



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1695058 B

(45) 授权公告日 2011.04.13

(21) 申请号 03824995.2

(22) 申请日 2003.09.09

(30) 优先权数据

60/409,298 2002.09.09 US

60/450,464 2003.02.27 US

60/490,094 2003.07.25 US

10/630,590 2003.07.29 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2005.05.08

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2003/028508 2003.09.09

(87) PCT申请的公布数据

WO2004/022006 EN 2004.03.18

(73) 专利权人 生命树股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 P · S · 鲁 J · 施韦策

C · S · 迪亚斯 - 萨米恩托

M · P · 贝尔马斯

(74) 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任

公司 11021

代理人 程金山

(51) Int. Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

(56) 对比文件

US 5747274, 1998.05.05, 说明书 2 - 37 栏.

US 5610077, 1997.03.11, 说明书 2 - 11 栏.

CN 1243146, 2000.02.02, 全文.

US 5204061, 1993.04.20, 全文.

daniela et al. oncogenic human papillomavirus

E6 proteins target the discharge tumor suppressor
for proteasome-mediated degradation.

oncogene 18.1999, 185487-5495.

britt et al. interactions of the PDZ-protein

MAGI-1 with adenovirus E4-ORF1 and

high-risk papillomavirus E6 oncoproteins.

oncogene 19.2000, 195270-5279.

审查员 边昕

权利要求书 1 页 说明书 94 页 序列表 140 页
附图 11 页

(54) 发明名称

诊断宫颈癌的方法

(57) 摘要

本发明提供了用于检测人样品中病原体感染的试剂和方法。所述检测利用特定蛋白质以探测因病原体感染而导致的病原体蛋白质的存在或人蛋白质的反常表达。这里公开了用于在临床样品中检测致癌的人乳头状瘤病毒 E6 蛋白的具体方法、组合物和试剂盒。

1. 一种用于测试人样品中致癌人乳头状瘤病毒 E6 蛋白的存在的试剂盒，其特征在于，所述试剂盒包括：

一种致癌人乳头状瘤病毒 E6 蛋白的第一结合伴侣，其中所述第一结合伴侣是一种 PDZ 结构域多肽，所述 PDZ 结构域多肽长度是 60-1000 个氨基酸并且包括 Magi-1 PDZ 结构域 2 的氨基酸序列；以及

位于溶液中的所述致癌人乳头状瘤病毒 E6 蛋白的第二结合伴侣。

2. 如权利要求 1 所述的试剂盒，其中所述第一结合伴侣连接于固体支持物上。

3. 如权利要求 2 所述的试剂盒，其中所述固体支持物是检测试剂条，并且所述第一结合伴侣位于所述检测试剂条的特定区域。

4. 如权利要求 1-3 任一项所述的试剂盒，其中所述 PDZ 结构域多肽结合由选自病毒株 16、18、31、35、30、39、45、51、52、56、59、58、33、66、68、69、26、53、73 和 82 组成的组的人乳头状瘤病毒株所编码的人乳头状瘤病毒 E6 蛋白。

5. 如权利要求 1 所述的试剂盒，其中所述 PDZ 结构域多肽长度少于 500 个氨基酸。

6. 如权利要求 5 所述的试剂盒，其中所述 PDZ 结构域多肽长度少于 200 个氨基酸。

诊断宫颈癌的方法

[0001] 交叉参考

[0002] 本申请要求 2003 年 7 月 29 日提交的美国专利申请 No.10/630,590、2003 年 7 月 25 日提交的美国临时申请 No.60/490,094、2003 年 2 月 27 日提交的美国临时申请 No.60/450,464 以及 2002 年 9 月 9 日提交的美国临时申请 No.60/409,298 的权利。

[0003] 发明领域

[0004] 本发明涉及诸如在某些人乳头状瘤病毒 (HPV) 感染中所观察到的来源于致病生物的生物学的标记的检测以及运用这样的诊断法以鉴别受到感染并可能导致癌变或其他机能紊乱的样本。所述发明也公开了作为一种肿瘤诊断手段用于在临床样本中检测致癌的 HPV E6 蛋白的组合物、方法和试剂盒。

[0005] 发明背景

[0006] 宫颈癌是妇女中第二位最常见的肿瘤，宫颈癌与目前 99.7% 的高危险性人乳头状瘤病毒感染有关。现在，每年在美国妇女中诊断出 12,000 个侵入性宫颈癌新病例，这导致每年 5,000 人死亡。而且，全球范围内每年约有 400,000 例的宫颈癌并有近 200,000 个死亡病例。人乳头状瘤病毒 (HPV) 是全球性传播疾病的最常见的原因之一。大体上，50-75% 的性活跃的男性和女性在其生命的某一时点会招致生殖器 HPV 感染。仅在美国估计每年有 5 百 50 万人感染 HPV，目前至少有 2 千万的感染者。100 多个不同的 HPV 纯病毒株按照其与子宫颈癌或与良性子宫颈损伤或子宫颈发育异常的关系大致分成了高危险性和低危险性亚类。

[0007] 大量证据指出 HPV 是宫颈癌的病原物质。1980 年的多项研究报道了在子宫颈发育异常、肿瘤以及源自宫颈癌的细胞系中存在 HPV 变种。进一步的研究表明致癌的 HPV 18 基因组的 E6-E7 区域在宫颈癌细胞中被选择性保留，这说明 HPV 感染可能是引发癌变的原因，而且维持细胞永生化或癌变状态需要 E6-E7 区域的持续表达。第二年，Sedman 等人证实了在培养物中，来自 HPV 16 的 E6-E7 基因足以引起人角质化细胞的永生化。Barbosa 等人证实，虽然来自高危险性 HPV 的 E6-E7 基因能够转化细胞系，来自诸如 HPV 6 和 HPV 11 的低危险性或非致癌变种的 E6-E7 区域不能转化人角质化细胞。最近，Pillai 等人对 623 例处于肿瘤发展不同阶段的子宫颈组织样本通过原位杂交检测了 HPV 16 和 18 的感染并通过免疫细胞化学检测了 E6 蛋白的表达，发现了组织学异常与 HPV 感染之间的显著相关性。

[0008] 现行的治疗策略专注于实际的子宫颈发育异常而不是更深层次的 HPV 感染。医生每年对子宫颈发育异常的妇女进行筛查，并采用包括冷冻手术、激光切除和切除手术在内的表面切除技术进行治疗。随着疾病的发展，治疗手段变得更具侵略性，这包括了部分或完全子宫切除、放射治疗或化学治疗。对致癌的 HPV 感染的早期准确诊断以及针对引发癌变的 HPV 感染的治疗，通过疾病进程的早期干预以防止宫颈癌的发展，存在重大的需求。目前已有描述的人乳头状瘤病毒与局限于皮肤上皮层、或口腔、咽喉、呼吸道以及最重要的与肛门和生殖器黏膜损害相关。包括 HPV6 和 11 在内的特殊的人乳头状瘤病毒类型经常引起良性的黏膜损伤，而其他诸如 HPV 16 和 18 的病毒类型以及许多其

他病毒株主要在高度损害和肿瘤中被发现。感染黏膜表面的个别类型的人乳头状瘤病毒(HPV)被认为可能是引发子宫颈、肛门、阴茎、咽喉和口腔癌变、偶然引发甲周瘤以及良性的肛门与生殖器疣的因素。采用对特殊 HPV 类型进行鉴定的方法来鉴别具有恶化风险的癌变前损伤的患者。虽然在一些受人乳头状瘤病毒感染的病例中存在可见的肛门和生殖器损伤,大部分受到 HPV 生殖道感染的个体不具有临床明显病征,但是可以采用子宫颈涂片中存在的细胞形态特征分析来检测 HPV 感染。巴氏试验(Papanicolaou test)是一种有效的筛查手段,但是由于存在假阳性和假阴性测试结果,这些试验遗漏了高比例的 HPV 感染人群。此外,由于对检测结果的解读需要训练有素的病理学家,这样的试验不适于全球范围的检测。

[0009] 包括血清学化验、ELISA 夹心检测和细胞培养在内的常规病毒检测方法没有商用现货并/或不适于诊断和跟踪 HPV 感染。最近,可以采用几种以 PCR(聚合酶链式反应)为基础的 HPV 感染的检测方法。虽然所述检测方法有助于区分致癌性感染和非致癌性感染,这些检测的实行是相当昂贵的,而且需要执行 PCR 操作的训练有素的技术人员和/或光度计检测。此外,PCR 具有天然的假阳性率,可能要借助于进一步的检测和不必要的操作。由于已经表明,HPV 的致癌性是建立在蛋白基础上的,HPV DNA 或 RNA 的早期检测可能导致身体免疫系统可以天然解决的不必要的医学步骤。

[0010] 采用传统方法检测人样本(例如肿瘤样本)中致癌 HPV 存在许多困难。例如,用抗体检测 E6 蛋白是困难的,因为人细胞中生成的 E6 含多种结构改变(如二硫键和磷酸基团),使得在细菌系统中生产的野生型 E6 蛋白或化学合成的 E6 肽不能识别人细胞中的 E6 蛋白。而且,由于致癌 E6 蛋白没有共有的将其与非致癌 E6 蛋白相区别的抗原表位,单一的抗体不能用于所有致癌 E6 HPV 毒株的检测。

[0011] 疾病的检测和诊断是治疗疾病的先决条件。疾病的许多标记和特征已被鉴定并可用于疾病的诊断。受侵袭的细胞状态的改变先于许多疾病并且是许多疾病的特征。改变可以包括受感染细胞中病原体基因或蛋白的表达、受侵袭细胞中基因或蛋白表达谱的改变、以及细胞形态的改变。通过准确评估这些改变可以帮助检测、诊断和监测疾病。便宜、快速、早期准确的病原体检测可以为治疗和预防结果介于身体不适到死亡之间的疾病提供可能。

[0012] 以下是感兴趣的重要出版物:Munger(2002)Front.Biosci.7:641-9; Glaunsinger(2000)Oncogene 19:5270-80; Gardiol(1999)Oncogene 18:5487-96; Pim(1999)Oncogene 18:7403-8; Meschede(1998)J.Clin.Microbiol.36:475-80; Kiyono(1997)Proc.Natl.Acad.Sci.94:11612-6; 以及 Lee(1997)Proc.Natl.Acad.Sci.94:6670-5。此外,下列是感兴趣的专利和专利申请:Bleul, 6,322,794; Cole, 6,344,314; Schoolnik, 5,415,995; Bleul, 5,753,233; Cole, 5,876,723; Cole, 5,648,459; Orth, 6,391,539; Orth, 5,665,535; Schoolnik, 4,777,239。

[0013] 发明概述

[0014] 这里提供了用于检测在多种细胞类型中(例如子宫颈、肛门、阴茎和咽喉细胞中)可能导致致癌细胞转化或生物学异常的病原体蛋白的方法和组合物。这些方法和组合物可以用于检测包括但不限于导致诸如宫颈癌、阴茎癌、肛门癌和咽喉癌在内的病原体。更具体地说,描述了用于检测临床样本中致癌的 HPV E6 的方法、组合物和检测试

剂盒。

[0015] 所述发明的一个优点是，与抗体不同，许多 PDZ 结构域蛋白结合大部分或所有来自人乳状瘤病毒的 HPV E6，由此可用于诊断宫颈癌和其它癌症。

附图说明

[0016] 图 1 是说明 PDZ 蛋白能特异性识别来自人乳状瘤病毒的致癌 E6 蛋白的柱状图。采用 ELISA 检测方法证实 PDZ 蛋白 (TIP-1) 能特异性识别来自致癌病毒株 (HPV 18) 的全长 E6 蛋白，但与非致癌病毒株 (HPV 11) 没有表现出任何反应性。系列 1 和系列 2 代表独立实验。E6ab 表示检测采用抗 HPV18E6 抗体而不是 PDZ 蛋白。

[0017] 图 2 是说明 PDZ 与 HPV 18E6PLs 结合的温度依赖性的线形图。本图采用改进的 ELISA 检测方法测定 TIP-1 的 PDZ 结构域或 MAGI-1 (结构域 2) 与对应于来自 HPV18 的 E6 蛋白的 C-末端 20 个氨基酸的肽段的结合。图例中的数字代表独立实验。-RT 表示结合实验在室温下进行。没有 -RT 标志的数据系列是在 4℃ 下进行的结合实验。

[0018] 图 3 是说明抗 HPV 18E6 抗体识别 GST-HPV 18E6 融合蛋白的线形图。检测了用 HPV 18E6 蛋白免疫的 Balb/c 小鼠第 28 天的血清与 GST-HPV18E6 蛋白或单独 GST 的反应性。

[0019] 图 4.(A-D) 是说明细胞溶解物对来自 HPV 16 的重组 E6 蛋白与不同的 PDZ 结构域结合的影响的 4 个线形图。

[0020] 图 5.(A-B) 是表明多种 PDZ 结构域能与细胞中致癌 E6 蛋白结合并共沉淀的放射自显影图像。

[0021] 图 6 是证明在 SiHa 宫颈癌细胞系中检测到内源性 HPV16E6 蛋白的免疫印迹结果的放射自显影图像。

[0022] 图 7 是放射自显影图像说明，通过免疫印迹能在 CasKi 和 SiHa 宫颈癌细胞系中检测到 HPV16E6 蛋白，在存在蛋白酶体抑制剂的条件下进行细胞溶解处理，检测结果得到了加强。

[0023] 图 8 是显示 SiHa 和 CasKi 子宫颈细胞系中 HPV16E6 蛋白的 ELISA 检测的线形图。

[0024] 图 9 是细胞溶解物中 HPV16E6 蛋白的点杂交检测的放射自显影图像。

[0025] 图 10 是 SiHa 和 CasKi 子宫颈细胞系的细胞溶解物中内源性 HPV16E6 蛋白的点杂交检测的放射自显影图像。

[0026] 图 11 是说明能够在携带 HPV16 的宫颈肿瘤中检测到 E6 蛋白的免疫印迹的放射自显影图像。

[0027] 发明详述

[0028] I. 定义

[0029] 这里所使用的“标记物”或“生物学标记”是指生物样本中能够被测量或检测的实体物。标记的例子包括核酸、蛋白或存在于生物样本中的化学物质。存在于人源的生物样本中的病毒或病原体的蛋白或核酸是标记物的一个例子。

[0030] 这里所使用的术语“分离的”是指多核苷酸、多肽、抗体或宿主细胞处于与其天然存在状态不同的环境中。分离的多核苷酸、多肽、抗体或宿主细胞通常是充分纯化

了的。这里所使用的术语“充分纯化”是指将化合物（例如多核苷酸、多肽或抗体）从其自然环境中移出，至少 60%、优选的是 75%、最优选的是 90% 与其在天然条件下结合的其他成分分离。因而，例如在总的 A+B 组合物中至少含 85%（重量百分比）的 A 的情况下，含有 A 的组合物与 B “充分分离”。优选的是，A 构成总的组合物 A+B 重量比的至少约 90%，更优选的是，A 构成重量比的至少约 95% 或甚至 99%。

[0031] 术语“生物样本”包括得自生物体的并可以用于诊断或监测的多种类型的样品。这一术语包括血样和其他生物来源的液体样本以及固体组织样本（如活体组织切片样本或组织培养物或源自组织培养物的细胞及其后代）。所述术语包括在其获得后经过任何方式处理过的样本，例如通过试剂处理、溶解或特定组分富集等方式。所述术语包括临床样本，也包括细胞培养物中的细胞、细胞上清液、细胞溶解物、血清、血浆、体液和组织样本。术语“生物样本”必须将临床样本与可能的重组样本或源自重组样本的样本加以区分。

[0032] 被 HPV “感染”的个体是指具有含 HPV 的细胞的个体。细胞内的 HPV 可能不表现出任何其他的表型（即 HPV 感染的细胞不一定是癌细胞）。换言之，HPV 感染的细胞可以是癌前细胞（也就是除了可能与病毒感染相关的表型以外，没有表现出任何异常表型的细胞）或癌细胞。

[0033] 这里所使用的“融合蛋白”或“融合多肽”是指复合的蛋白，也就是由两条（或更多）独立的、异源的、正常情况下没有融合在一条氨基酸序列中的多肽构成的一条邻接的氨基酸序列。因此，一个融合蛋白可以包括含有两条完全不同的氨基酸序列或两条相似或相同的多肽序列的单一的氨基酸序列，前提是假如未发现这些序列在自然界中在正常情况下以所述相同的结构共存于单一的氨基酸序列中。融合蛋白通常可以采用核酸重组方法（就是由编码本发明所述多肽的片段和编码异源蛋白的片段组成的重组基因融合产物的转录和翻译结果）或本领域所熟知的化学合成方法制备。

[0034] 这里所使用的“融合蛋白构建物”是指编码融合蛋白的多核苷酸。

[0035] “致癌 HPV 病毒株”是由国家癌症研究所 (NCI, 2001) 确定的已知引起宫颈癌的 HPV 病毒株。“致癌 E6 蛋白”是指上述致癌 HPV 病毒株所编码的 E6 蛋白。表 3 列举了致癌病毒株的例子。这里没有特意列举的本领域所知的致癌 HPV 病毒株可以在国家生物技术信息中心 (National Center for biotechnology Information) (NCBI) 的万维网网站上获得。

[0036] “致癌 E6 蛋白结合伴侣”可以是与 E6 蛋白特异结合的任何分子。适宜的致癌 E6 蛋白结合伴侣包括 PDZ 结构域（如下所述）、抗致癌 E6 蛋白的抗体、其他识别致癌 E6 蛋白的蛋白（如 p53、E6-AP 或 E6-BP）、DNA（即十字形 DNA）以及其他如适体或来源于噬菌体展示的单链抗体等的伴侣。在一些实施方案中，希望检测 1 个以上的致癌 E6 蛋白（例如，来自 HPV 病毒株 16、18 和 33 的所有致癌 E6 蛋白或 E6 蛋白），由此，致癌 E6 蛋白结合伴侣可以是与这些蛋白结合的抗体或各自与一种不同蛋白结合的抗体的混合物。如本领域所知的，这样的结合伴侣可以进行标记以便于其检测。通常，结合伴侣与 E6 结合的亲和力是 10^{-5}M 或更高，如 10^{-6}M 或更高、 10^{-7}M 或更高、 10^{-8}M 或更高（例如 10^{-9}M 、 10^{-10} 、 10^{-11} 等）。

[0037] 这里所使用的术语“PDZ 结构域”是指小于约 90 个氨基酸（即约 80-90、约

70-80、约 60-70 或约 50-60 个氨基酸)的蛋白序列(也就是模块式蛋白结构域),其特征是与大脑突触蛋白 PSD-95、果蝇隔膜接头蛋白 Discs-Large(DLG)以及上皮紧密接头蛋白 ZO1(ZO1)同源。PDZ 结构域也称为 Discs-Large 同源重复序列(DHRs)和 GLGF 重复序列。PDZ 结构域通常可能保持一个核心共同序列(Doyle D.A., 1996, Cell 85: 1067-76)。

[0038] 在包括鸟苷酸激酶同源体的 MAGUK 家族成员、多种蛋白磷酸酶和激酶、神经一氧化氮合成酶、肿瘤抑制蛋白以及统称为肌养结合蛋白的多种肌养蛋白相关蛋白在内的多种膜相关蛋白中发现了 PDZ 结构域。

[0039] 表 2 和实施例 4 中展示了示范性的含 PDZ 结构域的蛋白以及 PDZ 结构域序列。术语“PDZ 结构域”也包括所述序列的变体(如天然存在的变体,多态性变体,保守置换变体等)和来自其他物种(如小鼠、大鼠)的结构域。典型的 PDZ 结构域与美国专利申请 09/724553 中所展示的充分相同,例如,在最大对应度的比较和对齐排列时,具有至少约 70%、至少约 80%或至少约 90%氨基酸残基相同性。在本领域中需要认识到,可以对 PDZ 结构域实行突变以产生能增强或减弱结合并改变特异性的氨基酸改变,但它们保持为 PDZ 结构域(Schneider 等, 1998, Nat.Biotech.17: 170-5)。除了另有说明以外,提及具体的 PDZ 结构域(例如 MAGI-1 结构域 2)意味着包括所述具体 PDZ 结构域及其 HPV E6 结合变体。换言之,如果涉及具体的 PDZ 结构域,则也同样涉及如下所述的这一结合 HPV 致癌 E6 蛋白 PDZ 结构域的变体。在这一点上需要指出蛋白中 PDZ 结构域的编号可以发生改变。例如,如这里所涉及的 MAGI-1 结构域 2,在其他文献中可能作为 MAGI-1 结构域 1 被提及。同样的,当本申请中提及一个特定的蛋白 PDZ 结构域时,这里所提及的应当理解为如这里所述的、尤其是序列列表中的该结构域的序列。插入在权利要求书之前的表 9 显示了适当情况下多个结构域在序列列表中的序列和名称与 Genbank 登录号之间的关系。

[0040] 这里所使用的术语“PDZ 蛋白”是指包含 PDZ 结构域的天然蛋白。示范性的 PDZ 蛋白包括 CASK、MPP1、DLG1、DLG2、PSD95、NeDLG、TIP-33、SYN1a、TIP-43、LDP、LIM、LIMK1、LIMK2、MPP2、NOS1、AF6、PTN-4、prIL16、41.8kD、KIAA0559、RGS12、KIAA0316、DVL1、TIP-40、TIAM1、MINT1、MAGI-1、MAGI-2、MAGI-3、KIAA0303、CBP、MINT3、TIP-2、KIAA0561 和 TIP-1。

[0041] 这里所用的术语“PDZ 结构域多肽”是指含有 PDZ 结构域的多肽,如包含 PDZ 结构域序列的融合蛋白、天然存在的 PDZ 蛋白或分离的 PDZ 结构域肽段。因此,PDZ 结构域多肽的长度可以是约 60 个氨基酸或更多、约 70 个氨基酸或更多、约 80 个氨基酸或更多、约 90 个氨基酸或更多、约 100 个氨基酸或更多、约 200 个氨基酸或更多、约 300 个氨基酸或更多、约 500 个氨基酸或更多、约 800 个氨基酸或更多、约 1000 个氨基酸或更多、通常达到 2000 个氨基酸或更多。PDZ 结构域肽段通常不大于约 100 个氨基酸(如 50-60 个氨基酸、60-70 个氨基酸、80-90 个氨基酸或 90-100 个氨基酸)并编码一个 PDZ 结构域。

[0042] 这里所使用的术语“PL 蛋白”或“PDZ 配体蛋白”是指与 PDZ 结构域形成分子复合物的天然存在的蛋白,或是指当其 C 末端与全长蛋白分开表达时(例如,象 4-25

个残基的肽段（如 8、10、12、14 或 16 个残基）形成这样的分子复合物的蛋白。所述分子复合物可以用“A 检测法”或“G 检测法”在体外或体内进行观测。表 3 和 4 中列举的示范性的 PL 蛋白经证实能结合具体 PDZ 蛋白。所述定义不包括抗 PDZ 抗体及其他类似物。

[0043] 这里所使用的“PL 序列”是指 PL 蛋白 C 末端的氨基酸序列（例如，C 末端 2、3、4、5、6、7、8、9、10、12、14、16、20 或 25 个残基）（“C 末端 PL 序列”）或指已知结合 PDZ 结构域的内部序列（“内部 PL 序列”）。

[0044] 这里所使用的“PL 肽”是指具有来自或基于 PL 蛋白 C 末端序列的序列的肽段。表 3 中列举了示范性的 PL 肽（生物素化的）。

[0045] 这里所使用的“PL 探测分子”是能特异性识别并结合 PL 序列的蛋白。

[0046] 这里所使用的“PL 融合蛋白”是含有将 PL 序列作为一个结构域的融合蛋白（通常作为所述融合蛋白 C 末端结构域）。tat-PL 序列融合是 PL 融合蛋白的一个例子。

[0047] 这里所使用的“PL 抑制肽序列”是指抑制 PDZ 结构域多肽与 PL 肽之间相互作用（例如在 A 检测或 G 检测中）的 PL 肽氨基酸序列（以肽或 PL 融合蛋白的形式）。

[0048] 这里所使用的“PDZ 结构域编码序列”指编码 PDZ 结构域的多核苷酸片段。在不同实施方案中，所述多核苷酸是单链或双链 DNA 和 RNA。

[0049] 在用于调节相互结合作用（如 PDZ 结构域序列与 PL 序列的结合）的上下文中时，这里所使用的术语“拮抗剂”或“抑制剂”可以交替使用，指降低如 PL 序列（例如 PL 肽）与如 PDZ 结构域序列（如 PDZ 蛋白、PDZ 结构域肽）的结合的物质。

[0050] 在用于调节相互结合作用（如 PDZ 结构域序列与 PL 序列的结合）的上下文中时，这里所使用的术语“激动剂”或“增强子”可以交替使用，指增强如 PL 序列（例如 PL 肽）与如 PDZ 结构域序列（如 PDZ 蛋白、PDZ 结构域肽）的结合的物质。

[0051] 这里使用的术语“类肽”、“拟肽”和“肽类似物”可以交替使用，是指具有与本发明中的 PL 抑制肽或 PL 结合肽充分相同的结构和 / 或功能特征的合成的化合物。所述的类似物可以是完全由合成的、非天然的氨基酸类似物构成，或是部分天然肽氨基酸和部分非天然的氨基酸类似物组成的嵌合分子。所述类似物也可以包含任何数量的天然氨基酸保守置换，只要这样的置换不足以改变所述类似物的结构和 / 或抑制或结合活性。对于本发明中多肽的保守变体而言，常规实验能够确定一种类似物是否包括在本发明范围以内，即是否其结构和 / 或功能发生了充分改变。因而，如果一种模拟组合物能结合 PDZ 结构域和 / 或抑制 PL-PDZ 相互作用，那么该类似物包括在本发明范围以内。

[0052] 多肽模拟组合物可以包含通常选自下列三种结构基团的非天然结构组分的任意组合：a) 与天然酰胺键（“肽键”）连接不同的残基连接基团；b) 替代天然氨基酸残基的非天然残基；或 c) 促进二级结构模拟（即促进或稳定二级结构（如 β 转角、 γ 转角、 β 折叠、 α 螺旋及其他构象））的残基。

[0053] 一条多肽可以具备类似物的特征，如果其全部或一些残基通过与天然肽键不同的化学方法结合。单独的拟肽残基可以通过肽键、其他化学键或偶联方法（诸如例如戊二醛、N-羟基琥珀酰亚胺脂、双功能马来酰亚胺、N, N'-二环己基碳二亚胺 (DCC) 或 N, N'-二异丙基碳二亚胺 (DIC) 结合。除传统的酰胺键（“肽键”）连接外的连接基团可以包括例如甲叉酮（如针对 $-C(=O)-NH-$ 的 $-C(=O)-CH_2-$ ）、甲叉胺

(CH₂-NH)、乙烯、烯炔(CH=CH)、醚(CH₂-O)、硫醚(CH₂-S)、四唑(CN₄-)、噻唑、糖苷、硫代酰胺或酯(参见例如 Spatola 所著(1983)《氨基酸、肽与蛋白的化学与生物化学》一书第 7 卷 267-357 页的《肽骨架修饰》章节(Chemistry and Biochemistry of Amino Acids, Peptides and Proteins, Vol.7, pp 267-357, A Peptide Backbone Modifications, Marcell Dekker, NY))。

[0054] 通过包含所有或一些取代天然氨基酸残基的非天然残基,一条多肽也可以具备类似物的特征。非天然残基在科技文献和专利文献中有详细描述;以下描述了一些示范性的用作天然氨基酸残基类似物的非天然组合物及其指南。

[0055] 芳香性氨基酸类似物可以通过用下列残基替代产生,例如 D- 或 L- 萘基丙氨酸(naphylalanine); D- 或 L- 苯基甘氨酸; D- 或 L-2 噻吩酮丙氨酸(thieneylalanine); D- 或 L-1, -2, 3-, 或 4- 芘丙氨酸(pyreneylalanine); D- 或 L-3 噻吩酮丙氨酸; D- 或 L-(2-吡啶)-丙氨酸; D- 或 L-(3-吡啶)-丙氨酸; D- 或 L-(2-吡嗪)-丙氨酸; D- 或 L-(4-异丙基)-苯基甘氨酸; D-(三氟甲基)-苯基甘氨酸; D-(三氟甲基)-苯基丙氨酸; D-p- 氟苯丙氨酸; D- 或 L-p- 双苯基苯丙氨酸; K- 或 L-p- 甲氧基双苯基苯丙氨酸; D- 或 L-2- 吡啶(烷基)丙氨酸;和 D- 或 L- 烷基丙氨酸,其中烷基可以替代为或不替代为甲基、乙基、丙基、己基、丁基、戊基、异丙基、异丁基、2- 异己基、异戊基或非酸性氨基酸。非天然氨基酸的芳香环包括例如噻唑基、苯硫基、吡唑基、苯并咪唑基、萘基、呋喃基、吡咯基和吡啶基芳香环。

[0056] 酸性氨基酸类似物可以通过用例如在保持一个负电荷情况下非羧酸化氨基酸、(膦酸基)丙氨酸;硫酸化苏氨酸替代产生。羧基一侧的基团(如天冬氨酰或谷氨酰)也可以通过与诸如例如 1- 环己基 -3(2- 吗啉基 -(4- 乙基)) 碳二亚胺或 1- 乙基 -3(4- 阳离子氮 -4, 4- 二甲氨基戊基) 碳二亚胺等碳二亚胺(R = -N-C-N-R =) 反应进行选择修饰。天冬氨酰基或谷氨酰基也可以通过与铵离子反应转化成天冬酰胺酸和酰胺谷氨酸残基。

[0057] 碱性氨基酸类似物可以通过用例如(除了赖氨酸和精氨酸以外)氨基酸鸟氨酸、瓜氨酸或(胍基)-乙酸或(胍基)烷基乙酸(烷基见前文定义)等替代产生。腈类衍生物(例如含替代 COOH 的 CN 部分)可用于替代天冬酰胺酸或酰胺谷氨酸。天冬氨酸和谷氨酸残基可以脱去氨基形成相应的天冬氨酸和谷氨酸残基。

[0058] 精氨酸残基类似物可以通过精氨酰与例如一种或多种包括例如苯甲酰甲醛、2, 3- 丁二酮、1, 2- 环己二酮或茚三酮在内的常规试剂优选地在碱性条件下反应产生。

[0059] 酪氨酸残基类似物可以通过酪氨酰与例如芳香性重盐化合物或四硝基甲烷反应产生。N- 乙酰咪唑(N-acetylimidizol) 和四硝基甲烷可以分别用于形成 O- 乙酰酪氨酰类化合物和 3- 硝基衍生物。

[0060] 半胱氨酸残基类似物可以通过半胱氨酰残基与例如诸如 2- 氯乙酸或氯乙酰胺的 α - 环乙酸(haloacetates) 和相应的胺反应产生,生成羧甲基或羧胺甲基衍生物。半胱氨酸残基类似物也可以通过半胱氨酰残基与例如溴三氟丙酮、 α - 溴 - β -(5- 咪唑) 丙酸;磷酸氯乙酸、N- 烷基马来酰亚胺、二硫 3- 硝基 -2 吡啶;二硫甲基 2- 吡啶;p- 氯汞苯甲酸(p-chloromercuribenzoate); 2- 氯汞 -4 硝基酚;或氯 -7- 硝基苯并 - 氧杂 -1, 3- 二唑反应产生。

[0061] 赖氨酸类似物可以通过赖氨酸与例如琥珀酸的或其他羧酸酐反应产生（氨基末端残基可以改变）。赖氨酸及其他含 α 氨基的残基类似物也可以通过与诸如甲基吡啶酰胺酯（methyl picolinimidate）、磷酸吡哆醛、吡哆醛、硼氢化氯、三硝基苯磺酸、O- 甲基异脲、2, 4 戊二酮等酰亚胺酯反应以及转酰胺基酶催化的与乙醛酸反应产生。

[0062] 甲硫氨酸类似物可以通过与例如硫氧甲硫氨酸反应产生。脯氨酸类似物包括例如哌啶酸、噻唑烷二酮羧酸、3- 或 4- 羟脯氨酸、脱氢脯氨酸、3- 或 4- 甲基脯氨酸或 3, 3, - 二甲基脯氨酸。组氨酸残基类似物可以通过组氨酸与例如二乙基焦碳酸酯或对溴苯酰甲基溴反应生成。

[0063] 其他类似物包括，例如通过脯氨酸和赖氨酸羟基化；丝氨酸或苏氨酸残基的羟基磷酸化；赖氨酸、精氨酸和组氨酸的 α 氨基基团甲基化；N 末端氨基乙酰化；主链酰胺残基甲基化或由 N- 甲基氨基酸替代；或 C 末端羧基基团胺基化产生的类似物。

[0064] 天然多肽（例如 PL 多肽或 PDZ 多肽）的成分也可以被具有相反手性的氨基酸（或类肽残基）所替代。因而，任何以 L- 构象（取决于所述化学个体的结构，也可以称为 R 或 S 构象）存在的天然氨基酸可以用相同化学结构类型但相反手性（通常称为 D- 型氨基酸，不过另外也可以称为 R- 或 S- 型）的氨基酸或类肽替代。

[0065] 本发明中的类似物还可以包括含结构类似残基，尤其是促进或模拟诸如 β 转角、 β 折叠、 α 螺旋结构、 γ 转角及其他类似结构的二级结构的组合物。例如，用 D 型氨基酸、N- α - 甲基氨基酸、C- α - 甲基氨基酸或脱氢氨基酸替代肽内的天然氨基酸残基，可以促进或稳定 β 转角、 β 折叠、 α 螺旋结构、 γ 转角等构形。如在 Nagai(1985) Tet.Lett.26 : 647-650 ; Feigl(1986) J.Amer.Chem.Soc.108 : 181-182 ; Kahn(1988) J.Amer.Chem.Soc.110 : 1638-1639 ; Kemp(1988) Tet.Lett.29 : 5057-5060 ; Kahn(1988) J.Molec.Recognition 1 : 75-79 等文献中已对 β 转角类似结构进行了描述。 β 折叠类似结构在例如 Smith(1992) J.Amer.Chem.Soc.114 : 10672-10674 中已有描述。例如，Beusen(1995) 在 Biopolymers 36 : 181-200 中描述了一种 cis 氨基化合物替代物 1, 5- 二基取代四氮唑促进 VI 型 β 折叠形成。Banerjee(1996) 在 Biopolymers 39 : 769-777 中描述了合并非手性 Ω 氨基酸残基生成作为酰氨键替代物的聚亚甲基单元。多肽二级结构可以通过例如高场 ^1H NMR 或 2D NMR 光谱分析进行分析，参见例如 Higgins(1997) J.Pept.Res.50 : 421-435。也可参见 Hruby(1997) Biopolymers 43 : 219-266 和 Balaji 等人的美国专利 No.5,612,895。

[0066] 这里所使用的术语“肽变体”和“保守氨基酸替代”是指通过相似性质的氨基酸残基（基于大小、极性、亲水性及其他性质）的替代使肽区别于参照肽（例如，含特定 PL 蛋白羧基末端序列的肽）。为此，本发明范围内所包括的化合物根据指定类别的氨基酸残基进行部分阐述，主要根据氨基酸侧链的性质，所述氨基酸通常可以分成三个主要类别：疏水性氨基酸、亲水性氨基酸和半胱氨酸类氨基酸。这些主要类别可以进一步分为亚类。亲水性氨基酸包括具有酸性、碱性或极性侧链的氨基酸，疏水性氨基酸包括具有芳香性或非极性侧链的氨基酸。非极性氨基酸可以进一步细分为包括脂肪族氨基酸及其他。这里所使用的氨基酸类别定义如下：

[0067] “疏水性氨基酸”指具有在生理 pH 值下不带电荷并排斥水溶液的侧链的氨基酸。遗传编码的疏水性氨基酸的例子包括 Ile、Leu 和 Val。非遗传编码的疏水性氨基酸的例子包括 t-BuA。

[0068] “芳香性氨基酸”指具有含至少一个具备共轭 s 电子体系的环（芳香环）的侧链的疏水性氨基酸。芳基可以用诸如烷基、烯基、炔基、羟基、磺酰基、硝基和氨基及其他基团进一步替代。遗传编码的芳香性氨基酸的例子包括 Phe、Tyr 和 Trp。通常遇到的非遗传编码芳香性氨基酸包括苯基甘氨酸、2-萘基丙氨酸、 β -2-噻吩丙氨酸、1, 2, 3, 4-四氢异喹啉-3-羧酸、4-氯-苯基丙氨酸、2-氟苯基丙氨酸、3-氟苯基丙氨酸和 4-氟苯基丙氨酸。

[0069] “非极性氨基酸”指具有在生理 pH 值下通常不带电荷并不是极性的侧链的疏水性氨基酸。遗传编码的非极性氨基酸的例子包括 Gly、Pro 和 Met。非编码的非极性氨基酸的例子包括 Cha。

[0070] “脂肪族氨基酸”指具有饱和的或不饱和的直链、分支的或环状碳氢侧链的非极性氨基酸。遗传编码的脂肪族氨基酸的例子包括 Ala、Leu、Val 和 Ile。非编码的脂肪族氨基酸的例子包括 Nle。

[0071] “亲水性氨基酸”指具有亲和水溶液的侧链的氨基酸。遗传编码的亲水性氨基酸的例子包括 Ser 和 Lys。非编码的亲水性氨基酸的例子包括 Cit 和 hCys。

[0072] “酸性氨基酸”指具有小于 7 的 pK 值的侧链的亲水性氨基酸。由于一个氢离子解离，在生理 pH 值下酸性氨基酸通常带负电。遗传编码的酸性氨基酸的例子包括 Asp 和 Glu。

[0073] “碱性氨基酸”指具有大于 7 的 pK 值的侧链的亲水性氨基酸。由于与水合氢离子结合，在生理 pH 值下碱性氨基酸通常带正电。遗传编码的碱性氨基酸的例子包括 Arg、Lys 和 His。非遗传编码的碱性氨基酸的例子包括非环状氨基酸鸟氨酸、2, 3-二氨基丙酸、2, 4-二氨基丁酸和高精氨酸。

[0074] “极性氨基酸”指具有在生理 pH 值下不带电的侧链，但其包含的通常由两个原子共享的电子对更靠近其中一个原子的亲水性氨基酸。遗传编码的极性氨基酸的例子包括 Asx 和 Glx。非遗传编码的极性氨基酸的例子包括瓜氨酸、N-乙酰赖氨酸和硫氧甲硫氨酸。

[0075] “半胱氨酸类氨基酸”指具有能与另一个氨基酸残基形成如二硫键的共价连接的侧链的氨基酸。一般而言，半胱氨酸类氨基酸通常具有含至少一个硫醇 (SH) 基团的侧链。遗传编码的半胱氨酸类氨基酸的例子包括 Cys。非遗传编码的半胱氨酸类氨基酸的例子包括高半胱氨酸和青霉胺。

[0076] 正如精通本领域的人员所认识到的，上述分类不是绝对的 - 几种氨基酸表现出多种特征性质，因而能够包括在几个类别中。例如，酪氨酸既有芳香环又有极性的羟基。因此，酪氨酸具有双重特性并能同时包含在芳香性和极性类别内。类似的，除了能够形成二硫键，半胱氨酸也具有非极性特征。因而，虽然没有严格地将其划分为疏水性或非极性氨基酸，在许多情况下半胱氨酸可以用于使肽具有疏水性。

[0077] 可以构成本发明中的肽和肽类似物的某些经常使用的非遗传编码的氨基酸包括但不限于： β -丙氨酸 (b-Ala) 以及其他如 3-氨基丙酸 (Dap)、2, 3-二氨基丙酸 (Dpr)、4-氨基丁酸等 Ω 氨基酸； α -氨基异丁酸 (Aib)； ϵ -氨基己酸 (Aha)； δ -氨基戊酸 (Ava)；N-甲基甘氨酸或肌氨酸 (MeGly)；鸟氨酸 (Orn)；瓜氨酸 (Cit)；t-丁基甘氨酸 (t-BuG)；N-甲基异亮氨酸 (MeIle)；苯基甘氨酸 (Phg)；环己胺 (Cha)；

正亮氨酸 (Nle) ; 2- 萘基丙氨酸 (2-Nal) ; 4- 氯苯丙氨酸 (Phe(4-Cl)) ; 2- 氟苯丙氨酸 (Phe(2-F)) ; 3- 氟苯丙氨酸 (Phe(3-F)) ; 4- 氟苯丙氨酸 (Phe(4-F)) ; 青霉胺 (Pen) ; 1, 2, 3, 4- 四氢异喹啉 -3- 羧酸 (Tic) ; β -2 噻吩丙氨酸 (Thi) ; 硫氧甲硫氨酸 (MSO) ; 高精氨酸 (hArg) ; N- 乙酰赖氨酸 (AcLys) ; 2, 3- 二氨基丁酸 (Dab) ; 2, 3- 二氨基丁酸 (Dbu) ; p- 氨基苯基丙氨酸 (Phe(pNH₂)) ; N- 甲基缬氨酸 (MeVal) ; 高半胱氨酸 (hCys) 以及高丝氨酸 (hSer)。 这些氨基酸也方便地归入上述的类别中。

[0078] 下面的表 1 中总结了上述遗传编码和非编码氨基酸的分类。 需要理解的是, 表 1 只是为了说明的目的, 而不意味着包括这里所描述的肽和肽类似物的氨基酸残基的完全清单。 其他可用于制备这里所描述的肽和肽类似物的氨基酸残基可以参考如 Fasman 1989 年所著《CRC 生物化学与分子生物学实践手册》(CRC Practical Handbook of Biochemistry and Molecular Biology, CRC Press, Inc., 1989) 及其引用的参考文献。 这里没有特别提及的氨基酸在已知的表现和 / 或其与明确鉴别的氨基酸相比特别的化学和 / 或物理性质的基础上, 可以方便地归入上述类别。

[0079] 表 1

[0080]

分类	遗传编码的	非遗传编码的
疏水性		
芳香性	F、Y、W	Phg、Nal、Thi、Tic、Phe(4-Cl)、Phe(2-F)、Phe(3-F)、Phe(4-F)、吡啶基丙氨酸、苯并噻吩丙氨酸
非极性	M、G、P	
脂肪族	A、V、L、I	t-BuA、t-BuG、MeIle、Nle、MeVal、Cha、bAla、MeGly、Aib
亲水性		
酸性	D、E	
碱性	H、K、R	Dpr、Orm、hArg、Phe(p-NH ₂)、DBU、A ₂ BU
极性	Q、N、S、T、Y	Cit、AcLys、MSO、hSer
半胱氨酸	C	Pen、hCys、p-甲基半胱氨酸

[0081] 在这里所描述的 PDZ 蛋白的情况中, 特定 PDZ 结构域的“HPV E6 结合变体”是保持 HPV E6PDZ 配体结合活性的 PDZ 结构域变体。 下文对测定 PDZ 结构域变体是否结合 HPV E6 的检测方法进行了详细描述, 识别特定 PDZ 结构域中哪个氨基酸的改变使之成为变体的指导可以参见各种原始资料。 在一个实例中, 例如, 可以将一个 PDZ 结构域与这里所描述的其他 PDZ 结构域进行比较并可以将相应位置上的氨基酸进行替换。 在另一个实例中, 一个特定 PDZ 蛋白的 PDZ 结构域序列可以与来自另一个物种的等价 PDZ 蛋白的等价 PDZ 结构域序列比较。 例如, 一个人的 PDZ 蛋白的 PDZ 结构域序列可以与来自其他物种的 (如小鼠、大鼠等) 其他已知的等价的 PDZ 结构域序列比较, 任何所述两个序列之间不同的氨基酸可以替换入所述的人 PDZ 结构域以生成所述 PDZ 结构域的变体。 例如, 人 MAGI-1PDZ 结构域 2 序列可以与其他物种的 (如小鼠, Genbank gi 号 7513782 和 28526157 或其他同源序列) 等价 MAGI-1PDZ 结构域比较以确定可以替换入人 MAGI-1PDZ 结构域的氨基酸从而产生其变体。 这样的方法可用于这里所述的任何 MAGI-1PDZ 结构域。 序列编号 293-301 中提供了最小的 MAGI-PDZ 结构域 2 序列。

与序列列表中一条序列相比，具体的变体可以含 1 个、直到 5 个、直到约 10 个、直到约 15 个、直到约 20 个或直到约 30 个或更多，经常达到约 50 个氨基酸改变。示范性的 MAGI-1PDZ 变体包括序列编号 302-330 所表述的序列。在产生变体时，如果 PDZ 结构域中存在 GFG 基序，则通常不要改变该基序。

[0082] 用默认参数通过 BLAST2.0 检测延伸至整个 PDZ 结构域的区域，通常，不同的 PDZ 结构域多肽含与这里所述的变异 PDZ 结构域多肽至少约 70 或 80%、通常至少约 90%、更常见是至少约 98% 序列相同。

[0083] 这里所使用的术语“可检测标记”具有本领域内的普通含义，是指能用于检测（例如，由于其物理或化学性质）、指示存在一种分子或能共价结合或以其他方式结合另一个分子的原子（例如放射性核）、分子（例如荧光素）或复合物。术语“标记”也指共价结合或以其他方式连接的作用于底物以产生可检测的原子、分子或复合物的分子（例如，诸如酶等生物分子）。适用于本发明的可检测标记包括任何用光谱的、光化学的、生物化学的、免疫化学的、电学的、光学的或化学的手段检测的合成物。本发明中可用的标记包括用于与标记的链霉亲和素偶合物染色的生物素、磁珠（如 Dynabeads™）、荧光染料（如荧光素、得克萨斯红、罗丹明、绿荧光蛋白、增强绿荧光蛋白及其他）、放射性标记（如 ^3H 、 ^{125}I 、 ^{35}S 、 ^{14}C 、或 ^{32}P ）、酶（如水解酶，尤其是如碱性磷酸酶的磷酸酶、酯酶和糖苷酶、或氧化还原酶，尤其是如辣根过氧化物酶的过氧化物酶、以及其他 ELISA 中常用的酶）、底物、辅助因子、抑制剂、化学发光基团、显色试剂、以及如胶体金或有色玻璃或塑胶（如聚苯乙烯、聚丙烯、乳胶等）珠的比色标记。指导使用这些标记的专利包括美国专利 Nos.3,817,837；3,850,752；3,939,350；3,996,345；4,277,437；4,275,149；和 4,366,241。检测这些标记的手段是精通本领域的人员所熟知的。因而，例如，放射性标记和化学发光标记可以用照相底片或闪烁计数器检测，荧光标记可以用探测放射光的光电探测器检测（如在荧光激发细胞分类中），酶标记通常通过提供底物并检测酶与底物反应生成的反应产物进行检测，比色标记通过简单地观察有色标记物进行检测。因此，标记是可以通过光谱的、光化学的、生物化学的、免疫化学的、电学的、光学的或化学的方法检测的任何化合物。按照本领域所熟知的方法，标记物可以直接或间接与分析方案所希望的成分连接。非放射性标记物经常以间接方法连接。通常，配体分子（如生物素）与该分子共价结合。随后所述配体与一个抗配体（如链霉亲和素）分子结合，后者或是直接可检测的，或是与诸如可检测的酶、荧光化合物、或化学发光化合物等信号生成系统共价相连的。多种配体和抗配体可供使用。在配体具有天然抗配体的情况下（例如生物素、甲状腺素和皮质醇），它能与标记的天然抗配体联合使用。此外，任何的半抗原或抗原化合物可以与抗体组合使用。所述分子也可以直接与信号生成化合物偶联，例如通过与酶或荧光团偶联。检测标记物的方法是精通本领域的人员所熟知的。因而，例如，当所述标记物是放射性标记物时，检测方法包括闪烁计数器、放射自显影中的照相底片、或存储式磷屏成像。当所述标记物是荧光标记物时，可以通过用适当波长的光激活荧光基团并检测产生的荧光的方式检测。荧光可以通过照相底片、使用如电荷耦合装置 (CCD) 的电探测器或光电倍增器及其他手段观察。类似的，酶标可以通过提供合适的底物并检测产生的反应产物进行检测。简单的比色标记物也可以通过观测与标记物相连的颜色进行检测。需要认识到，在检测方案中使用一对荧光团时，经常

优选具有不同发射光谱的（波长），这样就能容易地加以区分。

[0084] 在比较氨基酸序列的上下文中，这里所使用的术语“充分相同”意味着当最符合的对齐排列和比较时，所述序列具有至少约 70%、至少约 80%、或至少约 90% 的氨基酸残基一致性。FASTA 算法是测定序列一致性和相似性百分比的适宜的算法，在 Pearson, W.R. 和 Lipman, D.J., 1988, *Proc.Natl.Acad.Sci.US.*, 4,85 : 2444 中描述了该算法。也可参考 W.R.Pearson, 1996, *Methods Enzymol.*266 : 227-258。对用于计算一致性百分比的 DNA 序列的 FASTA 对齐排列中所用的优选参数进行了优化，BL50 矩阵 15 : -5, K- 元组 = 2 ; 接缝罚分 = 40, 最优化 = 28 ; 缺口罚分 -12, 缺口长度罚分 = -2 ; 宽度 = 16。

[0085] 这里所使用的术语“夹心”、“夹心 ELISA”、“夹心诊断”和“ELISA 捕获法”都是指用两种不同的检测试剂检测生物学多肽的概念。例如，PDZ 蛋白可以直接或间接附着于固体支持物。待测样品可以通过固体表面，所述 PDZ 蛋白能够结合其对应的 PL 蛋白。随后可以使用标记的抗体或其他检测试剂以测定特定的 PL 蛋白是否已经与所述 PDZ 蛋白结合。

[0086] “固相支持物”或“载体”是指任何能够结合多肽、抗原或抗体的支持物。熟知的支持物或载体包括玻璃、聚苯乙烯、聚丙烯、聚乙烯、葡聚糖、尼龙、淀粉酶、天然或修饰的纤维素、聚丙烯酰胺、琼脂糖和磁铁。取决于本发明的目的，所述载体的性质可以是一定程度可溶的或不可溶的。所述支持材料事实上可以具有任何可能的结构构造，只要与之连接的分子能够结合 PDZ 结构域多肽或 E6 抗体。因而，所述支持物的形状可以是球形的（如在小珠中）、或圆柱形的（如在试管的内表面或杆状物的外表面）。另外，所述表面可以是平坦的，如薄片、培养皿、测试条等。精通本领域的人员会知道多种其他结合抗体、肽或抗原的适宜的载体，或通过常规实验可以确定这样的载体。

[0087] 这里所使用的术语“待测化合物”或“待测物”可以交替使用，是指可能具有增强子 / 激动剂或抑制剂 / 拮抗剂活性（例如抑制或增强如 PDZ-PL 结合的相互作用）的候选物质。所述候选物质或待测化合物可以是多种化合物中的任意选择，这些化合物可以是天然存在的或合成的、有机的或无机的，包括聚合物（如寡多肽、多肽、寡核苷酸和多核苷酸）、小分子、抗体（如这里广泛定义的）、糖类、脂肪酸、核苷酸和核苷酸类似物、天然结构类似物（如类肽、核酸类似物及其他）以及许多其他化合物。在某些实施方案中，待测物从诸如随机或组合肽库或非肽库的多样性文库中制备。可以使用许多本领域内所知的文库，如化学合成文库、重组（如噬菌体展示文库）、以及基于体外翻译的文库。在 Fodor 等, 1991, *Science* 251 : 767-773 ; Houghten 等, 1991, *Nature* 354 : 84-86 ; Lam 等, 1991, *Nature* 354 : 82-84 ; Medynski, 1994, *Bio Technology* 12 : 709-710 ; Gallop 等, 1994, *J.Medicinal Chemistry* 37 (9) : 1233-1251 ; Ohlmeyer 等, 1993, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 90 : 10922-10926 ; Erb 等, 1994, *Proc. Natl.Acad.Sci.USA* 91 : 11422-11426 ; Houghten 等, 1992, *Biotechniques* 13 : 412 ; Jayawickreme 等, 1994, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 91 : 1614-1618 ; Salmon 等, 1993, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 90 : 11708-11712 ; PCT 公开 No.WO 93/20242 ; 以及 Brenner 和 Lerner, 1992, *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 89 : 5381-5383 中描述了化学合成文库的例子。在 Scott 和 Smith, 1990, *Science* 249 : 386-390 ; Devlin 等, 1990, *Science*,

249 : 404-406 ; Christian, R.B. 等, 1992, J.Mol.Biol.227 : 711-718 ; Lenstra, 1992, J Immunol.Meth.152 : 149-157 ; Kay 等, 1993, Gene 128 : 59-65 ; 以及 1994 年 8 月 18 日的 PCT 公开 No.WO 94/18318 中描述了噬菌体展示文库的例子。基于体外翻译的文库包括但不限于在 1991 年 4 月 18 日的 PCT 公开 No.WO 91/05058 以及 Mattheakis 等, 1994, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91 : 9022-9026 中所描述的文库。作为非肽类库的例子, 可以对苯二氮卓文库 (参见例如 Bunin 等人的 1994, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91 : 4708-4712) 进行改进以供使用。也可以使用 peptoid 类肽文库 (Simon 等, 1992, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89 : 9367-9371)。Ostresh 等人 (1994, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 91 : 11138-11142) 描述了可以使用的另一个文库的例子, 该文库中肽的氨基功能基团已被事先甲基化以生成化学改造的组合文库。

[0088] 术语“特异性结合”指两个分子之间的结合 (例如配体与受体之间), 其特征在于一个分子 (配体) 即便在存在多种其他不同分子的情况下能够与另一个具体分子 (受体) 结合, 也就是在异质分子混合物中一个分子对另一个分子表现出优先的结合能力。通过在存在过量未标记配体情况下可检测的标记配体与受体结合的减弱也可以说明配体与受体的特异性结合 (亦即竞争结合检测)。

[0089] 在一些实施方案中, 可以使用“蛋白酶体抑制剂”。这些包括苯氧羰基 -leu-leu-1 正缬氨酸 II (MG 115) 或 CBZ-LLL 的抑制剂可以向化学品供应商购买 (如 Sigma)。正如精通本领域的技术人员所理解的, 蛋白酶体抑制剂不同于蛋白酶抑制剂。

[0090] 这里所使用的 PDZ 蛋白 (或相应的 PDZ 结构域或 PDZ 融合多肽) 的复数形式具有通常含义。在一些实施方案中, 多种蛋白是至少 5 种、经常至少 25 种、至少 40 种、或至少 60 种不同的 PDZ 蛋白。在一些实施方案中, 多种蛋白选自表 2 中列举的 PDZ 多肽列表。在一些实施方案中, 多种不同的 PDZ 蛋白来源于 (也就是表达在) 特定的组织或特定种类或类型的细胞。在一些实施方案中, 多种不同的 PDZ 蛋白代表所有已知或认为在组织或细胞中表达的 PDZ 蛋白 (例如已知存在于淋巴细胞或造血细胞中的所有 PDZ 蛋白) 的实质部分 (例如, 通常至少 50%, 更常见的是至少 80%)。在一些实施方案中, 多种 PDZ 蛋白是指这里所公开的在特定细胞中表达的 PDZ 蛋白的至少 50%、通常至少 80%、至少 90% 或其全部。

[0091] 当提及 PL 肽 (或相应的蛋白, 例如对应于表 3 或这里其他地方列举的肽的) 时, “多种”是指至少 5 种、至少 10 种、通常至少 16 种如这里所具体列举的或属于前文对 PDZ 结构域所作的分类和百分比的 PL 肽。

[0092] II. 综述

[0093] 本发明的发明人已经鉴别了大量能在多种生理系统中发挥重要生物学功能的 PDZ 蛋白和 PL 蛋白之间的相互作用。在一个细胞中, 这里所使用的术语“生物学功能”是指通常由细胞实现的可检测的生物学活性, 例如诸如细胞增殖 (例如肿瘤)、细胞活化、细胞因子释放、脱颗粒、酪氨酸磷酸化、离子 (例如钙离子) 通量、代谢活动、凋亡、基因表达改变、细胞结构的保持、细胞迁移、附着于基质、信号转导、细胞间相互作用以及其他这里所描述的或本领域已知的细胞活动。

[0094] 由于参与所述相互作用的蛋白参与多种生理系统 (见上述发明背景部分), 这里所提供的方法可广泛或选择性用于对反常细胞表型或病原体感染的诊断。这里也公开了

用 PDZ:PL 蛋白相互作用来测定脊椎动物生物样本中是否存在病原生物体的方法。

[0095] 正如下面将详细讨论的，为诊断目的而使用 PDZ-PL 相互作用适用于许多不同的检测形式并且不仅限于这里所作的讨论。对于 ELISA 检测，诊断检测方式可以是如用于怀孕测试的试纸检测，是可与待测样本孵育的薄膜检测，是可以在上放置样本的基片检测，或其他这样的介质。这样的形式是本领域熟知的，并在美国专利 6,180,417；4,703,017；5,591,645 中进行了描述。

[0096] III. PDZ 蛋白和 PL 蛋白的相互作用

[0097] 表 4 列举了本发明的发明人已经鉴定相互结合的 PDZ 蛋白和 PL 蛋白。表 4 的每页包括 4 栏。每部分中的栏由左向右编号，这样每一部分中最左边的栏是第 1 栏，每一部分中最右边的是第 4 栏。每一部分第 1 栏标为“HPV 病毒株”并列举了包含经验证的 PDZ 配体序列 (PL，在圆括号中表示) 的不同 E6 蛋白。这一栏列举了对应于用于所述结合研究的 20 个氨基酸的肽的 C 末端的 3 个氨基酸。所有配体经氨基端生物素化并在表 3 中展示了部分序列。

[0098] 与 HPV E6-PL 肽相互作用的 PDZ 蛋白列举在标为“PDZ 结合伴侣”的第 2 栏中。这一栏提供了与左边的 PDZ 配体相互作用的 GST-PDZ 融合物 PDZ 部分的基因名。具有多个结构域的含 PDZ 结构域的蛋白的结构域编号列举在所述 PDZ 的右侧 (就是标为“PDZ 结构域”的第 4 栏)，并从氨基端向羧基端对 PDZ 结构域进行了编号。所述表格仅列举了较强的相互作用，例如在“G 检测方法”中产生‘4’或‘5’级结果的相互作用。“级”是结合水平的量度。具体而言，它提供了表示与 PDZ 蛋白结合的 PL 肽数量的 450 纳米处吸光值。下列数值具有以下含义：‘1’ - A_{450nm} 0-1；‘2’ - A_{450nm} 1-2；‘3’ - A_{450nm} 2-3；‘4’ - A_{450nm} 3-4；‘5’ - A_{450nm} 重复 2 处以上达到 4；‘0’ - A_{450nm} 0，也就是没有发现相互作用。

[0099] 表 4 的第 3 和第 4 栏仅是第 1、2 栏的简单复制，其差别在于检测了不同的 E6PL 以及以较高亲和力与其结合的 PDZ。

[0100] 表 2 和表 3 以及实施例 4 和 5 中提供了这些 PL 蛋白和 PDZ 蛋白的进一步的信息。尤其是表 3 提供了所述检测方法中所使用的肽的部分氨基酸序列的清单。从左向右编号时，表示为“HPV 病毒株”的第 1 栏提供了用于检索来自该病毒株的 E6 蛋白的 HPV 病毒株编号。表示为“E6C 末端序列”的一栏提供了所述 E6 蛋白羧基端 10 个氨基酸的预测序列。标记为“是 / 否 PL”的第 3 栏表示所述 E6-PL 序列是否包含预测的与 PDZ 结构域结合的序列元件。标记为“致癌性”的最后一栏表示，这一 HPV 病毒株经国家癌症研究所 (NCI, 2001) 确认已知能引起宫颈癌。

[0101] 实施例 5 列举了为生成 GST-PDZ 融合蛋白 (Pharmacia) 而克隆在载体 (PGEX-3X 载体) 上的代表性的 PDZ 结构域序列。美国专利 09/724553 中列举了为生成 GST-PDZ 融合蛋白而克隆在 pGEX 载体上的 PDZ 结构域的扩展清单。

[0102] 正如这里所详细讨论的，表 2 中列举的 PDZ 蛋白是天然的包含 PDZ 结构域的蛋白。该表中只显示了重要相互作用。因而，本发明尤其针对 PDZ 蛋白与 PL 蛋白之间相互作用的检测与调控。结合其他病原体的 PDZ 结构域能以类似的方式用于感染的诊断。表 8 中包括了适用于诊断的病原体 PL 蛋白的附加的例子，不过这并不意味着对本发明范围的限制。

[0103] 在本发明的另一个实施方案中，细胞异常或疾病可以通过检测细胞 PDZ 蛋白或 PL 蛋白表达水平的失衡进行诊断。在衍生于“A 检测方法”或“G 检测方法”的检测中，使用 PL 蛋白或 PDZ 蛋白可以测定正常或异常细胞中结合伴侣蛋白表达水平。蛋白表达水平的差异已与许多疾病关联。

[0104] 在本发明的某些实施方案中，PDZ 蛋白用于诊断病原生物体 PL 蛋白的存在。具有 PL 序列的病原生物体的例子包括但不限于诸如人乳头状瘤病毒、乙肝病毒、腺病毒、人 T 细胞白血病病毒等病毒、细菌和真菌。

[0105] IV. PDZ 蛋白或 PDZ 配体蛋白 (PL 蛋白) 的检测方法

[0106] 发展了两种互补的、分别称为“A”和“G”的检测 PDZ 结构域多肽与候选 PDZ 配体之间结合的方法。在两种不同检测方法的每一种中，检测了具有对应于参与结合 1 个或多个 PDZ 结构域的蛋白的 C 末端序列的肽（即候选 PL 肽）与 PDZ 结构域多肽（通常是含 PDZ 结构域的融合蛋白）之间的结合。在“A 检测方法”中，固定化所述候选 PL 肽并检测可溶的 PDZ 结构域多肽与所述固定肽的结合（之所以称为“A”检测是由于在一个实施方案中，使用了亲和素表面以固定所述肽）。在“G 检测方法”中，固定化所述 PDZ 结构域多肽并检测可溶性 PL 肽的结合（之所以称为“G”检测是由于在一个实施方案中使用了 GST 结合表面以固定所述 PDZ 结构域多肽）。下文描述了这些检测方法的优选实施方案。然而，一般技术人员需要认识到，这些检测方法可以多种方式进行改良而仍然适用于本发明的目的。

[0107] A. 含 PDZ 结构域的融合蛋白的产生

[0108] 为了用于本发明中的检测方法，制备了 GST-PDZ 结构域融合蛋白。含编码 PDZ 结构域（如前文所述）的 PCR 产物亚克隆在表达载体中以表达含 PDZ 结构域和异源结构域（即谷胱甘肽-S-转移酶序列，GST）的融合蛋白。按照制造商的建议，用“Sephaglas”割胶系统 (Pharmacia) 从琼脂糖凝胶上回收代表编码 PDZ 结构域 DNA 的 PCR 产物（即 DNA 片段）。

[0109] 如上所述，为了便于 PCR 片段与 GST 编码序列以正确读框连接在 GST 基因融合载体 (pGEX-3X; Pharmacia, Genbank 登录号 XXU13852) 中，设计了包含限制性内切酶位点的 PCR 引物。所述载体含 IPTG 诱导的 lacZ 启动子。所述 pGEX-3X 载体用 Bam HI 和 Eco RI，或在有些情况下用 Eco RI 和 Sma I 线性化并脱磷酸化。对于大部分克隆手段来说，进行了 Bam HI 和 Eco RI 的双酶切，这样用于克隆的 PCR 片段的末端是 Bam HI 和 Eco RI。在一些情形下，使用的限制性内切酶组合是 Bgl II 和 Eco RI、Bam HI 和 Mfe I、或仅是 Eco RI、仅是 Sma I、或仅是 Bam HI。当克隆多个 PDZ 结构域时，克隆的 DNA 部分代表所述 PDZ 结构域和位于单个结构域之间的 cDNA 部分。美国专利申请 (60/360061) 中说明了所述方法中所采用的克隆片段的精确定位。取决于采用了上述哪些克隆位点和方法，GST 部分与含 PDZ 结构域的 DNA 部分之间的 DNA 连接序列有轻微变化。由此导致 GST-PDZ 融合蛋白的氨基酸序列在 GST 与 PDZ 结构域之间的连接区域上有所不同。对应于不同克隆位点 / 方法的蛋白连接序列如下所示。连接序列（载体 DNA 所编码）用粗体表示，含 PDZ 结构域基因衍生序列用斜体表示。

[0110] 1) **GST-BamHI/BamHI-PDZ 结构域插入片段**

[0111] **Gly-Ile-PDZ 结构域插入片段**

[0112] 2) GST-BamHI/BglII-PDZ 结构域插入片段

[0113] Gly-Ile-PDZ 结构域插入片段

[0114] 3) GST-EcoRI/EcoRI-PDZ 结构域插入片段

[0115] Gly-Ile-Pro-Gly-Asn-PDZ 结构域插入片段

[0116] 4) GST-SmaI/SmaI-PDZ 结构域插入片段

[0117] Gly-Ile-Pro-PDZ 结构域插入片段

[0118] 乙醇沉淀编码 PDZ 的 PCR 片段和线性化 pGEX-3X 载体并在 10 微升常规连接缓冲液中重悬。用 T4DNA 连接酶在 7℃ 下连接 4-10 小时。需要理解的是，一些获得的构建物包括很短的连接序列，当克隆多个 PDZ 结构域时，所述构建物包括位于单个 PDZ 结构域之间的一些 DNA。

[0119] 连接产物转化大肠杆菌 DH5 α 或 BL21 菌株。通过 PCR 和序列分析筛选并鉴定克隆的含 PDZ 结构域 DNA 以及与编码 GST 的 DNA 部分正确融合的菌落。在小规模的 GST/PDZ 结构域融合蛋白表达检测中检测阳性克隆，如果有表达，随后为大规模制备 GST/PDZ 融合蛋白而培养这些克隆。

[0120] 在培养基中添加 IPTG 过量表达 GST-PDZ 结构域融合蛋白并对其进行纯化。在《GST 基因融合系统》(GST Gene Fusion System) (第二版，第二次修订，Pharmacia) 中描述了小规模和大规模融合蛋白表达和纯化的详细过程。简而言之，在适当的抗生素选择压力下 (100 微克 / 毫升氨苄青霉素；表示为 2xYT-amp)，含具有所述融合蛋白构建物的菌株 (DH5 α 、BL21 或 JM109) 的小体积 (50 毫升) 培养物在 37℃ 下在 2XYT 培养基中生长过夜。将过夜培养物注入新鲜制备的 2XYT-amp (通常是 1 升) 并生长至培养物的光密度 (OD) 达到 0.5 至 0.9 (约 2.5 小时)。添加终浓度为 10mM 的 IPTG 以诱导产生 GST 融合蛋白，培养物继续生长 1 小时。以下包括离心在内的所有步骤在冰上或 4℃ 下进行。离心 (4500Xg) 收集菌体并在缓冲液 A- (50mM Tris, pH 8.0, 50mM 葡萄糖, 1mM EDTA, 200 μ M PMSF) 中重悬。加入等体积的缓冲液 A+ (缓冲液 A-, 4 毫克 / 毫升溶菌酶) 并在冰上孵育 3 分钟以溶解细菌或直到开始溶菌。添加等体积缓冲液 B (10mM Tris, pH 8.0, 50mM KCl, 1mM EDTA, 0.5% Tween-20, 0.5% NP40 (表示为 IGEPAL CA-630), 200 μ M PMSF) 并在冰上另外孵育 20 分钟。离心分离 (20,000Xg) 细菌溶解物，上清液流经含 20 毫升 Sepharose CL-4B (Pharmacia) “柱分离前珠” (即事先已用 3 倍床体积 PBS 洗涤的没有偶联谷胱甘肽的琼脂糖小珠) 的层析柱。向事先在 1XPBS 中膨胀 (再水合) 并转动孵育 30 分钟至 1 小时的谷胱甘肽 Sepharose 4B (Pharmacia, 目录号 17-0765-01) 添加穿出液。所述上清液 -Sepharose 悬液注入层析柱并用至少 20 倍床体积的 1XPBS 清洗。通过使用 0.5-1.0 毫升试样量的 5mM 谷胱甘肽从谷胱甘肽琼脂糖上洗脱 GST 融合蛋白并以单独组分的形式收集。通过读取 280 纳米处的吸光度并用吸光度和消光系数计算浓度来测定组份浓度。合并那些含有最高浓度融合蛋白的组份并添加等体积的 70% 的甘油使其终浓度为 35%。融合蛋白的大小及质量通过 SDS 凝胶电泳 (PAGE) 检测 (如 Sambrook 等人所述)。试样量融合蛋白在 -80℃ 和 -20℃ 保存。

[0121] 表 2：本发明检测方法中所使用的 PDZ 结构域

[0122]

基因名称	GI 或 Acc#	PDZ#	与 GST 构建物融合的序列	Seq ID
p27 的 26s 亚基	9184389	1	RDMAEAHKEAMSRKLQSESQGPRAFAKVNSISPGSPSIAGLQVDDEIVEFGSVN TQNFQSLHNIGSVVQHSEGALAPTILLSVSM	1
AF6	430993	1	LRKEPEITVTLLKKQNGMGLSIVAAKGAGQDKLGIYVKSVMKGAADVDRGLAAGDQ LLSVDGRSLVGLSQERAAELMTRTSSVVTLEVAKQG	2
AIPC	12751451	1	LIRPSVISIIGLYKEKGKGLGFSIAGGRDCIRGQMGIKVTIFPNGSAAEDGRLKEGDEI LDVNGIPIKGLTFQEAHITFKQIRSGFLVLTVRTKLVSPLTNSS	3
AIPC	12751451	2	GISSLGRKTPGPKDRIVMEVTLNKEPRVGLGIGACCLALENSPPGIYIHSAPGSVAK MESNLSRGDQILEVNSVNVRAALSKVHAILSKCPPGPVRLVIGRHPNPKVSEQEMD EVIARSTYQESKEANSS	4
AIPC	12751451	3	QSENEEDVCFIVLNRKEGSGLGFSVAGGTDVEPKSITVHRVFSQGAASQEGTMNRG DFLLSVNGASLAGLAHGNVLKVLHQAQLHKDALVVIKKGMDQPRPSNSS	5
AIPC	12751451	4	LGRSVAVHDALCVELKTSAGLGSLDGGKSSVTGDGPLVIKRVYKGGAAEQAGIIE AGDEILAINGKPLVGLMHFDawnIMKSVPEGPVQLLIRKHNSS	6
α -辅肌动蛋白 相关的 LIM 蛋白	2773059	1	QTVILPGPAAWGFRLSGGIDFNQPLVITRITPGSKAAAAANLCPGDVILADGFGTESMT HADGQDRIKAAEFIV	7
APXL-1	13651263	1	ILVEVQLSGGAPWGFLLKGGREHGEPLVITKIEEGSKAAAVDKLLAGDEIVGINDIGLS GFRQEAICLVKGSHTKLKLVVKNSS	8
萎缩蛋白-1 相互作用蛋白	2947231	1	REKPLFTRDASQLKGTFLSTTLKSNMGFGFTIIGGDEPDEFLQVKSVIPDGPAQD GKMETGDIVVYINEVCVLGHTHADVVKLFGVSVPIGQSVNLVLCRGYP	9
萎缩蛋白-1 相互作用蛋白	2947231	2	LSGATQAELMTLTVKGAQGFGTIADSPGQVRVKQLDIQGCPLCEGDLIVEINQQ NVQNLSTHEVVDILKDCPIGSETSLIHRGGFF	10
萎缩蛋白-1 相互作用蛋白	2947231	3	HYKELDVHLRRMESGFGFRILGGDEPGQPILIGAVIAMGSADRDGRLHPGDELVYVD GIPVAGKTHRYVIDLMHHAARNGQVNLTVRRKVLG	11

[0122]

基因名称	GI 或 Acc#	PDZ#	与 GST 构建物融合的序列	Seq ID
萎缩蛋白-1 相互作用蛋白	2947231	4	EGRGISSHSLQTSDAVIHRKENEGFGFVHSSLNRPESGSTITVPHKIGRIIDGSPADR CAKLVKGDRLAVNGQSIINMPHADIVKLIKDAGLSVTLRIIPQEEL	12
萎缩蛋白-1 相互作用蛋白	2947231	5	LSDYRQPQDFDYFTVDMKKGAKGFGFSIRGREGYKMDLYVLRLAEDGPAIRNGRM RVGDQIIEINGESTRDMTHARAIELIKSGGRRVRLLLKRGTTGQ	13
萎缩蛋白-1 相互作用蛋白	2947231	6	HESVIGRNPEGQLGFELKGAENGQFPYLGEVKGPKVAYESGSKLVSEELLLEVNE TPVAGLTIRDVLAVIKHCKDPLRLKCVKQGGIHR	14
CARD11	12382772	1	NLMFRKFSLERPFRPSVTSVGHVRGPGPSVQHTTLNGDSLTSQTLTGNGNARGSFV HSVKPGSLAEKAGLREGHQLLLEGCIRGERQSVPLDTCTKEEAHWTIQRCSGPVTL HYKVNHEGYRKL	15
CARD14	13129123	1	ILSQVTMLAFQGDALLEQISVIGGNLTGIFHRVTPGSAADQMALRPGTQIVMVDYEA SEPLFKAVLEDTTLEEAVGLLRVDGFCCLSVKVNTDGYKRL	16
CASK	3087815	1	TRVRLVQFQKNTDEPMGITLKMNELNHCIVARIMHGGMIHRQGTLHVGDREINGIS VANQTVEQLQKMLREMRGSITFKIVPSYRTQS	17
连接增强子	3930780	1	LEQKAVLEQVQLDSPGLGIEHTSNQCQHFVSQVDTQVPTDSRLQIQPGDEVVQINEQ VVVGWPRKNMVRELLREPAAGLSLVLLKKIPI	18
胞黏蛋白 结合蛋白	3192908	1	QRKLVTVKEQDNETFGFEIYSYRPNQNAACSSSEMFTLICKIQEDSPAHCAGLQAGD VLANINGVSTEGFTYKQVVDLIRSSGNLLTITETLNG	19

密蛋白 180	16755892	1	RCLIQTKGQRSMDGYPEQFCVRIEKNPGLGFSISGGISQGNPFKPSDKGIFVTRVQ PDGPASNLLQPGDKILQANGHSFVHMEHEKAVLLLSKFQNTVDLVIQRELTV	20
DLG1	475816	1	QVNGTDADYEYEEITLERGNSGLGFSIAGGTDNPHIGDDSSIFITKIITGGAAQDGR LRVNDCILQVNEVDVRDVTHSKAVEALKEAGSIVRLYVKRRN	21
DLG1	475816	2	IQLIKGPKGLGFSIAGGVGNQHIPGDNSIYVTKIIEGGAHKGDKLQIGDKLLAVNNVC LEEVTHEEAVTALKNTSDFVYLKVAKPTSMYMDGN	22
DLG1	475816	3	ILHRGSTGLGFNIVGGEDGEGIFISFILAGGPADLSGELRKGDRIISVNSVDLRAASHE QAAAALKNAGQAVTIVAQYRPEEYSR	23
DLG2	12736552	1	ISYVNGTEIEYEFEEITLERGNSGLGFSIAGGTDNPHIGDDPGIFITKIIPGGAAAEDGR LRVNDCILRVNEVDVSEVSHSKAVEALKEAGSIVRLYVRRR	24
DLG2	12736552	2	ISVVEIKLFKGPKGLGFSIAGGVGNQHIPGDNSIYVTKIIDGGAQKDGRLQVGDRL MVNNYSLEEVTHEEAVAILKNTSEVVYLKVGNPPTI	25
DLG2	12736552	3	IWAVSLEGEPRKVVLHKGSTGLGFNIVGGEDGEGIFVSFILAGGPADLSGELQRGDQ ILSVNGIDLRGASHEQAAAALKGAGQVTTHAQYQPED	26
DLG5	3650451	1	GIPYVEEPRHVQVQKGSEPLGISVSGEKGGIYVSKVTVGSIAHQAGLEYGDQLLEFN GINLRSATEQQARLIIGQQCDTTTILAQYNPHVHQLRNSSZLTD	27
DLG5	3650451	2	GILAGDANKKTLEPRVVFIIKKSQLELGVHLCCGNLHGVFAEVEDDSPAKGPDGLVP GDLILEYGSLDVRNKTVEEVYVEMLKPRDGVRLKVQYRPEEFIVTD	28
DLG6, 剪切变体 1	14647140	1	PTSPEIQELRQMLQAPHFKALLSAHDTIAQKDFEPLLPPLPDNIPSEEEAMRIVCLVKN QQPLGATIKRHEMTGDILVARIHGGLAERSGLLYAGDKLVEVNGVSVEGLDPEQVIH LAMSRGTIMFKVVPVSDPPVNSS	29
DLG6, 剪切变体 2	AB053303	1	PTSPEIQELRQMLQAPHFKGATIKRHEMTGDILVARIHGGLAERSGLLYAGDKLVEV NGVSVEGLDPEQVIHILAMSRGTIMFKVVPVSDPPVNSS	30
DVL1	2291005	1	LNIVTVTLNMERHHFLGISIVGQSNDRGDGGIYIGSIMKGGAVAADGRIEPGDMLLQV NDVNFENMSNDDAVRVLREIVSQTGPISLTVAKCW	31
DVL2	2291007	1	LNITVTLNMEKYNFLGISIVGQSNERGDGGIYIGSIMKGGAVAADGRIEPGDMLLQVN DMNFENMSNDDAVRVLRDIVHKPGPIVLTVAKCWDPSQNS	32
DVL3	6806886	1	IITVTLNMEKYNFLGISIVGQSNERGDGGIYIGSIMKGGAVAADGRIEPGDMLLQVNEI NFENMSNDDAVRVLREIVHKGPITLTVAKCWDPS	33
ELFIN 1	2957144	1	TTQQIDLQGGPGWGFRLVGRKDFEQPLAISRVTPGSKAALANLCIGDVITAIDGENTS NMTHLEAQNRKIGCTDNLTVARSEHKVWSPV	34
ENIGMA	561636	1	IFMDSFKVVLEGAPWGFRLVQGGKDFNVPLSISRLTPGGKAAQAGVAVGDWVLSID GENAGSLTHIEAQNKIRACGERLSLGLSRAQPV	35
ERBIN	8923908	1	QGHELAQKEIRVRVEKDPELGFSISGGVGGGRGNPFRPDDDGIFVTRVQPEGPASKL LQPGDKIIQANGYSFINIEHQAVSLLKTFQNTVELIIVREVSS	36

[0123]

基因名称	GI 或 Acc#	PDZ#	与 GST 构建物融合的序列	Seq ID
EZRIN 结合蛋白 50	3220018	1	ILCCLEKGPNGYGFHLHGEKGLGQYIRLVEPGSPAEEKAGLLAGDRLVEVNGENVE KETHQQVVSRIIRAALNAVRLLVVDPEFIVTD	37
EZRIN 结合蛋白 50	3220018	2	IRLCTMKKGPSGYGFNLHSDKSKPGQFIRSVDPDSPAASGLRAQDRIVEVNGVCM EGKQHGDVVSARAGGDETKLLVVDRETDEFFMNSS	38
FLJ00011	10440352	1	KNPSGELKTVTL SKMKQSLGISISGGIESKVQPMVKIEKIFPGAAFLSGALQAGFEL VAVDGENLEQVTHQRAVDITIRRAYRNKAREPMELVVRVPGPSRPPSPSD	39

FLJ11215	11436365	1	EGHSHPRVVELPKTEEGLGFNIMGKEQNSPIYISRIIPGGIADRHGGLKRGDQLLSV NGVSVEGEHHEKAVELLKAAQKGKVLVRYTPKVLLEEME	40
FLJ12428	BC012040	1	PGAPYARKTFTIVGDAVGWGFVVRGSKPCHIQAVIDPSGPAAAAGMKVCQFVVSVN GLNVLHVDYRTVSNLITGPRTIVMEVMEELEC	41
FLJ12615	10434209	1	GQYGGETVKIVRIEKARDIPLGATVRNEMDSVIISRVKGGAAEKSGLLHEGDEVLEIN GIEIRGKDVNEVFDLLSDMHGTLTFVLIPSQQIKPPPA	42
FLJ20075	7019938	1	ILAHVKGIEKEVNVYKSEDSLGLTITDNGVG YAFIKRIKDGGVDSVKTICVGDHIESIN GENIVGWRHYDVAKKLKELKKEELFTMKLIEPKKAFEI	43
FLJ21687	10437836	1	KPSQASGHFSVELVRGYAGFGLTLGGGRDVAGDTPLAVRGLLKDGPAQRRCGRLEV GDLVLHINGESTQGLTHAQAVERRAGGPQLHLVIRRPLETHPGKPRGV	44
FLJ31349	AK055911	1	PVMSQCACLEEVHLPNIKPGEGGLMYKISTYDGLHVITGTTENSPADRSQKIHAGDE VIQVNQQTUVGWQLKNLVKKLRENPTGVVLLKKRPTGSFNFTPEFIVTD	45
FLJ32798	AK057360	1	LDDEEDSVKIIRLVKNREPLGATIKKDEQTAIIVARIMRGGAADRSGLIHVGDELREV NGIPVEDKRPEEIIQLAQSQGAITFKIIPGSKEETPSNSS	46
GRIP1	4539083	1	VVELMKKEGTTLGLTVSGGIDKDGKPRVSNLRQGGIAARSDQLDVGDIYKAVNGINL AKFRHDEIISLLKNVGERVVLEVEYE	47
GRIP1	4539083	2	RSSVIFRTVEVTLHKEGNTFGFVIRGGAHDDRKNKSRPVVITCVRPGGPADREGTIKP GDRLLSVDGIRLLGTTHAEAMSILKQCQGEAALLIEYDVSVMDSVATASGNSS	48
GRIP1	4539083	3	HVATASGPLLVEVAKTPGASLGVALTSMCCNKQVIVIDKIKSASIADRCGALHVGDH ILSIDGTSMEYCTLAEATQFLANTTDQVKLEILPHHQTRLALKGPNSS	49
GRIP1	4539083	4	TETTEVLTADPVTGFGIQLQGSVFATETLSSPLISYIEADSPAERCGLVQIGDRVM AINGIPTEDSTFEEASQLLRDSSITSKVTLEIEFDVAES	50
GRIP1	4539083	5	AESVIPSSGTFHVKLPKKHVELGITISSPSRKP GDPLVISDIKKGSVAHRTGTLELG DKLLAIDNIRLDNCSMEDAVQILQQCEDLVKLKIRKDEDNSD	51
GRIP1	4539083	6	IYTVELKRYGGPLGITISGTEEPFDPIIISLTKGGLAERTGAIHIGDRILAINSSSLKGGP LSEAIHLLQMAGETVTLKIKKQTDQSA	52
GRIP1	4539083	7	IMSPTPVELHKVTLYKDSMEDFGFSVADGLLEKGVYVKNIRPAGPGDLGGLKPYDR LLQVNHVTRDFDCCLVPLIAESGNKLDLVISRNPLA	53
GTP 酶活化酶	2389008	1	SRGCETRELALPRDQGQRLGFEVDAEGFVTHVERFTFAETAGLRPGARLLRVCGQT LPSLRPEAAQQLRSAPKVCVTVLPDESGRP	54
鸟嘌呤 交换因子	6650765	1	AKAKWRQVVLQKASRESPLQFSLNNGSEKGFIFVEGVEPGSKAADSGLKRGDQI MEVNGQNFENITFMKAVEILRNNTLHALTVKTNIFVKEL	55
HEMBA 1000505	10436367	1	LENVIAKSLLIKSNEGSYGFGLDEDKNKVPIIKLVEKGSNAEMAGMEVGKKIFAINGDLV FMRPFNEVDCFLKSCLSNRKPLRVLVSTKP	56
HEMBA 1000505	10436367	2	PRETVKIPDSADGLGFQIRGFGPSVVHAVGRGTVAAGLHPGQCHIKVNGINVSKE HASVIAHVTACRK YRRPTKQDSIQ	57
HEMBA 1003117	7022001	1	EDFCYVFTVELERGPSGLGMGLIDGMHHTLH GAPGLYIQTLLPGSPAAADGRLSLGD RILEVNGSSLLGLGYLRAVDLIRHGGKKMRFLVAKSDVETAKKI	58
HTRA3	AY040094	1	LTEFQDKQIKDWKKRFIGIRMRTITPSLVDELKASNPDFPEVSSGIYVQEVAPNSPSQ RGGIQDGDIIKVNGRPLVDSSSELQEAULTESPLLEVRRGNDLLFSNSS	59
HTRA4	AL576444	1	HKKYLGLQMLSLTVPLSEELKMHPDFPDVSSGVYVCKVVEGTAAQSSGLRDHDVI VNINGKPITTTTTDVVKALDSDSLMAVLRGKDNLLLTVNSS	60
INADL	2370148	1	IWQIEYIDIERPSTGGLGFSVVALRSQNLGKVDIFVKDVQPGSVADRDQRLKENDQIL AINHTPLDQNISHQQAIALLOQTGSLRLIVAREPVHTKSSTSSSE	61

INADL	2370148	2	PGHVEEVELINDGSLGFGIVGGKTSQVVRITVPGGLADRDGRLQTGDHILKIGGT NVQGMTSEQVAQVLRNCGNSS	62
INADL	2370148	3	PGSDSSLFETYNVELVRKDGQSLGIRIVGYVGTSHTEASGIYVKSIIIPGSAAYHNGH IQVNDKIVAVDGVNIQGFANHDVVFVLRNAGQVVHLTLVRRKTSSTSRHRD	63

[0124]

基因名称	GI 或 Acc#	PDZ#	与 GST 构建物融合的序列	Seq ID
			IQVNDKIVAVDKGVNIQGFANHDVVEVLRNAGQVVHLTLVRRKTSSTSRHRD	
INADL	2370148	4	NSDDAELQKYSKLLPIHTLRLGVEVDSFDGHHYISSIVSGGPVDTLGLLQPEDELLEV NGMQLYGKSRREAVSFLKEVPPTLVCCRRLFDDEAS	64
INADL	2370148	5	LSSPEVKIVELVKDCKGLGFSILDYQDPLDPTRSVIVIRSLVADGVAERSGGLPGDR LVSVNEYCLDNTSLAEAVEILKAVPPGLVHLGICKPLVEFIVTD	65
INADL	2370148	6	PNFSHWGPPRIVEIFREPNSLGISIVVGGTVIKRLKNGEELKGIFIKQVLEDSPAGKT NALKTGDKILEVSGVDLQNASHSEAVEAIKNAGNPVVFIVQSLSTPRVIPNVHNKAN SS	66
NADL	2370148	7	PGELHIIIEKDKNGLGLSLAGNKDRSRMSIFVVGINPEGPAADGRMRIGDELLEIN NQILYGRSHQNASAIKTAPSKVLVFIREDAVNQMANSS	67
NADL	2370148	8	PATCPIVPGQEMIIISKGRSGLGLSIVGGKDTPLNAIVIHEVYEEGAAARDGRLWAG DQILEVNGVDLRNSSHEEAITALRQTPQKVRVVY	68
KIAA0147	1469875	1	ILTLTLRQTGGGLGSIAGGKGSTPYKGDDEGIFISRVSEEGPAARAGVRVGDKLLEVN GVALQGAEHHEAVEALRGAGTAVQMRVWRERMVEPENAEFIVTD	69
KIAA0147	1469875	2	PLRQRHVACLARSERGLGFSIAGGKGSTPYRAGDAGIFVSRIAEGGAHRAGTLQV GDRVLSINGVDVTEARHDHAVSLTAAAPTIALLLEREAGG	70
KIAA0147	1469875	3	ILEGYPVEEIRLPRAGGPLGLSIVGSDHSSHPPFGVQEPGVFISKVLPRGLAARSGL RVGDRLAVNGQDVRDATHQEAVSALLRPCLELSLLVRRDPAEFIVTD	71
KIAA0147	1469875	4	RELCIQKAPGERLGISIRGGARGHAGNPRDPTDEGIFISKVSPTGAAGRDGRLRVGL RLLEVNQQSLGLTHGEAVQLLRVSGDTLTVLVCDFEASTDAALEVS	72
KIAA0303	2224546	1	PHQPIVIHSSGKNYGFTIRAIRVYVGDSDIYTVHHIVWNVEEGSPACQAGLKAGDLIT HINGEPVHGLVHTEVIELLLKSGNKVSITTPF	73
KIAA0313	7657260	1	ILACAAKAKRRLMTLTLPKSPREAPLFFILLGGSEKGFIFVDSVDSGSKATEAGLKRGD QILEVNGQNFENIQLSKAMEILRNTHLSITVKTNLVFKELLTNSS	74
KIAA0316	6683123	1	IPPAPRKVEMRRDPVLGFGFVAGSEKPVVVRSVTPGGPSEGKLIPGDQIVMINDEPV SAAPRERVIDLVRSCKESILLTVIQYPSPK	75
KIAA0340	2224620	1	LNKRTTMPKDSGALLGLKVVGKMTDLGRLGAFITKVKKGSLADVGHLAGDEV EWNKGKPLPGATNEEVYNILESKSEPQVEIIVSRPIGDIPRIHRD	76
KIAA0380	2224700	1	QRCVIIQKDQHGFGFTVSGDRIVLVQSVRPGGAAMKAGVKEGDRIKVNGMTVNSS HLEVVKLIKSGAYVALTLLGSS	77
KIAA0382	7662087	1	ILVQRCVIIQKDDNGFGLTVSGDNPVVFVQSVKEDGAAMRAGVQTDRIKVNGLT HSNHLEVVKLIKSGSYVALTVQGRPPGNSS	78
KIAA0440	2662160	1	SVEMTLRRNGLGQLGFHVNYEGIVADVEPYGYAWQAGLRQGSRLVEICKVAVATLS HEQMIDLLRTSVTVKVVIIPPHD	79
KIAA0545	14762850	1	LKVMTSGWETVDMTLRRNGLGQLGFHVKYDGTVAEVEDYGFQAWQAGLRQGSRLV EICKVAVVTLTHDQMIDLLRTSVTVKVVIIPFEDGTPRGW	80
KIAA0559	3043641	1	HYIFPHARIKITRDSKDHTVSGNGLGIRIVGGKEIPGHSGEIGAYIAKILPGGSAEQTGK LMEGMQVLEWNGIPLTSKTYEEVQSISQSGEAEICVRLDLNML	81

KIAA0561	3043645	1	LCGSLRPPIVHSSGKKYGFSLRAIRVYMGDSVDVYTVHHVVWSVEDGSPAQEAGLR AGDLITHINGESVLGLVHMDVVELLLKSGNKISLRTTALENTSIKVG	82
KIAA0613	3327039	1	SYSVTLTGPGPWGFRLLQGGKDFNMPLTISRITPGSKAAQSQLSQGDLVVAIDGVNT DTMTHLEAQNKIKSASYNLSLTQKSKNSS	83
KIAA0751	12734165	1	ISRDSGAMLGLKVVGKMTESGRLCAFITKVKKGSGLADTVGHLRPGDEVLEWNGRL LQGATFEVYNIILESKPEPQVELVVSRIAHRD	84
KIAA0807	3882334	1	ISALGSMRPPIIHRAGKKYGFTLRRAIRVYMGDSVDVYTVHHMVWHVEDGGPASEAGL RQGDLITHVNGEPVHGLVHTEVVELILKSGNKVAISTTPLENSS	85
KIAA0858	4240204	1	FSDMRISINQTPGKSLDFGFTIKWDIPGIFVASVEAGSPAEFSQLQVDEIIAINTKFS YNDSEWEEMAKAQETGHLVMDVRRYGGKAGSPE	86
KIAA0902	4240292	1	QSAHLEVIQLANIKPSEGLGMYIKSTYDGLHVITGTTENSPADRCKKIHAGDEVIVQN HQTVVGWQLKNLVNALREDPSGVILTKKRPQSMLTSAPA	87
KIAA0967	4589577	1	ILTQTLIPVRHTVKIDKDTLLQDYGFHISESLPTVVAVTAGGSAHGKLPFGDQILQMN NEPAEDLSWERAVDILREAEDSLSTIVRCTSGVPKSSNSS	88
KIAA0973	4589589	1	GLRSPITQRSGKKYGFTLRAIRVYMGDTDVYSVHHVHWHVEEGGPAQEAGLCAGDL ITHVNGEPVHGMVHPEVVELILKSGNKVAVTTTPE	89

[0125]

基因名称	GI 或 Acc#	PDZ#	与 GST 构建物融合的序列	Seq ID
KIAA1095	5889526	1	QGEETKSLTLVLRHDSGLGFNIIGRPSVDNHDGSSSEGIFVSKIVDSPAAKEGG LQIHDRIEVNGRDLSRATHDQAVEAFKTAKEPIVVQVLRRTPRTKMFTF	90
KIAA1095	5889526	2	QEMDREELELEEVDLYRMNSQDKLGLTVCYRTDDEDDIGIYISEIDPNSIAAKDGRIR EGDRIIQINGIEVQNREEAVALLTSEENKNFSLLIARPELQLD	91
KIAA1202	6330421	1	RSFYYPVQLQGGAPWGFTLKGGLHCEPLTVSKIEDGGKAALSQKMRTGDELVNI NGTPLYGSRQEALILIKGSFRILKLIVRRRNAPVS	92
KIAA1222	6330610	1	ILEKLELFPVELEKDEDGLGSIIGMGVGADAGLEKLGIFVKTVTEGGAAQRDGRIVQN DQIVEVDGISLVGVTQNFATVLRNTKGNVRFVIGREKPGQVS	93
KIAA1284	6331369	1	KDVNVYVNPCKLTVIKAKEQLKLEVLVGIHHTKWSWRRTGKQGDGERLVVHGLLP GGSAMKSGQLIGDVLAVNDVDVTENIERVLSCHIPGMQVKLTFENAYDVKRET	94
KIAA1389	7243158	1	TRGCETVEMTLRRNGLQGLGFHVNFEGIVADVEPFGFAWKAGLRQGSRLVEICKVA VATLTHEQMIDLLRTSVTVKVVIQPHDDGSPRR	95
KIAA1415	7243210	1	VENILAKRLLLPQEEDYGFDEEKNKAVVKSQVRGSLAEVAGLQVGRKIYSINEDLV FLRPFSEVESILNQSFCSRPLRLLVATKAKEIKIP	96
KIAA1526	5817166	1	PDSAGPGEVRLVSLRRAKAHEGLGFSIRGGSEHGVIYVSLVEPGSLAEKEGLRVG DQILRVNDKSLARVTHAEAVKALKGSKKLVSYSAGRIPGGYVTNH	97
KIAA1526	5817166	2	LQGGDEKKVNLVLGDRSLGLTIRGGAIEYGLGIYTGVDPGSEAEGSGLKVGQDQILE VNWRSFLNILHDEAVRLKSSRHLLTVKDVGRLPARTTVDE	98
KIAA1526	5817166	3	WTSGAHVHSGPCEEKCGHPGHRQPLPRIVTIQRGGSAHNCGQLKVGHVILEVNGLT LRGKEHREAARIAEAFKTKDRDYIDFLDSL	99
KIAA1620	10047316	1	ELRRAELVEIIVETAQTGVSGINVAGGKGEGFVRELREDSIPAARSLSLQEGDQLLS ARVFFENFKYEDALRLQLCAEPYKVSFCLKRTVPTGDLALRP	100
KIAA1634	10047344	1	PSQLKGVLRASLKKSTMFGFTIIGGDRPDEFLQVKNVLKDGPAQDGKIAPGDVI VDINGNCVLGHTHADVVQMFQLVPVNQYVNLTLCRGYPLPDDSED	101

KIAA1634	10047344	2	ASSGSSQPELVITPLIKGPKGFGFAIADSP TGQVKMILDSQWCQGLQKGDIIKEIYH QNVQNLTHLQVVEVLKQFPVGADVPLLLIRGGPPSPKTAKM	102
KIAA1634	10047344	3	LYEDKPPLTNTFLISNPRITADPRILYEDKPPNTKDLDFLRKQESGFGFRVLGGDGP DQSIYIGAIHPLGAAEKDGRRLRAADELMCIDGIPVKGKSHKQVLDLMTTAARNGHVLLT VRRKIFYGEKQPEDDSGSGPIHRELT	103
KIAA1634	10047344	4	PAPQEPYDVVLQRKENEGFGFVILT SKNKPPPVGVI PHKIGRVIEGSPADRCGKLKVG DHISAVNGQSIVELSHDNIVQLIKDAGVTVTLTVIAEEEEHHGPPS	104
KIAA1634	10047344	5	QNLGCYPVELERGRPGFGFSLRGGKEYNMGLFILRLAEDGPAIKDGRIHVGDQIVEI NGEPTQGITHTRAIELIQAGGNKVL LLLRP GTGLIPDHGLA	105
KIAA1719	1267982	0	ITVVELIKKEGSTLGLTISGGTDKDGKPRVSNLRPGGLAARSDLLNIGDYIRSVNGIHL TRLRHDEIITLLKNVGERVVLEVEY	106
KIAA1719	1267982	1	ILDVSLYKEGNSFGFVLRGGAHEDGHKSRPLVLT YVRPGGPADREGSLKVGDRLLS VDGIPLHGASHATALATLRQCSHEALFQVEYDVATP	107
KIAA1719	1267982	2	HTVANASGPLMVEIVKTPGSALGISLTTTSLRNKSVITIDRIKPASVVDRSGALHPGD HILSIDGTSMEHCSLLEATKLLASISEKVRLEILPVPQSQRP	108
KIAA1719	1267982	3	IQIVHTTETEVVLCDPLSGFGLQLQGIFATETLSSPPLVCFIEPDSPAERCGLLQV GDRVLSINGIATEDGTMEANQLLRDAALAHKVVLEVEFDVAESV	109
KIAA1719	1267982	4	IQFDVAESVIPSSGTFHVKLPKKRSVELGITISSASRKRGELIISDIKKGVAHRTGTL EPGDKLLAIDNIRLDNCPMEDAVQLRQCEDLVKLKIRKDEDN	110
KIAA1719	1267982	5	IQT TGAVSYTVELKRYGGPLGITISGTEEPFDPIVISGLTKRGLAERTGAIHVGDRI LAI NNVSLKGRPLSEAIHLLQVAGETVTLKIKKQLDR	111
KIAA1719	1267982	6	ILEMEELLLPTPLEMHKVT LHKDPMRHDFGFSVSDGLEKGVYVHTVRPDGPAHRG GLQPFDRVLQVNHVTRDFDCCLAVPLLA EAGDVLELIISRK PHTAHSS	112
LIM Mystuque	12734250	1	MALTVDVAGPAPWGFRTGG RDFHTPIMVT KVAERGKAKDADLRPGDIIVAINGES A EGMLHAEAQSKIRQSPSLRLQLDRSQATSPGQT	113
LIM 蛋白	3108092	1	SNYSVSLVGPAPWGFRLQGGKDFNMPLTISS LKDG GKAAQANVRIGDVVLSIDGIN A QGMTHLEAQNKIKGCTGSLNMTLQRAS	114
LIMK1	4587498	1	TLVEHSKLYCGHCYQYQTVVTPVIEQILPDSPGSHLPHTVTLVSIPASSHGKRLSVSI DPPHGGPPGCGTEHSHTVRVQGVDPGCMSPDVKNSIHVGDRILEINGTPIRNVPLDEI DL LIQETSRLQLTLEHD	115
LIMK2	1805593	1	PYSVTLISMPATTEGRRGFSVSVESACS NYATTVQVKEVNRMHISPNNRNAIHPGDR IIFINGTPVRTL RVFFVFD AISQTSQTLQLLIFHD	116

[0126]

基因名称	GI 或 Acc#	PDZ#	与 GST 构建物融合的序列	Seq ID
			ILEINGTPVRTL RVEEVEDAISQTSQTLQLLIEHD	
LIM-RIL	1085021	1	IHSVTLRGPSPWGFRLVGRDFSAPLTISR VHAGSKASLAALCPGDLIQAINGESTELM THLEAQNRKIGCHDHLT LSVSRPE	117
LU-1	U52111	1	VCYRTDDEEDLGIYVGEVNPNSIAAKDGRIREGDR I IQINGVDVQNREEAVAILSQEE NTNISLLVARPESQLA	118
MAGI1	3370997	1	IQKKNHWTSRVHECTV KRGPQGE LGVTVLGGA EHGEPYV GAVA AVEAAGLPGGG EGPRLGEGELLLEVQGV RVSGLP RYDVLGVIDSCKEAVTFKAVRQGG R	119
MAGI1	3370997	2	PSELKGKFIHTKL RKSSRGFGFTVVG GDEPDEF LQIKSLVLDGPAALDGKMETGDVI VSVNDTCVLGHTHAQVVKIFQSIPIGASVDLELCRGYPLPFDPPDPN	120

MAG11	3370997	3	PATQPELITVHIVKGPMPGFGFTIADSPGGGGQRVKQIVDSPRCRGLKEGDLIVEVNK KNVQALTHNQVVDMLVECPKGSEVTLLVQRGGNLS	121
MAG11	3370997	4	PDYQEQDIFLWRKETGFGFRILGGNEPEPIYIGHIVPLGAADTDGRLRSGDELICVD GTPVIGKSHQLVVQLMQAAKQGHVNLTVRRKVVEAVPKTENSS	122
MAG11	3370997	5	GVVSTVVQPYDVEIRRGGENEGFGFVIVSSVSPEAGTTFAGNACVAMPHKIGRIIEG SPADRCGKLKVGDRILAVNGCSITNKSHSDIVNLIKEAGNTVTLRIIPGDESSNA	123
MAG11	3370997	6	QATQEODFYTVELERGAKGFGFSLRGGREYNMDLYVLRLEADGPAERCGKMRIGD EILEINGETTKNMKHSRAIELIKNGRRVRFLFKRG	124
MGC5395	BC012477	1	PAKMEKEETTRELLLPNWQSGSGSHGLTIAQRDDGVFVQEVTONSPAARTGVVKEG DQIVGATIFYDNLQSGEVTQLLNTMGHHTVGLKLHRKGDRSPNSS	125
MINT1	2625024	1	SENCKdVFIEKQKGEILGVVIVESGWGSILPTVIANMMHGGPAEKSGKLNIGDQIMSI NGTSLVGLPLSTCQSIKGLKNQSRVKLNIVRCPPVNSS	126
MINT1	2625024	2	LRCPPVTIVLIRRPDLRYQLGFSVQNGIICSLMRGGIAERGGVRVGHRIIEINGQSVV ATPHEKIVHILSNAVGEIHMKTMPAAMYRLNNS	127
MINT3	3169808	1	LSNSDNCREVHLEKRRGEGLGVALVESGWGSLPTAVIANLLHGGPAERSGALSIG DRLTAINGTSLVGLPLAACQAAVRETKSQTSVTLSIVHCPPVTAIM	128
MINT3	3169808	2	L VHCPPVTIAIHRPHAREQLGFCVEDGIICSLLRGGIAERGGIRVGHRIIEINGQSVVA TPHARIELLTEAYGEVHIKTMPAATYRLLTG	129
MPP1	189785	1	RKVRLIQFEKVTEEPMGITLKLNEKQSCTVARILHGGMIHRQGSLSHVGDILEINGTN VTNHSVDQLQKAMKETKGMISLKVIPNQ	130
MPP2	939884	1	PVPPDAVRMVGIRKTAGEHLGVTFRVEGELVIARILHGGMVAQQGLLHVGDIIKEV NGQPVGSDPRALQELLRNASGSVILKILPNYQ	131
MUPP1	2104784	1	QGRHVEVFELLKPPSGGLGFSVVGRLSENREGELGIFVQEIQEGSVAHRDGRLLKETD QILAINGQALDQTTHQQAISILQKAKDTVQLVIARGSLPQLV	132
MUPP1	2104784	2	PVHWQHMETIELVNDGSGLGFGIIGGKATGVIVKTILPGGVADQHGRLCSDGHILKIG DTDLAGMSSEQVAQVLRQCGNRVKLMIARGAIEERTAPT	133
MUPP1	2104784	3	QSETFDVELTKNVQGLGITIAGYIGDKKLEPSGIFVKSITKSSAVEHDGRIQIGDQIIA VDGTNLQGFTNQQAWEVL RHTGQT VLLTLMRRGMKQEA	134
MUPP1	2104784	4	LNVEIVVAHVSKFSENSGLGISLEATVGHFFIRSVLPEGPVGHSGKLFSGDELLEVNG ITLLGENHQDVVNILKELPIEVTMVCCRRTVPPT	135
MUPP1	2104784	5	WEAGIQHIELEKSGKGLGFSILDYQDPIDPASTVIIIIRSLVPGGIAEKDGRLLPGDRLMF VNDVNLNSSLEEAWEALKGAPSGTVRIGVAKPLPLSPEE	136
MUPP1	2104784	6	RNVSKESFERTINIAKGNSSLGMTVSANKDGLGMIVRSIIHGGAISRDGRIAIGDCILSI NEESTISVTNAQARAMLRRHSLIGPDIKITYVPAEHLEE	137
MUPP1	2104784	7	LNWNQPRRVELWREPSKSLGISIVGGRGMGSRLSNGEVMRGIFIKHVLEDSPAGKN GTLKPGDRIVEVDGMDLRDASHEQAVEAIRKAGNPVFMVQSIINRPRKSPLPSLL	138
MUPP1	2104784	8	LTGELHMELEKGHSGGLGSLAGNKDRSRMSVFIVGIDPNGAAGKDGRLQIADELLEI NGQILYGRSHQNASSIIKCAPSKVKIIFIRNKDAVNQ	139
MUPP1	2104784	9	LSSFKNVQHLELPKDQGGGLGIAISEEDTSLGVIKSLTEHGVAATDGRLLKVG DQILAVD DEIVVGYPIEFISLLKTAKMTVKLTIHAENPDSQ	140
MUPP1	2104784	10	LPGCETTIEISKGRITGLSIVGSDTLTGAIHIEVYEEGAACKDGRLWAGDQILEVN GIDLRKATHDEAINVLRQTPQRVRLTYRDEAPYKE	141
MUPP1	2104784	11	KEEEVCDTLTIELQKKPGKGLGLSIVGKRNDTVGVFSDIVKGGIADADGRLMQGDQIL MVNGEDVRNATQEAVALKCSLGTVTLEVGRKAGPFHS	142

[0127]

基因名称	GI 或 Acc#	PDZ#	与 GST 构建物融合的序列	Seq ID
MUPP1	2104784	12	LQGLRTVEMKKGPTDSLGISIAGVGSPLGDVPIFIAMMHPTGVAAQTQKLRVGDRI VTICGTSTEGMTHTQAVNLLKNASGSIEMQVVAGGDVSV	143
MUPP1	2104784	13	LGPPQCKSITLERGPDGLGFSIVGGYGSPLGDLPIYVKTVFAKGAASEDGRLEKRGDQ IIAVNGQSLEGVTHEEAAILKRTKGTVTLMVLS	144
NeDLG	10863920	1	IQYEEIVLERGNSGLGFSIAGGIDNPHVDDPGIFITKIIPGGAAAMDGRLEGVNDCVLR VNEVEVSEVVHSRAVEALKEAGPVVRLVVRRRQN	145
NeDLG	10863920	2	ITLLKGPKGLGFSIAGGIGNQHIPGDNSIYITKIEGGAAQKDGRLQIGDRLAVNNTNL QDVRHEEAVALKNTSDMVYLKAKPGSLE	146
NeDLG	10863920	3	ILLHKGSTGLGFNIVGGEDGEGIFVSFILAGGPADLSGELRRGDRILSVNGVNLRNAT HEQAAAALKRAGQSVTIVAQYRPEEYSRFESKIHDLREQMMNSSMSSGSGSLRTSE KRSLE	147
Neurabin II	AJ401189	1	CVERLELFPVELEKDSEGLGSIIGMGAGADMGLEKLGFVKTVTEGGAHRDGRIVQ NDLLVEVDGTSLVGVTQSFAASVLRNTKGRVRFMIGRERPGEQSEVAQRIHRD	148
NOS1	642525	1	IQPNVISVRLFKRKVGGLGFLVKERVSKPPVIISDLIRGGAAEQSLIQAGDIILAVNGR PLVDLSYDSALEVLRGIASETHVVLIRGP	149
新 PDZ 基因	7228177	1	QANSDESDIHSVRVEKSPAGRLGFSVRGGSEHGLGIFVSKVEEGSSAERAGLCVG DKITEVNGLSLESTTMGSAVKVLTSSSLHMMVRRMGRVPGIKFSKEKNSS	150
新 PDZ 基因	722877	2	PSDTSSEdGVRRIHVLYTSDDFCLGFNIRGGKEFGLGIYVSKVDHGGLAENGIV GDQVLAANGVRFDISHSQAVEVLKGQTHIMLTIKETGRYPAYKEMNSS	151
新丝氨酸 蛋白酶	1621243	1	KIKKFLTESHDRQAKGKAITKKYIGIRMSLTSSKAKELKDRHRDFPDVISGAYIEVI PDTPAEAGGLKENDVIISINGQSVVSANDVSDVIKRESTLMVVRGNEDIMITV	152
Numb 结合蛋白	AK056823	1	PDGEITSIKINRVDPSSELSIRLVGGSSETPLVHIIHQHYRDGVIARDGRLLPGDIILKVNG MDISNVPHNYAVRLLRQPCQVLWLTVMREQFRSRNSS	153
Numb 结合蛋白	AK056823	2	HRPRDDSFHVLNKSSPEEQGLIKLVKRVDEPGVFIFNVLDGGVAYRHGQLEENDRV LAINGHDLRYGSPESAHLIQASERRVHLVSRQVRQSPENSS	154
Numb 结合蛋白	AK056823	3	PTTTCHEKVNIQKDPGESLGMTVAGGASHREWDLPYVISVEPGGVISRDGRIKTGD ILLNVdGVELTEVSRSEAVALLKRTSSSIVLKALEVKEYEPQEFIV	155
Numb 结合蛋白	AK056823	4	PRCLYNCKDIVLRRNTAGSLGFCIVGGYEEYNGNKPFFIKSIVEGTPAYNDGRIRCGD ILLAVNGRSTSGMIHACLARLLKELKGRITLTVSWPGTFL	156
外膜	7023825	1	LLTEEEINLTRGSPGLGFNIVGGTDQYVSNDSGIYVSRIKENGAAALDGRLQEGDKI LSVNGQDLKNLLHQDAVDLFRNAGYAVSLRVQHRLQVQNGIHS	157
p55T	12733367	1	PVDAIRILGIHKRAGEPLGVTRFVENNDLVIARILHGGMIDRQGLLHVGDIIKEVNGHE VGNNPKELQELLKNISGSVTLKILPSYRDTTTPQQ	158
PAR3	8037914	1	DDMVKLVEVPNDGGPLGIHVVPFSARGGRTLGLLVKREKGGKAEHENLFRENDCI VRINDGDLNRNRRFEQAQHMFRQAMRTPHWFHVPAA	159
PAR3	8037914	2	GKRLNIQLKKGTEGLGFSITSRDVTIGGSAPIYVKNILPRGAAIQDGRLEKAGDRLIEVN GVDLVGKSQEEVVSLLRSTKMEGTVSLLVFRQEDA	160
PAR3	8037914	3	TPDGTREFLTFEVPLNDSGSAGLVSVKGNRSKENHADLGIFVKSIIINGGAASKDGR LRVNDQLIAVNGESLLGKTNDQAMETLRRSMSTEGNKRGMQLIVA	161
PAR6	2613011	1	LPETHRRVRLHKHGS DRPLGFYIRDGMSVRVAPQGLERVPGIFISRLVRGGLAESTG LLAVSDEILEVNGIEVAGKTLDDQVTDMMVANSNLIVTVK PANQR	162
PAR6 γ	13537118	1	IDVDLVPETHRRVRLHRHGCEKPLGFYIRDGASVRVTPHGLEKVP GIGFISRMVPGGL AESTGLLAVNDEVLEVNGIEVAGKTLDDQVTDMMIANSHNLIVTVK PANQRNNVV	163

PDZ-73	5031978	1	RSRKLKEVRLDRLHPEGLGLSVRGGLFEGCGLFISHLIKGGQADSVGLQVGDEIVRI NGYSSISCTHEEVINLIRTKKTVSIKVRHIGLIPVKSSPDEFH	164
PDZ-73	5031978	2	IPGNRENKEKKVFISLVGSRGLGCSISSGPIQKPGIFISHVKPGSLSAEVGLEIGDQIVE VNGVDFSNLDHKEAVNLKSSRSLTISIVAAAGRELFMDEF	165
PDZ-73	5031978	3	PEQIMGKDVRLRLRIKKEGSLDLALEGGVDSPIGKVVSVAVERGAAERHGGIVKGDE MAINGKIVTDYTLAEADAALQKAWNQQGDWIDLVVAVCPPKEYDD	166
PDZK1	2944188	1	LTSTFNPRECKLSKQEGQNYGFFLRIEKDTTEGLHVRVVEKCSPAEKAGLQDGDRLV RINGVFDKEEHMQVVDLVRKSGNSVTLVLVDGDSYEKAGSPGIHRD	167
PDZK1	2944188	2	RLCYLVKEGGSYGFSKLTQVQKKGVMYMTDITPQGVAMRAGVLADHHLIEVNGENVE DASHEEVVEKVKKSGSRVMFLVDKETDKREFIVTD	168
PDZK1	2944188	3	QFKRETASLKLPHQPRIVEMKKSGNGYGFYLRAGSEQKGQIKDIDSGSPAEAGL KNNDLVVAVNGESVETLDHDSVEMIRKGGDQTSLLVVDKETDNMYRLAEFIVTD	169

[0128]

基因名称	GI 或 Acc#	PDZ#	与 GST 构建物融合的序列	Seq ID
PDZK1	2944188	4	PDTTEEVDPKPKLCRLAKGENGYGFHLNLAIRGLPGSFIKEVQKGGPADLAGLEDEDV IIEVNGVNVLDPEYKVVDRIQSSGKNVTLVLVZGKNSS	170
PICK1	4678411	1	PTVPGKVTLQKDAQNLIGISIGGAQYCPCLYIVQVFDNTPAALDGTVAAGDEITGVN GRSIKGTKKVEVAKMIQEVKGEVTIHYNKLQ	171
PIST	98374330	1	SQGVGPIRKVLLLKEDHEGLGISITGGKEHGVPIILISEIHPGQPADRCGGLHVGDAILA VNGVNLDRDTHKEAVTILSQQRGEIEFEVYVAPEVDS	172
prIL16	1478492	1	IHVTILHKEEGAGLGFSLAGGADLENKVTIVHRVFPNGLASQEGTIQKGNEVLSINGK SLKGTTHHDALAILRQAREPRQAVIVTRKLTPEEFIVTD	173
prIL16	1478492	2	TAEATVCTVTLEKMSAGLGFSLGEGKGLSHGDKPLTNIRIFKGAASEQSETVQPGDE ILQLGGTAMQGLTRFEAWNIIKALPDGPVTIVIRKSLQSK	174
PSD95	3318652	1	LEYEeITLERGNSGLGFSIAGGTDNPHIGDDPSIFITKIIPGGAAQDGRRLVNDLSILFV NEVDVREVTHSAAVEALKEAGSIVRLYVMRRKPPAENSS	175
PSD95	3318652	2	HVMRRKPPAEKVMEIKLIKGPGLGFSIAGGVGNQHIPGDNSIYVTKIIEGGAAHKDG RLQIGDKILAVNSVGLDVMHEDAVAALKNTYDVVYLKVAKPSNAYL	176
PSD95	3318652	3	REDIPREPRRIVHRGSTGLGFNIVGGEDGEGIFISFILAGGPADLSGELRKGDQILSV NGVDLRNASHEQAAIALKNAGQTVTIIAQYKPEFIVTD	177
PTN-3	179912	1	LIRITPDEDGKFGFNLKGGVDQKMPLVVSRLNPESADTCIPKLNQEGDQIVLINGRDIS EHTHDQVVMFIKASRESHSRELALVIRRR	178
PTN-4	190747	1	IRMKPDENGRFGFNKGGYDQKMPVIVSRVAPGTPADLCVPRLNEGDQVVLLINGRD IAEHTHDQVVLFIKASCEHSGELMLLVLPNA	179
PTPL1	515030	1	PEREITLVNLKDKAKYGLGFQIIGGEKMGRLDLGIFISSVAPGGPADFHGCLKPGDRLI SVNSVSLEGVSHHAAIEILQNAPEDVTLVISQPKKISKVPSTPVHL	180
PTPL1	515030	2	GDIFEVELAKNDNSLGISVTGGVNTSVRHGGIYVKAVIPQGAESDGRHKGDRVLAV NGVSLEGATHKQAVETLRNTGGQVVHLLLEKQGSPTSK	181
PTPL1	515030	3	TEENTFEVKLFKNSSGLGFSFSREDNLIPEQINASIVRVKLFAGQPAAESGKIDVGD VILKVNGLASLGLSQEVISALRGTAPEVFLLLCRPPGVLPEDT	182
PTPL1	515030	4	ELEVELITLIKSEKASLGFTVTKGNQRIGCYVHDVIQDPAKSDGRLKPGDRLIKVNDT DVTNMTHTDAVNLLRAASKTVRLVIGRVLELPRIPMLPH	183
PTPL1	515030	5	MLPHLLPDITLTCNKEELGFSLCGGHDSLYQVYISDINPRSVAAIEGNLQLLDVIHYV NGVSTQGMTLEEVNRLDMSLPSVLKATRNDLPV	184

RGS12	3290015	1	RPSPPRVRSVEVARGRAGYGFLLSGQAPCVLSCVMRGSPADVFVGLRAGDQILAVN EINVKKASHEDVVKLIGKCSGVLHMVIAEGVGRFESCS	185
RGS3	18644735	1	LCSEERRYQITIPRGKDGFGFTICCDSPVRVQAVDSGGPAERAGLQQLDVTVLQLE RPVEHWKCVELAHEIRSCPSEILLWRMVPQVKPGIHRD	186
类 Rho 结合蛋白	14279408	1	ISFSANKRWTTPRSIRFTAEEGDLGFTLRGNAPVQVHFLDPYCSASVAGAREGDYIV SIQLVDCKWLTLSSEVMKLLKSFGEDEIEMKVVSLLDSTSSMHNKSAT	187
丝氨酸蛋白酶	2738914	1	RGEKKNSSSGISGSQRRYIGVMMMLTSPSILAEQLREPSFPDVQHGVLIHKVILGSP AHRAGLRPGDVILAIGE QMVQNAEDVYEAVRTQSQLAVQIRRGRETTLTYV	188
Shank1	6049185	1	EEKTVVLQKKDNEGFVLRGAKADTPEEFTPTPAFPALQYLESVDEGGVAWQAG LRTGDFLIEVNNENVVKVGHRRQVVMIRQGGNHLVLKVTVTRNLDPPDTARKKA	189
Shank3	*	1	SDYVIDDKVAVLQKRDHEGFGVLRGAKAETPIEFTPTPAFPALQYLESVDEGGVA WRAGLRTGDFLIEVNGVNVVKVGHKQVVALIRQGGNRLVMKVSVTRKPEEDG	190
Shroom	18652858	1	IYLEAFLEGGAPWGFTLKGGLHEGELIISKVEEGKADTLSSKLQAGDEVVHINEVT LSSSRKEAVSLVKGSYKTLRLVRRDVCCTDPGH	191
SIP1	2047327	1	IRLCRLVRGEQGYGFHLHGEKGRRGQFIRRVEPGSPAEEAALRAGDRLVEVNGVNV EGETHHQVVQRIKAVEGQTRLLVVDQN	192
SIP1	2047327	2	IRHLRKGPGGYGFNLHSDKSRPGQYIRSVDPGSPAARSGLRAQDRLEIENGQNVGE LRHAEVVASIKAREDEARLLVVDPETDE	193
SITAC-18	8886071	1	PGVREIHLCKDERGKTGLRLRKVDQGLFVQLVQANTPASLVGLRFGDQLLQIDGRD CAGWSSSHKAHQVVKKASGDKIVVVVRDRPFRQRTVTM	194
SITAC-18	8886071	2	PFQRTVTMHKDSMGHVGFVIKKGKIVSLVKGSSAARNGLLTNHYVCEVDGQNVIGL KDKKIMEILATAGNVVTLTIIPSVIYEHIVEFIV	195
SSTRIP	7025450	1	LKEKTVLLQKKDSEGFVLRGAKAQTPIEFTPTPAFPALQYLESVDEGGVAWRAG LRMGDFLIEVNGQNVVKVGHRRQVVMIRQGGNTLMVKVVMVTRHPDMDEAVQ	196

[0129]

基因名称	GI 或 Acc#	PDZ#	与 GST 构建物融合的序列	Seq ID
SYNTENIN	2795862	1	LEIKQGIREVILCKDQDGKIGLRRLKSIDNGIFVQLVQANSPASLVGLRFGDQVLQINGE NCAGWSSDKAHKVLKQAFGEKITMRIHRD	197
SYNTENIN	2795862	2	RDRPFERTITMHKDSGTHGVGFIFKNGKITSIVKDSSAARNGLLTEHNICEINGQNVIGL KDSQIADILSTSGNSS	198
肌养 结合蛋白 1 α	1145727	1	QRRRVTVRKADAGGLGISIKGGRENKMPILISKIFKGLAADQTEALFVGDAILSVNGE DLSSATHDEAVQVLKKTGKEVVLEVKYMKDVSPYFK	199
肌养 结合蛋白 β 2	476700	1	IRVVKQEAGGLGISIKGGRENRMPIISKIFPGLAADQSRAIRLGDAILSVNGTDLRQA THDQAVQALKRAGKEVLLLEVKFIREFIVTD	200
肌养 结合蛋白 γ 1	9507162	1	EPFYSGERTVTIRRTVGGFGLSIKGGAEHNIPVVVSKISKEQRAELSGLLFIGDAILQI NGINVRKCRHEEVVQVLRNAGEEVTTLTVSFLKRAPAFKLKP	201
肌养 结合蛋白 γ 2	9507164	1	SHQGRNRRTVTLRRQPVGGLGLSIKGGSEHNIPVVVSKIFEDQAADQTGMLFVGDA VLQVNGIHVENATHEEVVHLLRNAGDEVTTITVEYLREAPAFKLK	202
类 TAX2 蛋白	3253116	1	RGETKEVEVTKTEDALGLTTDNGAGYAFIKRIKEGSIINRIEAVCVGDSIEAINDHSIV GCRHYEVAKMLRELPKSQPFLLRLVQPKRAF	203
TIAM 1	4507500	1	HSIHIEKSDTAADTYGFSLSSVEEDGIRRLVYNSVKETGLASKKGLKAGDEILEINNRA ADALNSSMLKDFLSQPSLGLLVRTYPELE	204
TIAM 2	6912703	1	PLNVYDVQLTKTGSVCDFGFAVTAQVDERQHLSRIFISDVLPDGLAYGEGLRKKGNEI MTLNGEAVSDLDLKQMEALFSEKSVGLTLIARPPDTKATL	205

TIP1	2613001	1	QRVEIHKLRQGENLILGFSIGGGIDQDPSQNPFSDEKTDKGIYVTRVSEGGPAEIAGL QIGDKIMQVNGWDMTMVTHDQARKRLTKRSEEWRLVTRQSLQK	206
TIP2	2613003	1	RKEVEVFKSEDALGLTITDNGAGYAFIKRIKEGSVIDHIHLISVGDMIEANGQSLGCR HYEVARLLKELPRGRTFTLKLTEPRK	207
TIP33	2613007	1	HSHPRVVELPKTDEGLGFNVMGKEQNPIYISRIIPGGVAERHGGKRGDQLLSVN GVSVEGEHHEKAVELLKAAKDSVKLVVRYTPKVL	208
TIP43	2613011	1	ISNQKRGVVKLQKQELGGLGISIKGGKENKMPILISKIFKGLAADQTQALYVGDAILSVN GADLRDATHDEAVQALKRAGKEVLLEVYKYMREATPYV	209
X-11 β	3005559	1	IHFSNSENCKELQLEKHKGELGVVVVEGWSILPTVILANMMNGGPAARSGKLSIG DQIMSINGTSLVGLPLATCQGIKGLKNQTQVKLNIVSCPPVTTVLIKRNS	210
X-11 β	3005559	2	IPPVTTVLIKRPDLYQLGFSVQNGIICSLMRGGLAERGGVVRVGHRIIEINGQSVVATA HEKIVQALSNSVGEIHMKTMPAAMFRLLTGQENSS	211
ZO-1	292937	1	IWEQHTVTLHRAPGFGFGLAISGGGRDNPHFQSGETSIVISDVLKGGPAEGQLQENDR VAMVNGVSMDNVEHAFVQQLRKSGKNAKITIRKKKVQIPNSS	212
ZO-1	292937	2	ISSQPAKPTKVTLVKSRKNEEYGLRLASHIFVKEISQDSLARDGNIQEGDWLKTNGT VTENMSLTDAKTLIERSKGKLMVVRDRATLLNSS	213
ZO-1	292937	3	IRMKLVKFRKGDSVGLRLAGGNDVGIFVAGVLEDSPAAKEGLEEGDQILRVNNVDFT NIIRAEAVLFLDLPLKGEEVTILAQKKKDVFSN	214
ZO-2	12734763	1	LIWEQYTVTLQKDSKRGFIAVSGGRDNPHFENGETSIVISDVLPGGPADGLLQEND RVVMVNGTTPMEDVLHSEFAVQQLRKSGKVAIVVKRPRKV	215
ZO-2	12734763	2	RVLLMKSRANEEYGLRLGSQIFVKEMTRTGLATKDGNLHEGDIILKINGTVTENMSLT DARKLIEKSRGKLQVLVLRDS	216
ZO-2	12734763	3	HAPNTKMVRFKKGDSVGLRLAGGNDVGIFVAGIQEGTSAEQEGLQEGDQILKVNTQ DFRGLVREDAVLYLLEIPKGMVTILAQSRADV	217
ZO-3	10092690	1	IPGNSTIWEQHTATLSKDPRRGFGIAISGGDRPGGSMVSDVVPGGPAEGRQTG DHIVMVNGVSMENATSAFAIQLKTCTKMANITVKRPRRIHLPAEFIVTD	218
ZO-3	10092690	2	QDVQMKPVKSVLVKRRDSEEFVKLGSGQIFIKHITDSGLAARHRLQEGDLILQINGV SSQNLSLNDTRRLIEKSEKLSLLVLRDRGQFLVNIPNSS	219
ZO-3	10092690	3	RGYSPDTRVVRFLKGKSGIQLRLAGGNDVGIFVSGVQAGSPADGQGIQEGDQILQVN DVFPQNLTREEAVQFLLGLPPGEEMELVTQRKQDIFWKVMVQSEFIVTD	220

[10130] 以上表 2 中所提供的氨基酸序列可以包括源于融合蛋白的氨基酸，例如，引起特别注意的 GST-PDZ 结构域序列可以比表 2 中提供的序列短最多 20 个氨基酸（例如，短 5、8、10、12 或 15 个氨基酸）。例如，一个序列可以从羧基端、氨基端或两端缩短最多 3、6、9、或 12 个氨基酸。

[10131] B. 候选 PL 蛋白的鉴别以及肽段合成

[10132] 某些 PDZ 结构域通过 PDZ 结合蛋白的羧基端残基结合。为鉴别 PL 蛋白，表观检查了序列的羧基端以寻找人们可能预测能与含 PDZ 结构域蛋白结合的序列（参见如 Doyle 等人所著，1996，Cell 85，1067；Songyang 等人所著，1997，Science 275，73），这些序列包括 Arbor Vita 公司所鉴定的附加的 PL 共同序列（美国专利申请 60/360061）。表 3 列举了这些蛋白中的一些并提供了相应的 C 末端序列。

[10133] 确定序列（例如，对应于所述蛋白羧基端）的合成肽可以通过任何常规的基于树脂的方法合成（参见，例如美国专利 No.4,108,846；也可参考 Caruthers 等，1980，Nucleic Acids Res.Symp.Ser.，215-223；Horn 等，1980，Nucleic Acids Res.Symp.Ser.，

225-232 ; Roberge 等, 1995, Science 269 : 202)。这里所述的检测中使用的肽是通过 FMOc(参见, 例如, Guy 和 Fields, 1997, Meth.Enz.289 : 67-83 ; Wellings 和 Atherton, 1997, Meth.Enz.289 : 44-67) 制备的。在一些情况下(例如, 用于本发明的 A 和 G 检测中), 肽在其氨基端通过与 4 倍过量的生物素甲酯在含催化量碱的二甲亚砷中反应进行了生物素标记。所述肽用含卤化物的酸(如三氟乙酸)在存在适当的抗氧化剂(如乙二硫醇)的条件下与树脂分离, 多余的溶剂进行冻干处理。

[0134] 冻干后, 肽可以重新溶解并通过反向高效液相色谱(HPLC)纯化。适当的 HPLC 溶剂体系包括流速为 5 毫升/分钟的 0.1% 三氟乙酸水溶液的基础溶液中线性上升的含 0.1% 三氟乙酸的乙腈梯度的 Vydac C-18 半制备型柱。HPLC 纯化以后, 所述肽的特征通过 MALDI 阳离子质谱进行了确认。

[0135] C.PDZ-PL 相互作用检测

[0136] 本发明的发明人通过发展下文详细描述的新的高通量筛选方法得以部分鉴定了表 4 中所总结的相互作用。本领域已知的各种已知检测方式可用于选择与特定蛋白特异反应的配体。例如, 可以采用固相 ELISA 免疫检测、免疫沉淀、BIAcore、免疫印迹等检测方法鉴别特异结合 PDZ 结构域多肽的肽。如前文所述, 发展了两种不同的、互补的检测方法以检测 PDZ-PL 相互作用。在每种检测方法中, 固定化一对 PDZ-PL 中的一个结合伴侣并测定第二个结合伴侣的结合能力。这些下文所述的检测方法可以方便地用于在几小时内筛选成百上千的潜在的 PDZ- 配体相互作用。因而, 这些检测方法可以用于鉴定细胞内更多新的 PDZ-PL 相互作用。此外, 它们可用于鉴定 PDZ-PL 相互作用的拮抗剂(见下文)。

[0137] 在多种实施方案中, 在本发明的检测方法和装置中使用了融合蛋白。融合蛋白的构建与表达的方法是众所周知的。在前文所述的 Ausubel 等人的著作、Kroll 等, 1993, DNA Cell.Biol.12 : 441, 以及 Imai 等, 1997, Cell 91 : 521-30 中对融合蛋白进行了广泛描述。所述融合蛋白通常包括一个便于将所述蛋白固定在固体基质上的结构域(“固定化结构域”)。所述固定化结构域经常包括一个诸如多组氨酸(Bush 等, 1991, J Biol Chem 266 : 13811-14)、SEAP(Berger 等, 1988, Gene 66 : 1-10)、或 M1 和 M2 标记(参见, 例如美国专利 Nos.5,011,912 ; 4,851, 341 ; 4,703,004 ; 4,782,137)的标签表位(即被抗体, 通常是单克隆抗体, 识别的一段序列)。在一个实施方案中, 所述固定化结构域是 GST 编码区域。需要认识到, 除了所述 PDZ 结构域和特定的与固定化的抗体、蛋白 A 结合、或以其他方式与表面接触的残基以外, 所述蛋白(例如融合蛋白)还包含另外的残基。在一些实施方案中, 这些残基是天然与所述 PDZ- 结构域相连的残基(即位于特定的 PDZ 蛋白中), 但可以包括合成的(例如, 多聚丙氨酸)或异源的(例如, 如 10 到 300 个残基组成的间隔序列)残基。

[0138] 本发明的方法中使用的含 PDZ 结构域多肽(例如 PDZ 融合蛋白)通常通过以下步骤制备: 1) 构建由编码所需多肽的多核苷酸序列构成的载体(例如质粒、噬菌体或噬菌粒); 2) 将所述载体导入适当的表达系统(例如, 原核、昆虫、哺乳动物或无细胞表达系统); 3) 表达所述融合蛋白; 以及 4) 非必需地纯化所述融合蛋白。

[0139] 在一个实施方案中, 所述蛋白的表达包括将编码序列插入适当的表达载体(即包含针对所采用的表达系统的所述插入的编码序列的转录和翻译所需的必要元件, 例如

包括增强子、启动子、转录终止子、复制起始位点、适宜的起始密码子（如甲硫氨酸）、开放阅读框以及翻译调控信号（如核糖体结合位点、终止子和多聚腺苷序列）在内的调控元件）。取决于所采用的载体系统与宿主，包括组成型和诱导型启动子在内的任何数量的适当的转录及翻译元件均可使用。

[0140] 如本说明书其他部分所述，所述融合蛋白的编码序列包括一个 PDZ 结构域和一个固定化结构域。编码所述每个结构域氨基酸序列的多核苷酸可以用本领域内所知的多种方法获得；通常所述多核苷酸通过在实验者测定的、或更常见的是公开的（例如通过 GenBank）序列的基础上设计引物，通过克隆质粒、cDNA 文库以及通过 RNA 逆转录产生的 cDNA 的 PCR 扩增获得。所述引物包含在产生融合构建物中便于克隆和操作的接头区域（例如包含限制性位点的序列）。所述对应于 PDZ 和固定化区域的多核苷酸以正确的读框连接，从而生成编码所述融合蛋白的序列。

[0141] 本发明中的融合蛋白可以以分泌蛋白（例如，通过将编码信号序列的 DNA 包含在融合基因中；参见例如 Lui 等，1993，PNAS USA，90：8957-61）或非分泌蛋白的形式表达。

[0142] 在一些实施方案中，所述含 PDZ 蛋白或 PL 多肽固定在固体表面。结合所述多肽的基质可以是多种形式中的任意一种，例如微量滴定皿、试管、试纸、微离心管、小珠、可透或半透膜等。合适的材料包括玻璃、塑胶（例如聚乙烯、PVC、聚丙烯、聚苯乙烯等）、蛋白、纸、糖类、脂质单层或具有支撑的脂质双层、薄膜及其他固体支持物。其他可以使用的材料包括陶瓷、金属、非金属、半导体材料、粘固粉等。

[0143] 在一些实施方案中，所述 PDZ 和 / 或 PL 融合蛋白组成阵列的形式。这里所用的术语“阵列”是指固定化的融合蛋白的有序排列，其中特定的不同的融合蛋白（即含不同的 PDZ 结构域）位于基质上事先确定的不同的位置。由于特定的融合蛋白在阵列上的位置是已知的，在这一位置上的结合可以与和该位置上的 PDZ 结构域的结合相关联。将融合蛋白固定在小珠上（个别地或成群地）是另一个特别有用的技术手段。在一个实施方案中，单独的融合蛋白固定在小珠上。在一个实施方案中，使用了可区分的小珠的混合。可区分的小珠是能凭借诸如大小、磁性、颜色（例如通过采用 FACS）或亲和标签（例如，通过采用 IgG 亲和方法可以区分蛋白 A 包被的小珠和没有蛋白 A 包被的小珠）等性质相互区分的小珠。可以测定与特定 PDZ 结构域的结合。

[0144] 蛋白固定化的方法是已知的，包括共价和非共价方法。抗体介导的固定化是一种适当的固定化方法。按照这一方法，将含 PDZ 结构域蛋白的“固定化结构域”序列的特异性抗体本身固定在基质上（例如通过吸附）。该方法的优点在于可以将单一的抗体附着在基质上并用于多种多肽（具有相同的固定化结构域）的固定化。例如，由多聚组氨酸构成的固定化结构域（Bush 等，1991，J Biol Chem 266：13811-14）可以与抗组氨酸单抗（R&D Systems，Minneapolis，MN）结合；由分泌型碱性磷酸酶（SEAP）构成的固定化结构域（Berger 等，1988，Gene 66：1-10）可以与抗 SEAP 抗体（Sigma，St.Louis，MO）结合；由 FLAG 表位构成的固定化结构域能与抗 FLAG 抗体结合。也可以适用其他的配体-抗配体固定化方法，例如，由蛋白 A 序列（见 Harlow 和 Lane 所著，1988，《抗体实验手册》（Antibodies A Laboratory Manual），Cold Spring Harbor Laboratory；Sigma，St.Louis，MO）构成的固定化结构域可与 IgG 结合；由链霉亲和素构成的固定化结构域可

与生物素结合（见前文 Harlow 和 Lane 所著；Sigma, St.Louis, MO）。在优选的实施方案中，所述固定化结构域是如这里所述的 GST 部分。

[0145] 在使用抗体介导的固定化方法的情况下，玻璃和塑胶是特别有用的基质。可以用疏水性（例如特氟纶）掩模印制基质以形成孔。每 14.5cm^2 基片“工作区域”有 3、10、21 孔的预印的玻璃基质可以从例如 SPI Supplies, West Chester, PA 获得；也可参见美国专利 No.4,011,350。在某些应用中，使用 96 孔形式的印制的大版式 ($12.4\text{cm} \times 8.3\text{cm}$) 玻璃基片；这一形式便于使用自动液体处理装置并使用多种类型的 96 孔板酶标仪（荧光、比色、闪烁）。然而可以使用更高的密度（例如，每平方厘米大于 10 个或 100 个多肽）。参见例如 MacBeath 等，2000, Science 289 : 1760-63。

[0146] 通常，抗体通过吸附与基质结合。适宜的吸附条件是本领域内所熟知的，包括 0.5-50 微克/毫升（如 10 微克/毫升）单克隆抗体在缓冲液中（4℃的 pH 6.5 到 8 的 PBS，或 50 到 300mM Tris、MOPS、HEPES、PIPES、乙酸缓冲液）孵育至 37℃，孵育时间从 1 小时至 24 小时以上。

[0147] 蛋白可以共价结合或通过非特异结合非共价附着。如果希望融合蛋白与表面之间的共价结合，所述表面通常应是多功能性的或能够多功能化的。表面上可能存在的并用于连接的功能基团包括羧基、醛、氨基基团、氰基团、乙烯基团、羟基、巯基等。多种化合物与多种表面的连接方式是熟知的，并在文献中有详细的说明。

[0148] 以下提供了示范性的检测方法。

[0149] 采用固定化的 PL 肽用“A 检测方法”检测 PDZ-配体的结合

[0150] 本发明的一个方面提供了一种检测方法，其中生物素化的候选 PL 肽被固定在亲和素包被的表面上。随后检测 PDZ 结构域融合蛋白与该表面的结合。在优选的实施方案中，所述 PDZ 结构域融合蛋白是 GST/PDZ 融合蛋白，所述检测方法按照以下步骤进行：

[0151] (1) 亲和素与表面（例如蛋白结合表面）的结合。在一个实施方案中，通过每孔添加 100 微升含 20 微克/毫升亲和素 (Pierce) 的不含钙离子和镁离子的 pH7.4 的 PBS (GibcoBRL)，并在 4℃下孵育 12 小时，将亲和素结合在聚苯乙烯 96 孔板上（例如 NuncPolysorb, 目录号 475094）。随后通过每孔添加 200 微升含 2 克/100 毫升去蛋白酶牛血清白蛋白的 PBS (PBS/BSA) 并在 4℃孵育 2 小时，处理平板以封闭非特异性的相互作用。重复向每孔添加 200 微升 PBS，然后将平板的内容物倒入废液缸并在干燥表面上轻拍平板，所述平板以此方式用 PBS 清洗 3 次。

[0152] (2) 通过每孔添加 50 微升含 $0.4\mu\text{M}$ 肽的 PBS/BSA 并在 4℃下孵育 30 分钟将生物素化的 PL 肽（或候选 PL 肽，例如可参见表 3）固定在平板上微孔的表面。通常每种不同的肽添加于至少 8 个不同的微孔中，这样可以进行多重测量（例如双重检测以及使用不同 GST/PDZ 结构域融合蛋白和单独 GST 阴性对照检测），也制备了其中没有固定化肽的附加阴性对照微孔。所述 PL 肽固定在表面上以后，平板用 PBS 洗涤 3 次。

[0153] (3) 通过每孔添加 50 微升含 5 微克/毫升 GST/PDZ 结构域融合蛋白的 PBS/BSA 并在 4℃孵育 2 小时使 GST/PDZ 结构域融合蛋白（如上述方法制备）与表面反应。作为阴性对照，针对每种固定的肽在特定的微孔中（通常至少 2 个孔，即双重测量）添加单独的 GST（即不是融合蛋白）。反应 2 小时后，所述平板用 PBS 洗涤 3 次以去除未结合的

融合蛋白。

[0154] (4) 采用本领域内所知的多种方法及检测器可以检测 GST/PDZ 结构域融合蛋白与亲和素-生物素化肽表面的结合。在一个实施方案中，在平板上每孔添加 50 微升含抗 GST 抗体（例如 2.5 微克 / 毫升多克隆羊抗 GST 抗体，Pierce）的 PBS/BSA 并在 4℃ 下反应 20 分钟。平板用 PBS 洗涤 3 次并添加第二种可检测的标记抗体。在一个实施方案中，在平板上每孔添加 50 微升 2.5 微克 / 毫升辣根过氧化物酶（HRP）偶联的多克隆兔抗羊免疫球蛋白抗体并在 4℃ 下反应 20 分钟。平板用含 0.2% Tween 20 的 50mM Tris pH8.0 洗涤 5 次，并通过每孔添加 100 微升 HRP 底物溶液（TMB，Dako）并在室温下（RT）反应 20 分钟显色。通过每孔添加 100 微升 1M 硫酸终止 HRP 与其底物的反应并读取 450 纳米处所述平板每个孔的吸光度（A）。

[0155] (5) 通过将来自 PL 肽与 PDZ 结构域多肽结合的孔中的信号与本底信号比较检测一种 PL 肽与一种 PDZ 结构域多肽的特异结合。本底信号是阴性对照中得到的信号。通常特异性或选择性反应结果应至少两倍于本底信号，更典型是比本底高 5 倍以上，最常见的是比本底信号高 10 倍以上。此外，具有统计学意义的反应结果应包括所述反应的多重测量的信号与本底的差异至少达到 2 个标准误差，更典型的达到 4 个标准误差，最典型的达到 6 个标准误差以上。相应的，比较信号的重复测量结果与本底的重复测量结果的统计学检验（如 T- 检验）应得到 p 值 < 0.05 ，更典型的是 p 值 < 0.01 ，最典型的是 p 值 < 0.001 或更小。

[0156] 正如所指出的，在“A”检测方法的一个实施方案中，GST/PDZ 结构域融合蛋白与没有 PL 肽遮盖的亲和素表面的结合信号是一种适当的阴性对照（有时称为“B”）。单独的 GST 多肽（即非融合蛋白）与有 PL 肽遮盖的亲和素包被表面的结合信号是第二种适当的阴性对照（有时称为“B2”）。由于所有的测量结果是多重的（即至少双重的），在测定结合时使用了几次测量的算术中项（或等价的平均数），并在测定结合的测量结果中可能的误差时使用了所述平均数的标准误差。N 次测量结果的平均数的标准误差等于以下值的平方根：每次测量值与平均数的差值的平方数之和除以（N）与（N-1）的乘积。因而，在一个实施方案中，PDZ 蛋白与和平板结合的 PL 肽的特异性结合通过针对特定 PL-PDZ 组合的平均 B1 和 / 或平均 B2 与信号平均值（“mean S”）及信号标准误差（“SE”）的比较得以确定。

[0157] “G 检测方法”一使用固定化的 PDZ 结构域融合多肽检测 PDZ- 配体的结合

[0158] 本发明的一个方面提供了一种检测方法，其中 GST/PDZ 融合蛋白被固定在表面上（“G”检测方法）。随后测量标记的 PL 肽（例如，如表 3 中所列举的）与该表面的结合。在一种优选的实施方案中，所述检测方法按以下步骤进行：

[0159] (1) PDZ 结构域多肽与表面（例如，蛋白结合表面）的结合。在一种优选的实施方案中，含一个或多个 PDZ 结构域的 GST/PDZ 融合蛋白结合在聚苯乙烯 96 孔板上。所述 GST/PDZ 融合蛋白可以通过多种精通本领域的技术人员所知的常规方法中的任一种结合到所述平板上，然而必须注意，所述融合蛋白与平板的结合过程不会改变 PDZ 结构域的配体结合性质。在一个实施方案中，所述 GST/PDZ 融合蛋白通过包被在 96 孔板上的抗 GST 抗体结合。通过以下步骤可以达到与平板的充分结合：

[0160] a. 向聚苯乙烯 96 孔板（Nunc Polysorb）每孔添加 100 微升含 5 微克 / 毫升羊抗

GST 多克隆抗体 (Pierce) 并在 4℃ 下孵育 12 小时。

[0161] b. 通过每孔添加 200 微升 PBS/BSA 在 4℃ 下封闭平板 2 小时。

[0162] c. 用 PBS 3 次洗涤平板。

[0163] d. 向平板每孔添加 50 微升含 5 微克 / 毫升 GST/PDZ 融合蛋白或作为阴性对照的单独的 GST 多肽 (即非融合蛋白) 的 PBS/BSA 并在 4℃ 下孵育 2 小时。

[0164] e. 再次用 PBS 洗涤平板 3 次。

[0165] (2) 通过每孔添加 50 微升含 20 μ M 生物素化的肽溶液的 PBS/BSA 并在 4℃ 下孵育 10 分钟, 随后在 25℃ 下另外孵育 20 分钟, 使生物素化的 PL 肽与表面反应。用预冷的 PBS 3 次洗涤平板。

[0166] (3) 使用精通本领域的技术人员所知的多种方法和检测器可以检测生物素化的肽与 GST/PDZ 融合蛋白表面的结合。在一个实施方案中, 每孔添加 100 微升溶于 BSA/PBS 的 0.5 微克 / 毫升的链霉亲和素 - 辣根过氧化物酶 (HRP) 偶联物并在 4℃ 下反应 20 分钟。随后平板用含 0.2% Tween 20 的 50mM Tris pH 8.0 洗涤 5 次, 通过每孔添加 100 微升 HRP 底物溶液 (TMD, Dako) 并在室温下孵育 20 分钟显色。每孔添加 100 微升 1M 硫磺酸终止 HRP 与其底物的反应并在 450 纳米处读取平板每个孔的吸光度。

[0167] (4) 通过将来自 PL 肽与 PDZ 结构域多肽结合的孔中的信号与本底信号比较检测一种 PL 肽与一种 PDZ 结构域多肽的特异结合。本底信号是阴性对照中得到的信号。通常特异性或选择性反应结果应至少两倍于本底信号, 更典型是比本底高 5 倍以上, 最常见的是比本底信号高 10 倍以上。此外, 具有统计学意义的反应结果应包括所述反应的多重测量的信号于本底的差异至少达到 2 个标准误差, 更典型的达到 4 个标准误差, 最典型的达到 6 个标准误差以上。相应的, 比较信号的重复测量结果与本底的重复测量结果的统计学检验 (如 T- 检验) 应得到 p 值 < 0.05 , 更典型的是 p 值 < 0.01 , 最典型的是 p 值 < 0.001 或更小。正如所指出的, 在 “G” 检测方法的一个实施方案中, 一种特定 PL 肽与固定化的 (表面结合的) 单独的 GST 多肽的结合信号是一种适当的阴性对照 (有时称为 “B1”)。由于所有的测量结果是多重的 (即至少双重的), 在测定结合时使用了几次测量的算术中项 (或等价的平均数), 并在测定结合的测量结果中可能的误差时使用了所述平均数的标准误差。N 次测量结果的平均数的标准误差等于以下值的平方根: 每次测量值与平均数的差值的平方数之和除以 (N) 与 (N-1) 的乘积。因而, 在一个实施方案中, PDZ 蛋白与平板结合的肽的特异性结合通过针对特定 PL-PDZ 组合的平均 B 1 与信号平均值 (“mean S”) 及信号标准误差 (“SE”) 的比较得以确定。

[0168] “G’ 检测方法” 和 “G” 检测方法”

[0169] 上述 “G 检测方法” 特定条件下的两种特定的改进尤其有用。改进的检测方法使用更少量的标记的 PL 肽, 并且与上述具体的检测条件相比, 对于检测而言具有稍有不同的生化要求。

[0170] 为了方便起见, 这一章节所描述的检测条件称为 “G’ 检测方法” 和 “G” 检测方法”, 而在前面章节中描述的 G 检测方法的具体检测条件称为 “G⁰ 检测方法”。除了第 2 步的肽浓度是 10 μ M 而不是 20 μ M 以外, “G’ 检测” 与 “G⁰ 检测” 是相同的。这一改变导致低亲和力和 / 或快解离速度的相互作用的检测灵敏度稍有降低。相应的, 稍微提高了具有足够亲和力和半衰期的具有生物学重要性和有用的治疗靶点的相互作用

检测的确定性。

[0171] 除了第 2 步的肽浓度是 $1\ \mu\text{M}$ 而不是 $20\ \mu\text{M}$ 以及在 25°C 下孵育 60 分钟（而不是例如 4°C 10 分钟随后 25°C 20 分钟）以外，“G”检测”与“G⁰检测”是相同的。这导致对于低亲和力、快解离速度和/或 25°C 下亲和力小于 4°C 下亲和力的相互作用的灵敏度降低。如果（正如我们发现的对于 PDZ-配体结合普遍存在的）反应的熵值时负数（即产物的熵值小于反应物的熵值），相互作用在 25°C 下具有比 4°C 时更低的亲和力。相反，由于 PDZ-PL 复合物能在“G”检测的更长的孵育期间内积累，对于结合及解离速度慢的相互作用来说，“G”检测”和“G⁰检测”中的 PDZ-PL 结合信号是相似的。因而，“G”检测”和“G⁰检测”结果的比较可以用于不同 PDZ-PL 相互作用的相对熵、焓、动力学。（通过等式 $\Delta G = RT \ln(K_d) = \Delta H - T \Delta S$ （其中 ΔG 、 H 和 S 分别表示反应的自由能、焓和熵， T 是绝对温度， R 是气体常数， K_d 是平衡解离常数），熵和焓与结合亲和力相关）。具体而言，只在“G⁰检测”中检测到的或在“G⁰检测”中检测到高得多的信号的相互作用通常具有在 25°C 下快解离速度（ $t_{1/2} < 10$ 分钟）和负值反应熵，而在“G”检测”中检测到相似强度的相互作用通常具有较慢的解离速度（ $t_{1/2} > 10$ 分钟）。PDZ-PL 相互作用热力学和动力学的粗略估计（如上述通过比较“G⁰检测”和“G”检测”结果实现）可用于所述相互作用的有效抑制剂的设计。例如，基于与特定 PDZ 结构域缓慢解离的 PL 化学结构（如与“G⁰检测”中相似的“G”检测”的结合所证实的）的小分子抑制剂本身可能缓慢解离从而具有高亲和力。

[0172] 照这样，“G”检测”中步骤 2 的温度与持续时间的变化可用于深入洞察所述 PDZ-配体结合反应的动力学与热力学以及该反应抑制剂的设计。

[0173] 检测方法变化形式

[0174] 如上所述，需要认识到，可以对上述检测方法的许多步骤进行改变，例如，多种基质可以用于结合 PL 和含 PDZ 蛋白；可以使用不同类型的含 PDZ 融合蛋白；可以使用检测 PDZ/PL 相互作用的不同标记物；以及可以使用不同的检测方法。

[0175] 所述 PDZ/PL 检测方法可以使用多种表面以结合 PL 和/或含 PDZ 蛋白。例如，表面可以是由对 PL 蛋白或含 PDZ 蛋白的附着进行最优化的材料（如聚苯乙烯）形成的“检测平板”。通常，所述检测平板上单独的孔应具有高表面积/体积比，因而合适的形状是平底的孔（其中附着检测蛋白）。其他的表面包括但不限于聚苯乙烯或玻璃珠、聚苯乙烯或玻璃基片、纸、纤维素试纸、塑胶、薄膜等。

[0176] 例如，所述检测平板可以是“微量滴定”平板。这里所使用的术语“微量滴定平板”是指一种多孔的检测平板，例如具有约 30 到 200 个独立的孔，通常是 96 孔的平板。另外，可以使用高密度阵列。微量滴定平板的独立的孔经常能容纳约 250 微升的最大体积。通常，所述检测平板是 96 孔聚苯乙烯平板（如 Becton Dickinson Labware, Lincoln Park, N.J. 有售），它支持自动化和高通量筛选。其他的表面包括聚苯乙烯微量滴定 ELISA 平板（如 Nunc Maxisorp, Inter Med, Denmark 有售）。通常，检测平板每孔添加约 50 微升至 300 微升、更优选的是 100 微升至 200 微升由悬浮缓冲液构成的含水试样。

[0177] 本发明中的可检测标记物可以是与一种分子（如前文所述）直接或间接偶联的任何可检测的化合物或组合物。标记物自身可以被检测（例如放射性同位素标记或荧光标

记), 或者在酶标记的情况下, 可以催化底物化合物或组合物的可检测的化学改变。优选的标记物是催化非放射性颜色试剂的颜色改变的酶标记物。

[0178] 有时, 标记物间接与抗体偶联。精通本领域的人员知道多种直接或间接偶联的方法。例如, 抗体可以与生物素偶联, 而前面提到的任何类别的标记物可以与亲和素偶联, 反之亦然 (也可参见前文 “A” 和 “G” 检测方法)。生物素选择性地与亲和素结合, 从而标记物能以这种间接方式与抗体偶联。对包括生物素 - 亲和素偶联及其他类似方法的综述可以参见前文 Ausubel 的著作。另外, 为实现标记物与抗体的间接偶联, 抗体与小的半抗原 (如地高辛) 偶联而前面提到的不同类型标记物之一与抗半抗原抗体 (如抗地高辛抗体) 偶联。从而实现标记物与抗体的间接偶联。

[0179] 检测方法的变化形式可以包括不同的洗涤步骤。“洗涤” 是指以得以从中去除没有结合的材料 (例如, 没有附着的细胞、没有粘附的捕获物、没有结合的配体、受体、受体构建物、细胞溶解物或 HRP 抗体) 的方式将固体相暴露在水溶液 (通常是缓冲液或细胞培养基) 中。为了降低本底噪音, 通常在洗涤溶液中包括去垢剂 (例如 TritonX)。通常, 在洗涤之后将水洗涤溶液从检测平板的孔中轻轻倒出。洗涤可以便利地使用自动清洗装置实现。有些时候, 可能要求几个洗涤步骤 (例如, 约 1 个到 10 个洗涤步骤)。

[0180] 在 PDZ-PL 检测方法中也可以使用多种缓冲液。例如, 为降低检测本底可以使用多种封闭缓冲液。术语 “封闭缓冲液” 是指 pH 缓冲的、含至少一种能与未被 PL 或含 PDZ 蛋白包被的基质暴露表面结合的封闭化合物的水溶液。封闭化合物通常是如 BSA、明胶、酪蛋白或奶粉的蛋白而且不与检测中任何试剂发生交叉反应。所述封闭缓冲液通常提供的 pH 值在约 7 到 7.5 之间, 合适的缓冲物包括磷酸盐和 TRIS。

[0181] 多种酶 - 底物组合也可以用于检测 PDZ-PL 相互作用。酶 - 底物组合的例子包括, 例如:

[0182] (i) 以过氧化氢为底物的辣根过氧化物酶 (HRP 或 HRPO), 其中的过氧化氢氧化染料前体 (例如原苯二胺 [OPD] 或氢氯 3, 3', 5, 5' - 四甲基对二氨基联苯 [TMB]) (如前文所述)。

[0183] (ii) 碱性磷酸酶 (AP) 与作为发色底物的对硝基苯磷。

[0184] (iii) β -D- 半乳糖苷酶 (β -D-Gal) 与发色底物 (例如对硝基苯 - β -D- 半乳糖苷) 或荧光底物 4- 甲基伞形酯 - β -D- 半乳糖苷。

[0185] 精通本领域的人员可以使用多种其他酶 - 底物组合。这些问题的全面综述可以参见通过参考组合在本发明中的美国专利 Nos.4,275,149 和 4,318,980。

[0186] 进一步需要认识到, 虽然为了方便, 本说明书的讨论主要涉及 PDZ-PL 相互作用的检测, PDZ-PL 相互作用的激动剂或拮抗剂可以用于细胞异常的诊断。

[0187] V. 诸如宫颈组织的组织样本的采集

[0188] 对病原体存在的诊断要求适合于生物体的样本的采集。为检测致癌的 HPV E6 蛋白, 可能需要采用刮取、拭子、活组织切片技术从子宫、阴道、肛门或咽喉采集用于检测的组织。为诊断如 HIV 的血源病原体, 最适合的是通过常规手段采集血液。为诊断可能已引起皮肤损伤的真菌或病毒感染可能要求采集受影响区域的样本。

[0189] 本发明不包括取样方法。然而需要指出的是, 由于本发明是建立在 PDZ 或 PL 蛋白检测基础上的, 必须对采集足够量的样本以检测病原体蛋白并保持样本中蛋白的完

整性给予适当的关注。对于每次诊断检测所采集的样本量应以经验为主确定。决定因素可以包括但不限于希望检测的疾病阶段、每单位样本的病原体数量、每单位样本诊断用蛋白数量、诊断用抗原表位的可利用性和稳定性。

[0190] 示范性的采集宫颈组织的方法包括但不限于美国专利 6,241,687、6,352,513、6,336,905、6,115,990 和 6,346,086 中所述的方法。这些采集方法可以便于用于诊断致癌的人乳头状瘤病毒的宫颈组织的采集。这些方法主要通过刮取采集宫颈细胞或组织；另外，也可以采用常规活组织切片方法从任何待测组织中采集样本。

[0191] 虽然本发明申请中公开的诊断方法针对 PL 蛋白的检测，样本采集不需要限于蛋白的采集。另外可以从组织样本中采集 RNA，使用体外翻译试剂盒从所采集的模板生成蛋白，然后使用这里公开的方法检测。以相似的方式，可以从待测样本中采集 DNA，可以使用致癌 E6 蛋白的特异性引物扩增所述 DNA（通过使用 DNA 聚合酶）或将样本转录并翻译成能用这里所公开的方法检测的蛋白。

[0192] VI. 检测致癌 E6 蛋白的检测方法

[0193] 致癌 E6 蛋白能通过其结合 PDZ 结构域的能力进行检测。这可以发展出单一检测步骤的方法或更有用的、具有更高灵敏度和特异性的双步骤或“夹心”法。

[0194] 在单一步骤方法中，可以使用诸如表 3 和 4 中公开的特异性识别致癌 E6 蛋白的 PDZ 结构域的标记形式直接探测样本中致癌 E6 蛋白的存在。如前文所指出的，其实例可以是将待测样本固定在固体支持物上（例如，宫颈细胞或组织可以包被在基片上并“固定”（fixed）以使细胞膜具有渗透性），在适当的条件下将所述样本与标记的“PL 探测分子”蛋白（PDZ 结构域融合物）共孵育，洗去未结合的 PL 探测分子，并检测样本中“标记”的存在。此外，即便没有标记，可以测量 PDZ 蛋白和与 E6 蛋白结合的 PDZ 蛋白的物理性质。可以使用诸如表面等离子体谐振、圆二色谱和其他技术等直接评蛋白结合的技术来检测致癌 E6 蛋白的存在。然而应当指出的是，PDZ 结构域也可以结合内源的细胞蛋白。因而，结合频率必须与不含 E6 癌蛋白的对照细胞比较或应该修饰“PL 探测分子”使其对于致癌 E6 蛋白具有显著更高的特异性（见第 X 部分）。

[0195] 在双步骤或夹心方法中，PL 探测分子的使用与第二种捕获或检测捕获蛋白的方法联结。所述的第二种方法可以使用与 E6 癌蛋白结合的抗体或第二种能在不降低 E6PL 可利用性的 E6 蛋白的区域上与 E6 癌蛋白结合的化合物或蛋白。这样的蛋白可以包括但不限于 p53、E6-AP、E6-BP 或设计的结合 E6 癌蛋白的化合物。另外，由于已知致癌 E6 蛋白通过使用二价阳离子与某些 DNA 结构结合，也可以使用 DNA 结合或 Zn^{2+} 结合来检测捕获的 E6 蛋白的存在。另外，由于已知 E6 能在网状细胞溶解物存在的情况下降解 DNA 和包括 p53 在内的某些蛋白，可以在活性检测中使用 PDZ 捕获的 E6 蛋白。

[0196] 抗体

[0197] 许多生物学检测被设计成象“三明治”，其中一种抗体组成三明治的一侧。这一方法能够通过降低本底信号并放大正确信号而提高诊断的信号/噪音比。可以产生特异性识别诊断蛋白的抗体。由于本发明公开了使用 PDZ 或 PL 蛋白诊断病原体感染的方法，应当产生不与 PDZ-PL 相互作用冲突的抗体。

[0198] 为了生产抗体，可以通过注射肽的方式免疫多种动物宿主（包括但不限于兔、小鼠、大鼠等）。所述肽可以依靠功能基团的侧链或附着在功能基团侧链上的连接物附着

在适当的载体上（如 BSA 或 KLH）。取决于宿主物种，多种佐剂可用于增强免疫反应，这些佐剂包括但不限于弗氏佐剂（完全和不完全的）、如氢氧化铝的矿物胶体、如溶血卵磷脂的表面活性剂、聚醚多元醇、多聚阴离子、肽、油乳剂、钥孔虫血蓝蛋白、二硝基酚以及如卡介苗（BCG）和短小棒状杆菌（*Corynebacterium parvum*）的潜在有用的人佐剂。

[0199] 肽的单克隆抗体可以用通过细胞系的连续培养提供抗体分子生产的任何技术进行制备。这些技术包括但不限于最初由 Koehler 和 Milstein, 1975, *Nature* 256 : 495-497 描述的杂交瘤技术, Kosbor 等, 1983, *Immunology Today* 4 : 72 和 Cote 等, 1983, *Proc. Natl.Acad.Sci.U.S.A.*80 : 2026-2030 所描述的人 B 细胞杂交瘤技术, 以及 EBV 杂交瘤技术 (Cole 等, 《单克隆抗体与癌症治疗》(Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy), 1985, 77-96 页, Alan R.Liss, Inc.。另外, 可以使用通过将来自小鼠的适当抗原特异性的抗体分子基因与来自人的适当生物学活性的抗体分子基因拼接生产“嵌合抗体”(Morrison 等, 1984, *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.*81 : 6851-6855 ; Neuberger 等, 1984, *Nature* 312 : 604-608 ; Takeda 等, 1985, *Nature* 314 : 452-454)) 而发展出的技术。此外, 可以对描述生产单链抗体的技术 (美国专利 No.4,946,778) 进行改进以适于生产肽特异性单链抗体。

[0200] 可以通过已知技术产生含特定结合位点删除的抗体片段。例如, 这样的片段包括但不限于能通过胃蛋白酶消化抗体分子生产的 $F(ab')_2$ 片段和能通过减少 $F(ab')_2$ 片段二硫键产生的 Fab 片段。另外, 可以构建 Fab 表达文库 (Huse 等, 1989, *Science* 246 : 1275-1281) 以快速简便地鉴别具有针对感兴趣的肽的需要的特异性的单克隆 Fab 片段。

[0201] 可以将需要的肽的特异性抗体或抗体片段与例如琼脂糖连接, 并在免疫层析中使用所述抗体-琼脂糖复合物纯化本发明中的肽。见 1984 年 Scopes 著《蛋白纯化: 原则与实践》(Protein Purification : Principles and Practice), Springer-Verlag New York, Inc., NY 和 Livingstone 1974 年著《酶学方法: 蛋白免疫亲和层析》(Methods Enzymology : Immunoaffinity Chromatography of Proteins) 34 : 723-731。抗体也可以为诊断应用与其他固体支持物连接, 或另外用诸如能切割比色底物的酶、荧光团、磁性颗粒或其他可测量的物质组合物的检测手段进行标记。

[0202] 抗 E6 蛋白的特异性抗体长期以来难以生产。与前文所述方法结合, 可以使用多种技术来提高生产或选择高亲和力抗体的可能性。一个例子是以制备待测组织或细胞样本相同方式制备 E6 抗原 (用以引起抗体产生)。另外, 可以用以一种方式制备的 E6 融合蛋白免疫, 并用以不同方式制备的第二种 E6 蛋白筛选特异性 E6 抗体。应当选择识别在不同的样本收集和制备过程中保守的 E6 抗原表位的抗体。在另一个例子中, 对 E6 抗原进行快速变复性, 这样选出对制备条件不敏感的抗原表位, 可以用这样的 E6 抗原免疫动物。另一种可以采用的方法是使用对应于通过主要组织相容性复合物 (MHC) 与 T 细胞受体 (TCR) 共有序列结合预测的 E6 蛋白抗原区域的肽。还有另一种方法能使用便于生产的且已确定其抗体结合区域的 E6 变体 (如前文所述 GST- 或 MBP-HPV18)。这些“抗原”区域可以用另一种类型 E6 肽的同源片段 (例如, 另一个免疫表位) 调换。这样, 所述表位可能在抗体生产中具有更高的正确展示的机会。

[0203] 一般而言, 合适的抗 E6 抗体可以通过用例如在哺乳动物细胞中生产的 E6 蛋白

(从而具有正确的折叠、二硫键和其他蛋白修饰)、或例如如本领域内已知的用其他氨基酸替换半胱氨酸残基等修饰并在细菌中表达的 E6 蛋白免疫合适的哺乳动物进行制备。通常,在所述方法中可以使用抗体混合物,其中每种抗体与 E6 蛋白的不同亚型交叉反应。在某些实施方案中,可以使用一种与多种或全部 E6 蛋白交叉反应的抗体。通常在所述方法中使用的抗体与 E6 蛋白结合而无论该 E6 蛋白是否是致癌的。

[0204] 2. 其他针对捕获的 E6 蛋白的检测方法

[0205] 已被 PDZ 结构域捕获的 E6 蛋白可以通过几种其他方法检测。已知几种与 E6 蛋白结合的蛋白。精通本领域的人员可以使用其中任何一种与 E6 具有适当亲和力的来检测样本中捕获并浓缩的 E6 蛋白的存在。此外,可能鉴别出结合 E6 蛋白的新的结合蛋白或适体。第三,可以使用 E6 特异性的活性检测。

[0206] 所述检测方法本身也可以用多种方法实行。用 PDZ 来捕获的常规 ELISA 可以设置成为一种竞争结合方式,其中所述 PDZ 结构域用具有比 E6 蛋白更低亲和力的标记的 PL 预载。这样,在存在 E6 的情况下,标记物被取代并观察到对应于 E6 存在的信号的减弱。也包括使用结合竞争与抑制方式的其他变化形式。一种变化形式甚至可以具有通过连接物与 PDZ 结构域共价结合的 PL,这样该 PL 不能与其自己的 PDZ 结构域结合。使用供体淬灭染料,当一种致癌 E6 蛋白的 PL 能置换标记的 PL 时,仅能观察到信号的增强。所有这样的竞争方法必须与评估能与用于评估致癌 E6 蛋白存在的 PDZ 结构域结合的内源 PL 蛋白量的对照相比进行测量。

[0207] VII. 检测方法灵敏度的测量

[0208] 本发明的“A”和“G”检测可用于确定 PDZ 配体肽与 PDZ 结构域多肽结合的“表观亲和力”。在与第二种分子饱和结合所需的一种分子(例如,配体与受体的结合)的浓度的基础上测定表观亲和力。以下提供了对 PDZ-配体结合表观亲和力定量尤其有用的方法。这些方法可用于比较不同 PL 探测分子构建物的灵敏度和亲和力。了解 PDZ 对病原体 PL 的灵敏度是基本要求,因为这有助于确定为获得确定性结果所必须检测的组织或细胞数量。

[0209] (1) GST/PDZ 融合蛋白以及作为阴性对照的单独的 GST 与表面(例如,96 孔板)结合,并如前文对“G”检测所述的方式对该表面进行封闭和洗涤。

[0210] (2) 在平板上每孔添加 50 微升含递增浓度(例如 0.1 μM , 0.33 μM , 1 μM , 3.3 μM , 10 μM , 33 μM 及 100 μM)生物素化的 PL 肽(例如如表 3 中所示的)PBS/BSA。在一个实施方案中,所述 PL 肽与结合的 GST/PDZ 融合蛋白(以及仅 GST 的阴性对照)在 4°C 下反应 10 分钟,随后在 25°C 下反应 20 分钟。所述平板用预冷的 PBS 洗涤 3 次以去除未结合的标记肽。

[0211] (3) PL 肽与固定化的 PDZ 结构域多肽的结合如前文对“G”检测所描述的方式检测。

[0212] (4) 对于肽的每种浓度,纯粹的结合信号通过从肽与 GST/PDZ 融合蛋白结合中减去所述肽与单独的 GST 结合进行测定。随后将所述纯粹信号作为配体浓度的函数作图并按照以下等式进行拟合处理(例如,通过使用 Kaleidagraph 软件包曲线拟合算法, Synergy Software),其中“信号_[配体]”是 PL 肽浓度为“[配体]”时纯粹的结合信号,“Kd”是结合作用的表观亲和力,“饱和结合”是通过对实验数据最优化拟合的曲线拟

合算法确定的常数：

[0213] 信号_[配体] = 饱和结合 × ([配体] / ([配体] + K_d))

[0214] 为了可靠地使用上述等式，实验手段成功检测的最高肽配体浓度必须要大于或至少约等于计算的 K_d 值（也就是说，观察到的最大结合应该约等于计算的饱和结合）。在证明难以满足上述标准的情况下，可以使用另一种方法（见下文）。

[0215] 方法 2：

[0216] (1) 在溶液中混合固定浓度的 PDZ 结构域多肽和递增浓度的标记的 PL 肽（例如生物素或荧光素标记的，代表性的肽的氨基酸序列参见表 3）并使之反应。在一个实施方案中，优选的肽浓度是 0.1 μM, 1 μM, 10 μM, 100 μM 和 1mM。在多种实施方案中，合适的反应时间可以位于 10 分钟到 2 天的区间内，温度位于 4℃ 到 37℃ 的区间内。在一些实施方案中，也可以用不含 PDZ 结构域的蛋白作为对照进行相同的反应（例如，如果 PDZ 结构域多肽是融合蛋白，可以使用该融合伴侣）。

[0217] (2) 使用多种本领域内已知的方法，可以将 PDZ-配体复合物与未结合的标记肽分离。例如，复合物可以用高效排阻层析（HPSEC 或分子筛）（Rabinowitz 等，1998，Immunity 9：699）、亲和层析（例如使用谷胱甘肽琼脂糖颗粒）和亲和吸附（例如通过如前文所述的与抗 GST 抗体包被平板结合）进行分离。

[0218] (3) 使用精通本领域的人员所知的多种方法和探测器在肽配体上存在标记物的基础上检测 PDZ-配体复合物。例如，如果标记物是荧光素并且使用 HPSEC 实现分离的，可以使用嵌入式的荧光探测器。结合也可以用上述针对“G”检测的方式检测。

[0219] (4) PDZ-配体结合信号作为配体浓度的函数绘图，图形按照以下等式拟合（例如通过使用 Kaleidagraph 软件包的曲线拟合算法），其中“信号_[配体]”是 PL 肽浓度为“[配体]”时纯粹的结合信号，“K_d”是结合作用的表观亲和力，“饱和结合”是通过对实验数据最优化拟合的曲线拟合算法确定的常数：

[0220] 信号_[配体] = 饱和结合 × ([配体] / ([配体] + K_d))

[0221] 由于对相互作用亲和力（或表观亲和力）的知识有助于以已知能力相互作用的抑制剂的理性设计，测量标记的肽配体与 PDZ 结构域多肽结合的亲和力是有用的。抑制剂在抑制中的能力应该与标记肽配体与 PDZ 结构域结合的表观亲和力相似（即相差在一个数量级以内）。

[0222] 这样，本发明的一个方面通过将由 PDZ 结构域和非 PDZ 结构域组成的多肽固定在表面上，固定的多肽与多个不同浓度的配体接触，确定每个配体浓度下配体与固定化的多肽的结合量，并在此基础上计算这种结合的表观亲和力，提供了确定 PDZ 结构域和配体之间结合的表观亲和力的方法。通常，由 PDZ 结构域和非 PDZ 结构域组成的多肽是一种融合蛋白。在一个实施方案中，融合蛋白是例如 GST-PDZ 融合蛋白，但也可以使用其他融合蛋白，（例如包括 PDZ 结构域和多种抗原表位标签中任意一种、生物素化信号等的融合蛋白）只要所述多肽能以不妨碍 PDZ 结构域的配体结合性质的取向被固定化，例如通过经非 PDZ 结构域经抗该结构域抗体将所述多肽拴在表面上而保持 PDZ 结构域作为自由端。已经发现，例如，PDZ-GST 融合多肽直接与塑胶平板反应得到了不是最令人满意的结果。结合亲和力的计算本身可以使用任何合适的等式（例如，如前文所示，也可参见 Cantor 和 Schimmel (1980) 所著《生物物理化学》(BIOPHYSICAL

CHEMISTRY), WH Freeman & Co., San Francisco) 或软件得以确定。

[0223] 这样, 在一种优选的实施方案中, 多肽通过该多肽与固定化的结合非 PDZ 结构域的免疫球蛋白结合进行固定化(例如, 在使用 GST-PDZ 融合多肽的情况下, 抗 GST 抗体)。在一种优选的实施方案中, 配体与 PDZ 结构域多肽接触这一步骤在前文对“G”检测的描述中所提供条件下进行。需要认识到, 结合检测通常在多孔平板(例如, 24 孔、96 孔或 384 孔板)上进行。

[0224] 本方法相比其他测量 PDZ-PL 结合亲和力的方法(通常包括不同浓度的 GST-PDZ 融合蛋白与配体包被的表面接触)具有显著优点。例如, 一些以前描述的测定亲和力的方法(例如, 在溶液中使用固定化的配体和 GST-PDZ 蛋白)没有考虑所使用的融合蛋白的多聚化状态, 导致大于一个数量级的潜在误差。

[0225] 虽然不足以定量测量 PDZ-PL 结合亲和力, 在“G 检测”中所观察到的信号的绝对值的基础上可以估算不同 PDZ-PL 对的相对结合强度。这一估算能反映几个因素, 包括包含亲和力和解离速度在内的相互作用的生物学相关问题。至于不同配体与特定含 PDZ 结构域蛋白的结合的比较, 绝对结合信号的差异可能主要与感兴趣的相互作用的亲和力和/或解离速度有关。

[0226] IX. 检测方法特异性的测量

[0227] 如前文所述, 本发明提供了包括如前文所述“G”检测和亲和力检测的高通量方法在内的 PDZ-配体相互作用分析的强大方法。在本发明的一个实施方案中, 测定了一种特定配体与多种 PDZ 蛋白的亲和力。典型的“多种”是至少 5 种、经常是至少 25 种或至少 40 种不同的 PDZ 蛋白。在一种优选的实施方案中, 多种不同的 PDZ 蛋白来自特定的组织(例如中枢神经系统、脾、心肌、肾)或特定种类或类型的细胞(例如, 造血细胞、淋巴细胞、神经细胞)等。在最优选的实施方案中, 多种不同的 PDZ 蛋白代表了所有已知或可能在所述组织或细胞中表达的 PDZ 蛋白(例如, 已知存在于淋巴细胞内的所有 PDZ 蛋白)的实质性组份(例如, 通常是指大部分, 更经常是指至少 80%)。在一个实施方案中, 所述“多种”是指至少 50%、通常至少 80%、至少 90% 或这里所公开的造血细胞中表达的所有 PDZ 蛋白。

[0228] 在本发明的一个实施方案中, 测定了一种配体与多种 PDZ 蛋白的结合。使用这一方法, 能够鉴别以特殊特异性与该配体结合的特定 PDZ 结构域。结合可以称为“特异的”, 如果该配体与所述特定 PDZ 结构域的亲和力至少 2 倍于其与多种 PDZ 结构域(例如, 这一细胞类型中存在的)中其他 PDZ 结构域的结合。结合被认为是“非常特异的”, 如果其亲和力比多种 PDZ 结构域中任何其他 PDZ 结构域至少高 10 倍, 或另外, 比所述多种 PDZ 结构域中至少 90%、更经常的是 95% 的其他 PDZ 高至少 10 倍。类似的, 结合被认为是“极其特异的”, 如果其至少高 100 倍。例如, 配体可以 $1\mu\text{M}$ 的亲和力与两种不同的 PDZ 结合, 而不以低于 $100\mu\text{M}$ 的亲和力与 40 种 PDZ 中的其他 PDZ 结合。这可以认为与所述这两种 PDZ 特异结合。类似的, 对特异性的测量用于描述一种 PDZ 与多种 PL 的结合。

[0229] 需要认识到, 高特异性的 PDZ-PL 相互作用代表了对于实现所希望的生物学效果而言潜在更有价值的靶点。经常希望抑制剂或增强子具有以高特异性作用的能力。最特异的 PDZ-配体相互作用尤其也是用于该相互作用的特异性检测或瓦解一种相互作用的

诊断靶点。

[0230] 这样，在一个实施方案中，通过提供多种不同的固定化多肽，其中每一种所述多肽由一个 PDZ 结构域和一个非 PDZ 结构域构成；测定配体与每种所述多肽的亲合力并比较配体与每种所述多肽结合的亲合力，其中当配体以比结合不含所述特定 PDZ 结构域的固定化多肽高至少两倍的亲合力结合含所述特定 PDZ 结构域的固定化多肽时，配体与特定 PDZ 结构域之间的相互作用被认为具有高特异性，本发明提供了一种鉴别特定 PDZ 结构域与已知的或可能结合至少一种 PDZ 结构域的配体之间高特异性相互作用的方法。

[0231] 在相关方面，测定了具体 PDZ 结构域与多种配体（或可能的配体）结合的亲合力。例如，在一个实施方案中，通过提供由所述 PDZ 结构域和非 PDZ 结构域构成的固定化多肽；测定多种配体中的每一种对该多肽的亲合力并比较每种配体与多肽结合的亲合力，其中当配体以比其他待测配体高至少两倍的亲合力结合含所述特定 PDZ 结构域的固定化多肽时，特定配体与 PDZ 结构域之间的相互作用被认为具有高特异性，本发明提供了一种鉴别 PDZ 结构域与已知的或可能结合至少一种 PDZ 结构域的配体之间的高特异性相互作用的方法。这样，结合可以称为“特异的”，如果 PDZ 对特定 PL 的亲合力至少 2 倍于该 PDZ 与多种 PL（例如，存在于这一细胞类型中的）中其他 PL 结合的亲合力。结合被认为“非常特异的”，如果该亲合力比与多种 PL 中任何其他 PL 的至少高 10 倍，或另外，比确定的多种 PL 中至少 90%、更常见的是 95% 其他 PL 高至少 10 倍。相似的，结合被认为是“极其特异的”，如果至少高 100 倍。通常“多种 PL”是指至少 5 种不同的配体，更常见的是至少 10 种不同配体。

[0232] A. 使用阵列进行全面预测

[0233] 本发明发明人的一个发现是与 PDZ 蛋白和 PL 蛋白之间的相互作用所起到的重要作用相关的，尤其是在参与免疫应答的造血细胞和其他细胞的生物学功能中。进一步发现，通过大量 PDZ-PL 相互作用的分析（例如同时分析）可以探知有价值的信息。在优选的实施方案中，该分析包括了在特定组织（如脾脏）或种类或类别的细胞（例如，造血细胞、神经细胞、淋巴细胞、B 细胞、T 细胞等）中表达的所有 PDZ 蛋白。另外，该分析包括至少约 5 种、或至少约 10 种、或至少约 12 种、或至少约 15 种及经常是至少约 50 种不同的多肽，直到约 60 种、约 80 种、约 100 种、约 150 种、约 200 种、或甚至更多不同的多肽；或已知或可能在所述组织或细胞中表达的所有 PDZ 蛋白（例如，已知存在于淋巴细胞中的所有 PDZ 蛋白）的实质性组分（例如，通常是大部分，更常见的是至少 80%）。

[0234] 需要认识到，本发明中的阵列和方法是针对 PDZ 和 PL 相互作用的分析的，并包括选择这样的蛋白用于分析。虽然本发明中的技术和方法可以包括或涉及一小部分对照多肽，它们通常不包括显著数量的不含 PDZ 或 PL 结构域的蛋白或融合蛋白（例如，通常本发明的方法或技术中至少约 90% 固定化的或排列的多肽是 PDZ 或 PL 序列蛋白，更常见的是至少约 95% 或至少约 99%）。

[0235] 由本公开显而易见的是，优选的是对相对大量不同的相互作用进行同时分析。在这里的上下文中，“同时”是指在同一时间对几个不同的 PDZ-PL 相互作用（或待测物质对这样的相互作用的影响）的分析进行评估。通常所述分析以高通量的（例如自动机械）方式进行。这一同时分析的方法的一个优点是允许精确比较多种不同的 PDZ-PL

相互作用。例如，如在本说明书其他地方详细解释的，同时分析（并使用下文所述的阵列）便于例如直接比较一种物质（例如潜在的相互作用抑制剂）对组织或细胞中 PDZ 和 / 或 PL 的实质性部分之间相互作用的影响。

[0236] 相应的，本发明的一个方面提供了一种将含 PDZ 结构域和非 PDZ 结构域的多肽固定在表面上的阵列。通常，该阵列包括至少约 5 种、或至少约 10 种、或至少约 12 种、或至少约 15 种以及经常至少约 50 种不同的多肽。在一种优选的实施方案中，不同的 PDZ 蛋白来源于一种特定的组织（例如，中枢神经系统、脾脏、心肌、肾脏）或一种特定种类或类别的细胞（例如，造血细胞、淋巴细胞、神经细胞）等。在一种最优选的实施方案中，多种不同的 PDZ 蛋白代表了在所述组织或细胞中已知或可能表达的所有 PDZ 蛋白（例如，已知存在于淋巴细胞中的所有 PDZ 蛋白）的实质性组分（例如，通常是其大部分，更常见的是至少其 60%、70% 或 80%）。

[0237] 某些实施方案是包括多种（通常至少 5 种、10 种、25 种、50 种）存在于特定的感兴趣的细胞中的 PDZ 蛋白的阵列。在这一上下文中，“阵列”是指固定化的多肽的有序的序列，其中每种多肽的身份与其位置相连。在一些实施方案中，所述的多种多肽排列在“公共”区域，这样它们可以同时与溶液（例如，含配体或待测物质）接触。例如，多种多肽可以位于基片上、平板上或类似表面上，这些表面可以是塑胶、玻璃、金属、硅、颗粒或其他能固定化蛋白的表面。在一种不同的实施方案中，不同的固定化的多肽被置于分割的区域内（如 24 孔板、96 孔板、384 孔板等多孔平板的不同的孔内）。需要认识到，通过使用串联的多个阵列可以获得类似的优势。

[0238] B.PDZ-PL 抑制特征分析

[0239] 本发明的一个方面提供了一种在大量 PDZ-配体相互作用（例如，美国专利申请 09/724553 中描述的多种 PDZ-配体相互作用；如前文所述的大部分在特定细胞或组织（如宫颈组织）中鉴定的 PDZ-配体等）中测定一种待测化合物是否抑制任何 PDZ-配体相互作用的方法。在一个实施方案中，感兴趣的 PDZ 结构域以 GST-PDZ 融合蛋白的形式表达并如这里所述的方式固定化。对于每一种 PDZ 结构域，以已知亲和力与该结构域结合的标记配体以如这里所述的方式进行鉴定。

[0240] 对于任何已知的或可能的 PDZ-PL 相互作用的调控剂（例如抑制剂）来说，知道哪种相互作用被抑制（或增强）是有益的。这一信息可以用作针对存在病原体的诊断标志物（例如，致癌 HPV 病毒株）。被一种特定物质抑制 PDZ 相互作用的特征被称为该物质的“抑制特征”并在以下进行了详细描述。被一种特定物质强化 PDZ 相互作用的特征被称为该物质“强化特征”。对于精通本领域的人员来说，在对抑制特征的描述的指导下，如何确定一种物质的强化特征是显而易见的。本发明提供了在单一检测中确定一种物质的 PDZ 相互作用（抑制 / 强化）特征的方法。

[0241] 本发明的一个方面通过以下步骤，提供了测定一种化合物的 PDZ-PL 抑制特征的方法：提供 (i) 多种不同的固定化多肽，每种所述的多肽由 PDZ 结构域和非 PDZ 结构域构成以及 (ii) 多种相应的配体，其中每种配体结合至少一种 (i) 中的 PDZ 结构域，然后在存在和不存在待测化合物的情况下将每种 (i) 中所述的多肽与 (ii) 中所述的相应的配体接触，并测定对于每种多肽-配体对，待测化合物是否抑制所述的固定化多肽和相应配体之间的结合。

[0242] 通常所述的“多种”是指至少 5 种、通常是至少 25 种、或至少 40 种不同的 PDZ 蛋白。在一种优选的实施方案中，多种不同的配体和多种不同的 PDZ 蛋白来自相同的组织或特定种类或类型的细胞，例如，宫颈细胞、阴茎细胞、肛门细胞等。在一种最优选的实施方案中，多种不同的 PDZ 代表了已知或可能在所述组织或细胞中表达的所有 PDZ 的实质性部分（例如至少 80%），例如已知存在于淋巴细胞中的所有 PDZ（例如，这里所公开的在造血细胞中表达的至少 80%、至少 90% 或所有的 PDZ）。

[0243] 在一个实施方案中，抑制特征测定如下：多种（例如，所有已知的）在一种细胞（例如，宫颈细胞）中表达的 PDZ 结构域以 GST 融合蛋白的形式表达并如前文所述以不改变其配体结合性质的方式固定化。对于每种 PDZ 结构域而言，确定了以已知亲和力与该结构域结合的标记配体。如果在淋巴细胞中表达的 PDZ 结构域的集合用 $\{P_1...P_n\}$ 表示，任意给定的 PDZ 结构域 P_i 以亲和力 $K_{d,i}$ 与标记的配体 L_i 结合。为了测定待测物质“化合物 X”的抑制特征，可以在如下的行用 A-H 标记、列用 1-12 标记的 96 孔板上进行“G”检测（见前文）。列 1 用 P_1 包被并洗涤。在列 1 的每个经过清洗的包被孔中添加含（行 B、D、F、H）或不含（行 A、C、E、G）浓度约 1 到 1000 μM 之间的待测化合物 X 的浓度为 $0.5K_{d,1}$ 的相应的配体 L_1 。列 2 用 P_2 包被，添加含或不含抑制剂 X 的 L_2 （浓度 $0.5K_{d,2}$ ）。另外的 PDZ 结构域和配体用相似方式检验。

[0244] 化合物 X 被认为抑制 L_i 与 P_i 的结合，如果列 i 中含 X 的孔的平均信号低于该列中同等的不含 X 的孔的平均信号的一半。这样，在这一单一检测中测定了被化合物 X 抑制的淋巴细胞 PDZ 的全部集合。

[0245] 在一些实施方案中，待测化合物 X 是一种化合物的混合物，例如如前文所述的组合化学合成产物。在一些实施方案中，待测化合物是已知具有所希望的生物学作用的，所述检测用于确定其作用机制（即该生物学作用是否是由于对 PDZ-PL 相互作用的调节）。

[0246] 显而易见的是，一种仅调节一组中（例如，所有已知的淋巴细胞 PDZ 的组，至少 10 种、至少 20 种或至少 50 种 PDZ 结构域的组）一种或几种相互作用的物质比调节多种或大部分相互作用的物质具有更高的特异性。通常，调节一组中小于 20% 的 PDZ 结构域的物质被认为是“特异性”抑制剂，小于 6% 的是“非常特异性”抑制剂，调节单个 PDZ 结构域的是“最高特异性”抑制剂。

[0247] 也需要认识到，“化合物 X”可以是含化合物混合物的组合物（例如，通过组合化学方法生成的）而不是单一化合物。

[0248] 预计了这一检测方法的几种变形：

[0249] 在一些选择性实施方案中，上述检测方法使用变化浓度而不是固定浓度的待测化合物 X。这样可以如上述方式测定对于每种 PDZ 的 X 的 K_i 值。

[0250] 在一种选择性的实施方案中，代替用一种具体的标记配体 L_i 将每种 PDZ-PL 配对的做法，创建了不同标记配体的混合物，对于每种 PDZ 而言，该混合物中的至少一种配体与该 PDZ 充分结合以在“G”检测中检测这一结合。这一混合物随后用于每种 PDZ 结构域。

[0251] 在一个实施方案中，已知化合物 X 具有所希望的生物学作用，但其具有这一作用的化学机制是未知的。可以使用本发明的检测方法以确定化合物 X 是否通过结合 PDZ

结构域而具备了其作用。

[0252] 在一个实施方案中，对含 PDZ 结构域蛋白按其生物学功能进行分组，例如分成与转录调控相对的调控趋化作用的 PDZ 蛋白。一种特定功能的理想抑制剂（例如包括但不限于抗趋化剂、抗 T 细胞活化剂、细胞周期调控、膜泡运输、凋亡等）应该抑制参与该功能（例如趋化作用、激活）的多种 PDZ-配体相互作用但不影响其他相互作用。这样，在一个实施方案中该检测用于筛选和设计特异性阻碍一种特定功能的药物。例如，由于在给定浓度下，该物质抑制 2 种或更多参与化学趋化的 PDZ 但抑制 3 种以下其他 PDZ，或该物质抑制参与化学趋化的 PDZ 的 K_i 值比抑制其他 PDZ 的高 10 倍以上，可以对一种设计用来阻断趋化作用的物质进行鉴定。这样，本发明提供了一种鉴定抑制第一批选出的 PDZ-PL 相互作用或多种相互作用但不抑制第二批选出的 PDZ 相互作用或多种相互作用的物质的方法。所述两批（或更多）相互作用可以在 PDZ 蛋白的已知生物学功能、PDZ 蛋白的组织特异性或任何其他标准的基础上进行选择。而且，所述检测方法可以用于确定引起所希望效果而避免不希望效果的有效剂量（即药物浓度）。

[0253] C.PDZ-PL 相互作用的激动剂和拮抗剂

[0254] 如这里所描述的，细胞（如宫颈细胞）中 PDZ 蛋白和 PL 蛋白的相互作用可能被病原体的存在而瓦解或抑制。病原体可以通过使用这里所描述的筛选方法进行鉴定。PDZ-病原体 PL 相互作用或 PDZ-细胞 PL 相互作用的激动剂和拮抗剂在辨别或确认具体的相互作用中是有用的。在一些实施方案中，一种激动剂能提高一种 PDZ-病原体 PL 相互作用的灵敏度。在其他实施方案中，可以使用一种 PDZ-病原体 PL 相互作用的拮抗剂，以检验一种相互作用的特异性。在一个实施方案中，使用这里所公开的基序以设计抑制剂。在一些实施方案中，本发明的拮抗剂具有建立在表 3 中所列举的 PL 结构域蛋白 C 末端残基上的结构（例如肽序列）。在一些实施方案中，本发明的拮抗剂具有建立在这里所公开的或美国专利申请 09/724553 中所公开的 PL 基序上的结构（例如肽序列）。

[0255] 本发明的 PDZ/PL 拮抗剂和激动剂可以是大量化合物中任意的，可以是天然的或合成的、有机的或无机的，并包括聚合物（例如，寡聚肽、多肽、寡核苷酸和多核苷酸）、小分子、抗体、糖类、脂肪酸、核苷酸及核苷酸类似物、天然结构类似物（例如类肽、核酸类似物等）、以及大量其他化合物。虽然，为了表述方便，本发明的论述主要涉及 PDZ-PL 相互作用的拮抗剂，需要认识到，PDZ-PL 相互作用激动剂也可以在这里所公开的方法中使用。

[0256] 一个方面，本发明的肽和肽类似物或模拟物包含与感兴趣的细胞中的 PDZ 结构域结合的氨基酸序列。在一个实施方案中，拮抗剂包括含有对应于表 3 中所列举的或美国专利申请 09/724553 中的 PL 蛋白羧基端序列的序列的肽，例如，表 3 所列举的肽。通常，所述的肽包括至少 PL 蛋白 C 末端的 2 个、3 个或 4 个残基，并经常所述的抑制肽包括来自 PL 蛋白 C 末端的 4 个以上的残基（例如，至少 5、6、7、8、9、10、12 或 15 个残基）。

[0257] 在一些实施方案中，所述抑制剂是一种肽，具有例如 PL C 末端蛋白序列的序列。

[0258] 在一些实施方案中，拮抗剂是一种包含这样一段序列的融合蛋白。含跨膜转运氨基酸序列的融合蛋白尤其有用。

[0259] 在一些实施方案中，抑制剂是具有抑制活性的 PL C 末端蛋白序列的保守变体。在一些实施方案中，拮抗剂是 PL C 末端序列的拟肽。

[0260] 在一些实施方案中，抑制剂是小分子化合物（即分子量小于 1kD 的）。

[0261] D. 肽拮抗剂

[0262] 在一个实施方案中，拮抗剂由一条具有表 3 中列举的 PL 蛋白羧基末端序列的肽构成。所述肽包括 PL 蛋白的至少 2 个 C 末端残基，通常所述抑制肽包括来自 PL 蛋白 C 末端 2 个以上残基（例如，至少 3、4、5、6、7、8、9、10、12 或 15 个残基）。所述肽可以是多种长度中的任意一种（例如，至少 2 个、至少 3 个、至少 4 个、至少 5 个、至少 6 个、至少 8 个、至少 10 个或至少 20 个残基）并可以包含不是来自 PL 蛋白的附加残基。需要认识到，短的 PL 肽有时用于具有类似性质的其他小分子的理性设计。

[0263] 虽然抑制肽与 PL 蛋白共有的残基最常见的是位于肽的 C 末端，然而，在一些实施方案中，该序列位于内部。类似的，在有些情况下，抑制肽包括来自 PL 蛋白 C 末端附近而不是 C 末端的 PL 序列的残基（参见，Gee 等，1998，J Biological Chem.273：21980-87）。

[0264] 在提及所述短序列与 PDZ 结构域相互作用的能力时，PL 蛋白羧基端序列有时被称为“核心 PDZ 基序序列”。例如，在一个实施方案中，“核心 PDZ 基序序列”包括最后 4 个 C 末端氨基酸。如上所述，PDZ 基序序列的这 4 个氨基酸核心可以在其氨基端包括附加的氨基酸以进一步提高其结合亲和力和 / 或稳定性。因而，在一个实施方案中，所述 PDZ 基序序列肽可以由 4 到 15 个氨基酸组成。该序列优选的长度是 6-10 个氨基酸。所述 PDZ 基序序列更优选地包括 8 个氨基酸。所述核心序列氨基末端附加的氨基酸可以是得自每种造血细胞表面受体中的天然序列或是合成的连接序列。附加的氨基酸也可以被保守替代。当从 C 末端开始的第三个残基是 S、T 或 Y 时，这一残基可以在使用所述的肽之前被磷酸化。

[0265] 在一些实施方案中，肽和非肽抑制剂是小分子，例如，如果是肽的话长度小于 10 个氨基酸残基。据进一步的报道，有限数量的配体氨基酸直接与 PDZ 结构域接触（通常少于 8 个氨基酸）(Kozlov 等，2000，Biochemistry 39，2572；Doyle 等，1996，Cell 85：1067)，象 C 末端 3 个氨基酸这样短的肽通常保持了与更多氨基酸（> 15）的肽相似的结合性质 (Yanagisawa 等，1997，J.Biol.Chem.272：8539)。

[0266] E. 肽的变体

[0267] 在对 PDZ 结合肽和 PDZ-PL 相互作用抑制序列进行鉴别之后，可以制造这些序列的变体并可以检测所获得的肽变体的 PDZ 结构域结合或 PDZ-PL 抑制活性。在实施方案中，所述变体具有与起始肽相同或不同的结合 PDZ 结构域的活性。通常，这样的氨基酸替换是保守的，即所述氨基酸残基被具有与所取代的残基相似的物理和 / 或化学性质的其他氨基酸残基所取代。优选的保守氨基酸替代是其中一个氨基酸被属于指定的相同种类中的另一个氨基酸所取代。

[0268] F. 肽模拟物

[0269] 在对 PDZ 结合肽和 PDZ-PL 相互作用抑制序列进行鉴别之后，可以用常规方法制备肽模拟物，并且可以用本发明的检测方法证实所述模仿物的抑制活性。因而，在一些实施方案中，激动剂或拮抗剂是 PL C 末端序列的肽模拟物。精通本领域的技术

人员应当承认，合并成模拟物的单个的合成的残基和多肽可以用在科技和专利文献（例如，Gilman 等人编的《有机合成合集》（Organic Syntheses Collective Volumes），John Wiley&Sons, Inc., NY 中充分描述的多种工艺和方法进行合成。合并成模拟物的多肽也可以用如例如 Di Marchi 等人在美国专利 No.5,422,426 中所描述的固相合成工艺生成。本发明的模仿物也可以采用组合方法进行合成。多种生成肽库和类肽库的技术是熟知的，并包括，例如多针（multipin）法、茶叶袋（tea-bag）法和分开-结合-混合（split-couple-mix）技术；参见，例如，al-Obeidi(1998) Mol.Biotechnol.9 : 205-223 ; Hruby(1997) Curr.Opin.Chem.Biol.1 : 114-119 ; Ostergaard(1997) Mol.Divers.3 : 17-27 ; Ostresh(1996) Methods Enzymol.267 : 220-234。

[0270] G. 小分子化合物

[0271] 在一些实施方案中，激动剂或拮抗剂是小分子化合物（即具有小于 1kD 的分子量）。筛选小分子化合物的方法是本领域内熟知的并包括前文所述的那些方法。

[0272] X. 最优化 PL 探测分子的方法

[0273] 虽然前文所述主要关于鉴别 PDZ 结构域多肽与 PL 蛋白之间的相互作用，前文所述的检测方法和其他检测方法也可以用于鉴别其他分子（例如，肽模拟物、小分子化合物等）与 PDZ 结构域序列的结合。例如，使用这里公开的检测方法，可以针对例如与 PDZ 结构域特异结合的分子筛选组合文库和其他文库。文库筛选可以通过多种广泛所知的方法中的任一种方法得以实现。参见例如以下公开了的肽库筛选的参考文献：Parmley 和 Smith, 1989, Adv.Exp.Med.Biol.251 : 215-218 ; Scott 和 Smith, 1990, Science 249 : 386-390 ; Fowlkes 等, 1992, BioTechniques 13 : 422-427 ; Oldenburg 等, 1992, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89 : 5393-5397 ; Yu 等, 1994, Cell 76 : 933-945 ; Staudt 等, 1988, Science 241 : 577-580 ; Bock 等, 1992, Nature 355 : 564-566 ; Tuerk 等, 1992, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 89 : 6988-6992 ; Ellington 等, 1992, Nature 355 : 850-852 ; Ladner 等人的美国专利 No.5,096,815, 美国专利 No.5,223,409, 以及美国专利 No.5,198,346 ; Rebar 和 Pabo, 1993, Science 263 : 671-673 ; 以及 PCT 公开 No.WO94/18318。

[0274] 在一种具体的实施方案中可以通过将文库成员与固定在固体支持物（例如，如以上在“G”检测中所述的）上的 PDZ 结构域多肽接触并收获那些与该蛋白结合的文库成员进行筛选。这样的筛选方法（术语称为“平底锅”（panning）技术）的实例通过 Parmley 和 Smith, 1988, Gene 73 : 305-318 ; Fowlkes 等, 1992, BioTechniques 13 : 422-427 ; PCT 公开 No.WO 94/18318 ; 以及在上文所引用的参考文献中的例子进行描述。

[0275] 在另一个实施方案中，可以使用酵母中挑选相互作用蛋白的双杂交系统（Fields 和 Song, 1989, Nature 340 : 245-246 ; Chien 等, 1991, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 88 : 9578-9582）来鉴别与含 PDZ 结构域蛋白特异结合的分子。此外，对经鉴别的分子进一步检测其抑制跨膜受体与 PDZ 结构域相互作用的能力。

[0276] 在本发明的一个方面，鉴别了 PDZ 蛋白和 PL 蛋白之间相互作用的拮抗剂。在一个实施方案中，使用上文所述“A”检测的一种修正以鉴别拮抗剂。在一个实施方案中，使用上文所述“G”检测的一种修正以鉴别拮抗剂。

[0277] 在一个实施方案中，使用筛选方法来检测与 PDZ 结构域特异结合的分子。这样

的分子作为 PDZ 蛋白介导的细胞功能（例如，如 T 细胞活化的细胞活化、膜泡转运、细胞因子释放、生长因子、转录改变、细胞骨架重构、细胞运动、趋化等）的激动剂或拮抗剂是有用的。在一个实施方案中，为了药物开发运用这样的检测方法来筛选白细胞活化抑制剂。本发明从而提供了检测与含 PDZ 结构域蛋白特异结合的分子的检测方法。例如，可以使用表达编码 PDZ 结构域的核酸的重组细胞来生产这些检测方法中的 PDZ 结构域并筛选与所述结构域结合的分子。分子与所述 PDZ 结构域（或其片段）在经确定的条件下接触。可以用于实行前述内容的方法是本领域内所熟知的。

[0278] 普通技术人员需要意识到，在一个实施方案中，通过在存在和不存在已知的或候选拮抗剂的情况下实施 A 或 G 检测，对拮抗剂进行鉴别。当在一种化合物存在的情况下观察到结合减弱时，该化合物被确定为一种拮抗剂。在存在一种化合物的情况下结合的提高表示该化合物是一种激动剂。

[0279] 例如在一种检测中，通过在两者能够形成复合物的条件下（除了存在待测化合物的情况），在存在和不存在待测化合物的情况下 PDZ 结构域多肽与 PL 肽的接触，并检测在存在和不存在待测化合物情况下该复合物的形成，可以确定待测化合物是 PDZ 蛋白与 PL 蛋白之间结合的抑制剂（拮抗剂）。需要意识到，在存在该待测化合物时的复合物形成少于不存在该化合物时的复合物形成表示该待测化合物是 PDZ 蛋白-PL 蛋白结合的抑制剂。

[0280] 在一个实施方案中，在一种候选抑制剂存在或不存在的条件下使用“G”检测。在一个实施方案中，在一种候选抑制剂存在或不存在的条件下使用“A”检测。

[0281] 在一个实施方案中（其中使用了 G 检测），如前文所述将一种或多种含 PDZ 结构域的 GST 融合蛋白（和包括非融合的 GST 蛋白在内的适当的对照）结合到 96 孔板的孔的表面。所有融合蛋白结合在多个孔中，这样可以进行适当的对照和统计学分析。在孔中添加含待测化合物（通常以多个不同的浓度）的 BSA/PBS。随即在每个孔中添加 30 微升终浓度为例如约 $2\mu\text{M}$ 到约 $40\mu\text{M}$ 之间的（通常为 $5\mu\text{M}$ 、 $15\mu\text{M}$ 或 $25\mu\text{M}$ ）已知与相应 PDZ 结构域结合的（参见例如表 4）可检测标记（如生物素化的）肽。然后使该混合物与结合在表面上的 PDZ 融合蛋白在 4°C 下反应 10 分钟，所后在 25°C 再反应 20 分钟。从所述表面用冰冷的 PBS3 次洗脱未结合的肽并在待测化合物存在和不存在的情况下测定所述肽的结合量。通常，对于每组重复的孔（例如一式两份）通过从这些孔中肽结合的原始测量值中减去单独 GST 本底值对结合水平进行测量。

[0282] 在另一个实施方案中，在一种待测候选化合物存在和不存在的情况下进行 A 检测来鉴别 PDZ-PL 相互作用的抑制剂。

[0283] 在一个实施方案中，当一种待测化合物的浓度小于或等于 1mM （例如，小于或等于： $500\mu\text{M}$ 、 $100\mu\text{M}$ 、 $10\mu\text{M}$ 、 $1\mu\text{M}$ 、 100nM 或 1nM ），在存在该待测化合物的情况下 PDZ 结构域 (P) 与 PL 序列 (L) 的结合低于该待测化合物不存在的情况下两者结合的约 50%（在多种实施方案中，低于约 25%、低于约 10% 或低于约 1%）时，这一待测化合物被确定为所述 PDZ 结构域和 PL 序列结合的特异性抑制剂。优选的，在待测化合物存在的情况下 P 与 L 结合的纯粹信号加上存在待测化合物时信号的 6 倍标准误差小于不存在在该待测化合物时的结合信号。

[0284] 在一个实施方案中，通过使用单一的 PDZ 蛋白-PL 蛋白对（例如，一种 PDZ 结

构域融合蛋白和一种 PL 肽) 对抑制剂进行检测。在一种相关的实施方案中, 所述检测通过使用多种蛋白对(诸如表 4 中列举的多种不同蛋白对) 进行。

[0285] 在一些实施方案中, 希望确定在给定浓度下抑制一种 PL-PDZ 对的结合, 但不抑制(或以更弱程度抑制) 特定的第二种 PL-PDZ 对的结合的化合物。这些拮抗剂可以通过进行一系列使用候选抑制剂和不同 PL-PDZ 对的检测并比较所述检测结果进行鉴别。本发明考虑到了所有这样的配对组合(例如, 待测化合物以比抑制 PL1 与 PDZ2 的结合或 PL2 与 PDZ2 的结合更大程度抑制 PL1 与 PDZ1 的结合)。重要的是需要意识到, 在表 4 中所提供的以及这里所公开的数据(以及可以通过使用本说明书所描述的方法生成的其他数据) 基础上可以容易地设计具有不同特异性的抑制剂。

[0286] 例如, 按照本发明, 可以测定 PDZ-PL 相互作用的一种抑制剂的 K_i 值(“能力”)。 K_i 值是产生一种生物学效果所要求的抑制剂浓度的度量。例如, 足以导致细胞内抑制剂浓度达到至少约 1 倍到 100 倍 K_i 值之间的 PDZ-PL 相互作用的抑制剂量作用预计能够抑制由靶 PDZ-PL 相互作用介导的生物学反应。在本发明的一个方面, 以上述方法测定的 PDZ-PL 结合的 K_d 测量法用于测定 K_i 。

[0287] 这样, 在本发明的一个方面, 通过在表面上固定一种由 PDZ 结构域和非 PDZ 结构域组成的多肽, 将该固定的多肽与配体和抑制剂的多种不同混合物接触(其中所述不同混合物由固定量的配体和不同浓度抑制剂构成), 测定在不同的抑制剂浓度下结合的配体数量并在不同浓度抑制剂下结合的配体数量基础上计算结合的 K_i 值, 提供了一种测定 PDZ 结构域与配体之间相互作用的抑制剂或可能的抑制剂的能力(K_i 值) 的方法。在一个实施方案中, 所述多肽通过和与非 PDZ 结构域结合的固定化的免疫球蛋白结合进行固定化。这一基于上述“G”检测的方法尤其适于 PDZ-配体相互作用的抑制剂的 K_i 值的高通量分析。进一步, 使用这一方法测量了 PDZ-配体相互作用的抑制本身而没有被亲和和作用扭曲测量法。

[0288] 通常, 对至少一部分配体进行可检测地标记以便对配体结合的简便定量。

[0289] 需要认识到, 挑选配体浓度和抑制剂浓度以允许对抑制进行有目的的检测。这样, 其结合被阻断的配体浓度接近于或小于其结合亲和力(例如, 优选的是小于相互作用的 $5 \times K_d$ 值, 更优选的是小于 $2 \times K_d$ 值, 最优选的是小于 $1 \times K_d$)。因而, 配体通常以低于 $2 K_d$ 值(例如在约 $0.01 K_d$ 和 $2 K_d$ 之间) 的浓度存在, 待测抑制剂的浓度通常介于 $1 nM$ 到 $100 \mu M$ 之间(例如, 最高浓度为 $10 \mu M$ 或 $1 mM$ 的 4 倍稀释系列)。在一种优选的实施方案中, K_d 值通过用前文所公开的检测方法测定。

[0290] 在不同浓度抑制剂存在下结合的配体数量的基础上, 结合的 K_i 值可以通过本领域内日常使用的多种方法中的任何一种方法进行计算。在一种说明性的实施方案中, 例如, 将标记配体的结合相对于抑制剂浓度的图示按照以下等式进行拟合:

$$[0291] \quad S_{\text{抑制剂}} = S_0 * K_i / ([I] + K_i)$$

[0292] 其中, $S_{\text{抑制剂}}$ 是浓度为 $[I]$ 的抑制剂存在时与固定的 PDZ 结构域结合的标记配体的信号, 而 S_0 是不存在抑制剂时的信号(即 $[I] = 0$)。通常 $[I]$ 用摩尔浓度表示。

[0293] 在本发明的另一个方面, 通过在表面上固定由 PDZ 结构域和非 PDZ 结构域构成的多肽, 在存在待测物的情况下将固定化多肽与配体结合并测定结合的配体量, 以及比较存在所述待测物时结合的配体量和不存在该待测物时与多肽所结合的配体量, 对 PDZ

结构域和配体之间结合的增强子（有时称为激动剂或促进素）进行鉴别。与不存在待测物时相比，存在待测物时的结合至少高两倍（经常至少高 5 倍），这表明该待测物是增强 PDZ 结构域与配体结合的物质。如上文所指出的，增强 PDZ-配体相互作用的物质对于干扰（调控紊乱）要求正常 PDZ-配体功能的生物学事件（例如，癌细胞分裂和转移以及免疫细胞活化和迁移）来说是有用的。

[0294] 本发明也提供了测定 PDZ-配体相互作用增强子“能力”或“ $K_{\text{增强子}}$ ”的方法。例如，按照本发明，通过例如使用通过上文所述方法测定的 PDZ-PL 结合的 K_d 值，可以测定 PDZ-PL 相互作用增强子的 $K_{\text{增强子}}$ 值。 $K_{\text{增强子}}$ 值是预计具有生物学效果的增强子浓度的度量。例如预计使用足以导致细胞内增强子浓度达到至少约 0.1 到约 100 $K_{\text{增强子}}$ 值之间（例如介于 0.5 到 50 $K_{\text{增强子}}$ 值之间）量的 PDZ-PL 相互作用的增强子可以干扰由目标 PDZ-PL 相互作用介导的生物学反应。

[0295] 这样，本发明的一个方面，通过在表面上固定由 PDZ 结构域和非 PDZ 结构域构成的多肽，将固定的多肽与配体和增强子的多种不同的混合物接触（其中所述不同的混合物由至少其中一部分经可检测标记的固定量的配体和不同浓度的增强子构成），测定不同浓度增强子下结合的配体量并在不同浓度增强子浓度下结合的配体量的基础上从结合计算所述增强子的能力（ $K_{\text{增强子}}$ 值），提供了一种测定 PDZ 结构域和配体之间结合的增强子或可能的增强子的能力（ $K_{\text{增强子}}$ 值）。通常，所述配体的至少一部分是经可检测标记的以允许对配体结合进行简便定量。这一基于上述“G”检测的方法尤其适于对 PDZ-配体相互作用增强子的 $K_{\text{增强子}}$ 值进行高通量分析。

[0296] 需要认识到的是，配体浓度和增强子浓度是经挑选的以对增强的结合进行有目的的检测。因而，配体浓度通常介于约 0.01 K_d 到约 0.5 K_d 之间，待测物/增强子浓度通常介于 1nM 到 1mM 之间（例如，最高浓度为 10 μ M 或 1mM 的四倍稀释系列）。在优选的实施方案中， K_d 值通过使用前文公开的检测方法测定。

[0297] 结合能力可以通过多种基于不同浓度增强子或促进素下结合的配体量的常规方法测定。例如，可以按以下等式对标记配体结合相对于增强子浓度的图示进行拟合：

$$[0298] \quad S([E]) = S(0) + S(0) * (D_{\text{增强子}} - 1) * [E] / ([E] + K_{\text{增强子}})$$

[0299] 其中“ $K_{\text{增强子}}$ ”是增强化合物的能力，“ $D_{\text{增强子}}$ ”是添加饱和量的增强化合物时获得的标记配体结合的提高倍数， $[E]$ 是增强子的浓度。需要理解的是，饱和量是指进一步添加不会显著提高结合信号的增强子浓度。由于它描述了能在靶细胞中导致 PDZ-PL 相互作用的调控紊乱引起的生物学效果的所述增强化合物的浓度，对“ $K_{\text{增强子}}$ ”的认识是有益的。典型的治疗浓度介于约 0.1 到 100 $K_{\text{增强子}}$ 值之间。

[0300] 对于某些相互结合并已经获得其 K_d 值的 PDZ 蛋白和 PL 蛋白，进行了附加检测以确定某些药物化合物是否能拮抗或增强所述的相互作用。除了 50 微升 10 μ M 生物素化 PL 肽溶液而不是如检测法步骤 (2) 所述的 20 μ M 溶液与带有 PDZ 结构域多肽的表面反应以外，存在和不存在待测化合物时的检测均按如上述 G’ 检测进行。

[0301] 另一种提高 PDZ-PL 相互作用特异性或灵敏度的方法是通过诱变并选择高亲和力或高特异性的变体。可以应用诸如 UV、化学（例如 EMS）或生物诱变（例如分子改组（Molecular shuffling）或 DNA 聚合酶诱变）的方法创建编码 PDZ 结构域或 PL 结构域的 DNA 突变。然后可以由变体生产蛋白并用本说明书所述的多种方法（例如，“A”检

测、“G”检测或酵母双杂交)对其进行检测。通常来说,人们可以检测对于其他细胞 PL(如第 IX 部分所述)具有降低的亲合力,在突变的 PDZ 结构域和待测样本(如致癌的 E6 PL)之间高亲合力结合的突变体。这些方法是精通本领域的技术人员所知的,本说明书中的例子并不意味着限制。

[0302] XI. 重组探测分子合成

[0303] 如在“发明背景”部分所指出的,含 PDZ 结构域蛋白参与大量生物学功能,这包括但不限于:膜泡运输、肿瘤抑制、蛋白分选、膜极性的建立、凋亡、免疫应答的调节和神经突触形成的组织。通常而言,这一蛋白家族经常作为几个蛋白之间的桥梁或调节其他蛋白的功能,具有促进多蛋白复合物装配的共有功能。此外,也如前文所指出的,这些蛋白基本上在所有细胞类型中都有发现。因此,检测不适当的 PDZ-PL 相互作用或异常的相互作用可以用于诊断大量生物学和生理学状态。尤其是通过使用 PDZ 结构域可以对来自病原体 PL 蛋白的检测进行诊断。本发明中的大部分但不是全部实施方案要求向用于检测的 PDZ 或 PL 蛋白添加可检测的标记物。下面是给出的实例。

[0304] A. 化学合成

[0305] 本发明中的肽或其类似物可以实际上使用任何本领域已知的用于制备肽和肽类似物的技术进行制备。例如,使用常规的溶液或固相肽合成并从树脂上切下随后纯化的工艺(Creighton 著,1983,《蛋白结构与分子原则》(Protein Structures And Molecular Principles), W.H. Freeman and Co., N.Y.),可以制备线性的肽。这里所述的合成肽的适当的方法是本领域内熟知的。合成肽的成分可以通过氨基酸分析或测序证实(例如,通过 Edman 降解法和质谱)。

[0306] 此外,所述肽的类似物和衍生物可以化学合成。本发明中的肽的每个氨基酸之间的连接可以是酰胺、取代的酰胺或酰胺的电子等排物。非经典氨基酸或化学氨基酸类似物可以以取代或添加的形式被引入序列中。非经典氨基酸包括但不限于:普通氨基酸的 D-异构体、 α -氨基异丁酸、4-氨基异丁酸、Abu、2-氨基丁酸、 γ -Abu、 ϵ -Ahx、6-氨基己酸、Aib、2-氨基异丁酸、3-氨基丙酸、鸟氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、羟基脯氨酸、肌氨酸、瓜氨酸、磺丙氨酸、t-丁基甘氨酸、t-丁基丙氨酸、苯基甘氨酸、环己基丙氨酸、 β -丙氨酸、氟氨基酸、诸如 β -甲基氨基酸、C α -甲基氨基酸、N α -甲基氨基酸、以及通常意义上的氨基酸类似物的设计的氨基酸。而且,所述氨基酸可以是 D(右旋性的)型或 L(左旋性的)型的。

[0307] B. 重组合成

[0308] 如果肽完全或部分由基因编码的氨基酸构成,所述肽或其相应的部分也可以用常规重组基因工程技术合成。为实现重组生产,将编码线性肽的多核苷酸序列插入适当的表达传输工具,也就是包含所述插入编码序列所需的转录和翻译元件的载体,或是在 RNA 病毒载体中包含所需复制和翻译元件的载体。表达载体随后转染能表达所述肽的靶细胞。取决于所使用的表达系统,表达的肽随后通过本领域内所充分确立的工艺进行分离。生产重组蛋白和肽的方法是本领域内所熟知的(参见例如 Maniatis 等,1989,《分子克隆:实验室手册》(Molecular Cloning A Laboratory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory, N.Y.; 以及 Ausubel 等,1989,《现代分子生物学实验方案》(Current Protocols in Molecular Biology), Greene Publishing Associates and Wiley Interscience,

N.Y.)。

[0309] 可以使用多种宿主-表达载体系统来表达本说明书所述的肽。这些系统包括但不限于用含有适当编码序列的重组噬菌体 DNA 或质粒 DNA 表达载体转化的诸如细菌的微生物；用含有适当编码序列的重组酵母或真菌表达载体转化的酵母或丝状真菌；用含有适当编码序列的重组病毒表达载体（例如杆状病毒）感染的昆虫细胞系统；用含有适当编码序列的重组病毒表达载体（例如花椰菜嵌纹病毒 (cauliflower mosaic virus) 或烟草花叶病毒 (tobacco mosaic virus)）感染或用含有适当编码序列的重组质粒表达载体（例如 Ti 质粒）转化的植物细胞系统；或动物细胞系统。

[0310] 在一些实施方案中，可以提高 PL 探测蛋白拷贝数以提高检测的特异性或灵敏度。实施例 4 提供了一个这样的实例。TIP-TIP-IgG 载体产生具有重复拷贝的来自 TIP-1 的 PDZ 结构域的融合蛋白，该蛋白本身能在 IgG 恒定区骨架的基础上二聚化。因此，单一的蛋白包含 TIP-1PDZ 结构域的 2-4 个拷贝。以类似的方式可以形成 PL 探测蛋白的附加串联重复。在一些实施方案中，可以对来自不同蛋白的不同 PDZ 结构域进行改造使之以单一蛋白的形式表达（例如，可以对 TIP-1 和 MAGI-1 的 PDZ 结构域进行改造以检测致癌的 HPV E6 蛋白）。以相似的方式，可以使用一种不同的 Ig 骨架以提高构建物的亲和力。例如，所述 IgG 恒定区能与其自身二聚化，而 IgM 恒定区能形成由 10 个单体组成的复合物。

[0311] 表达系统的表达元件的强度和特异性各不相同。取决于所使用的宿主/载体系统，在表达载体中可以使用包括组成型和诱导型启动子在内的多种适当的转录和翻译元件中的任何一种。例如，当在细菌系统中进行克隆时，可以使用诸如 λ 噬菌体的 pL、plac、ptrp、ptac (ptrp-plac 杂合启动子) 等诱导型启动子；当在昆虫细胞系统中进行克隆时，可以使用诸如杆状病毒多面体启动子等启动子；当在植物细胞系统中进行克隆时，可以使用源自植物细胞基因组的启动子（例如，热休克启动子；核酮糖二磷酸缩化酶 (RUBISCO) 小亚基启动子；叶绿素 a/b 结合蛋白启动子）或来自植物病毒的启动子（例如，CaMV 的 35S RNA 启动子；TMV 衣壳蛋白启动子）；当在哺乳动物细胞系统中进行克隆时，可以使用源自哺乳动物细胞的启动子（例如，金属硫蛋白启动子）或来自哺乳动物病毒的启动子（例如，腺病毒晚期启动子；牛痘病毒 7.5K 启动子）；当产生包含多拷贝表达产物的细胞系时，可以使用含适当选择标记的 SV40-、BPV- 和 EBV- 基础上的载体。

[0312] 在使用植物表达载体的情况下，编码本发明的肽的序列的表达可以由多个启动子中的任何一个驱动。例如，可以使用诸如 CaMV 的 35S RNA 和 19S RNA 启动子病毒启动子 (Brisson 等, 1984, Nature 310 : 511-514)，或 TMV 的衣壳蛋白启动子 (Takamatsu 等, 1987, EMBO J.6 : 307-311)；此外，可以使用诸如 RUBISCO 的小亚基启动子 (Coruzzi 等, 1984, EMBO J.3 : 1671-1680 ; Broglie 等, 1984, Science 224 : 838-843) 或例如大豆 hsp17.5-E 或 hsp17.3-B 等热休克启动子 (Gurley 等, 1986, Mol.Cell.Biol.6 : 559-565) 的启动子。这些构建物可以通过 Ti 质粒、Ri 质粒、植物病毒载体、直接 DNA 转化、微注射、电穿孔等方式导入植物白细胞。关于这些技术的综述参见例如 Weissbach 和 Weissbach 1988 年所著《植物分子生物学方法》(Methods for PlantMolecular Biology) 第三部分, 421-463 页；以及 Grierson 和 Corey 1988 年所著《植物分子生物学》(Plant

Molecular Biology)，第 2 版，7-9 章。

[0313] 在一种可以用于产生本发明的肽的昆虫表达系统中，使用苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 (*Autographa californica nuclear polyhidrosis virus*, AcNPV) 作为表达外源基因的载体。该病毒在草地贪夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 中生长。可以将编码序列克隆到病毒的非必需区域 (例如多面体基因) 并置于 AcNPV 启动子的控制之下 (例如，多面体启动子)。编码序列的成功插入会导致多面体基因的失活并生成非闭合的重组病毒 (即缺乏由多面体基因编码的蛋白质衣壳的病毒)。这些重组病毒随后用于感染在其中表达所述插入基因的草地贪夜蛾 (*Spodoptera frugiperda*) 细胞 (例如，参见 Smith 等，1983, J.Virol.46 : 584 ; Smith 的美国专利 No.4,215,051)。这一表达系统的更多实例可以参见 Ausubel 等主编的《分子生物学现代实验方案》(*Current Protocols in Molecular Biology*) 一书第 2 卷，Greene Publish.Assoc.& Wiley Interscience。

[0314] 在哺乳动物宿主细胞中，可以使用多种基于病毒的表达系统。在使用腺病毒作为表达载体的情况下，编码序列可以与一种腺病毒转录 / 翻译调控复合物 (例如，晚期启动子和三重前导序列) 连接。这一嵌合基因随后可以通过体外或体内重组插入腺病毒基因组。在病毒基因组非必需区域 (例如 E1 或 E3 区域) 的插入能获得可存活并能在受感染的宿主中表达肽的重组病毒 (例如，参见 Logan 和 Shenk, 1984, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81 : 3655-3659)。此外，可以使用牛痘 7.5K 启动子 (参见，例如，Mackett 等，1982, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 79 : 7415-7419 ; Mackett 等，1984, J.Virol.49 : 857-864 ; Panicali 等，1982, Proc.Natl.Acad.Sci.USA 79 : 4927-4931)。

[0315] 产生本发明的线性肽的其他表达系统对于精通本领域的人员来说应是显而易见的。

[0316] C. 标签或标记物

[0317] 标签和标记物经常用于帮助纯化组分或检测生物分子。生物标签的例子包括但不限于谷胱甘肽-S-转移酶、麦芽糖结合蛋白、免疫球蛋白结构域、内含肽、红血球凝集素表位、myc 表位等。化学标签的例子包括但不限于生物素、金、顺磁性颗粒或荧光团。这些例子可以用于鉴别与其连接的蛋白或化合物的存在或可以被精通本领域的人员用于从复杂混合物中纯化蛋白质或化合物。

[0318] D. 肽和肽类似物的纯化

[0319] 本发明的肽和肽类似物可以通过本领域已知的诸如高效液相色谱、离子交换层析、凝胶电泳、亲和层析等技术进行纯化。实际用于纯化特定肽或类似物的条件应部分取决于诸如净电荷、疏水性、亲水性等因素，并且对于精通本领域的人员而言是显而易见的。纯化的肽可以通过基于其物理或功能性质的检测方法进行鉴别，这些检测方法包括放射性标记后进行凝胶电泳、放射免疫法、ELISA、生物检测等。

[0320] XII. 试剂盒

[0321] 本发明也包括用于实现本发明的方法的试剂盒。所述试剂盒通常包括第一种和第二种致癌的 HPV E6 结合伴侣。在大部分实施方案中，第一结合伴侣是 PDZ 结构域多肽，而第二结合伴侣是至少一种 E6 抗体。在一些实施方案中，第二结合伴侣用可检测的标记物进行标记。在其他实施方案中，包括了诸如可检测标记的二级抗体的二级标记成分。在一些实施方案中，所述试剂盒进一步包括了用于从样本中分离致癌的 HPV E6 的

手段（如装置或系统）。试剂盒可以选择性地包含蛋白酶体抑制剂。

[0322] 如果需要，一种所述试剂盒可以进一步包括一种或多种不同的常规成分，诸如例如含一种或多种缓冲液、检测试剂或抗体的容器。试剂盒也可以包括以插页或标签形式指示所使用的成分数量及其使用指南的印刷的说明书。在本发明公开中需要理解的是，指定的材料和条件在本发明的实施中是重要的，但并不排除未指定的材料和条件，只要它们不妨碍本发明利益的实现。以上对本发明诊断方法的示范性实施方案作了详细描述。

[0323] 在一种所述试剂盒中，致癌的 E6 检测反应可以使用水的或固体的基质，其中试剂盒可以包括适用于几种诸如检测条、夹心法等分离和检测平台的试剂。在试剂条的许多实施方案中，试剂条已结合了特异性结合致癌 E6 蛋白 PL 结构域的 PDZ 结构域多肽并在该固体支持物上捕获致癌 E6 蛋白。在一些实施方案中，试剂盒进一步包括一种或多种检测抗体，这些抗体是直接或间接可检测的并与致癌 E6 蛋白结合以允许其检测。试剂盒还可以包括：用于进行免疫印迹的成分（例如，预制凝胶、膜、转移系统等）；用于进行 ELISA 检测的成分（例如 96 孔板）；用于进行免疫共沉淀的成分（例如蛋白质 A）；用于从样本中对致癌 E6 蛋白进行亲和分离或分子大小排阻分离的层析柱，特别是离心柱（例如凝胶过滤柱、PDZ 结构域多肽柱、分子排阻柱、膜截流离心柱等）。

[0324] 所述试剂盒也可以包括含致癌的或不致癌的 E6 的对照样本，和 / 或致癌 E6 的稀释系列，其中所述稀释系列代表了适当的标准品的范围，试剂盒的使用者可以将其结果与标准品比较并估计其样本中致癌 E6 的水平。这样的稀释系列可以提供对患者体内任何癌症进展的评估。荧光、颜色或放射性白显影底片的结果也可以与试剂盒提供的荧光、颜色或底片密度标准曲线进行比较。

[0325] 除了上面提到的成分，所述试剂盒通常进一步包括使用试剂盒的所述成分以实践所述方法的说明书。实践所述方法的说明书通常记录在适当的记录用媒介上。例如，说明书可以印刷在基质（如纸或塑胶等）上。同样地，说明书可以以套装插件、试剂盒的容器或其成分的标签的形式（即与包装或分包装相连）存在于试剂盒中。在其他实施方案中，说明书以存放在适当的计算机可读的存储介质（例如 CD-ROM、磁盘等）上的电子存储数据文件的形式存在。在还有其他实施方案中，试剂盒中并没有真正的说明书，但提供了例如通过互联网从远距离来源获得说明书的方法。这种实施方案的实例是包含了一个网址，通过该网址能观看说明书并 / 或下载说明书。与说明书一样，这一获得说明书的方法被记录在适当的基质上。

[0326] 本发明也提供了包括包含了以上所述规划和说明书的至少一种计算机可读媒介的工具包。说明书可以包括安装指导。说明书可以包括如上所述有选择地或多种选择组合地使用本发明的指导。在某些实施方案中，说明书包括了全部两类信息。

[0327] 以工具包的形式提供软件和说明书可以适合多种用途。作为一种生产在非兔宿主中比亲代抗体具有更低免疫原性的兔抗体或其核苷酸序列的方式，可以包装并购买所述组合。

[0328] 说明书通常记录在适当的记录用媒介上。例如，说明书可以印刷在如纸或塑胶等的基质上。同样地，说明书可以以套装插件、试剂盒的容器或其成分的标签的形式（即与包装或分包装相连）存在于试剂盒中。在其他实施方案中，说明书以存放在适当的

计算机可读的存储介质（例如 CD-ROM、磁盘等，包括其中存放了所述程序的相同媒介）上的电子存储数据文件的形式存在。

[0329] 测定受检者是否被致癌 HPV 病毒株感染的方法

[0330] 本发明提供了检测样本中致癌的 HPV E6 蛋白的方法并可应用于诊断受检者的 HPV 感染。在多种实施方案中，从受检者获得生物样本并测定样本中致癌的 HPV E6 蛋白的存在。样本中可检测量的致癌 HPV E6 蛋白的存在表示该个体被致癌 HPV 病毒株感染。在其他实施方案中，测定了生物样本中致癌的 HPV E6 蛋白的水平，并与样本中对照的量进行比较。样本中致癌的 HPV E6 蛋白的相对量表示 HPV 感染的严重程度。

[0331] 如上所述，所述方法通常包括两种致癌的 HPV E6 蛋白的结合伴侣，其中之一是 PDZ 结构域多肽。一般说来，所述方法包括 a) 使用所述结合伴侣从样本中分离致癌的 HPV E6 蛋白，和 b) 用另一种结合伴侣检测致癌的 HPV E6 蛋白。

[0332] 分离致癌 HPV E6 蛋白

[0333] 一般而言，本发明的方法包括至少部分地将天然致癌 HPV E6 蛋白与样本中的其他蛋白质分开（即分离）。这一分离通常通过使用致癌 HPV E6 的第一结合伴侣得以实现。在多种实施方案中，第一结合伴侣是 PDZ 结构域多肽，或在其他实施方案中，是抗 HPV E6 抗体或抗体混合物。

[0334] 在某些实施方案中，一种致癌 HPV E6 结合伴侣直接或通过连接物与不溶的支持物结合。例如，PDZ 结构域多肽可能包含与如这里所述的融合伴侣融合的 PDZ 结构域，该融合伴侣通过化学键直接地或通过连接物（例如柔性连接物、抗体或其他结合部分）间接地与固体支持物结合。在大部分实施方案中，所述 PDZ 结构域多肽与固体支持物共价结合。固体支持物是本领域内已知的，包括但不限于颗粒（例如磁珠、聚苯乙烯小珠等）、膜等。在一个非限制性实例中，PDZ 结构域多肽与磁珠结合。与磁珠结合的 PDZ 结构域多肽与样本接触，在所述抗体和任何 E6 蛋白之间形成复合物之后施加磁场，这样将该复合物从样本中分离。在所述 PDZ 结构域多肽与如膜等不溶的支持物结合的情况下，与 PDZ 结构域多肽结合的 E6 蛋白通过移除膜或通过将样本转移到单独的容器中从样本中分离。在所述 PDZ 结构域多肽与颗粒结合的情况下，与颗粒结合的 E6 蛋白通过离心或过滤从样本中分离。预见了使用一种不同 E6 结合伴侣（例如抗 E6 抗体）的这样的实施方案。

[0335] 一般而言，使用了与进行分离的适当平台相一致的适当的分离手段。例如，在通过与 PDZ 结构域多肽结合的方式分离致癌的 HPV E6 的情况下，分离通过包括但不限于亲和色谱、毛细管作用或层析试剂条、免疫共沉淀等的多种平台中的任何一种进行。

[0336] 在多种实施方案中，通过将样本置于检测试剂条的一端并通过毛细管作用或层析使蛋白质迁移，将致癌的 HPV E6 同样本中其他蛋白质分离。层析分离、检测和定量的方法和装置是本领域内已知的。参见，例如，美国专利 Nos.5,569,608；6,297,020 和 6,403,383。在这些实施方案中，检测试剂条由近及远由上样区和含致癌 E6 蛋白结合伴侣的检测区（例如含 PDZ 结构域多肽的区域或在其他实施方案中含抗 E6 抗体的区域）构成。样本加样于上样区，并将试剂条的近端置于缓冲液中。致癌 E6 蛋白被第一个检测区中结合的抗体所捕获。捕获的致癌 E6 蛋白如以下所述进行检测。例如，通过使用针对所有致癌 E6 蛋白共有的 E6 蛋白表位的特异的可检测标记的抗体或能够共同与所有致癌

E6 蛋白结合的抗体混合物对捕获的 E6 蛋白进行检测。在此外的实施方案中，检测区中可以存在 E6 抗体，对与所述 E6 抗体结合的致癌 E6 的检测使用标记的 PDZ 结构域多肽。

[0337] 检测并定量致癌 E6 蛋白

[0338] 一旦致癌 E6 蛋白与样本中的其他蛋白质分离，对致癌 E6 蛋白进行检测并 / 或测定（例如测量）致癌 E6 蛋白的水平或量。如上所述，致癌 E6 蛋白通常使用结合伴侣（例如 E6 特异性的一种或多种抗体，或 PDZ 结构域多肽）进行检测。

[0339] 通过使用熟知的方法用特异性抗体进行检测。一般而言，所述结合伴侣是经直接或间接可检测标记过的。直接标记包括放射性同位素（例如 ^{125}I ； ^{35}S 等）；其产物是可检测的酶（例如荧光素酶、 β -半乳糖苷酶、辣根过氧化物酶等）；荧光标记（例如异硫氰酸荧光素、罗丹明、藻红蛋白等）；通过象 EDTA 的金属螯合基团与抗体连接的荧光发射金属（如 ^{152}Eu 或其他稀土元素）；化学发光化合物（例如鲁米诺、异鲁米诺、吖啶酯盐等）；生物发光化合物（例如荧光素、荧光蛋白等）。荧光蛋白包括但不限于绿荧光蛋白 (GFP) 以及如例如 Matz 等人在 (1999) *Nature Biotechnol.* 17: 969-973 中所述的多种来自珊瑚纲种属 (Anthozoan species) 的荧光和有色蛋白质中的任何一种等。其中绿荧光蛋白包括但不限于：“人源化”形式的绿荧光蛋白（例如对其中天然核苷酸序列密码子进行变更使之更符合人密码子偏爱）；源自维多利亚水母 (*Aequoria victoria*) 的 GFP 或其衍生物（例如购自 Clontech, Inc. 的增强型 GFP 的 GFP “人源化”衍生物）；象例如 WO 99/49019 和 Peelle 等人在 (2001) *J Protein Chem.* 20: 507-519 中所述的来自其他物种（如 *Renilla reniformis*、*Renilla mulleri* 或 *Ptilosarcus guernei*）的 GFP；“人源化”重组 GFP (hrGFP) (Stratagene)。

[0340] 间接标记包括 E6 特异性抗体的特异性二级抗体，其中所述二级抗体如上所述进行标记；和特定的结合对（例如生物素-亲和素等）。

[0341] 在一些实施方案中，对致癌 E6 的水平进行了定量。定量可以通过使用任何已知的方法进行，这些方法包括但不限于：酶联免疫吸附 (ELISA)、放射免疫检测 (RIA) 等。一般而言，定量通过将样本中检测到的表达水平与标准曲线比较得以实现。

[0342] 在一些实施方案中，致癌的 HPV E6 蛋白如上所述在检测试剂条上分离。在这些实施方案中，通过使用结合致癌 HPV E6 的经可检测标记的结合伴侣进行检测。可以使用例如反射分光光度计或肉眼对致癌的 HPV E6 进行定量。

[0343] 生物样本

[0344] 使用本发明的方法进行分析的生物样本取自任何哺乳动物（例如，取自人或非人的 HPV 动物模型）。在多种实施方案中，生物样本取自活体。

[0345] 在一些实施方案中，从中获得样本的受检者表面上是健康的，在这种情况下所述分析作为常规筛查的一部分进行。在其他实施方案中，受检者是 HPV 易感的（例如，通过家族史或暴露于某些环境因素等确定的）。在其他实施方案中，受检者具有 HPV 症状（例如宫颈癌等）。在其他实施方案中，受检者已被临时诊断为具有 HPV 感染（例如由基于如 PCR 的其他检测所确定的）。

[0346] 生物样本可以来自受检者的任何组织、器官或细胞群。在一些实施方案中，从受检者获得宫颈刮取物、活组织切片或灌洗物。

[0347] 在一些实施方案中，使用本领域内常规的方法对生物样本进行了处理，以去除

例如某些干扰本发明的检测方法的成分。 在一些实施方案中，例如通过盐沉淀等方法对生物样本进行处理以富集蛋白质。 在某些实施方案中，在存在蛋白酶体抑制剂的情况下处理生物样本，以抑制 E6 蛋白的降解。

[0348] 在本发明的检测方法中，在一些实施方案中，样本中 E6 的水平可以进行定量并/或与对照比较。 适当的对照样本取自已知健康的个体（例如已知未受 HPV 感染）。 对照样本可以来自与受检者遗传相关的个体，但也可以来自遗传不相关的个体。 适当的对照样本也包括比获取待测样本时间点更早的时间点从该个体获取的样本，例如在表现出可能的 HPV 症状之前取自该个体的生物样本。

[0349] 应用

[0350] 本发明的方法可用于多种诊断分析。 所述方法可用于诊断个体中 HPV 致癌病毒株的感染；用于确定产生癌症的可能性；用于确定患者对 HPV 治疗的反应；用于确定个体中 HPV 感染的严重程度；以及用于监测个体中 HPV 的发展进程。

[0351] 所述方法通常可以用于来自活体的生物样本。 本发明的一个显著有利的特征是所述方法可以在一个反应中同时检测所有已知的 HPV 致癌病毒株。

[0352] 实施例 1

[0353] HPV E6 蛋白的序列分析以确定致癌潜能

[0354] 已知 PDZ 蛋白与某些蛋白质的羧基末端序列 (PL) 结合。 与 PDZ 结构域结合的 PL 序列是可预测的，并在美国专利申请 09/710059、09/724553 和 09/688017 中对其作了详细描述。 一组以 -X-(S/T)-X-(V/I/L) 序列结尾的蛋白是 PL 基序的重要类别之一。 我们已经检查了来自多个 HPV 病毒株的 E6 蛋白的 C 末端序列。 由国家癌症研究所确定的所有致癌病毒株具有共同的 PDZ 结合序列。 来自乳头状瘤病毒株的那些非致癌 E6 蛋白没有被预测为能与 PDZ 结构域结合的序列，因而意味着与 PDZ 蛋白的相互作用是其在人体内引起癌症的先决条件。 在检查的序列中（表 3A），PL 的存在与引发癌症之间具有 100% 的相关性。 理论上，用来自前文列举的专利中公开的 PL 共同序列，可以评估 HPV 新变种结合 PDZ 蛋白的能力并可以在是否存在 PL 的基础上预测其致癌性。 今年早些时候，对 5 株新的人乳头状瘤病毒致癌病毒株进行了鉴别并测定了其 E6 蛋白序列。 正如所预计的，这些蛋白都包含 PL 共同序列（表 3B）。

[0355] 表 3A：E6PDZ- 配体和致癌性的相关性

[0356]

HPV 病毒株	E6 C 末端序列	是否 PL	致癌性	序列编号
HPV 4	GYCRNCIRKQ	否	否	221
HPV11	WTTCMEDLLP	否	否	222
HPV 20	GICRLCKHFQ	否	否	223
HPV 24	KGLCRQCKQI	否	否	224
HPV28	WLRCTVRIPQ	否	否	225
HPV 36	RQCKHIFYNDW	否	否	226
HPV 48	CRNCISHEGR	否	否	227
HPV 50	CCRNCYEHEG	否	否	228
HPV 16	SSRTRRETQL	是	是	229
HPV 18	RLQRRRETQV	是	是	230
HPV 31	WRRPRTETQV	是	是	231
HPV 35	WKPTRRETEV	是	是	232
HPV 30	RRTLRRRETQV	是	是	233
HPV 39	RRLTRRETQV	是	是	234
HPV 45	RLRRRRETQV	是	是	235
HPV 51	RLQRRNETQV	是	是	236
HPV 52	RLQRRRVTQV	是	是	237
HPV 56	TSREPRESTV	是	是	238
HPV 59	QRQARSETLV	是	是	239
HPV 58	RLQRRRQTQV	是	是	240
HPV 33	RLQRRRETAL	是	是	241
HPV 66	TSRQATESTV	是	是*	242
HPV 68	RRRTRQETQV	是	是	243
HPV 69	RRREATETQV	是	是	244

[0357] 表 3A：E6C 末端序列和致癌性。左边列举了 HPV 变体。序列从 GenBank 序列记录中确定。“是否 PL”通过是否与 Songyang 等人在 Arbor Vita 确定的 -X-(S/T)-X-(V/I/L) 共有序列相符合进行定义。致癌性数据收集自国家癌症研究所。* 只在与其他致癌蛋白共转染的致癌病毒株中发现。

[0358] 表 3B：近期鉴定的致癌 E6 蛋白的相关性

[0359]

HPV 病毒株	E6 C 末端序列	是否 PL	致癌性	序列编号
HPV 26	RPRRQTETQV	是	是	245
HPV 53	RHTTATESAV	是	是	246
HPV 66	TSRQATESTV	是	是	247
HPV 73	RCWRPSATW	是	是	248
HPV 82	PPRQRSETQV	是	是	249

[0360] 表 3B：E6C 末端序列和致癌性。左边列举了 HPV 变体。序列从 GenBank 序列记录中确定。“是否 PL”通过是否与 Songyang 等人在 ArborVita 确定的 -X-(S/T)-X-(V/I/L) 共有序列相符合进行定义。新病毒株的致癌性数据收集自 N Engl J Med 2003，348：518-527。

[0361] 这些表格提供了基于 HPV 基因组编码的 E6 蛋白 C 末端 4 个氨基酸序列的 HPV 病毒株的分类。所述 21 个 HPV 致癌病毒株属于 10 类病毒株之一，没有在以上特意列举的 HPV 病毒株可能也属于这些类别。由此，值得对来自所有 10 类的 HPV 病毒株进行检测：所述的方法提供了这样的检测。

[0362] 实施例 2

[0363] 与致癌 E6 蛋白 C 末端相互作用的 PDZ 结构域的鉴别

[0364] 为了确定能在诊断检测中用于检测致癌 E6 蛋白的 PDZ 结构域，使用了 ‘G 检测’（前文所述）来鉴别 E6PL 和 PDZ 结构域之间的相互作用。按照来自人乳头状瘤病毒致癌病毒株的 E6 蛋白 C 末端氨基酸序列合成肽。使用上文所述的 G 检测和由美国专利申请 09/710059、09/724553 和 09/688017 中详述的表达构建物合成的 PDZ 结构域对这些肽结合 PDZ 结构域的能力进行了评定。下面的表 4 中列举了表现出高结合亲和力的这些检测的结果。

[0365] 正如我们在下面会看到的，存在大量结合一些致癌 E6 蛋白的 PDZ 结构域。然而，看来只有 MAGI-1 的第二个 PDZ 结构域与所有检测的致癌 E6PL 结合。TIP-1 的 PDZ 结构域结合除了一个以外的所有检测的致癌 E6PL，并可以与 MAGI-1 结构域 2 组合用于检测致癌 E6 蛋白的存在。

[0366] 以相似的方式，用 G 检测对对应于几个非致癌 E6 蛋白 C 末端的肽进行了测试。这些肽都没有表现出任何结合 PDZ 结构域的亲和力。

[0367] 表 4：HPV E6PL 与 PDZ 结构域之间较高亲和力的相互作用

[0368]

HPV 病毒株	PDZ 结合伴侣 (0-5 中的信号 4 和 5)	HPV 病毒株	PDZ 结合伴侣 (0-5 中的信号 4 和 5)
---------	------------------------------	---------	------------------------------

HPV 35 (TEV)	萎缩蛋白 -1 相互作用蛋白 (PDZ#1, 3, 5) Magi1 (PDZ#2, 3, 4, 5) Lim-Ril FLJ 11215 MUPP-1 (PDZ#10) KIAA 1095 (PDZ#1) PTN-4 INADL (PDZ#8) Vartul (PDZ#1, 2, 3) 肌养结合蛋白 -1 α 肌养结合蛋白 γ -1 TAX IP2 KIAA 0807 KIAA 1634 (PDZ#1) DLG1 (PDZ1, 2) NeDLG (1, 2, 3,) Sim. 大鼠外膜 (PDZ#1) MUPP-1 (PDZ#13) PSD 95 (1, 2, 3)	HPV 33 (TAL)	Magi1 (PDZ#2) TIP1 DLG1 Vartul (PDZ#1) KIAA 0807 KIAA 1095 (Semcap3) (PDZ#1) KIAA 1934 (PDZ#1) NeDLG (PDZ#1, 2) 大鼠外膜 (PDZ#1) PSD95 (PDZ#3 和 1-3)
HPV 58 (TQV)	萎缩蛋白 -1 相互作用蛋白 (PDZ#1) Magi1 (PDZ#2) DLG1 (PDZ1, 2) DLG2 (PDZ#2) KIAA 0807 KIAA 1634 (PDZ#1) NeDLG (1, 2) Sim. 大鼠外膜 (PDZ#1) PSD 95 (1, 2, 3) INADL (PDZ#8) TIP-1	HPV 66 (STV)	DLG1 (PDZ#1, 2) NeDLG (PDZ#2) PSD 95 (PDZ#1, 2, 3) Magi1 (PDZ#2) KIAA 0807 KIAA 1634 (PDZ#1) DLG2 (PDZ#2) 大鼠外膜 (PDZ#1) NeDLG (1, 2) TIP-1
HPV 16* (TQL)	TIP-1 Magi1 (PDZ#2)	HPV 52 (TQV)	Magi1 (PDZ#2)
HPV 18* (TQV)	TIP-1 Magi1 (PDZ#2)		

[0369] 表 4：几种 HPV 变体 E6C 末端与人 PDZ 结构域之间的相互作用。HPV 病毒株表示从中获得 E6C 末端肽序列信息的病毒株。检测中使用的肽的长度介于 18 到 20 个氨基酸之间，末端 3 个残基表示在圆括号中。每种 HPV E6 变体右侧的名称表示 G 检测中

与 E6 肽饱和结合的人 PDZ 结构域（具有多个 PDZ 结构域的蛋白在圆括号中表明结构域数目）。* 表示由于材料限制，hDlg1 的 PDZ 结构域没有对这些蛋白进行测试，虽然文献中两者都被证明与 hDlg1 结合。

[0370] 实施例 3

[0371] 携带编码 HPV E6 基因或 HPV E6 基因一部分的 DNA 片段的真核表达载体的产生

[0372] 本实施例描述了如何将 HPV E6 基因或 HPV E6 基因的一部分克隆到与多种蛋白标签融合的真核表达载体上，蛋白标签包括但不限于谷胱甘肽-S-转移酶 (GST)、增强型绿荧光蛋白 (EGFP) 或红血球凝集素 (HA)。

[0373] A. 策略

[0374] 使用随机（寡核苷酸）引物 (Invitrogen, 目录号 48190011)，cDNA 片段通过对 HPV 细胞系（宫颈表皮样瘤，对于 HPV E616 和 18，ATCC# 分别是 CRL-1550 和 CRL-1595）来源的 RNA 进行 RT-PCR 产生。使用以上纯化的 cDNA 片段和特异性引物（见表 5），对应于 HPV E6 的 DNA 片段通过常规 PCR 产生。所用的引物被设计成能在 PCR 产物的末端创建限制性核酸酶识别位点，使这些片段能被克隆到适当的表达载体中。完成 PCR 以后，对 DNA 样品进行琼脂糖凝胶电泳。切下对应于预期大小的条带。使用 Sephaglas Band Prep Kit (Amersham Pharmacia 目录号 27-9285-01) 提取 DNA 并用适当的限制性核酸内切酶消化。消化的 DNA 样品通过凝胶电泳再次纯化（依照前面所使用的相同的实验方案）。沉淀纯化的 DNA 片段并与适当的线性化载体连接。转化大肠杆菌 (E.coli) 以后，通过菌落 PCR 和限制性消化针对插入片段的存在及其正确取向对菌落进行筛选。阳性克隆接种在液体培养物中以进行大规模 DNA 纯化。对纯化的质粒 DNA 上的插入片段和侧翼载体位点进行测序以确保片段及载体与融合蛋白之间连接处序列的正确性。

[0375] B. 载体：

[0376] 克隆载体是 pGEX-3X (Amersham Pharmacia 目录号 27-4803-01)、MIE (含 IRES 和 EGFP 的 MSCV 衍生物，通过重组 DNA 技术产生)、pmKit、pcDNA3.1 (Invitrogen, 改进以在克隆位点上游包含 HA 标签) 和 pMAL (New England Biolabs 目录号 N8076S, 多克隆位点内经改造包含 BamH1 和 EcoR1 位点)。

[0377] 将含有 HPV E6 的 ATG 起始密码子和 TAG 终止密码子的 DNA 片段克隆到 pGEX3x。使用纯化的 HPV E6-pGEX3x 融合质粒作为 PCR 模板并使用上述相同的纯化方案，将 HPV E6 基因以及 3' 端缺失的变体 (Δ PL) 相继克隆到 MIE (MSCV-IRES-EGFP)、pcDNA-HA 载体和 pmKit 载体。HPV E6 的缺失变体具有插入在 -3 位置的氨基酸之后的终止密码子，这样就从基因编码区中删除了最后三个氨基酸。

[0378] C. 构建物：

[0379] 表 5 中列出了用于通过 PCR 产生 DNA 片段的引物。下面列出了 PCR 引物组合和插入的限制性位点及载体。

[0380] 表 5. 将 HPV E6 克隆到典型的表达载体所使用的引物。

[0381]

ID# (引物名称)	引物序列	描述	序列 编号
2548 (1054EF)	AAAAGATCTACAAT ACTATGGCGC	对应于 HPV E618 的正向 (5' 到 3') 引物, 生成 Bgl II 位点。用于克隆到 pGEX3x 上	250
2549 (1058ER)	AGGGAATTCCAGAC TTAATATTATAC	对应于 HPV E618 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 EcoRI 位点。用于克隆到 pGEX3x 上	251
2542 (1050EF)	AAAGGATCCATTTT ATGCACCAAAAG	对应于 HPV E616 的正向 (5' 到 3') 引物, 生成 BamHI 位点。用于克隆到 pGEX3x 上	252
2543 (1051ER)	ATGGAATTCTATCTC CATGCATGATTAC	对应于 HPV E616 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 EcoRI 位点。用于克隆到 pGEX3x 上	253
2563 (1071EF)	GAGGAATTCACCAC AATACTATGGCG	对应于 HPV E618 的正向 (5' 到 3') 引物, 生成 EcoRI 位点。用于克隆到 MIE 上	254
2564 (1072ER)	AGGAGATCTCATAC TTAATATTATAC	对应于 HPV E618 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 BglII 位点。用于克隆到 MIE 上	255
2565 (1073ERPL)	TTGAGATCTTCAGC GTCGTTGGAGTCG	对应于 HPV E618 Δ PL 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 BglII 位点。用于克隆到 MIE 上	256
2560 (1074EF)	AAAGAATTCATTTT ATGCACCAAAAG	对应于 HPV E616 的正向 (5' 到 3') 引物, 生成 EcoRI 位点。用于克隆到 MIE 上	257
2561 (1075ER)	ATGGGATCCTATCTC CATGCATGATTAC	对应于 HPV E616 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 BamHI 位点。用于克隆到 MIE 上	258
2562 (1076ERPL)	CTGGGATCCTCATC AACGTGTTCTTGATG ATC	对应于 HPV E616 Δ PL 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 BamHI 位点。用于克隆到 MIE 上	259
2603 (1080EF)	AAGAAAGCTTTTTA TGCACCAAAAGAG	对应于 HPV E616 的正向 (5' 到 3') 引物, 生成 HindIII 位点。用于克隆到 pcDNA-HA 上	260
2604 (1081ER)	AATCAAGCTTTATCT CCATGCATGATTAC	对应于 HPV E616 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 HindIII 位点。用于克隆到 pcDNA-HA 上	261
2605 (1082ERPL)	GCTGAAGCTTTCAA CGTGTTCCTTGATGAT C	对应于 HPV E616 Δ PL 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 HindIII 位点。用于克隆到 pcDNA-HA 上	262

2606 (1083EF)	AAGCGTCGACTTTA TGCACCAAAAGAG	对应于 HPV E616 的正向 (5' 到 3') 引物, 生成 Sal I 位点。用于克隆到 pmKit 上	263
2607 (1084ER)	AATGCTCGAGTATC TCCATGCATGATTAC	对应于 HPV E616 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 Xho I 位点。用于克隆到 pmKit 上	264
2608 (1085ERPL)	GCTGCTCGAGTCAA CGTGTTCTTGATGAT C	对应于 HPV E616 Δ PL 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 Xho I 位点。用于克隆到 pmKit 上	265
2612 (1086EF)	AGAAGTCGACCACA ATACTATGGCGC	对应于 HPV E618 的正向 (5' 到 3') 引物, 生成 Sal I 位点。用于克隆到 pmKit 上	266
2613 (1087ER)	TAGGCTCGAGCATA CTTAATATTATAC	对应于 HPV E618 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 Xho I 位点。用于克隆到 pmKit 上	267
2614 (1088ERPL)	CTTGCTCGAGTCAG CGTCGTTGGAGTCG	对应于 HPV E618 Δ PL 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 Xho I 位点。用于克隆到 pmKit 上	268
2615 (1089EF)	AGAAAAGCTTCACA ATACTATGGCGC	对应于 HPV E618 的正向 (5' 到 3') 引物, 生成 HindIII 位点。用于克隆到 pcDNA-HA 上	269
2616 (1090ER)	TAGAAGCTTGCATA CTTAATATTATAC	对应于 HPV E618 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 HindIII 位点。用于克隆到 pcDNA-HA 上	270
2617 (1091ERPL)	CTTGAAGCTTTCAGC GTCGTTGAGGTCG	对应于 HPV E618 Δ PL 的反向 (3' 到 5') 引物, 生成 HindIII 位点。用于克隆到 pcDNA-HA 上	271

[0382] 1. 人乳头瘤状病毒 (HPV) E616

[0383] Acc# : -----

[0384] GI# : 4927719

[0385] • 构建物 : HPV E616WT-pGEX-3X

[0386] 引物 : 2542&2543

[0387] 载体克隆位点 (5' /3') : Bam HI/EcoRI

[0388] 插入片段克隆位点 (5' /3') : Bam HI/EcoRI

[0389] pGEX-3X 在克隆位点的 5' 末端之前 (上游) 含 GST

[0390] • 构建物 : HPV E616WT-MIE

[0391] 引物 : 2560&2561

[0392] 载体克隆位点 (5' /3') : EcoRI/BamHI

[0393] 插入片段克隆位点 (5' /3') : EcoRI/BamHI

- [0394] MIE 在克隆位点的 3' 末端之后（下游）含 IRES 和 EGFP
- [0395] • 构建物：HPV E616 Δ PL-MIE
- [0396] 引物：2560&2562
- [0397] 载体克隆位点 (5' /3')：EcoRI/BamHI
- [0398] 插入片段克隆位点 (5' /3')：EcoRI/BamHI
- [0399] MIE 在克隆位点的 3' 末端之后（下游）含 IRES 和 EGFP
- [0400] • 构建物：HPV E616WT-pcDNA3.1-HA
- [0401] 引物：2603&2604
- [0402] 载体克隆位点 (5' /3')：Hind III/Hind III
- [0403] 插入片段克隆位点 (5' /3')：Hind III/Hind III
- [0404] pcDNA3.1（改进的）在克隆位点的 5' 末端之前（上游）含 HA
- [0405] • 构建物：HPV E616 Δ PL-pcDNA3.1-HA
- [0406] 引物：2603&2605
- [0407] 载体克隆位点 (5' /3')：Hind III/Hind III
- [0408] 插入片段克隆位点 (5' /3')：Hind III/Hind III
- [0409] pcDNA3.1（改进的）在克隆位点的 5' 末端之前（上游）含 HA
- [0410] • 构建物：HPV E616WT-pmKit
- [0411] 引物：2606&2607
- [0412] 载体克隆位点 (5' /3')：Sal I/Xho I
- [0413] 插入片段克隆位点 (5' /3')：Sal I/Xho I
- [0414] • 构建物：HPV E616 Δ PL-pmKit
- [0415] 引物：2606&2608
- [0416] 载体克隆位点 (5' /3')：Sal I/Xho I
- [0417] 插入片段克隆位点 (5' /3')：Sal I/Xho I
- [0418] 2. 人乳头状瘤病毒 (HPV) E6 18
- [0419] Acc#：-----
- [0420] GI#：-----
- [0421] • 构建物：HPV E618WT-pGEX-3X
- [0422] 引物：2548&2549
- [0423] 载体克隆位点 (5' /3')：BamHI/EcoRI
- [0424] 插入片段克隆位点 (5' /3')：Bgl II/EcoRI
- [0425] pGEX-3X 在克隆位点的 5' 末端之前（上游）含 GST
- [0426] • 构建物：HPV E618WT-MIE
- [0427] 引物：2563&2564
- [0428] 载体克隆位点 (5' /3')：EcoRI/BamHI
- [0429] 插入片段克隆位点 (5' /3')：EcoRI/Bgl II
- [0430] MIE 在克隆位点的 3' 末端之后（下游）含 IRES 和 EGFP
- [0431] • 构建物：HPV E618 Δ PL-MIE
- [0432] 引物：2563&2565

- [0433] 载体克隆位点 (5' /3') : EcoRI/BamHI
- [0434] 插入片段克隆位点 (5' /3') : EcoRI/Bgl II
- [0435] MIE 在克隆位点的 3' 末端之后 (下游) 含 IRES 和 EGFP
- [0436] • 构建物 : HPV E618WT-pcDNA3.1-HA
- [0437] 引物 : 2615&2616
- [0438] 载体克隆位点 (5' /3') : Hind III/Hind III
- [0439] 插入片段克隆位点 (5' /3') : Hind III/Hind III
- [0440] pcDNA3.1 (改进的) 在克隆位点的 5' 末端之前 (上游) 含 HA
- [0441] • 构建物 : HPV E618 Δ PL-pcDN Δ 3.1-HA
- [0442] 引物 : 2615&2617
- [0443] 载体克隆位点 (5' /3') : Hind III/Hind III
- [0444] 插入片段克隆位点 (5' /3') : Hind III/Hind III
- [0445] pcDNA3.1 (改进的) 在克隆位点的 5' 末端之前 (上游) 含 HA
- [0446] • 构建物 : HPV E618WT-pmKit
- [0447] 引物 : 2612&2613
- [0448] 载体克隆位点 (5' /3') : Sal I/Xho I
- [0449] 插入片段克隆位点 (5' /3') : Sal I/Xho I
- [0450] • 构建物 : HPV E618 Δ PL-pmKit
- [0451] 引物 : 2612&2614
- [0452] 载体克隆位点 (5' /3') : Sal I/Xho I
- [0453] 插入片段克隆位点 (5' /3') : Sal I/Xho I
- [0454] D.GST 融合蛋白的生产与纯化
- [0455] 按照 Pharmacia Biotech 公司《GST 融合系统》(第 2 版第 2 次修订本)(GST FusionSystem, Second Edition, Revision 2) 中所述的方案, 使用 pGEX-3X 表达载体的构建物被用于制造融合蛋白。并针对 1L 规模的生产与纯化, 对方法 II 进行了优化。
- [0456] 纯化的 DNA 转化大肠杆菌并生长至 OD₆₀₀ 达到 0.4-0.8 (600 λ)。通过向细胞培养物添加 IPTG 诱导蛋白表达 1-2 小时。收集并溶解细胞。收集细胞溶解物并添加 GS4B 树脂 (Pharmacia 目录号 17-0756-01) 以结合 GST 融合蛋白。分离树脂并用 GEB II 洗脱 GST 融合蛋白。纯化的蛋白 -80℃ 保存在 GEB II 中。
- [0457] 纯化的蛋白用于以 ELISA 为基础的检测和抗体生产。
- [0458] 实施例 4
- [0459] 携带编码含 PDZ 结构域基因或含 PDZ 结构域基因一部分的 DNA 片段的真核表达构建物的产生
- [0460] 本实施例描述了如何将含 PDZ 结构域的基因或含 PDZ 结构域的基因的一部分克隆到与多种蛋白标签融合的真核表达载体上, 蛋白标签包括但不限于谷胱甘肽-S-转移酶 (GST)、增强型绿荧光蛋白 (EGFP) 或红血球凝集素 (HA)。
- [0461] A. 策略:
- [0462] 使用随机引物 (Invitrogen 目录号 48190011), 对应于含 PDZ 结构域基因的 cDNA 片段通过 RT-PCR 来自单独细胞系 (CLONTECH 目录号 K4000-1) 来源的 RNA 文库的

RNA 生成。使用上述纯化的 cDNA 片段和特异性引物（见表 6），通过常规 PCR 产生对应于含 PDZ 结构域基因或其部分的 DNA 片段。所使用的引物设计成能在 PCR 片段末端创建限制性核酸酶识别位点，使这些片段能克隆到适当的表达载体上。PCR 之后，对 DNA 样品进行琼脂糖凝胶电泳。切下对应于预期大小的条带。使用 SephaglasBand Prep Kit (Amersham Pharmacia 目录号 27-9285-01) 提取 DNA 并用适当的限制性核酸内切酶消化。消化的 DNA 样品通过凝胶电泳再次纯化（依照前面所使用的相同的实验方案）。沉淀纯化的 DNA 片段并与适当的线性化载体连接。转化大肠杆菌 (E.coli) 以后，通过菌落 PCR 和限制性消化针对插入片段的的存在及其正确取向对菌落进行筛选。阳性克隆接种在液体培养物中以进行大规模 DNA 纯化。对纯化的质粒 DNA 上的插入片段和侧翼载体位点进行测序以确保片段及载体与融合蛋白之间连接处序列的正确性。

[0463] B. 载体：

[0464] 所有含 PDZ 结构域的基因克隆到含 tac 启动子、GST、Xa 因子、 β -内酰胺酶和 lac 抑制子的 pGEX-3X 载体上 (Amersham Pharmacia 目录号 27-4803-01, Genemed Acc#U13852, GI#595717)。

[0465] 下面列出了包括 GST、Xa 因子和多克隆位点的 pGEX-3X 编码区的氨基酸序列。注意克隆的插入片段和 GST-Xa 因子之间的连接序列随着克隆所使用的限制性核酸内切酶而有所不同。下面翻译区中可能随插入片段而改变的氨基酸用小写字母表示，并以改变后的形式被包括在 (C) 中所列举的构建物序列中。

[0466] aa1-aa 232：

[0467] MSPILGYWKIKGLVQPTRLLLEYLEEKYEEHLYERDEGDKWRNKKFELGLEF

[0468] PNLPHYIDGDVKLTQSMAIIRYIADKHNMLGGCPKERAIEISMLEGAVLDIRY

[0469] GVSRIAYSKDFETLKVDFLSKLPPEMLKMFEDRLCHKTYLNGDHVTHPDFML

[0470] YDALDVVLYMDPMCLDAFPKLVCFKKRIEAIQIDKYLKS SKYIAWPLQGW

[0471] QATFGGGDHPPKSDLIEGRgipgnss (序列编号：272)

[0472] 除此之外，完整的或部分 TAX 相互作用蛋白 1 (TIP1) 克隆在许多其他表达载体上，所述载体包括但不限于 CD5 γ 、PEAK10 (两者均由哈佛大学 Brian Seed 博士的实验室提供并通过重组 DNA 技术产生，包含一个 IgG 区域) 和 MIN (MSCV 衍生物，包含 IRES 和 NGFR，通过重组 DNA 技术生成)。

[0473] C. 构建物：

[0474] 表 6 列举了用于通过 PCR 产生 DNA 片段的引物。下面列出了 PCR 引物组合和插入片段及载体的限制性位点，以及插入片段和限制性位点的氨基酸翻译。非天然的氨基酸序列用小写字母表示。

[0475] 表 6. 将 DLG1 (3 个中的结构域 2)、MAGI 1 (6 个中的结构域 2) 和 TIP1 克隆到典型的表达载体上所使用的引物。

[0476]

编号 (引物名称)	引物序列	描述	序列 编号
--------------	------	----	----------

1928 (654DL1 2F)	AATGGGGATCCAGC TCATTAAAGG	对应于 DLG1 结构域 2 的正向 (5' 到 3') 引物。在 PDZ 边界上游 (5') 产生 Bam HI 位点。用于克隆到 pGEX-3X	273
1929 (655DL1 2R)	ATACATACTTGTGG AATTCGCCAC	对应于 DLG1 结构域 2 的反向 (3' 到 5') 引物。在 PDZ 边界下游 (3') 产生 Eco RI 位点。用于克隆到 pGEX-3X	274
1453 (435BAF)	CACGGATCCCTTCTG AGTTGAAAGGC	对应于 MAGI 1 结构域 2 的正向 (5' 到 3') 引物。在 PDZ 边界上游 (5') 产生 Bam HI 位点。用于克隆到 pGEX-3X	275
1454 (436BAR)	TATGAATTCCATCTG GATCAAAAGGCAAT G	对应于 MAGI 1 结构域 2 的反向 (3' 到 5') 引物。在 PDZ 边界下游 (3') 产生 Eco RI 位点。用于克隆到 pGEX-3X	276
399 (86TAF)	CAGGGATCCAAAGA GTTGAAATTCACAA GC	对应于 TIP1 的正向 (5' 到 3') 引物。在 PDZ 边界上游 (5') 产生 Bam HI 位点。用于克隆到 pGEX-3X	277
400 (87TAR)	ACGGAATTCTGCAG CGACTGCCGCGTC	对应于 TIP1 的反向 (3' 到 5') 引物。在 PDZ 边界下游 (3') 产生 Eco RI 位点。用于克隆到 pGEX-3X	278
1319 (TIP G5-1)	AGGATCCAGATGTC CTACATCCC	对应于 TIP1 的正向 (5' 到 3') 引物。在起始密码子上游 (5') 产生 Bam HI 位点。用于克隆到 pGEX-3X	279
1320 (TIP G3-1)	GGAATTCATGGACT GCTGCACGG	对应于 TIP 的反向 (3' 到 5') 引物。在终止密码子下游 (3') 产生 Eco RI 位点。用于克隆到 pGEX-3X	280
2753 (1109TIF)	AGAGAATTCTCGAG ATGTCCTACATCCC	对应于 TIP1 的正向 (5' 到 3') 引物。在起始密码子上游 (5') 产生 Eco RI 位点。用于	281
		克隆到 MIN	
2762 (1117TIR)	TGGGAATTCCTAGG ACAGCATGGACTG	对应于 TIP1 的反向 (3' 到 5') 引物。在终止密码子下游 (3') 产生 Eco RI 位点。用于克隆到 MIN	282
2584 (1080TIF)	CTAGGATCCGGGCC AGCCGGTCACC	对应于 TP1 的正向 (5' 到 3') 引物。在 PDZ 边界上游 (5') 产生 Bam HI 位点。用于克隆到 PEAK10 或 CD5 γ	283

2585 (1081TIR)	GACGGATCCCCCTG CTGCACGGCCTTCTG	对应于 TIP1 的反向 (3' 到 5') 引物。在 PDZ 边界下游 (3') 产生 Bam HI 位点。用于克隆到 PEAK10 或 CD5 γ	284
2586 (1082TIR)	GACGAATTCCCCTG CTGCACGGCCTTCTG	对应于 TIP1 的反向 (3' 到 5') 引物。在 PDZ 边界下游 (3') 产生 Eco RI 位点。用于克隆到 PEAK10 或 CD5 γ	285
2587 (1083TIF)	CTAGAATTCGGGCC AGCCGGTCACC	对应于 TIP1 的正向 (5' 到 3') 引物。在 PDZ 边界上游 (5') 产生 Eco RI 位点。用于克隆到 PEAK10 或 CD5 γ	286

[0477] 1.DLG1, 3 个 PDZ 结构域中的第二个结构域:

[0478] Acc#: U13897

[0479] GI#: 558437

[0480] • 构建物: DLG1, PDZ 结构域 2-pGEX-3X

[0481] 引物: 1928&1929

[0482] 载体克隆位点 (5' /3'): BamHI/EcoRI

[0483] 插入片段克隆位点 (5' /3'): BamHI/EcoRI

[0484] aa1-aa88

[0485] giqLIKGPGLGFSIAGGVGNQHIPGDNSIYVTKIIEGGAHKGDKLQIG

[0486] DKLLAVNNVCLEEVTHEEAVTALKNTSDFVYLKVA_{nss} (序列编号 287)

[0487] 2.MAGI1, 6 个 PDZ 结构域中的第二个结构域

[0488] Acc#: AB010894

[0489] GI#: 3370997

[0490] • 构建物: MAGI1, PDZ 结构域 2-pGEX-3X

[0491] 引物: 1453&1454

[0492] 载体克隆位点 (5' /3'): BamHI/EcoRI

[0493] 插入片段克隆位点 (5' /3'): BamHI/EcoRI

[0494] aa1-aa 108

[0495] giPSELKGKFIHTKLRKS SRGFGFTVVGDEPDEFLQIKSLVLD

[0496] GPAALDGKMETGDVIVSVNDTCVLGH_{THA}QVVKIFQSIPIGA

[0497] SVDLELCRGYPLPFD_{PD}gihrd (序列编号 288)

[0498] 3.TAX 相互作用蛋白 1 (TIP1):

[0499] Acc#: AF028823.2

[0500] GI#: 11908159

[0501] • 构建物: TIP1, PDZ 结构域 1-pGEX-3X

[0502] 引物: 399&400

[0503] 载体克隆位点 (5' /3'): BamHI/EcoRI

[0504] 插入片段克隆位点 (5' /3'): BamHI/EcoRI

[0505] aa1-aa107

- [0506] giQRVEIHKLRQGENLILGFSIGGGIDQDPSQNPFSEDKTDKGIY
[0507] VTRVSEGGPAEIAGLQIGDKmQVNGWDMTMVTHDQARKRL
[0508] TKRSEEWRLLVTRQSLQnss(序列编号 289)
[0509] • 构建物: TIP1-GEX-3X
[0510] 引物: 1319&1320
[0511] 载体克隆位点(5' /3'): BamHI/EcoRI
[0512] 插入片段克隆位点(5' /3'): BamHI/EcoRI
[0513] aa1-aa128
[0514] giqMSYIPGQPVTAVVQRVEIHKLRQGENLILGFSIGGGIDQDPSQNPFS
[0515] EDKTDKGIYVTRVSEGGPAEIAGLQIGDKIMQVNGWDMTMVTHDQA
[0516] RKRLTKRSEEWRLLVTRQSLQKAVQQSMnss(序列编号 290)
[0517] • 构建物: TIP1-MIN
[0518] 引物: 2753&2762
[0519] 载体克隆位点(5' /3'): Eco RI/Eco RI
[0520] 插入片段克隆位点(5' /3'): Eco RI/Eco RI
[0521] aa1-aa129
[0522] agileMSYIPGQPVTAVVQRVEIHKLRQGENLILGFSIGGGIDQD
[0523] PSQNPFSEDKTDKGIYVTRVSEGGPAEIAGLQIGDKIMQVNG
[0524] WDMTMVTHDQARKRLTKRSEEVVRLLVTRQSLQKAVQQSM
[0525] LS(序列编号 291)
[0526] • 构建物: TIP1-CD5 γ
[0527] 引物: 2584&2585
[0528] 载体克隆位点(5' /3'): Bam HI/Bam HI
[0529] 插入片段克隆位点(5' /3'): Bam HI/Bam HI
[0530] aa1-aa 122
[0531] adPGQPVTAVVQRVEIHKLRQGENLILGFSIGGGIDQDPSQNP
[0532] SEDKTDKGIYVTRVSEGGPAEIAGLQIGDKIMQVNGWDMTM
[0533] VTHDQARKRLTKRSEEVVRLLVTRQSLQKAVQQSdpe
[0534] (序列编号 292)

[0535] D.GST 融合蛋白的生产与纯化

[0536] 按照 Pharmacia Biotech 公司《GST 融合系统》(第 2 版第 2 次修订本)(GST FusionSystem, Second Edition, Revision 2)中所述的方案,使用 pGEX-3X 表达载体的构建物被用于制造融合蛋白。并针对 1L 规模的生产与纯化,对方法 II 进行了优化。

[0537] 纯化的 DNA 转化大肠杆菌并生长至 OD₆₀₀ 达到 0.4-0.8(600 λ)。通过向细胞培养物添加 IPTG 诱导蛋白表达 1-2 小时。收集并溶解细胞。收集细胞溶解物并添加 GS4B 树脂(Pharmacia 目录号 17-0756-01)以结合 GST 融合蛋白。分离树脂并用 GEB II 洗脱 GST 融合蛋白。纯化的蛋白 -80℃保存在 GEB II 中。

[0538] 纯化的蛋白用于以 ELISA 为基础的检测和抗体生产。

[0539] E.IgG 融合蛋白的生产与纯化

[0540] 采用 CD5 γ 或 PEAK10IgG 表达载体的构建物被用于生产融合蛋白。在常规生长条件下 (DMEM+10% FCS)，按照每一百万个细胞 1 微克载体 DNA 的比例，使用常规的磷酸钙沉淀法 (Sambrook, Fritsch 和 Maniatis 所著，冷泉港出版社 (Cold Spring Harbor Press)) 用纯化的 DNA 载体转染 293EBNA T 细胞。这一载体导致生成分泌到培养基中的融合蛋白。检测瞬时转染细胞的最高表达情况，并在这一最高值时 (通常 1-2 天) 收集含融合蛋白的培养基。融合蛋白或采用蛋白质 A 色谱法纯化，或不经附加步骤直接在培养基中冷冻。

[0541] 实施例 5

[0542] TIP-1 特异结合致癌 E6 蛋白

[0543] A. 摘要

[0544] 进行实验以证明或证实所述 PDZ 结构域只能识别全长致癌 HPV E6 蛋白而不是非致癌 E6 变体的 C 末端。这证实了通过考察使用全长 E6 融合蛋白能否重现 PDZ 结合来使用代表 E6 蛋白 PL 序列的肽的方法。

[0545] 简而言之，按照 HPV 18 (致癌的) 和 HPV 11 (不致癌的) 的 E6 全长蛋白序列如实施例 3 所述构建了 GST-E6 融合蛋白。通过使用改进的 ELISA 检测，对 TIP-TIP-IgG 融合蛋白 (两个拷贝 TIP-1PDZ 结构域与 hIgG 恒定区融合，实施例 4 中部分描述了融合蛋白的纯化) 与这两种 E6 变体的结合进行了评定。

[0546] 随后的实验也表明使用 GST-Tip 或 GST-Magi 融合蛋白对与 E6 结合的检测并不明显受 4°C 或室温孵育的影响。

[0547] B. 改进的 ELISA 检测法

[0548] 试剂及材料

[0549] ● Nunc Polysorb 96 孔酶标板 (Nunc 目录号 62409-005) (Maxisorp 酶标板经证实具有更高的本底信号)

[0550] ● pH 7.4 的 PBS (Gibco BRL 目录号 16777-148) 或 AVC 磷酸缓冲盐溶液，8 毫克 NaCl、0.29 毫克 KCl、1.44 毫克 Na_2HPO_4 、0.24 毫克 KH_2PO_4 ，加 H_2O 至 1 升，pH 7.4；0.2 微米滤器过滤

[0551] ● 500 毫升 PBS 中含 2% BSA/PBS (10 克组分 V 牛血清白蛋白 (ICN Biomedicals 目录号 IC15142983))

[0552] ● 5 毫克/毫升的羊抗 GST 单克隆抗体储存液，4°C 保存 (Amersham Pharmacia, 目录号 27-4577-01)，按 1 : 1000 稀释于 PBS，终浓度 5 微克/毫升

[0553] ● 清洗缓冲液，含 0.2% Tween 20 的 50mM Tris，pH 8.0

[0554] ● 备用的 TMB (Dako，目录号 S1600)

[0555] ● 1M H_2SO_4

[0556] ● 12 通道排枪

[0557] ● 50 毫升试剂瓶

[0558] ● 15 毫升聚丙烯圆锥形试管

[0559] ● 抗 E6HPV18 抗体 (OEM Sciences)

[0560] ● 抗 hIgG 抗体 - 辣根过氧化物酶 (Biomeda)

[0561] 实验方案

- [0562] 1) 在 4℃ 下用 5 微克 / 毫升 GST-E6 融合蛋白包板过夜
- [0563] 2) 倒出蛋白并轻轻拍干
- [0564] 3) 封闭 - 每孔加 200 微升 2% BSA/PBS, 4℃ 孵育 2 小时
- [0565] 4) 制备 PDZ 蛋白 (TIP-TIP-IgG 转染上清液和 2% BSA/PBS 按 50 : 50 比例混合)
- [0566] 5) 用预冷的 PBS 清洗 3 次
- [0567] 6) 添加第 4 步制备的 PDZ 蛋白或含 1 微克 / 毫升抗 E6 抗体的 2% BSA/PBS (或作为对照的抗 GST 抗体)
- [0568] 7) 用预冷的 PBS 清洗 3 次
- [0569] 8) 在冰上每孔添加 100 微升适当浓度的酶联检测抗体 (抗 hIgG 抗体 - 辣根过氧化物酶、抗山羊抗体 - 辣根过氧化物酶、或抗小鼠抗体 - 辣根过氧化物酶), 4℃ 孵育 20 分钟
- [0570] 9) 启动酶标仪并准备文档
- [0571] 10) 用 Tween 清洗缓冲液清洗 5 次, 避免产生泡沫
- [0572] 11) 使用手套, 每孔添加 100 微升 TMB
- [0573] - 室温下暗室孵育
- [0574] - 定期检查平板 (5、10、20 分钟)
- [0575] - 如果需要, 在 650 纳米处 (蓝光) 获取早期读数
- [0576] - 30 分钟后用 100 微升 1M H₂PO₄ 终止反应
- [0577] - 在 450 纳米处 (黄光) 读取最终读数
- [0578] C. 结合实验结果
- [0579] TIP-1 (一种典型的结合大多数致癌 E6PL (实施例 2) 的 PDZ 结构域) 能特异识别来自全长致癌 E6 变体 (HPV18-E6) 的 PL 而不与非致癌变体 (HPV11-E6 ; 图 1) 结合。此外, 纯化的 TIP-TIP-IgG 甚至能以与产生的抗 HPV18-E6 抗体同等的水平识别 GST-HPV18E6 融合蛋白。使用抗 GST 抗体以证实 GST-HPV18E6 和 GST-HPV11E6 包被平板的均一性 (未公开数据)。
- [0580] 此外, 所述检测方法是耐用的, 并且其偏离率足够稳定, 因而可以在 4℃ 下或室温下进行所述检测方法的孵育步骤。对于 GST-Magi 或 GST-TIP1 与 E6 结合而言, 所述两个温度之间几乎观察不到差异 (图 2)。
- [0581] E6 活性可以进一步通过其结合 DNA 的能力、或在细胞溶解物存在的条件下使 p53 降解、Zn²⁺ 结合等进行检测。
- [0582] 实施例 6
- [0583] PDZ 结构域与 HPV16E6 相互作用的 EC₅₀ 测定
- [0584] 使用上述的 G- 检测, 检测了几种 GST-PDZ 结构域融合蛋白以测定其与 HPV16E6 蛋白 PL 的相对结合强度。用对应于 HPV16E6 的 PL 的肽相对恒定量的 GST-PDZ 结构域融合蛋白进行滴定, 其结果如下所示。这些结果证明, 虽然多种 PDZ 结构域能结合 HPV16 的 E6 蛋白, MAGI1 的第一个功能结构域 (本说明书中的结构域 2) 结合最紧密, 使之最适于用于诊断目的。出乎意料的是, 特别是与 MAGI1 协同是唯一被证明与所有已确定的致癌 E6 蛋白种类结合的含 PDZ 结构域蛋白。这些都证明对于致癌

HPV 感染来说, MAGI1 是有益的捕获 / 检测物质。

[0585] 表 7: HPV16E6 蛋白与多种 PDZ 结构域的 EC50 值

[0586]

PDZ 基因	EC50 ^a [μ M]	RNA 表达 (子宫颈细胞系)
Magi1C (PDZ2)	0.056	++
Magi3 (PDZ1)	0.31	阴性
SAAT1KIAA	0.58	阴性
TIP1	0.75	+++
VARTUL	0.94	+
DLG1 (PDZ2)	未测	++++
PSD95 (PDZ1-3)	1.0	未测
SAST2	.2	未测
DLG2 (PDZ3)	1.6	未测
DLG3 (PDZ1-2)	3.8	未测
PSD95 (PDZ2)	6.8	未测

[0587]

SIP1 (PDZ1)	7.5	未测
-------------	-----	----

[0588] 实施例 7

[0589] 抗纯化的 HPV18E6 融合蛋白抗体的生产

[0590] 为了实现对致癌 HPV 感染的基于夹心 ELISA 的诊断的附加利益, 应当获得 E6 蛋白的高亲和力特异性抗体。理想的是, 用于诊断的单克隆抗体可以从那些具有不断更新来源的动物中产生。

[0591] 以 5 天为间隔, 用 25 微克细菌来源纯化的 GST-HPV18E6 注射 Balb/c 小鼠 (JosmanLabs)。每次注射抗原 3 天以后采集这些小鼠的血清并检测其与 GST-HPV18E6 (免疫原) 或在抗 GST 抗体去除后与单独 GST 的反应性 (按照 Pharmacia 实验方案)。使用第 28 天采集的血清的结果显示在图 3 中。来自小鼠的血清与细菌来源纯化的 GST-HPV18E6 蛋白反应而不与单独 GST 反应。所述动物是通过常规方法从中产生单克隆抗体的良好候选对象。

[0592] 实施例 8

[0593] 病原体 PL 蛋白

[0594] 使用针对 PDZ : PL 相互作用检测的蛋白质或化合物可以对病原体的许多其他蛋白质进行检测。表 8 包含了一些能通过使用这里所公开的技术进行检测的示范性的蛋白质，但这并不意味着任何形式的限制。

[0595] 表 8：可以按照 PDZ : PL 诊断法处理的的示例性病原体

[0596]

病原体	蛋白	GI 或 ACC 号	PL/PDZ
腺病毒	E4	19263371	PL
乙肝病毒	蛋白质 X	1175046	PL
人 T 细胞白血病病毒	TAX	6983836	PL
疱疹病毒	DNA 聚合酶	18307584	PL
疱疹病毒	US2	9629443	PL

[0597] 实施例 9

[0598] HPV16 感染细胞中内源性 E6 蛋白的定量

[0599] A) 摘要

[0600] 设计并进行了实验以测定 HPV16 感染的宫颈癌细胞系中内源性 E6 蛋白数量。结果表明 HPV16 感染的宫颈癌细胞系含有 10,000 到 100,000 数量级的 E6 蛋白。由这一发现推断，E6 蛋白可以用作针对细胞 HPV 感染的诊断或预后标志。蛋白质降解途径抑制剤的使用可以有助于这样的检测。

[0601] B) 方法：

[0602] E6 蛋白的免疫共沉淀

[0603] HPV16 感染的宫颈癌细胞系 SiHa 和 CasKi 用预冷的 PBS 清洗并以 2×10^7 细胞 / 毫升的浓度在 HEPES 细胞溶解缓冲液 (50mM HEPES pH 7.4, 150mM NaCl, 10% 甘油, 0.5% triton X-100, 1mg/ml BSA, 1 粒蛋白酶抑制剂混合剂 (Roche) 和 1mMPMSF) 中重悬。细胞溶解在冰浴中进行 30 分钟。溶解物通过 4℃ 下 14,000g 离心 5 分钟进行清洁。E6 蛋白与小鼠抗 E6 抗体 (克隆 6F4) 和蛋白质 G 小珠 (Pharmacia, Piscataway, NJ) 免疫共沉淀。4℃ 下转动孵育 2 小时以后，小珠用清洗缓冲液 (50mMHEPES pH 7.4, 150mM NaCl, 10% 甘油, 0.1% Triton X-100, 蛋白酶抑制剂混合剂 (CALBIOCHEM), 1mM PMSF) 洗涤 3 次。沉淀在 SDS-PAGE 上样缓冲液中重悬并用 6F4 抗 E6 抗体以及抗小鼠 IgG 抗体 - 辣根过氧化物酶偶联物 (Jackson ImmunoResearch) 通过免疫印迹进行分析。

[0604] 通过免疫印迹检测宫颈癌细胞溶解物中的 E6 蛋白

[0605] SiHa 和 CasKi 宫颈癌细胞系以 2×10^7 细胞 / 毫升的浓度在溶解缓冲液中冰浴溶解 30 分钟。随即将对应于约 10^6 个细胞的溶解物在 12% SDS-PAGE 凝胶上进行分离，然后转移到 PVDF 膜。E6 蛋白用 6F4 抗 HPV16E6 抗体以及抗小鼠 IgG 抗体 - 辣根过氧化物酶偶联物 (Jackson Immuno Research) 进行检测。

[0606] C) 结果

[0607] 为了测定遭 HPV16 感染的宫颈癌细胞中存在的内源性 E6 蛋白的表观分子量以及为了确保 PAGE 上看到的抗 E6 单克隆抗体特异性条带代表了病毒 E6 蛋白, 用表达 HPV16 的无标签 E6 蛋白的构建物转染 293EBNAT 细胞。制备这些细胞以及 HPV 感染的 SiHa 宫颈癌细胞的细胞溶解物。通过抗 E6 特异性单克隆抗体的使用, 对上述两种细胞(转染的和 HPV 感染的)溶解物中的 E6 蛋白进行免疫共沉淀。使用 PAGE 技术对两种细胞溶解物并排进行分析(图 6)。所得的针对转染的 E6 的 E6 特异性条带以与 SiHa 宫颈癌细胞系中的抗 E6 抗体特异性条带相同的水平在 PAGE 凝胶中迁移, 从而最强有力地提示, 与抗 E6 特异性单克隆抗体发生免疫共沉淀的产物代表了病毒 E6 蛋白。使用特异性的 E6 单克隆抗体, 在 HPV16 感染的宫颈癌细胞系 CasKi 中检测到了相同大小的条带(图 7)。

[0608] 在一种不同的实验步骤中, 对 HPV 感染的宫颈癌细胞系 SiHa 和 CasKi 的内源性病毒 E6 蛋白从其细胞溶解物中直接进行了检测(图 7)。依赖于 E6 特异性单克隆抗体的条带以与用 E6 编码载体转染的细胞的条带相同的方式迁移。

[0609] 为检测体内 E6 的稳定性能否通过选择性阻碍参与蛋白降解的蛋白酶体得以提高, 一些样品的细胞溶解物用蛋白酶体抑制剂 MG132 进行了处理。在这些样品中, E6 特异性条带强度提高了约 2-3 倍。这说明, 添加适当的蛋白降解途径抑制剂混合物能够被用于通过临时增加其在细胞内积累而增强 E6 蛋白的特异性信号。

[0610] 通过将 PAGE 凝胶上 E6 特异性信号与得自加载于相同凝胶上的 MBP-E6 (HPV16) 融合蛋白的信号进行比较, 测量了细胞溶解物中 E6 蛋白的数量。在有些情况下, MBP-E6 融合蛋白用 X 因子消化以释放单纯的 E6 部分。信号强度比较研究证明, 注入 HPV16 的宫颈癌来源的细胞系 (SiHa、CasKi) 包含浓度为 0.3 到 3 纳克每 1×10^6 个细胞的 E6。由此推断, E6 的数量和稳定性对于通过 E6 特异性检测方法 (ELISA) 检测是切实可行的。

[0611] 实施例 10

[0612] 致癌 E6-PL 探测分子选择性结合存在于细胞溶解物中的内源性 HPV16-E6 蛋白并可用于将内源性 E6 蛋白同存在于细胞溶解物中的其他成分分离

[0613] A) 摘要

[0614] 进行实验以检测致癌 E6-PL 探测分子是否能选择性结合用 E6 编码载体转染的细胞的内源性 E6。此外, 检测了结合之后所述致癌 E6-PL 探测分子能否用于将 E6 与细胞溶解物中其他分子分离。研究发现证明致癌 E6-PL 探测分子具有选择性并能用于将 E6 蛋白从细胞溶解物分子的复杂混合物中分离。

[0615] B) 方法

[0616] E6 蛋白与重组 PDZ 蛋白的下拉实验 (pull down)

[0617] 在下拉实验中检测了 GST-PDZ 融合蛋白 (即 Magi1PDZ 结构域 1、Syn2bp、Magi3PDZ 结构域 1、Tip1、PSD-95PDZ 结构域 2 以及 SAST1)。简而言之, 在 4°C 下将 10 微克重组 GST-PDZ 蛋白与 30 微升谷胱甘肽琼脂糖小珠在 1 毫升缓冲液中 (50mMHEPES pH 7.4, 150mM NaCl, 10% 甘油, 0.1% Triton X-100, 蛋白酶抑制剂混合剂, 1mM PMSF) 转动孵育 1 小时。随后, 在 4°C 下将 10^7 个用 pMKit-HA-HPV16-E6 或单独 pMKit-HA 载体瞬时转染的 293 细胞的溶解物与所述结合了 PDZ 蛋白的小珠转动孵

育 3 小时。清洗小珠并通过 12% SDS-PAGE 凝胶电泳和随后的免疫印迹进行分析。用生物素偶联的抗 HA 抗体（克隆 3F10 或 12CA5, Boehringer Mannheim）和辣根过氧化物酶-链霉亲和素（Zymed）对膜进行检测。

[0618] 另外，用 pmKit-HA、pmkit-HPV 16-HA-E6 或 pmKit-HA-HPV 16E6- Δ PL 瞬时转染的 293 细胞的细胞溶解物与重组 GST-Magi1-PDZ 结构域 1 孵育并固定在谷胱甘肽-琼脂糖小珠上，结合的组分用抗 HA 抗体进行免疫印迹分析。平行地，用抗 HA 抗体对细胞溶解物进行免疫共沉淀和检测。

[0619] C) 结果

[0620] PDZ-E6-PL 结合的 G 检测研究以及 E6-PDZ 相互作用的实验结合亲和力的测定提示了为设计致癌 E6-PL 探测分子所要检测的候选 PDZ 结构域。在“下拉”实验中，检测了 5 种不同 PDZ 结构域（Tipl、Magi1 结构域 1、Sast2、Psd95 结构域 2、突触泡磷酸酶-2 结合蛋白）对细胞溶解物中内源性过表达 E6 的下拉。HA 标记的 E6HPV16 转染的细胞溶解物与代表上述 PDZ 结构域的与琼脂糖小珠相连的 GST-PDZ 融合蛋白孵育（图 5）。对照细胞样品用 HA 表达构建物转染。用抗 HA 单克隆抗体检测证明，通过由作为致癌 E6-PL 探测分子的所有 5 种检测的 GST-PDZ 蛋白（Tipl、Magi1 结构域 1、Sast2、Psd95 结构域 2、突触泡磷酸酶-2 结合蛋白）代表的 PDZ 结构域，E6 选择性地从细胞溶解物中被拉出。图 5B 中所示的结果表明，Magi1-PDZ 结构域 1 与 HA-E6 而不与 HA-E6 Δ PL（缺失了 3 个 C 末端氨基酸）结合。这一方法能用于确定特定的 PDZ 结构域是否具有特异性结合 E6 的能力。得出结论，细胞溶解物的复杂混合物所代表的潜在 PDZ 结合蛋白和 E6 之间对结合 PDZ 的竞争能够通过组成致癌 E6-PL 探测分子的具体 PDZ 结构域的适当选择向选择性结合 E6 倾斜。

[0621] 实施例 11

[0622] HPV 感染的宫颈癌细胞系的内源性 E6 蛋白能够通过致癌 E6-PL 探测分子在夹心 ELISA (SANDWICH ELISA) 检测中进行检测

[0623] A) 摘要

[0624] 对实验进行了描述，其中致癌 E6-PL 探测分子用以通过夹心 ELISA 法选择性检测 HPV 感染细胞中 E6 蛋白的存在。特异性捕获致癌 E6 而不是非致癌 E6 说明，基于 PDZ 的致癌 E6-PL 探测分子能被用于以 E6 检测为基础的 HPV 感染的诊断测试和 / 或宫颈癌测试。

[0625] B) 方法：

[0626] 1 型夹心 ELISA 法：PBS 中浓度为 5 微克 / 毫升的抗 E6 抗体以每孔 100 微升的量在 4℃ 下包被 96 孔 ELISA 平板 (Polysorb 或 Maxisorp) 过夜。平板用 PBS 清洗并用 200 微升含 2% BSA 的 PBS 在 4℃ 下封闭 2 小时。添加稀释在含 2% BSA 的 PBS 中的细胞溶解物并在室温下孵育 1 小时。用 PBS 清洗 3 次以后，添加 100 微升含 5 微克 / 毫升致癌 E6 探测分子（例如 Magi1-Magi1-IgG 或 GST-Magi1-PDZ1）的 PBS/2% BSA，平板室温孵育 45 分钟。随后用 PBS 清洗平板 3 次并用含适当浓度抗 hIgG-HRP (Jackson Immuno Research) 或抗 GST-HRP (Pharmacia) 的 PBS/2% BSA 室温孵育 45 分钟。用 50mM Tris/0.2% Tween-20 清洗 5 次以后，平板与每孔 100 微升 TMB 底物 (DakoIndustries) 孵育。在适当时间（通常 20 分钟以后）通过添加 100 微升 0.1M H₂SO₄ 终止比色反应并

用 ELISA 酶标仪在 450 纳米处读取平板读数。

[0627] 在 1 型 ELISA 法的一种形式中, 在添加到抗 E6 抗体包被的平板上之前, 细胞溶解物先以 2.5-5 微克 / 毫升的终浓度在 4℃ 下与致癌 E6 探测分子孵育 1-2 小时。

[0628] 2 型夹心 ELISA 法: 在 2 型夹心法中, 基本按照 1 型夹心法中所使用的试剂和步骤。与 1 型夹心法不同的是, 100 微升致癌 E6 探测分子包被在 ELISA 平板上并且使用抗 E6 抗体检测与致癌探测分子结合的 E6, 随后通过抗小鼠 IgG-HRP (JacksonImmuno Research) 检测。在 2 型夹心法的一种改进方式中, 可使用生物素化的试剂 (抗 E6 抗体或致癌探测分子), 随后通过链霉亲和素 -HRP 进一步降低本底并提高灵敏度。

[0629] C) 结果:

[0630] 设计了两种不同形式的 ELISA 夹心法。在 1 型 ELISA 夹心法中, 存在于细胞溶解物中的 E6 蛋白被 E6 特异性单克隆抗体捕获, 特定致癌变体的检测通过致癌 E6-PL 探测分子实现。在 2 型 ELISA 夹心法中, 致癌 E6 蛋白通过致癌 E6-PL 探测分子捕获到固相支持物并通过特异性 E6 抗体或其他特异性 E6 结合物质 (如基于核酸的结合化合物、结合 E6 的化学试剂、E6 结合蛋白或这些化合物的组合) 实现 E6 的检测。细胞直接在组织培养皿上溶解, 溶解物先通过离心去除不溶成分。细菌溶解物与致癌 E6-PL 探测分子 (GST 与 Magi1PDZ 结构域 1 组成的融合蛋白) 先在 4℃ 下孵育。随后, 细胞溶解物加载于 E6 特异性抗体包被的 ELISA 平板上。通过添加 HRP 偶联的 GST 特异性抗体和在不同孵育步骤之间适当的清洗步骤之后添加 HRP 底物 TMB 实现检测。检测信号由使用 450 纳米处吸光率测量值量化的颜色变化构成。

[0631] 对得自 1 型 ELISA 检测的结果进行说明。检测了过表达 E6 的转染的 293EBNAT 细胞和 HPV16 感染的宫颈癌来源细胞系的 HPV16-E6。对于 HPV 感染细胞来说, 检测极限是约 250,000 个细胞 (图 8)。预计降低本底、增强检测信号和增强 E6 : PDZ 结合可以将灵敏度提高到 25,000 个细胞或更低。降低本底可以通过优化系统中所有成分的选择和浓度, 以及通过额外的成分存化或增加尺寸排阻或过滤步骤实现。检测信号可以通过使用更灵敏的检测系统 (例如基于化学发光的技术) 得以提高。E6 : PDZ 结合可以通过改进致癌 E6-PL 探测分子的 PDZ 基础, 以及通过用磷酸酶处理含 E6 的细菌溶解物 (这样去除了所有 E6-PL 位点上任何磷酸根, 后者可能干扰、降低或阻断 E6-PL 与致癌 E6-PL 探测分子的特异性结合) 得以增强。

[0632] 实施例 12

[0633] HPV 感染的宫颈癌细胞系的内源性 E6 蛋白可以通过与膜结合的致癌 E6-PL 探测分子检测。基于膜的检测可用以提高以致癌 E6-PL 探测分子为基础的检测方法的灵敏度。

[0634] A) 摘要:

[0635] 通过实验证明可以用基于膜的形式进行宫颈癌的 1 型和 2 型 ELISA 检测。在膜形式的宫颈癌诊断试剂盒中, 保持了传统 1 型和 2 型 ELISA 夹心法的原则, 特别是关于致癌形式 E6 的专有性捕获或检测。发现相对于传统 ELISA, 在基于膜的检测法中灵敏度得到了极大提高。

[0636] B) 方法:

[0637] 用 2 毫升 PBS/2% BSA 先行封闭 12 孔的 Corning 平板 (有盖的组织培养平板,

聚苯乙烯材质，孔径 22 毫米)，随后用 2 毫升 PBS 冲洗 3 次。

[0638] 使用 2 微升移液器用 2 微升 GST-Magi1 结构域 1 溶液 (88.6, 0.17 毫克 / 毫升) 在硝酸纤维素膜上点样 (在 1×1.5 厘米的膜上一式两份点样, 转印, 转移介质, 支持的硝酸纤维素膜 (目录号 162-0097 (0.2 μ M), Lot 号 8943)。风干约 5-10 分钟。

[0639] 在平板上用 1 毫升 PBS 将膜水合几分钟。

[0640] 室温下在每个孔中用 1 毫升 PBS/2% BSA 对膜进行封闭 30 分钟, 同时保持振荡。

[0641] 用 PBS 清洗 3 次, 每次 1 毫升约 5-10 分钟, 直接吸出第一次清洗液。可以在室温下清洗。

[0642] 室温下膜与细胞溶解物 (约 300 微升共 3 百万个细胞) 孵育 30 分钟。同样在 PBS/2% BSA 中进行 1 : 10 倍稀释 (3 百万、30 万、3 万、3 千) (33.33 微升样品和 300 微升 PBS/2% BSA)。

[0643] 在 4℃下用 PBS 清洗 3 次, 每次 1 毫升约 3-5 分钟

[0644] 膜与抗 E6 抗体 (6F4) 4℃孵育 30 分钟 (1 : 5000 稀释, 或将 1 : 100 稀释液按 1 : 50 稀释于 PBS/2% BSA) (需要 0.4 毫升每孔, 36 孔需要 16 毫升 (320 微升 1 : 1006F4, 15.68 毫升 PBS/2% BSA))。

[0645] 用 PBS 在 4℃下清洗 3 次, 每次约 5-10 分钟。

[0646] 与 HRP-抗小鼠抗体 (1 : 1000) 4℃孵育 30 分钟, 同时保持振荡 (HRP-抗小鼠免疫球蛋白, 辣根过氧化物酶与绵羊的完整抗体相连, Amersham, NA931V, lot 213295。每孔使用 400 微升, 36 孔需要 16 微升 HRP-抗小鼠抗体, 16 毫升 PBS/2% BSA)。

[0647] 在 4℃下用 PBS 清洗 5 次, 每次振荡约 5-10 分钟, 最后一次清洗 10 分钟。然后吸出最后的清洗液并每孔添加 1 毫升新鲜的 PBS。

[0648] 用 ECL+ 系统在皮氏平皿中显影并在柯达胶片上曝光。

[0649] C) 结果 :

[0650] 在一种 2 型夹心法方案中, 将 GST-Magi1 致癌 E6-PL 探测分子点加在膜上并添加递减量的 HPV11 和 HPV16MBP-E6 融合蛋白与之结合。用 E6 特异抗体检测清楚地表明了对致癌 (HPV16) E6 而不是对非致癌 (HPV11) E6 信号的特异性。通过更长曝光时间 (5 分钟), 可以容易地检测总量 0.1 纳克的 HPV16MBP-E6 (图 9, 最上面部分)。

[0651] 在相同的实验中, 将 HPV16-E6 转染细胞和模仿转染细胞的溶解物用于基于膜的 2 型夹心法测试。仅对 E6 表达细胞而不是模仿转染细胞得到了 E6 特异信号 (图 9, 下面部分)。这些结果清楚地表明, 所述基于膜的宫颈癌测试可以用以膜为基础的形式实行。

[0652] 在随后的实验中, 测试了 HPV 感染细胞的细胞溶解物 (图 10)。明显地, 只有表达 HPV16-E6 的细胞产生信号 (SiHa 和 CasKi), 而不是 HPV 阴性但宫颈癌阳性的细胞系 C33。E6 特异信号得自 300,000 个细胞, 这表明所述测试的优化形式可能检测充分更低细胞数量的 HPV-E6 蛋白。

[0653] 实施例 13

[0654] 宫颈癌肿瘤中 HPV16E6 致癌蛋白的检测

[0655] 从石蜡包埋的肿瘤上取下一小块组织并分成两半。一份用于基于 RT-PCR 的

HPV 分型，第二份用于蛋白提取。

[0656] 使用 TRIZOL 试剂盒 (invitrogen) 抽提 RNA 用于分型。简言之，一小块组织转移到 1 毫升 TRIZOL 溶液中并使用 Dounce 匀浆器悬浮并溶解细胞。抽提 RNA 并用 2- 丙醇沉淀，并通过 260 纳米光的消光对其定量。1 微克 RNA 用以生成 cDNA。引物是随机六聚体，Superscript II (Invitrogen) 用于逆转录。HPV 16、HPV 18 和 HPV45 的 E6 基因的特异性引物用于对 cDNA 模板的 PCR 扩增。用 HPV16 E6 特异引物而不是 HPV18 或 45 的特异引物得到了预期大小的条带。因而，检查的肿瘤由 HPV16 感染的细胞构成。

[0657] 为了蛋白提取，将一块组织直接在 1 毫升溶解缓冲液 (50mM Hepes pH7.5、150mM NaCl、1mM EDTA、10 % 甘油、1 % Triton、10mM 氟化钠、1mM 原钒酸钠、1mMPMSF、1 : 100 稀释的 Calbiochem 蛋白酶抑制剂) 中溶解，用 3 毫升的 Dounce 匀浆器破碎细胞膜。总蛋白浓度通过 Bradford 蛋白浓度检测法测定，对应约 1,000,000 个细胞的蛋白量在 12% PAGE 凝胶上分离。来自非 HPV16 感染的肿瘤的细胞溶解物作为阴性对照加样。

[0658] 凝胶通过使用抗 HPV16-E6 的特异性单克隆抗体的免疫印迹技术分析。在 HPV16 感染的肿瘤来源的溶解物中而不是在 HPV16 阴性对照肿瘤来源的溶解物中显示出了一条对应 HPV16-E6 蛋白正确大小的条带。条带强度与用 1,000,000 个 HPV16 特异性 SiHa 细胞测得的 E6 特异性条带相当。C33-HPV E6 阴性的子宫颈细胞系；MBP-E6- 麦芽糖结合蛋白-HPV16E6 融合蛋白；HPV E6 过表达 - 来自用表达全长 HPV16E6 蛋白的构建物转化的 HEK 293 细胞的溶解物。这些结果显示在图 11 中。

[0659] 实施例 14

[0660] 使用快速免疫检测技术和荧光检测对人的样本中宫颈癌的检测

[0661] A) 摘要：

[0662] 对实验进行了描述，其中出于宫颈癌诊断的目的，通过使用快速免疫检测法 (RIA)，致癌 E6-PL 探测分子被用于选择性检测人样本中致癌 E6 蛋白的存在。

[0663] B) 方法：

[0664] 宫颈细胞通过使用常规的宫颈刷 (如 CULTURETTE DIRECT (Becton Dickinson)) 收集并在样品稀释液中重悬。细胞通过离心收集，细胞沉淀在 200 微升预冷的溶解缓冲液 (50mM Hepes pH7.5、150mM NaCl、1mM EDTA、10% 甘油、1% Triton、10mM 氟化钠、1mM 原钒酸钠、1mM PMSF、1 : 100 稀释的 Calbiochem 蛋白酶抑制剂) 中重悬，冷却到 5℃，并轻轻振荡以促进细胞溶解。此时的样品可以运输。75 微升细胞溶解物稀释在 PBS/2% BSA 中，随后在适用于荧光酶标仪的已用含 5 微克 / 毫升重组 Magi1 结构域 2 (这里称为结构域 2，但在大部分公开文献中称为结构域 1) 融合蛋白的 PBS 包被并用白蛋白或明胶封闭了非特异位点的平板上添加 150 微升 (或约一半孔体积) 所述稀释的细胞溶解物。稀释的细胞溶解物在室温下孵育 30 分钟。用 PBS 洗涤 3 次后，添加 100 微升含 0.5 微克 / 毫升 FITC 标记的抗致癌 E6 抗体混合物 (其共同识别所有普通 HPV 类型的 E6 蛋白) 的 PBS/2% BSA，平板在室温下孵育 25 分钟。然后平板用 PBS 洗涤 3 次并测量荧光值。

[0665] C) 结果：

[0666] 通过与标准品和对照比较荧光强度值，确定癌症阶段的诊断。

[0667] 实施例 15

[0668] 在使用比色检测的层流试剂条测试中使用快速免疫检测技术检测来自人样品的宫颈癌

[0669] A) 摘要:

[0670] 对实验进行了描述, 其中出于宫颈癌诊断的目的, 通过使用试剂条形式的 (或层流形式的) 快速免疫检测法 (RIA), 致癌 E6-PL 探测分子被用于选择性检测人样本中致癌 E6 蛋白的存在。这一检测法类似于大部分家用一步 hCG 怀孕检验。

[0671] B) 方法:

[0672] 宫颈细胞通过使用常规的宫颈刷 (如 CULTURETTE DIRECT (Becton Dickinson)) 收集并在样品稀释液中重悬。细胞通过离心收集, 细胞沉淀在 200 微升预冷的溶解缓冲液 (50mM Hepes pH7.5、150mM NaCl、1mM EDTA、10% 甘油、1% Triton、10mM 氟化钠、1mM 原钒酸钠、1mM PMSF、1 : 100 稀释的 Calbiochem 蛋白酶抑制剂) 中重悬, 冷却到 5°C, 并轻轻振荡以促进细胞溶解。此时的样品可以运输。细胞溶解物用 PBS/2% BSA 稀释到 500 微升并在检验装置中应用。所述检验装置包括与有色基团偶联的抗 E6 单克隆抗体混合物以及包被在膜上检测区的重组 Magi1 PDZ2 融合蛋白。通过毛细管作用, 溶解的细胞样品在检测区上移动并与浸透的试剂反应, 在检测窗口形成可见的有色条带。样品中致癌 E6 蛋白的存在会导致在检测区形成明显的有色条带, 从而表示对致癌 E6 蛋白的阳性结果。相反地, 如果检测区没有条带出现, 测试为阴性。

[0673] C) 结果:

[0674] 通过对检测区中检测线颜色与阳性和阴性对照之间的比较来校验正确的检验功能, 确定对癌症的诊断。

[0675] 本发明的范围不受举例说明的实施例的限制, 这些实施例是作为本发明单独方面的说明, 并且任何功能上等同的序列包括在本发明的范围以内。当然, 除了这里所展示和描述的那些改变以外, 本发明的多种改变对于精通本领域的人员来说, 通过前面的描述和附图会是显而易见的。这意味着这样的改变属于附属的权利要求的范围。

[0676] 这里引用的所有出版物和在申请者日期页中引用的优先权文件通过参考完整地结合在本申请中。

[0677] 表 9

[0678]

序列编号	名称	gi/acc	结构域
1	26s 亚基 p27	9184389	1
2	AF6	430993	1
3	AIPC	12751451	1
4	AIPC	12751451	2

5	AIPC	12751451	3
6	AIPC	12751451	4
7	α 辅肌动蛋白 -2 相连 LIM 蛋白	2773059	1
8	APXL-1	13651263	1
9	菱缩蛋白 -1 相 相互作用蛋白	2947231	1
10	菱缩蛋白 -1 相 相互作用蛋白	2947231	2
11	菱缩蛋白 -1 相 相互作用蛋白	2947231	3
12	菱缩蛋白 -1 相 相互作用蛋白	2947231	4
13	菱缩蛋白 -1 相 相互作用蛋白	2947231	5
14	菱缩蛋白 -1 相 相互作用蛋白	2947231	6
15	CARD11	12382772	1
16	CARD14	13129123	1
17	CASK	3087815	1
18	连接增强子	3930780	1
19	胞黏蛋白结合 蛋白	3192908	1
20	密蛋白 180	16755892	1
21	DLG1	475816	1

22	DLG1	475816	2
23	DLG1	475816	3
24	DLG2	12736552	1
25	DLG2	12736552	2
26	DLG2	12736552	3
27	DLG5	3650451	1
28	DLG5	3650451	2
29	DLG6, 剪接变体 1	14647140	1
30	DLG6, 剪接变体 2	AB053303	1
31	DVL1	2291005	1
32	DVL2	2291007	1
33	DVL3	6806886	1
34	ELFIN 1	2957144	1
35	ENIGMA	561636	1
36	ERBIN	8923908	1

[0679]

37	EZRIN 结合蛋白 50	3220018	1
38	EZRIN 结合蛋白 50	3220018	2
39	FLJ00011	10440352	1

40	FLJ11215	11436365	1
41	FLJ12428	BC012040	1
42	FLJ12615	10434209	1
43	FLJ20075	7019938	1
44	FLJ21687	10437836	1
45	FLJ31349	AK055911	1
46	FLJ32798	AK057360	1
47	GRIP1	4539083	1
48	GRIP1	4539083	2
49	GRIP1	4539083	3
50	GRIP1	4539083	4
51	GRIP1	4539083	5
52	GRIP1	4539083	6
53	GRIP1	4539083	7
54	GTP 酶激活酶	2389008	1
55	鸟嘌呤交换因子	6650765	1
56	HEMBA 1000505	10436367	1
57	HEMBA 1000505	10436367	2
58	HEMBA 1003117	7022001	1

59	HTRA3	AY040094	1
60	HTRA4	AL576444	1
61	INADL	2370148	1
62	INADL	2370148	2
63	INADL	2370148	3
64	INADL	2370148	4
65	INADL	2370148	5
66	INADL	2370148	6
67	INADL	2370148	7
68	INADL	2370148	8
69	KIAA0147	1469875	1
70	KIAA0147	1469875	2
71	KIAA0147	1469875	3
72	KIAA0147	1469875	4
73	KIAA0303	2224546	1
74	KIAA0313	7657260	1
75	KIAA0316	6683123	1
76	KIAA0340	2224620	1
77	KIAA0380	2224700	1
78	KIAA0382	7662087	1
79	KIAA0440	2662160	1

80	KIAA0545	14762850	1
81	KIAA0559	3043641	1
82	KIAA0561	3043645	1
83	KIAA0613	3327039	1

[0680]

84	KIAA0751	12734165	1
85	KIAA0807	3882334	1
86	KIAA0858	4240204	1
87	KIAA0902	4240292	1
88	KIAA0967	4589577	1
89	KIAA0973	4589589	1
90	KIAA1095	5889526	1
91	KIAA1095	5889526	2
92	KIAA1202	6330421	1
93	KIAA1222	6330610	1
94	KIAA1284	6331369	1
95	KIAA1389	7243158	1
96	KIAA1415	7243210	1
97	KIAA1526	5817166	1
98	KIAA1526	5817166	2
99	KIAA1526	5817166	3

100	KIAA1620	10047316	1
101	KIAA1634	10047344	1
102	KIAA1634	10047344	2
103	KIAA1634	10047344	3
104	K1AA1634	10047344	4
105	KIAA1634	10047344	5
106	KIAA1719	1267982	0
107	KIAA1719	1267982	1
108	KIAA1719	1267982	2
109	KIAA1719	1267982	3
110	KIAA1719	1267982	4
111	KIAA1719	1267982	5
112	KIAA1719	1267982	6
113	LIM Mystique	12734250	1
114	LIM 蛋白	3108092	1
115	LIMK1	4587498	1
116	LIMK2	1805593	1
117	LIM-RIL	1085021	1
118	LU-1	U52111	1
119	Magi1	3370997	1
120	Magi1	3370997	2

121	Magi1	3370997	3
122	Magi1	3370997	4
123	MAG11	3370997	5
124	Magi1	3370997	6
125	MGC5395	BC012477	1
126	MINT1	2625024	1
127	MINT1	2625024	2
128	MINT3	3169808	1
129	MINT3	3169808	2
130	MPP1	189785	1
131	MPP2	939884	1
132	MUPP1	2104784	1
133	MUPP1	2104784	2
134	MUPP1	2104784	3
135	MUPP1	2104784	4
136	MUPP1	2104784	5
137	MUPP1	2104784	6

[0681]

138	MUPP1	2104784	7
139	MUPP1	2104784	8
140	MUPP1	2104784	9

141	MUPP1	2104784	10
142	MUPP1	2104784	11
143	MUPP1	2104784	12
144	MUPP1	2104784	13
145	NeDLG	10863920	1
146	NeDLG	10863920	2
147	NeDLG	10863920	3
148	Neurabin II	AJ401189	1
149	NOS1	642525	1
150	新 PDZ 基因	7228177	1
151	新 PDZ 基因	7228177	2
152	新丝氨酸蛋白 酶	1621243	1
153	Numb 结合蛋 白	AK056823	1
154	Numb 结合蛋 白	AK056823	2
155	Numb 结合蛋 白	AK056823	3
156	Numb 结合蛋 白	AK056823	4
157	外膜	7023825	1
158	p55T	12733367	1

159	PAR3	8037914	1
160	PAR3	8037914	2
161	PAR3	8037914	3
162	PAR6	2613011	1
163	PAR6 γ	13537118	1
164	PDZ-73	5031978	1
165	PDZ-73	5031978	2
166	PDZ-73	5031978	3
167	PDZK1	2944188	1
168	PDZK1	2944188	2
169	PDZK1	2944188	3
170	PDZK1	2944188	4
171	PICK1	4678411	1
172	PIST	98374330	1
173	prlU6	1478492	1
174	prlL16	1478492	2
175	PSD95	3318652	1
176	PSD95	3318652	2
177	PSD95	3318652	3
178	PTN-3	179912	1
179	PTN-4	190747	1

180	PTPL1	515030	1
181	PTPL1	515030	2
182	PTPL1	515030	3
183	PTPL1	515030	4
184	PTPL1	515030	5

[0682]

185	RGS12	3290015	1
186	RGS3	18644735	1
187	Rho 结合蛋白 - like	14279408	1
188	丝氨酸蛋白酶	2738914	1
189	Shank 1	6049185	1
190	Shank 3	*	1
191	Shroom	18652858	1
192	SIP1	2047327	1
193	SIP1	2047327	2
194	SITAC-18	8886071	1
195	SITAC-18	8886071	2
196	SSTRIP	7025450	1
197	SYNTENIN	2795862	1
198	SYNTENIN	2795862	2

199	肌养结合蛋白 1 α	1145727	1
200	肌养结合蛋白 β 2	476700	1
201	肌养结合蛋白 γ 1	9507162	1
202	肌养结合蛋白 γ 2	9507164	1
203	类 TAX2 蛋白	3253116	1
204	TIAM1	4507500	1
205	TIAM2	6912703	1
206	TIP1	2613001	1
207	TIP2	2613003	1
208	TIP33	2613007	1
209	TIP43	2613011	1
210	X-11 β	3005559	1
211	X-11 β	3005559	2
212	ZO-1	292937	1
213	ZO-1	292937	2
214	ZO-1	292937	3
215	ZO-2	12734763	1
216	ZO-2	12734763	2
217	ZO-2	12734763	3

218	ZO-3	10092690	1
219	ZO-3	10092690	2
220	ZO-3	10092690	3
221	HPV4-E6		
222	HPV11-E6		
223	HPV20-E6		
224	HPV24-E6		
225	HPV28-E6		
226	HPV 36-E6		
227	HPV48-E6		
228	HPV 50-E6		
229	HPV 16-E6		
230	HPV 18-E6		
231	HPV31-E6		
232	HPV35-E6		

[0683]

233	HPV 30-E6		
234	HPV 39-E6		
235	HPV 45-E6		
236	HPV 51-E6		
237	HPV 52-E6		

238	HPV56-E6		
239	HPV 59-E6		
240	HPV 58-E6		
241	HPV 33-E6		
242	HPV 66-E6		
243	HPV 68-E6		
244	HPV 69-E6		
245	HPV 26		
246	HPV 53		
247	HPV 66		
248	HPV 73		
249	HPV 82		
250	2548 (1054EF)		
251	2549 (1058ER)		
252	2542 (1050EF)		
253	2543 (1051ER)		
254	2563 (1071EF)		
255	2564 (1072ER)		
256	2565 (1073ERPL)		
257	2560 (1074EF)		

258	2561 (1075ER)		
259	2562 (1076ERPL)		
260	2603 (1080EF)		
261	2604 (1081ER)		
262	2605 (1082ERPL)		
263	2606 (1083EF)		
264	2607 (1084ER)		
265	2608 (1085ERPL)		
266	2612 (1086EF)		
267	2613 (1087ER)		
268	2614 (1088ERP L)		
269	2615 (1089EF)		
270	2616 (1090ER)		
271	2617 (1091ERPL)		
272	GST		
273	1928 (654DL1 2F)		
274	1929 (655DL1 2R)		

275	1453 (435BAF)		
276	1454 (436BAR)		
277	399 (86TAF)		
278	400 (87TAR)		

[0684]

279	1319 (TIPG5-1)		
280	1320 (TIPG3-1)		
281	2753 (1109TIF)		
282	2762 (1117TIR)		
283	2584 (1080TIF)		
284	2585 (1081TIR)		
285	2586 (1082TIR)		
286	2587 (1083TIF)		
287	DLG1, 3 个 PDZ 的结构域 2		
288	Magi1, 6 个 PDZ 的结构域 2		
289	TIP1		
290	TIP1-FL-pGEX		
291	TIP1-Min		
292	TIP1-CD5g		
293	Magi1D2v2		

294	Magi1D2v3		
295	Magi1D2v4		
296	Magi1D2v5		
297	Magi1D2v6		
298	Magi1D2v7		
299	Magi1D2v8		
300	Magi1D2v9		
301	Magi1D2v10		
302	Magi1D2v11		
303	Magi1D2v12		
304	Magi1D2v13		
305	Magi1D2v14		
306	Magi1D2v15		
307	Magi1D2v16		
308	Magi1D2v17		
309	Magi1D2v18		
310	Magi1D2v19		
311	Magi1D2v20		
312	Magi1D2v21		
313	Magi1D2v22		
314	Magi1D2v23		

315	Magi1D2v24		
316	Magi1D2v25		
317	Magi1D2v26		
318	Magi1D2v27		
319	Magi1D2v28		
320	Magi1D2v29		
321	Magi1D2v30		
322	Magi1D2v31		
323	Magi1D2v32		
324	Magi1D2v33		
325	Magi1D2v34		
326	Magi1D2v35		
327	Magi1D2v36		
328	Magi1D2v37		
329	Magi1D2v38		
330	Magi1D2v39		

[0001]

序列表

<110> P.S. 鲁 (Lu, Peter S.)
J. 施韦策 (Schweizer, Johannes)
C.S. 迪亚斯-萨米恩托 (Diaz-Sarmiento, Chamorro Somoza)
M.P. 贝尔马斯 (Belmares, Michael P.)

<120> 诊断宫颈癌的方法

<130> VITA-008W0

<150> 60/409, 298
<151> 2002-09-09

<150> 60/450, 464
<151> 2003-02-27

<150> 10/630, 590
<151> 2003-07-29

<150> 60/490, 094
<151> 2003-07-25

<160> 330

<170> FastSEQ, Windows 版本 4.0

<210> 1
<211> 87
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 1
Arg Asp Met Ala Glu Ala His Lys Glu Ala Met Ser Arg Lys Leu Gly
1 5 10 15
Gln Ser Glu Ser Gln Gly Pro Pro Arg Ala Phe Ala Lys Val Asn Ser
20 25 30
Ile Ser Pro Gly Ser Pro Ser Ile Ala Gly Leu Gln Val Asp Asp Glu
35 40 45
Ile Val Glu Phe Gly Ser Val Asn Thr Gln Asn Phe Gln Ser Leu His
50 55 60
Asn Ile Gly Ser Val Val Gln His Ser Glu Gly Ala Leu Ala Pro Thr
65 70 75 80

[0002]

Ile Leu Leu Ser Val Ser Met
85

<210> 2
<211> 93
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 2
Leu Arg Lys Glu Pro Glu Ile Ile Thr Val Thr Leu Lys Lys Gln Asn
1 5 10 15
Gly Met Gly Leu Ser Ile Val Ala Ala Lys Gly Ala Gly Gln Asp Lys
20 25 30
Leu Gly Ile Tyr Val Lys Ser Val Val Lys Gly Gly Ala Ala Asp Val
35 40 45
Asp Gly Arg Leu Ala Ala Gly Asp Gln Leu Leu Ser Val Asp Gly Arg
50 55 60
Ser Leu Val Gly Leu Ser Gln Glu Arg Ala Ala Glu Leu Met Thr Arg
65 70 75 80
Thr Ser Ser Val Val Thr Leu Glu Val Ala Lys Gln Gly
85 90

<210> 3
<211> 105
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 3
Leu Ile Arg Pro Ser Val Ile Ser Ile Ile Gly Leu Tyr Lys Glu Lys
1 5 10 15
Gly Lys Gly Leu Gly Phe Ser Ile Ala Gly Gly Arg Asp Cys Ile Arg
20 25 30
Gly Gln Met Gly Ile Phe Val Lys Thr Ile Phe Pro Asn Gly Ser Ala
35 40 45
Ala Glu Asp Gly Arg Leu Lys Glu Gly Asp Glu Ile Leu Asp Val Asn
50 55 60
Gly Ile Pro Ile Lys Gly Leu Thr Phe Gln Glu Ala Ile His Thr Phe
65 70 75 80
Lys Gln Ile Arg Ser Gly Leu Phe Val Leu Thr Val Arg Thr Lys Leu
85 90 95
Val Ser Pro Ser Leu Thr Asn Ser Ser
100 105

[0003]

<210> 4
 <211> 132
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 4
 Gly Ile Ser Ser Leu Gly Arg Lys Thr Pro Gly Pro Lys Asp Arg Ile
 1 5 10 15
 Val Met Glu Val Thr Leu Asn Lys Glu Pro Arg Val Gly Leu Gly Ile
 20 25 30
 Gly Ala Cys Cys Leu Ala Leu Glu Asn Ser Pro Pro Gly Ile Tyr Ile
 35 40 45
 His Ser Leu Ala Pro Gly Ser Val Ala Lys Met Glu Ser Asn Leu Ser
 50 55 60
 Arg Gly Asp Gln Ile Leu Glu Val Asn Ser Val Asn Val Arg His Ala
 65 70 75 80
 Ala Leu Ser Lys Val His Ala Ile Leu Ser Lys Cys Pro Pro Gly Pro
 85 90 95
 Val Arg Leu Val Ile Gly Arg His Pro Asn Pro Lys Val Ser Glu Gln
 100 105 110
 Glu Met Asp Glu Val Ile Ala Arg Ser Thr Tyr Gln Glu Ser Lys Glu
 115 120 125
 Ala Asn Ser Ser
 130

<210> 5
 <211> 105
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 5
 Gln Ser Glu Asn Glu Glu Asp Val Cys Phe Ile Val Leu Asn Arg Lys
 1 5 10 15
 Glu Gly Ser Gly Leu Gly Phe Ser Val Ala Gly Gly Thr Asp Val Glu
 20 25 30
 Pro Lys Ser Ile Thr Val His Arg Val Phe Ser Gln Gly Ala Ala Ser
 35 40 45
 Gln Glu Gly Thr Met Asn Arg Gly Asp Phe Leu Leu Ser Val Asn Gly
 50 55 60
 Ala Ser Leu Ala Gly Leu Ala His Gly Asn Val Leu Lys Val Leu His
 65 70 75 80

[0004]

```

Gln Ala Gln Leu His Lys Asp Ala Leu Val Val Ile Lys Lys Gly Met
      85                      90                      95
Asp Gln Pro Arg Pro Ser Asn Ser Ser
      100                      105

```

<210> 6
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 6
Leu Gly Arg Ser Val Ala Val His Asp Ala Leu Cys Val Glu Val Leu
 1          5          10          15
Lys Thr Ser Ala Gly Leu Gly Leu Ser Leu Asp Gly Gly Lys Ser Ser
      20          25          30
Val Thr Gly Asp Gly Pro Leu Val Ile Lys Arg Val Tyr Lys Gly Gly
      35          40          45
Ala Ala Glu Gln Ala Gly Ile Ile Glu Ala Gly Asp Glu Ile Leu Ala
      50          55          60
Ile Asn Gly Lys Pro Leu Val Gly Leu Met His Phe Asp Ala Trp Asn
65          70          75          80
Ile Met Lys Ser Val Pro Glu Gly Pro Val Gln Leu Leu Ile Arg Lys
      85          90          95
His Arg Asn Ser Ser
      100

```

<210> 7
 <211> 74
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 7
Gln Thr Val Ile Leu Pro Gly Pro Ala Ala Trp Gly Phe Arg Leu Ser
 1          5          10          15
Gly Gly Ile Asp Phe Asn Gln Pro Leu Val Ile Thr Arg Ile Thr Pro
      20          25          30
Gly Ser Lys Ala Ala Ala Ala Asn Leu Cys Pro Gly Asp Val Ile Leu
      35          40          45
Ala Ile Asp Gly Phe Gly Thr Glu Ser Met Thr His Ala Asp Gly Gln
      50          55          60
Asp Arg Ile Lys Ala Ala Glu Phe Ile Val
65          70

```

[0005]

<210> 8
 <211> 85
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 8
 Ile Leu Val Glu Val Gln Leu Ser Gly Gly Ala Pro Trp Gly Phe Thr
 1 5 10 15
 Leu Lys Gly Gly Arg Glu His Gly Glu Pro Leu Val Ile Thr Lys Ile
 20 25 30
 Glu Glu Gly Ser Lys Ala Ala Ala Val Asp Lys Leu Leu Ala Gly Asp
 35 40 45
 Glu Ile Val Gly Ile Asn Asp Ile Gly Leu Ser Gly Phe Arg Gln Glu
 50 55 60
 Ala Ile Cys Leu Val Lys Gly Ser His Lys Thr Leu Lys Leu Val Val
 65 70 75 80
 Lys Arg Asn Ser Ser
 85

<210> 9
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 9
 Arg Glu Lys Pro Leu Phe Thr Arg Asp Ala Ser Gln Leu Lys Gly Thr
 1 5 10 15
 Phe Leu Ser Thr Thr Leu Lys Lys Ser Asn Met Gly Phe Gly Phe Thr
 20 25 30
 Ile Ile Gly Gly Asp Glu Pro Asp Glu Phe Leu Gln Val Lys Ser Val
 35 40 45
 Ile Pro Asp Gly Pro Ala Ala Gln Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp
 50 55 60
 Val Ile Val Tyr Ile Asn Glu Val Cys Val Leu Gly His Thr His Ala
 65 70 75 80
 Asp Val Val Lys Leu Phe Gln Ser Val Pro Ile Gly Gln Ser Val Asn
 85 90 95
 Leu Val Leu Cys Arg Gly Tyr Pro
 100

[0006]

<210> 10
 <211> 91
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 10
 Leu Ser Gly Ala Thr Gln Ala Glu Leu Met Thr Leu Thr Ile Val Lys
 1 5 10 15
 Gly Ala Gln Gly Phe Gly Phe Thr Ile Ala Asp Ser Pro Thr Gly Gln
 20 25 30
 Arg Val Lys Gln Ile Leu Asp Ile Gln Gly Cys Pro Gly Leu Cys Glu
 35 40 45
 Gly Asp Leu Ile Val Glu Ile Asn Gln Gln Asn Val Gln Asn Leu Ser
 50 55 60
 His Thr Glu Val Val Asp Ile Leu Lys Asp Cys Pro Ile Gly Ser Glu
 65 70 75 80
 Thr Ser Leu Ile Ile His Arg Gly Gly Phe Phe
 85 90

<210> 11
 <211> 93
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 11
 His Tyr Lys Glu Leu Asp Val His Leu Arg Arg Met Glu Ser Gly Phe
 1 5 10 15
 Gly Phe Arg Ile Leu Gly Gly Asp Glu Pro Gly Gln Pro Ile Leu Ile
 20 25 30
 Gly Ala Val Ile Ala Met Gly Ser Ala Asp Arg Asp Gly Arg Leu His
 35 40 45
 Pro Gly Asp Glu Leu Val Tyr Val Asp Gly Ile Pro Val Ala Gly Lys
 50 55 60
 Thr His Arg Tyr Val Ile Asp Leu Met His His Ala Ala Arg Asn Gly
 65 70 75 80
 Gln Val Asn Leu Thr Val Arg Arg Lys Val Leu Cys Gly
 85 90

<210> 12
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

[0007]

<400> 12

```

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

```

<210> 13

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 13

```

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

```

<210> 14

<211> 90

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0008]

<400> 14

```

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

```

<210> 15

<211> 126

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 15

```

Asn Leu Met Phe Arg Lys Phe Ser Leu Glu Arg Pro Phe Arg Pro Ser
 1             5             10             15
Val Thr Ser Val Gly His Val Arg Gly Pro Gly Pro Ser Val Gln His
          20             25             30
Thr Thr Leu Asn Gly Asp Ser Leu Thr Ser Gln Leu Thr Leu Leu Gly
      35             40             45
Gly Asn Ala Arg Gly Ser Phe Val His Ser Val Lys Pro Gly Ser Leu
      50             55             60
Ala Glu Lys Ala Gly Leu Arg Glu Gly His Gln Leu Leu Leu Leu Glu
65             70             75             80
Gly Cys Ile Arg Gly Glu Arg Gln Ser Val Pro Leu Asp Thr Cys Thr
          85             90             95
Lys Glu Glu Ala His Trp Thr Ile Gln Arg Cys Ser Gly Pro Val Thr
          100             105             110
Leu His Tyr Lys Val Asn His Glu Gly Tyr Arg Lys Leu Val
      115             120             125

```

<210> 16

<211> 100

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0009]

<400> 16

```

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

```

<210> 17

<211> 90

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 17

```

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

```

<210> 18

<211> 88

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 18

[0010]

```

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

```

```

<210> 19
<211> 92
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 19
Gln Arg Lys Leu Val Thr Val Glu Lys Gln Asp Asn Glu Thr Phe Gly
 1             5             10             15
Phe Glu Ile Gln Ser Tyr Arg Pro Gln Asn Gln Asn Ala Cys Ser Ser
          20             25             30
Glu Met Phe Thr Leu Ile Cys Lys Ile Gln Glu Asp Ser Pro Ala His
          35             40             45
Cys Ala Gly Leu Gln Ala Gly Asp Val Leu Ala Asn Ile Asn Gly Val
          50             55             60
Ser Thr Glu Gly Phe Thr Tyr Lys Gln Val Val Asp Leu Ile Arg Ser
65             70             75             80
Ser Gly Asn Leu Leu Thr Ile Glu Thr Leu Asn Gly
          85             90

```

```

<210> 20
<211> 109
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 20
Arg Cys Leu Ile Gln Thr Lys Gly Gln Arg Ser Met Asp Gly Tyr Pro
 1             5             10             15
Glu Gln Phe Cys Val Arg Ile Glu Lys Asn Pro Gly Leu Gly Phe Ser
          20             25             30

```

[0011]

```

Ile Ser Gly Gly Ile Ser Gly Gln Gly Asn Pro Phe Lys Pro Ser Asp
    35              40              45
Lys Gly Ile Phe Val Thr Arg Val Gln Pro Asp Gly Pro Ala Ser Asn
    50              55              60
Leu Leu Gln Pro Gly Asp Lys Ile Leu Gln Ala Asn Gly His Ser Phe
    65              70              75              80
Val His Met Glu His Glu Lys Ala Val Leu Leu Leu Lys Ser Phe Gln
              85              90              95
Asn Thr Val Asp Leu Val Ile Gln Arg Glu Leu Thr Val
    100              105

```

<210> 21
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 21
Ile Gln Val Asn Gly Thr Asp Ala Asp Tyr Glu Tyr Glu Glu Ile Thr
  1              5              10              15
Leu Glu Arg Gly Asn Ser Gly Leu Gly Phe Ser Ile Ala Gly Gly Thr
    20              25              30
Asp Asn Pro His Ile Gly Asp Asp Ser Ser Ile Phe Ile Thr Lys Ile
    35              40              45
Ile Thr Gly Gly Ala Ala Ala Gln Asp Gly Arg Leu Arg Val Asn Asp
    50              55              60
Cys Ile Leu Gln Val Asn Glu Val Asp Val Arg Asp Val Thr His Ser
    65              70              75              80
Lys Ala Val Glu Ala Leu Lys Glu Ala Gly Ser Ile Val Arg Leu Tyr
              85              90              95
Val Lys Arg Arg Asn
    100

```

<210> 22
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 22
Ile Gln Leu Ile Lys Gly Pro Lys Gly Leu Gly Phe Ser Ile Ala Gly
  1              5              10              15
Gly Val Gly Asn Gln His Ile Pro Gly Asp Asn Ser Ile Tyr Val Thr
    20              25              30

```

[0012]

```

Lys Ile Ile Glu Gly Gly Ala Ala His Lys Asp Gly Lys Leu Gln Ile
      35              40              45
Gly Asp Lys Leu Leu Ala Val Asn Asn Val Cys Leu Glu Glu Val Thr
      50              55              60
His Glu Glu Ala Val Thr Ala Leu Lys Asn Thr Ser Asp Phe Val Tyr
      65              70              75              80
Leu Lys Val Ala Lys Pro Thr Ser Met Tyr Met Asn Asp Gly Asn
              85              90              95

```

<210> 23
 <211> 85
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 23
Ile Leu His Arg Gly Ser Thr Gly Leu Gly Phe Asn Ile Val Gly Gly
  1              5              10              15
Glu Asp Gly Glu Gly Ile Phe Ile Ser Phe Ile Leu Ala Gly Gly Pro
      20              25              30
Ala Asp Leu Ser Gly Glu Leu Arg Lys Gly Asp Arg Ile Ile Ser Val
      35              40              45
Asn Ser Val Asp Leu Arg Ala Ala Ser His Glu Gln Ala Ala Ala Ala
      50              55              60
Leu Lys Asn Ala Gly Gln Ala Val Thr Ile Val Ala Gln Tyr Arg Pro
      65              70              75              80
Glu Glu Tyr Ser Arg
              85

```

<210> 24
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 24
Ile Ser Tyr Val Asn Gly Thr Glu Ile Glu Tyr Glu Phe Glu Glu Ile
  1              5              10              15
Thr Leu Glu Arg Gly Asn Ser Gly Leu Gly Phe Ser Ile Ala Gly Gly
      20              25              30
Thr Asp Asn Pro His Ile Gly Asp Asp Pro Gly Ile Phe Ile Thr Lys
      35              40              45
Ile Ile Pro Gly Gly Ala Ala Ala Glu Asp Gly Arg Leu Arg Val Asn
      50              55              60

```

[0013]

```

Asp Cys Ile Leu Arg Val Asn Glu Val Asp Val Ser Glu Val Ser His
65          70          75          80
Ser Lys Ala Val Glu Ala Leu Lys Glu Ala Gly Ser Ile Val Arg Leu
          85          90          95
Tyr Val Arg Arg Arg
          100

```

<210> 25
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 25
Ile Ser Val Val Glu Ile Lys Leu Phe Lys Gly Pro Lys Gly Leu Gly
1          5          10          15
Phe Ser Ile Ala Gly Gly Val Gly Asn Gln His Ile Pro Gly Asp Asn
          20          25          30
Ser Ile Tyr Val Thr Lys Ile Ile Asp Gly Gly Ala Ala Gln Lys Asp
          35          40          45
Gly Arg Leu Gln Val Gly Asp Arg Leu Leu Met Val Asn Asn Tyr Ser
          50          55          60
Leu Glu Glu Val Thr His Glu Glu Ala Val Ala Ile Leu Lys Asn Thr
65          70          75          80
Ser Glu Val Val Tyr Leu Lys Val Gly Asn Pro Thr Thr Ile
          85          90

```

<210> 26
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 26
Ile Trp Ala Val Ser Leu Glu Gly Glu Pro Arg Lys Val Val Leu His
1          5          10          15
Lys Gly Ser Thr Gly Leu Gly Phe Asn Ile Val Gly Gly Glu Asp Gly
          20          25          30
Glu Gly Ile Phe Val Ser Phe Ile Leu Ala Gly Gly Pro Ala Asp Leu
          35          40          45
Ser Gly Glu Leu Gln Arg Gly Asp Gln Ile Leu Ser Val Asn Gly Ile
          50          55          60
Asp Leu Arg Gly Ala Ser His Glu Gln Ala Ala Ala Ala Leu Lys Gly
65          70          75          80

```

[0014]

Ala Gly Gln Thr Val Thr Ile Ile Ala Gln Tyr Gln Pro Glu Asp
85 90 95

<210> 27

<211> 102

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 27

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

<210> 28

<211> 103

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 28

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

[0015]

Glu Glu Phe Ile Val Thr Asp
100

<210> 29
<211> 141
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 29
Pro Thr Ser Pro Glu Ile Gln Glu Leu Arg Gln Met Leu Gln Ala Pro
1 5 10 15
His Phe Lys Ala Leu Leu Ser Ala His Asp Thr Ile Ala Gln Lys Asp
20 25 30
Phe Glu Pro Leu Leu Pro Pro Leu Pro Asp Asn Ile Pro Glu Ser Glu
35 40 45
Glu Ala Met Arg Ile Val Cys Leu Val Lys Asn Gln Gln Pro Leu Gly
50 55 60
Ala Thr Ile Lys Arg His Glu Met Thr Gly Asp Ile Leu Val Ala Arg
65 70 75 80
Ile Ile His Gly Gly Leu Ala Glu Arg Ser Gly Leu Leu Tyr Ala Gly
85 90 95
Asp Lys Leu Val Glu Val Asn Gly Val Ser Val Glu Gly Leu Asp Pro
100 105 110
Glu Gln Val Ile His Ile Leu Ala Met Ser Arg Gly Thr Ile Met Phe
115 120 125
Lys Val Val Pro Val Ser Asp Pro Pro Val Asn Ser Ser
130 135 140

<210> 30
<211> 97
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 30
Pro Thr Ser Pro Glu Ile Gln Glu Leu Arg Gln Met Leu Gln Ala Pro
1 5 10 15
His Phe Lys Gly Ala Thr Ile Lys Arg His Glu Met Thr Gly Asp Ile
20 25 30
Leu Val Ala Arg Ile Ile His Gly Gly Leu Ala Glu Arg Ser Gly Leu
35 40 45
Leu Tyr Ala Gly Asp Lys Leu Val Glu Val Asn Gly Val Ser Val Glu
50 55 60

[0016]

Gly Leu Asp Pro Glu Gln Val Ile His Ile Leu Ala Met Ser Arg Gly
65 70 75 80
Thr Ile Met Phe Lys Val Val Pro Val Ser Asp Pro Pro Val Asn Ser
85 90 95
Ser

<210> 31
<211> 93
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 31																
Leu	Asn	Ile	Val	Thr	Val	Thr	Leu	Asn	Met	Glu	Arg	His	His	Phe	Leu	
1				5				10						15		
Gly	Ile	Ser	Ile	Val	Gly	Gln	Ser	Asn	Asp	Arg	Gly	Asp	Gly	Gly	Ile	
			20					25					30			
Tyr	Ile	Gly	Ser	Ile	Met	Lys	Gly	Gly	Ala	Val	Ala	Ala	Asp	Gly	Arg	
		35					40					45				
Ile	Glu	Pro	Gly	Asp	Met	Leu	Leu	Gln	Val	Asn	Asp	Val	Asn	Phe	Glu	
	50					55				60						
Asn	Met	Ser	Asn	Asp	Asp	Ala	Val	Arg	Val	Leu	Arg	Glu	Ile	Val	Ser	
65					70					75					80	
Gln	Thr	Gly	Pro	Ile	Ser	Leu	Thr	Val	Ala	Lys	Cys	Trp				
				85					90							

<210> 32
<211> 100
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 32																
Leu	Asn	Ile	Ile	Thr	Val	Thr	Leu	Asn	Met	Glu	Lys	Tyr	Asn	Phe	Leu	
1				5				10						15		
Gly	Ile	Ser	Ile	Val	Gly	Gln	Ser	Asn	Glu	Arg	Gly	Asp	Gly	Gly	Ile	
			20					25					30			
Tyr	Ile	Gly	Ser	Ile	Met	Lys	Gly	Gly	Ala	Val	Ala	Ala	Asp	Gly	Arg	
		35					40					45				
Ile	Glu	Pro	Gly	Asp	Met	Leu	Leu	Gln	Val	Asn	Asp	Met	Asn	Phe	Glu	
	50					55					60					
Asn	Met	Ser	Asn	Asp	Asp	Ala	Val	Arg	Val	Leu	Arg	Asp	Ile	Val	His	
65					70					75					80	

[0017]

Lys Pro Gly Pro Ile Val Leu Thr Val Ala Lys Cys Trp Asp Pro Ser
 85 90 95
 Pro Gln Asn Ser
 100

<210> 33
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 33
 Ile Ile Thr Val Thr Leu Asn Met Glu Lys Tyr Asn Phe Leu Gly Ile
 1 5 10 15
 Ser Ile Val Gly Gln Ser Asn Glu Arg Gly Asp Gly Gly Ile Tyr Ile
 20 25 30
 Gly Ser Ile Met Lys Gly Gly Ala Val Ala Ala Asp Gly Arg Ile Glu
 35 40 45
 Pro Gly Asp Met Leu Leu Gln Val Asn Glu Ile Asn Phe Glu Asn Met
 50 55 60
 Ser Asn Asp Asp Ala Val Arg Val Leu Arg Glu Ile Val His Lys Pro
 65 70 75 80
 Gly Pro Ile Thr Leu Thr Val Ala Lys Cys Trp Asp Pro Ser Pro
 85 90 95

<210> 34
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 34
 Thr Thr Gln Gln Ile Asp Leu Gln Gly Pro Gly Pro Trp Gly Phe Arg
 1 5 10 15
 Leu Val Gly Arg Lys Asp Phe Glu Gln Pro Leu Ala Ile Ser Arg Val
 20 25 30
 Thr Pro Gly Ser Lys Ala Ala Leu Ala Asn Leu Cys Ile Gly Asp Val
 35 40 45
 Ile Thr Ala Ile Asp Gly Glu Asn Thr Ser Asn Met Thr His Leu Glu
 50 55 60
 Ala Gln Asn Arg Ile Lys Gly Cys Thr Asp Asn Leu Thr Leu Thr Val
 65 70 75 80
 Ala Arg Ser Glu His Lys Val Trp Ser Pro Leu Val
 85 90

[0018]

<210> 35
 <211> 89
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 35
 Ile Phe Met Asp Ser Phe Lys Val Val Leu Glu Gly Pro Ala Pro Trp
 1 5 10 15
 Gly Phe Arg Leu Gln Gly Gly Lys Asp Phe Asn Val Pro Leu Ser Ile
 20 25 30
 Ser Arg Leu Thr Pro Gly Gly Lys Ala Ala Gln Ala Gly Val Ala Val
 35 40 45
 Gly Asp Trp Val Leu Ser Ile Asp Gly Glu Asn Ala Gly Ser Leu Thr
 50 55 60
 His Ile Glu Ala Gln Asn Lys Ile Arg Ala Cys Gly Glu Arg Leu Ser
 65 70 75 80
 Leu Gly Leu Ser Arg Ala Gln Pro Val
 85

<210> 36
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 36
 Gln Gly His Glu Leu Ala Lys Gln Glu Ile Arg Val Arg Val Glu Lys
 1 5 10 15
 Asp Pro Glu Leu Gly Phe Ser Ile Ser Gly Gly Val Gly Gly Arg Gly
 20 25 30
 Asn Pro Phe Arg Pro Asp Asp Asp Gly Ile Phe Val Thr Arg Val Gln
 35 40 45
 Pro Glu Gly Pro Ala Ser Lys Leu Leu Gln Pro Gly Asp Lys Ile Ile
 50 55 60
 Gln Ala Asn Gly Tyr Ser Phe Ile Asn Ile Glu His Gly Gln Ala Val
 65 70 75 80
 Ser Leu Leu Lys Thr Phe Gln Asn Thr Val Glu Leu Ile Ile Val Arg
 85 90 95
 Glu Val Ser Ser
 100

[0019]

<210> 37
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 37
 Ile Leu Cys Cys Leu Glu Lys Gly Pro Asn Gly Tyr Gly Phe His Leu
 1 5 10 15
 His Gly Glu Lys Gly Lys Leu Gly Gln Tyr Ile Arg Leu Val Glu Pro
 20 25 30
 Gly Ser Pro Ala Glu Lys Ala Gly Leu Leu Ala Gly Asp Arg Leu Val
 35 40 45
 Glu Val Asn Gly Glu Asn Val Glu Lys Glu Thr His Gln Gln Val Val
 50 55 60
 Ser Arg Ile Arg Ala Ala Leu Asn Ala Val Arg Leu Leu Val Val Asp
 65 70 75 80
 Pro Glu Phe Ile Val Thr Asp
 85

<210> 38
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 38
 Ile Arg Leu Cys Thr Met Lys Lys Gly Pro Ser Gly Tyr Gly Phe Asn
 1 5 10 15
 Leu His Ser Asp Lys Ser Lys Pro Gly Gln Phe Ile Arg Ser Val Asp
 20 25 30
 Pro Asp Ser Pro Ala Glu Ala Ser Gly Leu Arg Ala Gln Asp Arg Ile
 35 40 45
 Val Glu Val Asn Gly Val Cys Met Glu Gly Lys Gln His Gly Asp Val
 50 55 60
 Val Ser Ala Ile Arg Ala Gly Gly Asp Glu Thr Lys Leu Leu Val Val
 65 70 75 80
 Asp Arg Glu Thr Asp Glu Phe Phe Met Asn Ser Ser
 85 90

<210> 39
 <211> 107
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

[0020]

<400> 39

```

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

```

<210> 40

<211> 97

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 40

```

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

```

<210> 41

<211> 88

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0021]

<400> 41

```

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

```

<210> 42

<211> 97

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 42

```

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

```

<210> 43

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 43

[0022]

```

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

```

```

<210> 44
<211> 104
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 44
Lys Pro Ser Gln Ala Ser Gly His Phe Ser Val Glu Leu Val Arg Gly
 1             5             10             15
Tyr Ala Gly Phe Gly Leu Thr Leu Gly Gly Gly Arg Asp Val Ala Gly
      20             25             30
Asp Thr Pro Leu Ala Val Arg Gly Leu Leu Lys Asp Gly Pro Ala Gln
      35             40             45
Arg Cys Gly Arg Leu Glu Val Gly Asp Leu Val Leu His Ile Asn Gly
      50             55             60
Glu Ser Thr Gln Gly Leu Thr His Ala Gln Ala Val Glu Arg Ile Arg
65             70             75             80
Ala Gly Gly Pro Gln Leu His Leu Val Ile Arg Arg Pro Leu Glu Thr
      85             90             95
His Pro Gly Lys Pro Arg Gly Val
      100

```

```

<210> 45
<211> 107
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 45

```

[0023]

```

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

```

<210> 46
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 46
Leu Asp Asp Glu Glu Asp Ser Val Lys Ile Ile Arg Leu Val Lys Asn
 1             5             10             15
Arg Glu Pro Leu Gly Ala Thr Ile Lys Lys Asp Glu Gln Thr Gly Ala
          20             25             30
Ile Ile Val Ala Arg Ile Met Arg Gly Gly Ala Ala Asp Arg Ser Gly
      35             40             45
Leu Ile His Val Gly Asp Glu Leu Arg Glu Val Asn Gly Ile Pro Val
      50             55             60
Glu Asp Lys Arg Pro Glu Glu Ile Ile Gln Ile Leu Ala Gln Ser Gln
65             70             75             80
Gly Ala Ile Thr Phe Lys Ile Ile Pro Gly Ser Lys Glu Glu Thr Pro
          85             90             95
Ser Asn Ser Ser
          100

```

<210> 47
 <211> 83
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 47

[0024]

```

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

```

<210> 48
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 48
Arg Ser Ser Val Ile Phe Arg Thr Val Glu Val Thr Leu His Lys Glu
  1             5             10             15
Gly Asn Thr Phe Gly Phe Val Ile Arg Gly Gly Ala His Asp Asp Arg
      20             25             30
Asn Lys Ser Arg Pro Val Val Ile Thr Cys Val Arg Pro Gly Gly Pro
      35             40             45
Ala Asp Arg Glu Gly Thr Ile Lys Pro Gly Asp Arg Leu Leu Ser Val
      50             55             60
Asp Gly Ile Arg Leu Leu Gly Thr Thr His Ala Glu Ala Met Ser Ile
65             70             75             80
Leu Lys Gln Cys Gly Gln Glu Ala Ala Leu Leu Ile Glu Tyr Asp Val
      85             90             95
Ser Val Met Asp Ser Val Ala Thr Ala Ser Gly Asn Ser Ser
      100             105             110

```

<210> 49
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 49
His Val Ala Thr Ala Ser Gly Pro Leu Leu Val Glu Val Ala Lys Thr
  1             5             10             15

```

[0025]

```

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

```

<210> 50
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 50
Thr Glu Thr Thr Glu Val Val Leu Thr Ala Asp Pro Val Thr Gly Phe
  1                      5                      10                      15
Gly Ile Gln Leu Gln Gly Ser Val Phe Ala Thr Glu Thr Leu Ser Ser
      20                      25                      30
Pro Pro Leu Ile Ser Tyr Ile Glu Ala Asp Ser Pro Ala Glu Arg Cys
      35                      40                      45
Gly Val Leu Gln Ile Gly Asp Arg Val Met Ala Ile Asn Gly Ile Pro
      50                      55                      60
Thr Glu Asp Ser Thr Phe Glu Glu Ala Ser Gln Leu Leu Arg Asp Ser
      65                      70                      75                      80
Ser Ile Thr Ser Lys Val Thr Leu Glu Ile Glu Phe Asp Val Ala Glu
      85                      90                      95
Ser

```

<210> 51
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 51
Ala Glu Ser Val Ile Pro Ser Ser Gly Thr Phe His Val Lys Leu Pro
  1                      5                      10                      15

```

[0026]

```

Lys Lys His Asn Val Glu Leu Gly Ile Thr Ile Ser Ser Pro Ser Ser
      20              25              30
Arg Lys Pro Gly Asp Pro Leu Val Ile Ser Asp Ile Lys Lys Gly Ser
      35              40              45
Val Ala His Arg Thr Gly Thr Leu Glu Leu Gly Asp Lys Leu Leu Ala
      50              55              60
Ile Asp Asn Ile Arg Leu Asp Asn Cys Ser Met Glu Asp Ala Val Gln
65              70              75              80
Ile Leu Gln Gln Cys Glu Asp Leu Val Lys Leu Lys Ile Arg Lys Asp
      85              90              95
Glu Asp Asn Ser Asp
      100

```

<210> 52
 <211> 90
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 52
Ile Tyr Thr Val Glu Leu Lys Arg Tyr Gly Gly Pro Leu Gly Ile Thr
  1              5              10              15
Ile Ser Gly Thr Glu Glu Pro Phe Asp Pro Ile Ile Ile Ser Ser Leu
      20              25              30
Thr Lys Gly Gly Leu Ala Glu Arg Thr Gly Ala Ile His Ile Gly Asp
      35              40              45
Arg Ile Leu Ala Ile Asn Ser Ser Ser Leu Lys Gly Lys Pro Leu Ser
      50              55              60
Glu Ala Ile His Leu Leu Gln Met Ala Gly Glu Thr Val Thr Leu Lys
65              70              75              80
Ile Lys Lys Gln Thr Asp Ala Gln Ser Ala
      85              90

```

<210> 53
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 53
Ile Met Ser Pro Thr Pro Val Glu Leu His Lys Val Thr Leu Tyr Lys
  1              5              10              15
Asp Ser Asp Met Glu Asp Phe Gly Phe Ser Val Ala Asp Gly Leu Leu
      20              25              30

```

[0027]

```

Glu Lys Gly Val Tyr Val Lys Asn Ile Arg Pro Ala Gly Pro Gly Asp
    35                40                45
Leu Gly Gly Leu Lys Pro Tyr Asp Arg Leu Leu Gln Val Asn His Val
    50                55                60
Arg Thr Arg Asp Phe Asp Cys Cys Leu Val Val Pro Leu Ile Ala Glu
65                70                75                80
Ser Gly Asn Lys Leu Asp Leu Val Ile Ser Arg Asn Pro Leu Ala
    85                90                95

```

<210> 54
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 54
Ser Arg Gly Cys Glu Thr Arg Glu Leu Ala Leu Pro Arg Asp Gly Gln
 1                5                10                15
Gly Arg Leu Gly Phe Glu Val Asp Ala Glu Gly Phe Val Thr His Val
    20                25                30
Glu Arg Phe Thr Phe Ala Glu Thr Ala Gly Leu Arg Pro Gly Ala Arg
    35                40                45
Leu Leu Arg Val Cys Gly Gln Thr Leu Pro Ser Leu Arg Pro Glu Ala
    50                55                60
Ala Ala Gln Leu Leu Arg Ser Ala Pro Lys Val Cys Val Thr Val Leu
65                70                75                80
Pro Pro Asp Glu Ser Gly Arg Pro
    85

```

<210> 55
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 55
Ala Lys Ala Lys Trp Arg Gln Val Val Leu Gln Lys Ala Ser Arg Glu
 1                5                10                15
Ser Pro Leu Gln Phe Ser Leu Asn Gly Gly Ser Glu Lys Gly Phe Gly
    20                25                30
Ile Phe Val Glu Gly Val Glu Pro Gly Ser Lys Ala Ala Asp Ser Gly
    35                40                45
Leu Lys Arg Gly Asp Gln Ile Met Glu Val Asn Gly Gln Asn Phe Glu
    50                55                60

```

[0028]

```

Asn Ile Thr Phe Met Lys Ala Val Glu Ile Leu Arg Asn Asn Thr His
65              70              75              80
Leu Ala Leu Thr Val Lys Thr Asn Ile Phe Val Phe Lys Glu Leu
              85              90              95

```

```

<210> 56
<211> 89
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 56
Leu Glu Asn Val Ile Ala Lys Ser Leu Leu Ile Lys Ser Asn Glu Gly
 1              5              10              15
Ser Tyr Gly Phe Gly Leu Glu Asp Lys Asn Lys Val Pro Ile Ile Lys
              20              25              30
Leu Val Glu Lys Gly Ser Asn Ala Glu Met Ala Gly Met Glu Val Gly
              35              40              45
Lys Lys Ile Phe Ala Ile Asn Gly Asp Leu Val Phe Met Arg Pro Phe
 50              55              60
Asn Glu Val Asp Cys Phe Leu Lys Ser Cys Leu Asn Ser Arg Lys Pro
65              70              75              80
Leu Arg Val Leu Val Ser Thr Lys Pro
              85

```

```

<210> 57
<211> 82
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 57
Pro Arg Glu Thr Val Lys Ile Pro Asp Ser Ala Asp Gly Leu Gly Phe
 1              5              10              15
Gln Ile Arg Gly Phe Gly Pro Ser Val Val His Ala Val Gly Arg Gly
              20              25              30
Thr Val Ala Ala Ala Ala Gly Leu His Pro Gly Gln Cys Ile Ile Lys
              35              40              45
Val Asn Gly Ile Asn Val Ser Lys Glu Thr His Ala Ser Val Ile Ala
 50              55              60
His Val Thr Ala Cys Arg Lys Tyr Arg Arg Pro Thr Lys Gln Asp Ser
65              70              75              80
Ile Gln

```

[0029]

<210> 58
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 58
 Glu Asp Phe Cys Tyr Val Phe Thr Val Glu Leu Glu Arg Gly Pro Ser
 1 5 10 15
 Gly Leu Gly Met Gly Leu Ile Asp Gly Met His Thr His Leu Gly Ala
 20 25 30
 Pro Gly Leu Tyr Ile Gln Thr Leu Leu Pro Gly Ser Pro Ala Ala Ala
 35 40 45
 Asp Gly Arg Leu Ser Leu Gly Asp Arg Ile Leu Glu Val Asn Gly Ser
 50 55 60
 Ser Leu Leu Gly Leu Gly Tyr Leu Arg Ala Val Asp Leu Ile Arg His
 65 70 75 80
 Gly Gly Lys Lys Met Arg Phe Leu Val Ala Lys Ser Asp Val Glu Thr
 85 90 95
 Ala Lys Lys Ile
 100

<210> 59
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 59
 Leu Thr Glu Phe Gln Asp Lys Gln Ile Lys Asp Trp Lys Lys Arg Phe
 1 5 10 15
 Ile Gly Ile Arg Met Arg Thr Ile Thr Pro Ser Leu Val Asp Glu Leu
 20 25 30
 Lys Ala Ser Asn Pro Asp Phe Pro Glu Val Ser Ser Gly Ile Tyr Val
 35 40 45
 Gln Glu Val Ala Pro Asn Ser Pro Ser Gln Arg Gly Gly Ile Gln Asp
 50 55 60
 Gly Asp Ile Ile Val Lys Val Asn Gly Arg Pro Leu Val Asp Ser Ser
 65 70 75 80
 Glu Leu Gln Glu Ala Val Leu Thr Glu Ser Pro Leu Leu Leu Glu Val
 85 90 95
 Arg Arg Gly Asn Asp Asp Leu Leu Phe Ser Asn Ser Ser
 100 105

[0030]

<210> 60
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 60
 His Lys Lys Tyr Leu Gly Leu Gln Met Leu Ser Leu Thr Val Pro Leu
 1 5 10 15
 Ser Glu Glu Leu Lys Met His Tyr Pro Asp Phe Pro Asp Val Ser Ser
 20 25 30
 Gly Val Tyr Val Cys Lys Val Val Glu Gly Thr Ala Ala Gln Ser Ser
 35 40 45
 Gly Leu Arg Asp His Asp Val Ile Val Asn Ile Asn Gly Lys Pro Ile
 50 55 60
 Thr Thr Thr Thr Asp Val Val Lys Ala Leu Asp Ser Asp Ser Leu Ser
 65 70 75 80
 Met Ala Val Leu Arg Gly Lys Asp Asn Leu Leu Leu Thr Val Asn Ser
 85 90 95
 Ser

<210> 61
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 61
 Ile Trp Gln Ile Glu Tyr Ile Asp Ile Glu Arg Pro Ser Thr Gly Gly
 1 5 10 15
 Leu Gly Phe Ser Val Val Ala Leu Arg Ser Gln Asn Leu Gly Lys Val
 20 25 30
 Asp Ile Phe Val Lys Asp Val Gln Pro Gly Ser Val Ala Asp Arg Asp
 35 40 45
 Gln Arg Leu Lys Glu Asn Asp Gln Ile Leu Ala Ile Asn His Thr Pro
 50 55 60
 Leu Asp Gln Asn Ile Ser His Gln Gln Ala Ile Ala Leu Leu Gln Gln
 65 70 75 80
 Thr Thr Gly Ser Leu Arg Leu Ile Val Ala Arg Glu Pro Val His Thr
 85 90 95
 Lys Ser Ser Thr Ser Ser Ser Glu
 100

[0031]

<210> 62
 <211> 78
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 62
 Pro Gly His Val Glu Glu Val Glu Leu Ile Asn Asp Gly Ser Gly Leu
 1 5 10 15
 Gly Phe Gly Ile Val Gly Gly Lys Thr Ser Gly Val Val Val Arg Thr
 20 25 30
 Ile Val Pro Gly Gly Leu Ala Asp Arg Asp Gly Arg Leu Gln Thr Gly
 35 40 45
 Asp His Ile Leu Lys Ile Gly Gly Thr Asn Val Gln Gly Met Thr Ser
 50 55 60
 Glu Gln Val Ala Gln Val Leu Arg Asn Cys Gly Asn Ser Ser
 65 70 75

<210> 63
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 63
 Pro Gly Ser Asp Ser Ser Leu Phe Glu Thr Tyr Asn Val Glu Leu Val
 1 5 10 15
 Arg Lys Asp Gly Gln Ser Leu Gly Ile Arg Ile Val Gly Tyr Val Gly
 20 25 30
 Thr Ser His Thr Gly Glu Ala Ser Gly Ile Tyr Val Lys Ser Ile Ile
 35 40 45
 Pro Gly Ser Ala Ala Tyr His Asn Gly His Ile Gln Val Asn Asp Lys
 50 55 60
 Ile Val Ala Val Asp Gly Val Asn Ile Gln Gly Phe Ala Asn His Asp
 65 70 75 80
 Val Val Glu Val Leu Arg Asn Ala Gly Gln Val Val His Leu Thr Leu
 85 90 95
 Val Arg Arg Lys Thr Ser Ser Ser Thr Ser Arg Ile His Arg Asp
 100 105 110

<210> 64
 <211> 96

[0032]

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 64

```

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

```

<210> 65

<211> 102

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 65

```

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

```

<210> 66

<211> 119

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0033]

<400> 66

```

Pro Asn Phe Ser His Trp Gly Pro Pro Arg Ile Val Glu Ile Phe Arg
 1             5             10             15
Glu Pro Asn Val Ser Leu Gly Ile Ser Ile Val Val Gly Gln Thr Val
      20             25             30
Ile Lys Arg Leu Lys Asn Gly Glu Glu Leu Lys Gly Ile Phe Ile Lys
      35             40             45
Gln Val Leu Glu Asp Ser Pro Ala Gly Lys Thr Asn Ala Leu Lys Thr
      50             55             60
Gly Asp Lys Ile Leu Glu Val Ser Gly Val Asp Leu Gln Asn Ala Ser
65             70             75             80
His Ser Glu Ala Val Glu Ala Ile Lys Asn Ala Gly Asn Pro Val Val
      85             90             95
Phe Ile Val Gln Ser Leu Ser Ser Thr Pro Arg Val Ile Pro Asn Val
      100            105            110
His Asn Lys Ala Asn Ser Ser
      115

```

<210> 67

<211> 99

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 67

```

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

```

<210> 68

<211> 93

[0034]

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 68

```

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

```

<210> 69

<211> 103

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 69

```

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

```

<210> 70

<211> 97

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0035]

<400> 70

```

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

```

<210> 71

<211> 106

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 71

```

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

```

<210> 72

<211> 105

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0036]

<400> 72

```

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

```

<210> 73

<211> 91

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 73

```

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

```

<210> 74

<211> 105

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 74

[0037]

```

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

```

<210> 75
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 75
Ile Pro Pro Ala Pro Arg Lys Val Glu Met Arg Arg Asp Pro Val Leu
 1           5           10           15
Gly Phe Gly Phe Val Ala Gly Ser Glu Lys Pro Val Val Val Arg Ser
          20           25           30
Val Thr Pro Gly Gly Pro Ser Glu Gly Lys Leu Ile Pro Gly Asp Gln
          35           40           45
Ile Val Met Ile Asn Asp Glu Pro Val Ser Ala Ala Pro Arg Glu Arg
          50           55           60
Val Ile Asp Leu Val Arg Ser Cys Lys Glu Ser Ile Leu Leu Thr Val
65           70           75           80
Ile Gln Pro Tyr Pro Ser Pro Lys
          85

```

<210> 76
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 76
Leu Asn Lys Arg Thr Thr Met Pro Lys Asp Ser Gly Ala Leu Leu Gly
 1           5           10           15

```

[0038]

```

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

```

<210> 77
 <211> 79
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 77
Gln Arg Cys Val Ile Ile Gln Lys Asp Gln His Gly Phe Gly Phe Thr
  1              5              10              15
Val Ser Gly Asp Arg Ile Val Leu Val Gln Ser Val Arg Pro Gly Gly
      20              25              30
Ala Ala Met Lys Ala Gly Val Lys Glu Gly Asp Arg Ile Ile Lys Val
      35              40              45
Asn Gly Thr Met Val Thr Asn Ser Ser His Leu Glu Val Val Lys Leu
      50              55              60
Ile Lys Ser Gly Ala Tyr Val Ala Leu Thr Leu Leu Gly Ser Ser
      65              70              75

```

<210> 78
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 78
Ile Leu Val Gln Arg Cys Val Ile Ile Gln Lys Asp Asp Asn Gly Phe
  1              5              10              15
Gly Leu Thr Val Ser Gly Asp Asn Pro Val Phe Val Gln Ser Val Lys
      20              25              30
Glu Asp Gly Ala Ala Met Arg Ala Gly Val Gln Thr Gly Asp Arg Ile
      35              40              45

```

[0039]

```

Ile Lys Val Asn Gly Thr Leu Val Thr His Ser Asn His Leu Glu Val
  50                      55                      60
Val Lys Leu Ile Lys Ser Gly Ser Tyr Val Ala Leu Thr Val Gln Gly
  65                      70                      75                      80
Arg Pro Pro Gly Asn Ser Ser
                      85

```

```

<210> 79
<211> 79
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 79
Ser Val Glu Met Thr Leu Arg Arg Asn Gly Leu Gly Gln Leu Gly Phe
  1                      5                      10                      15
His Val Asn Tyr Glu Gly Ile Val Ala Asp Val Glu Pro Tyr Gly Tyr
          20                      25                      30
Ala Trp Gln Ala Gly Leu Arg Gln Gly Ser Arg Leu Val Glu Ile Cys
          35                      40                      45
Lys Val Ala Val Ala Thr Leu Ser His Glu Gln Met Ile Asp Leu Leu
          50                      55                      60
Arg Thr Ser Val Thr Val Lys Val Val Ile Ile Pro Pro His Asp
  65                      70                      75

```

```

<210> 80
<211> 96
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 80
Leu Lys Val Met Thr Ser Gly Trp Glu Thr Val Asp Met Thr Leu Arg
  1                      5                      10                      15
Arg Asn Gly Leu Gly Gln Leu Gly Phe His Val Lys Tyr Asp Gly Thr
          20                      25                      30
Val Ala Glu Val Glu Asp Tyr Gly Phe Ala Trp Gln Ala Gly Leu Arg
          35                      40                      45
Gln Gly Ser Arg Leu Val Glu Ile Cys Lys Val Ala Val Val Thr Leu
          50                      55                      60
Thr His Asp Gln Met Ile Asp Leu Leu Arg Thr Ser Val Thr Val Lys
  65                      70                      75                      80
Val Val Ile Ile Pro Pro Phe Glu Asp Gly Thr Pro Arg Arg Gly Trp
          85                      90                      95

```

[0040]

<210> 81
 <211> 105
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 81
 His Tyr Ile Phe Pro His Ala Arg Ile Lys Ile Thr Arg Asp Ser Lys
 1 5 10 15
 Asp His Thr Val Ser Gly Asn Gly Leu Gly Ile Arg Ile Val Gly Gly
 20 25 30
 Lys Glu Ile Pro Gly His Ser Gly Glu Ile Gly Ala Tyr Ile Ala Lys
 35 40 45
 Ile Leu Pro Gly Gly Ser Ala Glu Gln Thr Gly Lys Leu Met Glu Gly
 50 55 60
 Met Gln Val Leu Glu Trp Asn Gly Ile Pro Leu Thr Ser Lys Thr Tyr
 65 70 75 80
 Glu Glu Val Gln Ser Ile Ile Ser Gln Gln Ser Gly Glu Ala Glu Ile
 85 90 95
 Cys Val Arg Leu Asp Leu Asn Met Leu
 100 105

<210> 82
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 82
 Leu Cys Gly Ser Leu Arg Pro Pro Ile Val Ile His Ser Ser Gly Lys
 1 5 10 15
 Lys Tyr Gly Phe Ser Leu Arg Ala Ile Arg Val Tyr Met Gly Asp Ser
 20 25 30
 Asp Val Tyr Thr Val His His Val Val Trp Ser Val Glu Asp Gly Ser
 35 40 45
 Pro Ala Gln Glu Ala Gly Leu Arg Ala Gly Asp Leu Ile Thr His Ile
 50 55 60
 Asn Gly Glu Ser Val Leu Gly Leu Val His Met Asp Val Val Glu Leu
 65 70 75 80
 Leu Leu Lys Ser Gly Asn Lys Ile Ser Leu Arg Thr Thr Ala Leu Glu
 85 90 95
 Asn Thr Ser Ile Lys Val Gly
 100

[0041]

<210> 83
 <211> 86
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 83
 Ser Tyr Ser Val Thr Leu Thr Gly Pro Gly Pro Trp Gly Phe Arg Leu
 1 5 10 15
 Gln Gly Gly Lys Asp Phe Asn Met Pro Leu Thr Ile Ser Arg Ile Thr
 20 25 30
 Pro Gly Ser Lys Ala Ala Gln Ser Gln Leu Ser Gln Gly Asp Leu Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Asp Gly Val Asn Thr Asp Thr Met Thr His Leu Glu Ala
 50 55 60
 Gln Asn Lys Ile Lys Ser Ala Ser Tyr Asn Leu Ser Leu Thr Leu Gln
 65 70 75 80
 Lys Ser Lys Asn Ser Ser
 85

<210> 84
 <211> 91
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 84
 Ile Ser Arg Asp Ser Gly Ala Met Leu Gly Leu Lys Val Val Gly Gly
 1 5 10 15
 Lys Met Thr Glu Ser Gly Arg Leu Cys Ala Phe Ile Thr Lys Val Lys
 20 25 30
 Lys Gly Ser Leu Ala Asp Thr Val Gly His Leu Arg Pro Gly Asp Glu
 35 40 45
 Val Leu Glu Trp Asn Gly Arg Leu Leu Gln Gly Ala Thr Phe Glu Glu
 50 55 60
 Val Tyr Asn Ile Ile Leu Glu Ser Lys Pro Glu Pro Gln Val Glu Leu
 65 70 75 80
 Val Val Ser Arg Pro Ile Ala Ile His Arg Asp
 85 90

<210> 85
 <211> 101

[0042]

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 85

```

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

```

<210> 86

<211> 94

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 86

```

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

```

<210> 87

<211> 98

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0043]

<400> 87

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

<210> 88

<211> 100

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 88

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

<210> 89

<211> 93

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0044]

<400> 89

```

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

```

<210> 90

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 90

```

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

```

<210> 91

<211> 101

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 91

[0045]

[illegible]

<210> 92
<211> 91
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 92

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

```
<210> 93
<211> 102
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
```

<400> 93
Ile Leu Glu Lys Leu Glu Leu Phe Pro Val Glu Leu Glu Lys Asp Glu
1 5 10 15

[0046]

```

Asp Gly Leu Gly Ile Ser Ile Ile Gly Met Gly Val Gly Ala Asp Ala
    20                      25                      30
Gly Leu Glu Lys Leu Gly Ile Phe Val Lys Thr Val Thr Glu Gly Gly
    35                      40                      45
Ala Ala Gln Arg Asp Gly Arg Ile Gln Val Asn Asp Gln Ile Val Glu
    50                      55                      60
Val Asp Gly Ile Ser Leu Val Gly Val Thr Gln Asn Phe Ala Ala Thr
    65                      70                      75                      80
Val Leu Arg Asn Thr Lys Gly Asn Val Arg Phe Val Ile Gly Arg Glu
    85                      90                      95
Lys Pro Gly Gln Val Ser
    100

```

<210> 94
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 94
Lys Asp Val Asn Val Tyr Val Asn Pro Lys Lys Leu Thr Val Ile Lys
  1                      5                      10                      15
Ala Lys Glu Gln Leu Lys Leu Leu Glu Val Leu Val Gly Ile Ile His
    20                      25                      30
Gln Thr Lys Trp Ser Trp Arg Arg Thr Gly Lys Gln Gly Asp Gly Glu
    35                      40                      45
Arg Leu Val Val His Gly Leu Leu Pro Gly Gly Ser Ala Met Lys Ser
    50                      55                      60
Gly Gln Val Leu Ile Gly Asp Val Leu Val Ala Val Asn Asp Val Asp
    65                      70                      75                      80
Val Thr Thr Glu Asn Ile Glu Arg Val Leu Ser Cys Ile Pro Gly Pro
    85                      90                      95
Met Gln Val Lys Leu Thr Phe Glu Asn Ala Tyr Asp Val Lys Arg Glu
    100                      105                      110
Thr

```

<210> 95
 <211> 90
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 95

[0047]

```

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

```

<210> 96
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 96
Val Glu Asn Ile Leu Ala Lys Arg Leu Leu Ile Leu Pro Gln Glu Glu
 1           5           10           15
Asp Tyr Gly Phe Asp Ile Glu Glu Lys Asn Lys Ala Val Val Val Lys
          20           25           30
Ser Val Gln Arg Gly Ser Leu Ala Glu Val Ala Gly Leu Gln Val Gly
          35           40           45
Arg Lys Ile Tyr Ser Ile Asn Glu Asp Leu Val Phe Leu Arg Pro Phe
 50           55           60
Ser Glu Val Glu Ser Ile Leu Asn Gln Ser Phe Cys Ser Arg Arg Pro
65           70           75           80
Leu Arg Leu Leu Val Ala Thr Lys Ala Lys Glu Ile Ile Lys Ile Pro
          85           90           95

```

<210> 97
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 97
Pro Asp Ser Ala Gly Pro Gly Glu Val Arg Leu Val Ser Leu Arg Arg
 1           5           10           15
Ala Lys Ala His Glu Gly Leu Gly Phe Ser Ile Arg Gly Gly Ser Glu
          20           25           30

```

[0048]

```

His Gly Val Gly Ile Tyr Val Ser Leu Val Glu Pro Gly Ser Leu Ala
    35                40                45
Glu Lys Glu Gly Leu Arg Val Gly Asp Gln Ile Leu Arg Val Asn Asp
    50                55                60
Lys Ser Leu Ala Arg Val Thr His Ala Glu Ala Val Lys Ala Leu Lys
    65                70                75                80
Gly Ser Lys Lys Leu Val Leu Ser Val Tyr Ser Ala Gly Arg Ile Pro
                85                90                95
Gly Gly Tyr Val Thr Asn His
                100

```

<210> 98
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 98
Leu Gln Gly Gly Asp Glu Lys Lys Val Asn Leu Val Leu Gly Asp Gly
  1                5                10                15
Arg Ser Leu Gly Leu Thr Ile Arg Gly Gly Ala Glu Tyr Gly Leu Gly
                20                25                30
Ile Tyr Ile Thr Gly Val Asp Pro Gly Ser Glu Ala Glu Gly Ser Gly
                35                40                45
Leu Lys Val Gly Asp Gln Ile Leu Glu Val Asn Trp Arg Ser Phe Leu
    50                55                60
Asn Ile Leu His Asp Glu Ala Val Arg Leu Leu Lys Ser Ser Arg His
    65                70                75                80
Leu Ile Leu Thr Val Lys Asp Val Gly Arg Leu Pro His Ala Arg Thr
                85                90                95
Thr Val Asp Glu
                100

```

<210> 99
 <211> 87
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 99
Trp Thr Ser Gly Ala His Val His Ser Gly Pro Cys Glu Glu Lys Cys
  1                5                10                15
Gly His Pro Gly His Arg Gln Pro Leu Pro Arg Ile Val Thr Ile Gln
                20                25                30

```

[0049]

```

Arg Gly Gly Ser Ala His Asn Cys Gly Gln Leu Lys Val Gly His Val
    35                40                45
Ile Leu Glu Val Asn Gly Leu Thr Leu Arg Gly Lys Glu His Arg Glu
    50                55                60
Ala Ala Arg Ile Ile Ala Glu Ala Phe Lys Thr Lys Asp Arg Asp Tyr
65                70                75                80
Ile Asp Phe Leu Asp Ser Leu
                85

```

<210> 100
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 100
Glu Leu Arg Arg Ala Glu Leu Val Glu Ile Ile Val Glu Thr Glu Ala
 1                5                10                15
Gln Thr Gly Val Ser Gly Ile Asn Val Ala Gly Gly Gly Lys Glu Gly
    20                25                30
Ile Phe Val Arg Glu Leu Arg Glu Asp Ser Pro Ala Ala Arg Ser Leu
    35                40                45
Ser Leu Gln Glu Gly Asp Gln Leu Leu Ser Ala Arg Val Phe Phe Glu
    50                55                60
Asn Phe Lys Tyr Glu Asp Ala Leu Arg Leu Leu Gln Cys Ala Glu Pro
65                70                75                80
Tyr Lys Val Ser Phe Cys Leu Lys Arg Thr Val Pro Thr Gly Asp Leu
    85                90                95
Ala Leu Arg Pro
                100

```

<210> 101
 <211> 102
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 101
Pro Ser Gln Leu Lys Gly Val Leu Val Arg Ala Ser Leu Lys Lys Ser
 1                5                10                15
Thr Met Gly Phe Gly Phe Thr Ile Ile Gly Gly Asp Arg Pro Asp Glu
    20                25                30
Phe Leu Gln Val Lys Asn Val Leu Lys Asp Gly Pro Ala Ala Gln Asp
    35                40                45

```

[0050]

Gly Lys Ile Ala Pro Gly Asp Val Ile Val Asp Ile Asn Gly Asn Cys
 50 55 60
 Val Leu Gly His Thr His Ala Asp Val Val Gln Met Phe Gln Leu Val
 65 70 75 80
 Pro Val Asn Gln Tyr Val Asn Leu Thr Leu Cys Arg Gly Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Pro Asp Asp Ser Glu Asp
 100

<210> 102
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 102
 Ala Ser Ser Gly Ser Ser Gln Pro Glu Leu Val Thr Ile Pro Leu Ile
 1 5 10 15
 Lys Gly Pro Lys Gly Phe Gly Phe Ala Ile Ala Asp Ser Pro Thr Gly
 20 25 30
 Gln Lys Val Lys Met Ile Leu Asp Ser Gln Trp Cys Gln Gly Leu Gln
 35 40 45
 Lys Gly Asp Ile Ile Lys Glu Ile Tyr His Gln Asn Val Gln Asn Leu
 50 55 60
 Thr His Leu Gln Val Val Glu Val Leu Lys Gln Phe Pro Val Gly Ala
 65 70 75 80
 Asp Val Pro Leu Leu Ile Leu Arg Gly Gly Pro Pro Ser Pro Thr Lys
 85 90 95
 Thr Ala Lys Met
 100

<210> 103
 <211> 143
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 103
 Leu Tyr Glu Asp Lys Pro Pro Leu Thr Asn Thr Phe Leu Ile Ser Asn
 1 5 10 15
 Pro Arg Thr Thr Ala Asp Pro Arg Ile Leu Tyr Glu Asp Lys Pro Pro
 20 25 30
 Asn Thr Lys Asp Leu Asp Val Phe Leu Arg Lys Gln Glu Ser Gly Phe
 35 40 45

[0051]

```

Gly Phe Arg Val Leu Gly Gly Asp Gly Pro Asp Gln Ser Ile Tyr Ile
  50                      55                      60
Gly Ala Ile Ile Pro Leu Gly Ala Ala Glu Lys Asp Gly Arg Leu Arg
  65                      70                      75                      80
Ala Ala Asp Glu Leu Met Cys Ile Asp Gly Ile Pro Val Lys Gly Lys
                      85                      90                      95
Ser His Lys Gln Val Leu Asp Leu Met Thr Thr Ala Ala Arg Asn Gly
                      100                      105                      110
His Val Leu Leu Thr Val Arg Arg Lys Ile Phe Tyr Gly Glu Lys Gln
                      115                      120                      125
Pro Glu Asp Asp Ser Gly Ser Pro Gly Ile His Arg Glu Leu Thr
                      130                      135                      140

```

<210> 104
 <211> 102
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 104
Pro Ala Pro Gln Glu Pro Tyr Asp Val Val Leu Gln Arg Lys Glu Asn
  1                      5                      10                      15
Glu Gly Phe Gly Phe Val Ile Leu Thr Ser Lys Asn Lys Pro Pro Pro
                      20                      25                      30
Gly Val Ile Pro His Lys Ile Gly Arg Val Ile Glu Gly Ser Pro Ala
                      35                      40                      45
Asp Arg Cys Gly Lys Leu Lys Val Gly Asp His Ile Ser Ala Val Asn
                      50                      55                      60
Gly Gln Ser Ile Val Glu Leu Ser His Asp Asn Ile Val Gln Leu Ile
  65                      70                      75                      80
Lys Asp Ala Gly Val Thr Val Thr Leu Thr Val Ile Ala Glu Glu Glu
                      85                      90                      95
His His Gly Pro Pro Ser
                      100

```

<210> 105
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 105
Gln Asn Leu Gly Cys Tyr Pro Val Glu Leu Glu Arg Gly Pro Arg Gly
  1                      5                      10                      15

```

[0052]

```

Phe Gly Phe Ser Leu Arg Gly Gly Lys Glu Tyr Asn Met Gly Leu Phe
      20                      25                      30
Ile Leu Arg Leu Ala Glu Asp Gly Pro Ala Ile Lys Asp Gly Arg Ile
      35                      40                      45
His Val Gly Asp Gln Ile Val Glu Ile Asn Gly Glu Pro Thr Gln Gly
      50                      55                      60
Ile Thr His Thr Arg Ala Ile Glu Leu Ile Gln Ala Gly Gly Asn Lys
      65                      70                      75                      80
Val Leu Leu Leu Leu Arg Pro Gly Thr Gly Leu Ile Pro Asp His Gly
      85                      90                      95
Leu Ala

```

```

<210> 106
<211> 84
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 106
Ile Thr Val Val Glu Leu Ile Lys Lys Glu Gly Ser Thr Leu Gly Leu
  1              5              10              15
Thr Ile Ser Gly Gly Thr Asp Lys Asp Gly Lys Pro Arg Val Ser Asn
      20              25              30
Leu Arg Pro Gly Gly Leu Ala Ala Arg Ser Asp Leu Leu Asn Ile Gly
      35              40              45
Asp Tyr Ile Arg Ser Val Asn Gly Ile His Leu Thr Arg Leu Arg His
      50              55              60
Asp Glu Ile Ile Thr Leu Leu Lys Asn Val Gly Glu Arg Val Val Leu
      65              70              75              80
Glu Val Glu Tyr

```

```

<210> 107
<211> 92
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 107
Ile Leu Asp Val Ser Leu Tyr Lys Glu Gly Asn Ser Phe Gly Phe Val
  1              5              10              15
Leu Arg Gly Gly Ala His Glu Asp Gly His Lys Ser Arg Pro Leu Val
      20              25              30

```

[0053]

```

Leu Thr Tyr Val Arg Pro Gly Gly Pro Ala Asp Arg Glu Gly Ser Leu
    35                40                45
Lys Val Gly Asp Arg Leu Leu Ser Val Asp Gly Ile Pro Leu His Gly
    50                55                60
Ala Ser His Ala Thr Ala Leu Ala Thr Leu Arg Gln Cys Ser His Glu
    65                70                75                80
Ala Leu Phe Gln Val Glu Tyr Asp Val Ala Thr Pro
                85                90

```

<210> 108
 <211> 102
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 108
Ile His Thr Val Ala Asn Ala Ser Gly Pro Leu Met Val Glu Ile Val
  1                5                10                15
Lys Thr Pro Gly Ser Ala Leu Gly Ile Ser Leu Thr Thr Thr Ser Leu
    20                25                30
Arg Asn Lys Ser Val Ile Thr Ile Asp Arg Ile Lys Pro Ala Ser Val
    35                40                45
Val Asp Arg Ser Gly Ala Leu His Pro Gly Asp His Ile Leu Ser Ile
    50                55                60
Asp Gly Thr Ser Met Glu His Cys Ser Leu Leu Glu Ala Thr Lys Leu
    65                70                75                80
Leu Ala Ser Ile Ser Glu Lys Val Arg Leu Glu Ile Leu Pro Val Pro
    85                90                95
Gln Ser Gln Arg Pro Leu
                100

```

<210> 109
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 109
Ile Gln Ile Val His Thr Glu Thr Thr Glu Val Val Leu Cys Gly Asp
  1                5                10                15
Pro Leu Ser Gly Phe Gly Leu Gln Leu Gln Gly Gly Ile Phe Ala Thr
    20                25                30
Glu Thr Leu Ser Ser Pro Pro Leu Val Cys Phe Ile Glu Pro Asp Ser
    35                40                45

```

[0054]

```

Pro Ala Glu Arg Cys Gly Leu Leu Gln Val Gly Asp Arg Val Leu Ser
   50                      55                      60
Ile Asn Gly Ile Ala Thr Glu Asp Gly Thr Met Glu Glu Ala Asn Gln
  65                      70                      75                      80
Leu Leu Arg Asp Ala Ala Leu Ala His Lys Val Val Leu Glu Val Glu
                      85                      90                      95
Phe Asp Val Ala Glu Ser Val
                100

```

<210> 110
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 110
Ile Gln Phe Asp Val Ala Glu Ser Val Ile Pro Ser Ser Gly Thr Phe
  1                      5                      10                      15
His Val Lys Leu Pro Lys Lys Arg Ser Val Glu Leu Gly Ile Thr Ile
                20                      25                      30
Ser Ser Ala Ser Arg Lys Arg Gly Glu Pro Leu Ile Ile Ser Asp Ile
                35                      40                      45
Lys Lys Gly Ser Val Ala His Arg Thr Gly Thr Leu Glu Pro Gly Asp
                50                      55                      60
Lys Leu Leu Ala Ile Asp Asn Ile Arg Leu Asp Asn Cys Pro Met Glu
  65                      70                      75                      80
Asp Ala Val Gln Ile Leu Arg Gln Cys Glu Asp Leu Val Lys Leu Lys
                85                      90                      95
Ile Arg Lys Asp Glu Asp Asn
                100

```

<210> 111
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 111
Ile Gln Thr Thr Gly Ala Val Ser Tyr Thr Val Glu Leu Lys Arg Tyr
  1                      5                      10                      15
Gly Gly Pro Leu Gly Ile Thr Ile Ser Gly Thr Glu Glu Pro Phe Asp
                20                      25                      30
Pro Ile Val Ile Ser Gly Leu Thr Lys Arg Gly Leu Ala Glu Arg Thr
                35                      40                      45

```

[0055]

Gly Ala Ile His Val Gly Asp Arg Ile Leu Ala Ile Asn Asn Val Ser
 50 55 60
 Leu Lys Gly Arg Pro Leu Ser Glu Ala Ile His Leu Leu Gln Val Ala
 65 70 75 80
 Gly Glu Thr Val Thr Leu Lys Ile Lys Lys Gln Leu Asp Arg
 85 90

<210> 112
 <211> 105
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 112
 Ile Leu Glu Met Glu Glu Leu Leu Leu Pro Thr Pro Leu Glu Met His
 1 5 10 15
 Lys Val Thr Leu His Lys Asp Pro Met Arg His Asp Phe Gly Phe Ser
 20 25 30
 Val Ser Asp Gly Leu Leu Glu Lys Gly Val Tyr Val His Thr Val Arg
 35 40 45
 Pro Asp Gly Pro Ala His Arg Gly Gly Leu Gln Pro Phe Asp Arg Val
 50 55 60
 Leu Gln Val Asn His Val Arg Thr Arg Asp Phe Asp Cys Cys Leu Ala
 65 70 75 80
 Val Pro Leu Leu Ala Glu Ala Gly Asp Val Leu Glu Leu Ile Ile Ser
 85 90 95
 Arg Lys Pro His Thr Ala His Ser Ser
 100 105

<210> 113
 <211> 91
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 113
 Met Ala Leu Thr Val Asp Val Ala Gly Pro Ala Pro Trp Gly Phe Arg
 1 5 10 15
 Ile Thr Gly Gly Arg Asp Phe His Thr Pro Ile Met Val Thr Lys Val
 20 25 30
 Ala Glu Arg Gly Lys Ala Lys Asp Ala Asp Leu Arg Pro Gly Asp Ile
 35 40 45
 Ile Val Ala Ile Asn Gly Glu Ser Ala Glu Gly Met Leu His Ala Glu
 50 55 60

[0056]

Ala Gln Ser Lys Ile Arg Gln Ser Pro Ser Pro Leu Arg Leu Gln Leu
65 70 75 80
Asp Arg Ser Gln Ala Thr Ser Pro Gly Gln Thr
85 90

<210> 114
<211> 84
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 114
Ser Asn Tyr Ser Val Ser Leu Val Gly Pro Ala Pro Trp Gly Phe Arg
1 5 10 15
Leu Gln Gly Gly Lys Asp Phe Asn Met Pro Leu Thr Ile Ser Ser Leu
20 25 30
Lys Asp Gly Gly Lys Ala Ala Gln Ala Asn Val Arg Ile Gly Asp Val
35 40 45
Val Leu Ser Ile Asp Gly Ile Asn Ala Gln Gly Met Thr His Leu Glu
50 55 60
Ala Gln Asn Lys Ile Lys Gly Cys Thr Gly Ser Leu Asn Met Thr Leu
65 70 75 80
Gln Arg Ala Ser

<210> 115
<211> 133
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 115															
Thr	Leu	Val	Glu	His	Ser	Lys	Leu	Tyr	Cys	Gly	His	Cys	Tyr	Tyr	Gln
1				5					10					15	
Thr	Val	Val	Thr	Pro	Val	Ile	Glu	Gln	Ile	Leu	Pro	Asp	Ser	Pro	Gly
			20					25					30		
Ser	His	Leu	Pro	His	Thr	Val	Thr	Leu	Val	Ser	Ile	Pro	Ala	Ser	Ser
		35					40					45			
His	Gly	Lys	Arg	Gly	Leu	Ser	Val	Ser	Ile	Asp	Pro	Pro	His	Gly	Pro
	50					55				60					
Pro	Gly	Cys	Gly	Thr	Glu	His	Ser	His	Thr	Val	Arg	Val	Gln	Gly	Val
65					70					75				80	
Asp	Pro	Gly	Cys	Met	Ser	Pro	Asp	Val	Lys	Asn	Ser	Ile	His	Val	Gly
				85					90					95	

[0057]

```

Asp Arg Ile Leu Glu Ile Asn Gly Thr Pro Ile Arg Asn Val Pro Leu
      100                105                110
Asp Glu Ile Asp Leu Leu Ile Gln Glu Thr Ser Arg Leu Leu Gln Leu
      115                120                125
Thr Leu Glu His Asp
      130

```

<210> 116
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 116
Pro Tyr Ser Val Thr Leu Ile Ser Met Pro Ala Thr Thr Glu Gly Arg
  1                5                10                15
Arg Gly Phe Ser Val Ser Val Glu Ser Ala Cys Ser Asn Tyr Ala Thr
      20                25                30
Thr Val Gln Val Lys Glu Val Asn Arg Met His Ile Ser Pro Asn Asn
      35                40                45
Arg Asn Ala Ile His Pro Gly Asp Arg Ile Leu Glu Ile Asn Gly Thr
      50                55                60
Pro Val Arg Thr Leu Arg Val Glu Glu Val Glu Asp Ala Ile Ser Gln
      65                70                75                80
Thr Ser Gln Thr Leu Gln Leu Leu Ile Glu His Asp
      85                90

```

<210> 117
 <211> 82
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 117
Ile His Ser Val Thr Leu Arg Gly Pro Ser Pro Trp Gly Phe Arg Leu
  1                5                10                15
Val Gly Arg Asp Phe Ser Ala Pro Leu Thr Ile Ser Arg Val His Ala
      20                25                30
Gly Ser Lys Ala Ser Leu Ala Ala Leu Cys Pro Gly Asp Leu Ile Gln
      35                40                45
Ala Ile Asn Gly Glu Ser Thr Glu Leu Met Thr His Leu Glu Ala Gln
      50                55                60
Asn Arg Ile Lys Gly Cys His Asp His Leu Thr Leu Ser Val Ser Arg
      65                70                75                80

```

[0058]

Pro Glu

<210> 118

<211> 74

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 118

```

Val Cys Tyr Arg Thr Asp Asp Glu Glu Asp Leu Gly Ile Tyr Val Gly
 1           5           10           15
Glu Val Asn Pro Asn Ser Ile Ala Ala Lys Asp Gly Arg Ile Arg Glu
          20           25           30
Gly Asp Arg Ile Ile Gln Ile Asn Gly Val Asp Val Gln Asn Arg Glu
          35           40           45
Glu Ala Val Ala Ile Leu Ser Gln Glu Glu Asn Thr Asn Ile Ser Leu
          50           55           60
Leu Val Ala Arg Pro Glu Ser Gln Leu Ala
65           70

```

<210> 119

<211> 103

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 119

```

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

```

[0059]

<210> 120
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 120
 Pro Ser Glu Leu Lys Gly Lys Phe Ile His Thr Lys Leu Arg Lys Ser
 1 5 10 15
 Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu Pro Asp Glu
 20 25 30
 Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala Ala Leu Asp
 35 40 45
 Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn Asp Thr Cys
 50 55 60
 Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe Gln Ser Ile
 65 70 75 80
 Pro Ile Gly Ala Ser Val Asp Leu Glu Leu Cys Arg Gly Tyr Pro Leu
 85 90 95
 Pro Phe Asp Pro Asp Asp Pro Asn
 100

<210> 121
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 121
 Pro Ala Thr Gln Pro Glu Leu Ile Thr Val His Ile Val Lys Gly Pro
 1 5 10 15
 Met Gly Phe Gly Phe Thr Ile Ala Asp Ser Pro Gly Gly Gly Gly Gln
 20 25 30
 Arg Val Lys Gln Ile Val Asp Ser Pro Arg Cys Arg Gly Leu Lys Glu
 35 40 45
 Gly Asp Leu Ile Val Glu Val Asn Lys Lys Asn Val Gln Ala Leu Thr
 50 55 60
 His Asn Gln Val Val Asp Met Leu Val Glu Cys Pro Lys Gly Ser Glu
 65 70 75 80
 Val Thr Leu Leu Val Gln Arg Gly Gly Asn Leu Ser
 85 90

<210> 122
 <211> 102

[0060]

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 122

```

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

```

<210> 123

<211> 112

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 123

```

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

```

<210> 124

<211> 91

[0061]

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 124

```

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

```

<210> 125

<211> 100

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 125

```

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

```

<210> 126

<211> 97

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0062]

<400> 126

```

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

```

<210> 127

<211> 92

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 127

```

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

```

<210> 128

<211> 103

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 128

[0063]

```

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

```

<210> 129
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 129
Leu Val His Cys Pro Pro Val Thr Thr Ala Ile Ile His Arg Pro His
 1             5             10             15
Ala Arg Glu Gln Leu Gly Phe Cys Val Glu Asp Gly Ile Ile Cys Ser
      20             25             30
Leu Leu Arg Gly Gly Ile Ala Glu Arg Gly Gly Ile Arg Val Gly His
      35             40             45
Arg Ile Ile Glu Ile Asn Gly Gln Ser Val Val Ala Thr Pro His Ala
      50             55             60
Arg Ile Ile Glu Leu Leu Thr Glu Ala Tyr Gly Glu Val His Ile Lys
65             70             75             80
Thr Met Pro Ala Ala Thr Tyr Arg Leu Leu Thr Gly
      85             90

```

<210> 130
 <211> 86
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 130
Arg Lys Val Arg Leu Ile Gln Phe Glu Lys Val Thr Glu Glu Pro Met
 1             5             10             15

```

[0064]

Gly Ile Thr Leu Lys Leu Asn Glu Lys Gln Ser Cys Thr Val Ala Arg
 20 25 30
 Ile Leu His Gly Gly Met Ile His Arg Gln Gly Ser Leu His Val Gly
 35 40 45
 Asp Glu Ile Leu Glu Ile Asn Gly Thr Asn Val Thr Asn His Ser Val
 50 55 60
 Asp Gln Leu Gln Lys Ala Met Lys Glu Thr Lys Gly Met Ile Ser Leu
 65 70 75 80
 Lys Val Ile Pro Asn Gln
 85

<210> 131

<211> 89

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 131

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

<210> 132

<211> 99

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 132

Gln Gly Arg His Val Glu Val Phe Glu Leu Leu Lys Pro Pro Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Leu Gly Phe Ser Val Val Gly Leu Arg Ser Glu Asn Arg Gly Glu
 20 25 30
 Leu Gly Ile Phe Val Gln Glu Ile Gln Glu Gly Ser Val Ala His Arg
 35 40 45

[0065]

```

Asp Gly Arg Leu Lys Glu Thr Asp Gln Ile Leu Ala Ile Asn Gly Gln
 50                      55                      60
Ala Leu Asp Gln Thr Ile Thr His Gln Gln Ala Ile Ser Ile Leu Gln
65                      70                      75                      80
Lys Ala Lys Asp Thr Val Gln Leu Val Ile Ala Arg Gly Ser Leu Pro
                      85                      90                      95
Gln Leu Val

```

<210> 133
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 133
Pro Val His Trp Gln His Met Glu Thr Ile Glu Leu Val Asn Asp Gly
 1                      5                      10                      15
Ser Gly Leu Gly Phe Gly Ile Ile Gly Gly Lys Ala Thr Gly Val Ile
                      20                      25                      30
Val Lys Thr Ile Leu Pro Gly Gly Val Ala Asp Gln His Gly Arg Leu
                      35                      40                      45
Cys Ser Gly Asp His Ile Leu Lys Ile Gly Asp Thr Asp Leu Ala Gly
 50                      55                      60
Met Ser Ser Glu Gln Val Ala Gln Val Leu Arg Gln Cys Gly Asn Arg
65                      70                      75                      80
Val Lys Leu Met Ile Ala Arg Gly Ala Ile Glu Glu Arg Thr Ala Pro
                      85                      90                      95
Thr

```

<210> 134
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 134
Gln Glu Ser Glu Thr Phe Asp Val Glu Leu Thr Lys Asn Val Gln Gly
 1                      5                      10                      15
Leu Gly Ile Thr Ile Ala Gly Tyr Ile Gly Asp Lys Lys Leu Glu Pro
                      20                      25                      30
Ser Gly Ile Phe Val Lys Ser Ile Thr Lys Ser Ser Ala Val Glu His
                      35                      40                      45

```

[0066]

```

Asp Gly Arg Ile Gln Ile Gly Asp Gln Ile Ile Ala Val Asp Gly Thr
  50                      55                      60
Asn Leu Gln Gly Phe Thr Asn Gln Gln Ala Val Glu Val Leu Arg His
65                      70                      75                      80
Thr Gly Gln Thr Val Leu Leu Thr Leu Met Arg Arg Gly Met Lys Gln
                      85                      90                      95
Glu Ala

```

<210> 135
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 135
Leu Asn Tyr Glu Ile Val Val Ala His Val Ser Lys Phe Ser Glu Asn
  1                      5                      10                      15
Ser Gly Leu Gly Ile Ser Leu Glu Ala Thr Val Gly His His Phe Ile
                      20                      25                      30
Arg Ser Val Leu Pro Glu Gly Pro Val Gly His Ser Gly Lys Leu Phe
                      35                      40                      45
Ser Gly Asp Glu Leu Leu Glu Val Asn Gly Ile Thr Leu Leu Gly Glu
                      50                      55                      60
Asn His Gln Asp Val Val Asn Ile Leu Lys Glu Leu Pro Ile Glu Val
65                      70                      75                      80
Thr Met Val Cys Cys Arg Arg Thr Val Pro Pro Thr
                      85                      90

```

<210> 136
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 136
Trp Glu Ala Gly Ile Gln His Ile Glu Leu Glu Lys Gly Ser Lys Gly
  1                      5                      10                      15
Leu Gly Phe Ser Ile Leu Asp Tyr Gln Asp Pro Ile Asp Pro Ala Ser
                      20                      25                      30
Thr Val Ile Ile Ile Arg Ser Leu Val Pro Gly Gly Ile Ala Glu Lys
                      35                      40                      45
Asp Gly Arg Leu Leu Pro Gly Asp Arg Leu Met Phe Val Asn Asp Val
50                      55                      60

```

[0067]

```

Asn Leu Glu Asn Ser Ser Leu Glu Glu Ala Val Glu Ala Leu Lys Gly
65              70              75              80
Ala Pro Ser Gly Thr Val Arg Ile Gly Val Ala Lys Pro Leu Pro Leu
              85              90              95
Ser Pro Glu Glu
              100

```

<210> 137
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 137
Arg Asn Val Ser Lys Glu Ser Phe Glu Arg Thr Ile Asn Ile Ala Lys
1              5              10              15
Gly Asn Ser Ser Leu Gly Met Thr Val Ser Ala Asn Lys Asp Gly Leu
              20              25              30
Gly Met Ile Val Arg Ser Ile Ile His Gly Gly Ala Ile Ser Arg Asp
              35              40              45
Gly Arg Ile Ala Ile Gly Asp Cys Ile Leu Ser Ile Asn Glu Glu Ser
50              55              60
Thr Ile Ser Val Thr Asn Ala Gln Ala Arg Ala Met Leu Arg Arg His
65              70              75              80
Ser Leu Ile Gly Pro Asp Ile Lys Ile Thr Tyr Val Pro Ala Glu His
              85              90              95
Leu Glu Glu

```

<210> 138
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 138
Leu Asn Trp Asn Gln Pro Arg Arg Val Glu Leu Trp Arg Glu Pro Ser
1              5              10              15
Lys Ser Leu Gly Ile Ser Ile Val Gly Gly Arg Gly Met Gly Ser Arg
              20              25              30
Leu Ser Asn Gly Glu Val Met Arg Gly Ile Phe Ile Lys His Val Leu
              35              40              45
Glu Asp Ser Pro Ala Gly Lys Asn Gly Thr Leu Lys Pro Gly Asp Arg
50              55              60

```

[0068]

```

Ile Val Glu Val Asp Gly Met Asp Leu Arg Asp Ala Ser His Glu Gln
65          70          75          80
Ala Val Glu Ala Ile Arg Lys Ala Gly Asn Pro Val Val Phe Met Val
          85          90          95
Gln Ser Ile Ile Asn Arg Pro Arg Lys Ser Pro Leu Pro Ser Leu Leu
          100          105          110

```

<210> 139
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 139
Leu Thr Gly Glu Leu His Met Ile Glu Leu Glu Lys Gly His Ser Gly
1          5          10          15
Leu Gly Leu Ser Leu Ala Gly Asn Lys Asp Arg Ser Arg Met Ser Val
          20          25          30
Phe Ile Val Gly Ile Asp Pro Asn Gly Ala Ala Gly Lys Asp Gly Arg
          35          40          45
Leu Gln Ile Ala Asp Glu Leu Glu Ile Asn Gly Gln Ile Leu Tyr
          50          55          60
Gly Arg Ser His Gln Asn Ala Ser Ser Ile Ile Lys Cys Ala Pro Ser
65          70          75          80
Lys Val Lys Ile Ile Phe Ile Arg Asn Lys Asp Ala Val Asn Gln
          85          90          95

```

<210> 140
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 140
Leu Ser Ser Phe Lys Asn Val Gln His Leu Glu Leu Pro Lys Asp Gln
1          5          10          15
Gly Gly Leu Gly Ile Ala Ile Ser Glu Glu Asp Thr Leu Ser Gly Val
          20          25          30
Ile Ile Lys Ser Leu Thr Glu His Gly Val Ala Ala Thr Asp Gly Arg
          35          40          45
Leu Lys Val Gly Asp Gln Ile Leu Ala Val Asp Asp Glu Ile Val Val
          50          55          60
Gly Tyr Pro Ile Glu Lys Phe Ile Ser Leu Leu Lys Thr Ala Lys Met
65          70          75          80

```

[0069]

Thr Val Lys Leu Thr Ile His Ala Glu Asn Pro Asp Ser Gln
85 90

<210> 141
<211> 95
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 141
Leu Pro Gly Cys Glu Thr Thr Ile Glu Ile Ser Lys Gly Arg Thr Gly
1 5 10 15
Leu Gly Leu Ser Ile Val Gly Gly Ser Asp Thr Leu Leu Gly Ala Ile
20 25 30
Ile Ile His Glu Val Tyr Glu Glu Gly Ala Ala Cys Lys Asp Gly Arg
35 40 45
Leu Trp Ala Gly Asp Gln Ile Leu Glu Val Asn Gly Ile Asp Leu Arg
50 55 60
Lys Ala Thr His Asp Glu Ala Ile Asn Val Leu Arg Gln Thr Pro Gln
65 70 75 80
Arg Val Arg Leu Thr Leu Tyr Arg Asp Glu Ala Pro Tyr Lys Glu
85 90 95

<210> 142
<211> 98
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 142
Lys Glu Glu Glu Val Cys Asp Thr Leu Thr Ile Glu Leu Gln Lys Lys
1 5 10 15
Pro Gly Lys Gly Leu Gly Leu Ser Ile Val Gly Lys Arg Asn Asp Thr
20 25 30
Gly Val Phe Val Ser Asp Ile Val Lys Gly Gly Ile Ala Asp Ala Asp
35 40 45
Gly Arg Leu Met Gln Gly Asp Gln Ile Leu Met Val Asn Gly Glu Asp
50 55 60
Val Arg Asn Ala Thr Gln Glu Ala Val Ala Ala Leu Leu Lys Cys Ser
65 70 75 80
Leu Gly Thr Val Thr Leu Glu Val Gly Arg Ile Lys Ala Gly Pro Phe
85 90 95
His Ser

[0070]

<210> 143
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 143
 Leu Gln Gly Leu Arg Thr Val Glu Met Lys Lys Gly Pro Thr Asp Ser
 1 5 10 15
 Leu Gly Ile Ser Ile Ala Gly Gly Val Gly Ser Pro Leu Gly Asp Val
 20 25 30
 Pro Ile Phe Ile Ala Met Met His Pro Thr Gly Val Ala Ala Gln Thr
 35 40 45
 Gln Lys Leu Arg Val Gly Asp Arg Ile Val Thr Ile Cys Gly Thr Ser
 50 55 60
 Thr Glu Gly Met Thr His Thr Gln Ala Val Asn Leu Leu Lys Asn Ala
 65 70 75 80
 Ser Gly Ser Ile Glu Met Gln Val Val Ala Gly Gly Asp Val Ser Val
 85 90 95

<210> 144
 <211> 91
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 144
 Leu Gly Pro Pro Gln Cys Lys Ser Ile Thr Leu Glu Arg Gly Pro Asp
 1 5 10 15
 Gly Leu Gly Phe Ser Ile Val Gly Gly Tyr Gly Ser Pro His Gly Asp
 20 25 30
 Leu Pro Ile Tyr Val Lys Thr Val Phe Ala Lys Gly Ala Ala Ser Glu
 35 40 45
 Asp Gly Arg Leu Lys Arg Gly Asp Gln Ile Ile Ala Val Asn Gly Gln
 50 55 60
 Ser Leu Glu Gly Val Thr His Glu Glu Ala Val Ala Ile Leu Lys Arg
 65 70 75 80
 Thr Lys Gly Thr Val Thr Leu Met Val Leu Ser
 85 90

<210> 145
 <211> 93

[0071]

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 145

```

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

```

<210> 146

<211> 90

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 146

```

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

```

<210> 147

<211> 119

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 147

[0072]

```

Ile Leu Leu His Lys Gly Ser Thr Gly Leu Gly Phe Asn Ile Val Gly
 1             5             10             15
Gly Glu Asp Gly Glu Gly Ile Phe Val Ser Phe Ile Leu Ala Gly Gly
      20             25             30
Pro Ala Asp Leu Ser Gly Glu Leu Arg Arg Gly Asp Arg Ile Leu Ser
      35             40             45
Val Asn Gly Val Asn Leu Arg Asn Ala Thr His Glu Gln Ala Ala Ala
      50             55             60
Ala Leu Lys Arg Ala Gly Gln Ser Val Thr Ile Val Ala Gln Tyr Arg
65             70             75             80
Pro Glu Glu Tyr Ser Arg Phe Glu Ser Lys Ile His Asp Leu Arg Glu
      85             90             95
Gln Met Met Asn Ser Ser Met Ser Ser Gly Ser Gly Ser Leu Arg Thr
      100            105            110
Ser Glu Lys Arg Ser Leu Glu
      115

```

```

<210> 148
<211> 111
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 148
Cys Val Glu Arg Leu Glu Leu Phe Pro Val Glu Leu Glu Lys Asp Ser
 1             5             10             15
Glu Gly Leu Gly Ile Ser Ile Ile Gly Met Gly Ala Gly Ala Asp Met
      20             25             30
Gly Leu Glu Lys Leu Gly Ile Phe Val Lys Thr Val Thr Glu Gly Gly
      35             40             45
Ala Ala His Arg Asp Gly Arg Ile Gln Val Asn Asp Leu Leu Val Glu
      50             55             60
Val Asp Gly Thr Ser Leu Val Gly Val Thr Gln Ser Phe Ala Ala Ser
65             70             75             80
Val Leu Arg Asn Thr Lys Gly Arg Val Arg Phe Met Ile Gly Arg Glu
      85             90             95
Arg Pro Gly Glu Gln Ser Glu Val Ala Gln Arg Ile His Arg Asp
      100            105            110

```

```

<210> 149
<211> 90
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

[0073]

<400> 149

```

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

```

<210> 150

<211> 107

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 150

```

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

```

<210> 151

<211> 106

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 151

[0074]

```

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

```

<210> 152
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 152
Lys Ile Lys Lys Phe Leu Thr Glu Ser His Asp Arg Gln Ala Lys Gly
 1           5           10           15
Lys Ala Ile Thr Lys Lys Lys Tyr Ile Gly Ile Arg Met Met Ser Leu
      20           25           30
Thr Ser Ser Lys Ala Lys Glu Leu Lys Asp Arg His Arg Asp Phe Pro
      35           40           45
Asp Val Ile Ser Gly Ala Tyr Ile Ile Glu Val Ile Pro Asp Thr Pro
      50           55           60
Ala Glu Ala Gly Gly Leu Lys Glu Asn Asp Val Ile Ile Ser Ile Asn
65           70           75           80
Gly Gln Ser Val Val Ser Ala Asn Asp Val Ser Asp Val Ile Lys Arg
      85           90           95
Glu Ser Thr Leu Asn Met Val Val Arg Arg Gly Asn Glu Asp Ile Met
      100           105           110
Ile Thr Val
      115

```

<210> 153
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

[0075]

<400> 153

```

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

```

<210> 154

<211> 101

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 154

```

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

```

<210> 155

<211> 104

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0076]

<400> 155

```

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

```

<210> 156

<211> 99

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 156

```

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

```

<210> 157

<211> 101

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0077]

<400> 157

```

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

```

<210> 158

<211> 94

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 158

```

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

```

<210> 159

<211> 93

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 159

[0078]

```

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

```

<210> 160
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 160
Gly Lys Arg Leu Asn Ile Gln Leu Lys Lys Gly Thr Glu Gly Leu Gly
 1           5           10           15
Phe Ser Ile Thr Ser Arg Asp Val Thr Ile Gly Gly Ser Ala Pro Ile
          20           25           30
Tyr Val Lys Asn Ile Leu Pro Arg Gly Ala Ala Ile Gln Asp Gly Arg
          35           40           45
Leu Lys Ala Gly Asp Arg Leu Ile Glu Val Asn Gly Val Asp Leu Val
          50           55           60
Gly Lys Ser Gln Glu Glu Val Val Ser Leu Leu Arg Ser Thr Lys Met
65           70           75           80
Glu Gly Thr Val Ser Leu Leu Val Phe Arg Gln Glu Asp Ala
          85           90

```

<210> 161
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 161
Thr Pro Asp Gly Thr Arg Glu Phe Leu Thr Phe Glu Val Pro Leu Asn
 1           5           10           15
Asp Ser Gly Ser Ala Gly Leu Gly Val Ser Val Lys Gly Asn Arg Ser
          20           25           30

```

[0079]

```

Lys Glu Asn His Ala Asp Leu Gly Ile Phe Val Lys Ser Ile Ile Asn
    35                40                45
Gly Gly Ala Ala Ser Lys Asp Gly Arg Leu Arg Val Asn Asp Gln Leu
    50                55                60
Ile Ala Val Asn Gly Glu Ser Leu Leu Gly Lys Thr Asn Gln Asp Ala
    65                70                75                80
Met Glu Thr Leu Arg Arg Ser Met Ser Thr Glu Gly Asn Lys Arg Gly
                85                90                95
Met Ile Gln Leu Ile Val Ala
                100

```

<210> 162
 <211> 102
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 162
Leu Pro Glu Thr His Arg Arg Val Arg Leu His Lys His Gly Ser Asp
  1                5                10                15
Arg Pro Leu Gly Phe Tyr Ile Arg Asp Gly Met Ser Val Arg Val Ala
                20                25                30
Pro Gln Gly Leu Glu Arg Val Pro Gly Ile Phe Ile Ser Arg Leu Val
                35                40                45
Arg Gly Gly Leu Ala Glu Ser Thr Gly Leu Leu Ala Val Ser Asp Glu
    50                55                60
Ile Leu Glu Val Asn Gly Ile Glu Val Ala Gly Lys Thr Leu Asp Gln
    65                70                75                80
Val Thr Asp Met Met Val Ala Asn Ser His Asn Leu Ile Val Thr Val
                85                90                95
Lys Pro Ala Asn Gln Arg
                100

```

<210> 163
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 163
Ile Asp Val Asp Leu Val Pro Glu Thr His Arg Arg Val Arg Leu His
  1                5                10                15
Arg His Gly Cys Glu Lys Pro Leu Gly Phe Tyr Ile Arg Asp Gly Ala
                20                25                30

```

[0080]

```

Ser Val Arg Val Thr Pro His Gly Leu Glu Lys Val Pro Gly Ile Phe
      35              40              45
Ile Ser Arg Met Val Pro Gly Gly Leu Ala Glu Ser Thr Gly Leu Leu
      50              55              60
Ala Val Asn Asp Glu Val Leu Glu Val Asn Gly Ile Glu Val Ala Gly
65              70              75              80
Lys Thr Leu Asp Gln Val Thr Asp Met Met Ile Ala Asn Ser His Asn
      85              90              95
Leu Ile Val Thr Val Lys Pro Ala Asn Gln Arg Asn Asn Val Val
      100              105              110

```

<210> 164
 <211> 100
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 164
Arg Ser Arg Lys Leu Lys Glu Val Arg Leu Asp Arg Leu His Pro Glu
  1              5              10              15
Gly Leu Gly Leu Ser Val Arg Gly Gly Leu Glu Phe Gly Cys Gly Leu
      20              25              30
Phe Ile Ser His Leu Ile Lys Gly Gly Gln Ala Asp Ser Val Gly Leu
      35              40              45
Gln Val Gly Asp Glu Ile Val Arg Ile Asn Gly Tyr Ser Ile Ser Ser
      50              55              60
Cys Thr His Glu Glu Val Ile Asn Leu Ile Arg Thr Lys Lys Thr Val
65              70              75              80
Ser Ile Lys Val Arg His Ile Gly Leu Ile Pro Val Lys Ser Ser Pro
      85              90              95
Asp Glu Phe His
      100

```

<210> 165
 <211> 102
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 165
Ile Pro Gly Asn Arg Glu Asn Lys Glu Lys Lys Val Phe Ile Ser Leu
  1              5              10              15
Val Gly Ser Arg Gly Leu Gly Cys Ser Ile Ser Ser Gly Pro Ile Gln
      20              25              30

```

[0081]

```

Lys Pro Gly Ile Phe Ile Ser His Val Lys Pro Gly Ser Leu Ser Ala
      35              40              45
Glu Val Gly Leu Glu Ile Gly Asp Gln Ile Val Glu Val Asn Gly Val
      50              55              60
Asp Phe Ser Asn Leu Asp His Lys Glu Ala Val Asn Val Leu Lys Ser
65              70              75              80
Ser Arg Ser Leu Thr Ile Ser Ile Val Ala Ala Ala Gly Arg Glu Leu
              85              90              95
Phe Met Thr Asp Glu Phe
              100

```

<210> 166
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 166
Pro Glu Gln Ile Met Gly Lys Asp Val Arg Leu Leu Arg Ile Lys Lys
  1              5              10              15
Glu Gly Ser Leu Asp Leu Ala Leu Glu Gly Gly Val Asp Ser Pro Ile
              20              25              30
Gly Lys Val Val Val Ser Ala Val Tyr Glu Arg Gly Ala Ala Glu Arg
              35              40              45
His Gly Gly Ile Val Lys Gly Asp Glu Ile Met Ala Ile Asn Gly Lys
              50              55              60
Ile Val Thr Asp Tyr Thr Leu Ala Glu Ala Asp Ala Ala Leu Gln Lys
65              70              75              80
Ala Trp Asn Gln Gly Gly Asp Trp Ile Asp Leu Val Val Ala Val Cys
              85              90              95
Pro Pro Lys Glu Tyr Asp Asp
              100

```

<210> 167
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 167
Leu Thr Ser Thr Phe Asn Pro Arg Glu Cys Lys Leu Ser Lys Gln Glu
  1              5              10              15
Gly Gln Asn Tyr Gly Phe Phe Leu Arg Ile Glu Lys Asp Thr Glu Gly
              20              25              30

```

[0082]

```

His Leu Val Arg Val Val Glu Lys Cys Ser Pro Ala Glu Lys Ala Gly
      35              40              45
Leu Gln Asp Gly Asp Arg Val Leu Arg Ile Asn Gly Val Phe Val Asp
      50              55              60
Lys Glu Glu His Met Gln Val Val Asp Leu Val Arg Lys Ser Gly Asn
      65              70              75              80
Ser Val Thr Leu Leu Val Leu Asp Gly Asp Ser Tyr Glu Lys Ala Gly
              85              90              95
Ser Pro Gly Ile His Arg Asp
              100

```

<210> 168
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 168
Arg Leu Cys Tyr Leu Val Lys Glu Gly Gly Ser Tyr Gly Phe Ser Leu
  1              5              10              15
Lys Thr Val Gln Gly Lys Lys Gly Val Tyr Met Thr Asp Ile Thr Pro
      20              25              30
Gln Gly Val Ala Met Arg Ala Gly Val Leu Ala Asp Asp His Leu Ile
      35              40              45
Glu Val Asn Gly Glu Asn Val Glu Asp Ala Ser His Glu Glu Val Val
      50              55              60
Glu Lys Val Lys Lys Ser Gly Ser Arg Val Met Phe Leu Leu Val Asp
      65              70              75              80
Lys Glu Thr Asp Lys Arg Glu Phe Ile Val Thr Asp
              85              90

```

<210> 169
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 169
Gln Phe Lys Arg Glu Thr Ala Ser Leu Lys Leu Leu Pro His Gln Pro
  1              5              10              15
Arg Ile Val Glu Met Lys Lys Gly Ser Asn Gly Tyr Gly Phe Tyr Leu
      20              25              30
Arg Ala Gly Ser Glu Gln Lys Gly Gln Ile Ile Lys Asp Ile Asp Ser
      35              40              45

```

[0083]

```

Gly Ser Pro Ala Glu Glu Ala Gly Leu Lys Asn Asn Asp Leu Val Val
  50                      55                      60
Ala Val Asn Gly Glu Ser Val Glu Thr Leu Asp His Asp Ser Val Val
  65                      70                      75                      80
Glu Met Ile Arg Lys Gly Gly Asp Gln Thr Ser Leu Leu Val Val Asp
                      85                      90                      95
Lys Glu Thr Asp Asn Met Tyr Arg Leu Ala Glu Phe Ile Val Thr Asp
                      100                      105                      110

```

<210> 170

<211> 95

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 170

```

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

```

<210> 171

<211> 89

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 171

```

Pro Thr Val Pro Gly Lys Val Thr Leu Gln Lys Asp Ala Gln Asn Leu
  1                      5                      10                      15
Ile Gly Ile Ser Ile Gly Gly Gly Ala Gln Tyr Cys Pro Cys Leu Tyr
                      20                      25                      30
Ile Val Gln Val Phe Asp Asn Thr Pro Ala Ala Leu Asp Gly Thr Val
                      35                      40                      45
Ala Ala Gly Asp Glu Ile Thr Gly Val Asn Gly Arg Ser Ile Lys Gly
                      50                      55                      60

```

[0084]

Lys Thr Lys Val Glu Val Ala Lys Met Ile Gln Glu Val Lys Gly Glu
 65 70 75 80
 Val Thr Ile His Tyr Asn Lys Leu Gln
 85

<210> 172
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 172
 Ser Gln Gly Val Gly Pro Ile Arg Lys Val Leu Leu Leu Lys Glu Asp
 1 5 10 15
 His Glu Gly Leu Gly Ile Ser Ile Thr Gly Gly Lys Glu His Gly Val
 20 25 30
 Pro Ile Leu Ile Ser Glu Ile His Pro Gly Gln Pro Ala Asp Arg Cys
 35 40 45
 Gly Gly Leu His Val Gly Asp Ala Ile Leu Ala Val Asn Gly Val Asn
 50 55 60
 Leu Arg Asp Thr Lys His Lys Glu Ala Val Thr Ile Leu Ser Gln Gln
 65 70 75 80
 Arg Gly Glu Ile Glu Phe Glu Val Val Tyr Val Ala Pro Glu Val Asp
 85 90 95
 Ser Asp

<210> 173
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 173
 Ile His Val Thr Ile Leu His Lys Glu Glu Gly Ala Gly Leu Gly Phe
 1 5 10 15
 Ser Leu Ala Gly Gly Ala Asp Leu Glu Asn Lys Val Ile Thr Val His
 20 25 30
 Arg Val Phe Pro Asn Gly Leu Ala Ser Gln Glu Gly Thr Ile Gln Lys
 35 40 45
 Gly Asn Glu Val Leu Ser Ile Asn Gly Lys Ser Leu Lys Gly Thr Thr
 50 55 60
 His His Asp Ala Leu Ala Ile Leu Arg Gln Ala Arg Glu Pro Arg Gln
 65 70 75 80

[0085]

Ala Val Ile Val Thr Arg Lys Leu Thr Pro Glu Glu Phe Ile Val Thr
 85 90 95
 Asp

<210> 174
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 174
 Thr Ala Glu Ala Thr Val Cys Thr Val Thr Leu Glu Lys Met Ser Ala
 1 5 10 15
 Gly Leu Gly Phe Ser Leu Glu Gly Gly Lys Gly Ser Leu His Gly Asp
 20 25 30
 Lys Pro Leu Thr Ile Asn Arg Ile Phe Lys Gly Ala Ala Ser Glu Gln
 35 40 45
 Ser Glu Thr Val Gln Pro Gly Asp Glu Ile Leu Gln Leu Gly Gly Thr
 50 55 60
 Ala Met Gln Gly Leu Thr Arg Phe Glu Ala Trp Asn Ile Ile Lys Ala
 65 70 75 80
 Leu Pro Asp Gly Pro Val Thr Ile Val Ile Arg Arg Lys Ser Leu Gln
 85 90 95
 Ser Lys

<210> 175
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 175
 Leu Glu Tyr Glu Ile Thr Leu Glu Arg Gly Asn Ser Gly Leu Gly Phe
 1 5 10 15
 Ser Ile Ala Gly Gly Thr Asp Asn Pro His Ile Gly Asp Asp Pro Ser
 20 25 30
 Ile Phe Ile Thr Lys Ile Ile Pro Gly Gly Ala Ala Ala Gln Asp Gly
 35 40 45
 Arg Leu Arg Val Asn Asp Ser Ile Leu Phe Val Asn Glu Val Asp Val
 50 55 60
 Arg Glu Val Thr His Ser Ala Ala Val Glu Ala Leu Lys Glu Ala Gly
 65 70 75 80

[0086]

Ser Ile Val Arg Leu Tyr Val Met Arg Arg Lys Pro Pro Ala Glu Asn
 85 90 95
 Ser Ser

<210> 176
 <211> 105
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 176
 His Val Met Arg Arg Lys Pro Pro Ala Glu Lys Val Met Glu Ile Lys
 1 5 10 15
 Leu Ile Lys Gly Pro Lys Gly Leu Gly Phe Ser Ile Ala Gly Gly Val
 20 25 30
 Gly Asn Gln His Ile Pro Gly Asp Asn Ser Ile Tyr Val Thr Lys Ile
 35 40 45
 Ile Glu Gly Gly Ala Ala His Lys Asp Gly Arg Leu Gln Ile Gly Asp
 50 55 60
 Lys Ile Leu Ala Val Asn Ser Val Gly Leu Glu Asp Val Met His Glu
 65 70 75 80
 Asp Ala Val Ala Ala Leu Lys Asn Thr Tyr Asp Val Val Tyr Leu Lys
 85 90 95
 Val Ala Lys Pro Ser Asn Ala Tyr Leu
 100 105

<210> 177
 <211> 97
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 177
 Arg Glu Asp Ile Pro Arg Glu Pro Arg Arg Ile Val Ile His Arg Gly
 1 5 10 15
 Ser Thr Gly Leu Gly Phe Asn Ile Val Gly Gly Glu Asp Gly Glu Gly
 20 25 30
 Ile Phe Ile Ser Phe Ile Leu Ala Gly Gly Pro Ala Asp Leu Ser Gly
 35 40 45
 Glu Leu Arg Lys Gly Asp Gln Ile Leu Ser Val Asn Gly Val Asp Leu
 50 55 60
 Arg Asn Ala Ser His Glu Gln Ala Ala Ile Ala Leu Lys Asn Ala Gly
 65 70 75 80

[0087]

Gln Thr Val Thr Ile Ile Ala Gln Tyr Lys Pro Glu Phe Ile Val Thr
 85 90 95
 Asp

<210> 178
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 178
 Leu Ile Arg Ile Thr Pro Asp Glu Asp Gly Lys Phe Gly Phe Asn Leu
 1 5 10 15
 Lys Gly Gly Val Asp Gln Lys Met Pro Leu Val Val Ser Arg Ile Asn
 20 25 30
 Pro Glu Ser Pro Ala Asp Thr Cys Ile Pro Lys Leu Asn Glu Gly Asp
 35 40 45
 Gln Ile Val Leu Ile Asn Gly Arg Asp Ile Ser Glu His Thr His Asp
 50 55 60
 Gln Val Val Met Phe Ile Lys Ala Ser Arg Glu Ser His Ser Arg Glu
 65 70 75 80
 Leu Ala Leu Val Ile Arg Arg Arg
 85

<210> 179
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 179
 Ile Arg Met Lys Pro Asp Glu Asn Gly Arg Phe Gly Phe Asn Val Lys
 1 5 10 15
 Gly Gly Tyr Asp Gln Lys Met Pro Val Ile Val Ser Arg Val Ala Pro
 20 25 30
 Gly Thr Pro Ala Asp Leu Cys Val Pro Arg Leu Asn Glu Gly Asp Gln
 35 40 45
 Val Val Leu Ile Asn Gly Arg Asp Ile Ala Glu His Thr His Asp Gln
 50 55 60
 Val Val Leu Phe Ile Lys Ala Ser Cys Glu Arg His Ser Gly Glu Leu
 65 70 75 80
 Met Leu Leu Val Arg Pro Asn Ala
 85

[0088]

<210> 180
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 180
 Pro Glu Arg Glu Ile Thr Leu Val Asn Leu Lys Lys Asp Ala Lys Tyr
 1 5 10 15
 Gly Leu Gly Phe Gln Ile Ile Gly Gly Glu Lys Met Gly Arg Leu Asp
 20 25 30
 Leu Gly Ile Phe Ile Ser Ser Val Ala Pro Gly Gly Pro Ala Asp Phe
 35 40 45
 His Gly Cys Leu Lys Pro Gly Asp Arg Leu Ile Ser Val Asn Ser Val
 50 55 60
 Ser Leu Glu Gly Val Ser His His Ala Ala Ile Glu Ile Leu Gln Asn
 65 70 75 80
 Ala Pro Glu Asp Val Thr Leu Val Ile Ser Gln Pro Lys Glu Lys Ile
 85 90 95
 Ser Lys Val Pro Ser Thr Pro Val His Leu
 100 105

<210> 181
 <211> 95
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 181
 Gly Asp Ile Phe Glu Val Glu Leu Ala Lys Asn Asp Asn Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Ile Ser Val Thr Gly Gly Val Asn Thr Ser Val Arg His Gly Gly Ile
 20 25 30
 Tyr Val Lys Ala Val Ile Pro Gln Gly Ala Ala Glu Ser Asp Gly Arg
 35 40 45
 Ile His Lys Gly Asp Arg Val Leu Ala Val Asn Gly Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Ala Thr His Lys Gln Ala Val Glu Thr Leu Arg Asn Thr Gly Gln
 65 70 75 80
 Val Val His Leu Leu Glu Lys Gly Gln Ser Pro Thr Ser Lys
 85 90 95

[0089]

<210> 182
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 182
 Thr Glu Glu Asn Thr Phe Glu Val Lys Leu Phe Lys Asn Ser Ser Gly
 1 5 10 15
 Leu Gly Phe Ser Phe Ser Arg Glu Asp Asn Leu Ile Pro Glu Gln Ile
 20 25 30
 Asn Ala Ser Ile Val Arg Val Lys Lys Leu Phe Ala Gly Gln Pro Ala
 35 40 45
 Ala Glu Ser Gly Lys Ile Asp Val Gly Asp Val Ile Leu Lys Val Asn
 50 55 60
 Gly Ala Ser Leu Lys Gly Leu Ser Gln Gln Glu Val Ile Ser Ala Leu
 65 70 75 80
 Arg Gly Thr Ala Pro Glu Val Phe Leu Leu Leu Cys Arg Pro Pro Pro
 85 90 95
 Gly Val Leu Pro Glu Ile Asp Thr
 100

<210> 183
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 183
 Glu Leu Glu Val Glu Leu Leu Ile Thr Leu Ile Lys Ser Glu Lys Ala
 1 5 10 15
 Ser Leu Gly Phe Thr Val Thr Lys Gly Asn Gln Arg Ile Gly Cys Tyr
 20 25 30
 Val His Asp Val Ile Gln Asp Pro Ala Lys Ser Asp Gly Arg Leu Lys
 35 40 45
 Pro Gly Asp Arg Leu Ile Lys Val Asn Asp Thr Asp Val Thr Asn Met
 50 55 60
 Thr His Thr Asp Ala Val Asn Leu Leu Arg Ala Ala Ser Lys Thr Val
 65 70 75 80
 Arg Leu Val Ile Gly Arg Val Leu Glu Leu Pro Arg Ile Pro Met Leu
 85 90 95
 Pro His

[0090]

<210> 184
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 184
 Met Leu Pro His Leu Leu Pro Asp Ile Thr Leu Thr Cys Asn Lys Glu
 1 5 10 15
 Glu Leu Gly Phe Ser Leu Cys Gly Gly His Asp Ser Leu Tyr Gln Val
 20 25 30
 Val Tyr Ile Ser Asp Ile Asn Pro Arg Ser Val Ala Ala Ile Glu Gly
 35 40 45
 Asn Leu Gln Leu Leu Asp Val Ile His Tyr Val Asn Gly Val Ser Thr
 50 55 60
 Gln Gly Met Thr Leu Glu Glu Val Asn Arg Ala Leu Asp Met Ser Leu
 65 70 75 80
 Pro Ser Leu Val Leu Lys Ala Thr Arg Asn Asp Leu Pro Val
 85 90

<210> 185
 <211> 93
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 185
 Arg Pro Ser Pro Pro Arg Val Arg Ser Val Glu Val Ala Arg Gly Arg
 1 5 10 15
 Ala Gly Tyr Gly Phe Thr Leu Ser Gly Gln Ala Pro Cys Val Leu Ser
 20 25 30
 Cys Val Met Arg Gly Ser Pro Ala Asp Phe Val Gly Leu Arg Ala Gly
 35 40 45
 Asp Gln Ile Leu Ala Val Asn Glu Ile Asn Val Lys Lys Ala Ser His
 50 55 60
 Glu Asp Val Val Lys Leu Ile Gly Lys Cys Ser Gly Val Leu His Met
 65 70 75 80
 Val Ile Ala Glu Gly Val Gly Arg Phe Glu Ser Cys Ser
 85 90

<210> 186
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

[0091]

<400> 186

```

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

```

<210> 187

<211> 104

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 187

```

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

```

<210> 188

<211> 109

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 188

[0092]

```

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

```

<210> 189
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 189
Glu Glu Lys Thr Val Val Leu Gln Lys Lys Asp Asn Glu Gly Phe Gly
 1             5             10             15
Phe Val Leu Arg Gly Ala Lys Ala Asp Thr Pro Ile Glu Glu Phe Thr
      20             25             30
Pro Thr Pro Ala Phe Pro Ala Leu Gln Tyr Leu Glu Ser Val Asp Glu
      35             40             45
Gly Gly Val Ala Trp Gln Ala Gly Leu Arg Thr Gly Asp Phe Leu Ile
 50             55             60
Glu Val Asn Asn Glu Asn Val Val Lys Val Gly His Arg Gln Val Val
65             70             75             80
Asn Met Ile Arg Gln Gly Gly Asn His Leu Val Leu Lys Val Val Thr
      85             90             95
Val Thr Arg Asn Leu Asp Pro Asp Asp Thr Ala Arg Lys Lys Ala
      100             105             110

```

<210> 190
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 190

[0093]

```

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

```

<210> 191
 <211> 91
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 191
Ile Tyr Leu Glu Ala Phe Leu Glu Gly Gly Ala Pro Trp Gly Phe Thr
 1              5              10              15
Leu Lys Gly Gly Leu Glu His Gly Glu Pro Leu Ile Ile Ser Lys Val
      20              25              30
Glu Glu Gly Gly Lys Ala Asp Thr Leu Ser Ser Lys Leu Gln Ala Gly
      35              40              45
Asp Glu Val Val His Ile Asn Glu Val Thr Leu Ser Ser Ser Arg Lys
      50              55              60
Glu Ala Val Ser Leu Val Lys Gly Ser Tyr Lys Thr Leu Arg Leu Val
65              70              75              80
Val Arg Arg Asp Val Cys Thr Asp Pro Gly His
      85              90

```

<210> 192
 <211> 83
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 192
Ile Arg Leu Cys Arg Leu Val Arg Gly Glu Gln Gly Tyr Gly Phe His
 1              5              10              15

```

[0094]

```

Leu His Gly Glu Lys Gly Arg Arg Gly Gln Phe Ile Arg Arg Val Glu
      20              25              30
Pro Gly Ser Pro Ala Glu Ala Ala Ala Leu Arg Ala Gly Asp Arg Leu
      35              40              45
Val Glu Val Asn Gly Val Asn Val Glu Gly Glu Thr His His Gln Val
      50              55              60
Val Gln Arg Ile Lys Ala Val Glu Gly Gln Thr Arg Leu Leu Val Val
      65              70              75              80
Asp Gln Asn

```

<210> 193
 <211> 84
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 193
Ile Arg His Leu Arg Lys Gly Pro Gln Gly Tyr Gly Phe Asn Leu His
  1              5              10              15
Ser Asp Lys Ser Arg Pro Gly Gln Tyr Ile Arg Ser Val Asp Pro Gly
      20              25              30
Ser Pro Ala Ala Arg Ser Gly Leu Arg Ala Gln Asp Arg Leu Ile Glu
      35              40              45
Val Asn Gly Gln Asn Val Glu Gly Leu Arg His Ala Glu Val Val Ala
      50              55              60
Ser Ile Lys Ala Arg Glu Asp Glu Ala Arg Leu Leu Val Val Asp Pro
      65              70              75              80
Glu Thr Asp Glu

```

<210> 194
 <211> 92
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 194
Pro Gly Val Arg Glu Ile His Leu Cys Lys Asp Glu Arg Gly Lys Thr
  1              5              10              15
Gly Leu Arg Leu Arg Lys Val Asp Gln Gly Leu Phe Val Gln Leu Val
      20              25              30
Gln Ala Asn Thr Pro Ala Ser Leu Val Gly Leu Arg Phe Gly Asp Gln
      35              40              45

```

[0095]

```

Leu Leu Gln Ile Asp Gly Arg Asp Cys Ala Gly Trp Ser Ser His Lys
  50                      55                      60
Ala His Gln Val Val Lys Lys Ala Ser Gly Asp Lys Ile Val Val Val
  65                      70                      75                      80
Val Arg Asp Arg Pro Phe Gln Arg Thr Val Thr Met
                      85                      90

```

<210> 195
 <211> 90
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 195
Pro Phe Gln Arg Thr Val Thr Met His Lys Asp Ser Met Gly His Val
  1                      5                      10                      15
Gly Phe Val Ile Lys Lys Gly Lys Ile Val Ser Leu Val Lys Gly Ser
          20                      25                      30
Ser Ala Ala Arg Asn Gly Leu Leu Thr Asn His Tyr Val Cys Glu Val
          35                      40                      45
Asp Gly Gln Asn Val Ile Gly Leu Lys Asp Lys Lys Ile Met Glu Ile
  50                      55                      60
Leu Ala Thr Ala Gly Asn Val Val Thr Leu Thr Ile Ile Pro Ser Val
  65                      70                      75                      80
Ile Tyr Glu His Ile Val Glu Phe Ile Val
          85                      90

```

<210> 196
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 196
Leu Lys Glu Lys Thr Val Leu Leu Gln Lys Lys Asp Ser Glu Gly Phe
  1                      5                      10                      15
Gly Phe Val Leu Arg Gly Ala Lys Ala Gln Thr Pro Ile Glu Glu Phe
          20                      25                      30
Thr Pro Thr Pro Ala Phe Pro Ala Leu Gln Tyr Leu Glu Ser Val Asp
          35                      40                      45
Glu Gly Gly Val Ala Trp Arg Ala Gly Leu Arg Met Gly Asp Phe Leu
  50                      55                      60
Ile Glu Val Asn Gly Gln Asn Val Val Lys Val Gly His Arg Gln Val
  65                      70                      75                      80

```

[0096]

Val Asn Met Ile Arg Gln Gly Gly Asn Thr Leu Met Val Lys Val Val
 85 90 95
 Met Val Thr Arg His Pro Asp Met Asp Glu Ala Val Gln
 100 105

<210> 197
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 197
 Leu Glu Ile Lys Gln Gly Ile Arg Glu Val Ile Leu Cys Lys Asp Gln
 1 5 10 15
 Asp Gly Lys Ile Gly Leu Arg Leu Lys Ser Ile Asp Asn Gly Ile Phe
 20 25 30
 Val Gln Leu Val Gln Ala Asn Ser Pro Ala Ser Leu Val Gly Leu Arg
 35 40 45
 Phe Gly Asp Gln Val Leu Gln Ile Asn Gly Glu Asn Cys Ala Gly Trp
 50 55 60
 Ser Ser Asp Lys Ala His Lys Val Leu Lys Gln Ala Phe Gly Glu Lys
 65 70 75 80
 Ile Thr Met Arg Ile His Arg Asp
 85

<210> 198
 <211> 75
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 198
 Arg Asp Arg Pro Phe Glu Arg Thr Ile Thr Met His Lys Asp Ser Thr
 1 5 10 15
 Gly His Val Gly Phe Ile Phe Lys Asn Gly Lys Ile Thr Ser Ile Val
 20 25 30
 Lys Asp Ser Ser Ala Ala Arg Asn Gly Leu Leu Thr Glu His Asn Ile
 35 40 45
 Cys Glu Ile Asn Gly Gln Asn Val Ile Gly Leu Lys Asp Ser Gln Ile
 50 55 60
 Ala Asp Ile Leu Ser Thr Ser Gly Asn Ser Ser
 65 70 75

[0097]

<210> 199
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 199
 Gln Arg Arg Arg Val Thr Val Arg Lys Ala Asp Ala Gly Gly Leu Gly
 1 5 10 15
 Ile Ser Ile Lys Gly Gly Arg Glu Asn Lys Met Pro Ile Leu Ile Ser
 20 25 30
 Lys Ile Phe Lys Gly Leu Ala Ala Asp Gln Thr Glu Ala Leu Phe Val
 35 40 45
 Gly Asp Ala Ile Leu Ser Val Asn Gly Glu Asp Leu Ser Ser Ala Thr
 50 55 60
 His Asp Glu Ala Val Gln Val Leu Lys Lys Thr Gly Lys Glu Val Val
 65 70 75 80
 Leu Glu Val Lys Tyr Met Lys Asp Val Ser Pro Tyr Phe Lys
 85 90

<210> 200
 <211> 89
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 200
 Ile Arg Val Val Lys Gln Glu Ala Gly Gly Leu Gly Ile Ser Ile Lys
 1 5 10 15
 Gly Gly Arg Glu Asn Arg Met Pro Ile Leu Ile Ser Lys Ile Phe Pro
 20 25 30
 Gly Leu Ala Ala Asp Gln Ser Arg Ala Leu Arg Leu Gly Asp Ala Ile
 35 40 45
 Leu Ser Val Asn Gly Thr Asp Leu Arg Gln Ala Thr His Asp Gln Ala
 50 55 60
 Val Gln Ala Leu Lys Arg Ala Gly Lys Glu Val Leu Leu Glu Val Lys
 65 70 75 80
 Phe Ile Arg Glu Phe Ile Val Thr Asp
 85

<210> 201
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

[0098]

<400> 201

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

<210> 202

<211> 99

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 202

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

<210> 203

<211> 91

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0099]

<400> 203

```

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

```

<210> 204

<211> 88

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 204

```

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

```

<210> 205

<211> 97

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 205

```

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

```

[0100]

```

Asp Phe Gly Phe Ala Val Thr Ala Gln Val Asp Glu Arg Gln His Leu
      20              25              30
Ser Arg Ile Phe Ile Ser Asp Val Leu Pro Asp Gly Leu Ala Tyr Gly
      35              40              45
Glu Gly Leu Arg Lys Gly Asn Glu Ile Met Thr Leu Asn Gly Glu Ala
      50              55              60
Val Ser Asp Leu Asp Leu Lys Gln Met Glu Ala Leu Phe Ser Glu Lys
      65              70              75              80
Ser Val Gly Leu Thr Leu Ile Ala Arg Pro Pro Asp Thr Lys Ala Thr
      85              90              95
Leu

```

<210> 206
 <211> 103
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 206
Gln Arg Val Glu Ile His Lys Leu Arg Gln Gly Glu Asn Leu Ile Leu
  1              5              10              15
Gly Phe Ser Ile Gly Gly Gly Ile Asp Gln Asp Pro Ser Gln Asn Pro
      20              25              30
Phe Ser Glu Asp Lys Thr Asp Lys Gly Ile Tyr Val Thr Arg Val Ser
      35              40              45
Glu Gly Gly Pro Ala Glu Ile Ala Gly Leu Gln Ile Gly Asp Lys Ile
      50              55              60
Met Gln Val Asn Gly Trp Asp Met Thr Met Val Thr His Asp Gln Ala
      65              70              75              80
Arg Lys Arg Leu Thr Lys Arg Ser Glu Glu Val Val Arg Leu Leu Val
      85              90              95
Thr Arg Gln Ser Leu Gln Lys
      100

```

<210> 207
 <211> 86
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 207
Arg Lys Glu Val Glu Val Phe Lys Ser Glu Asp Ala Leu Gly Leu Thr
  1              5              10              15

```

[0101]

```

Ile Thr Asp Asn Gly Ala Gly Tyr Ala Phe Ile Lys Arg Ile Lys Glu
      20              25              30
Gly Ser Val Ile Asp His Ile His Leu Ile Ser Val Gly Asp Met Ile
      35              40              45
Glu Ala Ile Asn Gly Gln Ser Leu Leu Gly Cys Arg His Tyr Glu Val
      50              55              60
Ala Arg Leu Leu Lys Glu Leu Pro Arg Gly Arg Thr Phe Thr Leu Lys
65              70              75              80
Leu Thr Glu Pro Arg Lys
      85

```

<210> 208
 <211> 91
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 208
His Ser His Pro Arg Val Val Glu Leu Pro Lys Thr Asp Glu Gly Leu
 1              5              10              15
Gly Phe Asn Val Met Gly Gly Lys Glu Gln Asn Ser Pro Ile Tyr Ile
      20              25              30
Ser Arg Ile Ile Pro Gly Gly Val Ala Glu Arg His Gly Gly Leu Lys
      35              40              45
Arg Gly Asp Gln Leu Leu Ser Val Asn Gly Val Ser Val Glu Gly Glu
50              55              60
His His Glu Lys Ala Val Glu Leu Leu Lys Ala Ala Lys Asp Ser Val
65              70              75              80
Lys Leu Val Val Arg Tyr Thr Pro Lys Val Leu
      85              90

```

<210> 209
 <211> 96
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 209
Ile Ser Asn Gln Lys Arg Gly Val Lys Val Leu Lys Gln Glu Leu Gly
 1              5              10              15
Gly Leu Gly Ile Ser Ile Lys Gly Gly Lys Glu Asn Lys Met Pro Ile
      20              25              30
Leu Ile Ser Lys Ile Phe Lys Gly Leu Ala Ala Asp Gln Thr Gln Ala
35              40              45

```

[0102]

```

Leu Tyr Val Gly Asp Ala Ile Leu Ser Val Asn Gly Ala Asp Leu Arg
  50                      55                      60
Asp Ala Thr His Asp Glu Ala Val Gln Ala Leu Lys Arg Ala Gly Lys
  65                      70                      75                      80
Glu Val Leu Leu Glu Val Lys Tyr Met Arg Glu Ala Thr Pro Tyr Val
                      85                      90                      95

```

<210> 210
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 210
Ile His Phe Ser Asn Ser Glu Asn Cys Lys Glu Leu Gln Leu Glu Lys
  1                      5                      10                      15
His Lys Gly Glu Ile Leu Gly Val Val Val Val Glu Ser Gly Trp Gly
                      20                      25                      30
Ser Ile Leu Pro Thr Val Ile Leu Ala Asn Met Met Asn Gly Gly Pro
                      35                      40                      45
Ala Ala Arg Ser Gly Lys Leu Ser Ile Gly Asp Gln Ile Met Ser Ile
                      50                      55                      60
Asn Gly Thr Ser Leu Val Gly Leu Pro Leu Ala Thr Cys Gln Gly Ile
  65                      70                      75                      80
Ile Lys Gly Leu Lys Asn Gln Thr Gln Val Lys Leu Asn Ile Val Ser
                      85                      90                      95
Cys Pro Pro Val Thr Thr Val Leu Ile Lys Arg Asn Ser Ser
                      100                      105                      110

```

<210> 211
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 211
Ile Pro Pro Val Thr Thr Val Leu Ile Lys Arg Pro Asp Leu Lys Tyr
  1                      5                      10                      15
Gln Leu Gly Phe Ser Val Gln Asn Gly Ile Ile Cys Ser Leu Met Arg
                      20                      25                      30
Gly Gly Ile Ala Glu Arg Gly Gly Val Arg Val Gly His Arg Ile Ile
                      35                      40                      45
Glu Ile Asn Gly Gln Ser Val Val Ala Thr Ala His Glu Lys Ile Val
                      50                      55                      60

```

[0103]

<400> 213

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

199

Lys Met Val Val Gln Arg Asp Arg Ala Thr Leu Leu Asn Ser Ser
 85 90 95

<210> 214

<211> 90

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 214

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

<210> 215

<211> 96

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 215

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

[0105]

<210> 216
 <211> 79
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 216
 Arg Val Leu Leu Met Lys Ser Arg Ala Asn Glu Glu Tyr Gly Leu Arg
 1 5 10 15
 Leu Gly Ser Gln Ile Phe Val Lys Glu Met Thr Arg Thr Gly Leu Ala
 20 25 30
 Thr Lys Asp Gly Asn Leu His Glu Gly Asp Ile Ile Leu Lys Ile Asn
 35 40 45
 Gly Thr Val Thr Glu Asn Met Ser Leu Thr Asp Ala Arg Lys Leu Ile
 50 55 60
 Glu Lys Ser Arg Gly Lys Leu Gln Leu Val Val Leu Arg Asp Ser
 65 70 75

<210> 217
 <211> 90
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 217
 His Ala Pro Asn Thr Lys Met Val Arg Phe Lys Lys Gly Asp Ser Val
 1 5 10 15
 Gly Leu Arg Leu Ala Gly Gly Asn Asp Val Gly Ile Phe Val Ala Gly
 20 25 30
 Ile Gln Glu Gly Thr Ser Ala Glu Gln Glu Gly Leu Gln Glu Gly Asp
 35 40 45
 Gln Ile Leu Lys Val Asn Thr Gln Asp Phe Arg Gly Leu Val Arg Glu
 50 55 60
 Asp Ala Val Leu Tyr Leu Leu Glu Ile Pro Lys Gly Glu Met Val Thr
 65 70 75 80
 Ile Leu Ala Gln Ser Arg Ala Asp Val Tyr
 85 90

<210> 218
 <211> 106
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 218

[0106]

```

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

```

<210> 219
 <211> 98
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 219
Gln Asp Val Gln Met Lys Pro Val Lys Ser Val Leu Val Lys Arg Arg
 1             5             10             15
Asp Ser Glu Glu Phe Gly Val Lys Leu Gly Ser Gln Ile Phe Ile Lys
          20             25             30
His Ile Thr Asp Ser Gly Leu Ala Ala Arg His Arg Gly Leu Gln Glu
          35             40             45
Gly Asp Leu Ile Leu Gln Ile Asn Gly Val Ser Ser Gln Asn Leu Ser
          50             55             60
Leu Asn Asp Thr Arg Arg Leu Ile Glu Lys Ser Glu Gly Lys Leu Ser
65             70             75             80
Leu Leu Val Leu Arg Asp Arg Gly Gln Phe Leu Val Asn Ile Pro Asn
          85             90             95
Ser Ser

```

<210> 220
 <211> 104
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 220

[0107]

```

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

```

```

<210> 221
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 221
Gly Tyr Cys Arg Asn Cys Ile Arg Lys Gln
 1             5             10

```

```

<210> 222
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 222
Trp Thr Thr Cys Met Glu Asp Leu Leu Pro
 1             5             10

```

```

<210> 223
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 223
Gly Ile Cys Arg Leu Cys Lys His Phe Gln
 1             5             10

```

[0108]

<210> 224
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 224
Lys Gly Leu Cys Arg Gln Cys Lys Gln Ile
1 5 10

<210> 225
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 225
Trp Leu Arg Cys Thr Val Arg Ile Pro Gln
1 5 10

<210> 226
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 226
Arg Gln Cys Lys His Phe Tyr Asn Asp Trp
1 5 10

<210> 227
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 227
Cys Arg Asn Cys Ile Ser His Glu Gly Arg
1 5 10

<210> 228
<211> 10

[0109]

<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 228
Cys Cys Arg Asn Cys Tyr Glu His Glu Gly
1 5 10

<210> 229
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 229
Ser Ser Arg Thr Arg Arg Glu Thr Gln Leu
1 5 10

<210> 230
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 230
Arg Leu Gln Arg Arg Arg Glu Thr Gln Val
1 5 10

<210> 231
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 231
Trp Arg Arg Pro Arg Thr Glu Thr Gln Val
1 5 10

<210> 232
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 232

[0110]

Trp Lys Pro Thr Arg Arg Glu Thr Glu Val
1 5 10

<210> 233
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 233
Arg Arg Thr Leu Arg Arg Glu Thr Gln Val
1 5 10

<210> 234
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 234
Arg Arg Leu Thr Arg Arg Glu Thr Gln Val
1 5 10

<210> 235
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 235
Arg Leu Arg Arg Arg Arg Glu Thr Gln Val
1 5 10

<210> 236
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 236
Arg Leu Gln Arg Arg Asn Glu Thr Gln Val
1 5 10

[0111]

<210> 237
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 237
Arg Leu Gln Arg Arg Arg Val Thr Gln Val
1 5 10

<210> 238
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 238
Thr Ser Arg Glu Pro Arg Glu Ser Thr Val
1 5 10

<210> 239
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 239
Gln Arg Gln Ala Arg Ser Glu Thr Leu Val
1 5 10

<210> 240
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 240
Arg Leu Gln Arg Arg Arg Gln Thr Gln Val
1 5 10

<210> 241
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

[0112]

<400> 241
Arg Leu Gln Arg Arg Arg Glu Thr Ala Leu
1 5 10

<210> 242
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 242
Thr Ser Arg Gln Ala Thr Glu Ser Thr Val
1 5 10

<210> 243
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 243
Arg Arg Arg Thr Arg Gln Glu Thr Gln Val
1 5 10

<210> 244
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 244
Arg Arg Arg Glu Ala Thr Glu Thr Gln Val
1 5 10

<210> 245
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 245
Arg Pro Arg Arg Gln Thr Glu Thr Gln Val
1 5 10

[0113]

<210> 246
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 246
Arg His Thr Thr Ala Thr Glu Ser Ala Val
1 5 10

<210> 247
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 247
Thr Ser Arg Gln Ala Thr Glu Ser Thr Val
1 5 10

<210> 248
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 248
Arg Cys Trp Arg Pro Ser Ala Thr Val Val
1 5 10

<210> 249
<211> 10
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 249
Pro Pro Arg Gln Arg Ser Glu Thr Gln Val
1 5 10

<210> 250
<211> 24

[0114]

<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 250	
aaaagatcta caatactatg gcgc	24
<210> 251	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 251	
agggaattcc agacttaata ttatac	26
<210> 252	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 252	
aaaggatcca ttttatgcac caaaag	26
<210> 253	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 253	
atggaattct atctccatgc atgattac	28
<210> 254	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 254	
gaggaattca ccacaatact atggcg	26
<210> 255	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 255	

[0115]

aggagatctc atacttaata ttatac	26
<210> 256	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 256	
ttgagatctt cagcgtcgtt ggagtcg	27
<210> 257	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 257	
aaagaattca ttttatgcac caaaag	26
<210> 258	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 258	
atgggatcct atctccatgc atgattac	28
<210> 259	
<211> 32	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 259	
ctgggatcct catcaacgtg ttcttgatga tc	32
<210> 260	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 260	
aagaaagctt tttatgcacc aaaagag	27
<210> 261	
<211> 29	

[0116]

<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 261	
aatcaagctt tatctccatg catgattac	29
<210> 262	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 262	
gctgaagctt tcaacgtgtt cttgatgac	30
<210> 263	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 263	
aagcgtcgac tttatgcacc aaaagag	27
<210> 264	
<211> 29	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 264	
aatgctcgag tatctccatg catgattac	29
<210> 265	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 265	
gctgctcgag tcaacgtgtt cttgatgac	30
<210> 266	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 266	

[0117]

agaagtcgac cacaatacta tggcgc	26
<210> 267	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 267	
taggctcgag cataacttaat attatac	27
<210> 268	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 268	
cttgctcgag tcagcgtcgt tggagtcg	28
<210> 269	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 269	
agaaaagctt cacaatacta tggcgc	26
<210> 270	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 270	
tagaagcttg cataacttaat attatac	27
<210> 271	
<211> 28	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 271	
cttgaagctt tcagcgtcgt tgaggtcg	28
<210> 272	
<211> 225	

[0118]

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 272

```

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

```

<210> 273

<211> 24

<212> DNA

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 273

aatggggatc cagctcatta aagg

24

[0119]

<210> 274	
<211> 24	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 274	
atacatactt gtggaattcg ccac	24
<210> 275	
<211> 26	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 275	
cacggatccc ttcgagttg aaaggc	26
<210> 276	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 276	
tatgaattcc atctggatca aaaggcaatg	30
<210> 277	
<211> 30	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 277	
cagggatcca aagagttgaa attcacaagc	30
<210> 278	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 278	
acggaattct gcagcgactg ccgcgtc	27
<210> 279	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 智人(Homo sapiens)	

[0120]

<400> 279 aggatccaga tgtcctacat ccc	23
<210> 280 <211> 23 <212> DNA <213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 280 ggaattcatg gactgctgca cgg	23
<210> 281 <211> 28 <212> DNA <213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 281 agagaattct cgagatgtcc tacatccc	28
<210> 282 <211> 27 <212> DNA <213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 282 tgggaattcc taggacagca tggactg	27
<210> 283 <211> 25 <212> DNA <213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 283 ctaggatccg ggccagccgg tcacc	25
<210> 284 <211> 29 <212> DNA <213> 智人(Homo sapiens)	
<400> 284 gacggatccc cctgctgcac ggccttctg	29

[0121]

<210> 285
 <211> 29
 <212> DNA
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 285
 gacgaattcc cctgctgcac ggccttctg 29

<210> 286
 <211> 25
 <212> DNA
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 286
 ctagaattcg ggccagccgg tcacc 25

<210> 287
 <211> 82
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 287
 Leu Ile Lys Gly Pro Lys Gly Leu Gly Phe Ser Ile Ala Gly Gly Val
 1 5 10 15
 Gly Asn Gln His Ile Pro Gly Asp Asn Ser Ile Tyr Val Thr Lys Ile
 20 25 30
 Ile Glu Gly Gly Ala Ala His Lys Asp Gly Lys Leu Gln Ile Gly Asp
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ala Val Asn Asn Val Cys Leu Glu Glu Val Thr His Glu
 50 55 60
 Glu Ala Val Thr Ala Leu Lys Asn Thr Ser Asp Phe Val Tyr Leu Lys
 65 70 75 80
 Val Ala

<210> 288
 <211> 101
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 288
 Pro Ser Glu Leu Lys Gly Lys Phe Ile His Thr Lys Leu Arg Lys Ser
 1 5 10 15

[0122]

```

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

```

<210> 289
 <211> 102
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 289
Gln Arg Val Glu Ile His Lys Leu Arg Gln Gly Glu Asn Leu Ile Leu
  1                      5                      10                      15
Gly Phe Ser Ile Gly Gly Gly Ile Asp Gln Asp Pro Ser Gln Asn Pro
      20                      25                      30
Phe Ser Glu Asp Lys Thr Asp Lys Gly Ile Tyr Val Thr Arg Val Ser
      35                      40                      45
Glu Gly Gly Pro Ala Glu Ile Ala Gly Leu Gln Ile Gly Asp Lys Ile
      50                      55                      60
Met Gln Val Asn Gly Trp Asp Met Thr Met Val Thr His Asp Gln Ala
      65                      70                      75                      80
Arg Lys Arg Leu Thr Lys Arg Ser Glu Glu Val Val Arg Leu Leu Val
      85                      90                      95
Thr Arg Gln Ser Leu Gln
      100

```

<210> 290
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 290
Met Ser Tyr Ile Pro Gly Gln Pro Val Thr Ala Val Val Gln Arg Val
  1                      5                      10                      15

```

[0123]

```

Glu Ile His Lys Leu Arg Gln Gly Glu Asn Leu Ile Leu Gly Phe Ser
      20              25              30
Ile Gly Gly Gly Ile Asp Gln Asp Pro Ser Gln Asn Pro Phe Ser Glu
      35              40              45
Asp Lys Thr Asp Lys Gly Ile Tyr Val Thr Arg Val Ser Glu Gly Gly
      50              55              60
Pro Ala Glu Ile Ala Gly Leu Gln Ile Gly Asp Lys Ile Met Gln Val
      65              70              75              80
Asn Gly Trp Asp Met Thr Met Val Thr His Asp Gln Ala Arg Lys Arg
      85              90              95
Leu Thr Lys Arg Ser Glu Glu Val Val Arg Leu Leu Val Thr Arg Gln
      100             105             110
Ser Leu Gln Lys Ala Val Gln Gln Ser Met
      115             120

```

<210> 291
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 291
Glu Met Ser Tyr Ile Pro Gly Gln Pro Val Thr Ala Val Val Gln Arg
  1              5              10              15
Val Glu Ile His Lys Leu Arg Gln Gly Glu Asn Leu Ile Leu Gly Phe
      20              25              30
Ser Ile Gly Gly Gly Ile Asp Gln Asp Pro Ser Gln Asn Pro Phe Ser
      35              40              45
Glu Asp Lys Thr Asp Lys Gly Ile Tyr Val Thr Arg Val Ser Glu Gly
      50              55              60
Gly Pro Ala Glu Ile Ala Gly Leu Gln Ile Gly Asp Lys Ile Met Gln
      65              70              75              80
Val Asn Gly Trp Asp Met Thr Met Val Thr His Asp Gln Ala Arg Lys
      85              90              95
Arg Leu Thr Lys Arg Ser Glu Glu Val Val Arg Leu Leu Val Thr Arg
      100             105             110
Gln Ser Leu Gln Lys Ala Val Gln Gln Ser Met Leu Ser
      115             120             125

```

<210> 292
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

[0124]

<400> 292

```

Pro Gly Gln Pro Val Thr Ala Val Val Gln Arg Val Glu Ile His Lys
 1             5             10             15
Leu Arg Gln Gly Glu Asn Leu Ile Leu Gly Phe Ser Ile Gly Gly Gly
      20             25             30
Ile Asp Gln Asp Pro Ser Gln Asn Pro Phe Ser Glu Asp Lys Thr Asp
      35             40             45
Lys Gly Ile Tyr Val Thr Arg Val Ser Glu Gly Gly Pro Ala Glu Ile
      50             55             60
Ala Gly Leu Gln Ile Gly Asp Lys Ile Met Gln Val Asn Gly Trp Asp
65             70             75             80
Met Thr Met Val Thr His Asp Gln Ala Arg Lys Arg Leu Thr Lys Arg
      85             90             95
Ser Glu Glu Val Val Arg Leu Leu Val Thr Arg Gln Ser Leu Gln Lys
      100            105            110
Ala Val Gln Gln Ser
      115

```

<210> 293

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 293

```

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1             5             10             15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
      20             25             30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
      35             40             45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
      50             55             60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65             70

```

<210> 294

<211> 76

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 294

[0125]

```

Phe Ile His Thr Lys Leu Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr
 1           5           10           15
Val Val Gly Gly Asp Glu Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu
          20           25           30
Val Leu Asp Gly Pro Ala Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp
          35           40           45
Val Ile Val Ser Val Asn Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala
          50           55           60
Gln Val Val Lys Ile Phe Gln Ser Ile Pro Ile Gly
65           70           75

```

<210> 295

<211> 85

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 295

```

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

```

<210> 296

<211> 78

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 296

```

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

```

[0126]

Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe Gln
 50 55 60
 Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser Val Asp Leu Glu Leu Cys Arg
 65 70 75

<210> 297
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 297
 Phe Ile His Thr Lys Leu Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr
 1 5 10 15
 Val Val Gly Gly Asp Glu Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu
 20 25 30
 Val Leu Asp Gly Pro Ala Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp
 35 40 45
 Val Ile Val Ser Val Asn Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala
 50 55 60
 Gln Val Val Lys Ile Phe Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser Val Asp
 65 70 75 80
 Leu Glu Leu Cys Arg Gly Tyr Pro
 85

<210> 298
 <211> 88
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 298
 Lys Gly Lys Phe Ile His Thr Lys Leu Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe
 1 5 10 15
 Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile
 20 25 30
 Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu
 35 40 45
 Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn Asp Thr Cys Val Leu Gly His
 50 55 60
 Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala
 65 70 75 80
 Ser Val Asp Leu Glu Leu Cys Arg
 85

[0127]

<210> 299
 <211> 81
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 299
 Lys Gly Lys Phe Ile His Thr Lys Leu Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe
 1 5 10 15
 Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile
 20 25 30
 Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu
 35 40 45
 Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn Asp Thr Cys Val Leu Gly His
 50 55 60
 Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala
 65 70 75 80
 Ser

<210> 300
 <211> 94
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 300
 Glu Leu Lys Gly Lys Phe Ile His Thr Lys Leu Arg Lys Ser Ser Arg
 1 5 10 15
 Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu Pro Asp Glu Phe Leu
 20 25 30
 Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala Ala Leu Asp Gly Lys
 35 40 45
 Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn Asp Thr Cys Val Leu
 50 55 60
 Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe Gln Ser Ile Pro Ile
 65 70 75 80
 Gly Ala Ser Val Asp Leu Glu Leu Cys Arg Gly Tyr Pro Leu
 85 90

<210> 301
 <211> 99

[0128]

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 301

```

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

```

<210> 302

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 302

```

Arg Lys Ser Ala Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1             5             10             15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
          20             25             30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
          35             40             45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
          50             55             60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65             70

```

<210> 303

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 303

[0129]

```

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Glu Glu
 1           5           10           15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
          20           25           30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
          35           40           45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
          50           55           60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65           70

```

<210> 304

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 304

```

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1           5           10           15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Leu Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
          20           25           30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
          35           40           45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
          50           55           60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65           70

```

<210> 305

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 305

```

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1           5           10           15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
          20           25           30
Ser Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
          35           40           45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
          50           55           60

```

[0130]

Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65 70

<210> 306

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 306

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
1 5 10 15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
20 25 30
Ala Leu Asp Gly Arg Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
35 40 45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
50 55 60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65 70

<210> 307

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 307

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
1 5 10 15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
20 25 30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ala Val Asn
35 40 45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
50 55 60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65 70

<210> 308

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0131]

<400> 308

```

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1             5             10             15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
          20             25             30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
          35             40             45
Glu Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
          50             55             60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65             70

```

<210> 309

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 309

```

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1             5             10             15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
          20             25             30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
          35             40             45
Asp Thr Cys Leu Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
          50             55             60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65             70

```

<210> 310

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 310

```

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

```

[0132]

Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ser Gln Val Val Lys Ile Phe
 50 55 60
 Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
 65 70

<210> 311
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 311
 Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1 5 10 15
 Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
 20 25 30
 Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
 35 40 45
 Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Leu Phe
 50 55 60
 Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
 65 70

<210> 312
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 312
 Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1 5 10 15
 Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
 20 25 30
 Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
 35 40 45
 Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
 50 55 60
 Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ser Ser
 65 70

<210> 313
 <211> 72

[0133]

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 313

```

Arg Lys Ser Thr Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1             5             10             15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
          20             25             30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
          35             40             45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
          50             55             60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65             70

```

<210> 314

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 314

```

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1             5             10             15
Pro Gly Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
          20             25             30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
          35             40             45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
          50             55             60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65             70

```

<210> 315

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 315

```

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

```

[0134]

```

Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
      35                      40                      45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
      50                      55                      60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65                      70

```

```

<210> 316
<211> 72
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 316
Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1                      5                      10                      15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
      20                      25                      30
Ala Leu Ala Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
      35                      40                      45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
      50                      55                      60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65                      70

```

```

<210> 317
<211> 72
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

```

```

<400> 317
Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1                      5                      10                      15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
      20                      25                      30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Ala Asp Val Ile Val Ser Val Asn
      35                      40                      45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
      50                      55                      60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65                      70

```

[0135]

<210> 318
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 318
 Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1 5 10 15
 Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
 20 25 30
 Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
 35 40 45
 Asp Thr Ala Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
 50 55 60
 Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
 65 70

<210> 319
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 319
 Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1 5 10 15
 Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
 20 25 30
 Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
 35 40 45
 Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Ala Val Lys Ile Phe
 50 55 60
 Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
 65 70

<210> 320
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

<400> 320
 Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1 5 10 15

[0136]

```

Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
      20              25              30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
      35              40              45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
      50              55              60
Gln Ser Ile Ala Ile Gly Ala Ser
65              70

```

<210> 321
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 321
Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
  1              5              10              15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
      20              25              30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
      35              40              45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
      50              55              60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ala
65              70

```

<210> 322
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 322
Arg Lys Ser Ser Ser Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
  1              5              10              15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
      20              25              30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
      35              40              45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
      50              55              60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65              70

```

[0137]

<210> 323
<211> 72
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 323
Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Leu Glu
1 5 10 15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
20 25 30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
35 40 45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
50 55 60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65 70

<210> 324
<211> 72
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 324
Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
1 5 10 15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Thr Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
20 25 30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
35 40 45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
50 55 60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65 70

<210> 325
<211> 72
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 325

[0138]

```

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1             5             10             15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
          20             25             30
Gly Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
          35             40             45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
          50             55             60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65             70

```

<210> 326
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 326
Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1             5             10             15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
          20             25             30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Ser Asp Val Ile Val Ser Val Asn
          35             40             45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
          50             55             60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65             70

```

<210> 327
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)

```

<400> 327
Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
 1             5             10             15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
          20             25             30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Lys
          35             40             45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
          50             55             60

```

[0139]

Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65 70

<210> 328

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 328

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
1 5 10 15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
20 25 30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
35 40 45
Asp Thr Cys Val Leu Phe His Thr His Ala Gln Val Val Lys Ile Phe
50 55 60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65 70

<210> 329

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 329

Arg Lys Ser Ser Arg Gly Phe Gly Phe Thr Val Val Gly Gly Asp Glu
1 5 10 15
Pro Asp Glu Phe Leu Gln Ile Lys Ser Leu Val Leu Asp Gly Pro Ala
20 25 30
Ala Leu Asp Gly Lys Met Glu Thr Gly Asp Val Ile Val Ser Val Asn
35 40 45
Asp Thr Cys Val Leu Gly His Thr His Ala Gln Asn Val Lys Ile Phe
50 55 60
Gln Ser Ile Pro Ile Gly Ala Ser
65 70

<210> 330

<211> 72

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

[0140]

<400> 330

Arg	Lys	Ser	Ser	Arg	Gly	Phe	Gly	Phe	Thr	Val	Val	Gly	Gly	Asp	Glu
1				5					10					15	
Pro	Asp	Glu	Phe	Leu	Gln	Ile	Lys	Ser	Leu	Val	Leu	Asp	Gly	Pro	Ala
			20					25					30		
Ala	Leu	Asp	Gly	Lys	Met	Glu	Thr	Gly	Asp	Val	Ile	Val	Ser	Val	Asn
		35					40					45			
Asp	Thr	Cys	Val	Leu	Gly	His	Thr	His	Ala	Gln	Val	Val	Lys	Ile	Phe
	50					55					60				
Gln	Ser	Ile	Pro	Ile	Ser	Ala	Ser								
65					70										

24

HPV11-E6与HPV18-E6结合TIP-TIP-IgG/a-E6抗体的对比

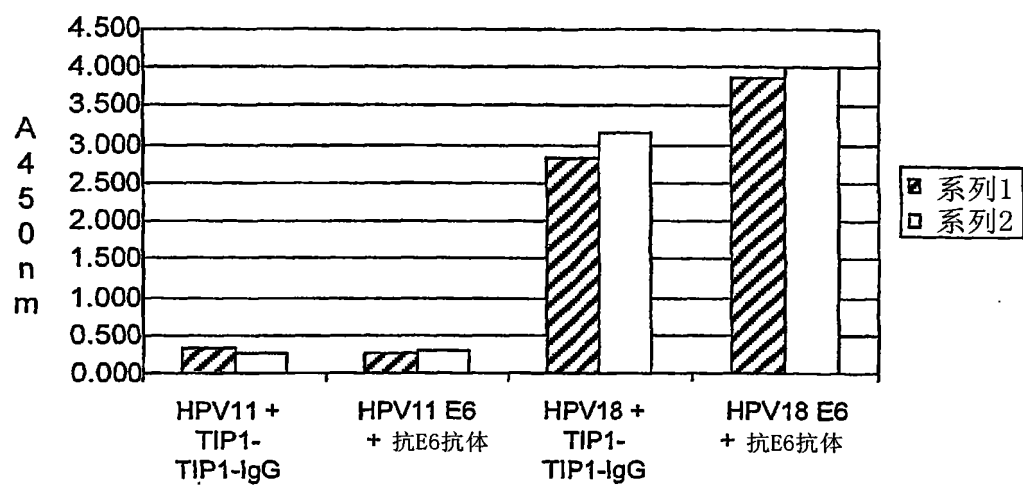


图 1

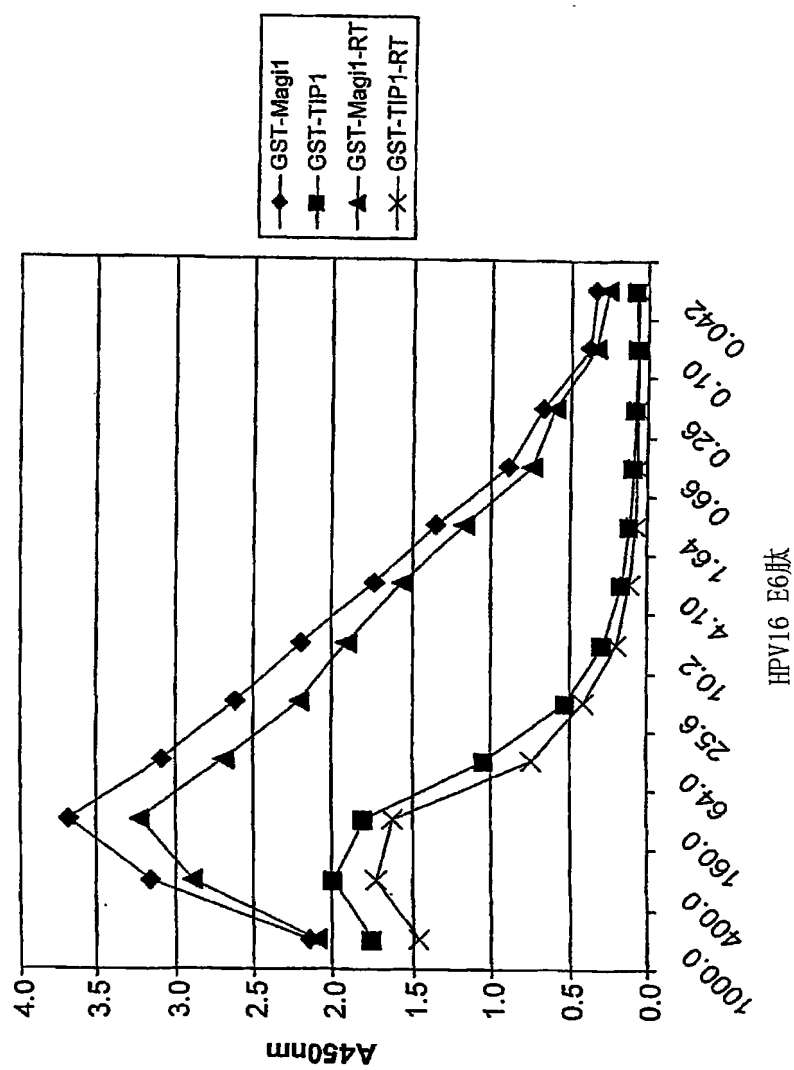


图 2

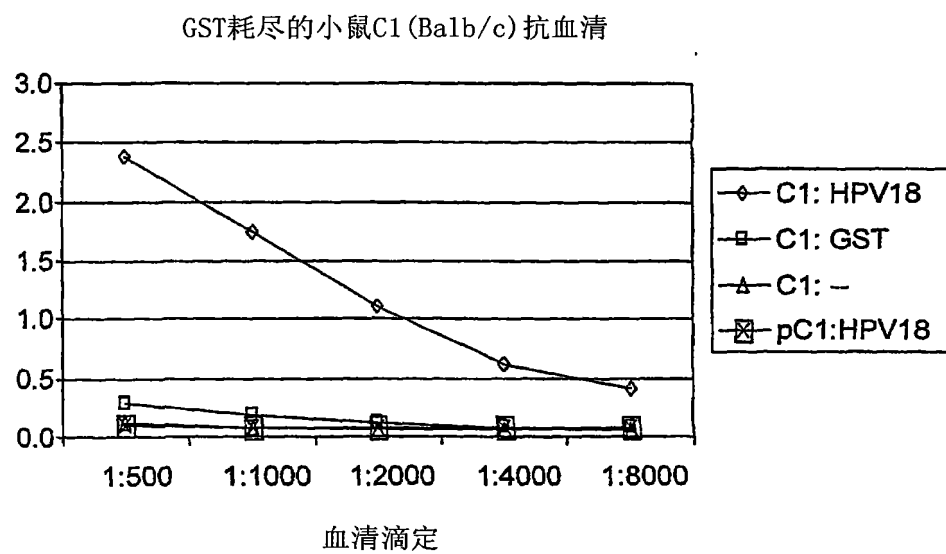


图 3

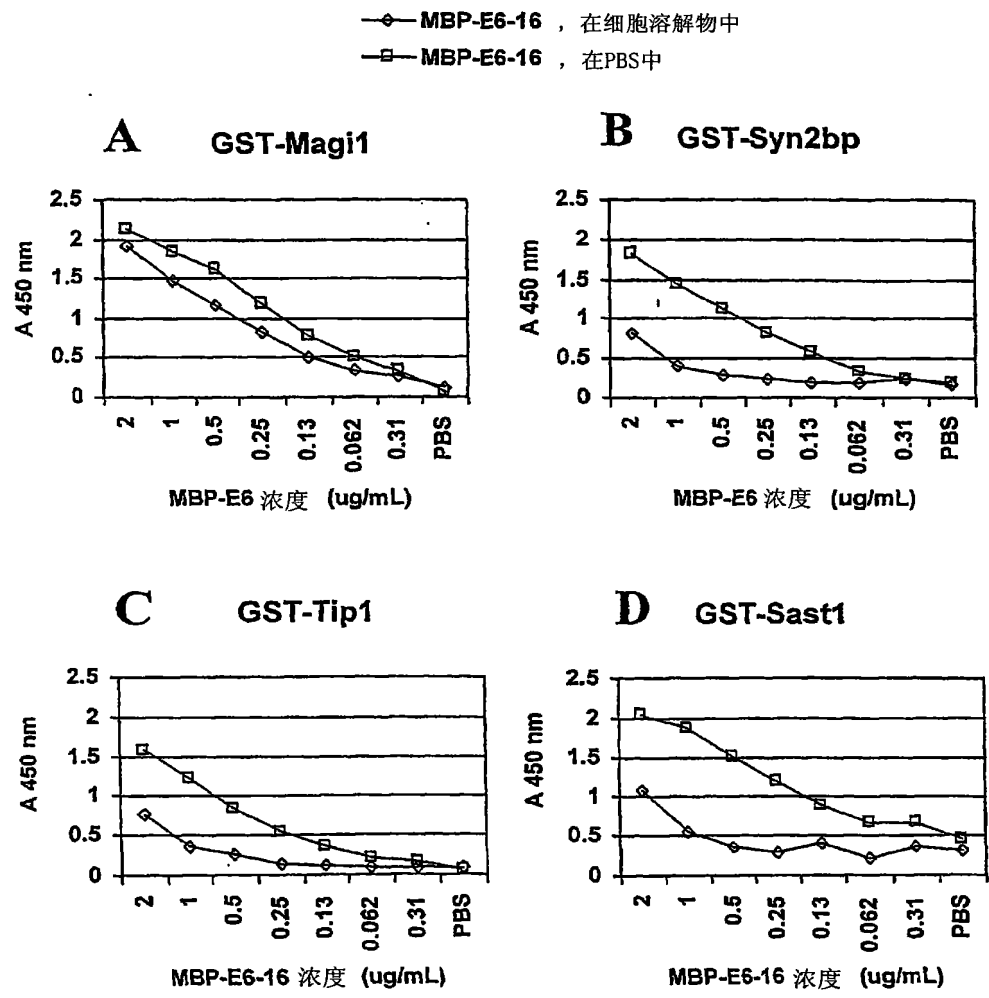


图 4

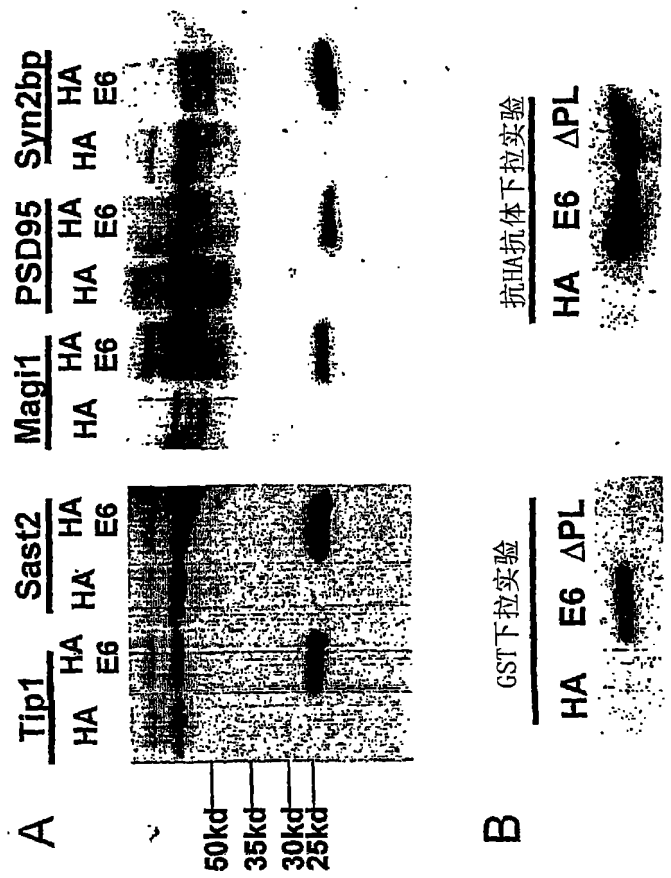


图 5

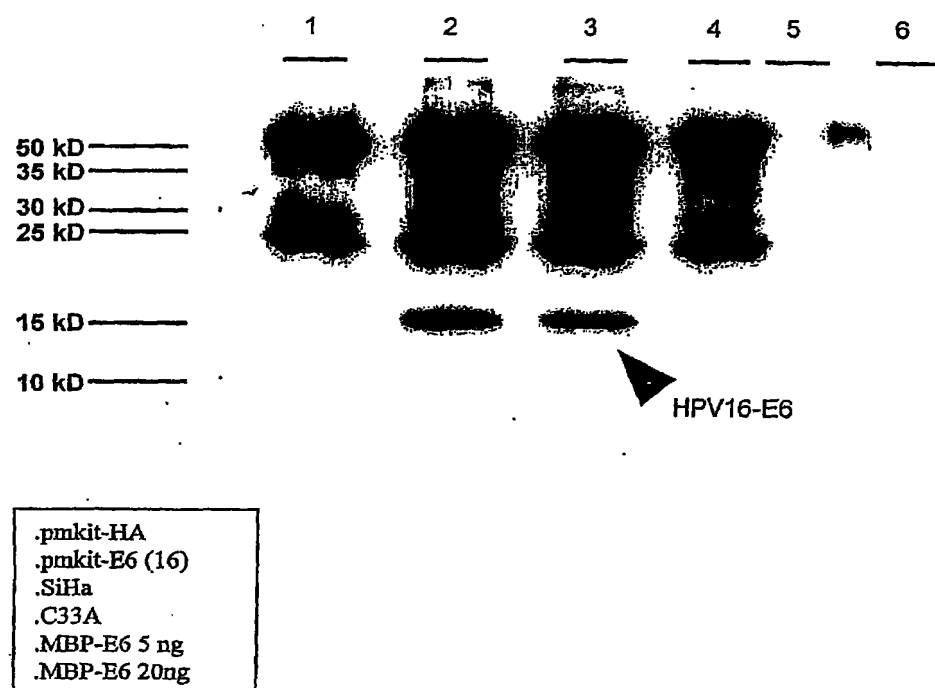
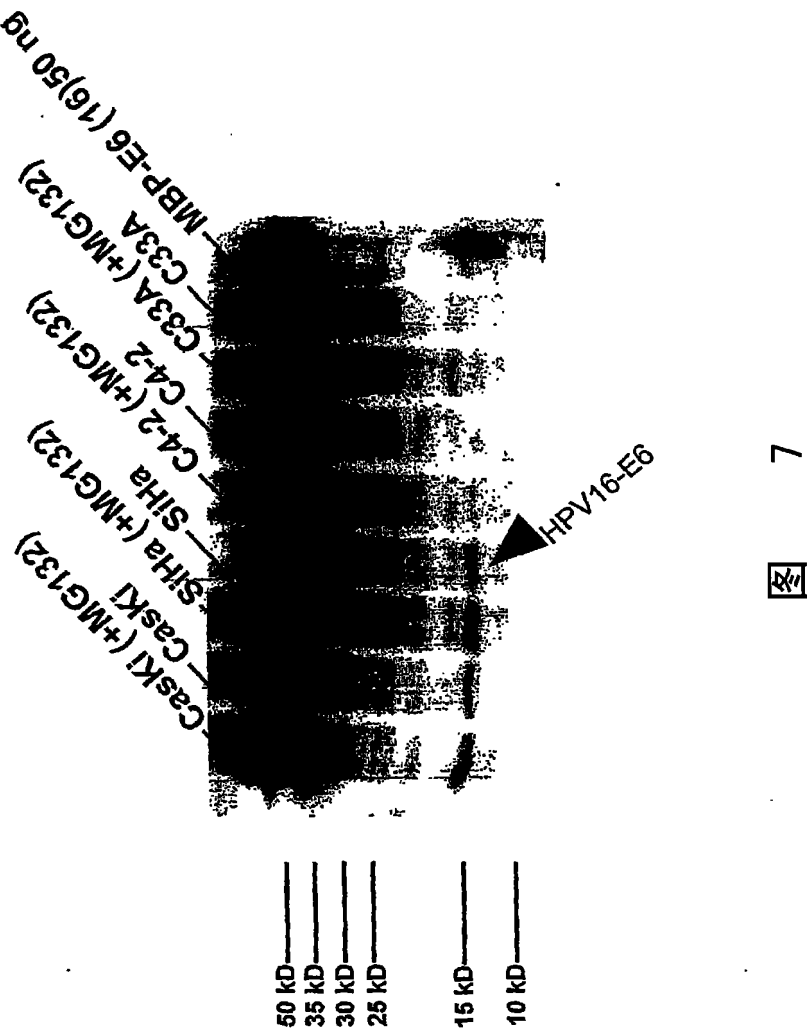


图 6



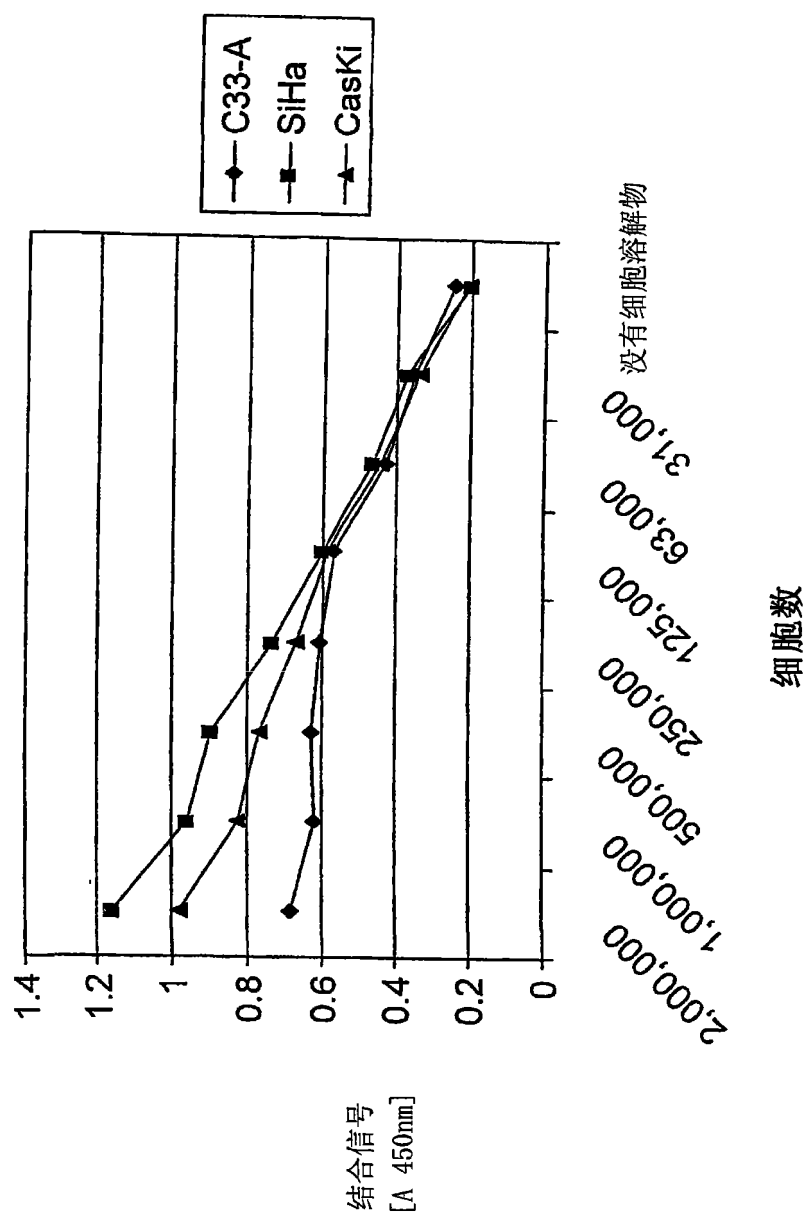


图 8

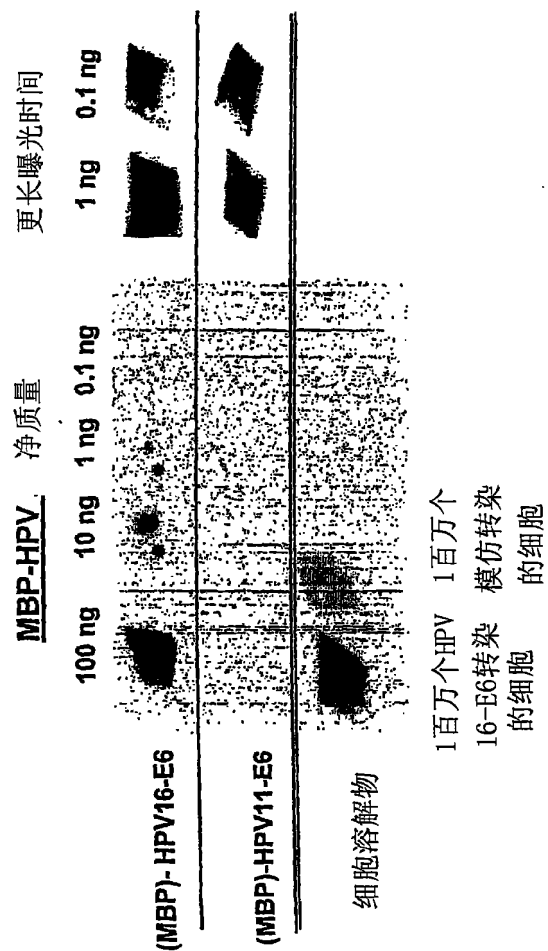


图 9

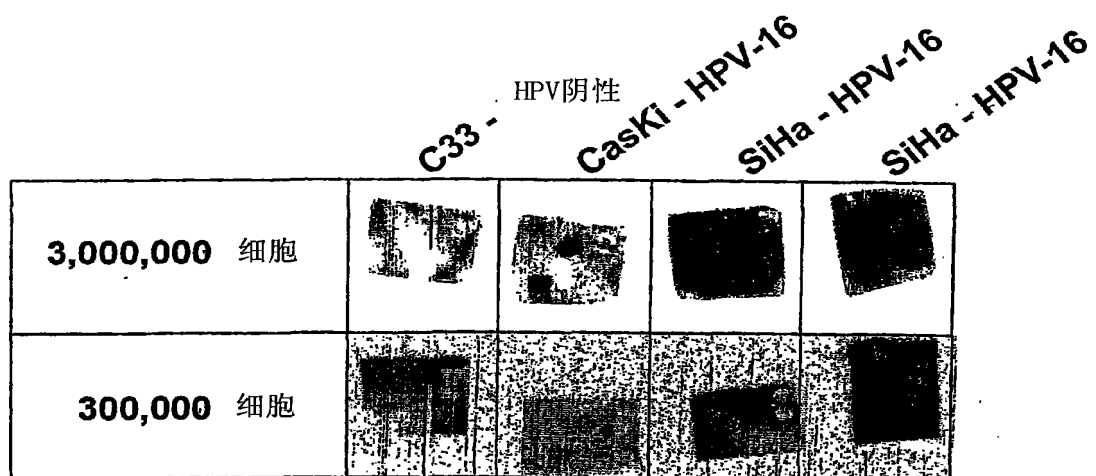


图 10



图 11