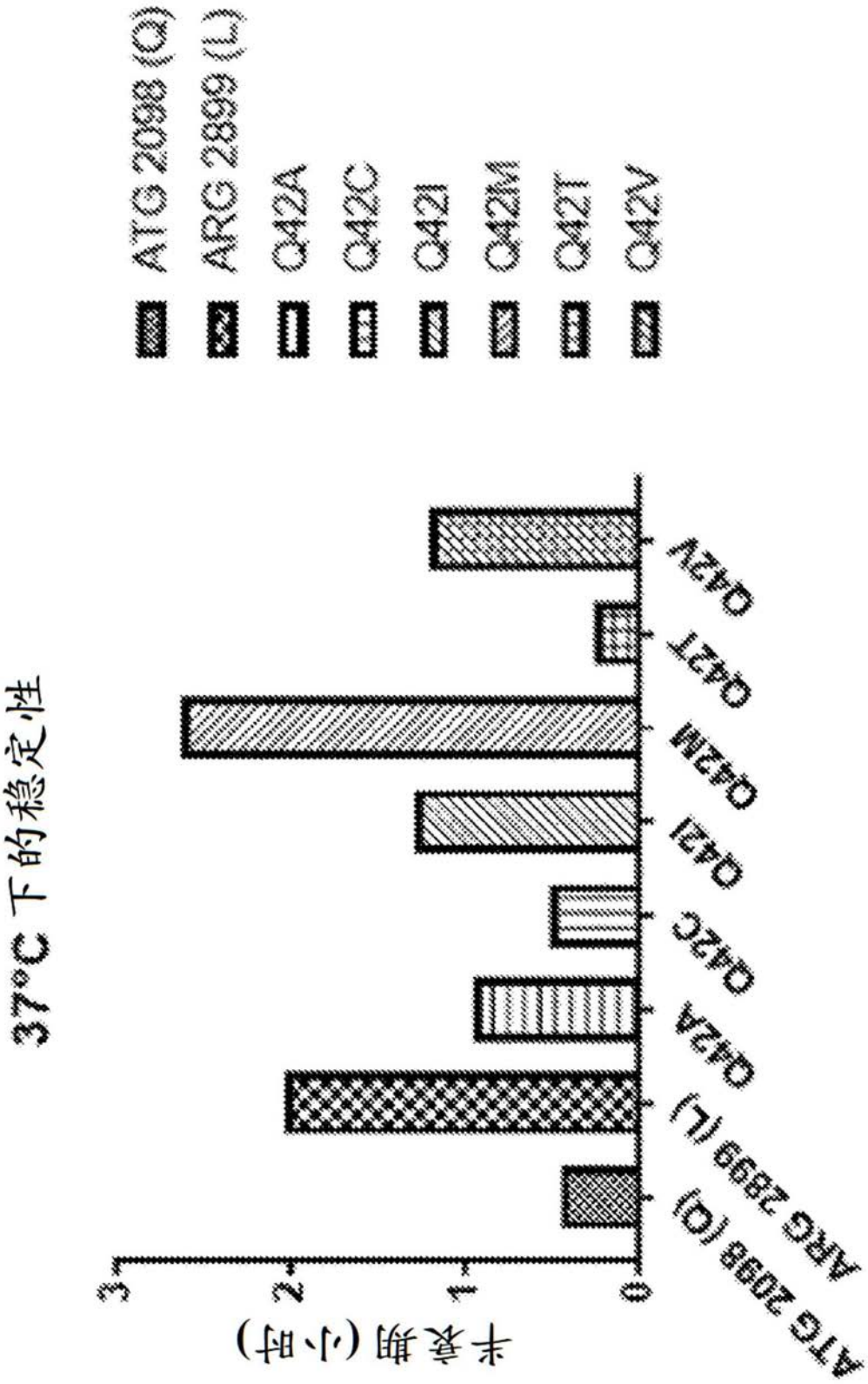

ATG 2098 (Q)
ARG 2899 (L)
Q42A
Q42C
Q42I
Q42M
Q42T
Q42V
37°C 下的稳定性
半衰期 (小时)
0
1
2
3
ATG 2098 (Q)
ARG 2899 (L)
Q42A
Q42C
Q42I
Q42M
Q42T
Q42V

图5

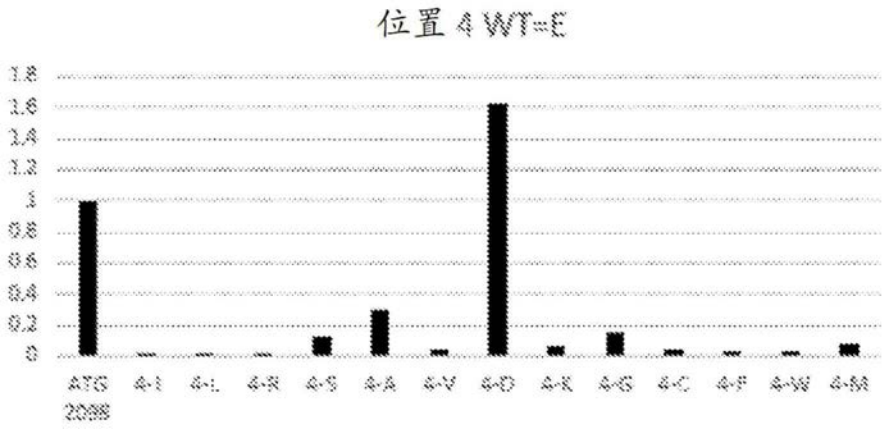

位置 4 WT=E
1.8
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
ATG 2098
4-I
4-L
4-R
4-S
4-A
4-V
4-D
4-K
4-G
4-C
4-F
4-W
4-M

图6A

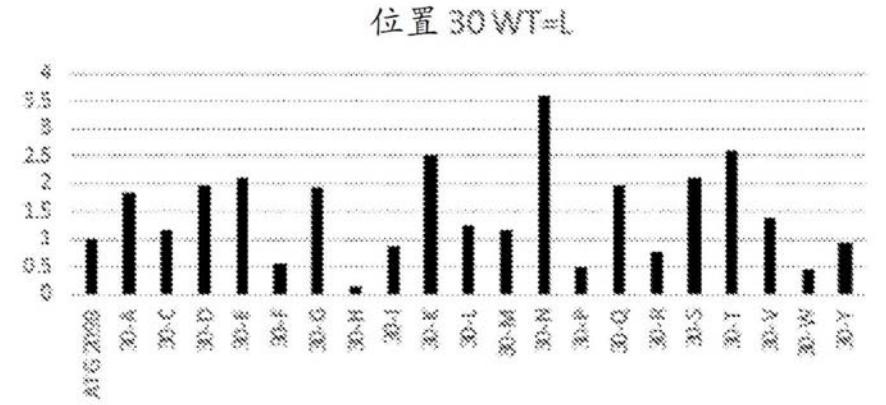

位置 30 WT=L
4
3.5
3
2.5
2
1.5
1
0.5
0

图6B

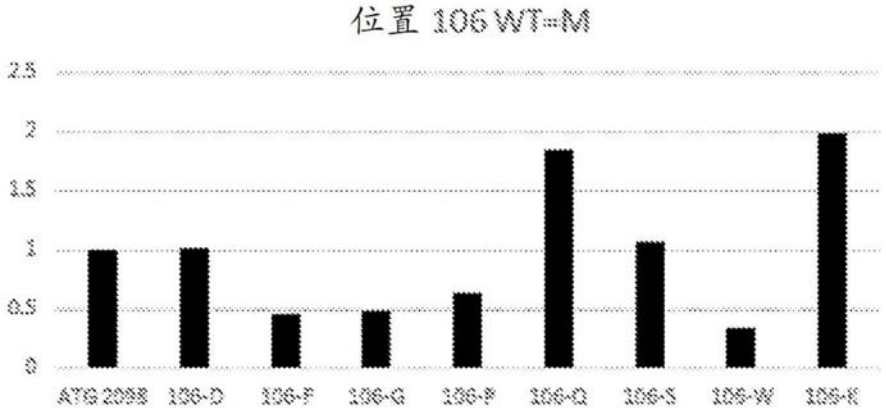

位置 106 WT=M
2.5
2
1.5
1
0.5
0
ATG 2098
106-D
106-F
106-G
106-P
106-Q
106-S
106-W
106-Y

图6C

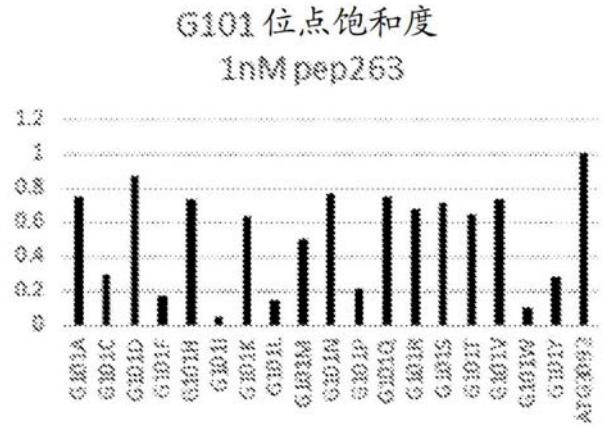

G101位点饱和度
1nM pep263
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0

图7A

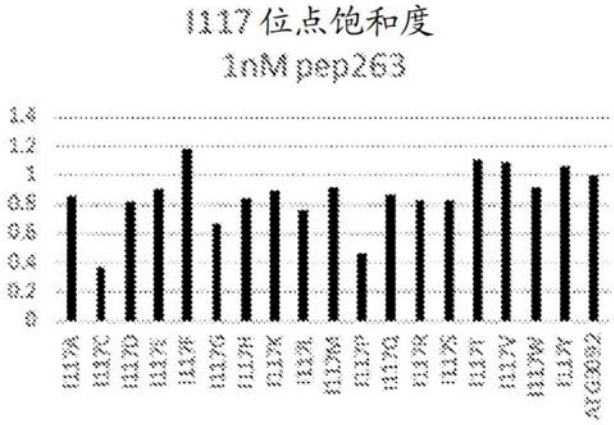

I117位点饱和度
1nM pep263
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0

图7B

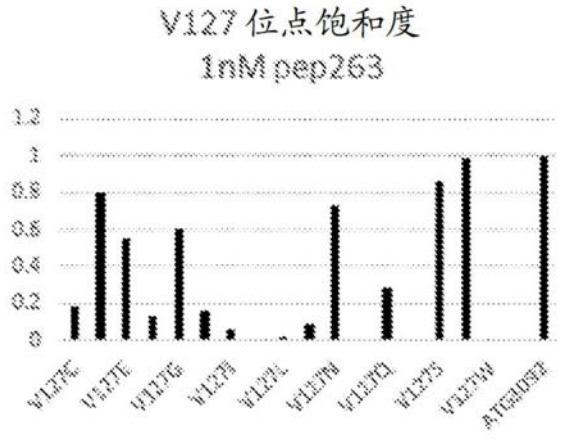

V127位点饱和度
1nM pep263
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0

图7C

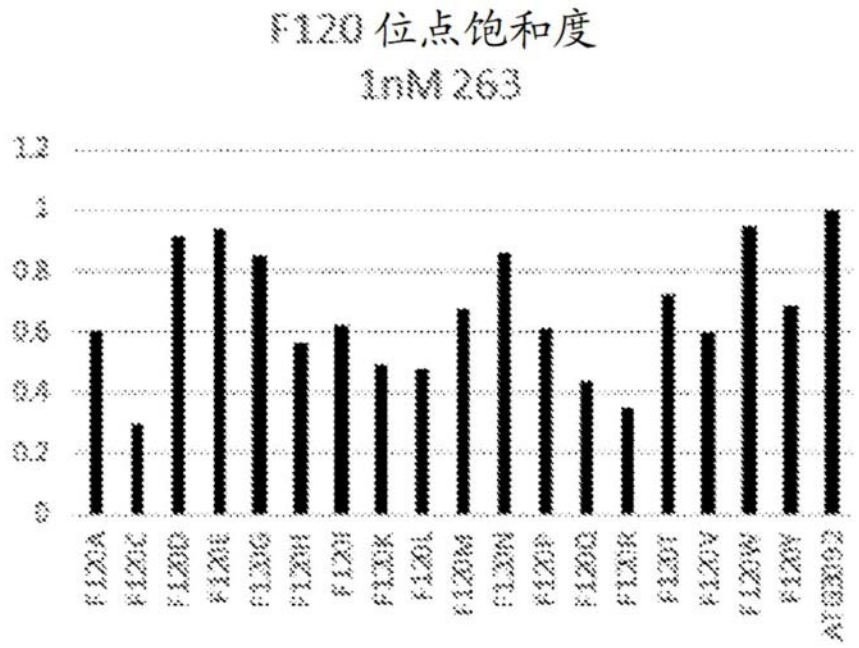

F120 位点饱和度
1nM 263
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0

图7D

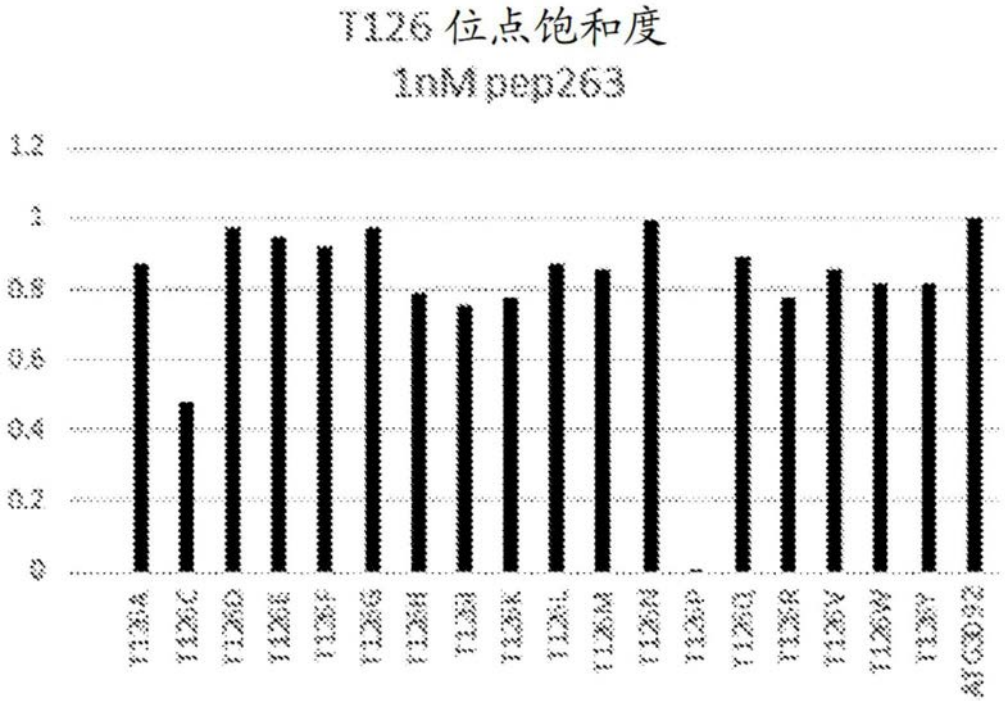

T126 位点饱和度
1nM pep263
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0

图7E

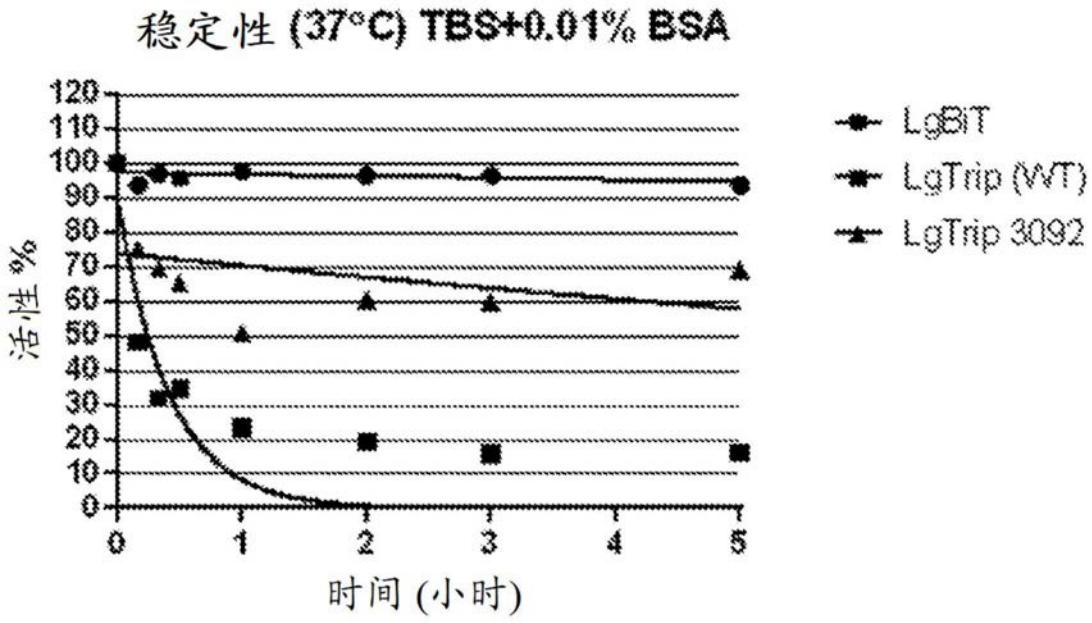
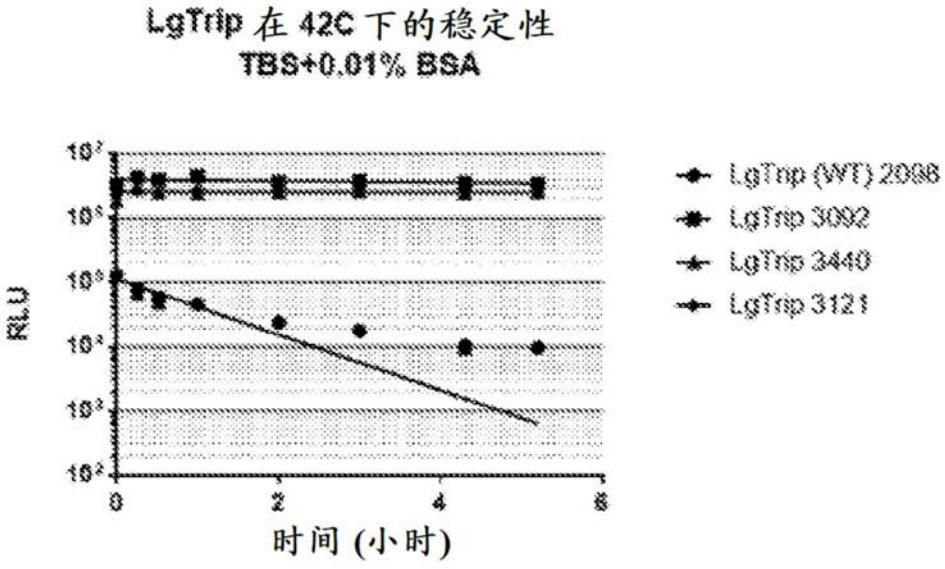


图8



ATG 3121=3092+N105S
ATG 3440=3092+V102D+E115D
ATG 3092=Q42M+E4E+M106K)
ATG 2098=W.T. LgTrip

图9A

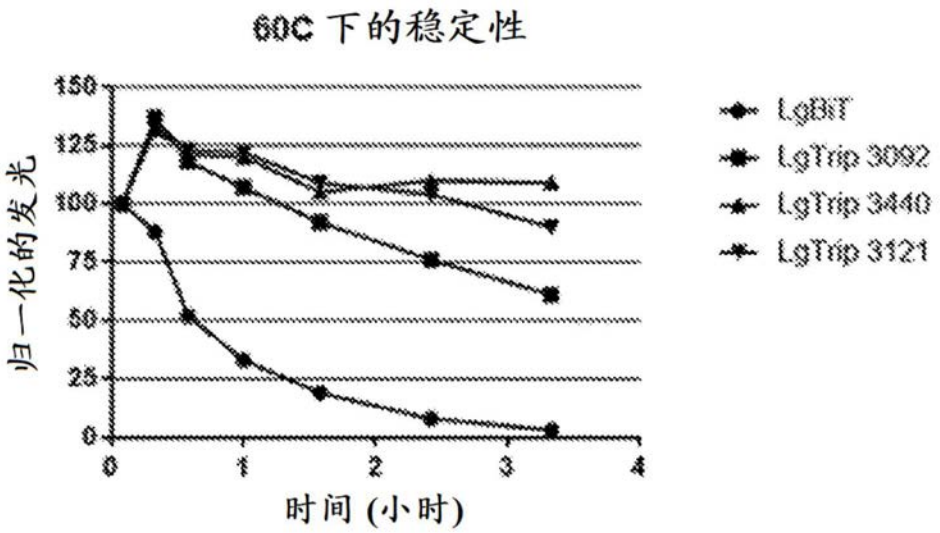
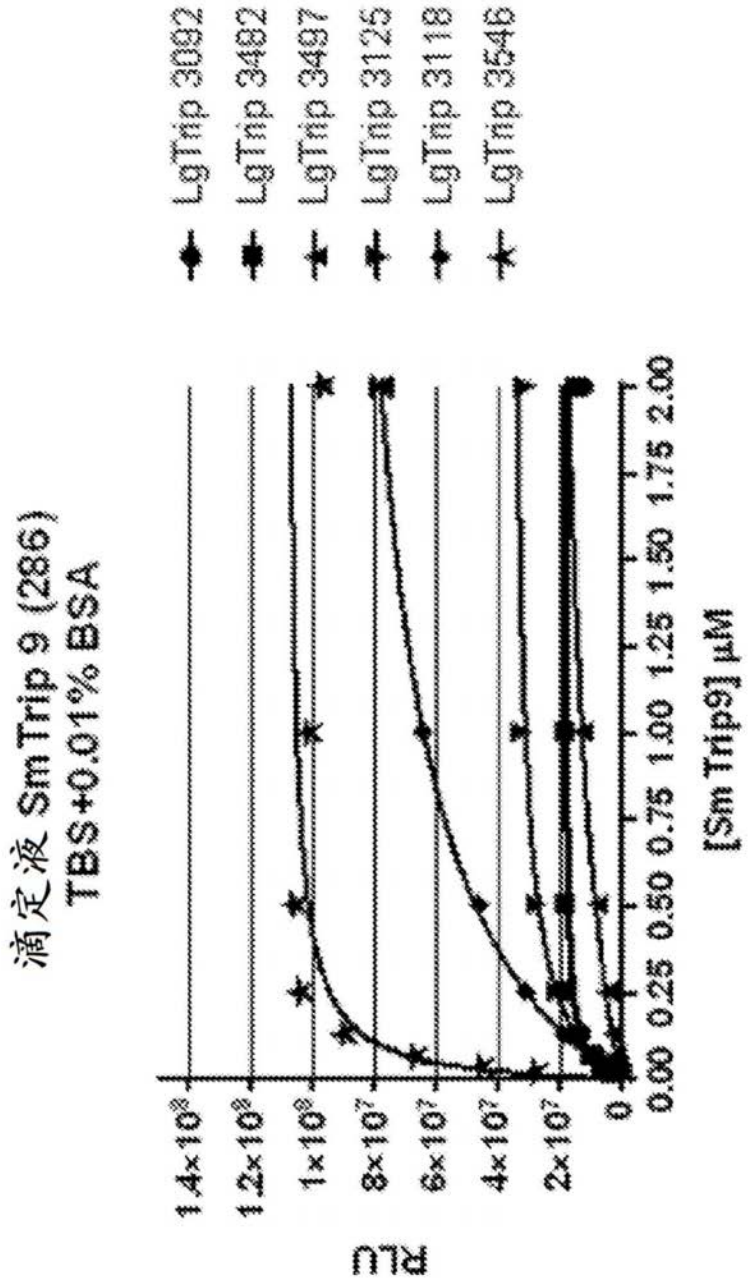
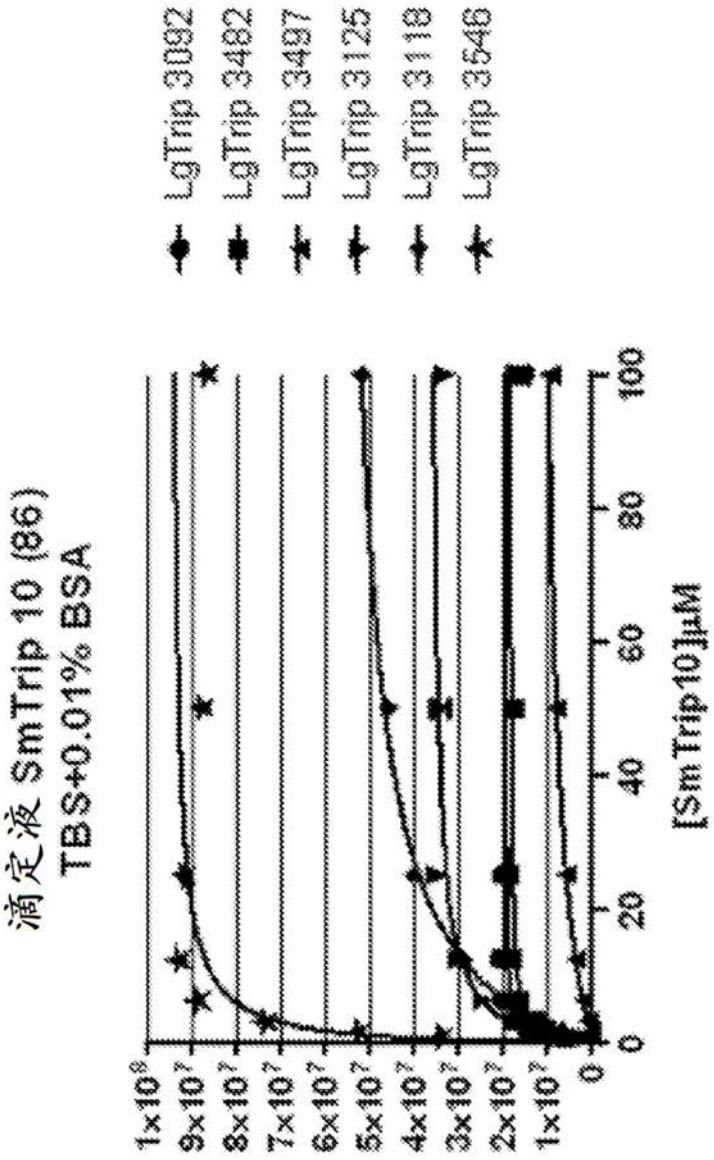

60C 下的稳定性
归一化的发光
150
125
100
75
50
25
0
0
1
2
3
4
时间 (小时)
LgBiT
LgTrip 3092
LgTrip 3440
LgTrip 3121

图9B



ATG	相较于 3092 的突变
ATG 3092	
ATG 3482	I1117F
ATG 3497	F1200I
ATG 3125	I1266S
ATG 3118	V1221A
ATG 3546	V1221I

图10A



ATG	相较于 3092 的突变
ATG 3092	
ATG 3482	I113T
ATG 3497	I113M
ATG 3125	I113S
ATG 3118	V127A
ATG 3546	V127T

图10B

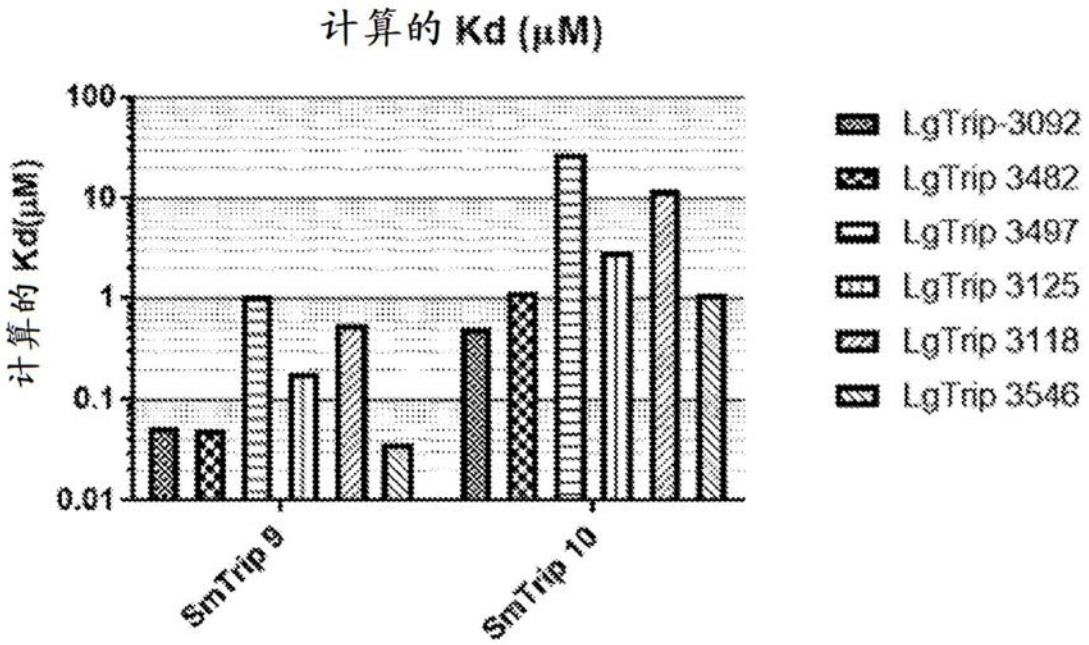
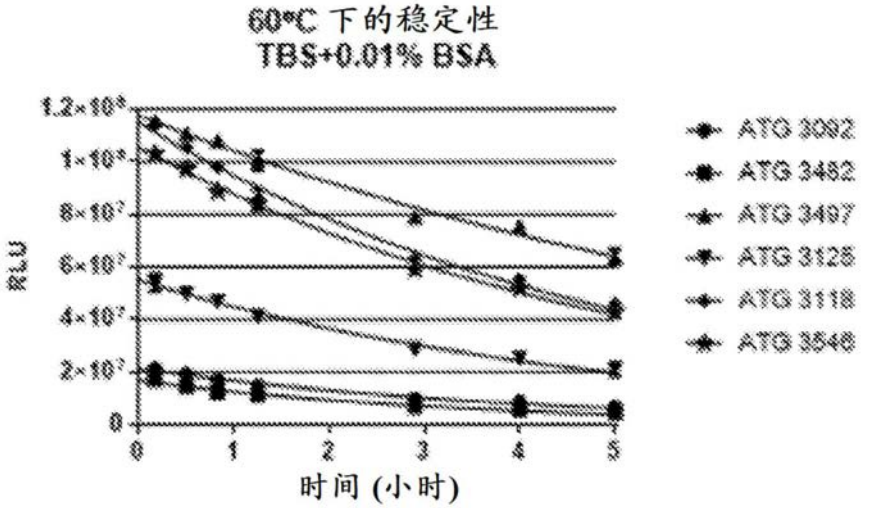


图10C



	ATG 3092	ATG 3482	ATG 3497	ATG 3125	ATG 3118	ATG 3546
半衰期	2.81	2.389	5.656	3.381	3.567	3.746

图11A

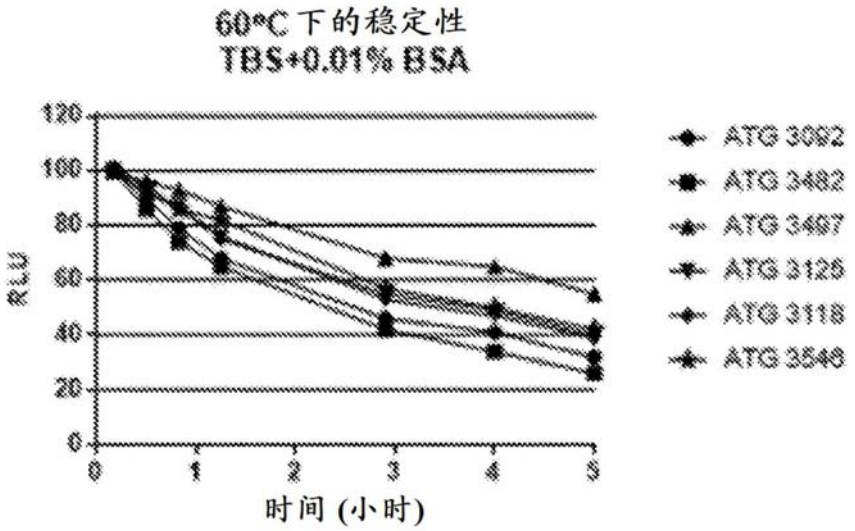

60°C 下的稳定性
TBS+0.01% BSA
RLU
120
100
80
60
40
20
0
0
1
2
3
4
5
时间 (小时)
ATG 3092
ATG 3482
ATG 3497
ATG 3128
ATG 3118
ATG 3546

图11B

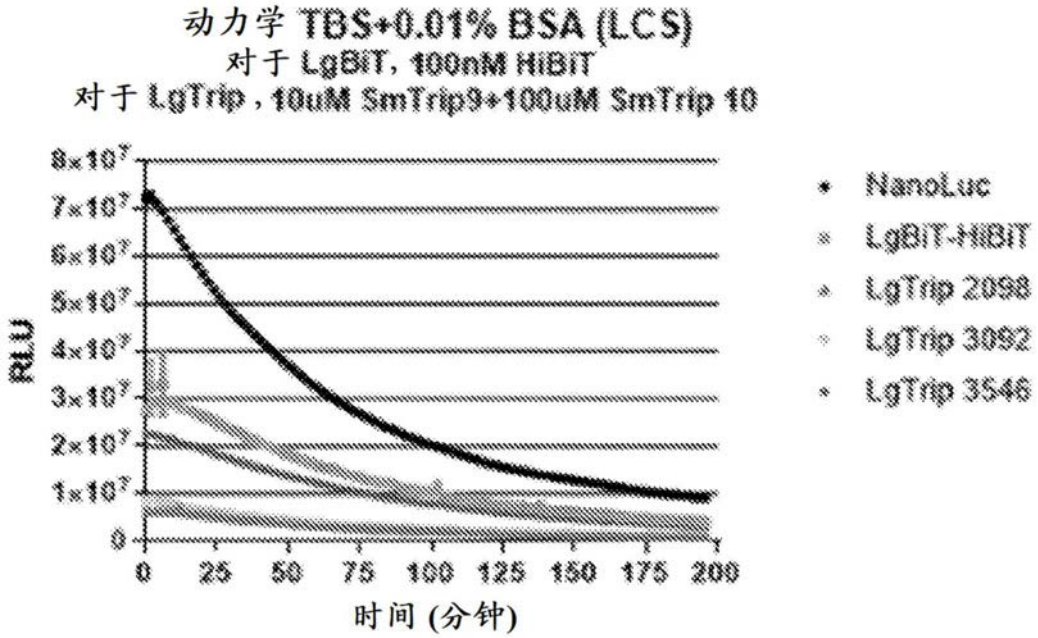

动力学 TBS+0.01% BSA (LCS)
对于 LgBiT, 100nM HiBiT
对于 LgTrip , 10uM SmTrip9+100uM SmTrip 10
RLU
8×10⁷
7×10⁷
6×10⁷
5×10⁷
4×10⁷
3×10⁷
2×10⁷
1×10⁷
0
0
25
50
75
100
125
150
175
200
时间 (分钟)
NanoLuc
LgBiT-HiBiT
LgTrip 2098
LgTrip 3092
LgTrip 3546

图12A

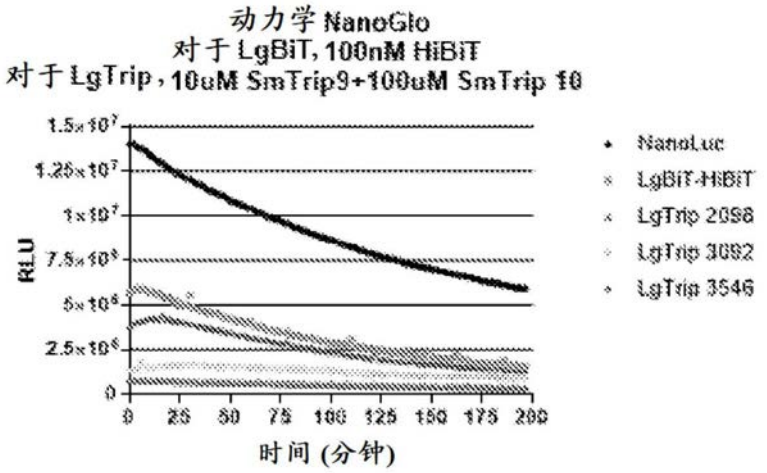

动力学 NanoGlo
对于 LgBiT, 100nM HiBiT
对于 LgTrip，10uM SmTrip9+100uM SmTrip 10
RLU
时间 (分钟)
NanoLuc
LgBiT-HiBiT
LgTrip 2098
LgTrip 3092
LgTrip 3546

图12B

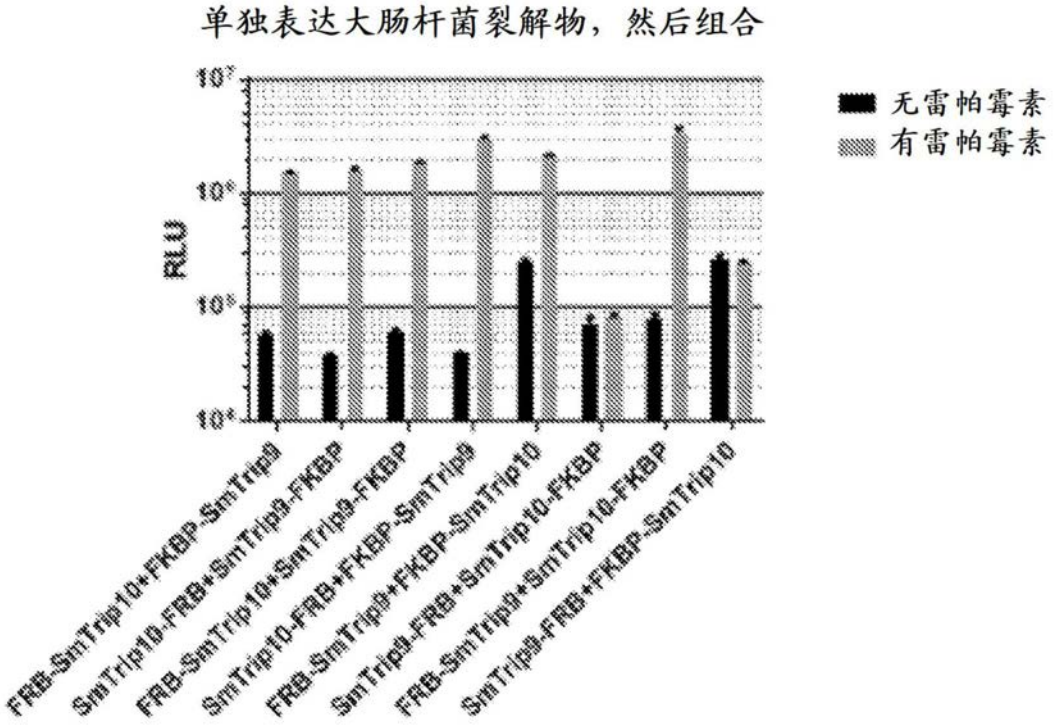

单独表达大肠杆菌裂解物，然后组合
RLU
无雷帕霉素
有雷帕霉素
FRB-SmTrip10+FKBP-SmTrip9
SmTrip10-FRB+SmTrip9-FKBP
FRB-SmTrip10+SmTrip9-FKBP
SmTrip10-FRB+FKBP-SmTrip9
FRB-SmTrip9+FKBP-SmTrip10
SmTrip9-FRB+SmTrip10-FKBP
FRB-SmTrip9+SmTrip10-FKBP
SmTrip9-FRB+FKBP-SmTrip10

图13A

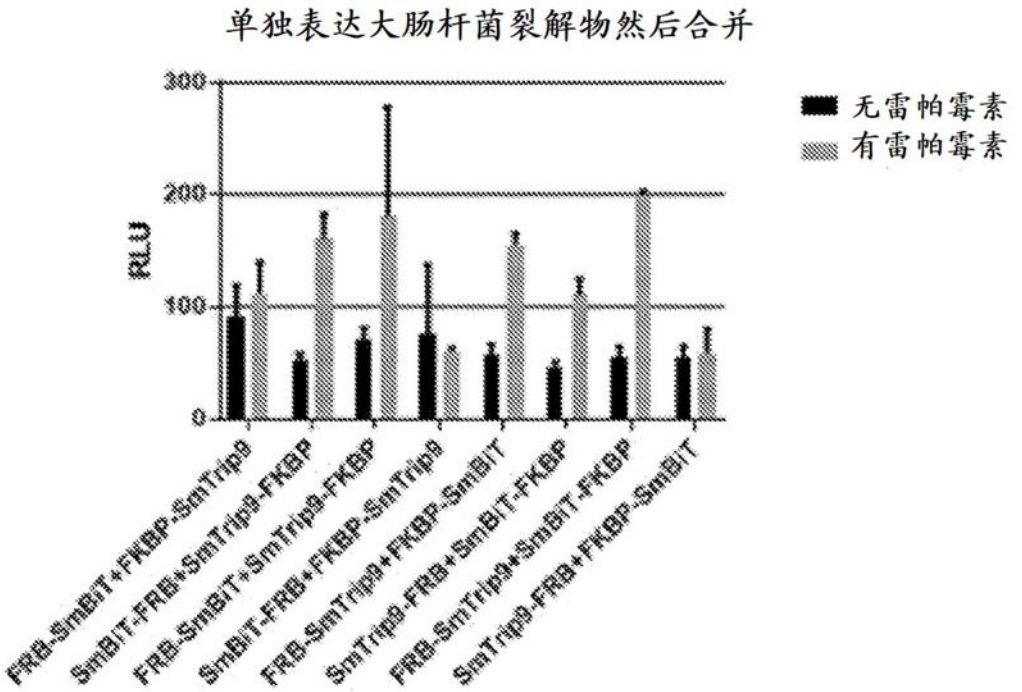

单独表达大肠杆菌裂解物然后合并
RLU
300
200
100
0
无雷帕霉素
有雷帕霉素
FRB-SmBiT+FKBP-SmTrip9
SmBiT-FRB+SmTrip9-FKBP
FRB-SmBiT+SmTrip9-FKBP
SmBiT-FRB+FKBP-SmTrip9
FRB-SmTrip9+FKBP-SmBiT
SmTrip9-FRB+SmBiT-FKBP
FRB-SmTrip9+SmBiT-FKBP
SmTrip9-FRB+FKBP-SmBiT

图13B

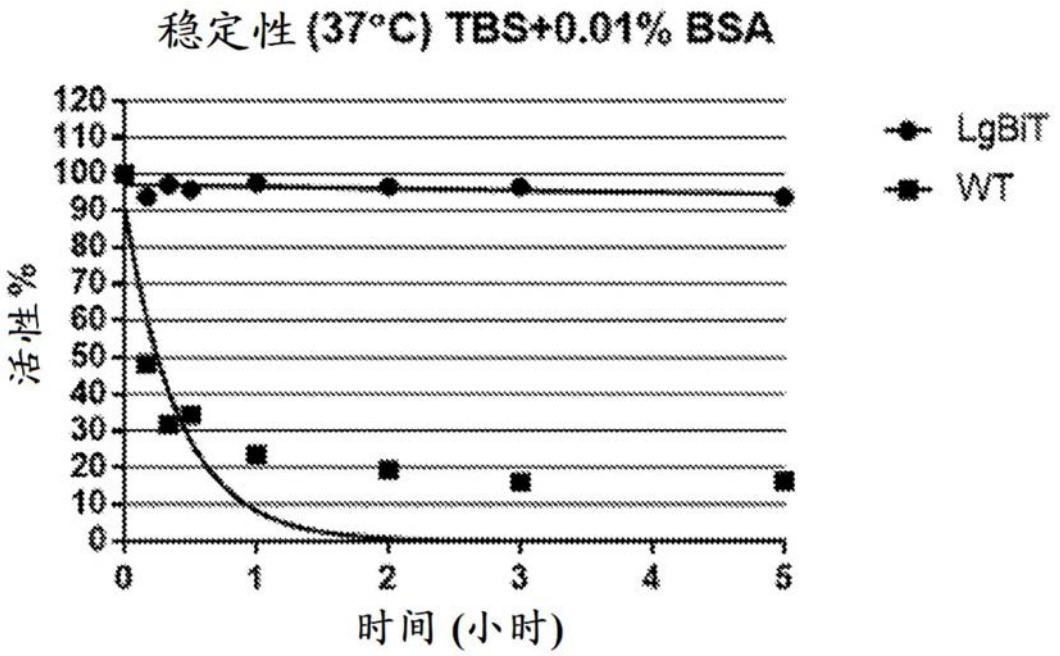

稳定性 (37°C) TBS+0.01% BSA
活性 %
120
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0
1
2
3
4
5
时间 (小时)
LgBiT
WT

图14A

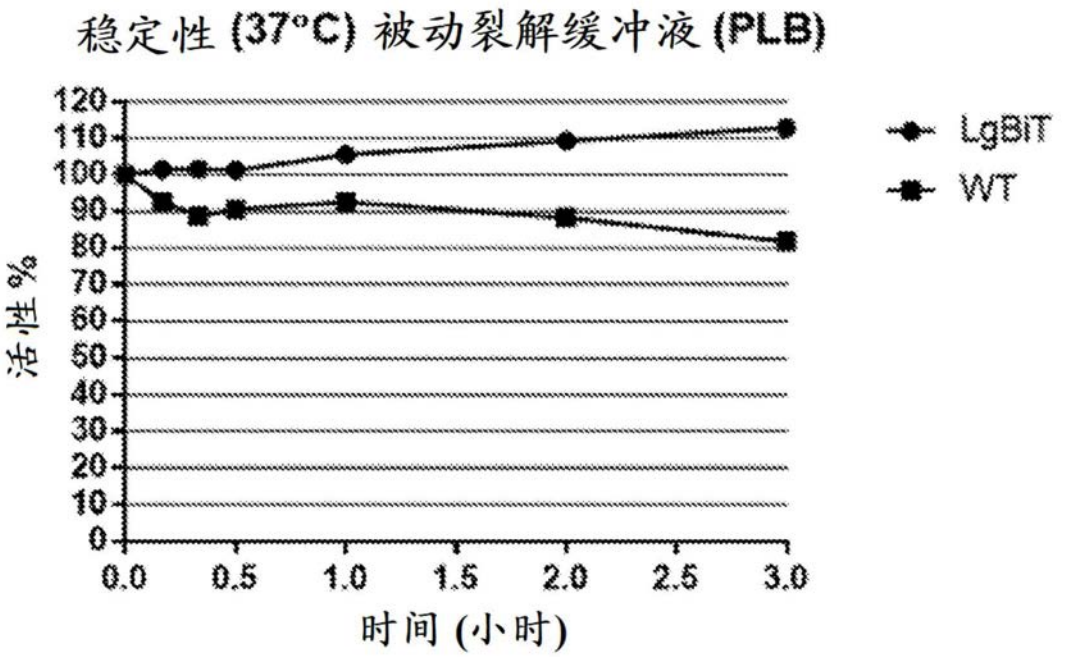

稳定性 (37°C) 被动裂解缓冲液 (PLB)
活性%
时间 (小时)
LgBiT
WT

图14B

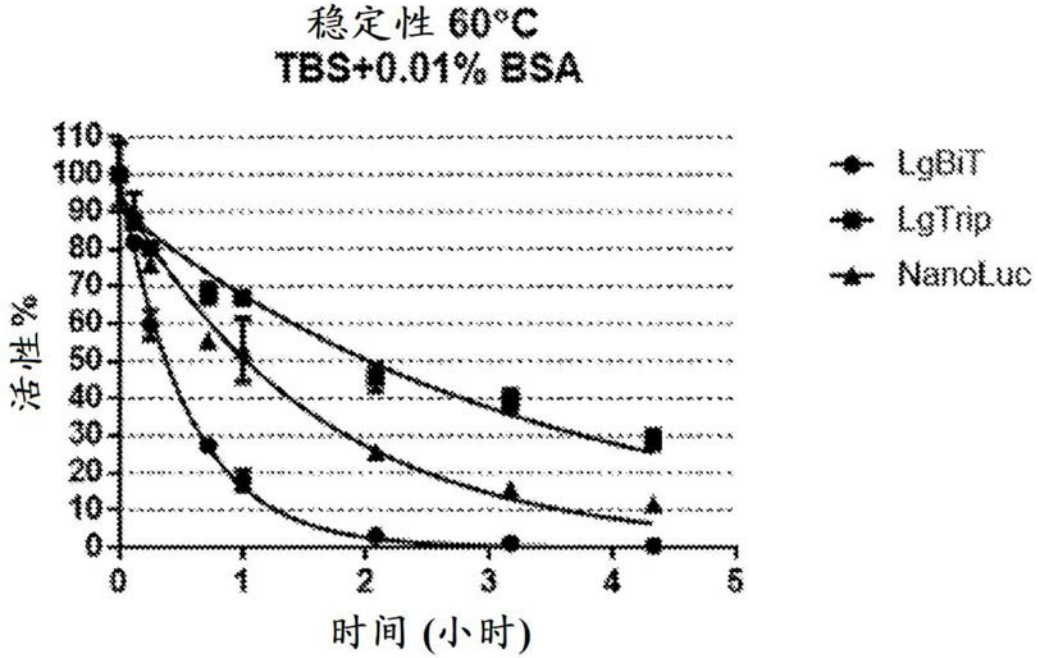

稳定性 60°C
TBS+0.01% BSA
活性%
时间 (小时)
LgBiT
LgTrip
NanoLuc

图15A

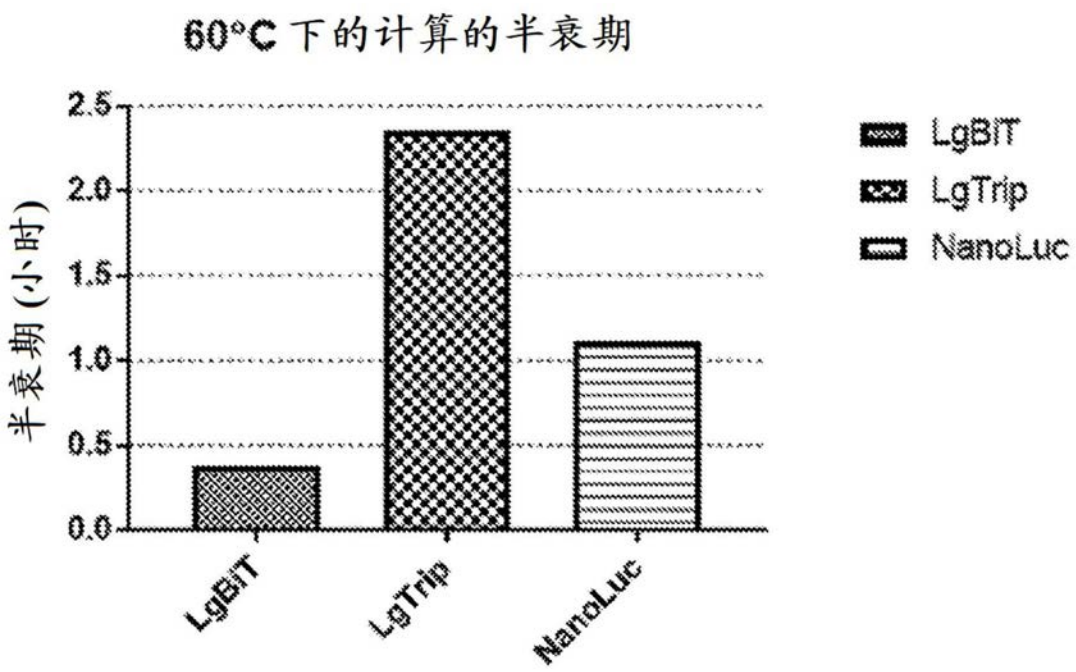
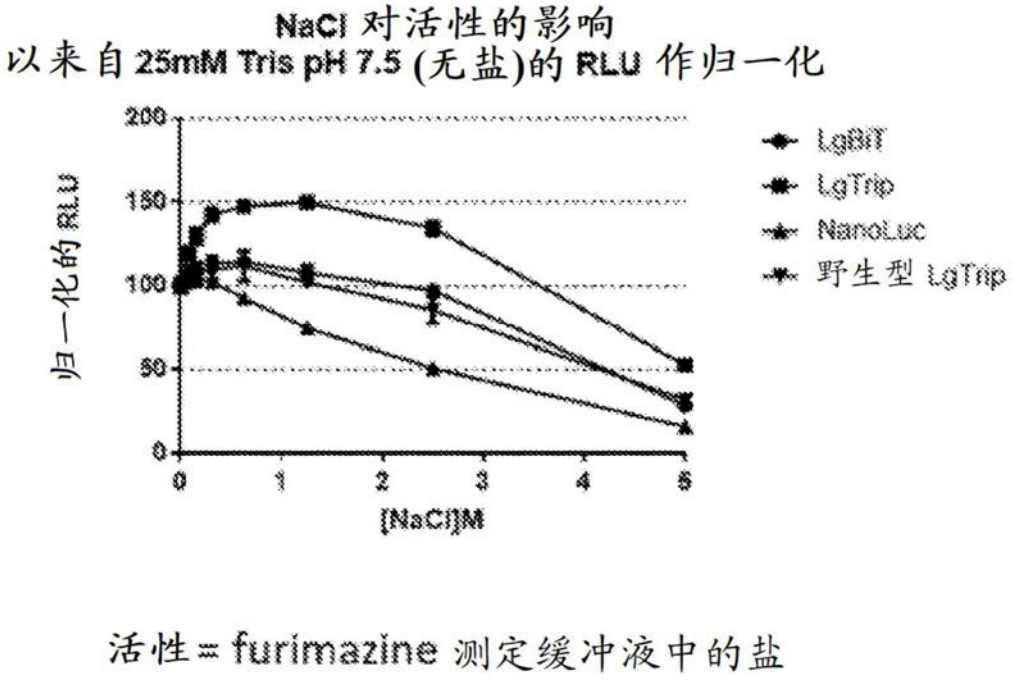


图15B



活性 = furimazine 测定缓冲液中的盐

图16A

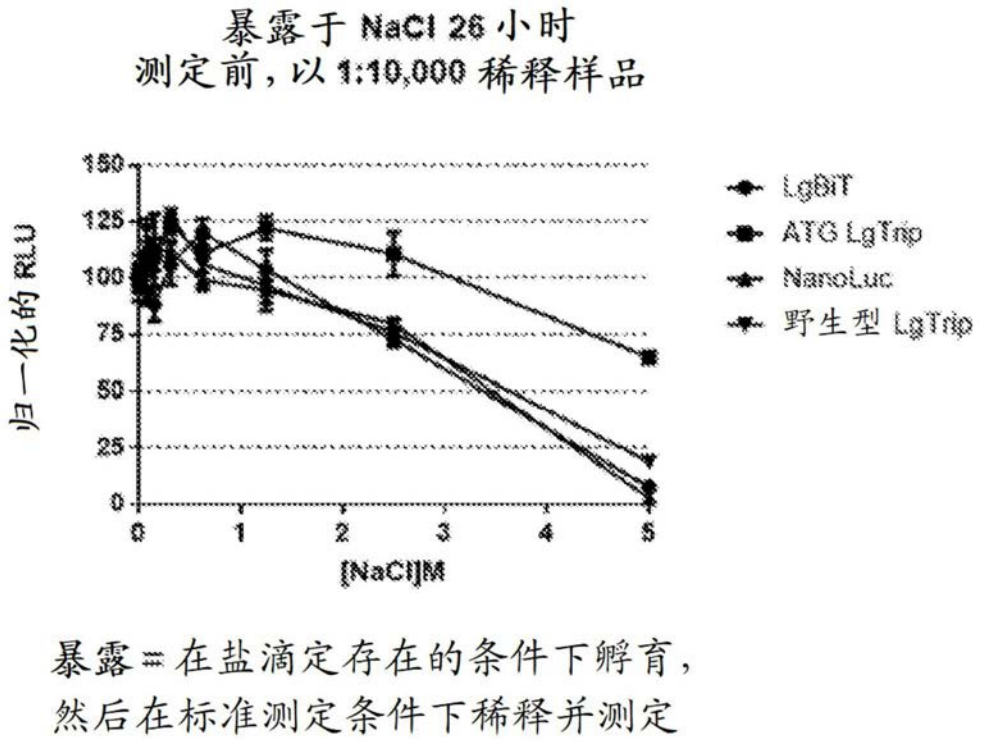

暴露于 NaCl 26 小时
测定前，以 1:10,000 稀释样品
归一化的 RLU
150
125
100
75
50
25
0
0
1
2
3
4
5
[NaCl]M
LgBiT
ATG LgTrip
NanoLuc
野生型 LgTrip
暴露＝在盐滴定存在的条件下孵育，
然后在标准测定条件下稀释并测定

图16B

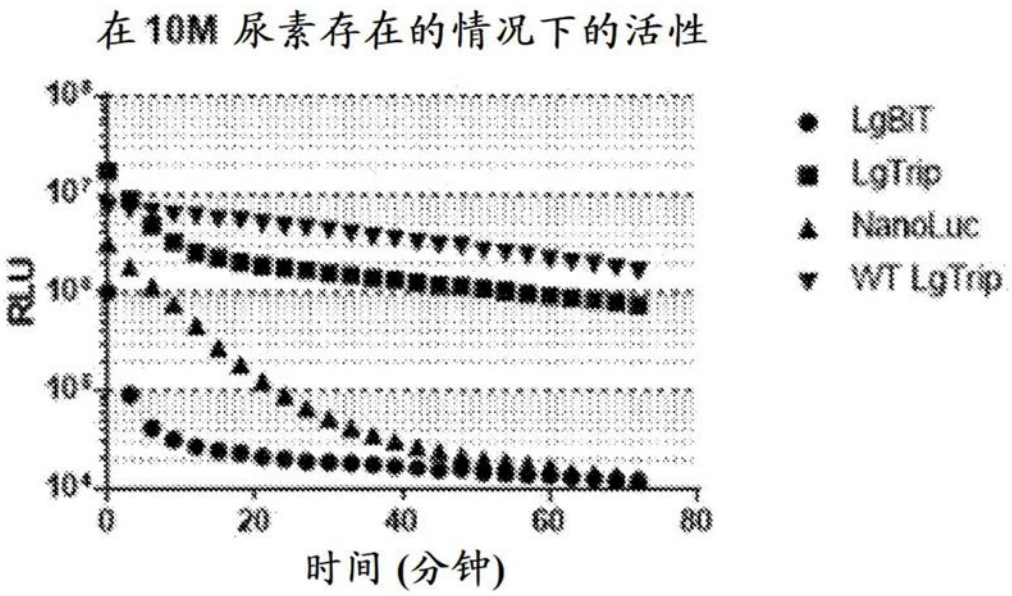

在 10M 尿素存在的情况下的活性
RLU
10^8
10^7
10^6
10^5
10^4
0
20
40
60
80
时间 (分钟)
LgBiT
LgTrip
NanoLuc
WT LgTrip

图17A

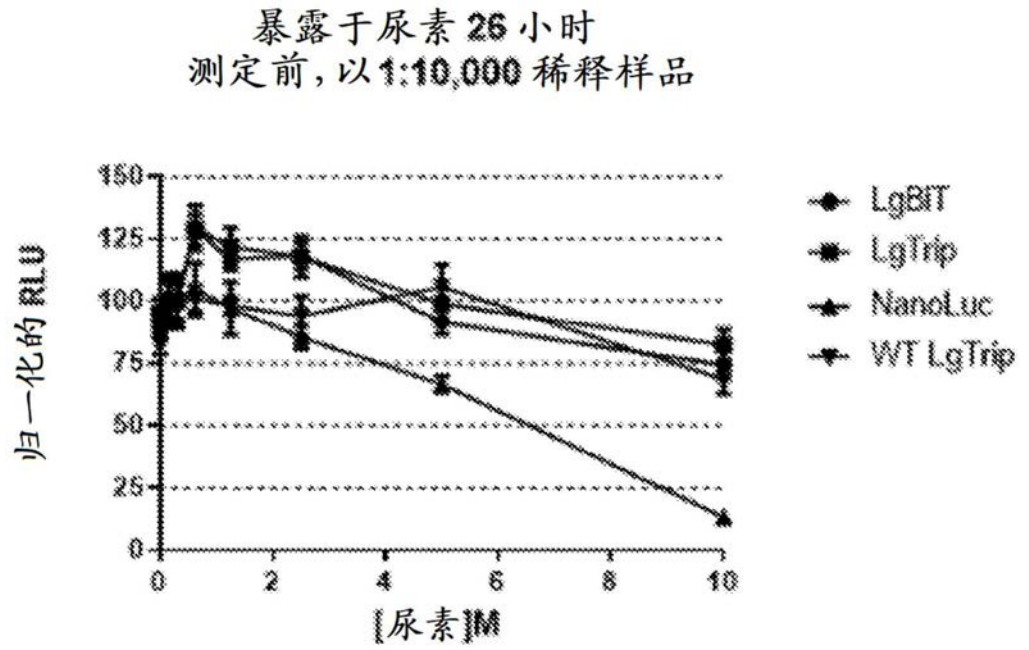

暴露于尿素26小时
测定前，以1:10,000稀释样品
归一化的RLU
150
125
100
75
50
25
0
0
2
4
6
8
10
[尿素]M
LgBiT
LgTrip
NanoLuc
WT LgTrip

图17B

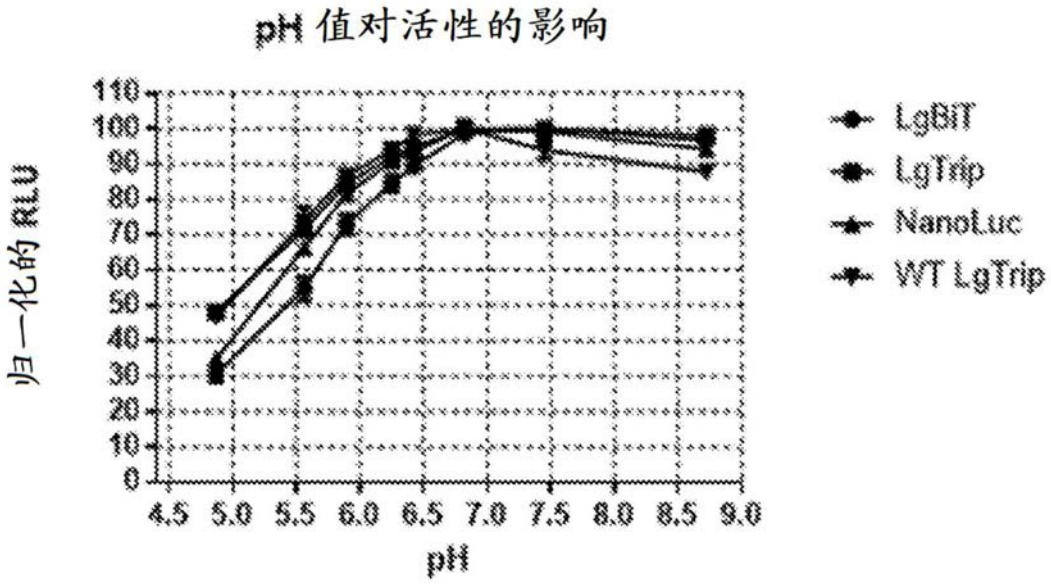

pH值对活性的影响
归一化的RLU
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
4.5
5.0
5.5
6.0
6.5
7.0
7.5
8.0
8.5
9.0
pH
LgBiT
LgTrip
NanoLuc
WT LgTrip

图18A

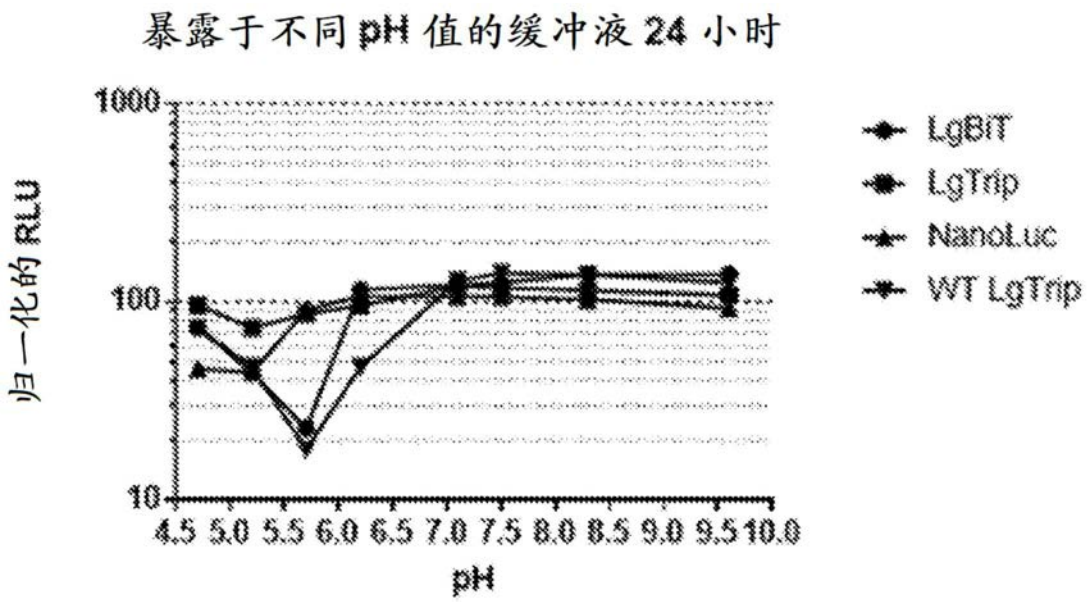
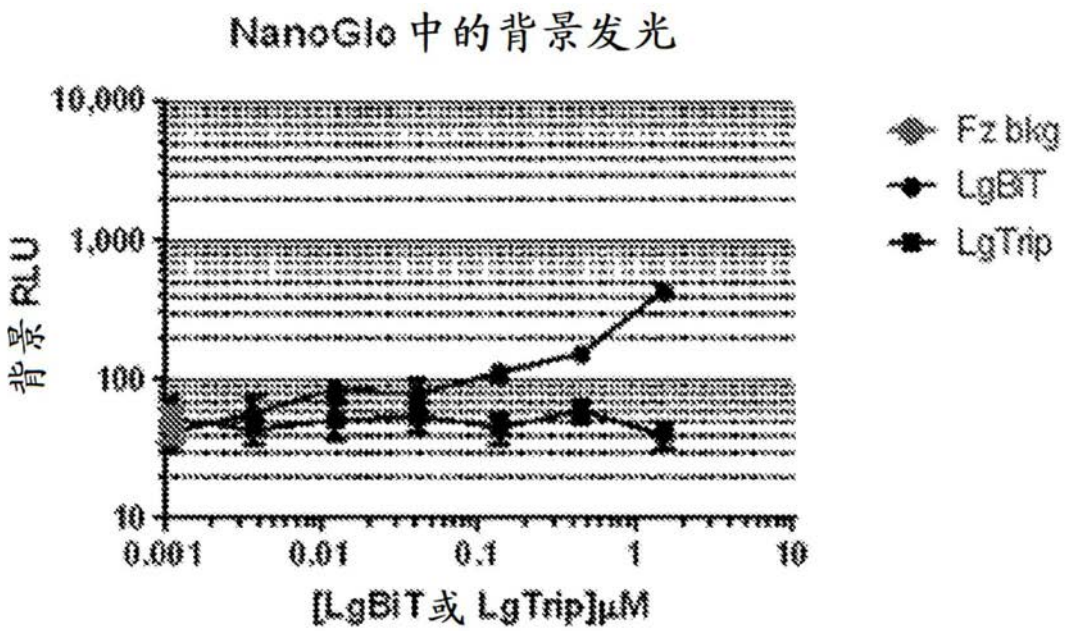

暴露于不同pH值的缓冲液24小时
1000
100
10
归一化的RLU
4.5 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 7.5 8.0 8.5 9.0 9.5 10.0
pH
LgBiT
LgTrip
NanoLuc
WT LgTrip

图18B


NanoGlo中的背景发光
10,000
1,000
100
10
背景RLU
0.001
0.01
0.1
1
10
[LgBiT或 LgTrip]μM
Fz bkg
LgBiT
LgTrip

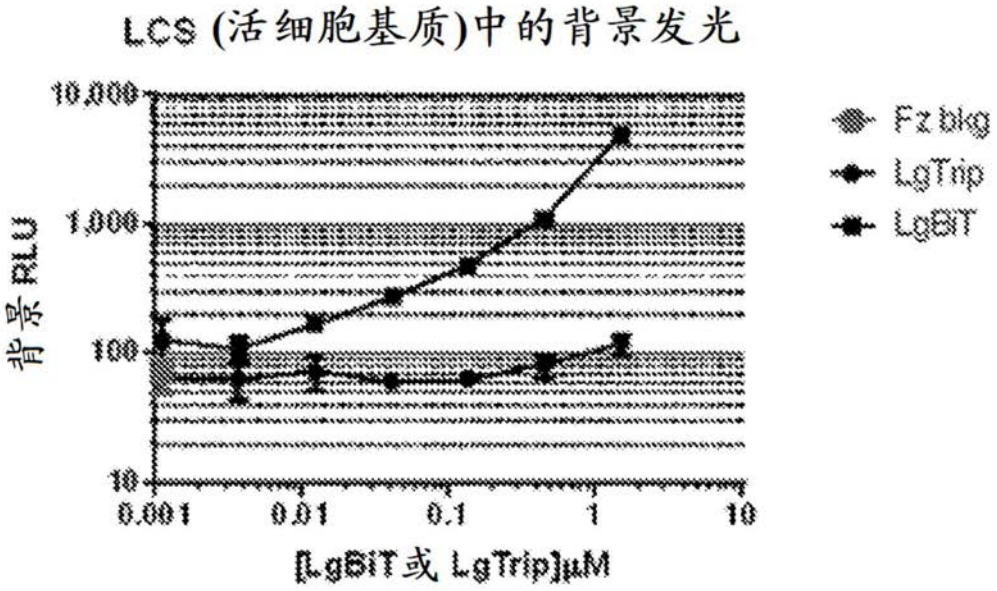

LCS (活细胞基质)中的背景发光
10,000
1,000
100
10
背景RLU
0.001
0.01
0.1
1
10
[LgBiT或 LgTrip]μM
Fz bkg
LgTrip
LgBiT

图19

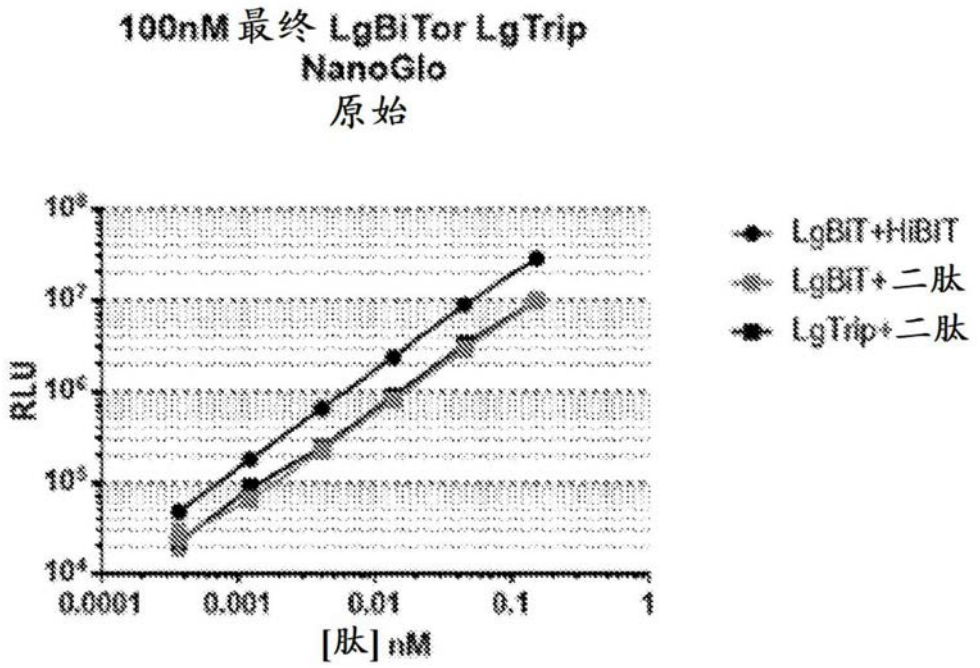

100nM 最终 LgBiTor LgTrip
NanoGlo
原始
RLU
[肽] nM
LgBiT+HiBiT
LgBiT+二肽
LgTrip+二肽

图20A

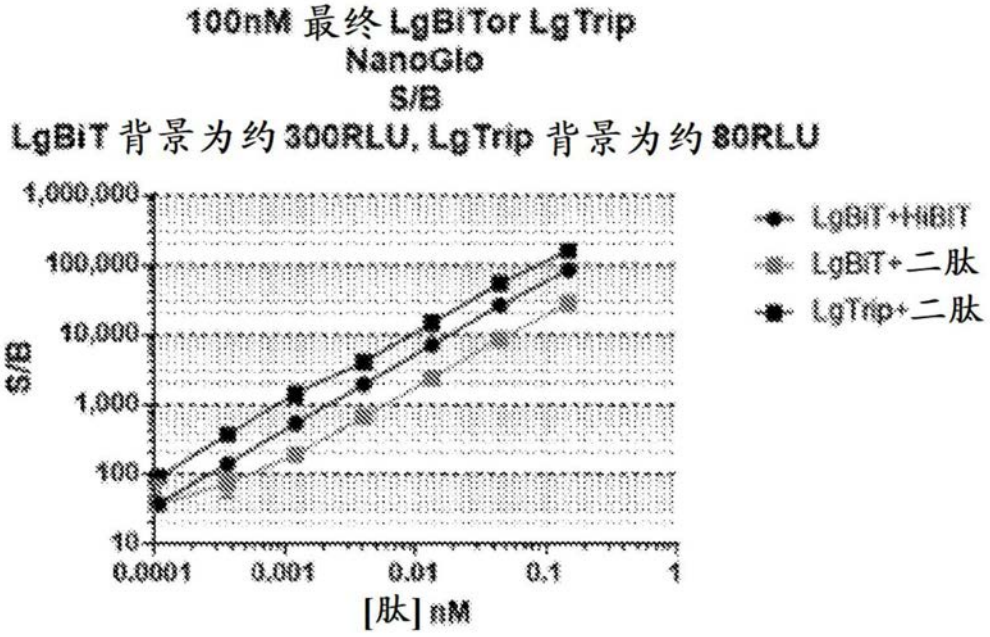

100nM 最终 LgBiTor LgTrip
NanoGlo
S/B
LgBiT 背景为约 300RLU, LgTrip 背景为约 80RLU
S/B
[肽] nM
LgBiT+HiBiT
LgBiT+二肽
LgTrip+二肽

图20B

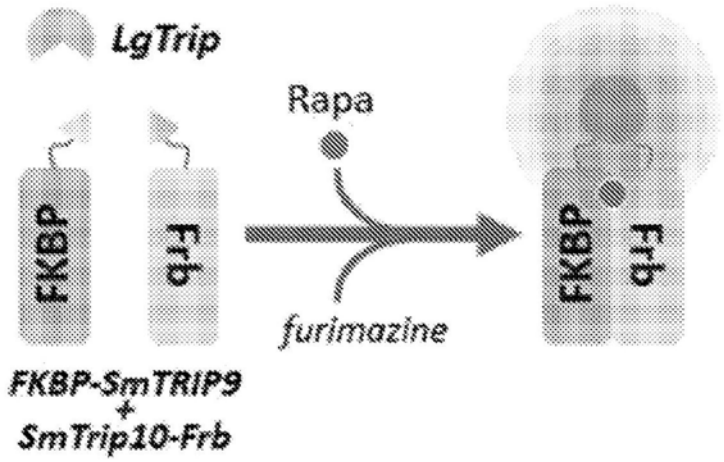
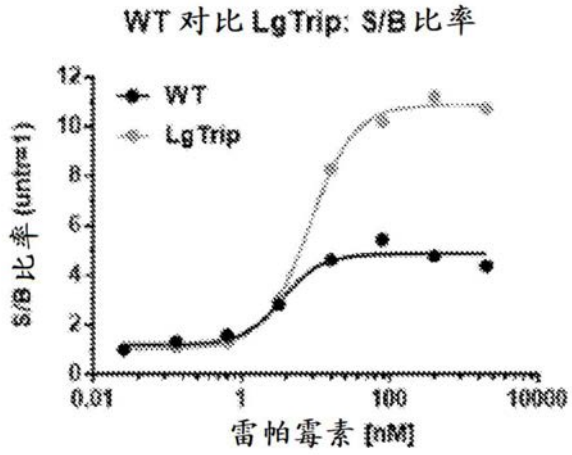
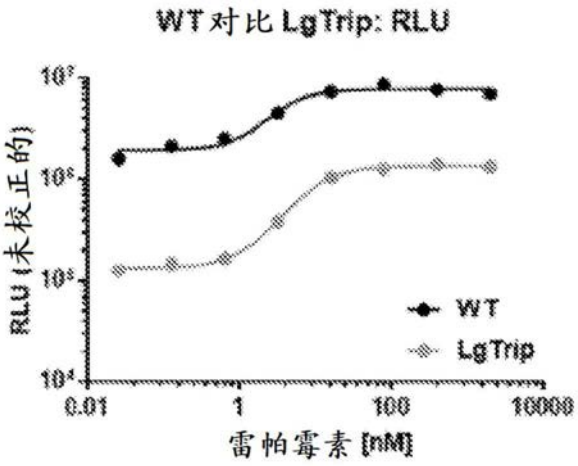


图21A



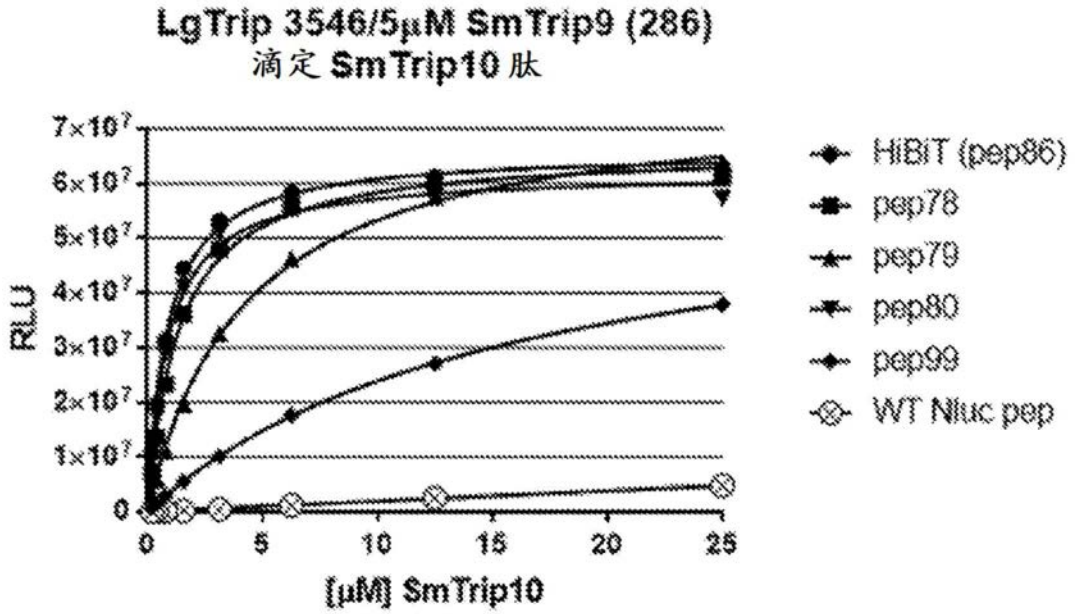
	WT	LgTrip
EC50	3.552	8.131

图21B



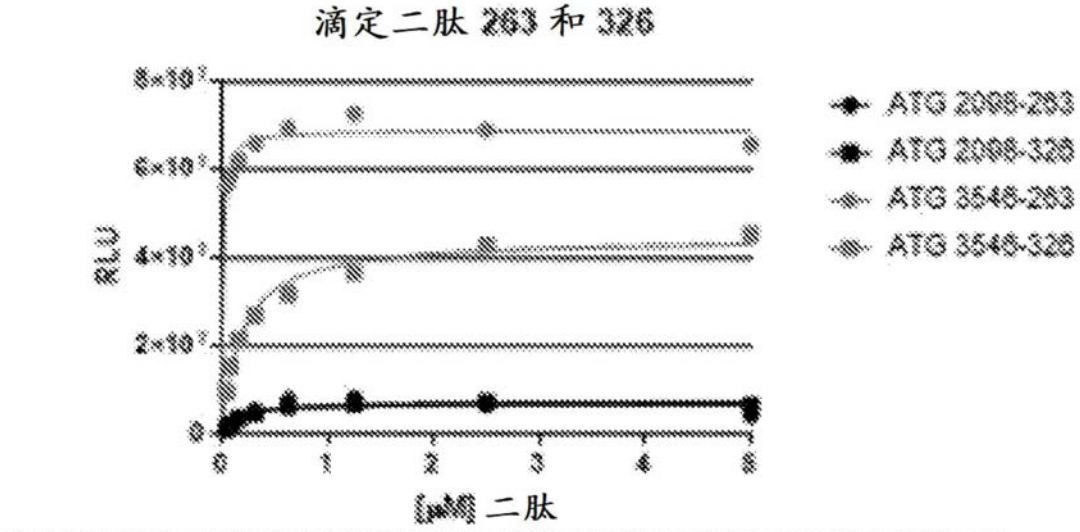
	WT	LgTrip
EC50	3.551	8.13

图21C



	HiBiT (pep86)	pep78	pep79	pep80	pep99
Kd	0.8432	1.354	4.226	0.8704	15.94

图22



	ATG 2098-263	ATG 2098-326	ATG 3546-263	ATG 3546-326
Kd	0.1042	0.158	0.01081	0.1782

图23

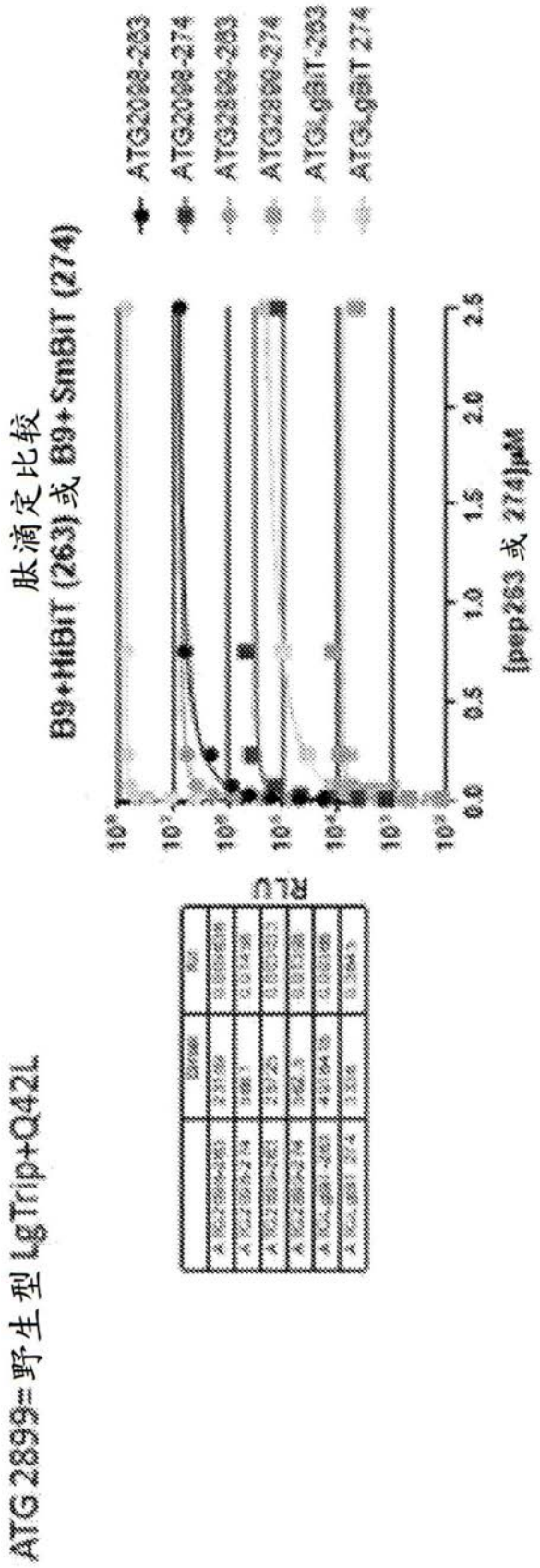

ATG2899=野生型 LgTrip+Q42L
肽滴定比较
B9+HiBiT (263)或 B9+SmBiT (274)
ATG2088-263
ATG2088-274
ATG2899-263
ATG2899-274
ATGLgBiT-263
ATGLgBiT 274
[pep263 或 274]μM
0.0
0.5
1.0
1.5
2.0
2.5

图24

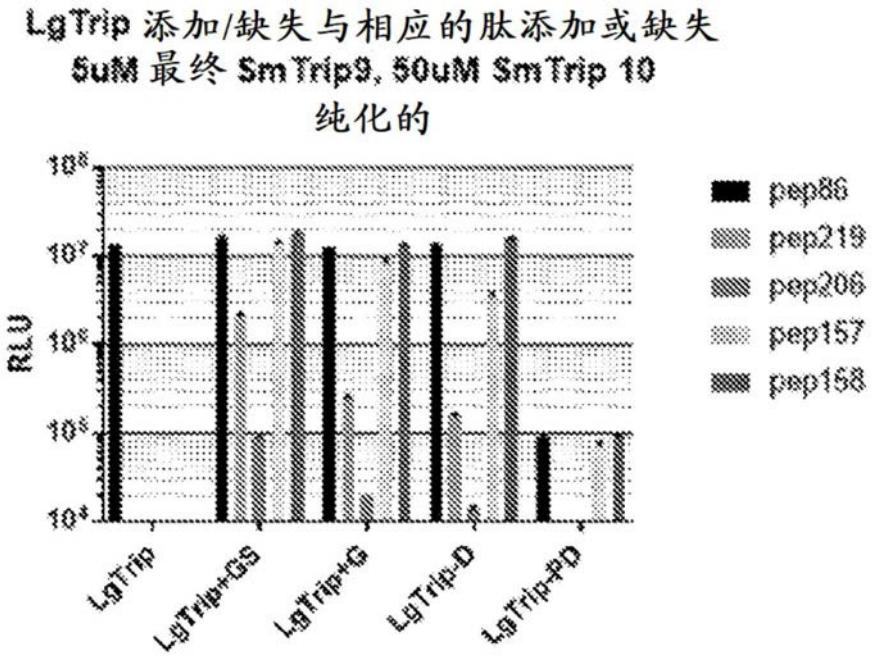

LgTrip 添加/缺失与相应的肽添加或缺失
5uM 最终 SmTrip9, 50uM SmTrip 10
纯化的
RLU
pep86
pep219
pep206
pep157
pep158
LgTrip
LgTrip+GS
LgTrip+G
LgTrip-D
LgTrip-PD

图25A

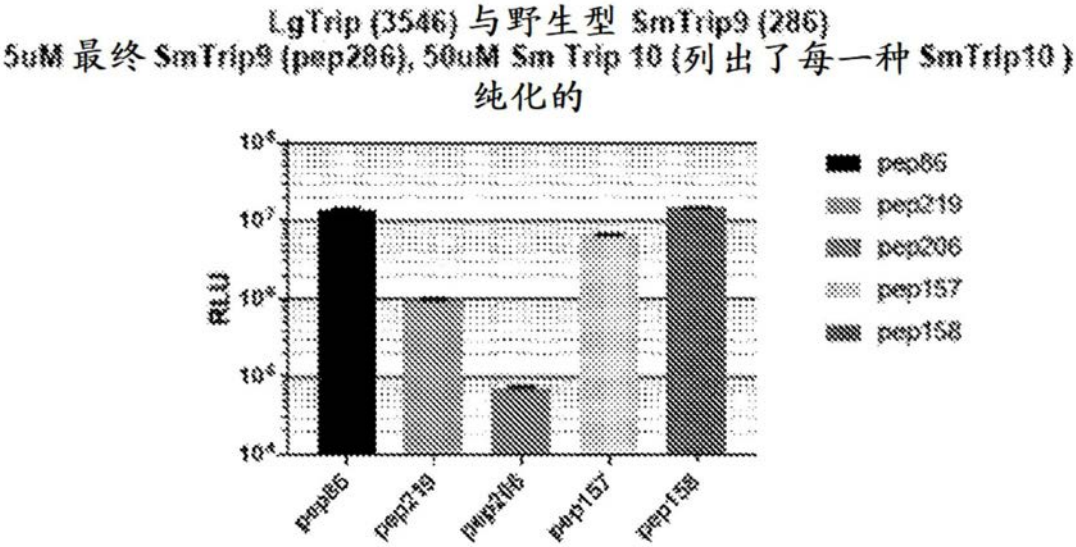

LgTrip (3546) 与野生型 SmTrip9 (286)
5uM 最终 SmTrip9 (pep286), 50uM Sm Trip 10 (列出了每一种 SmTrip10)
纯化的
RLU
pep86
pep219
pep206
pep157
pep158

图25B

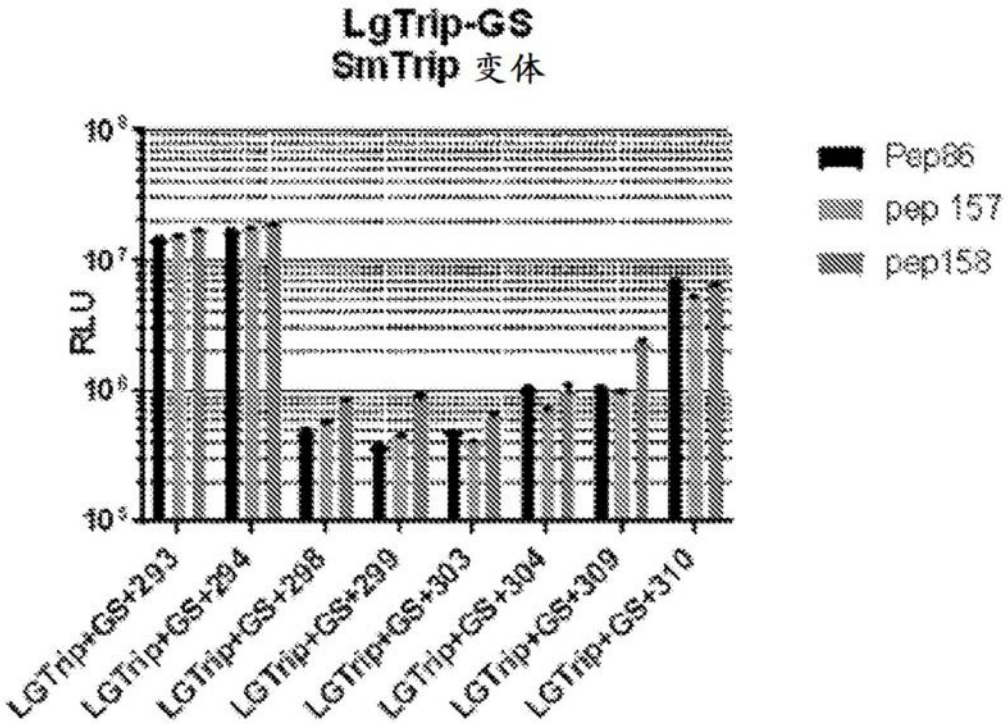

LgTrip-GS
SmTrip 变体
RLU
Pep86
pep 157
pep158
LGTrip+GS+293
LGTrip+GS+294
LGTrip+GS+298
LGTrip+GS+299
LGTrip+GS+303
LGTrip+GS+304
LGTrip+GS+309
LGTrip+GS+310

图26A

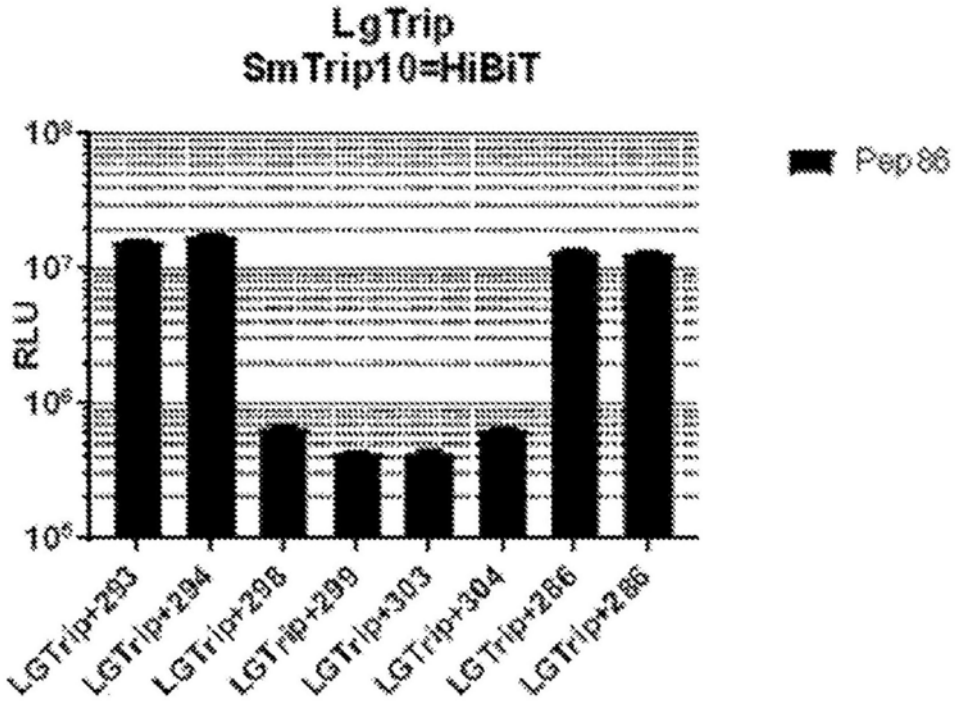

LgTrip
SmTrip10=HiBiT
RLU
Pep86
LGTrip+293
LGTrip+294
LGTrip+298
LGTrip+299
LGTrip+303
LGTrip+304
LGTrip+286
LGTrip+286

图26B

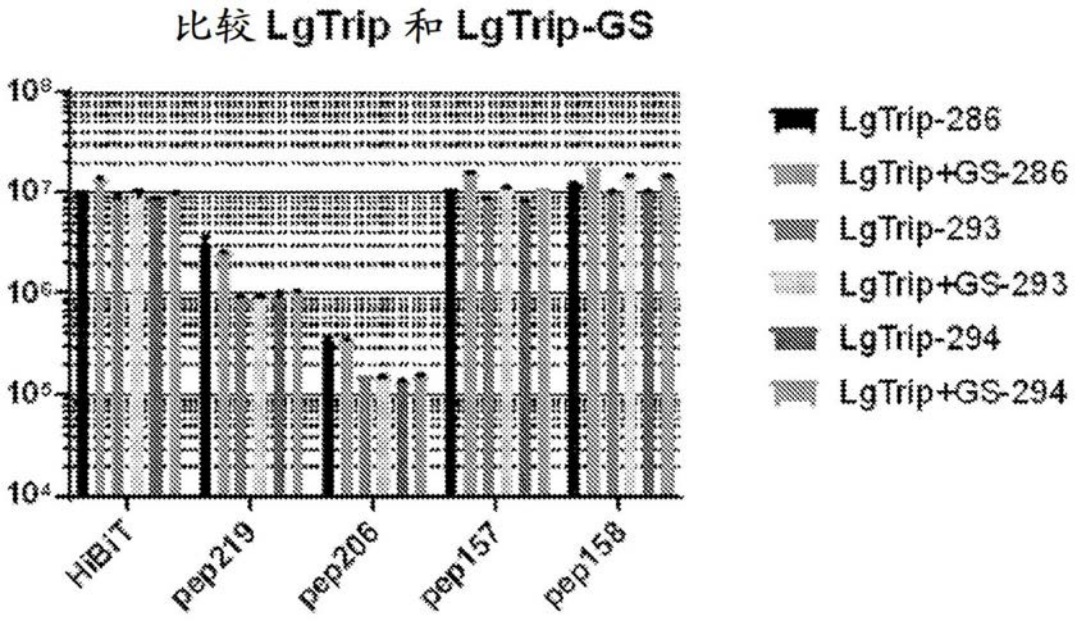
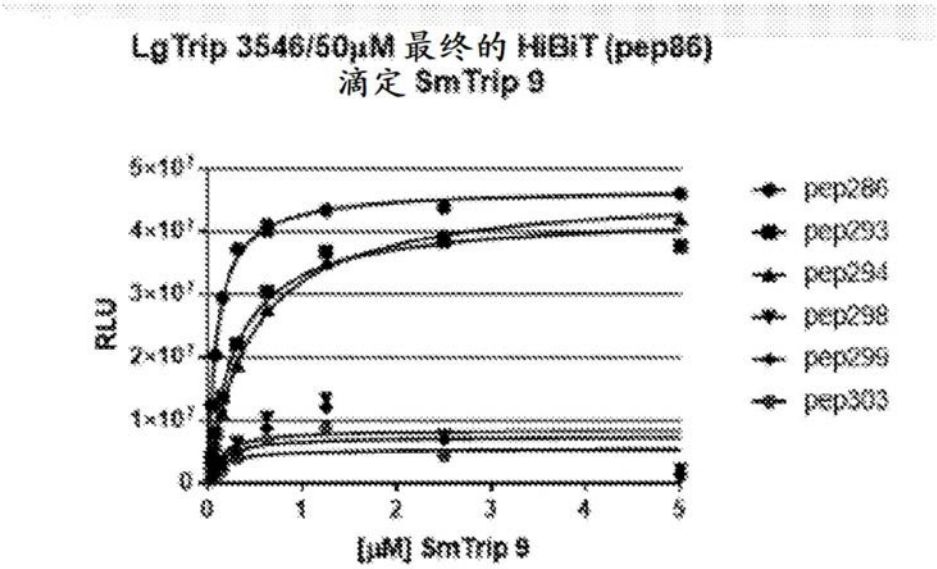


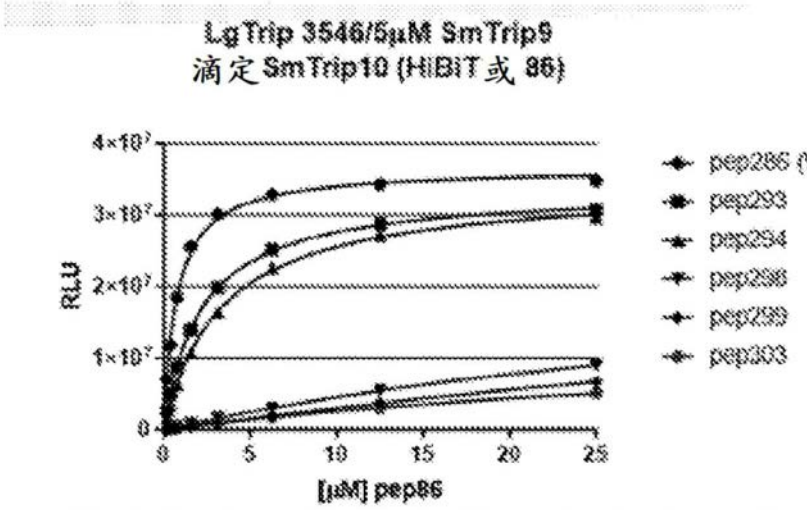
图26C



	pep286	pep293	pep294	pep298	pep299	pep303
Kd	0.00691	0.2926	0.4541	0.1292	0.1362	0.1321

在恒定的β10和多肽存在的
情况下β9肽的滴定

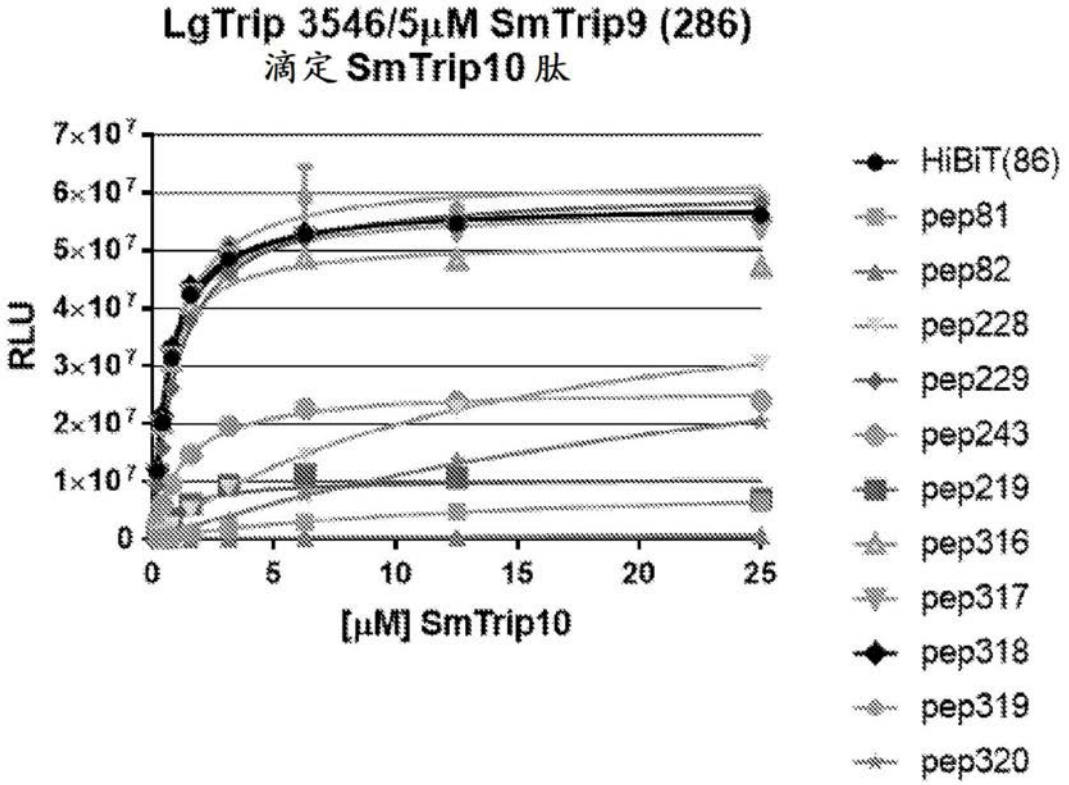
图27A



	pep286 (WT)	pep293	pep294	pep296	pep299	pep303
Kd	0.7467	2.174	3.311	45.2	97.08	42.36

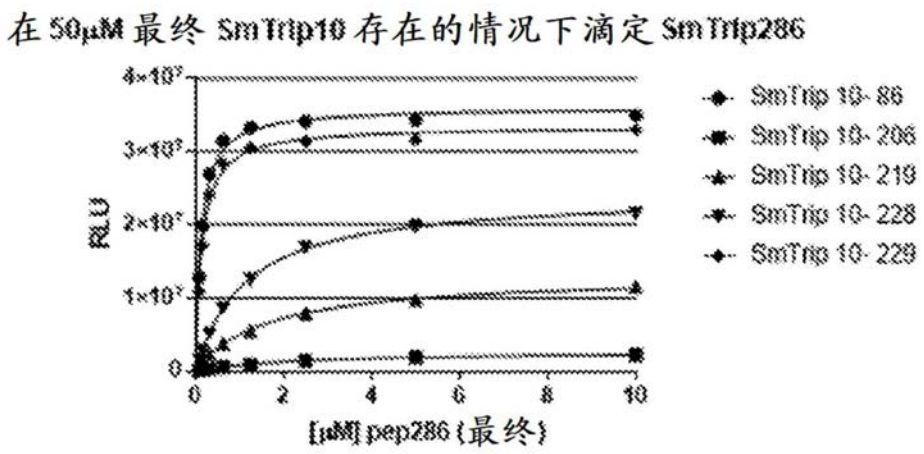
在恒定的β9和多肽存在的
情况下β10肽的滴定

图27B



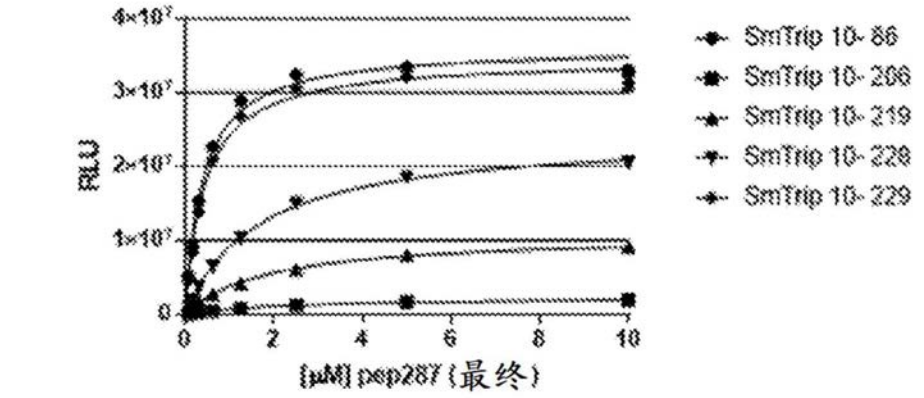
	Bmax	Kd
HiBiT(86)	58330355	0.6791
pep81	10033932	14.28
pep82	1083350	21.84
pep228	47058110	13.7
pep229	60603642	1.012
pep243	26193641	1.236
pep219	10613865	1.105
pep316	51521729	0.5413
pep317	57096748	0.654
pep318	57910752	0.6036
pep319	62774228	0.766
pep320	48479473	33.87

图28



	SmTrip 10-86	SmTrip 10-206	SmTrip 10-219	SmTrip 10-228	SmTrip 10-229
Kd	0.1225	2.183	1.614	1.13	0.1409

图29A



	SmTrip 10-86	SmTrip 10-206	SmTrip 10-219	SmTrip 10-228	SmTrip 10-229
Kd	0.3971	2.54	1.833	1.656	0.4337

图29B

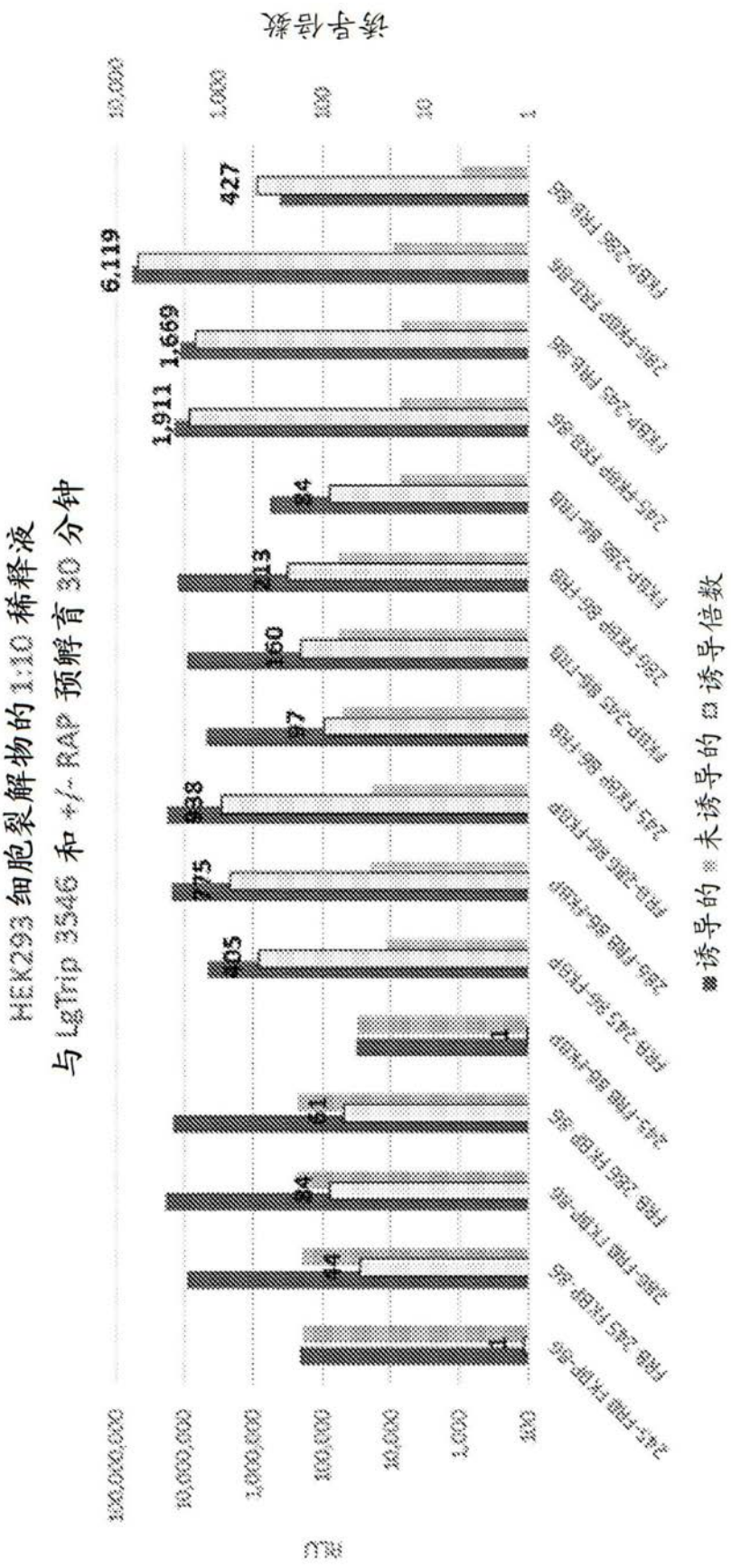

HEK293 细胞裂解物的 1:10 稀释液
与 LgTrip 3546 和 +/- RAP 预孵育 30 分钟
诱导倍数
6,119
1,911
1,669
427
84
213
160
97
838
775
605
84
61
44
1
1
1
100,000,000
10,000,000
1,000,000
100,000
10,000
1,000
100
10,000
1,000
100
10
1
■诱导的 ■未诱导的 诱导倍数

图30

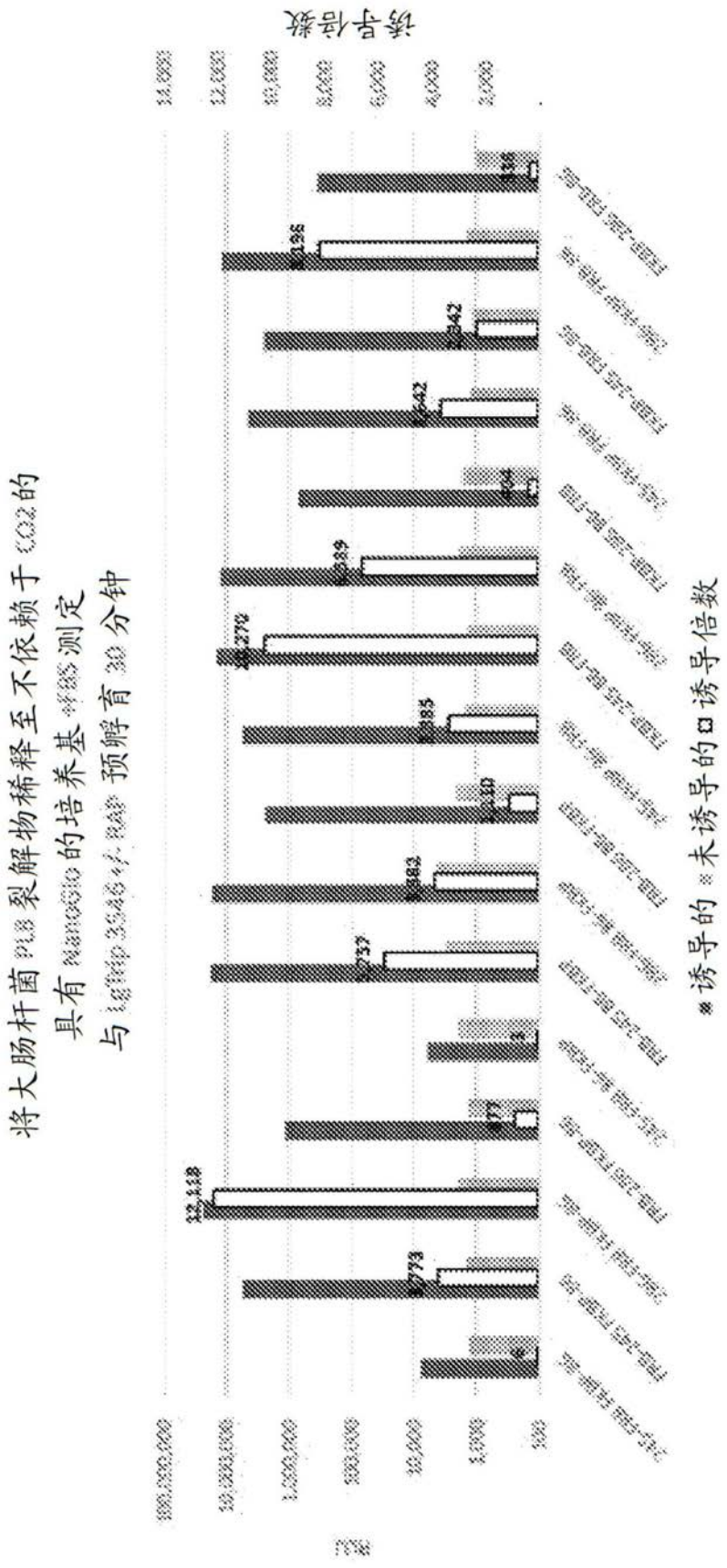

将大肠杆菌 PLB 裂解物稀释至不依赖于 CO2 的
具有 NanoSEQ 的培养基 *RSS 测定
与 EdgeSeq PLB 预孵育 30 分钟
诱导倍数
*诱导的 ¤未诱导的 □诱导倍数
12,118
5,773
5,737
5,383
5,385
5,272
5,342
5,135
5,042
4,939
4,844
4,736
4,477
4,310
4,183
4,003
3,842
3,736
3,642
3,542
3,436
3,338
3,242
3,136
3,042
2,942
2,836
2,742
2,642
2,536
2,442
2,342
2,236
2,142
2,042
1,936
1,842
1,742
1,642
1,536
1,442
1,342
1,236
1,142
1,042
936
842
742
642
536
442
342
236
142
42

图31

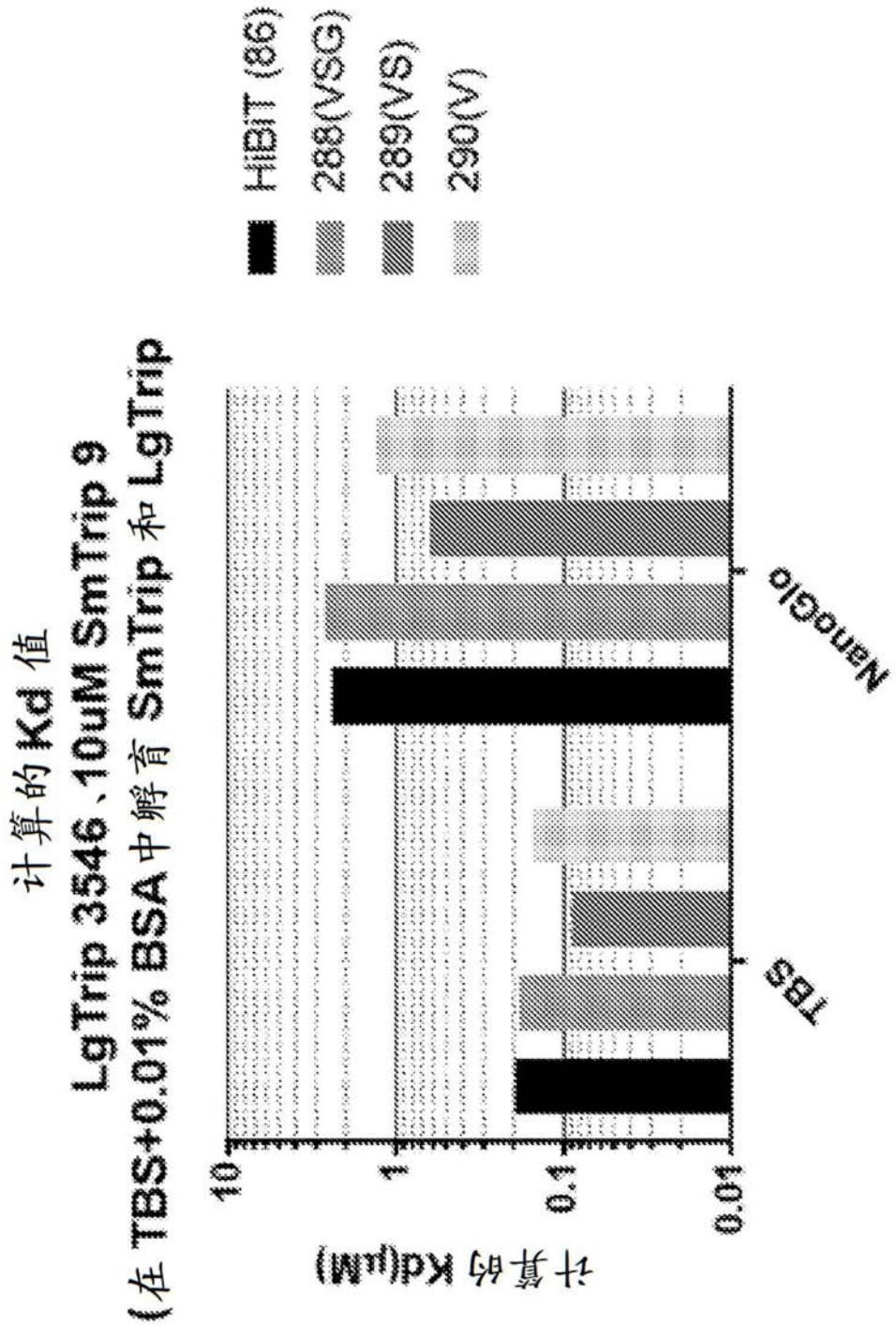
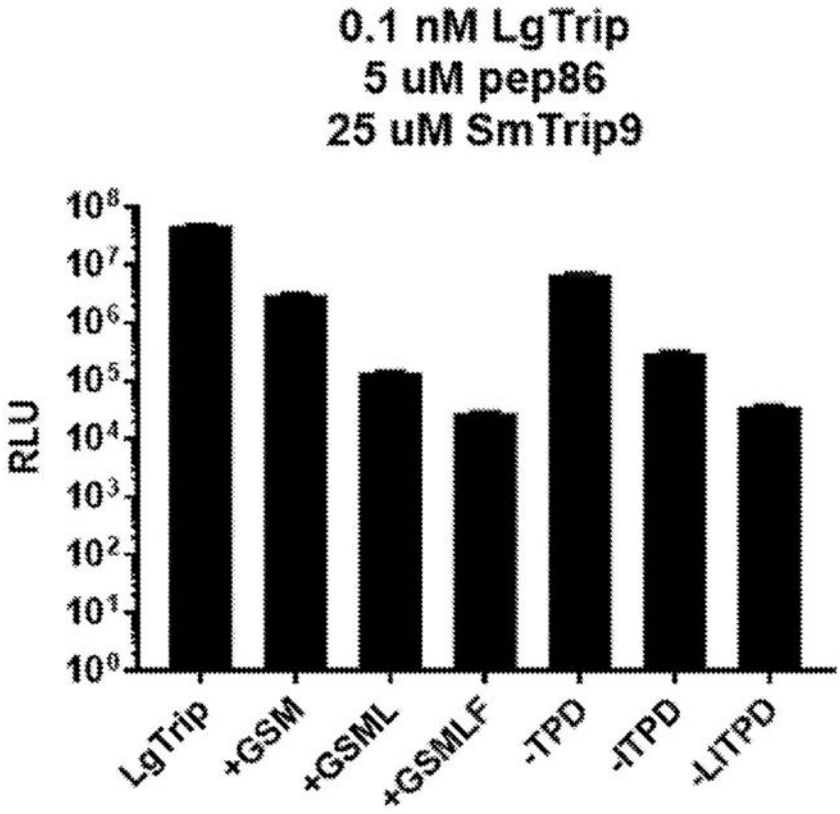
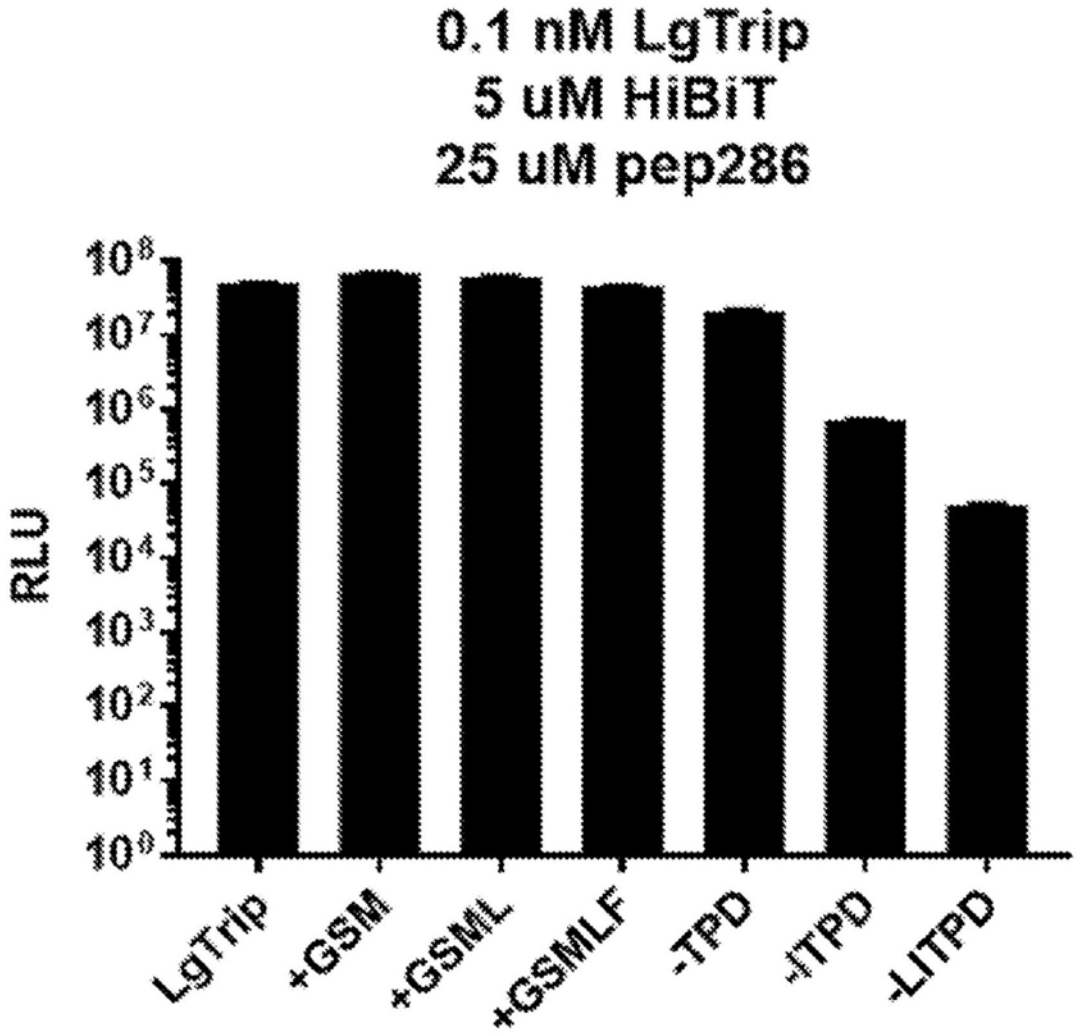

HiBiT (86)
288(VSG)
289(VS)
290(V)
计算的 Kd 值
LgTrip 3546、10uM SmTrip 9
(在 TBS+0.01% BSA中孵育 SmTrip 和 LgTrip
计算的 Kd(μM)
10
1
0.1
0.01
NanoGlo
TBS

图32



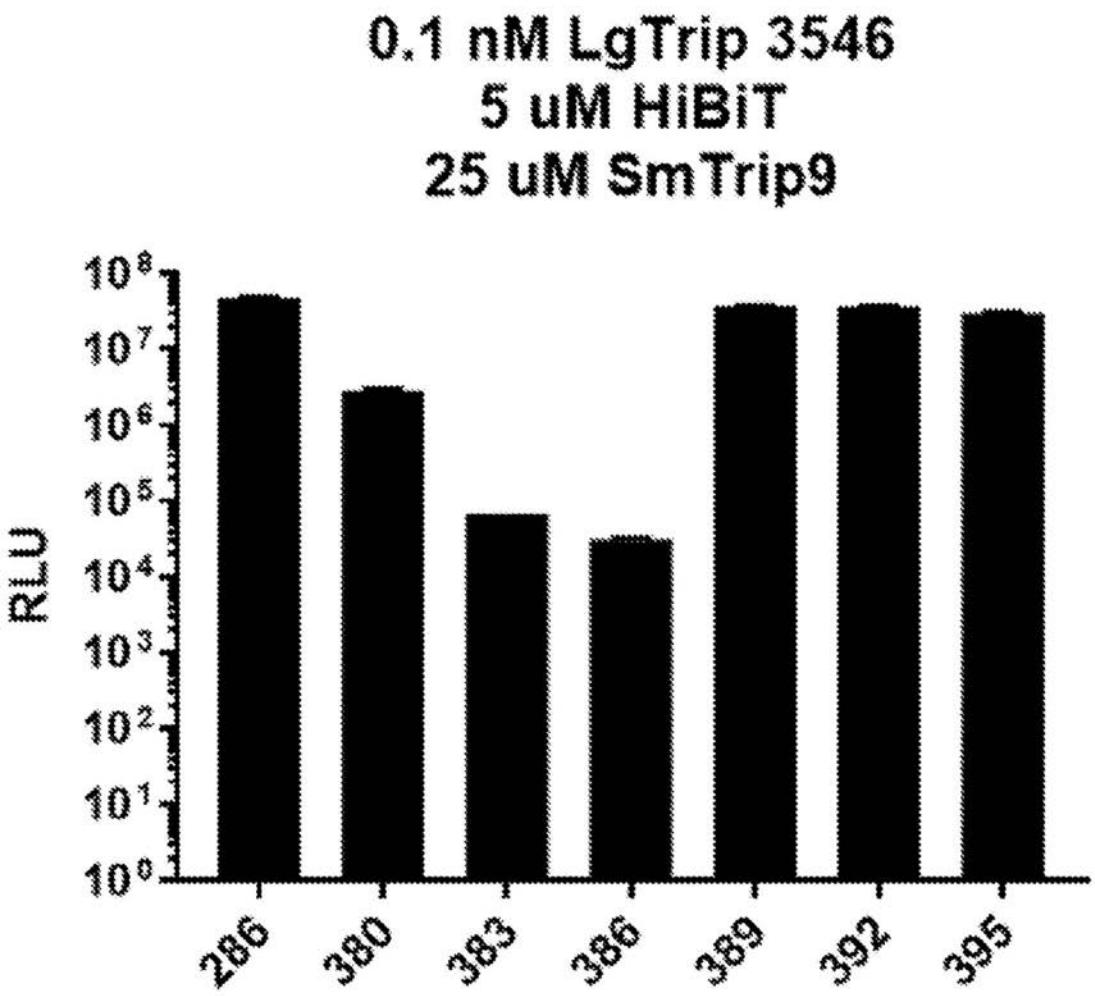
ATG#	LgTrip	SmTrip 9	Pep 序列	SEQ ID NO.
3546	LgTrip	286	SSWKRGSMLFRVTINS	37
3722	LgTrip + GSM	380	SSWKRLFRVTINS	180
3723	LgTrip + GSML	383	SSWKRFRVTINS	181
3724	LgTrip + GSMLF	386	SSWKRRVTINS	182
3725	LgTrip – TPD	389	SSWKRTPDGSMLFRVTINS	183
3726	LgTrip – ITPD	392	SSWKRITPDGSMLFRVTINS	184
3727	LgTrip - LITPD	395	SSWKRLITPDGSMLFRVTINS	185

图33



ATG#	LgTrip
3546	LgTrip
3722	LgTrip + GSM
3723	LgTrip + GSML
3724	LgTrip + GSMLF
3725	LgTrip – TPD
3726	LgTrip – ITPD
3727	LgTrip - LITPD

图34



SmTrip 9	Pep 序列	SEQ ID NO.
286	SSWKRGSMLFRVTINS	37
380	SSWKRLFRVTINS	180
383	SSWKRFRVTINS	181
386	SSWKRRVTINS	182
389	SSWKRTPDGSMLFRVTINS	183
392	SSWKRITPDGSMLFRVTINS	184
395	SSWKRLITPDGSMLFRVTINS	185

图35

利用 0.05 nM LgTrip 和 25 uM HiBiT 的 SmTrip9 滴定				
Pep ID	**Pep 序列**	**SEQ ID NO.**	**SmTrip9 Kd (uM)**	**Bmax (RLU)**
286	SSWKRGSMLFRVTINS	37	0.09	1.65E7
292	SSWKRMLFRVTINS	153	0.10	1.65E7
305	SSWKRGSMLFRVTIN	164	0.60	1.16E7
306	SSWKRGSMLFRVTI	165	0.17	1.77E7
307	SSWKRSMLFRVTIN	166	0.10	1.47E7
308	SSWKRMLFRVTIN	167	0.11	1.55E7
312	SSWKRMLFRVTI	171	0.05	1.77E7

图36

利用 0.05 nM LgTrip 和 5 uM SmTrip9 pep286 的 HiBiT 滴定				
Pep ID	**Pep 序列**	**SEQ ID NO.**	**SmTrip9 Kd (uM)**	**Bmax (RLU)**
286	SSWKRGSMLFRVTINS	37	0.47	1.75E7
292	SSWKRMLFRVTINS	153	0.47	1.69E7
305	SSWKRGSMLFRVTIN	164	3.81	1.55E7
306	SSWKRGSMLFRVTI	165	0.66	1.86E7
307	SSWKRSMLFRVTIN	166	1.22	1.42E7
308	SSWKRMLFRVTIN	167	0.60	1.59E7
312	SSWKRMLFRVTI	171	0.25	1.79E7

图37

利用 0.1 nM LgTrip 和 25 uM HiBiT 的 SmTrip9 滴定

SEQ ID NO:	Pep ID	序列	SmTrip9 Kd (uM)	Bmax (RLU)
37	286	SSWKRGSMLFRVTINS	0.19	3.45E7
190	401	SSWKRGSMLYRVTINS	0.16	1.69E6
191	402	SSWKRGSMLWRVTINS	0.02	2.29E5
192	403	SSWKRGSMLHRVTINS	0.07	1.01E6
193	404	SSWKRGSLLFRVTINS	0.18	3.41E7
194	405	SSWKRGSKLFRVTINS	33.07	7.12E6
195	406	SSWKRGSRLFRVTINS	9.23	2.65E6
196	407	SSWKRGSFLFRVTINS	0.65	1.51E7
197	408	SSWKRGSWLFRVTINS	3.93	4.64E6
198	409	SSWKRGSMLFRVSINS	0.47	3.48E7
199	410	SSWKRGSMLFRVQINS	0.46	2.58E7
200	411	SSWKRGSMLFRVNINS	1.69	2.99E7

图38

利用 0.1 nM LgTrip 和 25 uM HiBiT 的 SmTrip9 滴定

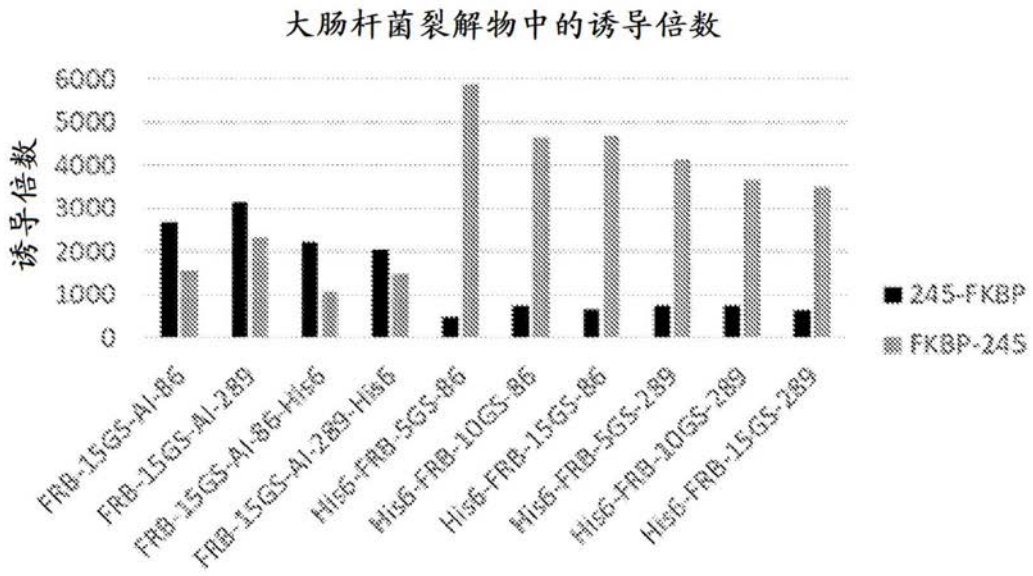
SEQ ID NO:	Pep ID	序列	SmTrip9 Kd (uM)	Bmax (RLU)
37	286	SSWKRGSMLFRVTINS	0.19	3.45E7
153	292	SSWKRMLFRVTINS	0.21	2.93E7
157	297	SSWKRMLFRVTINSV	0.2	2.06E7
160	302	SSWKRMLFRVTINSVS	0.52	1.27E7
186	396	SSRGSMLFRVTINSWK	0.66	2.89E7
187	397	SKRGSMLFRVTINSWS	0.37	2.80E7
188	398	SWRGSMLFRVTINS	1.28	2.33E7
297	399	SSKRGSMLFRVTIWS	0.12	4.02E7
189	400	SSRGSMLFRVTIWK	0.07	4.06E7

图39

利用0.1 nM LgTrip 的 SmTrip9 或 HiBiT 滴定

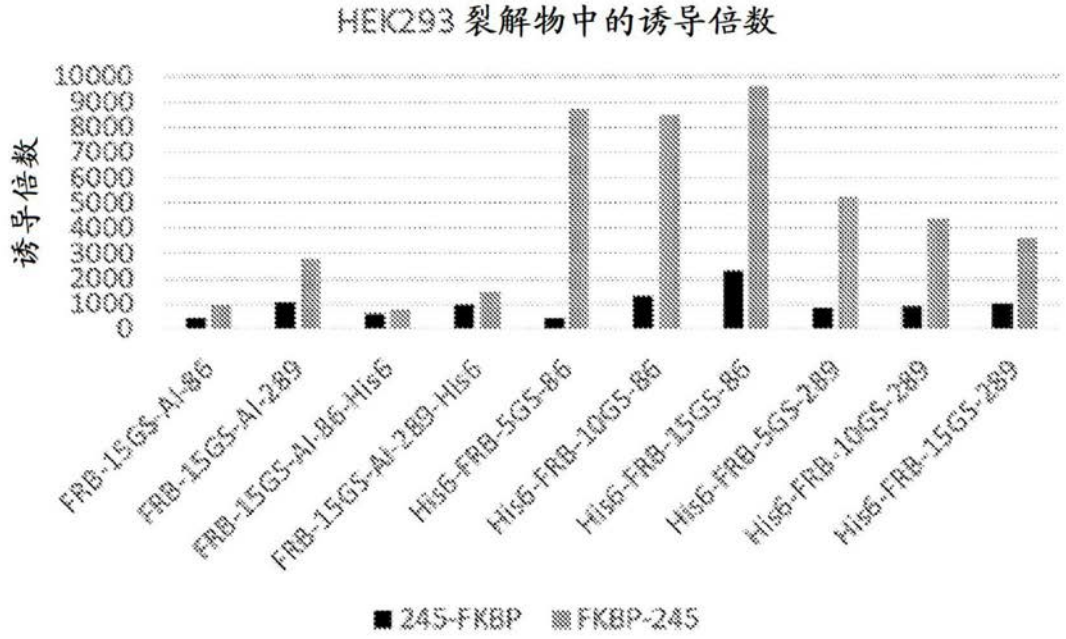
SEQ ID NO:	Pep ID	序列	以 uM 为单位表示的 SmTrip9 Kd (以 RLU 为单位表示的 Bmax)	以 uM 为单位表示的 HiBiT Kd (以 RLU 为单位表示的 Bmax)
37	286	SSWKRGSMLFAVTINS	0.19 (3.45E7)	0.73 (3.66E7)
153	292	SSWKRMLFAVTINS	0.21 (2.93E7)	1.55 (3.05E7)
157	297	SSWKRMLFRVTINSV	0.2 (2.06E7)	5.09 (1.36E7)
160	302	SSWKRMLFRVTINSVS	0.52 (1.27E7)	8.15 (1.75E7)

图40



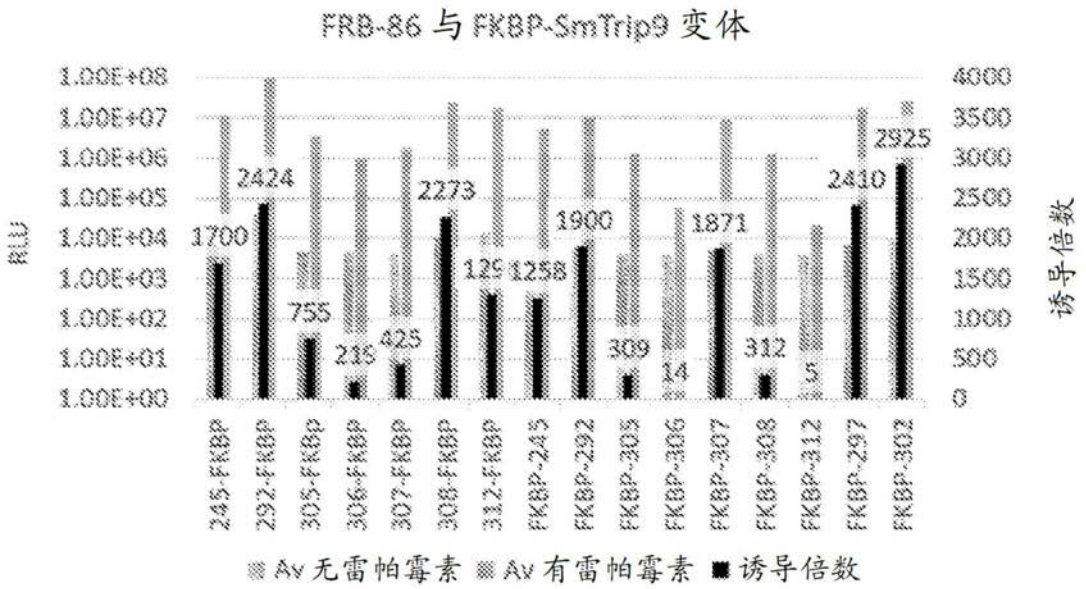
ATG#	详细说明
1634	FRB-15GS-AI-86
3586	FRB-15GS-AI-289
3743	FRB-15GS-AI-86-His6
3744	FRB-15GS-AI-289-His6
3760	His6-FRB-5GS-86
3761	His6-FRB-10GS-86
3762	His6-FRB-15GS-86
3763	His6-FRB-5GS-289
3764	His6-FRB-10GS-289
3765	His6-FRB-15GS-289

图41



ATG#	详细说明
1634	FRB-15GS-AI-86
3586	FRB-15GS-AI-289
3743	FRB-15GS-AI-86-His6
3744	FRB-15GS-AI-289-His6
3760	His6-FRB-5GS-86
3761	His6-FRB-10GS-86
3762	His6-FRB-15GS-86
3763	His6-FRB-5GS-289
3764	His6-FRB-10GS-289
3765	His6-FRB-15GS-289

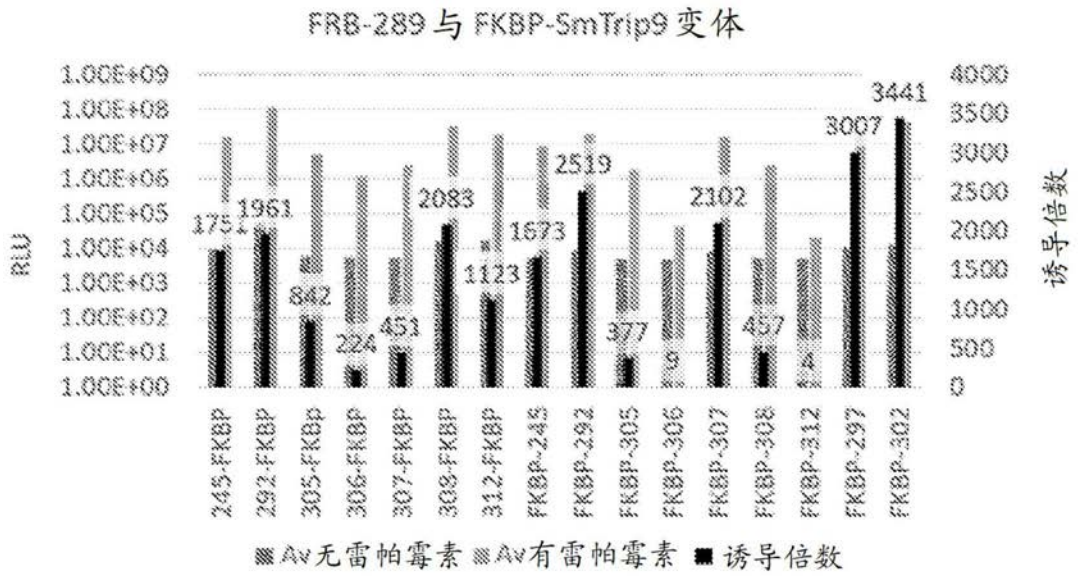
图42



Pep	序列
245	GSMLFRVTINS
292.x	MLFRVTINS
297.x	MLFRVTINSV
302.x	MLFRVTINSVS
305.x	GSMLFRVTIN
306.x	GSMLFRVTI
307.x	SMLFRVTIN
308.x	MLFRVTIN
312.x	MLFRVTI

Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
292.x	289	MLFRVTINS
297.x	290	MLFRVTINSV
302.x	291	MLFRVTINSVS
305.x	292	GSMLFRVTIN
306.x	293	GSMLFRVTI
307.x	294	SMLFRVTIN
308.x	295	MLFRVTIN
312.x	296	MLFRVTI

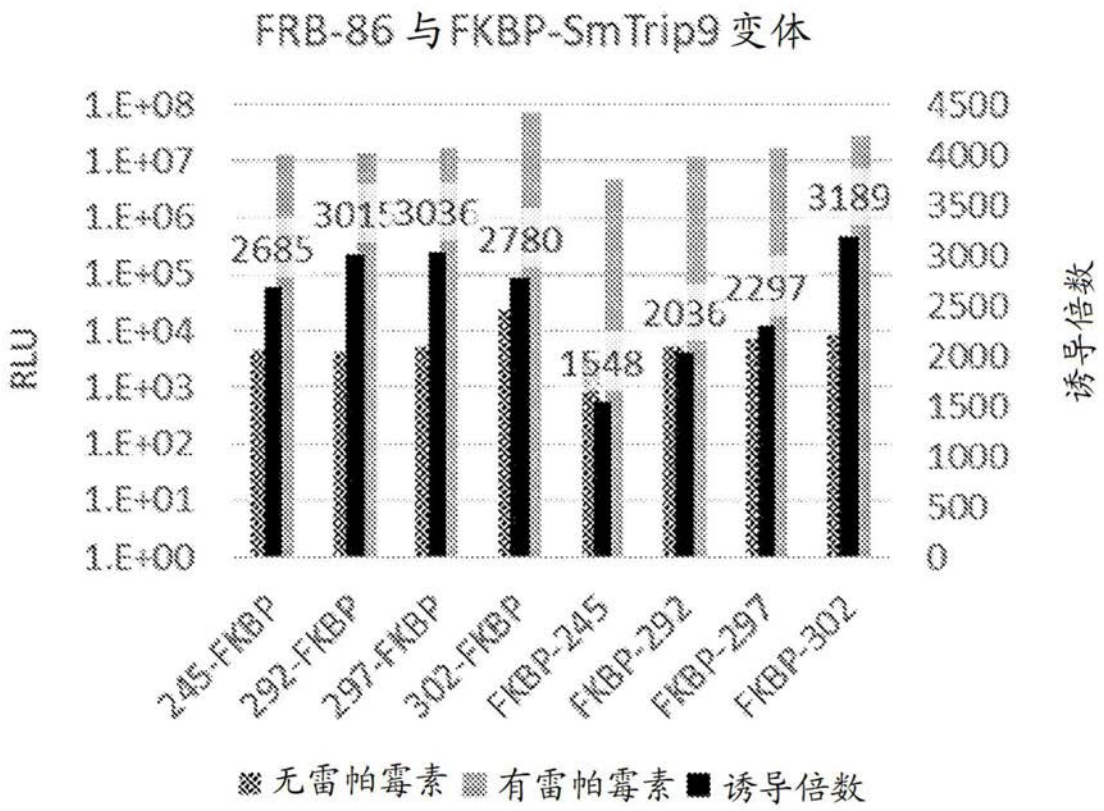
图43



Pep	序列
245	GSMLFRVTINS
292.x	MLFRVTINS
297.x	MLFRVTINSV
302.x	MLFRVTINSVS
305.x	GSMLFRVTIN
306.x	GSMLFRVTI
307.x	SMLFRVTIN
308.x	MLFRVTIN
312.x	MLFRVTI

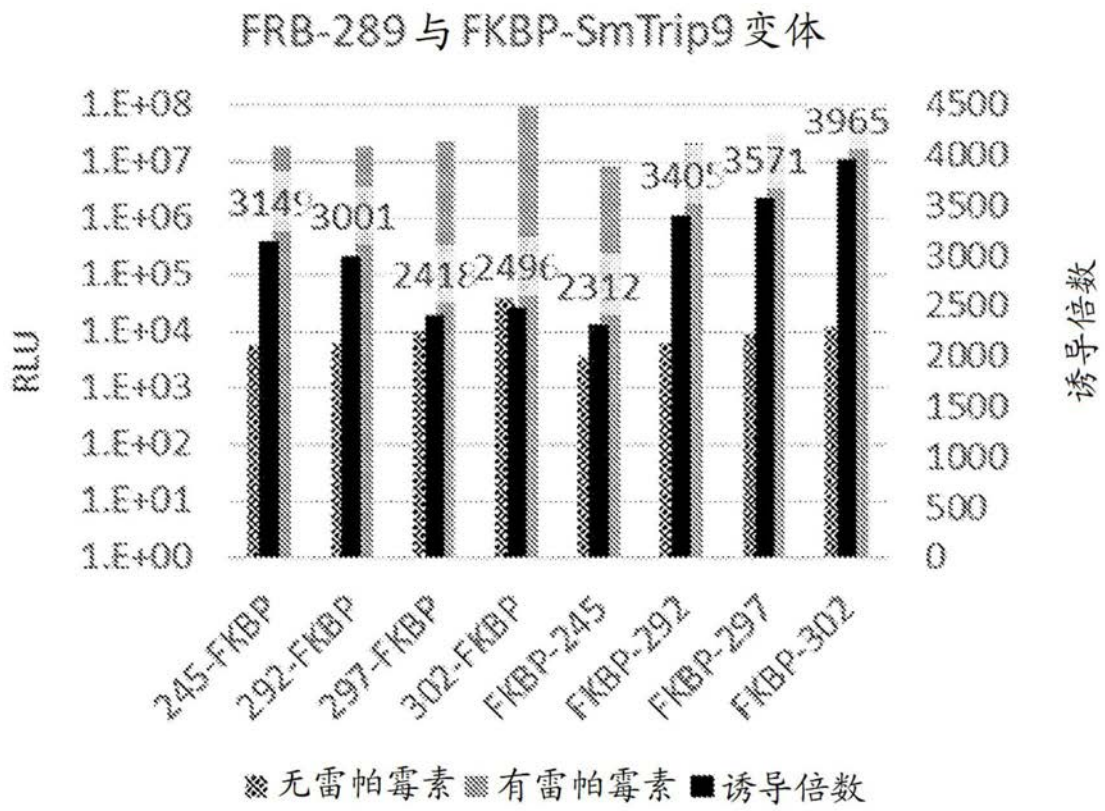
Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
292.x	289	MLFRVTINS
297.x	290	MLFRVTINSV
302.x	291	MLFRVTINSVS
305.x	292	GSMLFRVTIN
306.x	293	GSMLFRVTI
307.x	294	SMLFRVTIN
308.x	295	MLFRVTIN
312.x	296	MLFRVTI

图44



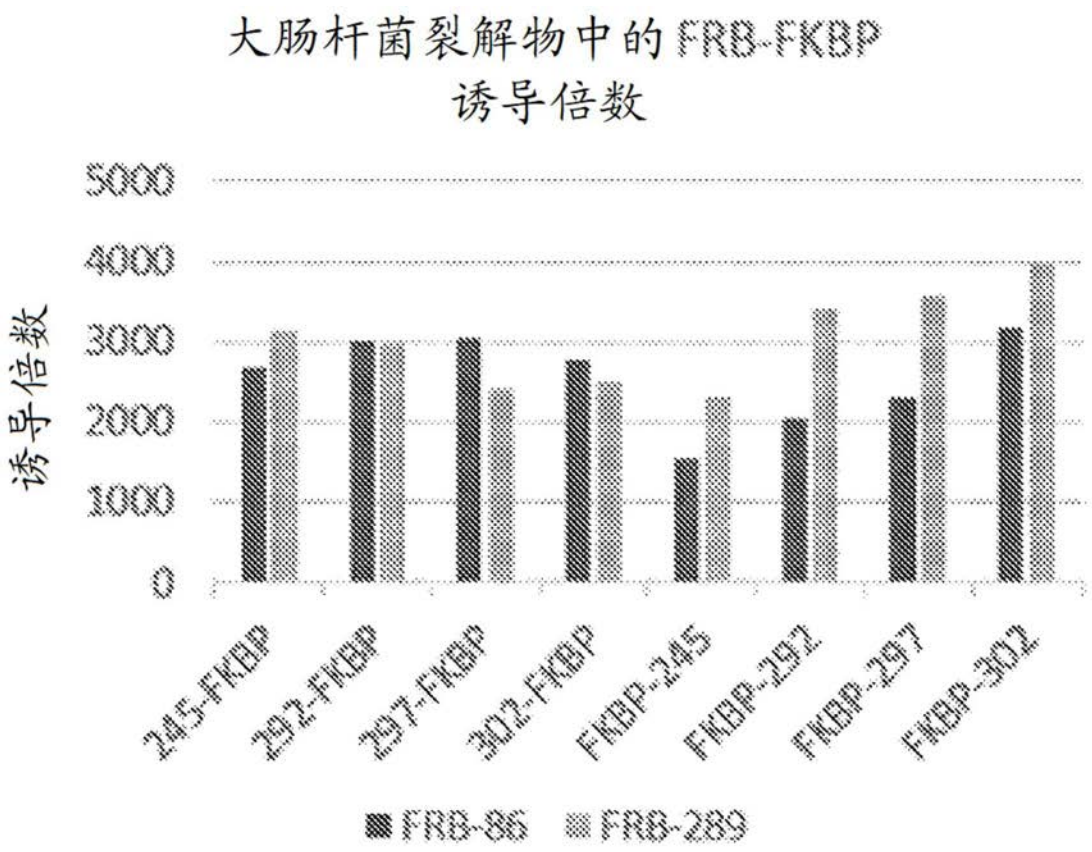
Pep ID	SEQ ID NO.	序列
89	824	VSGWRLFKKIS
289	826	VSVSGWRLFKKIS
245	23	GSMLFRVTINS
292.x	289	MLFRVTINS
297.x	290	MLFRVTINSV
302.x	291	MLFRVTINSVS

图45



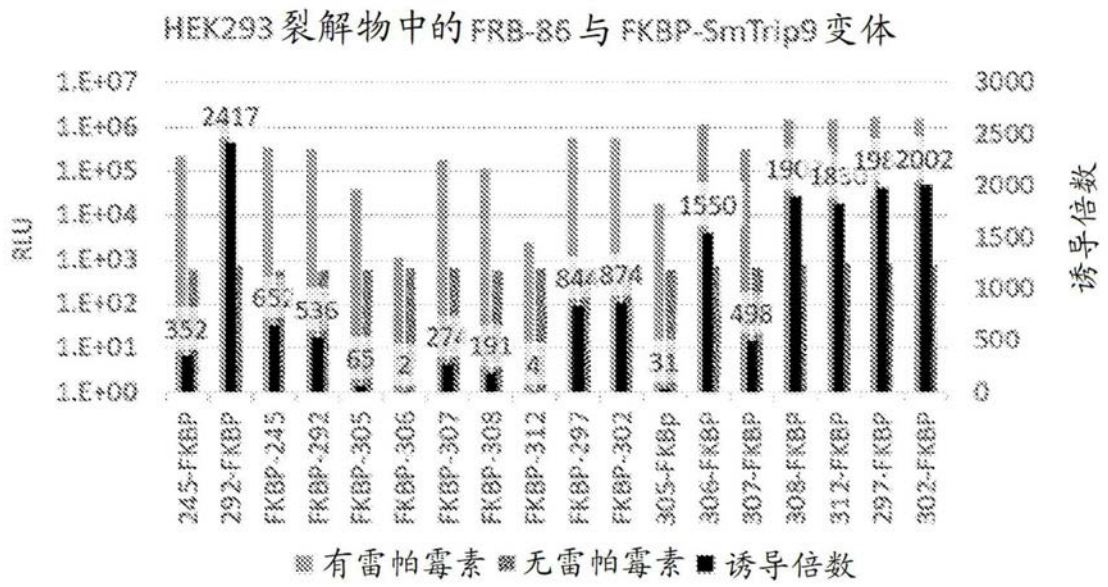
Pep ID	SEQ ID NO.	序列
89	824	VSGWRLFKKIS
289	826	VSVSGWRLFKKIS
245	23	GSMLFRVTINS
292.x	289	MLFRVTINS
297.x	290	MLFRVTINSV
302.x	291	MLFRVTINSVS

图46



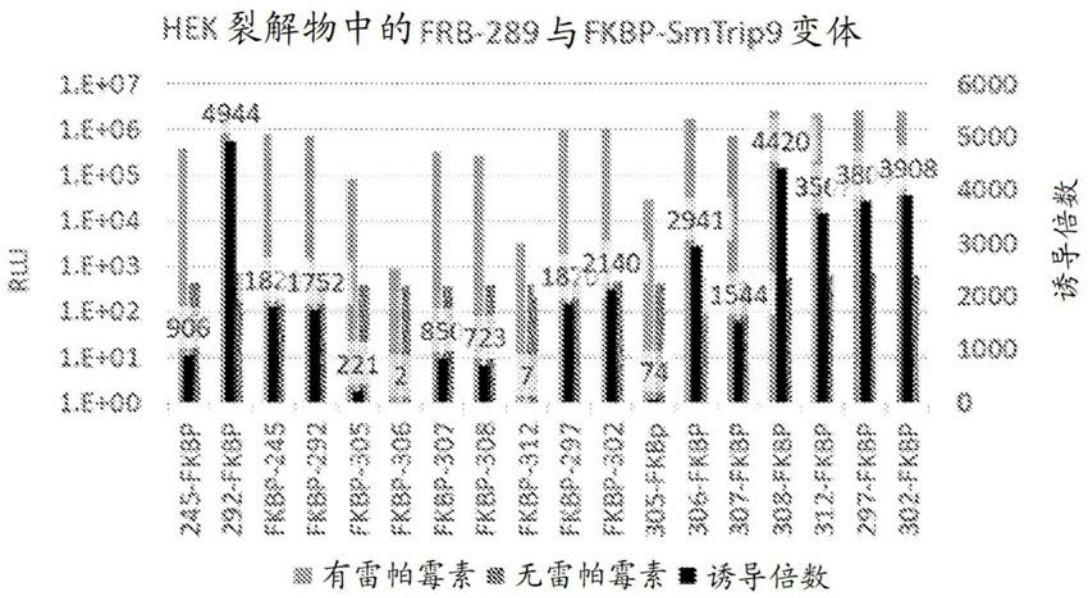
Pep ID	SEQ ID NO.	序列
89	824	VSGWRLFKKIS
289	826	VSVSGWRLFKKIS
245	23	GSMLFRVTINS
292.x	289	MLFRVTINS
297.x	290	MLFRVTINSV
302.x	291	MLFRVTINSVS

图47



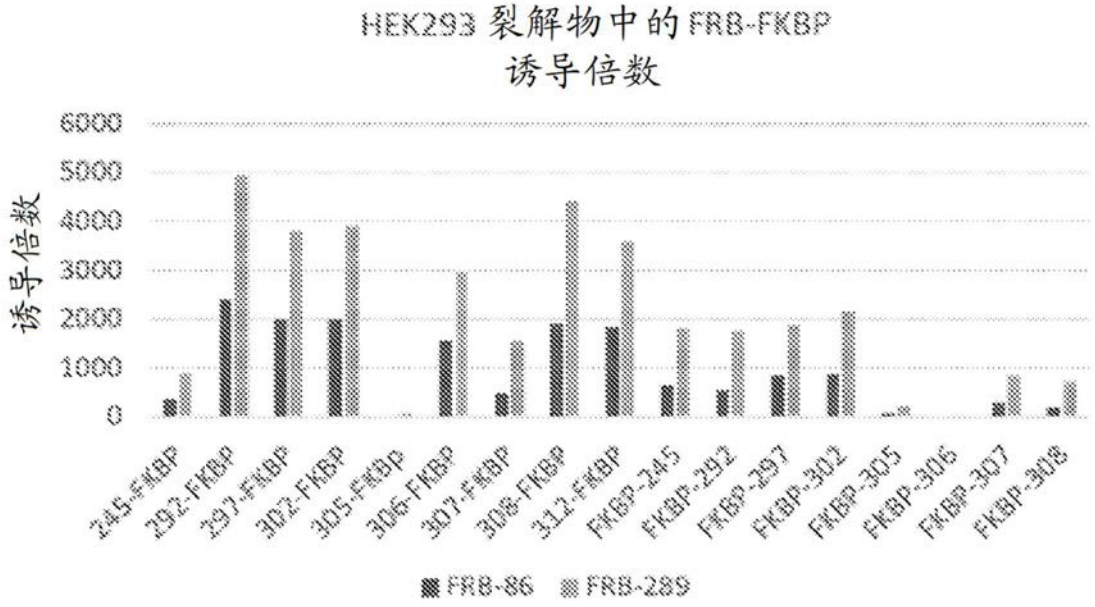
Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
292.x	289	MLFRVTINS
297.x	290	MLFRVTINSV
302.x	291	MLFRVTINSVS
305.x	292	GSMLFRVTIN
306.x	293	GSMLFRVTI
307.x	294	SMLFRVTIN
308.x	295	MLFRVTIN
312.x	296	MLFRVTI

图48



Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
292.x	289	MLFRVTINS
297.x	290	MLFRVTINSV
302.x	291	MLFRVTINSVS
305.x	292	GSMLFRVTIN
306.x	293	GSMLFRVTI
307.x	294	SMLFRVTIN
308.x	295	MLFRVTIN
312.x	296	MLFRVTI

图49



Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
292.x	289	MLFRVTINS
297.x	290	MLFRVTINSV
302.x	291	MLFRVTINSVS
305.x	292	GSMLFRVTIN
306.x	293	GSMLFRVTI
307.x	294	SMLFRVTIN
308.x	295	MLFRVTIN
312.x	296	MLFRVTI

图50

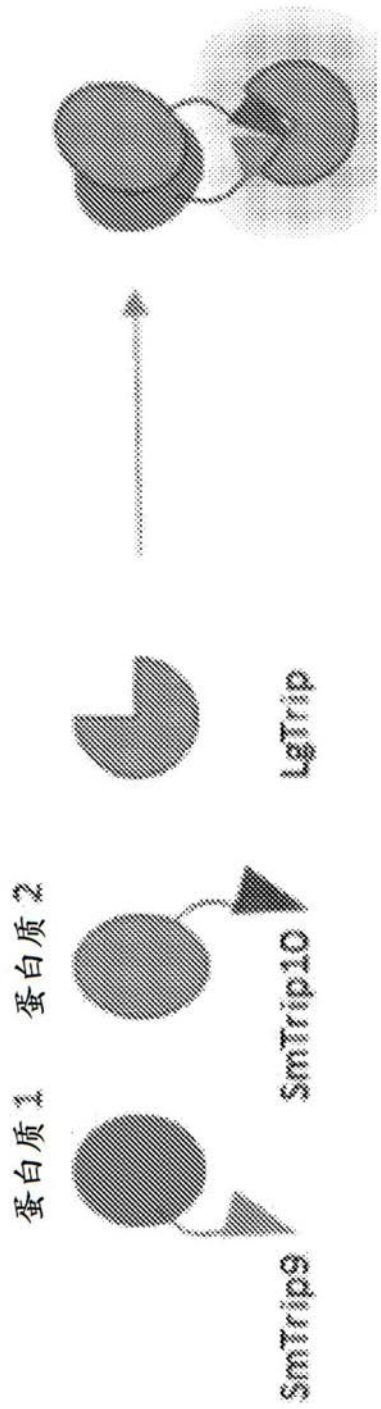


图51A

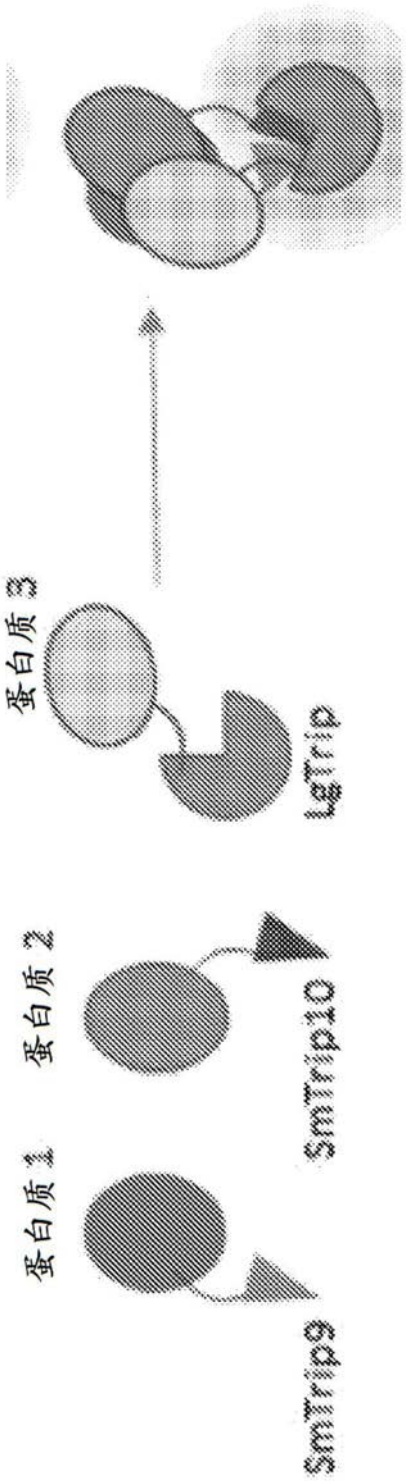


图51B

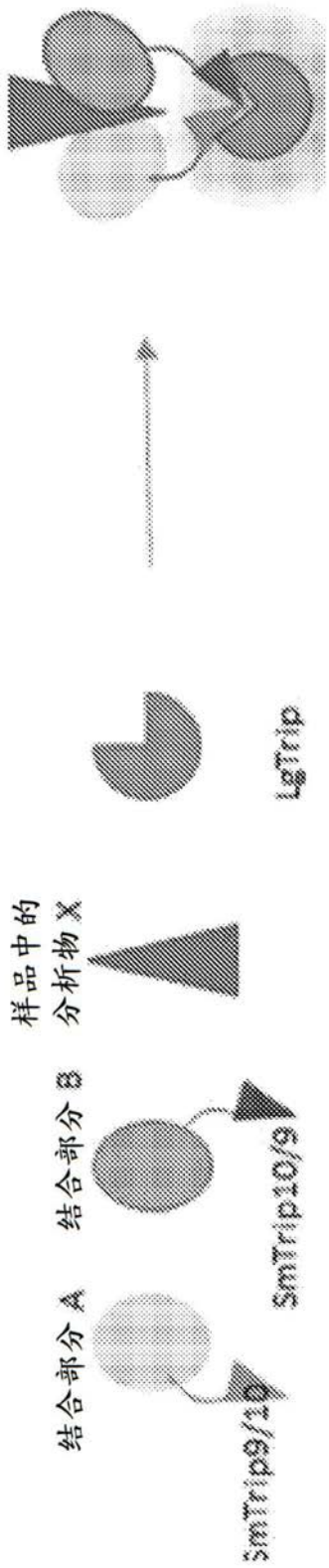


图51C

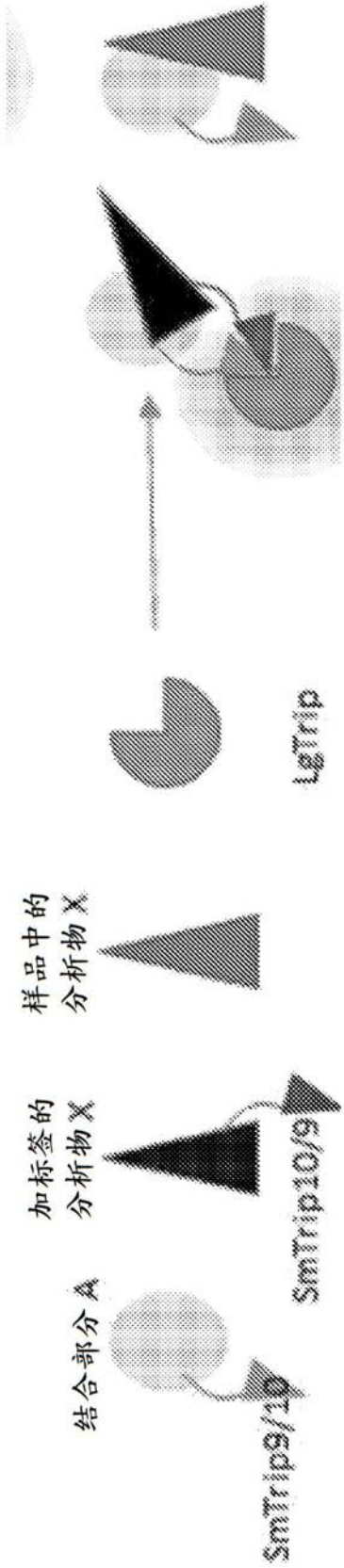


图51D

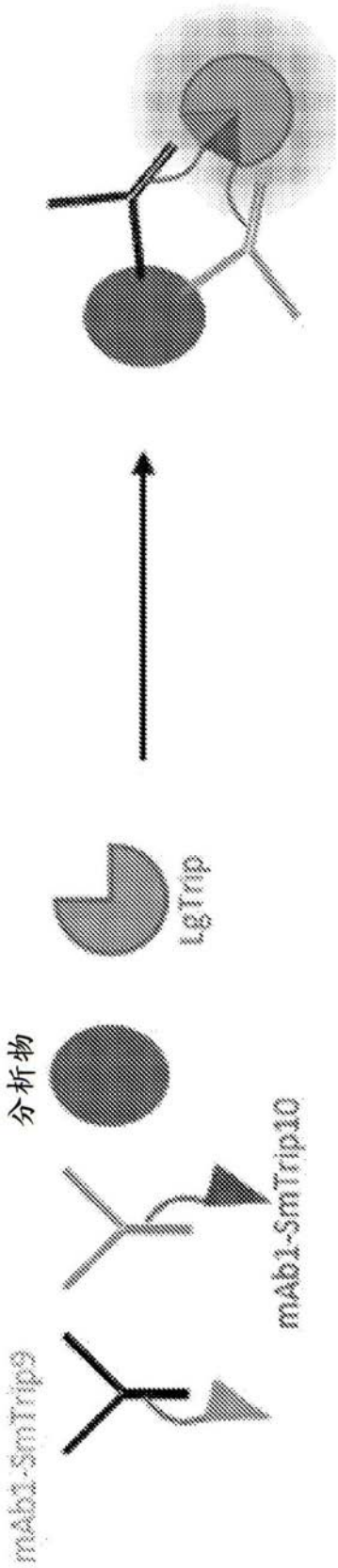


图51E

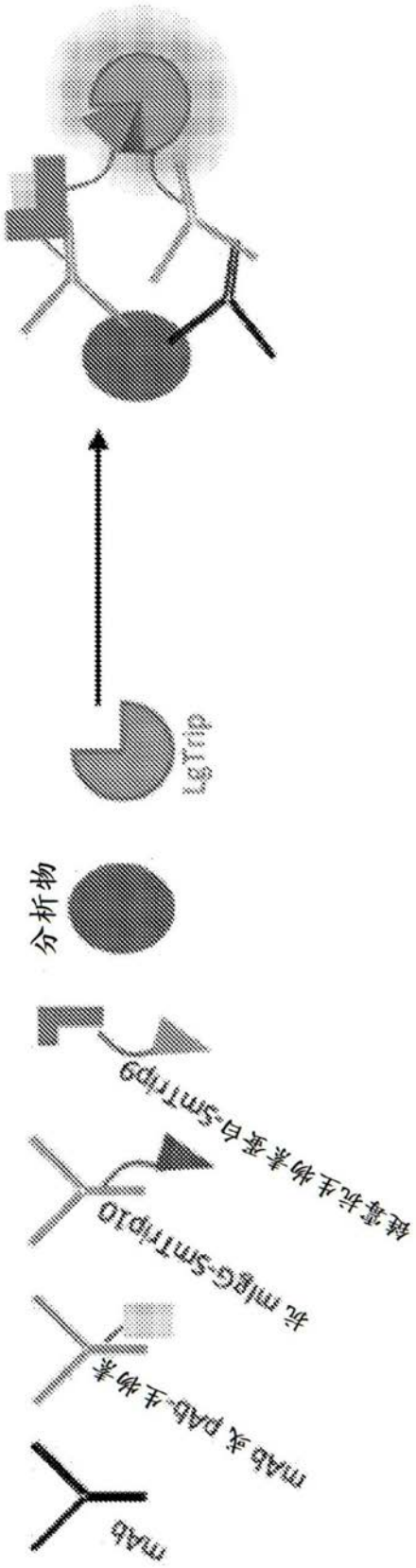

LgTrip
分析物
抗靶标生物素蛋白-SmTrip9
抗 mIgG-SmTrip10
mAb 或 pAb-生物素
mAb

图51F

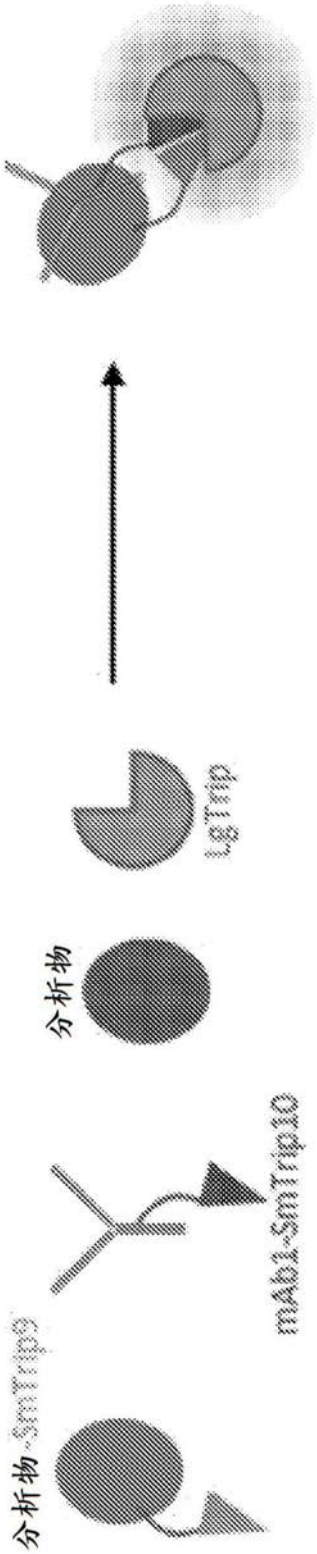


图51G

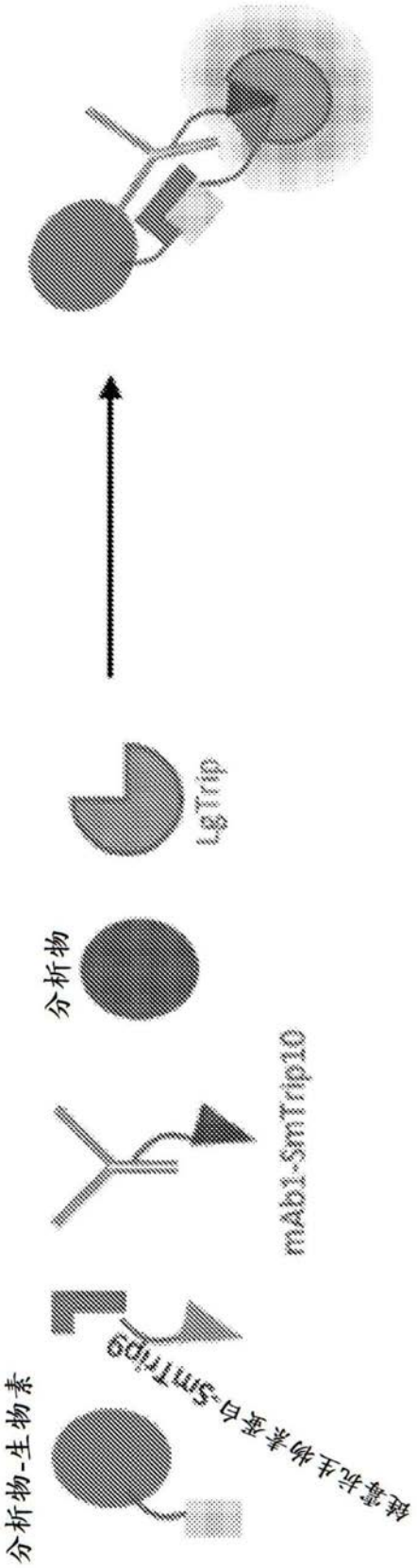


图51H

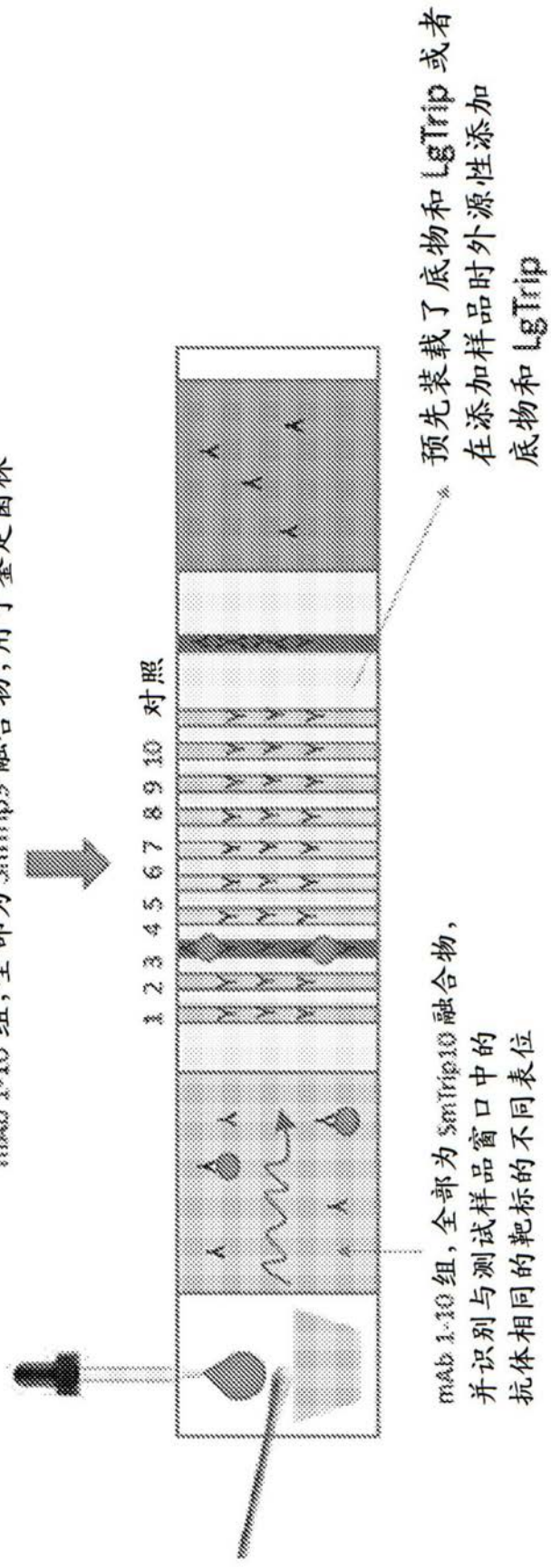

mAb 1-10 组，全部为 SmTrip9 融合物，用于鉴定菌株
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 对照
预先装载了底物和 LgTrip 或者
在添加样品时外源性添加
底物和 LgTrip
mAb 1-10 组，全部为 SmTrip10 融合物，
并识别与测试样品窗口中的
抗体相同的靶标的不同表位

图52

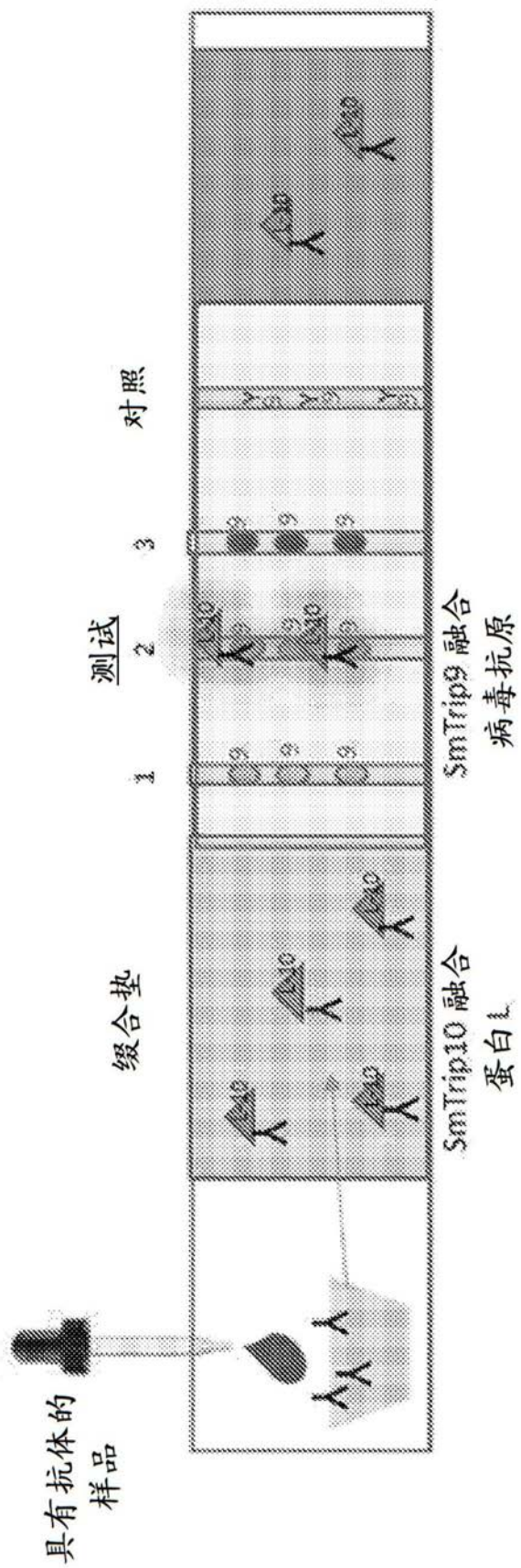


图53

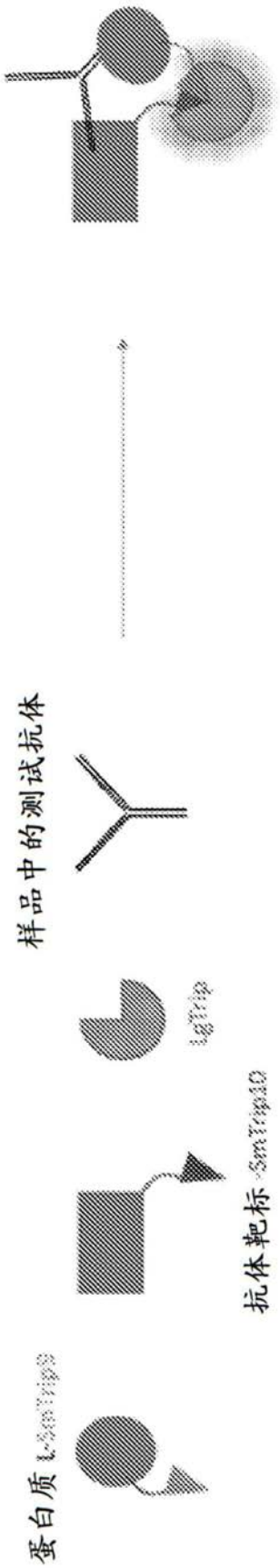


图54

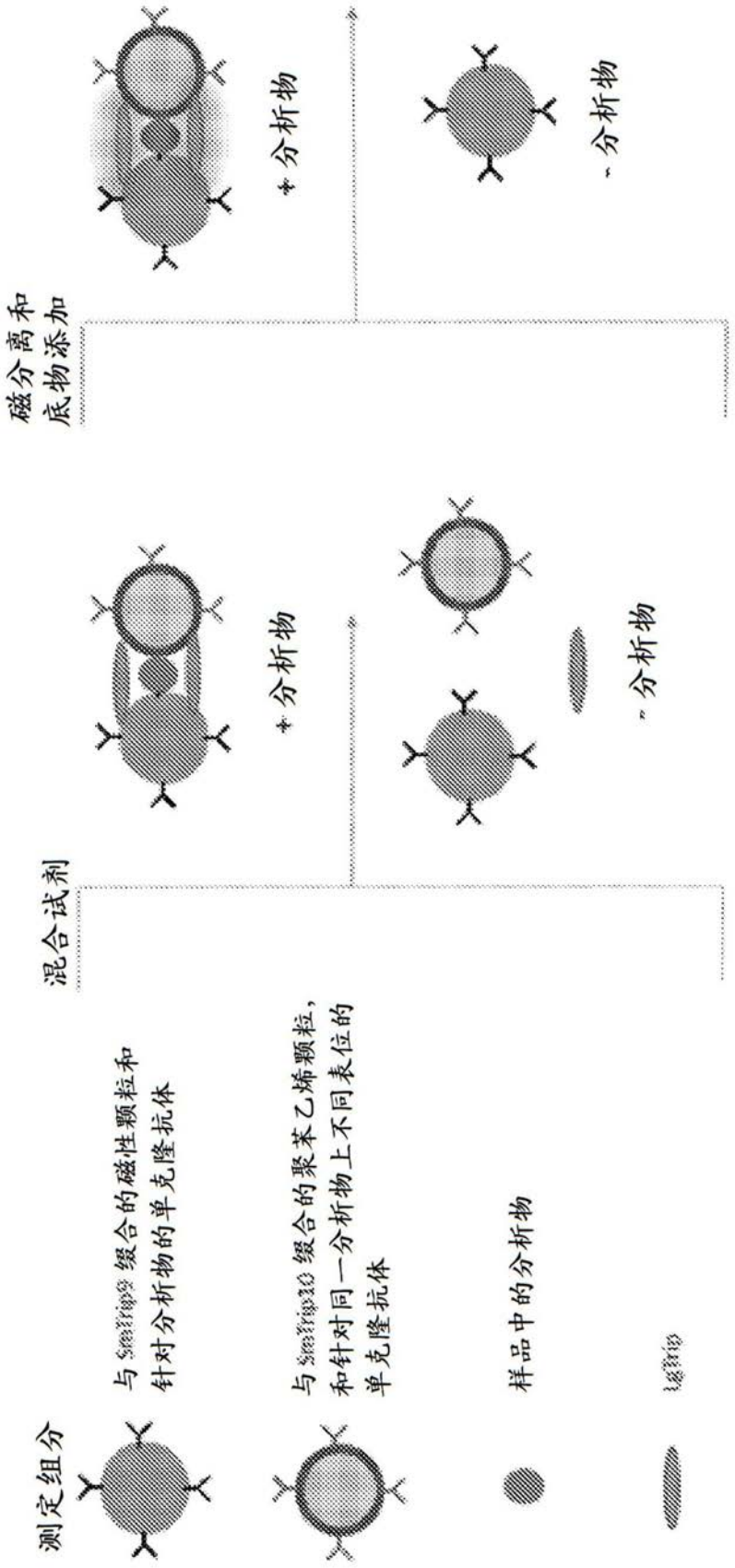

测定组分
与 Streptag 缀合的磁性颗粒和
针对分析物的单克隆抗体
与 Streptag 缀合的聚苯乙烯颗粒，
和针对同一分析物上不同表位的
单克隆抗体
样品中的分析物
Streptag
混合试剂
+ 分析物
- 分析物
磁分离和
底物添加
+ 分析物
- 分析物

图55

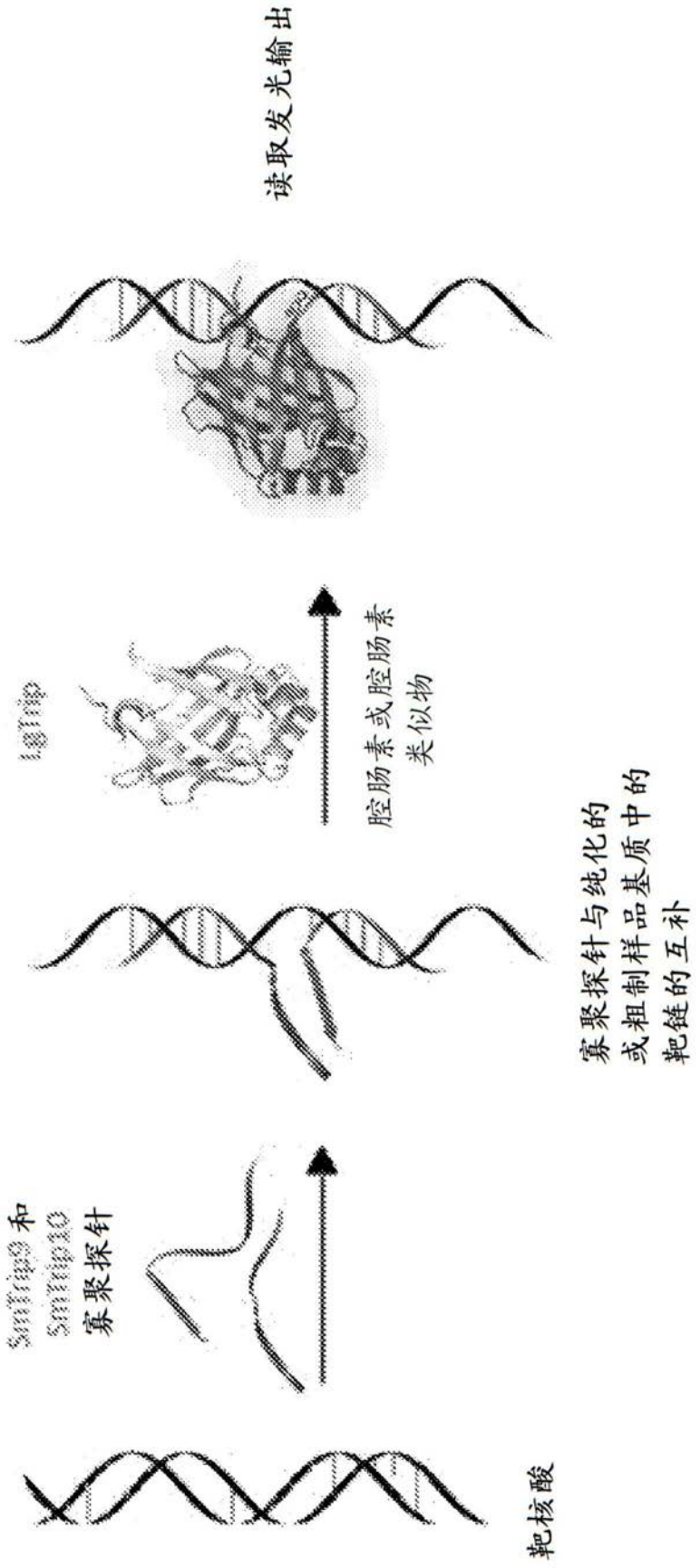
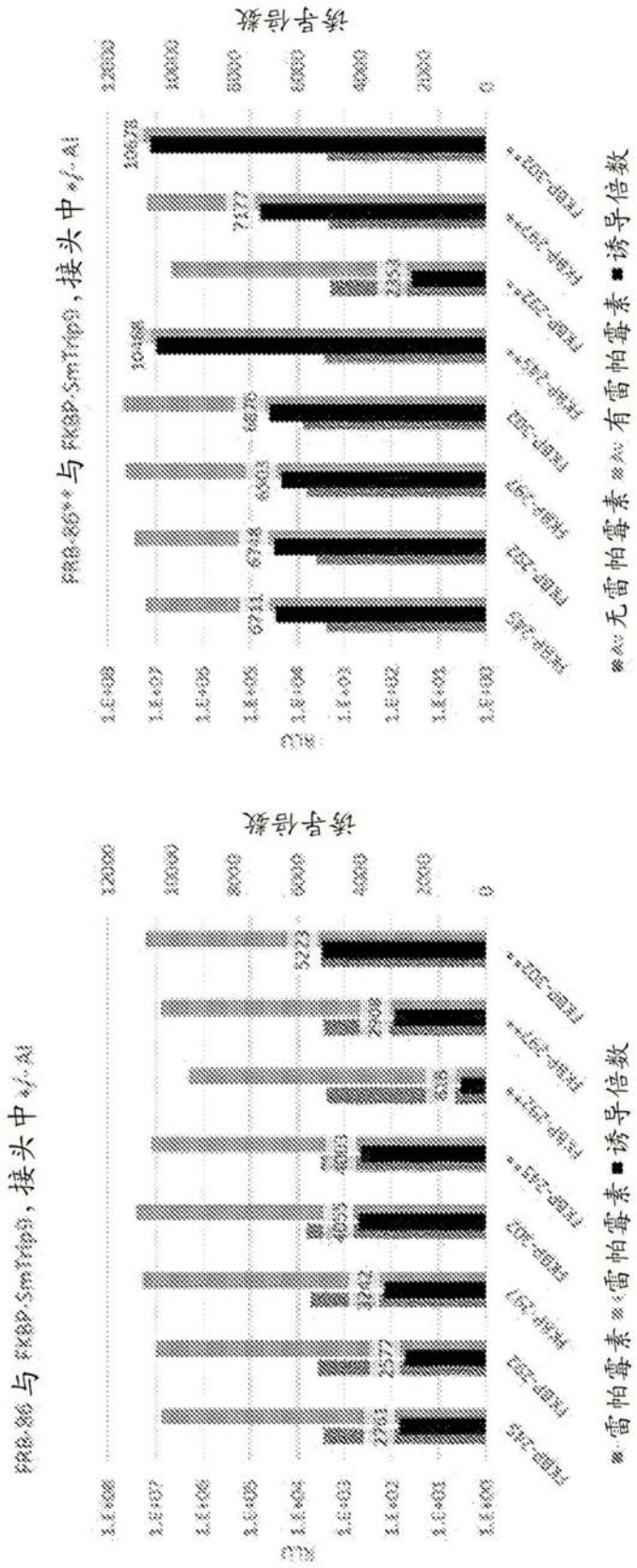
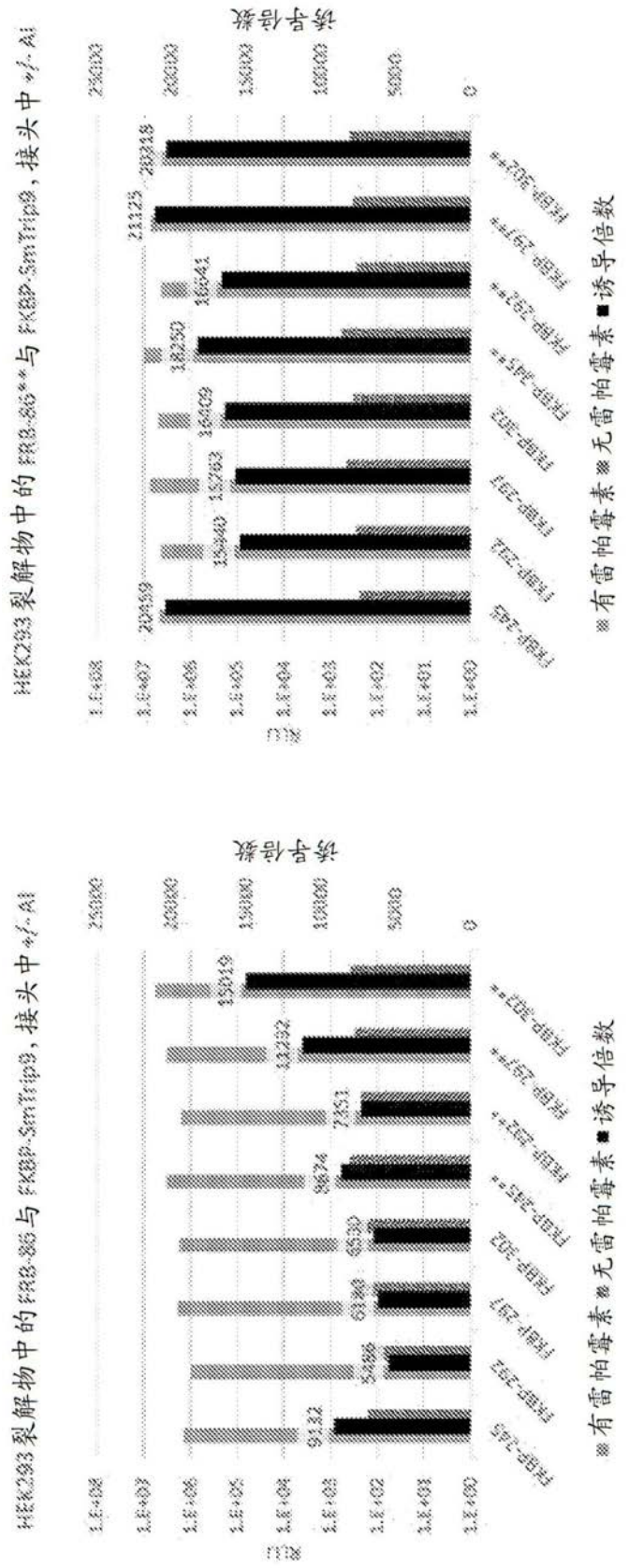

读取发光输出
LgBiT
腔肠素或腔肠素
类似物
寡聚探针与纯化的
或粗制样品基质中的
靶链的互补
SmTrip3 和
SmTrip10
寡聚探针
靶核酸

图56



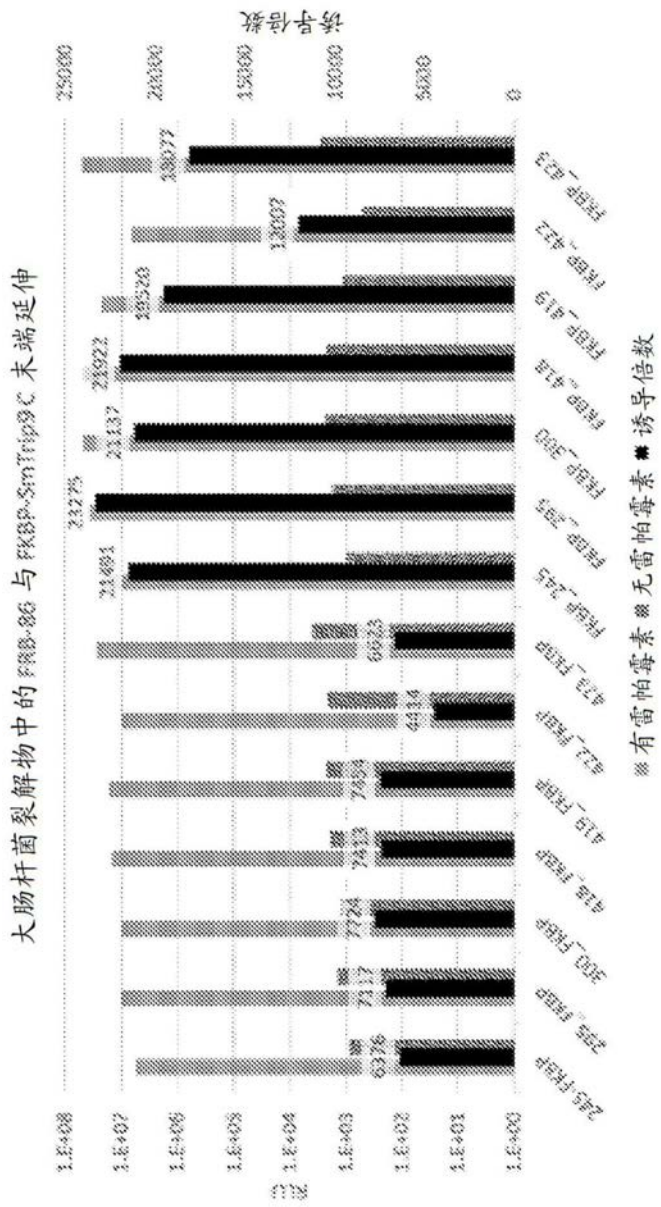
Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
292.x	289	MLFRVTINS
297.x	290	MLFRVTINSV
302.x	291	MLFRVTINSVS

图57



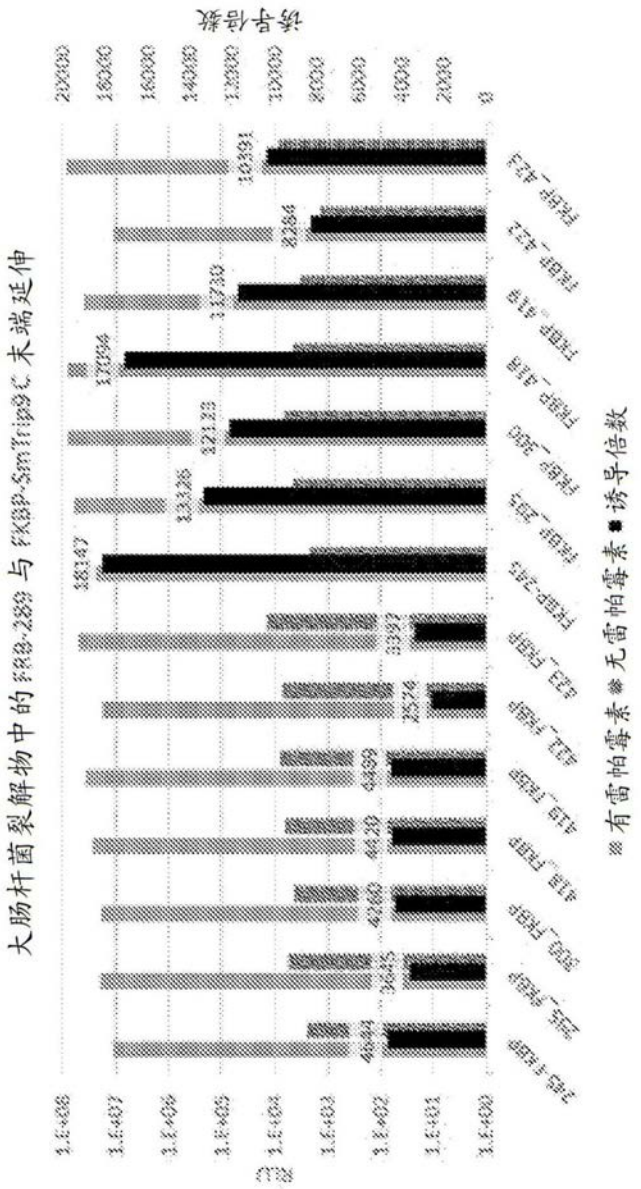
Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
292.x	289	MLFRVTINS
297.x	290	MLFRVTINSV
302.x	291	MLFRVTINSVS

图58



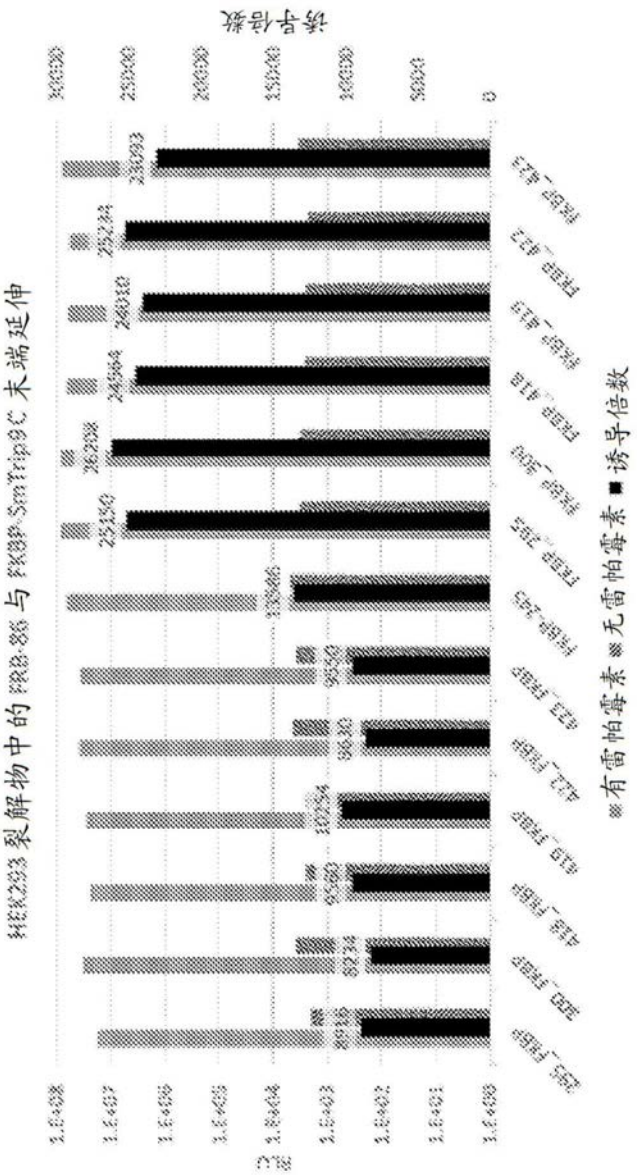
Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
295.x	220	GSMLFRVTINSV
300.x	221	GSMLFRVTINSVS
418.x	226	GSMLFRVTINSVSG
419.x	227	GSMLFRVTINSVSGW
422	228	GSMLFRVTINSVSGWR
423	229	GSMLFRVTINSVSGWK

图59



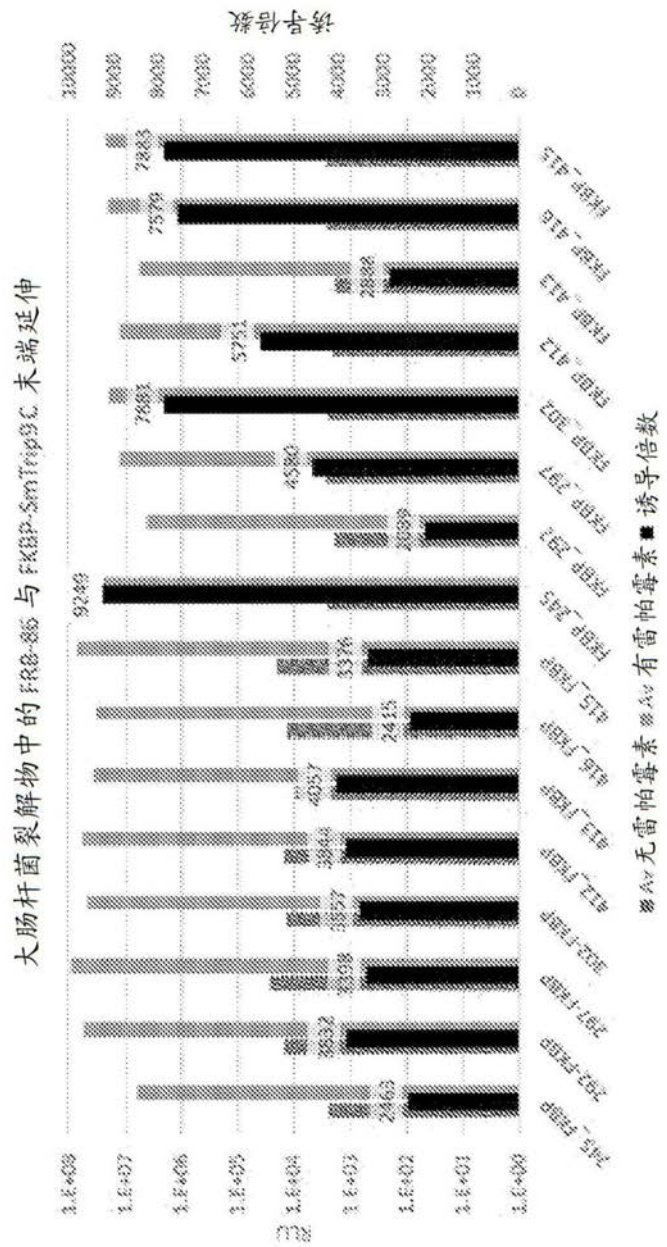
Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
295.x	220	GSMLFRVTINSV
300.x	221	GSMLFRVTINSVS
418.x	226	GSMLFRVTINSVSG
419.x	227	GSMLFRVTINSVSGW
422	228	GSMLFRVTINSVSGWR
423	229	GSMLFRVTINSVSGWK

图60



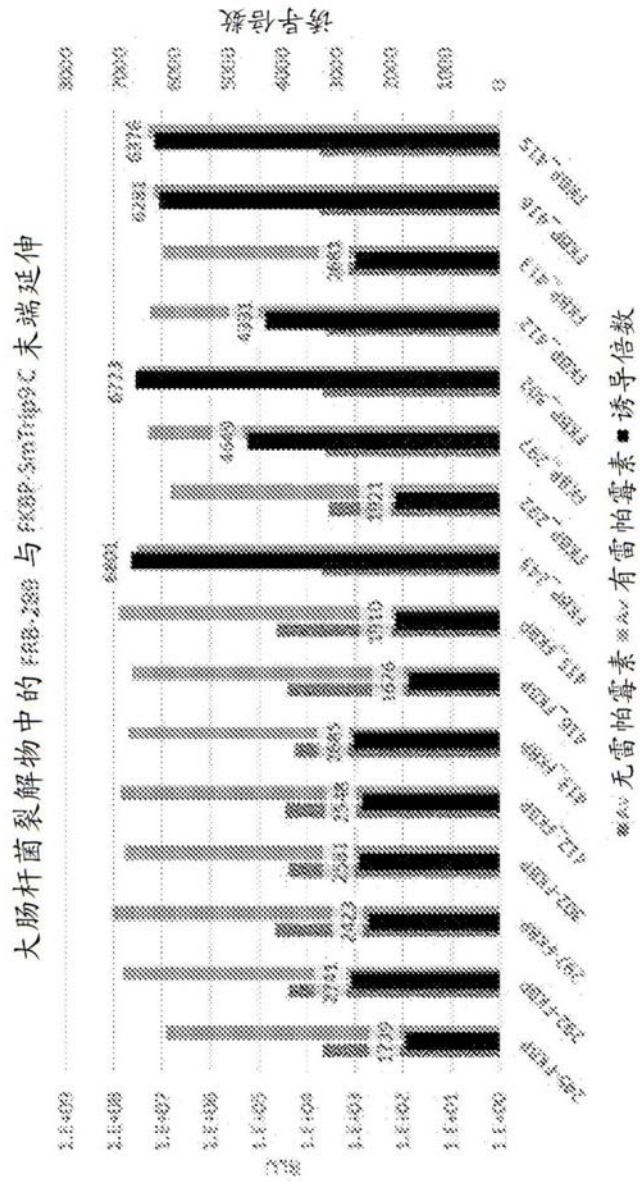
Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
295.x	220	GSMLFRVTINSV
300.x	221	GSMLFRVTINSVS
418.x	226	GSMLFRVTINSVSG
419.x	227	GSMLFRVTINSVSGW
422	228	GSMLFRVTINSVSGWR
423	229	GSMLFRVTINSVSGWK

图61



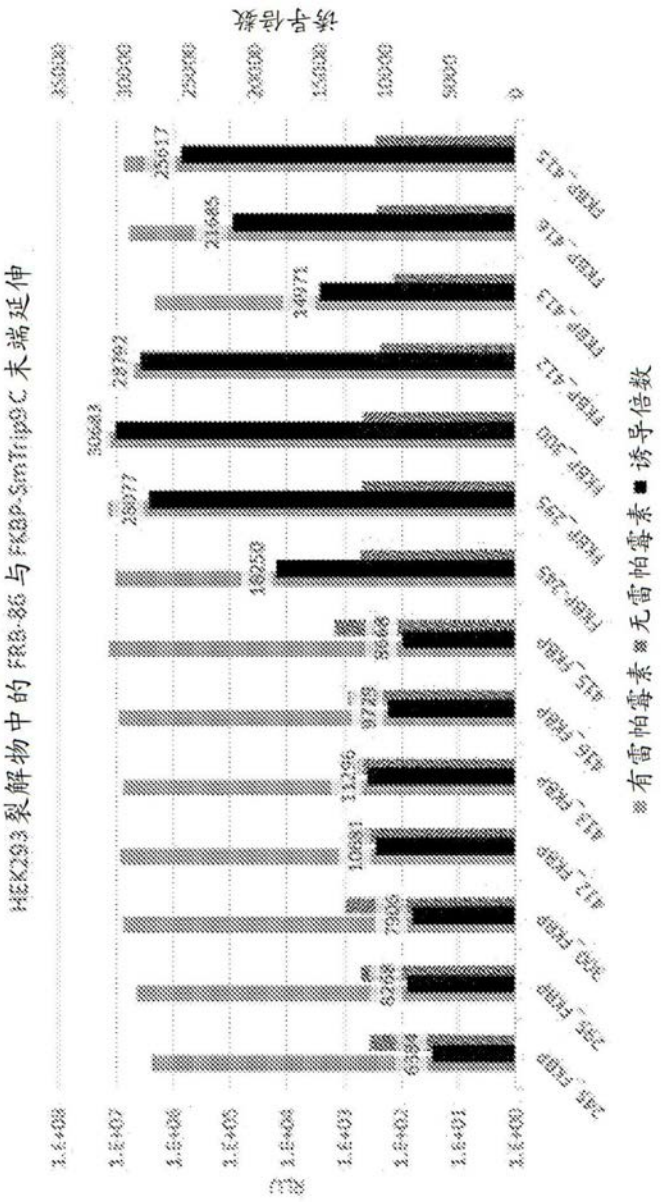
Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
295.x	220	GSMLFRVTINSV
300.x	221	GSMLFRVTINSVS
416	225	MLFRVTINSVSGWR
413.x	222	MLFRVTINSVSGW
412.x	222	MLFRVTINSVSG
415.x	224	MLFRVTINSVSGWK

图62



Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
295.x	220	GSMLFRVTINSV
300.x	221	GSMLFRVTINSVS
416	225	MLFRVTINSVSGWR
413.x	222	MLFRVTINSVSGW
412.x	222	MLFRVTINSVSG
415.x	224	MLFRVTINSVSGWK

图63



Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
295.x	220	GSMLFRVTINSV
300.x	221	GSMLFRVTINSVS
416	225	MLFRVTINSVSGWR
413.x	222	MLFRVTINSVSGW
412.x	222	MLFRVTINSVSG
415.x	224	MLFRVTINSVSGWK

图64

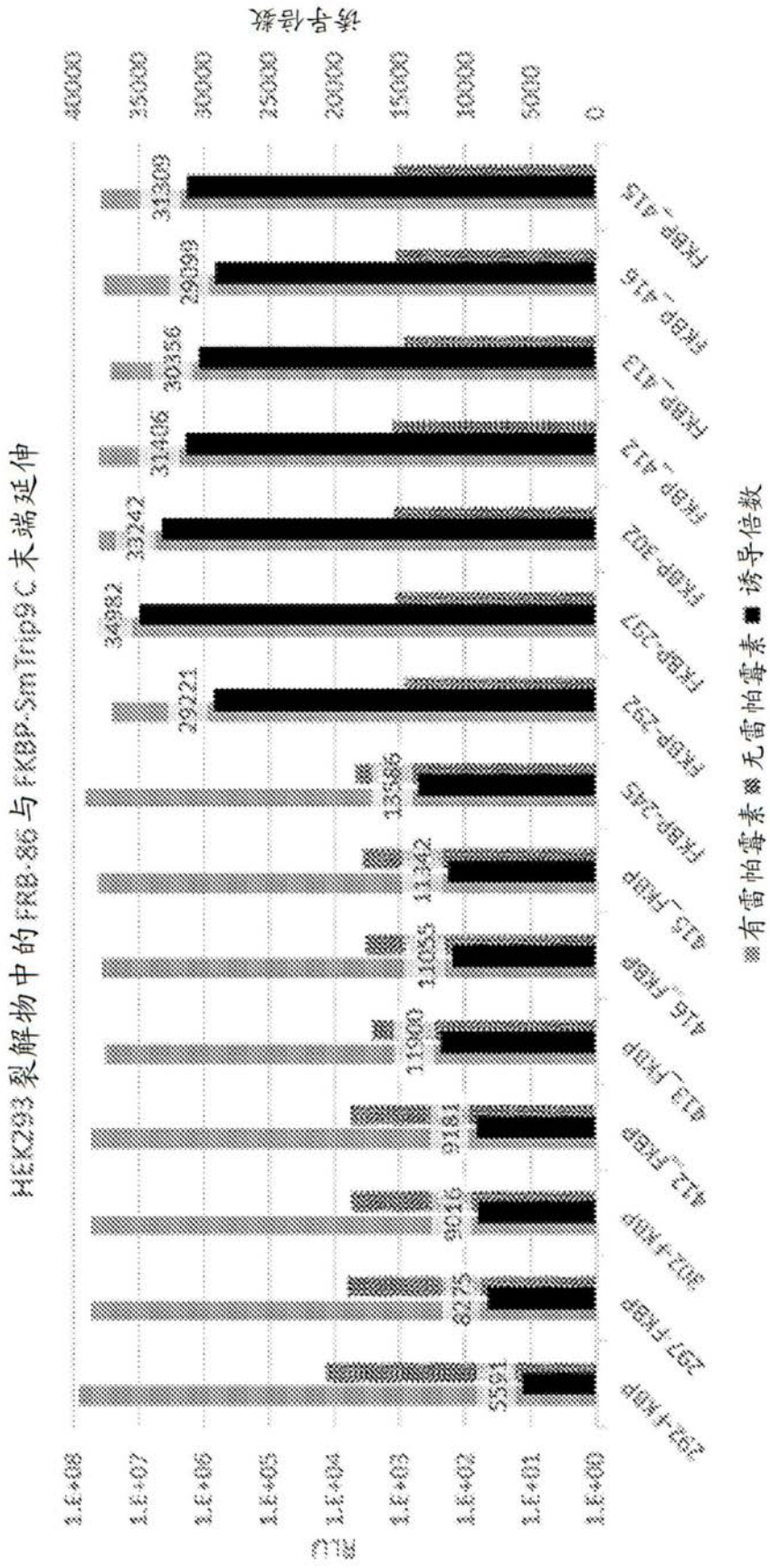
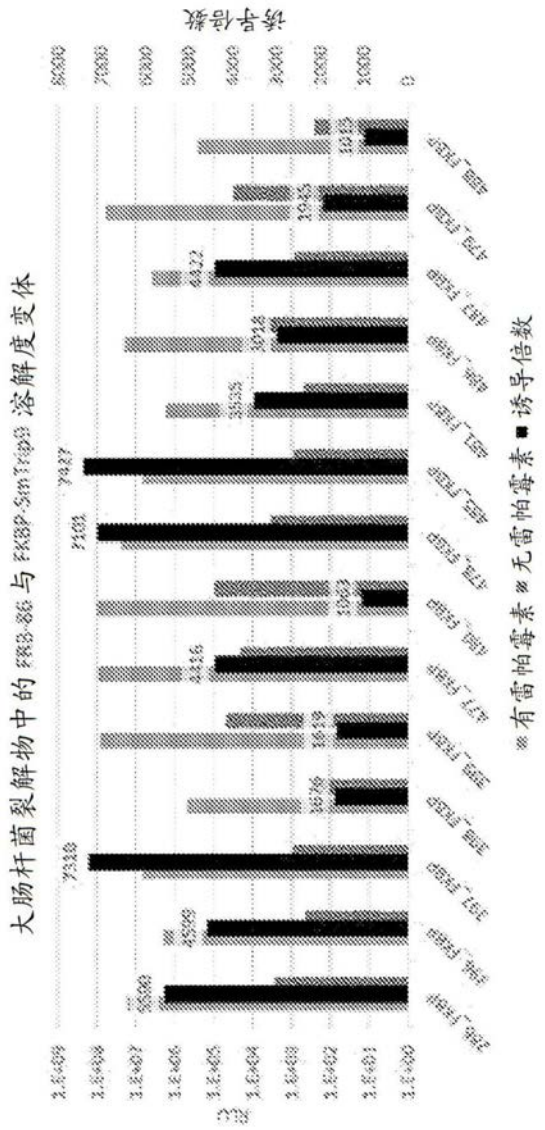

HEK293裂解物中的FRB-86与FKBP-SmTrip9C末端延伸
诱导倍数
※有雷帕霉素 ※无雷帕霉素 ■ 诱导倍数
2E4-FKBP
2E7-FKBP
3E2-FKBP
4E2-FKBP
4E3-FKBP
4E5-FKBP
4E3-FKBP
FKBP-2E5
FKBP-2E2
FKBP-2E7
FKBP-3E2
FKBP-4E2
FKBP-4E3
FKBP-4E5

图65



Pep ID	SEQ ID NO.	序列
286	37	SSWKRGSMLFRVTINS
396	186	SSRGSMLFRVTINSWK
397	187	SKRGSMLFRVTINSWS
398	188	SWRGSMLFRVTINS
399	297	SSKRGSMLFRVTIWS
477	232	MLFRVTINSWK
478	233	MLFRVTINSWS
479	234	MLFRVTIWS
480	235	MLFRVTIWK
481	236	MLFRVKINS
485	240	MLFRVNINS
486	241	MLFRVWINS
487	242	LLFRVKINS
488	243	FLFRVTINS

图66

Pep ID	SEQ ID NO.	序列
286	37	SSWKRGSMLFRVTINS
396	186	SSRGSMLFRVTINSWK
397	187	SKRGSMLFRVTINSWS
398	188	SWRGSMLFRVTINS
399	297	SSKRGSMLFRVTIWS
477	232	MLFRVTINSWK
478	233	MLFRVTINSWS
479	234	MLFRVTIWS
480	235	MLFRVTIWK
481	236	MLFRVKINS
485	240	MLFRVNINS
486	241	MLFRVWINS
487	242	LLFRVKINS
488	243	FLFRVTINS

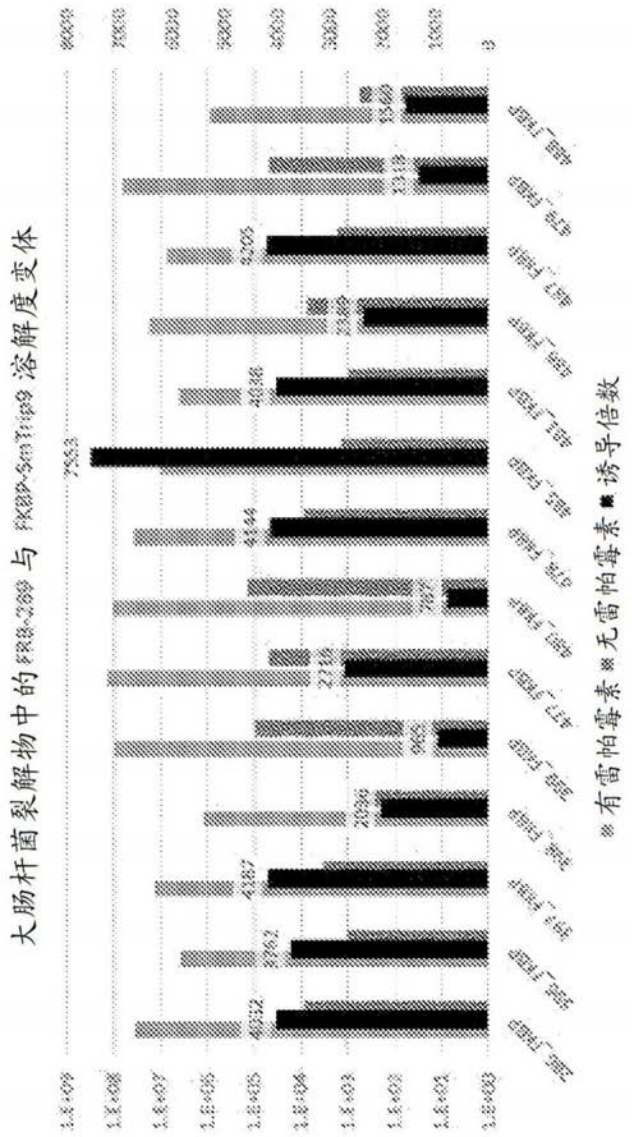


图67

Pep ID	SEQ ID NO.	序列
286	37	SSWKRGSMLFRVTINS
396	186	SSRGSMLFRVTINSWK
397	187	SKRGSMLFRVTINSWS
398	188	SWRGSMLFRVTINS
399	297	SSKRGSMLFRVTIWS
477	232	MLFRVTINSWK
478	233	MLFRVTINSWS
479	234	MLFRVTIWS
480	235	MLFRVTIWK
481	236	MLFRVKINS
485	240	MLFRVNINS
486	241	MLFRVWINS
487	242	LLFRVKINS
488	243	FLFRVTINS

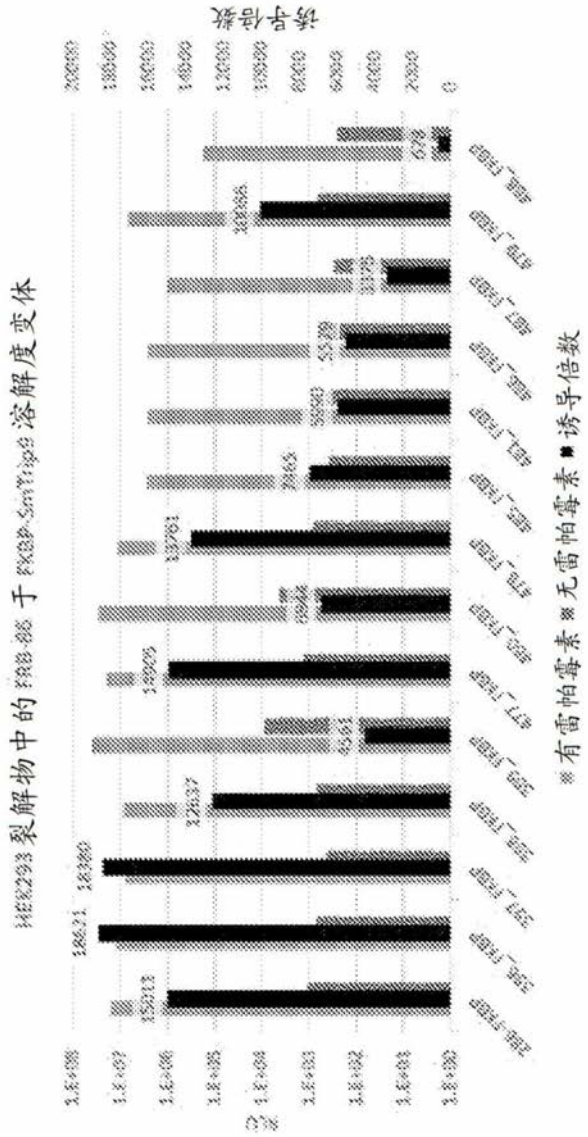
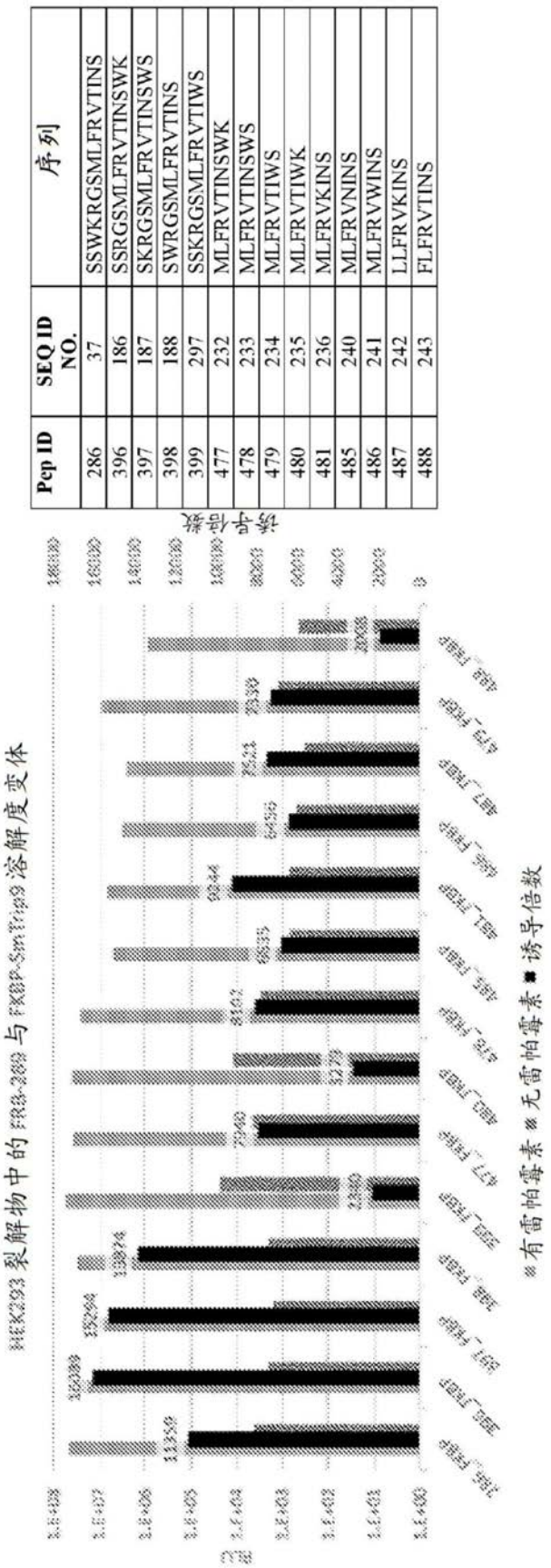


图68



Pep ID	SEQ ID NO.	序列
286	37	SSWKRGSMLFRVTINS
396	186	SSRGSMLFRVTINSWK
397	187	SKRGSMLFRVTINSWS
398	188	SWRGSMLFRVTINS
399	297	SSKRGSMLFRVTIWS
477	232	MLFRVTINSWK
478	233	MLFRVTINSWS
479	234	MLFRVTIWS
480	235	MLFRVTIWK
481	236	MLFRVKINS
485	240	MLFRVNINS
486	241	MLFRVWINS
487	242	LLFRVKINS
488	243	FLFRVTINS

图69

Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
286	37	SSWKRGSMLFRVTINS
434	187	SKRGSMLFRVTINSWS
435	188	SWRGSMLFRVTINS
477	232	MLFRVTINSWK
478	233	MLFRVTINSWS
479	234	MLFRVTIWS
480	235	MLFRVTIWK
481	236	MLFRVKINS
482	237	GSMLFRVTINSWS
483	238	GSMLFRVKINS
484	239	GSMLFRTIWS

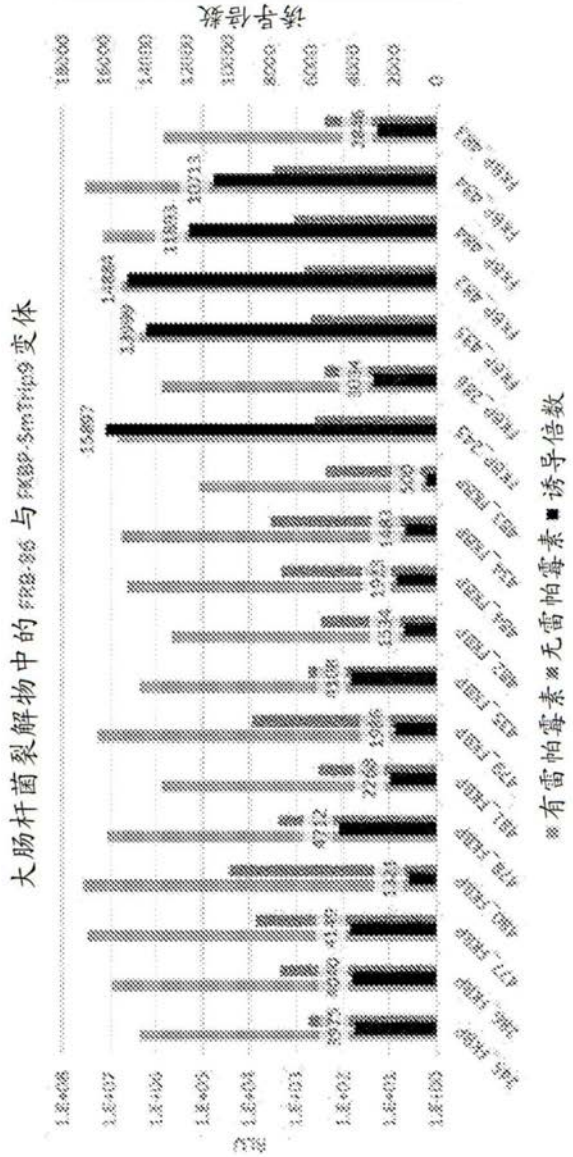


图70

Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
286	37	SSWKRGSMLFRVTINS
434	187	SKRGSMLFRVTINSWS
435	188	SWRGSMLFRVTINS
477	232	MLFRVTINSWK
478	233	MLFRVTINSWS
479	234	MLFRVTIWS
480	235	MLFRVTIWK
481	236	MLFRVKINS
482	237	GSMLFRVTINSWS
483	238	GSMLFRVKINS
484	239	GSMLFRTIWS

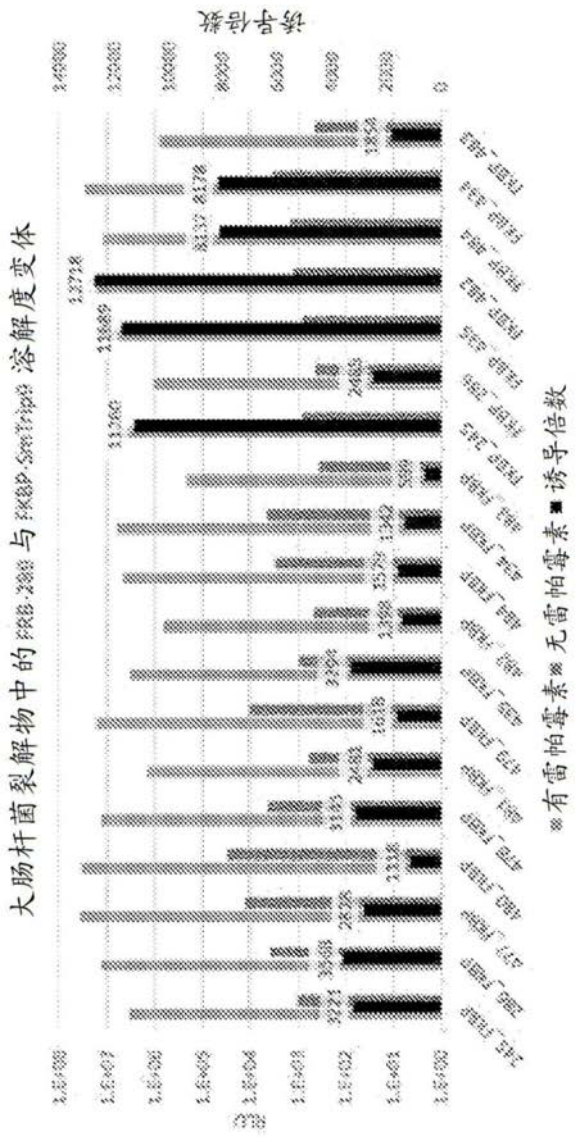


图71

Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
286	37	SSWKRGSMLFRVTINS
434	187	SKRGSMLFRVTINSWS
435	188	SWRGSMLFRVTINS
477	232	MLFRVTINSWK
478	233	MLFRVTINSWS
479	234	MLFRVTIWS
480	235	MLFRVTIWK
481	236	MLFRVKINS
482	237	GSMLFRVTINSWS
483	238	GSMLFRVKINS
484	239	GSMLFRTIWS

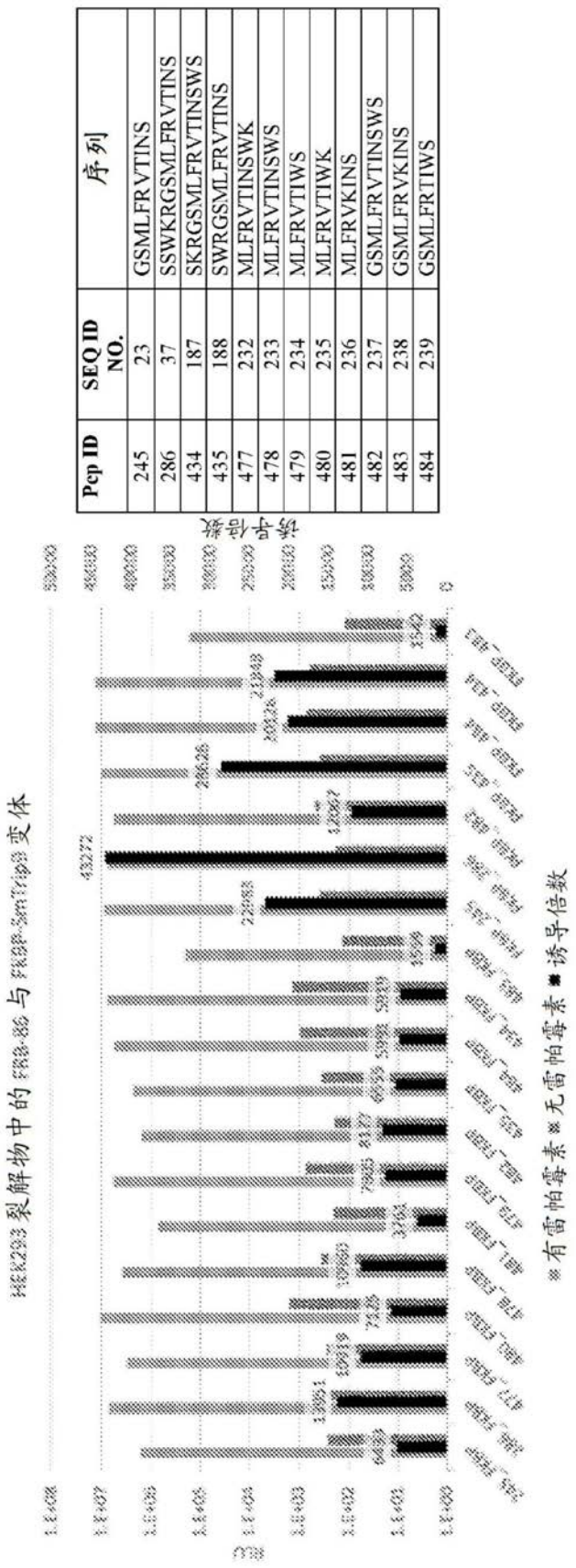


图72

Pep ID	SEQ ID NO.	序列
245	23	GSMLFRVTINS
286	37	SSWKRGSMLFRVTINS
434	187	SKRGSMLFRVTINSWS
435	188	SWRGSMLFRVTINS
477	232	MLFRVTINSWK
478	233	MLFRVTINSWS
479	234	MLFRVTIWS
480	235	MLFRVTIWK
481	236	MLFRVKINS
482	237	GSMLFRVTINSWS
483	238	GSMLFRVKINS
484	239	GSMLFRTIWS

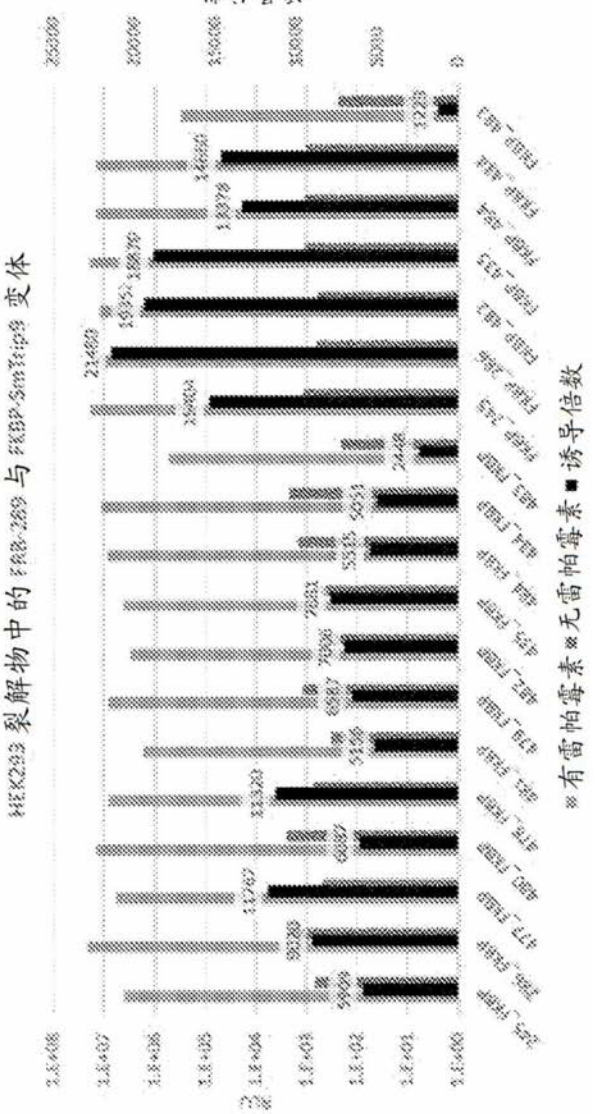


图73

Pep ID	序列	合成 SmTrip9 变体的生化分析 以 uM 为单位表示的 SmTrip9 Kd (以 RLU 为单位表示的 Bmax)	以 uM 为单位表示的 HiBiT Kd (以 RLU 为单位表示的 Bmax)
286	SSWKRGSMLFRVTINS	0.10 (2.47E7)	4.05 (2.76E7)
416	MLFRVTINSVSGWR	3.54 (9.38E6)	29.88 (1.13E7)
417	MLFRVTINSVSGWK	1.15 (1.30E7)	19.56 (1.68E7)
422	GSMLFRVTINSVSGWR	0.24 (2.05E7)	4.91 (2.48E7)
423	GSMLFRVTINSVSGWK	0.18 (2.09E7)	3.48 (2.52E7)
434	GSMLFRVTIWK	0.03 (2.35E7)	0.52 (2.38E7)
435	GSMLFRVTINSWK	0.28 (2.27E7)	6.11 (2.34E7)

图74

合成 SmTrip9 变体的生化分析

Pep ID	序列	SmTrip9 Kd (uM)	Bmax (RLU)
286	SSWKRGSMLFRVTINS	0.10	2.47E7
412	SSWKRMLFRVTINSVSG	0.11	2.24E7
413	SSWKRMLFRVTINSVSGW	0.15	2.20E7
414	SSWKRMLFRVTINSVSGWR	0.16	2.27E7
415	SSWKRMLFRVTINSVSGWK	0.18	2.34E7
418	SSWKRGSMLFRVTINSVSG	0.31	2.20E7
419	SSWKRGSMLFRVTINSVSGW	0.33	2.03E7
420	SSWKRGSMLFRVTINSVSGWR	0.29	2.27E7
421	SSWKRGSMLFRVTINSVSGWK	0.26	2.38E7
424	SSWKRGSYLFRVTINS	3.33	4.03E6
425	SSWKRGSMLFRVKINS	0.85	2.19E7
426	SSWKRGSMLFRVRINS	0.29	1.76E7
427	SSWKRGSMLFRVWINS	0.23	2.46E7
428	SSKRGSMLFRVTIWSV	0.04	2.38E7
430	SSWRGSMLFRVTIKS	0.28	2.35E7
431	KRSSGSMLFRVTIWS	0.03	2.38E7
432	SSKRMLFRVTIWS	0.01	2.39E7
433	KRSSMLFRVTIWS	0.02	2.56E7
422	GSMLFRVTINSVSGWR	0.24	2.05E7
423	GSMLFRVTINSVSGWK	0.18	2.09E7
434	GSMLFRVTIWK	0.03	2.35E7
435	GSMLFRVTINSWK	0.28	2.27E7
492	GSMLFRVTINKWK	0.71	1.89E07
493	GSMLFRVTIKSWK	0.47	2.19E07
494	GSMLFRVTINRWK	0.86	1.93E07
495	GSMLFRVTIRSWK	0.48	1.98E07
496	GSMLFRVTINDWK	2.17	9.85E06
497	GSMLFRVTIDSWK	5.25	1.76E07
498	GSMLFRVTINEWK	1.02	1.22E07
499	GSMLFRVTIESWK	4.25	1.71E07

图75

Pep ID	序列	SmTrip3 Kd (uM)	Emax (RLU)
286	$SWARGSMLFRVTDNS	0.30	2.75E7
445	*GSMRFRVTDNSWK	1.02	1.81E7
450	*GSMLFRKTDNSWK	1.14	4.92E4
455	*GSMLFRVTKDSWK	0.95	3.57E4
436	*GSMLFRVTDNS	0.24	2.48E7
437	*GSMLFRVSDNS	0.33	2.32E7
438	*GSMLFRVNDNS	5.67	2.48E7
439	*GSKLFRVTDNS	9.86	3.92E5
440	*GSRLFRVTDNS	0.01	1.35E4
441	*GSMWFRVTDNS	6.15	9.89E6
442	*GSMSFRVTDNS	7.03	1.79E7
443	*GSMNFRVTDNS	8.97	5.31E6
444	*GSMRFRVTDNS	0.73	1.69E7
446	*GSMLFRWTDNS	0.31	7.35E4
447	*GSMLFRSTDNS	4.84	8.92E5
448	*GSMLFRNTDNS	3.96	1.47E5
449	*GSMLFRETDNS	0.32	2.26E4
451	*GSMLFRVTWNS	2.34	5.51E5
452	*GSMLFRVTSNS	9.89	1.32E6
453	*GSMLFRVTRNS	14.56	2.51E6
454	*GSMLFRVTKNS	0.21	2.60E4
456	*GSMLFRVTDKS	0.67	2.56E7
489	*GSMLFRVTDNSWK	0.51	1.38E07
490	GSMLFRVTDNSWK*	12.49	8.55E06
491	*GSMLFRVTDNSWK*	0.26	1.33E07
465	*GSMRFRVTDNSWK*	10.57	1.42E7
466	*GSMQFRVTDNSWK*	0.66	4.43E4
467	*GSMEFRVTDNSWK*	NA	NA
468	*GSMLFRETDNSWK*	NA	1.27E4
469	*GSMLFRQTDNSWK*	NA	1.29E4
470	*GSMLFRETDNSWK*	NA	1.36E4
472	*GSMLFRVTQNSWK*	0.09	2.60E4
473	*GSMLFRVTENSWK*	0.02	1.70E4
474	*GSMRFRVTDNSWK*	0.24	1.35E7
475	*GSMLFRETDNSWK*	1.97	1.84E5
476	*GSMLFRVTKNSWK*	0.97	5.63E4

*末端未封闭，NA=不适用

图76

合成[illegible]肽的溶解度

Pep ID	序列	溶解度※
286	SSWKRGSMLFRVTINS	Y
293	SSWKRMLFRVTINS	N
297	SSWKRMLFRVTINSV	Y
302	SSWKRMLFRVTINSVS	Y
305	SSWKRGSMLFRVTIN	Y
306	SSWKRGSMLFRVTI	Y
307	SSWKRGMLFRVTIN	Y
308	SSWKRMLFRVTIN	N
312	SSWKRMLFRVTI	Y
396	SSRGSMLFRVTINSWK	Y
397	SKRGSMLFRVTINSWS	Y
398	SWRGSMLFRVTINS	Y
399	SSKRGSMLFRVTIWS	Y
400	SSRGSMLFRVTIWK	Y
401	SSWKRGSMLYRVTINS	Y
402	SSWKRGSMLWRVTINS	Y
403	SSWKRGSMLHRVTINS	Y
404	SSWKRGSLLFRVTINS	Y
405	SSWKRGSKLFRVTINS	Y
406	SSWKRGSMLFRVTINS	Y
407	SSWKRGSFLFRVTINS	Y
408	SSWKRGSWLFRVTINS	Y
409	SSWKRGSMLFRVSINS	Y
410	SSWKRGSMLFRVQINS	Y
411	SSWKRGSMLFRVNINS	Y
412	SSWKRMLFRVTINSVSG	Y
413	SSWKRMLFRVTINSVSGW	N
414	SSWKRMLFRVTINSVSGWR	Y
415	SSWKRMLFRVTINSVSGWK	Y
416	MLFRVTINSVSGWR	N
417	MLFRVTINSVSGWK	Y
418	SSWKRGSMLFRVTINSVSG	N
419	SSWKRGSMLFRVTINSVSGW	Y
420	SSWKRGSMLFRVTINSVSGWR	Y
421	SSWKRGSMLFRVTINSVSGWK	Y
422	GSMLFRVTINSVSGWR	Y
423	GSMLFRVTINSVSGWK	Y
424	SSWKRGSYLFRVTINS	Y
425	SSWKRGSMLFRVKINS	Y
426	SSWKRGSMLFRVRINS	Y
427	SSWKRGSMLFRVWINS	Y
428	SSKRGSMLFRVTIWSV	Y
430	SSWRGSMLFRVTIKS	Y
431	KRSGSMLFRVTIWS	Y
432	SSKRMLFRVTIWS	Y
433	KRSSMLFRVTIWS	Y
434	GSMLFRVTIWK	Y
435	GSMLFRVTINSWK	N
445	GSMKFRVTINSWK*	Y
450	GSMLFRKTINSWK*	Y
455	GSMLFRVTKNSWK*	Y

※多次冷冻/解冻后，于水中，约[illegible]

*末端未封闭

图77A

合成[illegible]肽的溶解度

Peptide	序列	溶解度*
521	GGMLFRVTINSWK	¥
522	GGMLFRVTINK	¥
523	GSMKFRVTINSWK	¥
524	GSMKFRVTINK	¥
525	GRMLFRVTINSWK	¥
526	GRMLFRVTINK	¥
527	GSMRFRVTINSWK	¥
528	GSMRFRVTINK	¥
529	GDMLFRVTINSWK	¥
530	GDMLFRVTINK	¥
531	GSMDFRVTINSWK	¥
532	GSMDFRVTINK	¥
533	GEMLFRVTINSWK	¥
535	GSMEFRVTINSWK	¥
536	GSMEFRVTINK	¥
538	GGMLFRVTINKVK	¥
539	GGMLFRVTINSVK	¥
540	GSMLFRVTINSK	¥
541	GSMLFRVTINKWK	¥
542	GSMLFRVTINKK	¥
436	*GSMLFRVTINS	¥
437	*GSMLFRVSINS	¥
438	*GSMLFRVNINS	¥
439	*GSKLFRVTINS	¥
440	*GSRLFRVTINS	¥
441	*GSMWFRVTINS	¥
442	*GSMSFRVTINS	¥
443	*GSMNFRVTINS	¥
444	*GSMKFRVTINS	¥
445	*GSMLFRWTINS	¥
447	*GSMLFRSTINS	¥
448	*GSMLFRNTINS	¥
449	*GSMLFRKTINS	¥
451	*GSMLFRVTWNS	¥
452	*GSMLFRVTSNS	¥
453	*GSMLFRVTNNS	¥
454	*GSMLFRVTKNS	¥
456	*GSMLFRVTIKS	¥
489	*GSMLFRVTINSWK	¥
490	GSMLFRVTINSWK*	¥
491	*GSMLFRVTINSWK*	¥
465	*GSMKFRVTINSWK*	¥
466	*GSMDFRVTINSWK*	¥
467	*GSMEFRVTINSWK*	¥
468	*GSMLFRRTINSWK*	¥
469	*GSMLFRDTINSWK*	¥
470	*GSMLFRETINSWK*	¥
472	*GSMLFRVTDNSWK*	¥
473	*GSMLFRVTENSWK*	¥
474	*GSMKFRVTINSWK*	¥
475	*GSMLFRKTINSWK*	¥
476	*GSMLFRVTKNSWK*	¥

*多次冷冻/解冻后，于水中，约[illegible]

*末端未封闭

图77B

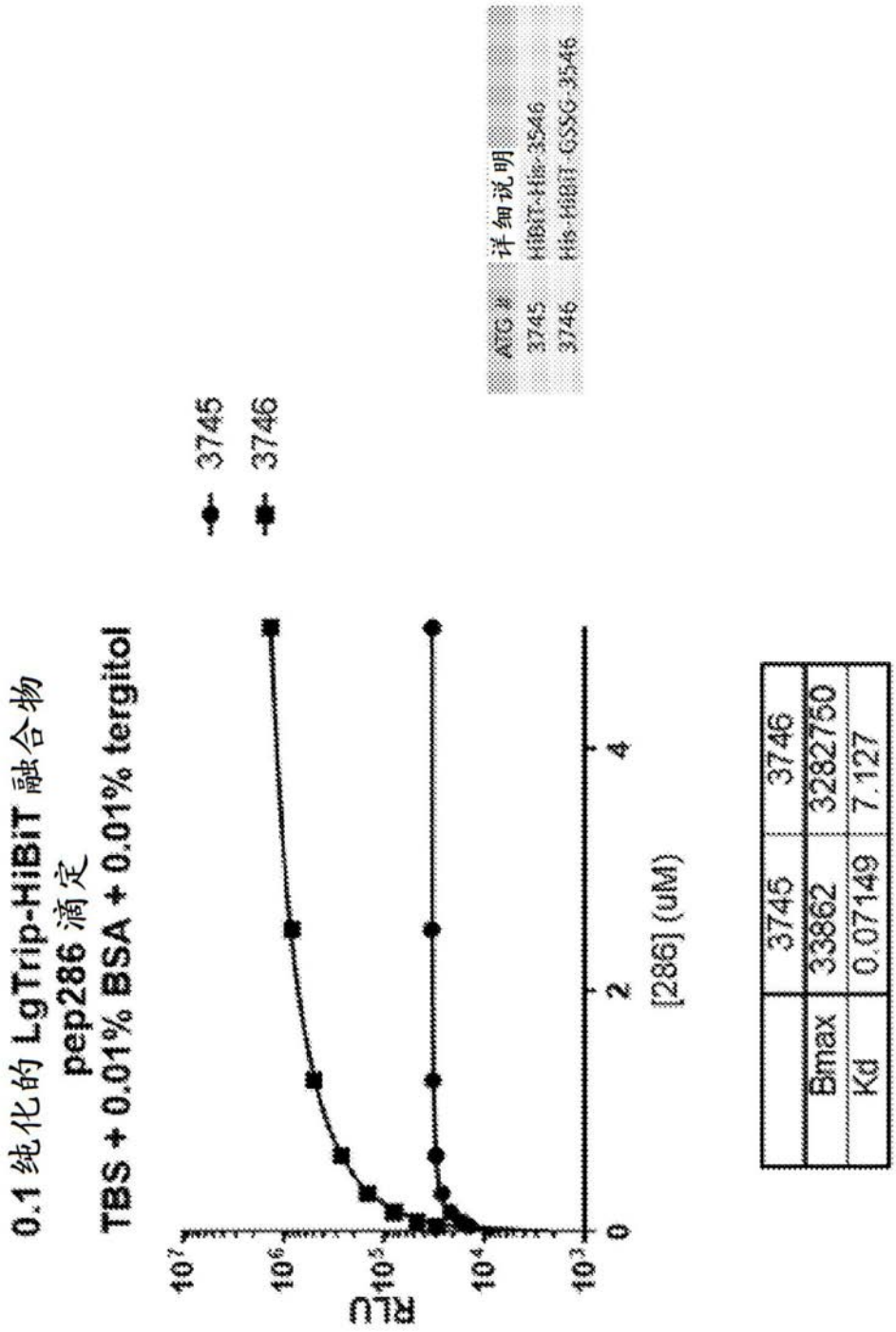

0.1 纯化的 LgTrip-HiBiT 融合物
pep286 滴定
TBS + 0.01% BSA + 0.01% tergitol
3745
3746
RLU
[286] (uM)
ATG # 详细说明
3745 HiBiT-His-3546
3746 His-HiBiT-GSSG-3546
3745 3746
Bmax 33862 3282750
Kd 0.07149 7.127

图78A

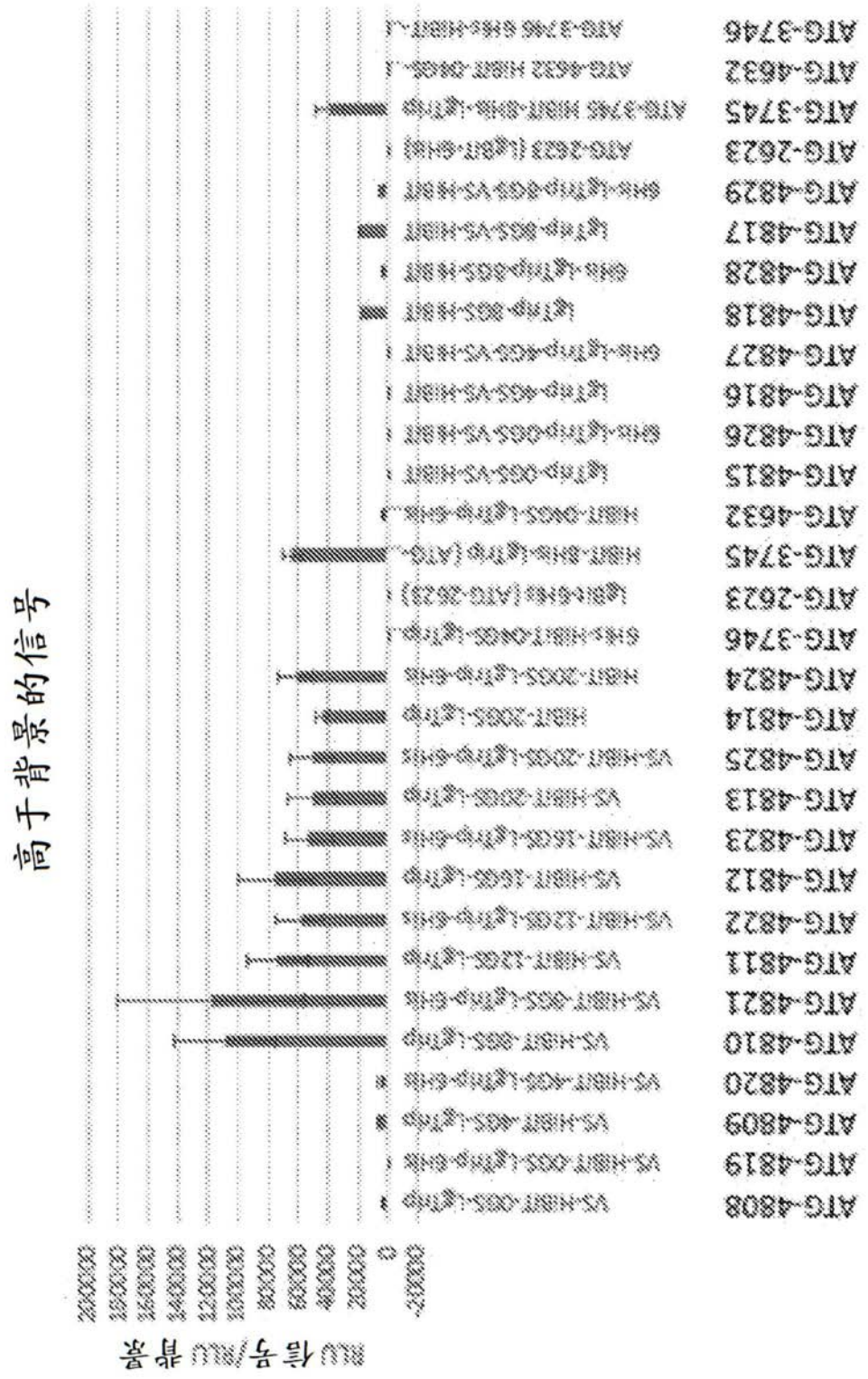

ATG-4808
ATG-4819
ATG-4809
ATG-4820
ATG-4810
ATG-4821
ATG-4811
ATG-4822
ATG-4812
ATG-4823
ATG-4813
ATG-4825
ATG-4814
ATG-4824
ATG-3746
ATG-2623
ATG-3745
ATG-4632
ATG-4815
ATG-4826
ATG-4816
ATG-4827
ATG-4818
ATG-4828
ATG-4817
ATG-4829
ATG-2623
ATG-3745
ATG-4632
ATG-3746
高于背景的信号
RLU 信号/RLU 背景

图78B

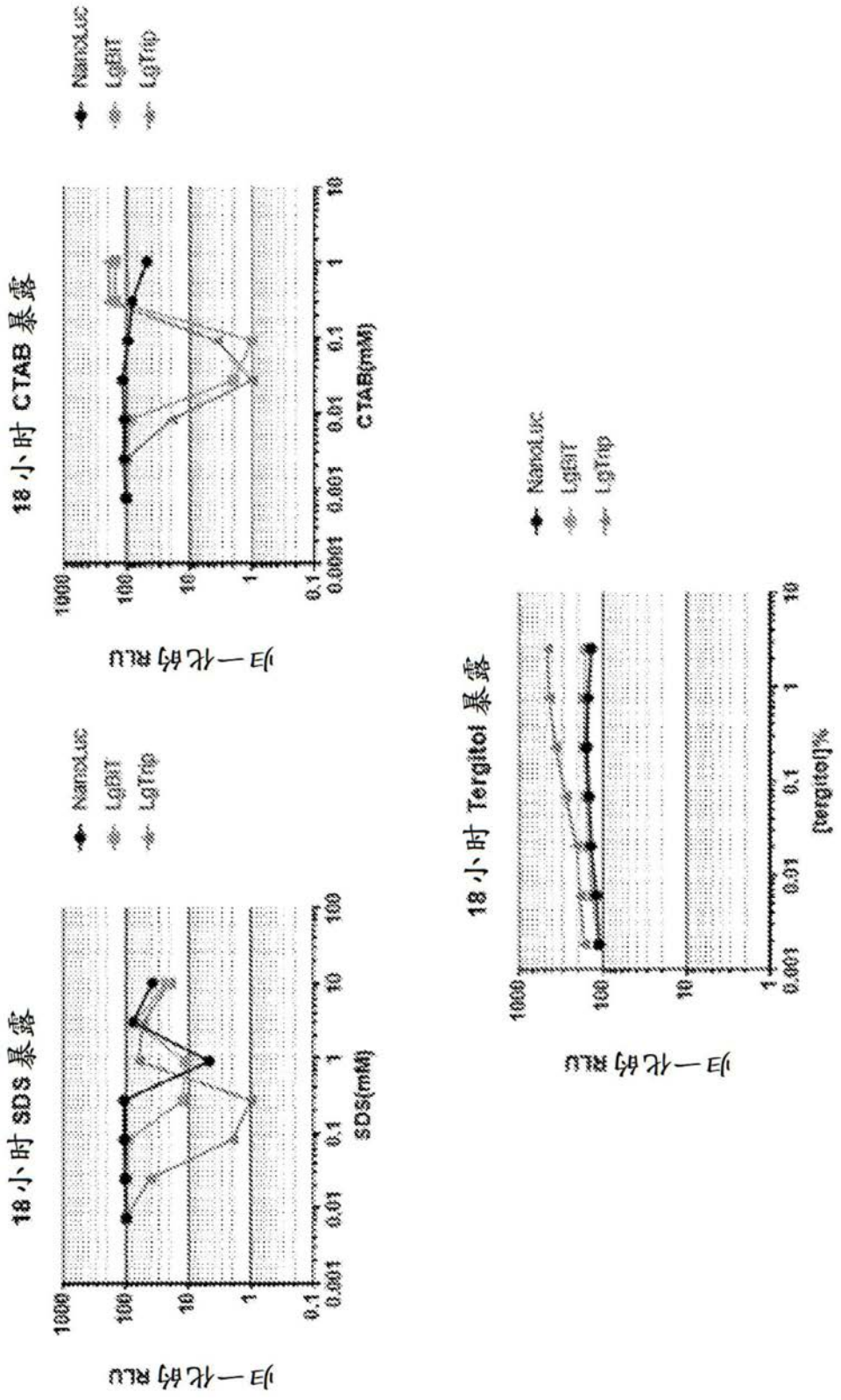

18小时 SDS 暴露
18小时 CTAB 暴露
18小时 Tergitol 暴露
NanoLuc
LgBiT
LgTrip
发光的 RLU
SDS(mM)
CTAB(mM)
Tergitol%

图79

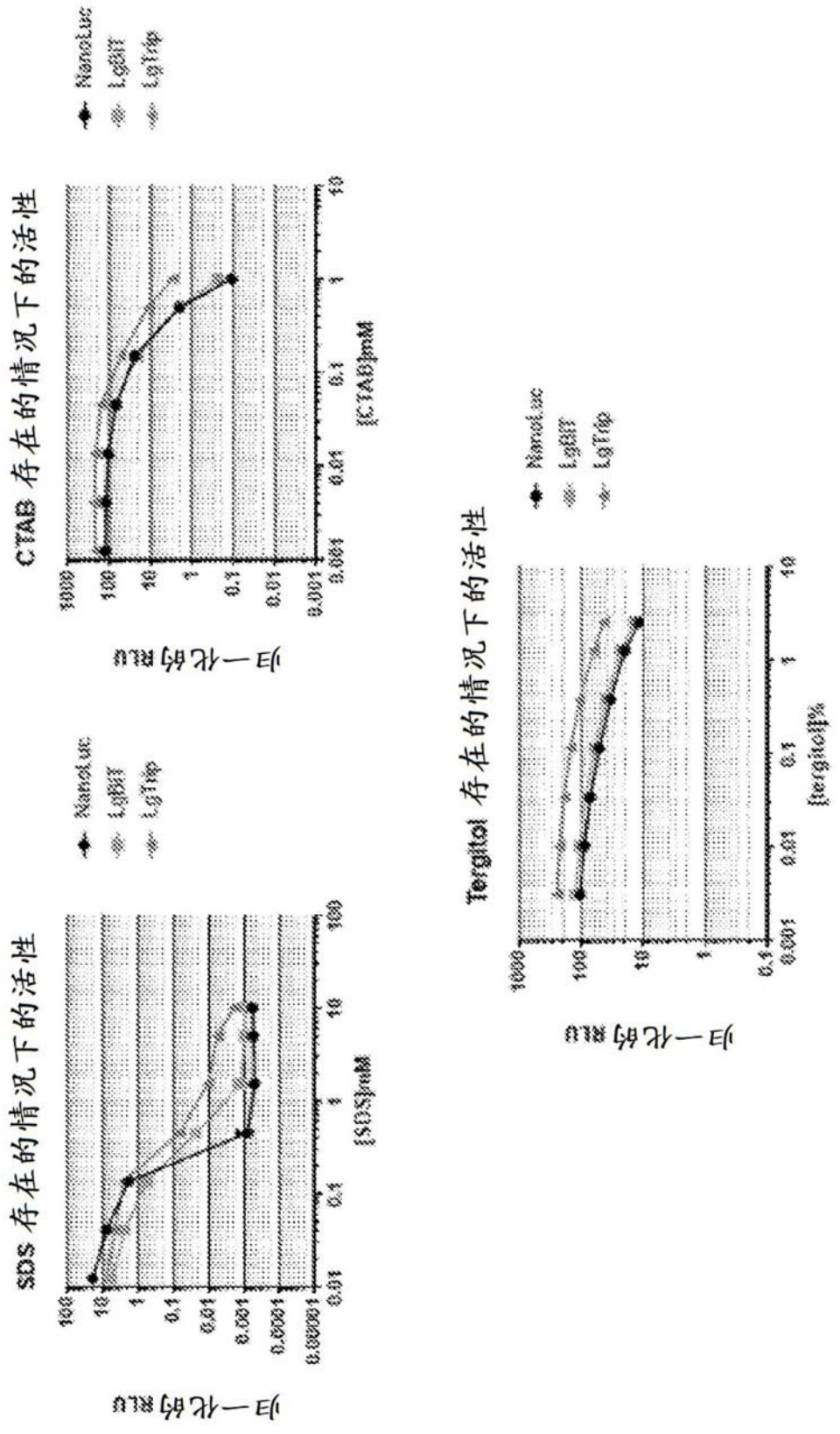

SDS 存在的情况下的活性
CTAB 存在的情况下的活性
Tergitol 存在的情况下的活性
Nanoluc
LgBiT
LgTrip
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
0.0001
0.00001
0.000001
0.001
0.01
0.1
1
10
100
{SDS}mM
{CTAB}mM
{Tergitol}%

图80

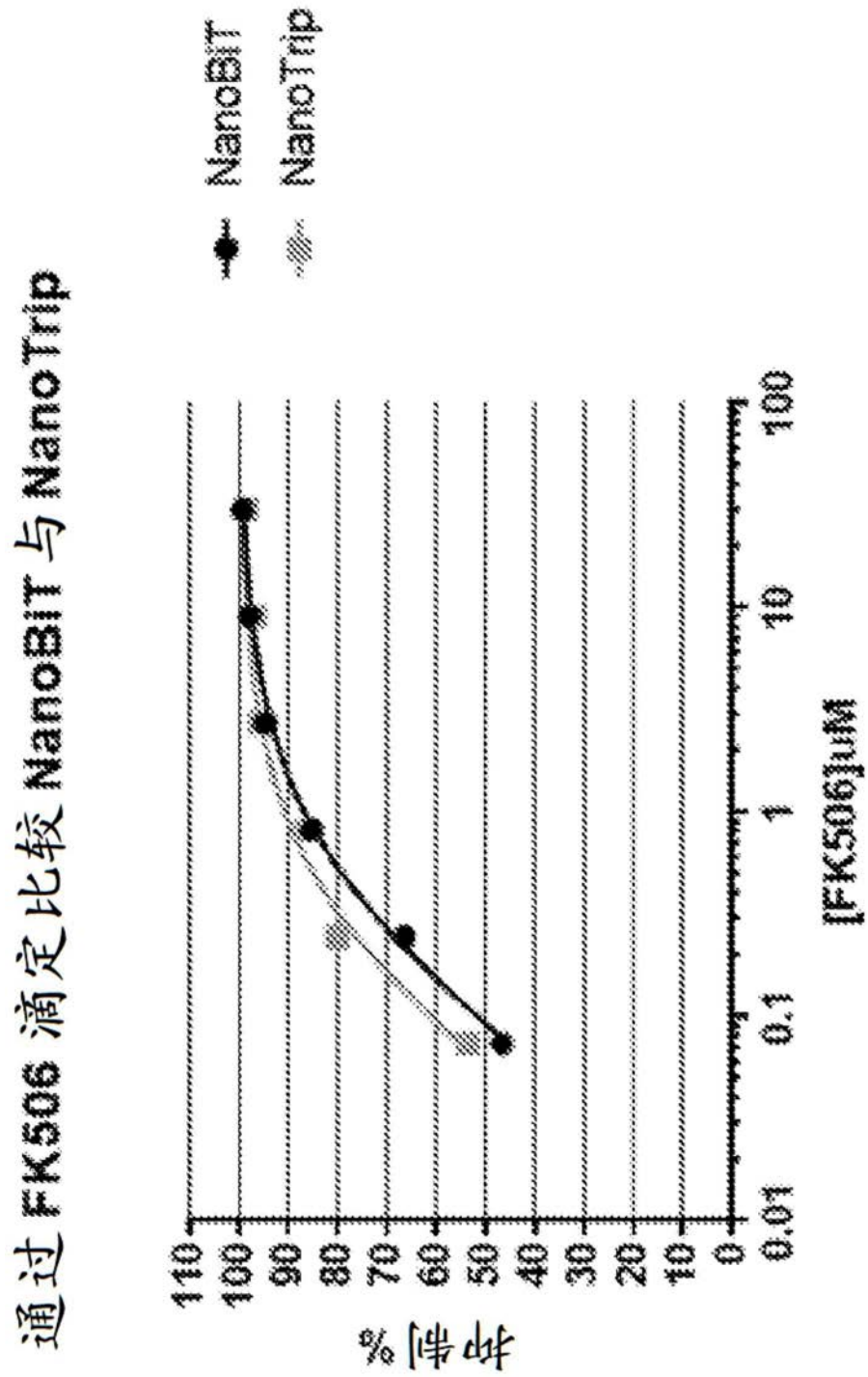

通过 FK506 滴定比较 NanoBiT 与 NanoTrip
NanoBiT
NanoTrip
抑制 %
110
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
0.01
0.1
1
10
100
[FK506]uM

图81

平板	序列	肽#			归一化的	归一化的
1	HBIT	85	0.9119	2.27E+07	1.00	1.00
1	VS	289	0.3166	2.40E+07	0.35	1.10
1	VA	359	0.539	2.46E+07	0.59	1.13
1	VC	360	0.4754	2.23E+07	0.52	1.02
1	VD	361	0.3357	1.95E+07	0.37	0.90
1	VE	362	0.5682	2.28E+07	0.62	1.05
1	VF	363	0.4271	2.21E+07	0.47	1.02
1	VG	364	0.6731	2.38E+07	0.74	1.09
1	VH	365	0.6095	2.08E+07	0.67	0.95
1	VI	366	0.3168	2.30E+07	0.35	1.06
1	VK	367	0.6666	2.37E+07	0.73	1.09
1	VL	368	0.4435	2.28E+07	0.49	1.05
2	HBIT	85	0.7969	1.93E+07	1.00	1.00
2	VS	289	0.28	2.04E+07	0.35	1.06
2	VM	369	0.3403	1.96E+07	0.43	1.02
2	VR	370	0.443	1.81E+07	0.56	0.93
2	VP	371	0.5216	1.90E+07	0.65	0.98
2	VQ	372	0.4074	1.80E+07	0.51	0.93
2	VR	373	0.3884	1.71E+07	0.49	0.89
2	VT	374	0.2813	1.75E+07	0.35	0.91
2	VV	375	0.218	1.85E+07	0.27	1.01
2	VW	376	0.2146	1.71E+07	0.27	0.93
2	VY	377	0.3069	1.70E+07	0.39	0.92
2	A	340	0.5031	1.84E+07	0.63	1.01
2	HBIT	85	0.8417	2.01E+07	1.00	1.00
2	VS	289	0.3146	2.23E+07	0.37	1.11
3	C	341	0.5508	1.98E+07	0.65	0.99
3	D	342	0.9654	1.98E+07	1.13	0.97
3	E	343	0.7359	2.07E+07	0.87	1.03
3	F	344	0.5474	2.06E+07	0.65	1.02
3	G	345	0.7112	2.11E+07	0.84	1.05
3	H	346	0.6066	1.92E+07	0.72	0.95
3	I	346	0.5149	2.01E+07	0.61	1.00
3	K	347	0.7829	1.95E+07	0.94	0.97
3	L	348	0.5383	1.86E+07	0.64	0.93
3	M	349	0.5321	1.92E+07	0.64	0.95
4	HBIT	85	0.8854	1.82E+07	1.00	1.00
4	VS	289	0.277	1.96E+07	0.33	1.08
4	N	83	0.657	1.73E+07	0.74	0.95
4	P	350	0.6638	1.78E+07	0.75	0.98
4	Q	351	0.5036	1.65E+07	0.57	0.91
4	R	352	0.6447	1.61E+07	0.73	0.88
4	T	353	0.4286	1.65E+07	0.48	0.91
4	W	354	0.2578	1.66E+07	0.29	0.91
4	Y	355	0.4013	1.48E+07	0.45	0.81
4	S	157	0.4579	1.55E+07	0.52	0.85
4	NS	158	0.2711	1.71E+07	0.31	0.94
4	225	225	0.6987	1.48E+07	0.79	0.83

图82

延伸	肽 ID	Kd (uM)	Bmax	归一化的 Kd	归一化的 Bmax
HiBiT	86	0.68	2.50E+07	1.00	1.00
VS	289	0.23	2.92E+07	0.34	1.17
AW	457	0.19	2.75E+07	0.29	1.10
GW	458	0.19	2.88E+07	0.27	1.15
SW	459	0.19	2.90E+07	0.28	1.16
LW	460	0.22	2.84E+07	0.32	1.14
IW	461	0.20	2.70E+07	0.30	1.08
CW	462	0.38	2.72E+07	0.57	1.09
WW	463	0.46	2.62E+07	0.68	1.05
YW	464	0.22	2.77E+07	0.33	1.11

图83

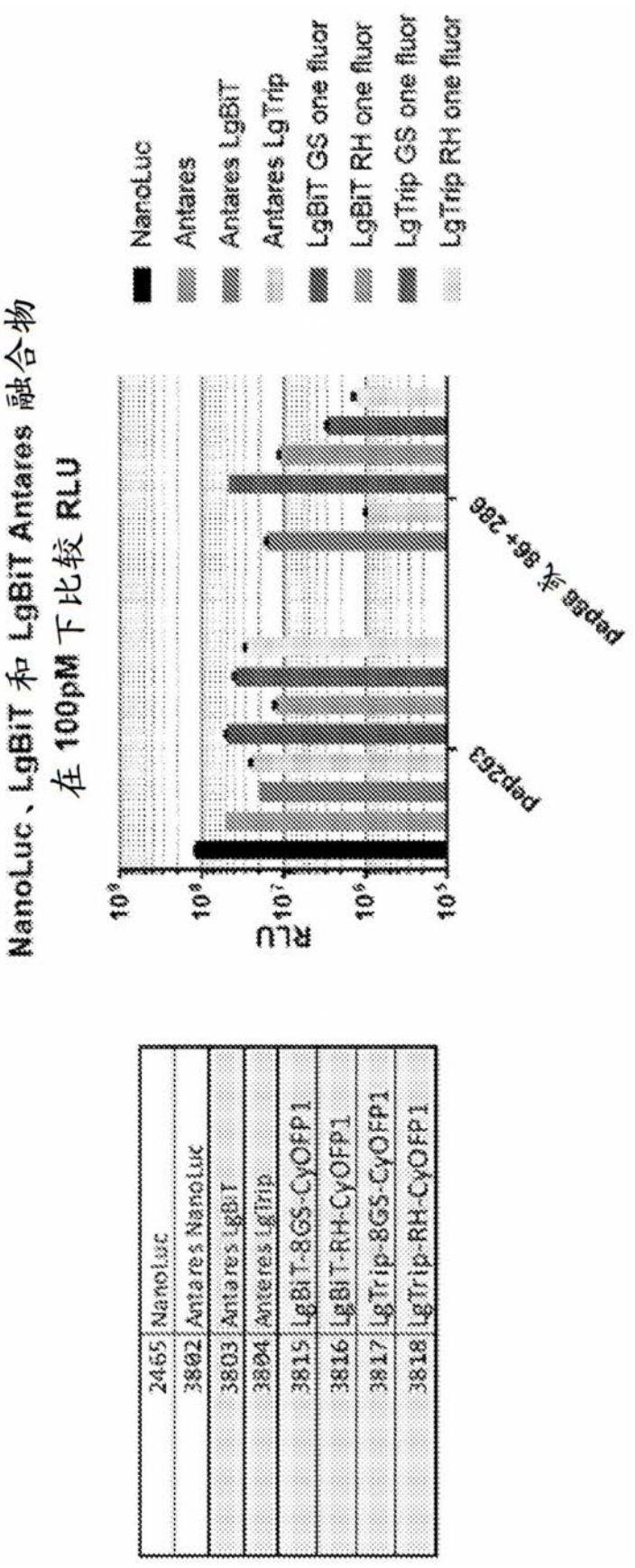

NanoLuc、LgBiT 和 LgBiT Antares 融合物
在 100pM 下比较 RLU
RLU
NanoLuc
Antares
Antares LgBiT
Antares LgTrip
LgBiT GS one fluor
LgBiT RH one fluor
LgTrip GS one fluor
LgTrip RH one fluor
pep263
pepbb 关 bb+288
2465 Nanoluc
3802 Antares Nanoluc
3803 Antares LgBiT
3804 Anteres LgTrip
3815 LgBiT-8GS-CyOFP1
3816 LgBiT-RH-CyOFP1
3817 LgTrip-8GS-CyOFP1
3818 LgTrip-RH-CyOFP1

图84

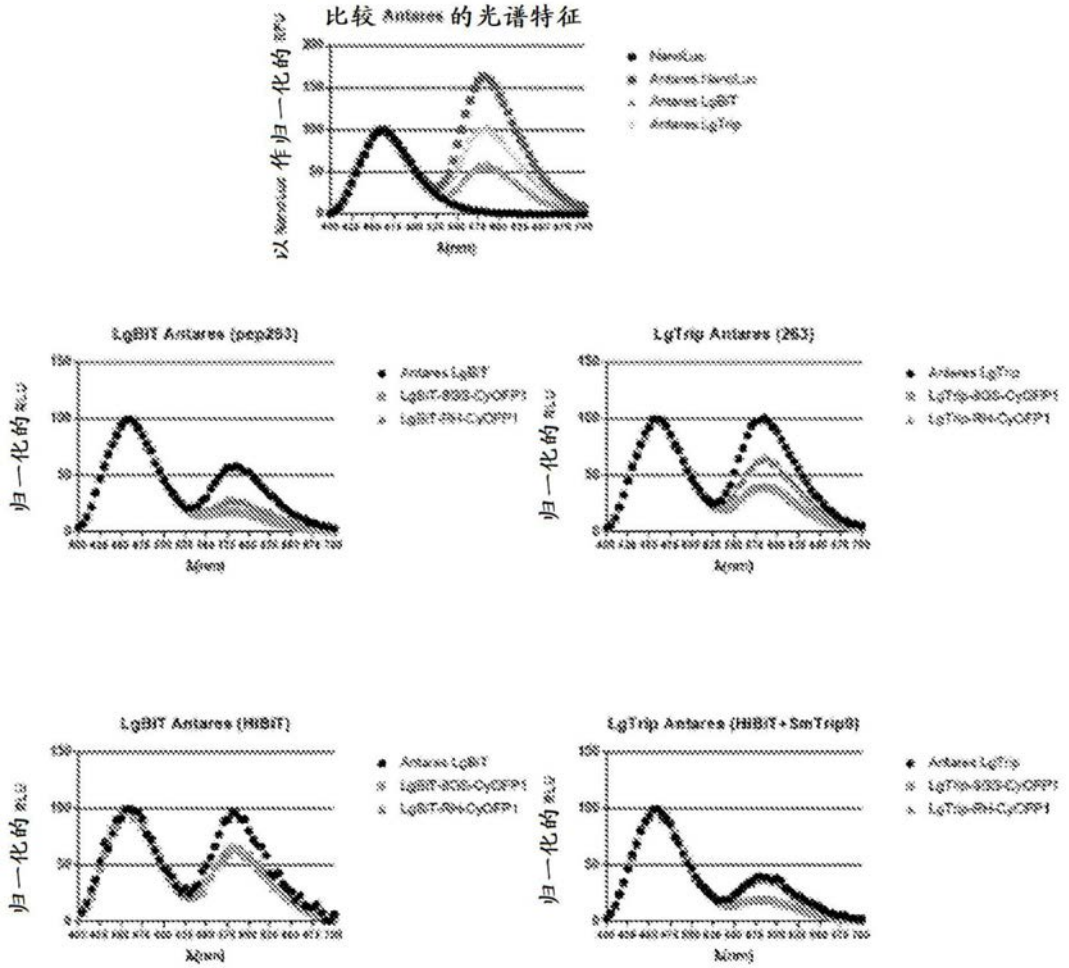

比较 Antares 的光谱特征
LgBiT Antares (pep253)
LgTrip Antares (253)
LgBiT Antares (HiBiT)
LgTrip Antares (HiBiT+SmTrip8)
归一化的
λ(nm)

图85

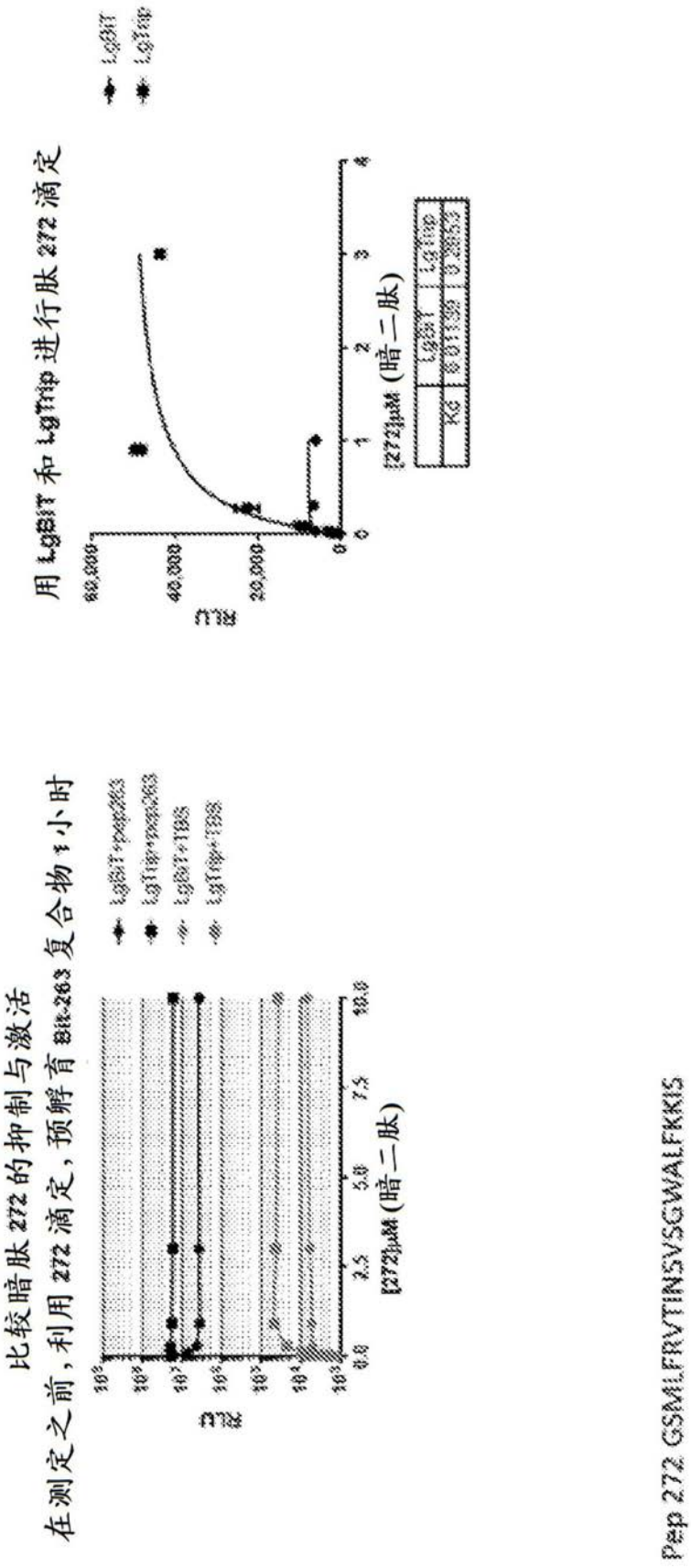

用 Lg2H7 和 LgTnp 进行肽 272 滴定
Lg2H7
LgTnp
60,000
40,000
20,000
0
1
2
3
4
[272]μM (暗二肽)
Lg2H7
LgTnp
Kd
0.011
0.2
比较暗肽 272 的抑制与激活
在测定之前，利用 272 滴定，预孵育 Bik-263 复合物 1 小时
Lg2H7+Bik263
LgTnp+Bik263
Lg2H7+Bik
LgTnp+Bik
0.0
2.5
5.0
7.5
10.0
[272]μM (暗二肽)
Pep 272 GSMLFRVTINSVSGWALFKKIS

图86

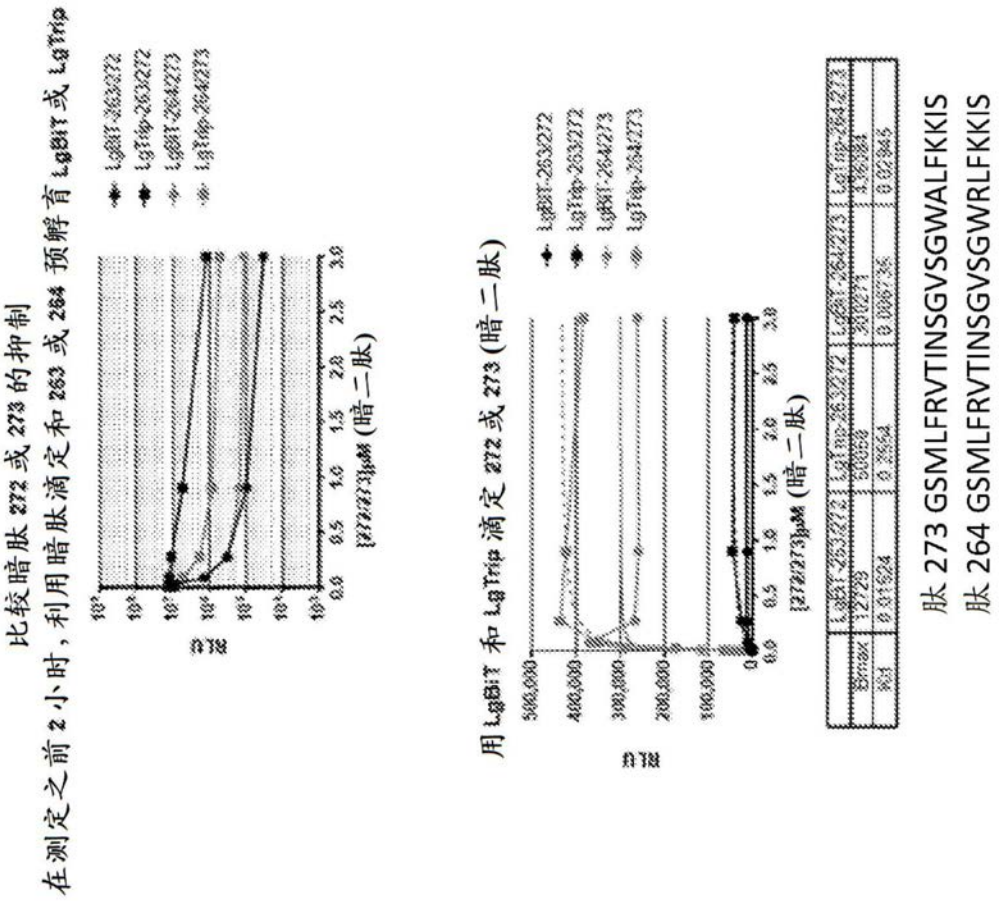

比较暗肽 272 或 273 的抑制
在测定之前 2 小时，利用暗肽滴定和 263 或 264 预孵育 LgBiT 或 LgTrip
LgBiT-263272
LgTrip-263272
LgBiT-264273
LgTrip-264273
[272/273]μM (暗二肽)
用 LgBiT 和 LgTrip 滴定 272 或 273 (暗二肽)
RLU
肽 273 GSMLFRVTINSGVSGWALFKKIS
肽 264 GSMLFRVTINSGVSGWRLFKKIS

图87

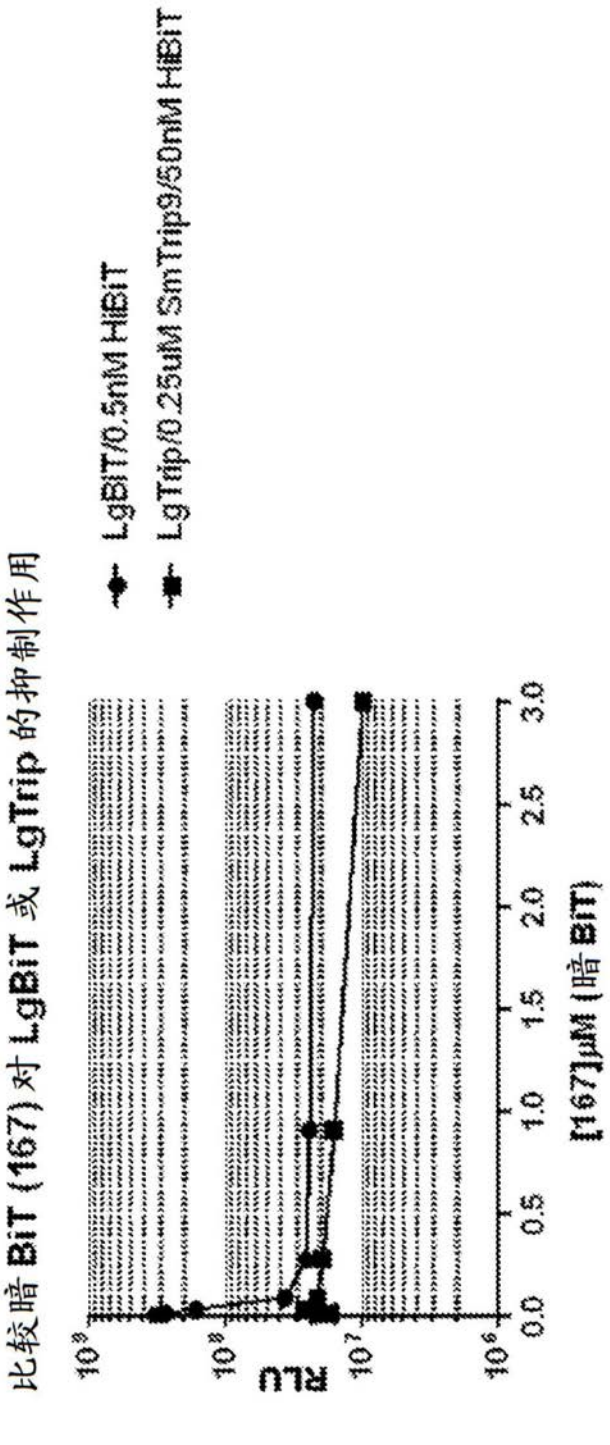

比较暗 BiT (167) 对 LgBiT 或 LgTrip 的抑制作用
LgBiT/0.5nM HiBiT
LgTrip/0.25uM SmTrip9/50nM HiBiT
RLU
[167]μM (暗 BiT)
肽 167 VSGWALFKKIS

图88

Pep ID	序列	SEQ ID NO.
245	GSMLFRVTINS	23
286	SSWKRGSMLFRVTINS	37
492	GSMLFRVTINKWK	313
493	GSMLFRVTIKSWK	314
521	GKMLFRVTINSWK	827
522	GKMLFRVTIWK	269
523	GSMKFRVTINSWK	270
524	GSMKFRVTIWK	271
538	GSMLFRVTIWKVK	283
541	GSMLFRVTIWKWK	286
542	GSMLFRVTIWKK	287

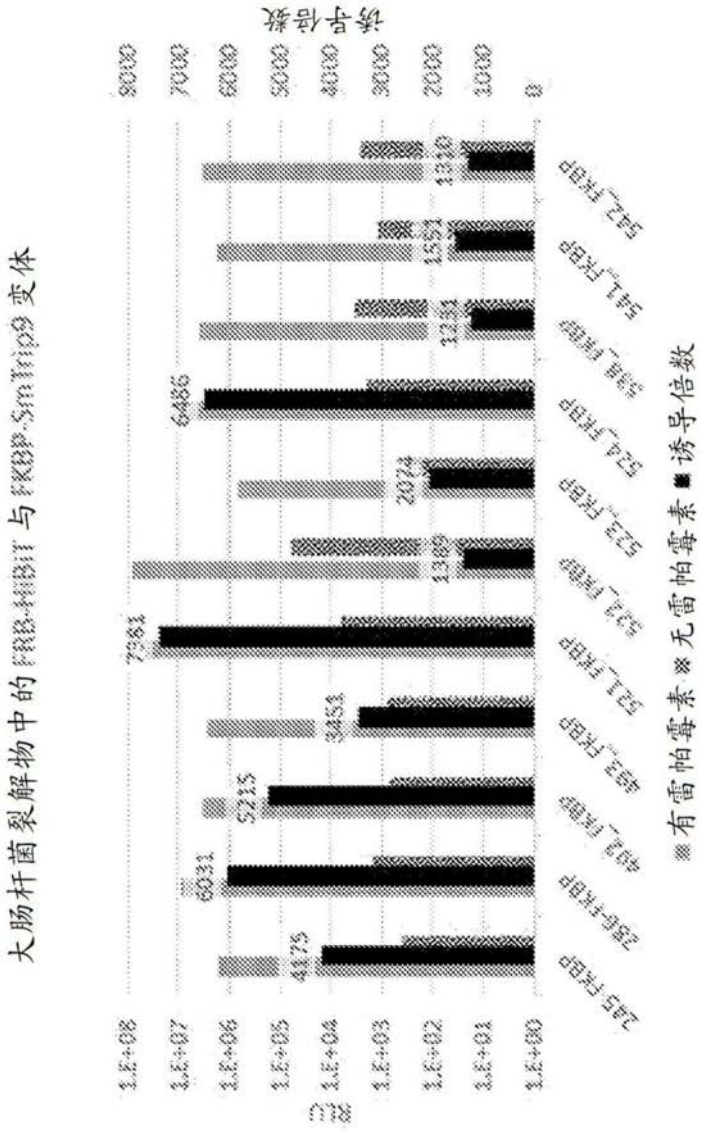


图89

Pep ID	序列	SEQ ID NO.
245	GSMLFRVTINS	23
286	SSWKRGSMLFRVTINS	37
435	GSMLFRVTINSWK	310
434	GSMLFRVTIWK	230
492	GSMLFRVTINKWK	313
493	GSMLFRVTIKSWK	314
521	GKMLFRVTINSWK	827
522	GKMLFRVTIWK	269
523	GSMKFRVTINSWK	270
524	GSMKFRVTIWK	271
538	GSMLFRVTIWKVK	283
541	GSMLFRVTIWKWK	286
542	GSMLFRVTIWKK	287

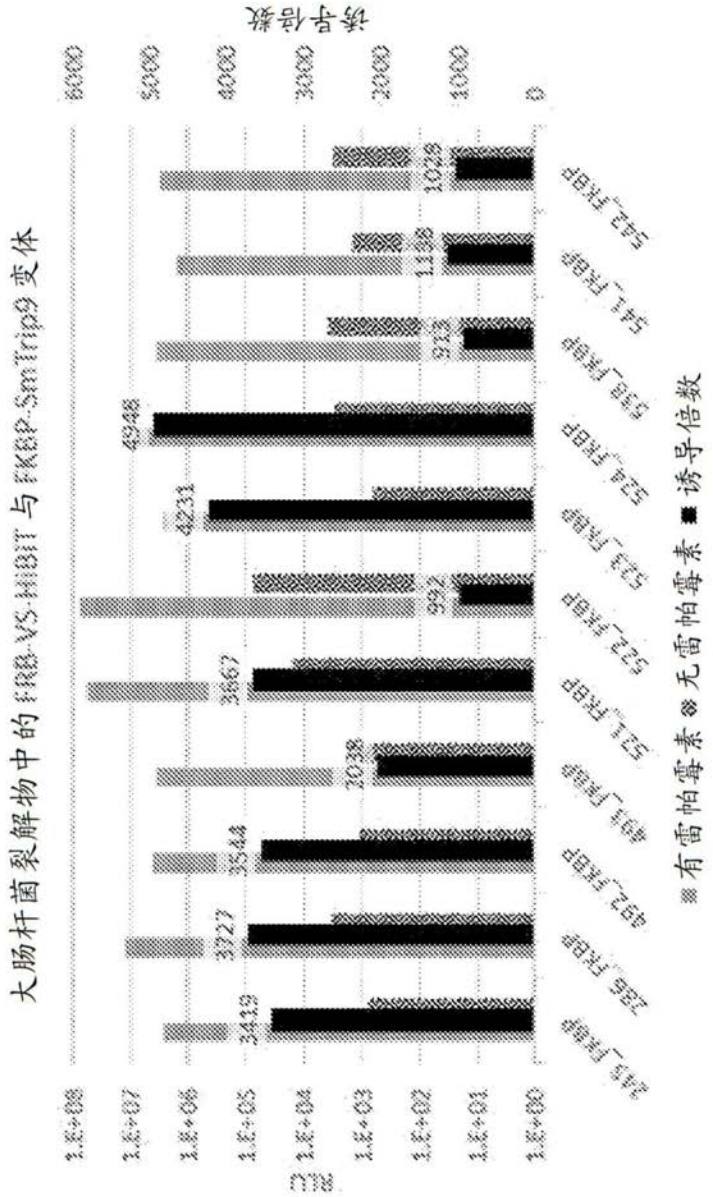


图90

Pep ID	序列	SEQ ID NO.
245	GSMLFRVTINS	23
286	SSWKRGSMLFRVTINS	37
435	GSMLFRVTINSWK	310
434	GSMLFRVTIWK	230
492	GSMLFRVTINKWK	313
493	GSMLFRVTIKSWK	314
521	GKMLFRVTINSWK	827
522	GKMLFRVTIWK	269
523	GSMKFRVTINSWK	270
524	GSMKFRVTIWK	271
538	GSMLFRVTIWKVK	283
541	GSMLFRVTIWKWK	286
542	GSMLFRVTIWKK	287

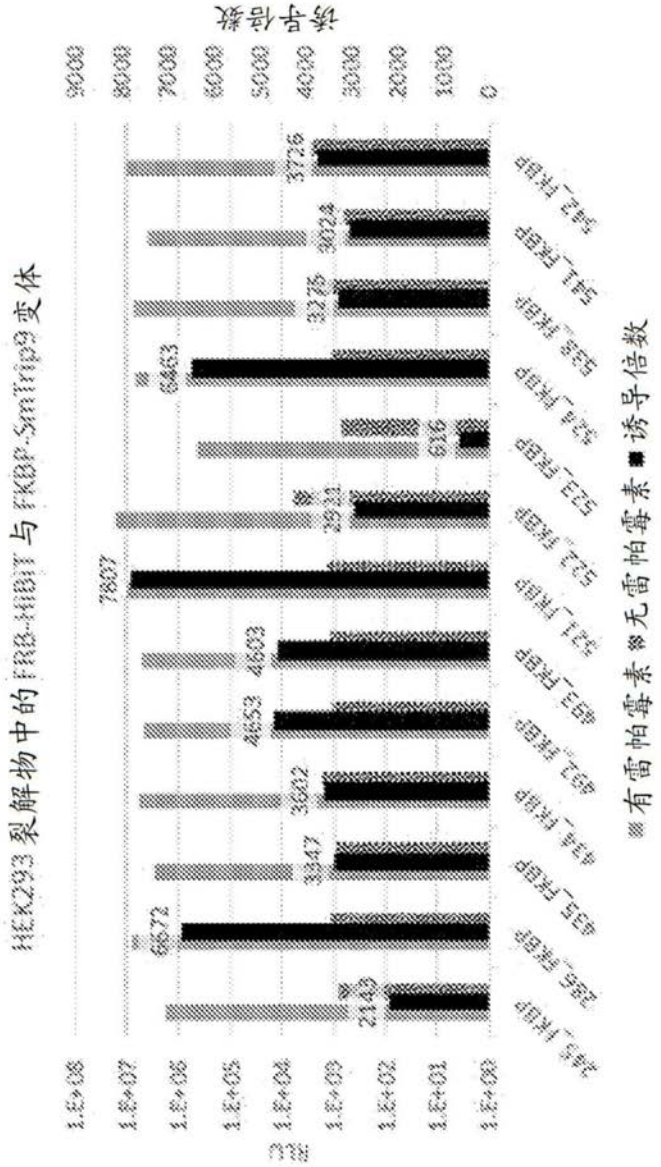


图91A

Pep ID	序列	SEQ ID NO.
245	GSMLFRVTINS	23
286	SSWKRGSMLFRVTINS	37
435	GSMLFRVTINSWK	310
434	GSMLFRVTIWK	230
492	GSMLFRVTINKWK	313
493	GSMLFRVTIKSWK	314
521	GKMLFRVTINSWK	827
522	GKMLFRVTIWK	269
523	GSMKFRVTINSWK	270
524	GSMKFRVTIWK	271
538	GSMLFRVTIWKVK	283
541	GSMLFRVTIWKWK	286
542	GSMLFRVTIWKK	287

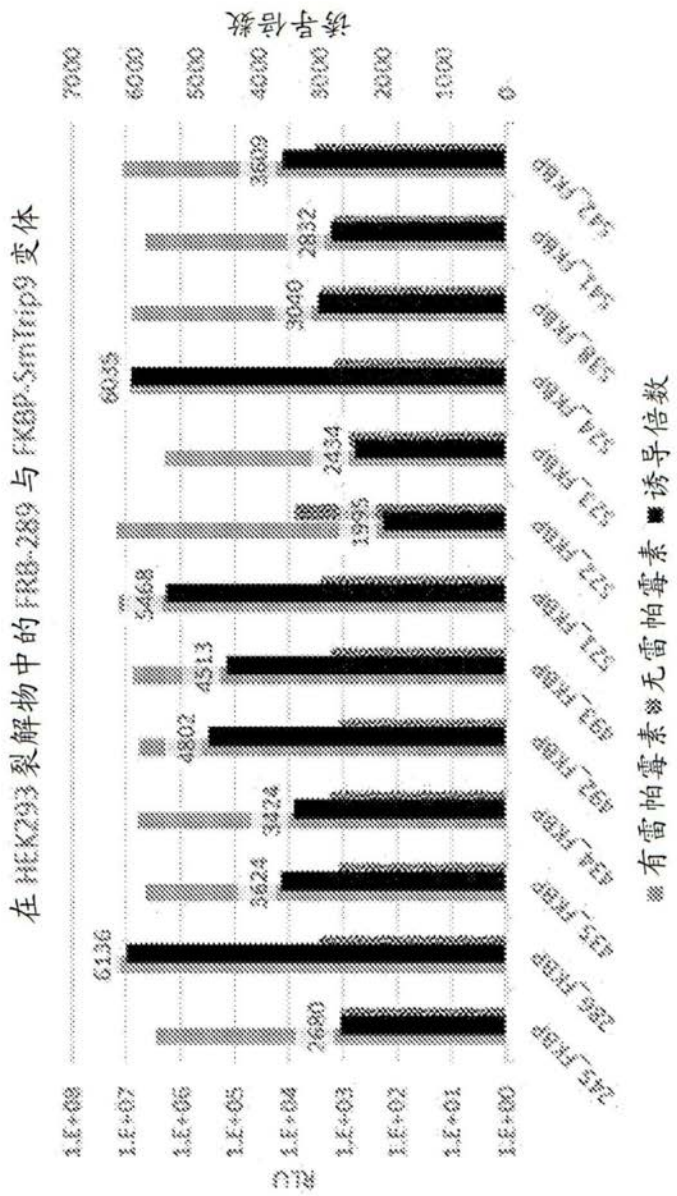


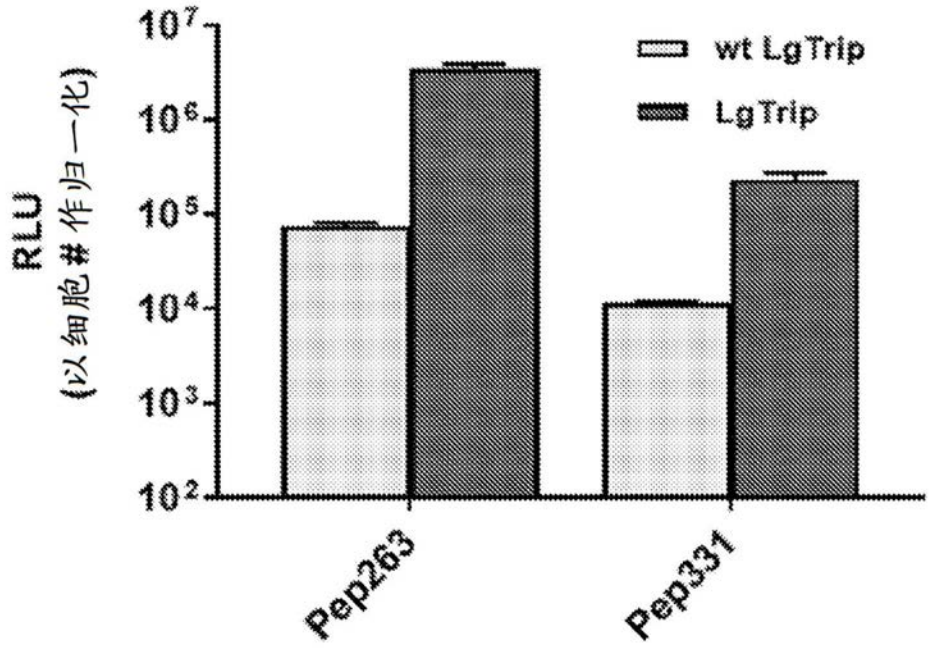
图91B

FKBP 构建体				FRB_289 + FKBP_SmTrip9			FRB_86 + FKBP_SmTrip9			FRB_229 + FKBP_SmTrip9		
ATG#	Pep ID	Pep 序列	SEQ ID NO.	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
3770	245	GSMLFRVTINS	23	0.53 +/- 0.04	0.24 +/- 0.02	2.26 +/- 0.11	0.41 +/- 0.03	0.16 +/- 0.01	2.53 +/- 0.07	0.21 +/- 0.01	0.10 +/- 0.01	2.21 +/- 0.34
3937	521	GKMLFRVTINSWK	827	1.00 +/- 0.04	1.00 +/- 0.07	1.00 +/- 0.04	0.85 +/- 0.02	0.70 +/- 0.01	1.21 +/- 0.05	0.49 +/- 0.03	0.48 +/- 0.03	1.02 +/- 0.13
4543	759	DKLLFTVTIEKYK	496	0.35 +/- 0.01	0.10 +/- 0.01	3.70 +/- 0.58	0.37 +/- 0.04	0.09 +/- 0.02	4.33 +/- 1.07	0.27 +/- 0.01	0.05 +/- 0.01	5.02 +/- 0.71
4792	823	EKLLFTVTIEKYK	596	0.21 +/- 0.09	0.08 +/- 0.00	2.47 +/- 0.99	0.24 +/- 0.09	0.06 +/- 0.02	4.13 +/- 0.37	0.17 +/- 0.06	0.05 +/- 0.00	3.30 +/- 0.93
4793	840	GKLLFTVTIEKYK	597	0.59 +/- 0.04	0.26 +/- 0.03	2.25 +/- 0.13	0.68 +/- 0.04	0.24 +/- 0.01	2.82 +/- 0.09	0.46 +/- 0.04	0.15 +/- 0.01	3.17 +/- 0.21

图92

合成 SmTrip9 变体的生化分析				
Pep ID	序列	SEQ ID NO.	SmTrip9 Kd (uM)	Bmax (RLU)
286	SSWKRGSMLFRVTINS	37	0.19	2.57E+07
434	GSMLFRVTIWK	230	0.13	2.49E+07
521	GKMLFRVTINSWK	268	0.55	2.50E+07
522	GKMLFRVTIWK	269	0.02	2.47E+07
523	GSMKFRVTINSWK	270	1.34	1.51E+07
524	GSMKFRVTIWK	271	0.14	2.51E+07
525	GRMLFRVTINSWK	272	0.37	2.37E+07
526	GRMLFRVTIWK	273	0.01	2.32E+07
527	GSMRFRVTINSWK	274	0.72	1.06E+07
528	GSMRFRVTIWK	275	0.11	2.19E+07
529	GDMLFRVTINSWK	276	2.60	4.05E+06
530	GDMLFRVTIWK	277	0.54	2.23E+07
531	GSMDFRVTINSWK	278	1.74	1.32E+07
532	GSMDFRVTIWK	279	0.43	4.43E+06
533	GEMLFRVTINSWK	280	0.34	5.26E+06
535	GSMEFRVTINSWK	281	0.95	8.56E+06
536	GSMEFRVTIWK	282	0.18	1.63E+07
538	GSMLFRVTIWKVK	283	0.12	2.28E+07
539	GSMLFRVTIWSVK	284	0.03	1.82E+07
540	GSMLFRVTIWSK	285	0.15	2.11E+07
541	GSMLFRVTIWKWK	286	0.13	1.76E+07
542	GSMLFRVTIWKK	287	0.07	2.35E+07

图93


RLU
(以细胞#作归一化)
10^7
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
wt LgTrip
LgTrip
Pep263
Pep331

通过Crispr将标签
引入GAPDH
Pep 263 G S M L F R V T I N S - - - V S G W R L F K K I S
Pep 331 G S M L F R V T I N S V S G V S G W R L F K K I S

图94

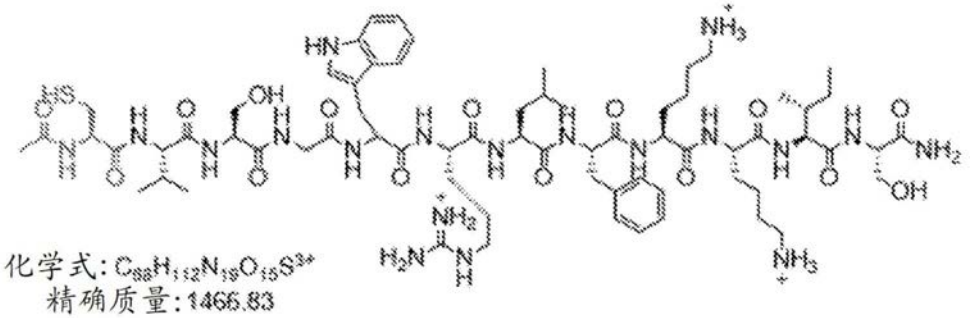
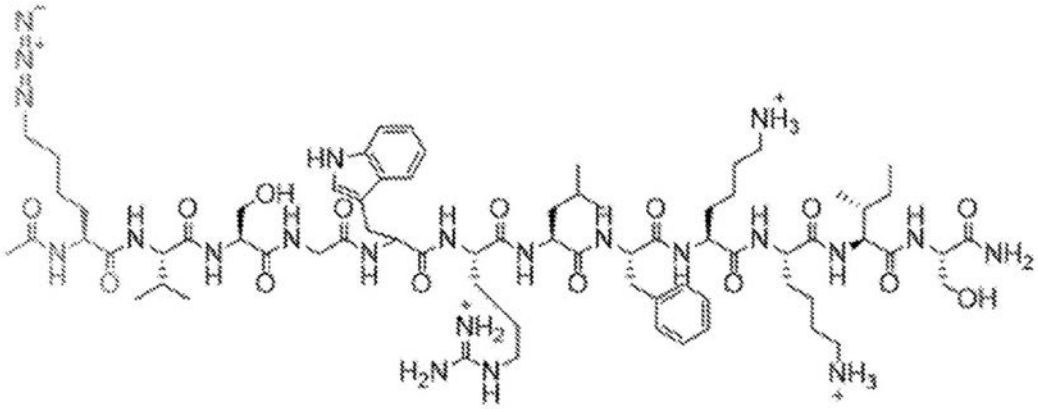
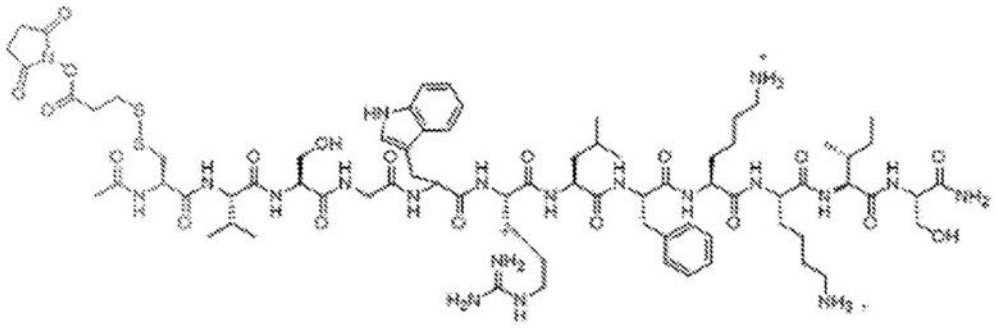

化学式: $C_{88}H_{132}N_{19}O_{15}S^{3+}$
精确质量: 1466.83

图95A



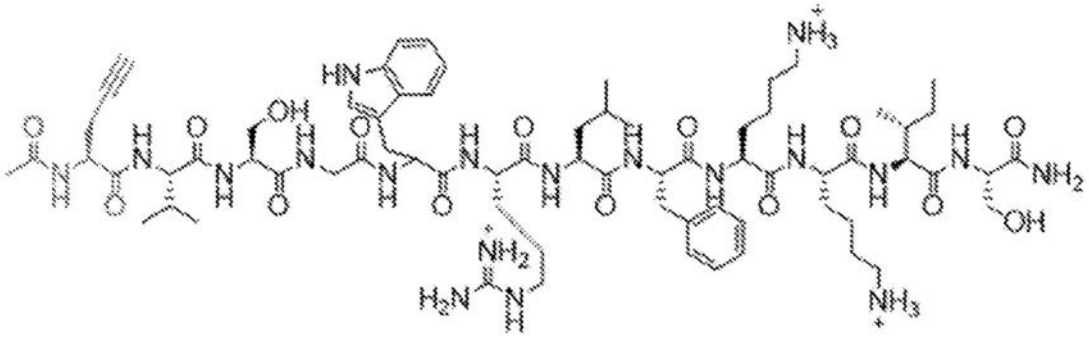
化学式: $C_{71}H_{117}N_{22}O_{15}^{3+}$
精确质量: 1517.91

图95B



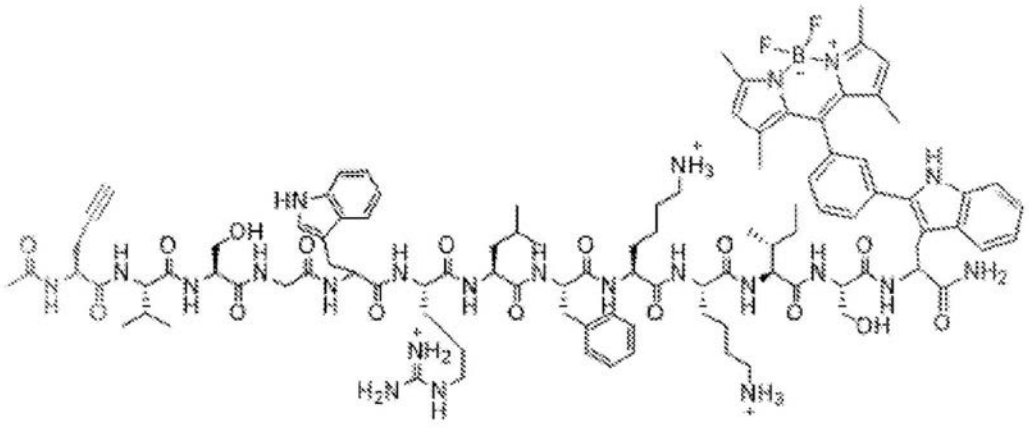
化学式: $C_{78}H_{119}N_{22}O_{18}S_2^{4+}$
精确质量: 1666.83

图95C



化学式: $C_{70}H_{112}N_{19}O_{15}^{3+}$
精确质量: 1458.86

图95D



化学式：$C_{100}H_{130}BF_2N_{23}O_{18}^{3+}$
精确质量：1967.08

图95E

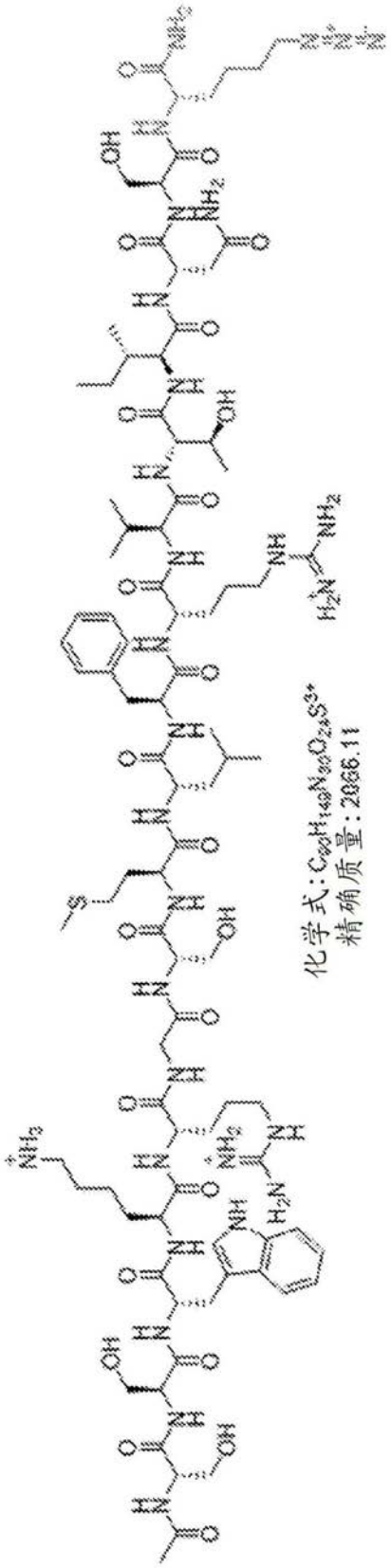


图96A

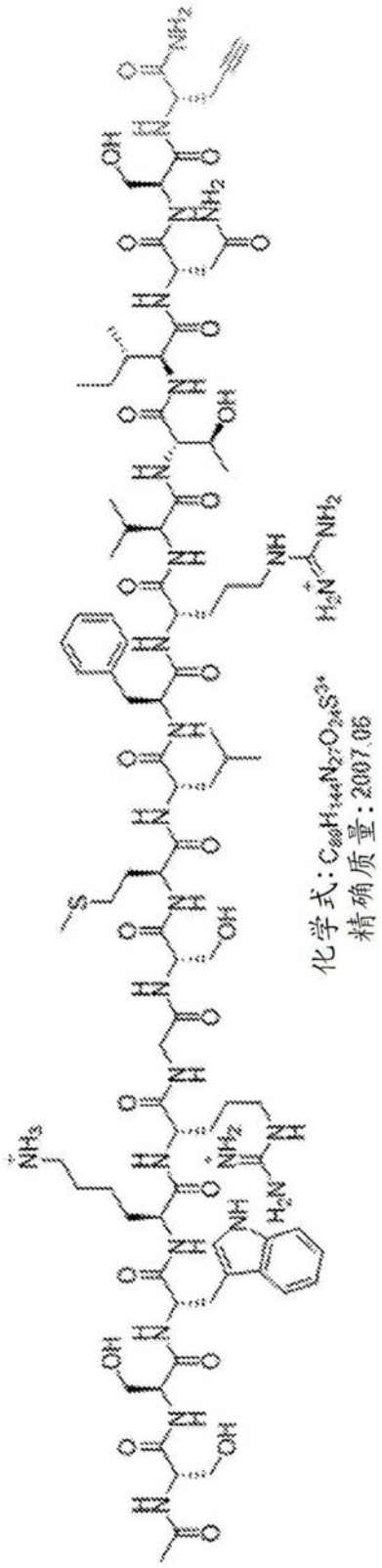


图96B

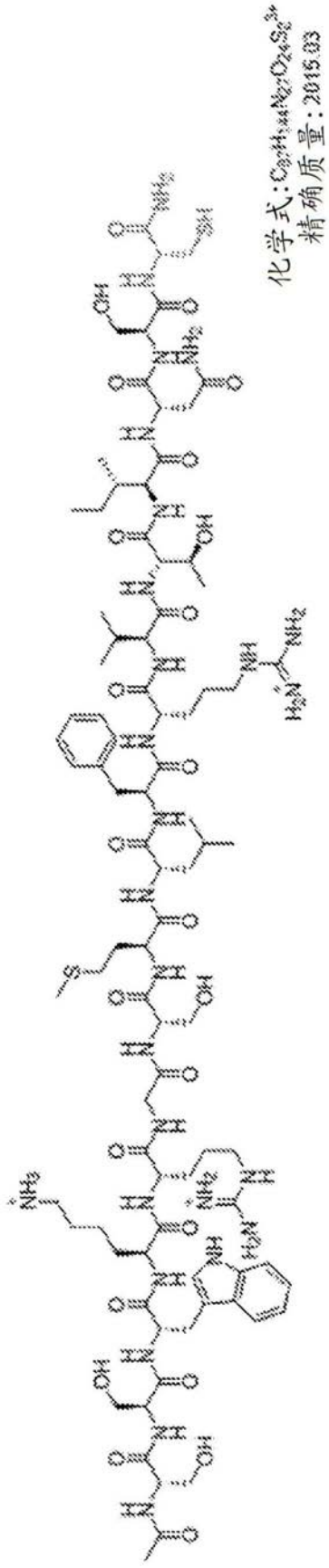


图96C

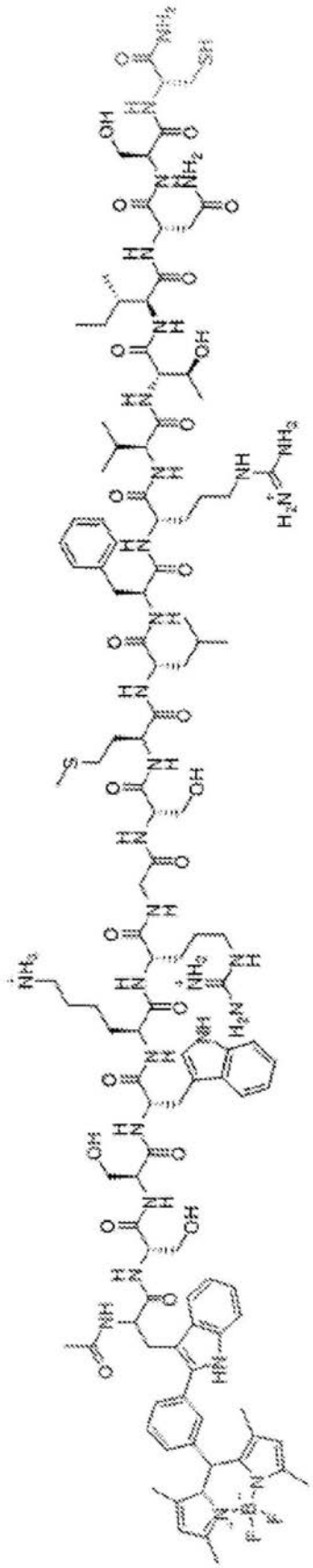


图96D

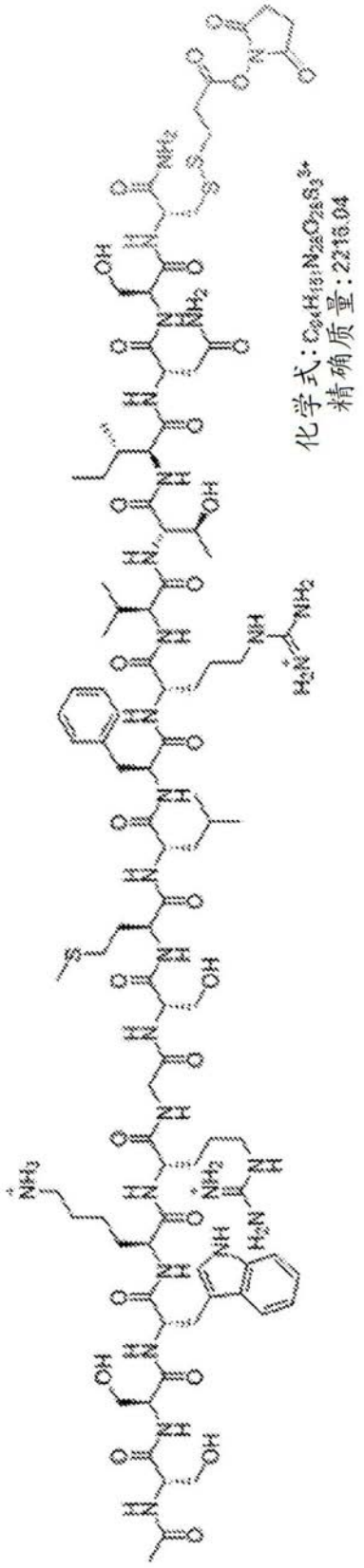


图96E

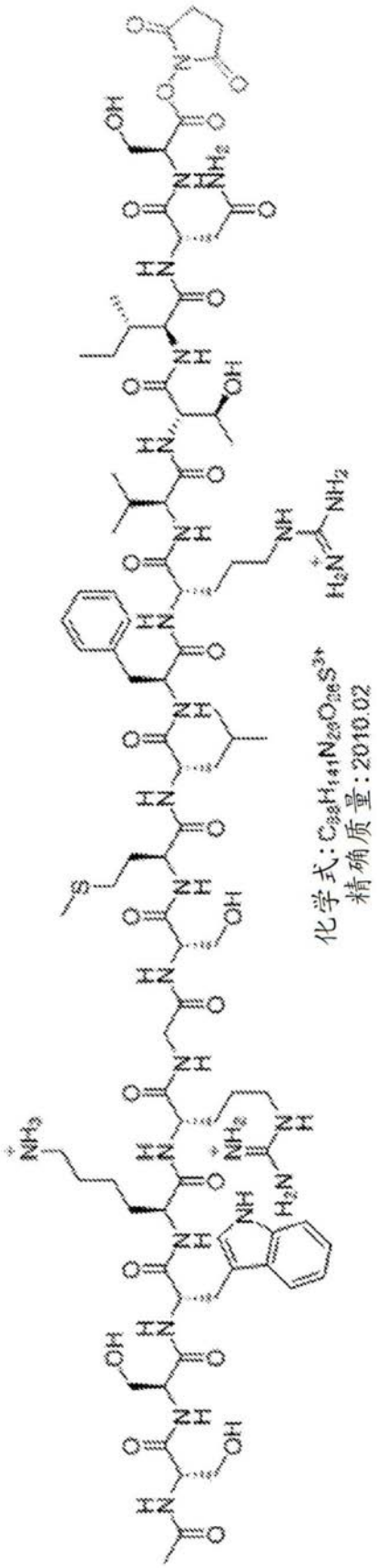


图96F

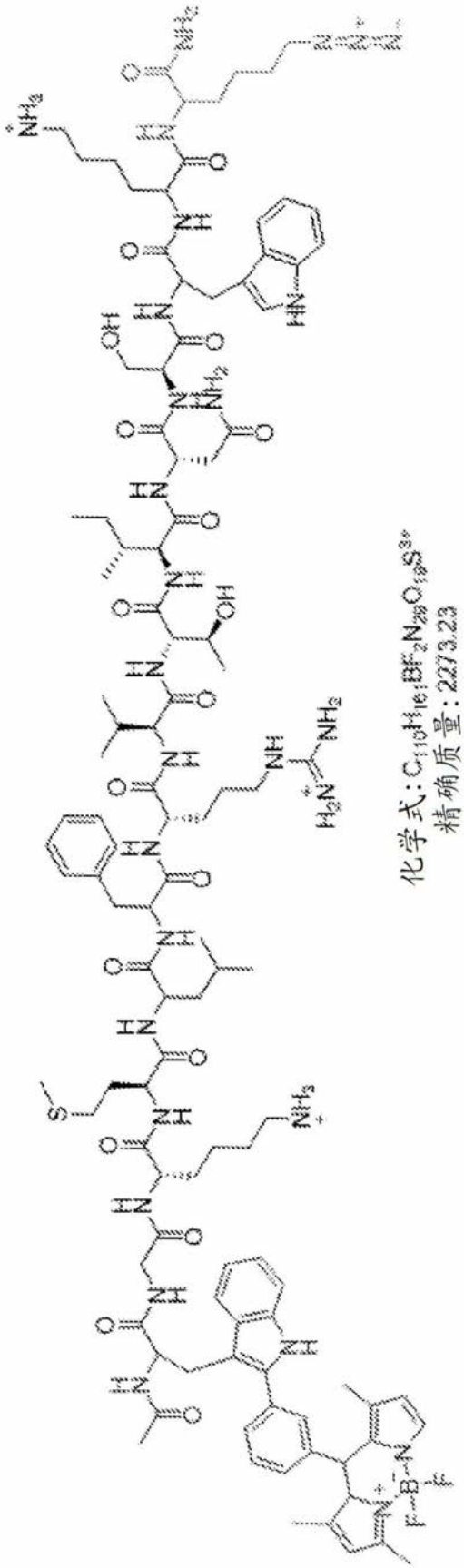


图97A

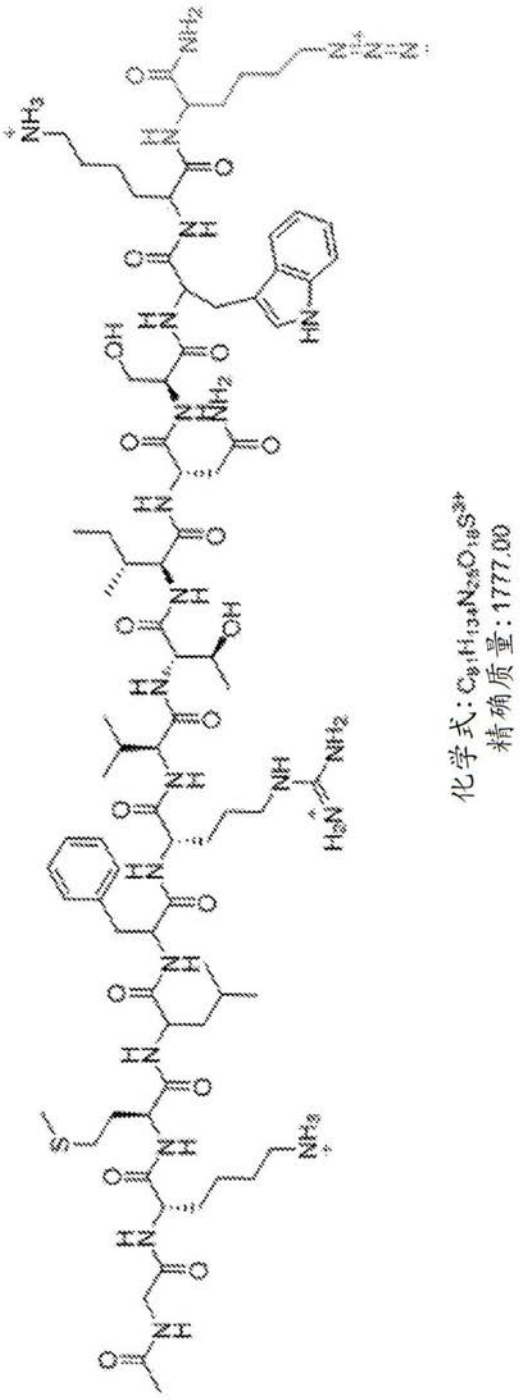


图97B

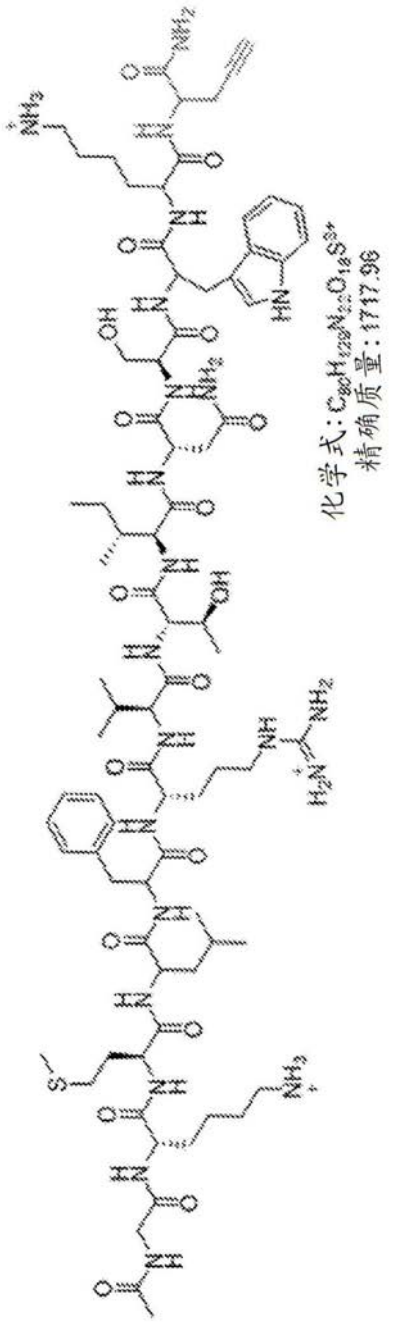


图97C

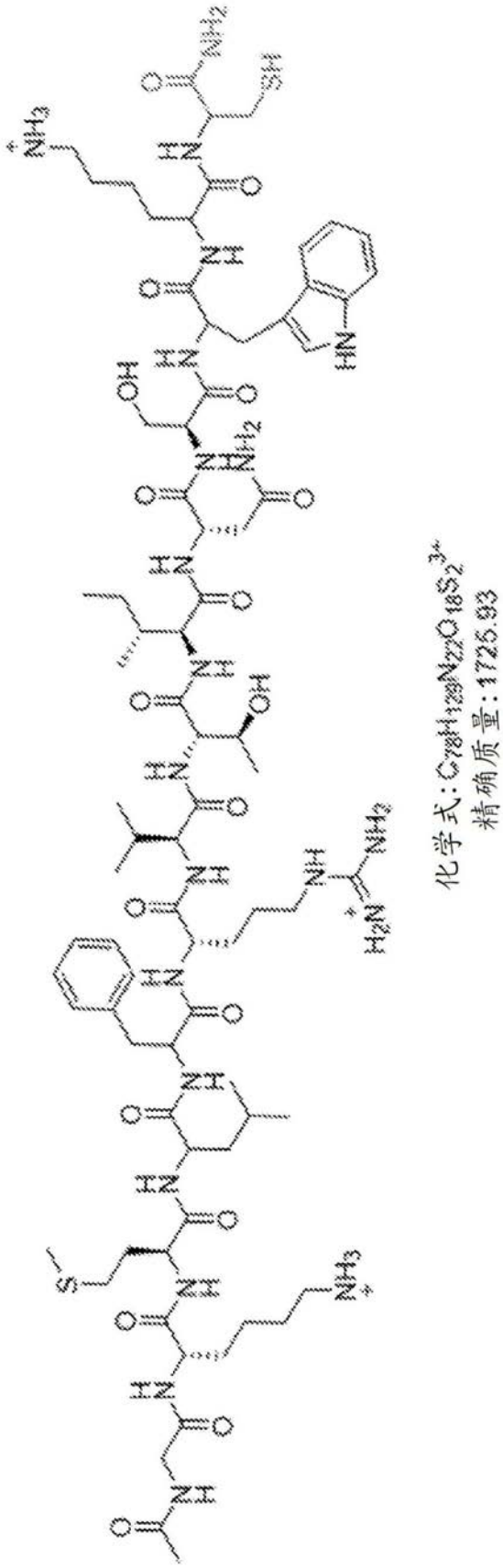


图97D

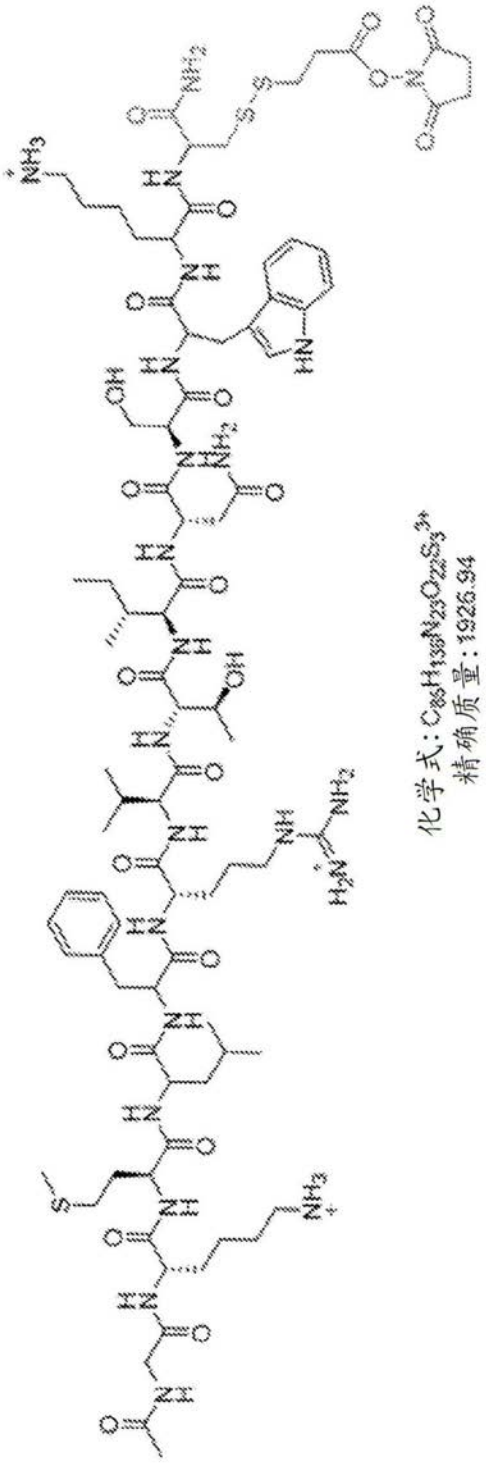


图97E

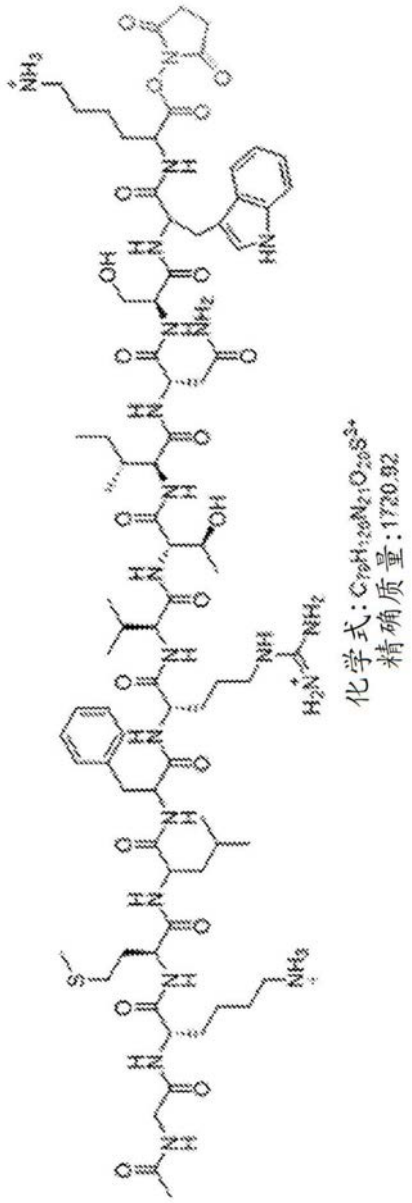


图97F

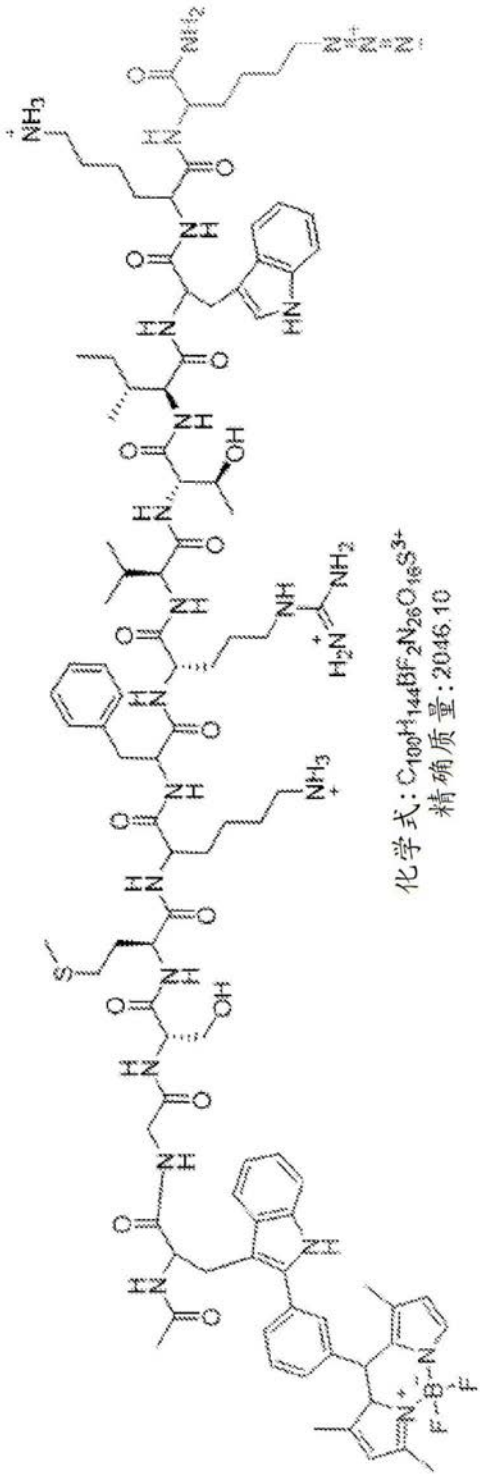


图98A

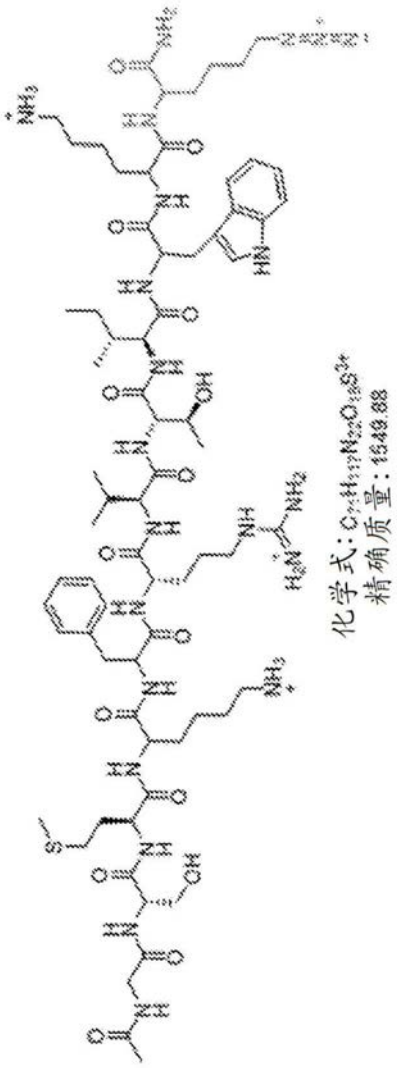


图98B

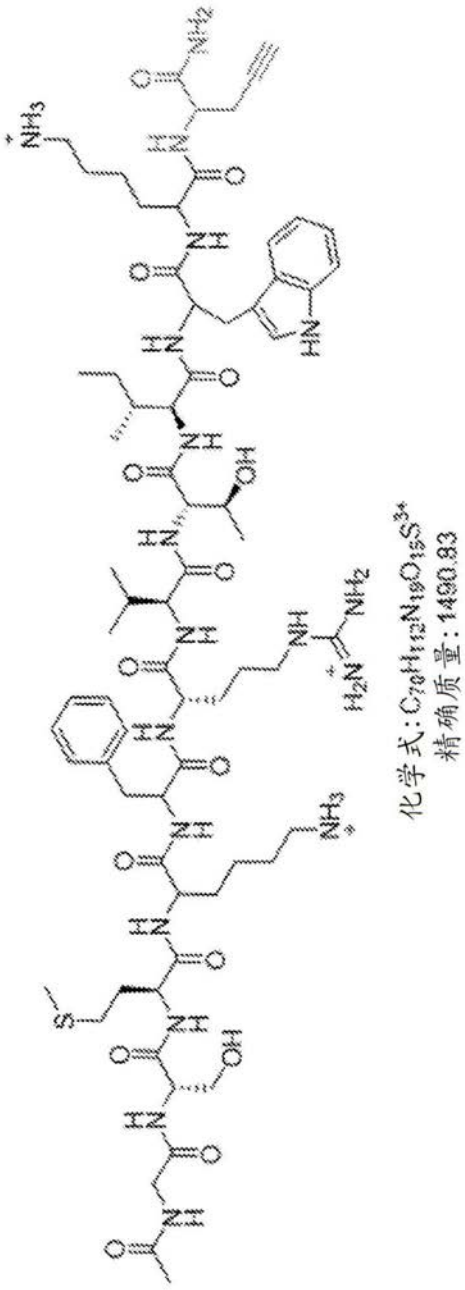


图98C

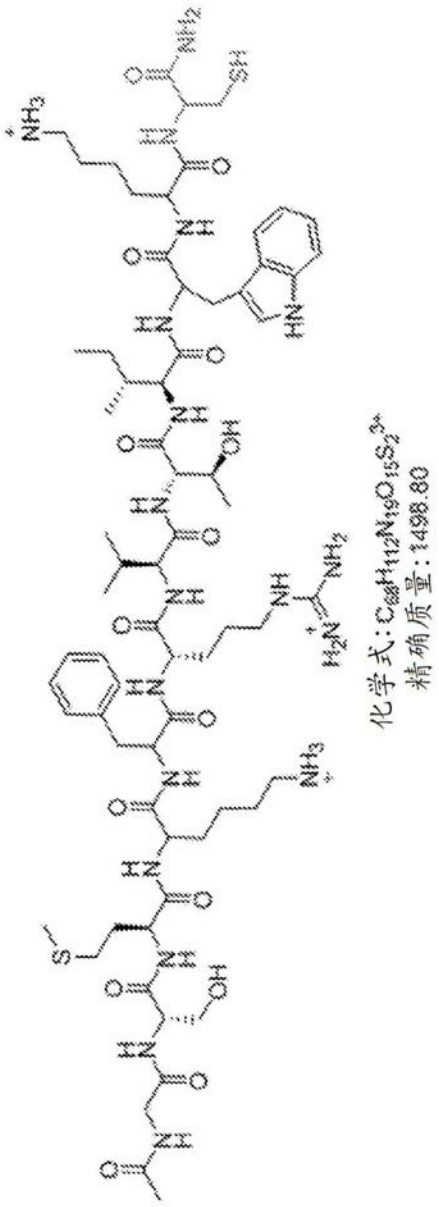


图98D

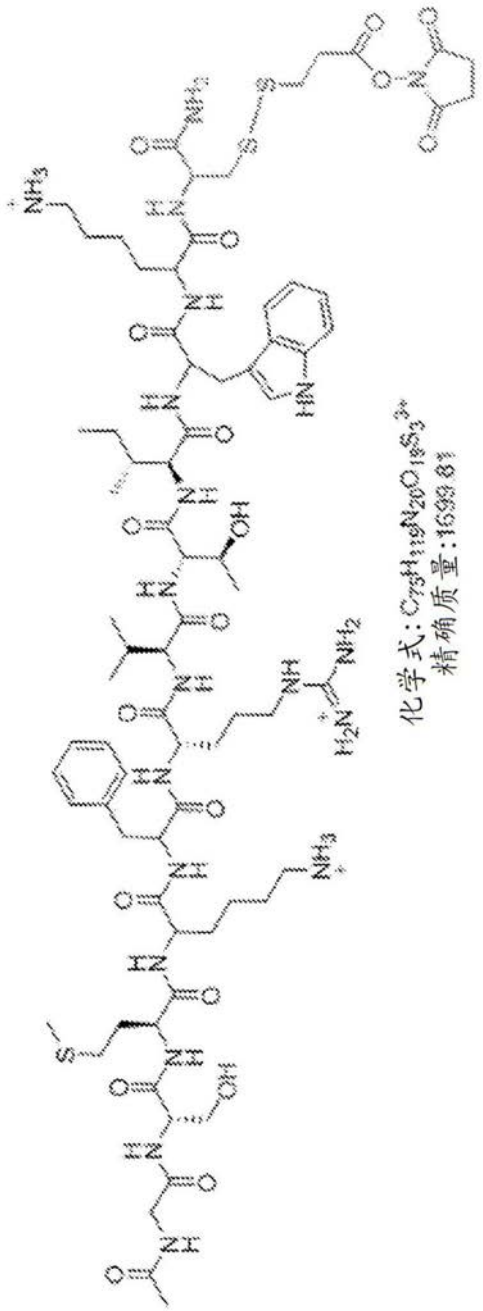


图98E

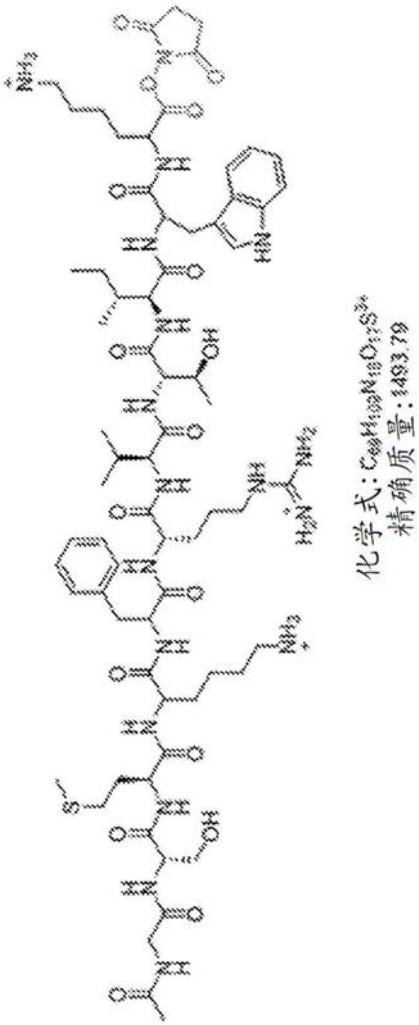


图98F

具有C末端叠氮化物的SmTrip9-286
Trip9-286叠
agtcgagaaccatgaccac
预期质量：8229.27
实测质量：8229.4

图99A

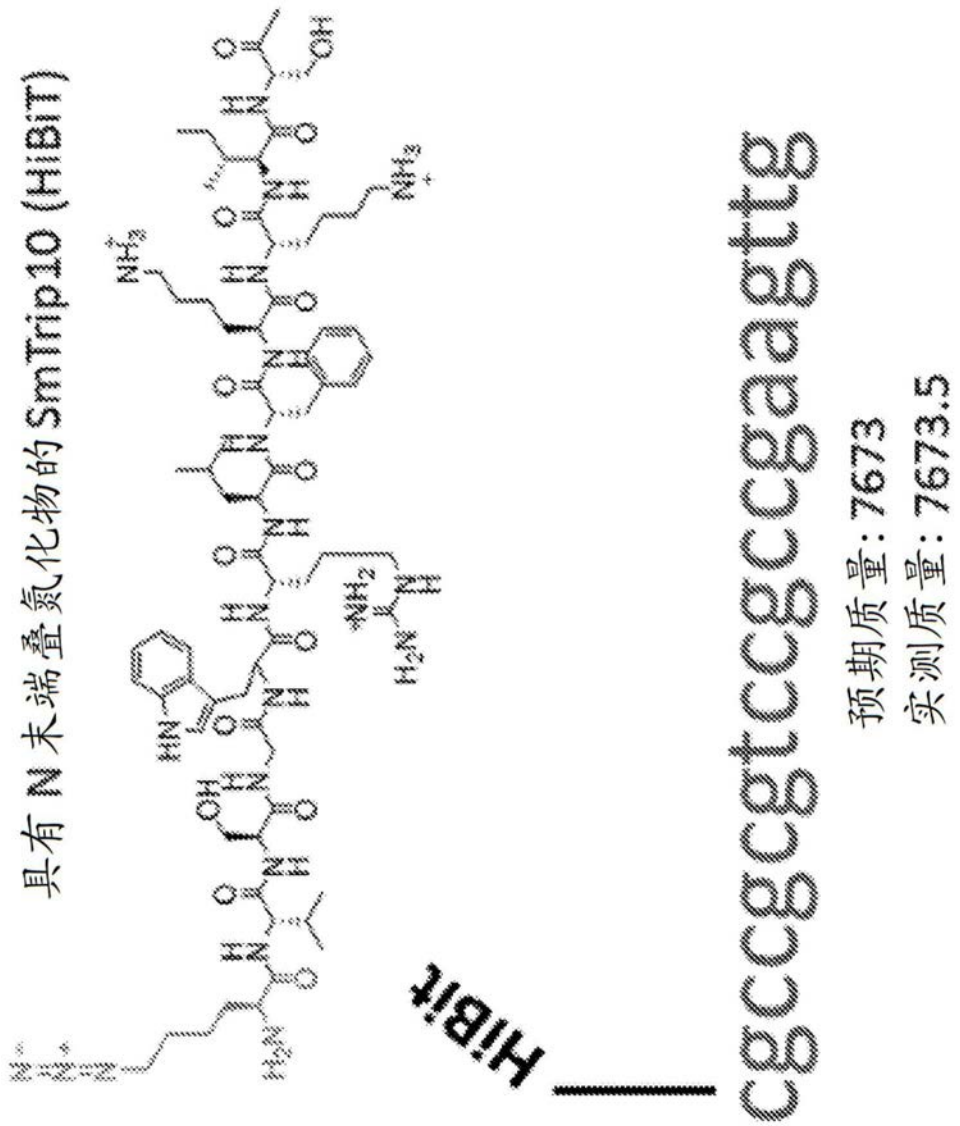

具有 N 末端叠氮化物的 SmTrip10 (HiBiT)
HiBiT
cgccgcgtccgccgaagtg
预期质量: 7673
实测质量: 7673.5

图99B

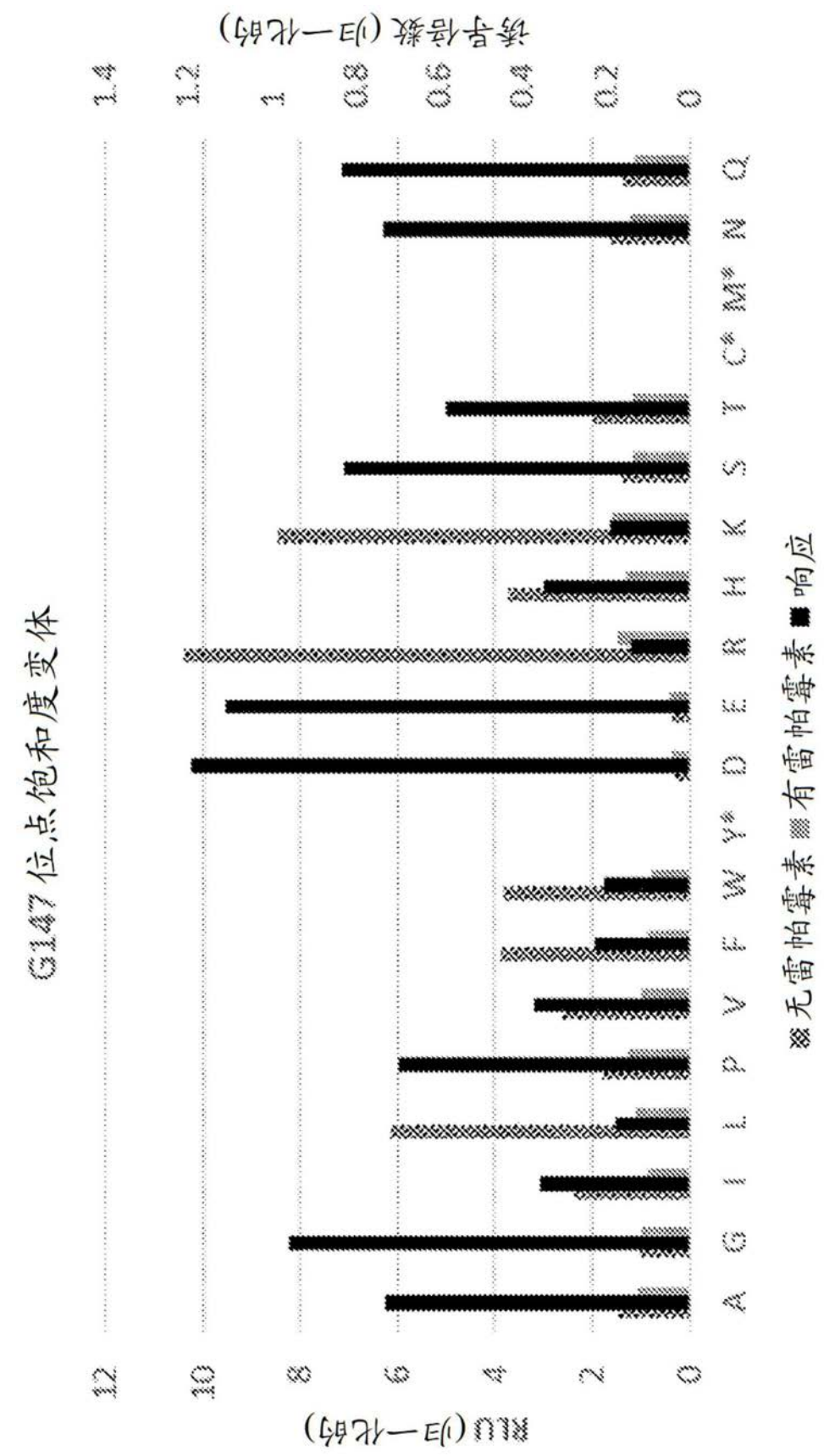

诱导倍数 (归一化的)
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
AUC (归一化的)
12
10
8
6
4
2
0
A G I L P V F W Y D E R H K S T C M N Q
G147位点饱和度变体
无雷帕霉素 有雷帕霉素 响应

图100

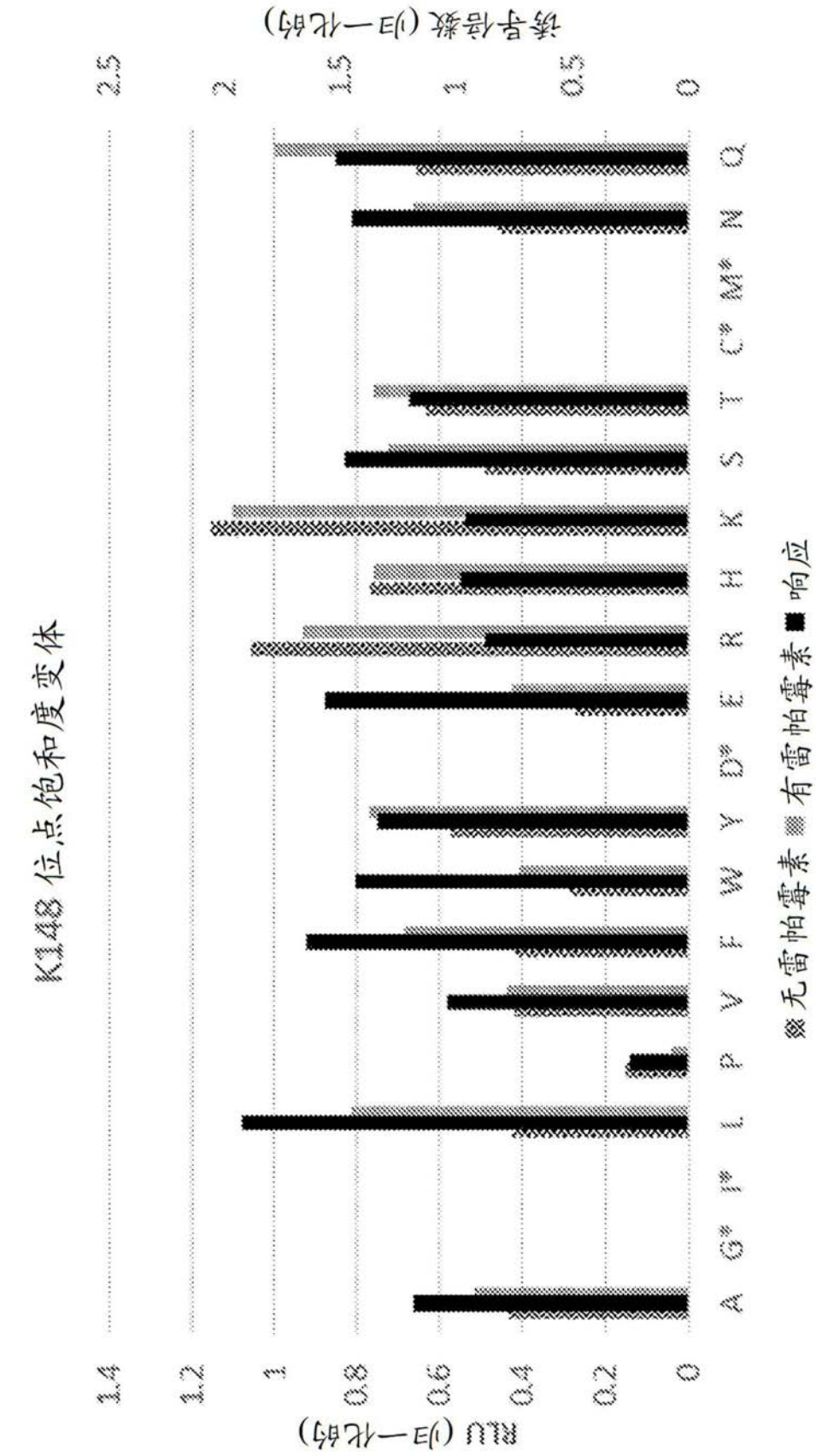

诱导倍数 (归一化的)
2.5
2
1.5
1
0.5
0
KLIF 位点饱和度变体
A
G*
I*
L
P
V
F
W
Y
D*
E
R
H
K
S
T
C*
M*
N
Q
RLU (归一化的)
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
无雷帕霉素
有雷帕霉素
响应

图101

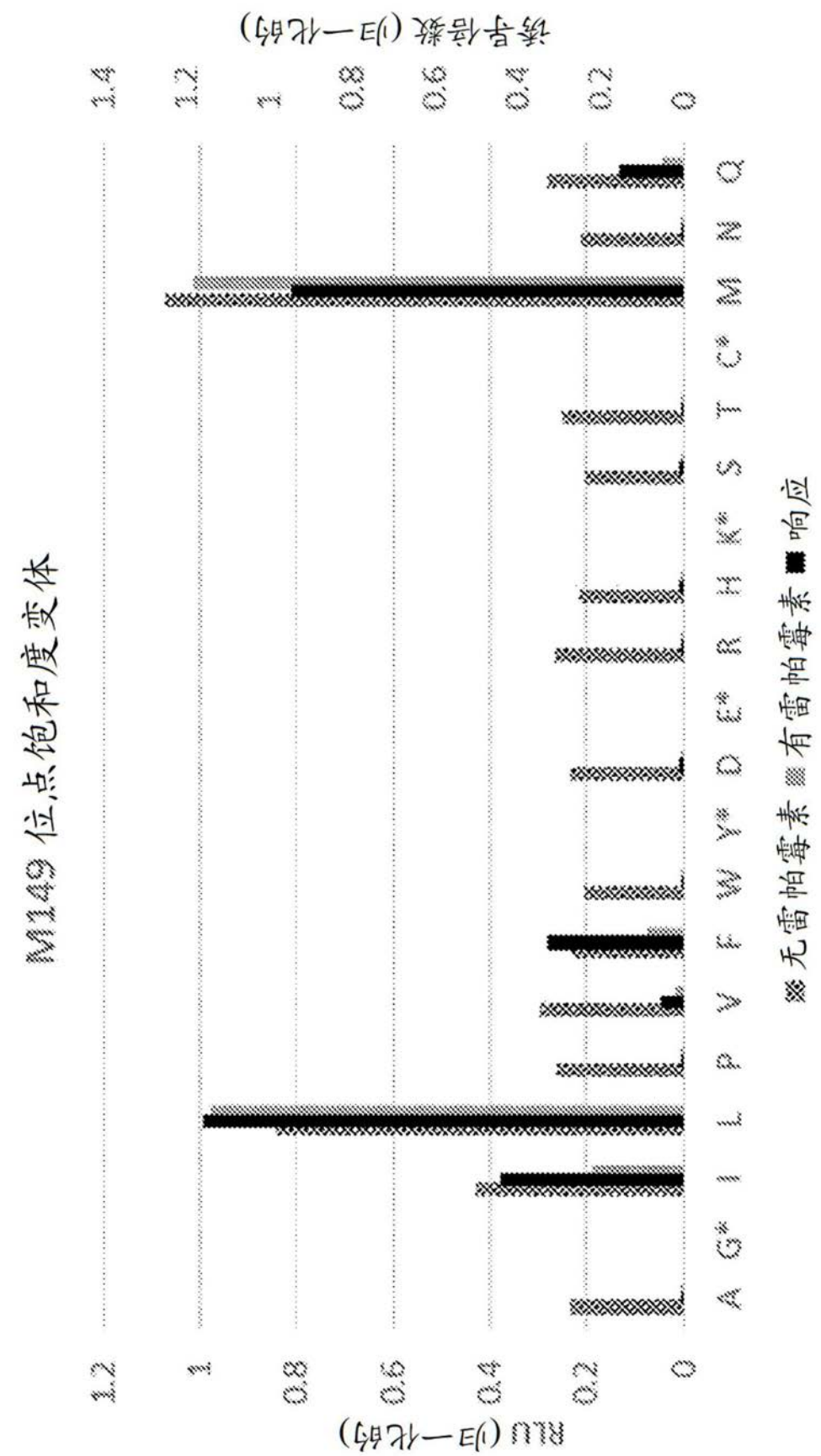

M1&9 位点饱和度变体
RLU (归一化的)
诱导倍数 (归一化的)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
1.4
A G* I L P V F W Y* D E* R H K* S T C* M N Q
※无雷帕霉素 ▒有雷帕霉素 ■响应

图102

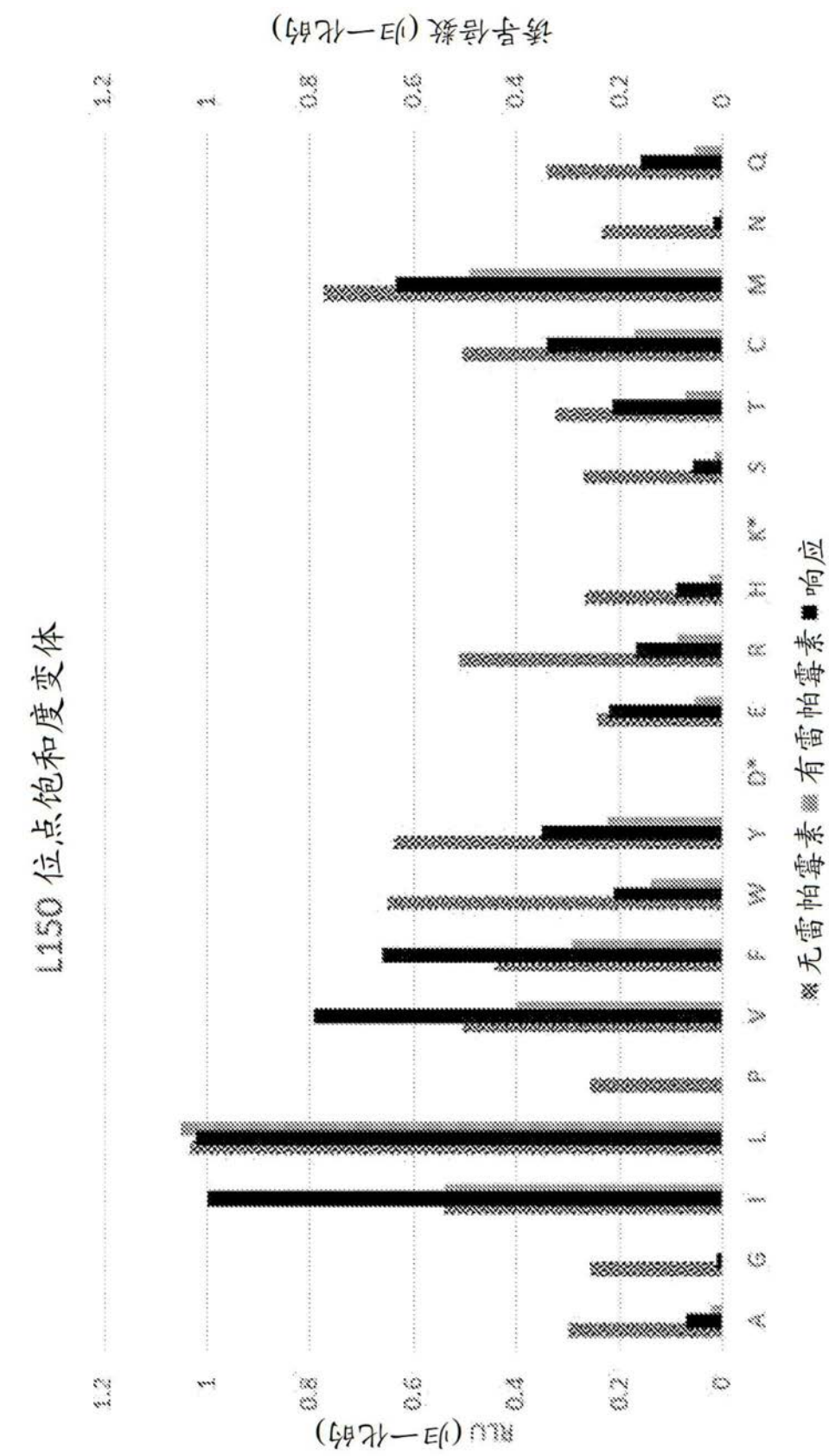

诱导倍数 (归一化的)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A G I L P V F W Y D* E R H K* S T C M N Q
L150 位点饱和度变体
※无雷帕霉素 ■有雷帕霉素 ■响应

图103

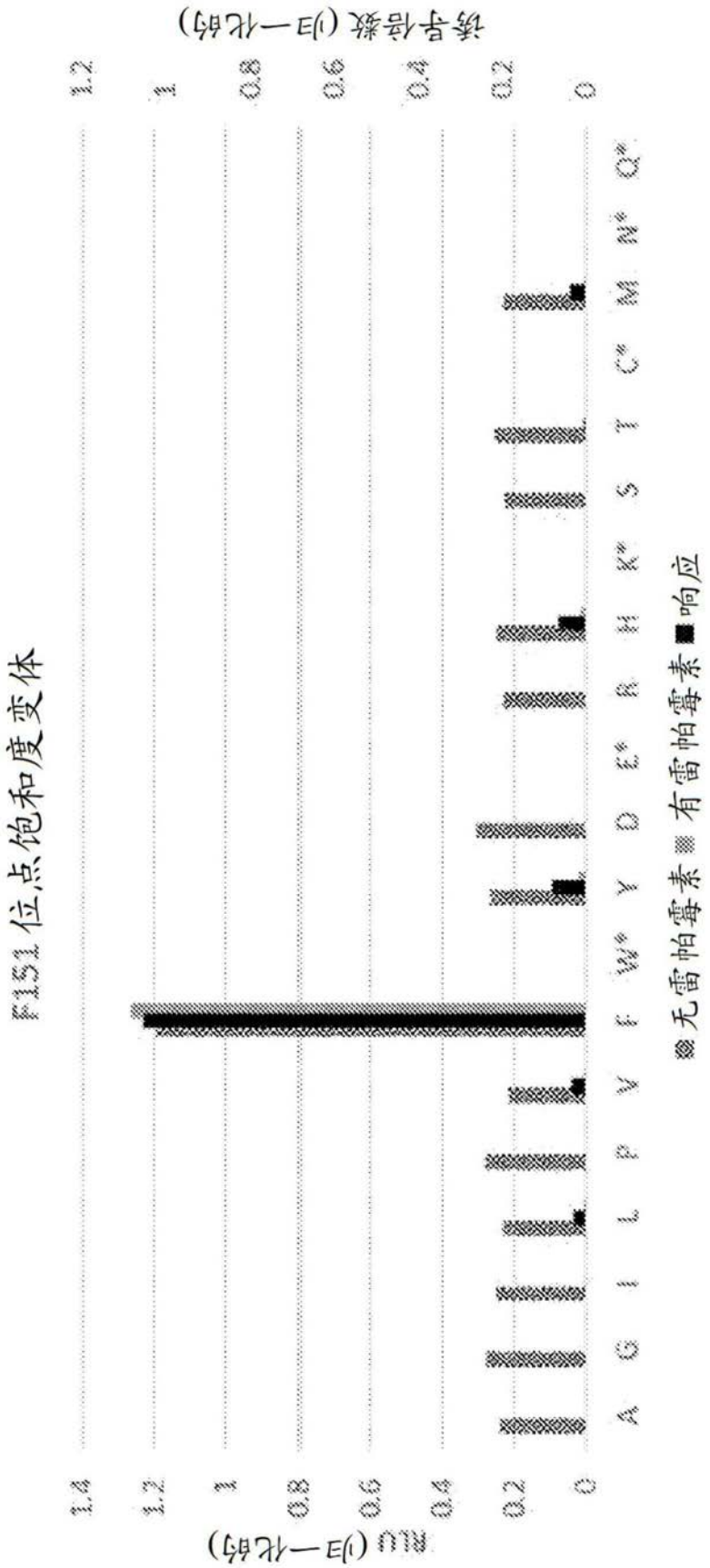

诱导倍数(归一化的)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A G I L P V F W* Y D E* R H K* S T C* M N* Q*
无雷帕霉素 有雷帕霉素 响应
F131位点饱和度变体
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
RLU(归一化的)

图104

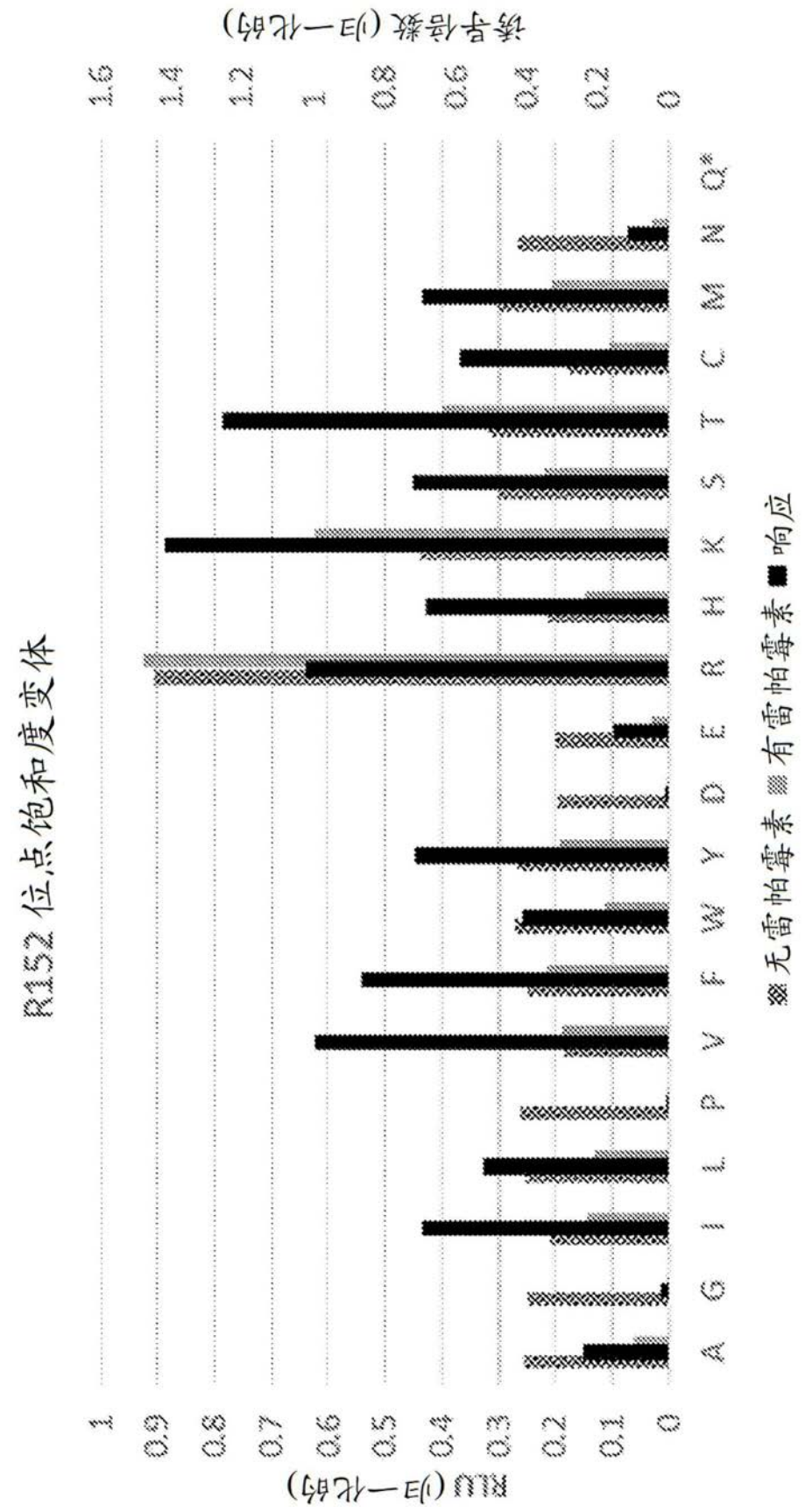

诱导倍数 (归一化的)
1.6
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A G I L P V F W Y D E R H K S T C M N Q*
P152 位点饱和度变体
RLU (归一化的)
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0
无雷帕霉素 有雷帕霉素 响应

图105

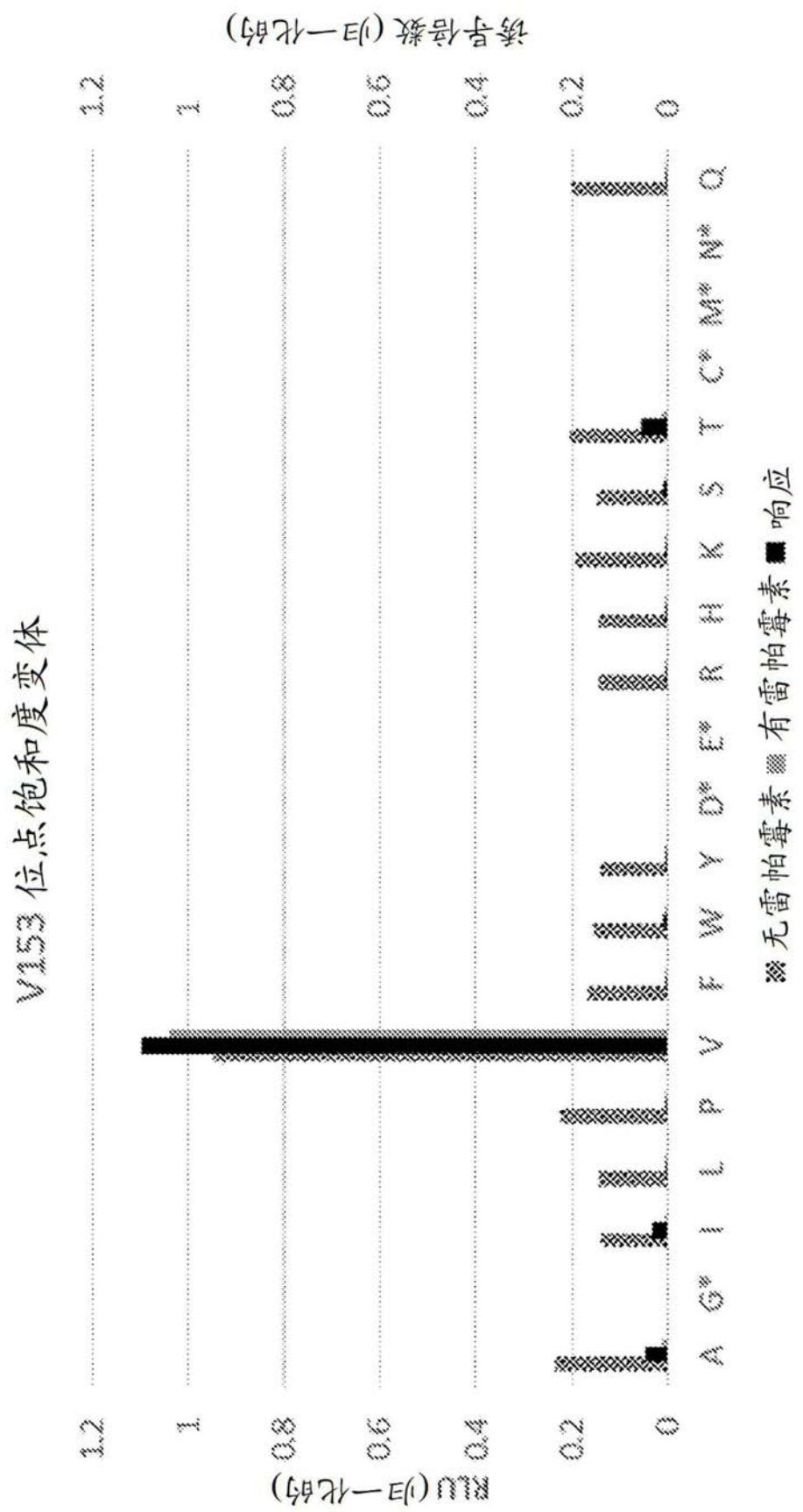

诱导倍数 (以一化的)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
V153 位点饱和度变体
A G* I L P V F W Y D* E* R H K S T C* M* N* Q
※无雷帕霉素 ▒ 有雷帕霉素 ■ 响应
RLU (以一化的)

图106

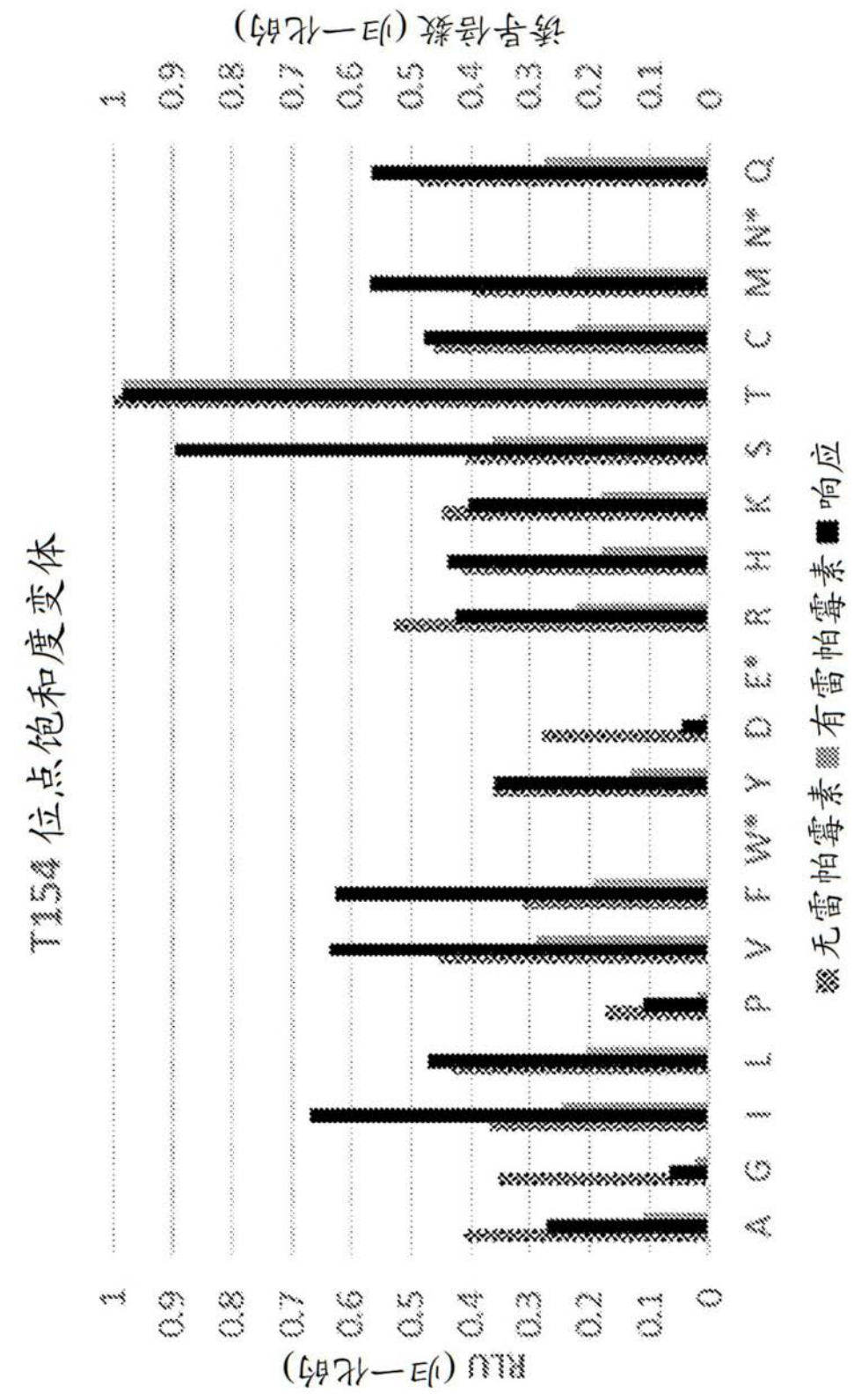

T134 位点饱和度变体
PLU (归一化的)
诱导倍数 (归一化的)
0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8
0.9
1
A G I L P V F W Y D E R H K S T C M N Q
无雷帕霉素 有雷帕霉素 响应

图107

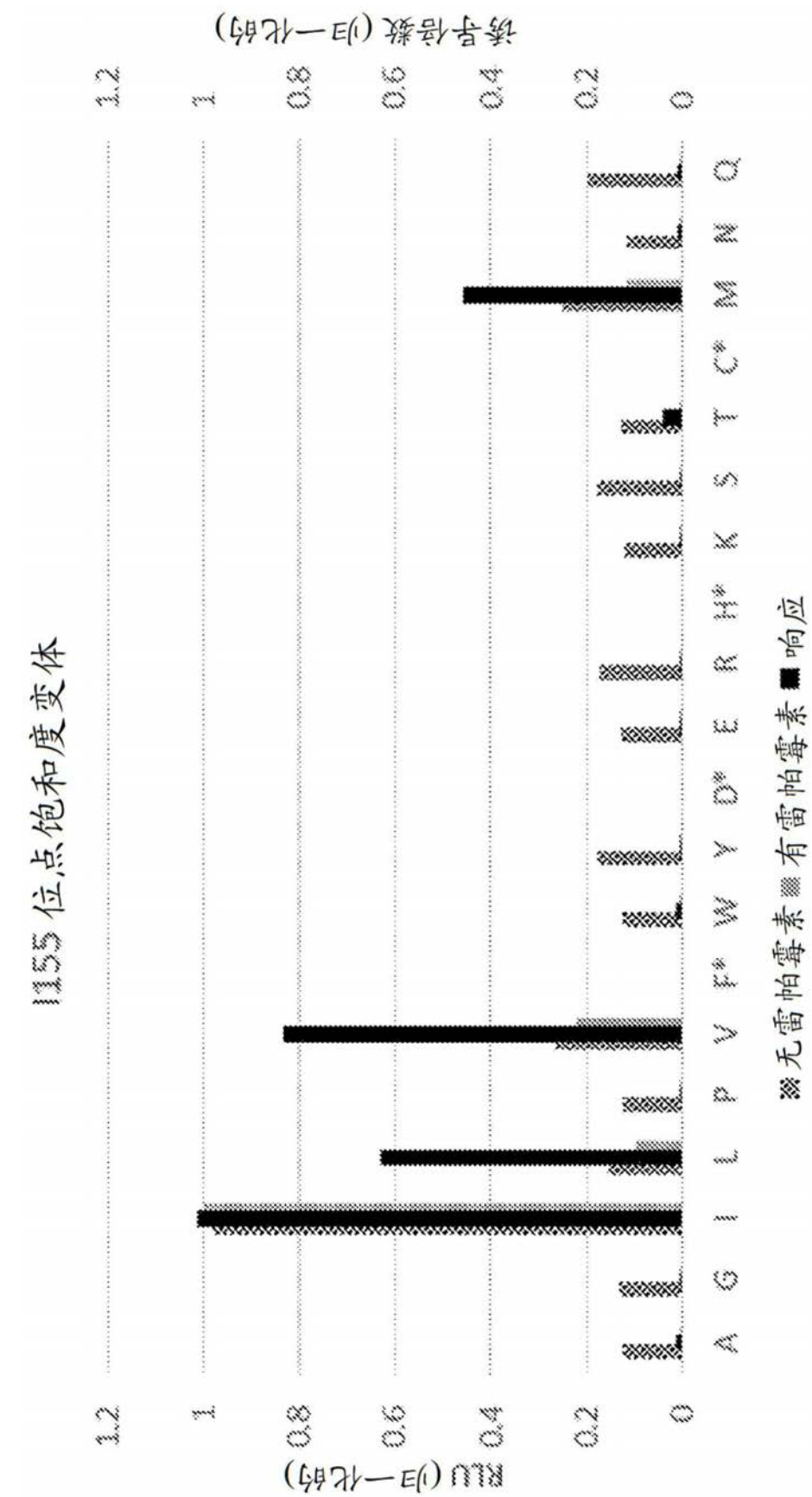

诱导倍数 (归一化的)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A G I L P V F* W Y D* E R H* K S T C* M N Q
1153 位点饱和度变体
※无雷帕霉素 ▒ 有雷帕霉素 ■ 响应

图108

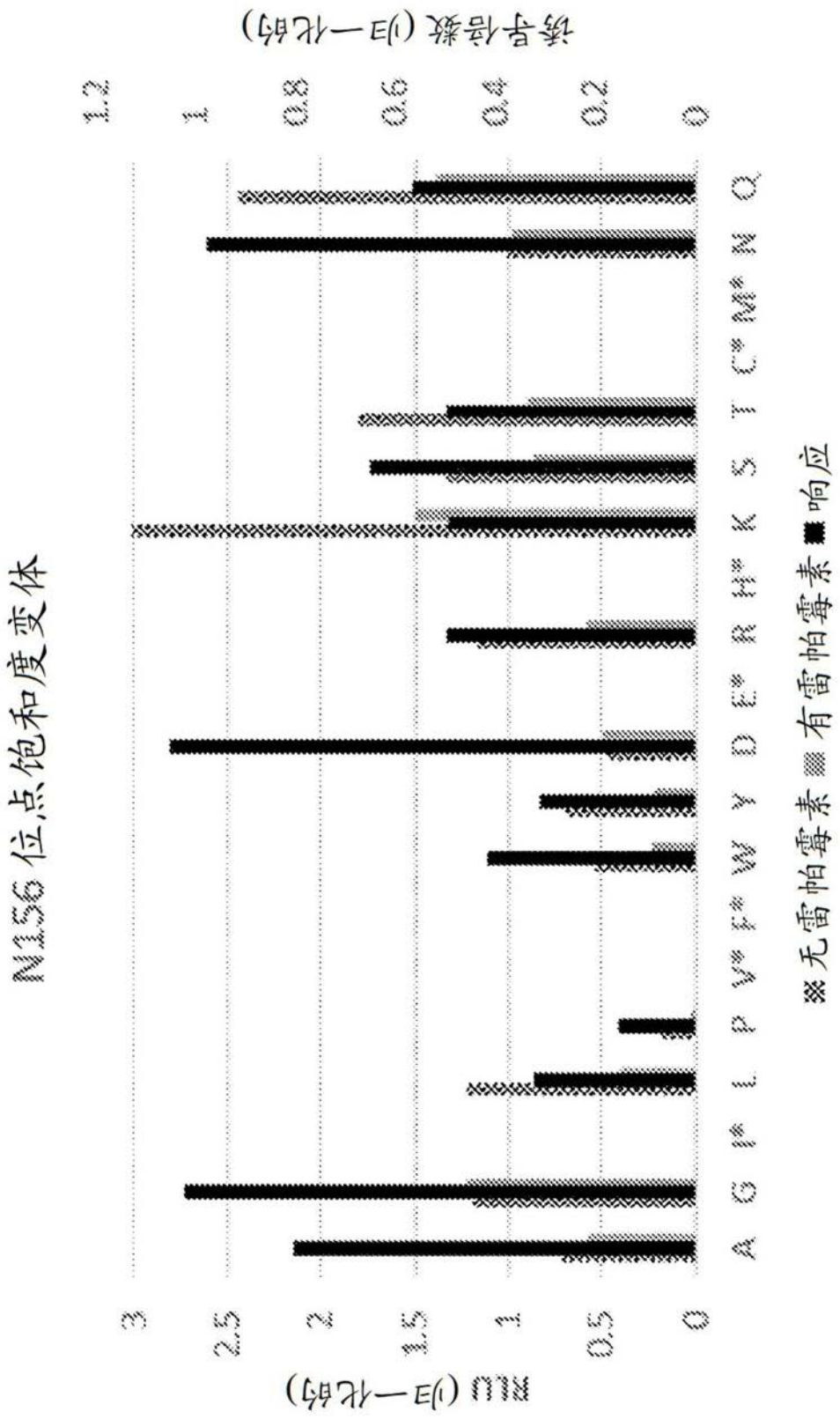

MS56 位点饱和度变体
无雷帕霉素 有雷帕霉素 响应
A G I* L P V* E* W Y D E* R H* K S T C* M* N Q
mM (归一化的)
0 0.5 1 1.5 2 2.5 3
诱导倍数 (归一化的)
0 0.2 0.4 0.6 0.8 1 1.2

图109

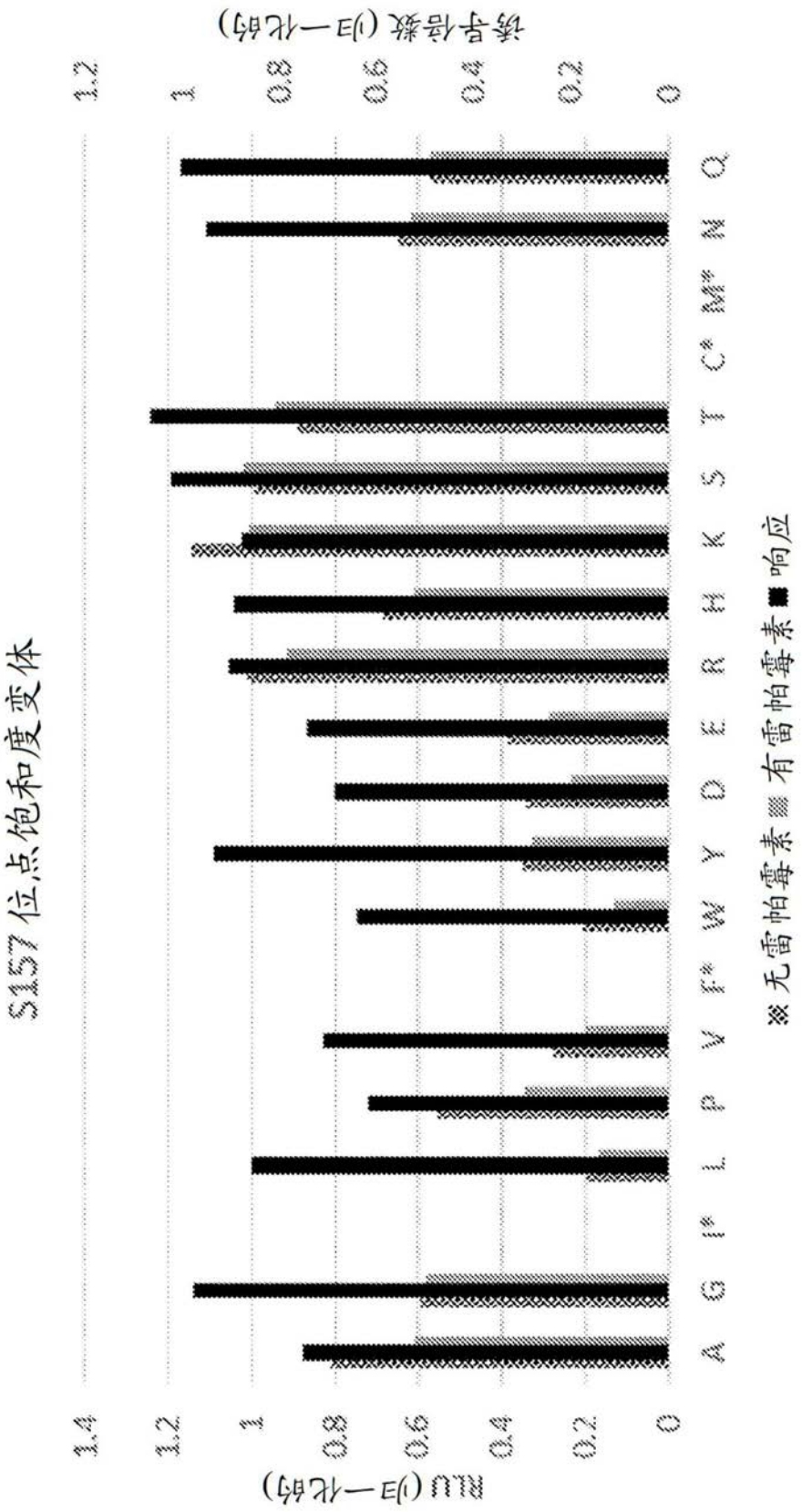

S157位点饱和度变体
RLU（归一化的）
诱导倍数（归一化的）
※无雷帕霉素 ▒ 有雷帕霉素 ■ 响应
A G I* L P V F* W Y D E R H K S T C* M* N Q
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0

图110

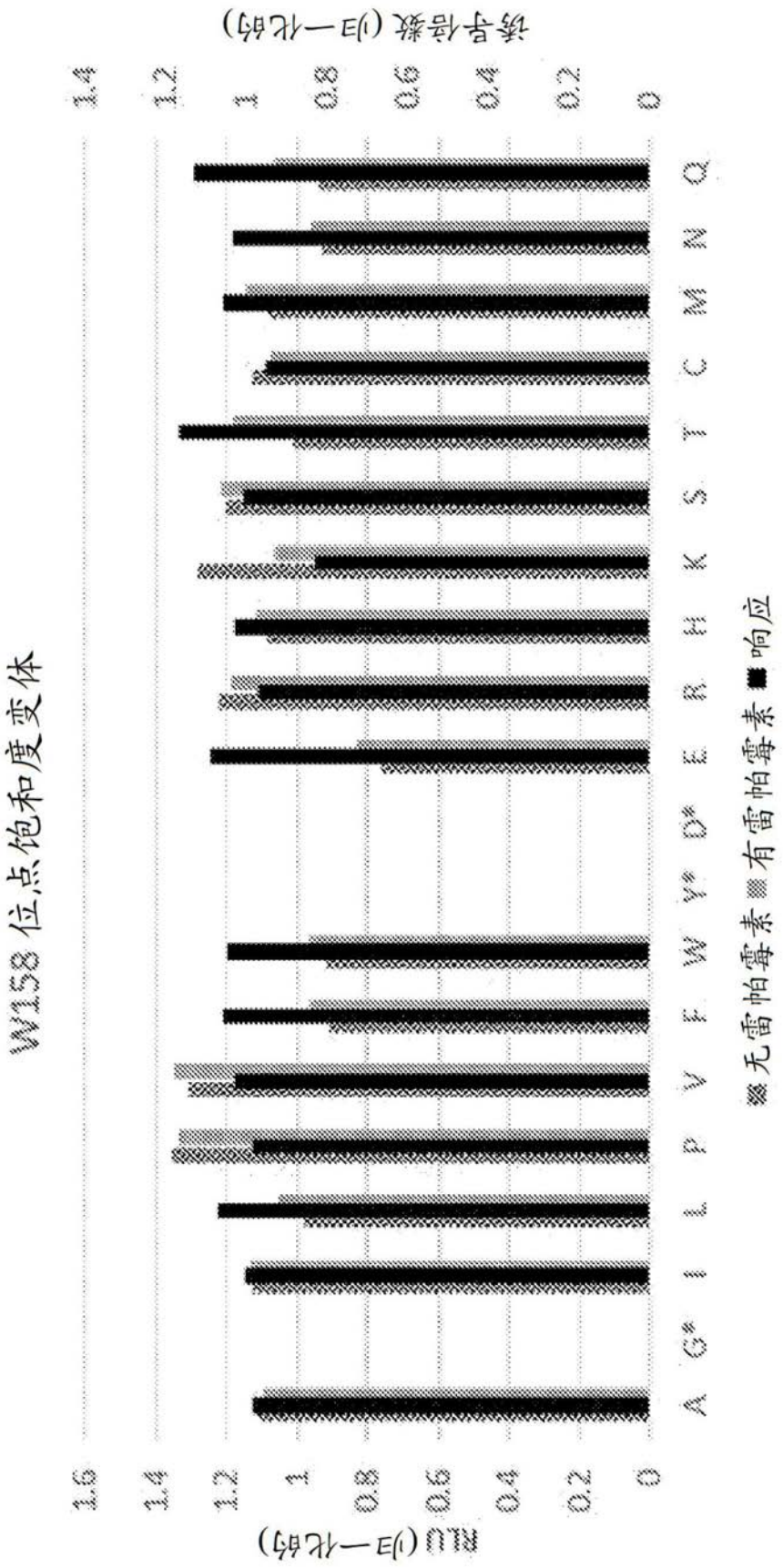

W138 位点饱和度变体
无雷帕霉素 有雷帕霉素 响应
A G* I L P V F W Y* D* E R H K S T C M N Q
1.6 1.4 1.2 1 0.8 0.6 0.4 0.2 0
1.4 1.2 1 0.8 0.6 0.4 0.2 0

图111

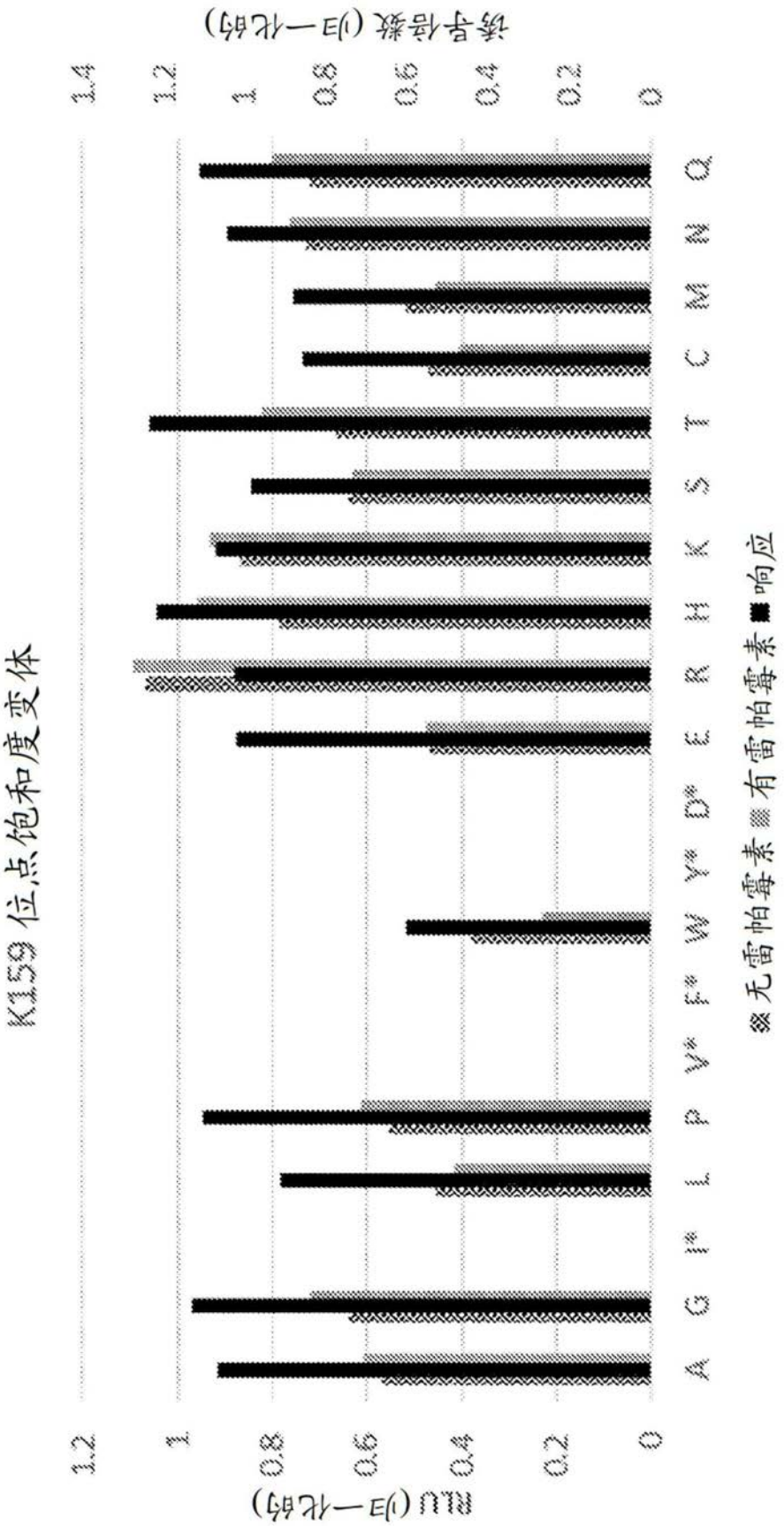

诱导倍数 (归一化的)
1.4
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0
A G I* L P V* F* W Y* D* E R H K S T C M N Q
K139 位点饱和度变体
无雷帕霉素 有雷帕霉素 响应
荧光 (归一化的)
1.2
1
0.8
0.6
0.4
0.2
0

图112

SmTrip9 在 FKBP N 末端上

FKBP 构建体				FRB_289 + SmTrip9_FKBP			FRB_86 + SmTrip9_FKBP		
ATG#	Pep ID	Pep 序列	SEQ ID NO.	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
2825	245	GSMLFRVTINS	23	0.05	0.08	0.63	0.04	0.06	0.63
3637	286	SSWKRGSMLFRVTINS	37	0.27	0.17	1.53	0.17	0.21	0.82
3823	435	GSMLFRVTINSWK	231	0.05	0.08	0.66	0.05	0.06	0.82
3826	434	GSMLFRVTIWK	230	0.11	0.25	0.41	0.12	0.48	0.25
3864	492	GSMLFRVTINKWK	313	0.09	0.09	1.02	0.10	0.10	0.95
3865	493	GSMLFRVTIKSWK	314	0.08	0.13	0.61	0.07	0.12	0.57
3866	521	GKMLFRVTINSWK	827	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
3867	522	GKMLFRVTIWK	269	1.30	4.79	0.27	1.68	10.80	0.16
3868	523	GSMKFRVTINSWK	265	0.04	0.05	0.65	0.01	0.04	0.26
3869	524	GSMKFRVTIWK	271	0.32	0.18	1.80	0.29	0.25	1.17
3870	538	GSMLFRVTIWKVK	283	0.10	0.35	0.28	0.10	0.66	0.15
3871	541	GSMLFRVTIWKWK	286	0.04	0.13	0.33	0.05	0.23	0.21
3872	542	GSMLFRVTIWKK	287	0.08	0.28	0.28	0.09	0.50	0.18

图113

SmTrip9 在 FKBP C 末端上
以 521 作归一化的数据

FKBP 构建体				FRB_289 + FKBP_SmTrip9			FRB_86 + FKBP_SmTrip9		
ATG#	Pep ID	Pep 序列	SEQ ID NO.	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
3770	245	GSMLFRVTINS	23	0.38	0.48	0.81	0.40	0.53	0.75
3639	286	SSWKRGSMLFRVTINS	37	0.05	0.32	0.14	0.05	0.42	0.13
3828	434	GSMLFRVTIWK	230	1.38	1.55	0.89	2.47	2.42	1.02
3829	435	GSMLFRVTINSWK	231	0.86	0.72	1.20	0.86	0.76	1.13
3936	493	GSMLFRVTIKSWK	314	1.12	1.10	1.02	1.34	1.14	1.18
3937	521	GKMLFRVTINSWK	827	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
3938	522	GKMLFRVTIWK	269	1.16	2.30	0.50	2.09	3.52	0.59
3939	523	GSMKFRVTINSWK	265	0.02	0.33	0.06	0.01	0.42	0.03
3940	524	GSMKFRVTIWK	271	0.33	0.57	0.57	0.38	0.73	0.52
3942	499	GSMLFRVTIESWK	320	1.45	1.24	1.17	1.33	1.02	1.31

图114

FKBP 构建体				FRB_289 + SmTrip9_FKBP			FRB_86 + SmTrip9_FKBP		
ATG#	Pep ID	Pep 序列	SEQ ID NO.	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
3770	245	GSMLFRVTINS	23	0.05	0.10	0.55	0.04	0.15	0.26
3639	286	SSWKRGSMLFRVTINS	37	0.15	0.16	0.94	0.10	0.19	0.51
3828	434	GSMLFRVTIWK	230	0.12	0.35	0.35	0.16	0.64	0.26
3829	435	GSMLFRVTINSWK	231	0.06	0.11	0.58	0.06	0.11	0.49
3936	493	GSMLFRVTIKSWK	314	0.06	0.13	0.44	0.06	0.15	0.36
3937	521	GKMLFRVTINSWK	827	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
3938	522	GKMLFRVTIWK	269	1.25	5.87	0.21	1.87	9.63	0.19
3939	523	GSMKFRVTINSWK	265	0.03	0.08	0.37	0.01	0.11	0.07
3940	524	GSMKFRVTIWK	271	0.24	0.22	1.06	0.24	0.29	0.81
3942	499	GSMLFRVTIESWK	320	0.14	0.18	0.76	0.11	0.16	0.70

图115

FKBP 构建体				FRB_289 + FKBP_SmTrip9		
ATG#	Pep ID	Pep 序列	SEQ ID NO.	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
3937	521	GKMLFRVTINSWK	827	1.00	1.00	1.00
4262	671	GKMLFRVTIQKWK	391	1.53	3.60	0.43
4259	668	GKMLFRVTIGKWK	392	1.32	2.30	0.57
4260	727	GKMLFRVTIGRWK	393	1.24	2.47	0.50
4257	669	GKMLFRVTIGNWK	394	1.02	1.35	0.75
4263	674	GKMLFRVTIQNWK	395	0.90	1.50	0.60
4339	702	GKMLFRVTIDKWK	396	0.58	0.67	0.87
4340	703	GKMLFRVTIEKWK	397	0.78	1.65	0.47
4341	730	GKMLFRVTIERWK	398	0.00	0.25	0.01
4342	731	GKMLFRVTIDRWK	399	0.67	0.73	0.92
4343	738	DKMLFRVTIQKWK	400	0.82	0.57	1.44
4344	739	DKMLFRVTIGKWK	401	0.51	0.45	1.13
4345	848	DKMLFRVTIGRWK	402	0.63	0.47	1.33
4346	740	DKMLFRVTIGNWK	403	0.55	0.41	1.35
4347	741	DKMLFRVTIQNWK	404	0.58	0.43	1.33
4348	732	DKMLFRVTIDKWK	405	0.23	0.33	0.70
4349	742	DKMLFRVTIEKWK	406	0.58	0.48	1.21
4350	735	DKMLFRVTIERWK	407	0.29	0.37	0.79
4351	733	DKMLFRVTIDRWK	408	0.32	0.34	0.93

图116A

4352	849	EKMLFRVTIQKWK	410	0.80	0.65	1.23
4353	708	EKMLFRVTIGKWK	411	0.78	0.59	1.33
4354	709	EKMLFRVTIGRWK	412	0.69	0.54	1.28
4355	850	EKMLFRVTIGNWK	439	0.62	0.47	1.32
4356	851	EKMLFRVTIQNWK	440	0.60	0.51	1.17
4357	706	EKMLFRVTIDKWK	441	0.32	0.37	0.87
4358	707	EKMLFRVTIEKWK	442	0.59	0.52	1.13
4359	737	EKMLFRVTIERWK	443	0.26	0.40	0.65
4360	736	EKMLFRVTIDRWK	444	0.32	0.37	0.86
4361	760	KKMLFRVTIQKWK	445	1.35	27.31	0.05
4362	852	KKMLFRVTIGKWK	446	1.34	16.45	0.08
4363	853	KKMLFRVTIGRWK	447	1.06	15.19	0.07
4364	854	KKMLFRVTIGNWK	448	1.48	12.45	0.12
4365	855	KKMLFRVTIQNWK	449	1.78	18.75	0.09
4366	856	KKMLFRVTIDKWK	450	1.23	4.82	0.26
4367	857	KKMLFRVTIEKWK	451	1.24	14.92	0.08
4368	858	KKMLFRVTIERWK	452	0.45	6.05	0.07
4369	859	KKMLFRVTIDRWK	453	0.98	4.05	0.24
4370	860	RKMLFRVTIQKWK	454	1.30	27.15	0.05
4371	861	RKMLFRVTIGKWK	455	1.50	20.53	0.07
4372	862	RKMLFRVTIGRWK	456	1.20	19.17	0.06
4373	863	RKMLFRVTIGNWK	457	1.35	13.87	0.10
4374	864	RKMLFRVTIQNWK	458	1.27	18.12	0.07
4375	865	RKMLFRVTIDKWK	459	0.85	4.61	0.18
4376	866	RKMLFRVTIEKWK	460	0.80	14.05	0.06

图116B

4377	867	RKMLFRVTIERWK	461	0.36	6.68	0.05
4378	868	RKMLFRVTIDRWK	462	0.82	4.84	0.17
4291	656	EQMLFRVTINSWK	463	0.49	0.41	1.18
4292	869	SRMLFRVTINSWK	464	0.94	1.50	0.63
4293	533	GEMLFRVTINSWK	465	0.57	0.39	1.44
4331	690	GKMKFRVTINSWK	466	0.12	0.43	0.27
4332	678	GKMLFRVKINSWK	467	0.15	0.50	0.30
4333	679	GKMLFRVRINSWK	468	0.26	0.65	0.40
4334	681	GKMLFRVDINSWK	469	0.00	0.39	0.00

图116C

FKBP 构建体				FRB_289 + FKBP_SmTrip9		
ATG#	Pep ID	Pep 序列	SEQ ID NO.	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
3937	521	GKMLFRVTINSWK	827	1.00	1.00	1.00
4339	702	GKMLFRVTIDKWK	396	0.90	0.85	1.05
4340	703	GKMLFRVTIEKWK	397	0.96	1.71	0.56
4341	730	GKMLFRVTIERWK	398	0.00	0.32	0.01
4342	731	GKMLFRVTIDRWK	399	0.74	0.75	0.99
4343	738	DKMLFRVTIQKWK	400	1.11	0.64	1.72
4344	739	DKMLFRVTIGKWK	401	1.02	0.54	1.89
4345	848	DKMLFRVTIGRWK	402	1.00	0.61	1.64
4346	740	DKMLFRVTIGNWK	403	0.75	0.43	1.74
4347	741	DKMLFRVTIQNWK	404	0.74	0.50	1.48
4348	732	DKMLFRVTIDKWK	405	0.38	0.37	1.02
4349	742	DKMLFRVTIEKWK	406	0.63	0.44	1.42
4350	735	DKMLFRVTIERWK	407	0.27	0.38	0.72
4351	733	DKMLFRVTIDRWK	408	0.34	0.35	0.98
4352	849	EKMLFRVTIQKWK	410	1.11	0.73	1.51
4353	708	EKMLFRVTIGKWK	411	1.07	0.64	1.67
4354	709	EKMLFRVTIGRWK	412	0.78	0.57	1.36
4355	850	EKMLFRVTIGNWK	439	0.76	0.47	1.62
4356	851	EKMLFRVTIQNWK	440	0.74	0.48	1.56
4357	706	EKMLFRVTIDKWK	441	0.41	0.36	1.14
4358	707	EKMLFRVTIEKWK	442	0.59	0.47	1.25
4359	737	EKMLFRVTIERWK	443	0.24	0.35	0.69
4360	736	EKMLFRVTIDRWK	444	0.41	0.41	1.02
4185	663	GKMLFRVTIDSWK	470	0.53	0.56	0.95
4196	743	GKMLFRVTINKWK	471	1.15	1.24	0.92

图117

FKBP 构建体				FRB_289 + FKBP_SmTrip9		
ATG#	Pep ID	Pep 序列	SEQ ID NO.	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
3937	521	GKMLFRVTINSWK		1.00	1.00	1.00
4339	702	GKMLFRVTIDKWK		0.62	0.71	0.88
4340	703	GKMLFRVTIEKWK		0.96	1.47	0.65
4341	730	GKMLFRVTIERWK		0.00	0.42	0.00
4342	731	GKMLFRVTIDRWK		0.62	0.74	0.83
4343	738	DKMLFRVTIQKWK		0.84	0.63	1.34
4344	739	DKMLFRVTIGKWK		0.66	0.61	1.09
4345	848	DKMLFRVTIGRWK		0.71	0.65	1.09
4346	740	DKMLFRVTIGNWK		0.54	0.52	1.03
4347	741	DKMLFRVTIQNWK		0.56	0.52	1.07
4348	732	DKMLFRVTIDKWK		0.27	0.45	0.61
4349	742	DKMLFRVTIEKWK		0.57	0.52	1.10
4350	735	DKMLFRVTIERWK		0.25	0.45	0.56
4351	733	DKMLFRVTIDRWK		0.24	0.39	0.62
4352	849	EKMLFRVTIQKWK		0.81	0.66	1.24
4353	708	EKMLFRVTIGKWK		0.70	0.62	1.13
4354	709	EKMLFRVTIGRWK		0.67	0.59	1.14
4355	850	EKMLFRVTIGNWK		0.59	0.50	1.18
4356	851	EKMLFRVTIQNWK		0.62	0.57	1.08
4357	706	EKMLFRVTIDKWK		0.30	0.40	0.74
4358	707	EKMLFRVTIEKWK		0.50	0.55	0.91
4359	737	EKMLFRVTIERWK		0.23	0.41	0.56
4360	736	EKMLFRVTIDRWK		0.30	0.44	0.68
4185	663	GKMLFRVTIDSWK		0.46	0.58	0.79

4196	743	GKMLFRVTINKWK		0.92	1.03	0.89

图118

FKBP 构建体				FRB_289 + FKBP_SmTrip9		
ATG#	Pep ID	Pep 序列	SEQ ID NO.	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
3937	521	GKMLFRVTINSWK		1.00	1.00	1.00
4343	738	DKMLFRVTIQKWK		0.98	0.56	1.76
4349	742	DKMLFRVTIEKWK		0.58	0.45	1.31
4196	743	GKMLFRVTINKWK		1.21	1.23	0.98
4344	739	DKMLFRVTIGKWK		0.63	0.38	1.66
4409	714	EKMLFKVTIQKWK		0.68	0.35	1.93
4410	870	EKMLFTVTIQKWK		0.42	0.25	1.69
4411	871	EKMLFKVTIDKWK		0.14	0.24	0.60
4412	872	EKMLFTVTIDKWK		0.11	0.20	0.55
4413	873	EKMLFKVTIGRWK		0.60	0.31	1.93
4415	744	DKMLFKVTIQKWK		0.57	0.28	2.03
4416	745	DKMLFTVTIQKWK		0.46	0.25	1.82
4417	874	DKMLFKVTIDKWK		0.16	0.17	0.96
4418	875	DKMLFTVTIDKWK		0.12	0.16	0.76
4419	876	GKMLFKVTIEKWK		0.72	0.67	1.07
4420	877	GKMLFTVTIEKWK		0.48	0.35	1.38
4421	748	DKMLFKVTIGKWK		0.57	0.26	2.17
4422	749	DKMLFTVTIGKWK		0.33	0.20	1.69
4423	878	DKMLFKVTIGNWK		0.39	0.23	1.70
4424	879	DKMLFKVTIQNWK		0.32	0.25	1.28
4425	781	GKMLFKVTINKWK		0.77	0.47	1.61
4426	782	GKMLFTVTINKWK		0.59	0.23	2.52

图119

FKBP 构建体				FRB_289 + FKBP_SmTrip9		
ATG#	Pep ID	Pep 序列	SEQ ID NO.	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
3937	521	GKMLFRVTINSWK		1.00	1.00	1.00
3770	245	GSMLFRVTINS		0.53	0.32	1.67
4343	738	DKMLFRVTIQKWK		0.98	0.53	1.85
4349	742	DKMLFRVTIEKWK		0.77	0.37	2.08
4196	743	GKMLFRVTINKWK		1.14	1.37	0.83
4344	739	DKMLFRVTIGKWK		0.85	0.37	2.33
4409	714	EKMLFKVTIQKWK		0.69	0.28	2.49
4410	870	EKMLFTVTIQKWK		0.60	0.19	3.18
4411	871	EKMLFKVTIDKWK		0.19	0.13	1.46
4412	872	EKMLFTVTIDKWK		0.14	0.11	1.27
4413	873	EKMLFKVTIGRWK		0.64	0.24	2.72
4415	744	DKMLFKVTIQKWK		0.67	0.21	3.20
4416	745	DKMLFTVTIQKWK		0.53	0.13	4.06
4417	874	DKMLFKVTIDKWK		0.20	0.10	1.98
4418	875	DKMLFTVTIDKWK		0.14	0.09	1.53
4419	876	GKMLFKVTIEKWK		0.78	0.70	1.11
4420	877	GKMLFTVTIEKWK		0.63	0.27	2.35
4421	748	DKMLFKVTIGKWK		0.59	0.19	3.02
4422	749	DKMLFTVTIGKWK		0.41	0.11	3.77
4423	878	DKMLFKVTIGNWK		0.45	0.14	3.29
4424	879	DKMLFKVTIQNWK		0.42	0.17	2.52
4425	781	GKMLFKVTINKWK		0.67	0.40	1.69
4426	782	GKMLFTVTINKWK		0.59	0.17	3.51

图120

FKBP 构建体				FRB_289 + FKBP_SmTrip9			FRB_86 + FKBP_SmTrip9		
ATG#	Pep ID	Pep 序列	SEQ ID NO.	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
3937	521	GKMLFRVTINSWK		1.00 +/- 0.12	1.00 +/- 0.16	1.00 +/- 0.10	1.09 +/- 0.09	0.64 +/- 0.12	1.69 +/- 0.07
3770	245	GSMLFRVTINS		0.61 +/- 0.15	0.26 +/- 0.10	2.45 +/- 0.33	0.51 +/- 0.05	0.11 +/- 0.03	4.53 +/- 0.13
4416	745	DKMLFTVTIQKWK		0.56 +/- 0.10	0.06 +/- 0.01	8.72 +/- 0.65	0.78 +/- 0.11	0.08 +/- 0.02	9.99 +/- 0.90
4422	749	DKMLFTVTIGKWK		0.40 +/- 0.03	0.04 +/- 0.00	9.59 +/- 0.39	0.63 +/- 0.03	0.06 +/- 0.01	10.84 +/- 0.54
4460	752	DKMLFKVTIEKWK		0.43 +/- 0.03	0.08 +/- 0.01	5.52 +/- 0.31	0.51 +/- 0.01	0.08 +/- 0.01	6.72 +/- 0.37
4461	753	DKMLFTVTIEKWK		0.49 +/- 0.06	0.06 +/- 0.01	8.80 +/- 1.20	0.66 +/- 0.08	0.05 +/- 0.01	12.05 +/- 0.44
4466	750	DKLLFKVTIGKWK		0.47 +/- 0.01	0.08 +/- 0.01	5.71 +/- 0.54	0.71 +/- 0.02	0.09 +/- 0.01	7.42 +/- 0.21
4467	786	DKMLFTVTINKWK		0.26 +/- 0.02	0.03 +/- 0.00	8.97 +/- 1.17	0.35 +/- 0.01	0.03 +/- 0.00	10.54 +/- 0.38
4468	756	DKLLFTVTIQKWK		0.50 +/- 0.10	0.07 +/- 0.01	7.23 +/- 0.70	0.71 +/- 0.10	0.07 +/- 0.01	10.71 +/- 0.36
4472	757	DKLLFTVTIQKYK		0.43 +/- 0.04	0.05 +/- 0.01	8.28 +/- 0.66	0.60 +/- 0.06	0.05 +/- 0.01	11.68 +/- 0.77
4542	758	DKLLFTVTIEKWK		0.37 +/- 0.03	0.05 +/- 0.01	6.99 +/- 1.24	0.50 +/- 0.02	0.05 +/- 0.01	10.21 +/- 0.56
4543	759	DKLLFTVTIEKYK		0.38 +/- 0.04	0.04 +/- 0.00	9.36 +/- 0.47	0.48 +/- 0.04	0.05 +/- 0.00	9.63 +/- 0.24
4544	793	DKLLFTVTIGKWK		0.50 +/- 0.09	0.05 +/- 0.01	9.63 +/- 0.94	0.78 +/- 0.10	0.06 +/- 0.01	12.93 +/- 0.53
4545	794	DKLLFTVTIGKYK		0.26 +/- 0.03	0.02 +/- 0.00	11.19 +/- 1.09	0.38 +/- 0.04	0.03 +/- 0.01	12.97 +/- 0.40
4546	799	DKLLFTVTINKWK		0.28 +/- 0.05	0.03 +/- 0.00	9.95 +/- 2.42	0.36 +/- 0.04	0.03 +/- 0.00	11.60 +/- 1.03
4547	800	DKLLFTVTINKYK		0.17 +/- 0.01	0.02 +/- 0.01	7.95 +/- 2.83	0.23 +/- 0.01	0.02 +/- 0.00	10.95 +/- 0.86

图121

FKBP 构建体			SEQ ID NO.	FRB_289 + FKBP_SmTrip9		
ATG#	Pep ID	Pep 序列		有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
3770	245	GSMLFRVTINS		0.52 +/- 0.06	0.23 +/- 0.07	2.30 +/- 0.47
3937	521	GKMLFRVTINSWK		1.00 +/- 0.00	1.00 +/- 0.00	1.00 +/- 0.00
4455	780	GKMLFRVTINS		0.58 +/- 0.04	0.37 +/- 0.10	1.65 +/- 0.52
4416	745	DKMLFTVTIQKWK		0.63 +/- 0.19	0.28 +/- 0.32	6.34 +/- 6.31
4456	765	DKMLFTVTIQK		0.30 +/- 0.06	0.04 +/- 0.00	7.33 +/- 1.56
4415	744	DKMLFKVTIQKWK		0.60 +/- 0.05	0.16 +/- 0.03	3.93 +/- 1.03
4436	779	DKMLFKVTIQK		0.40 +/- 0.06	0.11 +/- 0.07	5.19 +/- 3.57
4544	793	DKLLFTVTIGKWK		0.42 +/- 0.00	0.18 +/- 0.20	6.36 +/- 6.96
4618	820	DKLLFTVTIGK		0.19 +/- 0.03	0.03 +/- 0.00	7.44 +/- 0.03
4422	749	DKMLFTVTIGKWK		0.49 +/- 0.04	0.07 +/- 0.01	7.21 +/- 1.89
4619	819	DKMLFTVTIGK		0.22 +/- 0.02	0.05 +/- 0.04	7.15 +/- 4.92
4461	753	DKMLFTVTIEKWK		0.52 +/- 0.02	0.20 +/- 0.22	7.29 +/- 7.94
4620	822	DKMLFTVTIEK		0.21 +/- 0.03	0.03 +/- 0.00	7.54 +/- 0.96
4542	758	DKLLFTVTIEKWK		0.39 +/- 0.03	0.07 +/- 0.00	5.34 +/- 0.80
4543	759	DKLLFTVTIEKYK		0.45 +/- 0.04	0.09 +/- 0.06	7.01 +/- 4.69
4621	821	DKLLFTVTIEK		0.21 +/- 0.00	0.10 +/- 0.11	5.94 +/- 6.30

图122A

FKBP 构建体				FRB_86 + FKBP_SmTrip9			FRB_229 + FKBP_SmTrip9		
ATG#	Pep ID	Pep 序列	SEQ ID NO.	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应	有雷帕霉素	无雷帕霉素	响应
3770	245	GSMLFRVTINS		0.37 +/- 0.01	0.09 +/- 0.01	3.90 +/- 0.45	0.22 +/- 0.01	0.04 +/- 0.01	5.39 +/- 0.64
3937	521	GKMLFRVTINSWK		0.77 +/- 0.02	0.52 +/- 0.08	1.49 +/- 0.19	0.64 +/- 0.06	0.29 +/- 0.02	2.22 +/- 0.08
4455	780	GKMLFRVTINS		0.45 +/- 0.02	0.20 +/- 0.02	2.27 +/- 0.16	0.31 +/- 0.01	0.08 +/- 0.00	3.75 +/- 0.02
4416	745	DKMLFTVTIQKWK		0.56 +/- 0.01	0.09 +/- 0.04	6.94 +/- 3.13	0.53 +/- 0.11	0.06 +/- 0.04	10.92 +/- 4.89
4456	765	DKMLFTVTIQK		0.36 +/- 0.06	0.03 +/- 0.00	12.46 +/- 3.06	0.25 +/- 0.05	0.02 +/- 0.00	15.12 +/- 0.57
4415	744	DKMLFKVTIQKWK		0.56 +/- 0.03	0.12 +/- 0.05	5.19 +/- 2.29	0.41 +/- 0.02	0.06 +/- 0.01	6.88 +/- 0.65
4436	779	DKMLFKVTIQK		0.43 +/- 0.01	0.06 +/- 0.01	6.95 +/- 0.73	0.24 +/- 0.00	0.03 +/- 0.00	7.49 +/- 0.81
4544	793	DKLLFTVTIGKWK		0.48 +/- 0.01	0.07 +/- 0.03	7.10 +/- 3.14	0.42 +/- 0.03	0.04 +/- 0.02	12.75 +/- 6.40
4618	820	DKLLFTVTIGK		0.22 +/- 0.01	0.02 +/- 0.00	11.31 +/- 1.60	0.17 +/- 0.04	0.01 +/- 0.00	14.91 +/- 1.83
4422	749	DKMLFTVTIGKWK		0.58 +/- 0.01	0.07 +/- 0.04	9.94 +/- 4.88	0.47 +/- 0.01	0.03 +/- 0.00	16.98 +/- 0.78
4619	819	DKMLFTVTIGK		0.27 +/- 0.03	0.03 +/- 0.00	8.91 +/- 0.28	0.18 +/- 0.01	0.02 +/- 0.00	12.57 +/- 2.66
4461	753	DKMLFTVTIEKWK		0.43 +/- 0.03	0.07 +/- 0.03	6.47 +/- 1.99	0.43 +/- 0.01	0.05 +/- 0.03	11.88 +/- 6.85
4620	822	DKMLFTVTIEK		0.18 +/- 0.02	0.02 +/- 0.01	10.41 +/- 1.84	0.14 +/- 0.01	0.01 +/- 0.00	14.54 +/- 0.17
4542	758	DKLLFTVTIEKWK		0.39 +/- 0.09	0.06 +/- 0.02	7.91 +/- 4.43	0.36 +/- 0.03	0.03 +/- 0.00	13.82 +/- 0.02
4543	759	DKLLFTVTIEKYK		0.44 +/- 0.00	0.06 +/- 0.02	7.60 +/- 2.22	0.35 +/- 0.03	0.03 +/- 0.00	13.69 +/- 0.63
4621	821	DKLLFTVTIEK		0.19 +/- 0.00	0.03 +/- 0.01	7.30 +/- 2.11	0.17 +/- 0.01	0.02 +/- 0.01	11.52 +/- 5.27

图122B

合成 SmTrip9 变体的生化分析					
Pep ID	序列	SEQ ID NO.	SmTrip9 Kd (uM)	VS-HiBiT Kd (uM)	Bmax (RLU)
521	*GKMLFRVTINSWK		0.06	1.21	3.25E+07
627	*DKMLFRVTINSWK		0.29	11.76	1.29E+07
628	*EKMLFRVTINSWK		0.10	0.76	2.80E+07
629	*RKMLFRVTINSWK		0.02	1.23	2.99E+07
630	*KKMLFRVTINSWK		0.02	1.64	2.98E+07
631	*HKMLFRVTINSWK		0.03	ND	2.65E+07
632	*GLMLFRVTINSWK		0.08	ND	1.20E+07
633	*GQMLFRVTINSWK		0.09	ND	1.88E+07
634	*GTMLFRVTINSWK		0.08	ND	1.27E+07
635	*GKLLFRVTINSWK		0.06	1.54	2.81E+07
636	*GKMLFKVTINSWK		0.17	2.10	3.10E+07
637	*GKMLFRVTIQSWK		0.02	1.78	3.13E+07
638	*GKMLFRVTIDSWK		0.26	0.96	2.95E+07
639	*GKMLFRVTIGSWK		0.07	1.71	2.88E+07
640	*GKMLFRVTINTWK		0.13	ND	2.91E+07
641	*GKMLFRVTINNWK		0.24	ND	2.87E+07
642	*GKMLFRVTINQWK		0.14	ND	2.62E+07
643	*GKMLFRVTINPWK		0.08	ND	3.00E+07
644	*GKMLFRVTINKWK		0.09	ND	3.05E+07
645	*GKMLFRVTINSWQ		0.26	ND	4.96E+06
646	*GKMLFRVTINSWN		1.46	ND	8.61E+06
647	*GKMLFRVTINSWT		0.18	ND	2.47E+07
648	*GKMLFRVTINSWH		0.19	ND	2.64E+07
649	*GKMLFRVTINSWP		0.08	ND	2.97E+07
650	*GKMLFRVTINSWR		0.09	ND	2.53E+07
*末端未封闭 ND = 未确定的					

图123

合成 SmTrip9 变体的生化分析

Pep ID	序列	SEQ ID NO.	SmTrip9 Kd (uM)	VS-HiBiT Kd (uM)	Bmax (RLU)
521	GKMLFRVTINSWK		0.18	2.11	2.25E+07
677	GKMKFRVTIDSWK		1.47	1.41	3.16E+07
678	GKMLFRVKINSWK		0.74	1.14	3.01E+07
679	GKMLFRVRINSWK		0.36	1.13	2.86E+07
680	GKMLFRVEINSWK		30.23	ND	3.72E+07
681	GKMLFRVDINSWK		3.21	ND	4.74E+06
682	GKMLFRVQINSWK		0.64	ND	1.91E+07
683	GKMKFRVKINSWK		6.72	ND	2.38E+07
684	GKMKFRVRINSWK		2.23	ND	2.09E+07
685	GKMKFRVEINSWK		8.63	ND	3.62E+07
686	GKMKFRVDINSWK		26.76	ND	2.62E+07
687	GKMKFRVQINSWK		2.52	ND	2.81E+07
688	GKMKFRVNINSWK		9.04	ND	2.65E+07
689	GKMKFRVSINSWK		2.97	ND	3.11E+07
690	GKMKFRVTINSWK		0.68	1.59	3.21E+07

ND = 未确定

图124

合成 SmTrip9 变体的生化分析

Pep ID	序列	SEQ ID NO.	SmTrip9 Kd (uM)	VS-HiBiT Kd (uM)	Bmax (RLU)
521	GKMLFRVTINSWK		0.51	ND	2.58E+07
613	GKMLFRVNINSWK		5.25	ND	3.23E+07
614	GKMLFRVSINSWK		2.58	ND	3.66E+07
615	GKMLFRVWINSWK		0.35	ND	1.75E+07
616	GKMSFRVTINSWK		1.23	ND	2.31E+07
617	GKMWFRVTINSWK		0.32	ND	1.20E+07
618	GKMNFRVTINSWK		2.69	ND	1.10E+07
619	GSMLFRVTINSYK		1.51	ND	2.57E+07
620	GKMLFRVTINSYK		0.19	ND	2.66E+07
621	GKMLFRVTIKSWK		0.04	1.12	3.11E+07
622	GKMLFRVTIESWK		7.24	33.48	3.41E+07
716	GKMKFRVTIQSWK		0.29	ND	3.36E+07
717	GKMKFRVTIESWK		1.14	ND	3.26E+07
718	GKMKFRVTIKSWK		0.38	ND	3.36E+07
719	GKMKFRVTIRSWK		0.37	ND	3.27E+07

ND = 未确定

图125

合成 SmTrip9 变体的生化分析					
Pep ID	序列	SEQ ID NO.	SmTrip9 Kd (uM)	VS-HiBiT Kd (uM)	Bmax (RLU)
521	GKMLFRVTINSWK		0.17	4.20	2.51E+07
651	RLMLFRVTINSWK		0.04	ND	2.27E+07
652	RQMLFRVTINSWK		0.03	ND	2.86E+07
653	KLMLFRVTINSWK		0.16	ND	2.78E+07
654	KQMLFRVTINSWK		0.06	ND	2.86E+07
655	ELMLFRVTINSWK		15.86	ND	7.15E+06
656	EQMLFRVTINSWK		6.26	ND	1.52E+07
657	DLMLFRVTINSWK		0.07	ND	6.26E+05
658	DQMLFRVTINSWK		4.38	ND	2.38E+06
659	DKMLFRVTINSWK		0.58	31.91	3.65E+06
660	EKMLFRVTINSWK		0.19	9.75	1.83E+07
661	RKMLFRVTINSWK		0.01	4.34	3.19E+07
662	KKMLFRVTINSWK		0.02	2.72	3.09E+07
663	GKMLFRVTIDSWK		0.25	2.40	3.21E+07
665	GKMLFRVTIGSWK		0.14	6.16	2.81E+07
667	GKMLFRVTINKWK		0.07	2.98	3.63E+07
668	GKMLFRVTIGKWK		0.06	2.78	3.06E+07
669	GKMLFRVTIGNWK		0.38	3.06	2.82E+07
670	GKMLFRVTISKWK		0.03	3.96	3.11E+07
671	GKMLFRVTIQKWK		0.02	3.15	3.67E+07
672	GKMLFRVTITKWK		0.01	3.19	3.18E+07
673	GKMLFRVTIKKWK		0.04	2.85	3.53E+07
675	GKMLFKVTINSWK		0.17	8.06	2.61E+07
676	RLMLFRVTIGKWK		0.02	4.09	2.92E+07
ND = 未确定					

图126

合成 SmTrip9 变体的生化分析					
Pep ID	序列	SEQ ID NO.	SmTrip9 Kd (uM)	VS-HiBiT Kd (uM)	Bmax (RLU)
521	GKMLFRVTINSWK		0.21	2.18	2.82E+07
659	DKMLFRVTINSWK		0.76	24.39	5.24E+06
660	EKMLFRVTINSWK		0.30	4.38	2.35E+07
667	GKMLFRVTINKWK		0.16	0.79	4.07E+07
668	GKMLFRVTIGKWK		0.13	0.75	3.55E+07
671	GKMLFRVTIQKWK		0.06	0.65	4.21E+07
675	GKMLFKVTINSWK		0.47	9.71	1.65E+07
620	GKMLFRVTINSYK		0.12	2.27	2.82E+07
622	GKMLFRVTIESWK		2.88	1.73	3.16E+07
701	GKMLFRVTINRWK		0.12	1.01	3.69E+07
703	GKMLFRVTIEKWK		0.11	1.18	3.61E+07
707	EKMLFRVTIEKWK		1.12	0.90	3.23E+07
708	EKMLFRVTIGKWK		0.28	1.18	3.27E+07
709	EKMLFRVTIGRWK		0.18	1.61	2.99E+07
710	EKMLFTVTIGKWK		1.29	5.24	1.94E+07
711	EKLLFTVTIGKWK		0.50	5.52	1.40E+07
712	EKMLFTVTIGRWK		0.37	6.09	1.66E+07
714	EKMLFKVTIQKWK		0.22	1.18	3.34E+07
720	EKMLFTVTIEKWK		0.36	4.29	2.19E+07
722	DKMLFRVTIESWK		17.79	10.61	2.23E+07
726	EKLLFRVTIGKYK		0.64	1.49	2.63E+07
ND = 未确定					

图127

合成 SmTrip9 变体的生化分析					
Pep ID	序列	SEQ ID NO.	SmTrip9 Kd (uM)	VS-HiBiT Kd (uM)	Bmax (RLU)
521	GKMLFRVTINSWK		0.20	3.56	3.03E+07
738	DKMLFRVTIQKWK		0.23	3.06	3.64E+07
739	DKMLFRVTIGKWK		0.20	2.28	3.41E+07
740	DKMLFRVTIGNWK		3.65	59.23	1.93E+07
741	DKMLFRVTIQNWK		12.58	33.67	1.01E+07
742	DKMLFRVTIEKWK		0.75	1.44	3.55E+07
743	GKMLFRVTINKWK		0.10	1.33	3.98E+07
744	DKMLFKVTIQKWK		1.13	4.65	2.74E+07
745	DKMLFTVTIQKWK		0.16	7.52	2.30E+07
746	DKLLFKVTIQKWK		1.10	6.23	1.53E+07
747	DKLLFKVTIQKYK		0.10	4.25	2.76E+07
748	DKMLFKVTIGKWK		0.44	2.24	3.43E+07
749	DKMLFTVTIGKWK		1.70	8.26	1.92E+07
750	DKLLFKVTIGKWK		0.35	3.34	2.32E+07
751	DKLLFKVTIGKYK		0.61	3.28	2.55E+07
752	DKMLFKVTIEKWK		0.32	1.58	3.26E+07
753	DKMLFTVTIEKWK		0.12	7.59	2.01E+07
754	DKLLFKVTIEKWK		0.75	1.52	2.35E+07
755	DKLLFKVTIEKYK		1.45	1.20	2.70E+07
ND = 未确定					

图128

合成 SmTrip9 变体的生化分析					
Pep ID	序列	SEQ ID NO.	SmTrip9 Kd (uM)	VS-HiBiT Kd (uM)	Bmax (RLU)
521	GKMLFRVTINSWK		0.32	2.34	2.74E+07
756	DKLLFTVTIQKWK		0.48	4.26	1.73E+07
757	DKLLFTVTIQKYK		0.36	3.67	1.91E+07
758	DKLLFTVTIEKWK		0.19	6.34	1.84E+07
759	DKLLFTVTIEKYK		0.33	4.93	2.25E+07
760	KKMLFRVTIQKWK		0.00	1.61	4.48E+07
761	KKLLFRVTIQKWK		0.02	1.49	4.00E+07
762	DRMLFRVTIQRWR		0.12	2.83	3.45E+07
766	ERMLFRVTIGRWR		0.07	6.49	2.86E+07
768	GRMLFRVTINRWR		0.10	1.96	3.97E+07
770	DRMLFRVTIERWR		0.35	3.74	2.53E+07
738	DKMLFRVTIQKWK		0.11	2.37	3.97E+07
742	DKMLFRVTIEKWK		1.00	0.68	3.89E+07
743	GKMLFRVTINKWK		0.10	1.36	4.36E+07
745	DKMLFTVTIQKWK		0.20	5.84	2.46E+07
753	DKMLFTVTIEKWK		0.15	4.73	2.16E+07
ND = 未确定					

图129

合成SmTrip9变体的生化分析					
Pep ID	序列	SEQ ID NO.	SmTrip9 Kd (uM)	VS-HiBiT Kd (uM)	Bmax (RLU)
521	GKMLFRVTINSWK		0.48	3.95	2.43E+07
756	DKLLFTVTIQKWK		0.95	5.52	1.43E+07
757	DKLLFTVTIQKYK		0.19	7.02	1.87E+07
758	DKLLFTVTIEKWK		0.52	6.82	1.45E+07
759	DKLLFTVTIEKYK		0.56	4.94	1.87E+07
760	KKMLFRVTIQKWK		0.02	2.45	4.25E+07
781	GKMLFKVTINKWK		0.38	1.20	4.22E+07
782	GKMLFTVTINKWK		0.36	2.78	3.18E+07
783	DKMLFKVTIQKYK		0.24	2.20	3.24E+07
784	DKMLFRVTINKWK		0.41	11.60	1.67E+07
785	DKMLFKVTIEKYK		0.38	1.28	3.64E+07
786	DKMLFTVTINKWK		0.50	35.65	2.54E+06
787	DKMLFKVTINKWK		0.73	24.17	1.23E+07
793	DKLLFTVTIGKWK		0.54	5.65	1.27E+07
794	DKLLFTVTIGKYK		0.23	5.96	1.01E+07
799	DKLLFTVTINKWK		0.21	42.69	1.51E+06
800	DKLLFTVTINKYK		9.75	88.68	6.49E+05
743	GKMLFRVTINKWK		0.11	1.19	4.05E+07
745	DKMLFTVTIQKWK		0.30	25.63	2.66E+06
749	DKMLFTVTIGKWK		1.06	6.57	1.34E+07
ND = 未确定					

图130

合成SmTrip9肽的溶解度			
Pep ID	序列	SEQ ID NO.	溶解度#
521	*GKMLFRVTINSWK		Y
627	*DKMLFRVTINSWK		N
628	*EKMLFRVTINSWK		Y
629	*RKMLFRVTINSWK		Y
630	*KKMLFRVTINSWK		Y
631	*HKMLFRVTINSWK		N
632	*GLMLFRVTINSWK		N
633	*GQMLFRVTINSWK		N
634	*GTMLFRVTINSWK		N
635	*GKLLFRVTINSWK		Y
636	*GKMLFKVTINSWK		Y
637	*GKMLFRVTIQSWK		Y
638	*GKMLFRVTIDSWK		Y
639	*GKMLFRVTIGSWK		Y
640	*GKMLFRVTINTWK		Y
641	*GKMLFRVTINNWK		Y
642	*GKMLFRVTINQWK		Y
643	*GKMLFRVTINPWK		Y
644	*GKMLFRVTINKWK		Y
645	*GKMLFRVTINSWQ		Y
646	*GKMLFRVTINSWN		Y
647	*GKMLFRVTINSWT		Y
648	*GKMLFRVTINSWH		Y
649	*GKMLFRVTINSWP		Y
650	*GKMLFRVTINSWR		N
677	GKMKFRVTIDSWK		Y
678	GKMLFRVKINSWK		Y
679	GKMLFRVRINSWK		Y
680	GKMLFRVEINSWK		Y
681	GKMLFRVDINSWK		N
682	GKMLFRVQINSWK		Y
683	GKMKFRVKINSWK		Y
684	GKMKFRVRINSWK		Y
685	GKMKFRVEINSWK		Y
686	GKMKFRVDINSWK		Y
687	GKMKFRVQINSWK		Y
688	GKMKFRVNINSWK		Y
689	GKMKFRVSINSWK		Y
690	GKMKFRVTINSWK		Y
#多次冷冻/解冻后，于水中，约1 mM *末端未封闭			

图131A

合成 SmTrip9 肽的溶解度			
Pep ID	序列	SEQ ID NO.	溶解度 #
521	GKMLFRVTINSWK		Y
613	GKMLFRVNINSWK		Y
614	GKMLFRVSINSWK		Y
615	GKMLFRVWINSWK		Y
616	GKMSFRVTINSWK		Y
617	GKMWFRVTINSWK		Y
618	GKMNFRVTINSWK		Y
619	GSMLFRVTINSYK		Y
620	GKMLFRVTINSYK		Y
621	GKMLFRVTIKSWK		Y
622	GKMLFRVTIESWK		Y
716	GKMKFRVTIQSWK		Y
717	GKMKFRVTIESWK		Y
718	GKMKFRVTIKSWK		Y
719	GKMKFRVTIRSWK		Y
651	RLMLFRVTINSWK		N
652	RQMLFRVTINSWK		N
653	KLMLFRVTINSWK		N
654	KQMLFRVTINSWK		N
655	ELMLFRVTINSWK		N
656	EQMLFRVTINSWK		N
657	DLMLFRVTINSWK		N
658	DQMLFRVTINSWK		N
659	DKMLFRVTINSWK		N
660	EKMLFRVTINSWK		Y
661	RKMLFRVTINSWK		Y
662	KKMLFRVTINSWK		Y
663	GKMLFRVTIDSWK		Y
665	GKMLFRVTIGSWK		Y
667	GKMLFRVTINKWK		Y
668	GKMLFRVTIGKWK		Y
669	GKMLFRVTIGNWK		Y
670	GKMLFRVTISKWK		Y
671	GKMLFRVTIQKWK		Y
672	GKMLFRVTITKWK		Y
673	GKMLFRVTIKKWK		Y
675	GKMLFKVTINSWK		Y
676	RLMLFRVTIGKWK		Y
701	GKMLFRVTINRWK		Y
703	GKMLFRVTIEKWK		Y
707	EKMLFRVTIEKWK		Y
708	EKMLFRVTIGKWK		Y
709	EKMLFRVTIGRWK		Y
710	EKMLFTVTIGKWK		Y
711	EKLLFTVTIGKWK		Y
712	EKMLFTVTIGRWK		Y
714	EKMLFKVTIQKWK		Y
720	EKMLFTVTIEKWK		Y
722	DKMLFRVTIESWK		Y
726	EKLLFRVTIGKYK		Y
#多次冷冻/解冻后，于水中，约1 mM *末端未封闭			

图131B

合成 SmTrip9 肽的溶解度			
Pep ID	序列	SEQ ID NO.	溶解度 #
521	GKMLFRVTINSWK		Y
613	GKMLFRVNINSWK		Y
614	GKMLFRVSINSWK		Y
615	GKMLFRVWINSWK		Y
616	GKMSFRVTINSWK		Y
617	GKMWFRVTINSWK		Y
618	GKMNFRVTINSWK		Y
619	GSMLFRVTINSYK		Y
620	GKMLFRVTINSYK		Y
621	GKMLFRVTIKSWK		Y
622	GKMLFRVTIESWK		Y
716	GKMKFRVTIQSWK		Y
717	GKMKFRVTIESWK		Y
718	GKMKFRVTIKSWK		Y
719	GKMKFRVTIRSWK		Y
651	RLMLFRVTINSWK		N
652	RQMLFRVTINSWK		N
653	KLMLFRVTINSWK		N
654	KQMLFRVTINSWK		N
655	ELMLFRVTINSWK		N
656	EQMLFRVTINSWK		N
657	DLMLFRVTINSWK		N
658	DQMLFRVTINSWK		N
659	DKMLFRVTINSWK		N
660	EKMLFRVTINSWK		Y
661	RKMLFRVTINSWK		Y
662	KKMLFRVTINSWK		Y
663	GKMLFRVTIDSWK		Y
665	GKMLFRVTIGSWK		Y
667	GKMLFRVTINKWK		Y
668	GKMLFRVTIGKWK		Y
669	GKMLFRVTIGNWK		Y
670	GKMLFRVTISKWK		Y
671	GKMLFRVTIQKWK		Y
672	GKMLFRVTITKWK		Y
673	GKMLFRVTIKKWK		Y
675	GKMLFKVTINSWK		Y
676	RLMLFRVTIGKWK		Y
701	GKMLFRVTINRWK		Y
703	GKMLFRVTIEKWK		Y
707	EKMLFRVTIEKWK		Y
708	EKMLFRVTIGKWK		Y
709	EKMLFRVTIGRWK		Y
710	EKMLFTVTIGKWK		Y
711	EKLLFTVTIGKWK		Y
712	EKMLFTVTIGRWK		Y
714	EKMLFKVTIQKWK		Y
720	EKMLFTVTIEKWK		Y
722	DKMLFRVTIESWK		Y
726	EKLLFRVTIGKYK		Y
#多次冷冻/解冻后，于水中，约1 mM *末端未封闭			

图131C

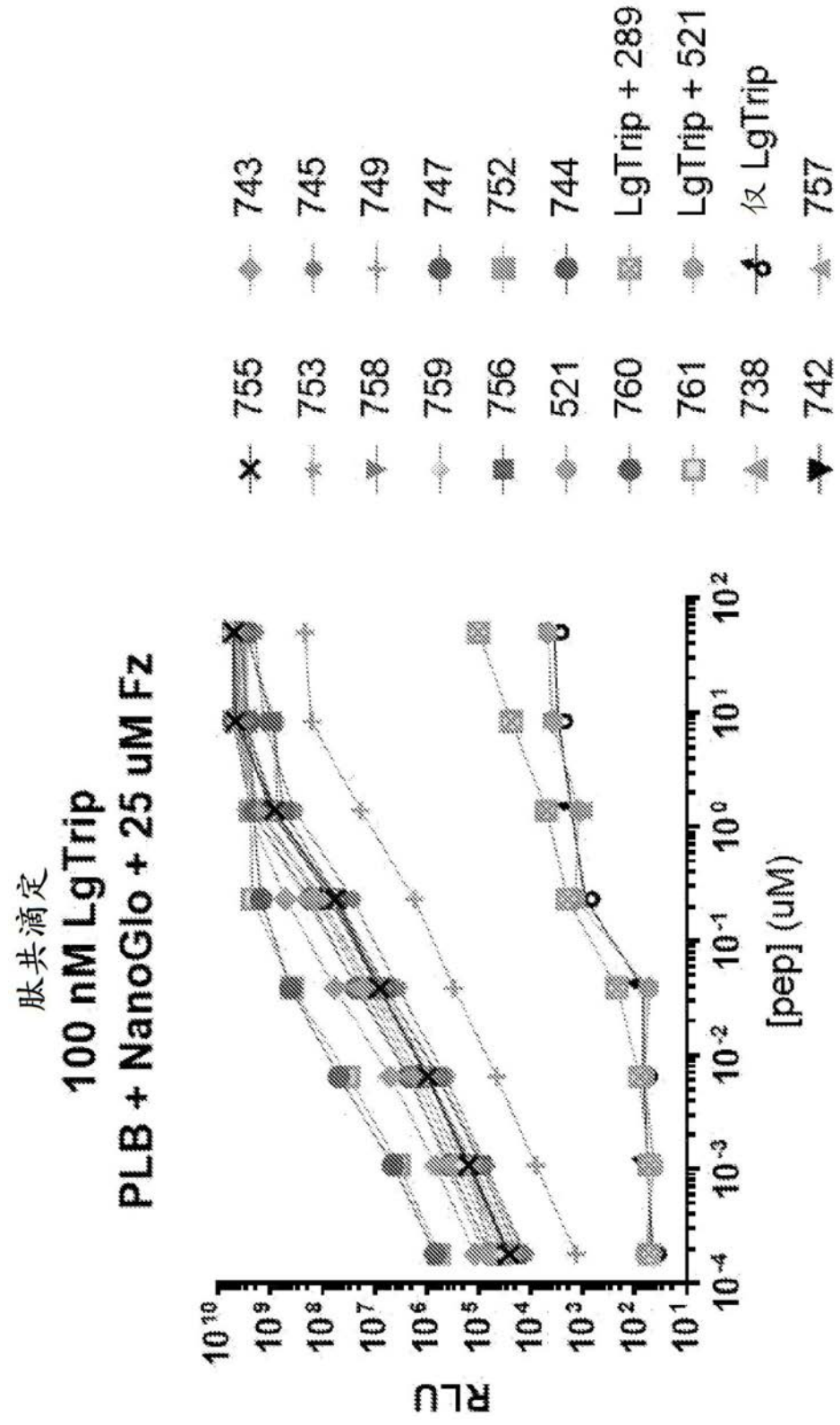

肽共滴定
100 nM LgTrip
PLB + NanoGlo + 25 uM Fz
RLU
[pep] (uM)
743
745
749
747
752
744
LgTrip + 289
LgTrip + 521
仅 LgTrip
757
755
753
758
759
756
521
760
761
738
742

图132

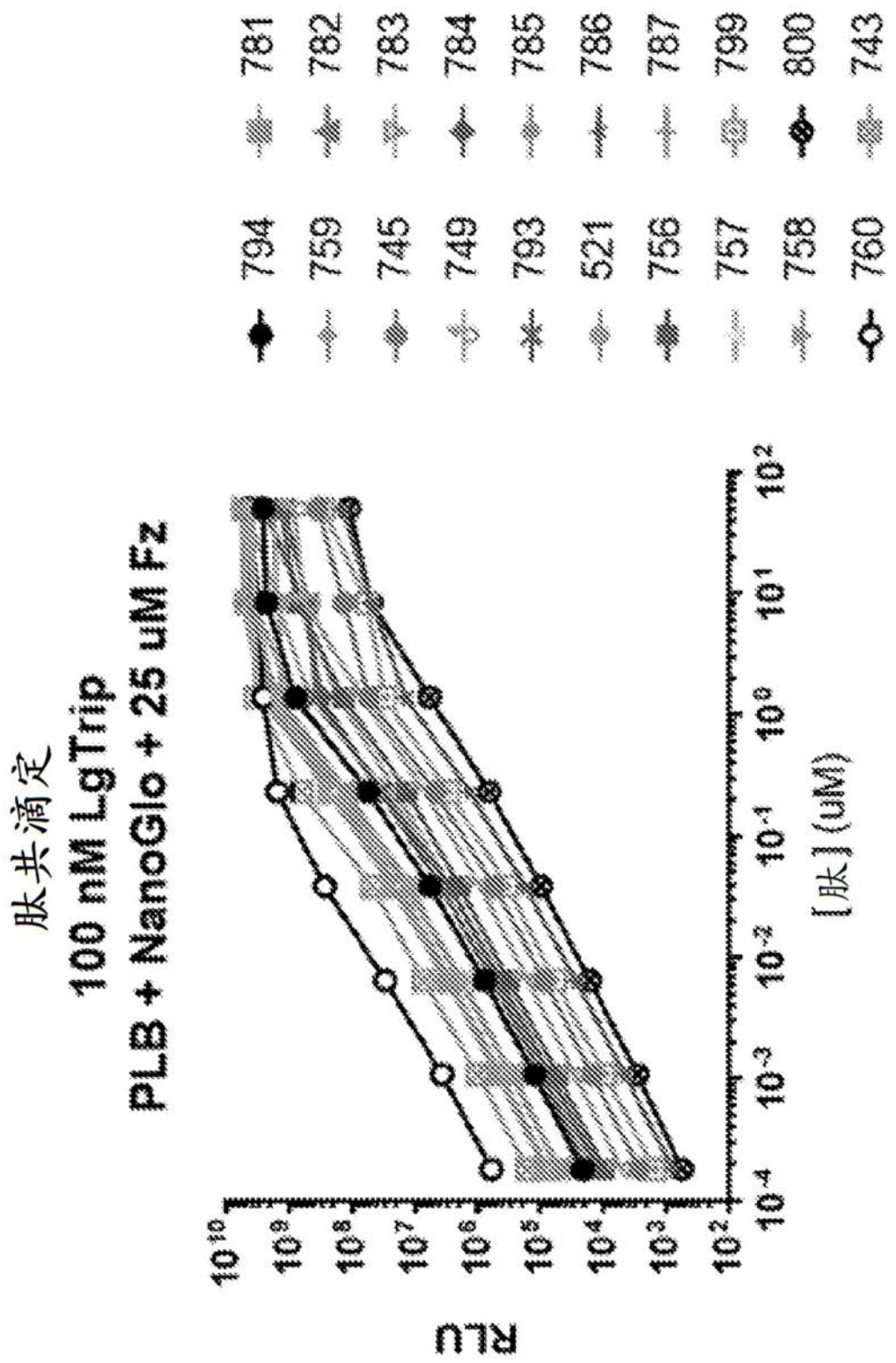

781
782
783
784
785
786
787
799
800
743
794
759
745
749
793
521
756
757
758
760
肽共滴定
100 nM LgTrip
PLB + NanoGlo + 25 uM Fz
RLU
[肽] (uM)

图133

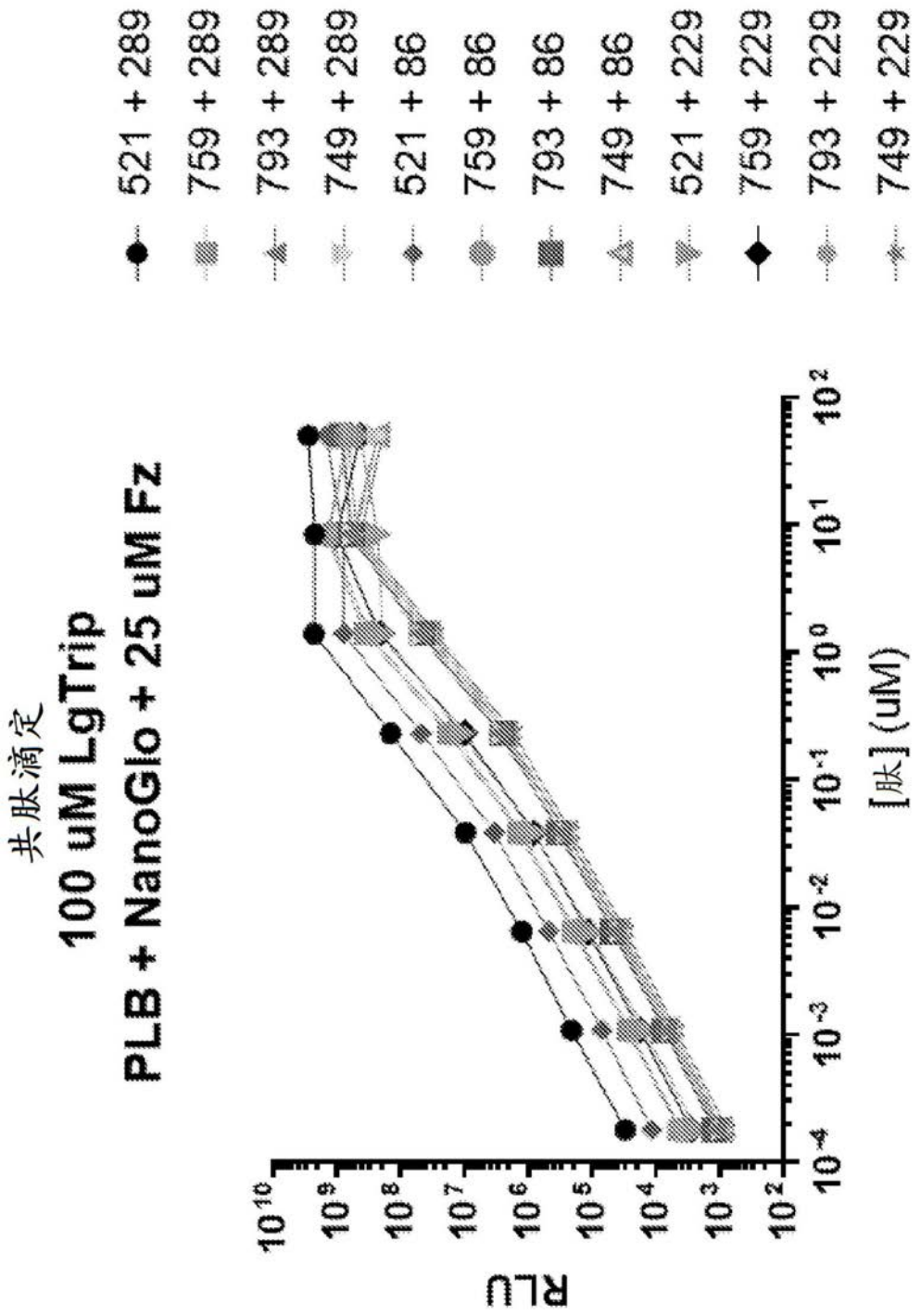

共肽滴定
100 uM LgTrip
PLB + NanoGlo + 25 uM Fz
RLU
[肽] (uM)
521 + 289
759 + 289
793 + 289
749 + 289
521 + 86
759 + 86
793 + 86
749 + 86
521 + 229
759 + 229
793 + 229
749 + 229

图134

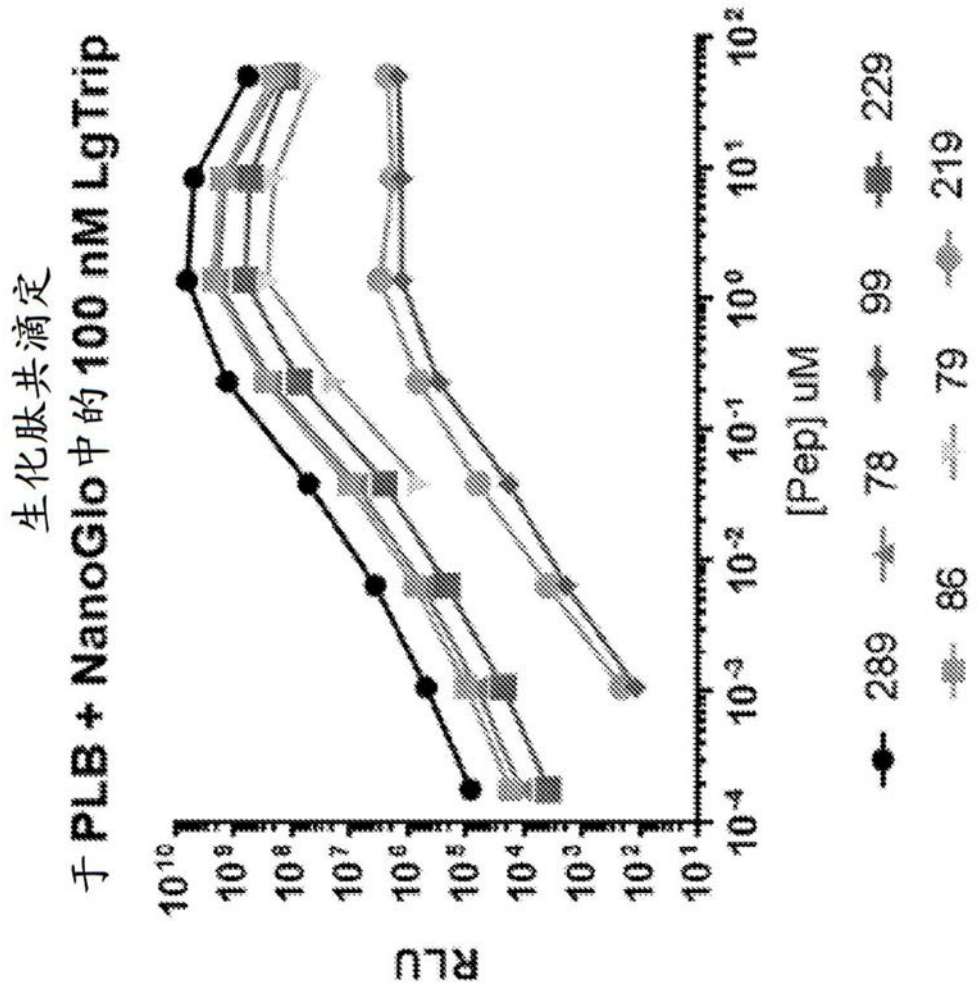

生化肽共滴定
于 PLB + NanoGlo 中的 100 nM LgTrip
RLU
[Pep] uM
289
78
99
229
86
79
219

图135

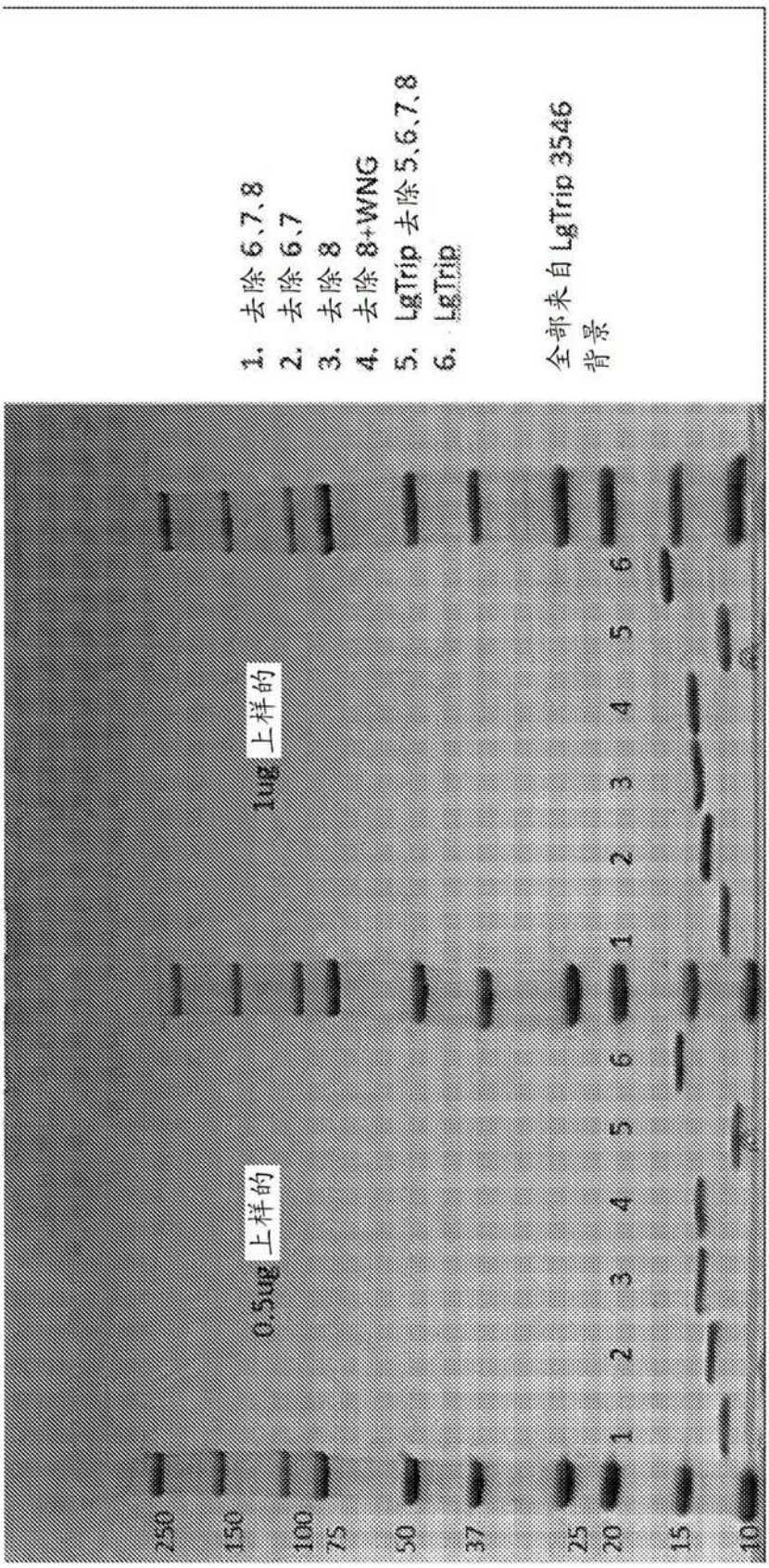

250
150
100
75
50
37
25
20
15
10
0.5ug 上样的
1ug 上样的
1 2 3 4 5 6
1 2 3 4 5 6
1. 去除 6、7、8
2. 去除 6、7
3. 去除 8
4. 去除 8+WNG
5. LgTrip 去除 5、6、7、8
6. LgTrip
全部来自 LgTrip 3546
背景

图136

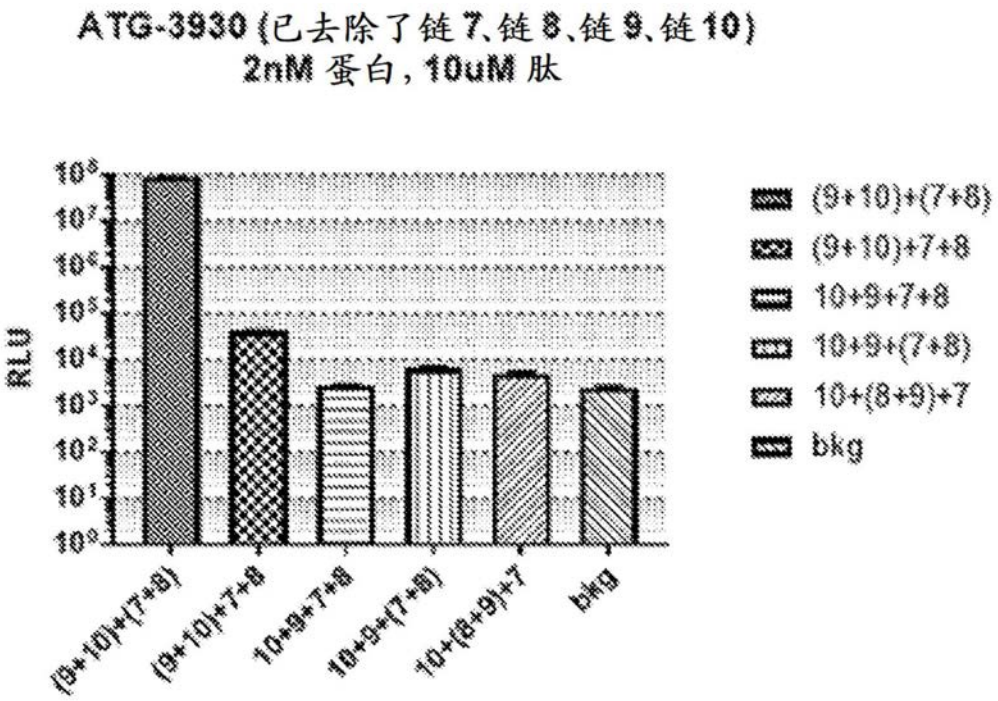

ATG-3930(已去除了链7、链8、链9、链10)
2nM 蛋白，10uM 肽
RLU
(9+10)+(7+8)
(9+10)+7+8
10+9+7+8
10+9+(7+8)
10+(8+9)+7
bkg

图137A

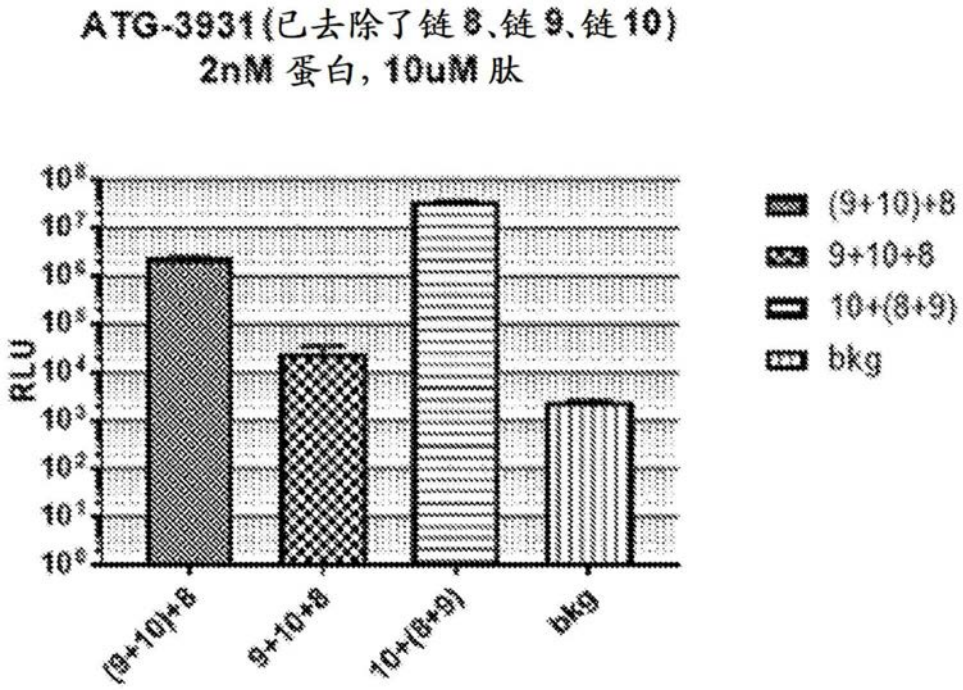

ATG-3931(已去除了链8、链9、链10)
2nM 蛋白，10uM 肽
RLU
(9+10)+8
9+10+8
10+(8+9)
bkg

图137B

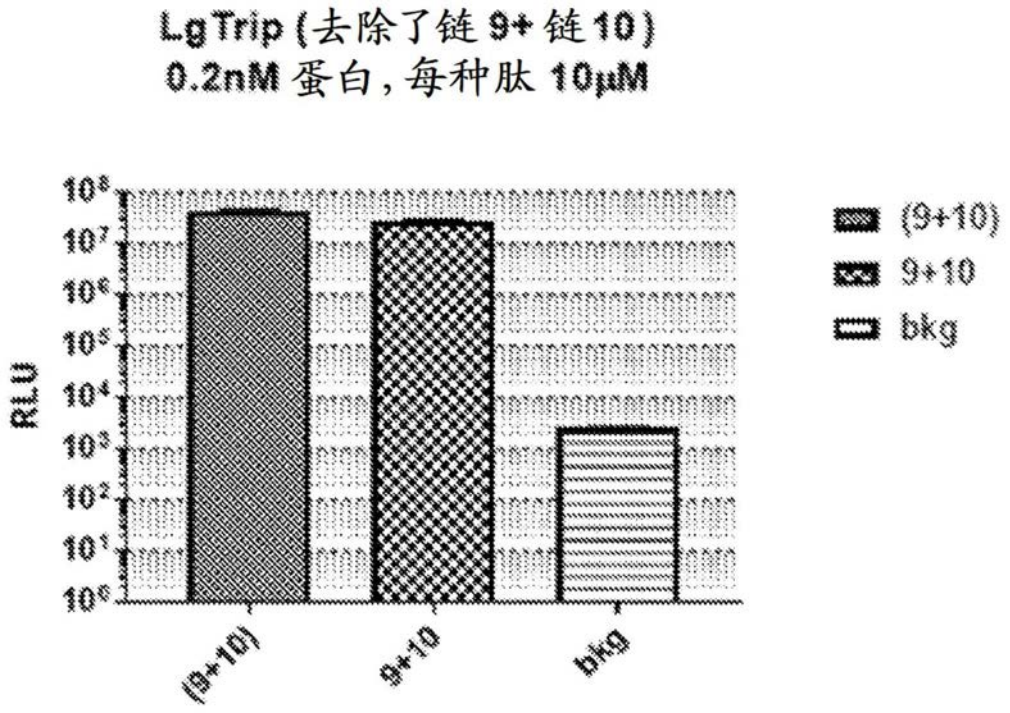

LgTrip (去除了链 9+ 链 10)
0.2nM 蛋白，每种肽 10μM
RLU
(9+10)
9+10
bkg

图137C

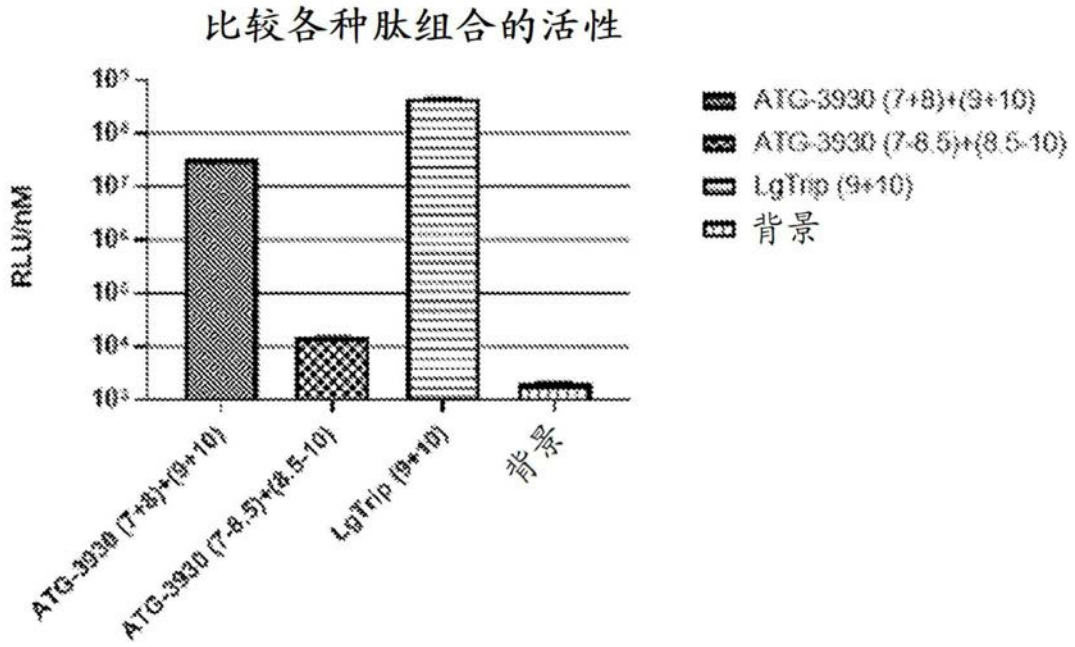

比较各种肽组合的活性
RLU/nM
ATG-3930 (7+8)+(9+10)
ATG-3930 (7-8.5)+(8.5-10)
LgTrip (9+10)
背景

图137D

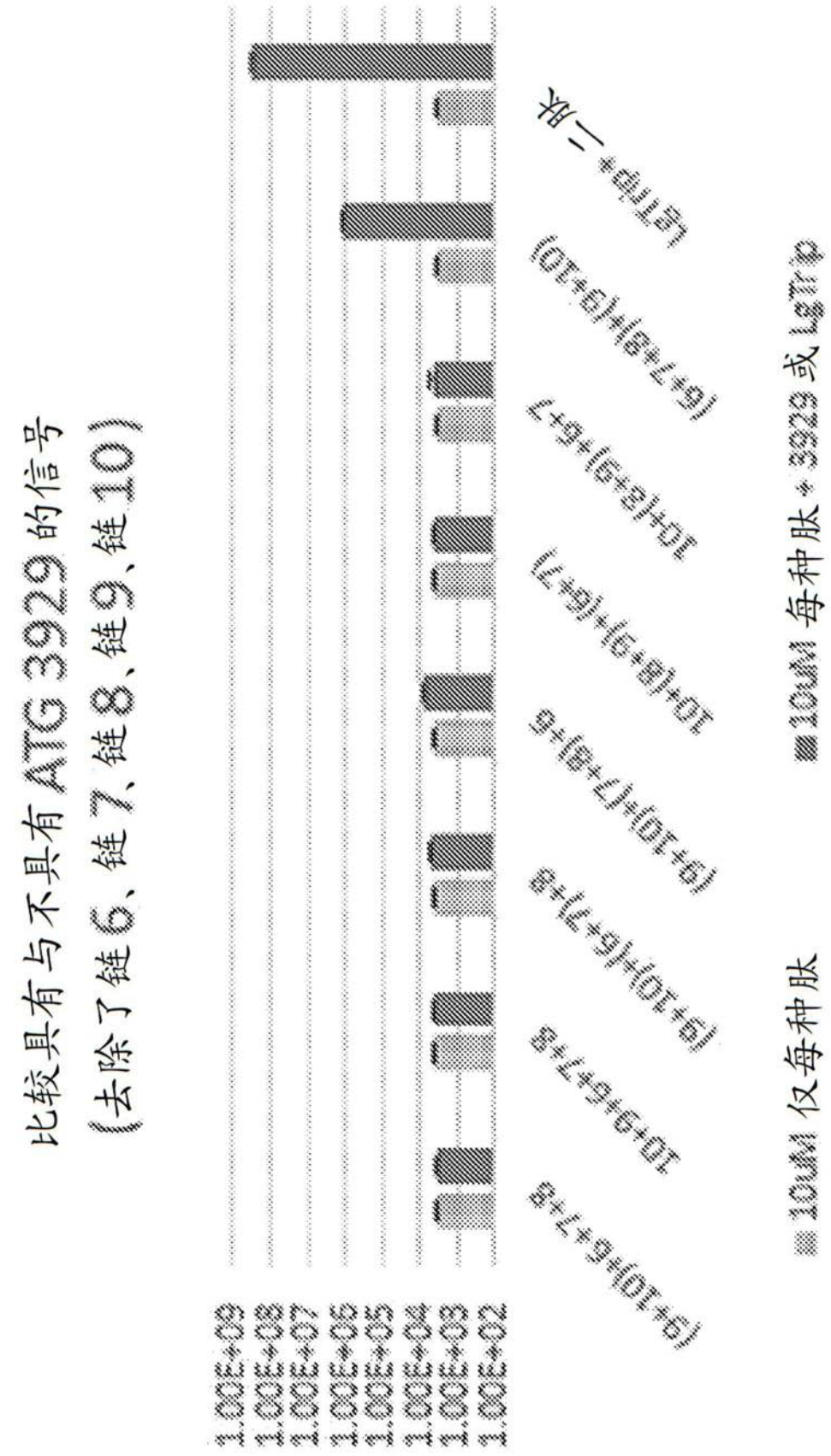

比较具有与不具有 ATG 3929 的信号
(去除了链 6、链 7、链 8、链 9、链 10)
1.00E+09
1.00E+08
1.00E+07
1.00E+06
1.00E+05
1.00E+04
1.00E+03
1.00E+02
10uM 仅每种肽
10uM 每种肽 + 3929 或 LgTrp
载体对照
(6+7+8+9+10)
10+6+8+9+7
10+6+7+9+8
10+7+8+9+6
10+6+8+9+7
10+6+9+7+8
10+7+8+9+6

图138A

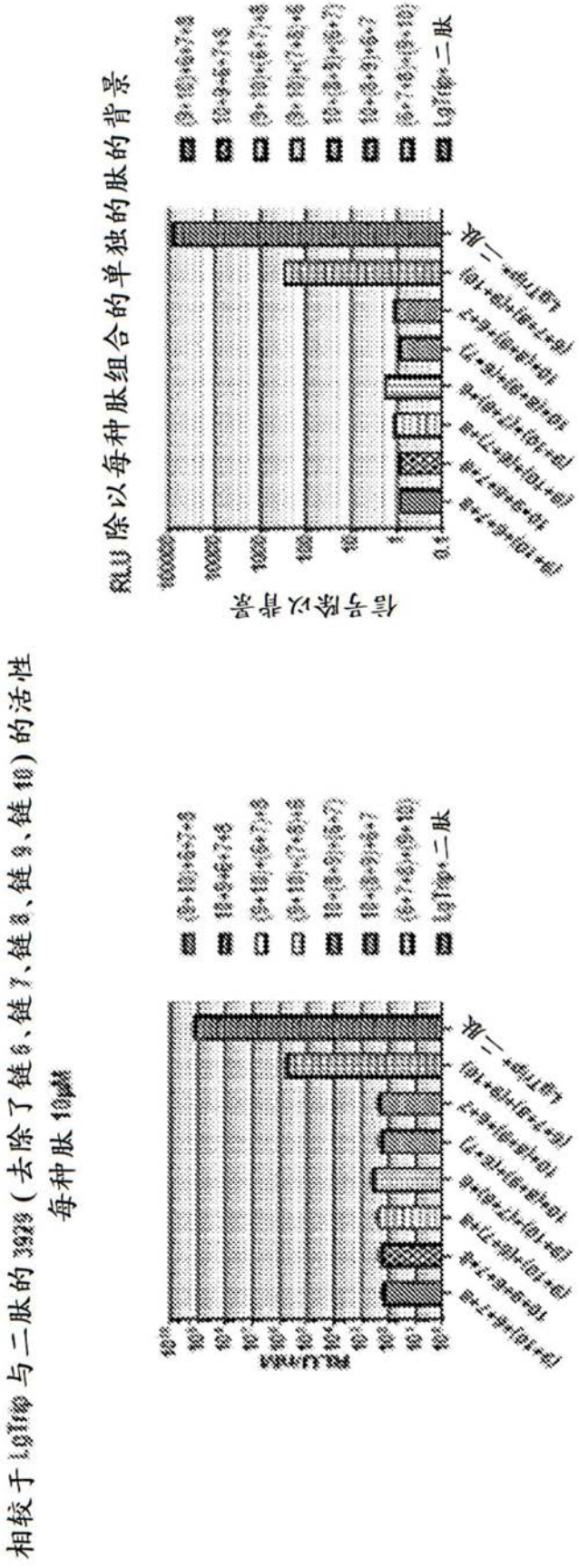

除以每种肽组合的单独的肽的背景
信号除以背景
相较于 [illegible] 与二肽的 [illegible]（去除了链 6、链 7、链 8、链 9、链 10）的活性
每种肽 [illegible]
二肽

图138B

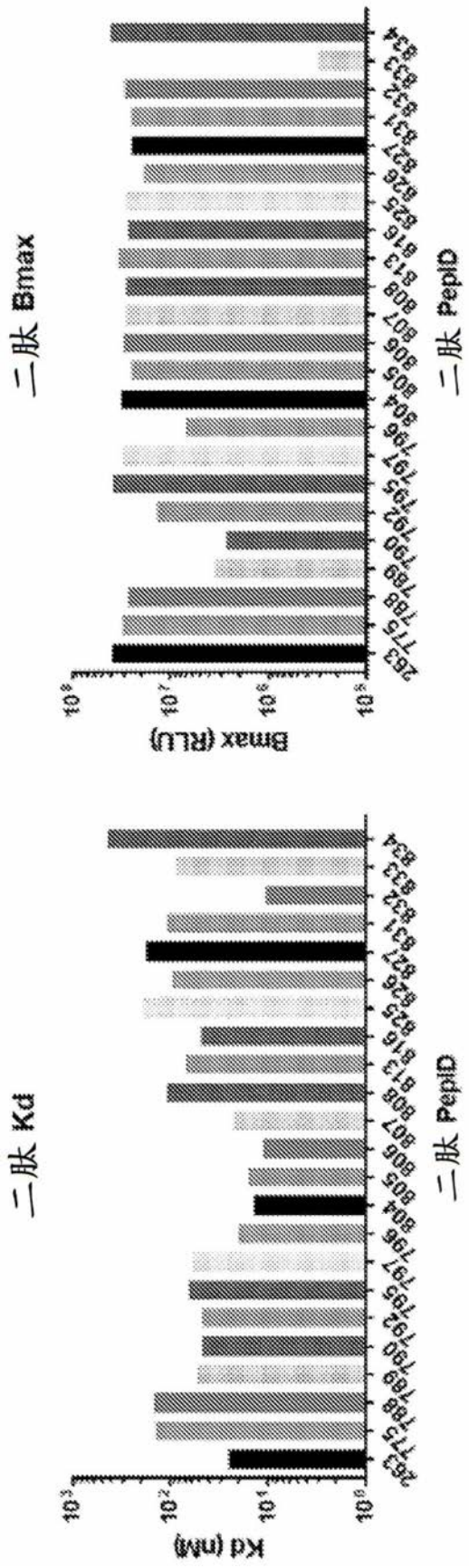


图139A

肽 ID	Bmax	Kd
263	1.00	1.0
592	1.00	10.3
595	0.68	4.8
603	0.06	2.7
604	0.93	0.9
605	0.92	1.7
606	0.94	4.0
607	1.14	1.7
593	0.78	8.2
594	0.40	9.9
598	1.08	15.4
599	0.68	10.5
600	0.52	7.2
602	0.89	8.9
591	0.11	3.8
596	0.29	55.9
597	0.05	7.5
601	0.10	4.1
609	0.42	371.7
610	0.12	46.2

肽 ID	Bmax	Kd
263	3.01E+07	11.59
592	3.00E+07	119.1
595	2.06E+07	56.02
603	1.76E+06	31.17
604	2.78E+07	10.05
605	2.76E+07	19.61
606	2.83E+07	46.39
607	3.42E+07	20.18
593	2.34E+07	95.48
594	1.19E+07	115
598	3.24E+07	178.1
599	2.05E+07	122.1
600	1.56E+07	83.39
602	2.67E+07	103.2
591	3.44E+06	44.5
596	8.79E+06	648.3
597	1.59E+06	86.75
601	3.12E+06	47.6
609	1.26E+07	4308
610	3.60E+06	535.8

图139B

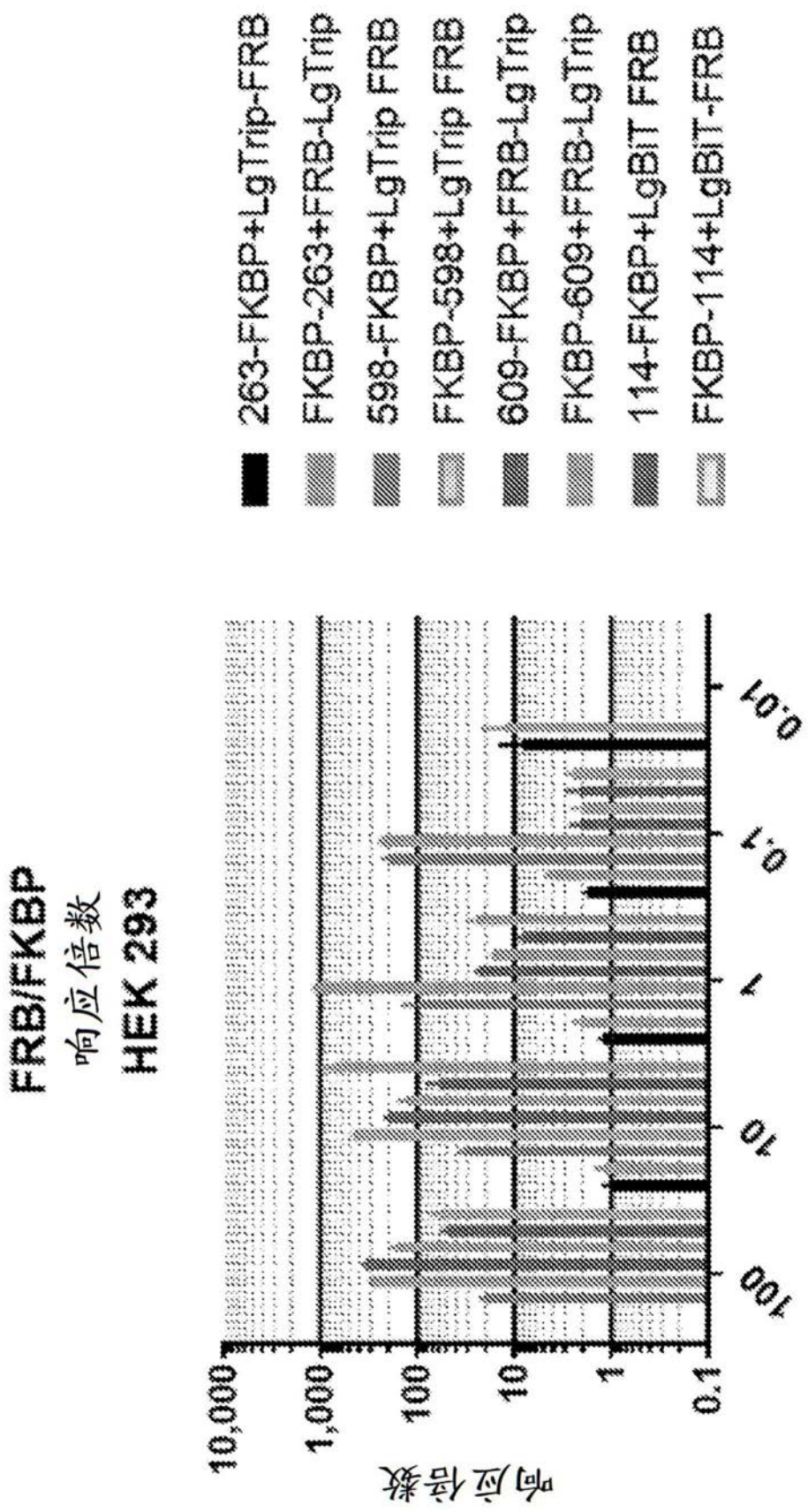

263-FKBP+LgTrip-FRB
FKBP-263+FRB-LgTrip
598-FKBP+LgTrip FRB
FKBP-598+LgTrip FRB
609-FKBP+FRB-LgTrip
FKBP-609+FRB-LgTrip
114-FKBP+LgBiT FRB
FKBP-114+LgBiT-FRB
FRB/FKBP
响应倍数
HEK 293
10,000
1,000
100
10
1
0.1
0.01
0.1
1
10
100
响应倍数

图139C

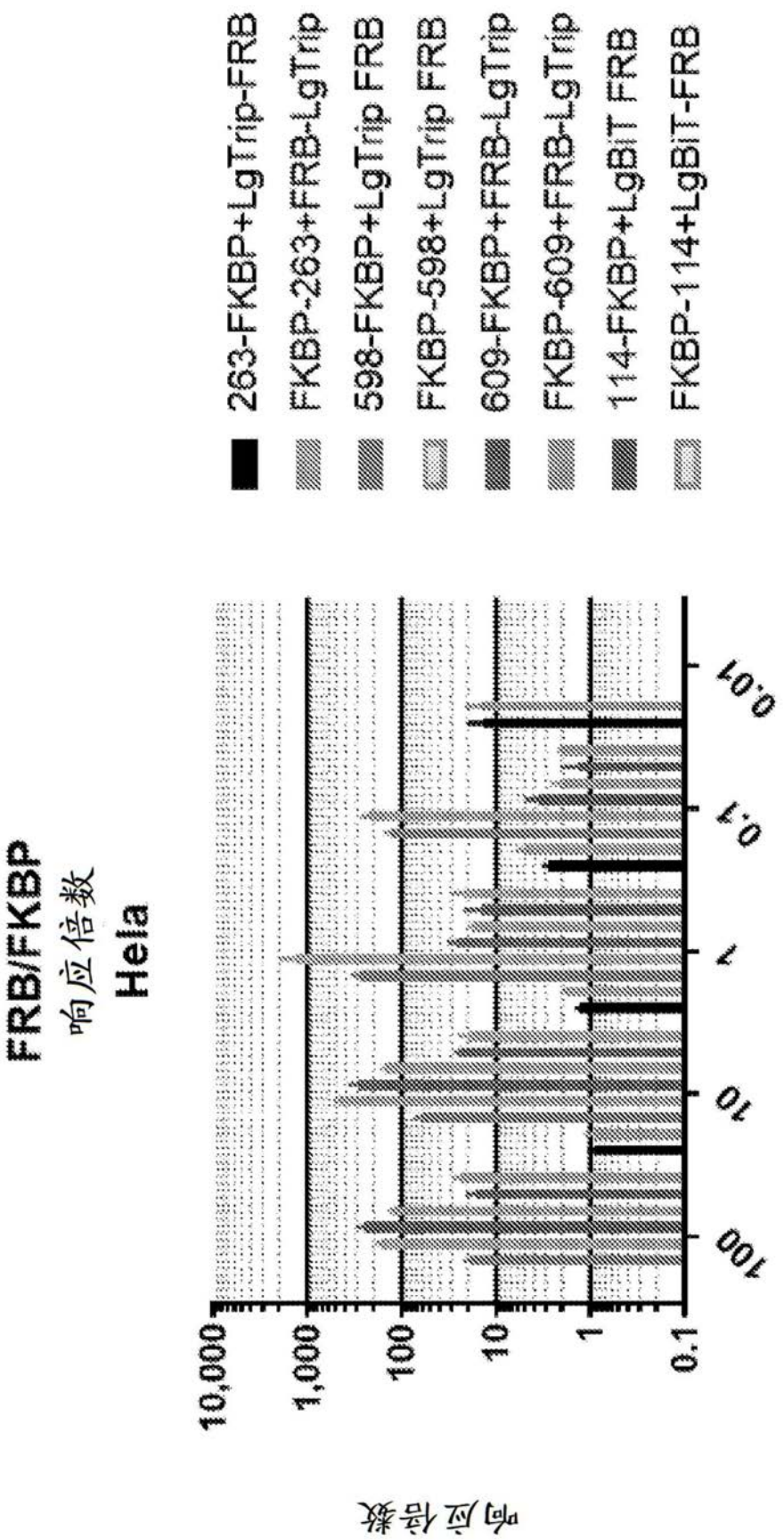

263-FKBP+LgTrip-FRB
FKBP-263+FRB-LgTrip
598-FKBP+LgTrip FRB
FKBP-598+LgTrip FRB
609-FKBP+FRB-LgTrip
FKBP-609+FRB-LgTrip
114-FKBP+LgBiT FRB
FKBP-114+LgBiT-FRB
FRB/FKBP
响应倍数
Hela
10,000
1,000
100
10
1
0.1
100
10
1
0.1
0.01
响应倍数

图139D

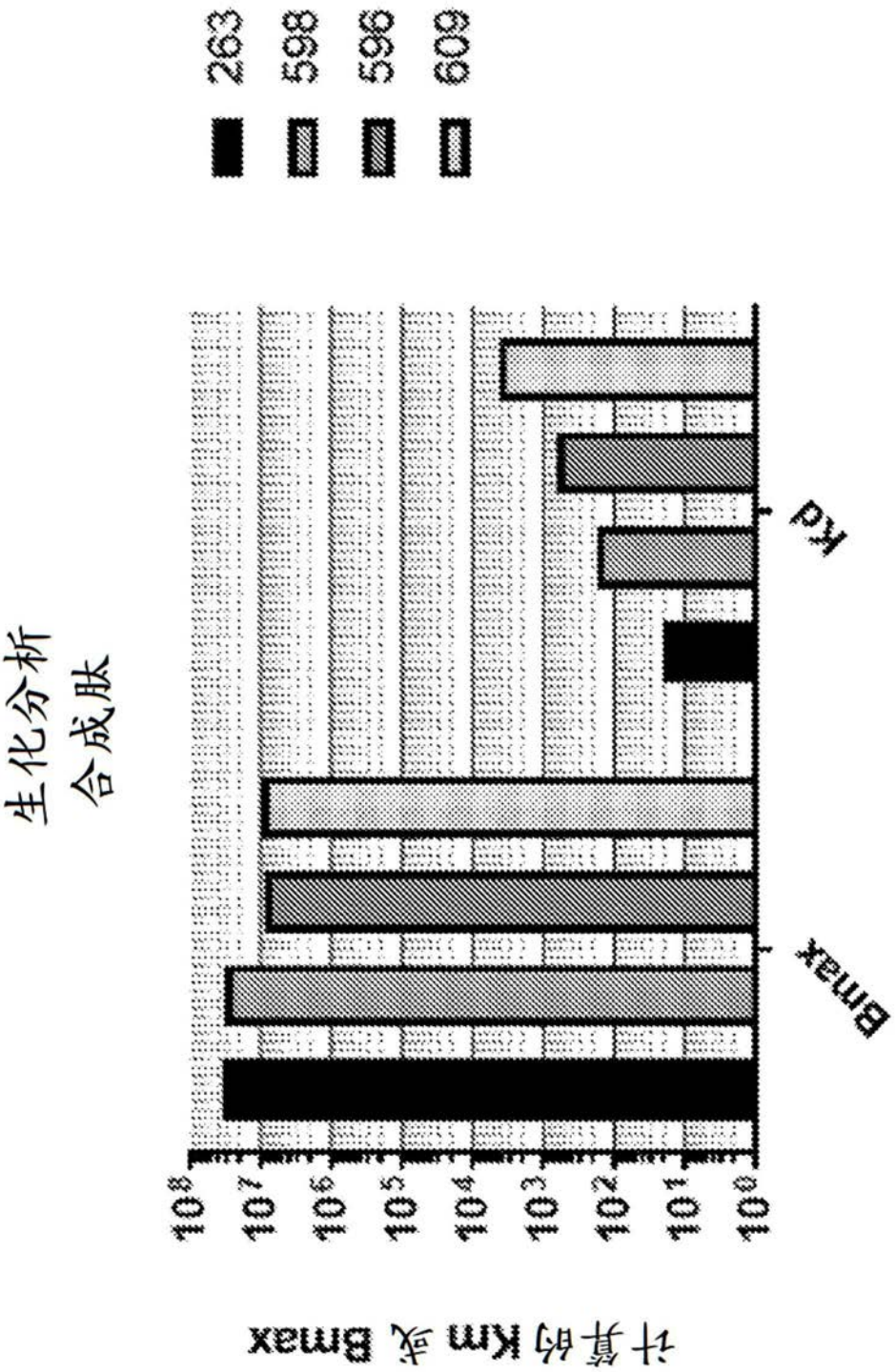

263
598
596
609
生化分析
合成肽
Kd
Bmax
10^8 10^7 10^6 10^5 10^4 10^3 10^2 10^1 10^0
计算的 Km 或 Bmax

图139E

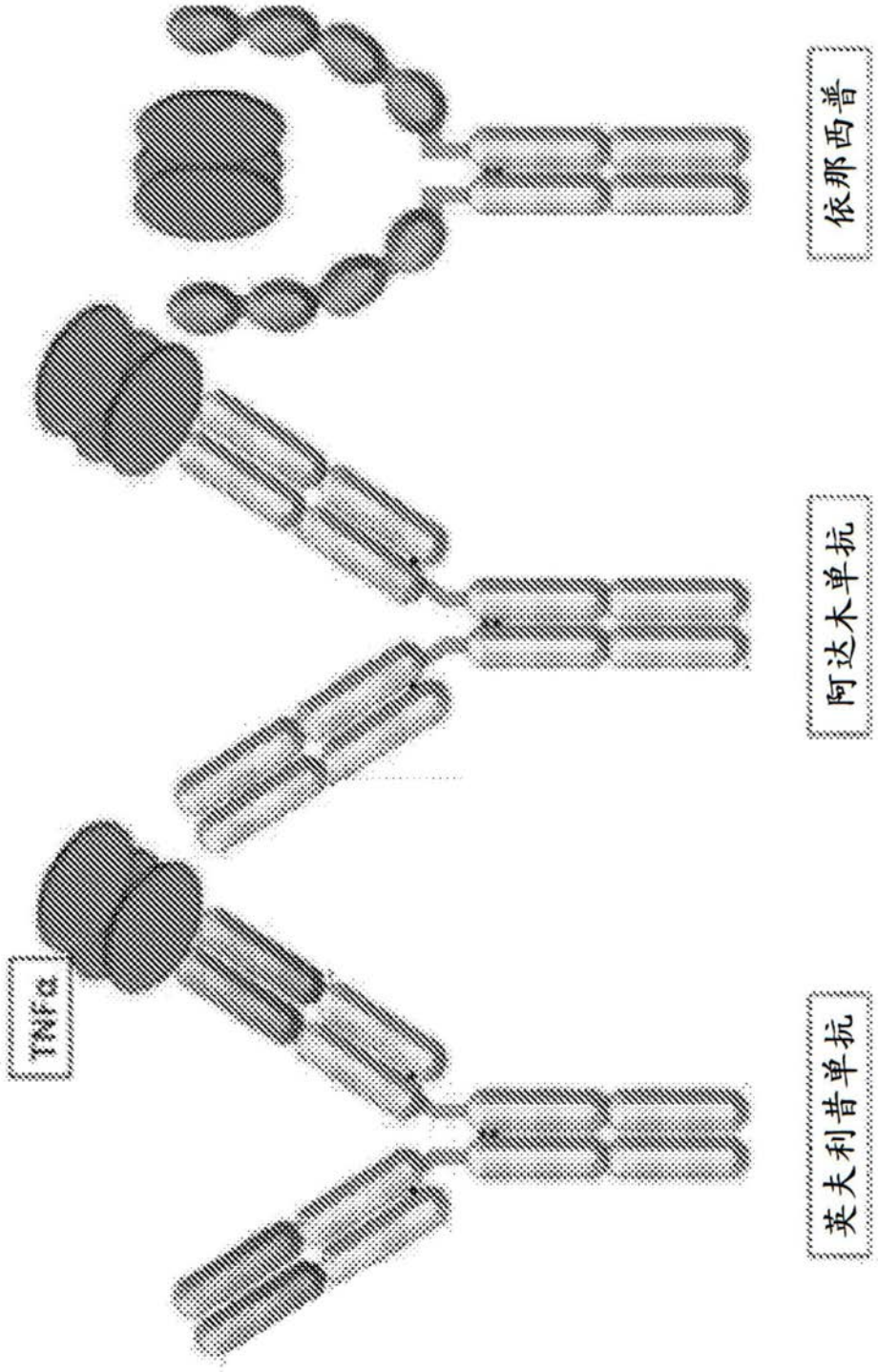


图140

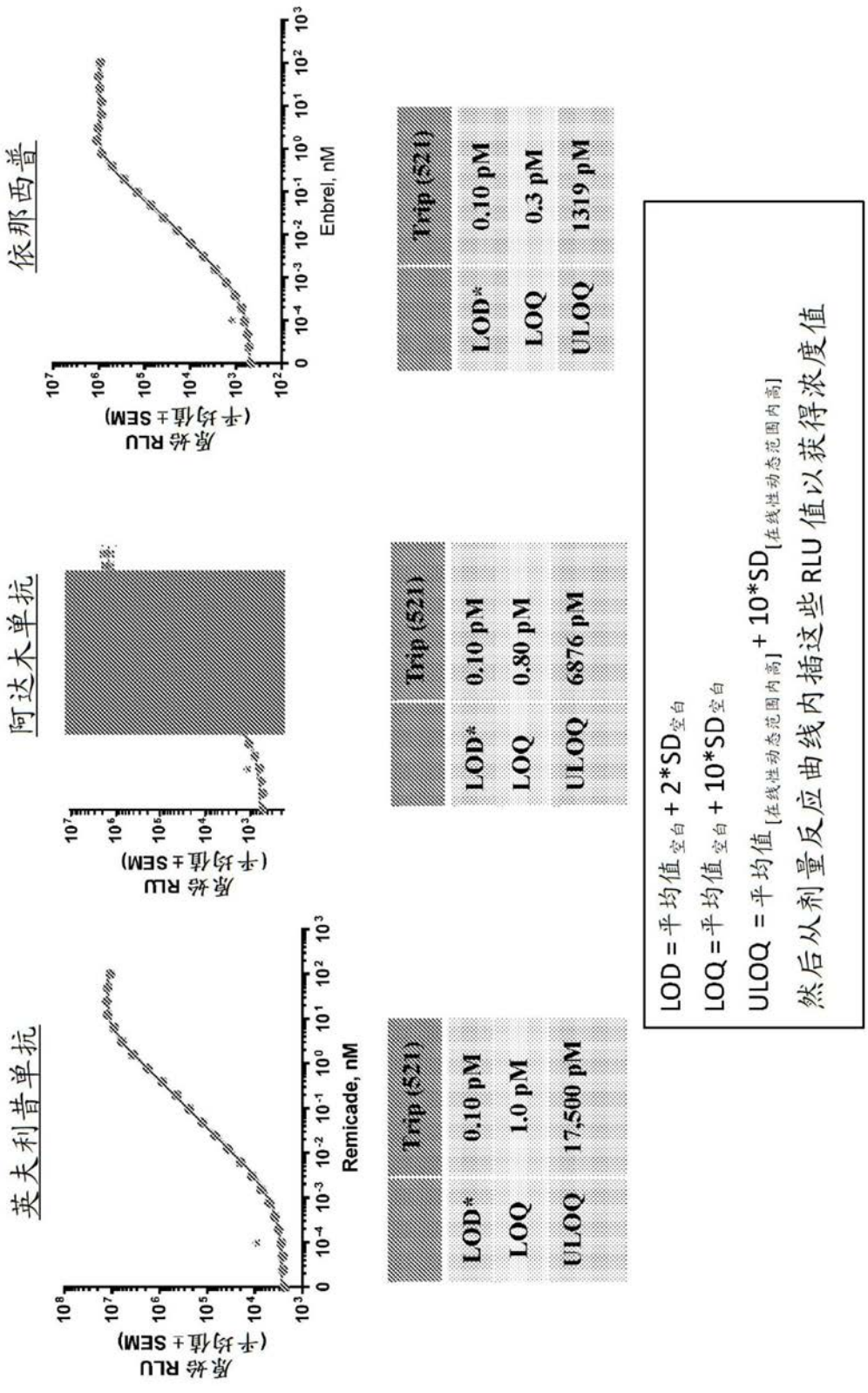

英夫利昔单抗
阿达木单抗
依那西普
原始 RLU
(平均值 ± SEM)
Remicade, nM
Enbrel, nM
Trip (521)
LOD* 0.10 pM
LOQ 1.0 pM
ULOQ 17,500 pM
Trip (521)
LOD* 0.10 pM
LOQ 0.80 pM
ULOQ 6876 pM
Trip (521)
LOD* 0.10 pM
LOQ 0.3 pM
ULOQ 1319 pM
LOD = 平均值空白 + 2*SD空白
LOQ = 平均值空白 + 10*SD空白
ULOQ = 平均值[在线性动态范围内高] + 10*SD[在线性动态范围内高]
然后从剂量反应曲线内插这些 RLU 值以获得浓度值

图141

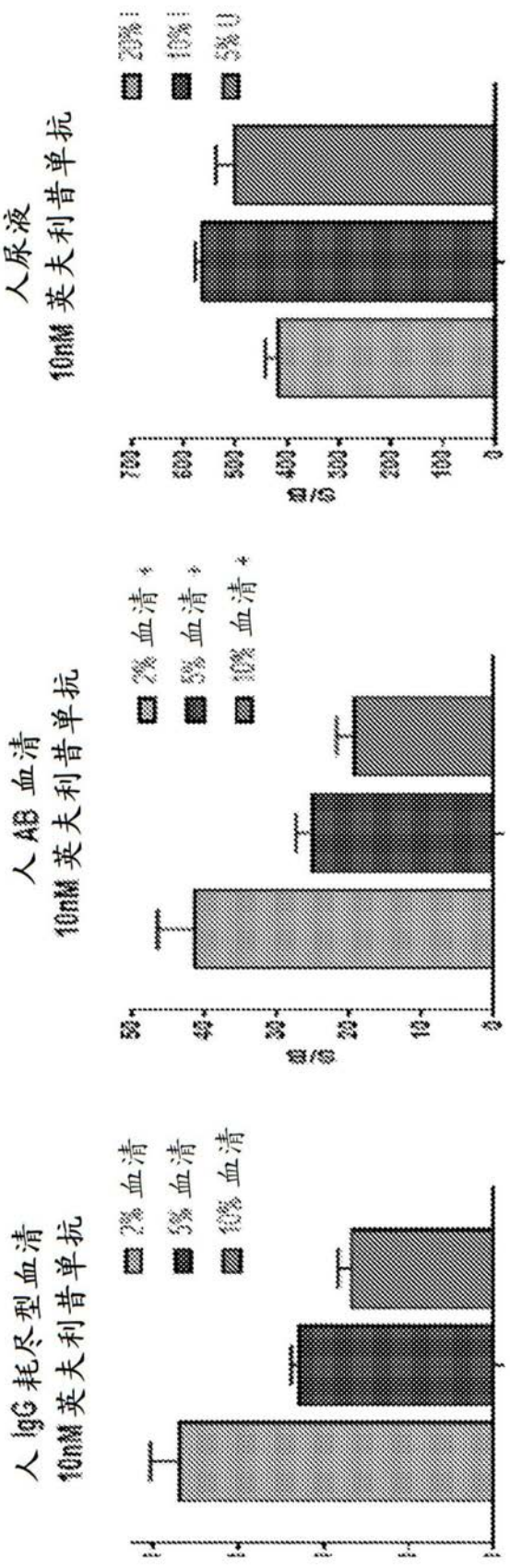


图142

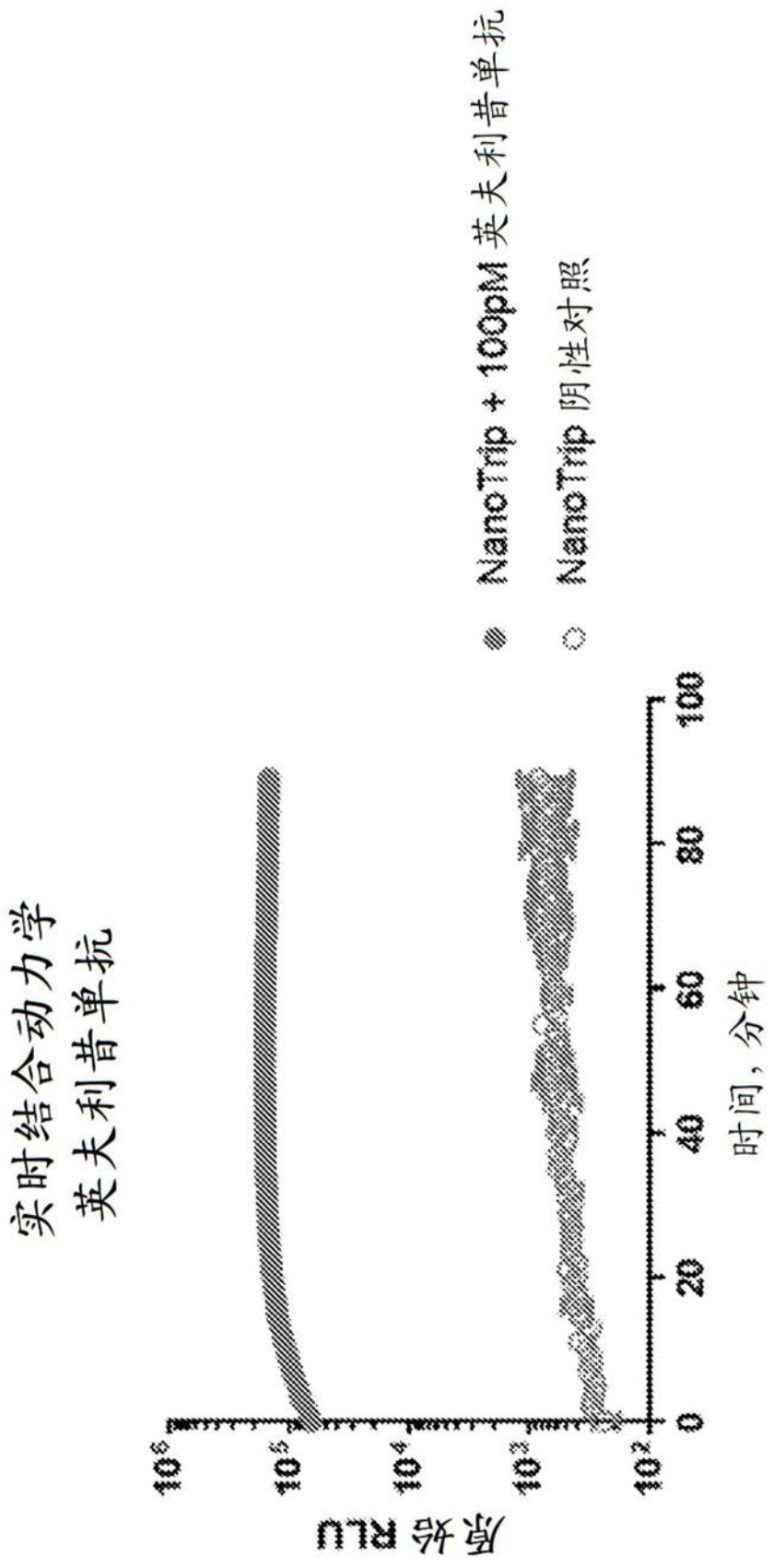

实时结合动力学
英夫利昔单抗
NanoTrip + 100pM 英夫利昔单抗
NanoTrip 阴性对照
原始 RLU
10^6
10^5
10^4
10^3
10^2
0
20
40
60
80
100
时间，分钟

图143

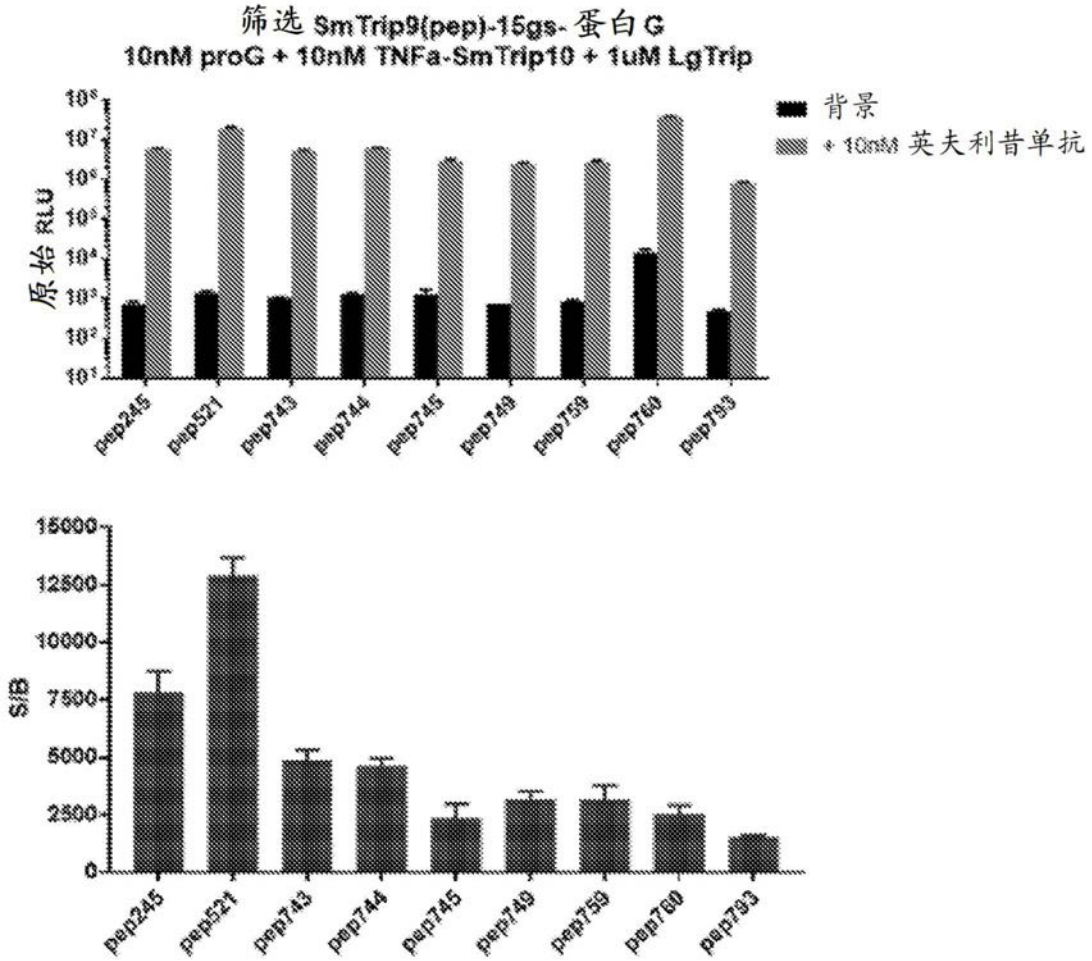

筛选 SmTrip9(pep)-15gs-蛋白G
10nM proG + 10nM TNFa-SmTrip10 + 1uM LgTrip
原始 RLU
背景
+ 10nM 英夫利昔单抗
pep245
pep521
pep743
pep744
pep745
pep749
pep759
pep760
pep793
S/B
15000
12500
10000
7500
5000
2500
0

图144

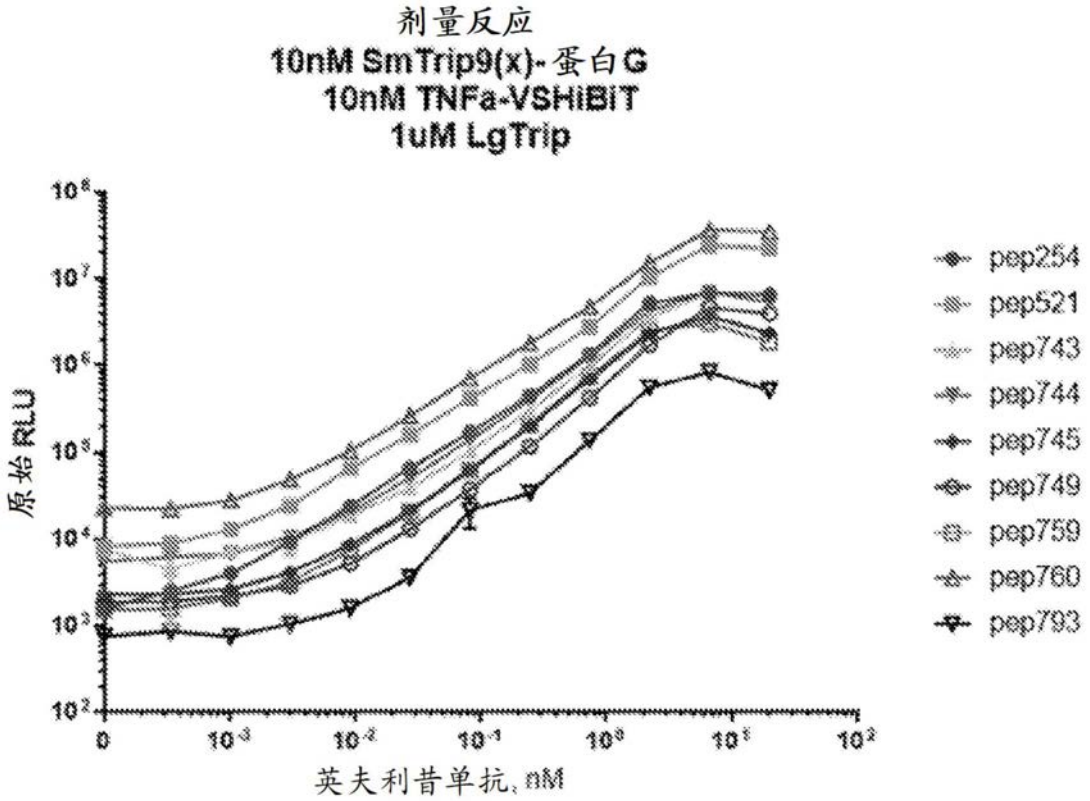

剂量反应
10nM SmTrip9(x)-蛋白G
10nM TNFa-VSHiBiT
1uM LgTrip
原始RLU
英夫利昔单抗,nM
pep254
pep521
pep743
pep744
pep745
pep749
pep759
pep760
pep793

图145

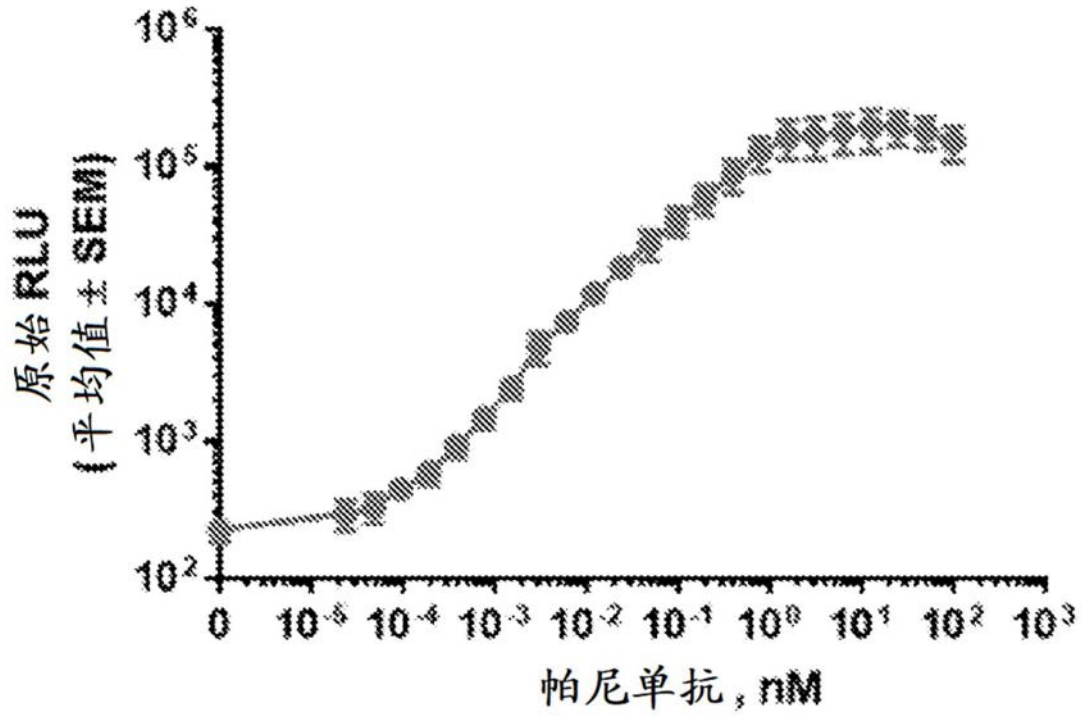

原始RLU
(平均值±SEM)
帕尼单抗,nM

图146

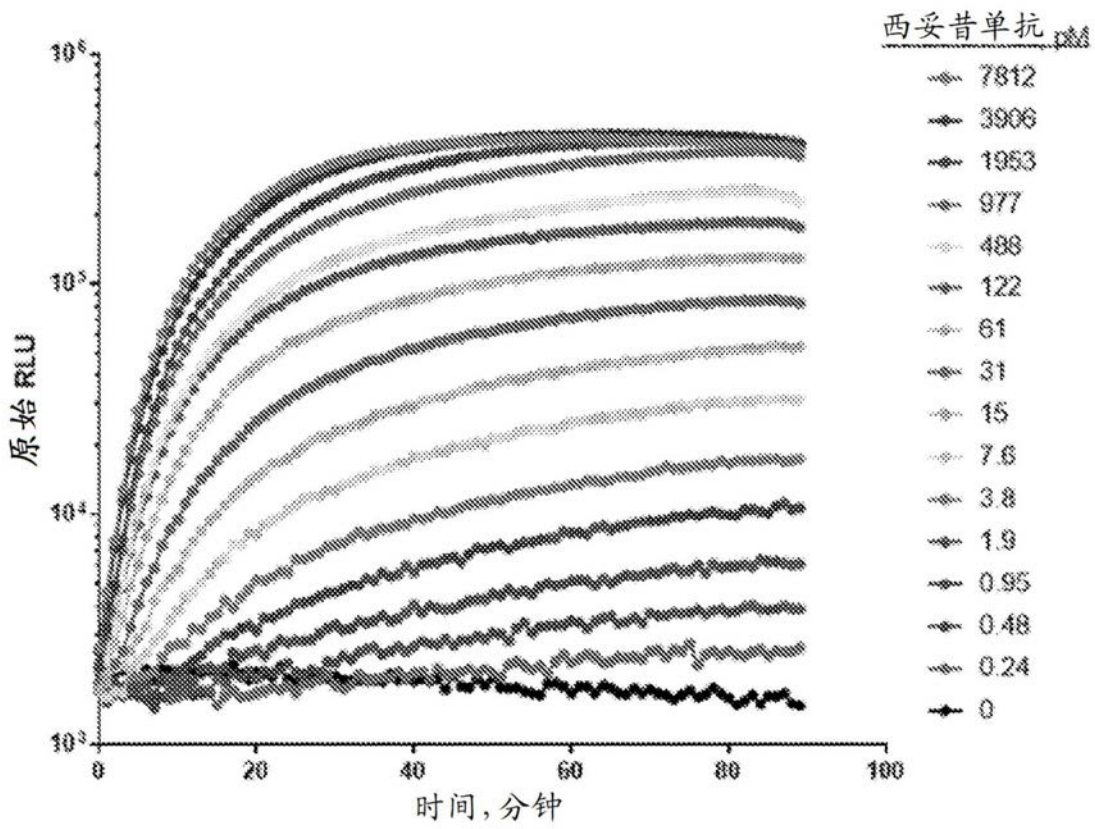

西妥昔单抗 pM
7812
3906
1953
977
488
122
61
31
15
7.6
3.8
1.9
0.95
0.48
0.24
0
原始 RLU
10^6
10^5
10^4
10^3
0
20
40
60
80
100
时间，分钟

图147

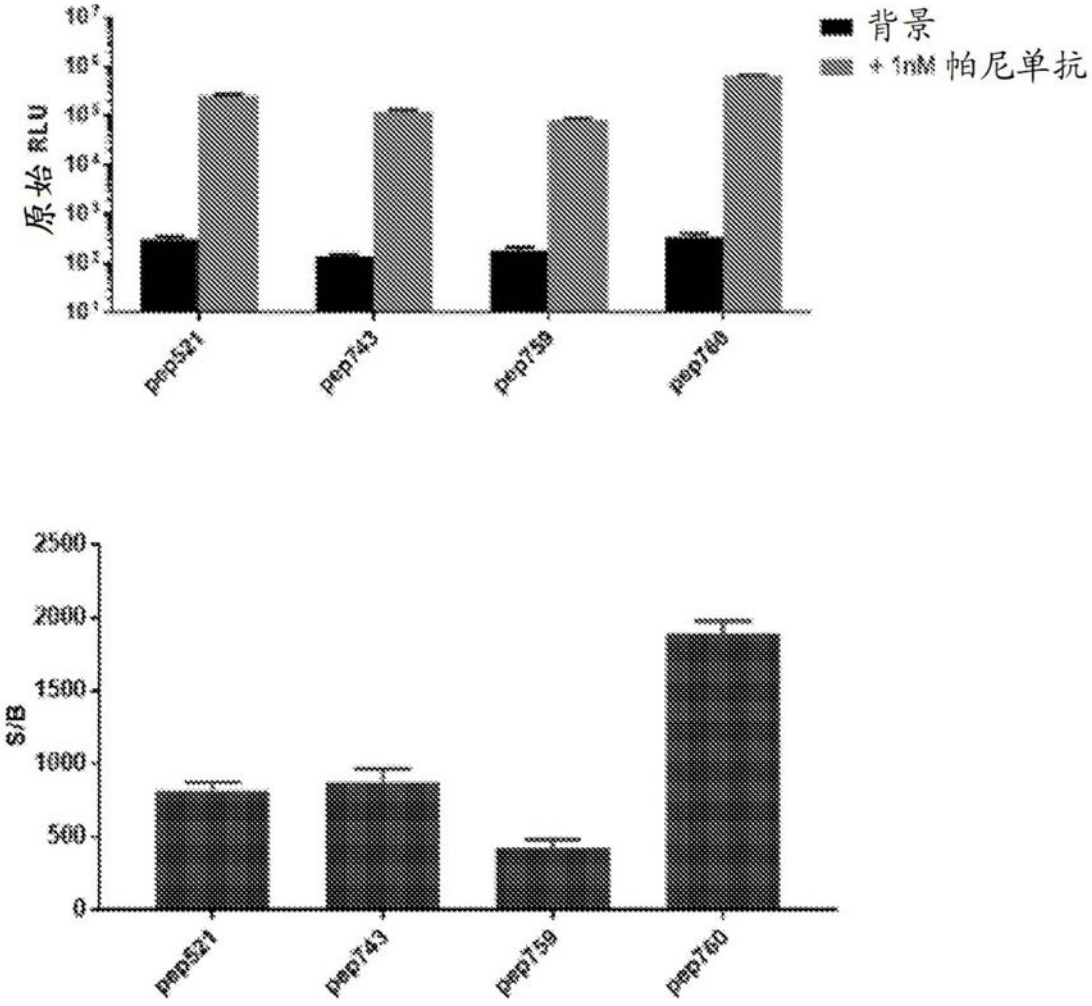

背景
+1nM 帕尼单抗
原始 RLU
pep521
pep743
pep759
pep760
S/B
2500
2000
1500
1000
500
0
pep521
pep743
pep759
pep760

图148

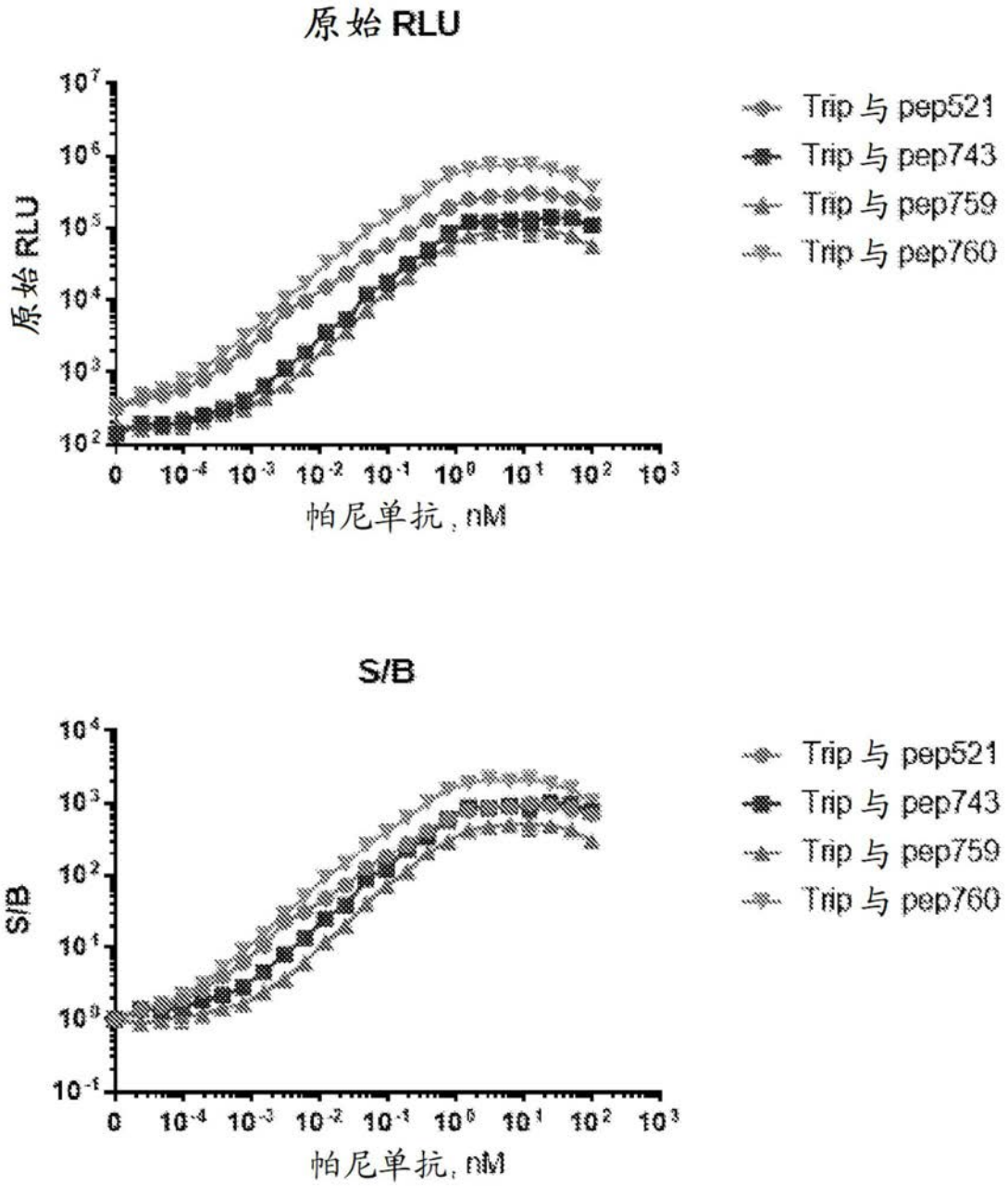
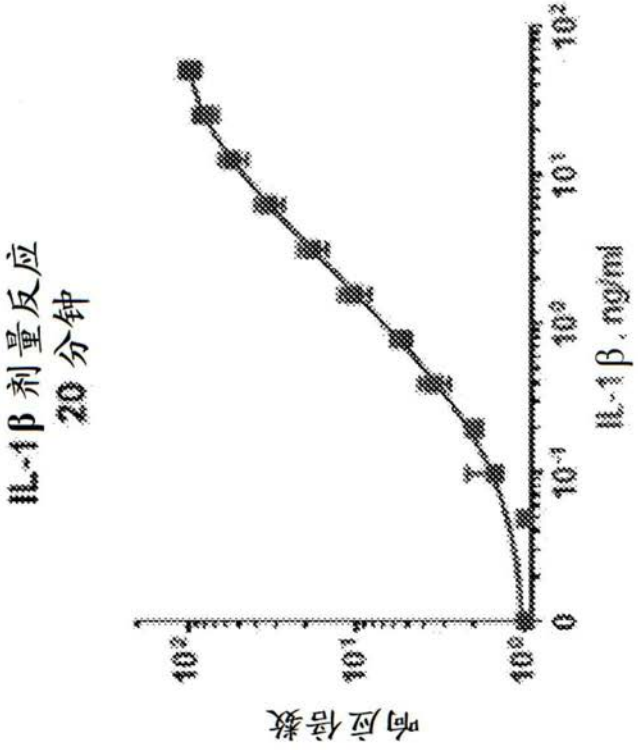

原始 RLU
原始 RLU
帕尼单抗, nM
Trip 与 pep521
Trip 与 pep743
Trip 与 pep759
Trip 与 pep760
S/B
S/B
帕尼单抗, nM
Trip 与 pep521
Trip 与 pep743
Trip 与 pep759
Trip 与 pep760

图149



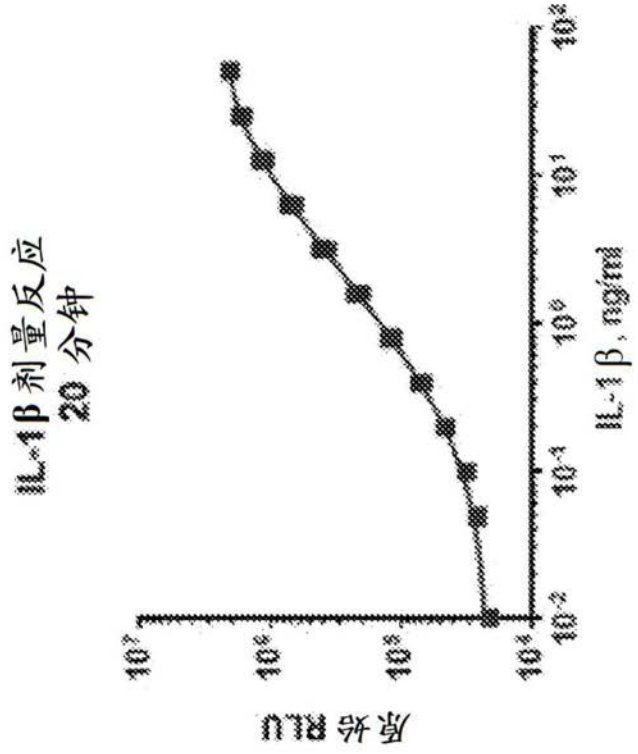


图150

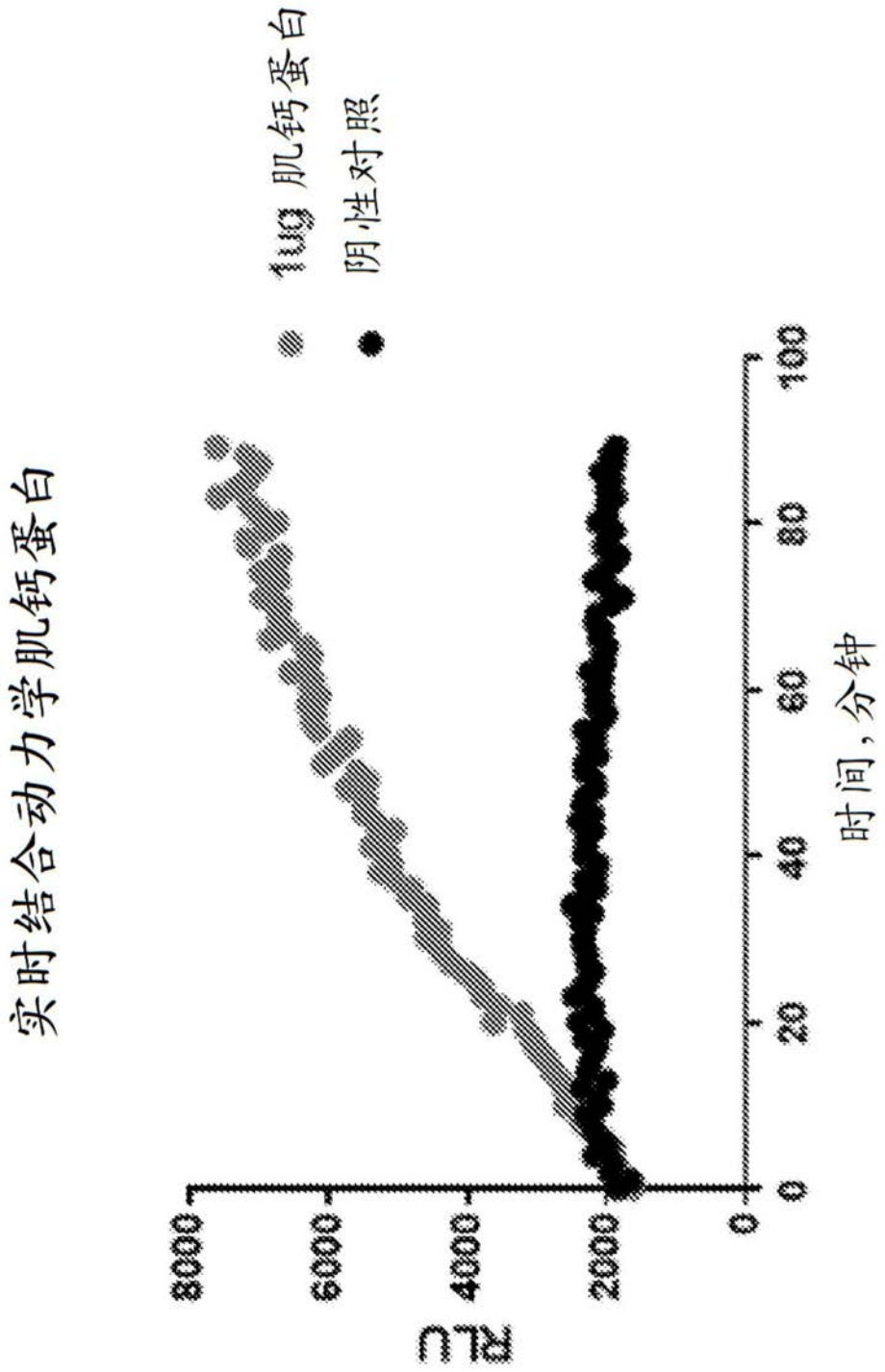

实时结合动力学肌钙蛋白
1103 肌钙蛋白
阴性对照
RLU
8000
6000
4000
2000
0
0
20
40
60
80
100
时间，分钟

图151

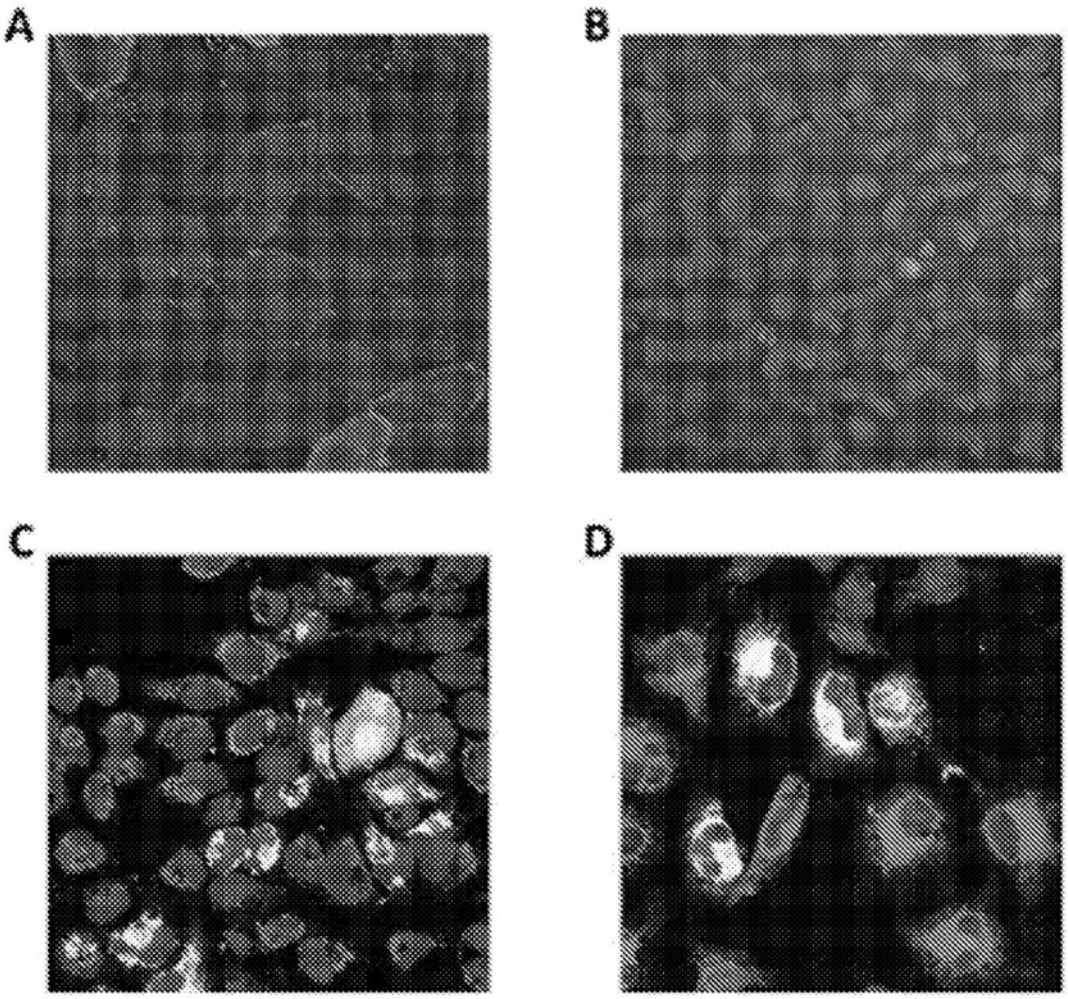


图152

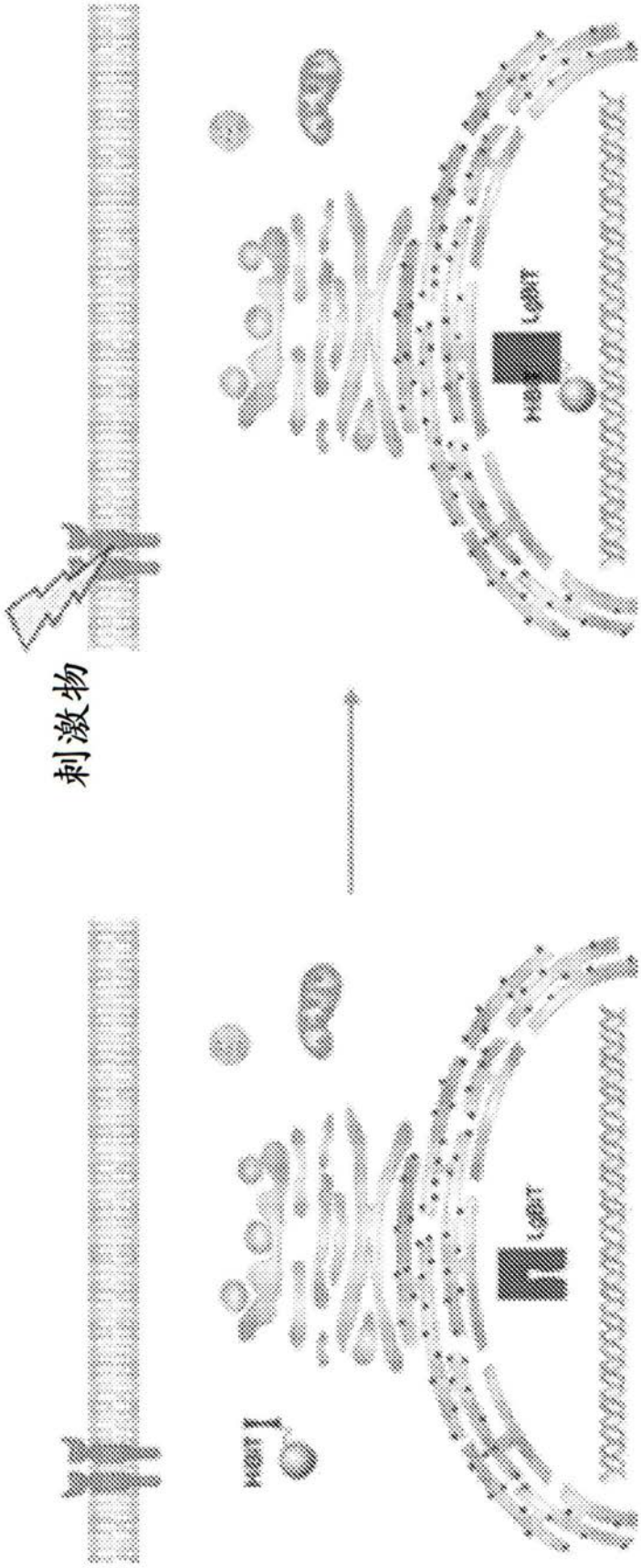


图153

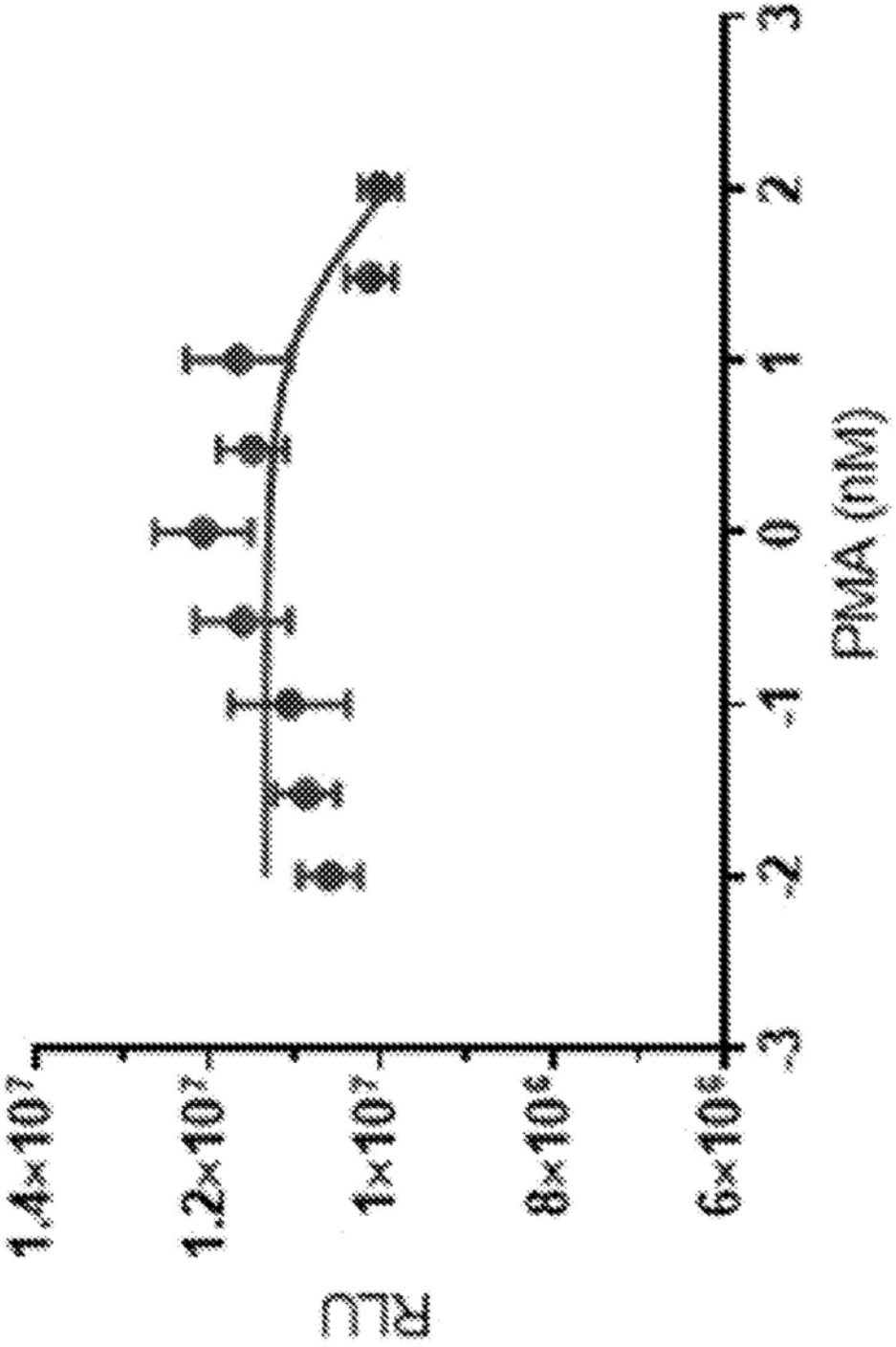


图154

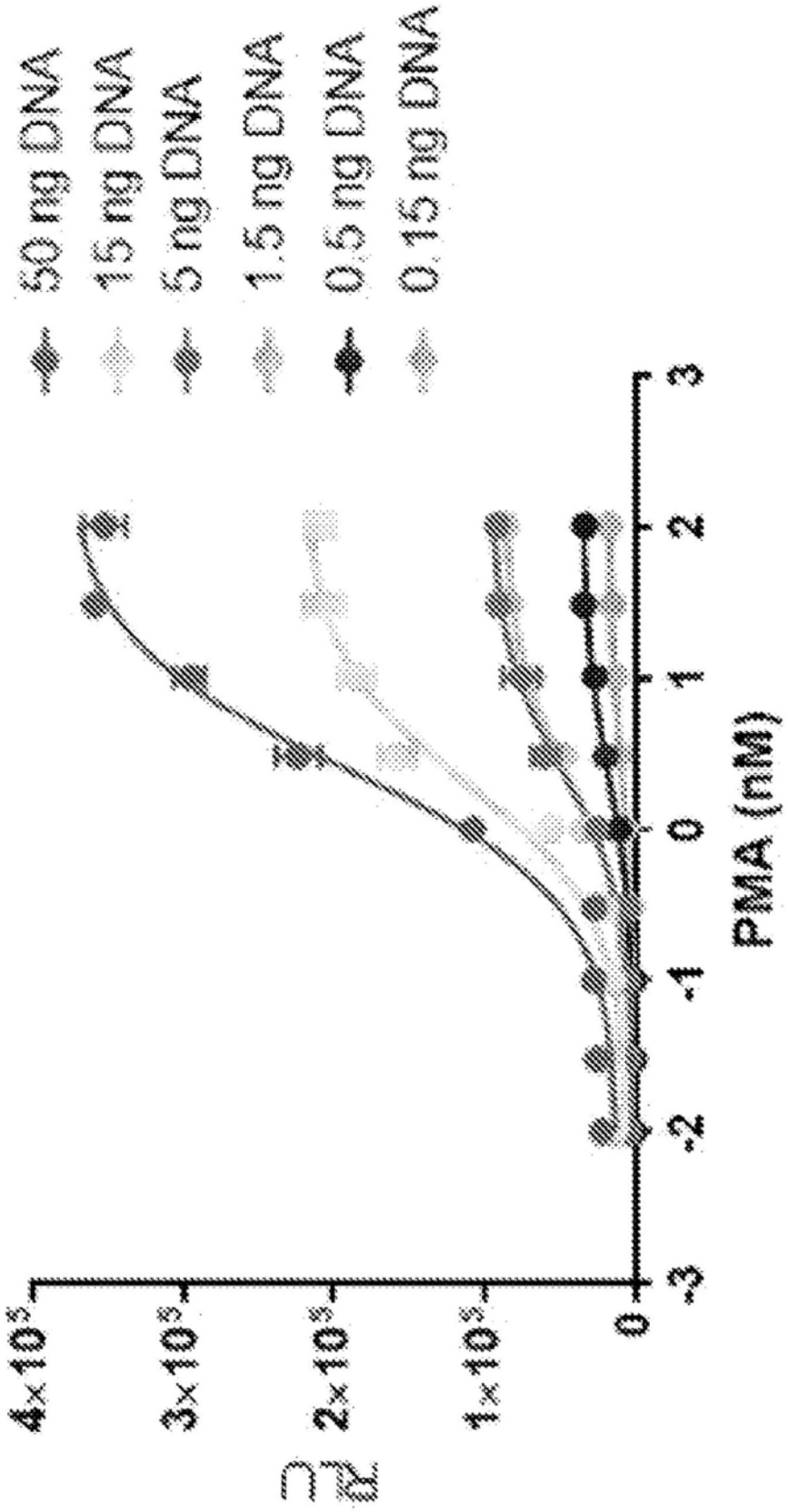

50 ng DNA
15 ng DNA
5 ng DNA
1.5 ng DNA
0.5 ng DNA
0.15 ng DNA
4x10^5
3x10^5
2x10^5
1x10^5
0
RLU
-3
-2
-1
0
1
2
3
PMA (nM)

图155

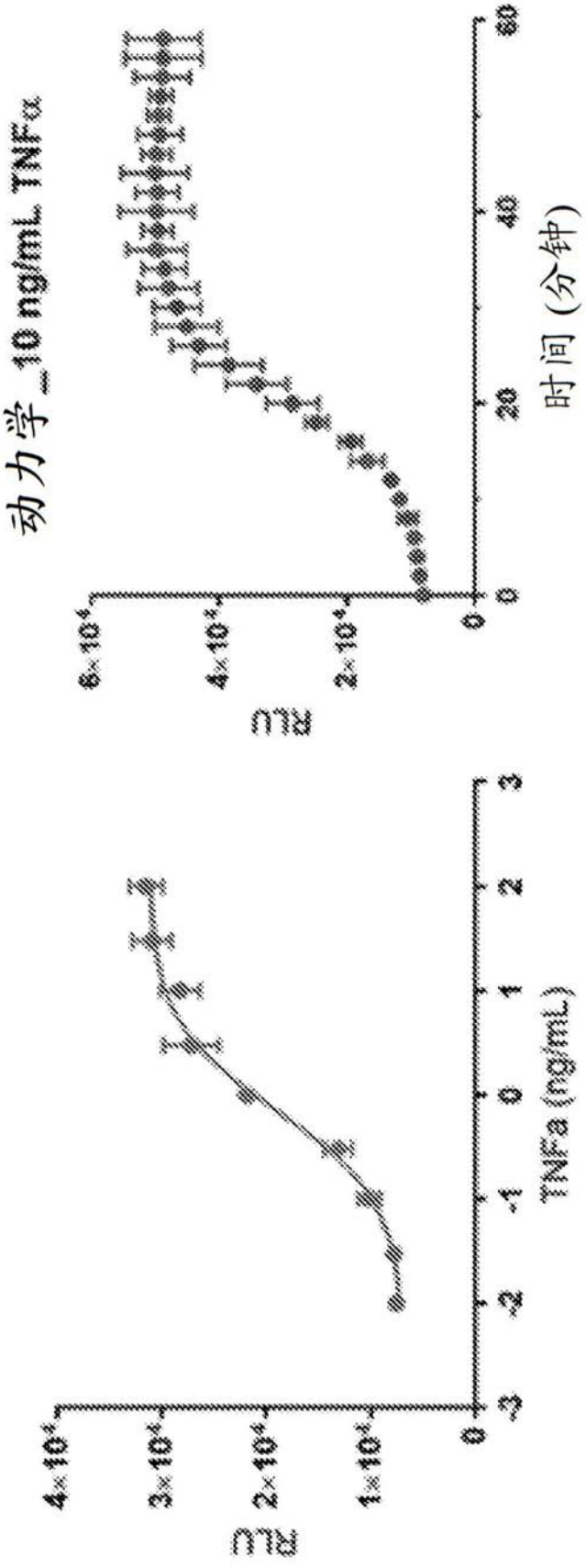


图156

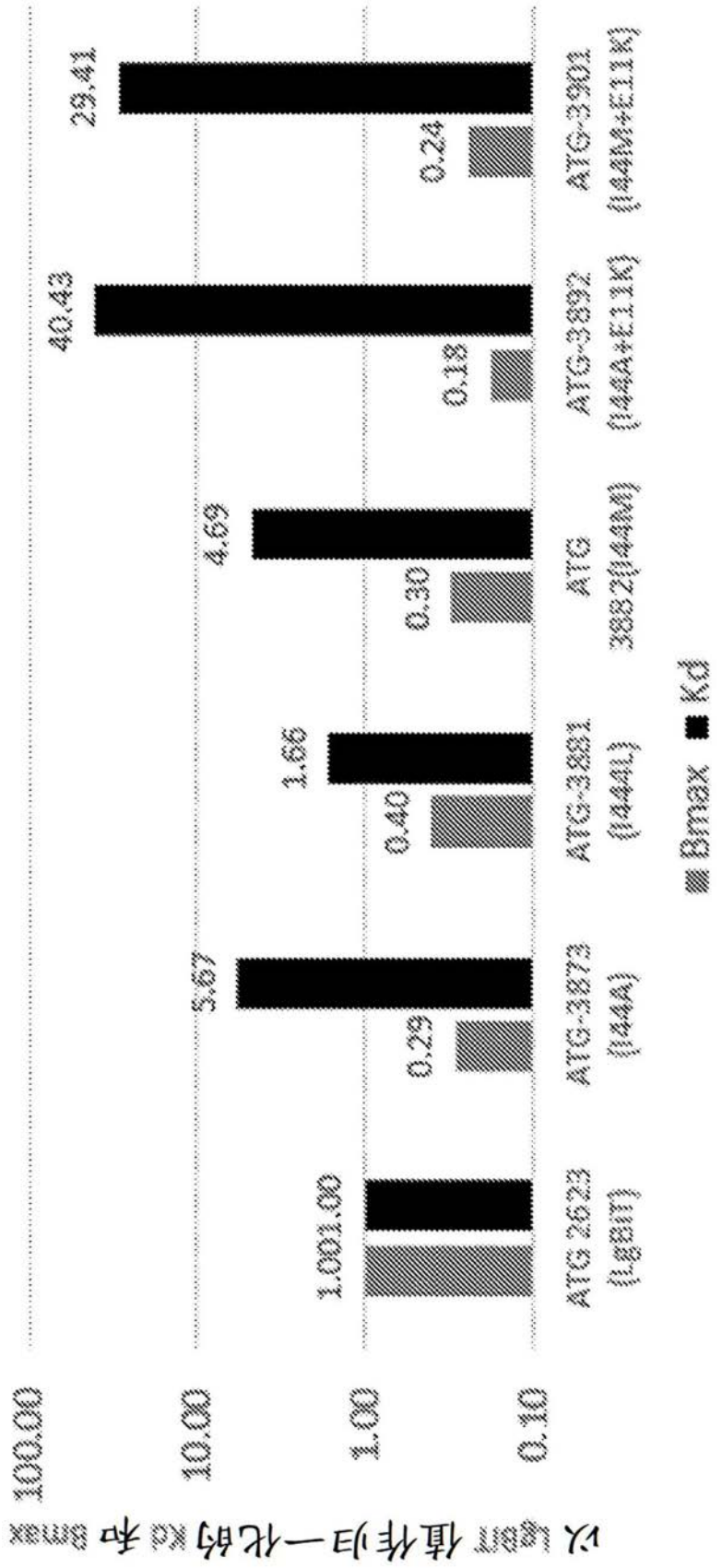
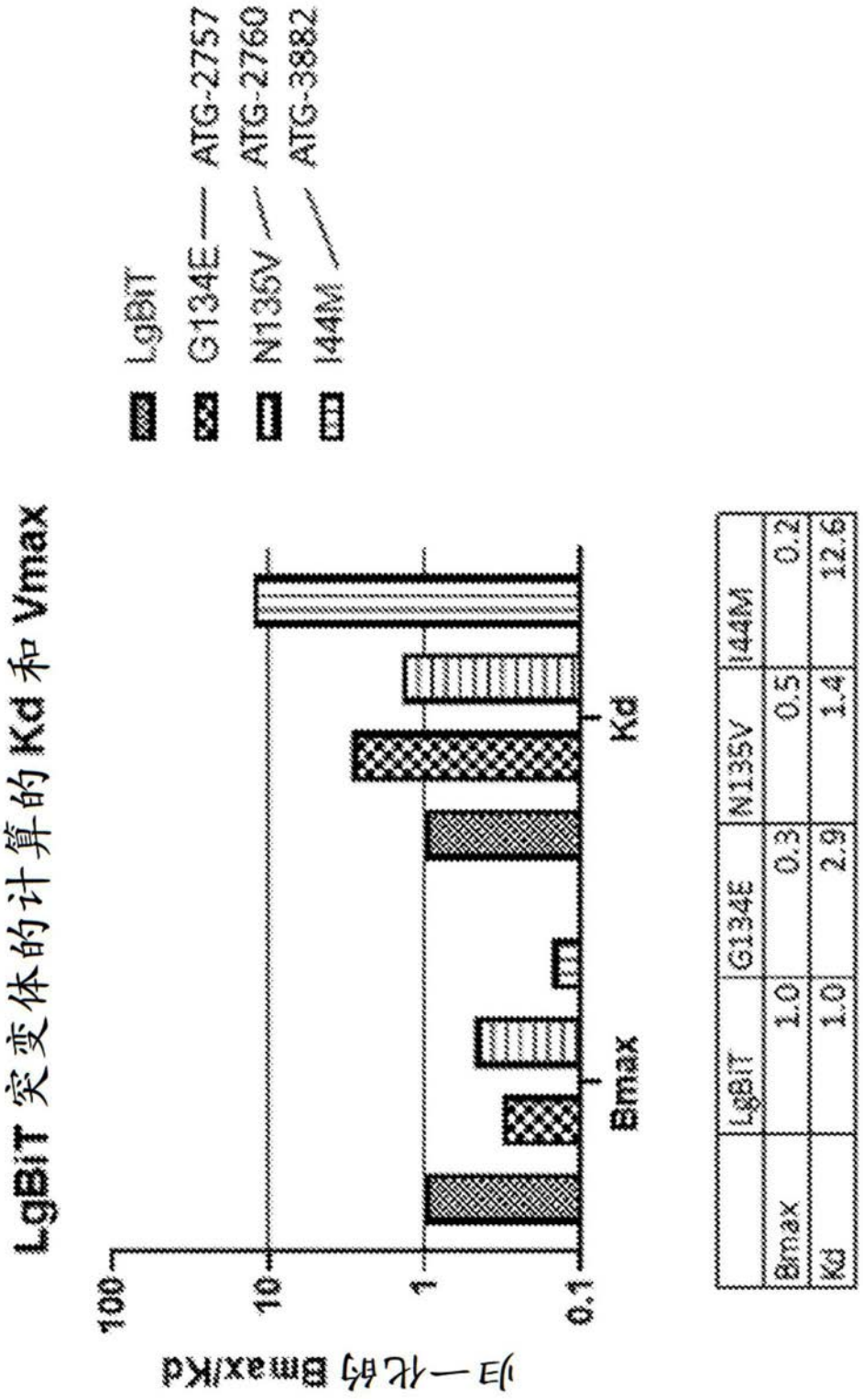

vs kobm 值作归一化的 Kd 和 Bmax
100.00
10.00
1.00
0.10
1.00
1.00
5.67
1.66
4.69
40.43
29.41
0.29
0.40
0.30
0.18
0.24
ATG 2623 (L88IT)
ATG-3873 (I44A)
ATG-3891 (I44L)
ATG 3882(I44M)
ATG-3892 (I44A+E11K)
ATG-3901 (I44M+E11K)
Bmax
Kd

图157A

克隆	突变	Kd (归一化的)	Bmax (归一化的)
LgBiT		1	1
ATG-2724	I44M	3	0.57
ATG-3901	I44M+E11K	16	0.53
ATG-3945	I44M+E11K+G134D+N135V	44	0.23
ATG-3984	I44M+E11K+G134D+N135V+L150S	1958	0.12
ATG-4147	I44M+E11K+L150S	613	0.26
ATG-4166	I44M+E11K+N135V+L150S	1296	0.12

图157B



	LgBiT	G134E	N135V	I44M
Bmax	1.0	0.3	0.5	0.2
Kd	1.0	2.9	1.4	12.6

图158