



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1646692 B

(45) 授权公告日 2015. 12. 16

(21) 申请号 03807493. 1

(22) 申请日 2003. 03. 12

(30) 优先权数据

10211088. 3 2002. 03. 13 DE

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2004. 09. 29

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/EP2003/002556 2003. 03. 12

(87) PCT国际申请的公布数据

W02003/076631 DE 2003. 09. 18

(73) 专利权人 加尼梅德医药品有限公司

地址 德国美因茨

(72) 发明人 U·萨因 O·图里斯

M·科斯洛斯基

(74) 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专
利商标事务所 11038

代理人 吴亦华

(51) Int. Cl.

C12N 15/63(2006. 01)

C07K 14/47(2006. 01)

C07K 16/18(2006. 01)

C12Q 1/68(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

A61K 39/395(2006. 01)

A61K 48/00(2006. 01)

A61P 35/00(2006. 01)

C12N 9/04(2006. 01)

(56) 对比文件

EP 0270056 A1, 1988. 06. 08, 全文.

WO 0109345 A1, 2001. 02. 08, 全文.

WO 0210363 A2, 2002. 02. 07, 全文.

CHEN HAIMING ET AL. A

testis-specific gene, TPTE, encodes a putative transmembrane tyrosine phosphatase and maps to the pericentromeric region of human chromosomes 21 and 13, and to chromosomes 15, 22, and Y. HUMAN GENETICS 105 5. 1999, 105(5), 399-409.

Charles De Smet et

al. Identification of a new mage gene with tumour-specific expression by representational difference analysis. Cancer research 58 4. 1998, 58(4), 743-752.

Tapán K. Bera et al. Pate a gene expressed in prostate cancer normal prostate and testis Identified by a functional genomic approach. Proceedings of the national academy of sciences of the united states 99 5. 2002, 99(5), 3058-3063.

Valerie Martelange et al. Identification on a human sarcoma of two new genes with tumour-specific expression. Cancer research 60 14. 2000, 60(14), 3848-3855.

审查员 丁海

权利要求书3页 说明书35页

序列表100页 附图13页

(54) 发明名称

在肿瘤中差异表达的基因产物及其用途

(57) 摘要

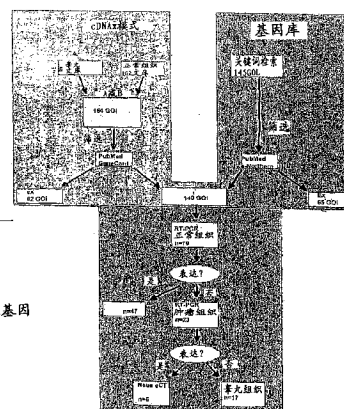
本发明涉及鉴定具有与肿瘤相关性表达的基因产物和编码其的核酸。本发明涉及治疗和诊断疾病的方法,所述具有与肿瘤相关性表达的基因产物在所述疾病中异常表达。本发明还涉及具有与肿瘤相关性表达的蛋白质、多肽和肽以及编码其的核酸。

IN SILICO

- 在全长基因公开总库中
鉴定睾丸特异性抗原

WET BENCH

- 确认睾丸特异性
- 在肿瘤中分析睾丸特异性基因



1. 一种检测肿瘤相关抗原 TPTE 表达或异常表达的试剂盒,所述试剂盒包括用于下列检测的试剂

- (i) 检测编码所述肿瘤相关抗原 TPTE 的核酸或其部分,
- (ii) 检测所述肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分,
- (iii) 检测与所述肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分结合的抗体,和 / 或
- (iv) 检测具有对所述肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分与 MHC 分子之间的复合物特异性的 T 细胞,所述肿瘤相关抗原 TPTE 具有由选自下列的核酸所编码的序列:

- (a) 具有 SEQ ID NO:19 的核酸序列的核酸,
- (b) 关于 (a) 的核酸的简并核酸,和
- (c) 与 (a) 或 (b) 的核酸至少 98% 或至少 99% 同一的核酸。

2. 根据权利要求 1 的试剂盒,其中所述检测包括

- (i) 将生物样品与试剂接触,所述试剂特异性地与所述编码肿瘤相关抗原 TPTE 的核酸或其部分、与所述肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分、与所述抗体或者与所述 T 细胞结合,和
- (ii) 检测所述试剂与所述核酸或其部分、所述肿瘤相关抗原或其部分、所述抗体或者所述 T 细胞之间的复合物的形成。

3. 根据权利要求 1 的试剂盒,其中包括与所述核酸或其所述部分特异性杂交的多核苷酸探针,所述探针用于检测所述核酸或其部分。

4. 根据权利要求 3 的试剂盒,其中所述多核苷酸探针包括来自编码所述肿瘤相关抗原 TPTE 的核酸的 6-50 个连续核苷酸的序列。

5. 根据权利要求 1 的试剂盒,其中所述核酸或其部分通过选择性扩增所述核酸或其所述部分进行检测。

6. 根据权利要求 1 的试剂盒,其中待检测的所述肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分处于与 MHC 分子的复合物中。

7. 根据权利要求 6 的方法,其中所述 MHC 分子是 HLA 分子。

8. 根据权利要求 1-2 和 6-7 中任一项的试剂盒,其中包括与所述肿瘤相关抗原 TPTE 或其所述部分特异性结合的抗体,以用于检测所述肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分。

9. 根据权利要求 1 或 2 的试剂盒,其中包括与所述抗体特异性结合的蛋白质或肽,以用于检测所述抗体。

10. 根据权利要求 3 或 4 的试剂盒,其中所述多核苷酸探针用可检测的方法进行标记。

11. 根据权利要求 8 的试剂盒,其中所述抗体用可检测的方法进行标记。

12. 根据权利要求 9 的试剂盒,其中所述蛋白质或肽用可检测的方法进行标记。

13. 根据权利要求 10 的试剂盒,其中所述可检测的标记物是放射性标记物或酶标记物。

14. 根据权利要求 11 的试剂盒,其中所述可检测的标记物是放射性标记物或酶标记物。

15. 根据权利要求 12 的试剂盒,其中所述可检测的标记物是放射性标记物或酶标记物。

16. 根据权利要求 8 的试剂盒,其中抗体是单克隆抗体、嵌合抗体或人源化抗体或者抗体的片段。

17. 一种与 TPTE 或其部分特异性结合的试剂,所述 TPTE 由选自下列的核酸编码:

- (a) 具有 SEQ ID NO:19 的核酸序列的核酸,
- (b) 关于 (a) 的核酸的简并核酸,和
- (c) 与 (a) 或 (b) 的核酸至少 98%或至少 99%同一的核酸。

18. 根据权利要求 17 的试剂,其中所述 TPTE 包括选自 SEQ ID NO:22、其部分或其衍生物的氨基酸序列。

19. 根据权利要求 17 或 18 的试剂,其为抗体。

20. 根据权利要求 19 的试剂,其中抗体是单克隆抗体、嵌合抗体或人源化抗体或者抗体的片段。

21. 一种与由下列组分构成的复合物选择性结合的抗体:

- (i) TPTE 或其部分和
- (ii) 与所述 TPTE 或其所述部分结合的 MHC 分子,其中所述抗体不与 (i) 或 (ii) 单独结合,和所述 TPTE 由选自下列的核酸所编码:

- (a) 具有 SEQ ID NO:19 的核酸序列的核酸,
- (b) 关于 (a) 的核酸的简并核酸,和
- (c) 与 (a) 或 (b) 的核酸至少 98%或至少 99%同一的核酸。

22. 根据权利要求 21 的抗体,其中所述 TPTE 包含选自 SEQ ID NO:22、其部分或其衍生物的氨基酸序列。

23. 根据权利要求 21 或 22 的抗体,所述抗体是单克隆抗体、嵌合抗体或人源化抗体或抗体的片段。

24. 一种根据权利要求 17-20 中任一项的试剂或根据权利要求 21-23 中任一项的抗体和诊断剂间的偶联物。

25. 与下列组分特异性结合的试剂在制备药物组合物中的用途,

- (i) 肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分,
- (ii) 编码肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分的核酸,
- (iii) 与肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分结合的抗体,或
- (iv) 特异于肿瘤相关的抗原 TPTE 或其部分的细胞毒性 T 淋巴细胞或辅助 T 淋巴细胞,该药物组合物用于在从患者分离的生物样品中诊断或检测通过表达或异常表达肿瘤相关抗原 TPTE 而表征的疾病,

所述肿瘤相关的抗原 TPTE 具有由选自下组核酸编码的序列:

- (a) 具有 SEQ ID NO:19 的核酸序列的核酸,
- (b) 关于 (a) 的核酸的简并核酸,和
- (c) 与 (a) 或 (b) 的核酸至少 98%或至少 99%同一的核酸。

26. 根据权利要求 25 的用途,其中特异性结合核酸或其部分的试剂是多核苷酸探针,其特异性与核酸或其部分杂交。

27. 根据权利要求 25 的用途,其中特异性结合所述肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分的试剂是抗体,其特异性结合所述肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分。

28. 根据权利要求 25 的用途,其中特异性结合抗体的试剂是蛋白或多肽,其特异性结合所述抗体。

29. 根据权利要求 27 或 28, 其中所述抗体为单克隆、嵌合或人源化抗体或抗体片段。

30. 根据权利要求 25 至 28 任一项的用途, 其中所述肿瘤相关抗原 TPTE 包含选自 SEQ ID NO :22、或其部分或衍生物的氨基酸序列。

31. 抗体在制备药物组合物中的用途, 所述抗体与肿瘤相关抗原 TPTE 或其部分结合并与诊断制剂偶联, 所述药物组合物用于诊断或检测通过表达或异常表达肿瘤相关抗原 TPTE 而表征的疾病, 其中

所述肿瘤相关的抗原 TPTE 具有由选自下组核酸编码的序列:

- (a) 具有 SEQ ID NO :19 的核酸序列的核酸,
- (b) 关于 (a) 的核酸的简并核酸, 和
- (c) 与 (a) 或 (b) 的核酸至少 98% 或至少 99% 同一的核酸。

32. 根据权利要求 31 的用途, 其中所述抗体为单克隆、嵌合或人源化抗体或抗体片段。

33. 根据权利要求 31 或 32 的用途, 其中所述肿瘤相关抗原 TPTE 包含选自 SEQ ID NO :22、或其部分或衍生物的氨基酸序列。

34. 抗体在制备药物组合物中的用途, 所述抗体与 TPTE 或其部分结合并与诊断制剂偶联, 所述药物组合物用于诊断或检测转移性肿瘤, 其通过表达或异常表达 TPTE 而表征, 其中所述 TPTE 具有由选自下列的核酸所编码的序列:

- (a) 具有 SEQ ID NO :19 的核酸序列的核酸,
- (b) 关于 (a) 的核酸的简并核酸, 和
- (c) 与 (a) 或 (b) 的核酸至少 98% 或至少 99% 同一的核酸。

35. 根据权利要求 34 的用途, 其中所述抗体为单克隆、嵌合或人源化抗体或抗体片段。

在肿瘤中差异表达的基因产物及其用途

[0001] 尽管有经典治疗方法的充分使用,癌症仍然是导致死亡的原因之一。更新的治疗概念的目标在于通过使用重组肿瘤疫苗和其它特异性方法如抗体疗法将患者自身的免疫系统纳入治疗整体概念中。这种策略的成功先决条件是患者的免疫系统识别肿瘤特异性抗原或肿瘤相关抗原或表位,所述患者的免疫系统的效应物作用将被干预性地增强。肿瘤细胞在生物学上具有与其非恶性的起源细胞本质上的差异。这些差异是由肿瘤发展过程中所获得的遗传改变而引起的,此外也导致在癌细胞中形成质和量上改变的分子结构。被患有肿瘤的宿主的特异性免疫系统识别的该类肿瘤相关结构是指肿瘤相关抗原。肿瘤相关抗原的特异性识别包括细胞机制和体液机制,所述机制是两种功能上互联的单位:CD4⁺和 CD8⁺T 淋巴细胞分别识别在 MHC(主要组织相容性复合物=组织相容性抗原)I 类或 II 类分子上呈递的加工的抗原,而 B 淋巴细胞产生直接与未加工的抗原结合的循环抗体分子。肿瘤相关抗原可能的临床治疗上的重要性由如下事实产生,即免疫系统对癌细胞上抗原的识别导致细胞毒性效应子机制的开始,并能在存在辅助 T 细胞的情况下杀灭癌细胞 (Pardoll, Nat. Med. 4 :525-31,1998)。因此,肿瘤免疫学的中心目标是在分子上阐明这些结构。这些抗原的分子特性在很长时间里都是难以解释的。只有在适宜的克隆技术发展之后,系统性从肿瘤 cDNA 表达文库中筛选肿瘤相关抗原才成为可能,其中通过分析细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL) 的靶结构 (van der Bruggen et al., Science 254 :1643-7,1991) 或通过使用循环自身抗体 (Sahin et al., Curr. opin. Immunol. 9 :709-16,1997) 作为探针的方法进行筛选。为实现该目标,从新鲜肿瘤组织中制备 cDNA 表达文库并在适宜的系统重组表达为蛋白质。将分离自患者的免疫效应物即具有肿瘤特异性溶解模式的 CTL 克隆或循环自身抗体用于克隆各抗原。

[0002] 近年来,通过这些方法已经在多种肿瘤形成中阐明了多种抗原。此处,癌/睾丸抗原 (CTA) 类型具有很高的意义。CTA 和编码其的基因 (癌/睾丸基因或 CTG) 由其特征性表达模式而得以阐明 [Tureci et al., Mol Med Today. 3 :342-9,1997]。在除睾丸和生殖细胞外的正常组织中未发现它们,但它们在系列人类恶性肿瘤中表达,而且它们不具有肿瘤类型特异性,但在来源非常不同的肿瘤体中具有不同的频率 (Chen & Old, Cancer J. Sci. Am. 5 :16-7,1999)。在健康对照中也没有发现抗 CTA 的血清反应,而仅在肿瘤患者发现所述血清反应。特别是由于其组织分布,该类抗原对于免疫治疗方案具有特别的价值并已在目前的临床患者研究中进行检测 (Marchand et al., Int. J. Cancer 80 :219-30,1999 ;Knuth et al., Cancer Chemother. Pharmacol. 46 :S46-51,2000)。

[0003] 然而,用于鉴定抗原的上述经典方法使用来自通常已患有晚期癌的患者免疫效应物 (循环自身抗体或 CTL 克隆) 作为探针。一系列数据显示出:肿瘤能导致例如 T 细胞的耐受和无反应性,那些能导致有效免疫识别的特异性就在疾病病程期间从免疫效应物库中丢失。目前的患者研究尚未给出关于迄今发现和使用的肿瘤相关抗原的真实作用的任何可靠证据。因此,不能排除引起自体免疫应答的蛋白质是错误的靶结构。

[0004] 本发明的目的是提供用于癌症诊断和治疗的靶结构。

[0005] 根据本发明,该目的通过权利要求的主题内容而实现。

[0006] 根据本发明,实施用于鉴定和提供与肿瘤相关性表达的抗原和编码其的核酸的策略。该策略基于如下事实,即事实上通常在成体组织中沉默的睾丸和由此生殖细胞特异性基因在肿瘤细胞中以异位和禁止模式被再次活化。首先,数据挖掘 (Datamining) 给出与所有已知睾丸特异性基因的尽可能完整的列表,随后其可通过使用特异性 RT-PCR 的表达分析而评估其在肿瘤中的异常活化。数据挖掘是一种鉴定肿瘤相关基因的已知方法。然而,在传统策略中,通常从肿瘤组织文库中电子去除正常组织文库的转录子,其中假定剩余的基因是肿瘤特异性的 (Schmitt et al., Nucleic Acids Res. 27 :4251-60, 1999 ; Vasmataz et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 95 :300-4, 1998. Scheurle et al., Cancer Res. 60 : 4037-43, 2000)。

[0007] 然而,本发明的概念 (其已被证明更为成功) 是基于将数据挖掘用于电子提取全部睾丸特异性基因和然后评估所述基因在肿瘤中的异位表达。

[0008] 因此本发明一个方面涉及鉴定在肿瘤中差异表达的基因的策略。所述策略将公开序列文库的数据挖掘 (“in silico”) 与随后评估性实验室试验 (“wet bench”) 研究进行联合。

[0009] 根据本发明,基于两个不同生物信息学文本的联合策略能够鉴定癌 / 睾丸 (CT) 基因类型的新成员。这些迄今已经被分类为具有纯粹的睾丸特异性、生殖细胞特异性或精子特异性。这些基因在肿瘤细胞中被异常激活的发现使其被赋予了具有功能性含意的基本上新的特性。根据本发明,这些肿瘤相关基因及其和由其编码的基因产物不依赖免疫原性作用而被鉴定和提供。

[0010] 根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原含有由一种核酸编码的氨基酸序列,所述核酸选自 (a) 包括选自 SEQ ID NO :1-5、19-21、29、31-33、37、39、40、54-57、62、63、70、74、85-88、其部分或其衍生物的核酸序列的核酸, (b) 在严谨条件下与 (a) 的核酸杂交的核酸, (c) 关于 (a) 或 (b) 的核酸的简并核酸,和 (d) 与 (a)、(b) 或 (c) 的核酸互补的核酸。在一个优选的实施方案中,根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原含有由选自 SEQ ID NO :1-5、19-21、29、31-33、37、39、40、54-57、62、63、70、74、85-88 的核酸所编码的氨基酸序列。在另一优选的实施方案中,根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原包括选自 SEQ ID NO :6-13、14-18、22-24、30、34-36、38、41、58-61、64、65、71、75、80-84、89-100、其部分或其衍生物的氨基酸序列。

[0011] 本发明一般涉及将根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或其部分、其编码核酸或定向抗所述编码核酸的核酸或者定向抗根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或其部分的抗体用于治疗 and 诊断的用途。该用途可涉及这些抗原、功能性片段、核酸、抗体等中的单个以及多个的组合,在一个实施方案中,还联合其它用于诊断、治疗和过程控制的肿瘤相关基因和抗原。

[0012] 治疗和 / 或诊断所针对的优选疾病是其中选择性表达或异常表达一个或多个根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的疾病。

[0013] 本发明还涉及与肿瘤细胞相关性表达的并由已知基因的改变性剪接 (剪接变体) 或由使用选择性开放阅读框而改变的翻译来制备的核酸和基因产物。所述核酸包括根据序列表 (SEQ ID NO :2-5, 20, 21, 31-33, 54-57, 85-88) 的序列。而且,所述基因产物包括根据序列表 (SEQ ID NO :7-13, 23, 24, 34-36, 58-61, 89-100) 的序列。本发明的剪接变体可根据本发明用作肿瘤性疾病的诊断靶位和治疗靶位。

[0014] 可使用非常不同的机理制备剪接变体,例如

[0015] - 使用可变转录起始位点

[0016] - 使用附加外显子

[0017] - 完全或不完全剪切掉单个或多个外显子,

[0018] - 通过突变(缺失或新供体/受体序列的生成)改变的剪接调节序列,

[0019] - 内含子序列的不完全去除。

[0020] 基因的改变的剪接会导致改变的转录本序列(剪接变体)。剪接变体的改变的序列区的翻译会导致改变的蛋白质,该蛋白质在结构和功能上与原始蛋白质明显不同。肿瘤相关剪接变体可生成肿瘤相关转录本和肿瘤相关蛋白质/抗原。这些可用作检测肿瘤细胞和肿瘤治疗性靶向的分子标记物。肿瘤细胞的检测,例如在血液、血清、骨髓、唾液、支气管灌洗液、身体分泌物和活检组织中,可根据本发明例如在核酸提取后通过采用剪接变体特异性寡核苷酸的PCR扩增进行实施。根据本发明,所有序列依赖性检测系统均适用于检测。除PCR外,这些检测系统是例如基因芯片/微阵列系统,Northern印迹、RNase保护测定(RDA)等。所有检测系统的相同之处在于检测基于与至少一个剪接变体特异性核酸序列的特异性杂交。然而,还可根据本发明通过识别由所述剪接变体编码的特异性表位的抗体检测肿瘤细胞。所述抗体可通过用具有对所述剪接变体特异性的肽进行免疫来制备。表位与优选在健康细胞中形成的基因产物的变体明显不同的氨基酸特别适用于免疫。此处用抗体对肿瘤细胞的检测可在分离自患者的样品上或用静脉内施用的抗体进行成像而进行实施。除可用于诊断外,含有新或改变的表位的剪接变体是免疫治疗的令人感兴趣的靶位。本发明的表位可用于靶向治疗上有效的单克隆抗体或T淋巴细胞。在被动免疫治疗中,在此继承性地转移识别剪接变体特异性表位的抗体或T淋巴细胞。如在其它抗原的情况下,还可通过采用标准技术(动物免疫、用于分离重组抗体的淘洗策略)并使用包括这些表位的多肽来制备抗体。或者,可将编码包含所述表位的寡肽或多肽的核酸用于免疫。用于体外或体内产生表位特异性T淋巴细胞的多种技术是已知的并已经详细描述于例如(Kessler JH, et al. 2001, Sahin et al., 1997)中,并同样是基于使用包含剪接变体特异性表位的寡肽或多肽或者编码所述寡肽或多肽的核酸。包含剪接变体特异性表位的寡肽或多肽或者编码所述多肽的核酸还可用作活性免疫治疗(疫苗接种,疫苗治疗)中的药物有效物质。

[0021] 一方面,本发明涉及这样的药物组合物,其含有识别根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原并优选地对于表达或异常表达根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的细胞具有选择性的试剂。在特定实施方案中,所述试剂可诱导细胞死亡、降低细胞生长、破坏细胞膜或分泌细胞因子,并优选具有肿瘤-抑制活性。在一个实施方案中,所述试剂是选择性与编码肿瘤相关抗原的核酸杂交的反义核酸。在另一个实施方案中,所述试剂是与肿瘤相关抗原选择性结合的抗体,特别是与肿瘤相关抗原选择性结合的补体激活的抗体。在另一个实施方案中,所述试剂包括多个试剂,其中每一试剂选择性识别不同的肿瘤相关抗原,所述肿瘤相关抗原中至少一种是根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原。识别无须直接与抑制所述抗原的活性或表达相伴随。在本发明的该方面中,选择性限于肿瘤的抗原优选作为用于恢复该特异性位点上的效应机理的标记物。在一个优选的实施方案中,所述试剂是识别HLA的上述抗原并溶解用此方法标记的细胞的细胞毒性T淋巴细胞。在另一个实施方案中,所述试剂是与肿瘤相关抗原选择性结合并由此恢复对所述细胞的天然或人工效应机理的抗体。在另一个

实施方案中,所述试剂是能增强其它特异性识别所述抗原的细胞的效应物作用的 T 辅助淋巴细胞。

[0022] 一方面,本发明涉及包含能够抑制根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的表达或活性的试剂的药物组合物。在一个优选的实施方案中,所述试剂是与编码肿瘤相关抗原的核酸选择性杂交的反义核酸。在另一个实施方案中,所述试剂是与肿瘤相关抗原选择性结合的抗体。在另一个实施方案中,所述试剂包括多个试剂,其中每一试剂选择性抑制不同的肿瘤相关抗原,所述肿瘤相关抗原中至少一种是根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原。

[0023] 本发明还涉及含有这样的试剂的药物组合物,即所述试剂在使用时能选择性增加 HLA 分子和来自根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的肽表位间的复合物的量。在一个实施方案中,所述试剂包括一个或多个组分,该组分选自 (i) 肿瘤相关抗原或其部分, (ii) 编码所述肿瘤相关抗原或其部分的核酸, (iii) 表达所述肿瘤相关抗原或其部分的宿主细胞,和 (iv) 分离得到的来自所述肿瘤相关抗原的肽表位和 MHC 分子间的复合物。在一个实施方案中,所述试剂包括多个试剂,其中每一试剂选择性增加 MHC 分子和不同肿瘤相关抗原的肽表位间的复合物的量,这些肿瘤相关抗原中至少一种是根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原。

[0024] 本发明还涉及包括一个或多个组分的药物组合物,所述组分选自 (i) 根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或其部分, (ii) 编码根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或其部分的核酸, (iii) 与根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或其部分结合的抗体, (iv) 与编码根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的核酸特异性杂交的反义核酸, (v) 表达根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或其部分的宿主细胞,和 (vi) 分离得到的根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或其部分与 HLA 分子间的复合物。

[0025] 编码根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或其部分的核酸在药物组合物中可存在表达载体中并功能性地连于启动子。

[0026] 存在于本发明的药物组合物中的宿主细胞可分泌肿瘤相关抗原或其部分,在表面表达肿瘤相关抗原,或其部分或者还可表达与所述肿瘤相关抗原或其部分结合的 HLA 分子。在一个实施方案中,宿主细胞内源性表达 HLA 分子。在另一个实施方案中,宿主细胞以重组方式表达 HLA 分子和 / 或肿瘤相关抗原或其部分。所述宿主细胞优选是非增殖性的。在一个优选的实施方案中,宿主细胞是抗原递呈细胞,特别是树突细胞、单核细胞或巨噬细胞。

[0027] 存在于本发明的药物组合物中的抗体可以是单克隆抗体。在其它实施方案中,抗体是嵌合抗体或人源化抗体,天然抗体的片段或合成抗体,其均可由组合技术制备。所述抗体可与治疗上或诊断上有效的试剂偶联。

[0028] 存在于本发明的药物组合物中的反义核酸可含有 6-50、特别是 10-30、15-30 和 20-30 个连续核苷酸的序列,这些核苷酸来自编码根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的核酸

[0029] 在其它实施方案中,由本发明的药物组合物或直接提供或经由核酸表达提供的肿瘤相关抗原或其部分与细胞表面上的 MHC 分子结合,所述结合优选地导致细胞溶解反应和 / 或诱导细胞因子释放。

[0030] 本发明的药物组合物可包括药物学上可接受的载体和 / 或佐剂。佐剂可选自皂甙、GM-CSF、CpG 核苷酸、RNA、细胞因子或趋化因子。本发明的药物组合物优选用于治疗特征是选择性表达或异常表达肿瘤相关抗原的疾病。在一个优选的实施方案中,所述疾病是

癌症。

[0031] 本发明还涉及治疗或诊断疾病的方法,所述疾病的特征在于表达或异常表达一个或多个肿瘤相关抗原。在一个实施方案中,所述治疗包括施用本发明的药物组合物。

[0032] 一方面,本发明涉及诊断特征是表达或异常表达根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的疾病的方法。该方法包括 (i) 检测编码肿瘤相关抗原的核酸或其部分,和 / 或 (ii) 检测所述肿瘤相关抗原或其部分,和 / 或 (iii) 检测针对肿瘤相关抗原或其部分的抗体,和 / 或 (iv) 在分离自患者的生物样品中检测具有对所述肿瘤相关抗原或其部分的特异性的细胞毒性 T 淋巴细胞或辅助 T 淋巴细胞。在特定实施方案中,检测包括 (i) 将生物样品与试剂接触,所述试剂特异性地与所述编码肿瘤相关抗原的核酸或其部分、与肿瘤相关抗原或其部分、与抗体或者与具有对所述肿瘤相关抗原或其部分特异性的细胞毒性 T 淋巴细胞或辅助 T 淋巴细胞结合,和 (ii) 检测所述试剂和所述核酸或其部分、所述肿瘤相关抗原或其部分、所述抗体或者所述细胞毒性 T 淋巴细胞或辅助 T 淋巴细胞间的复合物的形成。在一个实施方案中,所述疾病的特征在于表达或异常表达多个不同的肿瘤相关抗原,且检测包括检测多个编码所述多个不同的肿瘤相关抗原或其部分的核酸,检测多个不同的肿瘤相关抗原或其部分,检测多个与所述多个不同的肿瘤相关抗原或其部分结合的抗体,或者检测多个具有对所述多个不同肿瘤相关抗原特异性的细胞毒性 T 淋巴细胞或辅助 T 淋巴细胞。在另一个实施方案中,将分离自患者的生物样品与可比较的正常生物样品进行比较。

[0033] 另一方面,本发明涉及一种确定特征是表达或异常表达根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的疾病的消退、进行或发病的方法,所述方法包括监测来自患有所述疾病或疑为患有所述疾病的患者的样品中选自下列的一个或多个参数:(i) 编码肿瘤相关抗原的核酸或其部分的量,(ii) 肿瘤相关抗原或其部分的量,(iii) 与肿瘤相关抗原或其部分结合的抗体的量,和 (iv) 具有对所述肿瘤相关抗原或其部分和 MHC 分子间复合物特异性的细胞毒性 T 细胞或辅助 T 细胞的量。所述方法优选地包括在第一个样品中于第一时间点和在另一样品中于第二时间点测定所述参数,其中通过比较所述两个样品确定疾病的进程。在特定实施方案中,所述疾病的特征在于表达或异常表达多个不同的肿瘤相关抗原且监测包括监测 (i) 编码所述多个不同肿瘤相关抗原的多个核酸或其部分的量,和 / 或 (ii) 所述多个不同肿瘤相关抗原或其部分的量,和 / 或 (iii) 多个与所述多个不同肿瘤相关抗原或其部分结合的抗体的量,和 / 或 (iv) 多个具有对所述多个不同的肿瘤相关抗原或其部分和 MHC 分子间的复合物特异性的细胞毒性 T 细胞或辅助 T 细胞的量。

[0034] 根据本发明,检测核酸或其部分或者监测核酸或其部分的量可使用与所述核酸或其所述部分特异性杂交的多核苷酸探针来实施,或者通过选择性扩增所述核酸或其所述部分来实施。在一个实施方案中,所述多核苷酸探针含有来自所述核酸的 6-50 特别是 10-30、15-30 和 20-30 个连续核苷酸的序列。

[0035] 在特定实施方案中,要检测的所述肿瘤相关抗原或其部分存在于细胞内或存在于细胞表面上。根据本发明,可以使用与所述肿瘤相关抗原或其部分特异性结合的抗体实施检测肿瘤相关抗原或其部分或者监测肿瘤相关抗原或其部分的量。

[0036] 在其它实施方案中,要检测的所述肿瘤相关抗原或其部分存在于与 MHC 分子特别是 HLA 分子的复合物中。

[0037] 根据本发明,可以使用与所述抗体特异性结合的蛋白质或肽实施检测抗体或监测

抗体的量。

[0038] 根据本发明,细胞毒性 T 细胞或辅助 T 细胞的检测或监测具有对抗原或其部分和 MHC 分子间复合物特异性的细胞毒性 T 细胞或辅助 T 细胞的量可使用呈递所述抗原或其部分和 MHC 分子间复合物的细胞来实施。

[0039] 用于检测或监测的多核苷酸探针、抗体、蛋白质或肽或者细胞优选可检测的方式进行标记。在特定实施方案中,可检测的标记物为放射性标记物或酶标记物。T 淋巴细胞还可以通过检测其增殖、其细胞因子生成和其由 MHC 和肿瘤相关抗原或其部分的复合物的特异性刺激所触发的细胞毒性活性而进行检测。T 淋巴细胞的检测还可以通过重组 MHC 分子或多个 MHC 分子的复合物来进行,这些 MHC 分子加载了来自一个或多个肿瘤相关抗原的各个免疫原性片段,并通过与特异性 T 细胞受体的接触而鉴定特异性 T 淋巴细胞。

[0040] 另一方面,本发明涉及治疗、诊断或监测疾病的方法,所述疾病的特征是表达或异常表达根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原,所述方法包括施用与所述肿瘤相关抗原或其部分结合并与治疗剂或诊断剂偶联的抗体。所述抗体可以是单克隆抗体。在其它实施方案中,所述抗体是嵌合抗体或人源化抗体或天然抗体的片段。

[0041] 本发明还涉及治疗患有特征是表达或异常表达根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的疾病的患者的方法,所述方法包括 (i) 从所述患者中分离含有免疫反应细胞的样品, (ii) 在适于生成抗所述肿瘤相关抗原或其部分的细胞毒性 T 细胞条件下将所述样品与表达所述肿瘤相关抗原或其部分的宿主细胞接触,和 (iii) 将细胞毒性 T 细胞以适于溶解表达肿瘤相关抗原或其部分的细胞的量导入患者。本发明同样涉及克隆抗所述肿瘤相关抗原的细胞毒性 T 细胞的 T 细胞受体。所述受体可转移至其它 T 细胞,该 T 细胞由此获得所需特异性,并如可在 (iii) 时导入患者。

[0042] 在一个实施方案中,所述宿主细胞内源性表达 HLA 分子。在另一个实施方案中,所述宿主细胞重组性表达 HLA 分子和 / 或所述肿瘤相关抗原或其部分。所述宿主细胞优选具有非增殖性。在一个优选的实施方案中,宿主细胞是抗原递呈细胞,特别是树突细胞、单核细胞或巨噬细胞。

[0043] 另一方面,本发明涉及治疗患有特征是表达或异常表达肿瘤相关抗原的疾病的患者的方法,所述方法包括 (i) 鉴定编码根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原且由与所述疾病相关的细胞表达的核酸, (ii) 用所述核酸或其部分转染宿主细胞, (iii) 培养转染的宿主细胞从而表达所述核酸 (其在获得高转染率时为非必须的), 和 (iv) 将所述宿主细胞或其提取物以适于提高对与所述疾病相关的患者细胞的免疫反应的量导入所述患者。该方法还包括鉴定呈递所述肿瘤相关抗原或其部分的 MHC 分子,此处所述宿主细胞表达经鉴定的 MHC 分子并呈递所述肿瘤相关抗原或其部分。所述免疫反应可包括 B 细胞反应或 T 细胞反应。而且, T 细胞反应可包括生成具有与呈递肿瘤相关抗原或其部分的所述宿主细胞或表达所述肿瘤相关抗原或其部分的患者细胞的特异性的细胞毒性 T 细胞和 / 或辅助 T 细胞。

[0044] 本发明还涉及治疗特征是表达或异常表达根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的疾病的患者的方法,所述方法包括 (i) 鉴定来自表达异常量肿瘤相关抗原的患者的细胞, (ii) 分离所述细胞的样品, (iii) 培养所述细胞,和 (iv) 将所述细胞以适于引发对所述细胞的免疫反应的量导入患者。

[0045] 优选地,根据本发明所使用的宿主细胞具有非增殖性或被赋予非增殖性。特征是

表达或异常表达肿瘤相关抗原的疾病特别是癌症。

[0046] 本发明还涉及一种核酸,所述核酸选自 (a) 包括选自 SEQ ID NO :2-5、20-21、31-33、39、54-57、62、63、85-88、其部分或其衍生物的核酸序列的核酸, (b) 在严谨条件下与 (a) 的核酸杂交的核酸, (c) (a) 或 (b) 的核酸的简并核酸,和 (d) 与 (a)、(b) 或 (c) 的核酸互补的核酸。本发明还涉及一种核酸,所述核酸编码包括选自 SEQID NO :7-13、14-18、23-24、34-36、58-61、64、65、89-100、其部分或其衍生物的氨基酸序列的蛋白质或多肽。

[0047] 另一方面,本发明涉及本发明的核酸的启动子序列。这些序列可优选在表达载体中功能性地连接于另外的基因,由此确保在适宜细胞中选择性表达所述基因。

[0048] 另一方面,本发明涉及包括本发明的核酸的重组核酸分子,特别是 DNA 或 RNA 分子。

[0049] 本发明还涉及含有本发明的核酸或包括本发明的核酸的重组核酸分子的宿主细胞。

[0050] 所述宿主细胞还可以含有编码 HLA 分子的核酸。在一个实施方案中,所述宿主细胞内源性表达 HLA 分子。在另一个实施方案中,所述宿主细胞重组表达 HLA 分子和 / 或本发明的核酸或其部分。优选地,所述宿主细胞具有非增殖性。在一个优选的实施方案中,所述宿主细胞是抗原递呈细胞,特别是树突细胞、单核细胞或巨噬细胞。

[0051] 在另一个实施方案中,本发明涉及寡核苷酸,该寡核苷酸与根据本发明鉴定的核酸杂交,并可用作基因探针或作为“反义”分子。以寡核苷酸引物或感受态样品形式存在的核酸分子与根据本发明鉴定的核酸或其部分杂交,其可用于测定与所述根据本发明鉴定的核酸同源的核酸。PCR 扩增、Southern 和 Northern 杂交可用于测定同源核酸。杂交可在低严谨条件、更优选地在严谨条件和最优选地在高严谨条件下实施。根据本发明,术语“严谨条件”是指能够允许多核苷酸间特异性杂交的条件。

[0052] 另一方面,本发明涉及由核酸编码的蛋白质或多肽,所述核酸选自 (a) 包括选自 SEQ ID NO :2-5、20-21、31-33、39、54-57、62、63、85-88、其部分或其衍生物的核酸序列的核酸, (b) 在严谨条件下与 (a) 的核酸杂交的核酸, (c) (a) 或 (b) 的核酸的简并核酸,和 (d) 与 (a)、(b) 或 (c) 的核酸互补的核酸。在一个优选的实施方案中,本发明涉及包括选自 SEQ ID NO :7-13、14-18、23-24、34-36、58-61、64、65、89-100、其部分或其衍生物的氨基酸序列的蛋白质或多肽。

[0053] 另一方面,本发明涉及根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的免疫原性片段。所述片段优选与人 HLA 受体或与人抗体结合。本发明的片段优选包括至少 6 特别是至少 8、至少 10、至少 12、至少 15、至少 20、至少 30 或至少 50 个氨基酸的序列。

[0054] 另一方面,本发明涉及与根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或其部分结合的试剂。在一个优选的实施方案中,所述试剂是抗体。在其它实施方案中,所述抗体是嵌合抗体、人源化抗体或用组合技术制备的抗体或抗体片段。而且,本发明涉及与 (i) 根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或其部分和 (ii) 结合根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或其部分的 MHC 分子所组成的复合物选择性结合的抗体,所述抗体不单独与 (i) 或 (ii) 结合。本发明的抗体可以是单克隆抗体。在其它实施方案中,所述抗体是嵌合抗体或人源化抗体或天然抗体的片段。

[0055] 本发明还涉及一种与根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原或者其部分结合的本发明

的试剂或者本发明的抗体和治疗剂或诊断剂之间的偶联物。在一个实施方案中,所述治疗剂或诊断剂是毒素。

[0056] 另一方面,本发明涉及检测根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的表达或异常表达的试剂盒,所述试剂盒包括用于检测 (i) 编码肿瘤相关抗原的核酸或其部分, (ii) 肿瘤相关抗原或其部分, (iii) 与肿瘤相关抗原或其部分结合的抗体,和 / 或 (iv) 具有对肿瘤相关抗原或其部分和 MHC 分子间复合物特异性的 T 细胞的试剂。在一个实施方案中,用于检测所述核酸或其部分的所述试剂是用于选择性扩增所述核酸的核酸分子,其包括,特别是所述核酸的 6-50 特别是 10-30、15-30 和 20-30 个连续核苷酸的序列。

[0057] 发明详述

[0058] 根据本发明描述了这样的基因,即其在肿瘤细胞中选择性或异常表达且为肿瘤相关抗原。

[0059] 根据本发明,这些基因或其衍生物优选是用于治疗方法的靶结构。在概念上,所述治疗方法的目的在于抑制选择性表达的肿瘤相关基因产物的活性。如果所述异常的各选择性表达在功能上对于肿瘤发病机理具有重要性以及如果其抑制与相应细胞的选择性损伤相伴随,则其是有用的。其它治疗思想将肿瘤相关抗原作为能恢复具有对肿瘤细胞潜在选择性细胞损伤的效应机理的标记。此处,所述靶分子自身的功能与其在肿瘤形成中的作用是完全无关的。

[0060] 核酸的“衍生物”根据本发明是指在所述核酸中存在单个或多个核苷酸置换、缺失和 / 或添加。而且,术语“衍生物”还包括在核苷酸碱基、在糖上或在磷酸上的核酸化学衍生化。术语“衍生物”还包括含有非天然存在的核苷酸和核苷酸类似物的核酸。

[0061] 根据本发明,核酸优选是脱氧核糖核酸 (DNA) 或核糖核酸 (RNA)。根据本发明的核酸包括基因组 DNA、cDNA、mRNA、重组制备的和化学合成的分子。根据本发明,核酸可以单链或双链和线性或共价环状闭合分子存在。

[0062] 根据本发明所述的核酸优选是已被分离的。根据本发明的术语“分离的核酸”是指核酸是 (i) 体外扩增的,例如通过多聚酶链式反应 (PCR), (ii) 通过克隆重组制备的, (iii) 纯化的,例如通过剪切和凝胶电泳分离,或 (iv) 合成的,例如通过化学合成。分离的核酸是随时可用于重组 DNA 技术操作的核酸。

[0063] 如果两个序列能够彼此杂交并形成稳定双链体,那么这一种核酸与另一核酸互补的,杂交优选在适于多核苷酸间的特异性杂交的条件 (严谨条件) 下进行。严谨条件描述于,例如, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, J. Sambrook et al., Editors, 2nd Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1989, 或 *Current Protocols in Molecular Biology*, F. M. Ausubel et al., Editors, John Wiley & Sons, Inc., New York, 严谨条件是指,例如, 65°C 下在杂交缓冲液 (3.5×SSC, 0.02% Ficoll, 0.02% 聚乙烯吡咯烷酮, 0.02% 牛血清白蛋白, 2.5mM NaH₂PO₄ (pH 7), 0.5% SDS, 2mM EDTA) 中杂交。SSC 是 0.15M 氯化钠 / 0.15M 柠檬酸钠, pH 7。杂交后,将已经转移了 DNA 的膜在例如 2×SSC 中于室温,然后在 0.1-0.5×SSC/0.1×SDS 于直至 68°C 的温度下漂洗。

[0064] 根据本发明,互补核酸含有至少 40% 特别是至少 50%、至少 60%、至少 70%、至少 80%、至少 90% 和优选至少 95%、至少 98 或至少 99% 的核苷酸同一性。

[0065] 根据本发明,编码肿瘤相关抗原的核酸可单独或与其它核酸特别是异源核酸联合存在。在优选的实施方案中,核酸功能性地连接于与所述核酸同源或异源的表达控制序列或调节序列。如果编码序列和调节序列彼此共价连接,从而编码序列的表达和转录处于调节序列的控制或影响之下,那么称它们为“功能性地”彼此连接。如果所述编码序列将被翻译为功能蛋白质,则在调节序列和编码序列的功能性连接时所述调节序列的诱导导致所述编码序列的转录,而不会导致编码序列中的移码或编码序列不能翻译成蛋白质或肽。

[0066] 根据本发明术语“表达控制序列”或“调节序列”包括启动子、增强子和其它能够调节基因表达的控制元件。在本发明特定实施方案中,该表达控制序列可被调节。调节序列的准确结构可由于物种或细胞类型不同而变化,但一般包括在转录和翻译的起始中涉及的5'非转录和5'非翻译序列,如TATA区、加帽序列、CAAT序列等。特别地,5'非转录调节序列包括含有用于功能性连接基因的转录控制的启动子序列的启动子区。调节序列还可以包括增强子序列或上游激活子序列。

[0067] 因此,在一方面,本说明书所述肿瘤相关抗原可与任何表达控制序列和启动子联合。然而在其它方面,根据本发明,本说明书所述肿瘤相关基因产物的启动子可与其它基因联合。这使得这些启动子的选择活性将得以使用。

[0068] 根据本发明,核酸还可以存在于与另一核酸的组合中,所述另一核酸编码能控制从宿主细胞中分泌所述核酸所编码的蛋白质或多肽的多肽。根据本发明,核酸还可以存在于与另一核酸的组合中,所述另一核酸编码能使所编码的蛋白质或多肽锚定于宿主细胞的细胞膜上或区室化至所述细胞的特定细胞器中的多肽。

[0069] 在一个优选的实施方案中,根据本发明,重组DNA分子是载体,并视情况使用启动子,所述启动子能控制核酸例如编码本发明的肿瘤相关抗原的核酸的表达。此处使用的术语“载体”具有其一般的含义,其包括任何用于核酸而能将所述核酸例如导入原核和/或真核细胞并视情况整合入基因组中的媒介载体。该类载体优选在所述细胞中复制和/或表达。媒介载体可适于用在,例如电穿孔、微粒轰击、脂质体施用、农杆菌辅助的转化或通过DNA或RNA病毒的插入。载体包括质粒、噬菌粒或病毒基因组。

[0070] 编码根据本发明鉴定的肿瘤相关抗原的核酸可用于宿主细胞的转染。此处核酸是指重组DNA和RNA。可通过DNA模板的体外转录制备重组RNA。而且,其可通过在使用前稳定化序列、加帽和多腺苷酸化而得以修饰的。根据本发明,术语“宿主细胞”涉及可用外源核酸转化或转染的任何细胞。根据本发明,术语“宿主细胞”包括原核细胞(例如大肠杆菌)或真核细胞(例如树突细胞、B细胞、CHO细胞、COS细胞、K562细胞、酵母细胞和昆虫细胞)。哺乳动物细胞如来自人、小鼠、仓鼠、猪、山羊、灵长类的细胞是特别优选的。细胞可来自多样的组织类型和包括原代细胞和细胞系。具体实例包括角质化细胞、外周血白细胞、骨髓的干细胞和胚胎干细胞。在其它实施方案中,宿主细胞是抗原递呈细胞,特别是树突细胞、单核细胞或巨噬细胞。核酸可以以单拷贝或多拷贝的形式存在于宿主细胞,而在一个实施方案中,在宿主细胞中表达。

[0071] 根据本发明,术语“表达”以其最一般的意义使用,并包括RNA的生成或RNA和蛋白质的生成。其还包括核酸的部分表达。而且,表达可以是瞬时或稳定实施的。哺乳动物细胞中优选的表达系统包括pcDNA3.1和pRc/CMV(Invitrogen, Carlsbad, CA),其包含选择性标记物如给予G418抗性的基因(由此能够选择稳定转染的细胞系)和巨细胞病毒(CMV)

的增强子-启动子序列。

[0072] 在本发明的 HLA 分子呈递肿瘤相关抗原或其部分的情况中,表达载体还可包括编码所述 HLA 分子的核酸序列。编码 HLA 分子的核酸序列可与编码肿瘤相关抗原或其部分的核酸存在于同一载体上,或者两个核酸可存在于不同的表达载体上。在后面的情况中,可将该两个表达载体共转染至细胞中。如果宿主细胞既不表达肿瘤相关抗原或其部分也不表达 HLA 分子,则将编码其的两个核酸转染至细胞中的相同表达载体或者不同表达载体上。如果所述细胞已经表达 HLA 分子,则可仅将编码肿瘤相关抗原或其部分的核酸序列转染至细胞中。

[0073] 本发明还包括扩增编码肿瘤相关抗原的核酸的试剂盒。所述试剂盒包括,例如,与编码肿瘤相关抗原的核酸杂交的一对扩增引物。该引物优选包括所述核酸的 6-50 特别是 10-30,15-30 和 20-30 个连续核苷酸的序列,且是非重叠的,这是为了避免形成引物二聚体。引物之一将与编码肿瘤相关抗原的核酸的一条链杂交,而另一引物将以能够扩增编码肿瘤相关抗原的核酸的排列方式与互补链杂交。

[0074] “反义”分子或“反义”核酸可用于调节特别是降低核酸的表达。术语“反义分子”或“反义核酸”根据本发明是指寡核苷酸,所述寡核苷酸是寡核糖核苷酸、寡脱氧核糖核苷酸、修饰的寡核糖核苷酸或修饰的寡脱氧核糖核苷酸,并且其在生理条件下与包括特定基因的 DNA 或与所述基因的 mRNA 杂交,从而抑制所述基因的转录和/或所述 mRNA 的翻译。根据本发明,“反义分子”还包括含有与其天然启动子反向的核酸或其部分的构建体。核酸或其部分的反义转录本可与天然存在的描述酶的 mRNA 形成双链体并由此阻止 mRNA 的累积或 mRNA 翻译为有活性的酶。另一个可能性是使用核酶从而灭活核酸。反义寡核苷酸根据本发明优选含有靶核酸的 6-50 特别是 10-30、15-30 和 20-30 个连续核苷酸的序列,并优选与靶核酸或其部分完全互补。

[0075] 在优选的实施方案中,反义寡核苷酸与 N-末端或 5'上游位点如翻译起始位点、转录起始位点或启动位点杂交。在其它实施方案中,反义寡核苷酸与 3'端非翻译区或 mRNA 剪接位点杂交。

[0076] 在一个实施方案中,本发明的寡核苷酸由核糖核苷酸、脱氧核糖核苷酸或其组合构成。其中一个核苷酸的 5'末端和另一核苷酸的 3'末端通过磷酸二酯键彼此连接。这些寡核苷酸可以用常规方法合成或经重组制备。

[0077] 在优选的实施方案中,本发明的寡核苷酸是“修饰的”寡核苷酸。此处,为了增加例如其稳定性或治疗效果,寡核苷酸可用不减弱其结合靶位能力的非常不同的方式和方法进行修饰。根据本发明,术语“修饰的寡核苷酸”是指其中 (i) 其至少两个核苷酸通过合成的核苷内键(即非磷酸二酯键的核苷内键)彼此连接和/或 (ii) 通常不存在于核酸中的化学基团与所述寡核苷酸共价相连的寡核苷酸。优选的合成的核苷内键是硫代磷酸酯、烷基磷酸酯、二硫代磷酸酯、磷酸酯、烷基硫代磷酸酯、氨基磷酸酯、氨基甲酸酯、碳酸酯、磷酸三酯、乙酰胺 (Acetamidate)、羧甲基酯和肽。

[0078] 术语“修饰的寡核苷酸”还包括含有共价修饰的碱基和/或糖的寡核苷酸。“修饰的寡核苷酸”包括,例如含有与除 3'位羟基和 5'位磷酸基外的低分子量有机基团共价结合的糖残基的寡核苷酸。修饰的寡核苷酸可包括,例如 2'-O-烷基化核糖残基或替代核糖的其它糖,如阿拉伯糖。

[0079] 优选地,分离根据本发明所述的蛋白质和多肽。术语“分离的蛋白质”或“分离的多肽”是指分离自其天然环境的蛋白质或多肽的。分离的蛋白质或多肽可处于基本上纯化的状态。术语“基本上纯化的”是指蛋白质或多肽基本上不含在天然或体内与其伴随的其它物质。

[0080] 所述蛋白质和多肽例如可用于抗体制备,和在免疫学实验或诊断实验中使用,或者可用作治疗剂。根据本发明所述的蛋白质和多肽可分离自生物样品如组织或细胞匀浆,并还可在多样的原核或真核表达系统中重组表达。

[0081] 按照本发明的意思,蛋白质或多肽或者氨基酸序列的“衍生物”包括氨基酸插入变体、氨基酸缺失变体和 / 或氨基酸替换变体。

[0082] 氨基酸插入变体包括氨基末端和 / 或羧基末端融合和在特定氨基酸序列中单个或多个氨基酸的插入。在氨基酸序列变体含有插入的情况下,一个或多个氨基酸残基被插入至氨基酸序列的特定位点,虽然具有对所得产物进行适宜筛选的随机插入也是可行的。氨基酸缺失变体的特征在于从序列中除去一个或多个氨基酸。氨基酸替换变体的特征在于在序列中除去至少一个残基并在其位置插入另一残基。修饰优选位于同源蛋白质或多肽间非保守的氨基酸序列中的位置上。优选其他具有相似特性如疏水性、亲水性、负电性、支链量等的氨基酸来替代氨基酸(保守性替换)。保守性替换,例如涉及一个氨基酸与下列和欲替换的氨基酸分为一组的另一氨基酸互换:

[0083] 1. 小脂肪族、非极性或非极性残基 :Ala, Ser, Thr (Pro, Gly)

[0084] 2. 带负电的残基及其酰胺 :Asn, Asp, Glu, Gln

[0085] 3. 带正电的残基 :His, Arg, Lys

[0086] 4. 大脂肪族、非极性残基 :Met, Leu, Ile, Val (Cys)

[0087] 5. 大芳香族残基 :Phe, Tyr, Trp。

[0088] 上面将三个残基用括号标出,这是由于它们在蛋白质构造中的特殊作用。Gly 是唯一没有支链的残基,因此其可以赋予链以弹性。Pro 具有特殊的几何学结构,其能很强地约束链。Cys 可形成二硫键。

[0089] 上述氨基酸变体可通过已知的肽合成技术例如通过“固相合成”(Merrifield, 1964) 和相似方法或者通过重组 DNA 操作法而很容易地制备。将替换突变导入含有已知或部分已知序列的 DNA 的预定位点中的技术是众所周知的,例如包括 M13 诱变。用于制备含有替换、插入或缺失的蛋白质的 DNA 序列操作已经详细描述于例如 Sambrook et al. (1989)。

[0090] 根据本发明,蛋白质或多肽的“衍生物”还包括与酶相关的任何分子,如糖、脂质和 / 或蛋白质或多肽的单个或多个替换、缺失和 / 或添加。术语“衍生物”还延伸至所述蛋白质或多肽的全部功能性化学等价物。

[0091] 根据本发明,肿瘤相关抗原的部分或片段具有来源多肽的功能特性。所述功能特性包括与抗体相互作用、与其它多肽或蛋白质相互作用、选择性结合核酸和酶活性。一个重要的特性是与 HLA 形成复合物并视情况产生免疫应答的能力。该免疫应答可基于刺激细胞毒性 T 细胞或辅助 T 细胞。本发明的肿瘤相关抗原的部分或片段优选包括所述肿瘤相关抗原的至少 6 特别是至少 8、至少 10、至少 12、至少 15、至少 20、至少 30 或至少 50 个连续氨基酸的序列。

[0092] 编码肿瘤相关抗原的核酸的部分或片段根据本发明涉及至少编码肿瘤相关抗原

和 / 或编码所述肿瘤相关抗原的部分或片段 (如上述) 的核酸的部分。

[0093] 编码肿瘤相关抗原的基因的分离和鉴定还能诊断特征是表达一个或多个肿瘤相关抗原的疾病。这些方法包括测定一个或多个编码肿瘤相关抗原的核酸, 和 / 或测定所编码的肿瘤相关抗原和 / 或来源于其的肽。所述核酸可采用包括通过多聚酶链式反应或与标记探针杂交的常规方法进行测定。肿瘤相关抗原或来源于其的肽可通过筛选与识别与所述抗原和 / 或所述肽有关的患者抗血清进行测定。其还可以通过筛选具有相应肿瘤相关抗原特异性的患者 T 细胞进行测定。

[0094] 本发明还能使与本文所描述的肿瘤相关抗原结合的蛋白质得以分离, 所述蛋白质包括所述肿瘤相关抗原的抗体和细胞结合配偶体。

[0095] 根据本发明, 特定实施方案包括提供源自肿瘤相关抗原的“显型失活”多肽。显型失活多肽是无活性的蛋白质变体, 其通过与细胞器相互作用而抑制活性蛋白质与细胞器的相互作用中的活性蛋白质或与活性蛋白质竞争, 由此降低所述活性蛋白质的作用。例如, 与配体结合但不能产生任何对于配体结合响应的信号的显型失活受体能降低所述配体的生物学效应。同样地, 通常与靶蛋白质相互作用但不会磷酸化靶蛋白质的显型失活的无催化活性激酶能降低作为对细胞信号响应的所述靶蛋白质的磷酸化作用。同样地, 与基因控制区中启动子位点结合但不增加所述基因转录的显型失活转录因子可通过占据了启动子结合位点而不增加转录从而降低正常转录因子的作用。

[0096] 显型失活多肽在细胞中表达的结果会导致活性蛋白质功能降低。本领域技术人员可通过例如传统诱变方法制备蛋白质显型失活变体并评估该变体多肽的显型失活效应。

[0097] 本发明还包括例如与肿瘤相关抗原结合的多肽的物质。所述结合物质可用于例如检测肿瘤相关抗原和肿瘤相关抗原与其结合配偶体的复合物的筛选实验以及所述肿瘤相关抗原以及纯化其与其结合配偶体的复合物。所述结合物还可用于抑制肿瘤相关抗原的活性, 例如通过结合该抗原。

[0098] 因此, 本发明包括结合物质, 例如能选择性结合肿瘤相关抗原的抗体或抗体片段。抗体包括用常规方法制备的多克隆抗体和单克隆抗体。

[0099] 已知, 仅抗体分子的小部分 (互补位) 参与该抗体与其表位的结合 (参照 Clark, W.R. (1986), The Experimental Foundations of Modern Immunology, Wiley & Sons, Inc., New York; Roitt, I. (1991), Essential Immunology, 7th Edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford)。pFc' 和 Fc 区是例如补体级联反应的效应子但并不参与抗原结合。pFc' 区被酶解去除的或者以无 pFc' 区制备的抗体称为 F(ab')₂ 片段, 其带有完整抗体的两个抗原结合位点。同样地, 其 Fc 区被酶解去除的或者以无 Fc 区制备的抗体称为 Fab 片段, 其含有完整抗体分子的一个抗原结合位点。此外, 包括抗体的共价结合的轻链和抗体的重链部分的 Fab 片段称为 Fd。Fd 片段是抗体特异性的主要决定簇 (单 Fd 片段可与直至十个不同的轻链相关, 而不改变抗体的特异性), 且当分离时, Fd 片段保留了结合表位的能力。

[0100] 直接与抗原表位相互作用的, 互补性决定区 (CDR) 和保持互补位三级结构的框架区 (FR) 位于抗体的抗原结合部中。重链的 Fd 片段和 IgG 免疫球蛋白的轻链都包含各由三个互补性决定区 (CDR1 ~ CDR3) 隔开的四个框架区 (FR1 ~ FR4)。CDR, 特别是 CDR3 区更特别是重链的 CDR3 区绝大多数是造成抗体特异性的原因。

[0101] 已知哺乳动物抗体的非 CDR 区可被具有相同或其他特异性的抗体的相似区所替换,同时保留对原始抗体的表位的特异性。这使得可能形成所谓的“人源化”抗体,在该抗体中非人 CDR 与人 FR 和 / 或 Fc/pFc' 区共价连接以制备功能性抗体。

[0102] 例如,WO 92/04381 中公开了人源化鼠 RSV 抗体的制备和用途,所述抗体中至少部分鼠 FR 区被人源的 FR 区替换。该类抗体包括具有抗原结合能力的完整抗体的片段抗体,其通常称为“嵌合”抗体。

[0103] 本发明还提供了抗体的 F(ab')₂、Fab、Fv 和 Fd 片段,其中 Fc 和 / 或 FR 和 / 或 CDR1 和 / 或 CDR2 和 / 或轻链 -CDR3 区已被同源人或非人序列替换的嵌合抗体,其中 FR 和 / 或 CDR1 和 / 或 CDR2 和 / 或轻链 -CDR3 区已被同源人或非人序列替换的嵌合 F(ab')₂ 片段抗体,其中 FR 和 / 或 CDR1 和 / 或 CDR2 和 / 或轻链 -CDR3 区已被同源人或非人序列替换的嵌合 Fab 片段抗体,和其中 FR 和 / 或 CDR1 和 / 或 CDR2 区已被同源人或非人序列替换的嵌合 Fd 片段抗体。本发明还包括所谓的“单链”抗体。

[0104] 本发明还包括与肿瘤相关抗原特异性结合的多肽。例如通过以固定形式在溶液中简单制备的或作为噬菌体展示文库制备的简并的肽文库可提供这样的多肽结合物质。同样能够用一个或多个氨基酸制备肽组合文库。还可以制备肽和非肽性合成残基的文库。

[0105] 噬菌体展示在鉴定本发明的结合肽中是特别有效的。就此而论,例如,制备呈递长度为 4 ~ 约 80 个氨基酸残基的插入序列的噬菌体文库(例如采用 M13、fd 或 lambda 噬菌体)。然后选择带有与肿瘤相关抗原结合的插入序列的噬菌体。该方法可通过再选择与肿瘤相关抗原结合的噬菌体的多个循环而进行重复。重复操作导致带有特定序列的噬菌体的浓缩。可实施 DNA 序列分析以便鉴定所表达的多肽的序列。与肿瘤相关抗原结合的序列的最小线性部分可被确定。酵母“双杂交系统”也可用于鉴定结合肿瘤相关抗原的多肽。根据本发明所述的肿瘤相关抗原或其片段可用于筛选肽文库,包括噬菌体呈现文库,以鉴定和选择肿瘤相关抗原的肽结合配偶体。这样的分子例如可用于筛选实验、纯化方法,用于干扰肿瘤相关抗原的功能以及用于其它本领域技术人员已知的目的。

[0106] 上述抗体和其它结合分子可用于,例如,鉴定表达肿瘤相关抗原的组织。抗体还可以与特异性诊断物偶连以便显示表达肿瘤相关抗原的细胞和组织。其还可以与治疗上有效的物质偶连。诊断剂非限制性地包括硫酸钡、碘西他酸、碘番酸、碘泊酸钙、泛影酸钠、泛影酸葡甲胺、甲泛葡胺、丁碘苄丁酸钠,和放射诊断剂包括正电子发射体如氟 -18 和碳 -11, γ 发射体如碘 -123、锆 -99m、碘 -131 和铟 -111、用于核磁共振的核素如氟和钆。根据本发明,术语“治疗上有效的物质”是指按需选择性导向表达一个或多个肿瘤相关抗原的细胞的任何治疗性分子,包括抗癌剂、放射性碘标记的化合物、毒素、细胞稳定药或细胞溶解药等,抗癌剂包括例如氨鲁米特、硫唑嘌呤、硫酸博来霉素、白消安、卡莫司汀、苯丁酸氮芥、顺铂、环磷酰胺、环孢菌素 A、阿糖胞苷、达卡巴素、更生霉素、daunorubin、阿霉素、紫杉醇、依托泊苷、氟尿嘧啶、干扰素 - α 、环己亚硝脒、巯嘌呤、甲氨蝶呤、米托坦、盐酸丙卡巴肼、硫鸟嘌呤、硫酸长春碱和硫酸长春新碱。其它抗癌剂被公开于例如 Goodman 和 Gilman,“The Pharmacological Basis of Therapeutics”,8th Edition,1990,McGraw-Hill, Inc.,特别是 52 章中(抗癌剂(Paul Calabresi 和 Bruce A. Chabner)。毒素可以是蛋白质如美洲商陆抗病毒蛋白质,霍乱毒素、百日咳毒素、蓖麻毒素、白树毒素、相思豆毒素、白喉外毒素或假单胞菌外毒素。毒素残基还可以是释放高能量的放射性核素如钴 -60。

[0107] 根据本发明术语“患者”是指人类,非人类灵长类或其它动物,特别是哺乳动物如奶牛、马、猪、绵羊、山羊、狗、猫或啮齿动物如小鼠和大鼠。在特别优选的实施方案中,患者是人类。

[0108] 根据本发明,术语“疾病”是指表达或异常表达肿瘤相关抗原的任何病理状态。“异常表达”根据本发明是指与健康个体状态相比表达改变,优选是增加。表达增加是指增加至少 10%左右,特别是至少 20%、至少 50%或至少 100%。在一个实施方案中,所述肿瘤相关抗原仅在患病个体的组织中表达,而在健康个体中的表达受抑制。所述疾病的一个实例是癌症,特别是精原细胞瘤、黑素瘤、畸胎瘤、神经胶质瘤、结肠直肠癌、乳癌、前列腺癌、子宫癌、卵巢癌和肺癌。

[0109] 根据本发明,生物样品可以是组织样品和 / 或细胞样品,并可采用常规方法如通过组织活检,包括钻取活组织检查以及通过取血、支气管抽取液、尿、粪便或其它体液的方法获得,而用于本文描述的多种方法中。

[0110] 根据本发明,术语“免疫反应细胞”是指能用适宜刺激将其成熟为免疫细胞(如 B 细胞,辅助 T 细胞,或细胞毒性 T 细胞)的细胞。免疫反应细胞包括 CD34⁺造血干细胞,未成熟的和成熟的 T 细胞和未成熟的和成熟的 B 细胞。如果需要生成识别肿瘤相关抗原的细胞毒性或辅助 T 细胞,则在适于生成、分化和 / 或选择细胞毒性 T 细胞和辅助 T 细胞的条件下将该免疫反应细胞与表达肿瘤相关抗原的细胞接触。当暴露于抗原时, T 细胞前体细胞分化为细胞毒性 T 细胞,这与免疫系统的克隆选择相似。

[0111] 某些治疗方法的基础是患者免疫系统的反应,所述反应导致抗原呈递细胞如呈递一个或多个肿瘤相关抗原的癌细胞的溶解。就此而论,例如将具有对肿瘤相关抗原和 MHC 分子的复合物特异性的自体细胞毒性 T 淋巴细胞施用于患有细胞异常的患者。所述细胞毒性 T 淋巴细胞的体外制备方法是已知。WO-A-9633265 中已经公开了 T 细胞分化方法的实例。通常,从所述患者提取含有细胞如血细胞的样品,然后将该细胞与呈递所述复合物并能导致细胞毒性 T 淋巴细胞增殖的细胞(例如树突细胞)相接触。所述靶细胞可以是转染的细胞如 CoS 细胞。这些转染的细胞在其表面呈递所需复合物,并在与细胞毒性 T 淋巴细胞接触时刺激后者的增殖。然后将克隆延展的自体细胞毒性 T 淋巴细胞施用于所述患者。

[0112] 在另一选择抗原特异性细胞毒性 T 淋巴细胞的方法中,将 MHC I 类分子 / 肽复合物的荧光四聚物用于检测细胞毒性 T 淋巴细胞的特异性克隆 (Altman et al., Science 274 : 94-96, 1996 ; Dunbar et al., Curr. Biol. 8 : 413-416, 1998)。可溶性 MHC I 类分子在存在 $\beta 2$ 微球蛋白和与所述 I 类分子结合的肽抗原的情况下在体外折叠。纯化该 MHC / 肽复合物,然后用生物素标记。通过将所述生物素化肽 -MHC 复合物与标记的抗生物素蛋白(例如藻红蛋白)以 4 : 1 的摩尔比率混合而形成四聚物。然后将四聚物与细胞毒性 T 淋巴细胞如外周血或淋巴结接触。该四聚物与能识别肽抗原 / MHC I 类复合物的细胞毒性 T 淋巴细胞结合。与所述四聚物结合的细胞可通过用于分离反应性细胞毒性 T 淋巴细胞的荧光控制的细胞分选进行分选。然后可将所述分离的细胞毒性 T 淋巴细胞在体外增殖。

[0113] 在称为继承性转移的治疗方法中 (Greenberg, J. Immunol. 136(5) : 1917, 1986 ; Riddell et al., Science 257 : 238, 1992 ; Lynch et al., Eur. J. Immunol. 21 : 1403-1410, 1991 ; Kast et al., Cell 59 : 603-614, 1989), 将呈递所需复合物的细胞(例如树突细胞)与将治疗的患者的细胞毒性 T 淋巴细胞组合,导致特异性细胞毒性 T 淋巴细胞的增殖。然后

将增殖的细胞毒性 T 淋巴细胞施用于具有特征为呈递所述特异性复合物的特定异常细胞的细胞异常的患者。然后该细胞毒性 T 淋巴细胞溶解异常细胞,由此实现所需疗效。

[0114] 通常,在患者的 T 细胞库中,仅具有对该类特异性复合物低亲和力的 T 细胞可得以增殖,因为那些具有高亲和力的细胞由于耐受性的形成而被去除。此处一个选择性方法可以是 T 细胞受体自身的转移。同样地,为此将呈递所述所需复合物的细胞(例如树突细胞)与健康个体的细胞毒性 T 淋巴细胞组合。如果供体迄今没有与特异性复合物接触,这导致具有高亲和力的特异性细胞毒性 T 淋巴细胞的增殖。克隆这些增殖的特异性 T 淋巴细胞的高亲和力 T 细胞受体,然后将其通过基因转移例如使用逆病毒载体而任意转导至其他患者的 T 细胞。然后采用这些遗传改变的 T 淋巴细胞实施继承性转移 (Stanislawski et al., Nat Immunol. 2 :962-70, 2001 ;Kessels et al., Nat Immunol. 2 :957-61, 2001)。

[0115] 上述治疗方面始于如下事实:至少一些患者的异常细胞呈递肿瘤相关抗原和 HLA 分子的复合物。所述细胞可按本身已知的方法鉴定。呈递所述复合物的细胞一经鉴定,则可将它们与来自所述患者的包含细胞毒性 T 淋巴细胞的样品组合。如果所述细胞毒性 T 淋巴细胞溶解呈递所述复合物的细胞,即可推测呈递了肿瘤相关抗原。

[0116] 根据本发明可采用的治疗形式不仅是继承性转移。细胞毒性 T 淋巴细胞实质上还可按本身已知的方法在体外生成。一种方法使用表达所述复合物的非增殖性的细胞。此处使用的细胞是那些通常表达所述复合物的细胞,如受辐射的肿瘤细胞或用对于所述复合物(即抗原肽和呈递的 HLA 分子)的呈递所需的一个或两个基因转染的细胞。可使用多种细胞类型。而且,可以使用带有一个或两个目标基因的载体。特别优选的是病毒载体或细菌载体。例如,编码肿瘤相关抗原或其部分的核酸可功能性连接于控制所述肿瘤相关抗原或其片段在特定组织或细胞类型中的表达的启动子和增强子序列。可将所述核酸装配入表达载体。表达载体可以是可插入外源性核酸的无修饰的染色体外核酸、质粒或病毒基因组。还可将编码肿瘤相关抗原的核酸插入逆转录病毒基因组,由此使得所述核酸整合至靶组织或靶细胞的基因组中。在这些系统中,微生物如痘苗病毒、痘病毒、单纯疱疹病毒、逆转录病毒或腺病毒载体携带目标基因并事实上“感染”宿主细胞。另一优选的形式是以重组 RNA 的形式导入肿瘤相关抗原。它们可通过例如脂质体转移或通过电穿孔导入细胞中。得到的细胞呈递目标复合物并被自身细胞毒性 T 淋巴细胞识别,该细胞然后增殖。

[0117] 肿瘤相关抗原或其片段与佐剂的组合可获得相似效果,以便能使在体内整合至抗原递呈细胞。所述肿瘤相关抗原或其片段表现为蛋白质、DNA(例如在载体内)或 RNA。处理所述肿瘤相关抗原以便生成 HLA 分子的肽配偶体,而其片段可无须进一步的处理而被呈递。如果这些能结合 HLA 分子,则后者是特殊情况。完全抗原在体内由树突细胞进行处理的施用方式是优选的,因为其还能产生有效免疫反应所需的辅助 T 细胞反应 (Ossendorp et al., Immunol Lett. 74 :75-9, 2000 ;Ossendorp et al., J. Exp. Med. 187 :693-702, 1998)。通常,可通过例如皮内注射将有效量的肿瘤相关抗原施用于患者。此外,注射还可通过结内注射至淋巴结 (Maloy et al., Proc Natl Acad Sci USA 98 :3299-303, 2001)。还可以与促进摄入至树突细胞的试剂组合实施。体内优选的肿瘤相关抗原包括与多个癌症患者的异源癌抗血清或 T 细胞反应的抗原。此外,特别令人感兴趣的是那些先前对其不存在自身免疫应答的肿瘤相关抗原。可以可检测的方式诱导能溶解肿瘤的抗这些肿瘤相关抗原的免疫应答 (Keogh et al., J. Immunol. 167 :787-96, 2001 ;Appella et al., Biomed Pept Proteins

Nucleic Acids 1:177-84,1995;Wentworth et al., Mol Immunol. 32:603-12,1995)。

[0118] 根据本发明所描述的药物组合物还可用于免疫接种的疫苗。根据本发明,术语“免疫接种”或“接种疫苗”是指针对抗原的免疫反应的增加或激活。通过使用肿瘤相关抗原或其编码核酸能将动物模型用于检测对癌的免疫效果。例如,可将人类癌细胞导入小鼠中从而生成肿瘤,然后施用编码肿瘤相关抗原的一个或多个核酸。对癌细胞的效果(例如肿瘤大小的减小)可作为检测核酸免疫效力而进行检测。

[0119] 作为用于免疫的组合物的部分,将一个或多个肿瘤相关抗原或其刺激性片段与一个或多个佐剂一起施用以诱导免疫应答或增加免疫应答。佐剂是一种掺入所述抗原或与后者一起施用并能增强免疫应答的物质。佐剂可通过提供抗原库(细胞外或巨噬细胞内)、激活巨噬细胞和刺激特定的淋巴细胞而增强免疫反应。佐剂是已知的,并以非限制性的方式包括单磷脂 A (MPL, SmithKline Beecham)、皂苷如 QS21 (SmithKlineBeecham)、DQS21 (SmithKline Beecham; WO 96/33739)、QS7、QS17、QS18 和 QS-L1 (So et al., Mol. Cells 7:178-186,1997)、不完全弗氏佐剂、完全弗氏佐剂、维生素 E、montanide、明矾、CpG 寡核苷酸(参照 Kreig et al., Nature 374:546-9,1995)和用生物可降解的油如鲨烯和/或生育酚制备的多种油包水乳液。优选地,将所述肽以与 DQS21/MPL 混合物的形式施用。DQS21 与 MPL 的比率一般为约 1:10~10:1,优选约 1:5~5:1 而特别是约 1:1。在施用于人时,疫苗制剂通常包含约 1 μg~约 100 μg 的 DQS21 和 MPL。

[0120] 刺激患者免疫反应的其它物质也是可以施用的。例如,由于其对淋巴细胞的调节活性,在疫苗接种中使用细胞因子是可行的。所述细胞因子包括,例如显示出增加疫苗的保护性效果的白介素-12 (IL-12) (参照 Science 268:1432-1434,1995), GM-CSF 和 IL-18。

[0121] 能增强免疫应答并因此可用于疫苗接种的化合物数量很多。所述化合物包括以蛋白质或核酸形式提供的共刺激分子。所述共刺激分子的实例是在树突细胞 (DC) 上表达的并与 T 细胞上表达的 CD28 分子相互作用的 B7-1 和 B7-2 (分别 CD80 或 CD86)。该相互作用提供了对抗原/MHC/TCR-刺激的(信号 1) T 细胞的共刺激(信号 2),由此增强了所述 T 细胞的增殖和效应子作用。B7 还与 T 细胞上的 CTLA4 (CD152) 相互作用,关于 CTLA4 和 B7 配体的研究证实了 B7-CTLA4 相互作用能增强抗肿瘤免疫性和 CTL 的增殖 (Zheng, P. et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95(11):6284-6289(1998))。

[0122] B7 通常不在肿瘤细胞上表达,因此这些不是对于 T 细胞的有效抗原递呈细胞 (APC)。诱导 B7 表达将能使肿瘤细胞更有效地刺激细胞毒性 T 淋巴细胞的增殖和效应子作用。通过 B7/IL-6/IL-12 联合的共刺激揭示了在 T 细胞群中 IFN-γ 和 Th1-细胞因子分布的诱导,这导致进一步增强 T 细胞活性 (Gajewski et al., J. Immunol. 154:5637-5648(1995))。

[0123] 细胞毒性 T 淋巴细胞的完全激活和完全效应子功能需要通过所述辅助 T 细胞上的 CD40 配体和由树突细胞表达的 CD40 分子间的相互作用的辅助 T 细胞的参与 (Ridge et al., Nature 393:474(1998), Bennett et al., Nature 393:478(1998), **Schönberger** et al., Nature 393:480(1998))。该共刺激信号的机制可能涉及通过树突细胞(抗原呈递细胞)的 B7 和相关 IL-6/IL12 的生成的增加。因此 CD40-CD40L 相互作用补充了信号 1(抗原/MHC-TCR)和信号 2(B7-CD28)的相互作用。

[0124] 抗-CD40 抗体用于刺激树突细胞的用途预期能直接增强对通常处于炎性应答范

围之外或非专一性抗原递呈细胞（肿瘤细胞）呈递的肿瘤抗原的响应。在这些情况下，T 辅助和 B7- 共刺激信号未被提供。该机制可用于和基于抗原刺激的树突细胞的治疗有关的情况，或在已知的 TRA 前体细胞中尚未确定 T 辅助表位的情况。

[0125] 本发明还提供了核酸，多肽或肽的施用方法。多肽和肽可采用本身已知的方式施用。在一个实施方案中，采用体外施用核酸，即通过从患者分离细胞，对所述细胞进行遗传学改变以便掺入肿瘤相关抗原，然后将改变的细胞再导入至该患者。其一般包括在体外将基因的功能性拷贝导入患者的细胞中和再将遗传学改变的细胞导入患者。基因的功能性拷贝处于能使该基因在遗传学改变的细胞中表达的调控元件的功能控制下。转染和转导方法是本领域技术人员已知的。本发明还提供了通过使用载体如病毒和靶受控脂质体而在体内施用核酸的方法。

[0126] 在一个优选的实施方案中，用于施用编码肿瘤相关抗原的核酸的病毒载体选自腺病毒、腺伴随病毒、痘病毒，包括痘苗病毒和减毒痘病毒、塞姆利基森林病毒、逆转录病毒、辛德比斯病毒和 Ty 病毒样颗粒。腺病毒和逆转录病毒是特别优选的。所述逆转录病毒通常是复制缺陷型的（即它们不能产生感染性颗粒）。

[0127] 可使用多种方法将核酸根据本发明在体外或体内导入细胞。该方法包括核酸 CaPO_4 沉淀物的转染、与 DEAE 的转染相关的核酸的转染、上述含有目标核酸的病毒的转染或感染、脂质体介导的转染等。在特定实施方案中，优选的是将所述核酸导入特定细胞。在所述实施方案中，用于将核酸施用于细胞的载体（例如逆转录病毒或脂质体）可含有结合的靶控制分子。例如，分子如具有对靶细胞上的表面膜蛋白质特异性的抗体或针对靶细胞上受体的配体可被掺入或附于核酸载体。优选的抗体包括与肿瘤相关抗原选择性结合的抗体。如果需要通过脂质体施用核酸，可将与内吞作用相关的表面膜蛋白质结合的蛋白质掺入脂质体配剂中，以便获得靶位控制和 / 或摄取。所述蛋白质包括衣壳蛋白或其具有对特定细胞类型特异性的片段、抗被摄入的蛋白质的抗体，定位细胞内位点的蛋白质等。

[0128] 本发明的治疗组合物可以药理学上适用的制剂进行施用。所述制剂通常含有药理学上适用浓度的盐、缓冲物质、防腐剂、载体、补充性免疫增强剂如佐剂、CpG 和细胞因子，和视情况含有其它治疗有效物质。

[0129] 本发明的治疗有效物质可通过任何常规途径，包括通过注射或输注的方法进行施用。可采用例如口服、静脉内、腹膜内、肌肉内、皮下或经皮肤的方式进行施用。优选地，抗体可通过肺气雾剂的方法进行治疗施用。反义核酸优选通过缓慢静脉注射的方法进行施用。

[0130] 本发明的组合物以有效剂量施用。“有效剂量”是指单独或与另外剂量一同获得预期反应或预期效果的量。在治疗特征是表达一个或多个肿瘤相关抗原的特定疾病和特定症状的情况下，所需反应涉及抑制所述疾病的病程。其包括减慢疾病的进展，特别是，阻断疾病的进展。在治疗疾病或症状中的所需反应还可以是延缓或阻止所述疾病或所述症状的发病。

[0131] 本发明的组合物的有效剂量取决于要治疗的症状、疾病的严重程度、患者的个体参数（包括年龄、生理条件、身体大小和体重）、治疗持续时间、伴随治疗的类型（如果存在）、特异性的施药途径和相似因素。

[0132] 本发明的药物组合物优选是无菌的，并且包含有效剂量的治疗活性物质以产生所需反应或所需效应。

[0133] 本发明的组合物的施用剂量可依赖于多种参数如施用方式、患者状况,施用所需周期等。在施用起始剂量对患者的反应不足的情况下,可使用更高的剂量(或通过其他的、更局部化的施用途径获得的效用更高的剂量)。

[0134] 通常,制备和施用剂量为 $1\text{ng} \sim 1\text{mg}$, 优选 $10\text{ng} \sim 100\ \mu\text{g}$ 的肿瘤相关抗原,用以治疗或者产生或增加免疫应答。如果需要施用编码肿瘤相关抗原的核酸(DNA 和 RNA),制备和施用的剂量为 $1\text{ng} \sim 0.1\text{mg}$ 。

[0135] 本发明的药物组合物通常以药物学上适用的量和以药物学上适用的组合物进行施用。术语“药物学上适合的”是指不与药物组合物的活性成分的作用发生相互作用的无毒物质。该类制剂通常可含有盐、缓冲物质、防腐剂、载体,和视情况含有其它治疗上有效的化合物。当在药物中使用,所述盐应是药物学上适宜的。然而,非药物学上适用的盐也可用于制备其药物学上适用的盐,这也包括于本发明中。该类药理学和药物学上适用的盐包括以非限制性方式从下列酸制备的盐:盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、磷酸、马来酸、乙酸、水杨酸、柠檬酸、甲酸、丙二酸、琥珀酸等。药物学上适用的盐还可以制备为碱金属盐或碱土金属盐,如钠盐、钾盐或钙盐。

[0136] 本发明的药物组合物可包括药物学上可接受的载体。根据本发明,术语“药物学上适用的载体”是指适用于施用给人类的一个或多个相容性的固体或液体填充料、稀释剂或包封物。术语“载体”是指具有天然或合成性质的有机或无机成分,活性成分在其中进行联合从而利于施用。本发明的药物组合物的组分通常不发生基本上会减弱所需的药物学功效的相互作用。

[0137] 本发明的药物组合物可包含适用的缓冲物如乙酸盐、柠檬酸盐、硼酸盐和磷酸盐。

[0138] 所述药物组合物视情况还可包含适用的防腐剂如氯化苯甲烃铵(Benzalkonium chlorid)、三氯甲基叔丁醇、对羟基苯甲酸酯和乙基汞硫代水杨酸钠。

[0139] 所述药物组合物通常以统一剂型提供并可用实际已知的方法制备。本发明的药物组合物可以是如下剂型,例如胶囊、片剂、锭剂、混悬剂、糖浆剂、酏剂或乳液剂型。

[0140] 适用于胃肠外给药的组合物通常含有有效物质的无菌水性或非水性制剂,其优选是与受者血液等渗的。适用的载体和溶剂的实例是林格液和等渗氯化钠溶液。另外,通常将无菌的、不挥发的油用作溶液或悬浮介质。

[0141] 下述附图和实施例用于详细地描述本发明,它们仅用于例证的目的而并非意在限制。根据说明书和实施例,本领域技术人员可获得同样包括于本发明的其它实施方案。

[0142] 附图简介:

[0143] 图.1:图解说明 eCT 的克隆。该策略包括在数据库中鉴定候补基因(GOI = “目标基因”)并通过 RT-PCR 的方法检测所述基因。

[0144] 图.2:LDH C 的剪接。选择性剪接结果导致外显子 3(SEQ ID NO:2)、两个外显子 3 和 4(SEQ ID NO:3)、外显子 3、6 和 7(SEQ ID NO:4) 或外显子 7(SEQ ID NO:5) 的缺失。ORF = 开放阅读框架,aa = 氨基酸。

[0145] 图.3:可能的 LDH-C 蛋白质的比对。SEQ ID NO:8 和 SEQ ID NO:10 是原型蛋白质(SEQ ID NO:6)的截断部分。SEQ ID NO:7、SEQ ID NO:9、SEQ ID NO:11、SEQ ID NO:12 和 SEQ ID NO:13 的蛋白质序列为另外改变的,并仅包含肿瘤特异性表位(以粗体字显示)。催化中心用方框显示。

[0146] 图.4:采用实时 PCR 在多种组织中定量 LDH C。在除睾丸以外的正常组织中未检测到转录本,但在肿瘤中检测到显著性表达水平。

[0147] 图.5:TPTE 变体的外显子组合物。根据本发明,鉴定在睾丸组织和肿瘤中表达且具有移码和由此改变的序列区的剪接变体 (SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57)。

[0148] 图.6:可能的 TPTE 蛋白质的比对。选择性剪接结果导致所编码的蛋白质的改变,基本上保留阅读框。用粗体字显示推定的跨膜区,催化区用方框显示。

[0149] 图.7:TSBP 变体在核苷酸水平的比对。根据本发明发现的 TSBP 变体的核苷酸序列 (SEQ ID NO:31,SEQ ID NO:32,SEQ ID NO:33) 中与已知序列 (NM_006781,SEQ ID NO:29) 的差异用粗体字显示。

[0150] 图.8:TSBP 变体在蛋白质水平的比对。在由本发明发现的 TSBP 变体 (SEQ ID NO:34、SEQ ID NO:35、SEQ ID NO:36) 所编码的蛋白质中,移码导致与前述蛋白质 (SEQ ID NO:30, NM_006781) 的实质性差异,并用粗体字显示。

[0151] 图.9:MS4A12 的 RT-PCR。所检测的组织中仅在睾丸、结肠和结肠直肠癌 (结肠癌) 中检测到表达。在所示 6 个肝组织样品的其中,MS4A12 检测阳性,因为该样品已经发生结肠癌转移浸润。稍后的实验也证实了结肠癌转移中的明显表达。

[0152] 图.10:BRC01 的 RT-PCR。与在正常乳腺组织中的表达相比,BRC01 在乳腺肿瘤中明显过表达。

[0153] 图.11:MORC、TPX1、LDHC、SGY-1 的 RT-PCR。多种正常组织的研究显示表达仅存在于睾丸中 (1 皮肤,2 小肠,3 结肠,4 肝,5 肺,6 胃,7 乳腺,8 肾,9 卵巢,10 前列腺,11 甲状腺,12 白细胞,13 胸腺,14 阴性对照,15 睾丸)。肿瘤的研究 (1-17 肺肿瘤,18-29 黑素瘤,30 阴性对照,31 睾丸) 显示在所述肿瘤中的各 cCT 以不同频率的异位表达。

[0154] 图.12:LDHC 在 MCF-7 乳癌细胞系中的线粒体定位。用 LDHC 表达质粒瞬时转染 MCF-7 细胞。用 LDHC 特异性抗体检测抗原,其显示出明显的与线粒体呼吸链酶细胞色素 C 氧化酶的共区域化。

[0155] 图.13:TPTE 的预测拓扑学和在 MCF-7 细胞的细胞表面上的亚细胞定位

[0156] 左侧的图描述了 4 个推测的 TPTE 跨膜区 (箭头)。用 TPTE 表达质粒瞬时转染 MCF-7 细胞。采用 TPTE 特异性抗体检测抗原并显示出与位于细胞表面上的 MHC I 分子的明显的共区域化。

[0157] 图.14:MS4A12 在细胞膜上的定位。

[0158] 用 GFP- 标记的 MS4A12 构建体瞬时转染肿瘤细胞,其在共聚焦免疫荧光显微技术中显示出与质膜标记物的完全共区域化。

实施例:

[0159] 材料和方法

[0160] 术语“in silico”、“电子的”和“虚拟克隆”仅指使用基于数据库的方法,其还可用于模拟实验室实验方法。

[0161] 除非另有描述,全部其它术语和表述均使用能被本领域技术人员理解的含义。所述技术和方法用本身已知的方法实施,并已经描述于例如 Sambrook et al., Molecular

Cloning: A Laboratory Manual, 2nd Edition (1989) Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N. Y.。包括使用试剂盒和试剂的全部方法按厂商的说明实施。

[0162] 用于确定 eCT (电子克隆的癌 / 睾丸基因) 的基于数据挖掘的策略

[0163] 将两个名为 GenBank 关键词检索和 cDNAxProfiler 的 *in silico* 策略进行组合 (图. 1)。使用 NCBI 的 ENTREZ 检索和返回系统 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Entrez>)，对被评述为在睾丸组织中特异性表达的候补基因实施 GenBank 检索 (Wheeler et al., Nucleic Acids Research 28:10-14, 2000)。

[0164] 实施关键词为“睾丸特异性基因”、“精子特异性基因”、“精原细胞特异性基因”的查询，从数据库中提取候补基因 (GOI, 目标基因)。通过对生物体使用“人类”和对分子类型使用“mRNA”进行限制，从而将所述检索仅限于这些数据库的完整信息的部分。

[0165] 所发现的 GOI 的列表通过确定相同序列的不同名称从而消除冗余来进行调整。

[0166] 由关键词检索获得的全部候补基因再次通过“电子 Northern” (eNorthern) 法研究其组织分布。eNorthern 基于将 GOI 序列对于 EST (已表达序列标志) 数据库进行比对 (Adams et al., Science 252:1651, 1991) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST>)。每个与输入的 GOI 同源而出现的 EST 的组织来源可被确定，并以这种方式通过将全部 EST 相加而生成 GOI 组织分布的初步评估。仅对与来自除胎盘和胎儿外的非睾丸正常组织的 EST 不同源的那些 GOI 实施进一步的试验。该评估还能考虑到了公开领域中存在的被错误评述的 cDNA 文库 (Scheurle et al., Cancer Res. 60:4037-4043, 2000) (www.fau.edu/cmbb/publications/cancergenesis6.htm)。

[0167] 所使用第二个数据挖掘方法是 NCBI 的癌症基因组剖析计划 (Cancer Genome Anatomy Project) 的 cDNA xProfiler (<http://cgap.nci.nih.gov/Tissues/xProfiler>) (Hillier et al., Genome Research 6:807-828, 1996; Pennisi, Science 276:1023-1024, 1997)。所述方法能使存在于数据库中的转录组库通过逻辑运算符进行彼此关联。我们定义了将从睾丸中制备的所有表达文库分配至其中的 A 库，其中排除了混合文库。将从除睾丸、卵巢或胎儿组织以外的正常组织中制备的全部 cDNA 文库分配至 B 库。通常，不依赖于基本制备方法而独立使用全部 cDNA 文库，但仅承认那些大小 > 1000 的。采用 BUT NOT 运算符从 A 库中在数字上减去 B 库。采用该方法建立的 GOI 组液用于 eNorthern 研究，并通过文献检索加以确认。

[0168] 该联合的数据挖掘包括公开领域中的全部约 13,000 全长基因，并从这些基因中预测出总数是 140 的具有潜在睾丸特异性表达的基因。在这些基因中存在 25 个先前已知的 CT 基因类基因，这证实了我们的策略的功效。

[0169] 通过特异性 RT-PCR 首先在正常组织中评估所有其它基因。所有已被证实在非睾丸正常组织中表达的 GOI 被认为是假阳性，并从进一步的研究中排除。余下的基因在最多样性的肿瘤组织的大平板上进行试验。下述抗原在此被证实在肿瘤细胞中异位激活。

[0170] 提取 RNA，制备聚 d(T) 引物启动的 cDNA 和 RT-PCR 分析

[0171] 使用异硫氰酸胍作为促溶剂从自然组织材料中提取总 RNA (Chomczynski & Sacchi, Anal. Biochem. 162:156-9, 1987)。在用酸性苯酚提取并用异丙醇沉淀后，将所述 RNA 溶解于 DEPC 处理的水中。

[0172] 采用 Superscript II (Invitrogen) 并根据厂商说明在 20 μ l 反应混合物中使用

2-4 μg 总 RNA 实施第一链 cDNA 合成。所使用的引物是 dT(18) 寡核苷酸。通过在 30 个循环 PCR 中 p53 的扩增来检测 cDNA 的完整性和质量 (有义 CGTGAGCGCTTCGAGATGTTCCG, 反义 CCTAACCAGCTGCCCAACTGTAG, 杂交温度为 67°C)。

[0173] 从多种正常组织和肿瘤体中制备第一链 cDNA 库在 30 μl 反应混合物中扩增 0.5 μl 这些 cDNA 用于表达研究, 其中使用 GOI 特异性引物 (如下) 和 1U HotStarTaq DNA 聚合酶 (Qiagen)。每个反应混合液包含 0.3mM dNTP, 0.3M 各引物和 3 μl $10\times$ 反应缓冲液。

[0174] 选择引物以便使其位于两个不同的外显子中, 并通过用非逆转录的 DNA 作为模板进行检测来证实消除了由污染性基因组 DNA 所带来地干扰, 所述污染性基因组 DNA 是假阳性结果的原因。在 95°C 保持 15 分钟以激活 HotStarTaq DNA 聚合酶后, 实施 35 个 PCR 循环 (94°C 1 分钟, 各自特定的杂交温度 1 分钟, 72°C 2 分钟和 72°C 最终延长 6 分钟)。

[0175] 将 20 μl 该反应物在用溴化乙锭染色的琼脂糖凝胶上分离并进行分析。

[0176] 将下列引物用于相应抗原在所述杂交温度的表达分析。

[0177] LDH-C (67°C)

[0178] 有义 TGCCGTAGGCATGGCTTGTGC, 反义 CAACATCTGAGACACCATTCC

[0179] TPTE (64°C)

[0180] 有义 TGGATGTCACCTCTCATCCTTG, 反义 CCATAGTTCCTGTTCTATCTG

[0181] TSBP (63°C)

[0182] 有义 TCTAGCACTGTCTCGATCAAG, 反义 TGTCTCTTGGTACATCTGAC

[0183] MS4A12 (66°C)

[0184] 有义 CTGTGTCAGCATCCAAGGAGC, 反义 TTCACCTTTGCCAGCATGTAG

[0185] BRC01 (60°C)

[0186] 有义 CTTGCTCTGAGTCATCAGATG, 反义 CACAGAATATGAGCCATACAG

[0187] TPX1 (65°C)

[0188] 有义 TTTTGTCTATGGTGTAGGACC, 反义 GGAATGGCAATGATGTTACAG

[0189] 制备随机六碱基引物启动的 cDNA 和定量实时 PCR

[0190] 采用实时 PCR 的方法定量 LDHC 表达。

[0191] 采用 ABI PRISM 序列检测系统 (PE Biosystems, USA) 的定量实时 PCR 的原理是利用 Taq DNA 聚合酶的 5' -3' 外切酶活性并通过荧光报告染料的释放而直接且特异性地检测 PCR 产物。除有义和反义引物外, 所述 PCR 采用与 PCR 产物序列杂交的双荧光标记的探针 (TaqMan 探针)。该探针的 5' 用报告染料 (例如 FAM) 标记而在 3' 用淬灭染料 (例如 TAMRA) 标记。如果探针是完整的, 报告染料向淬灭染料的空间接近抑制报告染料荧光的发射。如果探针与 PCR 产物在 PCR 过程中杂交, 所述探针被 TaqDNA 聚合酶的 5' -3' 外切酶活性剪切从而去除了对报告染料荧光的抑制。报告染料荧光的增加作为靶扩增的结果而在每个 PCR 循环后检测并用于定量。靶基因的表达进行绝对定量, 或相对于在进行试验的组织中稳定表达的对照基因的表达进行定量。将所述样品作为所谓的“管家”基因而标准化为 18s RNA 后, 采用 $\Delta\Delta\text{-Ct}$ 法 (PE Biosystems, USA) 计算 LDHC 表达。该反应在双份混合液中进行并成双测定。使用高容量 cDNA 库试剂合 (PE Biosystems, USA) 和 6 碱基引物并根据厂商说明合成 cDNA。在各情况中, 将 5 μl 稀释的 cDNA 用于总体积为 25 μl 的 PCR: 有义引

物 (GGTGTCACTTCTGTGCCTTCCT) 300nM ;反义引物 (CGGCACCAGTTCCAACAATAG) 300nM ;TaqMan 探针 (CAAAGTTCTCCAAATGT) 250nM ;有义引物 18s RNA 50nM ;反义引物 18s RNA 50nM ;18s RNA 样品 250nM ;12.5 μ l TaqMan UniversalPCR Master Mix ;初始变性 95℃ (10 分钟) ; 95℃ (15 秒) ;60℃ (1 分钟) ;40 个循环。通过超出外显子 1 和外显子 2 的范围之外的 128bp 产物的扩增而将所述全部 LDHC 剪接变体均包括于定量中。

[0192] 克隆和序列分析

[0193] 采用普通方法克隆全长基因或基因片段。通过采用校正聚合酶 pfu (Stratagene) 扩增相应抗原以确定所述序列。在 PCR 结束后,用 HotStarTaq DNA 聚合酶的方法将腺苷连接至扩增子的末端以便按照厂商说明将片段克隆至 TOPO-TA 载体。采用商业测序。采用一般预测程序和算法分析序列。

[0194] 实施例 1 :新肿瘤抗原 LDH C 的鉴定

[0195] LDH C (SEQ ID NO :1) 和其翻译产物 (SEQ ID NO :6) 已被描述为乳酸脱氢酶家族的睾丸特异性同工酶。在 GenBank 中以登录号 NM_017448 公开了该序列。该酶形成分子量为 140kDa 的同源四聚体 (Goldberg, E. et al., Contraception 64(2) :93-8, 2001 ;Cooker et al., Biol. Reprod. 48(6) :1309-19, 1993 ;Gupta, G. S., Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 34(6) :361-85, 1999)。

[0196] 采用 RT-PCR 试验进行表达分析,其中使用引物对 (5' -TGCCGTAGGCATGGCTTGTGC-3', 5' -CAACATCTGAGACACCATTC-3'),所述引物对不会交叉扩增相关的和遍在表达的同工酶 LDH A 和 LDH B,且以先前被描述为具有睾丸特异性的 LDH C 原型序列 NM_017448 为基础,RT-PCR 证实了根据本发明在全部受试的正常组织中无表达,而证明了在肿瘤的情况下获取的体细胞中消除了该抗原的严谨的转录抑制 ;参照表 1。正如关于 CT 基因的经典描述,LDH C 在很多肿瘤体中表达。

[0197] 表 1. LDHC 在肿瘤中的表达

[0198]

组织	测试总数	阳性数	%
黑素瘤	16	7	44
乳癌	20	7	35
结肠直肠肿瘤	20	3	15
前列腺癌	8	3	38
支气管癌	17	8	47
肾细胞癌	7	4	57
卵巢癌	7	3	43
甲状腺癌	4	1	25

宫颈癌	6	5	83
黑素瘤细胞系	8	5	63
支气管癌细胞系	6	2	33

[0199] 采用上述 PCR 引物, 扩增产物的预期大小是 824bp。然而, 根据本发明, 在肿瘤中观察到多个额外条带的扩增, 而在睾丸中则未观测到。由于这表示存在着选择性剪接变体, 故采用 LDH-C 特异性引物 (5'-TAGCGCCTCAACTGTCGTTGG-3', 5'-CAACATCTGAGACACCATTCC-3') 扩增完整开放阅读框, 并对独立全长克隆进行测序。所述 LDH C 序列的原型 ORF (SEQ ID NO: 1) 和染色体 11 上的基因组序列的比对分析证实其它剪接变体 (SEQ ID NO: 2-5)。选择性剪接结果导致外显子 3 (SEQ ID NO: 2)、两个外显子 3 和 4 (SEQ ID NO: 3)、外显子 3、6 和 7 (SEQ ID NO: 4) 或外显子 7 (SEQ ID NO: 5) 的缺失 (参照图. 2)。

[0200] 这些新剪接变体仅在肿瘤中产生, 而不在睾丸中产生。选择性剪接引起阅读框的改变, 从而导致编码 SEQ ID NO: 7-13 中所示氨基酸序列的新的可能 ORF (SEQ ID NO: 7 的 ORF: SEQ ID NO: 2 或 SEQ ID NO: 4 的 59-214 位核苷酸; SEQ ID NO: 8 的 ORF: SEQ ID NO: 2 的 289-939 位核苷酸; SEQ ID NO: 9 的 ORF: SEQ ID NO: 3 的 59-196 位核苷酸; SEQ ID NO: 10 的 ORF: SEQ ID NO: 3 的 535-765 位核苷酸; SEQ ID NO: 11 的 ORF: SEQ ID NO: 4 的 289-618 位核苷酸; SEQ ID NO: 12 的 ORF: SEQ ID NO: 4 的 497-697 位核苷酸; SEQ ID NO: 13 的 ORF: SEQ ID NO: 5 的 59-784 位核苷酸) (图. 2, 3)。除过早终止外, 使用选择性起始密码子也是可行的, 因此所编码的蛋白质可能同时在 N- 末端和 C- 末端被截断。

[0201] SEQ ID NO: 8 和 SEQ ID NO: 10 显示了原型蛋白质的截断部分, SEQ ID NO: 7、SEQ ID NO: 9、SEQ ID NO: 11、SEQ ID NO: 12 和 SEQ ID NO: 13 的蛋白质序列也被改变, 并仅包含肿瘤特异性表位 (图. 3 中粗体字显示)。能导致肿瘤特异性表位的肽区如下述 (由移码形成的严格的肿瘤特异性部分用下划线标出):

[0202] SEQ ID NO: 14: GAVGMACAISILLKITVYLQTPE (来自 SEQ ID NO: 7)

[0203] SEQ ID NO: 15: GAVGMACAISILLKWIF (来自 SEQ ID NO: 9)

[0204] SEQ ID NO: 16: GWIIGEHGDSSGIWNKRRTLSQYPLCLGAEWCLRCCEN (来自 SEQ ID NO: 11)

[0205] SEQ ID NO: 17: MYGLLENMVILVGLYGIKEELFL (来自 SEQ ID NO: 12)

[0206] SEQ ID NO: 18: EHWKNIHKQVIQRDYME (来自 SEQ ID NO: 13)

[0207] 这些区可潜在地包含能被 T 淋巴细胞在 MHC I 或 MHC II 分子上所识别并导致严格的肿瘤特异性反应的表位。

[0208] 并非所有预测的蛋白质都具有用于丙酮酸至乳酸的 NADH 依赖性代谢的催化性乳酸脱氢酶结构域, 所述代谢是无氧糖酵解的最后一步。该结构域 (图. 3 中用方框标出) 应对于作为乳酸脱氢酶的酶功能是必需的。进一步的分析, 例如采用算法如 TMpred 和 pSORT (Nakai & Kanehisa, 1992), 预测了推定蛋白质的不同亚细胞定位。

[0209] 根据本发明, 表达水平通过使用特异性引物-样品组的实时 PCR 进行定量。扩增子存在于外显子 1 和外显子 2 间的连接处并由此检测全部变体 (SEQ ID NO: 1-5)。这些试验也未在除睾丸外的正常组织中检测到任何转录本。它们证实了在肿瘤中显著的表达水平

(图. 4)。

[0210] 根据本发明通过从最远 N-末端区 MSTVKEQLIEKLIEDDENSQ(SEQ ID NO:80) 选择肽而制备 LDHC 特异性多克隆抗体。借助于该肽在兔子中制备 LDHC 特异性抗体。对蛋白质表达的后续试验证实了 LDHC 在睾丸和多种肿瘤中的选择性表达。另外,按照本发明的免疫组织化学试验揭示了 LDHC 和细胞色素 C 氧化酶在线粒体中的显著的共区域化。这显示出 LDHC 在肿瘤的呼吸链中发挥重要作用。

[0211] 实施例 2:新肿瘤抗原 TPTE 的鉴定

[0212] TPTE 转录本序列(SEQ ID NO:19)和其翻译产物序列(SEQ ID NO:22)已公开于 GenBank 中,其登录号为 NM_013315(Walker, S. M. et al., Biochem. J. 360(Pt 2): 277-83, 2001; Guipponi M. et al., Hum. Genet. 107(2):127-31, 2000; Chen H. et al., Hum. Genet. 105(5):399-409, 1999)。TPTE 已被描述为编码可能的跨膜酪氨酸磷酸酶的基因,其睾丸特异性表达位于染色体 21、13、15、22 和 Y 的着丝粒周围区域(Chen, H. et al., Hum. Genet. 105:399-409, 1999)。按照本发明的对比研究还揭示了染色体 3 和 7 上的同源基因组序列。

[0213] 根据本发明,根据 TPTE 序列(SEQ ID NO:19)制备 PCR 引物(5'-TGGATGTCACTCTCATCCTTG-3' 和 5'-CCATAGTTCCTGTTCTATCTG-3')并用于多种人类组织中的 RT-PCR 分析(95°C 15 分钟;94°C 1 分钟;63°C 1 分钟;72°C 1 分钟;35 个循环)。正常组织中表达的发现仅限于睾丸中。如对其余 eCT 所述,根据本发明 TPTE 变体显示出在多种肿瘤组织中被异位激活;参照表 2。根据本发明,鉴定了在睾丸组织和肿瘤中表达的且具有移码并因此具有改变的序列区的其它 TPTE 剪接变体(SEQ ID NO:20、SEQ ID NO:21、SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57)(图. 5)。

[0214] 表 2. TPTE 在肿瘤中的表达

[0215]

组织	测试总数	阳性数	%
黑素瘤	18	9	50
乳腺癌	20	4	20
结肠直肠肿瘤	20	0	0
前列腺癌	8	3	38
支气管癌	23	9	39
肾细胞癌	7	0	0
卵巢癌	7	2	29
甲状腺癌	4	0	0
宫颈癌	6	1	17

黑素瘤细胞系	8	4	50
支气管癌细胞系	6	2	33
乳癌细胞系	5	4	80

[0216] TPTE 基因组序列包括 24 个外显子（登录号 NT_029430）。SEQ ID NO:19 中所描述的转录本包括所有这些外显子。SEQ ID NO:20 中所描述的剪接变体通过剪除外显子 7 制备。SEQ ID NO:21 中所描述的剪接变体显示了外显子 15 下游内含子的部分掺入。如变体 SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57 所示，还可能选择性地剪接掉外显子 18、19、20 和 21。

[0217] 这些选择性剪接结果导致所编码蛋白质的改变，而基本上保留了阅读框（图.6）。例如，由 SEQ ID NO:20 中所述序列编码的翻译产物（SEQ ID NO:23）与 SEQ ID NO:22 中所述序列相比缺失了 13 个氨基酸。由 SEQ ID NO:21 中所述序列编码的翻译产物（SEQ ID NO:24）在分子中心区含有额外的插入并由此与其它变体存在 14 个氨基酸左右的不同。

[0218] 变体 SEQ ID NO:54、SEQ ID NO:55、SEQ ID NO:56、SEQ ID NO:57 的翻译产物即蛋白质 SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:60、SEQ ID NO:61 同样被改变。

[0219] 对于功能区域的预测的分析显示了对于 SEQ ID NO:22、SEQ ID NO:23、SEQ ID NO:24、SEQ ID NO:58、SEQ ID NO:60 存在而对于 SEQ ID NO:59、SEQ ID NO:61 不存在酪氨酸磷酸酶结构域。对所有变体，预测了 3-4 个跨膜区（图.6）。

[0220] 采用特异性抗体对 TPTE 抗原表达的分析证实了在睾丸和多种肿瘤中的选择性表达。共区域化实验还揭示了根据本发明 TPTE 与 I 类免疫球蛋白一起位于肿瘤细胞表面。以前，TPTE 仅被描述为高尔基体-相关蛋白质。由于 TPTE 在肿瘤细胞表面的表达，该肿瘤抗原根据本发明适于作为用于形成诊断性和治疗性单克隆抗体的重要的靶位。由于预测的 TPTE 的膜拓扑学，故根据本发明胞外暴露区特别适于本目的。根据本发明，其包括肽 FTDSKLYIPLEYRS (SEQ ID NO:81) 和 FDIKLLRNIPRWT (SEQ ID NO:82)。另外，TPTE 显示出促进肿瘤细胞的迁移。为实现该目的，用“Boyden chamber”迁移试验对在真核启动子的控制下用 TPTE 转染的肿瘤细胞和对照细胞进行研究，以便确定它们是否表现出定向迁移。此处 TPTE 转染的细胞根据本发明在 4 个独立试验中显著地（3 倍）增加了迁移。这些功能性数据显示出 TPTE 在肿瘤转移中发挥重要作用。因此，根据本发明抑制肿瘤细胞中内源 TPTE 活性的方法，例如通过采用表达载体或逆转录病毒而使用反义 RNA、不同的 RNA 干扰 (RNAi) 方法以及通过使用小分子，可导致转移的降低，因此在治疗上具有非常重要的意义。最近对酪氨酸磷酸酶 PTEN 建立了肿瘤中磷酸酶活性和转移的增加和转移灶形成的增加间的因果关系 (Iijima 和 Devreotes, Cell 109:599-610, 2002)。

[0221] 实施例 3:新肿瘤抗原 TSBP 的鉴定

[0222] 根据本发明使用的电子克隆方法生成 TSBP (SEQ ID NO:29) 和来源于其的蛋白质 (SEQ ID NO:30)。该基因先前被描述为是睾丸特异性调节的（登录号 NM_006781）。该基因被预测为编码碱性蛋白质并位于染色体 6 上靠近编码 MHC 复合物的序列 (C6orf10) 的位置 (Stammers M. et al., Immunogenetics 51(4-5):373-82, 2000)。根据本发明，前述序列是不正确的。本发明的序列明显不同于已知序列。根据本发明，克隆 3 个不同的剪接变体。

图 7 中描述了根据本发明发现的 TSBP 变体的核苷酸序列 (SEQ ID NO :31, SEQ ID NO :32, SEQ ID NO :33) 与已知序列 (NM_006781, SEQ ID NO :29) 的差异 (差异用粗体字显示)。其导致移码因此由根据本发明发现的 TSBP 变体所编码的蛋白质 (SEQ ID NO :34, SEQ ID NO :35, SEQ ID NO :36) 基本上不同于前述蛋白质 (SEQ ID NO :30) (图. 8)。

[0223] 根据本发明,证实了该抗原在正常组织中是严格转录抑制的 (PCR 引物 5'-TCTAGCACTGTCTCGATCAAG-3' 和 5'-TGTCCTCTTGGTACATCTGAC-3')。然而,在所研究的 25 个正常组织中,除了睾丸外,TSBP 还在正常淋巴结组织中表达。根据本发明,在肿瘤中还检测到 TSBP 的异位激活,因此其能够作为肿瘤标记物或肿瘤相关抗原 (表 3)。

[0224] 虽然在原发肿瘤组织中发现 TSBP 表达,但在相应肿瘤体的永久细胞系中未发现表达。而且,所述基因直接与 Notch 4 相邻,所述 Notch4 在动脉中特异性表达并与血管形成相关。这些明显地提示所述基因可作为特异性内皮细胞地标记物。因此,TSBP 可作为肿瘤内皮和新生血管靶向的潜在性标记物。

[0225] 因此,所述 TSBP 启动子可克隆至另一需要在淋巴结中的选择性表达的基因产物。

[0226] 采用特异性抗体的 TSBP 抗原表达的分析证实了所述蛋白质在睾丸和淋巴结中以及在黑素瘤和支气管癌中的选择性定位。另外,使用 GFP 标记的 TSBP 的免疫组织学研究揭示了显著的核周的积累。

[0227] 表 3. TSBP 在肿瘤中的表达

[0228]

组织	测试总数	阳性数	%
黑素瘤	12	2	16
乳癌	15	0	-
结肠直肠肿瘤	15	0	-
前列腺癌	8	0	-
支气管癌	7	17	41
肾细胞癌	7	0	-
卵巢癌	7	0	-
甲状腺癌	4	0	-
宫颈癌	6	0	-
黑素瘤细胞系	8	0	-
支气管癌细胞系	6	0	-

[0229] 实施例 4:新肿瘤抗原 MS4A12 的鉴定

[0230] MS4A12 (SEQ ID NO :37, 登录号 NM_017716) 和其翻译产物 (SEQ ID NO :38) 先前

被描述为与 B 细胞特异性抗原 CD20、造血细胞特异性蛋白质 HTm4 和高亲和性 IgE 受体的 β 链有关的多基因家族成员。所有家族成员的特征在于其至少四个潜在跨膜区以及 C 末端和 N 末端均是细胞质的 (Liang Y. et al., Immunogenetics 53(5):357-68, 2001; Liang Y. & Tedder, Genomics 72(2):119-27, 2001)。根据本发明, 对 MS4A12 实施 RT-PCR 实验。根据公开的 MS4A12 序列 (NM_017716) 选择引物 (有义: CTGTGTCAGCATCCAAGGAGC, 反义: TTCACCTTTGCCAGCATGTAG)。在所检测的组织中, 仅在睾丸、结肠 (6/8) 和结肠直肠癌 (colon-Ca's) (16/20) 中以及在结肠转移灶 (12/15) 中检测到表达 (图. 9)。

[0231] 结肠转移灶中的高生成率使得 TSBP 可作为有意义的诊断靶位和治疗靶位。根据本发明, 包含蛋白质序列 GVAGQDYWAVLSGKG (SEQ ID NO:83) 的预测的细胞外区特别适于产生单克隆抗体和小化学抑制剂。根据本发明, 在细胞膜上的 MS4A12 蛋白质的细胞内定位还通过使用质膜标记物而在共聚焦免疫荧光法中的荧光叠加得以证实。

[0232] 表 4. MS4A12 在正常组织中和结肠直肠癌和转移中的表达

[0233]

回肠	+
结肠	+
肝	-
肺	-
淋巴结	-
胃	-
脾	-
肾上腺	-
肾	-
食管	-
卵巢	-
直肠	+
睾丸	+
胸腺	-
皮肤	-
乳房	-

胰腺	—
PBMC	—
PBMC act.	—
前列腺	—
甲状腺	—
输卵管	—
子宫	—
大脑	—
小脑	—
结肠直肠肿瘤	16/20
结肠直肠肿瘤转移	12/15

[0234] 因此, MS4A12 是正常结肠上皮的位于细胞膜的分化抗原, 其还在结肠直肠肿瘤和转移中表达。

[0235] 实施例 5 : 新肿瘤抗原 BRC01 的鉴定

[0236] 先前没有关于 BRC01 和其翻译产物的描述。本发明的数据挖掘方法生成 EST (已表达序列标志) AI668620。实施采用特异性引物 (有义 : CTTGCTCTGAGTCATCAGATG, 反义 : CACAGAATATGAGCCATACAG) 的 RT-PCR 研究用于表达分析。根据本发明, 在睾丸组织中且还在正常乳腺中发现特异性表达 (表 5)。在所有其它组织中, 该抗原在转录上受抑制。该现象同样在乳腺肿瘤发现 (20/20)。与在正常乳腺组织中的表达相比, BRC01 在乳腺肿瘤中明显过表达 (图 . 10)。

[0237] 采用 EST 重叠群 (掺入下述 EST : AW137203、BF327792、BF327797、BE069044、BF330665), 通过电子全长克隆根据本发明克隆超过 1500bp 的该转录本 (SEQ ID NO : 39)。该序列绘图于染色体 10p11-12。在该相同区中, 在直接靠近的位置, 乳腺分化抗原 NY-BR-1 的基因在这之前已经被公开 (NM_052997 ; Jager, D. et al., Cancer Res. 61(5) : 2055-61, 2001)。

[0238] 表 5. BRC01 在正常组织和乳腺肿瘤中的表达

[0239]

回肠	—
结肠	—

肝	—
肺	—
淋巴结	—
胃	—
脾	—
肾上腺	—
肾	—
食管	—
卵巢	—
直肠	—
睾丸	+
胸腺	—
皮肤	—
乳房	+
胰腺	—
PBMC	—
PBMC act.	—
前列腺	—
甲状腺	—
输卵管	—
子宫	—
大脑	—
小脑	—

乳癌

++ (20/20)

[0240] 配对研究（乳癌和邻近正常组织）显示出与正常组织相比 BRC01 在 70% 的乳癌中过表达。

[0241] 因此, BRC01 是一种新的正常乳腺上皮的分化抗原, 其在乳腺肿瘤中过表达。

[0242] 实施例 6 : 新肿瘤抗原 TPX1 的鉴定

[0243] TPX1 的序列（登录号 NM 003296 ; SEQ ID NO : 40）和其翻译产物的序列（SEQ ID NO : 41）是已知的。该抗原先前被描述为仅具有睾丸特异性, 其是精子的外周纤维和顶体的元件。以前, 将粘附分子在精子与支持细胞的附着中的作用归功于所述抗原 (o' Bryan, M. K. et al., Mol. Reprod. Dev. 58(1) : 116-25, 2001 ; Maeda, T. et al., Dev. Growth Differ. 41(6) : 715-22, 1999)。本发明首次揭示了, TPX1 在实体肿瘤中的异常表达（表 6）。由于 TPX1 和嗜中性粒细胞特异性基质糖蛋白 SGP 28 间显著的氨基酸同源性 (Kjeldsen et al., FEBS Lett 380 : 246-259, 1996), 含有肽 SREVTNAQR (SEQ ID NO : 84) 的 TPX1 特异性蛋白质序列根据本发明适于制备诊断性和治疗性分子。

[0244] 表 6. TPX1 在肿瘤中的表达

[0245]

组织	测试总数	阳性数	%
黑素瘤	16	1	6
乳癌	20	3	15
结肠直肠肿瘤	20	0	0
前列腺癌	8	3	37
支气管癌	17	2	11
肾细胞癌	7	1	14
卵巢癌	7	1	14
甲状腺癌	4	0	0
宫颈癌	6	1	16
黑素瘤细胞系	8	2	25
支气管癌细胞系	6	1	16

[0246] 实施例 7 : 新肿瘤基因产物 BRC02 的鉴定

[0247] 先前没有关于 BRC02 和其翻译产物的描述。本发明的方法生成 EST (已表达序列标志) BE069341、BF330573 和 AA601511。实施采用特异性引物 (有义 : AGACATGGCTCAGATGTGCAG, 反义 : GGAAATTAGCAAGGCTCTCGC) 的 RT-PCR 研究而用于表达分析。

根据本发明,在睾丸组织中且还在正常乳腺中发现了特异性表达(表7)。在全部其它组织中,该基因产物在转录上受抑制。其同样在乳腺肿瘤中检测到。使用 EST 重叠群(掺入下述 EST:BF330573、AL044891 和 AA601511),通过电子全长克隆根据本发明克隆 1300bp 的该转录本(SEQ ID 62)。该序列绘图于染色体 10p11-12。在该相同区中,在直接靠近的位置,乳腺分化基因产物 NY-BR-1 的基因在这之前已经被公开(NM 052997;Jager,D. et al., Cancer Res. 61(5):2055-61,2001),而实施例 6 中的上述 BRC01 位于此处。更进一步的基因分析揭示出根据本发明 SEQ ID NO:62 所列的序列代表 NY-BR-1 基因的 3' 端非翻译区,这之前没有公开过该序列。

[0248] 表 7. BRC02 在正常组织和乳腺肿瘤中的表达

[0249]

组织	表达
睾丸	+
乳腺	+
皮肤	-
肝	-
前列腺	-
胸腺	-
脑	-
肺	-
淋巴结	-
脾	-
肾上腺	-

[0250]

卵巢	-
白细胞	-
结肠	-
食管	-

子宫	-
骨骼肌	-
附睾	-
膀胱	-
肾	-
乳癌	+

[0251] BRC02 是一种正常乳腺上皮的新的分化基因产物,其还在乳腺肿瘤中表达。

[0252] 实施例 8 :新肿瘤基因产物 PCSC 的鉴定

[0253] 先前没有关于 PCSC (SEQ ID NO :63) 和其翻译产物的描述。本发明的数据挖掘方法生成 EST (已表达序列标志) BF064073。实施使用特异性引物 (有义 : TCAGGTATTCCTGCTCTTAC, 反义 : TGGGCAATTCTCTCAGGCTTG) 的 RT-PCR 研究用于表达分析。根据本发明,在正常结肠和结肠癌中检测到特异性表达 (表 5)。在全部其它组织中,该基因产物在转录上受到抑制。PCSC 编码两个推定的 ORF (SEQ ID 64 和 SEQ ID 65)。SEQ ID 64 的序列分析揭示了与 CXC 细胞因子的结构同源性。此外,克隆了 4 个选择性 PCSC cDNA 片段 (SEQ ID NO :85-88)。在此,根据本发明,每个 cDNA 均包含 3 个编码 SEQ ID NO :89-100 中所示多肽的推定的 ORF。

[0254] 表 8 :PCSC 在正常组织和结肠直肠癌中的表达

[0255]

回肠	+
结肠	+
肝	-
肺	-

[0256]

淋巴结	-
胃	-
脾	-
肾上腺	-
肾	-

食管	—
卵巢	—
直肠	+
睾丸	—
胸腺	—
皮肤	—
乳腺	—
胰腺	—
PBMC	—
PBMC act.	—
前列腺	—
甲状腺	—
输卵管	—
子宫	—
大脑	—
小脑	—
结肠直肠肿瘤	19/20
结肠直肠肿瘤转移	15/15

[0257] 故此, PCSC 是正常结肠上皮的分化抗原, 其也在结肠直肠肿瘤和全部所研究的结肠转移中表达。根据本发明, 在全部结肠直肠转移灶中检测到 PCSC 的表达使得该肿瘤抗原成为用于转移性结肠肿瘤的预防和治疗得非常令人感兴趣的靶。

[0258] 实施例 9 : 新肿瘤抗原 SGY-1 的鉴定

[0259] SGY-1 转录本的序列 (SEQ ID NO :70) 和其翻译产物的序列 (SEQ ID NO :71) 已公开于 GenBank 中, 其登录号是 AF177398 (Krupnik et al., Gene 238, 301-313, 1999)。Soggy-1 先前被描述为能作为 Wnt 蛋白家族的抑制剂和拮抗剂的 Dickkopf 蛋白家族成员。而该 Wnt 蛋白质依次在胚胎发育中发挥重要功能。根据 SGY-1 的序列 (SEQ ID NO :70), 根据本发明制备 PCR 引物 (5' -CTCCTATCCATGATGCTGACG-3' 和 5' -CCTGAGGATGTACAGTAAGTG-3'), 并用

于多种人类组织中的 RT-PCR 分析 (95℃ 15 分钟 ;94℃ 1 分钟 ;63℃ 1 分钟 ;72℃ 1 分钟 ;35 个循环)。显示为正常组织中的表达仅限于睾丸。如对其余 eCT 所述,根据本发明 SGY-1 显示出在多种肿瘤组织中被异位激活;参照表 9。

[0260] 表 9. 肿瘤中 SGY-1 的表达

[0261]

组织	测试总数	阳性数	%
黑素瘤	16	4	25
乳癌	20	4	20
结肠直肠肿瘤	20	0	0
前列腺癌	8	1	13
支气管癌	32	3	18
肾细胞癌	7	0	0
卵巢癌	7	4	57
甲状腺癌	4	0	0
宫颈癌	6	2	33
黑素瘤细胞系	8	2	25
支气管癌细胞系	6	2	33
乳癌细胞系			

[0262] 实施例 10 :新肿瘤抗原 MORC 的鉴定

[0263] MORC 转录本的序列 (SEQ ID NO :74) 和其翻译产物的序列 (SEQ IDNO :75) 已公开于 GenBank 中,其登录号为 XM_037008(Inoue et al., Hum Mol Genet. Jul ;8(7) :1201-7, 1999)。

[0264] MORC 最先被描述为参与精子生成。小鼠系统中该蛋白质的突变导致生殖腺发育不全。

[0265] 根据 MORC 的序列 (SEQ ID NO :74), 根据本发明制备 PCR 引物 (5' -CTGAGTATCAGCTACCATCAG-3' 和 5' -TCTGTAGTCCTTCACATATCG-3') 并用于多种人类组织中的 RT-PCR 分析 (95℃ 15 分钟 ;94℃ 1 分钟 ;63℃ 1 分钟 ;72℃ 1 分钟 ;35 个循环)。显示为正常组织中的表达仅限于睾丸。如对其余 eCT 所述,根据本发明 MORC 显示出在多种肿瘤组织中被异位激活;参照表 10。

[0266] 表 10. 肿瘤中 MORC 的表达

[0267]

组织	测试总数	阳性数	%
黑素瘤	16	3	18
乳癌	20	0	0
结肠直肠肿瘤	20	0	0
前列腺癌	8	0	0
支气管癌	17	3	18
肾细胞癌	7	0	0
卵巢癌	7	1	14
甲状腺癌	4	0	0
宫颈癌	6	0	0
黑素瘤细胞系	8	1	12
支气管癌细胞系	6	1	17

[0001]

序列表

<110> Sahin Dr., Ugur
Türeci Dr., Oelem
Koslowski Dr., Michael

<120> 在肿瘤中差异表达的基因产物及其用途

<130> 342-3PCT

<160> 100

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 1171

<212> DNA

<213> 智人

<400> 1

ctgtcggttg tgtatttttc tgggtgcaact tctgtgcctt ccttcaaagg ttctccaaat	60
gtcaactgtc aaggagcagc taattgagaa gctaattgag gatgatgaaa actcccagtg	120
taaaattact attgttgga ctggtgccgt aggcattggct tgtgctatta gtatcttact	180
gaaggatttg gctgatgaac ttgcccttgt tgatgttgca ttggacaaac tgaagggaga	240
aatgatggat cttcagcatg gcagtctttt ctttagtact tcaaagatta cttctggaaa	300
agattacagt gtatctgcaa actccagaat agttattgtc acagcaggtg caaggcagca	360
ggaggggagaa actcgccttg ccttgggtcca acgtaatgtg gctataatga aatcaatcat	420
tcctgccata gtccattata gtcctgattg taaaattcct gttgtttcaa atccagtgga	480
tattttgaca tatatagtct ggaagataag tggcttacct gtaactcgtg taattggaag	540
tggttgtaat ctagactctg cccgtttccg ttacctaat ggagaaaagt tgggtgtcca	600
ccccacaagc tgccatggtt ggattattgg agaactgggt gattctagtg tgcccttatg	660
gagtgggggtg aatgttgctg gtgttgctct gaagactctg gaccctaaat taggaacgga	720

[0002]

ttcagataag gaacactgga aaaatatcca taaacaagtt attcaaagtg cctatgaaat	780
tatcaagctg aaggggtata cctcttgggc tattggactg tctgtgatgg atctggtagg	840
atccattttg aaaaatctta ggagagtgc cccagtttcc accatgggta agggattata	900
tggaaataaaa gaagaactct ttctcagtat cccttgtgtc ttggggcgga atgggtgtctc	960
agatgtttgtg aaaattaact tgaattctga ggaggaggcc cttttcaaga agagtgacaga	1020
aacacttttg aatattcaaa aggatctaat attttaaatt aaagccttct aatgttccac	1080
tgtttggaga acagaagata gcaggctgtg tattttaaat ttgaaagta ttttcattga	1140
tcttaaaaaa taaaaacaaa ttggagacct g	1171

<210> 2

<211> 1053

<212> DNA

<213> 智人

<400> 2

ctgtcgttgg tgtatttttc tgggtgcact tctgtgcctt ccttcaaagg ttctccaaat	60
gtcaactgtc aaggagcagc taattgagaa gctaattgag gatgatgaaa actcccagtg	120
taaaattact attgttggaa ctggtgccgt aggcattggct tgtgctatta gtatcttact	180
gaagattaca gtgtatctgc aaactccaga atagttattg tcacagcagg tgcaaggcag	240
caggagggag aaactcgcct tgccctggtc caacgtaatg tggctataat gaaatcaatc	300
attcctgccca tagtccatta tagtcctgat tgtaaaattc ttgttgtttc aaatccagtg	360
gatattttga catatatagt ctggaagata agtggcttac ctgtaactcg tgtaattgga	420
agtggttgta atctagactc tgcccgtttc cgttacctaa ttggagaaaa gttgggtgtc	480
caccccacaa gtgcccatgg ttggattatt ggagaacatg gtgattctag tgtgccctta	540
tggagtgggg tgaatgttgc tgggtgtgct ctgaagactc tggaccctaa attaggaacg	600
gattcagata aggaacactg gaaaaatata cataaacaag ttattcaaag tgcctatgaa	660

[0003]

attatcaagc tgaaggggta tacctcttgg gctattggac tgtctgtgat ggatctggta	720
ggatccattt tgaaaaatct taggagagtg caccagttt ccacatggt taagggatta	780
tatggaataa aagaagaact ctttctcagt atcccttgtg tcttggggcg gaatggtgtc	840
tcagatgttg tgaaaattaa ctigaattct gaggaggagg cccttttcaa gaagagtgca	900
gaaacacittt ggaatattca aaaggatcta atattttaaa ttaaagcctt ctaatgttcc	960
actgtttgga gaacagaaga tagcaggctg tgtatttttaa attttgaaag tatttttcatt	1020
gatcttaaaa aataaaaaca aattggagac ctg	1053

<210> 3

<211> 879

<212> DNA

<213> 智人

<400> 3

ctgtcgttgg tgtatttttc tgggtgtcact tctgtgcctt ccttcaaagg ttctccaaat	60
gtcaactgtc aaggagcagc taattgagaa gctaattgag gatgatgaaa actcccagtg	120
taaaattact attgttggaa ctgggtccgt aggcattggct tgtgctatta gtatcttact	180
gaagtggata ttttgacata tatagtctgg aagataagtg gcttacctgt aactcgtgta	240
attggaagtg gttgtaatct agactctgcc cgtttccgtt acctaattgg agaaaagttg	300
ggtgtccacc ccacaagctg ccatggttgg attattggag aacatgggtga ttctagtgtg	360
cccttatgga gtggggtgaa tgttgctggt gttgctctga agactctgga ccctaaatta	420
ggaacggatt cagataagga aacttgaaa aatatccata aacaagttat tcaaagtgcc	480
tatgaaatta tcaagctgaa ggggtatacc tcttgggcta ttggactgtc tgtgatggat	540
ctggtaggat ccattttgaa aaatcttagg agagtgacc cagtttccac catggttaag	600
ggattatatg gaataaaaga agaactcttt ctcagtatcc cttgtgtctt ggggcggaat	660

[0004]

ggtgtctcag atgttgtgaa aattaacttg aattctgagg aggaggccct tttcaagaag	720
agtcagaaaa cacitttgaa tattcaaaag gatctaatat tttaaattaa agccttctaa	780
tgttccactg tttggagaac agaagatagc aggctgtgta ttttaaattt tgaaagtatt	840
ttcattgatc ttaaaaaata aaaacaaatt ggagacctg	879
<210> 4	
<211> 811	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 4	
ctgtcgttgg tgtattttct tgggtgcact tctgtgcctt ccttcaaagg ttctccaaat	60
gtcaactgtc aaggagcagc taattgagaa gctaattgag gatgatgaaa actcccagtg	120
taaaattact attgttgga ctggtgccgt aggcatggct tgtgctatta gtatcttact	180
gaagattaca gtgtatctgc aaactccaga atagtatttg tcacagcagg tgcaaggcag	240
caggagggag aaactgcct tgcctggtc caacgtaatg tggctataat gaaatcaatc	300
attcctgcca tagtccatta tagtcctgat tgtaaaattc ttgttgttct aaatccagtg	360
gatattttga catatatagt ctggaagata agtggcttac ctgtaactcg tgtaattgga	420
agtgggtgta atctagactc tgcccgttct cgttacctaa ttggagaaaa gttgggtgtc	480
cacccacaa gctgccatgg ttggattatt ggagaacatg gtgattctag tgggattata	540
tggaataaaa gaagaactct ttctcagtat cccttggtgc ttggggcgga atgggtgtctc	600
agatgttgtg aaaattaact tgaattctga ggaggaggcc cttttcaaga agagtgcaga	660
aacactttgg aatattcaaa aggatctaata attttaaatt aaagccttct aatgttccac	720
tgtttggaga acagaagata gcaggctgtg tattttaaat ttgaaagta ttttcattga	780
tcttaaaaaa taaaaacaaa ttggagacct g	811

[0005]

<210> 5

<211> 1047

<212> DNA

<213> 智人

<400> 5

```

ctgtcgttgg tgtatttttc tgggtgcact tctgtgcctt ccttcaaagg ttctccaaat    60
gtcaactgtc aaggagcagc taattgagaa gctaattgag gatgatgaaa actcccagtg    120
taaaattact attgttgga ctggtgccgt aggcattggct tgtgctatta gtatcttact    180
gaaggatttg gctgatgaac ttgcccttgt tgatgttgca ttggacaaac tgaagggaga    240
aatgatggat cttcagcatg gcagtccttt ctttagtact tcaaagatta cttctggaaa    300
agattacagt gtatctgcaa actccagaat agttattgtc acagcaggtg caaggcagca    360
ggaggggagaa actcgccttg ccctgggtcca acgtaatgtg gctataatga aatcaatcat    420
tcttgccata gtccattata gtcctgattg taaaattctt gttgtttcaa atccagtgga    480
tattttgaca tatatagtct ggaagataag tggcttacct gtaactcgtg taattggaag    540
tggttgtaat ctagactctg cccgtttccg ttacctaat ggagaaaagt tgggtgtcca    600
ccccacaagc tgccatgggt ggattattgg agaacatggt gattctagtg tgcccttatg    660
gagtgggggtg aatgttgctg gtgttgctct gaagactctg gaccctaaat taggaacgga    720
ttcagataag gaacactgga aaaatatcca taaacaagtt attcaaaggg attatatgga    780
ataaaagaag aactctttct cagtatccct tgtgtcttgg ggcggaatgg tgtctcagat    840
gttgtgaaaa ttaacttgaa ttctgaggag gaggcccttt tcaagaagag tgcagaaaca    900
ctttggaata ttcaaaagga tctaatttt taaattaaag ccttctaag ttccactgtt    960
tggagaacag aagatagcag gctgtgtatt ttaaattttg aaagtatttt cattgatctt   1020
aaaaaataaa aacaaattgg agacctg                                     1047

```

<210> 6

[0006]

<211> 332

<212> PRT

<213> 智人

<400> 6

Met Ser Thr Val Lys Glu Gln Leu Ile Glu Lys Leu Ile Glu Asp Asp
1 5 10 15

Glu Asn Ser Gln Cys Lys Ile Thr Ile Val Gly Thr Gly Ala Val Gly
20 25 30

Met Ala Cys Ala Ile Ser Ile Leu Leu Lys Asp Leu Ala Asp Glu Leu
35 40 45

Ala Leu Val Asp Val Ala Leu Asp Lys Leu Lys Gly Glu Met Met Asp
50 55 60

Leu Gln His Gly Ser Leu Phe Phe Ser Thr Ser Lys Ile Thr Ser Gly
65 70 75 80

Lys Asp Tyr Ser Val Ser Ala Asn Ser Arg Ile Val Ile Val Thr Ala
85 90 95

Gly Ala Arg Gln Gln Glu Gly Glu Thr Arg Leu Ala Leu Val Gln Arg
100 105 110

Asn Val Ala Ile Met Lys Ser Ile Ile Pro Ala Ile Val His Tyr Ser
115 120 125

Pro Asp Cys Lys Ile Leu Val Val Ser Asn Pro Val Asp Ile Leu Thr
130 135 140

Tyr Ile Val Trp Lys Ile Ser Gly Leu Pro Val Thr Arg Val Ile Gly
145 150 155 160

[0007]

Ser Gly Cys Asn Leu Asp Ser Ala Arg Phe Arg Tyr Leu Ile Gly Glu
165 170 175

Lys Leu Gly Val His Pro Thr Ser Cys His Gly Trp Ile Ile Gly Glu
180 185 190

His Gly Asp Ser Ser Val Pro Leu Trp Ser Gly Val Asn Val Ala Gly
195 200 205

Val Ala Leu Lys Thr Leu Asp Pro Lys Leu Gly Thr Asp Ser Asp Lys
210 215 220

Glu His Trp Lys Asn Ile His Lys Gln Val Ile Gln Ser Ala Tyr Glu
225 230 235 240

Ile Ile Lys Leu Lys Gly Tyr Thr Ser Trp Ala Ile Gly Leu Ser Val
245 250 255

Met Asp Leu Val Gly Ser Ile Leu Lys Asn Leu Arg Arg Val His Pro
260 265 270

Val Ser Thr Met Val Lys Gly Leu Tyr Gly Ile Lys Glu Glu Leu Phe
275 280 285

Leu Ser Ile Pro Cys Val Leu Gly Arg Asn Gly Val Ser Asp Val Val
290 295 300

Lys Ile Asn Leu Asn Ser Glu Glu Glu Ala Leu Phe Lys Lys Ser Ala
305 310 315 320

Glu Thr Leu Trp Asn Ile Gln Lys Asp Leu Ile Phe
325 330

[0008]

<210> 7

<211> 51

<212> PRT

<213> 智人

<400> 7

Met Ser Thr Val Lys Glu Gln Leu Ile Glu Lys Leu Ile Glu Asp Asp
1 5 10 15

Glu Asn Ser Gln Cys Lys Ile Thr Ile Val Gly Thr Gly Ala Val Gly
20 25 30

Met Ala Cys Ala Ile Ser Ile Leu Leu Lys Ile Thr Val Tyr Leu Gln
35 40 45

Thr Pro Glu
50

<210> 8

<211> 216

<212> PRT

<213> 智人

<400> 8

Met Lys Ser Ile Ile Pro Ala Ile Val His Tyr Ser Pro Asp Cys Lys
1 5 10 15

Ile Leu Val Val Ser Asn Pro Val Asp Ile Leu Thr Tyr Ile Val Trp
20 25 30

Lys Ile Ser Gly Leu Pro Val Thr Arg Val Ile Gly Ser Gly Cys Asn
35 40 45

[0009]

Leu Asp Ser Ala Arg Phe Arg Tyr Leu Ile Gly Glu Lys Leu Gly Val
50 55 60

His Pro Thr Ser Cys His Gly Trp Ile Ile Gly Glu His Gly Asp Ser
65 70 75 80

Ser Val Pro Leu Trp Ser Gly Val Asn Val Ala Gly Val Ala Leu Lys
85 90 95

Thr Leu Asp Pro Lys Leu Gly Thr Asp Ser Asp Lys Glu His Trp Lys
100 105 110

Asn Ile His Lys Gln Val Ile Gln Ser Ala Tyr Glu Ile Ile Lys Leu
115 120 125

Lys Gly Tyr Thr Ser Trp Ala Ile Gly Leu Ser Val Met Asp Leu Val
130 135 140

Gly Ser Ile Leu Lys Asn Leu Arg Arg Val His Pro Val Ser Thr Met
145 150 155 160

Val Lys Gly Leu Tyr Gly Ile Lys Glu Glu Leu Phe Leu Ser Ile Pro
165 170 175

Cys Val Leu Gly Arg Asn Gly Val Ser Asp Val Val Lys Ile Asn Leu
180 185 190

Asn Ser Glu Glu Glu Ala Leu Phe Lys Lys Ser Ala Glu Thr Leu Trp
195 200 205

Asn Ile Gln Lys Asp Leu Ile Phe
210 215

[0010]

<210> 9
<211> 45
<212> PRT
<213> 智人

<400> 9

Met Ser Thr Val Lys Glu Gln Leu Ile Glu Lys Leu Ile Glu Asp Asp
1 5 10 15

Glu Asn Ser Gln Cys Lys Ile Thr Ile Val Gly Thr Gly Ala Val Gly
20 25 30

Met Ala Cys Ala Ile Ser Ile Leu Leu Lys Trp Ile Phe
35 40 45

<210> 10
<211> 76
<212> PRT
<213> 智人

<400> 10

Met Asp Leu Val Gly Ser Ile Leu Lys Asn Leu Arg Arg Val His Pro
1 5 10 15

Val Ser Thr Met Val Lys Gly Leu Tyr Gly Ile Lys Glu Glu Leu Phe
20 25 30

Leu Ser Ile Pro Cys Val Leu Gly Arg Asn Gly Val Ser Asp Val Val
35 40 45

Lys Ile Asn Leu Asn Ser Glu Glu Glu Ala Leu Phe Lys Lys Ser Ala
50 55 60

Glu Thr Leu Trp Asn Ile Gln Lys Asp Leu Ile Phe
65 70 75

[0011]

<210> 11

<211> 109

<212> PRT

<213> 智人

<400> 11

Met Lys Ser Ile Ile Pro Ala Ile Val His Tyr Ser Pro Asp Cys Lys
1 5 10 15

Ile Leu Val Val Ser Asn Pro Val Asp Ile Leu Thr Tyr Ile Val Trp
20 25 30

Lys Ile Ser Gly Leu Pro Val Thr Arg Val Ile Gly Ser Gly Cys Asn
35 40 45

Leu Asp Ser Ala Arg Phe Arg Tyr Leu Ile Gly Glu Lys Leu Gly Val
50 55 60

His Pro Thr Ser Cys His Gly Trp Ile Ile Gly Glu His Gly Asp Ser
65 70 75 80

Ser Gly Ile Ile Trp Asn Lys Arg Arg Thr Leu Ser Gln Tyr Pro Leu
85 90 95

Cys Leu Gly Ala Glu Trp Cys Leu Arg Cys Cys Glu Asn
100 105

<210> 12

<211> 66

<212> PRT

<213> 智人

<400> 12

[0012]

Met Val Gly Leu Leu Glu Asn Met Val Ile Leu Val Gly Leu Tyr Gly
1 5 10 15

Ile Lys Glu Glu Leu Phe Leu Ser Ile Pro Cys Val Leu Gly Arg Asn
20 25 30

Gly Val Ser Asp Val Val Lys Ile Asn Leu Asn Ser Glu Glu Glu Ala
35 40 45

Leu Phe Lys Lys Ser Ala Glu Thr Leu Trp Asn Ile Gln Lys Asp Leu
50 55 60

Ile Phe
65

<210> 13
<211> 241
<212> PRT
<213> 智人

<400> 13

Met Ser Thr Val Lys Glu Gln Leu Ile Glu Lys Leu Ile Glu Asp Asp
1 5 10 15

Glu Asn Ser Gln Cys Lys Ile Thr Ile Val Gly Thr Gly Ala Val Gly
20 25 30

Met Ala Cys Ala Ile Ser Ile Leu Leu Lys Asp Leu Ala Asp Glu Leu
35 40 45

Ala Leu Val Asp Val Ala Leu Asp Lys Leu Lys Gly Glu Met Met Asp
50 55 60

Leu Gln His Gly Ser Leu Phe Phe Ser Thr Ser Lys Ile Thr Ser Gly
65 70 75 80

[0013]

Lys Asp Tyr Ser Val Ser Ala Asn Ser Arg Ile Val Ile Val Thr Ala
85 90 95

Gly Ala Arg Gln Gln Glu Gly Glu Thr Arg Leu Ala Leu Val Gln Arg
100 105 110

Asn Val Ala Ile Met Lys Ser Ile Ile Pro Ala Ile Val His Tyr Ser
115 120 125

Pro Asp Cys Lys Ile Leu Val Val Ser Asn Pro Val Asp Ile Leu Thr
130 135 140

Tyr Ile Val Trp Lys Ile Ser Gly Leu Pro Val Thr Arg Val Ile Gly
145 150 155 160

Ser Gly Cys Asn Leu Asp Ser Ala Arg Phe Arg Tyr Leu Ile Gly Glu
165 170 175

Lys Leu Gly Val His Pro Thr Ser Cys His Gly Trp Ile Ile Gly Glu
180 185 190

His Gly Asp Ser Ser Val Pro Leu Trp Ser Gly Val Asn Val Ala Gly
195 200 205

Val Ala Leu Lys Thr Leu Asp Pro Lys Leu Gly Thr Asp Ser Asp Lys
210 215 220

Glu His Trp Lys Asn Ile His Lys Gln Val Ile Gln Arg Asp Tyr Met
225 230 235 240

Glu

[0014]

<210> 14
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 14

Gly Ala Val Gly Met Ala Cys Ala Ile Ser Ile Leu Leu Lys Ile Thr
1 5 10 15

Val Tyr Leu Gln Thr Pro Glu
20

<210> 15
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 15

Gly Ala Val Gly Met Ala Cys Ala Ile Ser Ile Leu Leu Lys Trp Ile
1 5 10 15

Phe

<210> 16
<211> 39
<212> PRT
<213> 智人

<400> 16

Gly Trp Ile Ile Gly Glu His Gly Asp Ser Ser Gly Ile Ile Trp Asn
1 5 10 15

Lys Arg Arg Thr Leu Ser Gln Tyr Pro Leu Cys Leu Gly Ala Glu Trp
20 25 30

[0015]

Cys Leu Arg Cys Cys Glu Asn
35

<210> 17
<211> 23
<212> PRT
<213> 智人

<400> 17

Met Val Gly Leu Leu Glu Asn Met Val Ile Leu Val Gly Leu Tyr Gly
1 5 10 15

Ile Lys Glu Glu Leu Phe Leu
20

<210> 18
<211> 17
<212> PRT
<213> 智人

<400> 18

Glu His Trp Lys Asn Ile His Lys Gln Val Ile Gln Arg Asp Tyr Met
1 5 10 15

Glu

<210> 19
<211> 2168
<212> DNA
<213> 智人

<400> 19

gaatccgcgg ggagggcaca acagctgcta cctgaacagt ttctgaccca acagttaccc 60

[0016]

agcgccggac tcgctgcgcc ccggcggctc tagggacccc cggcgcctac acttagctcc	120
gcgcccgaga gaatgttgga ccgacgacac aagacctcag acttgtgtta ttctagcagc	180
tgaacacacc ccaggctctt ctgaccggca gtggctctgg aagcagtctg gtgtatagag	240
ttatggattc actaccagat tctactgtat gctcttgaca actatgacca caatgggtcca	300
cccacaaatg aattatcagg agtgaaccca gaggcacgta tgaatgaaag tcctgatccg	360
actgacctgg cgggagtcac cattgagctc ggccccaatg acagtccaca gacaagtga	420
tttaaaggag caaccgagga ggcacctgcg aaagaaagcc cacacacaag tgaatttaaa	480
ggagcagccc ggggtgcacc tatcagtga agtgtgttag cacgactttc caagtttgaa	540
gttgaagatg ctgaaaatgt tgcttcatat gacagcaaga ttaagaaaat tgtgcattca	600
attgtatcat cctttgcatt tggactattt ggagttttcc tggctttact ggatgtcact	660
ctcatccttg ccgacctaat ttctactgac agcaaacttt atattccttt ggagtatcgt	720
tctatttctc tagctattgc cttatttttt ctcatggatg ttcttcttcg agtatttgta	780
gaaaggagac agcagtattt ttctgactta tttaacattt tagatactgc cattattgtg	840
attcttctgc tggttgatgt cgtttacatt ttttttgaca ttaagttgct taggaatatt	900
cccagatgga cacatttact tcgacttcta cgacttatta ttctgttaag aatttttcat	960
ctgtttcatc aaaaaagaca acttgaaaag ctgataagaa ggcgggtttc agaaaacaaa	1020
aggcgataca caagggatgg atttgacctg gacctcactt acgttacaga acgtattatt	1080
gctatgtcat ttccatcttc tggaaggcag tctttctata gaaatccaat caaggaagtt	1140
gtgcgggttc tagataagaa acaccgaaac cactatcgag tctacaatct atgcagtga	1200
agagcttacg atcctaagca cttccataat agggctcgta gaatcatgat tgatgatcat	1260
aatgtcccca ctctacatca gatgggtggtt ttcaccaagg aagtaaatga gtggatggct	1320
caagatcttg aaaacatcgt agcgattcac tgtaaaggag gcacagatag aacaggaact	1380

[0017]

atggtttgtg ccttccttat tgcctctgaa atatgttcaa ctgcaaagga aagcctgtat	1440
tattttggag aaaggcgaac agataaaacc cacagcgaaa aatttcaggg agtagaaact	1500
ccttctcaga agagatatgt tgcataTTTT gcacaagtga aacatctcta caactggaat	1560
ctccctccaa gacggatact ctttataaaa cacttcatta tttattcgat tcctcgttat	1620
gtacgtgatc taaaaatcca aatagaaatg gagaaaaagg ttgtcttttc cactatttca	1680
ttaggaaaat gttcgggtact tgataacatt acaacagaca aaatattaat tgatgtattc	1740
gacgggccac ctctgtatga tgatgtgaaa gtgcagtttt tctattcgaa tcttcctaca	1800
tactatgaca attgttcatt ttacttctgg ttgcacacat cttttattga aaataacagg	1860
ctttatctac caaaaaatga attggataat ctacataaac aaaaagcacg gagaatttat	1920
ccatcagatt ttgccgtgga gatacttttt ggcgagaaaa tgacttccag tgatgttgta	1980
gctggatccg attaagtata gctccccctt ccccttctgg gaaagaatta tgttctttcc	2040
aaccctgcc aatgttcata taccctaaat ctatcctaaa tgttcccttg aagtatttat	2100
ttatgtttat atatgtttat acatgttctt caataaatct attacatata tataaaaaaa	2160
aaaaaaaa	2168

<210> 20

<211> 2114

<212> DNA

<213> 智人

<400> 20

gaatccgcgg ggagggcaca acagctgcta cctgaacagt ttctgaccca acagttaccc	60
---	----

agcgccggac tcgtgcgcc ccggcggtc tagggacccc cggcgcctac acttagctcc	120
---	-----

gcgccgaga gaatgttga ccgacgacac aagacctcag acttgtgtta ttctagcagc	180
---	-----

tgaacacacc ccaggctctt ctgaccgca gtggctcttg aagcagtctg gtgtatagag	240
--	-----

ttatggattc actaccagat tctactgtat gctcttgaca actatgacca caatggacca	300
---	-----

[0018]

cccacaaatg aattatcagg agtgaaccca gaggcacgta tgaatgaaag tctgatccg	360
actgacctgg cgggagtcac cattgagctc ggccccaatg acagtccaca gacaagtga	420
tttaaaggag caaccgagga ggcacctgcg aaagaaagtg tgttagcacg actttccaag	480
tttgaagttg aagatgctga aaatgttgct tcatatgaca gcaagattaa gaaaattgtg	540
cattcaattg tatcatcctt tgcatttggc ctatttggag ttttcctggt cttactggat	600
gtcactctca tccttgcgga cctaattttc actgacagca aactttatat tccttggag	660
tatcggttcta tttctctagc tattgcccta tttttctca tggatgttct tcttcgagta	720
ttttagaaaa ggagacagca gtatttttct gacttattta acattttaga tactgccatt	780
atttgatttc ttctgctggt tgatgtcgtt tacatttttt ttgacattaa gttgcttagg	840
aatattccca gatggacaca tttacttcca cttctacgac ttattattct gttagaatt	900
tttcatctgt ttcataaaaa aagacaactt gaaaagctga taagaaggcg ggtttcagaa	960
aacaaaaggc gatacacaag ggatggattt gacctagacc tcacttacgt tacagaacgt	1020
attattgcta tgcatttcc atcttctgga aggcagtctt tctatagaaa tccaatcaag	1080
gaagttgtgc ggtttctaga taagaaacac cgaaaccact atcgagtcta caatctatgc	1140
agtgaagag cttacgatcc taagcattc cataataggg tcgttagaat catgattgat	1200
gatcataatg tccccactct acatcagatg gtggttttca ccaaggaagt aaatgagtgg	1260
atggctcaag atcttgaaaa catcgtagcg attcactgta aaggaggcac agatagaaca	1320
ggaactatgg tttgtgcctt cttatttgc tctgaaatat gttcaactgc aaaggaaagc	1380
ctgtattatt ttggagaaag gcgaacagat aaaaccaca gcgaaaaatt tcaggagta	1440
gaaactcctt ctcagaagag atatgttgca tatTTTgcac aagtgaaca tctctacaac	1500
tggaatctcc ctccaagacg gatactcttt ataaacact tcattattta ttcgattcct	1560
cgttatgtac gtgatctaaa aatccaaata gaaatggaga aaaaggttgt cttttccact	1620

[0019]

atttcattag gaaaatgttc ggtacttgat aacattacaa cagacaaaat attaattgat	1680
gtattcgacg gtccacctct gtatgatgat gtgaaagtgc agtttttcta ttcgaatctt	1740
cctacatact atgacaattg ctcatTTTtac ttctggttgc acacatcttt tattgaaaaat	1800
aacaggcttt atctacaaaa aaatgaattg gataatctac ataaacaaaa agcacggaga	1860
atttatccat cagattttgc cgtggagata ctttttggcg agaaaatgac ttccagtgat	1920
gttgtagctg gatccgatta agtatagctc ccccttcccc ttctgggaaa gaattatgtt	1980
ctttccaacc ctgccacatg ttcatatatc ctaaacttat cctaaatgtt cccttgaagt	2040
atttatttat gtttatatat gtttatacat gttcttcaat aaatctatta catatatata	2100
aaaaaaaaaa aaaa	2114

<210> 21
 <211> 2222
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 21	
gaatccgcgg ggagggcaca acagctgcta cctgaacagt ttctgacca acagttacce	60
agcgccggac tcgtgcgcc ccggcggtc tagggacccc cggcgccctac acttagctcc	120
gcgcccgaga gaatgttga cgcacgacac aagacctcag acttgtgtta ttctagcagc	180
tgaacacacc ccaggtctt ctgaccggca gtggctctgg aagcagtctg gtgtatagag	240
ttatggattc actaccagat tctactgtat gctcttgaca actatgacca caatggtcca	300
cccacaaatg aattatcagg agtgaaccca gaggcacgta tgaatgaaag tcctgatccg	360
actgacctgg cgggagtcac cattgagctc ggccccaatg acagtccaca gacaagtga	420
tttaaaggag caaccgagga ggcacctgcg aaagaaagcc cacacacaag tgaatttaaa	480
ggagcagccc ggggtgtcacc tatcagtga agtgtgttag cagcacttc caagtttgaa	540

[0020]

gttgaagatg ctgaaaatgt tgcctcatat gacagcaaga ttaagaaaat tgtgcattca	600
attgtatcat cctttgcatt tggactattt ggagttttcc tggctcttact ggaatgcact	660
ctcatccttg ccgacctaat tttcactgac agcaaaacttt atattccttt ggagtatcgt	720
tctattttctc tagctattgc cttatTTTT ctcattggatg ttcttcttcg agtatttgta	780
gaaaggagac agcagtatTT tttcacttta ttttaacattt tagatactgc cattattgtg	840
attcttctgc tggttgatgt cgtttacatt ttttttgaca ttaagttgct taggaatatt	900
cccagatgga cacatttact tcgacttcta cgacttatta ttctgttaag aatttttcat	960
ctgtttcatc aaaaaagaca acttgaaaag ctgataagaa ggcgggtttc agaaaacaaa	1020
aggcgataca caagggatgg atttgacctt gacctcactt acgttacaga acgtattatt	1080
gctatgtcat ttccatcttc tggaaggcag tctttctata gaaatccaat caaggaagtt	1140
gtgcggtttc tagataagaa acaccgaaac cactatcgag tctacaactt atgcagtatg	1200
tacattactc tatattgtgc tactgtagat agaaaacaga ttactgcacg tgaaagagct	1260
tacgatccta agcacttcca taatagggtc gttagaatca tgattgatga tcataatgc	1320
cccactctac atcagatggg ggttttcacc aaggaagtaa atgagtggat ggetcaagat	1380
cttgaaaaca tcgtagcgat tcaactgtaa ggaggcacag atagaacagg aactatgggt	1440
tgtgccttcc ttattgcctc tgaaatatgt tcaactgcaa aggaaagcct gtattatttt	1500
ggagaaaggc gaacagataa aaccacagc gaaaaatttc agggagtaga aactccttct	1560
cagaagagat atgttgcata ttttgacaa gtgaaacatc tctacaactg gaatctccct	1620
ccaagacgga tactctttat aaaacacttc attatttatt cgattcctcg ttatgtacgt	1680
gatctaaaaa tccaaataga aatggagaaa aaggttgtct tttccactat ttcattagga	1740
aaatgttcgg tacttgataa cattacaaca gacaaaatat taattgatgt attcgacggt	1800
ccacctctgt atgatgatgt gaaagtgcag tttttctatt cgaatcttcc tacatactat	1860

[0021]

```

gacaattgct catTTtactt ctggttgac acatcttita ttgaaaataa caggctttat 1920

ctacaaaaaa atgaattgga taatctacat aaacaaaaag cacggagaat ttatccatca 1980

gatTTtgccg tggagatact ttttggcgag aaaatgactt ccagtgatgt tgtagctgga 2040

tccgattaag tatagctccc cttcccccct ctgggaaaga attatgttct ttccaaccct 2100

gccacatggt catatatcct aaatctatcc taaatgttcc cttgaagtat ttatttatgt 2160

ttatatatgt ttatacatgt tcttcaataa atctattaca tatatataaa aaaaaaaaaa 2220

aa 2222

```

<210> 22

<211> 551

<212> PRT

<213> 智人

<400> 22

```

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu
1           5           10           15

```

```

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr
          20           25           30

```

```

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Pro His Thr Ser Glu Phe Lys Gly
          35           40           45

```

```

Ala Ala Arg Val Ser Pro Ile Ser Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser
          50           55           60

```

```

Lys Phe Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys
65           70           75           80

```

```

Ile Lys Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu
          85           90           95

```

[0022]

Phe Gly Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp
 100 105 110

Leu Ile Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser
 115 120 125

Ile Ser Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg
 130 135 140

Val Phe Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile
 145 150 155 160

Leu Asp Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr
 165 170 175

Ile Phe Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His
 180 185 190

Leu Leu Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu
 195 200 205

Phe His Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser
 210 215 220

Glu Asn Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr
 225 230 235 240

Tyr Val Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg
 245 250 255

Gln Ser Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp
 260 265 270

[0023]

Lys Lys His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Glu Arg
275 280 285

Ala Tyr Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile Met Ile
290 295 300

Asp Asp His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe Thr Lys
305 310 315 320

Glu Val Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val Ala Ile
325 330 335

His Cys Lys Gly Gly Thr Asp Arg Thr Gly Thr Met Val Cys Ala Phe
340 345 350

Leu Ile Ala Ser Glu Ile Cys Ser Thr Ala Lys Glu Ser Leu Tyr Tyr
355 360 365

Phe Gly Glu Arg Arg Thr Asp Lys Thr His Ser Glu Lys Phe Gln Gly
370 375 380

Val Glu Thr Pro Ser Gln Lys Arg Tyr Val Ala Tyr Phe Ala Gln Val
385 390 395 400

Lys His Leu Tyr Asn Trp Asn Leu Pro Pro Arg Arg Ile Leu Phe Ile
405 410 415

Lys His Phe Ile Ile Tyr Ser Ile Pro Arg Tyr Val Arg Asp Leu Lys
420 425 430

Ile Gln Ile Glu Met Glu Lys Lys Val Val Phe Ser Thr Ile Ser Leu
435 440 445

[0024]

Gly Lys Cys Ser Val Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile Leu Ile
 450 455 460

Asp Val Phe Asp Gly Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val Gln Phe
 465 470 475 480

Phe Tyr Ser Asn Leu Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe Tyr Phe
 485 490 495

Trp Leu His Thr Ser Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu Pro Lys
 500 505 510

Asn Glu Leu Asp Asn Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile Tyr Pro
 515 520 525

Ser Asp Phe Ala Val Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr Ser Ser
 530 535 540

Asp Val Val Ala Gly Ser Asp
 545 550

<210> 23

<211> 533

<212> PRT

<213> 智人

<400> 23

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu
 1 5 10 15

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr
 20 25 30

[0025]

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser Lys Phe
35 40 45

Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys Ile Lys
50 55 60

Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu Phe Gly
65 70 75 80

Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp Leu Ile
85 90 95

Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser Ile Ser
100 105 110

Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg Val Phe
115 120 125

Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile Leu Asp
130 135 140

Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr Ile Phe
145 150 155 160

Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His Leu Leu
165 170 175

Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu Phe His
180 185 190

Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser Glu Asn
195 200 205

[0026]

Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr Tyr Val
210 215 220

Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg Gln Ser
225 230 235 240

Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp Lys Lys
245 250 255

His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Glu Arg Ala Tyr
260 265 270

Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile Met Ile Asp Asp
275 280 285

His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe Thr Lys Glu Val
290 295 300

Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val Ala Ile His Cys
305 310 315 320

Lys Gly Gly Thr Asp Arg Thr Gly Thr Met Val Cys Ala Phe Leu Ile
325 330 335

Ala Ser Glu Ile Cys Ser Thr Ala Lys Glu Ser Leu Tyr Tyr Phe Gly
340 345 350

Glu Arg Arg Thr Asp Lys Thr His Ser Glu Lys Phe Gln Gly Val Glu
355 360 365

Thr Pro Ser Gln Lys Arg Tyr Val Ala Tyr Phe Ala Gln Val Lys His
370 375 380

[0027]

Leu Tyr Asn Trp Asn Leu Pro Pro Arg Arg Ile Leu Phe Ile Lys His
 385 390 395 400

Phe Ile Ile Tyr Ser Ile Pro Arg Tyr Val Arg Asp Leu Lys Ile Gln
 405 410 415

Ile Glu Met Glu Lys Lys Val Val Phe Ser Thr Ile Ser Leu Gly Lys
 420 425 430

Cys Ser Val Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile Leu Ile Asp Val
 435 440 445

Phe Asp Gly Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val Gln Phe Phe Tyr
 450 455 460

Ser Asn Leu Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe Tyr Phe Trp Leu
 465 470 475 480

His Thr Ser Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu Pro Lys Asn Glu
 485 490 495

Leu Asp Asn Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile Tyr Pro Ser Asp
 500 505 510

Phe Ala Val Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr Ser Ser Asp Val
 515 520 525

Val Ala Gly Ser Asp
 530

<210> 24

<211> 569

<212> PRT

[0028]

<213> 智人

<400> 24

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu
1 5 10 15

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr
20 25 30

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Pro His Thr Ser Glu Phe Lys Gly
35 40 45

Ala Ala Arg Val Ser Pro Ile Ser Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser
50 55 60

Lys Phe Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys
65 70 75 80

Ile Lys Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu
85 90 95

Phe Gly Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp
100 105 110

Leu Ile Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser
115 120 125

Ile Ser Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg
130 135 140

Val Phe Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile
145 150 155 160

[0029]

Leu Asp Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr
 165 170 175

Ile Phe Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His
 180 185 190

Leu Leu Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu
 195 200 205

Phe His Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser
 210 215 220

Glu Asn Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr
 225 230 235 240

Tyr Val Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg
 245 250 255

Gln Ser Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp
 260 265 270

Lys Lys His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Met Tyr
 275 280 285

Ile Thr Leu Tyr Cys Ala Thr Val Asp Arg Lys Gln Ile Thr Ala Arg
 290 295 300

Glu Arg Ala Tyr Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile
 305 310 315 320

Met Ile Asp Asp His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe
 325 330 335

[0030]

Thr Lys Glu Val Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val
340 345 350

Ala Ile His Cys Lys Gly Gly Thr Asp Arg Thr Gly Thr Met Val Cys
355 360 365

Ala Phe Leu Ile Ala Ser Glu Ile Cys Ser Thr Ala Lys Glu Ser Leu
370 375 380

Tyr Tyr Phe Gly Glu Arg Arg Thr Asp Lys Thr His Ser Glu Lys Phe
385 390 395 400

Gln Gly Val Glu Thr Pro Ser Gln Lys Arg Tyr Val Ala Tyr Phe Ala
405 410 415

Gln Val Lys His Leu Tyr Asn Trp Asn Leu Pro Pro Arg Arg Ile Leu
420 425 430

Phe Ile Lys His Phe Ile Ile Tyr Ser Ile Pro Arg Tyr Val Arg Asp
435 440 445

Leu Lys Ile Gln Ile Glu Met Glu Lys Lys Val Val Phe Ser Thr Ile
450 455 460

Ser Leu Gly Lys Cys Ser Val Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile
465 470 475 480

Leu Ile Asp Val Phe Asp Gly Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val
485 490 495

Gln Phe Phe Tyr Ser Asn Leu Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe
500 505 510

[0031]

Tyr Phe Trp Leu His Thr Ser Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu
515 520 525

Pro Lys Asn Glu Leu Asp Asn Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile
530 535 540

Tyr Pro Ser Asp Phe Ala Val Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr
545 550 555 560

Ser Ser Asp Val Val Ala Gly Ser Asp
565

<210> 25
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 25
tgccgtaggc atggcttgtg c 21

<210> 26
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 26
caacatctga gacaccattc c 21

<210> 27
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 27
tggatgtcac tctcatcctt g 21

[0032]

<210> 28	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 28	
ccatagttcc tgttctatct g	21
<210> 29	
<211> 2192	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 29	
agctcagctg ggagcgcaga ggetcacgcc tgtaatccca tcatttgctt aggtctgatc	60
aatctgctcc acacaatttc tcagtgatcc tctgcatctc tgcctacaag ggccctccctg	120
acaccaagt tcataattgct cagaaacagt gaacttgagt ttttcgtttt accttgatct	180
ctctctgaca aagaaatcca gatgatgcaa cacctgatga agacaataca tggaaaatga	240
cagtcttgga aataactttg gctgtcatcc tgactctact gggacttgcc atcctggcta	300
ttttgttaac aagatgggca cgacgtaagc aaagtgaat gtatatctcc agatacagtt	360
cagaacaaag tgctagactt ctggactatg aggatggtag aggatcccg catgcatatc	420
aacacaaagt gacacttcat atgataaccg agagagatcc aaaaagagat tacacacat	480
caaccaactc tctagcactg tctcgatcaa gtattgcttt acctcaagga tccatgagta	540
gtataaaatg tttacaaaca actgaagaac ctcttccag aactgcagga gccatgatgc	600
aattcacagc cctattcccg gagctacagg acctatcaag ctctctcaaa aaaccattgt	660
gcaaactcca ggacctattg tacaatatct ggatccaatg tcagatcgca tctcacacaa	720
tcaactggta ccttcagcac ccgcggtcac ccatggcacc cataataatt tcacagagaa	780
ccgcaagtca gctggcagca cctataagaa tacctcaagt tcacactatg gacagttctg	840
gaaaaatcac actgactcct gtggttatat taacaggta catggacgaa gaacttcgaa	900

[0033]

aaaaatcttg ttccaaaatc cagattctaa aatgtggagg cactgcaagg tctcagatag	960
ccgagaagaa aacaaggaag caactaaaga atgacatcat atttacgaat tctgtagaat	1020
ccttgaaatc agcacacata aaggagccag aaagagaagg aaaaggcact gatttagaga	1080
aagacaaaat aggaatggag gtcaaggtag acagtgacgc tggaatacca aaaagacagg	1140
aaacccaact aaaaatcagt gaagatgagt ataccacaag gacagggagc ccaaataaag	1200
aaaagtgtgt cagatgtacc aagaggacag gagtccaagt aaagaagagt gagtcaggtg	1260
tcccaaaagg acaagaagcc caagtaacga agagtgggtt ggttgactg aaaggacagg	1320
aagcccaggt agagaagagt gagatgggtg tgccaagaag acaggaatcc caagtaaaga	1380
agagtcagtc tgggtgtctca aaggacagg aagcccaggt aaagaagagg gagtcagttg	1440
tactgaaagg acaggaagcc caggtagaga agagtgagtt gaaggtacca aaaggacaag	1500
aaggccaagt agagaagact gaggcagatg tgccaaagga acaagaggtc caagaaaaga	1560
agagtgaggc aggtgtactg aaaggaccag aatccaagt aaagaacact gaggtgagtg	1620
taccagaaac actggaatcc caagtaaaga agagtgagtc aggtgtacta aaaggacagg	1680
aagcccaaga aaagaaggag agttttgagg ataaaggaaa taatgataaa gaaaaggaga	1740
gagatgcaga gaaagatcca aataaaaaag aaaaaggtga caaaaacaca aaagtgaca	1800
aaggaaagga caaagttaaa ggaaagagag aatcagaaat caatggtgaa aaatcaaaag	1860
gctcgaaaag gcgaaggcaa atacaggaag gaagtacaac aaaaaagtgg aagagtaagg	1920
ataaatTTTT taaaggcca taagacaagt gattattatg attcccatc tccagataca	1980
aaccatatcc cagccattgc ctaaacagat tacaattata aaatcccttt catcttcata	2040
tcacagtttc tgctcttcag aagtttcacc ctttttaatc tctcagccac aaacctcagt	2100
tccaatattg ttataagtta agacgtatat gattccgtca agaaagactg gatactttct	2160
gaagtaaaac attttaatta aagaaaaaaa aa	2192

[0034]

<210> 30
<211> 568
<212> PRT
<213> 智人

<400> 30

Met Thr Val Leu Glu Ile Thr Leu Ala Val Ile Leu Thr Leu Leu Gly
1 5 10 15

Leu Ala Ile Leu Ala Ile Leu Leu Thr Arg Trp Ala Arg Arg Lys Gln
20 25 30

Ser Glu Met Tyr Ile Ser Arg Tyr Ser Ser Glu Gln Ser Ala Arg Leu
35 40 45

Leu Asp Tyr Glu Asp Gly Arg Gly Ser Arg His Ala Tyr Gln His Lys
50 55 60

Val Thr Leu His Met Ile Thr Glu Arg Asp Pro Lys Arg Asp Tyr Thr
65 70 75 80

Pro Ser Thr Asn Ser Leu Ala Leu Ser Arg Ser Ser Ile Ala Leu Pro
85 90 95

Gln Gly Ser Met Ser Ser Ile Lys Cys Leu Gln Thr Thr Glu Glu Pro
100 105 110

Pro Ser Arg Thr Ala Gly Ala Met Met Gln Phe Thr Ala Leu Phe Pro
115 120 125

Glu Leu Gln Asp Leu Ser Ser Ser Leu Lys Lys Pro Leu Cys Lys Leu
130 135 140

[0035]

Gln Asp Leu Leu Tyr Asn Ile Trp Ile Gln Cys Gln Ile Ala Ser His
145 150 155 160

Thr Ile Thr Gly His Leu Gln His Pro Arg Ser Pro Met Ala Pro Ile
165 170 175

Ile Ile Ser Gln Arg Thr Ala Ser Gln Leu Ala Ala Pro Ile Arg Ile
180 185 190

Pro Gln Val His Thr Met Asp Ser Ser Gly Lys Ile Thr Leu Thr Pro
195 200 205

Val Val Ile Leu Thr Gly Tyr Met Asp Glu Glu Leu Arg Lys Lys Ser
210 215 220

Cys Ser Lys Ile Gln Ile Leu Lys Cys Gly Gly Thr Ala Arg Ser Gln
225 230 235 240

Ile Ala Glu Lys Lys Thr Arg Lys Gln Leu Lys Asn Asp Ile Ile Phe
245 250 255

Thr Asn Ser Val Glu Ser Leu Lys Ser Ala His Ile Lys Glu Pro Glu
260 265 270

Arg Glu Gly Lys Gly Thr Asp Leu Glu Lys Asp Lys Ile Gly Met Glu
275 280 285

Val Lys Val Asp Ser Asp Ala Gly Ile Pro Lys Arg Gln Glu Thr Gln
290 295 300

Leu Lys Ile Ser Glu Asp Glu Tyr Thr Thr Arg Thr Gly Ser Pro Asn
305 310 315 320

[0036]

Lys Glu Lys Cys Val Arg Cys Thr Lys Arg Thr Gly Val Gln Val Lys
325 330 335

Lys Ser Glu Ser Gly Val Pro Lys Gly Gln Glu Ala Gln Val Thr Lys
340 345 350

Ser Gly Leu Val Val Leu Lys Gly Gln Glu Ala Gln Val Glu Lys Ser
355 360 365

Glu Met Gly Val Pro Arg Arg Gln Glu Ser Gln Val Lys Lys Ser Gln
370 375 380

Ser Gly Val Ser Lys Gly Gln Glu Ala Gln Val Lys Lys Arg Glu Ser
385 390 395 400

Val Val Leu Lys Gly Gln Glu Ala Gln Val Glu Lys Ser Glu Leu Lys
405 410 415

Val Pro Lys Gly Gln Glu Gly Gln Val Glu Lys Thr Glu Ala Asp Val
420 425 430

Pro Lys Glu Gln Glu Val Gln Glu Lys Lys Ser Glu Ala Gly Val Leu
435 440 445

Lys Gly Pro Glu Ser Gln Val Lys Asn Thr Glu Val Ser Val Pro Glu
450 455 460

Thr Leu Glu Ser Gln Val Lys Lys Ser Glu Ser Gly Val Leu Lys Gly
465 470 475 480

Gln Glu Ala Gln Glu Lys Lys Glu Ser Phe Glu Asp Lys Gly Asn Asn
485 490 495

[0037]

Asp Lys Glu Lys Glu Arg Asp Ala Glu Lys Asp Pro Asn Lys Lys Glu
500 505 510

Lys Gly Asp Lys Asn Thr Lys Gly Asp Lys Gly Lys Asp Lys Val Lys
515 520 525

Gly Lys Arg Glu Ser Glu Ile Asn Gly Glu Lys Ser Lys Gly Ser Lys
530 535 540

Arg Arg Arg Gln Ile Gln Glu Gly Ser Thr Thr Lys Lys Trp Lys Ser
545 550 555 560

Lys Asp Lys Phe Phe Lys Gly Pro
565

<210> 31

<211> 1686

<212> DNA

<213> 智人

<400> 31

atgacagtct tggaaataac ttggtctgtc atcctgactc tactgggact tgccatcctg 60

gctatittgt taacaagatg ggcacgatgt aagcaaagtg aaatgtatat ctccagatac 120

agttcagaac aaagtgctag acttctggac tatgaggatg gtagaggatc ccgacatgca 180

tattcaacac aaagtgcacac ttcatatgat aaccgagaga gatccaaaag agattacaca 240

ccatcaacca actctctagc actgtctcga tcaagtattg ctttacctca aggatccatg 300

agtagtataa aatgtttaca aacaactgaa gaacctcctt ccagaactgc aggagccatg 360

atgcaattca cagcccctat tcccggagct acaggaccta tcaagctctc tcaaaaaacc 420

attgtgcaaa ctccaggacc tattgtacaa tatcctggat ccaatgctgg tccaccttca 480

gcaccccgcg gtccacccat ggcacccata ataatttcac agagaaccgc aagtcagctg 540

[0038]

gcagcaccta taataatttc gcagagaact gcaagaatac ctcaagttca cactatggac	600
agttcttgaa aaatcacact gactcctgtg gttatattaa caggttacat ggatgaagaa	660
cttgcaaaaa aatcttgttc caaaatccag attctaaaat gtggaggcac tgcaaggctc	720
cagaatagcc gagaagaaaa caaggaagca ctaaagaatg acatcatatt tacgaattct	780
gtagaatcct tgaaatcagc acacataaag gagccagaaa gagaaggaaa aggcactgat	840
ttagagaaag acaaaatagg aatggaggtc aaggtagaca gtgacgctgg aataccaaaa	900
agacaggaaa cccaactaaa aatcagtgag atgagtatac cacaaggaca gggagcccaa	960
ataaagaaaa gtgtgtcaga tgtaccaaga ggacaggagt cccaagtaaa gaagagtga	1020
tcagggtgcc caaaaggaca agaagcccaa gtaacgaaga gtgggttggt tgtactgaaa	1080
ggacaggaag ccaggtaga gaagagtga atgggtgtgc caagaagaca ggaatcccaa	1140
gtaaagaaga gtcagtctgg tgtctcaaag ggacaggaag ccaggtaaa gaagagggag	1200
tcagttgtac tgaaaggaca ggaagcccag gtagagaaga gtgagttgaa ggtacaaaa	1260
ggacaagaag gccaaagtaga gaagactgag gcagatgtgc caaaggaaca agaggtccaa	1320
gaaaagaaga gtgaggcagg tgtactgaaa ggaccagaat cccaagtaaa gaacactgag	1380
gtgagtgtac cagaaacact ggaatcccaa gtaaagaaga gtgagtcagg tgtactaaaa	1440
ggacaggaag cccaagaaaa gaaggagagt tttgaggata aaggaaataa tgataaagaa	1500
aaggagagag atgcagagaa agatccaaat aaaaaagaaa aaggtgacaa aaacacaaaa	1560
ggtgacaaag gaaaggacaa agttaaagga aagagagaat cagaaatcaa tggtgaaaaa	1620
tcaaaaggct cgaaaagggc gaaggcaa atacaggaagga agtacaacaa aaaagtggaa	1680
gagtaa	1686

<210> 32

<211> 1710

[0039]

<212> DNA

<213> 智人

<400> 32

atgacagtct tggaaataac ttggctgtc atcctgactc tactgggact tgccatcctg	60
gctattttgt taacaagatg ggcacgacgt aagcaaagtg aaatgcatat ctccagatac	120
agttcagaac aaagtgctag acttctggac tatgaggatg gtagaggatc ccgacatgca	180
tattcaacac aaagtgcac ttcattgat aaccgagaga gatccaaaag agattacaca	240
ccatcaacca actctctagc actgtctega tcaagtattg cttacctca aggatccatg	300
agtagtataa aatgtttaca aacaactgaa gaacttcctt ccagaactgc aggagccatg	360
atgcaattca cagcccctat tcccggagct acaggaccta tcaagctctc tcaaaaaacc	420
attgtgcaaa ctccaggacc tattgtacaa tatcctggac ccaatgtcag atcgcatcct	480
cacacaatca ctggtccacc ttcagcacc cgcggtccac ccatggcacc cataataatt	540
tcacagagaa ccgcaagtca gctggcagca cctataataa tttcgagag aactgcaaga	600
atacctcaag ttcacactat ggacagttct ggaaaaacca cactgactcc tgtggttata	660
ttacagggtt acatggatga agaacttgca aaaaaatctt gttccaaaat ccagattcta	720
aaatgtggag gcactgcaag gtctcagaat agccgagaag aaaacaagga agcactaaag	780
aatgacatca tattttacgaa ttctgtagaa tccttgaaat cagcacacat aaaggagcca	840
gaaagagaag gaaaaggcac tgatttagag aaagacaaaa taggaatgga ggtcaaggta	900
gacagtgcag ctggaatacc aaaaagacag gaaacccaac taaaaatcag tgagatgagt	960
ataccacaag gacagggagc ccaataaag aaaagtgtgt cagatgtacc aagaggacag	1020
gagtcccaag taaagaagag tgagtcaggt gtcccaaaag gacaagaagc ccaagtaacg	1080
aagagtgggt tggtgtact gaaaggacag gaagcccagg tagagaagag tgagatgggt	1140
gtccaagaa gacaggaatc ccaagtaaag aagagtcagt ctggtgtctc aaaggacag	1200

[0040]

gaagcccagg taaagaagag ggagtcagtt gtactgaaag gacaggaagc ccaggtagag 1260

aagagtgagt tgaaggtacc aaaaggacaa gaaggccaag tagagaagac tgaggcagat 1320

gtgccaaagg aacaagaggt ccaagaaaag aagagtgagg caggtgtact gaaaggacca 1380

gaatcccaag taaagaacac tgagggtgagt gtaccagaaa cactggaatc ccaagtaaag 1440

aagagtgagt caggtgtact aaaaggacag gaagcccaag aaaagaagga gagttttgag 1500

gataaaggaa ataatgataa agaaaaggag agagatgcag agaaagatcc aaataaaaaa 1560

gaaaaaggtg acaaaaacac aaaaggtgac aaaggaaagg acaaagttaa aggaaagaga 1620

gaatcagaaa tcaatggtga aaaatcaaaa ggctcgaaaa gggcgaaggc aaatacagga 1680

aggaagtaca acaaaaaagt ggaagagtaa 1710

<210> 33

<211> 1665

<212> DNA

<213> 智人

<400> 33

atgacagtct tggaaataac tttggctgtc atcctgactc tactgggact tgccatcctg 60

gctattttgt taacaagatg ggcacgatgt aagcaaagtg aaatgtatat ctccagatac 120

agttcagaac aaagtgctag acttctggac tatgaggatg gtagaggatc cgcacatgca 180

tattcaacac aaagtgagag atccaaaaga gattacacac catcaaccaa ctctctagca 240

ctgtctcgat caagtattgc ttacacctca ggatccatga gtagtataaa atgtttacaa 300

acaactgaag aacctccttc cagaactgca ggagccatga tgcaattcac agcccctatt 360

cccggagcta caggacctat caagctctct caaaaaacca ttgtgcaaac tccaggacct 420

attgtacaat atcctggatc caatgtgtgt ccaccttcag caccgccggg tccacccatg 480

gcaccataa taatttcaca gagaaccgca agtcagctgg cagcacctat aataatttcg 540

cagagaactg caagaatacc tcaagttcac actatggaca gttctggaaa aatcacactg 600

[0041]

actcctgtgg ttatattaac aggttacatg gatgaagaac ttgcaaaaa atcttgttcc	660
aaaatccaga ttctaaaatg tggaggcact gcaaggcttc agaatagccg agaagaaaac	720
aaggaagcac taaagaatga catcatatit acgaattctg tagaatcctt gaaatcagca	780
cacataaagg agccagaaag agaaggaaaa ggcactgatt tagagaaaga caaatagga	840
atggagggtca aggtagacag tgacgctgga ataccaaaaa gacaggaaac ccaactaaaa	900
atcagtgaga tgagtatacc acaaggacag ggagcccaaa taaagaaaag tgtgtcagat	960
gtaccaagag gacaggagtc ccaagtaaag aagagtgagt cagggtgtccc aaaaggacaa	1020
gaagcccaag taacgaagag tgggttggtt gtactgaaag gacaggaagc ccaggtagag	1080
aagagtgaga tgggtgtgcc aagaagacag gaatccaag taaagaagag tcagtctggt	1140
gtctcaaagg gacaggaagc ccaggtaaag aagagggagt cagttgtact gaaaggacag	1200
gaagcccagg tagagaagag tgagttgaag gtaccaaaag gacaagaagg ccaagtagag	1260
aagactgagg cagatgtgcc aaaggaacaa gaggtccaag aaaagaagag tgaggcaggt	1320
gtactgaaag gaccagaatc ccaagtaaag aacactgagg tgagtgtacc agaaacactg	1380
gaatccaag taaagaagag tgagtcaggt gtactaaaag gacaggaagc ccaagaaaag	1440
aaggagagtt ttgaggataa aggaaataat gataaagaaa aggagagaga tgcagagaaa	1500
gatccaaata aaaaagaaaa aggtgacaaa aacacaaaag gtgacaaagg aaaggacaaa	1560
gttaaaggaa agagagaatc agaaatcaat ggtgaaaaat caaaaggctc gaaaagggcg	1620
aaggcaaata caggaaggaa gtacaacaaa aaagtggaag agtaa	1665

<210> 34

<211> 561

<212> PRT

<213> 智人

<400> 34

[0042]

Met Thr Val Leu Glu Ile Thr Leu Ala Val Ile Leu Thr Leu Leu Gly
1 5 10 15

Leu Ala Ile Leu Ala Ile Leu Leu Thr Arg Trp Ala Arg Cys Lys Gln
20 25 30

Ser Glu Met Tyr Ile Ser Arg Tyr Ser Ser Glu Gln Ser Ala Arg Leu
35 40 45

Leu Asp Tyr Glu Asp Gly Arg Gly Ser Arg His Ala Tyr Ser Thr Gln
50 55 60

Ser Asp Thr Ser Tyr Asp Asn Arg Glu Arg Ser Lys Arg Asp Tyr Thr
65 70 75 80

Pro Ser Thr Asn Ser Leu Ala Leu Ser Arg Ser Ser Ile Ala Leu Pro
85 90 95

Gln Gly Ser Met Ser Ser Ile Lys Cys Leu Gln Thr Thr Glu Glu Pro
100 105 110

Pro Ser Arg Thr Ala Gly Ala Met Met Gln Phe Thr Ala Pro Ile Pro
115 120 125

Gly Ala Thr Gly Pro Ile Lys Leu Ser Gln Lys Thr Ile Val Gln Thr
130 135 140

Pro Gly Pro Ile Val Gln Tyr Pro Gly Ser Asn Ala Gly Pro Pro Ser
145 150 155 160

Ala Pro Arg Gly Pro Pro Met Ala Pro Ile Ile Ile Ser Gln Arg Thr
165 170 175

[0043]

Ala Ser Gln Leu Ala Ala Pro Ile Ile Ile Ser Gln Arg Thr Ala Arg
180 185 190

Ile Pro Gln Val His Thr Met Asp Ser Ser Gly Lys Ile Thr Leu Thr
195 200 205

Pro Val Val Ile Leu Thr Gly Tyr Met Asp Glu Glu Leu Ala Lys Lys
210 215 220

Ser Cys Ser Lys Ile Gln Ile Leu Lys Cys Gly Gly Thr Ala Arg Ser
225 230 235 240

Gln Asn Ser Arg Glu Glu Asn Lys Glu Ala Leu Lys Asn Asp Ile Ile
245 250 255

Phe Thr Asn Ser Val Glu Ser Leu Lys Ser Ala His Ile Lys Glu Pro
260 265 270

Glu Arg Glu Gly Lys Gly Thr Asp Leu Glu Lys Asp Lys Ile Gly Met
275 280 285

Glu Val Lys Val Asp Ser Asp Ala Gly Ile Pro Lys Arg Gln Glu Thr
290 295 300

Gln Leu Lys Ile Ser Glu Met Ser Ile Pro Gln Gly Gln Gly Ala Gln
305 310 315 320

Ile Lys Lys Ser Val Ser Asp Val Pro Arg Gly Gln Glu Ser Gln Val
325 330 335

Lys Lys Ser Glu Ser Gly Val Pro Lys Gly Gln Glu Ala Gln Val Thr
340 345 350

[0044]

Lys Ser Gly Leu Val Val Leu Lys Gly Gln Glu Ala Gln Val Glu Lys
355 360 365

Ser Glu Met Gly Val Pro Arg Arg Gln Glu Ser Gln Val Lys Lys Ser
370 375 380

Gln Ser Gly Val Ser Lys Gly Gln Glu Ala Gln Val Lys Lys Arg Glu
385 390 395 400

Ser Val Val Leu Lys Gly Gln Glu Ala Gln Val Glu Lys Ser Glu Leu
405 410 415

Lys Val Pro Lys Gly Gln Glu Gly Gln Val Glu Lys Thr Glu Ala Asp
420 425 430

Val Pro Lys Glu Gln Glu Val Gln Glu Lys Lys Ser Glu Ala Gly Val
435 440 445

Leu Lys Gly Pro Glu Ser Gln Val Lys Asn Thr Glu Val Ser Val Pro
450 455 460

Glu Thr Leu Glu Ser Gln Val Lys Lys Ser Glu Ser Gly Val Leu Lys
465 470 475 480

Gly Gln Glu Ala Gln Glu Lys Lys Glu Ser Phe Glu Asp Lys Gly Asn
485 490 495

Asn Asp Lys Glu Lys Glu Arg Asp Ala Glu Lys Asp Pro Asn Lys Lys
500 505 510

Glu Lys Gly Asp Lys Asn Thr Lys Gly Asp Lys Gly Lys Asp Lys Val
515 520 525

[0045]

Lys Gly Lys Arg Glu Ser Glu Ile Asn Gly Glu Lys Ser Lys Gly Ser
530 535 540

Lys Arg Ala Lys Ala Asn Thr Gly Arg Lys Tyr Asn Lys Lys Val Glu
545 550 555 560

Glu

<210> 35
<211> 569
<212> PRT
<213> 智人

<400> 35

Met Thr Val Leu Glu Ile Thr Leu Ala Val Ile Leu Thr Leu Leu Gly
1 5 10 15

Leu Ala Ile Leu Ala Ile Leu Leu Thr Arg Trp Ala Arg Arg Lys Gln
20 25 30

Ser Glu Met His Ile Ser Arg Tyr Ser Ser Glu Gln Ser Ala Arg Leu
35 40 45

Leu Asp Tyr Glu Asp Gly Arg Gly Ser Arg His Ala Tyr Ser Thr Gln
50 55 60

Ser Asp Thr Ser Cys Asp Asn Arg Glu Arg Ser Lys Arg Asp Tyr Thr
65 70 75 80

Pro Ser Thr Asn Ser Leu Ala Leu Ser Arg Ser Ser Ile Ala Leu Pro
85 90 95

[0046]

Gln	Gly	Ser	Met	Ser	Ser	Ile	Lys	Cys	Leu	Gln	Thr	Thr	Glu	Glu	Leu
			100					105					110		

Pro	Ser	Arg	Thr	Ala	Gly	Ala	Met	Met	Gln	Phe	Thr	Ala	Pro	Ile	Pro
		115					120					125			

Gly	Ala	Thr	Gly	Pro	Ile	Lys	Leu	Ser	Gln	Lys	Thr	Ile	Val	Gln	Thr
	130					135					140				

Pro	Gly	Pro	Ile	Val	Gln	Tyr	Pro	Gly	Pro	Asn	Val	Arg	Ser	His	Pro
145					150					155				160	

His	Thr	Ile	Thr	Gly	Pro	Pro	Ser	Ala	Pro	Arg	Gly	Pro	Pro	Met	Ala
				165					170					175	

Pro	Ile	Ile	Ile	Ser	Gln	Arg	Thr	Ala	Ser	Gln	Leu	Ala	Ala	Pro	Ile
			180					185					190		

Ile	Ile	Ser	Gln	Arg	Thr	Ala	Arg	Ile	Pro	Gln	Val	His	Thr	Met	Asp
		195					200					205			

Ser	Ser	Gly	Lys	Thr	Thr	Leu	Thr	Pro	Val	Val	Ile	Leu	Thr	Gly	Tyr
	210					215					220				

Met	Asp	Glu	Glu	Leu	Ala	Lys	Lys	Ser	Cys	Ser	Lys	Ile	Gln	Ile	Leu
225					230					235				240	

Lys	Cys	Gly	Gly	Thr	Ala	Arg	Ser	Gln	Asn	Ser	Arg	Glu	Glu	Asn	Lys
			245						250					255	

Glu	Ala	Leu	Lys	Asn	Asp	Ile	Ile	Phe	Thr	Asn	Ser	Val	Glu	Ser	Leu
			260					265					270		

[0047]

Lys Ser Ala His Ile Lys Glu Pro Glu Arg Glu Gly Lys Gly Thr Asp
275 280 285

Leu Glu Lys Asp Lys Ile Gly Met Glu Val Lys Val Asp Ser Asp Ala
290 295 300

Gly Ile Pro Lys Arg Gln Glu Thr Gln Leu Lys Ile Ser Glu Met Ser
305 310 315 320

Ile Pro Gln Gly Gln Gly Ala Gln Ile Lys Lys Ser Val Ser Asp Val
325 330 335

Pro Arg Gly Gln Glu Ser Gln Val Lys Lys Ser Glu Ser Gly Val Pro
340 345 350

Lys Gly Gln Glu Ala Gln Val Thr Lys Ser Gly Leu Val Val Leu Lys
355 360 365

Gly Gln Glu Ala Gln Val Glu Lys Ser Glu Met Gly Val Pro Arg Arg
370 375 380

Gln Glu Ser Gln Val Lys Lys Ser Gln Ser Gly Val Ser Lys Gly Gln
385 390 395 400

Glu Ala Gln Val Lys Lys Arg Glu Ser Val Val Leu Lys Gly Gln Glu
405 410 415

Ala Gln Val Glu Lys Ser Glu Leu Lys Val Pro Lys Gly Gln Glu Gly
420 425 430

Gln Val Glu Lys Thr Glu Ala Asp Val Pro Lys Glu Gln Glu Val Gln
435 440 445

[0048]

Glu Lys Lys Ser Glu Ala Gly Val Leu Lys Gly Pro Glu Ser Gln Val
 450 455 460

Lys Asn Thr Glu Val Ser Val Pro Glu Thr Leu Glu Ser Gln Val Lys
 465 470 475 480

Lys Ser Glu Ser Gly Val Leu Lys Gly Gln Glu Ala Gln Glu Lys Lys
 485 490 495

Glu Ser Phe Glu Asp Lys Gly Asn Asn Asp Lys Glu Lys Glu Arg Asp
 500 505 510

Ala Glu Lys Asp Pro Asn Lys Lys Glu Lys Gly Asp Lys Asn Thr Lys
 515 520 525

Gly Asp Lys Gly Lys Asp Lys Val Lys Gly Lys Arg Glu Ser Glu Ile
 530 535 540

Asn Gly Glu Lys Ser Lys Gly Ser Lys Arg Ala Lys Ala Asn Thr Gly
 545 550 555 560

Arg Lys Tyr Asn Lys Lys Val Glu Glu
 565

<210> 36
 <211> 554
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 36

Met Thr Val Leu Glu Ile Thr Leu Ala Val Ile Leu Thr Leu Leu Gly
 1 5 10 15

Leu Ala Ile Leu Ala Ile Leu Leu Thr Arg Trp Ala Arg Cys Lys Gln
 20 25 30

[0049]

Ser Glu Met Tyr Ile Ser Arg Tyr Ser Ser Glu Gln Ser Ala Arg Leu
35 40 45

Leu Asp Tyr Glu Asp Gly Arg Gly Ser Arg His Ala Tyr Ser Thr Gln
50 55 60

Ser Glu Arg Ser Lys Arg Asp Tyr Thr Pro Ser Thr Asn Ser Leu Ala
65 70 75 80

Leu Ser Arg Ser Ser Ile Ala Leu Pro Gln Gly Ser Met Ser Ser Ile
85 90 95

Lys Cys Leu Gln Thr Thr Glu Glu Pro Pro Ser Arg Thr Ala Gly Ala
100 105 110

Met Met Gln Phe Thr Ala Pro Ile Pro Gly Ala Thr Gly Pro Ile Lys
115 120 125

Leu Ser Gln Lys Thr Ile Val Gln Thr Pro Gly Pro Ile Val Gln Tyr
130 135 140

Pro Gly Ser Asn Ala Gly Pro Pro Ser Ala Pro Arg Gly Pro Pro Met
145 150 155 160

Ala Pro Ile Ile Ile Ser Gln Arg Thr Ala Ser Gln Leu Ala Ala Pro
165 170 175

Ile Ile Ile Ser Gln Arg Thr Ala Arg Ile Pro Gln Val His Thr Met
180 185 190

Asp Ser Ser Gly Lys Ile Thr Leu Thr Pro Val Val Ile Leu Thr Gly
195 200 205

[0050]

Tyr Met Asp Glu Glu Leu Ala Lys Lys Ser Cys Ser Lys Ile Gln Ile
210 215 220

Leu Lys Cys Gly Gly Thr Ala Arg Ser Gln Asn Ser Arg Glu Glu Asn
225 230 235 240

Lys Glu Ala Leu Lys Asn Asp Ile Ile Phe Thr Asn Ser Val Glu Ser
245 250 255

Leu Lys Ser Ala His Ile Lys Glu Pro Glu Arg Glu Gly Lys Gly Thr
260 265 270

Asp Leu Glu Lys Asp Lys Ile Gly Met Glu Val Lys Val Asp Ser Asp
275 280 285

Ala Gly Ile Pro Lys Arg Gln Glu Thr Gln Leu Lys Ile Ser Glu Met
290 295 300

Ser Ile Pro Gln Gly Gln Gly Ala Gln Ile Lys Lys Ser Val Ser Asp
305 310 315 320

Val Pro Arg Gly Gln Glu Ser Gln Val Lys Lys Ser Glu Ser Gly Val
325 330 335

Pro Lys Gly Gln Glu Ala Gln Val Thr Lys Ser Gly Leu Val Val Leu
340 345 350

Lys Gly Gln Glu Ala Gln Val Glu Lys Ser Glu Met Gly Val Pro Arg
355 360 365

Arg Gln Glu Ser Gln Val Lys Lys Ser Gln Ser Gly Val Ser Lys Gly
370 375 380

[0051]

Gln Glu Ala Gln Val Lys Lys Arg Glu Ser Val Val Leu Lys Gly Gln
385 390 395 400

Glu Ala Gln Val Glu Lys Ser Glu Leu Lys Val Pro Lys Gly Gln Glu
405 410 415

Gly Gln Val Glu Lys Thr Glu Ala Asp Val Pro Lys Glu Gln Glu Val
420 425 430

Gln Glu Lys Lys Ser Glu Ala Gly Val Leu Lys Gly Pro Glu Ser Gln
435 440 445

Val Lys Asn Thr Glu Val Ser Val Pro Glu Thr Leu Glu Ser Gln Val
450 455 460

Lys Lys Ser Glu Ser Gly Val Leu Lys Gly Gln Glu Ala Gln Glu Lys
465 470 475 480

Lys Glu Ser Phe Glu Asp Lys Gly Asn Asn Asp Lys Glu Lys Glu Arg
485 490 495

Asp Ala Glu Lys Asp Pro Asn Lys Lys Glu Lys Gly Asp Lys Asn Thr
500 505 510

Lys Gly Asp Lys Gly Lys Asp Lys Val Lys Gly Lys Arg Glu Ser Glu
515 520 525

Ile Asn Gly Glu Lys Ser Lys Gly Ser Lys Arg Ala Lys Ala Asn Thr
530 535 540

Gly Arg Lys Tyr Asn Lys Lys Val Glu Glu
545 550

[0052]

<210>	37	
<211>	1182	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	37	
acacaggttg	gagcagagaa agaggaaaca tagaggtgcc aaaggaacaa agacataatg	60
atgtcatcca	agccaacaag ccatgctgaa gtaaatgaaa ccatacccaa cccttaccca	120
ccaggcagct	ttatggctcc tggatttcaa cagcctctgg gttcaatcaa cttagaaaac	180
caagctcagg	gtgctcagcg tgctcagccc tacggcatca catctccggg aatctttgct	240
agcagtcaac	cgggtcaagg aaatatacaa atgataaatc caagtgtggg aacagcagta	300
atgaacttta	aagaagaagc aaaggcacta ggggtgatcc agatcatggt tggattgatg	360
cacattggtt	ttggaattgt tttgtgttta atatccttct cttttagaga agtattaggt	420
tttgctcta	ctgctgttat tggtagatac ccattctggg gtggcctttc ttttattatc	480
tctggctctc	tctctgtgtc agcatccaag gagctttccc gttgtctggt gaaaggcagc	540
ctgggaatga	acattgttag ttctatcttg gccttcattg gagtgattct gctgctggtg	600
gatatgtgca	tcaatggggg agctggccaa gactactggg ccgtgctttc tggaaaaggc	660
atttcagcca	cgctgatgat cttctccctc ttggagtctt tcgtagcttg tgccacagcc	720
cattttgcca	accaagcaaa caccacaacc aatatgtctg tcttggttat tccaaatatg	780
tatgaaagca	accctgtgac accagcgtct tcttcagctc ctcccagatg caacaactac	840
tcagctaata	cccctaaata gtaaaagaaa aaggggtatc agtctaactt catggagaaa	900
aactacttgc	aaaaacttct taagaagatg tcttttattg tctacaatga tttctagtct	960
ttaaaaactg	tgtttgagat ttgttttttag gttggtcgct aatgatggct gtatctccct	1020
tcactgtctc	ttctacatt accactacta catgctggca aaggtgaagg atcagaggac	1080

[0053]

tgaaaaatga ttctgcaact ctcttaaagt tagaaatggt tctgttcata ttactttttc 1140

cttaataaaa tgtcattaga aacaaaaaaaa aaaaaaaaaa aa 1182

<210> 38

<211> 267

<212> PRT

<213> 智人

<400> 38

Met Met Ser Ser Lys Pro Thr Ser His Ala Glu Val Asn Glu Thr Ile
1 5 10 15

Pro Asn Pro Tyr Pro Pro Gly Ser Phe Met Ala Pro Gly Phe Gln Gln
20 25 30

Pro Leu Gly Ser Ile Asn Leu Glu Asn Gln Ala Gln Gly Ala Gln Arg
35 40 45

Ala Gln Pro Tyr Gly Ile Thr Ser Pro Gly Ile Phe Ala Ser Ser Gln
50 55 60

Pro Gly Gln Gly Asn Ile Gln Met Ile Asn Pro Ser Val Gly Thr Ala
65 70 75 80

Val Met Asn Phe Lys Glu Glu Ala Lys Ala Leu Gly Val Ile Gln Ile
85 90 95

Met Val Gly Leu Met His Ile Gly Phe Gly Ile Val Leu Cys Leu Ile
100 105 110

Ser Phe Ser Phe Arg Glu Val Leu Gly Phe Ala Ser Thr Ala Val Ile
115 120 125

[0054]

Gly Gly Tyr Pro Phe Trp Gly Gly Leu Ser Phe Ile Ile Ser Gly Ser
 130 135 140

Leu Ser Val Ser Ala Ser Lys Glu Leu Ser Arg Cys Leu Val Lys Gly
 145 150 155 160

Ser Leu Gly Met Asn Ile Val Ser Ser Ile Leu Ala Phe Ile Gly Val
 165 170 175

Ile Leu Leu Leu Val Asp Met Cys Ile Asn Gly Val Ala Gly Gln Asp
 180 185 190

Tyr Trp Ala Val Leu Ser Gly Lys Gly Ile Ser Ala Thr Leu Met Ile
 195 200 205

Phe Ser Leu Leu Glu Phe Phe Val Ala Cys Ala Thr Ala His Phe Ala
 210 215 220

Asn Gln Ala Asn Thr Thr Thr Asn Met Ser Val Leu Val Ile Pro Asn
 225 230 235 240

Met Tyr Glu Ser Asn Pro Val Thr Pro Ala Ser Ser Ser Ala Pro Pro
 245 250 255

Arg Cys Asn Asn Tyr Ser Ala Asn Ala Pro Lys
 260 265

<210> 39

<211> 1948

<212> DNA

<213> 智人

<400> 39

gcacgaggtt ttgaggacca gcaacacagc aatacttcca gatctccata taacctctgt 60

[0055]

tcatttggga ggggctttgt attttcaaca ggagagtca aagttcattt ttttttcagc	120
aactacagtt ctaagtgaag tctattttta ttgatacatg gtattttaca tgtttatggg	180
atacatatga gtcataatct attttaata ataccttagt gttgtaaaat caacagtgc	240
ttttaaaaga aatatacctt gtttaattatc ccacatgtgt ctccagaagt acagcttgaa	300
caaatccacc ttctgtggac caagcaccac cctgggcatt tctagcatga gcaaaatcca	360
aggctctggc tggactccag agatgctatt tacctcagaa gcatgacaat aggaggcaga	420
aggagcaggc aaatccaagt cttttcttgt agtttccttg tttggggagg aaaagttgag	480
ttttactatt atggaaaaga aacaggaaat agagacagac aaagagatat gacaatacag	540
tcctgccacc cagatactca ttccaccta ccattccatg catttgttt gaatatataa	600
gtatgtacat aaaggtaggt actctcaagt ccatcagggc ttggctgtcc actgtttttg	660
aagttccaga atgtttttgc taagttgagg aaataccaaa tcaggactat gaaaattatg	720
gtatatattg atgtgtcaca gaacacagat gtgacataat aaagatgtgt aagattatat	780
atataacttg tgtgtacacc tacctcatct ggggataaca cctcaagttt aattttgagg	840
cttgggtcaa tcgtgcttcc ctccctttc ataggtcctc tatgagatat tgtcatagat	900
tccatgttat gcaatagcca tagaatatga catctctcta tgataattct atattacttt	960
aattgctgca cagaagtcca ttgtatgtaa gtgccacagt atattataga tcttcttgtg	1020
ggacatctat ttctagttta tttgatagta tagcacttcc atgaatgttc ttgtacttga	1080
tctttacaca ttttcttttt tccttaggat gaattctgag agatgtaatt gatggggcaa	1140
aatgtactca ctgtttgagg ttgaaattt ttccatcaaa agctgggtact cttgggtttt	1200
taagacaaag agcaaatcct cccctgccag gattgacttt tggctctttt ttttcaaacc	1260
tcactgcttt ttggttttagt tgcataaaa tgccaagcac catgaacagg gtcctatgaa	1320
ggggctcaga ggtaggaggg ctgtgattag gagaaggctt ggactgatgg gcaatttgag	1380

[0056]

tgctcagaat tagagtgagg ggggtgggggt gctgcaggga cagatgctgg ggaaagacac	1440
cctgaagggc aaaggagca acaatggctg cagtacatgt ggcctttcag ctagcgcaga	1500
ggatggaaac cagagtgggc tgatgattgg atgccaggcc tgagccagca actgtgatcc	1560
tgagctgtgc acacttctgg ttgggattat ttctggtttc tacttcctgt ttgaagatgt	1620
ggcatggaga gtgctctgct ttgacctgaa gtattttata taccctcagt ctcaggacac	1680
tgttgatgga attaaggcca agcacatctg caaaaaagac attgctggag gaggtgcaa	1740
gagctggaaa ccaagtctcc agtcctggga aaagcagtgg tatggaaaag caatggaaag	1800
agcattttga aaatgccatt ccactgtttt ctggccttta tgatttctgc tgagaaatcc	1860
actgttagtc tgatggggtc tccttcatac caccaatgac ctgaagagcc ttgttgaagg	1920
aagactccat ctgatgactc agagcaag	1948

<210> 40

<211> 1406

<212> DNA

<213> 智人

<400> 40

cggtgagagg ggcgcgagc agcagctcct caacgccgca acgcgccggc ccaactgcag	60
gaaggtctgt gctctggagc cagggtaaat ggtataaaa ttataacca tggcctcct	120
aaagacactc taggaaaacc atgtcatcct gatcttaaaa cacctgcaag aaagagcaca	180
gtacttcacc attaataaag tagatatctc atcctgctca gaaaaccaac atttcagca	240
atggctttac taccggtgtt gtttctgggt actgtgctgc ttccatcttt acctgcagaa	300
ggaaaggatc ccgcttttac tgctttgtta accacccagt tgcaagtga aaggagatt	360
gtaaataaac acaatgaact aaggaaagca gtctctccac ctgccagtaa catgctaaag	420
atggaatgga gcagagaggt aacaacgaat gcccaaagggt gggcaaacaa gtgcacttta	480
caacatagtg atccagagga ccgcaaaacc agtacaagat gtggtgagaa tctctatatg	540

[0057]

tcaagtgacc ctacttcctg gtctttctgca atccaaagct ggtatgacga gatcctagat	600
tttgtctatg gtgtaggacc aaagagtccc aatgcagttg ttggacatta tactcagctt	660
gtttgggtact cgacttacca ggtaggctgt ggaattgcct actgtcccaa tcaagatagt	720
ctaaaatact actatgtttg ccaatatgtt cctgctggta ataatatgaa tagaaagaat	780
accccgtagc aacaaggaac accttgtgcc ggttgccctg atgactgtga caaaggacta	840
tgcaccaata gttgccagta tcaagatctc ctaagtaact gtgattcctt gaagaatata	900
gctggctgtg aacatgagtt actcaaggaa aagtgaagg ctacttgcct atgtgagaac	960
aaaatttact gatttaccta gtgagcattg tgcaagactg catggataag ggctgcatca	1020
tttaattgcg acataccagt ggaaattgta tgtatgttag tgacaaattt gatttcaaag	1080
agcaatgcat cttctccccc agatcatcac agaaatcact ttcaggcaat gatttataaa	1140
agtagcatag tagatgatga caactgtgaa ctctgacata aatttagtgc tttataacga	1200
actgaatcag gttgaggatt ttgaaaactg tataaccata ggatttaggt cactaggact	1260
ttgatcaaaa atggtgcatt acgtatttcc tgaaacatgc taaagaagaa gactgtaaca	1320
tcattgccat tcctactacc tgagttttta cttgcataaa caataaatc aaagctttac	1380
atctgcaaaa aaaaaaaaaa aaaaaa	1406

<210> 41

<211> 243

<212> PRT

<213> 智人

<400> 41

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

Leu Pro Ala Glu Gly Lys Asp Pro Ala Phe Thr Ala Leu Leu Thr Thr
 20 25 30

[0058]

Gln	Leu	Gln	Val	Gln	Arg	Glu	Ile	Val	Asn	Lys	His	Asn	Glu	Leu	Arg
	35						40					45			
Lys	Ala	Val	Ser	Pro	Pro	Ala	Ser	Asn	Met	Leu	Lys	Met	Glu	Trp	Ser
	50					55					60				
Arg	Glu	Val	Thr	Thr	Asn	Ala	Gln	Arg	Trp	Ala	Asn	Lys	Cys	Thr	Leu
65					70					75					80
Gln	His	Ser	Asp	Pro	Glu	Asp	Arg	Lys	Thr	Ser	Thr	Arg	Cys	Gly	Glu
				85					90					95	
Asn	Leu	Tyr	Met	Ser	Ser	Asp	Pro	Thr	Ser	Trp	Ser	Ser	Ala	Ile	Gln
			100					105					110		
Ser	Trp	Tyr	Asp	Glu	Ile	Leu	Asp	Phe	Val	Tyr	Gly	Val	Gly	Pro	Lys
		115					120					125			
Ser	Pro	Asn	Ala	Val	Val	Gly	His	Tyr	Thr	Gln	Leu	Val	Trp	Tyr	Ser
	130						135				140				
Thr	Tyr	Gln	Val	Gly	Cys	Gly	Ile	Ala	Tyr	Cys	Pro	Asn	Gln	Asp	Ser
145					150					155				160	
Leu	Lys	Tyr	Tyr	Tyr	Val	Cys	Gln	Tyr	Cys	Pro	Ala	Gly	Asn	Asn	Met
					165				170				175		
Asn	Arg	Lys	Asn	Thr	Pro	Tyr	Gln	Gln	Gly	Thr	Pro	Cys	Ala	Gly	Cys
			180					185					190		
Pro	Asp	Asp	Cys	Asp	Lys	Gly	Leu	Cys	Thr	Asn	Ser	Cys	Gln	Tyr	Gln
			195				200						205		

[0059]

Asp Leu Leu Ser Asn Cys Asp Ser Leu Lys Asn Thr Ala Gly Cys Glu
210 215 220

His Glu Leu Leu Lys Glu Lys Cys Lys Ala Thr Cys Leu Cys Glu Asn
225 230 235 240

Lys Ile Tyr

<210> 42

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 42

tctagcactg tctcgatcaa g

21

<210> 43

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 43

tgtcctcttg gtacatctga c

21

<210> 44

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 44

ctgtgtcagc atccaaggag c

21

<210> 45

<211> 21

<212> DNA

[0060]

<213> 人工序列

<400> 45

ttcacctttg ccagcatgta g

21

<210> 46

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 46

cttgctctga gtcacatgagat g

21

<210> 47

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 47

cacagaatat gagccatata g

21

<210> 48

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 48

ggtgtcactt ctgtgccttc ct

22

<210> 49

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 49

cggcaccagt tccaacaata g

21

<210> 50

<211> 18

[0061]

<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 50	
caaaggttct ccaaatgt	18
<210> 51	
<211> 21	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 51	
tagcgcctca actgtcgttg g	21
<210> 52	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 52	
cgtgagcgct tcgagatggt ccg	23
<210> 53	
<211> 23	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<400> 53	
cctaaccagc tgcccaactg tag	23
<210> 54	
<211> 1550	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 54	
atgaatgaaa gtcctgatcc gactgacctg gcgggagtca tcattgagct cggccccaat	60
gacagtccac agacaagtga atttaaagga gcaaccgagg aggcacctgc gaaagaaagc	120

[0062]

ccacacacaa gtgaatttaa aggagcagcc cgggtgtcac ctatcagtga aagtgtgtta	180
gcacgacttt ccaagtttga agttgaagat gctgaaaatg ttgcttcata tgacagcaag	240
attaagaaaa ttgtgcattc aattgtatca tcctttgcat ttggactatt tggagttttc	300
ctggtcttac tggatgtcac tctcatcctt gccgacctaa ttttcactga cagcaaactt	360
tatatctcctt tggagtatcg ttctatttct ctagctattg ccttattttt tctcatggat	420
gttcttcttc gagtatttgt agaaaggaga cagcagtatt tttctgactt atttaacatt	480
ttagatactg ccattattgt gattcttctg ctggttgatg tcgtttacat tttttttgac	540
attaagttgc ttaggaatat tcccagatgg acacatttac ttcgacttct acgacttatt	600
attctgttaa gaatttttca tctgtttcat caaaaaagac aacttgaaaa gctgataaga	660
aggcgggttt cagaaaacaa aaggcgatac acaagggatg gatttgacct agacctcact	720
tacgttacag aacgtattat tgctatgtca tttccatctt ctggaaggca gtctttctat	780
agaaatccaa tcaaggaagt tgtgcggttt ctagataaga aacaccgaaa ccactatcga	840
gtctacaatc tatgcagtga aagagcttac gatcctaagc acttccataa tagggtcgtt	900
agaatcatga ttgatgatca taatgtcccc actctacatc agatgggtgtt tttaccaag	960
gaagtaaag agtggatggc tcaagatctt gaaaacatcg tagcgattca ctgtaaagga	1020
ggcacagata gaacaggaac tatggtttgt gccttcctta ttgcctctga aatatgttca	1080
actgcaaagg aaagcctgta ttatttttga gaaaggcgaa cagataaaac ccacagcgaa	1140
aaatttcagg gagtagaaac tccttctcag gttatgtacg tgatctaaaa atccaaatag	1200
aaatggagaa aaaggtgtc ttttccacta tttcattagg aaaatgttcg gtacttgata	1260
acattacaac agacaaaata ttaattgatg tattcgacgg tccacctctg tatgatgatg	1320
tgaagtgca gtttttctat tcgaatcttc ctacatacta tgacaattgc tcattttact	1380
tctggttgca cacatctttt attgaaaata acaggcttta tctaccaaaa aatgaattgg	1440

[0063]

ataatctaca taaacaaaaa gcacggagaa tttatccatc agattttgcc gtggagatac	1500
tttttggcga gaaaatgact tccagtgatg ttgtagctgg atccgattaa	1550
<210> 55	
<211> 1407	
<212> DNA	
<213> 智人	
<400> 55	
atgaatgaaa gtcctgatcc gactgacctg gcgggagtca tcattgagct cggccccaat	60
gacagtccac agacaagtga atttaaagga gcaaccgagg aggcacctgc gaaagaaagc	120
ccacacacaa gtgaatttaa aggagcagcc cgggtgtcac ctatcagtga aagtgtgtta	180
gcacgacttt ccaagtttga agttgaagat gctgaaaatg ttgcttcata tgacagcaag	240
attaagaaaa ttgtgcattc aattgtatca tcctttgcat ttggactatt tggagttttc	300
ctggctttac tggatgtcac tctcatcctt gccgacctaa ttttactga cagcaaactt	360
tatatccctt tggagtatcg ttctatttct ctagctattg ccttattttt tctcatggat	420
gttcttcttc gagtatttgt agaaaggaga cagcagtatt ttctgactt attaacatt	480
ttagatactg ccattattgt gattcttctg ctggttgatg tcgtttacat ttttttgac	540
attaagttgc ttaggaatat tcccagatgg acacatttac ttcgacttct acgacttatt	600
attctgttaa gaatttttca tctgtttcat caaaaaagac aacttgaaaa gctgataaga	660
aggcgggttt cagaaaacaa aaggcgatac acaagggatg gatttgacct agacctcact	720
tacgttacag aacgtattat tgctatgtca ttccatctt ctggaaggca gtctttctat	780
agaaatccaa tcaaggaagt tgtgcgggtt ctagataaga aacaccgaaa ccactatcga	840
gtctacaatc tatgcagtga aagagcttac gatcctaagc acttcataa tagggtcggt	900
agaatcatga ttgatgatca taatgtcccc actctacatc agatggtggt tttaccaag	960
gaagtaaag agtggatggc tcaagatctt gaaaacatcg tagcgattca ctgtaaagga	1020

[0064]

ggcacaggtt atgtacgtga tctaaaaatc caaatagaaa tggagaaaaa ggttgtcttt	1080
tccactatfff cattaggaaa atgttcggta cttgataaca ttacaacaga caaaatatta	1140
attgatgtat tcgacgggcc acctctgtat gatgatgtga aagtgcagtt tttctattcg	1200
aatcttcccta catactatga caattgctca ttttacttct ggttgcacac atcttttatt	1260
gaaaataaca ggcttttatct accaaaaaat gaattggata atctacataa acaaaaagca	1320
cggagaatff atccatcaga ttttgccgtg gagatacttt ttggcgagaa aatgacttcc	1380
agtgatgttg tagctggatc cgattaa	1407

<210> 56
 <211> 1413
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 56	
atgaatgaaa gtcctgatcc gactgacctg gcgggagtca tcattgagct cggccccaat	60
gacagtccac agacaagtga atttaaagga gcaaccgagg aggcacctgc gaaagaaagt	120
gtgttagcac gactttccaa gtttgaagtt gaagatgctg aaaatgttgc ttcatatgac	180
agcaagatta agaaaattgt gcattcaatt gtatcatcct ttgcatttgg actatttggg	240
gttttcctgg tcttactgga tgtcactctc atccttgccg acctaatttt cactgacagc	300
aaactttata ttcctttgga gtatcgttct atttctctag ctattgcctt attttttctc	360
atggatgttc ttcttcgagt attttagtaa aggagacagc agtatatttc tgacttattt	420
aacatttttag atactgccat tattgtgatt cttctgctgg ttgatgtcgt ttacattttt	480
tttgacatta agttgcttag gaatattccc agatggacac atttacttcg acttctacga	540
cttattattc tgtaagaat ttttcatctg tttcatcaaa aaagacaact tgaaaagctg	600
ataagaaggc gggtttcaga aaacaaaagg cgatacacia gggatggatt tgacctagac	660

[0065]

ctcacttacg ttacagaacg tattattgct atgtcatttc catcttctgg aaggcagtct	720
ttctatagaa atccaatcaa ggaagtgtg cggtttctag ataagaaaca ccgaaaccac	780
tatcgagtct acaatctatg cagtgaaga gcttacgac ctaagcactt ccataatagg	840
gtcgttagaa tcatgattga tgatcataat gtcccaactc tacatcagat ggtgggtttc	900
accaaggaag taaatgagtg gatggctcaa gatcttgaaa acatcgtagc gattcactgt	960
aaaggaggca cagatagaac aggaactatg gtttgtgcct tccttattgc ctctgaaata	1020
tgttcaactg caaaggaaag cctgtattat ttggagaaa ggcgaacaga taaaaccac	1080
agcgaaaaat ttcaggagt agaaactcct tctgtacttg ataacattac aacagacaaa	1140
atattaattg atgtattcga cgggccacct ctgtatgatg atgtgaaagt gcagttttc	1200
tattcgaatc ttctacata ctatgacaat tgctcatttt acttctggtt gcacacatct	1260
tttattgaaa ataacaggct ttatctacca aaaaatgaat tggataatct acataaaca	1320
aaagcacgga gaatttatcc atcagatttt gccgtggaga tacttttttg cgagaaaatg	1380
acttcagtg atgtttagc tggatccgat taa	1413

<210> 57

<211> 1353

<212> DNA

<213> 智人

<400> 57

atgaatgaaa gtccgatcc gactgacctg ggggagtc tcatgagct cggcccaat	60
gacagtccac agacaagtga atttaaagga gcaaccgagg aggcacctgc gaaagaaagt	120
gtgttagcac gactttccaa gtttgaagtt gaagatgctg aaaatgttgc ttcatatgac	180
agcaagatta agaaaattgt gcattcaatt gtatcatcct ttgcatttgg actatttga	240
gttttcctgg tcttactgga tgcactctc atccttgccg acctaatttt cactgacagc	300
aaactttata ttcccttga gtatcgttct atttctctag ctattgcctt atttttctc	360

[0066]

```

atggatgttc ttcttcgagt attttagaa aggagacagc agtatttttc tgacttatit 420
aacatttttag atactgccat tattgtgatt ctctctgtgg ttgatgtcgt ttacattttt 480
tttgacatta agttgcttag gaatatcccc agatggacac atttacttcg acttctacga 540
cttattattc tgtaagaat ttttcatctg tttcatcaaa aaagacaact tgaaaagctg 600
ataagaaggc gggtttcaga aaacaaaagg cgatacacia gggatggatt tgacctagac 660
ctcacttacg ttacagaacg tattattgct atgtcatttc catcttctgg aaggcagtct 720
ttctatagaa atccaatcaa ggaagttgtg cggtttctag ataagaaaca ccgaaaccac 780
tatcgagtct acaatctatg cagtgaaga gcttacgac ctaagcactt ccataatagg 840
gtcgttagaa tcatgattga tgatcataat gtcccccactc tacatcagat ggtggttttc 900
accaaggaag taaatgagtg gatggctcaa gatcttgaaa acatcgtagc gattcactgt 960
aaaggaggca caggttatgt acgtgatcta aaaatccaaa tagaaatgga gaaaaaggtt 1020
gtcttttcca ctatttcatt aggaaaatgt tcggtacttg ataacattac aacagacaaa 1080
atattaattg atgtattcga cgggccacct ctgtatgatg atgtgaaagt gcagtttttc 1140
tattcgaatc ttctacata ctatgacaat tgctcatttt acttctgggt gcacacatct 1200
tttattgaaa ataacaggct ttatctacca aaaaatgaat tggataatct acataaacia 1260
aaagcacgga gaatttatcc atcagatttt gccgtggaga tactttttgg cgagaaaatg 1320
acttcagtg atgtttagc tggatccgat taa 1353

```

<210> 58

<211> 395

<212> PRT

<213> 智人

<400> 58

```

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu
1           5           10          15

```

[0067]

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr
20 25 30

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Pro His Thr Ser Glu Phe Lys Gly
35 40 45

Ala Ala Arg Val Ser Pro Ile Ser Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser
50 55 60

Lys Phe Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys
65 70 75 80

Ile Lys Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu
85 90 95

Phe Gly Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp
100 105 110

Leu Ile Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser
115 120 125

Ile Ser Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg
130 135 140

Val Phe Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile
145 150 155 160

Leu Asp Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr
165 170 175

Ile Phe Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His
180 185 190

[0068]

Leu Leu Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu
195 200 205

Phe His Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser
210 215 220

Glu Asn Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr
225 230 235 240

Tyr Val Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg
245 250 255

Gln Ser Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp
260 265 270

Lys Lys His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Glu Arg
275 280 285

Ala Tyr Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile Met Ile
290 295 300

Asp Asp His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe Thr Lys
305 310 315 320

Glu Val Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val Ala Ile
325 330 335

His Cys Lys Gly Gly Thr Asp Arg Thr Gly Thr Met Val Cys Ala Phe
340 345 350

Leu Ile Ala Ser Glu Ile Cys Ser Thr Ala Lys Glu Ser Leu Tyr Tyr
355 360 365

[0069]

Phe Gly Glu Arg Arg Thr Asp Lys Thr His Ser Glu Lys Phe Gln Gly
370 375 380

Val Glu Thr Pro Ser Gln Val Met Tyr Val Ile
385 390 395

<210> 59
<211> 468
<212> PRT
<213> 智人

<400> 59

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu
1 5 10 15

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr
20 25 30

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Pro His Thr Ser Glu Phe Lys Gly
35 40 45

Ala Ala Arg Val Ser Pro Ile Ser Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser
50 55 60

Lys Phe Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys
65 70 75 80

Ile Lys Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu
85 90 95

Phe Gly Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp
100 105 110

[0070]

Leu Ile Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser
115 120 125

Ile Ser Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg
130 135 140

Val Phe Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile
145 150 155 160

Leu Asp Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr
165 170 175

Ile Phe Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His
180 185 190

Leu Leu Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu
195 200 205

Phe His Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser
210 215 220

Glu Asn Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr
225 230 235 240

Tyr Val Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg
245 250 255

Gln Ser Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp
260 265 270

Lys Lys His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Glu Arg
275 280 285

[0071]

Ala Tyr Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile Met Ile
290 295 300

Asp Asp His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe Thr Lys
305 310 315 320

Glu Val Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val Ala Ile
325 330 335

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

Glu Met Glu Lys Lys Val Val Phe Ser Thr Ile Ser Leu Gly Lys Cys
355 360 365

Ser Val Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile Leu Ile Asp Val Phe
370 375 380

Asp Gly Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val Gln Phe Phe Tyr Ser
385 390 395 400

Asn Leu Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe Tyr Phe Trp Leu His
405 410 415

Thr Ser Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu Pro Lys Asn Glu Leu
420 425 430

Asp Asn Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile Tyr Pro Ser Asp Phe
435 440 445

Ala Val Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr Ser Ser Asp Val Val
450 455 460

[0072]

Ala Gly Ser Asp
465

<210> 60
<211> 470
<212> PRT
<213> 智人

<400> 60

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu
1 5 10 15

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr
20 25 30

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser Lys Phe
35 40 45

Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys Ile Lys
50 55 60

Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu Phe Gly
65 70 75 80

Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp Leu Ile
85 90 95

Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser Ile Ser
100 105 110

Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg Val Phe
115 120 125

[0073]

Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile Leu Asp
130 135 140

Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr Ile Phe
145 150 155 160

Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His Leu Leu
165 170 175

Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu Phe His
180 185 190

Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser Glu Asn
195 200 205

Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr Tyr Val
210 215 220

Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg Gln Ser
225 230 235 240

Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp Lys Lys
245 250 255

His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Glu Arg Ala Tyr
260 265 270

Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile Met Ile Asp Asp
275 280 285

His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe Thr Lys Glu Val
290 295 300

[0074]

Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val Ala Ile His Cys
305 310 315 320

Lys Gly Gly Thr Asp Arg Thr Gly Thr Met Val Cys Ala Phe Leu Ile
325 330 335

Ala Ser Glu Ile Cys Ser Thr Ala Lys Glu Ser Leu Tyr Tyr Phe Gly
340 345 350

Glu Arg Arg Thr Asp Lys Thr His Ser Glu Lys Phe Gln Gly Val Glu
355 360 365

Thr Pro Ser Val Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile Leu Ile Asp
370 375 380

Val Phe Asp Gly Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val Gln Phe Phe
385 390 395 400

Tyr Ser Asn Leu Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe Tyr Phe Trp
405 410 415

Leu His Thr Ser Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu Pro Lys Asn
420 425 430

Glu Leu Asp Asn Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile Tyr Pro Ser
435 440 445

Asp Phe Ala Val Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr Ser Ser Asp
450 455 460

Val Val Ala Gly Ser Asp
465 470

[0075]

<210> 61
<211> 450
<212> PRT
<213> 智人

<400> 61

Met Asn Glu Ser Pro Asp Pro Thr Asp Leu Ala Gly Val Ile Ile Glu
1 5 10 15

Leu Gly Pro Asn Asp Ser Pro Gln Thr Ser Glu Phe Lys Gly Ala Thr
20 25 30

Glu Glu Ala Pro Ala Lys Glu Ser Val Leu Ala Arg Leu Ser Lys Phe
35 40 45

Glu Val Glu Asp Ala Glu Asn Val Ala Ser Tyr Asp Ser Lys Ile Lys
50 55 60

Lys Ile Val His Ser Ile Val Ser Ser Phe Ala Phe Gly Leu Phe Gly
65 70 75 80

Val Phe Leu Val Leu Leu Asp Val Thr Leu Ile Leu Ala Asp Leu Ile
85 90 95

Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser Ile Ser
100 105 110

Leu Ala Ile Ala Leu Phe Phe Leu Met Asp Val Leu Leu Arg Val Phe
115 120 125

Val Glu Arg Arg Gln Gln Tyr Phe Ser Asp Leu Phe Asn Ile Leu Asp
130 135 140

Thr Ala Ile Ile Val Ile Leu Leu Leu Val Asp Val Val Tyr Ile Phe
145 150 155 160

[0076]

Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr His Leu Leu
165 170 175

Arg Leu Leu Arg Leu Ile Ile Leu Leu Arg Ile Phe His Leu Phe His
180 185 190

Gln Lys Arg Gln Leu Glu Lys Leu Ile Arg Arg Arg Val Ser Glu Asn
195 200 205

Lys Arg Arg Tyr Thr Arg Asp Gly Phe Asp Leu Asp Leu Thr Tyr Val
210 215 220

Thr Glu Arg Ile Ile Ala Met Ser Phe Pro Ser Ser Gly Arg Gln Ser
225 230 235 240

Phe Tyr Arg Asn Pro Ile Lys Glu Val Val Arg Phe Leu Asp Lys Lys
245 250 255

His Arg Asn His Tyr Arg Val Tyr Asn Leu Cys Ser Glu Arg Ala Tyr
260 265 270

Asp Pro Lys His Phe His Asn Arg Val Val Arg Ile Met Ile Asp Asp
275 280 285

His Asn Val Pro Thr Leu His Gln Met Val Val Phe Thr Lys Glu Val
290 295 300

Asn Glu Trp Met Ala Gln Asp Leu Glu Asn Ile Val Ala Ile His Cys
305 310 315 320

Lys Gly Gly Thr Gly Tyr Val Arg Asp Leu Lys Ile Gln Ile Glu Met
325 330 335

[0077]

Glu Lys Lys Val Val Phe Ser Thr Ile Ser Leu Gly Lys Cys Ser Val
 340 345 350

Leu Asp Asn Ile Thr Thr Asp Lys Ile Leu Ile Asp Val Phe Asp Gly
 355 360 365

Pro Pro Leu Tyr Asp Asp Val Lys Val Gln Phe Phe Tyr Ser Asn Leu
 370 375 380

Pro Thr Tyr Tyr Asp Asn Cys Ser Phe Tyr Phe Trp Leu His Thr Ser
 385 390 395 400

Phe Ile Glu Asn Asn Arg Leu Tyr Leu Pro Lys Asn Glu Leu Asp Asn
 405 410 415

Leu His Lys Gln Lys Ala Arg Arg Ile Tyr Pro Ser Asp Phe Ala Val
 420 425 430

Glu Ile Leu Phe Gly Glu Lys Met Thr Ser Ser Asp Val Val Ala Gly
 435 440 445

Ser Asp
 450

<210> 62

<211> 1299

<212> DNA

<213> 智人

<400> 62

cgcccttaga catggctcag atgtgcagcc acagtgagct tctgaacatt tcttctcaga 60

ctaagctctt acacacagtt gcagttgaaa gaaagaattg cttgacatgg ccacaggagc 120

[0078]

aggcagcttc ctgcagacat gacagtcaac gcaaactcat gtcactgtgg gcagacacat	180
gtttgcaaag agactcagag ccaaacaagc aactcaatg tgctttgccc aaatttaccc	240
attaggtaaa tcttccctcc tccaagaag aaagtggaga gagcatgagt cctcacatgg	300
gaacttgaag tcagggaat gaaggctcac caattatttg tgcattgggtt taagtittcc	360
ttgaaattaa gttcaggttt gtctttgtgt gtaccaatta atgacaagag gttagataga	420
agtatgctag atggcaaaga gaaatatgtt ttgtgtcttc aattttgcta aaaataaccc	480
agaacatgga taattcattt attaatgat ttgtgtaagc caagtcctat ttggagaaaa	540
ttaatagttt ttctaaaaaa gaattttctc aatacacct ggcttgataa catttttctc	600
cttcgagttc ctttttctgg agtttaacaa acttgttctt tacaataga ttatattgac	660
tacctctcac tgatgttatg atattagttt ctattgctta ctttgtattt ctaattttag	720
gattcacaat ttagctggag aactattttt taacctgttg cacctaaaca tgattgagct	780
agaagacagt ttaccatat gcatgcattt tctctgagtt atattttaaa atctatacat	840
ttctcctaaa tatggaggaa atcactggca tcaaatgcca gtctcagacg gaagacctaa	900
agcccatttc tggcctggag ctacttggct ttgtgacctt tggtaggca taagtgtctt	960
gagtttgtgt tgcctctttt gtaaatgag ggtttgactt aatcagtgat ttcatagct	1020
taaaattttt ttgaagaaca gaactttttt taaaacagt tagatgcaac catattatat	1080
aaaacagaac agatacaagt agagctaact tgctaaagaa aggatggagg ctctgaagct	1140
gtgacttcat tatcccttaa tactgctatg tcctctgtag taccttagat ttctatggga	1200
catcgtttaa aaactattgt ttatgcgaga gccttgctaa ttctctaaaa attgttgata	1260
cattttttct cccatgtata atttctcac cttctattt	1299

<210> 63

<211> 405

<212> DNA

[0079]

<213> 智人

<400> 63

```
gcacaaggcc tgctcttact ccaaaaagat ggacccaggt ccgaaggggc actgccactg      60
tggggggcat ggccatcctc caggtcactg cgggccaccc cctggccatg gccaggggcc      120
ctgcggggcca cccccacca tgggtccaggg ccctgcgggc caccctctgg ccatggccca      180
gggccctgcg ggccaccccc ccacatggt ccagggccct gcgggcctcc ccctggccat      240
ggcccaggtc acccaccccc tgggtccacat cactgaggaa gtagaagaaa acaggacaca      300
agatggcaag cctgagagaa ttgccagct gacctggaat gaggcctaaa ccacaatctt      360
ctcttcctaa taaacagcct cctagaggcc acattctatt ctgta                        405
```

<210> 64

<211> 106

<212> PRT

<213> 智人

<400> 64

```
Met Asp Pro Gly Pro Lys Gly His Cys His Cys Gly Gly His Gly His
1           5           10          15
```

```
Pro Pro Gly His Cys Gly Pro Pro Pro Gly His Gly Pro Gly Pro Cys
          20           25           30
```

```
Gly Pro Pro Pro Thr Met Val Gln Gly Pro Ala Gly His Pro Leu Ala
          35           40           45
```

```
Met Ala Gln Gly Pro Ala Gly His Pro Pro Thr Met Val Gln Gly Pro
          50           55           60
```

```
Ala Gly Leu Pro Leu Ala Met Ala Gln Val Thr His Pro Leu Val His
          65           70           75           80
```

[0080]

Ile Thr Glu Glu Val Glu Glu Asn Arg Thr Gln Asp Gly Lys Pro Glu
85 90 95

Arg Ile Ala Gln Leu Thr Trp Asn Glu Ala
100 105

<210> 65
<211> 71
<212> PRT
<213> 智人

<400> 65

Met Ala Ile Leu Gln Val Thr Ala Gly His Pro Leu Ala Met Ala Gln
1 5 10 15

Gly Pro Ala Gly His Pro Pro Pro Trp Ser Arg Ala Leu Arg Ala Thr
20 25 30

Pro Trp Pro Trp Pro Arg Ala Leu Arg Ala Thr Pro Pro Pro Trp Ser
35 40 45

Arg Ala Leu Arg Ala Ser Pro Trp Pro Trp Pro Arg Ser Pro Thr Pro
50 55 60

Trp Ser Thr Ser Leu Arg Lys
65 70

<210> 66
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<400> 66

agacatggct cagatgtgca g

21

[0081]

<210>	67	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	67	
	ggaaattagc aaggctctcg c	21
<210>	68	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	68	
	tcaggatttc cctgctctta c	21
<210>	69	
<211>	21	
<212>	DNA	
<213>	人工序列	
<400>	69	
	tgggcaattc tctcaggctt g	21
<210>	70	
<211>	908	
<212>	DNA	
<213>	智人	
<400>	70	
	aaaattcggc acgaggccgg gctgtggtct agcataaagg cggagcccag aagaaggggc	60
	ggggtatggg agaagcctcc ccacctgccc ccgcaaggcg gcattctgctg gtcctgctgc	120
	tgctcctctc taccctgggtg atccccctcg ctgcagctcc tatccatgat gctgacgcc	180
	aagagagctc cttgggtctc acaggcctcc agagcctact ccaaggcttc agccgacttt	240
	tcctgaaagg taacctgctt cggggcatag acagcttatt ctctgcccc atggacttcc	300

[0082]

```

ggggcctccc tgggaactac cacaagagg agaaccagga gcaccagctg gggaacaaca 360

ccctctccag ccacctccag atcgacaaga tgaccgacaa caagacagga gaggtgctga 420

tctccgagaa tgtgggtggca tccattcaac cagcggaggg gagcttcgag ggtgatttga 480

aggtacccag gatggaggag aaggaggccc tggtacccat ccagaaggcc acggacagct 540

tccacacaga actccatccc cgggtggcct tctggatcat taagctgcca cggcggaggt 600

cccaccagga tgccctggag ggcggccact ggctcagcga gaagcgacac cgcctgcagg 660

ccatccggga tggactccgc aaggggaccc acaaggacgt cctagaagag gggaccgaga 720

gctcctccca ctccaggctg tcccccgaa agaccactt actgtacatc ctcaggccct 780

ctcggcagct gtaggggtgg ggaccgggga gcacctgcct gtagcccca tcagaccctg 840

ccccaagcac catatggaaa taaagtictt tcttacatct aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 900

aaaaaaaaa 908

```

<210> 71
 <211> 242
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 71

Met Gly Glu Ala Ser Pro Pro Ala Pro Ala Arg Arg His Leu Leu Val
 1 5 10 15

Leu Leu Leu Leu Leu Ser Thr Leu Val Ile Pro Ser Ala Ala Ala Pro
 20 25 30

Ile His Asp Ala Asp Ala Gln Glu Ser Ser Leu Gly Leu Thr Gly Leu
 35 40 45

Gln Ser Leu Leu Gln Gly Phe Ser Arg Leu Phe Leu Lys Gly Asn Leu
 50 55 60

[0083]

Leu Arg Gly Ile Asp Ser Leu Phe Ser Ala Pro Met Asp Phe Arg Gly
65 70 75 80

Leu Pro Gly Asn Tyr His Lys Glu Glu Asn Gln Glu His Gln Leu Gly
85 90 95

Asn Asn Thr Leu Ser Ser His Leu Gln Ile Asp Lys Met Thr Asp Asn
100 105 110

Lys Thr Gly Glu Val Leu Ile Ser Glu Asn Val Val Ala Ser Ile Gln
115 120 125

Pro Ala Glu Gly Ser Phe Glu Gly Asp Leu Lys Val Pro Arg Met Glu
130 135 140

Glu Lys Glu Ala Leu Val Pro Ile Gln Lys Ala Thr Asp Ser Phe His
145 150 155 160

Thr Glu Leu His Pro Arg Val Ala Phe Trp Ile Ile Lys Leu Pro Arg
165 170 175

Arg Arg Ser His Gln Asp Ala Leu Glu Gly Gly His Trp Leu Ser Glu
180 185 190

Lys Arg His Arg Leu Gln Ala Ile Arg Asp Gly Leu Arg Lys Gly Thr
195 200 205

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

Leu Ser Pro Arg Lys Thr His Leu Leu Tyr Ile Leu Arg Pro Ser Arg
225 230 235 240

[0084]

Gln Leu

<210> 72

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 72

ctcctatcca tgatgctgac g

21

<210> 73

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 73

cctgaggatg tacagtaagt g

21

<210> 74

<211> 2987

<212> DNA

<213> 智人

<400> 74

tttcccagcg aggtggcat tcagagccta cacatctgtt ctgtatttta acccatggat 60

gagaatatc attcaagcca agagagttaa aactaaacat ctttgctatt gcctctacag 120

accagaaag tatctttatg tcacatcttc ttttaaagga gcatttaaag atgaagttaa 180

aaaggcagaa gaagcagtaa agattgctga atccatattg aaagaagcac aaatcaaagt 240

aaaccagtgt gacagaacct ctttatcttc tgccaaggat gtattacaga gagctttgga 300

agatgtagaa gcaaagcaaa agaatcttaa agagaaacaa agagaattaa aaacagcaag 360

aacgtctccc ctgttctatg gagtgaacgt agaaaaccga agccaagctg gaatgttcat 420

[0085]

ttacagtaat aaccgtttga tcaaaatgca tgaaaaagtg ggctcacagt tgaaactgaa	480
gtccttactt ggcgaggcg tggttggaat tgtaatatata cccttgagg tcatggaacc	540
atcccataat aaacaggaat ttctcaatgt ccaagagtat aatcatctac taaaagtcatt	600
gggacagtac ttggtccagt actgtaagga caccggcatc aataatagaa atttaacatt	660
gttttgcaat gaatttggat accagaatga catcgatgtg gagaaacctt taaattcttt	720
tcaatatcaa agaagacaag ccatgggtat cccattcatc atacaatgtg atctttgtct	780
taaatggaga gtcttgctt cctctactaa ttatcaggaa aaagaatttt ttgacatttg	840
gatttgtgct aataatccca accgcttga aaacagttgt catcaggtag aatgtctacc	900
ttccatccca ctgggcacca tgagcacaat atcaccatca aaaaatgaga aagagaagca	960
acttagagag tcggtcataa agtatcaaaa tagactggca gaacagcagc cacagcctca	1020
atttatacca gtggacgaaa tcactgtcac ttccacctgc ctaacttcag cacataagga	1080
aaataccaaa acccagaaaa tcaggctttt gggcgatgac ttgaagcatg aatctctttc	1140
atcctttgag ctttcagcga gccgtagagg acagaaaaga aacatagaag agacagactc	1200
tgatgtagag tatatttcag aaacaaaaat tatgaaaaag tctatggagg agaaaatgaa	1260
ctctcaacag cagagaattc cagtagctct gccagaaaat gtcaaactag ctgagagatc	1320
ccagagaagt cagattgcta atattaccac tgtctggaga gctcaaccaa ctgaagggtg	1380
cctgaagaat gccaggccg cttcttggga aatgaaaagg aagcagagtc tgaactttgt	1440
agaggaatgt aaggtattga ctgaagatga gaacacgagt gattcagata taatcctggt	1500
ttcagataaa agcaacactg atgtttcatt gaacaagaa aaaaaggaaa ttctctttt	1560
aaaccaagaa aaacaggagc tgtgcaatga tgttctagca atgaaaagaa gctcttcatt	1620
acctagctgg aaaagcttgc tcaatgtgcc gatggaagat gtgaatctaa gttctggaca	1680
catagccaga gtttctgtga gtggcagttg taaagttgct tcttcgccag cgtcttctca	1740

[0086]

aagcacacct gtcaaggaaa cagtgaagaa actgaagtct aagttaagg agattcttct	1800
gtatTTTTTT cctgagcatc agctaccatc agaattggaa gaacctgcat taagttgtga	1860
gctggagcag tgcccagagc agatgaacaa aaagctgaaa atgtgtttca accagataca	1920
gaatacttac atggtccaat atgaaaaaaaa aataaaggagg aaattgcagt ccattatcta	1980
tgattcaaat acaaggaggaa tacataatga aatctctctg gggcaatgtg aaaataaaaag	2040
aaaaatctct gaggataagc tgaagaatct tcgtataaaa ctggcactat tgttcagaa	2100
actccaactg ggtggtccag aaggtgacct ggagcagact gacacttatt tagaagcttt	2160
gcttaaagaa gataatcttc tcttcagaa caatttaaatt aaagtaacta tagatgcaag	2220
acatagactc cctttagaaa aaaatgaaaa gacttcggaa aattaagtca gagatggtat	2280
taccttttaa aaaatgctaa taagaaaatt ggaagattct tttaaaaatt tttctttttt	2340
gttgttggtta ctgtaaagtc tattctgttt aacaataaga aataagaaat aatttttttc	2400
aaataagaaa atttgttact ctagaaatgg agaccgattt acaatttatg tattccctaa	2460
tccaattatc taaatcttcc ttttctttca gaaatattaa taatatctag agttctctaa	2520
ttttcatgtg agctactgaa aaaaatgaaa atgtcactca agcttaactt ttgttattcc	2580
ttaaaagatt gttattgtaa tttgtttatt ccttaaaaac atttaaaagc agattttttc	2640
aaaatcgata tgtgaaggac tacagaatca cctcctcttg aagatattga aaaagaaaga	2700
cattatgccc tttctccact atagccaaca ctgagtcag cagaaaatac aaatccccc	2760
aaaactttga gacatagctt atataatttt attatttagt catagtaaaa gaataaatct	2820
cctaagcata atatgtatac atattacaca tatgtaaaaa ttgttgtttt acatttacat	2880
atacgtaaag aagtatgttt ttacactttt cttgataagt gttttttttt tgtttagaaa	2940
tgtctgaaac tttagacaaa aacagtaaaa catttaatat tcatttg	2987

<210> 75

[0087]

<211> 735

<212> PRT

<213> 智人

<400> 75

Met Arg Ile Phe Ile Gln Ala Lys Arg Val Lys Thr Lys His Leu Cys
1 5 10 15

Tyr Cys Leu Tyr Arg Pro Arg Lys Tyr Leu Tyr Val Thr Ser Ser Phe
20 25 30

Lys Gly Ala Phe Lys Asp Glu Val Lys Lys Ala Glu Glu Ala Val Lys
35 40 45

Ile Ala Glu Ser Ile Leu Lys Glu Ala Gln Ile Lys Val Asn Gln Cys
50 55 60

Asp Arg Thr Ser Leu Ser Ser Ala Lys Asp Val Leu Gln Arg Ala Leu
65 70 75 80

Glu Asp Val Glu Ala Lys Gln Lys Asn Leu Lys Glu Lys Gln Arg Glu
85 90 95

Leu Lys Thr Ala Arg Thr Leu Ser Leu Phe Tyr Gly Val Asn Val Glu
100 105 110

Asn Arg Ser Gln Ala Gly Met Phe Ile Tyr Ser Asn Asn Arg Leu Ile
115 120 125

Lys Met His Glu Lys Val Gly Ser Gln Leu Lys Leu Lys Ser Leu Leu
130 135 140

Gly Ala Gly Val Val Gly Ile Val Asn Ile Pro Leu Glu Val Met Glu
145 150 155 160

[0088]

Pro Ser His Asn Lys Gln Glu Phe Leu Asn Val Gln Glu Tyr Asn His
165 170 175

Leu Leu Lys Val Met Gly Gln Tyr Leu Val Gln Tyr Cys Lys Asp Thr
180 185 190

Gly Ile Asn Asn Arg Asn Leu Thr Leu Phe Cys Asn Glu Phe Gly Tyr
195 200 205

Gln Asn Asp Ile Asp Val Glu Lys Pro Leu Asn Ser Phe Gln Tyr Gln
210 215 220

Arg Arg Gln Ala Met Gly Ile Pro Phe Ile Ile Gln Cys Asp Leu Cys
225 230 235 240

Leu Lys Trp Arg Val Leu Pro Ser Ser Thr Asn Tyr Gln Glu Lys Glu
245 250 255

Phe Phe Asp Ile Trp Ile Cys Ala Asn Asn Pro Asn Arg Leu Glu Asn
260 265 270

Ser Cys His Gln Val Glu Cys Leu Pro Ser Ile Pro Leu Gly Thr Met
275 280 285

Ser Thr Ile Ser Pro Ser Lys Asn Glu Lys Glu Lys Gln Leu Arg Glu
290 295 300

Ser Val Ile Lys Tyr Gln Asn Arg Leu Ala Glu Gln Gln Pro Gln Pro
305 310 315 320

Gln Phe Ile Pro Val Asp Glu Ile Thr Val Thr Ser Thr Cys Leu Thr
325 330 335

[0089]

Ser Ala His Lys Glu Asn Thr Lys Thr Gln Lys Ile Arg Leu Leu Gly
340 345 350

Asp Asp Leu Lys His Glu Ser Leu Ser Ser Phe Glu Leu Ser Ala Ser
355 360 365

Arg Arg Gly Gln Lys Arg Asn Ile Glu Glu Thr Asp Ser Asp Val Glu
370 375 380

Tyr Ile Ser Glu Thr Lys Ile Met Lys Lys Ser Met Glu Glu Lys Met
385 390 395 400

Asn Ser Gln Gln Gln Arg Ile Pro Val Ala Leu Pro Glu Asn Val Lys
405 410 415

Leu Ala Glu Arg Ser Gln Arg Ser Gln Ile Ala Asn Ile Thr Thr Val
420 425 430

Trp Arg Ala Gln Pro Thr Glu Gly Cys Leu Lys Asn Ala Gln Ala Ala
435 440 445

Ser Trp Glu Met Lys Arg Lys Gln Ser Leu Asn Phe Val Glu Glu Cys
450 455 460

Lys Val Leu Thr Glu Asp Glu Asn Thr Ser Asp Ser Asp Ile Ile Leu
465 470 475 480

Val Ser Asp Lys Ser Asn Thr Asp Val Ser Leu Lys Gln Glu Lys Lys
485 490 495

Glu Ile Pro Leu Leu Asn Gln Glu Lys Gln Glu Leu Cys Asn Asp Val
500 505 510

[0090]

Leu Ala Met Lys Arg Ser Ser Ser Leu Pro Ser Trp Lys Ser Leu Leu
515 520 525

Asn Val Pro Met Glu Asp Val Asn Leu Ser Ser Gly His Ile Ala Arg
530 535 540

Val Ser Val Ser Gly Ser Cys Lys Val Ala Ser Ser Pro Ala Ser Ser
545 550 555 560

Gln Ser Thr Pro Val Lys Glu Thr Val Arg Lys Leu Lys Ser Lys Leu
565 570 575

Arg Glu Ile Leu Leu Tyr Phe Phe Pro Glu His Gln Leu Pro Ser Glu
580 585 590

Leu Glu Glu Pro Ala Leu Ser Cys Glu Leu Glu Gln Cys Pro Glu Gln
595 600 605

Met Asn Lys Lys Leu Lys Met Cys Phe Asn Gln Ile Gln Asn Thr Tyr
610 615 620

Met Val Gln Tyr Glu Lys Lys Ile Lys Arg Lys Leu Gln Ser Ile Ile
625 630 635 640

Tyr Asp Ser Asn Thr Arg Gly Ile His Asn Glu Ile Ser Leu Gly Gln
645 650 655

Cys Glu Asn Lys Arg Lys Ile Ser Glu Asp Lys Leu Lys Asn Leu Arg
660 665 670

Ile Lys Leu Ala Leu Leu Leu Gln Lys Leu Gln Leu Gly Gly Pro Glu
675 680 685

[0091]

Gly Asp Leu Glu Gln Thr Asp Thr Tyr Leu Glu Ala Leu Leu Lys Glu
690 695 700

Asp Asn Leu Leu Phe Gln Asn Asn Leu Asn Lys Val Thr Ile Asp Ala
705 710 715 720

Arg His Arg Leu Pro Leu Glu Lys Asn Glu Lys Thr Ser Glu Asn
725 730 735

<210> 76

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 76

ctgagtatca gctaccatca g

21

<210> 77

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 77

tctgtagtcc ttcacatatc g

21

<210> 78

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<400> 78

ttttgtctat ggtgtaggac c

21

<210> 79

<211> 21

<212> DNA

[0092]

<213> 人工序列

<400> 79

ggaatggcaa tgatgttaca g

21

<210> 80

<211> 20

<212> PRT

<213> 智人

<400> 80

Met Ser Thr Val Lys Glu Gln Leu Ile Glu Lys Leu Ile Glu Asp Asp

1

5

10

15

Glu Asn Ser Gln

20

<210> 81

<211> 14

<212> PRT

<213> 智人

<400> 81

Phe Thr Asp Ser Lys Leu Tyr Ile Pro Leu Glu Tyr Arg Ser

1

5

10

<210> 82

<211> 13

<212> PRT

<213> 智人

<400> 82

Phe Asp Ile Lys Leu Leu Arg Asn Ile Pro Arg Trp Thr

1

5

10

<210> 83

[0093]

<211> 15

<212> PRT

<213> 智人

<400> 83

Gly Val Ala Gly Gln Asp Tyr Trp Ala Val Leu Ser Gly Lys Gly

1

5

10

15

<210> 84

<211> 10

<212> PRT

<213> 智人

<400> 84

Ser Arg Glu Val Thr Thr Asn Ala Gln Arg

1

5

10

<210> 85

<211> 216

<212> DNA

<213> 智人

<400> 85

tgctcttact ccaaaaagat ggacccaggg ccctgcgggc ctccccctgg ccatggccca 60

ggtcaccac cccctggtcc acatcactga ggaagtagaa gaaaacagga cacaagatgg 120

caagcctgag agaattgccc agctgacctg gaaggaggcc taaaccgcaa tattctcttc 180

ctaataaaca gcctcctaga ggccacattc tattct 216

<210> 86

<211> 227

<212> DNA

<213> 智人

<400> 86

tgctcttact ccaaaaagat ggacccaggt ccgaaggggc actgccactg tggggggcat 60

[0094]

ggccatcctc caggtcaccc accccctggt ccacatcact gaggaagtag aagaaaacag 120
 gacacaagat ggcaagcctg agagaattgc ccagctgacc tggaatgagg cctaaaccac 180
 aatcttctct tcctaataaa cagcctccta gaggccacat tctattc 227

<210> 87
 <211> 261
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 87
 tgctcttact ccaaaaagat ggaccacaggt ccgaaggggc actgccactg tggggggcat 60
 ggccatcctc caggtcactg cgggcctccc cctggccatg gccacagtc cccacccct 120
 ggtccacatc actgaggaag tagaagaaaa caggacacaa gatggcaagc ctgagagaat 180
 tgcccagctg acctggaatg aggcctaaac cacaatcttc tcttcctaat aaacagcctc 240
 ctagaggcca cattctattc t 261

<210> 88
 <211> 327
 <212> DNA
 <213> 智人

<400> 88
 tgctcttact ccaaaaagat ggaccacaggt ccgaaggggc actgccactg tggggggcat 60
 ggccatcctc caggtcactg cgggccaccc cccacacatg gtccagggcc ctgcggggcca 120
 cccccccacc atggtccagg gccctgcggg cctccccctg gccatggccc aggtcaccca 180
 ccccctggtc cacatcactg aggaagtaga agaaaacagg acacaagatg gcaagcctga 240
 gagaattgcc cagctgacct ggaatgaggc ctaccacaca atcttctctt cctaataaac 300
 agcctcctag aggccacatt ctattct 327

<210> 89

[0095]

<211> 31
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 89

Leu Leu Leu Gln Lys Asp Gly Pro Arg Ala Leu Arg Ala Ser Pro Trp
 1 5 10 15

Pro Trp Pro Arg Ser Pro Thr Pro Trp Ser Thr Ser Leu Arg Lys
 20 25 30

<210> 90
 <211> 23
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 90

Met Asp Pro Gly Pro Cys Gly Pro Pro Pro Gly His Gly Pro Gly His
 1 5 10 15

Pro Pro Pro Gly Pro His His
 20

<210> 91
 <211> 36
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 91

Met Ala Gln Val Thr His Pro Leu Val His Ile Thr Glu Glu Val Glu
 1 5 10 15

Glu Asn Arg Thr Gln Asp Gly Lys Pro Glu Arg Ile Ala Gln Leu Thr
 20 25 30

[0096]

Trp Lys Glu Ala
35

<210> 92
<211> 34
<212> PRT
<213> 智人

<400> 92

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

Gly Ala Trp Pro Ser Ser Arg Ser Pro Thr Pro Trp Ser Thr Ser Leu
20 25 30

Arg Lys

<210> 93
<211> 27
<212> PRT
<213> 智人

<400> 93

Met Asp Pro Gly Pro Lys Gly His Cys His Cys Gly Gly His Gly His
1 5 10 15

Pro Pro Gly His Pro Pro Pro Gly Pro His His
20 25

<210> 94
<211> 38
<212> PRT
<213> 智人

<400> 94

[0097]

Met Ala Ile Leu Gln Val Thr His Pro Leu Val His Ile Thr Glu Glu
1 5 10 15

Val Glu Glu Asn Arg Thr Gln Asp Gly Lys Pro Glu Arg Ile Ala Gln
20 25 30

Leu Thr Trp Asn Glu Ala
35

<210> 95

<211> 46

<212> PRT

<213> 智人

<400> 95

Leu Leu Leu Gln Lys Asp Gly Pro Arg Ser Glu Gly Ala Leu Pro Leu
1 5 10 15

Trp Gly Ala Trp Pro Ser Ser Arg Ser Leu Arg Ala Ser Pro Trp Pro
20 25 30

Trp Pro Arg Ser Pro Thr Pro Trp Ser Thr Ser Leu Arg Lys
35 40 45

<210> 96

<211> 38

<212> PRT

<213> 智人

<400> 96

Met Asp Pro Gly Pro Lys Gly His Cys His Cys Gly Gly His Gly His
1 5 10 15

Pro Pro Gly His Cys Gly Pro Pro Pro Gly His Gly Pro Gly His Pro
20 25 30

[0098]

Pro Pro Gly Pro His His
35

<210> 97
<211> 49
<212> PRT
<213> 智人

<400> 97

Met Ala Ile Leu Gln Val Thr Ala Gly Leu Pro Leu Ala Met Ala Gln
1 5 10 15

Val Thr His Pro Leu Val His Ile Thr Glu Glu Val Glu Glu Asn Arg
20 25 30

Thr Gln Asp Gly Lys Pro Glu Arg Ile Ala Gln Leu Thr Trp Asn Glu
35 40 45

Ala

<210> 98
<211> 68
<212> PRT
<213> 智人

<400> 98

Leu Leu Leu Gln Lys Asp Gly Pro Arg Ser Glu Gly Ala Leu Pro Leu
1 5 10 15

Trp Gly Ala Trp Pro Ser Ser Arg Ser Leu Arg Ala Thr Pro Pro Pro
20 25 30

[0099]

Trp Ser Arg Ala Leu Arg Ala Thr Pro Pro Pro Trp Ser Arg Ala Leu
 35 40 45

Arg Ala Ser Pro Trp Pro Trp Pro Arg Ser Pro Thr Pro Trp Ser Thr
 50 55 60

Ser Leu Arg Lys
 65

<210> 99
 <211> 60
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 99

Met Asp Pro Gly Pro Lys Gly His Cys His Cys Gly Gly His Gly His
 1 5 10 15

Pro Pro Gly His Cys Gly Pro Pro Pro His His Gly Pro Gly Pro Cys
 20 25 30

Gly Pro Pro Pro His His Gly Pro Gly Pro Cys Gly Pro Pro Pro Gly
 35 40 45

His Gly Pro Gly His Pro Pro Pro Gly Pro His His
 50 55 60

<210> 100
 <211> 71
 <212> PRT
 <213> 智人

<400> 100

Met Ala Ile Leu Gln Val Thr Ala Gly His Pro Pro Thr Met Val Gln
 1 5 10 15

[0100]

Gly Pro Ala Gly His Pro Pro Thr Met Val Gln Gly Pro Ala Gly Leu
20 25 30

Pro Leu Ala Met Ala Gln Val Thr His Pro Leu Val His Ile Thr Glu
35 40 45

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

Gln Leu Thr Trp Asn Glu Ala
65 70

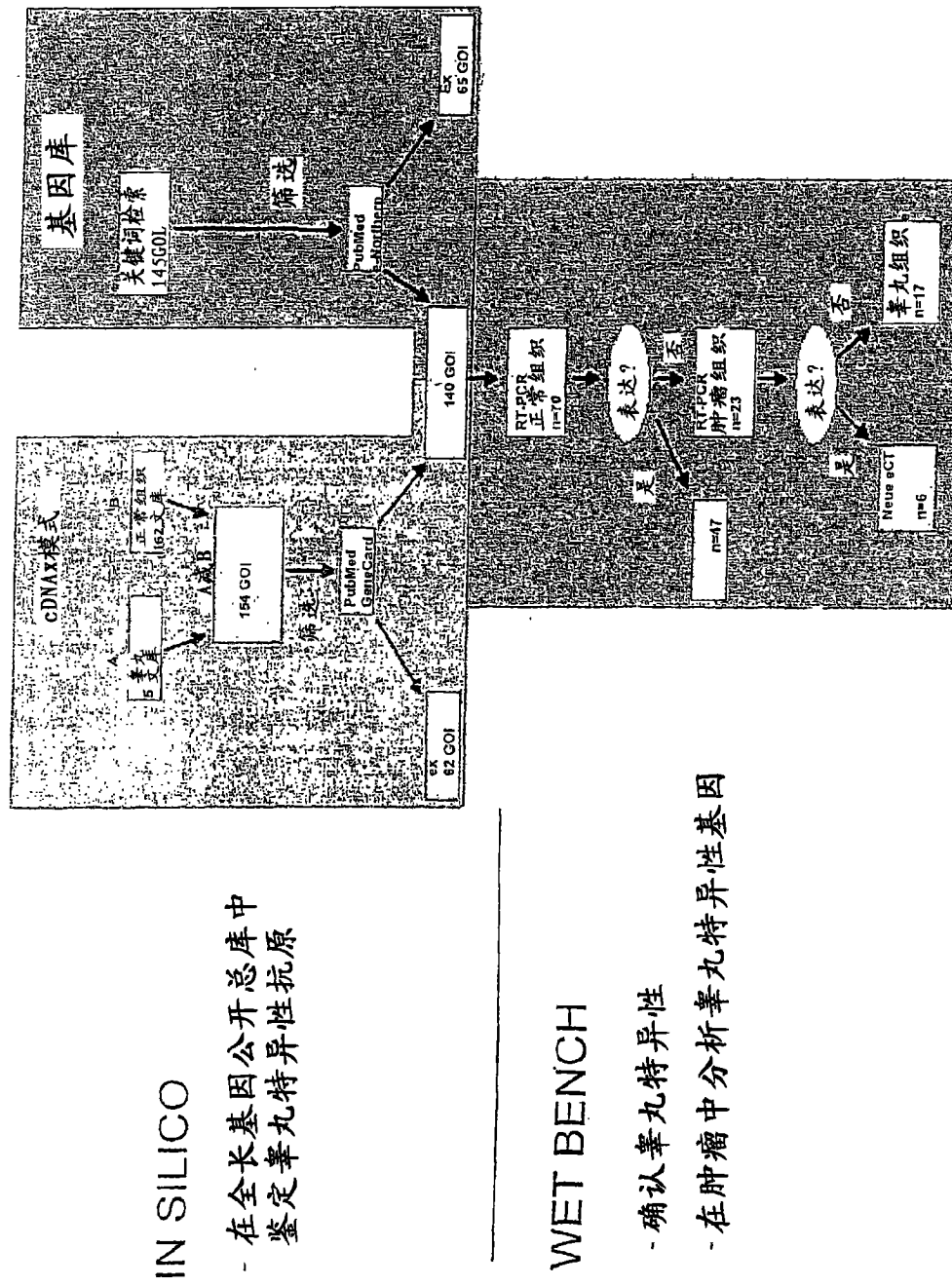


图 1

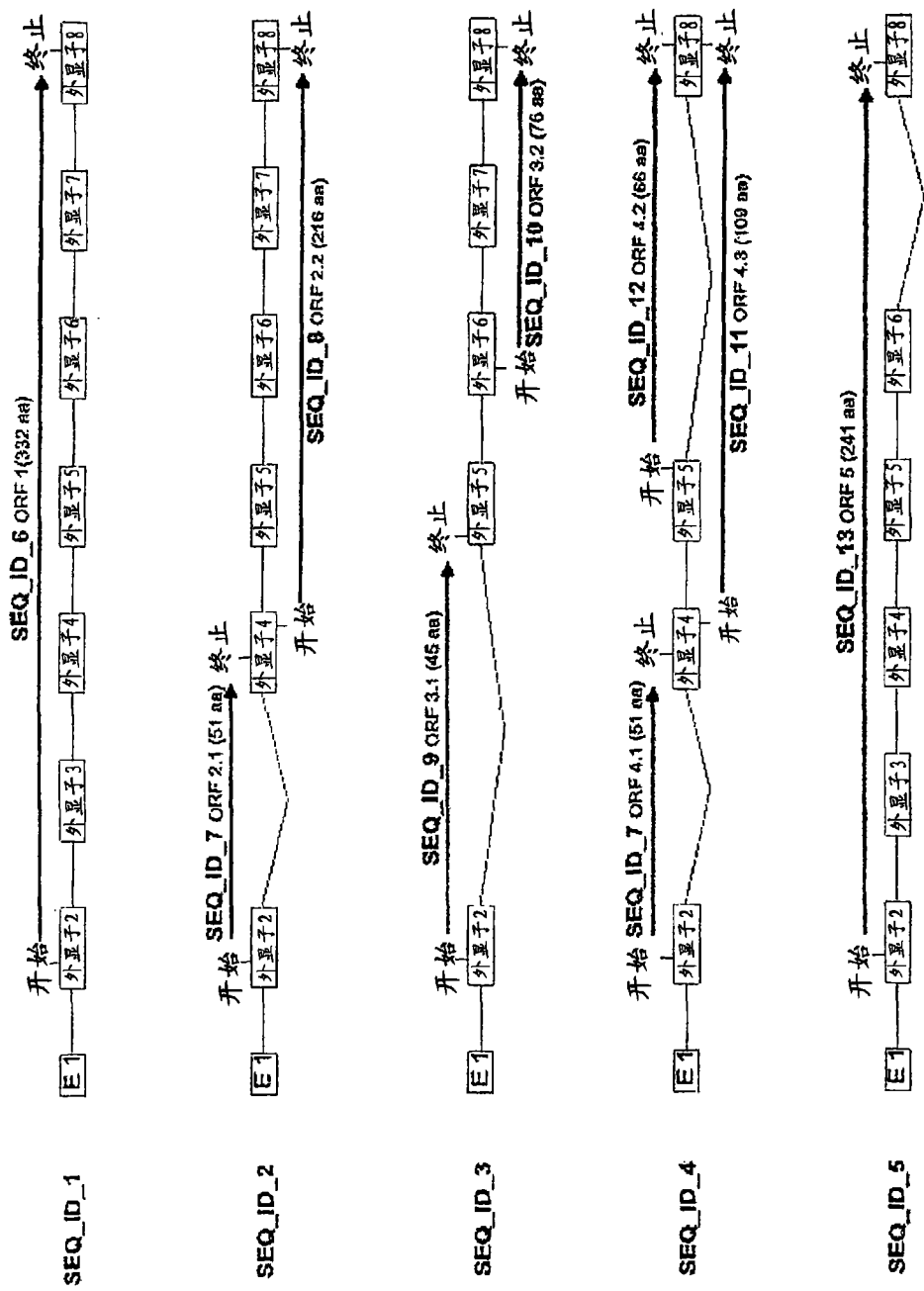


图 2

乳酸脱氢酶活性位点(方框)

142

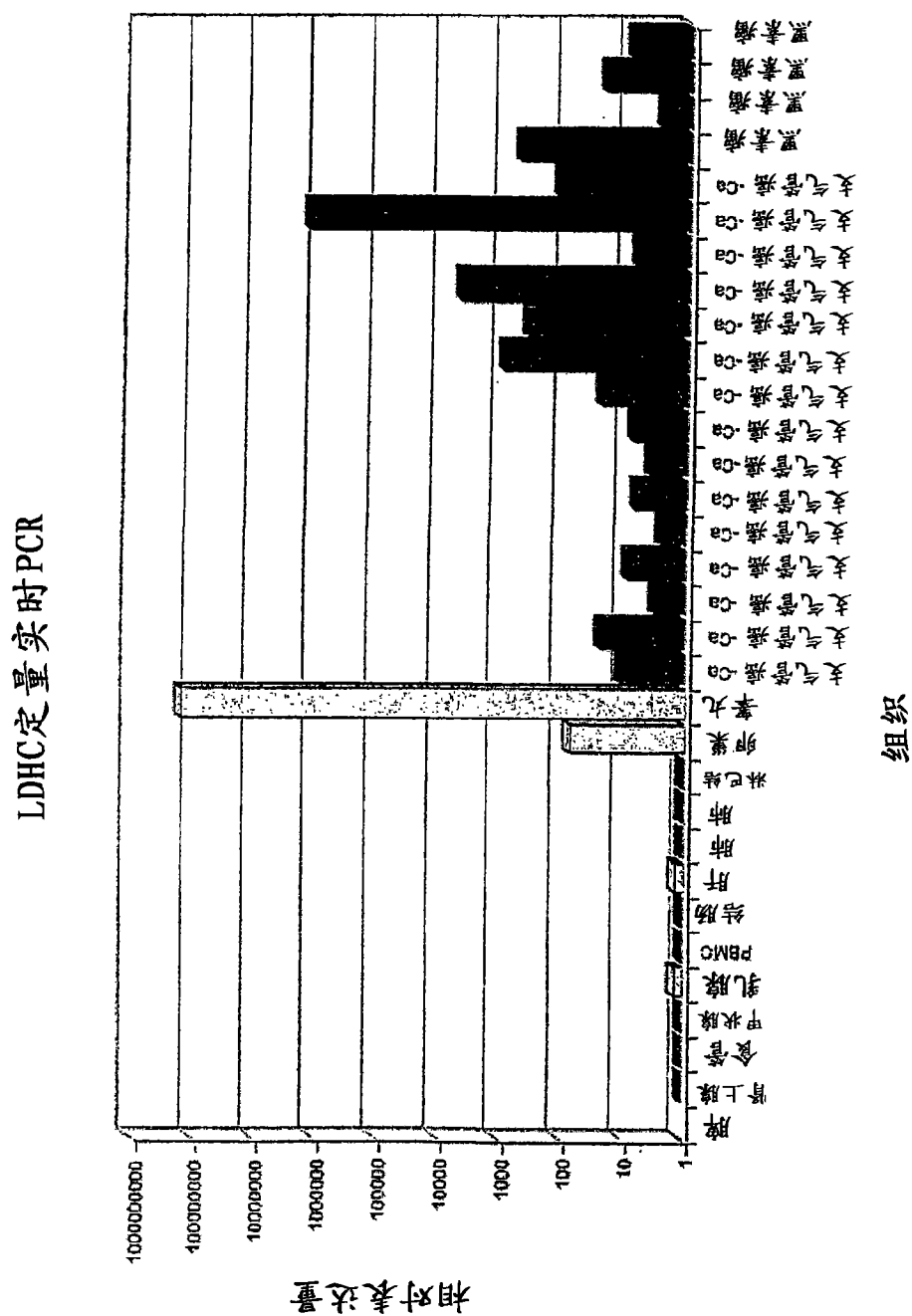


图 4

TPTE剪接变体

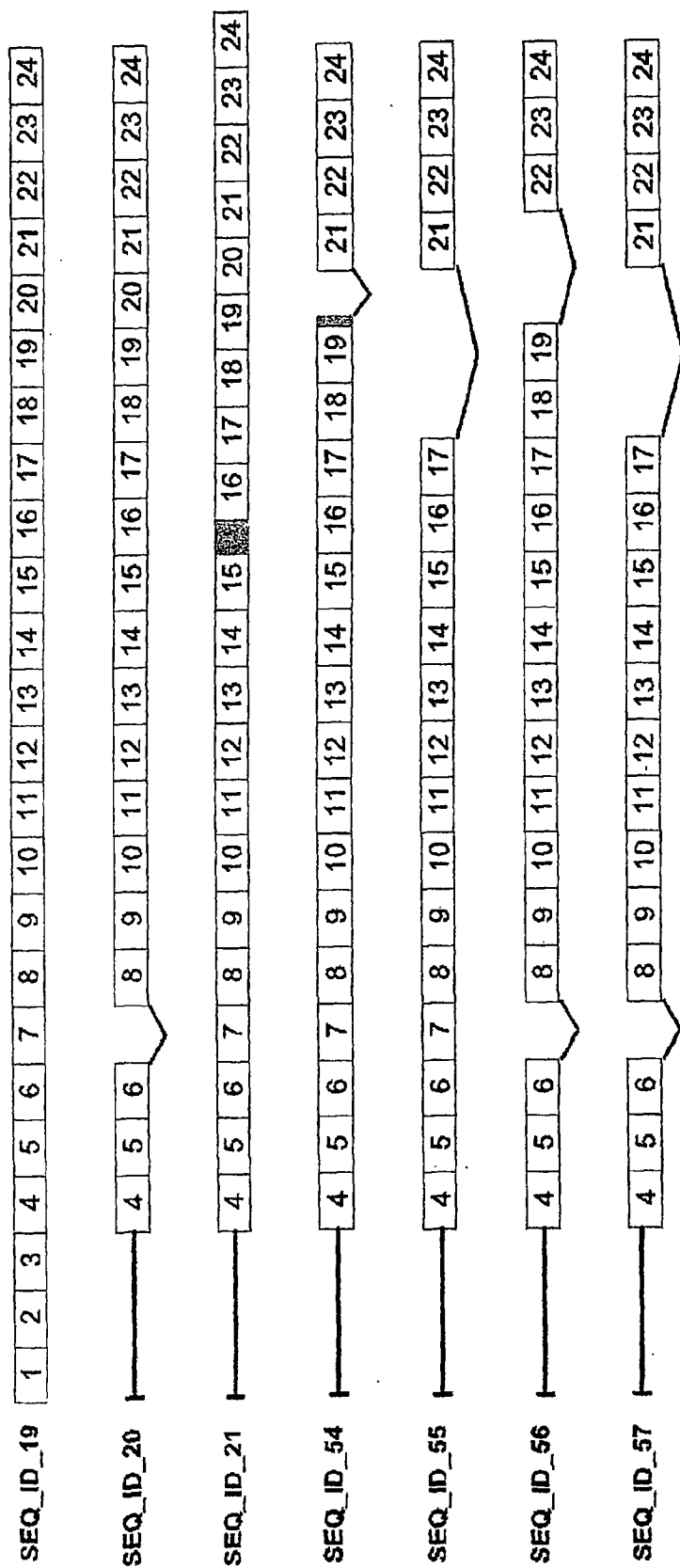


图 5

SEQ_ID_19	MNESPDPTDLAGVIELGPNDSPTSEFKGATEAPAKESPHTSEFKGAARVSPISSEVL	60
SEQ_ID_20	MNESPDPTDLAGVIELGPNDSPTSEFKGATEAPAKESPHTSEFKGAARVSPISSEVL	42
SEQ_ID_21	MNESPDPTDLAGVIELGPNDSPTSEFKGATEAPAKESPHTSEFKGAARVSPISSEVL	60
SEQ_ID_58	MNESPDPTDLAGVIELGPNDSPTSEFKGATEAPAKESPHTSEFKGAARVSPISSEVL	60
SEQ_ID_59	MNESPDPTDLAGVIELGPNDSPTSEFKGATEAPAKESPHTSEFKGAARVSPISSEVL	60
SEQ_ID_60	MNESPDPTDLAGVIELGPNDSPTSEFKGATEAPAKESPHTSEFKGAARVSPISSEVL	42
SEQ_ID_61	MNESPDPTDLAGVIELGPNDSPTSEFKGATEAPAKESPHTSEFKGAARVSPISSEVL	42
SEQ_ID_19	ARLSKFEVEDAENVASYSKIKKIVBSIVSSFAFGVFLGVVLVDVTLILADLIPTOSKL	120
SEQ_ID_20	ARLSKFEVEDAENVASYSKIKKIVBSIVSSFAFGVFLGVVLVDVTLILADLIPTOSKL	102
SEQ_ID_21	ARLSKFEVEDAENVASYSKIKKIVBSIVSSFAFGVFLGVVLVDVTLILADLIPTOSKL	120
SEQ_ID_58	ARLSKFEVEDAENVASYSKIKKIVBSIVSSFAFGVFLGVVLVDVTLILADLIPTOSKL	120
SEQ_ID_59	ARLSKFEVEDAENVASYSKIKKIVBSIVSSFAFGVFLGVVLVDVTLILADLIPTOSKL	120
SEQ_ID_60	ARLSKFEVEDAENVASYSKIKKIVBSIVSSFAFGVFLGVVLVDVTLILADLIPTOSKL	102
SEQ_ID_61	ARLSKFEVEDAENVASYSKIKKIVBSIVSSFAFGVFLGVVLVDVTLILADLIPTOSKL	102
SEQ_ID_19	YIPLEVRSTSLAIALFTLMOVLLRVFVERRQYFSDLNILDTATIVILLVDDVVIIFD	180
SEQ_ID_20	YIPLEVRSTSLAIALFTLMOVLLRVFVERRQYFSDLNILDTATIVILLVDDVVIIFD	162
SEQ_ID_21	YIPLEVRSTSLAIALFTLMOVLLRVFVERRQYFSDLNILDTATIVILLVDDVVIIFD	180
SEQ_ID_58	YIPLEVRSTSLAIALFTLMOVLLRVFVERRQYFSDLNILDTATIVILLVDDVVIIFD	180
SEQ_ID_59	YIPLEVRSTSLAIALFTLMOVLLRVFVERRQYFSDLNILDTATIVILLVDDVVIIFD	180
SEQ_ID_60	YIPLEVRSTSLAIALFTLMOVLLRVFVERRQYFSDLNILDTATIVILLVDDVVIIFD	162
SEQ_ID_61	YIPLEVRSTSLAIALFTLMOVLLRVFVERRQYFSDLNILDTATIVILLVDDVVIIFD	162
SEQ_ID_19	IKLLRNIPTWTHLLRLRLILRLITFLFHQKRQLEKLIARRVSENERRYTRDGFDLDT	240
SEQ_ID_20	IKLLRNIPTWTHLLRLRLILRLITFLFHQKRQLEKLIARRVSENERRYTRDGFDLDT	222
SEQ_ID_21	IKLLRNIPTWTHLLRLRLILRLITFLFHQKRQLEKLIARRVSENERRYTRDGFDLDT	240
SEQ_ID_58	IKLLRNIPTWTHLLRLRLILRLITFLFHQKRQLEKLIARRVSENERRYTRDGFDLDT	240
SEQ_ID_59	IKLLRNIPTWTHLLRLRLILRLITFLFHQKRQLEKLIARRVSENERRYTRDGFDLDT	240
SEQ_ID_60	IKLLRNIPTWTHLLRLRLILRLITFLFHQKRQLEKLIARRVSENERRYTRDGFDLDT	222
SEQ_ID_61	IKLLRNIPTWTHLLRLRLILRLITFLFHQKRQLEKLIARRVSENERRYTRDGFDLDT	222
SEQ_ID_19	YVTERIIAMSFPSSGRQSFYRNPKEVVRFLDKKRNHYRVYNLCS	286
SEQ_ID_20	YVTERIIAMSFPSSGRQSFYRNPKEVVRFLDKKRNHYRVYNLCS	268
SEQ_ID_21	YVTERIIAMSFPSSGRQSFYRNPKEVVRFLDKKRNHYRVYNLCSMYITLYCATVDRQ	300
SEQ_ID_58	YVTERIIAMSFPSSGRQSFYRNPKEVVRFLDKKRNHYRVYNLCS	286
SEQ_ID_59	YVTERIIAMSFPSSGRQSFYRNPKEVVRFLDKKRNHYRVYNLCS	286
SEQ_ID_60	YVTERIIAMSFPSSGRQSFYRNPKEVVRFLDKKRNHYRVYNLCS	268
SEQ_ID_61	YVTERIIAMSFPSSGRQSFYRNPKEVVRFLDKKRNHYRVYNLCS	260
SEQ_ID_19	----ERAYDPKHFHNRVVRIMIDDRNVPTLHQMVVPTKEVNEWMAQDLENIVAIHCKGGT	342
SEQ_ID_20	----ERAYDPKHFHNRVVRIMIDDRNVPTLHQMVVPTKEVNEWMAQDLENIVAIHCKGGT	324
SEQ_ID_21	ITAKERAYDPKHFHNRVVRIMIDDRNVPTLHQMVVPTKEVNEWMAQDLENIVAIHCKGGT	360
SEQ_ID_58	----ERAYDPKHFHNRVVRIMIDDRNVPTLHQMVVPTKEVNEWMAQDLENIVAIHCKGGT	342
SEQ_ID_59	----ERAYDPKHFHNRVVRIMIDDRNVPTLHQMVVPTKEVNEWMAQDLENIVAIHCKGGT	342
SEQ_ID_60	----ERAYDPKHFHNRVVRIMIDDRNVPTLHQMVVPTKEVNEWMAQDLENIVAIHCKGGT	324
SEQ_ID_61	----ERAYDPKHFHNRVVRIMIDDRNVPTLHQMVVPTKEVNEWMAQDLENIVAIHCKGGT	324
SEQ_ID_19	DRGTGMCAPLIASEICTAKESLYYFGERRTDKTHSEKFGQVETPSQKRYVAYFAQVKH	402
SEQ_ID_20	DRGTGMCAPLIASEICTAKESLYYFGERRTDKTHSEKFGQVETPSQKRYVAYFAQVKH	384
SEQ_ID_21	DRGTGMCAPLIASEICTAKESLYYFGERRTDKTHSEKFGQVETPSQKRYVAYFAQVKH	420
SEQ_ID_58	DRGTGMCAPLIASEICTAKESLYYFGERRTDKTHSEKFGQVETPSQKRYVAYFAQVKH	384
SEQ_ID_59	DRGTGMCAPLIASEICTAKESLYYFGERRTDKTHSEKFGQVETPSQKRYVAYFAQVKH	384
SEQ_ID_60	DRGTGMCAPLIASEICTAKESLYYFGERRTDKTHSEKFGQVETPSQKRYVAYFAQVKH	370
SEQ_ID_61	DRGTGMCAPLIASEICTAKESLYYFGERRTDKTHSEKFGQVETPSQKRYVAYFAQVKH	325
SEQ_ID_19	LYNNLPPRRILFIKHFIIYSIPRYRDLKIQIEMKKVVFSTISLGRCSVLNITTDKI	462
SEQ_ID_20	LYNNLPPRRILFIKHFIIYSIPRYRDLKIQIEMKKVVFSTISLGRCSVLNITTDKI	444
SEQ_ID_21	LYNNLPPRRILFIKHFIIYSIPRYRDLKIQIEMKKVVFSTISLGRCSVLNITTDKI	480
SEQ_ID_58	LYNNLPPRRILFIKHFIIYSIPRYRDLKIQIEMKKVVFSTISLGRCSVLNITTDKI	462
SEQ_ID_59	LYNNLPPRRILFIKHFIIYSIPRYRDLKIQIEMKKVVFSTISLGRCSVLNITTDKI	462
SEQ_ID_60	LYNNLPPRRILFIKHFIIYSIPRYRDLKIQIEMKKVVFSTISLGRCSVLNITTDKI	379
SEQ_ID_61	LYNNLPPRRILFIKHFIIYSIPRYRDLKIQIEMKKVVFSTISLGRCSVLNITTDKI	361
SEQ_ID_19	LIDVFDGPPLYDDVQVQFFYSNLPTYYDNCSFYFWLHTSFIENNRILYLPKNELDLNLRQK	522
SEQ_ID_20	LIDVFDGPPLYDDVQVQFFYSNLPTYYDNCSFYFWLHTSFIENNRILYLPKNELDLNLRQK	504
SEQ_ID_21	LIDVFDGPPLYDDVQVQFFYSNLPTYYDNCSFYFWLHTSFIENNRILYLPKNELDLNLRQK	540
SEQ_ID_58	LIDVFDGPPLYDDVQVQFFYSNLPTYYDNCSFYFWLHTSFIENNRILYLPKNELDLNLRQK	540
SEQ_ID_59	LIDVFDGPPLYDDVQVQFFYSNLPTYYDNCSFYFWLHTSFIENNRILYLPKNELDLNLRQK	435
SEQ_ID_60	LIDVFDGPPLYDDVQVQFFYSNLPTYYDNCSFYFWLHTSFIENNRILYLPKNELDLNLRQK	441
SEQ_ID_61	LIDVFDGPPLYDDVQVQFFYSNLPTYYDNCSFYFWLHTSFIENNRILYLPKNELDLNLRQK	421
SEQ_ID_19	ARRIYPSDFAVEILFGEKMTSSDVVAGSD	551
SEQ_ID_20	ARRIYPSDFAVEILFGEKMTSSDVVAGSD	533
SEQ_ID_21	ARRIYPSDFAVEILFGEKMTSSDVVAGSD	569
SEQ_ID_58	ARRIYPSDFAVEILFGEKMTSSDVVAGSD	569
SEQ_ID_59	ARRIYPSDFAVEILFGEKMTSSDVVAGSD	463
SEQ_ID_60	ARRIYPSDFAVEILFGEKMTSSDVVAGSD	470
SEQ_ID_61	ARRIYPSDFAVEILFGEKMTSSDVVAGSD	450

图 6

[illegible]

图 7a

图 7b

1 SEQ_36	MTVLEITLAVITLLGLAILALLTRWARCKGSEMYSRYSEQSNARLLDYEDGGRSRHAYSTQS -----EAGKROVTPSTNSIALSR	83
2 SEQ_34	MTVLEITLAVITLLGLAILALLTRWARCKGSEMYSRYSEQSNARLLDYEDGGRSRHAYSTQSDTSYONKRSKEDYTFSTNSIALSR	90
3 SEQ_35	MTVLEITLAVITLLGLAILALLTRWARCKGSEMYSRYSEQSNARLLDYEDGGRSRHAYSTQSDTSYONKRSKEDYTFSTNSIALSR	90
4 NM_006781	MTVLEITLAVITLLGLAILALLTRWARCKGSEMYSRYSEQSNARLLDYEDGGRSRHAYSTQSDTSYONKRSKEDYTFSTNSIALSR	90
1 SEQ_36	SSIALPQGSMSISIKCLOTTTEPPSRRTAGAMQTAFLF GATGTHNLSQKTIIVQTPGPIVQYVGSN -----AGPESAFRGPFMAPILI	165
2 SEQ_34	SSIALPQGSMSISIKCLOTTTEPPSRRTAGAMQTAFLF GATGTHNLSQKTIIVQTPGPIVQYVGSN -----AGPESAFRGPFMAPILI	172
3 SEQ_35	SSIALPQGSMSISIKCLOTTTEPPSRRTAGAMQTAFLF GATGTHNLSQKTIIVQTPGPIVQYVGSN -----AGPESAFRGPFMAPILI	180
4 NM_006781	SSIALPQGSMSISIKCLOTTTEPPSRRTAGAMQTAFLF GATGTHNLSQKTIIVQTPGPIVQYVGSN -----AGPESAFRGPFMAPILI	178
1 SEQ_36	SORTASQLAAPITIIISORTARIPQVHTMDSSGKITLTPVVLITGYMDEBELAKKSCSKITQILKCGGTAKSONSREENKEALKNDIIFTNSVE	255
2 SEQ_34	SORTASQLAAPITIIISORTARIPQVHTMDSSGKITLTPVVLITGYMDEBELAKKSCSKITQILKCGGTAKSONSREENKEALKNDIIFTNSVE	262
3 SEQ_35	SORTASQLAAPITIIISORTARIPQVHTMDSSGKITLTPVVLITGYMDEBELAKKSCSKITQILKCGGTAKSONSREENKEALKNDIIFTNSVE	270
4 NM_006781	SORTASQLAAPITIIISORTARIPQVHTMDSSGKITLTPVVLITGYMDEBELAKKSCSKITQILKCGGTAKSONSREENKEALKNDIIFTNSVE	261
1 SEQ_36	SLKSAHIKEPEBREGKGTDLERDKIGMEVYKVDSDAGI PKRQETQLKISEMS I PQGQGAQIKKSVSDVPRGQESQVKKSESGVPRGQEAQVT	345
2 SEQ_34	SLKSAHIKEPEBREGKGTDLERDKIGMEVYKVDSDAGI PKRQETQLKISEMS I PQGQGAQIKKSVSDVPRGQESQVKKSESGVPRGQEAQVT	352
3 SEQ_35	SLKSAHIKEPEBREGKGTDLERDKIGMEVYKVDSDAGI PKRQETQLKISEMS I PQGQGAQIKKSVSDVPRGQESQVKKSESGVPRGQEAQVT	360
4 NM_006781	SLKSAHIKEPEBREGKGTDLERDKIGMEVYKVDSDAGI PKRQETQLKISEMS I PQGQGAQIKKSVSDVPRGQESQVKKSESGVPRGQEAQVT	351
1 SEQ_36	KSGLVVLKGQEAQVEKSEMGVPRRQESQVKKSQSGSVKSGQEAQVKKIESVVLKGQEAQVEKSELKVPKQEGQVEKTEADVPKEQEVQEK	435
2 SEQ_34	KSGLVVLKGQEAQVEKSEMGVPRRQESQVKKSQSGSVKSGQEAQVKKIESVVLKGQEAQVEKSELKVPKQEGQVEKTEADVPKEQEVQEK	442
3 SEQ_35	KSGLVVLKGQEAQVEKSEMGVPRRQESQVKKSQSGSVKSGQEAQVKKIESVVLKGQEAQVEKSELKVPKQEGQVEKTEADVPKEQEVQEK	450
4 NM_006781	KSGLVVLKGQEAQVEKSEMGVPRRQESQVKKSQSGSVKSGQEAQVKKIESVVLKGQEAQVEKSELKVPKQEGQVEKTEADVPKEQEVQEK	441
1 SEQ_36	KSEAGVLKGFESQVKNTEVSVPELTESQVKKSEHGLKGQEAQVEKSEFEDKGNNDKERNDAEKOPNKKENGDNNTKNGDKOKVKGR	525
2 SEQ_34	KSEAGVLKGFESQVKNTEVSVPELTESQVKKSEHGLKGQEAQVEKSEFEDKGNNDKERNDAEKOPNKKENGDNNTKNGDKOKVKGR	532
3 SEQ_35	KSEAGVLKGFESQVKNTEVSVPELTESQVKKSEHGLKGQEAQVEKSEFEDKGNNDKERNDAEKOPNKKENGDNNTKNGDKOKVKGR	540
4 NM_006781	KSEAGVLKGFESQVKNTEVSVPELTESQVKKSEHGLKGQEAQVEKSEFEDKGNNDKERNDAEKOPNKKENGDNNTKNGDKOKVKGR	531
1 SEQ_36	ESEINGEKSGSKRAKANTGRKYNKKVEE -----	554
2 SEQ_34	ESEINGEKSGSKRAKANTGRKYNKKVEE -----	561
3 SEQ_35	ESEINGEKSGSKRAKANTGRKYNKKVEE -----	569
4 NM_006781	ESEINGEKSGSKRAKANTGRKYNKKVEE -----	568



MS4A12

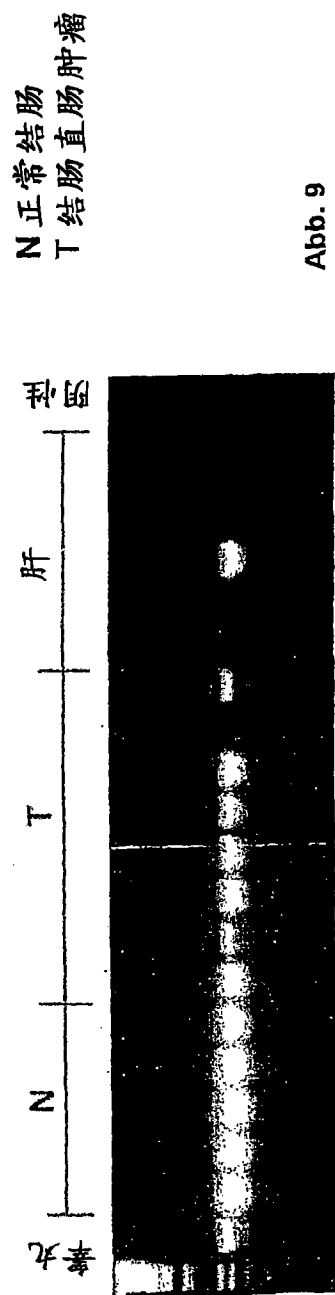


Abb. 9

图 9

BRC01

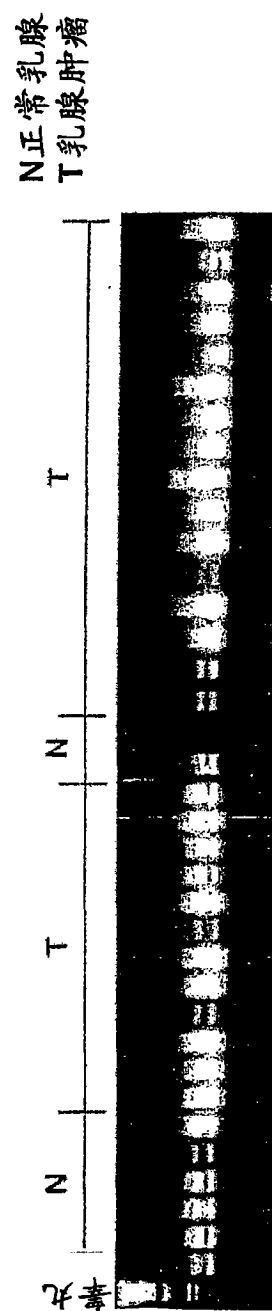


图 10

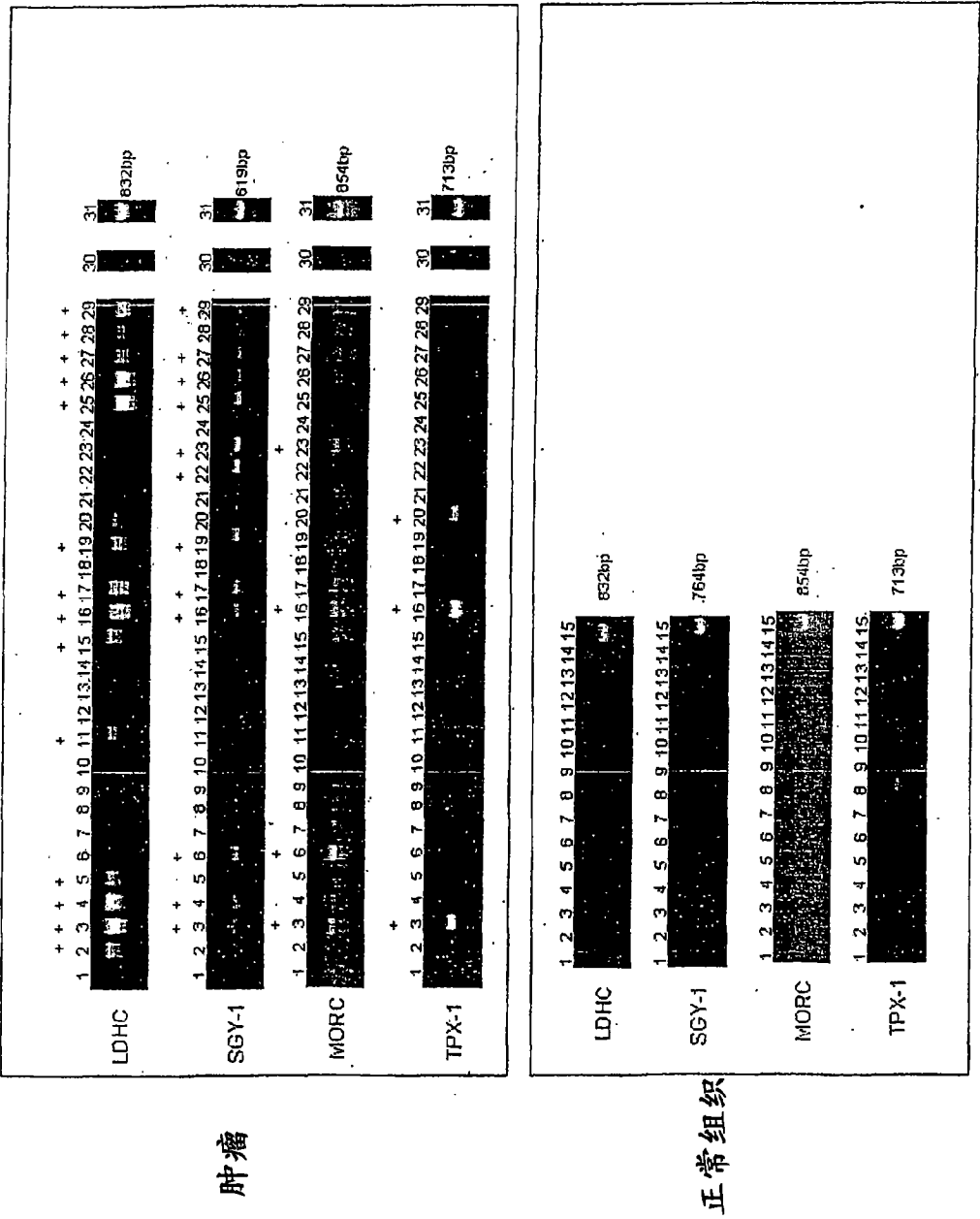


图 11

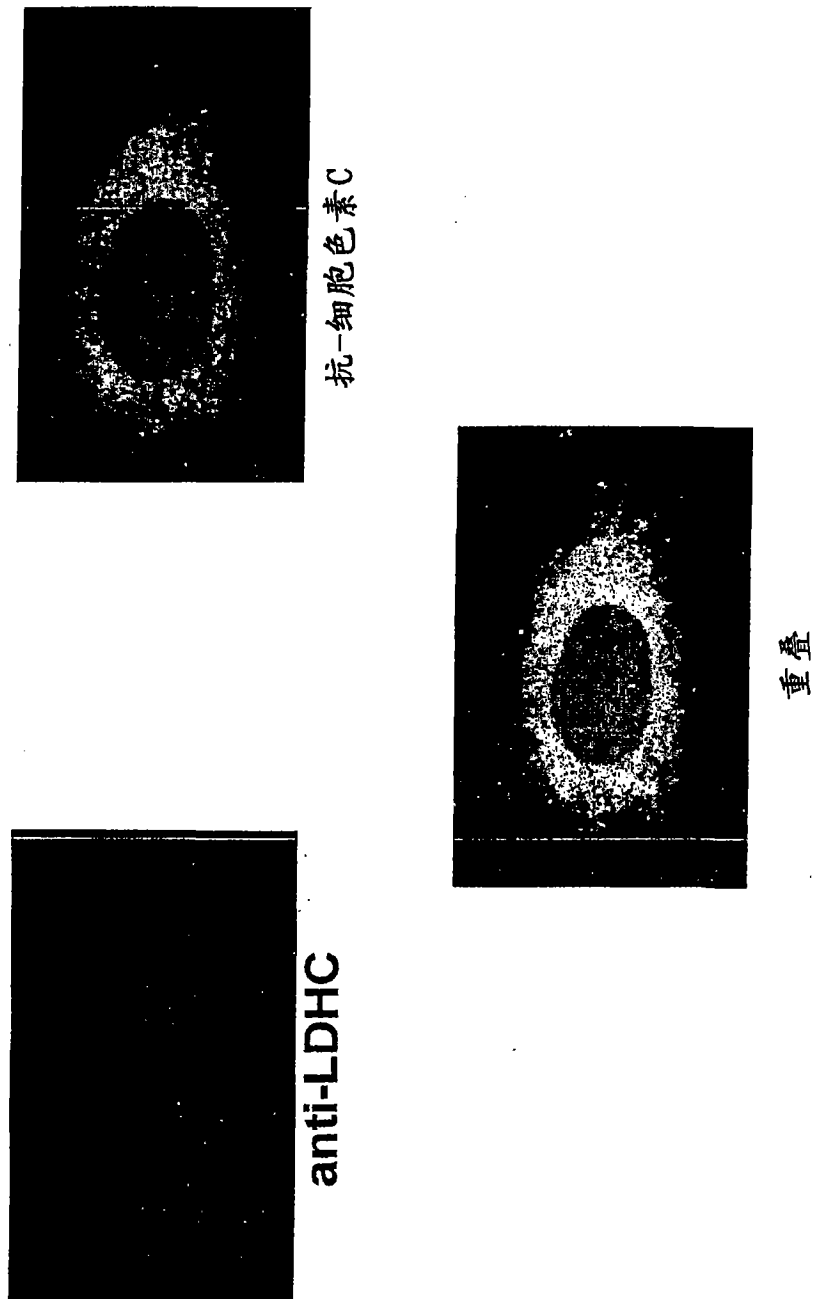


图 12

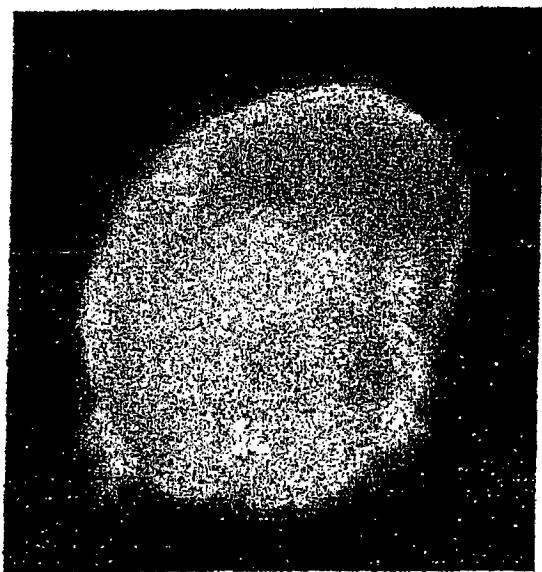


图 14

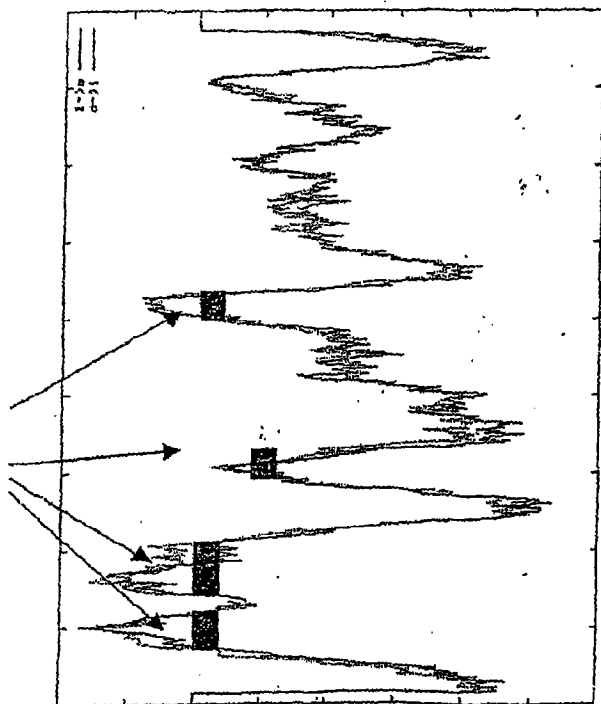


图 13