

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102099680 A

(43) 申请公布日 2011.06.15

(21) 申请号 200980128216.3

劳里 .A. 弗林 迈克尔 . 克劳福德

(22) 申请日 2009.05.18

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

(30) 优先权数据

代理人 封新琴

61/128,077 2008.05.19 US

61/128,099 2008.05.19 US

61/128,079 2008.05.19 US

61/128,076 2008.05.19 US

61/122,254 2008.12.12 US

61/122,260 2008.12.12 US

(51) Int. Cl.

G01N 33/53 (2006.01)

G01N 33/569 (2006.01)

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011.01.19

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2009/044405 2009.05.18

(87) PCT申请的公布数据

W02009/143083 EN 2009.11.26

(71) 申请人 艾德克斯实验室公司

地址 美国缅因州

申请人 戴弗根斯公司

权利要求书 5 页 说明书 34 页

(72) 发明人 戴维 .A. 埃尔西莫尔 耿进明

序列表 32 页 附图 17 页

(54) 发明名称

用于检测蛔虫、鞭虫和钩虫的方法、装置、试剂盒和组合物

(57) 摘要

本文公开了用于检测一种或多种寄生虫粪抗原 (helminthic coproantigen) 的方法、装置、试剂盒和组合物。本发明的方法、装置、试剂盒和组合物可用于在哺乳动物的粪便试样中确证蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫是否存在, 且还能够分辨一种或多种寄生虫感染。在哺乳动物中确证蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫是否存在可用于, 例如, 选择治疗所述哺乳动物的最佳方案和 / 或在治疗开始后确定所述哺乳动物是否已经驱除了所述感染。

1. 一种在试样中检测一种或多种寄生虫抗原是否存在的方法,所述方法包括:
 - (a) 将来自哺乳动物的试样与至少两种选自下组的抗体接触:
 - (i) 第一抗体,其能够特异性结合蛔虫粪抗原,但不结合鞭虫或钩虫粪抗原;
 - (ii) 第二抗体,其能够特异性结合鞭虫粪抗原,但不结合蛔虫或钩虫粪抗原;和
 - (iii) 第三抗体,其能够特异性结合钩虫粪抗原,但不结合鞭虫或钩虫粪抗原;
 - (b) 在试样中,如果有所述粪抗原,那么在所述粪抗原的存在下形成抗体-粪抗原复合物;和
 - (c) 如果有,检测所述抗体-粪抗原复合物是否存在。
2. 一种诊断哺乳动物是否被一种或多种寄生虫感染的方法,所述方法包括下述步骤:
 - (a) 将来自哺乳动物的试样与至少两种选自下组的抗体接触:
 - (i) 第一抗体,其能够特异性结合蛔虫粪抗原,但不结合鞭虫或钩虫粪抗原;
 - (ii) 第二抗体,其能够特异性结合鞭虫粪抗原,但不结合蛔虫或钩虫粪抗原;和
 - (iii) 第三抗体,其能够特异性结合钩虫粪抗原,但不结合鞭虫或钩虫粪抗原;
 - (b) 在试样中,如果有所述粪抗原,那么在所述粪抗原的存在下形成抗体-粪抗原复合物;
 - (c) 如果有,检测所述抗体-粪抗原复合物是否存在;和
 - (d) 诊断所述哺乳动物罹患:
 - (i) 蛔虫感染,如果存在蛔虫抗体-粪抗原复合物;
 - (ii) 鞭虫感染,如果存在鞭虫抗体-粪抗原复合物;和
 - (iii) 钩虫感染,如果存在钩虫抗体-粪抗原复合物。
3. 权利要求 1 或 2 的方法,其中:
 - (a) 所述第一抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:38 或 Copro6728;或所述第一抗体是针对全蛔虫提取物,或蛔虫生殖器官提取物,或蛔虫肠提取物而产生的;
 - (b) 所述第二抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 或 SEQ ID NO:9;和
 - (c) 所述第三抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO:33 或 SEQ ID NO:34,或 CoproASP5。
4. 权利要求 1-3 任一项所述的方法,其中所述第一抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:38 或 Copro6728;或所述第一抗体是针对全蛔虫提取物,或蛔虫生殖器官提取物,或蛔虫肠提取物而产生的。
5. 权利要求 1-4 任一项所述的方法,其中所述第二抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID

NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8 或 SEQID NO :9。

6. 权利要求 1-5 任一项所述的方法,其中所述第三抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO :33 或 SEQID NO :34,或 CoproASP5。

7. 权利要求 1-6 任一项所述的方法,其中所述第一、第二和第三抗体可特异性结合于具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列为具有 30 个或更少的保守氨基酸取代的 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ IDNO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9 SEQ ID NO :12、SEQ IDNO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ IDNO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34 或 SEQ ID NO :38。

8. 权利要求 1-7 任一项所述的方法,其中所述粪抗原是具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列是 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9 SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33 或 SEQ ID NO :34、SEQ ID NO :38、Copro6728 或 CoproASP5 的保守变体。

9. 权利要求 1-8 任一项所述的方法,其中所述试样从犬科或猫科的哺乳动物获得。

10. 权利要求 1-9 任一项所述的方法,其中所述蛔虫是犬弓首线虫 (*Toxocara canis*) 或猫弓首线虫 (*Toxocara cati*)、牛弓首线虫 (*Toxocaravitulorum*)、狮弓蛔线虫 (*Toxascaris leonina*)、浣熊拜林蛔线虫 (*Baylisascaris procyonis*)、鸡蛔型线虫 (*Ascaridia galli*)、马副蛔线虫 (*Parascaris equorum*)、猪蛔线虫 (*Ascaris suum*) 或似蛔蛔线虫 (*Ascaris lumbricoides*)、单一无饰线虫 (*Anisakis simplex*) 和 *Pseudoterranova decipiens*。

11. 权利要求 1-10 任一项所述的方法,其中所述鞭虫是狐毛尾线虫 (*Trichuris vulpis*)、*Trichuris campanula*、有齿毛尾线虫 (*Trichuris serrata*)、猪毛尾线虫 (*Trichuris suis*)、毛尾毛尾线虫 (*Trichuris trichiura*)、褪色毛尾线虫 (*Trichuris discolor*) 和毛尾毛首线虫 (*Trichocephalus trichiuris*)。

12. 权利要求 1-11 任一项所述的方法,其中所述钩虫是犬钩口线虫 (*Ancylostoma caninum*)、巴西钩口线虫 (*Ancylostoma braziliense*)、十二指肠钩口线虫 (*Ancylostoma duodenal*)、锡兰钩口线虫 (*Ancylostoma ceylanicum*)、*Ancylostoma tubaeforme* 和多齿钩口线虫 (*Ancylostoma pluridentatum*)、美洲板口线虫 (*Necator americanus*) 和狭首钩形线虫 (*Uncinaria stenocephala*)。

13. 权利要求 1-12 任一项所述的方法,其中所述蛔虫粪抗原、钩虫粪抗原和/或鞭虫粪抗原来自粪便试样。

14. 权利要求 1-13 任一项所述的方法,其中所述第一、第二和第三抗体不特异性结合任何来源于犬恶丝虫的粪抗原。

15. 权利要求 1-14 任一项所述的方法,其中检测所述复合物是否存在的步骤还包括提供至少一种结合于至少一种复合物的二抗的步骤。

16. 权利要求 15 的方法,其中所述至少一种二抗是标记的。

17. 权利要求 1-15 任一项所述的方法,其中所述第一、第二和第三抗体中的一种或多种是标记的。

18. 权利要求 1-17 任一项所述的方法,其中所述第一、第二和第三抗体固定于固体支持物上。

19. 权利要求 18 的方法,其中所述固体支持物形成酶联免疫吸附测定装置的部分。

20. 权利要求 19 的方法,其中所述酶联免疫吸附测定装置是侧流免疫测定装置。

21. 权利要求 1-20 任一项所述的方法,还包括将所述试样与一种或多种试剂相接触的步骤,以检测下组的一种或多种:一种或多种非蠕虫寄生物、犬恶丝虫、一种或多种病毒、一种或多种真菌和一种或多种细菌。

22. 权利要求 21 的方法,其中供检测一种或多种非蠕虫寄生物、一种或多种病毒、一种或多种真菌和一种或多种细菌中任一或所有的试剂是一种或多种抗体,或由下述抗体识别的一种或多种抗原,所述抗体对所述一种或多种非蠕虫寄生物、一种或多种病毒、一种或多种真菌或一种或多种细菌具有特异性。

23. 权利要求 1-21 任一项所述的方法,还包括确定来自所述蛔虫、鞭虫或钩虫的核酸是否存在的步骤。

24. 权利要求 23 的方法,其中所述核酸具有下述序列,所述序列对应于 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:31 或 SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:38、Copro6728 或 CoproASP5 的全部或部分,或为 SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2、SEQ ID NO:10、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:25、SEQ ID NO:31、或 SEQ ID NO:32、SEQ ID NO:38、Copro6728 或 CoproASP5 的全部或部分的保守变体。

25. 权利要求 23 的方法,其中确定所述核酸是否存在的步骤是通过使用基于聚合酶链式反应 (PCR) 的测定法进行的。

26. 一种检测来自试样的一种或多种寄生虫抗原是否存在的装置;所述装置包含固体支持物,其中至少两种选自下组的抗体固定在所述固体支持物上:

(a) 第一抗体,其能够特异性结合蛔虫粪抗原,但不结合鞭虫或钩虫粪抗原;

(b) 第二抗体,其能够特异性结合鞭虫粪抗原,但不结合蛔虫或钩虫粪抗原;和

(c) 第三抗体,其能够特异性结合钩虫粪抗原,但不结合鞭虫或蛔虫粪抗原。

27. 权利要求 26 的装置,还包括一种或多种类型的蛔虫抗原、鞭虫抗原和/或钩虫抗原,其中一种或多种类型的蛔虫抗原、鞭虫抗原和钩虫抗原特异性结合于所述抗体。

28. 权利要求 26 或 27 任一项所述的装置,其中:

(a) 所述第一抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:38 或 Copro6728 或其抗原性部分;或所述第一抗体是针对全蛔虫提取物,或蛔虫生殖器官提取物,或蛔虫肠提取物而产生的;

(b) 所述第二抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8 和

SEQ ID NO :9 或其抗原性部分 ;或

(c) 所述第三抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO :33 或 SEQ ID NO :34,或 CoproASP5,或其抗原性部分。

29. 权利要求 26-28 任一项所述的方法,其中所述第一抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :38 或 Copro6728 或其抗原性部分 ;或所述第一抗体是针对全蛔虫提取物,或蛔虫生殖器官提取物,或蛔虫肠提取物而产生的。

30. 权利要求 26-29 任一项所述的装置,其中所述第二抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8 或 SEQ ID NO :9 或其抗原性部分。

31. 权利要求 26-30 任一项所述的装置,其中所述第三抗体能够特异性结合具有下述氨基酸序列的多肽,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO :33 或 SEQ ID NO :34,或 CoproASP5,或其抗原性部分。

32. 权利要求 28 的装置,其中所述多肽的氨基酸序列是 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34、SEQ ID NO :38、Copro6728 或 CoproASP5 的保守变体。

33. 权利要求 26 的装置,其中所述第一、第二和第三抗体是通过用具有下述氨基酸序列的多肽进行免疫接种而获得的,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34、SEQ ID NO :38、Copro6728 或 CoproASP5,或具有 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34、SEQ ID NO :38、Copro6728 或 CoproASP5 的抗原性部分。

34. 权利要求 32 的装置,其中所述多肽的氨基酸序列为具有 30 个或更少的保守氨基酸取代的 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34 或 SEQ ID NO :38。

35. 权利要求 26 的装置,其中所述试样是粪便试样。

36. 权利要求 35 的装置,其中所述第一、第二和第三抗体并不特异性结合任何来源于犬恶丝虫的粪抗原。

37. 权利要求 26-36 任一项所述的装置,其中所述装置是酶联免疫吸附测定装置。

38. 权利要求 26-37 任一项所述的装置,其中所述酶联免疫吸附测定装置是侧流免疫测定装置。

39. 权利要求 26-38 任一项所述的装置,其中所述试样来自犬科动物或猫科动物。

40. 权利要求 26-39 任一项所述的装置,其中所述装置还包括一种或多种试剂,供检测下组的一种或多种:一种或多种非蠕虫寄生虫、犬恶丝虫、一种或多种病毒、一种或多种真菌和一种或多种细菌。

41. 一种供检测哺乳动物试样中一种或多种蛔虫粪抗原、一种或多种鞭虫粪抗原和/或一种或多种钩虫粪抗原的试剂盒,所述试剂盒包括权利要求 26-40 任一项所述的装置,以及足以检测所述一种或多种抗原的一种或多种试剂。

42. 权利要求 41 的试剂盒,其中一种或多种试剂选自下组:一种或多种指示试剂、一种或多种抗体标记化合物、一种或多种抗体、一种或多种抗原捕捉试剂、一种或多种抑制剂和一种或多种洗涤试剂。

用于检测蛔虫、鞭虫和钩虫的方法、装置、试剂盒和组合物

[0001] 交叉引用

[0002] 本申请要求提交于 2008 年 12 月 12 日的美国临时专利申请系列号 61/122260 ;提交于 2008 年 5 月 19 日的 61/128077 ;提交于 2008 年 5 月 19 日的 61/128079 ;提交于 2008 年 5 月 19 日的 61/128076 ;提交于 2008 年 5 月 19 日的 61/128099 ;和提交于 2008 年 12 月 12 日的 61/122254 ;以及提交于 2007 年 6 月 15 日的美国专利申请系列号 11/763592 和提交于 2007 年 6 月 15 日的 11/763583, 其以全文提述的方式并入本文。

[0003] 发明背景

1. 发明领域

[0004] 本发明设计用于在哺乳动物中检测和分辨蛔虫、鞭虫和钩虫的组合物、装置、试剂盒和方法。更具体而言, 本发明涉及抗体和抗体组合物、装置、试剂盒和方法, 其用于在来自哺乳动物的试样中检测蛔虫抗原、鞭虫抗原和钩虫抗原是否存在, 以及用于分辨蛔虫、鞭虫和钩虫抗原。

[0005] 2. 现有技术描述

[0006] 寄生性蠕虫 (parasitic worm) (寄生虫 (helminth)) 感染在动物中是常见的, 而且, 如果不进行诊断和治疗, 会导致严重的疾病或死亡。现行用于诊断寄生性蠕虫感染的方法主要涉及对粪便试样的显微镜检查, 或者直接在粪便涂片中, 或是在通过密度介质中的浮选来浓缩卵和寄生虫后进行。尽管此规程被广泛采用, 但是该方法具有显著的缺点。这些显微术方法是费时的, 要求专门的仪器。另外, 这些方法的结果的准确性高度依赖于操作人员的技术和专长。举例而言, 鞭虫的存在是通过寻找卵来确定的, 但其排泄 (excrete) 是间歇性的, 且量少。在早期感染或在幼年动物中检测钩虫对于普通从业医师而言是困难的。使用显微镜检查的蛔虫诊断的特异性约为 50%。

[0007] 粪便处理令人生厌并且有害。卫生的和令人生厌的处理粪便步骤是费事的, 且常常是复杂的。上述步骤可包括称重、离心和储藏, 这些是困难的, 除非是在配备有合适的设备、保护装置和熟练技工的临床实验室中。因此, 任何对进行粪便测试所需步骤数的减少, 以及任何测试操作人员与测试材料之间接触的减少都是令人期待的。临床实验室已使用免疫测定方法在粪便中检测了不同的病毒、细菌和非蠕虫寄生虫 (non-helminth parasite) 以及生物。然而, 仍有对简单的用于在粪便、全血或血清中检测寄生性蠕虫感染的免疫测定方法的需求。

[0008] 发明概述

[0009] 在一个方面, 本发明提供用于从试样特异性结合并分离寄生虫抗原 (例如, 从粪便试样特异性结合并分离粪抗原) 的装置, 所述装置包含固体支持物, 其中至少两种选自下组的抗体固定在所述固体支持物上: (a) 第一抗体, 其能够特异性结合蛔虫粪抗原, 但不结合鞭虫或钩虫粪抗原; (b) 第二抗体, 其能够特异性结合鞭虫粪抗原, 但不结合蛔虫或钩虫粪抗原; 和 (c) 第三抗体, 其能够特异性结合钩虫粪抗原, 但不结合鞭虫或钩虫粪抗原。所述装置可以是, 但不限于, 例如, ELISA 装置, 如侧流免疫测定装置或微滴定板装置。可

由所述装置对蛔虫、鞭虫和钩虫进行测试的试样包括但不限于,粪便、消化道粘液、尿、全血、血清、乳房乳汁和全组织,举例而言,如来自乳腺、肠、肝、心、肺、食道、脑、肌肉和眼的组织。所述装置还可包括(但无需包括)用于检测选自下组的一种或多种的一种或多种试剂:一种或多种非蠕虫寄生虫、一种或多种病毒、一种或多种真菌和一种或多种细菌。

[0010] 还在另一个方面,本发明提供了在试样中检测一种或多种寄生性蠕虫抗原(例如,来自粪便试样的粪抗原)是否存在的方法,所述方法包括:(a)将来自哺乳动物的试样与至少两种选自下组的抗体接触:(i)第一抗体,其能够特异性结合蛔虫粪抗原,但不结合鞭虫或钩虫粪抗原;(ii)第二抗体,其能够特异性结合鞭虫粪抗原,但不结合蛔虫或钩虫粪抗原;和(iii)第三抗体,其能够特异性结合钩虫粪抗原,但不结合鞭虫或钩虫粪抗原;(b)在所述粪抗原的存在下(如果有),在试样中形成抗体-粪抗原复合物;以及(c)检测所述抗体-粪抗原复合物(如果有)是否存在。所述一种或多种寄生虫粪抗原包括蛔虫,如犬弓首线虫(*Toxocara canis*(*T. canis*))、猫弓首线虫(*Toxocara cati*(*T. cati*))、牛弓首线虫(*Toxocara vitulorum*(*T. vitulorum*))、狮弓蛔线虫(*Toxascaris leonina*(*T. leonina*))、浣熊拜林蛔线虫(*Baylisascaris procyonis*(*B. procyonis*))、鸡蛔型线虫(*Ascaridia galli*(*A. galli*))、马副蛔线虫(*Parascaris equorum*(*P. equorum*))、猪蛔线虫(*Ascaris suum*(*A. suum*))或似蛔蛔线虫(*Ascarislumbricoides*(*A. lumbricoides*))、单一无饰线虫(*Anisakis simplex*(*A. simplex*))或 *Pseudoterranova decipiens*(*P. decipiens*)的抗原,鞭虫,如狐毛尾线虫(*Trichuris vulpis*)、*Trichuris campanula*、有齿毛尾线虫(*Trichuris serrata*)、猪毛尾线虫(*Trichuris suis*)、毛尾毛尾线虫(*Trichuris trichiura*)和褪色毛尾线虫(*Trichuris discolor*)的抗原,以及钩虫,如犬钩口线虫(*Ancylostoma caninum*)、巴西钩口线虫(*Ancylostoma braziliense*)、十二指肠钩口线虫(*Ancylostomaduodenal*)、锡兰钩口线虫(*Ancylostoma ceylanicum*)、*Ancylostoma tubaeforme*和多齿钩口线虫(*Ancylostoma pluridentatum*)、美洲板口线虫(*Necator americanus*)和狭首钩形线虫(*Uncinaria stenocephala*)的抗原,例如,其在从哺乳动物(如犬、猫、猪、牛或人)得到的试样中,并区分蛔虫、鞭虫和钩虫。在一个方面,实施所述方法以就蛔虫粪抗原、鞭虫粪抗原和钩虫粪抗原对哺乳动物粪便试样进行测试。然而,实施所述方法并不仅限于用于测试粪便试样。因此,除了粪便以外,所述试样可以为,但不限于,例如全血、血清、乳房乳汁和全组织,如来自乳腺、肠、肝、心、肺、食道、脑、肌肉和眼的组织。

[0011] 还在另一个方面,本发明提供了诊断哺乳动物是否被一种或多种寄生虫感染的方法,所述方法包括下述步骤:(a)将来自哺乳动物的试样与至少两种选自下组的抗体接触:(i)第一抗体,其能够特异性结合蛔虫粪抗原,但不结合鞭虫或钩虫粪抗原;(ii)第二抗体,其能够特异性结合鞭虫粪抗原,但不结合蛔虫或钩虫粪抗原;和(iii)第三抗体,其能够特异性结合钩虫粪抗原,但不结合鞭虫或钩虫粪抗原;(b)在所述粪抗原的存在下(如果有),在试样中形成抗体-粪抗原复合物;以及(c)检测所述抗体-粪抗原复合物(如果有)是否存在;和(d)诊断所述哺乳动物罹患:(i)蛔虫感染,如果存在蛔虫抗体-粪抗原复合物;(ii)鞭虫感染,如果存在鞭虫抗体-粪抗原复合物;和(iii)钩虫感染,如果存在钩虫抗体-粪抗原复合物。所述方法还可用于测试和分辨蛔虫、鞭虫和/或钩虫对环境的污染。可由所述装置就蛔虫、鞭虫和/或钩虫进行测试的环境试样包括但不限于土壤、腐

败材料或来自居住环境（包括院落、花园、砂箱和操场）的粪便物质。测试位置还可包括公园、沙滩、森林、农场或其他暴露于来自犬、猫或其他蛔虫哺乳动物宿主的粪便物质的位置。也可测试来自室内和室外垃圾箱的粪便。

[0012] 还在另一个方面，本发明包括供实施本发明方法一个或多个步骤的试剂盒。所述试剂盒可以可选地包括，例如，本发明的装置和一种或多种组合物，以及实施本发明方法的说明书。所述试剂盒还可以可选地包括，例如，一种或多种指示剂 (indicator reagent)、一种或多种抗体标记化合物、一种或多种抗体、一种或多种抗原捕获剂 (antigen capture reagent)、一种或多种抑制剂和一种或多种洗涤剂 (wash reagent)，其作为所述装置的一部分使用和 / 或用于实施所述方法。

[0013] 还在另一个方面，本发明包括供特异性结合来自试样的寄生虫抗原（例如，来自粪便试样的粪抗原）的装置，所述装置包含固体支持物，其中在所述固体支持物上固定至少两种选自下组的抗体：(a) 第一抗体，其能够特异性结合蛔虫粪抗原，但不结合鞭虫或钩虫粪抗原；(b) 第二抗体，其能够特异性结合鞭虫粪抗原，但不结合蛔虫或钩虫粪抗原；(c) 第三抗体，其能够特异性结合钩虫粪抗原，但不结合鞭虫或钩虫粪抗原；和 (d) 一种或多种类型的蛔虫抗原、鞭虫抗原和 / 或钩虫抗原，其中所述一种或多种类型的蛔虫抗原、鞭虫抗原和钩虫抗原与所述抗体特异性结合。

[0014] 附图简述

[0015] 图 1 显示了 ELISA 测定法的结果，其通过使用侧流装置实施，并遵循本发明第一个实施例中的方法测试来自自由蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫感染的犬的粪便试样。

[0016] 图 2 显示了 ELISA 测定法的结果，其通过使用微滴定板实施，并遵循本发明第二个实施例中的方法测试来自自由蛔虫、钩虫、鞭虫或犬恶丝虫感染的犬的粪便试样。

[0017] 图 3 显示了来自狐毛尾线虫全成虫的 1210- 核苷酸 cDNA 序列的核苷酸序列 (SEQ ID NO :1)。

[0018] 图 4 显示了来自狐毛尾线虫全成虫的 1059- 核苷酸 cDNA 序列的核苷酸序列 (SEQ ID NO :2)。

[0019] 图 5 显示了 SEQ ID NO :3 和 SEQ ID NO :4 的比较比对，SEQ ID NO :3 和 SEQ ID NO :4 的共有序列示于 SEQ ID NO :9。

[0020] 图 6 显示了来自犬弓首线虫全成虫的 865- 核苷酸 cDNA 序列的核苷酸序列 (SEQ ID NO :10)。

[0021] 图 7 显示了来自猫弓首线虫全成虫的 632- 核苷酸 cDNA 序列的核苷酸序列 (SEQ ID NO :11)。

[0022] 图 8 显示了 SEQ ID NO :13 和 SEQ ID NO :14 的比较比对，SEQ ID NO :13 和 SEQ ID NO :14 的共有序列示于 SEQ ID NO :16。

[0023] 图 9 显示了来自犬弓首线虫全成虫的 535- 核苷酸 cDNA 序列的核苷酸序列 (SEQ ID NO :17)。

[0024] 图 10 显示了来自猫弓首线虫全成虫的 536- 核苷酸 cDNA 序列的核苷酸序列 (SEQ ID NO :18)。

[0025] 图 11 显示了 SEQ ID NO :20 和 SEQ ID NO :21 的比较比对，SEQ ID NO :20 和 SEQ ID NO :21 的共有序列示于 SEQ ID NO :23。

[0026] 图 12 显示了来自犬弓首线虫全成虫的 469-核苷酸 cDNA 序列的核苷酸序列 (SEQ ID NO :24)。

[0027] 图 13 显示了来自猫弓首线虫全成虫的 548-核苷酸 cDNA 序列的核苷酸序列 (SEQ ID NO :25)。

[0028] 图 14 显示了 SEQ ID NO :27 和 SEQ ID NO :28 的比较比对, SEQ ID NO :27 和 SEQ ID NO :28 的共有序列示于 SEQ ID NO :30。

[0029] 图 15 显示了用 SP 柱的洗脱级分作为试样的 ELISA,且通过遵循本发明在第三个实施例中的方法洗脱所述 SP 柱,可将 Copro6728 部分地纯化和富集。

[0030] 图 16 显示了遵循本发明在第三个实施例中的方法,使用以兔抗全长 DIV6728 IgG-HRP 作为探针的 Western 印迹,发现 Copro6728 的分子量约为 7KD。

[0031] 图 17 显示了使用以 Imperial Protein Staining 染色的 SDS-PAGE 凝胶,遵循本发明在第三个实施例中的方法,发现 Copro6728 的分子量约为 7KD。

[0032] 图 18 显示了遵循本发明在第三个实施例中的方法,由质谱分析鉴定的全长 DIV6728 (SEQ ID NO :21) 的氨基酸序列,以及两个肽 (SEQ ID NO :35 和 SEQ ID NO :36),其在阴影框中用高光显示。

[0033] 图 19 显示了遵循本发明在第四个实施例中的方法,由构建体编码的 6728N (SEQ ID NO :37) 和 6728C (SEQ ID NO :38) 氨基酸序列的比对。

[0034] 图 20 显示了遵循本发明在第四个实施例中的方法,加载了不同试样以检查所述重组 6728N 纯度的 SDS-PAGE 凝胶。

[0035] 图 21 显示了遵循本发明在第四个实施例中的方法,加载了不同试样以检查所述重组 6728C 纯度的 SDS-PAGE 凝胶。

[0036] 图 22 显示了遵循本发明在第四个实施例中的方法,用不同的粪便试样获得 ELISA 数据以测试针对不同重组 6728 蛋白质的不同多克隆抗体。

[0037] 图 23 显示了遵循本发明在第四个实施例中的方法,用重组蛋白获得 ELISA 数据以测试针对不同重组 6728 蛋白质的不同多克隆抗体。

[0038] 图 24 显示了遵循本发明在第四个实施例中的方法,以兔抗全长 DIV6728 IgG-HRP 作为探针,用不同的粪便试样进行的 Western 印迹。

[0039] 图 25 显示了遵循本发明在第四个实施例中的方法,以兔抗 6728C IgG-HRP 作为探针,用不同的粪便试样进行的 Western 印迹。

[0040] 图 26 显示了遵循本发明在第四个实施例中的方法,以兔抗 6728N IgG-HRP 作为探针,用不同的粪便试样进行的 Western 印迹。

[0041] 发明详述

[0042] I. 介绍

[0043] 本发明一般性地涉及用于在从哺乳动物获得的粪便试样中检测和分辨蛔虫、鞭虫和钩虫的方法、装置和试剂盒。例如,本发明涉及来自弓首属 (*Toxocara*),如犬弓首线虫和猫弓首线虫的蛔虫粪抗原,来自毛尾属 (*Trichuris*),如狐毛尾线虫的鞭虫粪抗原,以及钩口属 (*Ancylostoma*),如犬钩口线虫的钩虫粪抗原。具体而言,本发明涉及用于检测和分辨例如蛔虫,如弓首属、弓蛔属 (*Toxascaris*)、拜林蛔线虫属 (*Baylisascaris*)、蛔型属 (*Ascaridia*)、副蛔属 (*Parascaris*)、蛔属 (*Ascaris*)、无饰属 (*Anisakis*) 或伪新地蛔线虫

属 (Pseudoterranova), 包括犬弓首线虫、猫弓首线虫、牛弓首线虫、狮弓蛔线虫、浣熊拜林蛔线虫、鸡蛔形线虫、马副蛔线虫、似蚓蛔线虫和猪蛔线虫、单一无饰线虫和 *P. decipiens*, 鞭虫, 如狐毛尾线虫、有齿毛尾线虫和 *Trichuris campanula*、毛尾毛尾线虫, 以及钩虫, 如犬钩口线虫、巴西钩口线虫、十二指肠钩口线虫、锡兰钩口线虫、*Ancylostoma tubaeforme* 和多齿钩口线虫、美洲板口线虫和狭首钩形线虫。

[0044] 本发明提供了与现有的显微镜检查技术相比较佳的替代手段。其确凿如此, 因为本发明提供了用于在来自哺乳动物的试样中检测蛔虫、鞭虫和钩虫是否存在的装置、试剂盒和方法, 其: (1) 既易于使用并给出稳定可靠的结果; (2) 使得能够确证鞭虫在哺乳动物中是否存在, 而不论该哺乳动物是否受钩虫、蛔虫和 / 或犬恶丝虫 (heartworm) 感染; (3) 可在其卵首次出现在受感染的宿主粪便之前检测蛔虫、鞭虫和钩虫; 以及 (4) 可分辨蛔虫、鞭虫和钩虫感染。

[0045] 本发明部分基于发现对蛔虫、鞭虫和钩虫感染有特异性的组合物具有未预料到的性质。具体而言, 确定了针对蠕虫特异性多肽产生的抗体 (或针对全蠕虫提取物、或蠕虫生殖器官提取物或蠕虫肠提取物产生的抗体) 可在哺乳动物中用于捕获、检测和区分蛔虫抗原、鞭虫抗原和钩虫抗原。针对每种类型的蠕虫的特异性是令人惊讶的, 因为蛔虫、鞭虫和钩虫均为彼此相关的线虫, 且会预期针对从这些蠕虫中任一种分离的蛋白质而产生的抗体与一种或多种其他蠕虫、宿主抗原或其他宿主组分相互作用。

[0046] 进一步确定了在哺乳动物中, 早至该哺乳动物首次感染 9 日后, 该抗体可用于捕获并检测蛔虫、鞭虫和钩虫抗原。其在感染后如此短的时间内, 在任何卵在受感染的哺乳动物粪便中出现之前就能检测蛔虫、鞭虫或钩虫的能力是令人惊讶的, 因为卵通常仅在所述宿主感染约五到八周之后方才出现在感染性宿主的粪便中。

[0047] 因此, 本发明包括使用抗体和 / 或其片段在哺乳动物中特异性地捕获、检测和分辨蛔虫、鞭虫和钩虫抗原的方法、装置和试剂盒。本发明在甚至也存在一种或多种其他蠕虫类型时检测并诊断蛔虫的能力, 使得所述哺乳动物的管理者 (caregiver) 能够有机会选择最佳的治疗以从所述哺乳动物中驱除蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫。此外, 本发明在一些情况下能够在早至所述哺乳动物首次感染 9 日后便检测蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫的能力, 提供了管理者可以在所述哺乳动物罹患重病之前开始这种治疗的可能性。在卵在粪便中出现之前的介入手段也会极大地减少或消除该传染散布到其他动物或人中的可能性。

[0048] II. 术语的定义和使用

[0049] 术语“本发明组合物”指所有的核酸、多肽、抗体和包含这些核酸、多肽和抗体中一种或多种以及一种或多种其他化合物的混合物, 其可通过实施本发明明确描述的、隐含的或以其他方式在本文中公开的方法, 用于在从哺乳动物获得的试样中检测蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫是否存在。

[0050] 可通过本发明检测蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫的“来自哺乳动物的试样”, 包括所有的身体部分及其提取物, 如任何流体、固体、细胞或组织, 其可包含蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫抗原。因此, 示例性的试样包括但不限于, 例如, 粪便、乳汁、全血及其部分, 包括血清, 还包括组织提取物, 包括来自乳腺、肠、肝、心、肺、食道、脑、肌肉和眼的组织。所述试样可直接从所述哺乳动物取得, 或所述试样可从任何与该哺乳动物接触过的事物取得。举例而言, 所述试样可为来自所述哺乳动物的新鲜的或腐烂的粪便。作为另一个实例, 所述试样可包括

例如土壤 (soil)、污泥 (dirt)、砂、植物材料或任何其他材料,其可与哺乳动物留下的身体材料如粪便混合。由此,所述试样可从环境来源取得,包括土壤、腐败材料或来自森林、农场或居住环境(包括垃圾箱、院落、花园、砂箱、操场、公园和沙滩)的粪便物质。不管所述试样的来源或内容如何,该试样在本文中有时称为“试样”、“哺乳动物试样”、“测试试样”或“受测试的试样”。

[0051] 本文中使用的“核酸”与“基因”、“DNA”、“cDNA”、“EST”、“多核苷酸”、“寡核苷酸”、“多聚核酸”、“RNA”和“mRNA”意义相同,并因此可与它们互换使用。核酸可为双链形式,或其可为单链形式。此外,核酸可为例如天然分离的,如来自全蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫或其部分,或其可为例如人工合成的,或者是在重组宿主生物中合成,或者是用任何其他本领域技术人员已知的人工手段合成,如通过使用基于 PCR 的技术,通过构建合成所述核酸的转基因生物,通过使用 DNA 合成仪,或通过任何别的基于分子的技术。

[0052] “多肽”、“肽”和“蛋白质”为同义词,并在本文中可互换使用,指氨基酸残基的聚合物。例如,本发明的多肽、肽和蛋白质可为天然分离的,如来自全蛔虫、鞭虫或钩虫或来自蛔虫、鞭虫或钩虫的一部分,或其可为人工合成的,或者是在重组宿主生物中合成,或者是用任何其他本领域技术人员已知的人工手段合成。

[0053] 术语“抗体”或“本发明的抗体”指任何能够特异性结合于特定蠕虫的一种或多种抗原而不与来自其他蠕虫的抗原结合的抗体。举例而言,针对一种或多种蛔虫抗原的抗体能够特异性地与一种或多种蛔虫抗原结合,但并不与任何来自钩虫或鞭虫的抗原结合,且针对一种或多种鞭虫抗原的抗体能够特异性地与一种或多种鞭虫抗原结合,但并不与任何来自蛔虫和钩虫的抗原结合。本发明的抗体可针对本发明的一种或多种免疫原性多肽产生。除非另行指明,应理解本发明的抗体可包含两种或更多种不同类型抗体的混合物。举例而言,所述抗体可为两种类型抗体的混合物,其中两种类型之一特异性结合于一种特定抗原,而两种类型中的另一种特异性结合于某些其他抗原。

[0054] 本文中使用的术语“第一抗体”指一种或多种抗体,其能够特异性结合蛔虫粪抗原,而非鞭虫或钩虫粪抗原。

[0055] 本文中使用的术语“第二抗体”指一种或多种抗体,其能够特异性结合鞭虫粪抗原,而非蛔虫或钩虫粪抗原。

[0056] 本文中使用的术语“第三抗体”指一种或多种抗体,其能够特异性结合钩虫粪抗原,而非鞭虫或蛔虫粪抗原。

[0057] “本发明的免疫原性多肽”以及,更简洁地“本发明的多肽”,是可以针对其产生本发明抗体的免疫原。所有“本发明的多肽”均是免疫原性的,并因此可用于在宿主动物中引发免疫应答以产生本发明的抗体。除非另行指明,应理解为本发明的多肽可为具有多种组分的混合组合物的一个组分。

[0058] “免疫原”为任何试剂,如本发明的免疫原性多肽,例如其能够在暴露于该试剂的动物中引发免疫应答。

[0059] 本文中使用的术语“蛔虫”,指寄生虫,例如蛔目 (Ascaridida) 的肠道蛔虫,其包括弓首属、弓蛔属、拜林蛔线虫属、蛔型属、副蛔属、蛔属、无饰属和伪地新蛔线虫属等属。因此,本文中使用的术语“蛔虫”不指整个线虫动物门 (Nematoda)。因此,“蛔虫”不包括任何钩口属、钩形属 (Uncinaria)、板口属 (Necator)、毛尾属、吴策属 (Wuchereria)、Brugia 或

恶丝虫属 (*Dirofilaria*) 的成员。

[0060] “蛔虫粪抗原”或“蛔虫的粪抗原”是任何存在于具有蛔虫感染的哺乳动物粪便中且可由一种或多种本发明抗体特异性结合的蛔虫产物。举例而言,蛔虫粪抗原可为一种或多种本发明多肽,但不仅限于此。本发明人确定 DIV6728 新颖的 C 端 7kD 亚型 (isoform), 其为犬弓首线虫的排泄 / 分泌蛋白, 早至犬科首次受犬弓首线虫感染 38 日后便存在于受犬弓首线虫感染的犬科动物粪便中。因此“蛔虫粪抗原”可为由本发明人在犬科动物粪便中观察到的 DIV6728 这种新颖的 C 端 7kD 亚型 (其在本文中称作“Copro6728”)。

[0061] 本文中使用的术语“鞭虫”,指寄生虫,例如毛尾属和毛首属的肠道鞭虫。因此,示例性的鞭虫包括狐毛尾线虫、*Trichuris campanula*、有齿毛尾线虫、猪毛尾线虫、毛尾毛尾线虫、褪色毛尾线虫和毛尾毛首线虫。而且本文中使用的术语“鞭虫”不指整个线虫动物门。例如,“鞭虫”不包括任何钩口属、钩形属、板口属、弓首属、弓蛔属、蛔属、吴策属、*Brugia* 或恶丝虫属的成员。

[0062] “鞭虫粪抗原”或“鞭虫的粪抗原”是任何存在于具有鞭虫感染的哺乳动物粪便中且可由一种或多种本发明抗体特异性结合的鞭虫产物。举例而言,鞭虫粪抗原可为一种或多种本发明多肽,但不仅限于此。

[0063] 本文中使用的术语“钩虫”,指寄生虫,例如钩口属、钩形属和板口属的肠道钩虫。因此,示例性的钩虫包括犬钩口线虫、巴西钩口线虫、十二指肠钩口线虫、锡兰钩口线虫、*Ancylostoma tubaeforme* 和多齿钩口线虫、美洲板口线虫和狭首钩形线虫。而且本文中使用的术语“钩虫”不指整个线虫动物门。例如,“钩虫”不包括任何毛尾属、毛首属、弓首属、弓蛔属、蛔属、吴策属、*Brugia* 或恶丝虫属的成员。

[0064] “钩虫粪抗原”或“钩虫的粪抗原”是任何存在于具有鞭虫感染的哺乳动物粪便中且可由一种或多种本发明抗体特异性结合的钩虫产物。举例而言,钩虫粪抗原可为一种或多种本发明多肽,但不仅限于此。本发明人确定 ASP5 新颖的 N 端 28kD 亚型,其为钩口线虫的排泄 / 分泌蛋白,早至犬科动物首次经所述钩口线虫感染 9 日后便存在于经所述钩口线虫感染的犬科动物粪便中。因此“蛔虫粪抗原”可为由本发明人在犬科动物粪便中观察到的 ASP5 的这种新颖的 N 端 28kD 亚型 (其在本文中称作“CoproASP5”)。

[0065] “特异于”、“特异性结合”和“稳定结合”意为本发明的特定组合物,如本发明的抗体、多肽或寡核苷酸,例如以相比至少一种其他试剂以更高的亲和性识别并结合于一种或多种其他试剂。作为一例,无论何时本发明的抗体能够以高于对于任何其他来自非蛔虫寄生性蠕虫的抗原的亲和性,识别并结合蛔虫抗原,则其被称为“特异于”、“特异性结合”或“稳定结合”这些蛔虫抗原。上述结合特异性可使用本领域公知的方法来测试,例如,ELISA 或放射免疫测定 (RIA)。基于所观察到的关于本发明特定组合物结合特异性的信息,本发明的方法可在使得所述组合物能够结合于 (并因此使得所述结合能够被检测) 特定试剂,但并不显著地结合其他试剂的条件下实施,同时维持该条件。作为一例,本发明的方法可在如下条件实施,其使得本发明抗体能够结合于 (并因此使得所述结合能够被检测) 一种或多种存在于特定试样中的蛔虫抗原,但并不显著地结合于任何可能存在于该试样中的钩虫或鞭虫抗原,由此使得分辨蛔虫、鞭虫和钩虫成为可能。

[0066] “检测蛔虫”意为检测一种或多种蛔虫特异性产物,包括,例如,一种或多种本发明的多肽、抗体和核酸,或一种或多种蛔虫抗原,或 Copro6728。一种或多种上述蛔虫产物在来

自哺乳动物的试样中存在指明所述哺乳动物具有蛔虫感染,而不论任何全蛔虫生物或其卵是否也存在于该试样中。与之相对,一种或多种所述蛔虫产物不存在于来自哺乳动物的试样中指明所述哺乳动物没有蛔虫感染。

[0067] “检测鞭虫”意为检测一种或多种鞭虫特异性产物,包括,例如,一种或多种本发明的多肽、抗体和核酸,或一种或多种鞭虫抗原。一种或多种上述鞭虫产物在来自哺乳动物的试样中存在指明所述哺乳动物具有鞭虫感染,而不论任何全鞭虫生物或其卵是否也存在于该试样中。与之相对,一种或多种所述鞭虫产物不存在于来自哺乳动物的试样中指明所述哺乳动物没有鞭虫感染。

[0068] “检测钩虫”意为检测一种或多种钩虫特异性产物,包括,例如,一种或多种本发明的多肽、抗体和核酸,或一种或多种钩虫抗原,或 CoproASP5。一种或多种上述钩虫产物在来自哺乳动物的试样中存在指明所述哺乳动物具有钩虫感染,而不论任何全钩虫生物或其卵是否也存在于该试样中。与之相对,一种或多种所述钩虫产物不存在于来自哺乳动物的试样中指明所述哺乳动物没有钩虫感染。

[0069] “氨基酸”指天然存在的和合成的氨基酸。氨基酸残基缩写如下:丙氨酸为 A 或 Ala;精氨酸为 R 或 Arg;天冬酰胺为 N 或 Asn;天冬氨酸为 D 或 Asp;半胱氨酸为 C 或 Cys;谷氨酸为 E 或 Glu;谷氨酰胺为 Q 或 Gln;甘氨酸为 G 或 Gly;组氨酸为 H 或 His;异亮氨酸为 I 或 Ile;亮氨酸为 L 或 Leu;赖氨酸为 K 或 Lys;甲硫氨酸为 M 或 Met;苯丙氨酸为 F 或 Phe;脯氨酸为 P 或 Pro;丝氨酸为 S 或 Ser;苏氨酸为 T 或 Thr;色氨酸为 W 或 Trp;酪氨酸为 Y 或 Tyr;而缬氨酸为 V 或 Val。本文中除非另行定义, X 或 Xaa 指任何氨基酸。其他相关的氨基酸包括但不限于,4-羟脯氨酸和 5-羟赖氨酸。在任何情况下,本文中描述或者以其他方式提及的多肽的氨基酸序列以常规形式表现,即序列最左边的,或第一个氨基酸残基是 N 端残基,而序列最右边的,或最后一个氨基酸是 C 端残基。

[0070] 任何特定核酸序列的“保守变体”包括具有对该特定核酸序列的一个或多个简并密码子取代的任何序列,具有在该特定核酸序列中一个或多个核苷酸取代、插入和缺失的任何序列,以及该特定核酸的互补序列,以及该互补序列的保守变体。特定核酸序列的保守变体与该特定核酸序列优选具有至少约 85% 同一性,更优选具有至少约 90% 同一性,且甚至更优选至少约 95-99% 同一性。特定核酸序列的保守变体可为人工合成的,或其可以其天然形式从生物中分离。

[0071] 任何特定多肽序列的“保守变体”为任何如下多肽,其具有从该特定多肽的氨基酸序列变化,但仍然保留该特定多肽的特异性结合性质的氨基酸序列,从而使得针对该特定多肽产生的本发明的抗体能够特异性结合所述变体多肽。因此,例如,特定多肽的保守变体可具有对该特定多肽的一个或多个氨基酸取代、缺失、添加和插入。举例而言,特定多肽的保守变体可具有对该特定多肽的 30 或更少、25 或更少、20 或更少、15 或更少、10 或更少、5 或更少个保守氨基酸取代。特定多肽的保守变体优选地,但并不必需地与该特定多肽具有至少约 80% 同一性,更优选具有至少约 90% 同一性,且甚至更优选至少约 91-99% 同一性。对于任何主题 (subject) 核酸或氨基酸序列 (例如,任何本文中描述的多肽) 相对于另一个“目标”核酸或氨基酸序列的同一性百分比可如下确定。首先,本发明的目标核酸或氨基酸序列可与主题核酸或氨基酸序列使用来自 BLASTZ 含有 BLASTN 和 BLASTP 的独立版本 (例如,版本 2.0.14) 的 BLAST2 Sequences (Bl2seq) 程序进行比较或比对。BLASTZ 的独立版

本可在 www.ncbi.nlm.nih.gov 获得。解释如何使用 BLASTZ, 且特别是所述 B12seq 程序的说明, 可见于 BLASTZ 所附的“帮助 (readme)”文件。所述程序还由 Karlin 等 (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. 87 :2264 ; Karlin 等 (1990) Proc. Natl. Acad. Sci. 90 :5873 ; 以及 Altschul 等 (1997) Nucl. Acids Res. 25 :3389 详细描述。

[0072] “CoproASP5”指见于哺乳动物粪便的 ASP5 的 N 端 28kD 片段。

[0073] “Copro6728”指见于哺乳动物粪便的 DIV6728 的 C 端 7kD 部分。在一个特定实施方案中, copro6728 不包括全长 DIV6728 的 C 端。

[0074] B12seq 对所述主题序列和目标序列使用或者 BLASTN (用于比较核酸序列) 或者 BLASTP (用于比较氨基酸序列) 算法进行比较。通常, 在进行氨基酸序列比对时, 使用 BLOSUM62 评分矩阵的缺省参数: 缺口存在罚分 (gap existence cost) 为 11, 而延伸罚分 (extension cost) 为 1, 字长 (word size) 为 3, 预期值 (expect value) 为 10, 每残基罚分 (per residue cost) 为 1, 而 lambda 比例 (lambda ratio) 为 0.85。输出文件包含所述目标序列和所述主题序列之间具有同源性的对齐 (aligned) 区域。一旦对齐, 通过对与来自主题序列的序列从任何匹配位置开始到任何其他匹配位置结束而对齐的来自目标序列的连续核苷酸或氨基酸残基 (即, 排除缺口) 进行计数来确定长度。匹配位置是任何在该处相同的核苷酸或氨基酸同时存在于目标和主题序列二者上的位置。一个或多个残基的缺口可插入到目标或主题序列以使结构上保守的域 (例如, α -螺旋、 β -折叠和环) 之间对齐的序列最大化。

[0075] 在特定长度上的同一性百分比通过对该特定长度上匹配的位置进行计数, 并将该数值除以长度, 并将结果值乘以 100 来确定。举例而言, 如果 (i) 500 个氨基酸的目标序列与主题氨基酸序列相比较, (ii) B12seq 程序显示来自所述目标序列的 200 个氨基酸与主题序列的区域对齐, 其中该 200 个氨基酸的区域的第一个和最后一个氨基酸匹配, 并且 (iii) 在这 200 个对齐的氨基酸中匹配数为 180, 则所述 500 个氨基酸的目标序列包含 200 的长度, 且在此长度上序列同一性为 90% (即 $180/200 \times 100 = 90$)。会理解的是与主题序列对齐的核酸或氨基酸目标序列可产生多种不同的长度, 而每个长度具有其自身的同一性百分比。应指出所述同一性百分比值四舍五入到小数点后第一位。例如, 78.11、78.12、78.13 和 78.14 舍为 78.1, 而 78.15、78.16、78.17、78.18 和 78.19 入为 78.2。还应指出长度值总是整数。

[0076] 特定多肽序列的保守变体可人工合成, 或其可以其天然形式从生物分离, 包括例如从蛔虫生物 (如犬弓首线虫、猫弓首线虫和蛔属) 分离, 和从鞭虫生物 (如毛尾属或毛首属) 分离, 或从钩虫生物 (如钩口属、钩形属和板口属) 分离。在关于蛔虫的一个特定的非限定性的实施例中, 具有对应于下面所示 SEQ ID NO :27 的氨基酸序列的本发明多肽是具有对应于 SEQ ID NO :26 的氨基酸序列的本发明多肽的保守变体, 其中 SEQ ID NO :27 与 SEQ ID NO :26 在 126 个对齐的氨基酸上超过 95% 相同。更一般而言, SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29 和 SEQ ID NO :30 彼此均为保守变体。还应理解本文所描述的本发明涵盖了 SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29 和 SEQ ID NO :30 的其他保守变体, 但本领域技术人员会知道所有这些涵盖到的变体过于繁多, 无法一一列举。本领域技术人员还会知道, 这些变体包括但不限于那些具有一个或多个碱性氨基酸残基取代、一个或多个酸性氨基酸残基取代、一个或多个极性氨基酸残基取代、一

个或多个疏水氨基酸残基取代、一个或多个芳族氨基酸残基取代以及一个或多个小氨基酸残基取代的。(“碱性”氨基酸残基是 K、R 和 H。“酸性”氨基酸残基是 D 和 E。“极性”氨基酸残基是 N 和 Q。“疏水”氨基酸是 I、L 和 V。“芳族”氨基酸残基是 F、Y 和 W。“小”氨基酸是 G、S、A、T 和 M。)

[0077] III. 本发明的核酸和多肽

[0078] 本发明的核酸和多肽在下述临时申请“Methods, Devices, Kits And Compositions For Detecting Whipworm”(申请系列号 61/128077, 提交于 2008 年 5 月 19 日); “Methods, Devices, Kits And Compositions For Detecting Roundworm”(申请系列号 61/128079, 提交于 2008 年 5 月 19 日); “Methods, Devices, Kits And Compositions For Detecting Roundworm”(申请系列号 61/128076, 提交于 2008 年 5 月 19 日); “Methods, Devices, Kits And Compositions For Detecting Roundworm”(申请系列号 61/128099, 提交于 2008 年 5 月 19 日); “Compositions, Devices, Kits and Methods for Detecting Hookworm”(申请系列号 61/122254, 提交于 2008 年 12 月 12 日); 以及 Utility 申请: “Roundworm Coproantigen Detection”(申请系列号 11/763592, 提交于 2007 年 6 月 15 日) 以及 “Device, Kit and Method for Hookworm Antigen Detection”(申请系列号 11/763583, 提交于 2007 年 6 月 15 日), “Methods, Devices, Kits, Compositions for Detecting Roundworm”(与本文一同提交) 中详细描述, 这些文献均以全文提述的形式并入本文。

[0079] 在尝试鉴定可用于在粪便试样中确证蛔虫是否存在, 并分辨蛔虫与其他寄生性蠕虫感染的组合物时, 设计、合成多种寡核苷酸引物, 并将其用于包含从犬弓首线虫全成虫或猫弓首线虫全成虫分离的总 RNA 的 5' RACE、3' RACE 和 RT-PCR 反应中。作为这些努力的结果, 从犬弓首线虫推导出 469-核苷酸 cDNA 序列(在本文中示为 SEQ ID NO:25), 而从猫弓首线虫推导出 548-核苷酸 cDNA 序列(在本文中示为 SEQ ID NO:26)。(使用 SEQ ID NO:25 和 SEQ ID NO:26 实施的 BLAST 检索表明这些序列可能编码丝氨酸蛋白酶抑制剂家族的成员, 其已在蛔属中首先鉴定出来, 但迄今并未在犬弓首线虫或猫弓首线虫中鉴定出来。)

[0080] 在尝试鉴定可用于在粪便试样中确证鞭虫是否存在, 并分辨鞭虫与其他寄生性蠕虫感染的组合物时, 设计、合成多种寡核苷酸引物, 并将其用于包含从狐毛尾线虫全成虫分离的总 RNA 的 5' RACE、3' RACE 和 RT-PCR 反应中。作为这些努力的结果, 分别推导出了 1210-核苷酸 cDNA 序列和 1059-核苷酸 cDNA 序列(在本文中示为 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2)。(使用 SEQ ID NO:1 和 SEQ ID NO:2 实施的 BLAST 检索表明这些序列可能编码孔蛋白 (porin), 其为主要的鞭虫排泄/分泌蛋白质, 并已描述于小鼠寄生虫鼠毛尾线虫 (*Trichuris muris*) 和人寄生虫毛尾毛尾线虫, 但迄今并未在狐毛尾线虫中鉴定出来。)

[0081] 之前, Zhan 及其同事描述了 ASP-5 的分子鉴定和部分表征, 其为钩口属的排泄/分泌蛋白(参见 Zhan 等, *International Journal for Parasitology* 33:897-907(2003))。在其研究中, Zhan 研究组描述了单一形式的 ASP-5 蛋白, 其质量为约 56kDa, 由体外培养的寄生虫分泌。

[0082] 包括 N 端 His6 标签的 ASP-5 蛋白质 (SEQ ID NO:33) 可由 SEQ ID NO:31 的核酸序列所编码:

[0083] ATGGGCAGCAGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGTGCCGCGCGGCAGCCATATGGCTAGC
ATGACTGGTGGACAGCAAATGGGTCGCGGATCCGAATTCGAGCTCACCCTTGTCCAGGAAATGATCTAACAGATGC

TGAACGCACACTGCTAACTAGGGTGCACAATTCATTTCGACGGGAAATAGCGCAAGGAGTTGCAAACAACCTACCATG
GTGGTAAACTGCCTGCTGGAAAGAACATATACAGGATGAGATACAGCTGTGAGCTGGAACAGGCTGCTATTGATGCT
AGTCAAACCTTCTGTTCCGCATCATTGAGGAACCACAGAAATATGGACAAAACATCCAAGCATAACGTCACACCATCT
ATAATCGCTCGCCCGAAAAACGACCTTCTTGAAGATGCAGTGAAACAATGGTATCTGCCTGTTATCTACTACGGCCA
ACGCGACGCGGCCAACAAAGTTCACCGATCCGCGCTTGTACACATTTGCAAACCTCGCCTACGACAAGAACACTGCAC
TTGGCTGTCACTATGCGAAATGTCAAGGCCCTGACAGAATCGTCATTAGTTGCATGTACAACAACGTCGTTCCCTGAC
AACGCTGTGATCTACGAGCCAGGAACTGCTTGCCTAAAAGATCAGGACTGCCTACTTATCCTCAGTCCACATGCAA
GGACAGCCTTTGCATTATTCTTACGCCACATCCACCAAATCCACCAAATCCACCACCTGCAATGTGTCCAAACGCTG
AAATGACTGATGCAGCACGAAAGAAGGTCCTCGACATGCACAACCTGGCGCAGATCGCAGCTCGCTCTGGGAAACGTT
CAAAACGGGAAAAATGCTTACAACCTGCCCCACTGCAACAGACATGTACAAGATGGAATATGATTGCGACCTCGAGAA
CAGCGCTCTAGCGTATGCAAAGCAATGTAGTCTCGTTGGTTCAGCAGAAGGAACTCGTCCAGGAGAAGGCGAGAATG
TCCACAAAGGCGCTCTCGTAAACCGATCCGGAGGCTGCAGTTCAGACCGCAGTTCAGCATGGTGGAGTCAAATCTCA
CAAATGGACTCAATGCACAGATGAAATTCACTGCTTTCTTGAAGGACAAGCCTGACGCTCCGACAGCGTTTACACA
GATGGCGTGGGCCAAATCCGTAAAGCTTGGATGTGCTGTCTTAATTGTCAGGCAGATACCTTCACCGTCTGTAGAT
ACAAAGCTGCCGAAACATCGTGGGCGAATTCATCTATACCAAGGAAATGTATGCGACGCCTGTAAAGCCACATGC
ATTACCGCGAAGGTCTTTGCCAACGCCTTGAGCGGCCGC (SEQ ID NO :31)

[0084] 在鉴别供在受钩虫感染的哺乳动物中捕获并检测钩虫和 / 或钩虫抗原的工具的努力中, 本发明人确定约 28kDa, 而不是 56kDa 形式的修饰蛋白存在于受钩口属感染的犬科动物粪便中。(该 28kDa 形式的 ASP5 在本文中称为“CoproASP5”; 在钩口属感染的犬科动物粪便中检测 CoproASP5 描述于包括在本文中的实施例部分。) 因此, 在一个方面, 本发明提供了可用于生成抗体的多肽, 所述抗体可用于特异性捕获并检测 CoproASP5。上述可用于生成可用于结合 CoproASP5 的抗体的一种多肽称作 ASP5-1 多肽, 其可由下述核酸序列所编码:

[0085] ATGGGCAGCAGCCATCATCATCATCACAGCAGCGGCCTGGTGCCGCGCGGCAGCCATATGGCTAG
CATGACTGGTGACAGCAAATGGGTTCGCGGATCCGAATTCAGACTCACCCTGTCCAGGAAATGATCTAACAGAT
GCTGAACGCACACTGCTAACTAGGGTGCACAATTCATTTCGACGGGAAATAGCGCAAGGAGTTGCAAACAACCTAC
CATGGTGGTAAACTGCCTGCTGGAAAGAACATATACAGGATGAGATACAGCTGTGAGCTGGAACAGGCTGCTATT
GATGCTAGTCAAACCTTCTGTTCCGCATCATTGAGGAACCACAGAAATATGGACAAAACATCCAAGCATAACGTC
ACACCATCTATAATCGCTCGCCCGAAAAACGACCTTCTTGAAGATGCAGTGAAACAATGGTATCTGCCTGTTATC
TACTACGGCCAGCGGACGCGGCCAACAAAGTTTACGGATCCGCGCTTGTACACATTTGCAAACCTCGCCTACGAC
AAGAACACTGCACTTGGCTGTCACTATGCGAAATGTCAAGGCCCTGACAGAATCGTCATTAGTTGCATGTACAAC
AACGTCGTTCCCTGACAACGCAGTGATCTACGAGCCTGGAACCTGCTTGCCTAAAAGATGCGGACTGCACTACTTAT
CCTCAGTCCACATGCAAGGACAGCCTTTGCATTATTCTTACGCCACATCCACCAAATCCACCAAATCCACCACCA
GCAATGAGTCCATGAGCGGCCGC (SEQ ID NO :32)

[0086] 本领域技术人员应理解, 由于遗传密码的简并性, 如果进行了合适的 (沉默的) 密码子取代, 除了 SEQ ID NO :32 以外的核酸序列也能编码 SEQ IDNO :34 的多肽。

[0087] 分析对应于 SEQ ID NO :24 和 SEQ ID NO :25 的蛔虫序列表明, 这些蛔虫序列的每一个均包含大开放阅读框 (ORF)。具体而言, SEQ ID NO :24 的大 ORF 对应于 SEQ ID NO :24 的核苷酸 21-446, 并预期编码具有下述氨基酸序列的蛔虫多肽:

[0088] MLPI TFL LAI IVGAAVAHRKCGPNEEWTECTGCEIKCGQGEQPCPMMCRPPSCECMAGKGLRRTADGRC VPEAQCPKRMVKRDEKCGPNEKFLKCRGCEGTCKERLVP CPMCKPPGCECPASEGFVRNDKGECIKFDDCPK (SEQ ID NO :26).

[0089] 此外, SEQ ID NO :25 的大 ORF 对应于 SEQ ID NO :25 的核苷酸 21-446, 并预期编码具有下述氨基酸序列的蛔虫多肽:

[0090] MLPL TFL LAFIVGAAVAHRKCGPNEEWTECTGCEMKCGEGETPCPMMCRPPSCECMAGKGLRRTDPDGR VPEAQCPKHMVKRDEKCGKNEKFLKCRGCEGTCKERLVP CPMCKPPGCECPASEGFVRNDKHCECIKFDDCPK (SEQ ID NO :27).

[0091] SEQ ID NO :24、SEQ ID NO :25、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29 和 SEQ ID NO :30 均大致描述于 2008 年 5 月 19 日提交的临时申请系列号 61/128076, 其以全文提述的方式并入本文。

[0092] 分析对应于 SEQ ID NO :1 和 SEQ ID NO :2 的鞭虫序列表明, 这些鞭虫序列的每一个均包含大开放阅读框 (ORF)。具体而言, SEQ ID NO :1 的大 ORF 对应于 SEQ ID NO :1 的核苷酸 32-1147, 并预期编码具有下述氨基酸序列的鞭虫多肽:

[0093] MRLVFHAVIYLTGLFLTDAVREKRGKCPPEPIAGNTIYCRDDDFDCGGRQKCCTIAEGRGCVPPYGEQH FEVVKPGHCPAIPAVTGMANFCNTDGDGCDGPKKCLTSRGYDCTHPLHFPIQPQPPVGQCPSKPRIPGKWVDICAK HANCPDPEKCCDTEYGNRCMDVGLVPGQGERPGNCPNEPRI RGTKYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVESRKPL DKPGHCPIPADVGSARYCDTDRDCDGPCKCLSSRGYECKHPVHYDPDRVEPLVGECPPSRPRIPGKWVDICSKHAN CPDPEKCCDTEYGNRCMDVGLVPGQGEKPANCPKEPRI RGTKYDCRRDDDCDGVQKCCYTTEGRECVHGIWP (SEQ ID NO :3).

[0094] 此外, SEQ ID NO :2 的大 ORF 对应于 SEQ ID NO :2 的核苷酸 1-1059, 并预期编码具有下述氨基酸序列的鞭虫多肽:

[0095] VREKRGKCPPEPIAGNTIYCRDDDFDCGGRQKCCTIAEGRGCVPPYGEQDFEVVKPGHCPAIPAVTGMA NFCNTDGDGCDGPKKCLTSRGYDCTHPLHFPIQPQPPVGQCPSKPRVPGKWVDICAKHANCPDPEKCCDTEYGNRC MDVGLVAGQGERPGNCPNEPRI RGTKYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVESRKPLDKPGHCPIPADVGSARYC DTDRCDCDGPCKCLSSRGYECKHPVHYDPDRVEPLVGECPPSRPRIPGKWVDICSKHANCPDPEKCCDTEYGNRCMDV GLVPGQGEKPANCPKEPRI RGTKYDCRRDDDCDGVQKCCYTTEGRECVHGIWP (SEQ ID NO :4).

[0096] SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8 和 SEQ ID NO :9 均大致描述于 2008 年 5 月 19 日提交的临时申请系列号 61/128077, 其以全文提述的方式并入本文。

[0097] 分析对应于 SEQ ID NO :10 和 SEQ ID NO :11 的蛔虫序列表明, 这些蛔虫序列的每一个均包含大 ORF。具体而言, 如其中所示, SEQ ID NO :10 的大 ORF 对应于 SEQ ID NO :11 的核苷酸 2-616, 并预期编码具有下述氨基酸序列的蛔虫多肽:

[0098] KKIYGVAASRRRRHHFTLENSLDTHLKWLSHEQKEELLQMKKDGKSKKELQDKIMHYEHLEGDAKHEA TEQLKGGCREILKHVVGEEKAAEIKALKDSGASKDELKAKVEEALHAVTDEEKKQHIAEFGPACKKIYGVAASRRRR HHFTLENSLDTHLKWLSHEQKEELLQMKKDGKSKKELQDKIMHYEHLEGMLLALCILY (SEQ ID NO :12).

[0099] 此外, SEQ ID NO :11 的大 ORF 对应于 SEQ ID NO :11 的核苷酸 1-486, 并预期编码具有下述氨基酸序列的蛔虫多肽:

[0100] IYGVAASRRRRHHFTLEKSLDTHLKWLSHEQKEELLKMKKDGKSKKELQDKVMHFYEHLEGDAKHEAT

EQLKGGCREILKHVVGEEKAAEIKALKDMSGASKDELKAKVEDALHAVTDEEKKQHIAEFGPACKEIFGVPI DVHRK RDPYTNMTPDEVAEGLRS (SEQ ID NO :13).

[0101] SEQ ID NO :10、SEQ ID NO :11、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15 和 SEQ ID NO :16 大致描述于 2008 年 5 月 19 日提交的临时申请系列号 61/128079, 其以全文提述的方式并入本文。

[0102] 分析对应于 SEQ ID NO :17 和 SEQ ID NO :18 的蛔虫序列表明,这些蛔虫序列的每一个均包含大开放阅读框 (ORF)。具体而言,SEQ ID NO :17 的大 ORF 对应于 SEQ ID NO :17 的核苷酸 28-456,并预期编码具有下述氨基酸序列的蛔虫多肽:

[0103] MLSVLALFALITFAVAGPESCGPNEVWTECTGCELKCGQDENTPCTLNCRPPSCECSPGRGMRRTNDG RCIPASQCPQHRAKREEQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFVPCRNCRPPGCECVAGAGFVRDAEGNCIKFDDCPK (SEQ ID NO :19).

[0104] 此外,SEQ ID NO :2 的大 ORF 对应于 SEQ ID NO :18 的核苷酸 29-457,并预期编码具有下述氨基酸序列的蛔虫多肽:

[0105] MLSVLALFALITFAVADPKSCGPNEVWTECTGCELKCGQDEDTPCTLNCRPPSCECSPGRGMRRTDDG RCIPASQCPQHRAKREEQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFVPCRNCRPPGCECVAGAGFVRDAAGNCIKFDDCPK (SEQ ID NO :20).

[0106] SEQ ID NO :17、SEQ ID NO :18、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22 和 SEQ ID NO :23 大致描述于 2008 年 5 月 19 日提交的临时申请系列号 61/128099, 其以全文提述的方式并入本文。

[0107] 分析对应于 SEQ ID NO :31 和 SEQ ID NO :32 的钩虫序列表明,这些钩虫序列的每一个均包含大开放阅读框 (ORF)。具体而言,SEQ ID NO :31 的大 ORF 预期编码具有下述氨基酸序列的钩虫多肽:

[0108] MGSSHHHHHHSSGLVPRGSHMASMTGGQQMGRGSEFELTTCPGNDLTAERTLLTRVHNSIRREIAQG VANNYHGGKLPAGKNIYRMRYSCLEQAAIDASQTFCSASLEEPQKYGQNIQAYVTPSIIARPKNLLEDAVKQWY LPVIYYGQRDAANKFTDPRLYTFANLAYDKNTALGCHYAKCQGPDRIVISCMYNNVVPDNAVITYEPGTACVKDQDCT TYPQSTCKDSLCCIPTPHPPNPPNPPAMCPNAEMTDAARKKVLDMHNWRRSQLALGNVQNGKNAYNCPTATDMYKM EYDCDLENSALAYAKQCSLVGSAEGTRPGEENVHKGALVTDPEAAVQTAVQAWWSQISQNGLNAQMKFTAFLKDK PDAPTAFTQMAWAKSVKLGCAVSNCQADTFTVCRYKAAGNIVGEFIYTKGNVCDACKATCITAEGLCPTP (SEQ ID NO :33).

[0109] SEQ ID NO :33 的前 38 个氨基酸来源于克隆载体,本领域技术人员会知道该部分可省略或用其他合适的融合配偶体 (fusion partner) 取代。

[0110] 此外,SEQ ID NO :32 的大 ORF 预期编码具有下述氨基酸序列的钩虫多肽:

[0111] MGSSHHHHHHHHSSGLVPRGSHMASMTGGQQMGRGSEFELTTCPGNDLTAERTLLTRVHNSIRREIAQG VANNYHGGKLPAGKNIYRMRYSCLEQAAIDASQTFCSASLEEPQKYGQNIQAYVTPSIIARPKNLLEDAVKQWYL PVIYYGQRDAANKFTDPRLYTFANLAYDKNTALGCHYAKCQGPDRIVISCMYNNVVPDNAVITYEPGTACVKDADCTT YPQSTCKDSLCCIPTPHPPNPPNPPAMSP (SEQ ID NO :34).

[0112] 本发明多肽由核酸编码,所述核酸具有对应于 SEQ ID NO :1、SEQ ID NO :2、SEQ ID NO :10、SEQ ID NO :11、SEQ ID NO :17、SEQ ID NO :18、SEQ ID NO :24、SEQ ID NO :25、SEQ ID NO :31 和 SEQ ID NO :32 以及这些序列所有的保守变体全部或部分的核苷酸序列。因此,应

理解为本发明多肽的氨基酸序列是可变的。

[0113] 举例而言,本发明多肽可具有对应于SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33 和 SEQ ID NO :34 全部或部分,或对应于 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33 和 SEQ ID NO :34 的保守变体全部或部分的氨基酸序列。

[0114] 在一个特定实施例中,本发明的蛔虫多肽具有下述氨基酸序列:

[0115] MHRKCGPNEEWTECTGCEIKCGQGEQPCPMCRPPSCECMAGKGLRRTADGRCVPEAQCPKRMVCRDEKCGPNEKFLKCRGCEGTCKERLVPICPRMCKPPGCECPASEGFVRNDKGECIKFDDCPK (SEQ ID NO :28).

[0116] 在一个特定实施例中,本发明的鞭虫多肽具有下述氨基酸序列:

[0117] MVREKRGKCPPEPPIAGNTIYCRDDDFDCGGRQKCCTIAEGRGCVPPYGEQHFVVKPGHCPAIPAVTGM ANFCNTDGDGCDGPKKCLTSRKYDCTHPLHFP IQPQPPVGGCPPSKPRIPGKWVDICAKHANCPDPEKCCDTEYGNR CMDVGLVPGQGERPGNCPNEPRI RGT KYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVESRKPDKPGHCPPIPADVGSARY CDTDRDCDGPCKCLSSRGYECKHPVHYDPDRVEPLVGECPSPRIPGKWVDICSKHANCPDPFKCCDTEYGNRCMD VGLVPGQGEK PANCPKFPRI RGT KYDCRRDDDCDGVQKCCYTTVEGRECVHGIWP (SEQ ID NO :5).

[0118] 在另一个特定实施例中,本发明的蛔虫多肽具有下述氨基酸序列:

[0119] MHHFTLENSLDTHLKWLSHEQKEELLQMKKDGKSKKELQDKIMHYEHLEGDAKHEATEQLKGGCREIL KHVVGEEKAAEIKALKDSDGASKDELKAKVEEALHAVTDEEKKQHTAEFGPACKKIYGVAAAS (SEQ ID NO :14).

[0120] 在另一个特定实施例中,本发明的蛔虫多肽具有下述氨基酸序列:

[0121] MGPESCGPNEVWTECTGCELKCGQDENTPCTLNCRPPSCECSPGRGMRRTNDGRICIPASQCPQHRAKRE EQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFPCTRNCRPPGCECVAGAGFVRDAEGNCKIFDDCPK (SEQ ID NO :21).

[0122] 在另一个特定实施例中,本发明的钩虫多肽包含与由 SEQ ID NO :34 代表的序列相同或同源的氨基酸序列。

[0123] 接着对应于 SEQ ID NO :28 的蛔虫多肽 N 端甲硫氨酸残基之后的 125 个氨基酸残基特别地代表 SEQ ID NO :26 的氨基酸残基 18-142。所述 N 端甲硫氨酸是通过实施标准克隆技术人工添加至该多肽的 N 端的。针对对应于 SEQ ID NO :28 的多肽产生的抗体对于检测蛔虫抗原是有用的。由于所述 N 端甲硫氨酸是人工添加的,且并不认为其天然存在于弓首属中(在 SEQ ID NO :26 和 SEQ ID NO :27 每一个中,紧挨在 18 位组氨酸残基之前的残基是丙氨酸,而非甲硫氨酸),因此考虑到本发明多肽可具有对应于 SEQ ID NO :26 的氨基酸残基 18-142 的氨基酸序列,或更具体而言:

[0124] HRKCGPNEEWTECTGCEIKCGQGEQPCPMCRPPSCECMAGKGLRRTADGRCVPEAQCPKRMVCRDEKCGPNEKFLKCRGCEGTCKERLVPICPRMCKPPGCECPASEGFVRNDKGECIKFDDCPK (SEQ ID NO :29).

[0125] 接着对应于 SEQ ID NO :5 的鞭虫多肽 N 端甲硫氨酸残基之后的 353 个氨基酸残基特别地代表 SEQ ID NO :3 的氨基酸残基 20-353。所述 N 端甲硫氨酸是通过实施标准克隆技

术人工添加至该多肽的 N 端的。针对对应于 SEQ ID NO :5 的多肽产生的抗体对于检测鞭虫抗原是有用的。由于所述 N 端甲硫氨酸是人工添加的,且并不认为其天然存在于狐毛尾线虫中(在 SEQ ID NO :3 中,紧挨在 20 位缬氨酸残基之前的残基是丙氨酸),因此考虑到本发明多肽可具有对应于 SEQ ID NO :3 的氨基酸残基 20-353 的氨基酸序列,或更具体而言:

[0126] VREKRGKCPPEPPIAGNTIYCRDDDFDCGGRQKCCCTIAEGRGCVPPYGEQHFVVKPGHCPAIPAVTGMA
NFCNTDGDGDCGPKKCLTSRGYDCTHPLHFPIQPQPPVGQCPPSKPRIPGKWVDICAKHANCPDPEKCCDTEYGNRC
MDVGLVPGQGERPNCNPNRIRGTYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVESRKPLDKPGHCPIPADVGSARYC
DTRDCDGPCKCLSSRGYECKHPVHYDPDRVEPLVGEPPSRPRIPGKWVDICSKHANCPDPEKCCDTEYGNRCMDV
GLVPGQGEKPNANCPKEPRIRGTYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVHGIWP (SEQ ID NO :6).

[0127] 在另一个特定实施例中,本发明的鞭虫多肽具有下述氨基酸序列:

[0128] MVREKRGKCPPEPPIAGNTIYCRDDDFDCGGRQKCCCTIAEGRGCVPPYGEQDFEVVKPGHCPAIPAVTGM
ANFCNTDGDGDCGPKKCLTSRGYDCTHPLHHPFIQPQPPVGQCPPSKPRVPGKWVDICAKHANCPDPEKCCDTEYGN
RCMDVGLVAGQGERPNCNPNRIRGTYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVESRKPLDKPGHCPIPADVGSAR
YCDTRDCDGPCKCLSSRGYECKHPVHYDPDRVEPLVGEPPSRPRIPGKWVDICSKHANCPDPEKCCDTEYGNRCM
DVGLVPGQGEKPNANCPKEPRIRGTYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVHGIWP (SEQ ID NO :7).

[0129] 接着对应于 SEQ ID NO :7 的鞭虫多肽 N 端甲硫氨酸残基之后的 353 个氨基酸残基特别地代表 SEQ ID NO :4 的氨基酸残基 1-353。所述 N 端甲硫氨酸是通过实施标准克隆技术人工添加至该多肽的 N 端的。针对对应于 SEQ ID NO :7 的多肽产生的抗体对于检测鞭虫抗原是有用的。由于所述 N 端甲硫氨酸是人工添加的,因此考虑到本发明多肽可具有对应于 SEQ ID NO :4 的氨基酸残基 1-353 的氨基酸序列,或更具体而言:

[0130] VREKRGKCPPEPPIAGNTIYCRDDDFDCGGRQKCCCTIAEGRGCVPPYGEQDFEVVKPGHCPAIPAVTGMA
NFCNTDGDGDCGPKKCLTSRGYDCTHPLHFPIQPQPPVGQCPPSKPRVPGKWVDICAKHANCPDPEKCCDTEYGNRC
MDVGLVAGQGERPNCNPNRIRGTYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVESRKPLDKPGHCPIPADVGSARYC
DTRDCDGPCKCLSSRGYECKHPVHYDPDRVEPLVGEPPSRPRIPGKWVDICSKHANCPDPEKCCDTEYGNRCMDV
GLVPGQGEKPNANCPKEPRIRGTYDCRRDDDCDGVQKCCFTVEGRECVHGIWP (SEQ ID NO :8).

[0131] 接着对应于 SEQ ID NO :14 的蛔虫多肽 N 端甲硫氨酸残基之后的 129 个氨基酸残基特别地代表 SEQ ID NO :12 的氨基酸残基 14-142。所述 N 端甲硫氨酸是通过实施标准克隆技术人工添加至该多肽的 N 端的。针对对应于 SEQ ID NO :7 的多肽产生的抗体对于检测蛔虫抗原是有用的。由于所述 N 端甲硫氨酸是人工添加的,且并不认为其天然存在于弓首属中(在 SEQ ID NO :12 和 SEQ ID NO :13 每一个中,紧挨在 14 位组氨酸残基之前的残基是精氨酸,而非甲硫氨酸),因此考虑到本发明多肽可具有对应于 SEQ ID NO :12 的氨基酸 14-142 的氨基酸序列,或更具体而言:

[0132] HHFTLENSLDTHLKWLSHEQKEELLQMKKDGKSKKELQDKIMHYEHLEGDAKHEATEQLKGGCREILK
HVVGEEKAAEIKALKDSGASKDELKAKVEEALHAVTDEEKKQHIAEFGPACKKIYGVAAS (SEQ ID NO :15).

[0133] 含 128 氨基酸的蛔虫蛋白 DIV6728 (SEQ ID NO :21) 大小约为 14kD,并具有约 6.54 的理论 pI。该蛋白质属于 TIL 超家族,其为一组丝氨酸蛋白酶抑制剂。在鉴别供在受蛔虫感染的哺乳动物中捕获并检测蛔虫和 / 或蛔虫抗原的工具的努力中,本发明人确定仅全长 (14kDa) 蛋白质的截短 (truncated) 部分 (约 7kDa),因此并非 14kDa 形式,存在于受犬弓首线虫感染的犬科动物粪便中。(DIV6728 的这种 7kDa 截短部分在本文中称为“Copro6728”;

在犬弓首线虫感染的犬科动物粪便中检测 Copro6728 描述于包括在本文中的实施例部分。) 因此, 在一个方面, 本发明提供了可用于生成抗体的多肽, 所述抗体可用于特异性捕获并检测 Copro6728。

[0134] 接着对应于 SEQ ID NO :21 的蛔虫多肽 N 端甲硫氨酸残基之后的 127 个氨基酸残基特别地代表 SEQ ID NO :19 的氨基酸残基 17-143。所述 N 端甲硫氨酸是通过实施标准克隆技术人工添加至该多肽的 N 端的。同样如整个实施例部分中所描述的, 针对对应于 SEQ ID NO :21 的多肽产生的抗体对于检测蛔虫抗原是有用的。由于所述 N 端甲硫氨酸是人工添加的, 且并不认为其天然存在于弓首属中 (在 SEQ ID NO :19 和 SEQ ID NO :20 每一个中, 紧挨在 17 位甘氨酸残基之前的残基是丙氨酸, 而非甲硫氨酸), 因此考虑到本发明多肽可具有对应于 SEQ ID NO :19 的氨基酸残基 17-143 的氨基酸序列, 或更具体而言:

[0135] GPESCGPNEVWTECTGCELKCGQDENTPCTLNCRPPSCECSPGRGMRRTNDGRCIPASQCPQHRAKREEQCKPNEQWSPCRGCEGTCAQRFPCTRNCRPPGCECVAGAGFVRDAEGNCIKFDDCPK (SEQ ID NO :22)。

[0136] 此外, SEQ ID NO :28 (大部分是来源于犬弓首线虫的序列, 仅有的例外是 N 端的甲硫氨酸残基) 与 SEQ ID NO :27 (来源于猫弓首线虫的序列) 的比对示于图 14。由于针对具有对应于 SEQ ID NO :28 的序列的多肽而产生的抗体对于检测猫弓首线虫是有用的, 还考虑到本发明多肽可具有对应于 SEQ IDNO :30 的氨基酸序列, 其中 1 位的 X 是 M 或缺失 (absent), 2 位的 X 是 L 或缺失, 3 位的 X 是 P 或缺失, 4 位的 X 是 L 或缺失 (或 4 位的 X 是 I, 其占据 SEQ ID NO :26 的 4 位), 5 位的 X 是 T 或缺失, 6 位的 X 是 F 或缺失, 7 位的 X 是 L 或缺失, 8 位的 X 是 L 或缺失, 9 位的 X 是 A 或缺失, 10 位的 X 是 F 或缺失 (或 10 位的 X 是 I, 其占据 SEQ ID NO :26 的 10 位), 11 位的 X 是 I 或缺失, 12 位的 X 是 V 或缺失, 13 位的 X 是 G 或缺失, 14 位的 X 是 A 或缺失, 15 位的 X 是 A 或缺失, 16 位的 X 是 V 或缺失, 16 位的 X 是 M 或 A, 35 位的 X 是 I 或 M, 39 位的 X 是 Q 或 E, 42 位的 X 是 Q 或 T, 65 位的 X 是 A 或 P, 78 位的 X 是 R 或 H, 88 位的 X 是 P 或 K, 111 位的 X 是 R 或 K, 而 132 位的 X 是 G 或 H。

[0137] 此外, SEQ ID NO :3 相对于 SEQ ID NO :4 的比对示于图 5。还考虑到本发明多肽可具有对应于 SEQ ID NO :9 的氨基酸序列, 其中 1 位的 X 是 M 或缺失, 2 位的 X 是 R 或缺失, 3 位的 X 是 L 或缺失, 4 位的 X 是 V 或缺失, 5 位的 X 是 F 或缺失, 6 位的 X 是 H 或缺失, 7 位的 X 是 A 或缺失, 8 位的 X 是 V 或缺失, 9 位的 X 是 I 或缺失, 10 位的 X 是 Y 或缺失, 11 位的 X 是 L 或缺失, 12 位的 X 是 T 或缺失, 13 位的 X 是 L 或缺失, 14 位的 X 是 G 或缺失, 15 位的 X 是 F 或缺失, 16 位的 X 是 L 或缺失, 17 位的 X 是 T 或缺失, 18 位的 X 是 D 或缺失, 19 位的 X 是 A 或是缺失 (或 19 位的 X 是 M, 其占据 SEQ ID NO :5 的 19 位), 69 位的 X 是 H 或 D, 136 位的 X 是 I 或 V 而 172 位的 X 是 P 或 A。

[0138] 此外, SEQ ID NO :14 (大部分是来源于犬弓首线虫的序列, 仅有的例外是 N 端的甲硫氨酸残基) 与 SEQ ID NO :13 (来源于猫弓首线虫的序列) 的比对示于图 8。由于针对具有对应于 SEQ ID NO :14 的序列的多肽而产生的抗体对于检测猫弓首线虫是有用的, 还考虑到本发明多肽可具有对应于 SEQ IDNO :16 的氨基酸序列, 其中 1 位的 X 是 I 或缺失, 2 位的 X 是 Y 或缺失, 3 位的 X 是 G 或缺失, 4 位的 X 是 V 或缺失, 5 位的 X 是 A 或缺失, 6 位的 X 是 A 或缺失, 7 位的 X 是 S 或缺失, 8 位的 X 是 R 或缺失, 9 位的 X 是 R 或缺失, 10 位的 X 是 R 或缺失, 11 位的 X 是 R 或 M, 18 位的 X 是 N 或 K, 37 位的 X 是 Q 或 K, 52 位的 X 是 I 或 V, 55 位的 X 是 Y 或 F, 110 位的 X 是 E 或 D, 133 位的 X 是 K 或 E, 135 位的 X 是 Y 或 F, 138 位的 X 是

A 或 P, 139 位的 X 是 A 或 I, 140 位的 X 是 S 或 D, 141 位的 X 是 V 或缺失, 142 位的 X 是 R 或缺失, 143 位的 X 是 H 或缺失, 144 位的 X 是 K 或缺失, 145 位的 X 是 R 或缺失, 146 位的 X 是 D 或缺失, 147 位的 X 是 P 或缺失, 148 位的 X 是 Y 或缺失, 149 位的 X 是 T 或缺失, 150 位的 X 是 N 或缺失, 151 位的 X 是 M 或缺失, 152 位的 X 是 T 或缺失, 153 位的 X 是 P 或缺失, 154 位的 X 是 D 或缺失, 155 位的 X 是 E 或缺失, 156 位的 X 是 V 或缺失, 157 位的 X 是 A 或缺失, 158 位的 X 是 E 或缺失, 159 位的 X 是 G 或缺失, 160 位的 X 是 L 或缺失, 161 位的 X 是 R 或缺失, 而 162 位的 X 是 S 或缺失。

[0139] 此外, SEQ ID NO :21 (大部分是来源于犬弓首线虫的序列, 仅有的例外是 N 端的甲硫氨酸残基) 与 SEQ ID NO :20 (来源于猫弓首线虫的序列) 的比对示于图 11。由于针对具有对应于 SEQ ID NO :21 的序列的多肽而产生的抗体对于检测猫弓首线虫是有用的, 还考虑到本发明多肽可具有对应于 SEQ IDNO :23 的氨基酸序列, 其中 1 位的 X 是缺失或 M, 2 位的 X 是缺失或 L, 3 位的 X 是缺失或 S, 4 位的 X 是缺失或 V, 5 位的 X 是缺失或 L, 6 位的 X 是缺失或 A, 7 位的 X 是缺失或 L, 8 位的 X 是缺失或 F, 9 位的 X 是缺失或 A, 10 位的 X 是缺失或 L, 11 位的 X 是缺失或 I, 12 位的 X 是缺失或 T, 13 位的 X 是缺失或 F, 14 位的 X 是缺失或 A, 15 位的 X 是缺失或 V, 16 位的 X 是 M 或 A, 17 位的 X 是 G 或 D, 19 位的 X 是 E 或 K, 42 位的 X 是 N 或 D, 66 位的 X 是 N 或 D, 而 132 位的 X 是 E 或 A。

[0140] 本发明多肽可具有对应于 SEQ ID NO :38 的氨基酸序列, 其中 54 位的氨基酸是 E 或 A。特异性结合于该多肽的抗体包括在本发明中。

[0141] 由于具有对应于 SEQ ID NO :34 的氨基酸序列的多肽的前 38 个氨基酸残基并非来源于钩口属 (即, 其为载体序列), 还考虑到本发明多肽可包含与由 SEQ ID NO :34 所代表的序列相同或同源的氨基酸序列, 其中 1 位的 X 是 M 或缺失, 2 位的 X 是 G 或缺失, 3 位的 X 是 S 或缺失, 4 位的 X 是 S 或缺失, 5 位的 X 是 H 或缺失, 6 位的 X 是 H 或缺失, 7 位的 X 是 H 或缺失, 8 位的 X 是 H 或缺失, 9 位的 X 是 H 或缺失, 10 位的 X 是 H 或缺失, 11 位的 X 是 S 或缺失, 12 位的 X 是 S 或缺失, 13 位的 X 是 G 或缺失, 14 位的 X 是 L 或缺失, 15 位的 X 是 V 或缺失, 16 位的 X 是 P 或缺失, 17 位的 X 是 R 或缺失, 18 位的 X 是 G 或缺失, 19 位的 X 是 S 或缺失, 20 位的 X 是 H 或缺失, 21 位的 X 是 M 或缺失, 22 位的 X 是 A 或缺失, 23 位的 X 是 S 或缺失, 24 位的 X 是 M 或缺失, 25 位的 X 是 T 或缺失, 26 位的 X 是 G 或缺失, 27 位的 X 是 G 或缺失, 28 位的 X 是 Q 或缺失, 29 位的 X 是 Q 或缺失, 30 位的 X 是 M 或缺失, 31 位的 X 是 G 或缺失, 32 位的 X 是 R 或缺失, 33 位的 X 是 G 或缺失, 34 位的 X 是 S 或缺失, 35 位的 X 是 E 或缺失, 36 位的 X 是 F 或缺失, 37 位的 X 是 E 或缺失, 而 38 位的 X 是 L 或缺失。此外, 由于在 SEQ ID NO :33 中 251 位的 S 是在描述于本文中实施例部分的克隆方法中在该序列中经人工取代的 (野生型钩口属 ASP5 蛋白在该位置为 C 残基), 因此涵盖了 SEQ ID NO :34 中 251 位的 X 可为 S 或 C。

[0142] 还考虑到 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ IDNO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ IDNO :33 和 SEQ ID NO :34 可仅为较大多肽序列的一部分, 并因此可代表, 例如, 一种或多种通常在蛔虫中表达的蛋白质的部分序列, 或一种或多种人工融合于 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ

ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34 或 SEQ ID NO :38 或者 Copro6728 的多肽序列。本领域技术人员会知道存在多种供将两种或更多种多肽片段人工融合在一起的技术。

[0143] 甚至还考虑到本发明多肽可包括 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34、SEQ ID NO :38 和 Copro6728 中的多于一种。举例而言,本发明多肽可包含 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34 或 SEQ ID NO :38 或者 Copro6728。还考虑到本发明多肽可包含对应于 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34 或 SEQ ID NO :38 或者 Copro6728 的多种多肽片段。举例而言,本发明多肽可由融合在一起的对应于 SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :21 或 SEQ ID NO :28 的多种多肽片段形成。在另一实例中,本发明多肽可通过对应于 SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :21 或 SEQ ID NO :28 的多种多肽片段和对应于 SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :23 或 SEQ ID NO :30 的多种多肽片段以任意组合融合在一起来形成。

[0144] 虽然本发明的一种特定多肽通过特定技术表达并分离(其描述于包括在本文中的实施例部分),本领域技术人员会知道任何本发明多肽可通过使用不同技术中的任何一种或多种来分离。(参见,例如, Sewald 和 Jakubke, *Peptides: Chemistry and Biology*, Wiley Publishing(2002); *Peptide Synthesis and Applications (Methods in Molecular Biology)* Howl, 编, Humana Press(2005); Jones, *Amino Acid and Peptide Synthesis*, Oxford University Press(2002), 其中每一个以全文提述的方式并入本文。)这些技术包括那些可实施以分离天然存在的下述多肽的技术,所述多肽具有对应于 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34、SEQ ID NO :38 和 Copro6728, 以及这些多肽任何天然存在的变体的氨基酸序列。这些技术还包括那些可实施以人工生成下述多肽的技术,所述多肽具有对应于 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID

NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34、SEQ ID NO :38 和 Copro6728,以及这些多肽的任何保守变体的氨基酸序列。上述变体可通过,例如,使用任何一种或多种诱变技术或通过直接合成来生成。

[0145] 本发明的多肽能够在暴露于这些多肽的宿主动物中引发免疫应答以产生本发明的一种或多种抗体。无论其通过何种技术产生,当其要用于产生抗体的目的时,本发明多肽优选制备为基本上纯的 (substantially pure) 形式。优选地,这些多肽为至少约 80% 纯,更优选为至少约 90-95% 纯,且甚至更优选为至少约 99% 纯。供在宿主生物中引发免疫应答和供从其分离抗体的示例性技术描述于本文,但应理解为本发明并不限于这些技术。本领域技术人员会知道有多种技术以供实现该相同的目标,而不乖离本发明的范围和精神。

[0146] IV. 本发明的抗体

[0147] 本发明还包括抗体及其抗原结合片段,其针对本发明一种或多种多肽的全部或部分产生并与其特异性结合,而且还包括包括所述抗体及其抗原结合片段的组合物。当与从哺乳动物获得的试样接触时,这些抗体及其抗原结合片段能够与特定寄生虫抗原特异性结合。举例而言,蛔虫抗体及其抗原结合片段能够与试样中存在的蛔虫抗原特异性结合,但不能与试样中可能存在的任何来自钩虫或鞭虫的抗原特异性结合。作为进一步的实例,鞭虫抗体及其抗原结合片段能够与试样中存在的鞭虫抗原特异性结合,但不能与试样中可能存在的任何来自钩虫或蛔虫的抗原特异性结合。本发明的抗体仅适用于捕获一种或多种蛔虫抗原、鞭虫抗原和 / 或钩虫抗原,仅适用于检测一种或多种蛔虫抗原、鞭虫抗原和 / 或钩虫抗原,或更优选地,适用于捕获并检测一种或多种蛔虫抗原、鞭虫抗原和 / 或钩虫抗原。

[0148] 本发明抗体可属于任何抗体类 (antibody class), 包括,例如, IgG、IgM、IgA、IgD、IgE, 且可通过本领域技术人员已知的不同方法之任一来制备。(参见,例如, Dean, Methods Mol. Biol. 80 :23-37 (1998) ;Dean, Methods Mol. Biol. 32 :361-79 (1994) ;Baileg, Methods Mol. Biol. 32 :381-88 (1994) ;Gullick, Methods Mol. Biol. 32 :389-99 (1994) ;Drenckhahn 等 Methods Cell. Biol. 37 :7-56 (1993) ;Morrison, Ann. Rev. Immunol. 10 :239-65 (1992) ;Wright 等 Crit. Rev. Immunol. 12 :125-68 (1992) ;Harlow 和 Lane, Antibodies :A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory (1988) ;以及 Making and Using Antibodies :A Practical Handbook, Howard 和 Kaser 编, CRC Press (2006), 其每一个均以全文提述的方式并入本文)。

[0149] 在一个技术中,将本发明多肽引入宿主动物,例如,如引入兔、小鼠、大鼠、豚鼠、山羊、猪、牛、绵羊、驴、犬、猫、鸡或马。可通过将所述多肽与载体相联,和 / 或通过将宿主暴露于佐剂而在宿主动物中引发增强的免疫应答,但应理解为本发明并不需要所述多肽与载体相联或将所述宿主暴露于佐剂。可用于该目的的示例性的载体为牛血清白蛋白、牛甲状腺球蛋白和大豆胰蛋白酶抑制剂。示例性的佐剂包括弗氏完全佐剂或弗氏不完全佐剂,以及 MDL-TDM 佐剂。无论所述多肽是否与上述载体相联,或无论所述宿主是否暴露于佐剂,可选地,可对所述宿主动物进行加强免疫 (booster immunization), 所述宿主动物在此之后放血一次或多次。然后,特异性结合所述多肽的多克隆抗体可从得自所述流出血 (bleed or bleeds) 的抗血清纯化。上述纯化可通过,例如,使用亲和层析技术来进行,所述技术涉及将

所述多肽与固体支持物相联。上述亲和层析技术对本领域技术人员是公知的。

[0150] 在几个实施方案中,本发明的蛔虫抗体是在兔中,通过将该宿主动物用具有对应于 SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:14 和 SEQ ID NO:21 的氨基酸序列的多肽免疫而产生的抗体,(在下文中,这些特定抗体分别称为“抗-DIV6744”、“抗-DIV6716”和“抗-DIV6728”)。本领域技术人员会知道抗-DIV6744、抗-DIV6716 和抗-DIV6728,或本发明任何其他抗体的产生和分离并不限于任何特定技术。

[0151] 在另一个实施方案中,本发明的蛔虫抗体是在兔中,通过将该宿主动物用具有对应于 6728C (SEQ ID NO:38) 的氨基酸序列的多肽免疫而产生的抗体(在下文中,该特定抗体称为“抗-Copro6728C”)。一种产生和分离该抗体的特定技术描述于本文中的实施例部分,但本领域技术人员会知道抗-Copro6728C 的产生和分离并不限于该特定技术。

[0152] 在其他实施方案中,本发明的蛔虫抗体是在兔中,通过将该宿主动物用全蛔虫提取物、蛔虫肠提取物或蛔虫生殖器官提取物免疫而产生的抗体,如描述于标题为“Roundworm Coproantigen Detection”,在 2007 年 6 月 15 日提交的美国专利申请序列号 11/763592 中的。

[0153] 在另一个实施方案中,本发明的鞭虫抗体是在兔中,通过将该宿主动物用具有对应于 SEQ ID NO:5 和 SEQ ID NO:7 的氨基酸序列的多肽免疫而产生的抗体(在下文中,此特定抗体称为“抗-DIV6901”和“抗-DIV6902”)。本领域技术人员会知道抗-DIV6901、抗-DIV6901,或本发明任何其他抗体的产生和分离并不限于任何特定技术。

[0154] 在别的实施方案中,本发明的钩虫抗体是在兔中,通过将该宿主动物用具有对应于 SEQ ID NO:34 的氨基酸序列的多肽免疫而产生的抗体。(在下文中,此特定抗体称为“抗-Asp5-1”)。本领域技术人员会知道抗-Asp5-1,或本发明任何其他抗体的产生和分离并不限于任何特定技术。

[0155] 在其他实施方案中,本发明的钩虫抗体是在兔中,通过将该宿主动物用具有对应于 SEQ ID NO:33 的氨基酸序列的多肽免疫而产生的抗体,即,用来自钩虫的基本上全长 ASP5 蛋白质,如描述于标题为“Device, Kit and Method for Hookworm Antigen Detection”,提交于 2007 年 6 月 15 日的美国专利申请系列号 11/763583 中的。

[0156] 在其他实施方案中,本发明的抗体是在宿主中针对一种或多种具有下述氨基酸序列的多肽而产生的,所述氨基酸序列为对应于 SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:28 和 SEQ ID NO:34 的序列的保守变体。在一些其他实施方案中,本发明的抗体是在宿主中针对一种或多种具有下述氨基酸序列的多肽而产生的,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:38、Copro6728 和 CoproAP5 的序列,或所述氨基酸序列为这些序列中任一保守变体。

[0157] 在另一个实施方案中,本发明的抗体是特异性结合一种或多种具有下述氨基酸序列的多肽的抗体,所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID

NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34、SEQ ID NO :38、Copro6728 或 CoproAP5 的序列，或其抗原性部分。

[0158] 还在其他实施方案中，本发明的抗体特异性结合一种或多种具有下述氨基酸序列的多肽，所述氨基酸序列为对应于 SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :28 或 SEQ ID NO :34 的序列的保守变体。在一些其他实施方案中，本发明的抗体特异性结合一种或多种具有下述氨基酸序列的多肽，所述氨基酸序列对应于 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :38、Copro6728 或 CoproAP5 的序列，或所述氨基酸序列为这些序列中任一保守变体。

[0159] 还应理解为，可选地，本发明的抗体可为多克隆或单克隆抗体、单链抗体 (scFv)、嵌合抗体及其片段。对目标多肽有特异性的单克隆抗体可通过，例如，制备产生对目标多肽具有所需特异性的抗体的细胞系来获取并纯化。该类型的细胞系可来源于特定种类的细胞（例如，脾细胞），其从之前如前所述用多肽免疫的宿主动物分离。在上述情况下，这些细胞可随即通过下述方法被永生，例如，通过实施本领域技术人员已知的不同融合技术之任一将其与骨髓瘤细胞融合。在一个示例性的技术中，将来自所述经免疫的宿主动物的细胞与其融合配偶体（例如，所述骨髓瘤细胞）一同在洗涤剂的存在下温育较短时间，然后将其铺板于支持杂交细胞（但不支持所述骨髓瘤融合配偶体）生长的培养基上。上述选择可通过，例如，使用次黄嘌呤、氨基蝶呤和胸苷 (HAT) 来达成。当杂交细胞在选择中出现时（可能为开始选择方法后一或两周内），对单个杂交集落（及其上清）就其与对宿主动物进行免疫所用的多肽的结合能力进行测试。具有最佳结合特异性的杂交集落会代表可从其分离单克隆抗体的最佳候选。这些单克隆抗体，例如，可直接从这些集落所生长的上清（即，培养基）通过使用本领域技术人员已知的不同技术之任一分离。

[0160] 本发明的抗体还可为单链抗体 (scFv)，或抗体的抗原结合片段。抗体的抗原结合片段是完整抗体的一部分，包括完整抗体的抗原结合位点或可变区，其中该部分不含完整抗体 Fc 区的重链恒定域。抗体片段的实例包括 Fab、Fab'、Fab'-SH、F(ab')₂ 和 F_v 片段。除了从动物或哺乳动物细胞生产和纯化之外，抗体、抗体片段或非抗体支架可基于不同的体外技术（包括噬菌体展示、核糖体展示或细菌展示）来选择。

[0161] 抗体，包括二次抗体，可用任何类型的本领域已知标记物进行标记，其包括，例如，荧光、化学发光、放射性、酶、胶粒、放射性同位素和生物发光标记物。在本发明的不同实施方案中，本发明的一种或多种抗体用酶、胶粒、放射性核素或荧光体 (fluorophor) 来标记。所述微粒标记物可为，例如，与抗体偶合 (conjugate) 的有色乳胶颗粒、染料溶胶 (dye sol) 或金溶胶 (goldsol)。

[0162] 本发明的方法、装置和试剂盒

[0163] 本发明的装置和试剂盒

[0164] 在一个方面，本发明包括检测一种或多种来自试样的寄生虫抗原是否存在的装置，所述装置包括固体支持物，其中至少两种选自下组的抗体固定在所述固体支持物上：(a) 第一抗体，其能够特异性结合蛔虫粪抗原，但不结合鞭虫或钩虫粪抗原；(b) 第二抗体，

其能够特异性结合鞭虫粪抗原,但不结合蛔虫或钩虫粪抗原;和(c)第三抗体,其能够特异性结合钩虫粪抗原,但不结合鞭虫或钩虫粪抗原;和可选地,(d)一种或多种类型的蛔虫粪抗原、鞭虫粪抗原和/或钩虫粪抗原,其中所述一种或多种类型的蛔虫粪抗原、鞭虫粪抗原和钩虫粪抗原与所述抗体特异性结合。所述装置配置为协助特异性结合寄生虫粪抗原,并将其从来自哺乳动物试样中的蛔虫、鞭虫和钩虫中分离出来。

[0165] 在一个方面,所述装置包括固体支持物,其中本发明的一种或多种抗体固定于固体支持物上。所述固体支持物可为,例如,微滴定板的孔的内侧、底部表面,或作为侧流装置一部分而包括在内的基底(substrate),但不仅限于此。示例性的微滴定板为 Immulon 1B 96 孔板(其可从 Thermo Scientific, Milford, MA 市购),但应理解为本领域技术人员会知道非常多种其他并非所述 Immulon 1B 96 孔板的微滴定板能够使得抗体固定于其上,并因此适用于提供本发明的固体支持物。

[0166] 示例性的侧流装置是描述于美国专利号 5726010 中的侧流装置,其以全文提述的方式并入本文。进行侧流测定法的装置可为 SNAP® 装置,其可从 IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, ME 市购。然而,应理解为本领域技术人员会知道,非常多种其他并非 SNAP® 装置或描述于美国专利号 5726010 中的侧流装置能够使得抗体固定于其上,并因此适于用作本发明的装置。这些装置包括,例如,使用胶体金技术的侧流装置。

[0167] 用于本发明装置的抗体可通过本领域任何已知技术固定于固体支持物上,所述技术包括,例如,共价或非共价地,直接或非直接地将所述抗体附着于所述固体支持物。因此,虽然这些抗体可通过物理吸附(即,不使用化学接头)附着于固体支持物,确实也可以将这些抗体通过任何本领域技术人员可方便地知道的化学结合(即,使用化学接头)方法固定于所述固体支持物。

[0168] 还应理解所述固体支持物可为任何适用于固定本发明抗体的材料。举例而言,所述固体支持物可为珠、颗粒、管、孔、探针、浸渍片(dipstick)、移液管头(pipette tip)、载玻片、纤维、膜、纸、天然的和改性的纤维素、聚丙烯酰胺、琼脂糖、玻璃、聚丙烯、聚乙烯、聚苯乙烯、右旋糖苷、尼龙、淀粉酶、塑料、磁石(magnetite)或本领域技术人员可方便地知道的其他任何合适的材料。

[0169] 可选地,所述装置可包括一种或多种标记的抗原捕捉试剂(labeled antigen capture reagent),其可与来自哺乳动物的试样在施用于本发明装置之前混合。当包含所述标记的抗原捕捉试剂时,所述标记的抗原捕捉试剂可或不沉积于或干燥于所述装置的固体表面。“抗原捕捉试剂”指任何对一种或多种目标抗原具有特异性的化合物。所述标记的抗原捕捉试剂,无论是添加至所述哺乳动物试样或预沉积于所述装置上,可为(例如)对蛔虫抗原具有特异性的标记抗体,包括但不限于,本发明的抗体。举例而言,与辣根过氧化物酶偶合的抗-DIV6744 可用作标记的抗原捕捉试剂。在另一个实例中,与辣根过氧化物酶偶合的抗-DIV6901 或抗-DIV6902 可用作标记的抗原捕捉试剂。在进一步的实例中,与辣根过氧化物酶偶合的抗-DIV6716 可用作标记的抗原捕捉试剂。在进一步的实例中,与辣根过氧化物酶偶合的抗-DIV6728 可用作标记的抗原捕捉试剂。还在另一个实施例中,与辣根过氧化物酶偶合的抗-Copro6728 可用作标记的抗原捕捉试剂。

[0170] 可选地,所述装置还可包括将未结合的材料(例如,所述哺乳动物试样的未反应部分,例如,粪便提取物的未反应部分,以及未结合的抗原捕捉试剂)从反应区(固相)运

出（如当所述装置是SNAP®装置时）或以其他方式促进其移除（如当所述装置包括微滴定板时）的液体试剂。所述液体试剂可为洗涤试剂，并仅用于将未结合的材料从反应区移除，或其可包括检测试剂，并用于移除未结合的材料并促进抗原检测。举例而言，在抗原捕捉试剂偶合于酶时，所述检测试剂包括当在反应区（固相）中与酶-抗体偶合物反应时产生可检测信号的底物。或者，在标记的抗原捕捉试剂偶合于放射性、荧光或光吸收分子的情况下，所述液体试剂仅作为洗涤液起作用，通过洗去未结合的标记试剂促进在反应区检测复合物的形成。

[0171] 所述液体试剂可还包括有限量的“抑制剂”，即，阻断所述可检测终产物显色（development）的物质。有限量定义为直至大多数或所有过量的、未结合的材料从所述第二区域运输走（此时产生可检测的终产物）为止，足以阻断终产物显色抑制剂的量。

[0172] 本发明的装置还可包含不同的结合试剂，其固定于与所述一种或多种抗原捕捉试剂不同的位置。举例而言，识别标记的抗体或抗原捕捉试剂的种特异性（例如，蛔虫特异性）抗体部分的免疫试剂（抗体、抗原或多肽），或酶标记试剂的酶部分，可作为阳性对照包含在内以评估所述试剂在所述装置内的活力（viability）。举例而言，阳性对照可为在（例如）山羊或小鼠中产生的抗辣根过氧化物酶抗体。此外，从所述抗原-抗体复合物的抗体部分所来源的物种的非免疫成员分离的试剂（例如，抗体），可作为阴性对照包括在内以评估免疫复合物（即，抗原-抗体复合物）形成的特异性。

[0173] 除了设计为从哺乳动物试样中的蛔虫、鞭虫和钩虫特异性结合并分离寄生虫粪抗原之外，可选地，本发明的装置可设计为使其能够进行一种或多种其他诊断测试。举例而言，所述固体支持物还可包含供检测一种或多种非蠕虫寄生虫、一种或多种病毒、一种或多种真菌或一种或多种细菌的试剂。供检测一种或多种非蠕虫寄生虫、一种或多种病毒、一种或多种真菌或一种或多种细菌的试剂可为，例如，一种或多种抗体，或一种或多种由对一种或多种非蠕虫寄生虫、一种或多种病毒、一种或多种真菌或一种或多种细菌有特异性的抗体识别的抗原。

[0174] 在一个实施方案中，本发明的装置是微滴定板，其包括多个孔，其中每个孔包含具有抗-DIV6744pAB固定于其上的固体支持物。

[0175] 所述板可与本发明的方法一同结合用于在试样中检测一种或多种寄生虫粪抗原是否存在。举例而言，可在哺乳动物中通过用抗-DIV6744pAB检测一种或多种蛔虫抗原、用抗-DIV6902pAB检测一种或多种鞭虫抗原并用抗-Asp5-1pAB检测一种或多种钩虫抗原来诊断蛔虫感染，所述抗体均固定于固体支持物之上。在一个实施方案中，检测的抗原是粪抗原。“粪抗原”为存在于粪便试样中并且可特异性结合于抗体的蛔虫、鞭虫或钩虫的任何一种或多种产物。粪抗原因此可为全虫、虫卵、虫片段或自虫分泌、排泄或脱落（shed）的产物，或其组合。粪抗原还包括本发明多肽，如具有对应于SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4、SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6、SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:8、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:12、SEQ ID NO:13、SEQ ID NO:14、SEQ ID NO:15、SEQ ID NO:16、SEQ ID NO:19、SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:26、SEQ ID NO:27、SEQ ID NO:28、SEQ ID NO:29、SEQ ID NO:30、SEQ ID NO:33、SEQ ID NO:34或SEQ ID NO:38的氨基酸序列的多肽，具有为这些序列保守变体的氨基酸序列的多肽，和/或任何上述多肽的抗原性片段，以及，例如，CoproASP5和Copro6728。

[0176] 本发明还包括用于在哺乳动物试样中检测和分辨蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫的测定试剂盒 (例如, 制成的制品)。因此, 试剂盒可包括本发明的一种或多种装置和 / 或组合物。举例而言, 所述试剂盒可包括抗蛔虫抗体以及确定所述抗体结合于蛔虫抗原的手段, 抗鞭虫抗体以及确定所述抗体结合于鞭虫抗原的手段, 和抗钩虫抗体以及确定所述抗体结合于钩虫抗原的手段。在一个特定的实例中, 上述试剂盒包括具有固定的抗 - 蛔虫抗体 (如抗 -DIV6744)、抗鞭虫抗体 (如抗 -DIV6902) 和抗钩虫抗体 (如抗 -Asp5-1) 的装置, 例如, 一种或多种抗原捕捉试剂 (例如, 未固定的标记的抗原捕捉试剂和固定的抗原捕捉试剂) 和洗涤试剂, 以及检测试剂和阳性和阴性对照试剂, 若需要或合适。其他的组分如本领域一般技术人员已知的缓冲液、对照等, 可包含在上述测试试剂盒中。不同的试剂的相对量可变动, 以提供基本上使所述测定法的敏感度最优的试剂在溶液中的浓度。具体而言, 所述试剂可作为干粉提供, 通常经冻干, 其在溶解时会提供具有合适浓度以供与试样合并的试剂溶液。本试剂盒还可包括实施本发明一种或多种方法的说明书, 包括所述试剂盒中所包括的本发明的任何装置和 / 或组合物的使用说明书。

[0177] B. 本发明的方法

[0178] 本发明还包括使用本发明一种或多种装置、试剂盒和 / 或组合物检测在试样中是否存在一种或多种寄生虫抗原的方法。因此, 可进行所述方法检测蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫在试样中是否存在, 所述试样的例子如从哺乳动物获得的粪便试样, 所述哺乳动物包括但不限于犬、猫、猪、牛或人。此外, 还可进行所述方法检测例如弓首属, 如犬弓首线虫或猫弓首线虫或牛弓首线虫, 蛔属, 如似蚓蛔线虫和猪蛔线虫, 无饰属, 如单一无饰线虫, 伪新地蛔线虫, 如 *P. decipiens*, 毛尾属和 / 或毛首属, 如狐毛尾线虫、*Trichuris campanula*、有齿毛尾线虫、猪毛尾线虫、毛尾毛尾线虫、褪色毛尾线虫 (*Trichuris discolor*) 和毛尾毛首线虫, 犬钩口线虫、巴西钩口线虫、十二指肠钩口线虫、锡兰钩口线虫、*Ancylostoma tubaeforme* 和多齿钩口线虫、美洲板口线虫和狭首钩形线虫。

[0179] 在本发明的方法中, 蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫的检测可通过检测一种或多种蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫抗原, 如 Copro6728 和 CoproASP5 或具有对应于 SEQ ID NO :3、SEQ ID NO :4、SEQ ID NO :5、SEQ ID NO :6、SEQ ID NO :7、SEQ ID NO :8、SEQ ID NO :9、SEQ ID NO :12、SEQ ID NO :13、SEQ ID NO :14、SEQ ID NO :15、SEQ ID NO :16、SEQ ID NO :19、SEQ ID NO :20、SEQ ID NO :21、SEQ ID NO :22、SEQ ID NO :23、SEQ ID NO :26、SEQ ID NO :27、SEQ ID NO :28、SEQ ID NO :29、SEQ ID NO :30、SEQ ID NO :33、SEQ ID NO :34 或 SEQ ID NO :38 的氨基酸序列的多肽, 以及这些序列的抗原性片段和 / 或保守变体, 以及 CoproASP5 是否存在来进行。当被测试寄生虫粪抗原的试样是粪便时, 所述粪便的可溶性部分可通过任何本领域已知实验方法收集。举例而言, 除了在本文中实施例部分描述的特定实验方法之外, 所述试样的可溶性部分通常可通过使用过滤、提取、离心或单纯混合继以重量沉降 (gravimetric setting) 来收集。本领域技术人员会知道, 还有多种从哺乳动物提取和制备非粪便试样的方法。举例而言, 所述试样可为由所述哺乳动物天然分泌或以其它方式释放的体液, 或从所述哺乳动物人工得到的体液。所述人工提取可通过对所述哺乳动物进行挤乳, 或通过注射器扎入所述哺乳动物体内, 并将所述流体抽至注射器中。一旦获得, 可选地, 可对所述流体进行分级 (例如, 血清可从全血中分级, 然后用作试样)。作为另一个实例, 所述试样可通过从哺乳动物 (如所述哺乳动物的口腔) 拭取得到。还作为另一个实例, 可通过活组织检查获得组

织切片。

[0180] 所述方法包括在使得抗原 / 抗体复合物 (即, 免疫复合物) 能够形成的条件下, 将哺乳动物试样与一种或多种对寄生虫粪抗原具有特异性的抗体相接触。即, 抗体特异性结合于存在于试样中的粪抗原。本领域技术人员熟悉可用于检测上述抗原 / 抗体复合物结合的测定法和条件。举例而言, 所述抗原 / 抗体复合物可使用结合于所述抗原 / 抗体复合物的二抗检测。试样中抗原和抗体之间复合物的形成可使用本领域已知的任何合适方法检测。

[0181] 此外, 在一个特定反应中形成的抗体 - 抗原复合物的相对量可参考在任何其他反应中, 通过本领域已知方法, 为取得该目标而形成的量来测定。当确定受测试的试样具有特定 (蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫) 抗体 - 抗原复合物时, 可基于形成的特定复合物得出结论: 特定寄生虫存在于宿主哺乳动物中, 以及存在的为何种寄生虫 (蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫)。当确实如此时, 可得出结论: 所述测试试样来自遭受肠道寄生虫感染的动物。受测试的哺乳动物遭受肠道寄生虫感染的结论可由例如医师在诊断服务提供者 (diagnostic service provider) 或所述哺乳动物的管理者 (如所述哺乳动物的兽医) 来作出。当哺乳动物的管理者确定 (或者从他处得知) 哺乳动物遭受寄生虫感染且存在的为何种寄生虫时, 所述管理者可随即对所述哺乳动物进行经优化设计以使所述哺乳动物特定驱除所述寄生虫的治疗过程, 而非一般性驱除寄生性线虫的治疗过程。此外, 本发明可用于确证任何接受针对特定寄生虫感染的治疗的动物已消除了该感染。例如, 得知试样包括蛔虫和鞭虫, 但非钩虫的管理者, 可使用该信息特别针对蛔虫治疗所述试样所取自的动物, 所述治疗通过对该哺乳动物施以针对蛔虫最具效力的药物, 与针对鞭虫最具效力的第二药物进行。缺少上述信息, 所述管理者则可能, 例如, 用仅对蛔虫或仅对鞭虫最具效力, 或对蛔虫和鞭虫均非最具效力 (在此情况下, 所述哺乳动物有接受非理想治疗的危险) 的药物来治疗所述哺乳动物。此外, 可告诫可能与受感染的动物或其排泄物接触的人采取预防措施以防染上所述寄生虫。在此背景下, 以高特异性确定所述蠕虫的物种是重要的, 因为一些寄生虫, 如蛔虫和钩虫, 可导致严重的人类疾病 (例如, 幼虫移行症 (larval migrans)), 而通常认为鞭虫并不在人类中起重要的动物传染性 (zoonotic) 作用。

[0182] 本发明方法的步骤可包括将哺乳动物试样施于本发明装置, 其包括能够特异性结合蛔虫粪抗原, 但非鞭虫或钩虫粪抗原的第一抗体; 能够特异性结合鞭虫粪抗原, 但非蛔虫或钩虫粪抗原的第二抗体; 和能够特异性结合钩虫粪抗原, 但非鞭虫或钩虫粪抗原的第三抗体, 以在所述粪抗原存在 (如有) 存在于试样中时形成抗体 - 粪抗原复合物。针对蛔虫抗原的特异性抗体可直接或间接地附着于固体支持物或基底, 如微滴定孔、SNAP®装置的抗体固定部分、磁珠、非磁性珠 (non-magnetic bead)、柱、基质 (matrix)、膜、由合成或天然纤维组成的纤维毯片 (fibrous mat) (例如, 基于玻璃或纤维素的材料, 或热塑性聚合物, 如, 聚乙烯、聚丙烯或聚酯), 由颗粒材料 (例如, 玻璃或不同的热塑性聚合物) 组成的烧结结构 (sintered structure), 或由硝酸纤维素、尼龙、聚砜等 (通常本质上是合成的) 组成的浇注的 (cast) 膜质薄膜 (membranefilm)。所有这些基底材料可以以合适的形状, 如薄膜 (film)、片材或板使用, 或其可涂于 (coated) 或粘于 (bonded) 或层压在 (laminated) 合适的惰性载体 (如纸、玻璃、塑料薄膜或纤维) 上。将肽固定在固相上的合适方法包括离子的、疏水的、共价相互作用以及类似方法。

[0183] 然而, 本发明方法并不需要使用固相或基底。本领域技术人员会知道有多种方法

可实施本方法以检测蛔虫是否存在而无需涉及使用固相或基底。正好在一个实例中,可实施无需使用固相或基底的免疫沉淀方法。

[0184] 在本发明一些实施方案中,当指示试剂(如与抗体结合的酶偶合物)催化可检测的反应时,检测出抗原/抗体复合物。可选地,包括产生信号的化合物的指示试剂在使得可检测的抗原/抗体/指示物复合物能够形成的条件下可施用于所述抗原/抗体复合物。可选地,所述抗体可在形成抗原/抗体复合物之前用指示试剂标记。

[0185] 抗原/抗体复合物或抗原/抗体/指示物复合物在本发明的一些方法中可通过辐射度测量(radiometric)、色度测量、荧光测量、光度测量、大小分离或沉淀方法来特异性地检测。对抗原/抗体复合物的检测还可以通过添加与包括信号产生化合物的指示试剂偶合的二抗来达成。包括与多肽/抗体复合物结合的信号产生化合物(标记物)的指示试剂,可使用上述方法检测,并可包括显色剂、催化剂(如酶偶合物)、荧光化合物(如荧光素和罗丹明),化学发光化合物(如Dioxetane、吡啶盐(acridinium)、菲啶盐(phenanthridinium)、钆和鲁米诺(luminal))、放射性元素、直接可见的标记物,以及辅因子、抑制剂、磁性颗粒等。酶偶联物的实例包括碱性磷酸酶、辣根过氧化物酶、 β -半乳糖苷酶等。特定标记物的选择并非至关重要,但其应能够单独或与一种或多种别的物质一同产生信号。

[0186] 本发明的方法包括但不仅限于基于竞争、直接反应或夹心(sandwich)类型测定法,其包括但不仅限于ELISA、RIA、免疫荧光测定法(IFA)、血凝(HA)、荧光偏振免疫测定法(FPIA)和微滴定板测定法(即,任何在微滴定板上一个或多个孔中进行的测定法)。本发明的一种测定法包括可逆流层析结合测定法,其可通过,例如,使用SNAP®装置来进行。参见美国专利号5726010。

[0187] 在一些实施方案中,本发明方法促进夹心或竞争类型的特异性结合测定法。在夹心测定法中,将抗原捕捉试剂固定于反应区。这些抗原捕捉试剂可特异性结合于就蛔虫、鞭虫和/或钩虫进行测试的试样中的抗原。在结合来自所述试样的抗原后,所述抗原捕捉试剂/抗原复合物由任何合适的方法检测。举例而言,所述复合物可与标记的特异性结合试剂(例如,酶抗体偶合物)反应,而抗原被检出(例如,在与底物反应后)。

[0188] 在本发明方法的其他实施方案中,进行竞争测定法。在竞争测定法中,抗原捕捉试剂固定于反应区,并与来自试样的抗原和标记的抗原(例如,抗原酶偶合物)同时接触。在反应区检出的标记物量与所述试样中抗原量成反比。

[0189] 在本方法的一些实施方案中,对蛔虫、鞭虫和钩虫粪抗原具有特异性的抗体附着于固相或基底。将潜在地包含来自蛔虫、鞭虫和/或钩虫的抗原的试样添加至所述基底。添加特异性结合蛔虫、鞭虫和/或钩虫的抗体。所述抗体可以是与固相上使用的相同的抗体或其可以来自不同的来源或物种。另外,这些抗体可以与指示试剂(如酶偶合物)连接。可在每次添加之前进行洗涤步骤。可添加生色团或酶底物,并任其显色。所述颜色反应可停止,且颜色可使用例如分光光度计来量化,和/或所述颜色可由人肉眼进行主观评估。

[0190] 在所述方法的其他实施方案中,对蛔虫、鞭虫和钩虫粪抗原具有特异性的抗体附着于固相或基底。将潜在地包含蛔虫、鞭虫和/或钩虫抗原的试样添加至所述基底。添加特异性结合所述粪抗原的抗物种二抗。这些二抗来自与固相抗体来自的物种所不同的物种。添加特异性结合所述二抗,但不特异性结合所述固相抗体的抗物种三抗。所述三抗可包含指示试剂,如酶偶合物。可在每次添加之前进行洗涤步骤。可添加生色团或酶底物,并任其

显色。所述颜色反应可停止,且颜色可使用例如分光光度计来量化,和 / 或所述颜色可由人肉眼进行主观评估。

[0191] 在一个特定实施例中,本发明方法与装置(其为侧流测定法装置)结合,通过将准备好的哺乳动物试样在第一区(试样施加区)添加至所述装置的流动基质来进行。所述准备好的试样在流体流动路径中通过毛细作用携带至流动基质的第二区,此处存在颗粒状的标记物,其能够与所述试样中的抗原结合并形成第一复合物。所述颗粒标记物可为,例如,与对蛔虫抗原有特异性的抗体偶合的有色乳胶颗粒、染料溶胶或金溶胶。第一复合物被携带至流动基质的第三区,在此特异性结合蛔虫抗原的抗体固定于独特的位置。第二复合物在所述固定抗体和第一复合物之间形成。作为第二复合物一部分的颗粒标记物可直接由人的肉眼观察到。

[0192] 每个特定寄生虫抗体可为在反应区(固相)的固定抗原捕捉试剂。第二抗原捕捉试剂,即,与标记物偶合了的第二特异性寄生虫抗体,可在所述试样添加至所述装置之前添加至所述试样,或所述第二抗原捕捉试剂可并入所述装置。举例而言,标记的抗原捕捉试剂可沉积并干燥在流体流动路径上,其提供试样施加区与所述固相之间的流体联通。标记的抗原捕捉试剂与测试试样的接触可导致所述标记的抗原捕捉试剂溶解。

[0193] 在本发明方法的一个实施方案中,特定寄生虫粪抗原通过 ELISA 检测。本发明的 ELISA 方法的特定实例在本文中包含的实施例部分描述。尽管本发明参考那些特定 ELISA 方法描述,但是应理解为本领域一般技术人员会知道可使用可选的(alternative)、附加的(additional)或替代的(substitute)ELISA 步骤,而不乖离通过本发明的这种方法达成的基本目标。

[0194] 在本发明的另一个实施方案中,寄生虫粪抗原通过使用例如侧流装置(如 SNAP®装置)检测。

[0195] 此外,供检测寄生虫感染的本发明方法可与其他诊断性测定法组合以检测其他生物或病状的存在。举例而言,本发明的测定法可与检测一种或多种非蠕虫粪便寄生虫、一种或多种病毒、一种或多种真菌、一种或多种细菌、一种或多种血液-传播的寄生虫或潜血、或其组合的试剂组合。通过在单一测定装置中提供两种或更多种独特结合位点(如,例如,在 SNAP®测定装置中两个独特的点),本发明使得从单一试样检测两种或更多种生物成为可能。在一个实施方案中,有三个独特的点(每个点为抗原或抗体结合试剂)供从单一试样检测过去或现在的感染或来自三种生物的侵袭(infestation)(即,相同的单一试样在单一装置上暴露于三种捕捉试剂)。还在另一个实施方案中,有四个独特的点(每个点为抗原或抗体结合试剂)供从单一试样检测过去或现在的感染或来自四种生物的侵袭(即,相同的单一试样在单一装置上暴露于四种捕捉试剂)。然而,应理解为相同的装置可包括多于四个独特的点和 / 或使得检测多于四种生物成为可能。

[0196] 供检测一种或多种非蠕虫寄生虫、一种或多种病毒、一种或多种真菌或一种或多种细菌的试剂可为,例如,一种或多种抗体或由对一种或多种非蠕虫寄生虫、一种或多种病毒、一种或多种真菌或一种或多种细菌具有特异性的抗体识别的抗原。

[0197] 可选地,所述方法还可包括使用一种或多种来自蛔虫、鞭虫和钩虫的核酸,包括但不限于本发明的核酸,以确定蛔虫、鞭虫和 / 或钩虫在哺乳动物试样中是否存在。上述使用这些核酸确定寄生虫的存在可在进行所述方法的任何其他方面(包括通过抗体检测

蛔虫、鞭虫和钩虫)之前、之后或同时进行。因此,在一个方面,当在特定试样中检测到或未检测到蛔虫、鞭虫和/或钩虫,而将获取所述试样的哺乳动物诊断为罹患或未罹患蛔虫、鞭虫和/或钩虫感染之后,所述试样(或从经诊断的哺乳动物之后获得的试样)可就任何一种或多种核酸(包括本发明的任何一种或多种核酸)是否存在进行测试。任何未能在特定哺乳动物中通过使用一种或多种核酸检测出特定寄生虫(在通过使用一种或多种抗体检测出所述寄生虫)的人会需要考虑到所述抗体在可检测的寄生虫核酸出现在试样之前便检测到寄生虫粪抗原的可能性。在上述情况下,所述哺乳动物的管理者可选择忽略所述核酸未能检测出所述寄生虫的观察结果,而基于所述抗体事实上检测到寄生虫的观察结果,继续特异性地针对寄生虫感染治疗所述哺乳动物。在另一个方面,所述核酸用于在特定哺乳动物中确定寄生虫是否存在,然后寄生虫是否存在进一步通过使用本发明的抗体来评估。对一种或多种寄生虫核酸的检测可通过使用任何本领域技术人员已知的核酸检测技术来进行。举例而言,上述检测可通过进行基于PCR的技术(例如,基于实时PCR的技术,但不仅限于此)来进行。示例性的基于PCR的技术描述于,例如,PCR Protocols(Methods in Molecular Biology),2nd ed., Bartlett 和 Stirling 编, Humana Press(2003); 以及 Sambrook 和 Russell, Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press(2001); 每个均以全文提述的方式并入本文。

[0198] 参照五个实施例具体地描述本发明;然而,不应视其为对本发明的限定。

实施例

[0199] 除非另行指明,下述材料和技术用于产生如下所述实施例 1-4 中一个或多个所描述的数据。

[0200] 多克隆蛔虫抗体制备。多克隆抗体“抗-DIV6728pAB”(IgG)分别在兔中针对具有对应于 SEQ ID NO:21 的氨基酸序列的多肽来产生,并通过使用标准方法从血清纯化。简言之,对于抗-DIV6728pAB,将 SEQ ID NO:17 的核苷酸 76-456 框内(in-frame)克隆入载体(D8223,其为 PUC19 的衍生物)以构建质粒 D8245。特别地,SEQ ID NO:21 在其序列 N 端甲硫氨酸残基之后的 125 个氨基酸对应于 SEQ ID NO:19 的一部分,并由 SEQ ID NO:17 的克隆部分所编码。在 D8245 质粒中,N-端甲硫氨酸残基由在该质粒中载体与来自 SEQ ID NO:17 的克隆序列连接的连接处(junction)的载体序列所编码。

[0201] 然后将编码 SEQ ID NO:21 的 DNA 序列从所述 D8245 质粒通过限制性核酸外切酶消化(NdeI 和 BamHI)剪切,并纯化。然后将该纯化序列连接于线性化的(linearized)表达载体, pET28a,并将所得的环状构建体(pTDX198::DIV6728)转化入 BL21(DE3)大肠杆菌细胞。(插入物的完整序列通过 DNA 序列分析确证)。His 标记的融合蛋白的表达通过将 1mM IPTG 添加到经转化的大肠杆菌的培养物来诱导。将重组蛋白溶于 6M 尿素,并通过镍亲和和离子交换层析来纯化。(该重组蛋白在下文中称为“rDIV6728”。)

[0202] 在 rDIV6728 引入兔中之后,将抗-DIV6728pAB 从经免疫的兔的血浆通过藉由 G 蛋白亲和层析分离 IgG 抗体来纯化。

[0203] 多克隆鞭虫抗体制备。多克隆抗体“抗-DIV6901pAB”(IgG)在兔中针对具有对应于 SEQ ID NO:5 的氨基酸序列的多肽来产生,并通过使用标准方法从血清纯化。简言之,在抗-DIV6901pAB 的情况下,将 SEQ ID NO:1 的核苷酸 89-1147 框内克隆入表达载体(D8223,

其为 PUC19 的衍生物) 以构建质粒 D9073。特别地, SEQ ID NO :5 在其序列 N 端甲硫氨酸残基之后的 353 个氨基酸对应于 SEQ ID NO :3 的一部分, 并由 SEQ ID NO :1 的克隆部分所编码。

[0204] 然后将编码 SEQ ID NO :5 的 DNA 序列从所述 D9073 质粒通过限制性核酸外切酶消化 (NdeI 和 BamHI) 剪切, 并纯化。然后将该纯化序列连接于线性化的表达载体, pET28a, 并将所得的环状构建体 (pTDX233::DIV6901) 转化入大肠杆菌细胞。(插入物的完整序列通过 DNA 序列分析确证)。His 标记的融合蛋白的表达通过将 1mM IPTG 添加到经转化的大肠杆菌的培养物来诱导。将重组蛋白溶于 6M 尿素, 并通过镍亲和和离子交换层析来纯化。(该重组蛋白在下文中称为“rDIV6901”。) 将抗 -DIV6901pAB 从经免疫的兔的血浆通过藉由 G 蛋白亲和和层析分离 IgG 抗体来纯化。

[0205] 多克隆钩虫抗体的制备和分离。多克隆抗体抗 -ASP5-1pAB (IgG) 在兔中针对具有对应于 SEQ ID NO :34 的氨基酸序列的多肽来产生, 并通过使用标准方法从血清纯化。简言之, 将 SEQ ID NO :32 的核苷酸 50-427 框内克隆入质粒。特别地, SEQ ID NO :34 在其序列 N 端甲硫氨酸残基之后的 129 个氨基酸对应于 SEQ ID NO :33 的一部分, 并由 SEQ ID NO :32 的克隆部分所编码。在该质粒中, N- 端甲硫氨酸残基由在该质粒中载体与来自 SEQ ID NO :32 的克隆序列连接处的载体序列所编码。

[0206] 然后将编码 SEQ ID NO :32 的 DNA 序列从所述质粒通过限制性核酸外切酶消化 (NotI 和 SacI) 剪切, 并纯化。然后将该纯化序列连接于线性化的表达载体, pET28a, 并将所得的环状构建体转化入 BL21 (DE3) 大肠杆菌细胞。(插入物的完整序列通过 DNA 序列分析确证)。His 标记的融合蛋白的表达通过将 1mM IPTG 添加到经转化的大肠杆菌的培养物来诱导。将重组蛋白溶于 6M 尿素, 并通过镍亲和和离子交换层析来纯化。(该重组蛋白在下文中称为“rASP5-1”。)

[0207] 在 rASP5-1 引入兔之后, 将抗 -ASP5-1pAB 从经免疫的兔的血浆通过藉由 G 蛋白亲和和层析分离 IgG 抗体来纯化。

[0208] 犬科和猫科动物的感染。寄生性线虫感染通过对健康犬科或猫科经口施与约 150-300 个蛔虫 (犬弓首线虫) 的遮掩卵 (larvated egg)、150-300 个钩虫 (犬钩口线虫) 的感染性幼虫, 或 700 个鞭虫 (狐毛尾线虫) 的遮掩卵, 或所述三种的任意组合来进行。感染通过在从这些宿主动物获得的粪便试样中显微镜观察蠕虫卵来确证。

[0209] 犬科和猫科粪便试样的制备。已知未经寄生性蠕虫感染, 或经蛔虫、鞭虫或钩虫中一种、两种或全部三种感染的犬科和猫科动物提供粪便试样的来源。将来自冷冻的, 未防腐处理 (unpreserved) 的犬科或猫科粪便试样的试样 (约 1 克) 悬于 4ml 稀释溶液 (“稀释溶液”为 0.05M Tris 碱; 1mM EDTA; 0.45% Kathon; 16mg/l 硫酸庆大霉素; 0.05% Tween-20; 40% 胎牛血清; 10% 兔血清和 5% 小鼠血清) 中。将悬液在台式离心机 (tabletop centrifuge) 以 4000rpm 离心 20 分钟以产生第一上清。将第一上清以 10000g 离心 5 分钟以产生第二上清, 其在本文中称作“粪便提取物”。

[0210] ELISA 测定法。将纯化的抗 -DIV6728pAB、抗 -DIV6901pAB 和抗 -ASP5-1pAB (100 μ l/ 孔; 对于实施例 2, 3 μ g/ml) 通过物理吸附在 Immulon 1B 96 孔板上 4°C 过夜固定。然后用 1% BSA/0.1M Tris pH7.0 在室温封闭 3 小时, 然后用 2.5% 蔗糖 /0.1M Tris 缓冲液, pH 7.0 在室温处理 3 小时, 吸去 (aspirate) 液体, 在室温干

干燥。将大约 100 μ l 粪便提取物添加至每个孔中,并使其在室温温育 1 小时。然后将孔用 PBS-Tween-20 溶液根据本领域一般技术人员已知的标准方法洗涤五次。在另一个反应容器中,将游离的抗 -DIV6728pAB、抗 -DIV6901pAB 和抗 -Asp5-1pAB 通过使用交联剂 4-[N-马来酰亚胺基甲基]环己烷-1-羧酸琥珀酰亚胺酯 (SMCC) 用辣根过氧化物酶标记以构建偶合物,将该偶合物(对于实施例 2, 3 μ g/ml) 添加至每个固定了抗 -DIV6728pAB、抗 -DIV6901pAB 和抗 -Asp5-1pAB 的孔中。在室温下温育 30 分钟之后,未结合的偶合物通过使用 PBS-Tween-20 溶液根据本领域一般技术人员已知的标准方法从所述孔中洗去。然后将 50 μ l TMBLUE®过氧化物酶底物 (SeraCare Life Sciences, Westborough, MA) 添加至每个孔中,并将板在室温温育 10 分钟。在 10 分钟温育之后,用 0.1% 十二烷基硫酸钠终止酶反应,然后在 A650 通过标准分光光度技术测定 96 孔板每个孔的吸光度 (optical density, OD) 值,所述技术使用 ELISA 板读数器 (plate reader) 对每个孔生成“OD650 值”(或,更简单地,“OD 值”)。在此安排下,对于所述 96 孔板任何特定孔获得的 OD 值与在所述孔中存在的特异性结合抗原的量成比例(若所述 IgG 未饱和)。

[0211] 实施例 1

[0212] 当通过 ELISA 以侧流模式 (format) 测试时,抗 -DIV6728pAB 特异性结合蛔虫粪抗原,抗 -DIV6901pAB 特异性结合鞭虫粪抗原,而抗 -Asp5-1pAB 特异性结合钩虫粪抗原。在寄生虫抗体与其非特异性寄生虫之间并无粪抗原的交叉结合。抗 -DIV6728pAB 对蛔虫粪抗原、抗 -DIV6901pAB 对鞭虫粪抗原以及抗 -Asp5-1pAB 对钩虫粪抗原的特异性结合产生可由人眼方便地观察到的色度 (colorimetric) 变化。

[0213] 实施例 1 的目标是在侧流 ELISA 中确定抗 -DIV6728pAB、抗 -DIV6901pAB 和抗 -Asp5-1pAB 是否可用于捕捉并特异性结合其相应的寄生虫粪抗原,而无非特异性结合。使用的侧流模式为 SNAP®测定装置,与描述于美国专利号 5726010 中的类似。此外,所述分析法大致上以描述于该专利中的方法进行。简言之,所述 SNAP®测定装置除了包含其他组件以外,还包括试样进入杯 (sample entry cup)、流动基质 (flow matrix)、供去除干扰的颗粒物质的试样预过滤垫 (sample prefilter pad)、特异性结合试剂垫 (specific binding reagent pad)、反应区 (reactive zone) 和吸收贮器 (absorbent reservoir)。通过干燥将抗 -DIV6728pAB、抗 -DIV6901pAB 和抗 -Asp5-1pAB 以小而圆的点的形式固定于反应区。然后将所述反应区用 BSA 封闭。将来自经蛔虫感染的犬科的汇集的粪便提取物 (150 μ l) 与 200 μ l (1.0 μ g/ml) 偶合的抗 -DIV6728pAB、抗 -DIV6901pAB 或抗 -Asp5-1pAB (所述抗体在如上所述用 HRP 标记之前经亲和纯化) 混合。将该混合物添加至所述试样杯,然后任其随所述流动基质流动。在所述流动基质中时,经 HRP 标记的抗体特异性结合于其相应的存在于粪便提取物中的寄生虫粪抗原。任所得的复合物(即,包括所述经 HRP 标记的抗体与其相应的寄生虫粪抗原的那些)在所述反应区特异性结合于经固定的抗 -DIV6728pAB、抗 -DIV6901pAB 或抗 -Asp5-1pAB。沿流动基质的流动通过将所述吸收贮器与所述流动基质接触来颠倒方向 (reverse)。此时,将检测器和洗涤溶液移入所述流动基质以去除任何未结合的组分,并使得对任何下述的分析物复合物 (analyte complex) 的检测成为可能,所述复合物存在于捕捉试剂固定于反应区之处。(该检测步骤持续约八分钟。)对所述分析物复合物检测的终止通过将所述分析物复合物暴露于 0.1% 叠氮化钠来进行。

[0214] 如图 1C-E 所示,在所述蛔虫、鞭虫和钩虫特异性抗体固定于不同反应区之处对寄生虫特异性分析物复合物的检测,对于蛔虫感染(1D)、鞭虫感染(1E)和钩虫感染(1C)是明显可见的。在图 1A 所示的阴性对照试样(仅为稀释溶液)中,未检测到分析物复合物。在图 1B 所示的阴性对照试样中,当抗体固定于另一个装置的反应区时,未检测到分析物复合物(所述阴性对照试样为从不携带寄生虫感染的犬科所获得的粪便提取物)。因此,这些数据表明抗 -DIV6728pAB、抗 -DIV6901pAB 和抗 -Asp5-1pAB 可以以侧流 ELISA 模式用于分别且特异性地结合其相应的寄生虫粪抗原。该特异性结合对人眼是方便可见的。

[0215] 实施例 2

[0216] 当通过 ELISA 在微滴定皿(microtiter dish)模式进行测试时,抗 -DIV6728pAB 特异性结合蛔虫粪抗原,但并不特异性结合来自钩虫、鞭虫或犬恶丝虫的粪抗原;抗 -DIV6901pAB 特异性结合鞭虫粪抗原,但并不特异性结合来自钩虫、蛔虫或犬恶丝虫的粪抗原;而抗 -Asp5-1pAB 特异性结合钩虫粪抗原,但并不特异性结合来自蛔虫、鞭虫或犬恶丝虫的粪抗原。抗 -DIV6728pAB 对蛔虫粪抗原、抗 -DIV6901pAB 对鞭虫粪抗原以及抗 -Asp5-1pAB 对钩虫粪抗原的特异性结合产生可由人眼方便地观察到的色度变化。

[0217] 实施例 2 的目标是确定当抗 -DIV6728pAB、抗 -DIV6901pAB 和抗 -Asp5-1 固定于固体支持物上时,抗 -DIV6728pAB 与蛔虫粪抗原、抗 -DIV6901pAB 与鞭虫粪抗原以及抗 -Asp5-1pAB 与钩虫粪抗原之间的特异性结合可否产生能由人眼观察到的色度变化。

[0218] 参考图 2,抗 -DIV6728pAB (3 μ g/ml) 固定于如前所述的微滴定板的孔 D1-D12 和 E1-E12 的底部表面,抗 -DIV6901pAB 固定于如前所述的微滴定板的孔 G1-G12 和 H1-H12 的底部表面,而抗 -Asp5-1pAB 固定于如前所述的微滴定板的孔 A1-A12 和 B1-B12 的底部表面。在进行了上述固定之后,将孔 A3、B3、D3、E3、G3 和 H3 暴露于来自经犬恶丝虫感染的犬科的粪便提取物(在图 2 中标为“HW”)。将孔 A4、B4、D4、E4、G4 和 H4 暴露于来自第一经钩虫感染的犬科的粪便提取物,将孔 A5、B5、D5、E5、G5 和 H5 暴露于来自第二经钩虫感染的犬科的粪便提取物,并将孔 A6、B6、D6、E6、G6 和 H6 暴露于来自第三经钩虫感染的犬科的粪便提取物。将孔 A7、B7、D7、E7、G7 和 H7 暴露于来自第一经蛔虫感染的犬科的粪便提取物,将孔 A8、B8、D8、E8、G8 和 H8 暴露于来自第二经蛔虫感染的犬科的粪便提取物,并将孔 A9、B9、D9、E9、G9 和 H9 暴露于来自第三经蛔虫感染的犬科的粪便提取物。将孔 A10、B10、D10、E10、G10 和 H10 暴露于来自第一经鞭虫感染的犬科的粪便提取物,将孔 A11、B11、D11、E11、G11 和 H11 暴露于来自第二经鞭虫感染的犬科的粪便提取物,并将孔 A12、B12、D12、E12、G12 和 H12 暴露于来自第三经鞭虫感染的犬科的粪便提取物。将孔 A1、B1、D1、E1、G1 和 H1 暴露于 rDIV6728、rDIV6901 和 rAsp5-1 (1 μ g/ml),并因此用这些孔充当阳性对照。孔 A2、B2、D2、E2、G2 和 H2 并不暴露于任何粪便提取物或 rDIV6728、rDIV6901 和 rAsp5-1,并因此用这些孔充当阴性对照。在洗涤后,将孔 D1-D12 和 H1-H12 暴露于经 HRP 标记的 rDIV6901pAB;将孔 A1-A12 和 B1-B12 如上所述暴露于经 HRP 标记的 rASP5-1pAB (3 μ g/ml)。

[0219] 在用 TMBLUE® 过氧化物酶底物温育了所有这些孔,并接着添加了 SDS 之后,在暴露于来自经蛔虫感染的犬科的粪便提取物的抗 DIV6728pAB 孔 (D7-D9 和 E7-E9) 中,肉眼观察到色度变化,但是,在任何暴露于来自经钩虫、鞭虫或犬恶丝虫感染的犬科的粪便提取物的抗 -DIV6728pAB 孔中,未观察到色度变化。在暴露于来自经鞭虫感染的犬科的粪便提取物的抗 DIV6901pAB 孔 (G10-G12 和 H10-H12) 中,肉眼观察到色度变化,但是,在任何暴露

于来自经钩虫、蛔虫或犬恶丝虫感染的犬科的粪便提取物的抗-DIV6901pAB孔中,未观察到色度变化。在暴露于来自经钩虫感染的犬科的粪便提取物的抗Asp5-1pAB孔(A4-A6和B4-B6)中,肉眼观察到色度变化,但是,在任何暴露于来自经蛔虫、鞭虫或犬恶丝虫感染的犬科的粪便提取物的抗-Asp5-1pAB孔中,未观察到色度变化。

[0220] 这些数据表明以ELISA模式用抗-DIV6728pAB检测蛔虫;用抗-DIV6901pAB检测鞭虫;和用抗-Asp5-1pAB检测钩虫均足以产生鲁棒的(robust)色度变化,其对于肉眼是方便可见的。此外,这些数据表明上述色度变化使得人眼能够方便地分辨包含蛔虫、钩虫和鞭虫的寄生虫特异性粪便试样。

[0221] 实施例3

[0222] 一种截短版本的DIV6728,Copro6728,存在于经犬弓首线虫感染的犬科的粪便中。

[0223] A. 犬科动物粪便试样制备

[0224] 已知罹患蛔虫(犬弓首线虫)感染的犬科动物或没有寄生性蠕虫感染的犬科动物提供粪便试样的来源。将冻结的、未经防腐处理的犬科动物粪便(其从五只经蛔虫感染或未感染的犬科动物汇集)试样(约1克)悬于4ml提取缓冲液(“提取缓冲液”为1X磷酸盐缓冲液(PBS),pH 7.0-7.5,含0.05% Tween-20)中。将该悬液涡旋振荡2分钟,然后以13000rpm离心25分钟以产生第一上清。然后将该第一上清以10000rpm离心5分钟以产生第二上清。该第二上清在下文中称作“粪便提取物”。

[0225] B. 离子交换

[0226] 离子交换层析可从粪便试样富集Copro6728。PLRS试样用于该研究。将粪便试样首先用PBST(0.05% Tween 20),pH 7.3提取。试样首先用柠檬酸钠缓冲液(pH 3.0)稀释,然后用HCl将pH调整至3。最后,将试样离心,并将上清加载至磺丙基(sulfopropyl, SP)柱上。将所述SP柱用含1M NaCl的20mM柠檬酸钠缓冲液(pH3)洗脱,并通过ELISA评估洗脱级分。用兔抗-6728 IgG(3 μ g/ml)涂覆(coat)ELISA板。基于图15所示的结果,显然Copro6728可通过用含1M NaCl的柠檬酸钠缓冲液洗脱所述SP柱来部分地纯化和富集,且Copro6728是位于A11和C9之间的级分(图15)。

[0227] C. Western印迹和SDS-PAGE

[0228] Western印迹和SDS-PAGE凝胶显示Copro6728的分子量约为7kD。混合来自SP柱的洗脱级分,并用NaOH将缓冲液pH调整至7,然后加载至亲和柱上,所述亲和柱通过将兔抗-6728IgG与AminoLink树脂(Pierce, Thermo Scientific)连接来制备。对所述柱根据生产商的说明进行洗涤和洗脱。将洗脱级分加载于10孔4-12% Bis-Tris梯度凝胶,并转移至硝酸纤维素膜上以供Western印迹。以兔抗-6728IgG-HRP为探针,Western印迹显示主条带(Copro6728)约为7kD(图16的红箭头)。在进一步浓缩后,将同一个试样在SDS-PAGE凝胶上用Imperial Protein Stain(Pierce, Thermo Scientific)显色。可见7kD条带,其对应于由抗-6728IgG-HRP所表明的大小。

[0229] D. 质谱分析

[0230] 对从SDS-PAGE凝胶切出的条带(在图11上由红箭头标出)进行的质谱分析表明,该条带含有Copro6728,而DIV6728的C端部分含有Copro6728。

[0231] 将对应于Western印迹上7kD条带的7kD条带从SDS-PAGE凝胶上切出,并送至Yale University的Keck Center进行质谱分析。将所述凝胶中的试样首先用胰蛋白酶消

化,然后使用 Ultima 质谱仪 (Waters) 的 Q-ToF 通过 LC-MS/MS 进行分析。通过质谱分析在所述试样中发现两个特定肽:肽 1 :R. FVPCTR. N (SEQ ID NO :35) 和肽 2 :R. DAEGNCIK. F (SEQ ID NO :36)。

[0232] 对 DIV6728 序列和由 MS 分析鉴定的两个肽的比对分析表明,两个肽均位于全长 DIV6728 的 C 末端,确证了由 Western 印迹鉴定的 7kb 条带来源于 DIV6728。所述两个肽序列的位置表明 DIV6728 的 C 端部分 (Copro6728) 存在于犬弓首线虫的阳性粪便试样中。图 18 显示全长的 DIV6728 (SEQ IDNO :21),其中由 MS 分析鉴定的两个肽在阴影框中高光显示。

[0233] 实施例 4

[0234] 生成两个重组蛋白,其对应于 DIV6728N 端部分的 64 个氨基酸以及 DIV6728C 端部分的 65 个氨基酸。

[0235] 基于 MS 分析、Western 印迹和 SDS-PAGE 数据,制备了两个编码截短的 DIV6728 的新表达构建体。对全长 DIV6728 的 N 端和 C 端分别命名为 6728N (SEQ ID NO :37) 和 6728C (SEQ ID NO :38)。图 19 显示了由所述构建体编码的 6728N (SEQ ID NO :37) 和 6728C (SEQ ID NO :38) 氨基酸序列的比对。

[0236] A. 供表达重组 6728N 和 6728C 的合成基因

[0237] 将供表达 6728N 和 6728C 多肽的基因针对在大肠杆菌中的表达进行密码子优化,并加以合成,通过 GeneArt (Josef-Engert-Str. 11D-93053 Regensburg, Germany) 克隆入载体 pET28 (a),每个重组蛋白的 N 端带有六个 His (6) 的标签。

[0238] B. 重组蛋白 6728N 和 6728C 的表达

[0239] 将重组蛋白 6728N 和 6728C 在大肠杆菌 BL21 (DE3) 中表达,并用单一的镍柱进行纯化。将质粒 pET28 (a)6728N 转化入 BL21 (DE3),生长至 OD ~ 0.8,并用 1mM IPTG (异丙基 -1- 硫代 - β -D- 半乳糖吡喃糖苷) 在 37°C 诱导 2 小时。将细胞用 Microfluidizer® Processor, M-11EH 裂解。将重组 6728N 溶于含 500mM NaCl 的 20mM Tris 缓冲液 (pH8.0),并通过用在含 500mM NaCl 的 20mM Tris 缓冲液 (pH 8.0) 中不同浓度的咪唑逐步洗脱镍柱来纯化。重组 6728N 用含 500mM 咪唑的相同缓冲液从所述镍柱洗脱。图 20 是用不同试样加载的 SDS-PAGE 凝胶以检查重组 6728N 的纯化。重组 6728N 在凝胶上大小约为 ~ 12kD (泳道 9)。

[0240] 将质粒 pET28 (a)6728C 转化入 BL21 (DE3),生长至 OD ~ 0.8,并用 1mMIPTG (异丙基 -1- 硫代 - β -D- 半乳糖吡喃糖苷) 在 37°C 诱导 2 小时。将细胞用 Microfluidizer® Processor, M-11EH 裂解。将重组 6728C 溶于含 500mM NaCl 的 20mM Tris 缓冲液 (pH8.0),并通过用在含 500mM NaCl 的 20mM Tris 缓冲液 (pH8.0) 中不同浓度的咪唑逐步洗脱镍柱来纯化。重组 6728C 用含 500mM 咪唑的相同缓冲液从所述镍柱洗脱。图 20 是用不同试样加载的 SDS-PAGE 凝胶以确认重组 6728C 的纯化。重组 6728C 在凝胶上大小约为 ~ 12kD (泳道 9)。

[0241] C. 兔多克隆抗体

[0242] 针对 6728C 产生的兔多克隆抗体在粪便 ELISA 中检测出抗原,而针对 6728N 的多克隆抗体并未在粪便 ELISA 中检测出抗原。

[0243] 用单一的镍柱纯化的重组蛋白 6728N 和 6728C 用于免疫兔,以供产生多克隆抗体。来自经免疫的兔血清的多克隆抗体用 G 蛋白树脂亲和纯化,并用于以 2 μ g/ml 涂覆 Immulon

I 板。四个不同的犬科试样用经不同抗图涂覆的板测试。来自两个经重组 6728C 免疫的兔的抗体可区分犬弓首线虫阳性的粪便试样与钩虫、鞭虫阳性试样和线虫阴性试样。然而,来自经重组 6728N 免疫的两只兔的抗体无法区分犬弓首线虫阳性的粪便试样与钩虫、鞭虫阳性试样和线虫阴性试样(图 22)。该 ELISA 数据进一步说明了 Copro6728 是全长 DIV6728 的 C 端部分。进一步实验显示针对 6728N 和 6728C 产生的抗体仅识别其同族的(cognate)重组蛋白质,而无交叉反应性。(图 23)。如预期所料,这两种多克隆抗体均与全长重组 DIV6828 反应(图 23)。

[0244] D. Western 印迹

[0245] 针对重组 6728C 的兔多克隆抗体可在 Western 印迹中识别犬弓首线虫阳性的粪便试样,但针对重组 6728N 的多克隆抗体则不行。除了犬弓首线虫全蠕虫提取物(泳道 1)之外,将线虫阴性(泳道 2-4)和犬弓首线虫阳性(泳道 5-7)粪便试样通过 SP 柱用高盐洗脱缓冲液(1M NaCl/20mM 柠檬酸钠缓冲液,pH 3)分级。将犬弓首线虫蠕虫提取物(泳道 1)、加载于柱上的试样(泳道 2 和 5)、柱流过物(flow-through)(泳道 3 和 6)和柱洗脱物(泳道 4 和 7)加载至 10 孔,4-12% Bis-Tris 梯度凝胶,然后进一步转移至硝酸纤维素膜,如图 24-26 所示用不同偶合物进行探测(probe)。抗-全长 6728 IgG-HRP 和抗 6728C-IgG-HRP 两者均可区分犬弓首线虫阳性粪便试样与线虫阴性粪便试样(图 24 和 25)。然而,抗-6728N IgG-HRP 无法分辨这两种不同的粪便试样(图 26)。这些数据进一步确证了 Copro6728 仅为全长 DIV6728 大小的约一半,这与从质谱分析和粪便 ELISA 获得的数据相一致。

[0001]

序列表

- <110> 艾德克斯实验室公司 (Idexx Laboratories, Inc.)
 戴弗根斯公司 (DIVERGENCE, INC.)
 Elsemore, David Allen
 Geng, Jinming
 Flynn, Laurie A.
 Crawford, Michael
- <120> 用于检测蛔虫、鞭虫和钩虫的方法、装置、试剂盒和组合物
- <130> 08-1283-W0
- <150> 61/122260
 <151> 2008-12-12
- <160> 38
- <170> PatentIn version 3.4
- <210> 1
 <211> 1210
 <212> DNA
 <213> 狐毛尾线虫 (Trichuris vulpis)
- <400> 1
 cattcactgc ggttgtaaaa gcagtcaga aatgagctg gtcttccatg cggttattta 60
 cctcacattg gggttcctca ccgacccgt aagagaaaaa cgtggcaaat gtctctctga 120
 accaccgatc gcaggaaca cgatctactg ccgcgatgat ttgtattgtg gaggaagaca 180
 gaagtctgt acaattgcag aaggacgtg atgcgtgccg ccctatggtg aacaacattt 240
 cgaagtggg aaacegggtc attgcccagc tattccagcg gttacgggca tggcgaactt 300
 ctgtaacact gatggcgact gtgatggacc gaaaaaatgt tgtctcacat cgcgcggeta 360
 cgattgcaca catccattac acttcccaat ccagccacaa cctccagtag gacagtgccc 420
 tcctcaaaag ccccgatcc caggaaaatg gtagacatc tgcgctaagc atgccaactg 480
 ccagaccca gagaagtgtt gcgacacgga gtatggcaac cgatgtatgg atgttgatt 540
 agtgccagga caaggagaaa gaccaggcaa ttgcccgaac gaaccacgaa taagaggaac 600
 taaatacgat tgccgacgag acgatgactg cgacgggtg cagaaatgct gcttactgt 660
 tgagggacgt gagtgcgtg aaccaagtag aaaaccactg gacaagccc gacattgtcc 720
 accaattccc gctgatgtg gctcagccag gtactgcgac actgateggg attgtgatgg 780
 accaagaaaa tgctgcctct cttecgctg ctatgaatgt aaacatccag tacactatcc 840
 cgatcgatg gagccactag taggagaatg cccaccatca cgacctgca ttcttgggaa 900
 atgggttgac atctgcteta agcatgcaa ctgcccagac ccagagaaat gttgcgacac 960
 ggagtatggc aaccgatgta tggacgttg attagtcct ggacaaggag aaaaacctgc 1020
 caactgccc aaggaaccac gaataagagg aactaagtag gactgtcgac gggacgatga 1080
 ctgcgatgg aaacaaaagt gctgctacac aactgaaggc cgcaatgcg tccatggtat 1140
 atggccttaa atggttgctt ctctctataa taaaagcaaa cgaatcaaaa aaaaaaaaaa 1200
 aaaaaaaaaa 1210

[0002]

<210> 2
 <211> 1059
 <212> DNA
 <213> 狐毛尾线虫

 <400> 2
 gtaagagaaa aacgtggcaa atgtcctcct gaaccaccga tcgcaggaaa cacgatctac 60
 tgcccgcatg attttgattg tggaggaaga cagaagtgct gtacaattgc agaaggacgt 120
 ggatgctg gcgcctatgg tgaacaagat ttcgaagtgg tgaaacggg tcattgceca 180
 gctattccag cggttacggg catggcgaac ttctgtaaca ctgatggcga ctgtgatgga 240
 ccgaaaaaat gttgtctcac atcgcgcggc tacgattgta cacatccgtt acattceca 300
 atccagccac aacctccagt aggacagtgc cctccttcaa agcccctgtt tccagaaaa 360
 tgggtagaca tctgceetaa gcatgccaat tgcccagacc cagagaagtg ttgagacacg 420
 gagtatggca accgatgtat ggatgttggg ttagtggcag gacaaggaga aagaccaggc 480
 aattgccga acgaaccag aataagagga actaaatagc attgccgacg agacgatgac 540
 tgcgacggtg tgcagaaatg ctgcttcaact gttgagggac gtgagtgcgt ggaaccaagc 600
 agaaaaccac tggacaagcc cggacattgt ccaccaatc ccgctgatgt gggctcagcc 660
 aggtactgcg aactgatcg ggattgtgat ggaccaagaa aatgctgcct ctcttcgct 720
 ggctatgaat gtaaacatcc agtacactat cccgatcgag tggagccact agtaggagaa 780
 tgcccacat cagcacctcg cattctggg aatggggtg acatctgctc taagcatgcc 840
 aactgccag acccagagaa atgttgcgac acggagtatg gcaaccgatg tatggacgtt 900
 ggattagtgc ctggacaagg agaaaaacct gcccaactgcc caaaggaacc acgaataagg 960
 ggaactaagt acgactgtcg acgggacgat gactgcgatg ggaacaaaa gtgctgctac 1020
 acaactgaag gcccgcaatg cgtccatggt atatggcct 1059

<210> 3
 <211> 372
 <212> PRT
 <213> 狐毛尾线虫

<400> 3

Met Arg Leu Val Phe His Ala Val Ile Tyr Leu Thr Leu Gly Phe Leu
 1 5 10 15

Thr Asp Ala Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro
 20 25 30

Ile Ala Gly Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Phe Asp Cys Gly Gly
 35 40 45

Arg Gln Lys Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro
 50 55 60

Tyr Gly Glu Gln His Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala
 65 70 75 80

[0003]

Ile Pro Ala Val Thr Gly Met Ala Asn Phe Cys Asn Thr Asp Gly Asp
 85 90 95

Cys Asp Gly Pro Lys Lys Cys Cys Leu Thr Ser Arg Gly Tyr Asp Cys
 100 105 110

Thr His Pro Leu His Phe Pro Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln
 115 120 125

Cys Pro Pro Ser Lys Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys
 130 135 140

Ala Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu
 145 150 155 160

Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro Gly Gln Gly Glu
 165 170 175

Arg Pro Gly Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr
 180 185 190

Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Phe
 195 200 205

Thr Val Glu Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp
 210 215 220

Lys Pro Gly His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg
 225 230 235 240

Tyr Cys Asp Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu
 245 250 255

Ser Ser Arg Gly Tyr Glu Cys Lys His Pro Val His Tyr Pro Asp Arg
 260 265 270

Val Glu Pro Leu Val Gly Glu Cys Pro Pro Ser Arg Pro Arg Ile Pro
 275 280 285

Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ser Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro
 290 295 300

Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly
 305 310 315 320

Leu Val Pro Gly Gln Gly Glu Lys Pro Ala Asn Cys Pro Lys Glu Pro
 325 330 335

Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp
 340 345 350

[0004]

Gly Lys Gln Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His
 355 360 365

Gly Ile Trp Pro
 370

<210> 4
 <211> 353
 <212> PRT
 <213> 狐毛尾线虫

<400> 4

Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro Ile Ala Gly
 1 5 10 15

Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Phe Asp Cys Gly Gly Arg Gln Lys
 20 25 30

Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro Tyr Gly Glu
 35 40 45

Gln Asp Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala Ile Pro Ala
 50 55 60

Val Thr Gly Met Ala Asn Phe Cys Asn Thr Asp Gly Asp Cys Asp Gly
 65 70 75 80

Pro Lys Lys Cys Cys Leu Thr Ser Arg Gly Tyr Asp Cys Thr His Pro
 85 90 95

Leu His Phe Pro Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln Cys Pro Pro
 100 105 110

Ser Lys Pro Arg Val Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ala Lys His
 115 120 125

Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn
 130 135 140

Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Ala Gly Gln Gly Glu Arg Pro Gly
 145 150 155 160

Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg
 165 170 175

Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Phe Thr Val Glu
 180 185 190

Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp Lys Pro Gly
 195 200 205

His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg Tyr Cys Asp
 210 215 220

[0005]

Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu Ser Ser Arg
 225 230 235 240

Gly Tyr Glu Cys Lys His Pro Val His Tyr Pro Asp Arg Val Glu Pro
 245 250 255

Leu Val Gly Glu Cys Pro Pro Ser Arg Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp
 260 265 270

Val Asp Ile Cys Ser Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys
 275 280 285

Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro
 290 295 300

Gly Gln Gly Glu Lys Pro Ala Asn Cys Pro Lys Glu Pro Arg Ile Arg
 305 310 315 320

Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Lys Gln
 325 330 335

Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His Gly Ile Trp
 340 345 350

Pro

<210> 5
 <211> 354
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 合成的

<400> 5

Met Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro Ile Ala
 1 5 10 15

Gly Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Phe Asp Cys Gly Gly Arg Gln
 20 25 30

Lys Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro Tyr Gly
 35 40 45

Glu Gln His Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala Ile Pro
 50 55 60

Ala Val Thr Gly Met Ala Asn Phe Cys Asn Thr Asp Gly Asp Cys Asp
 65 70 75 80

Gly Pro Lys Lys Cys Cys Leu Thr Ser Arg Gly Tyr Asp Cys Thr His

[0006]

85	90	95
Pro Leu His Phe Pro Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln Cys Pro 100 105 110		
Pro Ser Lys Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ala Lys 115 120 125		
His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly 130 135 140		
Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro Gly Gln Gly Glu Arg Pro 145 150 155 160		
Gly Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys 165 170 175		
Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Phe Thr Val 180 185 190		
Glu Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp Lys Pro 195 200 205		
Gly His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg Tyr Cys 210 215 220		
Asp Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu Ser Ser 225 230 235 240		
Arg Gly Tyr Glu Cys Lys His Pro Val His Tyr Pro Asp Arg Val Glu 245 250 255		
Pro Leu Val Gly Glu Cys Pro Pro Ser Arg Pro Arg Ile Pro Gly Lys 260 265 270		
Trp Val Asp Ile Cys Ser Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys 275 280 285		
Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val 290 295 300		
Pro Gly Gln Gly Glu Lys Pro Ala Asn Cys Pro Lys Glu Pro Arg Ile 305 310 315 320		
Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Lys 325 330 335		
Gln Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His Gly Ile 340 345 350		
Trp Pro		

[0007]

<210> 6
 <211> 353
 <212> PRT
 <213> 人工的

 <220>
 <223> 合成的

 <400> 6

 Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro Ile Ala Gly
 1 5 10 15

 Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Phe Asp Cys Gly Gly Arg Gln Lys
 20 25 30

 Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro Tyr Gly Glu
 35 40 45

 Gln His Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala Ile Pro Ala
 50 55 60

 Val Thr Gly Met Ala Asn Phe Cys Asn Thr Asp Gly Asp Cys Asp Gly
 65 70 75 80

 Pro Lys Lys Cys Cys Leu Thr Ser Arg Gly Tyr Asp Cys Thr His Pro
 85 90 95

 Leu His Phe Pro Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln Cys Pro Pro
 100 105 110

 Ser Lys Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ala Lys His
 115 120 125

 Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn
 130 135 140

 Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro Gly Gln Gly Glu Arg Pro Gly
 145 150 155 160

 Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg
 165 170 175

 Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Phe Thr Val Glu
 180 185 190

 Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp Lys Pro Gly
 195 200 205

 His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg Tyr Cys Asp
 210 215 220

 Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu Ser Ser Arg

[0008]

Pro Leu His Phe Pro Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln Cys Pro
 100 105 110

Pro Ser Lys Pro Arg Val Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ala Lys
 115 120 125

His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly
 130 135 140

Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Ala Gly Gln Gly Glu Arg Pro
 145 150 155 160

Gly Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys
 165 170 175

Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Phe Thr Val
 180 185 190

Glu Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp Lys Pro
 195 200 205

Gly His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg Tyr Cys
 210 215 220

Asp Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu Ser Ser
 225 230 235 240

Arg Gly Tyr Glu Cys Lys His Pro Val His Tyr Pro Asp Arg Val Glu
 245 250 255

Pro Leu Val Gly Glu Cys Pro Pro Ser Arg Pro Arg Ile Pro Gly Lys
 260 265 270

Trp Val Asp Ile Cys Ser Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys
 275 280 285

Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val
 290 295 300

Pro Gly Gln Gly Glu Lys Pro Ala Asn Cys Pro Lys Glu Pro Arg Ile
 305 310 315 320

Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Lys
 325 330 335

Gln Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His Gly Ile
 340 345 350

Trp Pro

<210> 8

[0010]

<211> 353
 <212> PRT
 <213> 人工的

 <220>
 <223> 合成的

 <400> 8

 Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro Ile Ala Gly
 1 5 10 15

 Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Phe Asp Cys Gly Gly Arg Gln Lys
 20 25 30

 Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro Tyr Gly Glu
 35 40 45

 Gln Asp Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala Ile Pro Ala
 50 55 60

 Val Thr Gly Met Ala Asn Phe Cys Asn Thr Asp Gly Asp Cys Asp Gly
 65 70 75 80

 Pro Lys Lys Cys Cys Leu Thr Ser Arg Gly Tyr Asp Cys Thr His Pro
 85 90 95

 Leu His Phe Pro Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln Cys Pro Pro
 100 105 110

 Ser Lys Pro Arg Val Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ala Lys His
 115 120 125

 Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn
 130 135 140

 Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Ala Gly Gln Gly Glu Arg Pro Gly
 145 150 155 160

 Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg
 165 170 175

 Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Phe Thr Val Glu
 180 185 190

 Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp Lys Pro Gly
 195 200 205

 His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg Tyr Cys Asp
 210 215 220

 Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu Ser Ser Arg
 225 230 235 240

[0011]

Gly Tyr Glu Cys Lys His Pro Val His Tyr Pro Asp Arg Val Glu Pro
 245 250 255

Leu Val Gly Glu Cys Pro Pro Ser Arg Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp
 260 265 270

Val Asp Ile Cys Ser Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys
 275 280 285

Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro
 290 295 300

Gly Gln Gly Glu Lys Pro Ala Asn Cys Pro Lys Glu Pro Arg Ile Arg
 305 310 315 320

Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Lys Gln
 325 330 335

Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His Gly Ile Trp
 340 345 350

Pro

<210> 9
 <211> 369
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 合成的

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(19)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (69)..(69)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (134)..(134)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (170)..(170)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<400> 9

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

Xaa Xaa Xaa Val Arg Glu Lys Arg Gly Lys Cys Pro Pro Glu Pro Pro
 20 25 30

[0012]

Ile Ala Gly Asn Thr Ile Tyr Cys Arg Asp Asp Glu Asp Cys Gly Gly
 35 40 45
 Arg Gln Lys Cys Cys Thr Ile Ala Glu Gly Arg Gly Cys Val Pro Pro
 50 55 60
 Tyr Gly Glu Gln Xaa Phe Glu Val Val Lys Pro Gly His Cys Pro Ala
 65 70 75 80
 Ile Pro Ala Val Thr Gly Met Ala Asn Glu Cys Asn Ile Asp Gly Asp
 85 90 95
 Cys Asp Gly Met Cys Cys Leu Ile Ser Arg Gly Tyr Asp Cys Thr His
 100 105 110
 Pro Leu His Glu Thr Ile Gln Pro Gln Pro Pro Val Gly Gln Cys Pro
 115 120 125
 Pro Ser Lys Pro Arg Xaa Pro Gly Lys Trp Val Asp Ile Cys Ala Lys
 130 135 140
 His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys Cys Asp Thr Glu Tyr Gly
 145 150 155 160
 Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Xaa Gly Gly Glu Arg Pro Gly
 165 170 175
 Asn Cys Pro Asn Glu Pro Arg Ile Arg Gly Ile Lys Tyr Asp Cys Arg
 180 185 190
 Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Val Gln Lys Cys Cys Glu Thr Val Glu
 195 200 205
 Gly Arg Glu Cys Val Glu Pro Ser Arg Lys Pro Leu Asp Lys Pro Gly
 210 215 220
 His Cys Pro Pro Ile Pro Ala Asp Val Gly Ser Ala Arg Tyr Cys Asp
 225 230 235 240
 Thr Asp Arg Asp Cys Asp Gly Pro Arg Lys Cys Cys Leu Ser Ser Arg
 245 250 255
 Gly Tyr Glu Cys Lys His Pro Val His Tyr Pro Asp Arg Val Glu Pro
 260 265 270
 Leu Val Gly Glu Cys Pro Pro Ser Arg Pro Arg Ile Pro Gly Lys Trp
 275 280 285
 Val Asp Ile Cys Ser Lys His Ala Asn Cys Pro Asp Pro Glu Lys Cys
 290 295 300

[0013]

Cys Asp Thr Glu Tyr Gly Asn Arg Cys Met Asp Val Gly Leu Val Pro
 305 310 315 320

Gly Gln Gly Glu Lys Pro Ala Asn Cys Pro Lys Glu Pro Arg Ile Arg
 325 330 335

Gly Thr Lys Tyr Asp Cys Arg Arg Asp Asp Asp Cys Asp Gly Lys Gln
 340 345 350

Lys Cys Cys Tyr Thr Thr Glu Gly Arg Glu Cys Val His Gly Ile Trp
 355 360 365

Pro

<210> 10
 <211> 865
 <212> DNA
 <213> 犬弓首线虫(*Toxocara canis*)

<400> 10
 caagaagatt tatggtgtgg cagcttcgag acgaaggagg catcaactca cgctcgaaaa 60
 cagtctggac acccacctga aatggettag ccacgagcaa aaggaggaac tgctgcaaat 120
 gaagaaggac ggcaaatcga agaaggagct ccaggataag atcatgcact attacgagca 180
 cctcgaaggc gatgcgaaac atgaagcaac agagcaactg aagggcggat gccgcgagat 240
 tcttaagcat gttgtttggcg aggagaaagc agctgagatc aaagcactga aagattctgg 300
 agcaagcaaa gatgagetta aagccaaggt cgaagaggca ctccacgcag tcaccgacga 360
 agaaaagaag caacatatcg ccgaattcgg tcccgcacgc aagaagattt atggtgtggc 420
 agcttcgaga cgaaggagc atcacttcac gctcgaaaac agtctggaca cccacctgaa 480
 atggcttagc cagcagcaaa aggaggaact gctgcaaatg aagaaggacg gcaaatcgaa 540
 gaaggagctc caggataaga tcatgcaact ttacgagcac ctcgaaggga tgctctctgc 600
 gctatgtatc ctgtattgac ggcttccca cctatcacac ctgtcagtgc ggctttacat 660
 tegacgagcg tagaaagacc tgtcttcta agcagctggt aaagtactgc ggaatcccag 720
 aatctggaga ggcgtcggcg gaagttggcg agtcgtacta acacagcacg ctctcgttgg 780
 tgcagatggt gttgtaata cttttgtcag ttttccgtgt gttttaata aataaaaaat 840
 tccgtaaaaa aaaaaaaaaa aaaaa 865

<210> 11
 <211> 632
 <212> DNA
 <213> 猫弓首线虫(*Toxocara cati*)

<400> 11
 atttatggtg tggcagcttc gagacgaagg aggcactcact tcacgctcga aaaaagtctg 60
 gacaccacc tgaatggct tagccacgag caaaaggagg aactgctgaa aatgaagaaa 120
 gatgggaaat cgaagaagga gctccaggat aaggtgatgc acttctacga gcacctgaa 180

[0014]

ggcgatgcga aacatgaagc aacagagcaa ctgaagggcg gatgccgcga gatccttaag 240
 catgttggtg gtgaggagaa agcagctgag atcaaagcac tgaaagattc tggagcaagc 300
 aaagatgagc ttaaagccaa ggtcgaagat gcactccacg cggtcaccga agaagaaaag 360
 aagcaacata tcgccgaatt tggtcacgca tgcaaggaaa ttttcggggg gccggttgat 420
 gttcgtcaca aacgcgaccc ttataactaat atgacgcccg atgaagttgc tgaaggacta 480
 agaagttaac ggtgatcgag ctttttgcaa aaactggttg atgcttttaa attcttttaa 540
 gcccttttct tgtgttattt cggaattgta ccacacgaac agttagttcc gaataaagaa 600
 ctgtaattat gtaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 632

<210> 12
 <211> 205
 <212> PRT
 <213> 犬弓首线虫

<400> 12

Lys Lys Ile Tyr Gly Val Ala Ala Ser Arg Arg Arg Arg His His Phe
 1 5 10 15

Thr Leu Glu Asn Ser Leu Asp Thr His Leu Lys Trp Leu Ser His Glu
 20 25 30

Gln Lys Glu Glu Leu Leu Gln Met Lys Lys Asp Gly Lys Ser Lys Lys
 35 40 45

Glu Leu Gln Asp Lys Ile Met His Tyr Tyr Glu His Leu Glu Gly Asp
 50 55 60

Ala Lys His Glu Ala Thr Glu Gln Leu Lys Gly Gly Cys Arg Glu Ile
 65 70 75 80

Leu Lys His Val Val Gly Glu Glu Lys Ala Ala Glu Ile Lys Ala Leu
 85 90 95

Lys Asp Ser Gly Ala Ser Lys Asp Glu Leu Lys Ala Lys Val Glu Glu
 100 105 110

Ala Leu His Ala Val Thr Asp Glu Glu Lys Lys Gln His Ile Ala Glu
 115 120 125

Phe Gly Pro Ala Cys Lys Lys Ile Tyr Gly Val Ala Ala Ser Arg Arg
 130 135 140

Arg Arg His His Phe Thr Leu Glu Asn Ser Leu Asp Thr His Leu Lys
 145 150 155 160

Trp Leu Ser His Glu Gln Lys Glu Glu Leu Leu Gln Met Lys Lys Asp
 165 170 175

[0015]

Gly Lys Ser Lys Lys Glu Leu Gln Asp Lys Ile Met His Tyr Tyr Glu
180 185 190

His Leu Glu Gly Met Leu Leu Ala Leu Cys Ile Leu Tyr
195 200 205

<210> 13
<211> 162
<212> PRT
<213> 猫弓首线虫

<400> 13

Ile Tyr Gly Val Ala Ala Ser Arg Arg Arg Arg His His Phe Thr Leu
1 5 10 15

Glu Lys Ser Leu Asp Thr His Leu Lys Trp Leu Ser His Glu Gln Lys
20 25 30

Glu Glu Leu Leu Lys Met Lys Lys Asp Gly Lys Ser Lys Lys Glu Leu
35 40 45

Gln Asp Lys Val Met His Phe Tyr Glu His Leu Glu Gly Asp Ala Lys
50 55 60

His Glu Ala Thr Glu Gln Leu Lys Gly Gly Cys Arg Glu Ile Leu Lys
65 70 75 80

His Val Val Gly Glu Glu Lys Ala Ala Glu Ile Lys Ala Leu Lys Asp
85 90 95

Ser Gly Ala Ser Lys Asp Glu Leu Lys Ala Lys Val Glu Asp Ala Leu
100 105 110

His Ala Val Thr Asp Glu Glu Lys Lys Gln His Ile Ala Glu Phe Gly
115 120 125

Pro Ala Cys Lys Glu Ile Phe Gly Val Pro Ile Asp Val Arg His Lys
130 135 140

Arg Asp Pro Tyr Thr Asn Met Thr Pro Asp Glu Val Ala Glu Gly Leu
145 150 155 160

Arg Ser

<210> 14
<211> 130
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<400> 14

[0016]

Met His His Phe Thr Leu Glu Asn Ser Leu Asp Thr His Leu Lys Trp
1 5 10 15

Leu Ser His Glu Gln Lys Glu Glu Leu Leu Gln Met Lys Lys Asp Gly
20 25 30

Lys Ser Lys Lys Glu Leu Gln Asp Lys Ile Met His Tyr Tyr Glu His
35 40 45

Leu Glu Gly Asp Ala Lys His Glu Ala Thr Glu Gln Leu Lys Gly Gly
50 55 60

Cys Arg Glu Ile Leu Lys His Val Val Gly Glu Glu Lys Ala Ala Glu
65 70 75 80

Ile Lys Ala Leu Lys Asp Ser Gly Ala Ser Lys Asp Glu Leu Lys Ala
85 90 95

Lys Val Glu Glu Ala Leu His Ala Val Thr Asp Glu Glu Lys Lys Gln
100 105 110

His Ile Ala Glu Phe Gly Pro Ala Cys Lys Lys Ile Tyr Gly Val Ala
115 120 125

Ala Ser
130

<210> 15
<211> 129
<212> PRT
<213> 人工的

<220>
<223> 合成的

<400> 15

His His Phe Thr Leu Glu Asn Ser Leu Asp Thr His Leu Lys Trp Leu
1 5 10 15

Ser His Glu Gln Lys Glu Glu Leu Leu Gln Met Lys Lys Asp Gly Lys
20 25 30

Ser Lys Lys Glu Leu Gln Asp Lys Ile Met His Tyr Tyr Glu His Leu
35 40 45

Glu Gly Asp Ala Lys His Glu Ala Thr Glu Gln Leu Lys Gly Gly Cys
50 55 60

Arg Glu Ile Leu Lys His Val Val Gly Glu Glu Lys Ala Ala Glu Ile
65 70 75 80

Lys Ala Leu Lys Asp Ser Gly Ala Ser Lys Asp Glu Leu Lys Ala Lys
85 90 95

[0017]

Val Glu Glu Ala Leu His Ala Val Thr Asp Glu Glu Lys Lys Gln His
 100 105 110

Ile Ala Glu Phe Gly Pro Ala Cys Lys Lys Ile Tyr Gly Val Ala Ala
 115 120 125

Ser

<210> 16
 <211> 155
 <212> PRT
 <213> 人工的

<220>
 <223> 合成的

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(11)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (18)..(18)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (37)..(37)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (52)..(52)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (55)..(55)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (110)..(110)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (133)..(133)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (135)..(135)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (138)..(155)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

<400> 16

[0018]

Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa His His Phe Thr Leu
 1 5 10 15
 Glu Xaa Ser Leu Asp Thr His Leu Lys Trp Leu Ser His Glu Gln Lys
 20 25 30
 Glu Glu Leu Leu Xaa Met Lys Lys Asp Gly Lys Ser Lys Lys Glu Leu
 35 40 45
 Gln Asp Lys Xaa Met His Xaa Tyr Glu His Leu Glu Gly Asp Ala Lys
 50 55 60
 His Glu Ala Thr Glu Gln Leu Lys Gly Gly Cys Arg Glu Ile Leu Lys
 65 70 75 80
 His Val Val Gly Glu Glu Lys Ala Ala Glu Ile Phe Ala Leu Lys Asp
 85 90 95
 Ser Gly Ala Ser Lys Asp Glu Leu Lys Ala Lys Val Glu Xaa Ala Leu
 100 105 110
 His Ala Val Thr Asp Glu Glu Lys Lys Gln His Ile Ala Glu Phe Gly
 115 120 125
 Phe Ala Cys Lys Xaa Ile Xaa Gly Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 130 135 140
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 145 150 155

<210> 17
 <211> 535
 <212> DNA
 <213> 犬弓首线虫

<400> 17
 agtcagtagc cactttaate catcagaatg ctctctgttc ttgcgctttt cgctcttatt 60
 acttttgctg tggccggtcc ggaaagctgc ggtccaaacg aagtgtggac tgaatgtacc 120
 ggttgccaat tgaatgtgg gcaagatgaa aatacgcctg gcacactaaa ctgtcgaccg 180
 ccgtgatgtg agtgcctcc aggaagaggc atgagacgaa ccaacgatgg aaggtgcatt 240
 ccgctagtc agtgcccga acacagggcc aagagagagg agcaatgcaa gccaatgag 300
 cagtggtcac cgtgccgagg atgtgaagga acatgcgcac aaagatttgt cccttgcaet 360
 agaaactgcc gaccaccagg ctgtgaatgc gttgctggcg caggtttctg acgtgacget 420
 gaaggaaact gcatcaagtt cgacgattgc ccgaagtaaa taataacat acaaattgct 480
 gattccaatt aaataataa atgagtccag ctgttaaaaa aaaaaaaaa aaaaa 535

<210> 18
 <211> 536
 <212> DNA
 <213> 猫弓首线虫

[0019]

<400> 18
 cagtcagcag ctacttttat ccatcggaat gctctctgtt cttgcgcttt tcgctcttat 60
 tactttcgct gtggccgac cgaaaagttg cggteccaaac gaagtgtgga ctgaatgtac 120
 cggttgcgag ttgaaatgcg ggcaggatga ggatacgcg tgcacactaa actgtcggcc 180
 gccgtcatgt gagtgtcac caggaagagg catgagacga accgacgatg ggaggtgcat 240
 tccggctagt cagtgccgc aacacagagc caagagagag gagcagtgca agccaaatga 300
 gcagtggtca ccgtgccgag gatgtgaagg aacatgcgca caaagatttg tcccttgcac 360
 tagaaactgc cgaccaccag gatgtgaatg cgttgctggc gcaggtttcg tacgtgacgc 420
 tgcaggaaat tgcataagt tcgacgattg cccgaagtaa ataataacca tactaattgc 480
 tgattacaat taaaataata aatgagtcca gctgttaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa 536

<210> 19
 <211> 143
 <212> PRT
 <213> 犬弓首线虫

<400> 19
 Met Leu Ser Val Leu Ala Leu Phe Ala Leu Ile Thr Phe Ala Val Ala
 1 5 10 15
 Gly Pro Glu Ser Cys Gly Pro Asn Glu Val Trp Thr Glu Cys Thr Gly
 20 25 30
 Cys Glu Leu Lys Cys Gly Gln Asp Glu Asn Thr Pro Cys Thr Leu Asn
 35 40 45
 Cys Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Ser Pro Gly Arg Gly Met Arg Arg
 50 55 60
 Thr Asn Asp Gly Arg Cys Ile Pro Ala Ser Gln Cys Pro Gln His Arg
 65 70 75 80
 Ala Lys Arg Glu Glu Gln Cys Lys Pro Asn Glu Gln Trp Ser Pro Cys
 85 90 95
 Arg Gly Cys Glu Gly Thr Cys Ala Gln Arg Phe Val Pro Cys Thr Arg
 100 105 110
 Asn Cys Arg Pro Pro Gly Cys Glu Cys Val Ala Gly Ala Gly Phe Val
 115 120 125
 Arg Asp Ala Glu Gly Asn Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys
 130 135 140

<210> 20
 <211> 143
 <212> PRT
 <213> 猫弓首线虫

[0020]

<400> 20

Met Leu Ser Val Leu Ala Leu Phe Ala Leu Ile Thr Phe Ala Val Ala
1 5 10 15

Asp Pro Lys Ser Cys Gly Pro Asn Glu Val Trp Thr Glu Cys Thr Gly
20 25 30

Cys Glu Leu Lys Cys Gly Gln Asp Glu Asp Thr Pro Cys Thr Leu Asn
35 40 45

Cys Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Ser Pro Gly Arg Gly Met Arg Arg
50 55 60

Thr Asp Asp Gly Arg Cys Ile Pro Ala Ser Gln Cys Pro Gln His Arg
65 70 75 80

Ala Lys Arg Glu Glu Gln Cys Lys Pro Asn Glu Gln Trp Ser Pro Cys
85 90 95

Arg Gly Cys Glu Gly Thr Cys Ala Gln Arg Phe Val Pro Cys Thr Arg
100 105 110

Asn Cys Arg Pro Pro Gly Cys Glu Cys Val Ala Gly Ala Gly Phe Val
115 120 125

Arg Asp Ala Ala Gly Asn Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys
130 135 140

<210> 21

<211> 128

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<400> 21

Met Gly Pro Glu Ser Cys Gly Pro Asn Glu Val Trp Thr Glu Cys Thr
1 5 10 15

Gly Cys Glu Leu Lys Cys Gly Gln Asp Glu Asn Thr Pro Cys Thr Leu
20 25 30

Asn Cys Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Ser Pro Gly Arg Gly Met Arg
35 40 45

Arg Thr Asn Asp Gly Arg Cys Ile Pro Ala Ser Gln Cys Pro Gln His
50 55 60

Arg Ala Lys Arg Glu Glu Gln Cys Lys Pro Asn Glu Gln Trp Ser Pro
65 70 75 80

Cys Arg Gly Cys Glu Gly Thr Cys Ala Gln Arg Phe Val Pro Cys Thr

[0021]

	85	90	95
Arg Asn Cys Arg Pro Pro Gly Cys Glu Cys Val Ala Gly Ala Gly Phe	100	105	110
Val Arg Asp Ala Glu Gly Asn Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys	115	120	125
<210>	22		
<211>	127		
<212>	PRT		
<213>	人工的		
<220>			
<223>	合成的		
<400>	22		
Gly Pro Glu Ser Cys Gly Pro Asn Glu Val Trp Thr Glu Cys Thr Gly	5	10	15
Cys Glu Leu Lys Cys Gly Gln Asp Glu Asn Thr Pro Cys Thr Leu Asn	20	25	30
Cys Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Ser Pro Gly Arg Gly Met Arg Arg	35	40	45
Thr Asn Asp Gly Arg Cys Ile Pro Ala Ser Gln Cys Pro Gln His Arg	50	55	60
Ala Lys Arg Glu Glu Gln Cys Lys Pro Asn Glu Gln Trp Ser Pro Cys	65	70	75
Arg Gly Cys Glu Gly Thr Cys Ala Gln Arg Phe Val Pro Cys Thr Arg	85	90	95
Asn Cys Arg Pro Pro Gly Cys Glu Cys Val Ala Gly Ala Gly Phe Val	100	105	110
Arg Asp Ala Glu Gly Asn Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys	115	120	125
<210>	23		
<211>	143		
<212>	PRT		
<213>	人工的		
<220>			
<223>	合成的		
<220>			
<221>	misc_feature		
<222>	(1)..(17)		
<223>	Xaa 可为任何天然存在的氨基酸		
<220>			
<221>	misc_feature		

[0022]

<222> (19).. (19)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (42).. (42)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (66).. (66)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (132).. (132)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <400> 23
 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

 Xaa Pro Xaa Ser Cys Gly Pro Asn Glu Val Trp Thr Glu Cys Thr Gly
 20 25 30

 Cys Glu Leu Lys Cys Gly Gln Asp Glu Xaa Thr Pro Cys Thr Leu Asn
 35 40 45

 Cys Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Ser Pro Gly Arg Gly Met Arg Arg
 50 55 60

 Thr Xaa Asp Gly Arg Cys Ile Pro Ala Ser Gln Cys Pro Gln His Arg
 65 70 75 80

 Ala Lys Arg Glu Glu Gln Cys Lys Pro Asn Glu Gln Trp Ser Pro Cys
 85 90 95

 Arg Gly Cys Glu Gly Thr Cys Ala Gln Arg Phe Val Pro Cys Thr Arg
 100 105 110

 Asn Cys Arg Pro Pro Gly Cys Glu Cys Val Ala Gly Ala Gly Phe Val
 115 120 125

 Arg Asp Ala Xaa Gly Asn Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys
 130 135 140

<210> 24
 <211> 469
 <212> DNA
 <213> 犬弓首线虫

 <400> 24
 atcagcaggt ttcgcttcaa atgcttccga taactttttt gctggcaatt attgtcggtg 60
 cagcagtagc tcaccgtaaa tgtggtccaa acgaagagtg gaccgaatgc actggttgcg 120
 aaattaagtg cggtaagga gagcaaccat gcctatgat gtgtcgtccg ccatcgtgtg 180
 aatgcattgc cggcaagga ttacgaagaa cagcggacgg aagatgcgtg ccgaggcac 240

[0023]

aatgcccaaa aagaatggta aagcgagacg aaaaatgtgg gccaaacgag aaattcctga 300
 agtgcagagg ttgtgagggt acctgcaaag aacgtctcgt tccctgccct agaattgtgca 360
 aaccaccagg ttgcgaatgc cccgcttcag aaggattcgt tcgcaatgac aaaggcgaat 420
 gtatcaagtt cgacgactgc cggaaataaa ttcaataaat caattttgt 469

<210> 25
 <211> 548
 <212> DNA
 <213> 猫弓首线虫

<400> 25
 atcagcaggt ttcgcttcaa atgcttcctg taactttttt gctggcattt attgtgggtg 60
 cagcggtagc tcaccgtaaa tgtgggccaa atgaagagtg gacggaatgc actggctgac 120
 aatgaagtg cggatgaagga gagacacat gccctatgat gtgtcgtccg ccatcgtgtg 180
 aatgcatggc cggcaaaagga ttacgaagaa caccggacgg aagatgtgtg ccggaggcac 240
 aatgccccgaa acatatggta aagcgagatg aaaaatgtgg gaaaaacgag aaattcctga 300
 agtgcagagg atgtgagggt acgtgcaaag aacgtctcgt gccgtgccct aagatgtgca 360
 aaccaccagg ttgcgaatgc cccgcttcag aaggattcgt tcgcaatgac aaacacgaat 420
 gtatcaagtt cgacgactgc cccaaataaa ttcaataaat cagtcttgtt gataaataca 480
 atcgtgatgc tcacgttttt ttttcttgcg ataaaatcta tacttcccaa aaaaaaaaaa 540
 aaaaaaaaaa 548

<210> 26
 <211> 142
 <212> PRT
 <213> 犬弓首线虫

<400> 26
 Met Leu Pro Ile Thr Phe Leu Leu Ala Ile Ile Val Gly Ala Ala Val
 1 5 10 15
 Ala His Arg Lys Cys Gly Pro Asn Glu Glu Trp Thr Glu Cys Thr Gly
 20 25 30
 Cys Glu Ile Lys Cys Gly Gln Gly Glu Gln Pro Cys Pro Met Met Cys
 35 40 45
 Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Met Ala Gly Lys Gly Leu Arg Arg Thr
 50 55 60
 Ala Asp Gly Arg Cys Val Pro Glu Ala Gln Cys Pro Lys Arg Met Val
 65 70 75 80
 Lys Arg Asp Glu Lys Cys Gly Pro Asn Glu Lys Phe Leu Lys Cys Arg
 85 90 95
 Gly Cys Glu Gly Thr Cys Lys Glu Arg Leu Val Pro Cys Pro Arg Met

[0024]

100	105	110
Cys Lys Pro Pro Gly Cys Glu Cys Pro Ala Ser Glu Gly Phe Val Arg 115	120	125
Asn Asp Lys Gly Glu Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys 130	135	140
<210> 27		
<211> 142		
<212> PRT		
<213> 猫弓首线虫		
<400> 27		
Met Leu Pro Leu Thr Phe Leu Leu Ala Phe Ile Val Gly Ala Ala Val 1	5	10
Ala His Arg Lys Cys Gly Pro Asn Glu Glu Trp Thr Glu Cys Thr Gly 20	25	30
Cys Glu Met Lys Cys Gly Glu Gly Glu Thr Pro Cys Pro Met Met Cys 35	40	45
Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Met Ala Gly Lys Gly Leu Arg Arg Thr 50	55	60
Pro Asp Gly Arg Cys Val Pro Glu Ala Gln Cys Pro Lys His Met Val 65	70	75
Lys Arg Asp Glu Lys Cys Gly Lys Asn Glu Lys Phe Leu Lys Cys Arg 85	90	95
Gly Cys Glu Gly Thr Cys Lys Glu Arg Leu Val Pro Cys Pro Lys Met 100	105	110
Cys Lys Pro Pro Gly Cys Glu Cys Pro Ala Ser Glu Gly Phe Val Arg 115	120	125
Asn Asp Lys His Glu Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys 130	135	140
<210> 28		
<211> 126		
<212> PRT		
<213> 人工的		
<220>		
<223> 合成的		
<400> 28		
Met His Arg Lys Cys Gly Pro Asn Glu Glu Trp Thr Glu Cys Thr Gly 1	5	10
Cys Glu Ile Lys Cys Gly Gln Gly Glu Gln Pro Cys Pro Met Met Cys		

[0025]

<210> 30
 <211> 142
 <212> PRT
 <213> 人工的

 <220>
 <223> 合成的

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(17)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (35)..(35)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (39)..(39)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (42)..(42)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (65)..(65)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (78)..(78)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (88)..(88)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (111)..(111)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (132)..(132)
 <223> Xaa 可为任何天然存在的氨基酸

 <400> 30

 Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa
 1 5 10 15

 Xaa His Arg Lys Cys Gly Pro Asn Glu Glu Trp Thr Glu Cys Thr Gly
 20 25 30

 Cys Glu Xaa Lys Cys Gly Xaa Gly Glu Xaa Pro Cys Pro Met Met Cys
 35 40 45

 Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Met Ala Gly Lys Gly Leu Arg Arg Thr

[0027]

50	55	60	
Xaa Asp Gly Arg Cys Val Pro Glu Ala Gln Cys Pro Lys Xaa Met Val			
65	70	75	80
Lys Arg Asp Glu Lys Cys Gly Xaa Asn Glu Lys Phe Leu Lys Cys Arg			
	85	90	95
Gly Cys Glu Gly Thr Cys Lys Glu Arg Leu Val Pro Cys Pro Xaa Met			
	100	105	110
Cys Lys Pro Pro Gly Cys Glu Cys Pro Ala Ser Glu Gly Phe Val Arg			
	115	120	125
Asn Asp Lys Xaa Glu Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro Lys			
130	135	140	

<210> 31
 <211> 1343
 <212> DNA
 <213> 钩口属(Ancylostoma)

<400> 31
 atgggcagca gccatcatca tcatcatcac agcagcggcc tgggtgccgcg cggcagccat 60
 atggctagca tgaactggtg acagcaaatg ggtecggat ccgaattcga gctcaccact 120
 tgtccaggaa atgatctaac agatgctgaa cgcacactgc taactagggt gcacaattcc 180
 attcgacggg aaatagcgca aggagttgca aacaactacc atgggtgtaa actgcctgct 240
 ggaagaaca tatacaggat gagatacagc tgtgagctgg aacagctgc tattgatgct 300
 agtcaaact tctgttccgc atcattggag gaaccacaga aatatggaca aaacatccaa 360
 geatacgtca caccatetat aategctcgc ccgaaaaacg accttettga agatgcagtg 420
 aaacaatggt atctgectgt tatctactac ggccaacgcg acgcgcccaa caagttcacc 480
 gatccgcgct tgtacacatt tgcaaacctc gcctacgaca agaaactgc acttgctgt 540
 cactatgca aatgtcaagg ccctgacaga atcgtcatta gttgcatgta caacaacgtc 600
 gttcctgaca acgctgtgat ctacgagcca ggaactgctt gcgtaaaga tcaggactgc 660
 actacttate ctacgtccac atgcaaggac agcctttgca ttattectac gccacatcca 720
 ccaaatecac caaatecacc acctgcaatg tgtccaaacg ctgaaatgac tgatgcagca 780
 cgaaagaagg tcctcgacat gcacaactgg cgcagatcgc agctcgtctt gggaaacggt 840
 caaacggga aaaatgctta caactgcccc actgcaacag acatgtacaa gatggaatat 900
 gattgcgacc tcgagaacag cgctctagcg tatgcaaagc aatgtagtct cgttggttca 960
 gcagaaggaa ctgctccagg agaaggegag aatgtccaca aaggcgtctt cgtaaccgat 1020
 cgggagctg cagttcagac cgcagttcaa gcatggtgga gtcaaatctc acaaaatgga 1080
 ctcaatgcac agatgaaatt cactgctttc ttgaaggaca agcctgacgc tccgacagcg 1140
 ttacacaga tggcgtgggc caaatccgta aagcttgat gtgctgtctc taattgtcag 1200

[0028]

gcagatacct tcaccgtctg tagatacaaa gctgcccggaa acatcgtggg cgaattcate 1260
 tataccaagg gaaatgtatg cgacgcctgt aaagccacat gcattaccgc ggaaggtctt 1320
 tgcccaacgc cttgagcggc cgc 1343

<210> 32
 <211> 767
 <212> DNA
 <213> 钩口属

<400> 32
 atgggcagca gccatcatca tcatcatcac agcagcggcc tgggtcccgc cggcagccat 60
 atggetagca tgactggtgg acagcaaatg ggtecggat ccgaattcga getcaccact 120
 tgtccaggaa atgatctaac agatgctgaa cgcacactgc taactagggt gcacaattcc 180
 attcgacggg aaatagcgca aggagttgca aacaactacc atggtggtaa actgcctgct 240
 ggaaagaaca tatacaggat gagatacagc tgtgagctgg aacaggctgc tattgatgct 300
 agteaaacct tctgttccgc atcattggag gaaccacaga aatatggaca aaacatccaa 360
 gcatacgtca caccatctat aatcgcctgc ccgaaaaacg accttcttga agatgcagtg 420
 aaacaatggt atctgcctgt tatctactac ggccagcgcg acgcgcccaa caagtttacg 480
 gatecgeget tgtacacatt tgcaaacctc gcctacgaca agaacactgc acttggtgt 540
 cactatgcga aatgtcaagg cctgacaga atcgtcatta gttgcatgta caacaacgtc 600
 gttcctgaca acgcagtgat ctacgagcct ggaactgctt gcgtaaaaga tggcgactgc 660
 actacttate ctcagtccac atgcaaggac agcctttgca ttattctac gccacatcca 720
 ccaaatccac caaatccacc accagcaatg agtccatgag cggcccgc 767

<210> 33
 <211> 444
 <212> PRT
 <213> 钩口属

<400> 33

Met Gly Ser Ser His His His His His Ser Ser Gly Leu Val Pro
 1 5 10 15

Arg Gly Ser His Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg
 20 25 30

Gly Ser Glu Phe Glu Leu Thr Thr Cys Pro Gly Asn Asp Leu Thr Asp
 35 40 45

Ala Glu Arg Thr Leu Leu Thr Arg Val His Asn Ser Ile Arg Arg Glu
 50 55 60

Ile Ala Gln Gly Val Ala Asn Asn Tyr His Gly Gly Lys Leu Pro Ala
 65 70 75 80

Gly Lys Asn Ile Tyr Arg Met Arg Tyr Ser Cys Glu Leu Glu Gln Ala
 85 90 95

[0029]

Ala Ile Asp Ala Ser Gln Thr Phe Cys Ser Ala Ser Leu Glu Glu Pro
100 105 110

Gln Lys Tyr Gly Gln Asn Ile Gln Ala Tyr Val Thr Pro Ser Ile Ile
115 120 125

Ala Arg Pro Lys Asn Asp Leu Leu Glu Asp Ala Val Lys Gln Trp Tyr
130 135 140

Leu Pro Val Ile Tyr Tyr Gly Gln Arg Asp Ala Ala Asn Lys Phe Thr
145 150 155 160

Asp Pro Arg Leu Tyr Thr Phe Ala Asn Leu Ala Tyr Asp Lys Asn Thr
165 170 175

Ala Leu Gly Cys His Tyr Ala Lys Cys Gln Gly Pro Asp Arg Ile Val
180 185 190

Ile Ser Cys Met Tyr Asn Asn Val Val Pro Asp Asn Ala Val Ile Tyr
195 200 205

Glu Pro Gly Thr Ala Cys Val Lys Asp Gln Asp Cys Thr Thr Tyr Pro
210 215 220

Gln Ser Thr Cys Lys Asp Ser Leu Cys Ile Ile Pro Thr Pro His Pro
225 230 235 240

Pro Asn Pro Pro Asn Pro Pro Pro Ala Met Cys Pro Asn Ala Glu Met
245 250 255

Thr Asp Ala Ala Arg Lys Lys Val Leu Asp Met His Asn Trp Arg Arg
260 265 270

Ser Gln Leu Ala Leu Gly Asn Val Gln Asn Gly Lys Asn Ala Tyr Asn
275 280 285

Cys Pro Thr Ala Thr Asp Met Tyr Lys Met Glu Tyr Asp Cys Asp Leu
290 295 300

Glu Asn Ser Ala Leu Ala Tyr Ala Lys Gln Cys Ser Leu Val Gly Ser
305 310 315 320

Ala Glu Gly Thr Arg Pro Gly Glu Gly Glu Asn Val His Lys Gly Ala
325 330 335

Leu Val Thr Asp Pro Glu Ala Ala Val Gln Thr Ala Val Gln Ala Trp
340 345 350

Trp Ser Gln Ile Ser Gln Asn Gly Leu Asn Ala Gln Met Lys Phe Thr
355 360 365

[0030]

Ala Phe Leu Lys Asp Lys Pro Asp Ala Pro Thr Ala Phe Thr Gln Met
370 375 380

Ala Trp Ala Lys Ser Val Lys Leu Gly Cys Ala Val Ser Asn Cys Gln
385 390 395 400

Ala Asp Thr Phe Thr Val Cys Arg Tyr Lys Ala Ala Gly Asn Ile Val
405 410 415

Gly Glu Phe Ile Tyr Thr Lys Gly Asn Val Cys Asp Ala Cys Lys Ala
420 425 430

Thr Cys Ile Thr Ala Glu Gly Leu Cys Pro Thr Pro
435 440

<210> 34
<211> 252
<212> PRT
<213> 钩口属

<400> 34

Met Gly Ser Ser His His His His His His Ser Ser Gly Leu Val Pro
1 5 10 15

Arg Gly Ser His Met Ala Ser Met Thr Gly Gly Gln Gln Met Gly Arg
20 25 30

Gly Ser Glu Phe Glu Leu Thr Thr Cys Pro Gly Asn Asp Leu Thr Asp
35 40 45

Ala Glu Arg Thr Leu Leu Thr Arg Val His Asn Ser Ile Arg Arg Glu
50 55 60

Ile Ala Gln Gly Val Ala Asn Asn Tyr His Gly Gly Lys Leu Pro Ala
65 70 75 80

Gly Lys Asn Ile Tyr Arg Met Arg Tyr Ser Cys Glu Leu Glu Gln Ala
85 90 95

Ala Ile Asp Ala Ser Gln Thr Phe Cys Ser Ala Ser Leu Glu Glu Pro
100 105 110

Gln Lys Tyr Gly Gln Asn Ile Gln Ala Tyr Val Thr Pro Ser Ile Ile
115 120 125

Ala Arg Pro Lys Asn Asp Leu Leu Glu Asp Ala Val Lys Gln Trp Tyr
130 135 140

Leu Pro Val Ile Tyr Tyr Gly Gln Arg Asp Ala Ala Asn Lys Phe Thr
145 150 155 160

Asp Pro Arg Leu Tyr Thr Phe Ala Asn Leu Ala Tyr Asp Lys Asn Thr

[0031]

Asn Cys Arg Pro Pro Ser Cys Glu Cys Ser Pro Gly Arg Gly Met Arg
 35 40 45

Arg Thr Asn Asp Gly Arg Cys Ile Pro Ala Ser Gln Cys Pro Gln His
 50 55 60

<210> 38

<211> 65

<212> PRT

<213> 人工的

<220>

<223> 合成的

<400> 38

Met Arg Ala Lys Arg Glu Glu Gln Cys Lys Pro Asn Glu Gln Trp Ser
 1 5 10 15

Pro Cys Arg Gly Cys Glu Gly Thr Cys Ala Gln Arg Phe Val Pro Cys
 20 25 30

Thr Arg Asn Cys Arg Pro Pro Gly Cys Glu Cys Val Ala Gly Ala Gly
 35 40 45

Phe Val Arg Asp Ala Glu Gly Asn Cys Ile Lys Phe Asp Asp Cys Pro
 50 55 60

Lys

65

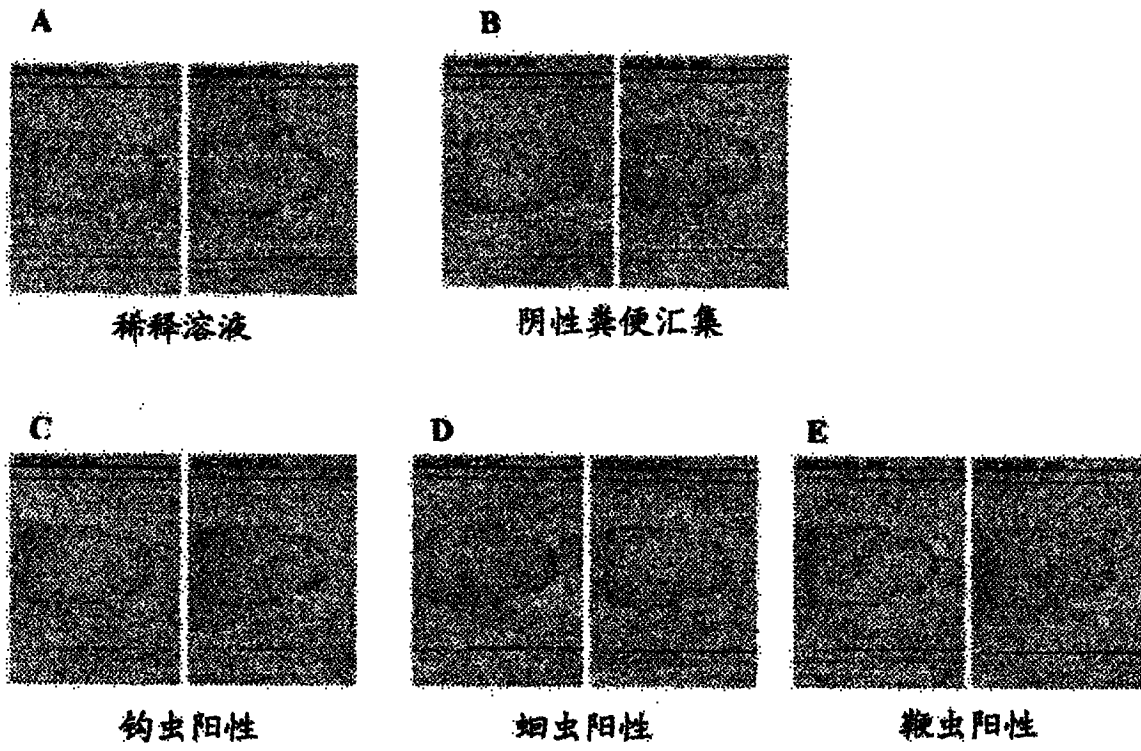


图 1

三种线虫测定法

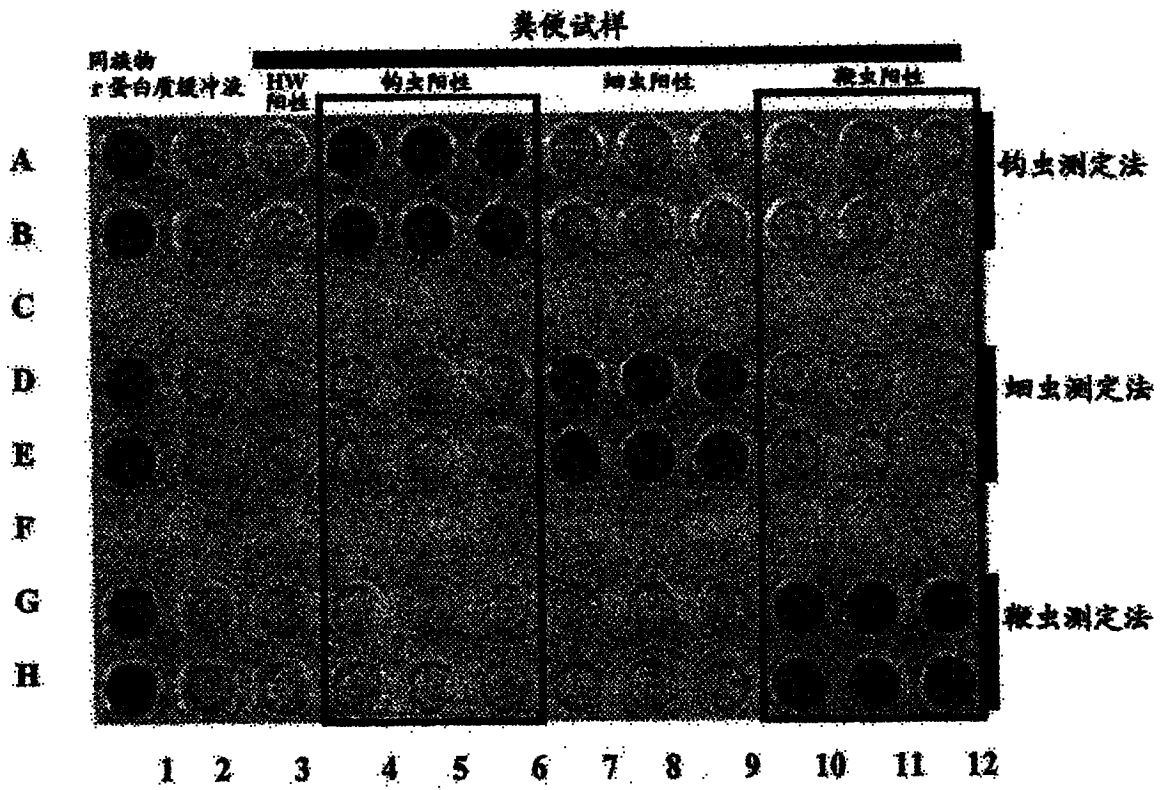


图 2

```

cattcactgc ggttgtaaaa gcagtcgaga aatgaggctg gtcttccatg cggttattta      60
cctcacattg gggttcctca ccgacgccgt aagagaaaaa cgtggcaaat gtcctcctga      120
accaccgatc gcaggaaaca cgatctactg ccgcatgatg tttgattgtg gaggaagaca      180
gaagtgctgt acaattgcag aaggacgtgg atgctgtccg ccctatgggtg aacaacattt      240
cgaagtgggtg aaaccgggtc attgcccagc tattccagcg gttacgggca tggcgaactt      300
ctgtaacact gatggcgact gtgatggacc gaaaaaatgt tgtctcacat cgcgcggcta      360
cgattgcaca catccattac acttcccaat ccagccacaa cctccagtag gacagtgcc      420
tccttcaag ccccgatatc caggaaaatg ggtagacatc tgcgctaagc atgccaactg      480
cccagacca gagaagtgtt gcgacacgga gtatggcaac cgatgtatgg atgttgatt      540
agtgcagga caaggagaaa gaccaggcaa ttgcccgac gaaccacgaa taagaggaa      600
taaatacgat tgccgacgag acgatgactg cgacgggtg cagaaatgct gcttcaactg      660
tgagggacgt gagtgctgg aaccaagtag aaaaccactg gacaagcccg gacattgtcc      720
accaattccc gctgatgtgg gctcagccag gtactgagac actgatcggg attgtgatgg      780
accaagaaaa tgctgcctct cttcgcgtgg ctatgaatgt aaacatccag tacactatcc      840
cgatcgagtg gagccactag taggagaatg cccaccatca cgacctcgca ttctgggaa      900
atgggttgac atctgctcta agcatgcaa ctgccagac ccagagaaat gttgcgacac      960
ggagtatggc aaccgatgta tggacgttgg attagtgcct ggacaaggag aaaaacctgc      1020
caactgccc aaggaaccac gaataagagg aactaagtac gactgtcgac gggacgatga      1080
ctgcgatggg aaacaaaagt gctgctacac aactgaagc cgcgaatgcg tccatgggat      1140
atggccttaa atggttgctt cttcctataa taaaagcaaa cgaatcaaaa aaaaaaaaa      1200
aaaaaaaaa
    
```

(SEQ TO NO:1)

图 3

gtaagagaaa aacgtggcaa atgtcctcctgaaccaccga	tgcagggaaa cacgatctac	60
tgccgcgatg attttgattg tggaggaagacagaagtgt	gtacaattgc agaaggacgt	120
ggatgcgtgc cgccctatgg tgaacaagatttcgaagtgg	tgaaaccggg tcattgcca	180
gctattccag cggttacggg catggcgaacttctgtaaca	ctgatggcga ctgtgatgga	240
ccgaaaaaat gttgtctcac atcgcgcggctacgattgta	cacatccgtt acaacttcca	300
atccagccac aacctccagt aggacagtgcctccttcaa	agccccgtgt tccaggaaaa	360
tgggtagaca tctgcgctaa gcatgccaattgccagacc	cagagaagtg ttgcgacacg	420
gagtatggca accgatgtat ggatgttggattagtggcag	gacaaggaga aagaccaggc	480
aattgcccga acgaaccacg aataagaggaactaatac	attgccgacg agacgatgac	540
tgcgacggtg tgcagaaatg ctgcttcaactgttgaggac	gtgagtgcgt ggaaccaagc	600
agaaaaccac tggacaagcc cggacattgtccaccaattc	ccgctgatgt gggctcagcc	660
aggfactgcg acaactgatcg ggattgtgatggaccaagaa	aatgctgcct ctcttcgct	720
ggctatgaat gtaaacatcc agtacactatcccgatcgag	tggagccact agtaggagaa	780
tgcccacat cacgacctcg cattcctgggaaatgggttg	acatctgctc taagcatgcc	840
aactgcccag acccagagaa atgttgcgacacggagtatg	gcaaccgatg tatggacgtt	900
ggattagtgc ctggacaagg agaaaaacctgccaactgcc	caaaggaacc acgaataagg	960
ggaactaagt acgactgtcg acgggacgatgactgcgatg	ggaaacaaaa gtgctgctac	1020
acaactgaag gccgcgaatg cgtccatggtatatggcct		1059

(SEQ ID NO:2)

图 4

共有序列 (SEQ ID NO: 16) XXXXXXXXXXXXXHFTLEKSLDTHLKWLSHEQKEELIXMKKDGKSKKELQDKKMKYEHLEGGDAKHEATEQLKGGCREILK
 10 20 30 40 50 60 70 80
 +-----+-----+-----+-----+-----+-----+
 (SEQ ID NO: 14) -----, MHFTLENSLDPHLKWLSHEQKEELIQMKKDGKSKKELQDKKIMHYEHLEGGDAKHEATEQLKGGCREILK 70
 (SEQ ID NO: 13) IYGVAAARRRRHHFTLEKSLDTHLKWLSHEQKEELIXMKKDGKSKKELQDKKMKYEHLEGGDAKHEATEQLKGGCREILK80

共有序列 (SEQ ID NO: 16) HVVGEKAAEIKALKDSCASKDELKAKVEALHVAHTDEKQKQHLAEFGFACKIYGVXXXXX XXXXXXXXXXXXX
 90 100 110 120 130 140 150 160
 +-----+-----+-----+-----+-----+-----+
 (SEQ ID NO: 14) HVVGEKAAEIKALKDSCASKDELKAKVEALHVAHTDEKQKQHLAEFGFACKIYGVAAAS -----
 (SEQ ID NO: 13) HVVGEKAAEIKALKDSCASKDELKAKVEDALHVAHTDEKQKQHLAEFGFACKIYGVPIIDVHRKRDPTHTMTPDEVAEGLI.60
 131

共有序列 (SEQ ID NO: 16) XX

 (SEQ ID NO: 14) --
 (SEQ ID NO: 13) RS

131
 162

```

agtcagtagc cactttaatc catcagaatg ctctctgttc ttgcgcttttcgctottatt      60
acttttgctg tggccggtcc ggaaagctgc ggtccaaacg aagtgtggactgaatgtacc      120
ggttgcgaaat tgaaatgtgg gcaagatgaa aatacgccgt gcacactaaactgtcgaccg      180
ccgtcatgtg agtgctctcc aggaagaggc atgagacgaa ccaacgatggaaggtgcatt      240
ccggctagtc agtgcccgca acacagggcc aagagagagg agcaatgcaagccaaatgag      300
cagtggtcac cgtgccgagg atgtgaagga acatgcgcac aaagatttgtcccttgact      360
agaaactgcc gaccaccagg ctgtgaatgc gttgctggcg caggtttcgtacgtgacgct      420
gaaggaaact gcatcaagt cgcagattgc ccgaagtaa taataaccatacaaatgct      480
gattccaatt aaaataataa atgagtccag ctgttaaaaa aaaaaaaaaaaaaaaaaa      535

```

(SEQ ID NO:17)

图 9

```

cagtcagcag ctacttttat ccacggaat gctctctgtt cttgcgcttttcgctottat      60
tactttcgtg gtggccgata cgaaaagttg cgggtccaaac gaagtgtggactgaatgtac      120
cggttgagag ttgaaatgag ggcaggatga ggatacgccg tgcaactaaactgtcgacc      180
gccgtcatgt gagtgctcac caggaagagg catgagacga accgacgatgggaggtgcat      240
tccggctagt cagtgcccgc aacacagagc caagagagag gagcagtgcaagccaaatga      300
gcagtggta cagtgccgag gatgtgaagg aacatgagca caaagatttgtcccttgac      360
tagaaactgc cgaccaccag gatgtgaatg cgttgcctggc gcaggtttcgtacgtgacgc      420
tgcaggaaat tgcatcaagt tcgacgattg cccgaagtaa ataataaccataactaattgc      480
tgattacaat taaaataata aatgagtcca gctgttaaaaa aaaaaaaaaaaaaaaaaa      536

```

(SEQ ID NO:18)

图 10

atcagcaggt	ttcgcttcaa	atgcttccga	taactttttt	gctggcaatt	attgtcggtg	60
cagcagtagc	tcaccgtaaa	tgtggtccaa	acgaagagt	ggaccgaatgc	actggttgcg	120
aaattaagtg	cggccaagga	gagcaaccat	gccctatgat	gtgtcgtccg	ccatcgtgtg	180
aatgcatggc	cggcaaagga	ttacgaagaa	cagcggacgga	aagatgctg	ccggaggcac	240
aatgcccaaa	aagaatggta	aagcgagacg	aaaaatgtggg	ccaaacgag	aaattcctga	300
agtgcagagg	ttgtgagggt	acctgcaaag	aacgtctcgtt	ccctgccc	agaatgtgca	360
aaccaccagg	ttgcgaatgc	cccgttcag	aaggattcgtt	tcgcaatgac	aaaggcgaat	420
gtatcaagtt	cgacgactgc	ccgaaataaa	ttcaataaat	caattttgt	(SEQ ID NO: 24)	469

图 12

atcagcaggt	ttcgcttcaa	atgcttccgt	taactttttt	gctggcattt	attgtgggtg	60
cagcggtagc	tcaccgtaaa	tgtggtccaa	atgaagagt	gacggaatgc	actggctgcg	120
aaatgaagtg	cgggtaagga	gagacaccat	gccctatgat	gtgtcgtccg	ccatcgtgtg	180
aatgcatggc	cggcaaagga	ttacgaagaa	caccggacgg	aagatgtgtg	ccggaggcac	240
aatgcccga	acatatggta	aagcgagatg	aaaaatgtgg	gaaaaacgag	aaattcctga	300
agtgcagagg	atgtgagggt	acgtgcaaag	aacgtctcgt	gccgtgccct	aagatgtgca	360
aaccaccagg	ttgcgaatgc	cccgttcgg	aaggattcgt	tcgcaatgac	aaacacgaat	420
gtatcaagtt	cgacgactgc	cccaaataaa	ttcaataaat	cagtcttgtt	gataaataca	480
atcgtgatgc	tcacgttttt	ttttcttggc	ataaaatcta	tacttcccaa	aaaaaaaaaa	540
aaaaaaaa	(SEQ ID NO: 25)					548

图 13

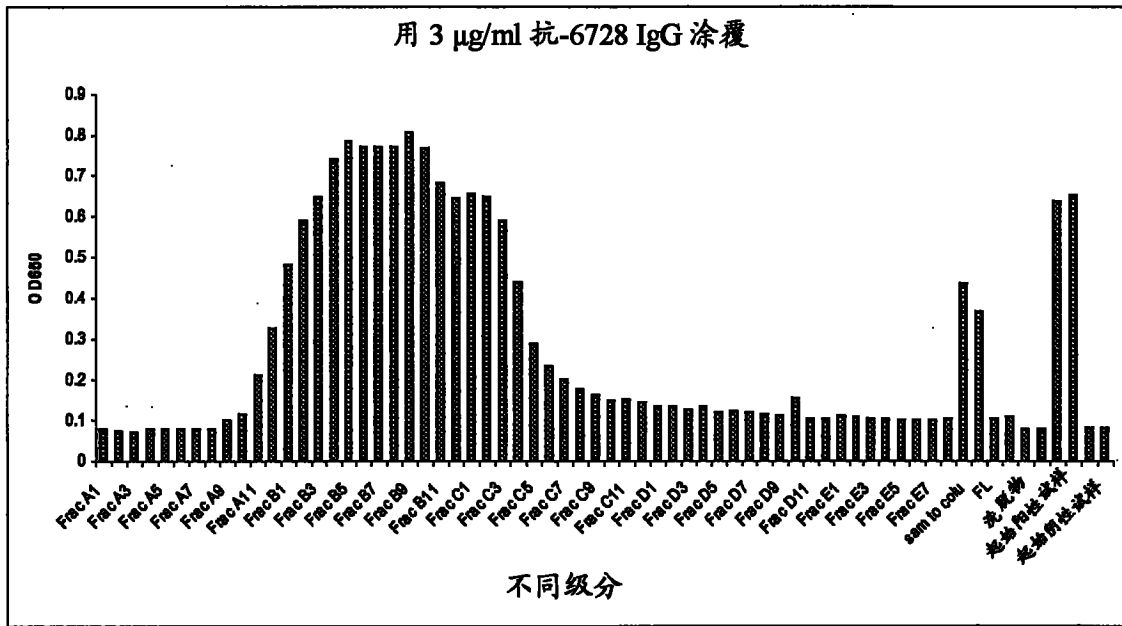


图 15

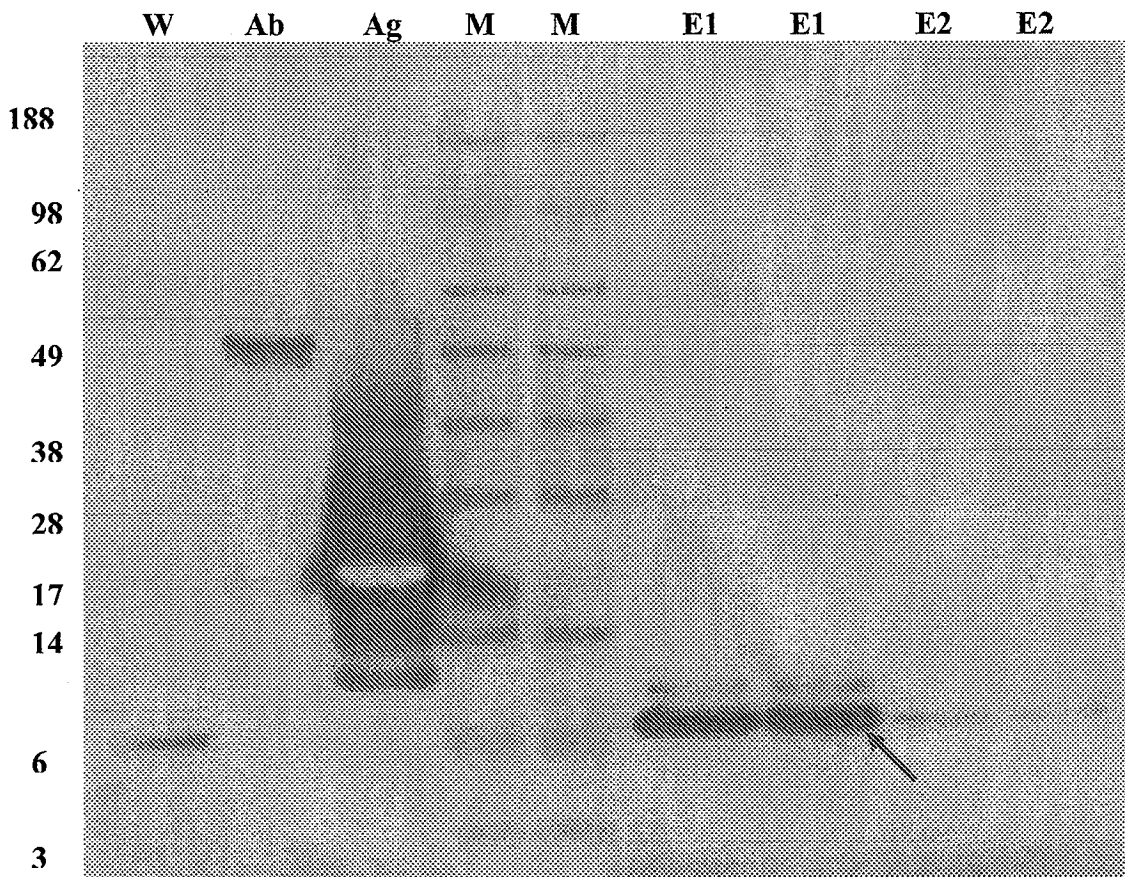


图 16

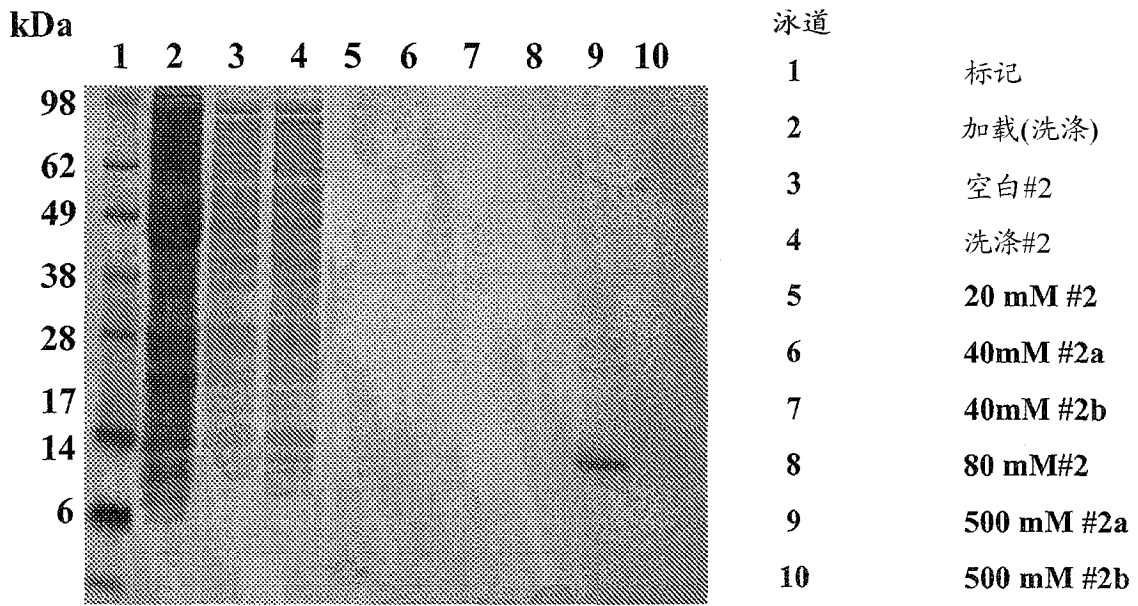


图 21

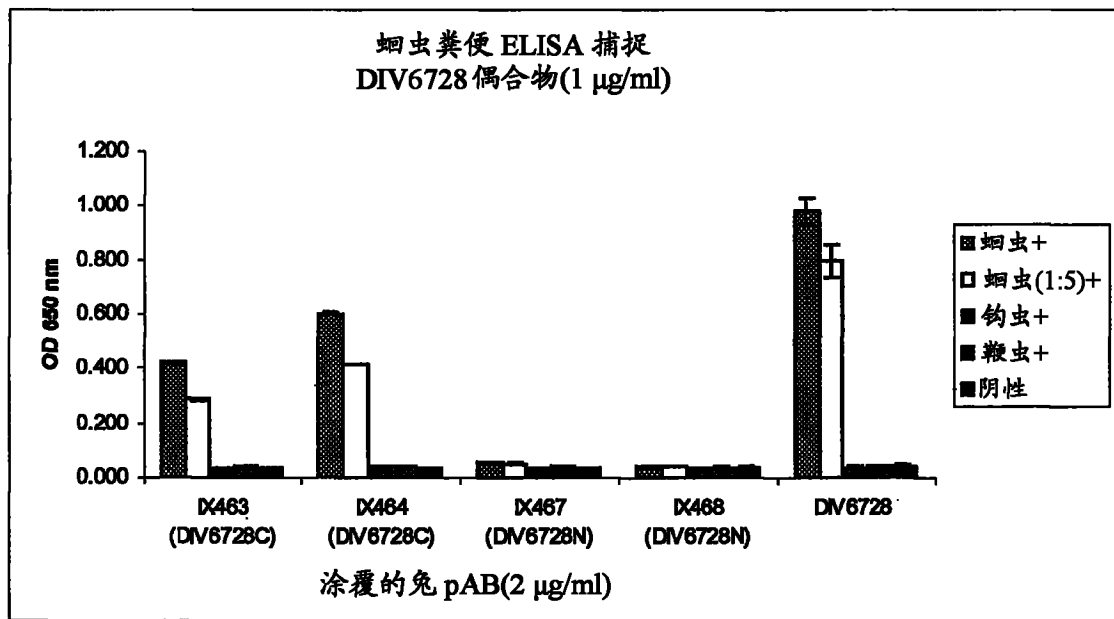


图 22

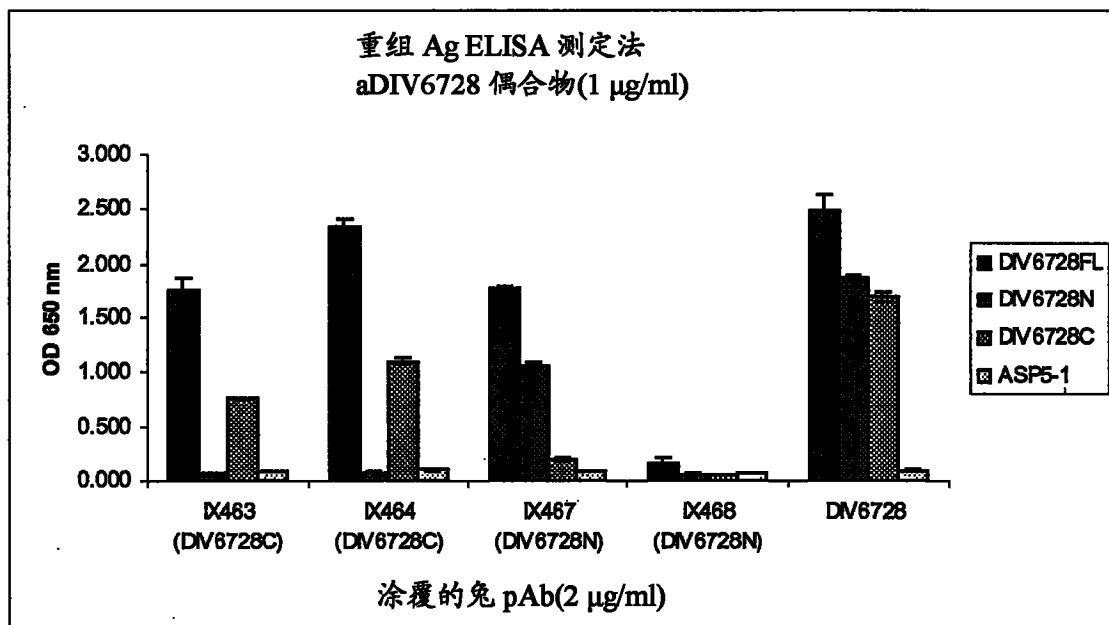


图 23

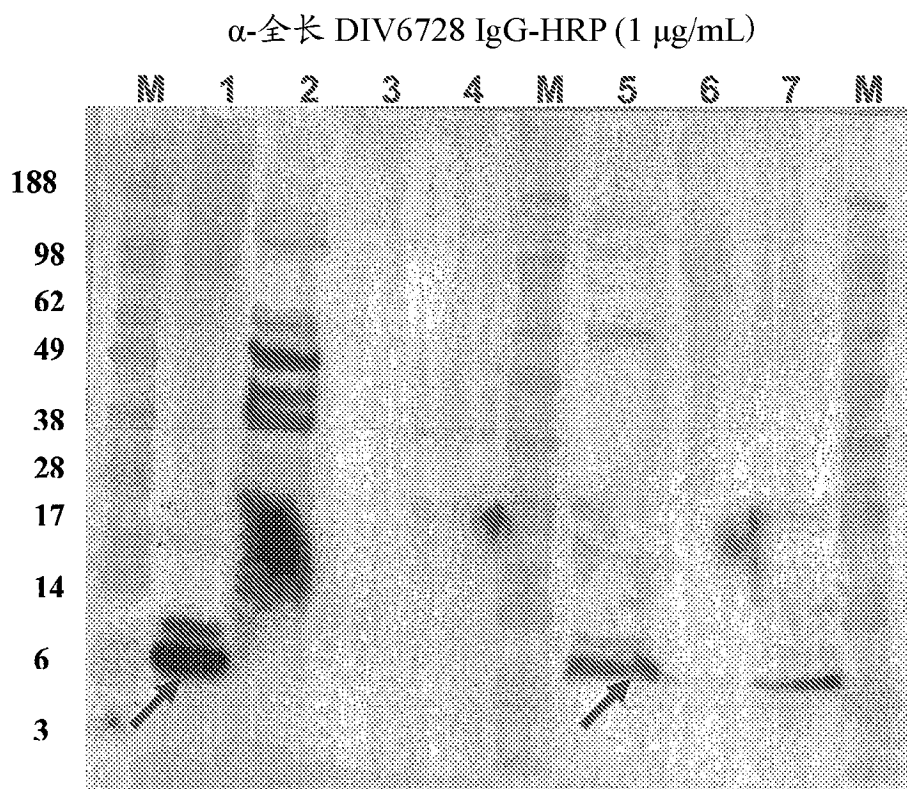


图 24

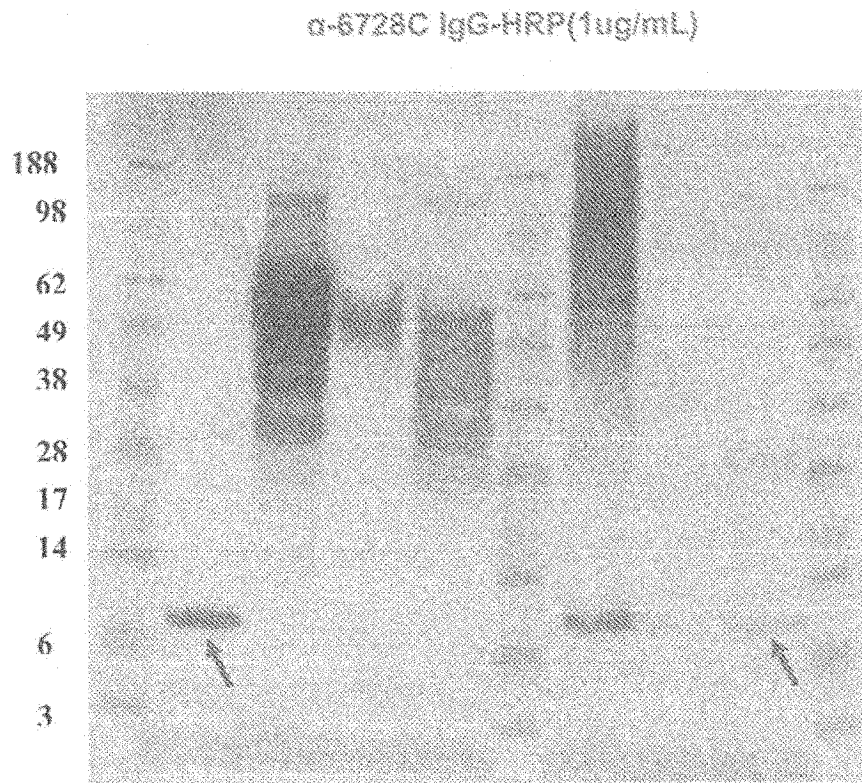


图 25

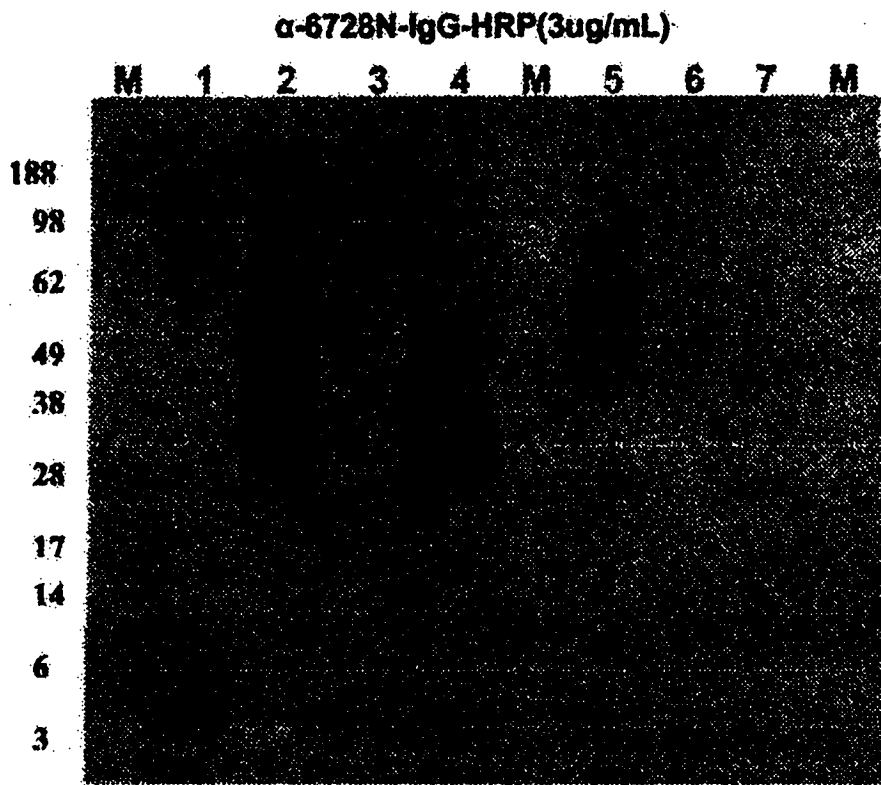


图 26

专利名称(译)	用于检测蛔虫、鞭虫和钩虫的方法、装置、试剂盒和组合物		
公开(公告)号	CN102099680A	公开(公告)日	2011-06-15
申请号	CN200980128216.3	申请日	2009-05-18
[标]申请(专利权)人(译)	艾德克斯实验室公司		
申请(专利权)人(译)	艾德克斯实验室公司		
当前申请(专利权)人(译)	艾德克斯实验室公司		
[标]发明人	戴维 A 埃尔西莫尔 耿进明 劳里 A 弗林 迈克尔克劳福德		
发明人	戴维.A.埃尔西莫尔 耿进明 劳里.A.弗林 迈克尔.克劳福德		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/569		
CPC分类号	G01N33/68 G01N33/6893 G01N33/5308 G01N2333/43526 G01N33/56966 G01N2333/4353 G01N2469/10		
优先权	61/128077 2008-05-19 US 61/128099 2008-05-19 US 61/128079 2008-05-19 US 61/128076 2008-05-19 US 61/122254 2008-12-12 US 61/122260 2008-12-12 US		
其他公开文献	CN102099680B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本文公开了用于检测一种或多种寄生虫粪抗原(helminthic coproantigen)的方法、装置、试剂盒和组合物。本发明的方法、装置、试剂盒和组合物可用于在哺乳动物的粪便试样中确证蛔虫、鞭虫和/或钩虫是否存在，且还能够分辨一种或多种寄生虫感染。在哺乳动物中确证蛔虫、鞭虫和/或钩虫是否存在可用于，例如，选择治疗所述哺乳动物的最佳方案和/或在治疗开始后确定所述哺乳动物是否已经驱除了所述感染。

