



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 105051541 A

(43) 申请公布日 2015. 11. 11

(21) 申请号 201380063495. 6

G01N 33/567(2006. 01)

(22) 申请日 2013. 10. 11

G01N 33/53(2006. 01)

(30) 优先权数据

61/712, 578 2012. 10. 11 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 06. 04

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/US2013/064536 2013. 10. 11

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/059274 EN 2014. 04. 17

(71) 申请人 爱贝斯股份有限公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 R·K·梅拉 K·P·阿伦

D·M·布莱勒 T·P·福赛思

J·D·沃克 C·R·奎西科

(74) 专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 封新琴

(51) Int. Cl.

G01N 33/554(2006. 01)

权利要求书3页 说明书34页

序列表54页 附图5页

(54) 发明名称

用于检测埃里希体属抗体的肽、装置和方法

(57) 摘要

本发明提供了用于检测结合埃里希体属抗原的抗体的肽组合物和混合物。所述肽组合物包含基于埃里希体属外膜蛋白 1(OMP-1) 蛋白的免疫原性片段的多肽序列。本发明还提供了用于检测结合埃里希体属抗原的抗体和诊断单核细胞埃里希体病和 / 或粒细胞埃里希体病的包含这类肽组合物和混合物装置、方法和试剂盒。

1. 一种包含三种或更多种不同肽的分离的肽的群体,其中所述群体中的每一种肽包含以下序列:

(i)

S-X₂-K-E-X₅-K-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X₃₉-A-E-T-R-X₄₄-T-F-G-L-X₄₉-K-Q-Y-D-G-A-X₅₆-I-X₅₈-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C(SEQ ID NO:72) 或其片段,

其中 X₂为选自 A 和 V 的氨基酸, X₅为选自 E 和 D 的氨基酸, X₈为选自 T 和 P 的氨基酸, X₁₀为选自 T 和 V 的氨基酸, X₁₁为选自 G 和 A 的氨基酸, X₁₂为选自 L 和 V 的氨基酸, X₁₃为选自 Y 和 F 的氨基酸, X₁₈为选自 D 和 N 的氨基酸, X₂₀为选自 D 和 N 的氨基酸, X₂₂为选自 S 和 V 的氨基酸, X₂₃为选自 A、S 和 T 的氨基酸, X₂₄为选自 A 和 I 的氨基酸, X₂₅为选自 T 和 P 的氨基酸, X₂₆为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X₃₉为任何氨基酸, X₄₄为任何氨基酸, X₄₉为任何氨基酸, X₅₆为任何氨基酸, 以及 X₅₈为任何氨基酸, 或

(ii)

S-X₂-K-E-X₅-K-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X₃₉-A-X₄₁-T-R-X₄₄-T-F-G-X₄₈-X₄₉-K-Q-Y-D-G-A-X₅₆-I-X₅₈-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C(SEQ ID NO:3) 或其片段,

其中 X₂为选自 A 和 V 的氨基酸, X₅为选自 E 和 D 的氨基酸, X₈为选自 T 和 P 的氨基酸, X₁₀为选自 T 和 V 的氨基酸, X₁₁为选自 G 和 A 的氨基酸, X₁₂为选自 L 和 V 的氨基酸, X₁₃为选自 Y 和 F 的氨基酸, X₁₈为选自 D 和 N 的氨基酸, X₂₀为选自 D 和 N 的氨基酸, X₂₂为选自 S 和 V 的氨基酸, X₂₃为选自 A、S 和 T 的氨基酸, X₂₄为选自 A 和 I 的氨基酸, X₂₅为选自 T 和 P 的氨基酸, X₂₆为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X₃₉为任何氨基酸, X₄₁为选自 D 和 N 的氨基酸, X₄₄为任何氨基酸, X₄₈为选自 V 和 A 的氨基酸, X₄₉为任何氨基酸, X₅₆为任何氨基酸, 以及 X₅₈为任何氨基酸。

2. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体, 其中 X₃₉为 K。

3. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体, 其中 X₄₄为选自 K 和 R 的氨基酸, 以及 X₄₉为选自 E 和 D 的氨基酸。

4. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体, 其中 X₅₆为选自 K 和 Q 的氨基酸, 以及 X₅₈为选自 E 和 T 的氨基酸。

5. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体, 其中所述片段包含至少 20、25、30、35 或 40 个来自 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的连续氨基酸。

6. 根据权利要求 5 所述的分离的肽的群体, 其中所述片段包含 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的氨基酸 33 至 71。

7. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体, 其中每一种分离的肽包含额外的 N 末端肽序列, 所述序列为天然 OMP-1 序列或非 -OMP-1 埃里希体属抗原。

8. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体, 其中每一种分离的肽包含额外的 C 末端肽序列, 所述序列为天然 OMP-1 序列或非 -OMP-1 埃里希体属抗原。

9. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体, 其中每一种分离的肽包含至少 70、75、80 或 85 个氨基酸。

10. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体, 其中所述分离的肽的一种或多种被缀合

至配体或被生物素化。

11. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体,其中所述分离的肽的一种或多种缀合至抗生物素蛋白、链霉抗生物素蛋白、中性抗生物素蛋白、血清白蛋白、钥孔血蓝蛋白 (KLH)、酶或金属纳米颗粒或纳米壳。

12. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体,其中所述肽的群体任选地经由金属纳米层被固定至固体支持物。

13. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体,其中所述固体支持物是多个珠粒、侧流免疫测定装置中的流动通道、微量滴定板中的孔或转子中的流动通道。

14. 根据权利要求 1 所述的分离的肽的群体,其中所述群体还包括来自埃里希体属物种的一种或多种抗原性肽。

15. 根据权利要求 14 所述的分离的肽的群体,其中所述一种或多种抗原性肽具有 F-S-A-K-E-E-X₇-A-E-T-R-X₁₂-T-F-G-L-X₁₇-K-Q-Y-D-G-A-X₂₄-I-X₂₆-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO:71) 的序列或其片段,其中 X₇为任何氨基酸,X₁₂为任何氨基酸,X₁₇为任何氨基酸,X₂₄为任何氨基酸,并且 X₂₆为任何氨基酸。

16. 根据权利要求 15 所述的分离的肽的群体,其中 SEQ ID NO:71 中的 X₇为 K。

17. 根据权利要求 15 所述的分离的肽的群体,其中 SEQ ID NO:71 中的 X₁₂为选自 K 和 R 的氨基酸,并且 SEQ ID NO:71 中的 X₁₇为选自 E 和 D 的氨基酸。

18. 根据权利要求 15 所述的分离的肽的群体,其中 SEQ ID NO:71 中的 X₂₄为选自 K 和 Q 的氨基酸,并且 SEQ ID NO:71 中的 X₂₆为选自 E 和 T 的氨基酸。

19. 一种用于检测样品中的针对埃里希体属抗原的表位的抗体的方法,所述方法包括:

将样品与权利要求 1 所述的分离的肽的群体接触;和

检测所述群体中包含所述一种或多种肽的抗体-肽复合物的形成,

其中所述复合物的形成表明针对埃里希体属抗原的表位的抗体存在于所述样品中。

20. 根据权利要求 19 所述的方法,其中所述埃里希体属抗原来自恰菲埃里希体、埃翁氏埃里希体、犬埃里希体或小鼠埃里希体物种。

21. 根据权利要求 19 所述的方法,其中所述分离的肽的群体任选地经由金属纳米层被固定至固体支持物。

22. 根据权利要求 21 所述的方法,其中所述固体支持物是多个珠粒、侧流测定装置中的流动通道、微量滴定板中的孔或转子中的流动通道。

23. 根据权利要求 19 所述的方法,其中所述检测步骤包括 (i) 进行 ELISA 测定,(ii) 运行侧流测定,(iii) 进行凝集测定,(iv) 进行蛋白质印迹、狭缝印迹或斑点印迹,(v) 进行波长移动测定,或 (vi) 经由分析或离心转子运行所述样品。

24. 根据权利要求 19 所述的方法,其中所述样品来自人、犬或猫受试者。

25. 根据权利要求 19 所述的方法,其中所述样品是血液、血清、血浆、脑脊髓液、组织提取液、尿或唾液样品。

26. 根据权利要求 19 所述的方法,其中检测到多种抗体-肽复合物的形成,且其中所述复合物的形成表明针对来自多种埃里希体属物种的埃里希体属抗原的表位的抗体存在于所述样品中。

27. 一种用于诊断受试者的单核细胞埃里希体病和 / 或粒细胞埃里希体病的方法, 所述方法包括:

将来自所述受试者的样品与权利要求 1 所述的分离的肽的群体接触; 和
检测所述群体中包含所述一种或多种肽的抗体 - 肽复合物的形成,

其中所述复合物的形成表明所述受试者患有单核细胞埃里希体病和 / 或粒细胞埃里希体病。

28. 一种试剂盒, 其包括权利要求 1 所述的分离的肽的群体和能够结合识别所述群体中所述一种或多种肽的表位的抗体的标记试剂。

29. 根据权利要求 28 所述的试剂盒, 其中所述分离的肽的群体任选地经由金属纳米层被连接至或固定在固体支持物上。

30. 根据权利要求 28 所述的试剂盒, 其中所述固体支持物是多个珠粒、管或孔、侧流测定装置、或分析或离心转子。

31. 根据权利要求 28 所述的试剂盒, 其中所述标记试剂为缀合至可检测标记物的抗人、抗犬或抗猫 IgG 或 IgM 抗体。

32. 根据权利要求 31 所述的试剂盒, 其中所述可检测标记物是酶、金属纳米颗粒、金属纳米壳、金属纳米层、荧光团或彩色胶乳颗粒。

33. 根据权利要求 28 所述的试剂盒, 其中所述标记试剂为缀合至可检测标记物的蛋白 A、蛋白 G、和 / 或蛋白 A/G 融合蛋白。

34. 根据权利要求 33 所述的试剂盒, 其中所述可检测标记物是酶、金属纳米颗粒、金属纳米壳、金属纳米层、荧光团或彩色胶乳颗粒。

用于检测埃里希体属抗体的肽、装置和方法

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2012 年 10 月 11 日提交的美国临时申请第 61/712,578 号的权益,该临时申请以引用方式整体并入本文。

[0003] 电子提交的文本文件的描述

[0004] 随同电子提交的文本文件的内容以引用的方式整体并入本文:序列表的计算机可读格式副本(文件名:ABAX_040_01W0_SeqList_ST25.txt,记录日期:2013 年 10 月 10 日,文件大小 62 千字节)。

[0005] 发明背景

[0006] 埃里希体属 (*Ehrlichia*) 细菌是感染哺乳动物宿主中循环淋巴细胞的专性细胞内病原体。犬埃里希体 (*Ehrlichia canis*) 和恰菲埃里希体 (*Ehrlichia chaffeensis*) 是分别感染犬和人并且引发犬单核细胞埃里希体病 (CME) 和人单核细胞埃里希体病 (HME) 的相同亚属组的成员。被称为埃翁氏埃里希体 (*Ehrlichia ewingii*) 的另一种埃里希体具有对于粒细胞的趋向性并且引发粒细胞埃里希体病。犬疾病的特征在于发热、癫痫、共济失调、嗜睡、出血发作、淋巴结病、体重减轻,以及全血细胞减少。在人中,疾病的特征在于发热、头痛、肌痛,以及白细胞减少。早期检测和治疗对于治疗犬和人埃里希体病是非常重要的。

[0007] 间接免疫荧光测定法 (IFA) 和酶联免疫吸附测定法 (ELISA) 通常用于这类疾病的诊断。这类测定法测量或以其他方式检测来自受试者的血液、血浆或血清的抗埃里希体属抗体对受感染细胞、细胞溶解产物或部分纯化的全埃里希体属蛋白的结合。然而,目前已知的用于检测抗埃里希体属抗体或其片段的测定法因为与这类测试中使用的埃里希体属抗原的不纯性质直接相关的敏感性和特异性问题而在效用受到严重限制。即,目前已知的测定法使用许多全埃里希体属抗原或非物种特异性抗原的混合物。

[0008] 因此,本领域中仍然需要用于检测埃里希体属抗原和进行单核细胞埃里希体病和粒细胞埃里希体病的血清学诊断的其他测定法。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明部分地基于这样的发现:埃里希体属外膜蛋白 1 (OMP-1) 蛋白的片段的某些序列变体可对针对多种埃里希体属物种的抗体反应提供稳健的检测。因此,本发明提供了用于检测结合埃里希体属抗原的抗体和诊断单核细胞和 / 或粒细胞埃里希体病的组合物、装置、方法和试剂盒。

[0011] 在一个方面,本发明提供了能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽。在某些实施方案中,本发明的肽包含 S-X₂-K-E-D-K-Q-T-T-X₁₀-X₁₁-I-W-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-P-X₂₄-X₂₅-X₂₆-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀-X₃₁-X₃₂-X₃₃-X₃₄-X₃₅-X₃₆-X₃₇-X₃₈-X₃₉-C (SEQ ID NO:1) 的序列或其片段,其中 X₂ 为选自 A 和 V 的氨基酸, X₁₀ 为选自 T 和 V 的氨基酸, X₁₁ 为选自 G 和 A 的氨基酸, X₁₈ 为选自 E 和 Q 的氨基酸, X₂₀ 为选自 D 和 N 的氨基酸, X₂₂ 为选自 S 和 V 的氨基酸, X₂₄ 为选自 A 和 I 的氨基酸, X₂₅ 为选自 T 和 P 的氨基酸, X₂₆ 为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X₂₇ 为除了 H、N、S 或 A 的任何氨基酸, X₂₈ 为除了 A、S 或 P 的任何氨基酸, X₂₉ 为除了 D、P、N 或 S 的任何氨

氨酸, X_{30} 为除了 A、E、D 或 S 的任何氨基酸, X_{31} 为除了 D、N、V 或 H 的任何氨基酸, X_{32} 为除了 F 或 T 的任何氨基酸, X_{33} 为除了 N、F 或 I 的任何氨基酸, X_{34} 为除了 N、T 或 D 的任何氨基酸, X_{35} 为除了 K、V 或 P 的任何氨基酸, X_{36} 为除了 G、P 或 S 的任何氨基酸, X_{37} 为除了 Y、N 或 T 的任何氨基酸, X_{38} 为除了 S、Y 或 I 的任何氨基酸, 以及 X_{39} 为除了 F 或 S 的任何氨基酸。

[0012] 在一些实施方案中, 本发明的肽包含 S- X_2 -K-E-D-K-Q-T-T-T- X_{11} -I-W-G-L-K-Q- X_{18} -W-D-G- X_{22} -P- X_{24} - X_{25} - X_{26} - X_{27} - X_{28} - X_{29} - X_{30} - X_{31} - X_{32} - X_{33} - X_{34} - X_{35} - X_{36} - X_{37} - X_{38} - X_{39} -C (SEQ ID NO:83) 的序列或其片段, 其中 X_2 为选自 A 和 V 的氨基酸, X_{11} 为选自 G 和 A 的氨基酸, X_{18} 为选自 E 和 Q 的氨基酸, X_{22} 为选自 S 和 V 的氨基酸, X_{24} 为选自 A 和 I 的氨基酸, X_{25} 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{26} 为选自 S 和 N 的氨基酸, X_{27} 为除了 H、N、S 或 A 的任何氨基酸, X_{28} 为除了 A、S 或 P 的任何氨基酸, X_{29} 为除了 D、P、N 或 S 的任何氨基酸, X_{30} 为除了 A、E、D 或 S 的任何氨基酸, X_{31} 为除了 D、N、V 或 R 的任何氨基酸, X_{32} 为除了 F 或 T 的任何氨基酸, X_{33} 为除了 N、F 或 I 的任何氨基酸, X_{34} 为除了 N、T 或 D 的任何氨基酸, X_{35} 为除了 K、V 或 P 的任何氨基酸, X_{36} 为除了 G、P 或 S 的任何氨基酸, X_{37} 为除了 Y、N 或 T 的任何氨基酸, X_{38} 为除了 S、Y 或 I 的任何氨基酸, 以及 X_{39} 为除了 F 或 S 的任何氨基酸。

[0013] 在其他实施方案中, 本发明的肽包含 S- X_2 -K-E- X_5 -K-Q- X_8 -T- X_{10} - X_{11} - X_{12} - X_{13} -G-L-K-Q- X_{18} -W- X_{20} -G- X_{22} - X_{23} - X_{24} - X_{25} - X_{26} -G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E- X_{39} -A- X_{41} -T-R- X_{44} -T-F-G- X_{48} - X_{49} -K-Q-Y-D-G-A- X_{56} -I- X_{58} -E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO:3) 的序列或其片段, 其中 X_2 为选自 A 和 V 的氨基酸, X_5 为选自 E 和 D 的氨基酸, X_8 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{10} 为选自 T 和 V 的氨基酸, X_{11} 为选自 G 和 A 的氨基酸, X_{12} 为选自 L 和 V 的氨基酸, X_{13} 为选自 Y 和 F 的氨基酸, X_{18} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{20} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{22} 为选自 S 和 V 的氨基酸, X_{23} 为选自 A、S 和 T 的氨基酸, X_{24} 为选自 A 和 I 的氨基酸, X_{25} 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{26} 为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X_{39} 为任何氨基酸, X_{41} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{44} 为任何氨基酸, X_{48} 为选自 V 和 A 的氨基酸, X_{49} 为任何氨基酸, X_{56} 为任何氨基酸, 以及 X_{58} 为任何氨基酸。

[0014] 在相关实施方案中, 本发明的肽包含 S- X_2 -K-E- X_5 -K-Q- X_8 -T- X_{10} - X_{11} - X_{12} - X_{13} -G-L-K-Q- X_{18} -W- X_{20} -G- X_{22} - X_{23} - X_{24} - X_{25} - X_{26} -G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-K- X_{40} -A-D-T-R- X_{45} -T-F-G-L- X_{50} -K-Q-T-D-G-A- X_{57} -I- X_{59} -E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO:85) 的序列或其片段, 其中 X_2 为选自 A 和 V 的氨基酸, X_5 为选自 E 和 D 的氨基酸, X_8 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{10} 为选自 T 和 V 的氨基酸, X_{11} 为选自 G 和 A 的氨基酸, X_{12} 为选自 L 和 V 的氨基酸, X_{13} 为选自 Y 和 F 的氨基酸, X_{18} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{20} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{22} 为选自 S 和 V 的氨基酸, X_{23} 为选自 A、S 和 T 的氨基酸, X_{24} 为选自 A 和 I 的氨基酸, X_{25} 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{26} 为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X_{40} 为任何氨基酸, X_{45} 为任何氨基酸, X_{50} 为任何氨基酸, X_{57} 为任何氨基酸, 以及 X_{59} 为任何氨基酸。

[0015] 还在其他实施方案中, 本发明的肽包含 S- X_2 -K-E- X_5 -K-Q- X_8 -T- X_{10} - X_{11} - X_{12} - X_{13} -G-L-K-Q- X_{18} -W- X_{20} -G- X_{22} - X_{23} - X_{24} - X_{25} - X_{26} -G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E- X_{39} -A-E-T-R- X_{44} -T-F-G-L- X_{49} -K-Q-Y-D-G-A- X_{56} -I- X_{58} -E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO:72) 的序列或其片段, 其中 X_2 为选自 A 和 V 的氨基酸, X_5 为选自 E 和 D 的氨基酸, X_8 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{10} 为选自 T 和 V 的氨基酸, X_{11} 为选自 G 和 A 的氨基酸, X_{12} 为选自 L 和 V 的氨基酸, X_{13} 为选自 Y 和 F 的氨基酸, X_{18} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{20} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{22} 为选自 S 和

V 的氨基酸, X_{23} 为选自 A、S 和 T 的氨基酸, X_{24} 为选自 A 和 I 的氨基酸, X_{25} 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{26} 为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X_{39} 为任何氨基酸, X_{44} 为任何氨基酸, X_{49} 为任何氨基酸, X_{56} 为任何氨基酸, 以及 X_{58} 为任何氨基酸。

[0016] 在某些实施方案中, 本发明的肽包含 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的序列或由所述序列组成, 其中 X_{39} 为 K。在其他实施方案中, 本发明的肽包含 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的序列或由所述序列组成, 其中 X_{44} 为选自 K 和 R 的氨基酸, 以及 X_{49} 为选自 E 和 D 的氨基酸。还在其他实施方案中, 本发明的肽包含 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的序列或由所述序列组成, 其中 X_{56} 为选自 K 和 Q 的氨基酸, 以及 X_{58} 为选自 E 和 T 的氨基酸。

[0017] 在一些实施方案中, 本发明的肽包含 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的片段。这些片段可包含来自 SEQ ID NO:1 的至少 10、15、20、25、30 或 35 个连续氨基酸或来自 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的至少 10、15、20、25、30、35 或 40 个连续氨基酸。在某些实施方案中, 本发明的肽可包含 SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:84 或 SEQ ID NO:86 的序列或由所述序列组成。

[0018] 在某些实施方案中, 本文所述的本发明的肽可进一步包含额外的 N 末端肽序列。额外的 N 末端肽序列可包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多个氨基酸并且可以是天然或非天然序列。在其他实施方案中, 本文所述的本发明的肽可进一步包含额外的 C 末端序列。额外的 C 末端肽序列可包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多个氨基酸并且可以是天然或非天然序列。在一些实施方案中, 非天然序列包含非 -OMP-1 埃里希体属抗原 (例如埃里希体属 p38、p43、p120、p140、p153、p156、p200、gp19、gp36、gp47、gp200 或 HGE-3)。

[0019] 在某些实施方案中, 本发明的肽包含至少 25、30、35、40、45、50 或更多个氨基酸。在某些实施方案中, 本发明的肽是分离的 (例如, 合成和 / 或纯化的) 肽。在某些实施方案中, 本发明的肽被缀合至配体。例如, 在某些实施方案中, 肽被生物素化。在其他实施方案中, 肽被缀合至链霉抗生物素蛋白、抗生物素蛋白或中性抗生物素蛋白。在其他实施方案中, 肽被缀合至载体蛋白 (例如, 血清白蛋白、钥孔血蓝蛋白 (KLH) 或免疫球蛋白 Fc 结构域)。还在其他实施方案中, 肽被缀合至树状聚合物和 / 或为多抗原肽系统 (MAPS) 的部分。

[0020] 在某些实施方案中, 本发明的肽被连接至或固定在固体支持物上。在一个实施方案中, 本发明的肽经由金属纳米层被连接至固体支持物。在某些实施方案中, 固体支持物为珠粒 (例如, 胶粒、金属纳米颗粒或纳米壳、胶乳珠粒等)、侧流免疫测定装置中的流动通道 (flow path) (例如, 多孔膜)、印迹 (蛋白质印迹 (Western blot)、狭缝印迹或斑点印迹)、分析或离心转子中的流动通道、或管或孔 (例如, 在适用于 ELISA 测定法的板中)。

[0021] 在另一个方面, 本发明提供了包含两种或更多种本发明的肽的组合物。例如, 在某些实施方案中, 组合物包含两种、三种、四种或更多种不同的本发明的肽的混合物或群体, 其中每一种肽包含 SEQ ID NO:1 的序列。在一些实施方案中, 组合物包含两种、三种、四种或更多种不同的本发明的肽的混合物或群体, 其中每一种肽包含 SEQ ID NO:3 的序列。在其他实施方案中, 组合物包含两种、三种、四种或更多种不同的本发明的肽的混合物或群体, 其中每一种肽包含 SEQ ID NO:72 的序列。又在其他实施方案中, 组合物包含两种、三种、四种或更多种不同的本发明的肽的混合物或群体, 其中每一种肽包含 SEQ ID NO:7 的序列。还在其他实施方案中, 组合物包含两种、三种、四种或更多种不同的本发明的肽的混合物或群体, 其中每一种肽包含 SEQ ID NO:70 的序列。在一些实施方案中, 组合物包含两种、三种、四

种或更多种不同的本发明的肽的混合物或群体,其中每一种肽包含 SEQ ID NO:83 的序列。在其他实施方案中,组合物包含两种、三种、四种或更多种不同的本发明的肽的混合物或群体,其中每一种肽包含 SEQ ID NO:85 的序列。在某些实施方案中,组合物包含两种、三种、四种或更多种不同的本发明的肽的混合物或群体,其中每一种肽包含 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85、SEQ ID NO:86 的序列。

[0022] 在另一个方面,本发明提供了包含编码本发明的肽的序列的核酸。此外,本发明提供了包含这类核酸的载体以及包含这类载体的宿主细胞。在某些实施方案中,载体为穿梭载体。在其他实施方案中,载体为表达载体(例如,细菌或真核表达载体)。在某些实施方案中,宿主细胞为细菌细胞。在其他实施方案中,宿主细胞为真核细胞。

[0023] 在另一个方面,本发明提供了装置。在某些实施方案中,装置用于进行免疫测定。例如,在某些实施方案中,装置为侧流免疫测定装置。在其他实施方案中,装置为分析或离心转子。在其他实施方案中,装置为管或孔,例如在适用于 ELISA 测定法的板中。还在其他实施方案中,装置为电化学、光学或光电传感器。

[0024] 在某些实施方案中,装置包括本发明的肽。在其他实施方案中,装置包括不同的本发明的肽的混合物。例如,在某些实施方案中,装置包含两种、三种、四种或更多种不同的本发明的肽。在某些实施方案中,肽或混合物中每一种肽包含 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85 或 SEQ ID NO:86 的序列。在某些实施方案中,肽被连接至或固定在装置上。

[0025] 在另一个方面,本发明提供了检测样品中针对埃里希体属抗原的表位的抗体的方法。在某些实施方案中,所述方法包括将样品与本发明的肽接触,并检测包含所述肽的抗体-肽复合物的形成,其中所述复合物的形成表明所述样品中存在针对埃里希体属抗原的表位的抗体。在某些实施方案中,埃里希体属抗原来自于感染性埃里希体属物种,例如犬埃里希体、恰菲埃里希体、埃翁氏埃里希体或小鼠埃里希体。在某些实施方案中,所述方法包括将样品与不同的本发明的肽的混合物或群体(即不同的本发明的肽的两种、三种、四种或更多种的混合物)接触。在一些实施方案中,所述方法提供在一份样品中同时针对多种埃里希体属物种(例如犬埃里希体、恰菲埃里希体、埃翁氏埃里希体和小鼠埃里希体)抗原的抗体的检测。

[0026] 在某些实施方案中,肽或混合物中的每一种肽为分离的(例如合成的和/或纯化的)肽。在某些实施方案中,肽或肽的混合物或群体被连接至或固定在固体支持物上。在一个实施方案中,肽或肽的混合物或群体经由金属(例如黄金)纳米层被连接至固体支持物。在某些实施方案中,固体支持物为一个珠粒或多个珠粒(例如,胶粒、金属纳米颗粒或纳米壳、胶乳珠粒等)、侧流免疫测定装置中的流动通道(例如,多孔膜)、分析或离心转子中的流动通道、印迹(蛋白质印迹、狭缝印迹或斑点印迹)、或管或孔(例如,在适用于 ELISA 测定法的板中)。在某些实施方案中,固体支持物包括金属、玻璃、基于纤维素的材料(例如,硝酸纤维素)或聚合物(例如,聚苯乙烯、聚乙烯、聚丙烯、聚酯、尼龙、聚砜等)。在某些实施方案中,肽或不同肽的混合物或群体被连接至树状聚合物和/或掺入 MAPS 系统中。在某些其他实施方案中,肽或不同肽的混合物或群体被连接至 BSA。

[0027] 在某些实施方案中,检测步骤包括进行 ELISA 测定。在其他实施方案中,检测步骤

包括进行侧流免疫测定。在其他实施方案中,检测步骤包括进行凝集测定。在其他实施方案中,检测步骤包括在分析或离心转子中旋转样品。在其他实施方案中,检测步骤包括使用蛋白质印迹、狭缝印迹或斑点印迹来分析样品。还在其他实施方案中,检测步骤包括用电化学传感器、光学传感器或光电传感器分析样品。在某些实施方案中,检测步骤包括进行波长移动测定。

[0028] 在某些实施方案中,样品是体液,例如血液、血清、血浆、脑脊髓液、尿、粘液或唾液。在其他实施方案中,样品为组织(例如组织匀浆)或细胞溶解产物。在某些实施方案中,样品来自野生动物(例如,鹿或啮齿类动物,例如小鼠、金花鼠、松鼠等)。在其他实施方案中,样品来自实验室动物(例如小鼠、大鼠、豚鼠、兔、猴、灵长类动物等)。在其他实施方案中,样品来自驯养动物或野生动物(例如狗、猫、马)。还在其他实施方案中,样品来自人。

[0029] 在另一个方面,本发明提供了诊断受试者的单核细胞埃里希体病和/或粒细胞埃里希体病的方法。在某些实施方案中,所述方法包括将来自受试者的样品与本发明的肽接触,并检测包含所述肽的抗体-肽复合物的形成,其中所述复合物的形成表明受试者患有单核细胞埃里希体病和/或粒细胞埃里希体病。在某些实施方案中,所述方法包括将样品与不同的本发明的肽的混合物或群体(即不同的本发明的肽的两种、三种、四种或更多种的混合物)接触。

[0030] 又在另一个方面,本发明提供了试剂盒。在某些实施方案中,试剂盒包括本发明的肽。在某些实施方案中,试剂盒包括两种、三种、四种或更多种不同的本发明的肽。所述肽可包含 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:84、SEQ ID NO:85 或 SEQ ID NO:86 的序列。在某些实施方案中,所述肽任选地经由金属纳米层被连接至或固定在固体支持物上。在某些实施方案中,固体支持物为珠粒(例如,胶粒、金属纳米颗粒或纳米壳、胶乳珠粒等)、侧流免疫测定装置中的流动通道、分析或离心转子中的流动通道、或管或孔(例如,在板中)。在某些实施方案中,一或多种肽被连接至树状聚合物和/或掺入 MAPS 系统中。在某些其他实施方案中,肽或不同肽的混合物被连接至 BSA。

[0031] 在某些实施方案中,试剂盒还包括珠粒群体或板(例如,适用于 ELISA 测定的板)。在其他实施方案中,试剂盒还包括装置,例如侧流免疫测定装置、分析或离心转子、蛋白质印迹、斑点印迹、狭缝印迹、电化学传感器、光学传感器或光电传感器。在某些实施方案中,珠粒群体、板或装置用于进行免疫测定。例如,在某些实施方案中,珠粒群体、板或装置用于检测包含来自样品的抗体和本发明的肽的抗体-肽复合物的形成。在某些实施方案中,本发明的肽或不同肽的混合物被连接至或固定在珠粒、板或装置上。

[0032] 在某些实施方案中,试剂盒还包括说明书。例如,在某些实施方案中,试剂盒包括指示如何使用本发明的肽来检测针对埃里希体属抗原的抗体或用于诊断单核细胞埃里希体病和/或粒细胞埃里希体病的说明书。在某些实施方案中,试剂盒包括指示如何使用珠粒群体、板或装置(例如包含本发明的肽或不同肽的混合物)来检测针对一或多种埃里希体属抗原的抗体或用于诊断单核细胞埃里希体病和/或粒细胞埃里希体病的说明书。

[0033] 根据下面的详细描述,本发明的其他方面和实施方案将变得显而易见。

[0034] 附图简述

[0035] 图 1 是可用于检测针对埃里希体属抗原的抗体的双抗原夹心测定法的示图。在此实施方案中,本发明的肽被固定至测试位点处的适当基底(例如硝酸纤维素膜、ELISA 板的孔)。测试样品中针对埃里希体属抗原的抗体被固定的本发明的肽结合。针对适当埃里希体属抗原的测试样品抗体随后将结合被缀合至可检测标记物(例如金属纳米颗粒或纳米壳(例如胶体金)、辣根过氧化物酶(HRP)、碱性磷酸酶(ALP)、荧光团、彩色胶乳颗粒)的本发明的第二组肽,所述可检测标记物检测与固定在测试位点上的第一组肽结合的抗体的存在。在某些实施方案中,为放大检测信号,可将被缀合至可检测标记物(例如金属纳米颗粒或纳米壳(例如胶体金)、HRP、ALP、荧光团、彩色胶乳颗粒)的蛋白 A 和 / 或蛋白 G 分子施加到测试位点,在所述测试位点它们将结合至被固定的本发明的肽捕获的针对埃里希体属抗原的任何抗体的 Fc 区域。

[0036] 图 2 是可用于检测针对埃里希体属抗原的抗体的一种类型的间接夹心测定法的示图。在此实施方案中,抗人 IgG/IgM、抗狗 IgG/IgM 或抗猫 IgG/IgM 抗体被固定在测试位点处的适当基底(例如硝酸纤维素膜、ELISA 板的孔)。测试样品中针对埃里希体属抗原的抗体被固定的抗体结合。针对适当埃里希体属抗原的测试样品抗体随后将结合至被缀合至可检测标记物(例如金属纳米颗粒或纳米壳(例如胶体金)、HRP、ALP、荧光团、彩色胶乳颗粒)的本发明的肽。

[0037] 图 3 是可用于检测针对埃里希体属抗原的抗体的另一种类型的间接夹心测定法的示图。在此实施方案中,本发明的肽可被固定至基底(例如硝酸纤维素膜、ELISA 板的孔)以捕获测试样品中的抗埃里希体属抗体。可将缀合至可检测标记物(例如金属纳米颗粒或纳米壳(例如胶体金)、HRP、ALP、荧光团、彩色胶乳颗粒)的抗人 IgG/IgM、抗狗 IgG/IgM 或抗猫 IgG/IgM 抗体用于检测与测试位点处固定的肽结合的抗体的存在。

[0038] 图 4 是可用于检测针对埃里希体属抗原的抗体的免疫测定装置的示图。在免疫测定装置的这个实施方案中,本发明的肽被固定至测试位点处的适当基底(例如硝酸纤维素膜、ELISA 板的孔)。测试样品中抗埃里希体属的抗体被固定的本发明的肽结合。将被缀合至可检测标记物(例如金属纳米颗粒或纳米壳(例如胶体金)、HRP、ALP、荧光团、彩色胶乳颗粒)的蛋白 A、蛋白 G 或蛋白 A/G 融合蛋白添加至所述系统并结合至被捕获的抗埃里希体属抗体的 Fc 部分,从而产生正信号。在此实施方案中,装置还可包括对照位点,在该对照位点处固定有识别可检测标记物-缀合蛋白 A、可检测标记物-缀合蛋白 G 和 / 或可检测标记物-缀合蛋白 A/G 融合物的结合伴侣。这类结合伴侣可能包括(但不限于)抗蛋白 A、抗蛋白 G、小鼠 IgG 和 / 或其他类似的 IgG 分子。

[0039] 图 5 描绘了可用于检测针对埃里希体属抗原的抗体的侧流测定装置的一个实例。本发明的肽连接至载体蛋白(例如牛血清白蛋白),并且所得 BSA-肽缀合物固定在硝酸纤维素(NC)膜的测试位点(T)上。相同的 BSA-肽缀合物缀合至可检测标记物(例如胶体金)上并存放在位于测试位点上游的缀合衬垫中。将金-缀合蛋白 A 和金-缀合蛋白 G(即扩增物)添加至所述缀合垫以便经由结合至所捕获的抗埃里希体属抗体的 Fc 部分来增强信号。装置还包括对照位点(C),在该对照位点处固定有识别金-缀合蛋白 A 和 / 或金-缀合蛋白 G 的结合伴侣。

[0040] 发明详述

[0041] 如本文中所用,下列术语应具有下列含义:

[0042] 如本文中所用,术语“抗原”是指能够被抗体识别的分子。抗原可以是例如肽或其修饰形式。抗原可包括一个或多个表位。

[0043] 如本文中所用,术语“表位”是被抗体特异性识别的抗原部分。表位例如可包含肽(例如本发明的肽)的一部分或由其组成。表位可以是线性表位、顺序表位或构象表位。在某些实施方案中,表位可以包含非连续区域。

[0044] 术语“OMP-1 蛋白”是指埃里希体属的外膜蛋白 1 旁系同源物,包括但不限于犬埃里希体 (*E. canis*)P-30、犬埃里希体 P30-1、恰菲埃里希体 (*E. chaffeensis*)P28、恰菲埃里希体 OMP-1C、恰菲埃里希体 OMP-1D、恰菲埃里希体 OMP-1E 和恰菲埃里希体 OMP-1F。

[0045] 术语“核酸”、“寡核苷酸”和“多核苷酸”在本文中可互换使用并且包括 DNA、RNA、cDNA,无论是单链还是双链的,以及其化学修饰形式。

[0046] 本文中使用的单字母氨基酸缩写在本领域中具有其标准含义,并且本文中描述的所有肽序列根据惯例以 N 末端为左和以 C 末端为右来书写。

[0047] 其他术语将在下面的详细说明中按照需要进行定义。

[0048] 组合物和装置

[0049] 本发明部分地基于这样的发现:埃里希体属 OMP-1 蛋白的片段的某些序列变体可对针对多种埃里希体属物种(包括犬埃里希体、恰菲埃里希体、埃翁氏埃里希体 (*E. ewingii*) 和小鼠埃里希体 (*E. muris*)) 的抗体反应提供稳健的检测。因此,在一个方面,本发明提供了能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽。

[0050] 在某些实施方案中,本发明的肽包含 S-X₂-K-E-D-K-Q-T-T-X₁₀-X₁₁-I-W-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-P-X₂₄-X₂₅-X₂₆-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀-X₃₁-X₃₂-X₃₃-X₃₄-X₃₅-X₃₆-X₃₇-X₃₈-X₃₉-C (SEQ ID NO:1) 的序列或其片段,其中除非另有指示,否则本说明书通篇所使用的 SEQ ID NO:1 具有下列特征:X₂为选自 A 和 V 的氨基酸;X₁₀为选自 T 和 V 的氨基酸;X₁₁为选自 G 和 A 的氨基酸;X₁₈为选自 E 和 Q 的氨基酸;X₂₀为选自 D 和 N 的氨基酸;X₂₂为选自 S 和 V 的氨基酸;X₂₄为选自 A 和 I 的氨基酸;X₂₅为选自 T 和 P 的氨基酸;X₂₆为选自 S、N 和 K 的氨基酸;X₂₇为除了 H、N、S 或 A 的任何氨基酸;X₂₈为除了 A、S 或 P 的任何氨基酸;X₂₉为除了 D、P、N 或 S 的任何氨基酸;X₃₀为除了 A、E、D 或 S 的任何氨基酸;X₃₁为除了 D、N、V 或 H 的任何氨基酸;X₃₂为除了 F 或 T 的任何氨基酸;X₃₃为除了 N、F 或 I 的任何氨基酸;X₃₄为除了 N、T 或 D 的任何氨基酸;X₃₅为除了 K、V 或 P 的任何氨基酸;X₃₆为除了 G、P 或 S 的任何氨基酸;X₃₇为除了 Y、N 或 T 的任何氨基酸;X₃₈为除了 S、Y 或 I 的任何氨基酸;以及 X₃₉为除了 F 或 S 的任何氨基酸。

[0051] 在某些实施方案中,本发明的肽包含 SEQ ID NO:1 的序列,其中 X₂为 V 且 X₁₀为 T。在一些实施方案中,本发明的肽包含 SEQ ID NO:1 的序列,其中 X₁₀为 T 且 X₂₆选自 S 和 N。在其他实施方案中,本发明的肽包含 SEQ ID NO:1 的序列,其中 X₂₄为 A, X₂₅选自 T 和 P,以及 X₂₆选自 S 和 N。还在其他实施方案中,本发明的肽包含 SEQ ID NO:1 的序列,其中 X₂₆选自 S 和 N 且 X₃₁为除了 D、N、V、R 或 H 的任何氨基酸。在某些实施方案中,本发明的肽包含 SEQ ID NO:1 的序列,其中 X₂₇-X₃₉具有选自 Q-R-K-N-E-P-S-E-T-N-P-G-Q (SEQ ID NO:74)、M-V-E-F-E-E-L-Q-R-N-W-H-P (SEQ ID NO:75)、M-L-E-V-S-W-L-I-D-F-M-A-P (SEQ ID NO:76) 和 Q-D-E-N-L-Y-S-S-I-F-F-V-P (SEQ ID NO:77) 的序列。

[0052] 在相关实施方案中,本发明的肽包含 S-X₂-K-E-D-K-Q-T-T-X₁₁-I-W-G-L-K-Q-X₁₈

-W-D-G-X₂₂-P-X₂₄-X₂₅-X₂₆-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀-X₃₁-X₃₂-X₃₃-X₃₄-X₃₅-X₃₆-X₃₇-X₃₈-X₃₉-C (SEQ ID NO:83) 的序列或其片段,其中 X₂为选自 A 和 V 的氨基酸, X₁₁为选自 G 和 A 的氨基酸, X₁₈为选自 E 和 Q 的氨基酸, X₂₂为选自 S 和 V 的氨基酸, X₂₄为选自 A 和 I 的氨基酸, X₂₅为选自 T 和 P 的氨基酸, X₂₆为选自 S 和 N 的氨基酸, X₂₇为除了 H、N、S 或 A 的任何氨基酸、X₂₈为除了 A、S 或 P 的任何氨基酸, X₂₉为除了 D、P、N 或 S 的任何氨基酸, X₃₀为除了 A、E、D 或 S 的任何氨基酸, X₃₁为除了 D、N、V 或 R 的任何氨基酸, X₃₂为除了 F 或 T 的任何氨基酸, X₃₃为除了 N、F 或 I 的任何氨基酸, X₃₄为除了 N、T 或 D 的任何氨基酸, X₃₅为除了 K、V 或 P 的任何氨基酸, X₃₆为除了 G、P 或 S 的任何氨基酸, X₃₇为除了 Y、N 或 T 的任何氨基酸, X₃₈为除了 S、Y 或 I 的任何氨基酸, 以及 X₃₉为除了 F 或 S 的任何氨基酸。在一些实施方案中,本发明的肽包含 SEQ ID NO:83 的序列,其中 X₂₇-X₃₉具有选自 Q-R-K-N-E-P-S-E-T-N-P-G-Q (SEQ ID NO:74)、M-V-E-F-E-E-L-Q-R-N-W-H-P (SEQ ID NO:75)、M-L-E-V-S-W-L-I-D-F-M-A-P (SEQ ID NO:76) 和 Q-D-E-N-L-Y-S-S-I-F-F-V-P (SEQ ID NO:77) 的序列。

[0053] 在本发明的某些其他实施方案中,本发明的肽包含 S-X₂-K-E-X₅-K-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X₃₉-A-X₄₁-T-R-X₄₄-T-F-G-X₄₈-X₄₉-K-Q-Y-D-G-A-X₅₆-I-X₅₈-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO:3) 的序列或其片段,其中 X₂为选自 A 和 V 的氨基酸, X₅为选自 E 和 D 的氨基酸, X₈为选自 T 和 P 的氨基酸, X₁₀为选自 T 和 V 的氨基酸, X₁₁为选自 G 和 A 的氨基酸, X₁₂为选自 L 和 V 的氨基酸, X₁₃为选自 Y 和 F 的氨基酸, X₁₈为选自 D 和 N 的氨基酸, X₂₀为选自 D 和 N 的氨基酸, X₂₂为选自 S 和 V 的氨基酸, X₂₃为选自 A、S 和 T 的氨基酸, X₂₄为选自 A 和 I 的氨基酸, X₂₅为选自 T 和 P 的氨基酸, X₂₆为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X₃₉为任何氨基酸, X₄₁为选自 D 和 N 的氨基酸, X₄₄为任何氨基酸, X₄₈为选自 V 和 A 的氨基酸, X₄₉为任何氨基酸, X₅₆为任何氨基酸, 以及 X₅₈为任何氨基酸。

[0054] 还在其他实施方案中,本发明的肽包含 S-X₂-K-E-X₅-K-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-K-X₄₀-A-D-T-R-X₄₅-T-F-G-L-X₅₀-K-Q-T-D-G-A-X₅₇-I-X₅₉-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO:85) 的序列或其片段,其中 X₂为选自 A 和 V 的氨基酸, X₅为选自 E 和 D 的氨基酸, X₈为选自 T 和 P 的氨基酸, X₁₀为选自 T 和 V 的氨基酸, X₁₁为选自 G 和 A 的氨基酸, X₁₂为选自 L 和 V 的氨基酸, X₁₃为选自 Y 和 F 的氨基酸, X₁₈为选自 D 和 N 的氨基酸, X₂₀为选自 D 和 N 的氨基酸, X₂₂为选自 S 和 V 的氨基酸, X₂₃为选自 A、S 和 T 的氨基酸, X₂₄为选自 A 和 I 的氨基酸, X₂₅为选自 T 和 P 的氨基酸, X₂₆为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X₄₀为任何氨基酸, X₄₅为任何氨基酸, X₅₀为任何氨基酸, X₅₇为任何氨基酸, 以及 X₅₉为任何氨基酸。

[0055] 在特定实施方案中,本发明的肽包含 S-X₂-K-E-X₅-K-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E-X₃₉-A-E-T-R-X₄₄-T-F-G-L-X₄₉-K-Q-Y-D-G-A-X₅₆-I-X₅₈-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO:72) 的序列或其片段,其中 X₂为选自 A 和 V 的氨基酸, X₅为选自 E 和 D 的氨基酸, X₈为选自 T 和 P 的氨基酸, X₁₀为选自 T 和 V 的氨基酸, X₁₁为选自 G 和 A 的氨基酸, X₁₂为选自 L 和 V 的氨基酸, X₁₃为选自 Y 和 F 的氨基酸, X₁₈为选自 D 和 N 的氨基酸, X₂₀为选自 D 和 N 的氨基酸, X₂₂为选自 S 和 V 的氨基酸, X₂₃为选自 A、S 和 T 的氨基酸, X₂₄为选自 A 和 I 的氨基酸, X₂₅为选自 T 和 P 的氨基酸, X₂₆为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X₃₉为任何氨基酸, X₄₄为任何氨基酸, X₄₉为任何氨基酸,

X₅₆为任何氨基酸,以及 X₅₈为任何氨基酸。在一个特定实施方案中,包含 SEQ ID NO:72 的序列的肽能够同时检测针对来自多个物种的埃里希体属抗原(例如犬埃里希体、恰菲埃里希体、埃翁氏埃里希体和小鼠埃里希体)的抗体。

[0056] 在一些实施方案中,本发明的肽包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72,其中 X₃₉为 K。在其他实施方案中,本发明的肽包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72,其中 X₄₄为选自 K 和 R 的氨基酸,且 X₄₉为选自 E 和 D 的氨基酸。还在其他实施方案中,本发明的肽包含以下序列或由以下序列组成:SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72,其中 X₅₆为选自 K 和 Q 的氨基酸,且 X₅₈为选自 E 和 T 的氨基酸。

[0057] 在本发明的另一方面,本发明的肽包含 S-V-K-X₄-D-K-Q-X₈-T-X₁₀-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-A-X₂₅-X₂₆-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:7) 的序列或由所述序列组成,其中 X₄为选自 E 和 N 的氨基酸, X₈为选自 P 和 S 的氨基酸, X₁₀为选自 A 和 S 的氨基酸, X₂₀为选自 E 和 Q 的氨基酸, X₂₂为选自 P 和 T 的氨基酸, X₂₃为选自 S 和 V 的氨基酸, X₂₅为选自 T 和 P 的氨基酸,以及 X₂₆为选自 S 和 N 的氨基酸。

[0058] 在某些实施方案中,本发明的肽包含以下序列或由以下序列组成:S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:8);S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:9);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:10);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:11);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:12);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:13);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:14);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:15);S-V-K-E-D-K-Q-S-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:16);S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:17);S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:18);S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:19);S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:20);S-V-K-E-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:21);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:22);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:23);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:24);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:25);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:26);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C(SEQ ID NO:27);S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-V-A-T-S-Q

-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:28) ;S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:29) ;S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:30) ;S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:31) ;S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:32) ;S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:33) ;S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-T-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:34) ;S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:35) ;S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:36) ;S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:37) ;或S-V-K-E-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-V-A-P-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:38) 。

[0059] 在其他实施方案中,本发明的肽包含以下序列或由以下序列组成:S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:39) ;S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:40) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:41) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:42) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:43) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:44) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:45) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:46) ;S-V-K-N-D-K-Q-S-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:47) ;S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:48) ;S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:49) ;S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:50) ;S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:51) ;S-V-K-N-D-K-Q-S-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:52) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:53) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:54) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:55) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:56) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-S-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:57) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-T-S-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:58) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-V-A-T-S-Q

-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:59) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:60) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:61) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:62) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:63) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-T-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:64) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-T-S-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:65) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:66) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-P-S-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:67) ;S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-Q-G-P-V-A-T-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:68) ;或S-V-K-N-D-K-Q-P-T-A-V-L-W-G-I-R-Q-N-W-E-G-P-V-A-P-N-Q-V-E-V-E-W-Q-Q-R-G-W-G-G-C (SEQ ID NO:69) 。

[0060] 在本发明的一个特定实施方案中,本发明的肽包含S-X₂-K-D-X₅-K-Q-X₈-T-X₁₀-X₁₁-X₁₂-X₁₃-G-L-X₁₆-Q-X₁₈-X₁₉-X₂₀-G-X₂₂-X₂₃-X₂₄-X₂₅-X₂₆-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀-X₃₁-X₃₂-X₃₃-X₃₄-X₃₅-X₃₆-X₃₇-X₃₈-X₃₉-C (SEQ ID NO:70) 的序列或由所述序列组成,其中X₂为选自A和V的氨基酸,X₅为选自E和D的氨基酸,X₈为选自T和P的氨基酸,X₁₀为选自S、V和A的氨基酸,X₁₁为选自G和A的氨基酸,X₁₂为选自L和V的氨基酸,X₁₃为选自Y、F和W的氨基酸,X₁₆为选自K和R的氨基酸,X₁₈为选自D和N的氨基酸,X₁₉为选自W和F的氨基酸,X₂₀为选自D和N的氨基酸,X₂₂为选自T和V的氨基酸,X₂₃为选自A、S和T的氨基酸,X₂₄为选自A和I的氨基酸,X₂₅为选自T和P的氨基酸,X₂₆为选自S、N和K的氨基酸,以及X₂₇-X₃₉的每一个为任何氨基酸。在某些实施方案中,X₂₇-X₃₉具有选自以下的序列:Q-R-K-N-E-P-S-E-T-N-P-G-Q (SEQ ID NO:74)、M-V-E-F-E-E-L-Q-R-N-W-H-P (SEQ ID NO:75)、M-L-E-V-S-W-L-I-D-F-M-A-P (SEQ ID NO:76)、Q-D-E-N-L-Y-S-S-I-F-F-V-P (SEQ ID NO:77)、Q-R-K-N-D-P-S-E-T-S-P-G-Q (SEQ ID NO:78)、M-A-P-F-H-E-L-D-V-N-N-H-P (SEQ ID NO:79)、S-L-N-V-S-F-L-I-D-P-M-A-P (SEQ ID NO:80) 和Q-D-S-N-L-Y-S-S-I-F-F-V-P (SEQ ID NO:81) 。

[0061] 在某些实施方案中,本发明的肽包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列以及额外的N末端肽序列(例如N末端延伸)。额外的N末端肽序列可包含1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25 或更多个氨基酸。在某些实施方案中,N末端肽序列具有约5至约10、约10至约15、约15至约20、约20至约25、约25至约30、约30至约40 或约40至约50个氨基酸的长度。在一个实施方案中,N末端肽序列可为一个或多个连接残基(例如一个或多个甘氨酸、半胱氨酸或丝氨酸残基)。例如,在某些实施方案中,本文中描述的任何序列中的羧基末端半胱氨酸残基可改为位于氨基末端。因此,在一些实施方案中,本发明的肽包含以下序列或由以下序列组成:C-S-X₃-K-E-D-K-Q-T-T-X₁₁-X₁₂-I-W-G-L-K-Q-X₁₉-W-X₂₁-G-X₂₃-P-X₂₅-X₂₆-X₂₇-X₂₈-X₂₉-X₃₀-X₃₁-X₃₂-X₃₃-X₃₄-X₃₅-X₃₆-X₃₇-X₃₈-X₃₉-X₄₀ (SEQ ID NO:2),其中X₃为选自A和V的氨基酸,X₁₁为选自T和V的氨基酸,X₁₂为选自G和A的氨基酸,X₁₉为选自E和Q的氨基酸,X₂₁为选自D和N的氨基酸,X₂₃为选自S和V的氨基酸,X₂₅为选自A和I的氨基酸,X₂₆为

选自 T 和 P 的氨基酸, X_{27} 为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X_{28} 为除了 H、N、S 或 A 的任何氨基酸, X_{29} 为除了 A、S 或 P 的任何氨基酸, X_{30} 为除了 D、P、N 或 S 的任何氨基酸, X_{31} 为除了 A、E、D 或 S 的任何氨基酸, X_{32} 为除了 D、N、V 或 H 的任何氨基酸, X_{33} 为除了 F 或 T 的任何氨基酸, X_{34} 为除了 N、F 或 I 的任何氨基酸, X_{35} 为除了 N、T 或 D 的任何氨基酸, X_{36} 为除了 K、V 或 P 的任何氨基酸, X_{37} 为除了 G、P 或 S 的任何氨基酸, X_{38} 为除了 Y、N 或 T 的任何氨基酸, X_{39} 为除了 S、Y 或 I 的任何氨基酸, 以及 X_{40} 为除了 F 或 S 的任何氨基酸。还在其他实施方案中, 本发明的肽包含 C-S- X_3 -K-E- X_6 -K-Q- X_9 -T- X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} -G-L-K-Q- X_{19} -W- X_{21} -G- X_{23} - X_{24} - X_{25} - X_{26} - X_{27} -G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E- X_{40} -A- X_{42} -T-R- X_{45} -T-F-G- X_{49} - X_{50} -K-Q-Y-D-G-A- X_{57} -I- X_{59} -E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N (SEQ ID NO: 4) 的序列或由所述序列组成, 其中 X_3 为选自 A 和 V 的氨基酸, X_6 为选自 E 和 D 的氨基酸, X_9 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{11} 为选自 T 和 V 的氨基酸, X_{12} 为选自 G 和 A 的氨基酸, X_{13} 为选自 L 和 V 的氨基酸, X_{14} 为选自 Y 和 F 的氨基酸, X_{19} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{21} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{23} 为选自 S 和 V 的氨基酸, X_{24} 为选自 A、S 和 T 的氨基酸, X_{25} 为选自 A 和 I 的氨基酸, X_{26} 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{27} 为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X_{40} 为任何氨基酸, X_{42} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{45} 为任何氨基酸, X_{49} 为选自 V 和 A 的氨基酸, X_{50} 为任何氨基酸, X_{57} 为任何氨基酸, 以及 X_{59} 为任何氨基酸。在一些实施方案中, 本发明的肽包含 C-S- X_3 -K-E- X_6 -K-Q- X_9 -T- X_{11} - X_{12} - X_{13} - X_{14} -G-L-K-Q- X_{19} -W- X_{21} -G- X_{23} - X_{24} - X_{25} - X_{26} - X_{27} -G-G-G-G-G-N-F-S-A-K-E-E- X_{40} -A-E-T-R- X_{45} -T-F-G-L- X_{50} -K-Q-Y-D-G-A- X_{57} -I- X_{59} -E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO: 73) 的序列或由所述序列组成, 其中 X_3 为选自 A 和 V 的氨基酸, X_6 为选自 E 和 D 的氨基酸, X_9 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{11} 为选自 T 和 V 的氨基酸, X_{12} 为选自 G 和 A 的氨基酸, X_{13} 为选自 L 和 V 的氨基酸, X_{14} 为选自 Y 和 F 的氨基酸, X_{19} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{21} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{23} 为选自 S 和 V 的氨基酸, X_{24} 为选自 A、S 和 T 的氨基酸, X_{25} 为选自 A 和 I 的氨基酸, X_{26} 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{27} 为选自 S、N 和 K 的氨基酸, X_{40} 为任何氨基酸, X_{45} 为任何氨基酸, X_{50} 为任何氨基酸, X_{57} 为任何氨基酸, 以及 X_{59} 为任何氨基酸。

[0062] 额外的 N 末端肽序列可以是天然序列。如本文中所示, “天然” 序列是来自天然存在的埃里希体属 OMP-1 序列的肽序列或其变体。在某些实施方案中, 肽序列是天然存在的埃里希体属 OMP-1 序列的片段。肽序列可以例如来自 OMP-1 的保守或非保守区域。肽序列可包括例如表位, 例如免疫显性表位或可被宿主 (例如人、狗等) 免疫系统识别的任何其他表位。OMP-1 蛋白及其肽已描述于例如美国专利第 6, 544, 517 号、第 6, 893, 640 号、第 6, 923, 963 号、第 7, 063, 846 号和第 7, 407, 770 号、美国专利申请第 2004/0265333 号和第 2009/0075368 号, 以及欧洲专利第 1026949 号中, 所述专利内容以引用的方式整体并入本文。

[0063] 变体多肽与 SEQ ID NO:1-73 和 SEQ ID NO:83-86 中显示的肽具有至少约 80%、85%、90%、95%、98% 或 99% 的同一性并且也是本发明的多肽。序列同一性百分比具有本领域公认的含义并且存在许多测量个两多肽或多核苷酸序列之间的同一性的方法。参见例如 Lesk 编, Computational Molecular Biology, Oxford University Press, New York, (1988); Smith 编, Biocomputing: Informatics And Genome Projects, Academic Press, New York, (1993); Griffin & Griffin 编, Computer Analysis Of Sequence Data, Part I, Humana Press, New Jersey, (1994); von Heinje, Sequence Analysis In

Molecular Biology, Academic Press, (1987); 以及 Gribskov & Devereux 编, Sequence Analysis Primer, M Stockton Press, New York, (1991)。用于比对多核苷酸或多肽的方法被编码在计算机程序中,包括 GCG 程序包 (Devereux 等人, Nuc. Acids Res. 12:387(1984))、BLASTP、BLASTN、FASTA (Atschul 等人, J Molec. Biol. 215:403(1990)) 和 Bestfit 程序 (Wisconsin Sequence Analysis Package, 用于 Unix 的第 8 版, Genetics Computer Group, University Research Park, 575 Science Drive, Madison, Wis. 53711), 其使用 Smith 和 Waterman 的局部同源性算法 (Adv. App. Math., 2:482-489(1981))。例如,可使用采用 FASTA 算法的计算机程序 ALIGN, 对于仿射空位搜索 (affine gap search) 使用为 -12 的空位开放罚分 (gap open penalty) 和为 -2 的空位扩展罚分 (gap extension penalty)。

[0064] 当使用任何序列比对程序确定特定序列例如是否与参照序列具有约 95% 的同一性时,将参数设定为在参照多核苷酸的全长范围内计算同一性百分比并且允许达到参照多核苷酸的核苷酸总数的 5% 的同一性中的空位。

[0065] 肽序列的变体可由本领域技术人员部分地基于序列的已知性质来容易地选定。例如,变体肽可包括氨基酸取代 (例如,保守氨基酸取代) 和 / 或缺失 (例如,小的、单个氨基酸缺失或包括 2、3、4、5、10、15、20 或更多个连续氨基酸的缺失)。因此,在某些实施方案中,天然肽序列的变体是与天然存在的序列不同在于 (i) 一个或多个 (例如,2、3、4、5、6 或更多个) 保守氨基酸取代, (ii) 1 个或多个 (例如,2、3、4、5、6 或更多个) 氨基酸的缺失或 (iii) 其组合的序列。缺失的氨基酸可以是连续的或非连续的。保守氨基酸取代是在它们的侧链和化学性质上相关的氨基酸的家族内发生的那些取代。这些包括例如 (1) 酸性氨基酸: 天冬氨酸, 谷氨酸; (2) 碱性氨基酸: 赖氨酸、精氨酸、组氨酸; (3) 非极性氨基酸: 丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、脯氨酸、苯丙氨酸、甲硫氨酸、色氨酸; (4) 不带电荷的极性氨基酸: 甘氨酸、天冬酰胺、谷氨酰胺、半胱氨酸、丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸; (5) 脂肪族氨基酸: 甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸、丝氨酸、苏氨酸, 其中丝氨酸和苏氨酸任选地被分别分类为脂肪族 - 羟基; (6) 芳香族氨基酸: 苯丙氨酸、酪氨酸、色氨酸; (7) 酰胺氨基酸: 天冬酰胺、谷氨酰胺; 以及 (9) 含硫氨基酸: 半胱氨酸和甲硫氨酸。参见, 例如, Biochemistry, 第 2 版, 编著: L. Stryer, W H Freeman and Co.: 1981。用于确认合适的变体肽的方法是传统和常规的方法。

[0066] 肽序列的变体包括先前定义的肽序列上的变异。例如,包含已知表位的先前描述的肽序列可在一端或两端被延伸或缩短 (例如,约 1-3 个氨基酸), 和 / 或 1、2、3、4 或更多个氨基酸可被保守氨基酸取代等。此外,如果蛋白质的区域已被识别为包含目标表位,则研究者可从原始未加工区域的终点“转移”目标区域 (例如,在任一方向上约 5 个氨基酸) 以最优化活性。

[0067] 在某些实施方案中,额外的 N 末端肽序列可包含或由另一肽组成,所述肽具有 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列。因此,在一些实施方案中,本发明的肽可以是具有 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列的多聚体。在其他实施方案中, N 末端肽序列是与 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列的 N 末端天然相邻的天然 OMP-1 肽序列。在其他实施方案中,肽可任选地经由一个或多个连接氨基

酸包括 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列的融合序列。例如,在一个实施方案中,肽可包括任选地经由一个或多个连接氨基酸(例如甘氨酸、丝氨酸或半胱氨酸残基)连接至 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:85 的 SEQ ID NO:1 的序列。例如,在另一个实施方案中,肽可包括任选地经由一个或多个连接氨基酸(例如甘氨酸、丝氨酸或半胱氨酸残基)连接至 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:85 的 SEQ ID NO:7 的序列。例如,在另一个实施方案中,肽可包括任选地经由一个或多个连接氨基酸(例如甘氨酸、丝氨酸或半胱氨酸残基)连接至 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:85 的 SEQ ID NO:83 的序列。还在另一个实施方案中,肽可包括任选地经由一个或多个连接氨基酸(例如甘氨酸、丝氨酸或半胱氨酸残基)连接至 SEQ ID NO:72 的 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:7 或 SEQ ID NO:83 的序列。又在另一个实施方案中,肽可包括任选地经由一个或多个连接氨基酸(例如甘氨酸、丝氨酸或半胱氨酸残基)连接至 SEQ ID NO:71 的 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:7 或 SEQ ID NO:83 的序列。

[0068] 在某些实施方案中,额外的 N 末端肽序列为非天然序列。如本文中所示,“非天然”序列是除了天然 OMP-1 肽序列以外的任何蛋白序列,无论是来自埃里希体属蛋白还是来自其他蛋白。在某些实施方案中,额外的 N 末端肽序列包含埃里希体属表面抗原的表位。在某些实施方案中,额外的 N 末端肽序列包括埃里希体属抗原例如 p38、p43、p120、p140、p153、p156、p200、gp19、gp36、gp47、gp200 或 HGE-3 的表位。已描述了对应于埃里希体属抗原的蛋白和肽序列。参见,例如,美国专利第 6,306,402 号、第 6,355,777 号、第 7,204,992 号和第 7,407,770 号,以及 W02006/138509,所述专利的内容以引用的方式整体并入本文。还可使用来源于其他微生物的多肽或肽。

[0069] 在某些实施方案中,额外的 N 末端肽序列是序列的组合。例如,额外的 N 末端肽序列可包含天然序列、非天然序列或这类序列的任何组合(例如,两个或更多个天然序列、两个或更多个非天然序列或一个或多个天然序列与一个或多个非天然序列的组合)。

[0070] 在某些实施方案中,本发明的肽包含由 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 定义的序列并且还包含额外的 C 末端序列。额外的 C 末端肽序列可包含 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、20、25 或更多个氨基酸。在某些实施方案中,额外的 C 末端序列具有约 5 至约 10、约 10 至约 15、约 15 至约 20、约 20 至约 25、约 25 至约 30、约 30 至约 40 或约 40 至约 50 个氨基酸的长度。额外的 C 末端肽序列可以是天然 OMP-1 序列。在某些实施方案中,C 末端肽序列是天然存在的埃里希体属 OMP-1 序列的片段。肽序列可以例如来自 OMP-1 的保守或非保守区域。肽序列可包括例如表位,例如免疫显性表位或可被宿主(例如人、狗等)免疫系统识别的任何其他表位。在某些实施方案中,额外的 C 末端肽序列可包含或由另一个具有 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列的肽组成。例如,在某些实施方案中,本发明的肽可以是各自具有 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列的序列的多聚体。在其他实施方案中,天然序列是与 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列的 C 末端天然相邻的 OMP-1 序列。

[0071] 在某些实施方案中,额外的 C 末端肽序列为非天然序列。在某些实施方案中,额外

的 C 末端肽序列包含除 OMP-1 外的埃里希体属表面抗原的表位。在某些实施方案中,额外的 C 末端肽序列包含埃里希体属抗原例如 p38、p43、p120、p140、p153、p156、p200、gp19、gp36、gp47、gp200 或 HGE-3 的表位。还可使用来源于其他微生物的多肽或肽。

[0072] 在某些实施方案中,额外的 C 末端肽序列是序列的组合。例如,额外的 C 末端肽序列可包含天然序列、非天然序列或这类序列的任何组合(例如,两个或更多个天然序列、两个或更多个非天然序列或一个或多个天然序列与一个或多个非天然序列的组合)。

[0073] 在某些实施方案中,本发明的肽包含由 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 定义的序列,并且还包含额外的 N 末端肽序列和额外的 C 末端肽序列。额外的 N 末端和 C 末端肽序列可以是如上所述的。本发明的肽不由全长 OMP-1 蛋白组成。然而,在某些实施方案中,本发明的肽可包含全长 OMP-1 蛋白。在其他实施方案中,本发明的肽不包含全长 OMP-1 蛋白。

[0074] 可设计包含额外的 N 末端和 / 或 C 末端肽序列的本发明的肽以用于在感染后早期(例如,在感染发生后 1 至 2 周内)诊断埃里希体属感染。例如,在某些实施方案中,额外的 N 末端和 / 或 C 末端肽序列包含与埃里希体属感染的早期阶段相关的抗原或表位。

[0075] 除了上述序列外,额外的 N 末端和 C 末端序列还可包含或由柔性序列组成,所述柔性序列经设计用以在免疫测定(例如,ELISA 测定、侧流免疫测定、凝集测定等)中更好地呈现本发明的肽以进行检测。这类柔性序列可由本领域技术人员容易地识别。

[0076] 在某些实施方案中,本发明的肽包含或由 25 个或更多个(例如,26、27、28、29 或更多个)氨基酸残基组成。在某些实施方案中,本发明的肽包含或由 30 个或更多个(例如,31、32、33、34 或更多个)氨基酸残基组成。在某些实施方案中,本发明的肽包含或由 35 个或更多个(例如,36、37、38、39 或更多个)氨基酸残基组成。在某些实施方案中,本发明的肽包含或由 40 个或更多个(例如,41、42、43、44 或更多个)氨基酸残基组成。在某些实施方案中,本发明的肽包含或由 45 个或更多个(例如,46、47、48、49 或更多个)氨基酸残基组成。在某些实施方案中,本发明的肽包含或由 50 个或更多个(例如,51、52、53、54 或更多个)氨基酸残基组成。在某些实施方案中,本发明的肽包含或由 55、60、65、70、75、80、85、90、95、100 或更多个氨基酸残基组成。

[0077] 在某些实施方案中,本发明的肽包含本文中描述的肽序列的表位。例如,在某些实施方案中,本发明的肽包含选自 SEQ ID NO:1-73 和 83-86 的序列的表位。

[0078] 在某些实施方案中,本发明的肽包含本文所述的肽序列的片段。例如,在某些实施方案中,本发明的肽包含选自 SEQ ID NO:1-73 和 83-86 的序列的片段。片段的长度可为例如至少 5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43 或 44 个氨基酸。片段可以是连续的或可包括一个或多个缺失(例如,1、2、3、4、5、6、7、8、9、10 或更多个氨基酸残基的缺失)。例如,在一个实施方案中,本发明的肽包含 SEQ ID NO:1 的片段。这类片段可包含来自 SEQ ID NO:1 的至少 10、15、20、25、30 或 35 个连续氨基酸。在一些实施方案中,所述片段包含 SEQ ID NO:1 的氨基酸 1 至 26。因此,在一个实施方案中,本发明的肽包含 S-X₂-K-E-D-K-Q-T-T-X₁₀-X₁₁-I-W-G-L-K-Q-X₁₈-W-X₂₀-G-X₂₂-P-X₂₄-X₂₅-X₂₆

[0079] (SEQ ID NO:84) 的序列或由所述序列组成,其中 X₂为选自 A 和 V 的氨基酸,X₁₀为选自 T 和 V 的氨基酸,X₁₁为选自 G 和 A 的氨基酸,X₁₈为选自 E 和 Q 的氨基酸,X₂₀为选自 D

和 N 的氨基酸, X_{22} 为选自 S 和 V 的氨基酸, X_{24} 为选自 A 和 I 的氨基酸, X_{25} 为选自 T 和 P 的氨基酸, 以及 X_{26} 为选自 S、N 和 K 的氨基酸。

[0080] 在一个特定实施方案中, 本发明的肽包含 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的片段。这类片段可包含来自 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的至少 10、15、20、25、30、35 或 40 个连续氨基酸。例如, 在某些实施方案中, 这类片段可包含 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的氨基酸 1 至 26。因此, 在一个实施方案中, 本发明的肽包含 S- X_2 -K-E- X_5 -K-Q- X_8 -T- X_{10} - X_{11} - X_{12} - X_{13} -G-L-K-Q- X_{18} -W- X_{20} -G- X_{22} - X_{23} - X_{24} - X_{25} - X_{26} (SEQ ID NO:86) 的序列或由所述序列组成, 其中 X_2 为选自 A 和 V 的氨基酸, X_5 为选自 E 和 D 的氨基酸, X_8 为选自 T 和 P 的氨基酸, X_{10} 为选自 T 和 V 的氨基酸, X_{11} 为选自 G 和 A 的氨基酸, X_{12} 为选自 L 和 V 的氨基酸, X_{13} 为选自 Y 和 F 的氨基酸, X_{18} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{20} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{22} 为选自 S 和 V 的氨基酸, X_{23} 为选自 A、S 和 T 的氨基酸, X_{24} 为选自 A 和 I 的氨基酸, X_{25} 为选自 T 和 P 的氨基酸, 以及 X_{26} 为选自 S、N 和 K 的氨基酸。在其他实施方案中, 片段可包含 SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的氨基酸 33 至 71。因此, 在一个实施方案中, 本发明的肽包含 F-S-A-K-E-E- X_7 -A- X_9 -T-R- X_{12} -T-F-G- X_{16} - X_{17} -K-Q-Y-D-G-A- X_{24} -I- X_{26} -E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO:5) 的序列或由所述序列组成, 其中 X_7 为任何氨基酸, X_9 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{12} 为任何氨基酸, X_{16} 为选自 V 和 A 的氨基酸, X_{17} 为任何氨基酸, X_{24} 为任何氨基酸, 以及 X_{26} 为任何氨基酸。在另一实施方案中, 本发明的肽包含 C-F-S-A-K-E-E- X_8 -A- X_{10} -T-R- X_{13} -T-F-G- X_{17} - X_{18} -K-Q-Y-D-G-A- X_{25} -I- X_{27} -E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N (SEQ ID NO:6) 的序列, 其中 X_8 为任何氨基酸, X_{10} 为选自 D 和 N 的氨基酸, X_{13} 为任何氨基酸, X_{17} 为选自 V 和 A 的氨基酸, X_{18} 为任何氨基酸, X_{25} 为任何氨基酸, 以及 X_{27} 为任何氨基酸。又在另一实施方案中, 本发明的肽包含 F-S-A-K-E-E- X_7 -A-E-T-R- X_{12} -T-F-G-L- X_{17} -K-Q-Y-D-G-A- X_{24} -I- X_{26} -E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C (SEQ ID NO:71) 的序列, 其中 X_7 为任何氨基酸, X_{12} 为任何氨基酸, X_{17} 为任何氨基酸, X_{24} 为任何氨基酸, 以及 X_{26} 为任何氨基酸。

[0081] 在某些实施方案中, 片段包括美国专利第 6, 306, 402 号、第 6, 355, 777 号、第 7, 204, 992 号或第 7, 407, 770 号或 W02006/138509 中阐述的序列。在某些实施方案中, 片段不由美国专利第 6, 306, 402 号、第 6, 355, 777 号、第 7, 204, 992 号和第 7, 407, 770 号以及 W02006/138509 的一个或多个中阐述的序列组成。包含本文所述的肽序列的片段的本发明的肽还可包含额外的 N 末端肽序列、额外的 C 末端肽序列或其组合。额外的 N 末端和 C 末端肽序列可为如上所述。

[0082] 包含额外 N 末端或 C 末端肽序列的本发明的肽还可包含连接肽 (例如, SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:85 的肽或其片段) 与额外的 N 末端或 C 末端肽序列的接头。接头可以是例如肽间隔区。这类间隔区可由例如约 1 至 5 个 (例如, 约 3 个) 氨基酸残基, 优选不带电荷的氨基酸, 例如脂肪族残基 (例如甘氨酸或丙氨酸) 组成。在一个实施方案中, 间隔区是三联体甘氨酸间隔区。在另一个实施方案中, 间隔区是三联体丙氨酸间隔区。又在另一个实施方案中, 间隔区包含甘氨酸和丙氨酸残基。或者, 接头可以是化学 (即, 非肽) 接头。

[0083] 在某些实施方案中, 本发明的肽经由合成化学 (即, “合成肽”) 产生。在其他实施方案中, 本发明的肽通过生物产生 (即, 通过细胞机器, 例如核糖体)。在某些实施方案中, 本发明的肽是分离的。如本文中所示, “分离的” 肽是已合成或生物产生的并且随后至少

部分地从用于产生所述肽的化学药品和 / 或细胞机器纯化的肽。在某些实施方案中,本发 明的分离的肽是基本上纯化的。术语“基本上纯化的”,如本文中 所用,是指分子例如肽,其基本上不含用于肽的合成的细胞材料(蛋白质、脂质、碳水化合物、核酸等)、培养基、化学前体、化学药品或其组合。基本上纯化的肽具有小于约 40%、30%、25%、20%、15%、10%、5%、2%、1% 或更少的用于肽的合成的细胞材料、培养基、其他多肽、化学前体和 / 或化学药品。因此,基本上纯的分子例如肽,可以为按干重计至少约 60%、70%、75%、80%、85%、90%、95%、98% 或 99% 的目标分子。本发 明的分离的肽可存在于水、缓冲液中或以待复水的干燥形式例如作为试剂盒的部分存在。本发 明的分离的肽可以医药学上可接受的盐的形式存在。能够与本发 明的肽形成盐的适当的酸和碱对于本领域技术人员而言是熟知的,并且包括无机和有机酸及碱。

[0084] 在某些实施方案中,亲和纯化本发 明的肽。例如,在某些实施方案中,本发 明的肽是利用它们结合抗埃里希体属抗体(例如,针对 OMP-1 蛋白和任选地其他埃里希体属抗原的抗体)的能力来纯化,通过将这类抗体与本发 明的肽接触(以便肽-抗体复合物能够形成),洗涤肽-抗体复合物以除去杂质,然后从抗体洗脱肽来进行。抗体可以被例如连接至固体支持物。亲和纯化的方法对于本领域技术人员而言是熟知的和常规的。

[0085] 在某些实施方案中,对本发 明的肽进行修饰。可通过多种技术,例如通过用加热和 / 或清洁剂(例如,SDS)变性来修饰本发 明的肽。或者,可通过与一种或多种其他部分结合来修饰本发 明的肽。结合可以是共价或非共价的,并且可以是例如经由末端氨基酸接头例如赖氨酸或半胱氨酸、化学偶联剂或肽键。额外的部分可以是例如配体、配体受体、融合伴侣、可检测标记物、酶或固定肽的基底。

[0086] 可将本发 明的肽缀合至配体,例如生物素(例如,经由半胱氨酸或赖氨酸残基)、脂质分子(例如,经由半胱氨酸残基)或载体蛋白(例如,血清白蛋白、免疫球蛋白 Fc 结构域、钥孔血蓝蛋白(KLH),经由例如半胱氨酸或赖氨酸残基)。与配体例如生物素的连接对于使肽与配体受体例如抗生物素蛋白、链霉抗生物素蛋白、聚合链霉抗生物素蛋白(参见,例如 US 2010/0081125 和 US 2010/0267166,两者均以引用的方式并入本文)或中性抗生物素蛋白的结合是有用的。抗生物素蛋白、链霉抗生物素蛋白、聚合链霉抗生物素蛋白或中性抗生物素蛋白又可连接至信号部分(signaling moiety)(例如,酶,例如辣根过氧化物酶(HRP)或碱性磷酸酯酶(ALP)、或可被可观察到的其他部分,例如金属纳米颗粒或纳米壳(例如胶体金)或荧光部分)或固体基底(例如,Immobilon™或硝酸纤维素膜)。或者,可将本发 明的肽与配体受体例如抗生物素蛋白、链霉抗生物素蛋白、聚合链霉抗生物素蛋白或中性抗生物素蛋白融合或连接,从而促进肽与对应配体例如生物素和任何部分(例如,信号部分)或与其连接的固体基底的结合。其他配体-受体对的实例在本领域是熟知的并且可以类似方式使用。

[0087] 本发 明的肽可与融合伴侣(例如,肽或其他部分)融合,所述融合伴侣可用于改善纯化,以增强肽在宿主细胞中的表达,帮助检测、使肽稳定等。用于融合伴侣的适当化合物的实例包括载体蛋白(例如,血清白蛋白、免疫球蛋白 Fc 结构域、KLH)、酶(例如辣根过氧化物酶(HRP)、 β -半乳糖苷酶、谷胱甘肽-S-转移酶、碱性磷酸酯酶)、组氨酸标签等。融合可借助于例如肽键来实现。例如,本发 明的肽和融合伴侣可以是融合蛋白并且可在框内直接融合或可包含肽接头,如上文在额外的 N 末端和 C 末端肽序列的上下文中所述。在

某些实施方案中,本发明的肽的混合物可经由树状聚合物连接,例如如在 MAPS 结构中。

[0088] 此外,可修饰本发明的肽以包括任何已知化学基团或分子种类。这类修饰包括但不限于糖基化、乙酰化、酰化、ADP-核糖基化、酰胺化、与聚乙二醇的共价连接(例如,PEG化)、黄素的共价连接、亚铁血红素部分的共价连接、核苷酸或核苷酸衍生物的共价连接、脂质或脂质衍生物的共价连接、磷脂酰肌醇的共价连接、交联、环化、二硫键形成、脱甲基化、共价交联的形成、胱氨酸的形成、焦谷氨酸的形成、甲酰化、 γ 羧化、糖基化、GPI 锚形成、羟基化、碘化、甲基化、豆蔻酰化、氧化、蛋白水解加工、磷酸化、异戊烯化、外消旋化、硒化(selenoylation)、硫酸化、泛素化、利用脂肪酸的修饰、转运 RNA 介导的氨基酸至蛋白质的添加例如精氨酸酰化等。还包括氨基酸的类似物(包括非天然氨基酸)和具有取代的连接肽。由本文中论述的任何序列组成的本发明的肽可经由任何论述的修饰来进行修饰。这类肽仍然由氨基酸“组成”。

[0089] 上文阐述的修饰对于本领域技术人员而言是熟知的并且已非常详细地描述在科学文献中。几种特别常见的修饰,例如糖基化、脂质连接、硫酸化、谷氨酸残基的 γ -羧化、羟基化和 ADP-核糖基化,描述于许多基础教科书中,例如 *Proteins-Structure and Molecular Properties*, 第 2 版, T.E. Creighton, W. H. Freeman and Company, New York(1993)。可获得关于此主题的许多详细综述,例如由 Wold, F. 撰写的 *Posttranslational Covalent Modification of Proteins*, B. C. Johnson, 编, Academic Press, New York 1-12(1983); Seifter 等人(1990) *Meth. Enzymol.* 182:626-646 以及 Rattan 等人(1992) *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 663:48-62。

[0090] 在某些实施方案中,本发明的肽被连接至或固定在基底上,例如固体或半固体支持物。连接可以是共价或非共价连接,并且可通过与使得能够共价或非共价结合的肽连接的部分(例如对连接至载体、支持物或表面的组分具有高亲和力的部分)来促进。例如,肽可与配体例如生物素连接,与表面连接的组分可以是对应的配体受体,例如抗生物素蛋白。在一些实施方案中,肽可与融合伴侣例如牛血清白蛋白(BSA)连接,其促进肽与基底的连接。在其他实施方案中,本发明的肽经由金属纳米层被连接至或固定在基底上。在一个实施方案中,金属纳米层由镉、锌、汞或贵金属,例如金、银、铜和铂组成。在免疫测定过程中,在添加含有抗体的样品之前或之后,所述肽或肽的混合物可被连接至或固定在基底上。

[0091] 在某些实施方案中,基底为珠粒例如胶粒(例如,由金、银、铂、铜、镉、金属复合材料、其他软金属制造的胶体纳米颗粒、核壳结构颗粒或中空金纳米球)或其他类型的颗粒(例如,磁性珠粒或包含二氧化硅、胶乳、聚苯乙烯、聚碳酸酯、聚丙烯酸酯或 PVDF 的颗粒或纳米颗粒)。这类颗粒可以包含标记物(例如,比色、化学发光或荧光标记物)并且可在免疫测定过程中用于观察肽的位置。在某些实施方案中,本发明的肽的末端半胱氨酸用于将肽直接结合至从金、银、铂、铜、镉、金属复合材料、或其他软金属等制造的纳米颗粒、或金属纳米壳(例如金空心球体、金涂布的二氧化硅纳米壳和二氧化硅涂布的金壳)。

[0092] 在某些实施方案中,基底为斑点印迹或侧流免疫测定装置中的流动通道。例如,肽可被连接至或固定多孔膜例如 PVDF 膜(例如, Immobilon™膜)、硝酸纤维素膜、聚乙烯膜、尼龙膜或类似类型的膜上。

[0093] 在某些实施方案中,基底为分析或离心转子中的流动通道。在其他实施方案中,基底为管或孔,例如适用于 ELISA 测定法的板(例如,微量滴定板)中的孔。这类基底可

包括玻璃、基于纤维素的材料、热塑性聚合物,例如聚乙烯、聚丙烯或聚酯、由颗粒材料组成的烧结构造(例如,玻璃或各种热塑性聚合物)或由硝酸纤维素、尼龙、聚砷等组成的浇铸膜薄膜。基底可以是聚乙烯的烧结微粒,通常称为多孔聚乙烯,例如,来自 Chromex Corporation(Albuquerque, NM) 的 0.2-15 微米多孔聚乙烯。所有这类基底材料可以以适当形状(例如薄膜、片或板)使用,或可将它们涂覆至或结合或层合至适当的惰性载体例如纸、玻璃、塑料薄膜或织物上。用于将肽固定在固相上的适当的方法包括离子、疏水、共价相互作用等。

[0094] 因此,在另一个方面,本发明提供了装置。在某些实施方案中,装置用于进行免疫测定。例如,在某些实施方案中,装置为侧流免疫测定装置。在一些实施方案中,装置是由肽或肽群体连接的多个珠粒组成的载片(slide)。在其他实施方案中,装置为分析或离心转子。在其他实施方案中,装置是斑点印迹、狭缝印迹或蛋白质印迹。在其他实施方案中,装置为管或孔,例如在适用于 ELISA 测定法的板中。还在其他实施方案中,装置为电化学传感器、光学传感器或光电传感器。

[0095] 在某些实施方案中,装置包含本发明的肽或肽的群体。在其他实施方案中,装置包含不同的本发明的肽的混合物。例如,在某些实施方案中,装置包含两种、三种、四种或更多种不同的本发明的肽。在某些实施方案中,肽或混合物中的每种肽包含 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:85 的序列或其片段。在其他实施方案中,肽或混合物中的每种肽包含 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:72 的序列、或其片段。在某些实施方案中,肽的混合物或群体任选地经由金属纳米层被连接至或固定在装置上。所述装置可用来在一份样品中同时针对多种埃里希体物种(例如犬埃里希体、恰菲埃里希体、埃翁氏埃里希体和小鼠埃里希体)抗原检测抗体的存在。在一个实施方案中,装置包括包含三种或更多种不同肽的分离的肽的群体,其中所述群体中的每一种肽包含 SEQ ID NO:72 的序列。在相关实施方案中,分离的肽的群体还包括包含 SEQ ID NO:3 和 / 或 SEQ ID NO:71 的序列的肽。在另一个实施方案中,装置包括包含三种或更多种不同肽的分离的肽的群体,其中所述群体中的每一种肽包含 SEQ ID NO:3 的序列。在另一个实施方案中,装置包括包含三种或更多种不同肽的分离的肽的群体,其中所述群体中的每一种肽包含 SEQ ID NO:1 的序列。还在另一个实施方案中,装置包括包含三种或更多种不同肽的分离的肽的群体,其中所述群体中的每一种肽包含 SEQ ID NO:71 的序列。在其他实施方案中,装置包括包含三种或更多种不同肽的分离的肽的群体,其中所述群体中的每一种肽包含 SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列。

[0096] 在另一个方面,本发明提供了包含一种或多种本发明的肽的组合物。例如,在某些实施方案中,本发明提供了包括包含 SEQ ID NO:1 的序列的肽或其混合物的组合物。在某些实施方案中,组合物包含 2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500 或更多种肽(例如,由 SEQ ID NO:1 定义的所有可能的肽)的混合物。因此,本发明提供了包含三种或更多种不同肽的分离的肽的群体,其中所述群体中的每一种肽包含 SEQ ID NO:1 的序列。在某些实施方案中,所述群体或混合物中的肽包含 N 末端和 / 或 C 末端添加,和 / 或被修饰(例如,通过与一种或多种其他部分结合),如本文中所描述。在某些实施方案中,肽包含相同 N 末端和 / 或 C 末端添加。在其他实施方案中,肽包含不同 N 末端和 / 或 C 末端添加。

[0097] 还在其他实施方案中,本发明提供了包括包含 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:85 的序列的肽或其混合物的组合物。在某些实施方案中,组合物包含 2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500 或更多种肽(例如,由 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 定义的所有可能的肽)的混合物。因此,本发明提供了包含三种或更多种不同肽的分离的肽的群体,其中所述群体中的每一种肽包含 SEQ ID NO:3 的序列。在另一个实施方案中,本发明提供了包含三种或更多种不同肽的分离的肽的群体,其中所述群体中的每一种肽包含 SEQ ID NO:72 的序列。在其他实施方案中,本发明提供了包含三种或更多种不同肽的分离的肽的群体,其中所述群体中的每一种肽包含 SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列。所述群体或混合物中的肽可以包含 N 末端和 / 或 C 末端添加,和 / 或被修饰(例如,通过与一种或多种其他部分结合),如本文中所描述。

[0098] 在某些实施方案中,组合物包含一种或多种本发明的肽(或一种或多种肽的群体)以及一种或多种额外的肽,例如埃里希体属肽或抗原、来自一种或多种感染性埃里希体属物种的肽或抗原、或来自单核细胞埃里希体病和 / 或粒细胞埃里希体病的一种或多种病原体的肽或抗原。埃里希体属肽或抗原可以是任何埃里希体属表面肽或抗原、或本文中描述的任何肽或抗原(例如,OMP-1、p38、p43、p120、p140、p153、p156、p200、gp19、gp36、gp47、gp200 或 HGE-3 蛋白的任何肽或抗原、或其任何片段或表位)。组合可包含各个肽或多肽的混合物(简单混合物),其可以以融合肽或多肽的形式存在(例如,多聚体肽)、或肽可任选地经由连接残基(例如赖氨酸或半胱氨酸残基)经由树状聚合物连接(例如,如在 MAPS 结构中)。例如,在某些实施方案中,组合物包含一种或多种本发明的肽(例如,具有 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列的肽)和一种或多种具有 F-S-A-K-E-E-X₇-A-E-T-R-X₁₂-T-F-G-L-X₁₇-K-Q-Y-D-G-A-X₂₄-I-X₂₆-E-N-Q-V-Q-N-K-F-T-I-S-N-C(SEQ ID NO:71) 的序列或其片段的抗原性埃里希体属肽,其中 X₇为任何氨基酸, X₁₂为任何氨基酸, X₁₇为任何氨基酸, X₂₄为任何氨基酸,以及 X₂₆为任何氨基酸。在一些实施方案中, X₇为 K。在其他实施方案中, X₁₂为选自 K 和 R 的氨基酸,以及 X₁₇为选自 E 和 D 的氨基酸。还在其他实施方案中, X₂₄为选自 K 和 Q 的氨基酸,以及 X₂₆为选自 E 和 T 的氨基酸。

[0099] 在某些实施方案中,肽的混合物或群体包含具有 SEQ ID NO:3 的序列的一种或多种肽和具有 SEQ ID NO:71 的序列的一种或多种肽。还在其他实施方案中,肽的混合物或群体包含具有 SEQ ID NO:1 的序列的一种或多种肽和具有 SEQ ID NO:71 的序列的一种或多种肽。在一个实施方案中,肽的混合物或群体包含具有 SEQ ID NO:3 的序列的一种或多种肽和具有 SEQ ID NO:72 的序列的一种或多种肽。在另一个实施方案中,肽的混合物或群体包含具有 SEQ ID NO:72 的序列的一种或多种肽和具有 SEQ ID NO:71 的序列的一种或多种肽。在一个特定实施方案中,肽的混合物或群体包含具有 SEQ ID NO:3 的序列的一种或多种肽、具有 SEQ ID NO:72 的序列的一种或多种肽和具有 SEQ ID NO:71 的序列的一种或多种肽。这类混合物使得在一份样品中能够同时针对多种埃里希体属物种(例如犬埃里希体、恰菲埃里希体、埃翁氏埃里希体和小鼠埃里希体)抗原检测抗体。

[0100] 本发明的肽可在其 N 末端或 C 末端融合至另一种合适的肽。可将两个或更多个副

本的本发明的肽相互连接、单独地或与一个或多个额外的肽组合地连接。可使用融合或未融合的肽或多肽的组合。在一个实施方案中，额外的肽含有来自埃里希体属肽或抗原、来自感染性埃里希体属物种的肽或抗原或来自单核细胞埃里希体病和 / 或粒细胞埃里希体病的病原体的肽或抗原的 B 细胞和 / 或 T 细胞表位。

[0101] 在另一个方面，本发明提供了包含编码本发明的肽的序列的核酸。本发明的核酸含有少于完整微生物基因组并且可以是单链或双链的。核酸可以是 RNA、DNA、cDNA、基因组 DNA、化学合成的 RNA 或 DNA 或其组合。核酸可经纯化而不含其他组分，例如蛋白质、脂质和其他多核苷酸。例如，核酸可以是 50%、75%、90%、95%、96%、97%、98%、99% 或 100% 纯化的。本发明的核酸编码本文中描述的肽。在某些实施方案中，核酸编码具有 SEQ ID NO:1-73 和 83-86 的序列或其组合的肽。本发明的核酸可包含其他核苷酸序列，例如编码接头、信号序列、TMR 停止转移序列、跨膜结构域或用于蛋白质纯化的配体，例如谷胱甘肽-S-转移酶、组氨酸标签和葡萄球菌蛋白 A 的序列。

[0102] 可分离本发明的核酸。“分离的”核酸是不与与其天然结合的 5' 和 3' 侧翼基因组序列之一或两者紧密邻接的核酸。分离的核酸可以是例如任何长度的重组 DNA 分子，只要天然地被发现在天然存在的基因组中紧密地侧翼连接重组 DNA 分子的核酸序列被除去或不存在。分离的核酸还包括非天然存在的核酸分子。本发明的核酸还可包含编码免疫原性肽的片段。本发明的核酸可编码全长多肽、肽片段以及变体或融合肽。

[0103] 本发明的核酸可以至少部分地从存在于例如来自被感染的个体的生物样品，例如血液、血清、唾液或组织中的核酸序列分离。核酸还可以例如使用自动合成仪在实验室中合成。扩增法例如 PCR 可用于至少部分地从编码多肽的基因组 DNA 或 cDNA 来扩增核酸。

[0104] 本发明的核酸可包含天然存在的多肽的编码序列或可编码非天然存在的改变的序列。若需要，可将核酸克隆入包含表达控制元件（包括例如，复制起始点、启动子、增强子或在宿主细胞中驱动本发明的多核苷酸表达的其他调控元件）的表达载体。表达载体可以是例如质粒，例如 pBR322、pUC 或 ColE1、或腺病毒载体，例如腺病毒 2 型载体或 5 型载体。任选地，可使用其他载体，包括但不限于辛德毕斯病毒 (Sindbis virus)、猿猴病毒 40、甲病毒属载体、痘病毒载体以及巨细胞病毒和逆转录病毒载体，例如鼠肉瘤病毒、小鼠乳腺瘤病毒、莫洛尼鼠白血病毒 (Moloney murine leukemia virus) 和劳斯肉瘤病毒 (Rous sarcoma virus)。还可使用微型染色体 (Minichromosome) 例如 MC 和 MC1、噬菌体、噬菌粒、酵母人工染色体、细菌人工染色体、病毒颗粒、病毒样颗粒、粘粒（已向其中插入了 λ 噬菌体 cos 位点的质粒）和复制子（能够在它们自己的控制下在细胞中复制的基因元件）。

[0105] 用于制备有效地连接至表达控制序列的多核苷酸和在宿主细胞中表达它们的方法在本领域是熟知的。参见例如，美国专利第 4,366,246 号。当本发明的核酸位于邻近于或接近于一个或多个指导多核苷酸的转录和 / 或转译的表达控制元件时，所述核酸是有效连接的。

[0106] 因此，例如，本发明的肽可按传统的基因工程技术重组产生。为了产生本发明的重组肽，将编码肽的核酸插入适当的表达系统。通常，构建重组分子或载体，其中编码选定的肽的多核苷酸序列被有效地连接至允许所述肽表达的表达控制序列。许多类型的适当的表达载体在本领域是已知的，包括例如含有细菌、病毒、酵母、真菌、昆虫或哺乳动物表达系统的载体。获得和使用这类表达载体的方法是熟知的。关于用于本发明的组合物或方

法的这个和其他分子生物学技术的指导,参见,例如,Sambrook 等人,Molecular Cloning, A Laboratory Manual, 现行版本,Cold Spring Harbor Laboratory, New York ;Miller 等人, Genetic Engineering, 8:277-298 (Plenum Press, 现行版本), Wu 等人, Methods in Gene Biotechnology (CRC Press, New York, N. Y., 现行版本), Recombinant Gene Expression Protocols, Methods in Molecular Biology, 第62卷, (Tuan 编, Humana Press, Totowa, N. J., 现行版本) 以及 Current Protocols in Molecular Biology, (Ausabel 等人, 编) John Wiley&Sons, NY (现行版本), 以及其中引用的参考文献。

[0107] 因此,本发明还提供了包含本发明的核酸的载体,和包含这类载体的宿主细胞。在某些实施方案中,载体为穿梭载体。在其他实施方案中,载体是表达载体(例如,细菌或真核表达载体)。在某些实施方案中,宿主细胞是细菌细胞。在其他实施方案中,宿主细胞是真核细胞。

[0108] 用于通过此方法进行本发明的重组核酸或载体转染的适当宿主细胞或细胞系包括细菌细胞。例如,大肠杆菌 (*E. coli*) 的各种菌株(例如, HB101、MC1061) 众所周知为生物技术学领域的宿主细胞。枯草杆菌 (*B. subtilis*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、链霉菌属 (*Streptomyce*) 的各种菌株以及其他杆菌等也可用于此方法。或者,可使用传统程序在酵母、昆虫、哺乳动物或其他细胞类型中表达本发明的肽。也可以使用无细胞的活体外合成和/或酶介导合成机械。

[0109] 本发明还提供了用于产生重组肽或多肽的方法,所述方法包括例如通过传统方法例如电穿孔用至少一种表达载体转染或转化宿主细胞,所述表达载体含有在表达控制序列(例如,转录调控序列)的控制下的本发明的多核苷酸。随后将转染或转化的宿主细胞在允许所述肽或多肽表达的条件下进行培养。回收、分离表达的肽或多肽,任选地经由对于本领域技术人员而言是已知的适当方法包括液相色谱(例如正相或反相)(使用 HPLC、FPLC 等)、亲和色谱法(例如利用无机配体或单克隆抗体)、尺寸排阻色谱法、固定金属螯合色谱法、凝胶电泳等,从细胞(或从培养基,如果细胞外表达的话)纯化所述肽或多肽。本领域技术人员可在不脱离本发明的范围的情况下选择最适当的分离和纯化技术。本领域技术人员可经由使用标准方法包括例如聚丙烯酰胺凝胶电泳(例如, SDS-PAGE)、毛细管电泳、柱色谱法(例如,高效液相色谱 (HPLC))、氨基末端氨基酸分析以及定量氨基酸分析来测定肽或多肽的纯度。

[0110] 方法

[0111] 在另一个方面,本发明提供了检测样品中针对埃里希体属抗原的表位的抗体的方法。在某些实施方案中,所述方法包括将样品与本发明的肽接触,并检测包含所述肽的抗体-肽复合物的形成,其中所述复合物的形成表明所述样品中存在针对埃里希体属抗原的表位的抗体。在一些实施方案中,埃里希体属抗原来自感染性埃里希体属物种。在某些实施方案中,埃里希体属抗原来自于病原性埃里希体属物种,例如恰菲埃里希体、埃翁氏埃里希体、小鼠埃里希体或犬埃里希体。还可以使用本发明的方法检测牵涉单核细胞埃里希体病和/或粒细胞埃里希体病的埃里希体属的其他物种,只要它们可诱导可与本发明的肽特异性反应的抗体。因此,应理解,术语“病原性埃里希体属”,如本文中所用,是指引发单核细胞埃里希体病和/或粒细胞埃里希体病的任何这类埃里希体属的物种。在特定实施方案中,所述方法提供了在一份样品中同时针对多种埃里希体属物种(例如犬埃里希体、恰菲埃里

希体、埃翁氏埃里希体和小鼠埃里希体) 抗原的抗体的检测。

[0112] 在某些实施方案中,所述方法包括将样品与2、3、4或更多种(例如5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500或更多种)不同的本发明的肽的混合物或群体接触。例如,在一个特定实施方案中,所述方法包括将样品与两种或更多种不同的分离的肽的混合物或群体接触,其中各个分离的肽包含SEQ ID NO:1的序列。在另一个特定实施方案中,所述方法包括将样品与两种或更多种不同的分离的肽的混合物或群体接触,其中各个分离的肽包含SEQ ID NO:3的序列。还在另一个实施方案中,所述方法包括将样品与两种或更多种不同的分离的肽的混合物或群体接触,其中各个分离的肽包含SEQ ID NO:72的序列。在一些实施方案中,所述方法包括将样品与两种或更多种不同的分离的肽的混合物或群体接触,其中各个分离的肽包含SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3或SEQ ID NO:72的序列。在其他实施方案中,所述方法包括将样品与两种或更多种不同的分离的肽的混合物或群体接触,其中各个分离的肽包含SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:83或SEQ ID NO:85的序列。

[0113] 在某些实施方案中,所述方法包括将样品与一种或多种本发明的肽和一种或多种其他肽(例如,埃里希体属肽或其抗原性片段或表位,例如埃里希体属表面抗原或OMP-1、p38、p43、p120、p140、p153、p156、p200、gp19、gp36、gp47、gp200或HGE-3蛋白)的混合物接触。例如,在一些实施方案中,所述方法包括将样品与一种或多种本发明的肽(例如SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83、或SEQ ID NO:85)和具有SEQ ID NO:71的序列的一种或多种埃里希体属抗原性肽的混合物接触。在一个特定实施方案中,所述方法包括将样品与具有SEQ ID NO:3的序列的一种或多种肽和具有SEQ ID NO:71的序列的一种或多种肽的混合物接触。在另一个实施方案中,所述方法包括将样品与具有SEQ ID NO:72的序列的一种或多种肽和具有SEQ ID NO:71的序列的一种或多种肽的混合物接触。在另一个实施方案中,所述方法包括将样品与具有SEQ ID NO:72的序列的一种或多种肽和具有SEQ ID NO:3的序列的一种或多种肽的混合物接触。在一个实施方案中,所述方法包括将样品与具有SEQ ID NO:72的序列的一种或多种肽、具有SEQ ID NO:3的序列的一种或多种肽和具有SEQ ID NO:71的序列的一种或多种肽的混合物接触。在一些实施方案中,本发明的肽的混合物允许在一份样品中同时针对多种埃里希体属物种(例如犬埃里希体、小鼠埃里希体、恰菲埃里希体和埃翁氏埃里希体)抗原的抗体的检测。

[0114] 在某些实施方案中,肽或混合物或群体中的每一种肽为分离的(例如合成的和/或纯化的)肽。在某些实施方案中,肽或肽的混合物(即肽的群体)被连接至或固定在固体支持物上。在某些实施方案中,固体支持物为珠粒(例如,金属纳米颗粒或纳米壳、纳米颗粒、胶乳珠粒等)、侧流免疫测定装置中的流动通道(例如,多孔膜)、分析或离心转子中的流动通道、印迹(蛋白质印迹、斑点印迹或狭缝印迹)、管或孔(例如,在适用于ELISA测定法的板中)或传感器(例如,电化学、光学或光电传感器)。在一些实施方案中,肽或肽的混合物经由金属纳米层被连接至或固定在固体支持物上,在一些实施方案中,所述金属纳米层可由镉、锌、汞或贵金属(例如金、银、铜和铂)组成。

[0115] 在某些实施方案中,检测步骤包括进行ELISA或免疫荧光测定。在其他实施方案中,检测步骤包括进行侧流免疫测定。在其他实施方案中,检测步骤包括进行凝集测定(例

如血细胞凝集或颗粒/珠粒凝集测定)。在其他实施方案中,检测步骤包括在分析或离心转子中旋转样品。在一些实施方案中,检测步骤包括进行波长移动测定。这类波长移动测定可能需要测量或测定由抗体与连接至金属纳米层或金属纳米颗粒/纳米壳的肽的结合所引起的表面等离子体共振或局域表面等离子体共振波长的变化。还在其他实施方案中,检测步骤包括用电化学、光学或光电传感器分析样品。

[0116] 存在许多不同的用于检测包含本发明的肽的抗体-肽复合物的形成的传统测定法。例如,检测步骤可包括进行 ELISA 测定,进行免疫荧光测定,进行侧流免疫测定,进行凝集测定,进行波长移动测定,进行蛋白质印迹、狭缝印迹或斑点印迹,分析分析或离心转子中的样品、或利用电化学、光学或光电传感器分析样品。这些不同测定法在本文中进行了描述和/或对于本领域技术人员而言是熟知的。

[0117] 在一个实施方案中,所述方法包括检测天然存在的针对一种或多种埃里希体属抗原(例如,病原性埃里希体属诸如恰菲埃里希体、小鼠埃里希体、埃翁氏埃里希体或犬埃里希体的抗原)的抗体的存在,所述抗体由感染的受试者的免疫系统在其生物流体或组织中产生,并且能够与本发明的肽或本发明的肽的组合和任选地一种或多种适当的额外的抗原性多肽或肽特异性结合。

[0118] 适当的免疫测定法通常包括:接受或获得(例如,从患者)可能含有抗体的体液或组织的样品;将(例如,孵育或反应)待测定的样品与本发明的肽在对于特异性肽-抗体复合物的形成是有效的条件下接触(例如,以进行肽与抗体的特异性结合);和测定接触的(反应的)样品的抗体-肽反应的存在(例如,测定抗体-肽复合物的量)。增加量的抗体-肽复合物的存在表示受试者暴露于并且感染了感染性埃里希体属物种。“特异性结合”(例如,“特异于”或“优选地”结合于)针对埃里希体属抗原的抗体的肽,包括其修饰形式,与抗体相互作用、或以一定的量与其形成或经历物理结合并且进行足够的时间以允许检测抗体。所谓“特异性地”或“优选地”是指肽对于这样的抗体比对于样品中的其他抗体具有更高的亲和力(例如,更高的选择性程度)。例如,肽对于所述抗体与对于样品中的其他抗体相比可具有至少约 1.5 倍、2 倍、2.5 倍、3 倍或更高的亲和力。这样的亲和力或特异性的程度可经由多种常规程序来测定,包括例如,竞争性结合研究。在 ELISA 测定中,阳性反应被定义为大于健康对照组的平均值 2 或 3 个标准偏差。在一些实施方案中,需要第二层次的测定(second tier assay)来提供明确的单核细胞埃里希体病和/或粒细胞埃里希体病的血清学诊断。

[0119] 短语例如“含抗体的样品”或“检测样品中的抗体”不是指排除其中不含抗体或未检测到抗体的样品或测定(例如,检测尝试)。在一般意义上,本发明包括确定响应感染性埃里希体属的感染而产生的抗体是否存在于样品中,无论其是否被检测到。

[0120] 用于使肽与抗体反应以便它们特异性反应的条件对于本领域技术人员而言是熟知的。参见,例如,Current Protocols in Immunology(Coligan 等人,编, John Wiley&Sons, Inc)。

[0121] 所述方法包括接受或获得可能含有来自受试者的抗体的体液或组织的样品。抗体可具有例如 IgG、IgE、IgD、IgM 或 IgA 类型。通常, IgM 和/或 IgA 抗体被检测到,例如在感染的早期被检测到。当将一些上述其他肽(例如,用于鞭毛蛋白的检测的肽)用于本方法时,可检测到 IgG 抗体。样品优选易于获得的并且可以是来源于静脉血样品或甚至来

自手指刺扎的全血、血浆或血清。已知来自其他身体部分的组织或其他液体例如脑脊髓液 (CSF)、唾液、胃分泌物、粘液、尿等含有抗体,从而可用作样品的来源。样品也可能是组织提取液或细胞溶解产物。

[0122] 一旦允许肽抗原和样品抗体在适当的介质中反应,则进行测定以确定抗体-肽反应的存在或不存在。在许多类型的适当测定法中,对于本领域技术人员来说显而易见的是免疫沉淀法和凝集测定法。

[0123] 在本发明的某些实施方案中,测定包括:固定样品中的抗体;添加本发明的肽;和检测抗体与肽结合的程度,例如通过被标记的肽或通过添加标记物质,例如标记结合伴侣(例如,链霉抗生物素蛋白-HRP 或链霉抗生物素蛋白-胶体金复合物)或特异性识别所述肽的标记抗体。参见例如图 2。在其他实施方案中,测定包括:固定本发明的肽;添加含有抗体的样品;和检测与肽结合的抗体的量,例如通过添加直接或间接与标记物(例如金属纳米颗粒或金属纳米壳、荧光标记物、酶(例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酯酶))缀合的另一个本发明的肽、或通过添加标记物质,例如特异性识别样品抗体的结合伴侣或标记抗体(例如抗人 IgG 抗体、抗人 IgM 抗体、抗狗 IgG 抗体、抗狗 IgM 抗体、抗猫 IgG 抗体、抗猫 IgM 抗体、蛋白 A、蛋白 G、蛋白 A/G 融合蛋白、蛋白 L、或其组合等)来进行检测。参见例如图 1、3 和 4。在其他实施方案中,测定包括:固定本发明的肽;添加含有抗体的样品;和检测与肽结合的抗体的量,例如通过添加特异性识别样品抗体的第一结合伴侣(例如抗人 IgG 抗体、抗人 IgM 抗体、抗狗 IgG 抗体、抗狗 IgM 抗体、抗猫 IgG 抗体、抗猫 IgM 抗体、蛋白 A、蛋白 G、蛋白 A/G 融合蛋白、蛋白 L 等),以及再添加第二结合伴侣(例如蛋白 A、蛋白 G、蛋白 A/G 融合蛋白、蛋白 L 等)来进行检测,其中第二结合伴侣是经标记的且识别所述第一结合伴侣。还在其他实施方案中,测定包括:将肽与含有抗体的样品反应(无任何反应物被固定),随后检测抗体与肽的复合物的量,例如通过被标记的肽或通过添加标记物质,例如标记结合伴侣(例如,链霉抗生物素蛋白-HRP 或链霉抗生物素蛋白-胶体金复合物)或特异性识别所述肽的标记抗体来进行检测。

[0124] 本发明的肽的固定可以是共价或非共价的,且非共价固定可以是非特异性的(例如,在例如微量滴定孔中与聚苯乙烯表面的非特异性结合)。与固体或半固体载体、支持物或表面的特异性或半特异性结合可通过肽来实现,所述肽具有使其能够与固体或半固体载体、支持物或表面共价或非共价结合的部分或与该部分结合。例如,所述部分可具有对连接至载体、支持物或表面的组分的亲和力。在该情况下,所述部分可以是例如与肽的氨基酸基团例如 6-氨基己酸结合的生物素或生物素基或其类似物,并且组分是抗生物素蛋白、链霉抗生物素蛋白、中性抗生物素蛋白或其类似物。另一选择是其中所述部分具有氨基酸序列 His-His-His-His-His-His (SEQ ID NO:82) 并且载体包含带有 Ni⁺⁺或 Co⁺⁺离子的次氨基三乙酸 (NTA) 衍生物的情况。在某些实施方案中,所述部分是融合伴侣,例如 BSA。在例示性实施方案中,本发明的肽可以经由所述肽的 N 末端和 / 或 C 末端残基缀合至 BSA。在一个实施方案中,本发明的 1、2、3、4、5、10、15、20、25、30 或更多个肽可能被取代成例如与 BSA 缀合。本领域技术人员将了解,取代水平可能影响测定的敏感性。需要较低浓度的高度取代的 BSA 来达到由高浓度的含有较少肽分子的 BSA-肽所提供的敏感性。在某些其他实施方案中,融合伴侣可以是 MAPS。在某些例示性实施方案中,MAPS 可由 4、8、或更多个不对称分支组成。

[0125] 适当的载体、支持物和表面包括但不限于金属纳米层、珠粒（例如，磁性珠粒、胶粒或金属纳米颗粒或纳米壳，例如胶体金或包含二氧化硅、胶乳、聚苯乙烯、聚碳酸酯或PDVF的颗粒或纳米颗粒）、共聚物例如苯乙烯-二乙烯基苯、羟基化苯乙烯-二乙烯基苯、聚苯乙烯、羧化聚苯乙烯的胶乳、碳黑的珠粒、非活化的或聚苯乙烯或聚氯乙烯活化的玻璃、环氧活化的多孔磁性玻璃、明胶或多糖颗粒或其他蛋白颗粒、红细胞、单或多克隆抗体或这类抗体的Fab片段。

[0126] 用于使用抗原检测特异性抗体的免疫测定的方案在本领域是熟知的。例如，可使用传统的夹心测定法、或可使用传统的竞争测定形式。关于一些适当类型的测定法的论述，参见Current Protocols in Immunology(同上)。在某些实施方案中，在添加含有抗体的样品之前或之后，借助于共价或非共价结合将本发明的肽固定在固体或半固体表面或载体上。

[0127] 用于进行特异性结合测定，尤其是免疫测定的装置是已知的并且可容易地调节以适用于本方法。固相测定法通常比需要分离步骤，例如沉淀、离心、过滤、色谱或磁力的非均相测定法(heterogeneous assay method)更容易进行，因为试剂的分离更快更简单。固相测定装置包括微量滴定板、流水式测定(flow-through assay)装置（例如，侧流免疫测定装置）、浸量尺(dipstick)和免疫毛细管(immunocapillary)或免疫色谱免疫测定(immunochromatographic immunoassay)装置。

[0128] 在本发明的实施方案中，固体或半固体表面或载体为微量滴定孔中的底或壁、过滤器表面或膜（例如，硝酸纤维素膜或PVDF(聚偏二氟乙烯)膜例如Immobilon™膜）、中空纤维、珠粒色谱介质(beaded chromatographic medium)（例如，琼脂糖或聚丙烯酰胺凝胶）、磁珠、纤维状纤维素基质、HPLC基质、FPLC基质、具有这样的尺寸的分子的物质（所述尺寸可使具有与其结合的肽的分子，当溶解或分散在液相中时，可借助于过滤器保留）、能够形成胶束或参与胶束的形成（从而允许液相改变或交换而不夹带胶束的物质、水溶性聚合物或任何其他适当的载体、支持物或表面）。

[0129] 在本发明的一些实施方案中，给肽提供使得能够检测其的适当标记物。可使用能够单独地或与其他组合物或化合物协同地提供可检测信号的传统标记物。适当的标记物包括但不限于酶（例如，HRP、 β -半乳糖苷酶等）、荧光标记物、放射性标记物、彩色胶乳颗粒和缀合有金属的标记物（例如，经金属纳米层、金属纳米颗粒或金属纳米壳缀合的标记物）。适当的金属纳米颗粒或金属纳米壳标记物包括但不限于金颗粒、银颗粒、铜颗粒、铂颗粒、镉颗粒、复合颗粒、金空心球体、金涂覆的二氧化硅纳米壳，以及二氧化硅涂覆的金壳。适用于可检测的层的金属纳米层包括由镉、锌、汞和贵金属例如金、银、铜和铂组成。

[0130] 适当的检测方法包括例如，利用比色测定进行的被直接或间接标记的试剂的检测（例如，用于HRP或 β -半乳糖苷酶活性的检测）、使用光学显微镜检查进行的目测检查、免疫荧光显微镜检查，包括共聚焦显微镜检查或经由流式细胞术(FACS)、放射自显影术（例如，用于放射性标记的试剂的检测）、电子显微镜检查、免疫染色、亚细胞分级分离等。在一个实施方案中，将放射性元素（例如，放射性氨基酸）直接掺入肽链；在另一个实施方案中，荧光标记物通过生物素/抗生物素蛋白相互作用，与缀合有荧光素的抗体结合等来与肽连接。在一个实施方案中，将抗体的可检测特异性结合伴侣添加至混合物中。例如，结合伴侣可以是可检测的第二抗体或结合第一抗体的其他结合剂（例如，蛋白A、蛋白G、蛋白L或其

组合)。此第二抗体或其他结合剂可以例如用放射性标记物、酶标记物、荧光标记物、发光标记物、金属纳米颗粒或金属纳米壳(例如胶体金)标记物或其他可检测标记物例如抗生物素蛋白/生物素系统来标记。在另一个实施方案中,结合伴侣为本发明的肽,其可被直接或间接(例如经由生物素/抗生物素蛋白相互作用)缀合至酶,例如辣根过氧化物酶或碱性磷酸酯酶或其他信号部分。在这类实施方案中,可通过添加产生可检测信号的酶的底物例如生色底物、荧光生成底物或化学发光底物来产生可检测信号。

[0131] 如本文中所示,用于检测结合的肽的“检测系统”可包括可检测的结合伴侣,例如对所述肽为特异性的抗体。在一个实施方案中,结合伴侣直接被标记。在另一个实施方案中,结合伴侣被连接至信号产生试剂,例如在适当的底物存在下可产生可检测信号的酶。用于固定肽的表面可任选地伴随检测系统。

[0132] 在本发明的一些实施方案中,检测过程包括目测抗体-肽复合物的颜色变化或检查抗体-肽复合物的物理-化学变化。物理-化学变化可随氧化反应或其他化学反应而发生。这些变化可通过眼睛,使用分光光度计等来检测。

[0133] 特别有用的测定形式是侧流免疫测定形式。针对人或动物(例如,狗、小鼠、鹿等)免疫球蛋白或葡萄球菌(staph)A、G或L蛋白的抗体可用信号产生物或报道分子(例如,胶体金)来标记,所述信号产生物或报道分子可在玻璃纤维垫(样品施加垫或缀合垫)上干燥和放置。将诊断肽固定在膜例如硝酸纤维素或PVDF(聚偏二氟乙烯)膜(例如,Immobilon™膜)上。当将样品的溶液(血液、血清等)施用于样品施加垫(或流过缀合垫)时,其可溶解标记报道分子,随后所述报道分子结合样品中的所有抗体。随后所得的复合物通过毛细管作用转运到下一个膜(含有诊断肽的PVDF或硝酸纤维素)中。如果抗诊断肽抗体存在,那么它们结合在膜成带的诊断肽,从而产生信号(例如,可看到或观察到的条带)。特异于标记抗体或第二标记抗体的其他抗体可用于产生对照信号。

[0134] 用于侧流免疫测定的替代形式包括本发明的肽或组合物被缀合至配体(例如,生物素)和与标记的配体受体(例如,链霉抗生物素蛋白-胶体金)复合。可将标记肽复合物置于样品施加垫或缀合垫上。抗人IgG/IgM或抗动物(例如,狗、小鼠、鹿)IgG/IgM抗体或本发明的其他肽被固定在测试位点(例如,测试线(test line))上的膜上,例如PVDF的硝酸纤维素。当将样品添加至样品施加垫时,样品中的抗体与标记的肽复合物反应,使得结合本发明的肽的抗体被间接标记。样品中的抗体随后通过毛细管被转运至下一个膜(含有诊断肽的PVDF或硝酸纤维素)并且结合固定的抗人IgG/IgM或抗动物IgG/IgM抗体(或蛋白A、蛋白G、蛋白A/G融合蛋白、蛋白L或其组合)或固定的本发明的肽。如果样品抗体的任何抗体结合本发明的标记肽,那么可在测试位点看到或观察到与所述肽结合的标记物。本发明的肽可用作测试位点上的固定捕获剂和与样品中的抗体反应的可溶性标记复合物的此类型的侧流装置的另一个实施方案示于图1中。在这类实施方案中,为放大检测信号,可将被缀合至可检测标记物(例如金属纳米颗粒或纳米壳、HRP、ALP、荧光团、彩色胶乳颗粒)的蛋白A、蛋白G和/或蛋白A/G融合蛋白施加到测试位点,在所述测试位点它们将结合至被固定的本发明的肽捕获的针对埃里希体属抗原的任何抗体的Fc区域。用于此测定的适当的对照可包括例如位于样品施加垫或缀合垫上的鸡IgY-胶体金缀合物,和固定在靠近测试位点的对照位点上的抗鸡IgY抗体。

[0135] 用于筛选血液制品或其他生理学或生物学流体的另一种测定法是酶联免疫吸附

测定法,即 ELISA。通常,在 ELISA 中,本发明的分离的肽或肽的混合物或群体被直接或通过捕获基底(例如,抗体)吸附至微量滴定孔的表面。随后用适当的试剂例如牛血清白蛋白(BSA)、热灭活的正常山羊血清(NGS)或 BLOTTO(也含有防腐剂、盐和消泡剂的脱脂奶粉的缓冲溶液)封闭表面上的残余的非特异性蛋白-结合位点。随后用怀疑含有特异性抗埃里希体属(例如,抗恰菲埃里希体、抗小鼠埃里希体、抗埃翁氏埃里希体或抗犬埃里希体)抗体的生物样品孵育所述孔。可单纯使用样品、或更常见地将其通常稀释在含有少量(按重量计 0.1-5.0%)的蛋白质例如 BSA、NGS 或 BLOTTO 的缓冲液中。在孵育足够长的时间以允许特异性结合发生后,洗涤孔以除去未结合的蛋白质,随后与最佳浓度的适当的抗免疫球蛋白抗体(例如,用于人受试者,来自另一种动物例如狗、小鼠、牛等的抗人免疫球蛋白(α HuIg))、或通过标准程序缀合至酶或其他标记物并且溶解于封闭缓冲液中的本发明的另一种肽一起孵育。标记物可选自多种酶包括辣根过氧化物酶(HRP)、 β -半乳糖苷酶、碱性磷酸酯酶(ALP)、葡萄糖氧化酶等。进行足够的时间以允许特异性结合再次发生,随后再次洗涤孔以除去未结合的缀合物,然后添加酶的合适底物。进行显色并且通过视觉或通过仪器(在适当的波长上测量)测定孔的内容物的光密度。截断 OD 值可定义为至少 50 个从个体(所述个体来自埃里希体病不是地方病的地区)收集的血清样品平均 OD+3 个标准偏差(SD)或通过其他这类传统定义来定义。在非常具体的测定的情况下,OD+2SD 可用作截断值。

[0136] 在 ELISA 的一个实施方案中,本发明的肽被固定在表面上,例如 96 孔 ELISA 板或等同的固相,所述板或固相用链霉抗生物素蛋白或等同的生物素-结合化合物例如抗生物素蛋白或中性抗生物素蛋白以在碱性涂覆缓冲液中的最佳浓度进行涂覆并且在 4°C 下孵育过夜。在用标准洗涤缓冲液洗涤适当的次数后,将溶解在常规封闭缓冲液中的最佳浓度的本发明的肽或组合物的生物素化形式用于每一个孔。随后添加样品并且如上进行测定。用于进行 ELISA 测定的条件在本领域是熟知的。

[0137] 在 ELISA 的另一个实施方案中,本发明的肽或肽的混合物经由融合伴侣例如 BSA 或 MAPS 被固定在表面上,例如 96 孔 ELISA 板或等同的固相。随后添加样品并且如上进行测定。

[0138] 用于 ELISA 测定的替代形式表征了连接(例如,融合)至适当的酶例如 HRP 的本发明的肽。用于进行这样的 ELISA 的步骤包括:用抗狗、抗猫或抗人 IgG/IgM 涂覆板的孔;将怀疑含有针对本发明的肽的抗体的样品与固定的抗物种 IgG/IgM 一起孵育;除去未反应的样品并用适当的洗涤缓冲液洗涤孔;施加酶-偶联的(例如,HRP-偶联的)本发明的肽,使其与任何捕获的抗埃里希体属抗体反应;和通过应用适当的酶底物(例如,TMB)来使酶-偶联的肽可视。

[0139] 另一个实施方案中,所述方法包括凝集测定法。例如,在某些实施方案中,将金属纳米颗粒或金属纳米壳(例如,胶体金等)或胶乳珠粒缀合至本发明的肽或组合物。随后,将生物流体与珠粒/肽缀合物一起孵育,从而形成反应混合物。然后分析反应混合物以确定抗体的存在。在某些实施方案中,凝集测定法包括使用第二颗粒群例如金属纳米颗粒或金属纳米壳(例如,胶体金等)或胶乳珠粒,所述颗粒缀合至(1)特异于本发明的肽的组合物的抗体(在竞争性测定的情况下)或(2)能够检测样品抗体(例如,抗人 IgG 或 IgM 抗体、抗狗 IgG 或 IgM 抗体、抗猫 IgG 或 IgM 抗体等)的抗体(在夹心测定的情况下)。适当

的凝集法可包括离心作为评估凝集的程度手段。

[0140] 还在其他实施方案中,本发明的肽或组合物被电印迹或斑点印迹到硝酸纤维素纸上。随后,将样品例如生物流体(例如,血清或血浆)与印迹的抗原一起孵育,使生物流体中的抗体与所述抗原结合。结合的抗体随后可以例如通过标准免疫酶促法或通过使用偶联至第二抗体或其他抗体结合剂例如蛋白 A、蛋白 G、蛋白 A/G 融合蛋白、蛋白 L 或其组合的金属纳米颗粒或纳米壳的可视化来进行检测。

[0141] 本领域技术人员应当理解,可设计许多传统蛋白测定形式,特别是免疫测定形式来利用本发明的分离的肽来检测受试者中的埃里希体属抗体和由病原性埃里希体属(例如,恰菲埃里希体、小鼠埃里希体、埃翁氏埃里希体或犬埃里希体)引起的感染。因此本发明不受特定测定形式的选择限制,并且被认为包括本领域技术人员已知的测定形式。

[0142] 在某些实施方案中,用于所述方法的样品为体液,例如血液、血清、脑脊髓液、尿或唾液。在其他实施方案中,样品为组织(例如组织匀浆)或细胞溶解产物。在某些实施方案中,样品来自野生动物(例如,鹿或啮齿类动物,例如小鼠、金花鼠、松鼠等)。在其他实施方案中,样品来自实验室动物(例如小鼠、大鼠、豚鼠、兔、猴、灵长类动物等)。在其他实施方案中,样品来自驯养动物或野生动物(例如狗、猫、马)。还在其他实施方案中,样品来自人。

[0143] 许多前述讨论涉及针对病原性埃里希体属的抗体的检测。然而,应理解,所述讨论还适用于活体外或活体内检测已接触抗原的 T 细胞。

[0144] 预期产生细胞介导的免疫反应(例如, T- 辅助细胞反应),因为产生了 IgG。因此预期可能测定已接触抗原的 T 细胞与本发明的肽之间的免疫反应性。在体外,这可通过用本发明的肽孵育从受试者分离的 T 细胞,然后测量免疫反应性(例如通过测量随后 T 细胞的增殖或通过测量细胞因子例如 IFN- γ 从 T 细胞的释放)来进行。这类方法在本领域是熟知的。

[0145] 当在活体内进行本发明的方法时,可使用许多种传统测定法。例如,可以以皮试的形式,例如通过在受试者中皮内注射本发明的肽来进行测定。在注射位置上的阳性皮肤反应表明受试者已暴露于并且感染了能够引起单核细胞埃里希体病和 / 或粒细胞埃里希体病的病原性埃里希体属,在注射位置上的阴性皮肤反应表明受试者未经历这样的暴露 / 感染。这样的测试或其他活体试验依赖于受试者的 T 细胞反应的检测。

[0146] 在另一个方面,本发明提供了诊断受试者的单核细胞埃里希体病和 / 或粒细胞埃里希体病的方法。受试者可以是怀疑具有针对单核细胞埃里希体病和 / 或粒细胞埃里希体病的病原体的抗体的受试者。诊断方法对于诊断表现出单核细胞埃里希体病和 / 或粒细胞埃里希体病的临床症状的受试者是有用的。人单核细胞 / 粒细胞埃里希体病的临床症状包括但不限于发热、头痛、不适、肌痛、皮疹、血小板减少、白细胞减少,以及血清转氨酶水平增加。动物(例如犬)埃里希体病的临床症状包括但不限于发热、出血点、出血性疾病、血管炎、淋巴结病、鼻和眼睛分泌物、腿和阴囊浮肿、体重减轻、由于贫血而出现的齿龈苍白、由于血小板减少而出现的出血、血管炎、淋巴结病、呼吸困难、咳嗽、多尿、烦渴,以及跛行。

[0147] 在某些实施方案中,所述方法包括将来自受试者的样品与本发明的肽接触,并检测包含所述肽的抗体-肽复合物的形成,其中所述复合物的形成表明受试者患有埃里希体病。在某些实施方案中,所述方法包括将样品与 2、3、4 或更多种(例如 5、6、7、8、9、10、15、

20、25、30、40、50、60、70、80、90、100、150、200、250、300、400、500 或更多种)不同的本发明的肽的混合物或群体接触。例如,在一个特定实施方案中,所述方法包括将样品与两种或更多种不同的分离的肽的混合物或群体接触,其中各个分离的肽包含 SEQ ID NO:1 的序列。在另一个特定实施方案中,所述方法包括将样品与两种或更多种不同的分离的肽的混合物或群体接触,其中各个分离的肽包含 SEQ ID NO:3 的序列。还在另一个实施方案中,所述方法包括将样品与两种或更多种不同的分离的肽的混合物或群体接触,其中各个分离的肽包含 SEQ ID NO:72 的序列。在一些实施方案中,所述方法包括将样品与两种或更多种不同的分离的肽的混合物或群体接触,其中各个分离的肽包含 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:72 的序列。在其他实施方案中,所述方法包括将样品与两种或更多种不同的分离的肽的混合物或群体接触,其中各个分离的肽包含 SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:83 或 SEQ ID NO:85 的序列。

[0148] 在某些实施方案中,所述方法包括将样品与一种或多种本发明的肽和一种或多种其他肽(例如,埃里希体属肽或其抗原性片段或表位,例如来自埃里希体属表面蛋白或埃里希体属 OMP-1、p38、p43、p120、p140、p153、p156、p200、gp19、gp36、gp47、gp200 或 HGE-3 蛋白)的混合物接触。例如,在一些实施方案中,所述方法包括将样品与一种或多种本发明的肽(例如 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83、或 SEQ ID NO:85)和一种或多种具有 SEQ ID NO:71 的序列的埃里希体属抗原性肽的混合物接触。在一个特定实施方案中,所述方法包括将样品与具有 SEQ ID NO:3 的序列的一种或多种肽和具有 SEQ ID NO:71 的序列的一种或多种肽的混合物接触。在另一个实施方案中,所述方法包括将样品与具有 SEQ ID NO:72 的序列的一种或多种肽和具有 SEQ ID NO:71 的序列的一种或多种肽的混合物接触。在另一个实施方案中,所述方法包括将样品与具有 SEQ ID NO:72 的序列的一种或多种肽和具有 SEQ ID NO:3 的序列的一种或多种肽的混合物接触。在一个实施方案中,所述方法包括将样品与具有 SEQ ID NO:72 的序列的一种或多种肽、具有 SEQ ID NO:3 的序列的一种或多种肽和具有 SEQ ID NO:71 的序列的一种或多种肽的混合物接触。

[0149] 在某些实施方案中,肽或混合物或群体中的每一种肽为分离的(例如合成的和/或纯化的)肽。在某些实施方案中,肽或不同肽的混合物(即肽的群体)被连接至或固定在基质上(例如固体或半固体支持物)。例如,在某些实施方案中,基质为珠粒(例如,胶体颗粒或其他类型颗粒或金属纳米颗粒或纳米壳)、侧流免疫测定装置中的流动通道(例如,多孔膜)、分析或离心转子中的流动通道、印迹(蛋白质印迹、斑点印迹或狭缝印迹)、管或孔(例如,在适用于 ELISA 测定法的板中)或传感器(例如,电化学、光学或光电传感器)。在一些实施方案中,肽或肽的混合物经由金属纳米层被连接至或固定在固体支持物上,在一些实施方案中,所述金属纳米层可由镉、锌、汞或贵金属(例如金、银、铜和铂)组成。

[0150] 存在许多不同的用于检测包含本发明的肽的抗体-肽复合物的形成的传统测定法。例如,检测步骤可包括进行 ELISA 测定,进行侧流免疫测定,进行凝集测定,进行波长移动测定,使用蛋白质印迹、狭缝印迹或斑点印迹分析样品,分析分析或离心转子中的样品、或利用电化学、光学或光电传感器分析样品。这些不同测定法在上文进行了描述和/或对于本领域技术人员而言是熟知的。

[0151] 在某些实施方案中,样品为体液,例如血液、血清、脑脊髓液、尿或唾液。在其他实

施方案中,样品为组织(例如组织匀浆)或细胞溶解产物。在某些实施方案中,受试者是野生动物(例如,鹿或啮齿类动物,例如小鼠、金花鼠、松鼠等)。在其他实施方案中,受试者是实验室动物(例如小鼠、大鼠、豚鼠、兔、猴、灵长类动物等)。在其他实施方案中,受试者是驯养动物或野生动物(例如狗、猫、马)。还在其他实施方案中,受试者是人。

[0152] 试剂盒

[0153] 又在另一个方面,本发明提供了试剂盒。在某些实施方案中,试剂盒包括本发明的肽。在某些实施方案中,试剂盒包括两种、三种、四种或更多种不同的本发明的肽或本发明的肽的混合物或群体。所述肽可包含 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:70、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:83、SEQ ID NO:85 的序列或其片段。在某些实施方案中,本发明的肽被连接至或固定在固体支持物上。在一些实施方案中,所述肽经由金属纳米层(例如镉、锌、汞、金、银、铜或铂纳米层)被连接至或固定在固体支持物上。在某些实施方案中,固体支持物为珠粒(例如,胶粒或金属纳米颗粒或纳米壳)、侧流免疫测定装置中的流动通道、分析或离心转子中的流动通道、管或孔(例如在板中)或传感器(例如,电化学、光学或光电传感器)。

[0154] 还可在本发明的试剂盒中提供用于特定类型的测定的试剂。因此,试剂盒可包括珠粒群(例如,适用于凝集测定或侧流测定)或板(例如,适用于 ELISA 测定的板)。在其他实施方案中,试剂盒包括装置,例如侧流免疫测定装置、分析或离心转子、蛋白质印迹、斑点印迹、狭缝印迹或电化学传感器、光学传感器或光电传感器。珠粒、板和装置的群体用于进行免疫测定。例如,它们可用于检测包含来自样品的抗体和本发明的肽的抗体-肽复合物的形成。在某些实施方案中,本发明的肽、不同肽的混合物(即,肽的群体)或本发明的肽组合物被连接至或固定在珠粒、板或装置上。

[0155] 此外,试剂盒可包括各种稀释剂和缓冲剂、标记缀合物或用于检测特异性结合的抗原或抗体的其他试剂(例如标记试剂)以及其他信号产生试剂,例如酶底物、辅因子和色原。在一些实施方案中,试剂盒包括缀合至可检测标记物(例如金属纳米颗粒、金属纳米壳、金属纳米层、荧光团、彩色胶乳颗粒或酶)作为标记试剂的抗人、抗犬或抗猫 IgG/IgM 抗体。在其他实施方案中,试剂盒包括缀合至可检测标记物(例如金属纳米颗粒、金属纳米壳、金属纳米层、荧光团、彩色胶乳颗粒或酶)作为标记试剂的蛋白 A、蛋白 G、蛋白 A/G 融合蛋白、蛋白 L、或其组合。例示性蛋白 A/G 融合蛋白结合了来自蛋白 A 的四个 Fc 结合结构域与来自蛋白 G 的两个 Fc 结合结构域。参见例如, Sikkema, J. W. D., Amer. Biotech. Lab, 7:42, 1989, 以及 Eliasson 等人, J. Biol. Chem. 263, 4323-4327, 1988, 两篇都以引用的方式整体并入本文。还在其他实施方案中,试剂盒的标记试剂是缀合至可检测标记物(例如金属纳米颗粒、金属纳米壳、金属纳米层、荧光团、彩色胶乳颗粒或酶)的本发明的肽的第二群体。肽的第二群体可与肽的第一群体相同或不同,其可任选地被连接至或固定在固体支持物上。

[0156] 试剂盒的其他组分可由本领域技术人员容易地确定。这类组分可包括包衣试剂、特异于本发明的肽的多克隆或单克隆捕获抗体、或两种或更多种抗体的混合物、作为标准的这类抗原的纯化或半纯化的提取物、单克隆抗体检测物抗体、抗小鼠、抗狗、抗猫、抗鸡或抗人抗体(缀合至可检测标记物)、用于比色法比较的指示图表、一次性手套、净化说明书(decontamination instruction)、敷药棒或容器、样品制备杯(sample preparatory cup)

等。在一个实施方案中,试剂盒包括适用于构建允许肽-抗体复合物的形成的反应介质的缓冲液或其他试剂。

[0157] 这类试剂盒为临床实验室诊断病原性埃里希体属(例如恰菲埃里希体、小鼠埃里希体、埃翁氏埃里希体或犬埃里希体)感染提供了便利有效的方法。因此,在某些实施方案中,试剂盒还包括说明书。例如,在某些实施方案中,试剂盒包括指示如何使用本发明的肽或肽的群体来检测针对一种或多种埃里希体属抗原的抗体或诊断单核细胞埃里希体病和/或粒细胞埃里希体病的说明书。在某些实施方案中,试剂盒包括指示如何使用珠粒群体、板或装置(例如包含本发明的肽或不同肽的混合物)来检测针对一种或多种埃里希体属抗原的抗体或诊断单核细胞埃里希体病和/或粒细胞埃里希体病的说明书。

[0158] 本发明的肽、包含所述肽的组合物和装置、试剂盒和方法提供了许多优点。例如,它们允许单核细胞埃里希体病和/或粒细胞埃里希体病的简单、便宜、快速、灵敏和精确的检测并且避免与具有相似症状的其他病况的血清学交叉反应性。这允许准确的诊断。此外,本发明的诊断试验(例如,ELISA 测试、侧流免疫测定或凝集测定)在含有抗 OMP-1 抗体或响应基于埃里希体属的外表面蛋白的疫苗而产生的其他抗体的血清样品中是有用的。

[0159] 下列实施例说明本发明的不同方面。当然,这些实施例应当理解为仅说明本发明的仅仅某些实施方案并且不构成对本发明的范围的限制。

实施例

[0160] 实施例 1-ELISA 测定

[0161] 肽的第一群体中的每一种肽(ECHW1)含有 SEQ ID NO:72 的序列。肽的第一群体与由多种埃里希体属(例如犬埃里希体属、恰菲埃里希体属和埃翁氏埃里希体属)得到的抗体特异性结合。肽的第二群体中的每一种肽(EE12EW1)含有 SEQ ID NO:3 的序列。肽的第二群体与主要由犬埃里希体和恰菲埃里希体得到的抗体特异性结合,同时具有与埃翁氏埃里希体的一些交叉反应性。肽的第三群体中的每一种肽(EE13)含有 SEQ ID NO:71 的序列。肽的第三群体与主要由埃翁氏埃里希体得到的抗体特异性结合,同时具有与犬埃里希体和恰菲埃里希体的一些交叉反应性。

[0162] 三个群体中的各个肽利用硫醚化学分别连接至载体蛋白牛血清白蛋白(BSA)。所得 BSA-肽缀合物被用作 96-孔 ELISA 板中的捕获实体,以生成三个分离的 ELISA 测定(每板上一个肽群体)。随后封闭所述板以防止不希望有的非特异性结合。

[0163] 如由间接免疫荧光测定法(IFA)所确定的对埃里希体属物种呈阳性的狗血浆样品、IDEXX SNAP 4DX Plus™和/或 SNAP 3Dx™在三个 ELISA 板中的每一板中与固定的捕获肽一起孵育。孵育一小时后,经由冲洗微孔除去未反应材料。经由与 HRP 标记的蛋白 A 反应来检测特异性捕获的狗 IgG 或 IgM。利用商购 TMB 基质来测定 HRP。用板读取器在 650 纳米处读得各个孔的光密度。

[0164] 总共评估了 156 份样品,其中在 ELISA 板中 152 份测试阳性,4 份样品测试阴性。因此,测试的灵敏度百分比是 97.4%。下表 1 中展示按感染性埃里希体属物种分开的结果的概述。这些试验结果显示由 SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:71 定义的肽的群体在从各种埃里希体属物种中检测对抗原的抗体的存在时具有高度灵敏度。

[0165] 表 1- 已知埃里希体属阳性样品的 ELISA 结果

[0166]

	ELISA 阳性	ELISA 阴性	全部
犬埃里希体-阳性样品的数目 ¹	44	1	45
恰菲埃里希体-阳性样品的数目 ²	38	2	40
埃翁氏埃里希体-阳性样品的数目 ³	46	1	47
阳性样品的数目；不确定的物种 ⁴	24	0	24
测试的总样品数	156		
被正确识别的阳性样品的总数目（由 ELISA 检测呈阳性）	152		
被不正确地识别的阳性样品的总数目（由 ELISA 检测呈阴性）	4		
灵敏性%	97.4		

[0167] ¹这些样品在 ELISA 测定中用肽的 ECHEW1 (SEQ ID NO:72) 和 EE12EW1 (SEQ ID NO:3) 群体测试为阳性,且根据 IFA 对于犬埃里希体具有较高的滴度。

[0168] ²这些样品在 ELISA 测定中用肽的 ECHEW1 (SEQ ID NO:72) 和 EE12EW1 (SEQ ID NO:3) 群体测试为阳性,且根据 IFA 对于恰菲埃里希体具有较高的滴度。

[0169] ³这些样品在 ELISA 测定中用肽的 ECHEW1 (SEQ ID NO:72) 和 EE13 (SEQ ID NO:71) 群体测试为阳性。

[0170] ⁴这些样品中的埃里希体属物种不能由 IFA 或 SNAP 测定结论性地确定,但这些样品在 ELISA 测定中用 ECHEW1 (SEQ ID NO:72) 测试为阳性。

[0171] 实施例 2- 侧流测定

[0172] 构建双抗原夹心形式的侧流免疫测定以从多个物种中检测对埃里希体属抗原有特异性的抗体的存在。由 SEQ ID NO:72 定义的肽的群体连接至 BSA,且将所得复合物用作测试缀合物（用金纳米颗粒标记的肽）以及用作捕获物（固定在装置的测试线上）。在测试线处产生的信号被添加至经标记的肽缀合物的蛋白 A 和蛋白 G- 金缀合物增强。所述装置描绘在图 5 中。

[0173] 为进行测定,将一滴抗凝结全血、血清或血浆施加于所述装置的样品端口。血液分离垫从全血过滤血细胞。血浆（或血清）流动并特异性结合至缀合垫上存在的测试缀合物,并且任何形成的抗体-肽复合物迁移到含有测试区和对照区的硝酸纤维素膜。在样品施加之后施加的追逐缓冲液 (chase buffer) 使游离和结合测试的缀合物通过硝酸纤维素膜向上部的吸收垫移动。被标记的肽-抗体复合物移动至测试线,在该处固定的肽经由抗体上的第二结合位点捕获被标记的肽-抗体复合物。缀合混合物中的蛋白 A- 金和蛋白 G- 金缀合物结合至所捕获的抗体,放大了检测信号。在测试位点处出现一根红线和在对照位点处出现第二红线指示样品中存在针对埃里希体属物种（例如犬、恰菲或埃翁氏埃里希体）的抗体。仅仅在对照位点处出现红线指示样品中对于所有埃里希体属物种都不存在抗体。如果 (i) 在测试线处出现信号,但在对照线处不存在信号或 (ii) 在对照线和测试线处都没观

察到信号,则该测试被认为无效。

[0174] 在侧流装置中测试与由实施例 1 中的 ELISA 测定所评估的 156 份已知埃里希体属阳性的狗血浆样品相同的样品。此外,还经由间接免疫荧光测定法或 IDEXX SNAP 4DX Plus™评估确定了 120 份狗样品(100 份血浆和 20 份全血样品)是阴性的。结果概述于下表 2 中。侧流测定具有 97.4%的灵敏度,在 95%置信区间中为 93.6-99.3%。测定的特异性是 98.3%,在 95%置信区间中为 94.1-99.8%。此实施例表明当在侧面测定形式中采用由 SEQ ID NO:72 定义的肽的群体时,可有效地检测出针对埃里希体属抗原的抗体。

[0175] 表 2- 已知埃里希体属 - 阳性和阴性样品的侧流测定结果

[0176]

	根据侧流为阴性的	根据侧流为阳性的
已知的阴性样品的数目	118	2
已知的阳性样品的数目	4	152

[0177] 实施例 3- 间接荧光抗体测定

[0178] 使用涂覆有一种或多种本发明的肽的胶乳珠粒来构建间接荧光抗体测试。在某些实施例中,使用由 SEQ ID NO:71、SEQ ID NO:72、SEQ ID NO:3 或 SEQ ID NO:5 定义的肽。使用硫醚化学将本发明的肽涂覆在顺丁烯二酰亚胺衍生的胶乳珠粒上。或者,可经由硫醚或类似化学将本发明的肽缀合至 BSA 并且被动吸收到胶乳珠粒上。随后使用已知技术将这类珠粒的群体固定在玻璃载片上。

[0179] 为了进行所述测定,将来自怀疑具有抗埃里希体属抗体的狗的一滴血清或血浆(用合适的缓冲液适当地稀释)施加于涂覆有胶乳珠粒的玻璃载片上。经过一段适当孵育时间,冲洗掉未反应的物质,并且施加一滴荧光标记的抗狗 IgG(或 IgM),随后将载片再孵育一段时间。在荧光显微镜下观察最终的制备品以确定经荧光标记的胶乳珠粒。测试血清/血浆分类为阳性或阴性是基于与适当对照物的比较。可以使用酶标记物来代替荧光标记物,在这种情况下,目测步骤采用酶底物。例如,用碱性磷酸酯酶标记的抗狗 IgG/IgM 可通过将载片暴露于 BCIP- 硝基 BT 基质来观察。可使用被标记的蛋白 A、蛋白 G、或蛋白 A/G 融合物来代替被标记的抗狗 IgG 和抗狗 IgM 以检测与肽涂覆的珠粒结合的抗体。

[0180] 文献中以引用的方式并入的任何定义的程度与本文中提供的定义一致,以本文中提供的定义为主。虽然已参考目前优选实施例描述了本发明,但应当理解,可在不脱离本发明的精神的情况下进行对于本领域技术人员显而易见的各种改变和变动。因此,本发明仅受以下权利要求限定。

[0181] 本文中引用的每个专利、专利申请和出版物的公开内容,包括权利要求、图表和/或附图,均以引用的方式整体并入本文中。

序列表

序列表

- <110> 爱贝斯股份有限公司 (Abaxis, Inc.)
 R·K·梅拉 (Mehra, Rajesh K.)
 K·P·阿伦 (Aron, Kenneth P.)
 D·M·布莱勒 (Bleile, Dennis M.)
 T·P·福赛思 (Forsyth, Timothy P.)
 J·D·沃克 (Walker, Jeremy D.)
 C·R·奎西科 (Cuesico, Cristina R.)
- <120> 用于检测埃里希体属抗体的肽、装置和方法
- <130> ABAX-040/01W0 010265-2241
- <150> US 61/712,578
 <151> 2012-10-11
- <160> 86
- <170> PatentIn 3.5版
- <210> 1
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa可为Ala或Val
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa可为Thr或Val
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa可为Gly或Ala
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa可为Glu或Gln
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>

- <221> misc feature
<222> (22)..(22)
<223> Xaa可为Ser或Val
- <220>
<221> misc feature
<222> (24)..(24)
<223> Xaa可为Ala或Ile
- <220>
<221> misc feature
<222> (25)..(25)
<223> Xaa可为Thr或Pro
- <220>
<221> misc feature
<222> (26)..(26)
<223> Xaa可为Ser、Asn或Lys
- <220>
<221> misc feature
<222> (27)..(27)
<223> Xaa可为除了His、Asn、Ser或Ala的任何氨基酸
- <220>
<221> misc feature
<222> (28)..(28)
<223> Xaa可为除了Ala、Ser或Pro的任何氨基酸
- <220>
<221> misc feature
<222> (29)..(29)
<223> Xaa可为除了Asp、Pro、Asn或Ser的任何氨基酸
- <220>
<221> misc feature
<222> (30)..(30)
<223> Xaa可为除了Ala、Glu、Asp或Ser的任何氨基酸
- <220>
<221> misc feature
<222> (31)..(31)
<223> Xaa可为除了Asp、Asn、Val或His的任何氨基酸
- <220>
<221> misc feature
<222> (32)..(32)
<223> Xaa可为除了Phe或Thr的任何氨基酸
- <220>
<221> misc feature
<222> (33)..(33)
<223> Xaa可为除了Asn、Phe或Ile的任何氨基酸
- <220>
<221> misc feature
<222> (34)..(34)

<223> Xaa可为除了Asn、Thr或Asp的任何氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (35)..(35)

<223> Xaa可为除了Lys、Val或Pro的任何氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (36)..(36)

<223> Xaa可为除了Gly、Pro或Ser的任何氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (37)..(37)

<223> Xaa可为除了Tyr、Asn或Thr的任何氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (38)..(38)

<223> Xaa可为除了Ser、Tyr或Ile的任何氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (39)..(39)

<223> Xaa可为除了Phe或Ser的任何氨基酸

<400> 1

Ser Xaa Lys Glu Asp Lys Gln Thr Thr Xaa Xaa Ile Trp Gly Leu Lys
1 5 10 15

Gln Xaa Trp Xaa Gly Xaa Pro Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
20 25 30

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys
35 40

<210> 2

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (3)..(3)

<223> Xaa可为Ala或Val

<220>

<221> misc_feature

- <222> (11)..(11)
<223> Xaa可为Thr或Val
- <220>
<221> misc feature
<222> (12)..(12)
<223> Xaa可为Gly或Ala
- <220>
<221> misc feature
<222> (19)..(19)
<223> Xaa可为Glu或Gln
- <220>
<221> misc feature
<222> (21)..(21)
<223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
<221> misc feature
<222> (23)..(23)
<223> Xaa可为Ser或Val
- <220>
<221> misc feature
<222> (25)..(25)
<223> Xaa可为Ala或Ile
- <220>
<221> misc feature
<222> (26)..(26)
<223> Xaa可为Thr或Pro,
- <220>
<221> misc feature
<222> (27)..(27)
<223> Xaa可为Ser、Asn或Lys
- <220>
<221> misc feature
<222> (28)..(28)
<223> Xaa可为除了His、Asn、Ser或Ala的任何氨基酸
- <220>
<221> misc feature
<222> (29)..(29)
<223> Xaa可为除了Ala、Ser或Pro的任何氨基酸
- <220>
<221> misc feature
<222> (30)..(30)
<223> Xaa可为除了Asp、Pro、Asn或Ser的任何氨基酸
- <220>
<221> misc feature
<222> (31)..(31)
<223> Xaa可为除了Ala、Glu、Asp或Ser的任何氨基酸

35

40

- <210> 3
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa可为Ala或Val
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa可为Glu或Asp
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa可为Thr或Pro
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa可为Thr或Val
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa可为Gly或Ala
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (12)..(12)
 <223> Xaa可为Leu或Val
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa可为Tyr或Phe
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (20)..(20)
 <223> Xaa可为Asp或Asn

- <220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> Xaa可为Ser或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> Xaa可为Ala、Ser或Thr
- <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(24)
<223> Xaa可为Ala或Ile
- <220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> Xaa可为Thr或Pro
- <220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> Xaa可为Ser、Asn或Lys
- <220>
<221> misc_feature
<222> (39)..(39)
<223> Xaa可为任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (41)..(41)
<223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
<221> misc_feature
<222> (44)..(44)
<223> Xaa可为任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (48)..(48)
<223> Xaa可为Val或Ala
- <220>
<221> misc_feature
<222> (49)..(49)
<223> Xaa可为任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (56)..(56)
<223> Xaa可为任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature

<222> (58)..(58)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

 <400> 3

 Ser Xaa Lys Glu Xaa Lys Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Leu Lys
 1 5 10 15

 Gln Xaa Trp Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

 Phe Ser Ala Lys Glu Glu Xaa Ala Xaa Thr Arg Xaa Thr Phe Gly Xaa
 35 40 45

 Xaa Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Xaa Ile Xaa Glu Asn Gln Val Gln Asn
 50 55 60

 Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

 <210> 4
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> 人工序列

 <220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

 <220>
 <221> misc feature
 <222> (3)..(3)
 <223> Xaa可为Ala或Val

 <220>
 <221> misc feature
 <222> (6)..(6)
 <223> Xaa可为Glu或Asp

 <220>
 <221> misc feature
 <222> (9)..(9)
 <223> Xaa可为Thr或Pro

 <220>
 <221> misc feature
 <222> (11)..(11)
 <223> Xaa可为Thr或Val

 <220>
 <221> misc feature
 <222> (12)..(12)

- <223> Xaa可为Gly或Ala
- <220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可为Leu或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (14)..(14)
<223> Xaa可为Tyr或Phe
- <220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
<221> misc_feature
<222> (21)..(21)
<223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> Xaa可为Ser或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(24)
<223> Xaa可为Ala、Ser或Thr
- <220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> Xaa可为Ala或Ile
- <220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> Xaa可为Thr或Pro
- <220>
<221> misc_feature
<222> (27)..(27)
<223> Xaa可为Ser、Asn或Lys
- <220>
<221> misc_feature
<222> (40)..(40)
<223> Xaa可为任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (42)..(42)
<223> Xaa可为Asp或Asn

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (45)..(45)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(49)
 <223> Xaa可为Val或Ala

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (50)..(50)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (57)..(57)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (59)..(59)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<400> 4

Cys Ser Xaa Lys Glu Xaa Lys Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Leu
 1 5 10 15

Lys Gln Xaa Trp Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Gly Gly Gly Gly
 20 25 30

Asn Phe Ser Ala Lys Glu Glu Xaa Ala Xaa Thr Arg Xaa Thr Phe Gly
 35 40 45

Xaa Xaa Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Xaa Ile Xaa Glu Asn Gln Val Gln
 50 55 60

Asn Lys Phe Thr Ile Ser Asn
 65 70

<210> 5
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<220>

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_fcature
 <222> (10)..(10)
 <223> Xaa可为Asp或Asn

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (13)..(13)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (17)..(17)
 <223> Xaa可为Val或Ala

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (27)..(27)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<400> 6

Cys Phe Ser Ala Lys Glu Glu Xaa Ala Xaa Thr Arg Xaa Thr Phe Gly
 1 5 10 15

Xaa Xaa Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Xaa Ile Xaa Glu Asn Gln Val Gln
 20 25 30

Asn Lys Phe Thr Ile Ser Asn
 35

<210> 7
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 8

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

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 9
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 9

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 10
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 10

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

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp

20

25

30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 11
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 11

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

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 12
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 12

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

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 13
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 13

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

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 14

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 14

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

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 15

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 15

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

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys

35

40

<210> 16
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
 <400> 16

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 17
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
 <400> 17

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 18
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
 <400> 18

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 19

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 19

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 20

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 20

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 21

<211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 21

Ser Val Lys Glu Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 22
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 22

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

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 23
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 23

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

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 24
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 24

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

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 25
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 25

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

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 26
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 26

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

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 27

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 27

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

Gln Asn Trp Glu Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 28

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 28

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

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 29
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 29

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

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 30
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 30

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

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 31
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 31

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

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 32

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 32

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

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 33

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 33

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

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 34
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 34

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

Gln Asn Trp Glu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 35
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 35

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

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 36
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 36

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

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 37
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 37

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

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 38
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 38

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

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Val Ala Pro Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 39
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
 <400> 39
 Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15
 Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30
 Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 40
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
 <400> 40
 Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15
 Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30
 Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 41
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
 <400> 41
 Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15
 Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 42
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 42

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 43
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 43

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 44
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 44

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 45

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 45

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 46

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 46

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 47
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 47

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 48
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 48

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 49
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 49

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 50
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 50

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 51
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 51

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 52
<211> 40
<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 52

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Ser Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 53

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 53

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 54

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 54

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 55
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 55

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 56
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 56

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 57
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 57

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ser Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 58

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 58

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Thr Ser Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 59

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 59

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 60
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 60

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 61
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 61

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 62
 <211> 40
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 62

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg

<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 65

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Thr Ser Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 66
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 66

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Ser Gln Val Glu Val Glu Trp
20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
35 40

<210> 67
<211> 40
<212> PRT
<213> 人工序列

<220>
<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 67

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Pro Ser Gln Val Glu Val Glu Trp

20

25

30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 68

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 68

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Gln Gly Pro Val Ala Thr Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 69

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 69

Ser Val Lys Asn Asp Lys Gln Pro Thr Ala Val Leu Trp Gly Ile Arg
 1 5 10 15

Gln Asn Trp Glu Gly Pro Val Ala Pro Asn Gln Val Glu Val Glu Trp
 20 25 30

Gln Gln Arg Gly Trp Gly Gly Cys
 35 40

<210> 70

<211> 40

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

- <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
- <220>
<221> misc_feature
<222> (2)..(2)
<223> Xaa可为Ala或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可为Glu或Asp
- <220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> Xaa可为Thr或Pro
- <220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> Xaa可为Ser、Val或Ala
- <220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa可为Gly或Ala
- <220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> Xaa可为Leu或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可为Tyr、Phe或Trp
- <220>
<221> misc_feature
<222> (16)..(16)
<223> Xaa可为Lys或Arg
- <220>
<221> misc_feature
<222> (18)..(18)
<223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
<221> misc_feature
<222> (19)..(19)
<223> Xaa可为Trp或Phe
- <220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> Xaa可为Asp或Asn

- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(22)
 <223> Xaa可为Thr或Val
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (23)..(23)
 <223> Xaa可为Ala、Ser或Thr
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (24)..(24)
 <223> Xaa可为Ala或Ile
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> Xaa可为Thr或Pro
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> Xaa可为Ser、Asn和Lys
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (27)..(39)
 <223> Xaa可为任何氨基酸
- <400> 70
 Ser Xaa Lys Asp Xaa Lys Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Leu Xaa
 1 5 10 15
 Gln Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25 30
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Cys
 35 40
- <210> 71
 <211> 39
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
- <220>
 <221> misc_feature
 <222> (7)..(7)

<223> Xaa可为任何氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (12)..(12)

<223> Xaa可为任何氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (17)..(17)

<223> Xaa可为任何氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (24)..(24)

<223> Xaa可为任何氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (26)..(26)

<223> Xaa可为任何氨基酸

<400> 71

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Xaa Ala Glu Thr Arg Xaa Thr Phe Gly Leu
1 5 10 15

Xaa Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Xaa Ile Xaa Glu Asn Gln Val Gln Asn
20 25 30

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
35

<210> 72

<211> 71

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<220>

<221> misc_feature

<222> (2)..(2)

<223> Xaa可为Ala或Val

<220>

<221> misc_feature

<222> (5)..(5)

<223> Xaa可为Glu或Asp

<220>

<221> misc_feature

- <222> (8).. (8)
<223> Xaa可为Thr或Pro
- <220>
<221> misc feature
<222> (10).. (10)
<223> Xaa可为Thr或Val
- <220>
<221> misc feature
<222> (11).. (11)
<223> Xaa可为Gly或Ala
- <220>
<221> misc feature
<222> (12).. (12)
<223> Xaa可为Leu或Val
- <220>
<221> misc feature
<222> (13).. (13)
<223> Xaa可为Tyr或Phe
- <220>
<221> misc feature
<222> (18).. (18)
<223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
<221> misc feature
<222> (20).. (20)
<223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
<221> misc feature
<222> (22).. (22)
<223> Xaa可为Ser或Val
- <220>
<221> misc feature
<222> (23).. (23)
<223> Xaa可为Ala、Ser或Thr
- <220>
<221> misc feature
<222> (24).. (24)
<223> Xaa可为Ala或Ile
- <220>
<221> misc feature
<222> (25).. (25)
<223> Xaa可为Thr或Pro
- <220>
<221> misc feature
<222> (26).. (26)
<223> Xaa可为Ser、Asn或Lys

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (39)..(39)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (44)..(44)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (49)..(49)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (56)..(56)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (58)..(58)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<400> 72

Ser Xaa Lys Glu Xaa Lys Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Xaa Trp Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Xaa Ala Glu Thr Arg Xaa Thr Phe Gly Leu
 35 40 45

Xaa Lys Gln Tyr Asp Gly Ala Xaa Ile Xaa Glu Asn Gln Val Gln Asn
 50 55 60

Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 73
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

- <220>
<221> misc_feature
<222> (3).. (3)
<223> Xaa可为Ala或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (6).. (6)
<223> Xaa可为Glu或Asp
- <220>
<221> misc_feature
<222> (9).. (9)
<223> Xaa可为Thr或Pro
- <220>
<221> misc_feature
<222> (11).. (11)
<223> Xaa可为Thr或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (12).. (12)
<223> Xaa可为Gly或Ala
- <220>
<221> misc_feature
<222> (13).. (13)
<223> Xaa可为Leu或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (14).. (14)
<223> Xaa可为Tyr或Phe
- <220>
<221> misc_feature
<222> (19).. (19)
<223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
<221> misc_feature
<222> (21).. (21)
<223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
<221> misc_feature
<222> (23).. (23)
<223> Xaa可为Ser或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (24).. (24)
<223> Xaa可为Ala、Ser或Thr
- <220>
<221> misc_feature

- 65
- 70
- <210> 74
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
- <400> 74
- Gln Arg Lys Asn Glu Pro Ser Glu Thr Asn Pro Gly Gln
 1 5 10
- <210> 75
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
- <400> 75
- Met Val Glu Phe Glu Glu Leu Gln Arg Asn Trp His Pro
 1 5 10
- <210> 76
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
- <400> 76
- Met Leu Glu Val Ser Trp Leu Ile Asp Phe Met Ala Pro
 1 5 10
- <210> 77
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽
- <400> 77
- Gln Asp Glu Asn Leu Tyr Ser Ser Ile Phe Phe Val Pro
 1 5 10

<210> 78
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 78

Gln Arg Lys Asn Asp Pro Ser Glu Thr Ser Pro Gly Gln
 1 5 10

<210> 79
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 79

Met Ala Pro Phe His Glu Leu Asp Val Asn Asn His Pro
 1 5 10

<210> 80
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 80

Ser Leu Asn Val Ser Phe Leu Ile Asp Pro Met Ala Pro
 1 5 10

<210> 81
 <211> 13
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<400> 81

Gln Asp Ser Asn Leu Tyr Ser Ser Ile Phe Phe Val Pro
 1 5 10

- <223> Xaa可为Ser或Asn
- <220>
<221> misc_feature
<222> (27).. (27)
<223> Xaa可为除了His、Asn、Ser或Ala的任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (28).. (28)
<223> Xaa可为除了Ala、Ser或Pro的任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (29).. (29)
<223> Xaa可为除了Asp、Pro、Asn或Ser的任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (30).. (30)
<223> Xaa可为除了Ala、Glu、Asp或Ser的任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (31).. (31)
<223> Xaa可为除了Asp、Asn、Val或Arg的任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (32).. (32)
<223> Xaa可为除了Phe或Thr的任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (33).. (33)
<223> Xaa可为除了Asn、Phe或Ile的任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (34).. (34)
<223> Xaa可为除了Asn、Thr或Asp的任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (35).. (35)
<223> Xaa可为除了Lys、Val或Pro的任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (36).. (36)
<223> Xaa可为除了Gly、Pro或Ser的任何氨基酸
- <220>
<221> misc_feature
<222> (37).. (37)
<223> Xaa可为除了Tyr、Asn或Thr的任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (22)..(22)
 <223> Xaa可为Ser或Val

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (24)..(24)
 <223> Xaa可为Ala或Ile

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (25)..(25)
 <223> Xaa可为Thr或Pro

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (26)..(26)
 <223> Xaa可为Ser、Asn或Lys

<400> 84

Ser Xaa Lys Glu Asp Lys Gln Thr Thr Xaa Xaa Ile Trp Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Xaa Trp Xaa Gly Xaa Pro Xaa Xaa Xaa
 20 25

<210> 85
 <211> 72
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa可为Ala或Val

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (5)..(5)
 <223> Xaa可为Glu或Asp

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (8)..(8)
 <223> Xaa可为Thr或Pro

<220>
 <221> misc_feature

<222> (10)..(10)
<223> Xaa可为Thr或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa可为Gly或Ala

<220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> Xaa可为Leu或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可为Tyr或Phe

<220>
<221> misc_feature
<222> (18)..(18)
<223> Xaa可为Asp或Asn

<220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> Xaa可为Asp或Asn

<220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> Xaa可为Ser或Val

<220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> Xaa可为Ala、Ser或Thr

<220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(24)
<223> Xaa可为Ala或Ile

<220>
<221> misc_feature
<222> (25)..(25)
<223> Xaa可为Thr或Pro

<220>
<221> misc_feature
<222> (26)..(26)
<223> Xaa可为Ser、Asn或Lys

<220>
<221> misc_feature
<222> (40)..(40)
<223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (45)..(45)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (50)..(50)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (57)..(57)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (59)..(59)
 <223> Xaa可为任何氨基酸

<400> 85

Ser Xaa Lys Glu Xaa Lys Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Xaa Trp Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Gly Gly Gly Gly Asn
 20 25 30

Phe Ser Ala Lys Glu Glu Lys Xaa Ala Asp Thr Arg Xaa Thr Phe Gly
 35 40 45

Leu Xaa Lys Gln Thr Asp Gly Ala Xaa Ile Xaa Glu Asn Gln Val Gln
 50 55 60

Asn Lys Phe Thr Ile Ser Asn Cys
 65 70

<210> 86
 <211> 26
 <212> PRT
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 能够结合识别埃里希体属抗原的抗体的肽

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (2)..(2)
 <223> Xaa可为Ala或Val

- <220>
<221> misc_feature
<222> (5)..(5)
<223> Xaa可为Glu或Asp
- <220>
<221> misc_feature
<222> (8)..(8)
<223> Xaa可为Thr或Pro
- <220>
<221> misc_feature
<222> (10)..(10)
<223> Xaa可为Thr或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (11)..(11)
<223> Xaa可为Gly或Ala
- <220>
<221> misc_feature
<222> (12)..(12)
<223> Xaa可为Leu或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (13)..(13)
<223> Xaa可为Tyr或Phe
- <220>
<221> misc_feature
<222> (18)..(18)
<223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
<221> misc_feature
<222> (20)..(20)
<223> Xaa可为Asp或Asn
- <220>
<221> misc_feature
<222> (22)..(22)
<223> Xaa可为Ser或Val
- <220>
<221> misc_feature
<222> (23)..(23)
<223> Xaa可为Ala、Ser或Thr
- <220>
<221> misc_feature
<222> (24)..(24)
<223> Xaa可为Ala或Ile
- <220>
<221> misc_feature

<222> (25)..(25)
 <223> Xaa可为Thr或Pro

 <220>
 <221> misc feature
 <222> (26)..(26)
 <223> Xaa可为Ser、Asn或Lys

<400> 86

Ser Xaa Lys Glu Xaa Lys Gln Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Leu Lys
 1 5 10 15

Gln Xaa Trp Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 20 25

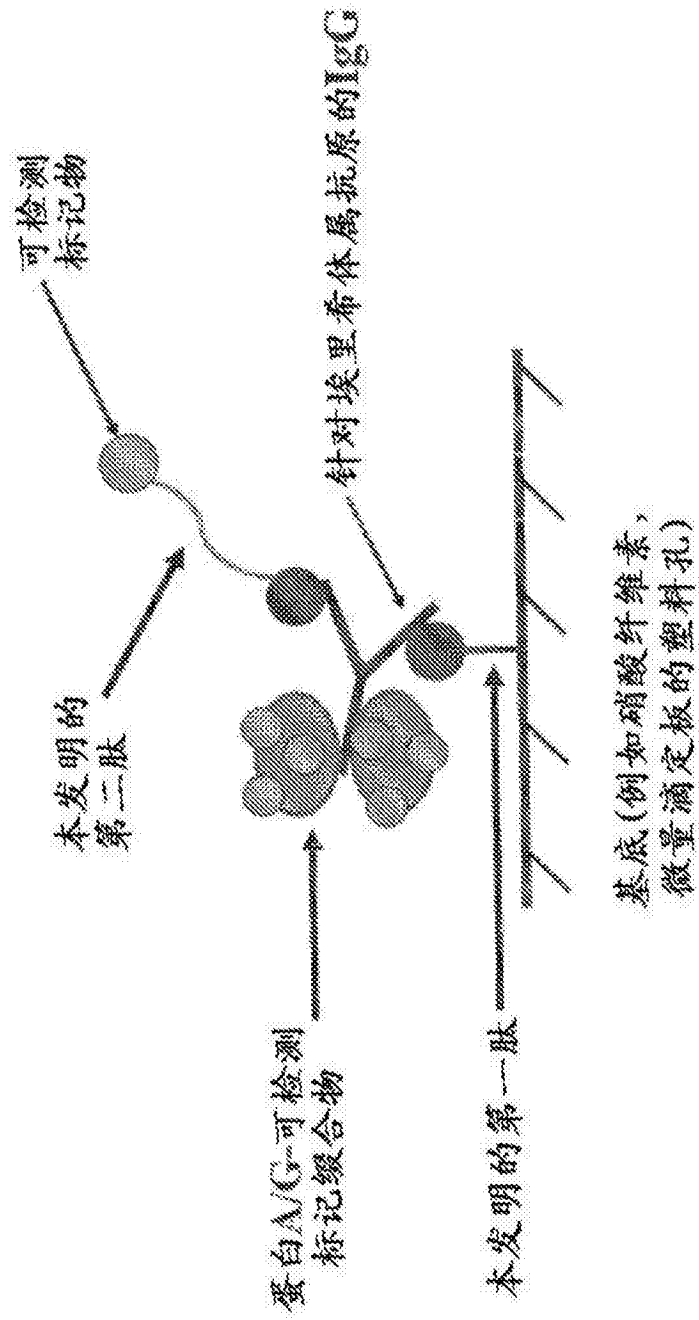


图 1

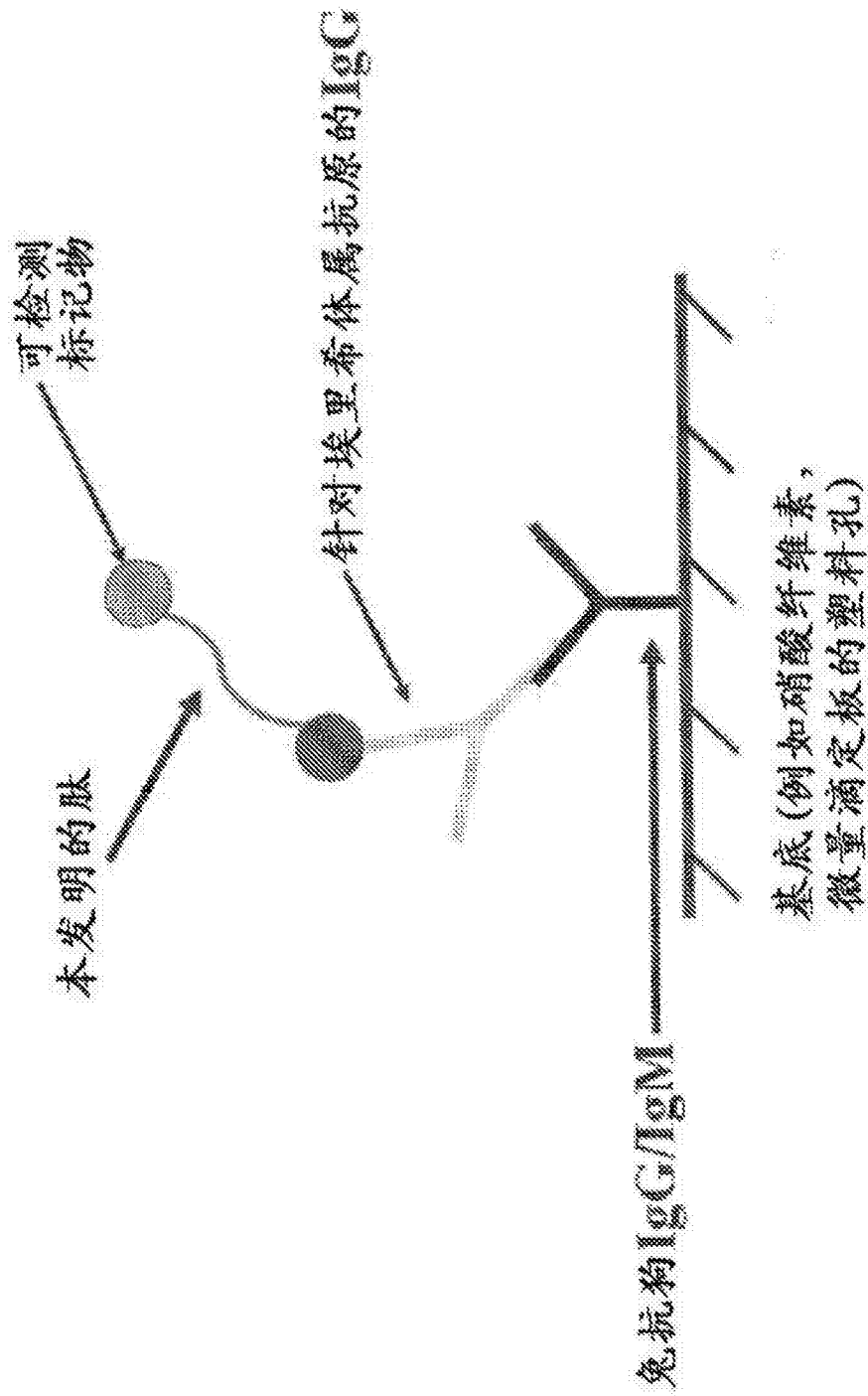


图 2

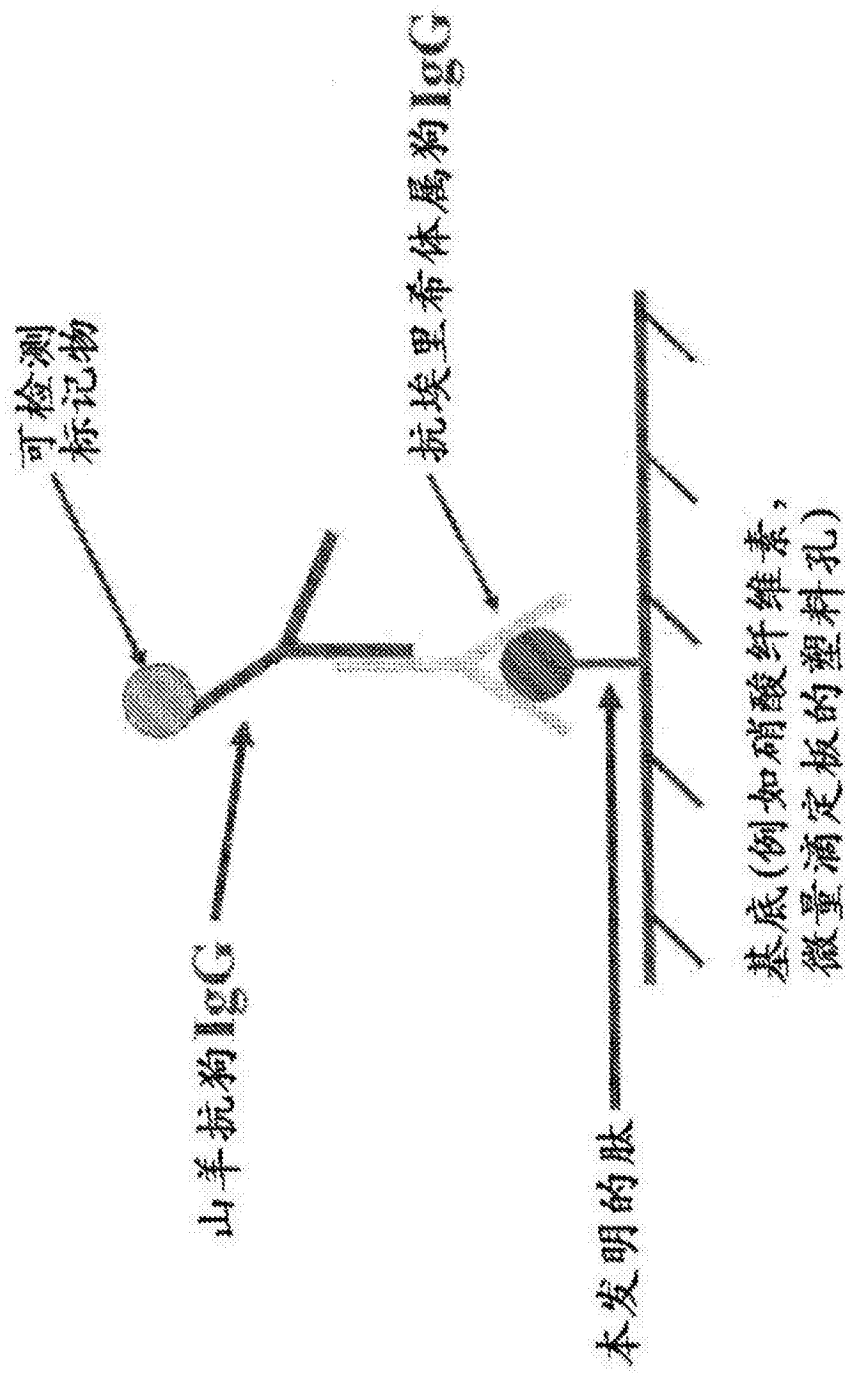


图 3

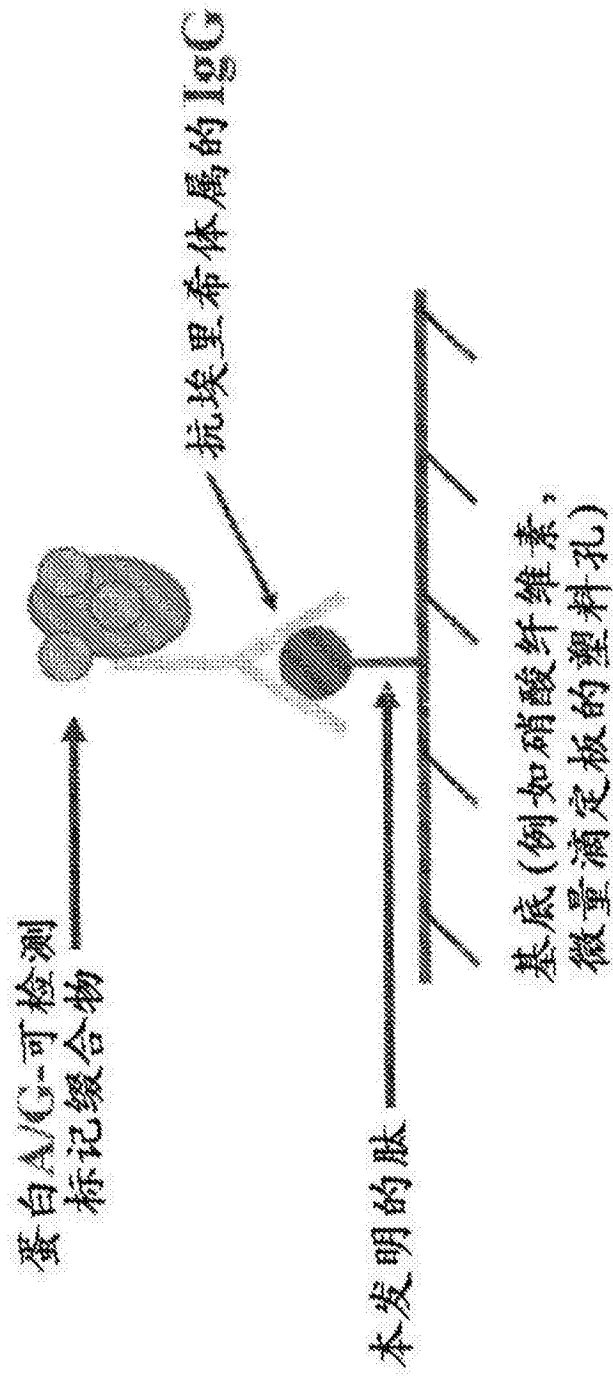


图 4

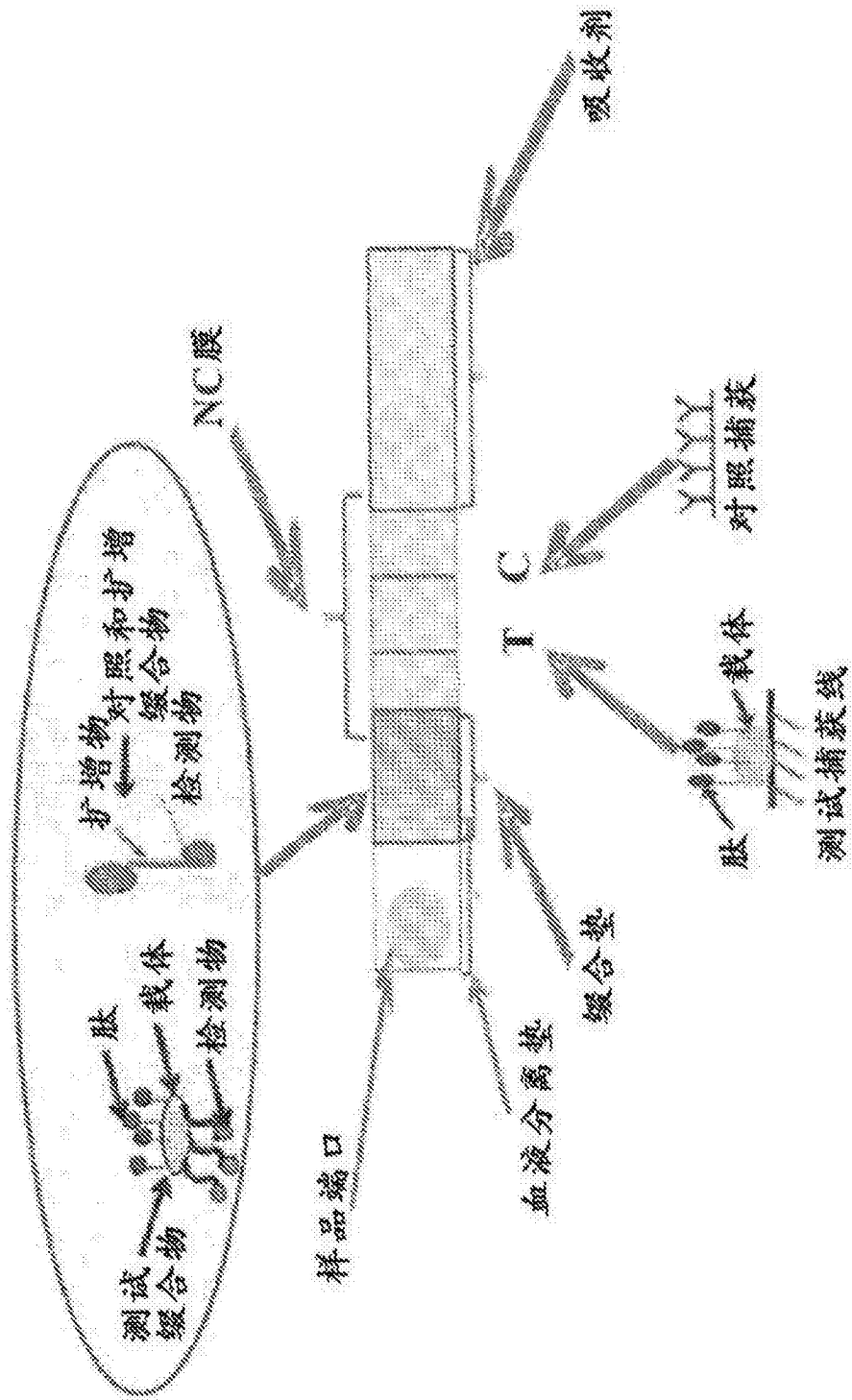


图 5

专利名称(译)	用于检测埃里希体属抗体的肽、装置和方法		
公开(公告)号	CN105051541A	公开(公告)日	2015-11-11
申请号	CN201380063495.6	申请日	2013-10-11
[标]申请(专利权)人(译)	爱贝斯股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	爱贝斯股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	爱贝斯股份有限公司		
[标]发明人	RK梅拉 KP阿伦 DM布莱勒 TP福赛思 JD沃克 CR奎西科		
发明人	R·K·梅拉 K·P·阿伦 D·M·布莱勒 T·P·福赛思 J·D·沃克 C·R·奎西科		
IPC分类号	G01N33/554 G01N33/567 G01N33/53		
CPC分类号	G01N33/56911 G01N33/54306 G01N2333/29 G01N2469/20 C07K14/29 C07K17/14 G01N33/6854		
优先权	61/712578 2012-10-11 US		
其他公开文献	CN105051541B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供了用于检测结合埃里希体属抗原的抗体的肽组合物和混合物。所述肽组合物包含基于埃里希体属外膜蛋白1(OMP-1)蛋白的免疫原性片段的多肽序列。本发明还提供了用于检测结合埃里希体属抗原的抗体和诊断单核细胞埃里希体病和/或粒细胞埃里希体病的包含这类肽组合物和混合物装置、方法和试剂盒。

	ELISA 阳性	ELISA 阴性	全部
犬埃里希体-阳性样品的数目 ¹	44	1	45
恰菲埃里希体-阳性样品的数目 ²	38	2	40
埃翁氏埃里希体-阳性样品的数目 ³	46	1	47
阳性样品的数目; 不确定的物种 ⁴	24	0	24
测试的总样品数			
测试的总样品数	156		
被正确识别的阳性样品的总数目 (由 ELISA 检测呈阳性)	152		
被不正确地识别的阳性样品的总数目 (由 ELISA 检测呈阴性)	4		
灵敏性%	97.4		