



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103543265 A

(43) 申请公布日 2014. 01. 29

(21) 申请号 201310111583. 0

(22) 申请日 2013. 04. 02

(71) 申请人 深圳市中医院

地址 518033 广东省深圳市福华路 1 号深圳  
市中医院

(72) 发明人 童光东 周大乔

(74) 专利代理机构 广州市南锋专利事务有限  
公司 44228

代理人 李永庆

(51) Int. Cl.

G01N 33/574 (2006. 01)

G01N 33/535 (2006. 01)

权利要求书1页 说明书13页  
序列表8页 附图1页

(54) 发明名称

一种检测乙肝肝癌前病变标志物 ELISA 试剂盒及其应用

(57) 摘要

本发明涉及一种检测乙肝肝癌前病变标志物 ELISA 试剂盒, 以及该试剂盒在快速检测肝癌前病变的应用; 该试剂盒是采用固相免疫试验 ELISA 来检测肝癌前病变抗体, 在 X 基因阳性与阴性的 HepG2 细胞系中, 通过抑制性 cDNA 差减杂交, 克隆出异常表达的基因片段 URG4、URG7、URG11、URG12、URG19 和 DRG2, 并选择亲水端序列, 固相合成人工多肽, 作为包被抗原, 制成检测乙肝肝癌前病变标志物的 ELISA 试剂盒; 该试剂盒可有效对肝癌前病变进行检测, 方法特异, 操作简便, 价格低廉, 安全无创, 可用简便的血清学方法检测。

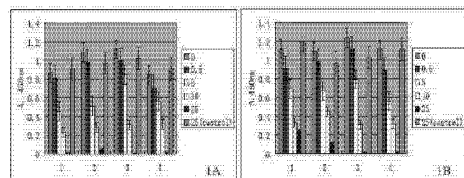
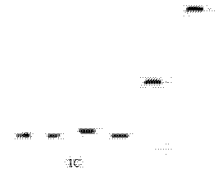


图 1



1. 一种检测乙肝肝癌前病变标志物的 ELISA 试剂盒,其特征在于:该试剂盒是采用固相免疫试验 ELISA 来检测肝癌前病变抗体,在 X 基因阳性与阴性的 HepG2 细胞系中,通过抑制性 cDNA 差减杂交,克隆出异常表达的基因片段 URG4、URG7、URG11、URG12、URG19 和 DRG2,并选择亲水端序列,固相合成人工多肽,作为包被抗原,制成检测乙肝肝癌前病变标志物的 ELISA 试剂盒,URG4、URG7、URG11、URG12、URG19 和 DRG2 的基因序列见序列表。

2. 一种检测乙肝肝癌前病变标志物的 ELISA 试剂盒的建立方法,其特征在于:该试剂盒的建立方法包括下列步骤:

(一) 建立 HBX 和 CAT 的 HepG2 系

将 HBX 基因转染到 HepG2 中,对照组用氯霉素乙酰转移酶 CAT 转染到 HepG2,建立 HepG2-X 细胞和 HepG2-CAT 两个细胞系,培养,传代,观察其表达;首先提取 HepG 2-X 和 HepG 2-CAT 总 RNA 及 mRNA,RT-PCR 反转录建立 cDNA 文库,用抑制性 cDNA 差减杂交,cDNA 探针的克隆及测序;

(二) 建立 ELISAs 检测方法

从 HepG2-X 细胞和 HepG2-CAT 细胞系克隆出 6 个基因蛋白:URG4、URG7、URG11、URG12、URG19 和 DRG2,ELISA 检测每一个基因蛋白相对应的抗体,称之为肝癌前病变抗体;方法是采用固相合成的人工多肽,序列选择跨越亲水区域,人工多肽由分子生物实验室合成,多肽分别用载体蛋白钥孔戚血兰素偶连,配成一定浓度的人工多肽;

建立一定方法的 ELISA:分实验组与对照组,实验组包被用人工多肽,对照组用 PBS:Phosphate Buffered Saline,检测中设立阳性对照与阴性对照,阳性对照是用专门的兔抗人工合成多肽血清,阴性血清是从公司购买;

(三) 特异性及放射免疫沉淀检测

为检测建立的 ELISA 方法的特异性,在 ELISA 实验前将抗体阳性的血清与相关、或不相关的人工多肽混合在一起,然后加入预先包被的同样人工多肽的培养液中,以观察混合不同浓度人工多肽的阳性血清标本与包被同样人工多肽的结合情况,来分析其特异性;

将 URG4、URG7、URG11、URG12、URG19 和 DRG2 全长 cDNA 分别被亚克隆到 pcDNA3;每个重组体在体外成线性转录,然后在兔网织红细胞裂解物中翻译,用 35S 蛋氨酸标记和 35S 半胱氨酸标记结合用放射自显影 SDS/PAGE 检测。

3. 一种检测乙肝肝癌前病变标志物 ELISA 试剂盒的应用,其特征在于:所述的试剂盒在检测乙肝肝癌前病变标志物的应用。

## 一种检测乙肝肝癌前病变标志物 ELISA 试剂盒及其应用

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种 ELISA 试剂盒及应用,具体涉及一种检测乙肝肝癌前病变标志物 ELISA 试剂盒及应用,属于医药卫生领域。

### 背景技术

[0002] 近年统计表明,我国原发性肝癌死亡率为 20.40/10 万,占恶性肿瘤死亡率的次位,约占全世界肝癌死亡人数的 45%。尽管我国肝癌的一级预防已采取了包括乙肝疫苗在内的多项措施,但其效果尚需等待几十年。因此,肝癌的早期发现、早期诊断与早期治疗的二级预防尤为重要。

[0003] 我国从 1971 年开展甲胎蛋白(AFP)自然人群普查,但效果不理想。八十年代根据流行病学调查结果,对肝癌高危人群进行划分,使肝癌普查转为对高危对象普查。我国对肝癌流行因素的研究表明:危险因素为 HBV 感染与肝癌家族史,国外的流行病学调查也提示 HBV 是肝细胞癌(HCC)的发生的对立致病危险因素。

[0004] “上海肝癌高危人群监测方案”对高危对象,每 6 个月作一次 AFP 与实时超声检查,结果说明可使无症状体征的小肝癌检出率提高 34 倍,由此汤钊猷在国际上最早系统提出“亚临床肝癌”的概念和理论,使肝癌的手术患者 5 年生存率达到 61.3%。

[0005] 但是“亚临床肝癌”仍然是小肝癌,只是尚未出现临床症状,而癌前病变是机体在多种致癌因素作用下,开始启动癌变过程,如何诊断这一阶段病变,尚未见报道。因而高危对象,癌前病变,临床小肝癌,是疾病发展的不同过程。

[0006] AFP 是第一个用于随访肝癌的肿瘤标志物,1956 年首次被发现,1964 年发现肝细胞癌患者血中可检得 AFP,直至六、七十年代反复验证,AFP 检测在全世界普及,成为诊断肝癌的重要标志物,由于 AFP 检测对肝癌诊断阳性率只有 60%-80%,且 AFP 是肝肿瘤标志物,一旦 AFP 持续进行性升高,即为肝癌已形成,所以 AFP 不能作为肝癌前病变的诊断指标。

[0007] 乙肝是肝癌的高危因素,其致癌机制主要定位在 X 基因上,其具有反式转录激活作用,能广泛激活病毒和细胞启动子的转录,因此可能干扰宿主细胞生化代谢,影响细胞基因的正常表达而诱发 HCC。

[0008] 早期肝癌病变检出并不是对高危人群防治的最终目的,肝癌是一种进行性发展的疾病,即使是早期发现,如无有效的治疗,患者仍难免因肿瘤的发展而死亡,因而早期防治,提高生存率才是目的。

[0009] 由于 AFP 检测对肝癌诊断阳性率只有 60~80%,且不能进行癌前病变诊断,使临床二级预防不能进行癌前阻断治疗研究。采用对肝癌高危对象进行肝癌前相关抗体、AFP 同时检测,进一步分析两者对早期肝癌诊断,尤其是肝癌前病变的诊断价值,试图通过分析,使 AFP 的小肝癌的早期发现,提前到癌前病变阶段,这样为寻求尽早阻断癌前病变提供时机。

### 发明内容

[0010] 本发明的目的是提供一种检测乙肝肝癌前病变标志物的 ELISA 试剂盒及应用,对

高危病人血清用这种简单 ELISA 方法,可以在肝癌发生数年或数月前,可检测到一种或多种抗体的表达。一旦在慢性乙型肝炎患者中检测到多个抗体,尤其是 URG11 和 URG19 出现,提示患者可能在数月或数年后发生肝癌,因而密切加强随访与监测(包括影像与组织学),为更早期的干预提供了诊断依据;由于这种特异的 ELISA 方法,将可用于临床肝癌前抗体诊断,可使血清 AFP 早期肝癌的诊断提前到癌前病变。

[0011] 为了解决上述问题,本发明所采用的技术方案是:

一种检测乙肝肝癌前病变标志物的 ELISA 试剂盒,该试剂盒是采用固相免疫试验 ELISA 来检测肝癌前病变抗体,在 X 基因阳性与阴性的 HepG2 细胞系中,通过抑制性 cDNA 差减杂交,克隆出异常表达的基因片段 URG4、URG7、URG11、URG12、URG19 和 DRG2,并选择亲水端序列,固相合成人工多肽,作为包被抗原,制成检测乙肝肝癌前病变标志物的 ELISA 试剂盒,URG4、URG7、URG11、URG12、URG19 和 DRG2 的基因序列见序列表;

一种检测乙肝肝癌前病变标志物的 ELISA 试剂盒的建立方法,该建立方法包括下列步骤:

#### (一) 建立 HBX 和 CAT 的 HepG2 系

将 HBX 基因转染到 HepG2 中,对照组用氯霉素乙酰转移酶(CAT)转染到 HepG2,建立 HepG2-X 细胞和 HepG2-CAT 两个细胞系,培养,传代,观察其表达。首先提取 HepG2-X 和 HepG2-CAT 总 RNA 及 mRNA, RT-PCR 反转录建立 cDNA 文库,用抑制性 cDNA 差减杂交, cDNA 探针的克隆及测序。有 8 个 cDNA 探针从 HepG2-X 细胞中克隆出,有 2 个基因片段从 HepG2-CAT 细胞克隆出。HepG2-X 细胞克隆出的 8 个片段,在对照组不表达,反映这些基因高表达(up-regulated)与 X 基因有关;而对照组克隆出的 2 个基因片段,在 HepG2-X 细胞中没有克隆出,说明这些基因低表达(down-regulated)与 X 基因也有关。等量 HepG2-X 细胞和 HepG2-CAT 细胞于含有 10% 的胎牛血清中生长无差异;但在无血清培养液中, HepG2-X 生长要明显快于 HepG2-CAT 细胞,在无血清培养液中, HBxAg 可明显促进 HepG2 细胞的生长;

#### (二) 建立 ELISAs 检测方法

我们从 HepG2-X 细胞和 HepG2-CAT 细胞系克隆出 6 个基因蛋白(URG4, URG7, URG11, URG12, URG19, DRG2)。ELISA 检测每一个基因蛋白相对应的抗体,称之为肝癌前病变抗体。方法是采用固相组合成的人工多肽,序列选择跨越亲水区域。人工多肽由 Thomas Jefferson University 分子生活实验室合成,其序列如表 1。多肽分别用载体蛋白钥孔戚血兰素(KLH, Sigma Chemical Co., St, Louis, MO)偶联,配成一定浓度的人工多肽。

[0012] 建立一定方法的 ELISA。分实验组与对照组,实验组包被用人工多肽,对照组用 PBS (Phosphate Buffered Saline)。检测中还设立阳性对照与阴性对照,阳性对照是用专门的兔抗人工合成多肽血清,阴性血清是从公司购买。具体方法:首先将每个人工多肽(如表 1) 1 $\mu$ g 加入 50 $\mu$ l PBS,包被在 96 孔平皿板(Immunolon 4, Thermo Lab Systems, Franklin, MA)孔中,放在 4 $^{\circ}$ C 冰箱孵化过夜,用 PBS 洗 7 次(用 Nunc Immuno Wash120),然后用含 10% 小牛血清(FCS)PBS 封闭,再用 PBS 洗 3 次。加入待检的血清 50 $\mu$ l (用含小牛血清的 PBS 1:10 稀释)后放入 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜。再用 PBS 洗 7 次。辣根过氧化酶(50 $\mu$ l/well, 用 1:100 PBS/FCS 稀释, Cooper Biomedical, Malvern, PA)结合的羊抗人免疫球蛋白加入培养板中,在 37 $^{\circ}$ C CO<sub>2</sub> 培养箱中孵化 1h,再用 PBS 洗 7 次,加入苯丙氨酸脱氨酶(OPD, Abbott Labs, North Chicago, IL)检测,在酶标仪上,450nm 光波自动读数。

### [0013] (三) 特异性及放射免疫沉淀检测

为检测建立的 ELISA 方法的特异性,我们在 ELISA 实验前将抗体阳性的血清与相关、或不相关的人工多肽混合在一起,然后加入预先包被的同样人工多肽的培养液中,即在实验前预先分别加入 0、0.5、5、10、25 $\mu$ g 作为对照,以观察混合不同浓度人工多肽的阳性血清标本与包被同样人工多肽的结合情况,来分析其特异性。特异性抗体检测结果显示(图 1):预先抗体阳性的血清可与不同量的同源人工多肽结合,但不与不相关的人工多肽结合。虽然数据表示的是抗 URG4(图 1A)和 URG11(图 1B),但是相同的数据在 ELISA 的 URG7 和 URG12,以及 URG19、DRG2 中均可得到。由此证明我们建立的 ELISA 方法具有特异性(图 1C)。

[0014] 另外,将 URG4,URG7,URG11,URG12,URG19,DRG2 全长 cDNA 分别被亚克隆到 pcDNA3。每个重组体在体外成线性转录,然后在兔网织红细胞裂解物中翻译(Promega, Madison, WI),用  $^{35}$ S 蛋氨酸标记和  $^{35}$ S 半胱氨酸(Amersham, Piscataway, NJ)标记结合用放射自显影 SDS/PAGE 检测。在放射免疫沉淀反应时,将先前用 ELISA 方法检测到阳性与阴性血清 5 $\mu$ l 与放射标记( $5 \times 10^4$  计数 / 分钟)体外翻译蛋白一起放在 37 $^{\circ}$ C 孵化 1h,然后与 2 $\mu$ l Sepharose 4B-Protien G beads(P HARMACIA, Piscataway, NJ)之余冰上 15min,在网织红细胞裂解物抗体缓冲液(100mmol/L NaCl, 0.1 mol/L Tris-HCl (PH8.0), 1%NP40)洗 3 次,然后用 SDS/PAGE(12% 胶)电泳,进行放射自显影。放射免疫沉淀反应结果显示在 ELISAs 中是阳性的标本,在免疫沉淀中也显示为阳性,反之,则为阴性。另外在没有人血清的情况下, Sepharose 4B-Protien G beads 不结合任何体外放射蛋白,提示没有非特异性结合。

### [0015] (四) 慢性 HBV 感染患者乙肝相关的肝癌前抗体检测的应用

患者与分组:所有检测的血清标本皆来自于中国深圳的居民与美国东岸的韩国移民,共 730 人。其中深圳居民 305 人,韩国移民 425 人;男性 496 人,女性 234 人,年龄 20~65 岁。

[0016] 分为 6 组(表 2)。组 1,HBsAg 阴性(或 anti-HBs 阳性)、丙氨酸转氨酶(ALT)正常者,共 416 例(韩国 316 例,深圳 100 例);组 2,HBsAg 阳性、ALT 正常者(即乙肝病毒携带者),共 52 例(韩国 21 例,深圳 31 例);组 3,HBsAg 阳性、ALT>40U/L 者(即慢性乙型肝炎),共 139 例(韩国 40 例,深圳 99 例);组 4,乙肝肝硬化者 71 例(韩国 28 例,深圳 43 例);组 5,药物肝炎或其它肝炎(排出 HCV),共 16 例,皆是深圳居民;组 6,为 HCC 患者(不包括 HCV 阳性),共 36 例(韩国 20 例,深圳 16 例)。还设有 HCV 所致 HCC、其他肿瘤(胸部肿瘤、结肠肿瘤、头颈部肿瘤、前列腺肿瘤 --)、希腊、冰岛血清(--)作为对照组。所有的诊断有血生化和 CT、核磁共振(MRI)依据,这些病人在年龄、种族、性别方面分布是一致( $P>0.05$ )。

[0017] 在检测前所有的标本储存在 -80 $^{\circ}$ C,所有的标本按编号排列,按盲法,检测者不知道标本的有关信息。

[0018] 统计学处理:采用 SPSS 10.0 软件进行统计学分析。对不同组 6 个肝癌前抗体检测,不同组肝癌前抗体数目的阳性率用  $\chi^2$  检验,对不同数目抗体患者的存活时间均差,以及对肝癌组与肝硬化再生或不良结节组患者抗体数的均差进行方差检验,而对所检测到的 6 种不同的肝癌前抗体数目阳性率用  $\chi^2$  检验。

[0019] 应有结果:ELISA 检测不同患者血清肝癌病变前标志物抗体情况。6 组患者及对照组血清肝癌前 6 个抗体检测结果:在 36 例肝癌患者有 29 例(80%),71 例肝硬化患者有 46 例(65%),139 例慢性肝炎患者有 62 例(45%),检测到血清肝癌病变前标志物抗体阳性,而在 416 例正常人群与 52 例乙肝病毒携带者分别是 62 例、12 例(15%, 35%)。用卡方检验各组抗

体阳性发生率,与 HBsAg (-)组相比,乙肝病毒携带者组、其他肝炎、其他肿瘤对照皆无统计学意义,而乙型肝炎、肝硬化、肝癌组皆在统计学意义,且显著性也随肝炎-肝硬化-肝癌变化而升高。冰岛是全球 HBV 感染率最低的国家,检测结果也说明这点。HBsAg (-)组中,有 20 例(15+5)出现 2 个以上抗体阳性,此可能存在交叉反应。

[0020] 比较冰岛与中国、韩国的正常人群,冰岛正常人能检测到 HCC 相关抗体为 0.64% (1/156),而中国与韩国分别是 12% (12/100, P=0.001) 与 16% (50/316, P=0.0000)。比较欧洲与亚洲,HBV 携带者、乙肝肝炎患者、希腊人检测到抗体的有 7% (4/56),而在中国和韩国为 40% (74/191, P=0.000);但是,乙肝肝硬化与 HCC 患者检测出抗体阳性率韩国是 79% (38/48),中国是 63% (37/59),希腊是 57% (13/23),没有统计学意义。由此可见,抗体阳性率,在低危人群中,差异可能与 HBV 感染率以及垂直感染有关,但在高危患者中,与不同的国家,地区,人种无差异。

[0021] 所述的试剂盒在检测乙肝肝癌前病变标志物的应用。

[0022] 本发明相对于现有技术的有益效果是:在慢性乙型肝炎自然史,虽然多出现于肝硬化后期,但肝癌可发生慢性乙型肝炎自然史的任何阶段,而 AFP 的持续升高,即为肝癌已形成,所以 AFP 不能作为肝癌前病变的诊断指标。对高危病人血清用这种简单 ELISA 方法,可以在肝癌发生数年或数月前,可检测到一种或多种抗体的表达。一旦在慢性乙型肝炎患者中检测到多个抗体,尤其是 URG11 和 URG19 出现,提示患者可能在数月或数年后发生肝癌,因而密切加强随访与监测(包括影像与组织学),为更早期的干预提供了诊断依据。

[0023] 由于这种特异的 ELISA 方法,将可用于临床肝癌前抗体诊断,可使血清 AFP 早期肝癌的诊断提前到癌前病变。

### 附图说明

[0024] 图 1 为 ELISAs 的特异性与免疫沉淀反应图,图中,横坐标是指 4 个不同的病人,1A,是抗 URG4 检测;1B,是抗 URG11 的检测;每例加入 0、0.5、5、10、25ug,以及对照 25ug 人工多肽,纵坐标是所见酶标仪上 450nm 光波的读数。1C,是 <sup>35</sup>S 标记在体外翻译 URG7 (Mr : 10,700 ;泳道 1 和 2)、URG (Mr :10,400 ;泳道 3 和 4)、URG12 (Mr :14,300 ;泳道 5 和 6)、DRG2 (Mr :13,300 ;泳道 7 和 8)、URG11 (Mr :68,000 ;泳道 9 和 10)、URG19 (Mr :170,000 ;泳道 11 和 12)。放射免疫沉淀法与 ELISAs 检测的结果是一致,即人血清阳性标本(泳道 1、3、5、7、9、11),和人血清阴性标本(泳道 2、4、6、8、10、12)。A,吸光度。

### 具体实施方式

[0025] 下面通过实施例对本发明做进一步详细说明,这些实施例仅用来说明本发明,并不限制本发明的范围。

[0026] 实施例 1

A patient #10

Months	0	2	5	7	16	23	50	expired
HCC Dx							*	mo. 56
Tx							TACE	

Anti-DRG2	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-URG4	-	-	+	+	+	+	+	+
Anti-URG7	-	-	-	-	+	+	+	+
Anti-URG11	-	-	+	+	+	+	+	+
Anti-URG12	-	-	-	-	-	-	-	+
Anti-URG19	-	-	+	+	+	+	+	+
AFP>400ug/ml	-	-	-	-	-	-	-	+
B patient #26								

Months	0	1	4	5	6	7	9	12	expired
HCC Dx		*							mo. 18
Tx		PCEI							
Anti-DRG2	-	-	-	-	-	-	+	-	
Anti-URG4	-	-	-	-	-	-	-	-	
Anti-URG7	-	+	+	+	+	-	-	+	
Anti-URG11	+	+	+	-	-	-	-	-	
Anti-URG12	-	-	-	-	-	-	-	-	
Anti-URG19	+	+	-	-	-	-	-	-	
AFP>100ug/ml	+	+	-	-	-	-	-	-	
C patient #28									

Months	0	1	2	4	6	10	14	26	30
Months									
expired									
HCC Dx	*				*		*		mo. 36
Tx	PCEI				RITA		RITA		
Anti-DRG2	-	-	+	+	+	+	-	-	-
Anti-URG4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-URG7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-URG11	+	+	-	+	-	+	-	+	-
Anti-URG12	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Anti-URG19	+	-	-	-	+	+	-	+	-
AFP>400ug/ml	+	+	-	-	-	+	-	+	-

观察期间, HBV 患者发展成 HCC 典型病例。\* 指的是及时诊断为 HCC, 请看一下每个病人的附加信息结果部分。(DX :指诊断, TA :指治疗, TACE :指经动脉化学栓塞, PCEI :经皮酒精注射, RITA :射频消融术)

下面通过临床观察试验, 进一步阐述发明的有益效果:

#### 1. 临床资料

我们对 305 例慢性 HBV 感染者中部分病例进行了 3 ~ 5 年的临床观察, 其中发现有

例发生肝癌,25 例发生乙肝再生或发育不良结节,没有发生肝癌。我们将前者归为乙肝肝癌组,后者归为乙肝肝硬化组。这 2 组患者临床特征,过程相似,年龄、性别等没有统计学差异( $P>0.1$ )

## 2. 方法

2.1 检测方法:ELASA 方法检测 6 个肝癌前抗体

2.2 统计学处理:统计分析 对于计量资料,两个或多个独立组间的比较采用 Mann-Whitney 和 Kruskal-Wallis ANOVA 检验,对于计数资料,采用卡方检验,由我院 DME 专业人员采用 SPSSAS 6.12 版统计分析软件进行统计学处理(检验水平  $\alpha$  取 0.05)。

## [0027] 2.3 结果

53 例中发生肝癌的 28 例与未发生肝癌的肝硬化 25 例,两组平均抗体数(6 个抗体,可单一阳性,也可同时 2 个以上抗体阳性)两组有差异( $P=0.0148$ )。肝癌组在肝癌诊断前 AFP $>20 \mu\text{g/L}$  只有 9 例(32%),而抗体阳性患者为 26 例(92%),两种方法比较 $P=0.0000$ 。28 例 HCC 中(其中 26 例抗体是阳性),在确诊肝癌前连续血清观察检测显示:有 16/28 (57%)例发生肝癌的患者,可检测到 4 个以上肝癌前抗体阳性,19 例(57%,有 2 例肝癌发生时未检测到肝癌前抗体,7 例在肝癌前没有保存血清,到发生肝癌时才第一次检测肝癌前抗体)可检测到 1 个以上的抗体阳性,距确诊肝癌前平均月份为 23.2 (2 ~ 51)个月,即抗体阳性可在 HCC 发生前 2 年出现。

[0028] 在所检测的 6 个抗体中,抗 URG11 和抗 URG19 发生率最高,有 16 例这 2 个抗体皆是阳性(与其它 4 个抗体 2 个或以上同时阳性是 8 例,比较 $P=0.0308$ )。在首次检测到的抗体中,抗 URG11 是 17 例,抗 URG19 是 15 例;而抗 URG4 只有 9 例患者,抗 URG7 有 8 例患者,抗 URG12 有 5 例,抗 DRG2 有 4 例,URG11 出现率与 URG4 比较 $P=0.0321$ ,有统计学意义。

## [0029] 序列表 SEQUENCE LISTING

<110> 深圳市中医院

<120> 一种检测乙肝肝癌前病变标志物 ELISA 试剂盒及其应用

<140> 201110286614.7

<141> 2011-09-23

<160> 6

<210> 1

<211> 3606

<212> DNA

<213> 未知

<400> 1

```

1 cctcgctgcg ctcattggcgt cgccccgggca ttcagatttg ggagaagtag ccccagaaat
61 aaaagcatca gagagacgaa cagctgtggc cattgcagat ttggaatgga gagaaatgga
121 aggagatgat tgcgagttcc gttatggaga tggtaaaat gaggtcagg acaatgattt
181 tccaacagtg gagagaagca ggcttcaaga aatgctgtca cttttgggcc tagagacgta
241 ccaggtccag aaactcagcc tccaggactc tctgcagatc agttttgaca gtatgaagaa
301 ctgggcccct caggttccca aagacttgcc ctggaatttc ctcaggaagt tgcaggccct

```

361 caatgctgat gccaggaata cactatggt gctggacgtg ctcccagacg ccaggcctgt  
421 ggagaaggag agccagatgg aagaggagat catctactgg gaccagctg atgacctg  
481 tgccgacatt tattcctttt ctgagctgcc caccctgat acgccagtga accccttaga  
541 ccttctctgt gccctgctgc tctctcaga cagtttctg caacaagaaa tagcgtttaa  
601 aatggccctc tgccagtttg cactcccact cgtgttgct gactcggaga accactacca  
661 tacatttctg ctgtgggcca tgcggggcat tgtgaggaca tgggtgtccc agccccaag  
721 gggcatgggg agcttcggg aagacagct ggtcttgctc agggcgccc ccttcgctt  
781 cgtgcgatg gacgtcagta gcaactcaa gtcccagctt ctcaacgcc tctcagccc  
841 gggccacagg cagtgggact gcttctggca tggggacctc aacttgggca ccaatgccc  
901 ggagatttcg gatgggttg tagaaattc ctggttttt cccagcgaa gggaggactt  
961 ggacatttcc cagaacctg tggcctttt gaacctgaga ggtgacatc ggtctcactg  
1021 gctgcagttt aagctcttga cagaaatctc ctccgctgtg tttatattga ctgacaatat  
1081 cagtaagaag gaatacaaat tgctgtactc catgaaggag tcaaccacaa aatactactt  
1141 catcctgagt ccctaccgtg ggaagcgcaa cacaaacctg agatttctga ataagttaat  
1201 tctgtgctg aaaatagacc actcacatgt cctggtaaag gtcagcagca ctgacagcga  
1261 cagcttcgtg aagaggatcc gggccatcgt tgggaatgtg ctgcgggcac cctgcaggcg  
1321 ggtatctgtg gaggacatgg cgcacgcagc ccgcaaactg ggcctaaagg tgcagagga  
1381 ctgtgaggag tgtcagaaag cgaaagaccg gatggagagg attaccagga aatcaaaga  
1441 ctcgatgcc tacagaaggg acgagctgag gctgcagggg gacccttga gaaaggcagc  
1501 ccaagtggag aaggagtct gccagctcca gtgggcccgtg gacccccctg agaagcacag  
1561 ggctgagctg aggcggcggc tgctagaact tcgaatgcag cagaacggcc atgattctc  
1621 ctcggggtg caggagtcca tctcggggat cagcagcccc tcttgagtg agaagcagta  
1681 ctctctgagg tggatggagt ggggcttggc acgggtggcc cagccgcgac tgagacagcc  
1741 tccggagacg ctctcacc ctagacaaa gcacgggggc accacagacg tgggggagcc  
1801 gctctggcct gagcccctag ggggtgaaaca ctcttgcgg gagatgggac agttttatga  
1861 ggctgagagc tgtcttgtgg aggcaggag gctgccgga ggccagaggc gtttgccca  
1921 ctcccagc ttggcctcgg agctgctgct gacaggctg cctctggagc taatcagtg  
1981 gagcacgctg agcatgccc tccgctgggt cacaggctc ctgaaggagc tgcacgtccg  
2041 actggagaga cggtaaggc tgggtgttct gtcaaccgtc ggggtgccag gcacgggcaa  
2101 gtccacactc ctcaacacca tgtttgggct gcggtttgcc acaggaaga gctgcggtcc  
2161 tcgaggggcc tcatgcagc tcatcacagt ggctgagggc ttcagccagg acctgggctg  
2221 tgaccacatc ctggtgatag actccggggg ctgtagagt ggggcttga cgtcagctgg  
2281 ggacagattt gagctggagg ctctcttggc cactctgctc atgggactga gcaatgtcac  
2341 cgtgatcagt ctagctgaaa ccaaggacat tccagcagct attctgcatg cattctgag  
2401 gttagaaaaa acggggcaca tgcccaacta ccagtttgta taccagaacc tcatgatgt  
2461 atctgttccc ggccctagge ccagagacaa gagacagctc ctggatccac ctggtgacct  
2521 gagcaggct gcagcccaga tggagaaaca gggcgacggc tccgggcaac tggcaggct  
2581 ggccttctgc gaccctgaga agcagcacat ctggcacatc ccaggcctgt ggcacggagc  
2641 acctccatg gccgagtg gcttggccta cagtgaagcc atatttgaat tgaagagatg

2701 cctactcgaa aacatcagga acggcttgte gaacccaaac aaaaacatcc agcagctcat  
 2761 tgagctggtg agacggctgt gagtgtgcag agaaaccag ttcaggtgta ggaggctgtc  
 2821 gtgggcagcc ctgtctgatg gggcacccgt gtggggctgt gctctggtgc ctgagaatgg  
 2881 ctggtgcca atcgacatga gaagacgagc agaagacaga gggtttgag tctcctcaac  
 2941 agtgttaaaa gaggaagtga cctcacagac cagctcagag atgttacca gaatatcaca  
 3001 gccccaggg tagggagaca agcagcagtt tgttctgtct cagctcctgt caaggatcct  
 3061 gcggggtggg ccctctgtat agctgctctc tgctactggc ccctggagtg ggagcagcgt  
 3121 ccttagtcac tgcaggccca ggcgggcagg tggccccagg acagaggtgg ggaagtgtc  
 3181 ctgaggaagc agaagtaggc cttgctcccg cccaacccaa gggcctccag tggaccagca  
 3241 ttcaagatgt gactgcccgt ggtgtgcaag gcactcccat ggcaccgtat ttattgactg  
 3301 atctgtgaag gcttcctga ccctgcca ggaagagttc actggtcgt ctgttgtgcc  
 3361 ccacagcact ttgttatacc tetgccacac acttcacgca gcgcttgta actcatgtgt  
 3421 ttacatgtct gteccccag actgtgagct ccttgagggc agggactgta cattctccag  
 3481 ctctgtgtcc ccaggcctg gcacattgta gacgcttaat aaatgtctgt taaatgaaaa  
 3541 aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa  
 3601 aaaaaa

<210> 2

<211> 745

<212> DNA

<213> 未知

<400> 2

1 cttaccgaca gacagacgct gggaccacg acgacagaag gcgcccgatgg ccgcgccctgc  
 61 tgagccctgc gcggggcagg gggctctggaa ccagacagag cctgaacctg ccgccaccag  
 121 cctgctgagc ctgtgcttcc tgagaacagc aggggtctgg gtacccccca tgtacctctg  
 181 ggctccttggc cccatctacc tectcttcat ccaccaccat ggccggggct acctccggat  
 241 gtecccactc ttcaaagcca agatggtagc tgccatccct gggagcctgg aaccaggcaa  
 301 tgttcggggg aggcagggga caggctggaa cctggtgaag tcttaaagta gactcctcct  
 361 atcggggtgt agaagggat ctgttaatca aacagagcaa tattagaaag gctacagagg  
 421 tcaactcagt ggaacatggt tctcccaaac agattttgta attccgaaaa tccacgatg  
 481 cgcaaacata cgcatacact cccatgttcc tggacagttt atagctacca taacctggca  
 541 ttttcaaaa catacatgt agactcttgg atacacaagg taatttttagg gccacattag  
 601 gatgaacctt ttaaaagggt atgcatttat ttttatgttt cccactage tgtattatag  
 661 gacaattttt atatgtgata tgtatttacc ttagtgtgtt aaataaacac tggcatttca  
 721 aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaa

<210> 3

<211> 3076

<212> DNA

<213> 未知

<400> 3

1 ttcggctgtg ggagtggcat ctgcatcgt cccaatgtcc gctcctgcca ggatggagag  
61 caaggggcca cctgcccaga aacctatgga ccatgtgggg agtacggctg tgaccttacc  
121 tgcaacctg gaggctgtca ggaggcggcc cgagtgtgcc ccgtgggctt ctgatgacg  
181 gagacagctg ttggcatcag gtgtacagac attgacgaat gtgtaacctc ctctgagag  
241 ggccactgtg tgaacacaga aggtggggtt gtgtgagag gtgggccggg catgcagctg  
301 tctgccgacc gccacagctg ccaagacact gacgaatgcc tagggactcc ctgtcagcag  
361 agatgtaaaa acagcattgg cagctacaag tgttctgtc gaactggctt caccttcatg  
421 gcaaccggca ctctgtgta gatgtaaacg agtgtcggag gccattggag aggcgaagtc  
481 tgtcaccatt cctgccaca caccgtgggc agcttctat gcacatgccg acctggcttc  
541 aggctccgag ctgaccgctg gtctgtgaa gctttcccga aagccgtgct ggccccatct  
601 gccatcctgc aaccccggca acaccgtcc aagatgcttc tgttgcttcc tgaggccggc  
661 cggcctgccc tgtecccagg acatagccct ccttctgggg ctccagggcc ccagccgga  
721 gtcaggacca cccgctgccc atctcccacc ccacgactac ccacatctc ccttctgccc  
781 cctgtgtggc tgctgtccac cctgtggccc accccagtgc ctactgcctc cctgtgggg  
841 aacctcagac cccctcact ccttcagggg gaggtgatgg ggacccttc ctaccagg  
901 ggccctgagt cccccgact ggcagcagg ccctctccct gctggcact gggagccatg  
961 catgaatcaa ggagtcgctg gacagagcct ggggtgtccc agtgtggtg cgaggacggg  
1021 aaggtgacct gtgaaaagg gaggtgtgaa gctgcttgtt cccaccaat tccctccaga  
1081 gatggtgggt gctgcccac gtgcacagc tgtttcaca gtggtgtcgt ccgagctgaa  
1141 ggggatgtgt ttccacctc caatgagaac tgcaccgtct gtgtctgtct ggtggaac  
1201 gtgtcctgca tctctctga gtgtcttct ggcccctgac agaccccc acagacggat  
1261 tgctgtactt gtgttccagt gagatgctat ttccacggcc ggtggtacgc agacgggct  
1321 gtgttcagt ggggtggtga cgagtgtacc acctgtgtt gccagaatgg ggaggtggag  
1381 tgctcctca tgcccctgccc tgagctggcc tgccccgag aagagtggcg gctgggccc  
1441 gggcagtggt gcttcacctg ccaggagccc acaccctga caggctgctc tctgacgac  
1501 aacggggttg agtttccgat tggacagatc tggtcgctg gtgaccctg tgagttatgc  
1561 atctgccagg cagatggctc ggtgagctgc aagaggacag actgtgtgga ctctgcct  
1621 caccgatcc ggatccctgg acagtgtgc ccagactgtt cagcagctg cacctacaca  
1681 ggcagaatct tctataaaa cgagacctc ccgtctgtgc tggacctatg tctgagctg  
1741 atctgcctg tgggctcagt ggctgttcc ccgtggact gcccacac ctgtacctac  
1801 cctttccacc ctgacgggga gtgtgcccc gtgtgcccag actgcaacta cgaggaagg  
1861 aaggtggcga atggccagg gttcacctg gatgatgaa cctgcaccg gtgcacgtgc  
1921 cagctgggag aggtgagctg tgagaagggt cctgccagc gggcctgtgc cgacctgccc  
1981 ctgcttctg gggactgctg ctcttctgt ccagattgcc ctgtctctc tggagaaaa  
2041 gcaggggctc tcccctcac gaaaatgtg cattcagcaa agctggctcg gagctgcat  
2101 ggagacactg aggcccctgt caactgtagc tctgtcctg ggccccgac agcatcacc  
2161 tegagcggc tgcttcatct cctccagctc cttttaagaa cgaactgat gaaaacacg  
2221 actttacct caagcccggc aggagctcat ggtccacact cactcgttt ggggtgaca  
2281 gccacttcc cagggggagc ctggggctc ccctcagctc tcaccaggc ctctgacccc

2341 tccaggagcc cccactctac ctctagcttc cccaggggct cctcagccac ctctgtgac  
 2401 tccagagegc tegttctcag cctctggggc ccagatagtg tccagggtgc ctctctgccc  
 2461 tggcaccctc ctgacggaag cttcagcact ttccatgatg gaccccagcc cctcgaagac  
 2521 cccatcacc cctctegggc tegcgtgctt tetcccacca cctctagact ctccacagcc  
 2581 cttgcagcca ccaccacc tggccccag cagccccag tgggggcttc tcggggggaa  
 2641 gagtccacca tgtaaggagg tctactgtgc cgggagactc tggagagagg acctctgcca  
 2701 gtggcccagg gtgtgtgcag ggcacctcca aggatgaacc tgggtgggat gcctgggctc  
 2761 cctcctgcac gggccctggt gaggatggaa gacccccaa gctggatgta acctgttcc  
 2821 caagaagtgt ttggaatgtg ctgtaagaat ggaggaagtc gtttccactg tcagcatcct  
 2881 cccctggacc gcgtggctgg ctcacttttt gagaagggtt gggactgcca agttttcctg  
 2941 gaggaagagt tgcgtccggc tgggattcca ctcactggga ctgtaccgcc aggtgtcatg  
 3001 cgtctttctg aggtttcctg attaaagggt gtttcggttt cctaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
 3061 aaaaaaaaaa aaaaaa

<210> 4

<211> 535

<212> DNA

<213> 未知

<400> 4

1 gccacaatgg tgcgcatgaa tgtcctggca gatgctctca agagtatcaa caatgccgaa  
 61 aagagaggca aacgccaggt gcttattagg ccgtgctcca aagtcacgtt ccggtttctc  
 121 actgtgatga tgaagcatgg ttacattggc gaatttgaaa tcattgatga ccacagagct  
 181 gggaaaattg ttgtgaacct cacaggcagg ctaaacaagt gtgggggtgat aagccccaga  
 241 tttgacgtgc aactcaaaga cctggaaaaa tggcagaata atctgcttcc atcccgcag  
 301 tttggtttca ttgtactgac aacctcagct ggcatcatgg accatgaaga agcaagacga  
 361 aaacacacag gagggaaaat cctgggattc tttttctagg gatgtaatac atatatttac  
 421 aaataaaatg cctcatggac tctggtgctt ccaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
 481 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaattaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa

<210> 5

<211> 4475

<212> DNA

<213> 未知

<400> 5

1 cccacgcgca gcgccggag atgcagcggg gcgccgcgct gtgcctgcga ctgtggetct  
 61 gcctgggact cctggacggc ctggtgagtg actactccat gaccccccg acctgaaca  
 121 tcacggagga gtcacacgtc atgcacaccg gtgacagcct gtccatctcc tgcaggggac  
 181 agcaccctct cgagtgggct tggccaggag ctcaggaggc gccagccacc ggagacaagg  
 241 acagcgagga cacgggggtg gtgcgagact gcgaggcac agacgccagg ccctactgca  
 301 aggtgtttgct gctgcacgag gtacatgcca acgacacagg cagctacgct tgetactaca  
 361 agtacatcaa ggcacgcata gagggcacca cggccgccag ctctacgctg ttcgtgagag

421 actttgagca gccattcate aacaagcctg acacgctctt ggtcaacagg aaggacgcca  
481 tgtgggtgcc ctgtctggtg tccatccccg gcctcaatgt cacgctgcgc tcgcaaagct  
541 cggtgctgtg gccagacggg caggaggtgg tgtgggatga ccggcggggc atgctcgtgt  
601 ccacgccact gctgcacgat gccctgtacc tgcagtgcga gaccacctgg ggagaccagg  
661 acttccttte caacccttc ctggtgcaca tcacaggcaa cgagctctat gacatccage  
721 tgttgccag gaagtcgctg gagctgctgg taggggagaa gctggtcctc aactgcaccg  
781 tgtgggctga gtttaactca ggtgtcacct ttgactggga ctaccaggg aagcaggcag  
841 agcggggtaa gtgggtgccc gagegacgct cccaacagac ccacacagaa ctctccagca  
901 tcctgacat ccacaacgtc agccagcacg acctgggctc gtatgtgtgc aaggccaaca  
961 acggcatcca gcgatttcgg gagagcaccg aggtcattgt gcatgaaaat cccttcata  
1021 gcgtcgagt gctcaaagga cccatcctgg aggccacggc aggagacgag ctggtgaagc  
1081 tgcccgtgaa gctggcagcg taccctccgc ccgagttcca gtggtacaag gatggaaagg  
1141 cactgtccgg gcgccacagt ccacatgccc tgggtctcaa ggaggtgaca gaggccagca  
1201 caggcaccta caccctcgcc ctgtggaact ccgctgctgg cctgaggcgc aacatcagcc  
1261 tggagctggt ggtgaatgtg cccccccaga tacatgagaa ggaggcctcc tccccagca  
1321 tctactcgcg tcacagccgc caggccctca cctgcacggc ctacggggtg cccctgcctc  
1381 tcagcatcca gtggcactgg cggccctgga caccctgcaa gatgtttgcc cagcgtagtc  
1441 tccggcggcg gcagcagcaa gacctatgc cacagtgccg tgactggagg gcggtgacca  
1501 cgcaggatgc cgtgaacccc atcgagagcc tggacacctg gaccgagttt gtggagggaa  
1561 agaataagac tgtgagcaag ctggtgatcc agaatgcaa cgtgtctgcc atgtacaagt  
1621 gtgtggtctc caacaaggtg ggccaggatg agcggctcat ctacttctat gtgaccacca  
1681 tccccagcg cttcaccate gaatccaagc catccgagga gctactagag ggccagccgg  
1741 tgctcctgag ctgccaagcc gacagctaca agtacgagca tctgcgctgg taccgctca  
1801 acctgtccac gctgcacgat gcgcacggga acccgcttct gctcgactgc aagaactgc  
1861 atctgttcgc caccctctg gccgccagcc tggaggaggt ggcacctggg gcgcgccacg  
1921 ccacgctcag cctgagtate ccccgctcg cggccgagca cgagggccac tatgtgtgcg  
1981 aagtgaaga ccggcgcagc catgacaagc actgccacaa gaagtacctg tcggtgcagg  
2041 cctggaagc ccctcggtc acgcagaact tgaccgacct cctggtgaac gtgagcgact  
2101 cgctggagat gcagtgttg gtggccggag cgcacgcgc cagcatcgtg tggtaaaag  
2161 acgagaggct gctggaggaa aagtctggag tcgacttggc ggactccaac cagaagtga  
2221 gcatccagcg cgtgcgcgag gaggatgcgg gaccgtatct gtgcagcgtg tgcagacca  
2281 agggctgcgt caactcctcc gccagcgtgg ccgtggaagg ctccgaggat aagggcagca  
2341 tggagatcgt gatccttgtc ggtaccggcg tcatcgctgt cttctcttg gtcctctcc  
2401 tctcatctt ctgtaacatg aggaggccgg cccacgcaga catcaagacg ggtacctgt  
2461 ccatcatcat ggaccccggg gaggtgcctc tggaggagca atgcgaatac ctgtcctacg  
2521 atgccagcca gtgggaatte ccccagagc ggctgcacct ggggagagt ctcggctacg  
2581 gcgccttcgg gaaggtggtg gaagcctccg ctttcggcat ccacaagggc agcagctgtg  
2641 acaccgtgce cgtgaaaatg ctgaaagagg gcgccacggc cagcgagcag cgcgcgctga  
2701 tgteggagct caagatcctc attcacatcg gcaaccacct caacgtggte aacctctcg

2761 gggcgtgcac caagccgcag ggccccctca tggatgatcgt ggagttctgc aagtacggca  
 2821 acctctccaa cttctcgcgc gccaaagcggg acgccttcag cccctgcgcg gagaagtctc  
 2881 ccgagcagcg cggacgcttc cgcgccatgg tggagctcgc caggctggat cggaggcggc  
 2941 cggggagcag cgacagggtc ctcttcgcgc ggttctcgaa gaccgagggc ggagcagggc  
 3001 gggcttctcc agaccaagaa gctgaggacc tgtggctgag cccgctgacc atggaagatc  
 3061 ttgtctgcta cagcttcag gtggccagag ggatggagtt cctggcttcc cgaaagtgca  
 3121 tccacagaga cctggctgct cggaacattc tgctgtcggg aagcgacgtg gtgaagatct  
 3181 gtgactttgg ccttgcccgg gacatctaca aagaccccgga ctacgtccgc aagggcagtg  
 3241 cccggctgcc cctgaagtgg atggcccctg aaagcatctt cgacaaggtg tacaccacgc  
 3301 agagtgcagt gtggctcttt ggggtgcttc tctgggagat cttctctctg ggggcctccc  
 3361 cgtaccctgg ggtgcagatc aatgaggagt tctgccagcg cgtgagagac ggcacaagga  
 3421 tgagggcccc ggagctggcc actcccgcga tacgccacat catgctgaac tgctggtccc  
 3481 gagaccccaa ggcgagacct gcattctcgg agctgggtgga gatcctgggg gacctgctcc  
 3541 agggcagggg cctgcaagag gaagaggagg tctgcatggc cccgcgcagc tctcagagct  
 3601 cagaagaggg cagcttctcg caggtgtcca ccatggccct acacatcgcc caggctgacg  
 3661 ctgaggacag cccgccaagc ctgcagcgcc acagcctggc cgccaggtat tacaactggg  
 3721 tgtcctttcc cgggtgcctg gccagagggg ctgagaccgc tggttcctcc aggatgaaga  
 3781 catttgagga attcccctatg accccaacga cctacaaagg ctctgtggac aaccagacag  
 3841 acagtgggat ggtgctggcc tcggaggagt ttgagcagat agagagcagg catagacaag  
 3901 aaagcggctt caggtagctg aagcagagag agagaaggca gcatacgtca gcattttctt  
 3961 ctctgcactt ataagaaaga tcaaagactt taagacttcc gctatttctt ctactgctat  
 4021 ctactacaaa cttcaaagag gaaccaggag gacaagagga gcataaaagt ggacaaggag  
 4081 tgtgaccact gaagcaccac agggaggggt taggcctccg gatgactgcg ggcaggcctg  
 4141 gataatatec agcctcccac aagaagctgg tggagcagag tgttccctga ctctccaag  
 4201 gaaagggaga cgccctttca tggctctgctg agtaacaggt gccttcccag aactggcgt  
 4261 tactgcttga ccaaagagcc ctcaagcggc ccttatgcca gcgtgacaga gggctcacct  
 4321 cttgccttct aggtcacttc tcacaatgtc ccttcagcac ctgaccctgt gcccgcgat  
 4381 tattccttgg taatatgagt aatacatcaa agagtagtat taaaagctaa ttaatcatgt  
 4441 ttataaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa

<210> 6

<211> 1350

<212> DNA

<213> 未知

<400> 6

1 aggattcage agcctcccc ttgagcccc tcgcttcccg acgttccgtt cccccctgcc  
 61 cgccttctcc cgccaccgcc gccgcccct tccgcaggcc gtttcccacc gaggaaaagg  
 121 aatcgtatcg tatgtccgct atccagaacc tccactcttt cgaccccttt gctgatgcaa  
 181 gtaagggtga tgacctgctt cctgctggca ctgaggatta tatccatata agaattcaac  
 241 agagaaacgg caggaagacc cttactactg tccaagggat cgctgatgat tacgataaaa

301 agaaactagt gaaggcgttt aagaaaaagt ttgcctgcaa tggactgta attgagcatc  
361 cggaatatgg agaagtaatt cagctacagg gtgaccaacg caagaacata tgccagttcc  
421 tcgtagagat tggactggct aaggacgate agctgaaggt tcatggggtt taagtgcttg  
481 tggctcactg aagcttaagt gaggatttat ttccttgca atgagtagaa tttcccttct  
541 ctcccttgte acaggtttaa aaacctcaca gcttgataa tgtaaccatt tggggtcgcg  
601 ttttaacttg gactagtgta actccttcat gcaataaact gaaaagagcc atgctgtcta  
661 gtcttgaagt cctcattta aacagaggte aagcaatagg cgctggcag tgcaagcct  
721 gaaaccaage aatacgcgca tgtttcagcc aagcccagag ccctaagatt acaacaact  
781 atggccggaa cctcgcgagc tctccctctg cagagttccc taccctaaga gaatgttacc  
841 acctgaacag tctcgggtga atctgagagg agaggatggg gtaaggcaga agcaccagct  
901 gtactactag aaggagcctt ttgggtgtag atcccctggt gtctccaacc tgactaggtg  
961 gacagagctc aaagaggccc tcttaccgct agcgagggtga taggacatct ggcttgccac  
1021 aaaggtctgt tegaccagac atatcctagc taagggatgt ccaaacatca gaatgtgagg  
1081 ccaaccttct atcagagtta aacttttgac aagggaaaca atctcaaact gatccatcag  
1141 tcatgtagct agctgtagag cttgcaactt aatagcagca gctgccaat gccatgtgaa  
1201 gtaacaaact ggtttttggt tttttttcc ccttcagttt taatgttatg tgtaatgtat  
1261 ttaaaccctt atttaataa aacttgtttt cagaaataaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
1321 aaaaaaacct gcccgggcgg ccgctcgagc

- <110> 深圳市中医院  
 <120> 一种检测乙肝肝癌前病变标志物 ELISA 试剂盒及其应用  
 <140> 201110286614.7  
 <141> 2011-09-23  
 <160> 6  
 <210> 1  
 <211> 3606  
 <212> DNA  
 <213> 未知  
 <400> 1

```

1 cctcgctgcg ctcatggcgt cgcccgggca ttcagatttg ggagaagtag cccagaaat
61 aaaagcatca gagagacgaa cagctgtggc cattgcagat ttggaatgga gagaaatgga
121 aggagatgat tgcgagttcc gttatggaga tggtaaaaat gaggctcagg acaatgattt
181 tccaacagtg gagagaagca ggcttcaaga aatgctgtca cttttgggcc tagagacgta
241 ccaggtccag aaactcagcc tccaggactc tctgcagatc agttttgaca gtatgaagaa
301 ctgggcccct caggttccca aagacttgcc ctggaatttc ctcaggaagt tgcaggccct
361 caatgctgat gccaggaata cactatggt gctggacgtg ctcccagacg ccaggcctgt
421 ggagaaggag agccagatgg aagaggagat catctactgg gaccagctg atgacctg
481 tgccgacatt tattcctttt ctgagctgcc caccctgat acgccagtga accccttaga
541 ctttctctgt gccctgctgc tctctcaga cagtttctg caacaagaaa tagcgtttaa
601 aatggccctc tgccagtttg cactcccact cgtgttgcc gactcggaga accactacca
661 tacatttctg ctgtgggcca tgcggggcat tgtgaggaca tgggtggtccc agcccccaag
721 gggcatgggg agcttccggg aagacagcgt ggtcttgtcc agggcgcccc ccttcgctt
781 cgtgcgcatg gacgtcagta gcaactccaa gtcccagctt ctcaacgcc tcctcagccc
841 gggccacagg cagtgggact gcttctggca tggggacctc aacttgggca ccaatgcccc
901 ggagatttct gatgggttgg tagaaatttc ctggttttt cccagcggaa gggaggactt
961 ggacatttct ccagaacctg tggcctttct gaacctgaga ggtgacatcg ggtctcactg
1021 gctgcagttt aagctcttga cagaaatctc ctccgctgtg tttatattga ctgacaatat
1081 cagtaagaag gaatacaaat tgctgtactc catgaaggag tcaaccacaa aatactactt
1141 catcctgagt ccctaccgtg ggaagcgcaa cacaaacctg agatttctga ataagttaat
1201 tcctgtgctg aaaatagacc actcacatgt cctggtaaag gtcagcagca ctgacagcga
1261 cagcttcgtg aagaggatcc gggccatcgt tgggaatgtg ctgcgggcac cctgcaggcg
1321 ggtatctgtg gaggacatgg cgcacgcagc ccgcaaacctg ggcctaaagg tcgacgagga
1381 ctgtgaggag tgtcagaaag cgaaagaccg gatggagagg attaccagga aatcaaaaga
1441 ctcgatgcc tacagaaggg acgagctgag gctgcagggg gaccctgga gaaaggcagc
1501 ccaagtggag aaggagtctt gccagctcca gtgggcccgtg gacccccctg agaagcagc
1561 ggctgagctg aggcggcggc tgctagaact tcgaatgcag cagaacggcc atgattcctc
1621 ctcgggggtg caggagttea tctcggggat cagcagcccc tccttgagtg agaagcagta
  
```

1681 cttcctgagg tggatggagt ggggcctggc acgggtggcc cagccgcgac tgagacagcc  
1741 tccggagacg cttctcaccc tgagacaaa gcacgggggc accacagacg tgggggagcc  
1801 gctctggcct gagcccctag ggggtgaaca cttcttgccg gagatgggac agttttatga  
1861 ggctgagagc tgtcttgtgg aggcagggag gctgccggca ggccagaggc gttttgccca  
1921 cttcccagge ttggcctcgg agctgctgct gacagggctg cctctggagc taatc gatgg  
1981 gagcacgctg agcatgcccg tccgctgggt cacagggctc ctgaaggagc tgcacgtccc  
2041 actggagaga cggtaagge tgggtggttct gtcaaccgtc ggggtgccag gcacgggcaa  
2101 gtccacactc ctcaacacca tgtttgggct gcggtttgcc acaggaaga gctgcggctc  
2161 tcgaggggcc ttc atgcage tcatcacagt ggctgagggc ttcagccagg acctgggctg  
2221 tgaccacatc ctggatgatag actccggggg cttgataggt ggggccttga cgtcagctgg  
2281 ggacagattt gagctggagg cttccttggc cactctgctc atgggactga gcaatgtcac  
2341 cgtgatcagt ctagctgaaa ccaaggacat tccagcagct attctgcatg catttctgag  
2401 gttagaaaaa acggggcaca tgcccaacta ccagtttgta taccagaacc ttc atgatgt  
2461 atctgttccc ggccctagge ccagagacaa gagacagctc ctggatccac ctggtgacct  
2521 gagcagggtc gcagcccaga tggagaaaca gggcgacggc ttccgggcac tggcaggcct  
2581 ggccttctgc gaccctgaga agcagcacat ctggcacatc ccaggcctgt ggcacggagc  
2641 acctcccatg gccgcagtga gcttggccta cagtgaagcc atatttgaat tgaagagatg  
2701 cctactegaa aacatcagga acggcttgtc gaacccaaac aaaaacatcc agcagctcat  
2761 tgagctggtg agacggctgt gagtgtgcag agaaaccag ttcagggtga ggaggctgct  
2821 gtgggcagcc ctgtctgatg gggcacccgt gtggggctgt gctctgggtc ctgagaatgg  
2881 ctggtgcca atcgacatga gaagacgagc agaagacaga gggtttgag tctcctcaac  
2941 agtgttaaaa gaggaagtga cctcacagac cagctcagag atgttacc aa gaatatcaca  
3001 gccccaggg tagggagaca agcagcagtt tgttctgtct cagctcctgt caaggatcct  
3061 gcgggggtgg ccctctgtat agctgctctc tgtcactggc ccctggagtg ggagcagcgt  
3121 ccttagtcac tgcaggccca ggcgggcagg tggccccagg acagagggtg ggaagtgtc  
3181 ctgaggaagc agaagtaggc cttgctcccc cccaacccaa gggcctccag tggaccagca  
3241 ttcaagatgt gagggtcccgt ggtgtgcaag gcaactccat ggcaccgtat ttattgactg  
3301 atctgtgaag gcttccctga cccctgcca ggaagagttc actggctcgt ctgttgtgcc  
3361 ccacagcact ttgttatacc tctgccacac acttcacgca gcgcgttgta actcatgtgt  
3421 ttacatgtct gtccccccag actgtgagct ccttgagggc agggactgta cattctccag  
3481 ctctgtgtcc ccagggcctg gcacattgta gacgcttaat aaatgtctgt taaatgaaaa  
3541 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
3601 aaaaaa

<210> 2

<211> 745

<212> DNA

<213> 未知

<400> 2

1 cttaccgaca gacagacgct gggacccacg acgacagaag gcgccgatgg ccgcgcctgc  
61 tgagccctgc gcggggcagg ggggtctgaa ccagacagag cctgaacctg ccgccaccag  
121 cctgctgagc ctgtgcttcc tgagaacage aggggtctgg gtacccccca tgtacctctg  
181 ggctccttggc cccatctacc tectcttcat ccaccacat gcccggggct acctccggat  
241 gtccccactc ttcaaagcca agatggtagc tgccatccct gggagcctgg aaccaggcaa  
301 tgttcggggg aggcagggga caggttgaa cctggtgaag tcttaaagta gactcctcct  
361 atcggggtgt agaagggat ctgttaatca aacagagcaa tattagaaag gctacagagg  
421 tcaactcagt ggaacatggt tctcccaaac agattttgta attccgaaaa tccacgatg  
481 cgcaaacata cgcatacact cccatgttcc tggacagttt atagctacca taacctggca  
541 ttttcaaaa cataccatgt agactcttgg atacacaagg taattttagg gccacattag  
601 gatgaacctt ttaaaagggt atgcatttat ttttatgttt cccactagc tgtattatag  
661 gacaatTTTT atatgtgata tgtatttacc ttagtgtgtt aaataaacac tggcatttca  
721 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa

<210> 3

<211> 3076

<212> DNA

<213> 未知

<400> 3

1 ttcggctgtg ggagtggcat ctgcatcgt cccaatgtcc gctcctgcca ggatggagag  
61 caaggggcca cctgcccaga aacctatgga ccatgtgggg agtacggctg tgaccttacc  
121 tgcaacctat gaggtgtgca ggaggcggcc cgagtgtgcc ccgtgggctt ctgatgacg  
181 gagacagctg ttggcatcag gtgtacagac attgacgaat gtgtaacctc ctctgagag  
241 ggccactgtg tgaacacaga aggtgggttt gtgtgcgagt gtgggccggg catgcagctg  
301 tctgccgacc gccacagctg ccaagacact gacgaatgcc tagggactcc ctgtcagcag  
361 agatgtaaaa acagcattgg cagctacaag tgttcctgtc gaactggctt caccttcatg  
421 gcaaccggca ctctgtgta gatgtaaacg agtgtcggag gccattggag aggcaagtc  
481 tgaccaccatt cctgccacaa caccgtgggc agcttcctat gcacatgccg acctggctc  
541 aggctccgag ctgaccgctg gtctgtgaa gctttcccga aagccgtgct ggccccatct  
601 gccatcctgc aacccggca acaccgtcc aagatgcttc tgttgcttcc tgaggccggc  
661 cgccctgccc tgtcccagg acatagccct ccttctgggg ctccagggcc cccagccgga  
721 gtcaggacca cccgctgcc atctcccacc ccacgactac ccacatcctc ccttctgcc  
781 cctgtgtggc tgctgtccac cctgtggcc accccagtgc ctactgctc cctgtgggg  
841 aacctcagac cccctcact ccttcagggg gaggtgatgg ggacccttc ctaccagg  
901 ggccctgagt ccccccact ggcagcagg ccctctccct gctggcactt gggagccatg  
961 catgaatcaa ggagtcgctg gacagagcct ggggtgtccc agtctgtgtg cgaggacggg  
1021 aaggtgacct gtgaaaagg gaggtgtgaa gctgcttgtt cccaccaat tccctcaga  
1081 gatggtgggt gctgccatc gtgcacaggc tgttttca ca gtgggtgctg ccgagctgaa  
1141 ggggatgtgt tttcacctcc caatgagaac tgcaccgtct gtgtctgtct ggtggaac

1201 gtgtcctgca tctctcctga gtgtccttet ggccccctgtc agaccccccc acagacggat  
 1261 tgctgtactt gtgttccagt gagatgctat ttccacggcc ggtggtacgc agacggggct  
 1321 gtgttcagtg ggggtggtga cgagtgtacc acctgtgttt gccagaatgg ggaggtggag  
 1381 tgctccttca tgcctgccc tgagctggcc tgcccccgag aagagtggcg gctgggacct  
 1441 gggcagtggt gcttcacctg ccaggagccc acaccctcga caggctgctc tcttgacgac  
 1501 aacgggggtg agtttccgat tggacagatc tggtcgcctg gtgaccctg tgagtattgc  
 1561 atctgccagg cagatggctc ggtgagctgc aagaggacag actgtgtgga ctctgcct  
 1621 caccgatcc ggatccctgg acagtgtctc ccagactggt cagcaggctg cacctacaca  
 1681 ggcagaatct tctataacaa cgagaccttc ccgtctgtgc tggacctatg tctgagctgc  
 1741 atctgcctgc tgggctcagt ggctgttcc ccctggact gcccctcac ctgtacctac  
 1801 cctttccacc ctgacgggga gtgctgcccc gtgtgccgag actgcaacta cgaggggaagg  
 1861 aaggtggcga atggccaggt gttcaccttg gatgatgaac cctgcaccgg gtgcacgtgc  
 1921 cagctgggag aggtgagctg tgagaagggt ccctgccagc gggcctgtgc cgaccctgcc  
 1981 ctgcttctg gggactgctg ctcttctgt ccagattgcc ctgtctctc tggagaanaa  
 2041 gcaggggctc tcccctcacg gaaaatgtgg cattcagcaa agctggtcgg gagcctgcat  
 2101 ggagacactg aggccccgt caactgtagc tctgtcctg ggccccgac agcatcacc  
 2161 tcgaggccgg tgcttcatct cctccagctc cttttaagaa cgaacttgat gaaaacacag  
 2221 actttacct caagcccggc aggagctcat ggtccacct cactcgctt ggggctgaca  
 2281 gccactttcc caggggggagc ctggggcctc cctcagctc tcaccagggc cttcgacccc  
 2341 tccaggagcc cccactctac ctctagcttc ccaggggct cctcagccac ctctgtgac  
 2401 tccagagcgc tegttctcag cctctggggc ccagatagtg tccagggtggc ctctctgccc  
 2461 tggcaccctc ctgacggaag ctccagcact ttccatgatg gaccccagcc cctcgaagac  
 2521 cccatcacc tctcggggc tegcgtgctt tctcccacca cctctagact ctccacagcc  
 2581 cttgcagcca ccaccaccc tggccccag cagccccag tgggggcttc tcggggggaa  
 2641 gagtccacca tgtaaggagg tctctgtgtc cgggagactc tggagagagg acctctgcca  
 2701 gtggcccagg gtgtgtgcag ggcacctcca aggatgaacc tgggtgggat gctgggctc  
 2761 cctctgcac gggccctggt gaggatggaa gacccccaa gctggatgta acctgttcc  
 2821 caagaagtgt ttggaatgtg ctgtaagaat ggaggaagtc gtttccactg tcagcatcct  
 2881 cccctggacc gcgtggctgg ctcatctttt gagaagggtt gggactgcca agtttctg  
 2941 gaggaagagt tgcgtccggc tgggattcca ctactggga ctgtaccgcc aggtgtcatg  
 3001 cgttttctg aggtttctg attaaagggt gtttcggtt cctaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
 3061 aaaaaaaaaa aaaaaa

<210> 4

<211> 535

<212> DNA

<213> 未知

<400> 4

1 gccacaatgg tgcgcatgaa tgtcctggca gatgctctca agagtatcaa caatgccgaa

61 aagagaggca aacgccaggt gcttattagg cegtgtcca aagtcacgt ccggtttctc  
 121 actgtgatga tgaagcatgg ttacattggc gaatttgaaa tcattgatga ccacagagct  
 181 gggaaaattg ttgtgaacct cacaggcagg ctaaacaagt gtggggatgat aagccccaga  
 241 tttgacgtgc aactcaaaga cctggaaaaa tggcagaata atctgcttcc atccccccag  
 301 tttggtttca ttgtactgac aacctcagct ggcatcatgg accatgaaga agcaagacga  
 361 aaacacacag gagggaaaat cctgggatte tttttctagg gatgtaatac atatatttac  
 421 aaataaaatg cctcatggac tctgggtgctt ccaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa  
 481 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaattaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa

<210> 5

<211> 4475

<212> DNA

<213> 未知

<400> 5

1 cccacgcga gcgccggag atgcagcggg gcgccgcgt gtgcctgca ctgtggctct  
 61 gcctgggact cctggacggc ctggtgagtg actactccat gaccccccg acctgaaca  
 121 tcacggagga gtcacacgtc atcgacaccg gtgacagcct gtccatctcc tgcaggggac  
 181 agcaccctt egagtgggct tggccaggag ctccaggagc gccagccacc ggagacaagg  
 241 acagcgagga cacgggggtg gtgcgagact gcgagggcac agacgccagg ccctactgca  
 301 aggtgttgct gctgcacgag gtacatgcca acgacacagg cagctacgtc tgctactaca  
 361 agtacatcaa ggcacgcate gagggcacca cggccgccag ctccctacgtg ttcgtgagag  
 421 actttgagca gccattcate aacaagcctg acacgctctt ggtcaacagg aaggacgcca  
 481 tgtgggtgcc ctgtctggtg tccatccccg gcctcaatgt cacgctgcgc tcgcaaagct  
 541 cggctgctgtg gccagacggg caggaggtgg tgtgggatga ccggcggggc atgctcgtgt  
 601 ccacgccact gctgcacgat gccctgtacc tgcagtgcga gaccacctgg ggagaccagg  
 661 acttccttcc caacccttcc ctggtgcaca tcacaggcaa cgagctctat gacatccagc  
 721 tgttgcccag gaagtcgctg gagctgctgg taggggagaa gctggctctc aactgcaccg  
 781 tgtgggctga gtttaactca ggtgtcacct ttgactggga ctaccagggg aagcaggcag  
 841 agcggggtaa gtgggtgccc gagegacgct cccaacagac ccacacagaa ctctccagca  
 901 tctgacat ccacaacgtc agccagcacg acctgggctc gtatgtgtgc aaggccaaca  
 961 acggcatcca gcgatttcgg gagagcaccg aggtcattgt gcatgaaaat cccttcatca  
 1021 gcgtcgagtg gctcaaagga cccatcctgg aggccacggc aggagacgag ctggtgaage  
 1081 tgcccgtgaa gctggcagcg taccctccgc ccgagttcca gtggtacaag gatggaaagg  
 1141 cactgtccgg gcgccacagt ccacatgccc tgggtgctcaa ggaggtgaca gaggccagca  
 1201 caggcaccta caccctcgcc ctgtggaact ccgctgctgg cctgaggcgc aacatcagcc  
 1261 tggagctggt ggtgaatgtg cccccccaga tacatgagaa ggaggcctcc tccccagca  
 1321 tctactcgcg tcacagccgc caggccctca cctgcacggc ctacgggggtg ccctgctc  
 1381 tcagcatcca gtggcactgg cggccctgga caccctgcaa gatgtttgcc cagcgtagtc  
 1441 tccggcggcg gcagcagcaa gacctcatgc cacagtgccg tgactggagg gcggtgacca

1501 cgcaggatgc cgtgaacccc atcgagagcc tggacacctg gaccgagttt gtggagggaa  
1561 agaataagac tgtgagcaag ctggtgatcc agaatgcca cgtgtctgcc atgtacaagt  
1621 gtgtggtctc caacaaggtg ggccaggatg agcggctcat ctacttctat gtgaccacca  
1681 tccccgacgg ctteaccate gaatccaagc catccgagga gctactagag ggccagccgg  
1741 tgctcctgag ctgccaagcc gacagctaca agtacgagca tctgcgctgg taccgcctca  
1801 acctgtccac gctgcacgat ggcgacggga acccgcttct gctcgactgc aagaacgtgc  
1861 atctgttcgc caccctctg gccgccagcc tggaggagggt ggcacctggg gcgcccacg  
1921 ccacgctcag cctgagtate ccccgctcg cgcccagca cgagggccac tatgtgtgcg  
1981 aagtgaaga ccggcgcagc catgacaagc actgccacaa gaagtacctg tcggtgcagg  
2041 ccctggaagc ccctcggctc acgcagaact tgaccgacct cctggtgaac gtgagcgact  
2101 cgctggagat gcagtgcttg gtggccggag cgcacgcgcc cagcatcgtg tggtaaaaag  
2161 acgagaggct gctggaggaa aagtctggag tcgacttggc ggactccaac cagaagctga  
2221 gcatccagcg cgtgcgcgag gaggatgcgg gaccgtatct gtgcagcgtg tgcagacca  
2281 agggctgcgt caactcctcc gccagcgtgg ccgtggaagg ctccgaggat aagggcagca  
2341 tggagatcgt gatccttgte ggtaccggcg tcatcgtgt cttcttctgg gtccctctcc  
2401 tcctcatctt ctgtaacatg aggaggccgg cccacgcaga catcaagacg ggctacctgt  
2461 ccatcatcat ggaccccggg gaggtgctc tggaggagca atgcaatac ctgtcctacg  
2521 atgccagcca gtgggaatte ccccagagc ggctgcacct ggggagagtg ctcggtacg  
2581 gcgccttcgg gaaggtggtg gaagcctccg ctttcggcat ccacaagggc agcagctgtg  
2641 acaccgtggc cgtgaaaatg ctgaaagagg gcgccacggc cagcgagcag cgcgcgctga  
2701 tgtcggagct caagatcctc attcacatcg gcaaccacct caacgtggtc aacctcctcg  
2761 gggcgtgcac caagccgcag ggccccctca tggatgatcg ggagttctgc aagtacggca  
2821 acctctcaa ctctctgcgc gccaaagcggg acgccttcag cccctgcgcg gagaagtctc  
2881 ccgagcagcg cggacgcttc cgcgccatgg tggagctcgc caggctggat cggaggcggc  
2941 cggggagcag cgacagggtc ctcttcgcgc ggttctcgaa gaccgagggc ggagcgaggc  
3001 gggcttctcc agaccaagaa gctgaggacc tgtggctgag cccgctgacc atggaagatc  
3061 ttgtctgcta cagcttcag gtggccagag ggatggagtt cctggcttcc cgaaagtga  
3121 tccacagaga cctggctgct cggaacattc tgctgtcgga aagcgacgtg gtgaagatct  
3181 gtgacttttg ccttgcccgg gacatctaca aagaccccga ctacgtccgc aagggcagtg  
3241 cccggctgcc cctgaagtgg atggcccctg aaagcatctt cgacaagggtg tacaccacgc  
3301 agagtacgt gtggtccttt ggggtgcttc tctgggagat cttctctctg ggggctccc  
3361 cgtaccctgg ggtgcagatc aatgaggagt tctgccagcg cgtgagagac ggcacaagga  
3421 tgagggcccc ggagctggcc actcccgcca tacgccacat catgctgaac tgetggtccg  
3481 gagaccccaa ggcgagacct gcattctcgg agctgggtgga gatcctgggg gacctgctc  
3541 agggcagggg cctgcaagag gaagaggagg tctgcatggc cccgcgcagc tctcagagct  
3601 cagaagaggg cagcttctcg caggtgtcca ccatggccct acacatcgc caggetgacg  
3661 ctgaggacag cccgccaagc ctgcagcgcc acagcctggc cgccaggtat tacaactggg  
3721 tgtcctttcc cgggtgcctg gccagagggg ctgagaccgg tggttcctcc aggatgaaga  
3781 catttgagga attcccctatg accccaacga cctacaaaagg ctctgtggac aaccagacag

3841 acagtgggat ggtgctggcc tcggaggagt ttgagcagat agagagcagg catagacaag  
 3901 aaagcggtt caggtagctg aagcagagag agagaaggca gcatacgtca gcattttctt  
 3961 ctctgcactt ataagaaaga tcaaagactt taagactttc gctattttctt ctactgctat  
 4021 ctactacaaa cttcaaagag gaaccaggag gacaagagga gcatgaaagt ggacaaggag  
 4081 tgtgaccact gaagcaccac agggaggggt taggcctccg gatgactgcg ggcaggcctg  
 4141 gataatatec agcctccac aagaagctgg tggagcagag tgttcctga ctctccaag  
 4201 gaaagggaga cgccctttca tggctctgctg agtaacaggt gccttcccag aactggcgt  
 4261 tactgcttga ccaaagagcc ctcaagcggc ccttatgcca gcgtgacaga gggctcacct  
 4321 cttgccttct aggtcacttc tcacaatgtc ccttcagcac ctgaccctgt gcccgcgat  
 4381 tattccttgg taatatgagt aatacatcaa agagtagtat taaaagctaa ttaatcatgt  
 4441 ttataaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa

<210> 6

<211> 1350

<212> DNA

<213> 未知

<400> 6

1 aggattcagc agcctccccc ttgagccccc tcgcttcccg acgttccgtt cccccctgcc  
 61 cgctttctcc cgccaccgcc gccgcccct tccgcaggcc gtttcccacc gaggaaaagg  
 121 aatcgatcg tatgtccgct atccagaacc tccactcttt cgacccttt gctgatgcaa  
 181 gtaagggatg tgacctgctt cctgctggca ctgaggatta tatccatata agaattcaac  
 241 agagaaacgg caggaagacc ctactactg tccaaggat cgctgatgat tacgataaaa  
 301 agaaactagt gaaggcgttt aagaaaaagt ttgcctgcaa tggctactgta attgagcatc  
 361 cggaatatgg agaagtaatt cagctacagg gtgaccaacg caagaacata tgccagtcc  
 421 tcgtagagat tggactggct aaggacgac agctgaaggt tcatggggtt taagtcttg  
 481 tggctcactg aagcttaagt gaggatttat ttcccttgca atgagtagaa ttcccttct  
 541 ctcccttgtc acaggtttaa aaacctcaca gcttgataaa tgtaaccatt tggggtccgc  
 601 ttttaacttg gactagtgta actccttcat gcaataaact gaaaagagcc atgctgtcta  
 661 gtcttgaagt cctcattta aacagaggtc aagcaatagg cgctggcag tgcaagcct  
 721 gaaaccaagc aataccgtca tgtttcagcc aagcccagag ccctaagatt acaaaact  
 781 atgcccggaa cctccgcagc tctccctctg cagagtccc taccctaaga gaatgttacc  
 841 acctgaacag tctcgggtga atctgagagg agaggatggg gtaaggcaga agcaccagct  
 901 gtactactag aaggagctt ttgggtgtag atcccctggt gtctccaacc tgactagtg  
 961 gacagagctc aaagaggccc tcttaccgct agcgaggatg taggacatct ggttgcac  
 1021 aaaggtctgt tcgaccagac atatectagc taaggatgt ccaaactca gaatgtgagg  
 1081 ccaaccttct atcagagtta aacttttgac aagggaaaca atctcaaact gatccatcag  
 1141 tcatgtagct agctgtagag cttgcaactt aatagcagca gctgccaat gccatgtgaa  
 1201 gtaacaaact ggtttttggg tttttttcc ccttcagttt taatgttatg tgtaatgtat  
 1261 ttaaaccctt atttaataaa aacttgtttt cagaaataaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa

1321 aaaaaaacct gcccgggcgg ccgctcgagc

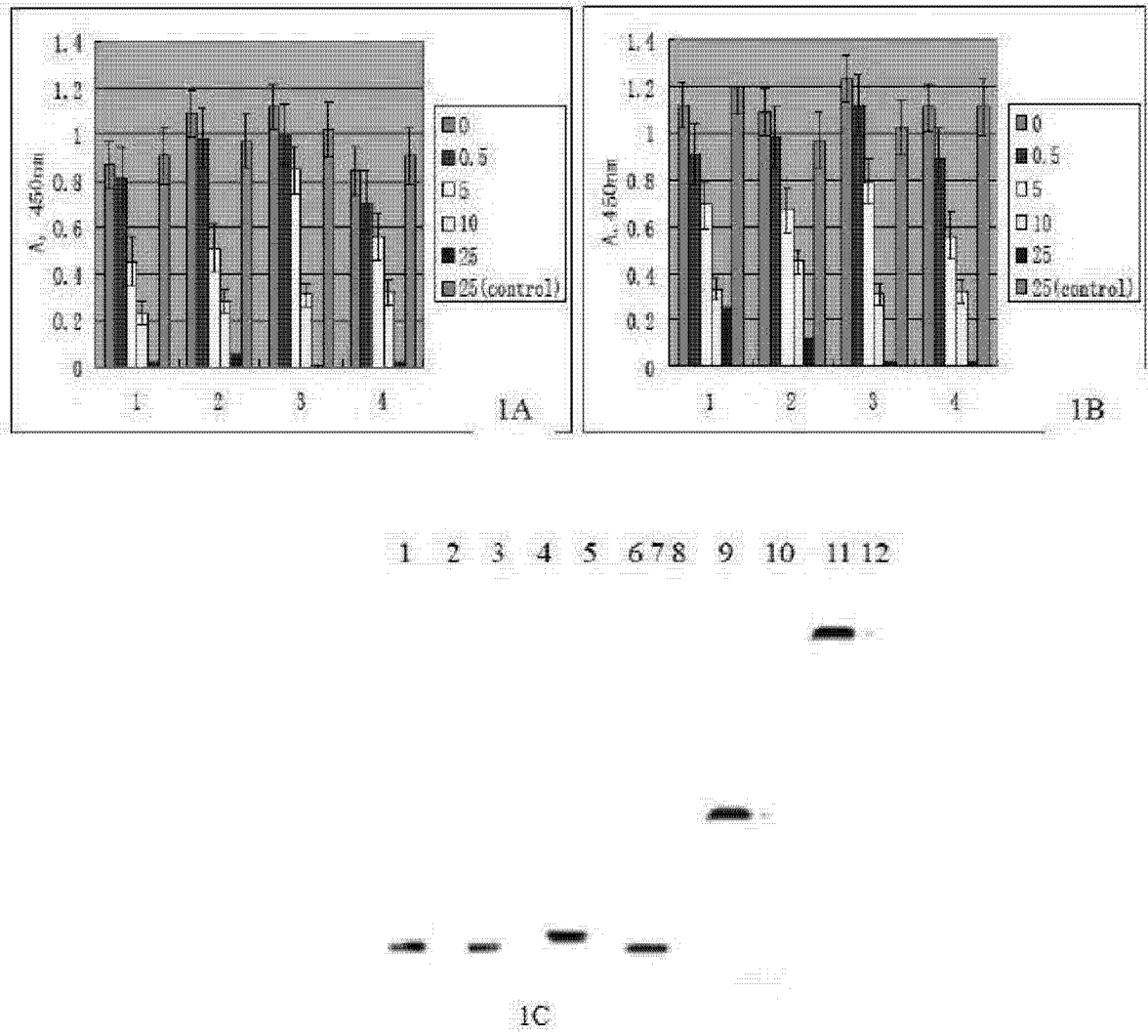
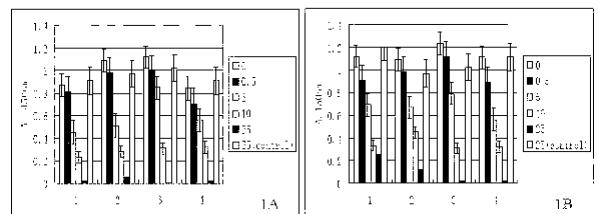


图 1

专利名称(译)	一种检测乙肝肝癌前病变标志物ELISA试剂盒及其应用		
公开(公告)号	<a href="#">CN103543265A</a>	公开(公告)日	2014-01-29
申请号	CN201310111583.0	申请日	2013-04-02
[标]申请(专利权)人(译)	深圳市中医院		
申请(专利权)人(译)	深圳市中医院		
当前申请(专利权)人(译)	深圳市中医院		
[标]发明人	董光东 周大乔		
发明人	董光东 周大乔		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/535		
CPC分类号	G01N33/57438		
代理人(译)	李永庆		
其他公开文献	CN103543265B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明涉及一种检测乙肝肝癌前病变标志物ELISA试剂盒，以及该试剂盒在快速检测肝癌前病变的应用；该试剂盒是采用固相免疫试验ELISA来检测肝癌前病变抗体，在X基因阳性与阴性的HepG2细胞系中，通过抑制性cDNA差减杂交，克隆出异常表达的基因片段URG4、URG7、URG11、URG12、URG19和DRG2，并选择亲水端序列，固相合成人工多肽，作为包被抗原，制成检测乙肝肝癌前病变标志物的ELISA试剂盒；该试剂盒可有效对肝癌前病变进行检测，方法特异，操作简便，价格低廉，安全无创，可用简便的血清学方法检测。



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12

1C