



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115997127 A

(43) 申请公布日 2023. 04. 21

(21) 申请号 202180033713.6
(22) 申请日 2021.05.06
(30) 优先权数据
2006789.8 2020.05.07 GB
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2022.11.07
(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2021/062077 2021.05.06
(87) PCT国际申请的公布数据
W02021/224430 EN 2021.11.11
(71) 申请人 曼寿医药有限公司
地址 英国伦敦
(72) 发明人 P·比绍普 S·克拉克 R·恩文

(74) 专利代理机构 上海一平知识产权代理有限公司 31266
专利代理师 徐迅 崔佳佳
(51) Int.Cl.
G01N 33/68 (2006.01)

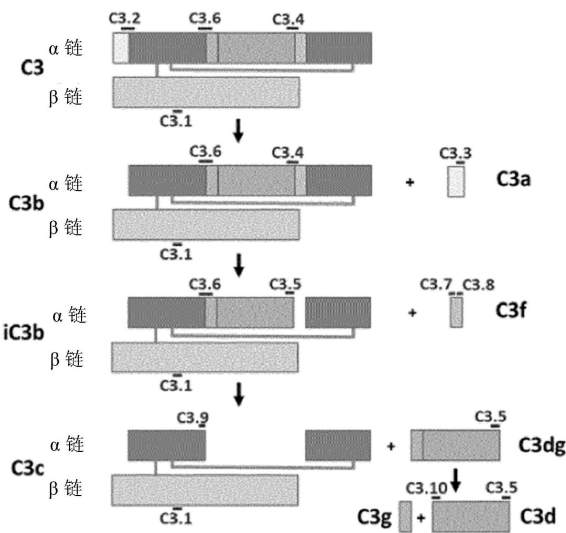
权利要求书3页 说明书49页
序列表73页 附图7页

(54) 发明名称

检测补体蛋白

(57) 摘要

公开了用于检测和测定补体蛋白水平的方法,特别地,使用质谱法。还公开了识别患有或有风险发生补体相关疾病的受试者的方法,以及治疗补体相关疾病的方法。



1. 一种检测样品中至少一种补体蛋白的方法,所述方法包括:
使用内蛋白酶GluC消化所述蛋白从而获得一个或多个肽;和
通过质谱法检测所述的一个或多个肽。
2. 一种测定样品中至少一种补体蛋白水平的方法,所述方法包括:
使用内蛋白酶GluC消化所述蛋白从而获得一个或多个肽;和
通过质谱法测定所述的一个或多个肽的水平。
3. 如权利要求1或2所述的方法,其中所述检测一个或多个肽的步骤或测定一个或多个肽的水平的步骤由通过质谱法测量所述一个或多个肽组成。
4. 如权利要求1-3中任一项所述的方法,其中所述方法包括测定样品中补体蛋白的浓度。
5. 一种制备至少一种用于分析的补体蛋白的方法,所述方法包括使用内蛋白酶GluC消化所述蛋白从而获得一个或多个肽。
6. 如权利要求1-5中任一项所述的方法,其中所述补体蛋白是以下一种或多种: FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5。
7. 如权利要求1-6中任一项所述的方法,其中所述补体蛋白是FH和/或FHL-1。
8. 如权利要求1-7中任一项所述的方法,其中所述补体蛋白与补体扩增环和/或C3转化酶活性有关。
9. 如权利要求1-8中任一项所述的方法,其中所述补体蛋白是C3b的降解产物。
10. 如权利要求1-9中任一项所述的方法,其中所述补体蛋白是以下一种或多种: C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d。
11. 如权利要求1-10中任一项所述的方法,其中所述补体蛋白是C3b和/或iC3b。
12. 如权利要求1-11中任一项所述的方法,其中所述补体蛋白是FI。
13. 如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述样品是从受试者获得的。
14. 如权利要求1-12中任一项所述的方法,其中所述方法包括步骤: 从受试者获得样品。
15. 如权利要求1-14中任一项所述的方法,其中所述样品包括或来源于血液、淋巴、血浆、血清、组织或细胞。
16. 如权利要求1-15中任一项所述的方法,其中所述一个或多个肽选自下组:
(a) VTYKCFE (SEQ ID NO:20);
(b) NGWSPTPRCIRVSFTL (SEQ ID NO:21);
(c) ATFCDFPKINHGILYDEE (SEQ ID NO:22);
(d) RGWSTPPKCRSTISAE (SEQ ID NO:23) 或 AMFCDFPKINHGILYDEE (SEQ ID NO:24);
(e) VACHPGYGLPKAQTTVTCTE (SEQ ID NO:25);
(f) YQCQSYYE (SEQ ID NO:26);
(g) RGWSTPPICSFTKGE (SEQ ID NO:27);
(h) GTAFVIFGIQDGE (SEQ ID NO:28);
(i) LRRQHARASHLGLARSLNDE (SEQ ID NO:29);
(j) LRRQHARASHLGLAR (SEQ ID NO:30) 和/或 LRRQHARASHLGLA (SEQ ID NO:156);
(k) LNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWE (SEQ ID NO:31);

- (1) LNLDVSLQLPSR (SEQ ID NO:32);
- (m) RLGRE (SEQ ID NO:33);
- (n) SSKITHRIHWE (SEQ ID NO:34);
- (o) SASLLR (SEQ ID NO:35) and/or SASLL (SEQ ID NO:157);
- (p) RLGR (SEQ ID NO:36);
- (q) HLIVTPSGCGE (SEQ ID NO:37); 和/或
- (r) SEQ ID NO:38-60或155中的任意一个或多个。

17. 内蛋白酶GluC的用途, 用于制备至少一种用于通过质谱法检测的补体蛋白, 任选地用于制备至少两种用于通过质谱法检测的补体蛋白。

18. 一种测定受试者中补体蛋白的存在和/或水平的方法, 所述方法包括执行如权利要求1-17中任一项所述的方法。

19. 一种鉴定患有补体相关病症或有发生补体相关病症风险的受试者的方法, 所述方法包括:

- a) 用内蛋白酶GluC消化从受试者获得的样品中的至少一种补体蛋白, 从而获得一个或多个肽;
- b) 通过质谱法测定所述一个或多个肽的存在和/或水平; 以及
- c) 使用 (b) 的结果确定所述受试者是否患有或可能发生补体相关病症。

20. 如权利要求19所述的方法, 其包括 (d) 治疗已确定有发生补体相关病症的风险或患有补体相关病症的受试者, 任选地, 其中治疗受试者包括向所述受试者施用治疗有效量的补体靶向疗法。

21. 一种筛选用于通过补体靶向疗法治疗补体相关病症的受试者的方法, 所述方法包括:

- a) 用内蛋白酶GluC消化从受试者获得的样品中的至少一种补体蛋白, 从而获得一个或多个肽;
- b) 通过质谱法测定所述一个或多个肽的存在和/或水平; 以及
- c) 使用 (b) 的结果确定所述受试者是否需要补体靶向治疗。

22. 一种补体靶向疗法, 其用于在受试者中治疗补体相关病症的方法, 所述方法包括:

- a) 用内蛋白酶GluC消化从受试者获得的样品中的至少一种补体蛋白, 从而获得一个或多个肽;
- b) 通过质谱法测定所述一个或多个肽的存在和/或水平; 以及
- c) 基于 (b) 的结果, 施用有效量的所述补体靶向疗法。

23. 如权利要求18至22任一项所述的方法, 其中所述方法包括从受试者获得样品, 所述样品包含至少一种补体蛋白, 任选地, 其中所述样品包括或来源于血液、淋巴、血浆、血清、组织或细胞。

24. 如权利要求19-23中任一项所述的方法, 其中所述补体相关病症选自: 黄斑变性、年龄相关性黄斑变性 (AMD)、地图样萎缩 (“干性” (即非渗出性) AMD)、早期AMD、早发性黄斑变性 (EOMD)、中期AMD、后期/晚期AMD、“湿性” (新生血管性或渗出性) AMD、脉络膜新生血管形成 (CNV)、视网膜营养不良、溶血性尿毒症综合征 (HUS)、非典型溶血性尿毒症综合征 (aHUS)、DEAP HUS (FHR血浆蛋白缺乏和自身抗体阳性型溶血性尿毒症综合征)、自身免疫性葡

萄膜炎、II型膜增生性肾小球肾炎(MPGNII)、败血症、过敏性紫癜(HSP)、IgA肾病、慢性肾病、阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合症(SS)、类风湿性关节炎(RA)、C3肾小球病(C3G)、致密沉积物病(DDD)、C3肾炎因子肾小球肾炎(C3 NF GN)、FHR5肾炎、遗传性血管性水肿(HAE)、获得性血管性水肿(AAE)、脑脊髓炎、动脉粥样硬化、神经变性/神经退行性疾病、痴呆、多发性硬化症(MS)、癌症、卒中、帕金森氏病和/或阿尔茨海默氏病。

25. 如权利要求18-24中任一项所述的方法,其中与参考值相比,C3、C3b、C3a、iC3b、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5中的一种或多种水平升高;和/或iC3b、C3f、C3c、C3dg、C3d、C3g、FI、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5中的一种或多种水平下降,表明受试者有发生补体相关疾病的风险或患有补体相关疾病。

26. 一种用于检测和/或测定样品中一种或多种补体蛋白水平的方法的试剂盒,所述试剂盒包含内蛋白酶GluC。

检测补体蛋白

[0001] 本申请要求于2020年5月7日提交的GB 2006789.8的优先权,其内容和元素出于所有目的通过引用并入本文。

技术领域

[0002] 本发明涉及分子生物学和医学领域。更具体地,本发明涉及检测补体蛋白的方法以及这种方法在诊断和治疗用途中的应用。

背景技术

[0003] 补体系统通过辅助对微生物入侵者的快速识别和消除而对宿主的先天免疫防御做出贡献。然而,补体的失调可能导致炎症、免疫相关和年龄相关的症状。因此,补体系统的不适当调节已牵涉到人类多种疾病,例如眼部和肾脏疾病,以及神经系统疾病和癌症(Morgan,B.P.,*Semin Immunopathol*,2018.40(1):第113-124页;Halbgebauer,R.等人,*Semin Immunol*,2018.37:第12-20页;Ma,Y.,et al.,*Aging Dis*,2019.10(2):第429-462页;和Kleczko,E.K.等人,*Front Immunol*,2019.10:第954页)。

[0004] 补体通路的激活和控制由通路激活剂和抑制剂之间的复杂相互作用调节。这些激活剂和抑制剂通常是酶,其裂解和灭活生物表面和/或溶液中的补体分子,从而维持补体活化物质的稳定调节。补体通路处于恒定的变化和平衡状态,对这种平衡的干扰可能导致不适当的激活和上述后果。

[0005] 一个激活分子是补体成分3(C3),它是补体替代途径和扩增环的一员。C3包括通过链间二硫键结合的 β 链和 α' 链。在补体激活期间,C3被裂解以生成两个功能片段,C3a和C3b。C3a是一种有效的过敏毒素。C3b在生物表面(如细胞外基质和细胞表面)的沉积是替代途径的中心激活机制。C3b是一种有效的调理素,其靶向病原体、抗体抗原免疫复合物和凋亡细胞,用于吞噬细胞和NK细胞的吞噬。连接于表面的C3b还与其他补体蛋白反应形成活性转化酶,该酶能够产生进一步的(表面可附着的)C3b分子,用于激活和扩增补体反应(Clark,S.J.等人,*J Immunol*,2014.193(10):第4962-70页)。C3b与因子B结合形成C3bBb型C3转化酶,与C3bBbb结合形成C3bBb3b型C5转化酶。C3的蛋白裂解也通过经典补体途径和凝集素途径产生C3a和C3b。

[0006] C3转化酶的控制不足导致C3b和C3a分子的大量产生以及补体级联向其末端裂解途径的转移。这产生了强大的过敏毒素C5a和称为膜攻击复合物的细胞裂解蛋白复合物;两者都提供强烈的炎症信号(Clark,S.J.等人,见上文),最终导致细胞/组织破坏和局部炎症反应。

[0007] 补体的C3b活化由补体蛋白因子I(FI)调节。FI通过将C3b裂解为不能参与转化酶组装的蛋白水解无活性形式(称为iC3b),并进一步裂解为下游产物iC3dg和C3d,从而防止补体激活。FI需要辅助因子的存在,辅助因子的实例包括血源性因子H(FH)蛋白和膜结合表面辅助因子“补体因子1”(CR1;CD35)。FH和CR1也有助于发挥衰变加速活性,这有助于解构已经形成的C3转化酶。

[0008] FH由RCA(补体调节因子)基因簇内人类染色体1q32上的CFH基因编码。存在一种天然存在的FH截短形式,称为FH样蛋白1(FHL-1),其来源于CFH基因的选择性剪接,并具有类似FH的辅助因子活性。FH包括20个CCP结构域。FHL-1与FH的前七个CCP结构域相同,然后终止于独特的4-aa C末端。

[0009] 由RCA位点的CFHR1-5基因编码的蛋白质也发挥补体调节功能。CFHR1-5基因编码主要由肝细胞合成的一组五种分泌血浆蛋白(FHR-1至FHR-5)。FHR蛋白与FH的C3b结合域保持一定的序列同源性,并被认为是可以增强补体激活(Skerka等人,Mol Immunol.2013,56:170-180)。

[0010] 一种补体相关疾病是黄斑变性,例如年龄相关性黄斑变性(AMD)。黄斑变性被认为是部分由补体介导的对眼部组织的攻击引起的。AMD风险的主要驱动因素是RCA位点的遗传变异导致的补体级联失调。在发达国家,AMD是导致失明的主要原因:目前占全球失明登记总数的8.7%。据估计,到2020年将有1.96亿人受到影响,到2040年将增至2.88亿人(Wong等人,Lancet Glob Heal(2014)2:e106-16)。AMD表现为黄斑(眼后部视网膜的中央部分)的渐进性破坏,导致中央视力丧失。该疾病的早期阶段可见黄斑的形态学变化,如脉络膜毛细血管(脉络膜中的一层毛细血管(一个高度血管化的层,为视网膜外层提供氧气和营养))中的血管缺失(Whitmore等人,Prog Retin Eye Res(2015)45:1-29)。脉络膜毛细血管通过布鲁赫膜(BrM,一层薄(2-4 μ m)且无细胞的五层细胞外基质)与代谢活性视网膜色素上皮(RPE)分离。BrM具有两个主要功能:RPE的基底和血管壁。BrM的结构和功能在Ryan等人(2013),《视网膜》,第1卷,第2部分:基础科学和治疗转化(Retina,Vol.1,Part 2:Basic Science and Translation to Therapy)第5版,伦敦爱思唯尔出版公司,第466-481页中的Curcio和Johnson,《布鲁赫膜的结构、功能与病理(Structure,Function and Pathology of Bruch's Membrane)》中进行了综述,其通过引用全文并入本文。

[0011] 例如,Zipfel等人在Lambris和Adamis(编),《炎症和视网膜疾病:补体生物学和病理学,实验医学和生物学进展703(Inflammation and Retinal Disease:Complement Biology and Pathology,Advances in Experimental Medicine and Biology 703)》,施普林格科学+商业媒体有限公司(2010)第2章中综述了补体在AMD中的作用,其通过引用全文并入本文。AMD的关键特征是补体过度活跃,包括细胞/组织破坏和局部炎症反应。早期AMD的标志性病变,称为玻璃膜疣,在邻近RPE层的BrM内发展(Bird等人,Surv Ophthalmol 1995,39(5):367-374)。玻璃膜疣由脂质、蛋白质和细胞碎片的积累形成,并包括大量补体激活产物(Anderson等人,Prog Retin Eye Res 2009,29:95-112;Whitcup等人,Int J Inflam 2013,1-10)。BrM中的玻璃膜疣的存在破坏了从脉络膜穿过细胞外基质到RPE细胞的营养流,导致细胞功能障碍和最终死亡,从而引发视敏度丧失。

[0012] “干性”AMD,也称为地图样萎缩,约占晚期AMD病例的50%。在剩余的晚期病例中,脉络膜新生血管形成(CNV),其中RPE细胞对血管内皮生长因子(VEGF)的合成增加促进了脉络膜/脉络膜毛细血管的新血管生长,从而突破BrM进入视网膜。这些新血管渗漏并最终形成疤痕组织;这被称为“湿性”(新生血管性或渗出性)AMD。“湿性”AMD是晚期AMD中最危险的一种,其与“干性”AMD具有不同的疾病特征。有治疗湿性AMD的方法,例如,将抗VEGF剂注射入眼玻璃体内,尽管其不能首先阻止这些血管的形成,但可减慢或逆转其生长。地图样萎缩(“干性”AMD)仍然无法治疗。

[0013] FHL-1在BrM中占主导地位,这表明该变体在保护视网膜组织免受补体介导的攻击中具有重要作用(Clark,S.J.等人,同上)。发现FH在血液中的浓度高于FHL-1。FH和FHL-1都能防止脉络膜ECM(BrM下的毛细血管网络)中的补体过度激活。虽然有一些证据表明,这五种FHR蛋白可能会对抗FH和FHL-1的抑制作用(Clark,S.J.和P.N.Bishop,J Clin Med, 2015.4(1):第18-31页),但对其作用的了解较少。

[0014] W02019/215330描述了FHR-4是补体激活的正调节因子,并防止FH介导的C3b分解,导致C3转化酶的形成和补体激活环的进展。高水平的循环FHR-4表明发生补体相关疾病的风险增加。

[0015] 确定人类疾病组织中支持补体过程失调的确切分子变化和激活状态仍然存在问题,这主要是因为它需要在蛋白质水平上进行测量,并了解不同调节剂的相对数量。准确测量血浆中FH和相关RCA位点蛋白的绝对水平以及FI和C3b本身的水平对于有效诊断和治疗补体相关疾病至关重要。虽然已经开发了FH的测定方法,很难对FHL-1和FHR1-5进行分开测量,这是由于所有这些蛋白质之间有着高序列同源性。这种序列相似性意味着,除了全长FH蛋白外,已经证明很难产生仅对这些家族成员之一具有特异性的抗体从而获得有用的免疫测定。

[0016] 在另一个例子中,最近的一项研究使用质谱法量化了FH和FHR1-5的水平,但该测定无法检测到血液中和AMD发病关键部位中发现的显著水平的生物学重要亚型FHL-1(Zhang,P.等人,Proteomics.2017;17(6):10)。

[0017] 本发明试图解决这些问题。

发明内容

[0018] 本发明涉及使用质谱法检测补体蛋白。本申请描述了能够区分不同补体因子H、FHL-1和五种补体因子H相关(FHR)蛋白,而不受其序列相似性影响的方法。该方法还可以区分源自C3的降解产物和其他具有高度序列相似性的补体相关蛋白。

[0019] 提供了一种检测样品中至少一种补体蛋白的方法,所述方法包括:

[0020] 使用内蛋白酶GluC消化所述蛋白从而获得一个或多个肽;和通过质谱法检测所述的一个或多个肽。

[0021] 本发明还提供了一种测定样品中至少一种补体蛋白水平的方法,所述方法包括使用内蛋白酶GluC消化所述蛋白从而获得一个或多个肽;和通过质谱法测定所述的一个或多个肽的水平。

[0022] 在一些实施方式中,所述检测一个或多个肽和/或测定一个或多个肽的水平的步骤由通过质谱法测量所述一个或多个肽组成。在一些实施方式中,所述检测一个或多个肽和/或测定一个或多个肽的水平的步骤包含通过质谱法测量所述一个或多个肽的水平。

[0023] 在一些实施方式中,所述方法包括测定样品中补体蛋白的浓度。

[0024] 在另一实施方式中,本发明提供了一种制备至少一种用于分析的补体蛋白的方法,所述方法包括使用内蛋白酶GluC消化所述蛋白从而获得一个或多个肽。

[0025] 在一些实施方式中,所述补体蛋白是以下一种或多种:FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5。在一些实施方式中,所述补体蛋白是FH和/或FHL-1。在一些实施方式中,所述补体蛋白与补体扩增环和/或C3转化酶活性有关。在一些实施方式中,所述补体蛋

白C3b的降解产物。在一些实施方式中,所述补体蛋白是以下一种或多种:C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d。在一些实施方式中,所述补体蛋白是以下一种或多种:C3、C3a、C3f、C3c和/或C3d。在一些实施方式中,所述补体蛋白是C3b和/或iC3b。在一些实施方式中,所述补体蛋白是FI。上述蛋白质的所有组合均被设想。本文所述的方法可涉及检测/测定两种或多种补体蛋白的水平。在一些实施方式中,所述方法包括同时检测/测定两种或多种补体蛋白的水平。

[0026] 在一些实施方式中,所述样品是从受试者获得的。在一些实施方式中,所述方法包括从受试者获得样品的步骤。在一些实施方式中,所述样品包括或来源于血液、淋巴、血浆、血清、组织或细胞。

[0027] 所述肽可以是本文公开的任意合适的肽。所述一个或多个肽选自下组:

[0028] (a) VTYKCFE (SEQ ID NO:20);

[0029] (b) NGWSPTPRCIRVSFTL (SEQ ID NO:21);

[0030] (c) ATFCDFPKINHGILYDEE (SEQ ID NO:22);

[0031] (d) RGWSTPPKCRSTISAE (SEQ ID NO:23) 或 AMFCDFPKINHGILYDEE (SEQ ID NO:24);

[0032] (e) VACHPGYGLPKAQTIVTCTE (SEQ ID NO:25);

[0033] (f) YQCQSYYE (SEQ ID NO:26);

[0034] (g) RGWSTPPICSFTKGE (SEQ ID NO:27);

[0035] (h) GTAFVIFGIQDGE (SEQ ID NO:28);

[0036] (i) LRRQHARASHLGLARSLNDE (SEQ ID NO:29);

[0037] (j) LRRQHARASHLGLAR (SEQ ID NO:30) 和/或 LRRQHARASHLGLA (SEQ ID NO:156);

[0038] (k) LNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWE (SEQ ID NO:31);

[0039] (l) LNLDVSLQLPSR (SEQ ID NO:32);

[0040] (m) RLGRE (SEQ ID NO:33);

[0041] (n) SSKITHRIHWE (SEQ ID NO:34);

[0042] (o) SASLLR (SEQ ID NO:35) and/or SASLL (SEQ ID NO:157);

[0043] (p) RLGR (SEQ ID NO:36);

[0044] (q) HLIVTPSGCGE (SEQ ID NO:37); 和/或

[0045] (r) SEQ ID NO:38-60中的任意一个或多个。

[0046] 本发明还提供了内蛋白酶GluC的用途,用于制备至少一种用于通过质谱法检测的补体蛋白,任选地用于制备至少两种用于通过质谱法检测的补体蛋白(例如本文所述的任意蛋白组合)。

[0047] 还提供了一种检测C3b转化的方法,包括用于检测样品中至少一种补体蛋白(例如本文所述的)的方法。

[0048] 还提供了一种确定受试者中补体蛋白的存在和/或水平的方法,所述方法包括执行本文所述的方法。在一些实施方式中,所述方法在从受试者获得的样品上执行。

[0049] 本发明还包括确定受试者是否有发生补体相关疾病风险的方法,所述方法包括:

[0050] a) 用内蛋白酶GluC消化从受试者获得的样品中的至少一种补体蛋白,从而获得一个或多个肽;

[0051] b) 通过质谱法测定所述一个或多个肽的存在和/或水平;以及

[0052] c) 使用(b)的结果确定所述受试者发生补体相关病症的可能性。

[0053] 还提供了一种鉴定患有补体相关疾病的受试者的方法,所述方法包括:

[0054] a) 用内蛋白酶GluC消化从受试者获得的样品中的至少一种补体蛋白,从而获得一个或多个肽;

[0055] b) 通过质谱法测定所述一个或多个肽的存在和/或水平;以及

[0056] c) 使用(b)的结果确定所述受试者是否患有补体相关病症。

[0057] 在一些实施方式中,所述方法包括(d) 治疗已确定有发生补体相关病症的风险或患有补体相关病症的受试者。治疗受试者可以包括向所述受试者施用治疗有效量的补体靶向疗法。

[0058] 还提供了一种筛选用于通过补体靶向疗法治疗补体相关病症的受试者的方法,所述方法包括:

[0059] a) 用内蛋白酶GluC消化从受试者获得的样品中的至少一种补体蛋白,从而获得一个或多个肽;

[0060] b) 通过质谱法测定所述一个或多个肽的存在和/或水平;以及

[0061] c) 使用(b)的结果确定所述受试者是否需要补体靶向治疗。

[0062] 还提供了一种治疗疑似患有补体相关疾病的受试者的方法,所述方法包括:

[0063] a) 用内蛋白酶GluC消化从受试者获得的样品中的至少一种补体蛋白,从而获得一个或多个肽;

[0064] b) 通过质谱法测定所述一个或多个肽的存在和/或水平;以及基于(b)的结果,治疗所述的疾病。

[0065] 在一些实施方式中,所述方法包括向受试者(例如被确定为患有病症或被选择适用于本文所述治疗的受试者)施用有效量的补体靶向治疗。

[0066] 还提供了一种补体靶向疗法,其用于在受试者中治疗补体相关病症的方法,所述方法包括:

[0067] a) 用内蛋白酶GluC消化从受试者获得的样品中的至少一种补体蛋白,从而获得一个或多个肽;

[0068] b) 通过质谱法测定所述一个或多个肽的存在和/或水平;以及

[0069] c) 基于(b)的结果,施用所述补体靶向疗法的有效量。

[0070] 在一些实施方式中,所述方法包括从受试者获得样品,所述样品包含至少一种补体蛋白。所述样品可以包含或来源于血液、淋巴、血浆、血清、组织或细胞。

[0071] 在一些实施方式中,所述补体相关病症是黄斑变性。在一些实施方式中,所述补体相关病症选自:AMD、地图样萎缩(“干性”(即非渗出性)AMD)、早期AMD、EOMD、中期AMD、后期/晚期AMD、“湿性”(新生血管性或渗出性)AMD、脉络膜新生血管形成(CNV)和/或视网膜营养不良。

[0072] 在一些实施方式中,所述补体相关病症选自:溶血性尿毒症综合征(HUS)、非典型溶血性尿毒症综合征(aHUS)、DEAP HUS(FHR血浆蛋白缺乏和自身抗体阳性型溶血性尿毒症综合征)、自身免疫性葡萄膜炎、II型膜增生性肾小球肾炎(MPGN II)、败血症、过敏性紫癜(HSP)、IgA肾病、慢性肾病、阵发性睡眠性血红蛋白尿症(PNH)、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合征(SS)、类风湿性关节炎(RA)、C3肾小球病(C3G)、

致密沉积物病(DDD)、C3肾炎因子肾小球肾炎(C3 NF GN)、FHR5肾炎、遗传性血管性水肿(HAE)、获得性血管性水肿(AAE)、脑脊髓炎、动脉粥样硬化、神经变性/神经退行性疾病、痴呆、多发性硬化症(MS)、癌症、卒中、帕金森氏病和/或阿尔茨海默氏病。

[0073] 在本文所述的任意诊断或治疗方法中,补体蛋白可以是本文提供的任意一种或多种蛋白,即FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中的任意一种或多种、或其任意组合。所述蛋白可以与补体扩增环和/或C3转化酶活性有关。所述补体蛋白可以是C3b的降解产物。在一些实施方式中,所述补体蛋白是以下一种或多种: FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5。在一些实施方式中,所述补体蛋白是FH和/或FHL-1。在一些实施方式中,所述补体蛋白是以下一种或多种: C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d。在一些实施方式中,所述补体蛋白是以下一种或多种: C3、C3a、C3f、C3c和/或C3d。在一些实施方式中,所述补体蛋白是C3b和/或iC3b。在一些实施方式中,所述补体蛋白是FI。所述一个或多个肽可以是诸如本文所公开的任意合适的肽,例如SEQ ID NO:20-60中的任意一种。

[0074] 在一些实施方式中,与参考值相比,C3、C3b、C3a、iC3b、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5中的一种或多种水平升高;和/或iC3b、C3f、C3c、C3dg、C3d、C3g、FI、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5中的一种或多种水平下降,表明受试者有发生补体相关疾病的风险或患有补体相关疾病。

[0075] 还提供了一种用于检测和/或测定样品中一种或多种补体蛋白水平的方法的试剂盒,所述试剂盒包含内蛋白酶GluC。

[0076] 描述

[0077] 使用质谱(MS)可以实现对高度相似蛋白质的检测、鉴别和定量。为了通过MS获得良好的灵敏度,蛋白质(例如样品中的)通常使用特定蛋白酶消化成肽。用于此目的的工业标准蛋白酶是胰蛋白酶。通常用于消化蛋白质以进行MS分析的其他酶包括弹性蛋白酶、糜蛋白酶或LysN。

[0078] 胰蛋白酶从C端裂解至所有K和R残基,前提是它们后面没有脯氨酸残基,并产生在其C端保留碱性基团的肽,这有助于随后在质谱仪中肽的电离和向气相中的传输。在MS中,被胰蛋白酶消化的肽倾向于更有效地离子化,从而产生比被非胰蛋白酶消化肽更大的信号。使用MS,可以用与其丰度成比例的信号检测样品消化物中的单个肽。母体蛋白的浓度可从内源肽与外源“标准”肽(例如含有稳定同位素)相比的相对丰度(信号)得出。

[0079] 然而,胰蛋白酶消化补体蛋白FH和FHL-1不会产生单独使用MS可以检测到的肽。唯一的FHL-1特异性胰蛋白酶肽是一个4-氨基酸的C端序列,该序列太小,无法通过MS技术可靠检测。FHR蛋白也具有实质性的序列同一性,这意味着很难对其进行区分并使用例如基于抗体的测定来特异性地测量。

[0080] 本发明人已经开发了使用非标准蛋白水解酶GluC(V8蛋白酶)的独特靶向质谱测定法,以产生针对所有FHR蛋白的不同蛋白型肽,以及可用于区分FHL-1和FH的蛋白型肽,其可用于使用单独的MS测定在血浆中同时检测和准确测量由CFH基因簇编码的所有七种关键调节蛋白,即同时检测FH、FHL-1和FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和FHR5。

[0081] FHL-1是与FH不同的生物实体。这些蛋白质具有类似的作用,但FHL-1的大小意味着其在体内的分布可能与FH不同。这在眼睛中很明显,其中FHL-1可以跨越到布鲁赫膜的视

网膜侧(例如形成玻璃膜疣处),但较大的FH蛋白则不能,参见例如Clark等人,J Immunol 2014,193(10)4962-4970和Clark等人,Frontiers in Immunology 2017 8:177,其全部内容通过引用并入本文。在这方面,有证据表明FHL-1是眼内补体C3b转化的主要驱动因素,这意味着FHL-1的水平可能比FH的水平更好地提示疾病风险。

[0082] GluC还能够产生C3b和FI的蛋白型肽,从而能够直接测量C3b本身及其蛋白水解酶和所需液相辅助因子的水平。因此,本文所述的方法意味着所有这些补体蛋白都可以使用单个测定来测量。此外,C3b的分解通过碱性残基(K和R)处的胰蛋白酶样裂解发生,因此C3b分解产物的胰蛋白酶消化不能产生有用的肽用于分析。相反,使用本发明的MS方法可以测量C3转化,因为GluC消化也从失活裂解过程中产生的许多C3失活和分解产物中产生蛋白型新肽。本发明人在此证实了可以使用相同的单一GluC/MS测定来检测和定量作为C3/C3b裂解的结果而产生的一系列产物。这允许精确测定所有已知C3片段(例如iC3b、C3c、C3dg和C3d)的浓度。因此,本文所述的方法不仅可以测量调节性补体蛋白的绝对水平,还可以跟踪C3失活产生的蛋白产物,从而评估补体激活和扩增环的进展。

[0083] 这一点是有利的,因为C3分解产物的测量在分析上具有挑战性。C3分解的模式是复杂的:首先分解为C3a和C3b,然后将3b裂解为iC3b(其不能驱动膜攻击复合物(MAC)的形成,但仍可以充当调理素),然后通过释放C3dg片段将iC3b失活裂解为C3c。用抗体检测这些产物存在问题。虽然该级联中的每个顺序切割步骤都会产生一种新的蛋白质型(由同一基因编码的蛋白质的不同形式,包括切割形式和剪接变体),但它们具有序列同源性,并且可能只会发生微小的结构变化。针对每种形式的抗体很可能是不成功的,同时,尽管有方法可以在某种形式的分离后测量单个组分,例如在聚乙二醇基富集后测量C3dg,但目前不可能同时测量同一样品中的所有片段。

[0084] 因此,本发明涉及一种同时测定来自CFH家族的七种单独补体相关蛋白加上C3b灭活酶FI、中心补体组分C3和源自C3分解的七种蛋白(其在本文中可称为“补体组(complementome)”)的存在、绝对水平和相对摩尔比的单一方法。在一次检测中检测如此多补体相关蛋白的绝对水平的能力对于成功检测、诊断和治疗补体相关疾病至关重要。

[0085] 补体蛋白

[0086] 补体是先天免疫的核心部分,先天免疫是抵御外来和变化的宿主细胞的第一道防线。当被微生物感染时,补体被激活以诱导炎症并促进病原体的消除。补体系统主要由肝脏或细胞表面表达的膜蛋白产生的血浆蛋白组成。补体在血浆、组织或细胞内运作。关于补体系统的综述,参见例如Merle NS等人,Front Immunol.2015年6月2日;6:262,其通过引用整体并入本文。

[0087] 补体系统可以通过三种不同的途径激活:经典途径(CP)、替代途径(AP)和凝集素结合途径(LP)。在健康的个体中,AP长期低水平激活以调查病原体的存在,但宿主细胞受到抗补体攻击的保护,并对持续的低水平激活具有抵抗力。与宿主细胞结合的C3b分子被一组膜结合或血浆补体调节器迅速灭活。

[0088] 作为对微生物分子成分的识别的反应,补体蛋白在酶级联中被顺序激活:一种蛋白质的激活以酶的方式裂解并激活级联中的下一种蛋白质。

[0089] 这三条途径汇聚成C3转化酶的生成,该转化酶将中心补体成分C3裂解成激活产物C3b以及C3a,C3b是一个作为调理素的大片段(与外来微生物结合以增加其对吞噬作用的敏

感性), C3a是一种促进炎症的过敏毒素。C3b与因子B (FB) 一起形成C3转化酶 (C3bBb), 其进一步裂解C3分子, 生成更多C3b和C3a, 并增加C3b在细胞表面的沉积。这就是补体扩增环。C3b沉积和补体激活可能发生在无细胞结构(即细胞外基质) 上, 如布鲁赫膜 (BrM) 和眼睛中的脉络膜毛细血管的毛细间隔。

[0090] 活化的C3可以触发裂解通路, 从而破坏细胞和一些细菌的质膜。这个过程产生的另一种过敏毒素C5a吸引巨噬细胞和中性粒细胞, 也激活肥大细胞。

[0091] 补体系统一旦被激活, 就需要严格控制, 因为新生成的补体激活产物, 例如C3b, 可以诱导宿主的严重炎症和细胞损伤。许多可溶性和膜结合的补体调节器确保对宿主细胞表面的补体活化的调控, 并控制不同的活化阶段和作用位点 (Skerka等人, *Mol Immunol* 2013, 56:170-180)。本文进一步描述了补体调节器。

[0092] “补体蛋白”在本文中可与“补体调节器”、“补体的调节器”或“补体系统蛋白”互换使用, 并是指补体系统或补体级联的蛋白质组分, 如Merle等人, *Front. Immunol.*, 2015, 6:262和Merle等人, *Front. Immunol.*, 2015, 6:257中所述, 其全部内容通过引用并入本文。本文所指的“补体蛋白”可参与三种补体途径中的任意一种和/或扩增环。

[0093] 在一些实施方式中, 本文所述的“补体蛋白”参与替代途径和/或补体激活环。在一些实施方式中, 本文所述的“补体蛋白”参与C3或C3b的分解、转化和/或失活, 或者是所述分解、转化和/或失活的产物。

[0094] 在一些实施方式中, 本文所用的“补体蛋白”可指FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中的一种或多种。

[0095] 补体因子H (FH) 蛋白家族

[0096] 因子H (FH) 调节替代补体途径和扩增环。它通过与结合C3b的FB竞争来抑制C3转化酶的形成, 并作为因子I (FI) 使C3b失活成为iC3b的辅助因子, 从而防止不适当的补体激活和炎症。FH还发挥衰变加速活性, 这可以帮助解构已经形成的C3转化酶, 参见例如Clark等人, *J Immunol* 2014, 193(10) 4962-4970, 其通过引用整体并入本文。

[0097] 人FH (Uniprot P08603-1) 的序列在本文中作为SEQ ID NO:1提供。关于FH结构和功能的综述参见例如Merle NS等人, *Front Immunol.* 2015年6月2日; 6:262, 其通过引用整体并入本文。

[0098] 人FH包括20个CCP结构域。CFH基因还产生一种截短形式的FH, 称为FHL-1, 其仅包含前7个CCP结构域, 随后以独特的4氨基酸C末端结尾 (Clark等人, 2014年, 上文)。人FHL-1 (Uniprot:P08603-2) 的序列在本文中作为SEQ ID NO:2提供。

[0099] 在眼睛中, 全长FH蛋白位于布鲁赫膜 (BrM) 的脉络膜侧, 在脉络膜毛细血管 (脉络膜中的毛细血管层) 中有特别的积聚。在BrM的RPE侧的斑块中也发现少量, 但在BrM本身中未观察到FH。另一方面, 在整个BrM和其他ECM结构 (例如玻璃膜疣) 中观察到FHL-1 (Clark等人, 2014年, 上文)。相比FH, FHL-1可能对BrM提供更大的补体保护, 而FH对脉络膜ECM提供主要保护。因此, FHL-1被认为是BrM (AMD发病机制中的关键部位) 补体的主要调节因子。本文所述的方法允许单独检测和定量FH和FHL-1。

[0100] CFHR1-5基因编码一组五种主要由肝细胞合成的分泌血浆蛋白 (FHR-1至FHR-5)。FH、FHL-1和FHR1-FHR5描述于例如Clark等人, *J Clin Med*, 2015. 4(1):18-31中, 该文献通过引用整体并入本文。

[0101] FHR蛋白与FH的C3b结合结构域保持一些序列同源性,并被认为是可以增强补体激活,参见例如Skerka等人,Mol Immunol 2013,56:170-180,其通过引用整体并入本文。这些蛋白质高度相关,具有高度的序列同一性。N端具有36-94%的序列同一性,而C端结构域与FH C端非常相似(36-100%)。以下事实证明了家族成员之间的高氨基酸同一性:针对FH产生的抗体可以检测血浆中的多种FHR蛋白,并且针对FHR蛋白产生的抗体与其他FHR交叉反应。这种交叉反应性对从血浆中纯化FHR蛋白以及测定其浓度提出了挑战。

[0102] FHR蛋白根据其保守结构域分为两组。FHR1 (SEQ ID NO:3)、FHR2 (SEQ ID NO:3,4) 和FHR5 (SEQ ID NO:10) 形成第I组,并以其保守的N-末端为特征。它们由保守的N-末端结构域介导,以同源和异二聚体的形式存在于血浆中。第II组包含FHR3 (SEQ ID NO:6,7) 和FHR4 (SEQ ID NO:8,9),它们缺乏N-末端二聚结构域,但显示出与FH部分的高度序列相似性。所有五种FHR蛋白都包含C端序列,其作用是识别和结合C3b,并且与FH的C端非常相似。

[0103] 已知FHR1与FH和FHL-1竞争结合C3b。据报道,它还结合C5转化酶的C3b组分并干扰MAC的组装(参见例如Heinen S等人,Blood (2009) 114 (12):2439-2447和Hannan JP等人,PLoS One.2016;11 (11):e0166200,其全部内容通过引用并入本文)。如本文所用,术语“FHR1”包括FHR1 (SEQ ID NO:3;FHRA) 和具有3个点突变的第二FHR1亚型(FHRB)中的至少一种,并且优选同时包括两种FHR1亚型。“FHR1”指来自任意物种的FHR1,包括来自任意物种FHR1的亚型、片段、变体或同源物。在优选实施方式中,“FHR1”指人FHR1。

[0104] FHR2可抑制C3转化酶活性,从而抑制扩增环,但也可激活扩增环。存在两种FHR2亚型 (SEQ ID NO:4和5)。该蛋白有两种糖基化形式,一种是单糖基化 (24kDa),另一种是双糖基化。如本文所用,术语“FHR2”包括两种亚型中的至少一种或糖基化形式中的至少之一,并且优选同时包括各亚型和任意糖基化的形式。“FHR2”指来自任意物种的FHR2,包括来自任意物种FHR2的亚型、片段、变体或同源物。在优选实施方式中,“FHR2”指人FHR2。

[0105] FHR3结合C3b和C3d,并且对于FI介导的C3b裂解可能具有低辅助因子活性。FHR3也可能上调补体。存在两种FHR3亚型 (SEQ ID NO:6和7)。在血浆中检测到FHR3的多种变体(范围从35kDa到56kDa),反映了FHR3四种不同糖基化变体的存在。如本文所用,术语“FHR3”包括FHR3两种亚型中的至少一种或至少一种糖基化变种,优选同时包括两种亚型和任意糖基化形式。“FHR3”指来自任意物种的FHR3,包括来自任意物种FHR3的亚型、片段、变体或同源物。在优选实施方式中,“FHR3”指人FHR3。

[0106] 人CFHR4基因编码两种蛋白质:FHR4A (SEQ ID NO:8) 和一种可选的剪接变体FHR4B (SEQ ID NO:9)。WO 2019/215330(通过引用全文并入本文)描述了FHR4是补体激活的正调节因子,并防止FH介导的C3b分解。组织中高水平的FHR-4可能会促进局部炎症反应和细胞裂解,导致与补体激活相关的疾病,循环FHR4水平可作为发展补体相关疾病的风险指标,参见例如Cipriani等人,Nat Commun 11,778(2020),其通过引用全文并入本文。如本文所用,术语“FHR4”包括FHR4A亚型1、FHR4A亚型2(亚型1的G20点缺失)或FHR4B中的至少一种,并且优选包括FHR4亚型1和2以及FHR4B。“FHR4”指来自任意物种的FHR4,包括来自任意物种FHR4的亚型、片段、变体或同源物。在优选实施方式中,“FHR4”指人FHR4。

[0107] FHR5也识别并结合自身表面上的C3b。FHR5表现为62kDa的糖基化蛋白。如本文所用,术语“FHR5”包括FHR5的任意糖基化变体,并且优选包括所有亚型和任意糖基化形式。如本文所用,“FHR5”指来自任意物种的FHR5,包括来自任意物种FHR5的亚型、片段、变体或同

源物。在优选实施方式中,“FHR5”指人FHR5。

[0108] 鉴于CFH家族不同成员在补体激活和扩增以及补体相关疾病的发病机制中的不同作用,有能力区分所有七个CFH家族成员的存在和水平是至关重要的。CFH家族成员,特别是FHR1-5,也可以用作诊断或预测在病理学上与补体失调相关的疾病的生物标志物。

[0109] C3、C3b和分解产物

[0110] C3是中心补体成分。C3被加工成各种下游产物的途径可导致补体的激活(例如包括炎症和免疫反应)或补体失活和调节。因此,在补体发病机制和补体相关疾病的治疗方面,有能力检测和测量C3、C3b及其下游成分/加工产物的水平(包括相对水平)是重要的。

[0111] 例如,在Foley等人J Thromb Haemostasis (2015) 13:610-618中描述了C3的加工,该文献通过引用整体并入本文。人C3(UniProt:P01024;SEQ ID NO:12)包含1663个氨基酸的序列(包括N端22个氨基酸的信号肽)。氨基酸23至667编码C3 β 链(SEQ ID NO:13),氨基酸749至1663编码C3 α' 链(SEQ ID NO:14)。C3 β 链和C3 α' 链通过链间二硫键(形成于C3 β 的半胱氨酸559和C3 β' 链的半胱氨酸816之间)结合形成C3b。C3a是对应于C3(SEQ ID NO:15)的672至748位氨基酸的77个氨基酸的片段,通过C3的蛋白水解裂解生成C3b。

[0112] 将C3b加工成非活性形式iC3b(其自身不能促进进一步的补体扩增)涉及在氨基酸位置1303和1320处的C3 α' 链的蛋白水解裂解以形成 α' 链片段1(对应于C3氨基酸749-1663位;SEQ ID NO:16)和 α' 链片段2(对应于C3氨基酸1321至1663位;SEQ ID NO:17)。因此,iC3b包括C3 β 链、C3 α' 链片段1和C3 α' 链片段2(通过二硫键结合)。 α' 链的裂解也释放C3f,其对应于C3的1304至1320位氨基酸(SEQ ID NO:18)。

[0113] iC3b被进一步加工成C3c,其包含C3 β 链、C3 α' 链片段2和C3 α' 链片段1(对应于C3氨基酸749-954位;SEQ ID NO:19)。该裂解事件产生片段C3dg(对应于C3氨基酸955-1303位;SEQ ID NO:142),C3dg本身被分解成片段C3g(对应于C3氨基酸955-1001位;SEQ ID NO:143)和C3d(对应于C4氨基酸1002-1303位;序列号:144)。

[0114] C3b到iC3b的加工由补体因子I (FI;在人类中由基因CFI编码)进行。人补体因子I (UniProt:P05156;SEQ ID NO:11)具有583个氨基酸序列(包括N端18个氨基酸的信号肽)。轻链的氨基酸340至574编码FI的蛋白水解结构域,其是一种丝氨酸蛋白酶,含有负责裂解C3b以产生iC3b的催化三联体(Ekdahl等人,J Immunol (1990) 144 (11):4269-74)。辅助因子(包括FH、CR1和可能的一些FHR蛋白)促进了FI将C3b蛋白水解裂解为产物iC3b。FI的辅助因子通常与C3b和/或FI结合,并增强FI对C3b至iC3b的加工。

[0115] 如本文所用,对补体蛋白(例如C3、C3b、C3a、FH、FI等)的任何引用,是指来自任意物种的所述蛋白,并包括来自任意物种的所述蛋白的亚型、片段、变体或同源物。在一些实施方式中,所述蛋白质是哺乳动物蛋白质(例如食蟹猴、人和/或啮齿动物(例如大鼠和/或鼠)蛋白质)。本文所述的补体蛋白的亚型、片段、变体或同源物可以任选地被表征为与来自给定物种的非成熟或成熟蛋白的氨基酸序列(例如本文提供的人类蛋白序列)具有至少70%,优选80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的氨基酸序列同一性。本文所述的补体蛋白的亚型、片段、变体或同源物可以任选地是通过适当的功能性性质/活性测定法的分析所确定的功能性亚型、片段、变体或者同源物,例如具有参照蛋白的功能性/活性。

[0116] 补体蛋白检测方法

[0117] 本发明涉及使用合适的分析技术检测一种或多种补体蛋白的存在和/或测定其水平,例如本文所述。

[0118] 在一些方面,本发明提供了一种检测补体蛋白的方法,所述方法包括将所述蛋白与内蛋白酶GluC接触以获得一个或多个肽,并通过质谱法检测所述一种或几种肽。

[0119] 在一些方面,本发明提供了一种用于测定补体蛋白水平的方法,该方法包括将该蛋白与GluC接触(例如使用GluC消化)以获得一个或多个肽,并通过质谱测定所述一种或几种肽的水平。在一些情况下,该方法包括检测补体蛋白和测定补体蛋白水平。所述蛋白可以是同一蛋白,或者所述方法可以包括检测第一补体蛋白和测定第二补体蛋白的水平。

[0120] 在本文所述的任意和所有方法中,检测/测定一个或多个肽的水平的步骤包括通过质谱检测/测定肽的水平/测量肽。也就是说,检测/测定肽的水平/测量肽的步骤仅通过质谱法进行。测量肽可包括检测一个或多个肽存在或不存在,和/或测定样品中每个肽的水平、量和/或浓度。

[0121] 本文中使用的术语“消化”是指将蛋白与GluC在合适的条件(例如温度、pH等)下接触,并持续合适的时间以使得蛋白质被消化,即裂解成两个或多个片段。在一些情况下,所述消化包括在合适的条件下将蛋白与GluC孵育,如本文所述。

[0122] 在一些方面,本发明提供了一种制备用于分析的补体蛋白的方法,所述方法包括将蛋白与内蛋白酶GluC接触/使用内蛋白酶GluC消化蛋白以获得一个或多个肽。在一些情况下,所述方法包括制备补体蛋白以供后续分析。然后可以对一个或多个肽应用分析技术,例如质谱法或任意其他合适的分析技术。在一些情况下,所述方法包括制备补体蛋白以用于质谱分析。分析技术可用于检测一个或多个肽的存在和/或水平。

[0123] 应当理解,在本文中以单数形式提及“补体蛋白”(即“一个/该补体蛋白”)的情况下,也涉及多个/组/群的不同补体蛋白。例如,本文中包含补体蛋白的任意公开内容也包含一种以上的补体蛋白,即至少一种蛋白或一种或多种蛋白。在本文所述的所有方面和实施方式中,“一个/该补体蛋白”可指“至少一种补体蛋白质”。

[0124] 本文所用的“检测”蛋白质是指识别/观察蛋白质的存在(presence)或存在(existence),例如在样品、细胞、组织或受试者中。

[0125] 本文所用补体蛋白的“水平”是指所述蛋白的水平、数量或浓度,例如在样品、细胞、组织或受试者中。本文中使用的术语“测定水平”(例如蛋白质的水平)是指蛋白质水平、数量或浓度的测量和/或定量。在一些情况下,“测定水平”包括计算样品中蛋白质的水平、数量或浓度。样品可能来自受试者。在一些情况下,“测定水平”包括计算受试者体内蛋白质的水平、数量或浓度,例如使用从受试者身上采集的样品。“测定蛋白质的水平”可包括,例如在样品中,用GluC消化蛋白质以获得一个或多个肽、如本文所述检测一种或几种肽、然后计算蛋白质/肽的水平、数量或浓度。

[0126] 在一些情况下,“测定水平”包括定量,即测量蛋白质的水平、数量或浓度,例如样品或受试者中。“测定水平”可能包括测定蛋白质的浓度。定量/测量可包括将蛋白质的水平、数量或浓度与参考值进行比较,和/或将蛋白质的水平、数量或浓度与对照样品中的蛋白质进行比较,例如在不同时间点取自受试者,或取自健康受试者(例如已知没有补体相关疾病的受试者)的对照样品。

[0127] 在本文所述的方法中,将补体蛋白的水平与参考值或水平(有时称为对照)的水平

进行比较。在一些情况下,将补体蛋白的水平与不患有补体相关疾病的对照受试者中的相同补体蛋白水平进行比较。参考值可从对照样品获得,对照样品本身可从对照受试者获得。可以将待测个体(例如从样品)获得的数据或值与从对照样品获得的数据和值进行比较。在一些情况下,对照是受试者的配偶、伴侣或朋友。

[0128] 如本文所用,术语“参考值”是指在分析中用于比较的已知测量值。在一些情况下,参考值是从处于定义为健康状态的个人或群体获得的一个或一组测试值。参考值可以从对照获得的一个或一组测试值。在一些情况下,参考值是通过测定已知不患有补体相关疾病的受试者的补体蛋白水平获得的。在一些情况下,参考值是通过测定来自待检测个体的先前的补体蛋白的水平或量来设定的,例如在疾病进展的早期阶段或疾病发作之前。参考值可取自源于同一受试者或不同受试者的样品。样品可以从与本发明使用的样品相同的组织/细胞/体液中获得。参考值可以是标准值、标准曲线或标准数据集。显著偏离参考值的值/水平可被描述为非典型值/水平。

[0129] 在一些情况下,对照可以是参考样品或参考数据集,或者来自所述样品或数据集的一个或多个值。参考值可以来源于参考样品或参考数据集。参考值可以从一个或多个先前从已知不具有补体相关疾病和/或已知或预期不具有发生补体相关疾病风险的一个或多个受试者获得的样品中得出。参考值可从先前从已知患有补体相关疾病的一个或多个受试者获得的一个或多个样品中得出。参考值可以从一个或多个先前从已知有发生补体相关疾病风险的一个或多个受试者获得的样品中得出。参考值可以从参考数据集计算的平均值或平均值,例如平均蛋白水平。参考数据集/值可从已知患有补体相关疾病的受试者的大规模研究中获得。

[0130] 参考值可以从一个或多个先前从与关注的受试者属于同一个家族的一个或多个受试者或从与关注的受试对象不属于同一家族的一或多个受试者获得的样品中得出。

[0131] 参考值可从先前从待测试的个体/受试者/患者获得和/或分析的一个或多个样品中得出,例如,当个体处于补体相关疾病的早期阶段时,从个体获得样品,或在补体相关病症发作前从个体获得样品。

[0132] 参考值可以通过对取自对照受试者的样品与取自待测个体的样品同时进行分析来获得。可选地,可以从数据库或其他先前获得的值获得控制值。参考值可以使用本文所公开的方法同时测定,或者可以预先测定。

[0133] 从中获得样品的对照受试者可能已经接受了补体相关疾病的治疗和/或接受补体相关治疗/治疗剂。

[0134] 对照可以是已知存在或高水平表达靶分子的阳性对照,或已知不存在或低水平表达靶分子的阴性对照。

[0135] 样品(例如来自一个或多个对照受试者)可以包含FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FH、FHL-1、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中的任意一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个、八个、九个、十个、十一个、十二个、十三、十四个、十五个或十六个,或其任意组合。在一些情况下,每个补体蛋白都在单独的对照样品中。在一些情况下,对照样品含有多种补体蛋白。在一些情况下,本文所述的方法包括将如本文所述测定的一种或多种补体蛋白的水平与不同的(例如一种或多种)样品进行比较,所述每个样品含有一种或多种补体蛋白。在一些情况下,本文所述的方法包括将如本文所述测定的一种或多种补体蛋白

的水平与单个样品进行比较,其中所述样品含有一种或几种补体蛋白。

[0136] 在一些情况下,对照样品从与获得自待测个体的样品相同的组织获得。在一些情况下,对照样品从与获得自待测个体的样品不同的组织获得。对照样品可在一天中的特定时间或特定日期从对照受试者处获得。从待测试个体获得的样品优选在与对照样品同一时间和/或同一天获得。

[0137] 在一些实施方式中,所述方法包括检测/测定样品中补体蛋白的水平。样品可以是体外或离体的。样品可能取自受试者。样品可取自任意组织或体液。在优选方法中,样品取自体液,更优选循环通过身体的体液。因此,样品可以是血液样品或淋巴样品。在特别优选的方法中,样品是血液样品或血液衍生样品。血液衍生样品可以是患者或受试者血液的选定部分,例如选定的含细胞部分或血浆或血清部分。选定的血清部分可以包括在去除纤维蛋白凝块和血细胞后获得的血液的流体部分。或者,样品可以包括或可以衍生自来自所述个体的组织样品、活检物或分离的细胞。样品可以取自眼睛、肾脏、大脑或肝脏,例如包括来自眼睛、肾、大脑或肝的细胞。样品可以包括视网膜组织。样品可以包括来自布鲁赫膜或脉络膜的RPE细胞或组织。样品可以包括补体相关成分的玻璃膜疣或其他沉积物。

[0138] 在一些实施方式中,本文所述的方法包括从受试者获取或获得样品,例如血液、组织等。在一些实施方式中,本文所述的方法是在获得自受试者的样品上进行的。在一些情况下,样品是血液样品。血液样品可以经过/已经经过处理以获得血浆样品或血清样品。在一些情况下,所述方法包括从受试者获得血液衍生样品。在一些情况下,所述方法包括从受试者获得血浆或血清样品。在一些实施方式中,所述方法包括从样品中分离蛋白质,例如总蛋白质。从生物样品中分离蛋白质的合适技术在本领域是众所周知的。在一些实施方式中,所述方法不包括从样品中分离蛋白质,例如所述方法在未处理的样品上进行。

[0139] 在一些实施方式中,所述方法在体外进行。例如,可以在体外检测/测定补体蛋白的存在、水平、数量和/或浓度。

[0140] 在一些情况下,该方法涉及在受试者中测定补体蛋白的存在、水平、数量和/或浓度。这可能涉及在体外执行本文所述的方法,并使用结果计算受试者中蛋白质的存在、水平、数量和/或浓度。

[0141] 还提供了一种检测样品中至少一种补体蛋白的方法,该方法包括用内蛋白酶GluC消化样品中的蛋白以获得一个或多个肽;并使用质谱法检测样品中的一个或多个肽。

[0142] 还提供了一种测定样品中至少一种补体蛋白水平的方法,该方法包括用内蛋白酶GluC消化样品中的蛋白质以获得一个或多个肽,并使用质谱法测定样品中一种或几种肽的水平。

[0143] 使用质谱法检测样品中的一个或多个肽,或通过质谱法检测和/或测定一个或几个肽的水平(例如通过本文所述的方法)可以包括将质谱技术应用于样品,例如通过将样品放入质谱仪中,并指令质谱仪分析样品。本文公开了各种合适的质谱技术,这些技术属于技术人员的常规工作。

[0144] 在本文提供的任意方面,本文所述的方法可以包括检测至少一种补体蛋白和测定至少一种补体蛋白的水平。补体蛋白可以是相同的蛋白,和/或所述方法可以包括检测至少一个第一补体蛋白和测定至少一个第二补体蛋白的水平。

[0145] 在一些实施方式中,本文所述的方法包括检测/测定一种补体蛋白的水平。在一些

实施方式中,本文所述的方法包括检测/测定至少一种补体蛋白、一种或多种补体蛋白和/或补体蛋白组的水平,例如本文所提供的。

[0146] 在一些实施方式中,补体蛋白由人1号染色体上的RCA(补体调节因子)基因簇或RCA位点编码。RCA簇位于染色体1q32上,包括CFH和CFHR1-5基因。基因簇还包括膜结合蛋白CR1(CD35)、CR2(CD21)、衰变加速因子(DAF;CD55)和膜辅助因子蛋白(MCP;CD46),以及可溶性C4b结合蛋白(C4bp)。

[0147] 本文所述的方法适用于通过单个测定检测/测定多种补体蛋白的水平:即,使用单个酶GluC来获得可分析的肽,然后使用单个分析技术质谱来检测和/或测定所述肽的水平。通过这种方式,可以通过单个测定来测定样品或受试者的补体组。

[0148] 在一些实施方式中,本文所述的方法包括检测/测定FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5中的任意一种或多种(例如任意或所有组合)的水平。在一些实施方式中,所述补体蛋白选自下组:FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5。在一些情况下,所述方法包括单独或组合检测/测定FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和FHR5中的任意一个、两个、三个、四个、五个、六个和/或七个的水平。在一些情况下,本文所述的方法能够区分(即,区别、分开、分离)FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5中每一种的存在(或水平)。

[0149] 在一些情况下,要检测/测定其水平的补体蛋白是FH和/或FHL-1。在一些情况下,本文所述的方法包括检测/测定FH和FHL-1的水平。在一些情况下,本文所述的方法区分(即区别、分开、分离)FH的存在及FHL-1的存在和/或FH及FHL-1的水平/浓度。在一些情况下,本文所述的方法允许或容许单独检测FH,即不检测FHL-1。在一些情况下,本文所述的方法允许或容许单独检测FHL-1,即不检测FH。

[0150] 在一些情况下,补体蛋白是FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5中的任意一种或多种,例如其中任意或所有的组合。在一些情况下,补体蛋白质是FHR4。在一些情况下,本文所述的方法能够区分(即区别、分开、分离)FHR1、FHR2、FHR3、FHR4,和/或FHR5中每一种的存在(或水平)。在一些情况下,本文所述的方法允许或容许单独检测FHR1,即不检测FHR2-FHR5。在一些情况下,本文所述方法允许或容许单独检测FHR2,即不检测FHR1或FHR3-FHR5,在一些情况下,本文所述的方法允许或容许单独检测FHR3,即不检测FHR1、FHR2、FHR4或FHR5。在一些情况下,本文所述的方法允许或容许单独检测FHR4,即不检测FHR1-FHR3或FHR5。在一些情况下,本文所述方法允许或容许单独检测FHR5,即不检测FHR1-FHR4。

[0151] 在一些实施方式中,待检测的/其水平被确定的补体蛋白涉及C3/C3b的分解、转化和/或失活。在一些实施方式中,补体蛋白通过C3/C3b的分解和/或失活产生,即是C3b失活/分解的产物。在一些实施方式中,本文所述的方法包括测定C3b转化的存在、速率和/或进展。在一些实施方式中,本文所述的方法涉及检测/测定补体扩增环中涉及的或作为补体扩增环的结果产生的蛋白质的水平。在一些实施方式中,本文所述的方法涉及检测/测定参与C3转化酶的产生或分解的蛋白质的水平。在一些情况下,所述蛋白是FI的辅助因子,例如FH、CR1、一些FHR蛋白。本文公开的任意方法,例如用于检测样品中的至少一种补体蛋白的,包括用GluC消化蛋白质并通过质谱法检测所得肽的方法,可替代地描述为用于检测C3转化的方法、用于检测C3分解的方法、测量C3b转化或C3b分解、或用于测量C3b转化或C3b分解的进展的方法。

[0152] 因此,在一些方面,本发明提供了一种用于检测C3b的转化或分解的方法,其包括

本文所述的步骤,例如用内蛋白酶GluC消化至少一种补体蛋白以获得一个或多个肽,并通过质谱检测所述肽。在一些情况下,该方法包括消化然后检测本文所述的16种补体蛋白中的至少两种、三种、四种或更多种,最多16种。

[0153] 在一些实施方式中,本文所述的方法包括/进一步包括单独或与其他补体蛋白(如本文所述)组合检测/测定FI水平。

[0154] 在一些实施方式中,本文所述的方法包括检测/测定C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d的任意一种或多种(例如其中任意或所有组合)的水平。在一些实施方式中,补体蛋白选自C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d。在一些情况下,所述方法包括以任意组合检测/测定C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中的任意一个、两个、三个、四个、五个、六个、七个和/或八个的水平。在一些实施方式中,本文所述的方法包括检测/测定C3、C3a、C3f、C3c和/或C3d中的一个或多个的水平。在一些情况下,本文所述的方法包括测定C3b、iC3b和/或C3dg的存在和/或水平,例如通过表3中的方法测定。在一些情况下,本文所述的方法能够区分(即,区别、分开、分离)C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中的两个或更多个或全部的存在(或水平)。

[0155] 本文所述的方法可以使用一种酶(例如GluC)和一种分析方法(例如质谱)来检测多种补体蛋白,并区分所述补体蛋白。本文所述的方法可用于检测/测定本文所述的任意一种单独的蛋白质的水平,以及FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d的任意和所有组合,即这些蛋白质的任意一、二、三、四、五、六、七、八、九、十、十一、十二、十三、十四、十五和/或十六种任意组合。在一些实施方式中,补体蛋白选自FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d。在一些情况下,本文所述的方法可用于检测/测定FHL-1的水平,并检测/测定FH、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中任意一种或多种的水平。在一些情况下,所述方法包括区分(即,区分、鉴别、分离)FHL-1的存在/水平以及FH、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中任意一种或多种的存在/水平。术语“区别”、“区分”、“分开”和“分离”在本文中可互换地使用。

[0156] 在一些情况下,本文提供的方法允许同时检测FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中的一种或多种,包括其任意组合。在一些情况下,本文提供的方法允许在单个测定中检测/测定FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中的一种或多种(包括其任意组合)的水平。本文提供的方法允许从上面列出的每种蛋白质产生不同的、可分离的和可检测的肽,使得每种蛋白质的存在和/或水平可以与其他蛋白质区分开来。

[0157] 在一些情况下,本发明提供了一种用于同时和/或在一次测定中检测和/或测定样品中至少两种补体蛋白水平的方法,所述方法包括:

[0158] 用内蛋白酶GluC消化蛋白以获得一个或多个肽;和

[0159] 通过质谱检测和/或测定所述一个或多个肽的水平。

[0160] 在本文所述的任意方法中,补体蛋白可以是参与一种或多种补体系统途径的任意蛋白。例如,补体蛋白可以是C1、C2、C4b2a、C4、C4a、C5、C5a、FB、FD、C3Bb、MASP1、MASP2、C1q、C1r、C1s、C6、C7、C8、C9、CD59、簇集素、备解素(Propertin)和/或坎普他汀(Compstatin)中的一种或多种。在本文所述的任意实施方式中,待检测的补体蛋白(或被测定水平的蛋白)

不是C1、C2、C4b2a、C4、C4a、C5、C5a、FB、FD、C3Bb、MASP1、MASP2、C1q、C1r、C1s、C6、C7、C8、C9、CD59、簇集素、备解素和/或坎普他汀中的一种或多种。

[0161] 在一些情况下,本发明使用内蛋白酶GluC来制备至少一种用于质谱检测的补体蛋白。在一些情况下,本发明使用内蛋白酶GluC来制备至少两种,即多种用于质谱检测的补体蛋白。至少两种补体蛋白可以是FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中的任意两种、三种、四种或更多种,最多16种的任意组合,如本文所述。

[0162] 内蛋白酶GluC,也称为谷氨酰内肽酶,是一种丝氨酸蛋白酶,其优先将肽键C端切割至谷氨酸残基。它还在天冬氨酸残基处以比谷氨酸残基慢100-300倍的速度裂解。GluC的特异性取决于pH和缓冲液组成。在pH 4时,酶优先在E的C末端裂解,而在pH 8时,酶还在D残基裂解。GluC的序列在SEQ IDNO:153和154中提供。

[0163] 在优选实施方式中,本文所述的方法仅使用GluC(即仅GluC)来消化一种或多种补体蛋白。在优选实施方式中,在所述方法中消化蛋白质的步骤包括用GluC消化蛋白质。在优选实施方式中,本文所述的任何方法都不单独使用或与GluC组合使用/使用任何其他蛋白酶。例如,在一些实施方式中,本文所述的任何方法的消化步骤不使用或不通过以下酶或试剂中的任意一种或多种:胰蛋白酶、糜蛋白酶(高特异性或低特异性)、Lys-C、Lys-N、Arg-C、Asp-N、弹性蛋白酶、胰蛋白酶镜像酶(LysargiNase)、胃蛋白酶、Sap9、OmpT、BNPS-粪臭素(BNPS-skatole)、任意半胱氨酸蛋白酶、梭状蛋白酶(梭状肽酶B)、CNBr、肠激酶、因子Xa、颗粒酶B、中性粒细胞弹性蛋白酶、蛋白酶K、热溶蛋白、非GluC谷氨酰内肽酶例如GluBI或GluSGB、脯氨酸内肽酶、TEV蛋白酶、凝血酶、甲酸、羟胺、碘苯甲酸和/或NTCB(或其任意组合)。

[0164] GluC可从标准试剂供应商如西格玛奥德里奇(Sigma-Aldrich)、NEB等处获得,并可根据随附说明或本领域熟知的规范使用。本文描述了示例规范。从生物样品和合适的缓冲液中获得蛋白质以制备用于GluC消化的样品/蛋白质也是本领域技术人员已知的。一种示例性细胞裂解缓冲液包括:8M尿素在50mM NH_4HCO_3 和20mM甲胺中(4.8g/10ml),稀释至尿素浓度<2M,pH 8(40mg/10ml),每10ml裂解缓冲液含有1片cOmplete™ Mini无EDTA蛋白酶抑制剂混合物。

[0165] 在一些情况下,补体蛋白与GluC酶接触/孵育/使用GluC酶消化至少4、至少5、至少6、至少7、至少8、至少9、至少10、至少11、至少12、至少13、至少14、至少15、至少16、至少17、至少18、至少19、至少20、至少21、至少22、至少23或至少24小时。在一些情况下,补体蛋白与GluC酶接触/孵育/使用GluC酶消化至少12小时。在一些情况下,补体蛋白与GluC酶接触/孵育/使用GluC酶消化约12小时,例如12小时。在一些情况下,补体蛋白与GluC酶接触/孵育/使用GluC酶消化约16小时,例如16小时。术语接触、孵育和消化在本文中可互换地使用。

[0166] 在一些情况下,在至少20℃、至少21℃、至少22℃、至少23℃、至少24℃、至少25℃、至少26℃、至少27℃、至少28℃、至少29℃或至少30℃的温度下将补体蛋白与GluC酶接触/孵育/使用GluC酶消化。在一些情况下,在至少25℃的温度下将补体蛋白与GluC酶接触/孵育/使用GluC酶消化。在一些情况下,在约25℃(例如25℃)的温度下将补体蛋白与GluC酶接触/孵育/使用GluC酶消化。

[0167] 在一些情况下,在至少7.0、至少7.1、至少7.2、至少7.3、至少7.4、至少7.5、至少

7.6、至少7.7、至少7.8、至少7.9、至少8.0、至少8.1、至少8.2、至少8.3、至少8.4、至少8.5、至少8.6、至少8.7、至少8.8、或至少9.0的pH下将补体蛋白与GluC酶接触/孵育/使用GluC酶消化。在一些情况下,在至少8.0的pH(例如8.0的pH)下将补体蛋白与GluC酶接触/孵育/使用GluC酶消化。

[0168] 在一些情况下,GluC酶和补体蛋白以1/75的wt/wt比接触/孵育。孵育步骤可包括轻轻振荡,例如以400rpm。

[0169] 本文所述的方法可以包括接触/孵育/消化步骤,其包括上述温度、pH和/或时间的任意组合。在一些情况下,接触/孵育/消化在25℃、pH8下进行12小时。

[0170] 在一些实施方式中,本发明提供了一种用于检测和/或测定例如样品中至少一种补体蛋白水平的方法,该方法包括:

[0171] 用内蛋白酶GluC消化所述蛋白质以获得一个或多个肽,所述消化包括在25℃、pH8下将所述蛋白质与GluC孵育至多12小时;和

[0172] 通过质谱法检测所述一个或多个肽。

[0173] 在一些实施方式中,本发明提供了一种用于检测和/或测定例如样品中至少一种补体蛋白水平的方法,该方法包括:

[0174] 用内蛋白酶GluC消化所述蛋白质以获得一个或多个肽,所述消化包括在25℃、pH8下将所述蛋白质与GluC孵育至多12小时;和

[0175] 通过质谱法检测所述一个或多个肽。

[0176] 以下肽可通过补体蛋白的GluC消化产生,例如本文所述。在一些实施方式中,本文所述的方法包括检测/测定这些肽中的任意一种或多种的水平,即SEQ ID NO:20至141、或155、156或157中的任意一种或多种,以任意组合。肽的所有组合均考虑到。由SEQ ID NOs 20-27表示的肽的质量可以在表1中找到。

[0177] 在一些实施方式中,FH肽是VTYKCFE(SEQ ID NO:20)。

[0178] 在一些实施方式中,FH肽是下列任意一种或多种: SNTGSTTGSIVCGYNGWSDLPICYE (SEQ ID NO:112;质量2623.1206)、NGWSPTPRCIRVKTCSSIDIE (SEQ ID NO:113;质量2576.2839)、LPKIDVHLVPDRKKDQYKVG E (SEQ ID NO:114;质量2476.3801)、YYCNPRLMKGPNKIQCV DGE (SEQ ID NO:115;质量2474.1545)、NYNIALRWTAKQKLYSRTGE (SEQ ID NO:116;质量2411.2709)、KWSHPPSCIKTDCLSLPSFE (SEQ ID NO:117;质量2274.0813)、HGWAQLSSPPYYYGDSVE (SEQ ID NO:118;质量2054.9010)、ISHGVVAHMSDSYQYGEE (SEQ ID NO:119;质量2007.8632)、FDHNSNIRYRCRGKE (SEQ ID NO:120;质量1893.9016)、ITCKDGRWQSIPLCVE (SEQ ID NO:121;质量1846.9069)、GWIHTVCINGRWDPE (SEQ ID NO:122;质量1781.8307)、KAKYQCKLGYVTADGE (SEQ ID NO:123;质量1772.8767)、TTCYMGKWSSPPQCE (SEQ ID NO:124;质量1716.6946)、SYAHGTKLSYTCE (SEQ ID NO:125、质量1458.6449)、RVRYQCRSPYE (SEQ ID NO:126;质量1455.7041)、GFGIDGPAIAKCLGE (SEQ ID NO:127;质量1446.7176)、HGTINSSRSSQE (SEQ ID NO:128;质量1301.5960)、YQCQNLYQLE (SEQ ID NO:129;质量1300.5758)、WTTLPVCIVEE (SEQ ID NO:130;质量1288.6373)、KIPCSQPPQIE (SEQ ID NO:131;质量1238.6329)、SQYTYALKE (SEQ ID NO:132;质量1101.5342)、QVQSCGPPPE (SEQ ID NO:133;质量1040.4597)、KKDVYKAGE (SEQ ID NO:134;质量1036.5553)、GLPCKSPPE (SEQ ID NO:135;质量926.4531)、KVSVLCQE (SEQ ID NO:136;质量904.4688)、

HLKNKKE (SEQ ID NO:137; 质量895.5239)、GGFRISSE (SEQ ID NO:138; 质量893.4243)、LLNGNVKE (SEQ ID NO:139; 质量885.4920)、YPTCAKR (SEQ ID NO:140; 质量837.4167)、或STCGDIPE (SEQ ID NO:141; 质量820.3273)。

[0179] 在一些实施方式中,FHL-1肽是NGWSPTPRCIRVSFTL (SEQ ID NO:21)。

[0180] 在一些实施方式中,FHR1肽是ATFCDFPKINHGILYGEE (SEQ ID NO:22)。

[0181] 在一些实施方式中FHR1肽是NYNIALRWTAKQKLYLRTGE (SEQ ID NO:91; 质量2437.3230)。

[0182] 在一些实施方式中FHR2肽是RGWSTPPKCRSTISAE (SEQ ID NO:23)。

[0183] 在一些实施方式中FHR2肽是AMFCDFPKINHGILYDEE (SEQ ID NO:24)。在一些实施方式中FHR2肽是YNFVSPSKSFWTRITCAEE (SEQ ID NO:92; 质量2264.0572)。

[0184] 在一些实施方式中FHR3肽是VACHPGYGLPKAQTTVTCTE (SEQ ID NO:25)。

[0185] 在一些实施方式中FHR3肽是下列任意一种或多种:KGWSPTPRCIRVRTCSKSDIE (SEQ ID NO:93; 质量2418.2260)、NGYNQNYGRKFVQGNSTE (SEQ ID NO:94; 质量2074.9457)、QVKPCDFPDIKHGGLFHE (SEQ ID NO:95; 质量2066.0043)、FMCKLGYNANTSILSFQAVCRE (SEQ ID NO:96; 质量2494.1807)、或YQCQPYE (SEQ ID NO:97; 质量1092.4222)。

[0186] 在一些实施方式中FHR4肽是YQCQSYE (SEQ ID NO:26)。

[0187] 在一些实施方式中FHR4肽是下列任意一种或多种:NSRAKSNGMRFKLHDTLDYE (SEQ ID NO:98; 质量2381.1546)、DGWSHFPTCYNSS (SEQ ID NO:99; 质量1628.6202)、ISYGNTTGSIVCGE (SEQ ID NO:100; 质量1399.6289)、或FMCKLGYNANTSIVLSFQAVCRE (SEQ ID NO:101; 质量2480.1650)。

[0188] 在一些实施方式中FHR5肽是RGWSTPPICSFTKGE (SEQ ID NO:27)。

[0189] 在一些实施方式中FHR5肽是下列任意一种或多种:GTLCDFPKIHHGFLYDEE (SEQ ID NO:102; 质量2119.9673)、YAMIGNNMITCINGIWTE (SEQ ID NO:103; 质量2042.9264)、YGYVQPSVPPYQHGVSV (SEQ ID NO:104; 质量2004.9581)、GDTVQIICNTGYSLQNE (SEQ ID NO:105; 质量1967.8895)、IVCKDGRWQSLPRCVE (SEQ ID NO:106; 质量1887.9447)、DYNPFSQVPTGE (SEQ ID NO:107; 质量1352.5884)、QVKTCGYIPE (SEQ ID NO:108; 质量1136.5536)、ANVDAQPKKE (SEQ ID NO:109; 质量1098.5669)、WTTLPCTCVE (SEQ ID NO:110; 质量1048.4899)、或KVAVLCKE (SEQ ID NO:111; 质量888.5102)。

[0190] 在一些情况下,本文所述的方法包括以任意组合检测/测定SEQ ID NO:21-27中一个或多个的水平。

[0191] 在一些情况下,本文所述的任何方法可以包括以任意组合检测/测定SEQ ID NO:28-37、156或157中一个或多个的水平。在一些情况下,本文提供的方法用于使用表2中的一种或多种或所有肽的任意组合,加上任选的SEQ ID NO:156和/或157,检测C3、C3b和分解产物,例如根据表3中的方法。

[0192] 在一些实施方式中FI肽是下列任意一种或多种:VKLVDQDKTMFICKSSWSMRE (SEQ ID NO:45; 质量2531.2455)、VKLISNCSKFYGNRFYE (SEQ ID NO:46; 质量2068.0320)、CLHPGKFLNNGTCTAE (SEQ ID NO:47; 质量1805.8309)、NYNAGTYQNDIALIE (SEQ ID NO:48; 质量1698.7969)、GKFSVSLKHGNTDSE (SEQ ID NO:49; 质量1605.7867)、VGCAGFASVTQEE (SEQ ID NO:50; 质量1297.5729)、VGCAGFASVTQE (SEQ ID NO:155; 质量1168.272)、MKKDGNKKDCE (SEQ

ID NO:51;质量1295.6082)、YVDRIIFHE(SEQ ID NO:52;质量1191.6156)、CLHVHCRGLE(SEQ IDNO:53;质量1166.5557)、RVFSLQWGE(SEQ ID NO:54;质量1121.5738)、ILTADMDAE(SEQ ID NO:55;质量978.4448)、或KVTYTSQE(SEQ IDNO:56;质量955.4731)。

[0193] 在一些实施方式中FI肽是下列任意一种或多种:CAGTYDGSIDACKGDSGGPLVCMDANN VTYVWGVVSWGE(SEQ IDNO:38;质量3996.7183)、GTCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQQKSLE (SEQ ID NO:39;质量3994.8853)、FPGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV(SEQ ID NO:40;质量 3467.7211)、ANVACL DLGFQQGADTQRRFKLS DLSINSTE(SEQ IDNO:41、质量3397.6804)、 LPRSIPACVPWSPYLFQPNDTCIVSGWGRE(SEQ ID NO:42、质量3388.6605)、 KKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIE(SEQ IDNO:43;质量3155.5773)、 LCCKACQGKG FHKSGVCIPSQYQCNGE(SEQ IDNO:44;质量2991.2861)、VKLVDQDKTMFICKSSWSMRE (SEQ ID NO:45;质量2531.2455)、VKLISNCSKFYGNRFYE(SEQ ID NO:46;质量2068.0320)、 CLHPG TKFLNNGTCTAE(SEQ ID NO:47;质量1805.8309)、NYNAGTYQNDIALIE(SEQ ID NO:48;质量1698.7969)、GKFSVSLKHGNTDSE(SEQ ID NO:49;质量1605.7867)、VGCAGFASVTQEE(SEQ ID NO:50;质量1297.5729)、MKKDG NKKDCE(SEQ ID NO:51;质量1295.6082)、YVDRIIFHE(SEQ ID NO:52;质量1191.6156)、CLHVHCRGLE(SEQ ID NO:53;质量1166.5557)、RVFSLQWGE(SEQ IDNO:54;质量1121.5738)、ILTADMDAE(SEQ ID NO:55;质量978.4448)、KVTYTSQE(SEQ ID NO:56;质量955.4731)、VDCITGE(SEQ ID NO:57;质量736.3182)、NCGKPE(SEQ ID NO:58;质量647.2817)、TSLAE(SEQ ID NO:59;质量520.2613)、或KDNE(SEQ ID NO:60;质量 505.2252)。

[0194] 通过本文所述方法检测的肽可以任选地与本文所述肽的氨基酸序列(例如SEQ ID NO 21-141中的任意一个)具有至少70%,优选80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的氨基酸序列同一性。其他合适的肽可由技术人员容易地确定,并可用于本文所述的方法中。在优选实施方式中,根据本文方法使用的肽使质谱技术能够区别或区分样品中的两种或以上补体蛋白。

[0195] 质谱法

[0196] 本文提供的包括检测和/或测定蛋白质水平的方法可以包括使用质谱法来检测和/或者确定样品中的蛋白质水平。

[0197] 在优选实施方式中,本文所述的任何方法包括仅使用质谱(即,单独使用质谱)来检测/测定一个或多个肽的水平。也就是说,在一些实施方式中,本文提供的方法不采用多种分析技术,并且使用单个测定来检测/测定/测量肽。在优选的实施方式中,本文所述的方法不使用适于检测蛋白质/肽的其他分析技术来与质谱法结合检测/测定肽的水平/测量肽。在优选实施方式中,在任何阶段都不使用非质谱技术进行一个或多个肽水平的检测/测定,例如,不使用高效液相色谱法(HPLC)、基于免疫学的方法,例如定量酶联免疫吸附测定法(ELISA)、蛋白质印迹、蛋白质免疫沉淀、斑点印迹、或免疫电泳、电泳或放射自显影。在一些情况下,不使用液相色谱-质谱法(LC/MS)。

[0198] 如本文所用,“通过质谱法检测和/或测定”例如补体蛋白或肽的“水平”与“使用质谱法检测和/或测定”例如补体蛋白质或肽的“水平”相同。

[0199] 质谱是用于分析样品的公知分析技术,其通常包括从样品中产生离子,任选地将离子破碎,根据离子的质量/电荷比(在时间和/或空间上)分离离子,并检测离子以提供关

于样品含量的信息。

[0200] 为了检测和/或测定蛋白质水平,可以包括至少一个裂解步骤。

[0201] 质谱技术在本领域是公知的,并且任意合适的质谱技术可用于检测和/或测定样品中蛋白质的水平,例如LC/MS、GC/MS、串联质谱(MS/MS)、四极质谱(例如三极四极质谱(TQMS))、飞行时间质谱(例如MALDI-TOF)、目标MS(例如选择性反应监测MS(SRM-MS)/多重反应监测(MRM-MS))、平行反应监测(PRM-MS),基于离子捕获的方法(例如三维四极离子阱(“动态”阱)和离子回旋共振质谱仪(“静态”阱)),四极阱MS,线性阱轨道阱组合式MS、四极轨道阱MS,电喷雾电离质谱(ESI-MS)或电子转移离解MS(ETD)。

[0202] 在一些实施方式中,质谱技术可以是基于液相色谱选择反应监测质谱(LC-SRM-MS)的测定。

[0203] 可以使用任意合适的碎裂技术来实现离子的碎裂,例如碰撞诱导解离(CID)/碰撞激活解离(CAD)、电子捕获解离(ECD)、电子转移解离(ETD)、源内衰变(ISD)、红外多光子解离(IRMPD)等,这些技术是公知的。

[0204] 用于本发明的质谱技术可以包括定量分析。包括定量分析的质谱方法可以包括检测和测量目的肽及其相应片段的靶向方法。这可以为量化提供更大的特异性和敏感性。蛋白质组学中的定量质谱学在例如Bantscheff,M.等人Anal Bioanal Chem 2007,389,1017-1031中进行了综述,其全文通过引用并入本文。

[0205] 例如,输入肽可能在碰撞池中发生碎裂,从而产生该肽所独有的产物离子。完整的肽质量和该肽的一个或多个特定碎裂离子都可以在MS实验过程中监测,例如使用SRM/MRM、PRM等。

[0206] 观察到的肽的m/z比及其相应的产物离子m/z比被称为“跃迁(transition)”,即表示分析物(母体离子)的m/z和其产物离子之一的m/z的质量对,其在母体离子碎裂时形成。

[0207] 为定量质谱技术(例如SRM/MRM-MS和PRM-MS)开发合适的跃迁完全是技术人员的常规工作。Mead等人,Mol Cell Proteomics.2009年4月;8(4):696-70描述了一种这样的用于设计跃迁的技术,其全部内容通过引用并入本文。

[0208] 表7和8提供了本文所述的补体蛋白的跃迁的实例,其基于每种目的肽的合成版本的片段。也可以使用合适的替代跃迁,其鉴定完全在技术人员的日常职责范围内。

[0209] 定量可以通过用已知量的标记合成肽“加标”样品来实现。保留时间、肽质量和片段质量的组合实际上消除了肽分配的模糊性,并将量化范围扩展到4-5个数量级。在一些情况下,本文提供的方法包括使用稳定同位素标准确定优化的MS设置和/或定量参考值的步骤。

[0210] 可用于本发明的质谱技术可包括靶向或半靶向MS工作流和/或数据依赖采集(DDA)或数据非依赖采集(DIA)技术。

[0211] DDA使用在采集期间获得的信息来决定在碰撞池中对哪些MS1肽前体进行碎裂(MS/MS)。相比之下,DIA执行预定义的MS/MS碎裂和数据收集,而不考虑样品含量,这允许与DDA相比更灵敏和准确的蛋白质定量。DIA策略可以进一步分为靶向采集和非靶向采集。靶向DIA方法通常以已知(测量或预测的)持续时间将对应于肽分析物的预定义前体离子片段化。靶向DIA已广泛用于学术、制药和生物技术研究,用于小分子(代谢物)、肽和翻译后修饰(PTM)的定量。例如,选择性反应监测(SRM)(一种靶向DIA)由于其高精度和准确度,目前被

认为是质谱定量的金标准方法。有关DIA技术的综述,参见例如Meyer和Schilling,Expert Rev Proteomics.2017年5月;4(5):419-429,其全部内容并入本文。

[0212] 其他合适的DIA方法包括例如所有理论质谱的顺序窗口采集(Sequential Window Acquisition of All Theoretical mass spectrometry,SWATH MS;参见例如Ludwig等人,Mol Syst Biol(2018)14:e8126)、SONAR(Waters.com)或在线并行累积-串行碎裂(Online Parallel Accumulation-Serial Fragmentation,PASEF;参见例如Meier等人,J Proteome Res.2015年12月4日;14(12):5378-87和Meier等人,Mol Cell Proteomics.2018年12月;17(12):2534-2545)。

[0213] 方法的应用

[0214] 在一些方面,本发明提供了使用本文所述的检测/测定方法评估补体相关疾病的发病风险或进展风险的方法。

[0215] 评估风险的方法可以是对补体相关疾病的发病或进展风险的诊断、预测和/或预估。诊断方法可用于确定疾病的诊断或严重程度,预测方法有助于预估在标准治疗条件下定义的临床人群中的可能病程,预估方法预估在有效性和/或安全性方面对治疗的可能反应,从而支持临床决策。本文所述的方法可用于监测补体相关疾病的治疗成果,包括过去的或正在进行的治疗。

[0216] 术语“紊乱”、“疾病”和“病症”可以互换使用,指身体部位、器官或系统的病理问题,其特征可能是一组可识别的体征或症状。术语“补体相关疾病”是指由补体系统的缺陷或异常组成或引起的紊乱、疾病或病症。在一些实施方式中,补体相关疾病是由补体激活或补体过度激活驱动的疾病。本文中使用的术语“发生(develop)”、“发生的(developing)”和“发展(development)”(例如疾病的发展),既指疾病的发生,也指疾病状态的进展、加重或恶化。

[0217] 在一些实施方式中,所述疾病是与补体系统或其激活/过度激活/失调在病理上相关的病症。补体相关疾病可以是本文所述的任意疾病。本文所用的“病理上相关”可指与参考值相比在疾病中升高或降低的蛋白质水平,和/或该蛋白质有助于疾病的病理。检测的所选补体蛋白或其组合可取决于所关注的补体相关疾病以及作为所述疾病的有效生物标志物的补体蛋白。

[0218] 补体相关疾病可能包括经典、替代和/或凝集素补体途径的破坏。在一些情况下,所述疾病可能与补体系统调节成分的缺乏、异常或缺失有关。在一些实施方式中,所述病症可以是与替代补体途径、替代补体途径的破坏和/或与替代补体途径调节成分的缺乏、异常或缺失相关的病症。在一些情况下,所述疾病与补体扩增环有关。在一些情况下,所述疾病与补体系统的不适当激活、过度激活或失调(全部或部分,例如C3转化酶组装、C3b产生、C3b沉积和/或扩增环)相关。

[0219] 在一些情况下,该疾病与C3、C3b、iC3b、FI、FH、FHL-1或FHR1-FHR5中的任意一种或多种有关。在一些情况下,该疾病与C3、C3b、iC3b、FI、FH、FHL-1,或FHR1-1FHR5的任意一个或多种的活性缺陷或异常有关,例如与参考值相比具有升高或降低的水平。

[0220] 在一些情况下,该疾病与CR1、CD46、CD55、C4BP、B因子(FB)、D因子(FD)、SPICE、VCP(或VICE)和/或MOPICE中的一种或多种有关。在一些情况下,该疾病与CR1、CD46、CD55、C4BP、因子B、因子D、SPICE、VCP(或VICE)和/或MOPICE中的一种或多种的活性缺陷或异常有

关,或在病理上涉及其中一种或多种蛋白质。

[0221] 在一些实施方式中,所述疾病可以是与C3或含C3的复合物、与C3或含C3的复合物相关的活性/反应、或与C3或含C3的复合物相关的活性/反应的产物相关的疾病。即,在一些实施方式中,所述疾病是在病理学上涉及C3、含有C3的复合物、与C3或含有C3的复合物相关的活性/反应、或所述活性/反应的产物的疾病。在一些实施方式中,所述疾病可以与C3或含C3的复合物相比对照状态的水平升高、与C3或含C3的复合物相关的活性/反应相比对照状态的水平升高、或与C3或C3的复合物相关的活性/反应产物相比对照状态的水平升高相关。在一些实施方式中,所述疾病可以与C3或含C3的复合物相比对照状态的水平降低、与C3或含C3的复合物相关的活性/反应相比对照状态的水平降低、或与C3或C3的复合物相关的活性/反应产物相比对照状态的水平降低相关。

[0222] 在一些实施方式中,所述疾病可以是与C3b或含C3b的复合物、与C3b或含C3b的复合物相关的活性/反应、或与C3b或含C3b的复合物相关的活性/反应的产物相关的疾病。即,在一些实施方式中,所述疾病是在病理学上涉及C3b、含有C3b的复合物、与C3b或含有C3b的复合物相关的活性/反应、或所述活性/反应的产物的疾病。在一些实施方式中,所述疾病可以与C3b或含C3b的复合物相比对照状态的水平升高、与C3b或含C3b的复合物相关的活性/反应相比对照状态的水平升高、或与C3b或C3b的复合物相关的活性/反应产物相比对照状态的水平升高相关。在一些实施方式中,所述疾病可以与C3b或含C3b的复合物的相比对照状态的水平降低、与C3b或含C3b的复合物相关的活性/反应相比对照状态的水平降低、或与C3b或C3b的复合物相关的活性/反应产物相比对照状态的水平降低相关。

[0223] 在一些实施方式中,所述疾病可以是与FH、FHL-1、FI、FHR1-FHR5、FB、FD、CR1和/或CD46中的任意一个或多个、与FH、FHL-1、FI、FHR1-FHR5、FB、FD、CR1和/或CD46中的任意一个或多个相关的活性/反应、或与FH、FHL-1、FI、FHR1-FHR5、FB、FD、CR1和/或CD46中的任意一个或多个相关的活性/反应的产物相关的疾病。即,在一些实施方式中,所述疾病是在病理学上涉及C3B、含有C3B的复合物、与C3B或含有C3B的复合物相关的活性/反应、或所述活性/反应的产物的疾病。在一些实施方式中,相比,所述疾病可以与FH、FHL-1、FI、FHR1-FHR5、FB、FD、CR1和/或CD46中的任意一个或多个相比对照状态的水平降低、与FH、FHL-1、FI、FHR1-FHR5、FB、FD、CR1和/或CD46中的任意一个或多个相关的活性/反应相比对照状态的水平降低、或与C3B或C3B的复合物相关的活性/反应产物相比对照状态的水平降低相关。

[0224] 在一些实施方式中,所述疾病可以与FHR1-FHR5中的任意一种或多种相比对照状态的水平增加、与FHR1-1FHR5的任意一种或多种相关的活性/反应相比对照状态的水平增加、或与FHR2-FHR5任意一种或者多种相关的活性/反应产物相比对照状态的水平增加相关,参见例如Zhu等人,Kidney Int.2018年7月;94(1):150-158;Pouw等人,Front Immunol.2018年4月24日;9:848;两者通过引用全部并入本文。在一些实施方式中,所述疾病可能与FHR4相比对照状态的水平增加、与FHR4相关的活性/反应相比对照状态的水平增加或与FHR4相关的活性或反应产物相比对照状态的水平增加相关,参见例如W02019/215330和Cipriani等人,Nat Commun 11,778(2020),两者均以引用方式并入本文。所述方法可包括测定FHR4的全身水平。

[0225] 在一些实施方式中,所述疾病与C3、C3b、C3转化酶和/或C3bBb中任意一种或多种相比对照状态的水平增加相关。在一些实施方式中,所述疾病与C3、C3b、C3转化酶和/或

C3bBb中任一种或多种相比对照状态的水平降低相关。在一些实施方式中,所述疾病与iC3b相比对照状态的水平增加相关。在一些实施方式中,该紊乱与iC3b相比对照状态的水平降低相关。在一些实施方式中,所述疾病与C3a、C3f、C3c、C3dg、C3d和/或C3g中任一种或多种相比对照状态的水平增加相关。在一些实施方式中,所述疾病与C3a、C3f、C3c、C3dg、C3d和/或C3g中任一种或多种相比对照状态的水平降低相关。

[0226] 在一些情况下,本文提供的方法可用于确定补体相关疾病是否与补体系统的过度激活相关。在一些情况下,所述方法能够确定补体蛋白(例如本文所述的补体蛋白)水平升高是否有助于补体过度激活和/或补体相关疾病,例如与不患有补体相关疾病的对照受试者相比。

[0227] 所述疾病可能是眼部疾病。在一些实施方式中,如本文所述的待评估、诊断、治疗或预防的疾病或病症是补体相关眼部疾病。在一些实施方式中,所述疾病是黄斑变性。在一些实施方式中,所述疾病可选自(即,是以下的一种或多种)年龄相关性黄斑变性(AMD)、脉络膜新生血管形成(CNV)、黄斑营养不良和糖尿病黄斑病变中的一种或多种。如本文所用,术语“AMD”包括早期AMD、中期AMD、后期/晚期AMD、地图样萎缩(“干性”(即非渗出性)AMD)和“湿性”(即渗出性或新生血管)AMD,每一种疾病本身都可以是如本文所述被检测、治疗和/或预防的疾病。在一些实施方式中,要治疗或预防的疾病或病症是上述疾病/病症的组合,例如“干性”和“湿性”AMD。在一些实施方式中,待治疗或预防的疾病或病症不是“湿性”AMD或脉络膜新生血管形成。AMD通常被定义为导致50岁及以上受试者视力下降。在一些实施方式中,待治疗的对象为50岁或以上,即至少50岁。

[0228] 如本文所用,“早期AMD”是指AMD的一个阶段,其特征是在与RPE层相邻的布鲁赫膜内存在中等大小的玻璃膜疣,直径通常可达约200 μ m。早期AMD患者通常不会出现明显的视力丧失。如本文所用,“中期AMD”是指AMD的一个阶段,其特征在于视网膜中玻璃膜疣和/或色素的大量变化。中期AMD可能伴有一定视力下降。如本文所用,“晚期AMD”是指AMD的一个阶段,其特征在于存在由于黄斑受损导致的玻璃膜疣和视力丧失,例如严重的中心视力丧失。在AMD的所有阶段中,都可能存在“网状玻璃膜疣”(RPD)或“网状玻璃膜疣”(也称为视网膜下疣状沉积物(SDD)),这是指视网膜神经感觉层与RPE之间的视网膜下腔中细胞外物质的积累。“晚期AMD”包括“干性”和“湿性”AMD。在“干性”AMD(也称为地图样萎缩)中,黄斑中向大脑和黄斑下支持组织传递视觉信息的光敏细胞逐渐分解。在“湿性”AMD(也称为脉络膜新生血管,新生血管性和渗出性AMD)中,异常血管在下面生长并进入视网膜。这些血管会渗漏液体和血液,从而导致黄斑肿胀和损伤以及随后的疤痕形成。损伤可能是快速而严重的。

[0229] 在一些实施方式中,所述疾病是早发性黄斑变性(EOMD)。如本文所用,“EOMD”是指一种表型严重的黄斑变性亚型,表现出比经典AMD更早的发病年龄,并导致更多年的实质性视力丧失。患者可能表现为早发性玻璃膜疣表型,包括均匀的、小的、轻微隆起的且随机散布在黄斑部的黄色视网膜下结节,也称为“基底层玻璃膜疣”或“表皮玻璃膜疣”。EOMD也可称为“中发性黄斑变性”。EOMD子集描述于例如Boon CJ等人Am J Hum Genet 2008;82(2):516-23, van de Ven JP, 等人Arch Ophthalmol 2012;130(8):1038-47,以及Taylor, R.L. 等人, Ophthalmol. 2019, 126, 1410-1421, 其中每一篇均通过引用全文并入本文。与其他类型的黄斑变性一样, EOMD与补体调节异常和H因子活性紊乱有关。在一些实施方式中,待治疗的受试者为49岁或更年轻。在一些实施方式中,待治疗的受试者年龄为15至49岁,即15至

49岁之间。在一些实施方式中,待治疗的疾病或病症是黄斑营养不良。黄斑营养不良可以是一种遗传病,通常由单个基因的突变引起,导致黄斑变性。

[0230] 在一些实施方式中,所述疾病是与肾脏相关的疾病,例如肾病/肾病疾病。在一些情况下,所述疾病是神经和/或神经退行性疾病。在一些情况下,所述疾病与自身免疫有关,例如自身免疫性疾病。在一些情况下,所述疾病与炎症有关,例如炎症性疾病。在一些情况下,所述疾病以C3沉积为特征,例如肾小球疾病(参见例如Skerka等人2013,见上文)。

[0231] 在一些实施方式中,所述疾病可选自溶血性尿毒症综合征(HUS)、非典型溶血性尿毒症综合征(aHUS)、DEAP HUS(FHR血浆蛋白缺乏和自身抗体阳性型溶血性尿毒症综合征)、自身免疫性葡萄膜炎、II型膜增殖性肾小球肾炎(MPGN II)、败血症、过敏性紫癜(HSP)、IgA肾病、慢性肾病、阵发性夜间血红蛋白尿(PNH)、自身免疫性溶血性贫血(AIHA)、系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合征(SS)、类风湿性关节炎(RA)、肾小球疾病、C3肾小球疾病(C3G)、致密沉积病(DDD)、C3肾病因子肾小球肾炎(C3 NF-GN)、FHR5肾病、遗传性血管水肿(HAE)、获得性血管性水肿(AAE)、脑脊髓炎、动脉粥样硬化、多发性硬化(MS)、卒中、帕金森氏病和阿尔茨海默氏病。

[0232] 在一些情况下,所述疾病是癌症。癌症可以是液体癌或血液癌,如白血病、淋巴瘤或骨髓瘤。在其他情况下,癌症是实体癌,如乳腺癌、肺癌、肝癌、结直肠癌、鼻咽癌、肾癌或胶质瘤。在一些情况下,癌症位于肝脏、骨髓、肺、脾、脑、胰腺、胃或肠。在一些情况下,癌症是肺癌。在一些情况下,癌症是胶质母细胞瘤(多形性胶质母细胞瘤(GBM))。

[0233] 在一些情况下,所述疾病是神经变性或神经退行性疾病。所述疾病可以包括进行性萎缩和神经元功能丧失。所述疾病可选自帕金森病、阿尔茨海默病、痴呆、卒中、路易体病、肌萎缩侧索硬化症(ALS)、多发性硬化症(MS)、亨廷顿病和朊病毒病。

[0234] 补体在各种疾病中的作用的描述例如Morgan,B.P.,阿尔茨海默病发病机制中的补体(Complement in the pathogenesis of Alzheimer's disease),Semin Immunopathol,2018.40(1):p.113-124;Halbgebauer,R.等人,脓毒症期间补体驱动的中性粒细胞活化的两面性(Janus face of complement-driven neutrophil activation during sepsis.)Semin Immunol,2018.37:p.12-20;Ma,Y.等人,补体系统在缺血性卒中中的意义:综合综述(Significance of Complement System in Ischemic Stroke:A Comprehensive Review).Aging Dis,2019.10(2):p.429-462;Bonifati和Kishore,补体在神经变性和神经炎症中的作用(Role of complement in neurodegeneration and neuroinflammation.)Mol Immunol.2007Feb;44(5):999-1010;Kleczko,E.K.等人,靶向补体途径作为肺癌的治疗策略(Targeting the Complement Pathway as a Therapeutic Strategy in Lung Cancer.)Front Immunol,2019.10:p.954;和Schafer N.等人,补体调节器FHR-3在选择的自身免疫疾病中局部或全身升高(Complement Regulator FHR-3Is Elevated either Locally or Systemically in a Selection of Autoimmune Diseases),Front Immunol.2016;7:542,其全部内容通过引用并入本文。例如,FHL-1在某些肿瘤细胞系中比FH表达更多(Junnikkala等人(2000)J.Immunol.164:6075-81)和胶质母细胞瘤肿瘤已显示表达FHR蛋白(DeCordova等人(2019)Immunobiology 224:625-631),这两篇参考文献全文并入本文。能够测量和区分FH家族蛋白是有利的。

[0235] 在一些方面,本发明提供了基于本文所述的对来自受试者的样品的分析来预测受

试者是否有发生补体相关疾病的风险、是否患有补体相关的疾病、是否需要治疗补体相关疾病、是否对补体相关疾病的治疗有反应、和/或是否对补体相关疾病的治疗有反应/已经有反应。这些方法可用于确定受试者是否有疾病发作的风险,和/或是否有疾病进展、加重或恶化的风险。

[0236] 在一个方面,本发明提供了一种用于确定受试者是否有发展补体相关疾病的风险的方法,所述方法包括检测/测定至少一种补体蛋白的水平,例如在来自受试者的样品中,用内蛋白酶GluC消化该蛋白以获得一个或多个肽;以及通过质谱法检测所述一个或多个肽。所述方法可包括从受试者获得样品和/或至少一种蛋白的初始步骤。本文描述了合适的样品来源。所述方法可以包括使用质谱步骤的结果来确定受试者发生补体相关疾病的可能性。

[0237] 在一个方面,提供了内蛋白酶GluC在用于确定补体蛋白的存在和/或水平(例如在样品或受试者中)的方法中的用途例如根据本文所述的方法。还提供了内蛋白酶GluC在用于鉴定具有补体相关障碍或有发展补体相关疾病风险的受试者的方法中的用途,该方法包括:

[0238] a) 用内蛋白酶GluC消化从受试者获得的样品中的至少一种补体蛋白以获得一个或多个肽;

[0239] b) 通过质谱测定所述一个或多个肽的存在和/或水平;和

[0240] c) 使用(b)的结果来确定受试者是否患有或可能患有补体相关疾病。

[0241] 还提供了GluC在筛选适宜用补体靶向治疗剂治疗补体相关疾病的受试者的方法中的用途,该方法包括:

[0242] a) 用内蛋白酶GluC消化从受试者获得的样品中的至少一种补体蛋白以获得一个或多个肽;

[0243] b) 通过质谱测定所述一个或多个肽的存在和/或水平;和

[0244] c) 使用(b)的结果来确定受试者是否需要补体靶向治疗。

[0245] 本文所述的方法可用于确定受试者是否有黄斑变性(例如EOMD和/或AMD)发生的风险,和/或是否有EOMD或AMD进展的风险。在一些情况下,所述疾病选自EOMD、AMD、地图样萎缩(“干性”(即非渗出性)AMD)、早期AMD、中期AMD、后期/晚期AMD、“湿性”(新生血管或渗出性AMD)AMD、脉络膜新生血管形成(CNV)和视网膜营养不良。在一些情况下,受试者患有或疑似患有补体相关疾病。在一些情况下,所述疾病是AMD。在一些情况下,所述疾病是EOMD。

[0246] 因此,本发明还提供了一种用于确定受试者是否有发生黄斑变性(例如EOMD和/或AMD)的风险的方法,该方法包括检测/测定至少一种补体蛋白的水平,例如在来自受试者的样品中,用内蛋白酶GluC消化该蛋白以获得一个或多个肽;以及通过质谱法检测所述一个或多个肽。该方法可包括从受试者获得样品和/或至少一种蛋白质的初始步骤。该方法可以包括使用质谱步骤的结果来确定受试者发生黄斑变性的可能性。

[0247] 本文还提供了一种用于评估受试者发生补体相关疾病的倾向或易感性的方法,包括:

[0248] (a) 提供来自受试者的血液样品;

[0249] (b) 如本文所述评估样品中至少一种补体蛋白的存在或水平;

[0250] (c) 使用(b)的结果来确定受试者发生补体相关疾病的可能性。

[0251] 在其他方面,本发明提供了一种用于识别有风险发生或患有补体相关疾病的受试者的方法,所述方法包括如本文所述检测/测定补体蛋白水平。所述疾病可以是EOMD和/或AMD,或如本文所述的相关疾病。

[0252] 本发明提供了一种识别患有补体相关疾病的受试者的方法,所述方法包括:

[0253] a) 用内蛋白酶GluC消化从受试者获得的样品中的至少一种补体蛋白以获得一个或多个肽;

[0254] b) 通过质谱测定所述一个或多个肽的存在和/或水平;和

[0255] c) 使用(b)的结果来确定受试者是否患有补体相关疾病。

[0256] 本文所述的方法也可用于评估补体相关疾病的治疗是否有效或成功。

[0257] 在一些方面,本发明提供了采用本文所述技术的方法,用于确定受试者是否可能对治疗治处理有反应,或者受试者对治疗处理是否有反应。此类方法应使患者能够接受针对其特定病理需求的最有效治疗。

[0258] 在一些情况下,与参考值相比,补体蛋白的增加/减少(如本文所述)表明发生补体相关疾病的风险增加。在一些情况下,与在疾病早期从同一受试者/来自同一受试者的样品中获得的参考值相比,补体蛋白的增加/减少(如本文所述)表明,疾病发展的风险增加。

[0259] 在一些实施方式中,本文所述的方法可以包括确定两种或多种补体蛋白的水平并比较它们的值,例如浓度。这些值可以相互比较,也可以与参考值进行比较,例如与iC3b以及进一步的C3b分解产物的稳定或降低的水平相比,C3和C3b的水平增加可能表示发生补体相关疾病的更高风险和/或治疗补体相关疾病的受试者的需求。与iC3b和其他C3b分解产物的稳定或增加的水平相比,C3和C3b水平的降低可能表明补体相关疾病的发展风险较低和/或补体相关病症的治疗是有效的。

[0260] 在一些实施方式中,本文提供的方法包括将非典型量/水平的补体蛋白的存在与受试者发生补体相关疾病的风险增加或患有补体相关疾病相关联的步骤。

[0261] 如本文所用,术语“参考值”是指在分析中用于比较的已知测量值。在一些情况下,参考值是从处于定义为健康状态的个人或群体获得的一个或一组测试值。在一些情况下,参考值是通过测定已知不患有补体相关疾病的受试者的补体蛋白水平获得的。在一些情况下,参考值是通过测定来自待检测个体的先前的补体蛋白的水平或量来设定的,例如在疾病进展的早期阶段或疾病发作之前。参考值可取自源于同一受试者或不同受试者的样品。样品可以从与本发明使用的样品相同的组织/细胞/体液中获得。参考值可以是标准值、标准曲线或标准数据集。显著偏离参考值的值/水平可被描述为非典型值/水平。

[0262] 在一些情况下,对照可以是参考样品或参考数据集,或者来自所述样品或数据集的一个或多个值。参考值可以来源于参考样品或参考数据集。参考值可以从一个或多个先前从已知不具有补体相关疾病和/或已知或预期不具有发生补体相关疾病风险的一个或多个受试者获得的样品中得出。参考值可从先前从已知患有补体相关疾病的一个或多个受试者获得的一个或多个样品中得出。参考值可以从一个或多个先前从已知有发生补体相关疾病风险的一个或多个受试者获得的样品中得出。参考值可以是共识水平或从参考数据集计算的平均值或均数,例如平均蛋白质水平。参考数据集/值可从已知患有补体相关疾病(如AMD)的受试者的大规模研究中获得。

[0263] 已知不患有补体相关疾病的人类受试者中补体蛋白的参考值的实例包括:

[0264] a) FH: 人体血液里约150至500 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Clark等人, J Immunol 2014.193(10):4962-70和未发表的数据);

[0265] b) FHL-1: 人体血液里约0.5至50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Clark等人, J Immunol 2014.193(10):4962-70和未发表的数据);

[0266] c) FHR1: 人体血浆里约70至100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Heinen, S等人., Blood 114, 2439-2447);

[0267] d) FHR2: 人体血浆里约15-50 $\mu\text{g}/\text{ml}$, 或约为FH浓度的1/10 (Skerka等人, Mol Immunol 2013, 56:170-180);

[0268] e) FHR3: 人体血浆里约70至100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Fritzsche, L. g. 等人, Hum. Mol. Genet. 2010.19, 4694-4704);

[0269] f) FHR4: 人体血液里约 $\leq 5\mu\text{g}/\text{ml}$ (WO 2019/215330);

[0270] g) FHR5: 人体血浆里约1.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (van Beek, AE等人, Front Immunol. 2017年10月18日; 8:1328);

[0271] h) FI: 人体血浆里约35 $\mu\text{g}/\text{ml}$;

[0272] i) C3: 人体血浆里约0.5-16 mg/ml (Engström, G. 等人, J Hum Hypertens. 2007年4月; 21(4):276-82; Lee SH等人, Am J Respir Crit Care Med. 2006年2月15日; 173(4):370-8);

[0273] j) C3a: 46-157 ng/ml (Lee SH等人, Am J Respir Crit Care Med. 2006年2月15日; 173(4):370-8);

[0274] k) iC3b: 约0.7-5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Kim AHJ等人, Arthritis Rheumatol. 2019年3月; 71(3):420-430)。

[0275] 在一些情况下, 已知不患有补体相关疾病(如AMD)的人类受试者中循环FH、FHL-1和FHR1-5的平均参考值包括以下(括号中为95%CI):

[0276] a) FH, nM: 737.3 (718.2-756.5)

[0277] b) FHL-1, nM: 10.4 (10.1-10.8)

[0278] c) FHR-1, nM: 31.2 (29.4-32.9)

[0279] d) FHR-2, nM: 45.3 (43.1-47.6)

[0280] e) FHR-3, nM: 24.1 (21.7-26.5)

[0281] f) FHR-4, nM: 46.1 (42.7-49.6)

[0282] g) FHR-5, nM: 25.5 (24.5-26.5)。

[0283] 一种补体蛋白与另一种的相对浓度可以使用它们的参考值来确定。例如, 一种补体蛋白水平与另一种或其他补体蛋白的水平之比可以从上述提供的浓度推断, 例如FH: FHL-1、C3: iC3b、C3: C3b等。在补体相关疾病中, 一种补体蛋白水平与另一种或其他补体蛋白的相对浓度和/或水平之比可以变化。在一些实施方式中, 本文提供的方法涉及检测两种或多种补体蛋白, 并确定与参考值相比, 补体蛋白的水平相对于另一补体蛋白如何变化。例如, 与第二补体蛋白的水平相比, 第一补体蛋白水平可以增加, 反之亦然, 例如FH对FHL-1、C3对iC3b、C3对C3b。

[0284] 本文提供的用于评估补体相关病症发展(即补体相关疾病的发作或进展)风险, 或用于识别患有/有风险患补体相关病症的受试者的方法可与本领域技术人员已知的此类疾病的其他诊断方法和/或测试相结合。在一些情况下, 用于评估补体相关疾病发展风险的方

法包括进一步的选自下组的技术:通过溶血测定法测定CH50或AH50,测定MAC复合物(C5b、C6、C7、C8、C9)生成过程中新抗原形成的测定,C3缺乏症筛查,甘露糖结合凝集素分析,定量单个补体成分的免疫化学分析,流式细胞仪评估细胞结合的调节蛋白(例如CD55,CD59和CD35),和/或肾功能测试(例如C3,C4,CFH,CFI水平),参见例如Shih AR和Murali MR, Am.J.Hematol.2015,90(12):1180-1186,Ogedegbe HO,实验室医学,2007,38(5):295-304,和Gowda S等人,N Am J Med Sci.2010,2(4):170-173,将其全部内容通过引用整体并入本文。

[0285] 在一些情况下,本文提供的用于评估AMD和/或EOMD发展风险的方法包括进一步的选自下组的评估技术:黑暗适应性测试,对比敏感度测试(例如佩利·罗布森(Pelli Robson)),使用例如斯内伦视力表和/或阿姆斯勒方格表的视觉敏锐度测试,法恩斯沃思-孟塞尔100色相测试和最大色彩对比度灵敏度测试(MCCS)用于评估色彩敏锐度和色彩对比敏感度,超锐度视野优先检查(PHP),眼后的眼底摄影,眼底检查,眼底自发荧光,光学相干断层成像术,血管造影术(例如荧光素血管造影术,眼底荧光血管造影,吲哚青绿血管造影,光学相干断层扫描血管造影)、自适应光学视网膜成像、眼底图像的深度学习分析、视网膜电图方法和/或测量组织学变化(例如萎缩,视网膜色素变化,渗出性变化,例如眼内出血,硬渗出物,视网膜下/RPE下/视网膜内液,和/或玻璃膜疣的存在)的方法。

[0286] 治疗补体相关疾病

[0287] 在一些方面,本发明的方法包括治疗有风险发生、被预测有风险发生、已确定有风险发生或已被鉴定为患有、已被确定患有或已被诊断为患有补体相关疾病的受试者,例如如本文所述。

[0288] 本文提供的用于确定受试者是否有发展补体相关疾病的风险的任意方法可以另外包括治疗所述疾病的治疗步骤。例如,本文提供的用于确定受试者是否有发展补体相关疾病的风险的方法可以包括治疗或预防所述疾病的治疗步骤,其中与参考值相比,受试者已经被确定具有非典型的一种或多种补体蛋白的存在或水平,例如,如本文所述检测/测定的。

[0289] 治疗步骤可包括向受试者施用治疗或预防有效量的一种或多种靶向补体的治疗剂,例如一种或多种C1抑制剂、C5抑制剂、C5a抑制剂、C5aR拮抗剂、C3抑制剂、C3a抑制剂、C3b抑制剂、C3aR拮抗剂、经典通路抑制剂、替代通路抑制剂、FH补充疗法和/或MBL通路抑制剂。靶向补体的具体治疗剂包括但不限于一种或多种人C1酯酶抑制剂(C1-INH)、依库丽单抗(Soliris®、亚力科森制药;靶向C5的人源化单克隆IgG2/4抗体)、APL-2(阿佩利斯)、mubodina(阿迪安制药和生物技术公司)、ergidina(阿迪安制药和生物技术公司)、POT-4(C3环肽抑制剂;爱尔康)、利妥昔单抗(Biogen Idec,基因泰克公司/罗氏)、奥法木单抗(Genmab公司、GSK)、坎普他汀类似物、CD59、PMX53和PMX205的可溶和靶向形式(瑟法隆/泰伐)、JPE-1375(杰里尼公司,Jerini)、CCX168(ChemoCentryx公司)、NGD-2000-1(前神经原)、辛吕泽(Cinryze,夏尔公司)、贝利纳特(Berinerit,CSL贝林)、欣特(Sanquin)、Ruconest/Conestat alfa(制药公司,Pharming)、TNT009(真北)、OMS721(奥美罗斯)、CLG561(诺瓦蒂斯)、AMY-101(阿明达斯)、APL-1(阿佩利斯)、APL-2(阿佩利斯)、米考西普(MRC)、兰帕单抗(FCD4514S,基因泰克/罗氏)、ACH-4471(阿克琉斯)、ALXN1210(亚力科森制药)、斯多鲁单抗/LFG316(诺华/莫弗西斯)、Coversin(Akari)、RA101495(Ra制药)、Zimura

(ARC1905, Ophthotech公司)、ALN-CC5(奥尼兰姆)、IFX-1(InflaRx)、ALXN1007(亚力科森制药)、阿伐可泮/CCX168(Chemocentryx公司)和/或一种或多种治疗剂,例如Ricklin等人, Mol Immunol.2017,89:10-21;Ricklin和Lambris, Adv Exp Med Biol.2013,734:1-22; Ricklin和Lambris, Semin Immunol.2016,28(3):208-22;Melis JPM等人, Mol Immunol.2015 67(2):117-130;Thurman JM, Nephrol Dial Transplant,2017 32:i57-i64,Cashman SM等人, PLoS One.2011,6(4):e19078;Bora NS等人, J Biol Chem.2010,285(44):33826-33;和Clark等人, J Clin Med 2015,4(1):18-31中所述,其通过引用整体并入本文。

[0290] 在一些情况下,治疗步骤包括向受试者施用治疗或预防有效量的W02018/224663和/或W0 2019/138137中描述的一种或多种补体靶向治疗剂,两者均通过引用并入本文。

[0291] 在一些情况下,用于本文提供的方法的补体靶向治疗剂包含能够结合C3b的多肽,例如包含与SEQ ID NO:145、146、147或148具有至少85%同一性的氨基酸序列,并且其中所述多肽的总长度为450个氨基酸或更少,如W02019/138137中所述。本文所述的SEQ ID NO:145至148分别对应于W02019/138137中描述的SEQ ID NO:4、2、3和13。在一些情况下,补体靶向治疗剂可具有以下一种或多种性质:与C3b结合,与C3b在C3b结合补体受体1的区域上结合,作为FI的辅助因子、实现FI介导的C3b失活,通过FI减少C3b的量,增加C3b分解产物(例如iC3b、C3dg、C3d、C3f)的量(例如通过FI),和/或通过BrM扩散。

[0292] 在一些情况下,用于本文提供的方法中的补体靶向治疗剂包括包含C3b结合区和C3b失活区的多肽,例如如W0 2018/224663中所述,例如其中所述C3b失活区包含,或由与SEQ ID NO:149的氨基酸序列具有至少65%序列同一性的氨基酸序列组成,和/或其中所述C3b结合区包含或由与SEQ ID NO:150、151或152的氨基酸序列具有至少65%序列同一性的氨基酸序列组成。本文所述的SEQ ID NO:149-152分别对应于W0 2018/224663的SEQ ID NO:9、11、13和14。所述多肽可包含C3b结合区和C3b失活区之间的接头。在一些情况下,所述多肽包含包含或由与W0 2018/224663中公开的SEQ ID NO:32、33或34的氨基酸序列具有至少65%序列同一性的氨基酸序列组成的序列。在某些情况下,补体靶向治疗剂可能具有以下一种或多种性质:与C3b结合,与C3b在C3b结合补体受体1的区域上结合,作为FI的辅助因子、实现FI介导的C3b失活,通过FI减少C3b的量,增加C3b分解产物(例如iC3b、C3dg、C3d、C3f)的量(例如通过FI),和/或通过BrM扩散。

[0293] 在一些情况下,受试者患有或疑似患有补体相关疾病。在一些情况下,所述疾病是AMD。在一些情况下,所述疾病是EOMD。

[0294] 在一些方面,本发明提供了一种用于治疗或预防受试者中补体相关疾病的方法,该方法包括施用有效量的补体靶向治疗剂,其中与参考值相比,待治疗的受试者已被确定具有非典型的一种或多种补体蛋白的存在或水平。在某些方面,受试者已被确定有发生补体相关疾病的风险,和/或被确定患有补体相关的疾病。

[0295] 在其他方面,本发明提供了一种补体靶向治疗剂,用于治疗或预防受试者补体相关疾病的方法,其中与参考值相比,受试者已经/已经被确定具有非典型的一种或多种补体蛋白的存在或水平,例如如本文所述检测/测定的。在某些方面,受试者已被确定有发生补体相关疾病的风险,和/或被确定患有补体相关的疾病。

[0296] 在一些方面,提供了补体靶向治疗剂在制备用于治疗或预防受试者补体相关疾病

的药物中的用途,其中与参考值相比,受试者已经/已经被确定具有一种或多种补体蛋白的非典型存在或水平,例如如本文所述检测/测定的。在某些方面,受试者已被确定有发生补体相关疾病的风险,和/或被确定患有补体相关的疾病。

[0297] 还提供了一种治疗或预防受试者补体相关疾病的方法,或一种用于治疗或预防受试者补体相关疾病的方法的补体靶向治疗剂,所述方法包括施用有效量的补体靶向治疗剂,其中如果与参考值相比,所述受试者已经/已经被确定具有非典型的一种或多种补体蛋白的存在或水平(例如,如本文所述检测/测定的),则选择该受试者进行治疗。在某些方面,受试者已被确定有发生补体相关疾病的风险,和/或被确定患有补体相关的疾病。

[0298] 本发明还提供了一种用于选择进行补体靶向治疗的受试者的方法,包括检测/测定至少一种补体蛋白的存在和/或水平,例如通过本文提供的检测/测定方法。受试者可能患有或已被确定患有补体相关疾病,例如通过本文提供的方法。

[0299] 在本文提供的各个方面,待治疗的受试者具有非典型的至少一种补体蛋白的存在或水平,优选FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中的一种或多种。受试者可受益于治疗,以降低与参考值相比增加的任意补体蛋白的水平或/或增加与参考值相比降低的任意补体蛋白的水平。

[0300] 本文所述的方法可包括测定FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、FI、C3、C3b、C3a、iC3b、C3f、C3c、C3dg和/或C3d中的一种或多种的水平,以及如果与不患有补体相关疾病的对照受试者血液中的补体蛋白水平或先前在关注的受试者的血液中的该补体蛋白的水平相比,测量到的蛋白水平改变(例如上升或下降),则确定受试者患有或有可能发生补体相关疾病。

[0301] 如本文所用,术语“参考值”是指在分析中用于比较的已知测量值。在一些情况下,参考值是从处于定义为健康状态的个人或群体获得的一个或一组测试值。在一些情况下,参考值是通过测定已知不患有补体相关疾病的受试者的补体蛋白水平获得的。在一些情况下,参考值是通过测定来自待检测个体的先前的补体蛋白的水平或量来设定的,例如在疾病进展的早期阶段或疾病发作之前。参考值可取自源于同一受试者或不同受试者的样品。样品可以从与本发明使用的样品相同的组织/细胞/体液中获得。参考值可以是标准值、标准曲线或标准数据集。显著偏离参考值的值/水平可被描述为非典型值/水平。

[0302] 在一些情况下,本文所述的方法可用于诊断、治疗或预防疾病,或选择治疗或预防疾病的对象,所述疾病可受益于以下一种或多种:与参考值相比,C3bBb型C3转化酶、C3bBb3b型C5转化酶和/或C4b2a3b型C5转化酶中的一种或多种的水平或活性的降低;C3、C3b、C3a、iC3b、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4、FHR5、C5b和/或C5a中的一种或多种的水平降低;或iC3b、C3f、C3c、C3dg、C3d、C3g、FH、FHL-1、FI、FH、FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和/或FHR5中的一种或多种的水平增加。

[0303] 如本文所用,“治疗”可以是,例如,减少疾病/病症的发生或进展、减轻疾病/病况的症状或减少疾病/病症的病理学。疾病/状况的治疗或缓解可有效防止疾病/病症进展,例如防止病情恶化或减缓发生速度。在一些实施方式中,治疗或缓解可导致疾病/病症的改善,例如疾病/病症症状的减少或疾病/病症严重性/活动性的某些其他相关性的减少。疾病/病症的预防/预防可指预防病情恶化或预防疾病/病症发生,例如预防早期疾病/病症发展到晚期慢性阶段。

[0304] 本文提供的方法可包括确定在受试者中存在或不存在以受试者基因组中与补体失调相关的多态性为特征的遗传谱。多态性可在基因内或附近发现,如CCL28、FBN2、ADAM12、PTPRC、IGLC1、HS3ST4、PRELP、PPID、SPOCK、APOB、SLC2A2、COL4A1、MYOC、ADAME19、FGFR2、C8A、FCN1、IFNAR2、C1NH、C7和ITGA4。与补体失调相关的遗传谱可包括一个或多个(通常是多个)单核苷酸多态性,如US 2010/0303832的表I和II所示,其全部内容通过引用并入本文。

[0305] 遗传因素被认为在AMD和EOMD的发生中起作用。因此,本文所述的任意评估或治疗方法可以与评估AMD相关和/或EOMD相关和/或者黄斑营养不良相关遗传变异的方法结合进行。在一些情况下,本文所述的补体相关疾病可包括遗传元素和/或遗传风险因素。

[0306] 在一些情况下,本文提供的方法还包括确定受试者中是否存在与AMD相关的一种或多种遗传因素,例如一种或几种AMD相关遗传变异。在一些情况下,该方法包括(直接或间接)筛选一种或多种遗传因素的存在或不存在。在一些实施方式中,所述遗传因素是遗传风险因素。在一些实施方式中,受试者已确定具有一个或多个这样的风险因素。在一些实施方式中,本发明的方法涉及确定受试者是否具有一个或多个这样的风险因素。

[0307] 在一些实施方式中,一个或多个遗传因素可以位于1号染色体上RCA位点处或附近,例如在CFH/CFHR基因中。

[0308] 一种或多种遗传因素可位于以下一种或多种:CFH(例如选自Y402H(即rs1061170^C)、rs1410996^C、I62V(rs800292)、A473A(rs2274700)、R53C、D90G、D936E(rs1065489)、R1210C、IVS1(rs529825)、IVS2 insTT、IVS6(rs3766404)、A307A(rs1061147)、IVS10(rs203674)、rs3753396、R1210C、rs148553336、rs191281603、rs35292876和rs800292);CFHR4(例如选自rs6685931和rs1409153);CFI(例如选自G119R和rs141853578);CFB(例如rs4151667)、C2(例如rs9332739)、C9(例如P167S);和/或C3(例如K155Q)。在一些实施方式中,遗传因素是Y402H(即rs1061170^C)。在一些实施方式中,遗传因素是rs3753396。在一些实施方式中,遗传因素是rs6685931和/或rs1409153。在一些实施方式中,遗传因素不是rs6685931。

[0309] 合适的遗传风险因素和遗传变异是本领域已知的,并且可以如例如Edwards AO等人,Science 2005,308(5720):421-4;Hageman GS等人,Proc Natl Acad Sci U S A.2005,102(20):7227-7232;Haines JL等人,Science 2005,308(5720):419-21,Klein RJ等人,Science 2005,308(5720):385-389;Fritsche等人,Nat Genet.2016,48(2):134-43;US 2010/0303832;Clark等人,J Clin Med.2015,4(1):18-31;Cipriani,V.等人,Nat Commun.2020,11,778;以及Hageman GS et al,Hum Genomics.2011,5,420(2011)所述,每一个均通过引用整体并入本文。

[0310] 在一些情况下,本文提供的方法还包括确定受试者中是否存在与EOMD相关的一种或多种遗传因素,例如一种或几种EOMD相关遗传变异。在一些情况下,该方法包括(直接或间接)筛选一种或多种遗传因素的存在或不存在。在一些实施方式中,所述遗传因素是遗传风险因素。在一些实施方式中,受试者已确定具有一个或多个这样的风险因素。在一些实施方式中,本发明的方法涉及确定受试者是否具有一个或多个这样的风险因素。在一些实施方式中,受试者可能具有早发性黄斑变性(EOMD)的一个或多个危险因素。

[0311] EOMD被认为是由CFH基因的罕见变体的单基因遗传引起的(参见例如Boon CJ等人

Am J Hum Genet 2008;82(2):516-23;van de Ven JP,等人Arch Ophthalmol 2012;130(8):1038-47;Yu Y等人Hum Mol Genet 2014;23(19):5283-93;Duvvari MR,等人Mol Vis 2015;21:285-92;Hughes AE,等人Acta Ophthalmol 2016;94(3):e247-8;Wagner等人Sci Rep 2016;6:31531;Taylor RL等人,Ophthalmology.2019年3月21日.pii:S0161-6420(18):33171-3)。在一些实施方式中,受试者可具有一种或多种EOMD相关遗传变异。EOMD相关的遗传变异在例如Servais A等人Kidney Int,2012;82(4):454-64和Dragon-Durey MA,等人J Am Soc Nephrol 2004;15(3):787-95中有描述,其全部内容通过引用并入本文。在一些实施方式中,受试者可能具有一种或多种以下EOMD相关遗传变异:CFH c.1243del,p.(Ala415Profs*39)het;CFH c.350+1G>Thet;CFH c.619+1G>A het;CFH c.380G>A,p.(Arg127His);CFH c.694C>T,p.(Arg232Ter);或CFH c.1291T>A,p.(Cys431Ser)。

[0312] 在一些情况下,本文提供的方法包括筛选与AMD风险或保护相关的RCA基因座(位于第一染色体上,从CFH基因延伸到CD46(MCP)基因的DNA序列区域)内的缺失。

[0313] 用于确定遗传因素的存在或不存在的方法包括基因组DNA的限制性片段长度多态性鉴定(RFLPI)、基因组DNA的随机扩增多态性检测(RAPD)、扩增片段长度多态性检测(AFLPD)、多位点可变数串联重复(VNTR)分析(MLVA)、SNP基因分型、多位点序列分型、PCR、DNA测序(例如Sanger测序或下一代测序)、等位基因特异性寡核苷酸(ASO)探针和寡核苷酸微阵列或磁珠。其他合适的方法描述于例如Edenberg HJ和Liu Y,冷泉港协议;2009;doi:10.1101/pdb.top62,以及Tsuchihashi Z和Dracopoli NC,药物基因组学杂志,2002,2:103-110。

[0314] 在一些实施方式中,进行补体靶向治疗的治疗性或预防性处理的受试者的选择基于其被确定具有AMD和/或EOMD的一种或多种遗传因素,例如一种或多种AMD相关和/或EOMD相关遗传变异或黄斑营养不良。在一些实施方式中,已确定受试者具有一个或多个这样的遗传因素。在一些实施方式中,本文提供的方法包括确定受试者是否具有一个或多个这样的遗传因素。本文描述了这种方法和遗传因素。因此,本文提供了一种诊断、治疗或预防受试者补体相关疾病的方法,其中所述受试者已经/已经确定/被确定具有一种或多种AMD和/或EOMD的遗传因素,并且其中所述对象已经/已经确定/被确定有一种或几种补体蛋白的非典型存在或水平,例如如本文所述检测/测定的;任选地,其中所述方法包括施用补体靶向疗法/治疗剂。

[0315] 术语“受试者”是指受试者,患者或个体,并且可以是任何动物或人类。所述受试者优先是哺乳动物,更优选是人类。受试者可以是非人哺乳动物,但更优选是人类。受试者可以是男性或女性。受试者可以是患者。治疗用途可用于人类或动物(兽医用途)。用本文所述的治疗物质治疗的对象可以是需要治疗物质的对象。

[0316] 本文所述的受试者可以属于患者亚群,即受试者可能是人群中可识别的特定部分或亚群的一部分。该人群和/或亚人群可能患有或疑似患有补体相关疾病。与整个群相比,所述亚群可显示出一种或多种补体蛋白的非典型存在或水平,例如如本文所述检测/测定的。所述人群和/或亚人群可能患有或疑似患有AMD、EOMD或黄斑营养不良。

[0317] 受试者可以被识别或可能已经被识别为具有补体相关疾病或有发生补体相关疾病的风险,例如通过本文所述的方法。

[0318] 在本文提供的一些方面中,受试者被表征为具有一种或多种补体蛋白的非典型存

在或水平,例如如本文所述检测/测定/测量的。

[0319] 本发明提供了一种治疗或预防受试者补体相关疾病的方法,其中特征在于具有一种或多种补体蛋白的非典型存在或水平,例如如本文所述检测/测定。

[0320] 还提供了一种用于治疗或预防受试者补体相关疾病的方法的补体靶向治疗剂,其中所述受试者被表征为具有一种或多种补体蛋白的非典型存在或水平,例如如本文所述检测/测定。

[0321] 本发明所述的方法可以在人或动物体外进行。可以在体外,离体或体内进行本发明的方法,或产品可存在于体外,离体或体内。术语“体外”旨在涵盖在实验室条件下或在培养物中用材料、生物物质、细胞和/或组织进行的实验,而术语“体内”旨在涵盖用完整的多细胞生物进行的实验和步骤。“离体”是指在生物体外部存在或发生的事物,例如在人体或动物体外,可能在组织(例如整个器官)或从生物体获取的细胞上。在一些实施方式中,本文提供的方法的确定、检测、测量、定量和/或诊断步骤在体外进行。

[0322] 本文所述的补体靶向治疗剂可以通过多种途径给药或配制给药,包括但不限于全身、肿瘤内、腹腔内、肠外、静脉内、动脉内、皮内、皮下、肌肉内、口腔和鼻腔。优选地,通过选自肿瘤内、腹腔内或静脉内的途径施用治疗剂。药物和组合物可配制成液体或固体形式。液体制剂可配制成通过注射给药至人体或动物身体的选定区域。

[0323] 给药最好是“治疗有效量”,其足以显示出对个体的益处。实际给药量、给药速率和给药时间取决于所治疗疾病的性质和严重程度。是全科医生和其他医生的责任之内的,并且通常要考虑待治疗的病症、个别患者的病症、递送部位、施用方法和从业人员已知的其他因素。上面提到的技术和方案的示例可以在《雷明顿药物科学》(Remington's Pharmaceutical Sciences),第20版,2000年,利平科特,威廉姆斯和威尔金斯出版中找到。

[0324] 试剂盒

[0325] 本公开的方面包括体外诊断方法和用于执行这种方法的体外试剂盒。在一些实施方式中,本发明提供了一种包含内蛋白酶GluC的试剂盒,用于检测和/或测定(例如样品中)一种或多种补体蛋白水平的方法。该试剂盒可用于本文所述的任意方法和/或用于检测/测定本文所述蛋白质的任意一种或组合的水平。该试剂盒可适用于、用于或旨在/出售/分发以用于检测样品中的至少一种补体蛋白、测定样品中至少一种补体蛋白的水平、制备至少一种用于分析和/或检测的补体蛋白、测定受试者中补体蛋白的存在和/或水平、确定受试者是否有患补体相关疾病的风险、识别患有补体相关病症的受试者、选择治疗补体相关的病症的患者/受试者,和/或治疗疑似患有补体相关性病症的患者。该试剂盒及其组件可适用于MS技术。

[0326] 本文提供的试剂盒包括一个、两个或多个适于全部或部分执行本文所述方法的组件。该试剂盒可以包括标准品或对照品,例如使用该试剂盒检测的每种蛋白质的标记的肽标准品。试剂盒可包括预定量的标记的肽标准品。试剂盒可包括预定量的GluC酶,任选地具有酶消化所需的缓冲液和试剂。试剂盒的组分可以以单一组合物提供,或者可以以多种组合物提供。

[0327] 该试剂盒可适用于体外诊断试验的现场即时检验。它可以是用于实验室测试的试剂盒。试剂盒可能包括使用说明,如说明书或手册。说明书可以包括用于执行本文所述的任意一种或多种方法的方案,例如用于酶消化、推荐的MS设置和/或数据分析模板。该试剂盒

可以包括用于分离样品中的蛋白质和/或执行MS技术的部件,例如液相色谱柱。

[0328] 该试剂盒可适合使用于干样品、湿样品、冷冻样品、固定样品、尿液样品、唾液样品、组织样品、血液样品或任意其他类型的样品,包括本文公开的任意样品类型。试剂盒可以包括用于获得或处理血液、血清、血浆、细胞或组织样品的装置。

[0329] 序列同一性

[0330] 如本文所用,对应于参考氨基酸序列的氨基酸序列可包含与参考序列至少60%,例如至少65%、70%、75%、80%、81%、82%、83%、84%、85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或100%之中一种的序列同一性。

[0331] 为了确定两个或多个氨基酸或核酸序列之间的百分比同一性,可以以本领域技术人员已知的各种方式实现配对和多序列比对,例如,使用公开可用的计算机软件,如ClustalOmega (Söding, J. 2005, 生物信息学21951-960)、T-coffee (Notredame等人, 2000, J. Mol. Biol. (2000) 302205-217)、Kalign (Lassmann和Sonnhammer 2005, BMC生物信息学, 6 (298)) 和MAFFT (Katoh和Standley 2013, 分子生物学和进化, 30 (4) 772-780) 软件。当使用这种软件时,优选使用默认参数,例如用于间隙罚分和扩展罚分。

[0332] ***

[0333] 在前述描述中或在以下权利要求中或在附图中公开的特征,以其特定形式或以用于执行所公开的功能的手段或用于获得所公开的结果的方法或过程的方式表示,可以单独地或以这些特征的任意组合来表示,可用于以不同形式实现本发明。本发明包括所描述的方面和优选特征的组合,除非这种组合是明确不允许的或明确避免的。

[0334] 虽然已经结合上述示例性实施例描述了本发明,但是当给出本公开时,许多等效修改和变化对于本领域技术人员将是显而易见的。因此,上述本发明的示例性实施例被认为是说明性的而非限制性的。在不脱离本发明的精神和范围的情况下,可以对所描述的实施例进行各种改变。

[0335] 为了避免任何疑问,本文提供的任何理论解释都是为了提高读者的理解。发明人不希望受任何这些理论解释的约束。

[0336] 本文中使用的任何章节标题仅用于组织目的,不得解释为限制所述主题。

[0337] 在整个说明书中,包括以下权利要求,除非上下文另有要求,否则“包括”和“包含”一词以及“含有”,“具有”和“包含的”等变体将被理解为包括所述整数或步骤或整数组或步骤组,但不排除任何其他整数或步骤、整数组或步骤组。

[0338] 必须注意的是,如在说明书和所附权利要求中所使用的,除非上下文另有明确规定,否则单数形式“一个”,“一种”和“该”包括复数指称。范围可以在本文中表示为从“大约”一个特定值,和/或到“大约”另一特定值。当表示这样的范围时,另一实施方式包括从一个特定值和/或到另一特定值。类似地,当通过使用先行词“大约”将值表示为近似值时,可以理解,特定值形成了另一个实施方式。与数值相关的术语“大约”是可选的,表示例如+/-10%。

[0339] 本文中使用的阶段“和/或”分别包括列表中的每个成员,以及列表中一个或多个成员的任意组合,直至并包括列表中每个成员。

[0340] 对于标准分子生物学技术,请参见Sambrook, J., Russel, D.W. 分子克隆, 实验室手册. 第3版. 2001年, 纽约冷泉港: 冷泉港实验室出版社。

[0341] 序列

SEQ ID No:	描述	序列
1	人补体因子 H (FH) Uniprot: P08603-1 录入版本 229 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 4 (2007 年 9 月 11 日)	MRLAKIICLMLWAICVAEDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKCR PGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLRKCQKRPCGHPGDTPFGTFTLTGGNVF EYGVKAVYTCNEGYQLLGEINYRECDTDGWTNDIPICEVVKCLPVTAPENGKI VSSAMEPDREYHFGQAVRFVCNSGYKIEGDEEMHCSDDGFWWSKEKPKCVEI SCKSPDIVINGSPISQKIYKENERFQYKCNMGYEYSERGDAVCTESGWRPLP SCEEKSCDNPYIPNGDYSPLRIKHRTGDEITYQCRNGFYFYPATRGNTAKCTST GWIPAPRCTLKPCDYPDIKHGGLYHENMRRPYFPVAVGKYSSYYCDEHFET PSGSYWDHIHCTQDGWSPAVPCLRKCYFPYLENGYNQNYGRKFVQGSIDV ACHPGYALPKAQTTVTCMENGWSPTPRCIRVKTCSSSIDIENGFISESQYTY ALKEKAKYQCKLGYVTADGETSGSITCGKDGWSAQPTCIKSCDIPVFMNART KNDFTWFKLNDTLDYECHDGYESNTGSTTGSIVCGYNGWSDLPICYEREC PKIDVHLPDRKKDQYKVGELKFSCPKGFTIVGPNVQCYHFLSPDLPIK EQVQSCGPPPELLNGNVKEKTKEEYGHSEVVEYCNPRFLMKGPNKIQCVD GEWTTLPVCIVEESTCGDIPELEHGWAQLSSPPYYYGDSVEFNCSESFTMIG HRSITCIHGVWTQLPQCVAIDKLKCKSSNLIIEEHLKNKKEFDHNSNIRYRC RGKEGWIHTVCINGRWDPEVNCMAQIQLCPPPPQIPNSHNMTTTTLNRYDG EKVSVLCQENYLIQEGEEITCKDGRWQSIPLCVEKIPCSQPPQIEHGTINSSRS SQESYAHGKLSYTCGGFRISEENETTCYMGKWSPPQCEGLPCKSPPEIS HGVVAHMSDSYQYGEVYTKCFEGFGIDGPAIAKCLGEKWSHPPSCIKTDL SLPSFENAIPMGEKKDYKAGEQVYTCATYYKMDGASNVTCINSRWTGR TCRDTSCVNPTVQNAIVSRQMSKYPGGERVRYQCRSPYEMFGDEEVMC LNGNWTPEPPQCKDSTGKCGPPPIDNGDITSFPLSVYAPASSVEYQCQNL YQLEGNKRITCRNGQWSEPPKCLHPCVISREIMENYNIALRWTAQKQKLYSRTG ESVEFVCKRGYRLSSRSHTLRTTCWDGKLEYPTCAKR
2	人 FH 样蛋白 1 (FHL-1) Uniprot: P08603-2 录入版本 229 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 4 (2007 年 9 月 11 日)	MRLAKIICLMLWAICVAEDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKCR PGYRSLGNVIMVCRKGEWVALNPLRKCQKRPCGHPGDTPFGTFTLTGGNVF EYGVKAVYTCNEGYQLLGEINYRECDTDGWTNDIPICEVVKCLPVTAPENGKI VSSAMEPDREYHFGQAVRFVCNSGYKIEGDEEMHCSDDGFWWSKEKPKCVEI SCKSPDIVINGSPISQKIYKENERFQYKCNMGYEYSERGDAVCTESGWRPLP SCEEKSCDNPYIPNGDYSPLRIKHRTGDEITYQCRNGFYFYPATRGNTAKCTST GWIPAPRCTLKPCDYPDIKHGGLYHENMRRPYFPVAVGKYSSYYCDEHFET PSGSYWDHIHCTQDGWSPAVPCLRKCYFPYLENGYNQNYGRKFVQGSIDV ACHPGYALPKAQTTVTCMENGWSPTPRCIRVSTL
3	补体因子 H 相关 1 (FHR-1) Uniprot: Q03591 录入版本 166 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2008 年 12 月 16 日)	MWLLVSVILISRISSVGGGEATFCDFPKINHILYDEEKYKPFSSQVPTGEVFFYYS CEYNFVSPSKSFWTRITCTEEGWSPTPKCLRLCFFPFVENGHSSESSGQTHLE GDTVQIICNTGYRLQNNENNISCVERGWSTPPKCRSTDTSCVNPTVQNAHI LSRQMSKYPGGERVRYECSRPEYEMFGDEEVMCLNGNWTPEPPQCKDSTGK CGPPPIDNGDITSFPLSVYAPASSVEYQCQNLQLEGNKRITCRNGQWSEP PKCLHPCVISREIMENYNIALRWTAQKQKLYLRTGESAEFVCKRGYRLSSRSHT LRTTCWDGKLEYPTCAKR

[0342]

[0343]

4	补体因子 H 相关 2 (FHR-2), 亚型 1 Uniprot: P36980-1 录入版本 168 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 1 (1994 年 6 月 1 日)	MWLLVSVILISRISSVGGGEAMFCDFPKINHGILYDEEKYKPFSSQVPTGEVFFYYS CEYNFVSPSKSFWTRITCAEEGWSPTPKCLRLCFFPFVENGHSESSGQTHLE GDTVQIICNTGYRLQNNENNISCVERGWSTPPKCRSTISAEEKGPPPPIDNGD ITSFLLSVYAPGSSVEYQCQNLQLEGNQITCRNGQWSEPPKCLDPCVISQ EIMEKYNILKWTNNQKLYSRTGDIVEFVCKSGYHPTKSHSFRAMCQNGKLV YPSCEEK
5	补体因子 H 相关 2 (FHR-2), 亚型 2 Uniprot: P36980-2 录入版本 168 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 1 (1994 年 6 月 1 日)	MWLLVSVILISRISSVGGGEAMFCDFPKINHGILYDEEKYKPFSSQVPTGEVFFYYS CEYNFVSPSKSFWTRITCAEEGWSPTPKCLRLCFFPFVENGHSESSGQTHLE GDTVQIICNTGYRLQNNENNISCVERGWSTPPKCRSTSSSVEYQCQNLQLE GNNQITCRNGQWSEPPKCLDPCVISQEIMEKYNILKWTNNQKLYSRTGDIV EFVCKSGYHPTKSHSFRAMCQNGKLVYPSCEEK
6	补体因子 H 相关 3 (FHR-3), 亚型 1 Uniprot: Q02985-1 录入版本 161 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2001 年 2 月 21 日)	MLLLINVILTLWVSCANGQVKPCDFPDIKHGGLFHENMRRPYFPVAVGKYYS YYCDEHFETPSGSYWDYIHCTQNGWSPAVPCLRKCYFPYLENGYNQNYGR KFVQGNSTEVACHPGYGLPKAQTTVTCTEKGWSPTPRCIRVRTCSKSDIEIE NGFISESSSIYILNKEIQYKCKPGYATADGNSSGSITCLQNGWSAQPICINSSE KCGPPPPISNGDTSFLLKVYVPQSRVEYQCQPYELQGSNYVTCSNGEWS EPPRCIHPCIITEENMNKNILKGRSDRKYAKTGDTIEFMCKLGYNANTSIL SFQAVCREGIVEYPRCE
7	补体因子 H 相关 3 (FHR-3), 亚型 2 Uniprot: Q02985-2 录入版本 161 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2001 年 2 月 21 日)	MLLLINVILTLWVSCANGQVKPCDFPDIKHGGLFHENMRRPYFPVAVGKYYS YYCDEHFETPSGSYWDYIHCTQNGWSPAVPCLRKCYFPYLENGYNQNYGR KFVQGNSTEVACHPGYGLPKAQTTVTCTEKGWSPTPRCIRVNSSEKCGPPP PISNGDTSFLLKVYVPQSRVEYQCQPYELQGSNYVTCSNGEWSEPPRCIH PCIITEENMNKNILKGRSDRKYAKTGDTIEFMCKLGYNANTSILSFQAVCR EGIVEYPRCE
8	补体因子 H 相关 4 (FHR-4A) Uniprot: Q92496-1 录入版本 157 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 3 (2014 年 1 月 22 日)	MLLLINVILTLWVSCANGQEVKPCDFPEIQHGGLYYKSLRRLYFPAAAGQSYS YYCDQNFVTPSGSYWDYIHCTQDGWSPTVPCRLRTCSKSDIEIENGFISSSS IYILNEETQYNCKPGYATAEGNSSGSITCLQNGWSTQPICIKFCMDMPVFENS AKSNGMWFLHDTLDYECYDGYESSYGNNTDSIVCGEDGWSHLPTCYNSS NCGPPPPISNGDTSFPQKVYLPWSRVEYQCQSYELQGSKYVTCNSGDW SEPPRCISMKPCFPEIQHGGLYYENTRRPYFPVATGQSYSDQNFVTPS GSYWDYIHCTQDGWLPVPCRLRTCSKSDIEIENGFISSSSSIYILNKEIQYKCK PGYATADGNSSGSITCLQNGWSAQPICIKFCMDMPVFENSRAKSNGMRFLH DTLDYECYDGYEISYGNNTGSIVCGEDGWSHFPTCYNSSSEKCGPPPPISNGD TTSFLLKVYVPQSRVEYQCQSYELQGSNYVTCSNGEWSEPPRCIHPCIITEE NMKNILKLGKSDIKYYA KTGDTIEFMCKLGYNANTSILSFQAVCREGIVEYPRCE
9	补体因子 H 相关 4 (FHR-4B) Uniprot: Q92496-3 录入版本 157 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 3 (2014 年 1 月 22 日)	MLLLINVILTLWVSCANGQEVKPCDFPEIQHGGLYYKSLRRLYFPAAAGQSYS YYCDQNFVTPSGSYWDYIHCTQDGWSPTVPCRLRTCSKSDIEIENGFISSSS IYILNKEIQYKCKPGYATADGNSSGSITCLQNGWSAQPICIKFCMDMPVFENS RAKSNGMRFLHDTLDYECYDGYEISYGNNTGSIVCGEDGWSHFPTCYNSSSEK CGPPPPISNGDTSFLLKVYVPQSRVEYQCQSYELQGSNYVTCSNGEWSE PPRCIHPCIITEENMNKNILKLGKSDIKYYAKTGDTIEFMCKLGYNANTSILS FQAVCREGIVEYPRCE
10	补体因子 H 相关 5 (FHR-5) Uniprot: Q9BXR6	MLLLFVILISWVSTVGGEGTLCDFPKIHGFLYDEEDYNPFSQVPTGEVFFY SCEYNFVSPSKSFWTRITCTEEGWSPTPKCLRMCSFPFVKNGHSESSGLIHL EGDTVQIICNTGYSLQNNENISCVERGWSTPPICSFTKGECHVPILEANVDA QPKKESYKVGDLKFSRKNLIRVGSQSVQCYQFGWSPNFPTCKGQVRSC GPPPPQLSNGEVKEIRKEEYGHNEVVEYDCNPNFIINGPKKIQCVDGWTTLP TCTVEQVKTGCIPELEYGYVQPSVPPYQHGVSVVNCRNEYAMIGNNMITCIN GIWTELMCVATHQLKRCKIAGVNIKTLLKLSGKEFNHNSRIRYRCSDFRYRH SVCINGKWNPEVDCTEKREQFCPPPPQIPNAQNMTTVNYQDGEKVAVLCK ENYLLPEAKEIVCKDGRWQSLPRCVSTAYCGPPPSITNGDTSFPLSVYPP GSTVTYRCQSFYKLQGSVTVTCRNKQWSEPPRCLDPCVSEENMNKNILK

[0344]

		KWRNDGKLYAKTGDAVEFQCKFPHKAMISSPPFRAICQEGKFEYPICE
11	补体因子 I (FI) Uniprot: P05156 录入版本 147 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 1 (2001 年 6 月 1 日)	MKLLHVFLFLCFHLRFCKVITYTSQEDLVEKKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQ RCIEGTCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQKKSLECLHPGTKFLNN GTCTAEGKFSVSLKHGNTDSEGEVEVKLVDDQKTMFICKSSWSMREANVACL DLGFQQGADTQRRFKLSDLINSTECLHVHCRGLETSLAECTFTKRRTMGYQ DFADVVCYTQKADSPMDDDFFQCVNGKYISQMKACDGINDCGDQSDCLCKA CQKGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGEVDICITGEDEVGCAGFASVTQEETILTAD MDAERRRIKSLLPKLSCGVKNRMHIRRKRIVGGKRAQLGDLPWQVAKDASGI TCGGIYIGGCWILTAACHLRASKTHRYQIWTTVVDWIHPDLKRIVIEYVDRIIFH ENYNAGTYQNDIALIEMKKDGNKKDCELPSPACVPWSPYLFQPNDCIVSG WGREKDNERVFSLQWGEVKLISNCSKFYGNRFYEKEMECAGTYDGSIDACK GDSGGPLVCM DANNVTVVWGVVSWGENCGKPEFPVYTKVANYFDWISYH VGRPFISQYNV
12	补体因子 C3 (Uniprot: P01024) 录入版本 242 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2006 年 12 月 12 日)	MGPTSGPSLLLLLTHLPLALGSPMYSIITPNILRLESEETMVLEAHDAGQDVP VTVTVHDFPGKKLVLSSEKTVLTPATNHMGNTFTIPANREFKSEKGRNKFVT VQATFGTQVVEKVVVLVSLQSGYLFQTDKTIYTPGSTVLYRIFTVNHKLLPVGR TVMVNINPEGIPVKQDLSLSSQNLGVLPLSWDIPELVNMGGQWKIRAYYENS PQQVFSTEFVKEYVLPSEFIVEPTEKFYIYNEKGLEVTITARFLYGKKVEG TAFVIFGIQDGEQRISLPELSKRIPIEDGSGEVVLSRKVALLDGVQNPRAEDLVG KSLYVSATVILHSGSDMVQAERSGPIVTSPIYQIHFTKTPKYFKPGMPFDLMVF VTNPDGSPAYRVPVAVQGEDTVQSLTQGDGVAKLSINTHPSQKPLSITVTRTK KQELSEAEQATRTMQALPYSTVGNSNNYLHLSVLRTLEPGETLNVNFFLLRM DRAHEAKIRYYTYLIMNKGRLKAGRQVREPQDVLVPLSITDDFIPSRFLVA YYTLIGASGQREVVDASVWVDVKDSCVGSVLVKSQGSQEDRQVPVPGQMTL KIEGDHGARVVLVAVDKGVFVLNKKNKLTQSKIWDVVEKADIGCTPGSGKDY AGVFSDAGLTFTSSSGQQTAAQRAELQCPQPAARRRRSVQLTEKRMDDKVGK YPKELRKCCEDGMRENPMRFSCQRRTRFISLGEACKKVFLDCCNYITELRRQ HARASHLGLARSNLDEIIAEENIVSRSEFPESWLWNVEDLKEPPKNGISTKL MNIFLKDSITTWEILAVSMSDKKGCVADPFVETVMQDFFIDLRLPYSVVRNEQ VEIRAVLYNYRQNLKVRVELLHNPACSLATTKRRHQQTVTIPPKSSLSVP YVIVPLKTGLQEVEVKAAYVHHFISDGVRSKLVVPEGIRMNKTAVVRTLDPE RLGREGVQKEDIPPADLSDQVPDTESETRILLQGTTPVAQMTEDAVDAERLKH LIVTPSGCGEQNMIGMTPTVIAVHYLDETEQWEKFGLEKRGGALELIKKGTYQ QLAFRQPSSAAFAFVKRAPSTWLTAYVVKVFSLAVNLIADSVLQCGAVKWLIL EKQKPDGVFQEDAPVIHQEMIGGLRNNEKDMALTAFVLISLQEAKDICEEQV NSLPGSITKAGDFLEANYMNLQRSYTVAGYALAQMGRLKGPLLNKFLTAK DKNRWEDPGKLYNVEATSYALLALLQLKDFVPPVVRWLNEQRYGGGY GSTQATFMVFQALAQYQKDAPDHQELNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWESASL LRSEETKENEGFTVTAEGKGQGTLSVVTMYHAKAKDQLTCNKFDLKVTIKPA PETEKRPQDAKNTMILEICTRYRGDQDATMSILDISMMTGFAPDTPDLKQLAN GVDRYISKYELDKAFSDRNTLIYLDKVSHEDDCLAFKVHQYFNVELIQPGAV KVYAYYNLEESCTRFYHPEKEDGKLNKLCRDELRCRAEENCFIQKSDDKVTL EERLDKACEPGVDYVYKTRLVKVLQSNDFDEYIMAEQTIKSGSDEVQVGGQ RTFISPIKCREALKLEEKHYLMWGLSSDFWGEKPNLSYIIGKDTWVEHWPE EDECCQDEENKQCKQLDGAFTESMVFVGCNP
13	人 C3 β 链 UniProt: P01024; 录入版本 242 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2006 年 12 月 12 日); 残基 23-667	SPMYSIITPNILRLESEETMVLEAHDAGQDVPVTVTVHDFPGKKLVLSSEKTVL TPATNHMGNTFTIPANREFKSEKGRNKFVTQATFGTQVVEKVVVLVSLQSG YLFQTDKTIYTPGSTVLYRIFTVNHKLLPVGRVTVMVNINPEGIPVKQDLSLSSQ NLGVLPLSWDIPELVNMGGQWKIRAYYENSPQQVFSTEFVKEYVLPSEFVI VEPTEKFYIYNEKGLEVTITARFLYGKKVEGTAFVIFGIQDGEQRISLPELSKR IPIEDGSGEVVLSRKVLDDGVQNPRAEDLVGKSLYVSATVILHSGSDMVQAER SGPIVTSPIYQIHFTKTPKYFKPGMPFDLMVFVTNPDGSPAYRVPVAVQGEDT VQSLTQGDGVAKLSINTHPSQKPLSITVTRTKQELSEAEQATRTMQALPYSTV GNSNNYLHLSVLRTLEPGETLNVNFFLLRMDRAHEAKIRYYTYLIMNKGRLK AGRQVREPQDVLVPLSITDDFIPSRFLVAYYTLIGASGQREVVDASVWVDV KDSCVGSVLVKSQGSQEDRQVPVPGQMTLKIEGDHGARVVLVAVDKGVFVLN KKNKLTQSKIWDVVEKADIGCTPGSGKDYAGVFSDAGLTFTSSSGQQTAAQRA AELQCPQPA
14	人 C3 α' 链 UniProt: P01024; 录入版本 242 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2006 年 12 月 12 日); 残基 749-1663	SNLDEIIAEENIVSRSEFPESWLWNVEDLKEPPKNGISTKLMNIFLKDSITTW EILAVSMSDKKGCVADPFVETVMQDFFIDLRLPYSVVRNEQVEIRAVLYNYR QNQELKVRVELLHNPACSLATTKRRHQQTVTIPPKSSLSVPYVIVPLKTGLQ EVEVKAAYVHHFISDGVRSKLVVPEGIRMNKTAVVRTLPERLGREGVQKE DIPPADLSDQVPDTESETRILLQGTTPVAQMTEDAVDAERLKHIVTPSGCGEQ NMIGMTPTVIAVHYLDETEQWEKFGLEKRGGALELIKKGTYQQLAFRQPSSA FAFVKRAPSTWLTAYVVKVFSLAVNLIADSVLQCGAVKWLILEKQKPDGVF QEDAPVIHQEMIGGLRNNEKDMALTAFVLISLQEAKDICEEQVNSLPGSITKA GDFLEANYMNLQRSYTVAGYALAQMGRLKGPLLNKFLTAKDKNRWEDP GKQLYNVEATSYALLALLQLKDFVPPVVRWLNEQRYGGGYGSTQATFM VFQALAQYQKDAPDHQELNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWESASLLRSEETKE

[0345]

		NEGFTVTAEGKGQGTLSVVTMYHAKAKDQLTCNKFDLKVTIKPAPETEKRPQ DAKNTMILEICTRYRGDQDATMSILDISMMTGFAPDTDDLKQLANGVDYISK YELDKAFSDRNTLIYLDKVSHSEDDCLAFKVHQYFNVELIQPGAVKVYAYYNL EESCTRFYHPEKEDGKLNKLCRDELCRCAEENCFIGKSDDKVTEERLDKAC EPGVDYVYKTRLVKVQLSNDDEYIMAIEQTIKSGSDEVQVGGQRTFISPIKC REALKLEEKHYLMWGLSSDFWGEKPNLSYIIGKDTWVEHWPEEDECQDEE NQKQCQDLGAFTESMVVFGCPN
15	人 C3a UniProt: P01024; 录入版本 242 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2006 年 12 月 12 日); 残 基 672-748	SVQLTEKRMKVGYKPKELRKCCEDGMRENPMRFSCQRRTRFISLGEACKK VFLDCCNYITELRRQHARASHLGLAR
16	人 C3b α' 链片段 1 UniProt: P01024; 录入版本 242 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2006 年 12 月 12 日); 残基 749-1663	SNLDEDIAEENIVSRSEFPESWLWNVEDLKEPPKNGISTKLMNIFLKDSITTW EILAVSMSDKKGICVADPFEVTVMQDFFIDLRLPYSVVRNEQVEIRAVLYNYR QNQELKVRVELLHNPFCSLATTKRRHQQTVTIPPKSSLSVPYVIVPLKTGLQ EVEVKAAYVHHFISDGVKRSKLVVPEGIRMNKTAVRTLDPERLREGVQKE DIPPADLSDQVPDTESETRILLQGTTPVAQMTEDAVDAERLKHIVTPSGCGEQ NMIGMTPTVIAVHYLDETEQWEKFGLEKRRQGALELIKGGYTQQLAFRQPSSA FAAFVKRAPSTWLTAYVVKVFLAVNLIAIDSQLCGAVKWLILEKQKPDGVF QEDAPVIHQEMIGGLRNNNEKDMALTAFLVLSLQEAKDICEEQVNSLPGSITKA GDFLEANYMNLQRSYTVIAAGYALAQMGRLKGPLLNKFLTTAKDKNRWEDP GKQLYNVEATSYALLALLQLKDFDFVPPVVRWLNEQRYGGGGYSTQATFM VFQALAQYQKDAPDHQELNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWESASLLRSEETKE NEGFTVTAEGKGQGTLSVVTMYHAKAKDQLTCNKFDLKVTIKPAPETEKRPQ DAKNTMILEICTRYRGDQDATMSILDISMMTGFAPDTDDLKQLANGVDYISK YELDKAFSDRNTLIYLDKVSHSEDDCLAFKVHQYFNVELIQPGAVKVYAYYNL EESCTRFYHPEKEDGKLNKLCRDELCRCAEENCFIGKSDDKVTEERLDKAC EPGVDYVYKTRLVKVQLSNDDEYIMAIEQTIKSGSDEVQVGGQRTFISPIKC REALKLEEKHYLMWGLSSDFWGEKPNLSYIIGKDTWVEHWPEEDECQDEE NQKQCQDLGAFTESMVVFGCPN
17	人 C3 α' 链片段 2 UniProt: P01024; 录入版本 242 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2006 年 12 月 12 日); 残基 1321-1663	SEETKENEGFTVTAEGKGQGTLSVVTMYHAKAKDQLTCNKFDLKVTIKPAPE TEKRPQDAKNTMILEICTRYRGDQDATMSILDISMMTGFAPDTDDLKQLANGV DRYISKYELDKAFSDRNTLIYLDKVSHSEDDCLAFKVHQYFNVELIQPGAVKV YAYYNLEESCTRFYHPEKEDGKLNKLCRDELCRCAEENCFIGKSDDKVTEE RLDKACEPGVDYVYKTRLVKVQLSNDDEYIMAIEQTIKSGSDEVQVGGQRT FISPIKCREALKLEEKHYLMWGLSSDFWGEKPNLSYIIGKDTWVEHWPEED ECQDEENQKQCQDLGAFTESMVVFGCPN
18	C3f UniProt: P01024; 录入版本 242 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2006 年 12 月 12 日) 残基 1304-1320	SSKITHRIHWESASLLR
19	人 C3c α' 链片段 1 UniProt: P01024; 录入版本 242 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2006 年 12 月 12 日); 残基 749-954	SNLDEDIAEENIVSRSEFPESWLWNVEDLKEPPKNGISTKLMNIFLKDSITTW EILAVSMSDKKGICVADPFEVTVMQDFFIDLRLPYSVVRNEQVEIRAVLYNYR QNQELKVRVELLHNPFCSLATTKRRHQQTVTIPPKSSLSVPYVIVPLKTGLQ EVEVKAAYVHHFISDGVKRSKLVVPEGIRMNKTAVRTLDPERLGR
20	FH MS 肽	VTYKCFE
21	FHL-1 MS 肽	NGWSPTPRCIRVSFTL
22	FHR-1 MS 肽	ATFCDFPKINHGILYDEE
23	FHR-2 MS 肽 1	RGWSTPPKCRSTISAE
24	FHR-2 MS 肽 2	AMFCDFPKINHGILYDEE

[0346]

25	FHR-3 MS 肽	VACHPGYGLPKAQTTVTCTE
26	FHR-4 MS 肽	YQCQSYYE
27	FHR-5 MS 肽	RGWSTPPICSFTKGE
28	C3.1 肽	GTAFFVIFGIQDGE
29	C3.2 肽	LRRQHARASHLGLARSNLDE
30	C3.3 肽	LRRQHARASHLGLAR
31	C3.4 肽	LNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWE
32	C3.5 肽	LNLDVSLQLPSR
33	C3.6 肽	RLGRE
34	C3.7 肽	SSKITHRIHWE
35	C3.8 肽	SASLLR
36	C3.9 肽	RLGR
37	C3.10 肽	HLIVTPSGCGE
38	FI 肽 1	CAGTYDGSIDACKGDSGGPLVCMANNTYVWGVVSWGE
39	FI 肽 2	GTCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQQKSLE
40	FI 肽 3	FPGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV
41	FI 肽 4	ANVACLDLGFQGGADTQRRFKLSDSLINSTE
42	FI 肽 5	LPRSIPACVPWSPYLFQPNDCIVSGWGRE
43	FI 肽 6	KKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIE
44	FI 肽 7	LCKKACQGGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGE
45	FI 肽 8	VKLVDQDKTMFICKSSWSMRE
46	FI 肽 9	VKLISNCSKFYGNRFYE
47	FI 肽 10	CLHPGTFKFLNNGTCTAE
48	FI 肽 11	NYNAGTYQNDIALIE
49	FI 肽 12	GKFSVSLKHGNTDSE
50	FI 肽 13	VGCAGFASVTQEE
51	FI 肽 14	MKKDGNKKDCE
52	FI 肽 15	YVDRIIFHE
53	FI 肽 16	CLHVHCRGLE
54	FI 肽 17	RVFSLQWGE
55	FI 肽 18	ILTADMDAE
56	FI 肽 19	KVTYTSQE
57	FI 肽 20	VDCITGE
58	FI 肽 21	NCGKPE
59	FI 肽 22	TSLAE
60	FI 肽 23	KDNE
61	C3.1.1	AKIRYYTYLIMNKGRLKAGRQVREPGQDLVVLPLSITTDIFIPSFRLVAYYTLIG ASGQRE
62	C3.1.2	RSGPIVTSPIYQIHFTKTPKYFKPGMPFDMVFVTNPDGS PAYRVPVAVQGE
63	C3.1.3	KVVLVSLQSGYLFQTDKTIYTPGSTVLYRIFTVNHKLLPVGRTVMVNIE
64	C3.1.4	DTVQSLTQGDGVAKLSINTHPSQKPLSITVRTKKQE
65	C3.1.5	GDHGARVVLVAVDKGVFVLNKKNKLTQSKIWDVVE
66	C3.1.6	KADIGCTPGSGKDYAGVFSDAGLTFTSSSGQQTAAQRAE
67	C3.1.7	QATRTMQALPYSTVGNSNNYLHLSVLRTE
68	C3.1.8	AHDAQGDVPVTVVHDFPGKKLVLSSE
69	C3.1.9	GIPVKQDSLSSQNQLGVLPVLSWDIPE
70	C3.1.10	VVADSVVVDVKDSCVGSLLVVKSGQSE
71	C3.1.11	DLVGKSLYVSATVILHSGSDMVQAE
72	C3.1.12	KTVLTPATNHMGNTFTIPANRE
73	C3.1.13	KGRNKFVTVQATFGTQVVE
74	C3.1.14	VVLSRKVLLDGVQNPRAE
75	C3.1.15	TLNVNFLLRMDRAHE
76	C3.1.16	LVNMGQWKIRAYYE
77	C3.1.17	SPMYSIITPNILRLE
78	C3.1.18	DRQPVPGQQMTLKIE
79	C3.1.19	VTITARFLYGKKVE
80	C3.1.20	GTAFFVIFGIQDGE

[0347]

81	C3.1.21	KFYIYNE
82	C3.1.22	NSPQQVFSTE
83	C3.1.23	SLKRIPIE
84	C3.1.24	YVLPSFE
85	C3.1.25	QRISLPE
86	C3.1.26	LQCPQPA
87	C3.1.27	VIVEPTE
88	C3.1.28	TMVLE
89	C3.1.29	LRPGE
90	C3.1.30	FKSE
91	FHR-1 肽 2	NYNIALRWTAKQKLYLRTGE
92	FHR-2 肽 3	YNFVSPSKSFWTRITCAEE
93	FHR-3 肽 2	KGWSPTPRCIRVRTCSKSDIE
94	FHR-3 肽 3	NGYNQNYGRKFVQGNSTE
95	FHR-3 肽 4	QVKPCDFPDIKHGGLFHE
96	FHR-3 肽 5	FMCKLGYNANTSILSFQAVCRE
97	FHR-3 肽 6	YQCQPYE
98	FHR-4 肽 2	NSRAKSNGMRFLHDTLDYE
99	FHR-4 肽 3	DGWSHFPTCYNSE
100	FHR-4 肽 4	ISYGNTTGSIVCGE
101	FHR-4 肽 5	FMCKLGYNANTSILSFQAVCRE
102	FHR-5 肽 2	GTLCDFPKIHGFLYDEE
103	FHR-5 肽 3	YAMIGNNMITCINGIWTE
104	FHR-5 肽 4	YGYVQPSVPPYQHGVSV
105	FHR-5 肽 5	GDTVQIICNTGYSLQNE
106	FHR-5 肽 6	IVCKDGRWQSLPRC
107	FHR-5 肽 7	DYNPFSQVPTGE
108	FHR-5 肽 8	QVKTCGYIPE
109	FHR-5 肽 9	ANVDAQPKKE
110	FHR-5 肽 10	WTTLPTC
111	FHR-5 肽 11	KVAVLCKE
112	FH 肽 2	SNTGSTTGSIVCGYNGWSDLPIC
113	FH 肽 3	NGWSPTPRCIRVKTCSSIDIE
114	FH 肽 4	LPKIDVHLVPDRKKDQYKVGE
115	FH 肽 5	YYCNPRFLMKGPNIQCVDGE
116	FH 肽 6	NYNIALRWTAKQKLYSRTGE
117	FH 肽 7	KWSHPPSCIKTDCLSLPSFE
118	FH 肽 8	HGWAQLSSPPYYGDSVE
119	FH 肽 9	ISHGVVAHMSDSYQYGEE
120	FH 肽 10	FDHNSNIRYRCRGKE
121	FH 肽 11	ITCKDGRWQSIPLC
122	FH 肽 12	GWHTVCINGRWDPE
123	FH 肽 13	KAKYQCKLGYVTADGE
124	FH 肽 14	TTCYMGKWSSPPQCE
125	FH 肽 15	SYAHGTKLSYTCE
126	FH 肽 16	RVRYQCRSPYE
127	FH 肽 17	GFGIDGPAIAKCLGE
128	FH 肽 18	HGTINSSRSSQE
129	FH 肽 19	YQCQNLYQLE
130	FH 肽 20	WTTLPVCIVEE
131	FH 肽 21	KIPCSQPPQIE
132	FH 肽 22	SQYTYALKE
133	FH 肽 23	QVQSCGPPPE
134	FH 肽 24	KKDVYKAGE

[0348]

135	FH 肽 25	GLPCKSPPE
136	FH 肽 26	KVSVLCQE
137	FH 肽 27	HLKNKKE
138	FH 肽 28	GGFRISSE
139	FH 肽 29	LLNGNVKE
140	FH 肽 30	YPTCAKR
141	FH 肽 31	STCGDIPE
142	C3dg UniProt: P01024; 录入版本 242 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2006 年 12 月 12 日) 残基 955-1303	EGVQKEDIPPADLSDQVPDTESETRILLQGTPVAQMTEDA DAERLKHIVTPSGCGEQNMIGMTPTVIAVHYLDETEQWEKFGLEK RQGGALELIKKGYTQQLAFRQPSSAFAAFVKRAPSTWLTAYV VKVFLAVNLIADSQVLCGAVKWLILEKQKPDGVFQEDAPV IHQEMIGGLRNNNEKDMALTAFVLISLQEAKDICEEQVNSL PGSITKAGDFLEANYMNLQRSYTVIAIAGYALAQMGRLKGP LLNKFLTAKDKNRWEDPGKQLYNVEATSYALLALLQLKDFD FVPPVVRWLNEQRYYGSGYGSTQATFMVFQALAQYQKDAPD HQELNLDVSLQLPSR
143	C3g UniProt: P01024; 录入版本 242 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2006 年 12 月 12 日) 残基 955-1001	EGVQKEDIPPADLSDQVPDTESETRILLQGTPVAQMTEDA DAERLK
144	C3d UniProt: P01024; 录入版本 242 (2019 年 12 月 11 日) 序列版本 2 (2006 年 12 月 12 日) 残基 1002-1303	HLIVTPSGCGEQNMIGMTPTVIAVHYLDETEQWEKFGLEK RQGGALELIKKGYTQQLAFRQPSSAFAAFVKRAPSTWLTAYV VKVFLAVNLIADSQVLCGAVKWLILEKQKPDGVFQEDAPV IHQEMIGGLRNNNEKDMALTAFVLISLQEAKDICEEQVNSL PGSITKAGDFLEANYMNLQRSYTVIAIAGYALAQMGRLKGP LLNKFLTAKDKNRWEDPGKQLYNVEATSYALLALLQLKDFD FVPPVVRWLNEQRYYGSGYGSTQATFMVFQALAQYQKDAPD HQELNLDVSLQLPSR
145	人补体受体 1; CCPs 8-10, 15-17 的共识序列 (UniProt: P17927 残基 491 to 684; 残基 941 to 1134) 无引导序列	GHCQAPDHFLFAKLKTQTNASDFPIGTSKLYECRPEYYGR PFISITCLDNLVWSSPKDVCKRKSCCTPPDPVNGMVHVITD IQVGSRINYSCCTTGHRLIGHSSAECILSGN ~~A~~ ₁ AHWSTKPPIC QRIPCGLPPTIANGDFISTNRENFHYGSSVVTYRCN ~~X~~ ₂ GS ~~X~~ ₃ GRKVFELVGEPsiYCTSNDDQVGIWSGPAPQCII
146	人补体受体 1 CCPs 8-10 (UniProt: P17927 残基 491 to 684) 无引导序列	GHCQAPDHFLFAKLKTQTNASDFPIGTSKLYECRPEYYGR PFISITCLDNLVWSSPKDVCKRKSCCTPPDPVNGMVHVITD IQVGSRINYSCCTTGHRLIGHSSAECILSGN ~~A~~ ₁ AHWSTKPPIC QRIPCGLPPTIANGDFISTNRENFHYGSSVVTYRCN ~~P~~ _G SGGRKVFELVGEPsiYCTSNDDQVGIWSGPAPQCII
147	人补体受体 1 CCPs 15-17 (UniProt: P17927 残基 941 to 1134) 无引导序列	GHCQAPDHFLFAKLKTQTNASDFPIGTSKLYECRPEYYGR PFISITCLDNLVWSSPKDVCKRKSCCTPPDPVNGMVHVITD IQVGSRINYSCCTTGHRLIGHSSAECILSGNTAHWSTKPPIC QRIPCGLPPTIANGDFISTNRENFHYGSSVVTYRCN ~~L~~ _G SRGRKVFELVGEPsiYCTSNDDQVGIWSGPAPQCII
148	人补体受体 1 CCPs 8-10 及 15-17 (邻近区; 无引导序 列) [CCP 8-10 和 15-17 之间的氨基 酸差异用波浪下划 线表示]	GHCQAPDHFLFAKLKTQTNASDFPIGTSKLYECRPEYYGR PFISITCLDNLVWSSPKDVCKRKSCCTPPDPVNGMVHVITD IQVGSRINYSCCTTGHRLIGHSSAECILSGN ~~A~~ ₁ AHWSTKPPIC QRIPCGLPPTIANGDFISTNRENFHYGSSVVTYRCN ~~L~~ _G ~~S~~ _G GRKVFELVGEPsiYCTSNDDQVGIWSGPAPQCII

[0349]

149	人补体因子 I 蛋白 水解结构域 (UniProt: P05156 残基 340-574)	IVGGKRAQLGDLWPQVAIKDASGITCGGIYIGGCWILTAHCLRASKTHRYQI WTTVVDWIHPDLKRIVIEYVDRIIFHENYNAGTYQNDIALIEMKKDGNKKDCEL PR SIPACVPWSPYLFQPNDCIVSGWGREKDNERVFSLQWGEVKLISNCSKF YGNRFYEKEMECAGTYDGSIDACKGDSGGPLVCM DANNVTVYVWGVVSWG ENCGKPEFPGVYTKVANYFDWISYHVG
150	人补体因子 H 辅 助因子区域 (UniProt: P08603 残基 19-264)	EDCNELPPRRNTEILTGSWSDQTYPEGTQAIYKCRPGYRSLGNVIMVCRKGE WVALNPLRKCCQKRCGHPGDTPTFGTFTLTGGNVFEYGVKAVYTCNEGYQLL GEINYRECDTDGWTNDIPICEVVKCLPVTAPENGKIVSSAMEPDREYHFGQA VRFVCNSGYKIEGDEEMHCSDDGFWSKEKPKCIVEISCKSPDVINGSPISQKII YKENERFQYKCNMGYYSERGDVCTESGWRPLPSCEE
151	人补体受体 1 CCPs 8-10 (UniProt: P17927 残基 491-684)	GHCQAPDHFLFAKLKTQTNASDFPIGTSKLYECRPEYYGRPFSITCLDNLVW SSPKDVCKRKSCCTPPDPVNGMVHVITDIQVGSRIYNSCTTGHR LIGHSSAEC ILSGNAAHWSTKPPICQRI PCGLPPTIANGDFISTNRENFHYGSSVVTYRCNPG SGGRKVFELVGEP SIYCTSNDDQVGIWSGPAPQCII
152	人补体受体 1 CCPs 15-17 (UniProt: P17927 残基 941-1134)	GHCQAPDHFLFAKLKTQTNASDFPIGTSKLYECRPEYYGRPFSITCLDNLVW SSPKDVCKRKSCCTPPDPVNGMVHVITDIQVGSRIYNSCTTGHR LIGHSSAEC ILSGNTAHWSTKPPICQRI PCGLPPTIANGDFISTNRENFHYGSSVVTYRCNLG SRGRKVFELVGEP SIYCTSNDDQVGIWSGPAPQCII
153	GluC (Uniprot Q7A6A6 含 N 端信号肽 残基 1-29 及前肽 残基 30-68)	MKGKFLKVSSLFVATLTATLVSSPAANALSSKAMDNPQQQTQSSKQQT PKI KKGGNLKPLEQREHANVILPNNDRHQITDTTNGHYAPVTYIQVEAPTGT FIAS GVVVGKDTLLTNKHVV DATHGDPHALKAFPSAINQDNYPNGGFTAEQITKYS GEGDLAIVKFSPNEQNKHIGEVVKPATMSNNAETQVNQNITVTGYPGDKPVA TMWESKKGKITYLKGEAMQYDLSTTGGNSGSPVFNEKNEVIGIHWGGVPNEF NGAVFINENVRNFKQNI EDIHFANDDQPNNDPNPDNPNNPDNPNNPDNP NPDEPNNDPNPNNDPNPDNDGNNNSDNPDA A
154	GluC (Uniprot Q7A6A6; 无信号肽 或前肽)	VILPNNDRHQITDTTNGHYAPVTYIQVEAPTGT FIASGVVVGKDTLLTNKHVV D ATHGDPHALKAFPSAINQDNYPNGGFTAEQITKYSGEGDLAIVKFSPNEQNK HIGEVVKPATMSNNAETQVNQNITVTGYPGDKPVATMWESKKGKITYLKGEAM QYDLSTTGGNSGSPVFNEKNEVIGIHWGGVPNEFNGAVFINENVRNFKQNI EDIHFANDDQPNNDPNPDNPNNPDNPNNPDNPNNPDNPNNPDNPNNPDNP DNGDNNNSDNPDA A
155	FI 肽 24	VGCAGFASVTQE
156	C3a-desArg	LRRQHARASHLGLA
157	C3f-desArg	SASLL

[0350] 附图简要说明

[0351] 图1显示C3蛋白水解级联和导致C3b产生、分解和失活的蛋白水解事件的示意图(修改自Maillard等人, J Am Soc Nephrol. 2015年7月; 26(7): 1503-12)。下划线表示用于质谱的蛋白质形态特异性肽。

[0352] 图2LC-SRM示踪显示对来源于血浆样品的每个单独RCA位点蛋白的重标记合成标准肽进行检测。

[0353] 图3来源于FH、FHL-1和FHR1-5的肽的线性数据。

[0354] 图4A至4D证实MS可以以足够的特异性和敏感性检测人血浆中的C3和C3分解产物的数据。4A: 来自SRM-MS分析的总离子色谱, 显示C3b片段特异性肽的特异性和同时检测。4B: 加入血浆背景的十种肽中七种的线性数据。4C: 体外获得的C3分解产物的考马斯染色电泳凝胶。4D: 4C中所示的体外测定产品的关键C3片段的MS定量。

实施例

[0355] 实施例1: 从补体蛋白产生肽用于质谱分析

[0356] 对FH、FHL-1、FHR1-5、FI、C3、C3b和C3b分解产物进行GluC消化, 以获得用于质谱分析的不同肽。GluC消化在实施例2.2中描述。

[0357] 可用于检测每个蛋白质或蛋白质片段的肽列于下表1-4中。

[0358] 表1. GluC消化后的不同FH家族肽

[0359]	蛋白	肽序列	质量	SEQ ID No:
	Factor H	VTYKCFE	888.4051	20
	FHL1	NGWSPTPRCIRVSFTL	1832.9355	21
	FHR1	ATFCDFPKINHGILYDEE	2110.9669	22
	FHR2	RGWSTPPKCRSTISAE and	1774.8784	23
		AMFCDFPKINHGILYDEE	2140.9598	24
	FHR3	VACHPGYGLPKAQTTVTCTE	2074.9816	25
	FHR4	YQCQSYYE	1082.4015	26
	FHR5	RGWSTPPICSFTKGE	1664.7980	27

[0360] 导致C3产生、分解和失活的一系列蛋白水解事件如图1所示。通过GluC消化产生的蛋白型特异性肽如图1中的下划线及表2所示。表3显示了如何使用表2中的肽单独检测每种蛋白。

[0361] 表2. 由GluC消化C3、C3b和分解产物产生用于MS的肽序列

[0362]	肽	肽序列	在C3b产物中包含	SEQ ID No:
	C3.1	GTAFVIFGIQDGE	C3+C3b+iC3b+C3c	28
	C3.2	LRRQHARASHLGLARSLNDE	C3 only	29
	C3.3	LRRQHARASHLGLAR	C3a only	30
	C3.4	LNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWE	C3+C3b	31
	C3.5	LNLDVSLQLPSR	iC3b+C3dg+C3d	32
	C3.6	RLGRE	C3+C3b+iC3b	33
	C3.7	SSKITHRIHWE	C3f	34
	C3.8	SASLLR	C3f	35
	C3.9	RLGR	C3c	36
	C3.10	HLIVTPSGCGE	C3d	37

[0363] 表3. 使用表2的GluC消化肽测定所有C3/C3b分解产物浓度的方法

[0364]	蛋白或片段	肽(s)
	C3 (total)	C3.1
	C3 only	C3.2
	C3a	C3.3
[0365]	C3b	C3.4 – C3.2
	iC3b	C3.6 – C3.4
	C3f	C3.7 or C3.8
	C3c	C3.9
	C3dg	C3.5 – C3.10 – iC3b $[C3.6 - C3.4]$
	C3d	C3.10

[0366] 表4. 由GluC消化产生的C3.1的替代肽, 以测量总C3含量。

[0367]

肽	质量	位置	肽序列	SED ID No.
C3.1.1	6957.8210	463-523	AKIRYYTYLIMNKGRLKAGRQVREPGQDLV VLPLSITTDIFPSFRLVAYYTLIGASGQRE	61
C3.1.2	5778.9734	321-372	RSGIPIVTSFYQIHFTKTPKYFKPGMPFDLMVF VTNPDGSPAYRVPVAVQGE	62
C3.1.3	5650.1364	97-146	KVVLVSLQSGYLFIQTDKTIYTPGSTVLYRIFT VNHKLLPVGRVTVMVNIE	63
C3.1.4	3904.1017	373-408	DTVQSLTQGDGVAKLSINTHPSQKPLSITVRT KKQE	64
C3.1.5	3861.1628	565-599	GDHGARVVLVAVDKGVFVLNKKNKLTQSKI WDVVE	65
C3.1.6	3807.7645	600-637	KADIGCTPGSGKDYAGVFSDAGLTFTSSSGQ QTAQRAE	66
C3.1.7	3263.6357	414-442	QATRTMQALPYSTVGNSNNYLHLSVLRTE	67
C3.1.8	2845.4609	24-50	AHDAQGDVPVTVTVHDFPGKKLVLSSE	68
C3.1.9	2819.4705	150-175	GIPVKQDSLSSQNQLGVLPLSWDIPE	69
C3.1.10	2691.3425	524-549	VVADSVWVDVKDSCVGSLLVVKSGQSE	70
C3.1.11	2618.3261	296-320	DLVGKSLYVSATVILHSGSDMVQAE	71
C3.1.12	2511.2904	51-73	KTVLTPATNHMGNVTFITIPANRE	72
C3.1.13	2108.1378	78-96	KGRNKFVTVQATFGTQVVE	73
C3.1.14	1992.1480	278-295	VVLSRKVLDDGVQNPRAE	74
C3.1.15	1827.9414	448-462	TLNVNLLRMDRAHE	75
C3.1.16	1769.8923	176-189	LVNMGQWKIRAYYE	76
C3.1.17	1745.9386	1-15	SPMYSIITPNILRLE	77
C3.1.18	1738.9036	550-564	DRQVPVPGQMTLKIE	78
C3.1.19	1623.9348	231-244	VTITARFLYGKKVE	79
C3.1.20	1352.6612	245-257	GTAFFVFIQDGE	80
C3.1.21	1138.5335	219-226	KFYIYNE	81
C3.1.22	1135.5146	190-199	NSPQQVFSTE	82
C3.1.23	954.5862	265-272	SLKRIPIE	83
C3.1.24	853.4221	205-211	YVLPSE	84
C3.1.25	841.4657	258-264	QRISLPE	85
C3.1.26	826.4007	638-645	LQCPQPAE	86
C3.1.27	785.4171	212-218	VIVEPTE	87
C3.1.28	591.2938	19-23	TMVLE	88
C3.1.29	570.3125	443-447	LRPGE	89
C3.1.30	509.2485	74-77	FKSE	90

[0368] GluC消化因子I (FI) 产生表5中用于MS分析的候选肽。SEQ ID NO:45至56和155包含8-21个氨基酸,对于MS分析来说是很好的长度。

[0369] 表5.GluC消化FI产生的肽序列。

[0370]	肽	质量	位置	肽序列	SEQ
--------	---	----	----	-----	-----

[0371]

				ID NO:
1	3996.7183	510-548	CAGTYDGSIDACKGDSGGPLVCMDANNVTYVWGVVS WGE	38
2	3994.8853	57-92	GTCVCKLPYQCPKNGTAVCATNRRSFPTYCQKSLE	39
3	3467.7211	555-583	FPGVYTKVANYFDWISYHVGRPFISQYNV	40
4	3397.6804	150-180	ANVACLDLGFQQGADTQRRFKLSDLSINSTE	41
5	3388.6605	446-475	LPRSIPACVPWSPYLFQPNDCIVSGWGRE	42
6	3155.5773	31-56	KKCLAKKYTHLSCDKVFCQPWQRCIE	43
7	2991.2861	254-281	LCCKACQGKGFHCKSGVCIPSQYQCNGE	44
8	2531.2455	129-149	VKLVDQDKTMFICKSSWSMRE	45
9	2068.0320	489-505	VKLISNCSKFYGNRFYE	46
10	1805.8309	93-109	CLHPGKFLNNGTCTAE	47
11	1698.7969	420-434	NYNAGTYQNDIALIE	48
12	1605.7867	110-124	GKFSVSLKHGNTDSE	49
13	1297.5729	291-303	VGCAGFASVTQEE	50
14	1168.272	291-302	VGCAGFASVTQE	155
15	1295.6082	435-445	MKKDGNKKDCE	51
16	1191.6156	411-419	YVDRIIFHE	52
17	1166.5557	181-190	CLHVHCRGLE	53
18	1121.5738	480-488	RVFSLQWGE	54
19	978.4448	306-314	ILTADMDAE	55
20	955.4731	19-26	KVTYTSQE	56
21	736.3182	282-288	VDCITGE	57
22	647.2817	549-554	NCGKPE	58
23	520.2613	191-195	TSLAE	59
24	505.2252	476-479	KDNE	60

[0372] 实施例2质谱法

[0373] 2.1 稳定同位素标准品 (SIS) 示踪溶液的制备

[0374] 获得具有S-羧甲基化 (CAM) 半胱氨酸残基的高纯度重标记合成标准品 (剑桥研究生化公司, 英国剑桥), 并用50:50乙腈:水+0.1%甲酸稀释至1 μ g/ μ L (表6)。

[0375] 通过首先将FHL-1、FHR1、FHR2、FHR3、FHR4和FHR5的储备溶液稀释十倍 (CFH储备无需稀释), 然后添加适量的每种独立稀释溶液到0.1% TFA中至最终体积200 μ L, 从而制备混合SIS溶液。然后将其储存在-80 $^{\circ}$ C 5 μ L等分试样中, 以便在添加示踪剂前即刻进一步稀释。

[0376] 在加入样品之前, 通过将195 μ L 50:50乙腈:水加入5 μ L混合SIS溶液的等分试样中, 即刻制备示踪溶液。将2 μ L的该溶液小心地添加到每个消化过的样品中, 随后干燥。

[0377] 表6. 1 μ g/ μ L的稳定同位素标准 (SIS) 储备溶液。粗体中的残基被选定携带稳定的重同种型以进行定量。小写“c”表示S-羧甲基化 (CAM) 半胱氨酸残基。粗体显示的残基含有重同位素氨基酸, 其中K(+8)、R(+10)、F(+10)和Y(+10 0)。

[0378]	蛋白	肽序列	MW, g	纯度, %	净含量, %	溶剂体积, μL	浓度, pmol/ μL
	CFH	VTYKcFE	953.4	98.6	72.6	716	1050
	FHL-1	NGWSPTPRcIRVSFTL	1900	97.4	78.9	768	526.3
	FHR1	ATFcDFPKINHGILYDEE	2178	100.0	80.7	807	459.1
	FHR2	RGWSTPPKcRSTISAE	1845.9	100.0	55.5	555	541.7
	FHR3	VAcHPGYGLPKAQTTVTcTE	2207.1	98.4	75.0	738	453.1
	FHR4	YQcQSYEE	1149.7	97.6	84.1	821	869.8
	FHR5	RGWSTPPKcSFTKGE	1739.8	95.6	74.0	707	574.8

[0379] 2.2 LC-MS/MS分析样品的制备

[0380] 将冷冻血浆样品解冻至室温,然后用力涡旋5分钟以溶解任何可溶性物质,然后以13,300g离心30分钟以沉淀任何不溶性物质。

[0381] 向5μL血浆等分试样(相当于约350μL蛋白质)、90μL 50mM碳酸氢铵(pH 7.8)、2μL ProteaseMAX™加入(普洛麦格(Promega),英国南安普顿)溶液(1%w/v,50mM碳酸氢铵中)和1μL在50mM碳酸氢铵中制备的500mM二硫苏糖醇。将其短暂旋涡混合,然后进行脉冲旋转,之后在56℃下孵育25分钟。

[0382] 冷却至室温后,加入3μL 500mM碘乙酰胺(在50mM碳酸氢铵中制备)。将其短暂旋涡混合,然后给予脉冲旋转,之后在室温黑暗中孵育15分钟。

[0383] 再加入1μL ProteaseMAX溶液(1%w/v,50mM碳酸氢铵中)和5μL 1μg/μL内蛋白酶GluC(罗氏,德国曼海姆)。将混合物短暂旋涡,然后进行脉冲旋转,之后在25℃下轻微摇晃(400rpm)孵育16小时。

[0384] 向获得的消化肽混合物中加入6μL 10%v/v三氟乙酸(TFA)和2μL SIS示踪溶液,短暂旋涡混合,然后脉冲旋转。将溶液置于蒸发器中并干燥。最后,将肽在50μL 0.1%TFA中重组并涡旋以溶解任何残留物,然后以13,300g离心30分钟以沉淀任何不溶性/颗粒物质。将约48μL(注意弃掉任何沉淀物质)转移到LC自动取样器小瓶中,以便通过LC-MS/MS进行后续分析。

[0385] 2.3血浆消化液的LC-SRM/MS分析

[0386] 血浆消化物的SRM分析在6495三重四极质谱仪上进行,该质谱仪配备有iFunnel电喷雾离子源(安捷伦公司,美国加利福尼亚州圣克拉拉市),该离子源与由1290自动取样器、1260Quat Pump VL泵和TCC柱烘箱模块(安捷伦公司,美国加州圣克拉拉州)组成的Infinity 1200系列液相色谱系统相连。将样品直接(4μL)注入C18柱(250mm x 2.1mm内径,赛默科技Acclaim 120,3μm粒径),柱温保持在50℃。使用增加乙腈浓度的梯度洗脱法处理化合物,缓冲液A由水+0.1%甲酸组成,缓冲液B为乙腈+0.1%甲酸。流速维持在250μL/min,初始成分为5%缓冲液B。

[0387] 以下梯度洗脱曲线用于分离肽(时间:%B):0分钟:5%B;2分钟:5%B;3分钟:12%B;12分钟:15%B;15分钟:20%B;30分钟:25%B;31分钟:90%B;39分钟:90%B;40分钟:5%B;49分钟:5%B。

[0388] 使用SIS溶液确定了优化的SRM设置,如表7所示。

[0389] 表7.FH家族肽的SRM跃迁和最佳碰撞能量(粗体为定量离子)。

[0390]

蛋白	肽序列	母离子 m/z	产物离子 m/z	碰撞能量, eV
CFH	VTYKcFE (Light)	473.7	583.3, 847.4, 746.3	16, 16, 16
CFH	VTYKcFE (Heavy)	477.7	591.3, 855.4, 754.3	16, 16, 16
FHL-1	NGWSPTPRcIRVSFTL (Light)	631.2	723.9, 860.5, 767.4	19, 19, 19
FHL-1	NGWSPTPRcIRVSFTL (Heavy)	634.3	728.9, 865.5, 772.4	19, 19, 19
FHR1	ATFcDFPKINHGILYDEE (Light)	724.2	925.6, 1011.9, 947.1	20, 16, 20
FHR1	ATFcDFPKINHGILYDEE (Heavy)	727.2	930.6, 1016.9, 952.1	20, 16, 20
FHR2	RGWSTPPKcRSTISAE (Light)	459.1 , 611.8	539.2 , 798.9	8 , 26
FHR2	RGWSTPPKcRSTISAE (Heavy)	462.6 , 616.3	543.9 , 806.0	8 , 26
FHR3	VAcHPGYGLPKAQTTVTcTE (Light)	730.7	1022.4, 971.7	16, 18
FHR3	VAcHPGYGLPKAQTTVTcTE (Heavy)	736.7	1031.4, 980.7	16, 18
FHR4	YQcQSYYE (Light)	570.7	830.3, 993.1, 311.1	11, 10, 14
FHR4	YQcQSYYE (Heavy)	575.7	840.3, 1003.1, 311.1	11, 10, 14
FHR5	RGWSTPPicSFTKGE (Light)	575.2	828.4, 895.5, 588.3	16, 15, 20
FHR5	RGWSTPPicSFTKGE (Heavy)	581.2	836.4, 905.5, 598.3	16, 15, 20

[0391] 表8. 用于定量C3/C3b分解产物的肽和跃迁。

[0392]

肽	序列	包含于……中	跃迁
C3.1	GTAfVIFGIQDGE	C3 + C3b + iC3b + C3c	569.0/483.2 569.0/654.3 569.0/801.4
C3.2	LRRQHARASHLGLARSNLDE	C3 only	384.2/431.6 384.2/510.4 461.0/503.3
C3.3	LRRQHARASHLGLAR	C3a only	291.2/304.3 291.2/395.8

[0393]

			436.3/598.7
C3.4	LNLDVSLQLPSRSSKITHRIHWE	C3 + C3b	546.8/578.7 683.2/797.1 683.2/834.9
C3.5	LNLDVSLQLPSR	iC3b + C3dg + C3d	677.9/1014.4 677.9/359.1 677.9/800.2
C3.6	RLGRE	C3 + C3b + iC3b	251.3/175.1 251.3/232.1 251.3/345.2
C3.7	SSKITHRIHWE	C3f	349.3/354.2 349.3/436.4 349.3/489.8
C3.8	SASLLR	C3f	323.7/159.1 323.7/288.2 323.7/488.3
C3.9	RLGR	C3c	251.3/175.1 251.3/232.1 251.3/345.2
C3.10	HLIVTPSGCGE	C3d	585.3/251.1 585.3/394.5 585.3/404

[0394] 为了保护源区免受不必要的污染,当分析物肽未洗脱时,将位于柱和源之间的切换阀转移到色谱中的废弃位置。这允许用色谱柱采集六个采集窗口(两个肽FHR-2和FHL-1在同一窗口内洗脱)上传至质谱仪,每个窗口约一分钟。

[0395] 2.4结果

[0396] FH家族蛋白

[0397] 图2显示了LC-SRM示踪,显示了从血浆样品中检测每个单独RCA位点蛋白的重标记合成标准品。这表明该方法是可行的、特异性的,并且具有区分这七种蛋白质的肽,特别是FH和FHL-1所需的敏感性。

[0398] 图3显示了FH、FHL-1和FHR1-5的线性数据。这表明GluC消化能够产生可以在内源性水平下在天然血清中单独和特异性检测的肽。还表明该测定能够定量样品中每种蛋白质的水平。增加蛋白质的量后,信号如预期的方式那样增加,从而可以确定每种蛋白质的水平和存在。还证明了该测定不受干扰。

[0399] 定量下限定义为血浆浓度FH=25nM、FHL-1=0.25nM、HHR-1=2nM、FHR-2=1nM、FHR-3=1nM、FHR-4=4nM和FHR-5=3nM。

[0400] C3和C3分解产物

[0401] 合成表2中的肽的合成版本,以通过MS确认和优化其检测,以确认它们可以以线性方式定量,并证明它们可以在血清或血浆样品中以内源性水平检测。如图4A至4D所示。

[0402] 图4A显示,表2中的所有肽可以在血浆样品中通过SRM-MS使用至少三个跃迁单独检测。通过在MS/MS扫描中与相关产物离子的相对强度匹配的跃迁的相对强度来确认对目标肽的测定的特异性。图4B证实了肽的特异性,显示了对加入粗合成肽的血浆样品的实验,证明了信号适当增加。

[0403] 在体外试验中进一步分析C3b分解。C3b与FI和辅助因子CR1的片段一起孵育,通过FH进行选择,因为CR1驱动反应将iC3b裂解为C3c+C3dg,而FH将仅支持C3b裂解成iC3b。从反应中取出连续样品并通过沸腾停止。

[0404] 图4C通过凝胶电泳显示了C3b分解的时间过程。使用MS和表2的肽进行的分析表明,随着时间的推移,可以清楚地检测到C3b片段iC3b、C3f和C3c的形成以及完整C3b的缺失(图4D)。并非所有肽都显示出来,因为一些肽(例如C3a)在体外设置中不存在,而其他一些肽代表多种产物。

[0405] 这些数据表明,可以使用GluC衍生肽和MS以定量方式测量C3/C3b分解。这使得可以在诸如AMD的补体相关疾病中检测补体蛋白的存在和水平,并提供成功治疗结果的信息。

[0406] 可以测量所有FH家族、C3片段和FI蛋白的单一测定允许仅从一个样品同时分析补体扩增环中的所有关键蛋白,并且具有高效的吞吐量。

序列表

<110> 曼寿医药有限公司

<120> 检测补体蛋白

<130> 007927189

<150> GB2006789.8

<151> 2020-05-07

<160> 157

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 1231

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 1

```

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

```

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

Val Phe Met Asn Ala Arg Thr Lys Asn Asp Phe Thr Trp Phe Lys Leu		
515	520	525
Asn Asp Thr Leu Asp Tyr Glu Cys His Asp Gly Tyr Glu Ser Asn Thr		
530	535	540
Gly Ser Thr Thr Gly Ser Ile Val Cys Gly Tyr Asn Gly Trp Ser Asp		
545	550	555
Leu Pro Ile Cys Tyr Glu Arg Glu Cys Glu Leu Pro Lys Ile Asp Val		
565	570	575
His Leu Val Pro Asp Arg Lys Lys Asp Gln Tyr Lys Val Gly Glu Val		
580	585	590
Leu Lys Phe Ser Cys Lys Pro Gly Phe Thr Ile Val Gly Pro Asn Ser		
595	600	605
Val Gln Cys Tyr His Phe Gly Leu Ser Pro Asp Leu Pro Ile Cys Lys		
610	615	620
Glu Gln Val Gln Ser Cys Gly Pro Pro Pro Glu Leu Leu Asn Gly Asn		
625	630	635
Val Lys Glu Lys Thr Lys Glu Glu Tyr Gly His Ser Glu Val Val Glu		
645	650	655
Tyr Tyr Cys Asn Pro Arg Phe Leu Met Lys Gly Pro Asn Lys Ile Gln		
660	665	670
Cys Val Asp Gly Glu Trp Thr Thr Leu Pro Val Cys Ile Val Glu Glu		
675	680	685
Ser Thr Cys Gly Asp Ile Pro Glu Leu Glu His Gly Trp Ala Gln Leu		
690	695	700
Ser Ser Pro Pro Tyr Tyr Tyr Gly Asp Ser Val Glu Phe Asn Cys Ser		
705	710	715
Glu Ser Phe Thr Met Ile Gly His Arg Ser Ile Thr Cys Ile His Gly		
725	730	735
Val Trp Thr Gln Leu Pro Gln Cys Val Ala Ile Asp Lys Leu Lys Lys		
740	745	750
Cys Lys Ser Ser Asn Leu Ile Ile Leu Glu Glu His Leu Lys Asn Lys		
755	760	765
Lys Glu Phe Asp His Asn Ser Asn Ile Arg Tyr Arg Cys Arg Gly Lys		
770	775	780
Glu Gly Trp Ile His Thr Val Cys Ile Asn Gly Arg Trp Asp Pro Glu		
785	790	795
Val Asn Cys Ser Met Ala Gln Ile Gln Leu Cys Pro Pro Pro Pro Gln		
805	810	815
Ile Pro Asn Ser His Asn Met Thr Thr Thr Leu Asn Tyr Arg Asp Gly		

820	825	830
Glu Lys Val Ser Val Leu Cys Gln Glu Asn Tyr Leu Ile Gln Glu Gly		
835	840	845
Glu Glu Ile Thr Cys Lys Asp Gly Arg Trp Gln Ser Ile Pro Leu Cys		
850	855	860
Val Glu Lys Ile Pro Cys Ser Gln Pro Pro Gln Ile Glu His Gly Thr		
865	870	875
Ile Asn Ser Ser Arg Ser Ser Gln Glu Ser Tyr Ala His Gly Thr Lys		
885	890	895
Leu Ser Tyr Thr Cys Glu Gly Gly Phe Arg Ile Ser Glu Glu Asn Glu		
900	905	910
Thr Thr Cys Tyr Met Gly Lys Trp Ser Ser Pro Pro Gln Cys Glu Gly		
915	920	925
Leu Pro Cys Lys Ser Pro Pro Glu Ile Ser His Gly Val Val Ala His		
930	935	940
Met Ser Asp Ser Tyr Gln Tyr Gly Glu Glu Val Thr Tyr Lys Cys Phe		
945	950	955
Glu Gly Phe Gly Ile Asp Gly Pro Ala Ile Ala Lys Cys Leu Gly Glu		
965	970	975
Lys Trp Ser His Pro Pro Ser Cys Ile Lys Thr Asp Cys Leu Ser Leu		
980	985	990
Pro Ser Phe Glu Asn Ala Ile Pro Met Gly Glu Lys Lys Asp Val Tyr		
995	1000	1005
Lys Ala Gly Glu Gln Val Thr Tyr Thr Cys Ala Thr Tyr Tyr Lys		
1010	1015	1020
Met Asp Gly Ala Ser Asn Val Thr Cys Ile Asn Ser Arg Trp Thr		
1025	1030	1035
Gly Arg Pro Thr Cys Arg Asp Thr Ser Cys Val Asn Pro Pro Thr		
1040	1045	1050
Val Gln Asn Ala Tyr Ile Val Ser Arg Gln Met Ser Lys Tyr Pro		
1055	1060	1065
Ser Gly Glu Arg Val Arg Tyr Gln Cys Arg Ser Pro Tyr Glu Met		
1070	1075	1080
Phe Gly Asp Glu Glu Val Met Cys Leu Asn Gly Asn Trp Thr Glu		
1085	1090	1095
Pro Pro Gln Cys Lys Asp Ser Thr Gly Lys Cys Gly Pro Pro Pro		
1100	1105	1110
Pro Ile Asp Asn Gly Asp Ile Thr Ser Phe Pro Leu Ser Val Tyr		
1115	1120	1125

Ala Pro Ala Ser Ser Val Glu Tyr Gln Cys Gln Asn Leu Tyr Gln		
1130	1135	1140
Leu Glu Gly Asn Lys Arg Ile Thr Cys Arg Asn Gly Gln Trp Ser		
1145	1150	1155
Glu Pro Pro Lys Cys Leu His Pro Cys Val Ile Ser Arg Glu Ile		
1160	1165	1170
Met Glu Asn Tyr Asn Ile Ala Leu Arg Trp Thr Ala Lys Gln Lys		
1175	1180	1185
Leu Tyr Ser Arg Thr Gly Glu Ser Val Glu Phe Val Cys Lys Arg		
1190	1195	1200
Gly Tyr Arg Leu Ser Ser Arg Ser His Thr Leu Arg Thr Thr Cys		
1205	1210	1215
Trp Asp Gly Lys Leu Glu Tyr Pro Thr Cys Ala Lys Arg		
1220	1225	1230
<210> 2		
<211> 449		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 2		
Met Arg Leu Leu Ala Lys Ile Ile Cys Leu Met Leu Trp Ala Ile Cys		
1	5	10
Val Ala Glu Asp Cys Asn Glu Leu Pro Pro Arg Arg Asn Thr Glu Ile		
20	25	30
Leu Thr Gly Ser Trp Ser Asp Gln Thr Tyr Pro Glu Gly Thr Gln Ala		
35	40	45
Ile Tyr Lys Cys Arg Pro Gly Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Val Ile Met		
50	55	60
Val Cys Arg Lys Gly Glu Trp Val Ala Leu Asn Pro Leu Arg Lys Cys		
65	70	75
Gln Lys Arg Pro Cys Gly His Pro Gly Asp Thr Pro Phe Gly Thr Phe		
85	90	95
Thr Leu Thr Gly Gly Asn Val Phe Glu Tyr Gly Val Lys Ala Val Tyr		
100	105	110
Thr Cys Asn Glu Gly Tyr Gln Leu Leu Gly Glu Ile Asn Tyr Arg Glu		
115	120	125
Cys Asp Thr Asp Gly Trp Thr Asn Asp Ile Pro Ile Cys Glu Val Val		
130	135	140
Lys Cys Leu Pro Val Thr Ala Pro Glu Asn Gly Lys Ile Val Ser Ser		
145	150	155
		160

Ala Met Glu Pro Asp Arg Glu Tyr His Phe Gly Gln Ala Val Arg Phe		
	165	170 175
Val Cys Asn Ser Gly Tyr Lys Ile Glu Gly Asp Glu Glu Met His Cys		
	180	185 190
Ser Asp Asp Gly Phe Trp Ser Lys Glu Lys Pro Lys Cys Val Glu Ile		
	195	200 205
Ser Cys Lys Ser Pro Asp Val Ile Asn Gly Ser Pro Ile Ser Gln Lys		
	210	215 220
Ile Ile Tyr Lys Glu Asn Glu Arg Phe Gln Tyr Lys Cys Asn Met Gly		
225	230	235 240
Tyr Glu Tyr Ser Glu Arg Gly Asp Ala Val Cys Thr Glu Ser Gly Trp		
	245	250 255
Arg Pro Leu Pro Ser Cys Glu Glu Lys Ser Cys Asp Asn Pro Tyr Ile		
	260	265 270
Pro Asn Gly Asp Tyr Ser Pro Leu Arg Ile Lys His Arg Thr Gly Asp		
	275	280 285
Glu Ile Thr Tyr Gln Cys Arg Asn Gly Phe Tyr Pro Ala Thr Arg Gly		
	290	295 300
Asn Thr Ala Lys Cys Thr Ser Thr Gly Trp Ile Pro Ala Pro Arg Cys		
305	310	315 320
Thr Leu Lys Pro Cys Asp Tyr Pro Asp Ile Lys His Gly Gly Leu Tyr		
	325	330 335
His Glu Asn Met Arg Arg Pro Tyr Phe Pro Val Ala Val Gly Lys Tyr		
	340	345 350
Tyr Ser Tyr Tyr Cys Asp Glu His Phe Glu Thr Pro Ser Gly Ser Tyr		
	355	360 365
Trp Asp His Ile His Cys Thr Gln Asp Gly Trp Ser Pro Ala Val Pro		
	370	375 380
Cys Leu Arg Lys Cys Tyr Phe Pro Tyr Leu Glu Asn Gly Tyr Asn Gln		
385	390	395 400
Asn Tyr Gly Arg Lys Phe Val Gln Gly Lys Ser Ile Asp Val Ala Cys		
	405	410 415
His Pro Gly Tyr Ala Leu Pro Lys Ala Gln Thr Thr Val Thr Cys Met		
	420	425 430
Glu Asn Gly Trp Ser Pro Thr Pro Arg Cys Ile Arg Val Ser Phe Thr		
	435	440 445
Leu		
<210> 3		
<211> 330		

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 3

```

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

```

Tyr Leu Arg Thr Gly Glu Ser Ala Glu Phe Val Cys Lys Arg Gly Tyr
 290 295 300
 Arg Leu Ser Ser Arg Ser His Thr Leu Arg Thr Thr Cys Trp Asp Gly
 305 310 315 320
 Lys Leu Glu Tyr Pro Thr Cys Ala Lys Arg
 325 330
 <210> 4
 <211> 270
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 4
 Met Trp Leu Leu Val Ser Val Ile Leu Ile Ser Arg Ile Ser Ser Val
 1 5 10 15
 Gly Gly Glu Ala Met Phe Cys Asp Phe Pro Lys Ile Asn His Gly Ile
 20 25 30
 Leu Tyr Asp Glu Glu Lys Tyr Lys Pro Phe Ser Gln Val Pro Thr Gly
 35 40 45
 Glu Val Phe Tyr Tyr Ser Cys Glu Tyr Asn Phe Val Ser Pro Ser Lys
 50 55 60
 Ser Phe Trp Thr Arg Ile Thr Cys Ala Glu Glu Gly Trp Ser Pro Thr
 65 70 75 80
 Pro Lys Cys Leu Arg Leu Cys Phe Phe Pro Phe Val Glu Asn Gly His
 85 90 95
 Ser Glu Ser Ser Gly Gln Thr His Leu Glu Gly Asp Thr Val Gln Ile
 100 105 110
 Ile Cys Asn Thr Gly Tyr Arg Leu Gln Asn Asn Glu Asn Asn Ile Ser
 115 120 125
 Cys Val Glu Arg Gly Trp Ser Thr Pro Pro Lys Cys Arg Ser Thr Ile
 130 135 140
 Ser Ala Glu Lys Cys Gly Pro Pro Pro Pro Ile Asp Asn Gly Asp Ile
 145 150 155 160
 Thr Ser Phe Leu Leu Ser Val Tyr Ala Pro Gly Ser Ser Val Glu Tyr
 165 170 175
 Gln Cys Gln Asn Leu Tyr Gln Leu Glu Gly Asn Asn Gln Ile Thr Cys
 180 185 190
 Arg Asn Gly Gln Trp Ser Glu Pro Pro Lys Cys Leu Asp Pro Cys Val
 195 200 205
 Ile Ser Gln Glu Ile Met Glu Lys Tyr Asn Ile Lys Leu Lys Trp Thr
 210 215 220

Asn	Gln	Gln	Lys	Leu	Tyr	Ser	Arg	Thr	Gly	Asp	Ile	Val	Glu	Phe	Val
225					230					235					240
Cys	Lys	Ser	Gly	Tyr	His	Pro	Thr	Lys	Ser	His	Ser	Phe	Arg	Ala	Met
				245						250					255
Cys	Gln	Asn	Gly	Lys	Leu	Val	Tyr	Pro	Ser	Cys	Glu	Glu	Lys		
			260					265					270		
<210> 5															
<211> 243															
<212> PRT															
<213> 智人(Homo sapiens)															
<400> 5															
Met	Trp	Leu	Leu	Val	Ser	Val	Ile	Leu	Ile	Ser	Arg	Ile	Ser	Ser	Val
1				5					10					15	
Gly	Gly	Glu	Ala	Met	Phe	Cys	Asp	Phe	Pro	Lys	Ile	Asn	His	Gly	Ile
			20					25						30	
Leu	Tyr	Asp	Glu	Glu	Lys	Tyr	Lys	Pro	Phe	Ser	Gln	Val	Pro	Thr	Gly
		35					40					45			
Glu	Val	Phe	Tyr	Tyr	Ser	Cys	Glu	Tyr	Asn	Phe	Val	Ser	Pro	Ser	Lys
		50				55					60				
Ser	Phe	Trp	Thr	Arg	Ile	Thr	Cys	Ala	Glu	Glu	Gly	Trp	Ser	Pro	Thr
65				70						75					80
Pro	Lys	Cys	Leu	Arg	Leu	Cys	Phe	Phe	Pro	Phe	Val	Glu	Asn	Gly	His
				85						90					95
Ser	Glu	Ser	Ser	Gly	Gln	Thr	His	Leu	Glu	Gly	Asp	Thr	Val	Gln	Ile
			100					105					110		
Ile	Cys	Asn	Thr	Gly	Tyr	Arg	Leu	Gln	Asn	Asn	Glu	Asn	Asn	Ile	Ser
		115					120					125			
Cys	Val	Glu	Arg	Gly	Trp	Ser	Thr	Pro	Pro	Lys	Cys	Arg	Ser	Thr	Ser
		130					135					140			
Ser	Ser	Val	Glu	Tyr	Gln	Cys	Gln	Asn	Leu	Tyr	Gln	Leu	Glu	Gly	Asn
145					150					155					160
Asn	Gln	Ile	Thr	Cys	Arg	Asn	Gly	Gln	Trp	Ser	Glu	Pro	Pro	Lys	Cys
				165					170						175
Leu	Asp	Pro	Cys	Val	Ile	Ser	Gln	Glu	Ile	Met	Glu	Lys	Tyr	Asn	Ile
			180					185					190		
Lys	Leu	Lys	Trp	Thr	Asn	Gln	Gln	Lys	Leu	Tyr	Ser	Arg	Thr	Gly	Asp
		195					200					205			
Ile	Val	Glu	Phe	Val	Cys	Lys	Ser	Gly	Tyr	His	Pro	Thr	Lys	Ser	His
		210					215					220			

Ser Phe Arg Ala Met Cys Gln Asn Gly Lys Leu Val Tyr Pro Ser Cys
 225 230 235 240
 Glu Glu Lys
 <210> 6
 <211> 330
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 6
 Met Leu Leu Leu Ile Asn Val Ile Leu Thr Leu Trp Val Ser Cys Ala
 1 5 10 15
 Asn Gly Gln Val Lys Pro Cys Asp Phe Pro Asp Ile Lys His Gly Gly
 20 25 30
 Leu Phe His Glu Asn Met Arg Arg Pro Tyr Phe Pro Val Ala Val Gly
 35 40 45
 Lys Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Cys Asp Glu His Phe Glu Thr Pro Ser Gly
 50 55 60
 Ser Tyr Trp Asp Tyr Ile His Cys Thr Gln Asn Gly Trp Ser Pro Ala
 65 70 75 80
 Val Pro Cys Leu Arg Lys Cys Tyr Phe Pro Tyr Leu Glu Asn Gly Tyr
 85 90 95
 Asn Gln Asn Tyr Gly Arg Lys Phe Val Gln Gly Asn Ser Thr Glu Val
 100 105 110
 Ala Cys His Pro Gly Tyr Gly Leu Pro Lys Ala Gln Thr Thr Val Thr
 115 120 125
 Cys Thr Glu Lys Gly Trp Ser Pro Thr Pro Arg Cys Ile Arg Val Arg
 130 135 140
 Thr Cys Ser Lys Ser Asp Ile Glu Ile Glu Asn Gly Phe Ile Ser Glu
 145 150 155 160
 Ser Ser Ser Ile Tyr Ile Leu Asn Lys Glu Ile Gln Tyr Lys Cys Lys
 165 170 175
 Pro Gly Tyr Ala Thr Ala Asp Gly Asn Ser Ser Gly Ser Ile Thr Cys
 180 185 190
 Leu Gln Asn Gly Trp Ser Ala Gln Pro Ile Cys Ile Asn Ser Ser Glu
 195 200 205
 Lys Cys Gly Pro Pro Pro Pro Ile Ser Asn Gly Asp Thr Thr Ser Phe
 210 215 220
 Leu Leu Lys Val Tyr Val Pro Gln Ser Arg Val Glu Tyr Gln Cys Gln
 225 230 235 240
 Pro Tyr Tyr Glu Leu Gln Gly Ser Asn Tyr Val Thr Cys Ser Asn Gly

	245		250		255
Glu Trp Ser Glu Pro Pro Arg Cys Ile His Pro Cys Ile Ile Thr Glu					
	260		265		270
Glu Asn Met Asn Lys Asn Asn Ile Lys Leu Lys Gly Arg Ser Asp Arg					
	275		280		285
Lys Tyr Tyr Ala Lys Thr Gly Asp Thr Ile Glu Phe Met Cys Lys Leu					
	290		295		300
Gly Tyr Asn Ala Asn Thr Ser Ile Leu Ser Phe Gln Ala Val Cys Arg					
305		310		315	320
Glu Gly Ile Val Glu Tyr Pro Arg Cys Glu					
	325		330		
<210> 7					
<211> 269					
<212> PRT					
<213> 智人(Homo sapiens)					
<400> 7					
Met Leu Leu Leu Ile Asn Val Ile Leu Thr Leu Trp Val Ser Cys Ala					
1	5		10		15
Asn Gly Gln Val Lys Pro Cys Asp Phe Pro Asp Ile Lys His Gly Gly					
	20		25		30
Leu Phe His Glu Asn Met Arg Arg Pro Tyr Phe Pro Val Ala Val Gly					
	35		40		45
Lys Tyr Tyr Ser Tyr Tyr Cys Asp Glu His Phe Glu Thr Pro Ser Gly					
	50		55		60
Ser Tyr Trp Asp Tyr Ile His Cys Thr Gln Asn Gly Trp Ser Pro Ala					
65		70		75	80
Val Pro Cys Leu Arg Lys Cys Tyr Phe Pro Tyr Leu Glu Asn Gly Tyr					
	85		90		95
Asn Gln Asn Tyr Gly Arg Lys Phe Val Gln Gly Asn Ser Thr Glu Val					
	100		105		110
Ala Cys His Pro Gly Tyr Gly Leu Pro Lys Ala Gln Thr Thr Val Thr					
	115		120		125
Cys Thr Glu Lys Gly Trp Ser Pro Thr Pro Arg Cys Ile Arg Val Asn					
	130		135		140
Ser Ser Glu Lys Cys Gly Pro Pro Pro Pro Ile Ser Asn Gly Asp Thr					
145		150		155	160
Thr Ser Phe Leu Leu Lys Val Tyr Val Pro Gln Ser Arg Val Glu Tyr					
	165		170		175
Gln Cys Gln Pro Tyr Tyr Glu Leu Gln Gly Ser Asn Tyr Val Thr Cys					

180	185	190
Ser Asn Gly Glu Trp Ser Glu Pro	Pro Arg Cys Ile His Pro Cys Ile	
195	200	205
Ile Thr Glu Glu Asn Met Asn Lys Asn Asn Ile Lys Leu Lys Gly Arg		
210	215	220
Ser Asp Arg Lys Tyr Tyr Ala Lys Thr Gly Asp Thr Ile Glu Phe Met		
225	230	235
Cys Lys Leu Gly Tyr Asn Ala Asn Thr Ser Ile Leu Ser Phe Gln Ala		
245	250	255
Val Cys Arg Glu Gly Ile Val Glu Tyr Pro Arg Cys Glu		
260	265	
<210> 8		
<211> 578		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 8		
Met Leu Leu Leu Ile Asn Val Ile Leu Thr Leu Trp Val Ser Cys Ala		
1	5	10
Asn Gly Gln Glu Val Lys Pro Cys Asp Phe Pro Glu Ile Gln His Gly		
20	25	30
Gly Leu Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg Arg Leu Tyr Phe Pro Ala Ala Ala		
35	40	45
Gly Gln Ser Tyr Ser Tyr Tyr Cys Asp Gln Asn Phe Val Thr Pro Ser		
50	55	60
Gly Ser Tyr Trp Asp Tyr Ile His Cys Thr Gln Asp Gly Trp Ser Pro		
65	70	75
Thr Val Pro Cys Leu Arg Thr Cys Ser Lys Ser Asp Val Glu Ile Glu		
85	90	95
Asn Gly Phe Ile Ser Glu Ser Ser Ser Ile Tyr Ile Leu Asn Glu Glu		
100	105	110
Thr Gln Tyr Asn Cys Lys Pro Gly Tyr Ala Thr Ala Glu Gly Asn Ser		
115	120	125
Ser Gly Ser Ile Thr Cys Leu Gln Asn Gly Trp Ser Thr Gln Pro Ile		
130	135	140
Cys Ile Lys Phe Cys Asp Met Pro Val Phe Glu Asn Ser Arg Ala Lys		
145	150	155
Ser Asn Gly Met Trp Phe Lys Leu His Asp Thr Leu Asp Tyr Glu Cys		
165	170	175
Tyr Asp Gly Tyr Glu Ser Ser Tyr Gly Asn Thr Thr Asp Ser Ile Val		

			180				185				190						
Cys	Gly	Glu	Asp	Gly	Trp	Ser	His	Leu	Pro	Thr	Cys	Tyr	Asn	Ser	Ser		
			195				200				205						
Glu	Asn	Cys	Gly	Pro	Pro	Pro	Pro	Ile	Ser	Asn	Gly	Asp	Thr	Thr	Ser		
			210				215				220						
Phe	Pro	Gln	Lys	Val	Tyr	Leu	Pro	Trp	Ser	Arg	Val	Glu	Tyr	Gln	Cys		
225							230				235					240	
Gln	Ser	Tyr	Tyr	Glu	Leu	Gln	Gly	Ser	Lys	Tyr	Val	Thr	Cys	Ser	Asn		
			245								250					255	
Gly	Asp	Trp	Ser	Glu	Pro	Pro	Arg	Cys	Ile	Ser	Met	Lys	Pro	Cys	Glu		
			260				265				270						
Phe	Pro	Glu	Ile	Gln	His	Gly	His	Leu	Tyr	Tyr	Glu	Asn	Thr	Arg	Arg		
			275				280				285						
Pro	Tyr	Phe	Pro	Val	Ala	Thr	Gly	Gln	Ser	Tyr	Ser	Tyr	Tyr	Cys	Asp		
290							295				300						
Gln	Asn	Phe	Val	Thr	Pro	Ser	Gly	Ser	Tyr	Trp	Asp	Tyr	Ile	His	Cys		
305							310				315					320	
Thr	Gln	Asp	Gly	Trp	Leu	Pro	Thr	Val	Pro	Cys	Leu	Arg	Thr	Cys	Ser		
			325								330					335	
Lys	Ser	Asp	Ile	Glu	Ile	Glu	Asn	Gly	Phe	Ile	Ser	Glu	Ser	Ser	Ser		
			340				345				350						
Ile	Tyr	Ile	Leu	Asn	Lys	Glu	Ile	Gln	Tyr	Lys	Cys	Lys	Pro	Gly	Tyr		
			355				360				365						
Ala	Thr	Ala	Asp	Gly	Asn	Ser	Ser	Gly	Ser	Ile	Thr	Cys	Leu	Gln	Asn		
370							375				380						
Gly	Trp	Ser	Ala	Gln	Pro	Ile	Cys	Ile	Lys	Phe	Cys	Asp	Met	Pro	Val		
385							390				395					400	
Phe	Glu	Asn	Ser	Arg	Ala	Lys	Ser	Asn	Gly	Met	Arg	Phe	Lys	Leu	His		
			405								410					415	
Asp	Thr	Leu	Asp	Tyr	Glu	Cys	Tyr	Asp	Gly	Tyr	Glu	Ile	Ser	Tyr	Gly		
			420								425					430	
Asn	Thr	Thr	Gly	Ser	Ile	Val	Cys	Gly	Glu	Asp	Gly	Trp	Ser	His	Phe		
			435								440					445	
Pro	Thr	Cys	Tyr	Asn	Ser	Ser	Glu	Lys	Cys	Gly	Pro	Pro	Pro	Pro	Ile		
450							455				460						
Ser	Asn	Gly	Asp	Thr	Thr	Ser	Phe	Leu	Leu	Lys	Val	Tyr	Val	Pro	Gln		
465							470				475					480	
Ser	Arg	Val	Glu	Tyr	Gln	Cys	Gln	Ser	Tyr	Tyr	Glu	Leu	Gln	Gly	Ser		
			485								490					495	

Asn Tyr Val Thr Cys Ser Asn Gly Glu Trp Ser Glu Pro Pro Arg Cys		
500	505	510
Ile His Pro Cys Ile Ile Thr Glu Glu Asn Met Asn Lys Asn Asn Ile		
515	520	525
Gln Leu Lys Gly Lys Ser Asp Ile Lys Tyr Tyr Ala Lys Thr Gly Asp		
530	535	540
Thr Ile Glu Phe Met Cys Lys Leu Gly Tyr Asn Ala Asn Thr Ser Val		
545	550	555
Leu Ser Phe Gln Ala Val Cys Arg Glu Gly Ile Val Glu Tyr Pro Arg		
565	570	575
Cys Glu		
<210> 9		
<211> 331		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 9		
Met Leu Leu Leu Ile Asn Val Ile Leu Thr Leu Trp Val Ser Cys Ala		
1	5	10
Asn Gly Gln Glu Val Lys Pro Cys Asp Phe Pro Glu Ile Gln His Gly		
20	25	30
Gly Leu Tyr Tyr Lys Ser Leu Arg Arg Leu Tyr Phe Pro Ala Ala Ala		
35	40	45
Gly Gln Ser Tyr Ser Tyr Tyr Cys Asp Gln Asn Phe Val Thr Pro Ser		
50	55	60
Gly Ser Tyr Trp Asp Tyr Ile His Cys Thr Gln Asp Gly Trp Ser Pro		
65	70	75
Thr Val Pro Cys Leu Arg Thr Cys Ser Lys Ser Asp Ile Glu Ile Glu		
85	90	95
Asn Gly Phe Ile Ser Glu Ser Ser Ser Ile Tyr Ile Leu Asn Lys Glu		
100	105	110
Ile Gln Tyr Lys Cys Lys Pro Gly Tyr Ala Thr Ala Asp Gly Asn Ser		
115	120	125
Ser Gly Ser Ile Thr Cys Leu Gln Asn Gly Trp Ser Ala Gln Pro Ile		
130	135	140
Cys Ile Lys Phe Cys Asp Met Pro Val Phe Glu Asn Ser Arg Ala Lys		
145	150	155
Ser Asn Gly Met Arg Phe Lys Leu His Asp Thr Leu Asp Tyr Glu Cys		
165	170	175
Tyr Asp Gly Tyr Glu Ile Ser Tyr Gly Asn Thr Thr Gly Ser Ile Val		

180	185	190
Cys Gly Glu Asp Gly Trp Ser His Phe Pro Thr Cys Tyr Asn Ser Ser		
195	200	205
Glu Lys Cys Gly Pro Pro Pro Pro Ile Ser Asn Gly Asp Thr Thr Ser		
210	215	220
Phe Leu Leu Lys Val Tyr Val Pro Gln Ser Arg Val Glu Tyr Gln Cys		
225	230	235
Gln Ser Tyr Tyr Glu Leu Gln Gly Ser Asn Tyr Val Thr Cys Ser Asn		
245	250	255
Gly Glu Trp Ser Glu Pro Pro Arg Cys Ile His Pro Cys Ile Ile Thr		
260	265	270
Glu Glu Asn Met Asn Lys Asn Asn Ile Gln Leu Lys Gly Lys Ser Asp		
275	280	285
Ile Lys Tyr Tyr Ala Lys Thr Gly Asp Thr Ile Glu Phe Met Cys Lys		
290	295	300
Leu Gly Tyr Asn Ala Asn Thr Ser Val Leu Ser Phe Gln Ala Val Cys		
305	310	315
Arg Glu Gly Ile Val Glu Tyr Pro Arg Cys Glu		
325	330	
<210> 10		
<211> 569		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 10		
Met Leu Leu Leu Phe Ser Val Ile Leu Ile Ser Trp Val Ser Thr Val		
1	5	10
Gly Gly Glu Gly Thr Leu Cys Asp Phe Pro Lys Ile His His Gly Phe		
20	25	30
Leu Tyr Asp Glu Glu Asp Tyr Asn Pro Phe Ser Gln Val Pro Thr Gly		
35	40	45
Glu Val Phe Tyr Tyr Ser Cys Glu Tyr Asn Phe Val Ser Pro Ser Lys		
50	55	60
Ser Phe Trp Thr Arg Ile Thr Cys Thr Glu Glu Gly Trp Ser Pro Thr		
65	70	75
Pro Lys Cys Leu Arg Met Cys Ser Phe Pro Phe Val Lys Asn Gly His		
85	90	95
Ser Glu Ser Ser Gly Leu Ile His Leu Glu Gly Asp Thr Val Gln Ile		
100	105	110
Ile Cys Asn Thr Gly Tyr Ser Leu Gln Asn Asn Glu Lys Asn Ile Ser		

115	120	125
Cys Val Glu Arg Gly Trp Ser Thr Pro Pro Ile Cys Ser Phe Thr Lys		
130	135	140
Gly Glu Cys His Val Pro Ile Leu Glu Ala Asn Val Asp Ala Gln Pro		
145	150	155
Lys Lys Glu Ser Tyr Lys Val Gly Asp Val Leu Lys Phe Ser Cys Arg		
165	170	175
Lys Asn Leu Ile Arg Val Gly Ser Asp Ser Val Gln Cys Tyr Gln Phe		
180	185	190
Gly Trp Ser Pro Asn Phe Pro Thr Cys Lys Gly Gln Val Arg Ser Cys		
195	200	205
Gly Pro Pro Pro Gln Leu Ser Asn Gly Glu Val Lys Glu Ile Arg Lys		
210	215	220
Glu Glu Tyr Gly His Asn Glu Val Val Glu Tyr Asp Cys Asn Pro Asn		
225	230	235
Phe Ile Ile Asn Gly Pro Lys Lys Ile Gln Cys Val Asp Gly Glu Trp		
245	250	255
Thr Thr Leu Pro Thr Cys Val Glu Gln Val Lys Thr Cys Gly Tyr Ile		
260	265	270
Pro Glu Leu Glu Tyr Gly Tyr Val Gln Pro Ser Val Pro Pro Tyr Gln		
275	280	285
His Gly Val Ser Val Glu Val Asn Cys Arg Asn Glu Tyr Ala Met Ile		
290	295	300
Gly Asn Asn Met Ile Thr Cys Ile Asn Gly Ile Trp Thr Glu Leu Pro		
305	310	315
Met Cys Val Ala Thr His Gln Leu Lys Arg Cys Lys Ile Ala Gly Val		
325	330	335
Asn Ile Lys Thr Leu Leu Lys Leu Ser Gly Lys Glu Phe Asn His Asn		
340	345	350
Ser Arg Ile Arg Tyr Arg Cys Ser Asp Ile Phe Arg Tyr Arg His Ser		
355	360	365
Val Cys Ile Asn Gly Lys Trp Asn Pro Glu Val Asp Cys Thr Glu Lys		
370	375	380
Arg Glu Gln Phe Cys Pro Pro Pro Pro Gln Ile Pro Asn Ala Gln Asn		
385	390	395
Met Thr Thr Thr Val Asn Tyr Gln Asp Gly Glu Lys Val Ala Val Leu		
405	410	415
Cys Lys Glu Asn Tyr Leu Leu Pro Glu Ala Lys Glu Ile Val Cys Lys		
420	425	430

Asp Gly Arg Trp Gln Ser Leu Pro Arg Cys Val Glu Ser Thr Ala Tyr		
435	440	445
Cys Gly Pro Pro Pro Ser Ile Asn Asn Gly Asp Thr Thr Ser Phe Pro		
450	455	460
Leu Ser Val Tyr Pro Pro Gly Ser Thr Val Thr Tyr Arg Cys Gln Ser		
465	470	475
Phe Tyr Lys Leu Gln Gly Ser Val Thr Val Thr Cys Arg Asn Lys Gln		
	485	490
Trp Ser Glu Pro Pro Arg Cys Leu Asp Pro Cys Val Val Ser Glu Glu		
	500	505
Asn Met Asn Lys Asn Asn Ile Gln Leu Lys Trp Arg Asn Asp Gly Lys		
	515	520
Leu Tyr Ala Lys Thr Gly Asp Ala Val Glu Phe Gln Cys Lys Phe Pro		
	530	535
His Lys Ala Met Ile Ser Ser Pro Pro Phe Arg Ala Ile Cys Gln Glu		
545	550	555
Gly Lys Phe Glu Tyr Pro Ile Cys Glu		
	565	

<210> 11

<211> 583

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 11

Met Lys Leu Leu His Val Phe Leu Leu Phe Leu Cys Phe His Leu Arg		
1	5	10
Phe Cys Lys Val Thr Tyr Thr Ser Gln Glu Asp Leu Val Glu Lys Lys		
	20	25
Cys Leu Ala Lys Lys Tyr Thr His Leu Ser Cys Asp Lys Val Phe Cys		
	35	40
Gln Pro Trp Gln Arg Cys Ile Glu Gly Thr Cys Val Cys Lys Leu Pro		
	50	55
Tyr Gln Cys Pro Lys Asn Gly Thr Ala Val Cys Ala Thr Asn Arg Arg		
65	70	75
Ser Phe Pro Thr Tyr Cys Gln Gln Lys Ser Leu Glu Cys Leu His Pro		
	85	90
Gly Thr Lys Phe Leu Asn Asn Gly Thr Cys Thr Ala Glu Gly Lys Phe		
	100	105
Ser Val Ser Leu Lys His Gly Asn Thr Asp Ser Glu Gly Ile Val Glu		
	115	120

125

Val	Lys	Leu	Val	Asp	Gln	Asp	Lys	Thr	Met	Phe	Ile	Cys	Lys	Ser	Ser
130							135					140			
Trp	Ser	Met	Arg	Glu	Ala	Asn	Val	Ala	Cys	Leu	Asp	Leu	Gly	Phe	Gln
145						150				155					160
Gln	Gly	Ala	Asp	Thr	Gln	Arg	Arg	Phe	Lys	Leu	Ser	Asp	Leu	Ser	Ile
					165				170					175	
Asn	Ser	Thr	Glu	Cys	Leu	His	Val	His	Cys	Arg	Gly	Leu	Glu	Thr	Ser
					180				185					190	
Leu	Ala	Glu	Cys	Thr	Phe	Thr	Lys	Arg	Arg	Thr	Met	Gly	Tyr	Gln	Asp
					195			200				205			
Phe	Ala	Asp	Val	Val	Cys	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ala	Asp	Ser	Pro	Met	Asp
					210			215				220			
Asp	Phe	Phe	Gln	Cys	Val	Asn	Gly	Lys	Tyr	Ile	Ser	Gln	Met	Lys	Ala
225					230					235					240
Cys	Asp	Gly	Ile	Asn	Asp	Cys	Gly	Asp	Gln	Ser	Asp	Glu	Leu	Cys	Cys
					245				250					255	
Lys	Ala	Cys	Gln	Gly	Lys	Gly	Phe	His	Cys	Lys	Ser	Gly	Val	Cys	Ile
					260				265					270	
Pro	Ser	Gln	Tyr	Gln	Cys	Asn	Gly	Glu	Val	Asp	Cys	Ile	Thr	Gly	Glu
					275				280					285	
Asp	Glu	Val	Gly	Cys	Ala	Gly	Phe	Ala	Ser	Val	Thr	Gln	Glu	Glu	Thr
					290			295				300			
Glu	Ile	Leu	Thr	Ala	Asp	Met	Asp	Ala	Glu	Arg	Arg	Arg	Ile	Lys	Ser
305					310					315					320
Leu	Leu	Pro	Lys	Leu	Ser	Cys	Gly	Val	Lys	Asn	Arg	Met	His	Ile	Arg
					325				330					335	
Arg	Lys	Arg	Ile	Val	Gly	Gly	Lys	Arg	Ala	Gln	Leu	Gly	Asp	Leu	Pro
					340				345					350	
Trp	Gln	Val	Ala	Ile	Lys	Asp	Ala	Ser	Gly	Ile	Thr	Cys	Gly	Gly	Ile
					355				360					365	
Tyr	Ile	Gly	Gly	Cys	Trp	Ile	Leu	Thr	Ala	Ala	His	Cys	Leu	Arg	Ala
					370				375					380	
Ser	Lys	Thr	His	Arg	Tyr	Gln	Ile	Trp	Thr	Thr	Val	Val	Asp	Trp	Ile
385					390					395					400
His	Pro	Asp	Leu	Lys	Arg	Ile	Val	Ile	Glu	Tyr	Val	Asp	Arg	Ile	Ile
					405				410					415	
Phe	His	Glu	Asn	Tyr	Asn	Ala	Gly	Thr	Tyr	Gln	Asn	Asp	Ile	Ala	Leu
					420				425					430	
Ile	Glu	Met	Lys	Lys	Asp	Gly	Asn	Lys	Lys	Asp	Cys	Glu	Leu	Pro	Arg

435	440	445
Ser Ile Pro Ala Cys Val Pro Trp Ser Pro Tyr Leu Phe Gln Pro Asn		
450	455	460
Asp Thr Cys Ile Val Ser Gly Trp Gly Arg Glu Lys Asp Asn Glu Arg		
465	470	475
Val Phe Ser Leu Gln Trp Gly Glu Val Lys Leu Ile Ser Asn Cys Ser		480
485	490	495
Lys Phe Tyr Gly Asn Arg Phe Tyr Glu Lys Glu Met Glu Cys Ala Gly		
500	505	510
Thr Tyr Asp Gly Ser Ile Asp Ala Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro		
515	520	525
Leu Val Cys Met Asp Ala Asn Asn Val Thr Tyr Val Trp Gly Val Val		
530	535	540
Ser Trp Gly Glu Asn Cys Gly Lys Pro Glu Phe Pro Gly Val Tyr Thr		
545	550	555
Lys Val Ala Asn Tyr Phe Asp Trp Ile Ser Tyr His Val Gly Arg Pro		560
565	570	575
Phe Ile Ser Gln Tyr Asn Val		
580		
<210> 12		
<211> 1663		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 12		
Met Gly Pro Thr Ser Gly Pro Ser Leu Leu Leu Leu Leu Leu Thr His		
1	5	10
Leu Pro Leu Ala Leu Gly Ser Pro Met Tyr Ser Ile Ile Thr Pro Asn		15
20	25	30
Ile Leu Arg Leu Glu Ser Glu Glu Thr Met Val Leu Glu Ala His Asp		
35	40	45
Ala Gln Gly Asp Val Pro Val Thr Val Thr Val His Asp Phe Pro Gly		
50	55	60
Lys Lys Leu Val Leu Ser Ser Glu Lys Thr Val Leu Thr Pro Ala Thr		
65	70	75
Asn His Met Gly Asn Val Thr Phe Thr Ile Pro Ala Asn Arg Glu Phe		80
85	90	95
Lys Ser Glu Lys Gly Arg Asn Lys Phe Val Thr Val Gln Ala Thr Phe		
100	105	110
Gly Thr Gln Val Val Glu Lys Val Val Leu Val Ser Leu Gln Ser Gly		

115	120	125
Tyr Leu Phe Ile Gln Thr Asp	Lys Thr Ile Tyr Thr	Pro Gly Ser Thr
130	135	140
Val Leu Tyr Arg Ile Phe Thr	Val Asn His Lys Leu Leu	Pro Val Gly
145	150	155
Arg Thr Val Met Val Asn Ile	Glu Asn Pro Glu Gly Ile	Pro Val Lys
165	170	175
Gln Asp Ser Leu Ser Ser Gln	Asn Gln Leu Gly Val Leu	Pro Leu Ser
180	185	190
Trp Asp Ile Pro Glu Leu Val	Asn Met Gly Gln Trp Lys	Ile Arg Ala
195	200	205
Tyr Tyr Glu Asn Ser Pro Gln	Gln Val Phe Ser Thr Glu	Phe Glu Val
210	215	220
Lys Glu Tyr Val Leu Pro Ser	Phe Glu Val Ile Val Glu	Pro Thr Glu
225	230	235
Lys Phe Tyr Tyr Ile Tyr Asn	Glu Lys Gly Leu Glu Val	Thr Ile Thr
245	250	255
Ala Arg Phe Leu Tyr Gly Lys	Lys Val Glu Gly Thr Ala	Phe Val Ile
260	265	270
Phe Gly Ile Gln Asp Gly Glu	Gln Arg Ile Ser Leu Pro	Glu Ser Leu
275	280	285
Lys Arg Ile Pro Ile Glu Asp	Gly Ser Gly Glu Val Val	Leu Ser Arg
290	295	300
Lys Val Leu Leu Asp Gly Val	Gln Asn Pro Arg Ala Glu	Asp Leu Val
305	310	315
Gly Lys Ser Leu Tyr Val Ser	Ala Thr Val Ile Leu His	Ser Gly Ser
325	330	335
Asp Met Val Gln Ala Glu Arg	Ser Gly Ile Pro Ile Val	Thr Ser Pro
340	345	350
Tyr Gln Ile His Phe Thr Lys	Thr Pro Lys Tyr Phe Lys	Pro Gly Met
355	360	365
Pro Phe Asp Leu Met Val Phe	Val Thr Asn Pro Asp Gly	Ser Pro Ala
370	375	380
Tyr Arg Val Pro Val Ala Val	Gln Gly Glu Asp Thr Val	Gln Ser Leu
385	390	395
Thr Gln Gly Asp Gly Val Ala	Lys Leu Ser Ile Asn Thr	His Pro Ser
405	410	415
Gln Lys Pro Leu Ser Ile Thr	Val Arg Thr Lys Lys Gln	Glu Leu Ser
420	425	430

Glu Ala Glu Gln Ala Thr Arg Thr Met Gln Ala Leu Pro Tyr Ser Thr		
435	440	445
Val Gly Asn Ser Asn Asn Tyr Leu His Leu Ser Val Leu Arg Thr Glu		
450	455	460
Leu Arg Pro Gly Glu Thr Leu Asn Val Asn Phe Leu Leu Arg Met Asp		
465	470	475 480
Arg Ala His Glu Ala Lys Ile Arg Tyr Tyr Thr Tyr Leu Ile Met Asn		
485	490	495
Lys Gly Arg Leu Leu Lys Ala Gly Arg Gln Val Arg Glu Pro Gly Gln		
500	505	510
Asp Leu Val Val Leu Pro Leu Ser Ile Thr Thr Asp Phe Ile Pro Ser		
515	520	525
Phe Arg Leu Val Ala Tyr Tyr Thr Leu Ile Gly Ala Ser Gly Gln Arg		
530	535	540
Glu Val Val Ala Asp Ser Val Trp Val Asp Val Lys Asp Ser Cys Val		
545	550	555 560
Gly Ser Leu Val Val Lys Ser Gly Gln Ser Glu Asp Arg Gln Pro Val		
565	570	575
Pro Gly Gln Gln Met Thr Leu Lys Ile Glu Gly Asp His Gly Ala Arg		
580	585	590
Val Val Leu Val Ala Val Asp Lys Gly Val Phe Val Leu Asn Lys Lys		
595	600	605
Asn Lys Leu Thr Gln Ser Lys Ile Trp Asp Val Val Glu Lys Ala Asp		
610	615	620
Ile Gly Cys Thr Pro Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Ala Gly Val Phe Ser		
625	630	635 640
Asp Ala Gly Leu Thr Phe Thr Ser Ser Ser Gly Gln Gln Thr Ala Gln		
645	650	655
Arg Ala Glu Leu Gln Cys Pro Gln Pro Ala Ala Arg Arg Arg Arg Ser		
660	665	670
Val Gln Leu Thr Glu Lys Arg Met Asp Lys Val Gly Lys Tyr Pro Lys		
675	680	685
Glu Leu Arg Lys Cys Cys Glu Asp Gly Met Arg Glu Asn Pro Met Arg		
690	695	700
Phe Ser Cys Gln Arg Arg Thr Arg Phe Ile Ser Leu Gly Glu Ala Cys		
705	710	715 720
Lys Lys Val Phe Leu Asp Cys Cys Asn Tyr Ile Thr Glu Leu Arg Arg		
725	730	735
Gln His Ala Arg Ala Ser His Leu Gly Leu Ala Arg Ser Asn Leu Asp		

740	745	750
Glu Asp Ile Ile Ala Glu Glu Asn Ile Val Ser Arg Ser Glu Phe Pro		
755	760	765
Glu Ser Trp Leu Trp Asn Val Glu Asp Leu Lys Glu Pro Pro Lys Asn		
770	775	780
Gly Ile Ser Thr Lys Leu Met Asn Ile Phe Leu Lys Asp Ser Ile Thr		
785	790	795
Thr Trp Glu Ile Leu Ala Val Ser Met Ser Asp Lys Lys Gly Ile Cys		
805	810	815
Val Ala Asp Pro Phe Glu Val Thr Val Met Gln Asp Phe Phe Ile Asp		
820	825	830
Leu Arg Leu Pro Tyr Ser Val Val Arg Asn Glu Gln Val Glu Ile Arg		
835	840	845
Ala Val Leu Tyr Asn Tyr Arg Gln Asn Gln Glu Leu Lys Val Arg Val		
850	855	860
Glu Leu Leu His Asn Pro Ala Phe Cys Ser Leu Ala Thr Thr Lys Arg		
865	870	875
Arg His Gln Gln Thr Val Thr Ile Pro Pro Lys Ser Ser Leu Ser Val		
885	890	895
Pro Tyr Val Ile Val Pro Leu Lys Thr Gly Leu Gln Glu Val Glu Val		
900	905	910
Lys Ala Ala Val Tyr His His Phe Ile Ser Asp Gly Val Arg Lys Ser		
915	920	925
Leu Lys Val Val Pro Glu Gly Ile Arg Met Asn Lys Thr Val Ala Val		
930	935	940
Arg Thr Leu Asp Pro Glu Arg Leu Gly Arg Glu Gly Val Gln Lys Glu		
945	950	955
Asp Ile Pro Pro Ala Asp Leu Ser Asp Gln Val Pro Asp Thr Glu Ser		
965	970	975
Glu Thr Arg Ile Leu Leu Gln Gly Thr Pro Val Ala Gln Met Thr Glu		
980	985	990
Asp Ala Val Asp Ala Glu Arg Leu Lys His Leu Ile Val Thr Pro Ser		
995	1000	1005
Gly Cys Gly Glu Gln Asn Met Ile Gly Met Thr Pro Thr Val Ile		
1010	1015	1020
Ala Val His Tyr Leu Asp Glu Thr Glu Gln Trp Glu Lys Phe Gly		
1025	1030	1035
Leu Glu Lys Arg Gln Gly Ala Leu Glu Leu Ile Lys Lys Gly Tyr		
1040	1045	1050

Thr Gln Gln Leu Ala Phe Arg Gln Pro Ser Ser Ala Phe Ala Ala		
1055	1060	1065
Phe Val Lys Arg Ala Pro Ser Thr Trp Leu Thr Ala Tyr Val Val		
1070	1075	1080
Lys Val Phe Ser Leu Ala Val Asn Leu Ile Ala Ile Asp Ser Gln		
1085	1090	1095
Val Leu Cys Gly Ala Val Lys Trp Leu Ile Leu Glu Lys Gln Lys		
1100	1105	1110
Pro Asp Gly Val Phe Gln Glu Asp Ala Pro Val Ile His Gln Glu		
1115	1120	1125
Met Ile Gly Gly Leu Arg Asn Asn Asn Glu Lys Asp Met Ala Leu		
1130	1135	1140
Thr Ala Phe Val Leu Ile Ser Leu Gln Glu Ala Lys Asp Ile Cys		
1145	1150	1155
Glu Glu Gln Val Asn Ser Leu Pro Gly Ser Ile Thr Lys Ala Gly		
1160	1165	1170
Asp Phe Leu Glu Ala Asn Tyr Met Asn Leu Gln Arg Ser Tyr Thr		
1175	1180	1185
Val Ala Ile Ala Gly Tyr Ala Leu Ala Gln Met Gly Arg Leu Lys		
1190	1195	1200
Gly Pro Leu Leu Asn Lys Phe Leu Thr Thr Ala Lys Asp Lys Asn		
1205	1210	1215
Arg Trp Glu Asp Pro Gly Lys Gln Leu Tyr Asn Val Glu Ala Thr		
1220	1225	1230
Ser Tyr Ala Leu Leu Ala Leu Leu Gln Leu Lys Asp Phe Asp Phe		
1235	1240	1245
Val Pro Pro Val Val Arg Trp Leu Asn Glu Gln Arg Tyr Tyr Gly		
1250	1255	1260
Gly Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Ala Thr Phe Met Val Phe Gln Ala		
1265	1270	1275
Leu Ala Gln Tyr Gln Lys Asp Ala Pro Asp His Gln Glu Leu Asn		
1280	1285	1290
Leu Asp Val Ser Leu Gln Leu Pro Ser Arg Ser Ser Lys Ile Thr		
1295	1300	1305
His Arg Ile His Trp Glu Ser Ala Ser Leu Leu Arg Ser Glu Glu		
1310	1315	1320
Thr Lys Glu Asn Glu Gly Phe Thr Val Thr Ala Glu Gly Lys Gly		
1325	1330	1335
Gln Gly Thr Leu Ser Val Val Thr Met Tyr His Ala Lys Ala Lys		

1340	1345	1350
Asp Gln Leu Thr Cys Asn Lys Phe Asp Leu Lys Val Thr Ile Lys		
1355	1360	1365
Pro Ala Pro Glu Thr Glu Lys Arg Pro Gln Asp Ala Lys Asn Thr		
1370	1375	1380
Met Ile Leu Glu Ile Cys Thr Arg Tyr Arg Gly Asp Gln Asp Ala		
1385	1390	1395
Thr Met Ser Ile Leu Asp Ile Ser Met Met Thr Gly Phe Ala Pro		
1400	1405	1410
Asp Thr Asp Asp Leu Lys Gln Leu Ala Asn Gly Val Asp Arg Tyr		
1415	1420	1425
Ile Ser Lys Tyr Glu Leu Asp Lys Ala Phe Ser Asp Arg Asn Thr		
1430	1435	1440
Leu Ile Ile Tyr Leu Asp Lys Val Ser His Ser Glu Asp Asp Cys		
1445	1450	1455
Leu Ala Phe Lys Val His Gln Tyr Phe Asn Val Glu Leu Ile Gln		
1460	1465	1470
Pro Gly Ala Val Lys Val Tyr Ala Tyr Tyr Asn Leu Glu Glu Ser		
1475	1480	1485
Cys Thr Arg Phe Tyr His Pro Glu Lys Glu Asp Gly Lys Leu Asn		
1490	1495	1500
Lys Leu Cys Arg Asp Glu Leu Cys Arg Cys Ala Glu Glu Asn Cys		
1505	1510	1515
Phe Ile Gln Lys Ser Asp Asp Lys Val Thr Leu Glu Glu Arg Leu		
1520	1525	1530
Asp Lys Ala Cys Glu Pro Gly Val Asp Tyr Val Tyr Lys Thr Arg		
1535	1540	1545
Leu Val Lys Val Gln Leu Ser Asn Asp Phe Asp Glu Tyr Ile Met		
1550	1555	1560
Ala Ile Glu Gln Thr Ile Lys Ser Gly Ser Asp Glu Val Gln Val		
1565	1570	1575
Gly Gln Gln Arg Thr Phe Ile Ser Pro Ile Lys Cys Arg Glu Ala		
1580	1585	1590
Leu Lys Leu Glu Glu Lys Lys His Tyr Leu Met Trp Gly Leu Ser		
1595	1600	1605
Ser Asp Phe Trp Gly Glu Lys Pro Asn Leu Ser Tyr Ile Ile Gly		
1610	1615	1620
Lys Asp Thr Trp Val Glu His Trp Pro Glu Glu Asp Glu Cys Gln		
1625	1630	1635

Asp Glu Glu Asn Gln Lys Gln Cys Gln Asp Leu Gly Ala Phe Thr
 1640 1645 1650
 Glu Ser Met Val Val Phe Gly Cys Pro Asn
 1655 1660
 <210> 13
 <211> 645
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 13
 Ser Pro Met Tyr Ser Ile Ile Thr Pro Asn Ile Leu Arg Leu Glu Ser
 1 5 10 15
 Glu Glu Thr Met Val Leu Glu Ala His Asp Ala Gln Gly Asp Val Pro
 20 25 30
 Val Thr Val Thr Val His Asp Phe Pro Gly Lys Lys Leu Val Leu Ser
 35 40 45
 Ser Glu Lys Thr Val Leu Thr Pro Ala Thr Asn His Met Gly Asn Val
 50 55 60
 Thr Phe Thr Ile Pro Ala Asn Arg Glu Phe Lys Ser Glu Lys Gly Arg
 65 70 75 80
 Asn Lys Phe Val Thr Val Gln Ala Thr Phe Gly Thr Gln Val Val Glu
 85 90 95
 Lys Val Val Leu Val Ser Leu Gln Ser Gly Tyr Leu Phe Ile Gln Thr
 100 105 110
 Asp Lys Thr Ile Tyr Thr Pro Gly Ser Thr Val Leu Tyr Arg Ile Phe
 115 120 125
 Thr Val Asn His Lys Leu Leu Pro Val Gly Arg Thr Val Met Val Asn
 130 135 140
 Ile Glu Asn Pro Glu Gly Ile Pro Val Lys Gln Asp Ser Leu Ser Ser
 145 150 155 160
 Gln Asn Gln Leu Gly Val Leu Pro Leu Ser Trp Asp Ile Pro Glu Leu
 165 170 175
 Val Asn Met Gly Gln Trp Lys Ile Arg Ala Tyr Tyr Glu Asn Ser Pro
 180 185 190
 Gln Gln Val Phe Ser Thr Glu Phe Glu Val Lys Glu Tyr Val Leu Pro
 195 200 205
 Ser Phe Glu Val Ile Val Glu Pro Thr Glu Lys Phe Tyr Tyr Ile Tyr
 210 215 220
 Asn Glu Lys Gly Leu Glu Val Thr Ile Thr Ala Arg Phe Leu Tyr Gly
 225 230 235 240

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

545	550	555	560
Leu Lys Ile Glu Gly Asp His Gly Ala Arg Val Val Leu Val Ala Val			
	565	570	575
Asp Lys Gly Val Phe Val Leu Asn Lys Lys Asn Lys Leu Thr Gln Ser			
580	585	590	
Lys Ile Trp Asp Val Val Glu Lys Ala Asp Ile Gly Cys Thr Pro Gly			
595	600	605	
Ser Gly Lys Asp Tyr Ala Gly Val Phe Ser Asp Ala Gly Leu Thr Phe			
610	615	620	
Thr Ser Ser Ser Gly Gln Gln Thr Ala Gln Arg Ala Glu Leu Gln Cys			
625	630	635	640
Pro Gln Pro Ala Ala			
645			
<210> 14			
<211> 915			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 14			
Ser Asn Leu Asp Glu Asp Ile Ile Ala Glu Glu Asn Ile Val Ser Arg			
1	5	10	15
Ser Glu Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Asn Val Glu Asp Leu Lys Glu			
20	25	30	
Pro Pro Lys Asn Gly Ile Ser Thr Lys Leu Met Asn Ile Phe Leu Lys			
35	40	45	
Asp Ser Ile Thr Thr Trp Glu Ile Leu Ala Val Ser Met Ser Asp Lys			
50	55	60	
Lys Gly Ile Cys Val Ala Asp Pro Phe Glu Val Thr Val Met Gln Asp			
65	70	75	80
Phe Phe Ile Asp Leu Arg Leu Pro Tyr Ser Val Val Arg Asn Glu Gln			
85	90	95	
Val Glu Ile Arg Ala Val Leu Tyr Asn Tyr Arg Gln Asn Gln Glu Leu			
100	105	110	
Lys Val Arg Val Glu Leu Leu His Asn Pro Ala Phe Cys Ser Leu Ala			
115	120	125	
Thr Thr Lys Arg Arg His Gln Gln Thr Val Thr Ile Pro Pro Lys Ser			
130	135	140	
Ser Leu Ser Val Pro Tyr Val Ile Val Pro Leu Lys Thr Gly Leu Gln			
145	150	155	160
Glu Val Glu Val Lys Ala Ala Val Tyr His His Phe Ile Ser Asp Gly			

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

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

785	790	795	800
Leu Val Lys Val Gln Leu Ser Asn Asp Phe Asp Glu Tyr Ile Met Ala			
	805	810	815
Ile Glu Gln Thr Ile Lys Ser Gly Ser Asp Glu Val Gln Val Gly Gln			
	820	825	830
Gln Arg Thr Phe Ile Ser Pro Ile Lys Cys Arg Glu Ala Leu Lys Leu			
	835	840	845
Glu Glu Lys Lys His Tyr Leu Met Trp Gly Leu Ser Ser Asp Phe Trp			
	850	855	860
Gly Glu Lys Pro Asn Leu Ser Tyr Ile Ile Gly Lys Asp Thr Trp Val			
865	870	875	880
Glu His Trp Pro Glu Glu Asp Glu Cys Gln Asp Glu Glu Asn Gln Lys			
	885	890	895
Gln Cys Gln Asp Leu Gly Ala Phe Thr Glu Ser Met Val Val Phe Gly			
	900	905	910
Cys Pro Asn			
	915		
<210> 15			
<211> 77			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 15			
Ser Val Gln Leu Thr Glu Lys Arg Met Asp Lys Val Gly Lys Tyr Pro			
1	5	10	15
Lys Glu Leu Arg Lys Cys Cys Glu Asp Gly Met Arg Glu Asn Pro Met			
	20	25	30
Arg Phe Ser Cys Gln Arg Arg Thr Arg Phe Ile Ser Leu Gly Glu Ala			
	35	40	45
Cys Lys Lys Val Phe Leu Asp Cys Cys Asn Tyr Ile Thr Glu Leu Arg			
	50	55	60
Arg Gln His Ala Arg Ala Ser His Leu Gly Leu Ala Arg			
65	70	75	
<210> 16			
<211> 915			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 16			
Ser Asn Leu Asp Glu Asp Ile Ile Ala Glu Glu Asn Ile Val Ser Arg			
1	5	10	15

Ser	Glu	Phe	Pro	Glu	Ser	Trp	Leu	Trp	Asn	Val	Glu	Asp	Leu	Lys	Glu				
20					25					30									
Pro	Pro	Lys	Asn	Gly	Ile	Ser	Thr	Lys	Leu	Met	Asn	Ile	Phe	Leu	Lys				
35					40					45									
Asp	Ser	Ile	Thr	Thr	Trp	Glu	Ile	Leu	Ala	Val	Ser	Met	Ser	Asp	Lys				
50					55					60									
Lys	Gly	Ile	Cys	Val	Ala	Asp	Pro	Phe	Glu	Val	Thr	Val	Met	Gln	Asp				
65					70					75					80				
Phe	Phe	Ile	Asp	Leu	Arg	Leu	Pro	Tyr	Ser	Val	Val	Arg	Asn	Glu	Gln				
85					90					95									
Val	Glu	Ile	Arg	Ala	Val	Leu	Tyr	Asn	Tyr	Arg	Gln	Asn	Gln	Glu	Leu				
100					105					110									
Lys	Val	Arg	Val	Glu	Leu	Leu	His	Asn	Pro	Ala	Phe	Cys	Ser	Leu	Ala				
115					120					125									
Thr	Thr	Lys	Arg	Arg	His	Gln	Gln	Thr	Val	Thr	Ile	Pro	Pro	Lys	Ser				
130					135					140									
Ser	Leu	Ser	Val	Pro	Tyr	Val	Ile	Val	Pro	Leu	Lys	Thr	Gly	Leu	Gln				
145					150					155					160				
Glu	Val	Glu	Val	Lys	Ala	Ala	Val	Tyr	His	His	Phe	Ile	Ser	Asp	Gly				
165					170					175									
Val	Arg	Lys	Ser	Leu	Lys	Val	Val	Pro	Glu	Gly	Ile	Arg	Met	Asn	Lys				
180					185					190									
Thr	Val	Ala	Val	Arg	Thr	Leu	Asp	Pro	Glu	Arg	Leu	Gly	Arg	Glu	Gly				
195					200					205									
Val	Gln	Lys	Glu	Asp	Ile	Pro	Pro	Ala	Asp	Leu	Ser	Asp	Gln	Val	Pro				
210					215					220									
Asp	Thr	Glu	Ser	Glu	Thr	Arg	Ile	Leu	Leu	Gln	Gly	Thr	Pro	Val	Ala				
225					230					235					240				
Gln	Met	Thr	Glu	Asp	Ala	Val	Asp	Ala	Glu	Arg	Leu	Lys	His	Leu	Ile				
245					250					255									
Val	Thr	Pro	Ser	Gly	Cys	Gly	Glu	Gln	Asn	Met	Ile	Gly	Met	Thr	Pro				
260					265					270									
Thr	Val	Ile	Ala	Val	His	Tyr	Leu	Asp	Glu	Thr	Glu	Gln	Trp	Glu	Lys				
275					280					285									
Phe	Gly	Leu	Glu	Lys	Arg	Gln	Gly	Ala	Leu	Glu	Leu	Ile	Lys	Lys	Gly				
290					295					300									
Tyr	Thr	Gln	Gln	Leu	Ala	Phe	Arg	Gln	Pro	Ser	Ser	Ala	Phe	Ala	Ala				
305					310					315					320				
Phe	Val	Lys	Arg	Ala	Pro	Ser	Thr	Trp	Leu	Thr	Ala	Tyr	Val	Val	Lys				

	325		330		335
Val Phe Ser Leu Ala Val Asn Leu Ile Ala Ile Asp Ser Gln Val Leu					
	340		345		350
Cys Gly Ala Val Lys Trp Leu Ile Leu Glu Lys Gln Lys Pro Asp Gly					
	355		360		365
Val Phe Gln Glu Asp Ala Pro Val Ile His Gln Glu Met Ile Gly Gly					
	370		375		380
Leu Arg Asn Asn Asn Glu Lys Asp Met Ala Leu Thr Ala Phe Val Leu					
385		390		395	400
Ile Ser Leu Gln Glu Ala Lys Asp Ile Cys Glu Glu Gln Val Asn Ser					
	405		410		415
Leu Pro Gly Ser Ile Thr Lys Ala Gly Asp Phe Leu Glu Ala Asn Tyr					
	420		425		430
Met Asn Leu Gln Arg Ser Tyr Thr Val Ala Ile Ala Gly Tyr Ala Leu					
	435		440		445
Ala Gln Met Gly Arg Leu Lys Gly Pro Leu Leu Asn Lys Phe Leu Thr					
	450		455		460
Thr Ala Lys Asp Lys Asn Arg Trp Glu Asp Pro Gly Lys Gln Leu Tyr					
465		470		475	480
Asn Val Glu Ala Thr Ser Tyr Ala Leu Leu Ala Leu Leu Gln Leu Lys					
	485		490		495
Asp Phe Asp Phe Val Pro Pro Val Val Arg Trp Leu Asn Glu Gln Arg					
	500		505		510
Tyr Tyr Gly Gly Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Ala Thr Phe Met Val Phe					
	515		520		525
Gln Ala Leu Ala Gln Tyr Gln Lys Asp Ala Pro Asp His Gln Glu Leu					
	530		535		540
Asn Leu Asp Val Ser Leu Gln Leu Pro Ser Arg Ser Ser Lys Ile Thr					
545		550		555	560
His Arg Ile His Trp Glu Ser Ala Ser Leu Leu Arg Ser Glu Glu Thr					
	565		570		575
Lys Glu Asn Glu Gly Phe Thr Val Thr Ala Glu Gly Lys Gly Gln Gly					
	580		585		590
Thr Leu Ser Val Val Thr Met Tyr His Ala Lys Ala Lys Asp Gln Leu					
	595		600		605
Thr Cys Asn Lys Phe Asp Leu Lys Val Thr Ile Lys Pro Ala Pro Glu					
	610		615		620
Thr Glu Lys Arg Pro Gln Asp Ala Lys Asn Thr Met Ile Leu Glu Ile					
625		630		635	640

Cys Thr Arg Tyr Arg Gly Asp Gln Asp Ala Thr Met Ser Ile Leu Asp		
645	650	655
Ile Ser Met Met Thr Gly Phe Ala Pro Asp Thr Asp Asp Leu Lys Gln		
660	665	670
Leu Ala Asn Gly Val Asp Arg Tyr Ile Ser Lys Tyr Glu Leu Asp Lys		
675	680	685
Ala Phe Ser Asp Arg Asn Thr Leu Ile Ile Tyr Leu Asp Lys Val Ser		
690	695	700
His Ser Glu Asp Asp Cys Leu Ala Phe Lys Val His Gln Tyr Phe Asn		
705	710	715
Val Glu Leu Ile Gln Pro Gly Ala Val Lys Val Tyr Ala Tyr Tyr Asn		
725	730	735
Leu Glu Glu Ser Cys Thr Arg Phe Tyr His Pro Glu Lys Glu Asp Gly		
740	745	750
Lys Leu Asn Lys Leu Cys Arg Asp Glu Leu Cys Arg Cys Ala Glu Glu		
755	760	765
Asn Cys Phe Ile Gln Lys Ser Asp Asp Lys Val Thr Leu Glu Glu Arg		
770	775	780
Leu Asp Lys Ala Cys Glu Pro Gly Val Asp Tyr Val Tyr Lys Thr Arg		
785	790	795
Leu Val Lys Val Gln Leu Ser Asn Asp Phe Asp Glu Tyr Ile Met Ala		
805	810	815
Ile Glu Gln Thr Ile Lys Ser Gly Ser Asp Glu Val Gln Val Gly Gln		
820	825	830
Gln Arg Thr Phe Ile Ser Pro Ile Lys Cys Arg Glu Ala Leu Lys Leu		
835	840	845
Glu Glu Lys Lys His Tyr Leu Met Trp Gly Leu Ser Ser Asp Phe Trp		
850	855	860
Gly Glu Lys Pro Asn Leu Ser Tyr Ile Ile Gly Lys Asp Thr Trp Val		
865	870	875
Glu His Trp Pro Glu Glu Asp Glu Cys Gln Asp Glu Glu Asn Gln Lys		
885	890	895
Gln Cys Gln Asp Leu Gly Ala Phe Thr Glu Ser Met Val Val Phe Gly		
900	905	910
Cys Pro Asn		
915		
<210> 17		
<211> 343		
<212> PRT		

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 17

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

290	295	300
Asp Thr Trp Val Glu His Trp Pro Glu Glu Asp Glu Cys Gln Asp Glu		
305	310	315
Glu Asn Gln Lys Gln Cys Gln Asp Leu Gly Ala Phe Thr Glu Ser Met		320
	325	330
Val Val Phe Gly Cys Pro Asn		335
340		
<210> 18		
<211> 17		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 18		
Ser Ser Lys Ile Thr His Arg Ile His Trp Glu Ser Ala Ser Leu Leu		
1	5	10
Arg		15
<210> 19		
<211> 206		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 19		
Ser Asn Leu Asp Glu Asp Ile Ile Ala Glu Glu Asn Ile Val Ser Arg		
1	5	10
Ser Glu Phe Pro Glu Ser Trp Leu Trp Asn Val Glu Asp Leu Lys Glu		15
	20	25
Pro Pro Lys Asn Gly Ile Ser Thr Lys Leu Met Asn Ile Phe Leu Lys		30
	35	40
Asp Ser Ile Thr Thr Trp Glu Ile Leu Ala Val Ser Met Ser Asp Lys		45
	50	55
Lys Gly Ile Cys Val Ala Asp Pro Phe Glu Val Thr Val Met Gln Asp		60
65	70	75
Phe Phe Ile Asp Leu Arg Leu Pro Tyr Ser Val Val Arg Asn Glu Gln		80
	85	90
Val Glu Ile Arg Ala Val Leu Tyr Asn Tyr Arg Gln Asn Gln Glu Leu		95
	100	105
Lys Val Arg Val Glu Leu Leu His Asn Pro Ala Phe Cys Ser Leu Ala		110
	115	120
Thr Thr Lys Arg Arg His Gln Gln Thr Val Thr Ile Pro Pro Lys Ser		125
	130	135
Ser Leu Ser Val Pro Tyr Val Ile Val Pro Leu Lys Thr Gly Leu Gln		140

145	150	155	160
Glu Val Glu Val Lys Ala Ala Val Tyr His His Phe Ile Ser Asp Gly			
	165	170	175
Val Arg Lys Ser Leu Lys Val Val Pro Glu Gly Ile Arg Met Asn Lys			
	180	185	190
Thr Val Ala Val Arg Thr Leu Asp Pro Glu Arg Leu Gly Arg			
	195	200	205

<210> 20

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 20

Val Thr Tyr Lys Cys Phe Glu

1 5

<210> 21

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 21

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

1 5 10 15

<210> 22

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 22

Ala Thr Phe Cys Asp Phe Pro Lys Ile Asn His Gly Ile Leu Tyr Asp

1 5 10 15

Glu Glu

<210> 23

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 23

Arg Gly Trp Ser Thr Pro Pro Lys Cys Arg Ser Thr Ile Ser Ala Glu

1 5 10 15

<210> 24

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 24

Ala Met Phe Cys Asp Phe Pro Lys Ile Asn His Gly Ile Leu Tyr Asp

1 5 10 15

Glu Glu

<210> 25

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 25

Val Ala Cys His Pro Gly Tyr Gly Leu Pro Lys Ala Gln Thr Thr Val

1 5 10 15

Thr Cys Thr Glu

20

<210> 26

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 26

Tyr Gln Cys Gln Ser Tyr Tyr Glu

1 5

<210> 27

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 27

Arg Gly Trp Ser Thr Pro Pro Ile Cys Ser Phe Thr Lys Gly Glu

1 5 10 15

<210> 28

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 28

Gly Thr Ala Phe Val Ile Phe Gly Ile Gln Asp Gly Glu

1 5 10

<210> 29

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 29

Leu Arg Arg Gln His Ala Arg Ala Ser His Leu Gly Leu Ala Arg Ser

1 5 10 15

Asn Leu Asp Glu

20

<210> 30

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 30

Leu Arg Arg Gln His Ala Arg Ala Ser His Leu Gly Leu Ala Arg

1 5 10 15

<210> 31

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 31

Leu Asn Leu Asp Val Ser Leu Gln Leu Pro Ser Arg Ser Ser Lys Ile

1 5 10 15

Thr His Arg Ile His Trp Glu

20

<210> 32

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 32

Leu Asn Leu Asp Val Ser Leu Gln Leu Pro Ser Arg

1 5 10

<210> 33

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 33

Arg Leu Gly Arg Glu

1 5

<210> 34

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 34

Ser Ser Lys Ile Thr His Arg Ile His Trp Glu

1 5 10

<210> 35

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 35

Ser Ala Ser Leu Leu Arg

1 5

<210> 36

<211> 4

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 36

Arg Leu Gly Arg

1

<210> 37

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 37

His Leu Ile Val Thr Pro Ser Gly Cys Gly Glu

1 5 10

<210> 38

<211> 39

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 38

Cys Ala Gly Thr Tyr Asp Gly Ser Ile Asp Ala Cys Lys Gly Asp Ser

1 5 10 15

Gly Gly Pro Leu Val Cys Met Asp Ala Asn Asn Val Thr Tyr Val Trp

20 25 30

Gly Val Val Ser Trp Gly Glu

35

<210> 39

<211> 36

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 39

Gly Thr Cys Val Cys Lys Leu Pro Tyr Gln Cys Pro Lys Asn Gly Thr
1 5 10 15
Ala Val Cys Ala Thr Asn Arg Arg Ser Phe Pro Thr Tyr Cys Gln Gln
20 25 30
Lys Ser Leu Glu
35

<210> 40

<211> 29

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 40

Phe Pro Gly Val Tyr Thr Lys Val Ala Asn Tyr Phe Asp Trp Ile Ser
1 5 10 15
Tyr His Val Gly Arg Pro Phe Ile Ser Gln Tyr Asn Val
20 25

<210> 41

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 41

Ala Asn Val Ala Cys Leu Asp Leu Gly Phe Gln Gln Gly Ala Asp Thr
1 5 10 15
Gln Arg Arg Phe Lys Leu Ser Asp Leu Ser Ile Asn Ser Thr Glu
20 25 30

<210> 42

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 42

Leu Pro Arg Ser Ile Pro Ala Cys Val Pro Trp Ser Pro Tyr Leu Phe
1 5 10 15
Gln Pro Asn Asp Thr Cys Ile Val Ser Gly Trp Gly Arg Glu
20 25 30

<210> 43

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 43

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

Phe Cys Gln Pro Trp Gln Arg Cys Ile Glu
 20 25

<210> 44

<211> 28

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 44

Leu Cys Cys Lys Ala Cys Gln Gly Lys Gly Phe His Cys Lys Ser Gly
 1 5 10 15

Val Cys Ile Pro Ser Gln Tyr Gln Cys Asn Gly Glu
 20 25

<210> 45

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 45

Val Lys Leu Val Asp Gln Asp Lys Thr Met Phe Ile Cys Lys Ser Ser
 1 5 10 15

Trp Ser Met Arg Glu
 20

<210> 46

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 46

Val Lys Leu Ile Ser Asn Cys Ser Lys Phe Tyr Gly Asn Arg Phe Tyr
 1 5 10 15

Glu

<210> 47

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 47

Cys Leu His Pro Gly Thr Lys Phe Leu Asn Asn Gly Thr Cys Thr Ala
 1 5 10 15

Glu

<210> 48

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 48

Asn Tyr Asn Ala Gly Thr Tyr Gln Asn Asp Ile Ala Leu Ile Glu

1 5 10 15

<210> 49

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 49

Gly Lys Phe Ser Val Ser Leu Lys His Gly Asn Thr Asp Ser Glu

1 5 10 15

<210> 50

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 50

Val Gly Cys Ala Gly Phe Ala Ser Val Thr Gln Glu Glu

1 5 10

<210> 51

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 51

Met Lys Lys Asp Gly Asn Lys Lys Asp Cys Glu

1 5 10

<210> 52

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 52

Tyr Val Asp Arg Ile Ile Phe His Glu

1 5

<210> 53

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 53

Cys Leu His Val His Cys Arg Gly Leu Glu

1 5 10

<210> 54

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 54

Arg Val Phe Ser Leu Gln Trp Gly Glu

1 5

<210> 55

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 55

Ile Leu Thr Ala Asp Met Asp Ala Glu

1 5

<210> 56

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 56

Lys Val Thr Tyr Thr Ser Gln Glu

1 5

<210> 57

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 57

Val Asp Cys Ile Thr Gly Glu

1 5

<210> 58

<211> 6

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 58

Asn Cys Gly Lys Pro Glu

1 5

<210> 59

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 59

Thr Ser Leu Ala Glu

1 5

<210> 60

<211> 4

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 60

Lys Asp Asn Glu

1

<210> 61

<211> 61

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 61

Ala Lys Ile Arg Tyr Tyr Thr Tyr Leu Ile Met Asn Lys Gly Arg Leu

1 5 10 15

Leu Lys Ala Gly Arg Gln Val Arg Glu Pro Gly Gln Asp Leu Val Val

20 25 30

Leu Pro Leu Ser Ile Thr Thr Asp Phe Ile Pro Ser Phe Arg Leu Val

35 40 45

Ala Tyr Tyr Thr Leu Ile Gly Ala Ser Gly Gln Arg Glu

50 55 60

<210> 62

<211> 52

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 62

Arg Ser Gly Ile Pro Ile Val Thr Ser Pro Tyr Gln Ile His Phe Thr

1 5 10 15

Lys Thr Pro Lys Tyr Phe Lys Pro Gly Met Pro Phe Asp Leu Met Val

20 25 30

Phe Val Thr Asn Pro Asp Gly Ser Pro Ala Tyr Arg Val Pro Val Ala

35 40 45

Val Gln Gly Glu

50

<210> 63

<211> 50

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 63

```
Lys Val Val Leu Val Ser Leu Gln Ser Gly Tyr Leu Phe Ile Gln Thr
1           5           10           15
Asp Lys Thr Ile Tyr Thr Pro Gly Ser Thr Val Leu Tyr Arg Ile Phe
           20           25           30
Thr Val Asn His Lys Leu Leu Pro Val Gly Arg Thr Val Met Val Asn
           35           40           45
Ile Glu
           50
```

<210> 64

<211> 36

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 64

```
Asp Thr Val Gln Ser Leu Thr Gln Gly Asp Gly Val Ala Lys Leu Ser
1           5           10           15
Ile Asn Thr His Pro Ser Gln Lys Pro Leu Ser Ile Thr Val Arg Thr
           20           25           30
Lys Lys Gln Glu
           35
```

<210> 65

<211> 35

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 65

```
Gly Asp His Gly Ala Arg Val Val Leu Val Ala Val Asp Lys Gly Val
1           5           10           15
Phe Val Leu Asn Lys Lys Asn Lys Leu Thr Gln Ser Lys Ile Trp Asp
           20           25           30
Val Val Glu
           35
```

<210> 66

<211> 38

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 66

Lys Ala Asp Ile Gly Cys Thr Pro Gly Ser Gly Lys Asp Tyr Ala Gly
 1 5 10 15
 Val Phe Ser Asp Ala Gly Leu Thr Phe Thr Ser Ser Ser Gly Gln Gln
 20 25 30
 Thr Ala Gln Arg Ala Glu
 35

<210> 67

<211> 29

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 67

Gln Ala Thr Arg Thr Met Gln Ala Leu Pro Tyr Ser Thr Val Gly Asn
 1 5 10 15
 Ser Asn Asn Tyr Leu His Leu Ser Val Leu Arg Thr Glu
 20 25

<210> 68

<211> 27

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 68

Ala His Asp Ala Gln Gly Asp Val Pro Val Thr Val Thr Val His Asp
 1 5 10 15
 Phe Pro Gly Lys Lys Leu Val Leu Ser Ser Glu
 20 25

<210> 69

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 69

Gly Ile Pro Val Lys Gln Asp Ser Leu Ser Ser Gln Asn Gln Leu Gly
 1 5 10 15
 Val Leu Pro Leu Ser Trp Asp Ile Pro Glu
 20 25

<210> 70

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 70

Val Val Ala Asp Ser Val Trp Val Asp Val Lys Asp Ser Cys Val Gly

1	5	10	15
Ser Leu Val Val Lys Ser Gly Gln Ser Glu			
20	25		
<210> 71			
<211> 25			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 71			
Asp Leu Val Gly Lys Ser Leu Tyr Val Ser Ala Thr Val Ile Leu His			
1	5	10	15
Ser Gly Ser Asp Met Val Gln Ala Glu			
20	25		
<210> 72			
<211> 23			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 72			
Lys Thr Val Leu Thr Pro Ala Thr Asn His Met Gly Asn Val Thr Phe			
1	5	10	15
Thr Ile Pro Ala Asn Arg Glu			
20			
<210> 73			
<211> 19			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 73			
Lys Gly Arg Asn Lys Phe Val Thr Val Gln Ala Thr Phe Gly Thr Gln			
1	5	10	15
Val Val Glu			
<210> 74			
<211> 18			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 74			
Val Val Leu Ser Arg Lys Val Leu Leu Asp Gly Val Gln Asn Pro Arg			
1	5	10	15
Ala Glu			
<210> 75			
<211> 15			

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 75

Thr Leu Asn Val Asn Phe Leu Leu Arg Met Asp Arg Ala His Glu

1 5 10 15

<210> 76

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 76

Leu Val Asn Met Gly Gln Trp Lys Ile Arg Ala Tyr Tyr Glu

1 5 10

<210> 77

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 77

Ser Pro Met Tyr Ser Ile Ile Thr Pro Asn Ile Leu Arg Leu Glu

1 5 10 15

<210> 78

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 78

Asp Arg Gln Pro Val Pro Gly Gln Gln Met Thr Leu Lys Ile Glu

1 5 10 15

<210> 79

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 79

Val Thr Ile Thr Ala Arg Phe Leu Tyr Gly Lys Lys Val Glu

1 5 10

<210> 80

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 80

Gly Thr Ala Phe Val Ile Phe Gly Ile Gln Asp Gly Glu

1	5	10
---	---	----

<210> 81
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 81
Lys Phe Tyr Tyr Ile Tyr Asn Glu
1 5
<210> 82
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 82
Asn Ser Pro Gln Gln Val Phe Ser Thr Glu
1 5 10
<210> 83
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 83
Ser Leu Lys Arg Ile Pro Ile Glu
1 5
<210> 84
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 84
Tyr Val Leu Pro Ser Phe Glu
1 5
<210> 85
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 85
Gln Arg Ile Ser Leu Pro Glu
1 5
<210> 86
<211> 8
<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 86

Leu Gln Cys Pro Gln Pro Ala Ala

1 5

<210> 87

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 87

Val Ile Val Glu Pro Thr Glu

1 5

<210> 88

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 88

Thr Met Val Leu Glu

1 5

<210> 89

<211> 5

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 89

Leu Arg Pro Gly Glu

1 5

<210> 90

<211> 4

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 90

Phe Lys Ser Glu

1

<210> 91

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 91

Asn Tyr Asn Ile Ala Leu Arg Trp Thr Ala Lys Gln Lys Leu Tyr Leu

1 5 10 15

Arg Thr Gly Glu

20

<210> 92

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 92

Tyr Asn Phe Val Ser Pro Ser Lys Ser Phe Trp Thr Arg Ile Thr Cys

1 5 10 15

Ala Glu Glu

<210> 93

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 93

Lys Gly Trp Ser Pro Thr Pro Arg Cys Ile Arg Val Arg Thr Cys Ser

1 5 10 15

Lys Ser Asp Ile Glu

20

<210> 94

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 94

Asn Gly Tyr Asn Gln Asn Tyr Gly Arg Lys Phe Val Gln Gly Asn Ser

1 5 10 15

Thr Glu

<210> 95

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 95

Gln Val Lys Pro Cys Asp Phe Pro Asp Ile Lys His Gly Gly Leu Phe

1 5 10 15

His Glu

<210> 96

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 96

Phe Met Cys Lys Leu Gly Tyr Asn Ala Asn Thr Ser Ile Leu Ser Phe

1 5 10 15

Gln Ala Val Cys Arg Glu

20

<210> 97

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 97

Tyr Gln Cys Gln Pro Tyr Tyr Glu

1 5

<210> 98

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 98

Asn Ser Arg Ala Lys Ser Asn Gly Met Arg Phe Lys Leu His Asp Thr

1 5 10 15

Leu Asp Tyr Glu

20

<210> 99

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 99

Asp Gly Trp Ser His Phe Pro Thr Cys Tyr Asn Ser Ser Glu

1 5 10

<210> 100

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 100

Ile Ser Tyr Gly Asn Thr Thr Gly Ser Ile Val Cys Gly Glu

1 5 10

<210> 101

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 101

Phe Met Cys Lys Leu Gly Tyr Asn Ala Asn Thr Ser Val Leu Ser Phe

1 5 10 15

Gln Ala Val Cys Arg Glu

20

<210> 102

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 102

Gly Thr Leu Cys Asp Phe Pro Lys Ile His His Gly Phe Leu Tyr Asp

1 5 10 15

Glu Glu

<210> 103

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 103

Tyr Ala Met Ile Gly Asn Asn Met Ile Thr Cys Ile Asn Gly Ile Trp

1 5 10 15

Thr Glu

<210> 104

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 104

Tyr Gly Tyr Val Gln Pro Ser Val Pro Pro Tyr Gln His Gly Val Ser

1 5 10 15

Val Glu

<210> 105

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 105

Gly Asp Thr Val Gln Ile Ile Cys Asn Thr Gly Tyr Ser Leu Gln Asn

1 5 10 15

Asn Glu

<210> 106

<211> 16

<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 106
Ile Val Cys Lys Asp Gly Arg Trp Gln Ser Leu Pro Arg Cys Val Glu
1 5 10 15
<210> 107
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 107
Asp Tyr Asn Pro Phe Ser Gln Val Pro Thr Gly Glu
1 5 10
<210> 108
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 108
Gln Val Lys Thr Cys Gly Tyr Ile Pro Glu
1 5 10
<210> 109
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 109
Ala Asn Val Asp Ala Gln Pro Lys Lys Glu
1 5 10
<210> 110
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 110
Trp Thr Thr Leu Pro Thr Cys Val Glu
1 5
<210> 111
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 111
Lys Val Ala Val Leu Cys Lys Glu

1 5
<210> 112
<211> 25
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 112
Ser Asn Thr Gly Ser Thr Thr Gly Ser Ile Val Cys Gly Tyr Asn Gly
1 5 10 15
Trp Ser Asp Leu Pro Ile Cys Tyr Glu
20 25
<210> 113
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 113
Asn Gly Trp Ser Pro Thr Pro Arg Cys Ile Arg Val Lys Thr Cys Ser
1 5 10 15
Lys Ser Ser Ile Asp Ile Glu
20
<210> 114
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 114
Leu Pro Lys Ile Asp Val His Leu Val Pro Asp Arg Lys Lys Asp Gln
1 5 10 15
Tyr Lys Val Gly Glu
20
<210> 115
<211> 21
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 115
Tyr Tyr Cys Asn Pro Arg Phe Leu Met Lys Gly Pro Asn Lys Ile Gln
1 5 10 15
Cys Val Asp Gly Glu
20
<210> 116
<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 116

Asn Tyr Asn Ile Ala Leu Arg Trp Thr Ala Lys Gln Lys Leu Tyr Ser

1 5 10 15

Arg Thr Gly Glu

20

<210> 117

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 117

Lys Trp Ser His Pro Pro Ser Cys Ile Lys Thr Asp Cys Leu Ser Leu

1 5 10 15

Pro Ser Phe Glu

20

<210> 118

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 118

His Gly Trp Ala Gln Leu Ser Ser Pro Pro Tyr Tyr Tyr Gly Asp Ser

1 5 10 15

Val Glu

<210> 119

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 119

Ile Ser His Gly Val Val Ala His Met Ser Asp Ser Tyr Gln Tyr Gly

1 5 10 15

Glu Glu

<210> 120

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 120

Phe Asp His Asn Ser Asn Ile Arg Tyr Arg Cys Arg Gly Lys Glu

1 5 10 15

<210> 121

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 121

Ile Thr Cys Lys Asp Gly Arg Trp Gln Ser Ile Pro Leu Cys Val Glu

1 5 10 15

<210> 122

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 122

Gly Trp Ile His Thr Val Cys Ile Asn Gly Arg Trp Asp Pro Glu

1 5 10 15

<210> 123

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 123

Lys Ala Lys Tyr Gln Cys Lys Leu Gly Tyr Val Thr Ala Asp Gly Glu

1 5 10 15

<210> 124

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 124

Thr Thr Cys Tyr Met Gly Lys Trp Ser Ser Pro Pro Gln Cys Glu

1 5 10 15

<210> 125

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 125

Ser Tyr Ala His Gly Thr Lys Leu Ser Tyr Thr Cys Glu

1 5 10

<210> 126

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 126

Arg Val Arg Tyr Gln Cys Arg Ser Pro Tyr Glu

1 5 10

<210> 127

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 127

Gly Phe Gly Ile Asp Gly Pro Ala Ile Ala Lys Cys Leu Gly Glu

1 5 10 15

<210> 128

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 128

His Gly Thr Ile Asn Ser Ser Arg Ser Ser Gln Glu

1 5 10

<210> 129

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 129

Tyr Gln Cys Gln Asn Leu Tyr Gln Leu Glu

1 5 10

<210> 130

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 130

Trp Thr Thr Leu Pro Val Cys Ile Val Glu Glu

1 5 10

<210> 131

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 131

Lys Ile Pro Cys Ser Gln Pro Pro Gln Ile Glu

1 5 10

<210> 132

<211> 9
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 132
Ser Gln Tyr Thr Tyr Ala Leu Lys Glu
1 5
<210> 133
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 133
Gln Val Gln Ser Cys Gly Pro Pro Pro Glu
1 5 10
<210> 134
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 134
Lys Lys Asp Val Tyr Lys Ala Gly Glu
1 5
<210> 135
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 135
Gly Leu Pro Cys Lys Ser Pro Pro Glu
1 5
<210> 136
<211> 8
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 136
Lys Val Ser Val Leu Cys Gln Glu
1 5
<210> 137
<211> 7
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 137

His Leu Lys Asn Lys Lys Glu

1 5

<210> 138

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 138

Gly Gly Phe Arg Ile Ser Glu Glu

1 5

<210> 139

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 139

Leu Leu Asn Gly Asn Val Lys Glu

1 5

<210> 140

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 140

Tyr Pro Thr Cys Ala Lys Arg

1 5

<210> 141

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 141

Ser Thr Cys Gly Asp Ile Pro Glu

1 5

<210> 142

<211> 349

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 142

Glu Gly Val Gln Lys Glu Asp Ile Pro Pro Ala Asp Leu Ser Asp Gln

1 5 10 15

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

20 25 30

Val	Ala	Gln	Met	Thr	Glu	Asp	Ala	Val	Asp	Ala	Glu	Arg	Leu	Lys	His	
35				40				45								
Leu	Ile	Val	Thr	Pro	Ser	Gly	Cys	Gly	Glu	Gln	Asn	Met	Ile	Gly	Met	
50				55				60								
Thr	Pro	Thr	Val	Ile	Ala	Val	His	Tyr	Leu	Asp	Glu	Thr	Glu	Gln	Trp	
65				70				75				80				
Glu	Lys	Phe	Gly	Leu	Glu	Lys	Arg	Gln	Gly	Ala	Leu	Glu	Leu	Ile	Lys	
85				90				95								
Lys	Gly	Tyr	Thr	Gln	Gln	Leu	Ala	Phe	Arg	Gln	Pro	Ser	Ser	Ala	Phe	
100				105				110								
Ala	Ala	Phe	Val	Lys	Arg	Ala	Pro	Ser	Thr	Trp	Leu	Thr	Ala	Tyr	Val	
115				120				125								
Val	Lys	Val	Phe	Ser	Leu	Ala	Val	Asn	Leu	Ile	Ala	Ile	Asp	Ser	Gln	
130				135				140								
Val	Leu	Cys	Gly	Ala	Val	Lys	Trp	Leu	Ile	Leu	Glu	Lys	Gln	Lys	Pro	
145				150				155				160				
Asp	Gly	Val	Phe	Gln	Glu	Asp	Ala	Pro	Val	Ile	His	Gln	Glu	Met	Ile	
165				170				175								
Gly	Gly	Leu	Arg	Asn	Asn	Asn	Glu	Lys	Asp	Met	Ala	Leu	Thr	Ala	Phe	
180				185				190								
Val	Leu	Ile	Ser	Leu	Gln	Glu	Ala	Lys	Asp	Ile	Cys	Glu	Glu	Gln	Val	
195				200				205								
Asn	Ser	Leu	Pro	Gly	Ser	Ile	Thr	Lys	Ala	Gly	Asp	Phe	Leu	Glu	Ala	
210				215				220								
Asn	Tyr	Met	Asn	Leu	Gln	Arg	Ser	Tyr	Thr	Val	Ala	Ile	Ala	Gly	Tyr	
225				230				235				240				
Ala	Leu	Ala	Gln	Met	Gly	Arg	Leu	Lys	Gly	Pro	Leu	Leu	Asn	Lys	Phe	
245				250				255								
Leu	Thr	Thr	Ala	Lys	Asp	Lys	Asn	Arg	Trp	Glu	Asp	Pro	Gly	Lys	Gln	
260				265				270								
Leu	Tyr	Asn	Val	Glu	Ala	Thr	Ser	Tyr	Ala	Leu	Leu	Ala	Leu	Leu	Gln	
275				280				285								
Leu	Lys	Asp	Phe	Asp	Phe	Val	Pro	Pro	Val	Val	Arg	Trp	Leu	Asn	Glu	
290				295				300								
Gln	Arg	Tyr	Tyr	Gly	Gly	Gly	Tyr	Gly	Ser	Thr	Gln	Ala	Thr	Phe	Met	
305				310				315				320				
Val	Phe	Gln	Ala	Leu	Ala	Gln	Tyr	Gln	Lys	Asp	Ala	Pro	Asp	His	Gln	
325				330				335								
Glu	Leu	Asn	Leu	Asp	Val	Ser	Leu	Gln	Leu	Pro	Ser	Arg				

340	345
<210> 143	
<211> 47	
<212> PRT	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 143	
Glu Gly Val Gln Lys Glu Asp Ile Pro Pro Ala Asp Leu Ser Asp Gln	
1 5 10 15	
Val Pro Asp Thr Glu Ser Glu Thr Arg Ile Leu Leu Gln Gly Thr Pro	
20 25 30	
Val Ala Gln Met Thr Glu Asp Ala Val Asp Ala Glu Arg Leu Lys	
35 40 45	
<210> 144	
<211> 302	
<212> PRT	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 144	
His Leu Ile Val Thr Pro Ser Gly Cys Gly Glu Gln Asn Met Ile Gly	
1 5 10 15	
Met Thr Pro Thr Val Ile Ala Val His Tyr Leu Asp Glu Thr Glu Gln	
20 25 30	
Trp Glu Lys Phe Gly Leu Glu Lys Arg Gln Gly Ala Leu Glu Leu Ile	
35 40 45	
Lys Lys Gly Tyr Thr Gln Gln Leu Ala Phe Arg Gln Pro Ser Ser Ala	
50 55 60	
Phe Ala Ala Phe Val Lys Arg Ala Pro Ser Thr Trp Leu Thr Ala Tyr	
65 70 75 80	
Val Val Lys Val Phe Ser Leu Ala Val Asn Leu Ile Ala Ile Asp Ser	
85 90 95	
Gln Val Leu Cys Gly Ala Val Lys Trp Leu Ile Leu Glu Lys Gln Lys	
100 105 110	
Pro Asp Gly Val Phe Gln Glu Asp Ala Pro Val Ile His Gln Glu Met	
115 120 125	
Ile Gly Gly Leu Arg Asn Asn Asn Glu Lys Asp Met Ala Leu Thr Ala	
130 135 140	
Phe Val Leu Ile Ser Leu Gln Glu Ala Lys Asp Ile Cys Glu Glu Gln	
145 150 155 160	
Val Asn Ser Leu Pro Gly Ser Ile Thr Lys Ala Gly Asp Phe Leu Glu	
165 170 175	

Ala Asn Tyr Met Asn Leu Gln Arg Ser Tyr Thr Val Ala Ile Ala Gly		
180	185	190
Tyr Ala Leu Ala Gln Met Gly Arg Leu Lys Gly Pro Leu Leu Asn Lys		
195	200	205
Phe Leu Thr Thr Ala Lys Asp Lys Asn Arg Trp Glu Asp Pro Gly Lys		
210	215	220
Gln Leu Tyr Asn Val Glu Ala Thr Ser Tyr Ala Leu Leu Ala Leu Leu		
225	230	235
Gln Leu Lys Asp Phe Asp Phe Val Pro Pro Val Val Arg Trp Leu Asn		
245	250	255
Glu Gln Arg Tyr Tyr Gly Gly Gly Tyr Gly Ser Thr Gln Ala Thr Phe		
260	265	270
Met Val Phe Gln Ala Leu Ala Gln Tyr Gln Lys Asp Ala Pro Asp His		
275	280	285
Gln Glu Leu Asn Leu Asp Val Ser Leu Gln Leu Pro Ser Arg		
290	295	300

<210> 145

<211> 194

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<220>

<221> misc_feature

<222> (111) .. (111)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (157) .. (157)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (160) .. (160)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 145

Gly His Cys Gln Ala Pro Asp His Phe Leu Phe Ala Lys Leu Lys Thr		
1	5	10
Gln Thr Asn Ala Ser Asp Phe Pro Ile Gly Thr Ser Leu Lys Tyr Glu		
20	25	30
Cys Arg Pro Glu Tyr Tyr Gly Arg Pro Phe Ser Ile Thr Cys Leu Asp		
35	40	45

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

Ile Ile

<210> 146

<211> 194

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 146

Gly	His	Cys	Gln	Ala	Pro	Asp	His	Phe	Leu	Phe	Ala	Lys	Leu	Lys	Thr
1				5					10					15	
Gln	Thr	Asn	Ala	Ser	Asp	Phe	Pro	Ile	Gly	Thr	Ser	Leu	Lys	Tyr	Glu
			20					25					30		
Cys	Arg	Pro	Glu	Tyr	Tyr	Gly	Arg	Pro	Phe	Ser	Ile	Thr	Cys	Leu	Asp
		35					40					45			
Asn	Leu	Val	Trp	Ser	Ser	Pro	Lys	Asp	Val	Cys	Lys	Arg	Lys	Ser	Cys
50						55					60				
Lys	Thr	Pro	Pro	Asp	Pro	Val	Asn	Gly	Met	Val	His	Val	Ile	Thr	Asp
65					70				75						80
Ile	Gln	Val	Gly	Ser	Arg	Ile	Asn	Tyr	Ser	Cys	Thr	Thr	Gly	His	Arg
				85					90					95	
Leu	Ile	Gly	His	Ser	Ser	Ala	Glu	Cys	Ile	Leu	Ser	Gly	Asn	Ala	Ala
			100					105					110		
His	Trp	Ser	Thr	Lys	Pro	Pro	Ile	Cys	Gln	Arg	Ile	Pro	Cys	Gly	Leu

115	120	125
Pro Pro Thr Ile Ala Asn Gly Asp Phe Ile Ser Thr Asn Arg Glu Asn		
130	135	140
Phe His Tyr Gly Ser Val Val Thr Tyr Arg Cys Asn Pro Gly Ser Gly		
145	150	155
Gly Arg Lys Val Phe Glu Leu Val Gly Glu Pro Ser Ile Tyr Cys Thr		
165	170	175
Ser Asn Asp Asp Gln Val Gly Ile Trp Ser Gly Pro Ala Pro Gln Cys		
180	185	190
Ile Ile		
<210> 147		
<211> 194		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 147		
Gly His Cys Gln Ala Pro Asp His Phe Leu Phe Ala Lys Leu Lys Thr		
1	5	10
Gln Thr Asn Ala Ser Asp Phe Pro Ile Gly Thr Ser Leu Lys Tyr Glu		
20	25	30
Cys Arg Pro Glu Tyr Tyr Gly Arg Pro Phe Ser Ile Thr Cys Leu Asp		
35	40	45
Asn Leu Val Trp Ser Ser Pro Lys Asp Val Cys Lys Arg Lys Ser Cys		
50	55	60
Lys Thr Pro Pro Asp Pro Val Asn Gly Met Val His Val Ile Thr Asp		
65	70	75
Ile Gln Val Gly Ser Arg Ile Asn Tyr Ser Cys Thr Thr Gly His Arg		
85	90	95
Leu Ile Gly His Ser Ser Ala Glu Cys Ile Leu Ser Gly Asn Thr Ala		
100	105	110
His Trp Ser Thr Lys Pro Pro Ile Cys Gln Arg Ile Pro Cys Gly Leu		
115	120	125
Pro Pro Thr Ile Ala Asn Gly Asp Phe Ile Ser Thr Asn Arg Glu Asn		
130	135	140
Phe His Tyr Gly Ser Val Val Thr Tyr Arg Cys Asn Leu Gly Ser Arg		
145	150	155
Gly Arg Lys Val Phe Glu Leu Val Gly Glu Pro Ser Ile Tyr Cys Thr		
165	170	175
Ser Asn Asp Asp Gln Val Gly Ile Trp Ser Gly Pro Ala Pro Gln Cys		
180	185	190

Ile Ile
 <210> 148
 <211> 388
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 148
 Gly His Cys Gln Ala Pro Asp His Phe Leu Phe Ala Lys Leu Lys Thr
 1 5 10 15
 Gln Thr Asn Ala Ser Asp Phe Pro Ile Gly Thr Ser Leu Lys Tyr Glu
 20 25 30
 Cys Arg Pro Glu Tyr Tyr Gly Arg Pro Phe Ser Ile Thr Cys Leu Asp
 35 40 45
 Asn Leu Val Trp Ser Ser Pro Lys Asp Val Cys Lys Arg Lys Ser Cys
 50 55 60
 Lys Thr Pro Pro Asp Pro Val Asn Gly Met Val His Val Ile Thr Asp
 65 70 75 80
 Ile Gln Val Gly Ser Arg Ile Asn Tyr Ser Cys Thr Thr Gly His Arg
 85 90 95
 Leu Ile Gly His Ser Ser Ala Glu Cys Ile Leu Ser Gly Asn Ala Ala
 100 105 110
 His Trp Ser Thr Lys Pro Pro Ile Cys Gln Arg Ile Pro Cys Gly Leu
 115 120 125
 Pro Pro Thr Ile Ala Asn Gly Asp Phe Ile Ser Thr Asn Arg Glu Asn
 130 135 140
 Phe His Tyr Gly Ser Val Val Thr Tyr Arg Cys Asn Pro Gly Ser Gly
 145 150 155 160
 Gly Arg Lys Val Phe Glu Leu Val Gly Glu Pro Ser Ile Tyr Cys Thr
 165 170 175
 Ser Asn Asp Asp Gln Val Gly Ile Trp Ser Gly Pro Ala Pro Gln Cys
 180 185 190
 Ile Ile Gly His Cys Gln Ala Pro Asp His Phe Leu Phe Ala Lys Leu
 195 200 205
 Lys Thr Gln Thr Asn Ala Ser Asp Phe Pro Ile Gly Thr Ser Leu Lys
 210 215 220
 Tyr Glu Cys Arg Pro Glu Tyr Tyr Gly Arg Pro Phe Ser Ile Thr Cys
 225 230 235 240
 Leu Asp Asn Leu Val Trp Ser Ser Pro Lys Asp Val Cys Lys Arg Lys
 245 250 255
 Ser Cys Lys Thr Pro Pro Asp Pro Val Asn Gly Met Val His Val Ile

260	265	270
Thr Asp Ile Gln Val Gly Ser Arg	Ile Asn Tyr Ser Cys Thr Thr Gly	
275	280	285
His Arg Leu Ile Gly His Ser Ser	Ala Glu Cys Ile Leu Ser Gly Asn	
290	295	300
Thr Ala His Trp Ser Thr Lys Pro	Pro Ile Cys Gln Arg Ile Pro Cys	
305	310	315
Gly Leu Pro Pro Thr Ile Ala Asn	Gly Asp Phe Ile Ser Thr Asn Arg	
325	330	335
Glu Asn Phe His Tyr Gly Ser Val	Val Thr Tyr Arg Cys Asn Leu Gly	
340	345	350
Ser Arg Gly Arg Lys Val Phe Glu	Leu Val Gly Glu Pro Ser Ile Tyr	
355	360	365
Cys Thr Ser Asn Asp Asp Gln Val	Gly Ile Trp Ser Gly Pro Ala Pro	
370	375	380
Gln Cys Ile Ile		
385		
<210> 149		
<211> 235		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 149		
Ile Val Gly Gly Lys Arg Ala Gln	Leu Gly Asp Leu Pro Trp Gln Val	
1	5	10
Ala Ile Lys Asp Ala Ser Gly Ile	Thr Cys Gly Gly Ile Tyr Ile Gly	
20	25	30
Gly Cys Trp Ile Leu Thr Ala Ala	His Cys Leu Arg Ala Ser Lys Thr	
35	40	45
His Arg Tyr Gln Ile Trp Thr Thr	Val Val Asp Trp Ile His Pro Asp	
50	55	60
Leu Lys Arg Ile Val Ile Glu Tyr	Val Asp Arg Ile Ile Phe His Glu	
65	70	75
Asn Tyr Asn Ala Gly Thr Tyr Gln	Asn Asp Ile Ala Leu Ile Glu Met	
85	90	95
Lys Lys Asp Gly Asn Lys Lys Asp	Cys Glu Leu Pro Arg Ser Ile Pro	
100	105	110
Ala Cys Val Pro Trp Ser Pro Tyr	Leu Phe Gln Pro Asn Asp Thr Cys	
115	120	125
Ile Val Ser Gly Trp Gly Arg Glu	Lys Asp Asn Glu Arg Val Phe Ser	

130	135	140
Leu Gln Trp Gly Glu Val Lys Leu Ile Ser Asn Cys Ser Lys Phe Tyr		
145	150	155
Gly Asn Arg Phe Tyr Glu Lys Glu Met Glu Cys Ala Gly Thr Tyr Asp		
165	170	175
Gly Ser Ile Asp Ala Cys Lys Gly Asp Ser Gly Gly Pro Leu Val Cys		
180	185	190
Met Asp Ala Asn Asn Val Thr Tyr Val Trp Gly Val Val Ser Trp Gly		
195	200	205
Glu Asn Cys Gly Lys Pro Glu Phe Pro Gly Val Tyr Thr Lys Val Ala		
210	215	220
Asn Tyr Phe Asp Trp Ile Ser Tyr His Val Gly		
225	230	235
<210> 150		
<211> 246		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 150		
Glu Asp Cys Asn Glu Leu Pro Pro Arg Arg Asn Thr Glu Ile Leu Thr		
1	5	10
Gly Ser Trp Ser Asp Gln Thr Tyr Pro Glu Gly Thr Gln Ala Ile Tyr		
20	25	30
Lys Cys Arg Pro Gly Tyr Arg Ser Leu Gly Asn Val Ile Met Val Cys		
35	40	45
Arg Lys Gly Glu Trp Val Ala Leu Asn Pro Leu Arg Lys Cys Gln Lys		
50	55	60
Arg Pro Cys Gly His Pro Gly Asp Thr Pro Phe Gly Thr Phe Thr Leu		
65	70	75
Thr Gly Gly Asn Val Phe Glu Tyr Gly Val Lys Ala Val Tyr Thr Cys		
85	90	95
Asn Glu Gly Tyr Gln Leu Leu Gly Glu Ile Asn Tyr Arg Glu Cys Asp		
100	105	110
Thr Asp Gly Trp Thr Asn Asp Ile Pro Ile Cys Glu Val Val Lys Cys		
115	120	125
Leu Pro Val Thr Ala Pro Glu Asn Gly Lys Ile Val Ser Ser Ala Met		
130	135	140
Glu Pro Asp Arg Glu Tyr His Phe Gly Gln Ala Val Arg Phe Val Cys		
145	150	155
Asn Ser Gly Tyr Lys Ile Glu Gly Asp Glu Glu Met His Cys Ser Asp		

	165		170		175
Asp Gly Phe Trp Ser Lys Glu Lys Pro Lys Cys Val Glu Ile Ser Cys					
	180		185		190
Lys Ser Pro Asp Val Ile Asn Gly Ser Pro Ile Ser Gln Lys Ile Ile					
	195		200		205
Tyr Lys Glu Asn Glu Arg Phe Gln Tyr Lys Cys Asn Met Gly Tyr Glu					
	210		215		220
Tyr Ser Glu Arg Gly Asp Ala Val Cys Thr Glu Ser Gly Trp Arg Pro					
225		230		235	240
Leu Pro Ser Cys Glu Glu					
	245				
<210> 151					
<211> 194					
<212> PRT					
<213> 智人(Homo sapiens)					
<400> 151					
Gly His Cys Gln Ala Pro Asp His Phe Leu Phe Ala Lys Leu Lys Thr					
1	5		10		15
Gln Thr Asn Ala Ser Asp Phe Pro Ile Gly Thr Ser Leu Lys Tyr Glu					
	20		25		30
Cys Arg Pro Glu Tyr Tyr Gly Arg Pro Phe Ser Ile Thr Cys Leu Asp					
	35		40		45
Asn Leu Val Trp Ser Ser Pro Lys Asp Val Cys Lys Arg Lys Ser Cys					
	50		55		60
Lys Thr Pro Pro Asp Pro Val Asn Gly Met Val His Val Ile Thr Asp					
65		70		75	80
Ile Gln Val Gly Ser Arg Ile Asn Tyr Ser Cys Thr Thr Gly His Arg					
	85		90		95
Leu Ile Gly His Ser Ser Ala Glu Cys Ile Leu Ser Gly Asn Ala Ala					
	100		105		110
His Trp Ser Thr Lys Pro Pro Ile Cys Gln Arg Ile Pro Cys Gly Leu					
	115		120		125
Pro Pro Thr Ile Ala Asn Gly Asp Phe Ile Ser Thr Asn Arg Glu Asn					
	130		135		140
Phe His Tyr Gly Ser Val Val Thr Tyr Arg Cys Asn Pro Gly Ser Gly					
145		150		155	160
Gly Arg Lys Val Phe Glu Leu Val Gly Glu Pro Ser Ile Tyr Cys Thr					
	165		170		175
Ser Asn Asp Asp Gln Val Gly Ile Trp Ser Gly Pro Ala Pro Gln Cys					

180	185	190
Ile Ile		
<210> 152		
<211> 194		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 152		
Gly His Cys Gln Ala Pro Asp His Phe Leu Phe Ala Lys Leu Lys Thr		
1 5 10 15		
Gln Thr Asn Ala Ser Asp Phe Pro Ile Gly Thr Ser Leu Lys Tyr Glu		
20 25 30		
Cys Arg Pro Glu Tyr Tyr Gly Arg Pro Phe Ser Ile Thr Cys Leu Asp		
35 40 45		
Asn Leu Val Trp Ser Ser Pro Lys Asp Val Cys Lys Arg Lys Ser Cys		
50 55 60		
Lys Thr Pro Pro Asp Pro Val Asn Gly Met Val His Val Ile Thr Asp		
65 70 75 80		
Ile Gln Val Gly Ser Arg Ile Asn Tyr Ser Cys Thr Thr Gly His Arg		
85 90 95		
Leu Ile Gly His Ser Ser Ala Glu Cys Ile Leu Ser Gly Asn Thr Ala		
100 105 110		
His Trp Ser Thr Lys Pro Pro Ile Cys Gln Arg Ile Pro Cys Gly Leu		
115 120 125		
Pro Pro Thr Ile Ala Asn Gly Asp Phe Ile Ser Thr Asn Arg Glu Asn		
130 135 140		
Phe His Tyr Gly Ser Val Val Thr Tyr Arg Cys Asn Leu Gly Ser Arg		
145 150 155 160		
Gly Arg Lys Val Phe Glu Leu Val Gly Glu Pro Ser Ile Tyr Cys Thr		
165 170 175		
Ser Asn Asp Asp Gln Val Gly Ile Trp Ser Gly Pro Ala Pro Gln Cys		
180 185 190		
Ile Ile		
<210> 153		
<211> 342		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 153		
Met Lys Gly Lys Phe Leu Lys Val Ser Ser Leu Phe Val Ala Thr Leu		
1 5 10 15		

Thr	Thr	Ala	Thr	Leu	Val	Ser	Ser	Pro	Ala	Ala	Asn	Ala	Leu	Ser	Ser
20				25				30							
Lys	Ala	Met	Asp	Asn	His	Pro	Gln	Gln	Thr	Gln	Ser	Ser	Lys	Gln	Gln
35				40				45							
Thr	Pro	Lys	Ile	Lys	Lys	Gly	Gly	Asn	Leu	Lys	Pro	Leu	Glu	Gln	Arg
50				55				60							
Glu	His	Ala	Asn	Val	Ile	Leu	Pro	Asn	Asn	Asp	Arg	His	Gln	Ile	Thr
65				70				75				80			
Asp	Thr	Thr	Asn	Gly	His	Tyr	Ala	Pro	Val	Thr	Tyr	Ile	Gln	Val	Glu
85				90				95							
Ala	Pro	Thr	Gly	Thr	Phe	Ile	Ala	Ser	Gly	Val	Val	Val	Gly	Lys	Asp
100				105				110							
Thr	Leu	Leu	Thr	Asn	Lys	His	Val	Val	Asp	Ala	Thr	His	Gly	Asp	Pro
115				120				125							
His	Ala	Leu	Lys	Ala	Phe	Pro	Ser	Ala	Ile	Asn	Gln	Asp	Asn	Tyr	Pro
130				135				140							
Asn	Gly	Gly	Phe	Thr	Ala	Glu	Gln	Ile	Thr	Lys	Tyr	Ser	Gly	Glu	Gly
145				150				155				160			
Asp	Leu	Ala	Ile	Val	Lys	Phe	Ser	Pro	Asn	Glu	Gln	Asn	Lys	His	Ile
165				170				175							
Gly	Glu	Val	Val	Lys	Pro	Ala	Thr	Met	Ser	Asn	Asn	Ala	Glu	Thr	Gln
180				185				190							
Val	Asn	Gln	Asn	Ile	Thr	Val	Thr	Gly	Tyr	Pro	Gly	Asp	Lys	Pro	Val
195				200				205							
Ala	Thr	Met	Trp	Glu	Ser	Lys	Gly	Lys	Ile	Thr	Tyr	Leu	Lys	Gly	Glu
210				215				220							
Ala	Met	Gln	Tyr	Asp	Leu	Ser	Thr	Thr	Gly	Gly	Asn	Ser	Gly	Ser	Pro
225				230				235				240			
Val	Phe	Asn	Glu	Lys	Asn	Glu	Val	Ile	Gly	Ile	His	Trp	Gly	Gly	Val
245				250				255							
Pro	Asn	Glu	Phe	Asn	Gly	Ala	Val	Phe	Ile	Asn	Glu	Asn	Val	Arg	Asn
260				265				270							
Phe	Leu	Lys	Gln	Asn	Ile	Glu	Asp	Ile	His	Phe	Ala	Asn	Asp	Asp	Gln
275				280				285							
Pro	Asn	Asn	Pro	Asp	Asn	Pro	Asp	Asn	Pro	Asn	Asn	Pro	Asp	Asn	Pro
290				295				300							
Asn	Asn	Pro	Asp	Asn	Pro	Asn	Asn	Pro	Asp	Glu	Pro	Asn	Asn	Pro	Asp
305				310				315				320			
Asn	Pro	Asn	Asn	Pro	Asp	Asn	Pro	Asp	Asn	Gly	Asp	Asn	Asn	Asn	Ser

	325	330	335
Asp Asn Pro Asp Ala Ala			
340			
<210> 154			
<211> 274			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 154			
Val Ile Leu Pro Asn Asn Asp Arg His Gln Ile Thr Asp Thr Thr Asn			
1 5 10 15			
Gly His Tyr Ala Pro Val Thr Tyr Ile Gln Val Glu Ala Pro Thr Gly			
20 25 30			
Thr Phe Ile Ala Ser Gly Val Val Val Gly Lys Asp Thr Leu Leu Thr			
35 40 45			
Asn Lys His Val Val Asp Ala Thr His Gly Asp Pro His Ala Leu Lys			
50 55 60			
Ala Phe Pro Ser Ala Ile Asn Gln Asp Asn Tyr Pro Asn Gly Gly Phe			
65 70 75 80			
Thr Ala Glu Gln Ile Thr Lys Tyr Ser Gly Glu Gly Asp Leu Ala Ile			
85 90 95			
Val Lys Phe Ser Pro Asn Glu Gln Asn Lys His Ile Gly Glu Val Val			
100 105 110			
Lys Pro Ala Thr Met Ser Asn Asn Ala Glu Thr Gln Val Asn Gln Asn			
115 120 125			
Ile Thr Val Thr Gly Tyr Pro Gly Asp Lys Pro Val Ala Thr Met Trp			
130 135 140			
Glu Ser Lys Gly Lys Ile Thr Tyr Leu Lys Gly Glu Ala Met Gln Tyr			
145 150 155 160			
Asp Leu Ser Thr Thr Gly Gly Asn Ser Gly Ser Pro Val Phe Asn Glu			
165 170 175			
Lys Asn Glu Val Ile Gly Ile His Trp Gly Gly Val Pro Asn Glu Phe			
180 185 190			
Asn Gly Ala Val Phe Ile Asn Glu Asn Val Arg Asn Phe Leu Lys Gln			
195 200 205			
Asn Ile Glu Asp Ile His Phe Ala Asn Asp Asp Gln Pro Asn Asn Pro			
210 215 220			
Asp Asn Pro Asp Asn Pro Asn Asn Pro Asp Asn Pro Asn Asn Pro Asp			
225 230 235 240			
Asn Pro Asn Asn Pro Asp Glu Pro Asn Asn Pro Asp Asn Pro Asn Asn			

245	250	255
Pro Asp Asn Pro Asp Asn Gly Asp Asn Asn Asn Ser Asp Asn Pro Asp		
260	265	270
Ala Ala		
<210> 155		
<211> 12		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 155		
Val Gly Cys Ala Gly Phe Ala Ser Val Thr Gln Glu		
1	5	10
<210> 156		
<211> 14		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 156		
Leu Arg Arg Gln His Ala Arg Ala Ser His Leu Gly Leu Ala		
1	5	10
<210> 157		
<211> 5		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 157		
Ser Ala Ser Leu Leu		
1	5	

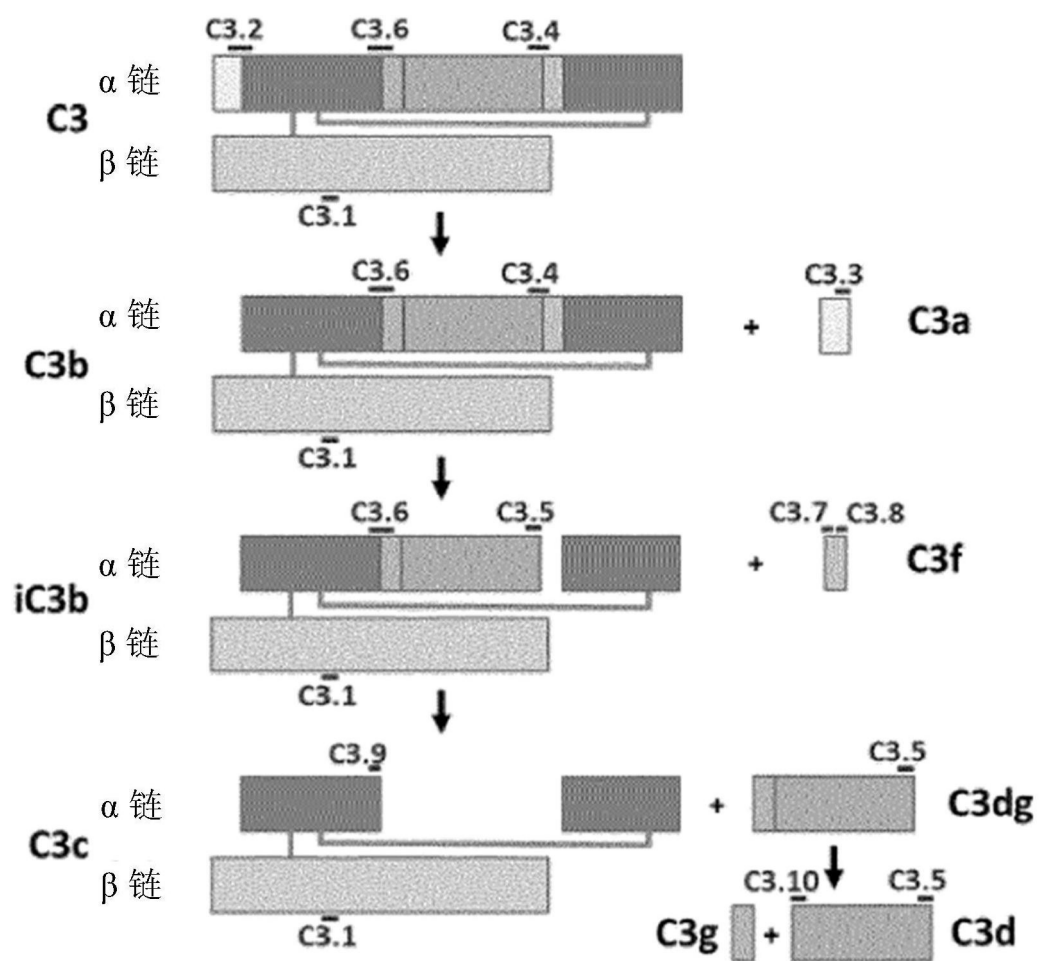


图1

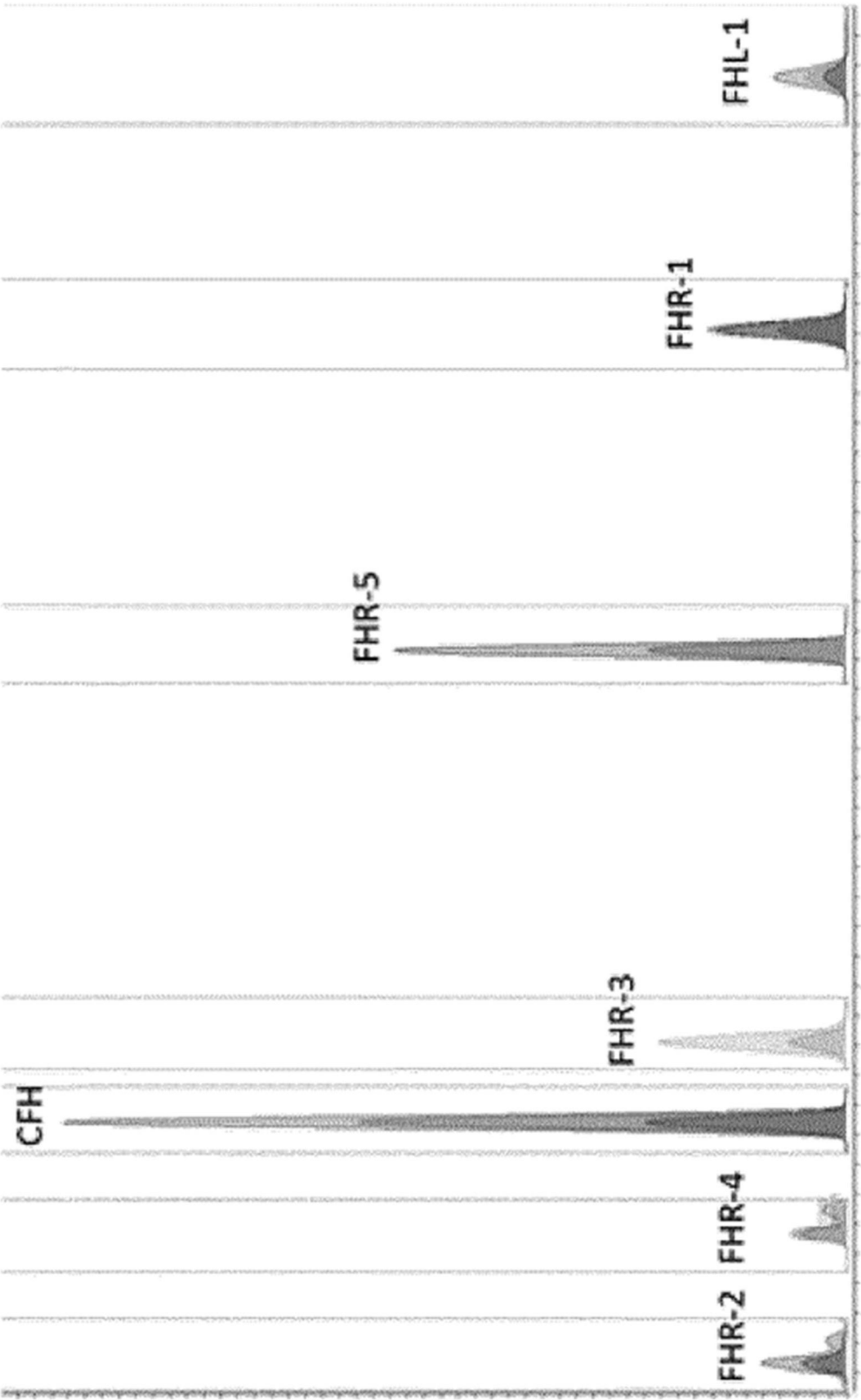


图2

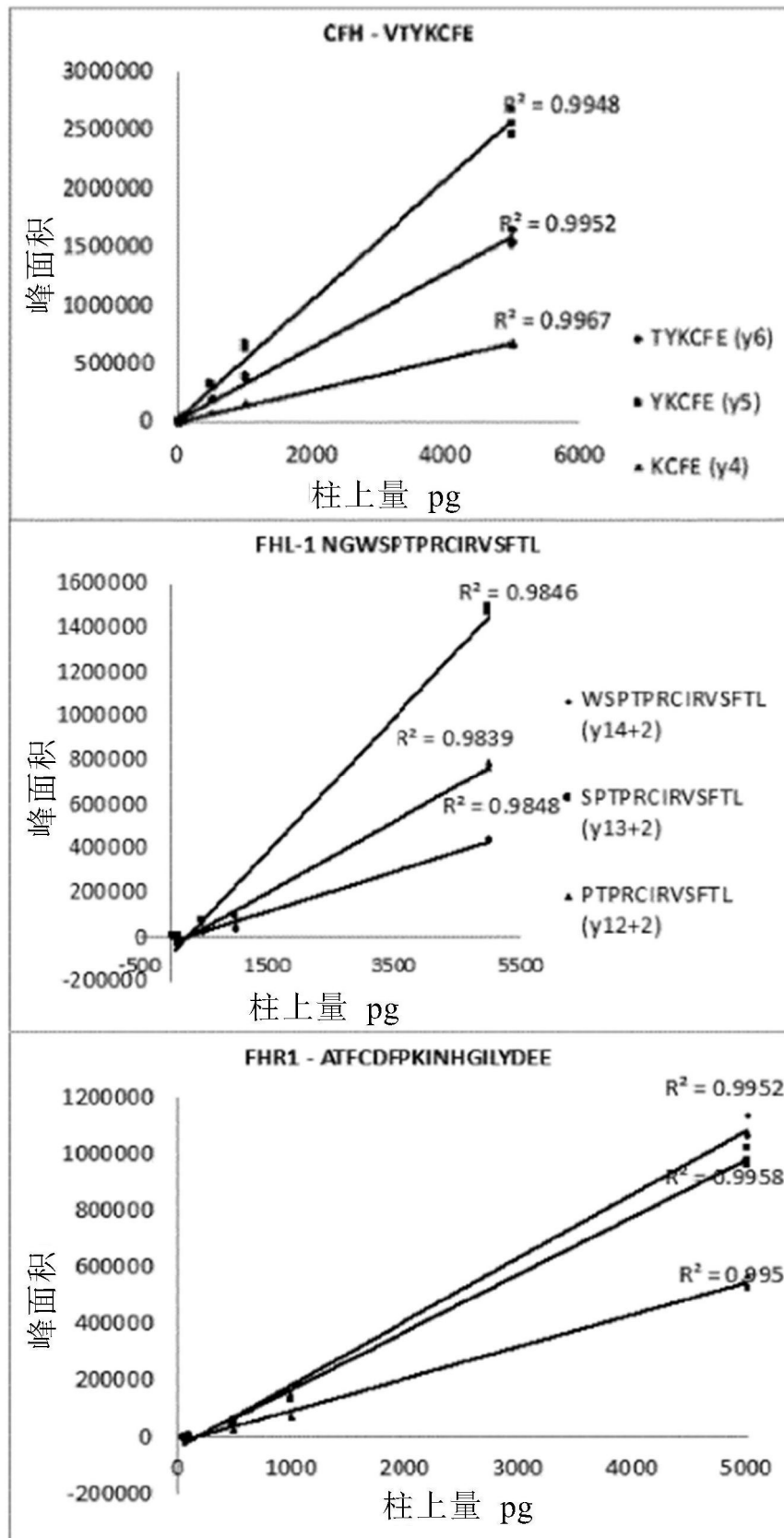


图3

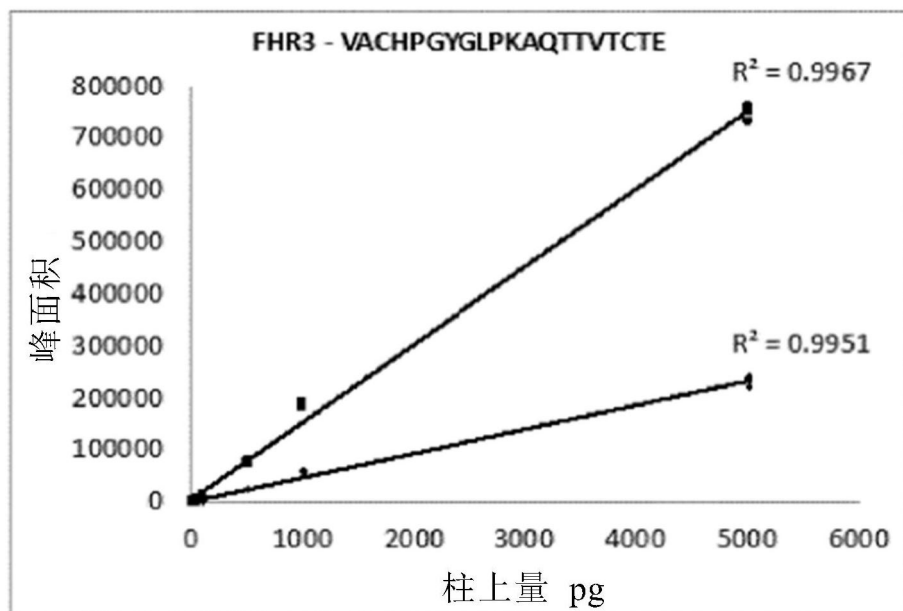
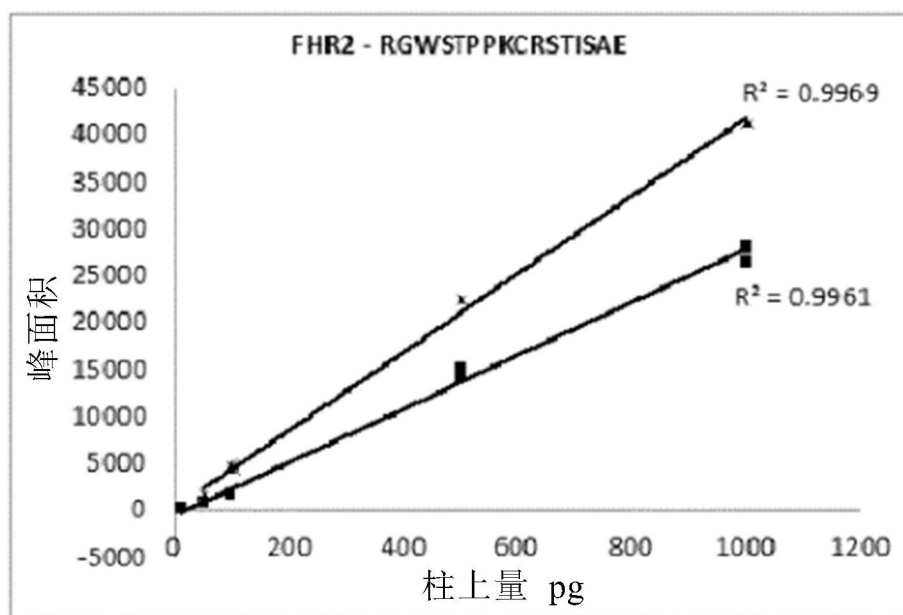


图3(续)

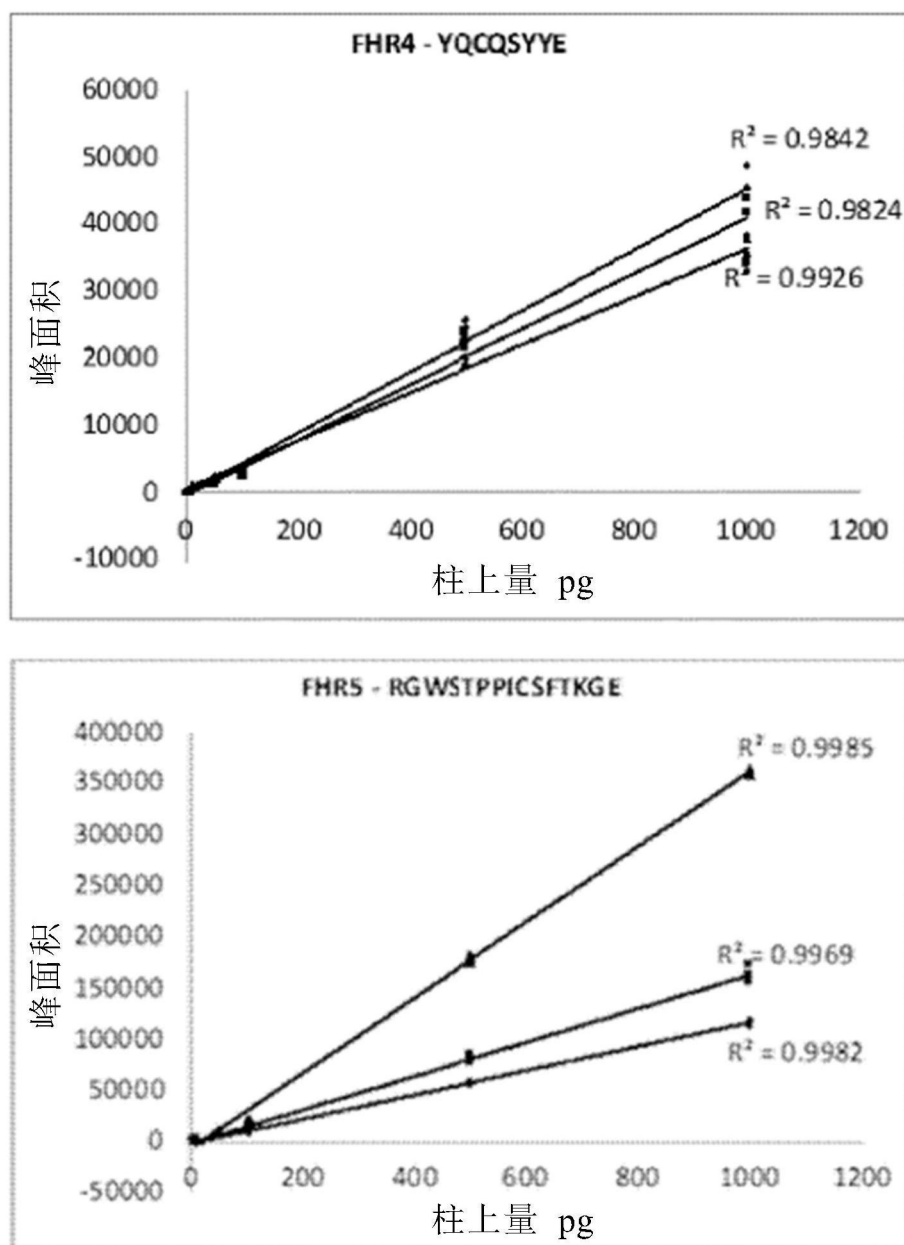


图3(续)

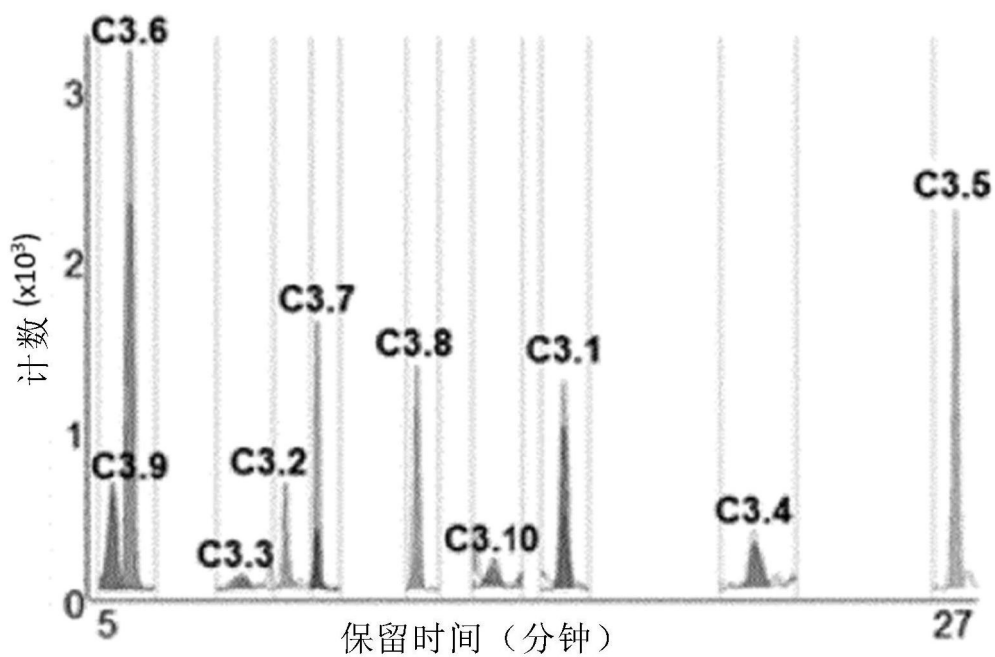


图4A

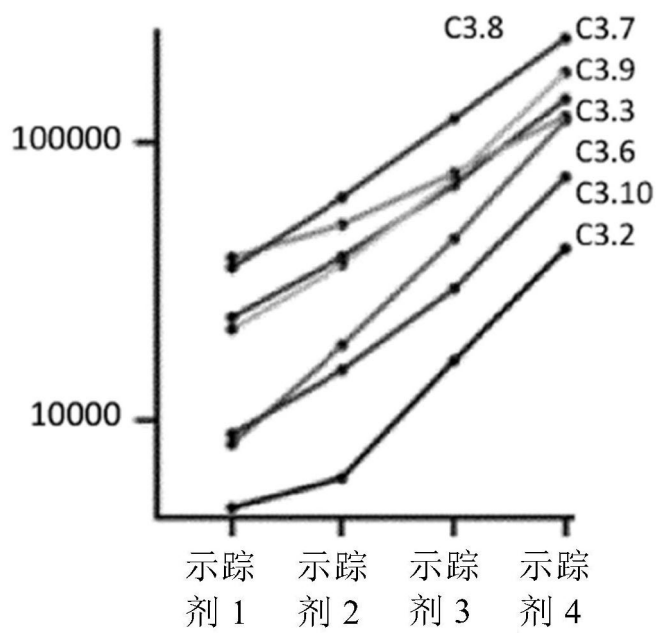


图4B

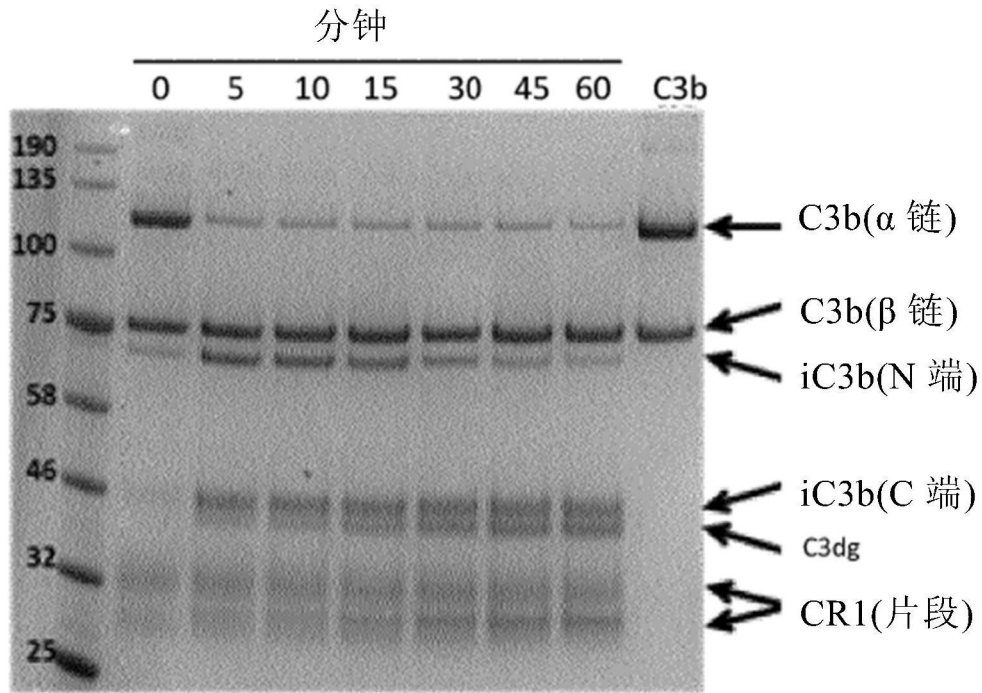


图4C

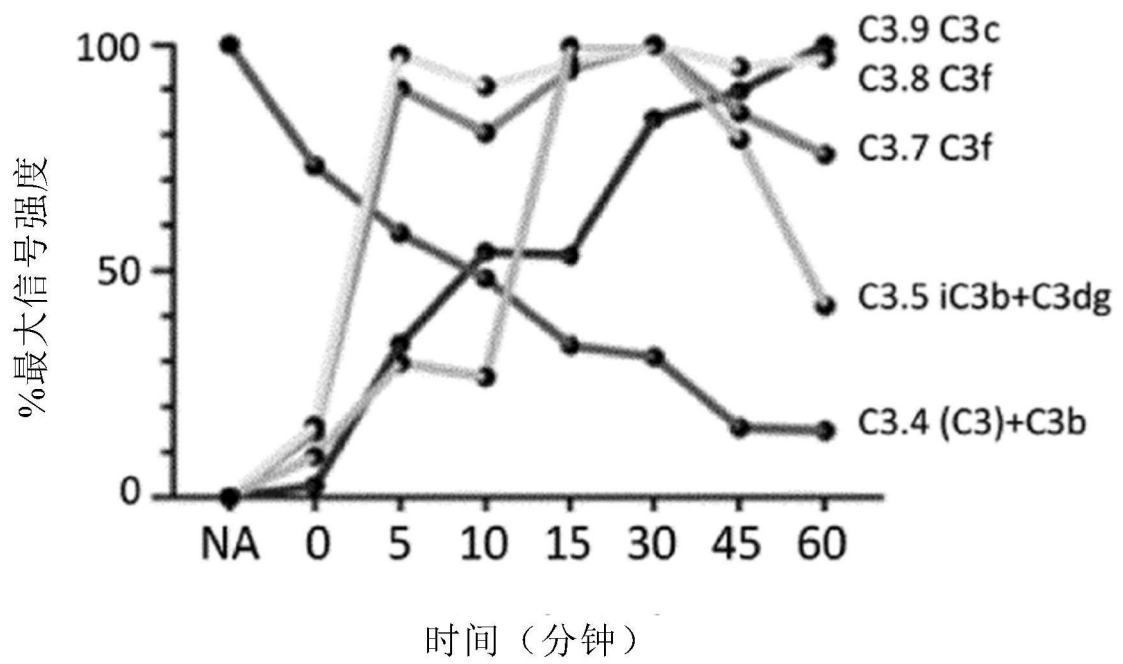


图4D