



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 107923917 A

(43)申请公布日 2018.04.17

(21)申请号 201680044624.0

E·科荣格 R·侯维斯凯

(22)申请日 2016.06.20

本杰明·菲利普·伯曼

(30)优先权数据

62/181,665 2015.06.18 US

62/233,231 2015.09.25 US

62/387,149 2015.12.23 US

(74)专利代理机构 北京市浩天知识产权代理事
务所(普通合伙) 11276

代理人 刘云贵 周华宁

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.01.30

(51)Int.Cl.

G01N 33/68(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2016/038439 2016.06.20

(87)PCT国际申请的公布数据

W02016/205828 EN 2016.12.22

(71)申请人 西达-赛奈医疗中心

地址 美国加利福尼亚州洛杉矶

(72)发明人 J·凡艾克 J·福特博伯

权利要求书2页 说明书77页

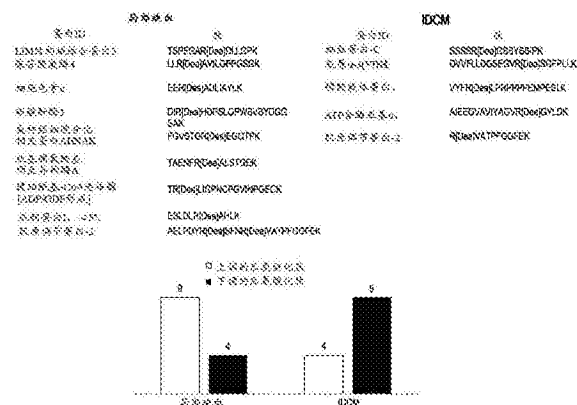
序列表113页 附图20页

(54)发明名称

瓜氨酸化在诊断疾病中的作用

(57)摘要

本文提供了用于诊断受试者的心血管疾病和/或神经退行性疾病的方法和标记物。所述方法包括从需要诊断的受试者获得生物样品,并检测从所述受试者获得的生物样品中瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的量。



1. 一种用于诊断有需要的受试者的疾病状态的方法,包括:
从所述受试者获得生物样品;以及
检测从所述受试者获得的所述生物样品中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的量;
其中所述瓜氨酸化蛋白质或所述瓜氨酸化肽相对于参考值的水平变化指示所述受试者的疾病状态的风险增加。
2. 如权利要求1所述的方法,其中所述瓜氨酸化蛋白质或所述瓜氨酸化肽相对于所述参考值增加。
3. 如权利要求1所述的方法,其中所述疾病状态是慢性神经退行性疾病、获得性脑损伤、心血管疾病或其组合中的任何一种或多种。
4. 如权利要求3所述的方法,其中所述心血管疾病是缺血性心脏病或特发性心肌病。
5. 如权利要求3所述的方法,其中所述慢性神经退行性疾病是阿尔茨海默氏病(AD)和其它痴呆、帕金森氏病(PD)和PD相关病症、朊病毒病、运动神经元疾病(MND)、亨廷顿氏病(HD)、脊髓小脑性共济失调(SCA)、脊髓性肌萎缩(SMA)或其组合。
6. 如权利要求3所述的方法,其中所述获得性脑损伤是创伤性脑损伤(TBI)、中风、脑疾病、肿瘤、出血或其组合中的任何一种或多种。
7. 如权利要求1所述的方法,其中所述瓜氨酸化蛋白质或所述瓜氨酸化肽是分泌的。
8. 如权利要求1所述的方法,其中所述瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽不是分泌的。
9. 如权利要求1所述的方法,其中所述疾病状态是心血管疾病并且所述瓜氨酸化肽是以下中的任何一种或多种或者是与以下中的任何一种或多种具有至少80%同一性:
NIDALSGMEGRK (SEQ ID NO:18)、PRSFMPNLVPPK (SEQ ID NO:20)、ESLDLRAHLK (SEQ ID NO:19)、AEETQRSVNDLTSQRAK (SEQ ID NO:24)、FADLSEAANRNNDALRQAK (SEQ ID NO:22) 或其组合。
10. 如权利要求1所述的方法,其中所述疾病状态是ALS并且所述瓜氨酸化肽是以下中的任何一种或多种或者是与以下中的任何一种或多种具有至少80%同一性:
PSGVQMDPCCRALYDFEPENEGEL GFK (SEQ ID NO:306)、QYMRSTCTINYSK (SEQ ID NO:307)、LILIARNK (SEQ ID NO:308)、VIVVWVGTTNNHENTAEVAGGIEA IVQLINTRQPQAK (SEQ ID NO:309)、EVDVGLAADVGTQLRQRPK (SEQ ID NO:310)、HEEAPGHRPTTNPASK (SEQ ID NO:311)、GETPVNSTMSIGQARK (SEQ ID NO:312)、VRIQTQPGYANTLRD AAPK (SEQ ID NO:313)、NVGCLQEALQLATSFAQLRLGDVK (SEQ ID NO:314) 或其组合。
11. 如权利要求5所述的方法,其中所述疾病状态是慢性神经退行性疾病并且所述瓜氨酸化肽是以下肽中的任何一种或多种或者是与以下肽中的任何一种或多种有80%同一性:
SEQ ID NO.:355、SEQ ID NO.:402、SEQ ID NO.:1、SEQ ID NO.:348、SEQ ID NO.:363、SEQ ID NO.:428、SEQ ID NO.:373、SEQ ID NO.:315、SEQ ID NO.:316、SEQ ID NO.:340、SEQ ID NO.:377、SEQ ID NO.:331、SEQ ID NO.:332、SEQ ID NO.:325、SEQ ID NO.:375、SEQ ID NO.:429、SEQ ID NO.:414、SEQ ID NO.:313、SEQ ID NO.:366、SEQ ID NO.:360、SEQ ID NO.:423、SEQ ID NO.:405、SEQ ID NO.:439、SEQ ID NO.:321、SEQ ID NO.:475、SEQ ID NO.:476、SEQ ID NO.:477、SEQ ID NO.:478、SEQ ID NO.:479、SEQ ID NO.:480、SEQ ID NO.:481、SEQ ID NO.:482、SEQ ID NO.:483、SEQ ID NO.:484、SEQ ID NO.:485、SEQ ID NO.:486、SEQ ID NO.:487、SEQ ID NO.:488、SEQ ID NO.:489、SEQ ID NO.:490、SEQ ID

NO.:491、SEQ ID NO.:492、SEQ ID NO.:493、SEQ ID NO.:494、SEQ ID NO.:495、SEQ ID NO.:496、SEQ ID NO.:497、SEQ ID NO.:498、SEQ ID NO.:499、SEQ ID NO.:500、SEQ ID NO.:501、SEQ ID NO.:502、SEQ ID NO.:503、SEQ ID NO.:504或其组合。

12. 如权利要求5所述的方法,其中所述疾病状态是获得性脑损伤并且所述瓜氨酸化肽是以下肽中的任何一种或多种或者是与以下肽中的任何一种或多种有80%同一性:SEQ ID NO.:125、SEQ ID NO.:265、SEQ ID NO.:285、SEQ ID NO.:505、SEQ ID NO.:506、SEQ ID NO.:507、SEQ ID NO.:508、SEQ ID NO.:509、SEQ ID NO.:510、SEQ ID NO.:511、SEQ ID NO.:512、SEQ ID NO.:513、SEQ ID NO.:514、SEQ ID NO.:515、SEQ ID NO.:516、SEQ ID NO.:517、SEQ ID NO.:518、SEQ ID NO.:519、SEQ ID NO.:520、SEQ ID NO.:521、SEQ ID NO.:522、SEQ ID NO.:523、SEQ ID NO.:524、SEQ ID NO.:525、SEQ ID NO.:526、SEQ ID NO.:527、SEQ ID NO.:528、SEQ ID NO.:529、SEQ ID NO.:530、SEQ ID NO.:531、SEQ ID NO.:532、SEQ ID NO.:533、SEQ ID NO.:534、SEQ ID NO.:535、SEQ ID NO.:536、SEQ ID NO.:537、SEQ ID NO.:538、SEQ ID NO.:539、SEQ ID NO.:540、SEQ ID NO.:541、SEQ ID NO.:542、SEQ ID NO.:543、SEQ ID NO.:544、SEQ ID NO.:545、SEQ ID NO.:546、SEQ ID NO.:547或其组合。

13. 如权利要求1所述的方法,其中所述生物样品是血液、血浆、血清、组织活检或其组合中的任何一种或多种。

14. 如权利要求1所述的方法,其中使用质谱法、高分辨质谱法、串联质谱法、结合测定法、免疫测定法、抗体结合或免疫组织化学来检测所述瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平。

15. 如权利要求3所述的方法,进一步包括向诊断为患有心血管疾病、慢性神经退行性疾病、获得性脑损伤或其组合中的任何一种或多种的所述受试者开处方治疗。

16. 如权利要求12所述的方法,所述治疗包括治疗性生活方式改变、治疗剂、手术治疗或其组合中的任何一种或多种。

17. 如权利要求3所述的方法,其中所述瓜氨酸化蛋白质或所述瓜氨酸化肽的存在指示在所述慢性神经退行性疾病、获得性脑损伤或其组合的发病期间产生自身抗体。

瓜氨酸化在诊断疾病中的作用

关于联邦政府资助研究的声明

[0001] 本发明是以由美国国立卫生研究院 (National Institutes of Health) 授予的拨款号 HL112586-01 和 HHSN268201000032C 在政府支持下进行的。政府对本发明有一定的权利。

背景技术

[0002] 本文中的所有出版物通过引用并入,其程度如同每个单独的出版物或专利申请被特定地和单独地指示为通过引用并入。以下描述包括可能可用于理解本发明的信息。并不是承认本文提供的任何信息是现有技术或与当前要求保护的发明相关,或者明确或暗示引用的任何出版物是现有技术。

[0003] 瓜氨酸化 (citrullination), 是涉及由酶肽酰精氨酸脱亚胺酶 (PAD) 家族将精氨酸转化为瓜氨酸的不可逆翻译后修饰 (PTM), 与若干种疾病有关。瓜氨酸化看起来是一个广义的过程; 靶向瓜氨酸化蛋白的自身抗体对于类风湿性关节炎 (RA) 是相对特异的, 并且尽管偶尔在其它自身免疫病状中观察到, 但在健康个体中不常观察到。在我们先前的研究中, 在 RA 患者的心肌中发现了升高水平的针对瓜氨酸化蛋白抗原的自身抗体。在心肌细胞、驻留的炎性细胞、内皮细胞和血管平滑肌细胞中检测到了 PAD。

[0004] 瓜氨酸化导致分子量少量增加 (+0.984Da), 但将精氨酸残基上带正电荷的胍基团转化成了瓜氨酸氨基酸上带中性电荷的脒基。从精氨酸到瓜氨酸的电荷丢失可以对蛋白质结构、蛋白水解易感性、蛋白质-蛋白质相互作用和细胞内信号传导具有巨大影响。由于瓜氨酸化可导致蛋白质结构和功能的强烈变化, 因此在许多慢性疾病中发现瓜氨酸化和 PAD 酶是不足为奇的。此外, 精氨酸向瓜氨酸的转化是以 Ca^{2+} 依赖性方式, 用相对较高的细胞内钙浓度催化的。因为胞质和核质钙浓度相对较低, 所以 PAD 在正常条件下应该是无活性的。然而, 当由于钙离子从细胞外环境中流入并从细胞内钙库释放而使钙浓度增加时, 在受损和垂死细胞中 PAD 被激活。

[0005] 在心肌中被瓜氨酸化的实际蛋白质是未知的, 因为不知道是 i) 心肌瓜氨酸化蛋白是循环自身抗体的免疫靶标, ii) 心肌瓜氨酸化蛋白本身可以诱导自身免疫应答, 还是 iii) 瓜氨酸化蛋白质直接介导对心脏结构或功能的表型修饰。存在心肌蛋白的 PTM 导致心力衰竭 (HF) 中的心脏收缩性和结构变化的先例。肌小节蛋白的磷酸化、氧化和乙酰化导致了蛋白质的形态学变化, 该形态学变化导致收缩性能降低和具有 HF 的不良心脏重塑。然而, 心肌蛋白的瓜氨酸化是否起类似的作用是未知的。

[0006] 关于神经退行性疾病的健康信息的框架有时包括脑疾病, 定义为也影响大脑 (由中枢神经系统的颅内组分组成) 的病理病状。这包括 (但不限于) 大脑皮质、颅内白质、基底神经节、丘脑、下丘脑、脑干和小脑 (MeSH 定义)。重要的是要注意, 并非所有患有神经退行性疾病家族史的个体都将具有可辨别的基因突变。这可能是因为负责基因尚未被鉴定, 或者因为该疾病实际上不是由于基因突变导致的。

[0007] 在鉴定瓜氨酸化蛋白质和经修饰的氨基酸残基方面存在挑战。在此, 本发明人提

供了显示出经修饰的氨基酸残基的瓜氨酸化蛋白和肽的实例,所述经修饰的氨基酸残基可以用作心血管疾病和神经退行性疾病的标记物。

发明概述

[0008] 结合系统、组合物和方法描述和说明了以下实施方案及实施方案的各方面,这些系统、组合物和方法是示例性和说明性的,而不限范围

[0009] 本文提供了用于诊断和预测心血管疾病的方法。所述方法包括从需要诊断心血管疾病的受试者获得生物样品,并检测从所述受试者获得的生物样品中瓜氨酸化蛋白质(citrullinated protein)或瓜氨酸化肽(citrullinated peptide)的量。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平变化指示心血管疾病的风险增加。在一个实施方案中,瓜氨酸化水平的变化是瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平增加,指示心血管疾病的风险增加。在另一个实施方案中,瓜氨酸化水平的变化是瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平降低,指示心血管疾病的风险增加。在示例性实施方案中,表1A、表1B、表1C、表1D和/或表1E中所示的一种或多种瓜氨酸化蛋白质或肽的存在指示心血管疾病的风险增加。在示例性实施方案中,表1A、表1B、表1C、表1D和/或表1E中所示的瓜氨酸化蛋白质或肽的水平变化指示心血管疾病的风险增加。在示例性实施方案中,水平的变化是表1A、表1B、表1C、表1D和/或表1E中所示的蛋白质或肽的瓜氨酸化水平的增加,其指示心血管疾病的风险增加。在示例性实施方案中,水平的变化是表1A、表1B、表1C、表1D和/或表1E中所示的蛋白质或肽的瓜氨酸化水平的降低,其指示心血管疾病的风险增加。在一些实施方案中,表1A、表1B、表1C、表1D和/或表1E中所示的一些肽的瓜氨酸化水平的增加和表1A、表1B、表1C、表1D和/或表1E中所示的一些肽的瓜氨酸化的减少指示心血管疾病的风险增加。在各种实施方案中,瓜氨酸化在精氨酸残基处,如表1A、表1B、表1C、表1D和/或表1E中所示为“Dea”。在示例性实施方案中,心血管疾病是局部缺血性心脏病(ISHD)、特发性肌病(IDCMT)或其组合中的任何一种或多种。

[0010] 本文还提供了用于治疗有需要的受试者的心血管疾病的方法。所述方法包括通过本文所述的方法诊断心血管疾病,并向被诊断为患有心血管疾病的受试者施用有效量的治疗剂,以便治疗受试者的心血管疾病。在示例性实施方案中,心血管疾病是局部缺血性心脏病(ISHD)、特发性肌病(IDCMT)或其组合中的任何一种或多种。

[0011] 本文提供了用于诊断和/或预测肌萎缩性脊髓侧索硬化症(ALS)的方法。所述方法包括从需要诊断ALS的受试者获得生物样品,并检测从所述受试者获得的生物样品中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的存在指示ALS的风险增加。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平变化指示ALS的风险增加。在一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平增加指示ALS的风险增加。在另一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平降低指示ALS的风险增加。在一个示例性实施方案中,表2中所示的瓜氨酸化肽的存在指示ALS。在示例性实施方案中,表2、表3或表4中所示的一种或多种瓜氨酸化肽的存在指示ALS的风险增加。在示例性实施方案中,表2、表3或表4中所示的瓜氨酸化肽水平的变化指示ALS的风险增加。在示例性实施方案中,表2、表3或表4中所示的肽的瓜氨酸化量的变化指示神经退行性疾病的风险增加。在各种实施方案中,瓜氨酸化在精氨酸残基处,如表2、表3或表4中的“Dea”所示。

[0012] 本文还提供了用于治疗有需要的受试者的ALS的方法。所述方法包括通过本文所述的方法诊断ALS,并向被诊断为患有ALS的受试者施用有效量的治疗剂,以便治疗受试者的ALS。

[0013] 本文提供了用于诊断和/或预测慢性神经退行性疾病的方法。所述方法包括从需要诊断慢性神经退行性疾病的受试者获得生物样品,并检测从所述受试者获得的生物样品中瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的存在指示慢性神经退行性疾病的风险增加。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平的变化指示慢性神经退行性疾病的风险增加。在一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平增加指示慢性神经退行性疾病的风险增加。在另一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平降低指示慢性神经退行性疾病的风险增加。在示例性实施方案中,表5A至表5B中所示的一种或多种瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平的变化指示神经退行性疾病的风险增加。在示例性实施方案中,瓜氨酸化水平的变化是表5A至表5B中所示的一种或多种肽或蛋白质的瓜氨酸化水平的增加,这指示神经退行性疾病的风险增加。在示例性实施方案中,瓜氨酸化水平的变化是表5A至表5B中所示的一种或多种肽或蛋白质的瓜氨酸化水平的降低,这指示神经退行性疾病的风险增加。在一些实施方案中,表5A至表5B中所示的一些肽的瓜氨酸化水平的增加和表5A至表5B中所示的一些肽的瓜氨酸化的减少指示慢性神经退行性疾病的风险增加。在示例性实施方案中,神经退行性疾病的实例包括但不限于获得性脑损伤、慢性神经退行性疾病阿尔茨海默病(Alzheimer disease)、帕金森病(Parkinson disease)、路易体痴呆、额颞叶痴呆、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、亨廷顿氏病(Huntington disease)、弗里德希共济失调(Friedreich's ataxia)、脊髓性肌萎缩、朊病毒病、多发性硬化、中风、退行性神经疾病、脑炎、脊椎肌肉萎缩和/或克雅二氏病(Creutzfeldt-Jakob disease)。

[0014] 本文还提供了用于治疗有需要的受试者的慢性神经退行性疾病的方法。所述方法包括通过本文所述的方法诊断慢性神经退行性疾病,并对被诊断患有慢性神经退行性疾病的受试者施用有效量的治疗剂,以便治疗受试者的慢性神经退行性疾病。在示例性实施方案中,神经退行性疾病的实例包括但不限于获得性脑损伤、慢性神经退行性疾病、阿尔茨海默病、帕金森病、路易体痴呆、额颞叶痴呆、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、亨廷顿氏病、弗里德希共济失调、脊髓性肌萎缩、朊病毒病、多发性硬化、中风、退行性神经疾病、脑炎、脊椎肌肉萎缩和/或克雅二氏病。

[0015] 本文提供了用于诊断和/或预测获得性脑损伤的方法。所述方法包括从需要诊断获得性脑损伤的受试者获得生物样品,并检测从所述受试者获得的生物样品中瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的存在指示获得性脑损伤的风险增加。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平的变化指示获得性脑损伤的风险增加。在一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平增加指示获得性脑损伤的风险增加。在另一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平降低指示获得性脑损伤的风险增加。在示例性实施方案中,表6A至表6B中所示的一种或多种瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的存在指示获得性脑损伤的风险增加。在示例性实施方案中,表6A至表6B中所示的一种或多种瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平的变化指示获得性脑损伤的风险增加。在示例性实施方案中,

瓜氨酸化水平的变化是表6A至表6B中所示的一种或多种肽或蛋白质的水平的增加,这指示获得性脑损伤的风险增加。在示例性实施方案中,瓜氨酸化水平的变化是表6A至表6B中所示的一种或多种肽或蛋白质的瓜氨酸化水平的降低,这指示获得性脑损伤的风险增加。在一些实施方案中,表6A至表6B中所示的一些肽的瓜氨酸化水平的增加和表6A至表6B中所示的一些肽的瓜氨酸化的减少指示获得性脑损伤的风险增加。在示例性实施方案中,获得性脑损伤包括但不限于创伤性脑损伤(TBI)、中风、脑疾病、肿瘤、出血和出生后获得的任何其它类型的脑损伤。

[0016] 本文还提供了用于治疗有需要的受试者的获得性脑损伤的方法。所述方法包括通过本文所述的方法诊断获得性脑损伤,并向被诊断患有获得性脑损伤的受试者施用有效量的治疗剂,以便治疗受试者的获得性脑损伤。在示例性实施方案中,获得性脑损伤包括但不限于创伤性脑损伤(TBI)、中风、脑疾病、肿瘤、出血和出生后获得的任何其它类型的脑损伤。

附图简述

[0017] 示例性实施方案在所提及的附图中得以说明。本文中公开的实施方案和附图旨在为说明性的,而不是限制性的

[0018] 图1描绘了根据本发明的各种实施方案的心脏瓜氨酸化蛋白质组学。图表显示了按照(A)细胞组分和按照(B)分子功能的具有显著p值的瓜氨酸化蛋白分组。细节可以在表1A至表1F中找到。(C)使用4-12%SDS PAGE检测从对照和HF患者(ISHD、IDCM)获得的心脏中的瓜氨酸化蛋白。密度法分析显示各组之间没有显著变化。

[0019] 图2描绘了根据本发明的各种实施方案,对用PAD2处理的样品的2DE DIGE分析。(A)用Cy2(内部对照)、Cy3(未处理)和Cy5(经处理)标记的样品,如方法部分所述。(B)用网络描述的蛋白质:收缩性和能量产生。在局部缺血中上调和下调的瓜氨酸化蛋白质被作图到已知的人蛋白质相互作用的人STRING数据库上。红色表示标记为下调的蛋白质,绿色表示上调的蛋白质,以及蓝色=蛋白质-蛋白质相互作用伴侣。使用以下缩写:FLNC:细丝蛋白C;LDB3:LIM结构域结合蛋白3;MYBPC:心肌型的肌球蛋白结合蛋白C;MYOZ2:肌原调节蛋白(Myozenin)-2;TNNT3:肌钙蛋白I;MYH:肌球蛋白;CRYAB: α -晶状体蛋白B链;VIM:ATP合酶亚基 α ;AHNAK:成神经细胞分化相关蛋白;HSP90AA1:热休克蛋白HSP 90- α ;HSPD1:60kDa热休克蛋白;PPIA:肽基脯氨酰基顺反异构酶A;FABP3:脂肪酸结合蛋白。

[0020] 图3描绘了根据本发明的各种实施方案的肌动蛋白结合研究。将不断增加浓度的A) TM (0.5 μ M至2 μ M) 与F-肌动蛋白或B) 肌动蛋白-HMM和C) TnI (0.5 μ M至2 μ M) 在含有40mM Tris-HCl (pH7.6)、100mM NaCl、5mM MgCl₂和1mM DTT的缓冲液中孵育。TM与F-肌动蛋白的结合在25℃下进行30分钟,并在20℃下在Beckman型号TL-100.2中以60,000rpm超速离心25分钟。分析沉淀和上清液(未结合蛋白)。代表性的银染色的凝胶显示了上清液和沉淀的蛋白质组成。通过密度法分析一式三份的一组凝胶。每个数据点是从三组凝胶获得的值的平均(和范围)。

[0021] 图4描绘了根据本发明的各种实施方案,肌小节蛋白的瓜氨酸化、生化和生理效应。A) 通过瓜氨酸化的F-肌动蛋白和/或瓜氨酸化的HMM调节肌动球蛋白HMM-ATP酶活性。B) 通过TM抑制肌动球蛋白HMM-ATP酶活性。作为TM浓度的函数测量ATP酶活性。结果是每种蛋白质在每个TM浓度下的四个独立实验的平均值。测定条件:0.2mg/ml的F-肌动蛋白、

0.02mg/ml HMM、在10mM Hepes中的0-2.0uM TM, pH 7.5、30mM NaCl、5mM MgCl₂、4mM ATP。PAD2治疗降低肌丝钙敏感性。C) 来自未处理对照(来自3只小鼠的n=8个肌细胞, 灰色圆圈)和PAD2处理(来自3只小鼠的n=8个肌细胞, 空心圆圈)组的未处理的膜透化肌细胞的力-钙关系。D) 两组之间的最大钙激活力(F_{max})没有差异。E) PAD2处理引起EC₅₀(产生50%F_{max}所需的钙)的显著(p=0.009)增加, 指示钙敏感性降低。F) 虽然希尔系数(nH)趋于因PAD2处理而降低(参见小图C中的曲线的陡度), 但是差异不显著(p=0.34)。

[0022] 图5描绘了根据本发明的各种实施方案, 在A、B) 来自对照小鼠的心脏、C) 小鼠角质形成细胞和D) 由脂多糖激活的小鼠巨噬细胞细胞系中的PAD同种型的表达水平的RT-PCR分析。PCR产物PAD2见于所有类型的样品中; PAD4和PAD1见于心肌成纤维细胞、角质形成细胞和巨噬细胞细胞系中。未检测到PAD3。(MW: PAD1 285bp; PAD2 390bp; PAD3 200bp; PAD4 550bp)。

[0023] 图6描绘了根据本发明的各种实施方案, 在心力衰竭组、局部缺血和IDCM之间上调/下调的瓜氨酸化蛋白质。

[0024] 图7描绘了根据本发明的各种实施方案, 收缩性蛋白质的瓜氨酸化可以影响调节功能的不同方面。它可以触发结构变化或使肌动蛋白激活的Pi释放和完成ATP酶循环所必需的构象稳定化。

[0025] 图8描绘了根据本发明的各种实施方案, 使用SWATH-MS技术来鉴定神经退行性疾病中所涉及的蛋白质的瓜氨酸化。

[0026] 图9描绘了根据本发明的各种实施方案, 用于处理经瓜氨酸化的谱库文件的生物信息学工作流程概述。

发明详述

[0027] 本文所引用的所有参考文献以如同全部陈述的方式全文引用并入本文中。除非另有定义, 否则本文使用的技术和科学术语具有与本发明所属领域的普通技术人员通常所理解的相同含义。Allen等人, Remington: The Science and Practice of Pharmacy第22版, Pharmaceutical Press (2012年9月15日); Hornyak等人, Introduction to Nanoscience and Nanotechnology, CRC Press (2008); Singleton和Sainsbury, Dictionary of Microbiology and Molecular Biology第3版, 由J. Wiley & Sons修订编辑 (New York, NY 2006); Smith, March's Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure第7版, J. Wiley & Sons (New York, NY 2013); Singleton, Dictionary of DNA and Genome Technology第3版, Wiley-Blackwell (2012年11月28日); 以及Green和Sambrook, Molecular Cloning: A Laboratory Manual第4版, Cold Spring Harbor Laboratory Press (Cold Spring Harbor, NY 2012), 向本领域中的技术人员提供了对与本申请中使用的术语中的许多术语的一般指南。关于如何制备抗体的参考文献, 参见Greenfield, Antibodies A Laboratory Manual第2版, Cold Spring Harbor Press (Cold Spring Harbor NY 2013); Köhler和Milstein, Derivation of specific antibody-producing tissue culture and tumor lines by cell fusion, Eur. J. Immunol. 1976年7月, 6(7): 511-9; Queen和Selick, Humanized immunoglobulins, 美国专利No. 5,585,089 (1996年12月); 以及Riechmann等人, Reshaping human antibodies for therapy, Nature 1988年3月24日, 332(6162): 323-7。

[0028] 本领域技术人员将认识到,与本文所述的那些相似或等效的许多方法和材料可用于实践本发明。本发明的其它特征和优点将结合附图从以下详细描述变得显而易见,所述附图示出了例如本发明的实施方案的各种特征。事实上,本发明不限于所述的方法和材料。为了方便起见,在此收集了本文中在说明书、实施例和所附权利要求书中采用的某些术语。

[0029] 除非另有说明,或从上下文中隐含,以下术语和短语包括下面提供的含义。除非另有明确说明,或者从上下文中显而易见,下面的术语和短语不排除所述术语或短语在其所属领域中已经获得的含义。提供这些定义以帮助描述特定实施方案,并且不旨在限制所要求保护的发明,因为本发明的范围仅由权利要求书限制。除非另有定义,本文使用的所有技术和科学术语具有如由与本发明所属的领域中的普通技术人员通常理解的相同的含义。

[0030] 术语“标记物”或“生物标记物”在本文中可互换使用,并且在本发明的上下文中是指具有特定的瓜氨酸化氨基酸残基或酶本身(PAD1、PAD2、PAD3或PAD4)(具有具体的特定身份或表观分子量)的蛋白质或肽,其在取自具有特定疾病或病症的患者的样品中与对照值相比差异地存在,所述对照值由例如取自对照受试者(例如,具有阴性诊断的人,正常或健康受试者)的可比较样品中的平均值(average/mean value)组成。生物标记物可以被确定为可以通过抗体或质谱检测的特异性肽或蛋白质(表1至表10)。在一些应用中,例如,质谱或其它谱或多种抗体可用于测定多种生物标记物,并且各个生物标记物和/或部分或完全谱之间的差异可用于诊断。这可以包括单独或组合地检测酶或酶已经瓜氨酸化的蛋白质。

[0031] 术语“差异地存在”或“水平变化”是指与对照受试者相比,取自具有特定疾病或病症的患者的样品中存在的标记物的数量和/或频率的差异。例如,在患有疾病或病症的患者的样品中,标记物可以与对照值(例如,从对照受试者的样品确定)相比以升高的水平或以降低的水平存在。或者,可以在患者样品中检测与对照受试者的样品相比更高频率或更低频率的标记物。标记物可以在数量、频率或两者方面以及两个或更多个特异性修饰的氨基酸残基之间的差异比率 and/或酶本身方面差异地存在。在一个实施方案中,本文描述的修饰的与未修饰的蛋白质和肽的比率的增加是本文所述的任何一种或多种疾病的诊断。在一个实施方案中,本文所述的蛋白质和肽的瓜氨酸化的增加是指本文所述的修饰的(瓜氨酸化的)与未修饰的(未瓜氨酸化的)蛋白质和/或肽的比率的增加。在一个实施方案中,本文描述的修饰的与未修饰的蛋白质和肽的比率的降低是本文所述的任何一种或多种疾病的诊断。在一个实施方案中,本文所述的蛋白质和肽的瓜氨酸化的降低是指本文所述的修饰的(瓜氨酸化的)与未修饰的(未瓜氨酸化的)蛋白质和/或肽的比率的降低。

[0032] 如果一个样品中标记物、化合物、组合物或物质的量与另一样品中的标记物、化合物、组合物或物质的量或与对照值有统计学上显著的差异,则标记物、化合物、组合物或物质在该样品中差异地存在。例如,如果化合物以比其在其它样品(例如,对照)中存在的大或小至少约120%、至少约130%、至少约150%、至少约180%、至少约200%、至少约300%、至少约500%、至少约700%、至少约900%或者至少约1000%存在,或者如果该化合物在一个样品中可检测到而在另一个样品中未检测到,则该化合物差异地存在。

[0033] 替代地或另外,如果在患有特定疾病或病症的患者的样品中检测标记的频率等在统计学上显著高于或低于对照样品中或从健康个体获得的对照值,则标记物、化合物、组合物或物质在样品之间差异地存在。例如,如果检测到在一组样品中比在另一组样品中至少约10%、至少约20%、至少约30%、至少约40%、至少约50%、至少约60%、至少约70%、至少

约80%、至少约90%或至少约100%更频繁或更不频繁观察到生物标记,则生物标记在这两组样品之间差异地存在。尽管有这些示例性值,但是预期技术熟练的专家可以确定表示统计学显著差异的截止点等,以确定标记是否差异地存在。

[0034] “诊断”是指鉴别病理状况的存在或性质,并且包括鉴别有发展特定疾病或病症风险的患者。诊断方法在灵敏度和特异性方面不同。诊断测定的“灵敏度”是测试阳性的患病个体的百分比(“真阳性者”的百分比)。未通过测定检测的患病个体是“假阴性者”。没有患病并且在测定中测试阴性的受试者被称为“真阴性者”。诊断测定的“特异性”为1减去假阳性率,其中“假阳性”率被定义为不具有疾病但测试阳性的那些的比例。虽然特定的诊断方法可能不能提供对病状的明确诊断,但是如果该方法提供有助于诊断的阳性指示,则即是足够的。

[0035] 术语“检测(detection/detecting)”等可以在检测生物标记物的上下文中使用,或者用于检测疾病或病症(例如,当获得阳性测定结果时)。在后一种情况下,“检测”和“诊断”被认为是同义词。

[0036] “指示……”或“具有……风险”旨在意味着与正常受试者相比,或与对照组相比,例如患者群体具有增加的风险。因此,携带特定标记物的受试者可能具有增加的特定疾病或病症风险,并且被鉴定为需要进一步测试。“增加的风险”或“升高的风险”意味着概率(例如受试者具有病症)的任何统计学显著的增加。该风险相较于进行比较的对照组优选地增加至少10%,更优选地至少20%,以及甚至更优选地至少50%。

[0037] 标记物的“测试量”是指正在测试的样品中存在的标记物的量。测试量可以是绝对量(例如, $\mu\text{g/ml}$)或相对量(例如,信号的相对强度)。

[0038] 标记物的“诊断量”是指受试者样品中与特定疾病或病症的诊断一致的标记物的量。诊断量可以是绝对量(例如, $\mu\text{g/ml}$)或相对量(例如,信号的相对强度)。

[0039] 标记物的“对照量”可以是与标记物的测试量进行比较的任何量或量的范围。例如,标记物的对照量可以是不患有所寻求诊断的疾病或病症的人中的标记物的量。对照量可以是绝对量(例如, $\mu\text{g/ml}$)或相对量(例如,信号的相对强度)。

[0040] 术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”在本文中可互换使用以指代 α -氨基酸残基的聚合物,特别是天然存在的 α -氨基酸的聚合物。所述术语适用于其中一个或多个氨基酸残基是相应天然存在的氨基酸的类似物或模拟物的氨基酸聚合物,以及适用于天然存在的氨基酸聚合物。多肽可以被修饰,例如通过添加碳水化合物残基以形成糖蛋白,磷酸化以形成磷蛋白,以及大量的化学修饰(例如,氧化、脱酰胺基、酰胺化、甲基化、甲酰化、羟甲基化、胍基化),以及降解、还原或交联。术语“多肽”、“肽”和“蛋白质”包括蛋白质的所有未修饰和修饰形式。肽应具有瓜氨酸化残基或是PAD酶的一部分。

[0041] “可检测部分”或“标记”是指通过光谱、光化学、生物化学、免疫化学或化学手段可检测的组合物。例如,有用的标签包括 ^{32}P 、 ^{35}S 、荧光染料、电子致密试剂、酶(例如,如在ELISA中通常使用的)、生物素-链霉亲和素、地高辛(digoxigenin)、抗血清或单克隆抗体可用的半抗原和蛋白质,或者具有与靶标互补的序列的核酸分子。可检测部分通常产生可测量信号,诸如放射性、发色或荧光信号,所述可测量信号可用于量化样品中结合的可检测部分的量。信号的定量通过对具有潜在瓜氨酸化残基或PAD酶的部分的完整蛋白质或肽(可评估一种或多种肽)进行例如闪烁计数、密度法,流式细胞术或质谱法直接分析来实现。瓜氨

酸化Arg作为蛋白质或肽的一部分可直接通过MS或通过化学衍生法来检测。任何捕获试剂(包括但不限于抗体和适体)可用于检测本文所述的瓜氨酸化肽。

[0042] “抗体”是指基本上由一种或多种免疫球蛋白基因或其片段编码的多肽配体,其特异性结合并识别表位(例如抗原)。识别的免疫球蛋白基因包括 κ 和 λ 轻链恒定区基因, α 、 γ 、 δ 、 ϵ 和 μ 重链恒定区基因和无数免疫球蛋白可变区基因。存在抗体,例如作为完整的免疫球蛋白或作为通过用各种肽酶消化产生的许多充分表征的片段。这包括例如Fab'和F(ab)'.sub.2片段。如本文所用的术语“抗体”还包括通过修饰全抗体产生的抗体片段或使用重组DNA方法从头合成的那些抗体片段。它还包括多克隆抗体、单克隆抗体、嵌合抗体、人源化抗体或单链抗体。抗体的“Fc”部分是指免疫球蛋白重链的包含一个或多个重链恒定区结构域CH1、CH2和CH3,但不包括重链可变区的部分。

[0043] “结合测定”是指其中通过与试剂如抗体结合来检测生物标记物的生物化学测定,检测过程通过该生物化学测定来进行。检测过程可以涉及放射性或荧光标记,等等。该测定可以涉及生物标记物的固定,或可以在溶液中进行。此外,与瓜氨酸化的残基的化学结合可以直接发生。

[0044] “免疫测定”是使用特异性结合抗原(例如,标记物)的抗体的测定。免疫测定的特征在于使用特定抗体的特异性结合特性来分离、靶向和/或定量抗原。

[0045] 当提及蛋白质或肽时,短语“特异性地(或选择性地)结合”抗体或“特异性地(或选择性地)与.....免疫反应”是指在蛋白质和其它生物制剂的异质群体中确定蛋白质存在的结合反应。因此,在指定的免疫测定条件下,指定的抗体比背景至少两倍地结合特定蛋白质,并且基本上不与样品中存在的其它蛋白质以显著量结合。在这种条件下与抗体的特异性结合可能需要选择对特定蛋白质具有特异性的抗体。多种免疫测定形式可用于选择与特定蛋白质特异性免疫反应的抗体。例如,固相ELISA免疫测定通常用于选择与蛋白质特异性免疫反应的抗体(参见例如Harlow和Lane, *Antibodies, A Laboratory Manual* (1988), 以获知对可用于测定特异性免疫反应性的免疫测定形式和条件的描述)。

[0046] 用于检测瓜氨酸化的方法是指用于检测瓜氨酸化肽、多肽和蛋白质的基于质谱(MS)的方法。该方法包括但不限于在Arg上发生脱亚胺基时1Da的中性丢失;来自未修饰的瓜氨酸的异氰酸的中性丢失,并且使用该离子作为检测蛋白质瓜氨酸化的诊断标记;当在瓜氨酸残基上发生238Da或239Da的化学修饰时的衍生化(可以在肽和蛋白水平上进行监测);瓜氨酸化肽(或蛋白)的富集,该富集基于固定在珠/柱/基质上的乙二醛衍生物在低pH下仅与瓜氨酸残基的脲基反应的特异性反应。同样,使用靶向方法如多重或选择性反应监测的MS可用于直接定量修饰的肽。在一些实施方案中,将已知浓度的标记的(例如用 ^{15}N 标记的或用附加的稳定同位素化学标记的)肽加入样品中,并直接与内源性(未标记的)相应肽进行比较以允许定量(基于内源性肽比同位素标记的肽的比率,或如果同位素标记的肽的确切量是已知的,则基于绝对浓度)。

[0047] 术语“受试者”、“患者”或“个体”通常指人,但是本发明的方法不限于人,并且应当在其它动物(例如,鸟类、爬行动物、两栖动物、哺乳动物)中,特别是在哺乳动物中,因为白蛋白在各物种之间是同源的。

[0048] “样品”在本文中以其最广泛的意义使用。样品可以包括体液,包括血液、血清、血浆、泪液、眼房水和玻璃体液、脊髓液;细胞或组织制备物的可溶性级分或细胞生长的培养

基;或从细胞或组织分离或提取的膜;多肽,或溶液中的或结合到底物的肽;细胞;组织;组织印迹;指纹、皮肤或头发;片段及其衍生物。受试者样品通常包含血液制品的衍生物,包括血液、血浆和血清。

[0049] 术语“特异性PAD同种型的调节”包括但不限于使用基因治疗、siRNA、已知的PAD抑制剂或定点诱变来增加或降低内源性PAD同种型的活性。

[0050] 本文使用的术语“肽”是指通常长度在2至约30或至约40或至约50或至约60或至约70个残基范围内的氨基酸残基聚合物。在某些实施方案中,肽的长度在约2、3、4、5、7、9、10或11个残基至约60、50、45、40、45、30、25、20或15个残基的范围内。在某些实施方案中,肽的长度在约8、9、10、11或12个残基至约15、20或25个残基的范围内。在某些实施方案中,构成肽的氨基酸残基是“L-型”氨基酸残基,然而,应认识到在各种实施方案中,“D”氨基酸可以掺入肽中。肽还包括其中一个或多个氨基酸残基是相应的天然存在的氨基酸的人工化学类似物的氨基酸聚合物,以及天然存在的氨基酸聚合物。此外,该术语适用于通过肽键或通过其它“修饰的连接”连接的氨基酸(例如,其中肽键被 α -酯、 β -酯、硫代酰胺、磷酰胺、氨基甲酸酯、羟基化物等取代(参见,例如Spatola, (1983) Chern. Biochem. Amino Acids and Proteins 7:267-357),其中酰胺被饱和胺取代(参见例如Skiles等人,美国专利No. 4,496,542,该专利以引用方式并入本文,以及Kaltenbronn等人/, (1990) 第969-970页,在Proc. 11th American Peptide Symposium, ESCOM Science Publishers, The Netherlands中,等等))。

[0051] 瓜氨酸化(也称为脱亚胺基)是由PAD催化的翻译后蛋白质修饰,其涉及将蛋白质内的氨基酸精氨酸转化为瓜氨酸。已经确立瓜氨酸化蛋白参与了许多自身免疫性疾病的发病机理。例如,蛋白质瓜氨酸化已经直接与促成类风湿性关节炎(RA)的自身抗体的产生相关。然而,尚不完全理解在细胞内PAD激活和随后的蛋白质瓜氨酸化的确切情况和基本目的。此外,靶向瓜氨酸化蛋白的自身抗体的产生已经涉及许多其它自身免疫疾病,诸如多发性硬化、牛皮癣、散发性克雅二氏病、帕金森氏病和阿尔茨海默氏病(AD)。对蛋白质序列中瓜氨酸化蛋白和瓜氨酸化位点的了解可以提供关于这些瓜氨酸化蛋白的病原学重要性和功能的宝贵信息。本文提供了预测心血管疾病和神经退行性疾病的新生物标记物,所述新生物标记物包括瓜氨酸化蛋白和肽。

[0052] 瓜氨酸化与自身抗原和自身抗体应答相关,其可用于检测或测量自身抗原(未修饰/未瓜氨酸化)与自身抗原(经修饰/经瓜氨酸化)的比率以检测心脏病(瓜氨酸化的自身抗体/自身抗原作为生物标记物)。此外,瓜氨酸化的自身抗体的检测可以用作风险分层因子。发展成心力衰竭(HF)和死于心肌梗塞的风险随年龄而增加。已知瓜氨酸化随年龄增加,并且瓜氨酸化的增加可以预示心力衰竭。抑制(例如,药物抑制)负责瓜氨酸化的PAD酶可以是治疗靶标。

[0053] 蛋白质瓜氨酸化在特定神经退行性疾病如阿尔茨海默氏病(AD)的发病过程中用于自身抗体的产生。由于瓜氨酸化改变蛋白质内的总电荷分布,所以通过潜在地修饰三级结构,这些表达PAD的细胞中的许多瓜氨酸化蛋白可以呈潜在免疫原性的非天然构象,特别是如果它们从细胞释放并因此变得可进行免疫监视。

[0054] 瓜氨酸化与自身抗原和自身抗体应答相关,其可用于检测或测量自身抗原(未修饰/未瓜氨酸化)与自身抗原(经修饰/经瓜氨酸化)的比率以检测神经退行性疾病(瓜氨酸

化的自身抗体/自身抗原作为生物标记物)。已知瓜氨酸化随年龄增加,并且瓜氨酸化的增加可以预示神经退行性疾病。抑制(例如,药物抑制)负责瓜氨酸化的PAD酶可以是治疗靶标。

肽基-瓜氨酸的检测-与其它方法的比较

[0055] 目前关于瓜氨酸化的研究集中在瓜氨酸化在自身免疫疾病如多发性硬化和类风湿性关节炎(RA)中的作用[Baka Z等人,Citrullination under physiological and pathological conditions.Joint Bone Spine 2012,79:431-436;De Ceuleneer M等人,In vivo relevance of citrullinated proteins and the challenges in their detection.Proteomics2012,12:752-760]。在这种情况下,对蛋白质中的瓜氨酸化位点的确切了解可以提供关于这些瓜氨酸化蛋白的病原学重要性的宝贵信息。然而,很少存在能够以高通量的形式在肽水平下准确检测瓜氨酸化的技术。

[0056] 通常,通过MS分析PTM是一项困难的任务,并且取决于PTM对局部肽特征的深远影响,如:(i)由PTM诱导的肽分子量的质量偏移,(ii)修饰的肽的总体丰度,(iii)在MS和MS/MS分析期间的修饰稳定性,以及(iv)修饰对肽的电离效率的影响。瓜氨酸化是复杂的,因为瓜氨酸化蛋白质/肽难以从它们的非PTM形式辨别,此难以辨别是因为瓜氨酸化导致与常规精氨酸残基相比标称0.9802道尔顿的附加质量,这倾向为假阳性者。常用的鸟枪型液相色谱串联质谱MS(LC-MS/MS)方法取决于自动数据库筛选,这在这种情况下可能导致对¹³C同位素的错误鉴定,或对导致类似质量增加的其它修饰的错误鉴定(特别是通常存在的谷氨酰胺或天冬酰胺残基的脱酰胺基)。通过检索具有足够小的亲本质量容差(<5ppm)的数据库,可以避免对¹³C同位素的错误鉴定,因为¹³C导致比精氨酸转化为瓜氨酸(0.9802Da)略微更大的质量增加(1.0036Da)[De Ceuleneer M等人,In vivo relevance of citrullinated proteins and the challenges in their detection.Proteomics 2012,12:752-760;Rajmakers R等人,Elevated levels of fibrinogen-derived endogenous citrullinated peptides in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients.Arthritis Res Ther2012,14:R114]。然而,脱酰胺基不能仅仅基于质量来与瓜氨酸化区别。脱酰胺基不改变肽中带电残基的数量(在用于LC-MS的酸性条件下),而精氨酸向瓜氨酸的转化中和正电荷。瓜氨酸化导致正电荷丢失,正电荷丢失导致等电点从精氨酸的11.41偏移到瓜氨酸的5.91。因此,瓜氨酸化使肽的整体疏水性与未修饰和/或脱酰胺基肽相比增加,从而导致滞留时间的偏移,这是肽被瓜氨酸化而不是脱酰胺基的证据[Rajmakers R等人,Elevated levels of fibrinogen-derived endogenous citrullinated peptides in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients.Arthritis Res Ther2012,14:R114.]。然而,使用目前的方法,快速、一致、可重复、准确和灵敏地检测和量化多个样品中的瓜氨酸化肽仍然是挑战性的。

SWATHMS优于瓜氨酸化靶向蛋白检测的其它策略的优点

[0057] 用于高通量蛋白质瓜氨酸化分析的最常用的基于质谱法的方法是数据依赖性采集(DDA)[tahl DC,S等人,Data-controlled automation of liquid chromatography/tandem mass spectrometry analysis of peptide mixtures.J Am Soc Mass Spectrom 1996,7:532-540;Yates JR,第3版,Eng JK,McCormack AL,Schieltz D.Method to correlate tandem mass spectra of modified peptides to amino acid sequences in

the protein database. Anal Chem 1995, 67: 1426-1436]。然而, 随机前体选择和对MS1离子的依赖性对于量化来说妨碍了全面性。为了克服这个限制, 几年前Aebersold的小组提出了SWATH MS作为类似于多反应监测(MRM)的靶向方法。SWATH MS是一种将非数据依赖性采集(DIA)与有针对性的数据提取相结合的技术, DIA和有针对性的数据提取一起提供了定量准确性、可重复性、动态范围、并扩展了可定量肽的数量[Gillet LC1 NP TS, R6st H, Selevsek N, Reiter L, Bonner R, Aebersold R.. Targeted data extraction of the MS/MS spectra generated by data-independent acquisition: a new concept for consistent and accurate proteome analysis.. Mol Cell Proteomics 2012; Liu Y等人, Mass spectrometric protein maps for biomarker discovery and clinical research. Expert Rev Mol Diagn 2013, 13: 811-825]。高瓜氨酸化文库的创建提高了灵敏度和定量准确性。

心血管疾病

[0058] 本文提供了用于诊断和/或预测心血管疾病的方法。所述方法包括从需要诊断心血管疾病的受试者获得生物样品, 并检测从所述受试者获得的生物样品中瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的量。在一些实施方案中, 瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平变化指示心血管疾病的风险增加。在一个实施方案中, 瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平增加指示心血管疾病的风险增加。在另一个实施方案中, 瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平降低指示心血管疾病的风险增加。在示例性实施方案中, 表1A、表1B、表1C、表1D和/或表1E中所示的一种或多种蛋白质或肽的瓜氨酸化水平的变化指示心血管疾病的风险增加。在一些实施方案中, 如由表1C、表1D、表1E和表1F中的“上升”所指示的表1C、表1D、表1E和表1F中所示的蛋白质的瓜氨酸化的增加指示心血管疾病的风险增加。在一些实施方案中, 如由表1C、表1D、表1E和表1F中的“下降”所指示的表1C、表1D、表1E和表1F中所示的蛋白质的瓜氨酸化的下降指示心血管疾病的风险增加。在一些实施方案中, 瓜氨酸化的变化是指本文所定义的‘差异存在’的瓜氨酸化

[0059] 在一些实施方案中, 如果来自受试者的样品在表1C中的任何一种或多种蛋白质方面具有增加的瓜氨酸化, 如由缺血性心脏病列(‘I’)中的‘上升’所示, 则受试者具有局部缺血性心脏病(ISHD)或者处于增加的ISHD风险。在一些实施方案中, 如果来自受试者的样品具有瓜氨酸化的存在或表1A中的任何一种或多种肽的瓜氨酸化增加, 则受试者具有或处于增加的ISHD风险。在一些实施方案中, 如果来自受试者的样品不存在瓜氨酸化或具有表1A中的任何一种或多种肽的瓜氨酸化的降低, 则受试者具有或处于增加的ISHD风险。在一些实施方案中, 如果来自受试者的样品在ES1蛋白同源物、乌头酸水合酶或其瓜氨酸化片段、甘油醛-3-磷酸脱氢酶或其瓜氨酸化片段、 δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶或其瓜氨酸化片段、波形蛋白或其瓜氨酸化片段、成神经细胞分化相关蛋白AHNAK或其瓜氨酸化片段、血清剥夺反应蛋白或其瓜氨酸化片段、烯酰基-CoA水合酶或其瓜氨酸化片段、乌头酸水合酶或其瓜氨酸化片段、或其组合中的任何一种或多种方面具有增加的瓜氨酸化, 则受试者具有或处于增加的ISHD风险。

[0060] 在一些实施方案中, 如果来自受试者的样品在表1D中的任何一种或多种蛋白质方面具有增加的瓜氨酸化, 如IDCM列(‘ID’)中的‘上升’所示, 则受试者具有特发性心肌病(IDCM)或IDCM的风险增加。在一些实施方案中, 如果来自受试者的样品具有瓜氨酸化的存

在或表1A中的任何一种或多种肽的瓜氨酸化增加,则受试者具有或处于增加的IDCM风险。在一些实施方案中,如果来自受试者的样品不存在瓜氨酸化或具有表1A中的任何一种或多种肽的瓜氨酸化的降低,则受试者具有或处于增加的IDCM风险。在一些示例性实施方案中,如果来自受试者的样品在ATP合酶亚基 α 或其瓜氨酸化片段、肌原调节蛋白-2 (Myozenin-2)或其瓜氨酸化片段、甘油醛-3-磷酸脱氢酶或其瓜氨酸化片段、ES1蛋白同源物或其瓜氨酸化片段和/或其组合中的任何一种或多种方面具有增加的瓜氨酸化,则受试者具有或处于增加的IDCM风险。

[0061] 在一些实施方案中,如果来自受试者的样品在表1A至1F中所述的任何一种或多种蛋白质或肽方面具有增加的瓜氨酸化,则受试者具有或处于增加的患上心血管疾病 (ISHD、IDCM,或ISHD和IDCM两者) 的风险。在一些实施方案中,如果来自受试者的样品在ATP合酶亚基 α 或其瓜氨酸化片段、甘油醛-3-磷酸脱氢酶或其瓜氨酸化片段、ES1蛋白同源物或其瓜氨酸化片段、 δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶或其瓜氨酸化片段、烯酰基-辅酶A水合酶或其瓜氨酸化片段、电压依赖性阴离子选择性通道蛋白1或其瓜氨酸化片段、乌头酸水合酶或其瓜氨酸化片段、丙酮酸脱氢酶E1组分亚基 α 、体细胞形式或其瓜氨酸化片段、波形蛋白或其瓜氨酸化片段、三功能酶亚基 β 或其瓜氨酸化片段、心脏型肌球蛋白结合蛋白C或其瓜氨酸化片段、氯离子细胞内通道蛋白4或其瓜氨酸化片段、热休克蛋白HSP 90- α 或其瓜氨酸化片段、血清剥夺反应蛋白或其瓜氨酸化片段、醇脱氢酶1B或其瓜氨酸化片段、琥珀酸脱氢酶[泛醌]铁硫亚基或其瓜氨酸化片段、双特异性蛋白磷酸酶3或其瓜氨酸化片段或其组合中的任何一种或多种方面具有增加的瓜氨酸化(表1E),则受试者具有或处于增加的患上心血管疾病 (ISHD、IDCM,或ISHD和IDCM两者) 的风险。在一些实施方案中,如果来自受试者的样品在肌钙蛋白I、 α -结晶B链、ATP-合酶偶联因子6、 β -烯醇酶、腺苷酸激酶同工酶I或其组合中的任何一种或多种方面具有降低的瓜氨酸化(表1F),则受试者具有或处于增加的患上心血管疾病 (ISHD、IDCM,或ISHD和IDCM两者) 的风险。在一些实施方案中,瓜氨酸化的变化是指本文所定义的‘差异存在’的瓜氨酸化。

[0062] 本文还提供了一种方法,该方法包括从需要诊断心血管疾病的受试者获得生物样品,使用肽测定生物样品以检测能够特异性结合肽的抗体的存在或不存在,当检测到能够特异性结合肽的抗体的存在时确定心血管疾病的存在,以及当检测到能够特异性结合肽的抗体的存在时指导受试者治疗心血管疾病。在各种实施方案中,能够特异性结合肽的抗体的存在指示ISHD、IDCM、心力衰竭或其组合中的任何一种或多种。在一些实施方案中,肽是肌钙蛋白I、波形蛋白、肌球蛋白-7或其组合的片段。在各种实施方案中,肽是瓜氨酸化的。在示例性实施方案中,肽包含以下氨基酸序列,由以下氨基酸序列组成或基本上由以下氨基酸序列组成:NIDALSGMEGRK (SEQ ID NO:18)、PRSFMPNLVPPK (SEQ ID NO:20)、ESLDLRAHLK (SEQ ID NO:19)、AEETQRSVNDLTSQRAK (SEQ ID NO:24)或FADLSEAANRNNDALRQAK (SEQ ID NO:22)。在示例性实施方案中,来自受试者的样品中瓜氨酸化肽的肽序列与表1A至表1F中的任一者中所述的肽具有至少95%、90%、80%、70%或60%的同一性。在示例性实施方案中,来自受试者的样品中的瓜氨酸化肽的肽序列与以下序列具有至少95%、90%、80%、70%或60%的同一性:NIDALSGMEGRK (SEQ ID NO:18)、PRSFMPNLVPPK (SEQ ID NO:20)、ESLDLRAHLK (SEQ ID NO:19)、AEETQRSVNDLTSQRAK (SEQ ID NO:24)或FADLSEAANRNNDALRQAK (SEQ ID NO:22)。在各种实施方案中,优化肽的长度以结合样品中的抗体。在各种实施方案

中,使用质谱、高分辨率质谱、串联质谱、结合测定、免疫测定、SDS page电泳、蛋白质印迹分析、质谱上的构象(包括SWATH)来检测瓜氨酸化肽。

[0063] 在各种实施方案中,该方法进一步包括对被诊断患有心血管疾病的受试者开处方治疗。在各种实施方案中,治疗包括但不限于治疗性生活方式改变、治疗剂、手术治疗或其组合中的任何一种或多种。在示例性实施方案中,生活方式改变包括健康饮食、身体活动、体重管理、压力管理、不吸烟或其组合中的任何一种或多种。在示例性实施方案中,治疗剂包括血管紧张素转化酶(ACE)抑制剂、血管紧张素II受体阻断剂(ARB)、 β -阻断剂、醛固酮拮抗剂、强心苷、利尿剂、血管扩张剂、抗心律失常药、人B型利尿钠肽、变力剂、抗凝剂、肽酰精氨酸脱亚胺酶(PAD)的抑制剂或其组合中的任何一种或多种。在示例性实施方案中,手术治疗包括使用左心室辅助装置、心脏再同步治疗(双心室起搏)、自动植入式心脏复律除颤器、心室恢复手术、心脏移植、血管成形术、支架、粥样斑块切除术、放射治疗、冠状动脉旁路移植或其组合中的任何一种或多种。适当的治疗对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0064] 在本文所述的过程、测定和方法的各种实施方案中,参考值基于瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化,如例如表1A、表1B、表1C、表1D、表1E和/或表1F中所述。在一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化在心肌细胞中。在另一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化在非心脏细胞中。在一个附加实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化在任何细胞中。在一个附加实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化在任何体液中。在一些实施方案中,参考值是在没有心血管疾病的受试者群体中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平平均值或中值变化。在其它实施方案中,参考值是在具有心血管疾病但已经历治疗并显示没有或降低的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽表达的受试者群体中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平平均值或中值变化。在附加实施方案中,参考值是从不同的(例如,较早的)时间点(诸如在诊断期间、治疗前、治疗后或其组合)从受试者获得的样品中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的表达水平的变化。在一些实施方案中,心血管疾病是ISHD、IDCM、心力衰竭或其组合中的任何一种或多种。在一些实施方案中,瓜氨酸化的变化是指本文所定义的‘差异存在’的瓜氨酸化。

[0065] 在各种实施方案中,具有或怀疑具有心血管疾病的受试者中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化与参考值相比增加了至少或约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在各种实施方案中,具有或怀疑具有心血管疾病的受试者中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化与参考值相比增加了至少或约1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、55倍、60倍、65倍、70倍、75倍、80倍、85倍、90倍、95倍、100倍或其组合。

[0066] 在各种实施方案中,具有或怀疑具有心血管疾病的受试者中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化与参考值相比降低了至少或约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在各种实施方案中,具有或怀疑具有心血管疾病的受试者中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化与参考值相比降低了至少或约1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、55倍、60倍、65倍、70倍、75倍、80倍、85倍、90倍、95倍、100倍或其组合。

神经退行性疾病

[0067] 本文提供了用于诊断和/或预测慢性神经退行性疾病和/或获得性脑损伤和/或急

性脑疾病的方法。所述方法包括从需要诊断的受试者获得生物样品,并检测从所述受试者获得的生物样品中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的存在指示神经退行性疾病。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平的变化指示神经退行性疾病和/或获得性脑损伤和/或急性脑疾病。在一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平增加指示神经退行性疾病和/或获得性脑损伤和/或急性脑疾病。在另一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平降低指示神经退行性疾病和/或获得性脑损伤和/或急性脑疾病。在示例性实施方案中,表2至表10中所示的一种或多种瓜氨酸化肽或瓜氨酸化蛋白质的水平的变化指示神经退行性疾病。在示例性实施方案中,表2至表10中所示的一种或多种肽或蛋白质的瓜氨酸化量的变化指示神经退行性疾病。在一些实施方案中,水平的变化是表2至表10中所示的一种或多种瓜氨酸化肽或瓜氨酸化蛋白质的水平的增加,这指示慢性神经退行性疾病。在一些实施方案中,水平的变化是表2至表10中所示的一种或多种瓜氨酸化肽或瓜氨酸化蛋白质的水平的降低,这指示慢性神经退行性疾病。在一些实施方案中,瓜氨酸化的变化是指本文所定义的‘差异存在’的瓜氨酸化。

[0068] 在示例性实施方案中,神经退行性疾病的实例包括但不限于阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、路易体痴呆、额颞叶痴呆、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、亨廷顿氏病、弗里德希共济失调、脊髓性肌萎缩、朊病毒病、多发性硬化、中风,退行性神经疾病、脑炎、运动神经元疾病(MND)、脊髓小脑性共济失调(SCA)、脊髓性肌萎缩(SMA)或克雅二氏病。

[0069] 在一些实施方案中,生物样品是血液、血浆、血清、尿液或组织(组织活检)中的任何一种或多种。

[0070] 在各种实施方案中,使用质谱法、高分辨质谱法、串联质谱法、结合测定法、免疫测定法、抗体结合或免疫组织化学来检测所述瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平。

[0071] 本文提供了用于诊断有需要的受试者的ALS的方法。所述方法包括从需要诊断的受试者获得生物样品,并检测从所述受试者获得的生物样品中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的存在指示ALS。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平变化指示ALS。在一个实施方案中,蛋白质瓜氨酸化或肽瓜氨酸化相对于参考值的水平增加指示ALS。在一个实施方案中,如果来自受试者的样品在表2、表3或表4的任何一种或多种蛋白质方面具有增加的瓜氨酸化,则受试者具有ALS或具有增加的患上ALS的风险。在另一个实施方案中,如果来自受试者的样品在以下肽中的任何一种或多种肽方面具有增加的瓜氨酸化,则受试者具有ALS或具有增加的患上ALS的风险:PSGVQMDPCCRALYDFEPENEGELGFK (SEQ ID NO:306)、QYMRSTCTINYSK (SEQ ID NO:307)、LILIRARNK (SEQ ID NO:308)、VIVVWVGTTNNHENTAEVAGGIEAIVQLINTRQPQAK (SEQ ID NO:309)、EVDVGLAADVGTQLRLPK (SEQ ID NO:310)、HEEAPGHRPTTNPASK (SEQ ID NO:311)、GETPVNSTMSIGQARK (SEQ ID NO:312)、VRIQTQPGYANTLRDAAPK (SEQ ID NO:313)、NVGCLQEALQLATSFAQLRLGDVK (SEQ ID NO:314)或其组合。在示例性实施方案中,具有在SEQ ID No.306至SEQ ID No.314中叙述的序列的肽中的瓜氨酸化位点显示在表2中。在另一个实施方案中,如果来自受试者的样品在具有以下序列的肽中的任何一种或多种肽方面具有增加的瓜氨酸化,则受试者具有ALS或具有增加的患上ALS的风险:所述序列在以下中的任何一种或多种中叙述:SEQ ID NO.:315、SEQ ID NO.:316、SEQ ID NO.:317、SEQ ID NO.:

318、SEQ ID NO.:319、SEQ ID NO.:320、SEQ ID NO.:321、SEQ ID NO.:322、SEQ ID NO.:323、SEQ ID NO.:324、SEQ ID NO.:325、SEQ ID NO.:326、SEQ ID NO.:327、SEQ ID NO.:328、SEQ ID NO.:329、SEQ ID NO.:330、SEQ ID NO.:331、SEQ ID NO.:332、SEQ ID NO.:333、SEQ ID NO.:334、SEQ ID NO.:335、SEQ ID NO.:336、SEQ ID NO.:337、SEQ ID NO.:338,或其组合。在示例性实施方案中,具有在SEQ ID No.315至SEQ ID No.338中叙述的序列的肽中的瓜氨酸化位点显示在表3中。在示例性实施方案中,从受试者获得的样品中的每一瓜氨酸化肽序列与SEQ ID No.306至SEQ ID No.338中的任一者中所述的序列具有至少100%、95%、90%、80%、70%或60%的同一性。在一些实施方案中,如果来自受试者的样品在具有SEQ ID No.339至SEQ ID No.474中的任何一者或多者中所述的序列的任何一种或多种肽方面具有增加的瓜氨酸化,则受试者具有ALS或具有增加的患上ALS的风险。在示例性实施方案中,从受试者获得的样品中的每一肽序列与SEQ ID No.339至SEQ ID No.474中的任一者中所述的序列具有至少100%、95%、90%、80%、70%或60%的同一性。在一些实施方案中,瓜氨酸化的变化是指本文所定义的‘差异存在’的瓜氨酸化。

[0072] 本文提供了用于诊断有需要的受试者的慢性神经退行性疾病的方法。所述方法包括从需要诊断的受试者获得生物样品,并检测从所述受试者获得的生物样品中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的存在指示慢性神经退行性疾病。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平的变化指示慢性神经退行性疾病。在一个实施方案中,蛋白质瓜氨酸化或肽瓜氨酸化相对于参考值的水平增加指示慢性神经退行性疾病。在一个实施方案中,蛋白质瓜氨酸化或肽瓜氨酸化相对于参考值的水平降低指示慢性神经退行性疾病。在一个实施方案中,如果来自受试者的样品在表5A的任何一种或多种蛋白质方面具有瓜氨酸化变化,则受试者具有慢性神经退行性疾病或具有增加的患上慢性神经退行性疾病的风险。在一些实施方案中,瓜氨酸化肽是脑特异性的。在一些实施方案中,瓜氨酸化肽不是脑特异性的。在另一个实施方案中,如果来自受试者的样品在具有以下序列的肽中的任何一种或多种肽方面具有瓜氨酸化变化,则受试者具有慢性神经退行性疾病或具有增加的患上慢性神经退行性疾病的风险:所述序列在以下中的任何一种或多种中叙述:SEQ ID NO.:355、SEQ ID NO.:402、SEQ ID NO.:1、SEQ ID NO.:348、SEQ ID NO.:363、SEQ ID NO.:428、SEQ ID NO.:373、SEQ ID NO.:315、SEQ ID NO.:316、SEQ ID NO.:340、SEQ ID NO.:377、SEQ ID NO.:331、SEQ ID NO.:332、SEQ ID NO.:325、SEQ ID NO.:375、SEQ ID NO.:429、SEQ ID NO.:414、SEQ ID NO.:313、SEQ ID NO.:366、SEQ ID NO.:360、SEQ ID NO.:423、SEQ ID NO.:405、SEQ ID NO.:439、SEQ ID NO.:321、SEQ ID NO.:475、SEQ ID NO.:476、SEQ ID NO.:477、SEQ ID NO.:478、SEQ ID NO.:479、SEQ ID NO.:480、SEQ ID NO.:481、SEQ ID NO.:482、SEQ ID NO.:483、SEQ ID NO.:484、SEQ ID NO.:485、SEQ ID NO.:486、SEQ ID NO.:487、SEQ ID NO.:488、SEQ ID NO.:489、SEQ ID NO.:490、SEQ ID NO.:491、SEQ ID NO.:492、SEQ ID NO.:493、SEQ ID NO.:494、SEQ ID NO.:495、SEQ ID NO.:496、SEQ ID NO.:497、SEQ ID NO.:498、SEQ ID NO.:499、SEQ ID NO.:500,或其组合(表5A)。在示例性实施方案中,具有在上述SEQ ID No.中叙述的序列的肽中的瓜氨酸化位点显示在表5A中。在示例性实施方案中,来自受试者的样品中的每一瓜氨酸化肽序列与表5A中所述的序列具有至少95%、90%、80%、70%或60%的同一性。在示例性实施方案中,可用于诊断慢性神经退行性疾病的肽是

脑特异性的,并且包括表5A中所示的任何一个或多个序列,由表5A中所示的任何一个或多个序列组成,或基本上由表5A中所示的任何一个或多个序列组成。在示例性实施方案中,可用于诊断慢性神经变性疾病的肽不是脑特异性的,并且包括SEQ ID No.501、SEQ ID No.502、SEQ ID No.503、SEQ ID No.506或其组合中所述的序列,由所述序列组成,或基本上由所述序列组成(表5B)。在示例性实施方案中,慢性神经退行性疾病包括但不限于以下中的任何一种或多种:阿尔茨海默氏病(AD)和其它痴呆、帕金森氏病(PD)和PD相关病症、朊病毒病、运动神经元疾病(MND)、亨廷顿氏病(HD)、脊髓小脑性共济失调(SCA)、脊髓性肌萎缩(SMA)或其组合。在一些实施方案中,瓜氨酸化的变化是指本文所定义的‘差异存在’的瓜氨酸化。

[0073] 本文提供了用于诊断有需要的受试者的获得性脑损伤的方法。所述方法包括从需要诊断的受试者获得生物样品,并检测从所述受试者获得的生物样品中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的存在指示获得性脑损伤。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平的变化指示获得性脑损伤。在一个实施方案中,蛋白质瓜氨酸化或肽瓜氨酸化相对于参考值的水平增加指示获得性脑损伤。在一个实施方案中,蛋白质瓜氨酸化或肽瓜氨酸化相对于参考值的水平降低指示获得性脑损伤。在另一个实施方案中,如果来自受试者的样品在具有以下序列的肽中的任何一种或多种肽方面具有瓜氨酸化变化,则受试者具有获得性脑损伤或具有增加的患上获得性脑损伤的风险:所述序列在以下中的任何一种或多种中叙述:SEQ ID NO.:125、SEQ ID NO.:265、SEQ ID NO.:285、SEQ ID NO.:505、SEQ ID NO.:506、SEQ ID NO.:507、SEQ ID NO.:508、SEQ ID NO.:509、SEQ ID NO.:510、SEQ ID NO.:511、SEQ ID NO.:512、SEQ ID NO.:513、SEQ ID NO.:514、SEQ ID NO.:515、SEQ ID NO.:516、SEQ ID NO.:517、SEQ ID NO.:518、SEQ ID NO.:519、SEQ ID NO.:520、SEQ ID NO.:521、SEQ ID NO.:522、SEQ ID NO.:523、SEQ ID NO.:524、SEQ ID NO.:525、SEQ ID NO.:526、SEQ ID NO.:527、SEQ ID NO.:528、SEQ ID NO.:529、SEQ ID NO.:530、SEQ ID NO.:531、SEQ ID NO.:532、SEQ ID NO.:533、SEQ ID NO.:534、SEQ ID NO.:535、SEQ ID NO.:536、SEQ ID NO.:537、SEQ ID NO.:538、SEQ ID NO.:539、SEQ ID NO.:540、SEQ ID NO.:541、SEQ ID NO.:542、SEQ ID NO.:543、SEQ ID NO.:544、SEQ ID NO.:545、SEQ ID NO.:546、SEQ ID NO.:547或其组合。在另一个实施方案中,如果来自受试者的样品在具有表6A和/或表6B中所述的序列的肽中的任何一种或多种肽方面具有瓜氨酸化变化,则受试者具有获得性脑损伤或具有增加的患上获得性脑损伤的风险。在示例性实施方案中,从受试者获得的样品中的每一瓜氨酸化肽序列与表6A和/或表6B中的任一者所述的序列具有至少95%、90%、80%、70%或60%的同一性。在示例性实施方案中,获得性脑损伤包括但不限于创伤性脑损伤(TBI)、中风、脑疾病、肿瘤、出血和出生后获得的任何其它类型的脑损伤。在一些实施方案中,瓜氨酸化的变化是指本文所定义的‘差异存在’的瓜氨酸化。

[0074] 本文提供了用于诊断有需要的受试者的慢性脑疾病的方法。所述方法包括从需要诊断的受试者获得生物样品,并检测从所述受试者获得的生物样品中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的存在指示慢性脑疾病。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平的变化指示慢性脑疾病。在一个实施方案中,蛋白质瓜氨酸化或肽瓜氨酸化相对于参考值的水平增加指示慢性

脑疾病。在一个实施方案中,蛋白质瓜氨酸化或肽瓜氨酸化相对于参考值的水平降低指示慢性脑疾病。在一个实施方案中,如果来自受试者的样品在表7的任何一种或多种分泌蛋白方面具有瓜氨酸化变化,则受试者具有慢性脑疾病或具有增加的患上慢性脑疾病的风险。在一个实施方案中,如果来自受试者的样品在表8的任何一种或多种非分泌蛋白方面具有瓜氨酸化变化,则受试者具有慢性脑疾病或具有增加的患上慢性脑疾病的风险。在另一实施方案中,如果来自受试者的样品在选自以下的任何一种或多种分泌蛋白方面具有瓜氨酸化变化,则受试者具有慢性脑疾病或具有增加的患上慢性脑疾病的风险:突触融合蛋白结合蛋白1或其瓜氨酸化片段、组蛋白H4或其瓜氨酸化片段、胞质动力蛋白1重链1或其瓜氨酸化片段、发动蛋白-1或其瓜氨酸化片段、 γ -烯醇酶或其瓜氨酸化片段、内质网素(Endoplasmic reticulum chaperone)前体或其瓜氨酸化片段、热休克70kDa蛋白12A或其瓜氨酸化片段、丝氨酸/苏氨酸-蛋白磷酸酶PP1- α 催化亚基或其瓜氨酸化片段、钙网蛋白前体或其瓜氨酸化片段、冠蛋白-1A或其瓜氨酸化片段、电子转移黄素蛋白亚基B或其瓜氨酸化片段、血红蛋白亚基 β 或其瓜氨酸化片段、丝裂原活化蛋白激酶1或其瓜氨酸化片段、丝裂原活化蛋白激酶3或其瓜氨酸化片段、26S蛋白酶体非ATP酶调节亚基12或其瓜氨酸化片段、60S核糖体蛋白L4或其瓜氨酸化片段、60S酸性核糖体蛋白P2或其瓜氨酸化片段、胞裂蛋白(Septin)-7或其瓜氨酸化片段、丙氨酸-tRNA连接酶、细胞质或其瓜氨酸化片段、或其组合。在另一个实施方案中,如果来自受试者的样品在选自以下的任何一种或多种非分泌蛋白方面具有瓜氨酸化变化,则受试者具有慢性脑疾病或具有增加的患上慢性脑疾病的风险:突触蛋白-1或其瓜氨酸化片段、乌头酸水合酶或其瓜氨酸化片段、复合素(Complexin)-1或其瓜氨酸化片段、复合素-2或其瓜氨酸化片段、带4.1样蛋白3或其瓜氨酸化片段、突触蛋白-2或其瓜氨酸化片段、AP2相关蛋白激酶1或其瓜氨酸化片段、 α -内收蛋白或其瓜氨酸化片段、AP-2复合物亚基B或其瓜氨酸化片段、丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶DCLK1或其瓜氨酸化片段、谷氨酰胺酶肾同种型或其瓜氨酸化片段、异柠檬酸脱氢酶[NAD]亚基 α 或其瓜氨酸化片段、丝氨酸/苏氨酸-蛋白磷酸酶2B催化亚基 α 同种型或其瓜氨酸化片段或其组合。在一些实施方案中,瓜氨酸化的变化是指本文所定义的‘差异存在’的瓜氨酸化。

[0075] 本文提供了用于诊断有需要的受试者的急性脑疾病的方法。所述方法包括从需要诊断的受试者获得生物样品,并检测从所述受试者获得的生物样品中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的存在指示急性脑疾病。在一些实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽相对于参考值的水平的变化指示急性脑疾病。在一个实施方案中,蛋白质瓜氨酸化或肽瓜氨酸化相对于参考值的水平增加指示急性脑疾病。在一个实施方案中,蛋白质瓜氨酸化或肽瓜氨酸化相对于参考值的水平降低指示急性脑疾病。在一个实施方案中,如果来自受试者的样品在表9的任何一种或多种分泌蛋白方面具有瓜氨酸化变化,则受试者具有急性脑疾病或具有增加的患上急性脑疾病的风险。在一个实施方案中,如果来自受试者的样品在表10的任何一种或多种非分泌蛋白方面具有瓜氨酸化变化,则受试者具有急性脑疾病或具有增加的患上急性脑疾病的风险。在另一个实施方案中,如果来自受试者的样品在选自以下的任何一种或多种分泌蛋白方面具有瓜氨酸化变化,则受试者具有急性脑疾病或具有增加的患上急性脑疾病的风险:Cullin相关的NEDD8解离蛋白1或其瓜氨酸化片段、过氧化物氧化还原酶(Peroxiredoxin)-5或其瓜氨酸化片段或其组合。在另一个实施方案中,如果来自受试者的样品具有增加的鸟嘌呤核苷酸

结合蛋白G(I)/G(S)/G(O)亚基 γ -3前体或其瓜氨酸化片段的瓜氨酸化,则受试者具有急性脑疾病或具有增加的患上急性脑疾病的风险。在一些实施方案中,瓜氨酸化的变化是指本文所定义的‘差异存在’的瓜氨酸化。

[0076] 本文还提供了用于治疗有需要的受试者的神经退行性疾病的方法。所述方法包括通过本文所述的方法诊断神经退行性疾病,并对被诊断患有神经退行性疾病的受试者施用有效量的治疗剂,以便治疗受试者的神经退行性疾病。在示例性实施方案中,神经退行性疾病的实例包括但不限于阿尔茨海默氏病、帕金森氏病、路易体痴呆、额颞叶痴呆、肌萎缩性脊髓侧索硬化症、亨廷顿氏病、弗里德希共济失调、脊髓性肌萎缩、朊病毒病、多发性硬化、中风、退行性神经疾病、脑炎或克雅二氏病。在各种实施方案中,治疗包括但不限于治疗性生活方式改变、治疗剂、手术治疗或其组合中的任何一种或多种。在示例性实施方案中,生活方式改变包括健康饮食、身体活动、体重管理、压力管理、不吸烟或其组合中的任何一种或多种。

[0077] 在示例性实施方案中,阿尔茨海默氏病的治疗剂包括但不限于胆碱酯酶抑制剂(诸如多奈哌齐(Donepezil)、卡巴拉汀(Rivastigmine)、加兰他敏(Galantamine))、美金胺(盐酸美金胺(Namenda))、维生素E、替代治疗(例如,辛酸和椰子油、相关药物(Concerns)、辅酶Q10、珊瑚钙、银杏、石杉碱甲、 ω -3脂肪酸、磷脂酰丝氨酸、高牛磺酸)或其组合。适当的疗法和剂量对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0078] 在示例性实施方案中,帕金森氏病的治疗剂包括但不限于卡比多巴/左旋多巴、多巴胺激动剂、单胺氧化酶抑制剂、抗胆碱能药、手术、生活方式改变、替代治疗(例如,抗氧化剂维生素C和E、地中海饮食、钙和维生素D、辅酶Q10、叶酸盐(叶酸)、姜(生姜)、银杏、绿茶多酚(GTP)、乳蓟(水飞蓟)、圣·约翰草(St. John's Wort)(金丝桃)、维生素B12)或其组合。适当的疗法和剂量对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0079] 在示例性实施方案中,亨廷顿氏病的治疗包括治疗剂和疗法,包括心理治疗、言语治疗、物理治疗、职业治疗或其组合。亨廷顿氏病的示例性治疗剂包括但不限于四苯喹嗪(丁苯那嗪(Xenazine))、抗精神病药物(诸如氟哌啶醇(哈泊度(Haldol)))、金刚烷胺、左乙拉西坦(开浦兰(Keppra))、氯硝西泮(克诺平(Klonopin))或其组合。适当的疗法和剂量对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0080] 在示例性实施方案中,共济失调的治疗剂包括但不限于利鲁唑、抗谷氨酸能药物、尼古丁受体激动剂、5-羟色胺能(serotonergic)疗法、GABA能疗法、胆碱能疗法、通道稳定化治疗(诸如碳酸酐酶抑制剂)、胰岛素样生长因子、补充剂(诸如维生素E)或其组合。适当的疗法和剂量对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0081] 在示例性实施方案中,脊髓性肌萎缩的治疗包括适当的营养、治疗剂和疗法(包括心理治疗、言语治疗、物理治疗、职业治疗),或其组合。脊髓性肌萎缩的治疗剂包括但不限于肌肉松弛剂(诸如巴氯芬、替扎尼定),以及用于降低痉挛状态的苯二氮䓬类药物,用于治疗下巴痉挛或流涎的肉毒杆菌毒素,阿米替林,格隆溴铵(glycopylate)和阿托品,或通过肉毒杆菌毒素注射到唾液腺来治疗过量的唾液,用于治疗抑郁症的抗抑郁药。适当的疗法和剂量对于本领域技术人员来说将是显而易见的。

[0082] 在示例性实施方案中,朊病毒病的治疗剂包括但不限于奎纳克林、戊聚糖多硫酸盐(PPS)、四环化合物或其组合。

[0083] 在本文所述的过程、测定和方法的各种实施方案中,参考值基于瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化,如例如表2至表10中所述。在一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化在神经元细胞中。在另一个实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化在非神经元细胞中。在一个附加实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化在任何细胞中。在一个附加实施方案中,瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的水平变化在体液中。在一些实施方案中,参考值是在没有神经退行性疾病的受试者群体中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的平均或中值表达水平。在其它实施方案中,参考值是在具有神经退行性疾病但已经历治疗并显示没有或降低的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽表达的受试者群体中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的平均或中值表达水平。在附加实施方案中,参考值是从不同的(例如,较早的)时间点(诸如在神经退行性疾病的诊断期间、神经退行性疾病的治疗前、神经退行性疾病的治疗后或其组合)从受试者获得的样品中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的表达水平。在示例性实施方案中,神经退行性疾病包括但不限于ALS、阿尔茨海默氏病、中风、慢性脑疾病、急性脑疾病或其组合。在一些实施方案中,瓜氨酸化的变化是指本文所定义的‘差异存在’的瓜氨酸化。

[0084] 在各种实施方案中,具有或怀疑具有神经退行性疾病的受试者中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的表达水平与参考值相比增加了至少或约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在各种实施方案中,具有或怀疑具有神经退行性疾病的受试者中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的表达水平与参考值相比增加了至少或约1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、55倍、60倍、65倍、70倍、75倍、80倍、85倍、90倍、95倍、100倍或其组合。在示例性实施方案中,神经退行性疾病包括但不限于ALS、阿尔茨海默氏病、中风、慢性脑疾病、急性脑疾病或其组合。

[0085] 在各种实施方案中,具有或怀疑具有神经退行性疾病的受试者中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的表达水平与参考值相比降低了至少或约10%、20%、30%、40%、50%、60%、70%、80%、90%或100%。在各种实施方案中,具有或怀疑具有神经退行性疾病的受试者中的瓜氨酸化蛋白质或瓜氨酸化肽的表达水平与参考值相比降低了至少或约1倍、2倍、3倍、4倍、5倍、10倍、15倍、20倍、25倍、30倍、35倍、40倍、45倍、50倍、55倍、60倍、65倍、70倍、75倍、80倍、85倍、90倍、95倍、100倍或其组合。在示例性实施方案中,神经退行性疾病包括但不限于ALS、阿尔茨海默氏病、中风、慢性脑疾病、急性脑疾病或其组合。

实施例1:实验方法

试剂和材料

[0086] 获得以下试剂:兔骨骼肌PAD混合物(PAD)(SignalChem);PAD2(Sigma)、重酶解肌球蛋白(HMM)、原肌球蛋白(TM)(Sigma);F-肌动蛋白(Cytoskeleton.Inc)、心肌肌钙蛋白(TnI)(Abcam)、抗修饰的瓜氨酸抗体(Millipore);测序级Lys-C蛋白酶(WAKO),以及蛋白酶抑制剂混合物(Roche)。

人心脏组织

[0087] 左心室组织样品在知情同意并经当地伦理委员会批准后从澳大利亚悉尼大学的Cris Dos Remedios获得。如前所述,在心脏移植手术期间样品获自患有HF(局部缺血性心脏病(ISHD)和特发性心肌病(IDC),各组n=10)的患者和非心力衰竭供体心脏(n=10)[Zhang P等人,Multiple reaction monitoring to identify site-specific troponin

I phosphorylated residues in the failing human heart. *Circulation* 2012,126:1828-1837].

小鼠心脏组织和新生小鼠肌细胞

[0088] 获得雄性C57BL/6小鼠 (n=3) (5日龄新生小鼠, Jackson Laboratories)。动物研究由约翰霍普金斯大学动物护理和使用委员会 (The Johns Hopkins University Animal Care and Use Committee) 批准, 并遵循建立的NIH指南。简言之, 从新生小鼠中分离原代培养的心室肌细胞。将经胶原酶消化的分离肌细胞在缓冲液中孵育, 所述缓冲液具有不断增加浓度的 Ca^{2+} , 从而实现如在MEM培养基中的最终浓度 1.2mM Ca^{2+} 。将细胞以25,000个杆状肌细胞/ml接种在涂布有层粘连蛋白的6孔板或60-mm平皿上。在 37°C , $5\%\text{CO}_2$ 下孵育1小时后, 更换培养基以去除未附着的细胞。

蛋白质提取和SWATHMS

[0089] 使用IN序列方案将心脏分级成富含肌丝的级分和富含胞质的级分[Kane LA等人, Subfractionation of heart tissue: the "in sequence" myofilament protein extraction of myocardial tissue. *Methods Mol Biol* 2007,357:87-90]。使用过滤器辅助的样品制备 (FASP) 方案[24]从亚级分进行蛋白质提取和LysC肽产生。当需要时, 将重组蛋白或IN序列级分与PAD混合物以1:20的比率在 37°C 下, 在 100mM Tris , $\text{pH } 7.6$ 、 5mM DTT 、 10mM CaCl_2 中孵育2小时。通过加入 5mM EDTA 来终止反应, 之后消化。使用TripleTOF 6600质谱仪 (Sciex) 进行数据依赖性采集以建立肽谱离子文库并进行SWATH-MS (非数据依赖性采集) 以用于每个单独的样品分析。使用ProteinPilotTM软件5.0搜索原始数据以创建谱离子文库。将单独的SWATH-MS运行与在存在或不存在PAD (+和-PAD) 的情况下针对富含肌丝的蛋白级分和富含胞质的蛋白级分创建的谱库进行匹配 (参见数据补充)。

瓜氨酸化样品的制备

[0090] 将重组蛋白和从IN序列获得的级分与PAD2以1:20的比率在 37°C 在工作缓冲液 (100mM Tris , $\text{pH } 7.6$ 、 5mM DTT 、 10mM CaCl_2) 中孵育2小时。通过加入 5mM EDTA 终止反应。

统计学验证肽、蛋白质和瓜氨酸化残基: 验收标准。

[0091] 使用数据补充中描述的工作流程进行生物信息学分析。本研究中使用的肽归一化基于iRT肽滞留时间[Escher C等人, Using i RT, a normalized retention time for more targeted measurement of peptides. *Proteomics* 2012,12:1111-1121]并使用归一化的值进行下游分析。将Ensemble蛋白ID登录号作图回它们相关编码的Ensemble 基因条目。数据分析和挖掘使用iProXpress (<http://proteininformationresource.org/iproxpress2>) [Natale DA等人, Protein Ontology: a controlled structured network of protein entities. *Nucleic Acids Res* 2014,42:D415-421]和Cytoscape[Saito R等人, A travel guide to Cytoscape plugins. *Nat Methods* 2012,9:1069-1076]进行。使用每种肽的克鲁斯卡尔-沃利斯检验 (Kruskal-Wallis test) (非参数单向ANOVA) 来计算p值。生化变化的显著性通过对所有配对数据的差异进行t检验 ($p \leq 0.05$) 来确定。除非另有说明, 否则所有生物化学测定均重复三次。

用于瓜氨酸化的SDS-PAGE免疫印迹

[0092] 使用1:2000稀释的抗-瓜氨酸 (经修饰的) 抗体进行1DE蛋白质印迹 (参见数据补充)。

二维凝胶电泳 (2DE)

[0093] 如先前报道的,使用荧光2DE凝胶电泳(2D-DIGE,pI范围和SDS PAGE范围)进行对蛋白质组学数据的独立验证[Matt P等人,Biomarker discovery:proteome fractionation and separation in biological samples.Physiol Genomics 2008,33:12-17]。用从修饰蛋白中的特定精氨酸残基去除胍基的PAD2酶对样品进行的处理,可用于基于处理后蛋白质的电荷变化来鉴定瓜氨酸化蛋白(参见数据补充)。

膜透化的肌细胞

[0094] 将来自C57BL/6小鼠的左心室组织在液氮中快速冷冻并贮藏于-80℃。为了分析,如所述将组织在0.3%Triton X-100和蛋白酶以及磷酸酶抑制剂存在下匀化[Kirk JA等人,Cardiac resynchronization sensitizes the sarcomere to calcium by reactivating GSK-3beta.J Clin Invest.2014,1:129-38]。将肌细胞在没有Triton X-100的情况下洗涤以去除去污剂,并重悬于分离缓冲液中。在37℃下,在10mM Ca^{2+} 和50mM DTT中使PAD2活化60分钟。然后将经PAD2处理的肌细胞在室温下暴露于分离缓冲液中的活化PAD2的1:10稀释液30分钟。然后将肌细胞用硅酮粘合到附接至力传感器和马达臂(Aurora Scientific Inc.,Aurora,ON,Canada)的150μm直径细针(minutia pin)的尖端。用摄像机(Imperx,Boca Raton,FL)监测肌小节长度,并用高速视频肌小节长度程序(High-speed Video Sarcomere Length Program)(Aurora Scientific Inc.)进行肌小节长度计算。将肌细胞肌小节长度设定为2.1μm。肌细胞的完全激活在实验的开始和结束时发生,并且如所述,如果存在大于10%的缩减,则丢弃肌细胞[Kirk JA等人,Cardiac resynchronization sensitizes the sarcomere to calcium by reactivating GSK-3beta.J Clin Invest.2014,1:129-38]。

ATP酶活性

[0095] 在先前描述的三个单独的实验中分析HMM-ATP酶活性[White HD.Special instrumentation and techniques for kinetic studies of contractile systems.Methods Enzymol 1982,85:698-708;Tauhata SB等人,High affinity binding of brain myosin-Va to F-actin induced by calcium in the presence of ATP.J Biol Chem 2001,276:39812-39818]。第一个实验是在恒定的HMM和F-肌动蛋白浓度下,用瓜氨酸化或非瓜氨酸化的HMM和/或F-肌动蛋白进行的。第二,在不断增加的TM浓度(瓜氨酸化或非瓜氨酸化的)下测定HMM-ATP酶活性。第三个实验在恒定的HMM、F-肌动蛋白和TM浓度下,用瓜氨酸化或非瓜氨酸化的TnI测定HMM-ATP酶活性。每个实验一式三份进行,并各自进行三次。

肌动蛋白结合实验

[0096] 将各种浓度的瓜氨酸化和非瓜氨酸化的HMM、TM和/或TnI加入到F-肌动蛋白中并离心以测定结合程度。使用10%SDSPAGE分析沉淀和上清液,并且如前所述通过密度法定量每种蛋白质的量[Skorzewski R等人,Effect of actin C-terminal modification on tropomyosin isoforms binding and thin filament regulation.Biochim Biophys Acta 2009,2:237-243;Nascimento AA等人,Enzymatic characterization and functional domain mapping of brain myosin-V.J Biol Chem 1996,271:17561-17569]。每个测定一式三份进行。

逆转录聚合酶链式反应 (RT-PCR)

[0097] 根据制造商的方案,使用TRI试剂(Sigma)提取来自新生小鼠心肌细胞的总mRNA。根据制造商的说明书,使用SuperScript III第一标准合成系统(Invitrogen)产生互补DNA(cDNA)。使用对PAD1、PAD2、PAD3、PAD4和 β -肌动蛋白具有特异性的引物进行RT-PCR。将PCR产物通过在1.8%琼脂糖凝胶上电泳分离,并在紫外光下可视化。每个测定一式两份进行。

1D-PAGE和蛋白质印迹

[0098] 根据制造商的说明书,使用12孔4-12%NuPAGE Bis-Tris凝胶通过1D-PAGE分离10ug/孔蛋白质,并印迹到PVDF膜上。在用直接靛兰(Direct Blue)染色印迹膜,接着扫描图像后,将膜与修饰试剂[1体积的1%二乙酰单肟/0.5%安替比林/1N乙酸,以及含有0.025% FeCl₃的85% H₃PO₄/98% H₂SO₄/H₂O (20/25/55)的2体积混合物]在37℃下避光孵育过夜。将膜封闭,在4℃下用抗修饰瓜氨酸抗体(Millipore, Billerica, MA)以1:2000探测过夜,然后洗涤液用二抗(山羊多克隆抗兔IgG, 1:10000稀释液)孵育1小时。如制造商(Amersham Biosciences, Piscataway, NJ)所述,结合抗体通过化学发光底物而可视化。当显影时,将膜用Epson Expression 10000XL扫描仪(Epson, US)扫描,并导入GraphPad Prism工具。使用学生t检验来确定各组之间的统计学差异。p值<0.05被认为是统计学显著的。

样品脱亚胺基、Cy标记、2-DE分离

[0099] 如前所述,将重约150mg的心脏样品亚分级。为了使每个级分脱亚胺基,将每个级分用在200mM Tris-HCl pH7.5/10mM二硫苏糖醇(DTT)/20mM CaCl₂中的1.5mg细菌PAD2处理,总体积为100uL。将相同量的每种样品在相同条件下但不使用酶进行处理。将样品在50℃孵育2小时后,将样品与DIGE标记缓冲液(7M尿素/2M硫脲/4%CHAPS/30mM Tris pH8.5)混合,最终浓度为70ug/110uL。加入Cy染料(3200pmol/400mg等分试样)并将各等分试样在室温下于黑暗中孵育30分钟。通过每400pmol染料加入1mL 10mM赖氨酸来终止反应。用Cy2标记汇集的标准品,用Cy3标记未用PAD2处理的样品,并且用Cy5标记用PAD2处理的样品。将如上所述标记的150ug等分的汇集的标准品、样品+PAD2和样品-PAD2混合在一起,并在IEF缓冲液(7M尿素/2M硫脲/4%CHAPS/1%DTT/1%3-10两性电解质)中稀释至最终体积350uL。将制备的样品施加至18cm固定的线性pH梯度(4-7)条带(IPG, BioRad),在20℃下主动再水合12小时。对于等电聚焦(IEF),用以下条件在20℃下使用BioRad Protean IEF槽:步骤1:使用终端电压200V达1小时;步骤2:以500V的终端电压斜升1小时;步骤3:使用终端电压500V达1小时;步骤4:以1000V的终端电压斜升1小时;步骤5:使用终端电压1000V达2小时;步骤6:以1000V的终端电压斜升2小时;步骤7:50000V/h(约6小时)。在IEF之后,根据制造商的说明书平衡条带。然后用10%凝胶进行2-DE的第二维,并在恒定电压(80V)下电泳30-60分钟,然后在恒定功率(200V, 200mA)下6小时。使用Typhoon 9410(GE Healthcare)以不同的发射波长扫描DIGE凝胶,这允许差异表达的蛋白质被视为颜色改变的。用银染色将制备型凝胶染色并用Typhoon 9410进行扫描。

图像分析

[0100] 使用Epson Expression 10000XL(Epson America)扫描小凝胶,并使用Amersham Typhoon 9410(GE Healthcare)扫描大凝胶。使用Ludesi REDFIN分析(Ludesi, <http://www.ludesi.com>)鉴定差异表达的蛋白质(用PAD2处理的对比未用PAD2处理的)以进行斑点检测、匹配和分析。以两个步骤进行Ludesi REDFIN分析:凝胶内差异分析(differential

in-gel analysis) (DIA), 随后进行生物学差异分析 (BVA)。DIA根据Cy2、Cy3和Cy5的荧光强度来定量蛋白质体积, 并计算比率Cy3/Cy2 (未用PAD2处理的比内标) 和Cy5/Cy2 (用PAD2处理的比内标)。然后基于每个图像的蛋白量相同的假设来归一化值。在REDFINA (ht中://www.ludesi.com) 中使用学生t检验分析2-DE凝胶图像, 以确定各组之间的统计学差异。p值<0.05被认为是统计学显著的。然后从凝胶上切下所关注的斑点, 指定 (destined) 并用胰蛋白酶进行凝胶内消化。经消化的样品用于如下所述的LC-MS/MS分析。

凝胶内蛋白消化和肽鉴定

[0101] 用缩短的移液管尖端从凝胶中挑取所关注的斑点, 置于小微量离心管中并通过使用30mM铁氰化钾和100mM硫代硫酸钠使其变色。在用双蒸水进一步洗涤后, 将凝胶栓干燥并直接在还原和烷基化试剂中再水合, 随后用0.1μg/μl胰蛋白酶在50mM NH₄HCO₃pH 8.8溶液 (胰蛋白酶超级测序级, Promega, WI, USA) 中消化。在冰上进行1小时消化; 然后去除多余的溶液, 并将凝胶栓用100ul 50mM NH₄HCO₃覆盖并在37℃下孵育过夜。将肽用ZipTip脱盐, 并通过使用与Agilent 1200nanoLC系统接口连接的LTQ离子阱MS (Thermo Fisher Scientific), 用纳流LC-MS/MS进行分析。

质谱法

[0102] 使用IN序列方案将每个人心脏分级成富含肌丝的级分和富含胞质的级分 [Kane LA等人, Subfractionation of heart tissue: the "in sequence" myofilament protein extraction of myocardial tissue. Methods Mol Biol 200, 357:87-90]。在用LysC (1:20) 消化之前, 使用过滤器辅助的样品制备 (FASP) 方案 (<https://www.biochem.mpg.de/226356/FASP>) 将蛋白质提取物变性、还原和烷基化。将外源性内部滞留时间标准品 (IRT, 公司和参照 [Escher C等人, Using iRT, a normalized retention time for more targeted measurement of peptides. Proteomics 2012, 12:1111-1121]) 添加到每个肽级分中。为了最大化瓜氨酸化蛋白质组的深度, 使用PAD混合物进行心脏组织裂解物的体外瓜氨酸化, 然后用LysC进行蛋白质消化。通过数据依赖性采集在AB Sciex 6600TripleTOF上构建谱离子文库, 并使用ProteinPilot™软件5.0搜索原始数据以创建谱离子文库。使用非数据依赖性采集 (SWATH-MS) 在6600Triple TOF上按顺序分析来自每个个体的两个级分。如果肽数据含有至少一个高置信度的瓜氨酸-肽/谱分配 (置信度>95%) 并且其作图至的蛋白质的置信水平>95%, 则将肽数据保留用于进一步分析。从逆向人数据库的搜索获得的肽和蛋白质先知阈值 (Proteinprophet thresholds), 这个研究的全局错误发现率估计分别在肽和蛋白质水平上约<0.1%。重要的是, 选择并验证每种瓜氨酸化肽的转变以提供这些靶向蛋白质组学实验的准确灵敏度和特异性。在400-1250m/z之间使用200个可变SWATH窗口创建SWATH-MS片段离子图谱 (来自内源样品), 每个窗口的停留时间为20ms。DDA和SWATH实验的来源条件如下: 将喷雾电压设定为2.4kV, 来源气体设定为5, 气帘气体设定为30, 界面加热器温度设定为80, 并且去簇电压设定为100。在DDA运行中使用滚动碰撞能量进行MS2实验。对于DDA和SWATH运行两者, 使用配备有ekspert™cHiPLC和ekspert™nanoLC400自动进样器的Eksigent ekspert™415nanoLC分离肽。以2μL/min的流速将在100%溶剂A (0.1%甲酸水溶液) 中的样品加载到捕获柱 (nano cHiPLC Trap200μm×0.5mm ChromXP C18-CL 3μm 120Å) 上10分钟, 在此时间点之后, 将它们使用nano cHiPLC 75μm×15cm ChromXP C18-CL 3μm 120Å柱, 使用300nL/min的流速以及5-35%溶剂B (0.1%甲酸的乙腈溶液) 120分钟、35-

85%B 2分钟,在85%保持5分钟,然后在5%B再平衡17分钟的线性梯度进行分离。

构建经验证的瓜氨酸化谱离子文库

[0103] 基于在离子文库中存在的具有未修饰(非瓜氨酸化)和瓜氨酸化形式的肽对之间以及在具有N/Q脱氨基形式和瓜氨酸化形式的肽之间的滞留时间(RT)差值构建经验证的瓜氨酸化肽离子文库。基于我们的数据,我们观察到相同肽序列的未修饰和瓜氨酸化形式(在没有任何其它修饰的情况下)之间的RT差值为平均10分钟,其中瓜氨酸化肽具有较长的滞留时间,而N/Q脱酰胺基导致平均约2.5分钟的RT偏移。因此,对于具有配对未修饰形式或配对N/Q脱酰胺基形式并且RT差值大于5分钟的瓜氨酸化肽序列,我们不改变离子文库中所选的转变离子。对于各对之间的RT小于5分钟的瓜氨酸化肽或如果没有未修饰形式用作参考,我们手动选择将明确区分瓜氨酸化肽与未修饰或N/Q脱氨基形式的转变离子,并且将不明确区分瓜氨酸化位点的任何转变从离子文库中去除。对于肽的这个子集,待包括在文库中的瓜氨酸化肽需要五个独特的转变。除了每个蛋白的经验证的瓜氨酸化肽之外,将最多10个未修饰的肽整合到文库中以用于总蛋白定量。

SWATH数据分析

[0104] 将已验证的离子文库导入到PeakView v2.1中,并将SWATH文件加载到SWATH微应用2.0版中。提取设置如下:每蛋白30个肽,每肽5个转变,95%的肽置信度截断,1%的FDR阈值,5分钟XIC提取窗口和0.05Da的公差。

共沉积测定

[0105] 基本上如前所述,通过使用5 μ M F-肌动蛋白进行TM共沉积(0–2 μ M),来进行结合测定[Skorzewski R等人,Effect of actin C-terminal modification on tropomyosin isoforms binding and thin filament regulation.Biochim Biophys Acta,2009,2:237–243],具有以下改进。在40mM Tris HCl,pH 7.6、1mM DTT、5mM MgCl₂和100mM NaCl中测定单独的TM结合。在混合所有测定组分后,将样品在室温下孵育约0.5小时以确保达到稳态。将蛋白质混合物在Beckman转子TLA 100.2中以60,000rpm超速离心25分钟。在4–12% SDS-PAGE上检查沉淀中的蛋白质组成和留在上清液中的游离TM的量。对用考马斯蓝(Coomassie Blue)染色的凝胶进行扫描并定量。沉淀的F-肌动蛋白的SDS凝胶条带的强度是相似的。与肌动蛋白结合的TM被计算为针对在饱和时达到的最大比率归一化的TM/肌动蛋白条带强度比率。从上清液中留下的TM的条带强度计算未结合的TM的浓度。

TM与F-肌动蛋白的肌球蛋白HMM诱导的结合

[0106] 将F-肌动蛋白(5 μ M)和TM(1 μ M,瓜氨酸化的或对照)在30mM NaCl、0.5mM MgCl₂、1mM DTT、5mM咪唑(pH 7.0)中与HMM(0–3.5 μ M)混合。将该混合物在室温下孵育30分钟,然后在TLA-100.2转子中在15℃下以60,000rpm离心25分钟。通过SDS-PAGE和密度法分析在沉淀中沉积的蛋白质的组成[Sliwiska M等人,Role of actin C-terminus in regulation of striated muscle thin filament.BiophysJ.2008,4:1341–]。

[0107] HMM-ATP酶测定。测定如White所述进行[White HD.Special instrumentation and techniques for kinetic studies of contractile systems.Methods Enzymol 1982,85:698–708],具有若干修改。所有测定均在22℃下在含有30mM NaCl、5mM MgCl₂和10mM Hepes的pH 7.5的缓冲液中进行,具有0.2mg/ml的F-肌动蛋白和0.02mg/ml的HMM最终浓度。当存在非瓜氨酸化或瓜氨酸化的TM时,将非瓜氨酸化或瓜氨酸化的TM加入到F-肌动

蛋白中,以实现在0-2 μ M之间的TM最终摩尔浓度。HMM-肌动蛋白-TM-TnI测定如上,使用瓜氨酸化或非瓜氨酸化TnI,分别以7:1:1的F-肌动蛋白:TM:TnI摩尔比进行。为了评估所调节的acto-S1体系的灵敏度,所有测定均在存在钙(0.5mM CaCl₂)和不存在钙(2mM EGTA)的情况下平行进行。所有反应通过加入4mM ATP来起始。释放的磷酸盐的量是在650nm以量热学方式测定的。所有测定均在线性范围内进行,并且每个测定一式三份地进行。

实施例2

心肌瓜氨酸化蛋白的鉴定。

[0108] 为了鉴别心脏中的瓜氨酸化靶标,我们使用SWATH-MS[34]评估了三个组ISHD、IDCM和非衰竭供体心脏(每组n=10)中的瓜氨酸蛋白组(citrullinome)。SWATH-MS允许进行定量。与非心力衰竭对照相比,53个瓜氨酸化位点被用HF改变($p < 0.05$),并列于表1A中。

[0109] 表1A:具有瓜氨酸化肽序列的瓜氨酸化蛋白($p = 0.05$)的列表。“Dea”是瓜氨酸化或脱氨基。“CAM”是脲甲基化。瓜氨酸化蛋白质按细胞组分分组。UP标识符=通用蛋白(UP)资源蛋白ID;p_{kw}=克鲁斯卡尔-沃利斯检验的p值(统计值)

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p_kw
腺苷酸激酶同工酶 1	RGETSGR[Dea]VDDNEETIK (SEQ ID NO: 1)	Q5T9B7	0.03
醇脱氢酶 1B	AAGAAR[Dea]IIAVDINK (SEQ ID NO: 2)	ADH1B	0.04
β -烯醇酶	SPDDPAR[Dea]HITGEK (SEQ ID NO: 3)	ENO3	0.00
碳酸酐酶 3	DIR[Dea]HDPQLPWSVSYDGGSAK (SEQ ID NO: 4)	CAH3	0.01
脂肪酸结合蛋白, 心脏	LILTLTHGTAVC[CAM]TR[Dea]TYEK (SEQ ID NO: 5)	FABPH	0.04
肽基脯氨酰基顺反异构酶 A	TAENFR[Dea]ALSTGEK (SEQ ID NO: 6)	PP1A	0.01
血清剥夺反应蛋白	FQHPGSDMR[Dea]QEK (SEQ ID NO: 7)	SDPR	0.01
血清剥夺反应蛋白	VSPLTFGR[Dea]K (SEQ ID NO: 8)	SDPR	0.01
热休克蛋白 β -7	RHPHTEHVQQTFR[Dea]TEIK (SEQ ID NO: 9)	HSPB7	0.05
α -晶状体蛋白 B 链	GLSEMR[Dea]LEK (SEQ ID NO: 10)	CRYAB	0.01
肌动蛋白*	C[CAM]DIDIR[Dea]K (SEQ ID NO: 11)	ACTA1	>0.05
肌动蛋白*	QEYDEAGPSIVHR[Dea]K (SEQ ID NO: 12)	ACTA2	>0.05
细丝蛋白-C	SSSSR[Dea]GSSYSSIPK (SEQ ID NO: 13)	FLNC	0.03
LIM 结构域结合蛋白 3	TSPEGAR[Dea]DLLGPK (SEQ ID NO: 14)	LDB3	0.00
肌球蛋白结合蛋白 C, 心肌型	EPVFIPR[Dea]PGITYEPPNYK (SEQ ID NO: 15)	A8MXZ9	0.03
肌原调节蛋白-2	R[Dea]VATPFGGFKEK (SEQ ID NO: 16)	MYOZ2	0.01
肌原调节蛋白-2	AELPDYR[Dea]SFNR[Dea]VATPFGGFKEK (SEQ ID NO: 17)	MYOZ2	0.02
肌钙蛋白 I, 心肌	NIDALSGMEGR[Dea]K (SEQ ID NO: 18)	TNNI3	0.02
肌钙蛋白 I, 心肌	ESLDLR[Dea]AHLK (SEQ ID NO: 19)	TNNI3	0.02
肌钙蛋白 T, 心肌	PR[Dea]SFMPNLVPPK (SEQ ID NO: 20)	E7EPW4	0.01
原肌球蛋白**	ETR[Dea]AEFAERSVTKLEK (SEQ ID NO: 21)	TPM1	0.002
波形蛋白	FADLSEAAN[Dea]RNNDALR[Dea]QAK (SEQ ID NO: 22)	VIME	0.03

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p _{kw}
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	LWR[Dea]D[Dhy]GRGALQN[Oxi]IIPASTGAAK (SEQ ID NO: 23)	G3P	0.01
肌球蛋白-7	AEETQR[Dea]SVNDLTSQR[Dea]AK (SEQ ID NO: 24)	MYH7	0.05
乌头酸水合酶,	SYLR[Dea]LRPDRVAMQDATAQ[Dea]M[Oxi]A MLQFISSGLSK (SEQ ID NO: 25)	ACON	0.01
乌头酸水合酶,	ANSVR[Dea]NAVTQEFGPVPDTAR[Dea]YYK (SEQ ID NO: 26)	ACON	0.03
乌头酸水合酶,	IVYGHLDPPASQEIER[Dea]GK (SEQ ID NO: 27)	ACON	0.03
腺苷酸激酶 4,	LLR[Dea]AVILGPPGSGK (SEQ ID NO: 28)	KAD4	0.00
第 3 类醇脱氢酶	VAGASR[Dea]IIGVDINK (SEQ ID NO: 29)	ADHX	0.05
ATP 合酶亚基 α ,	R[Dea]TGAIVDVPVGEELLGR[Dea]VVDALGN AIDGK (SEQ ID NO: 30)	ATPA	0.00
ATP 合酶亚基 α ,	AIEEQVAVIYAGVR[Dea]GYLDK (SEQ ID NO: 31)	ATPA	0.01
ATP 合酶亚基 α ,	GIRPAINVGLSVSR[Dea]VGSAAQ[Dea]TRAM K (SEQ ID NO: 32)	ATPA	0.01
ATP 合酶亚基 α ,	QGQYSPMAIEEQVAVIYAGVR[Dea]GYLDK (SEQ ID NO: 33)	ATPA	0.03
ATP 合酶-偶联因子 6,	SGGPVDASSEYQQELER[Dea]ELFK (SEQ ID NO: 34)	ATP5J	0.00
氯离子细胞内通道蛋白 4	YR[Dea]NFDIPK (SEQ ID NO: 35)	CLIC4	0.04
细胞色素 c(片段)	EER[Dea]ADLIAYLK (SEQ ID NO: 36)	C9JFR7	0.01
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶,	VLR[Dea]NAAGNFYINDK (SEQ ID NO: 37)	AL4A1	0.00
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶,	AADMLSGPR[Dea]R[Dea]AEILAK (SEQ ID NO: 38)	AL4A1	0.01
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶,	VANEPVLAFTQGSPER[Dea]DALQK (SEQ ID NO: 39)	AL4A1	0.03
烯酰基-辅酶 A 水合酶,	EMVLTGDR[Dea]ISAQDAK (SEQ ID NO: 40)	ECHM	0.01

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p _{kw}
ES1 蛋白质 同源物,	VLR[Dea]GVEVTVGHEQEEGGK (SEQ ID NO: 41)	ES1	0.00
热休克蛋白 HSP 90- α	HLEINPDHSHETLR[Dea]QK (SEQ ID NO: 42)	HS90A	0.04
NAD(P) 转氢 酶,	AATITPFR[Dea]K (SEQ ID NO: 43)	NNTM	0.05
磷酸载体蛋 白	VYFR[Dea]LPRPPPEMPESLK (SEQ ID NO: 44)	MPCP	0.00
丙酮酸脱氢 酶 E1 组分亚 基 α , 体细胞 型,	C[CAM]DLHR[Dea]LEEGPPVTTVLTR[Dea]ED GLK (SEQ ID NO: 45)	ODPA	0.01
琥珀酸脱氢 酶[泛醌]铁硫 亚基,	FAIYR[Dea]WDPDK (SEQ ID NO: 46)	SDHB	0.05
琥珀酰基-辅 酶 A 连接酶 [ADP/GDP 形成]亚基 α ,	TR[Dea]LIGPNC[CAM]PGVINPGEC[CAM]K (SEQ ID NO: 47)	SUCA	0.02
琥珀酰基-辅 酶 A:3-酮酸 辅酶 A 转移 酶 1,	ADR[Dea]AGNVIFR[Dea]K (SEQ ID NO: 48)	SCOT1	0.04
电压依赖性 阴离子选择 性通道蛋白 1	SR[Dea]VTQSNFAVGKY (SEQ ID NO: 49)	VDAC1	0.02
60kDa 热休 克蛋白,	FDR[Dea]GYISPYFINTSK (SEQ ID NO: 50)	CH60	0.04
三功能酶亚 基 β ,	PNIR[Dea]NVVVVDGVR[Dea]TPFLLSGTSYK (SEQ ID NO: 51)	ECHB	0.02
乌头酸水合 酶,	TGR[Dea]EDIANLADEFK (SEQ ID NO: 52)	ACON	0.00
乌头酸水合 酶,	R[Dea]LQLLEPFDK (SEQ ID NO: 53)	ACON	0.01
双特异性蛋 白磷酸酶 3	LGITHVLNAAEGR[Dea]SFMHVNTNANFYK (SEQ ID NO: 54)	DUS3	0.01
成神经细胞 分化相关蛋 白 AHNK	FGVSTGR[Dea]EGQTPK (SEQ ID NO: 55)	AHNK	0.01
胶原 α -3(VI) 链	DVVFLLDGSEGVR[Dea]SGFPLLK (SEQ ID NO: 56)	E7ENL6	0.03

[0110] 表1B显示了此研究中存在的所有瓜氨酸化肽。这些肽是具有不同细胞功能的蛋白质,包括转录和染色质结构、细胞骨架和收缩、细胞信号传导过程和代谢的调节剂(图1)。

[0111] 表1B:此研究中存在的所有瓜氨酸化肽。“Dea”是瓜氨酸化或脱氨基。“CAM”是脲甲基化。

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p_kw
富含半胱氨酸的蛋白质 2	GVNTGAVGSYTYDR[Dea]DPEGK (SEQ ID NO: 57)	P52943	0.58
腺苷酸激酶同工酶 1	RGETSGR[Dea]VDDNEETIK (SEQ ID NO: 1)	Q5T9B7	0.03
腺苷酸激酶同工酶 1	R[Dea]GETSGR[Dea]VDDNEETIK (SEQ ID NO: 58)	Q5T9B7	0.15
腺苷酸激酶同工酶 1	YGYTHLSTGDLLR[Dea]SEVSSGSAR[Dea]GK (SEQ ID NO: 59)	Q5T9B7	0.57
腺苷酸激酶同工酶 1	LLR[Dea]SEVSSGSAR[Dea]GK (SEQ ID NO: 60)	Q5T9B7	0.68
腺苷酸激酶同工酶 1	YGYTHLSTGDLLR[Dea]SEVSSGSARGK (SEQ ID NO: 61)	Q5T9B7	0.74
醇脱氢酶 1B	AAGAAR[Dea]IIAVDINK (SEQ ID NO: 2)	P00325	0.04
醛糖还原酶	PEDPSLLEDPR[Dea]IK (SEQ ID NO: 62)	P15121	0.18
α -晶状体蛋白 B 链	GLSEMR[Dea]LEK (SEQ ID NO: 10)	P02511	0.01
α -晶状体蛋白 B 链	QVSGPER[Dea]TIPITREEK (SEQ ID NO: 63)	P02511	0.23
α -晶状体蛋白 B 链	YR[Dea]IPADVDPITITSSSLSDGVLTVNGPR[Dea]K (SEQ ID NO: 64)	P02511	0.41
α -晶状体蛋白 B 链	SPFYLR[Dea]PPSFLR[Dea]APSWEDTGLSEMRLEK (SEQ ID NO: 65)	P02511	0.51
α -晶状体蛋白 B 链	SPFYLRPPSFLR[Dea]APSWEDTGLSEMRLEK (SEQ ID NO: 66)	P02511	0.55
α -晶状体蛋白 B 链	QVSGPER[Dea]TIPITR[Dea]EEK (SEQ ID NO: 67)	P02511	0.97
天冬氨酸转氨酶,	HIYLLPSGR[Dea]INVSGLTTK (SEQ ID NO: 68)	P17174	0.84
ATP 依赖性 6-磷酸果糖激酶	LLAHVR[Dea]PPVSK (SEQ ID NO: 69)	P08237	0.53
ATP 依赖性 6-磷酸果糖激酶	NVLGHMQQGGSPTEFDR[Dea]NEATK (SEQ ID NO: 70)	P08237	0.80

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p _{kw}
ATP 依赖性 6-磷酸果糖激酶	[LAc]-MDADDSR[Dea]APK (SEQ ID NO: 71)	Q01813	0.55
β -烯醇酶	SPDDPAR[Dea]HITGEK (SEQ ID NO: 3)	P13929	0.00
碳酸酐酶 3	DIR[Dea]HDPSLQPWSVSYDGGS AK (SEQ ID NO: 4)	P07451	0.01
M 型肌酸激酶	ELFDPIISDR[Dea]HGGYK (SEQ ID NO: 72)	P06732	0.20
M 型肌酸激酶	GGDDLDPNYVLSSR[Dea]VR[Dea]TGR [Dea]SIK (SEQ ID NO: 73)	P06732	0.36
M 型肌酸激酶	PIISDR[Dea]HGGYKPTDK (SEQ ID NO: 74)	P06732	0.47
M 型肌酸激酶	ELFDPIISDR[Dea]HGGYKPTDK (SEQ ID NO: 75)	P06732	0.51
M 型肌酸激酶	GGDDLDPNYVLSSRVR[Dea]TGRSIK (SEQ ID NO: 76)	P06732	0.66
M 型肌酸激酶	FEEILTR[Dea]LRLQK (SEQ ID NO: 77)	P06732	0.82
脂肪酸结合蛋白	LILTLTHGTAVC[CAM]TR[Dea]TYEK (SEQ ID NO: 5)	P05413	0.04
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	LWR[Dea]D[Dhy]GRGALQN[Oxi]IIPAS TGAAK (SEQ ID NO: 23)	P04406	0.01
糖原磷酸化酶	VAIQLNDTHPALSIPELMR[Dea]ILVDV EK (SEQ ID NO: 78)	P11216	0.39
糖原磷酸化酶	QISVR[Dea]GLAGLGDVAEVRK (SEQ ID NO: 79)	P11216	0.63
血红蛋白亚基 α	LR[Dea]VDPVN[Dea]FK (SEQ ID NO: 80)	P69905	0.91
血红蛋白亚基 α	VGAHAGEYGAEALER[Dea]MFLSFPT (SEQ ID NO: 81)	P69905	0.93
血红蛋白亚基 α	LER[Dea]MFLSFPTTK (SEQ ID NO: 82)	P69905	0.93
血红蛋白亚基 α	R[Dea]VDPVNFK (SEQ ID NO: 83)	P69905	0.93
血红蛋白亚基 β	VNVDEVGGEALGRLLVYPWTQ[Dea] R[Dea]FFESFGDLSTPDVAM[Oxi]GNPK (SEQ ID NO: 84)	P68871	0.40
血红蛋白亚基 β	VNVDEVGGEALGR[Dea]LLV (SEQ ID NO: 85)	P68871	0.46
血红蛋白亚基 β	VNVDEVGGEALGR[Dea]LLVYPWTQ [Dea]RFFESFGDLSTPDVAMGNPK (SEQ ID NO: 86)	P68871	0.67
血红蛋白亚基 β	R[Dea]FFESFGDLSTPDVAMGNPK (SEQ ID NO: 87)	P68871	0.82
血红蛋白亚基 β	VNVDEVGGEALGR[Dea]L (SEQ ID NO: 88)	P68871	0.90

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p _{kw}
	NO: 88)		
肽基脯氨酰基顺反异构酶 A	TAENFR[Dea]ALSTGEK (SEQ ID NO: 6)	P62937	0.01
磷脂酰乙醇胺结合蛋白 1	VLTPDAPS[Dea]KDPK (SEQ ID NO: 89)	P30086	0.12
磷脂酰乙醇胺结合蛋白 1	C[CAM]DEPILSN[Dea]RSGDHR[Dea]GK (SEQ ID NO: 90)	P30086	0.55
磷酸甘油酸激酶 1	SVVLMShLGR[Dea]PDGVPMPPDK (SEQ ID NO: 91)	P00558	0.26
磷酸甘油酸激酶 1	R[Dea]VVMR[Dea]VDFNVPMK (SEQ ID NO: 92)	P00558	0.27
血清白蛋白	YLYEIARR[Dea]H[AAS]P[Oxi]YFYAPE LLFFAK (SEQ ID NO: 93)	P02768	0.06
血清白蛋白	VPQVSTPTLVEVSR[Dea]N (SEQ ID NO: 94)	P02768	0.31
血清白蛋白	WAVAR[Dea]LSQR[Dea]FPK (SEQ ID NO: 95)	P02768	0.40
血清白蛋白	FGER[Dea]AFK (SEQ ID NO: 96)	P02768	0.46
血清白蛋白	TESLVNR[Dea]RPC[CAM] (SEQ ID NO: 97)	P02768	0.49
血清白蛋白	AWAVAR[Dea]LSQR[Dea]FPK (SEQ ID NO: 98)	P02768	0.64
血清白蛋白	DDNPNLPRLVR[Dea]PEVDVMC[CAM] TAFHDNEETFLK (SEQ ID NO: 99)	P02768	0.66
血清白蛋白	TPVSDR[Dea]VTK (SEQ ID NO: 100)	P02768	0.69
血清白蛋白	ALLVR[Dea]YTK (SEQ ID NO: 101)	P02768	0.70
血清白蛋白	SEVAHR[Dea]FK (SEQ ID NO: 102)	P02768	0.72
血清白蛋白	LVEVSR[Dea]NLGK (SEQ ID NO: 103)	P02768	0.74
血清白蛋白	R[Dea]MPC[CAM]AEDYLSVVLNQLC[CAM]VLHEK (SEQ ID NO: 104)	P02768	0.82
血清白蛋白	DDNPNLPR[Dea]LVR[Dea]PEVDVMC[CAM]TAFHDNEETFLK (SEQ ID NO: 105)	P02768	0.84
血清白蛋白	[CRM]-YLYEIAR[Dea]RHPYFYAPELLF EAK (SEQ ID NO: 106)	P02768	0.86
血清白蛋白	C[CAM]C[CAM]TESLVNR[Dea]RPC[CAM] (SEQ ID NO: 107)	P02768	0.93
血清剥夺反应蛋白	FQHPGSDMR[Dea]QEK (SEQ ID NO: 7)	O95810	0.01
血清剥夺反应蛋白	VSPLTFGR[Dea]K (SEQ ID NO: 8)	O95810	0.01
转胶蛋白 (Transgelin)	R[Dea]EFTESQLQEGK (SEQ ID NO: 108)	Q01995	0.22

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p_kw
翻译受控的肿瘤蛋白	MIHYR[Dea]DLISHDEMFSDIYK (SEQ ID NO: 109)	Q5W0H4	0.14
肿瘤蛋白 D54	TSAALSTVGSAISR[Dea]K (SEQ ID NO: 110)	O43399	0.08
苹果酸脱氢酶	FVEGLPINDFSR[Dea]EK (SEQ ID NO: 111)	P40925	0.17
肌动蛋白, α 骨骼肌	C[CAM]DIDIR[Dea]K (SEQ ID NO: 11)	Q5T8M8	0.11
肌动蛋白, α 骨骼肌	QEYDEAGPSIVHR[Dea]K (SEQ ID NO: 12)	Q5T8M8	0.16
肌间线蛋白	EEAENNLAAFR[Dea]ADVDAATLAR (SEQ ID NO: 112)	P17661	0.06
肌间线蛋白	SR[Dea]LGTTTR[Dea]TPSSYGAGELLDFSLADAVNQEFLTTRTNEK (SEQ ID NO: 113)	P17661	0.08
肌间线蛋白	NFRETSPEQR[Dea]GSEVHTK (SEQ ID NO: 114)	P17661	0.23
肌间线蛋白	MALDVELATYR[Dea]K (SEQ ID NO: 115)	P17661	0.23
肌间线蛋白	SR[Dea]LGTTTRTPSSYGAGELLDFSLADAVNQEFLTTRTNEK (SEQ ID NO: 116)	P17661	0.31
肌间线蛋白	VDVER[Dea]DNLLDDLQRLK (SEQ ID NO: 117)	P17661	0.39
肌间线蛋白	NFR[Dea]ETSPEQR[Dea]GSEVHTK (SEQ ID NO: 118)	P17661	0.43
肌间线蛋白	TIETR[Dea]DGEVVSEATQQQHEVL (SEQ ID NO: 119)	P17661	0.55
肌间线蛋白	SSPVFPR[Dea]AGFGSK (SEQ ID NO: 120)	P17661	0.88
消去蛋白	[IAc]-ASGVQVADEVLC[CAM]R[Dea]IFYDMK (SEQ ID NO: 121)	P60981	0.78
细丝蛋白-C	SSSSR[Dea]GSSYSIPK (SEQ ID NO: 13)	Q14315	0.03
四个半 LIM 结构域蛋白 2	KPITGGVTYR[Dea]EQPWHK (SEQ ID NO: 122)	Q14192	0.08
果糖二磷酸醛缩酶 A	ELSDIAHR[Dea]IVAPGK (SEQ ID NO: 123)	P04075	0.55
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	LVIN[Dea]GNPITIFQER[Dea]DPSK (SEQ ID NO: 124)	P04406	0.66
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	R[Dea]VIISAPSADAPMFVMGVNHEK (SEQ ID NO: 125)	P04406	0.68
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	AFRVPTAN[Dea]VSVVDLTC[CAM]R[D	P04406	0.88

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p _{kw}
酶	ea]LEK (SEQ ID NO: 126)		
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	VSVVDLTC[CAM]R[Dea]LEKPAK (SEQ ID NO: 127)	P04406	0.93
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	LWR[Dea]DGR[Dea]GALQNIIPASTGAAK (SEQ ID NO: 128)	P04406	0.99
LIM 结构域结合蛋白 3	TSPEGAR[Dea]DLLGPK (SEQ ID NO: 14)	O75112	0.00
膜突蛋白	DR[Dea]SEEER[Dea]TTEAEK (SEQ ID NO: 129)	P26038	0.28
肌间蛋白-1	HVSGITDTEEEER[Dea]IK (SEQ ID NO: 130)	P52179	0.07
肌间蛋白-1	SPR[Dea]FALFDLAEGK (SEQ ID NO: 131)	P52179	0.57
肌球蛋白轻链 3	LGQNPTQAEVLR[Dea]VLGKPRQEELNTK (SEQ ID NO: 132)	P08590	0.09
肌球蛋白轻链 3	LGKPR[Dea]QEELNTK (SEQ ID NO: 133)	P08590	0.16
肌球蛋白轻链 3	[CRM]-EAFMLFDR[Dea]TPK (SEQ ID NO: 134)	P08590	0.39
肌球蛋白轻链 3	EAFMLFDR[Dea]TPK (SEQ ID NO: 135)	P08590	0.41
肌球蛋白轻链 3	VLGKPR[Dea]QEELNTK (SEQ ID NO: 136)	P08590	0.42
肌球蛋白轻链 3	ALGQNPTQAEVLR[Dea]VLGK (SEQ ID NO: 137)	P08590	0.59
肌球蛋白轻链 3	LGQNPTQAEVLR[Dea]VLGKPRQ[Dea]EELNTK (SEQ ID NO: 138)	P08590	0.70
肌球蛋白轻链 3	LGQNPTQAEVLR[Dea]VLGK (SEQ ID NO: 139)	P08590	0.71
肌球蛋白轻链 3	EAFM[Oxi]LFDR[Dea]TPK (SEQ ID NO: 140)	P08590	0.86
肌球蛋白轻链 4	MLDFETFLPILQHISR[Dea]NK (SEQ ID NO: 141)	P12829	0.28
肌球蛋白轻链 4	EQGTYESDFVEGLR[Dea]VFDK (SEQ ID NO: 142)	P12829	0.74
肌球蛋白调节轻链 2	NDLRDTFAALGR[Dea]VNVK (SEQ ID NO: 143)	P10916	0.71
肌球蛋白调节轻链 2	EAFIMDQNR[Dea]DGFIDK (SEQ ID NO: 144)	P10916	0.77
肌球蛋白-7	AEETQR[Dea]SVNDLTSQR[Dea]AK (SEQ ID NO: 24)	P12883	0.05
肌球蛋白-7	[1Ac]-GDSEMAVFGAAAPYLR[Dea]K	P12883	0.18

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p_kw
	(SEQ ID NO: 145)		
肌球蛋白-7	VR[Dea]ELENELEAEQK (SEQ ID NO: 146)	P12883	0.27
肌球蛋白-7	R[Dea]YR[Dea]ILNPAAIPEGQFIDSRK (SEQ ID NO: 147)	P12883	0.28
肌球蛋白-7	RNHLR[Dea]VVDSLQT (SEQ ID NO: 148)	P12883	0.31
肌球蛋白-7	R[Dea]VR[Dea]ELENELEAEQK (SEQ ID NO: 149)	P12883	0.40
肌球蛋白-7	AVFGAAAPYLR[Dea]K (SEQ ID NO: 150)	P12883	0.42
肌球蛋白-7	LEAR[Dea]VR[Dea]ELENELEAEQK (SEQ ID NO: 151)	P12883	0.43
肌球蛋白-7	YR[Dea]ILNPAAIPEGQFIDSRK (SEQ ID NO: 152)	P12883	0.51
肌球蛋白-7	RYSR[Dea]ILNPAAIPEGQFIDSRK (SEQ ID NO: 153)	P12883	0.52
肌球蛋白-7	DFELNALNAR[Dea]IEDEQALGSQLQK (SEQ ID NO: 154)	P12883	0.58
肌球蛋白-7	AEETQRSVNDLTSQR[Dea]AK (SEQ ID NO: 155)	P12883	0.60
肌球蛋白-7	RSVNDLTSQR[Dea]AK (SEQ ID NO: 156)	P12883	0.74
肌球蛋白-7	R[Dea]VRELENELEAEQK (SEQ ID NO: 157)	P12883	0.76
肌球蛋白-7	YRILNPAAIPEGQFIDSR[Dea]K (SEQ ID NO: 158)	P12883	0.81
肌球蛋白-7	RVIQYFAVIAAIGDR[Dea]SK (SEQ ID NO: 159)	P12883	0.86
肌球蛋白-7	RYSR[Dea]ILNPAAIPEGQFIDSR[Dea]K (SEQ ID NO: 160)	P12883	0.96
肌球蛋白结合蛋白 C	EPVFIPR[Dea]PGITYEPPNYK (SEQ ID NO: 15)	A8MXZ9	0.03
肌球蛋白结合蛋白 C	VRWQR[Dea]GGSDISASNK (SEQ ID NO: 161)	A8MXZ9	0.09
肌球蛋白结合蛋白 C	PR[Dea]PQVTWTK (SEQ ID NO: 162)	A8MXZ9	0.21
肌原调节蛋白-2	R[Dea]VATPFGGFEEK (SEQ ID NO: 16)	Q9NPC6	0.01
肌原调节蛋白-2	AELPDYR[Dea]SFNR[Dea]VATPFGGFEEK (SEQ ID NO: 17)	Q9NPC6	0.02
磷酸葡萄糖变位酶	SGEHDFGAAFDGDGDR[Dea]NMILGK	P36871	0.86

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p_kw
-1	(SEQ ID NO: 163)		
磷酸葡萄糖变位酶-1	DLEALMFDR[Dea]SFVVGK (SEQ ID NO: 164)	P36871	0.87
丝束蛋白(Plastin)-2	VNDDIIVNWVNETLR[Dea]EAKK (SEQ ID NO: 165)	P13796	0.45
组装抑制蛋白(Profilin)-1	C[CAM]SVIR[Dea]DS[Dhy]LLQDGEFSMDLRTK (SEQ ID NO: 166)	P07737	0.18
肌联蛋白	C[CAM]DVS[Dhy]R[Dea]GDWVTALASVTK (SEQ ID NO: 167)	Q8WZ42	0.17
原肌球蛋白*	ETR[Dea]AEFAERSVTKEK (SEQ ID NO: 21)	B7Z596	0.002*
肌钙蛋白 I	NIDALSGMEGR[Dea]K (SEQ ID NO: 18)	P19429	0.02
肌钙蛋白 I	ESLDLR[Dea]AHLK (SEQ ID NO: 19)	P19429	0.02
肌钙蛋白 I	YR[Dea]AYATEPHAK (SEQ ID NO: 168)	P19429	0.09
肌钙蛋白 I	[PGQ]-QELEREAEER[Dea]R[Dea]GEK (SEQ ID NO: 169)	P19429	0.49
肌钙蛋白 T	PR[Dea]SFMPNLVPPK (SEQ ID NO: 20)	E7EPW4	0.01
肌钙蛋白 T	GERVDFDDIHR[Dea]K (SEQ ID NO: 170)	E7EPW4	0.06
肌钙蛋白 T	EAEDGPMEESKPKPR[Dea] (SEQ ID NO: 171)	E7EPW4	0.23
肌钙蛋白 T	AEAETEETR[Dea]AEDEEEEEAK (SEQ ID NO: 172)	E7EPW4	0.66
微管蛋白 α -1B 链	HVPR[Dea]AVFVDLEPTVIDEVR[Dea]TGTyr[Dea]QLFHPEQLITGK (SEQ ID NO: 173)	P68363	0.43
微管蛋白 α -4A 链	HVPR[Dea]AVFVDLEPTVIDEIRN[Dea]GPYRQ[Dea]LFHPEQLITGK (SEQ ID NO: 174)	P68366	0.26
微管蛋白 α -4A 链	EIIDPVLDR[Dea]IR[Dea]K (SEQ ID NO: 175)	P68366	0.72
微管蛋白 α -8 链	EDAANNYAR[Dea]GHYTVGK (SEQ ID NO: 176)	C9J2C0	0.37
波形蛋白	FADLSEAAN[Dea]RNNDALR[Dea]QAK (SEQ ID NO: 22)	P08670	0.03
波形蛋白	TVETR[Dea]DGQVINETSQHDDLE (SEQ ID NO: 177)	P08670	0.09
热休克蛋白 β -1	LATQSNEITIPVTFESR[Dea]AQLGGPEAAK (SEQ ID NO: 178)	P04792	0.34
热休克蛋白 β -7	RHPHTEHVQQTFR[Dea]TEIK (SEQ ID NO: 179)	Q9UBY9	0.05

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p _{kw}
	NO: 9)		
富含亮氨酸的含 PPR 基序的蛋白	IPENIYRGIR[Dea]N[Dea]LLESYHVP EL (SEQ ID NO: 179)	P42704	0.55
肌钙蛋白 C	SEEELSDLFR[Dea]MFDK (SEQ ID NO: 180)	P63316	0.69
α -1-抗胰蛋白酶	ELDR[Dea]DTVFALVN[Dea]YIFFK (SEQ ID NO: 181)	P01009	0.61
载脂蛋白 A-I	[PGE]-EN[Dea]GGAR[Dea]LA EYHAK (SEQ ID NO: 182)	P02647	0.58
载脂蛋白 A-I	DSGR[Dea]DYVSQFEGSALGK (SEQ ID NO: 183)	P02647	0.90
载脂蛋白 A-I	AKPALEDLR[Dea]QG LLPVLESFK (SEQ ID NO: 184)	P02647	0.96
钙网蛋白 (Calreticulin)	PR[Dea]QIDNP DYK (SEQ ID NO: 185)	P27797	0.17
钙腔蛋白 (Calumenin)	TEREQFVEFR[Dea]DK (SEQ ID NO: 186)	O43852	0.06
肌钙腔蛋白 (Sarc calumenin)	IER[Dea]AITQELP GLLGSLGLGK (SEQ ID NO: 187)	Q86TD4	0.24
肌钙腔蛋白	TIEGIVMAADSAR[Dea]S FSPLEK (SEQ ID NO: 188)	Q86TD4	0.60
核心蛋白聚糖 (Decorin)	ISR[Dea]VDAASLK (SEQ ID NO: 189)	P07585	0.25
β -2-糖蛋白 1	ATVVYQGER[Dea]VK (SEQ ID NO: 190)	P02749	0.55
组织蛋白酶 D	VER[Dea]QVFG EATK (SEQ ID NO: 191)	P07339	0.14
光蛋白聚糖 (Lumican)	YLYLR[Dea]NNQIDHIDEK (SEQ ID NO: 192)	P51884	0.66
肌红蛋白	ALELFR[Dea]K (SEQ ID NO: 193)	P02144	0.11
泛素羧基末端水解 酶 5	EEDPATGTGDPPR[Dea]K (SEQ ID NO: 194)	P45974	0.50
2,4-二烯酰基-辅酶 A 还原酶	GAFSR[Dea]LDPTGTFEK (SEQ ID NO: 195)	B7Z6B8	0.26
28S 核糖体蛋白 S36	PNVSEALR[Dea]SAGLPSHSSVISQHSK (SEQ ID NO: 196)	P82909	0.29
3-酮脂酰辅酶 A 硫 解酶	YALQSQQR[Dea]WK (SEQ ID NO: 197)	P42765	0.55
3-酮脂酰辅酶 A 硫 解酶	VSPETVDSVIMGNVLQSSSDAIYLAR[Dea]HVGLR[Dea]VGIPK (SEQ ID NO: 198)	P42765	0.82
乙酰辅酶 A 乙酰转	EVVIVSATR[Dea]TPIGSFLGSLSLPAT	P24752	0.07

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p_kw
移酶	K (SEQ ID NO: 199)		
乌头酸水合酶	SYLR[Dea]LRPDRVAMQDAT[Dhy]AQ[Dea]M[Oxi]AMLQFISSGLSK (SEQ ID NO: 25)	Q99798	0.01
乌头酸水合酶,	ANSVR[Dea]NAVQTQEFGPVPDTAR[Dea]YYK (SEQ ID NO: 26)	Q99798	0.03
乌头酸水合酶,	IVYGHLLDDPASQEIER[Dea]GK (SEQ ID NO: 27)	Q99798	0.03
乌头酸水合酶	SYLRLR[Dea]PDRVAMQDATAQMAMLQFISSGLSK (SEQ ID NO: 200)	Q99798	0.14
乌头酸水合酶	FR[Dea]GHLDNISNNLLIGAINIEN[Dea]GK (SEQ ID NO: 201)	Q99798	0.19
酰基辅酶 A 脱氢酶, C-4 至 C-12 直链, 同种型 CRA a	AFTGFIVEADTPGIQIGR[Dea]K (SEQ ID NO: 202)	Q5T4U5	0.15
酰基辅酶 A 脱氢酶, C-4 至 C-12 直链, 同种型 CRA a	EAR[Dea]EEIIPVAAEYDK (SEQ ID NO: 203)	Q5T4U5	0.26
酰基辅酶 A 脱氢酶, C-4 至 C-12 直链, 同种型 CRA a	TR[Dea]PVVAAGAVGLAQRALDEATK (SEQ ID NO: 204)	Q5T4U5	0.93
腺苷酸激酶 4	LLR[Dea]AVILGPPGSGK (SEQ ID NO: 28)	P27144	0.00
腺苷酸激酶同工酶 1	KR[Dea]GETSGR[Dea]VDDNEETIK (SEQ ID NO: 205)	Q5T9B7	0.95
第 3 类醇脱氢酶	VAGASR[Dea]IIGVDINK (SEQ ID NO: 29)	P11766	0.05
乙醛脱氢酶	VAFTGSTIEGR[Dea]VIQVAAGSSNLK (SEQ ID NO: 206)	P05091	0.08
乙醛脱氢酶	SR[Dea]VVGPNPFDK (SEQ ID NO: 207)	P05091	0.55
天冬氨酸转氨酶	PYVLPSVR[Dea]K (SEQ ID NO: 208)	P00505	0.22
ATP 合酶亚基 α	R[Dea]TGAIVDVPVGEELLGR[Dea]VV DALGNAIDGK (SEQ ID NO: 30)	P25705	0.00
ATP 合酶亚基 α	AIEEQVAVIYAGVR[Dea]GYLDK (SEQ ID NO: 31)	P25705	0.01
ATP 合酶亚基 α	GIRPAINVGLSVSR[Dea]VGSAAQ[Dea]TRAMK (SEQ ID NO: 32)	P25705	0.01
ATP 合酶亚基 α	QGQYSPMAIEEQVAVIYAGVR[Dea]GYLDK (SEQ ID NO: 33)	P25705	0.03
ATP 合酶亚基 β	IPVGPETLGRIMNVIGEPIDER[Dea]GPIK (SEQ ID NO: 209)	P06576	0.26

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p_kw
ATP 合酶亚基 β	IPVGPETLGR[Dea]IMNVIGEPIDER[Dea]GPIK (SEQ ID NO: 210)	P06576	0.51
ATP 合酶亚基 β	IQR[Dea]FLSQPFQVAEVFTGHMGK (SEQ ID NO: 211)	P06576	0.70
ATP 合酶亚基 β	AHGGYSVFAGVGERTR[Dea]EGN[Dea]DLYHEMIESGVINLK (SEQ ID NO: 212)	P06576	0.87
ATP 合酶亚基 ϵ	PRAEEER[Dea]R[Dea]IAAEEK (SEQ ID NO: 213)	P56385	0.32
ATP 合酶-偶联因子 6,	SGGPVDASSEYQQELER[Dea]ELFK (SEQ ID NO: 34)	P18859	0.00
氯离子细胞内通道蛋白 4	YR[Dea]NFDIPK (SEQ ID NO: 35)	Q9Y696	0.04
柠檬酸合酶	SQLSAAVTALNSESIN[Dea]FARAYAQGLSR[Dea]TK (SEQ ID NO: 214)	B4DJV2	0.34
柠檬酸合酶	TVVGQITVDDMMYGGMR[Dea]GMK (SEQ ID NO: 215)	B4DJV2	0.75
B 型肌酸激酶	LR[Dea]FPAEDEFDPDLAHNNHMAK (SEQ ID NO: 216)	P12277	0.33
B 型肌酸激酶	EVFTR[Dea]FC[CAM]TGLTQIETLFK (SEQ ID NO: 217)	P12277	0.82
S 型肌酸激酶,	C[CAM]TR[Dea]AER[Dea]R[Dea]EVENVAITALEGLK (SEQ ID NO: 218)	P17540	0.31
S 型肌酸激酶,	TR[Dea]AER[Dea]R[Dea]EVENVAITAL EGLK (SEQ ID NO: 219)	P17540	0.59
S 型肌酸激酶,	EVREQ[Dea]PR[Dea]LFPPSADYPDLRK (SEQ ID NO: 220)	P17540	0.72
细胞色素 c	EER[Dea]ADLIAYLK (SEQ ID NO: 36)	C9JFR7	0.01
细胞色素 c	KEER[Dea]ADLIAYLK (SEQ ID NO: 221)	C9JFR7	0.01
细胞色素 c 氧化酶亚基 5A	EIYPYVIQELR[Dea]PTLNELGISTPEELGLDKV (SEQ ID NO: 222)	P20674	0.07
细胞色素 c 氧化酶亚基 5A	SHGSQETDEEFDARWVTFN[Dea]KPDIDAWELR[Dea]K (SEQ ID NO: 223)	P20674	0.18
细胞色素 c 氧化酶亚基 5A	ASGGGVPTDEEQATGLER[Dea]EIMLA AK (SEQ ID NO: 224)	P10606	0.49
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	VLR[Dea]NAAGNFYINDK (SEQ ID NO: 37)	P30038	0.00
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	AADMLSGPR[Dea]R[Dea]AEILAK (SEQ ID NO: 38)	P30038	0.01
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	VANEPVLAFTQGSPER[Dea]DALQK (SEQ ID NO: 39)	P30038	0.03

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p_kw
8-1-吡咯啉-5-羧酸 脱氢酶	TVIQAEIDAAAELIDFFR[Dea]FNAK (SEQ ID NO: 225)	P30038	0.12
二氢硫辛酸脱氢酶	NFQR[Dea]ILQK (SEQ ID NO: 226)	P09622	0.87
电子转移黄素蛋白 亚基 α	VVVSGGR[Dea]GLK (SEQ ID NO: 227)	P13804	0.18
电子转移黄素蛋白 亚基 α	VFSVR[Dea]GTSFDAAATSGGSASSEK (SEQ ID NO: 228)	P13804	0.18
电子转移黄素蛋白 亚基 α,	LLYDLADQLHAAVGASR[Dea]AAVDA GFVPNDMQVGQTGK (SEQ ID NO: 229)	P13804	0.48
电子转移黄素蛋白 亚基 β	VEREIDGGLETLR[Dea]LK (SEQ ID NO: 230)	P38117	0.17
电子转移黄素蛋白 亚基 β	LSVISVEDPPQR[Dea]TAGVK (SEQ ID NO: 231)	P38117	0.70
延伸因子 Tu,	PFLLPVEAVYSVPGR[Dea]GTVVTGTL ER[Dea]GILK (SEQ ID NO: 232)	P49411	0.34
延伸因子 Tu,	SLERAEAGDN[Dea]LGALVR[Dea]GLK (SEQ ID NO: 233)	P49411	0.53
延伸因子 Tu,	NIR[Dea]TVVTGIEMFHK (SEQ ID NO: 234)	P49411	0.58
延伸因子 Tu,	PFLLPVEAVYSVPGR[Dea]GTVVTGTL ERGILK (SEQ ID NO: 235)	P49411	0.80
延伸因子 Tu,	SLERAEAGDNLGALVR[Dea]GLK (SEQ ID NO: 236)	P49411	0.80
烯酰基-辅酶 A 水合 酶,	EMVLTGDR[Dea]ISAQDAK (SEQ ID NO: 40)	P30084	0.01
烯酰基-辅酶 A 水合 酶,	AQFAQPEILIGTIPGAGGTQ[Dea]RLTR[Dea]AVGK (SEQ ID NO: 237)	P30084	0.11
ES1 蛋白质同源物,	VLR[Dea]GVEVTVGHEQEEGGK (SEQ ID NO: 41)	P30042	0.00
延胡索酸水合酶,	IANDIRFLGSGPR[Dea]SGLGELILPEN[Dea]EPGSSIMPGK (SEQ ID NO: 238)	P07954	0.19
延胡索酸水合酶,	YYGAQTVR[Dea]STMNFK (SEQ ID NO: 239)	P07954	0.55
谷胱甘肽 S-转移酶 κ1	DSGNKPPGILLPR[Dea]K (SEQ ID NO: 240)	Q9Y2Q3	0.95
谷胱甘肽 S-转移酶 P	DQQEAALVDMVNDGVEDLR[Dea]C[C AM]K (SEQ ID NO: 241)	P09211	0.63
热休克 70kDa 蛋白 1A/1B	AQIHDLVLVGGSTR[Dea]IPK (SEQ ID NO: 242)	P08107	0.68
热休克 70kDa 蛋白	DAGVIAGLNVLRIN[Dea]EPTAAAIAY	P08107	0.74

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p _{-kw}
1A/1B	GLDR[Dea]TGK (SEQ ID NO: 243)		
热休克蛋白 HSP 90- α	HLEINPDHSIIETLR[Dea]QK (SEQ ID NO: 42)	P07900	0.04
热休克蛋白 HSP 90- β	EQVANSAFVERVR[Dea]K (SEQ ID NO: 244)	P08238	0.60
异柠檬酸脱氢酶 [NAD]亚基 α ,	ANIMR[Dea]MSDGLFLQK (SEQ ID NO: 245)	P50213	0.84
异柠檬酸脱氢酶 [NADP],	IWYEHR[Dea]LIDDMVAQVLK (SEQ ID NO: 246)	P48735	0.13
异柠檬酸脱氢酶 [NADP],	SNLDR[Dea]ALGRQ (SEQ ID NO: 247)	P48735	0.19
异柠檬酸脱氢酶 [NADP],	ATDFVADR[Dea]AGTFK (SEQ ID NO: 248)	P48735	0.35
异柠檬酸脱氢酶 [NADP],	PITIGR[Dea]HAHGDQYK (SEQ ID NO: 249)	P48735	0.58
异柠檬酸脱氢酶 [NADP],	TIEAEAAHGTVTR[Dea]HYREHQK (SEQ ID NO: 250)	P48735	0.73
酮亚胺还原酶 μ -晶 状体蛋白	HR[Dea]GYLGVMPPAYSAAEDALTTK (SEQ ID NO: 251)	Q14894	0.21
酮亚胺还原酶 μ -晶 状体蛋白	PGAHINAVGASR[Dea]PDWR[Dea]ELD DELMK (SEQ ID NO: 252)	Q14894	0.49
L-乳酸脱氢酶 A 链	GEMMDLQHGSFLR[Dea]TPK (SEQ ID NO: 253)	P00338	0.23
L-乳酸脱氢酶 B 链	HR[Dea]VIGSGC[CAM]NLDSAR[Dea]F R[Dea]YLMAEK (SEQ ID NO: 254)	P07195	0.87
L-乳酸脱氢酶 B 链	IVVVTAGVRQQEGESR[Dea]LNLVQRN [Dea]VNVFK (SEQ ID NO: 255)	P07195	0.87
Lon 蛋白酶同源物	LQQ[Dea]RLGR[Dea]EVEEK (SEQ ID NO: 256)	K7EKE6	0.97
苹果酸脱氢酶,	GC[CAM]DVVVIPAGVPR[Dea]K (SEQ ID NO: 257)	P40926	0.49
苹果酸脱氢酶,	NSPLVSR[Dea]LTLYDIAHTPGVAADLS HIETK (SEQ ID NO: 258)	P40926	0.97
甲基丁烯酰-辅酶 A 羧化酶亚基 α ,	QEGHIFGPPPSAIR[Dea]DMGIK (SEQ ID NO: 259)	Q96RQ3	0.31
甲基丙二酸半醛脱 氢酶[酰化],	NLR[Dea]VNAGDQPGADLGPLITPQAK (SEQ ID NO: 260)	Q02252	0.70
NAD(P)转氨酶	AATITPFR[Dea]K (SEQ ID NO: 43)	Q13423	0.05
NAD(P)转氨酶,	SMGAIVR[Dea]GFDTR[Dea]AAALEQF K (SEQ ID NO: 261)	Q13423	0.11
NADH 脱氢酶[泛	PIFSR[Dea]DMNEAK (SEQ ID NO: 262)	P56556	0.16

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p _{kw}
醌][α 亚复合物亚基 6			
过氧化物氧化还原 酶-1	R[Dea]TIAQDYGVLK (SEQ ID NO: 263)	Q06830	0.21
过氧化物氧化还原 酶-2	EGGLGPLNIPLADVTR[Dea]R[Dea]LS EDYGVLK (SEQ ID NO: 264)	P32119	0.16
过氧化物氧化还原 酶-5,	VR[Dea]LLADPTGAFGK (SEQ ID NO: 265)	P30044	0.16
过氧化物氧化还原 酶-6	LPFPIIDDR[Dea]NR[Dea]ELAILLGMLD PAEK (SEQ ID NO: 266)	P30041	0.68
磷酸载体蛋白	VYFR[Dea]LPRPPPEMPESLK (SEQ ID NO: 44)	Q00325	0.00
丙酮酸脱氢酶 E1 组 分亚基 α , 体细胞型,	C[CAM]DLHR[Dea]LEEGPPVTTVLTR[Dea]EDGLK (SEQ ID NO: 45)	P08559	0.01
丙酮酸脱氢酶 E1 组 分亚基 α , 体细胞型,	DR[Dea]MVNSNLASVEELK (SEQ ID NO: 267)	P08559	0.60
丙酮酸脱氢酶蛋白 X 组分,	HSLDASQGTATGPR[Dea]GIFTK (SEQ ID NO: 268)	O00330	0.37
短链特异性酰基辅 酶 A 脱氢酶,	SAAVVFASTDR[Dea]ALQNK (SEQ ID NO: 269)	P16219	0.54
应激-70 蛋白,	SDIGEVILVGGMTR[Dea]MPK (SEQ ID NO: 270)	P38646	0.11
应激-70 蛋白,	IVR[Dea]ASN[Dea]GDAWVEAHGK (SEQ ID NO: 271)	P38646	0.16
琥珀酸脱氢酶[泛醌] 黄素蛋白亚基,	VTLEYR[Dea]PVIDK (SEQ ID NO: 272)	P31040	0.07
琥珀酸脱氢酶[泛醌] 黄素蛋白亚基,	IYQR[Dea]AFGGQSLK (SEQ ID NO: 273)	P31040	0.40
琥珀酸脱氢酶[泛醌] 铁硫亚基,	FAIYR[Dea]WDPDK (SEQ ID NO: 46)	P21912	0.05
琥珀酰基-辅酶 A 连 接酶 [ADP/GDP 形 成]亚基 α ,	TR[Dea]LIGPNC[CAM]PGVINPGEC[CA M]K (SEQ ID NO: 47)	P53597	0.02
琥珀酰基-辅酶 A 连 接酶 [ADP/GDP 形 成]亚基 α ,	PVVSFIAGLTAPPGR[Dea]R[Dea]MGHA GAILAGGK (SEQ ID NO: 274)	P53597	0.09
琥珀酰基-辅酶 A 连 接酶 [ADP 形成]亚 基 β ,	INFDSNSAYR[Dea]QK (SEQ ID NO: 275)	Q9P2R7	0.27
琥珀酰基-辅酶 A 连 接酶 [ADP 形成]亚 基 β ,	GRIC[CAM]N[Dea]QVLVC[CAM]ER[De a]K (SEQ ID NO: 276)	Q9P2R7	0.39

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p _{kw}
琥珀酰基-辅酶 A 连接酶[ADP 形成]亚基 β ,	IFDLQDWTQEDER[Dea]DK (SEQ ID NO: 277)	Q9P2R7	0.73
琥珀酰基-辅酶 A:3-酮酸辅酶 A 转移酶 1,	ADR[Dea]AGNVIFR[Dea]K (SEQ ID NO: 48)	P55809	0.04
琥珀酰基-辅酶 A:3-酮酸辅酶 A 转移酶 1,	GLTAVSNNAGVDNFGLLLR[Dea]SK (SEQ ID NO: 278)	P55809	0.93
硫氧还蛋白依赖性过氧化物还原酶,	HLSVNDLPVGR[Dea]SVEETLRLVK (SEQ ID NO: 279)	P30048	0.18
硫氧还蛋白依赖性过氧化物还原酶,	HLSVNDLPVGR[Dea]SVEETLR[Dea]LVK (SEQ ID NO: 280)	P30048	0.68
三功能酶亚基 α ,	ALTSFER[Dea]DSIFSNLTGQLDYQGFEK (SEQ ID NO: 281)	P40939	0.99
极长链的特异性酰基-辅酶 A 脱氢酶,	SDSHPSDALTR[Dea]K (SEQ ID NO: 282)	P49748	0.32
极长链的特异性酰基-辅酶 A 脱氢酶,	ITAFVVER[Dea]GFGGITHGPPEK (SEQ ID NO: 283)	P49748	0.55
极长链的特异性酰基-辅酶 A 脱氢酶,	ALVER[Dea]GGVVTSNPLGF (SEQ ID NO: 284)	P49748	0.87
电压依赖性阴离子选择性通道蛋白 1	SR[Dea]VTQSNEAVGYK (SEQ ID NO: 49)	P21796	0.02
60kDa 热休克蛋白,	FDR[Dea]GYISPYFINTSK (SEQ ID NO: 50)	P10809	0.04
61kDa 热休克蛋白,	VVR[Dea]TALLDAAGVASLLTTAEVVVTEIPK (SEQ ID NO: 285)	P10809	0.07
62kDa 热休克蛋白,	LVQDVANNTNEEAGDGTATVLR[Dea]SIK (SEQ ID NO: 286)	P10809	0.14
63kDa 热休克蛋白,	GANPVEIR[Dea]R[Dea]GVMLAVDAVIAELK (SEQ ID NO: 287)	P10809	0.22
64kDa 热休克蛋白,	GR[Dea]TVIEQSWGSPK (SEQ ID NO: 288)	P10809	0.55
65kDa 热休克蛋白,	GANPVEIRR[Dea]GVMLAVDAVIAELK (SEQ ID NO: 289)	P10809	0.58
66kDa 热休克蛋白,	FGADAR[Dea]ALMLQGVDLLADAVAVTMGPK (SEQ ID NO: 290)	P10809	0.93
细胞质乌头酸水合酶	PAR[Dea]VILQDFTGVPVVDFAAMR[Dea]DAVK (SEQ ID NO: 291)	P21399	0.77
聚合酶 I 和转录物释放因子	TVRGSLEIR[Dea]QAGQIK (SEQ ID NO: 292)	Q6NZI2	0.09

蛋白质	肽	UniProtKB 登录号	p _{-kw}
聚合酶 I 和转录物释放因子	TVR[Dea]GSLER[Dea]QAGQIK (SEQ ID NO: 293)	Q6NZI2	0.34
三功能酶亚基 β ,	PNIR[Dea]NVVVVDGVR[Dea]TPFLLSGTSYK (SEQ ID NO: 51)	P55084	0.02
乌头酸水合酶,	TGR[Dea]EDIANLADEFK (SEQ ID NO: 52)	Q99798	0.00
乌头酸水合酶,	R[Dea]LQLLEPFDK (SEQ ID NO: 53)	Q99798	0.01
双特异性蛋白磷酸酶 3	LGITHVLNAAEGR[Dea]SFMHVNTNANFYK (SEQ ID NO: 54)	P51452	0.01
延伸因子 1- α 2	ASGVSLLEALDTILPPTR[Dea]PTDK (SEQ ID NO: 294)	Q05639	0.45
延伸因子 1- α 2	IGGIGTVPVGR[Dea]VETGILR[Dea]PGMVVTFAPVNITTEVK (SEQ ID NO: 295)	Q05639	0.80
延伸因子 2	VNFTVDQIR[Dea]AIMDK (SEQ ID NO: 296)	P13639	0.09
真核翻译起始因子 4B	VAPAQPSEEGPGR[Dea]K (SEQ ID NO: 297)	E7EX17	0.95
组蛋白 H2B 1-M 型	AVR[Dea]LLLPGELAK (SEQ ID NO: 298)	Q99879	0.99
组蛋白 H3(片段)	LPFQR[Dea]LVR[Dea]EIAQDFK (SEQ ID NO: 299)	K7EK07	0.36
组蛋白 H4	RISGLIYEETR[Dea]GVLK (SEQ ID NO: 300)	P62805	0.65
组蛋白 H4	VFLENVIR[Dea]DAVTYTEHAK (SEQ ID NO: 301)	P62805	0.74
成神经细胞分化相关蛋白 AHNK	FGVSTGR[Dea]EGQTPK (SEQ ID NO: 55)	Q09666	0.01
纤维蛋白原 α 链	ESSSHHPGLAEFPSR[Dea]GK (SEQ ID NO: 302)	P02671	0.39
纤维蛋白原 γ 链	R[Dea]LDGSVDFK (SEQ ID NO: 303)	C9JEU5	0.62
触珠蛋白	LR[Dea]TEGDGVYTLNNEK (SEQ ID NO: 304)	P00738	0.40
血清铁传递蛋白	DYELLC[CAM]LDGTR[Dea]K (SEQ ID NO: 305)	P02787	0.10
胶原 α -3(VI)链	DVVFLLDGSEGVR[Dea]SGFPLLK (SEQ ID NO: 56)	E7ENL6	0.03

[0112] 表1C:在健康对比局部缺血和健康对比IDCM受试者中上调或下调的瓜氨酸化肽。
I:局部缺血性心脏病 (ISHD); I/N=局部缺血对比正常(健康); ID=特发性心肌病 (IDCM);
ID/N=IDCM对比对照(健康)。

蛋白	I/N	I
ES1 蛋白质同源物	10.32617915	上升
乌头酸水合酶	8.871956482	上升
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	7.914843955	上升
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	7.552745345	上升
波形蛋白	6.886890573	上升
成神经细胞分化相关蛋白 AHNAK	6.631800512	上升
血清剥夺反应蛋白	5.310526396	上升
烯酰基-辅酶 A 水合酶	5.304039413	上升
乌头酸水合酶	5.18248378	上升
肽基脯氨酸顺反异构酶 A	4.691862761	上升
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	4.531765219	上升
氯离子细胞内通道蛋白 4	4.143020683	上升
醇脱氢酶 1B	3.979284116	上升
腺苷酸激酶 4	3.954001114	上升
脂肪酸结合蛋白	3.891772332	上升
肌球蛋白结合蛋白 C	3.770886194	上升
乌头酸水合酶	3.740779581	上升
乌头酸水合酶,\	3.54332942	上升
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	3.484011583	上升
双特异性蛋白磷酸酶 3	3.348178139	上升
丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体细胞型	3.336292196	上升
电压依赖性阴离子选择性通道蛋白 1	3.075867039	上升
热休克蛋白 HSP 90- α	3.018162117	上升
琥珀酸脱氢酶[泛醌]铁硫亚基	2.797967329	上升
乌头酸水合酶	2.646902712	上升
碳酸酐酶 3	2.393105549	上升
血清剥夺反应蛋白	2.181113303	上升
ATP 合酶亚基 α	2.125964715	上升
琥珀酰基-辅酶 A:3-酮酸辅酶 A 转移酶 1	2.02609809	上升
第 3 类醇脱氢酶	1.955112799	上升
琥珀酰基-辅酶 A 连接酶[ADP/GDP 形成]亚基 α	1.813434217	上升
肌钙蛋白 I, 心肌	1.770629108	上升
ATP 合酶亚基 α	1.757665967	上升
ATP 合酶亚基 α	1.716317069	上升
细丝蛋白-C	1.707322518	上升
60kDa 热休克蛋白	1.691322503	上升

蛋白	I/N	I
热休克蛋白 β -7	1.659329245	上升
肌原调节蛋白-2	1.640224333	上升
细胞色素 c(片段)	1.516000483	上升
LIM 结构域结合蛋白 3	1.456615429	上升
三功能酶亚基 β	1.262914035	上升
磷酸载体蛋白	0.90684035	下降
ATP 合酶亚基 α	0.821046528	下降
胶原 α -3(VI)链	0.787448747	下降
肌原调节蛋白-2	0.750016161	下降
肌钙蛋白 I	0.707050891	下降
NAD(P)转氢酶	0.689499324	下降
α -晶状体蛋白 B 链	0.574071929	下降
ATP 合酶-偶联因子 6	0.558912444	下降
肌钙蛋白 T, 心肌(片段)	0.474388613	下降
B-烯醇酶	0.324050919	下降
腺苷酸激酶同工酶 1	0.134886108	下降

[0113] 表1D: 在健康对比局部缺血和健康对比IDCM受试者中上调或下调的瓜氨酸化肽。
 I: 局部缺血性心脏病 (ISHD); I/N=局部缺血对比正常(健康); ID=特发性心肌病 (IDCM);
 ID/N=IDCM对比对照(健康)

蛋白	ID/N	ID
ATP 合酶亚基 α	18.47537571	上升
ATP 合酶亚基 α	15.31631115	上升
肌原调节蛋白-2	14.27029851	上升
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	12.08226474	上升
ATP 合酶亚基 α	9.229219757	上升
ATP 合酶亚基 α	7.956015709	上升
ES1 蛋白质同源物	6.450987219	上升
δ -L-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	4.442955018	上升
烯酰基-辅酶 A 水合酶	3.92858654	上升
电压依赖性阴离子选择性通道蛋白 1	3.872789427	上升
乌头酸水合酶	3.868674325	上升
磷酸载体蛋白	3.29840839	上升
丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体细胞型	3.241986763	上升
乌头酸水合酶	3.202560876	上升
波形蛋白	3.18977634	上升

蛋白	ID/N	ID
NAD(P)转氢酶	3.087350045	上升
三功能酶亚基 β	3.078371104	上升
乌头酸水合酶	3.033531051	上升
肌球蛋白结合蛋白 C	2.938608028	上升
氯离子细胞内通道蛋白 4	2.768865949	上升
乌头酸水合酶	2.733376766	上升
热休克蛋白 HSP 90- α	2.673523729	上升
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	2.570795078	上升
胶原 α -3(VI)链	2.444430998	上升
血清剥夺反应蛋白	2.396582653	上升
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	2.194292783	上升
醇脱氢酶 1B	1.513050932	上升
乌头酸水合酶	1.359569141	上升
琥珀酸脱氢酶[泛醌]铁硫亚基	1.182430989	上升
双特异性蛋白磷酸酶 3	1.089131195	上升
血清剥夺反应蛋白	1.05734493	上升
60kDa 热休克蛋白	0.676500721	下降
热休克蛋白 β -7	0.569844647	下降
细丝蛋白-C	0.543903731	下降
第 3 类醇脱氢酶	0.539343446	下降
腺苷酸激酶 4	0.516646378	下降
脂肪酸结合蛋白	0.500998082	下降
肌原调节蛋白-2	0.483486835	下降
成神经细胞分化相关蛋白 AHNAK	0.440092248	下降
细胞色素 c(片段)	0.256014197	下降
琥珀酰基-辅酶 A 连接酶[ADP/GDP 形成]亚基 α	0.234602593	下降
肽基脯氨酰基顺反异构酶 A	0.231427358	下降
碳酸酐酶 3	0.230059909	下降
LIM 结构域结合蛋白 3	0.21853459	下降
肌钙蛋白 I	0.188118204	下降
肌钙蛋白 I	0.184373163	下降
肌钙蛋白 T	0.153543871	下降
α -晶状体蛋白 B 链	0.145172906	下降
琥珀酰基-辅酶 A:3-酮酸辅酶 A 转移酶 1	0.121733077	下降
ATP 合酶-偶联因子 6	0.076789945	下降
腺苷酸激酶同工酶 1	0.023786955	下降
β -烯醇酶	0.013231973	下降

[0114] 表1E:I组和ID组中均上升的蛋白质。I:局部缺血性心脏病(ISHD);I/N=局部缺血对比正常(健康);ID=特发性心肌病(IDCMI);ID/N=IDCM对比对照(健康)。

蛋白	I/N	I	ID/N	ID
ATP 合酶亚基 α	2.125964715	上升	18.47537571	上升
ATP 合酶亚基 α	1.757665967	上升	15.31631115	上升
甘油醛-3-磷酸脱氢酶	7.914843955	上升	12.08226474	上升
ATP 合酶亚基 α	1.716317069	上升	7.956015709	上升
ES1 蛋白质同源物	10.32617915	上升	6.450987219	上升
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	4.531765219	上升	4.442955018	上升
烯酰基-辅酶 A 水合酶	5.304039413	上升	3.92858654	上升
电压依赖性阴离子选择性通道蛋白 1	3.075867039	上升	3.872789427	上升
乌头酸水合酶	3.54332942	上升	3.868674325	上升
丙酮酸脱氢酶 E1 组分亚基 α , 体细胞型	3.336292196	上升	3.241986763	上升
乌头酸水合酶	8.871956482	上升	3.202560876	上升
波形蛋白	6.886890573	上升	3.18977634	上升
三功能酶亚基 β	1.262914035	上升	3.078371104	上升
乌头酸水合酶	5.18248378	上升	3.033531051	上升
肌球蛋白结合蛋白 C	3.770886194	上升	2.938608028	上升
氯离子细胞内通道蛋白 4	4.143020683	上升	2.768865949	上升
乌头酸水合酶	3.740779581	上升	2.733376766	上升
热休克蛋白 HSP 90- α	3.018162117	上升	2.673523729	上升
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	7.552745345	上升	2.570795078	上升
血清剥夺反应蛋白	2.181113303	上升	2.396582653	上升
δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶	3.484011583	上升	2.194292783	上升
醇脱氢酶 1B	3.979284116	上升	1.513050932	上升
乌头酸水合酶	2.646902712	上升	1.359569141	上升
琥珀酸脱氢酶[泛醌]铁硫亚基	2.797967329	上升	1.182430989	上升
双特异性蛋白磷酸酶 3	3.348178139	上升	1.089131195	上升
血清剥夺反应蛋白	5.310526396	上升	1.05734493	上升

[0115] 表1F: I组和ID组中均下降的蛋白质。I: 局部缺血性心脏病 (ISHD); I/N=局部缺血对比正常 (健康); ID=特发性心肌病 (IDCM); ID/N=IDCM对比对照 (健康)。

蛋白	I/N	I	ID/N	ID
肌钙蛋白 I	0.707051	下降	0.188118	下降
α -晶状体蛋白 B 链	0.574072	下降	0.145173	下降
ATP 合酶-偶联因子 6	0.558912	下降	0.07679	下降
肌钙蛋白 T, 心肌(片段)	0.474389	下降	0.153544	下降
B-烯醇酶	0.324051	下降	0.013232	下降
腺苷酸激酶同工酶 1	0.134886	下降	0.023787	下降

[0016] 使用抗修饰的瓜氨酸抗体对从ISHD、IDCM和非衰竭供体心脏 ($n=10$ /组) 获得的富含肌丝的级分和富含胞质的级分进行的蛋白质印迹证实了瓜氨酸化发生在细胞内蛋白质中。尽管各组之间关于每次印迹的条带数目或条带密度方面没有总体免疫反应性差别 (图1B), 但是对所述免疫反应性条带的胶内消化和后续质谱确定了处于预期分子量的主要肌小节蛋白 (例如肌球蛋白重链和轻链以及肌动蛋白。必须指出的是, 通过免疫1DE进行的定量评估会因凝胶条带中其它蛋白的存在以及使用质谱法进行直接位点特异性评估的挑战而混淆。

[0117] 为了进一步验证高丰度肌小节蛋白的瓜氨酸化, 进行DIGE 2D凝胶电泳 (pH4-7, 10% SDS PAGE)。将ISHD、IDHD和未衰竭的供体心脏 ($n=4$ /组) 的富含肌丝的级分和富含胞质的级分用PAD2预处理, 以诱导最大瓜氨酸化, 以1:1的比例与匹配的未处理样品混合, 以及同时通过2D凝胶电泳进行解析。肌小节蛋白, 包括肌动蛋白、TM和肌球蛋白轻链, 显示为被使用PAD2的异位处理瓜氨酸化 (图2)。

经修饰的肌小节蛋白的生化评估。

[0118] 为了测试瓜氨酸化是否可以影响肌小节蛋白功能, 将肌动蛋白、HMM、TM和肌钙蛋白用异位PAD2进行瓜氨酸化, 然后与各自相应的未修饰重组蛋白比较, 以确定瓜氨酸化是否影响它们的生物化学性质、结构性质或酶学性质。瓜氨酸化或未处理的HMM、TM或TM-TnI与F-肌动蛋白的结合使用经典的共沉淀测定法来确定 (图3A-C)。肌动蛋白的瓜氨酸化没有改变F-肌动蛋白的形成, 并且超过95%的肌动蛋白在离心后沉淀。与未修饰的TM相比, 瓜氨酸化的TM与F-肌动蛋白的结合增强 (图3A)。由于TM和HMM可以以协同方式影响彼此与F-肌动蛋白的结合 [Galinska A等人, The C terminus of cardiac troponin I stabilizes the Ca^{2+} -activated state of tropomyosin on actin filaments. *Circ Res* 2010, 106: 705-711], 所以我们在单独的TM与F-肌动蛋白结合较差、但是在肌球蛋白头部与F-肌动蛋白结合后结合增加的条件测试协同性 [Eaton BL. Tropomyosin binding to F-actin induced by myosin heads. *Science* 1976, 192: 1337-1339]。如图3B所示, 在低盐浓度下, 瓜氨酸化的TM能够在HMM存在下与F-肌动蛋白结合。

[0119] TM存在下心脏TnI与F-肌动蛋白的结合通过在F-肌动蛋白和TM存在下共沉淀瓜氨酸化的TnI来进行。据发现瓜氨酸化和非瓜氨酸化形式的心脏TnI都与F-肌动蛋白同样良好地结合 (图3C)

抑制HMM-ATP酶活性。

[0120] 为了验证瓜氨酸化肌小节蛋白对肌动球蛋白HMM-ATP酶活性的可能调节, 在瓜氨酸化的HMM、F-肌动蛋白和TM存在下进行实验。图4A中汇总的数据显示, 在瓜氨酸化HMM ($0.5 \mu\text{mol/L}$ HMM和 $7 \mu\text{mol/L}$ F-肌动蛋白) 存在下, 肌动球蛋白HMM-ATP酶活性从 $0.32 \pm 0.01 \text{ nmol Pi}$ 下降到 $0.22 \pm 0.002 \text{ nmol Pi}$, 对应于30%的酶活性降低。相比之下, F-肌动蛋白的瓜氨酸化在酶活性方面使肌动球蛋白HMM-ATP酶活性增强了多达55% (图4A)。当F-肌动蛋白和HMM都被瓜氨酸化时, ATP水解速率仍然大于对照 ($0.368 \pm 0.005 \text{ nmol Pi}$ 至 $0.32 \pm 0.01 \text{ nmol Pi}$)。图4B示出, 肌动球蛋白HMM-ATP酶活性受TM瓜氨酸化的影响。比较非瓜氨酸化和瓜氨酸化TnI赋予的对肌动球蛋白HMM-ATP酶的抑制。将非瓜氨酸化的TnI加入至HMM-F-肌动蛋白-TM中引起37°C下ATP酶速率的降低。瓜氨酸化的TnI与非瓜氨酸化的TnI类似地起作用并引起ATP酶的减少, 而非瓜氨酸化形式没有显著不同。

PAD2降低去皮肤细胞的钙敏感性

[0121] 将从野生型C57B16雄性小鼠的左心室分离的化学去皮的心肌细胞暴露于不同浓度的钙(每组n=8个肌细胞,来自3只小鼠,图4C-F)。PAD2处理对最大钙激活力($F_{\max}$)或希尔系数(nH)没有影响。然而,PAD2引起了力-钙关系的向右偏移,这指示 EC_{50} 增加或钙敏感性降低($p=0.009$,图4C)。这指示肌丝蛋白的瓜氨酸化导致功能缺失型表型,从而降低了其响应细胞内钙产生力的能力。

对PAD mRNA表达的分析。

[0122] 为了确定心肌中PAD同种型表达的细胞特异性,使用同种型特异性引物,通过巢式PCR测定分离的心肌细胞和成纤维细胞上的mRNA表达水平(图5)。PAD2是在心肌细胞和心脏成纤维细胞中表达的主要同种型,尽管成纤维细胞也具有PAD1和PAD4mRNA的显著表达。相比之下,在所测试的任何细胞类型和条件下都没有检测到PAD3mRNA(图5,注意到在200bp处没有条带,更多细节请参见在线补充)。

实施例3

[0123] 我们的实验结果表征在正常和HF心肌中的瓜氨酸化蛋白。分析显示,瓜氨酸化在线粒体和肌小节亚蛋白质组中富集。蛋白质瓜氨酸化具有广泛的细胞分布(图1),但是在线粒体和肌小节亚蛋白质组中高度富集。由于肌小节的高能量需求,这两个亚蛋白质组之间的紧密关联并不出乎意料。我们推测,瓜氨酸化,类似于磷酸化和乙酰化,可能以协调方式潜在地调节肌肉收缩蛋白。有趣的是,参与代谢途径/代谢的多种酶在局部缺血中上调,而在IDCM中下调(图6)。为了解心脏系统中瓜氨酸化蛋白-蛋白相互作用的拓扑学和功能注释,使用STRING数据库构建蛋白质网络(图2B)。整个蛋白质网络由高得分的相互作用伴侣组成(STRING相关置信评分 ≥ 0.5 ,局部缺血/IDCM对比对照)。对该子网络的可视化分析显示,瓜氨酸化蛋白彼此相互作用,并参与新陈代谢和呼吸链靶标、收缩和信号转导系统。作为用以理解瓜氨酸化的潜在功能性后果的初始评估,使用重组肌小节蛋白HMM、F-肌动蛋白、TM和TnI作为模型蛋白来研究控制粗肌丝和细肌丝功能的相互作用,并且测量用PAD2处理的单独去皮肤细胞的收缩特性。

[0124] 至Tn的 Ca^{2+} 依赖性变更改变了TM在肌动蛋白表面上的方位移动,这允许肌球蛋白结合和跨桥异构化成强结合、产生力状态和肌肉收缩。在低细胞内 Ca^{2+} 下,Tn-TM在空间上阻断肌动蛋白上的肌球蛋白结合位点(阻断状态),而在升高的 Ca^{2+} 存在下,Tn-TM移动并部分地暴露F-肌动蛋白上的肌球蛋白结合位点(封闭状态)。在 Ca^{2+} 存在下的肌球蛋白结合是完全激活所需的。完全激活是 Ca^{2+} 诱导的TnI构象变化(其部分地通过TnT传递到TM(特别是沿着TM结合的T1区))与肌球蛋白结合(其影响TM在肌动蛋白丝上精确定位)的组合。基于我们的MS数据,肌球蛋白、肌动蛋白、TM、TnI和TnT上的瓜氨酸化位点在可影响这些相互作用以及因此影响肌动球蛋白HMM-ATP酶活性和收缩的区域中。以下概述了基于在本原稿中呈现的生化和生理实验的潜在影响。

[0125] 首先,内源性肌动球蛋白HMM-ATP酶被瓜氨酸化抑制,但是这在F-肌动蛋白存在下被克服,而不论F-肌动蛋白是否被瓜氨酸化。与未修饰的F-肌动蛋白相比,瓜氨酸化的F-肌动蛋白是HMM酶促活性的更有效调节剂并且使肌动球蛋白HMM-ATP酶率增加了55%。这指示F-肌动蛋白的瓜氨酸化改变了肌动蛋白丝的构象,以改变肌球蛋白一旦结合后的ATP水解容易度。TM的瓜氨酸化也影响肌动蛋白-HMM相互作用。与未修饰的TM相比,瓜氨酸化的TM显

示与F-肌动蛋白的增强结合。这种增强结合也在HMM存在下观察到(基于离心测定)。这与瓜氨酸化的TM-肌动蛋白-MHM ATP酶活性与非瓜氨酸化的TM相比的抑制相关,指示瓜氨酸化的TM改变了HMM结合至肌动蛋白丝的能力(图7)。有趣地是,基于离心研究,瓜氨酸化的TnI,如未修饰的蛋白质复合物一样,与肌动蛋白-TM紧密结合。图3C示出了未修饰和修饰的TnI中>95%存在于沉淀中。

[0126] 生化结果与我们的生理发现有关,并且显示肌小节蛋白的瓜氨酸化引起去皮心肌细胞中的 Ca^{2+} 敏感性降低(图4C)。在TnI上,含有瓜氨酸残基203的C末端残基191至210主要负责维持阻止跨桥循环的TM构象。因此,TnI不仅促进了阻断状态,而且还有助于TM在封闭状态下的稳定化。在小鼠中,含有心肌病突变R192H或R204H(其等效于人序列191和203,后者为如上面讨论的相同的可瓜氨酸化的残基)的心脏TnI增加了Tn对肌动蛋白-TM的结合亲和力。可能这是由位于沿着TM定位的N-末端尾(TnT1)中的残基77处的TnT瓜氨酸化增强的,并且已经显示为参与肌动蛋白-TM-Tn肌丝的协同性。另外, Ca^{2+} 或肌球蛋白与肌动蛋白-TM-Tn的结合可以使位于第二瓜氨酸化的残基169侧翼的TnI残基151和188移位远离F-肌动蛋白的外部结构域。这与因 Ca^{2+} 导致的至TnI-TM的方位位移是一致的,该方位位移可以暴露F-肌动蛋白上的肌球蛋白高亲和力结合位点。对在粗丝蛋白(TM、MHC、MyBP-C、ELC和RLC)上发生的家族性肥厚性心肌病突变的研究显示,一个氨基酸侧链的改变可以对心脏形态和功能具有巨大的影响。此外,导致心力衰竭心脏中的异常收缩和舒张的因素包括导致减少的能量产生、能量转移和能量利用的代谢途径异常。

[0127] 最后,为了更好地理解瓜氨酸化蛋白在心脏中的参与,获得对细胞特异性的了解很重要。用免疫组织化学法获取的先前数据显示,在心肌细胞中检测到了PAD1-PAD3和在某种程度上的PAD6,其中PAD2和PAD4存在于内皮细胞和血管平滑肌细胞中。在本研究中,我们不依赖于抗体和组织切片,而是检查了PAD家族成员在分离的小鼠心肌细胞和心脏成纤维细胞中的mRNA表达。数据显示,PAD2主要在心肌细胞和心脏成纤维细胞中表达,而PAD1和PAD4mRNA是心脏成纤维细胞中的主要形式。

[0128] 我们已经提出了瓜氨酸化在心脏中的先前未探索的作用。最终,对大多数肌小节蛋白的瓜氨酸化和它们的生物化学性质改变的鉴定指示可能存在对心脏收缩性的新PTM调节。由于患有HF的个体的心肌中的这些残基中的一些处的瓜氨酸化与对照相比增加,指示瓜氨酸化可能在减少HF中的收缩功能障碍中起作用。

实施例4:神经退行性疾病中的瓜氨酸化肽。

[0129] 瓜氨酸化是精氨酸残基的PTM,其特征在于侧链的氧化。这种修饰是由使精氨酸转化为瓜氨酸的肽酰精氨酸脱亚胺酶酶(PAD)催化的。瓜氨酸化(也称为脱酰胺基)发生在存在正电荷丢失和氢键结合能力降低时,最终引起蛋白质化学结构的变化。这种修饰在例如凋亡和表观遗传期间起着生理学作用,并且在癌症或中枢神经系统疾病中起病理作用[3]。此外,抗瓜氨酸化蛋白抗体(ACPA)在约60%的类风湿性关节炎(RA)患者中存在,并且与侵袭性疾病和不良预后相关[4,5]。对RA的遗传学研究已经在>100个非HLA基因座处确定了许多易发生疾病的SNP[6]。因此,用以将瓜氨酸化、SNP和疾病关联的研究可以提供对许多病理学病症的了解。

方案概述

[0130] 此方案的目的是建立支持对体内瓜氨酸化蛋白/肽的准确检测的瓜氨酸化测定文

库。该方案涵盖样品制备、DIA模式下的高品质片段离子谱的获取、谱图氨基酸化文库生成,以及用于基于品质对氨基酸化肽进行分箱 (binning) 的生物信息学流程。此外,开发了附加的工具来通过用已知的对比新颖的以及与疾病相关的基因组改变信息的关联进一步注释肽数据来将大数据集翻译成知识。

材料

[0131] 试剂:兔骨骼肌PAD混合物 (PAD) (SignalChem);测序级Lys-C蛋白酶 (WAKO);iRT滞留时间肽 [13];FASPTM蛋白消化试剂盒 (Expedeon),

[0132] 人脑组织。从NIH NeuroBioBank (NBB) 获得的对应于额上回 (SFG) ($n=10$) 的健康对照死后人脑组织。这些病例既没有临床病史,也没有对神经性疾病的神经病理学诊断。人ALS运动皮层 ($n=1$) 和ALS胸部脊髓 ($n=4$),具有从枕叶 ($n=3$) 获得的对应健康样品。小鼠脑:阿尔茨海默模型 (1.9月龄,大量 β -淀粉样蛋白,记忆缺陷和神经退行发作, $n=5$;2.9月龄,正常/健康小鼠,具有完整记忆力, $n=5$;3.2月龄,几乎没有至没有可检测的 β -淀粉样蛋白和完整记忆力, $n=2$;4.2月龄,健康小鼠, $n=2$)。中风小鼠 (大脑中动脉闭塞性中风, $n=5$,脑左侧发生中风,脑右侧,相应的健康对照);健康小鼠 ($n=5$,脑、主动脉、骨骼肌)。。

[0133] 脑缓冲液A:冰冷的低盐缓冲液:10mM Tris,pH 7.5、5mM EDTA、1mM DTT、10%蔗糖、10mM β -甘油磷酸盐、10mM原钒酸钠、10mM焦磷酸四钠、50mM氟化钠、1 $\times$ Roche完全蛋白酶抑制剂混合物)。

[0134] 脑缓冲液B:1%Triton、10mM Tris,pH 7.5、5mM EDTA、1mM DTT、10%蔗糖、10mM β -甘油磷酸盐、10mM原钒酸钠、10mM焦磷酸四钠、50mM氟化钠、1 $\times$ 罗氏完全蛋白酶抑制剂混合物

[0135] PAD缓冲液:0.1M tris-HCl,pH 7.4、10mM CaCl_2 、5mM DTT、10 $\mu\text{g}/\text{ul}$ 抑肽酶、10 $\mu\text{g}/\text{ul}$ 亮抑肽酶、10 $\mu\text{g}/\text{ul}$ 胃酶抑素。

[0136] 设备:高速混合型研磨机 (High Speed Mixer Mill) (MM400) (Retsch);混合型研磨机缸 (#22.008.0005Retsch) 和7mm不锈钢球 (#22.455.0008Retsch);冷冻台式离心机 (Eppendorf 5415R),温度4 $^{\circ}\text{C}$ 和20 $^{\circ}\text{C}$;具有TLA 100.2转子的Beckman Coulter Optima超速离心机;TripleTof 5600+质谱仪 (AB Sciex);TripleTof 6600+质谱仪 (ABSciex);iProXpress (<http://proteininformationresource.org/iproxpress2>) [14];电脑:使用Microsoft Windows 7 (Microsoft),RAM $\geq$ 4GB,具有足够的硬盘空间 (对于方案案例研究为 $\geq$ 40GB) 的个人电脑 (PC)。

[0137] 软件:Microsoft Windows 7 (Microsoft);MS Excel (Microsoft);Cytoscape插件BiNGO A Biological Network Gene Ontology Tool (<http://baderlab.org/Software/EnrichmentMap/BingoTutorial>)。

[0138] 设备设置:补充材料中提供了关于安装每个软件模块的详细说明,包括屏幕截图。

[0139] 方法:1.脑样品制备。定时90分钟到几天 (取决于样品数量);2.将组织称重并记录湿组织的重量。3.用手术刀或组织切片刀将组织切成小片。4.将组织片转移到3体积 (w/v) 的冰冷缓冲液A中。5.使用匀化器 (在20Hz下使用单个7mm不锈钢球达30s) 在冰上匀化组织。6.使用TLA 100.2转子在Beckman Coulter Optima超速离心机中以30800rpm,4 $^{\circ}\text{C}$ 离心样品15分钟。7.将上清液转移到干净的试管中。8.为了保持沉淀,加入缓冲液B (1:3的组织与缓冲液比率),并以30Hz在冷混合型研磨机MM400中匀化30s。9.在TLA-100.2转子 (Beckman) 中

以100,000rpm离心20分钟。10. 将上清液转移到干净的试管中,并用Bradford法测定蛋白质浓度。

[0140] 蛋白质瓜氨酸化:如果肽包含在测定文库中,则所述肽只能通过靶向MS来鉴定。为了覆盖在特定生物条件下表达的蛋白质,我们需要制备理论上代表整个生物学空间的瓜氨酸化肽的汇集物。除PAD4外,大多数PAD同种型仅在细胞质中表达,PAD4包含核定位信号并确实被发现至少部分地存在于细胞核中。因此假定PAD同种型之间底物特异性不同是合理的[15,16]。该过程中的关键步骤是用PAD混合物体外处理汇集的组织/样品,以诱导可接近的精氨酸残基的低瓜氨酸化。(1) 汇集每个级分中的样品以获得200ug样品池。(2) 用150μl的PAD缓冲液混合直至30μl的蛋白质汇集物。(3) 以1:25的酶/底物(w/w)比率加入PAD混合物(产品目录号P312-37C),并在37℃孵育反应物2小时,温和地振荡。通过加入EDTA终止瓜氨酸化,直至最终浓度为50mM。(4) 以相同方式制备阴性对照,但加水而不是PAD混合物。(5) 保持在冰上直至使用。

[0141] 蛋白质消化。使用Protein Discovery的FASP蛋白质消化试剂盒来使用LysC以1:30的酶/底物(w/w)比率消化所有样品,并在37℃下孵育反应20小时,温和地振荡。

[0142] SWATH-MS数据采集。产生SWATH-MS图谱:以DDA和SWATH模式进行Triple-TOF MS分析。使用TripleTOF 6600质谱仪(Sciex)进行数据依赖性采集以建立肽谱离子文库并进行SWATH-MS(非数据依赖性采集)以用于每个单独的样品分析。使用ProteinPilot™软件5.0搜索原始数据以创建谱离子文库。将单独的SWATH-MS运行与在存在或不存在PAD(+和-PAD)的情况下创建的谱库进行匹配。

[0143] 保守的瓜氨酸化肽的广泛鉴定和分析。进行关于肽水平的blast以发现具有与从脑中中风小鼠模型、阿尔茨海默氏病和健康小鼠脑以及从小鼠主动脉和小鼠骨骼肌获得的小鼠数据的人同源(序列相似)等效物。匹配列表仅包括最高的blastp-短命中,这意味着发现了小鼠和人之间>80%的肽同源性。在大多数情况下,如果最高命中(top hit)是同种型,则其它同种型和典型蛋白质也是保守的。图9示出了用于处理瓜氨酸化谱库文件的概述生物信息学工作流程。两种不同类型的组织样本,心脏和大脑,被用来发展提出的方法。由人脑产生的最终SWATH测定文库由360,202条肽(16,275条独特的肽)组成。所述生物信息学流程提取了被认为是高置信且有效的瓜氨酸化肽的1,530条独特肽(表11)。附加的1,571个独特的肽被鉴定为潜在高置信度的有效瓜氨酸化肽,并且其它剩余的肽被认为是低置信的(表11)。重要的是要注意,肽可以具有多于1个瓜氨酸化的R,并且一些肽在全长蛋白上共享确切的瓜氨酸化R位点。因此,独特肽的数目不等于独特瓜氨酸化位点的数目。输出1、2和3中的独特瓜氨酸化位点(在全长蛋白上)的总数是2413。

[0144] 表11. 关于脑样品的脑样品+和-PAD处理的输出文件汇总(所使用的置信度阈值为0.995)(JF_150402_5600+/-PAD)。

输出文件	描述	NG规则	总肽		总独特肽	
			- PAD	+/-PAD	-PAD	+/-PAD
1	$\Delta \geq 5$ 分钟 置信度 > 0.95	未检查	1,637	36,202	58	1,530
2	$\Delta < 5$ min或 置信度 < 0.95 或 没有匹配的对照	通过	3,238	30,382	152	1,571
3	$\Delta < 5$ min或 置信度 < 0.95 或 没有匹配的对照	失败	1,370	19,450	55	1,006
4	每条线都 没有R[Dea]	未检查	375,717	431,816	17,147	20,752

[0145] 将瓜氨酸化肽分箱到4个不同的输出文件中。输出1包含高置信度的肽，加上置信度评分(用户输入)，所述高置信度的肽在经修饰的肽和未修饰的肽之间具有 >5 分钟的 Δ 滞留时间。输出2和3含有具有瓜氨酸化R残基的肽；然而，在数据集中未发现未修饰的肽，从而限制了计算滞留时间差值的能力。然而，对于输出2，N/Q残基不在瓜氨酸化R残基任一侧上的5个氨基酸内；而在输出3中，N/Q残基位于瓜氨酸化R残基任一侧上的5个氨基酸内。输出4含有原始文件中不符合输出1-3的标准的的所有肽。

[0146] 在此，我们描述了逐步方案和集成的、公开可得的计算流程，以生成用于分析复杂生物样品中的瓜氨酸化肽的高品质测定文库。通过使用允许有把握地鉴定肽洗脱图谱并区分近同重亲本质量公差(near isobaric parent mass tolerance)的高分辨率飞行时间质谱分析仪($>30,000$)和管理结果的生物信息学流程，我们能够鉴定在6个数量级的动态范围内的瓜氨酸化肽并定量具有相对丰度的那些瓜氨酸化肽。

[0147] 目前有一些化学程序、蛋白质组学程序和基于抗体的程序可用于分析复杂样品中的瓜氨酸化[15-17]。然而，使用目前的方法，快速、一致、可重复、准确且灵敏地检测和量化多个样品中的瓜氨酸化肽仍然是挑战性的。在此，我们提出了一种新策略，该新策略系统地查询样品集合中具有确切的经修饰残基位点的瓜氨酸化蛋白的存在和数量。它是由使用片段离子谱库中可用的信息，如相对强度、色谱分离并行(chromatographic concurrence)等来挖掘使用DIA方法生成的完整瓜氨酸化片段离子图谱组成的。

[0148] 实质上，我们的工具在综合的SWATH MS信号图谱中确定与靶向的瓜氨酸化肽独特关联的峰组，然后通过遵循生物信息学流程中的设置规则来计算靶向瓜氨酸化肽已经被正确鉴定的概率。为了提高灵敏度，高品质的瓜氨酸化测定文库是SWATH MS和类似靶向MS方法的先决条件。理想地，测定文库中的瓜氨酸化肽涵盖了特定研究所关注的所有瓜氨酸化蛋白，甚至是整个蛋白质组。为了确保文库是真实的，将建立文库所基于的样品用PAD混合物体外瓜氨酸化。此步骤有助于提高对以较低量存在的瓜氨酸化蛋白的检测，以及覆盖潜在的新位点。

[0149] 我们证明SWATHTM-MS可以成功地用于PTM分析。添加了用于分析瓜氨酸化肽的生物信息学流程，以使分析可靠、稳健和快速。我们相信，这种方法将增加瓜氨酸化分析在该领域中的普及度并且在不久将不可估量地说明此体内翻译后修饰的重要性。

[0150] 如本文所述，瓜氨酸化，即由肽酰精氨酸脱亚胺酶(PAD)家族进行的翻译后(PTM)精氨酸至瓜氨酸转换，通常被认为是神经退行性疾病(诸如朊病毒病、多发性硬化症和阿尔茨海默氏病)中的异常病理学特征。此PTM可以成为新型诊断剂或治疗剂的靶标。因此，用于

鉴别瓜氨酸化蛋白及其修饰残基的明确和有效方法是非常重要的。

[0151] ALS或肌萎缩性脊髓侧索硬化症是一种影响大脑和脊髓中的神经细胞的进行性神经退行性疾病。本发明人研究了瓜氨酸化在ALS病症中的作用,其中重点在于鉴定潜在的临床相关的PTM生物标记物。

[0152] 图8B描绘了瓜氨酸化离子库的构建。图8C描绘了与未修饰的序列相比,R[Dea]和N/Q[Dea]的 ΔRT 。分别地,与未修饰的肽相比,含瓜氨酸化Arg的肽稍后被洗脱(>5分钟的差值)。在具有瓜氨酸化R的肽和具有N和Q脱氨基的肽之间观察到了相同的趋势。

[0153] 如图8F所示,胶质纤维酸性蛋白、葡萄糖-6-磷酸异构酶、波形蛋白、吞蛋白-A1、髓鞘碱性蛋白、 δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱氢酶、过氧化物氧化还原酶-5、神经粒蛋白、双特异性丝裂原活化蛋白激酶激酶1、微管蛋白聚合促进蛋白家族成员3、 $\delta(3,5)$ - $\delta(2,4)$ -二烯酰-CoA异构酶、富含半胱氨酸和甘氨酸的蛋白1、细胞视黄酸结合蛋白1GMP还原酶2和/或鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(I)/G(S)/G(O)亚基 γ -3中的任何一种或多种的瓜氨酸化改变可以指示ALS。

[0154] 表2:作为ALS的生物标记物的瓜氨酸化肽。这些肽在患有ALS但不健康的受试者中检测到。“Dea”是瓜氨酸化或脱氨基。“CAM”是脒甲基化。

UniProtKB 登录号	蛋白质名称	经修饰的序列	修饰 位置
Q99962	SH3 吞蛋白-A1 G2	PSGVQMDPC[CAM]C[CAM]R[Dea]ALYDFE PENEGELGFK (SEQ ID NO: 306)	296
P49419	α -氨基己二酸半 醛脱氢酶	QYMR[Dea]R[Dea]STC[CAM]TINYSK (SEQ ID NO: 307)	518, 519
H3BRN4	4-氨基丁酸转氨 酶	LILIR[Dea]NK (SEQ ID NO: 308)	465
P68402	血小板活化因子 乙酰水解酶 IB 亚 基 β	VIVVWVGTTNNHENTAEVAGGIEAIVQLIN TR[Dea]QPQAK (SEQ ID NO: 309)	128
Q13011	ECH $\delta(3,5)$ - $\delta(2,4)$ - 二烯酰辅酶 A 异 构酶	EVDVGLAADVGTLLQR[Dea]LPK (SEQ ID NO: 310)	211
P21291	CSRP1 富含半胱	HEEAPGHR[Dea]PTTNPASK (SEQ ID NO: 311)	109

UniProtKB 登录号	蛋白质名称	经修饰的序列	修 饰 位置
	氨酸和甘氨酸的 蛋白质 1	311)	
P63215	GBG 鸟嘌呤核苷 酸 结 合 蛋 白 G(I)/G(S)/G(O) 亚 基 γ -33	GETPVNSTMSIGQAR[Dea]K (SEQ ID NO: 312)	17
F8VVM2	F 磷酸载体蛋白	VRIQTQPGYANTLR[Dea]DAAPK (SEQ ID NO: 313)	200
P49588	SYA 丙 氨 酸 --tRNA 连接酶	NVGC[CAM]LQEALQLATSFAQLR[Dea]LGD VK (SEQ ID NO: 314)	962

[0155] 表3:作为ALS的生物标记物的瓜氨酸化肽(来自人)。“Dea”是瓜氨酸化或脱氨基。
“CAM”是脲甲基化。

UniProtKB 登录号	蛋白质名称	经修饰的序列	修 饰 位置
P14136	胶质纤维酸性蛋白	FADLTDAAR[Dea]NAELLR[Dea]Q AK (SEQ ID NO: 315)	270, 276
P14136	胶质纤维酸性蛋白	EIR[Dea]TQYEAMASSNMHEAEW YRSK (SEQ ID NO: 316)	239
P14136	胶质纤维酸性蛋白	MASSNMHEAEWYR[Dea]SK (SEQ ID NO: 317)	258
P14136	胶质纤维酸性蛋白	ASSNMHEAEWYR[Dea]SK (SEQ ID NO: 318)	258
P14136	胶质纤维酸性蛋白	LAR[Dea]LEEKGSLK (SEQ ID NO: 319)	330
P06744	葡萄糖-6-磷酸异构酶	ILLANFLAQTEALMR[Dea]GK (SEQ ID NO: 320)	438
P08670	波形蛋白	TVETR[Dea]DGQVINETSQHDDLE (SEQ ID NO: 321)	450
P08670	波形蛋白	VELQELNDR[Dea]FANYIDK (SEQ ID NO: 322)	113
P08670	波形蛋白	SSVPGVR[Dea]LLQDSVDFSLADAIN TEFK (SEQ ID NO: 323)	78
P08670	波形蛋白	ALR[Dea]DVR[Dea]QYESVAAK (SEQ ID NO: 324)	270, 273
P02686	髓鞘碱性蛋白	GAEGQRPFGYGGR[Dea]ASDYK (SEQ ID NO: 325)	264
P02686	髓鞘碱性蛋白	SHGR[Dea]TQDENPVVHFF (SEQ ID NO: 326)	213
P02686	髓鞘碱性蛋白	SRFSWGAEGQRPFGYGGR[Dea]AS	264

UniProtKB 登录号	蛋白质名称	经修饰的序列	修 饰 位置
		DYK (SEQ ID NO: 327)	
P02686	髓鞘碱性蛋白	SR[Dea]FSWGAEGQR[Dea]PGFGYGG GR[Dea]ASDYK (SEQ ID NO: 328)	247, 256, 264
P02686	髓鞘碱性蛋白	SWGAEGQR[Dea]PGFGYGGGR[Dea]A SDYK (SEQ ID NO: 329)	256, 264
P02686	髓鞘碱性蛋白	SHGR[Dea]TQDENPVVHF (SEQ ID NO: 330)	213
P02686	髓鞘碱性蛋白	LGGR[Dea]DSRSGSPMARR[Dea] (SEQ ID NO: 331)	293
P02686	髓鞘碱性蛋白	EGQRPGFGYGGGR[Dea]ASDYK (SEQ ID NO: 332)	264
P30038	δ -1-吡咯啉-5-羧酸脱 氢酶	AIEAALAAR[Dea]K (SEQ ID NO: 333)	113
P30044	过氧化物氧化还原酶 -5	VR[Dea]LLADPTGAFGK (SEQ ID NO: 334)	148
Q9BW30	微管蛋白聚合促进蛋 白家族成员 3	TGGAVDR[Dea]LTDTSR[Dea]YTGSH K (SEQ ID NO: 335)	124, 130
Q13011	$\delta(3,5)$ - $\delta(2,4)$ -二烯酰- 辅酶 A 异构酶	VIGNQSLVNELAFTAR[Dea]K (SEQ ID NO: 336)	230
P29762	细胞视黄酸结合蛋白 1	MR[Dea]SSENFDELLK (SEQ ID NO: 337)	11
Q9P2T1	GMP 还原酶 2	YAGGVAEYR[Dea]ASEGK (SEQ ID NO: 338)	286

[0156] 表4: 基于将小鼠序列与人序列匹配的相关瓜氨酸化LysC肽。“Dea”是瓜氨酸化或脱氨基。“CAM”是脲甲基化。

UniProt KB 登录 号	蛋白质名称	经修饰的序列	修 饰 位置
P69905	血红蛋白亚基 α OS=智人 GN=HBA1 PE=1 SV=2	R[Dea]MFLSFPTTK (SEQ ID NO: 339)	32,
P69905	血红蛋白亚基 α OS=智人 GN=HBA1 PE=1 SV=3	VGAHAGEYGAELER[Dea]MF L (SEQ ID NO: 340)	32,
P46821	微管相关蛋白 1B OS=智人 GN=MAP1B PE=1 SV=2	TTR[Dea]TSDVGGYYEYK (SEQ ID NO: 341)	1897,
Q15149	网蛋白 OS=智人 GN=PLEC PE=1 SV=3	VPQR[Dea]AGEVER[Dea]DLDK (SEQ ID NO: 342)	571, 577,
Q15149	网蛋白 OS=智人 GN=PLEC PE=1 SV=4	LHVAILER[Dea]EK (SEQ ID NO: 343)	517,

UniProt KB 登录 号	蛋白质名称	经修饰的序列	修饰位 置
Q14204	胞质动力蛋白 1 重链 1 OS=智人 GN=DYNCH1 PE=1 SV=5	R[Dea]VEPLR[Dea]NELQK (SEQ ID NO: 344)	3408, 3413,
Q01484	锚蛋白-2 OS=智人 GN=ANK2 PE=1 SV=4	EGHVGLVQELLGR[Dea]GSSVD SATK (SEQ ID NO: 345)	86,
J3KPX8	MAP1 轻链 LC2 OS=智人 GN=MAP1A PE=1 SV=1	AIVFEIMEAGEPTGPILGAEALP GGLR[Dea]TLPQEPGKPQK (SEQ ID NO: 346)	1123,
Q13885	微管蛋白 β -2A 链 OS=智人 GN=TUBB2A PE=1 SV=1	IREEYPDR[Dea]IMNTFSVMPSP K (SEQ ID NO: 347)	162,
Q00610	网格蛋白重链 1 OS=智人 GN=CLTC PE=1 SV=5	GILR[Dea]TPDTIR[Dea]R[Dea]F QSVPAQPGQTSPLLQYFGILLD QGQLNK (SEQ ID NO: 348)	393, 399, 400,
Q00610	网格蛋白重链 1 OS=智人 GN=CLTC PE=1 SV=6	YESLELC[CAM]R[Dea]PVLQQG R[Dea]K (SEQ ID NO: 349)	436, 437, 444,
Q99798	鸟头酸水合酶 OS=智人 GN=ACO2 PE=1 SV=2	SYLR[Dea]LR[Dea]PDR[Dea]VA MQDATAQMAMLQFISSGLSK (SEQ ID NO: 350)	90, 92, 95,
E7ESP9	神经丝中等多肽 OS=智人 GN=NEFM PE=1 SV=1	SIELESVR[Dea]GTK (SEQ ID NO: 351)	335,
Q9NQC 3	内质网膜蛋白-4 OS=智人 GN=RTN4 PE=1 SV=2	AESAIVANPR[Dea]EEHVK (SEQ ID NO: 352)	320,
Q9NQC 3	内质网膜蛋白-4 OS=智人 GN=RTN4 PE=1 SV=2	EAQIR[Dea]ETETFSDSPIEIDE FPTLISSK (SEQ ID NO: 353)	854,
Q9NQ66	1-磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸磷酸二 酯酶 β -1 OS=智人 GN=PLCB1 PE=1 SV=1	EWTNEVFSLATNLLAQNMSR[D ea]DAFLEK (SEQ ID NO: 354)	148,
P04075	果糖二磷酸醛缩酶 A OS=智人 GN=ALDOA PE=1 SV=2	ADDGR[Dea]PFPQVIK (SEQ ID NO: 355)	92,
P10809	60kDa 热休克蛋白, OS=智人 GN=HSPD1 PE=1 SV=2	LVQDVANNTNEEAGDGTITAT VLAR[Dea]SIK (SEQ ID NO: 356)	121,
P00558	磷酸甘油酸激酶 1 OS=智人 GN=PGK1 PE=1 SV=3	ALESPER[Dea]PFLAILGGAK (SEQ ID NO: 357)	206,
P00558	磷酸甘油酸激酶 1 OS=智人 GN=PGK1 PE=1 SV=3	R[Dea]VVMR[Dea]VDFNVPMK (SEQ ID NO: 358)	18, 22,
P13639	延伸因子 2 OS=智人 GN=EEF2 PE=1 SV=4	YEWDAEAR[Dea]K (SEQ ID NO: 359)	647,
P38646	应激-70 蛋白, OS=智人 GN=HSPA9 PE=1 SV=2	VLENAEGAR[Dea]TTPSVVAFT ADGER[Dea]LVGMPEK (SEQ ID NO: 360)	85, 99,

UniProt KB 登录 号	蛋白质名称	经修饰的序列	修饰位 置
P06744	葡萄糖-6-磷酸异构酶 OS=智人 GN=GPI PE=1 SV=4	NLVTEDVMR[Dea]MLVDLAK (SEQ ID NO: 361)	66,
P12277	B 型肌酸激酶 OS=智人 GN=CKB PE=1 SV=1	DLFDPIIEDR[Dea]HGGYKPSDE HK (SEQ ID NO: 362)	96,
P12277	B 型肌酸激酶 OS=智人 GN=CKB PE=1 SV=2	DLFDPIIEDR[Dea]HGGYK (SEQ ID NO: 363)	96,
P11216	糖原磷酸化酶, 脑形式 OS=智人 GN=PYGB PE=1 SV=5	QISVR[Dea]GLAGLGDAEVR[D ea]K (SEQ ID NO: 364)	17, 29,
P49588	丙氨酸-tRNA 连接酶, 细胞质 OS=智人 GN=AARS PE=1 SV=2	DVQR[Dea]EIADLGEALATAVIP QWQK (SEQ ID NO: 365)	793,
Q01814	质膜钙转运 ATP 酶 2 OS=智人 GN=ATP2B2 PE=1 SV=2	GHIDSTHTEQR[Dea]QVVAVTGD GTNDGPALK (SEQ ID NO: 366)	812,
P09543	2',3'-环核苷酸 3'-磷酸二酯酶 OS=智人 GN=CNP PE=1 SV=2	ITPGAR[Dea]GAFSEYK (SEQ ID NO: 367)	93,
P09543	2',3'-环核苷酸 3'-磷酸二酯酶 OS=智人 GN=CNP PE=1 SV=2	TLFILR[Dea]GLPGSGK (SEQ ID NO: 368)	56,
P09543	2',3'-环核苷酸 3'-磷酸二酯酶 OS=智人 GN=CNP PE=1 SV=2	ELR[Dea]QFVPGDEPREK (SEQ ID NO: 369)	224,
P19367	己糖激酶-1 OS=智人 GN=HK1 PE=1 SV=3	MVSGMYLGELVR[Dea]LILVK (SEQ ID NO: 370)	307,
Q9ULC6	1 型蛋白-精氨酸脱亚胺酶 OS= 智人 GN=PADII PE=1 SV=2	R[Dea]ELGLAESDIVDIPQLFFL K (SEQ ID NO: 371)	556,
Q8N573	抗氧化蛋白 1 OS=智人 GN=OXRI PE=1 SV=2	TLYR[Dea]TMTGLDTPVLMVIK (SEQ ID NO: 372)	754,
P15311	埃兹蛋白 (Ezrin) OS=智人 GN=EZR PE=1 SV=4	EELER[Dea]QAVDQIK (SEQ ID NO: 373)	405,
P08238	热休克蛋白 HSP 90-β OS=智人 GN=HSP90AB1 PE=1 SV=4	IDHNPQER[Dea]TLTLVDTGIG MTK (SEQ ID NO: 374)	82,
P29966	豆蔻酰化的富含丙氨酸的 C-激 酶底物 OS=智人 GN=MARCKS PE=1 SV=4	GEAAAER[Dea]PGEAAVASSPS K (SEQ ID NO: 375)	18,
P49418	双载蛋白 OS=智人 GN=AMPH PE=1 SV=1	AEEPLAAVTPAVGLDLGMDTR[Dea]AEEPVEEAVIIPGADADAA VGTLVSAAEAGAPGEEAEAEK (SEQ ID NO: 376)	457,
P10636	微管相关蛋白 τ OS=智人 GN=MAPT PE=1 SV=5	SR[Dea]LQTAPVPMPDLK (SEQ ID NO: 377)	559,
P52306	Rap1 GTP 酶-GDP 解离刺激因 子 1 OS=智人 GN=RAP1GDS1 PE=1 SV=3	LLGTLR[Dea]MLIDAQAEAAEQ LGK (SEQ ID NO: 378)	427,

UniProt KB 登录 号	蛋白质名称	经修饰的序列	修饰位 置
Q05639	延伸因子 1- α 2 OS=智人 GN=EEF1A2 PE=1 SV=1	YYITIIDAPGHR[Dea]DFIK (SEQ ID NO: 379)	96,
Q02252	甲基丙二酸半醛脱氢酶[酰化], OS=智人 GN=ALDH6A1 PE=1 SV=2	YAHLLVDVGQVG VNVPIPVPLP MFSFTGSR[Dea]SSFR[Dea]GDT NFYGGK (SEQ ID NO: 380)	488, 492,
P09972	果糖-二磷酸缩酶 C OS=智人 GN=ALDOC PE=1 SV=2	R[Dea]AEVNGLAAGK (SEQ ID NO: 381)	331,
P40926	苹果酸脱氢酶, OS=智人 GN=MDH2 PE=1 SV=3	GLDPA[Dea]VNVPIVGGHAGK (SEQ ID NO: 382)	191,
P48735	异柠檬酸脱氢酶[NADP], OS= 智人 GN=IDH2 PE=1 SV=2	ATDFVADR[Dea]AGTFK (SEQ ID NO: 383)	188,
F5GXC8	琥珀酰基-辅酶 A 连接酶[ADP 形成]亚基 β , OS=智人 GN=SUCLA2 PE=1 SV=1	IFDLQDWTQEDER[Dea]DK (SEQ ID NO: 384)	242,
P09104	γ -烯醇酶 OS=智人 GN=ENO2 PE=1 SV=3	LAMQEFMILPVGAESFR[Dea]D AMRLGAEVYHTLK (SEQ ID NO: 385)	179,
Q9BPU6	二氢嘧啶酶相关蛋白 5 OS=智 人 GN=DPYSL5 PE=1 SV=1	VR[Dea]GVDR[Dea]TPYLGDA VVVHPGK (SEQ ID NO: 386)	485, 489,
Q9BPU6	二氢嘧啶酶相关蛋白 5 OS=智 人 GN=DPYSL5 PE=1 SV=2	MDENR[Dea]FVAVTSSNAK (SEQ ID NO: 387)	372,
Q14195	二氢嘧啶酶相关蛋白 3 OS=智 人 GN=DPYSL3 PE=1 SV=1	SAADLISQAR[Dea]K (SEQ ID NO: 388)	268,
P09471	鸟嘌呤核苷酸结合蛋白 G(o)亚 基 α OS=智人 GN=GNAO1 PE=1 SV=4	PVVYSNTIQSLAAIVR[Dea]AM DTLGIEYGDK (SEQ ID NO: 389)	86,
Q9ULU 8	钙依赖性分泌激活因子 1 OS= 智人 GN=CADPS PE=1 SV=3	ELGR[Dea]VILHPTNSPK (SEQ ID NO: 390)	479,
P49419	α -氨基己二酸半醛脱氢酶 OS= 智人 GN=ALDH7A1 PE=1 SV=5	DLGR[Dea]IFR[Dea]WLGPK (SEQ ID NO: 391)	466, 469,
P38606	V 型质子 ATP 酶催化亚基 A OS=智人 GN=ATP6V1A PE=1 SV=2	TVGMLSNMIAFYDMAR[Dea]R[Dea]AVETTAQSDNK (SEQ ID NO: 392)	552, 553,
H3BRN 4	4-氨基丁酸转氨酶, OS=智人 GN=ABAT PE=1 SV=1	EEFR[Dea]PNAPYR[Dea]IFNTW LGDPSK (SEQ ID NO: 393)	386, 392,
P07237	蛋白质二硫键异构酶 OS=智人 GN=P4HB PE=1 SV=3	R[Dea]TGPAATTLPDGAAESLV ESSEVAVIGFFK (SEQ ID NO: 394)	132,
O94760	N(G),N(G)-二甲基精氨酸二甲 基氨基水解酶 1	IMQQMSDHR[Dea]YDK (SEQ ID NO: 395)	208,

UniProt KB 登录 号	蛋白质名称	经修饰的序列	修饰位 置
Q16181	胞裂蛋白-7	DR[Dea]LPLAVVGSNTIIEVNGK (SEQ ID NO: 396)	243,
O75781	细胞膜调控蛋白(Paralemmmin)-1 OS=智人 GN=PALM PE=1 SV=2	R[Dea]RQLEDER[Dea]RQLQHL K (SEQ ID NO: 397)	32, 39,
P30153	丝氨酸/苏氨酸-蛋白磷酸酶 2A 65kDa 调控亚基 A α 同种型 OS=智人 GN=PPP2R1A PE=1 SV=4	HMLPTVLR[Dea]MAGDPVANV R[Dea]FNVAK (SEQ ID NO: 398)	527, 537,
P15121	醛糖还原酶 OS=智人 GN=AKR1B1 PE=1 SV=3	PEDPSLLEDPR[Dea]IK (SEQ ID NO: 400)	233,
P07954	延胡索酸水合酶 OS=智人 GN=FH PE=1 SV=3	IGR[Dea]THTQDAVPLTLGQEF S GYVQQVK (SEQ ID NO: 401)	233,
P24752	乙酰辅酶A 乙酰转移酶, OS=智 人 GN=ACAT1 PE=1 SV=1	EVVIVSATR[Dea]TPIGSFLGSL S LLPATK (SEQ ID NO: 402)	49,
E9PFW3	AP-2 复合物亚基 μ OS=智人 GN=AP2M1 PE=1 SV=1	DIILPFR[Dea]VIPLVR[Dea]E VG RTK (SEQ ID NO: 403)	313, 319,
P30086	磷脂酰乙醇胺结合蛋白 1 OS= 智人 GN=PEBP1 PE=1 SV=3	LYTLVLTPDAPSRL[Dea]K (SEQ ID NO: 404)	76,
P04350	微管蛋白 β -4A 链 OS=智人 GN=TUBB4A PE=1 SV=2	GHYTEGAELVDAVLDDVVR[Dea] K (SEQ ID NO: 405)	121,
Q9UI15	转胶蛋白 -3 OS=智人 GN=TAGLN3 PE=1 SV=2	AAETYGVRR[Dea]TTDIFQTVDL WEGK (SEQ ID NO: 406)	106,
O43175	D-3-磷酸甘油酸脱氢酶 OS=智 人 GN=PHGDH PE=1 SV=4	VLISDSLDP[CAM]C[CAM]R[D ea]K (SEQ ID NO: 407)	18, 19, 20,
P00915	碳酸酐酶 1 OS=智人 GN=CA1 PE=1 SV=2	ESISVSSEQLAQFRSLLSN[Dea] VEGDNAVPMQHNNR[Dea]PTQ PLK (SEQ ID NO: 408)	233, 247,
P61981	14-3-3 蛋白 γ OS=智人 GN=YWHAG PE=1 SV=2	MKGDYYR[Dea]YLAEVATGEK (SEQ ID NO: 409)	132,
P61604	10kDa 热休克蛋白, OS=智人 GN=HSP61 PE=1 SV=2	DYFLFR[Dea]DGDILGK (SEQ ID NO: 410)	92,
P21281	V 型质子 ATP 酶亚基 B, 脑同 种型 OS=智人 GN=ATP6V1B2 PE=1 SV=3	DIGWQLLR[Dea]IFPK (SEQ ID NO: 411)	485,
B4DKF8	含有 PH 和 SEC7 结构域的蛋白 3 OS=智人 GN=PSD3 PE=1 SV=1	FSR[Dea]PLLPATTTK (SEQ ID NO: 412)	245,
P32119	过氧化物氧化还原酶-2 OS=智 人 GN=PRDX2 PE=1 SV=5	EGGLGPLNIPLADVTR[Dea]R[Dea]LSEDYGVLK (SEQ ID NO: 413)	109, 110,

UniProt KB 登录 号	蛋白质名称	经修饰的序列	修饰位 置
P32119	过氧化物氧化还原酶-2 OS=智人 GN=PRDX2 PE=1 SV=5	TDEGIAYR[Dea]GLFIIDGK (SEQ ID NO: 414)	127,
P02647	载脂蛋白 A-I OS=智人 GN=APOA1 PE=1 SV=1	VEPLR[Dea]AELQEGARQK (SEQ ID NO: 415)	147,
Q12765	分离蛋白 -1 OS=智人 GN=SCRNI PE=1 SV=2	NSAR[Dea]PR[Dea]DEVQEVVY FSAADHEPESK (SEQ ID NO: 416)	30, 32,
Q12765	分离蛋白 -1 OS=智人 GN=SCRNI PE=1 SV=2	AHEWAR[Dea]AIIESDQEQGR[Dea]K (SEQ ID NO: 417)	355, 366,
P00918	碳酸酐酶 2 OS=智人 GN=CA2 PE=1 SV=2	LNFNAGEGEPEELMVDNWR[Dea]PAQPLK (SEQ ID NO: 418)	245,
E9PDE8	热休克 70kDa 蛋白 4L OS=智人 GN=HSPA4L PE=1 SV=1	VR[Dea]YLEEER[Dea]PFAIEQV TGMLLAK (SEQ ID NO: 419)	78, 84,
Q9H115	β -可溶 NSF 附着蛋白 OS=智人 GN=NAPB PE=1 SV=2	ER[Dea]EAVQLMAEAEK (SEQ ID NO: 420)	8,
Q9UPY8	微管相关蛋白 RP/EB 家族成员 3 OS=智人 GN=MAPRE3 PE=1 SV=1	LIGTAVPQR[Dea]TSPTGPK (SEQ ID NO: 421)	160,
P00505	天冬氨酸转氨酶, OS=智人 GN=GOT2 PE=1 SV=3	FSR[Dea]DVFLPK (SEQ ID NO: 422)	153,
Q13509	微管蛋白 β -3 链 OS=智人 GN=TUBB3 PE=1 SV=2	FWEVISDEHGIDPSGNYVGDS LQLER[Dea]ISVYYNEASSHK (SEQ ID NO: 423)	46,
Q15144	肌动蛋白相关蛋白 2/3 复合物亚基 2 OS=智人 GN=ARPC2 PE=1 SV=1	DR[Dea]VTVVFTSVFK (SEQ ID NO: 424)	160,
P09211	谷胱甘肽 S-转移酶 P OS=智人 GN=GSTP1 PE=1 SV=2	FQDGDLTLYQSNILR[Dea]HLGR[Dea]TLGLYGK (SEQ ID NO: 425)	71, 75,
O95292	囊泡相关膜蛋白相关蛋白 B/C OS=智人 GN=VAPB PE=1 SV=3	FR[Dea]GPFTDVVTNLK (SEQ ID NO: 426)	19,
P42765	3-酮脂酰辅酶 A 硫解酶, OS=智人 GN=ACAA2 PE=1 SV=2	QTMQVDEHAR[Dea]PQTITLEQLQK (SEQ ID NO: 427)	224,
Q8TAM6	Ermin OS=智人 GN=ERMN PE=2 SV=1	GHQAAEIEWLGFR[Dea]K (SEQ ID NO: 428)	163,
Q92686	神经粒蛋白 OS=智人 GN=NRGN PE=1 SV=1	GPGPGGPGGAGVAR[Dea]GGA GGGPSGD (SEQ ID NO: 429)	68,
K7ELL7	葡萄糖苷酶 2 亚基 β OS=智人 GN=PRKCSH PE=1 SV=1	MPPYDEQTQAFIDAAQEAR[Dea]NK (SEQ ID NO: 430)	381,
Q9BY11	神经元蛋白 1 中的蛋白激酶 C 和酪蛋白激酶底物 OS=智人	GPQYGSLEER[Dea]AWGAIMTEADK (SEQ ID NO: 431)	82,

UniProt KB 登录 号	蛋白质名称	经修饰的序列	修饰位 置
	GN=PACSLN1 PE=1 SV=1		
O15075	丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 DCLK1 OS=智人 GN=DCLK1 PE=1 SV=2	TTSASR[Dea]AVSSLATAK (SEQ ID NO: 432)	161,
P09622	二氢硫辛酸脱氢酶, OS=智人 GN=DLD PE=1 SV=2	NLGLLEELGIELDPR[Dea]GR[Dea] IPVNTRFQ[Dea]TK (SEQ ID NO: 433)	334, 336, 344,
P25705	ATP 合酶亚基 α , OS=智人 GN=ATP5A1 PE=1 SV=1	R[Dea]TGAIVDVPVGEELLGR[D ea]VVDALGNAIDGK (SEQ ID NO: 434)	133, 149,
Q02750	双特异性丝裂原活化蛋白激酶 激酶 1 OS=智人 GN=MAP2K1 PE=1 SV=2	AGR[Dea]IPEQILGK (SEQ ID NO: 435)	160,
Q01995	转 胶 蛋 白 OS= 智 人 GN=TAGLN PE=1 SV=4	GPSYGMSR[Dea]EVQSK (SEQ ID NO: 436)	12,
Q16352	α -互联蛋白 OS=智人 GN=INA PE=1 SV=2	SEMAR[Dea]HLR[Dea]EYQDLL NVK (SEQ ID NO: 437)	374, 377,
Q92752	腱生蛋白-R OS=智人 GN=TNR PE=1 SV=3	R[Dea]HAVLMGLQPATEYIVNLV AVHGTVTSEPIVGSITTGIDPPK (SEQ ID NO: 438)	827,
Q94811	微管蛋白聚合促进蛋白 OS=智 人 GN=TPPP PE=1 SV=1	AISSPTVSR[Dea]LTDTTK (SEQ ID NO: 439)	165,
P30048	硫氧还蛋白依赖性过氧化物还 原酶, OS=智人 GN=PRDX3 PE=1 SV=3	HLSVNDLPVGRSVEETLR[Dea] LVK (SEQ ID NO: 440)	214,
Q9Y570	蛋白磷酸酶甲酯酶 1 OS=智人 GN=PPME1 PE=1 SV=3	R[Dea]DFSPVPWSQYFESMEDV EVENETGK (SEQ ID NO: 441)	39,
P69891	血红蛋白亚基 γ -1 OS=智人 GN=HBG1 PE=1 SV=2	MVTAVASALSSR[Dea]YH (SEQ ID NO: 442)	145,
Q5T9B7	腺苷酸激酶同工酶 1 OS=智人 GN=AK1 PE=1 SV=1	GQLVPLETVLDMLR[Dea]DAM VAK (SEQ ID NO: 443)	93,
F5GXJ9	CD166 抗原 OS= 智 人 GN=ALCAM PE=1 SV=1	PDGSPVFIAFR[Dea]SSTK (SEQ ID NO: 444)	20,
Q6PUV4	复合素-2 OS=智人 GN=CPLX2 PE=1 SV=2	AALEQPC[CAM]EGSLTR[Dea]P K (SEQ ID NO: 445)	90, 96,
Q5T6W 5	异质核内核糖核蛋白 K OS=智 人 GN=HNRNPK PE=1 SV=1	R[Dea]PAEDMEEEQAFK (SEQ ID NO: 446)	22,
Q9NQR 4	Ω - 酰胺酶 NIT2 OS= 智 人 GN=NIT2 PE=1 SV=1	R[Dea]SDLYAVEMK (SEQ ID NO: 447)	265,
P48426	磷脂酰肌醇 5-磷酸 4-激酶 2 型 α OS=智人 GN=PIP4K2A PE=1	R[Dea]FLDFIGHILT (SEQ ID NO: 448)	396,

UniProt KB 登录 号	蛋白质名称	经修饰的序列	修饰位 置
	SV=2		
Q4J6C6	脯氨酰内肽酶样 OS=智人 GN=PREPL PE=1 SV=1	LMR[Dea]TAADTPAIMNWDLFF TMK (SEQ ID NO: 449)	326,
P61106	Ras 相关蛋白 Rab-14 OS=智人 GN=RAB14 PE=1 SV=4	ADLEAQR[Dea]DVTYEEAK (SEQ ID NO: 450)	132,
Q99447	乙醇胺-磷酸胞苷酰转移酶 OS=智人 GN=PCYT2 PE=1 SV=1	GPPVFTQEER[Dea]YK (SEQ ID NO: 451)	76,
P48506	谷氨酸-半胱氨酸连接酶催化亚 基 OS=智人 GN=GCLC PE=1 SV=2	SR[Dea]YDSIDSYLSK (SEQ ID NO: 452)	328,
P27361	丝裂原活化蛋白激酶 3 OS=智 人 GN=MAPK3 PE=1 SV=4	R[Dea]ITVEEALAHPLYEQYYD PTDEPVAAEPPFTFAMELDDLPK (SEQ ID NO: 453)	318,
B1AKZ3	星形细胞磷蛋白 PEA-15 OS=智 人 GN=PEA15 PE=1 SV=1	LTR[Dea]IPSAK (SEQ ID NO: 454)	122,
P12036	神经丝重链多肽 OS=智人 GN=NEFH PE=1 SV=4	EQLQALNDR[Dea]FAGYIDK (SEQ ID NO: 455)	107,
P62333	26S 蛋白酶调节亚基 10B OS=智 人 GN=PSMC6 PE=1 SV=1	IHIDLPEQAR[Dea]LDILK (SEQ ID NO: 456)	309,
P36578	60S 核糖体蛋白 L4 OS=智人 GN=RPL4 PE=1 SV=5	GHR[Dea]IEEVPELPLVVEDK (SEQ ID NO: 457)	143,
P13861	cAMP 依赖性蛋白激酶 II 型- α 调节亚基 OS=智人 GN=PRKAR2A PE=1 SV=2	NLDQEQLSQVLDAMFER[Dea]I VK (SEQ ID NO: 4589)	158,
Q8WW1 2	含有 PEST 蛋白水解信号的核蛋 白 OS=智人 GN=PCNP PE=1 SV=2	R[Dea]SAEEEEAADLPTKPTK (SEQ ID NO: 459)	52,
P50897	棕榈酰蛋白硫酯酶 1 OS=智人 GN=PPT1 PE=1 SV=1	ETIPLQETSLYTQDR[Dea]LGLK (SEQ ID NO: 460)	268,
Q9UJU6	脑发育调节蛋白样蛋白 OS=智 人 GN=DBNL PE=1 SV=1	ESGR[Dea]FQDVGPQAPVGSVY QK (SEQ ID NO: 461)	148,
Q14019	毛状蛋白样蛋白 OS=智人 GN=COTL1 PE=1 SV=3	FALITWIGENVSGLQR[Dea]AK (SEQ ID NO: 462)	91,
Q8TEA8	D-酪氨酰-tRNA(Tyr)脱酰酶 1 OS=智人 GN=DTD1 PE=1 SV=2	ILNLR[Dea]VFEDESGK (SEQ ID NO: 463)	53,
H0Y7Q1	具有两个含 PH 结构域蛋白 1 的 Arl-GAP(片段) OS=智人 GN=ADAP1 PE=1 SV=1	AVDR[Dea]PMLPQEYAVEAHFK (SEQ ID NO: 464)	340,
O00401	神经威斯科特-奥尔德里奇综合 征(Wiskott-Aldrich syndrome)蛋	AALLDQIR[Dea]EGAQLK (SEQ ID NO: 465)	414,

UniProt KB 登录 号	蛋白质名称	经修饰的序列	修饰位 置
	白 OS=智人 GN=WASL PE=1 SV=2		
O94772	淋巴细胞抗原 6H OS=智人 GN=LY6H PE=2 SV=1	R[Dea]HFFSDYLMGFINSGLK (SEQ ID NO: 466)	82,
A8MX4 9	蛋白磷酸酶 1FOS= 智人 GN=PPM1F PE=1 SV=2	APGTVLSQEEVEGELAELAMG FLGSR[Dea]K (SEQ ID NO: 467)	69,
O95336	6-磷酸葡萄糖酸内酯酶 OS=智人 GN=PGLS PE=1 SV=2	IVAPISDSPKPPPQR[Dea]VTLTL PVLNAAR[Dea]TVIFVATGEGK (SEQ ID NO: 468)	185, 197,
Q43708	马来酰乙酰乙酸异构酶 OS=智 人 GN=GSTZ1 PE=1 SV=3	R[Dea]ASVR[Dea]MISDLIAGGI QPLQNLSVLK (SEQ ID NO: 469)	96, 100,
Q9UII2	ATP 酶抑制剂, OS= 智人 GN=ATPIF1 PE=1 SV=1	GSDQSENVDR[Dea]GAGSIR[De a]EAGGAFGK (SEQ ID NO: 470)	35, 41,
Q9PIF3	Costars 家族蛋白 ABRACL OS= 智人 GN=ABRACL PE=1 SV=1	FGVLFR[Dea]DDK (SEQ ID NO: 471)	35,
P62851	40S 核糖体蛋白 S25 OS=智人 GN=RPS25 PE=1 SV=1	IR[Dea]GSLAR[Dea]AALQELLS K (SEQ ID NO: 472)	80, 85,
C9J0K6	可溶性耐药相关钙结合蛋白 (Sorcin) OS=智人 GN=SRI PE=1 SV=1	ALTTMGFR[Dea]LSPQAVNSIAK (SEQ ID NO: 473)	92,
Q9NVJ2	ADP 核糖基化因子样蛋白 8B OS= 智人 GN=ARL8B PE=1 SV=1	R[Dea]DLPNALDEK (SEQ ID NO: 474)	132,

[0157] 表5A:慢性神经退行性疾病中观察到的瓜氨酸化肽。这些瓜氨酸化肽是脑特异性的。

肽	UniProtKB 登录号	名称
ADDGR[Dea]PFPQVI K (SEQ ID NO: 355)	sp P04075-2 ALDO A_HUMAN	果糖二磷酸醛缩酶A的同种型2 OS= 智人 GN=ALDOA
EVVIVSATR[Dea]TPI GSFLGSLSLPATK (SEQ ID NO: 402)	sp P24752 THIL_H UMAN	乙酰辅酶A 乙酰转移酶
RGETSGR[Dea]VDDN EETIK (SEQ ID NO: 1)	sp P00568 KAD1_ HUMAN	腺苷酸激酶同工酶 1 OS=智人 GN=AK1 PE=1 SV=3
PGVVHVIDIDR[Dea] GEEK (SEQ ID NO: 475)	sp P55087 AQP4_H UMAN	水通道蛋白-4 OS=智人 GN=AQP4 PE=1 SV=2

IPVGPELGR[Dea]IM NVIGEPIDERGPIK (SEQ ID NO: 476)	sp P06576 ATPB_H UMAN	ATP 合酶亚基 β , OS=智人 GN=ATP5B PE=1 SV=3
SVHR[Dea]GEVPCTV TTASPLDDAVLSELK (SEQ ID NO: 477)	sp P48047 ATPO_H UMAN	ATP 合酶亚基 O, OS=智人 GN=ATP5O PE=1 SV=1
GILR[Dea]TPDTIR[De a]R[Dea]FQSVPAQPG QTSPLIQYFGILLDQ GQLNK (SEQ ID NO: 348)	sp Q00610 CLH1_ HUMAN	网格蛋白重链 1
ELEEDFIR[Dea]SELK (SEQ ID NO: 478)	sp Q14019 COTL1_ HUMAN	毛状蛋白样蛋白 OS=智人 GN=COTL1 PE=1 SV=3
DLFDPIEDR[Dea]HG GYK (SEQ ID NO: 363)	sp P12277 KCRB_ HUMAN	B 型肌酸激酶 OS=智人 GN=CKB PE=1 SV=1
EGNASGVSLLEALDT ILPPTR[Dea]PTDK (SEQ ID NO: 479)	sp Q05639 EF1A2_ HUMAN	延伸因子 1- α 2 OS=智人 GN=EEF1A2 PE=1 SV=1
GHQAAEIEWLGFR[D ea]K (SEQ ID NO: 428)	sp Q8TAM6 ERMI N_HUMAN	Ermin
EELER[Dea]QAVDQI K (SEQ ID NO: 373)	sp P15311 EZRI_H UMAN	埃兹蛋白
EIR[Dea]IQYEAMAS SNMHEAEWYRSK (SEQ ID NO: 316)	sp P14136 GFAP_H UMAN	胶质纤维酸性蛋白
FADLTDAAR[Dea]N AELLR[Dea]QAK (SEQ ID NO: 315)	sp P14136 GFAP_H UMAN	胶质纤维酸性蛋白
GYFEDRR[Dea]PSAN CDPYAVTEAIVRTCL LNETGDEPFQYK (SEQ ID NO: 480)	sp P15104 GLNA_ HUMAN	谷氨酰胺合酶 OS=智人 GN=GLUL PE=1 SV=4
RLIGRR[dea]FDDAVV QSDMK (SEQ ID NO: 481)	sp P11142 HSP7C_ HUMAN	热休克同源 71kDa 蛋白 OS=智人 GN=HSPA8 PE=1 SV=1
VGAHAGEYGAEALE R[Dea]MFL (SEQ ID NO: 340)	sp P69905 HBA_H UMAN	血红蛋白亚基 α
LGRLLVVYPWTQR[d ea]YFDSFGDLSSASAI MGNAK (SEQ ID NO: 482)	sp P69892 HBG2_H UMAN	血红蛋白亚基 γ -2 OS=智人 GN=HBG2 PE=1 SV=2

ESLLFEGR[dea]ITPEL LTRGK (SEQ ID NO: 483)	sp P19367 HXK1_ HUMAN	己糖激酶-1 OS=智人 GN=HK1 PE=1 SV=3
RSTITSR[Dea]EVQTA VR[dea]LLLPGELAK (SEQ ID NO: 484)	sp Q8N257 H2B3B _HUMAN	组蛋白 H2B 3-B 型 OS=智人 GN=HIST3H2BB PE=1 SV=3
CR[Dea]EVAENCK (SEQ ID NO: 485)	sp P50213 IDH3A_ HUMAN	异柠檬酸脱氢酶[NAD]亚基 α , OS= 智人 GN=IDH3A PE=1 SV=1
CR[Dea]APEVSQYIY QVYDSILK (SEQ ID NO: 486)	sp P63010-2 AP2B1 _HUMAN	AP-2 复合物亚基 β 的同种型 2 OS= 智人 GN=AP2B1
GILR[Dea]TPDTIR[dea]]RFQSVPAQPGQTSPL LQYFGILLDQGQLNK (SEQ ID NO: 487)	sp Q00610-2 CLH1 _HUMAN	网格蛋白重链 1 的同种型 2 OS=智人 GN=CLTC
PITIFQE[Dea]RDPTNI K (SEQ ID NO: 488)	sp P04406-2 G3P_H UMAN	甘油醛-3-磷酸脱氢酶的同种型 2 OS=智人 GN=GAPDH
GCDVVVIPAGVPR[D ea]K (SEQ ID NO: 489)	sp P40926-2 MDH M_HUMAN	苹果酸脱氢酶的同种型 2, OS=智人 GN=MDH2
HR[Dea]DTGILDSIGR FFSGDR[Dea]GAPK (SEQ ID NO: 490)	sp P02686-2 MBP_ HUMAN	髓鞘碱性蛋白的同种型 2 OS=智人 GN=MBP
ER[Dea]LDQPMTEIVS R[Dea]VSK (SEQ ID NO: 491)	sp P22314-2 UBA1 _HUMAN	泛素样修饰物激活酶 1 的同种型 2 OS=智人 GN=UBA1
LLVSSEDYGR[dea]DL TGVQNLRK (SEQ ID NO: 492)	sp Q13813-3 SPTN I_HUMAN	血影蛋白 α 链的同种型 3, 非红细胞 1 OS=智人 GN=SPTANI
VAVTPPGLAR[Dea]E DWK (SEQ ID NO: 493)	sp P28331-4 NDUS I_HUMAN	NADH-泛醌氧化还原酶 75kDa 亚基 的同种型 4, OS=智人 GN=NDUFS1
VR[Dea]IQTQPGYAN (SEQ ID NO: 494)	sp Q00325-2 MPCP _HUMAN	磷酸载体蛋白的同种型 B, OS=智人 GN=SLC25A3
RIER[Dea]ELAEAQD DSILK (SEQ ID NO: 495)	sp P30530-2 UFO_ HUMAN	缺乏酪氨酸蛋白激酶受体 UFO 的同 种型 OS=智人 GN=AXL
SR[Dea]LQTAPVPMP DLK (SEQ ID NO: 377)	sp P10636 TAU_H UMAN	微管相关蛋白 τ
HRDTGILDSIGRFFG GDR[Dea]GAPK (SEQ ID NO: 496)	sp P02686 MBP_H UMAN	髓鞘碱性蛋白
LGGR[Dea]DSRSGSP MARR[Dea] (SEQ ID NO: 331)	sp P02686 MBP_H UMAN	髓鞘碱性蛋白

SHGR[Dea]TQDENPV VHF (SEQ ID NO: 330)	sp P02686 MBP_H UMAN	髓鞘碱性蛋白
EGQRPFGYGGGR[De a]ASDYK (SEQ ID NO: 332)	sp P02686 MBP_H UMAN	髓鞘碱性蛋白
GAEGQRPFGYGGGR[Dea]ASDYK (SEQ ID NO: 325)	sp P02686 MBP_H UMAN	髓鞘碱性蛋白
GEAAAER[Dea]PGEA AVASSPSK (SEQ ID NO: 375)	sp P29966 MARC S_HUMAN	豆蔻酰化的富含丙氨酸的 C-激酶底物
GPGPGGPGGAGVAR[Dea]GGAGGGPSGD (SEQ ID NO: 429)	sp Q92686 NEUG_ HUMAN	神经粒蛋白
TDEGIAAYR[Dea]GLFII DGK (SEQ ID NO: 414)	sp P32119 PRDX2_ HUMAN	过氧化物氧化还原酶-2
VRIQTQPGYANTLR[Dea]DAAPK (SEQ ID NO: 313)	sp F8VVM2 F8VV M2_HUMAN	磷酸载体蛋白,
GIIDSTHTQR[Dea]Q VVAVTGDGTNDGPA LK (SEQ ID NO: 366)	sp Q01814 AT2B2_ HUMAN	质膜钙转运 ATP 酶 2
EAFQNAYLELGGLG ER[Dea]VLGFCHYYL PEEQFPK (SEQ ID NO: 497)	sp P13637 AT1A3 HUMAN	钠/钾转运 ATP 酶亚基 α -3 OS=智人 GN=ATP1A3 PE=1 SV=3
VLENAEGAR[Dea]TT PSVVAFTADGER[Dea]LVGMPAK (SEQ ID NO: 360)	sp P38646 GRP75_ HUMAN	应激-70 蛋白, OS=智人 GN=HSPA9 PE=1 SV=2
RIHVLPIDDTVEGITG NLFEVYLK (SEQ ID NO: 498)	sp P55072 TERA_H UMAN	过渡性内质网 ATP 酶 OS=智人 GN=VCP PE=1 SV=4
HVPR[Dea]AVFVDLE PTVIDEIRNGPYRQLF HPEQLITGK (SEQ ID NO: 499)	sp P68366 TBA4A_ HUMAN	微管蛋白 α -4A 链 OS=智人 GN=TUBA4A PE=1 SV=1
FWEVISDEHGIDPSG NYVGDSDLQLER[De a]ISVYYNEASSHK (SEQ ID NO: 423)	sp Q13509 TBB3_H UMAN	微管蛋白 β -3 链

AILVDLEPGTMDSVR S[Dea]GAFGHLFR[Dea] PDNFIFGQSGAGNN WAK (SEQ ID NO: 500)	sp Q13509 TBB3_H UMAN	微管蛋白 β -3 链 OS=智人 GN=TUBB3 PE=1 SV=2
GHYTEGAELVDAVL DVVR[Dea]K (SEQ ID NO: 405)	sp P04350 TBB4A_HUMAN	微管蛋白 β
AISSPTVSR[Dea]LTD TTK (SEQ ID NO: 439)	sp Q94811 TPPP_H UMAN	微管蛋白聚合促进蛋白
TVETR[Dea]DGQVIN ETSQHDDLE (SEQ ID NO: 321)	sp P08670 VIME_H UMAN	波形蛋白

[0158] 表5B. 在慢性神经退行性疾病中观察到的瓜氨酸化肽。这些瓜氨酸化肽不是脑特异性的。

肽	UniProtKB 登录号	蛋白质名称
AVLDVAETGTEAAA ATGVIGGIRK (SEQ ID NO: 501)	sp Q96P15-3 SPB1 1_HUMAN	丝氨酸蛋白酶抑制剂 B11 的同种型 3 OS=智人 GN=SERPINB11
GFPVVLDSPRDGNL K (SEQ ID NO: 502)	sp Q9Y2J8 PADI2 _HUMAN	2 型蛋白-精氨酸脱亚胺酶 OS=智人 GN=PADI2 PE=1 SV=2
GPDRLPAGYEIVLYI SMSDSK (SEQ ID NO: 503)	sp Q9Y2J8 PADI2 _HUMAN	2 型蛋白-精氨酸脱亚胺酶 OS=智人 GN=PADI2 PE=1 SV=2
RFSMVIDNGIVK (SEQ ID NO: 504)	sp P30044 PRDX5 _HUMAN	过氧化物氧化还原酶-5, OS=智人 GN=PRDX5 PE=1 SV=4

[0159] 表6A在人脑的获得性脑损伤中检测到的瓜氨酸化肽。这些瓜氨酸化肽是脑特异性的

肽	UniProtKB 登录号	蛋白质名称
AQQRDVDGATLARLDLEK (SEQ ID NO: 505)	sp Q16352 AINX_H UMAN	α - 互联蛋白 OS=智人 GN=INA PE=1 SV=2
AVTELNEPLSNEDR[Dea]NLLSVAYK (SEQ ID NO: 506)	sp Q04917 1433F_H UMAN	14-3-3 蛋白 η OS=智人 GN=YWHIAH PE=1 SV=4

肽	UniProtKB 登录号	蛋白质名称
AVTEQGAELSNEER[deA]NLLSVAYK (SEQ ID NO: 507)	sp P27348 1433T_H UMAN	14-3-3 蛋白 θ OS=智人 GN=YWHAQ PE=1 SV=1
VVR[Dea]TALLDAAGVASLLTTAEV VVTEIPK (SEQ ID NO: 285)	sp P10809 CH60_H UMAN	60kDa 热休克蛋白
LEAPDADELPR[Dea]SDFDPGQDTY QHPPK (SEQ ID NO: 508)	sp Q99798 ACON HUMAN	乌头酸水合酶, OS=智人 GN=ACO2 PE=1 SV=2
LSEELSGGR[Dea]LK (SEQ ID NO: 509)	sp P61158 ARP3_H UMAN	肌动蛋白相关蛋白 3 OS= 智人 GN=ACTR3 PE=1 SV=3
ILIPWLLSPER[Dea]LDIK (SEQ ID NO: 510)	sp Q8WXF7 ATLA1 _HUMAN	Atlastin-1 OS= 智 人 GN=ATL1 PE=1 SV=1
LR[Dea]FPAEDEFDLSSHNNHMAK (SEQ ID NO: 511)	sp P12277 KCRB_H UMAN	B 型肌酸激酶 OS=智人 GN=CKB PE=1 SV=1
ITR[Dea]TSFLDDAFRK (SEQ ID NO: 512)	sp Q14204 DYHC1 HUMAN	胞质动力蛋白 1 重链 1 OS=智人 GN=DYNC1H1 PE=1 SV=5
DNFTLIPEGTNGTEER[Dea]MSVIWD K (SEQ ID NO: 513)	sp Q16555 DPYL2 HUMAN	二氢嘧啶酶相关蛋白 2 OS= 智 人 GN=DPYSL2 PE=1 SV=1
MVEGFFDR[Dea]GASIVEDK (SEQ ID NO: 514)	sp P49448 DHE4_H UMAN	谷氨酸脱氢酶 2, OS=智 人 GN=GLUD2 PE=1 SV=2
GDYYR[Dea]YLAEVAAGDDK (SEQ ID NO: 515)	sp P63104-2 1433Z_ HUMAN	14-3-3 蛋白 ζ/δ 的同种型 2 OS=智人 GN=YWHAZ
R[Dea]ALVFQPVTELK (SEQ ID NO: 516)	sp P08237-2 PFKA M_HUMAN	ATP 依赖性 6-磷酸果糖 激酶的同种型 2, 肌肉型 OS=智人 GN=PFKM
GVPLYR[Dea]HIADLAGNPEVILPVP	sp P09104-2 ENOG	γ-烯醇酶的同种型 2 OS=

肽	UniProtKB 登录号	蛋白质名称
AFNVINGGSHAGNK (SEQ ID NO: 517)	_HUMAN	智人 GN=ENO2
R[Dea]VIISAPSADAPMFVMGVNHEK (SEQ ID NO: 125)	sp P04406-2 G3P_HUMAN	甘油醛-3-磷酸脱氢酶的同种型 2 OS=智人 GN=GAPDH
NSPLVSR[Dea]LTLYDIAHTPGVAADLSHIETR[Dea]ANVK (SEQ ID NO: 518)	sp P40926-2 MDH2_HUMAN	苹果酸脱氢酶的同种型 2, OS=智人 GN=MDH2
HEGFEE[Dea]DLAALGDK (SEQ ID NO: 519)	sp Q13813-2 SPTN1_HUMAN	血影蛋白 α 链的同种型 2, 非红细胞 1 OS=智人 GN=SPTAN1
LFVTNDAATILR[Dea]ELEVQHPAAK (SEQ ID NO: 520)	sp P50990-2 TCPQ_HUMAN	T 复合蛋白 1 亚基 θ 的同种型 2 OS=智人 GN=CCT8
GR[dea]GITGIEDK (SEQ ID NO: 521)	sp P29401-2 TKT_HUMAN	转酮醇酶的同种型 2 OS=智人 GN=TKT
PHSVSLNDTETR[Dea]K (SEQ ID NO: 522)	sp Q9P0L0-2 VAPA_HUMAN	囊泡相关膜蛋白相关蛋白 A 的同种型 2 OS=智人 GN=VAPA
MDIRG[Dea]AVDAAVPTNIIAAK (SEQ ID NO: 523)	sp Q9UII2-2 VATH_HUMAN	V 型质子 ATP 酶亚基 H 的同种型 2 OS=智人 GN=ATP6VIH
TDDYGR[Dea]DLSSVQTLTK (SEQ ID NO: 524)	sp Q13813-3 SPTN1_HUMAN	血影蛋白 α 链的同种型 3, 非红细胞 1 OS=智人 GN=SPTAN1
R[Dea]LVPGGGATEIELAK (SEQ ID NO: 525)	sp P50990-3 TCPQ_HUMAN	T 复合蛋白 1 亚基 θ 的同种型 3 OS=智人 GN=CCT8
VR[Dea]LLADPTGAFGK (SEQ ID NO: 526)	sp P30044-4 PRDX5_HUMAN	过氧化物氧化还原酶-5 的同种型 4 OS=智人 GN=PRDX5

肽	UniProtKB 登录号	蛋白质名称
NO: 265)	_HUMAN	的同种型 4, OS=智人 GN=PRDX5
R[Dea]GFGFVTDDHDPVDK (SEQ ID NO: 526)	sp P22626-2 ROA2_HUMAN	异质核内核糖核蛋白 A2/B1 的同种型 A2 OS=智人 GN=HNRNPA2B1
IATPR[Dea]GAASPAQK (SEQ ID NO: 527)	sp P10636-7 TAU_HUMAN	微管相关蛋白 τ 的同种型 τ -E OS=智人 GN=MAPT
RVVAEPVELAQEFR[Dea]K (SEQ ID NO: 528)	sp O75489 NDUS3_HUMAN	NADH 脱氢酶[泛醌]铁硫蛋白 3, OS=智人 GN=NDUFS3 PE=1 SV=1
GADEAALAR[Dea]AELEK (SEQ ID NO: 529)	sp P07196 NFL_HUMAN	神经丝轻链多肽 OS=智人 GN=NEFL PE=1 SV=3
QIVWNGPVGVEWEAFAR[Dea]GT K (SEQ ID NO: 530)	sp P00558 PGK1_HUMAN	磷酸甘油酸激酶 1 OS=智人 GN=PGK1 PE=1 SV=3
PMQFLGDEETVR[Dea]K (SEQ ID NO: 531)	sp P18669 PGAM1_HUMAN	磷酸甘油酸酯变位酶 1 OS=智人 GN=PGAM1 PE=1 SV=2
R[Dea]GFGFVYFQSHDAADK (SEQ ID NO: 532)	sp Q4VXU2 PAP1L_HUMAN	聚腺苷酸结合蛋白 1 样 OS=智人 GN=PABPC1L PE=2 SV=1
VPDFSDYR[Dea]RAEVLDSTK (SEQ ID NO: 533)	sp P0C7P4 UCRIL_HUMAN	推定的细胞色素 b-c1 复合物亚基 Rieske 样蛋白质 1 OS=智人 GN=UQCRFS1P1 PE=5 SV=1
R[Dea]DVAGDASESALLK (SEQ ID NO: 534)	sp P13637 AT1A3_HUMAN	钠/钾转运 ATP 酶亚基 α -3 OS=智人 GN=ATPIA3 PE=1 SV=3

肽	UniProtKB 登录号	蛋白质名称
DLTSVMR[Dea]LLSK (SEQ ID NO: 535)	sp Q01082 SPTB2_HUMAN	血影蛋白 β 链, 非红细胞 1 OS=智人 GN=SPTBN1 PE=1 SV=2
FMELLEPLSER[Dea]K (SEQ ID NO: 536)	sp Q01082 SPTB2_HUMAN	血影蛋白 β 链, 非红细胞 11 OS=智人 GN=SPTBN1 PE=1 SV=2
ER[Dea]VEAVNMAEGIIHDTETK (SEQ ID NO: 537)	sp P38646 GRP75_HUMAN	应激-70 蛋白, OS=智人 GN=HSPA9 PE=1 SV=2
HVLSGTLGIPEHTYR[Dea]SR[Dea]V TLSNQPYIK (SEQ ID NO: 538)	sp P04216 THY1_HUMAN	Thy-1 膜糖蛋白 OS=智人 GN=THY1 PE=1 SV=2
MIYR[Dea]DLISHDELFSDIYK (SEQ ID NO: 539)	sp P13693 TCTP_HUMAN	翻译受控的肿瘤蛋白 OS=智人 GN=TPT1 PE=1 SV=1
TGGAVDR[Dea]LTDTSK (SEQ ID NO: 540)	sp Q9BW30 TPPP3_HUMAN	微管蛋白聚合促进蛋白 家族成员 3 OS=智人 GN=TPPP3 PE=1 SV=1
SSEEAVR[Dea]EVHR[Dea]LIEGRAP VISGVTK (SEQ ID NO: 541)	sp O94811 TPPP_HUMAN	微管蛋白聚合促进蛋白 OS=智人 GN=TPPP PE=1 SV=1
LLIIGTTSR[Dea]K (SEQ ID NO: 542)	sp P46459 NSF_HUMAN	囊泡融合 ATP 酶 OS=智人 GN=NSF PE=1 SV=3
WGDPVTR[Dea]VLDDGELLVQQTK (SEQ ID NO: 543)	sp P46459 NSF_HUMAN	囊泡融合 ATP 酶 OS=智人 GN=NSF PE=1 SV=3
ITR[Dea]VEMLEHEAIYK (SEQ ID NO: 544)	sp P62760 VISL1_HUMAN	视锥蛋白样蛋白 1 OS=智人 GN=VSNL1 PE=1 SV=2
FPR[Dea]YAEIVHLTLPDGTK (SEQ ID NO: 545)	sp P21281 VATB2_HUMAN	V 型质子 ATP 酶亚基 B, 脑同种型 OS=智人 GN=ATP6V1B2 PE=1

肽	UniProtKB 登录号	蛋白质名称
		SV=3

[0160] 表6B. 在人脑的获得性脑损伤中检测到的瓜氨酸化肽。这些瓜氨酸化肽不是脑特异性的

肽	UniProtKB 登录号	名称
GDARPAEIDSLWEISK (SEQ ID NO: 546)	sp P49821 NDUV1_HUMAN	NADH 脱氢酶[泛醌]黄素蛋白 1, OS=智人 GN=NDUFV1 PE=1 SV=4
SVVLMSHLGRPDGVPMPDK (SEQ ID NO: 547)	sp P00558-2 PGK1_HUMAN	磷酸甘油酸激酶 1 的同种型 2 OS=智人 GN=PGK1

[0161] 表7: 在慢性脑疾病中分泌的瓜氨酸化人蛋白质

UniProtKB 登录号	蛋白质名称
P61764	突触融合蛋白结合蛋白 1;
P62805	组蛋白 H4
Q14204	胞质动力蛋白 1 重链 1;
Q05193	发动蛋白-1;
P09104	γ -烯醇酶;
P14625	内质网素前体;
O43301	热休克 70kDa 蛋白 12A
P62136	丝氨酸/苏氨酸-蛋白磷酸酶 PP1- α 催化亚基;
P27797	钙网蛋白前体;
P31146	冠蛋白-1A;
P38117	电子转移黄素蛋白亚基 β ;
P68871	血红蛋白亚基 β ;
P28482	丝裂原活化蛋白激酶 1;
P27361	丝裂原活化蛋白激酶 3;
O00232	26S 蛋白酶体非 ATP 酶调控亚基 12;
P36578	60S 核糖体蛋白 L4;
P05387	60S 酸性核糖体蛋白 P2;
Q16181	胞裂蛋白-7;
P49588	丙氨酸-tRNA 连接酶, 细胞质;

[0162] 表8: 在慢性脑疾病中非分泌的瓜氨酸化人蛋白质

UniProtKB 登录号	蛋白质名称
---------------	-------

P17600	突触蛋白-1;
Q99798	乌头酸水合酶,
O14810	复合素-1;
Q6PUV4	复合素-2;
Q9Y2J2	带 4.1 样蛋白 3;
Q92777	突触蛋白-2;
Q2M2I8	AP2 相关蛋白激酶 1;
P35611	α -内收蛋白;
P63010	AP-2 复合亚基 β ;
O15075	丝氨酸/苏氨酸-蛋白激酶 DCLK1;
Q94925	谷氨酰胺酶肾同种型,
P50213	异柠檬酸脱氢酶[NAD]亚基 α
Q08209	丝氨酸/苏氨酸-蛋白磷酸酶 2B 催化亚基 α 同种型;

[0163] 表9:在急性脑疾病中分泌的瓜氨酸化人蛋白质

UniProtKB登录号	蛋白质名称
Q86VP6	Cullin相关的NEDD8解离蛋白1;
P30044	过氧化物氧化还原酶-5,

[0164] 表10:在急性脑疾病中非分泌的瓜氨酸化人蛋白质

UniProtKB登录号	蛋白质名称
P63215	鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G (I) /G (S) /G (O) 亚基 γ -3前体

实施例4的参考文献

1. Ren J, Jiang C, Gao X, Liu Z, Yuan Z, Jin C, et al. PhosSNP for systematic analysis of genetic polymorphisms that influence protein phosphorylation. *Mol Cell Proteomics* 2010, 9:623-634.

2. Ryu GM, Song P, Kim KW, Oh KS, Park KJ, Kim JH.. Genome-wide analysis to predict protein sequence variations that change phosphorylation sites or their corresponding kinases. *Nucleic Acids Res* 2009, 37:1297-1307.

3. Baka Z, Gyorgy B, Geher P, Buzas EI, Falus A, Nagy G. Citrullination under physiological and pathological conditions. *Joint Bone Spine* 2012, 79:431-436.

4. Demoruelle MK, Deane K. Antibodies to citrullinated protein antigens (ACPAs): clinical and pathophysiologic significance. *Curr Rheumatol Rep* 2011, 13:421-430.

5. Uysal H, Nandakumar KS, Kessel C, Haag S, Carlsen S, Burkhardt H, et al. Antibodies to citrullinated proteins: molecular interactions and arthritogenicity. *Immunol Rev* 2010, 233:9-33

6. Okada Y, Wu D, Trynka G, Raj T, Terao C, Ikari K, et al. Genetics of rheumatoid arthritis contributes to biology and drug discovery. *Nature* 2014, 506:376-381.

7. De Ceuleneer M, Van Steendam K, Dhaenens M, Deforce D. In vivo relevance of citrullinated proteins and the challenges in their detection. *Proteomics* 2012,

12:752-760.

8.Raijmakers R,van Beers JJ,El-Azzouny M,Visser NF,Bozic B,Pruijn GJ,et al.Elevated levels of fibrinogen-derived endogenous citrullinated peptides in synovial fluid of rheumatoid arthritis patients.Arthritis Res Ther 2012,14:R114.

9.Stahl DC,Swiderek KM,Davis MT,Lee TD.Data-controlled automation of liquid chromatography/tandem mass spectrometry analysis of peptide mixtures.J Am Soc Mass Spectrom 1996,7:532-540.

10.Yates JR,3rd,Eng JK,McCormack AL,Schieltz D.Method to correlate tandem mass spectra of modified peptides to amino acid sequences in the protein database.Anal Chem1995,67:1426-1436.

11.Gillet LC1NP TS,Rost H,Selevsek N,Reiter L,Bonner R,Aebersold R..Targeted data extraction of the MS/MS spectra generated by data-independent acquisition:a new concept for consistent and accurate proteome analysis..Mol Cell Proteomics 2012.

12.Liu Y,Huttenhain R,Collins B,Aebersold R.Mass spectrometric protein maps for biomarker discovery and clinical research.Expert Rev Mol Diagn 2013,13:811-825

13.Escher C,Reiter L,MacLean B,Ossola R,Herzog F,Chilton J,et al.Using iRT,a normalized retention time for more targeted measurement of peptides.Proteomics 2012,12:1111-1121.

14.Crowgey EL,Stabley DL,Chen C,Huang H,Robbins KM,Polson SW,et al.An integrated approach for analyzing clinical genomic variant data from next-generation sequencing.J Biomol Tech 2015,26:19-28.

15.Hensen SM,Boelens WC,Bonger KM,van Cruchten RT,van Delft FL,Pruijn GJ.Phenylglyoxal-based visualization of citrullinated proteins on Western blots.Molecules 2015,20:6592-6600.

16.Hensen SM,Pruijn GJ.Methods for the detection of peptidylarginine deiminase (PAD) activity and protein citrullination.Mol Cell Proteomics 2014,13:388-396.

17.Stensland M,Holm A,Kiehne A,Fleckenstein B.Targeted analysis of protein citrullination using chemical modification and tandem mass spectrometry.Rapid Commun Mass Spectrom 2009,23:2754-2762.

[0165] 上述各种方法和技术提供了许多方式来实行本申请。当然,应该理解的是,不一定能够根据在此描述的任何特定实施方案实现所描述的所有目的或优点。因此,例如,本领域的技术人员将认识到,可以以实现或优化如本文所教导的一个优点或一组优点的方式执行所述方法,而不一定要实现如本文所教导或提出的其它目的或优点。在本文中提及了各种替代方案。应当理解的是,一些优选实施方案具体包括一个、另一个或若干个特征,而其它实施方案具体地排除一个、另一个或若干个特征,而又其它实施方案通过包含一个、另一个

或若干个有利特征来减轻特定特征。

[0166] 此外,本领域的技术人员将认识到来自不同实施方案的各种特征的适用性。类似地,可以由本领域的普通技术人员以各种组合采用上面讨论的各种元件、特征和步骤,以及每个此类元件、特征或步骤的其它已知等效物,来根据本文所述原理执行方法。将特别地包括各种元件、特征和步骤中的一些,并且在不同实施方案中特别地排除其它元件、特征和步骤。

[0167] 尽管本申请已经在某些实施方案和示例的上下文中公开,但是本领域的技术人员将会理解,本申请的实施方案使具体公开的实施方案延伸超出至其它替代实施方案和/或其用途和修改以及等效形式。

[0168] 本文描述了本申请的优选实施方案,包括发明人已知的用于实施本申请的最佳模式。对于本领域的普通技术人员而言,那些优选实施方案的变化将在阅读前面的描述后变得显而易见。设想技术人员可以适当地采用这样的变化,并且可以以与本文中具体描述的方式不同的方式来实践本申请。因此,如适用的法律所允许的,本申请的许多实施方案包括在本文所附的权利要求书中所述的主题的所有修改形式和等效形式。此外,本申请涵盖上述要素以其所有可能变化的任何组合,除非在本文中另有说明或以其它方式明确地与上下文相矛盾。

[0169] 本文引用的所有专利、专利申请、专利申请的出版物以及其它材料,诸如文章、书籍、说明书、出版物、文档、事物等等,由此出于所有目的而全文以引用方式并入本文,除与它们相关的任何起诉档案历史记录、与本文档不一致或与本文档相冲突的任何起诉档案历史记录、或可能对现在或稍后与本文档相关的权利要求书的最宽范围有限制性影响的任何起诉档案历史记录以外。举例来说,如果在与任何并入的材料相关的术语的描述、定义和/或用途相关联的术语的描述、定义和/或用途和与本文档相关的术语的描述、定义和/或用途之间存在任何不一致或冲突,则以本文档中术语的描述、定义和/或用途为准。

[0170] 应该理解,本文所公开的申请的实施方案是对本申请的实施方案的原理的说明。可以采用的其它修改可以在本申请的范围内。因此,作为示例而非限制,可以根据本文的教导来利用本申请的实施方案的替代配置。因此,本申请的实施方案不限于恰恰如所示和所述的实施方案。

[0171] 以上在详述中描述了本发明的各种实施方案。虽然这些描述直接描述了上述实施方案,但是应该理解的是,本领域的技术人员可以想到对本文示出和描述的具体实施方案的修改和/或变更。落入本说明书范围内的任何此类修改或变化也旨在包括在本说明书范围中。除非特别指出,否则发明人的意图是说明书和权利要求书中的词语和短语被赋予对可应用领域中的普通技术人员而言普通和惯用的含义。

[0172] 已经呈现了对本申请人在提交本申请时已知的本发明的各种实施方案的以上描述,并且所述描述旨在用于说明和描述的目的。本发明的描述既非旨在为穷举的,也非旨在将本发明限制于所公开的确切形式,并且根据上述教导可以进行许多修改和变化。所描述的实施方案用以解释本发明的原理及其实际应用,从而使得本领域中的其它技术人员能够以各种实施方案利用本发明以及具有适合于所设想的特定用途的各种修改。因此,预期本发明不限于所公开的用于实施本发明的特定实施方案。

[0173] 虽然已经示出和描述了本发明的具体实施方案,但是对于本领域的技术人员将显

而易见的是,基于本文的教导,可以在不脱离本发明的情况下进行改变和修改,并且其更宽泛的方面以及因此所附权利要求书涵盖在本发明的范围内的所有此类改变和修改,如同在本发明的真实精神和范围内。

序列表

<110> 西达-赛奈医疗中心

J·凡艾克

J·福特博伯

E·科荣格

R·侯维斯凯

本杰明·菲利普·伯曼

<120> 瓜氨酸化在诊断疾病中的作用

<130> 065472-000562W000

<150> 62/181,665

<151> 2015-06-18

<150> 62/233,231

<151> 2015-09-25

<150> 62/387,149

<151> 2015-12-23

<160> 547

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 1

Arg Gly Glu Thr Ser Gly Arg Val Asp Asp Asn Glu Glu Thr Ile Lys

1 5 10 15

<210> 2

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 2

Ala Ala Gly Ala Ala Arg Ile Ile Ala Val Asp Ile Asn Lys

1 5 10

<210> 3

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 3

Ser Pro Asp Asp Pro Ala Arg His Ile Thr Gly Glu Lys

1 5 10

<210> 4

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 4

Asp Ile Arg His Asp Pro Ser Leu Gln Pro Trp Ser Val Ser Tyr Asp

1 5 10 15

Gly Gly Ser Ala Lys

20

<210> 5

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 5

Leu Ile Leu Thr Leu Thr His Gly Thr Ala Val Cys Thr Arg Thr Tyr

1 5 10 15

Glu Lys

<210> 6

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 6

Thr Ala Glu Asn Phe Arg Ala Leu Ser Thr Gly Glu Lys

1 5 10

<210> 7

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 7

Phe Gln His Pro Gly Ser Asp Met Arg Gln Glu Lys

1 5 10

<210> 8

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 8

Val Ser Pro Leu Thr Phe Gly Arg Lys

1 5

<210> 9

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 9

Arg His Pro His Thr Glu His Val Gln Gln Thr Phe Arg Thr Glu Ile

1

5

10

15

Lys

<210> 10

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 10

Gly Leu Ser Glu Met Arg Leu Glu Lys

1

5

<210> 11

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 11

Cys Asp Ile Asp Ile Arg Lys

1

5

<210> 12

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 12

Gln Glu Tyr Asp Glu Ala Gly Pro Ser Ile Val His Arg Lys

1

5

10

<210> 13

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 13

Ser Ser Ser Ser Arg Gly Ser Ser Tyr Ser Ser Ile Pro Lys

1

5

10

<210> 14

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 14

Thr Ser Pro Glu Gly Ala Arg Asp Leu Leu Gly Pro Lys

1 5 10

<210> 15

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 15

Glu Pro Val Phe Ile Pro Arg Pro Gly Ile Thr Tyr Glu Pro Pro Asn

1 5 10 15

Tyr Lys

<210> 16

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 16

Arg Val Ala Thr Pro Phe Gly Gly Phe Glu Lys

1 5 10

<210> 17

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 17

Ala Glu Leu Pro Asp Tyr Arg Ser Phe Asn Arg Val Ala Thr Pro Phe

1 5 10 15

Gly Gly Phe Glu Lys

20

<210> 18

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 18

Asn Ile Asp Ala Leu Ser Gly Met Glu Gly Arg Lys

1 5 10

<210> 19

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 19

Glu Ser Leu Asp Leu Arg Ala His Leu Lys

1 5 10

<210> 20

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 20

Pro Arg Ser Phe Met Pro Asn Leu Val Pro Pro Lys

1 5 10

<210> 21

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 21

Glu Thr Arg Ala Glu Phe Ala Glu Arg Ser Val Thr Lys Leu Glu Lys

1 5 10 15

<210> 22

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 22

Phe Ala Asp Leu Ser Glu Ala Ala Asn Arg Asn Asn Asp Ala Leu Arg

1 5 10 15

Gln Ala Lys

<210> 23

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 23

Leu Trp Arg Asp Gly Arg Gly Ala Leu Gln Asn Ile Ile Pro Ala Ser

1 5 10 15

Thr Gly Ala Ala Lys

20

<210> 24

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 24

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

1	5	10	15
Lys			
<210> 25			
<211> 31			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 25			
Ser Tyr Leu Arg	Leu Arg Pro Asp Arg	Val Ala Met Gln	Asp Ala Thr
1	5	10	15
Ala Gln Met Ala	Met Leu Gln Phe Ile Ser	Ser Gly Leu Ser	Lys
	20	25	30
<210> 26			
<211> 23			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 26			
Ala Asn Ser Val	Arg Asn Ala Val Thr	Gln Glu Phe Gly	Pro Val Pro
1	5	10	15
Asp Thr Ala Arg	Tyr Tyr Lys		
	20		
<210> 27			
<211> 18			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 27			
Ile Val Tyr Gly	His Leu Asp Asp Pro	Ala Ser Gln Glu	Ile Glu Arg
1	5	10	15
Gly Lys			
<210> 28			
<211> 14			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 28			
Leu Leu Arg Ala	Val Ile Leu Gly Pro	Pro Gly Ser Gly	Lys
1	5	10	
<210> 29			
<211> 14			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			

<400> 29

Val Ala Gly Ala Ser Arg Ile Ile Gly Val Asp Ile Asn Lys

1 5 10

<210> 30

<211> 29

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 30

Arg Thr Gly Ala Ile Val Asp Val Pro Val Gly Glu Glu Leu Leu Gly

1 5 10 15

Arg Val Val Asp Ala Leu Gly Asn Ala Ile Asp Gly Lys

20 25

<210> 31

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 31

Ala Ile Glu Glu Gln Val Ala Val Ile Tyr Ala Gly Val Arg Gly Tyr

1 5 10 15

Leu Asp Lys

<210> 32

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 32

Gly Ile Arg Pro Ala Ile Asn Val Gly Leu Ser Val Ser Arg Val Gly

1 5 10 15

Ser Ala Ala Gln Thr Arg Ala Met Lys

20 25

<210> 33

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 33

Gln Gly Gln Tyr Ser Pro Met Ala Ile Glu Glu Gln Val Ala Val Ile

1 5 10 15

Tyr Ala Gly Val Arg Gly Tyr Leu Asp Lys

20 25

<210> 34

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 34

Ser Gly Gly Pro Val Asp Ala Ser Ser Glu Tyr Gln Gln Glu Leu Glu

1

5

10

15

Arg Glu Leu Phe Lys

20

<210> 35

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 35

Tyr Arg Asn Phe Asp Ile Pro Lys

1

5

<210> 36

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 36

Glu Glu Arg Ala Asp Leu Ile Ala Tyr Leu Lys

1

5

10

<210> 37

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 37

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

1

5

10

<210> 38

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 38

Ala Ala Asp Met Leu Ser Gly Pro Arg Arg Ala Glu Ile Leu Ala Lys

1

5

10

15

<210> 39

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 39

Val Ala Asn Glu Pro Val Leu Ala Phe Thr Gln Gly Ser Pro Glu Arg

1 5 10 15

Asp Ala Leu Gln Lys

20

<210> 40

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 40

Glu Met Val Leu Thr Gly Asp Arg Ile Ser Ala Gln Asp Ala Lys

1 5 10 15

<210> 41

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 41

Val Leu Arg Gly Val Glu Val Thr Val Gly His Glu Gln Glu Glu Gly

1 5 10 15

Gly Lys

<210> 42

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 42

His Leu Glu Ile Asn Pro Asp His Ser Ile Ile Glu Thr Leu Arg Gln

1 5 10 15

Lys

<210> 43

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 43

Ala Ala Thr Ile Thr Pro Phe Arg Lys

1 5

<210> 44

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 44

Val Tyr Phe Arg Leu Pro Arg Pro Pro Pro Glu Met Pro Glu Ser

1 5 10 15

Leu Lys

<210> 45

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 45

Cys Asp Leu His Arg Leu Glu Glu Gly Pro Pro Val Thr Thr Val Leu

1 5 10 15

Thr Arg Glu Asp Gly Leu Lys

20

<210> 46

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 46

Phe Ala Ile Tyr Arg Trp Asp Pro Asp Lys

1 5 10

<210> 47

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 47

Thr Arg Leu Ile Gly Pro Asn Cys Pro Gly Val Ile Asn Pro Gly Glu

1 5 10 15

Cys Lys

<210> 48

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 48

Ala Asp Arg Ala Gly Asn Val Ile Phe Arg Lys

1 5 10

<210> 49

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 49

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

1 5 10

<210> 50

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 50

Phe Asp Arg Gly Tyr Ile Ser Pro Tyr Phe Ile Asn Thr Ser Lys

1 5 10 15

<210> 51

<211> 24

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 51

Pro Asn Ile Arg Asn Val Val Val Val Asp Gly Val Arg Thr Pro Phe

1 5 10 15

Leu Leu Ser Gly Thr Ser Tyr Lys

20

<210> 52

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 52

Thr Gly Arg Glu Asp Ile Ala Asn Leu Ala Asp Glu Phe Lys

1 5 10

<210> 53

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 53

Arg Leu Gln Leu Leu Glu Pro Phe Asp Lys

1 5 10

<210> 54

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 54

Leu Gly Ile Thr His Val Leu Asn Ala Ala Glu Gly Arg Ser Phe Met
1 5 10 15
His Val Asn Thr Asn Ala Asn Phe Tyr Lys
20 25
<210> 55
<211> 13
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 55
Phe Gly Val Ser Thr Gly Arg Glu Gly Gln Thr Pro Lys
1 5 10
<210> 56
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 56
Asp Val Val Phe Leu Leu Asp Gly Ser Glu Gly Val Arg Ser Gly Phe
1 5 10 15
Pro Leu Leu Lys
20
<210> 57
<211> 19
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 57
Gly Val Asn Thr Gly Ala Val Gly Ser Tyr Ile Tyr Asp Arg Asp Pro
1 5 10 15
Glu Gly Lys
<210> 58
<211> 16
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 58
Arg Gly Glu Thr Ser Gly Arg Val Asp Asp Asn Glu Glu Thr Ile Lys
1 5 10 15
<210> 59
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 59

Tyr Gly Tyr Thr His Leu Ser Thr Gly Asp Leu Leu Arg Ser Glu Val

1 5 10 15

Ser Ser Gly Ser Ala Arg Gly Lys

20

<210> 60

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 60

Leu Leu Arg Ser Glu Val Ser Ser Gly Ser Ala Arg Gly Lys

1 5 10

<210> 61

<211> 24

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 61

Tyr Gly Tyr Thr His Leu Ser Thr Gly Asp Leu Leu Arg Ser Glu Val

1 5 10 15

Ser Ser Gly Ser Ala Arg Gly Lys

20

<210> 62

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 62

Pro Glu Asp Pro Ser Leu Leu Glu Asp Pro Arg Ile Lys

1 5 10

<210> 63

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 63

Gln Val Ser Gly Pro Glu Arg Thr Ile Pro Ile Thr Arg Glu Glu Lys

1 5 10 15

<210> 64

<211> 29

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 64

Tyr Arg Ile Pro Ala Asp Val Asp Pro Leu Thr Ile Thr Ser Ser Leu

1 5 10 15

Ser Ser Asp Gly Val Leu Thr Val Asn Gly Pro Arg Lys

20 25

<210> 65

<211> 28

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 65

Ser Pro Phe Tyr Leu Arg Pro Pro Ser Phe Leu Arg Ala Pro Ser Trp

1 5 10 15

Phe Asp Thr Gly Leu Ser Glu Met Arg Leu Glu Lys

20 25

<210> 66

<211> 28

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 66

Ser Pro Phe Tyr Leu Arg Pro Pro Ser Phe Leu Arg Ala Pro Ser Trp

1 5 10 15

Phe Asp Thr Gly Leu Ser Glu Met Arg Leu Glu Lys

20 25

<210> 67

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 67

Gln Val Ser Gly Pro Glu Arg Thr Ile Pro Ile Thr Arg Glu Glu Lys

1 5 10 15

<210> 68

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 68

His Ile Tyr Leu Leu Pro Ser Gly Arg Ile Asn Val Ser Gly Leu Thr

1 5 10 15

Thr Lys

<210> 69

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 69

Leu Leu Ala His Val Arg Pro Pro Val Ser Lys

1 5 10

<210> 70

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 70

Asn Val Leu Gly His Met Gln Gln Gly Gly Ser Pro Thr Pro Phe Asp

1 5 10 15

Arg Asn Phe Ala Thr Lys

20

<210> 71

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 71

Met Asp Ala Asp Asp Ser Arg Ala Pro Lys

1 5 10

<210> 72

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 72

Glu Leu Phe Asp Pro Ile Ile Ser Asp Arg His Gly Gly Tyr Lys

1 5 10 15

<210> 73

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 73

Gly Gly Asp Asp Leu Asp Pro Asn Tyr Val Leu Ser Ser Arg Val Arg

1 5 10 15

Thr Gly Arg Ser Ile Lys

20

<210> 74

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 74

Pro Ile Ile Ser Asp Arg His Gly Gly Tyr Lys Pro Thr Asp Lys

1 5 10 15

<210> 75

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 75

Glu Leu Phe Asp Pro Ile Ile Ser Asp Arg His Gly Gly Tyr Lys Pro

1 5 10 15

Thr Asp Lys

<210> 76

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 76

Gly Gly Asp Asp Leu Asp Pro Asn Tyr Val Leu Ser Ser Arg Val Arg

1 5 10 15

Thr Gly Arg Ser Ile Lys

20

<210> 77

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 77

Phe Glu Glu Ile Leu Thr Arg Leu Arg Leu Gln Lys

1 5 10

<210> 78

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 78

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

1 5 10 15

Leu Met Arg Ile Leu Val Asp Val Glu Lys

20

25

<210> 79

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 79

Gln Ile Ser Val Arg Gly Leu Ala Gly Leu Gly Asp Val Ala Glu Val

1

5

10

15

Arg Lys

<210> 80

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 80

Leu Arg Val Asp Pro Val Asn Phe Lys

1

5

<210> 81

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 81

Val Gly Ala His Ala Gly Glu Tyr Gly Ala Glu Ala Leu Glu Arg Met

1

5

10

15

Phe Leu Ser Phe Pro Thr

20

<210> 82

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 82

Leu Glu Arg Met Phe Leu Ser Phe Pro Thr Thr Lys

1

5

10

<210> 83

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 83

Arg Val Asp Pro Val Asn Phe Lys

1

5

<210> 84

<211> 42

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 84

Val Asn Val Asp Glu Val Gly Gly Glu Ala Leu Gly Arg Leu Leu Val
1 5 10 15
Val Tyr Pro Trp Thr Gln Arg Phe Phe Glu Ser Phe Gly Asp Leu Ser
 20 25 30
Thr Pro Asp Ala Val Met Gly Asn Pro Lys
 35 40

<210> 85

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 85

Val Asn Val Asp Glu Val Gly Gly Glu Ala Leu Gly Arg Leu Leu Val
1 5 10 15

<210> 86

<211> 42

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 86

Val Asn Val Asp Glu Val Gly Gly Glu Ala Leu Gly Arg Leu Leu Val
1 5 10 15
Val Tyr Pro Trp Thr Gln Arg Phe Phe Glu Ser Phe Gly Asp Leu Ser
 20 25 30
Thr Pro Asp Ala Val Met Gly Asn Pro Lys
 35 40

<210> 87

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 87

Arg Phe Phe Glu Ser Phe Gly Asp Leu Ser Thr Pro Asp Ala Val Met
1 5 10 15
Gly Asn Pro Lys
 20

<210> 88

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 88

Val Asn Val Asp Glu Val Gly Gly Glu Ala Leu Gly Arg Leu

1 5 10

<210> 89

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 89

Val Leu Thr Asp Pro Asp Ala Pro Ser Arg Lys Asp Pro Lys

1 5 10

<210> 90

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 90

Cys Asp Glu Pro Ile Leu Ser Asn Arg Ser Gly Asp His Arg Gly Lys

1 5 10 15

<210> 91

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 91

Ser Val Val Leu Met Ser His Leu Gly Arg Pro Asp Gly Val Pro Met

1 5 10 15

Pro Asp Lys

<210> 92

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 92

Arg Val Val Met Arg Val Asp Phe Asn Val Pro Met Lys

1 5 10

<210> 93

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 93

Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu
1 5 10 15

Leu Leu Phe Phe Ala Lys
20

<210> 94

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 94

Val Pro Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn
1 5 10 15

<210> 95

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 95

Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys
1 5 10

<210> 96

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 96

Phe Gly Glu Arg Ala Phe Lys
1 5

<210> 97

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 97

Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys
1 5 10

<210> 98

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 98

Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro Lys
1 5 10

<210> 99

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 99

Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val

1 5 10 15

Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys

20 25 30

<210> 100

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 100

Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys

1 5

<210> 101

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 101

Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys

1 5

<210> 102

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 102

Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys

1 5

<210> 103

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 103

Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys

1 5 10

<210> 104

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 104

Arg Met Pro Cys Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu

1 5 10 15

Cys Val Leu His Glu Lys

20

<210> 105

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 105

Asp Asp Asn Pro Asn Leu Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val

1 5 10 15

Met Cys Thr Ala Phe His Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys

20 25 30

<210> 106

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 106

Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu

1 5 10 15

Leu Leu Phe Phe Ala Lys

20

<210> 107

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 107

Cys Cys Thr Glu Ser Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys

1 5 10

<210> 108

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 108

Arg Glu Phe Thr Glu Ser Gln Leu Gln Glu Gly Lys

1 5 10

<210> 109

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 109

Met Ile Ile Tyr Arg Asp Leu Ile Ser His Asp Glu Met Phe Ser Asp

1 5 10 15

Ile Tyr Lys

<210> 110

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 110

Thr Ser Ala Ala Leu Ser Thr Val Gly Ser Ala Ile Ser Arg Lys

1 5 10 15

<210> 111

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 111

Phe Val Glu Gly Leu Pro Ile Asn Asp Phe Ser Arg Glu Lys

1 5 10

<210> 112

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 112

Glu Glu Ala Glu Asn Asn Leu Ala Ala Phe Arg Ala Asp Val Asp Ala

1 5 10 15

Ala Thr Leu Ala Arg

20

<210> 113

<211> 38

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 113

Ser Arg Leu Gly Thr Thr Arg Thr Pro Ser Ser Tyr Gly Ala Gly Glu

1 5 10 15

Leu Leu Asp Phe Ser Leu Ala Asp Ala Val Asn Gln Glu Phe Leu Thr

	20	25	30
Thr Arg Thr Asn Glu Lys			
35			
<210> 114			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 智人 (Homo sapiens)			
<400> 114			
Asn Phe Arg Glu Thr Ser Pro Glu Gln Arg Gly Ser Glu Val His Thr			
1 5 10 15			
Lys			
<210> 115			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> 智人 (Homo sapiens)			
<400> 115			
Met Ala Leu Asp Val Glu Ile Ala Thr Tyr Arg Lys			
1 5 10			
<210> 116			
<211> 38			
<212> PRT			
<213> 智人 (Homo sapiens)			
<400> 116			
Ser Arg Leu Gly Thr Thr Arg Thr Pro Ser Ser Tyr Gly Ala Gly Glu			
1 5 10 15			
Leu Leu Asp Phe Ser Leu Ala Asp Ala Val Asn Gln Glu Phe Leu Thr			
20 25 30			
Thr Arg Thr Asn Glu Lys			
35			
<210> 117			
<211> 16			
<212> PRT			
<213> 智人 (Homo sapiens)			
<400> 117			
Val Asp Val Glu Arg Asp Asn Leu Leu Asp Asp Leu Gln Arg Leu Lys			
1 5 10 15			
<210> 118			
<211> 17			
<212> PRT			

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 118

Asn Phe Arg Glu Thr Ser Pro Glu Gln Arg Gly Ser Glu Val His Thr

1 5 10 15

Lys

<210> 119

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 119

Thr Ile Glu Thr Arg Asp Gly Glu Val Val Ser Glu Ala Thr Gln Gln

1 5 10 15

Gln His Glu Val Leu

20

<210> 120

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 120

Ser Ser Pro Val Phe Pro Arg Ala Gly Phe Gly Ser Lys

1 5 10

<210> 121

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 121

Ala Ser Gly Val Gln Val Ala Asp Glu Val Cys Arg Ile Phe Tyr Asp

1 5 10 15

Met Lys

<210> 122

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 122

Lys Pro Ile Thr Thr Gly Gly Val Thr Tyr Arg Glu Gln Pro Trp His

1 5 10 15

Lys

<210> 123

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 123

Glu Leu Ser Asp Ile Ala His Arg Ile Val Ala Pro Gly Lys

1 5 10

<210> 124

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 124

Leu Val Ile Asn Gly Asn Pro Ile Thr Ile Phe Gln Glu Arg Asp Pro

1 5 10 15

Ser Lys

<210> 125

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 125

Arg Val Ile Ile Ser Ala Pro Ser Ala Asp Ala Pro Met Phe Val Met

1 5 10 15

Gly Val Asn His Glu Lys

20

<210> 126

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 126

Ala Phe Arg Val Pro Thr Ala Asn Val Ser Val Val Asp Leu Thr Cys

1 5 10 15

Arg Leu Glu Lys

20

<210> 127

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 127

Val Ser Val Val Asp Leu Thr Cys Arg Leu Glu Lys Pro Ala Lys

1 5 10 15

<210> 128

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 128

Leu Trp Arg Asp Gly Arg Gly Ala Leu Gln Asn Ile Ile Pro Ala Ser

1 5 10 15

Thr Gly Ala Ala Lys

20

<210> 129

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 129

Asp Arg Ser Glu Glu Glu Arg Thr Thr Glu Ala Glu Lys

1 5 10

<210> 130

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 130

His Val Ser Gly Ile Thr Asp Thr Glu Glu Glu Arg Ile Lys

1 5 10

<210> 131

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 131

Ser Pro Arg Phe Ala Leu Phe Asp Leu Ala Glu Gly Lys

1 5 10

<210> 132

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 132

Leu Gly Gln Asn Pro Thr Gln Ala Glu Val Leu Arg Val Leu Gly Lys

1 5 10 15

Pro Arg Gln Glu Glu Leu Asn Thr Lys

20

25

<210> 133

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 133

Leu Gly Lys Pro Arg Gln Glu Glu Leu Asn Thr Lys

1 5 10

<210> 134

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 134

Glu Ala Phe Met Leu Phe Asp Arg Thr Pro Lys

1 5 10

<210> 135

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 135

Glu Ala Phe Met Leu Phe Asp Arg Thr Pro Lys

1 5 10

<210> 136

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 136

Val Leu Gly Lys Pro Arg Gln Glu Glu Leu Asn Thr Lys

1 5 10

<210> 137

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 137

Ala Leu Gly Gln Asn Pro Thr Gln Ala Glu Val Leu Arg Val Leu Gly

1 5 10 15

Lys

<210> 138

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 138

Leu Gly Gln Asn Pro Thr Gln Ala Glu Val Leu Arg Val Leu Gly Lys

1 5 10 15

Pro Arg Gln Glu Glu Leu Asn Thr Lys

20 25

<210> 139

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 139

Leu Gly Gln Asn Pro Thr Gln Ala Glu Val Leu Arg Val Leu Gly Lys

1 5 10 15

<210> 140

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 140

Glu Ala Phe Met Leu Phe Asp Arg Thr Pro Lys

1 5 10

<210> 141

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 141

Met Leu Asp Phe Glu Thr Phe Leu Pro Ile Leu Gln His Ile Ser Arg

1 5 10 15

Asn Lys

<210> 142

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 142

Glu Gln Gly Thr Tyr Glu Asp Phe Val Glu Gly Leu Arg Val Phe Asp

1 5 10 15

Lys

<210> 143

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 143

Asn Asp Leu Arg Asp Thr Phe Ala Ala Leu Gly Arg Val Asn Val Lys

1 5 10 15

<210> 144

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 144

Glu Ala Phe Thr Ile Met Asp Gln Asn Arg Asp Gly Phe Ile Asp Lys

1 5 10 15

<210> 145

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 145

Gly Asp Ser Glu Met Ala Val Phe Gly Ala Ala Ala Pro Tyr Leu Arg

1 5 10 15

Lys

<210> 146

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 146

Val Arg Glu Leu Glu Asn Glu Leu Glu Ala Glu Gln Lys

1 5 10

<210> 147

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 147

Arg Tyr Arg Ile Leu Asn Pro Ala Ala Ile Pro Glu Gly Gln Phe Ile

1 5 10 15

Asp Ser Arg Lys

20

<210> 148

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 148

Arg Asn His Leu Arg Val Val Asp Ser Leu Gln Thr

1 5 10

<210> 149

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 149

Arg Val Arg Glu Leu Glu Asn Glu Leu Glu Ala Glu Gln Lys

1 5 10

<210> 150

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 150

Ala Val Phe Gly Ala Ala Ala Pro Tyr Leu Arg Lys

1 5 10

<210> 151

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 151

Leu Glu Ala Arg Val Arg Glu Leu Glu Asn Glu Leu Glu Ala Glu Gln

1 5 10 15

Lys

<210> 152

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 152

Tyr Arg Ile Leu Asn Pro Ala Ala Ile Pro Glu Gly Gln Phe Ile Asp

1 5 10 15

Ser Arg Lys

<210> 153

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 153

Arg Tyr Arg Ile Leu Asn Pro Ala Ala Ile Pro Glu Gly Gln Phe Ile

1 5 10 15

Asp Ser Arg Lys

20

<210> 154

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 154

Asp Phe Glu Leu Asn Ala Leu Asn Ala Arg Ile Glu Asp Glu Gln Ala

1

5

10

15

Leu Gly Ser Gln Leu Gln Lys

20

<210> 155

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 155

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

1

5

10

15

Lys

<210> 156

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 156

Arg Ser Val Asn Asp Leu Thr Ser Gln Arg Ala Lys

1

5

10

<210> 157

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 157

Arg Val Arg Glu Leu Glu Asn Glu Leu Glu Ala Glu Gln Lys

1

5

10

<210> 158

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 158

Tyr Arg Ile Leu Asn Pro Ala Ala Ile Pro Glu Gly Gln Phe Ile Asp

1 5 10 15
Ser Arg Lys
<210> 159
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 159
Arg Val Ile Gln Tyr Phe Ala Val Ile Ala Ala Ile Gly Asp Arg Ser
1 5 10 15
Lys
<210> 160
<211> 20
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 160
Arg Tyr Arg Ile Leu Asn Pro Ala Ala Ile Pro Glu Gly Gln Phe Ile
1 5 10 15
Asp Ser Arg Lys
20
<210> 161
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 161
Val Arg Trp Gln Arg Gly Gly Ser Asp Ile Ser Ala Ser Asn Lys
1 5 10 15
<210> 162
<211> 9
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 162
Pro Arg Pro Gln Val Thr Trp Thr Lys
1 5
<210> 163
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人 (Homo sapiens)
<400> 163
Ser Gly Glu His Asp Phe Gly Ala Ala Phe Asp Gly Asp Gly Asp Arg

1	5	10	15
Asn Met Ile Leu Gly Lys			
20			
<210> 164			
<211> 14			
<212> PRT			
<213> 智人 (Homo sapiens)			
<400> 164			
Asp Leu Glu Ala Leu Met Phe Asp Arg Ser Phe Val Gly Lys			
1	5	10	
<210> 165			
<211> 19			
<212> PRT			
<213> 智人 (Homo sapiens)			
<400> 165			
Val Asn Asp Asp Ile Ile Val Asn Trp Val Asn Glu Thr Leu Arg Glu			
1	5	10	15
Ala Lys Lys			
<210> 166			
<211> 21			
<212> PRT			
<213> 智人 (Homo sapiens)			
<400> 166			
Cys Ser Val Ile Arg Asp Ser Leu Leu Gln Asp Gly Glu Phe Ser Met			
1	5	10	15
Asp Leu Arg Thr Lys			
20			
<210> 167			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 智人 (Homo sapiens)			
<400> 167			
Cys Asp Val Ser Arg Gly Asp Trp Val Thr Ala Leu Ala Ser Val Thr			
1	5	10	15
Lys			
<210> 168			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> 智人 (Homo sapiens)			

<400> 168

Tyr Arg Ala Tyr Ala Thr Glu Pro His Ala Lys

1 5 10

<210> 169

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 169

Gln Glu Leu Glu Arg Glu Ala Glu Glu Arg Arg Gly Glu Lys

1 5 10

<210> 170

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 170

Gly Glu Arg Val Asp Phe Asp Asp Ile His Arg Lys

1 5 10

<210> 171

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 171

Glu Ala Glu Asp Gly Pro Met Glu Glu Ser Lys Pro Lys Pro Arg

1 5 10 15

<210> 172

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 172

Ala Glu Ala Glu Thr Glu Glu Thr Arg Ala Glu Glu Asp Glu Glu Glu

1 5 10 15

Glu Glu Ala Lys

20

<210> 173

<211> 36

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 173

His Val Pro Arg Ala Val Phe Val Asp Leu Glu Pro Thr Val Ile Asp

1	5	10	15
Glu Val Arg Thr Gly Thr Tyr Arg Gln Leu Phe His Pro Glu Gln Leu			
	20	25	30

Ile Thr Gly Lys

35

<210> 174

<211> 36

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 174

His Val Pro Arg Ala Val Phe Val Asp Leu Glu Pro Thr Val Ile Asp

1	5	10	15
---	---	----	----

Glu Ile Arg Asn Gly Pro Tyr Arg Gln Leu Phe His Pro Glu Gln Leu

20	25	30
----	----	----

Ile Thr Gly Lys

35

<210> 175

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 175

Glu Ile Ile Asp Pro Val Leu Asp Arg Ile Arg Lys

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

<210> 176

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 176

Glu Asp Ala Ala Asn Asn Tyr Ala Arg Gly His Tyr Thr Val Gly Lys

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 177

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 177

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

1	5	10	15
---	---	----	----

His Asp Asp Leu Glu

20

<210> 178

<211> 27

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 178

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

<210> 179

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 179

Ile Pro Glu Asn Ile Tyr Arg Gly Ile Arg Asn Leu Leu Glu Ser Tyr
1 5 10 15
His Val Pro Glu Leu Ile Lys
 20

<210> 180

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 180

Ser Glu Glu Glu Leu Ser Asp Leu Phe Arg Met Phe Asp Lys
1 5 10

<210> 181

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 181

Glu Leu Asp Arg Asp Thr Val Phe Ala Leu Val Asn Tyr Ile Phe Phe
1 5 10 15
Lys

<210> 182

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 182

Glu Asn Gly Gly Ala Arg Leu Ala Glu Tyr His Ala Lys

1	5	10
<210> 183		
<211> 17		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 183		
Asp Ser Gly Arg Asp Tyr Val Ser Gln Phe Glu Gly Ser Ala Leu Gly		
1	5	10 15
Lys		
<210> 184		
<211> 20		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 184		
Ala Lys Pro Ala Leu Glu Asp Leu Arg Gln Gly Leu Leu Pro Val Leu		
1	5	10 15
Glu Ser Phe Lys		
20		
<210> 185		
<211> 10		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 185		
Pro Arg Gln Ile Asp Asn Pro Asp Tyr Lys		
1	5	10
<210> 186		
<211> 12		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 186		
Thr Glu Arg Glu Gln Phe Val Glu Phe Arg Asp Lys		
1	5	10
<210> 187		
<211> 20		
<212> PRT		
<213> 智人(Homo sapiens)		
<400> 187		
Ile Glu Arg Ala Ile Thr Gln Glu Leu Pro Gly Leu Leu Gly Ser Leu		
1	5	10 15

Gly Leu Gly Lys

20

<210> 188

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 188

Thr Ile Glu Gly Ile Val Met Ala Ala Asp Ser Ala Arg Ser Phe Ser

1 5 10 15

Pro Leu Glu Lys

20

<210> 189

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 189

Ile Ser Arg Val Asp Ala Ala Ser Leu Lys

1 5 10

<210> 190

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 190

Ala Thr Val Val Tyr Gln Gly Glu Arg Val Lys

1 5 10

<210> 191

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 191

Val Glu Arg Gln Val Phe Gly Glu Ala Thr Lys

1 5 10

<210> 192

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 192

Tyr Leu Tyr Leu Arg Asn Asn Gln Ile Asp His Ile Asp Glu Lys

1 5 10 15

<210> 193

<211> 7

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 193

Ala Leu Glu Leu Phe Arg Lys

1 5

<210> 194

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 194

Glu Glu Asp Pro Ala Thr Gly Thr Gly Asp Pro Pro Arg Lys

1 5 10

<210> 195

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 195

Gly Ala Phe Ser Arg Leu Asp Pro Thr Gly Thr Phe Glu Lys

1 5 10

<210> 196

<211> 24

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 196

Pro Asn Val Ser Glu Ala Leu Arg Ser Ala Gly Leu Pro Ser His Ser

1 5 10 15

Ser Val Ile Ser Gln His Ser Lys

20

<210> 197

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 197

Tyr Ala Leu Gln Ser Gln Gln Arg Trp Lys

1 5 10

<210> 198

<211> 36

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 198

Val Ser Pro Glu Thr Val Asp Ser Val Ile Met Gly Asn Val Leu Gln

1 5 10 15

Ser Ser Ser Asp Ala Ile Tyr Leu Ala Arg His Val Gly Leu Arg Val

20 25 30

Gly Ile Pro Lys

35

<210> 199

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 199

Glu Val Val Ile Val Ser Ala Thr Arg Thr Pro Ile Gly Ser Phe Leu

1 5 10 15

Gly Ser Leu Ser Leu Leu Pro Ala Thr Lys

20 25

<210> 200

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 200

Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Pro Asp Arg Val Ala Met Gln Asp Ala Thr

1 5 10 15

Ala Gln Met Ala Met Leu Gln Phe Ile Ser Ser Gly Leu Ser Lys

20 25 30

<210> 201

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 201

Phe Arg Gly His Leu Asp Asn Ile Ser Asn Asn Leu Leu Ile Gly Ala

1 5 10 15

Ile Asn Ile Glu Asn Gly Lys

20

<210> 202

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 202

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

1 5 10 15

Gly Arg Lys

<210> 203

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 203

Phe Ala Arg Glu Glu Ile Ile Pro Val Ala Ala Glu Tyr Asp Lys

1 5 10 15

<210> 204

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 204

Thr Arg Pro Val Val Ala Ala Gly Ala Val Gly Leu Ala Gln Arg Ala

1 5 10 15

Leu Asp Glu Ala Thr Lys

20

<210> 205

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 205

Lys Arg Gly Glu Thr Ser Gly Arg Val Asp Asp Asn Glu Glu Thr Ile

1 5 10 15

Lys

<210> 206

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 206

Val Ala Phe Thr Gly Ser Thr Glu Ile Gly Arg Val Ile Gln Val Ala

1 5 10 15

Ala Gly Ser Ser Asn Leu Lys

20

<210> 207

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 207

Ser Arg Val Val Gly Asn Pro Phe Asp Ser Lys

1 5 10

<210> 208

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 208

Pro Tyr Val Leu Pro Ser Val Arg Lys

1 5

<210> 209

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 209

Ile Pro Val Gly Pro Glu Thr Leu Gly Arg Ile Met Asn Val Ile Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ile Asp Glu Arg Gly Pro Ile Lys

20 25

<210> 210

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 210

Ile Pro Val Gly Pro Glu Thr Leu Gly Arg Ile Met Asn Val Ile Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ile Asp Glu Arg Gly Pro Ile Lys

20 25

<210> 211

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 211

Ile Gln Arg Phe Leu Ser Gln Pro Phe Gln Val Ala Glu Val Phe Thr

1 5 10 15

Gly His Met Gly Lys

20

<210> 212

<211> 34

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 212

Ala His Gly Gly Tyr Ser Val Phe Ala Gly Val Gly Glu Arg Thr Arg

1

5

10

15

Glu Gly Asn Asp Leu Tyr His Glu Met Ile Glu Ser Gly Val Ile Asn

20

25

30

Leu Lys

<210> 213

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 213

Pro Arg Ala Glu Glu Glu Arg Arg Ile Ala Ala Glu Glu Lys

1

5

10

<210> 214

<211> 28

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 214

Ser Gln Leu Ser Ala Ala Val Thr Ala Leu Asn Ser Glu Ser Asn Phe

1

5

10

15

Ala Arg Ala Tyr Ala Gln Gly Ile Ser Arg Thr Lys

20

25

<210> 215

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 215

Thr Val Val Gly Gln Ile Thr Val Asp Met Met Tyr Gly Gly Met Arg

1

5

10

15

Gly Met Lys

<210> 216

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 216

Leu Arg Phe Pro Ala Glu Asp Glu Phe Pro Asp Leu Ser Ala His Asn

1 5 10 15

Asn His Met Ala Lys

20

<210> 217

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 217

Glu Val Phe Thr Arg Phe Cys Cys Ala Met Thr Gly Leu Thr Gln Ile

1 5 10 15

Glu Thr Leu Phe Lys

20

<210> 218

<211> 24

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 218

Cys Cys Ala Met Thr Arg Ala Glu Arg Arg Glu Val Glu Asn Val Ala

1 5 10 15

Ile Thr Ala Leu Glu Gly Leu Lys

20

<210> 219

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 219

Thr Arg Ala Glu Arg Arg Glu Val Glu Asn Val Ala Ile Thr Ala Leu

1 5 10 15

Glu Gly Leu Lys

20

<210> 220

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 220

Glu Val Arg Glu Gln Pro Arg Leu Phe Pro Pro Ser Ala Asp Tyr Pro

1 5 10 15

Asp Leu Arg Lys

20

<210> 221

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 221

Lys Glu Glu Arg Ala Asp Leu Ile Ala Tyr Leu Lys

1 5 10

<210> 222

<211> 30

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 222

Glu Ile Tyr Pro Tyr Val Ile Gln Glu Leu Arg Pro Thr Leu Asn Glu

1 5 10 15

Leu Gly Ile Ser Thr Pro Glu Glu Leu Gly Leu Asp Lys Val

20 25 30

<210> 223

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 223

Ser His Gly Ser Gln Glu Thr Asp Glu Glu Phe Asp Ala Arg Trp Val

1 5 10 15

Thr Tyr Phe Asn Lys Pro Asp Ile Asp Ala Trp Glu Leu Arg Lys

20 25 30

<210> 224

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 224

Ala Ser Gly Gly Gly Val Pro Thr Asp Glu Glu Gln Ala Thr Gly Leu

1 5 10 15

Glu Arg Glu Ile Met Leu Ala Ala Lys

20 25

<210> 225

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 225

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

1 5 10 15

Phe Arg Phe Asn Ala Lys

20

<210> 226

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 226

Asn Phe Gln Arg Ile Leu Gln Lys

1 5

<210> 227

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 227

Val Val Val Ser Gly Gly Arg Gly Leu Lys

1 5 10

<210> 228

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 228

Val Phe Ser Val Arg Gly Thr Ser Phe Asp Ala Ala Ala Thr Ser Gly

1 5 10 15

Gly Ser Ala Ser Ser Glu Lys

20

<210> 229

<211> 36

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 229

Leu Leu Tyr Asp Leu Ala Asp Gln Leu His Ala Ala Val Gly Ala Ser

1 5 10 15

Arg Ala Ala Val Asp Ala Gly Phe Val Pro Asn Asp Met Gln Val Gly

20 25 30

Gln Thr Gly Lys

35

<210> 230

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 230

Val Glu Arg Glu Ile Asp Gly Gly Leu Glu Thr Leu Arg Leu Lys

1 5 10 15

<210> 231

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 231

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

1 5 10 15

Lys

<210> 232

<211> 29

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 232

Pro Phe Leu Leu Pro Val Glu Ala Val Tyr Ser Val Pro Gly Arg Gly

1 5 10 15

Thr Val Val Thr Gly Thr Leu Glu Arg Gly Ile Leu Lys

20 25

<210> 233

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 233

Ser Leu Glu Arg Ala Glu Ala Gly Asp Asn Leu Gly Ala Leu Val Arg

1 5 10 15

Gly Leu Lys

<210> 234

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 234

Asn Ile Arg Thr Val Val Thr Gly Ile Glu Met Phe His Lys

129

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 239

Tyr Tyr Gly Ala Gln Thr Val Arg Ser Thr Met Asn Phe Lys

1 5 10

<210> 240

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 240

Asp Ser Gly Asn Lys Pro Pro Gly Leu Leu Pro Arg Lys

1 5 10

<210> 241

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 241

Asp Gln Gln Glu Ala Ala Leu Val Asp Met Val Asn Asp Gly Val Glu

1 5 10 15

Asp Leu Arg Cys Lys

20

<210> 242

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 242

Ala Gln Ile His Asp Leu Val Leu Val Gly Gly Ser Thr Arg Ile Pro

1 5 10 15

Lys

<210> 243

<211> 31

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 243

Asp Ala Gly Val Ile Ala Gly Leu Asn Val Leu Arg Ile Ile Asn Glu

1 5 10 15

Pro Thr Ala Ala Ala Ile Ala Tyr Gly Leu Asp Arg Thr Gly Lys

20 25 30

<210> 244

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 244

Glu Gln Val Ala Asn Ser Ala Phe Val Glu Arg Val Arg Lys

1 5 10

<210> 245

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 245

Ala Asn Ile Met Arg Met Ser Asp Gly Leu Phe Leu Gln Lys

1 5 10

<210> 246

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 246

Ile Trp Tyr Glu His Arg Leu Ile Asp Asp Met Val Ala Gln Val Leu

1 5 10 15

Lys

<210> 247

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 247

Ser Asn Leu Asp Arg Ala Leu Gly Arg Gln

1 5 10

<210> 248

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 248

Ala Thr Asp Phe Val Ala Asp Arg Ala Gly Thr Phe Lys

1 5 10

<210> 249

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 249

Pro Ile Thr Ile Gly Arg His Ala His Gly Asp Gln Tyr Lys

1 5 10

<210> 250

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 250

Thr Ile Glu Ala Glu Ala Ala His Gly Thr Val Thr Arg His Tyr Arg

1 5 10 15

Glu His Gln Lys

20

<210> 251

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 251

His Arg Gly Tyr Leu Gly Val Met Pro Ala Tyr Ser Ala Ala Glu Asp

1 5 10 15

Ala Leu Thr Thr Lys

20

<210> 252

<211> 24

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 252

Pro Gly Ala His Ile Asn Ala Val Gly Ala Ser Arg Pro Asp Trp Arg

1 5 10 15

Glu Leu Asp Asp Glu Leu Met Lys

20

<210> 253

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 253

Gly Glu Met Met Asp Leu Gln His Gly Ser Leu Phe Leu Arg Thr Pro

1 5 10 15

Lys

<210> 254

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 254

His Arg Val Ile Gly Ser Gly Cys Asn Leu Asp Ser Ala Arg Phe Arg

1 5 10 15

Tyr Leu Met Ala Glu Lys

20

<210> 255

<211> 28

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 255

Ile Val Val Val Thr Ala Gly Val Arg Gln Gln Glu Gly Glu Ser Arg

1 5 10 15

Leu Asn Leu Val Gln Arg Asn Val Asn Val Phe Lys

20

25

<210> 256

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 256

Leu Gln Gln Arg Leu Gly Arg Glu Val Glu Glu Lys

1 5 10

<210> 257

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 257

Gly Cys Asp Val Val Val Ile Pro Ala Gly Val Pro Arg Lys

1 5 10

<210> 258

<211> 29

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 258

Asn Ser Pro Leu Val Ser Arg Leu Thr Leu Tyr Asp Ile Ala His Thr

1 5 10 15

Pro Gly Val Ala Ala Asp Leu Ser His Ile Glu Thr Lys

20	25
<210> 259	
<211> 20	
<212> PRT	
<213> 智人 (Homo sapiens)	
<400> 259	
Gln Glu Gly Ile Ile Phe Ile Gly Pro Pro Pro Ser Ala Ile Arg Asp	
1 5 10 15	
Met Gly Ile Lys	
20	
<210> 260	
<211> 23	
<212> PRT	
<213> 智人 (Homo sapiens)	
<400> 260	
Asn Leu Arg Val Asn Ala Gly Asp Gln Pro Gly Ala Asp Leu Gly Pro	
1 5 10 15	
Leu Ile Thr Pro Gln Ala Lys	
20	
<210> 261	
<211> 20	
<212> PRT	
<213> 智人 (Homo sapiens)	
<400> 261	
Ser Met Gly Ala Ile Val Arg Gly Phe Asp Thr Arg Ala Ala Ala Leu	
1 5 10 15	
Glu Gln Phe Lys	
20	
<210> 262	
<211> 11	
<212> PRT	
<213> 智人 (Homo sapiens)	
<400> 262	
Pro Ile Phe Ser Arg Asp Met Asn Glu Ala Lys	
1 5 10	
<210> 263	
<211> 11	
<212> PRT	
<213> 智人 (Homo sapiens)	

<400> 263

Arg Thr Ile Ala Gln Asp Tyr Gly Val Leu Lys

1 5 10

<210> 264

<211> 27

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 264

Glu Gly Gly Leu Gly Pro Leu Asn Ile Pro Leu Leu Ala Asp Val Thr

1 5 10 15

Arg Arg Leu Ser Glu Asp Tyr Gly Val Leu Lys

20 25

<210> 265

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 265

Val Arg Leu Leu Ala Asp Pro Thr Gly Ala Phe Gly Lys

1 5 10

<210> 266

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 266

Leu Pro Phe Pro Ile Ile Asp Asp Arg Asn Arg Glu Leu Ala Ile Leu

1 5 10 15

Leu Gly Met Leu Asp Pro Ala Glu Lys

20 25

<210> 267

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 267

Asp Arg Met Val Asn Ser Asn Leu Ala Ser Val Glu Glu Leu Lys

1 5 10 15

<210> 268

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 268

His Ser Leu Asp Ala Ser Gln Gly Thr Ala Thr Gly Pro Arg Gly Ile

1 5 10 15

Phe Thr Lys

<210> 269

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 269

Ser Ala Ala Val Val Phe Ala Ser Thr Asp Arg Ala Leu Gln Asn Lys

1 5 10 15

<210> 270

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 270

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

1 5 10 15

Lys

<210> 271

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 271

Ile Val Arg Ala Ser Asn Gly Asp Ala Trp Val Glu Ala His Gly Lys

1 5 10 15

<210> 272

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 272

Val Thr Leu Glu Tyr Arg Pro Val Ile Asp Lys

1 5 10

<210> 273

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 273

Ile Tyr Gln Arg Ala Phe Gly Gly Gln Ser Leu Lys

1 5 10
 <210> 274
 <211> 28
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <400> 274
 Pro Val Val Ser Phe Ile Ala Gly Leu Thr Ala Pro Pro Gly Arg Arg
 1 5 10 15
 Met Gly His Ala Gly Ala Ile Ile Ala Gly Gly Lys
 20 25
 <210> 275
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <400> 275
 Ile Asn Phe Asp Ser Asn Ser Ala Tyr Arg Gln Lys
 1 5 10
 <210> 276
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <400> 276
 Gly Arg Ile Cys Asn Gln Val Leu Val Cys Glu Arg Lys
 1 5 10
 <210> 277
 <211> 15
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <400> 277
 Ile Phe Asp Leu Gln Asp Trp Thr Gln Glu Asp Glu Arg Asp Lys
 1 5 10 15
 <210> 278
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 智人 (Homo sapiens)
 <400> 278
 Gly Leu Thr Ala Val Ser Asn Asn Ala Gly Val Asp Asn Phe Gly Leu
 1 5 10 15
 Gly Leu Leu Leu Arg Ser Lys

20

<210> 279

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 279

His Leu Ser Val Asn Asp Leu Pro Val Gly Arg Ser Val Glu Glu Thr

1

5

10

15

Leu Arg Leu Val Lys

20

<210> 280

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 280

His Leu Ser Val Asn Asp Leu Pro Val Gly Arg Ser Val Glu Glu Thr

1

5

10

15

Leu Arg Leu Val Lys

20

<210> 281

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 281

Ala Leu Thr Ser Phe Glu Arg Asp Ser Ile Phe Ser Asn Leu Thr Gly

1

5

10

15

Gln Leu Asp Tyr Gln Gly Phe Glu Lys

20

25

<210> 282

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 282

Ser Asp Ser His Pro Ser Asp Ala Leu Thr Arg Lys

1

5

10

<210> 283

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 283

Ile Thr Ala Phe Val Val Glu Arg Gly Phe Gly Gly Ile Thr His Gly

1 5 10 15

Pro Pro Glu Lys

20

<210> 284

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 284

Ala Leu Val Glu Arg Gly Gly Val Val Thr Ser Asn Pro Leu Gly Phe

1 5 10 15

<210> 285

<211> 28

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 285

Val Val Arg Thr Ala Leu Leu Asp Ala Ala Gly Val Ala Ser Leu Leu

1 5 10 15

Thr Thr Ala Glu Val Val Val Thr Glu Ile Pro Lys

20

25

<210> 286

<211> 29

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 286

Leu Val Gln Asp Val Ala Asn Asn Thr Asn Glu Glu Ala Gly Asp Gly

1 5 10 15

Thr Thr Thr Ala Thr Val Leu Ala Arg Ser Ile Ala Lys

20

25

<210> 287

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 287

Gly Ala Asn Pro Val Glu Ile Arg Arg Gly Val Met Leu Ala Val Asp

1 5 10 15

Ala Val Ile Ala Glu Leu Lys

20

<210> 288

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 288

Gly Arg Thr Val Ile Ile Glu Gln Ser Trp Gly Ser Pro Lys

1 5 10

<210> 289

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 289

Gly Ala Asn Pro Val Glu Ile Arg Arg Gly Val Met Leu Ala Val Asp

1 5 10 15

Ala Val Ile Ala Glu Leu Lys

20

<210> 290

<211> 27

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 290

Phe Gly Ala Asp Ala Arg Ala Leu Met Leu Gln Gly Val Asp Leu Leu

1 5 10 15

Ala Asp Ala Val Ala Val Thr Met Gly Pro Lys

20

25

<210> 291

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 291

Pro Ala Arg Val Ile Leu Gln Asp Phe Thr Gly Val Pro Ala Val Val

1 5 10 15

Asp Phe Ala Ala Met Arg Asp Ala Val Lys

20

25

<210> 292

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 292

Thr Val Arg Gly Ser Leu Glu Arg Gln Ala Gly Gln Ile Lys
1 5 10

<210> 293

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 293

Thr Val Arg Gly Ser Leu Glu Arg Gln Ala Gly Gln Ile Lys
1 5 10

<210> 294

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 294

Ala Ser Gly Val Ser Leu Leu Glu Ala Leu Asp Thr Ile Leu Pro Pro
1 5 10 15

Thr Arg Pro Thr Asp Lys
20

<210> 295

<211> 35

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 295

Ile Gly Gly Ile Gly Thr Val Pro Val Gly Arg Val Glu Thr Gly Ile
1 5 10 15

Leu Arg Pro Gly Met Val Val Thr Phe Ala Pro Val Asn Ile Thr Thr
20 25 30

Glu Val Lys
35

<210> 296

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 296

Val Asn Phe Thr Val Asp Gln Ile Arg Ala Ile Met Asp Lys
1 5 10

<210> 297

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 297

Val Ala Pro Ala Gln Pro Ser Glu Glu Gly Pro Gly Arg Lys

1 5 10

<210> 298

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 298

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

1 5 10

<210> 299

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 299

Leu Pro Phe Gln Arg Leu Val Arg Glu Ile Ala Gln Asp Phe Lys

1 5 10 15

<210> 300

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 300

Arg Ile Ser Gly Leu Ile Tyr Glu Glu Thr Arg Gly Val Leu Lys

1 5 10 15

<210> 301

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 301

Val Phe Leu Glu Asn Val Ile Arg Asp Ala Val Thr Tyr Thr Glu His

1 5 10 15

Ala Lys

<210> 302

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 302

Glu Ser Ser Ser His His Pro Gly Ile Ala Glu Phe Pro Ser Arg Gly

1	5	10	15
Lys			
<210> 303			
<211> 9			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 303			
Arg Leu Asp Gly Ser Val Asp Phe Lys			
1	5		
<210> 304			
<211> 15			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 304			
Leu Arg Thr Glu Gly Asp Gly Val Tyr Thr Leu Asn Asn Glu Lys			
1	5	10	15
<210> 305			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 305			
Asp Tyr Glu Leu Leu Cys Leu Asp Gly Thr Arg Lys			
1	5	10	
<210> 306			
<211> 27			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 306			
Pro Ser Gly Val Gln Met Asp Pro Cys Cys Arg Ala Leu Tyr Asp Phe			
1	5	10	15
Glu Pro Glu Asn Glu Gly Glu Leu Gly Phe Lys			
	20	25	
<210> 307			
<211> 14			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 307			
Gln Tyr Met Arg Arg Ser Thr Cys Thr Ile Asn Tyr Ser Lys			
1	5	10	

<210> 308

<211> 8

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 308

Leu Ile Leu Ile Ala Arg Asn Lys

1 5

<210> 309

<211> 37

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 309

Val Ile Val Val Trp Val Gly Thr Asn Asn His Glu Asn Thr Ala Glu

1 5 10 15

Glu Val Ala Gly Gly Ile Glu Ala Ile Val Gln Leu Ile Asn Thr Arg

20 25 30

Gln Pro Gln Ala Lys

35

<210> 310

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 310

Glu Val Asp Val Gly Leu Ala Ala Asp Val Gly Thr Leu Gln Arg Leu

1 5 10 15

Pro Lys

<210> 311

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 311

His Glu Glu Ala Pro Gly His Arg Pro Thr Thr Asn Pro Asn Ala Ser

1 5 10 15

Lys

<210> 312

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 312

145

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 317

Met Ala Ser Ser Asn Met His Glu Ala Glu Glu Trp Tyr Arg Ser Lys

1 5 10 15

<210> 318

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 318

Ala Ser Ser Asn Met His Glu Ala Glu Glu Trp Tyr Arg Ser Lys

1 5 10 15

<210> 319

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 319

Leu Ala Arg Leu Glu Glu Glu Gly Gln Ser Leu Lys

1 5 10

<210> 320

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 320

Ile Leu Leu Ala Asn Phe Leu Ala Gln Thr Glu Ala Leu Met Arg Gly

1 5 10 15

Lys

<210> 321

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 321

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

1 5 10 15

His Asp Asp Leu Glu

20

<210> 322

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 322

Val Glu Leu Gln Glu Leu Asn Asp Arg Phe Ala Asn Tyr Ile Asp Lys

1

5

10

15

<210> 323

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 323

Ser Ser Val Pro Gly Val Arg Leu Leu Gln Asp Ser Val Asp Phe Ser

1

5

10

15

Leu Ala Asp Ala Ile Asn Thr Glu Phe Lys

20

25

<210> 324

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 324

Ala Leu Arg Asp Val Arg Gln Gln Tyr Glu Ser Val Ala Ala Lys

1

5

10

15

<210> 325

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 325

Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly Tyr Gly Gly Arg Ala Ser

1

5

10

15

Asp Tyr Lys

<210> 326

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 326

Ser His Gly Arg Thr Gln Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe Phe

1

5

10

15

<210> 327

<211> 24

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 327

Ser Arg Phe Ser Trp Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly Tyr
1 5 10 15

Gly Gly Arg Ala Ser Asp Tyr Lys
20

<210> 328

<211> 24

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 328

Ser Arg Phe Ser Trp Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly Tyr
1 5 10 15

Gly Gly Arg Ala Ser Asp Tyr Lys
20

<210> 329

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 329

Ser Trp Gly Ala Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly Tyr Gly Gly Arg
1 5 10 15

Ala Ser Asp Tyr Lys
20

<210> 330

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 330

Ser His Gly Arg Thr Gln Asp Glu Asn Pro Val Val His Phe
1 5 10

<210> 331

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 331

Leu Gly Gly Arg Asp Ser Arg Ser Gly Ser Pro Met Ala Arg Arg
1 5 10 15

<210> 332

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 332

Glu Gly Gln Arg Pro Gly Phe Gly Tyr Gly Gly Arg Ala Ser Asp Tyr

1 5 10 15

Lys

<210> 333

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 333

Ala Ile Glu Ala Ala Leu Ala Ala Arg Lys

1 5 10

<210> 334

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 334

Val Arg Leu Leu Ala Asp Pro Thr Gly Ala Phe Gly Lys

1 5 10

<210> 335

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 335

Thr Gly Gly Ala Val Asp Arg Leu Thr Asp Thr Ser Arg Tyr Thr Gly

1 5 10 15

Ser His Lys

<210> 336

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 336

Val Ile Gly Asn Gln Ser Leu Val Asn Glu Leu Ala Phe Thr Ala Arg

1 5 10 15

Lys

<210> 337

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 337

Met Arg Ser Ser Glu Asn Phe Asp Glu Leu Leu Lys

1 5 10

<210> 338

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 338

Tyr Ala Gly Gly Val Ala Glu Tyr Arg Ala Ser Glu Gly Lys

1 5 10

<210> 339

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 339

Arg Met Phe Leu Ser Phe Pro Thr Thr Lys

1 5 10

<210> 340

<211> 18

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 340

Val Gly Ala His Ala Gly Glu Tyr Gly Ala Glu Ala Leu Glu Arg Met

1 5 10 15

Phe Leu

<210> 341

<211> 14

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 341

Thr Thr Arg Thr Ser Asp Val Gly Gly Tyr Tyr Tyr Glu Lys

1 5 10

<210> 342

<211> 14

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 342

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

1 5 10

<210> 343

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 343

Leu His Val Ala Ile Leu Glu Arg Glu Lys

1 5 10

<210> 344

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 344

Arg Val Glu Pro Leu Arg Asn Glu Leu Gln Lys

1 5 10

<210> 345

<211> 22

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 345

Glu Gly His Val Gly Leu Val Gln Glu Leu Leu Gly Arg Gly Ser Ser

1 5 10 15

Val Asp Ser Ala Thr Lys

20

<210> 346

<211> 38

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 346

Ala Ile Val Phe Glu Ile Met Glu Ala Gly Glu Pro Thr Gly Pro Ile

1 5 10 15

Leu Gly Ala Glu Ala Leu Pro Gly Gly Leu Arg Thr Leu Pro Gln Glu

20 25 30

Pro Gly Lys Pro Gln Lys

35

<210> 347

<211> 20

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 347

Ile Arg Glu Glu Tyr Pro Asp Arg Ile Met Asn Thr Phe Ser Val Met
1 5 10 15

Pro Ser Pro Lys
20

<210> 348

<211> 40

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 348

Gly Ile Leu Arg Thr Pro Asp Thr Ile Arg Arg Phe Gln Ser Val Pro
1 5 10 15

Ala Gln Pro Gly Gln Thr Ser Pro Leu Leu Gln Tyr Phe Gly Ile Leu
20 25 30

Leu Asp Gln Gly Gln Leu Asn Lys
35 40

<210> 349

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 349

Tyr Glu Ser Leu Glu Leu Cys Arg Pro Val Leu Gln Gln Gly Arg Lys
1 5 10 15

<210> 350

<211> 31

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 350

Ser Tyr Leu Arg Leu Arg Pro Asp Arg Val Ala Met Gln Asp Ala Thr
1 5 10 15

Ala Gln Met Ala Met Leu Gln Phe Ile Ser Ser Gly Leu Ser Lys
20 25 30

<210> 351

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 351

Ser Ile Glu Leu Glu Ser Val Arg Gly Thr Lys
1 5 10

<210> 352

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 352

Ala Glu Ser Ala Val Ile Val Ala Asn Pro Arg Glu Glu Ile Ile Val

1 5 10 15

Lys

<210> 353

<211> 29

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 353

Glu Ala Gln Ile Arg Glu Thr Glu Thr Phe Ser Asp Ser Ser Pro Ile

1 5 10 15

Glu Ile Ile Asp Glu Phe Pro Thr Leu Ile Ser Ser Lys

20 25

<210> 354

<211> 26

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 354

Glu Trp Thr Asn Glu Val Phe Ser Leu Ala Thr Asn Leu Leu Ala Gln

1 5 10 15

Asn Met Ser Arg Asp Ala Phe Leu Glu Lys

20 25

<210> 355

<211> 12

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 355

Ala Asp Asp Gly Arg Pro Phe Pro Gln Val Ile Lys

1 5 10

<210> 356

<211> 29

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 356

Leu Val Gln Asp Val Ala Asn Asn Thr Asn Glu Glu Ala Gly Asp Gly

1 5 10 15

Thr Thr Thr Ala Thr Val Leu Ala Arg Ser Ile Ala Lys

20

25

<210> 357

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 357

Ala Leu Glu Ser Pro Glu Arg Pro Phe Leu Ala Ile Leu Gly Gly Ala

1

5

10

15

Lys

<210> 358

<211> 13

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 358

Arg Val Val Met Arg Val Asp Phe Asn Val Pro Met Lys

1

5

10

<210> 359

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 359

Tyr Glu Trp Asp Val Ala Glu Ala Arg Lys

1

5

10

<210> 360

<211> 30

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 360

Val Leu Glu Asn Ala Glu Gly Ala Arg Thr Thr Pro Ser Val Val Ala

1

5

10

15

Phe Thr Ala Asp Gly Glu Arg Leu Val Gly Met Pro Ala Lys

20

25

30

<210> 361

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 361

Asn Leu Val Thr Glu Asp Val Met Arg Met Leu Val Asp Leu Ala Lys

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 362
<211> 21
<212> PRT
<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)
<400> 362
Asp Leu Phe Asp Pro Ile Ile Glu Asp Arg His Gly Gly Tyr Lys Pro

1	5	10	15
---	---	----	----

Ser Asp Glu His Lys
20
<210> 363
<211> 15
<212> PRT
<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)
<400> 363
Asp Leu Phe Asp Pro Ile Ile Glu Asp Arg His Gly Gly Tyr Lys

1	5	10	15
---	---	----	----

<210> 364
<211> 18
<212> PRT
<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)
<400> 364
Gln Ile Ser Val Arg Gly Leu Ala Gly Leu Gly Asp Val Ala Glu Val

1	5	10	15
---	---	----	----

Arg Lys
<210> 365
<211> 23
<212> PRT
<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)
<400> 365
Asp Val Gln Arg Glu Ile Ala Asp Leu Gly Glu Ala Leu Ala Thr Ala

1	5	10	15
---	---	----	----

Val Ile Pro Gln Trp Gln Lys
20
<210> 366
<211> 28
<212> PRT
<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)
<400> 366

Gly Ile Ile Asp Ser Thr His Thr Glu Gln Arg Gln Val Val Ala Val
1 5 10 15

Thr Gly Asp Gly Thr Asn Asp Gly Pro Ala Leu Lys
20 25

<210> 367

<211> 14

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 367

Ile Thr Pro Gly Ala Arg Gly Ala Phe Ser Glu Glu Tyr Lys
1 5 10

<210> 368

<211> 13

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 368

Thr Leu Phe Ile Leu Arg Gly Leu Pro Gly Ser Gly Lys
1 5 10

<210> 369

<211> 14

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 369

Glu Leu Arg Gln Phe Val Pro Gly Asp Glu Pro Arg Glu Lys
1 5 10

<210> 370

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 370

Met Val Ser Gly Met Tyr Leu Gly Glu Leu Val Arg Leu Ile Leu Val
1 5 10 15

Lys

<210> 371

<211> 20

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 371

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

1	5	10	15
---	---	----	----

Phe Phe Leu Lys
20

<210> 372
<211> 18
<212> PRT
<213> 小家鼠 (Mus musculus)
<400> 372
Thr Leu Tyr Arg Thr Met Thr Gly Leu Asp Thr Pro Val Leu Met Val
1 5 10 15
Ile Lys
<210> 373
<211> 12
<212> PRT
<213> 小家鼠 (Mus musculus)
<400> 373
Glu Glu Leu Glu Arg Gln Ala Val Asp Gln Ile Lys
1 5 10
<210> 374
<211> 23
<212> PRT
<213> 小家鼠 (Mus musculus)
<400> 374
Ile Asp Ile Ile Pro Asn Pro Gln Glu Arg Thr Leu Thr Leu Val Asp
1 5 10 15
Thr Gly Ile Gly Met Thr Lys
20
<210> 375
<211> 19
<212> PRT
<213> 小家鼠 (Mus musculus)
<400> 375
Gly Glu Ala Ala Ala Glu Arg Pro Gly Glu Ala Ala Val Ala Ser Ser
1 5 10 15
Pro Ser Lys
<210> 376
<211> 60
<212> PRT
<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 376

Ala Glu Glu Pro Leu Ala Ala Val Thr Pro Ala Val Gly Leu Asp Leu
 1 5 10 15
 Gly Met Asp Thr Arg Ala Glu Glu Pro Val Glu Glu Ala Val Ile Ile
 20 25 30
 Pro Gly Ala Asp Ala Asp Ala Ala Val Gly Thr Leu Val Ser Ala Ala
 35 40 45
 Glu Gly Ala Pro Gly Glu Glu Ala Glu Ala Glu Lys
 50 55 60

<210> 377

<211> 14

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 377

Ser Arg Leu Gln Thr Ala Pro Val Pro Met Pro Asp Leu Lys
 1 5 10

<210> 378

<211> 21

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 378

Leu Leu Gly Thr Leu Arg Met Leu Ile Asp Ala Gln Ala Glu Ala Ala
 1 5 10 15
 Glu Gln Leu Gly Lys
 20

<210> 379

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 379

Tyr Tyr Ile Thr Ile Ile Asp Ala Pro Gly His Arg Asp Phe Ile Lys
 1 5 10 15

<210> 380

<211> 41

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 380

Tyr Ala His Leu Val Asp Val Gly Gln Val Gly Val Asn Val Pro Ile
 1 5 10 15

Pro Val Pro Leu Pro Met Phe Ser Phe Thr Gly Ser Arg Ser Ser Phe
 20 25 30

Arg Gly Asp Thr Asn Phe Tyr Gly Lys
 35 40

<210> 381

<211> 12

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 381

Arg Ala Glu Val Asn Gly Leu Ala Ala Gln Gly Lys
 1 5 10

<210> 382

<211> 18

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 382

Gly Leu Asp Pro Ala Arg Val Asn Val Pro Val Ile Gly Gly His Ala
 1 5 10 15

Gly Lys

<210> 383

<211> 13

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 383

Ala Thr Asp Phe Val Ala Asp Arg Ala Gly Thr Phe Lys
 1 5 10

<210> 384

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 384

Ile Phe Asp Leu Gln Asp Trp Thr Gln Glu Asp Glu Arg Asp Lys
 1 5 10 15

<210> 385

<211> 31

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 385

Leu Ala Met Gln Glu Phe Met Ile Leu Pro Val Gly Ala Glu Ser Phe

1 5 10 15
Arg Asp Ala Met Arg Leu Gly Ala Glu Val Tyr His Thr Leu Lys
20 25 30

<210> 386

<211> 21

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 386

Val Arg Gly Val Asp Arg Thr Pro Tyr Leu Gly Asp Val Ala Val Val

1 5 10 15

Val His Pro Gly Lys

20

<210> 387

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 387

Met Asp Glu Asn Arg Phe Val Ala Val Thr Ser Ser Asn Ala Ala Lys

1 5 10 15

<210> 388

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 388

Ser Ala Ala Asp Leu Ile Ser Gln Ala Arg Lys

1 5 10

<210> 389

<211> 28

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 389

Pro Val Val Tyr Ser Asn Thr Ile Gln Ser Leu Ala Ala Ile Val Arg

1 5 10 15

Ala Met Asp Thr Leu Gly Ile Glu Tyr Gly Asp Lys

20

25

<210> 390

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 390

Glu Leu Gly Arg Val Ile Leu His Pro Thr Pro Asn Ser Pro Lys

1 5 10 15

<210> 391

<211> 12

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 391

Asp Leu Gly Arg Ile Phe Arg Trp Leu Gly Pro Lys

1 5 10

<210> 392

<211> 28

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 392

Thr Val Gly Met Leu Ser Asn Met Ile Ala Phe Tyr Asp Met Ala Arg

1 5 10 15

Arg Ala Val Glu Thr Thr Ala Gln Ser Asp Asn Lys

20 25

<210> 393

<211> 21

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 393

Glu Glu Phe Arg Pro Asn Ala Pro Tyr Arg Ile Phe Asn Thr Trp Leu

1 5 10 15

Gly Asp Pro Ser Lys

20

<210> 394

<211> 31

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 394

Arg Thr Gly Pro Ala Ala Thr Thr Leu Pro Asp Gly Ala Ala Ala Glu

1 5 10 15

Ser Leu Val Glu Ser Ser Glu Val Ala Val Ile Gly Phe Phe Lys

20 25 30

<210> 395

<211> 12

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 395

Ile Met Gln Gln Met Ser Asp His Arg Tyr Asp Lys

1 5 10

<210> 396

<211> 19

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 396

Asp Arg Leu Pro Leu Ala Val Val Gly Ser Asn Thr Ile Ile Glu Val

1 5 10 15

Asn Gly Lys

<210> 397

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 397

Arg Arg Gln Leu Glu Asp Glu Arg Arg Gln Leu Gln His Leu Lys

1 5 10 15

<210> 398

<211> 23

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 398

His Met Leu Pro Thr Val Leu Arg Met Ala Gly Asp Pro Val Ala Asn

1 5 10 15

Val Arg Phe Asn Val Ala Lys

20

<210> 399

<211> 4

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 399

Ala Ala Ala Ala

1

<210> 400

<211> 13

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 400

Pro Glu Asp Pro Ser Leu Leu Glu Asp Pro Arg Ile Lys

1 5 10

<210> 401

<211> 26

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 401

Ile Gly Arg Thr His Thr Gln Asp Ala Val Pro Leu Thr Leu Gly Gln

1 5 10 15

Glu Phe Ser Gly Tyr Val Gln Gln Val Lys

20 25

<210> 402

<211> 26

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 402

Glu Val Val Ile Val Ser Ala Thr Arg Thr Pro Ile Gly Ser Phe Leu

1 5 10 15

Gly Ser Leu Ser Leu Leu Pro Ala Thr Lys

20 25

<210> 403

<211> 19

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 403

Asp Ile Ile Leu Pro Phe Arg Val Ile Pro Leu Val Arg Glu Val Gly

1 5 10 15

Arg Thr Lys

<210> 404

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 404

Leu Tyr Thr Leu Val Leu Thr Asp Pro Asp Ala Pro Ser Arg Lys

1 5 10 15

<210> 405

<211> 19

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 405

Gly His Tyr Thr Glu Gly Ala Glu Leu Val Asp Ala Val Leu Asp Val

1 5 10 15

Val Arg Lys

<210> 406

<211> 22

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 406

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

1 5 10 15

Asp Leu Trp Glu Gly Lys

20

<210> 407

<211> 13

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 407

Val Leu Ile Ser Asp Ser Leu Asp Pro Cys Cys Arg Lys

1 5 10

<210> 408

<211> 39

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 408

Glu Ser Ile Ser Val Ser Ser Glu Gln Leu Ala Gln Phe Arg Ser Leu

1 5 10 15

Leu Ser Asn Val Glu Gly Asp Asn Ala Val Pro Met Gln His Asn Asn

20 25 30

Arg Pro Thr Gln Pro Leu Lys

35

<210> 409

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 409

Met Lys Gly Asp Tyr Tyr Arg Tyr Leu Ala Glu Val Ala Thr Gly Glu

1	5	10	15
Lys			
<210> 410			
<211> 13			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 410			
Asp Tyr Phe Leu Phe Arg Asp Gly Asp Ile Leu Gly Lys			
1	5	10	
<210> 411			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 411			
Asp Ile Gly Trp Gln Leu Leu Arg Ile Phe Pro Lys			
1	5	10	
<210> 412			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 412			
Phe Ser Arg Pro Leu Leu Pro Ala Thr Thr Thr Lys			
1	5	10	
<210> 413			
<211> 27			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 413			
Glu Gly Gly Leu Gly Pro Leu Asn Ile Pro Leu Leu Ala Asp Val Thr			
1	5	10	15
Arg Arg Leu Ser Glu Asp Tyr Gly Val Leu Lys			
	20	25	
<210> 414			
<211> 16			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 414			
Thr Asp Glu Gly Ile Ala Tyr Arg Gly Leu Phe Ile Ile Asp Gly Lys			
1	5	10	15

<210> 415

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 415

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

1 5 10 15

<210> 416

<211> 25

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 416

Asn Ser Ala Arg Pro Arg Asp Glu Val Gln Glu Val Val Tyr Phe Ser

1 5 10 15

Ala Ala Asp His Glu Pro Glu Ser Lys

20 25

<210> 417

<211> 18

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 417

Ala His Glu Trp Ala Arg Ala Ile Ile Glu Ser Asp Gln Glu Gln Gly

1 5 10 15

Arg Lys

<210> 418

<211> 24

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 418

Leu Asn Phe Asn Gly Glu Gly Glu Pro Glu Glu Leu Met Val Asp Asn

1 5 10 15

Trp Arg Pro Ala Gln Pro Leu Lys

20

<210> 419

<211> 22

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 419

Val Arg Tyr Leu Glu Glu Glu Arg Pro Phe Ala Ile Glu Gln Val Thr

1	5	10	15
Gly Met Leu Leu Ala Lys			
20			
<210> 420			
<211> 13			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 420			
Glu Arg Glu Ala Val Gln Leu Met Ala Glu Ala Glu Lys			
1	5	10	
<210> 421			
<211> 16			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 421			
Leu Ile Gly Thr Ala Val Pro Gln Arg Thr Ser Pro Thr Gly Pro Lys			
1	5	10	15
<210> 422			
<211> 9			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 422			
Phe Ser Arg Asp Val Phe Leu Pro Lys			
1	5		
<210> 423			
<211> 39			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 423			
Phe Trp Glu Val Ile Ser Asp Glu His Gly Ile Asp Pro Ser Gly Asn			
1	5	10	15
Tyr Val Gly Asp Ser Asp Leu Gln Leu Glu Arg Ile Ser Val Tyr Tyr			
20 25 30			
Asn Glu Ala Ser Ser His Lys			
35			
<210> 424			
<211> 12			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			

<400> 424

Asp Arg Val Thr Val Val Phe Ser Thr Val Phe Lys

1 5 10

<210> 425

<211> 27

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 425

Phe Gln Asp Gly Asp Leu Thr Leu Tyr Gln Ser Asn Thr Ile Leu Arg

1 5 10 15

His Leu Gly Arg Thr Leu Gly Leu Tyr Gly Lys

20 25

<210> 426

<211> 14

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 426

Phe Arg Gly Pro Phe Thr Asp Val Val Thr Thr Asn Leu Lys

1 5 10

<210> 427

<211> 20

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 427

Gln Thr Met Gln Val Asp Glu His Ala Arg Pro Gln Thr Thr Leu Glu

1 5 10 15

Gln Leu Gln Lys

20

<210> 428

<211> 14

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 428

Gly His Gln Ala Ala Glu Ile Glu Trp Leu Gly Phe Arg Lys

1 5 10

<210> 429

<211> 24

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 429

Gly Pro Gly Pro Gly Gly Pro Gly Gly Ala Gly Val Ala Arg Gly Gly
1 5 10 15
Ala Gly Gly Gly Pro Ser Gly Asp
20

<210> 430

<211> 21

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 430

Met Pro Pro Tyr Asp Glu Gln Thr Gln Ala Phe Ile Asp Ala Ala Gln
1 5 10 15
Glu Ala Arg Asn Lys
20

<210> 431

<211> 20

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 431

Gly Pro Gln Tyr Gly Ser Leu Glu Arg Ala Trp Gly Ala Ile Met Thr
1 5 10 15
Glu Ala Asp Lys
20

<210> 432

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 432

Thr Thr Ser Ala Ser Arg Ala Val Ser Ser Leu Ala Thr Ala Lys
1 5 10 15

<210> 433

<211> 26

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 433

Asn Leu Gly Leu Glu Glu Leu Gly Ile Glu Leu Asp Pro Arg Gly Arg
1 5 10 15
Ile Pro Val Asn Thr Arg Phe Gln Thr Lys
20 25

<210> 434

<211> 29

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 434

Arg Thr Gly Ala Ile Val Asp Val Pro Val Gly Glu Glu Leu Leu Gly
1 5 10 15
Arg Val Val Asp Ala Leu Gly Asn Ala Ile Asp Gly Lys
 20 25

<210> 435

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 435

Ala Gly Arg Ile Pro Glu Gln Ile Leu Gly Lys
1 5 10

<210> 436

<211> 13

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 436

Gly Pro Ser Tyr Gly Met Ser Arg Glu Val Gln Ser Lys
1 5 10

<210> 437

<211> 17

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 437

Ser Glu Met Ala Arg His Leu Arg Glu Tyr Gln Asp Leu Leu Asn Val
1 5 10 15
Lys

<210> 438

<211> 42

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 438

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

	20	25	30
Ser Ile Thr Thr Gly Ile Asp Pro Pro Lys			
35	40		
<210> 439			
<211> 15			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 439			
Ala Ile Ser Ser Pro Thr Val Ser Arg Leu Thr Asp Thr Thr Lys			
1	5	10	15
<210> 440			
<211> 21			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 440			
His Leu Ser Val Asn Asp Leu Pro Val Gly Arg Ser Val Glu Glu Thr			
1	5	10	15
Leu Arg Leu Val Lys			
20			
<210> 441			
<211> 26			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 441			
Arg Asp Phe Ser Pro Val Pro Trp Ser Gln Tyr Phe Glu Ser Met Glu			
1	5	10	15
Asp Val Glu Val Glu Asn Glu Thr Gly Lys			
20	25		
<210> 442			
<211> 14			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 442			
Met Val Thr Ala Val Ala Ser Ala Leu Ser Ser Arg Tyr His			
1	5	10	
<210> 443			
<211> 20			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			

<400> 443

Gly Gln Leu Val Pro Leu Glu Thr Val Leu Asp Met Leu Arg Asp Ala

1 5 10 15

Met Val Ala Lys

20

<210> 444

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 444

Pro Asp Gly Ser Pro Val Phe Ile Ala Phe Arg Ser Ser Thr Lys

1 5 10 15

<210> 445

<211> 15

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 445

Ala Ala Leu Glu Gln Pro Cys Glu Gly Ser Leu Thr Arg Pro Lys

1 5 10 15

<210> 446

<211> 13

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 446

Arg Pro Ala Glu Asp Met Glu Glu Glu Gln Ala Phe Lys

1 5 10

<210> 447

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 447

Arg Ser Asp Leu Tyr Ala Val Glu Met Lys

1 5 10

<210> 448

<211> 11

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 448

Arg Phe Leu Asp Phe Ile Gly His Ile Leu Thr

1 5 10
<210> 449
<211> 21
<212> PRT
<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)
<400> 449
Leu Met Arg Thr Ala Ala Asp Thr Pro Ala Ile Met Asn Trp Asp Leu
1 5 10 15
Phe Phe Thr Met Lys
20
<210> 450
<211> 15
<212> PRT
<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)
<400> 450
Ala Asp Leu Glu Ala Gln Arg Asp Val Thr Tyr Glu Glu Ala Lys
1 5 10 15
<210> 451
<211> 12
<212> PRT
<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)
<400> 451
Gly Pro Pro Val Phe Thr Gln Glu Glu Arg Tyr Lys
1 5 10
<210> 452
<211> 12
<212> PRT
<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)
<400> 452
Ser Arg Tyr Asp Ser Ile Asp Ser Tyr Leu Ser Lys
1 5 10
<210> 453
<211> 40
<212> PRT
<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)
<400> 453
Arg Ile Thr Val Glu Glu Ala Leu Ala His Pro Tyr Leu Glu Gln Tyr
1 5 10 15
Tyr Asp Pro Thr Asp Glu Pro Val Ala Glu Glu Pro Phe Thr Phe Ala

	20	25	30
Met Glu Leu Asp Asp Leu Pro Lys			
	35	40	
<210> 454			
<211> 8			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 454			
Leu Thr Arg Ile Pro Ser Ala Lys			
1	5		
<210> 455			
<211> 16			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 455			
Glu Gln Leu Gln Ala Leu Asn Asp Arg Phe Ala Gly Tyr Ile Asp Lys			
1	5	10	15
<210> 456			
<211> 16			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 456			
Ile His Ile Asp Leu Pro Asn Glu Gln Ala Arg Leu Asp Ile Leu Lys			
1	5	10	15
<210> 457			
<211> 17			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 457			
Gly His Arg Ile Glu Glu Val Pro Glu Leu Pro Leu Val Val Glu Asp			
1	5	10	15
Lys			
<210> 458			
<211> 20			
<212> PRT			
<213> 小家鼠 (Mus musculus)			
<400> 458			
Asn Leu Asp Gln Glu Gln Leu Ser Gln Val Leu Asp Ala Met Phe Glu			
1	5	10	15

Arg Ile Val Lys

20

<210> 459

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 459

Arg Ser Ala Glu Glu Glu Ala Ala Asp Leu Pro Thr Lys Pro Thr Lys

1

5

10

15

<210> 460

<211> 19

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 460

Glu Thr Ile Pro Leu Gln Glu Thr Ser Leu Tyr Thr Gln Asp Arg Leu

1

5

10

15

Gly Leu Lys

<210> 461

<211> 20

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 461

Glu Ser Gly Arg Phe Gln Asp Val Gly Pro Gln Ala Pro Val Gly Ser

1

5

10

15

Val Tyr Gln Lys

20

<210> 462

<211> 18

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 462

Phe Ala Leu Ile Thr Trp Ile Gly Glu Asn Val Ser Gly Leu Gln Arg

1

5

10

15

Ala Lys

<210> 463

<211> 13

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 463

Ile Leu Asn Leu Arg Val Phe Glu Asp Glu Ser Gly Lys

1 5 10

<210> 464

<211> 18

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 464

Ala Val Asp Arg Pro Met Leu Pro Gln Glu Tyr Ala Val Glu Ala His

1 5 10 15

Phe Lys

<210> 465

<211> 14

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 465

Ala Ala Leu Leu Asp Gln Ile Arg Glu Gly Ala Gln Leu Lys

1 5 10

<210> 466

<211> 18

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 466

Arg His Phe Phe Ser Asp Tyr Leu Met Gly Phe Ile Asn Ser Gly Ile

1 5 10 15

Leu Lys

<210> 467

<211> 27

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 467

Ala Pro Gly Thr Val Leu Ser Gln Glu Glu Val Glu Gly Glu Leu Ala

1 5 10 15

Glu Leu Ala Met Gly Phe Leu Gly Ser Arg Lys

20 25

<210> 468

<211> 38

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 468

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

<210> 469

<211> 25

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 469

Arg Ala Ser Val Arg Met Ile Ser Asp Leu Ile Ala Gly Gly Ile Gln
1 5 10 15
Pro Leu Gln Asn Leu Ser Val Leu Lys
 20 25

<210> 470

<211> 24

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 470

Gly Ser Asp Gln Ser Glu Asn Val Asp Arg Gly Ala Gly Ser Ile Arg
1 5 10 15
Glu Ala Gly Gly Ala Phe Gly Lys
 20

<210> 471

<211> 9

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 471

Phe Gly Val Leu Phe Arg Asp Asp Lys
1 5

<210> 472

<211> 16

<212> PRT

<213> 小家鼠 (Mus musculus)

<400> 472

Ile Arg Gly Ser Leu Ala Arg Ala Ala Leu Gln Glu Leu Leu Ser Lys
1 5 10 15

<210> 473

<211> 19

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 473

Ala Leu Thr Thr Met Gly Phe Arg Leu Ser Pro Gln Ala Val Asn Ser

1 5 10 15

Ile Ala Lys

<210> 474

<211> 10

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 474

Arg Asp Leu Pro Asn Ala Leu Asp Glu Lys

1 5 10

<210> 475

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (*Homo sapiens*)

<400> 475

Pro Gly Val Val His Val Ile Asp Ile Asp Arg Gly Glu Glu Lys

1 5 10 15

<210> 476

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人 (*Homo sapiens*)

<400> 476

Ile Pro Val Gly Pro Glu Thr Leu Gly Arg Ile Met Asn Val Ile Gly

1 5 10 15

Glu Pro Ile Asp Glu Arg Gly Pro Ile Lys

20 25

<210> 477

<211> 26

<212> PRT

<213> 智人 (*Homo sapiens*)

<400> 477

Ser Val His Arg Gly Glu Val Pro Cys Thr Val Thr Thr Ala Ser Pro

1 5 10 15

Leu Asp Asp Ala Val Leu Ser Glu Leu Lys

20 25

<210> 478

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 478

Glu Leu Glu Glu Asp Phe Ile Arg Ser Glu Leu Lys

1 5 10

<210> 479

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 479

Glu Gly Asn Ala Ser Gly Val Ser Leu Leu Glu Ala Leu Asp Thr Ile

1 5 10 15

Leu Pro Pro Thr Arg Pro Thr Asp Lys

20 25

<210> 480

<211> 38

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 480

Gly Tyr Phe Glu Asp Arg Arg Pro Ser Ala Asn Cys Asp Pro Tyr Ala

1 5 10 15

Val Thr Glu Ala Ile Val Arg Thr Cys Leu Leu Asn Glu Thr Gly Asp

20 25 30

Glu Pro Phe Gln Tyr Lys

35

<210> 481

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 481

Arg Leu Ile Gly Arg Arg Phe Asp Asp Ala Val Val Gln Ser Asp Met

1 5 10 15

Lys

<210> 482

<211> 32

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 482

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

<210> 483

<211> 18

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 483

Glu Ser Leu Leu Phe Glu Gly Arg Ile Thr Pro Glu Leu Leu Thr Arg
1 5 10 15
Gly Lys

<210> 484

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 484

Arg Ser Thr Ile Thr Ser Arg Glu Val Gln Thr Ala Val Arg Leu Leu
1 5 10 15
Leu Pro Gly Glu Leu Ala Lys
 20

<210> 485

<211> 9

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 485

Cys Arg Glu Val Ala Glu Asn Cys Lys
1 5

<210> 486

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 486

Cys Arg Ala Pro Glu Val Ser Gln Tyr Ile Tyr Gln Val Tyr Asp Ser
1 5 10 15
Ile Leu Lys

<210> 487

<211> 40

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 487

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

<210> 488

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 488

Pro Ile Thr Ile Phe Gln Glu Arg Asp Pro Thr Asn Ile Lys
1 5 10

<210> 489

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 489

Gly Cys Asp Val Val Val Ile Pro Ala Gly Val Pro Arg Lys
1 5 10

<210> 490

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 490

His Arg Asp Thr Gly Ile Leu Asp Ser Ile Gly Arg Phe Phe Ser Gly
1 5 10 15
Asp Arg Gly Ala Pro Lys
 20

<210> 491

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 491

Glu Arg Leu Asp Gln Pro Met Thr Glu Ile Val Ser Arg Val Ser Lys
1 5 10 15

<210> 492

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 492

Leu Leu Val Ser Ser Glu Asp Tyr Gly Arg Asp Leu Thr Gly Val Gln

1 5 10 15

Asn Leu Arg Lys

20

<210> 493

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 493

Val Ala Val Thr Pro Pro Gly Leu Ala Arg Glu Asp Trp Lys

1 5 10

<210> 494

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 494

Val Arg Ile Gln Thr Gln Pro Gly Tyr Ala Asn

1 5 10

<210> 495

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 495

Arg Ile Glu Arg Glu Leu Ala Glu Ala Gln Asp Asp Ser Ile Leu Lys

1 5 10 15

<210> 496

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 496

His Arg Asp Thr Gly Ile Leu Asp Ser Ile Gly Arg Phe Phe Gly Gly

1 5 10 15

Asp Arg Gly Ala Pro Lys

20

<210> 497

<211> 32

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 497

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

<210> 498

<211> 24

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 498

Arg	Ile	His	Val	Leu	Pro	Ile	Asp	Asp	Thr	Val	Glu	Gly	Ile	Thr	Gly
1				5					10					15	
Asn	Leu	Phe	Glu	Val	Tyr	Leu	Lys								
				20											

<210> 499

<211> 36

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 499

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

<210> 500

<211> 41

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 500

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

35 40

<210> 501
<211> 24
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 501
Ala Val Leu Asp Val Ala Glu Thr Gly Thr Glu Ala Ala Ala Thr
1 5 10 15
Gly Val Ile Gly Gly Ile Arg Lys
20

<210> 502
<211> 15
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 502
Gly Phe Pro Val Val Leu Asp Ser Pro Arg Asp Gly Asn Leu Lys
1 5 10 15

<210> 503
<211> 22
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 503
Gly Pro Asp Arg Leu Pro Ala Gly Tyr Glu Ile Val Leu Tyr Ile Ser
1 5 10 15
Met Ser Asp Ser Asp Lys
20

<210> 504
<211> 12
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 504
Arg Phe Ser Met Val Ile Asp Asn Gly Ile Val Lys
1 5 10

<210> 505
<211> 18
<212> PRT
<213> 智人(Homo sapiens)
<400> 505
Ala Gln Gln Arg Asp Val Asp Gly Ala Thr Leu Ala Arg Leu Asp Leu

1	5	10	15
Glu Lys			
<210> 506			
<211> 22			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 506			
Ala Val Thr Glu Leu Asn Glu Pro Leu Ser Asn Glu Asp Arg Asn Leu			
1	5	10	15
Leu Ser Val Ala Tyr Lys			
	20		
<210> 507			
<211> 22			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 507			
Ala Val Thr Glu Gln Gly Ala Glu Leu Ser Asn Glu Glu Arg Asn Leu			
1	5	10	15
Leu Ser Val Ala Tyr Lys			
	20		
<210> 508			
<211> 26			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 508			
Leu Glu Ala Pro Asp Ala Asp Glu Leu Pro Arg Ser Asp Phe Asp Pro			
1	5	10	15
Gly Gln Asp Thr Tyr Gln His Pro Pro Lys			
	20	25	
<210> 509			
<211> 11			
<212> PRT			
<213> 智人(Homo sapiens)			
<400> 509			
Leu Ser Glu Glu Leu Ser Gly Gly Arg Leu Lys			
1	5	10	
<210> 510			
<211> 15			
<212> PRT			

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 510

Ile Leu Ile Pro Trp Leu Leu Ser Pro Glu Arg Leu Asp Ile Lys

1 5 10 15

<210> 511

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 511

Leu Arg Phe Pro Ala Glu Asp Glu Phe Pro Asp Leu Ser Ser His Asn

1 5 10 15

Asn His Met Ala Lys

20

<210> 512

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 512

Ile Thr Arg Thr Ser Phe Leu Asp Asp Ala Phe Arg Lys

1 5 10

<210> 513

<211> 23

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 513

Asp Asn Phe Thr Leu Ile Pro Glu Gly Thr Asn Gly Thr Glu Glu Arg

1 5 10 15

Met Ser Val Ile Trp Asp Lys

20

<210> 514

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 514

Met Val Glu Gly Phe Phe Asp Arg Gly Ala Ser Ile Val Glu Asp Lys

1 5 10 15

<210> 515

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 515

Gly Asp Tyr Tyr Arg Tyr Leu Ala Glu Val Ala Ala Gly Asp Asp Lys

1 5 10 15

<210> 516

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 516

Arg Ala Leu Val Phe Gln Pro Val Thr Glu Leu Lys

1 5 10

<210> 517

<211> 36

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 517

Gly Val Pro Leu Tyr Arg His Ile Ala Asp Leu Ala Gly Asn Pro Glu

1 5 10 15

Val Ile Leu Pro Val Pro Ala Phe Asn Val Ile Asn Gly Gly Ser His

20 25 30

Ala Gly Asn Lys

35

<210> 518

<211> 33

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 518

Asn Ser Pro Leu Val Ser Arg Leu Thr Leu Tyr Asp Ile Ala His Thr

1 5 10 15

Pro Gly Val Ala Ala Asp Leu Ser His Ile Glu Thr Arg Ala Asn Val

20 25 30

Lys

<210> 519

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 519

His Glu Gly Phe Glu Asp Leu Ala Ala Leu Gly Asp Lys

1 5 10

<210> 520

<211> 22

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 520

Leu Phe Val Thr Asn Asp Ala Ala Thr Ile Leu Arg Glu Leu Glu Val

1 5 10 15

Gln His Pro Ala Ala Lys

20

<210> 521

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 521

Gly Arg Gly Ile Thr Gly Ile Glu Asp Lys

1 5 10

<210> 522

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 522

Pro His Ser Val Ser Leu Asn Asp Thr Glu Thr Arg Lys

1 5 10

<210> 523

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 523

Met Asp Ile Arg Gly Ala Val Asp Ala Ala Val Pro Thr Asn Ile Ile

1 5 10 15

Ala Ala Lys

<210> 524

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 524

Thr Asp Asp Tyr Gly Arg Asp Leu Ser Ser Val Gln Thr Leu Leu Thr

1 5 10 15

Lys

<210> 525

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 525

Arg Leu Val Pro Gly Gly Gly Ala Thr Glu Ile Glu Leu Ala Lys

1 5 10 15

<210> 526

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 526

Arg Gly Phe Gly Phe Val Thr Phe Asp Asp His Asp Pro Val Asp Lys

1 5 10 15

<210> 527

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 527

Ile Ala Thr Pro Arg Gly Ala Ala Ser Pro Ala Gln Lys

1 5 10

<210> 528

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 528

Arg Val Val Ala Glu Pro Val Glu Leu Ala Gln Glu Phe Arg Lys

1 5 10 15

<210> 529

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 529

Gly Ala Asp Glu Ala Ala Leu Ala Arg Ala Glu Leu Glu Lys

1 5 10

<210> 530

<211> 21

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 530

Gln Ile Val Trp Asn Gly Pro Val Gly Val Phe Glu Trp Glu Ala Phe

1 5 10 15

Ala Arg Gly Thr Lys

20

<210> 531

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 531

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

1 5 10

<210> 532

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 532

Arg Gly Phe Gly Phe Val Tyr Phe Gln Ser His Asp Ala Ala Asp Lys

1 5 10 15

<210> 533

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 533

Val Pro Asp Phe Ser Asp Tyr Arg Arg Ala Glu Val Leu Asp Ser Thr

1 5 10 15

Lys

<210> 534

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 534

Arg Asp Val Ala Gly Asp Ala Ser Glu Ser Ala Leu Leu Lys

1 5 10

<210> 535

<211> 11

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 535

Asp Leu Thr Ser Val Met Arg Leu Leu Ser Lys

1 5 10

<210> 536

<211> 12

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 536

Phe Met Glu Leu Leu Glu Pro Leu Ser Glu Arg Lys

1 5 10

<210> 537

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 537

Glu Arg Val Glu Ala Val Asn Met Ala Glu Gly Ile Ile His Asp Thr

1 5 10 15

Glu Thr Lys

<210> 538

<211> 27

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 538

His Val Leu Ser Gly Thr Leu Gly Ile Pro Glu His Thr Tyr Arg Ser

1 5 10 15

Arg Val Thr Leu Ser Asn Gln Pro Tyr Ile Lys

20 25

<210> 539

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 539

Met Ile Ile Tyr Arg Asp Leu Ile Ser His Asp Glu Leu Phe Ser Asp

1 5 10 15

Ile Tyr Lys

<210> 540

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 540

Thr Gly Gly Ala Val Asp Arg Leu Thr Asp Thr Ser Lys

1 5 10

<210> 541

<211> 25

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 541

Ser Ser Glu Glu Ala Val Arg Glu Val His Arg Leu Ile Glu Gly Arg

1 5 10 15

Ala Pro Val Ile Ser Gly Val Thr Lys

20 25

<210> 542

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 542

Leu Leu Ile Ile Gly Thr Thr Ser Arg Lys

1 5 10

<210> 543

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 543

Trp Gly Asp Pro Val Thr Arg Val Leu Asp Asp Gly Glu Leu Leu Val

1 5 10 15

Gln Gln Thr Lys

20

<210> 544

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 544

Ile Thr Arg Val Glu Met Leu Glu Ile Ile Glu Ala Ile Tyr Lys

1 5 10 15

<210> 545

<211> 17

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 545

Phe Pro Arg Tyr Ala Glu Ile Val His Leu Thr Leu Pro Asp Gly Thr

1 5 10 15

Lys

<210> 546

<211> 16

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 546

Gly Asp Ala Arg Pro Ala Glu Ile Asp Ser Leu Trp Glu Ile Ser Lys

1 5 10 15

<210> 547

<211> 19

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 547

Ser Val Val Leu Met Ser His Leu Gly Arg Pro Asp Gly Val Pro Met

1 5 10 15

Pro Asp Lys

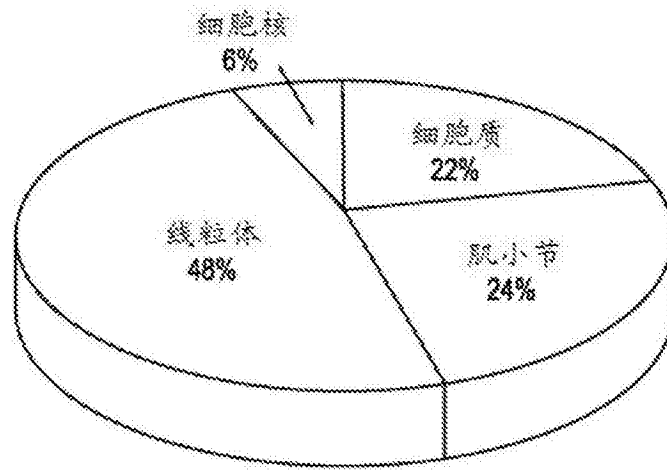


图1A

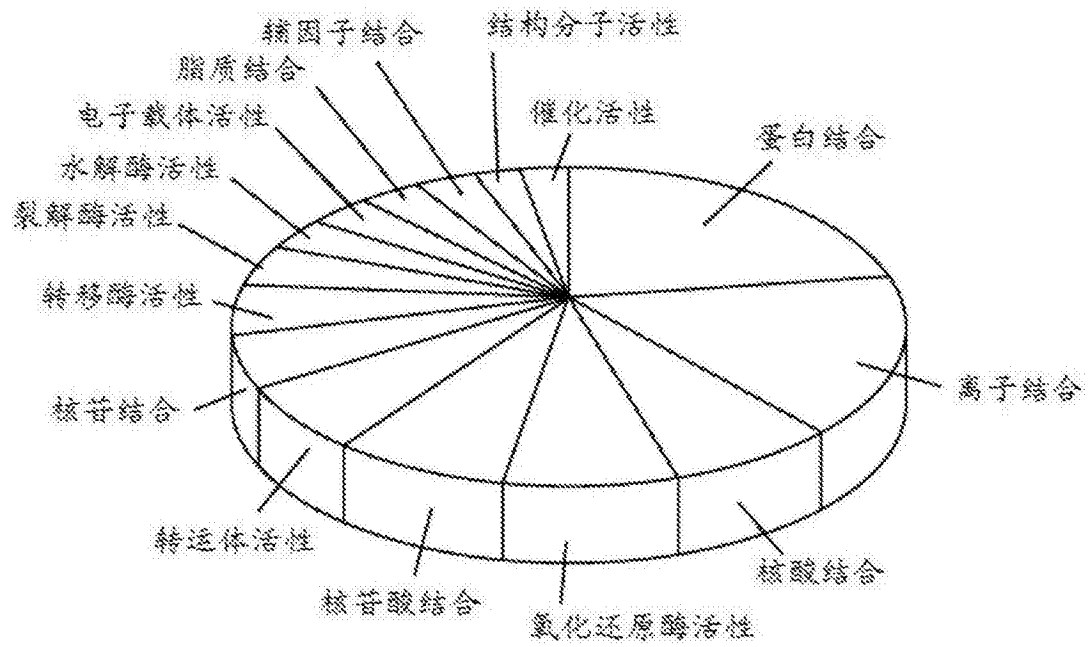


图1B

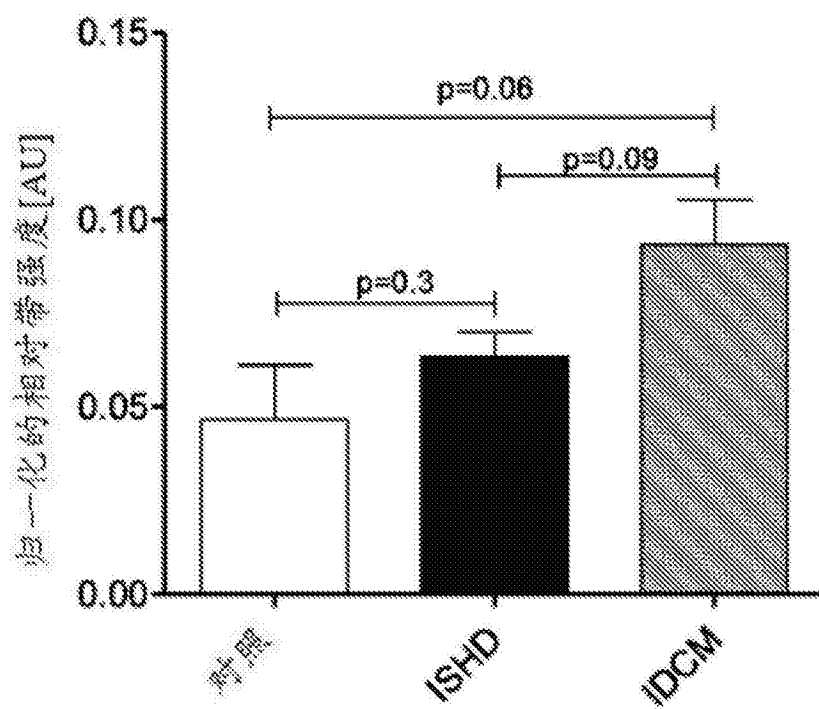
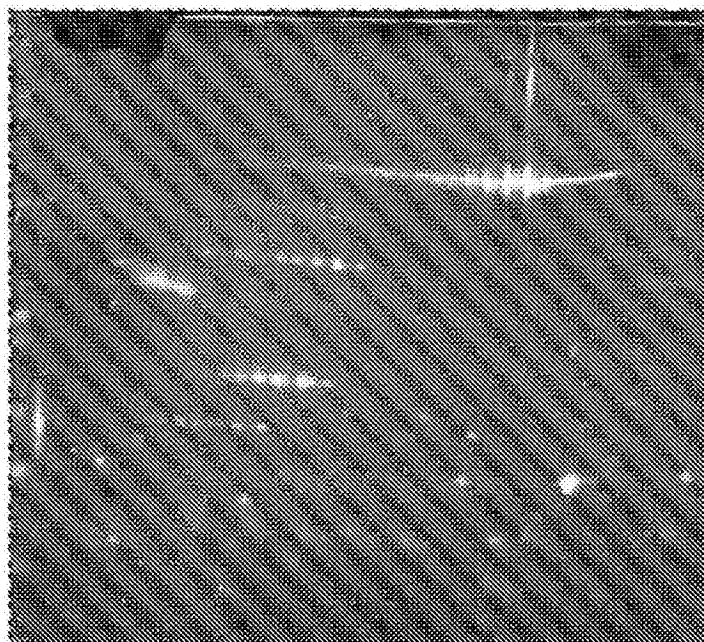


图1C



凝胶视图	MS/MS ID*	登录号	覆盖%	pI/MW 实测值	pI/MW 理论值	P<0.05
	心脏脂肪酸 结合蛋白	P05413	63.2	6.0/ 14.500	6.29/ 14.858	0.20*
	L-乳酸脱 氢酶B链	P07196	35.9	5.8/ 36.00	5.71/ 36.638	0.13*
	黏着斑蛋白	P18206	4.5	6.2/ 170.00	5.83/ 123.799	0.19*
	肌动蛋白, α -心肌	P62736	30.1	5.5/ 44.00	5.24/ 42.009	0.020
	原肌球蛋白	P09493	6.2	4.6/ 38.000	4.69/ 32.709	0.0020
	肌球蛋白轻链	P08590	32	5.0/ 24.000	5.03/ 21.932	0.021
	肌球蛋白调节 轻链2	P10916	39.8	4.9/ 18.000	4.92/ 18.788	0.0018

*非统计学显著的

图2A

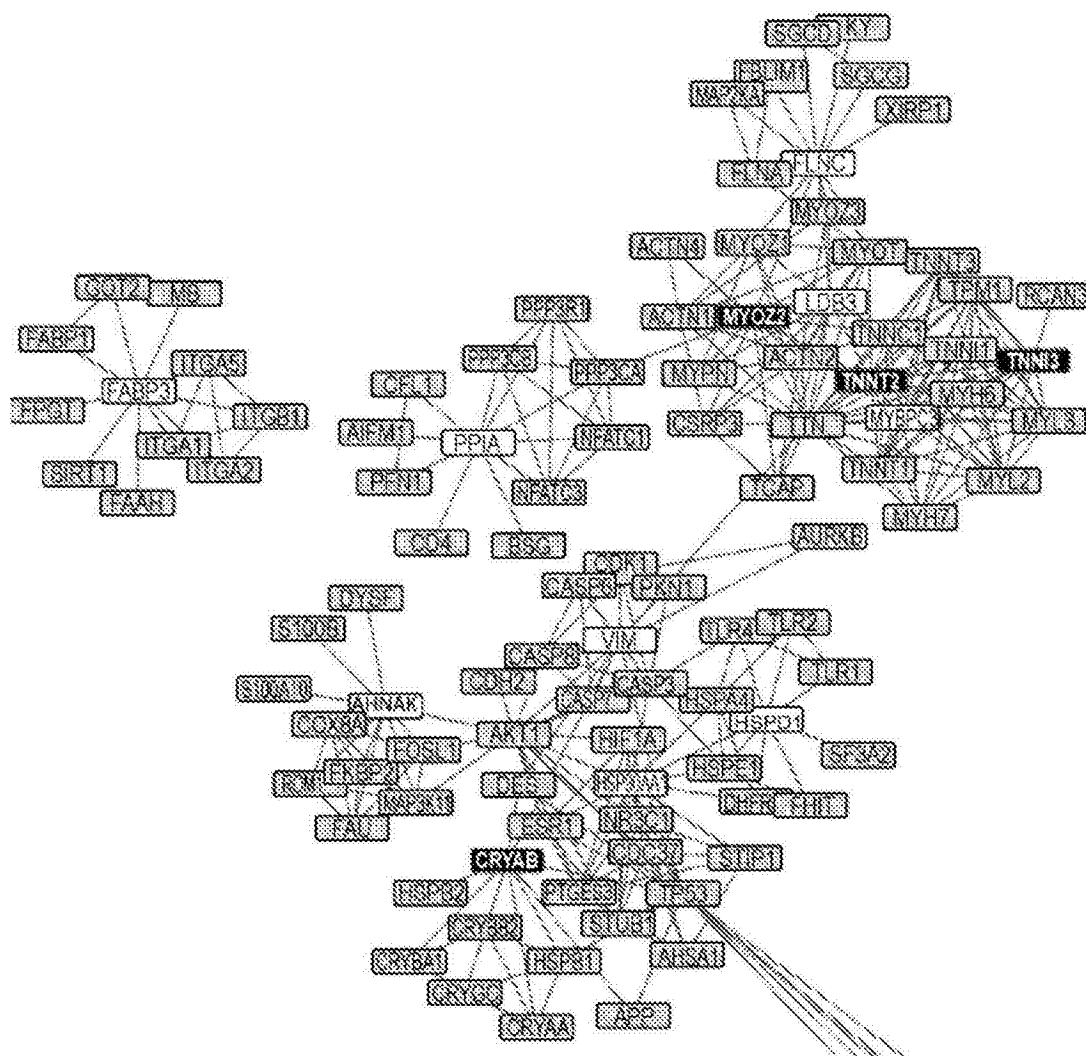


图2B

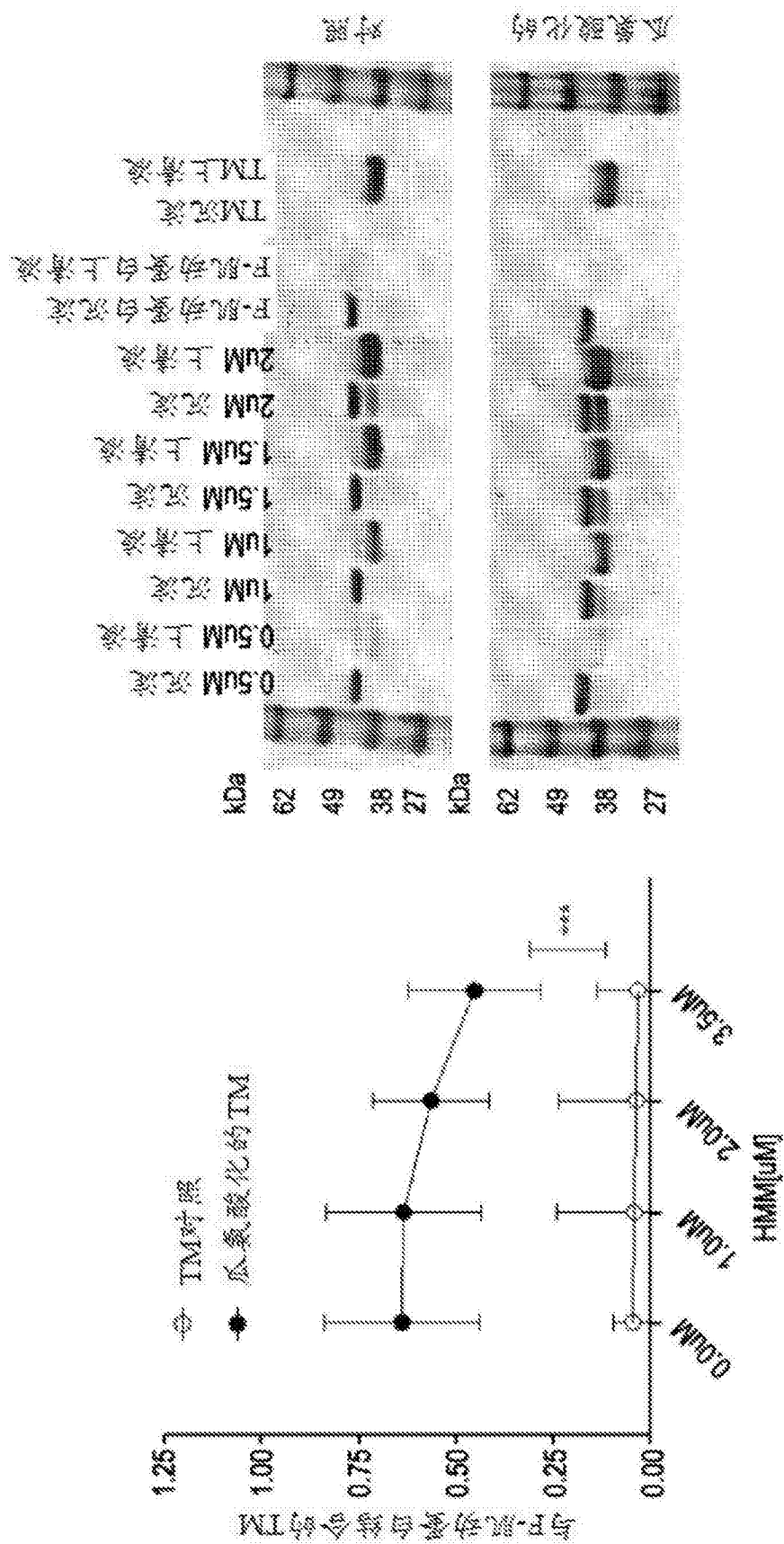


图3A

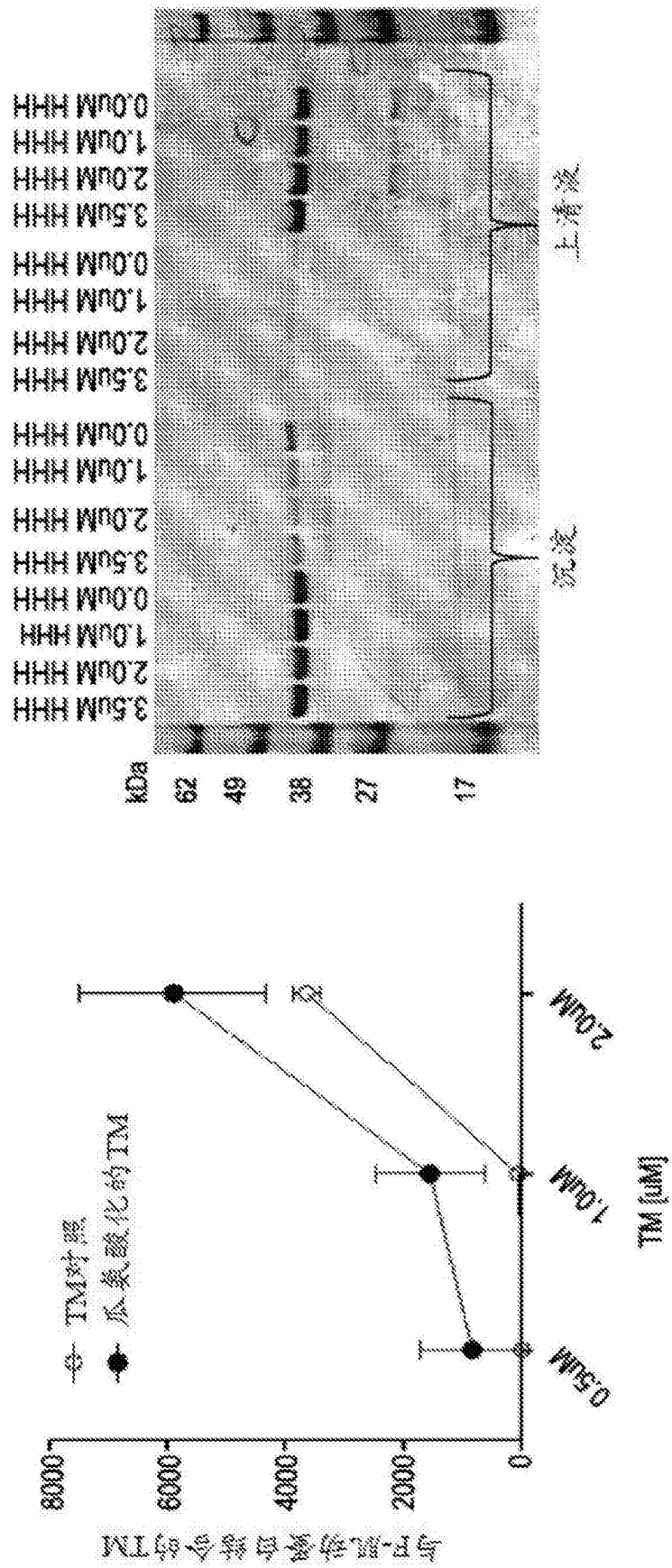


图3B

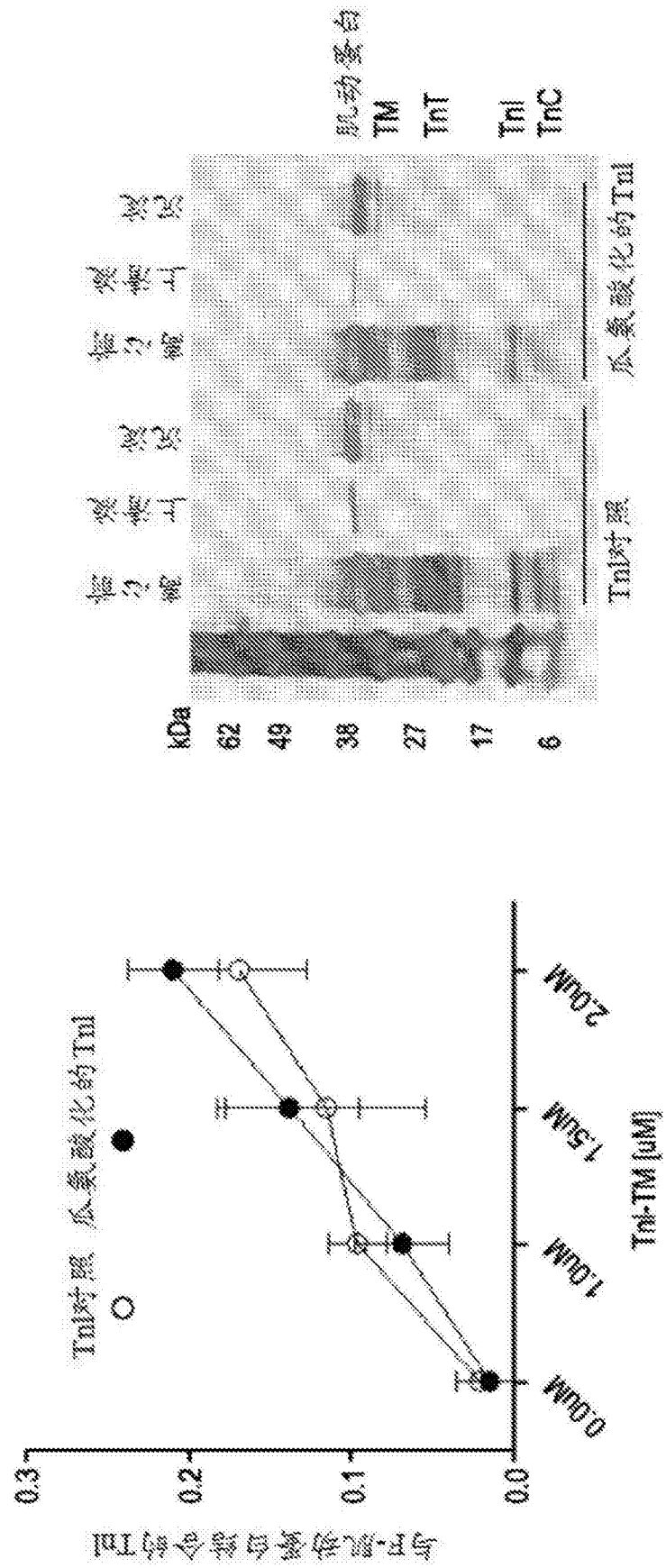


图3C

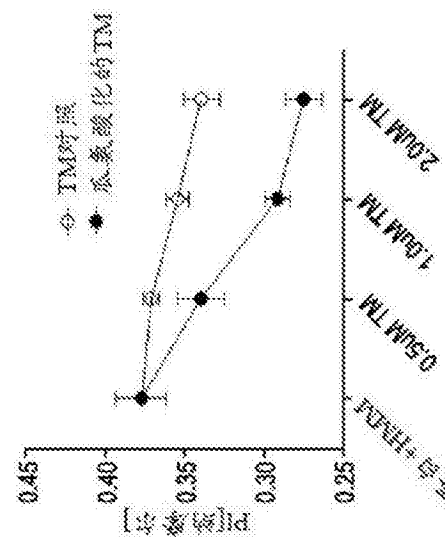


图 4B

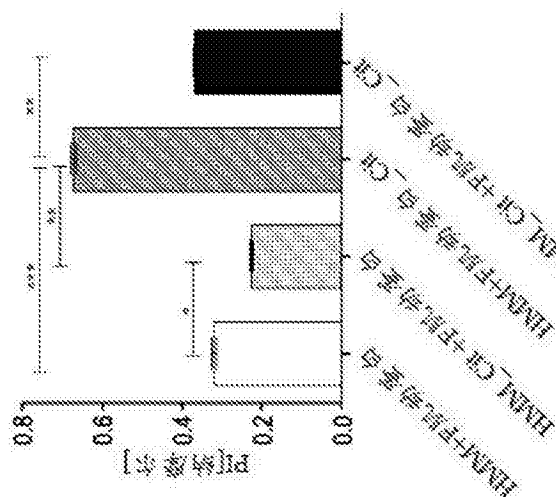


图 4A

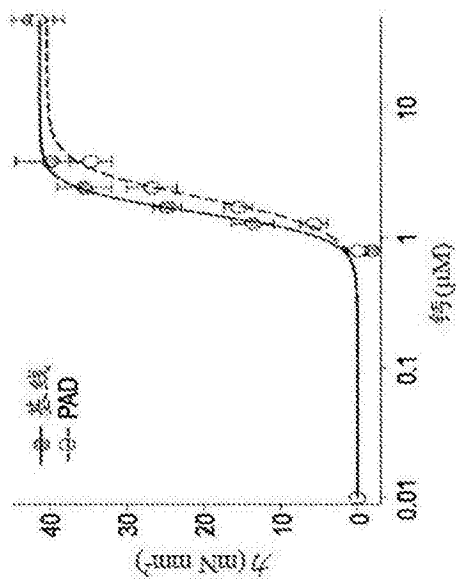


图 4C

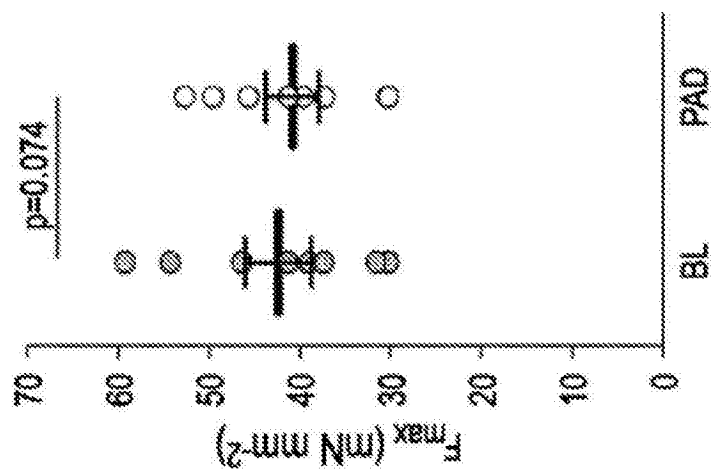


图4D

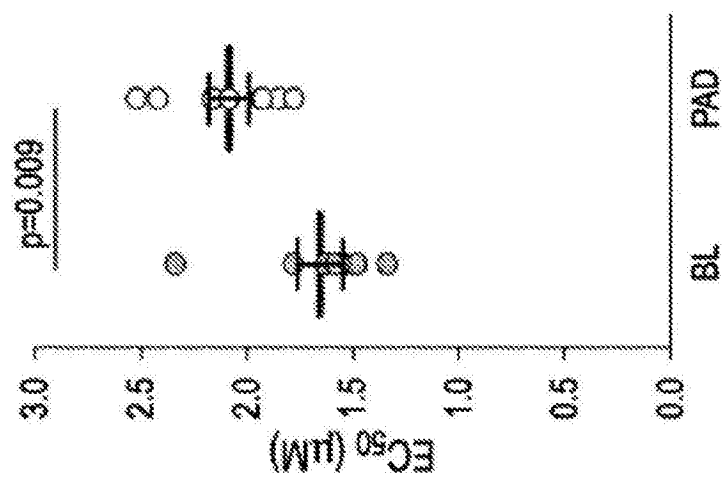


图4E

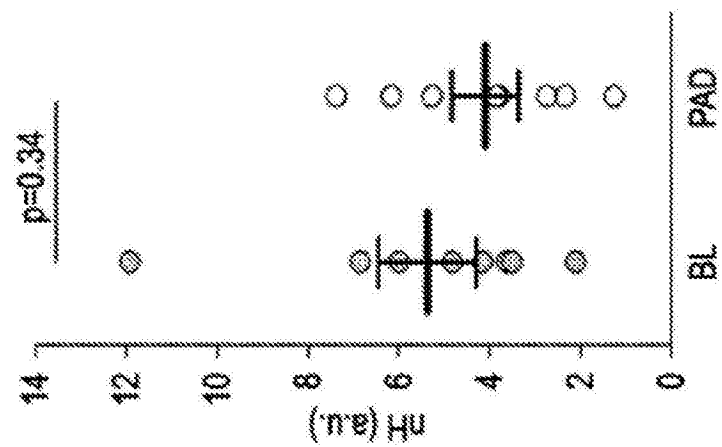


图4F

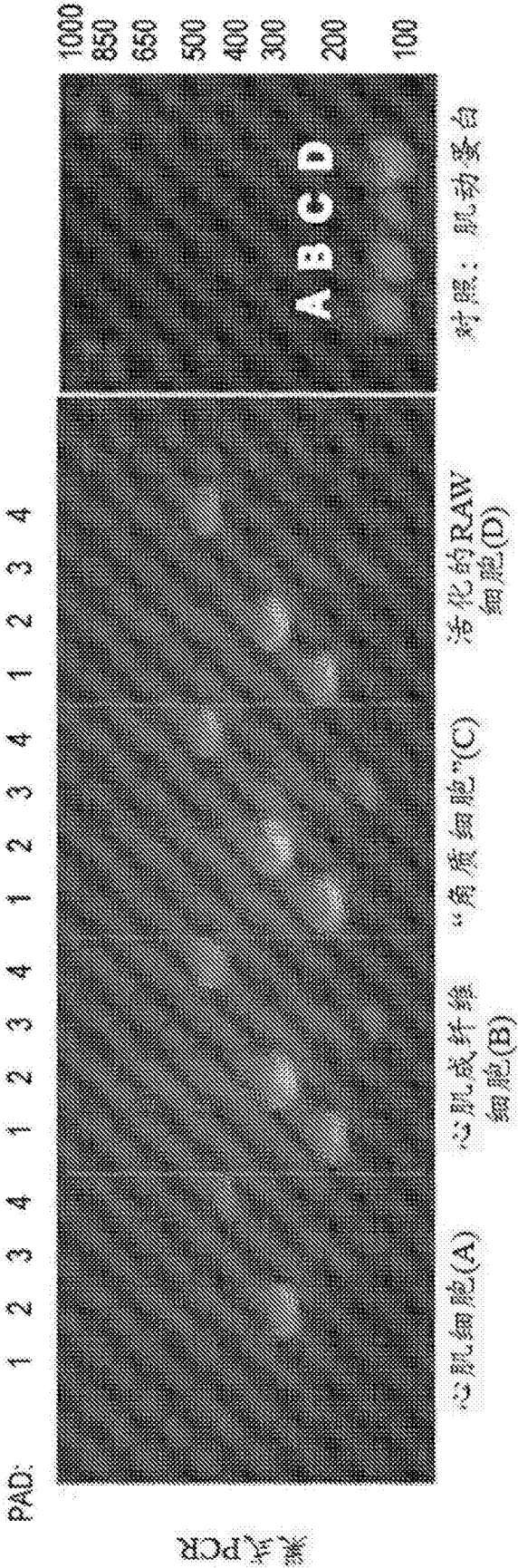


图5

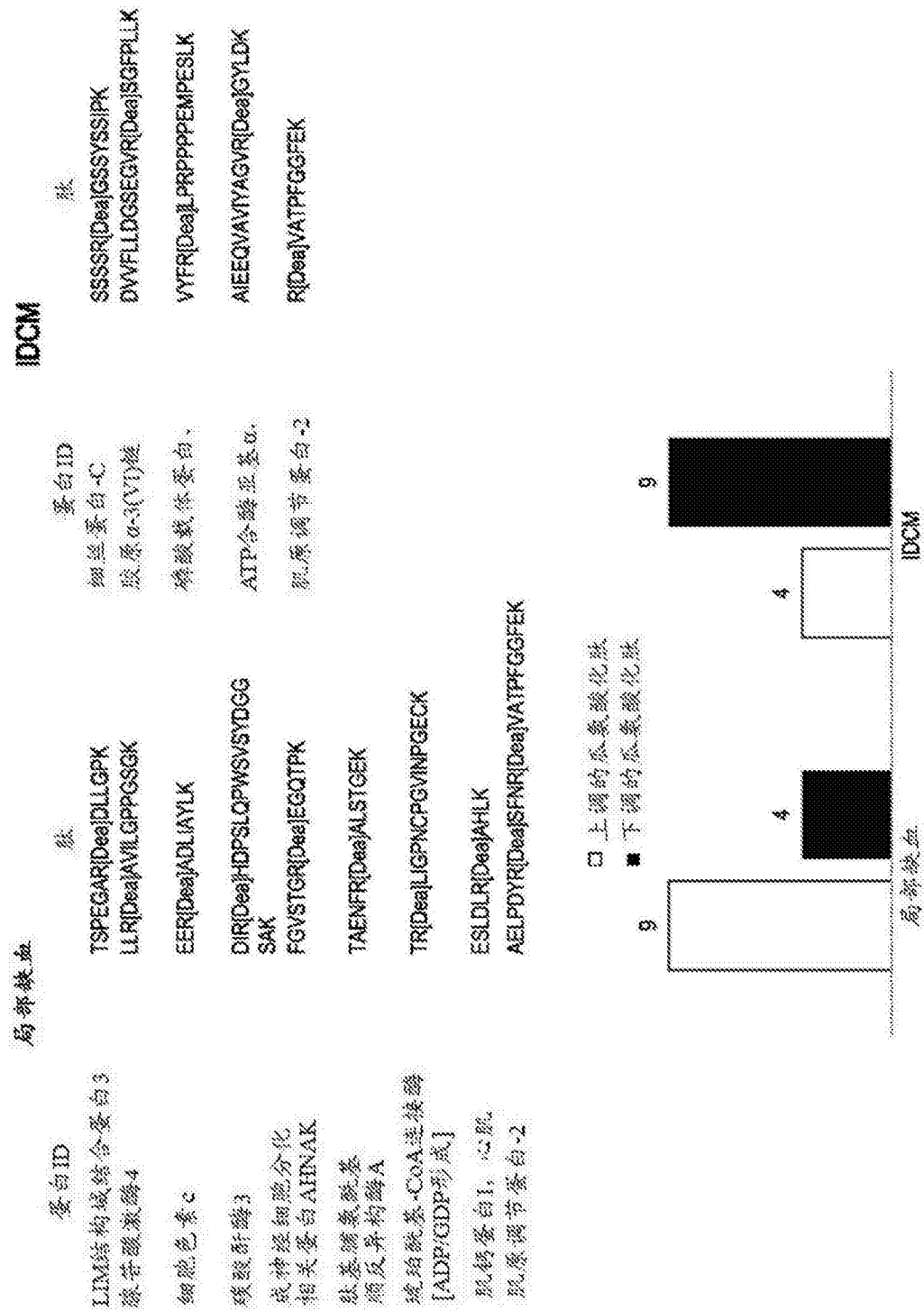


图6

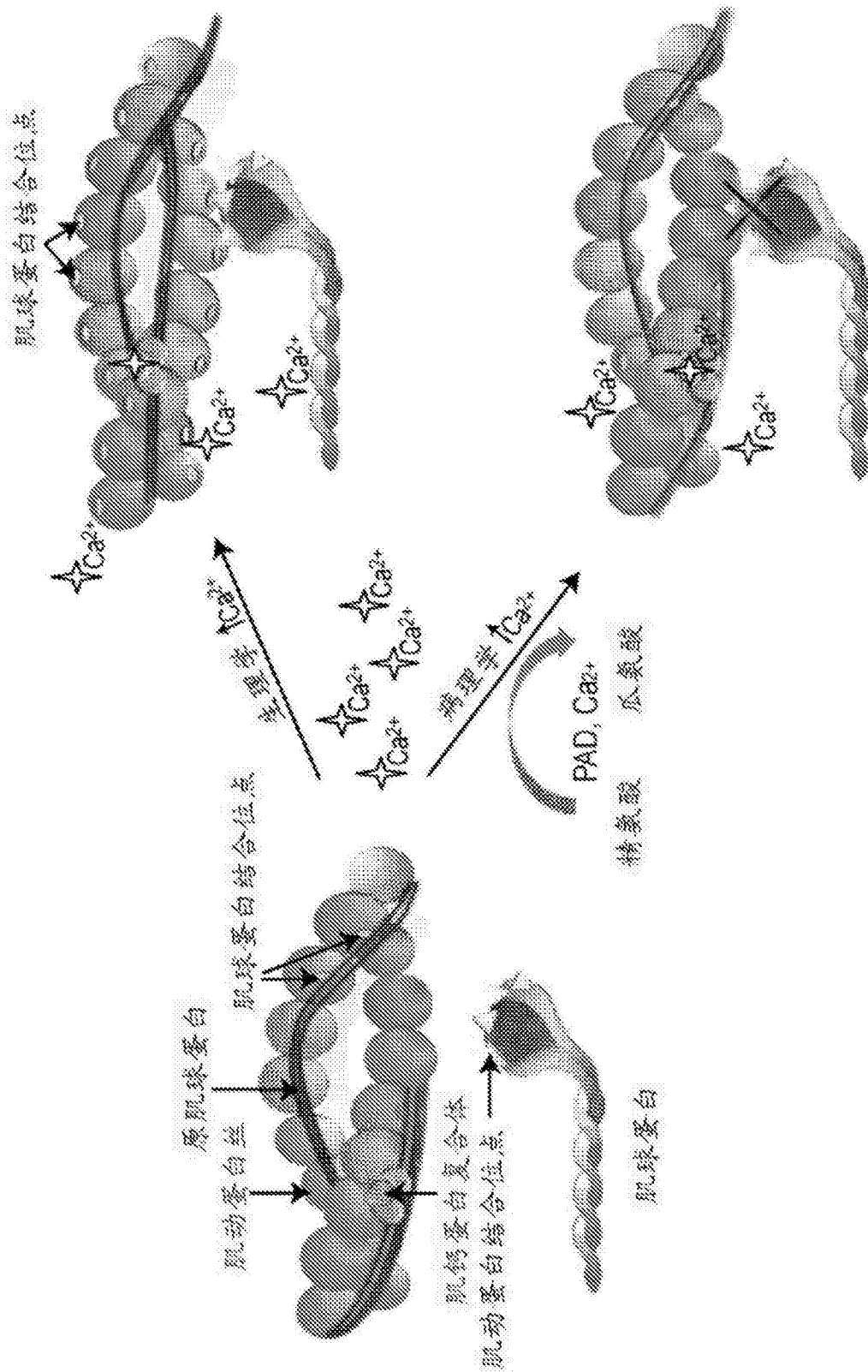


图7

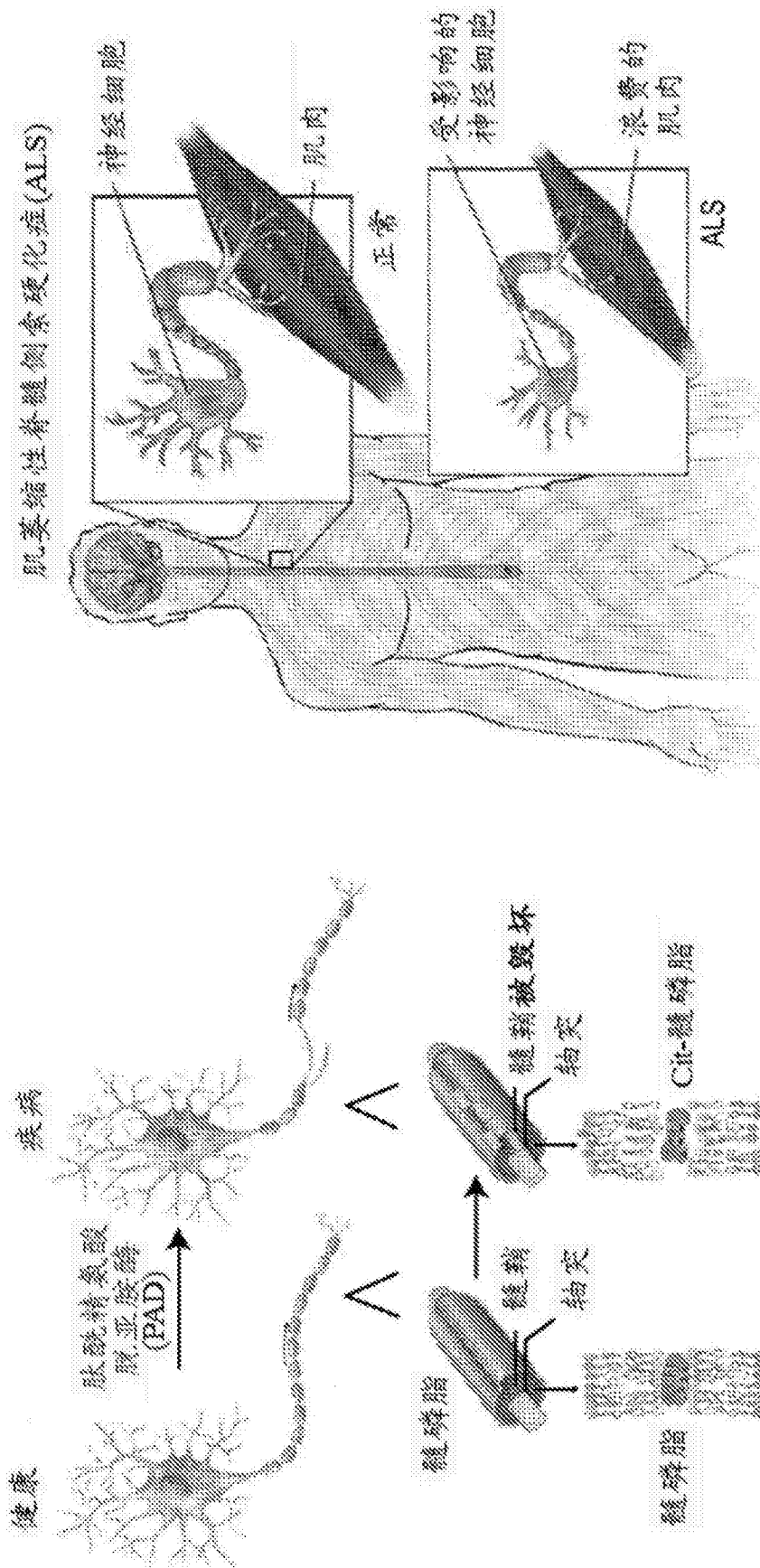


图8A

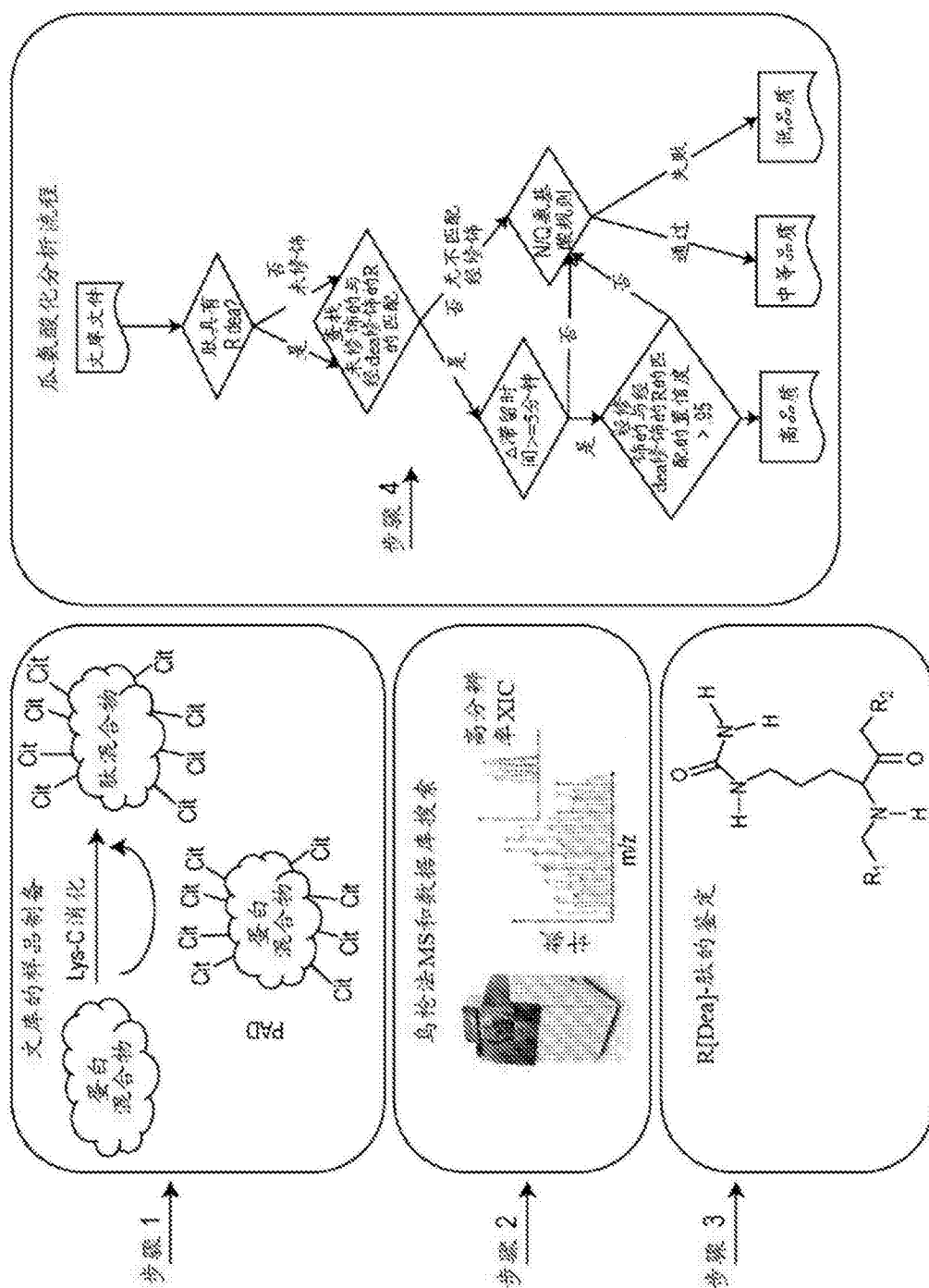


图8B

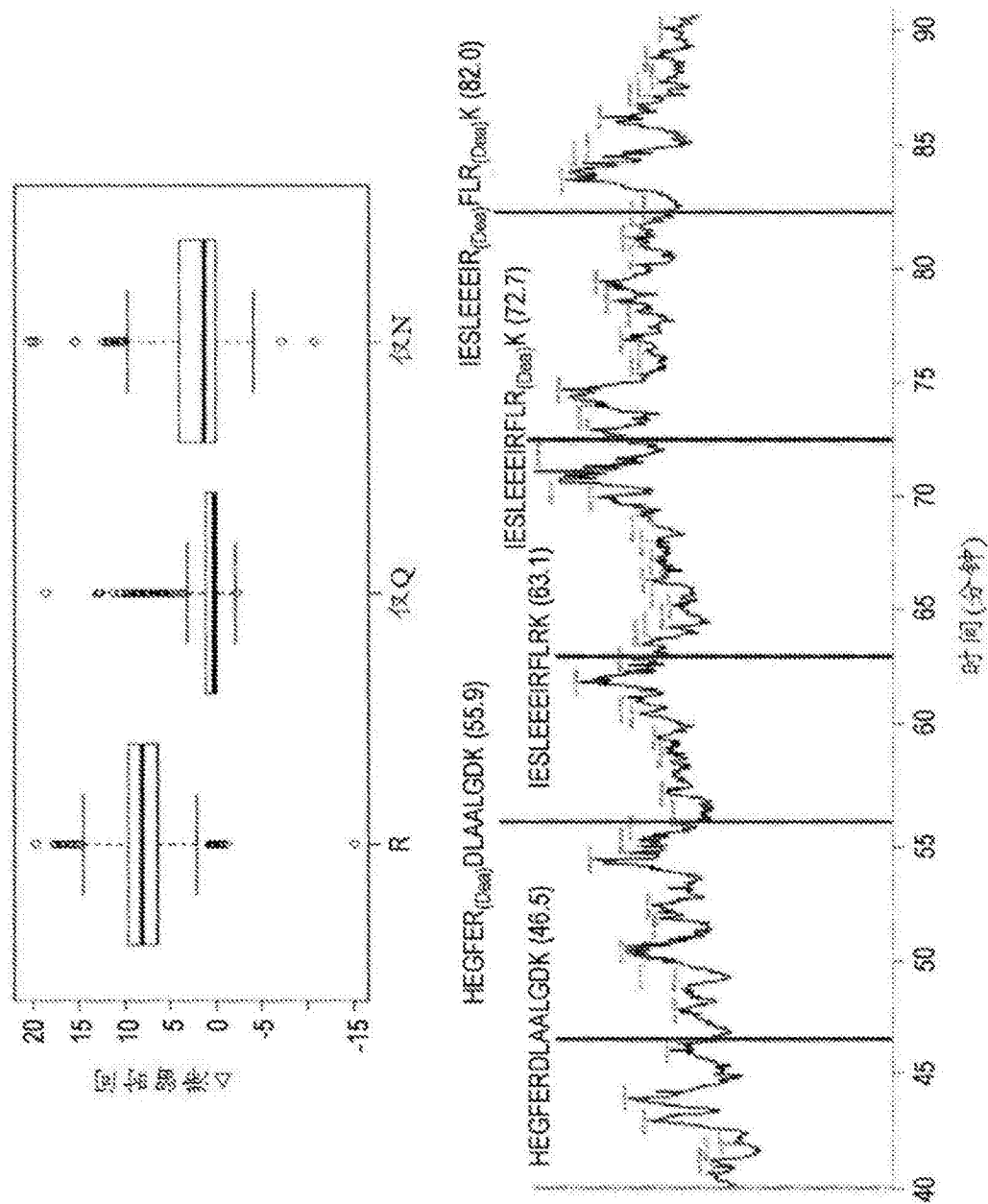


图8C

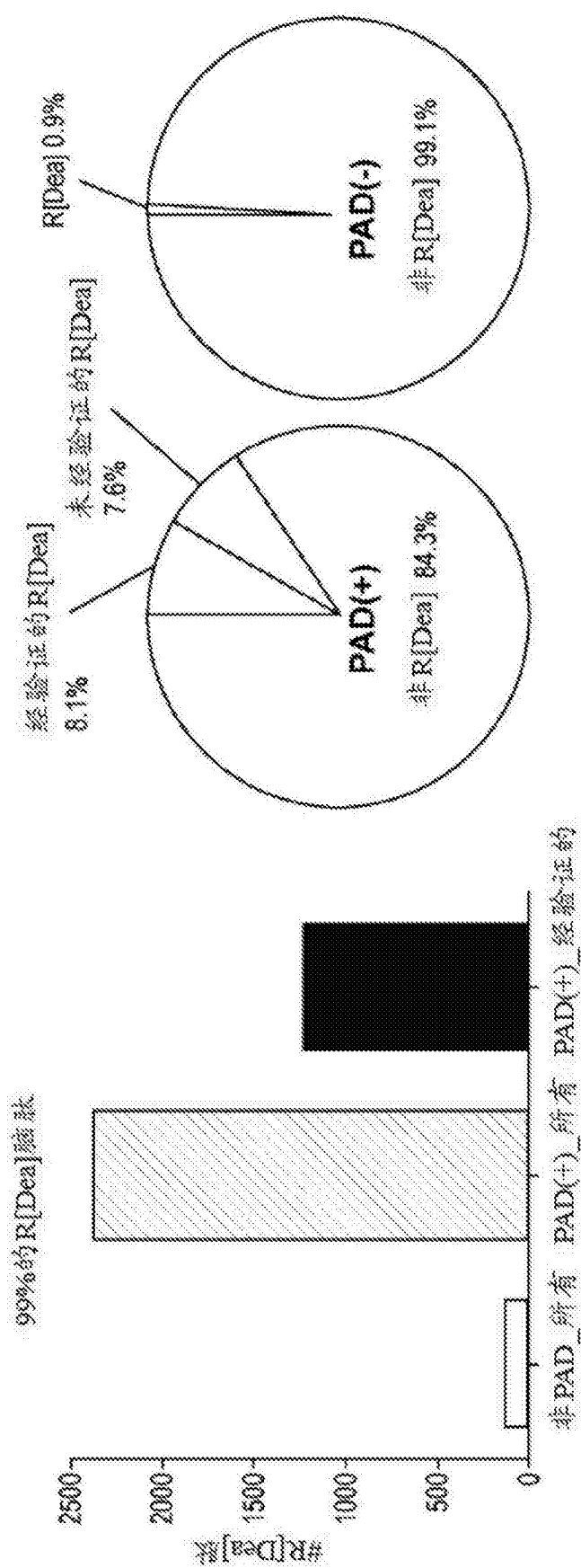


图 8D

所关注的蛋白

蛋白名称	蛋白功能
胶质纤维酸性蛋白	III类中间丝,是在中枢神经系统发育期间,将星形胶质细胞与其它神经胶质细胞区分开的细胞特异性标记物。
葡萄糖-6-磷酸异构酶	GPI是脊髓和感觉神经元的神经营养因子(神经白介素)。
波形蛋白	波形蛋白横向或末端地附着于细胞核,内质网和线粒体。
吞蛋白-A1	参与突触囊泡内存,可能招募其它蛋白质到具有高弯曲度的膜。
髓鞘碱性蛋白	CNS中髓鞘膜的形成和稳定化的作用。
δ -L-吡啶-5-羧酸脱氢酶,线粒体的	将来自脯氨酸或鸟氨酸的 δ -L-吡啶-5-羧酸(P5C)不可逆地转化为谷氨酸。这是使尿素和三羧酸循环互相关联的途径中的必要步骤。
过氧化物氧化还原酶-5,线粒体的	使用通过硫氧还蛋白系统提供的还原当量来还原过氧化氢和烷基氢过氧化物。参与细胞内氧化还原信号传导。
神经粒蛋白	在突触发育和重塑期间充当蛋白激酶C介导的分子级联的“第三信使”底物。在没有钙的情况下与钙调蛋白结合。
双特异性丝裂原活化蛋白激酶激酶1	双特异性蛋白激酶,其充当MAP激酶信号转导途径的重要组成部分。
微管蛋白聚合促进蛋白家族成员3	结合微管蛋白,并具有微管集束活性。可能在细胞增殖和有丝分裂中起作用
δ (3,5)- δ (2,4)-二烯酰-CoA异构酶,线粒体的	此蛋白参与脂肪酸 β -氧化途径,脂肪酸 β -氧化途径是脂质代谢的一部分。
富含半胱氨酸和甘氨酸的蛋白1	可能在神经发育中起作用。
细胞视黄酸结合蛋白1	细胞质CRABP可以调节视黄酸进入核视黄酸受体。
GMP还酶2	催化GMP至IMP的不可逆的NADPH依赖性脱氨基。
鸟嘌呤核苷酸结合蛋白G(1)-G(S)-G(O)亚基 γ -3	鸟嘌呤核苷酸结合蛋白(G蛋白)作为调节剂或转导物参与各种跨膜信号传导系统。

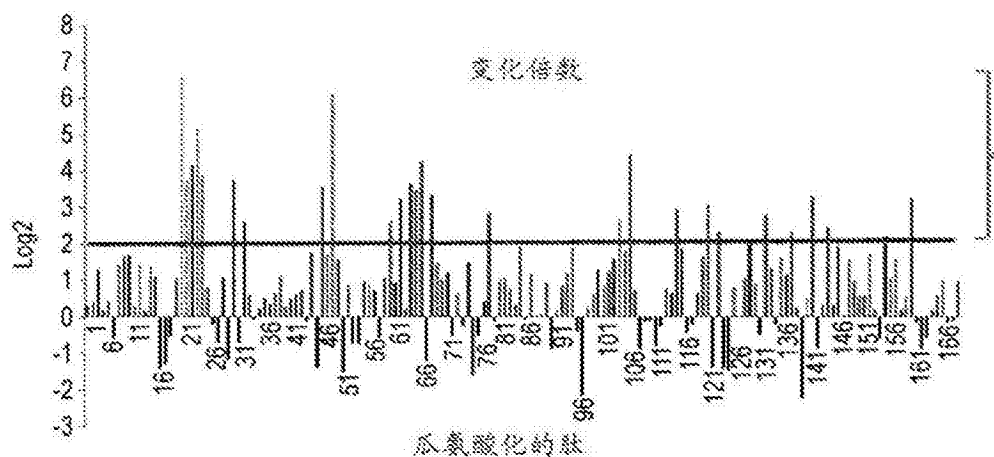


图8F

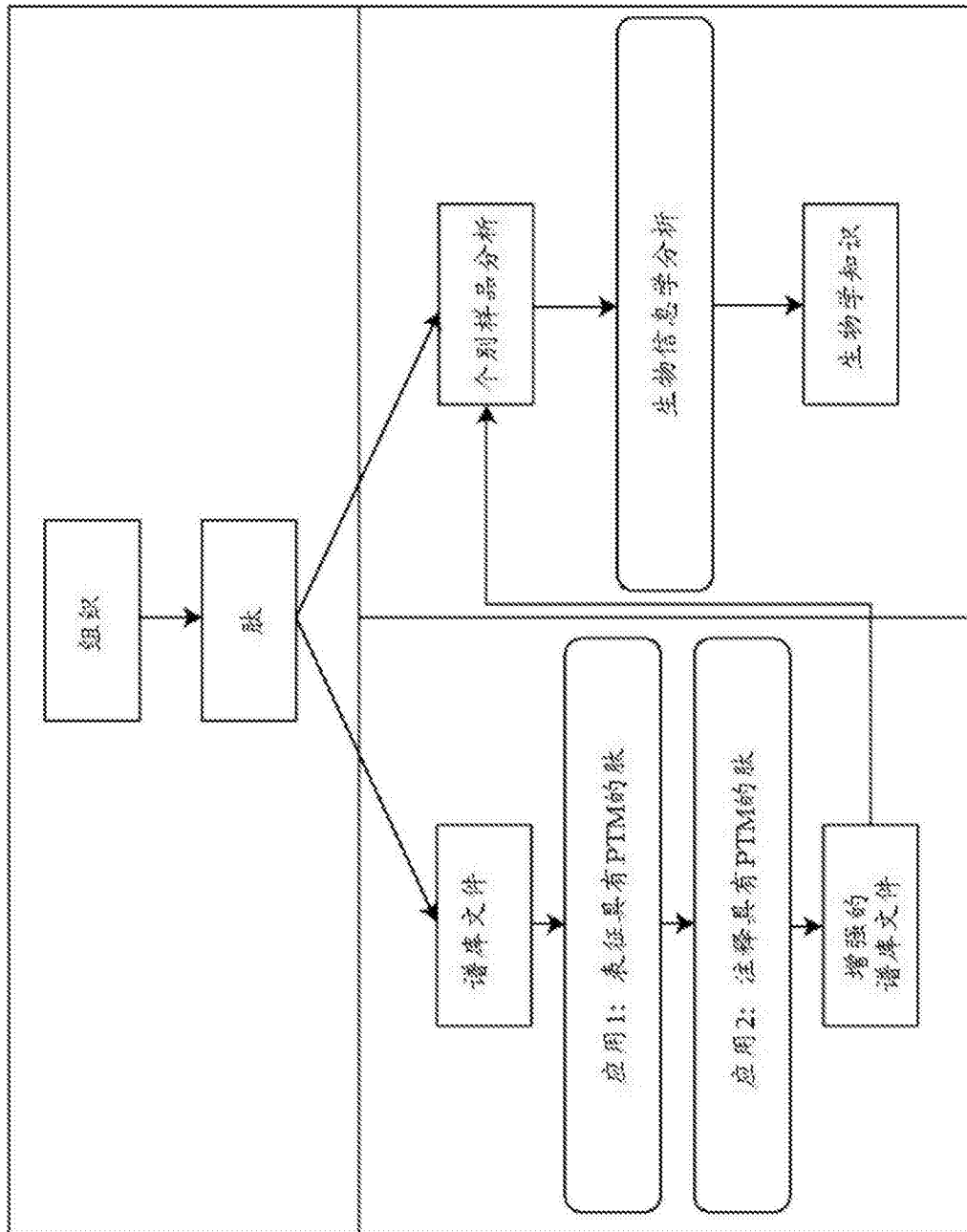


图9