



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 105744956 B

(45) 授权公告日 2021.07.20

(21) 申请号 201480055994.5

(22) 申请日 2014.10.09

(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 105744956 A

(43) 申请公布日 2016.07.06

(30) 优先权数据
61/888,658 2013.10.09 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2016.04.11

(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/US2014/059957 2014.10.09

(87) PCT国际申请的公布数据
W02015/054529 EN 2015.04.16

(73) 专利权人 西达-赛奈医疗中心

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 马克·皮门特尔 克里斯托弗·尚

(74) 专利代理机构 北京信慧永光知识产权代理
有限责任公司 11290

代理人 董世豪 张淑珍

(51) Int.Cl.

A61K 39/40 (2006.01)

G01N 33/00 (2006.01)

G01N 33/554 (2006.01)

A01N 37/18 (2006.01)

审查员 马艳林

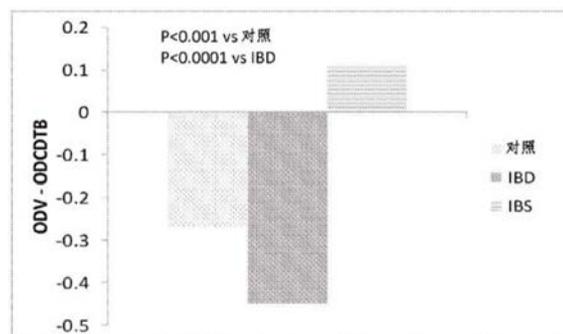
权利要求书1页 说明书24页
序列表12页 附图1页

(54) 发明名称

肠易激综合征和炎症肠病的诊断和治疗

(57) 摘要

本发明描述了基于受试者的抗黏着斑蛋白抗体和抗CdtB抗体的水平来诊断、筛查和治疗肠易激综合征 (IBS) 的方法、测定试剂盒和系统。可以使用本文所描述的方法、测定试剂盒和系统将 IBS 与炎症肠病 (IBD) 区分开。



1. 黏着斑蛋白或其片段以及CdtB或其片段的组合在制备用于通过确定生物样本中的抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗CdtB抗体的水平来诊断IBS、并任选地筛选用于IBS的治疗的测定试剂盒中的用途,其中,所述生物样本为相同类型的生物样本。

2. 黏着斑蛋白或其片段以及CdtB或其片段的组合在制备用于通过确定生物样本中的抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗CdtB抗体的水平来区分IBS与IBD、并任选地筛选用于IBS的治疗的测定试剂盒中的用途,其中,所述生物样本为相同类型的生物样本。

3. 根据权利要求1-2中任一项所述的用途,其中,所述抗黏着斑蛋白抗体的水平被确定为比所述抗CdtB抗体的水平更高25%以上。

4. 根据权利要求1-2中任一项所述的用途,其中,利用光密度(OD)测量所述抗黏着斑蛋白抗体的水平和所述抗CdtB抗体的水平。

5. 根据权利要求1-2中任一项所述的用途,其中,所述抗黏着斑蛋白抗体是特异性地结合至黏着斑蛋白的抗体。

6. 根据权利要求1-2中任一项所述的用途,其中,所述抗黏着斑蛋白抗体是如下抗体,所述抗体特异性地结合至9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的肽,所述肽与黏着斑蛋白或SEQ ID NO:7的9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

7. 根据权利要求1-2中任一项所述的用途,其中,所述抗黏着斑蛋白抗体特异性地结合至包含9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的多肽,所述多肽与黏着斑蛋白或SEQ ID NO:7的9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

8. 根据权利要求1-2中任一项所述的用途,其中,所述抗CdtB抗体特异性地结合至CDT的CdtB亚基。

9. 根据权利要求8所述的用途,其中,所述CdtB的氨基酸序列是空肠弯曲杆菌细胞致死性膨胀毒素B(SEQ ID NO:5)。

10. 根据权利要求1-2中任一项所述的用途,其中,所述抗CdtB抗体特异性地结合至如下氨基酸序列,所述氨基酸序列与SEQ ID NO:5具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的一致性。

11. 根据权利要求8所述的用途,其中,所述CdtB的氨基酸序列是大肠弯曲杆菌细胞致死性膨胀毒素B(SEQ ID NO:1)。

12. 根据权利要求1-2中任一项所述的用途,其中,所述抗CdtB抗体特异性地结合至如下氨基酸序列,所述氨基酸序列与SEQ ID NO:1具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的一致性。

13. 根据权利要求1-2中任一项所述的用途,其中,所述抗CdtB抗体特异性地结合至包含9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的多肽,所述多肽与CdtB的9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

肠易激综合征和炎性肠病的诊断和治疗

技术领域

[0001] 本发明涉及肠易激综合征的诊断和治疗。

背景技术

[0002] 下面的描述包括对于理解本发明可能有用的信息。这并不是承认本文提供的任何信息都是现有技术或者与要求保护的发明相关,或者任何明确或隐含地引用的出版物都是现有技术。

[0003] 肠易激综合征 (IBS) 的诊断是基于患者的主述症状的排除诊断或诊断。进一步地,当患者出现胃肠道症状时,区分肠易激综合征 (IBS) 与其他类型的胃肠道疾患 (诸如炎性肠病 (IBD), 例如溃疡性结肠炎、克罗恩病) 可能就困难、或者可能需要侵入性程序来排除 IBD。当前在本领域中,还没有诊断 IBS 或区分 IBS 与其它的肠道功能障碍失调的手段。惯例通常需要侵入性测试,该测试具有固有的风险、花费很大并且会使得患者发病。

[0004] 因此,本领域仍然需要特别是以更少侵入性的方式诊断 IBS 及区分 IBS 与 IBD 的方法和系统。

发明内容

[0005] 结合组合物和方法对以下实施方式及其方面进行描述和说明,其意在示例和说明,而并不对范围进行限定。

[0006] 多个实施方式提供了诊断 IBS、并任选地筛选用于 IBS 的治疗或任选地给予 IBS 疗法的方法,所述方法包括提供来自期望进行关于 IBS 的诊断的受试者的生物样本;测定生物样本的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗 CDT 抗体的水平;确定抗黏着斑蛋白抗体的水平与抗 CDT 抗体的水平之间的差值;以及当抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗 CDT 抗体的水平时,确定存在 IBS。

[0007] 多个实施方式提供了区分 IBS 与 IBD、并任选地筛选用于 IBS 的治疗或任选地给予 IBS 疗法的方法,所述方法包括:提供来自期望进行用于区分 IBS 与 IBD 的诊断的受试者的生物样本;测定生物样本的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗 CDT 抗体的水平;以及当抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗 CDT 抗体的水平时,确定存在 IBS,或者确定抗黏着斑蛋白抗体的水平与抗 CDT 抗体的水平之间的差值。

[0008] 在多个实施方式中,测定生物样本可包括:使黏着斑蛋白或其片段与生物样本接触;使 CdtB 或其片段与生物样本接触,其中,抗黏着斑蛋白抗体和/或抗 CdtB 抗体特异性地结合至生物样本中的黏着斑蛋白或其片段和/或 CdtB 或其片段;以及测量生物样本中的抗黏着斑蛋白抗体和抗 CdtB 抗体的水平。

[0009] 在多个实施方式中,如果抗黏着斑蛋白抗体的水平比抗 CDT 抗体的水平更高 25% 以上,则可以确定受试者患有 IBS。

[0010] 在多个实施方式中,利用光密度 (OD) 测量抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗 CDT 抗体的水平,并且当抗黏着斑蛋白抗体的 OD (OD_v) 与抗 CDT 抗体的 OD (OD_{CDT}) 之间的差值大于 0 时,

可以确定受试者患有IBS。

[0011] 在多个实施方式中,当 $OD_V - OD_{CDT}$ 大于0.2时,可以确定受试者患有IBS。

[0012] 在多个实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体可以是特异性地结合至黏着斑蛋白的抗体。在多个实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体可以是如下抗体,所述抗体特异性地结合至5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的肽,所述肽与黏着斑蛋白或SEQ ID NO:7的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

[0013] 在多个实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体可以如下抗体,所述抗体特异性地结合至包含5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的多肽,所述多肽与黏着斑蛋白或SEQ ID NO:7的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

[0014] 在多个实施方式中,抗CDT抗体可以是特异性地结合至CDT的CdtB亚基的抗体。

[0015] 在多个实施方式中,CdtB的氨基酸序列可以是空肠弯曲杆菌(*Campylobacter jejuni*)细胞致死性膨胀毒素B(SEQ ID NO:5)。

[0016] 在多个实施方式中,抗CDT抗体可以是特异性地结合至如下氨基酸序列的抗体,所述氨基酸序列与SEQ ID NO:5具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的一致性。

[0017] 根据权利要求10所述的方法,其中,CdtB的氨基酸序列是大肠弯曲杆菌(*Campylobacter coli*)细胞致死性膨胀毒素B(SEQ ID NO:1)。在多个实施方式中,抗CDT抗体可以是特异性地结合至如下氨基酸序列的抗体,所述氨基酸序列与SEQ ID NO:1具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的一致性。

[0018] 在多个实施方式中,抗CDT抗体可以是如下抗体,所述抗体特异性地结合至包含5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的多肽,所述多肽与CdtB的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

[0019] 在多个实施方式中,所述方法可进一步包括:如果确定受试者患有IBS,筛选用于所述受试者的IBS治疗。

[0020] 在多个实施方式中,所述方法可进一步包括:如果确定受试者患有IBS,向所述受试者给予IBS疗法。

[0021] 多个实施方式提供了用于诊断IBS的系统,所述系统包含:分离的生物样本,所述生物样本来自期望进行关于IBS的诊断的受试者;以及一种或多种测定试剂盒,所述测定试剂盒用于检测抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平以诊断IBS。

[0022] 多个实施方式提供了用于区分IBS与IBD的系统,所述系统包含:分离的生物样本,所述生物样本来自期望进行用于区分IBS与IBD的诊断的受试者;以及一种或多种测定试剂盒,所述测定试剂盒用于检测抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平以区分IBS与IBD。

[0023] 在多个实施方式中,所述系统可进一步包含机器,当抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗CDT抗体的水平时,所述机器用于确定存在IBS。

[0024] 在多个实施方式中,所述系统可进一步包含输出或显示元件,所述输出或显示元

件用于示出患者是否患有IBS、和/或用于示出抗黏着斑蛋白抗体的水平是否高于抗CDT抗体的水平。

[0025] 本发明的其它特征和优势将根据结合附图进行的以下详细描述而变得显而易见，所述附图通过示例的方式说明本发明的实施方式的各种特征。

附图说明

[0026] 参照附图对示例性的实施方式进行说明。本文公开的实施方式和附图意图被视为说明性的、而非限制性的。

[0027] 图1描绘了本发明多个实施方式所述的抗黏着斑蛋白抗体的光密度(OD_V)和抗CDTB抗体的光密度(OD_{CDTB})。

[0028] 图2描绘了本发明多个实施方式所述的抗黏着斑蛋白抗体的光密度(OD_V)与抗CDTB抗体的光密度(OD_{CDTB})之间的差值。

具体实施方式

[0029] 本文中引用的所有参考文献都以引用的方式整体并入本文进行充分阐述。除非另外定义，否则本文使用的科技术语具有与本发明所属领域中的普通技术人员通常所理解的相同的含义。Singleton等, Dictionary of Microbiology and Molecular Biology, 第3版修订, J. Wiley & Sons (纽约, NY 2006); 以及 Sambrook 和 Russel, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第4版, Cold Spring Harbor Laboratory Press (Cold Spring Harbor, NY 2012), 为本领域技术人员提供了本申请中使用的许多术语的通用指导。关于如何制备抗体的参考文献, 参见 D. Lane, Antibodies: A Laboratory Manual, 第2版, (Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor NY, 2013); Kohler 和 Milstein, (1976) Eur. J. Immunol. 6:511; Queen 等, 美国专利号 5,585,089; 以及 Riechmann 等, Nature 332:323 (1988); 美国专利号 4,946,778; Bird, Science 242:423-42 (1988); Huston 等, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883 (1988); Ward 等, Nature 334:544-54 (1989); Tomlinson I. 和 Holliger P. (2000) Methods Enzymol, 326, 461-479; Holliger P. (2005) Nat. Biotechnol. Sep; 23 (9) :1126-36)。

[0030] 本领域技术人员将认识到可用于本发明的实践中、与本文描述的方法和材料类似或等同的许多方法和材料。实际上, 本发明并不限于所描述的方法和材料。

[0031] 如本文使用的“抗体 (antibody 或 antibodies)”包括多克隆抗体、单克隆抗体、抗体变体诸如单链 (重组) Fv、人抗体、人源化抗体、嵌合抗体、以及抗体的免疫活性片段。

[0032] 如本文使用的“特异性地结合”是指抗体结合至其抗原的行为, 并意在排除可能发生在随机蛋白之间的低水平的非特异性结合。由于抗体可与包含相关表位的任何蛋白质发生交叉反应, 如本文使用的“特异性地结合”并不意指且并不暗示抗体将不会结合至除本文公开的蛋白质或多肽以外的任何蛋白质。

[0033] 如本文使用的“严重的肠易激综合征”是指转诊或已经转诊至三级护理中心、IBS 专家或胃肠动力专家 (motility specialist) 的受试者中的肠易激综合征 (IBS)。

[0034] 本发明人已确定, CdtB 似乎并非简单地通过直接毒性起作用, 而是通过针对 CdtB 的抗体与宿主蛋白 (黏着斑蛋白) 的交叉反应起作用。黏着斑蛋白是 117kDa 的细胞质肌动蛋

白结合蛋白,其是黏着斑和黏附连接的关键成分,介导整合素或钙粘蛋白分别与肌动蛋白细胞骨架之间的联接。

[0035] 基于在动物模型中的病理生理观察,本发明人认为暴露于CdtB引起基于分子模拟的针对黏着斑蛋白的自身免疫。如本文所描述的,对检测这些事件作为用于人的IBS的测试的效果进行了评价。

[0036] 本文的研究表明,当抗黏着斑蛋白抗体多于抗CdtB抗体时,这高度指示IBS,并且将IBS与IBD区分开。虽然不希望受任何具体理论的束缚,但是本发明人认为当抗黏着斑蛋白抗体多于抗CdtB抗体时,这也指示了患者经历的IBS的严重程度。在本文描述的研究中的IBS患者出现在三级护理中心,这强烈地暗示了病症的严重程度。除非其病症严重,患者通常不会被转诊至三级护理中心或在三级护理中心寻求治疗。他们通常自行治疗或由他们的初级保健医师治疗。进一步地,对一些IBS疗法而言,这些患者极有可能很难医治,从而通常被准予转诊至三级护理中心。

[0037] 诊断

[0038] 本发明的多个实施方式提供了诊断IBS以及区分IBS与IBD的方法、测定试剂盒和系统。

[0039] 方法

[0040] 本发明的多个实施方式提供了诊断IBS的方法,所述方法包括:提供来自期望进行关于IBS的诊断的受试者的生物样本;测定生物样本的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平;确定抗黏着斑蛋白抗体的水平与抗CDT抗体的水平之间的差值,以及当抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗CDT抗体的水平时,确定存在IBS。

[0041] 本发明的多个实施方式提供了区分IBS与IBD的方法,所述方法包括:提供来自期望进行用于区分IBS与IBD的诊断的受试者的生物样本;测定生物样本的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平;确定抗黏着斑蛋白抗体的水平与抗CDT抗体的水平之间的差值;以及当抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗CDT抗体的水平时,确定存在IBS。

[0042] 在多个实施方式中,所述测定方法包括:将如本文所讨论的黏着斑蛋白或其片段及如本文所描述的CdtB或其片段加入到来自期望进行关于IBS的确定的受试者的生物样本,其中,抗黏着斑蛋白和/或抗CdtB抗体(如果存在于生物样本中)特异性地结合至生物样本中的黏着斑蛋白或其片段和/或CdtB或其片段;测量生物样本中的抗黏着斑蛋白抗体和抗CdtB抗体的水平;以及如果抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗CdtB抗体的水平,则鉴定受试者患有IBS。在多个实施方式中,所述测定方法可以是两种单独的测定方法,一种检测抗黏着斑蛋白抗体的水平,且一种用来检测抗CdtB抗体的水平。在多个实施方式中,所述测定方法可以是检测抗黏着斑蛋白和抗CdtB抗体的单一测定方法。

[0043] 在多个实施方式中,如果抗黏着斑蛋白抗体的水平比抗CDT抗体的水平更高1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、175%、200%、250%、300%、350%、400%、450%、500%、600%、700%、800%、900%、或1000%或更多,则确定受试者患有IBS。

[0044] 在多个实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体的水平大于抗CDT抗体的程度提供了有关IBS存在的阳性预测值。与阳性预测值有关的百分率可以如本文所描述。在一些实施方案

中,可以通过检查另外的IBS患者与对照或者另外的IBS患者与IBD患者的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平,计算与阳性预测值有关的百分率。

[0045] 在一些实施方式中,利用光密度(OD)测量抗黏着斑蛋白抗体和抗CDT抗体的水平。因而,当抗黏着斑蛋白抗体的OD(OD_V)与抗CDT抗体的OD(OD_{CDT})之间的差值大于0时,确定受试者患有IBS。在多个实施方式中,当 $OD_V - OD_{CDT}$ 大于0.1、0.2、0.3、0.4、0.5或0.6时,确定受试者患有IBS。在一些实施方式中,当 $OD_V - OD_{CDT}$ 大于0.2时,确定受试者患有IBS。在多个实施方式中, $OD_V - OD_{CDT}$ 的程度提供了有关IBS存在的阳性预测值。与阳性预测值有关的 $OD_V - OD_{CDT}$ 值可以如本文所描述。在一些实施方式中,可通过检查另外的IBS患者与对照或者另外的IBS患者与IBD患者的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平,计算与阳性预测值有关的 $OD_V - OD_{CDT}$ 值。

[0046] 在多个实施方式中,在约4°C下于加湿箱中,用约100 μ l/孔的以约1.2 μ g/ml处于pH约为8.2的BBS中的抗原(黏着斑蛋白或CdtB)将96孔板包被过夜或>16小时。用各样本并用单独的BBS对另外的孔进行包被,以确定归因于血清的非特异性背景,将该背景从抗原包被的孔中扣除。用约250 μ l/孔的0.05%PBS-T将孔洗涤约3次。在室温下于加湿箱中,用约200 μ l/孔的处于PBS中的约3%BSA将孔封闭约1小时。使用处于PBS中的约3%BSA将血清稀释成1:16稀释液。加入约100 μ l/孔的血清;并在室温下于加湿箱中孵育约1小时。用约250 μ l/孔的0.05%PBS-T将孔洗涤约3次。加入约100 μ l/孔的以处于PBS中的约3%BSA稀释的缀合至HRP的约1:10,000的二抗。在室温下于加湿箱中孵育1小时。用约250 μ l/孔的约0.05%PBS-T将孔洗涤约6次。加入100 μ l/孔的TMB底物溶液(1-Step Ultra TMB-ELISA Substrate, Pierce, 34028)。使用吸光度方案在酶标仪(例如,BioTek Synergy HT)上于约370nm处即时读板;并且让板显色约90分钟(测定在60分钟左右达到平台期)。

[0047] 在多个实施方式中,IBS可以为C-IBS、D-IBS、A-IBS(也称为M-IBS)。在多个实施方式中,IBS是严重的IBS。在多个实施方式中,IBS是严重的C-IBS、严重的D-IBS或严重的A-IBS。

[0048] 在多个实施方式中,抗CDT抗体是抗CdtB抗体。

[0049] 在多个实施方式中,测定试剂盒包含如本文所讨论的黏着斑蛋白或其片段及如本文所讨论的CdtB或其片段作为抗原,用于检测抗黏着斑蛋白抗体和抗CdtB抗体。

[0050] 系统

[0051] 本发明的多个实施方式提供了用于诊断IBS的系统,所述系统包含:分离的生物样本,所述生物样本来自期望进行关于IBS的诊断的受试者;以及一种或多种测定试剂盒,所述测定试剂盒用于检测抗黏着斑蛋白抗体的水平及抗CDT抗体的水平以诊断IBS。

[0052] 本发明的多个实施方式提供了用于区分IBS与IBD的系统,所述系统包含:分离的生物样本,所述生物样本来自期望进行用于区分IBS与IBD的诊断的受试者;以及一种或多种测定试剂盒,所述测定试剂盒用于检测抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平以区分IBS与IBD。

[0053] 在多个实施方式中,这些系统进一步包含机器,当抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗CDT抗体的水平时,所述机器用于确定存在IBS。

[0054] 在多个实施方式中,系统包含输出或显示元件,所述输出或显示元件用于示出患者是否患有IBS、和/或用于示出抗黏着斑蛋白抗体的水平是否高于抗CDT抗体的水平。

[0055] 在多个实施方式中,如果抗黏着斑蛋白抗体的水平比抗CDT抗体的水平更高1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、175%、200%、250%、300%、350%、400%、450%、500%、600%、700%、800%、900%、或1000%或更多,则系统确定受试者患有IBS。在多个实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体的水平大于抗CDT抗体的水平的程度提供了有关IBS存在的阳性预测值。与阳性预测值有关的百分率可以如本文所描述。在一些实施方式中,可以通过检查另外的IBS患者与对照或者另外的IBS患者与IBD患者的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平,计算与阳性预测值有关的百分率。

[0056] 在一些实施方式中,利用光密度(OD)测量抗黏着斑蛋白抗体和抗CDT抗体的水平。因而,当抗黏着斑蛋白抗体的OD(OD_V)与抗CDT抗体的OD(OD_{CDT})之间的差值大于0时,系统确定受试者患有IBS。在多个实施方式中,当 $OD_V - OD_{CDT}$ 大于0.1、0.2、0.3、0.4、0.5或0.6时,系统确定受试者患有IBS。在一些实施方式中,当 $OD_V - OD_{CDT}$ 大于0.2时,确定受试者患有IBS。在多个实施方式中, $OD_V - OD_{CDT}$ 的程度提供了有关IBS存在的阳性预测值。与阳性预测值有关的 $OD_V - OD_{CDT}$ 值可以如本文所描述。在一些实施方式中,可通过检查另外的IBS患者与对照或者另外的IBS患者与IBD患者的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平,计算与阳性预测值有关的 $OD_V - OD_{CDT}$ 值。

[0057] 在多个实施方式中,IBS可以为C-IBS、D-IBS、A-IBS(也称为M-IBS)。在多个实施方式中,IBS是严重的IBS。在多个实施方式中,IBS是严重的C-IBS、严重的D-IBS或严重的A-IBS。

[0058] 在多个实施方式中,抗CDT抗体是抗CdtB抗体。

[0059] 在多个实施方式中,测定试剂盒包含如本文所讨论的黏着斑蛋白或其片段及如本文所讨论的CdtB或其片段作为抗原,用于检测抗黏着斑蛋白抗体和抗CdtB抗体。

[0060] 非人机器/计算机实施系统和方法

[0061] 本发明的多个实施方式提供了非临时性计算机可读介质,所述介质包含用于执行如本文所描述的本发明方法的指令。

[0062] 在一些实施方式中,本发明方法实施计算机程序,例如用于比较抗黏着斑蛋白抗体的水平与抗CDT抗体的水平。例如,非临时性计算机程序可用来运行本文所描述的算法。

[0063] 根据生物信息学和/或计算机领域的技术人员所掌握的知识,许多类型的计算机系统可用来实施本发明的分析方法。

[0064] 在此类计算机系统的操作期间,可将数种软件组件加载到内存中。软件组件可以包括本领域的标准软件组件和专门用于本发明的软件组件。也可以在数学软件包中对本发明的方法进行编程或建模,所述数学软件包允许公式的符号输入和高水平处理规范,包括待使用的特定算法,从而使得用户无需在程序上对各公式和算法编程。此类软件包包括例如,来自Mathworks(Natick,Mass.)的Matlab、来自Wolfram Research(Champaign,Ill.)的Mathematica或来自MathSoft(Seattle,Wash.)的S-Plus。在一些实施方式中,计算机包含用于存储抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平的数据库。如适用,此类存储的配置文件的可被访问并且可用来对样本中的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平与已知对照水平进行比较。

[0065] 除了本文描述的示例性程序结构和计算机系统之外,其它替代的程序结构和计算

机系统对于本领域技术人员而言是显而易见的。此类替代系统在精神或范围方面都没有偏离上面描述的计算机系统和程序结构,因此意图被理解为在所附的权利要求书的范围内。

[0066] 一旦实验室技术员或实验室专家或者成组的实验室技术员或实验室专家确定抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平,相同或不同的实验室技术员或实验室专家(或组)就可以分析一种或多种测定方法,以确定抗黏着斑蛋白抗体的水平是否高于抗CDT抗体的水平,或者确定 $OD_V - OD_{CDT}$ 是否高于0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5或0.6,然后确定受试者患有IBS或严重的IBS。

[0067] 在多个实施方式中,本文提供了非临时性计算机可读存储介质,所述介质包含:存储数据模块,所述存储数据模块含有来自样本的数据,所述数据包含抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平;检测模块,所述检测模块用于检测抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平;比较模块,所述比较模块对存储在存储数据模块上的数据与参照数据和/或对照数据进行比较,或者所述比较模块用于比较抗黏着斑蛋白抗体的水平与抗CDT抗体的水平并提供比较内容;以及输出模块,所述输出模块向用户示出比较内容,其中,当抗黏着斑蛋白抗体的水平大于抗CDT抗体的水平时,或者当 $OD_V - OD_{CDT}$ 大于0.0、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5或0.6时,示出受试者患有IBS的指征。

[0068] 在多个实施方式中,对照数据包括来自未患IBS的患者的数据。在多个实施方式中,对照数据包括来自未患IBD的患者的数据。在多个实施方式中,对照数据包括来自患有IBS的患者的数据。在多个实施方式中,对照数据包括来自患有IBD的患者的数据。

[0069] 本发明的实施方式可以通过功能模块进行描述,所述功能模块由记录在非临时性计算机可读介质上的计算机可执行指令定义,并且在执行时使计算机运行方法步骤。为了清楚起见,将模块按照功能进行划分。然而,应该理解模块/系统不必对应于离散的(discreet)代码块,并且所描述的功能可以通过运行存储在多种介质上并且在不同时间运行的多个代码部分来实现。此外,应该理解所述模块可以执行其它功能,因此所述模块不限于具有任何特定的功能或者功能集。

[0070] 非临时性计算机可读存储介质可以是可被计算机访问的任何可获得的有形介质。计算机可读存储介质包括易失性和非易失性的、可移动的和不可移动的有形介质,该有形介质以用于信息存储的任何方法或技术(诸如计算机可读指令、数据结构、程序模块或其它数据)来执行。计算机可读存储介质包括但不限于RAM(随机存取存储器)、ROM(只读存储器)、EPROM(可擦可编程只读存储器)、EEPROM(电可擦可编程只读存储器)、闪存或其它存储技术、CD-ROM(光盘只读存储器)、DVD(数字多功能光盘)或其它光存储介质、磁带盒、磁带、磁盘存储介质或其它磁存储介质、其它类型的易失性和非易失性存储器、以及任何其它可用于存储期望信息并可被计算机访问的有形介质、以及上述的任何合适组合。

[0071] 在一种或多种非临时性计算机可读介质上体现的计算机可读数据可以定义指令,例如作为一个或多个程序的一部分,所述指令(作为由计算机执行的结果)指示计算机执行一个或多个如本发明描述的功能和/或不同的实施方式、变型和它们的组合。此类指令可以用多种编程语言的任一种编写,例如Java、J#、Visual Basic、C、C#、C++、Fortran、Pascal、Eiffel、Basic、COBOL汇编语言等、或者它们的多种组合中的任一种。体现此类指令的计算机可读介质可驻存在系统或本文描述的计算机可读存储介质的一个或多个组件中,可分布于一个或多个此类组件。

[0072] 计算机可读介质是可运送的,使得存储在其上的指令可以加载到任何计算机资源上,以实施本文所讨论的本发明的方面。此外,应该理解以上描述的存储在计算机可读介质上的指令不限于体现为在主机上运行的应用程序的一部分的指令。更确切地说,所述指令可以体现为任何类型的计算机代码(例如,软件或微代码),所述计算机代码可用于对计算机编程以实施本发明的方面。计算机可执行指令可以用合适的计算机语言或者多种语言的组合进行编写。基本的计算生物学方法是本领域普通技术人员已知的,并且例如在下述文献中描述:Setubal和Meidanis等,Introduction to Computational Biology Methods (PWS Publishing Company,Boston,1997);Salzberg,Searles,Kasif,(著),Computational Methods in Molecular Biology,(Elsevier,Amsterdam,1998);Rashidi和Buehler,Bioinformatics Basics:Application in Biological Science and Medicine(CRC Press,London,2000)以及Ouelette和Bzevanis Bioinformatics:A Practical Guide for Analysis of Gene and Proteins(Wiley&Sons Inc.,第二版,2001)。

[0073] 本发明一些实施方式的功能模块包括例如测量模块、存储模块、比较模块和输出模块。功能模块可以在一个或多个计算机上执行,或者可通过使用一个或多个计算机网络执行。测量模块具有计算机可执行指令,以提供例如计算机可读形式的表达信息。

[0074] 测量模块可包含用于检测抗黏着斑蛋白抗体的水平或抗CDT抗体的水平的任何系统。

[0075] 在确定系统中确定的信息可被存储模块读取。如本文使用的“存储模块”意在包括任何合适的计算或处理设备或者其它经配置或改造用于存储数据或信息的装置。适合用于本发明的电子设备的实例包括独立的计算设备、数据通信网络(包括局域网(LAN)、广域网(WAN)、因特网(Internet)、内联网(Intranet)、外联网(Extranet))以及本地和分布式计算机处理系统。存储模块还包括但不限于:磁存储介质,诸如软盘、硬盘存储介质、闪存驱动器、磁带;光存储介质,诸如CD-ROM、DVD;电存储介质,诸如RAM、ROM、EPROM、EEPROM等;普通硬盘和这些类别的混合体,诸如磁/光存储介质。所述存储模块被改造或配置成在其上记录抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平的信息。此类信息能够以如下的数字化形式提供,所述数字化形式可以例如通过因特网、在闪存驱动器上、通过USB(通用串行总线)或者通过任何其它合适的通信模式进行电子传输和读取。

[0076] 如本文使用的“存储”是指用于在存储模块上编码信息的过程。本领域技术人员可以容易地采用任何目前已知的用于在已知介质上记录信息的方法,以生成包含抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平的信息的制品。

[0077] 在一个实施方式中,待被比较模块读取的储存在存储模块中的参照数据是例如来自未患IBS的患者的数据、来自未患IBD的患者的数据、来自患有IBS的患者的数据和/或来自患有IBD的患者的数据。

[0078] “比较模块”可使用多种可用于比较操作的软件程序和格式进行比较,以比较在测量模块中确定的结合数据与参照样本和/或存储的参照数据。在一个实施方式中,将比较模块配置为使用模式识别技术将来自一个或多个入口的信息与一个或多个参照数据模式进行比较。比较模块可利用现有的市售或免费的用于比较模式的软件来配置,并且可针对所施行的特定数据比较进行优化。比较模块提供与例如抗黏着斑蛋白抗体的水平和/或抗CDT

抗体的水平相关的计算机可读信息。

[0079] 本发明的比较模块或任何其它模块可包括操作系统(例如,UNIX),关系数据库管理系统、万维网应用程序和万维网服务器在所述操作系统上运行。万维网应用程序包括生成数据库语言语句(例如,结构化查询语言(SQL)语句)所必需的可执行代码。一般而言,可执行代码包括嵌入式SQL语句。另外,万维网应用程序可包括配置文件,所述配置文件含有指向多种软件实体的指针和地址,所述软件实体包含服务器以及为服务于用户请求而必须访问的多种外部和内部数据库。配置文件也可以将对服务器资源的请求指向至适当的硬件--如果需要,服务器应当分布于两台以上的单独的计算机。在一个实施方式中,万维网服务器支持TCP/IP协议。诸如这样的局域网有时称为“内联网”。此类内联网的优点是它们允许与存在于万维网上的公共领域数据库(例如GenBank或者Swiss Pro World Wide Web site)进行便捷的通信。因此,在本发明的特定实施方式中,用户可以使用由网络浏览器和网络服务器提供的HTML界面直接访问存在于网络数据库上的数据(例如通过超文本链接)。

[0080] 比较模块提供计算机可读的比较结果,该结果可按照预定义的标准或者由用户定义的标准以计算机可读形式加以处理,以提供部分基于比较结果的内容,该内容可遵照用户的请求使用输出模块进行存储和输出。

[0081] 基于比较结果的内容可以是与抗CDT抗体的水平相比较的抗黏着斑蛋白抗体的水平。

[0082] 在本发明的多个实施方式中,基于比较结果的内容显示在计算机显示器上。在本发明的多个实施方式中,基于比较结果的内容通过可打印介质显示。显示模块可以是任何合适的装置,该装置被配置用于从计算机接收并将计算机可读信息显示给用户。非限制性实例包括:例如基于如下的通用目的计算机,诸如Intel PENTIUM类型处理器、Motorola PowerPC、Sun UltraSPARC、Hewlett-Packard PA-RISC处理器、可以从Advanced Micro Devices (AMD) of Sunnyvale, California获得的多种处理器中的任何一种、或者任何其它类型的处理器;视觉显示装置诸如平板显示器、阴极射线管等;以及多种类型的计算机打印机。

[0083] 在一个实施方式中,使用万维网浏览器提供用于显示基于比较结果的内容的用户界面。应该理解本发明的其它模块可以被改造成具有网络浏览器界面。通过网络浏览器,用户可以构建用于从比较模块获取数据的请求。因此,用户通常指向并点击图形用户界面中常规采用的用户界面元素(诸如按钮、下拉菜单、滚动条等)。

[0084] 生物样本

[0085] 生物样本的实例包括但不限于体液、全血、血浆、粪便、肠液或抽吸物、及胃液或抽吸物、血清、脑脊液(CSF)、尿液、汗液、唾液、泪液、肺分泌物、乳腺抽吸物、前列腺液、精液、宫颈刮取物、羊水、眼内液、黏液及呼吸中的水分。在所述方法或系统的具体实施方式中,生物样本可以为全血、血浆、血清、粪便、肠液或抽吸物或者胃液或抽吸物。在一些实施方式中,生物样本是全血。在一些实施方式中,生物样本是血清。在一些实施方式中,生物样本是血浆。

[0086] 抗黏着斑蛋白抗体

[0087] 在多个实施方式中,这些方法、测定试剂盒或系统中检测的抗黏着斑蛋白抗体是特异性地结合至黏着斑蛋白的抗体。

[0088] 在多个实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体是如下抗体,所述抗体特异性地结合至5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的肽,所述肽与黏着斑蛋白的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

[0089] 在另一实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体特异性地结合至包含5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的多肽,所述多肽与黏着斑蛋白的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

[0090] 在另一实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体特异性地结合至如下多肽,所述多肽包含黏着斑蛋白的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基,或者所述多肽由黏着斑蛋白的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基组成。

[0091] 在多个实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体是特异性地结合至SEQ ID NO:7的抗体。

[0092] 在多个实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体是如下抗体,所述抗体特异性地结合至5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的肽,所述肽与SEQ ID NO:7的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

[0093] 在另一实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体特异性地结合至包含5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的多肽,所述多肽与SEQ ID NO:7的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

[0094] 在另一实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体特异性地结合至如下多肽,所述多肽包含SEQ ID NO:7的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基,或者所述多肽由SEQ ID NO:7的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基组成。

[0095] 黏着斑蛋白或SEQ ID NO:7的连续残基包括起始于黏着斑蛋白或SEQ ID NO:7的任何氨基酸并且终止于黏着斑蛋白或SEQ ID NO:7的任何氨基酸的连续残基。

[0096] 黏着斑蛋白的蛋白质序列(SEQ ID NO:7):

[0097] MPVFHTRTIESILEPVAQQISHLVIMHEEGEVDGKAIPDLTAPVAAVQAAVSNLVRVGKETVQTTEDQI
LKRDMPPAFIKVENACTKLQAAQMLQSDPYSVPARDYLIDGSRGILSGTSDLLLTFDEAEVRKII RVCKGILEYLT
VAE VVETMEDLVTYTKNLGPGMTKMAKMIDERQQELTHQEHRVMLVNSMNTVKELLPVLISAMKIFVTTKNSKNQGI
EEALKNRNFTVEKMSAEINEIIRVLQLTSWDEDAWASKDTEAMKRALASIDSKLNQAKGWLDRPSASPGDAGEQAIR
QILDEAGKVGELCAGKERREILGTCKMLGQMTDQVADLRARGQGSSPVAMQKAQQVSQGLDVLTAKVENAARKLEAM
TNSKQSI AKKIDAAQNWLADPNGGPEGEEQIRGALAEARKIAELCDDPKERDDILRSLGEISALTSKLADLRQGGK
DSPEARALAKQVATALQNLQTKTNRAVANSRPAKAAVHLEGKIEQAQRWIDNPTVDDRQVQAAIRGLVAEGHRLAN
VMMGPYRQDLLAKCDRVDQLTAQLADLAARGESESPQARALASQLQDSLKDLKARMQEAMTQEVSDVFSDTTTPIKL
LAVAATAPPDAPNREEVFDERAANFENHSGKLGATAEKAAAVGTANKSTVEGIQASVKTARELTPQVVSAAIRLLRN
PGNQAAAYEHFETMKNQWIDNVEKMTGLVDEAIDTKSLLDASEEAIK KDLDKCKVAMANIQPQMLVAGATSIARRANR
ILLVAKREVENSEDPKRFREAVKAASDEL SKTISPMVMDAKAVAGNISDPGLQKSFLDSGYRILGAVAKVREAFQPQE

PDFPPPPDLEQLRLTDELAPPKPPLPEGEVPPPRPPPPEEKDEEFPEQKAGEVINQPMMAARQLHDEARKWSSKG
NDIIAAAKRMALLMAEMSRLVRGGSGTKRALIQCAKDIKASDEVTRLAKEVAKQCTDKRIRTNLLQVCERIPTIST
QLKILSTVKATMLGRTNISDEESEQATEMLVHNAQNLMSVKETVREAEAAASIKIRTDAGFTLRWVRKTPWYQ

[0098] 抗CDT抗体

[0099] 在多个实施方式中,抗CDT抗体是特异性地结合至CDT的抗体。CDT的氨基酸序列是本领域已知的。

[0100] 在一个实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至CDT的受体结合结构域上的表位。

[0101] 在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至CDT的CdtA亚基。在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至CDT的CdtB亚基。在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至CDT的CdtC亚基。

[0102] CdtB的氨基酸序列的实例是空肠弯曲杆菌细胞致死性膨胀毒素B,具有氨基酸序列SEQ ID NO:5。

[0103] SEQ ID NO:5 (空肠弯曲杆菌的CdtB) :

[0104] MKKIIICLFLSFNLAFLANLENFNVGTWNLQGSSAATESKWSVSVRQLVSGANPLDILMIQEAGTLPRAT
PTGRHVQQGGTPIDEYEWNLGTLSRPDRVFIYYSRVDVGANRVNLAIVSRMQAEEVIVLPPPTTVSRPIIGIRNGND
AFFNIHALANGGTDVGAIITAVDAHFNMPQVNWMIAGDFNRDPSTITSTVDRELANRIRVVFPTSATQASGGTLDY
AITGNSNRQQTYTPPLLAAILMLASLRSHIVSDHFPVNFRRK

[0105] CdtB的氨基酸序列的另一实例是大肠弯曲杆菌细胞致死性膨胀毒素B,具有氨基酸序列SEQ ID NO:1和核酸序列SEQ ID NO:2。

[0106] SEQ ID NO:1 (大肠弯曲杆菌的CdtB的氨基酸序列) :

[0107] MKKIVFLILSFNVLFAALENYNTGTWNLQGSSAATESKWNVSIRQLITGANPMDVLAVQEAGVLPSTAM
MTPRQVQPVGVGPIIHEYIWNLGSVSRPSSVYIYYSRVDVGANRVNLAIVSRVQADEVFLPPPTVASRPIIGIRIG
NDAFFNIHALASGGNDAGAIVAAVDMFFRNRPDINWMILGDFNRESGALVTLLDPDLRARTRVVPPSSTQTSGRTI
DYAITGNSNTAALYNPPPIVAILALEGLRFLASDHFPVNFRRP

[0108] SEQ ID NO:2 (大肠弯曲杆菌的CdtB的核酸序列) :

```
atgaaaaaaaa tagtattttt gattttaagt ttaatatgtat tatttgccgc tttagaaaat tacaacaccg gaacttggaa tttgcaagc
tcacagctg caactgaaag caaatggaat gtagtataa gacaactcat aaccggtgca aatcctatgg atgttttagc
tgttcaagaa gcggggggtt tacctagtag agctatgatg actcctagac aggtacaacc cgtgggcgtg ggtattccta
tatatgaata catatggaat ttaggctctg tatcaagacc tagctctgtt tatatatatt attctagagt gtagttagga
gcaaatcgtg tgaatttagc tatcgttagc agagtgaag cggatgaagt tttgtttta cccctccaa cagttgctc
aagacctatt ataggcatac gcataggcaa tgatgctttt ttaataatc acgctctagc aagtggggga aatgacgcag
gagccattgt cgctgctgtg gatatgtttt ttagaaatag acctgatatt aattggatga ttttaggcga ttttaataga
gaatcaggcg ccttagtaac cttgctagat cctgacttaa gagcacgcac tcgcgtagt gttccgcctt cttctacgca
aacaagtgga agaacgattg attatgctat cactggaaat tccaacactg cagctttata caaccacca ccgatagttg
cgatttttagc tttagaagga ttaagaacct ttttgcttc agatcatttt cctgtaaat ttagaagacc
ttag
```

[0110] 因此,在一个实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至SEQ ID NO:5 (空肠弯曲杆菌的CdtB)。在多个实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至如下氨基酸序列,所述氨基酸序列与SEQ ID NO:5具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的一致性。

[0111] 在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至SEQ ID NO:1(大肠弯曲杆菌的CdtB)。在多个实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至如下氨基酸序列,所述氨基酸序列与SEQ ID NO:1具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%或99%的一致性。

[0112] 在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至CdtB的17个残基的肽(例如,SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的17个残基)。在一个实施方式中,17个残基的肽具有如下序列:LDYAITGNSNRQQTYTP(SEQ ID NO:3)。

[0113] 在其它实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至17个残基的肽,所述肽与CdtB的17个连续残基具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性(例如,SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的17个连续残基)。在一个实施方式中,CdtB的17个残基具有如下序列:LDYAITGNSNRQQTYTP(SEQ ID NO:3)。

[0114] 在其它实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至包含17个残基的多肽,所述多肽与CdtB的17个连续残基具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性(例如,SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的17个残基)。在一个实施方式中,所述的CdtB的17个连续残基具有如下序列:LDYAITGNSNRQQTYTP(SEQ ID NO:3)。

[0115] 在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至具有如下序列的18个残基的肽:CLDYAITGNSNRQQTYTP(SEQ ID NO:4)。为了缀合的目的,将处于N-末端的半胱氨酸添加到SEQ ID NO:3。

[0116] 在其它实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至包含18个残基的多肽,所述多肽与CLDYAITGNSNRQQTYTP(SEQ ID NO:4)具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

[0117] 在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的肽,所述肽与CdtB的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性(例如,SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基)。在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至包含5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的多肽,所述多肽与CdtB的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性(例如,SEQ ID NO:1或SEQ ID NO:5的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基)。SEQ ID NO:1的连续残基包括起始于SEQ ID NO:1的任何氨基酸并终止于SEQ ID NO:1的任何氨基酸的连续残基。SEQ ID NO:5的连续残基包括起始于SEQ ID NO:5的任何氨基酸并终止于SEQ ID NO:5的任何氨基酸的连续残基。

[0118] 在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17个残基的肽,所述肽与LDYAITGNSNRQQTYTP(SEQ ID NO:3)的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17个连续残基具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性(例如,SEQ ID NO:3的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17个连续残基)。在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至包含5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17个残基的多肽,所述多肽与SEQ ID NO:3的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17个连续残基具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性(例

如,SEQ ID NO:3的5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16或17个连续残基)。SEQ ID NO:3的连续残基包括起始于SEQ ID NO:3的任何氨基酸并终止于SEQ ID NO:3的任何氨基酸的连续残基。

[0119] 在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至由CdtB的基因序列编码的17个残基的肽。在特定的实施方式中,纯化的抗体特异性地结合至由SEQ ID NO:2编码的17个残基的肽。在多个实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至由SEQ ID NO:2编码的14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的肽。在多个实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的肽,所述肽与由SEQ ID NO:2编码的14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。在多个实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至包含14、15、16、17、18、19、20、21或22个残基的多肽,所述多肽与由SEQ ID NO:2编码的14、15、16、17、18、19、20、21或22个连续残基具有至少80%、85%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%的同源性。

[0120] 在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至由具有如下序列的核酸序列编码的肽,所述核酸序列编码SEQ ID NO:3的17个氨基酸的肽:CTTGATTATGCAATTACAGGAAATTCA AATAGACAACAAACCTATACTCCA (SEQ ID NO:6)。在另一实施方案中,抗CDT抗体特异性地结合至包含由SEQ ID NO:6编码的肽的多肽。

[0121] 在另一实施方式中,抗CDT抗体特异性地结合至从过表达近全长CdtB ORF的大肠杆菌(E.coli)纯化的CdtB。(参见Infection and Immunity,2000年12月,第68卷,12期,6535-6541页,以引用的方式整体并入本文,如同全文引用)。

[0122] 测定试剂盒

[0123] 在本文描述的方法和系统的多个实施方式中,所述测定方法是酶联免疫吸附测定方法(ELISA),包括但不限于间接ELISA、夹心ELISA、竞争ELISA、多功能便携式ELISA(multiple and portable ELISA)。

[0124] 在本文描述的方法和系统的多个实施方式中,所述测定试剂盒是用于检测抗黏着斑蛋白抗体的水平的测定试剂盒。所述测定试剂盒可包含:第一试剂(例如,抗原),当生物样本包含抗黏着斑蛋白抗体时,所述第一试剂与生物样本反应(如果抗黏着斑蛋白抗体不存在,则第一试剂将不与生物样本反应,但第一试剂仍然存在于所述测定试剂盒中);第二试剂(例如二抗),所述第二试剂与抗黏着斑蛋白抗体反应或与第一试剂反应;以及底物(例如,与第二试剂反应并产生信号)。在多个实施方式中,第一试剂是如本文所讨论的黏着斑蛋白、SEQ ID NO:7或其片段。在多个实施方式中,第二试剂包含标记,所述标记产生指示抗黏着斑蛋白抗体的存在的信号。在多个实施方式中,标记是放射性标记、发色团、荧光团、量子点、酶、辣根过氧化物酶(HRP)、碱性磷酸酶(AP)、生物素、或它们的组合。在多个实施方式中,标记是与底物反应的酶。在多个实施方式中,第一试剂处于固相(例如,培养板、多孔板)上。在多个实施方式中,底物是发色底物(例如,3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、3,3'-二甲基联苯胺(DAB)、2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)。在多个实施方式中,底物是化学发光底物(例如,ECL)。

[0125] 在多个实施方式中,所述测定试剂盒包含与抗黏着斑蛋白抗体反应的第一试剂。在多个实施方式中,第一试剂包含标记,所述标记产生指示抗黏着斑蛋白抗体的存在的信号。在多个实施方式中,标记是放射性标记、发色团、荧光团、量子点、酶、辣根过氧化物酶

(HRP)、碱性磷酸酶(AP)、生物素、或它们的组合。在多个实施方式中,第一试剂处于固相(例如,培养板、多孔板)上。在多个实施方式中,在标记需要底物以产生信号的情况下,所述测定试剂盒进一步包含与标记反应的底物;例如HRP可与底物TMB反应。

[0126] 在多个实施方式中,所述测定试剂盒是用于确定抗CDT抗体的水平的测定。所述测定试剂盒可包含:第一试剂,当生物样本包含抗CDT抗体时,所述第一试剂与生物样本反应(如果抗CDT抗体不存在,则第一试剂将不与生物样本反应,但第一试剂仍然存在于所述测定试剂盒中);第二试剂(例如,二抗),所述第二试剂与抗CDT抗体反应或与第一试剂反应;以及底物。在多个实施方式中,第一试剂是如本文所讨论的CDT、CdtA、CdtB、CdtC、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或它们的片段。在多个实施方式中,第二试剂包含标记,所述标记产生指示抗CDT抗体的存在的信号。在多个实施方式中,标记是放射性标记、发色团、荧光团、量子点、酶、辣根过氧化物酶(HRP)、碱性磷酸酶(AP)、生物素、或它们的组合。在多个实施方式中,标记是与底物反应的酶。在多个实施方式中,第一试剂处于固相(例如,培养板、多孔板)上。在多个实施方式中,底物是发色底物(例如,3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、3,3'-二氨基联苯胺(DAB)、2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)。在多个实施方式中,底物是化学发光底物(例如,ECL)。

[0127] 在多个实施方式中,所述测定试剂盒包括与抗CDT抗体反应的第一试剂。在多个实施方式中,第一试剂包含标记,所述标记产生指示抗CDT抗体的存在的信号。在多个实施方式中,标记是放射性标记、发色团、荧光团、量子点、酶、辣根过氧化物酶(HRP)、碱性磷酸酶(AP)、生物素、或它们的组合。在多个实施方式中,所述试剂处于固相(例如,培养板、多孔板)上。在多个实施方式中,在标记需要底物以产生信号的情况下,所述测定试剂盒进一步包含与标记反应的底物;例如HRP可与底物TMB反应。

[0128] 在多个实施方式中,所述测定试剂盒是用于确定抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平的测定试剂盒。所述测定试剂盒可包含:第一试剂和第二试剂,当生物样本包含抗黏着斑蛋白抗体和/或抗CDT抗体时,所述第一试剂和第二试剂与生物样本反应(如果抗黏着斑蛋白抗体不存在,则第一试剂将不与生物样本反应,但是第一试剂仍然存在于所述测定试剂盒中;或者如果抗CDT抗体不存在,则第二试剂将不与生物样本反应,但是第二试剂仍然存在于所述测定试剂盒中);第三试剂和第四试剂(例如二抗),所述第三试剂和第四试剂与抗黏着斑蛋白抗体、抗CDT抗体反应;或者所述第三试剂与第一试剂反应且所述第四试剂与第二试剂反应;以及底物。在多个实施方式中,第一试剂是黏着斑蛋白或其片段。在多个实施方式中,第二试剂是CDT或其片段。在多个实施方式中,第三试剂和/或第四试剂包含标记,所述标记产生指示抗黏着斑蛋白抗体和/或抗CDT抗体的存在的信号。在多个实施方式中,标记是放射性标记、发色团、荧光团、量子点、酶、辣根过氧化物酶(HRP)、碱性磷酸酶(AP)、生物素、或它们的组合。在多个实施方式中,标记是与底物反应的酶。在多个实施方式中,第一试剂处于固相(例如,培养板、多孔板)上。在多个实施方式中,底物是发色底物(例如,3,3',5,5'-四甲基联苯胺(TMB)、3,3'-二氨基联苯胺(DAB)、2,2'-联氮-双(3-乙基苯并噻唑啉-6-磺酸)(ABTS)。在多个实施方式中,底物是化学发光底物(例如,ECL)。

[0129] 在多个实施方式中,所述测定试剂盒包含与抗黏着斑蛋白抗体反应的第一试剂以及/或抗CDT抗体反应的第二试剂。在多个实施方式中,第一试剂和/或第二试剂包含标记,所述标记产生指示抗黏着斑蛋白抗体和/或抗CDT抗体的存在的信号。在多个实施方式中,标

记是放射性标记、发色团、荧光团、量子点、酶、辣根过氧化物酶 (HRP)、碱性磷酸酶 (AP)、生物素、或它们的组合。在多个实施方式中,所述试剂处于固相(例如,培养板、多孔板)上。在多个实施方式中,在标记需要底物以产生信号的情况下,所述测定试剂盒进一步包含与标记反应的底物;例如HRP可与底物TMB反应。

[0130] 在多个实施方式中,针对从受试者获得的生物样本检测抗黏着斑蛋白抗体的水平或抗CDT抗体的水平。在另一实施方式中,针对从受试者获得的血液、血清或粪便样本检测抗黏着斑蛋白抗体的水平或抗CDT抗体的水平。本领域普通技术人员将容易地意识到可以用来检测抗黏着斑蛋白抗体的水平或抗CDT抗体的水平的方法和系统。这些方法和系统包括但不限于ELISA、免疫组织化学、流式细胞术、荧光原位杂交 (FISH)、放射免疫测定方法以及亲和纯化。

[0131] 在多个实施方式中,将黏着斑蛋白、SEQ ID NO:7或它们的片段(如上面所描述)用作与抗黏着斑蛋白抗体(如果存在)结合的试剂(例如,捕收剂(collector)、捕获剂(trap))。

[0132] 在一些实施方式中,可以通过使黏着斑蛋白、SEQ ID NO:7或其片段与从受试者获得的生物样本接触,检测与黏着斑蛋白、SEQ ID NO:7或其片段特异性地结合的抗体的水平,从而分离出特异性地结合至黏着斑蛋白、SEQ ID NO:7或其片段的抗体。

[0133] 在多个实施方式中,黏着斑蛋白或SEQ ID NO:7的片段可以是如本文描述的片段。作为实例,可使包含黏着斑蛋白、SEQ ID NO:7或其片段的亲和基质结合至固体支持物;可使生物样本与亲和基质接触,从而产生亲和基质-抗体复合物(如果所述抗体存在);可从剩下的生物样本中分离出亲和基质-抗体复合物;以及可使所述抗体从亲和基质中释放出来。在另一实例中,可将标记(例如,荧光标记)置于黏着斑蛋白、SEQ ID NO:7或其片段上;可使标记的黏着斑蛋白、SEQ ID NO:7或其片段与生物样本接触,从而允许抗体(如果存在)特异性地结合至标记的黏着斑蛋白、SEQ ID NO:7或其片段。在多个实施方式中,可以将标记的黏着斑蛋白、SEQ ID NO:7或其片段分离出来并针对其与所述抗体的结合进行分析。

[0134] 在多个实施方式中,如本文所讨论的CDT、CdtA、CdtB、CdtC、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或其片段用作与抗CDT抗体(如果存在)结合的试剂(例如,捕收剂、捕获剂)。

[0135] 在一些实施方式中,可以通过使如本文所讨论的CDT、CdtA、CdtB、CdtC、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或其片段与从受试者获得的生物样本接触,检测特异性地结合至如本文所讨论的CDT、CdtA、CdtB、CdtC、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或其片段的抗体或者其片段的水平,从而分离出特异性地结合至如本文所讨论的CDT、CdtA、CdtB、CdtC、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或其片段的抗体。

[0136] 在多个实施方式中,CDT、CdtA、CdtB、CdtC、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5的片段是如本文所描述的片段。作为实例,可使包含如本文所讨论的CDT、CdtA、CdtB、CdtC、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或其片段的亲和基质结合至固体支持物;可使生物样本与亲和基质接触,从而产生亲和基质-抗体复合物(如果抗体存在);可从剩下的生物样本中分离出亲和基质-抗体复合物;以及可使抗体从亲和基质中释放出来。在另一实例中,将标记(例如荧光标记)置于如本文所讨论的CDT、

CdtA、CdtB、CdtC、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或其片段或者它们的片段上；可使如本文所讨论的标记的CDT、CdtA、CdtB、CdtC、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或其片段与生物样本接触，从而允许所述抗体（如果存在）特异性地结合至如本文所讨论的标记的CDT、CdtA、CdtB、CdtC、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或其片段。在多个实施方式中，可将如本文所讨论的标记的CDT、CdtA、CdtB、CdtC、SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5或其片段分离出来并针对其与所述抗体的结合进行分析。

[0137] 在多个实施方式中，所述测定方法包括将如本文所讨论的黏着斑蛋白或其片段及如本文所讨论的CdtB或其片段添加至来自期望进行关于IBS的确定的受试者的生物样本，其中，抗黏着斑蛋白和/或抗CdtB抗体（如果存在于生物样本中）特异性地结合至生物样本中的黏着斑蛋白或其片段及CdtB或其片段；测量生物样本中的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CdtB抗体的水平；以及如果抗黏着斑蛋白抗体的结合水平高于抗CdtB抗体的结合水平，则鉴定受试者患有IBS。

[0138] 筛选疗法

[0139] 方法

[0140] 本发明的多个实施方式提供了筛选IBS疗法的方法，所述方法包括：提供来自期望进行关于IBS的诊断的受试者的生物样本；测定生物样本的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平；确定抗黏着斑蛋白抗体的水平与抗CDT抗体的水平之间的差值；当抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗CDT抗体的水平时，确定存在IBS；以及当确定存在IBS时，筛选IBS疗法。

[0141] 本发明的多个实施方式提供了筛选IBS疗法的方法：提供来自期望进行用于区分IBS与IBD的诊断的受试者的生物样本；测定生物样本的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平；确定抗黏着斑蛋白抗体的水平与抗CDT抗体的水平之间的差值；当抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗CDT抗体的水平时，确定存在IBS；以及当确定存在IBS时，筛选IBS疗法。

[0142] 如本文所述测定生物样本。

[0143] 在多个实施方式中，如果抗黏着斑蛋白抗体的水平比抗CDT抗体的水平更高1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、175%、200%、250%、300%、350%、400%、450%、500%、600%、700%、800%、900%或者1000%或更多，则确定受试者患有IBS。在多个实施方式中，抗黏着斑蛋白抗体的水平大于抗CDT抗体的程度提供了有关IBS存在的阳性预测值。与阳性预测值有关的百分率可以如本文所描述。在一些实施方式中，可以通过检查另外的IBS患者与对照或者另外的IBS患者与IBD患者的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平，计算与阳性预测值有关的百分率。

[0144] 在一些实施方式中，利用光密度(OD)测量抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平。因而，当抗黏着斑蛋白抗体的OD (OD_V) 与抗CDT抗体的OD (OD_{CDT}) 之间的差值大于0时，确定受试者患有IBS。在多个实施方式中，当 $OD_V - OD_{CDT}$ 大于0.1、0.2、0.3、0.4、0.5或0.6时，确定受试者患有IBS。在一些实施方式中，当 $OD_V - OD_{CDT}$ 大于0.2时，确定受试者患有IBS。在多个实施方式中， $OD_V - OD_{CDT}$ 的程度提供了有关IBS存在的阳性预测值。与阳性预测值有关

的 OD_V-OD_{CDT} 值可以如本文所描述。在一些实施方式中,可通过检查另外的IBS患者与对照或者另外的IBS患者与IBD患者的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平,计算与阳性预测值有关的 OD_V-OD_{CDT} 值。

[0145] 如本文使用的筛选疗法包括但不限于针对所述治疗对受试者进行筛选、选择、开处方、建议、推荐、指导或咨询。

[0146] 在多个实施方式中,所述方法进一步包括给予用于治疗IBS的疗法。

[0147] 在多个实施方式中,所筛选或给予的疗法是如本文所描述的疗法。在多个实施方式中,所筛选或给予的疗法是在做出本发明时可用的疗法。在多个实施方式中,可用的疗法包括给予一个疗程的抗生素疗法来治疗IBS。在多个实施方式中,所述疗法是现有技术中的可用的IBS疗法。在多个实施方式中,可用的疗法是用于IBS的实验性疗法,例如,正在接受FDA审核的用于IBS的治疗的疗法。

[0148] 在多个实施方式中,可如本文所述测定生物样本的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平。

[0149] 在多个实施方式中,受试者可以为出现一种或多种IBS症状(例如便秘、腹泻、腹胀、腹痛)的受试者。

[0150] 在多个实施方式中,IBS可以为C-IBS、D-IBS、A-IBS(也称为M-IBS)。在多个实施方式中,IBS是严重的IBS。在多个实施方式中,IBS是严重的C-IBS、严重的D-IBS或严重的A-IBS。

[0151] 在多个实施方式中,抗CDT抗体是抗CdtB抗体。

[0152] 抗生素的实例包括但不限于:氨基糖苷类(例如,阿米卡星、庆大霉素、卡那霉素、新霉素、奈替米星、链霉素、妥布霉素、巴龙霉素(paromomycin));安莎霉素类(例如,格尔德霉素、除莠霉素);碳头孢烯类(例如,氯碳头孢);碳青霉烯类(例如,厄他培南、多尼培南、亚胺培南、西司他丁、美罗培南);头孢菌素类(例如,第一代:头孢羟氨苄、头孢唑林、头孢噻吩(cefalotin或cefalothin)、头孢氨苄;第二代:头孢克洛、头孢孟多、头孢西丁、头孢丙烯、头孢呋辛;第三代:头孢克肟、头孢地尼、头孢托仑、头孢哌酮、头孢噻肟、头孢泊肟、头孢他啶、头孢布烯、头孢唑肟、头孢曲松;第四代:头孢吡肟;第五代:头孢吡普);糖肽类(例如,替考拉宁、万古霉素);大环内酯类(例如,阿奇霉素、克拉霉素、地红霉素、红霉素、罗红霉素、醋竹桃霉素、泰利霉素、壮观霉素);单酰胺菌素类(例如,氨基糖);青霉素类(例如,阿莫西林、氨苄青霉素、阿洛西林、羧苄青霉素、氯唑西林、双氯西林、氟氯西林、美洛西林、甲氧西林、萘夫西林、苯唑西林、盘尼西林、哌拉西林、替卡西林);抗生素多肽类(例如,杆菌肽、粘菌素、多粘菌素b);喹诺酮类(例如,环丙沙星、依诺沙星、加替沙星、左氧氟沙星、洛美沙星、莫西沙星、诺氟沙星、氧氟沙星、曲伐沙星);利福霉素类(例如,利福平(rifampicin或rifampin)、利福布汀、利福喷汀、利福昔明);磺胺类(例如,磺胺米隆、百浪多息、磺胺醋酰、磺胺甲二唑、磺胺、柳氮磺吡啶、磺胺异噁唑、甲氧苄啶、甲氧苄啶-磺胺甲噁唑(复方新诺明,“tmp-smx”);及四环素类(例如,地美环素、强力霉素、米诺环素、土霉素、四环素)以及肿凡纳明、氯霉素、克林霉素、林可霉素、乙胺丁醇、磷霉素、夫西地酸、呋喃唑酮、异烟肼、利奈唑胺、甲硝哒唑、莫匹罗星、硝基呋喃妥因、平板霉素、吡嗪酰胺、奎奴普汀/达福普汀组合、及替硝唑、或它们的组合。在多个实施方式中,抗生素是利福昔明和新霉素的组合。在多个实施方式中,抗生素是利福昔明和强力霉素的组合。在多个实施方式中,抗生素是利福昔明

和甲硝哒唑的组合。

[0153] 在多个实施方式中, 抗生素是不可吸收性抗生素。不可吸收性抗生素的实例包括但不限于利福昔明、新霉素、杆菌肽、万古霉素、替考拉宁、雷莫拉宁和巴龙霉素(paramomycin)。

[0154] 另外的IBS疗法的实例包括纤维补充剂(例如, METAMUCIL、CITRUCEL)、渗透性通便剂(例如, 镁乳、聚乙二醇)、抗腹泻药物(例如, 洛哌丁胺(IMODIUM))、胆酸结合剂(例如, 考来烯胺(PREVALITE)、考来替泊(COLESTID)或考来维仑(WELCHOL))、抗胆碱能和解痉的药物(例如, 莨菪碱(LEVSIN)和双环胺(BENTYL))、抗抑郁药(例如, 三环类抗抑郁药(例如, 丙咪嗪(TOFRANIL)或去甲替林(PAMELOR))或选择性血清素再吸收抑制剂(SSRI)(例如, 氟西汀(PROZAC、SARAFEM)或帕罗西汀(PAXIL))、阿洛司琼(LOTRONEX)和鲁比前列酮(AMITIZA)。治疗便秘性IBS的最新疗法包括促分泌素, 诸如鲁比前列酮(氯离子通道活化剂(AMITIZA))和利那洛肽(鸟苷酸环化酶C激动剂(LINZESS))。

[0155] 生物样本和抗原的稀释

[0156] 在多个实施方式中, 当确定抗黏着斑蛋白抗体的存在或水平时, 如本文描述的黏着斑蛋白或其片段以约1.2 μ g/ml浓度用作抗原。在其它实施方式中, 所述浓度可以为约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9或2.0 μ g/ml的浓度。

[0157] 在多个实施方式中, 在确定抗黏着斑蛋白抗体的存在或水平时, 使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:16稀释液。在其它实施方式中, 在确定抗黏着斑蛋白抗体的存在或水平时, 使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:22、1:24、1:26、1:28、1:30、1:32、1:34、1:36、1:38、1:40、1:42、1:44、1:46或1:48稀释液。在其它实施方式中, 在确定抗黏着斑蛋白抗体的存在或水平时, 使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:8至1:48稀释液。

[0158] 在多个实施方式中, 在确定抗黏着斑蛋白抗体的存在或水平时, 使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:32稀释液。在其它实施方式中, 在确定抗黏着斑蛋白抗体的存在或水平时, 使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:8、1:10、1:12、1:16、1:20、1:24、1:30、1:36、1:48或1:64稀释液。在其它实施方式中, 在确定抗黏着斑蛋白抗体的存在或水平时, 使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:8至1:64稀释液。在其它实施方式中, 在确定抗黏着斑蛋白抗体的存在或水平时, 使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:5至1:10、1:10-1:25、1:25-1:50、1:50-1:100、1:100-1:200、1:200-1:300、1:300-1:400、1:400-1:500、1:500-1:600或1:600-1:1000稀释液。

[0159] 在多个实施方式中, 当确定抗CdtB抗体的存在或水平时, 如本文描述的CdtB蛋白或其片段以约1.2 μ g/ml浓度用作抗原。在其它实施方式中, 所述浓度可以为约0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0、1.1、1.3、1.4、1.5、1.6、1.7、1.8、1.9或2.0 μ g/ml的浓度。

[0160] 在多个实施方式中, 在确定抗CdtB抗体的存在或水平时, 使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:16稀释液。在其它实施方式中, 在确定抗CdtB抗体的存在或水平时, 使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:8、1:9、1:10、1:11、1:12、1:13、1:14、1:15、1:16、1:17、1:18、1:19、1:20、1:22、1:24、1:26、1:28、1:30、1:32、1:34、1:36、1:38、1:40、1:42、1:44、1:46

或1:48稀释液。在其它实施方式中,在确定抗CdtB抗体的存在或水平时,使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:8至1:48稀释液。

[0161] 在多个实施方式中,在确定抗CdtB抗体的存在或水平时,使用生物样本(例如血浆、血清)的1:512稀释液。在其它实施方式中,在确定抗CdtB抗体的存在或水平时,使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:128、1:256、1:768或1:1024稀释液。在其它实施方式中,在确定抗CdtB抗体的存在或水平时,使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:100、1:150、1:200、1:250、1:300、1:350、1:400、1:500、1:550、1:600、1:650、1:700、1:750、1:800、1:850、1:900、1:950或1:1000稀释液。在其它实施方式中,在确定抗CdtB抗体的存在或水平时,使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:100-1:1000稀释液。在其它实施方式中,在确定抗CdtB抗体的存在或水平时,使用生物样本(例如血浆、血清)的约1:5至1:10、1:10-1:25、1:25-1:50、1:50-1:100、1:100-1:200、1:200-1:300、1:300-1:400、1:400-1:500、1:500-1:600或1:600-1:1000稀释液。

[0162] 在多个实施方式中,如果用于确定抗黏着斑蛋白抗体的水平与抗CdtB抗体的水平的生物样本的稀释度不同并且使用OD,那么将对OD方面的差值进行校正。

[0163] 治疗

[0164] 多个实施方式提供了用于治疗IBS的方法。

[0165] 在多个实施方式中,所述方法可包括测量在从受试者获得的生物样本中大于抗CDT抗体存在的抗黏着斑蛋白抗体的存在;以及向受试者给予IBS疗法。

[0166] 在多个实施方式中,所述方法可包括:提供来自期望进行关于IBS的诊断的受试者的生物样本;测定生物样本的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平;确定抗黏着斑蛋白抗体的水平与抗CDT抗体的水平之间的差值;当抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗CDT抗体的水平时,确定存在IBS;以及当确定存在IBS时,给予IBS疗法。

[0167] 在多个实施方式中,所述方法可包括:提供来自期望进行用于区分IBS与IBD的诊断的受试者的生物样本;测定生物样本的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平;确定抗黏着斑蛋白抗体的水平与抗CDT抗体的水平之间的差值;当抗黏着斑蛋白抗体的水平高于抗CDT抗体的水平时,确定存在IBS;以及当确定存在IBS时,给予IBS疗法。

[0168] 可如本文所述测定生物样本。

[0169] 在多个实施方式中,如果抗黏着斑蛋白抗体的水平比抗CDT抗体的水平更高1%、2%、3%、4%、5%、6%、7%、8%、9%、10%、15%、20%、25%、30%、45%、50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、100%、125%、150%、175%、200%、250%、300%、350%、400%、450%、500%、600%、700%、800%、900%或者1000%或更多,则确定受试者患有IBS。在多个实施方式中,抗黏着斑蛋白抗体的水平大于抗CDT抗体的水平的程度提供了有关IBS存在的阳性预测值。与阳性预测值有关的百分率可以如本文所描述。在一些实施方式中,可以通过检查另外的IBS患者与对照或者另外的IBS患者与IBD患者的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平,计算与阳性预测值有关的百分率。

[0170] 在一些实施方式中,利用光密度(OD)测量抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平。因而,当抗黏着斑蛋白抗体的OD(OD_V)与抗CDT抗体的OD(OD_{CDT})之间的差值大于0时,确定受试者患有IBS。在多个实施方式中,当 $OD_V - OD_{CDT}$ 大于0.1、0.2、0.3、0.4、0.5或0.6时,确定受试者患有IBS。在一些实施方式中,当 $OD_V - OD_{CDT}$ 大于0.2时,确定受试者患有IBS。

在多个实施方式中, $OD_V - OD_{CDT}$ 的程度提供了有关IBS存在的阳性预测值。与阳性预测值有关的 $OD_V - OD_{CDT}$ 值可以如本文所描述。在一些实施方式中, 可通过检查另外的IBS患者与对照或者另外的IBS患者与IBD患者的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平, 计算与阳性预测值有关的 $OD_V - OD_{CDT}$ 值。

[0171] 在多个实施方式中, 所给予的疗法是如本文所描述的疗法。在多个实施方式中, 所给予的疗法是在做出本发明时可用的疗法。在多个实施方式中, 可用的疗法包括给予一个疗程的抗生素疗法来治疗IBS。在多个实施方式中, 所述疗法是现有技术中的可用的疗法。

[0172] 在多个实施方式中, 可如本发明的方法或系统所述测定生物样本的抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDT抗体的水平。

[0173] 在多个实施方式中, 受试者可以为出现一种或多种IBS症状(例如便秘、腹泻、腹胀、腹痛)的受试者。

[0174] 在多个实施方式中, IBS可以为C-IBS、D-IBS、A-IBS(也称为M-IBS)。在多个实施方式中, IBS是严重的IBS。在多个实施方式中, IBS是严重的C-IBS、严重的D-IBS或严重的A-IBS。

[0175] 在多个实施方式中, 抗CDT抗体是抗CdtB抗体。

[0176] 在多个实施方式中, 所述方法可包括: 提供抗黏着斑蛋白抗体中和剂或抑制剂, 以及向有需要的受试者给予抗黏着斑蛋白抗体中和剂或抑制剂以中和或抑制抗黏着斑蛋白抗体。

[0177] 在多个实施方式中, 抗黏着斑蛋白抗体中和剂或抑制剂是能够结合至抗黏着斑蛋白抗体并且中和或抑制该抗体的功能的多肽。

[0178] 在多个实施方式中, 抗黏着斑蛋白抗体中和剂或抑制剂是能够结合至抗黏着斑蛋白抗体的抗原结合位点的多肽。虽然不希望受任何特定理论的束缚, 本发明人认为这些多肽可以充当抗黏着斑蛋白抗体的诱饵。在多个实施方式中, 多肽是Lucchese和Delfino (Developing an anti-Campylobacter jejuni vaccine. Immunopharmacology and Immunotoxicology, 2012; Early Online: 1-6) 公开的CDT五肽, 以引用的方式将其整体并入, 如同全文引用。

[0179] 在多个实施方式中, 抗黏着斑蛋白抗体中和剂或抑制剂是能够结合至抗黏着斑蛋白抗体并且中和或抑制该抗体的功能的小分子。

[0180] 在多个实施方式中, 抗黏着斑蛋白抗体中和剂或抑制剂是能够结合至抗黏着斑蛋白抗体的抗原结合位点的小分子。

[0181] 在多个实施方式中, 所述方法可包括: 提供使黏着斑蛋白从失活状态变成活化状态的药剂(agent); 以及向有需要的受试者给予所述药剂以治疗IBS。

[0182] 在多个实施方式中, 使黏着斑蛋白从失活状态变成活化状态的药剂是能够活化黏着斑蛋白的小分子。

[0183] 在多个实施方式中, 所述方法可包括: 提供黏着斑蛋白激动剂; 以及向有需要的受试者给予黏着斑蛋白激动剂以治疗IBS。在一些实施方式中, 黏着斑蛋白激动剂可以是如Nelson等, Vinculin Activators Target Integrins from Within the Cell to Increase Melanoma Sensitivity to Chemotherapy, *MOL. CELL. CANCER RES. JUNE* 2011 9; 712 (2011年4月1日在线发表) 中公开的黏着斑蛋白活化肽(VAP), 以引用的方式将其整体并入, 如同

全文引用。在多个实施方式中，VAP可以是志贺氏杆菌 (*Shigella*) 的侵袭素蛋白 IpaA 的 500-633 位残基。

[0184] 志贺氏杆菌的 IpaA 的蛋白质序列：

	MHNVNNTQAP	TFLYKATSPS	STEYSELKSK	ISDIHSSQTS
	LKTPASVSEK	ENFATSFNQK	CLDFLFSSSG	KEDVLRISIYS
	ILEFSNVLYS	LVHQNGLNFE	NEKGLQKIVA	QYSELIHKDK
	SAKNKKLHQL	RQNIEHRLAL	LAQQHTSGEA	LSLGQKLLNT
	LAELKLSNET	VSSLKLLDDL	DAQAKLAFDS	LRNQRKNTID
	RDLNNTVAVFP	ELLRKVLNDI	LEDIKDSHPI	QDGLPTPPED
[0185]	NEKTSQPVIIH	YHINNDNRTY	DNRVFDNRVY	DNSYHENPEN
	DLLSRNGNSL	LNPQRALVQK	VTSVLPHSIS	DTVQTFANNS
	DNSDGIGSDL	LTTSSQERSA	NNSLSRGHRP	LNIQNSSTTP
	NDNSSDTTKS	SASLSHRVAS	QINKFNSNTD	SKVLQTDFLS
	TIFEASKKVT	NSLSNLISLI	GTKSGTQERE	LQEKSKDITK
	LKVTDANIRN	YVTETNADTI	DKNHAIYEKA	KEVSSALSKV
	LLTDDISDLK	NNNDITAENN	NIYKAAKDVT	TLSKVLKNI

(SEQ ID NO:8)

[0186] 在多个实施方式中，所述方法可包括：提供黏着斑蛋白活化剂；以及向有需要的受试者给予黏着斑蛋白活化剂以治疗 IBS。在一些实施方式中，黏着斑蛋白活化剂可以为踝蛋白、f-肌动蛋白、a-连环蛋白、或它们的组合。

[0187] 在多个实施方式中，本发明提供了包含药学上可接受的赋形剂及治疗有效量的本文所描述的药剂的药物组合物。“药学上可接受的赋形剂”意指制备药物组合物时使用的赋形剂，其一般是安全、无毒且是合乎需要的，并且包括对于兽药用途及人药用途而言可接受的赋形剂。此类赋形剂可以是固体、液体、半固体、或者在气溶胶组合物的情况下为气体。

[0188] 在多个实施方式中，根据本发明的药物组合物可以被配制成为用于经由任何给予途径递送。“给予途径”可以是指本领域中已知的任何给予路径，包括但不限于：气溶胶、鼻部、口部、经黏膜、透皮或肠胃外给予。“透皮”给予可以使用局部霜剂或软膏剂或者借助于透皮贴剂来实现。经由局部途径，可将基于根据本发明的化合物的药组合物配制成为用于治疗皮肤和黏膜，并且处于软膏剂、霜剂、乳剂、油膏剂、粉剂、浸渍衬垫 (impregnated pad)、溶液剂、凝胶剂、喷雾剂、洗剂或混悬剂的形式。它们也可以处于允许受控释放的水凝胶及微球或纳米球或脂质囊泡或聚合物囊泡或聚合物贴剂的形式。这些局部途径组合物可以是无水形式或含水形式，这取决于临床适应症。“肠胃外”是指一般与注射相关的给予途径，包括眼眶内、输注、动脉内、囊内、心内、皮内、肌肉内、腹膜内、肺内、脊柱内、胸骨内、鞘内、子宫内、静脉内、蛛网膜下、囊下、皮下、经黏膜或经气管。经由肠胃外途径，所述组合物可以处于用于输注或用于注射的溶液剂或混悬剂形式、或者为冻干粉剂的形式。经由肠内途径，药物组合物可以处于允许受控释放的聚合物囊泡或微球或纳米球或脂质囊泡、片剂、凝胶剂、糖衣片剂、糖浆剂、混悬剂、溶液剂、粉剂、颗粒剂、乳化剂的形式。经由肠胃外途径，所述组合物可以处于用于输注或用于注射的溶液剂或混悬剂的形式。

[0189] 根据本发明的药物组合物还可以含有任何药学上可接受的载体。如本文所使用的“药学上可接受的载体”是指参与将感兴趣的化合物从身体的一种组织、器官或部位携带或

转运到身体的另一组织、器官或部位的药学上可接受的材料、组合物或媒介物。例如，载体可以是液体或固体填充剂、稀释剂、赋形剂、溶剂、或包封材料或者它们的组合。载体的每种组分均必须是“药学上可接受的”，因为所述组分必须与制剂的其它成分相容。载体还必须适合于用来接触可能接触的任何组织或器官，意味着载体一定不能有携带毒性、刺激性、过敏反应、免疫原性或过度超过其治疗益处的任何其它并发症的风险。

[0190] 根据本发明的药物组合物也可以制成胶囊、制成片剂或者制成乳化剂或糖浆用于口服给予。可以添加药学上可接受的固体或液体载体以增强或稳定组合物、或者以方便组合物的制备。液体载体包括糖浆、花生油、橄榄油、甘油、盐水、醇类和水。固体载体包括淀粉、乳糖、硫酸钙、二水合物、石膏粉、硬脂酸镁或硬脂酸、滑石、果胶、阿拉伯胶、琼脂或明胶。载体还可以包括缓释材料诸如单独或与蜡一起的单硬脂酸甘油酯或二硬脂酸甘油酯。

[0191] 所述药物制剂按照常规制药技术制备，对于片剂形式（在必要时），所述常规制药技术涉及碾磨、混合、造粒和压制；或者对于硬明胶胶囊形式，涉及碾磨、混合和灌装。当使用液体载体时，所述制剂将处于糖浆、酞剂、乳化剂或者含水或无水混悬剂的形式。此种液体制剂可以直接口服（p.o.）给予或者灌装到软明胶胶囊中。

[0192] 根据本发明的药物组合物可以以治疗有效量递送。确切的治疗有效量是将在给定的受试者中就治疗功效而言产生最有效结果的组合物的量。这个量将取决于多种因素而改变，所述因素包括但不限于：治疗化合物的特性（包括活性、药物动力学、药效动力学和生物利用度）、受试者的生理状况（包括年龄、性别、疾病类型和阶段、一般健康状况、对给定剂量的反应及药物类型）、制剂中的药学上可接受的载体的性质以及给予途径。临床和药理学领域技术人员将能够通过常规实验（例如，通过监测受试者对给予化合物的反应并相应地调整剂量）来确定治疗有效量。另外的指导参见Remington: The Science and Practice of Pharmacy (Gennaro著, 第20版, Williams&Wilkins PA, USA) (2000)。

[0193] 实施例

[0194] 提供以下实施例是为了更好地说明要求保护的本发明，而不应解释为限制本发明的范围。当提到特定的材料时，只是为了说明的目的，而并不旨在限制本发明。本领域技术人员可以开发出等效方式或反应物，而无需创造力且不背离本发明的范围。

[0195] 实施例1-抗黏着斑蛋白和抗CDTB抗体的测量

[0196] 步骤1-抗原固定：在4℃下于加湿箱中，用100μl/孔的1.2μg/ml处于pH约为8.2的BBS中的抗原（黏着斑蛋白或CdtB）将各96孔板包被过夜（>16小时）。另外的孔用各样本并用单独的BBS包被，以确定归因于血清的非特异性背景，将该背景从抗原包被的孔中扣除

[0197] 步骤2-1#洗涤用约250μl/孔的0.05%PBS-T将孔洗涤3次

[0198] 步骤3-封闭在室温下于加湿箱中，用200μl/孔的处于PBS中的3%BSA将孔封闭1小时

[0199] 步骤4-制备血清及分配使用处于PBS中的3%BSA将血清稀释成1:16稀释液。加入100μl/孔的血清。在室温下于加湿箱中孵育1小时。

[0200] 步骤5-2#洗涤用约250μl/孔的0.05%PBS-T将孔洗涤3次

[0201] 步骤6-制备第二溶液及分配加入100μl/孔的缀合至HRP的以处于PBS中的3%BSA稀释的1:10,000的二抗。在室温下于加湿箱中孵育1小时。

[0202] 步骤7-3#洗涤用约250μl/孔的0.05%PBS-T将孔洗涤6次

[0203] 步骤8-检测加入100 μ l/孔的TMB底物溶液(1-Step Ultra TMB-ELISA Substrate, Pierce, 34028)。使用吸光度方案于370nm处在酶标仪(BioTek Synergy HT)上即时读板;并且允许平板显色90分钟(测定在60分钟左右达到平台期)。

[0204] 实施例2

[0205] 从以下受试者采集血液样本,并分析抗黏着斑蛋白抗体的水平和抗CDTB抗体的水平。健康受试者:在填完调查表后被发现没有肠道症状的连续26位受试者。IBD受试者:30位受试者(15CD和15UC)。未接受免疫调节剂疗法的经内窥镜证实的活跃的IBD。IBS受试者:162位受试者(100位来自Beth Israel, 62位来自Cedars-Sinai);罗马标准(Rome criteria)阳性。结果在下表中示出。PPV=阳性预测值。

[0206] 表1:OD_V与OD_{CDTB}之间的差值

[0207]	OD _V -OD _{CDT} 阈值	与健康者相比			与 IBD 相比		
		灵敏度	特异性	PPV	灵敏度	特异性	PPV
	>0.6	20	100	100	20	93	94
	>0.2	41	85	94	41	88	94
	>0.1	48	77	93	48	83	94
	>0	56	73	93	48	89	96

[0208] 当假定10%的IBD患者患有IBS时,对结果进行进一步分析以与IBD进行对照。采用在IBS中的阳性抗体率,并将其应用于该10%的IBD患者(即,将它们从分析中移出)。

[0209] 表2A和2B:对IBD患者中的IBS进行的对照

[0210] 表2A

[0211]	黏着斑蛋白	与 IBD 相比		
	OD 阈值	灵敏度	特异性	PPV
	>1.0	30	85	92
	>0.8	59	70	92
	>0.5	59	70	92

[0212] 表2B

[0213]	OD _V -OD _{CDT} 阈值	与 IBD 相比		
		灵敏度	特异性	PPV
	>0.6	20	96	97
	>0.2	41	93	97
	>0.1	48	89	96
	>0	48	89	96

[0214] 在上面的详细说明中描述了本发明的多个实施方式。虽然这些描述直接描述上面的实施方式,但是应该理解,本领域技术人员可对本文示出和描述的特定的实施方式构想出修改和/或变化。落入本发明说明书范围内的任何此类修改或变化也意图包括在其中。除非特别指出,否则,本发明人的意图是说明书和权利要求书中的词汇和短语都被赋予适用

领域的普通技术人员所知晓的普通含义和惯用含义。

[0215] 已经给出了本申请人在提交申请时所知道的本发明的多个实施方式的前述描述，并意在用于说明和描述的目的。本描述并不意在详尽无遗，也并不意在将本发明限于所公开的精确形式，并且根据上述教导，许多修改和变化都是可能的。所描述的实施方式是用来解释本发明的原理及其实际应用，并用来使本领域其他技术人员能够按多种实施方式及适合于所考虑的特定应用的多种修改来利用本发明。因此，本发明并不意在限制至所公开的用于实施本发明的特定实施方式。

[0216] 虽然已经示出和描述本发明的特定实施方式，但是对于本领域技术人员来说显而易见的是，根据本文中的教导，在不背离本发明及其较宽泛的方面的情况下可以作出改变和修改，并且因此，所附权利要求书将在它们的范围内涵盖所有此类落在本发明的真正精神和范围内的改变和修改。本领域技术人员将理解，一般而言，本文使用的术语一般意图作为“开放的”术语（例如，术语“包括”应解释为“包括但不限于”，术语“具有”应解释为“具有至少”，术语“包含”应解释为“包含但不限于”等）。

序列表

- <110> CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER
 PIMENTEL, Mark
 CHANG, Christopher
 <120> 肠易激综合征和炎性肠病的诊断和治疗
 <130> 065472-000454W000
 <140> PCT/US2014/059957
 <141> 2014-10-09
 <150> 61/888,658
 <151> 2013-10-09
 <160> 8
 <170> PatentIn version 3.5
 <210> 1
 <211> 267
 <212> PRT
 <213> 大肠弯曲杆菌
 <400> 1

[0001] Met Lys Lys Ile Val Phe Leu Ile Leu Ser Phe Asn Val Leu Phe Ala
 1 5 10 15
 Ala Leu Glu Asn Tyr Asn Thr Gly Thr Trp Asn Leu Gln Gly Ser Ser
 20 25 30
 Ala Ala Thr Glu Ser Lys Trp Asn Val Ser Ile Arg Gln Leu Ile Thr
 35 40 45
 Gly Ala Asn Pro Met Asp Val Leu Ala Val Gln Glu Ala Gly Val Leu
 50 55 60
 Pro Ser Thr Ala Met Met Thr Pro Arg Gln Val Gln Pro Val Gly Val
 65 70 75 80
 Gly Ile Pro Ile His Glu Tyr Ile Trp Asn Leu Gly Ser Val Ser Arg
 85 90 95
 Pro Ser Ser Val Tyr Ile Tyr Tyr Ser Arg Val Asp Val Gly Ala Asn
 100 105 110
 Arg Val Asn Leu Ala Ile Val Ser Arg Val Gln Ala Asp Glu Val Phe
 115 120 125

Val Leu Pro Pro Pro Thr Val Ala Ser Arg Pro Ile Ile Gly Ile Arg
 130 135 140

Ile Gly Asn Asp Ala Phe Phe Asn Ile His Ala Leu Ala Ser Gly Gly
 145 150 155 160

Asn Asp Ala Gly Ala Ile Val Ala Ala Val Asp Met Phe Phe Arg Asn
 165 170 175

Arg Pro Asp Ile Asn Trp Met Ile Leu Gly Asp Phe Asn Arg Glu Ser
 180 185 190

Gly Ala Leu Val Thr Leu Leu Asp Pro Asp Leu Arg Ala Arg Thr Arg
 195 200 205

Val Val Val Pro Pro Ser Ser Thr Gln Thr Ser Gly Arg Thr Ile Asp
 210 215 220

Tyr Ala Ile Thr Gly Asn Ser Asn Thr Ala Ala Leu Tyr Asn Pro Pro
 225 230 235 240

[0002]

Pro Ile Val Ala Ile Leu Ala Leu Glu Gly Leu Arg Thr Phe Leu Ala
 245 250 255

Ser Asp His Phe Pro Val Asn Phe Arg Arg Pro
 260 265

<210> 2
 <211> 804
 <212> DNA
 <213> 大肠弯曲杆菌

<400> 2
 atgaaaaaaa tagtattttt gattttaagt tttaatgtat tatttgccgc tttagaaaat 60
 tacaacaccg gaacttggaa tttgcaaggc tcatcagctg caactgaaag caaatggaat 120
 gttagtataa gacaactcat aaccggtgca aatcctatgg atgttttagc tgttcaagaa 180
 gcggggggttt tacctagtag agctatgatg actcctagac aggtacaacc cgtgggcgtg 240
 ggtattccta tacatgaata catatggaat ttaggctctg tatcaagacc tagctctgtt 300
 tatatatatt attctagagt ggatgtagga gcaaactcgtg tgaatttagc tategttagc 360
 agagtgcaag cggatgaagt ttttgtttta cccctccaa cagttgcttc aagacctatt 420

ataggcatac gcataggcaa tgatgctttt ttcaatatac acgctctagc aagtggggga 480
aatgacgcag gagccattgt cgctgctgtg gatatgtttt ttagaaatag acctgatatt 540
aattggatga ttttaggcga ttttaataga gaatcaggcg ccttagtaac cttgctagat 600
cctgacttaa gagcacgcac tcgcgtagtt gttccgctt cttctacgca aacaagtgga 660
agaacgattg attatgctat cactggaaat tccaacactg cagctttata caaccacca 720
ccgatagttg cgattttagc tttagaagga ttaagaacct ttttgcttc agatcatttt 780
cctgtaaatt ttagaagacc ttag 804

<210> 3
<211> 17
<212> PRT
<213> 空肠弯曲杆菌

<400> 3

Leu Asp Tyr Ala Ile Thr Gly Asn Ser Asn Arg Gln Gln Thr Tyr Thr
1 5 10 15

[0003] Pro

<210> 4
<211> 18
<212> PRT
<213> 空肠弯曲杆菌

<400> 4

Cys Leu Asp Tyr Ala Ile Thr Gly Asn Ser Asn Arg Gln Gln Thr Tyr
1 5 10 15

Thr Pro

<210> 5
<211> 265
<212> PRT
<213> 空肠弯曲杆菌

<400> 5

Met Lys Lys Ile Ile Cys Leu Phe Leu Ser Phe Asn Leu Ala Phe Ala
1 5 10 15

Asn Leu Glu Asn Phe Asn Val Gly Thr Trp Asn Leu Gln Gly Ser Ser
 20 25 30

Ala Ala Thr Glu Ser Lys Trp Ser Val Ser Val Arg Gln Leu Val Ser
 35 40 45

Gly Ala Asn Pro Leu Asp Ile Leu Met Ile Gln Glu Ala Gly Thr Leu
 50 55 60

Pro Arg Thr Ala Thr Pro Thr Gly Arg His Val Gln Gln Gly Gly Thr
 65 70 75 80

Pro Ile Asp Glu Tyr Glu Trp Asn Leu Gly Thr Leu Ser Arg Pro Asp
 85 90 95

Arg Val Phe Ile Tyr Tyr Ser Arg Val Asp Val Gly Ala Asn Arg Val
 100 105 110

Asn Leu Ala Ile Val Ser Arg Met Gln Ala Glu Glu Val Ile Val Leu
 115 120 125

[0004] Pro Pro Pro Thr Thr Val Ser Arg Pro Ile Ile Gly Ile Arg Asn Gly
 130 135 140

Asn Asp Ala Phe Phe Asn Ile His Ala Leu Ala Asn Gly Gly Thr Asp
 145 150 155 160

Val Gly Ala Ile Ile Thr Ala Val Asp Ala His Phe Ala Asn Met Pro
 165 170 175

Gln Val Asn Trp Met Ile Ala Gly Asp Phe Asn Arg Asp Pro Ser Thr
 180 185 190

Ile Thr Ser Thr Val Asp Arg Glu Leu Ala Asn Arg Ile Arg Val Val
 195 200 205

Phe Pro Thr Ser Ala Thr Gln Ala Ser Gly Gly Thr Leu Asp Tyr Ala
 210 215 220

Ile Thr Gly Asn Ser Asn Arg Gln Gln Thr Tyr Thr Pro Pro Leu Leu
 225 230 235 240

Ala Ala Ile Leu Met Leu Ala Ser Leu Arg Ser His Ile Val Ser Asp

	245	250	255	
	His Phe Pro Val Asn Phe Arg Lys Phe			
	260	265		
<210>	6			
<211>	51			
<212>	DNA			
<213>	空肠弯曲杆菌			
<400>	6			
	cttgattatg caattacagg aaattcaaat agacaacaaa cctatactcc a			51
<210>	7			
<211>	1066			
<212>	PRT			
<213>	智人			
<400>	7			
	Met Pro Val Phe His Thr Arg Thr Ile Glu Ser Ile Leu Glu Pro Val			
	1	5	10	15
[0005]	Ala Gln Gln Ile Ser His Leu Val Ile Met His Glu Glu Gly Glu Val	20	25	30
	Asp Gly Lys Ala Ile Pro Asp Leu Thr Ala Pro Val Ala Ala Val Gln	35	40	45
	Ala Ala Val Ser Asn Leu Val Arg Val Gly Lys Glu Thr Val Gln Thr	50	55	60
	Thr Glu Asp Gln Ile Leu Lys Arg Asp Met Pro Pro Ala Phe Ile Lys	65	70	75
				80
	Val Glu Asn Ala Cys Thr Lys Leu Val Gln Ala Ala Gln Met Leu Gln	85	90	95
	Ser Asp Pro Tyr Ser Val Pro Ala Arg Asp Tyr Leu Ile Asp Gly Ser	100	105	110
	Arg Gly Ile Leu Ser Gly Thr Ser Asp Leu Leu Leu Thr Phe Asp Glu	115	120	125
	Ala Glu Val Arg Lys Ile Ile Arg Val Cys Lys Gly Ile Leu Glu Tyr	130	135	140

Leu Thr Val Ala Glu Val Val Glu Thr Met Glu Asp Leu Val Thr Tyr
 145 150 155 160

Thr Lys Asn Leu Gly Pro Gly Met Thr Lys Met Ala Lys Met Ile Asp
 165 170 175

Glu Arg Gln Gln Glu Leu Thr His Gln Glu His Arg Val Met Leu Val
 180 185 190

Asn Ser Met Asn Thr Val Lys Glu Leu Leu Pro Val Leu Ile Ser Ala
 195 200 205

Met Lys Ile Phe Val Thr Thr Lys Asn Ser Lys Asn Gln Gly Ile Glu
 210 215 220

Glu Ala Leu Lys Asn Arg Asn Phe Thr Val Glu Lys Met Ser Ala Glu
 225 230 235 240

Ile Asn Glu Ile Ile Arg Val Leu Gln Leu Thr Ser Trp Asp Glu Asp
 245 250 255

[0006]

Ala Trp Ala Ser Lys Asp Thr Glu Ala Met Lys Arg Ala Leu Ala Ser
 260 265 270

Ile Asp Ser Lys Leu Asn Gln Ala Lys Gly Trp Leu Arg Asp Pro Ser
 275 280 285

Ala Ser Pro Gly Asp Ala Gly Glu Gln Ala Ile Arg Gln Ile Leu Asp
 290 295 300

Glu Ala Gly Lys Val Gly Glu Leu Cys Ala Gly Lys Glu Arg Arg Glu
 305 310 315 320

Ile Leu Gly Thr Cys Lys Met Leu Gly Gln Met Thr Asp Gln Val Ala
 325 330 335

Asp Leu Arg Ala Arg Gly Gln Gly Ser Ser Pro Val Ala Met Gln Lys
 340 345 350

Ala Gln Gln Val Ser Gln Gly Leu Asp Val Leu Thr Ala Lys Val Glu
 355 360 365

Asn Ala Ala Arg Lys Leu Glu Ala Met Thr Asn Ser Lys Gln Ser Ile
370 375 380

Ala Lys Lys Ile Asp Ala Ala Gln Asn Trp Leu Ala Asp Pro Asn Gly
385 390 395 400

Gly Pro Glu Gly Glu Glu Gln Ile Arg Gly Ala Leu Ala Glu Ala Arg
405 410 415

Lys Ile Ala Glu Leu Cys Asp Asp Pro Lys Glu Arg Asp Asp Ile Leu
420 425 430

Arg Ser Leu Gly Glu Ile Ser Ala Leu Thr Ser Lys Leu Ala Asp Leu
435 440 445

Arg Arg Gln Gly Lys Gly Asp Ser Pro Glu Ala Arg Ala Leu Ala Lys
450 455 460

Gln Val Ala Thr Ala Leu Gln Asn Leu Gln Thr Lys Thr Asn Arg Ala
465 470 475 480

[0007]

Val Ala Asn Ser Arg Pro Ala Lys Ala Ala Val His Leu Glu Gly Lys
485 490 495

Ile Glu Gln Ala Gln Arg Trp Ile Asp Asn Pro Thr Val Asp Asp Arg
500 505 510

Gly Val Gly Gln Ala Ala Ile Arg Gly Leu Val Ala Glu Gly His Arg
515 520 525

Leu Ala Asn Val Met Met Gly Pro Tyr Arg Gln Asp Leu Leu Ala Lys
530 535 540

Cys Asp Arg Val Asp Gln Leu Thr Ala Gln Leu Ala Asp Leu Ala Ala
545 550 555 560

Arg Gly Glu Gly Glu Ser Pro Gln Ala Arg Ala Leu Ala Ser Gln Leu
565 570 575

Gln Asp Ser Leu Lys Asp Leu Lys Ala Arg Met Gln Glu Ala Met Thr
580 585 590

Gln Glu Val Ser Asp Val Phe Ser Asp Thr Thr Thr Pro Ile Lys Leu
 595 600 605

Leu Ala Val Ala Ala Thr Ala Pro Pro Asp Ala Pro Asn Arg Glu Glu
 610 615 620

Val Phe Asp Glu Arg Ala Ala Asn Phe Glu Asn His Ser Gly Lys Leu
 625 630 635 640

Gly Ala Thr Ala Glu Lys Ala Ala Ala Val Gly Thr Ala Asn Lys Ser
 645 650 655

Thr Val Glu Gly Ile Gln Ala Ser Val Lys Thr Ala Arg Glu Leu Thr
 660 665 670

Pro Gln Val Val Ser Ala Ala Arg Ile Leu Leu Arg Asn Pro Gly Asn
 675 680 685

Gln Ala Ala Tyr Glu His Phe Glu Thr Met Lys Asn Gln Trp Ile Asp
 690 695 700

[0008] Asn Val Glu Lys Met Thr Gly Leu Val Asp Glu Ala Ile Asp Thr Lys
 705 710 715 720

Ser Leu Leu Asp Ala Ser Glu Glu Ala Ile Lys Lys Asp Leu Asp Lys
 725 730 735

Cys Lys Val Ala Met Ala Asn Ile Gln Pro Gln Met Leu Val Ala Gly
 740 745 750

Ala Thr Ser Ile Ala Arg Arg Ala Asn Arg Ile Leu Leu Val Ala Lys
 755 760 765

Arg Glu Val Glu Asn Ser Glu Asp Pro Lys Phe Arg Glu Ala Val Lys
 770 775 780

Ala Ala Ser Asp Glu Leu Ser Lys Thr Ile Ser Pro Met Val Met Asp
 785 790 795 800

Ala Lys Ala Val Ala Gly Asn Ile Ser Asp Pro Gly Leu Gln Lys Ser
 805 810 815

Phe Leu Asp Ser Gly Tyr Arg Ile Leu Gly Ala Val Ala Lys Val Arg

	820		825		830													
	Glu	Ala	Phe	Gln	Pro	Gln	Glu	Pro	Asp	Phe	Pro	Pro	Pro	Pro	Pro	Asp		
			835						840					845				
	Leu	Glu	Gln	Leu	Arg	Leu	Thr	Asp	Glu	Leu	Ala	Pro	Pro	Lys	Pro	Pro		
		850					855					860						
	Leu	Pro	Glu	Gly	Glu	Val	Pro	Pro	Pro	Arg	Pro	Pro	Pro	Pro	Glu	Glu		
	865					870					875				880			
	Lys	Asp	Glu	Glu	Phe	Pro	Glu	Gln	Lys	Ala	Gly	Glu	Val	Ile	Asn	Gln		
					885					890					895			
	Pro	Met	Met	Met	Ala	Ala	Arg	Gln	Leu	His	Asp	Glu	Ala	Arg	Lys	Trp		
				900					905					910				
	Ser	Ser	Lys	Gly	Asn	Asp	Ile	Ile	Ala	Ala	Ala	Lys	Arg	Met	Ala	Leu		
			915					920					925					
[0009]	Leu	Met	Ala	Glu	Met	Ser	Arg	Leu	Val	Arg	Gly	Gly	Ser	Gly	Thr	Lys		
		930					935					940						
	Arg	Ala	Leu	Ile	Gln	Cys	Ala	Lys	Asp	Ile	Ala	Lys	Ala	Ser	Asp	Glu		
	945					950					955					960		
	Val	Thr	Arg	Leu	Ala	Lys	Glu	Val	Ala	Lys	Gln	Cys	Thr	Asp	Lys	Arg		
					965					970					975			
	Ile	Arg	Thr	Asn	Leu	Leu	Gln	Val	Cys	Glu	Arg	Ile	Pro	Thr	Ile	Ser		
				980					985					990				
	Thr	Gln	Leu	Lys	Ile	Leu	Ser	Thr	Val	Lys	Ala	Thr	Met	Leu	Gly	Arg		
			995					1000					1005					
	Thr	Asn	Ile	Ser	Asp	Glu	Glu	Ser	Glu	Gln	Ala	Thr	Glu	Met	Leu			
		1010					1015					1020						
	Val	His	Asn	Ala	Gln	Asn	Leu	Met	Gln	Ser	Val	Lys	Glu	Thr	Val			
		1025					1030					1035						
	Arg	Glu	Ala	Glu	Ala	Ala	Ser	Ile	Lys	Ile	Arg	Thr	Asp	Ala	Gly			
		1040					1045					1050						

Phe Thr Leu Arg Trp Val Arg Lys Thr Pro Trp Tyr Gln
 1055 1060 1065

<210> 8
 <211> 633
 <212> PRT
 <213> 志贺氏杆菌

<400> 8

Met His Asn Val Asn Asn Thr Gln Ala Pro Thr Phe Leu Tyr Lys Ala
 1 5 10 15

Thr Ser Pro Ser Ser Thr Glu Tyr Ser Glu Leu Lys Ser Lys Ile Ser
 20 25 30

Asp Ile His Ser Ser Gln Thr Ser Leu Lys Thr Pro Ala Ser Val Ser
 35 40 45

Glu Lys Glu Asn Phe Ala Thr Ser Phe Asn Gln Lys Cys Leu Asp Phe
 50 55 60

[0010]

Leu Phe Ser Ser Ser Gly Lys Glu Asp Val Leu Arg Ser Ile Tyr Ser
 65 70 75 80

Asn Ser Met Asn Ala Tyr Ala Lys Ser Glu Ile Leu Glu Phe Ser Asn
 85 90 95

Val Leu Tyr Ser Leu Val His Gln Asn Gly Leu Asn Phe Glu Asn Glu
 100 105 110

Lys Gly Leu Gln Lys Ile Val Ala Gln Tyr Ser Glu Leu Ile Ile Lys
 115 120 125

Asp Lys Leu Ser Gln Asp Ser Ala Phe Gly Pro Trp Ser Ala Lys Asn
 130 135 140

Lys Lys Leu His Gln Leu Arg Gln Asn Ile Glu His Arg Leu Ala Leu
 145 150 155 160

Leu Ala Gln Gln His Thr Ser Gly Glu Ala Leu Ser Leu Gly Gln Lys
 165 170 175

Leu Leu Asn Thr Glu Val Ser Ser Phe Ile Lys Asn Asn Ile Leu Ala
 180 185 190

Glu Leu Lys Leu Ser Asn Glu Thr Val Ser Ser Leu Lys Leu Asp Asp
 195 200 205

Leu Val Asp Ala Gln Ala Lys Leu Ala Phe Asp Ser Leu Arg Asn Gln
 210 215 220

Arg Lys Asn Thr Ile Asp Ser Lys Gly Phe Gly Ile Gly Lys Leu Ser
 225 230 235 240

Arg Asp Leu Asn Thr Val Ala Val Phe Pro Glu Leu Leu Arg Lys Val
 245 250 255

Leu Asn Asp Ile Leu Glu Asp Ile Lys Asp Ser His Pro Ile Gln Asp
 260 265 270

Gly Leu Pro Thr Pro Pro Glu Asp Met Pro Asp Gly Gly Pro Thr Pro
 275 280 285

[0011] Gly Ala Asn Glu Lys Thr Ser Gln Pro Val Ile His Tyr His Ile Asn
 290 295 300

Asn Asp Asn Arg Thr Tyr Asp Asn Arg Val Phe Asp Asn Arg Val Tyr
 305 310 315 320

Asp Asn Ser Tyr His Glu Asn Pro Glu Asn Asp Ala Gln Ser Pro Thr
 325 330 335

Ser Gln Thr Asn Asp Leu Leu Ser Arg Asn Gly Asn Ser Leu Leu Asn
 340 345 350

Pro Gln Arg Ala Leu Val Gln Lys Val Thr Ser Val Leu Pro His Ser
 355 360 365

Ile Ser Asp Thr Val Gln Thr Phe Ala Asn Asn Ser Ala Leu Glu Lys
 370 375 380

Val Phe Asn His Thr Pro Asp Asn Ser Asp Gly Ile Gly Ser Asp Leu
 385 390 395 400

Leu Thr Thr Ser Ser Gln Glu Arg Ser Ala Asn Asn Ser Leu Ser Arg

	405	410	415
	Gly His Arg Pro Leu Asn Ile Gln Asn Ser Ser Thr Thr Pro Pro Leu 420	425	430
	His Pro Glu Gly Val Thr Ser Ser Asn Asp Asn Ser Ser Asp Thr Thr 435	440	445
	Lys Ser Ser Ala Ser Leu Ser His Arg Val Ala Ser Gln Ile Asn Lys 450	455	460
	Phe Asn Ser Asn Thr Asp Ser Lys Val Leu Gln Thr Asp Phe Leu Ser 465	470	475
	Arg Asn Gly Asp Thr Tyr Leu Thr Arg Glu Thr Ile Phe Glu Ala Ser 485	490	495
	Lys Lys Val Thr Asn Ser Leu Ser Asn Leu Ile Ser Leu Ile Gly Thr 500	505	510
[0012]	Lys Ser Gly Thr Gln Glu Arg Glu Leu Gln Glu Lys Ser Lys Asp Ile 515	520	525
	Thr Lys Ser Thr Thr Glu His Arg Ile Asn Asn Lys Leu Lys Val Thr 530	535	540
	Asp Ala Asn Ile Arg Asn Tyr Val Thr Glu Thr Asn Ala Asp Thr Ile 545	550	555
	Asp Lys Asn His Ala Ile Tyr Glu Lys Ala Lys Glu Val Ser Ser Ala 565	570	575
	Leu Ser Lys Val Leu Ser Lys Ile Asp Asp Thr Ser Ala Glu Leu Leu 580	585	590
	Thr Asp Asp Ile Ser Asp Leu Lys Asn Asn Asn Asp Ile Thr Ala Glu 595	600	605
	Asn Asn Asn Ile Tyr Lys Ala Ala Lys Asp Val Thr Thr Ser Leu Ser 610	615	620
	Lys Val Leu Lys Asn Ile Asn Lys Asp 625	630	

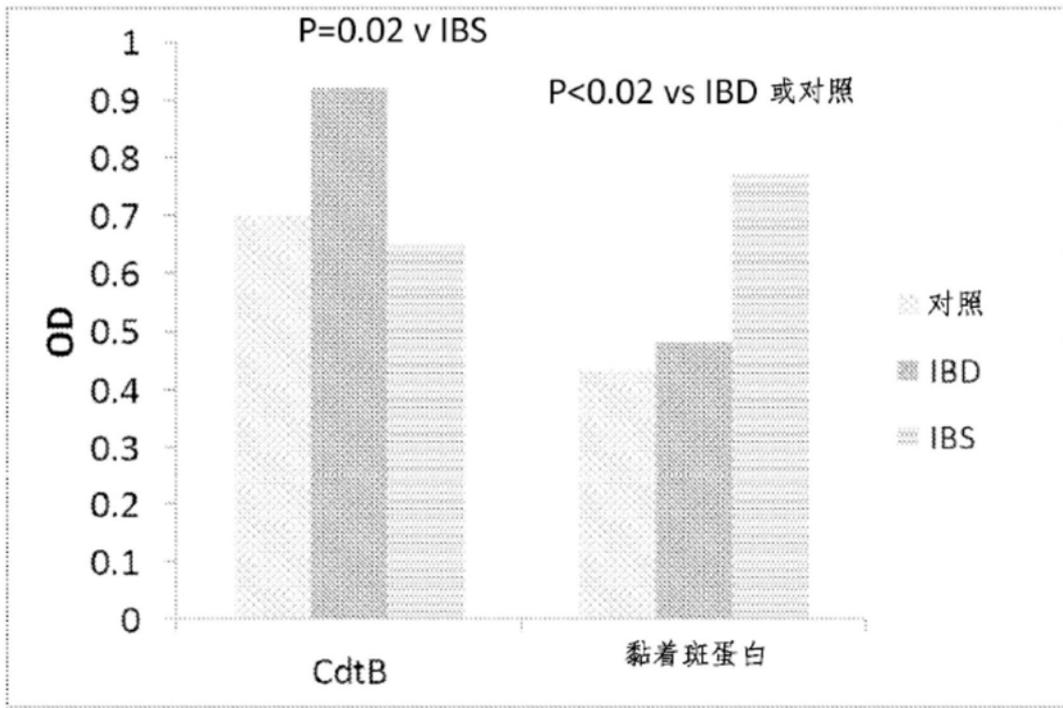


图1

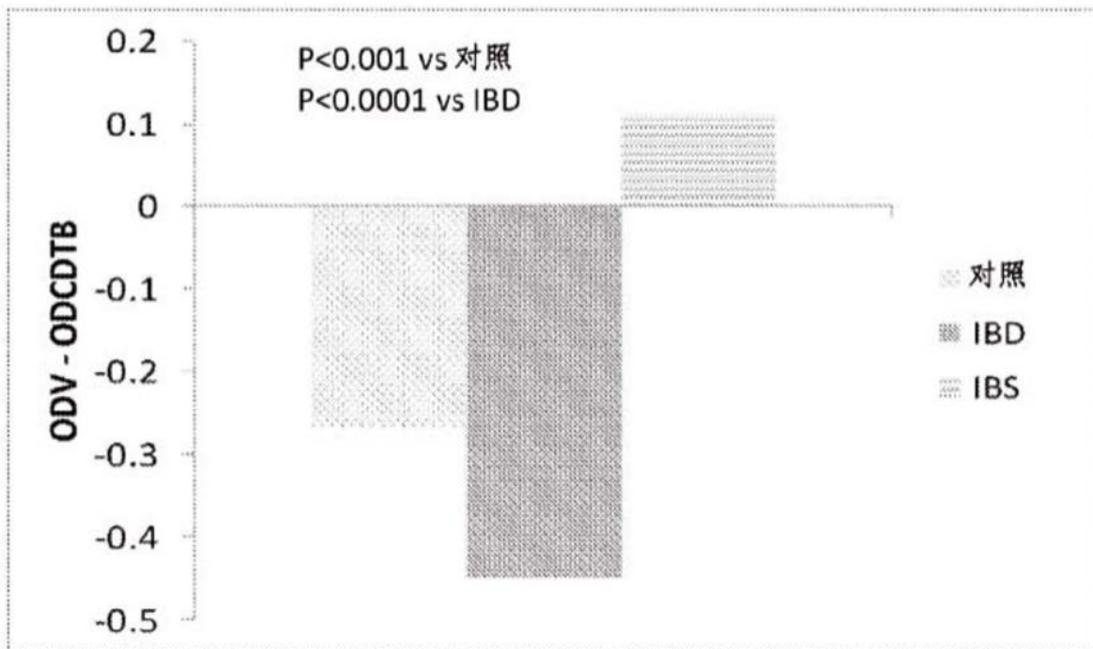


图2