



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103543265 B

(45) 授权公告日 2015. 07. 15

(21) 申请号 201310111583. 0

WO 2006135886 A2, 2006. 12. 21,

(22) 申请日 2013. 04. 02

审查员 李倩

(73) 专利权人 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)

(56) 对比文件

WO 03093444 A3, 2006. 06. 29,

WO 03097823 A1, 2003. 11. 27,

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。

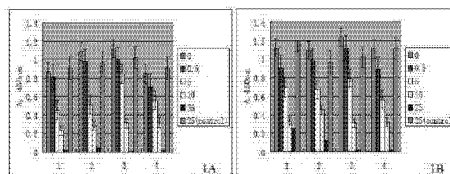


图 1 图 1A 图 1B

1. 一种检测乙肝肝癌前病变标志物的 ELISA 试剂盒,其特征在於: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,其特征在於: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。

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:

[0012] 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;

[0013] 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:

[0014] (一) 建立 HBX 和 CAT 的 HepG2 系

[0015] 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

[0016] 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;

[0017] (二) 建立 ELISAs 检测方法

[0018] 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。

[0019] 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 μ g 加入 50 μ 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 μ 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 μ 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 CO₂ 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。

[0020] (三) 特异性及放射免疫沉淀检测

[0021] 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 μ 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): 预前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)。

[0022] 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 μ l 与放射标记 (5×10^4 计数 / 分钟) 体外翻译蛋白一起放在 37 $^{\circ}$ C 孵化 1h, 然后与 2 μ 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。

[0023] (四) 慢性 HBV 感染患者乙肝相关的肝癌前抗体检测的应用

[0024] 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。

[0025] 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 ($P > 0.05$)。

[0026] 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。

[0027] 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 χ^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 χ^2 检验。

[0028] 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。

[0029] 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。

[0030] 所述的试剂盒在检测乙肝肝癌前病变标志物的应用。

[0031] 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。

[0032] 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

[0033] 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³⁵S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检测的结果是一致的,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

[0034] 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。

[0035] 实施例1

[0036] A patient #10

[0037]											
[0038]	Months	0	2	5	7	16	23	50	expired		
[0039]	HCC Dx						*	mo. 56			
[0040]	Tx						TACE				
[0041]	Anti-DRG2	-	-	-	-	-	-	-			
[0042]	Anti-URG4	-	-	+	+	+	+	+			
[0043]	Anti-URG7	-	-	-	-	+	+	+			
[0044]	Anti-URG11	-	-	+	+	+	+	+			
[0045]	Anti-URG12	-	-	-	-	-	-	+			
[0046]	Anti-URG19	-	-	+	+	+	+	+			
[0047]	AFP>400ug/ml	-	-	-	-	-	-	+			
[0048]	B	patient #26									
[0049]											
[0050]	Months	0	1	4	5	6	7	9	12	expired	
[0051]	HCC Dx		*						mo. 18		
[0052]	Tx		PCEI								
[0053]	Anti-DRG2	-	-	-	-	-	-	+	-		
[0054]	Anti-URG4	-	-	-	-	-	-	-	-		
[0055]	Anti-URG7	-	+	+	+	+	-	-	+		
[0056]	Anti-URG11	+	+	+	-	-	-	-	-		
[0057]	Anti-URG12	-	-	-	-	-	-	-	-		
[0058]	Anti-URG19	+	+	-	-	-	-	-	-		
[0059]	AFP>100ug/ml	+	+	-	-	-	-	-	-		
[0060]	C	patient #28									
[0061]											
[0062]	Months	0	1	2	4	6	10	14	26	30	expired
[0063]	HCC Dx	*				*		*		mo. 36	
[0064]	Tx	PCEI			RITA		RITA				
[0065]	Anti-DRG2	-	-	+	+	+	+	-	-	-	
[0066]	Anti-URG4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
[0067]	Anti-URG7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
[0068]	Anti-URG11	+	+	-	+	-	+	-	+	-	
[0069]	Anti-URG12	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
[0070]	Anti-URG19	+	-	-	-	+	+	-	+	-	
[0071]	AFP>400ug/ml	+	+	-	-	-	+	-	+	-	

[0072] 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)

[0073] 下面通过临床观察试验, 进一步阐述发明的有益效果 :

[0074] 1. 临床资料

[0075] 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 28

[0076] 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

[0077] 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

[0078] 差异($P>0.1$)

[0079] 2. 方法

[0080] 2. 1 检测方法: ELISA 方法检测 6 个肝癌前抗体

[0081] 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

[0082] 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

[0083] SPSSAS 6.12 版统计分析软件进行统计学处理(检验水平 α 取 0.05)。

[0084] 2. 3 结果

[0085] 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 $AFP>20 \mu g/L$ 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。

[0086] 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。

[0087] 序列表 SEQUENCE LISTING

[0088] <110> 深圳市中医院

[0089] <120> 一种检测乙肝肝癌前病变标志物 ELISA 试剂盒及其应用

[0090] <140> 201110286614.7

[0091] <141> 2011-09-23

[0092] <160> 6

[0093] <210> 1

[0094] <211> 3606

[0095] <212> DNA

[0096] <213> 未知

[0097] <400> 1
[0098] 1 cctcgctgcg ctcatggcgt cgcccgggca ttcagatttg ggagaagtag ccccagaaat
[0099] 61 aaaagcatca gagagacgaa cagctgtggc cattgcagat ttggaatgga gagaaatgga
[0100] 121 aggagatgat tgcgagttcc gttatggaga tggtaacaaat gaggctcagg acaatgattt
[0101] 181 tccaacagtg gagagaagca ggcttcaaga aatgctgtca cttttgggcc tagagacgta
[0102] 241 ccaggtccag aaactcagcc tccaggactc tctgcagatc agttttgaca gtatgaagaa
[0103] 301 ctgggccct caggttccca aagacttgcc ctggaatttc ctcaggaagt tgcaggccct
[0104] 361 caatgctgat gccaggaata ccactatggt gctggacgtg ctcccagacg ccaggcctgt
[0105] 421 ggagaaggag agccagatgg aagaggagat catctactgg gaccagctg atgaccttgc
[0106] 481 tgccgacatt ttttctttt ctgagctgcc caccctgat acgccagtga accccttaga
[0107] 541 ctttctctgt gccctgctgc tctctcaga cagtttctg caacaagaaa tagcgttgaa
[0108] 601 aatggccctc tgccagtttg cactcccact cgtgttgccct gactcggaga accactacca
[0109] 661 tacatttctg ctgtgggcca tgcggggcat tgtgaggaca tgggtgtccc agcccccaag
[0110] 721 gggcatgggg agcttccggg aagacagcgt ggtcttgtcc agggcgcccc ctttgcctt
[0111] 781 cgtgcgcatg gacgtcagta gcaactcaa gtcccagctt ctcaacgccg tctcagccc
[0112] 841 gggccacagg cagtgggact gtttctggca tccggacctc aacttgggca ccaatgcccg
[0113] 901 ggagatttcg gatgggttgg tagaaatttc ctggtttttt cccagcggaa gggaggactt
[0114] 961 ggacatttcc ccagaacctg tggcctttct gaacctgaga ggtgacatcg ggtctcactg
[0115] 1021 gctgcagttt aagctcttga cagaaatctc ctccgctgtg tttatattga ctgacaatat
[0116] 1081 cagtaagaag gaatacaaat tgctgtactc catgaaggag tcaaccacaa aatactactt
[0117] 1141 catcctgagt ccctaccgtg ggaagcgcaa cacaaacctg agatttctga ataagttaat
[0118] 1201 tctgtgctg aaaatagacc actcacatgt cctggtaaag gtcagcagca ctgacagcga
[0119] 1261 cagcttcgtg aagaggatcc gggccatcgt tgggaatgtg ctgcgggcac cctgcaggcg
[0120] 1321 ggtatctgtg gaggacatgg cgcacgcagc ccgcaactg ggcctaaagg tgcagagga
[0121] 1381 ctgtgaggag tgtcagaaag cgaaagaccg gatggagagg attaccagga aaatcaaaga
[0122] 1441 ctcgatgcc tacagaaggg acgagctgag gctgcagggg gacccttga gaaaggcagc
[0123] 1501 ccaagtggag aaggagttct gccagctcca gtgggccgtg gacccccctg agaagcacag
[0124] 1561 ggctgagctg aggcggcggc tgctagaact tcgaatgcag cagaacggcc atgattcctc
[0125] 1621 ctcgggggtg caggagttca tctcggggat cagcagcccc tctttgagtg agaagcagta
[0126] 1681 cttcctgagg tggatggagt ggggcttggc acgggtggcc cagccgcgac tgagacagcc
[0127] 1741 tccggagacg cttctcacc tgagacaaa gcacgggggc accacagacg tgggggagcc
[0128] 1801 gctctggcct gagccccctag ggggtggaaca cttcttgcgg gagatgggac agttttatga
[0129] 1861 ggctgagagc tgtcttgtgg aggcaggag gctgccggca ggccagagge gttttgccc
[0130] 1921 cttcccagge ttggcctcgg agctgctgct gacagggctg cctctggagc taatcgatgg
[0131] 1981 gagcacgctg agcatgcccc tccgctgggt cacagggctc ctgaaggagc tgcacgtccg
[0132] 2041 actggagaga cggtaagge tgggtgttct gtcaaccgctc ggggtgccag gcacgggcaa
[0133] 2101 gtccacactc ctcaacacca tgtttgggct gcggtttgcc acaggaaga gctgcggctc
[0134] 2161 tegaggggccc ttcacgcagc tcacacagc ggctgagggc ttcagccagg acctgggctg
[0135] 2221 tgaccacatc ctggtgatag actccggggg cttgataggt ggggcttga cgtcagctgg

[0136] 2281 ggacagattt gagctggagg cttccttggc cactctgctc atgggactga gcaatgtcac
 [0137] 2341 cgtgatcagt ctagctgaaa ccaaggacat tccagcagct attctgcatg catttctgag
 [0138] 2401 gttagaaaaa acggggcaca tgcccaacta ccagtttgta taccagaacc ttcatgatgt
 [0139] 2461 atctgttccc ggccctagge ccagagacaa gagacagctc ctggatccac ctgggtgacct
 [0140] 2521 gagcagggtc gcagcccaga tggagaaaca gggcgacggc ttccgggcac tggcaggcct
 [0141] 2581 ggccttctgc gaccctgaga agcagcacat ctggcacatc ccaggcctgt ggcacggagc
 [0142] 2641 acctcccatg gccgcagtga gcttggccta cagtgaagcc atatttgaat tgaagagatg
 [0143] 2701 cctactcgaa aacatcagga acggcttgtc gaacccaaac aaaaacatcc agcagctcat
 [0144] 2761 tgagctggtg agacggctgt gagtgtgcag agaaaccag ttcaggtgta ggaggctgct
 [0145] 2821 gtgggcagcc ctgtctgatg gggcacccgt gtggggctgt gctctgggtg ctgagaatgg
 [0146] 2881 ctggtgccc aatcgacatga gaagacgagc agaagacaga gggtttggag tctcctcaac
 [0147] 2941 agtgttaaaa gaggaagtga cctcacagac cagctcagag atgttacc aaatatacaca
 [0148] 3001 gccccagg tagggagaca agcagcagtt tgttctgtct cagctcctgt caaggatcct
 [0149] 3061 gcggggtggg ccctctgtat agctgctctc tgctactggc ccctggagtg ggagcagcgt
 [0150] 3121 ccttagtcac tgcaggccc ggcgggcagg tggctccagg acagaggtgg ggaagtgtgc
 [0151] 3181 ctgaggaagc agaagttagc cttgctccc cccaacccaa gggcctccag tggaccagca
 [0152] 3241 ttcaagatgt gagggtccc ggtgtgcaag gcaactccat ggcaccgtat ttattgactg
 [0153] 3301 atctgtgaag gttccctga cccctgccc ggaagagtcc actggctgct ctgtttgtcc
 [0154] 3361 ccacagcact ttgttatacc tctgccacac acttcacgca gcgcgttgta actcatgtgt
 [0155] 3421 ttacatgtct gtccccccag actgtgagct ctttgagggc agggactgta cattctccag
 [0156] 3481 ctctgtgtcc ccagggcctg gcacattgta gacgcttaaat aaatgtctgt taaatgaaaa
 [0157] 3541 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
 [0158] 3601 aaaaaa
 [0159] <210> 2
 [0160] <211> 745
 [0161] <212> DNA
 [0162] <213> 未知
 [0163] <400> 2
 [0164] 1 cttaccgaca gacagacgct gggaccacag acgacagaag gcgccgatgg ccgcgcctgc
 [0165] 61 tgagccctgc gcggggcagg ggtctggaa ccagacagag cctgaacctg ccgccaccag
 [0166] 121 cctgctgagc ctgtgcttcc tgagaacagc aggggtctgg gtacccccca tgtacctctg
 [0167] 181 ggtecttggc cccatctacc tctcttcat ccaccacat ggccggggtc acctccggat
 [0168] 241 gteccactc ttcaaagcca agatggtagc tgccatccct gggagcctgg aaccaggcaa
 [0169] 301 tgttcggggg aggcagggga caggctggaa cctgggtgaag tcttaaagta gactcctcct
 [0170] 361 atcggggtgt agaagggaat ctgttaata aacagagcaa tattagaaa gctacagagg
 [0171] 421 tcaactcagt ggaacatggt tctcccaaac agattttgta attccgaaaa tccacgcatg
 [0172] 481 cgcaaacata cgatacact cccatgttcc tggacagttt atagctacca taacctggca
 [0173] 541 ttttcaaaa catacatgt agactcttgg atacacaagg taattttagg gccacattag
 [0174] 601 gatgaacctt ttaaagggt atgcatttat ttttatgtt cccaactage tgtattatag

[0175] 661 gacaattttt atatgtgata tgtatttacc ttagtgtgtt aaataaacac tggcatttca
[0176] 721 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa
[0177] <210> 3
[0178] <211> 3076
[0179] <212> DNA
[0180] <213> 未知
[0181] <400> 3
[0182] 1 ttcggctgtg ggagtggcat ctgcatcgt cccaatgtcc gtcctgcca ggatggagag
[0183] 61 caaggggcca cctgcccaga aacctatgga ccatgtgggg agtacggctg tgaccttacc
[0184] 121 tgcaacctat gaggctgtca ggaggcggcc cgagtgtgcc ccgtgggctt ctgatgacg
[0185] 181 gagacagctg ttggcatcag gtgtacagac attgacgaat gtgtaacctc ctctgcgag
[0186] 241 ggccactgtg tgaacacaga aggtggggtt gtgtgcgagt gtgggccggg catgcagctg
[0187] 301 tctgccgacc gccacagctg ccaagacact gacgaatgcc tagggactcc ctgtcagcag
[0188] 361 agatgtaaaa acagcattgg cagctacaag tgttcctgtc gaactggctt caccttcag
[0189] 421 gcaaccggca ctctgtgta gatgtaaacg agtgtcggag gccattggag aggcgaagtc
[0190] 481 tgtcaccatt cctgccacaa caccgtgggc agcttcctat gcaatgccg acctggcttc
[0191] 541 aggctccgag ctgaccgctg gtctgtgaa gctttcccga aagccgtgct ggccccatct
[0192] 601 gccatcctgc aaccccggca acaccctgc aagatgcttc tgttgcttcc tgaggccggc
[0193] 661 cggcctgccc tgtecccagg acatagccct ccttctgggg ctccagggcc cccagccgga
[0194] 721 gtcaggacca cccgctgcc atctcccacc ccacgactac ccacatcctc cccttctgcc
[0195] 781 cctgtgtggc tgctgtccac cctgctggcc accccagtgc ctactgcctc cctgctgggg
[0196] 841 aacctcagac cccctcact ccttcagggg gaggtgatgg ggacccttc ctaccagg
[0197] 901 ggccctgagt ccccccact ggcagcagg ccctctccct gctggcacct gggagccatg
[0198] 961 catgaatcaa ggagtcgtg gacagagcct ggggtgtccc agtgtggtg cgaggacggg
[0199] 1021 aaggtgacct gtgaaaaggt gaggtgtgaa gctgcttgtt cccaccaat tccctcaga
[0200] 1081 gatggtgggt gctgccatc gtgcacaggc tgttttcaca gtggtgtcgt ccgagctgaa
[0201] 1141 ggggatgtgt ttccacctc caatgagaac tgcaccgtct gtgtctgtct ggctggaac
[0202] 1201 gtgtcctgca tctctcctga gtgtccttct ggccccgtgc agaccccc acagacggat
[0203] 1261 tgctgtactt gtgttccagt gagatgctat ttccacggcc ggtggtacgc agacggggct
[0204] 1321 gtgttcagtg ggggtggtga cgagtgtacc acctgtgttt gccagaatgg ggaggtggag
[0205] 1381 tgctccttca tgccctgccc tgagctggcc tgcccccgag aagagtggcg gctgggcct
[0206] 1441 gggcagtggt gcttcacctg ccaggagccc acacctcga caggctgctc tcttgacgac
[0207] 1501 aacggggttg agtttccgat tggacagatc tggtcgctg gtgaccctg tgagttatgc
[0208] 1561 atctgccagg cagatggctc ggtgagctgc aagaggacag actgtgtgga ctctgcct
[0209] 1621 caccgatcc ggatecctgg acagtgtgc ccagactgtt cagcagctg cacctacaca
[0210] 1681 ggcagaatct tctataacaa cgagacctc ccgtctgtgc tggaccatg tctgagctgc
[0211] 1741 atctgcctgc tgggctcagt ggccgttcc cccgtggact gcccatac ctgtacctac
[0212] 1801 cctttccacc ctgacgggga gtgtgcccc gtgtgccgag actgcaacta cgagggaagg
[0213] 1861 aaggtggcga atggccaggt gttcacctt gatgatgaac cctgcaccg gtgcacgtgc

[0214] 1921 cagctgggag aggtgagctg tgagaagggtt ccctgccagc gggcctgtgc cgaccctgcc
 [0215] 1981 ctgcttctctg gggactgctg ctcttctctgt ccagattgcc ctgtctctctc tggaagaaaa
 [0216] 2041 gcaggggctc tcccctcacg gaaaatgtgg cattcagcaa agctggtcgg gagcctgcat
 [0217] 2101 ggagacactg aggcccctgt caactgtagc tctgtctctg ggcccccgac agcatcaccc
 [0218] 2161 tcgaggccgg tgcttcatct cctccagctc cttttaagaa cgaacttgat gaaaacacag
 [0219] 2221 actttaccta caagcccggc aggagctcat ggteccacct cactcgcttt ggggctgaca
 [0220] 2281 gccactttcc caggggggagc ctggggcctc ccctcgactc tcaccagggc cttegacccc
 [0221] 2341 tccaggagcc cccactctac ctctagcttc ccagggggt cctcagccac ctctctgtac
 [0222] 2401 tccagagcgc tcgttctcag cctctggggc ccagatagtg tccaggtggc ctctctgtcc
 [0223] 2461 tggcaccctc ctgacggaag cttcagcact ttccatgatg gaccccagcc cctcgaagac
 [0224] 2521 cccatcaccc tctcggggc tcgctgtgctt tctcccacca cctctagact ctccacagcc
 [0225] 2581 cttgcagcca ccaccaccc tggccccag cagccccag tgggggcttc tcggggggaa
 [0226] 2641 gagtccacca tgtaaggagg tcaactgtgtc cgggagactc tggagagagg acctctgcca
 [0227] 2701 gtggcccagg gtgtgtgcag ggcacctcca aggatgaacc tgggtgggat gcctgggctc
 [0228] 2761 cctcctgcac gggccctggt gaggatggaa gacccccaa gctggatgta accttgttcc
 [0229] 2821 caagaagtgt ttggaatgtg ctgtaagaat ggaggaagtc gtttccactg tcagcatcct
 [0230] 2881 cccctggacc gcgtggctgg ctcatctttt gagaagggtt gggactgcca agttttcctg
 [0231] 2941 gaggaagagt tgcgtccggc tgggattcca ctactggga ctgtaccgcc aggtgtcatg
 [0232] 3001 cgtctttctg aggtttcctg attaaagggtt gtttcggttt cctaaaaaaaa aaaaaaaaaa
 [0233] 3061 aaaaaaaaaa aaaaaa
 [0234] <210> 4
 [0235] <211> 535
 [0236] <212> DNA
 [0237] <213> 未知
 [0238] <400> 4
 [0239] 1 gccacaatgg tgcgcatgaa tgtcctggca gatgctctca agagtatcaa caatgccgaa
 [0240] 61 aagagaggca aacgccaggt gcttattagg ccgtgtccca aagtcacgt cggtttctc
 [0241] 121 actgtgatga tgaagcatgg ttacattggc gaatttgaaa tcattgatga ccacagagct
 [0242] 181 gggaaaattg ttgtgaacct cacaggcagg ctaaacaagt gtgggggtgat aagccccaga
 [0243] 241 tttgacgtgc aactcaaaga cctggaaaaa tggcagaata atctgcttcc atcccggcag
 [0244] 301 tttggtttca ttgtactgac aacctcagct ggcatcatgg accatgaaga agcaagacga
 [0245] 361 aaacacacag gagggaaaat cctgggattc tttttctagg gatgtaatac atatatttac
 [0246] 421 aaataaaatg cctcatggac tctggtgctt ccaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
 [0247] 481 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaattaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa
 [0248] <210> 5
 [0249] <211> 4475
 [0250] <212> DNA
 [0251] <213> 未知
 [0252] <400> 5

[0253] 1 cccacgcgca gcggccggag atgcagcggg gcgcccgcgt gtgcctgcga ctgtggctct
[0254] 61 gcctgggact cctggacggc ctggtgagtg actactccat gaccccccg accttgaaca
[0255] 121 tcacggagga gtcacacgtc atcgacaccg gtgacagcct gtccatctcc tgcaggggac
[0256] 181 agcaccccct cgagtgggct tggccaggag ctcaggaggc gccagccacc ggagacaagg
[0257] 241 acagcgagga cacgggggtg gtgcgagact gcgagggcac agacgccagg ccctactgca
[0258] 301 aggtgttgct gctgcacgag gtacatgcca acgacacagg cagctacgtc tgctactaca
[0259] 361 agtacatcaa ggcacgcate gagggcacca cggcccag ctcctacgtg ttcgtgagag
[0260] 421 actttgagca gccattcate aacaagcctg acacgctctt ggtcaacagg aaggacgcca
[0261] 481 tgtgggtgcc ctgtctggtg tccatccccg gcctcaatgt cacgctgcgc tcgcaaagct
[0262] 541 cgggtgctgtg gccagacggg caggaggtgg tgtgggatga cggcggggc atgctcgtgt
[0263] 601 ccacgccact gctgcacgat gccctgtacc tgcagtgcga gaccacctgg ggagaccagg
[0264] 661 acttcctttc caacccttc ctggtgcaca tcacaggcaa cgagctctat gacatccagc
[0265] 721 tgttgcccag gaagtcgctg gagctgctgg taggggagaa gctggtcctc aactgcaccg
[0266] 781 tgtgggctga gtttaactca ggtgtcacct ttgactggga ctaccagg aagcaggcag
[0267] 841 agcggggtaa gtgggtgcc gagcgacgct cccaacagac ccacacagaa ctctccagca
[0268] 901 tcctgacat ccacaacgtc agccagcacg acctgggctc gtatgtgtgc aaggccaaca
[0269] 961 acggcatcca gcgatttcgg gagagcaccg aggtcattgt gcatgaaaat cccttcatca
[0270] 1021 gcgtcgagtg gctcaaagga cccatcctgg aggccacggc aggagacgag ctggtgaagc
[0271] 1081 tgcccgtgaa gctggcagcg taccctccgc ccgagttcca gtggtacaag gatggaaagg
[0272] 1141 cactgtccgg gcgccacagt ccacatgccc tgggtgctcaa ggaggtgaca gaggccagca
[0273] 1201 caggcaccta caccctcgcc ctgtggaact ccgctgctgg cctgaggcgc aacatcagcc
[0274] 1261 tggagctggt ggtgaatgtg cccccaga tacatgagaa ggaggcctcc tccccagca
[0275] 1321 tctactcgcg tcacagccgc caggccctca cctgcacggc ctacggggtg ccctgcctc
[0276] 1381 tcagcatcca gtggcactgg cggccctgga caccctgcaa gatgtttgcc cagcgtagtc
[0277] 1441 tccggcggcg gcagcagcaa gacctatgc cacagtgccg tgactggagg gcggtgacca
[0278] 1501 cgcaggatgc cgtgaacccc atcgagagcc tggacacctg gaccgagttt gtggagggaa
[0279] 1561 agaataagac tgtgagcaag ctggtgatcc agaatgcaa cgtgtctgcc atgtacaagt
[0280] 1621 gtgtggtctc caacaaggtg ggccaggatg ageggctcat ctacttctat gtgaccacca
[0281] 1681 tccccgacgg ctccaccate gaatccaagc catccgagga gctactagag ggccagccgg
[0282] 1741 tgctcctgag ctgccaaacc gacagctaca agtacgagca tctgcgctgg taccgctca
[0283] 1801 acctgtccac gctgcacgat gcgcacggga acccgcttct gctcgactgc aagaacgtgc
[0284] 1861 atctgttcgc caccctctg gccgccagcc tggaggaggt ggcacctggg gcgcgccacg
[0285] 1921 ccacgctcag cctgagtate ccccgctcg cgcccagca cgagggccac tatgtgtgcg
[0286] 1981 aagtgcaaga ccggcgcagc catgacaagc actgccacaa gaagtacctg tcggtgcagg
[0287] 2041 ccctggaagc ccctcgctc acgcagaact tgaccacct cctggtgaac gtgagcgact
[0288] 2101 cgctggagat gcagtgttg gtggccggag cgcacgcgcc cagcactgtg tggtaaaag
[0289] 2161 acgagaggct gctggaggaa aagtctggag tcgacttggc ggactccaac cagaagctga
[0290] 2221 gcatccagcg cgtgcgcgag gaggatgcgg gaccgtatct gtgcagcgtg tgcagacca
[0291] 2281 agggctgcgt caactcctcc gccagcgtgg ccgtggaagg ctccaggat aagggcagca

[0292] 2341 tggagatcgt gatccttgtc ggtaccggcg tcatcgctgt cttcttctgg gtcctcctcc
[0293] 2401 tcctcatctt ctgtaacatg aggaggccgg cccacgcaga catcaagacg ggctacctgt
[0294] 2461 ccatcatcat ggaccccggg gaggtgcctc tggaggagca atgcgaatac ctgtcctacg
[0295] 2521 atgccagcca gtgggaattc ccccagagc ggctgcacct ggggagagtg ctgggctacg
[0296] 2581 ggccttcgg gaaggtggtg gaagcctccg ctttcggcat ccacaagggc agcagctgtg
[0297] 2641 acaccgtggc cgtgaaaatg ctgaaagagg gcgccacggc cagcgagcag cgcgcgctga
[0298] 2701 tgtcggagct caagatcctc attcacatcg gcaaccacct caacgtggtc aacctcctcg
[0299] 2761 gggcgtgcac caagcccgag ggccccctca tggatgatcg ggagttctgc aagtacggca
[0300] 2821 acctctcaa cttcctgcgc gccaaagcggg acgccttcag cccctgcgcg gagaagtctc
[0301] 2881 ccgagcagcg cggacgcttc cgcgccatgg tggagctcgc caggctggat cggaggcggc
[0302] 2941 cggggagcag cgacagggtc ctcttcgcgc gtttctcgaa gaccgagggc ggagcgaggc
[0303] 3001 gggcttctcc agaccaagaa gctgaggacc tgtggctgag cccgctgacc atggaagatc
[0304] 3061 ttgtctgcta cagcttcag gtggccagag ggatggagtt cctggcttcc cgaaagtga
[0305] 3121 tccacagaga cctggctgct cggaacattc tgctgtcgga aagcgacgtg gtgaagatct
[0306] 3181 gtgactttgg ctttgcccgg gacatctaca aagacccga ctacgtccgc aagggcagtg
[0307] 3241 cccggctgcc cctgaagtgg atggcccctg aaagcatctt cgacaaggtg tacaccacgc
[0308] 3301 agagtgacgt gtggtccttt ggggtgcttc tctgggagat cttctctctg ggggcctccc
[0309] 3361 cgtaccctgg ggtgcagatc aatgaggagt tctgccagcg cgtgagagac ggcacaagga
[0310] 3421 tgagggcccc ggagctggcc actcccgcca tacgccacat catgctgaac tgctgggtccg
[0311] 3481 gagaccccaa ggcgagacct gcattctcgg agctgggtgga gatcctgggg gacctgctcc
[0312] 3541 agggcagggg cctgcaagag gaagaggagg tctgcatggc cccgcgcagc tctcagagct
[0313] 3601 cagaagaggg cagcttctcg cagggtgcca ccatggccct acacatgcc caggctgacg
[0314] 3661 ctgaggacag cccgccaagc ctgcagcgcc acagcctggc cgccaggtat tacaactggg
[0315] 3721 tgtcctttcc cgggtgcctg gccagagggg ctgagaccgg tggttcctcc aggatgaaga
[0316] 3781 catttgagga attccccatg accccaacga cctacaaagg ctctgtggac aaccagacag
[0317] 3841 acagtgggat ggtgctggcc tcggaggagt ttgagcagat agagagcagg catagacaag
[0318] 3901 aaagcggctt caggtagctg aagcagagag agagaaggca gcatacgtca gcattttctt
[0319] 3961 ctctgcactt ataagaaaga tcaaagactt taagacttcc gctattttctt ctactgctat
[0320] 4021 ctactacaaa cttcaaagag gaaccaggag gacaagagga gcatgaaagt ggacaaggag
[0321] 4081 tgtgaccact gaagcaccac agggaggggt taggcctccg gatgactgcg ggcaggcctg
[0322] 4141 gataatatcc agcctcccac aagaagctgg tggagcagag tgttccctga ctctccaag
[0323] 4201 gaaagggaga cgccctttca tggctctgctg agtaacaggt gccttcccag aactggcgt
[0324] 4261 tactgcttga ccaaagagcc ctcaagcggc ctttatgcca gcgtgacaga gggctcacct
[0325] 4321 cttgccttct aggtcacttc tcacaatgtc cttcagcac ctgacctgt gcccgcgat
[0326] 4381 tattccttgg taatatgagt aatacatcaa agagtagtat taaaagctaa ttaatcatgt
[0327] 4441 ttataaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa
[0328] <210> 6
[0329] <211> 1350
[0330] <212> DNA

[0331] <213> 未知
[0332] <400> 6
[0333] 1 aggattcage agcctceccc ttgagccccc tcgcttcccg acgttccggt cccccctgcc
[0334] 61 cgccttctcc cgccaccgcc gccgccgct tccgcaggcc gtttcccacc gaggaaaagg
[0335] 121 aatcgatcg tatgtccgct atccagaacc tccactcttt cgaccctttt gctgatgcaa
[0336] 181 gtaagggtga tgacctgctt cctgctggca ctgaggatta tatccatata agaattcaac
[0337] 241 agagaaacgg caggaagacc ctactactg tccaagggat cgctgatgat tacgataaaa
[0338] 301 agaaactagt gaaggcgctt aagaaaaagt ttgcctgcaa tggactgta attgagcatc
[0339] 361 cggaatatgg agaagtaatt cagctacagg gtgaccaacg caagaacata tgccagttcc
[0340] 421 tcgtagagat tggactggct aaggacgac agctgaaggt tcatgggctt taagtgttg
[0341] 481 tggctcactg aagcttaagt gaggatttat ttccttgca atgagtagaa tttccttct
[0342] 541 ctcccttgte acaggtttta aaacctcaca gcttgataa tgtaaccatt tggggtccgc
[0343] 601 ttttaacttg gactagtgta actccttcat gcaataaact gaaaagagcc atgctgtcta
[0344] 661 gtcttgaagt cctcattta aacagaggte aagcaatagg cgctggcag tgtaagcct
[0345] 721 gaaaccaagc aataccgtca tgtttcagcc aagcccagag ccctaagatt acaacaact
[0346] 781 atggccggaa cctccgcagc tctccctctg cagagttccc taccctaaga gaatgttacc
[0347] 841 acctgaacag tctcgggtga atctgagagg agaggatggg gtaaggcaga agcaccagct
[0348] 901 gtactactag aaggagctt ttgggtgtag atcccctggt gtctccaacc tgactaggtg
[0349] 961 gacagagctc aaagaggccc tcttaccgct agcgagggtga taggacatct ggcttgccac
[0350] 1021 aaaggtctgt tcgaccagac atatcctagc taagggatgt ccaaacatca gaatgtgagg
[0351] 1081 ccaaccttct atcagagtta aacttttgac aagggaacaa atctcaaact gatccatcag
[0352] 1141 tcatgtagct agctgtagag cttgcaactt aatagcagca gctgccaat gccatgtgaa
[0353] 1201 gtaacaaact ggTTTTTGGT TTTTTTTC cttcagttt taatgttatg tgtaatgtat
[0354] 1261 ttaaaccctt atttaataa aacttgTTTT cagaaataaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
[0355] 1321 aaaaaaacct gcccggcgcg 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 cgccccgggca ttcagatttg ggagaagtag ccccagaaat
61  aaaagcatca gagagacgaa cagctgtggc cattgcagat ttggaatgga gagaaatgga
121 aggagatgat tgcgagttcc gttatggaga tggtaacaaat 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 ccactatggt gctggacgtg ctcccagacg ccaggcctgt
421 ggagaaggag agccagatgg aagaggagat catctactgg gaccagctg atgaccttgc
481 tgccgacatt tattcctttt ctgagctgcc caccctgat acgccagtga accccttaga
541 ccttctctgt gccctgctgc tctctcaga cagtttctg caacaagaaa tagcgttgaa
601 aatggccctc tgccagtttg cactcccact cgtgttgcc t gactcggaga accactacca
661 tacatttctg ctgtgggcca tgcggggcat tgtgaggaca tgggtggccc agcccccaag
721 gggcatgggg agcttccggg aagacagcgt ggtcttgtcc agggcgccc ccttcgcctt
781 cgtgcgcatg gacgtcagta gcaactcaa gtcccagctt ctcaacgcc tcctcagccc
841 gggccacagg cagtgggact gcttctggca tccggacctc aacttgggca ccaatgcccg
901 ggagatttct gatgggttgg tagaaatttc ctggtttttt 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 ccgcaaactg ggcctaaagg tcgacgagga
1381 ctgtgaggag tgtcagaaag cgaaagaccg gatggagagg attaccagga aaatcaaaga
1441 ctcggatgcc tacagaaggg acgagctgag gctgcagggg gacccttga gaaaggcagc
1501 ccaagtggag aaggagtctt gccagctcca gtgggccgtg gacccccctg agaagcacag
1561 ggctgagctg aggcggcggc tgctagaact tcgaatgcag cagaacggcc atgattcctc
1621 ctcggggggtg caggagttea tctcggggat cagcagcccc tccttgagtg agaagcagta
  
```

1681 cttcctgagg tggatggagt ggggcctggc acgggtggcc cagccgcgac tgagacagcc
 1741 tccggagacg cttctcacc c tgagacaaa gcacgggggc accacagacg tgggggagcc
 1801 gctctggcct gagcccctag ggggtggaaca cttcttgccg gagatgggac agttttatga
 1861 ggctgagagc tgtcttgtgg aggcagggag gctgccggca ggccagagge gttttgceca
 1921 cttcccagge ttggcctcgg agctgctgct gacagggctg cctctggagc taatcgatgg
 1981 gagcacgctg agcatgcccc tccgctgggt cacagggctc ctgaaggagc tgcacgtccg
 2041 actggagaga cggtaagge tgggtggttct gtcaaccgtc ggggtgccag gcacgggcaa
 2101 gtccacactc ctcaacacca tgtttgggct gcggtttgcc acaggaaga gctgcggctc
 2161 tcgaggggccc ttcattgcagc tcatcacagt ggctgagggc ttcagccagg acctgggctg
 2221 tgaccacatc ctgggtgatag actccggggg cttgataggt ggggccttga cgtcagctgg
 2281 ggacagattt gagctggagg cttccttggc cactctgctc atgggactga gcaatgtcac
 2341 cgtgatcagt ctagctgaaa ccaaggacat tccagcagct attctgcatg catttctgag
 2401 gtttagaaaa acggggcaca tgcccaacta ccagtttgta taccagaacc ttcattgatgt
 2461 atctgttccc ggccctagge ccagagacaa gagacagctc ctggatccac ctgggtgacct
 2521 gagcagggct 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 tgagctgggtg agacggctgt gagtgtgcag agaaaccagc ttcaggtgta ggagctgct
 2821 gtgggcagcc ctgtctgatg gggcacccgt gtggggctgt gctctgggtc ctgagaatgg
 2881 ctgggtgceca atcgacatga gaagacgagc agaagacaga gggtttggag tctcctcaac
 2941 agtgttaaaa gaggaagtga cctcacagac cagctcagag atgttaccac gaatatcaca
 3001 gccccaggg tagggagaca agcagcagtt tgttctgtct cagctcctgt caaggatcct
 3061 gcgggggtggg ccctctgtat agctgctctc tgctactggc ccctggagtg ggagcagcgt
 3121 ccttagtcac tgcaggccca ggcgggcagg tgggtcccagg acagaggtgg ggaagttgtc
 3181 ctgaggaagc agaagtaggc cttgctcccg cccaacccaa gggcctccag tggaccagca
 3241 ttcaagatgt gagtgccctg ggtgtgcaag gcactcccat ggcaccgtat ttattgactg
 3301 atctgtgaag gcttccctga cccctgceca ggaagagttc actggctgct ctgttgtgcc
 3361 ccacagcact ttgttatacc tctgccacac acttcacgca gcgcgttga actcatgtgt
 3421 ttacatgtct gtccccccag actgtgagct ccttgagggc agggactgta cattctccag
 3481 ctctgtgtcc ccaggcctg 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 gggaccacg acgacagaag gcgccgatgg ccgcgctgc
 61 tgagccctgc gcggggcagg gggctctgaa ccagacagag cctgaacctg ccgccaccag
 121 cctgctgagc ctgtgcttcc tgagaacagc aggggtctgg gtacccccca tgtacctctg
 181 ggctccttggc cccatctacc tectettcat ccaccacat ggccggggct acctccggat
 241 gtccccactc ttcaaagcca agatggtagc tgccatccct gggagcctgg aaccaggcaa
 301 tgttcggggg aggcagggga caggctgaa cctgggtaag 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 ctgcatcgct cccaatgtcc gctcctgcca ggatggagag
 61 caaggggcca cctgcccaga aaccatgga ccatgtgggg agtacggctg tgaccttacc
 121 tgcaaccatg gaggtgtca ggaggcggcc cgagtgtgcc ccgtgggctt ctcgatgacg
 181 gagacagctg ttggcatcag gtgtacagac attgacgaat gtgtaacctc ctctgacgag
 241 ggccactgtg tgaacacaga aggtgggttt gtgtgagagt gtgggccggg catgcagctg
 301 tctgccgacc gccacagctg ccaagacact gacgaatgcc tagggactcc ctgtcagcag
 361 agatgtaaaa acagcattgg cagctacaag tgttcctgtc gaactggctt caccttcatg
 421 gcaaccggca ctctgtgta gatgtaaagc agtgtcggag gccattggag aggcgaagtc
 481 tgtcaccatt cctgccaca caccgtgggc agcttccat gcacatgccg acctggttcc
 541 aggctccgag ctgaccgctg gtctctgtaa gctttcccga aagccgtgct ggccccatct
 601 gccatcctgc aaccccgga acaccgtcc aagatgcttc tgttcttcc tgaggccggc
 661 cgccctgccc tgtccccagg acatagccct ccttctgggg ctccagggcc ccagccgga
 721 gtcaggacca cccgctgcc atctcccacc ccacgactac ccacatctc ccttctgccc
 781 cctgtgtggt tgctgtccac cctgctggcc accccagtgc ctactgctc cctgtgtggg
 841 aacctcagac cccctcact ccttcagggg gaggtgatgg ggacccttc ctaccaccag
 901 ggccctgagt ccccccact ggcagcagg ccctctccct gctggcacct gggagccatg
 961 catgaatcaa ggagtcgctg gacagagcct ggggtttccc agtgctgggt cgaggacggg
 1021 aaggtgacct gtgaaaagg gaggtgtgaa gctgcttgtt cccaccaat tcctccaga
 1081 gatggtgggt gctgcccac gtgcacaggc tgttttca gttgtgctg ccgagctgaa

1141 ggggatgtgt tttcacctcc caatgagaac tgcaccgtct gtgtctgtct ggctggaaac
 1201 gtgtcctgca tctctctga gtgtccttct ggccccctgtc agaccccccc acagacggat
 1261 tgctgtactt gtgttccagt gagatgctat ttccacggcc ggtggtacgc agacggggct
 1321 gtgttccagt ggggtggtga cgagtgtacc acctgtgttt gccagaatgg ggaggtggag
 1381 tgctccttca tgccctgccc tgagctggcc tgcccccgag aagagtggcg gctgggcccct
 1441 gggcagtggt gcttcacctg ccaggagccc acaccctcga caggctgtct tcttgacgac
 1501 aacgggggtg agtttccgat tggacagatc tggtcgctg gtgaccctg tgagttatgc
 1561 atctgccagg cagatggctc ggtgagctgc aagaggacag actgtgtgga ctctgcctcct
 1621 caccgatcc ggatccctgg acagtgtctc ccagactggt cagcaggctg cacctacaca
 1681 ggcagaatct tctataacaa cgagaccttc ccgtctgtgc tggaccatg tctgagctgc
 1741 atctgcctgc tgggctcagt ggccctgttc cccgtggact gccccatcac ctgtacctac
 1801 cctttccacc ctgacgggga gtgtgcccc gtgtgccgag actgcaacta cgagggaagg
 1861 aaggtggcga atggccaggt gttcaccttg gatgatgaac cctgcaccgc gtgcacgtgc
 1921 cagctgggag aggtgagctg tgagaagggt cctgccagc gggcctgtgc cgaccctgcc
 1981 ctgcttctg gggactgctg ctcttctgt ccagattgcc ctgtctctc tggagaagaaa
 2041 gcaggggctc tcccctcac gaaaatgtgg cattcagcaa agctggtcgg gagcctgcct
 2101 ggagacactg aggccccgt caactgtagc tctgtcctg ggccccgac agcatcacc
 2161 tcgaggccgg tgcttcatct cctccagctc cttttaagaa cgaacttgat gaaaacacag
 2221 actttacct caagcccggc aggagctcat ggtccacact cactcgctt ggggctgaca
 2281 gccacttcc caggggggagc ctggggcctc cctcagactc tcaccagggc cttcgacccc
 2341 tccaggagcc cccactctac ctctagcttc cccaggggct cctcagccac ctctgtgac
 2401 tccagagcgc tegttctcag cctctggggc ccagatagtg tccagggtgc ctctctgcc
 2461 tggcaccctc ctgacggaag ctccagcact ttccatgatg gaccccagcc cctcgaagac
 2521 cccatcacc tctcggggc tegegtgctt tctcccacca cctctagact ctccacagcc
 2581 cttgcagcca ccaccaccc tgccccccag cagccccag tgggggcttc tcggggggaa
 2641 gagtccacca tgtaaggagg tcaactgtgc 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 agtttctctg
 2941 gaggaagagt tgcgtccggc tgggattcca ctcaactggga ctgtaccgcc aggtgtcatg
 3001 cgtctttctg aggtttctg 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 cctgctcca aagtcacgt ccggtttctc
 121 actgtgatga tgaagcatgg ttacattggc gaatttgaaa tcattgatga ccacagagct
 181 gggaaaattg ttgtgaacct cacaggcagg ctaaacaagt gtggggatgat aagccccaga
 241 tttgacgtgc aactcaaaga cctggaaaaa tggcagaata atctgcttcc atccccag
 301 tttggtttca ttgtactgac aacctcagct ggcatcatgg accatgaaga agcaagacga
 361 aaacacacag gagggaaaat cctgggatte tttttctagg gatgtaatac atatatttac
 421 aaataaaatg cctcatggac tctggtgctt ccaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
 481 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaattaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa

<210> 5

<211> 4475

<212> DNA

<213> 未知

<400> 5

1 cccacgcgca gcggccggag atgcagcggg gcgcccgcct gtgcctgcga ctgtggctct
 61 gcctgggact cctggacggc ctggtgagtg actactccat gaccccccg acctgaaca
 121 tcacggagga gtcacacgtc atcgacaccg gtgacagcct gtccatctcc tgcaggggac
 181 agcacccct cgagtgggct tggccaggag ctcaggaggc gccagccacc ggagacaagg
 241 acagcgagga cacgggggtg gtgcgagact gcgagggcac agacgccagg ccctactgca
 301 aggtgttgct gctgcacgag gtacatgcca acgacacagg cagctacgtc tgctactaca
 361 agtacatcaa ggcacgcatc gagggcacca cggcccagc ctcctacgtg ttcgtgagag
 421 actttgagca gccattcacc aacaagcctg acacgctctt ggtcaacagg aaggacgcca
 481 tgtgggtgcc ctgtctggtg tccatccccg gcctcaatgt cacgctgcgc tcgcaaagct
 541 cgggtctgtg gccagacggg caggaggtgg tgtgggatga ccggcggggc atgctcgtgt
 601 ccacgccact gctgcacgat gccctgtacc tgcagtgcga gaccacctgg ggagaccagg
 661 acttctttc caacccttc ctggtgcaca tcacaggcaa cgagctctat gacatccagc
 721 tgttgcccag gaagtcgctg gagctgctgg taggggagaa gctggctctc aactgcaccg
 781 tgtgggctga gtttaactca ggtgtcacct ttgactggga ctaccaggga aagcaggcag
 841 agcggggtaa gtgggtgccc gagcgcgct 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 tgggtctcaa ggaggtgaca gaggccagca
 1201 caggcaccta caccctcgcc ctgtggaact ccgctgctgg cctgaggcgc aacatcagcc
 1261 tggagctggt ggtgaatgtg cccccagaa tacatgagaa ggagcctcc tccccagca
 1321 tctactegcg tcacagccgc caggccctca cctgcacggc ctacggggtg ccctgctc
 1381 tcagcatcca gtggcactgg cggccctgga caccctgcaa gatgtttgcc cagegtagtc

1441 tccggcggcg gcagcagcaa gacctcatgc cacagtgccg tgactggagg gcggtgacca
1501 cgcaggatgc cgtgaacccc atcgagagcc tggacacctg gaccgagttt gtggagggaa
1561 agaataagac tgtgagcaag ctggtgatcc agaatgccaa cgtgtctgcc atgtacaagt
1621 gtgtggtctc caacaaggtg ggccaggatg agcggctcat ctacttctat gtgaccacca
1681 tccccgacgg cttcaccate gaatccaagc catccgagga gctactagag ggccagccgg
1741 tgctcctgag ctgccaagcc gacagctaca agtacgagca tctgcgctgg taccgctca
1801 acctgtccac gctgcacgat gcgcacggga acccgcttct gctcgactgc aagaacgtgc
1861 atctgttcgc caccctctg gccgccagcc tggaggaggt ggcacctggg gcgcgccacg
1921 ccacgctcag cctgagtate ccccgcgtcg cggccgagca 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 gatccttgtc ggtaccggcg tcatcgtgt cttcttctgg gtccctctcc
2401 tcctcatctt ctgtaacatg aggaggccgg cccacgcaga catcaagacg ggctacctgt
2461 ccatcatcat ggaccccggg gagggtgcctc tggaggagca atgcgaatac ctgtcctacg
2521 atgccagcca gtgggaatte ccccgagagc ggctgcacct ggggagagtg ctcggctacg
2581 gcgccttcgg gaaggtggtg gaagcctccg ctttcggcat ccacaagggc agcagctgtg
2641 acaccgtggc cgtgaaaatg ctgaaagagg gcgccacggc cagcgagcag cgcgcgctga
2701 tgctggagct caagatcctc attcacatcg gcaaccacct caacgtggtc aacctcctcg
2761 gggcgtgcac caagcgcgag ggccccctca tggatgatcgt ggagtctctg aagtacggca
2821 acctctccaa cttcctgcgc 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 cgaaagtgea
3121 tccacagaga cctggctgct cggaaacattc tgctgtcgga aagcgacgtg gtgaagatct
3181 gtgacttttg ccttgcccgg gacatctaca aagaccccga ctacgtccgc aagggcagtg
3241 cccggtgcc cctgaagtgg atggcccctg aaagcatctt cgacaaggtg tacaccacgc
3301 agagtgacgt gtggtccttt ggggtgcttc tctgggagat cttctctctg ggggctccc
3361 cgtaccctgg ggtgcagatc aatgaggagt tctgccagcg cgtgagagac ggcacaagga
3421 tgagggcccc ggagctggcc actcccgcca tacgccacat catgctgaac tgetggtccg
3481 gagaccccaa ggcgagacct gcattctcgg agctggtgga gatcctgggg gacctgtctc
3541 agggcagggg cctgcaagag gaagaggagg tctgcatggc cccgcgcagc tctcagagct
3601 cagaagaggg cagcttctcg caggtgtcca ccatggccct acacatcgc caggetgacg
3661 ctgaggacag cccgccaagc ctgcagcgc acagcctggc cgccaggtat tacaactggg
3721 tgtcctttcc cgggtgcctg gccagagggg ctgagaccgg tggttcctcc aggatgaaga

3781 catttgagga attceecatg accccaacga cctacaaagg ctctgtggacaaccagacag
 3841 acagtgggat ggtgctggcc tcggaggagt ttgagcagat agagagcagg catagacaag
 3901 aaagcggctt caggtagctg aagcagagag agagaaggca gcatacgtca gcattttctt
 3961 ctctgcactt ataagaaaga tcaaagactt taagactttc gctattttctt ctactgctat
 4021 ctactacaaa cttcaaagag gaaccaggag gacaagagga gcatgaaagt ggacaaggag
 4081 tgtgaccact gaagcaccac agggagggggt 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 gcccgccgat
 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 acgttccggt cccccctgcc
 61 cgccttctcc cgccaccgcc gccgccgcct tccgcaggcc gtttcccacc gaggaaaagg
 121 aatcgtatcg tatgtccgct atccagaacc tccactcttt cgaccctttt gctgatgcaa
 181 gtaagggtga tgacctgctt cctgctggca ctgaggatta tatccatata agaattcaac
 241 agagaaacgg caggaagacc ctactactg tccaagggat cgctgatgat tacgataaaa
 301 agaaactagt gaaggcgttt aagaaaaagt ttgcctgcaa tggctactgta attgagcatc
 361 cggaatatgg agaagtaatt cagctacagg gtgaccaacg caagaacata tgccagttcc
 421 tcgtagagat tggactggct aaggacgatc agctgaaggt tcatgggttt taagtgcttg
 481 tggctcactg aagcttaagt gaggatttat ttcccttgca atgagtagaa tttcccttct
 541 ctcctttgtc acaggtttaa aaacctcaca gcttgataaa tgtaaccatt tggggtccgc
 601 ttttaacttg gactagtgta actccttcat gcaataaact gaaaagagcc atgctgtcta
 661 gtcttgaagt cctcatttta aacagaggtc aagcaatagg cgctggcag tgtcaagcct
 721 gaaaccaagc aataccgtca tgtttcagcc aagcccagag ccctaagatt acaaacaaact
 781 atggccggaa cctccgcagc tctccctctg cagagttccc taccctaaga gaatgttacc
 841 acctgaacag tcctcgggtga atctgagagg agaggatggg gtaaggcaga agcaccagct
 901 gtactactag aaggagcctt ttggtggtag atcccctggt gtctccaacc tgactaggtg
 961 gacagagctc aaagaggccc tcttaccgct agcgagggtga taggacatct ggettgccac
 1021 aaaggtctgt tcgaccagac atatcctagc taagggatgt ccaaacaatca gaatgtgagg
 1081 ccaaccttct atcagagtta aacttttgac aagggaacaa atctcaaaact gatecatcag
 1141 tcatgtagct agctgtagag cttgcaactt aatagcagca gctgccaat gccatgtgaa
 1201 gtaacaaact ggtttttgggt ttttttttcc ccttcagttt taatgttatg tgtaatgtat

1261 ttaaaccctt atttaaataa aacttgtttt cagaaataaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
1321 aaaaaaacct gcccgggcgg ccgctcgagc

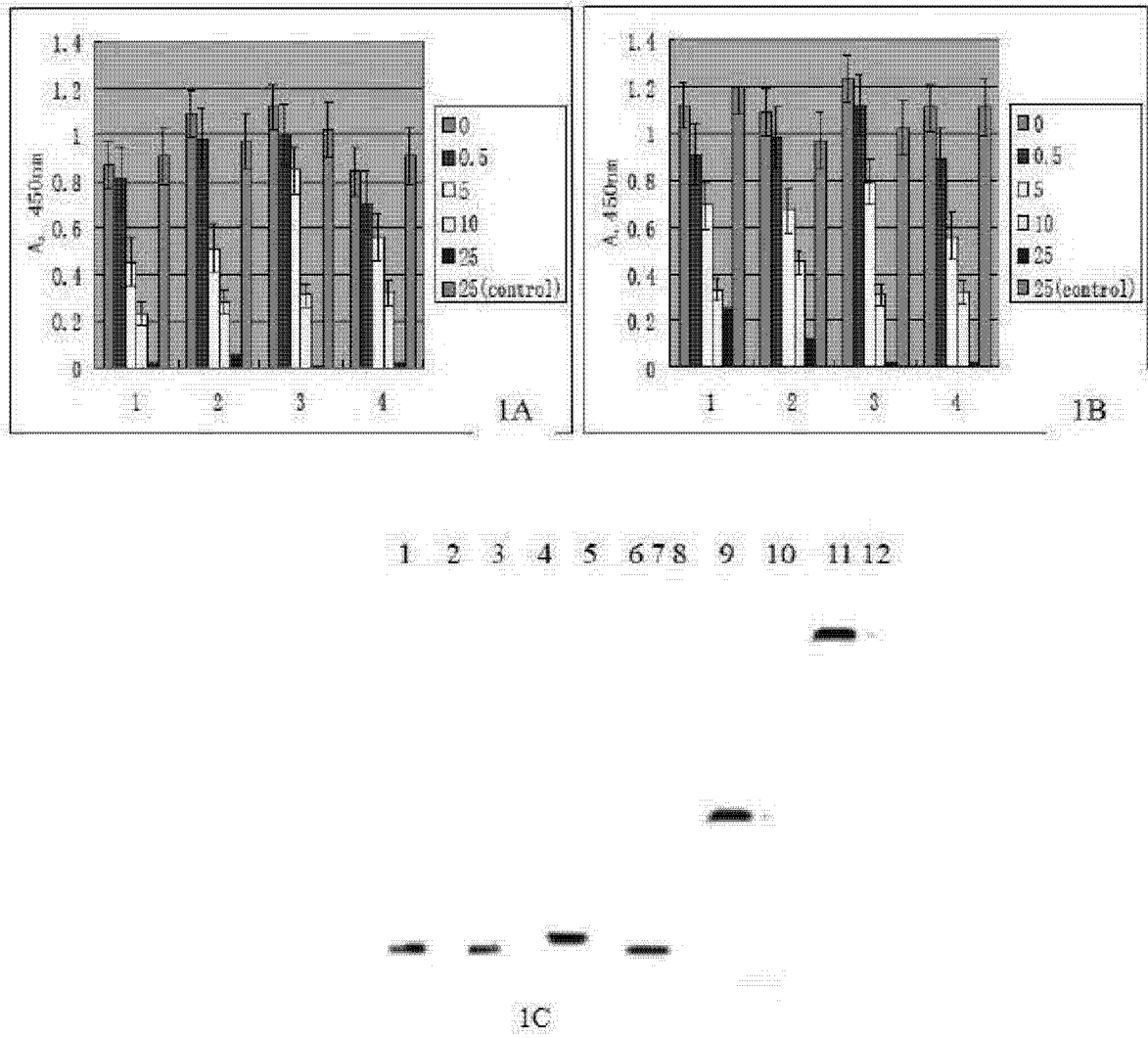


图 1

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	CN103543265B	公开(公告)日	2015-07-15
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		
审查员(译)	李倩		
其他公开文献	CN103543265A		
外部链接	Espacenet SIPO		

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。

