



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 115820566 A

(43) 申请公布日 2023. 03. 21

(21) 申请号 202210690183.9	C07K 16/44 (2006.01)
(22) 申请日 2022.06.17	G01N 33/577 (2006.01)
(83) 生物保藏信息	G01N 33/53 (2006.01)
CCTCC NO:C2021201 2021.12.27	C07D 213/75 (2006.01)

(71) 申请人 中国科学院精密测量科学与技术创新研究院
 地址 430071 湖北省武汉市武昌区小洪山西30号
 申请人 湖北光谷实验室

(72) 发明人 杨运煌 何婷 单玉宝 胡锐

(74) 专利代理机构 武汉市首臻知识产权代理有限公司 42229
 专利代理师 高琴

(51) Int. Cl.
 C12N 5/20 (2006.01)

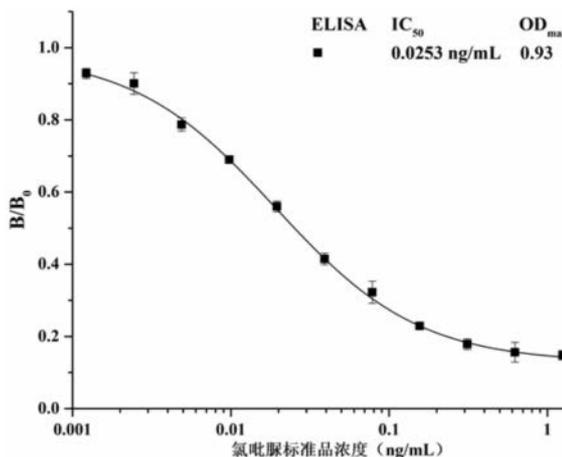
权利要求书1页 说明书5页
 序列表3页 附图2页

(54) 发明名称

杂交瘤细胞株14G1及其产生的单克隆抗体和应用

(57) 摘要

本发明提供了一种保藏编号为CCTCC NO: C2021201的杂交瘤细胞株14G1,该杂交瘤细胞株可分泌产生抗氯吡脞单克隆抗体,所述单克隆抗体用酶联免疫吸附分析法测得的效价达 6.4×10^4 ,利用常规竞争ELISA测定氯吡脞的50%抑制浓度 IC_{50} 为0.0253ng/mL,与敌草隆、绿麦隆、噻苯隆、利谷隆和四螨嗪无交叉反应,具有高灵敏度、高特异性,可应用于氯吡脞含量的免疫分析测定、氯吡脞的富集或纯化。



1. 杂交瘤细胞株14G1,其特征在于:
所述杂交瘤细胞株的保藏编号为CCTCC NO: C2021201。
2. 抗氯吡脛单克隆抗体,其特征在于:所述单克隆抗体由权利要求1所述杂交瘤细胞株分泌产生。
3. 根据权利要求2所述的抗氯吡脛单克隆抗体,其特征在于:
编码所述单克隆抗体的重链可变区的核酸序列如SEQ ID NO: 1所示,所述单克隆抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 3所示;
编码所述单克隆抗体的轻链可变区的核酸序列如SEQ ID NO: 2所示,所述单克隆抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 4所示。
4. 根据权利要求3所述的抗氯吡脛单克隆抗体,其特征在于:
所述单克隆抗体的重链CDR1-3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7所示;
所述单克隆抗体的轻链CDR1-3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10所示。
5. 根据权利要求2-4中任一项所述的抗氯吡脛单克隆抗体,其特征在于:所述单克隆抗体的重链为IgG1,轻链为Kappa链。
6. 权利要求2所述抗氯吡脛单克隆抗体在氯吡脛含量测定中的应用。
7. 权利要求2所述抗氯吡脛单克隆抗体在氯吡脛富集或纯化中的应用,其特征在于:该抗氯吡脛单克隆抗体通过偶联琼脂糖凝胶、硅胶微球制得免疫亲和层析柱,并利用免疫亲和层析柱对氯吡脛进行富集或纯化。
8. 权利要求2所述抗氯吡脛单克隆抗体通过随机或定点突变技术进行改造获得能与氯吡脛特异性结合的抗体的应用。

杂交瘤细胞株14G1及其产生的单克隆抗体和应用

技术领域

[0001] 本发明属于免疫检测技术领域,具体涉及杂交瘤细胞株14G1及其产生的单克隆抗体和应用。

背景技术

[0002] 氯吡脞(1-(2-chloropyridin-4-yl)-3-phenylurea, CPPU),是一种人工合成的苯脞衍生细胞分裂素,广泛用作植物生长调节剂,主要用于增加果实的大小。氯吡脞已在许多国家注册,在农业种植中的广泛使用可大幅度提高水果的丰收产量,促进农业经济的消费。然而,研究发现,长期暴露于氯吡脞可能导致身体蛋白质代谢紊乱、轻度肺气肿和瘦身。为了保障食品安全和生命健康,世界上多个国家对各种果蔬中的氯吡脞最大残留量制定了限量标准。我国食品安全国家标准GB 2763-2021《食品中农药最大残留限量标准》中规定了氯吡脞在黄瓜、西瓜和甜瓜的残留量为0.1mg/kg,在橙子、枇杷、葡萄和猕猴桃的残留量为0.05mg/kg。鉴于我国属于小农户分散型的种植模式以及氯吡脞的广泛使用性,加强食品中氯吡脞的检测,开发高灵敏度、高特异性的氯吡脞检测方法,对保障我国食品消费安全具有重要意义。

[0003] 现有检测氯吡脞残留量的方法主要包括精密仪器分析法和免疫分析法。检测氯吡脞的仪器分析法包括高效液相色谱法、气相色谱法和液相色谱-质谱联用法等,其精确度高、准确性好,但仪器昂贵、样品前处理步骤繁琐、难以实现大量样品的现场快速筛查。而基于抗原与抗体特异性结合反应的免疫分析法具有灵敏、便捷、成本低和适合现场批量测定等优点,能克服仪器分析法的不足,在氯吡脞残留的快速筛查中具有重要的应用前景。免疫分析法通常利用抗原、抗体上的标记物的生物、物理或化学放大作用对痕量残留物进行定量或定性分析,其中,抗体是免疫反应的核心检测试剂,要研究建立针对氯吡脞的免疫学检测技术,必须先制备高灵敏度、高特异性的抗氯吡脞抗体。

发明内容

[0004] 本发明的目的是针对现有技术存在的上述问题,提供一种能够分泌高灵敏度、高特异性的抗氯吡脞抗体的杂交瘤细胞株14G1及其产生的单克隆抗体和应用。

[0005] 为实现以上目的,本发明的技术方案如下:

一种杂交瘤细胞株14G1,其保藏编号为CCTCC NO: C2021201。

[0006] 所述单克隆抗体由所述杂交瘤细胞株分泌产生。

[0007] 编码所述单克隆抗体的重链可变区的核酸序列如SEQ ID NO: 1所示,所述单克隆抗体的重链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 3所示;

编码所述单克隆抗体的轻链可变区的核酸序列如SEQ ID NO: 2所示,所述单克隆抗体的轻链可变区的氨基酸序列如SEQ ID NO: 4所示。

[0008] 所述单克隆抗体的重链CDR1-3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO: 5、SEQ ID NO: 6、SEQ ID NO: 7所示;

所述单克隆抗体的轻链CDR1-3的氨基酸序列分别如SEQ ID NO: 8、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 10所示。

[0009] 所述单克隆抗体的重链为IgG1,轻链为Kappa链。

[0010] 所述抗氯吡脞单克隆抗体在氯吡脞含量测定中的应用。

[0011] 所述抗氯吡脞单克隆抗体在氯吡脞富集或纯化中的应用,该抗氯吡脞单克隆抗体通过偶联琼脂糖凝胶、硅胶微球制得免疫亲和层析柱,并利用免疫亲和层析柱对氯吡脞进行富集或纯化。

[0012] 所述抗氯吡脞单克隆抗体通过随机或定点突变技术进行改造获得能与氯吡脞特异性结合的抗体的应用。

[0013] 与现有技术相比,本发明的有益效果为:

本发明提供的杂交瘤细胞株14G1可分泌产生抗氯吡脞单克隆抗体,该单克隆抗体用酶联免疫吸附分析法测得的效价达 6.4×10^4 ,利用常规竞争ELISA测定氯吡脞的50%抑制浓度 IC_{50} 为0.0253ng/mL,与敌草隆、绿麦隆、噻苯隆、利谷隆和四螨嗪无交叉反应,可应用于氯吡脞含量的免疫分析测定、氯吡脞的富集或纯化,并可用于通过随机或定点突变技术进行改造获得能与氯吡脞特异性结合的抗体。因此,本发明不仅具有高灵敏度、高特异性,而且应用广泛。

附图说明

[0014] 图1为本发明抗氯吡脞单克隆抗体采用酶联免疫吸附分析法测定的对氯吡脞的竞争抑制标准曲线。

[0015] 图2为本发明抗氯吡脞单克隆抗体采用磁珠酶联免疫吸附分析法测定的对氯吡脞的竞争抑制标准曲线。

具体实施方式

[0016] 下面结合附图说明和具体实施方式对本发明作进一步详细的说明。

[0017] 生物保藏说明:

分类命名:杂交瘤细胞株14G1,保藏单位:中国典型培养物保藏中心,保藏编号:CCTCC NO: C2021201,保藏日期:2021年12月27日,保藏地址:中国武汉武汉大学。

[0018] 本发明所述抗氯吡脞单克隆抗体的重链CDR1-3、轻链CDR1-3的氨基酸序列通过国际免疫遗传学数据库IMGT的规则确定边界。

[0019] 实施例1:

杂交瘤细胞株14G1,其筛选方法为:

(1) 动物免疫

以购于山东绿都生物科技有限公司的CPPU-OVA作为氯吡脞完全抗原,首次免疫将CPPU-OVA与等体积的弗氏完全佐剂乳化后,于6周龄BALB/c小鼠颈腹部皮下多点注射。第二次免疫于3周后进行,采用弗氏不完全佐剂与等体积的CPPU-OVA乳化,于小鼠腹腔和皮下多点注射。第三次免疫与第二次免疫间隔2周,免疫方式与其相同,第四次免疫于第三次免疫2周后进行,免疫方式与第二次免疫相同。4次免疫剂量相同,均为每只鼠80 μ g。将第三次免疫后的血清采用间接ELISA法测小鼠血清效价及抑制率,第四次免疫后选择效价、灵敏度均相

对较高的血清对应的小鼠进行最后一次冲刺免疫,免疫剂量为40 μ g。

[0020] (2) 细胞融合

冲刺免疫3天后,采用50%PEG(分子量为1450)作为融合剂,按以下方法进行细胞融合:

颈椎脱臼法处死小鼠后,立即放入75%医用酒精中浸泡5min,无菌操作分离小鼠脾细胞,与鼠源SP2/0骨髓瘤细胞按4:1的比例混合后在50%PEG介导下融合。取1mL 50%PEG于1min内缓慢滴加到混合细胞中,静置1min,取1mL RPMI-1640培养基(购于Gibco公司)于1min内滴加于混合细胞中,再取2mL RPMI-1640培养基于1min内滴加于混合细胞中,接着取5mL RPMI-1640培养基于1min内滴加于混合细胞中,最后快速滴加20mL RPMI-1640培养基于混合细胞中,1000rpm下离心5min,弃上清,重悬于含有15%(体积百分数)胎牛血清、5%(体积百分数)生长因子、1%(体积百分数)青链霉素溶液和2%(重量百分数)50 \times HAT(购于Sigma-Aldrich公司)的RPMI-1640筛选培养液中。将重悬细胞滴加到已铺满饲养层的96孔细胞培养板内,100 μ L/孔,置于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养。

[0021] (3) 细胞株的筛选及克隆

融合后第10天进行细胞孔上清液进行检测。采用完全抗原CPPU-BSA(购于北京博奥龙免疫技术有限公司)作为筛选包被抗原,首先用间接ELISA法筛选出阳性细胞孔,再用氯吡脲标准品为竞争物,用间接竞争ELISA法对阳性细胞进行抑制效果测定,选择对氯吡脲标准品有较好抑制的强阳性细胞孔,采用有限稀释法进行克隆,克隆后10天仍用间接竞争ELISA法进行检测。按上述方法连续进行3次克隆,最终获得稳定的单克隆细胞株。

[0022] 实施例2:

杂交瘤细胞株14G1分泌产生的抗氯吡脲单克隆抗体,其制备方法为:

将实施例1筛选得到的杂交瘤细胞株14G1注射预先用弗氏不完全佐剂处理过的BALB/c小鼠,收集该小鼠的腹水,采用辛酸-硫酸铵法进行抗体纯化,具体操作为:

将收集好的腹水在5000rpm下离心10min,吸取上清液,将腹水上清液与3倍体积的醋酸盐缓冲液混合,搅拌下缓慢加入正辛酸(每毫升腹水所需的正辛酸体积为40 μ L),室温下混合30min后,于4 $^{\circ}$ C静置2h,然后4 $^{\circ}$ C、10000rpm下离心10min,取上清液用双层滤纸过滤,加入1/10滤液体积的磷酸盐缓冲液(0.1mol/L,pH=7.4),用2mol/L的氢氧化钠溶液调节该混合液的pH值至7.4,4 $^{\circ}$ C预冷。边搅拌边缓慢加入硫酸铵至硫酸铵终浓度为0.277g/mL,4 $^{\circ}$ C静置3h,随后4 $^{\circ}$ C、10000rpm下离心20min,弃上清液,将所得沉淀用原腹水体积1/10的0.01mol/L磷酸盐缓冲液重悬,透析脱盐,最后将充分透析好的单克隆抗体溶液置于-20 $^{\circ}$ C保存或冻干保存于-80 $^{\circ}$ C,其中,醋酸盐缓冲液由0.29g醋酸钠、0.141mL醋酸加水定容至100mL所得,磷酸盐缓冲液由0.8g氯化钠、0.29g十二水磷酸氢二钠、0.02g氯化钾、0.02g磷酸二氢钾加水定容至100mL所得。

[0023] 亚型鉴定:采用Proteintech公司的鼠单抗亚型鉴定试剂盒鉴定本实施例制备的抗氯吡脲单克隆抗体的重链为IgG1,轻链为Kappa链。

[0024] 效价鉴定:以完全抗原CPPU-BSA作为包被抗原,用常规非竞争ELISA法测得该单克隆抗体的效价达6.4 $\times 10^4$,即鼠腹水抗体稀释6.4 $\times 10^4$ 倍时的溶液测定结果为阳性。同时,亲和常数高达4.74 $\times 10^{10}$ L/mol。

[0025] 灵敏度测定:采用常规间接竞争ELISA法鉴定该单克隆抗体对氯吡脲的灵敏度,绘

制的竞争抑制标准曲线结果参见图1。从图1中可以看出,该单克隆抗体的 IC_{50} 为0.0253ng/mL。同时,其与敌草隆、绿麦隆、噻苯隆、利谷隆和四螨嗪类似物的交叉反应率均小于0.1%。

[0026] 实施例3:抗氯吡脞单克隆抗体的可变区序列测定

先采用Trizol法提取实施例1获得的杂交瘤细胞株14G1的总RNA,再以该总RNA为模板,oligo (dT) 18(购自上海生工生物工程公司)为引物,加入反转录酶MLV(购自普洛麦格生物技术有限公司),通过反转录体系合成cDNA第一链,随后根据GenBank中小鼠抗体基因序列的保守位点设计引物,以cDNA为模版扩增抗体轻、重链可变区基因,扩增30个循环,各循环的PCR程序为:98°C 15s、55°C 15s、72°C 30s,PCR产物经过1%(重量百分数)的琼脂糖凝胶电泳分离后,用Axygen公司的凝胶回收试剂盒回收DNA片段,连接到载体pMD19-T中,转化大肠杆菌DH5 α 感受态细胞,挑取阳性克隆,送至上海生工生物工程有限公司进行测序,其中,重链可变区引物为5' -AGG TSM ARC TGC AGS AGT CWG G-3' (22nt)和5' -TGA GGA GAC GGT GAC CGT GGT CCC TTG GCC CC-3' (32nt),S、M、R和W为兼并碱基,M=A/C,R=A/G,S=C/G,W=A/T,轻链可变区引物为5' -GAC ATT GAG CTC ACC CAG TCT CCA -3' (24nt)和5' -CCG TTT CAG CTC CAG CTT GGT GCC-3' (24nt)。

[0027] 测得的基因序列结果为:编码重链可变区的核酸序列长351bp,序列如SEQ ID NO: 1所示;根据所获得的基因序列推导出该基因序列所编码的重链可变区由127个氨基酸组成,序列如SEQ ID NO: 3所示。编码轻链可变区的核酸序列长324bp,序列如SEQ ID NO: 2所示;根据所获得的基因序列推导出该基因序列所编码的轻链可变区由108个氨基酸组成,序列如SEQ ID NO: 4所示。

[0028] 实施例4:抗氯吡脞单克隆抗体的应用

将实施例2得到的抗氯吡脞单克隆抗体建立磁珠ELISA方法,包括以下步骤:

(1)生物素标记完全抗原的制备

用购于北京博奥龙免疫技术有限公司的生物素标记试剂盒制备生物素化氯吡脞完全抗原CPPU-BSA,具体操作如下:取0.5mg完全抗原CPPU-BSA,加入200 μ L的标记缓冲液,根据说明书中的公式计算所加入的生物素溶液体积,吸吹混匀后放置37°C恒温培养箱反应30min。将反应物转移至超滤管(截留分子量为3K)中,4°C、12000rpm下离心12min。加入适量链霉亲和素磁珠缓冲液,混匀后再次同上述条件离心,重复操作3次,将未反应的生物素离心除去,同时将标记缓冲液更换为磁珠缓冲液。离心完后,加入适量的磁珠缓冲液混匀稀释生物素化CPPU-BSA,并用BCA试剂盒测其浓度,保存4°C冰箱备用。

[0029] (2)生物素化完全抗原偶联链霉亲和素磁珠探针的制备

用购于重庆博蓝鹰生物技术有限公司的链霉亲和素磁珠制备磁珠偶联氯吡脞抗原探针。具体操作如下:取250 μ L链霉亲和素磁珠溶液(20g/L)加到1.5mL离心管中,加入1mL磁珠缓冲液,置于磁力架上,静置15s,吸去上清液。重复上述操作2次,将磁珠转移到15mL离心管中,再依次加入4800 μ L磁珠缓冲液和200 μ L生物素化CPPU-BSA(2mg/mL)使得磁珠的终浓度为1mg/mL,将其置于室温振荡反应30min。反应完成后,将其置于磁力架上,用磁珠缓冲液反复洗涤3次,最后重悬于5mL磁珠缓冲液中,以1mL/管分装于2mL离心管,制备的“磁珠-抗原探针”存放于4°C备用。

[0030] (3)抗氯吡脞单克隆抗体标记辣根过氧化物酶的制备

用购于Proteintech公司的辣根过氧化物酶标记试剂盒制备HRP偶联抗氯吡脞单

克隆抗体。具体操作如下：取200 μ L抗氯吡脞单克隆抗体(0.5mg/mL)加到1.5mL离心管中，加入20 μ L反应启动液，混匀后，继续加入100 μ g HRP，充分混匀后置于37 $^{\circ}$ C反应3h。然后加入20 μ L反应终止液，混匀后于37 $^{\circ}$ C静置1h。终止完成后，加入等体积的产物保护液，充分混匀，置于-20 $^{\circ}$ C保存。

[0031] (4) 磁珠ELISA方法建立

用含有5%脱脂奶粉的PBST溶液封闭ELISA微孔板，200 μ L/孔，封闭1h。PBST洗板三次，每孔加入10 μ L经PBS稀释10倍的“磁珠-抗原探针”、50 μ L氯吡脞标准品或样品溶液和50 μ L经PBS稀释3200倍的HRP标记抗氯吡脞单克隆抗体，37 $^{\circ}$ C振荡反应20min。将96孔板放置于磁力架用160 μ L PBST溶液重复富集洗涤三次。每孔加入100 μ L新鲜配制的TMB底物溶液，于37 $^{\circ}$ C显色15min，显色完成后加入50 μ L浓度为2mol/L HCl终止反应。在酶标仪450nm检测每个孔的吸光度，根据样品测定的吸光值计算样品中氯吡脞的含量，结果如图2所示。

[0032] 从图2中可以看出，其 IC_{50} 为0.0061ng/mL，具有高灵敏度。

[0033] (5) 磁珠ELISA方法对氯吡脞的检测

选择葡萄和猕猴桃为检测样品，将待测样品(不去表皮)切碎后放进榨汁机匀浆。两种水果各称取三份样品匀浆液，每份10g，向样品中分别添加10 μ g/kg、20 μ g/kg和50 μ g/kg的氯吡脞标准品，涡旋1min后静置1h，再各加入10mL乙腈，涡旋2min，放置超声清洗机里超声25min。各称取4.00g的无水硫酸钠和1.00g NaCl加入超声后的水果样品，涡旋2min，然后4 $^{\circ}$ C条件下5000rpm离心8min。吸取出猕猴桃、葡萄样品的上清液各1mL，稀释100倍后进行磁珠ELISA检测。

[0034] 检测结果：采用磁珠ELISA方法进行上述葡萄和猕猴桃样品的添加回收试验，葡萄样品的回收率分别为120.0%、101.5%和93.0%，猕猴桃样品的回收率分别为86.0%、96.5%和90.2%。

[0035] 综上，本发明杂交瘤细胞14G1分泌的抗氯吡脞单克隆抗体能有效识别氯吡脞，可应用于氯吡脞的ELISA等免疫分析方法建立和实际检测，对食品安全领域氯吡脞监控有重要意义。

SEQUENCE LISTING

- <110> 中国科学院精密测量科学与技术创新研究院
湖北光谷实验室
- <120> 杂交瘤细胞株14G1及其产生的单克隆抗体和应用
- <160> 10
- <210> 1
- <211> 351
- <212> DNA
- <213> 小鼠 (Mus musculus)
- <400> 1
- gtccaactgc agcagtcagg acctgagctg gtaaggcctg ggacttcact gaaggtgtcc 60
 tgcaaggctt ctggatacgc cttcactaat tactggatag actggataaa acagaggcct 120
 ggacagggcc ttgagtggat tggggtgatt aatcctggaa gtggtggcac tcacttcaat 180
 gagaagttca ggggcaaggc aacctgact gcagacaaat cctccagcac tgcctacatg 240
 cagctcagca gcctgacatc tgatgactct gcggtctatt tctgtgcaag attgagtagc 300
 cgtttctact ttgactactg gggccaaggc accactctca cagtctctc a 351
- <210> 2
- <211> 324
- <212> DNA
- <213> 小鼠 (Mus musculus)
- <400> 2
- gacattgagc tcaccagtc tcacaaattc atgtccacat cagtaggaga cagagtcagc 60
 atcacctgca aggccagtca ggatgtgagt actgctgtag cctggtatca acagaaacca 120
 ggacaatctc ctaaactact gatttactcg gcacctacc gttcactgg agtccctgat 180
 cgcttactg gcagtgatc tgggacggat ttactttca ccatcagcag tgtgcaggct 240
 gaagacctgg cagtttatta ctgtcagcaa cattatacta ctccgctcgc gttcgggtgct 300
 ggcaccaagc tggagctgaa acgg 324
- <210> 3
- <211> 117
- <212> PRT
- <213> 小鼠 (Mus musculus)
- <400> 3
- Val Gln Leu Gln Gln Ser Gly Pro Glu Leu Val Arg Pro Gly Thr
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ala Phe Thr Asn
 20 25 30
 Tyr Trp Ile Asp Trp Ile Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu
 35 40 45

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

<210> 4

<211> 108

<212> PRT

<213> 小鼠 (Mus musculus)

<400> 4

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

Leu Lys Arg

<210> 5

<211> 8

<212> PRT

<213> 小鼠 (Mus musculus)

<400> 5

Gly Tyr Ala Phe Thr Asn Tyr Trp
 1 5

<210> 6

<211> 8

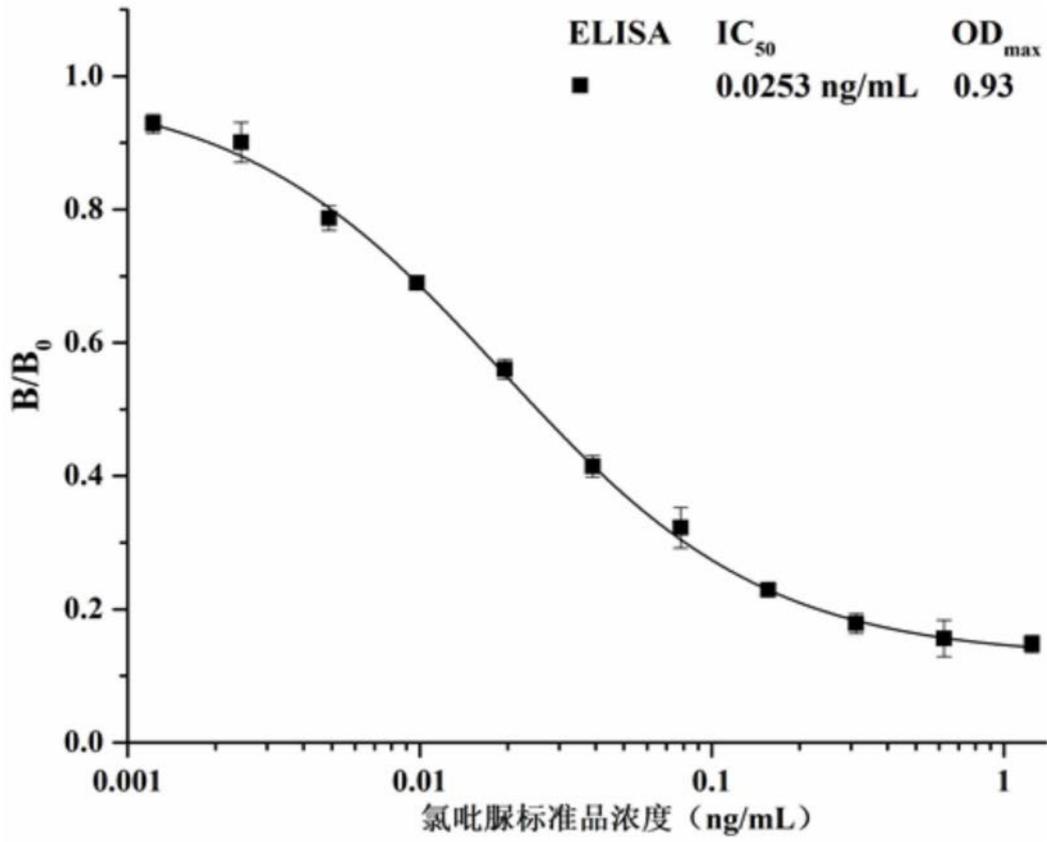


图1

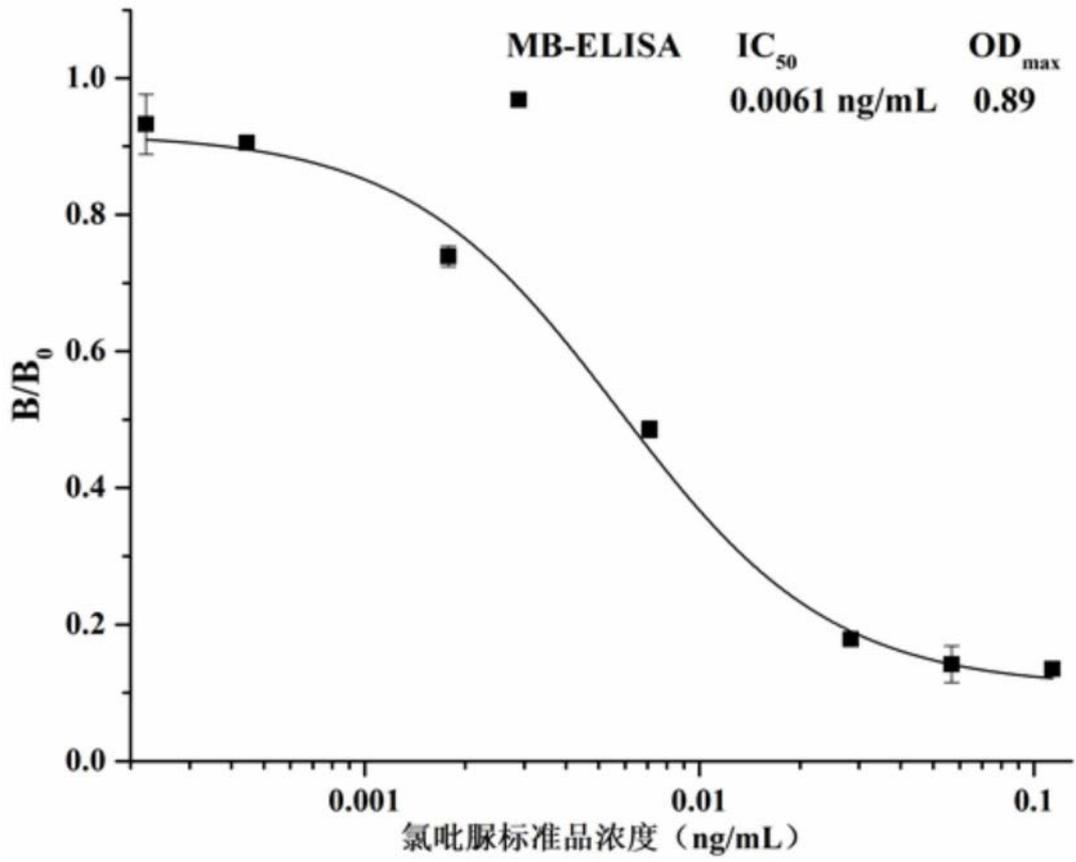


图2