



(10) 授权公告号 CN 113912711 B

(45) 授权公告日 2024. 01. 16

(21) 申请号 202111178183.2

G01N 33/577 (2006.01)

(22) 申请日 2021.10.09

G01N 33/569 (2006.01)

(65) 同一申请的已公布的文献号

申请公布号 CN 113912711 A

(56) 对比文件

CN 113416247 A, 2021.09.21

CN 112707963 A, 2021.04.27

(43) 申请公布日 2022.01.11

CN 112147327 A, 2020.12.29

CN 109517802 A, 2019.03.26

(73) 专利权人 香港理工大学深圳研究院

地址 518057 广东省深圳市南山区粤海街
道高新技术产业园南区粤兴一道18号
香港理工大学产学研大楼205室

审查员 袁一方

(72) 发明人 陈声 郭九标 杨志强

(74) 专利代理机构 深圳市君胜知识产权代理事

务所(普通合伙) 44268

专利代理师 刘芙蓉

(51) Int. Cl.

C07K 16/12 (2006.01)

权利要求书1页 说明书8页

序列表10页 附图1页

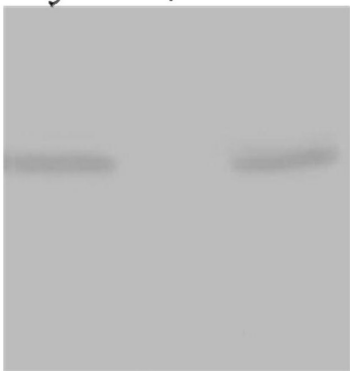
(54) 发明名称

能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体及制备方法、检测试剂盒与应用

(57) 摘要

本发明公开能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体及制备方法、检测试剂盒与应用。两种能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体,所述两种单克隆抗体分别命名为SP1和SP3。本发明中提供的SP1和SP3抗体能特异性识别多种血清型的沙门氏菌,并可结合ELISA技术,实现对多种血清型的沙门氏菌进行实时检测分析。本发明的抗体一方面可以制成具有较大潜力的、用来对抗沙门氏菌的药物,另一方面该抗体也可以用来开发出一系列能够特异性检测沙门氏菌的方法,同时也可以简化食源性沙门氏菌检测步骤,预警沙门氏菌污染,为食品安全提供重要保障。

S. Typhimurium
E. coli DH5α
S. Derby



1. 一种能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体,其特征在于,所述单克隆抗体命名为SP1,

所述SP1抗体的重链1如SEQ ID No.1所示,SP1抗体的重链2如SEQ ID No.2所示,SP1抗体的轻链1如SEQ ID No.3所示,SP1抗体的轻链2如SEQ ID No.4所示;

所述单克隆抗体能特异性识别的沙门氏菌血清型包括:S.Enteritidis、S.Derby、S.Weltevreden、S.Stanley、S.Infantis、S.Thompson、S.Albany、S.Reading、S.Fayed、S.Indiana、S.Typhimurium、S.Blockley、S.Virchow、S.Bovismorbificans、S.Newport、S.Kottbus、S.Corvallis、S.Kallo、S.Litchfield、S.Singapore、S.Montevideo、S.Menden、S.Braendemp、S.Mbandaka、S.Potsdam、S.Bareilly、S.Wandsworth、S.Paratyphi A、S.Typhi、S.Bareilly。

2. 检测多种沙门氏菌血清型的检测试剂盒,其特征在于,包括权利要求1所述的单克隆抗体。

3. 权利要求1所述的单克隆抗体在制备检测多种沙门氏菌血清型的产品中的应用;

所述多种沙门氏菌血清型包括:S.Enteritidis、S.Derby、S.Weltevreden、S.Stanley、S.Infantis、S.Thompson、S.Albany、S.Reading、S.Fayed、S.Indiana、S.Typhimurium、S.Blockley、S.Virchow、S.Bovismorbificans、S.Newport、S.Kottbus、S.Corvallis、S.Kallo、S.Litchfield、S.Singapore、S.Montevideo、S.Menden、S.Braendemp、S.Mbandaka、S.Potsdam、S.Bareilly、S.Wandsworth、S.Paratyphi A、S.Typhi、S.Bareilly。

能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体及制备方法、检测试剂盒与应用

技术领域

[0001] 本发明涉及微生物检测领域,尤其涉及能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体及制备方法、检测试剂盒与应用。

背景技术

[0002] 自抗生素时代开启以来,人类曾以为在和致病细菌之间的抗争中我们会一直保持优势。随着抗生素的广泛使用,甚至滥用,人们开始面临另一个来自这些微小微生物的威胁:抗药性问题。然后科研工作者们投入更大的精力优化已有抗生素,同时开发新型的复合抗生素以对抗这些“超级细菌”。但近年来随着NDM-1抗药性基因的发现,以及刚发现的MCR-1新型耐药基因,我们原本以为不可攻破的抗生素最后一道防线也岌岌可危了。

[0003] 沙门氏菌属革兰氏阴性肠道杆菌,目前已获鉴定的有上千种血清型。它们是常见的食源性致病菌之一,能引起人体疾病的主要有伤寒杆菌、副伤寒杆菌和副伤寒乙杆菌。每年仅伤寒沙门氏菌感染就导致1600万人生病,60万人死亡,导致严重的经济和社会负担。沙门氏菌具有较强的环境适应性和较长的潜伏期,这些特征为感染的持续性或复发性埋下了很大隐患。目前虽然有很多种抗生素可以用来对抗沙门氏菌感染,但这些抗生素往往对新型的变异种无效。另外,基于抗体或核酸的检测方法在一定程度上可以预防沙门氏菌感染的发生,但这些检测方法也都具有各自的局限性,比如只能检测某一种或几种血清型等。同时,传统的检测方法,例如基于培养的,实施PCR的,甚至是基于纳米材料的新开发的检测方法,都非常耗时或者需要昂贵的设备,都或多或少存在一些缺点和局限性。

[0004] 因此,现有技术还有待于改进和发展。

发明内容

[0005] 鉴于上述现有技术的不足,本发明的目的在于提供能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体及制备方法、检测试剂盒与应用,旨在解决现有抗体只能检测某一种或几种血清型沙门氏菌的问题。

[0006] 本发明的技术方案如下:

[0007] 两种能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体,其中,所述两种单克隆抗体分别命名为SP1和SP3,

[0008] 其中SP1抗体的重链1如SEQ ID No.1所示,SP1抗体的重链2如SEQ ID No.2所示,SP1抗体的轻链1如SEQ ID No.3所示,SP1抗体的轻链2如SEQ ID No.4所示;

[0009] 其中SP3抗体的重链1如SEQ ID No.5所示,SP3抗体的重链2如SEQ ID No.6所示,SP3抗体的轻链1如SEQ ID No.7所示,SP3抗体的轻链2如SEQ ID No.8所示。

[0010] 可选地,所述两种单克隆抗体能特异性识别的沙门氏菌血清型包括:S.Enteritidis、S.Derby、S.Weltevreden、S.Stanley、S.Infantis、S.Thompson、S.Albany、S.Reading、S.Fayed、S.Indiana、S.Typhimurium、S.Blockley、S.Virchow、

S.Bovismorbificans、S.Newport、S.Kottbus、S.Corvallis、S.Kallo、S.Litchfield、S.Singapore、S.Montevideo、S.Menden、S.Braendemp、S.Mbandaka、S.Potsdam、S.Bareilly、S.Wandsworth、S.Paratyphi A、S.Typhi、S.Bareilly、S.typhimurium LT2、S.SaintPaul。

[0011] 本发明所述的单克隆抗体的制备方法,其中,包括步骤:

[0012] 筛选获得在多种沙门氏菌血清型中都高度保守的抗原;

[0013] 合成所述抗原中暴露在沙门氏菌细胞外的多肽片段;

[0014] 将所述多肽片段感染小鼠,从感染后的小鼠中提取效应B淋巴细胞;将所述效应B淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合,筛选,得到两种杂交瘤细胞;

[0015] 采用所述两种杂交瘤细胞分泌得到所述两种单克隆抗体。

[0016] 可选地,利用生物信息学手段和多重序列比对技术,筛选获得在多种沙门氏菌血清型中都高度保守的抗原。

[0017] 可选地,所述采用所述两种杂交瘤细胞分泌得到所述两种单克隆抗体的步骤,具体包括:将所述两种杂交瘤细胞分别采用体外培养或注射到小鼠腹腔的方式制备所述两种单克隆抗体,并利用protein G介质纯化所述两种单克隆抗体。

[0018] 本发明检测多种沙门氏菌血清型的检测试剂盒,其中,包括本发明所述的两种单克隆抗体。

[0019] 本发明所述的单克隆抗体在制备检测多种沙门氏菌血清型的产品中的应用。

[0020] 有益效果:本发明中提供的SP1和SP3抗体能特异性识别多种血清型的沙门氏菌,并可结合ELISA技术,实现对多种血清型的沙门氏菌进行实时检测分析。本发明的抗体一方面可以制成具有较大潜力的、用来对抗沙门氏菌的药物,另一方面该抗体也可以用来开发出一系列能够特异性检测沙门氏菌的方法,同时也可以简化食源性沙门氏菌检测步骤,预警沙门氏菌污染,为食品安全提供重要保障。

附图说明

[0021] 图1为SP1单克隆抗体和SP3单克隆抗体经proteinG介质纯化的电泳结果。

[0022] 图2为SP1单克隆抗体对两种沙门氏菌S.Enteritidis和S.Derby以及大肠杆菌DH5a的western blot检测结果,说明SP1抗体对沙门氏菌具有高度的特异性。

具体实施方式

[0023] 本发明提供能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体及制备方法、检测试剂盒与应用,为使本发明的目的、技术方案及效果更加清楚、明确,以下对本发明进一步详细说明。应当理解,此处所描述的具体实施例仅仅用以解释本发明,并不用于限定本发明。

[0024] 本发明实施例提供两种能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体,其中,所述两种单克隆抗体分别命名为SP1和SP3,

[0025] 其中SP1抗体的重链1如SEQ ID No.1所示,SP1抗体的重链2如SEQ ID No.2所示,SP1抗体的轻链1如SEQ ID No.3所示,SP1抗体的轻链2如SEQ ID No.4所示;

[0026] 其中SP3抗体的重链1如SEQ ID No.5所示,SP3抗体的重链2如SEQ ID No.6所示,SP3抗体的轻链1如SEQ ID No.7所示,SP3抗体的轻链2如SEQ ID No.8所示。

[0027] 本实施例提供的两种单克隆抗体为基于沙门氏菌表面蛋白的特异性单克隆抗体,两种抗体均可灵敏,高效的特异性识别沙门氏菌表面蛋白(OmpC)抗原蛋白,并且对于目前流行的多种血清型的沙门氏菌都有很好的识别效果,同时结合ELISA技术(如胶体金、横流试纸等),可以用来特异性地、灵活方便地用于沙门氏菌的快速检测分析。沙门氏菌有超过2000多种血清型,不同血清型的菌株差异极大,本实施例上述两种单克隆抗体能特异性识别食品源主要流行的多种血清型沙门氏菌。

[0028] 本实施例提供的两种单克隆抗体能特异性识别多种血清型的沙门氏菌,尤其是致病性最强的血清型沙门氏菌,例如肠炎沙门氏菌,伤寒沙门氏菌和鼠伤寒沙门氏菌等。这两种抗体一方面可以用于沙门氏菌的快速特异性检测,另一方面,这两种抗体经过进一步的测试和优化,有可能成为未来对抗沙门氏菌感染的候选药物。

[0029] 本实施例中,所述两种单克隆抗体,均能够通过沙门氏菌保守表面蛋白(OmpC)结合,具体是识别同一种抗原的不同抗原表位,从而特异性识别沙门氏菌。可识别的沙门氏菌的血清型包括:S.Enteritidis、S.Derby、S.Weltevreden、S.Stanley、S.Infantis、S.Thompson、S.Albany、S.Reading、S.Fayed、S.Indiana、S.Typhimurium、S.Blockley、S.Virchow、S.Bovismorbificans、S.Newport、S.Kottbus、S.Corvallis、S.Kallo、S.Litchfield、S.Singapore、S.Montevideo、S.Menden、S.Braendemp、S.Mbandaka、S.Potsdam、S.Bareilly、S.Wandsworth、S.Paratyphi A、S.Typhi、S.Bareilly、S.typhimurium LT2、S.SaintPaul等,但不限于此。

[0030] 本发明实施例提供的所述的单克隆抗体的制备方法,其中,包括步骤:

[0031] S1、筛选获得在多种沙门氏菌血清型中都高度保守的抗原;

[0032] S2、合成所述抗原中暴露在沙门氏菌细胞外的多肽片段;

[0033] S3、将所述多肽片段感染小鼠,从感染后的小鼠中提取效应B淋巴细胞;

[0034] S4、将所述效应B淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合,筛选,得到两种杂交瘤细胞;

[0035] S5、采用所述两种杂交瘤细胞分泌得到所述两种单克隆抗体。

[0036] 本实施例制备的单克隆抗体是基于暴露在沙门氏菌表面的最保守的外膜蛋白(OmpC)设计的,使制备的单克隆抗体对不同血清型沙门氏菌都具有很高的识别特异性。

[0037] 本实施例中,基于沙门氏菌特异性的表面蛋白制备的SP1和SP3单克隆抗体能特异性识别沙门氏菌,并可结合ELISA技术,实现对多种血清型的沙门氏菌进行实时检测分析。该发明涉及的一种单克隆抗体一方面可以经进一步实验研发成未来具有较大潜力的、用来对抗沙门氏菌的药物,另一方面该抗体也可以用来开发出一系列能够特异性检测沙门氏菌的方法,同时也可以简化食源性沙门氏菌检测步骤,预警沙门氏菌污染,为食品安全提供重要保障。

[0038] 步骤S1中,可以利用生物信息学手段和多重序列比对技术,筛选获得在多种沙门氏菌血清型中都高度保守的抗原。

[0039] 步骤S3中,将合成的多肽片段免疫小鼠,从免疫后的小鼠中分离获得相应的效应B淋巴细胞。

[0040] 步骤S4中,将从步骤S3中获得的所述效应B淋巴细胞与骨髓瘤细胞融合,筛选,得到能够稳定地大量产生目标抗体的两种杂交瘤细胞。

[0041] 步骤S5中,所述采用所述两种杂交瘤细胞分泌得到所述两种单克隆抗体的步骤,

具体包括:将所述两种杂交瘤细胞分别采用体外培养或注射到小鼠腹腔的方式制备所述两种单克隆抗体,并利用蛋白G树脂(protein G介质)纯化所述两种单克隆抗体。即体外培养或注射到小鼠腹腔的方式扩大生产相应抗体,并利用protein G介质纯化单克隆抗体。最后,检验纯化的单克隆抗体对多种沙门氏菌血清型的特异性识别效果。

[0042] 本发明实施例提供检测多种沙门氏菌血清型的检测试剂盒,其中,包括本发明实施例所述的两种单克隆抗体。

[0043] 本发明实施例提供所述的单克隆抗体在制备检测多种沙门氏菌血清型的产品中的应用。

[0044] 以往报道的沙门氏菌检测方法都存在检测灵敏度或特异性不高的现象,且只能检测一种或两种血清型沙门氏菌,有很大的局限性。本实施例提供的两种单克隆抗体可检测到多种血清型沙门氏菌,是开发快速、灵敏、新颖、特异的沙门氏菌检测方法的理想药物。

[0045] 下面通过具体的实施例对本发明作进一步地说明。

[0046] 首先需说明的是,以下实施例中若未注明具体的实验条件,其按照本领域技术人员所熟知的常规条件实施,或遵循试剂供应商所建议的方法实施。以下实施例中所涉及的耗材都购于市场,并无特殊要求。

[0047] 一、本实施例中SP1单克隆抗体和SP3单克隆抗体的制备及纯化步骤如下:

[0048] 1. 杂交瘤细胞复苏与扩大培养

[0049] (1) 准备6孔细胞培养板,每孔中加入细胞培养液约2ml。

[0050] (2) 从液氮中取出杂交瘤细胞(由中国北京华大蛋白质研发中心有限公司提供),放入37℃水浴锅中迅速解冻。

[0051] (3) 吸取细胞放入8ml完全培养基,1000rpm离心5min,弃掉上清。

[0052] (4) 将离心好的细胞上清液吸除,吸取1ml细胞培养液混匀沉淀细胞,将该细胞液吸出,混匀到相应的培养板孔中,放入细胞培养箱中进行孵育。

[0053] 2. 小鼠的准备

[0054] 依照动物实验要求购买饲养小鼠(Balb/c小鼠),在注射杂交瘤细胞的前一周,采用腹腔注射方式注射石蜡油,每只Balb/c小鼠注射500ul石蜡油,根据将要进行的腹水项目数准备好相应数量小鼠。

[0055] 3. 杂交瘤细胞收集与注射

[0056] (1) 待细胞处于对数生长期,即可收集。吸取上清1ml后,吹打细胞,使其脱落,然后收集到15ml离心管中,1000rpm下离心5min。用适当的生理盐水重悬细胞沉淀,调整细胞浓度为 7×10^5 个/ml。

[0057] (2) 采用腹腔注射方式注射腹水,每只鼠注射1ml。

[0058] 4. 腹水收集

[0059] (1) 注射完杂交瘤细胞7天至14天,小鼠腹腔鼓起足够大后,取腹水。取腹水之前先将细胞株名称记录在装腹水的管子上(15ml离心管)。

[0060] (2) 左手抓牢小鼠,右手拿针头(取腹水用针头),针头与小鼠平行。针从腹股沟和最靠下的两个乳头这三点形成的三角形中扎进去。针的一头放在备用离心管中。针扎进小鼠腹部不要太深,以免扎伤内脏。腹水就会顺着针管流进离心管里。取的过程中适当调换手的姿势,尽可能多取、快取。(两天取一次)

[0061] (3) 取出的腹水5000rpm下离心10min,离心后将腹水上清吸到相应离心管中用于进一步纯化。

[0062] 5. 抗体纯化

[0063] (1) 样本预处理:用相应的偶联缓冲液以体积比1:3稀释,配平,10000rpm 4℃离心20min,0.22μm滤膜过滤,除去脂肪、细胞残渣及小颗粒物质。

[0064] (2) 平衡:用8倍柱体积的相应偶联缓冲液平衡预装亲和柱,保持流速为4s/滴。

[0065] (3) 上样:用注射器把样品注入柱子上端接口,收集流出液于50ml离心管中,保持流速为5s/滴。

[0066] (4) 洗杂:用5倍柱体积的偶联缓冲液过柱,保持流速为4s/滴。

[0067] (5) 洗脱:用5倍柱体积洗脱缓冲液洗脱抗体,收集于上述EP管中。

[0068] (6) 再生:用5倍柱体积pH2.7洗脱缓冲液过柱,保持流速为4s/滴。

[0069] (7) 平衡:用8柱体积的G柱偶联缓冲液平衡柱子回pH7.0,保持流速为4s/滴。

[0070] (8) 保存柱子:pH7.0的柱子保存于4℃。长期不用的柱子,平衡后保存于20%乙醇中。

[0071] 利用蛋白电泳检验纯化效果,检验结果见图1。从图1可知,纯化获得的SP1单克隆抗体和SP3单克隆抗体均具有很高的纯度和浓度,抗体经变形处理后会分离出经典的重链(分子量约为50kDa)和轻链(分子量约为25kDa)片段两部分,其中BSA作为参照,其分子量约为66kDa。

[0072] 二、本实施例中SP1单克隆抗体和SP3单克隆抗体的抗体效价检测步骤如下:

[0073] 将两种杂交瘤细胞分别用“SP1-BSA”和“SP3-BSA”包板,采用ELISA方法,测试抗体效价。具体步骤如下:

[0074] (1) 用包被液稀释“SP1-BSA”及“SP3-BSA”,终浓度为2ug/ml,100ul/孔,4℃,过夜;后用洗液洗涤3次。

[0075] (2) 2wt%牛奶封闭液封闭,200ul/孔,37℃孵箱,2h;后用洗液洗涤3次。

[0076] (3) 加入一抗(细胞培养上清)、阴性对照(SP2/0培养上清)、空白对照(PBS)、阳性对照(阳性血清PBS 200倍稀释),均为100ul/孔,37℃孵箱,1h;后用洗液洗涤3次。

[0077] (4) 加入PBS稀释20000倍的二抗,100ul/孔,37℃孵箱,1h;取出后用洗液洗涤3次。

[0078] (5) 显色,显色液100ul/孔,显色时间为5min左右。

[0079] (6) 每孔加入50ul终止液终止。

[0080] (7) 双波长(450,630)测吸光值,记录保存数据。

[0081] ELISA测试结果如表1所示。

[0082] 表1、SP1单克隆抗体和SP3单克隆抗体ELISA测试结果

[0083]

	杂交瘤细胞名称	OD	杂交瘤细胞名称	OD
1	SP1-KLH-1	0.968	Sp3-KLH-1	1.104
2	SP1-KLH-2	0.667	Sp3-KLH-2	0.143
3	SP1-KLH-3	0.797	Sp3-KLH-3	1.169
4	SP1-KLH-4	0.76	Sp3-KLH-6	0.982
5	SP1-KLH-5	0.658	Sp3-KLH-7	1.246
6	SP1-KLH-6	0.791	Sp3-KLH-14	0.887

7	SP1-KLH-8	0.862	Sp3-KLH-16	0.797
8	SP1-KLH-11	0.884	Sp3-KLH-18	0.858
9	SP1-KLH-13	0.888	Sp3-KLH-20	0.85
10	SP1-KLH-16	0.718	Sp3-KLH-21	0.977
11	SP1-KLH-20	0.864	Sp3-KLH-22	0.743
12	SP1-KLH-23	0.722	Sp3-KLH-24	0.829
13			Sp3-KLH-26	0.931
14			Sp3-KLH-29	0.689

[0084] 三、SP1单克隆抗体对两种血清型沙门氏菌的检测

[0085] 在新鲜的LB液体培养基中复苏S.Typhimurium (Salmonella Typhimurium)、S.Derby和E.coli DH5 α ,放置于37℃恒温培养箱中过夜震荡培养。第二天用移液枪转移1ml过夜培养菌到EP管中,室温条件下12000rpm离心1min,弃去上清,用样品缓冲液重悬起细菌沉淀,并在95℃条件下加热处理10min,再12000rpm离心1min,然后取15 μ l样品进行蛋白电泳。后续的western blot分析按照标准方法操作。SP1单克隆抗体对两种血清型沙门氏菌的western blot检测结果见图2,其中E.coli DH5 α 为阴性对照,一抗为SP1,稀释倍数为1000倍,二抗为羊抗鼠的多克隆抗体,稀释倍数为5000倍。

[0086] 四、本实施例中SP1单克隆抗体和SP3单克隆抗体能特异性识别的沙门氏菌血清型见下表2,

[0087] 在新鲜的LB液体培养基中复苏多种血清型沙门氏菌(详见表2)和E.coli DH5 α ,放置于37℃恒温培养箱中过夜震荡培养。第二天用移液枪转移1ml过夜培养菌到EP管中,室温条件下12000rpm离心1min,弃去上清,用样品缓冲液重悬起细菌沉淀,然后采用双抗夹心法ELISA进行检测分析,具体步骤如下:

[0088] (1) 用包被液稀释SP1,终浓度为2 μ g/ml,100 μ l/孔,4℃,包被过夜;后用洗液洗涤3次。

[0089] (2) 2wt%牛奶封闭液封闭,200 μ l/孔,室温封闭2h;后用洗液洗涤3次。

[0090] (3) 加入100 μ l/孔的不同种类的细菌,包括阴性对照细菌。最佳细菌浓度需要进行摸索优化,然后室温结合1h;后用洗液洗涤3次。

[0091] (4) 加入PBS稀释1000倍的SP3抗体,100 μ l/孔,室温孵箱1h;取出后用洗液洗涤3次。

[0092] (5) 加入PBS稀释20000倍的HRP结合的兔/羊抗鼠的二抗,100 μ l/孔,室温孵箱1h;取出后用洗液洗涤3次。

[0093] (6) 显色,显色液100 μ l/孔,显色时间为室温、遮光5-20min。

[0094] (7) 每孔加入100 μ l终止液终止,30min内完成吸光值测量。

[0095] (8) 双波长(450,630)测吸光值,记录保存数据。

[0096] 其中“+”表示检测结果呈阳性,“+”越多表示检测信号越强。能够检测到两种单克隆抗体特异性识别相对应的血清型的待检测沙门氏菌,其中E.coli DH5 α 为阴性对照。

[0097] 表2、两种单克隆抗体检测到的沙门氏菌血清型

[0098]

血清型	检测信号
<i>S. Enteritidis</i>	++++
<i>S. Derby</i>	++++
<i>S. Weltevreden</i>	++++
<i>S. Stanley</i>	+++
<i>S. Infantis</i>	+++
<i>S. Thompson</i>	+++
<i>S. Albany</i>	+++
<i>S. Reading</i>	+++
<i>S. Fayed</i>	+++
<i>S. Indiana</i>	+++
<i>S. Typhimurium</i>	+++
<i>S. Blockley</i>	+++
<i>S. Virchow</i>	+++
<i>S. Bovismorbificans</i>	+++
<i>S. Newport</i>	+++

	<i>S. Kottbus</i>	+++
	<i>S. Corvallis</i>	+++
	<i>S. Kallø</i>	+++
	<i>S. Litchfield</i>	+++
	<i>S. Singapore</i>	+++
	<i>S. Montevideo</i>	+++
	<i>S. Menden</i>	+++
	<i>S. Braendemp</i>	+++
[0099]	<i>S. Mbandaka</i>	+++
	<i>S. Potsdam</i>	+++
	<i>S. Bareilly</i>	+++
	<i>S. Wandsworth</i>	+++
	<i>S. Paratyphi A</i>	+++
	<i>S. Typhi</i>	+++
	<i>S. Bareilly</i>	+++
	<i>S. typhimurium LT2</i>	++
	<i>S. SaintPaul</i>	+

[0100] 综上所述,本发明提供两种能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体。本发明提供的两种单克隆抗体一方面可以经进一步研发成未来具有较大潜力的、用来对抗沙门氏菌的药物,另一方面该抗体也可以用来开发出一系列能够特异性检测沙门氏菌的方法,从而更有效地及时预防沙门氏菌感染。

[0101] 应当理解的是,本发明的应用不限于上述的举例,对本领域普通技术人员来说,可以根据上述说明加以改进或变换,所有这些改进和变换都应属于本发明所附权利要求的保护范围。

[0001]	序列表																			
[0002]	<110> 香港理工大学深圳研究院																			
[0003]	<120> 能特异性识别多种沙门氏菌血清型的单克隆抗体及制备方法、检测试剂盒与应用																			
[0004]	<160> 8																			
[0005]	<210> 1																			
[0006]	<211> 454																			
[0007]	<212> PRT																			
[0008]	<213> 人工序列(rengongxulie)																			
[0009]	<400> 1																			
[0010]	Gln	Val	Asn	Leu	Gln	Arg	Ser	Gly	Ala	Glu	Ile	Ser	Arg	Ser	Gly	Thr				
[0011]	1				5					10					15					
[0012]	Ser	Val	Arg	Trp	Ser	Cys	Lys	Thr	Ser	Gly	Tyr	Tyr	Phe	Thr	Ser	Thr				
[0013]				20					25					30						
[0014]	Asn	Met	His	Trp	Thr	Lys	Asn	Thr	Pro	Gly	Asn	Gly	Val	Glu	Met	Ile				
[0015]			35					40					45							
[0016]	Gly	Tyr	Thr	Tyr	Pro	Gly	Asn	Ser	Gly	Thr	Gln	Tyr	Ile	Gln	Lys	Phe				
[0017]		50					55					60								
[0018]	Lys	Gly	Lys	Thr	Ile	Leu	Thr	Gln	Asp	Thr	Ser	Gln	Ser	Thr	Ala	Tyr				
[0019]	65				70				75					80						
[0020]	Asn	Gln	Ile	Ser	Ser	Leu	Ile	Ser	Glu	Asp	Ser	Ala	Glu	Tyr	Phe	Cys				
[0021]				85					90					95						
[0022]	Thr	Arg	Asp	Pro	Ser	His	Gln	Ser	Ser	Asp	Pro	Tyr	Pro	Asp	Tyr	Trp				
[0023]				100					105					110						
[0024]	Gly	Gln	Gly	Thr	Thr	Leu	Thr	Val	Val	Ser	Glu	Phe	Ala	Ser	Thr	Lys				
[0025]			115					120					125							
[0026]	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly				
[0027]		130					135					140								
[0028]	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	Leu	Val	Lys	Asp	Tyr	Phe	Pro	Glu	Pro				
[0029]	145				150				155					160						
[0030]	Val	Thr	Val	Ser	Trp	Asn	Ser	Gly	Ala	Leu	Thr	Ser	Gly	Val	His	Thr				
[0031]				165					170					175						
[0032]	Phe	Pro	Ala	Val	Leu	Gln	Ser	Ser	Gly	Leu	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Val				
[0033]				180					185					190						
[0034]	Val	Thr	Val	Pro	Ser	Ser	Ser	Leu	Gly	Thr	Gln	Thr	Tyr	Ile	Cys	Asn				
[0035]			195					200					205							
[0036]	Val	Asn	His	Lys	Pro	Ser	Asn	Thr	Lys	Val	Asp	Lys	Lys	Val	Glu	Pro				
[0037]		210						215					220							

[0038]	Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[0039]	225 230 235 240
[0040]	Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[0041]	245 250 255
[0042]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[0043]	260 265 270
[0044]	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[0045]	275 280 285
[0046]	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
[0047]	290 295 300
[0048]	Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[0049]	305 310 315 320
[0050]	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[0051]	325 330 335
[0052]	Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu
[0053]	340 345 350
[0054]	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn
[0055]	355 360 365
[0056]	Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[0057]	370 375 380
[0058]	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[0059]	385 390 395 400
[0060]	Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[0061]	405 410 415
[0062]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[0063]	420 425 430
[0064]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[0065]	435 440 445
[0066]	Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0067]	450 454
[0068]	<210> 2
[0069]	<211> 454
[0070]	<212> PRT
[0071]	<213> 人工序列(rengongxulie)
[0072]	<400> 2
[0073]	Gln Val Asn Leu Gln Arg Ser Gly Ala Glu Ile Ser Arg Ser Gly Thr
[0074]	1 5 10 15
[0075]	Ser Val Arg Trp Ser Cys Lys Thr Ser Gly Tyr Tyr Phe Thr Ser Thr
[0076]	20 25 30

[0077]	Asn Met His Trp Thr Lys Asn Thr Pro Gly Asn Gly Val Glu Met Ile
[0078]	35 40 45
[0079]	Gly Tyr Thr Tyr Pro Gly Asn Ser Gly Thr Gln Tyr Ile Gln Lys Phe
[0080]	50 55 60
[0081]	Lys Gly Lys Thr Ile Leu Thr Gln Asp Thr Ser Gln Ser Thr Ala Tyr
[0082]	65 70 75 80
[0083]	Asn Gln Ile Ser Ser Leu Ile Ser Glu Asp Ser Ala Glu Tyr Phe Cys
[0084]	85 90 95
[0085]	Thr Arg Asp Pro Ser His Gln Ser Ser Asp Pro Tyr Pro Asp Tyr Trp
[0086]	100 105 110
[0087]	Gly Gln Gly Thr Thr Leu Thr Val Val Ser Glu Phe Ala Ser Thr Lys
[0088]	115 120 125
[0089]	Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly
[0090]	130 135 140
[0091]	Gly Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro
[0092]	145 150 155 160
[0093]	Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr
[0094]	165 170 175
[0095]	Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val
[0096]	180 185 190
[0097]	Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn
[0098]	195 200 205
[0099]	Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro
[0100]	210 215 220
[0101]	Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu
[0102]	225 230 235 240
[0103]	Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp
[0104]	245 250 255
[0105]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp
[0106]	260 265 270
[0107]	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly
[0108]	275 280 285
[0109]	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn
[0110]	290 295 300
[0111]	Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp
[0112]	305 310 315 320
[0113]	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro
[0114]	325 330 335
[0115]	Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu

[0116]	340	345	350
[0117]	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn		
[0118]	355	360	365
[0119]	Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile		
[0120]	370	375	380
[0121]	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr		
[0122]	385	390	395
[0123]	Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys		
[0124]	405	410	415
[0125]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys		
[0126]	420	425	430
[0127]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu		
[0128]	435	440	445
[0129]	Ser Leu Ser Pro Gly Lys		
[0130]	450	454	
[0131]	<210> 3		
[0132]	<211> 214		
[0133]	<212> PRT		
[0134]	<213> 人工序列(rengongxulie)		
[0135]	<400> 3		
[0136]	Asp Leu Val Met Ser Pro Ser His Lys Phe Trp Ser Thr Ser Val Gly		
[0137]	1	5	10
[0138]	Asn Arg Val Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Val Asp Val Gly Ala Ala		
[0139]	20	25	30
[0140]	Val Thr Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Asn Ser Pro Lys Glu Leu Ile		
[0141]	35	40	45
[0142]	Tyr Met Ala Ser Thr His His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Val		
[0143]	50	55	60
[0144]	Ser Gly Ser Gly Thr Asn Glu Val Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser		
[0145]	65	70	75
[0146]	Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu		
[0147]	85	90	95
[0148]	Thr Phe Gly Ala Gly Thr Ser Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala		
[0149]	100	105	110
[0150]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly		
[0151]	115	120	125
[0152]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala		
[0153]	130	135	140
[0154]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln		

[0155]	145	150	155	160
[0156]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser			
[0157]	165	170	175	
[0158]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr			
[0159]	180	185	190	
[0160]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser			
[0161]	195	200	205	
[0162]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys			
[0163]	210	214		
[0164]	<210> 4			
[0165]	<211> 214			
[0166]	<212> PRT			
[0167]	<213> 人工序列(rengongxulie)			
[0168]	<400> 4			
[0169]	Asp Leu Val Met Ser Pro Ser His Lys Phe Trp Ser Thr Ser Val Gly			
[0170]	1	5	10	15
[0171]	Asn Arg Val Ser Leu Thr Cys Lys Ala Ser Val Asp Val Gly Ala Ala			
[0172]	20	25	30	
[0173]	Val Thr Trp Tyr Gln Gln Asn Pro Gly Asn Ser Pro Lys Glu Leu Ile			
[0174]	35	40	45	
[0175]	Tyr Met Ala Ser Thr His His Thr Gly Val Pro Asp Arg Phe Thr Val			
[0176]	50	55	60	
[0177]	Ser Gly Ser Gly Thr Asn Glu Val Leu Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser			
[0178]	65	70	75	80
[0179]	Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu			
[0180]	85	90	95	
[0181]	Thr Phe Gly Ala Gly Thr Ser Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala			
[0182]	100	105	110	
[0183]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly			
[0184]	115	120	125	
[0185]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala			
[0186]	130	135	140	
[0187]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln			
[0188]	145	150	155	160
[0189]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser			
[0190]	165	170	175	
[0191]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr			
[0192]	180	185	190	
[0193]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser			

[0194]	195	200	205
[0195]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys		
[0196]	210	214	
[0197]	<210> 5		
[0198]	<211> 454		
[0199]	<212> PRT		
[0200]	<213> 人工序列(rengongxulie)		
[0201]	<400> 5		
[0202]	Gln Val Gln Leu Gln Arg Ile Gly Ala Glu Ile Ser Arg Ser His Thr		
[0203]	1	5	10
[0204]	His Val Arg Trp Ser Cys Val Thr Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Ser Thr		
[0205]	20	25	30
[0206]	Asn Trp His Trp Leu Ile Asn Thr Pro Gly Asn Gly Val Glu Met Ile		
[0207]	35	40	45
[0208]	Gln Tyr Thr Tyr Pro Ser Asn Ser Gly Glu Gln Tyr Ile Gln Lys Glu		
[0209]	50	55	60
[0210]	Lys Gly Lys Arg Ile Leu Thr Gln Asp Thr Ser Gln Ser Thr His Tyr		
[0211]	65	70	75
[0212]	Asn Gln Ile Ser His Leu Ile Ser Glu Asp Ser Ala Glu Tyr Glu Cys		
[0213]	85	90	95
[0214]	Thr Thr Asp Pro Ser His Gln Ser Ser Val Pro Tyr Pro Asp Tyr Trp		
[0215]	100	105	110
[0216]	Gly Pro Gly Thr Thr Leu Thr Val Val Ser Glu Phe Thr Ser Thr Lys		
[0217]	115	120	125
[0218]	Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Asn Pro Ser Gln Lys Ser Thr Ser Gly		
[0219]	130	135	140
[0220]	Val Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro		
[0221]	145	150	155
[0222]	Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr		
[0223]	165	170	175
[0224]	Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val		
[0225]	180	185	190
[0226]	Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn		
[0227]	195	200	205
[0228]	Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro		
[0229]	210	215	220
[0230]	Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		
[0231]	225	230	235
[0232]	Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		

[0233]					245					250					255	
[0234]	Thr	Leu	Met	Ile	Ser	Arg	Thr	Pro	Glu	Val	Thr	Cys	Val	Val	Val	Asp
[0235]					260					265					270	
[0236]	Val	Ser	His	Glu	Asp	Pro	Glu	Val	Lys	Phe	Asn	Trp	Tyr	Val	Asp	Gly
[0237]					275					280					285	
[0238]	Val	Glu	Val	His	Asn	Ala	Lys	Thr	Lys	Pro	Arg	Glu	Glu	Gln	Tyr	Asn
[0239]					290					295					300	
[0240]	Ser	Thr	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Val	Leu	Thr	Val	Leu	His	Gln	Asp	Trp
[0241]	305									310					315	
[0242]	Leu	Asn	Gly	Lys	Glu	Tyr	Lys	Cys	Lys	Val	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Pro
[0243]										325					330	
[0244]	Ala	Pro	Ile	Glu	Lys	Thr	Ile	Ser	Lys	Ala	Lys	Gly	Gln	Pro	Arg	Glu
[0245]										340					345	
[0246]	Pro	Gln	Val	Tyr	Thr	Leu	Pro	Pro	Ser	Arg	Asp	Glu	Leu	Thr	Lys	Asn
[0247]										355					360	
[0248]	Gln	Val	Ser	Leu	Thr	Cys	Leu	Val	Lys	Gly	Phe	Tyr	Pro	Ser	Asp	Ile
[0249]										370					375	
[0250]	Ala	Val	Glu	Trp	Glu	Ser	Asn	Gly	Gln	Pro	Glu	Asn	Asn	Tyr	Lys	Thr
[0251]	385									390					395	
[0252]	Thr	Pro	Pro	Val	Leu	Asp	Ser	Asp	Gly	Ser	Phe	Phe	Leu	Tyr	Ser	Lys
[0253]										405					410	
[0254]	Leu	Thr	Val	Asp	Lys	Ser	Arg	Trp	Gln	Gln	Gly	Asn	Val	Phe	Ser	Cys
[0255]										420					425	
[0256]	Ser	Val	Met	His	Glu	Ala	Leu	His	Asn	His	Tyr	Thr	Gln	Lys	Ser	Leu
[0257]										435					440	
[0258]	Ser	Leu	Ser	Pro	Gly	Lys									445	
[0259]										450					454	
[0260]	<210>	6														
[0261]	<211>	454														
[0262]	<212>	PRT														
[0263]	<213>	人工序列(rengongxulie)														
[0264]	<400>	6														
[0265]	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Arg	Ile	Gly	Ala	Glu	Ile	Ser	Arg	Ser	His	Thr
[0266]	1				5					10					15	
[0267]	His	Val	Arg	Trp	Ser	Cys	Val	Thr	Ser	Gly	Tyr	Thr	Phe	Thr	Ser	Thr
[0268]										20					25	
[0269]	Asn	Trp	His	Trp	Leu	Ile	Asn	Thr	Pro	Gly	Asn	Gly	Val	Glu	Met	Ile
[0270]										35					40	
[0271]	Gln	Tyr	Thr	Tyr	Pro	Ser	Asn	Ser	Gly	Glu	Gln	Tyr	Ile	Gln	Lys	Glu

[0272]	50	55	60
[0273]	Lys Gly Lys Arg Ile Leu Thr Gln Asp Thr Ser Gln Ser Thr His Tyr		
[0274]	65	70	75
[0275]	Asn Gln Ile Ser His Leu Ile Ser Glu Asp Ser Ala Glu Tyr Glu Cys		
[0276]	85	90	95
[0277]	Thr Thr Asp Pro Ser His Gln Ser Ser Val Pro Tyr Pro Asp Tyr Trp		
[0278]	100	105	110
[0279]	Gly Pro Gly Thr Thr Leu Thr Val Val Ser Glu Phe Thr Ser Thr Lys		
[0280]	115	120	125
[0281]	Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu Asn Pro Ser Gln Lys Ser Thr Ser Gly		
[0282]	130	135	140
[0283]	Val Thr Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro		
[0284]	145	150	155
[0285]	Val Thr Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr		
[0286]	165	170	175
[0287]	Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val		
[0288]	180	185	190
[0289]	Val Thr Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn		
[0290]	195	200	205
[0291]	Val Asn His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro		
[0292]	210	215	220
[0293]	Lys Ser Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu		
[0294]	225	230	235
[0295]	Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp		
[0296]	245	250	255
[0297]	Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp		
[0298]	260	265	270
[0299]	Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly		
[0300]	275	280	285
[0301]	Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn		
[0302]	290	295	300
[0303]	Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp		
[0304]	305	310	315
[0305]	Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro		
[0306]	325	330	335
[0307]	Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu		
[0308]	340	345	350
[0309]	Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn		
[0310]	355	360	365

[0311]	Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile
[0312]	370 375 380
[0313]	Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr
[0314]	385 390 395 400
[0315]	Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys
[0316]	405 410 415
[0317]	Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys
[0318]	420 425 430
[0319]	Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu
[0320]	435 440 445
[0321]	Ser Leu Ser Pro Gly Lys
[0322]	450 454
[0323]	<210> 7
[0324]	<211> 214
[0325]	<212> PRT
[0326]	<213> 人工序列(rengongxulie)
[0327]	<400> 7
[0328]	Asp Leu Val Val Leu Pro Ser His Lys Phe Trp Ser Gln Ser Val Gly
[0329]	1 5 10 15
[0330]	Asn Arg Val Gly Leu Thr Cys Lys Ala Ser Val Ala Val Gly Gly Ala
[0331]	20 25 30
[0332]	Val Thr Trp Tyr Gln Arg Asn Pro Gly Asn Ser Pro Lys His Leu Ile
[0333]	35 40 45
[0334]	Tyr Leu Ala Ser Thr His His Thr Gly Val Arg Asp Arg Phe Thr Val
[0335]	50 55 60
[0336]	Ser Gly Asp Gly Thr Glu Glu Val Asp Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
[0337]	65 70 75 80
[0338]	Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
[0339]	85 90 95
[0340]	Thr Phe Gly Ala Gly Thr Ser Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
[0341]	100 105 110
[0342]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
[0343]	115 120 125
[0344]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
[0345]	130 135 140
[0346]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
[0347]	145 150 155 160
[0348]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
[0349]	165 170 175

[0350]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
[0351]	180 185 190
[0352]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
[0353]	195 200 205
[0354]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0355]	210 214
[0356]	<210> 8
[0357]	<211> 214
[0358]	<212> PRT
[0359]	<213> 人工序列(rengongxulie)
[0360]	<400> 8
[0361]	Asp Leu Val Val Leu Pro Ser His Lys Phe Trp Ser Gln Ser Val Gly
[0362]	1 5 10 15
[0363]	Asn Arg Val Gly Leu Thr Cys Lys Ala Ser Val Ala Val Gly Gly Ala
[0364]	20 25 30
[0365]	Val Thr Trp Tyr Gln Arg Asn Pro Gly Asn Ser Pro Lys His Leu Ile
[0366]	35 40 45
[0367]	Tyr Leu Ala Ser Thr His His Thr Gly Val Arg Asp Arg Phe Thr Val
[0368]	50 55 60
[0369]	Ser Gly Asp Gly Thr Glu Glu Val Asp Thr Ile Thr Asn Val Gln Ser
[0370]	65 70 75 80
[0371]	Glu Asp Leu Ala Asp Tyr Phe Cys Gln Gln Tyr Ser Ser Tyr Pro Leu
[0372]	85 90 95
[0373]	Thr Phe Gly Ala Gly Thr Ser Leu Glu Leu Lys Arg Thr Val Ala Ala
[0374]	100 105 110
[0375]	Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly
[0376]	115 120 125
[0377]	Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala
[0378]	130 135 140
[0379]	Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln
[0380]	145 150 155 160
[0381]	Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser
[0382]	165 170 175
[0383]	Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr
[0384]	180 185 190
[0385]	Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser
[0386]	195 200 205
[0387]	Phe Asn Arg Gly Glu Cys
[0388]	210 214

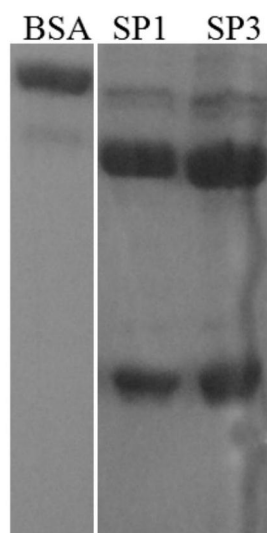


图1



图2