



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 110073215 A

(43)申请公布日 2019.07.30

(21)申请号 201780072214.1

(51)Int.Cl.

(22)申请日 2017.11.22

G01N 33/543(2006.01)

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2019.05.22

G01N 33/569(2006.01)

G01N 33/53(2006.01)

C07K 14/35(2006.01)

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/US2017/063154 2017.11.22

(87)PCT国际申请的公布数据
W02018/068064 EN 2018.04.12

(71)申请人 佩斯诊断公司
地址 美国加利福尼亚州

(72)发明人 H-H·T·阮氏

(74)专利代理机构 北京骥驰知识产权代理有限公司 11422

代理人 唐晓峰

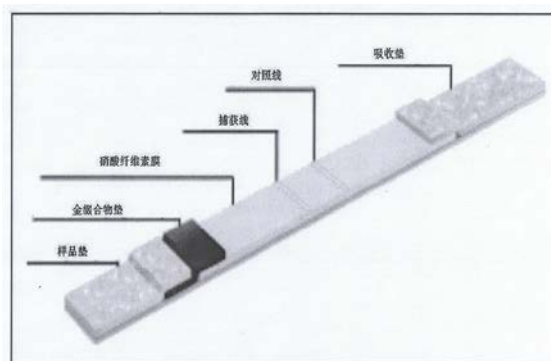
权利要求书4页 说明书32页
序列表9页 附图34页

(54)发明名称

结核分枝杆菌蛋白诊断测定和结核病检测和诊断装置

(57)摘要

本发明提供一种检测来自受试者的样品中抗体的方法,其中所述抗体于结核分枝杆菌抗原表位结合,所述方法包括:使所述样品与两种或多种分离的多肽或其抗原性片段或变体接触,其中所述多肽包含选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13和15的多肽;和检测包含所述分离的多肽或其抗原性片段或变体的抗体-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结核分枝杆菌抗原表位的抗体。



1. 一种检测来自受试者样品中抗体的方法,其中所述抗体与结核分枝杆菌抗原的表位结合,包括:

i. 将样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体接触,其中所述多肽包含选自 SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、和15的多肽;和

ii. 检测包含所述分离的多肽或其抗原片段或变体的抗体-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结核分枝杆菌抗原表位的抗体。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述受试者已经感染了结核分枝杆菌。

3. 根据权利要求1-2中任一项所述的方法,其中所述样品选自血液、血清、血浆、淋巴结、皮肤、唾液、尿液、脑脊髓液、和乳汁。

4. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中使所述样品与至少三种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

5. 根据权利要求1-4中任一项所述的方法,其中使所述样品与至少四种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

6. 根据权利要求1-5中任一项所述的方法,其中使所述样品与至少五种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

7. 根据权利要求1-6中任一项所述的方法,其中使所述样品与至少六种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

8. 根据权利要求1-7中任一项所述的方法,其中使所述样品与至少七种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

9. 根据权利要求1-3中任一项所述的方法,其中使所述样品与至少八种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

10. 根据权利要求1-9中任一项所述的方法,其中检测来自感染结核分枝杆菌的受试者的样品中抗体-肽复合物的灵敏度为至少70%。

11. 根据权利要求1-10中任一项所述的方法,其中检测来自感染结核分枝杆菌的受试者的样品中抗体-肽复合物的灵敏度为至少80%。

12. 根据权利要求1-11中任一项所述的方法,其中检测来自感染结核分枝杆菌的受试者的样品中抗体-肽复合物的灵敏度为至少90%。

13. 根据权利要求1-12中任一项所述的方法,其中检测来自感染结核分枝杆菌的受试者的样品中抗体-肽复合物的灵敏度为至少95%。

14. 根据权利要求1-13中任一项所述的方法,其中使所述样品与SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体接触。

15. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中使所述样品与SEQ ID NO:5或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:7或其抗原片段或变体;和SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体接触。

16. 根据权利要求1-15中任一项所述的方法,其中使样品与SEQ ID NO:1或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:3或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:5或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:7或其抗原片段或变体;和SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体接触。

17. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中使所述样品与SEQ ID NO:11或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:13或其抗原片段或变体;和SEQ ID NO:15或其抗原片段或变体接触。

18. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中使所述样品与SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:11或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:13或其抗原片段或变体;和SEQ ID NO:15或其抗原片段或变体接触。

19. 根据权利要求1-14中任一项所述的方法,其中使所述样品与SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:11或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:13或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:15或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:1或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:3或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:5或其抗原片段或变体;和SEQ ID NO:7或其抗原片段或变体接触。

20. 根据权利要求1-19中任一项所述的方法,其中将所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体与亲和标签序列连接以促进纯化。

21. 根据权利要求20所述的方法,其中所述亲和标签为6x-组氨酸标签。

22. 根据权利要求1-21中任一项所述的方法,其中将所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体与配体缀合。

23. 根据权利要求1-21中任一项所述的方法,其中所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体为生物素化的。

24. 根据权利要求1-21中任一项所述的方法,其中将所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体与链霉抗生物素蛋白缀合。

25. 根据权利要求1-2中任一项所述的方法,其中将两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体连接或固定于固体支撑物上。

26. 根据权利要求25所述的方法,其中将所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体连接或固定于微珠、侧向流动免疫测定装置中的流动路径、微量滴定板中的孔、或者转子中的流动路径。

27. 根据权利要求1-24中任一项所述方法,其中所述复合物的形成是通过以下一种或多种方法检测:ELISA、免疫印迹、放射免疫测定、流式细胞术、荧光偏振、乳胶凝集、侧向流动测定、免疫色谱测定、免疫芯片、浸渍棒免疫测定、和基于微珠的技术。

28. 一种用于测定来自受试者的样品中抗体存在的装置,其中所述抗体与结核分枝杆菌抗原表位结合,其中所述装置包含两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体,其中所述多肽包含选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、和15的多肽。

29. 根据权利要求28所述的装置,其中所述装置包含至少三种分离的多肽或其抗原片段或变体。

30. 根据权利要求28-29中任一项所述的装置,其中所述装置包含至少四种分离的多肽或其抗原片段或变体。

31. 根据权利要求28-30中任一项所述的装置,其中所述装置包含至少五种分离的多肽或其抗原片段或变体。

32. 根据权利要求28-31中任一项所述的装置,其中所述装置包含至少六种分离的多肽或其抗原片段或变体。

33. 根据权利要求28-32中任一项所述的装置,其中所述装置包含至少七种分离的多肽或其抗原片段或变体。

34. 根据权利要求28-33中任一项所述的装置,其中所述装置包含至少八种分离的多肽或其抗原片段或变体。

35. 根据权利要求28-34中任一项所述的装置, 其中所述装置包含SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体。

36. 根据权利要求28-35中任一项所述的装置, 其中所述装置包含SEQ ID NO:5或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:7或其抗原片段或变体; 和SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体。

37. 根据权利要求28-36中任一项所述的装置, 其中所述装置包含SEQ ID NO:1或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:3或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:5或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:7或其抗原片段或变体; 和SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体。

38. 根据权利要求28-34中任一项所述的装置, 其中所述装置包含SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:11或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:13或其抗原片段或变体; 和SEQ ID NO:15或其抗原片段或变体。

39. 根据权利要求28-38中任一项所述的装置, 其中将所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体与亲和标签序列连接。

40. 根据权利要求39所述的装置, 其中所述亲和标签为6x-组氨酸标签。

41. 根据权利要求28-40中任一项所述的装置, 其中将所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体与配体缀合。

42. 根据权利要求28-41中任一项所述的装置, 其中所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体为生物素化的。

43. 根据权利要求28-42中任一项所述的装置, 其中将所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体与链霉抗生物素蛋白缀合。

44. 根据权利要求28-43中任一项所述的装置, 其中将所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体连接或固定于固体支撑物上。

45. 根据权利要求28-44中任一项所述的装置, 其中将所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体连接或固定于微珠、侧向流动免疫测定装置中的流动路径、微量滴定板中的孔、或者转子中的流动路径。

46. 一种用于测定来自包含受试者T细胞的样品中干扰素- γ 产生的方法, 括:

i. 将包含受试者T细胞的样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体接触, 其中所述多肽包含选自SEQ ID NOs:1、3、5、7、9、11、13、和15的多肽; 和

ii. 检测由T细胞产生的干扰素- γ 的存在。

47. 根据权利要求46所述的方法, 其中在检测由T细胞产生的干扰素- γ 之前, 将样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体一起温育4-24小时。

48. 根据权利要求46-47中任一项所述的方法, 其中T细胞为新鲜分离的。

49. 根据权利要求46-48中任一项所述的方法, 其中T细胞为从血液中分离的。

50. 根据权利要求46-49中任一项所述的方法, 其中T细胞包含CD4⁺和CD8⁺T细胞。

51. 根据权利要求46-49中任一项所述的方法, 其中T细胞包含CD4⁺立即效应T细胞。

52. 根据权利要求46-51中任一项所述的方法, 其中受试者已被结核分枝杆菌感染。

53. 根据权利要求46-52中任一项所述的方法, 其中所述样品选自血液、血清、血浆、淋巴结、皮肤、唾液、尿液、脑脊髓液、和乳汁。

54. 根据权利要求46-53中任一项所述的方法, 其中使样品与至少三种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

55. 根据权利要求46-54中任一项所述的方法, 其中使所述样品与至少四种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

56. 根据权利要求46-55中任一项所述的方法, 其中使所述样品与至少五种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

57. 根据权利要求46-56中任一项所述的方法, 其中使所述样品与至少六种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

58. 根据权利要求46-57中任一项所述的方法, 其中使所述样品与至少七种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

59. 根据权利要求46-58中任一项所述的方法, 其中使所述样品与至少八种分离的多肽或其抗原片段或变体接触。

60. 根据权利要求46-59中任一项所述的方法, 其中检测来自感染结核分枝杆菌的受试者的样品中干扰素- γ 的灵敏度为至少70%。

61. 根据权利要求46-60中任一项所述的方法, 其中检测来自感染结核分枝杆菌的受试者的样品中干扰素- γ 的灵敏度为至少80%。

62. 根据权利要求46-61中任一项所述的方法, 其中检测来自感染结核分枝杆菌的受试者的样品中干扰素- γ 的灵敏度为至少90%。

63. 根据权利要求46-62中任一项所述的方法, 其中检测来自感染结核分枝杆菌的受试者的样品中干扰素- γ 的灵敏度为至少95%。

64. 根据权利要求46-63中任一项所述的方法, 其中使所述样品与SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体接触。

65. 根据权利要求46-64中任一项所述的方法, 其中使所述样品与SEQ ID NO:5或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:7或其抗原片段或变体; 和SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体接触。

66. 根据权利要求46-65中任一项所述的方法, 其中使所述样品与SEQ ID NO:1或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:3或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:5或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:7或其抗原片段或变体; 和SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体接触。

67. 根据权利要求46-64中任一项所述的方法, 其中使所述样品与SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:11或其抗原片段或变体; SEQ ID NO:13或其抗原片段或变体; 和SEQ ID NO:15或其抗原片段或变体接触。

68. 根据权利要求46-67中任一项所述的方法, 其中将所述两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体与亲和标签序列连接以促进纯化。

69. 根据权利要求68所述的方法, 其中所述亲和标签为6x-组氨酸标签。

70. 根据权利要求46-69中任一项所述的方法, 其中将两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体连接或固定于固体支撑物上。

71. 根据权利要求46-70中任一项所述的方法, 其中干扰素- γ 是通过以下一种或多种方法检测: ELISA、免疫印迹、放射免疫测定、流式细胞术、荧光偏振、乳胶凝集、侧向流动测定、免疫色谱测定、免疫芯片、浸渍棒免疫测定、和基于微珠的技术。

结核分枝杆菌蛋白诊断测定和结核病检测和诊断装置

[0001] 相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2016年9月22日提交的美国临时申请No.62/398213的权益,其内容通过引用整体并入本文。

[0003] 通过引用并入以电子方式提交的材料

[0004] 通过引用整体并入本文的为与本文同时提交并且如下标识的计算机可读序列表:2017年11月22日创建的名“sequence_listing.txt”的一个19513字节ASCII(文本)文件。

技术领域

[0005] 本发明涉及传染病,尤其涉及医学诊断和检测结核感染的方法。

[0006] 发明背景

[0007] 传统上,结核病(TB)的诊断基于提示结核病的体征和症状以及适当的胸部X射线变化和痰中分枝杆菌(涂片阳性结核病)和结核病阳性培养物的证明。为了得到阳性涂片,痰液样本中结核菌的数量必须超过一定的检测阈值。结核病培养通常是缓慢而费力的,许多实验室可能没有适当的设施和专业人员。因此,结核病皮肤试验,结核菌素皮肤试验(TST)除了用于涂片和培养外,还常常用于在患有相关症状和X射线变化的患者中建立结核病诊断。结核菌素皮肤试验可用于诊断潜伏性结核病,但需要两次就诊和技术人员进行试验放置和解释。此外,结核菌素皮肤试验通常不会将潜伏性结核感染与先前用牛分枝杆菌卡介苗(BCG)接种或环境分枝杆菌感染分开,因为TST利用结核菌素纯化蛋白衍生物(PPD)作为抗原成分。一项重大进展是鉴定早期分泌的抗原靶标6kD蛋白(ESAT-6)和培养滤液蛋白10(CFP10)。ESAT-6和CFP-10由所有结核分枝杆菌和致病性牛分枝杆菌菌株分泌,但不存在于所有卡介苗(BCG)疫苗株和常见的非结核分枝杆菌(NTM)中,M.kansasii、M.szulgai及M.marinum。除外。Colangeli等人,Infect.Immun.2000;68:990-993;Harboe等人,Infect.Immun.1996;64:16-22。

[0008] 鉴于这些测定的繁琐性质-涂片、培养物和TST、-耗时、需要独特的专业知识和设施(培养)、回诊所(TST),人们对其他可用于建立结核病诊断的血液标志物产生了强烈的兴趣。这些领域的进展已经导致至少两种商用检测-TSPOT-TB和QuantiFeronTB-Gold。这两种测试基本上都能检测到与结核分枝杆菌特异性抗原(ESAT6和CFP10)反应的血液T细胞。这些测试包括用与ESAT6和CFP10或全长重组抗原相对应的肽形式的抗原刺激血淋巴细胞,然后用酶联免疫测定(QuantiFeronTB-Gold)测量T细胞分泌的干扰素 γ (IFN- γ)、或用酶联免疫斑点试验(TSPOT-TB)检测产生干扰素- γ 的细胞。

[0009] 虽然这些基于T细胞的ELISA法TB试验在结核病诊断中比TST有明显改善,但仍存在许多警告和问题。例如,基于ELISA法的这些IGRAs的实验室密集性是有问题的,尤其是在资源贫乏的环境下。基于T细胞的试验的替代方案是基于结核特异性抗体检测的测定。

[0010] 具有适当灵敏度和特异性,用于检测血液/血清/唾液样品中的结核病特异性抗体的血清学试验,与现有的试验相比,具有明显的优势。与结核菌素皮肤试验(TST)不同,对结核分枝杆菌抗原的抗体应答的测定具有较小的侵入性和危险性(不良反应)并且节省时间。

这些试验也不要求患者返回诊所进行评估。这些优点与IGRAs的优点类似。此外,用于检测结核病特异性抗体的血清学测定也可以用于用户友好和现场快速法。这些快速法可减少基于T细胞的测定对实验室的严重依赖。快速法的响应也可以如先前研究中所发现,避免结果解释中的模糊性的方式校准。Liebeschuetz等人,Lancet 364 (9452):2196-203;Goodwin, D.J. (2010) Operational issues for QFT-GIT testing. Tri-Service TB screening and testing policy review. Joint Preventive Medicine Policy Group. Rosslyn, VA; Oct 2010. (88ABW-2010-5700)。该方法可通过调节快速测试来实现,即仅在某个预定阈值之上观察到的阳性反应。可观察阈值是通过大量现场样本筛选确定的。

[0011] 检测结核病特异性抗体的血清学测定的一个主要问题是在测定中可使用哪种抗原。在过去的一百年中,我们对抗体反应的理解发生了巨大变化。此外,已经鉴定出新的抗原,并且已经产生了几种重组抗原。然而,现有血清学测定的准确性是适度的,并且这些试验在临床上没有用。Steingart等人,Thorax 2007;62:911-8;Steingart等人,PLoS Med. 2007;4:e202;Steingart等人,Clin. Vaccine Immunol. 2009;16:260-76;Abebe等人, Scand. J. Immunol. 2007;66:176-91。然而,为发现新的另外抗原和用于开发有效血清学测定的更好方法策略的努力仍在继续。

[0012] 现非常需要开发新的测定和筛选以检测患者的结核感染。

[0013] 此背景信息仅供参考。不允许,也不应解释为,上述任何信息构成对本发明的现有技术。

[0014] 发明概述

[0015] 应理解,上述实施方案的一般描述和以下详细描述都是示例性的,因此不限制实施方案的范围。

[0016] 一方面,本发明涉及可用于诊断以检测结核病的蛋白组合。

[0017] 另一方面,本发明提供具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的分离的Rv0222蛋白或蛋白类、全肽或免疫原性肽,其可单独使用或与诊断/检测装置中的其他抗原组合使用以检测与Rv0222特异性结合且存在于体液样品(血清、全血、血浆、唾液)中的抗体。

[0018] 另一方面,本发明提供具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的分离的Rv3120蛋白或蛋白类,其可单独使用或与诊断/检测装置中的其他抗原组合使用以检测与Rv3120特异性结合且存在于体液样品(血清、全血、血浆、唾液)中的抗体。

[0019] 另一方面,本发明提供具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的分离的Rv1989c蛋白或蛋白类,其可单独使用或与诊断/检测装置中的其他抗原组合使用以检测与Rv1989c特异性结合且存在于体液样品(血清、全血、血浆、唾液)中的抗体。

[0020] 另一方面,本发明提供具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的分离的Rv3118蛋白或蛋白类、全肽或免疫原性肽,其可单独使用或与诊断/检测装置中的其他抗原组合使用以检测与Rv3118特异性结合且存在于体液样品(血清、全血、血浆、唾液)中的抗体。

[0021] 另一方面,本发明提供具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的分离的Rv1636蛋白或蛋白类、全肽或免疫原性肽,其可单独使用或与诊断/检测装置中的其他抗原组合使用以检测与Rv1636特异性结合且存在于体液样品(血清、全血、血浆、唾液)中的抗体。

[0022] 另一方面,本发明提供具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的分离的Rv3426蛋白或蛋白类、全肽或免疫原性肽,其可单独使用或与诊断/检测装置中的其他抗原组合使

用以检测与Rv3426特异性结合且存在于体液样品(血清、全血、血浆、唾液)中的抗体。

[0023] 另一方面,本发明提供一种诊断工具,例如结核病侧流快速诊断试验、或酶联免疫测定法检测T细胞释放的干扰素- γ (IFN- γ)、或酶联免疫斑点试验检测产生干扰素- γ 的细胞,以及利用Rv0222或具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的蛋白(类)的其他细胞,全长或其免疫原性片段为与分子缀合的天然蛋白、或多肽链的复合物的一部分。

[0024] 另一方面,本发明提供一种诊断工具,例如结核病侧流快速诊断试验、或酶联免疫测定法检测T细胞释放的干扰素- γ (IFN- γ)、或酶联免疫斑点试验检测产生干扰素- γ 的细胞,以及利用Rv3120或具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的蛋白(类)的其他细胞,全长或其免疫原性片段为与分子缀合的天然蛋白、或多肽链的复合物的一部分。

[0025] 另一方面,本发明提供一种诊断工具,例如结核病侧流快速诊断试验、或酶联免疫测定法检测T细胞释放的干扰素- γ (IFN- γ)、或酶联免疫斑点试验检测产生干扰素- γ 的细胞,以及利用Rv1989c或具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的蛋白(类)的其他细胞,全长或其免疫原性片段为与分子缀合的天然蛋白、或多肽链的复合物的一部分。

[0026] 另一方面,本发明提供一种诊断工具,例如结核病侧流快速诊断试验、或酶联免疫测定法检测T细胞释放的干扰素- γ (IFN- γ)、或酶联免疫斑点试验检测产生干扰素- γ 的细胞,以及利用Rv3118或具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的蛋白(类)的其他细胞,全长或其免疫原性片段为与分子缀合的天然蛋白、或多肽链的复合物的一部分。

[0027] 另一方面,本发明提供一种诊断工具,例如结核病侧流快速诊断试验、或酶联免疫测定法检测T细胞释放的干扰素- γ (IFN- γ)、或酶联免疫斑点试验检测产生干扰素- γ 的细胞,以及利用Rv1636或具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的蛋白(类)的其他细胞,全长或其免疫原性片段为与分子缀合的天然蛋白、或多肽链的复合物的一部分。

[0028] 另一方面,本发明提供一种诊断工具,例如结核病侧流快速诊断试验、或酶联免疫测定法检测T细胞释放的干扰素- γ (IFN- γ)、或酶联免疫斑点试验检测产生干扰素- γ 的细胞,以及利用Rv3426或具有高度序列同源性(>80%序列同源性)的蛋白(类)的其他细胞,全长或其免疫原性片段为与分子缀合的天然蛋白、或多肽链的复合物的一部分。

[0029] 另一方面,本发明提供一种诊断工具,例如结核病侧流快速诊断试验、或酶联免疫测定法检测T细胞释放的干扰素- γ (IFN- γ)、或酶联免疫斑点试验检测产生干扰素- γ 的细胞,以及利用Rv0222和/或Rv3120和/或Rv1989c的组合、或具有高度相似序列同源性(>80%序列同源性)的蛋白(类)的其他细胞,全长或其免疫原性片段为与分子缀合的天然蛋白、或多肽链的复合物的一部分,具有以下组合Rv0222和Rv3120、Rv0222和Rv1989c、Rv3120和Rv1989c、Rv0222和Rv3120和Rv1989c。

[0030] 另一方面,本发明提供一种诊断工具,例如结核病侧流快速诊断试验、或酶联免疫测定法检测T细胞释放的干扰素- γ (IFN- γ)、或酶联免疫斑点试验检测产生干扰素- γ 的细胞,以及利用Rv3118和/或Rv1636和/或Rv3426的组合、或具有高度相似序列同源性(>80%序列同源性)的蛋白(类)的其他细胞,全长或其免疫原性片段为与分子缀合的天然蛋白、或多肽链的复合物的一部分,具有以下组合Rv3118和Rv1636、Rv3118和Rv3426、Rv1636和Rv3426、Rv3118和Rv1636和Rv3426。

[0031] 另一方面,本发明提供一种诊断工具,例如结核病侧流快速诊断试验、或酶联免疫测定法检测T细胞释放的干扰素- γ (IFN- γ)、或酶联免疫斑点试验检测产生干扰素- γ 的

细胞,以及利用Rv0222和/或Rv3120和/或Rv1989c和/或Rv3118和/或Rv1636和/或Rv3426和/或Rv2185c和/或Rv3354的组合、或具有高度相似序列同源性(>80%序列同源性)的蛋白(类)的其他细胞,全长或其免疫原性片段为与分子缀合的天然蛋白、或多肽链的复合物的一部分。在一些实施方案中,使用以下组合:Rv0222和Rv3118;Rv0222和Rv1636;Rv0222和Rv3426;Rv0222和Rv3354;Rv0222和Rv2185c;Rv0222和Rv3118和Rv1636;Rv0222和Rv3118和Rv3426;Rv0222和Rv1636和Rv3426;Rv0222和Rv3354和Rv2185c;Rv1989c和Rv3118;Rv1989c和Rv1636;Rv1989c和Rv3426;Rv1989c和Rv3354;Rv1989c和Rv2185c;Rv1989c和Rv3118和Rv1636;Rv1989c和Rv3118和Rv3426;Rv1989c和Rv1636和Rv3426;Rv1989c和Rv3354和Rv2185c;Rv3120和Rv3118;Rv3120和Rv1636;Rv3120和Rv3426;Rv3120和Rv3354;Rv3120和Rv2185c;Rv3120和Rv3118和Rv1636;Rv3120和Rv3118和Rv3426;Rv3120和Rv1636和Rv3426;Rv3120和Rv3354和Rv2185c;Rv0222和Rv1989c和Rv3118;Rv0222和Rv1989c和Rv1636;Rv0222和Rv1989c和Rv3426;Rv0222和Rv1989c和Rv3354;Rv0222和Rv1989c和Rv2185c;Rv0222和Rv1989c和Rv3118和Rv1636;Rv0222和Rv1989c和Rv3118和Rv3426;Rv0222和Rv1989c和Rv1636和Rv3426;Rv0222和Rv1989c和Rv3354和Rv2185c;Rv0222和Rv3120和Rv3118;Rv0222和Rv3120和Rv1636;Rv0222和Rv3120和Rv3426;Rv0222和Rv3120和Rv3354;Rv0222和Rv3120和Rv2185c;Rv0222和Rv3120和Rv3118和Rv1636;Rv0222和Rv3120和Rv3118和Rv3426;Rv0222和Rv3120和Rv1636和Rv3426;Rv022和Rv3120和Rv3354和Rv2185c;Rv1989c和Rv3120和Rv3118;Rv1989c和Rv3120和Rv1636;Rv1989c和Rv3120和Rv3426;Rv1989c和Rv3120和Rv3354;Rv1989c和Rv3120和Rv2185c;Rv1989c和Rv3120和Rv3118和Rv1636;Rv1989c和Rv3120和Rv3118和Rv3426;Rv1989c和Rv3120和Rv1626和Rv3426;Rv1989c和Rv3120和Rv3354和Rv2185c;Rv0222和Rv1989c和Rv3120和Rv3118;Rv0222和Rv1989c和Rv3120和Rv1636;Rv0222和Rv1989c和Rv3120和Rv3426;Rv0222和Rv1989c和Rv3120和Rv3354;Rv0222和Rv1989c和Rv3120和Rv2185c;Rv0222和Rv1989c和Rv3120和Rv3118和Rv1636;Rv0222和Rv1989c和Rv3120和Rv3118和Rv3426;Rv0222和Rv1989c和Rv3120和Rv1636和Rv3426;Rv0222和Rv1989c和Rv3120和Rv3354和Rv2185c;Rv0222和Rv1989c和Rv3120和Rv3118和Rv1636和Rv3426;和Rv0222和Rv1989c和Rv3120和Rv3354和Rv2185c和Rv3118和Rv1636和Rv3426。

[0032] 另一方面,本发明提供一种诊断工具,例如结核病侧流快速诊断试验、或酶联免疫测定法检测T细胞释放的干扰素- γ (IFN- γ)、或酶联免疫斑点试验检测产生干扰素- γ 的细胞,以及利用Rv0222、和/或Rv1989c、和/或Rv3120、和/或Rv3118、和/或Rv1636、和/或Rv3426和/或与其他结核病抗原组合的其他细胞。

[0033] 另一方面,本发明提供检测来自受试者样品中抗体的方法,其中该抗体与结核分枝杆菌抗原的表位结合,包括:

[0034] i. 将样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体接触,其中该多肽包含选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、和15的多肽;和

[0035] ii. 检测包含该分离的多肽或其抗原片段或变体的抗体-肽复合物的形成;

[0036] 其中该复合物的形成表明该样品中存在针对结核分枝杆菌抗原表位的抗体。在一些实施方案中,受试者已经感染结核分枝杆菌。在一些实施方案中,将多肽或其抗原片段或变体与亲和标签序列连接以促进纯化。在一些实施方案中,亲和标签为6x-组氨酸标签。

[0037] 另一方面,本发明提供一种测定来自包含受试者T细胞的样品中干扰素- γ 产生的方法,该方法包括:

[0038] i.将包含受试者T细胞的样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体接触,其中该多肽包含选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、和15的多肽;和

[0039] ii.检测T细胞产生的干扰素- γ 的存在。

[0040] 另一方面,本发明提供一种检测来自受试者样品中产生干扰素- γ 的T细胞的方法,包括:

[0041] i.将包含受试者T细胞的样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体接触,其中该多肽包含选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、和15的多肽;和

[0042] ii.检测产生干扰素- γ 的T细胞的存在。

[0043] 在一些实施方案中,在检测由T细胞产生的干扰素- γ 的存在之前,将样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体一起温育4-24小时。在一些实施方案中,T细胞为新鲜分离的。根据权利要求44-46中任一项的方法,其中T细胞在血液中或由血液分离。在一些实施方案中,T细胞包含CD4⁺和CD8⁺T细胞。在一些实施方案中,T细胞包含CD4⁺立即效应T细胞。在一些实施方案中,受试者已经感染结核分枝杆菌。在一些实施方案中,样品选自血液、血清、血浆、淋巴结、皮肤、唾液、尿液、脑脊髓液、和乳汁。

[0044] 另一方面,本发明提供一种装置,其中该装置包含两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体,其中该多肽包含选自SEQ ID NOS:1、3、5、7、9、11、13、和15的多肽。在一些实施方案中,将两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体连接或固定于固体载体上。在一些实施方案中,将两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体连接或固定于微珠、侧向流动免疫测定装置中的流动路径、微量滴定板中的孔、或转子中的流动路径上。在一些实施方案中,该装置用于测定来自受试者的样品中抗体的存在,其中该抗体与结核分枝杆菌抗原的表位结合。

[0045] 从下面的详细描述中,本发明的其他目的、特点和优点将变得明显。然而,应当理解的是,详细描述和具体实施例虽然表明了本发明的具体实施例,但仅以说明的方式给出,因为从此详细描述中,在本发明的精神和范围内的各种变化和改性对于本领域技术人员将变得明显。

附图说明

[0046] 本领域技术人员将理解,下面描述的附图仅用于说明目的。附图不旨在以任何方式限制本教导的范围。

[0047] 图1.侧向流动快速测试条的示意图。

[0048] 图2A.单通道侧向流动TB试验的示例。A)侧向流动测试条的外壳盒的示例。B)用从世界卫生组织获得的TB阳性样品测定后的3-抗原侧向流动条测试的示例。与此条一起使用的3种抗原为Rv0222(顶线)、Rv1989c(中线)、和Rv3120(底线)。C)用TB阳性样品测定后的5-抗原测试条的示例。D)测定前侧向流动原型的示例。(注意:这些侧向流动条示例中没有对照线)。

[0049] 图2B.用从世界卫生组织获得的TB阳性/阴性样品测定后的5-抗原IgM-侧向流动测试条的示例。与这些条一起使用的5种抗原为Rv0222、Rv1989c、Rv3120、Rv3354、和

Rv2185c。TB样品为样品#98-涂片阳性/培养阳性(活性TB);样品#185-涂片阴性/培养阴性/胸部X线阳性,治疗后有改善(活性TB);样品#105-涂片阴性/培养阴性(非活性TB)。

[0050] 图3.A) 双路径侧向流动测试的示例。用血清样品检测该装置,因此可看到对照线。B) 外壳盒的顶部。C) 盒的下部和2个侧向流动条,可评估样品中多达10种分析物。a) 样品垫, b) 联结垫片, c) 示踪缓冲液储存器。

[0051] 图4.典型的Rann量表,用于对肉眼观察到的信号强度进行分级。

[0052] 图5.从WHO/FIND收到的TB血清样品的代码。

[0053] 图6.从WHO/FIND收到的TB血清样品的代码。

[0054] 图7.从WHO/FIND收到的TB血清样品的代码。

[0055] 图8.用WHO/FIND TB血清样品测定后的典型侧向流动IgM条。用Rv0222、Rv1989c、Rv3120抗原制备的条用于IgM检测。

[0056] 图9.用WHO/FIND TB血清样品测定后的典型侧向流动IgG条。由Rv0222、Rv1989c、Rv3120抗原制备的条用于IgG检测。

[0057] 图10.用WHO/FIND TB样品,使用由Rv0222、Rv1989c、Rv3120抗原制备的条测定后侧向流动测试结果的总结。

[0058] 图11.用WHO/FIND TB样品,使用由Rv0222、Rv1989c、Rv3120抗原制备的条测定后侧向流动测试结果的总结。

[0059] 图12.用WHO/FIND TB样品,使用由Rv0222、Rv1989c、Rv3120抗原制备的条测定后侧向流动测试结果的总结。

[0060] 图13.用WHO/FIND TB样品,使用由Rv0222、Rv1989c、Rv3120抗原制备的条测定后侧向流动测试结果解释的列表。

[0061] 图14.现场即时TB测试的最低规格。

[0062] 发明详述

[0063] 本发明部分基于以下发现:来自结核分枝杆菌的多肽或其抗原片段或变体的组合提供了免疫系统对结核分枝杆菌感染的反应-抗体应答或T细胞应答的有效检测。在一些实施方案中,本发明提供了具有适当灵敏度和特异性的测定和装置,以检测患者样品中的结核病特异性抗体,并且具有优于目前可用测试的显著优势。因此,在一些实施方案中,本发明提供了用于检测结合结核分枝杆菌抗原的抗体和受试者中结核病诊断的组合物、装置、方法和试剂盒。

[0064] 现在将详细参考本发明的当前优选实施方案,其与附图和以下实施例一起用于解释本发明的原理。这些实施方案足够详细地描述以使本领域技术人员能够实施本发明,并且应理解,可利用其他实施方案,并且可在不脱离本发明的精神和范围的情况下进行结构、生物、和化学变化。除非另外定义,否则本文使用的所有技术和科学术语的含义与本领域普通技术人员通常理解的含义相同。

[0065] 在一些实施方案中,本发明的实践采用分子生物学(包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学和免疫学的各种技术。参见,例如,Sambrook等人,Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 2nd edition(1989);Current Protocols in Molecular Biology (F.M.Ausubel et al.eds.(1987));the series Methods in Enzymology(Academic Press,Inc.);PCR:A Practical Approach(M.MacPherson et al.IRL Press at Oxford

University Press(1991));PCR 2:A Practical Approach(M.J.MacPherson,B.D.Hames and G.R.Taylor eds.(1995));Antibodies,A Laboratory Manual(Harlow and Lane eds.(1988));Using Antibodies,A Laboratory Manual(Harlow and Lane eds.(1999)); and Animal Cell Culture(R.I.Freshney ed.(1987))。

[0066] 例如,分子生物学中常见术语的定义可在以下中找到:Benjamin Lewin,Genes VII,published by Oxford University Press,2000 (ISBN 019879276X);Kendrew et al.(eds.);The Encyclopedia of Molecular Biology,published by Blackwell Publishers,1994 (ISBN 0632021829);和Robert A.Meyers(ed.),Molecular Biology and Biotechnology:a Comprehensive Desk Reference,published by Wiley,John&Sons, Inc.,1995 (ISBN 0471186341)。

[0067] 出于解释本说明书的目的,将应用以下定义,并且在适当时,以单数使用的术语也将包括复数,反之亦然。如果下文所述的任何定义与任何其他文件(包括通过引用并入本文的任何文件)中该词的用法相冲突,则出于解释本说明书及其相关权利要求的目的,下文所述的定义应始终受控制,除非明确规定了相反的含义(例如在最初使用该术语的文档中)。除非另有说明,否则“或”的使用表示“和/或”。如说明书和权利要求书中所使用的,单数形式“一”、“一个”和“该”包括复数指代,除非上下文另有明确说明。例如,术语“抗体”包括多种抗体,包括其混合物。“包含”、“包含”、“包含”、“包括”、“包括”和“包括”的使用是可互换的,并非旨在进行限制。此外,在一个或多个实施方案的描述使用术语“包含”的情况下,本领域技术人员将理解,在一些特定情况下,可使用“基本上由.....组成”和/或“由.....组成”的语言来替代地描述一个或多个实施方案。

[0068] 如本文所用,术语“约”是指其使用数的数值的加或减10%。

[0069] 如本文所用,术语“抗原”是指能够被抗体识别的分子。抗原可为例如肽或其改性形式。抗原可包含一个或多个表位。

[0070] 如本文所用,术语“表位”为抗体特异性识别的抗原的一部分。例如,表位可包含肽(例如,本发明的肽)的一部分或由其组成。表位可为线性表位、顺序表位或构象表位。在某些实施方案中,表位可包含非连续区域。

[0071] 术语“核酸”、“寡核苷酸”和“多核苷酸”在本文中可互换使用,包括DNA、RNA、cDNA,无论是单链还是双链,以及其化学改性。

[0072] 本文使用的单字母氨基酸缩写具有其在本领域中的标准含义,并且本文所述的所有肽序列根据惯例书写,其中N末端为左,C末端为右。

[0073] 方法

[0074] 在一个实施方案中,本发明提供检测来自受试者的样品中抗体的方法,其中该抗体与结核分枝杆菌抗原的表位结合,包含:

[0075] i.将样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体接触,其中该分离的多肽包含选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、和15的多肽;和

[0076] ii.检测包含该分离的多肽或其抗原片段或变体的抗体-肽复合物的形成;

[0077] 其中该复合物的形成表明该样品中存在针对结核分枝杆菌抗原表位的抗体。

[0078] 样品没有特别限制。在一些实施方案中,样品选自血液、血清、血浆、淋巴结、皮肤、唾液、尿液、脑脊髓液、和乳汁。

[0079] 结核分枝杆菌抗原包含含有SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、和/或15的多肽。结核分枝杆菌抗原的氨基酸和核酸序列如下所示。

[0080] Rv2185c

[0081] 氨基酸:

[0082] MADKTTQTIYIDADPGEVMKAIADIEAYPQWISEYKEVEILEADDEGYPKRARMLMDAAIFKDTLIMS
YEWPEDRQSLSWTLESSSLLKSLEGTYRLAPKSGSTEVTYELAVDLAVPMIGMLKRKAERRLIDGALKDLKKRVEG
(SEQ ID NO:1)

[0083] 核苷酸(菌株H37Rv):

```
gtggcggaca agacgacaca gacgatttac atcgacgcgg atccaggcga
ggtgatgaag gcgatcgccg acatcgaagc ctacccgcaa tggatttcgg
agtataagga agtcgagatc ctagaggccg acgacgaggg ctacccgaaa
cgagcgcgaa tggtgatgga cgcagccatc ttcaaagaca cttgatcat
[0084] gtcctacgag tggccggaag accgccaatc gcttagctgg actctcgaat
ccagctcgct gctaaagtcc ctcgaaggca cgtatcgctt ggcgccaag
ggttctggca ctgaggtcac ctacgagctt gccgtcgacc ttgctgtccc
catgatcggg atgctcaagc gtaaggcgga acgcaggttg atagacggcg
cggtgaagga tctgaagaaa cgagtcgagg gctga (SEQ ID NO:2)
```

[0085] Rv3354

[0086] 氨基酸:

[0087] MNLRRHQTLTLRLAASAGILSAAFAAPAQANPVDDAFIAALNAGVNYGDPVDAKALGQSVCPILA
EPGGSFNTAVASVVARAQMSQDMAQTFTSIAISMYCPSVMADVASGNLPALPDMPGLPGS (SEQ ID NO:3)

[0088] 核苷酸(菌株H37Rv):

atgaacctac ggcgccatca gaccctgacg ctgcgactgc tggcggcac
cgcgggcatt ctcagcgccg cggccttcgc cgcgccagca caggcaaacc
ccgtcgacga cgcgttcatc gccgcgctga acaatgccgg cgtcaactac
[0089] ggcgatccgg tcgacgccaa agcgctgggt cagtccgtct gcccgatcct
ggccgagccc ggcgggtcgt ttaacaccgc ggtagccagc gttgtggcgc
gcgcccgaagg catgtcccag gacatggcgc aaaccttcac cagtatcgcg
atttcgatgt actgcccctc ggtgatggca gacgtcgcca gcggcaacct
gccggccctg ccagacatgc cggggctgcc cgggtcctag (SEQ ID NO:4)

[0090] Rv0222 (或echA1-烯酰-CoA水合酶EchA1)

[0091] 氨基酸:

[0092] MSSESDAANTEPEVLVEQRDRILIIITINRPKAKNAVNAAVSRGLADAMDQLDGLSVAILTG
GGGSFCAGMDLKAFARGENVVVEGRGLGFTERPPTKPLIAAVEGYALAGGTELALAADLIVAARDSAF
GIPEVKRGLVAGGGLLRLPERIPYAIAMELALTGDNLPAERAHELGLVNLAEPGTALDAAIALAEKITANG
PLAVVATKRIITESR
GWSPDTMFAEQMKILVPVFTSNDKEGAIIFAERRRPRWTGT (SEQ ID NO:5)

[0093] 核苷酸 (菌株H37Rv):

atgagcagcg aaagcgacgc agccaacacc gaacctgagg ttctggtaga
[0094] acagcgggat cggattttga tcatcacgat caaccgcccc aaagccaaga

acgcggtcaa cgccgcagtc agccggggct tggccgatgc gatggatcag
cttgacggcg atgccggcct gtcggtggca atcctgaccg gtgggggcgg
ttcgttctgc gcgggcatgg acctcaaggc gttcgcccgg ggcgagaatg
tcgtcgtcga aggtcgcggc cttggcttta ccgaacgtcc gccgaccaag
ccgctcattg ctgcggtgga aggctacgcg ttggcgggtg gcaccgagct
ggcgcttgct gccgacctga tcgtggcggc cagggattcg gcgttcggga
[0095] ttcctgaagt caagcggggt ctggttgccg gcggcggggg attgctgcgg
ttgccggagc gcatcccgtat tgcgatagcc atggagttgg cgctgaccgg
tgacaacctata ccggccgaac gcgcgcacga gctggggctc gtcaacgttt
tggccgagcc ggggaccgcc ctcgatgctg cgatcgcgtt ggcggagaag
atcaccgcca atgggccgct ggcggtggtg gccaccaagc ggattatcac
cgagtcgcgt ggggtggagtc ccgacactat gttcgctgag cagatgaaga
tcctggtgcc ggtgttcacc tccaacgacg cgaaggaagg tgcgatcgcg
ttcgccgaga ggcgccggcc ccgttgacg ggcacctag (SEQ ID NO:6)

[0096] Rv1989c

[0097] 氨基酸:

[0098] MSDALDEGLVQRIDARGTIEWSETCYRYTGAHRDALSGEGARRFGGRWNPPLLFPAIYLADSAQACMV
EVERAAQAASTTAEKMLEAAYRLHTIDVTDLAVLDLTPQAREAVGLENDIYGDDWSGCQAVGHAAWFLHMQGVL
VPAAGGVGLVVTAYEQRTRPGQLQLRQSVDLTPALYQELRAT (SEQ ID NO:7)

[0099] 核苷酸(菌株H37Rv):

gtgagcgatg ccctcgatga agggctcgtc cagcgtatcg acgcacgcgg
aacaattgag tggtcggaaa cgtgctaccg gtataccggc gcgcaccgtg
acgccttgct cggtgagggc gcgcgcagat tcggaggcag gtggaatccg
ccgctgctct ttccggcgat ctatcttgct gattccgccc aagcctgcat
ggttgaggtg gaacgggcgg cgcaagcggc ttcaacgacc gcagagaaga
tgctcgaggc ggcctaccga ctacacacga tcgacgtcac ggacctggcc
[0100] gtcctcgatc tgacaacccc gcaagctcgg gaagccgtgg ggctcgagaa
cgacgacatc tatggcgacg actggtcagg gtgccaggcg gtcggacatg
cggcctggtt cttgcacatg caaggtgtcc tcgtgccggc ggcgggcgg
gtcggcctcg ttgtcaccgc gtatgaacag cgaactcggc cgggccaaact
acaactgcga caaagcgtcg atctgacgcc tgctctttac caagaacttc
gagccacgta g (SEQ ID NO:8)

[0101] Rv3120

[0102] 氨基酸:

[0103] MSPSPSALLADHPDRIRWNAKYECADPTEAVFAPISWLGDVLQFGVPEGPVLELACGRSGTALGLAAA
GRCVTAIDVSDTALVQLELEATRRELADRLTLVHADLCSWQSGDGRFALVLCRLFWHPPTFRQACEAVAPGGVVAW
EAWRRPIDVARDTRRAEWCLKPGQPESELPAGFTVIRVVDTDGSEPSRRIIAQRSL (SEQ ID NO:9)

[0104] 核苷酸 (菌株H37Rv):

atgagtcctg ctccatcggc cctgctcgcc gaccacccgg accgcattcg
[0105] ttggaacgcg aaatacgagt gcgctgaccc cacggaggcg gtatttgcgc

ccatatacctg gctcggcgac gtgctgcagt tcgggggtgcc agaagggccg
gttctggaac tggcgtgcgg tcgggtccggc accgcgctgg ggctagccgc
ggcggggccgc tgcgtgactg cgatcgacgt ttccgatacc gcgttggttc
agctcgagct cgaagcgacc cgacgggaat tggccgatcg cctcacactg
gtgcacgccg atctctgctc ctggcagtcg ggggatggac gctttgctct
[0106] ggtactttgc cgactattct ggcatccgcc cacttttcgc caggcttgcg
aggctgtggc gccgggcggt gtagtggcgt gggaggcatg gcggcggccc
atcgatgtcg ctcgggatac ccgtcgagcc gaatggtgct tgaagccagg
ccagcccagag tctgaacttc ccgccggctt cacggtgatt cgggtggtcg
acaccgatgg ttcagagccg tcgcggcgca tcatcgcca acggtcactg tga

(SEQ ID NO:10)

[0107] Rv3118

[0108] 氨基酸:

[0109] MCSGPKQGLTLPASVDLEKETVITGRVVDGDGQAVGGAFVRLDSSDEFTAEEVVASATGDFRFFAAPG
SWTLRALSAAGNGDAVVQPSGAGIHEVDVKIT (SEQ ID NO:11)

[0110] 核苷酸(菌株H37Rv):

atgtgctctg gaccaagca aggactgaca ttgccggcca gcgtcgacct
ggaaaaagaa acggtgatca ccggccgcgt agtggacggt gacggccagg
[0111] ccgtgggcgg cgcgttcgtg cggctgctgg actcctccga cgagttcacc
gcggaggtcg tcgcgtcggc caccggcgat ttccggttct tcgccgcgcc
cggatcctgg acgctgcgcg cgctgtcggc ggccggcaac ggcgacgcgg
tggtgcagcc ctcgggcgcg ggcatccacg aggtagacgt caagatcacc tga

[0112]

(SEQ ID NO:12)

[0113] Rv1636 (TB15.3)

[0114] 氨基酸:

[0115] MSAYKTVVVGTDGSDSSMRAVDRAAQIAGADAKLI IASAYLPQHEDARAADILKDESYKVTGTAPIYE
ILHDAKERAHNAGAKNVEERPIVGAPVDALVNLADEEKADLLVGVNVLSTIAGRLLGSVPANVSRRRAKVDVLIVH

TT (SEQ ID NO:13)

[0116] 核苷酸(菌株H37Rv):

```
atgagcgcct ataagaccgt ggtggttagga accgacggtt cggactcgtc
gatgcgagcg gtagatcgcg ctgcccagat cgccggcgca gacgccaagt
tgatcatcgc ctcggcatac ctacctcagc acgaggacgc tcgcgccgcc
gacattctga aggacgaaag ctacaagggtg acgggcaccg ccccgatcta
[0117] cgagatcttg cagcagccca aggaacgagc gcacaacgcc ggtgcgaaaa
acgtcgagga acggccgata gtcggcgccc cggtcgacgc gttggtgaac
ctggccgatg aggagaaggc ggacctgctg gtcgtcggca atgtcggctc
gagcacgata gcgggtcggc tgctcggata ggtaccggcc aatgtgtcac
gccgggccaa ggtcgacgtg ctgatcgtgc acaccaccta g (SEQ ID NO:14)
```

[0118] Rv3426 (PPE58)

[0119] 氨基酸:

[0120] MHLMIPA EYISNVIYEGPRADSLYAADQRLRQLADSVRTTAESLNTTLDLHENWKGSSSEWMADAAL
RYLDWLSKHSRQILRTARVIESLVMAYEETLLRVVPPATIANNREEVRRLIASNVAGGKHSSNRRPRGTIRAVPGR
KYPSNGPLSKLDPICAEAAPMAGAAADPQERVGPRGRRGLAGQQQCRGRPGPSLRCSHDTPRFQMNQAFHTMVNM
LLTCFACQEKPR (SEQ ID NO:15)

[0121] 核苷酸(菌株H37Rv):

```

        atgcatctaa tgatacccgcc ggagtatatc tccaacgtaa tatatgaagg
tccgcgtgct gactcattgt atgccgccga ccagcgattg cgacaattag
ctgactcagt tagaacgact gccgagtcgc tcaacaccac gctcgacgag
ctgcacgaga actggaaagg tagttcatcg gaatggatgg ccgacgcggc
tttgcggtat ctcgactggc tgtctaaaca ctcccgtcag attttgcgaa
ccgcccgcgt gatcgaatcc ctcgtaatgg cctatgagga gacacttctg
agggtggtac ccccggcgac tatcgccaac aaccgcgagg aggtgcgag
[0122] gctgatcgcg agcaacgtgg ccgggggtaa aactccagc aatcgagac
ctcgaggcac aatacgagca gtaccgggcc gaaaatatcc aagcaatgga
ccgctatcta agttggaccc gatttgcgct atcgaagctg ccccgatggc
gggagccgcc gcagatccac aggagcgggt aggtccaaga ggccggcgcg
gtcttgcagg ccagcaacaa tgccgcggtc gaccaggccc atcgcttcgc
tgctcgcagc acacaccgcg gtttcagatg aatcaggcgt ttcacaccat
ggtgaacatg ttgctgacgt gttttgcatg tcaggagaaa ccgagatga (SEQ ID
N0:16)。

```

[0123] 根据该方法,将样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体接触,其中该多肽包含选自SEQ ID N0:1、3、5、7、9、11、13、和15的多肽。

[0124] 可以任何合适的方式制备结核分枝杆菌多肽、变体和抗原片段。此类多肽包括分离的天然存在的多肽、重组产生的多肽、合成产生的多肽、或通过这些方法的组合产生的多肽。

[0125] 在一些实施方案中,使用在大肠杆菌中优选的密码子优化结核分枝杆菌多肽以在大肠杆菌中高水平表达。在一些实施方案中,可使用针对在大肠杆菌中表达而优化的结核分枝杆菌多肽的工程化的抗原片段(核酸和氨基酸序列),并且其具有亲和标签(例如,组氨酸标签)以促进蛋白质的纯化。如本文所用,“针对在大肠杆菌中高水平表达而优化”的密码子是指与对应于相同氨基酸的所有其他密码子相比在大肠杆菌中相对更丰富的密码子。在一些实施方案中,至少40%的密码子被优化用于在大肠杆菌中高水平表达。在一些实施方案中,至少50%、至少60%、至少70%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%、或至少99%的密码子被优化用于在大肠杆菌中高水平表达。在一些实施方案中,将基因克隆到表达载体(例如pET30B)中以添加N-末端六组氨酸标签和/或蛋白酶切割位点。

[0126] 在一些实施方案中,本发明的多肽可为基本上纯化的形式。其可为基本上分离的形式,在这种情况下,其通常占制剂中多肽的(例如约或至少)90%,如(例如约或至少)95%、97%或99%。

[0127] 两种或多种分离的多肽包括至少两种选自SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:13、和SEQ ID NO:15的多肽,以及与其具有至少80%同源性的抗原片段和变体。在一些实施方案中,该多肽与NO:1,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:7,SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:11,SEQ ID NO:13,和SEQ ID NO:15的多肽和其抗原片段具有至少85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同源性。在一些实施方案中,该多肽与NO:1,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:7,SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:11,SEQ ID NO:13,和SEQ ID NO:15的多肽和其抗原片段具有至少100%的同源性。

[0128] 用于比对多核苷酸或多肽的方法在计算机程序中编码,包括GCG程序包(Devereux等,Nuc.Acids Res.12:387(1984)),BLASTP,BLASTN,FASTA(Atschul等,J Molec.Biol.215:403(1990)),和Bestfit program(Wisconsin Sequence Analysis Package,Version 8 for Unix,Genetics Computer Group,University Research Park,575Science 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,其中仿射空隙搜索具有-12的空隙开放罚分和-2的空隙延伸罚分。

[0129] 当使用任何序列比对程序来确定特定序列是否例如与参考序列大约95%同源时,设置参数使得在参考多核苷酸的全长上计算同源性百分比,并且允许参考多核苷酸中高达5%的核苷酸总数的同源性空隙。

[0130] 在一些实施方案中,变体多肽,包括与本文所述的结核分枝杆菌多肽或其抗原片段具有80%或以上同源性的变体多肽,被结合选自SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:7,SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:11,SEQ ID NO:13,和SEQ ID NO:15的多肽及其抗原片段的抗体识别。在一些实施方案中,该变体与本文所述的结核分枝杆菌多肽具有90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更高的同源性,并且被结合SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:7,SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:11,SEQ ID NO:13,和SEQ ID NO:15的结核分枝杆菌多肽及其抗原片段的抗体识别。

[0131] 在一些实施方案中,结核分枝杆菌多肽、变体或抗原片段是较大蛋白如融合蛋白的一部分。通常有利的是包括额外的氨基酸序列,其含有分泌或前导序列、前序列、有助于纯化的序列(例如多个组氨酸残基)、或用于重组生产过程中稳定性的其他序列。

[0132] 抗原片段是具有与上述结核分枝杆菌多肽之一的部分但不是全部氨基酸序列完全相同的氨基酸序列的多肽。抗原片段可以是“独立的”,或包含在其形成部分或区域的较大多肽内,最优选作为单个连续区域。

[0133] 在一些实施方案中,抗原片段包括,例如,具有结核分枝杆菌多肽的氨基酸序列的截短多肽,除了缺失包括氨基末端的连续系列残基、或包括羧基末端的连续系列残基,或缺失两个连续系列残基,一个包括氨基末端,一个包括羧基末端。在一些实施方案中,片段的特征在于结构或功能属性,例如包含 α -螺旋和 α -螺旋形成区域、 β -折叠和 β -折叠形成区域、转角和转角形成区域、螺旋和螺旋形成区域、亲水区域、疏水区域、 α 两亲区域、 β 两亲区域、

柔性区域、表面形成区域、和高抗原指数区域的片段。

[0134] 抗原片段可以是任何大小。在一些实施方案中,该片段能够在受试者中诱导免疫应答、或被特异性抗体识别。在一些实施方案中,特异性抗体识别全长蛋白。在一些实施方案中,片段对应于氨基末端截短突变体。在一些实施方案中,片段中缺失的氨基末端氨基酸的数目范围为1-100个氨基酸。在一些实施方案中,其范围为1-75个氨基酸,1-50个氨基酸,1-40个氨基酸,1-30个氨基酸,1-25个氨基酸,1-20个氨基酸,1-15个氨基酸,1-10个氨基酸、和1-5个氨基酸。

[0135] 在一些实施方案中,片段长度可以是例如至少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、或可以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)。在一些实施方案中,包含本文所述肽序列片段的本发明的肽可进一步包含另外的N-末端肽序列、另外的C-末端肽序列、或其组合。在一些实施方案中,另外的N-末端和/或C-末端肽序列可以是非天然序列。

[0136] 在一些实施方案中,片段对应于羧基末端截短突变体。在一些实施方案中,片段中缺失的羧基末端氨基酸的数目范围为1-100个氨基酸。在一些实施方案中,其范围为1-75个氨基酸,1-50个氨基酸,1-40个氨基酸,1-30个氨基酸,1-25个氨基酸,1-20个氨基酸,1-15个氨基酸,1-10个氨基酸,和1-5个氨基酸。

[0137] 在一些实施方案中,片段对应于缺少氨基和羧基末端氨基酸的内部片段。在一些实施方案中,片段长度为7-200个氨基酸残基。在一些实施方案中,片段长度为10-150个氨基酸残基,15-85个氨基酸残基,25-65个氨基酸残基,或30-50个氨基酸残基。在一些实施方案中,该片段为7个氨基酸,10个氨基酸,12个氨基酸,15个氨基酸,20个氨基酸,25个氨基酸,30个氨基酸,35个氨基酸,40个氨基酸,45个氨基酸,50个氨基酸,55个氨基酸,60个氨基酸,80个氨基酸,或100个氨基酸长度。

[0138] 根据本发明,较大的抗原片段也是有用的,如与SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:7,SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:11,SEQ ID NO:13,和SEQ ID NO:15的大多数(如果不是全部)氨基酸序列相对应的片段。

[0139] 在一些实施方案中,可用于本发明方法的多肽包括具有与SEQ ID NO:1,SEQ ID NO:3,SEQ ID NO:5,SEQ ID NO:7,SEQ ID NO:9,SEQ ID NO:11,SEQ ID NO:13,和SEQ ID NO:15的氨基酸序列至少80%同源的氨基酸序列的多肽或其抗原片段。在一些实施方案中,变体是那些通过保守氨基酸取代而不同于参考的变体,即用另一个相似特征取代残基的变体。典型的取代是Ala、Val、Leu和Ile之间;Ser和Thr之间;酸性残基Asp和Glu之间;Asn和Gln之间;及碱性残基Lys和Arg之间,或芳香族残基Phe和Tyr之间。在一些实施方案中,多肽是其中几个,5-10个,1-5个,或1-2个氨基酸以任何组合被取代,缺失或添加的变体。

[0140] 在一些实施方案中,对本发明的肽进行改性。本发明的肽可通过多种技术进行改性,例如通过加热和/或去污剂(例如SDS)改性。在一些实施方案中,本发明的肽可通过与一个或多个其他基团缔合来改性。缔合可以是共价的或非共价的,并且可以是,例如,通过末端氨基酸接头(例如赖氨酸或半胱氨酸)、化学偶联剂、或肽键。其他基团可以是,例如,配体、配体受体、融合配偶体、可检测标记、酶、或固定肽的底物。

[0141] 可用于本发明的肽可以与配体结合,例如生物素(例如通过半胱氨酸或赖氨酸残

基)、脂质分子(例如通过半胱氨酸残基)、或载体蛋白(例如血清白蛋白、钥孔戚血蓝蛋白(KLH)、免疫球蛋白Fc结构域,通过例如半胱氨酸或赖氨酸残基)。与配体(例如生物素)的连接可用于将肽与配体受体结合,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US2010/0081125和US2010/0267166,两者均通过引用并入本文)、或中性抗生物素蛋白。抗生物素蛋白、链霉抗生物素蛋白、聚合链霉抗生物素蛋白、中性抗生物素蛋白继而可与信号传导基团(例如,可被可视化的基团(例如胶体金)、荧光基团、或酶(辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶))或固体底物(例如,Immobilon或硝酸纤维素膜)连接。在一些实施方案中,本发明的肽可与配体受体融合或连接,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,从而促进肽与相应配体,例如生物素和任何基团(例如,信号传导基团)或与其连接的固体底物结合。其他配体-受体对的示例是本领域公知的并且可类似地使用。在一些实施方案中,本发明的肽可直接与信号传导基团连接或缀合。

[0142] 在一些实施方案中,可用于本发明的肽可与融合配偶体(例如肽或其他基团)融合或缀合。在一些实施方案中,融合配偶体可促进纯化、肽在宿主细胞中的表达、检测,稳定肽,将肽连接至表面或其他实体等。用于融合配偶体的合适化合物的示例包括载体蛋白(例如血清白蛋白、免疫球蛋白Fc结构域、树枝状大分子等)、 β -半乳糖苷酶、谷胱甘肽-S-转移酶、组氨酸标签等。融合可通过例如肽键实现。例如,本发明的肽和融合配偶体可以是融合蛋白,并且可在框内直接融合,或可包含肽接头,如以上在另外的N-末端和C-末端肽序列的上下文中所讨论的。在一些实施方案中,本发明的肽混合物可通过树枝状大分子连接,例如,如在MAPS结构中。

[0143] 此外,可将本发明的肽改性以包括多种已知化学基团或分子中的任何一种。此类改性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、血红素基团的共价连接、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、去甲基化、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锚定形成、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、硫酸化、泛素化、脂肪酸改性、转移RNA介导的氨基酸添加到蛋白质如精氨酸化等。还包括氨基酸的类似物(包括非天然氨基酸)和具有取代键的肽。由本文讨论的任何序列组成的本发明的肽可通过任何讨论的改性进行改性。此类肽仍然由氨基酸“组成”。

[0144] 如上所述的改性对于本领域技术人员来说是公知的,并且已在科学文献中进行了详细描述。例如,几种特别常见的改性、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本文献中,例如Proteins-Structure and Molecular Properties, 2nd ed., T.E.Creighton, W.H.Freeman and Company, New York (1993)。关于这一主题,有许多详细的综述可供参考,例如Wold, F., Posttranslational Covalent Modification of Proteins, B.C.Johnson, Ed., Academic Press, New York 1-12 (1983); Seifter et al. (1990) Meth.Enzymol.182:626-646 and Rattan et al. (1992) Ann.N.Y.Acad.Sci.663:48-62。

[0145] 受试者不一定是限制性的。在一些实施方案中,受试者已经感染结核分枝杆菌。在一些实施方案中,受试者可具有活性结核病、潜伏性结核病、或结核病阴性。阳性结果还包

括先前感染已经完全清除并且不存在潜伏性结核病的可能性。在一些实施方案中,该方法作为发展中国家群体中结核病的筛选来进行。在一些实施方案中,该方法可用作基于社区的分诊或转诊测试以鉴定怀疑患有结核病的人。分诊测试可以是社区中的第一接触提供者(例如,社区卫生工作者或非正式提供者)可以使用的一种测试,以测试有任何症状或危险因素提示有结核病的寻求治疗的人(即,其不会用于活性病例发现),以排除结核病(确定那些分诊检验阴性的人),并指导需要进一步评估的个体(那些分诊检验阳性的人)进行确认测试。分诊测试比症状筛查具有更高的准确性。仅症状筛查的特异性很低。

[0146] 受试者一般是人,但可以是动物,通常是可被分枝杆菌天然或人工感染的动物。受试者可以是哺乳动物,例如灵长类动物、牛、绵羊、猪、獾或啮齿动物,例如小鼠或大鼠。在一些实施方案中,受试者通常具有活性或潜伏的分枝杆菌感染,或最近已经患有这种感染。受试者可以在Mantoux测试中测试阳性或阴性。在一些实施方案中,受试者可能具有分枝杆菌感染的风险,通常出于社会经济原因或可能具有遗传或获得的分枝杆菌感染倾向。在一些实施方案中,受试者是已经暴露于分枝杆菌的健康接触者。在一些实施方案中,暴露于肺结核,例如‘开放性’肺结核,其为痰a.f.b.(抗酸杆菌)涂片呈阳性。在一些实施方案中,该方法可用于示踪患有此类结核感染的个体的健康接触者。该方法还可用于进行群体调查以测量具有分枝杆菌感染或健康接触的群体中的个体数量。

[0147] 在一些实施方案中,该方法可以帮助区分具有“活性”结核病的受试者和具有“潜伏性”结核病的受试者。在一些实施方案中,可以筛选活性结核病,其中来自受试者的样品与SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:11或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:13或其抗原片段或变体;和SEQ ID NO:15或其抗原片段或变体接触;然后检测包含该分离的多肽或其抗原片段或变体的抗体-肽复合物的形成;其中该复合物的形成表明该样品中存在针对结核分枝杆菌抗原表位的抗体,其中该样品来自具有“活性”结核病的受试者。这些B细胞抗原(SEQ ID NO:9、11、13和15)诱导抗体免疫应答,似乎局限于各种类型的“活性”TB(涂片阳性、涂片阴性、涂片阴性/培养阴性/胸部X线阳性,治疗后改善),对于LTBI患者(涂片阴性/培养阴性/QuantiFERON-TB阳性类别),表现出很少的抗体应答(5-10%)。

[0148] 根据该方法,将样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体接触,其中该多肽包含选自SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13、和15组成的组的多肽。在一些实施方案中,将样品与至少两种、三种、四种、五种、六种、七种、八种或以上分离的多肽或其抗原片段或变体接触。在一些实施方案中,该两种或多种多肽包含至少SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体。在一些实施方案中,多肽、其抗原片段或变体的至少一种包含非天然序列,例如亲和标签,促进多肽纯化。在一些实施方案中,亲和标签可包括6x-His、HA、GST、或FLAG。在一些实施方案中,所有多肽、其抗原片段或变体包含非天然序列,例如亲和标签。在一些实施方案中,至少两种多肽彼此缀合,或与融合蛋白的一部分缀合。

[0149] 在一些实施方案中,将样品与SEQ ID NO:5或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:7或其抗原片段或变体;和SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体接触。

[0150] 在一些实施方案中,将样品与SEQ ID NO:1或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:3或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:5或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:7或其抗原片段或变体;和SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体接触。

[0151] 在一些实施方案中,将样品与SEQ ID NO:9或其抗原片段或变体;SEQ ID NO:11或

其抗原片段或变体;SEQ ID NO:13或其抗原片段或变体;和SEQ ID NO:15或其抗原片段或变体接触。

[0152] 在一些实施方案中,检测来自感染结核分枝杆菌的受试者的样品中的抗体-肽复合物的准确度/灵敏度为至少70%,至少80%,至少90%,或至少95%。

[0153] 在一些实施方案中,将多肽连接或固定于固体载体上。在一些实施方案中,固体载体为微珠(例如,胶体颗粒、纳米颗粒、乳胶珠等)、侧向流动免疫测定装置中的流动路径(例如,多孔膜)、分析转子中的流动路径、或管或孔(例如,在适于ELISA测定的板中)。在一些实施方案中,固体载体包括金属、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)。在一些实施方案中,将肽或不同肽的混合物与树枝状大分子连接和/或掺入MAPS系统。

[0154] 在一些实施方案中,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向流动免疫测定。在其他实施方案中,检测步骤包括进行凝集试验。在其他实施方案中,检测步骤包括在分析转子中旋转样品。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、或斑点印迹测定样品。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、或光电传感器测定样品。在一些实施方案中,将两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体与配体缀合。在一些实施方案中,将两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体进行生物素化。在一些实施方案中,将两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体与链霉抗生物素蛋白缀合。

[0155] 合适的免疫测定方法通常包括:接收或获得(例如,自患者)可能含有抗体的体液或组织样品;在有效形成特定肽-抗体复合物的条件下(例如,用于肽与抗体的特异性结合),将待测样品与本发明的肽接触(例如,温育或反应);和测定接触的(反应的)样品中抗体-肽反应的存在(例如,测定抗体-肽复合物的量)。抗体-肽复合物含量升高表明受试者暴露于感染性结核分枝杆菌并被感染。肽(包括其改性形式),其与抗结核分枝杆菌抗原的抗体“特异性结合”(例如,“特异性”或“优先”结合),以一定量与该抗体相互作用,或与该抗体形成或进行物理结合足够的时间以检测该抗体。“特异性”或“优先”是指肽对于此抗体具有比对样品中的其他抗体更高的亲和力(例如,更高的选择性)。例如,肽对该抗体的亲和力比对样品中的其他抗体的亲和力高至少约1.5倍、2倍、2.5倍、3倍、或更高。此亲和力或特异性程度可通过各种常规方法确定,包括例如竞争性结合试验。在ELISA测定中,阳性反应定义为大于一组健康对照的平均值的2或3个标准偏差。

[0156] 使肽和抗体反应以使其特异性反应的条件为本领域技术人员所熟知的。参见,例如,Current Protocols in Immunology(Coligan et al., editors, John Wiley&Sons, Inc)。

[0157] 该方法包括接收或获得可能含有来自受试者的抗体的体液或组织样品。抗体可以是例如IgG、IgE、IgD、IgM、或IgA型。一旦允许肽抗原和样品抗体在合适的培养基中反应,就进行测定以确定抗体-肽反应的存在或不存在。免疫沉淀和凝集测定各是许多适合的检测方法之一,对技术人员来说是显而易见的。

[0158] 在本发明的一些实施方案中,测定包括:通过与本发明的肽结合,将抗体例如直接或间接固定于样品中;加入本发明的肽;及检测与肽结合的抗体的程度,例如通过标记肽或通过添加标记物质,例如标记结合配偶体(例如链霉抗生物素蛋白-胶体金复合物)或特异

性识别肽的标记抗体。在其他实施方案中,测定包括:固定本发明的肽;添加含有抗体的样本;及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,胶体金复合物、荧光标记物、酶(例如,辣根过氧化物酶或碱性磷酸酶))缀合的本发明的另一种肽,或者通过添加标记物质(例如特异性识别样品抗体(例如,抗人IgG抗体、抗人IgM抗体等)的结合配偶体或标记抗体)、或其组合。在一些实施方案中,测定包括:固定本发明的肽;添加含有抗体的样本;及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(例如,抗人IgG抗体、抗人IgM抗体等)的第一结合配偶体,并进一步添加第二结合配偶体(例如,蛋白A、蛋白G、蛋白L等),其中第二结合配偶体被标记并识别该第一结合配偶体。在其他实施方案中,测定包括:在不固定任何反应物的情况下,使肽和含有抗体的样品反应,然后检测抗体和肽的复合物的量,例如通过标记肽或通过添加标记物质,例如标记结合配偶体(例如链霉抗生物素蛋白-胶体金复合物)或特异性识别肽的标记抗体。

[0159] 本发明的肽的固定可以是共价的或非共价的,并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、支撑物或表面的特异性或半特异性结合可通过具有与其结合的基团的肽实现,该基团能够使其与固体或半固体载体、支撑物或表面共价或非共价结合,例如,该基团可以与载体、支撑物或表面连接的组分具有亲和力。在这种情况下,该基团可以是例如与肽的氨基酸基团结合的生物素或生物素基团或其类似物,例如6-氨基己酸,且该组分为抗生物素蛋白、链霉抗生物素蛋白、中性抗生物素蛋白、或其类似物。另一种情况是该基团具有氨基酸序列His-His-His-His-His-His,并且载体包含带有Ni⁺⁺或Co⁺⁺离子的次氨基三乙酸(NTA)衍生物。在一些实施方案中,该基团是融合配偶体。

[0160] 合适的载体、支撑物、和表面包括但不限于微珠(例如,磁珠、胶体颗粒或纳米颗粒,例如胶体金、或包含二氧化硅、乳胶、聚苯乙烯、聚碳酸酯或PDVF的纳米颗粒)、共聚合物胶乳(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、炭黑珠、非活化或聚苯乙烯或聚氯乙烯活化玻璃、环氧活化多孔磁性玻璃、明胶或多糖颗粒或其它蛋白颗粒、红细胞、单克隆或多克隆抗体、或此类抗体的Fab片段)。

[0161] 特别有用的测定形式是侧流免疫测定形式。可用经干燥并置于玻璃纤维垫(样品施加垫或缀合垫)上的信号发生器或报道分子(例如胶体金)标记人或动物免疫球蛋白的抗体。将诊断肽固定在膜上,例如硝酸纤维素膜或PVDF(聚偏二氟乙烯)膜(例如,Immobilon膜)。当将样品(血液、血清等)溶液施加到样品施加垫(或流过缀合垫)时,其溶解标记报道分子,然后其与样品中的所有抗体结合。然后通过毛细管作用将所得复合物转运到下一个膜(含有诊断肽的PVDF或硝酸纤维素)中。如果存在抗诊断肽的抗体,其与在膜上条带化的诊断肽结合,从而产生信号(例如,可看到或可视化的条)。对标记抗体或第二标记抗体具有特异性的其他抗体可用于产生对照信号。

[0162] 侧流免疫测定的另一种形式包括本发明的肽或组合物与配体(例如生物素)缀合并与标记配体受体(例如链霉抗生物素蛋白-胶体金)复合。标记肽复合物可置于样品施加垫或缀合垫上。将抗人IgG/IgM或抗动物(例如,狗、小鼠、鹿)IgG/IgM抗体或本发明的其他肽固定在测试位点(例如,测试线)处的膜上,例如PVDF的硝酸纤维素。

[0163] 当将样品添加到样品施加垫时,样品中的抗体与标记肽复合物反应,使得与本发明的肽结合的抗体变得间接标记。然后通过毛细管作用将样品中的抗体转运到膜(含有诊

断肽的PVDF或硝酸纤维素膜)中,并与固定化抗人IgG/IgM/IgA或抗动物IgG/IgM/IgA抗体(或蛋白A、蛋白G、蛋白L、或其组合)或本发明的固定化肽结合。如果任何样品抗体与本发明的标记肽结合,则在测试位点可看到或可见与肽缔合的标记。

[0164] 或者,当将样品添加到样品施加垫时,样品中的抗体与标记抗人IgG/IgM/IgA或抗动物IgG/IgM/IgA抗体(或蛋白A、蛋白G、蛋白L、或其组合)反应,使得与本发明的肽结合的抗体变得间接标记。然后通过毛细管作用将样品中的标记抗体转运到膜(含有诊断肽的PVDF或硝酸纤维素)中,并与本发明的固定化肽结合。如果任何样品抗体与本发明的固定化肽结合,则在测试位点可看到或可见与肽缔合的标记。

[0165] 在利用上述侧向流动免疫测定形式的实施方案中,侧向流动装置可包括两个端口:样品端口,其位于缀合垫(包含标记分析物结合配偶体)和测试位点或线(包含固定分析物结合配偶体)之间,和示踪端口,其位于缀合垫的下游(例如,朝向远离测试位点的装置的末端)。在包括两个端口的此装置中,样品通过样品端口沉积在测试位点的下游,并且通过示踪端口沉积溶液(例如稀释剂、缓冲液等)引发流过缀合垫的流体。“示踪”溶液溶解缀合物垫中的标记试剂,并流过以与样品相互作用,然后在测试位点处与固定化试剂相互作用。或者,样品通过样品端口沉积在测试位点的下游,并向测试位点迁移,导致分析物在测试位点处被固定化试剂捕获。随后,通过示踪端口沉积溶液(例如稀释剂、缓冲液等)引发流过缀合垫的流体。“示踪”溶液溶解缀合物垫中的标记试剂,并流过以在一个或多个测试位点处与捕获的一种或多种分析物相互作用。

[0166] 在利用上述侧向流动免疫测定形式的其他实施方案中,侧向流动装置可包括一个端口:样品/示踪缓冲液端口,其位于缀合垫(含有标记分析物结合配偶体)下方,和含有固定化分析物结合配偶体的测试位点或线。在此装置中,样品通过样品/缓冲液端口沉积在测试位点的下游,并且通过样品/示踪缓冲液端口沉积溶液(例如稀释剂、缓冲液等)引发流过缀合垫的流体。“示踪”溶液溶解缀合物垫中的标记试剂,并流过以与样品相互作用,然后在测试位点处与固定化试剂相互作用。

[0167] 用于筛选血液产品或其他生理或生物流体的另一种测定是酶联免疫吸附测定,即ELISA。通常,在ELISA中,本发明的分离肽或组合物直接或通过捕获底物(例如抗体)吸附到微量滴定孔的表面。然后用适当的试剂(例如牛血清白蛋白(BSA)、热灭活的正常山羊血清(NGS)、或BLOTTO(一种还含有防腐剂、盐和消泡剂的脱脂奶粉的缓冲溶液))阻断表面上残留的非特异性蛋白结合位点。然后将孔与怀疑含有特异性抗体的生物样品一起温育。样品可以纯净施加,或者更经常地可以稀释,通常在含有少量(0.1-5.0wt%)蛋白的缓冲溶液(例如BSA、NGS或BLOTTO)中稀释。在温育足够长时间以允许发生特异性结合后,洗涤孔以除去未结合的蛋白,然后与最佳浓度的合适的抗免疫球蛋白抗体(例如,对于人类受试者,来自另一种动物(例如狗、小鼠、牛等)的抗人免疫球蛋白)或本发明的另一种肽(其通过标准方法与酶或其它标记物缀合,并溶解在阻断缓冲液中)一起温育。标记物可以选自多种酶,包括辣根过氧化物酶(HRP)、 β -半乳糖苷酶、碱性磷酸酶、葡萄糖氧化酶等。足够时间可再次发生特异性结合,然后再次洗涤孔以除去未结合的缀合物,并添加合适的酶底物。可显色,并且通过视觉或仪器确定孔内容物的光密度(在适当的波长下测量)。截止OD值可定义为从TB不是流行性的区域的个体收集的至少50个血清样品的平均OD+3标准偏差(SD),或者通过其他这样的常规定义。在非常特定的测定情况下,OD+2SD可作为截止值。

[0168] 在ELISA的一个实施方案中,将本发明的一种或多种肽固定在表面上,例如96孔ELISA板,或涂有链霉抗生物素蛋白或等效的生物素结合化合物(例如抗生物素蛋白、中性抗生物素蛋白)的等效固相,在碱性包被缓冲液中以最佳浓度在4℃下温育过夜。在用标准洗涤缓冲液进行适当数量的洗涤后,将溶解在常规阻断缓冲液中的最佳浓度的生物素化形式的本发明的肽或组合物施加到每个孔。然后加入样品,并如上进行测定。进行ELISA测定的条件在本领域中是众所周知的。

[0169] 在另一个实施方案中,该方法包括凝集测定。例如,在一些实施方案中,胶体颗粒(例如胶体金等)或乳胶珠与本发明的肽或组合物缀合。随后,将生物流体与珠/肽缀合物一起温育,从而形成反应混合物。然后测定反应混合物以确定抗体的存在。在一些实施方案中,凝集测定包括使用第二群粒子,例如胶体粒子(例如,胶体金等)或乳胶珠,其与(1)对本发明组合物的肽具有特异性的抗体缀合,在竞争测定的情况下,或与(2)能够检测样品抗体的抗体(例如,抗人IgG或IgM或IgA抗体等)缀合,在夹心测定的情况下。合适的凝集方法可包括离心作为评估凝集程度的手段。

[0170] 本领域技术人员应该理解,可设计任何数量的蛋白测定形式,特别是免疫测定形式,以利用本发明的分离的肽来检测受试者的抗体和感染。因此,本发明不受特定测定形式的选择的限制,并且据信包括本领域技术人员已知的测定形式。

[0171] 在另一个实施方案中,本发明提供了用于测定包含来自受试者的T细胞的样品的干扰素- γ 产生的方法,包括:

[0172] i. 将包含来自受试者的T细胞的样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体接触,其中该分离的多肽包含选自SEQ ID NOS:1、3、5、7、9、11、13、和15的多肽;和

[0173] ii. 检测由T细胞产生的干扰素- γ 的存在。

[0174] 在另一个实施方案中,本发明提供了用于测定来自受试者的样品的干扰素- γ 产生T细胞的方法,包括:

[0175] i. 将包含来自受试者的T细胞的样品与两种或多种分离的多肽或其抗原片段或变体接触,其中该分离的多肽包含选自SEQ ID NOS:1、3、5、7、9、11、13、和15的多肽;和

[0176] ii. 检测干扰素- γ 产生T细胞的存在。

[0177] 在该方法中识别肽的T细胞通常是已经在体内对来自分枝杆菌的抗原进行了预敏化的T细胞。在一些实施方案中,这些抗原刺激过的T细胞通常存在于以 $1/10^6$ - $1/10^3$ 个外周血单核细胞(PBMC)的频率暴露于分枝杆菌的宿主的外周血中。T细胞可以是CD4+和/或CD8+ T细胞。

[0178] 在该方法中,T细胞可在体外或体内与肽接触,并且确定T细胞是否识别肽可在体外或体内进行。

[0179] 通常通过在肽存在下检测细胞因子(例如干扰素- γ)的分泌增加来确定T细胞是否识别肽。通常可通过使干扰素- γ 与特异性结合剂结合,然后测量特异性结合剂/干扰素- γ 复合物的存在来检测干扰素- γ 。特异性结合剂通常是抗体,例如多克隆或单克隆抗体。干扰素- γ 的抗体可商购获得,或可使用标准技术制备。

[0180] 在一些实施方案中,干扰素- γ 的特异性结合剂固定在固体支撑物上。在使物质与固体支撑物结合后,可任选地洗涤它以除去未与试剂特异性结合的物质。可通过使用将结合复合物的第二结合剂来检测试剂/物质复合物。在一些实施方案中,第二试剂在与结合第

一试剂的位点不同的位点结合该物质。第二试剂可以是直接或通过可检测标记物间接标记的抗体。

[0181] 在一些实施方案中,第二试剂可由第三试剂检测,该第三试剂通常由可检测标记物直接或间接标记。例如,第二试剂可包含生物素基团,可通过第三试剂检测,该第三试剂包含链霉抗生物素蛋白基团和通常碱性磷酸酶作为可检测标记物。

[0182] 在一个实施方案中,使用的检测系统是WO 98/23960中所述的离体ELISPOT测定。在该测定中,从T细胞分泌的干扰素- γ 被固定于固体支撑物上的第一干扰素- γ 特异性抗体结合。然后使用以可检测标记物标记的第二干扰素- γ 特异性抗体检测结合的干扰素- γ 。这种标记抗体可从MABTECH (Stockholm, Sweden) 获得。下面讨论可使用的其他可检测标记物。

[0183] 在一些实施方案中,在该方法中接触的T细胞取自血液样品中的宿主,但可使用含有T细胞的其他类型的样品。可将样品直接加入测定中或者可以首先处理。通常,处理可包括稀释样品,例如用水或缓冲液。通常,将样品稀释1.5-100倍,例如2-50或5-10倍。

[0184] 处理可包括分离样品的组分。通常,将单核细胞(MCs)与样品分离。MCs将包含T细胞和APC。在该方法的一些实施方案中,存在于分离的MCs中的APC可将肽提供给T细胞。在另一个实施方案中,仅T细胞,例如仅CD4或仅CD8T细胞,可从样品中纯化。可使用本领域已知的技术(例如,Lalvani et al (1997) J. Exp. Med. 186, p 859-865中所述的那些)将PBMC、MCs和T细胞与样品分离。

[0185] 在一些实施方案中,测定中使用的T细胞是未加工或稀释的全血样品的形式,或者是新鲜分离的T细胞(例如以新鲜分离的MCs或PBMCs的形式),其直接在体外使用,即其在用于该方法之前不进行培养。然而,T细胞可在使用前培养,例如在一种或多种肽的存在下(并且通常还有外源性生长促进细胞因子)培养。在培养期间,肽通常存在于APCs的表面上,例如该方法中使用的APC。T细胞的预培养可导致该方法的灵敏度增加。

[0186] 可存在于该方法中的APC可来自与T细胞相同的宿主或来自不同的宿主。APC可以是天然存在的APC或人工APC。APC是能够将肽呈递给T细胞的细胞。其通常是B细胞、树突细胞或巨噬细胞。其通常从与T细胞相同的样品中分离,并且通常与T细胞共纯化。因此,APC可以存在于MCs或PBMCs中。APC通常是新鲜分离的离体细胞或培养细胞。其可以是细胞系的形式,例如短期或永生化细胞系。APC可在其表面上表达空的MHC II类分子。

[0187] 在一些实施方案中,可将衍生自样品的T细胞置于具有所有待测试(相关组)的肽(即肽库)的测定中,或T细胞可以分开并置于单独的测定中,每个测定含有一种或多种肽。

[0188] 在一个实施方案中,将肽本身直接加入包含T细胞和APCs的测定中。如上所述,这种测定中的T细胞和APCs可以是MCs的形式。当使用可以被T细胞识别而不需要由APCs提供的肽时,则不需要APCs。模拟与MHC分子结合的原始肽的类似物是这种肽的示例。

[0189] 在一个实施方案中,在无T细胞存在的情况下将肽提供给APC。然后通常在可将肽提供在其表面上后,将APC提供给T细胞。肽可能已被吸收到APC内部并提供,或者仅仅被吸收到表面而不进入APC内部。

[0190] 肽与T细胞接触的持续时间将根据用于确定肽识别的方法而变化。通常,每次测定加入 10^5 - 10^7 ,优选 5×10^5 - 10^6 个PBMCs。在将肽直接加入测定中的情况下,其浓度为 10^{-1} - 10^3 $\mu\text{g/ml}$,优选0.5-50 $\mu\text{g/ml}$ 或1-10 $\mu\text{g/ml}$ 。

[0191] 通常,T细胞与肽一起温育的时间长度为4-24小时,优选6-16小时。

[0192] 组合物和装置

[0193] 在另一个实施方案中,本发明提供装置。在一些实施方案中,所述装置可用于进行免疫测定。例如,在一些实施方案中,该装置是侧流免疫测定装置。在其他实施方案中,该装置是分析转子。在其他实施方案中,该装置是斑点印迹、狭缝印迹、或蛋白质印迹。在其他实施方案中,该装置是管或孔,例如,在适用于ELISA测定的板中。在其他实施方案中,该装置是电化学传感器、光学传感器、或光电传感器。

[0194] 在一些实施方案中,该装置包含至少两种如本文所述的结核分枝杆菌抗原的多肽、抗原片段或变体。例如,在一些实施方案中,该装置包含本发明的两种、三种、四种、五种、六种、七种或八种或更多种不同的多肽。在一些实施方案中,将肽与装置连接或固定在装置上。在一些实施方案中,将本发明的肽连接或固定在底物(例如固体或半固体支撑物)上。连接可以是共价的或非共价的,并且可通过与能够共价或非共价结合的肽缔合的基团来促进,例如对与载体、支撑物或表面结合的组分具有高亲和力的基团。例如,肽可与配体(例如生物素)缔合,并且与表面缔合的组分可以是相应的配体受体,例如抗生物素蛋白。在一些实施方案中,肽可与融合配偶体缔合,例如牛血清白蛋白(BSA),其促进肽与底物的连接。在免疫测定过程中,在加入含有抗体的样品之前或之后,可将肽与底物连接或固定在底物上。

[0195] 在一些实施方案中,底物是微珠,例如胶体颗粒(例如,由金、银、铂、铜、金属复合物、其他软金属、核-壳结构颗粒、或中空金纳米球制成的胶体纳米颗粒)或其他类型的颗粒(例如,磁珠或包含二氧化硅、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)。此类颗粒可包含标记物(例如,比色、化学发光或荧光标记物),并且可用于在免疫测定过程中可视化肽的位置。在一些实施方案中,本发明的肽的末端半胱氨酸用于将肽直接与由金、银、铂、铜、金属复合物、其他软金属等制成的纳米颗粒结合。

[0196] 在一些实施方案中,底物是侧向流动免疫测定装置中的斑点印迹或流动路径。例如,肽可连接或固定多孔膜上,例如PVDF膜(例如Immobilon.TM.膜)、硝酸纤维素膜、聚乙烯膜、尼龙膜、或类似类型的膜。

[0197] 在一些实施方案中,底物为分析转子中的流动路径。在其他实施方案中,底物为管或孔,例如适用于ELISA测定的板(例如微量滴定板)中的孔。此底物可包含玻璃,纤维素基材料,热塑性聚合物,如聚乙烯、聚丙烯、或聚酯,由颗粒材料(如玻璃或各种热塑性聚合物)组成的烧结结构,或由硝化纤维、尼龙、聚矾组成的流延膜等。底物可为烧结的聚乙烯细颗粒,通常称为多孔聚乙烯,例如来自Chromex Corporation (Albuquerque, N.Mex.)的0.2-15微米多孔聚乙烯。所有这些底物材料可以合适的形状使用,例如薄膜、片材或板,或者其可涂覆或粘合或层压到合适的惰性载体上,例如纸、玻璃、塑料薄膜、或织物。用于将肽固定在固相上的合适方法包括离子、疏水、共价相互作用等。

[0198] 在一个方面,本发明提供包含至少两种分离的多肽,其片段和/或变体的混合物的组合物,其能够与识别结核分枝杆菌抗原的抗体结合。在某些实施方案中,多肽选自SEQ ID NOS:1、3、5、7、9、11、13、15及其组合。在一些实施方案中,多肽包含亲和标签以促进多肽的纯化。在一些实施方案中,亲和标签为6x-组氨酸标签,其可存在于蛋白的N-和/或C-末端。多肽混合物可用于例如诊断测定中以检测识别SEQ ID NOS:1、3、5、7、9、11、13和15上一个

或多个表位的抗体。在一些实施方案中,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、或以上个如本文所述的多肽,其抗原片段和变体的混合物。在一些实施方案中,如本文所述,肽经改性(例如,通过与一个或多个其他基团缔合)。

[0199] 另一方面,本发明提供包含编码本发明多肽,其抗原片段和变体的序列的核酸。本发明的核酸含有少于完整的微生物基因组,并且可为单链或双链的。核酸可为RNA、DNA、cDNA、基因组DNA、化学合成的RNA或DNA或其组合。核酸可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,核酸可为50%、75%、90%、95%、96%、97%、98%、99%或100%纯化的。本发明的核酸编码本文所述的肽。在一些实施方案中,核酸编码具有SEQ ID NO:1、3、5、7、9、11、13和15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,例如编码接头的序列、信号序列、TMR终止转移序列、跨膜结构域、或用于蛋白纯化的配体,例如谷胱甘肽-S-转移酶、组氨酸标签、和葡萄球菌蛋白A。

[0200] 本发明的核酸可经分离。“分离的”核酸为不与其天然缔合的5'和3'侧翼基因组序列中的一个或两个紧密相邻的核酸。分离的核酸可为例如任何长度的重组DNA分子,条件为在天然存在的基因组中紧密位于重组DNA分子侧翼的天然发现的核酸序列被除去或不存在。分离的核酸还可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、和变体或融合肽。

[0201] 本发明的核酸可至少部分地从存在于例如生物样品中的核酸序列中分离,所述生物样品例如来自感染个体的血液、血清、唾液、或组织。核酸也可以在实验室中合成,例如,使用自动合成仪。诸如PCR的扩增方法可用于至少部分地从基因组DNA或编码多肽的cDNA扩增核酸。

[0202] 本发明的核酸可包含天然存在的多肽的编码序列,或可编码天然不存在的改变的序列。

[0203] 载体、宿主细胞和重组表达

[0204] 在一些实施方案中,本发明涉及包含来自结核分枝杆菌的多肽,其抗原片段或变体的载体,经遗传工程改造以表达该多肽,其抗原片段或变体的宿主细胞,以及通过重组技术制备本发明的多肽,其抗原片段或变体的方法。无细胞翻译系统也可用于使用衍生自本发明DNA构建体的RNA制备此类蛋白。

[0205] 当编码来自结核分枝杆菌的多肽,其抗原片段或变体的多核苷酸用于重组制备多肽时,该多核苷酸本身可包括全长多肽或其抗原片段或变体的编码序列;阅读框中具有其他编码序列的全长多肽,其片段或变体的编码序列,例如编码前导序列或分泌序列,前蛋白序列或原蛋白序列或前原蛋白序列,或其他融合肽部分的编码序列。例如,可以编码促进融合多肽纯化的亲和和标签。在本发明该方面的某些实施方案中,标记序列为六组氨酸肽,例如,如pQE载体(Qiagen, Inc.)中所提供的并且描述于Gentz等, *Proc Natl Acad Sci USA* 86:821-824 (1989), 或其可为HA标签,其对应于衍生自流感血凝素蛋白的表位(Wilson, I., et al., *Cell* 37:767, 1984)。多核苷酸还可含有非编码的5'和3'序列,例如转录的,非翻译的序列,核糖体结合位点和稳定mRNA的序列。

[0206] 合适宿主的代表性示例包括细菌细胞,例如链球菌、葡萄球菌、大肠杆菌、链霉菌、枯草芽孢杆菌、和真菌细胞,例如酵母细胞和曲霉细胞。在一些实施方案中,革兰氏阴性细

菌为宿主细胞。可使用多种表达系统,包括DNA或RNA载体。在其他实施方案中,本发明提供分离的核酸分子,其包含与异源启动子可操作地连接的IV型菌毛蛋白。在一些实施方案中,本发明还提供与异源启动子可操作地连接的分离的结核分枝杆菌核酸分子,其中该分离的核酸分子在用于转化合适的宿主细胞时能够表达多肽。

[0207] 在一些实施方案中,本发明涉及编码结核分枝杆菌多肽的抗原片段或变体的分离的核酸分子,其与亲和标签序列和/或酶促切割序列连接以促进纯化。在一些实施方案中,亲和标签为6x-组氨酸标签。在一些实施方案中,切割序列被肠激酶识别。在一些实施方案中,在不使用大肠杆菌中的优选密码子改变氨基酸序列的情况下,优化核酸分子以增加大肠杆菌中的表达。在一些实施方案中,本发明涉及如本文所述的结核分枝杆菌多肽的纯化多肽,变体和抗原片段。

[0208] 在一些实施方案中,使用商业工具反向翻译待表达的氨基酸序列以在大肠杆菌中进行密码子优化,并与侧翼限制性位点一起合成。在一些实施方案中,将合成基因克隆到表达载体中,例如pET30B,以添加N-末端六组氨酸标签和蛋白酶切割位点。

[0209] 试剂盒

[0210] 在一些实施方案中,试剂盒包含本发明的多肽。在一些实施方案中,试剂盒包含两种、三种、四种或更多种本发明的不同多肽。在一些实施方案中,如本文所述,将多肽连接或固定在固体支撑物上。

[0211] 在一些实施方案中,试剂盒还包含微珠群或板(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、分析转子、蛋白印迹、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。在一些实施方案中,微珠群、板、或装置可用于进行免疫测定。例如,在一些实施方案中,微珠群、板、或装置可用于检测抗体-肽复合物的形成,该抗体-肽复合物包含来自样品的抗体和本发明的肽。在一些实施方案中,将本发明的肽或不同肽的混合物连接或固定在微珠、板、或装置上。

[0212] 在一些实施方案中,试剂盒还包含说明书。例如,在一些实施方案中,试剂盒包含指示如何使用本发明的肽来检测结核抗原的抗体或诊断结核病的说明书。在一些实施方案中,试剂盒包含指示如何使用微珠群、板、或装置(例如,包含本发明的肽或不同肽的混合物)以检测针对结核抗原的抗体或诊断结核病的说明书。

[0213] 在一些实施方案中,用于实施该方法的试剂盒包含一种或多种多肽,其抗原片段或变体,以及任选地检测由T细胞分泌的干扰素- γ 的识别的装置。在一些实施方案中,提供肽用于同时,分开或顺序使用。在一些实施例中,检测识别的装置基于上述技术可或帮助检测。

[0214] 试剂盒可另外包括用于物质的特异性结合剂,例如抗体。在一些实施方案中,所述试剂通常对干扰素- γ 具有特异性。通常将试剂固定在固体支撑物上。这表示在结合试剂后,物质将保留在分泌它的T细胞附近。因此,在支撑物上形成物质/试剂复合物的斑点,每个斑点代表分泌该物质的T细胞。量化斑点,并且通常与对照比较,可确定肽的识别。

[0215] 在一些实施方案中,试剂盒包含检测物质/试剂复合物的装置。在结合物质后,可能在试剂本身中发生可检测的变化,例如颜色变化。或者,直接或间接标记用于检测的第二试剂可结合物质/试剂复合物以确定斑点。如上所述,第二试剂可对物质具有特异性,但与第一试剂结合在物质上的不同位点。

[0216] 固定的支撑物可为具有孔的板,例如微量滴定板。因此,每个测定可在板中的单独孔中进行。

[0217] 试剂盒可另外包含用于T细胞的培养基,用于检测步骤的检测剂或洗涤缓冲液。试剂盒可另外包含适用于从样品中分离的试剂,例如从样品中分离PBMC或T细胞。试剂盒可设计成可直接在样品中检测T细胞,而不需要分离任何样品组分。

[0218] 试剂盒可包含可施用(例如皮内或表皮施用)肽的仪器。在一些实施方案中,此仪器包括一个或多个针。该仪器可弹道递送肽。试剂盒中的多肽可为药物组合物的形式。

[0219] 试剂盒还可包含对照,例如阳性或阴性对照。阳性对照可测试检测系统。阳性对照通常模拟任何上述方法中肽的识别。在一些实施方案中,设计用于确定阳性对照的体外识别的试剂盒为细胞因子。在设计用于检测肽的体内识别的试剂盒中,阳性对照可为大多数个体应响应的抗原。

[0220] 试剂盒还可包含从宿主中取出含有T细胞的样品(例如血液样品)的装置。试剂盒可包含从宿主的样品中分离单核细胞或T细胞的装置。

[0221] 根据本文所包含的教导,将本发明的教导应用于具体问题在本领域普通技术人员的能力范围内。本发明组合物和方法的示例出现在以下非限制性实施例中。

实施例

[0222] 实施例1.结核分枝杆菌特有的片段

[0223] 比较基因组研究已经鉴定了几种结核分枝杆菌特异性基因组特有的片段(RD),其在牛分枝杆菌BCG疫苗株中不存在,并且可用于诊断TB。关于存在于各种RD中的ORF的详细信息,各种分枝杆菌物种(包括BCG菌株、结核分枝杆菌和牛分枝杆菌分离株)中RD的分布示于表1-3中。此表得自O.Parkash等人,Scandinavian Journal of Immunology 2009;70(4),345-357。由这些区编码的蛋白称为RD蛋白。近年来,已经研究了许多RD抗原在基于T细胞的细胞介导的免疫应答(CMI)测定中的潜力。特别是,这些RD抗原因其在改善结核病诊断血清学检测方面的潜力而备受关注。我们在该领域的工作已经鉴定了各种RD和相关的结核分枝杆菌基因组区中的许多抗原,用于血清学诊断。我们发现的用于血清学TB测定的最佳抗原包括Rv0222、Rv3120、Rv1989c、Rv3118、Rv1636、Rv3426、Rv2185c、Rv3354等。

[0224] 表1.结核分枝杆菌中存在的特有的片段(RD)的特征

RD	ORF 大小(kb)	ORF (编号)	ORF (范围)	基因片段	ORF (bp 范围)
缩写: ORF, 开放阅读框。					
1	9.5	9	Rv3871-Rv3879c	160	7534 - 16989
2	5.6	11	Rv1978-Rv1988	88 - 89	14211 - 8598
3	9.3	14	Rv1573-Rv1586c	70	7677 - 16923
4	1.9	3	Rv0221-Rv0223c	12	17432 - 19335
5	2.8	5	Rv3117-Rv3121	135	27437 - 30212
6	12.8	11	Rv1506c-Rv1516c	65	23614 - 36437
[0225] 7	~9.0	8	Rv2346c-Rv2353c	103	17622 - 26584
8	3.4	4	Rv0309-Rv0312	16	17018 - 20446
9	18.3	7	Rv3617-Rv3623	153 - 154	21131 - 2832
10	3.0	3	Rv1255c-Rv1257c	55	3689 - 6696
11	28.8	5	Rv3425-Rv3429	145 - 146	30303 - 1475
12	2.0	4	Rv2072c-Rv2075c	93	9301 - 11331
13	~11.0	16	Rv2645-Rv2660c	118	12475 - 23455
14	~9.1	8	Rv1766-Rv1773c	79	30573 - 39642
15	12.7	15	Rv1963c-Rv1977	88	1153 - 13873
16	7.6	6	Rv3400-Rv3405c	145	5012 - 12621

[0226] 表2. 各种分枝杆菌中RD区的分布

分枝杆菌		特有的片段 (RD)															
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
缩写: NR - 没有报告。																	
结核分枝杆菌	H37Rv	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	NR	+	NR
结核分枝杆菌	<i>Erdman</i>	+	+	+	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
[0227] 非洲分枝杆菌		NR	NR	NR	+	+	+	+	+	-	+	NR	NR	NR	NR	NR	NR
牛分枝杆菌		+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	NR	NR	+	NR	NR	NR
田鼠分枝杆菌	OV254	NR	NR	NR	+	-	-	-	-	-	-	NR	NR	NR	NR	NR	NR
结核分枝杆菌	CSU93	NR	NR	NR	+	+	-	+	+	+	+	NR	NR	NR	NR	NR	NR
耻垢分枝杆菌		-	-	-	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR
鸟分枝杆菌		-	-	-	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

[0228] 表3. 各种BCG菌株中RD区的分布

BCG 菌株	特有的片段 (RD)															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
表示: +, 存在; -, 不存在; NR, 没有报告; BCG, 卡介苗。																
资料来源: 基于参考文献 19, 20。																
[0229]	BCG-Danish	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
	BCG-Prague	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
	BCG-Glaxo	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
	BCG-Frappier	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
	BCG-Connauht	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
	BCG-Phipps	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
	BCG-Tice	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
	BCG-Pasteur	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
	BCG-Moreau	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-
	BCG-Birkhaug	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
BCG 菌株	特有的片段 (RD)															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
[0230]	BCG-Sweden	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
	BCG-Japan	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
	BCG-Russia	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+
	BCG-Brazil	-	+	-	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR	NR

[0231] 实施例2. 获得纯化的重组全长Rv0222、Rv3120、和Rv1989c

[0232] 全长, 正确折叠的结核分枝杆菌蛋白Rv0222、Rv3120、Rv1989c、Rv3118、Rv1636、Rv3426可作为在大肠杆菌或任何其它合适的重组蛋白过表达宿主生物中表达的重组形式获得。本文描述了在发明人的实验室中从大肠杆菌细胞中获得大量纯化的上述抗原的方法。将编码全长Rv0222或Rv3120, 或Rv1989c或Rv3118或Rv1636或Rv3426氨基酸序列(表4)的DNA区段克隆到所选的大肠杆菌蛋白表达中。合适的表达载体的实例包括pJexpress载体-利用T5噬菌体启动子的大肠杆菌表达载体或含有pmo1启动子的我们专利的表达载体pMOS。随后将表达载体转化到大肠杆菌细胞中。在培养和收集表达重组蛋白的细胞后, 用适当的方法裂解重组细胞。将细胞裂解物以12K rpm离心15分钟, 以将可溶性提取物与颗粒级分分离。如果重组蛋白表达为可溶性蛋白, 则可使用色谱法(例如金属亲和层析)从可溶性提取物中纯化重组蛋白, 利用重组蛋白C末端的6xHis标签。如果蛋白表达为包涵体, 则离心步骤后得到的沉淀级分可用含有8M尿素的溶液增溶, 通过缓慢透析重新折叠以除去尿素, 然后使用金属亲和层析纯化, 利用重组蛋白C末端的6xHis标签。

[0233] 实施例3. TB诊断测试的实施方案-利用Rv0222、Rv3120、和Rv1989c及其与其他抗原的组的快速侧向流动测试

[0234] 用于Rv0222、Rv3120、和Rv1989c蛋白的本发明的一个实施方案为诊断结核病的快

速侧向流动色谱测试。在20世纪80年代首次引入的所谓快速测试是廉价的、一次性的、基于膜的侧向流动测定,其提供患者样品中存在分析物的视觉证据。测试可以格式化为独立式试纸法或封装在塑料外壳内的装置。需要少至10-100 μ l的液体样品来进行测试,其可在5-15分钟内完成。在临床测试中,取决于测定产品的类型和待检测的标记,样品可为少量的全血、血清、血浆、唾液、或尿液。其可直接应用于试纸法装置的样品施加芯,或卡片装置的样品孔。不需要仪器来执行此测试,其可经常由没有经验的人员在诊所、实验室、现场、和家中使用。也可任选使用便携式台式或手持式光密度或荧光强度测定仪器。

[0235] 横向流动快速测试条的“基本”(或经典)结构示于图1。基本测试条具有以下组件:样品垫、缀合垫、硝酸纤维素膜(其上印有抗原和对照材料)、衬靶纸、吸收芯、和盖带(如果需要)(图1)。对适当的样品垫材料(例如Cytosep或未经处理的纸张或玻璃纤维)、缀合垫材料(聚酯或玻璃纤维)、膜(硝酸纤维素)、和吸收芯(纸)以及其尺寸进行优化,以确定最佳组合以产生最佳的流动特性和反应性。在横向流动快速测试条的许多实施方案中还采用另外的混合垫。

[0236] 快速侧向流动测定还能够在单个条带上同时检测多种分析物。已经开发并销售在同一条带上具有多达5种不同分析物的测试。对于我们的TB血清诊断测试,基础底物为硝酸纤维素膜,一种或多种捕获抗原固定在其上(图1,捕获线或测试线)。为方便使用,我们的TB侧向流动测试具有三至五条测试线,在每条测试线上具有一种不同的捕获抗原(Rv0222或Rv3120或Rv1989c或Rv3354或Rv2185c或Rv3118或Rv1636或Rv3426或其各种组合-图2)。将含有干燥的缀合物的垫与膜条连接。对于我们的结核病测试的这个特定实施方案,该缀合物垫含有与山羊抗人抗IgG或抗IgM或抗IgA抗体缀合的金或荧光或磁性纳米颗粒。样品垫还可具有血液分离的附加功能。这将允许使用3种类型的血液样本-全血、血浆或血清。当应用于样品垫时,液体样品通过毛细管扩散通过缀合垫迁移,使缀合物再水化,并允许样品分析物与缀合物相互作用。然后,缀合物和分析物(结核分枝杆菌抗原特异性IgG和IgM抗体)的复合物移动到膜条上并向捕获蛋白迁移,其中复合物被固定并产生红/紫线形式的独特信号(如果使用金缀合物)。无论样品中是否存在目标分析物,都会形成对照线,表明测试已完成。如果需要在TB测试中存在所有6种抗原和/或其他抗原,可使用双路径侧向流动测试设计(图3),这将允许在单次测定中评估10种抗原。

[0237] 在测定中使用的缀合物有许多选择-磁性纳米粒子、荧光纳米粒子以及工业标准-金缀合物。由于其具有更高的稳定性、灵敏度、精密度和重现性,金缀合物在20世纪80年代后期被引入基于膜的快速测试,并已成为行业的支柱。在适当的制造条件下可重复地制造任何精确限定尺寸的金颗粒。通过在测试(捕获)或对照线处的特定免疫化学反应积累金颗粒,在测试条上产生视觉信号。通常,金颗粒越大,可视化越好。然而,在所需可见性和空间位阻之间的权衡要求,对于大多数免疫测定应用,最佳粒径为40-60nm。当需要较深的红色或当颗粒表面的较低曲率将改善抗体和抗原之间的分子相互作用时,较大的颗粒可能是优选的。

[0238] 实施例4. TB血清诊断检测

[0239] 目前TB血清学诊断/快速检测的主要问题是这些检测质量较差。TB快速血清学诊断大多来自中国和印度,但质量标准差和草率实践导致了大量的准确性数据,使得它们基本上无用。

[0240] 为了纠正这种情况,为了开发更好的TB血清学诊断,第一个问题是选择可用于血清学检测的更好的抗原。虽然现有血清学快速检测的准确性很差,并且这些检测尚未在临床上有用,但是为了发现性能更好的标记物/抗原,希望发现新的TB抗原和开发有效血清学诊断的更好策略的努力仍在继续。如果此POC,即使具有中等特异性(80%-90%),也可开发出高灵敏度、廉价、快速的血清诊断试验,其影响可能非常显著。这些测试可用作筛选测试,以将患者分成分层组,以便更昂贵但“确定”的测试方法(如培养或Xpert MTB/RIF)可集中在高度可疑的病例上。此类测试对于大规模的主动病例发现方法也非常有用,因为目前的测试非常昂贵。

[0241] 为了得到更好的TB抗原,我们通过IgM/IgG ELISA筛选了一组涂片阳性样品(>200个来自不同TB流行国家的血清样品),用于有前途的候选抗原。筛选的抗原包括属于结核分枝杆菌基因组特有的片段(RDs)及其附近区域的所有蛋白质的约75%,许多抗原不在RD中,但在各种文献资料中发现是良好的抗原,以及已知TB已用于其他结核病血清诊断/快速检测。来自这些IgG/IgM筛选实验的结果表明如下:1)我们研究的单个抗原极少(>100个候选者)可提供>40%的样品(IgM和IgG)的阳性读数。2)已知先前在市场上的TB血清学诊断/快速检测中使用的TB抗原表现出非常差或差的结果(20-30%阳性检出率,组合IgM和IgG)。3)需要3种最佳表现抗原的最小组合以检测>80%的样品。最后,我们确定了最具免疫原性的抗原Rv0222、Rv3120、Rv1989c、Rv2185c和Rv3354的最佳组合(小组I)。此抗原是我们能够鉴定的最具免疫优势的抗原之一。我们的小组II抗原包含以下抗原,Rv3118、Rv1636、Rv3426、和Rv3120,其是在后来的筛选中使用我们从世界卫生组织(WHO)收到的样品中发现的。

[0242] 我们的TB诊断原型通过使用世界卫生组织提供的TB样本采集的盲测进行评估。该采集包含以下类别的样本:涂片阳性/培养阳性、涂片阴性/培养阳性、涂片阴性/培养阴性/胸部放射学X射线(CRX)阳性(治疗后有改善)、涂片阴性/培养阴性/Quantiferon阳性(潜伏性TB)、和非TB(涂片阴性/培养阴性)。这些样本来自南非、巴西、秘鲁和越南的患者。

[0243] 在按照WHO先前描述的方案(<http://www.who.int/tdr/publications/documents/diagnostic-evaluation-2.pdf>)进行盲测之后,使用小组I的TB血清学诊断原型获得的结果可总结如下:

[0244] 1) 在涂片阳性/培养阳性组中,我们的测试检测到95%的这些样品(n=60);

[0245] 2) 在涂片阴性/培养阳性组中,我们的测试检测到98%的这些样品(n=40);

[0246] 3) 在涂片阴性/培养阴性/CRX阳性组中,我们的测试检测到100%的这些样品(n=15);

[0247] 4) 在涂片阴性/培养阴性/quantiferon-TB阳性中,我们的检测检测到100%的这些样品(n=20);

[0248] 5) 在所谓的非-TB组(涂片阴性/培养阴性)中,我们的TB检测正确预测了82%的这些样本中的TB阴性状态(n=60)。

[0249] WHO采集中的“非TB”样本仅通过涂片镜检和培养方法进行评估,因此可能包括潜伏性TB患者。一个更准确的表示这些“非TB”病例的术语为“非活性”TB。因此,此所谓的“非-TB”组的阳性反应实际上为LTBI病例。这些测试结果表明我们小组I的TB测试可能为IGRA QuantiFERON-TB测试的现场即时等效物。

[0250] 我们还使用WHO样本采集对我们小组2的TB测试原型进行了评估,并获得了以下结

果：

[0251] 1) 涂片阴性/培养阳性、涂片阴性/培养阴性/CRX阳性类别的检出率仍为>90%-95%；

[0252] 2) 潜伏性TB类别(涂片阴性/培养阴性/Quantiferon阳性)的检出率较低,仅为10%；

[0253] 3) 在涂片阳性/培养阳性类别中,TB 2测试检测到93%的这些样品,同时,在非TB组中保持90%的特异性。

[0254] 我们的TB诊断包含两个小组,其可组合成单个测试或分成2个测试,如装置描述部分所述。利用小组I抗原的测试为QuantiFeron-TB测试的POC等效物,能够检测几乎所有TB病例,包括活性TB和LTBI。由于在目前商业血清学诊断表现不佳的TB/HIV类别中,发现该小组中的三种抗原(RV0222、RV3154、RV2185C)产生85%或更好的应答,因此,小组I的TB检测在HIV/TB共感染病例中应表现良好。

序列表

<110> 佩斯诊断公司(PACE DIAGNOSTICS, INC)

<120> 结核分枝杆菌蛋白诊断测定及结核病检测和诊断装置

<130> PAC-001PCT1

<150> 62/398,213

<151> 2016-09-22

<160> 16

<170> SIP0SequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 144

<212> PRT

<213> 结核分枝杆菌(Mycobacterium tuberculosis)

<400> 1

```

Met Ala Asp Lys Thr Thr Gln Thr Ile Tyr Ile Asp Ala Asp Pro Gly
1           5           10           15
Glu Val Met Lys Ala Ile Ala Asp Ile Glu Ala Tyr Pro Gln Trp Ile
           20           25           30
Ser Glu Tyr Lys Glu Val Glu Ile Leu Glu Ala Asp Asp Glu Gly Tyr
           35           40           45
Pro Lys Arg Ala Arg Met Leu Met Asp Ala Ala Ile Phe Lys Asp Thr
           50           55           60
Leu Ile Met Ser Tyr Glu Trp Pro Glu Asp Arg Gln Ser Leu Ser Trp
65           70           75           80
Thr Leu Glu Ser Ser Ser Leu Leu Lys Ser Leu Glu Gly Thr Tyr Arg
           85           90           95
Leu Ala Pro Lys Gly Ser Gly Thr Glu Val Thr Tyr Glu Leu Ala Val
           100          105          110
Asp Leu Ala Val Pro Met Ile Gly Met Leu Lys Arg Lys Ala Glu Arg
           115          120          125
Arg Leu Ile Asp Gly Ala Leu Lys Asp Leu Lys Lys Arg Val Glu Gly
           130          135          140

```

<210> 2

<211> 435

<212> DNA

<213> 结核分枝杆菌(Mycobacterium tuberculosis)

<400> 2

```

gtggcggaca agacgacaca gacgatttac atcgacgcgg atccaggcga ggtgatgaag 60
gcgatcgccg acatcgaagc ctacccgcaa tggatttcgg agtataagga agtcgagatc 120

```

ctagaggccg acgacgaggg ctaccgaaa cgagcgcgaa tgttgatgga cgcagccatc 180
 ttcaaagaca ccttgatcat gtcctacgag tggccggaag accgccaatc gcttagctgg 240
 actctcgaat ccagctcgct gctaaagtcc ctcaaggca cgtatcgctt ggcgccaag 300
 ggttctggca ctgaggtcac ctacgagctt gccgtcgacc ttgctgtccc catgatcggg 360
 atgctcaagc gtaaggcgga acgcaggttg atagacggcg cgttgaagga tctgaagaaa 420
 cgagtcgagg gctga 435

<210> 3

<211> 129

<212> PRT

<213> 结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)

<400> 3

Met	Asn	Leu	Arg	Arg	His	Gln	Thr	Leu	Thr	Leu	Arg	Leu	Leu	Ala	Ala
1				5					10					15	
Ser	Ala	Gly	Ile	Leu	Ser	Ala	Ala	Ala	Phe	Ala	Ala	Pro	Ala	Gln	Ala
			20					25					30		
Asn	Pro	Val	Asp	Asp	Ala	Phe	Ile	Ala	Ala	Leu	Asn	Asn	Ala	Gly	Val
		35				40					45				
Asn	Tyr	Gly	Asp	Pro	Val	Asp	Ala	Lys	Ala	Leu	Gly	Gln	Ser	Val	Cys
	50					55					60				
Pro	Ile	Leu	Ala	Glu	Pro	Gly	Gly	Ser	Phe	Asn	Thr	Ala	Val	Ala	Ser
65				70					75					80	
Val	Val	Ala	Arg	Ala	Gln	Gly	Met	Ser	Gln	Asp	Met	Ala	Gln	Thr	Phe
			85						90					95	
Thr	Ser	Ile	Ala	Ile	Ser	Met	Tyr	Cys	Pro	Ser	Val	Met	Ala	Asp	Val
			100						105					110	
Ala	Ser	Gly	Asn	Leu	Pro	Ala	Leu	Pro	Asp	Met	Pro	Gly	Leu	Pro	Gly
			115						120					125	

Ser

<210> 4

<211> 390

<212> DNA

<213> 结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)

<400> 4

atgaacctac ggcgccatca gacctgacg ctgcgactgc tggcggcacg cgcgggcatt 60
 ctcagcgccg cggccttcgc cgcgccagca caggcaaacc ccgtcgacga cgcgttcacg 120
 gccgcgtga acaatgccgg cgtcaactac ggcgatccgg tcgacgcaa agcgttggtt 180
 cagtccgtct gcccgatcct ggccgagccc ggcggtcgt ttaacaccgc ggtagccagc 240
 gttgtggcgc gcgccaagg catgtcccag gacatggcgc aaaccttcac cagtatcgcg 300
 atttcgatgt actgcccctc ggtgatggca gacgtcgcca gcggcaacct gccggccctg 360

ccagacatgc cggggctgcc cgggtcctag 390

<210> 5

<211> 262

<212> PRT

<213> 结核分枝杆菌 (Mycobacterium tuberculosis)

<400> 5

Met	Ser	Ser	Glu	Ser	Asp	Ala	Ala	Asn	Thr	Glu	Pro	Glu	Val	Leu	Val
1				5					10					15	
Glu	Gln	Arg	Asp	Arg	Ile	Leu	Ile	Ile	Thr	Ile	Asn	Arg	Pro	Lys	Ala
			20					25					30		
Lys	Asn	Ala	Val	Asn	Ala	Ala	Val	Ser	Arg	Gly	Leu	Ala	Asp	Ala	Met
		35					40					45			
Asp	Gln	Leu	Asp	Gly	Asp	Ala	Gly	Leu	Ser	Val	Ala	Ile	Leu	Thr	Gly
	50					55					60				
Gly	Gly	Gly	Ser	Phe	Cys	Ala	Gly	Met	Asp	Leu	Lys	Ala	Phe	Ala	Arg
65				70					75					80	
Gly	Glu	Asn	Val	Val	Val	Glu	Gly	Arg	Gly	Leu	Gly	Phe	Thr	Glu	Arg
			85					90					95		
Pro	Pro	Thr	Lys	Pro	Leu	Ile	Ala	Ala	Val	Glu	Gly	Tyr	Ala	Leu	Ala
			100					105					110		
Gly	Gly	Thr	Glu	Leu	Ala	Leu	Ala	Ala	Asp	Leu	Ile	Val	Ala	Ala	Arg
		115						120				125			
Asp	Ser	Ala	Phe	Gly	Ile	Pro	Glu	Val	Lys	Arg	Gly	Leu	Val	Ala	Gly
	130					135					140				
Gly	Gly	Gly	Leu	Leu	Arg	Leu	Pro	Glu	Arg	Ile	Pro	Tyr	Ala	Ile	Ala
145				150					155					160	
Met	Glu	Leu	Ala	Leu	Thr	Gly	Asp	Asn	Leu	Pro	Ala	Glu	Arg	Ala	His
			165					170				175			
Glu	Leu	Gly	Leu	Val	Asn	Val	Leu	Ala	Glu	Pro	Gly	Thr	Ala	Leu	Asp
		180						185				190			
Ala	Ala	Ile	Ala	Leu	Ala	Glu	Lys	Ile	Thr	Ala	Asn	Gly	Pro	Leu	Ala
		195					200					205			
Val	Val	Ala	Thr	Lys	Arg	Ile	Ile	Thr	Glu	Ser	Arg	Gly	Trp	Ser	Pro
		210					215				220				
Asp	Thr	Met	Phe	Ala	Glu	Gln	Met	Lys	Ile	Leu	Val	Pro	Val	Phe	Thr
225				230					235					240	
Ser	Asn	Asp	Ala	Lys	Glu	Gly	Ala	Ile	Ala	Phe	Ala	Glu	Arg	Arg	Arg
			245					250				255			
Pro	Arg	Trp	Thr	Gly	Thr										

260

<210> 6

<211> 789

<212> DNA

<213> 结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)

<400> 6

```

atgagcagcg aaagcgacgc agccaacacc gaacctgagg ttctggtaga acagcgggat 60
cggattttga tcatcacgat caaccgcccc aaagccaaga acgcggtcaa cgccgcagtc 120
agccgggggct tggccgatgc gatggatcag cttgacggcg atgccggcct gtcggtggca 180
atcctgaccg gtggggggcgg ttcgtttctgc gcgggcatgg acctcaaggc gttcgccccg 240
ggcgagaatg tcgtcgtcga aggtcgcggc cttggcttta ccgaacgtcc gccgaccaag 300
ccgctcattg ctgcggtgga aggtacgcgc ttggcgggtg gcaccgagct ggcgcttgct 360
gccgacctga tcgtggcggc cagggattcg gcgttcggga ttctgaagt caagcggggt 420
ctggttgccg gcggcggggg attgctgcgg ttgccggagc gcatcccgta tgcgatagcc 480
atggagttgg cgctgaccgg tgacaaccta ccggccgaac gcgcgcacga gctggggctc 540
gtcaacgttt tggccgagcc ggggaccgcc ctcgatgctg cgatcgcgtt ggcggagaag 600
atcaccgcca atgggccgct ggcggtggtg gccaccaagc ggattatcac cgatcgcgt 660
gggtggagtc ccgacactat gttcgtgag cagatgaaga tcctggtgcc ggtgttcacc 720
tccaacgacg cgaaggaagg tgcgatcgcg ttcgccgaga ggcgccggcc ccgttgacg 780
ggcacctag 789

```

<210> 7

<211> 186

<212> PRT

<213> 结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)

<400> 7

```

Met Ser Asp Ala Leu Asp Glu Gly Leu Val Gln Arg Ile Asp Ala Arg
1           5           10           15
Gly Thr Ile Glu Trp Ser Glu Thr Cys Tyr Arg Tyr Thr Gly Ala His
          20           25           30
Arg Asp Ala Leu Ser Gly Glu Gly Ala Arg Arg Phe Gly Gly Arg Trp
          35           40           45
Asn Pro Pro Leu Leu Phe Pro Ala Ile Tyr Leu Ala Asp Ser Ala Gln
          50           55           60
Ala Cys Met Val Glu Val Glu Arg Ala Ala Gln Ala Ala Ser Thr Thr
65           70           75           80
Ala Glu Lys Met Leu Glu Ala Ala Tyr Arg Leu His Thr Ile Asp Val
          85           90           95
Thr Asp Leu Ala Val Leu Asp Leu Thr Thr Pro Gln Ala Arg Glu Ala
          100          105          110

```

Val Gly Leu Glu Asn Asp Asp Ile Tyr Gly Asp Asp Trp Ser Gly Cys
 115 120 125
 Gln Ala Val Gly His Ala Ala Trp Phe Leu His Met Gln Gly Val Leu
 130 135 140
 Val Pro Ala Ala Gly Gly Val Gly Leu Val Val Thr Ala Tyr Glu Gln
 145 150 155 160
 Arg Thr Arg Pro Gly Gln Leu Gln Leu Arg Gln Ser Val Asp Leu Thr
 165 170 175
 Pro Ala Leu Tyr Gln Glu Leu Arg Ala Thr
 180 185

<210> 8

<211> 561

<212> DNA

<213> 结核分枝杆菌 (Mycobacterium tuberculosis)

<400> 8

gtgagcgatg ccctcgatga agggctcgtc cagcgtatcg acgcacgcgg aacaattgag 60
 tggtcggaaa cgtgctaccg gtataccggc gcgcaccgtg acgccttgct cggtgagggc 120
 gcgcgcagat tcggaggcag gtggaatccg ccgctgctct ttccggcgat ctatcttgct 180
 gattccgccc aagcctgcat ggttgaggtg gaacgggcgg cgcaagcggc ttcaacgacc 240
 gcagagaaga tgctcgaggc ggcctaccga ctacacacga tcgacgtcac ggacctggcc 300
 gtccctcgatc tgacaacccc gcaagctcgg gaagccgtgg ggctcgagaa cgacgacatc 360
 tatggcgacg actgggtcagg gtgccaggcg gtcggacatg cggcctgggt cttgcacatg 420
 caaggtgtcc tcgtgccggc ggcgggcggg gtcggcctcg ttgtcaccgc gtatgaacag 480
 cgaactcggc cgggccaact acaactgcga caaagcgtcg atctgacgcc tgctctttac 540
 caagaacttc gagccacgta g 561

<210> 9

<211> 200

<212> PRT

<213> 结核分枝杆菌 (Mycobacterium tuberculosis)

<400> 9

Met Ser Pro Ser Pro Ser Ala Leu Leu Ala Asp His Pro Asp Arg Ile
 1 5 10 15
 Arg Trp Asn Ala Lys Tyr Glu Cys Ala Asp Pro Thr Glu Ala Val Phe
 20 25 30
 Ala Pro Ile Ser Trp Leu Gly Asp Val Leu Gln Phe Gly Val Pro Glu
 35 40 45
 Gly Pro Val Leu Glu Leu Ala Cys Gly Arg Ser Gly Thr Ala Leu Gly
 50 55 60
 Leu Ala Ala Ala Gly Arg Cys Val Thr Ala Ile Asp Val Ser Asp Thr

65	70	75	80
Ala Leu Val Gln Leu Glu Leu Glu Ala Thr Arg Arg Glu Leu Ala Asp			
	85	90	95
Arg Leu Thr Leu Val His Ala Asp Leu Cys Ser Trp Gln Ser Gly Asp			
	100	105	110
Gly Arg Phe Ala Leu Val Leu Cys Arg Leu Phe Trp His Pro Pro Thr			
	115	120	125
Phe Arg Gln Ala Cys Glu Ala Val Ala Pro Gly Gly Val Val Ala Trp			
	130	135	140
Glu Ala Trp Arg Arg Pro Ile Asp Val Ala Arg Asp Thr Arg Arg Ala			
145	150	155	160
Glu Trp Cys Leu Lys Pro Gly Gln Pro Glu Ser Glu Leu Pro Ala Gly			
	165	170	175
Phe Thr Val Ile Arg Val Val Asp Thr Asp Gly Ser Glu Pro Ser Arg			
	180	185	190
Arg Ile Ile Ala Gln Arg Ser Leu			
	195	200	

<210> 10

<211> 603

<212> DNA

<213> 结核分枝杆菌 (Mycobacterium tuberculosis)

<400> 10

```

atgagtccgt ctccatcggc cctgctcgcc gaccacccgg accgcattcg ttggaacgcg 60
aaatacgagt gcgctgaccc cacggaggcg gtatttgcg ccatatcctg gctcggcgac 120
gtgctgcagt tcggggtgcc agaagggccg gttctggaac tggcgtgcgg tcgggtccggc 180
accgcgctgg ggctagccgc ggcgggccgc tgcgtgactg cgatcgacgt ttccgatacc 240
gcgttggttc agctcgagct cgaagcgacc cgacgggaat tggccgatcg cctcacactg 300
gtgcacgccg atctctgctc ctggcagtcg ggggatggac gctttgctct ggtactttgc 360
cgactattct ggcatccgcc cacttttcgc caggettgcg aggctgtggc gccgggcggt 420
gtagtggcgt gggaggcatg gcggcgcccc atcgatgtcg ctcgggatac ccgtcgagcc 480
gaatgggtgct tgaagccagg ccagcccag tctgaacttc ccgccggctt cacggtgatt 540
cgggtggtcg acaccgatgg ttcagagccg tcgcggcgca tcatcgcca acggtcactg 600
tga 603

```

<210> 11

<211> 100

<212> PRT

<213> 结核分枝杆菌 (Mycobacterium tuberculosis)

<400> 11

Met Cys Ser Gly Pro Lys Gln Gly Leu Thr Leu Pro Ala Ser Val Asp

44

Gly Ala Lys Asn Val Glu Glu Arg Pro Ile Val Gly Ala Pro Val Asp
 85 90 95
 Ala Leu Val Asn Leu Ala Asp Glu Glu Lys Ala Asp Leu Leu Val Val
 100 105 110
 Gly Asn Val Gly Leu Ser Thr Ile Ala Gly Arg Leu Leu Gly Ser Val
 115 120 125
 Pro Ala Asn Val Ser Arg Arg Ala Lys Val Asp Val Leu Ile Val His
 130 135 140

Thr Thr

145

<210> 14

<211> 441

<212> DNA

<213> 结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)

<400> 14

atgagcgcct ataagaccgt ggtggttaga accgacggtt cggactcgtc gatgcgagcg 60
 gtagatcgcg ctgcccagat cgccggcgca gacgccaagt tgatcatcgc ctcggcatac 120
 ctacctcagc acgaggacgc tcgcgccgcc gacattctga aggacgaaag ctacaaggtg 180
 acgggcaccg ccccgatcta cgagatcttg cagcagcca aggaacgagc gcacaacgcc 240
 ggtgcgaaaa acgtcgagga acggccgatc gtcggcgccc cggtcgacgc gttggtgaac 300
 ctggccgatg aggagaaggc ggacctgctg gtcgtcgcca atgtcggtct gagcacgac 360
 gcgggtcggc tgctcggatc ggtaccggcc aatgtgtcac gccgggccaa ggtcgacgtg 420
 ctgatcgtgc acaccaccta g 441

<210> 15

<211> 232

<212> PRT

<213> 结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)

<400> 15

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

	85		90		95
Glu Thr Leu Leu Arg Val Val Pro Pro Ala Thr Ile Ala Asn Asn Arg					
100		105		110	
Glu Glu Val Arg Arg Leu Ile Ala Ser Asn Val Ala Gly Gly Lys His					
115		120		125	
Ser Ser Asn Arg Arg Pro Arg Gly Thr Ile Arg Ala Val Pro Gly Arg					
130		135		140	
Lys Tyr Pro Ser Asn Gly Pro Leu Ser Lys Leu Asp Pro Ile Cys Ala					
145		150		155	160
Ile Glu Ala Ala Pro Met Ala Gly Ala Ala Ala Asp Pro Gln Glu Arg					
165		170		175	
Val Gly Pro Arg Gly Arg Arg Gly Leu Ala Gly Gln Gln Gln Cys Arg					
180		185		190	
Gly Arg Pro Gly Pro Ser Leu Arg Cys Ser His Asp Thr Pro Arg Phe					
195		200		205	
Gln Met Asn Gln Ala Phe His Thr Met Val Asn Met Leu Leu Thr Cys					
210		215		220	
Phe Ala Cys Gln Glu Lys Pro Arg					
225		230			

<210> 16

<211> 699

<212> DNA

<213> 结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)

<400> 16

atgcatctaa tgatacccg c ggagtatatc tccaacgtaa tatatgaagg tccgcgtgct 60
gactcattgt atgccgccga ccagcgattg cgacaattag ctgactcagt tagaacgact 120
gccgagtcgc tcaacaccac gctcgacgag ctgcacgaga actggaaagg tagttcatcg 180
gaatggatgg ccgacgcggc tttgcggtat ctcgactggc tgtctaaaca ctcccgtcag 240
attttgcgaa ccgcccgcgt gatcgaatcc ctcgtaatgg cctatgagga gacacttctg 300
agggtgttac ccccggcgac tatcgccaac aaccgcgagg aggtgcgag gctgatcgcg 360
agcaacgtgg ccgggggtaa aactccagc aatcgagac ctcgaggcac aatacgagca 420
gtaccgggcc gaaaatatcc aagcaatgga ccgctatcta agttggacce gatttgcgct 480
atcgaagctg ccccgatggc gggagccgcc gcagatccac aggagcgggt aggtccaaga 540
ggccggcgcg gtcttgagg ccagcaacaa tgccgcggtc gaccaggccc atcgcttcgc 600
tgctgcacg acacaccgcg gtttcagatg aatcaggcgt ttcacacat ggtgaacatg 660
ttgctgacgt gttttgcatg tcaggagaaa ccgagatga 699

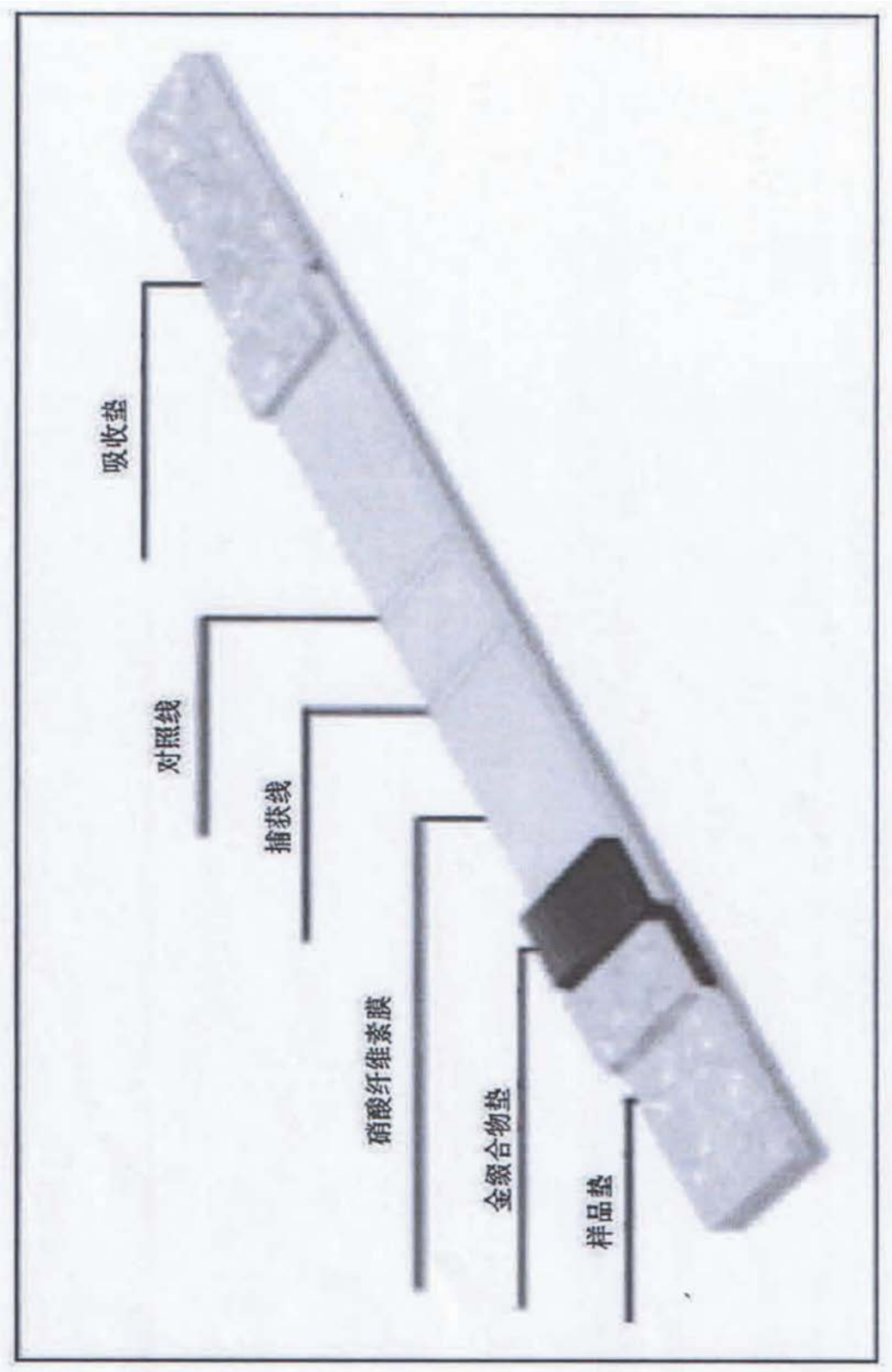


图1

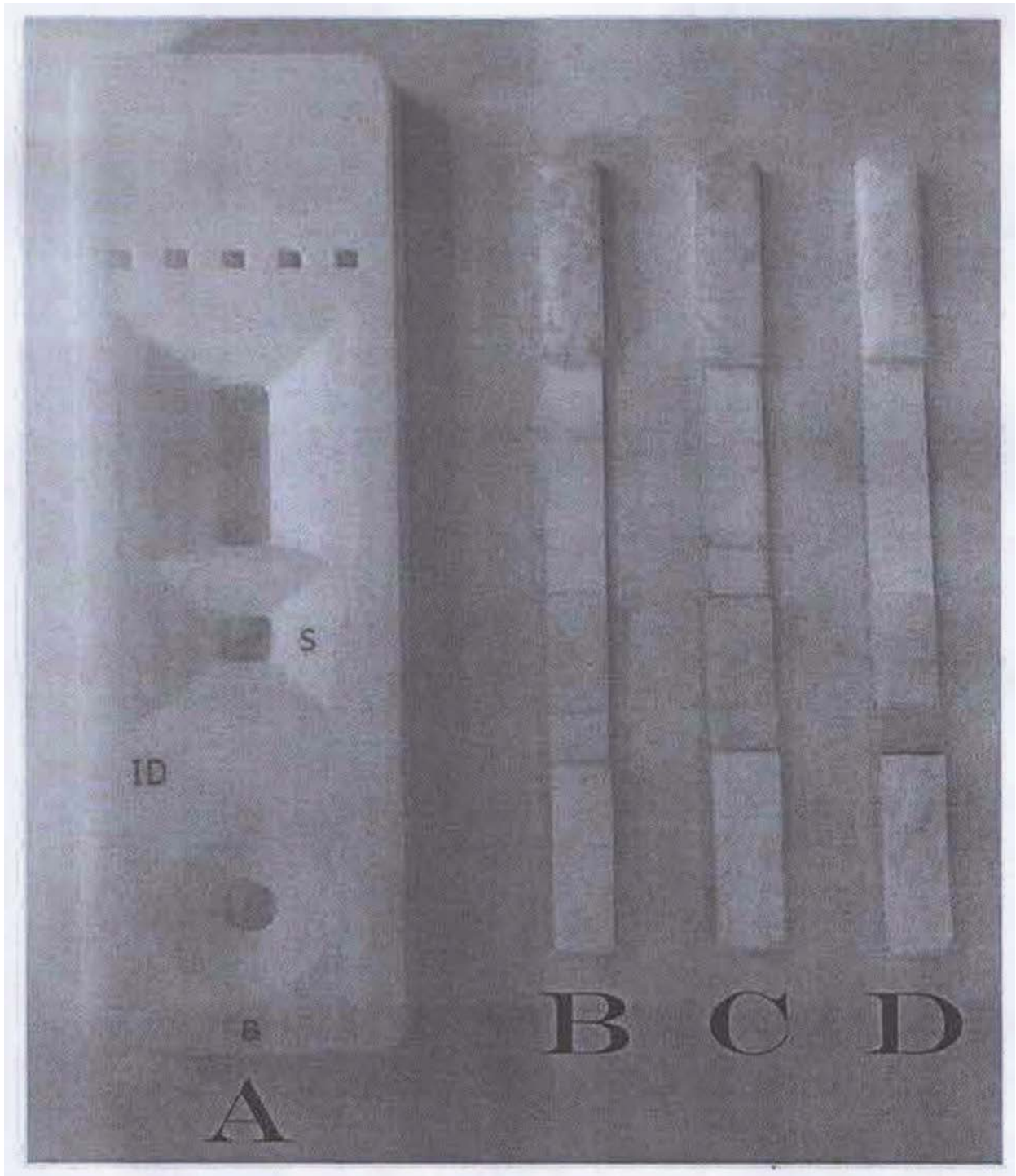


图2A

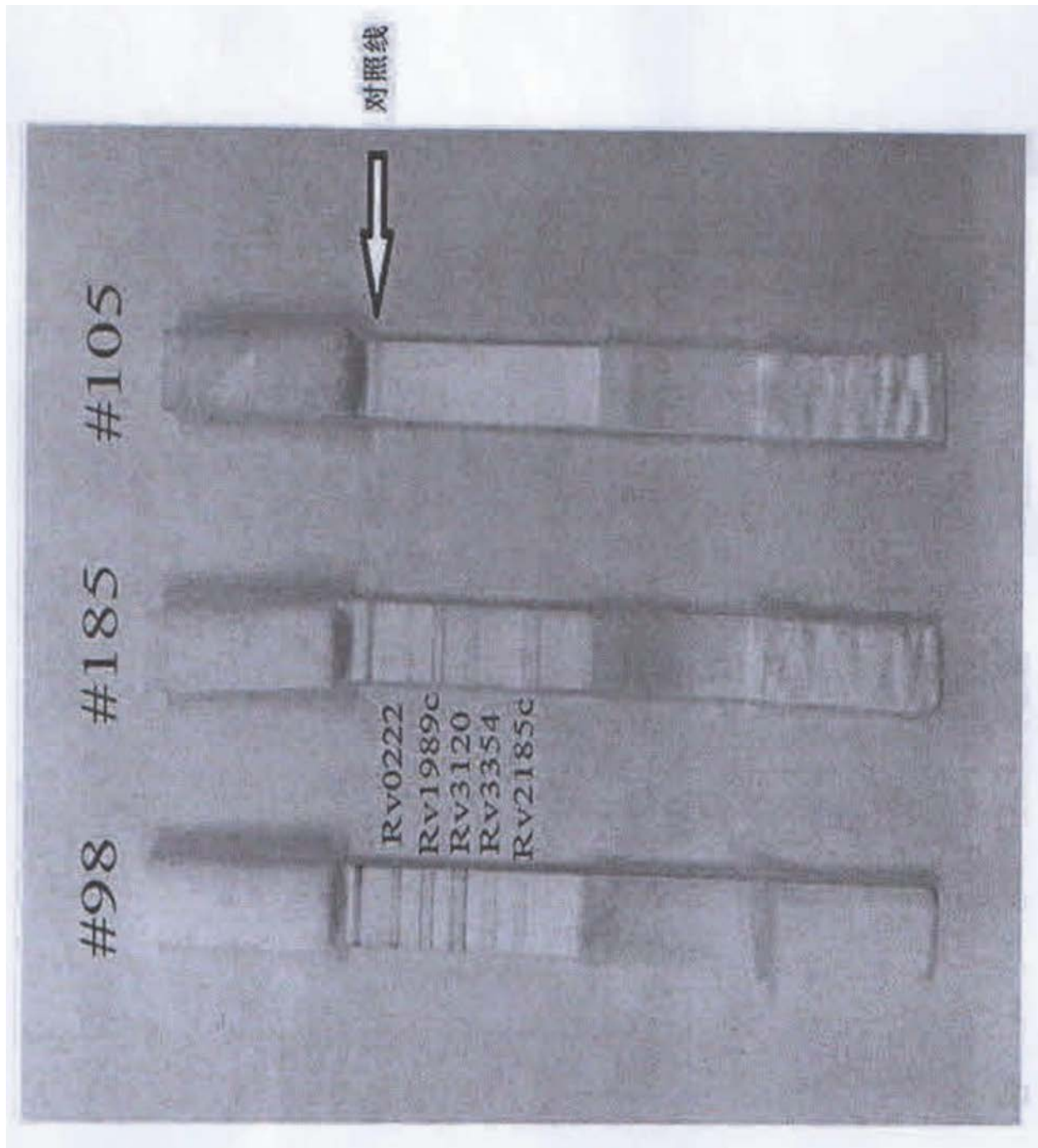


图2B

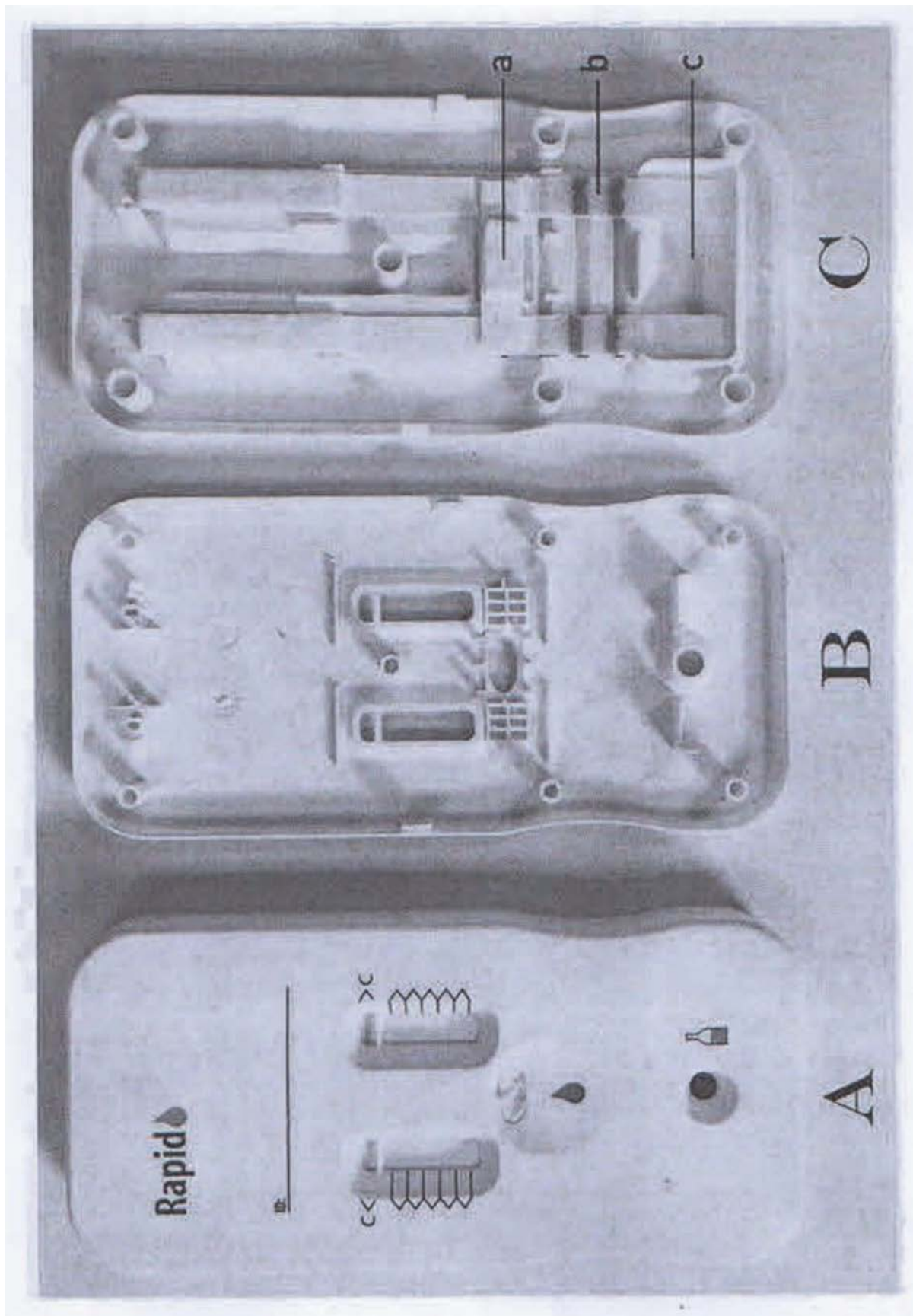


图3

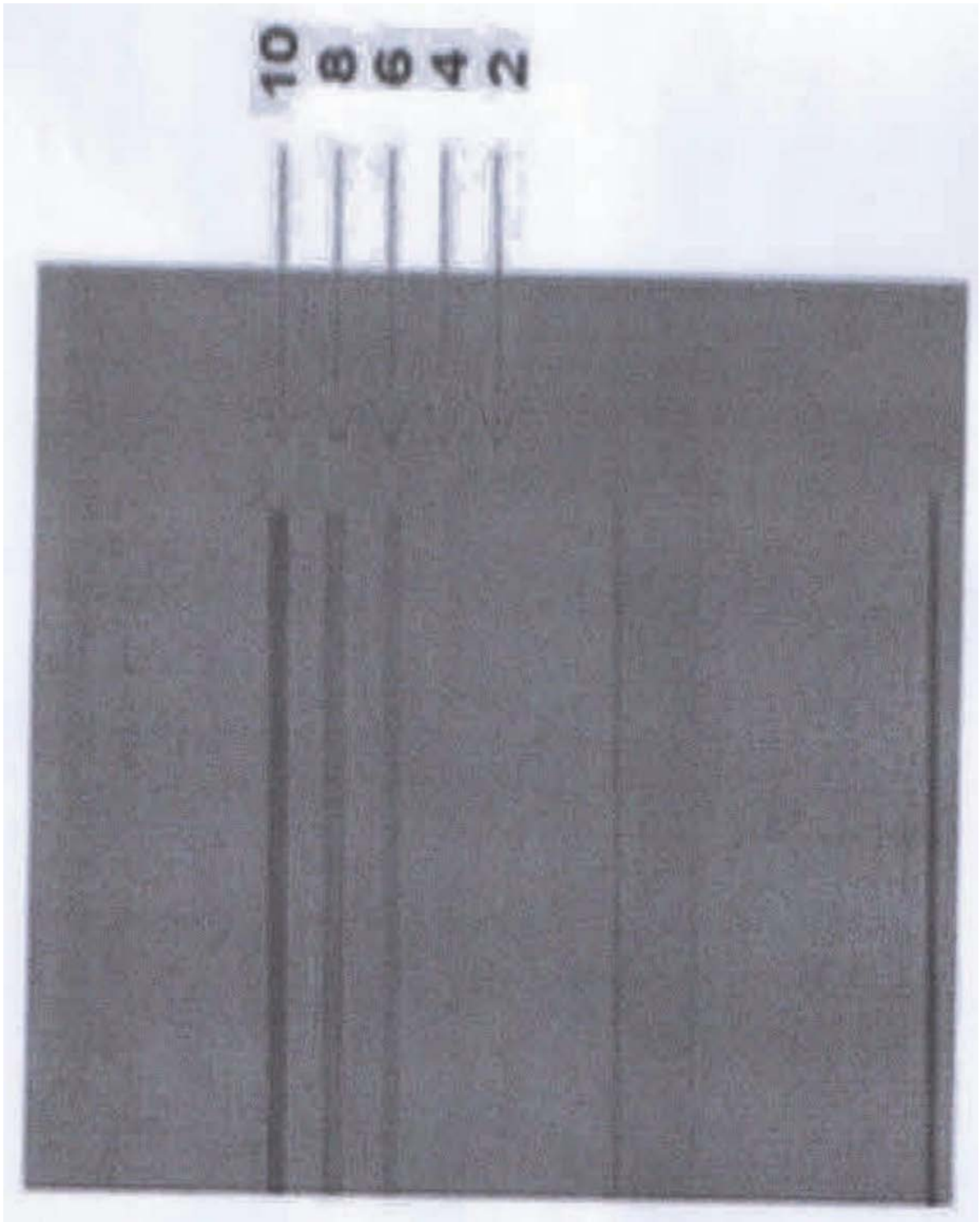


图4

试样条形码	定 位	位置	制备的	发送	指定顺序
01 01 4348 Se 01	Z1 - Shelf 1 - Rack 3 - Box 69	18	No	No	139
01 14 0447 Se 04	Z1 - Shelf 1 - Rack 4 - Box 74	64	No	No	123
01 01 4345 Se 01	Z1 - Shelf 1 - Rack 4 - Box 74	39	No	No	118
10 01 3027 Se 01	Z1 - Shelf 1 - Rack 4 - Box 77	36	No	No	165
10 01 3044 Se 01	Z1 - Shelf 1 - Rack 4 - Box 77	74	No	No	029
10 01 3037 Se 01	Z1 - Shelf 1 - Rack 4 - Box 78	56	No	No	167
10 01 3039 Se 01	Z1 - Shelf 1 - Rack 4 - Box 78	65	No	No	098
10 01 3010 Se 01	Z1 - Shelf 1 - Rack 4 - Box 78	68	No	No	105
10 01 3012 Se 01	Z1 - Shelf 1 - Rack 4 - Box 78	51	No	No	070
10 01 3022 Se 01	Z1 - Shelf 1 - Rack 4 - Box 79	5	No	No	002
01 18 0336 Se 02	Z1 - Shelf 1 - Rack 4 - Box 84	29	No	No	169
01 18 0410 Se 02	Z1 - Shelf 1 - Rack 4 - Box 89	71	No	No	107
07 52 0033 Se 02	Z1 - Shelf 1 - Rack 5 - Box 103	31	No	No	044
07 52 0039 Se 02	Z1 - Shelf 1 - Rack 5 - Box 103	46	No	No	020
01 18 0233 Se 01	Z1 - Shelf 1 - Rack 5 - Box 99	81	No	No	128
01 18 0236 Se 01	Z1 - Shelf 1 - Rack 5 - Box 99	31	No	No	103
01 41 0010 Se 10	Z1 - Shelf 1 - Rack 6 - Box 124	14	No	No	076

图5

试样条形码	定 位		位置	制备的	发送	指定顺序
01 41 0056 Se 08	Z1-Shelf 1	Rack 6	Box 124	No	No	067
01 41 0072 Se 08	Z1-Shelf 1	Rack 6	Box 126	No	No	037
01 41 0055 Se 09	Z1-Shelf 1	Rack 6	Box 127	No	No	000
01 18 0038 Se 01	Z1-Shelf 1	Rack 6	Box 130	No	No	019
01 18 0038 Se 03	Z1-Shelf 1	Rack 6	Box 131	No	No	114
01 18 0131 Se 01	Z1-Shelf 1	Rack 6	Box 141	No	No	050
01 18 0177 Se 01	Z1-Shelf 1	Rack 6	Box 141	No	No	127
01 18 0172 Se 01	Z1-Shelf 1	Rack 6	Box 143	No	No	080
07 52 0209 Se 03	Z1-Shelf 1	Rack 6	Box 144	No	No	100
07 52 0338 Se 03	Z1-Shelf 2	Rack 1	Box 145	No	No	131
07 52 0131 Se 05	Z1-Shelf 2	Rack 1	Box 147	No	No	110
07 52 0233 Se 04	Z1-Shelf 2	Rack 1	Box 156	No	No	013
07 52 0258 Se 04	Z1-Shelf 2	Rack 1	Box 158	No	No	048
01 18 0032 Se 01	Z1-Shelf 2	Rack 1	Box 159	No	No	147
01 18 0038 Se 03	Z1-Shelf 2	Rack 1	Box 160	No	No	038
01 01 0003 Se 02	Z1-Shelf 2	Rack 1	Box 163	No	No	083
01 01 0007 Se 02	Z1-Shelf 2	Rack 1	Box 163	No	No	161
01 01 0010 Se 01	Z1-Shelf 2	Rack 1	Box 163	No	No	168

图5(续)

试样条形码	定 位	位置	制备的	发送	指定顺序
01 01 0022 Se 01	Z1 - Shelf 2 - Rack 1 - Box 163	51	No	No	063
01 41 0158 Se 11	Z1 - Shelf 2 - Rack 1 - Box 163	12	No	No	015
01 18 0215 Se 01	Z1 - Shelf 2 - Rack 1 - Box 167	77	No	No	042
01 18 0213 Se 01	Z1 - Shelf 2 - Rack 2 - Box 169	2	No	No	021
01 18 0211 Se 01	Z1 - Shelf 2 - Rack 2 - Box 170	47	No	No	058
01 18 0030 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 2 - Box 176	77	No	No	086
01 14 0325 Se 04	Z1 - Shelf 2 - Rack 2 - Box 184	4	No	No	031
01 14 0410 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 2 - Box 191	25	No	No	102
07 52 0502 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 3 - Box 206	76	No	No	115
07 52 0520 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 3 - Box 200	12	No	No	027
01 14 0359 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 3 - Box 211	33	No	No	036
01 14 0230 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 4 - Box 218	8	No	No	057
01 18 0037 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 4 - Box 233	72	No	No	152
01 18 0016 Se 02	Z1 - Shelf 2 - Rack 4 - Box 234	39	No	No	119
07 52 0126 Se 01	Z1 - Shelf 2 - Rack 5 - Box 242	61	No	No	026
07 52 0039 Se 04	Z1 - Shelf 2 - Rack 5 - Box 243	62	No	No	045
07 52 0447 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 5 - Box 255	24	No	No	172
07 52 0456 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 5 - Box 258	56	No	No	142
01 18 0123 Se 02	Z1 - Shelf 2 - Rack 5 - Box 260	66	No	No	087
01 18 0113 Se 02	Z1 - Shelf 2 - Rack 5 - Box 261	37	No	No	137
01 18 0115 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 5 - Box 261	48	No	No	088
01 18 0019 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 5 - Box 263	45	No	No	135

图5(续)

试样条形码	定 位	位置	制备的	发送	指定顺序
01 01 4219 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 5 - Box 263	69	No	No	051
01 01 0279 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 266	4	No	No	047
01 01 0285 Se 02	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 266	10	No	No	091
01 01 0293 Se 02	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 266	27	No	No	112
01 01 0300 Se 02	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 266	64	No	No	041
01 01 0301 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 266	38	No	No	179
01 01 0314 Se 02	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 266	46	No	No	124
01 01 0318 Se 02	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 266	49	No	No	077
01 01 0325 Se 02	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 267	18	No	No	176
07 52 0296 Se 04	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 268	74	No	No	053
07 52 0329 Se 04	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 269	75	No	No	101
07 52 0331 Se 05	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 269	53	No	No	166
07 52 0315 Se 05	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 270	56	No	No	097
01 14 0237 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 276	75	No	No	009
01 18 0319 Se 02	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 279	6	No	No	011
01 18 0307 Se 02	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 281	45	No	No	068
01 18 0303 Se 03	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 288	75	No	No	163
01 18 0409 Se 01	Z1 - Shelf 2 - Rack 6 - Box 288	26	No	No	062
01 18 0205 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 1 - Box 289	57	No	No	018
01 18 0276 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 1 - Box 289	13	No	No	125

图6

试样条形码	定位	位置	制备的	发送	指定顺序
01 41 0264 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 1 - Box 290	45	No	No	084
01 18 0195 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 1 - Box 293	15	No	No	130
01 01 4090 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 1 - Box 295	61	No	No	093
01 18 0245 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 1 - Box 297	54	No	No	056
01 18 0242 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 1 - Box 298	14	No	No	117
01 18 0096 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 1 - Box 299	58	No	No	136
01 18 0228 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 1 - Box 299	25	No	No	178
01 18 0268 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 1 - Box 299	26	No	No	014
01 14 0182 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 1 - Box 311	75	No	No	025
01 01 4153 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 313	79	No	No	157
01 01 4149 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 317	53	No	No	104
01 14 0128 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 318	67	No	No	040
01 01 4145 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 318	69	No	No	154
01 01 4150 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 320	5	No	No	023
01 14 0004 Se 04	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 324	31	No	No	099
01 01 4004 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 324	63	No	No	065
01 01 4044 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 326	4	No	No	155
01 01 4091 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 326	53	No	No	074
01 18 0125 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 336	75	No	No	030
01 18 0130 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 336	58	No	No	129
01 18 0133 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 2 - Box 336	54	No	No	085
01 18 0054 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 337	30	No	No	095
01 18 0134 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 338	25	No	No	028
01 18 0143 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 338	26	No	No	089

图6(续)

试样条形码	定 位	位置	制备的	发送	指定顺序
01 18 0145 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 338	58	No	No	054
01 18 0189 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 338	14	No	No	132
01 18 0190 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 338	20	No	No	173
01 18 0181 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 339	10	No	No	133
01 18 0182 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 339	32	No	No	181
01 18 0194 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 339	19	No	No	059
01 01 4238 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 339	47	No	No	081
01 18 0156 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 340	15	No	No	109
01 18 0159 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 340	14	No	No	150
01 18 0170 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 340	19	No	No	116
01 18 0175 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 340	9	No	No	005
01 18 0176 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 340	49	No	No	111
01 18 0178 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 340	36	No	No	126
01 18 0179 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 340	33	No	No	060
01 14 0540 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 341	66	No	No	174
01 18 0199 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 344	60	No	No	140
01 14 0080 Se 04	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 345	73	No	No	043
01 14 0520 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 345	7	No	No	143
01 14 0116 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 349	20	No	No	010
01 01 4143 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 350	17	No	No	024
01 18 0262 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 353	59	No	No	033

图6(续)

试样条形码	定 位	位置	制备的	发送	指定顺序
01 14 0639 Se 04	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 353	40	No	No	022
01 18 0251 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 355	77	No	No	134
01 18 0258 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 355	3	No	No	156
01 14 0683 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 3 - Box 358	80	No	No	069
01 01 4140 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 362	40	No	No	072
01 01 0138 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 371	80	No	No	007
01 01 0139 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 371	71	No	No	064
01 01 0157 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 371	42	No	No	052
01 01 0159 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 371	40	No	No	017
01 01 0162 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 371	53	No	No	012
01 01 0177 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 371	50	No	No	160
01 01 0080 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 372	28	No	No	122
01 01 0091 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 372	32	No	No	151
01 01 0093 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 372	53	No	No	008
01 01 0099 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 372	45	No	No	001
01 01 0100 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 372	11	No	No	078
01 01 0102 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 372	55	No	No	153
01 01 0105 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 372	57	No	No	148
01 01 0109 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 372	68	No	No	055

图7

试样条形码	定 位	位置	制备的	发送	指定顺序
01 01 0112 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 372	77	No	No	121
01 01 0136 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 372	3	No	No	175
01 01 0137 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 372	1	No	No	082
01 01 0056 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 373	34	No	No	071
01 01 0060 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 373	51	No	No	141
01 01 0063 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 373	26	No	No	094
01 01 0070 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 373	38	No	No	177
01 01 0079 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 373	37	No	No	049
01 01 0117 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 373	12	No	No	079
01 01 0120 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 373	6	No	No	075
01 01 0212 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 373	78	No	No	090
01 01 0045 Se 04	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 374	72	No	No	164
01 01 0046 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 374	52	No	No	108
01 01 0048 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 374	50	No	No	106
01 01 0053 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 374	65	No	No	039
01 01 0214 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 374	1	No	No	004
01 01 0215 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 374	42	No	No	158
01 01 0216 Se 06	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 374	28	No	No	138
01 01 0220 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 374	37	No	No	102
01 01 0245 Se 05	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 374	20	No	No	171
01 01 0030 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 375	79	No	No	159

图7(续)

试样条形码	定 位	位置	制备的	发送	指定顺序
01010035 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 375	56	No	No	003
01010043 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 375	2	No	No	092
01010255 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 375	38	No	No	046
01010256 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 375	44	No	No	180
01010267 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 375	39	No	No	096
01010029 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 376	58	No	No	170
01180076 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 376	54	No	No	061
01180083 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 376	41	No	No	034
01180089 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 376	47	No	No	073
01180063 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 377	34	No	No	035
01180066 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 377	9	No	No	149
01180067 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 377	10	No	No	120
01180070 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 377	2	No	No	016
01180053 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 378	56	No	No	032
07520071 Se 04	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 382	53	No	No	146
07520028 Se 02	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 383	3	No	No	144
07520035 Se 03	Z1 - Shelf 3 - Rack 4 - Box 383	47	No	No	066
01014262 Se 01	Z1 - Shelf 3 - Rack 5 - Box 394	66	No	No	145

图7(续)

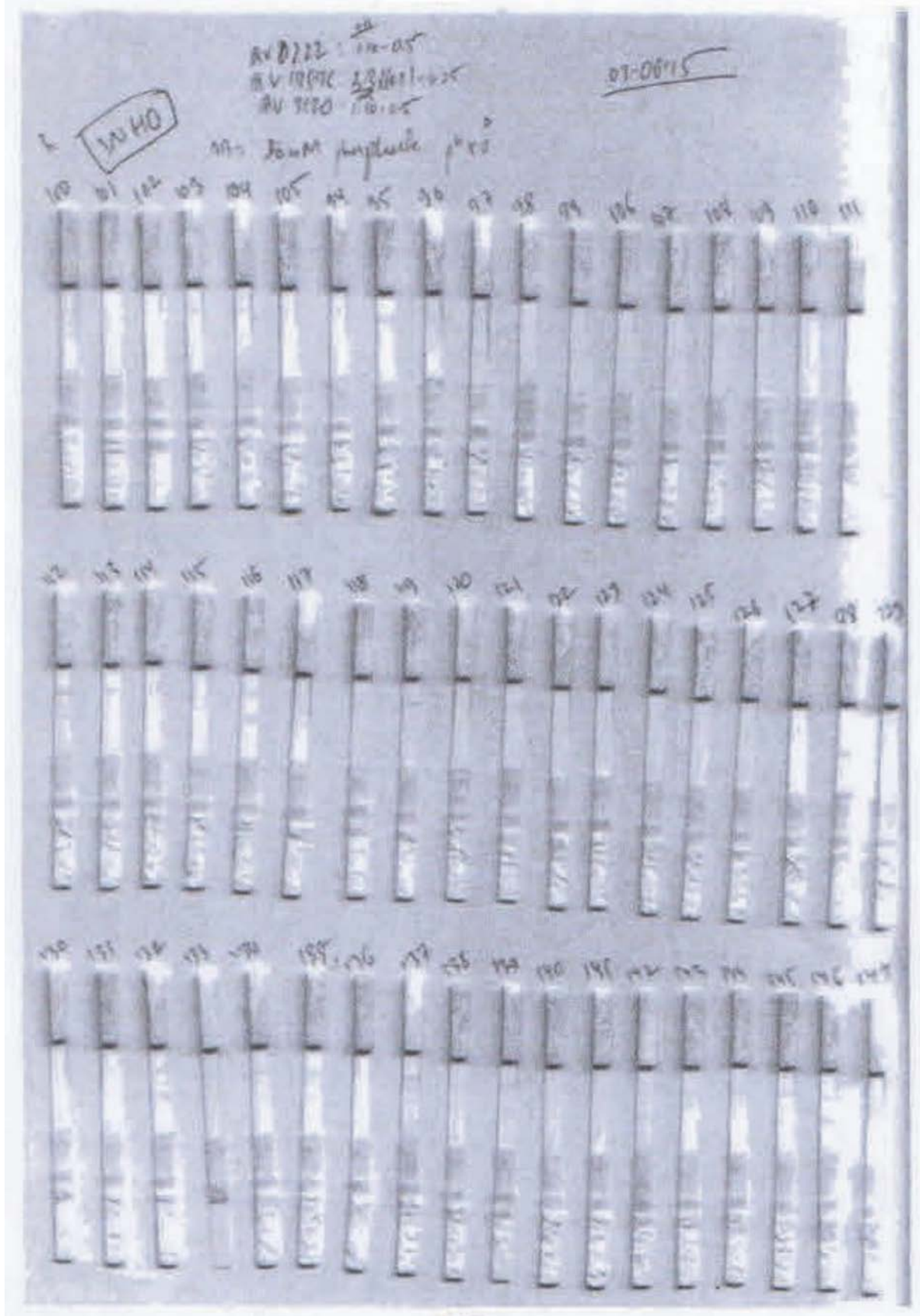


图9

FIND代码	关键	TB结果解释	样品号	IgM Rv3120	IgM Rv1989c	IgM Rv0222	IgM Result	IgG Rv3120	IgG Rv1989c	IgG Rv0222	IgG Result
0101 4348 Se01 Smear+, Culture+		Pos	1 wY	wY/wN	Y/wY	Pos	wY	wY	Y	Y	Pos
0118 0098 Se01 Smear+, Culture+		Pos	2 wY/wN	wY	wY/wN	Pos	N	wY/wN	wY/wN	wY/wN	Pos/neg (?)
0118 0082 Se01 Non TB		Neg	3 N	N	N	Neg	N	N	N	N	Neg
0118 0050 Se03 Smear-, Culture+		Neg/Pos ?	4 N	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos (?)	N	N	N	N	Neg
0118 0123 Se02 Non TB		Neg/Pos ? or Invalid	5 wN/wY	wN	wN/wY	Neg/Pos ?	wY	wN	Y	Y	Pos (Invalid)
0101 0314 Se02 Smear-, Culture+		Pos	6 wY	N	wY	Pos	wY	wY	wY	wY	Pos
0118 0205 Se02 Smear-, Culture+		Pos	7 wN/wY	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos	Y	Y	Y	Y	Pos
0114 0004 Se04 Smear+, Culture+		Pos	8 wY	wY/wN	wY	Pos	N	N	N	wY/Y	Pos (?)
0118 0145 Se03 Non TB		Neg/Pos ?	9 wN	wN	wN	Neg (?)	wN/wY	N	wY/wN	wY/wN	Neg/Pos (?)
0114 0447 Se04 Smear+, Culture+		Pos	10 wY	wY	wY	Pos	wY	wY	wY	wY	Pos
0118 0088 Se03 Smear+, Culture+		Pos	11 N	wY	N	Pos (?)	wY/wN	wY	wY	wY	Pos
0118 0068 Se03 Smear+, Culture+		Pos	12 N	N	wY	Pos (?)	N	N	N	wY	Pos (?)
0114 0025 Se04 Smear+, Culture+		Neg/Pos ?	13 N	N	N	Neg	wN/wY	wN/wY	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos (?)
0118 0115 Se03 Non TB		Neg	14 N	N	N	Neg	N	N	N	N	Neg
0101 0318 Se02 Smear-, Culture+		Pos	15 wY	wY	wY	Pos	N	N	N	N	Neg

图10

FIND代码 关键	TB结果解释	样品号	IgM Rv3120	IgM Rv1989c	IgM Rv0222	IgG Rv3120	IgG Rv1989c	IgG Rv0222	IgG Result
0118 0216 Se01 Non TB	Neg	16 N	N	N	Neg	wN/wY	N	N	Neg (?)
0101 4044 Se03 CX+	Pos	17 N/wN	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos (?)	wY	Y/wY	wY	Pos
0118 0189 Se01 Non TB	Neg ?	18 N	N	N	Neg	N	N	wN/wY	Neg/Pos (?)
0101 4345 Se01 Smear+, Culture+	Neg	19 N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
0118 0161 Se01 Non TB	Pos	20 wY	wN	wY/wN	Pos (?)	sY	Y/wY	Y/wY	Pos
0101 0003 Se02 Smear+, Culture+	Pos	21 wN/wY	N	wN/wY	Neg (?)	Y	Y	Y	Pos
0114 0410 Se03 Smear+, Culture+	Pos	22 wY/wN	N	wY/wN	Pos (?)	Y	wY	Y	Pos
0118 0019 Se03 Smear+, Culture+	Neg/Pos ?	23 N	N	N	Neg	wN/wY	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos (?)
0101 0325 Se02 Smear-, Culture+	Pos	24 N	N	N	Neg	Y	Y	Y	Pos
0118 0195 Se01 Non TB	Pos	25 wN	wN	wN	Neg (?)	sY	Y	Y	Pos
0101 4091 Se01 CX+	Pos	26 wY	wY/wN	Y/wY	Pos	sY	Y	Y	Pos
0118 0190 Se01 Non TB	Pos	27 Y	wY	Y/sY	Pos	sY	Y	Y	Pos
1001 3044 Se01 Smear+, Culture+	Pos	28 wN	wN	wN	Neg	Y	Y	Y	Pos
0118 0177 Se01 Non TB	Neg/Pos ?	29 N	wN	wN	Neg	wN	N	wN/wY	Neg/Pos (?)
0101 0007 Se02 Smear-, Culture+	Pos	30 wN/wY	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos (?)	wN	wN/wY	wY	Pos
0752 0502 Se03 Latent TB	Pos	31 wY	wY	wY	Pos	Y	wY	wY	Pos

图10(续)

FIND代码 关键	TB结果解释	样品号	IgM Rv3120	IgM Rv1989c	IgM Rv0222	IgM Result	IgG Rv3120	IgG Rv1989c	IgG Rv0222	IgG Result
0101 4219 Se03 CX+	Pos	32 wN	wN	wN	Neg ?	wY	wY	wY	wY/Y	Pos
0752 0296 Se04 Latent TB	Neg	33 N	N	N	Neg	N	N	N	N	Neg
0101 4090 Se03 CX+	Pos	34 wN	wN	wY/wN	Pos/Neg (?)	wY	wY	wY	wY	Pos
0118 0125 Se02 Non TB - No FU Labs	Neg	35 N	N	N	Neg	N	N	N	N	Neg
0118 0181 Se02 Smear-, Culture+	Pos	36 wN	wN	wN	Neg ?	wY	wY	wY	wY/Y	Pos
0118 0336 Se02 Smear-, Culture+	Pos	37 N	wY/wN	wY/wN	Pos/Neg (?)	wY	wY	wY	wY/Y	Pos
0118 0172 Se01 Non TB - No FU Labs	Neg ? or Pos ?	38 N	N	N	Neg	wN	wN/N	wY	wY	Pos (?)
0101 0010 Se01 Smear+, Culture+	Pos	39 wN	wN	wN	Neg ?	wY/wN	wY	wY	wY/wN	Pos
0752 0528 Se03 Latent TB	Pos	40 N	wN	wN	Neg ?	wY	wY	wY	wY	Pos
0101 0279 Se03 Smear+, Culture+	Pos	41 N	wY	wN	Pos	N	wY	N	N	Pos
0752 0329 Se04 Latent TB	Pos	42 wN	wY	wN/wY	Pos	wY	wN/wY	wN/wY	wN/wY	Pos
0118 0245 Se01 Non TB - No FU Labs	Neg ?	43 wN	wN	wN	Neg (?)	N	N	N	wN	Neg
0118 0130 Se02 Non TB - No FU Labs	Neg ?	44 wN	N	wN	Neg	wN	N	N	wY/wN	Neg/Pos (?)
0118 0182 Se02 Non TB - No FU Labs	Neg/Pos ?	45 N	N	N	Neg	wN/wY	N	N	wN/wY	Neg/Pos (?)
0752 0003 Se02 Latent TB	Pos	46 wN	wN	wN	Neg	wY/wN	wY	wY	wY/wN	Pos
0752 0209 Se03 Latent TB	Pos	47 wY	wY/Y	Y/wY	Pos	wY/Y	wY/Y	wY/Y	wY/Y	Pos
0101 0022 Se01 Smear+, Culture+	Pos/Neg ?	48 wY/wN	wN	wY/wN	Pos/Neg (?)	N	N	N	wN/wY	Neg/Pos (?)

图10(续)

FIND 代码 关键	TB 结果解释	样品号	IgM Rv3120	IgM Rv1989c	IgM Rv0222	IgM Result	IgG Rv3120	IgG Rv1989c	IgG Rv0222	IgG Result
0114 0359 Se03 Smear+, Culture+	Pos	49	wY/wN	wY	wY	Pos	Y	wY	wY/Y	Pos
0101 0285 Se02 Smear+, Culture+	Neg/Pos?	50	wN	N	wN	Neg?	wN	wN	wN/wY	Neg/Pos(?)
0752 0301 Se05 Latent TB	Pos	51	N/wN	wY	wY/Y	Pos	N	wN	wY	Pos
0118 0242 Se01 Non TB - No FU Labs	Neg?	52	wN	wN	wN	Neg?	N (wY 1st)	N	N	Neg
0118 0133 Se02 Non TB - No FU Labs	Neg/Pos?	53	wN	wY/wN	N/wN	Neg?	wN/wY	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos(?)
0118 0194 Se01 Non TB - No FU Labs	Neg	54	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
0752 0009 Se02 Latent TB	Neg?	55	N	N	N	Neg	N/wN	N/wN	N/wN	Neg?
0752 0388 Se03 Latent TB	Pos	56	N/wN	N	wY	Pos(?)	wY	wY	wY	Pos
0118 0215 Se01 Non TB - No FU Labs	Pos	57	N	N	N	Neg	wY	wY	wY	Pos
0118 0007 Se03 Smear+, Culture+	Neg?	58	wN	wN	wN	Neg?	N	N	N	Neg
0101 0293 Se02 Smear+, Culture+	Pos	59	wY	wY/wN	wY	Pos	N/wN	N/wN	N/wN	Neg
0752 0315 Se05 Latent TB	Pos	60	wY/wN	wN	wN/wY	Pos/Neg(?)	wY	N	wY	Pos
0118 0096 Se01 Non TB - No FU Labs	Neg	61	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
0118 0054 Se02 Non TB - No FU Labs	Neg/Pos or Invalid	62	wN/wY	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos(?)	Y	wY	Y	Pos (Invalid)
0101 4238 Se01 CX+	Neg	63	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
0118 0283 Se01 Non TB - No FU Labs	Neg?	64	wN	wN	wN	Neg(?)	wN	N	wN/wY	Neg/Pos(?)
0752 0233 Se04 Latent TB	Pos	65	wN/wY	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos(?)	wY	wY/wN	wY	Pos

图10(续)

FIND代码	关键	TB结果解释	样品号	IgM Rv3120	IgM Rv1989c	IgM Rv0222	IgM Result	IgG Rv3120	IgG Rv1989c	IgG Rv0222	IgG Result
0118 0213 Se01	Non TB - No FU Labs	Neg ?	66 N	N	N	N	Neg	NwN	N	N	Neg ?
0118 0016 Se02	Smear, Culture+	Pos ?	67 N	N	N	N	Neg	N	N	N	Pos (?)
0101 0300 Se02	Smear, Culture+	Pos	68 wY	wN	wY/wN	Pos	Pos	wY/wN	N	N	Pos/Neg (?)
0118 0319 Se02	Smear, Culture+	Pos	69 N	N	N	N	Neg	Y	Y	Y	Pos
0118 0228 Se01	Smear, Culture+	Pos	70 N	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos (?)	Neg/Pos (?)	wY	wY	wY	Pos
0118 0134 Se02	Non TB - No FU Labs	Neg ?	71 N	wN	wN	Neg ?	Neg ?	N	wN	wN	Neg ?
0118 0156 Se02	Smear, Culture+	Pos ?	72 N	N	NwN	Neg	Neg	wN	N	wY	Pos (?)
0118 0206 Se01	Non TB - No FU Labs	Neg	73 N	N	N	Neg	Neg	N	N	N	Neg
0752 0258 Se04	Latent TB	Pos	74 wN/wY	wN	wN/wY	Neg/Pos (?)	Neg/Pos (?)	wY	N	wY/Y	Pos
0118 0211 Se01	Non TB - No FU Labs	Neg/Pos ?	75 N	N	N	Neg	Neg	wN/wY	wN	wN/wY	Neg/Pos (?)
0752 0447 Se03	Latent TB	Pos	76 wY	wY	wY	Pos	Pos	wY	wY	wY/Y	Pos
0118 0143 Se02	Smear, Culture+	Pos ?	77 N	N	wY	Pos ?	Pos ?	wN	wN	wN	Neg (?)
0118 0159 Se02	Smear, Culture+	Pos	78 wY	wN/wY	wY	Pos	Pos	NwN	NwN	NwN	Neg (?)
0101 0301 Se03	Smear, Culture+	Pos/Neg ?	79 wN	wN	wN	Neg (?)	Neg (?)	N	N	wY/wN	Pos/Neg (?)
0118 0303 Se03	Smear, Culture+	Pos ?	80 N	N	N	Neg	Neg	N	N	wY	Pos
0118 0268 Se02	Smear, Culture+	Pos	81 wN	N	wN/wY	Neg/Pos (?)	Neg/Pos (?)	Y	Y	Y	Pos

图11

FIND代码	关键	TB结果解释	样品号	IgM Rv3120	IgM Rv1989c	IgM Rv0222	IgM Result	IgG Rv3120	IgG Rv1989c	IgG Rv0222	IgG Result
1001 3007	Se02 Smear, Culture+	Pos	82	wY/wN	wN	wY/wN	Pos/Neg (?)	wY	N	Y	Pos
1001 3009	Se02 Smear+, Culture+	Pos	83	wN/wN	wN	wY	Pos	wY	wY	Y	Pos
1001 3010	Se02 Smear, Culture+	Pos	84	N	N	N	Neg	wY	wY	wY	Pos
1001 3012	Se02 Smear, Culture+	Pos	85	wY	wY	wY	Pos	wY	wY/wY	wY	Pos
0118 0410	Se04 Smear+, Culture+	Pos	86	wN	wN	wN	Neg (?)	wY/wN	wY	wY	Pos
0141 0010	Se11 Smear+, Culture+	Pos	87	N	N	Y	Pos	Y	wY/Y	Y	Pos
0141 0056	Se09 Smear+, Culture+	Neg ?	88	N/wN	N	wN	Neg ?	N	N	N/wN	Neg
0141 0072	Se09 Smear+, Culture+	Neg	89	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
0141 0055	Se10 Smear+, Culture+	Neg	90	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
0118 0067	Se01 Non TB - No FU Labs	Neg ?	91	N	N	N	Neg	wN	wN	wN	Neg ?
0118 0070	Se01 Smear+, Culture+	Neg ?	92	N	N	N	Neg	N	N/wN	N/wN	Neg ?
0118 0053	Se01 Smear+, Culture+	Neg ?	93	wN	wN	wN	Neg ?	N	N	N	Neg
0752 0071	Se04 Latent TB	Pos	94	wY/Y	wY	wY/Y	Pos	wY	N	wY	Neg
0752 0028	Se02 Latent TB	Pos	95	wY/Y	wY/wN	wY/Y	Pos	wY/Y	wN	wY/Y	Pos
0752 0035	Se03 Latent TB	Pos	96	wN	wN	N	Neg	wN	wY/wN	wY	Pos
0101 4262	Se01 CX+	Pos ?	97	N	wN	wN	Neg ?	N	N	wY	Pos ?
1001 3022	Se02 Smear+, Culture+	Pos	98	N	wN	N/wN	Neg ?	N	wN	wY	Pos

图11(续)

FIND代码 关键	TB结果解释	样品号	IgM Rv3120	IgM Rv1989c	IgM Rv0722	IgM Result	IgG Rv3120	IgG Rv1989c	IgG Rv0722	IgG Result
0101 0207 Se02 Smear+, Culture+	Pos	99	wY/wN	wY/wN	wY/wN	Pos/Neg (?)	wY	wY	wY	Pos
0101 0255 Se02 Smear+, Culture+	Pos	100	wY	wY/wN	wY	Pos	wY/wN	wY	wY	Pos
0101 0256 Se03 Smear+, Culture+	Pos	101	wY	wY	wY	Pos	wY	wY/wN	wY	Pos
0101 0257 Se02 Smear+, Culture+	Pos	102	wN/wY	N	wY	Pos	wY	wN	wY	Pos
0101 0029 Se03 Smear+, Culture+	Pos	103	N	wN	wN	Neg ?	wY	wY	Y	Pos
0118 0076 Se01 Non TB - No FU Labs	Neg	104	N	N	N	Neg	wN	N	N/wN	Neg
0118 0083 Se01 Non TB - No FU Labs	Neg	105	N	wN	N	Neg	N	N	N	Neg
0118 0039 Se01 Smear-, Culture+	Neg	106	N	N	N	Neg	N	N	wN	Neg ?
0118 0053 Se01 Smear-, Culture+	Pos	107	wY/wN	wYY	wY	Pos	N	N	N	Neg
0118 0036 Se01 Smear-, Culture+	Pos	108	N	N	N	Neg	wY/wN	wY	wY	Pos
0101 0053 Se02 Smear-, Culture+	Pos	109	wY/wN	N	wY/wN	Pos/Neg (?)	wY/wN	wN	wY	Pos
0101 0214 Se01 Smear+, Culture+	Neg	110	N	N	N	Neg	N	N	wN	Neg ?
0101 0215 Se06 Non TB	Neg ?	111	N	N	N	Neg	wN/wN	wN	wN/wN	Neg ?
0101 0216 Se06 Non TB	Neg or Invalid	112	wY	wN	Y	Pos (Invalid)	Y	wY	sYY	Pos (Invalid)
0101 0220 Se03 Smear+, Culture+	Pos	113	wN	wN	wY/wN	Pos/Neg (?)	wY	wY	wY/Y	Pos
0101 0245 Se05 Non TB	Neg or Invalid	114	N	N	N	Neg	wY	wY	wY	Pos (Invalid)

图11(续)

FIND代码 关键	TB结果解释	样品号	IgM Rv3120	IgM Rv1989c	IgM Rv0222	IgM Result	IgG Rv3120	IgG Rv1989c	IgG Rv0222	IgG Result
0101 0030 Se03 Smear-, Culture+	Pos	115 wY	wY	wY	Pos	Pos	N	N	N	Neg
0101 0035 Se02 Smear-, Culture+	Pos	116 wY	wY	wY	Pos	Pos	SY	wY	YwY	Pos
0101 0043 Se03 Smear+, Culture+	Pos	117 N	N	N	Neg	Neg	N	wYwY	wY	Pos
0101 0003 Se01 Smear-, Culture+	Pos	118 N	N	wYwY	Neg/Pos (?)	Pos	wY	wY	wYwY	Pos
0101 0070 Se01 Smear-, Culture+	Pos	119 N	N	wYwY	Pos/Neg (?)	Pos	wY	wY	Y	Pos
0101 0079 Se02 Smear-, Culture+	Neg	120 N	N	N	Neg	Neg	N	N	N	Neg
0101 0117 Se06 Non TB	Pos	121 wY	wYwY	wY	Pos	Pos	wY	wY	Y	Pos
0101 0120 Se Smear-, Culture+	Pos	122 wYwY	wYwY	wYwY	Neg/Pos (?)	Neg	wYwY	wY	wY	Pos
0101 0212 Se02 Smear-, Culture+	Pos	123 N	wY	wY	Pos	Pos	N	N	wY	Pos (?)
0101 0045 Se04 Smear+, Culture+	Pos	124 wY	wYwY	wY	Pos	Pos	wY	wY	wYwY	Pos
0101 0046 Se02 Smear-, Culture+	Pos	125 wY	wYwY	wYwY	Pos	Pos	N	wY	wY	Pos
0101 0048 Se01 Smear-, Culture+	Pos	126 N	N	N	Neg	Neg	wYwY	wYwY	wY	Pos
0101 0100 Se03 Smear-, Culture+	Neg ?	127 N	N	N	Neg	Neg	N	N	wY	Neg ?
0101 0102 Se03 Smear-, Culture+	Pos	128 N	N	wYwY	Neg (?)	Neg	wY	wY	wY	Pos
0101 0105 Se06 Non TB	Pos	129 wY	wY	wY	Pos	Pos	SY	wY	wY	Pos
0101 0109 Se06 Non TB	Neg	130 N	N	N	Neg	Neg	N	N	wY	Neg

图11(续)

FIND代码 关键	TB结果解释	样品号	IgM Rv3120	IgM Rv1989c	IgM Rv0222	IgM Result	IgG Rv3120	IgG Rv1989c	IgG Rv0222	IgG Result
0101 0112 Se06 Non TB	Neg	131 N	N	N	Neg	N	N	N	N	Neg
0101 0136 Se06 Non TB	Neg/Pos ?	132 wN/wY	N	wN/wY	Neg/Pos (?)	wN/wY	wN	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos (?)
0101 0137 Se02 Smear+, Culture+	Pos	133 wY	wN	wY	Pos	wY	wY	wY	wY	Pos
0101 0056 Se03 Smear+, Culture+	Pos ?	134 wN	wN	wY/wN	Pos/Neg (?)	N	N	wY	wY	Pos (?)
0101 0060 Se06 Non TB	Neg ? (Pos ?)	135 wN	N	wN	Neg ?	N	N	wY	wY	Pos ? Hook eff
0101 0139 Se03 Smear+, Culture+	Pos	136 wN	N	wN	Neg	wY	wN	wY/wN	wY/wN	Pos
0101 0157 Se06 Non TB	Pos	137 N	N	wN/wY	Neg (?)	wY	wY	Y	Y	Pos
0101 0159 Se02 Smear-, Culture+	Pos	138 wY	wY	wY	Pos	wN	wY	Y/wY	Y/wY	Pos
0101 0162 Se06 Non TB	Pos	139 wN	N	wY/wN	Neg (?)	wY	wY	Y	Y	Pos
0101 0177 Se03 Smear+, Culture+	Pos/Neg ?	140 wY/wN	wN	wN	Pos/Neg (?)	wY/wN	wN	wY/wN	wY/wN	Pos/Neg ?
0101 0000 Se02 Smear-, Culture+	Pos	141 wY/wN	wY	wY	Pos	wY	wN	wY	wY	Pos
0101 0091 Se03 Smear+, Culture+	Neg/Pos ?	142 wN/wY	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos (?)	wN	wN	wN	wN	Neg ?
0101 0093 Se06 Non TB	Neg/Pos ?	143 wN/wY	wN	wN/wY	Neg/Pos (?)	N	N	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos (?)
0101 0099 Se02 Smear-, Culture+	Pos ?	144 wN	N	wY	Pos (?)	N	wN	wY	wY	Pos (?)
0114 0116 Se03 Smear+, Culture+	Pos	145 wN	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos ?	wY/wN	wY	wY	wY	Pos
0101 4143 Se01 CX+	Pos	146 wY	wN	Y	Pos	Y/wY	wY	wY	wY	Pos
0118 0202 Se02 Smear-, Culture+	Pos ?	147 wN	N	wY	Pos ?	N	N	N	N	Neg
0114 0539 Se04 Smear+, Culture+	Neg ?	148 N	N	N	Neg	N	wN	wN	wN	Neg (?)
0118 0251 Se01 Non TB - No FU Labs	Neg ? or Pos (Hook eff)	149 N	wN	Y	Pos ?	wN/wY	wN/wY	wY	wY	Pos ?
0118 0258 Se01 Smear+, Culture+	Pos	150 wY	wN	wN/wY	Pos	N	N	wN	wN	Neg
0114 0003 Se03 Smear+, Culture+	Pos	151 wY/wN	N	wY	Pos	wY	wY	wY	wY	Pos
0101 4140 Se01 CX+	Pos	152 N	N	wN/wY	Neg/Pos ?	wY	wY	wY	wY	Pos

图12

FIND 代码 关键	TB 结果解释	样品号	IgM Rv3120	IgM Rv1009c	IgM Rv0222	IgM Result	IgG Rv3120	IgG Rv1009c	IgG Rv0222	IgG Result
0101 0138 Se03 Smear-, Culture+	Neg/Pos ?	153 N	N	N	N	Neg	wN/wY	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos (?)
0118 0170 Se02 Smear-, Culture+	Neg/Pos ?	154 wN/wY	N	N	wN/wY	Neg/Pos (?)	N	N	wN	Neg
0118 0175 Se02 Non TB - No FU Labs	Neg	155 N	N	N	N	Neg	N	N	Neg	Neg
0118 0176 Se02 Non TB - No FU Labs	Neg/Pos ?	156 wN/wY	wN	wN	wN	Neg/Pos	N	N	N/N	Neg
0118 0178 Se02 Non TB - No FU Labs	Neg	157 N	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
0118 0179 Se02	Pos	158 N	N	N	N	Neg	wN/wY	wN/wY	wY	Pos
0114 0540 Se03 Smear+, Culture+	Pos	159 N	N	N	N	Neg	wY	wY	wY	Pos
0118 0199 Se01 Non TB - No FU Labs	Neg/Pos ?	160 wN	N	N	N	Neg	wN	wN	wN/wY	Neg/Pos (?)
0114 0389 Se04	Neg	161 N	N	N	N	Neg	N	N	wN/wY	Neg (?)
0114 0520 Se03 Smear+, Culture+	Pos	162 wY	wN/wY	wN/wY	wY/wN	Pos	N	N	wN/wY	Neg/Pos (?)
6-00978	Neg	163 N/wN	N	N	N	Neg (?)	N	N	N	Neg
6-00993	Pos ?	164 wY	wN	wN	wN	Pos ?	Y	wY/wN	wY/wN	Pos
6-00995	Pos	165 wY/wN	wN/wY	wN/wY	wN	Neg/Pos (?)	wY	wY	wY	Pos
6-01051	Neg	166 N	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
1-00005	Neg or Invalid	167 wY	Y	Y	N	Pos (Invalid)	N	N	N	Neg
1-00040	Pos	168 sY/Y	wY	wY	wY/Y	Pos (Invalid)	sY	wY	wY	Pos
1-00346	Neg	169 N	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
1-00373	Neg or Invalid	170 N	N	N	N	Neg	sY	sY	Y	Pos (Invalid)
1-00034	Neg or Invalid	171 wY	wY	wY	wY	Pos (Invalid)	sY	sY	sY	Pos (Invalid)
1-00357	Neg	172 N	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
1-00331	Pos	173 Y/sY	Y	Y	sY/Y	Pos	Y	wY/wN	Y	Pos
1-00343	Neg	174 N	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg

图12(续)

FIND代码	关键	TB结果解释	样品号	IgM Rv3120	IgM Rv1895c	IgM Rv4222	IgM Result	IgG Rv3120	IgG Rv1895c	IgG Rv4222	IgG Result
1-00355		Negative or Invalid	175	wN	wN	wN	Neg ?	wY	wN	wY	Pos (Invalid)
9-03674		Neg	176	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
6-03920		Neg/Pos ?	177	wN/wY	N	wN/wY	Neg/Pos (?)	N	N	N	Neg
0118 0409 Se03 Smear+, Culture+		Neg ?	178	N/wN	N	N/wN	Neg ?	N	N	N	Neg
0141 0264 Se08 Smear+, Culture+		Neg ?	179	N	N	N	Neg	N	N	wN	Neg ?
0114 0182 Se05 Smear+, Culture+		Pos	180	N	wY	N	Pos	Y	N	Y	Pos
0101 4153 Se02 CX+		Pos	181	wN/wY	N/wN	wN/wY	Neg/Pos ?	sY	N	wY	Pos
0101 4149 Se02 CX+		Pos	182	wY	N	wY/wN	Pos	sY	N	wY	Pos
0114 0128 Se04 Smear+, Culture+		Neg	183	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
0101 4145 Se02 CX+		Pos	184	wY	wY/wN	wY	Pos	wY	wY	wY	Pos
0101 4150 Se02 CX+		Pos	185	wN	wN/wY	wN/wY	Neg/Pos ?	wN	wN	wY	Pos
0101 4004 Se02 CX+		Pos	186	wY/wN	wY/wN	wY	Pos	wN	N	wN	Neg ?
0752 0181 Se05 Latent TB		Pos	187	wN	wY	wY	Pos	N	N	N	Neg
0141 0108 Se13 Smear+, Culture+		Pos/Neg ?	188	wN	N	wY/wN	Pos/Neg (?)	N	N	N	Neg
0114 0290 Se04 Smear+, Culture+		Neg	189	N	N	N	Neg	N	N	N	Neg
0752 0126 Se02 Latent TB		Pos	190	wY	wY	wY	Pos	Y	N	N	Pos
0752 0089 Se05 Latent TB		Pos	191	N	N/wN	N/wN	Neg (?)	N	wN	wY	Pos (?)
0752 0406 Se03 Latent TB		Pos	192	wN	wY	wY	Pos	N	wY	wY	Pos
0118 0113 Se03 Smear+, Culture+		Pos	193	wN	wN	wN	Neg (?)	wY	wY	Y/wY	Pos
0114 0237 Se04 Smear+, Culture+		Pos	194	wY	wN	wN/wY	Pos	wY	wN/wY	wY	Pos
0118 0307 Se03 Smear+, Culture+		Pos	195	N	N	wN	Neg (?)	wY/wN	wY	wY	Pos

图12(续)

种类: 涂片阴性/培养阳性 种类: 涂片阴性/培养阳性 种类: 涂片-培养+胸部X-线 种类: 涂片-培养+Quantiferon 非TB														
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #1	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #8	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #17	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #31	Neg (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #43
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #2	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #7	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #26	Pos (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #33	Neg (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #5
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #8	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #15	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #32	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #40	Neg (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #14
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #10	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #20	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #34	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #42	Neg (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #16
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #11	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #36	Pos (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #63	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #66	Neg (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #18
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #12	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #37	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #67	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #67	Neg (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #20
Pos (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #19	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #67	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #46	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #51	Neg (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #25
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #21	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #68	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #132	Pos (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #55	Neg (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #27
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #22	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #69	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #81	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #53	Neg (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #35
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #28	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #70	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #82	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #60	Neg (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #38
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #29	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #72	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #84	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #65	Neg (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #43
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #31	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #77	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #85	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #74	Neg (Key)	Neg (Blind Test)	Sample #44

图13

种类: 涂片阴性/培养阳性	种类: 涂片阴性/培养阳性	种类: 涂片-/培养+/胸部X-线种类: 涂片-/培养-/Quantiferon	非TB
Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #10	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #73	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #78	Neg (Key) Neg ? (Blind Test) Sample #52
Pos (Key) Neg ? (Blind Test) Sample #58	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #81	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #84	Neg (Key) Neg (Blind Test) Sample #54
Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #59	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #82	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #85	Neg (Key) Pos (Blind Test) Sample #57
Pos (Key) Pos ? (Blind Test) Sample #60	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #84	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #88	Neg (Key) Neg (Blind Test) Sample #61
Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #63	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #85	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #92	Neg (Key) Neg (Blind Test) Sample #62
Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #66	Pos (Key) Neg ? (Blind Test) Sample #105	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #103	Neg (Key) Neg ? (Blind Test) Sample #64
Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #67	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #107	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #121	Neg (Key) Neg (Blind Test) Sample #66
Pos (Key) Neg ? (Blind Test) Sample #68	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #108	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #122	Neg (Key) Neg ? (Blind Test) Sample #71
Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #69	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #109		Neg (Key) Neg (Blind Test) Sample #73
Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #90	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #115		Neg (Key) Neg ? (Blind Test) Sample #91
Pos (Key) Neg ? (Blind Test) Sample #92	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #118		Neg (Key) Neg (Blind Test) Sample #104
Pos (Key) Neg ? (Blind Test) Sample #93	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #118		Neg (Key) Neg (Blind Test) Sample #105
Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #98	Pos (Key) Pos (Blind Test) Sample #119		Neg (Key) Neg ? (Blind Test) Sample #111

图13(续)

种类: 涂片阴性/培养阳性种类: 涂片阴性/培养阳性种类: 涂片-线种类: 涂片-培养-Quantiferon 非TB								
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #99	Pos (Key)	Neg ? (Blind Test)	Sample #120		Neg (Key)	Neg (Blind Test) Sample #112
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #100	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #122		Neg (Key)	Neg (Blind Test) Sample #114
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #101	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #123		Neg (Key)	Pos (Blind Test) Sample #121
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #102	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #125		Neg (Key)	Pos (Blind Test) Sample #129
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #103	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #126		Neg (Key)	Neg (Blind Test) Sample #130
Pos (Key)	Neg ? (Blind Test)	Sample #110	Pos (Key)	Neg ? (Blind Test)	Sample #127		Neg (Key)	Neg (Blind Test) Sample #131
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #113	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #128		Neg (Key)	Neg Hook eff (Blind Test) Sample #135
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #117	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #133		Neg (Key)	Pos (Blind Test) Sample #137
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #124	Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #141		Neg (Key)	Pos (Blind Test) Sample #139
Pos (Key)	Pos ? (Blind Test)	Sample #134	Pos (Key)	Pos ? (Blind Test)	Sample #144		Neg (Key)	Pos ? (Blind Test) Sample #149
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #136	Pos (Key)	Pos ? (Blind Test)	Sample #147		Neg (Key)	Neg (Blind Test) Sample #155
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #145					Neg (Key)	Neg (Blind Test) Sample #157

图13(续)

种类: 涂片阴性/培养阳性 种类: 涂片阴性/培养阳性 种类: 涂片阴性/培养阳性 种类: 涂片-培养+/胸部X-线种类: 涂片-培养+/Quantiferon 非TB					
Pos (Key)	Neg ? (Blind Test)	Sample #148			
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #150			
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #151			
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #159			
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #162			
Pos (Key)	Neg ? (Blind Test)	Sample #176			
Pos (Key)	Neg ? (Blind Test)	Sample #179			
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #180			
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #183			
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #189			
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #193			
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #194			

图13 (续)

种类: 涂片阴性/培养阳性种类: 涂片阴性/培养阳性种类: 涂片- /培养- /Quantiferon 非TB			
Pos (Key)	Pos (Blind Test)	Sample #15	
Pos (Key)	NegPos (Blind Test)	Sample #13	Pos (Key)
			NegPos (Blind Test) Sample #14
Pos (Key)	NegPos (Blind Test)	Sample #23	Pos (Key)
			NegPos (Blind Test) Sample #53
Pos (Key)	Pos/Neg (Blind Test)	Sample #40	Pos (Key)
			PosPos (Blind Test) Sample #54
Pos (Key)	NegPos (Blind Test)	Sample #50	
Pos (Key)	Pos/Neg (Blind Test)	Sample #79	
Pos (Key)	Pos/Neg (Blind Test)	Sample #140	
Pos (Key)	NegPos (Blind Test)	Sample #142	
Pos (Key)	Pos/Neg (Blind Test)	Sample #188	
			Neg (Key)
			NegPos (Blind Test) Sample #9
			Neg (Key)
			NegPos (Blind Test) Sample #29
			Neg (Key)
			NegPos (Blind Test) Sample #45
			Neg (Key)
			NegPos (Blind Test) Sample #53
			Neg (Key)
			NegPos (Blind Test) Sample #75
			Neg (Key)
			NegPos (Blind Test) Sample #132
			Neg (Key)
			NegPos (Blind Test) Sample #143
			Neg (Key)
			NegPos (Blind Test) Sample #150
			Neg (Key)
			NegPos (Blind Test) Sample #160

图13(续)

测试说明	最小所需值
医疗决定	治疗开始
灵敏度-成人 (仅适用于肺结核; 不考虑HIV状况)	肺结核: -95%为涂片阳性, 培养阳性 -60-80%为涂片阴性, 培养阳性 [检测肺外结核为优选但不是最低要求]
灵敏度-儿童 (包括肺外结核; 不考虑HIV状况)	-80%与任何样本的培养物相比, 和 -60%的可能结核病 (注意缺乏金标准的问题)
特异性-成人	-95%与培养物相比
特异性-儿童	-90%培养阴性可能结核病 (注意缺乏金标准的问题) -95%与培养物相比
结果的时间	最多3小时 (患者必须在同一天收到结果) [理想的是<15分钟]
工作量	每天最少20次测试, 由1位实验室技术人员完成
样本类型	成人: 尿液、口腔、呼吸、静脉血、痰液 [需要: 非痰基样本和使用手指刺而不是静脉血] 儿童: 尿液、口腔、毛细血管 (指尖/足跟血样)
样本制备	最多3个步骤 -安全生物安全等级1 -使用近似体积的能力 (即不需要精确的移液) -对时间不敏感的制剂

图14

测试说明	最小所需值
样本数量	每次测试一个样本
读出	- 易读、不含糊、简单的“是”、“否”或“无效”答案 - 可读至少1小时
废物处理	- 简单的燃烧或锐化处理；没有玻璃成分 - 环境可接受的处置
对照	- 测试试剂盒中包含的阳性对照 - 质量控制比痰涂片显微镜更简单，更容易
试剂	- 自包含试剂盒中的所有试剂 - 试剂盒包含样品采集装置和水（如果需要）
所需储存/稳定性	- 24个月的保质期，包括试剂 - 在30°C时稳定，在较高温度下保持较短时间 - 在高湿度环境中稳定
仪器仪表	- 如果需要仪器，无需维护 - 仪器在热带条件下工作 - 可接受的重置成本 - 适合背包 - 耐冲击
电源要求	可以使用电池工作
训练	- 1天最长训练时间 - 可以由任何医务工作人员执行
成本	扩大规模后每次测试<10美元

图14(续)

专利名称(译)	结核分枝杆菌蛋白诊断测定和结核病检测和诊断装置		
公开(公告)号	CN110073215A	公开(公告)日	2019-07-30
申请号	CN201780072214.1	申请日	2017-11-22
发明人	H-H·T·阮氏		
IPC分类号	G01N33/543 G01N33/569 G01N33/53 C07K14/35		
CPC分类号	G01N33/505 G01N33/5695 G01N33/6866 G01N2333/57 G01N2469/20 C07K16/1289 C07K2317/34 C07K2317/92 G01N33/538		
代理人(译)	唐晓峰		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明提供一种检测来自受试者的样品中抗体的方法，其中所述抗体于结核分枝杆菌抗原表位结合，所述方法包括：使所述样品与两种或多种分离的多肽或其抗原性片段或变体接触，其中所述多肽包含选自SEQ ID NO：1、3、5、7、9、11、13和15的多肽；和检测包含所述分离的多肽或其抗原性片段或变体的抗体-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结核分枝杆菌抗原表位的抗体。

