



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 107205368 B

(45) 授权公告日 2020.11.17

(21) 申请号 201580066047.0	(72) 发明人 C·居雷尔 E·约费 A·穆希卡 G·瑟斯顿
(22) 申请日 2015.11.25	
(65) 同一申请的已公布的文献号 申请公布号 CN 107205368 A	(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所 有限公司 11038 代理人 罗菊华
(43) 申请公布日 2017.09.26	
(30) 优先权数据 62/087,992 2014.12.05 US	(51) Int.Cl. C12N 15/87 (2006.01) C12N 5/10 (2006.01)
(85) PCT国际申请进入国家阶段日 2017.06.05	(56) 对比文件 CN 101506235 A,2009.08.12 CN 101133083 A,2008.02.27 WO 2013056352 A1,2013.04.25
(86) PCT国际申请的申请数据 PCT/US2015/062614 2015.11.25	
(87) PCT国际申请的公布数据 W02016/089692 EN 2016.06.09	审查员 张团委
(73) 专利权人 瑞泽恩制药公司 地址 美国纽约	权利要求书3页 说明书69页 序列表36页 附图9页

(54) 发明名称
具有人源化分化簇47基因的非人动物

(57) 摘要
本发明提供了非人动物及其制备和使用方法和组合物,其中所述非人动物包含人源化的内源分化簇(CD)基因,具体地讲人源化的CD47基因。在一些实施方案中,所述非人动物可描述为具有内源CD47基因的遗传修饰,使得所述非人动物表达包括人部分和非人部分(例如,鼠科部分)的CD47多肽。

1. 一种包含人源化CD47基因的啮齿动物基因组,其中所述人源化CD47基因包含内源啮齿动物CD47基因的外显子1、人CD47基因的外显子2-7和内源啮齿动物CD47基因的外显子7下游的外显子,其中所述人源化CD47基因可操作地连接至内源啮齿动物CD47启动子。

2. 权利要求1所述的啮齿动物基因组,其中所述人源化CD47基因是在内源啮齿动物CD47基因座上。

3. 权利要求1所述的啮齿动物基因组,其中所述啮齿动物基因组还包含编码SIRP α 多肽的SIRP α 基因,所述SIRP α 多肽包含人SIRP α 多肽的胞外域和内源啮齿动物SIRP α 多肽的胞内域,其中所述SIRP α 多肽与CD47多肽相互作用。

4. 权利要求3所述的啮齿动物基因组,其中所述SIRP α 基因包含内源啮齿动物SIRP α 基因的外显子1、5、6、7和8和人SIRP α 基因的外显子2-4。

5. 权利要求1-4中任一项所述的啮齿动物基因组,其中所述啮齿动物是大鼠或小鼠。

6. 一种提供啮齿动物的方法,所述方法包括修饰所述啮齿动物的基因组,使得其包含人源化CD47基因,其中所述人源化CD47基因包含内源啮齿动物CD47基因的外显子1、人CD47基因的外显子2-7和内源啮齿动物CD47基因的外显子7下游的外显子,从而提供所述啮齿动物。

7. 权利要求6所述的方法,其中所述修饰包括:

(a) 将基因组片段插入啮齿动物ES细胞中的内源啮齿动物CD47基因座,所述基因组片段包含人CD47基因的外显子2-7,从而在所述内源啮齿动物CD47基因座形成所述人源化CD47基因;

(b) 获得包含步骤(a)的人源化CD47基因的啮齿动物ES细胞;以及

(c) 使用步骤(b)的啮齿动物ES细胞形成啮齿动物。

8. 权利要求7所述的方法,其中所述人源化CD47基因包含啮齿动物CD47基因的外显子1和外显子7下游的外显子。

9. 权利要求6所述的方法,其中形成的啮齿动物的基因组还包含编码SIRP α 多肽的SIRP α 基因,所述SIRP α 多肽包含人SIRP α 多肽的胞外域和内源啮齿动物SIRP α 多肽的胞内域,其中所述SIRP α 多肽与CD47多肽相互作用。

10. 权利要求9所述的方法,其中所述SIRP α 基因包含内源啮齿动物SIRP α 基因的外显子1、5、6、7和8和人SIRP α 基因的外显子2-4。

11. 权利要求6-10中任一项所述的方法,其中所述啮齿动物是小鼠或大鼠。

12. 一种提供啮齿动物ES细胞的方法,包括:

(a) 将基因组片段插入啮齿动物ES细胞中的内源啮齿动物CD47基因座,所述基因组片段包含人CD47基因的外显子2-7,从而在所述内源啮齿动物CD47基因座形成人源化CD47基因;

(b) 获得包含步骤(a)的人源化CD47基因的啮齿动物ES细胞。

13. 权利要求12所述的方法,其中所述人源化CD47基因包含啮齿动物CD47基因的外显子1和外显子7下游的外显子。

14. 权利要求12或13所述的方法,其中所述啮齿动物ES细胞是小鼠ES细胞或大鼠ES细胞。

15. 啮齿动物用于制备可用于评估人细胞的植入的啮齿动物模型的用途,其中所述啮

齿动物的基因组在内源啮齿动物CD47基因座上包含人源化CD47基因,其中所述人源化CD47基因包含内源啮齿动物CD47基因的外显子1、人CD47基因的外显子2-7和内源啮齿动物CD47基因的外显子7下游的外显子,并且,其中所述人源化CD47基因在内源啮齿动物CD47基因座上可操作地连接至内源啮齿动物CD47启动子。

16. 权利要求15所述的用途,其中所述人细胞是造血干细胞。

17. 啮齿动物用于制备可用于评估靶向人细胞的药物的治疗功效的啮齿动物模型的用途,其中所述啮齿动物的基因组在内源啮齿动物CD47基因座上包含人源化CD47基因,其中所述人源化CD47基因包含内源啮齿动物CD47基因的外显子1、人CD47基因的外显子2-7和内源啮齿动物CD47基因的外显子7下游的外显子,其中所述人源化CD47基因在内源啮齿动物CD47基因座上可操作地连接至内源啮齿动物CD47启动子,并且其中一种或多种人细胞已被移植到所述啮齿动物,所述评估包括将候选药物施用给所述啮齿动物和监测所述啮齿动物中的所述人细胞,以确定所述候选药物的治疗功效。

18. 权利要求17所述的用途,其中所述候选药物是抗体。

19. 一种用于评估人CD47蛋白的候选调节剂是否诱导红细胞的凝集的方法,所述方法包括:

在存在所述候选调节剂的情况下温育红细胞,其中所述红细胞分离自啮齿动物,所述啮齿动物的基因组在内源啮齿动物CD47基因座上包含人源化CD47基因,其中所述人源化CD47基因包含内源啮齿动物CD47基因的外显子1、人CD47基因的外显子2-7和内源啮齿动物CD47基因的外显子7下游的外显子,并且,其中所述人源化CD47基因在内源啮齿动物CD47基因座上可操作地连接至内源啮齿动物CD47启动子;以及

评估所述候选调节剂是否诱导所述红细胞的凝集。

20. 权利要求19所述的方法,其中所述候选调节剂是抗体。

21. 权利要求15所述的用途,其中所述啮齿动物的基因组还包含编码SIRP α 多肽的SIRP α 基因,所述SIRP α 多肽包含人SIRP α 多肽的胞外域和内源啮齿动物SIRP α 多肽的胞内域,其中所述SIRP α 多肽与CD47多肽相互作用。

22. 权利要求21所述的用途,其中所述SIRP α 基因包含内源啮齿动物SIRP α 基因的外显子1、5、6、7和8和人SIRP α 基因的外显子2-4。

23. 权利要求15-16或21-22中任一项所述的用途,其中所述啮齿动物是大鼠或小鼠。

24. 权利要求17所述的用途,其中所述啮齿动物的基因组还包含编码SIRP α 多肽的SIRP α 基因,所述SIRP α 多肽包含人SIRP α 多肽的胞外域和内源啮齿动物SIRP α 多肽的胞内域,其中所述SIRP α 多肽与CD47多肽相互作用。

25. 权利要求24所述的用途,其中所述SIRP α 基因包含内源啮齿动物SIRP α 基因的外显子1、5、6、7和8和人SIRP α 基因的外显子2-4。

26. 权利要求17-18或24-25中任一项所述的用途,其中所述啮齿动物是大鼠或小鼠。

27. 权利要求19所述的方法,其中所述啮齿动物的基因组还包含编码SIRP α 多肽的SIRP α 基因,所述SIRP α 多肽包含人SIRP α 多肽的胞外域和内源啮齿动物SIRP α 多肽的胞内域,其中所述SIRP α 多肽与CD47多肽相互作用。

28. 权利要求27所述的方法,其中所述SIRP α 基因包含内源啮齿动物SIRP α 基因的外显子1、5、6、7和8和人SIRP α 基因的外显子2-4。

29. 权利要求19-20或27-28中任一项所述的方法,其中所述啮齿动物是大鼠或小鼠。

具有人源化分化簇47基因的非人动物

[0001] 相关专利申请的交叉引用

[0002] 本申请要求2014年12月5日提交的美国专利申请序列号62/087,992的优先权,该专利据此全文以引用方式并入本文。

[0003] 序列表以引用方式并入

[0004] 序列表为2015年11月23日创建的名称为32584_10108W001_SequenceListing.txt、大小为96.0KB的ASCII文本文件,其经由EFS-Web提交给美国专利及商标局,并且以引用方式并入本文中。

背景技术

[0005] 癌症治疗可分为四种主要类别:化疗/放疗、激素治疗、靶向治疗和免疫治疗。医学研究和开发的重点集中于靶向治疗并且已获得重大改进,但癌症仍然是患者和全球卫生保健行业的重大挑战。该重大挑战部分是由于癌细胞能够避开先天性和适应性免疫系统的监测机制,这在一定程度上是吞噬清除抑制的结果。目前,不存在这样的体内系统,该体内系统任选地确定设计为激活癌细胞的吞噬清除的新癌症疗法的治疗潜力,以及确定癌细胞如何向巨噬细胞和吞噬细胞提供抑制信号的分子层面。此类系统提供了测定体内吞噬作用和巨噬细胞功能的来源,以及目标为通过向免疫系统发起促吞噬信号而提供抗肿瘤环境的新癌症疗法的鉴定。

发明内容

[0006] 本发明涵盖以下认知,即期望对非人动物进行工程化,以允许用于鉴定和开发新癌症治疗剂的改进的系统。本发明还涵盖以下认知,即期望对非人动物进行工程化,以允许对造血干细胞的改进的植入。另外,本发明还涵盖以下认知,即具有人源化CD47基因和/或以其他方式表达、包含或产生人或人源化CD47多肽的非人动物对于例如用于鉴定和开发癌症治疗剂是所期望的,所述治疗剂克服了CD47阻断相关的全身毒性并且克服了CD47介导的肿瘤细胞吞噬作用抑制,并且提供了用于植入造血干细胞的更有效的体内系统,所述造血干细胞提供了许多广泛的人细胞类型稳态的增加。

[0007] 在一些实施方案中,本发明提供具有包含CD47基因的基因组的非人动物,所述CD47基因包含来自两种不同物种(例如人和非人)的遗传物质。在一些实施方案中,如本文所述的非人动物的CD47基因编码包含人和非人部分的CD47多肽,其中所述人和非人部分连接在一起并且形成功能性CD47多肽。

[0008] 在一些实施方案中,本发明的非人动物包含含有内源部分和人部分的CD47基因,其中所述内源和人部分可操作地连接至内源启动子。

[0009] 在一些实施方案中,内源部分包含内源CD47基因的外显子1和外显子7下游的外显子。在某些实施方案中,内源CD47基因的外显子1和外显子7下游的外显子与表3中呈现的小鼠CD47基因的对应的外显子1和外显子7下游的外显子具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少98%的同

一性。在一些实施方案中,内源CD47基因的外显子1和外显子7下游的外显子与表3中呈现的小鼠CD47基因的对应的外显子1和外显子7下游的外显子相同。

[0010] 在一些实施方案中,人部分编码人CD47多肽的氨基酸16-292。在一些实施方案中,人部分编码人CD47多肽的氨基酸19-292。在一些实施方案中,人部分编码人CD47多肽的氨基酸19-141。在一些实施方案中,人部分编码人CD47多肽的氨基酸19-127。在一些实施方案中,人部分包含人CD47基因的外显子2-7。

[0011] 在一些实施方案中,人CD47基因的外显子2-7与表3中呈现的人CD47基因的对应的外显子2-7具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少98%的同一性。在一些实施方案中,人CD47基因的外显子2-7与表3中呈现的人CD47基因的对应的外显子2-7相同。

[0012] 在一些实施方案中,本发明的非人动物包含含有人CD47多肽的胞外部分和内源CD47多肽的胞内部分的CD47多肽。在一些实施方案中,CD47多肽包含人CD47多肽的跨膜部分。在其他实施方案中,CD47多肽包含非人CD47多肽的跨膜部分。在一些实施方案中,CD47多肽在非人动物的细胞中由非人信号肽翻译。在某些实施方案中,非人信号肽是啮齿动物(例如,小鼠或大鼠)信号肽。

[0013] 在一些实施方案中,本发明的CD47多肽从内源非人CD47基因表达。

[0014] 在一些实施方案中,内源CD47多肽的胞内部分包含胞质内尾部,所述胞质内尾部具有的氨基酸序列与表3中呈现的小鼠CD47多肽的胞质内尾部具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少98%的同一性。在一些实施方案中,内源CD47多肽的胞内部分包含胞质内尾部,所述胞质内尾部具有的氨基酸序列与表3中呈现的小鼠CD47多肽的胞质内尾部相同。

[0015] 在一些实施方案中,人CD47多肽的胞外部分包含与人CD47多肽的残基19-141对应的氨基酸。在一些实施方案中,人CD47多肽的胞外部分包含与人CD47多肽的残基19-127对应的氨基酸。在一些实施方案中,人CD47多肽的胞外部分包含这样的氨基酸序列:其与表3中呈现的人CD47多肽的胞外部分的对应的氨基酸序列具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少98%的同一性。在一些实施方案中,人CD47多肽的胞外部分包含氨基酸序列,所述氨基酸序列与表3中呈现的人CD47多肽的胞外部分的对应的氨基酸序列相同。

[0016] 在一些实施方案中,本发明提供如本文所述的由非人动物的CD47基因编码的CD47多肽。在某些实施方案中,编码的CD47多肽包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19或SEQ ID NO:20具有至少50%、至少55%、至少60%、至少65%、至少70%、至少75%、至少80%、至少85%、至少90%、至少95%或至少98%的同一性的氨基酸序列。在某些实施方案中,编码的CD47多肽包含与SEQ ID NO:17、SEQ ID NO:18、SEQ ID NO:19或SEQ ID NO:20相同的氨基酸序列。

[0017] 在一些实施方案中,本发明提供人源化CD47基因,所述人源化CD47基因包含可操作地连接至人CD47基因的一个或多个外显子的非人CD47基因的一个或多个外显子。在某些实施方案中,本发明的人源化CD47基因包含编码CD47多肽的胞内部分的非人外显子和编码人CD47多肽的胞外部分的人外显子。在一些实施方案中,人源化CD47基因还包含编码人CD47多肽的跨膜部分的人外显子。在某些实施方案中,本发明的人源化CD47基因包含编码

CD47多肽的全部或部分信号肽和胞内部分的非人外显子,以及编码CD47多肽的胞外部分和任选的跨膜部分的人外显子。

[0018] 在一些实施方案中,本发明提供来自如本文所述的非人动物的分离的细胞或组织。在一些实施方案中,本发明提供包含如本文所述的CD47基因的分离的细胞或组织。在一些实施方案中,细胞选自树突状细胞、淋巴细胞(例如,B细胞或T细胞)、巨噬细胞和单核细胞。在一些实施方案中,组织选自脂肪、膀胱、大脑、乳房、骨髓、眼、心、肠、肾、肝、肺、淋巴结、肌肉、胰腺、血浆、血清、皮肤、脾、胃、胸腺、睾丸、卵子以及它们的组合。

[0019] 在一些实施方案中,本发明提供非人胚胎干细胞,其基因组包含如本文所述的CD47基因。在一些实施方案中,非人胚胎干细胞为小鼠胚胎干细胞并且来自129品系、C57BL/6品系或BALB/c品系。在一些实施方案中,非人胚胎干细胞为小鼠胚胎干细胞并且来自129和C57BL/6品系的混合物。

[0020] 在一些实施方案中,本发明提供如本文所述的非人胚胎干细胞用于制备非人动物的用途。在某些实施方案中,非人胚胎干细胞为小鼠胚胎干细胞并且用于制备包含如本文所述的CD47基因的小鼠。在某些实施方案中,非人胚胎干细胞为大鼠胚胎干细胞并且用于制备包含如本文所述的CD47基因的大鼠。

[0021] 在一些实施方案中,本发明提供非人胚胎包含含有如本文所述的CD47基因的非人胚胎干细胞、由其制备、由其获得或由其产生。在某些实施方案中,非人胚胎是啮齿动物胚胎。在一些实施方案中,啮齿动物胚胎是小鼠胚胎。在一些实施方案中,啮齿动物胚胎是大鼠胚胎。

[0022] 在一些实施方案中,本发明提供一种制备表达来自内源CD47基因的CD47多肽的非人动物的方法,其中所述CD47多肽包含人序列,所述方法包括将基因组片段插入非人胚胎干细胞中的内源CD47基因,所述基因组片段包含编码全部或部分的人CD47多肽的核苷酸序列;获得包含内源CD47基因的非人胚胎干细胞,所述内源CD47基因包含编码全部或部分的人CD47多肽的核苷酸序列;以及使用包含编码全部或部分的人CD47多肽的所述核苷酸序列的非人胚胎干细胞形成非人动物。

[0023] 在一些实施方案中,人序列包含与人CD47多肽的残基19-141(或19-292)对应的氨基酸。在一些实施方案中,人序列包含与人CD47多肽的残基19-127对应的氨基酸。

[0024] 在一些实施方案中,核苷酸序列包含人CD47基因的外显子2-7。在一些实施方案中,核苷酸序列包含一个或多个选择标志物。在一些实施方案中,核苷酸序列包含一个或多个位点特异性重组位点。

[0025] 在一些实施方案中,所述方法还包括将基因组片段插入非人胚胎干细胞的内源SIRP α 基因的步骤,所述基因组片段包含编码全部或部分的人SIRP α 多肽(例如,编码人SIRP α 多肽的胞外部分)的核苷酸序列。在某些实施方案中,在插入内源CD47基因之前将包含编码全部或部分的人SIRP α 多肽(例如,编码人SIRP α 多肽的胞外部分)的核苷酸序列的基因组片段插入非人胚胎干细胞的内源SIRP α 基因。

[0026] 在一些实施方案中,所述方法还包括使包含内源CD47基因(所述内源CD47基因包括编码全部或部分的人CD47多肽的核苷酸序列)的非人动物与第二非人动物交配,所述第二非人动物具有包含编码SIRP α 多肽的SIRP α 基因的基因组,所述SIRP α 多肽包含人SIRP α 多肽的胞外部分(例如,与人SIRP α 多肽的残基28-362对应的氨基酸)和内源SIRP α 多肽的胞内

部分。

[0027] 在一些实施方案中,本发明提供一种提供非人动物的方法,所述非人动物的基因组包含CD47基因,所述CD47基因编码连接至内源CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分,所述方法包括修饰非人动物的基因组,使得其包含编码连接至内源CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分的CD47基因,从而提供所述非人动物。在一些实施方案中,CD47基因编码CD47多肽,所述CD47多肽包含连接至内源非人CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分和跨膜部分。在其他实施方案中,CD47基因编码CD47多肽,所述CD47多肽包含连接至内源非人CD47多肽的跨膜部分和胞内部分的人CD47多肽的胞外部分。

[0028] 在一些实施方案中,修饰非人动物的基因组在非人胚胎干细胞中进行。在某些实施方案中,非人胚胎干细胞为啮齿动物胚胎干细胞;在一些实施方案中,为小鼠胚胎干细胞;在一些实施方案中,为大鼠胚胎干细胞。

[0029] 在一些实施方案中,所述方法还包括修饰非人动物的基因组,使得其包含SIRP α 基因,所述SIRP α 基因编码连接至内源SIRP α 多肽的胞内部分的人SIRP α 多肽的胞外部分(例如,与人SIRP α 多肽的残基28-362对应的氨基酸)。在某些实施方案中,修饰非人动物的基因组,使得其包含SIRP α 基因,所述SIRP α 基因编码连接至内源SIRP α 多肽的胞内部分的人SIRP α 多肽的胞外部分(例如,与人SIRP α 多肽的残基28-362对应的氨基酸),所述修饰非人动物的基因组在修饰非人动物的基因组,使得其包含CD47基因(所述CD47基因编码连接至内源CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分和任选的跨膜部分)之前进行。

[0030] 在一些实施方案中,所述方法还包括使非人动物与第二非人动物交配,所述非人动物的基因组包含CD47基因,所述CD47基因编码连接至内源CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分,所述第二非人动物具有包含编码SIRP α 多肽的SIRP α 基因的基因组,所述SIRP α 多肽包含人SIRP α 多肽的胞外部分(例如,与人SIRP α 多肽的残基28-362对应的氨基酸)和内源SIRP α 多肽的胞内部分。

[0031] 在一些实施方案中,本发明提供可通过如本文所述的方法获得的非人动物。

[0032] 在一些实施方案中,本发明提供一种将人细胞植入非人动物的方法,所述方法包括以下步骤:提供非人动物,所述非人动物的基因组包含CD47基因,所述CD47基因编码连接至内源CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分;以及将一种或多种人细胞移植到所述非人动物。在某些实施方案中,所述方法还包括测定所述非人动物中一种或多种人细胞的植入的步骤。在某些实施方案中,测定的步骤包括将一种或多种人细胞的植入与一种或多种野生型非人动物中或一种或多种非人动物中的植入相比较,所述非人动物的基因组不包含编码连接至内源CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分的CD47基因。

[0033] 在一些实施方案中,人细胞是造血干细胞。在一些实施方案中,人细胞是静脉内移植的。在一些实施方案中,人细胞是腹膜内移植的。在一些实施方案中,人细胞是皮下移植的。

[0034] 在一些实施方案中,本发明提供一种评估靶向人细胞的药物的治疗功效的方法,所述方法包括提供非人动物,所述非人动物的基因组包含编码连接至内源CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分的CD47基因;将一种或多种人细胞移植到所述非人动物;将候选药物施用给所述非人动物;以及监测非人动物中的人细胞,以确定候选药物的治疗功效。

[0035] 在一些实施方案中,人细胞是癌细胞,候选药物是抗癌候选药物。在某些实施方案中,候选药物是抗体。

[0036] 在一些实施方案中,非人动物还包含人免疫细胞。在某些实施方案中,候选药物是结合人CD47和移植的人癌细胞上的抗原的双特异性抗体。

[0037] 在一些实施方案中,本发明提供一种方法,其包括提供一种或多种细胞,所述细胞的基因组包括编码连接至内源CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分的CD47基因;使一种或多种细胞与标记的底物一起温育;以及测量一种或多种细胞对标记的底物的吞噬作用。在一些实施方案中,该底物是荧光标记的。在一些实施方案中,该底物用抗体标记。在一些实施方案中,该底物是一种或多种红细胞。在一些实施方案中,该底物是一种或多种细菌细胞。在一些实施方案中,该底物是一种或多种肿瘤细胞。

[0038] 在一些实施方案中,本发明提供一种方法,其包括提供非人动物,所述非人动物的基因组包括编码连接至内源CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分的CD47基因;使非人动物暴露于抗原;以及测量非人动物的一种或多种细胞对抗原的吞噬作用。在一些实施方案中,暴露的步骤包括使非人动物暴露于荧光标记的抗原。在一些实施方案中,暴露的步骤包括使非人动物暴露于包含该抗原的一种或多种细胞。在一些实施方案中,暴露的步骤包括使非人动物暴露于包含该抗原的一种或多种人细胞或暴露于包含该抗原的一种或多种细菌细胞。在一些实施方案中,暴露的步骤包括使非人动物暴露于转化有该抗原的一种或多种细胞,使得该抗原在一种或多种转化的细胞的表面上表达。在一些实施方案中,暴露的步骤包括使非人动物暴露于包含该抗原的一种或多种肿瘤细胞。

[0039] 在一些实施方案中,本发明提供用于鉴定或验证药物或疫苗的方法,所述方法包括以下步骤:将药物或疫苗递送至非人动物,所述非人动物的基因组包括编码连接至内源CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分的CD47基因,以及监测对药物或疫苗的免疫应答、药物或疫苗的安全特性或对疾病或病症的效应中的一者或多者。在一些实施方案中,监测安全特性包括确定非人动物是否由于药物或疫苗的递送而表现出副作用或不利反应。在一些实施方案中,副作用或不利反应选自发病率、死亡率、体重的改变、一种或多种酶(例如肝)的水平改变、一个或多个器官的重量的改变、功能(例如感觉、运动、器官等)的丧失、增加的对一种或多种疾病的易感性、非人动物的基因组的改变、食物消耗的增加或减少以及一种或多种疾病的并发症。

[0040] 在一些实施方案中,本发明提供如本文所述的非人动物在开发用于医学例如用作药剂的药物或疫苗中的用途。

[0041] 在一些实施方案中,本发明提供如本文所述的非人动物在制造用于治疗癌症或瘤的药剂中的用途。

[0042] 在一些实施方案中,本发明提供如本文所述的非人动物用于评估靶向人细胞的治疗性药物的功效的用途。在多个实施方案中,本发明的非人动物移植有人细胞,并且将靶向所述人细胞的候选药物施用给动物。在一些实施方案中,药物的功效通过在施用药物后监测非人动物中的人细胞来测定。

[0043] 在一些实施方案中,本发明提供用于开发和/或鉴定用于治疗或诊断的药物(例如,抗体)的如本文所述的非人动物或细胞。

[0044] 在一些实施方案中,本发明提供用于开发和/或鉴定用于治疗、预防或改善癌症或

瘤的药物(例如,抗体)的如本文所述的非人动物或细胞。

[0045] 在一些实施方案中,本发明提供评估靶向人CD47的药物的药动学的方法,所述方法包括以下步骤:将药物施用给如本文所述的非人动物,以及进行测定以确定靶向人CD47的药物的一个或多个药动学特性。

[0046] 在一些实施方案中,本发明提供一种评估靶向人CD47的药物的在靶毒性的方法,所述方法包括以下步骤:将药物施用给如本文所述的非人动物,以及进行与药物的在靶毒性相关的一个或多个参数的测定。

[0047] 在一些实施方案中,本发明提供一种评估靶向人CD47的药物的脱靶毒性的方法,所述方法包括以下步骤:将药物施用给如本文所述的非人动物,以及进行与药物的脱靶毒性相关的一个或多个参数的测定。

[0048] 在多个实施方案中,如本文所述的非人动物是啮齿动物,所述啮齿动物的基因组包括编码连接至内源CD47多肽的胞内部分的人CD47多肽的胞外部分的CD47基因;在一些实施方案中,啮齿动物是小鼠;在一些实施方案中,啮齿动物是大鼠。

[0049] 在一些实施方案中,靶向人CD47的药物为CD47拮抗剂。在某些实施方案中,CD47拮抗剂是抗CD47抗体。在一些实施方案中,靶向人CD47的药物为CD47激动剂。

[0050] 在多个实施方案中,本发明的CD47基因包括如本文所述的CD47基因。在多个实施方案中,本发明的CD47多肽包括如本文所述的CD47多肽。

[0051] 在多个实施方案中,本发明的非人动物未可检测地表达全长内源非人CD47多肽。在多个实施方案中,本发明的非人动物未可检测地表达内源CD47多肽的胞外部分。在多个实施方案中,本发明的非人动物未可检测地表达内源CD47多肽和内源SIRP α 多肽二者的胞外部分。

[0052] 在多个实施方案中,人CD47多肽的胞外部分包含如本文所述的与人CD47多肽的残基19-141对应的氨基酸。

[0053] 在多个实施方案中,人CD47多肽的N-末端免疫球蛋白V域包含如本文所述的与人CD47多肽的残基19-127对应的氨基酸。

[0054] 在多个实施方案中,本发明的非人动物、细胞、组织、胚胎干细胞和/或胚胎具有的基因组还包含编码SIRP α 多肽的SIRP α 基因,所述SIRP α 多肽包含人SIRP α 多肽的胞外部分(例如,与人SIRP α 多肽的残基28-362对应的氨基酸)和内源SIRP α 多肽的胞内部分。

[0055] 在多个实施方案中,本发明的非人动物为啮齿动物;在一些实施方案中,为小鼠;在一些实施方案中,为大鼠。

[0056] 如本申请中所用,术语“约”和“大约”可等同使用。本申请中与或不与约/大约一起使用的任何数字意在涵盖由相关领域普通技术人员所理解的任何正常波动。

[0057] 本发明的其他特征、目的和优点在以下详细描述中是显而易见的。然而,应当理解,详细描述虽然指示本发明的实施方案,但其仅通过举例说明的方式给出,而不是限制性的。根据详细描述,本发明的范围内的各种变化和修改对于本领域技术人员而言将变得明显。

附图说明

[0058] 本专利或申请文件包含至少一个用彩色表现的附图。根据请求并支付必要的费用

后,专利局将提供带有彩色附图的本专利或专利申请公开的副本。

[0059] 本文中包括的由以下各图组成的附图仅用于举例说明目的而非用于限制。

[0060] 图1示出非人(例如小鼠)和人分化簇47(CD47)基因的基因组组织的未按比例的示意图。外显子的编号在每个外显子下面。

[0061] 图2示出用于使非人分化簇47(CD47)基因人源化的示例性方法的未按比例的示意图。

[0062] 图3示出小鼠和人分化簇47(CD47)基因的基因组组织的未按比例的示意图。标明了实施例1所述的测定中所用的探针的位置。

[0063] 图4示出了通过抗CD47抗体检测的来自人源化CD47小鼠的红细胞中CD47表达的示例性直方图。Ab A、Ab B、Ab C、Ab D和Ab E:抗CD47抗体;hIgG4s:具有效应子功能减小的修饰Fc区且具有不相关特异性的人IgG4;hIgG4:具有不相关特异性的人IgG4抗体。

[0064] 图5通过抗CD47抗体示出了来自野生型(n=2)和人源化CD47(n=2)小鼠的小鼠红细胞的示例性血凝。WT:野生型;HuCD47:人源化CD47;Ab A、Ab B、Ab C、Ab D和Ab E:抗CD47抗体;hIgG4s:具有效应子功能减小的修饰Fc区且具有不相关特异性的人IgG4;hIgG4:具有不相关特异性的人IgG4抗体。

[0065] 图6示出了以抗体浓度(单位 $\mu\text{g/mL}$,y轴)随时间推移(单位天,x轴)表示的人源化CD47小鼠中的抗CD47抗体的示例性药动学曲线;Ab F、Ab G、Ab H和Ab I:抗CD47抗体;hIgG4s:具有效应子功能减小的修饰Fc区且具有不相关特异性的人IgG4抗体。

[0066] 图7示出了以抗体浓度(单位 mcg/mL ,y轴)随时间推移(单位天,x轴)表示的人源化CD47/SIRP α 小鼠(CD47^{hu/hu}SIRP α ^{hu/hu})中的抗CD47抗体的示例性药动学曲线。Ab J、Ab F、Ab GandAb I:抗CD47抗体;hIgG4s:具有效应子功能减小的修饰Fc区且具有不相关特异性的人IgG4抗体。

[0067] 图8示出了以抗体浓度(单位 mcg/mL ,y轴)随时间推移(单位天,x轴)表示的人源化CD47/SIRP α 小鼠(CD47^{hu/hu}SIRP α ^{hu/hu})中的抗CD47抗体的示例性药动学曲线。Ab J、Ab F:抗CD47抗体;Ab Fs:具有效应子功能减小的修饰Fc区的Ab F;Ab Fmono:单价型式的Ab F;hIgG4s:具有效应子功能减小的修饰Fc区且具有不相关特异性的人IgG4抗体。

[0068] 图9示出了以抗体浓度(单位 mcg/mL ,y轴)随时间推移(单位天,x轴)表示的野生型小鼠中的抗CD47抗体的示例性药动学曲线。排除了表现出小鼠抗人抗体应答(MAHA)的小鼠。Ab J、Ab F、Ab I和Ab G:抗CD47抗体;hIgG4s:具有效应子功能减小的修饰Fc区且具有不相关特异性的人IgG4抗体(星号:由于MAHA在15天后从hIgG4s处理组排除的所有点);Ab J F(ab')₂:Ab J的F(ab')₂片段。

[0069] 定义

[0070] 本发明不限于本文中描述的特定方法和实验条件,因为此类方法和条件可以变化。还应当理解,本文所使用的术语仅用于描述具体实施方案的目的,并且不旨在进行限制,因为本发明的范围仅由权利要求限定。

[0071] 除非另有定义,否则本文中使用的术语和短语包括所述术语和短语在本领域中已获得的含义,除非明确地指出相反或根据其中使用所述术语或短语的上下文明显相反。尽管与本文中描述的那些方法和材料类似或等同的任何方法和材料可用于本发明的实践或测试,但现在描述具体的方法和材料。所提及的所有出版物据此以引用方式并入。

[0072] 如本文中用于一个或多个目标值的术语“大约”是指与所述参照值相似的值。在某些实施方案中,除非另有所指或根据上下文明显不同,否则术语“大约”或“约”是指在任一方向(大于或小于)上落在所述参照值的25%、20%、19%、18%、17%、16%、15%、14%、13%、12%、11%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%、1%或更小内的值的范围(除了这样的数字将超过可能值的100%的情况外)。

[0073] 如本文中所用,术语“生物活性”是指在体外或体内(例如,在生物体中)在生物系统中具有活性的任何试剂的特性。例如,当存在于生物体中时在生物体内具有生物效应的试剂被认为具有生物活性。在具体实施方案,当蛋白质或多肽具有生物活性时,所述该蛋白质或多肽的共享所述蛋白质或多肽的至少一种生物活性的部分通常被称为“生物活性”部分。

[0074] 如本文所用,术语“可比较的”是指两种或更多种试剂、实体、状况、条件组等,它们可彼此不同但充分相似以允许它们之间进行比较,以使得可基于观察到的差异或相似性合理地得出结论。本领域普通技术人员在上下文中将理解,在任何给定的情况下,对于两种或更多种这样的试剂、实体、状况、条件组等需要多大程度的同一性来被认为是可比较的。

[0075] 如本文中用于描述保守氨基酸置换的术语“保守”是指氨基酸残基被具有带相似化学性质(例如,电荷或疏水性)的侧链R基团的另一个氨基酸残基置换。一般来讲,保守氨基酸置换基本上不会改变蛋白质的目标功能特性,例如,受体结合配体的能力。具有带相似化学性质的侧链的氨基酸的组的实例包括:脂族侧链诸如甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸;脂族-羟基侧链诸如丝氨酸和苏氨酸;含酰胺侧链诸如天冬酰胺和谷氨酰胺;芳族侧链诸如苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸;碱性侧链诸如赖氨酸、精氨酸和组氨酸;酸性侧链诸如天冬氨酸和谷氨酸;和含硫侧链诸如半胱氨酸和甲硫氨酸。保守氨基酸置换组包括例如缬氨酸/亮氨酸/异亮氨酸、苯丙氨酸/酪氨酸、赖氨酸/精氨酸、丙氨酸/缬氨酸、谷氨酸/天冬氨酸以及天冬酰胺/谷氨酰胺。在一些实施方案中,保守氨基酸置换可为丙氨酸对蛋白质中的任何天然残基的置换,如例如丙氨酸扫描诱变中所使用的。在一些实施方案中,保守置换是在Gonnet等Gonnet等人(1992) Exhaustive Matching of the Entire Protein Sequence Database, Science 256:1443-45 (以引用方式并入) 中公开的PAM250对数似然矩阵中具有正值的置换。在一些实施方案中,如果置换在PAM250对数似然矩阵中具有非负值,则该置换被认为是“适度保守的”。

[0076] 如本文所用,术语“对照”是指“对照”在本领域中所理解的含义,作为结果对比的标准。通常,对照通过分离变量以得出有关此类变量的结论而用于增进实验完整性。在一些实施方案中,对照是与测试反应或测定同时进行以提供对比物的反应或测定。如本文所用,“对照”可以指“对照动物”。“对照动物”可具有如本文所述的修饰,与本文所述的修饰不同的修饰或不具有修饰(即,野生型动物)。在一个实验中,应用“测试”(即,测试的变量)。在第二实验“对照”中,不应用测试的变量。在一些实施方案中,对照是历史对照(即,此前进行的测试或测定,或此前已知的量或结果)。在一些实施方案中,对照是或包括印刷或以其他方式保存的记录。对照可为阳性对照或阴性对照。

[0077] 如本文所用,术语“破坏”是指与DNA分子(例如与内源同源序列例如基因或基因座)同源重组的结果。在一些实施方案中,破坏可实现或代表插入、缺失、取代、替换、错义突变或DNA序列移码或它们的组合。插入可包括插入整个基因或基因片段,例如外显子,其可

来源于除内源序列之外的其他来源(例如异源序列)。在一些实施方案中,破坏可提高基因或基因产物的(例如由基因编码的蛋白质的)表达和/或活性。在一些实施方案中,破坏可降低基因或基因产物的表达和/或活性。在一些实施方案中,破坏可改变基因或编码的基因产物(例如编码的蛋白质)的序列。在一些实施方案中,破坏可截短基因或编码的基因产物(例如编码的蛋白质)或使其片段化。在一些实施方案中,破坏可使基因或编码的基因产物延长;在一些这样的实施方案中,破坏可实现融合蛋白的组装。在一些实施方案中,破坏可影响基因或基因产物的水平但不影响其活性。在一些实施方案中,破坏可影响基因或基因产物的活性但不影响其水平。在一些实施方案中,破坏可对基因或基因产物的水平没有显著影响。在一些实施方案中,破坏可对基因或基因产物的活性没有显著影响。在一些实施方案中,破坏可对基因或基因产物的水平或活性都没有显著影响。

[0078] 术语“确定”、“测量”、“评价”、“评估”、“测定”和“分析”在本文中可互换使用以指代任何形式的测量,并包括确定某一要素是否存在。这些术语包括定量和/或定性测定。测定可为相对的或绝对的。“测定...的存在”包括确定存在的某物的量和/或确定其是否存在。

[0079] 如本文所用,术语“内源基因座”或“内源基因”是指如本文所述的在引入断裂、缺失、置换、改变或修饰之前可见于亲本或参考生物体的遗传基因座。在一些实施方案中,内源基因座具有天然存在的序列。在一些实施方案中,内源基因座为野生型基因座。在一些实施方案中,参考生物体为野生型生物体。在一些实施方案中,参考生物体为工程化生物体。在一些实施方案中,参考生物体是实验室培育的生物体(无论是野生型的还是工程化的)。

[0080] 术语“内源启动子”是指与内源基因天然结合的启动子,例如在野生型生物体中。

[0081] 如本文所用,术语“异源”是指来自不同来源的试剂或实体。例如,当参考多肽、基因或基因产物使用或存在于特定细胞或生物体中时,所述术语阐明相关多肽、基因或基因产物:1) 被人工工程化;2) 被人工(例如,经由遗传工程)引入细胞或生物体(或其前体)中;和/或3) 是由相关细胞或生物体(例如,相关细胞类型或生物体类型)非天然地产生或非天然地存在于所述细胞或生物体中。

[0082] 如本文所用,术语“宿主细胞”是指已将异源(例如,外源)核酸或蛋白质引入其中的细胞。本领域技术人员在阅读本公开内容后将理解,此类术语不仅指特定的主题细胞,而且还用于指该细胞的子代。因为某些修饰可因突变或环境影响而在后续世代中发生,所以这样的子代事实上可不等同于亲本细胞,但仍包括在如本文中使用的术语“宿主细胞”的范围内。在一些实施方案中,宿主细胞为原核或真核细胞或包含原核或真核细胞。一般来讲,宿主细胞是适于接受和/或产生异源核酸或蛋白质的任何细胞,而与所述细胞被指定所属的生命界无关。示例性细胞包括原核生物和真核生物(单细胞或多细胞)的细胞、细菌细胞(例如,大肠杆菌(*E.coli*)、芽孢杆菌属菌种(*Bacillus* spp.)、链霉菌属菌种(*Streptomyces* spp.)等的菌株)、分枝杆菌细胞、真菌细胞、酵母细胞(例如,酿酒酵母(*S.cerevisiae*)、粟酒裂殖酵母(*S.pombe*)、巴斯德毕赤酵母(*P.pastoris*)、甲醇毕赤酵母(*P.methanolica*)等)、植物细胞、昆虫细胞(例如,SF-9、SF-21、杆状病毒感染的昆虫细胞、粉纹夜蛾(*Trichoplusia ni*)等)、非人动物细胞、人细胞或细胞融合物例如杂交瘤或四源杂交瘤。在一些实施方案中,细胞为人、猴、猿、仓鼠、大鼠或小鼠细胞。在一些实施方案中,细胞为真核细胞并且选自以下细胞:CHO(例如CHO K1、DXB-11CHO、Veggie-CHO)、COS(例如

COS-7)、视网膜细胞、Vero、CV1、肾(例如HEK293、293EBNA、MSR 293、MDCK、HaK、BHK)、HeLa、HepG2、WI38、MRC 5、Colo205、HB 8065、HL-60、(例如BHK21)、Jurkat、Daudi、A431(表皮的)、CV-1、U937、3T3、L细胞、C127细胞、SP2/0、NS-0、MMT 060562、Sertoli细胞、BRL 3A细胞、HT1080细胞、骨髓瘤细胞、肿瘤细胞和来源于前述细胞的细胞系。在一些实施方案中,细胞包含一个或多个病毒基因,例如表达病毒基因的视网膜细胞(例如PER.C6TM细胞)。在一些实施方案中,宿主细胞为分离的细胞或包含分离的细胞。在一些实施方案中,宿主细胞为组织的一部分。在一些实施方案中,宿主细胞为生物体的一部分。

[0083] 如本文所用,根据其领域所理解的含义,术语“人源化”是指这样的核酸或蛋白质:所述核酸或蛋白质的结构(即,核苷酸或氨基酸序列)包括与非人动物中天然存在的特定基因或蛋白质的结构基本上或完全对应的部分,并且还包括与相关的特定非人基因或蛋白质中所存在的部分不同但与相应的人基因或蛋白质中存在的可比较结构更接近对应的部分。在一些实施方案中,“人源化”基因是编码具有与人多肽(例如,人蛋白质或其部分-例如其特征性部分)的氨基酸序列基本上相同的氨基酸序列的多肽的基因。仅举一个实例,在膜受体的情况下,“人源化”基因可编码具有胞外部分的多肽,所述胞外部分具有的氨基酸序列与人胞外部分的氨基酸序列相同,并且剩余序列与非人(例如小鼠)多肽的序列相同。在一些实施方案中,人源化基因包含人基因的DNA序列的至少一部分。在一些实施方案中,人源化基因包含人基因的完整DNA序列。在一些实施方案中,人源化蛋白质包含出现在人蛋白质中的部分的序列。在一些实施方案中,人源化蛋白质包含人蛋白质的完整序列,并且由对应于人基因的同源物或直向同源物的非人动物的内源基因座表达。

[0084] 如本文结合序列比较使用的术语“同一性”是指如通过本领域中已知的可用于测量核苷酸和/或氨基酸序列同一性的许多不同算法中的任何算法所确定的同一性。在一些实施方案中,使用ClustalW v.1.83(慢)比对(利用10.0的开放缺口罚分、0.1的延伸缺口罚分)和使用Gonnet相似性矩阵(MACVECTOR TM 10.0.2, MacVector Inc., 2008)来确定本文所述的同一性。

[0085] 如本文所用,术语“分离的”是指这样的物质和/或实体,所述物质和/或实体(1)已与至少一些当最初产生(无论天然地还是在实验环境中)时与其关联的组分分离,和/或(2)通过人工设计、产生、制备和/或制造。分离的物质和/或实体可与约10%、约20%、约30%、约40%、约50%、约60%、约70%、约80%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或超过约99%的最初与其关联的其他组分分离。在一些实施方案中,分离的试剂为约80%、约85%、约90%、约91%、约92%、约93%、约94%、约95%、约96%、约97%、约98%、约99%或超过约99%纯的。如本文所用,如果物质基本上不含其他组分,则其是“纯的”。在一些实施方案中,如将被本领域技术人员所理解的,物质在与某些其他组分例如一种或多种载体或赋形剂(例如,缓冲液、溶剂、水等)组合后,仍可被认为是“分离的”或甚至“纯的”;在此类实施方案中,计算物质在不包括此类载体或赋形剂情况下的分离百分比或纯度。只是给出一个例子,在一些实施方案中,天然存在的生物聚合物诸如多肽或多核苷酸a)在因其衍生的起源或来源而不与在其天然状态下天然伴随其的一些或全部组分关联时;b)在其基本上不含与天然产生其的物种相同的物种的其他多肽或核酸时;c)当由不是天然产生其的物种的细胞或其他表达系统表达或以其他方式与来自所述细胞或其他表达系统的组分关联时,被认为是“分离的”。因此,例如,在一些实施方案中,化学

合成的或在与天然产生其的细胞系统不同的细胞系统中合成的多肽被认为是“分离的”多肽。可选地或另外地,在一些实施方案中,已历经一种或多种纯化技术的多肽在其已与a)在自然界中与其关联的;和/或b)当最初产生时与其关联的其他组分分离的程度上可被认为是“分离的”多肽。

[0086] 如本文所用,术语“非人动物”是指任何非人的脊椎生物体。在一些实施方案中,非人动物为圆口纲脊椎动物、硬骨鱼、软骨鱼(例如,鲨鱼或鳐)、两栖动物、爬行动物、哺乳动物或鸟。在一些实施方案中,非人哺乳动物为灵长类动物、山羊、绵羊、猪、狗、牛或啮齿动物。在一些实施方案中,非人动物为诸如大鼠或小鼠的啮齿动物。

[0087] 如本文所用,术语“核酸”在其最宽泛的意义上是指被掺入或可被掺入寡核苷酸链的任何化合物和/或物质。在一些实施方案中,“核酸”是通过磷酸二酯键联被掺入到或可被掺入到寡核苷酸链中的化合物和/或物质。从上下文可以看出,在一些实施方案中,“核酸”是指单个核酸残基(例如核苷酸和/或核苷);在一些实施方案中,“核酸”是指含有含单个核酸残基的寡核苷酸链。在一些实施方案中,“核酸”为RNA或包含RNA;在一些实施方案中,“核酸”为DNA或包含DNA。在一些实施方案中,“核酸”为一个或多个天然核酸残基、包含一个或多个天然核酸残基或由一个或多个天然核酸残基组成。在一些实施方案中,“核酸”为一个或多个核酸类似物、包含一个或多个核酸类似物或由一个或多个核酸类似物组成。在一些实施方案中,核酸类似物与“核酸”的差别在于其不利用磷酸二酯主链。例如,在一些实施方案中,“核酸”为一个或多个“肽核酸”、包含一个或多个肽核酸或由一个或多个肽核酸组成,所述肽核酸在本领域中是已知的并且在主链中具有肽键而非磷酸二酯键,其被认为在本发明的范围之内。可选择地或另外地,在一些实施方案中,“核酸”具有一个或多个硫代磷酸酯和/或5'-N-亚磷酰胺键联而非磷酸二酯键。在一些实施方案中,“核酸”为一个或多个天然核苷(例如,腺苷、胸苷、鸟苷、胞苷、尿苷、脱氧腺苷、脱氧胸苷、脱氧鸟苷和脱氧胞苷)、包含一个或多个天然核苷、或由一个或多个天然核苷组成。在一些实施方案中,“核酸”为一个或多个核苷类似物(例如,2-氨基腺苷、2-硫代胸苷、肌苷、吡咯并嘧啶、3-甲基腺苷、5-甲基胞苷、C-5丙炔基-胞苷、C-5丙炔基-尿苷、2-氨基腺苷、C5-溴尿苷、C5-氟尿苷、C5-碘尿苷、C5-丙炔基-尿苷、C5-丙炔基-胞苷、C5-甲基胞苷、2-氨基腺苷、7-脱氮腺苷、7-脱氮鸟苷、8-氧代腺苷、8-氧代鸟苷、0(6)-甲基鸟嘌呤、2-硫代胞苷、甲基化碱基、插入型碱基及其组合)、包含一个或多个核苷类似物或由一个或多个核苷类似物组成。在一些实施方案中,与天然核酸中的糖相比,“核酸”包含一个或多个经修饰的糖(例如,2'-氟核糖、核糖、2'-脱氧核糖、阿拉伯糖和己糖)。在一些实施方案中,“核酸”具有编码功能性基因产物诸如RNA或蛋白质的核苷酸序列。在一些实施方案中,“核酸”包括一个或多个内含子。在一些实施方案中,“核酸”通过下述方式中的一种或多种来制备:从天然来源分离、通过基于互补模板的聚合(体内或体外)进行的酶促合成、在重组细胞或系统中的复制、化学合成及其组合。在一些实施方案中,“核酸”的长度为至少3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60、65、70、75、80、85、90、95、100、110、120、130、140、150、160、170、180、190、200、225、250、275、300、325、350、375、400、425、450、475、500、600、700、800、900、1000、1500、2000、2500、3000、3500、4000、4500、5000个或更多个残基。在一些实施方案中,“核酸”为单链的;在一些实施方案中,“核酸”为双链的。在一些实施方案中,“核酸”具有包含至少一个元件的核苷酸序列,所述元件编码多肽或与编码多肽的序列互补。在一些实施方案中,“核酸”具有酶促活

性。

[0088] 如本文所用,术语“可操作地连接”是指并置,其中所描述的组分处于允许它们以预期方式起作用的关系。与编码序列“可操作地连接”的控制序列以这样的方式连接,使得在与控制序列相容的条件下获得编码序列的表达。“可操作地连接”序列包括与目标基因相邻的表达控制序列和以反式方式作用或远距离作用以控制目标基因的表达控制序列。如本文所用,术语“表达控制序列”是指这样的多核苷酸序列:所述多核苷酸序列是实现与其相连的编码序列表达和加工所必需的。“表达控制序列”包括合适的转录起始、终止、启动子和增强子序列;有效的RNA加工信号例如剪接和多聚腺苷酸化信号;使细胞质mRNA稳定的序列;增强翻译效率的序列(即Kozak共有序列);增强蛋白稳质定性的序列;以及当需要时,增强蛋白分泌的序列。这种控制序列的性质随宿主生物体而不同。例如,在原核生物中,此类控制序列通常包括启动子、核糖体结合位点和转录终止序列,而在真核生物中,典型地,此类表达控制序列包括启动子和转录终止序列。术语“控制序列”旨在包括其存在对于表达和加工来说是必需的组分,并且还可包括额外的组分,其存在是有利的,例如,前导序列和融合伴侣序列。

[0089] 如本文所用,术语“多肽”是指任何氨基酸的聚合链。在一些实施方案中,多肽具有天然存在的氨基酸序列。在一些实施方案中,多肽具有非天然存在的氨基酸序列。在一些实施方案中,多肽具有氨基酸序列,其包含彼此单独天然存在的部分(即,来自两种或更多种不同的生物体,例如,人和非人部分)。在一些实施方案中,多肽具有通过人工行为进行设计和/或产生的被工程化的氨基酸序列。

[0090] 如本文所用,术语“重组”旨在指通过重组手段设计、工程化、制备、表达、产生或分离的多肽(例如,本文所述的CD47多肽),例如使用转染到宿主细胞中的重组表达载体表达的多肽、从重组的组合人多肽文库分离的多肽(Hoogenboom H.R., (1997) TIB Tech.15:62-70;Azzazy H.和Highsmith W.E., (2002) Clin.Biochem.35:425-445;Gavilondo J.V.和Larrick J.W. (2002) BioTechniques 29:128-145;Hoogenboom H.和Chames P. (2000) Immunology Today 21:371-378)、从用人免疫球蛋白基因转基因的动物(例如小鼠)分离的抗体(参见例如,Taylor,L.D.等人(1992) Nucl.Acids Res.20:6287-6295;Kellermann S-A.和Green L.L. (2002) Current Opinion in Biotechnology 13:593-597;Little M.等人 (2000) Immunology Today 21:364-370;Murphy,A.J. 等人 (2014) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A.111 (14) :5153-5158) 或通过牵涉将选定的序列元件彼此剪接的任何其他手段来制备、表达、产生或分离的多肽。在一些实施方案中,此类选定的序列元件中的一个或多个是天然存在的。在一些实施方案中,此类选定的序列元件中的一个或多个是计算机设计的(in silico)。在一些实施方案中,一个或多个此类选定的序列元件由已知序列元件的诱变(例如体内或体外)产生,所述已知序列元件例如来自天然来源或合成来源。例如,在一些实施方案中,重组多肽由存在于目标来源生物体(例如人、小鼠等)的基因组中的序列构成。在一些实施方案中,重组多肽具有由诱变(例如,体外或体内,例如在非人动物中)产生的氨基酸序列,以使得所述重组多肽的氨基酸序列为这样的序列,该序列虽然源自多肽序列且与多肽序列相关,但可能不天然存在于非人动物体内的基因组内。

[0091] 如本文所用,术语“替换”是指通过其将宿主基因座中(例如,基因组中)存在的“被替换的”核酸序列(例如,基因)从该基因座移除并将不同的“替换”核酸置于该位置的过程。

在一些实施方案中,被替换的核酸序列与替换核酸序列是相互可比较的,因为,例如,它们彼此同源和/或含有相应的元件(例如,蛋白质编码元件、调控元件等)。在一些实施方案中,被替换的核酸序列包含启动子、增强子、剪接供体位点、剪接受体位点、内含子、外显子、非翻译区(UTR)中的一个或多个;在一些实施方案中,替换核酸序列包含一个或多个编码序列。在一些实施方案中,替换核酸序列为被替换的核酸序列的同源物。在一些实施方案中,替换核酸序列为被替换的序列的直向同源物。在一些实施方案中,替换核酸序列为人核酸序列或包含人核酸序列。在一些实施方案中,包括在替换核酸序列为人核酸序列或包含人核酸序列的情况下,被替换的核酸序列为啮齿动物序列或包含啮齿动物序列(例如小鼠或大鼠序列)。这样放置的核酸序列可包含其为用于获得这样放置的序列的来源核酸序列的一部分的一个或多个调节序列(例如,启动子、增强子、5'-或3'-非翻译区等)。例如,在多个实施方案中,替换是异源序列对内源序列的置换,所述置换导致从这样放置的核酸序列(包含所述异源序列)产生基因产物,但不表达内源序列;替换是用编码与由内源序列编码的蛋白质具有相似功能的蛋白质的核酸序列替换内源基因组序列(例如,内源基因组序列编码CD47蛋白,并且DNA片段编码一个或多个CD47蛋白)。在多个实施方案中,内源基因或其片段被对应的人基因或其片段替换。对应的人基因或其片段是作为被替换的内源基因或其片段的直向同源物的人基因或片段,或在结构和/或功能上与被替换的内源基因或其片段基本上相似或相同的人基因或片段。

[0092] 如本文所用,术语“分化簇47蛋白”或“CD47蛋白”是指属于免疫球蛋白超家族的多跨膜蛋白,并且具有胞外氨基末端免疫球蛋白V域、五个跨膜域和短羧基末端胞内尾部。CD47在细胞表面上表达,并且涉及膜表面蛋白例如整联蛋白、SIRP α 和血小板反应蛋白-1(TSP-1)之间的相互作用。CD47在正常组织中表达,并且在很多人癌症中上调。CD47显示出涉及多个细胞过程例如细胞凋亡、增殖、粘附和迁移。已鉴定小鼠和人之间若干可变剪接CD47同种型。仅以举例说明的方式,表3中提供了小鼠和人CD47基因的核苷酸和氨基酸序列。本领域技术人员在阅读本公开内容后将认识到,基因组中的一个或多个内源CD47基因(或全部)可被一个或多个异源CD47基因(例如多态变体、亚型或突变体、来自另一物种的基因、人源化形式等)替代。

[0093] 如本文所用,“CD47表达细胞”是指表达CD47跨膜蛋白的细胞。在一些实施方案中,CD47表达细胞在其表面上表达CD47跨膜蛋白。在一些实施方案中,CD47蛋白以足够的量在细胞的表面上表达,通过在细胞的表面上表达的CD47跨膜蛋白介导细胞间相互作用。示例性CD47表达细胞包括神经元、免疫细胞、角质细胞和循环细胞。CD47表达细胞调节免疫细胞和循环细胞的相互作用,以调节各种细胞过程,诸如粘附、细胞增殖和/或细胞凋亡、血管生成和炎症。在一些实施方案中,本发明的非人动物展示出经由在非人动物的一种或多种细胞表面上表达的人源化CD47蛋白对多个细胞过程(如本文所述)的调节。

[0094] 如本文所用,术语“参照”描述了与目标试剂、动物、队列、个体、群体、样本、序列或值相比较的标准或对照试剂、队列、个体、群体、样本、序列或值。在一些实施方案中,参照试剂、队列、个体、群体、样本、序列或值的测试或测定与目标试剂、队列、个体、群体、样本、序列或值的测试或测定基本上同时进行。在一些实施方案中,参照试剂、队列、个体、群体、样本、序列或值为历史参照,其任选地以有形媒介体现。在一些实施方案中,参照可指对照。如本文所用,“参照”可以指“参照动物”。“参照动物”可具有如本文所述的修饰,与本文所述的

修饰不同的修饰或不具有修饰(即,野生型动物)。通常,本领域内的技术人员将理解,参照试剂、动物、队列、个体、群体、样本、序列或值一定的条件下进行测定或表征,所述条件与用来测定或表征目标试剂、动物(例如哺乳动物)、队列、个体、群体、样本、序列或值的条件类似。

[0095] 如本文所用,术语“基本上”是指表现出全部或接近全部范围或程度的目标特性或性质的定性状况。生物学领域的普通技术人员将理解,生物和化学现象很少(如果有的话)进行至完成和/或进行至完全,或实现或避免绝对的结果。因此术语“基本上”用于捕捉潜在的在许多生物和化学现象中固有的完全性的缺乏。

[0096] 如本文所用,术语“基本上同源”是指氨基酸或核酸序列之间的比较。如本领域普通技术人员将理解的,如果两个序列在对应的位置上含有同源残基,则它们通常被认为是“基本上同源的”。同源残基可为相同的残基。或者,同源残基可为具有适当相似的结构和/或功能特性的不相同的残基。例如,如由本领域的普通技术人员所熟知的,某些氨基酸通常被归类为“疏水性”或“亲水性”氨基酸,和/或归类为具有“极性”或“非极性”侧链。一个氨基酸对另一个相同类型的氨基酸的置换可通常被认为是“同源”置换。典型的氨基酸类别汇总于表1和表2中。

[0097] 表1

[0098]	丙氨酸	Ala	A	非极性	中性	1.8
	精氨酸	Arg	R	极性	阳性	-4.5
	天冬酰胺	Asn	N	极性	中性	-3.5
	天冬氨酸	Asp	D	极性	阴性	-3.5
	半胱氨酸	Cys	C	非极性	中性	2.5
	谷氨酸	Glu	E	极性	阴性	-3.5
	谷氨酰胺	Gln	Q	极性	中性	-3.5
	甘氨酸	Gly	G	非极性	中性	-0.4
	组氨酸	His	H	极性	阳性	-3.2
	异亮氨酸	Ile	I	非极性	中性	4.5
	亮氨酸	Leu	L	非极性	中性	3.8
	赖氨酸	Lys	K	极性	阳性	-3.9
	甲硫氨酸	Met	M	非极性	中性	1.9
	苯丙氨酸	Phe	F	非极性	中性	2.8
	脯氨酸	Pro	P	非极性	中性	-1.6
	丝氨酸	Ser	S	极性	中性	-0.8
	苏氨酸	Thr	T	极性	中性	-0.7
[0099]	色氨酸	Trp	W	非极性	中性	-0.9
	酪氨酸	Tyr	Y	极性	中性	-1.3
	缬氨酸	Val	V	非极性	中性	4.2

[0100] 表2

不明确的氨基酸	3-字 1-字 母 母
[0101]	
天冬酰胺或天冬氨酸	Asx B
谷氨酰胺或谷氨酸	Glx Z
亮氨酸或异亮氨酸	Xle J
未指明的或未知的氨基酸	Xaa X

[0102] 如本领域中所熟知的,氨基酸或核酸序列可使用多种算法中的任意算法来进行比较,所述算法包括商业计算机程序中可获得的那些算法如用于核苷酸序列的BLASTN以及用于氨基酸序列的BLASTP、空位BLAST和PSI-BLAST。示例性的此类程序描述于Altschul等人(1990)Basic local alignment search tool,J.Mol.Biol.,215(3):403-410;Altschul等人(1997)Methods in Enzymology;Altschul等人,“Gapped BLAST and PSI-BLAST:a new generation of protein database search programs”,Nucleic Acids Res.25:3389-3402;Baxevanis等人(1998)Bioinformatics:A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins,Wiley;和Misener等人(编辑)(1999)Bioinformatics Methods and Protocols(Methods in Molecular Biology,第132卷),Humana Press。除了鉴定同源序列以外,上文提及的程序通常还提供同源性程度的指示。在一些实施方案中,如果两个序列的至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多的相应残基在相关的残基序列段(stretch)上是同源的,则这两个序列被认为是基本上同源的。在一些实施方案中,相关序列段为完全序列。在一些实施方案中,相关序列段为至少9个、10个、11个、12个、13个、14个、15个、16个、17个或更多个残基。在一些实施方案中,相关序列段包括沿着完全序列的连续残基。在一些实施方案中,相关序列段包括沿着完全序列的不连续的残基。在一些实施方案中,相关区段为至少10个、15个、20个、25个、30个、35个、40个、45个、50个或更多个残基。

[0103] 如本文所用,术语“基本上相同”是指氨基酸或核酸序列之间的比较。如本领域普通技术人员将理解的,如果两个序列在对应的位置上含有相同残基,则它们通常被认为是“基本上相同的”。如本领域中所熟知的,氨基酸或核酸序列可使用多种算法中的任意算法来进行比较,所述算法包括商业计算机程序中可获得的那些算法如用于核苷酸序列的BLASTN以及用于氨基酸序列的BLASTP、空位BLAST和PSI-BLAST。示例性的此类程序描述于Altschul等人(1990)Basic local alignment search tool,J.Mol.Biol.,215(3):403-410;Altschul等人,Methods in Enzymology;Altschul等人(1997)Nucleic Acids Res.25:3389-3402;Baxevanis等人(1998)Bioinformatics:A Practical Guide to the Analysis of Genes and Proteins,Wiley;和Misener等人,(编辑)(1999)Bioinformatics Methods and Protocols(Methods in Molecular Biology,第132卷),Humana Press。除了鉴定相同的序列以外,上文提及的程序通常还提供同一性程度的指示。在一些实施方案中,如果两个序列的至少50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多的相应残基在相关的残基序列段上是相同

的,则这两个序列被认为是基本上相同的。在一些实施方案中,相关序列段为完全序列。在一些实施方案中,相关区段为至少10个、15个、20个、25个、30个、35个、40个、45个、50个或更多个残基。

[0104] 如本文所用,术语“靶向载体”或“靶向构建体”是指包含靶向区域的多核苷酸分子。靶向区域包含与靶细胞、组织或动物中的序列相同或基本上相同并且提供靶向构建体经由同源重组至所述细胞、组织或动物的基因组内的位置中的整合的序列。还包括使用位点特异性重组酶识别位点(例如,loxP或Frt位点)进行靶向的靶向区域。在一些实施方案中,本发明的靶向构建体还包含特定目标核酸序列或基因、可选择标志物、控制和/或调控序列、以及允许通过帮助或促进牵涉此类序列的重组的蛋白质的外源性添加而介导的重组的其他核酸序列。在一些实施方案中,本发明的靶向构建体还包含全部或部分的目标基因,其中所述目标基因因为编码具有与由内源序列编码的蛋白质相似的功能的全部或部分的蛋白质的异源基因。在一些实施方案中,本发明的靶向构建体还包含全部或部分的目标人源化基因,其中所述目标人源化基因编码具有与由内源序列编码的蛋白质相似的功能的全部或部分的蛋白质。

[0105] 如本文所用,术语“变体”是指显示出与参照实体的显著结构同一性但相较于所述参照实体在一个或多个化学部分的存在或水平上与所述参照实体结构上不同的实体。在许多实施方案中,“变体”还在功能上与其参照实体不同。一般来讲,特定实体是否被适当地认为是参照实体的“变体”是基于其与参照实体的结构同一性的程度。如本领域技术人员将理解的,任何生物或化学参照实体具有某些特征性结构元件。根据定义,“变体”是共享一个或多个此类特征性结构元件的不同的化学实体。只是给出一些例子,小分子可具有特征性核结构元件(例如,大环核)和/或一个或多个特征性侧链部分,以使得小分子的变体是共享核结构元件和特征性侧链部分,但在其他侧链部分上和/或在存在于核内的键的类型(单键相对于双键,E相对于Z,等)上不同的分子,多肽可具有包含在线性或三维空间中相对于彼此具有指定的位置和/或促成特定生物功能的多个氨基酸的特征性序列元件,核酸可具有包含在线性或三维空间中相对于彼此具有指定的位置的多个核苷酸残基的特征性序列元件。例如,“变体多肽”可由于氨基酸序列中的一个或多个差异和/或共价附接于多肽主链的化学部分(例如,碳水化合物、脂质等)中的一个或多个差异而与参照多肽不同。在一些实施方案中,“变体多肽”显示出与参照多肽具有至少85%、86%、87%、88%、89%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%或99%的总体序列同一性。可选择地或另外地,在一些实施方案中,“变体多肽”不与参照多肽共享至少一个特征性序列元件。在一些实施方案中,参照多肽具有一种或多种生物活性。在一些实施方案中,“变体多肽”共享参照多肽的一种或多种生物活性。在一些实施方案中,“变体多肽”缺乏参照多肽的一种或多种生物活性。在一些实施方案中,“变体多肽”显示出相较于参照多肽降低水平的一种或多种生物活性。在许多实施方案中,如果目标多肽具有与亲代的氨基酸序列相同但在特定位置上具有少数序列改变的氨基酸序列,则目标多肽被认为是亲代或参照多肽的“变体”。通常,变体中少于20%、15%、10%、9%、8%、7%、6%、5%、4%、3%、2%的残基相较于亲代被置换。在一些实施方案中,“变体”变体相较于亲代具有10个、9个、8个、7个、6个、5个、4个、3个、2个或1个置换的残基。通常,“变体”具有极少数目(例如,少于5个、4个、3个、2个或1个)的置换的功能残基(即,参与特定生物活性的残基)。此外,相较于亲代,“变体”通常具有不超过5个、4个、3

个、2个或1个添加或缺失,并且通常不具有添加或缺失。此外,任何添加或缺失通常少于约25个、约20个、约19个、约18个、约17个、约16个、约15个、约14个、约13个、约10个、约9个、约8个、约7个、约6个残基,并且通常少于约5个、约4个、约3个或约2个残基。在一些实施方案中,亲代或参照多肽是天然发现的多肽。如将由本领域普通技术人员所理解的,特定目标多肽的多个变体通常可为天然存在的,特别是当目标多肽为传染原多肽时。

[0106] 如本文所用,术语“载体”是指能够转运与其关联的另一种核酸的核酸分子。在一些实施方案中,载体能够在宿主细胞诸如真核和/或原核细胞中进行染色体外复制和/或表达与它们连接的核酸。能够指导有效连接的基因的表达的载体在本文中被称为“表达载体”。

[0107] 如本文所用,术语“野生型”具有其领域所理解的含义,是指具有如在“正常”(相对于突变、患病的、改变的等)状态或环境中天然存在的结构和/或活性的实体。本领域普通技术人员将理解,野生型基因和多肽通常以多种不同的形式(例如,等位基因)存在。

[0108] 某些实施方案的详述

[0109] 本发明尤其提供具有编码分化簇47 (CD47) 基因的人源化遗传物质的改进的和/或工程化的非人动物,所述非人动物用于确定CD47拮抗剂(例如,抗CD47抗体)的治疗功效,所述CD47拮抗剂用于癌症的治疗以及移植植入物、激活和吞噬作用以及信号转导的测定。可想到的是,此类非人动物在确定CD47拮抗剂的治疗功效及其用于CD47阻断的潜力方面提供改进。还可想到的是,此类非人动物提供了人细胞的移植植入的改进。因此,本发明特别可用于开发抗CD47疗法,所述疗法用于治疗多种癌症,以及用于维持非人动物中的人造血细胞。具体地讲,本发明包括对鼠科CD47基因的人源化,其导致人源化CD47蛋白在非人动物细胞表面上的表达。此类人源化CD47蛋白能够提供用于确定抗CD47治疗剂激活肿瘤细胞的吞噬作用的功效的人CD47⁺细胞的来源。另外,此类人源化CD47蛋白能够通过接合植入的人细胞表面上存在的其他细胞表面蛋白和配体(例如,SIRPα)来识别植入的人细胞。在一些实施方案中,本发明的非人动物能够经由阻断通过非人动物细胞表面上表达的人源化CD47蛋白的CD47信号传导而激活吞噬作用。在一些实施方案中,本发明的非人动物能够接纳移植的人造血细胞;在一些实施方案中,此类非人哺乳动物发展和/或具有包含人细胞的免疫系统。在一些实施方案中,人源化CD47蛋白具有与人CD47蛋白的N-末端免疫球蛋白V域对应的序列。在一些实施方案中,人源化CD47蛋白具有与人CD47蛋白的N-末端部分对应的序列,所述人CD47蛋白包含人CD47蛋白的胞外部分和跨膜部分,其中胞外部分包括人CD47蛋白的N-末端免疫球蛋白V域,跨膜部分包括人CD47蛋白的五个跨膜域。在一些实施方案中,人源化CD47蛋白具有与非人(例如,鼠科)CD47蛋白的胞质内尾部对应的序列。在一些实施方案中,人源化CD47蛋白具有与人CD47蛋白的氨基酸残基19-292(或19-141或19-127)对应的序列。在一些实施方案中,本发明的非人动物包含含有来自非人动物和异源物种(例如,人)的遗传物质的内源CD47基因。在一些实施方案中,本发明的非人动物包含人源化CD47基因,其中所述人源化CD47基因包含编码胞外部分的人CD47基因的外显子,所述胞外部分包括人CD47基因的N-末端免疫球蛋白V域。在一些实施方案中,人源化CD47基因包含人CD47外显子,例如编码人CD47蛋白的N-末端部分的外显子2-7,所述人CD47蛋白包含人CD47蛋白的胞外部分和跨膜部分,其中胞外部分包括人CD47蛋白的N-末端免疫球蛋白V域,跨膜部分包括人CD47蛋白的五个跨膜域。在一些实施方案中,人源化CD47基因包含编码非人CD47蛋白的全

部或部分的信号肽和胞质内尾部的非人CD47外显子。在一些实施方案中,人源化CD47基因包含编码胞质内尾部和3' UTR的非人CD47外显子1和外显子7下游的外显子。根据同种型,具有终止密码子和3' UTR的外显子7下游的一个或多个外显子可存在于所有同种型的最后一个外显子中。例如,表3所示的小鼠和人CD47二者的同种型2具有外显子7下游的两个外显子,称为外显子8和9。

[0110] 在下面的章节中详细地描述本发明的各个方面。章节的使用不意味着限制本发明。每一个章节可适用于本发明的任何方面。在本申请中,除非另有说明,“或”的使用意指“和/或”。

[0111] 分化簇47 (CD47) 基因

[0112] CD47,由于其在免疫细胞上从整联蛋白的信号转导中的作用,原称为整联蛋白相关蛋白(IAP),是包括N-末端免疫球蛋白V(IgV)域、五个跨膜域和短C-末端胞质内尾部的跨膜蛋白。根据已鉴定的四个可变剪接同种型,胞质内尾部的长度不同。CD47(或IAP)最初描述为在所有组织(同种型2)、神经元(同种型4)以及角质细胞和巨噬细胞(同种型1;参见Reinhold等人(1995)J.Cell Sci.108:3419-3425)上表达。关于同种型3的认知很少,尽管该形式具有四个同种型中第二长的胞质内尾部。除整联蛋白之外,已知CD47与许多其他细胞表面蛋白例如血小板反应蛋白和SIRP家族的成员相互作用。最值得注意的是,CD47与SIRP α 相互作用,并且引起调节许多细胞间应答例如吞噬作用的抑制和T细胞激活的双向信号传导。实际上,CD47-SIRP α 相互作用由于其使得肿瘤细胞能够避开免疫监视能力中的作用而在近几年备受关注。CD47与SIRP α 的结合通常通过用于正常细胞的抗吞噬信号(“请勿吃我(don't eat me)”)来提供保护。然而,据发现肿瘤也表达抗吞噬信号,包括CD47,以通过吞噬作用避免破坏。有趣的是,已知CD47在许多血液癌中上调,并且有助于肿瘤的生长和转移(Chao等人(2012)Curr Opin Immunol.24(2):225-232)。

[0113] 作为癌症的新疗法,靶向CD47和CD47-SIRP α 通路的完整作用尚未了解,并且研究了一些可能的毒性。需要对CD47信号传导和CD47-SIRP α 通路的更完整和详细的理解来开发更好的用于未来癌症治疗的靶向疗法。

[0114] CD47序列

[0115] 小鼠和人的示例性CD47序列如表3所示。对于mRNA序列,粗体表示编码序列,当表示连续外显子时,以交替下划线文本隔开。对于小鼠和人蛋白质序列,信号肽加下划线,胞外序列为粗体,胞质内序列为斜体。对于人源化蛋白质序列,非人序列以常规字体表示,人序列以粗体表示,信号肽加下划线。如图所示,同种型的外显子数量不同。例如,人CD47基因的同种型1-4分别具有总共8个、9个、10个和11个外显子,每个同种型的外显子2-7编码胞外域和五个跨膜域。

[0116] 表3

小鼠 CD47 mRNA 同种型 1 (XM_006521810.1)

[0117]

GCCTACACCGGGAGAGCAGGGAGGAGGAGTTGGACTGAGGTTG
GGCGGCTCCGAGGTCCAGGGCGAGCTTGGCCAGAGGGAGTAGA
GAGCAGCGGGGCTGCGCAGGGACGCGTGCCGTGAGTTCCGGTG
AGCGTGTGTGTCCCATGCTCCCGTCTTTCAGGCCGGCCCAGGACA
CGAAGCCGGAAGAGAGCTGGCTGGAGGGACGGGGGCGCGTGAGC
AGAGAGTGCAACCCGCGCAGCCCCGGGGACAGGCTGATTCTTGG
CGCTCTCCGCCGGAGCCTGCCCAGGGCTGGGTGTGAGGCTGGCG
TCACGTCAACGAGCAGAGGCGGCCAGGCGGGGCGGAGTGCGCG
TGCGCGGGGCGGCGAGCACGCGCGCGCGCACCCCCGGGCAG
CCTGGGCGGGCCGCTCCTGCCTGTCACTGCTGCGGCGCTGCTGGTC
GGTCGTTTCCCTTGAAGGCAGCAGCGGAGGCGGCGGCTGCTCCA
GACACCTGCGGCGGCGACCCCCGGGCGGCGCGGAGATGTGGCC
CTTGGCGGCGGCGCTGTTGCTGGGCTCCTGCTGCTGCGGTT
CAGCTCAACTACTGTTTAGTAACGTCAACTCCATAGAGTTCAC
TTCATGCAATGAAACTGTGGTCATCCCTTGCATCGTCCGTAAT
GTGGAGGCGCAAAGCACCGAAGAAATGTTTGTGAAGTGGAA

[0118]

GTTGAACAAATCGTATATTTTCATCTATGATGGAAATAAAAATA
GCACTACTACAGATCAAAACTTTACCAGTGCAAAAATCTCAGT
CTCAGACTTAATCAATGGCATTGCCTCTTTGAAAATGGATAAG
CGCGATGCCATGGTGGGAACTACACTTGCGAAGTGACAGA
GTTATCCAGAGAAGGCCAAAACAGTTATAGAGCTGAAAAACCG
CACGGCCTTCAACACTGACCAAGGATCAGCCTGTTCTTACGA
GGAGGAGAAAGGAGGTTGCAAATTAGTTTCGTGGTTTTCTCC
AAATGAAAAGATCCTCATTGTTATTTTCCCAATTTTGGCTATAC
TCCTGTTCTGGGGAAAGTTTGGTATTTTAACACTCAAATATAA
ATCCAGCCATACGAATAAGAGAATCATTCTGCTGCTCGTTGCC
GGGCTGGTGCTCACAGTCATCGTGGTTGTTGGAGCCATCCTT
CTCATCCCAGGAGAAAAGCCCGTGAAGAATGCTTCTGGACTT
GGCCTCATTGTAATCTCTACGGGGATATTAATACTACTTCAGT
ACAATGTGTTTATGACAGCTTTTGGGAATGACCTCTTTCACCAT
TGCCATATTGATCACTCAAGTGCTGGGCTACGTCCTTGCTTTG
GTCGGGCTGTGTCTCTGCATCATGGCATGTGAGCCAGTGCAC
GGCCCCCTTTTGATTTCAGGTTTGGGGATCATAGCTCTAGCA
GAACTACTTGGATTAGTTTATATGAAGTTTGTCGAATAGGTGA
AGGGAAGTGACGGACTGTAACCTTGGAAGTCAGAAATGGAAGAAT
ACAGTTGTCTAAGCACCAGGTCTTCACGACTCACAGCTGGAAGG
AACAGACAACAGTAACTGACTTCCATCCAGGAAAACATGTCACAT
AAATGATTACTAAGTTTATATTCAAAGCAGCTGTACTTTACATAATA
AAAAAAATATGATGTGCTGTGTAACCAATTGGAATCCCATTTTCT
ATTGTTTCTACTCAACTAGGGGCAAACGTTTCAGGGGCAACTTCC
AAGAATGATGCTTGTTAGATCCTAGAGTCTCTGAACACTGAGTTT
AAATTGATTCCGAGTGAGACTCGCCAAGCACTAACCTGAGGGTTA
GTTACCCAGAGATACCTATGAAAAACAGTGGTATCCAGCAAGCCT
TAGTAAACTCAGGTTGCCAGCAGCTTTGCCACTTCCGCTGCTAGC
TGAATAACAAGACTGCCACTTCTGGGTCATAGTGATAGAGACTGA
AGTAGAAAAACGAATGTGGTTGGGCAAATCCCGTGTGGCCCCCTC
TGTGTGCTATGATATTGATGGCACTGGTGTCTTCATTCTTGGGGGT
TGCCATCATTCACACACACCCCTTTGACATACAGTGCACCCCAGT

[0119]

TTTGAATACATTTTTTTTTTGCACCCTGTCCCGTTCTGCTACTTTGATT
TGCGTTATGATATATATATATATATAATACCTTTTCTCCTCTTTAAA
CATGGTCCTGTGACACAATAGTCAGTTGCAGAAAGGAGCCAGAC
TTATTCGCAAAGCACTGTGCTCAAACCTCTTCAGAAAAAAAGGAA
AAAAAAGCTATAGTTGTAACATATGTATTCCAGACCTCTG
GTTTAAAGGCAAAAGAAAAAAATCTACAGTGTTTCTTCTCATGT
TTTCTGATCGGAGGCATGACAAAGCAAGACTGAAATCTGAACTG
TGTCTCCTGCATGGCAACACGTGTCTCCGTCAGGCCCTCGCAAGG
CCCGGGGAGGGGGTTCTACGCCTCTTGTCTCTTTGTTGCATGCTG
AACACTCATCGCCTTCCTACTGTATCCTGCCTCCTGCAGCCTCCCT
CTTCCTCCTCCTCTTCCTCTTCCTCCTCTTCCTCCTCCTCCTCCTCT
TCCTCCAAGTTTGAAAGGTCAAACAAAACCTACCACATTCCCTACC
CAGTTAGAAGAAAACACCGTCCTGACAGTTGTGATCGCATGGA
GTACTTTTAGATTATTAGCACCTGTTTTTACCTCGTTTGTGGGCGT
GTTTGTATGTGCACATGTATGAAGTCGGCACATGCACCTTCTGTAT
GGGCAGAGGCGTGGCATCTACAGAAGAGCAGATGCCAACTTTGT
GCTTTTAGTGAATACATTAAAAAACCACCGGTCCTTATT
GAGTGGAATTCTATTTGATGCAAATATTTGAGCTCTTTAAGACTTT
AAAACCTAGATAATGTGCCAAGCTTTTAGGACTGCTCACCAGTGCC
CTCTGAAGAAACACCAGTACTTTTTCCTGTTTGTGTAATAAAGGC
ATATTTGTATTTGTGTTTGCATCACTAATGGTTATTTCTTCTTAGTCC
ACTGAATGTTTCCATGTGCCTCTCGTATGCCAACTTTTTGTCATC
TTTCATGTGGGGACCAAATGGTTTGTCTGTGGCAAACCTAAACCT
ATGACCTGCTGAGGCCTCTCAGAAAACCTGACCACAGTACCAAGA
TAGTACTTCGCAAAGAAAAGTAGGTTCCCTCCCTGGTTTTGTAGC
TGTCGCCAATATTAGCGTAATTCCAAGGAGCTGAACGCCTTTATAT
AAATCTGATGGCACCTGATGCTTTTAGTTCTGAAAATATTTACACT
CGGATCATGTTGTTGATGACTTAAACAAAGTTTTGATGAAGAGAG
CAAAAAAAGCAGGTGGATTTGGAACAGTTTCAGGGTTTTTTT
TGTTTTTTGTTTTTTGTTTTTTGTTTTTTTTTTTTTTTATTTTTGTTTTTCT
GTTCTCTGTTAGAAAAGTCAGGTGTTCTCTGTCAGGCTATCTTTAT
AGTCAATTTTTTTTACGAACTAAAGTAGTACCTTTTAATATGTAGT

[0120]

CAACGCCCCCTCTGCTCGGGGTTTCAGTTTTGGGTCTTAACCAGCTG
TCATGTTCTCTATGCTGCCTGCCACTTGAGGCACTGAGTGCCCTA
GACAGTCCCATCGGTGGTAGCCAGGGAAACGAAAGACGAACTCA
ACTCTTGCTCCTAATAATCAACTCTCTGTATGAAGGATGGCAGCAT
TAAGAGTCCTCCTGCCTGGGCATTATTGGGCCAGTTCACCCTCTTT
AAATCAAACCCGCAGTGGCTCCCAGTTCTCGTCCCATCAGATTTA
AATTGCTAACAGTATGGGGGGCACCACGCATCTGTTTTGTCCAC
AATGCGCTTTTCTCTCCCAAATCCCGATTTCTGCTGTCATAGCCTC
TATTCAATTTTTATTATTGTCTGCCCTCCACTTATACAATCGTAGA
GAGCAATGCCATTTGTCACTTTCTGCAACAGTTTTTTGAGCCTTTA
TGGCTGAATCCCATTTTTCTTCTCTTTCAAACCTGTTTGCTCCATTG
CTCCTCCCGCACGGCTGTCCGTACAGTCATCCCATCCATCTGGGG
GCCTCTTTCATCTCTCACCTTCCTGGTGCTTCGTGGATCTCTGCT
TACCTCTGTGGGTTTTTTTTTTTTTTTTTGACTTATTCTTCTCACTG
GACTTTAAGATTACTTCCACAGCGAAAGTGCTGCCTCCCTTTTCT
GCCCCGCAGTGTTCTGCGTACTTTAGATACTACTCAGTGCTGACATT
TGATGGCAAAGTTGCCTGCACTTAAATTTCTCTTTTTTAATAGGGT
GAACTAGAGTTGGAGTTTTTTTTCTCTTTTTTCTCTTTTCTCTCTCTC
TCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCCCTCCCTCCCTCC
CTCCCTCCCTCCCTCCCTCTCTCTCTCTTTTTTCTTTCTTTCTTTCTT
TCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTTTTTGACAAAT
CTCACAGGCTTTGAGAATTATAAAAGGTGACAGTTCACCTGAAAA
TCACAGGTCTGGTCTGTTTAAATTGTTGAGAAATATCCGATTAAAA
GTCTTGTTGGCTGTGTCCTAATAGGCTCTCTTTCAGGACGTTGTAGT
CAATAGAGTGGCTGAACCATACTTGAGTTTATAAAGCTCAAAAAC
TGATGCACCCACTCTGCTATTATCGTGTTAGTAAGAGTTCAGCTGT
ATATCATTGTCTAGGTTTATCTTGTCCTACAGTGGGTATTCAAATAT
GGCCACCAGAGGATATGTGTAAATATAAGCACCTGTATTTGCCTGT
TGTTGAGAACTGGAGGGGAAAACAAAAAATGTCTGGCAACCCTTT
GCCTTTTTAACCGTAATTAATTGACAGTTTATTTAGAGATAAGAGT
TTTCAAAAATCTCTTAACCTGCCACAACCCACAGAGGGTCTTGTTT
TGCCATCTTCAGTGGCTCACAGATATGATCCAAGTTAACTTGAAA

GAGATGAGCAGTACCCAGGAAATTGTCCTGCCTTTAACTCTGGCT
GTCCTTAATTATGACTGTTTAATGCTGAATTTTCCATCCGTCTAGTG
TTTGAGGGTAAAGAAAAGCCTTTTTTAAATAAGTATTTCTGTAAA
ACGGCATCGGTGGGATCTTCTGTGTTGCTATCACGGGTGAAAGAG
GGAAACATTTCTTATTTTTTATTAAGCAGAGCATTATTTACAGAAAG
CCATTGTTGAGAATTAGTTCCCACATCATATAAATATCCATTAACCA
TTCTAAATTGTAAGAGAACTCCAGTGTTGCTATGCACAAGGAACT
CTCCTGGGGGCCTTTTTTTGCATAGCAATTAAAGGTATGCTATTTG
TCAGTAGCCATTTTTTGCAGTGATTAAAGACCAAAGTTGTTTTAC
AGCTGTGTTACCCTTAAAGGTTTTTTTTTTTATGTATTAAATCAATTT
ATCACTGTTTGAAGCTTTGAATACCTGCAATCTTTGCCAAGATACT
TTTTTATTTAAAAAAATAACTGTGTAAATATTACCCTGTAATATTATA
TATACTTAATAAAACATTTTAAGCTA (SEQ ID NO: 1)

小鼠 CD47 氨基酸同种型 1 (XP_006521873.1)

[0121]

MWPLAAALLLGSCCCGSAQLLFSNVNSIEFTSCNETVVIPCIVRNV
EAQSTEEMFVKWKLNKSYIFIYDGNKNSTTTDQNFSAKISVSD
LINGIASLKMDKRDAMVGNYTCEVTELSREGKTVIELKNRTAFN
TDQGSACSYYYYKGGCKLVSWFSPNEKILIVIFPILAILLFWGKFGI
LTLKYKSSHTNKRIILLVAGLVLTIVVVGAILLIPGEKPVKNASGL
GLIVISTGILILLQYNVFMATAFGMTSFTIAILITQVLGYVLALVGLCLC
IMACEPVHGPLLISGLGIIALAELLGLVYMKFVE (SEQ ID NO: 2)

小鼠 CD47 mRNA 同种型 2 (XM_006521811.1)

GCCTACACCGGGAGAGCAGGGAGGAGGAGTTGGACTGAGGTTG
GGCGGCTCCGAGGTCCAGGGCGAGCTTGGCCAGAGGGAGTAGA
GAGCAGCGGGGCTGCGCAGGGACGCGTGCCGTGAGTTCCGGTG
AGCGTGTGTGTCCCATGCTCCCGTCTTTCAGGCCGGCCCAGGACA
CGAAGCCGGAAGAGAGCTGGCTGGAGGGACGGGGGCCGTGAGC
AGAGAGTGCAACCCGCGCAGCCCCGGGGACAGGCTGATTCTTGG
CGCTCTCCGCCGGAGCCTGCCAGGGCTGGGTGTGAGGCTGGCG
TCACGTCAACGAGCAGAGGCGGCCAGGCGGGGCGGAGTGCGCG

[0122]

TGCGCGGGGCGGCGAGCACGCGCGCGCGCGCACCCCCGGGCAG
CCTGGGCGGCCGCTCCTGCCTGTCACTGCTGCGGCGCTGCTGGTC
GGTCGTTTCCCTTGAAGGCAGCAGCGGAGGCGGCGGCTGCTCCA
GACACCTGCGGCGGCGACCCCCGGGCGGCGCGGAGATGTGGCC
CTTGGCGGCGGCGCTGTTGCTGGGCTCCTGCTGCTGCGGTT
CAGCTCAACTACTGTTTAGTAACGTCAACTCCATAGAGTTCAC
TTCATGCAATGAACTGTGGTCATCCCTTGCATCGTCCGTAAT
GTGGAGGCGCAAAGCACCGAAGAAATGTTTGTGAAGTGGA
GTTGAACAAATCGTATATTTTCATCTATGATGGAAATAAAAATA
GCACTACTACAGATCAAACTTTACCAGTGCAAAAATCTCAGT
CTCAGACTTAATCAATGGCATTGCCTCTTTGAAAATGGATAAG
CGCGATGCCATGGTGGGAACTACACTTGCGAAGTGACAGA
GTTATCCAGAGAAGGCAAAACAGTTATAGAGCTGAAAAACCG
CACGGTTTCGTGGTTTTCTCCAAATGAAAAGATCCTCATTGTT
ATTTTCCCAATTTTGGCTATACTCCTGTTCTGGGGAAAGTTTG
GTATTTTAACACTCAAATATAAATCCAGCCATACGAATAAGAG
AATCATTCTGCTGCTCGTTGCCGGGCTGGTGCTCACAGTCAT
CGTGGTTGTTGGAGCCATCCTTCTCATCCCAGGAGAAAAGCC
CGTGAAGAATGCTTCTGGACTTGGCCTCATTGTAATCTCTACG
GGGATATTAATACTACTTCAGTACAATGTGTTTATGACAGCTTT
TGGAATGACCTCTTTCACCATTGCCATATTGATCACTCAAGTG
CTGGGCTACGTCCTTGCTTTGGTCGGGCTGTGTCTCTGCATC
ATGGCATGTGAGCCAGTGCACGGCCCCCTTTTGATTTCAGGT
TTGGGGATCATAGCTCTAGCAGAACTACTTGGATTAGTTTATA
TGAAGTTTGTGCTTCCAACCAGAGGACTATCCAACCTCCTA
GGAATAGGTGAAGGGAAGTGACGGACTGTAAGTTGGAAGTCAG
AAATGGAAGAATACAGTTGTCTAAGCACCGGTCTTCACGACTCA
CAGCTGGAAGGAACAGACAACAGTAACTGACTTCCATCCAGGAA
AACATGTCACATAAATGATTACTAAGTTTATATTCAAAGCAGCTGT
ACTTTACATAATAAAAAAATATGATGTGCTGTGTAACCAATTGGA
ATCCCATTTTTCTATTGTTTCTACTCAACTAGGGGCAAACGTTTCA
GGGGCAACTTCCAAGAATGATGCTTGTTAGATCCTAGAGTCTCTG

[0123]

AACACTGAGTTTAAATTGATTCCGAGTGAGACTCGCCAAGCACTA
ACCTGAGGGTTAGTTACCCAGAGATACCTATGAAAAACAGTGGTA
TCCAGCAAGCCTTAGTAAACTCAGGTTGCCAGCAGCTTTGCCACT
TCCGCTGCTAGCTGAATAACAAGACTGCCACTTCTGGGTCATAGT
GATAGAGACTGAAGTAGAAAAACGAATGTGGTTGGGCAAATCCC
GTGTGGCCCCCTCTGTGTGCTATGATATTGATGGCACTGGTGTCTTC
ATTCTTGGGGGTTGCCATCATTACACACACCCCCTTTGACATACA
GTGCACCCCAGTTTTGAATACATTTTTTTTTGCACCCTGTCCCGTTC
TGCTACTTTGATTTGCGTTATGATATATATATATATATAATACCTTT
TCTCCTCTTTAAACATGGTCCTGTGACACAATAGTCAGTTGCAGA
AAGGAGCCAGACTTATTCGCAAAGCACTGTGCTCAAACCTCTTCA
GAAAAAAGGAAAAAAGCTATAGTTGTAACATATGTA
TTCCAGACCTCTGGTTTAAAGGCAAAGAAAAAATCTACAGT
GTTTCTTCTCATGTTTTCTGATCGGAGGCATGACAAAGCAAGACT
GAAATCTGAACTGTGTCTCCTGCATGGCAACACGTGTCTCCGTCA
GGCCCTCGCAAGGCCCGGGGAGGGGGTTCTACGCCTCTTGTCTC
TTTGTTGCATGCTGAACACTCATCGCCTTCCTACTGTATCCTGCCT
CCTGCAGCCTCCCTCTTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCC
TCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCAAGTTTGAAAGGTCAAACAAAACCT
ACCACATTCCCTACCCAGTTAGAAGAAAACCACCGTCCTGACAGT
TGTGATCGCATGGAGTACTTTTAGATTATTAGCACCTGTTTTTACCT
CGTTTGTGGGCGTGTTTGTATGTGCACATGTATGAAGTCGGCACAT
GCACCTTCTGTATGGGCAGAGGCGTGGCATCTACAGAAGAGCAG
ATGCCAACTTTGTGCTTTTAGTGAATACATTAAAAAACC
AACGGTCCTTATTGAGTGGAATTCTATTTGATGCAAATATTTGAGC
TCTTTAAGACTTTAAAAGTAACTAGATAATGTGCCAAGCTTTTAGGACTG
CTCACCAGTGCCCTCTGAAGAAACACCAGTACTTTTTCCTGTTTG
TGTAATAAAGGCATATTTGTATTTGTGTTTGCATCACTAATGGTTAT
TTCTTCTTAGTCCACTGAATGTTTCCATGTGCCTCTCGTATGCCAA
ACTTTTTGTCATCTTTCATGTGGGGACCAAATGGTTTGTCTGTGGC
AAACCTAAACCTATGACCTGCTGAGGCCTCTCAGAAAACCTGACC
ACAGTACCAAGATAGTACTTCGCAAAGAAAAGTAGGTTCCCTCCC

[0124]

TGGTTTTGTAGCTGTGCGCCAATATTAGCGTAATTCCAAGGAGCTGA
ACGCCTTTATATAAATCTGATGGCACCTGATGCTTTTAGTTCTGAA
AATATTTACACTCGGATCATGTTGTTGATGACTTAAACAAAGTTTT
GATGAAGAGAGCAAAAAAAAAAGCAGGTGGATTTGGAACAGTTTC
AGGGTTTTTTTTTGTTTTTTGTTTTTTGTTTTTTGTTTTTTTTTTTTAT
TTTTGTTTTTCTGTTCTCTGTTAGAAAAGTCAGGTGTTCTCTGTCA
GGCTATCTTTATAGTCAATTTTTTTTACGAACTAAAGTAGTACCTTT
TAATATGTAGTCAACGCCCCCTCTGCTCGGGGTTCAGTTTTGGGTCT
TAACCAGCTGTCATGTTCTCTATGCTGCCTGCCACTTGAGGCACT
GAGTGCCCTAGACAGTCCCATCGGTGGTAGCCAGGGAAACGAAA
GACGAACTCAACTCTTGCTCCTAATAATCAACTCTCTGTATGAAG
GATGGCAGCATTAAGAGTCCTCCTGCCTGGGCATTATTGGGCCAG
TTCACCCTCTTTAAATCAAACCCGCAGTGGCTCCCAGTTCTCGTC
CCATCAGATTTAAATTGCTAACAGTATGGGGGGCACCACGCATCT
GTTTTGTCCCACAATGCGCTTTTCTCTCCCAAATCCCGATTCTGC
TGTCATAGCCTCTATTCAATTTTTATTTATTGTCTGCCCTCCACTTAT
ACAATCGTAGAGAGCAATGCCATTTGTCACTTTCTGCAACAGTTT
TTTGAGCCTTTATGGCTGAATCCCATTTTTCTTCTCTTTCAAACCTG
TTTGCTCCATTGCTCCTCCCGCACGGCTGTCCGTACAGTCATCCCA
TCCATCTGGGGGGCCTCTTTCATCTCTCACCCCTTCCTGGTGCTTCGT
GGATCTCTGCTTACCTCTGTGGGTTTTTTTTTTTTTTTTTGACTTAT
TCTTCTCACTGGACTTTAAGATTACTTCCACAGCGAAAGTGCTGC
CTCCCTTTTCTGCCCCGCAGTGTTCTGCGTACTTTAGATACTACTCA
GTGCTGACATTTGATGGCAAAGTTGCCTGCACTTAAATTTCTCTT
TTTAATAGGGTGAAC TAGAGTTGGAGTTTTTTTTCTCTTTTTCTCT
TTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCC
CTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCTCTCTCTTTTTCTT
TCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTT
TTTTTGACAAATCTCACAGGCTTTGAGAATTATAAAAGGTGACAG
TTCACCTGAAAATCACAGGTCTGGTCTGTTTAAATTGTTGAGAAA
TATCCGATTAAAAGTCTTGTGGCTGTGTCCTAATAGGCTCTCTTTC
AGGACGTTGTAGTCAATAGAGTGGCTGAACCATACTTGAGTTTAT

[0125]

AAAGCTCAAAAACCTGATGCACCCACTCTGCTATTATCGTGTTAGT
AAGAGTTCAGCTGTATATCATTGTCTAGGTTTATCTTGTCTACAG
TGGGTATTCAAATATGGCCACCAGAGGATATGTGTAAATATAAGCA
CCTGTATTTGCCTGTTGTTGAGAACTGGAGGGGAAAACAAAAAAT
GTCTGGCAACCCTTTGCCTTTTTTAACCGTAATTAATTGACAGTTTA
TTTAGAGATAAGAGTTTTCAAAAATCTCTTAACTGCCACAACCCA
CAGAGGGTCTTGTTTTGCCATCTTCAGTGGCTCACAGATATGATCC
AAGTTAACTTGAAAGAGATGAGCAGTACCCAGGAAATTGTCCTG
CCTTTAACTCTGGCTGTCCTTAATTATGACTGTTTAATGCTGAATTT
TCCATCCGTCTAGTGTTTGAGGGTAAAGAAAAGCCTTTTTTTAAAT
AAGTATTTCTGTAAAACGGCATCGGTGGGATCTTCTGTGTTGCTAT
CACGGGTGAAAGAGGGGAAACATTTCTTATTTTTATTAAAGCAGAGC
ATTATTTACAGAAAGCCATTGTTGAGAATTAGTTCCCACATCATAT
AAATATCCATTAACCATTCTAAATTGTAAGAGAACTCCAGTGTTGC
TATGCACAAGGAACTCTCCTGGGGGCCTTTTTTTTGCATAGCAATTA
AAGGTATGCTATTTGTCAGTAGCCATTTTTTTGCAGTGATTTAAAGA
CCAAAGTTGTTTTACAGCTGTGTTACCCTTAAAGGTTTTTTTTTTTA
TGTATTAAATCAATTTATCACTGTTTGAAGCTTTGAATACCTGCAAT
CTTTGCCAAGATACTTTTTTTATTTAAAAAAATAACTGTGTAAATATT
ACCCTGTAATATTATATATACTTAATAAAACATTTTAAGCTA (SEQ ID
NO: 3)

小鼠 CD47 氨基酸同种型 2 (XP_006521874.1)

MWPLAAALLLGSCCCGSAQLLFSNVNSIEFTSCNETVVIPCIVRNV
EAQSTEEMFVKWKLNKSYIFIYDGNKNSTTTDQNFTSAKISVSD
LINGIASLKMDKRDAMVGNYTCEVTELSREGKTVIELKNRTVS
WFSPNEKILIVIFPILAILLFWGKFGILTLYKSSHTNKRILLVAGLV
LTVIVVVGAILLIPGEKPVKNASGLGLIVISTGILILLQYNVFMATFG
MTSFTIAILITQVLGYVLALVGLCLCIMACEPVHGPLLISGLGIIALAE
LLGLVYMKFVASNQRTIQPPRNR (SEQ ID NO: 4)

小鼠 CD47 mRNA 同种型 3 (XM_006521807.1)

[0126]

GCCTACACCGGGAGAGCAGGGAGGAGGAGTTGGACTGAGGTTG
GGCGGCTCCGAGGTCCAGGGCGAGCTTGGCCAGAGGGAGTAGA
GAGCAGCGGGGCTGCGCAGGGACGCGTGCCGTGAGTTCCGGTG
AGCGTGTGTGTCCCATGCTCCCGTCTTTCAGGCCGGCCCAGGACA
CGAAGCCGGAAGAGAGCTGGCTGGAGGGACGGGGGCGCGTGAGC
AGAGAGTGCAACCCGCGCAGCCCCGGGGACAGGCTGATTCTTGG
CGCTCTCCGCCGGAGCCTGCCCAGGGCTGGGTGTGAGGCTGGCG
TCACGTCAACGAGCAGAGGCGGCCAGGCGGGGCGGAGTGCGCG
TGCGCGGGGCGGCGAGCACGCGCGCGCGCACCCCCGGGCAG
CCTGGGCGGGCGCTCCTGCCTGTCACTGCTGCGGCGCTGCTGGTC
GGTCGTTTCCCTTGAAGGCAGCAGCGGAGGCGGCGGCTGCTCCA
GACACCTGCGGCGGCGACCCCCGGCGGCGCGGAGATGTGGCC
CTTGGCGGCGGCGCTGTTGCTGGGCTCCTGCTGCTGCGGTT
CAGCTCAACTACTGTTTAGTAACGTCAACTCCATAGAGTTCAC
TTCATGCAATGAACTGTGGTCATCCCTTGCATCGTCCGTAAT
GTGGAGGCGCAAAGCACCGAAGAAATGTTTGTGAAGTGGAA
GTTGAACAAATCGTATATTTTCATCTATGATGGAAATAAAAATA
GCACTACTACAGATCAAACTTTACCAGTGCAAAAATCTCAGT
CTCAGACTTAATCAATGGCATTGCCTCTTTGAAAATGGATAAG
CGCGATGCCATGGTGGGAAACTACACTTGCGAAGTGACAGA
GTTATCCAGAGAAGGCAAAACAGTTATAGAGCTGAAAAACCG
CACGGCCTTCAACACTGACCAAGGATCAGCCTGTTCTTACGA
GGAGGAGAAAGGAGGTTGCAAATTAGTTTCGTGGTTTTCTCC
AAATGAAAAGATCCTCATTGTTATTTTCCCAATTTTGGCTATAC
TCCTGTTCTGGGGAAAGTTTGGTATTTTAACACTCAAATATAA
ATCCAGCCATACGAATAAGAGAATCATTCTGCTGCTCGTTGCC
GGGCTGGTGCTCACAGTCATCGTGGTTGTTGGAGCCATCCTT
CTCATCCCAGGAGAAAAGCCCGTGAAGAATGCTTCTGGACTT
GGCCTCATTGTAATCTCTACGGGGATATTAATACTACTTCAGT
ACAATGTGTTTATGACAGCTTTTGGAAATGACCTCTTTCACCAT
TGCCATATTGATCACTCAAGTGCTGGGCTACGTCCTTGCTTTG
GTCGGGCTGTGTCTCTGCATCATGGCATGTGAGCCAGTGCAC

[0127]

GGCCCCCTTTTGATTTCAGGTTTGGGGATCATAGCTCTAGCA
GAACTACTTGGATTAGTTTATATGAAGTTTGTCTGCTTCCAACC
AGAGGACTATCCAACCTCCTAGGAAAGCTGTAGAGGAACCCC
TTAACGAATAGGTGAAGGGAAGTGACGGACTGTAACCTTGAAG
TCAGAAATGGAAGAATACAGTTGTCTAAGCACCAGGTCTTCACG
ACTCACAGCTGGAAGGAACAGACAACAGTAACTGACTTCCATCC
AGGAAAACATGTCACATAAATGATTACTAAGTTTATATTCAAAGCA
GCTGTACTTTACATAATAAAAAAATATGATGTGCTGTGTAACCAA
TTGGAATCCCATTTTTTCTATTGTTTCTACTCAACTAGGGGCAAACG
TTTCAGGGGCAACTTCCAAGAATGATGCTTGTTAGATCCTAGAGT
CTCTGAACACTGAGTTTAAATTGATTCCGAGTGAGACTCGCCAAG
CACTAACCTGAGGGTTAGTTACCCAGAGATACCTATGAAAAACAG
TGGTATCCAGCAAGCCTTAGTAACTCAGGTTGCCAGCAGCTTTG
CCACTTCCGCTGCTAGCTGAATAACAAGACTGCCACTTCTGGGTC
ATAGTGATAGAGACTGAAGTAGAAAAACGAATGTGGTTGGGCAA
ATCCCGTGTGGCCCCCTCTGTGTGCTATGATATTGATGGCACTGGTG
TCTTCATTCTTGGGGGTTGCCATCATTACACACACCCCCTTTGACA
TACAGTGCACCCCAGTTTTGAATACATTTTTTTTGCACCCTGTCCC
GTTCTGCTACTTTGATTTGCGTTATGATATATATATATATAATAC
CTTTTCTCCTCTTTAAACATGGTCCTGTGACACAATAGTCAGTTGC
AGAAAGGAGCCAGACTTATTCGCAAAGCACTGTGCTCAAACCTCT
TCAGAAAAAAGGAAAAAAGCTATAGTTGTAACATAT
GTATTCCAGACCTCTGGTTTAAAGGCAAAGAAAAAATCTAC
AGTGTTTCTTCTCATGTTTTCTGATCGGAGGCATGACAAAGCAAG
ACTGAAATCTGAACTGTGTCTCCTGCATGGCAACACGTGTCTCCG
TCAGGCCCTCGCAAGGCCCGGGAGGGGGTTCTACGCCTCTTGT
CTCTTTGTTGCATGCTGAACACTCATCGCCTTCTACTGTATCCTG
CCTCCTGCAGCCTCCCTCTTCCTCCTCCTCTTCCTCTTCCTCCTCT
TCCTCCTCCTCCTCCTCTTCCTCCAAGTTTGAAAGGTCAAACAAA
ACTACCACATTCCCTACCCAGTTAGAAGAAAACACCGTCCTGAC
AGTTGTGATCGCATGGAGTACTTTTAGATTATTAGCACCTGTTTTT
ACCTCGTTTGTGGGCGTGTTTGTATGTGCACATGTATGAAGTCGG

[0128]

CACATGCACCTTCTGTATGGGCAGAGGCGTGGCATCTACAGAAGA
GCAGATGCCAACTTTGTGCTTTTGTAGTGAATACATTAAAAA
AACCAACGGTCCTTATTGAGTGGAATTCTATTTGATGCAAATATTT
GAGCTCTTTAAGACTTTAAACTAGATAATGTGCCAAGCTTTTAG
GACTGCTCACCAGTGCCCTCTGAAGAAACACCAGTACTTTTTCCT
GTTTGTGTAATAAAGGCATATTTGTATTTGTGTTTGCATCACTAATG
GTTATTTCTTCTTAGTCCACTGAATGTTTCCATGTGCCTCTCGTATG
CCAAACTTTTTGTGTCATCTTTCATGTGGGGACCAAATGGTTTGTCTG
TGGCAAACCTAAACCTATGACCTGCTGAGGCCTCTCAGAAAAC
GACCACAGTACCAAGATAGTACTTCGCAAAGAAAAGTAGGTTCC
CTCCCTGGTTTTGTAGCTGTCGCCAATATTAGCGTAATTCCAAGGA
GCTGAACGCCTTTATATAAATCTGATGGCACCTGATGCTTTTAGTT
CTGAAAATATTTACACTCGGATCATGTTGTTGATGACTTAAACAAA
GTTTTGATGAAGAGAGCAAAAAAAAAAGCAGGTGGATTTGGAACA
GTTTCAGGGTTTTTTTTGTGTTTTGTGTTTTGTGTTTTGTGTTTT
TTTTTTTTGTTTTTCTGTTCTCTGTTAGAAAAGTCAGGTGTTCTCT
GTCAGGCTATCTTTATAGTCAATTTTTTTTACGAACTAAAGTAGTA
CCTTTTAATATGTAGTCAACGCCCCTCTGCTCGGGGTTTCAAGTTTG
GGTCTTAACCAGCTGTCATGTTCTCTATGCTGCCTGCCACTTGAGG
CACTGAGTGCCCTAGACAGTCCCATCGGTGGTAGCCAGGGAAAC
GAAAGACGAACTCAACTCTTGCTCCTAATAATCAACTCTCTGTAT
GAAGGATGGCAGCATTAAAGAGTCCTCCTGCCTGGGCATTATTGGG
CCAGTTCACCCTCTTTAAATCAAACCCGCAGTGGCTCCCAGTTCT
CGTCCCATCAGATTTAAATTGCTAACAGTATGGGGGGCACCACGC
ATCTGTTTTGTCCCACAATGCGCTTTTCTCTCCCAAATCCCGATTT
CTGCTGTCATAGCCTCTATTCAATTTTTATTATTGTCTGCCCTCCA
CTTATACAATCGTAGAGAGCAATGCCATTTGTCACTTTCTGCAACA
GTTTTTTGAGCCTTTATGGCTGAATCCCATTTTTCTTCTCTTTCAA
CTGTTTGCTCCATTGCTCCTCCCGCACGGCTGTCCGTACAGTCATC
CCATCCATCTGGGGGCCTCTTTCATCTCTCACCCCTTCCTGGTGCTT
CGTGGATCTCTGCTTACCTCTGTGGGTTTTTTTTTTTTTTTACT
TATTCTTCTCACTGGACTTTAAGATTACTTCCACAGCGAAAGTGCT

[0129]

GCCTCCCTTTTCTGCCCCGCAGTGTTCTGCGTACTTTAGATACTACT
CAGTGCTGACATTTGATGGCAAAGTTGCCTGCACTTAAATTTCT
CTTTTAAATAGGGTGAAGTAGAGTTGGAGTTTTTTTTCTCTTTTTTC
TCTTTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTC
TCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCTCTCTCTCTTTTT
CTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTT
CTTTTTTTGACAAATCTCACAGGCTTTGAGAATTATAAAAGGTGA
CAGTTCACCTGAAAATCACAGGTCTGGTCTGTTTAAATTGTTGAG
AAATATCCGATTAAAAGTCTTGTGGCTGTGTCCTAATAGGCTCTCT
TTCAGGACGTTGTAGTCAATAGAGTGGCTGAACCATACTTGAGTT
TATAAAGCTCAAAAAGTATGCACCCACTCTGCTATTATCGTGTTA
GTAAGAGTTCAGCTGTATATCATTGTCTAGGTTTATCTTGTCCTACA
GTGGGTATTCAAATATGGCCACCAGAGGATATGTGTAAATATAAGC
ACCTGTATTTGCCTGTTGTTGAGAACTGGAGGGGAAAACAAAAAA
TGTCTGGCAACCCTTTGCCTTTTTTAACCGTAATTAATTGACAGTTT
ATTTAGAGATAAGAGTTTTCAAAAATCTCTTAAGTCCACAACCC
ACAGAGGGTCTTGTTTTGCCATCTTCAGTGGCTCACAGATATGAT
CCAAGTTAACTTGAAAGAGATGAGCAGTACCCAGGAAATTGTCC
TGCCTTTAACTCTGGCTGTCCTTAATTATGACTGTTTAATGCTGAAT
TTTCCATCCGTCTAGTGTTTGAGGGTAAAGAAAAGCCTTTTTTTAA
ATAAGTATTTCTGTAAAACGGCATCGGTGGGATCTTCTGTGTTGCT
ATCACGGGTGAAAGAGGGGAAACATTTCTTATTTTTATTAAGCAGA
GCATTATTTACAGAAAGCCATTGTTGAGAATTAGTTCCCACATCAT
ATAAATATCCATTAACCATTCTAAATTGTAAGAGAACTCCAGTGTT
GCTATGCACAAGGAACTCTCCTGGGGGGCCTTTTTTTTGCATAGCAA
TTAAAGGTATGCTATTTGTCAGTAGCCATTTTTTGCAGTGATTAA
AGACCAAAGTTGTTTTACAGCTGTGTTACCCTTAAAGGTTTTTTTT
TTATGTATTAAATCAATTTATCACTGTTTGAAGCTTTGAATACCTGC
AATCTTTGCCAAGATACTTTTTTATTTAAAAAAATAACTGTGTAAA
TATTACCCTGTAATATTATATACTTAATAAAACATTTTAAGCTA
(SEQ ID NO: 5)

小鼠 CD47 氨基酸同种型 3 (XP_006521870.1)

MWPLAAALLLGSCCCGSAQLLFSNVNSIEFTSCNETVVIPCIVRNV
EAQSTEEMFVKWKLNKSIFYIDGNKNSTTTDQNF
TSAKISVSD
LINGIASLKMDKRDAMVGN
YTCEVTELSREGKT
VIELKNRTAFN
TDQGSACS
YEEEEKGGCKLVS
WFS
PNEKILIVIFPILAILLFWGKFGI
LTLKYKSSHTNKRIILLVAGLV
LT
VIVVVGAILLIPGEKPVKNASGL
GLIVISTGILILLQYNVFM
TAFGMTSFTIAILITQVLGYVLALVGLCLC
IMACEPVHGPLLISGLGII
ALAELLGLVYMKFV
ASNQRTIQPPRKAVEE
PLNE(SEQ ID NO: 6)

小鼠 CD47 mRNA 同种型 4 (XM_006521808.1)

[0130]

GCCTACACCGGGAGAGCAGGGAGGAGGAGTTGGACTGAGGTTG
GGCGGCTCCGAGGTCCAGGGCGAGCTTGGCCAGAGGGAGTAGA
GAGCAGCGGGGCTGCGCAGGGACGCGTGCCGTGAGTTCCGGTG
AGCGTGTGTGTCCCATGCTCCCGTCTTTCAGGCCGGCCCAGGACA
CGAAGCCGGAAGAGAGCTGGCTGGAGGGACGGGGGCGCGTGAGC
AGAGAGTGCAACCCGCGCAGCCCCGGGGACAGGCTGATTCTTGG
CGCTCTCCGCCGGAGCCTGCCCAGGGCTGGGTGTGAGGCTGGCG
TCACGTCAACGAGCAGAGGCGGCCAGGCGGGGCGGAGTGCGCG
TGCGCGGGGCGGCGAGCACGCGCGCGCGCACCCCCGGGCAG
CCTGGGCGGCCGCTCCTGCCTGTCACTGCTGCGGCGCTGCTGGTC
GGTCGTTTCCCTTGAAGGCAGCAGCGGAGGCGGCGGCTGCTCCA
GACACCTGCGGCGGCGACCCCCCGGCGGCGCGGAGATGTGGCC
CTTGCGGCGGCGGCGCTGTTGCTGGGCTCCTGCTGCTGCGGTT
CAGCTCAACTACTGTTTAGTAACGTCAACTCCATAGAGTTCAC
TTCATGCAATGAAACTGTGGTCATCCCTTGCATCGTCCGTAAT
GTGGAGGCGCAAAGCACCGAAGAAATGTTTGTGAAGTGGA
GTTGAACAAATCGTATATTTTCATCTATGATGGAAATAAAAATA
GCACTACTACAGATCAAACTTTACCAGTGCAAAAATCTCAGT
CTCAGACTTAATCAATGGCATTGCCTCTTTGAAAATGGATAAG
CGCGATGCCATGGTGGGAAACTACACTTGCGAAGTGACAGA
GTTATCCAGAGAAGGCAAAACAGTTATAGAGCTGAAAAACCG

[0131]

CACGGTTTCGTGGT TTTCTCCAAATGAAAAGATCCTCATTGTT
ATTTTCCCAATTTTGGCTATACTCCTGTTCTGGGGAAAGTTTG
GTATTTTAACACTCAAATATAAATCCAGCCATACGAATAAGAG
AATCATTCTGCTGCTCGTTGCCGGGCTGGTGCTCACAGTCAT
CGTGGTTGTTGGAGCCATCCTTCTCATCCCAGGAGAAAAGCC
CGTGAAGAATGCTTCTGGACTTGGCCTCATTGTAATCTCTACG
GGGATATTAATACTACTTCAGTACAATGTGTTTATGACAGCTTT
TGGAATGACCTCTTTCAACATTGCCATATTGATCACTCAAGTG
CTGGGCTACGTCCTTGCTTTGGTCGGGCTGTGTCTCTGCATC
ATGGCATGTGAGCCAGTGCACGGCCCCCTTTTGATTTCAGGT
TTGGGGATCATAGCTCTAGCAGAACTACTTGGATTAGTTTATA
TGAAGTTTGTCGCTTCCAACCAGAGGACTATCCAACCTCCTA
GGAAAGCTGTAGAGGAACCCCTTAACGCATTTAAAGAGTCAA
AAGGAATGATGAATGACGAATAGGTGAAGGGAAGTGACGGACT
GTAAC TTGGAAGTCAGAAATGGAAGAATACAGTTGTCTAAGCAC
CAGGTCTTCACGACTCACAGCTGGAAGGAACAGACAACAGTAAC
TGACTTCCATCCAGGAAAACATGTCACATAAATGATTACTAAGTTT
ATATTCAAAGCAGCTGTACTTTACATAATAAAAAAAAAATATGATGTG
CTGTGTAACCAATTGGAATCCCATTTTTCTATTGTTTCTACTCAACT
AGGGGGCAAACGTTTCAGGGGGCAACTTCCAAGAATGATGCTTGTT
AGATCCTAGAGTCTCTGAACACTGAGTTTAAATTGATTCCGAGTG
AGACTCGCCAAGCACTAACCTGAGGGTTAGTTACCCAGAGATACC
TATGAAAAACAGTGGTATCCAGCAAGCCTTAGTAACTCAGGTTG
CCAGCAGCTTTGCCACTTCCGCTGCTAGCTGAATAACAAGACTGC
CACTTCTGGGTCATAGTGATAGAGACTGAAGTAGAAAAACGAAT
GTGGTTGGGCAAATCCCGTGTGGCCCCTCTGTGTGCTATGATATTG
ATGGCACTGGTGTCTTCATTCTTGGGGGTTGCCATCATTCACACAC
ACCCCTTTGACATACAGTGCACCCCAAGTTTTGAATACATTTTTTTT
GCACCCTGTCCCGTTCTGCTACTTTGATTTGCGTTATGATATATATA
TATATATATAATACCTTTTCTCCTCTTTAAACATGGTCCTGTGACAC
AATAGTCAGTTGCAGAAAGGAGCCAGACTTATTCGCAAAGCACT
GTGCTCAAACCTCTTCAGAAAAAAGGAAAAAAAAAAAAAAGCTAT

[0132]

AGTTGTAACATATGTATTCCAGACCTCTGGTTTAAAGGCAAAAGA
AAAAAAATCTACAGTGTTCCTTCTCATGTTTTCTGATCGGAGGCAT
GACAAAGCAAGACTGAAATCTGAACTGTGTCTCCTGCATGGCAA
CACGTGTCTCCGTCAGGCCCTCGCAAGGCCCGGGGAGGGGGTTC
TACGCCTCTTGTCTCTTTGTTGCATGCTGAACACTCATCGCCTTCC
TACTGTATCCTGCCTCCTGCAGCCTCCCTCTTCCTCCTCCTCTTCC
TCTTCCTCCTCTTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCTCCAAGTTTGAAA
GGTCAAACAAAACCTACCACATTCCCTACCCAGTTAGAAGAAAAC
CACCGTCCTGACAGTTGTGATCGCATGGAGTACTTTTAGATTATTA
GCACCTGTTTTTACCTCGTTTGTGGGCGTGTTTGTATGTGCACATG
TATGAAGTCGGCACATGCACCTTCTGTATGGGCAGAGGCGTGGCA
TCTACAGAAGAGCAGATGCCAACTTTGTGCTTTTAGTGAATACATT
AAAAAAAAAAAAACCAACGGTCCTTATTGAGTGGAATTCTATTTGA
TGCAAATATTTGAGCTCTTTAAGACTTTAAAACTAGATAATGTGCC
AAGCTTTTAGGACTGCTCACCAGTGCCCTCTGAAGAAACACCAG
TACTTTTTCTGTTTGTGTAATAAAGGCATATTTGTATTTGTGTTTG
CATCACTAATGGTTATTTCTTCTTAGTCCACTGAATGTTTCCATGTG
CCTCTCGTATGCCAAACTTTTTGTCATCTTTCATGTGGGGACCAAA
TGGTTTGTCTGTGGCAAACCTAAACCTATGACCTGCTGAGGCCTC
TCAGAAAACCTGACCACAGTACCAAGATAGTACTTCGCAAAGAAA
AGTAGGTTCCCTCCCTGGTTTTGTAGCTGTCGCCAATATTAGCGTA
ATTCCAAGGAGCTGAACGCCTTTATATAAATCTGATGGCACCTGAT
GCTTTTAGTTCTGAAAATATTTACACTCGGATCATGTTGTTGATGA
CTTAAACAAAGTTTTGATGAAGAGAGCAAAAAAAAAAGCAGGTG
GATTTGGAACAGTTTCAGGGTTTTTTTTTGTTTTTTGTTTTTTGTTTT
TGTTTTTTTTTTTTTATTTTTGTTTTTCTGTTCTCTGTTAGAAAAGT
CAGGTGTTCTCTGTCAGGCTATCTTTATAGTCAATTTTTTTTACGA
ACTAAAGTAGTACCTTTTAATATGTAGTCAACGCCCCCTCTGCTCGG
GGTTCAGTTTTGGGTCTTAACCAGCTGTCATGTTCTCTATGCTGCC
TGCCACTTGAGGCACTGAGTGCCCTAGACAGTCCCATCGGTGGTA
GCCAGGGAAACGAAAGACGAACTCAACTCTTGCTCCTAATAATC
AACTCTCTGTATGAAGGATGGCAGCATTAAAGAGTCCTCCTGCCTG

[0133]

GGCATTATTGGGCCAGTTCACCCTCTTTAAATCAAACCCGCAGTG
GCTCCCAGTTCTCGTCCCATCAGATTTAAATTGCTAACAGTATGGG
GGGCACCACGCATCTGTTTTGTCCCACAATGCGCTTTTCTCTCCC
AAATCCCGATTTCTGCTGTCATAGCCTCTATTCAATTTTTATTATT
GTCTGCCCTCCACTTATACAATCGTAGAGAGCAATGCCATTTGTCA
CTTTCTGCAACAGTTTTTTTGAGCCTTTATGGCTGAATCCCATTTTT
CTTCTCTTTCAAACGTGTTTGCTCCATTGCTCCTCCCGCACGGCTGT
CCGTACAGTCATCCCATCCATCTGGGGGCCTCTTTCATCTCTCACC
CTTCCTGGTGCTTCGTGGATCTCTGCTTACCTCTGTGGGTTTTTTT
TTTTTTTTTTGACTTATTCTTCTCACTGGACTTTAAGATTACTTCCA
CAGCGAAAGTGCTGCCTCCCTTTTCTGCCCCGCAGTGTTCTGCGTA
CTTAGATACTACTCAGTGCTGACATTTGATGGCAAAGTTGCCT
GCACTTAAATTTCTCTTTTTTAATAGGGTGAAGTAGAGTTGGAGTTT
TTTTCTCTTTTTTCTCTTTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
CTCTCTCTCTCTCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCT
CTCTCTCTCTTTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCTTTCT
TTCTTTCTTTCTTTCTTTTTTTTGACAAATCTCACAGGCTTTGAGAA
TTATAAAAGGTGACAGTTCACCTGAAAATCACAGGTCTGGTCTGT
TTAAATTGTTGAGAAATATCCGATTAAAAGTCTTGTGGCTGTGTCC
TAATAGGCTCTCTTTTCAAGGACGTTGTAGTCAATAGAGTGGCTGAA
CCATACTTGAGTTTATAAAGCTCAAAAACCTGATGCACCCACTCTG
CTATTATCGTGTTAGTAAGAGTTCAGCTGTATATCATTGTCTAGGTT
TATCTTGTCTACAGTGGGTATTCAAATATGGCCACCAGAGGATAT
GTGTAAATATAAGCACCTGTATTTGCCTGTTGTTGAGAACTGGAG
GGAAAACAAAAAATGTCTGGCAACCCTTTGCCTTTTTTAACCGTAA
TTAATTGACAGTTTATTTAGAGATAAGAGTTTTCAAAAATCTCTTA
ACTGCCACAACCCACAGAGGGTCTTGTTTTGCCATCTTCAGTGGC
TCACAGATATGATCCAAGTTAACTTGAAAGAGATGAGCAGTACCC
AGGAAATTGTCCTGCCTTTAACTCTGGCTGTCCTTAATTATGACTG
TTTAATGCTGAATTTTCCATCCGTCTAGTGTTTGAGGGTAAAGAAA
AGCCTTTTTTTAAATAAGTATTTCTGTAAAACGGCATCGGTGGGATC
TTCTGTGTTGCTATCACGGGTGAAAGAGGGGAAACATTTCTTATTTT

TATTAAGCAGAGCATTATTTACAGAAAGCCATTGTTGAGAATTAGT
TCCCACATCATATAAATATCCATTAACCATTCTAAATTGTAAGAGAA
CTCCAGTGTTGCTATGCACAAGGAACTCTCCTGGGGGCCTTTTTT
TGCATAGCAATTAAAGGTATGCTATTTGTCAGTAGCCATTTTTTGC
AGTGATTTAAAGACCAAAGTTGTTTTACAGCTGTGTTACCCTTAA
AGGTTTTTTTTTTATGTATTAAATCAATTTATCACTGTTTGAAGCTT
TGAATACCTGCAATCTTTGCCAAGATACTTTTTTATTTAAAAAAT
AACTGTGTAAATATTACCCTGTAATATTATATACTTAATAAAACAT
TTTAAGCTA (SEQ ID NO: 7)

小鼠 CD47 氨基酸同种型 4 (XP_006521871.1)

MWPLAAALLLGSCCCGSAQLLFSNVNSIEFTSCNETVVIPCIVRNV
EAQSTEEMFVKWKLNKSIFYDGNKNSTTTDQNFTSAKISVSD
LINGIASLKMDKRDAMVGNYTCEVTELSREGKTVELKNRTVS
WFSPNEKILIVIFPILAILLFWGKFGILTLKYKSSHTNKRILLVAGLV
LTVIVVVGAILLIPGEKPVKNASGLGLIVISTGILILLQYNVFMATFG
MTSFTIAILITQVLGYVLALVGLCLCIMACEPVHGPLLISGLGIIALAE
LLGLVYMKFVASNQRTIQPPRKAVEEPLNAFKESKGMMNDE (SEQ ID
NO: 8)

[0134]

人 CD47 mRNA 同种型 1 (XM_005247909.1)

AGTGGGAGCGCGCGTGCAGCCTGGGCAGTGG
GTCCTGCCTGTGACGCGCGGCGGCGGTCGGTCCTGCCTGTAACG
GCGGCGGCGGCTGCTGCTCCGGACACCTGCGGCGGCGGCGGCGA
CCCCGCGGCGGGCGCGGAGATGTGGCCCCTGGTAGCGGCGCT
GTTGCTGGGCTCGGCGTGCTGCGGATCAGCTCAGCTACTATT
TAATAAAACAAAATCTGTAGAATTCACGTTTTGTAATGACACT
GTCGTCATTCCATGCTTTGTTACTAATATGGAGGCACAAAACA
CTACTGAAGTATACGTAAAGTGGAATTTAAAGGAAGAGATAT
TTACACCTTTGATGGAGCTCTAAACAAGTCCACTGTCCCCAC
TGACTTTAGTAGTGCAAAAATTGAAGTCTCACAATTACTAAA
GGAGATGCCTCTTTGAAGATGGATAAGAGTGATGCTGTCTCA

[0135]

CACACAGGAACTACACTTGTGAAGTAACAGAATTAACCAGA
GAAGGTGAAACGATCATCGAGCTAAAATATCGTGTTGTTTCAT
GGTTTTCTCCAAATGAAAATATTCTTATTGTTATTTTCCCAATT
TTTGCTATACTCCTGTTCTGGGGACAGTTTGGTATTAAAAACAC
TTAAATATAGATCCGGTGGTATGGATGAGAAAACAATTGCTTT
ACTTGTTGCTGGACTAGTGATCACTGTCATTGTCATTGTTGGA
GCCATTCTTTTCGTCCCAGGTGAATATTCATTAAAGAATGCTA
CTGGCCTTGGTTTAATTGTGACTTCTACAGGGATATTAATATTA
CTTCACTACTATGTGTTTAGTACAGCGATTGGATTAAACCTCCT
TCGTCATTGCCATATTGGTTATTCAGGTGATAGCCTATATCCTC
GCTGTGGTTGGACTGAGTCTCTGTATTGCGGCGTGTATACCA
ATGCATGGCCCTCTTCTGATTTTCAGGTTTGAGTATCTTAGCTC
TAGCACAATTACTTGGACTAGTTTATATGAAATTTGTGGAATA
ACTGAAGTGAAGTGATGGACTCCGATTTGGAGAGTAGTAAGACG
TGAAAGGAATACACTTGTGTTTAAGCACCATGGCCTTGATGATTC
ACTGTTGGGGAGAAGAAACAAGAAAAGTAACTGGTTGTCACCTA
TGAGACCCTTACGTGATTGTTAGTTAAGTTTTTATTCAAAGCAGCT
GTAATTTAGTTAATAAAAATAATTATGATCTATGTTGTTTGCCCAATT
GAGATCCAGTTTTTTGTTGTTATTTTTAATCAATTAGGGGCAATAGT
AGAATGGACAATTTCCAAGAATGATGCCTTTCAGGTCCTAGGGCC
TCTGGCCTCTAGGTAACCAGTTTAAATTGGTTCAGGGTGATAACT
ACTTAGCACTGCCCTGGTGATTACCCAGAGATATCTATGAAAACC
AGTGGCTTCCATCAAACCTTTGCCAACTCAGGTTTCACAGCAGCTT
TGGGCAGTTATGGCAGTATGGCATTAGCTGAGAGGTGTCTGCCAC
TTCTGGGTCAATGGAATAATAAATTAAGTACAGGCAGGAATTTGG
TTGGGAGCATCTTGTATGATCTCCGTATGATGTGATATTGATGGAG
ATAGTGGTCCTCATTCTTGGGGGTTGCCATTCCCACATTCCCCCTT
CAACAAACAGTGTAACAGGTCCTTCCCAGATTTAGGGTACTTTTA
TTGATGGATATGTTTTCTTTTATTCACATAACCCCTTGAAACCCTG
TCTTGTCTCCTGTTACTTGCTTCTGCTGTACAAGATGTAGCACCT
TTTCTCCTCTTTGAACATGGTCTAGTGACACGGTAGCACCAGTTG
CAGGAAGGAGCCAGACTTGTTCTCAGAGCACTGTGTTCACACTT

[0136]

TTCAGCAAAAATAGCTATGGTTGTAACATATGTATTCCCTTCCTCT
GATTTGAAGGCAAAAATCTACAGTGTTTCTTCACTTCTTTTCTGAT
CTGGGGCATGAAAAAAGCAAGATTGAAATTTGAACTATGAGTCTC
CTGCATGGCAACAAAATGTGTGTCACCATCAGGCCAACAGGCCA
GCCCTTGAATGGGGATTTATTACTGTTGTATCTATGTTGCATGATAA
ACATTCATCACCTTCCTCCTGTAGTCCTGCCTCGTACTCCCCTTCC
CCTATGATTGAAAAGTAAACAAAACCCACATTTCCCTATCCTGGTTA
GAAGAAAATTAATGTTCTGACAGTTGTGATCGCCTGGAGTACTTT
TAGACTTTTAGCATTTCGTTTTTTACCTGTTTGTGGATGTGTGTTTGT
ATGTGCATACGTATGAGATAGGCACATGCATCTTCTGTATGGACAA
AGGTGGGGTACCTACAGGAGAGCAAAGGTAAATTTTGTGCTTTTA
GTAAAAACATTTAAATACAAAGTTCTTTATTGGGTGGAATTATATT
TGATGCAAATATTTGATCACTTAAAACTTTTAAAACTTCTAGGTAA
TTTGCCACGCTTTTTGACTGCTCACCAATACCCTGTAAAAATACGT
AATTCTTCCTGTTTGTGTAATAAGATATTCATATTTGTAGTTGCATT
AATAATAGTTATTTCTTAGTCCATCAGATGTTCCCGTGTGCCTCTTT
TATGCCAAATTGATTGTCATATTTTCATGTTGGGACCAAGTAGTTTG
CCCATGGCAAACCTAAATTTATGACCTGCTGAGGCCTCTCAGAAA
ACTGAGCATACTAGCAAGACAGCTCTTCTTGAAAAAAAAAATATG
TATACACAAATATATACGTATATCTATATATACGTATGTATATACACA
CATGTATATTCTTCCTTGATTGTGTAGCTGTCCAAAATAATAACATA
TATAGAGGGAGCTGTATTCCTTTATACAAATCTGATGGCTCCTGCA
GCACTTTTTCTTCTGAAAATATTTACATTTTGCTAACCTAGTTTGT
TACTTTAAAAATCAGTTTTTGATGAAAGGAGGGAAAAGCAGATGG
ACTTGAAAAAGATCCAAGCTCCTATTAGAAAAGGTATGAAAATCT
TTATAGTAAAATTTTTTATAAACTAAAGTTGTACCTTTTAATATGTA
GTAAACTCTCATTTATTTGGGGTTCGCTCTTGGATCTCATCCATCCA
TTGTGTTCTCTTTAATGCTGCCTGCCTTTTGAGGCATTCACTGCCC
TAGACAATGCCACCAGAGATAGTGGGGGAAATGCCAGATGAAAC
CAACTCTTGCTCTCACTAGTTGTGTCAGCTTCTCTGGATAAGTGACC
ACAGAAGCAGGAGTCCTCCTGCTTGGGCATCATTGGGCCAGTTCC
TTCTCTTTAAATCAGATTTGTAATGGCTCCCAAATTCCATCACATC

[0137]

ACATTTAAATTGCAGACAGTGTTTTGCACATCATGTATCTGTTTTG
TCCCATAAATATGCTTTTTACTCCCTGATCCCAGTTTCTGCTGTTGAC
TCTTCCATTCAAGTTTTATTTATTGTGTGTTCTCACAGTGACACCATT
TGTCCTTTTTCTGCAACAACCTTTCCAGCTACTTTTGCCAAATTCTA
TTTGTCTTCTCCTTCAAAACATTCTCCTTTGCAGTTCCTCTTCATCT
GTGTAGCTGCTCTTTTGTCTCTTAACTTACCATTCCCTATAGTACTTT
ATGCATCTCTGCTTAGTTCTATTAGTTTTTTTGGCCTTGCTCTTCTCC
TTGATTTTAAAATTCCTTCTATAGCTAGAGCTTTTCTTTCTTTCATT
CTCTCTTCCTGCAGTGTTTTGCATACATCAGAAGCTAGGTACATAA
GTAAATGATTGAGAGTTGGCTGTATTTAGATTTATCACTTTTTAAT
AGGGTGAGCTTGAGAGTTTTCTTTCTTTCTGTTTTTTTTTTTTTGT
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGGACTAATTCACATGCTC
TAAAAACCTTCAAAGGTGATTATTTTTCTCCTGGAACTCCAGGT
CCATTCTGTTTAAATCCCTAAGAATGTCAGAATTAATAACAGGG
CTATCCCGTAATTGGAAATATTTCTTTTTTCAGGATGCTATAGTCAA
TTTAGTAAGTGACCACCAAATTGTTATTTGCACTAACAAAGCTCA
AAACACGATAAGTTTACTCCTCCATCTCAGTAATAAAAATTAAGCT
GTAATCAACCTTCTAGGTTTCTCTTGTCTTAAAATGGGTATTCAAA
AATGGGGATCTGTGGTGTATGTATGGAAACACATACTCCTTAATTT
ACCTGTTGTTGGAACTGGAGAAATGATTGTCGGGCAACCGTTTA
TTTTTTATTGTATTTTATTTGGTTGAGGGATTTTTTTATAAACAGTTT
TACTTGTGTCATATTTTAAAATTACTAACTGCCATCACCTGCTGGG
GTCCTTTGTTAGGTCATTTTCAGTGACTAATAGGGATAATCCAGGT
AACTTTGAAGAGATGAGCAGTGAGTGACCAGGCAGTTTTTCTGC
CTTTAGCTTTGACAGTTCTTAATTAAGATCATTGAAGACCAGCTTT
CTCATAAATTTCTCTTTTTTGAAAAAAGAAAGCATTTGTACTAAG
CTCCTCTGTAAGACAACATCTTAAATCTTAAAAGTGTTGTTATCAT
GACTGGTGAGAGAAGAAAACATTTTGTTTTTTATTAAATGGAGCAT
TATTTACAAAAAGCCATTGTTGAGAATTAGATCCCACATCGTATAA
ATATCTATTAACCATCTAAATAAAGAGAACTCCAGTGTTGCTATG
TGCAAGATCCTCTCTTGGAGCTTTTTTGCATAGCAATTAAAGGTGT
GCTATTTGTCAGTAGCCATTTTTTTGCAGTGATTGAAGACCAAAG

TTGTTTTACAGCTGTGTTACCGTTAAAGGTTTTTTTTTTTATATGTA
TTAAATCAATTTATCACTGTTTAAAGCTTTGAATATCTGCAATCTTT
GCCAAGGTACTTTTTTATTTAAAAAAAACATAACTTTGTAAATAT
TACCCTGTAATATTATATATACTTAATAAAACATTTTAAGCTA(SEQ
ID NO: 9)

人 CD47 氨基酸同种型 1 (XP_005247966.1)

MWPLVAALLLSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFVT
NMEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIE
VSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTEL TREGETHIELKY
RVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIAL
LVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYVVF
STAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILA
LAQLLGLVYMKFVE
(SEQ ID NO: 10)

[0138]

人 CD47 mRNA 同种型 2 (NM_198793.2)

GGGGAGCAGGCGGGGGAGCGGGCGGGAAGCAGTGGGAGCGCG
CGTGCGCGCGGCCGTGCAGCCTGGGCAGTGGGTCCTGCCTGTGA
CGCGCGGCGGCGGTCGGTCCTGCCTGTAAACGGCGGCGGCGGCTG
CTGCTCCAGACACCTGCGGCGGCGGCGGCGGCGACCCCGCGGCGGGC
GCGGAGATGTGGCCCCTGGTAGCGGCGCTGTTGCTGGGCTCG
GCGTGCTGCGGATCAGCTCAGCTACTATTTAATAAAACAAAAT
CTGTAGAATTCACGTTTTGTAATGACACTGTCGTCATTCCATG
CTTTGTTACTAATATGGAGGCACAAAACACTACTGAAGTATAC
GTAAAGTGGAAATTTAAAGGAAGAGATATTTACACCTTTGATG
GAGCTCTAAACAAGTCCACTGTCCCCACTGACTTTAGTAGTG
CAAAAATTGAAGTCTCACAATTACTAAAAGGAGATGCCTCTTT
GAAGATGGATAAGAGTGATGCTGTCTCACACACAGGAACTA
CACTTGTGAAGTAACAGAATTAACCAGAGAAGGTGAAACGAT
CATCGAGCTAAAATATCGTGTTGTTTCATGGTTTTCTCCAAAT
GAAAATATTCTTATTGTTATTTTCCCAATTTTGTCTATACTCCT

[0139]

GTTCTGGGGACAGTTTGGTATTAAAACACTTAAATATAGATCC
GGTGGTATGGATGAGAAAACAATTGCTTTACTTGTTGCTGGA
CTAGTGATCACTGTCATTGTCATTGTTGGAGCCATTCTTTTCG
TCCCAGGTGAATATTCATTAAAGAATGCTACTGGCCTTGGTTT
AATTGTGACTTCTACAGGGATATTAATATTACTTCACTACTATG
TGTTTAGTACAGCGATTGGATTAACCTCCTTCGTCATTGCCAT
ATTGGTTATTCAGGTGATAGCCTATATCCTCGCTGTGGTTGGA
CTGAGTCTCTGTATTGCGGCGTGTATACCAATGCATGGCCCTC
TTCTGATTTCAAGGTTTGAGTATCTTAGCTCTAGCACAATTACT
TGGACTAGTTTATATGAAATTTGTGGCTTCCAATCAGAAGACT
ATACAACCTCCTAGGAATAACTGAAGTGAAGTGATGGACTCCGA
TTTGAGAGTAGTAAGACGTGAAAGGAATACACTTGTGTTTAAGC
ACCATGGCCTTGATGATTCACTGTTGGGGAGAAGAAACAAGAAA
AGTAACTGGTTGTCACCTATGAGACCCTTACGTGATTGTTAGTTAA
GTTTTTATTCAAAGCAGCTGTAATTTAGTTAATAAAATAATTATGAT
CTATGTTGTTTGCCCAATTGAGATCCAGTTTTTTGTTGTTATTTTAA
ATCAATTAGGGGCAATAGTAGAATGGACAATTTCCAAGAATGATG
CCTTTCAGGTCCTAGGGCCTCTGGCCTCTAGGTAACCAGTTTAAA
TTGGTTCAGGGTGATAACTACTTAGCACTGCCCTGGTGATTACCC
AGAGATATCTATGAAAACCAGTGGCTTCCATCAAACCTTTGCCAA
CTCAGGTTACACAGCAGCTTTGGGCAGTTATGGCAGTATGGCATTAA
GCTGAGAGGTGTCTGCCACTTCTGGGTCAATGGAATAATAAATTA
AGTACAGGCAGGAATTTGGTTGGGAGCATCTTGTATGATCTCCGT
ATGATGTGATATTGATGGAGATAGTGGTCCTCATTCTTGGGGGTTG
CCATTCCCACATTCCCCCTTCAACAAACAGTGTAACAGGTCCTTC
CCAGATTTAGGGTACTTTTATTGATGGATATGTTTTCTTTTATTCA
CATAACCCCTTGAAACCCTGTCTTGTCTCCTGTTACTTGCTTCTG
CTGTACAAGATGTAGCACCTTTTCTCCTCTTTGAACATGGTCTAGT
GACACGGTAGCACCAGTTGCAGGAAGGAGCCAGACTTGTTCTCA
GAGCACTGTGTTACACTTTTCAGCAAAAATAGCTATGGTTGTAA
CATATGTATTCCCTTCCTCTGATTTGAAGGCAAAAATCTACAGTGT
TTCTTCACTTCTTTTCTGATCTGGGGCATGAAAAAAGCAAGATTG

[0140]

AAATTTGAACTATGAGTCTCCTGCATGGCAACAAAATGTGTGTCA
CCATCAGGCCAACAGGCCAGCCCTTGAATGGGGATTATTACTGT
TGTATCTATGTTGCATGATAAACATTCATCACCTTCCTCCTGTAGTC
CTGCCTCGTACTCCCCCTTCCCCTATGATTGAAAAGTAAACAAAAC
CCACATTTCCCTATCCTGGTTAGAAGAAAATTAATGTTCTGACAGTT
GTGATCGCCTGGAGTACTTTTAGACTTTTAGCATTTCGTTTTTTACC
TGTTTGTGGATGTGTGTTTGTATGTGCATACGTATGAGATAGGCAC
ATGCATCTTCTGTATGGACAAAGGTGGGGTACCTACAGGAGAGCA
AAGGTAAATTTTGTGCTTTTAGTAAAAACATTTAAATACAAAGTTC
TTTATTGGGTGGAATTATTTGATGCAAATATTTGATCACTTAAAA
CTTTTAAAACTTCTAGGTAATTTGCCACGCTTTTTGACTGCTCACC
AATACCCTGTAAAAATACGTAATTCTTCCTGTTTGTGTAATAAGATA
TTCATATTTGTAGTTGCATTAATAATAGTTATTTCTTAGTCCATCAGA
TGTTCCCGTGTGCCTCTTTTATGCCAAATTGATTGTCATATTTCATG
TTGGGACCAAGTAGTTTGCCCATGGCAAACCTAAATTTATGACCT
GCTGAGGCCTCTCAGAAAACCTGAGCATACTAGCAAGACAGCTCT
TCTTGAAAAAAAAAATATGTATACACAAATATATACGTATATCTATA
TATACGTATGTATATACACACATGTATATTCTTCCTTGATTGTGTAGC
TGTCCAAATAATAACATATATAGAGGGAGCTGTATTCCTTTATACA
AATCTGATGGCTCCTGCAGCACTTTTTCTTCTGAAAATATTTACA
TTTTGCTAACCTAGTTTGTTACTTTAAAAATCAGTTTTGATGAAAG
GAGGGAAAAGCAGATGGACTTGAAAAAGATCCAAGCTCCTATTA
GAAAAGGTATGAAAATCTTTATAGTAAAATTTTTTATAAACTAAAG
TTGTACCTTTTAATATGTAGTAAACTCTCATTTATTTGGGGTTCGCT
CTTGATCTCATCCATCCATTGTGTTCTCTTTAATGCTGCCTGCCTT
TTGAGGCATTCACTGCCCTAGACAATGCCACCAGAGATAGTGGGG
GAAATGCCAGATGAAACCAACTCTTGCTCTCACTAGTTGTCAGCT
TCTCTGGATAAGTGACCACAGAAGCAGGAGTCCTCCTGCTTGGG
CATCATTGGGCCAGTTCCTTCTCTTTAAATCAGATTTGTAATGGCT
CCCAAATTCCATCACATCACATTTAAATTGCAGACAGTGTTTTGCA
CATCATGTATCTGTTTTGTCCCATAATATGCTTTTTTACTCCCTGATC
CCAGTTTCTGCTGTTGACTCTTCATTTCAGTTTTATTATTGTGTGT

[0141]

TCTCACAGTGACACCATTTGTCCTTTTCTGCAACAACCTTTCCAG
CTACTTTTGCCAAATTCTATTTGTCTTCTCCTTCAAAACATTCTCCT
TTGCAGTTCCTCTTCATCTGTGTAGCTGCTCTTTTGTCTCTTAACTT
ACCATTCCTATAGTACTTTATGCATCTCTGCTTAGTTCTATTAGTTTT
TTGGCCTTGCTCTTCTCCTTGATTTTAAAATTCCTTCTATAGCTAGA
GCTTTTCTTTCTTTCATTCTCTCTTCCTGCAGTGTTTTGCATACATC
AGAAGCTAGGTACATAAGTTAAATGATTGAGAGTTGGCTGTATTTA
GATTTATCACTTTTTAATAGGGTGAGCTTGAGAGTTTTCTTTCTTT
CTGTTTTTTTTTTTTTGTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTG
ACTAATTTACATGCTCTAAAAACCTTCAAAGGTGATTATTTTTCT
CCTGGAAACTCCAGGTCCATTCTGTTTAAATCCCTAAGAATGTCA
GAATTAAAATAACAGGGCTATCCCGTAATTGGAAATATTTCTTTTT
TCAGGATGCTATAGTCAATTTAGTAAGTGACCACCAAATTGTTATT
TGCACTAACAAAGCTCAAAACACGATAAGTTTACTCCTCCATCTC
AGTAATAAAAATTAAGCTGTAATCAACCTTCTAGGTTTCTCTTGTC
TTAAAATGGGTATTCAAAAATGGGGATCTGTGGTGTATGTATGGAA
ACACATACTCCTTAATTTACCTGTTGTTGGAAACTGGAGAAATGAT
TGTCGGGCAACCGTTTATTTTTTATTGTATTTTATTTGGTTGAGGGA
TTTTTTTATAAACAGTTTTACTTGTGTCATATTTTAAAATTACTAAC
TGCCATCACCTGCTGGGGTCCCTTTGTTAGGTCATTTTCAGTGACTA
ATAGGGATAATCCAGGTAACCTTTGAAGAGATGAGCAGTGAGTGAC
CAGGCAGTTTTTCTGCCTTTAGCTTTGACAGTTCTTAATTAAGATC
ATTGAAGACCAGCTTCTCATAAATTTCTCTTTTTTGAAAAAAGA
AAGCATTTGTACTAAGCTCCTCTGTAAGACAACATCTTAAATCTTA
AAAGTGTTGTTATCATGACTGGTGAGAGAAGAAAACATTTTGTTT
TTATTAAATGGAGCATTATTTACAAAAAGCCATTGTTGAGAATTAG
ATCCCACATCGTATAAATATCTATTAACCATTCTAAATAAAGAGAA
CTCCAGTGTTGCTATGTGCAAGATCCTCTCTTGGAGCTTTTTTGCA
TAGCAATTAAAGGTGTGCTATTTGTCAGTAGCCATTTTTTTGCAGT
GATTTGAAGACCAAAGTTGTTTTACAGCTGTGTTACCGTTAAAGG
TTTTTTTTTTTTATATGTATTAAATCAATTTATCACTGTTTAAAGCTTT
GAATATCTGCAATCTTTGCCAAGGTACTTTTTTATTTAAAAA

CATAACTTTGTAAATATTACCCTGTAATATTATATATACTTAATAAAA
CATTTTAAGCTATTTTGTGTTGGGCTATTTCTATTGCTGCTACAGCAGA
CCACAAGCACATTTCTGAAAAATTTAATTTATTAATGTATTTTAAAG
TTGCTTATATTCTAGGTAACAATGTAAAGAATGATTTAAAATATTAA
TTATGAATTTTTTGTAGTATAATACCCAATAAGCTTTTAATTAGAGCA
GAGTTTTAATTAAAAGTTTTTAAATCAGTC
(SEQ ID NO: 11)

人 CD47 氨基酸同种型 2 (NP_942088.1)

MWPLVAALLGSACCGSAQLLENKTKSVEFTFCNDTVVIPCFVTN
MEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIEVS
QLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTREGETIHELKYRV
VSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALVA
GLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAI
GLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQ
LLGLVYMKFVASNQKTIQPPRNN(SEQ ID NO: 12)

[0142]

人 CD47 mRNA 同种型 3 (XM_005247908.1)

AGTGGGAGCGCGCGTGCAGCCTGGGCAGTGG
GTCCTGCCTGTGACGCGCGGCGGCGGTCGGTCCTGCCTGTAACG
GCGGCGGCGGCTGCTGCTCCGGACACCTGCGGCGGCGGCGGCGA
CCCCGCGGCGGGCGCGGAGATGTGGCCCCTGGTAGCGGCGCT
GTTGCTGGGCTCGGCGTGCTGCGGATCAGCTCAGCTACTATT
TAATAAAACAAAATCTGTAGAATTCACGTTTTGTAAATGACACT
GTCGTCATTCCATGCTTTGTTACTAATATGGAGGCACAAAACA
CTACTGAAGTATACGTAAAGTGGAATTTAAAGGAAGAGATAT
TTACACCTTTGATGGAGCTCTAAACAAGTCCACTGTCCCCAC
TGACTTTAGTAGTGCAAAAATTGAAGTCTCACAATTACTAAAA
GGAGATGCCTCTTTGAAGATGGATAAGAGTGATGCTGTCTCA
CACACAGGAACTACACTTGTGAAGTAACAGAATTAACCAGA
GAAGGTGAAACGATCATCGAGCTAAAATATCGTGTTGTTTCAT
GGTTTTCTCCAAATGAAAATATTCTTATTGTTATTTTCCCAATT

[0143]

TTTGCTATACTCCTGTTCTGGGGACAGTTTGGTATTAAACAC
TTAAATATAGATCCGGTGGTATGGATGAGAAAACAATTGCTTT
ACTTGTTGCTGGACTAGTGATCACTGTCATTGTCATTGTTGGA
GCCATTCTTTTCGTCCCAGGTGAATATTCATTAAAGAATGCTA
CTGGCCTTGGTTTAATTGTGACTTCTACAGGGATATTAATATTA
CTTCACTACTATGTGTTTAGTACAGCGATTGGATTAAACCTCCT
TCGTCATTGCCATATTGGTTATTCAGGTGATAGCCTATATCCTC
GCTGTGGTTGGACTGAGTCTCTGTATTGCGGCGTGTATACCA
ATGCATGGCCCTCTTCTGATTTTCAGGTTTGAGTATCTTAGCTC
TAGCACAATTACTTGGACTAGTTTATATGAAATTTGTGGCTTC
CAATCAGAAGACTATACAACCTCCTAGGAAAGCTGTAGAGGA
ACCCCTTAATGAATAACTGAAGTGAAGTGATGGACTCCGATTTG
GAGAGTAGTAAGACGTGAAAGGAATACACTTGTGTTTAAGCACC
ATGGCCTTGATGATTCACTGTTGGGGAGAAGAAACAAGAAAAGT
AACTGGTTGTCACCTATGAGACCCTTACGTGATTGTTAGTTAAGTT
TTTATTCAAAGCAGCTGTAATTTAGTTAATAAAATAATTATGATCTA
TGTTGTTTGCCCAATTGAGATCCAGTTTTTTGTTGTTATTTTAAATC
AATTAGGGGCAATAGTAGAATGGACAATTTCCAAGAATGATGCCT
TTCAGGTCCTAGGGCCTCTGGCCTCTAGGTAACCAGTTTAAATTG
GTTCAGGGTGATAACTACTTAGCACTGCCCTGGTGATTACCCAGA
GATATCTATGAAAACCAGTGGCTTCCATCAAACCTTTGCCAACTC
AGGTTACAGCAGCTTTGGGCAGTTATGGCAGTATGGCATTAGCT
GAGAGGTGTCTGCCACTTCTGGGTCAATGGAATAATAAATTAAGT
ACAGGCAGGAATTTGGTTGGGAGCATCTTGTATGATCTCCGTATGA
TGTGATATTGATGGAGATAGTGGTCCTCATTCTTGGGGGTTGCCAT
TCCCACATTCCCCCTTCAACAAACAGTGTAACAGGTCCTTCCCAG
ATTTAGGGTACTTTTATTGATGGATATGTTTTCTTTTATTACATAA
CCCCTTGAAACCCTGTCTTGTCTCCTGTTACTTGCTTCTGCTGTA
CAAGATGTAGCACCTTTTCTCCTCTTTGAACATGGTCTAGTGACA
CGGTAGCACCAGTTGCAGGAAGGAGCCAGACTTGTTCTCAGAGC
ACTGTGTTACACTTTTCAGCAAAAATAGCTATGGTTGTAACATAT
GTATTCCCTTCTCTGATTTGAAGGCAAAAATCTACAGTGTTTCTT

[0144]

CACTTCTTTTCTGATCTGGGGCATGAAAAAGCAAGATTGAAATT
TGAACTATGAGTCTCCTGCATGGCAACAAAATGTGTGTACCATC
AGGCCAACAGGCCAGCCCTTGAATGGGGATTATTACTGTTGTAT
CTATGTTGCATGATAAACATTCATCACCTTCCTCCTGTAGTCCTGC
CTCGTACTCCCCCTTCCCCTATGATTGAAAAGTAAACAAAACCCAC
ATTTCCCTATCCTGGTTAGAAGAAAATTAATGTTCTGACAGTTGTGA
TCGCCTGGAGTACTTTTAGACTTTTAGCATTCGTTTTTTACCTGTTT
GTGGATGTGTGTTTGTATGTGCATACGTATGAGATAGGCACATGCA
TCTTCTGTATGGACAAAGGTGGGGTACCTACAGGAGAGCAAAGG
TTAATTTTGTGCTTTTAGTAAAAACATTAAATACAAAGTTCTTTAT
TGGGTGGAATTATATTTGATGCAAATATTTGATCACTTAAACTTTT
AAAACTTCTAGGTAATTTGCCACGCTTTTTGACTGCTCACCAATAC
CCTGTAAAAATACGTAATTCTTCCTGTTTGTGTAATAAGATATTCAT
ATTTGTAGTTGCATTAATAATAGTTATTTCTTAGTCCATCAGATGTT
CCCGTGTGCCTCTTTTATGCCAAATTGATTGTCATATTTTCATGTTGG
GACCAAGTAGTTTGCCCATGGCAAACCTAAATTTATGACCTGCTG
AGGCCTCTCAGAAAACCTGAGCATACTAGCAAGACAGCTCTTCTTG
AAAAAAAAAATATGTATACACAAATATATACGTATATCTATATATAC
GTATGTATATACACACATGTATATTCTTCCTTGATTGTGTAGCTGTC
CAAAATAATAACATATATAGAGGGAGCTGTATTCCTTTATACAAATC
TGATGGCTCCTGCAGCACTTTTTCTTCTGAAAATATTTACATTTT
GCTAACCTAGTTTGTTACTTTAAAAATCAGTTTTGATGAAAGGAG
GGAAAAGCAGATGGACTTGAAAAAGATCCAAGCTCCTATTAGAA
AAGGTATGAAAATCTTTATAGTAAAATTTTTATAAACTAAAGTTG
TACCTTTTAATATGTAGTAAACTCTCATTATTTGGGGTTCGCTCTT
GGATCTCATCCATCCATTGTGTTCTCTTTAATGCTGCCTGCCTTTTG
AGGCATTCACTGCCCTAGACAATGCCACCAGAGATAGTGGGGGA
AATGCCAGATGAAACCAACTCTTGCTCTCACTAGTTGTCAGCTTC
TCTGGATAAGTGACCACAGAAGCAGGAGTCCTCCTGCTTGGGCA
TCATTGGGCCAGTTCCTTCTCTTTAAATCAGATTTGTAATGGCTCC
CAAATTCCATCACATCACATTTAAATTGCAGACAGTGTTTTGCACA
TCATGTATCTGTTTTGTCCCATAATATGCTTTTTTACTCCCTGATCCC

[0145]

AGTTTCTGCTGTTGACTCTTCCATTTCAGTTTTATTATTGTGTGTTCTC
TCACAGTGACACCATTTGTCTTTTCTGCAACAACCTTTCCAGCT
ACTTTTGCCAAATTCTATTTGTCTTCTCCTTCAAAACATTCTCCTTT
GCAGTTCCTCTTCATCTGTGTAGCTGCTCTTTTGTCTCTTAACTTA
CCATTCCCTATAGTACTTTATGCATCTCTGCTTAGTTCTATTAGTTTTT
TGGCCTTGCTCTTCTCCTTGATTTTAAAATTCCTTCTATAGCTAGAG
CTTTTCTTTCTTTCAATTCTCTCTTCCTGCAGTGTTTTGCATACATCA
GAAGCTAGGTACATAAGTTAAATGATTGAGAGTTGGCTGTATTTAG
ATTTATCACTTTTTAATAGGGTGAGCTTGAGAGTTTTCTTTCTTTCT
GTTTTTTTTTTTTGTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAC
TAATTTACATGCTCTAAAAACCTTCAAAGGTGATTATTTTTCTCC
TGGAAACTCCAGGTCCATTCTGTTTAAATCCCTAAGAATGTCAGA
ATTAATAACAGGGCTATCCCGTAATTGGAAATATTTCTTTTTTC
AGGATGCTATAGTCAATTTAGTAAGTGACCACCAAATTGTTATTTG
CACTAACAAAGCTCAAAACACGATAAGTTTACTCCTCCATCTCAG
TAATAAAAATTAAGCTGTAATCAACCTTCTAGGTTTCTCTTGCTT
AAAATGGGTATTCAAAAATGGGGATCTGTGGTGTATGTATGGAAA
CACATACTCCTTAATTTACCTGTTGTTGGAAACTGGAGAAATGATT
GTCGGGCAACCGTTTATTTTTTATTGTATTTTATTGGTTGAGGGAT
TTTTTTATAAACAGTTTTACTTGTGTCATATTTTAAAATTACTAACT
GCCATCACCTGCTGGGGTCCTTTGTTAGGTCATTTTCAGTGACTAA
TAGGGATAATCCAGGTAACCTTTGAAGAGATGAGCAGTGAGTGAC
CAGGCAGTTTTTCTGCCTTTAGCTTTGACAGTTCTTAATTAAGATC
ATTGAAGACCAGCTTTCTCATAAATTTCTCTTTTTTGAAAAAAGA
AAGCATTGTACTAAGCTCCTCTGTAAGACAACATCTTAAATCTTA
AAAGTGTTGTTATCATGACTGGTGAGAGAAGAAAACATTTTGTTT
TTATTAAATGGAGCATTATTTACAAAAAGCCATTGTTGAGAATTAG
ATCCACATCGTATAAATATCTATTAACCATTCTAAATAAAGAGAA
CTCCAGTGTTGCTATGTGCAAGATCCTCTCTTGGAGCTTTTTTGCA
TAGCAATTAAGGTGTGCTATTTGTCAGTAGCCATTTTTTTGCACT
GATTTGAAGACCAAAGTTGTTTTACAGCTGTGTTACCGTTAAAGG
TTTTTTTTTTTTATATGTATTAAATCAATTTATCACTGTTTAAAGCTTT

GAATATCTGCAATCTTTGCCAAGGTACTTTTTTATTTAAAAAAA
CATAACTTTGTAAATATTACCCTGTAATATTATATATACTTAATAAAA
CATTTTAAGCTA(SEQ ID NO: 13)

人 CD47 氨基酸同种型 3 (XP_005247965.1)

MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFVTN
MEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIEVS
QLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTREGETIHELKYRV
VSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALVA
GLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYVVFSTAI
GLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQ
LLGLVYMKFVASNQKTIQPPRKAVEEPLNE(SEQ ID NO: 14)

人 CD47 mRNA 同种型 4 (NM_001777.3)

[0146]

GGGGAGCAGGCGGGGGAGCGGGCGGGAAGCAGTGGGAGCGCG
CGTGCGCGCGGCCGTGCAGCCTGGGCAGTGGGTCCTGCCTGTGA
CGCGCGGCGGCGGTCGGTCCTGCCTGTAAACGGCGGCGGCGGCTG
CTGCTCCAGACACCTGCGGCGGCGGCGGCGGCGACCCCGCGGCGGGC
GCGGAGATGTGGCCCCCTGGTAGCGGCGCTGTTGCTGGGCTC
GGCGTGCTGCGGATCAGCTCAGCTACTATTTAATAAAACAAA
ATCTGTAGAATTCACGTTTTGTAAATGACACTGTTCGTCATTCC
ATGCTTTGTTACTAATATGGAGGCACAAAACACTACTGAAGT
ATACGTAAAGTGGAATTTAAAGGAAGAGATATTTACACCTT
TGATGGAGCTCTAAACAAGTCCACTGTCCCCACTGACTTTAG
TAGTGCAAAAATTGAAGTCTCACAATTACTAAAAGGAGATGC
CTCTTTGAAGATGGATAAGAGTGATGCTGTCTCACACACAGG
AACTACACTTGTGAAGTAACAGAATTAACCAGAGAAGGTGA
AACGATCATCGAGCTAAAATATCGTGTTGTTTCATGGTTTTT
TCCAAATGAAAATATTCTTATTGTTATTTTCCCAATTTTGTGCT
ATACTCCTGTTCTGGGGACAGTTTGGTATTAAAACACTTAAA
TATAGATCCGGTGGTATGGATGAGAAAACAATTGCTTTACTT
GTTGCTGGACTAGTGATCACTGTCATTGTCATTGTTGGAGCC

[0147]

ATTCTTTTCGTCCCAGGTGAATATTCATTAAAGAATGCTACT
GGCCTTGGTTTAATTGTGACTTCTACAGGGATATTAATATTA
CTTCACTACTATGTGTTTAGTACAGCGATTGGATTAACCTCC
TTCGTCATTGCCATATTGGTTATTCAGGTGATAGCCTATATC
CTCGCTGTGGTTGGACTGAGTCTCTGTATTGCGGCGTGTATA
CCAATGCATGGCCCTCTTCTGATTTTCAGGTTTGAGTATCTTA
GCTCTAGCACAATTACTTGGACTAGTTTATATGAAATTTGTG
GCTTCCAATCAGAAGACTATAACAACCTCCTAGGAAAGCTGTA
GAGGAACCCCTTAATGCATTCAAAGAATCAAAAGGAATGATG
AATGATGAATAACTGAAGTGAAGTGATGGACTCCGATTTGGAG
AGTAGTAAGACGTGAAAGGAATACACTTGTGTTTAAGCACCATG
GCCTTGATGATTCACTGTTGGGGAGAAGAAACAAGAAAAGTAAC
TGGTTGTCACCTATGAGACCCTTACGTGATTGTTAGTTAAGTTTT
TATTCAAAGCAGCTGTAATTTAGTTAATAAAATAATTATGATCTA
TGTTGTTTGCCCAATTGAGATCCAGTTTTTTGTTGTTATTTTTAAT
CAATTAGGGGCAATAGTAGAATGGACAATTTCCAAGAATGATGC
CTTTCAGGTCCTAGGGCCTCTGGCCTCTAGGTAACCAGTTTAAAT
TGGTTCAGGGTGATAACTACTTAGCACTGCCCTGGTGATTACCCA
GAGATATCTATGAAAACCAGTGGCTTCCATCAAACCTTTGCCAA
CTCAGGTTACACAGCAGCTTTGGGCAGTTATGGCAGTATGGCATT
AGCTGAGAGGTGTCTGCCACTTCTGGGTCAATGGAATAATAAAT
TAAGTACAGGCAGGAATTTGGTTGGGAGCATCTTGTATGATCTC
CGTATGATGTGATATTGATGGAGATAGTGGTCCTCATTCTTGGGG
GTTGCCATTCCCACATTCCCCCTTCAACAAACAGTGTAACAGGTC
CTTCCCAGATTTAGGGTACTTTTATTGATGGATATGTTTTCTTTT
ATTCACATAACCCCTTGAAACCCTGTCTTGTCTCCTGTTACTTG
CTTCTGCTGTACAAGATGTAGCACCTTTTCTCCTCTTTGAACATG
GTCTAGTGACACGGTAGCACCAAGTTGCAGGAAGGAGCCAGACTT
GTTCTCAGAGCACTGTGTTACACTTTTCAGCAAAAATAGCTATG
GTTGTAACATATGTATTCCCTTCCTCTGATTTGAAGGCAAAAATC
TACAGTGTTTCTTCACTTCTTTTCTGATCTGGGGCATGAAAAAAG
CAAGATTGAAATTTGAACTATGAGTCTCCTGCATGGCAACAAAA

[0148]

TGTGTGTCACCATCAGGCCAACAGGCCAGCCCTTGAATGGGGAT
TTATTACTGTTGTATCTATGTTGCATGATAAACATTCATCACCTT
CCTCCTGTAGTCCTGCCTCGTACTCCCCTTCCCCTATGATTGAAA
AGTAAACAAAACCCACATTTCTATCCTGGTTAGAAGAAAATTA
ATGTTCTGACAGTTGTGATCGCCTGGAGTACTTTTAGACTTTTAG
CATTCGTTTTTTACCTGTTTGTGGATGTGTGTTTGTATGTGCATAC
GTATGAGATAGGCACATGCATCTTCTGTATGGACAAAGGTGGGG
TACCTACAGGAGAGCAAAGGTTAATTTTGTGCTTTTAGTAAAAA
CATTTAAATACAAAGTTCTTTATTGGGTGGAATTATATTTGATGC
AAATATTTGATCACTTAAACTTTTAAACTTCTAGGTAATTTGC
CACGCTTTTTGACTGCTCACCAATACCCTGTAAAAATACGTAATT
CTTCCTGTTTGTGTAATAAGATATTCATATTTGTAGTTGCATTAA
TAATAGTTATTTCTTAGTCCATCAGATGTTCCCGTGTGCCTCTTTT
ATGCCAAATTGATTGTCATATTTTCATGTTGGGACCAAGTAGTTTG
CCCATGGCAAACCTAAATTTATGACCTGCTGAGGCCTCTCAGAA
AACTGAGCATACTAGCAAGACAGCTCTTCTTGAAAAAAAAAATA
TGTATACACAAATATATACGTATATCTATATATACGTATGTATAT
ACACACATGTATATTCTTCCTTGATTGTGTAGCTGTCCAAAATAA
TAACATATATAGAGGGAGCTGTATTCCTTTATACAAATCTGATG
GCTCCTGCAGCACTTTTTCTTCTGAAAATATTTACATTTTGCTA
ACCTAGTTTGTTACTTTAAAAATCAGTTTTGATGAAAGGAGGGA
AAAGCAGATGGACTTGAAAAAGATCCAAGCTCCTATTAGAAAA
GGTATGAAAATCTTTATAGTAAAATTTTTTATAAACTAAAGTTGT
ACCTTTTAATATGTAGTAAACTCTCATTTATTTGGGGTTCGCTCTT
GGATCTCATCCATCCATTGTGTTCTCTTTAATGCTGCCTGCCTTTT
GAGGCATTCACTGCCCTAGACAATGCCACCAGAGATAGTGGGGG
AAATGCCAGATGAAACCAACTCTTGCTCTCACTAGTTGTCAGCTT
CTCTGGATAAGTGACCACAGAAGCAGGAGTCCTCCTGCTTGGGC
ATCATTGGGCCAGTTCCTTCTCTTTAAATCAGATTTGTAATGGCT
CCCAAATTCCATCACATCACATTTAAATTGCAGACAGTGTTTTGC
ACATCATGTATCTGTTTTGTCCCATAATATGCTTTTTTACTCCCTGA
TCCCAGTTTCTGCTGTTGACTCTTCCATTCAGTTTTATTTATTGTG

[0149]

TGTTCTCACAGTGACACCATTTGTCCTTTTCTGCAACAACCTTTC
CAGCTACTTTTGCCAAATTCTATTTGTCTTCTCCTTCAAAACATTC
TCCTTTGCAGTTCCTCTTCATCTGTGTAGCTGCTCTTTTGTCTCTT
AACTTACCATTCCCTATAGTACTTTATGCATCTCTGCTTAGTTCTAT
TAGTTTTTTTGGCCTTGCTCTTCTCCTTGATTTTAAAATTCCTTCTA
TAGCTAGAGCTTTTCTTTCTTTCAATTCTCTCTTCCTGCAGTGTTTT
GCATACATCAGAAGCTAGGTACATAAGTTAAATGATTGAGAGTT
GGCTGTATTTAGATTTATCACTTTTTTAATAGGGTGAGCTTGAGAG
TTTTCTTTCTTTCTGTTTTTTTTTTTTTTGTTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTTTTTTTTTTGACTAATTTACATGCTCTAAAAACCTTCAAAGGT
GATTATTTTTCTCCTGGAAACTCCAGGTCCATTCTGTTTAAATCC
CTAAGAATGTCAGAATTAAAATAACAGGGCTATCCCGTAATTGG
AAATATTTCTTTTTTTCAGGATGCTATAGTCAATTTAGTAAGTGAC
CACCAAATTGTTATTTGCACTAACAAAGCTCAAAACACGATAAG
TTTACTCCTCCATCTCAGTAATAAAAATTAAGCTGTAATCAACCT
TCTAGGTTTCTCTTGTCTTAAAATGGGTATTCAAAAATGGGGATC
TGTGGTGTATGTATGGAAACACATACTCCTTAATTTACCTGTTGT
TGGAAACTGGAGAAATGATTGTCGGGCAACCGTTTATTTTTTATT
GTATTTTATTTGGTTGAGGGATTTTTTTATAAACAGTTTTACTTGT
GTCATATTTTAAAATTACTAACTGCCATCACCTGCTGGGGTCCTT
TGTTAGGTCATTTTCAGTGACTAATAGGGATAATCCAGGTAACTT
TGAAGAGATGAGCAGTGAGTGACCAGGCAGTTTTTCTGCCTTTA
GCTTTGACAGTTCTTAATTAAGATCATTGAAGACCAGCTTTCTCA
TAAATTTCTCTTTTTTGAAAAAAGAAAGCATTGTACTAAGCTCC
TCTGTAAGACAACATCTTAAATCTTAAAAGTGTTGTTATCATGAC
TGGTGAGAGAAGAAAACATTTTGTTTTTATTAAATGGAGCATTAA
TTTACAAAAAGCCATTGTTGAGAATTAGATCCCACATCGTATAA
ATATCTATTAACCATTCTAAATAAAGAGAACTCCAGTGTTGCTAT
GTGCAAGATCCTCTCTTGGAGCTTTTTTGCATAGCAATTAAAGGT
GTGCTATTTGTCAGTAGCCATTTTTTTGCAGTGATTTGAAGACCA
AAGTTGTTTTACAGCTGTGTTACCGTTAAAGGTTTTTTTTTTTATA
TGTATTAAATCAATTTATCACTGTTTAAAGCTTTGAATATCTGCA

ATCTTTGCCAAGGTACTTTTTTATTTAAAAAAAACATAACTTTG
TAAATATTACCCTGTAATATTATATATACTTAATAAAACATTTTA
AGCTATTTTGTGTTGGGCTATTTCTATTGCTGCTACAGCAGACCACA
AGCACATTTCTGAAAAATTTAATTTATTAATGTATTTTTTAAGTTG
CTTATATTCTAGGTAACAATGTAAAGAATGATTTAAAATATTAAT
TATGAATTTTTTGAGTATAATAACCAATAAGCTTTTAATTAGAGC
AGAGTTTTAATTAAAAGTTTTAAATCAGTC(SEQ ID NO: 15)

人 CD47 氨基酸同种型 4 (NP_001768.1)

MWPLVAALLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFVTN
MEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIEVS
QLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTREGETIHELKYRV
VSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALVA
GLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAI
GLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQ
LLGLVYMKFVASN*QKTIQPPRKAVEEPLNAFKESK*GMMNDE(SEQ ID
NO: 16)

[0150]

人源化 CD47 氨基酸同种型 1

MWPLAAALLGSCCCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFVT
NMEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIE
VSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTREGETIHELKY
RVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTI
ALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLH
YYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLI
SGLSILALAQLLGLVYMKFVE(SEQ ID NO: 17)

人源化 CD47 氨基酸同种型 2

MWPLAAALLGSCCCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFVT
NMEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIE
VSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTREGETIHELKY
RVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTI

**ALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLH
YYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLI
SGLSILALAQLLGLVYMKFV*ASNQRTIQPPRNR*(SEQ ID NO: 18)**

人源化 CD47 氨基酸同种型 3

**MWPLAAALLGSCCCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFVT
NMEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIE
VSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTREGETHIELKY
RVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTI
ALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLH
YYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLI
[0151] **SGLSILALAQLLGLVYMKFV*ASNQRTIQPPRKAVEEPLNE*** (SEQ ID
NO: 19)**

人源化 CD47 氨基酸同种型 4

**MWPLAAALLGSCCCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFVT
NMEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIE
VSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTREGETHIELKY
RVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTI
ALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLH
YYVFSTAIGLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLI
**SGLSILALAQLLGLVYMKFV*ASNQRTIQPPRKAVEEPLNAFKESKGM
MNDE*** (SEQ ID NO: 20)**

[0152] 人源化CD47非人动物

[0153] 提供非人动物,其在非人动物的细胞表面上表达人源化CD47蛋白,所述人源化CD47蛋白是通过对编码CD47蛋白的非人动物的内源基因座进行遗传修饰来产生。本文描述的合适的例子包括啮齿动物,具体地讲,小鼠。

[0154] 在一些实施方案中,人源化CD47基因包含来自异源物种(例如人)的遗传物质,其中所述人源化CD47基因编码CD47蛋白,所述CD47蛋白包含来自异源物种的遗传物质的被编码部分。在一些实施方案中,本发明的人源化CD47基因包含异源物种的基因组DNA,所述基因组DNA编码在细胞质膜表面上表达的CD47蛋白的胞外部分。在一些实施方案中,本发明的人源化CD47基因包含异源物种的基因组DNA,所述基因组DNA编码在细胞质膜表面上表达的CD47蛋白的胞外部分和跨膜部分。提供用于制备包含所述人源化CD47基因的非人动物、非人胚胎和细胞的非人动物、胚胎、细胞和靶向构建体。

[0155] 在一些实施方案中,内源CD47基因被缺失。在一些实施方案中,内源CD47基因被改变,其中内源CD47基因的一部分被异源序列(例如全部或部分的人CD47序列)替换。在一些实施方案中,所有或基本上所有的内源CD47基因被异源基因(例如人CD47基因)替换。在一些实施方案中,异源CD47基因的一部分插入内源非人CD47基因的内源CD47基因座处。在一些实施方案中,异源基因为人基因。在一些实施方案中,对内源CD47基因的两个拷贝之一进行修饰或人源化,从而产生相对于人源化CD47基因杂合的非人动物。在其他实施方案中,提供针对人源化CD47基因杂合的非人动物。

[0156] 本发明的非人动物包含在内源非人CD47基因座上的全部或部分的人CD47基因。因此,此类非人动物可被描述为具有异源CD47基因。内源CD47基因座处的被替换的、插入的、修饰的或改变的CD47基因可使用多种方法(包括例如PCR、Western印迹、Southern印迹、限制性片段长度多态性(RFLP)或等位基因的获得或丢失测定)来检测。在一些实施方案中,非人动物相对于人源化CD47基因是杂合的。在其他实施方案中,提供针对人源化CD47基因纯合的非人动物。

[0157] 在多个实施方案中,根据本发明的人源化CD47基因包括具有第二外显子、第三外显子、第四外显子、第五外显子、第六外显子和第七外显子的CD47基因,所述第二外显子、第三外显子、第四外显子、第五外显子、第六外显子和第七外显子各自具有与表3的人CD47基因中呈现的第二外显子、第三外显子、第四外显子、第五外显子、第六外显子和第七外显子至少50%(例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)同一性的序列。

[0158] 在多个实施方案中,根据本发明的人源化CD47基因包括具有第一外显子和外显子7下游的外显子(例如,同种型2的第八外显子和第九外显子)的CD47基因,所述第一外显子和外显子7下游的外显子各自具有与表3的小鼠CD47基因中呈现的各自的外显子至少50%(例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)同一性的序列。

[0159] 在多个实施方案中,根据本发明的人源化CD47基因包括具有5'非翻译区和3'非翻译区的CD47基因,所述5'非翻译区和3'非翻译区各自具有与表3的小鼠CD47基因中呈现的5'非翻译区和3'非翻译区至少50%(例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)同一性的序列。

[0160] 在多个实施方案中,根据本发明的人源化CD47基因包括具有核苷酸编码序列(例如cDNA序列)的CD47基因,所述核苷酸编码序列与表3的人CD47核苷酸编码序列中呈现的核苷酸编码序列至少50%(例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)同一性。

[0161] 在多个实施方案中,由本发明的非人动物产生的人源化CD47蛋白具有胞外部分,所述胞外部分具有与表3中呈现的人CD47蛋白的胞外部分至少50%(例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多)同一性的氨基酸序列。

[0162] 在多个实施方案中,由本发明的非人动物产生的人源化CD47蛋白具有胞外部分,所述胞外部分具有与表3的人CD47蛋白中呈现的氨基酸残基19-141相同的氨基酸序列。

[0163] 在多个实施方案中,由本发明的非人动物产生的人源化CD47蛋白具有N-末端免疫

球蛋白V域,所述N-末端免疫球蛋白V域具有与表3中呈现的人CD47蛋白的N-末端免疫球蛋白V域至少50% (例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多) 同一性的氨基酸序列。

[0164] 在多个实施方案中,由本发明的非人动物产生的人源化CD47蛋白具有N-末端免疫球蛋白V域,所述N-末端免疫球蛋白V域具有与表3的人CD47蛋白中呈现的氨基酸残基19-127相同的氨基酸序列。

[0165] 在多个实施方案中,由本发明的非人动物产生的人源化CD47蛋白具有N-末端免疫球蛋白V域和五个跨膜域,所述N-末端免疫球蛋白V域和五个跨膜域各自具有与表3中呈现的人CD47蛋白的N-末端免疫球蛋白V域和五个跨膜域至少50% (例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多) 同一性的序列。

[0166] 在多个实施方案中,由本发明的非人动物产生的人源化CD47蛋白具有胞质内尾部,所述胞质内尾部具有与表3中呈现的小鼠CD47蛋白的胞质内尾部至少50% (例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多) 同一性的序列。

[0167] 在多个实施方案中,由本发明的非人动物产生的人源化CD47蛋白具有与表3的人CD47蛋白中呈现的氨基酸残基16-292至少50% (例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多) 同一性的氨基酸序列。

[0168] 在多个实施方案中,由本发明的非人动物产生的人源化CD47蛋白具有与表3的人CD47蛋白中呈现的氨基酸残基19-292至少50% (例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多) 同一性的氨基酸序列。

[0169] 在多个实施方案中,由本发明的非人动物产生的人源化CD47蛋白具有与表3的人CD47蛋白中呈现的氨基酸残基19-292 (或16-292) 相同的氨基酸序列。

[0170] 在多个实施方案中,由本发明的非人动物产生的人源化CD47蛋白具有与表3中呈现的人源化CD47蛋白的氨基酸序列至少50% (例如50%、55%、60%、65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多) 同一性的氨基酸序列。

[0171] 在多个实施方案中,由本发明的非人动物产生的人源化CD47蛋白具有与表3中呈现的人源化CD47蛋白的氨基酸序列相同的氨基酸序列。

[0172] 提供制备非人动物的组合物和方法,所述非人动物表达人源化CD47蛋白,包括特定的多态性形式、等位变体 (例如单氨基酸差异) 或可变剪接同种型,包括用于制备从人启动子和人调节序列表达此类蛋白质的非人动物的组合物和方法。在一些实施方案中,还提供用于制备从内源启动子和内源调节序列表达此类蛋白质的非人动物的组合物和方法。所述方法包括将编码全部或部分的人CD47蛋白的遗传物质插入非人动物基因组中对应于内源CD47基因的精确位置,由此产生表达全部或部分的人CD47蛋白的人源化CD47基因。在一些实施方案中,所述方法包括将对应于人CD47基因的外显子2-7的基因组DNA插入非人动物的内源CD47基因中,从而产生编码CD47蛋白的人源化基因,所述CD47蛋白包含含有由插入

的外显子编码的氨基酸的人部分。

[0173] 在适当时,编码全部或部分的人CD47蛋白的遗传物质或多核苷酸序列的编码区可经修饰以包括被优化来在非人动物中表达的密码子(例如,参见美国专利No.5,670,356和No.5,874,304)。密码子优化序列为合成序列,并且优选地编码与非密码子优化亲代多核苷酸所编码的多肽相同的多肽(或具有与全长多肽基本上相同活性的全长多肽的生物活性片段)。在一些实施方案中,编码全部或部分的人CD47蛋白的遗传物质的编码区可包括用于针对特定细胞类型(例如,啮齿动物细胞)优化密码子用途的改变的序列。例如,可对待插入非人动物(例如,啮齿动物)的内源CD47基因的与人CD47基因的外显子2-7对应的基因组DNA的密码子进行优化以在非人动物的细胞中表达。此序列可描述为密码子优化序列。

[0174] 人源化CD47基因法采用相对极小的内源基因修饰,并在非人动物中产生天然的CD47介导的信号转导,在多个实施方案中,因为CD47序列的基因组序列是在单一片段中修饰并因此通过包括必需的调节序列而保持正常的功能性。因此,在此类实施方案中,CD47基因修饰不会影响其他周围的基因或其他内源CD47相互作用基因(例如,血小板反应蛋白、SIRP、整联蛋白等等)。另外,在多个实施方案中,修饰不会影响功能性CD47跨膜蛋白在质膜上的组装,并经由结合和随后通过不受修饰影响的蛋白质胞质部分的信号转导来维持正常的效应子功能。

[0175] 内源鼠科CD47基因和人CD47基因的基因组组织的示意图(未按比例绘制)提供于图1中。使用包含人CD47基因的外显子2-7的基因组片段来使内源鼠科CD47基因人源化的示例性方法提供于图2中。如图所示,通过靶向构建体将包含人CD47基因的外显子2-7的基因组DNA插入内源鼠科CD47基因的基因座。此基因组DNA包括编码负责配体结合的人CD47蛋白的胞外部分和跨膜域(例如,氨基酸残基16-292)的基因部分。

[0176] 在内源CD47基因座上具有人源化CD47基因的非人动物(例如,小鼠)可通过本领域已知的任何方法制备。例如,可制备引入具有可选择标志基因的全部或部分的人CD47基因的靶向载体。图2示出了包含人CD47基因的外显子2-7插入的小鼠基因组的内源CD47基因座。如图所示,靶向构建体包含含有内源鼠科CD47基因的外显子2上游的序列的5'同源臂(~39Kb),然后是包含人CD47基因的外显子2-7的基因组DNA片段(~23.9Kb)、药物选择盒(例如,两侧侧接1oxP序列的新霉素抗性基因;~5Kb)以及包含内源鼠科CD47基因的外显子7下游的序列的3'同源臂(~99Kb)。靶向构建体包含自缺失的药物选择盒(例如侧接1oxP序列的新霉素抗性基因;参见美国专利No.8,697,851、No.8,518,392和No.8,354,389,其全部以引用方式并入本文)。在同源重组时,内源鼠科CD47基因的外显子2-7被靶向载体中包含的序列(即,人CD47基因的外显子2-7)置换。形成人源化CD47基因产生表达人源化CD47蛋白的细胞或非人动物,所述人源化CD47蛋白包含人CD47基因的外显子2-7编码的氨基酸。以发育依赖的方式移除药物选择盒,即从其种系细胞含有上述人源化CD47基因的小鼠衍生的子代将在发育过程中从分化的细胞脱落可选择标志物。

[0177] 本发明的非人动物可如上文所述或使用本领域已知的方法制备为包含另外的人或人源化基因,通常取决于非人动物的预期用途。此类另外的人或人源化基因的遗传物质可通过进一步改变具有上述遗传修饰的细胞(例如,胚胎干细胞)的基因组,或通过本领域已知的繁育技术利用所需的其他基因修饰品系引入。在一些实施方案中,本发明的非人动物制备为还包含选自SIRP α (CD172a)、IL-3、M-CSF、GM-CSF和TPO的一个或多个人或人源化

基因。在一些实施方案中,本发明的非人动物可通过将如本文所述的靶向载体引入来自修饰品系的细胞来制备。仅举一个实例,上述靶向载体可引入Rag2缺陷和IL-2R γ 缺陷小鼠,并且包括四种人细胞因子(Rag2^{-/-}IL2R γ c^{-/-}、M-CSF^{Hu}、IL-3/GM-CSF^{Hu}、hSIRP α ^{tg}、TPO^{Hu})。在一些实施方案中,本发明的非人动物制备为还包含人或人源化信号调节蛋白 α (SIRP α)基因。在一些实施方案中,本发明的非人动物包含如本文所述的人源化CD47基因和来自异源物种(例如,人)的遗传物质,其中所述遗传物质全部或部分编码选自SIRP α (CD172a)、IL-3、M-CSF、GM-CSF和TPO的一个或多个异源蛋白。在某些实施方案中,本发明的非人动物包含如本文所述的人源化CD47基因和来自异源物种(例如,人)的遗传物质,其中所述遗传物质全部或部分编码异源(例如,人)SIRP α (CD172a)蛋白。在某些实施方案中,本发明的非人动物还包含SIRP α 基因,所述SIRP α 包含内源部分和人部分(例如,人SIRP α 基因的外显子2-4),其中所述人部分编码SIRP α 蛋白的胞外域(例如,与人SIRP α 蛋白的残基28-362对应的氨基酸),内源部分编码内源SIRP α 蛋白的胞内域;在一些实施方案中,人部分和内源部分可操作地连接至内源SIRP α 启动子。

[0178] 例如,如本文所述,包含人源化CD47基因的非人动物还可包含(例如,通过杂交或多基因靶向策略)提交于2010年10月4日的PCT/US2010/051339、提交于2013年9月6日的PCT/US2013/058448、提交于2013年6月14日的PCT/US2013/045788、提交于2014年9月23日的PCT/US2014/056910、提交于2014年10月15日的PCT/US2014/060568、提交于2014年2月14日的PCT/US2012/025040、提交于2012年10月29日的PCT/US2012/062379、提交于2014年11月10日的PCT/US2014/064806和提交于2014年11月10日的PCT/US2014/064810所述的一个或多个修饰;这些专利申请全文以引用的方式并入本文。在某些实施方案中,包含人源化CD47基因的啮齿动物(即,人CD47基因的外显子2-7可操作地连接至内源啮齿动物CD47基因的外显子1和外显子8(从而任何下游外显子),使得人源化CD47基因编码具有来自人CD47蛋白的胞外部分和来自啮齿动物CD47蛋白的胞内部分的CD47多肽)与包含人源化SIRP α 基因的啮齿动物(例如,人SIRP α 基因的外显子2-4可操作地连接至内源啮齿动物SIRP α 基因的外显子1和5-8,使得人源化SIRP α 基因编码具有来自人SIRP α 蛋白的胞外部分(例如,残基28-362对应的氨基酸)和来自啮齿动物SIRP α 蛋白的胞内部分的SIRP α 多肽;参见例如提交于2014年9月23日的PCT/US2014/056910,该专利以引用的方式并入本文)杂交。

[0179] 尽管在文中广泛地论述人源化CD47基因应用于小鼠(即,具有编码CD47蛋白的CD47基因的小鼠,所述CD47蛋白包括人部分和小鼠部分)的实施方案,但也提供包含人源化CD47基因的其他非人动物。在一些实施方案中,此类非人动物包含可操作地连接至内源CD47启动子的人源化CD47基因。在一些实施方案中,此类非人动物从内源基因座表达人源化CD47蛋白,其中所述人源化CD47蛋白包含人CD47蛋白的氨基酸残基16-292(或19-141或19-127)。此类非人动物包括任何那些可经遗传修饰以表达如文中所述的CD47蛋白的动物,包括例如哺乳动物,例如小鼠、大鼠、兔子、猪、牛(例如奶牛、公牛、水牛)、鹿、绵羊、山羊、鸡、猫、狗、貂、灵长类动物(例如狨猴、猕猴)等。例如,对于那些适当的可经遗传修饰的ES细胞不容易获得的非人动物,采用其他方法来制备包含遗传修饰的非人动物。此类方法包括例如修饰非ES细胞基因组(例如成纤维细胞或诱导的多能细胞)并利用体细胞核转移(SCNT)来将遗传修饰的基因组转移至合适的细胞,例如去核卵母细胞,以及在适于形成胚胎的条件下在非人动物中孕育所述修饰的细胞(例如修饰的卵母细胞)。

[0180] 用于修饰非人动物基因组(例如猪、牛、啮齿动物、鸡等基因组)的方法包括,例如采用锌指核酸酶(ZFN)或类转录活化因子效应子核酸酶(TALEN)来修饰基因组以包括人源化CD47基因。

[0181] 在一些实施方案中,本发明的非人动物为哺乳动物。在一些实施方案中,本发明的非人动物为小型哺乳动物,例如超家族跳鼠总科或鼠总科的哺乳动物。在一些实施方案中,本发明的经遗传修饰的动物为啮齿动物。在一些实施方案中,本发明的啮齿动物选自小鼠、大鼠和仓鼠。在一些实施方案中,本发明的啮齿动物选自超家族鼠总科。在一些实施方案中,本发明的经遗传修饰的动物来自选自下列的家族:丽仓鼠科(例如,类小鼠的仓鼠)、仓鼠科(例如,仓鼠、新世界大鼠和小鼠、田鼠)、鼠科(真小鼠和大鼠、沙鼠、棘鼠、冠鼠)、马岛鼠科(攀鼠、岩鼠、具尾大鼠、马达加斯加大鼠和小鼠)、刺山鼠科(例如,刺棒睡鼠)和鼯形鼠科(例如,鼯鼠、竹鼠和鼯鼠)。在某些实施方案中,本发明的经遗传修饰的啮齿动物选自真小鼠或大鼠(鼠科)、沙鼠、棘鼠和冠鼠。在某些实施方案中,本发明的经遗传修饰的小鼠是来自鼠科的成员。在一些实施方案中,本发明的非人动物为啮齿动物。在某些实施方案中,本发明的啮齿动物选自小鼠和大鼠。在一些实施方案中,本发明的非人动物为小鼠。

[0182] 在一些实施方案中,本发明的非人动物为啮齿动物,所述啮齿动物为选自下列的C57BL品系的小鼠:C57BL/A、C57BL/An、C57BL/GrFa、C57BL/KaLwN、C57BL/6、C57BL/6J、C57BL/6ByJ、C57BL/6NJ、C57BL/10、C57BL/10ScSn、C57BL/10Cr和C57BL/01a。在某些实施方案中,本发明的小鼠为选自下列品系的129品系:129P1、129P2、129P3、129X1、129S1(例如129S1/SV、129S1/SvIm)、129S2、129S4、129S5、129S9/SvEvH、129/SvJae、129S6(129/SvEvTac)、129S7、129S8、129T1、129T2(参见例如,Festing等人,1999,Mammalian Genome 10:836;Auerbach,W.等人,2000,Biotechniques 29(5):1024-1028,1030,1032)。在某些实施方案中,本发明的经遗传修饰的小鼠是上述129品系和前述C57BL/6品系的混合物。在某些实施方案中,本发明的小鼠是上述129品系的混合物,或前述BL/6品系的混合物。在某些实施方案中,如本文所述的混合物的129品系为129S6(129/SvEvTac)品系。在一些实施方案中,本发明的小鼠为BALB品系,例如BALB/c品系。在一些实施方案中,本发明的小鼠为BALB品系和另一种上述品系的混合物。

[0183] 在一些实施方案中,本发明的非人动物为大鼠。在某些实施方案中,本发明的大鼠选自Wistar大鼠、LEA品系、Sprague Dawley品系、Fischer品系、F344、F6和Dark Agouti。在某些实施方案中,本文所述的大鼠品系为选自Wistar、LEA、Sprague Dawley、Fischer、F344、F6和Dark Agouti的两个或更多个品系的混合物。

[0184] 采用具有人源化CD47基因的非人动物的方法

[0185] CD47突变体以及转基因非人动物(例如,小型猪)和细胞已有所报道(Koshimizu H.等人(2014)PLoS One,9(2):e89584;Lavender,K.J.等人(2014)J.Immunol.Methods,407:127-134;Tena,A.等人(2014)Am.J.Transplant.doi:10.1111/ajt.12918;Lavender K.J.等人(2013)Blood,122(25):4013-4020;Tena,A.等人(2012)Transplantation 94(10S):776;Wang,C.等人(2011)Cell Transplant.20(11-12):1915-1920;Johansen,M.L.和Brown,E.J.(2007)J.Biol.Chem.282:24219-24230;Wang,H.等人(2007)Proc.Nat.Acad.Sci.U.S.A.104:13744-13749;Tulasne D.等人(2001)Blood,98(12):3346-52;Oldenborg,P.等人(2000)Science 288:2051-2054;Verdrengh,M.等人(1999)

Microbes Infect.1(10):745-751;Chang,H.P.等人(1999)Learn Mem.6(5):448-457;Wang,X.Q.等人(1999)J.Cell Biol.147(2):389-400;Lindberg,F.P.等人(1996)Science274(5288):795-798)。此类动物已用于多个测定,以确定例如CD47表达、功能和调节的分子层面。已发现了重要的物种差异。实际上,非肥胖糖尿/严重复合型免疫缺乏症(NOD/SCID)小鼠表达SIRP α 蛋白,所述SIRP α 蛋白能够与人CD47相互作用,因此广泛用于含有人免疫系统的组分的小鼠模型的开发(参见例如Takenaka,K.等人(2007)Nat.Immunol.8(120:1313-1323)。这些小鼠中存在的SIRP α 等位基因不代表其他小鼠品系中存在的SIRP α 等位基因,一般来讲,物种间的CD47和SIRP α 之间的交叉反应很少。另外,已报道小鼠细胞上的CD47具有几乎完全的移动性,而人细胞上的CD47仅显示出约30-40%(Bruce,L.等人(2003)Blood 101:4180-4188;Mouro-Chanteloup,L.等人(2000)VoxSanguinis78:P030;Mouro-Chanteloup,L.等人(2003)Blood 101:338-344)。因此,NOD/SCID小鼠并非无限制。例如,虽然在一些遗传背景中可支持多谱系人造血形成(例如,BALB/c Rag2^{-/-}IL-2R γ c^{-/-}),但其他细胞类型的稳态仍然是低效的(例如,T和NK细胞;参见例如Gimeno,R.等人(2004)Blood 104:3886-3893;Traggiai,E.等人(2004)Science 304:104-107;Legrand,N.等人(2006)Blood 108:238-245)。另外,还已知CD47与其他细胞表面蛋白相互作用,并提供双向信号传导。因此,对于各种生物学过程例如植入和吞噬作用中CD47依赖性功能的阐述,现有的小鼠代表低效的体内系统。另外,对于CD47靶向疗法的开发,现有的小鼠表示亚最佳体内系统。

[0186] 本发明的非人动物提供表达人CD47的生物材料(例如,细胞)的改进的体内系统和来源,其对于多种测定是有用的。在多个实施方案中,本发明的非人动物用于开发靶向CD47和/或调节CD47-SIRP α 信号传导的治疗剂。在多个实施方案中,本发明的小鼠用于筛选和开发结合人CD47的候选治疗剂(例如,抗体)。在多个实施方案中,本发明的非人动物系用于筛选和开发阻断人CD47与人SIRP α 相互作用的治疗剂(例如,抗体)。在多个实施方案中,本发明的非人动物用于确定如本文所述的非人动物的细胞表面上人源化CD47的拮抗剂和/或激动剂的结合曲线。在一些实施方案中,本发明的非人动物用于确定结合人CD47的一个或多个候选治疗性抗体的一个或多个表位。

[0187] 在多个实施方案中,本发明的非人动物用于确定抗CD47抗体的药动学曲线。在多个实施方案中,将一种或多种本发明的非人动物和一种或多种对照或参照非人动物暴露于多种剂量(例如0.1mg/kg、0.2mg/kg、0.3mg/kg、0.4mg/kg、0.5mg/kg、1mg/kg、2mg/kg、3mg/kg、4mg/kg、5mg/mg、7.5mg/kg、10mg/kg、15mg/kg、20mg/kg、25mg/kg、30mg/kg、40mg/kg或50mg/kg或更多)的一种或多种候选治疗性抗CD47抗体。候选治疗性抗体可经由任何所需的施途径(例如,皮下、静脉内、肌内、腹膜内等)来给药。在多个时间点(例如0hr、6hr、1天、2天、3天、4天、5天、6天、7天、8天、9天、10天、11天或最多30或更多天)从非人动物(人源化和对照组)分离血液。可使用得自如文中所述的非人动物的样本进行各种测定以确定施用的候选治疗性抗体的药动学性质,包括但不限于总IgG、抗-治疗性抗体应答、凝集等。

[0188] 在多个实施方案中,本发明的非人动物用于测量阻断或调节CD47信号传导的治疗效果和细胞变化对于基因表达的效应。在多个实施方案中,将本发明的非人动物或从其分离的细胞暴露于与非人动物细胞表面上的人源化CD47蛋白(或CD47蛋白的人部分)结合的候选治疗剂,在随后一段时间后,分析对肿瘤(或肿瘤细胞)的CD47依赖过程,例如粘附、血

管生成、细胞凋亡、发炎、迁移、吞噬作用、增殖和清除的效应。

[0189] 本发明的非人动物表达人源化CD47蛋白,因此可产生细胞、细胞系和细胞培养物以用于结合和功能测定的人源化CD47的来源,例如用于CD47拮抗剂或激动剂的结合和功能的测定,特别是在拮抗剂或激动剂对人SIRP α 序列或表位具有特异性的情况下。在多个实施方案中,与候选治疗性抗体结合的CD47表位可使用分离自本发明非人动物的细胞来确定。

[0190] 来自本发明的非人动物的细胞可被分离并随时使用,或可在培养物中维持许多世代。在多个实施方案中,来自本发明的非人动物的细胞被永生,并在培养物中无限期(例如,在连续培养中)维持。

[0191] 在多个实施方案中,本发明的细胞和/或非人动物用于存活和/或增殖测定(例如,采用B或T细胞)以筛选和开发调节人CD47信号传导的候选治疗剂。CD47的活化或丧失可在调节细胞增殖方面起到重要作用,并且CD47诱导的细胞凋亡可由CD47的胞外域的特异性表位活化所致,因此,可使用本发明的非人动物的细胞和/或如文中述的非人动物来鉴定、表征和开发候选CD47调节剂(例如,拮抗剂或激动剂)。在一些实施方案中,本发明的细胞和/或非人动物用于存活或死亡测定中,以确定在存在或不存在CD47的情况下对特定细胞(例如,癌细胞)的增殖和凋亡的效应。

[0192] 在多个实施方案中,本发明的细胞和/或非人动物用于异源(例如,人)细胞的异种移植,以确定对移植的人细胞的生理(例如,免疫)应答中的CD47介导的功能。在一些实施方案中,在本发明的非人动物中表征结合或阻断人CD47的一种或多种功能的候选治疗剂。合适的测量包括各种细胞测定、增殖测定、血清免疫球蛋白分析(例如,抗体滴度)、细胞毒性测定以及配体-受体相互作用的表征(免疫沉淀测定)。在一些实施方案中,本发明的非人动物用于表征调节针对抗原的免疫应答的CD47介导的功能。在一些实施方案中,抗原与瘤相关联。在一些实施方案中,抗原与自体免疫疾病或病症相关联。在一些实施方案中,抗原为与需要治疗的一个或多个患者所罹患的疾病或病症相关联的靶标。

[0193] 在多个实施方案中,本发明的非人动物用于移植或过继转移实验,以确定化合物或生物剂对调节新淋巴细胞及其免疫功能的CD47依赖性调控的治疗潜力。在多个实施方案中,本发明的非人动物移植有人B细胞。

[0194] 在多个实施方案中,本发明的非人动物的细胞用于细胞迁移或铺展测定,以筛选和开发调节人CD47的候选治疗剂。此类过程是多个细胞过程,包括伤口愈合、分化、增殖和存活必须的。

[0195] 在多个实施方案中,本发明的非人动物的细胞用于吞噬作用测定,以确定化合物或生物试剂调节CD47依赖性吞噬作用调节的治疗潜力。

[0196] 在多个实施方案中,本发明的非人动物的细胞用于肿瘤细胞生长(或增殖)测定,以确定化合物或生物试剂调节CD47依赖性调控和/或肿瘤细胞凋亡的治疗潜力。

[0197] 在多个实施方案中,在本发明的一种或多种非人动物中诱发性炎症疾病或病症以提供体内系统,以确定化合物或生物试剂调节炎症疾病或病症的一个或多个功能的CD47依赖性调控的治疗潜力。在一些实施方案中,炎症疾病或病症与瘤相关联。

[0198] 在多个实施方案中,在本发明的一种或多种非人动物中诱发抗血管生成病症,以提供体内系统,所述体内系统用于确定化合物或生物试剂调节抗血管生成病症的一个或多

个功能的CD47依赖性调控的治疗潜力。为确定治疗功效而评估的示例性功能包括趋化因子表达、一氧化氮(NO)刺激应答和血流恢复。

[0199] 本发明的非人动物提供用于分析和测试药物或疫苗的体内系统。在多个实施方案中,可将候选药物或疫苗递送至本发明的一种或多种非人动物中,接着监测所述非人动物,以确定一种或多种对所述药物或疫苗的免疫应答、此药物或疫苗的安全特性,或对疾病或病症的效应。用于确定安全特性的示例性方法包括测量毒性、最佳剂量浓度、药物或疫苗的功效和可能的风险因素。此类药物或疫苗可在此类非人动物中进行改进和/或开发。

[0200] 本发明的非人动物提供用于评估靶向CD47的药物的药动学特性的体内系统。在多个实施方案中,可将靶向CD47的药物递送或施用给本发明的一种或多种非人动物,接着监测所述非人动物(或从其所分离的细胞)或进行一种或多种测定,以确定所述药物对非人动物的效应。药动学特性包括但不限于动物将药物处理成各种代谢物的方式(或一种或多种药物代谢物,包括毒性代谢物的存在或不存在的检测)、药物半衰期、施用后药物的循环水平(例如药物的血清浓度)、抗药物应答(例如抗药物抗体)、药物吸收和分布、施用途径、排泄途径和/或药物清除。在一些实施方案中,在本发明的非人动物中或通过使用本发明的非人动物来监测药物(例如,CD47调节剂)的药动学和药效学特性。

[0201] 本发明的非人动物提供用于评估靶向CD47的药物的在靶毒性的体内系统。在多个实施方案中,可将靶向CD47的药物递送或施用给本发明的一种或多种非人动物,接着监测所述非人动物(或从其所分离的细胞)或进行一种或多种测定,以确定所述药物对非人动物的在靶毒性效应。通常,药物旨在用于调节一种或多种它们的靶的功能。仅举一个实例,CD47调节剂旨在用于通过以某种方式与一种或多种细胞表面上的CD47分子相互作用来调节CD47介导的功能(例如,CD47诱导的细胞凋亡)。在一些实施方案中,这种调节剂可具有放大所需的调节剂药理学作用的不利效应。此类效应被称为在靶效应。示例性在靶效应包括剂量太高、慢性活化/失活以及不正确组织中的正确作用。在一些实施方案中,使用在本发明的非人动物中或通过使用本发明的非人动物所鉴定的靶向CD47的药物的在靶效来确定先前未知的CD47功能。

[0202] 本发明的非人动物提供用于评估靶向CD47的药物的脱靶毒性的体内系统。在多个实施方案中,可将靶向CD47的药物递送或施用给本发明的一种或多种非人动物,接着监测所述非人动物(或从其所分离的细胞)或进行一种或多种测定,以确定所述药物对非人动物的脱靶毒性效应。当药物与非预期靶标相互作用(例如对共同表位的交叉反应性)时,可发生脱靶效应。此类相互作用可发生在预期或非预期组织中。只是给出一个例子,药物的镜像异构体(对映异构体)可导致脱靶毒性效应。另外,药物可能不适合与不同的受体亚型相互作用或不旨在活化不同的受体亚型。例性脱靶效应包括不正确的活化/抑制不正确的靶标,而与其中发现不正确靶标的组织无关。在一些实施方案中,靶向CD47的药物的脱靶效应是通过将药物施用给本发明的非人动物的效应与施用给一种或多种参照非人动物的效应进行比较来确定。

[0203] 在一些实施方案中,进行测定包括确定对施用药物的非人动物的表型(例如,体重改变)和/或基因型的影响。在一些实施方案中,进行测定包括确定CD47调节剂(例如,拮抗剂或激动剂)的批间差异性。在一些实施方案中,进行测定包括确定施用给本发明非人动物和参照非人动物的靶向CD47的药物的效应之间的差异。在多个实施方案中,参照非人动物

可具有如文中所述的修饰、与本文所述的修饰不同的修饰(例如,具有破坏、缺失或另外非功能性CD47基因的修饰)或不具有修饰(即,野生型非人动物)。

[0204] 可在非人动物(或在从其所分离的细胞中和/或使用从其所分离的细胞)中测量以评估靶向CD47的药物的药动学特性、在靶毒性和/或脱靶毒性的示例性参数包括但不限于凝集、自噬、细胞分裂、细胞死亡、补体介导的溶血、DNA完整性、药物-特异性抗体滴度、药物代谢、基因表达阵列、血细胞比容水平、血尿、代谢活性、粒线体活性、氧化应激、吞噬作用、蛋白质生物合成、蛋白质降解、蛋白质分泌、应激反应、靶组织药物浓度、非靶组织药物浓度、转录活性等。在多个实施方案中,本发明的非人动物用于确定CD47调节剂的药学有效剂量。

[0205] 本发明的非人动物系提供用于开发和表征用于癌症的候选治疗剂的体内系统。在多个实施方案中,本发明的非人动物可植入肿瘤,接着施用一种或多种候选治疗剂。在一些实施方案中,候选治疗剂可包括多特异性抗体(例如双特异性抗体)或抗体混合物;在一些实施方案中,候选治疗剂系包括联合疗法,例如依序或同时给药的单特异性抗体的施用。允许肿瘤有足够的时间建立在非人动物内的一或多个位置上。可在施用候选治疗剂之前和之后测定肿瘤细胞增殖、生长等。也可根据需要在非人动物中测量候选治疗剂的细胞毒性。

[0206] 本发明的非人动物提供了阐明通过过继转移相互作用的人细胞间机制的改进的体内系统。在多个实施方案中,本发明的非人动物可移植肿瘤异种移植物,然后再次移植肿瘤浸润淋巴细胞可通过过继转移来移植到非人动物,以确定根除实性肿瘤或其他恶性肿瘤的有效性。由于唯一存在人CD47,而不与非人动物的内源CD47竞争,此类实验可通过人细胞进行。或者,此类实验可包括使用来自NOD/SCID或BRG (BALB/c Rag2^{-/-}IL-2R γ c^{-/-})背景的小鼠细胞。另外,用于异种移植的疗法和药物可在此类非人动物中改进和/或开发。

[0207] 本发明的非人动物提供用于通过植入维持和开发人造血干细胞的改进的体内系统。在多个实施方案中,本发明的非人动物提供非人动物内人干细胞的改进的开发和维持。在多个实施方案中,在非人动物的血液、骨髓、脾和胸腺中观察到分化的人B和T细胞群体的增加。在多个实施方案中,在非人动物的血液、骨髓、脾和胸腺细胞中观察到最佳T和NK细胞稳态。在多个实施方案中,与一种或多种参照非人动物相比,本发明的非人动物显示出红细胞(RBC)的水平或量增加。

[0208] 本发明的非人动物可用于评估靶向人细胞的治疗性药物的功效。在多个实施方案中,本发明的非人动物移植有人细胞,并且将靶向此类人细胞的候选药物施用给此类非人动物。然后通过施用药物后监测非人动物中的人细胞来确定药物的治疗功效。可在非人动物中测试的药物包括小分子化合物,即分子量小于1500kD、1200kD、1000kD或800道尔顿的化合物,以及大分子化合物(例如蛋白质,如抗体),其通过靶向人细胞(例如结合和/或作用其上)而对治疗人疾病和病症具有预期的治疗效果。

[0209] 在一些实施方案中,药物为抗癌药物,并且人细胞为癌细胞,其可为原发癌细胞或由原发癌所建立的细胞系的细胞。在这些实施方案中,本发明的非人动物移植有人癌细胞,并将抗癌药物给予所述非人动物。药物的功效可通过评估非人动物中的人癌细胞的生长或转移是否因施用该药物而受到抑制来加以确定。

[0210] 在具体实施方案中,抗癌药物为抗体分子,其与人癌细胞上的抗原结合。在特定实施方案中,抗癌药物为双特异性抗体,其与人癌细胞上的抗原结合,并且与其他人细胞,例

如人免疫系统的细胞(或“人免疫细胞”)例如B细胞和T细胞上的抗原结合。

[0211] 在一些实施方案中,本发明的非人动物被植入人免疫细胞或分化成人免疫细胞的细胞。将人癌细胞移植到此类植入人免疫细胞的非人动物,并施用抗癌药物,诸如结合人癌细胞上的抗原和人免疫细胞(例如,T细胞)上的抗原的双特异性抗体。双特异性抗体的治疗功效可根据其抑制非人动物中癌细胞的生长或转移的能力来评估。在具体实施方案中,本发明的非人动物被植入人CD34⁺造血祖细胞,所述人CD34⁺造血祖细胞产生人免疫细胞(包括T细胞、B细胞、NK细胞等等)。将人B细胞淋巴瘤细胞(例如,Raji细胞)移植到此类植入人免疫细胞的非人动物,然后施用结合肿瘤抗原(例如,正常B细胞和某些B细胞恶性肿瘤上的抗原诸如CD20)和T细胞受体的CD3亚基的双特异性抗体,以测试双特异性抗体抑制非人动物中的肿瘤生长的能力。

实施例

[0212] 提供以下实施例是为了向本领域普通技术人员描述如何制备和使用本发明的方法和组合物,而非旨在限制发明人所认为的其发明的范围。除非另外指明,否则所给出的温度为摄氏度,压力是大气压或接近大气压。

[0213] 实施例1.内源分化簇47(CD47)基因的人源化

[0214] 本实施例说明使编码非人哺乳动物例如啮齿动物(例如,小鼠)中的分化簇47(CD47)的内源基因人源化的示例性方法。描述于本实施例中的方法可使用如所述的任何人序列或人序列的组合(或序列片段)而用于将非人动物的内源CD47基因人源化。在该实施例中,将细菌人工染色体(BAC)克隆RP11-69A17中存在的人CD47基因用于使小鼠的内源CD47基因人源化。

[0215] 使用VELOCIGENE®技术构建用于使编码内源CD47基因的胞外N-末端IgV域和五个跨膜域的遗传物质人源化的靶向载体(参见例如,美国专利No.6,586,251和Valenzuela等人(2003)High-throughput engineering of the mouse genome coupled with high-resolution expression analysis,Nature Biotech.21(6):652-659;这些文献以引用的方式并入本文)。

[0216] 简而言之,对小鼠细菌人工染色体(BAC)克隆RP23-230L20(Invitrogen)进行修饰,以缺失包含内源CD47基因的外显子2-7的序列,并且使用人BAC克隆RP11-69A17(Invitrogen)来插入人CD47基因的外显子2-7,其编码人CD47多肽的氨基酸16-292。包含同种型2的外显子1、8和9以及5'和3'非翻译区(UTR)对应的基因组DNA的内源DNA被保留。BAC克隆RP11-69A17中包含的人CD47序列的序列分析确认了全部CD47外显子和剪接信号。序列分析显示该序列匹配参照基因组和CD47转录物NM_001777.3和NM_198793.2。通过细菌细胞中的同源重组使内源CD47基因的外显子2-7对应的基因组DNA(~30.8kb)置换BAC克隆RP23-230L20,以插入包含~23.9kb与来自BAC克隆RP11-69A17的人CD47基因的外显子2-7对应的基因组人DNA和侧接重组酶识别位点的自缺失新霉素盒对应的~4995bp的DNA片段(loxP-hUb1-em7-Neo-pA-mPrm1-Crei-loxP;参见美国专利No.8,697,851、8,518,392和8,354,389,这些专利以引用的方式并入本文)。自缺失新霉素盒加入包含人CD47基因的外显子2-7的~23.9kb人DNA片段的末端(图2)。靶向载体从5'至3'包含含有~39kb来自BAC克隆RP23-230L20的小鼠基因组DNA、~29.3kb来自BAC克隆RP11-69A17的人基因组DNA(包含人

CD47基因的外显子2-7)的5'同源臂、侧接loxP位点的自缺失新霉素盒以及~98.8kb来自BAC克隆RP23-230L20的小鼠基因组DNA。在细菌细胞中与上述靶向载体的同源重组之后,形成修饰的RP23-230L20BAC克隆,产生包含小鼠5' UTR、小鼠外显子1、人外显子2-7、小鼠外显子8-9和小鼠3' UTR的人源化CD47基因。人源化CD47的四个设计的可变剪接同种型的蛋白质序列提供于表3中,其分别示出了所得的小鼠和人DNA编码的小鼠和人氨基酸。

[0217] 上述修饰的BAC克隆用于电穿孔F1H4 (50%129/S6/SvEv/Tac,50%C57BL/6NTac; Auerbach,W.等人(2000)Biotechniques 29(5):1024-8,1030,1032)小鼠胚胎干(ES)细胞,形成包含从外显子2-7人源化的内源CD47基因的修饰的ES细胞。通过检测人CD47序列(例如,外显子2-7)的存在和确认小鼠CD47序列(例如,外显子1、8和9和/或外显子2-7)的丧失和/或保留的测定(Valenzuela等人,出处同上)来鉴定包含人源化CD47基因的正向靶向的ES细胞。表4示出用于确认如上所述的内源CD47基因的人源化的引物和探针(图3)。横跨上游插入点的核苷酸序列包括以下序列,其示出了邻接连接至插入点处存在的人CD47序列的插入点上游的内源小鼠序列(包含在下面的括号内,AsiSI限制性位点为斜体): (GCAGACATGA TTA~~CTTC~~GAGA GCTTTCAAAG CTAGATACTG TACCTTGCAT ATTCCAACAC) **GCGATCGC** ATTTTAAGAT TTTCCATCCT AGTGGAAGA TATGATTTGA TTCATCCTAT TTACTTTGTA TATTAAAGTA CAGTAGAACC TGCCACTTTT (SEQ ID NO:33)。位于自缺失新霉素盒的5'末端的横跨下游插入点的核苷酸序列包括以下序列,其示出了人CD47基因组序列与插入点下游的盒序列邻接(包含在下面的括号内,loxP序列为斜体): GGATCCATTT TAAGTAATAG AATAGGATTT TTAATTGTTC CAGTGTTTCT GTGATAGAGC TGTCCTGCAC AGACCTGTTT (CTCGAG **ATAA CTTCGTATAA TGTATGCTAT ACGAAGTTAT** ATGCATGGCCTCCGCGCCGG GTTTTGGCGC CTCCCGCGGG) (SEQ ID NO:34)。位于新霉素盒的3'末端的横跨下游插入点的核苷酸序列包括以下序列,其示出了盒序列与内源CD47基因的外显子7的小鼠基因组序列3'邻接(包含在下面的括号内,loxP序列为斜体): CATGTCCTGGA **ATAACTTCGT ATAATGTATG CTATACGAAG TTAT** GCTAGT AACTATAACG GTCCTAAGGT AGCGACTAGC (ATTAGTATGG AAGGTCCGTC CACTGTCCAG GTTCCTCTTG CGGAGCTCTT TGTCTCTCTG GACTCTGTAT AACTGCTTG) (SEQ ID NO:35)。在新霉素盒缺失(剩余76bp)之后横跨下游插入点的核苷酸序列包括以下序列,其示出了人和小鼠基因组序列与剩余的盒序列loxP序列并置(包含在下面的括号内,loxP序列为斜体): GGATCCATTT TAAGTAATAG AATAGGATTT TTAATTGTTC CAGTGTTTCT GTGATAGAGC TGTCCTGCAC AGACCTGTTT (CTCGAG **ATAA CTTCGTATAA TGTATGCTAT ACGAAGTTAT** GCTAGTAACTATAACGGTCC TAAGGTAGCG ACTAGC) ATT AGTATGGAAG GTCCGTCCAC TGTCCAGGTT CCTCTTGCGG AGCTCTTGT CTCTCTGGAC TCTGTATACA CTGCTTGCAT (SEQ ID NO:36)。

[0218] 然后使用VELOCIMOUSE®方法,采用正向ES细胞克隆来移植雌性小鼠(参见例如,美国专利No.7,294,754和Poueymirou等人F0 generation mice that are essentially fully derived from the donor gene-targeted ES cells allowing immediate phenotypic analyses,2007,Nature Biotech.25(1):91-99),产生包含人CD47基因的外显子2-7插入小鼠的内源CD47基因的一窝幼鼠。使用检测到人CD47基因序列存在的等位基因测定改型(Valenzuela等人,出处同上),通过从剪尾分离的DNA的基因型分析,

再次确认和鉴定具有人源化内源CD47基因的外显子2-7的小鼠。将幼鼠进行基因分型并选择针对人源化CD47基因构建体杂合的动物队列进行表征。

[0219] 表4

名称	引物	序列(5'-3')	
[0220]	正向	TGCAGAAGTCACTAGGAGGAAT	(SEQ ID NO:21)
	7190mTU 探针	TCAGTCAACTTCTTCTGGGTTGTTTCC	(SEQ ID NO:22)
	反向	GTGCCAGACTCACTTTCTATCCA	(SEQ ID NO:23)
	正向	TGCTGCCAATATACGGCTTCTG	(SEQ ID NO:24)
	7190mTD 探针	CAGCTCTCATAGCCA ACTATGGTGCC	(SEQ ID NO:25)
	反向	TCAAGCAGAGCCTGGTTATCTG	(SEQ ID NO:26)
[0221]	7190hTU 正向	GTCGTCATTCCATGCTTTGTTAC	(SEQ ID NO:27)
	探针	TGGAGGCACAAAACACTACTGAAGTATACG	(SEQ ID NO:28)
	反向	GGACAGTGGACTTGTTTAGAGC	(SEQ ID NO:29)
	正向	GGCTTGGTGGCTGATTGTTCT	(SEQ ID NO:30)
	7190hTD 探针	AGCACCCAAACTGATATGCCTGTATTG	(SEQ ID NO:31)
	反向	TGGGA ACTGGTGT TTTCAAGTCTA	(SEQ ID NO:32)

[0222] 实施例2. 通过小鼠红细胞表达人源化CD47多肽。

[0223] 本实施例展示了, 根据实施例1的经修饰为包含人源化CD47基因的非人动物 (例如, 啮齿动物) 可用于筛选CD47调节剂 (例如, 抗CD47抗体) 并确定多种特性例如药动力学和安全特性。在本实施例中, 在从根据实施例1制备的啮齿动物分离的小鼠红细胞 (RBC) 上筛选多个抗CD47抗体, 该啮齿动物表达如本文所述的人源化CD47多肽。

[0224] 简而言之, 将2mL来自人源化CD47小鼠的全血 (n=2) 转移至15mL 试管, 并在4℃下以200×g离心10分钟。吸出血浆和血块黄层, 然后加入15mL PBS, 轻轻地混合细胞。在4℃下以200×g再次离心混合物五分钟。吸出上清液, 再洗涤细胞两次。将沉淀的RBC重悬于最终体积10mL PBS中。在4℃下以200×g最后一次离心重悬的RBC 10分钟。预计堆积的RBC的体积为0.5mL, 并用PBS (0.5mL堆积的RBC/100mL PBS) 稀释至0.5%的浓度。使用Cellometer Auto T4 (1.5×10⁷/mL; Nexcelom Bioscience) 测定RBC的实际浓度。

[0225] 向96孔V底平板的每个孔加入八十 (80) μL 0.5% 小鼠RBC。向每个孔加入抗CD47抗体 (20μL, 33nM)。轻敲平板混合并在冰上温育30分钟。然后用染色缓冲液 (含2% FBS的PBS) 洗涤平板两次。向每个孔加入10μg/mL的浓度的二级抗体Fab-488 (Alexa Fluor 488缀合的AffiniPure小鼠抗人IgG, F(ab')₂片段特异性, Jackson Immuno Research)。在冰上再次温

育平板30分钟,然后使用染色缓冲液洗涤一次。将每个孔中的细胞重悬于200μL染色缓冲液中,并滤过96孔过滤板。使用BD ACCURI™ C6系统(BD Biosciences)分析平板中的细胞。示例性结果在图4中示出。每个测试抗体的高于同种型对照的平均荧光强度(MFI)如表5所示。

[0226] 表5

	抗体	MFI	高于同种型对照的倍数
[0227]	Ab A, hIgG4s	28898	258
	Ab B, hIgG4s	27545	246
	Ab C, hIgG4s	24620	220
	Ab D, hIgG1	29882	267
	Ab E, hIgG4	33423	298
	对照, hIgG4s	112	-
	对照, hIgG4	112	-

[0228] hIgG4s:具有效应子功能减小的修饰Fc区的人IgG4

[0229] 如图4所示,所有抗CD47抗体结合来自人源化CD47小鼠的RBC。总而言之,本实施例展示了,(1)工程化为包含如本文所述的人源化CD47基因的非人动物(例如,啮齿动物)表达非人动物的细胞(例如,RBC)表面上的人源化CD47多肽,并且(2)此类细胞用于筛选CD47调节剂(例如,CD47抗体)并且确定此类调节剂的药动力学曲线。

[0230] 实施例3.表达人源化CD47多肽的小鼠红细胞的血凝。

[0231] 本实施例还展示了,根据实施例1的经修饰为包含人源化CD47基因的非人动物(例如,啮齿动物)可用于各种测定(例如,血凝测定),以筛选CD47调节剂(例如,抗CD47抗体)并确定多种特性例如药动力学和安全特性。在本实施例中,在表达如本文所述的人源化CD47多肽的小鼠红细胞(RBC)上筛选若干个抗CD47抗体,以确定促进血凝的抗体浓度。

[0232] 简而言之,如实施例2所述制备来自野生型和人源化CD47小鼠的RBC(n=2)。向96孔V底平板的孔1-12加入二十(20)μL抗CD47抗体(5倍连续稀释),然后向平板的全部孔加入80μL 0.5%小鼠RBC。轻敲平板混合并在室温(24-27℃)下温育30分钟。目测观察凝集终点(即,RBC沉降到阴性样品的底部,而RBC凝集在阳性样品中)。示例性结果在图5中示出,方框描述了显示出血凝的孔。

[0233] 如图5所示,仅凝集素导致野生型小鼠中的凝集。然而,除凝集素之外,两种抗CD47抗体(Ab E和Ab C)也导致来自根据实施例1制备的两种人源化CD47啮齿动物的RBC中的凝集。这两种抗体从11nM的浓度开始诱导凝集。总而言之,本实施例展示了,工程化为包含本文所述的人源化CD47基因的非人动物(例如,啮齿动物)可用于评估CD47调节剂(例如,CD47抗体)的一个或多个特性(例如,血凝)。

[0234] 实施例4.人源化CD47啮齿动物中CD47调节剂的药动力学清除。

[0235] 本实施例展示了评估非人动物(例如,啮齿动物)中CD47调节剂(例如,抗CD47抗体)的药动力学清除的方法,所述非人动物被修饰为包含根据实施例1的人源化CD47基因。在本实施例中,给野生型和人源化CD47啮齿动物(例如,小鼠)施用抗CD47抗体,并使用ELISA测定确定抗体的血清水平。

[0236] 简而言之,给人源化CD47的野生型 (n=5) 或小鼠纯合子 (n=5;如上所述) 施用四种抗CD47抗体 (Ab F、Ab G、Ab Hand Ab I) 和IgG4s同种型对照抗体 (IgG4s)。小鼠的遗传背景为75%CD57BL/6和25%129Sv。在五种人源化CD47啮齿动物中测试每个抗体。所有抗体以50mg/kg的剂量皮下施用。在施用抗体之前一天 (第0天) 收集一次前渗血。在6小时、1天、2天、3天、4天、7天、10天和14天收集注射后渗血。分离来自渗血的血清级分,并使其经受使用ELISA免疫测定进行的总人抗体分析。

[0237] 简而言之,将山羊抗人IgG多克隆抗体 (Jackson ImmunoResearch) 涂覆于96孔板上,以捕获血清中的测试人抗体,然后使用辣根过氧化物酶缀合的山羊抗人IgG多克隆抗体 (Jackson ImmunoResearch) 和TMB底物 (BD Pharmingen) 检测结合到平板的抗体。血清样品进行六剂量连续稀释,各自抗体的参照标准进行12剂量连续稀释。根据使用Graphpad Prism软件生成的参照标准曲线计算血清中的药物抗体浓度。示例性结果在图6和表6中示出。

[0238] 数据显示,施用给如本文所述的野生型和人源化小鼠的抗体具有很好的耐受性。总而言之,本实施例展示了,本发明的非人动物可用于评估靶向CD47的药物 (例如,抗CD47抗体) 的一个或多个药动学特性例如循环药物水平。此外,本文所述的非人动物可用于通过测定施用后的不利影响评估靶向CD47的药物的毒性。

[0239] 表6

		血清抗体浓度(μg/mL±SEM)						
[0240]	抗体	6 小时	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 7 天	第 10 天
	Ab F	116.7±14.0	196.4±10.6	96.0±13.3	24.7±7.0	3.7±0.42	<0.35	<0.35
	Ab G	115.0±22.1	198.8±23.4	118.4±20.9	48.3±16.0	2.9±1.97	<0.35	<0.35
	Ab H	64.5±3.85	108.0±5.13	32.0±6.08	1.0±0.2	0.4±0.03	0.06±0.03	0.05±0.02
	Ab I	51.1±16.6	115.2±14.8	63.8±8.3	11.1±4.2	0.5±0.1	0.1±0.02	<0.35
[0241]	IgG4s 同种型对照	458.2±34.4	702.5±32.3	616.6±27.0	567.1±39.5	488.9±45.0	357.0±51.1	307.6±61.1

[0242] 实施例5. 人源化CD47/SIRPα啮齿动物中CD47调节剂的药动学曲线。

[0243] 本实施例展示了评估非人动物 (例如,啮齿动物) 中CD47调节剂 (例如,抗CD47抗体) 的药动学清除的方法,所述非人动物被修饰为包含人源化CD47 (根据实施例1) 和SIRPα基因。具体地讲,本文所述的人源化CD47啮齿动物被修饰为还包含含有内源部分和人部分的人源化SIRPα基因,所述人部分编码人SIRPα蛋白的胞外域 (例如,人SIRPα蛋白的氨基酸28-362),所述内源部分编码内源SIRPα蛋白的胞内域 (例如,编码鼠科SIRPα蛋白的跨膜和胞内部分的氨基酸),如提交于2014年9月23日的PCT/US14/56910所述,该专利以引用的方式并入本文。双人源化CD47/SIRPα小鼠通过人源化SIRPα小鼠与人源化CD47小鼠的交配制备。在本实施例中,给双人源化CD47/SIRPα啮齿动物 (例如,小鼠) 施用各种抗CD47抗体,并测定其对应的药动学曲线。

[0244] 简而言之,给人源化CD47和SIRPα基因的野生型 (n=5) 和小鼠纯合子组 (CD47^{hu}/huSIRPα^{hu}/hu; 每组n=5) 施用选择抗CD47抗体和IgG4同种型对照抗体 (hIgG4s)。小鼠的遗传背景为75%CD57BL/6和25%129Sv。所有抗体以50mg/kg的单次皮下剂量施用。在施用抗体之前一天 (第0天) 收集一次前渗血。在6小时、1天、2天、3天、4天、7天和10天收集注射后渗

血。分离来自渗血的血清级分,并使其经受使用ELISA免疫测定(如上所述)进行的总人抗体分析。另外,在6小时、1天、2天、3天、4天、7天和10天测定血细胞比容水平,并根据需要进行尿液测试(在6小时和尿液颜色偏离黄色时),以确定红细胞计数。示例性结果在图7-9中示出。

[0245] 如图7和8所示,所有抗CD47抗体显示出CD47^{hu/hu}SIRPα^{hu/hu}小鼠中的靶标介导清除,具体地讲,很多抗CD47抗体显示出类似的药动学曲线。另外,一种抗CD47抗体(Ab F)的单价型式显示出比其二价等同物更高的生物利用率(图8)。发明人发现,在人源化CD47和双人源化动物(即,CD47^{hu/hu}SIRPα^{hu/hu}小鼠)的多个实验中,抗体具有类似的药动学曲线。

[0246] Ab J对血细胞比容水平的影响小于其他测试抗CD47抗体(Ab F、Ab G、Ab I等),并且在CD47^{hu/hu}SIRPα^{hu/hu}小鼠中,与对照(hIgG4s)相比,血细胞比容水平产生可比较的变化。第2-4天的血细胞比容测定显示出从正常范围下降最大(~38.5-45.1%),其包括施用Ab F、G和I的组。具体地讲,与其他测试抗体相比,Ab F的单价形式显示出对血细胞比容的延迟降低影响。发明人推测,多个处理组之间血细胞比容水平的差异可归因于各种抗体识别的表位的差异。另外,投予选择抗CD47抗体的小鼠在6小时显示出血红素的尿液试纸测试阳性。例如,Ab J和Ab F处理组各自具有一只小鼠在第1天显示出血红素阳性,而所有其他时间点为阴性。任何处理组均未观察到显著的体重下降(>20%)。

[0247] 总而言之,本实施例展示了,本发明的非人动物提供了用于评估一种或多种靶向CD47的药物(例如,一种或多种抗CD47抗体)的药动学特性和/或曲线例如循环药物水平的体内系统。此外,如本文所述的被工程化为还包含其他人源化基因(例如,人源化SIRPα)的非人动物可用于评估一种或多种靶向CD47药物的靶标介导清除。

[0248] 等同物

[0249] 在如此地描述了本发明的至少一个实施方案的若干方面后,本领域技术人员将理解,各种改变、修改和改进对于本领域技术人员来说将是容易进行的。此类改变、修改和改进旨在是本公开内容的一部分,并且旨在处于本发明的精神和范围之内。因此,上述描述和附图仅仅作为举例的方式,并且本发明通过下面的权利要求进行详细描述。

[0250] 在权利要求中使用序数术语如“第一”、“第二”、“第三”等来修饰权利要求元素,其本身并不意味着一个权利要求要素相对于另一个要素的任何优先性、优先级或顺序或者其中执行方法行为的时间顺序,而是仅用作区分具有某一名称的一个权利要求元素与具有同一名称的另一个元素(但使用序数术语)的标记,以区分权利要求元素。

[0251] 除非明确地指出相反,否则本文说明书和权利要求中所使用的冠词“一个”和“一种”在说明书和权利要求中应被理解为包括多个指代物。在组的一个或多个成员之间包括“或”的权利要求或描述应当被视为是满足以下情况,即组成员中的一个、多于一个或全部存在于、被应用于给定的产品或方法中,或以其他方式与给定的产品或方法相关,除非指出相反或根据上下文文明显不同。本发明包括这样的实施方案,其中组中的一个确切成员存在于、被应用于给定的产品或方法中,或以其他方式与给定的产品或方法相关。本发明还包括这样的实施方案,其中多于一个组成员或全部组成员存在于、被应用于给定的产品或方法中,或以其他方式与给定的产品或方法相关。此外,应当理解,本发明包括涵盖所有的变型、组合和置换,其中来自一条或多条所列权利要求的一个或多个限制、要素、子句、描述性用语被引入从属于同一基础权利要求的另一个权利要求(或者相关的任何其他权利要求)中,除

非另外指出或除非对于本领域普通技术人员来说明显会引起矛盾或不一致。当要素以列表的形式(例如以马库什组或类似形式)呈现时,应当理解这些要素的每个亚组也被公开,并且任何要素可从该组中去除。应当理解,通常,当本发明或本发明的方面被称为包含特定的要素、特征等时,本发明的某些实施方案或本发明的方面由此类要素、特征等组成或基本上由它们组成。为了简化的目的,这些实施方案并不是在每种情况下都明确用本文陈述的那么多用词来具体描述。应当理解,本发明的任何实施方案或方面可明确地从权利要求排除,不管在说明书中是否描述了此类具体排除。

[0252] 本领域技术人员将理解可归因于本文中所述的测定或其他方法中获得的值的典型标准偏差或误差。

[0253] 本文引用的用以描述本发明背景以及用以提供与其实实施有关的其他细节的出版物、网站和其他参考材料均据此以引用方式并入。

[0001]	序列表
[0002]	<110> REGENERON PHARMACEUTICAL`S, INC.
[0003]	<120> 具有人源化分化簇47基因的非人动物
[0004]	<130> 32584 (10108W001)
[0005]	<140>
[0006]	<141>
[0007]	<150> 62/087,992
[0008]	<151> 2014-12-05
[0009]	<160> 36
[0010]	<170> PatentIn 3.5版
[0011]	<210> 1
[0012]	<211> 5591
[0013]	<212> DNA
[0014]	<213> 小家鼠
[0015]	<400> 1
[0016]	gcctacaccg ggagagcagg gaggaggagt tggactgagg ttgggcggct ccgaggtcca 60
[0017]	gggcgagctt ggccagaggg agtagagagc agcggggctg cgcagggacg cgtgccgtga 120
[0018]	gttccgggtga gcgtgtgtgt cccatgctcc cgtctttcag gccggcccag gacacgaagc 180
[0019]	cggaagagag ctggctggag ggacgggggc cgtgagcaga gagtgaacc cgcgagccc 240
[0020]	cggggacagg ctgattcttg gcgctctccg ccggagcctg cccagggctg ggtgtgaggc 300
[0021]	tggcgctacg tcaacgagca gaggcgccca ggcggggcgg agtgcgcgtg cgcggggcgg 360
[0022]	cgagcacgcg cgcgcgcgca ccccgggca gcctgggcgg ccgctcctgc ctgtcactgc 420
[0023]	tgcggcgtg ctggctggtc gtttcccttg aaggcagcag cggaggcggc ggctgctcca 480
[0024]	gacacctgcg gcggcgaccc cccggcgcg cggagatgtg gcccttgcg gcggcgctgt 540
[0025]	tgctgggctc ctgctgctgc ggttcagctc aactactgtt tagtaacgtc aactccatag 600
[0026]	agttcacttc atgcaatgaa actgtgtgca tcccttgcat cgtccgtaat gtggaggcgc 660
[0027]	aaagcaccga agaaatgttt gtgaagtgga agttgaacaa atcgtatat ttcattctatg 720
[0028]	atggaaataa aaatagcact actacagatc aaaactttac cagtgcacaaa atctcagtct 780
[0029]	cagacttaat caatggcatt gcctctttga aaatggataa gcgcgatgcc atgggtggaa 840
[0030]	actacacttg cgaagtgaca gagttatcca gagaaggcaa aacagttata gagctgaaaa 900
[0031]	accgcacggc cttcaacact gaccaaggat cagcctgttc ttacgaggag gagaaaggag 960
[0032]	gttgcaaat agtttcgttg ttttctccaa atgaaaagat cctcattgtt attttccaa 1020
[0033]	ttttggctat actcctgttc tggggaaagt ttggtat tttt aacactcaa tataaatcca 1080
[0034]	gccatacgaa taagagaatc attctgctgc tcgttgccgg gctggtgctc acagtcatcg 1140
[0035]	tggttggttg agccatcctt ctcatcccag gagaaaagcc cgtgaagaat gcttctggac 1200
[0036]	ttggcctcat tgtaatctct acggggatat taatactact tcagtacaat gtgtttatga 1260
[0037]	cagcttttgg aatgacctct ttcaccattg ccatattgat cactcaagt ctgggctacg 1320
[0038]	tccttgcttt ggtcgggctg tgtctctgca tcatggcatg tgagccagt caccgcccc 1380
[0039]	ttttgat ttc aggtttggg atcatagctc tagcagaact acttgatta gtttatatga 1440
[0040]	agtttgcga ataggtgaag ggaagtgcg gactgtaact tggaagtcag aaatggaaga 1500
[0041]	atacagttgt ctaagacca ggtcttcacg actcacagct ggaaggaaca gacaacagta 1560

[0042]	actgacttcc atccaggaaa acatgtcaca taaatgatta ctaagtttat attcaaagca	1620
[0043]	gctgtacttt acataataaa aaaaatatga tgtgtctgtg aaccaattgg aatcccattt	1680
[0044]	ttctattgtt tctactcaac taggggcaaa cgtttcaggg gcaacttcca agaattgatc	1740
[0045]	ttgttagatc ctagagtctc tgaacactga gtttaaattg attccgagtg agactcgcca	1800
[0046]	agcactaacc tgagggttag ttaccagag atacctatga aaaacagtgg tatccagcaa	1860
[0047]	gccttagtaa actcaggttg ccagcagctt tgccacttcc gctgctagct gaataacaag	1920
[0048]	actgccactt ctgggtcata gtgatagaga ctgaagtaga aaaacgaatg tggttgggca	1980
[0049]	aatcccggtg ggcccctctg tgtgtctatga tattgatggc actggtgtct tcattcttgg	2040
[0050]	gggttgccat cattcacaca caccctttg acatacagtg caccctcagtt ttgaatacat	2100
[0051]	tttttttgca ccctgtcccg ttctgtact ttgatttgcg ttatgatata tatatatata	2160
[0052]	tataatacct tttctcctct ttaaactatg tcctgtgaca caatagtcag ttgcagaaag	2220
[0053]	gagccagact tattcgcaaa gcactgtgct caaactcttc agaaaaaaag gaaaaaaa	2280
[0054]	aaaagctata gttgtaacat atgtattcca gacctctggt ttaaaggcaa aagaaaaaa	2340
[0055]	atctacagtg tttcttctca tgttttctga tcggaggcat gacaaagcaa gactgaaatc	2400
[0056]	tgaactgtgt ctctgcatg gcaacacgtg tctccgtcag gccctcgcaa ggcccgggga	2460
[0057]	gggggttcta cgctcttctg ctctttgttg catgctgaac actcatcgcc ttctactgt	2520
[0058]	atctgcctc ctgcagcctc cctcttctc ctctcttcc tcttctcct ctctctctc	2580
[0059]	ctctcctct tctccaagt ttgaaagtc aaacaaaact accacattcc ctaccagtt	2640
[0060]	agaagaaaac caccgtcctg acagttgtga tcgcatggag tactttttaga ttattagcac	2700
[0061]	ctgtttttac ctgtttgtg ggctgtttg tatgtgcaca tgtatgaagt cggcacatgc	2760
[0062]	acctctgta tgggcagagg cgtggcatct acagaagagc agatgccaac tttgtgcttt	2820
[0063]	tagtgaatac attaaaaaa aaaaaccaac ggtccttatt gagtggaatt ctatttgatg	2880
[0064]	caaatatttg agctctttaa gactttaaaa ctagataatg tgccaagctt ttaggactgc	2940
[0065]	tcaccagtgc cctctgaaga aacaccagta ctttttctg tttgtgtaat aaaggcatat	3000
[0066]	ttgtatttgt gtttgcata ctaatggta tttcttctta gtccactgaa tgtttccatg	3060
[0067]	tgctctcgt atgcaaaact tttgtcatc tttcatgtgg ggaccaaag gtttgtctgt	3120
[0068]	ggcaaacct aacctatgac ctgctgaggc ctctcagaaa actgaccaca gtaccaagat	3180
[0069]	agtacttcgc aaagaaaagt aggttccctc cctggttttg tagctgtcgc caatattagc	3240
[0070]	gtaattccaa ggagctgaac gcctttatat aaatctgatg gcacctgatg ctttttagttc	3300
[0071]	tgaaaatatt tacactcgga tcatgttgt gatgacttaa acaaagtttt gatgaagaga	3360
[0072]	gcaaaaaaa agcaggtgga tttggaacag tttcagggtt ttttttgtt tttgttttt	3420
[0073]	gtttttgtt ttttttttt atttttgtt ttctgttctc tgttagaaaa gtcaggtgtt	3480
[0074]	ctctgtcagg ctatctttat agtcaatttt ttttacgaac taaagtagta ctttttaata	3540
[0075]	tgtagtcaac gccctctgc tcggggttca gttttgggtc ttaaccagct gtcatgttct	3600
[0076]	ctatgtgcc tgccactga ggcactgagt gccctagaca gtcccatcgg tggtagccag	3660
[0077]	ggaaacgaaa gacgaactca actcttctc ctaataatca actctctgta tgaaggatgg	3720
[0078]	cagcattaag agtctcctg cctgggcatt attgggccag ttcacctct ttaaatcaaa	3780
[0079]	cccgagtggt ctcccagttc tcgtcccatc agatttaaat tgctaacagt atggggggca	3840
[0080]	ccacgcctt gttttgtccc acaatgcgt tttctctccc aaatcccgat ttctgtctgc	3900
[0081]	atagcctcta ttcaattttt atttattgtc tgccctccac ttatacaatc gtagagagca	3960
[0082]	atgccatttg tcactttctg caacagtttt ttgagccttt atggctgaat cccatttttc	4020
[0083]	ttctctttca aactgtttgc tccattgtc ctccgcacg gctgtccgta cagtcatccc	4080

[0084]	atccatctgg gggcctcttt catctctcac ccttcctggt gcttcgtgga tctctgctta	4140
[0085]	cctctgtggg tttttttttt tttttttgac ttattcttct cactggactt taagattact	4200
[0086]	tccacagcga aagtgtgcc tcccttttct gcccgagtg ttctgcgtac tttagatact	4260
[0087]	actcagtgtc gacatttgat ggcaaaagtt gcctgcactt aaatttctct ttttaatagg	4320
[0088]	gtgaactaga gttggagttt ttttctcttt tttctctttt ctctctctct ctctctctct	4380
[0089]	ctctctctct ctctctctct ctccctccct cctccctcc ctccctccct cctctctct	4440
[0090]	ctctttttct ttcttttttt ctttctttct ttcttttttt ctttctttct ttcttttttt	4500
[0091]	ttttgacaaa tctcacaggc ttgagaatt ataaaagggt acagttcacc tgaatatcac	4560
[0092]	aggtctgggc tgtttaaatt gttgagaaat atccgattaa aagtcttggt gctgtgtcct	4620
[0093]	aataggctct ctttcaggac gttgtagtca atagagtggc tgaaccatac ttgagtttat	4680
[0094]	aaagctcaaa aactgatgca cccactctgc tattatcgtg ttagtaagag ttcagctgta	4740
[0095]	tatcattgtc taggtttatc ttgtcctaca gtgggtattc aaatatggcc accagaggat	4800
[0096]	atgtgtaa ataaagcacct gtatttgcct gttgttgaga actggaggga aaacaaaaaa	4860
[0097]	tgtctggcaa ccctttgcct ttttaaccgt aattaattga cagtttattt agagataaga	4920
[0098]	gttttcaaaa atctcttaac tgccacaacc cacagagggt cttgttttgc catcttcagt	4980
[0099]	ggctcacaga tatgatccaa gtttaactga aagagatgag cagtaccag gaaattgtcc	5040
[0100]	tgcctttaac tctggctgtc ctttaattatg actgtttaat gctgaatttt ccatccgtct	5100
[0101]	agtgtttgag ggtaaagaaa agcctttttt aaataagtat ttctgtaaaa cggcatcggt	5160
[0102]	gggatcttct gtgttgctat cacgggtgaa agagggaac atttcttatt tttattaagc	5220
[0103]	agagcattat ttacagaaag ccattgttga gaattagttc ccacatcata taaatatcca	5280
[0104]	ttaaccattc taaattgtaa gagaactcca gtgttgctat gcacaaggaa ctctcctggg	5340
[0105]	ggcctttttt tgcatagcaa ttaaaggat gctatttgtc agtagccatt ttttgcagtg	5400
[0106]	atttaaagac caaagttgtt ttacagctgt gttaccctta aaggtttttt ttttatgtat	5460
[0107]	taaatacaatt tatcactgtt tgaagctttg aatacctgca atctttgcca agatactttt	5520
[0108]	ttatttaaaa aaataactgt gtaaataatta cctgtaata ttatatatac ttaataaaac	5580
[0109]	attttaagct a	5591
[0110]	<210>	2
[0111]	<211>	312
[0112]	<212>	PRT
[0113]	<213>	小家鼠
[0114]	<400>	2
[0115]	Met Trp Pro Leu Ala Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Cys Cys Cys Gly	
[0116]	1 5 10 15	
[0117]	Ser Ala Gln Leu Leu Phe Ser Asn Val Asn Ser Ile Glu Phe Thr Ser	
[0118]	20 25 30	
[0119]	Cys Asn Glu Thr Val Val Ile Pro Cys Ile Val Arg Asn Val Glu Ala	
[0120]	35 40 45	
[0121]	Gln Ser Thr Glu Glu Met Phe Val Lys Trp Lys Leu Asn Lys Ser Tyr	
[0122]	50 55 60	
[0123]	Ile Phe Ile Tyr Asp Gly Asn Lys Asn Ser Thr Thr Thr Asp Gln Asn	
[0124]	65 70 75 80	
[0125]	Phe Thr Ser Ala Lys Ile Ser Val Ser Asp Leu Ile Asn Gly Ile Ala	

[0126]	85	90	95
[0127]	Ser Leu Lys Met Asp Lys Arg Asp Ala Met Val Gly Asn Tyr Thr Cys		
[0128]	100	105	110
[0129]	Glu Val Thr Glu Leu Ser Arg Glu Gly Lys Thr Val Ile Glu Leu Lys		
[0130]	115	120	125
[0131]	Asn Arg Thr Ala Phe Asn Thr Asp Gln Gly Ser Ala Cys Ser Tyr Glu		
[0132]	130	135	140
[0133]	Glu Glu Lys Gly Gly Cys Lys Leu Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu		
[0134]	145	150	155
[0135]	Lys Ile Leu Ile Val Ile Phe Pro Ile Leu Ala Ile Leu Leu Phe Trp		
[0136]	165	170	175
[0137]	Gly Lys Phe Gly Ile Leu Thr Leu Lys Tyr Lys Ser Ser His Thr Asn		
[0138]	180	185	190
[0139]	Lys Arg Ile Ile Leu Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Leu Thr Val Ile		
[0140]	195	200	205
[0141]	Val Val Val Gly Ala Ile Leu Leu Ile Pro Gly Glu Lys Pro Val Lys		
[0142]	210	215	220
[0143]	Asn Ala Ser Gly Leu Gly Leu Ile Val Ile Ser Thr Gly Ile Leu Ile		
[0144]	225	230	235
[0145]	Leu Leu Gln Tyr Asn Val Phe Met Thr Ala Phe Gly Met Thr Ser Phe		
[0146]	245	250	255
[0147]	Thr Ile Ala Ile Leu Ile Thr Gln Val Leu Gly Tyr Val Leu Ala Leu		
[0148]	260	265	270
[0149]	Val Gly Leu Cys Leu Cys Ile Met Ala Cys Glu Pro Val His Gly Pro		
[0150]	275	280	285
[0151]	Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gly Ile Ile Ala Leu Ala Glu Leu Leu Gly		
[0152]	290	295	300
[0153]	Leu Val Tyr Met Lys Phe Val Glu		
[0154]	305	310	
[0155]	<210> 3		
[0156]	<211> 5560		
[0157]	<212> DNA		
[0158]	<213> 小家鼠		
[0159]	<400> 3		
[0160]	gcctacaccg ggagagcagg gaggaggagt tggactgagg ttgggcggct ccgaggtcca	60	
[0161]	gggcgagctt ggccagaggg agtagagagc agcggggctg cgcagggacg cgtgccgtga	120	
[0162]	gttccgggtga gcgtgtgtgt cccatgctcc cgtctttcag gccggcccag gacacgaagc	180	
[0163]	cggaagagag ctggctggag ggacgggggc cgtgagcaga gagtgcaacc cgcgcagccc	240	
[0164]	cggggacagg ctgattcttg gcgctctccg ccggagcctg cccagggctg ggtgtgaggc	300	
[0165]	tggcgtcacg tcaacgagca gaggcggcca ggcggggcgg agtgcgctg cgcggggcgg	360	
[0166]	cgagcacgcg cgcgcgcgca cccccgggca gcctgggcgg ccgctcctgc ctgtcactgc	420	
[0167]	tgcggcgctg ctggtcggtc gtttccttg aaggcagcag cggaggcggc ggctgctcca	480	

[0168]	gacacctgcg gcggcgaccc cccggcggcg cggagatgtg gcccttggcg gcggcgctgt	540
[0169]	tgctgggctc ctgctgctgc ggttcagctc aactactgtt tagtaacgtc aactccatag	600
[0170]	agttcacttc atgcaatgaa actgtgtgtc tcccttgcac cgtccgtaat gtggaggcgc	660
[0171]	aaagcaccga agaaatgttt gtgaagtga agttgaacaa atcgtatat ttcattctatg	720
[0172]	atggaaataa aaatagcact actacagatc aaaactttac cagtgcacaaa atctcagtct	780
[0173]	cagacttaat caatggcatt gcctctttga aaatggataa gcgcgatgcc atgggtgggaa	840
[0174]	actacacttg cgaagtgaca gagttatcca gagaaggcaa aacagttata gagctgaaaa	900
[0175]	accgcacggc ttcgtggttt tctccaaatg aaaagatcct cattgtttatt ttcccaattt	960
[0176]	tggtataact cctgttcttg ggaaagtgtg gtattttaac actcaaatat aaatccagcc	1020
[0177]	atacgaataa gagaatcatt ctgctgctcg ttgccgggct ggtgctcaca gtcattctgg	1080
[0178]	ttgttgagc catccttctc atcccaggag aaaagcccg gaagaatgct tctggacttg	1140
[0179]	gcctcattgt aatctctacg gggatattaa tactacttca gtacaatgtg tttatgacag	1200
[0180]	cttttgaat gacctcttc accattgcc aattgatcac tcaagtgtg ggctacgtcc	1260
[0181]	ttgctttggt cgggctgtgt ctctgcatca tggcatgtga gccagtgcac ggccccctt	1320
[0182]	tgatttcagg tttggggatc atagctctag cagaactact tggattagt tatatgaagt	1380
[0183]	ttgtcgctc caaccagagg actatccaac ctccaggaa taggtgaagg gaagtgcagg	1440
[0184]	actgtaactt ggaagtcaga aatggaagaa tacagttgtc taagcaccag gtcttcacga	1500
[0185]	ctcacagctg gaaggaacag acaacagtaa ctgacttcca tccaggaaaa catgtcacat	1560
[0186]	aaatgattac taagtattata ttcaaagcag ctgtacttta cataataaaa aaaatatgat	1620
[0187]	gtgctgtgta accaattgga atcccatttt tctattgttt ctactcaact aggggcaaac	1680
[0188]	gtttcaggg caacttcaa gaatgatgct tgttagatcc tagagtctct gaacactgag	1740
[0189]	tttaaattga ttccgagtga gactcgcaa gcactaacct gagggtagt taccagaga	1800
[0190]	tacctatgaa aaacagtgg atccagcaag ccttagtaa ctcagggtgc cagcagctt	1860
[0191]	gccacttccg ctgctagctg aataacaaga ctgccactc tgggtcatag tgatagagac	1920
[0192]	tgaagtagaa aaacgaatgt ggttgggcaa atcccgtgtg gccctctgt gtgctatgat	1980
[0193]	attgatggca ctggtgtctt cattcttggg ggttgccatc attcacacac accccttga	2040
[0194]	catacagtgc accccagttt tgaatacatt tttttgcac cctgtcccgt tctgtactt	2100
[0195]	tgatttgcgt tatgatatat atatatatat ataatacctt ttctcctctt taacatgg	2160
[0196]	cctgtgacac aatagtcagt tgcagaaagg agccagactt attcgcaaag cactgtgctc	2220
[0197]	aaactcttca gaaaaaagg aaaaaaaaa aaagctatag ttgtaacata tgtattccag	2280
[0198]	acctctggtt taaaggcaa agaaaaaaa tctacagtgt ttcttctcat gttttctgat	2340
[0199]	cggaggcatg acaaagcaag actgaaatct gaactgtgtc tctgcatgg caacacgtgt	2400
[0200]	ctccgtcagg ccctcgcaag gcccggggag ggggttctac gcctcttgc tctttgttg	2460
[0201]	atgtgaaca ctcatgcct tctactgta tctgcctcc tgcagcctcc ctcttctcc	2520
[0202]	tctcttctc ctctctctc ttctctctc tctctctct cctccaagt tgaaaggtca	2580
[0203]	aacaaaacta ccacattccc taccagttga gaagaaaacc accgtcctga cagttgtgat	2640
[0204]	cgcattggagt acttttagat tattagcacc tgtttttacc tcgtttgttg gcgtgtttgt	2700
[0205]	atgtcacat gtatgaagtc ggcacatgca cttctgtat gggcagaggc gtggcatcta	2760
[0206]	cagaagagca gatgccaact ttgtgctttt agtgaatata ttaaaaaaa aaaaccaacg	2820
[0207]	gtccttattg agtggaaatc tatttgatgc aaatatttga gctctttaag actttaaaac	2880
[0208]	tagataatgt gccaaagctt taggactgct caccagtgcc ctctgaagaa acaccagtac	2940
[0209]	tttttctgt ttgtgtaata aaggcatatt tgtatttgtg ttgcatcac taatggttat	3000

[0210]	ttcttcttag tccactgaat gtttccatgt gcctctcgta tgccaaactt tttgtcatct	3060
[0211]	ttcatgtggg gaccaaattg tttgtctgtg gcaaacctaa acctatgacc tgctgaggcc	3120
[0212]	tctcagaaaa ctgaccacag taccaagata gtacttcgca aagaaaagta ggttccctcc	3180
[0213]	ctggttttgt agctgtcgcc aatattagcg taattccaag gagctgaacg cctttatata	3240
[0214]	aatctgatgg cacctgatgc ttttagttct gaaaatatat acactcggat catgttggtg	3300
[0215]	atgacttaaa caaagttttg atgaagagag caaaaaaaaa gcaggtggat ttggaacagt	3360
[0216]	ttcagggttt tttttgtttt ttgttttttg tttttgtttt ttttttttta tttttgtttt	3420
[0217]	tctgttctct gttagaaaag tcaggtgttc tctgtcaggc tatctttata gtcaattttt	3480
[0218]	tttacgaact aaagtagtac cttttaatat gtagtcaacg cccctctgct cggggttcag	3540
[0219]	ttttgggtct taaccagctg tcatgttctc tatgtctgcct gccacttgag gcactgagt	3600
[0220]	ccctagacag tcccatcggt ggtagccagg gaaacgaaag acgaactcaa ctcttgctcc	3660
[0221]	taataatcaa ctctctgtat gaaggatggc agcattaaga gtctctctgc ctgggcatta	3720
[0222]	ttgggccagt tcacctctt taaatcaaac ccgcagtggc tcccagttct cgtcccatca	3780
[0223]	gatttaaatt gtaacagta tggggggcac cacgcatctg ttttgtcca caatgcgctt	3840
[0224]	ttctctccca aatcccagatt tctgtgtca tagcctctat tcaattttta tttattgtct	3900
[0225]	gccctccact tatacaatcg tagagagcaa tgccatttgt cactttctgc aacagttttt	3960
[0226]	tgagccttta tggctgaatc ccatttttct tctctttcaa actgtttgct ccattgctcc	4020
[0227]	tccgcacagg ctgtccgtac agtcatccca tccatctggg ggctctcttc atctctcacc	4080
[0228]	cttctgtgtg cttcgtggat ctctgttacc ctctgtgggt tttttttttt ttttttgact	4140
[0229]	tattctctct actggacttt aagattactt ccacagcgaa agtgctgcct cctttttctg	4200
[0230]	ccgcagtggt tctgcgtact ttagatacta ctcagtctg acatttgatg gcaaaagtgt	4260
[0231]	cctgcactta aatttctctt tttaataggg tgaactagag ttggagtttt tttctctttt	4320
[0232]	ttctcttttc tctctctctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc tccctccctc	4380
[0233]	cctccctccc tccctccctc cctctctctc tctttttctt tctttcttct tttctttctt	4440
[0234]	tctttcttct tttctttctt tctttctttt ttgacaaat ctcacaggct ttgagaatta	4500
[0235]	taaaagggtga cagttcacct gaaaatcaca ggtctgtgtc gtttaaatg ttgagaaata	4560
[0236]	tccgattaaa agtcttgttg ctgtgtccta ataggctctc tttcaggacg ttgtagtcaa	4620
[0237]	tagagtggct gaaccatact tgagtttata aagctcaaaa actgatgcac ccactctgct	4680
[0238]	attatcgtgt tagtaagagt tcagctgtat atcattgtct aggtttatct tgctctacag	4740
[0239]	tgggtattca aatatggcca ccagaggata tgtgtaaata taagcacctg tatttgctg	4800
[0240]	ttgttgagaa ctggagggaa aacaaaaaat gtctggcaac cttttgcctt tttaaccgta	4860
[0241]	attaattgac agttttattt gagataagag ttttcaaaaa tctcttaact gccacaacc	4920
[0242]	acagagggtc ttgttttgcc atcttcagtg gctcacagat atgatccaag ttaacttgaa	4980
[0243]	agagatgagc agtaccagg aaattgtcct gcctttaact ctggctgtcc ttaattatga	5040
[0244]	ctgtttaatg ctgaattttc catccgtcta gtgtttgagg gtaaagaaaa gcctttttta	5100
[0245]	aataagtatt tctgtaaaac ggcacgtgtg ggatcttctg tgttgctatc acgggtgaaa	5160
[0246]	gagggaacaa tttcttattt ttattaagca gagcattatt tacagaaagc cattgttgag	5220
[0247]	aattagttcc cacatcatat aaatatccat taaccattct aaattgtaag agaactccag	5280
[0248]	tgttgctatg cacaaggaaac tctcctgggg gccttttttt gcatagcaat taaaggatat	5340
[0249]	ctatttgtca gtagccattt tttgcagtga tttaaagacc aaagttgttt tacagctgtg	5400
[0250]	ttaccttaa aggttttttt tttatgtatt aaatcaattt atcactgttt gaagctttga	5460
[0251]	atacctgcaa tctttgccaa gatacttttt tatttaaaaa aataactgtg taaatattac	5520

[0252] cctgtaatat tatatatact taataaaaca ttttaagcta 5560
 [0253] <210> 4
 [0254] <211> 303
 [0255] <212> PRT
 [0256] <213> 小家鼠
 [0257] <400> 4
 [0258] Met Trp Pro Leu Ala Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Cys Cys Cys Gly
 [0259] 1 5 10 15
 [0260] Ser Ala Gln Leu Leu Phe Ser Asn Val Asn Ser Ile Glu Phe Thr Ser
 [0261] 20 25 30
 [0262] Cys Asn Glu Thr Val Val Ile Pro Cys Ile Val Arg Asn Val Glu Ala
 [0263] 35 40 45
 [0264] Gln Ser Thr Glu Glu Met Phe Val Lys Trp Lys Leu Asn Lys Ser Tyr
 [0265] 50 55 60
 [0266] Ile Phe Ile Tyr Asp Gly Asn Lys Asn Ser Thr Thr Thr Asp Gln Asn
 [0267] 65 70 75 80
 [0268] Phe Thr Ser Ala Lys Ile Ser Val Ser Asp Leu Ile Asn Gly Ile Ala
 [0269] 85 90 95
 [0270] Ser Leu Lys Met Asp Lys Arg Asp Ala Met Val Gly Asn Tyr Thr Cys
 [0271] 100 105 110
 [0272] Glu Val Thr Glu Leu Ser Arg Glu Gly Lys Thr Val Ile Glu Leu Lys
 [0273] 115 120 125
 [0274] Asn Arg Thr Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Lys Ile Leu Ile Val
 [0275] 130 135 140
 [0276] Ile Phe Pro Ile Leu Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Lys Phe Gly Ile
 [0277] 145 150 155 160
 [0278] Leu Thr Leu Lys Tyr Lys Ser Ser His Thr Asn Lys Arg Ile Ile Leu
 [0279] 165 170 175
 [0280] Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Leu Thr Val Ile Val Val Val Gly Ala
 [0281] 180 185 190
 [0282] Ile Leu Leu Ile Pro Gly Glu Lys Pro Val Lys Asn Ala Ser Gly Leu
 [0283] 195 200 205
 [0284] Gly Leu Ile Val Ile Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu Gln Tyr Asn
 [0285] 210 215 220
 [0286] Val Phe Met Thr Ala Phe Gly Met Thr Ser Phe Thr Ile Ala Ile Leu
 [0287] 225 230 235 240
 [0288] Ile Thr Gln Val Leu Gly Tyr Val Leu Ala Leu Val Gly Leu Cys Leu
 [0289] 245 250 255
 [0290] Cys Ile Met Ala Cys Glu Pro Val His Gly Pro Leu Leu Ile Ser Gly
 [0291] 260 265 270
 [0292] Leu Gly Ile Ile Ala Leu Ala Glu Leu Leu Gly Leu Val Tyr Met Lys
 [0293] 275 280 285

[0294]	Phe Val Ala Ser Asn Gln Arg Thr Ile Gln Pro Pro Arg Asn Arg	
[0295]	290	295 300
[0296]	<210> 5	
[0297]	<211> 5648	
[0298]	<212> DNA	
[0299]	<213> 小家鼠	
[0300]	<400> 5	
[0301]	gcctacaccg ggagagcagg gaggaggagt tggactgagg ttgggcggct ccgaggtcca	60
[0302]	gggcgagctt ggccagaggg agtagagagc agcggggctg cgcagggacg cgtgccgtga	120
[0303]	gttccgggtga gcgtgtgtgt cccatgctcc cgtctttcag gccggcccag gacacgaagc	180
[0304]	cgggaagagag ctggctggag ggacgggggc cgtgagcaga gagtgcgaacc cgcgcagccc	240
[0305]	cggggacagg ctgattcttg gcgctctccg ccggagcctg cccagggctg ggtgtgaggc	300
[0306]	tggcgtcacg tcaacgagca gaggcggcca ggcggggcgg agtgcgcgtg cgcggggcgg	360
[0307]	cgagcacgcg cgcgcgcgca ccccggggca gcctgggcgg ccgctcctgc ctgtcactgc	420
[0308]	tgcggcgctg ctggtcggtc gtttcccttg aaggcagcag cggaggcggc ggctgctcca	480
[0309]	gacacctgcg gcggcgaccc cccggcggcg cggagatgtg gcccttggcg gcggcgctgt	540
[0310]	tgctgggctc ctgctgctgc ggttcagctc aactactgtt tagtaacgtc aactccatag	600
[0311]	agttcacttc atgcaatgaa actgtgtgtca tcccttgcac cgtccgtaac gtggaggcgc	660
[0312]	aaagcaccca agaaatgttt gtgaagtgga agttgaacaa atcgtatatatt ttcattctatg	720
[0313]	atggaaataa aaatagcact actacagatc aaaactttac cagtgcacaaa atctcagtct	780
[0314]	cagacttaat caatggcatt gcctctttga aaatggataa gcgcgatgcc atgggtggaa	840
[0315]	actacacttg cgaagtgaca gagttatcca gagaaggcaa aacagttata gagctgaaaa	900
[0316]	accgcacggc cttcaacact gaccaaggat cagcctgttc ttacgaggag gagaaaggag	960
[0317]	gttgcaaat agtttcgttg ttttctccaa atgaaaagat cctcattgtt attttcccaa	1020
[0318]	ttttggctat actcctgttc tggggaaagt ttggtatatt aacctcaaa tataaatcca	1080
[0319]	gccatacgaa taagagaatc attctgctgc tcgttgccgg gctggtgctc acagtcatcg	1140
[0320]	tggttggttg agccatcctt ctcatcccag gagaaaagcc cgtgaagaat gcttctggac	1200
[0321]	ttggcctcat tgtaatctct acggggatat taatactact tcagtacaat gtgtttatga	1260
[0322]	cagcttttgg aatgacctct ttaccattg ccatattgat cactcaagt ctgggctacg	1320
[0323]	tccttgcttt ggtcgggctg tgtctctgca tcatggcatg tgagccagt caccgcccc	1380
[0324]	ttttgatttc aggtttgggg atcatagctc tagcagaact acttgatta gtttatatga	1440
[0325]	agtttgcgc ttccaaccag aggactatcc aacctcctag gaaagctgta gaggaacccc	1500
[0326]	ttaacgaata ggtgaaggga agtgacggac tgtaacttgg aagtcagaaa tggaagaata	1560
[0327]	cagttgtcta agcaccaggt cttcacgact cacagctgga aggaacagac aacagtaact	1620
[0328]	gacttccatc caggaaaaca tgtcacataa atgattacta agtttatatt caaagcagct	1680
[0329]	gtactttaca taataaaaaa aatatgatgt gctgtgtaac caattggaat cccatttttc	1740
[0330]	tattgtttct actcaactag gggcaaacgt ttcaggggca acttccaaga atgatgcttg	1800
[0331]	ttagatccta gagtctctga aactgagtt taaattgatt ccgagtgaga ctgcgaagc	1860
[0332]	actaacctga ggttagtga cccagagata cctatgaaaa acagtggat ccagcaagcc	1920
[0333]	ttagtaaaact caggttgcca gcagcttgc cacttccgct gctagctgaa taacaagact	1980
[0334]	gccacttctg ggtcatagt atagagactg aagtagaaaa acgaatgtgg ttgggcaaat	2040
[0335]	cccgtgtggc ccctctgtgt gctatgatat tgatggcact ggtgtcttca ttcttggggg	2100

[0336]	ttgccatcat	tcacacacac	ccctttgaca	tacagtgcac	cccagttttg	aatacatttt	2160
[0337]	ttttgcaccc	tgteccgttc	tgctactttg	atttgcgtta	tgatatatat	atatatatat	2220
[0338]	aatacctttt	ctctctttha	aacatggtec	tgtgacacaa	tagtcagttg	cagaaaggag	2280
[0339]	ccagacttat	tcgcaaagca	ctgtgctcaa	actcttcaga	aaaaaaggaa	aaaaaaaaaa	2340
[0340]	agctatagtt	gtaacatatg	tattccagac	ctctggttta	aaggcaaaag	aaaaaaaaatc	2400
[0341]	tacagtgttt	cttctcatgt	tttctgatcg	gaggcatgac	aaagcaagac	tgaaatctga	2460
[0342]	actgtgtctc	ctgcatggca	acacgtgtct	ccgtcaggcc	ctcgcaaggc	ccggggaggg	2520
[0343]	ggttctacgc	ctcttgtctc	tttgttgcat	gctgaacact	catcgccctc	ctactgtatc	2580
[0344]	ctgcctcctg	cagcctccct	cttctcctc	ctcttctctt	tcctcctctt	cctcctcctc	2640
[0345]	ctcctcttcc	tccaagtttg	aaaggtcaaa	caaaactacc	acattcccta	cccagttaga	2700
[0346]	agaaaaccac	cgtectgaca	gttgtgatcg	catggagtac	ttttagatta	ttagcacctg	2760
[0347]	tttttacctc	gtttgtgggc	gtgtttgtat	gtgcacatgt	atgaagtcgg	cacatgcacc	2820
[0348]	ttctgtatgg	gcagaggcgt	ggcatctaca	gaagagcaga	tgccaacttt	gtgcttttag	2880
[0349]	tgaatacatt	aaaaaaaaaa	aaccaacggt	ccttattgag	tggaattcta	tttgatgcaa	2940
[0350]	atatttgagc	tctttaagac	tttaaaacta	gataatgtgc	caagctttta	ggactgctca	3000
[0351]	ccagtgcctt	ctgaagaaac	accagtactt	tttctgtttt	gtgtaataaa	ggcataattg	3060
[0352]	tattttgtgt	tgcatcacta	atggttatth	cttcttagtc	cactgaatgt	ttccatgtgc	3120
[0353]	ctctcgatag	ccaaactttt	tgtcatcttt	catgtgggga	ccaaatggtt	tgtctgtggc	3180
[0354]	aaacctaaac	ctatgacctg	ctgaggcctc	tcagaaaact	gaccacagta	ccaagatagt	3240
[0355]	acttcgcaaa	gaaaagtagg	ttccctccct	ggttttgtag	ctgtcgccaa	tattagcgta	3300
[0356]	attccaagga	gctgaacgcc	tttatataaa	tctgatggca	cctgatgctt	ttagttctga	3360
[0357]	aaatatthac	actcggatca	tgttgttgat	gacttaaaaca	aagttttgat	gaagagagca	3420
[0358]	aaaaaaaaagc	aggtggattt	ggaacagttt	cagggttttt	tttgtttttt	gttttttgtt	3480
[0359]	tttgtttttt	tttttttatt	tttgttttct	tgttctctgt	tagaaaagtc	aggtgttctc	3540
[0360]	tgtcaggeta	tctttatagt	caattttttt	tacgaactaa	agtagtacct	tttaatatgt	3600
[0361]	agtcaacgcc	cctctgctcg	gggttcagtt	ttgggtctta	accagctgtc	atgttctcta	3660
[0362]	tgctgcctgc	cacttgaggc	actgagtgcc	ctagacagtc	ccatcggtgg	tagccaggga	3720
[0363]	aacgaaagac	gaactcaact	cttgctccta	ataatcaact	ctctgtatga	aggatggcag	3780
[0364]	cattaagagt	cctcctgcct	gggcattatt	gggccagttc	accctcttta	aatcaaacc	3840
[0365]	gcagtggctc	ccagttctcg	tcccatcaga	tttaaattgc	taacagtatg	gggggcacca	3900
[0366]	cgcactgttt	ttgtcccaca	atgcgctttt	ctctcccaaa	tcccgatttc	tgctgtcata	3960
[0367]	gcctctattc	aatttttatt	tattgtctgc	cctccactta	tacaatcgta	gagagcaatg	4020
[0368]	ccatttgtea	ctttctgcaa	cagttttttg	agcctttatg	gctgaatccc	atttttcttc	4080
[0369]	tctttcaaac	tgtttgctcc	attgtctctc	ccgcacggct	gtccgtacag	tcattcccatc	4140
[0370]	catctggggg	cctctttcat	ctctcaccct	tcctgggtgt	tcgtggatct	ctgcttacct	4200
[0371]	ctgtgggttt	tttttttttt	ttttgactta	ttcttctcac	tggactttta	gattacttcc	4260
[0372]	acagcgaaag	tgctgcctcc	cttttctgcc	cgcagtgttc	tgcgtaactt	agatactact	4320
[0373]	cagtgtgac	atttgatggc	aaaagttgcc	tgcacttaaa	tttctctttt	taatagggtg	4380
[0374]	aactagagtt	ggagtttttt	tctctttttt	ctcttttctc	tctctctctc	tctctctctc	4440
[0375]	tctctctctc	tctctctctc	cctccctccc	tccctccctc	cctccctccc	tctctctctc	4500
[0376]	ttttcttttc	tttctttctt	tctttctttc	tttctttctt	tctttctttc	tttctttttt	4560
[0377]	tgacaaatct	cacaggcttt	gagaattata	aaaggtgaca	gttcacctga	aatcacagg	4620

[0378] tctgggtctgt ttaaattggt gagaaatata cgattaaaag tcttgtggct gtgtcctaata 4680
 [0379] aggtctctctt tcaggacgtt gtagtcaata gagtggctga accatacttg agtttataaa 4740
 [0380] gctcaaaaac tgatgcaccc actctgctat tatcgtgtta gtaagagttc agctgtatat 4800
 [0381] cattgtctag gtttatcttg tcctacagt ggtattcaaa tatggccacc agaggatatg 4860
 [0382] tgtaaatata agcacctgta ttgacctgtt gttgagaact ggagggaaaa caaaaaatgt 4920
 [0383] ctggcaaccc ttgacctttt taaccgtaat taattgacag tttatttaga gataagagtt 4980
 [0384] ttcaaaaatc tcttaactgc cacaaccac agagggtctt gttttgcat cttcagtggc 5040
 [0385] tcacagatat gatccaagtt aacttgaaag agatgagcag taccaggaa attgtcctgc 5100
 [0386] ctttaactct ggctgtcctt aattatgact gtttaatgct gaattttcca tccgtctagt 5160
 [0387] gtttgagggt aaagaaaagc cttttttaa taagtattc tgtaaaacgg catcggtggg 5220
 [0388] atcttctgtg ttgctatcac gggtgaaaga gggaaacatt tcttattttt attaagcaga 5280
 [0389] gcattattta cagaaagcca ttgttgagaa ttagttccca catcatataa atatccatta 5340
 [0390] accattctaa attgtaagag aactccagt ttgctatgca caaggaactc tcctgggggc 5400
 [0391] ctttttttgc atagcaatta aaggatgct atttgtcagt agccattttt tgcagtgatt 5460
 [0392] taaagaccaa agttgtttta cagctgtgtt acccttaaag gttttttttt tatgtattaa 5520
 [0393] atcaatttat cactgtttga agctttgaat acctgcaatc ttgccaaga tactttttta 5580
 [0394] tttaaaaaaa taactgtgta aatattaccc tgtaatatta tatatactta ataaaacatt 5640
 [0395] ttaagcta 5648
 [0396] <210> 6
 [0397] <211> 331
 [0398] <212> PRT
 [0399] <213> 小家鼠
 [0400] <400> 6
 [0401] Met Trp Pro Leu Ala Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Cys Cys Cys Gly
 [0402] 1 5 10 15
 [0403] Ser Ala Gln Leu Leu Phe Ser Asn Val Asn Ser Ile Glu Phe Thr Ser
 [0404] 20 25 30
 [0405] Cys Asn Glu Thr Val Val Ile Pro Cys Ile Val Arg Asn Val Glu Ala
 [0406] 35 40 45
 [0407] Gln Ser Thr Glu Glu Met Phe Val Lys Trp Lys Leu Asn Lys Ser Tyr
 [0408] 50 55 60
 [0409] Ile Phe Ile Tyr Asp Gly Asn Lys Asn Ser Thr Thr Thr Asp Gln Asn
 [0410] 65 70 75 80
 [0411] Phe Thr Ser Ala Lys Ile Ser Val Ser Asp Leu Ile Asn Gly Ile Ala
 [0412] 85 90 95
 [0413] Ser Leu Lys Met Asp Lys Arg Asp Ala Met Val Gly Asn Tyr Thr Cys
 [0414] 100 105 110
 [0415] Glu Val Thr Glu Leu Ser Arg Glu Gly Lys Thr Val Ile Glu Leu Lys
 [0416] 115 120 125
 [0417] Asn Arg Thr Ala Phe Asn Thr Asp Gln Gly Ser Ala Cys Ser Tyr Glu
 [0418] 130 135 140
 [0419] Glu Glu Lys Gly Gly Cys Lys Leu Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu

[0420]	145	150	155	160
[0421]	Lys Ile Leu Ile Val Ile Phe Pro Ile Leu Ala Ile Leu Leu Phe Trp			
[0422]		165	170	175
[0423]	Gly Lys Phe Gly Ile Leu Thr Leu Lys Tyr Lys Ser Ser His Thr Asn			
[0424]		180	185	190
[0425]	Lys Arg Ile Ile Leu Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Leu Thr Val Ile			
[0426]		195	200	205
[0427]	Val Val Val Gly Ala Ile Leu Leu Ile Pro Gly Glu Lys Pro Val Lys			
[0428]		210	215	220
[0429]	Asn Ala Ser Gly Leu Gly Leu Ile Val Ile Ser Thr Gly Ile Leu Ile			
[0430]		225	230	235
[0431]	Leu Leu Gln Tyr Asn Val Phe Met Thr Ala Phe Gly Met Thr Ser Phe			
[0432]		245	250	255
[0433]	Thr Ile Ala Ile Leu Ile Thr Gln Val Leu Gly Tyr Val Leu Ala Leu			
[0434]		260	265	270
[0435]	Val Gly Leu Cys Leu Cys Ile Met Ala Cys Glu Pro Val His Gly Pro			
[0436]		275	280	285
[0437]	Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gly Ile Ile Ala Leu Ala Glu Leu Leu Gly			
[0438]		290	295	300
[0439]	Leu Val Tyr Met Lys Phe Val Ala Ser Asn Gln Arg Thr Ile Gln Pro			
[0440]		305	310	315
[0441]	Pro Arg Lys Ala Val Glu Glu Pro Leu Asn Glu			
[0442]		325	330	
[0443]	<210> 7			
[0444]	<211> 5618			
[0445]	<212> DNA			
[0446]	<213> 小家鼠			
[0447]	<400> 7			
[0448]	gcctacaccg ggagagcagg gaggaggagt tggactgagg ttgggcgget ccgaggtcca 60			
[0449]	gggcgagctt ggccagaggg agtagagagc agcggggctg cgcagggacg cgtgccgtga 120			
[0450]	gttccggtga gcgtgtgtgt cccatgctcc cgtctttcag gccggcccag gacacgaagc 180			
[0451]	cggaagagag ctggctggag ggacgggggc cgtgagcaga gaggcaacc cgcgcagccc 240			
[0452]	cggggacagg ctgattcttg gcgctctccg ccggagcctg ccagggctg ggtgtgaggc 300			
[0453]	tggcgtcacg tcaacgagca gaggcggcca ggcggggcgg agtgcgctg cgcggggcgg 360			
[0454]	cgagcacgcg cgcgcgcgca ccccggggca gcctgggcgg ccgctcctgc ctgtcactgc 420			
[0455]	tgcggcgctg ctggtcggtc gtttccttg aaggcagcag cggaggcggc ggctgctcca 480			
[0456]	gacacctgcg gcggcgaccc cccggcggcg cggagatgtg gcccttggcg gcggcgctgt 540			
[0457]	tgctgggctc ctgctgctgc ggttcagctc aactactgtt tagtaacgtc aactccatag 600			
[0458]	agttcacttc atgcaatgaa actgtgtgtc tcccttgcag cgtccgtaat gtggaggcgc 660			
[0459]	aaagcaccga agaaatgttt gtgaagtgga agttgaacaa atcgtatatt ttcatctatg 720			
[0460]	atggaaataa aaatagcact actacagatc aaaactttac cagtgcacaaa atctcagtct 780			
[0461]	cagacttaat caatggcatt gcctctttga aaatggataa gcgcgatgcc atgggtgggaa 840			

[0462]	actacacttg cgaagtgaca gagttatcca gagaaggcaa aacagttata gagctgaaaa	900
[0463]	accgcacggg ttcgtgggtt tctccaaatg aaaagatcct cattgttatt ttcccaattt	960
[0464]	tggtataact cctgttctgg ggaaagtgtg gtattttaac actcaaatat aaatccagcc	1020
[0465]	atacgaataa gagaatcatt ctgctgctcg ttgccgggct ggtgctcaca gtcacgtgg	1080
[0466]	ttgttggagc catccttctc atcccaggag aaaagcccgt gaagaatgct tctggacttg	1140
[0467]	gcctcattgt aatctctacg gggatattaa tactacttca gtacaatgtg tttatgacag	1200
[0468]	cttttggaaat gacctcttcc accattgccca tattgatcac tcaagtgtg ggctacgtcc	1260
[0469]	ttgctttggg cgggctgtgt ctctgcatca tggcatgtga gccagtgcac ggcccccttt	1320
[0470]	tgatttcagg tttggggatc atagctctag cagaactact tggattagtt tatatgaagt	1380
[0471]	ttgtcgcttc caaccagagg actatccaac ctctaggaa agctgtagag gaaccctta	1440
[0472]	acgcatttaa agagtcaaaa ggaatgatga atgacgaata ggtgaaggga agtgacggac	1500
[0473]	tgtaacttgg aagtcagaaa tggaagaata cagttgtcta agcaccaggc cttcacgact	1560
[0474]	cacagctgga agaacagac aacagtaact gacttccatc caggaaaaca tgtcacataa	1620
[0475]	atgattacta agtttatatt caaagcagct gtactttaca taataaaaaa aatatgatgt	1680
[0476]	gctgtgtaac caattggaat cccatttttc tattgtttct actcaactag gggcaaactg	1740
[0477]	ttcaggggca acttccaaga atgatgctg ttagatccta gagtctctga acactgagtt	1800
[0478]	taaattgatt ccgagtgaga ctgcccaagc actaacctga gggttagtta cccagagata	1860
[0479]	cctatgaaaa acagtgggat ccagcaagcc ttagtaaaact caggttgccg gcagctttgc	1920
[0480]	cacttccgct gctagctgaa taacaagact gccacttctg ggtcatagtg atagagactg	1980
[0481]	aagtagaaaa acgaatgtgg ttggggcaaat cccgtgtggc ccctctgtgt gctatgatat	2040
[0482]	tgatggcact ggtgtcttca ttcttggggg ttgccatcat tcacacacac ccttttgaca	2100
[0483]	tacagtgcac cccagttttg aatacatttt ttttgacacc tgtcccgctc tgctactttg	2160
[0484]	atttgcgtta tgatatatat atatatatat aatacctttt ctctcttcta aacatggtcc	2220
[0485]	tgtgacacaa tagtcagttg cagaaaggag ccagacttat tcgcaaagca ctgtgctcaa	2280
[0486]	actcttcaga aaaaaaggaa aaaaaaaaaa agctatagtt gtaacatatg tattccagac	2340
[0487]	ctctggttta aaggcaaaag aaaaaaaatc tacagtgttt cttctcatgt tttctgatcg	2400
[0488]	gaggcatgac aaagcaagac tgaaatctga actgtgtctc ctgcatggca acacgtgtct	2460
[0489]	ccgtcaggcc ctgcgaagc cgggggaggg ggttctacgc ctcttgtctc tttgttgcat	2520
[0490]	gctgaacact catgccttc ctactgtatc ctgcctcctg cagcctccct ctctctctc	2580
[0491]	ctcttctctc tctctctctt cctctctctc ctctctctcc tccaagtttg aaaggtcaaa	2640
[0492]	caaaactacc acattcccta cccagttaga agaaaaccac cgtcctgaca gttgtgatcg	2700
[0493]	catggagtac ttttagatta ttagcacctg tttttacctc gtttgtgggc gtgtttgtat	2760
[0494]	gtgcacatgt atgaagtcgg cacatgcacc ttctgtatgg gcagaggcgt ggcatctaca	2820
[0495]	gaagagcaga tgccaacttt gtgcttttag tgaatacatt aaaaaaaaaa aaccaacggt	2880
[0496]	ccttattgag tggaattcta tttgatgcaa atatttgagc tctttaagac tttaaaacta	2940
[0497]	gataatgtgc caagctttta ggactgtcga ccagtgcctt ctgaagaaac accagtactt	3000
[0498]	tttctgtttt gtgtaataaa ggcatatttg tatttgtgtt tgcatcacta atggttattt	3060
[0499]	cttcttagtc cactgaatgt ttccatgtgc ctctcgtatg ccaaactttt tgtcatcttt	3120
[0500]	catgtgggga ccaaatggtt tgtctgtggc aaacctaaac ctatgacctg ctgaggcctc	3180
[0501]	tcagaaaact gaccacagta ccaagatagt acttcgcaa gaaaagtagg ttccctccct	3240
[0502]	ggtttttag ctgtcgccaa tattagcgta attccaagga gctgaacgcc tttatataaa	3300
[0503]	tctgatggca cctgatgctt ttagttctga aaatatattac actcgatca tgttgttgat	3360

[0504]	gacttaaaca aagttttgat gaagagagca aaaaaaaagc aggtggattt ggaacagttt	3420
[0505]	cagggttttt tttgtttttt gttttttgtt tttgtttttt tttttttatt tttgtttttc	3480
[0506]	tgttctctgt tagaaaagtc aggtgttctc tgtcaggcta tctttatagt caattttttt	3540
[0507]	tacgaactaa agtagtacct tttaatatgt agtcaacgcc cctctgctcg gggttcagtt	3600
[0508]	ttgggtctta accagctgtc atgttctcta tgctgcctgc cacttgaggc actgagtgcc	3660
[0509]	ctagacagtc ccatcggtgg tagccaggga aacgaaagac gaactcaact cttgctccta	3720
[0510]	ataatcaact ctctgtatga aggatggcag cattaagagt cctcctgcct gggcattatt	3780
[0511]	gggccagttc accctcttta aatcaaacc gcagtggctc ccagttctcg tcccatcaga	3840
[0512]	tttaaattgc taacagtatg gggggcacca cgcctctgtt ttgtcccaca atgcgctttt	3900
[0513]	ctctcccaaa tcccgatttc tgctgtcata gcctctattc aattttttatt tattgtctgc	3960
[0514]	cctccactta tacaatcgta gagagcaatg ccatttgtca ctttctgcaa cagttttttg	4020
[0515]	agcctttatg gctgaatccc atttttcttc tctttcaaac tgtttgcctc attgctcctc	4080
[0516]	ccgcacggct gtccgtacag tcatcccatc catctggggg cctctttcat ctctcaccct	4140
[0517]	tcctgggtgt tcgtggatct ctgcttacct ctgtgggttt tttttttttt ttttgactta	4200
[0518]	ttcttctcac tggactttaa gattacttcc acagcgaaag tgctgcctcc cttttctgcc	4260
[0519]	cgcagtgttc tgcgtacttt agatactact cagtgtctac atttgatggc aaaagttgcc	4320
[0520]	tgcacttaaa tttctctttt taatagggtg aactagagtt ggagtttttt tctctttttt	4380
[0521]	ctcttttctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc cctccctccc	4440
[0522]	tccctccctc cctccctccc tctctctctc tttttcttct tttctttctt tctttcttct	4500
[0523]	tttctttctt tctttcttct tttctttttt tgacaaatct cacaggcttt gagaattata	4560
[0524]	aaaggtgaca gttcacctga aaatcacagg tctggtctgt ttaaattggt gagaaatctc	4620
[0525]	cgattaaaag tcttgtggct gtgtcctaata aggctctctt tcaggacgtt gtagtcaata	4680
[0526]	gagtggctga accatacttg agtttataaa gctcaaaaac tgatgcaccc actctgctat	4740
[0527]	tatcgtgtta gtaagagttc agctgtatat cattgtctag gtttatcttg tcctacagtg	4800
[0528]	ggtattcaaa tatggccacc agaggatatg tgtaaatata agcacctgta ttgacctgtt	4860
[0529]	gttgagaact ggagggaaaa caaaaaatgt ctggcaaccc ttgacctttt taaccgtaat	4920
[0530]	taattgacag ttattttaga gataagagtt ttcaaaaatc tcttaactgc cacaaccac	4980
[0531]	agagggtctt gttttgccat cttcagtggc tcacagatat gatccaagtt aacttgaaag	5040
[0532]	agatgagcag taccaggaa attgtcctgc ctttaactct ggetgtcctt aattatgact	5100
[0533]	gtttaatgct gaattttcca tccgtctagt gtttgagggt aaagaaaagc ctttttttaa	5160
[0534]	taagtatttc tgtaaaacgg catcggtggg atcttctgtg ttgctatcac gggtgaaaga	5220
[0535]	gggaacatt tcttattttt attaaagcaga gcattattta cagaaagcca ttgttgagaa	5280
[0536]	ttagttccca catcatataa atatcatta accattctaa attgtaagag aactccagtg	5340
[0537]	ttgctatgca caaggaactc tcctgggggc ctttttttgc atagcaatta aaggtatgct	5400
[0538]	atttgtcagt agccattttt tgcagtgatt taaagaccaa agttgtttta cagctgtgtt	5460
[0539]	accctaaag gttttttttt tatgtattaa atcaatttat cactgtttga agctttgaat	5520
[0540]	acctgcaatc ttgccaaga tactttttta tttaaaaaaa taactgtgta aatattacc	5580
[0541]	tgtaatatta tatatactta ataaaacatt ttaagcta	5618
[0542]	<210> 8	
[0543]	<211> 321	
[0544]	<212> PRT	
[0545]	<213> 小家鼠	

[0546]	<400> 8															
[0547]	Met	Trp	Pro	Leu	Ala	Ala	Ala	Leu	Leu	Leu	Gly	Ser	Cys	Cys	Cys	Gly
[0548]	1			5						10					15	
[0549]	Ser	Ala	Gln	Leu	Leu	Phe	Ser	Asn	Val	Asn	Ser	Ile	Glu	Phe	Thr	Ser
[0550]			20					25						30		
[0551]	Cys	Asn	Glu	Thr	Val	Val	Ile	Pro	Cys	Ile	Val	Arg	Asn	Val	Glu	Ala
[0552]			35					40					45			
[0553]	Gln	Ser	Thr	Glu	Glu	Met	Phe	Val	Lys	Trp	Lys	Leu	Asn	Lys	Ser	Tyr
[0554]		50					55					60				
[0555]	Ile	Phe	Ile	Tyr	Asp	Gly	Asn	Lys	Asn	Ser	Thr	Thr	Thr	Asp	Gln	Asn
[0556]	65					70				75						80
[0557]	Phe	Thr	Ser	Ala	Lys	Ile	Ser	Val	Ser	Asp	Leu	Ile	Asn	Gly	Ile	Ala
[0558]					85					90					95	
[0559]	Ser	Leu	Lys	Met	Asp	Lys	Arg	Asp	Ala	Met	Val	Gly	Asn	Tyr	Thr	Cys
[0560]			100						105					110		
[0561]	Glu	Val	Thr	Glu	Leu	Ser	Arg	Glu	Gly	Lys	Thr	Val	Ile	Glu	Leu	Lys
[0562]			115					120					125			
[0563]	Asn	Arg	Thr	Val	Ser	Trp	Phe	Ser	Pro	Asn	Glu	Lys	Ile	Leu	Ile	Val
[0564]		130					135					140				
[0565]	Ile	Phe	Pro	Ile	Leu	Ala	Ile	Leu	Leu	Phe	Trp	Gly	Lys	Phe	Gly	Ile
[0566]	145					150				155						160
[0567]	Leu	Thr	Leu	Lys	Tyr	Lys	Ser	Ser	His	Thr	Asn	Lys	Arg	Ile	Ile	Leu
[0568]					165					170					175	
[0569]	Leu	Leu	Val	Ala	Gly	Leu	Val	Leu	Thr	Val	Ile	Val	Val	Val	Gly	Ala
[0570]			180						185					190		
[0571]	Ile	Leu	Leu	Ile	Pro	Gly	Glu	Lys	Pro	Val	Lys	Asn	Ala	Ser	Gly	Leu
[0572]			195					200					205			
[0573]	Gly	Leu	Ile	Val	Ile	Ser	Thr	Gly	Ile	Leu	Ile	Leu	Leu	Gln	Tyr	Asn
[0574]		210					215					220				
[0575]	Val	Phe	Met	Thr	Ala	Phe	Gly	Met	Thr	Ser	Phe	Thr	Ile	Ala	Ile	Leu
[0576]	225					230				235						240
[0577]	Ile	Thr	Gln	Val	Leu	Gly	Tyr	Val	Leu	Ala	Leu	Val	Gly	Leu	Cys	Leu
[0578]					245					250					255	
[0579]	Cys	Ile	Met	Ala	Cys	Glu	Pro	Val	His	Gly	Pro	Leu	Leu	Ile	Ser	Gly
[0580]			260						265					270		
[0581]	Leu	Gly	Ile	Ile	Ala	Leu	Ala	Glu	Leu	Leu	Gly	Leu	Val	Tyr	Met	Lys
[0582]			275					280					285			
[0583]	Phe	Val	Ala	Ser	Asn	Gln	Arg	Thr	Ile	Gln	Pro	Pro	Arg	Lys	Ala	Val
[0584]		290					295					300				
[0585]	Glu	Glu	Pro	Leu	Asn	Ala	Phe	Lys	Glu	Ser	Lys	Gly	Met	Met	Asn	Asp
[0586]	305					310					315					320
[0587]	Glu															

[0588]	<210> 9	
[0589]	<211> 5021	
[0590]	<212> DNA	
[0591]	<213> 智人	
[0592]	<400> 9	
[0593]	agtgggagcg cgcggtgcgcg cggccgtgca gcctgggcag tgggtcctgc ctgtgacgcg	60
[0594]	cggcggcgggt cggctcctgcc tgtaacggcg gcggcggtcg ctgctccgga cacctgcggc	120
[0595]	ggcggcggcg accccgcggc gggcgcgag atgtggcccc tggtagcggc gctgttgctg	180
[0596]	ggctcggcgt gctgcggatc agctcagcta ctatttaata aaacaaaatc tgtagaattc	240
[0597]	acgttttgta atgacactgt cgtcattcca tgctttgtta ctaatatgga ggcacaaaac	300
[0598]	actactgaag tatacgtaaa gtggaaatct aaaggaagag atatttacac ctttgatgga	360
[0599]	gctctaaaca agtccactgt cccactgac tttagtagtg caaaaattga agtctcaca	420
[0600]	ttactaaaag gagatgcctc tttgaagatg gataagatg atgctgtctc acacacagga	480
[0601]	aactacactt gtgaagtaac agaattaacc agagaagggt aaacgatcat cgagctaaaa	540
[0602]	tatcgtgttg tttcatggtt ttctccaaat gaaaatattc ttattgttat tttcccaatt	600
[0603]	tttgcatac tcctgttctg gggacagttt ggtattaaaa cacttaaata tagatccggt	660
[0604]	ggtatggatg agaaaacaat tgctttactt gttgctggac tagtgatcac tgtcattgtc	720
[0605]	attgttggag ccattctttt cgtcccaggt gaatattcat taaagaatgc tactggcctt	780
[0606]	ggtttaattg tgacttctac aggatatta atattacttc actactatgt gtttagtaca	840
[0607]	gcgattgat taacctcctt cgtcattgcc atattggta ttcaggatg agcctatc	900
[0608]	ctcgtgtgg ttggactgag tctctgtatt gcggcgtgta taccaatgca tggccctctt	960
[0609]	ctgatttcag gtttgagtat cttagctcta gcacaattac ttggactagt ttatatgaaa	1020
[0610]	tttgtggaat aactgaagtg aagtgatgga ctccgattg gagagtagta agacgtgaaa	1080
[0611]	ggaatacact tgtgtttaag caccatggcc ttgatgattc actgttgggg agaagaaaca	1140
[0612]	agaaaagtaa ctggttgta cctatgagac cttacgtga ttgttagtta agtttttatt	1200
[0613]	caaagcagct gtaatttagt taataaaaata attatgatct atgttgtttg cccaattgag	1260
[0614]	atccagtttt ttgttggtat ttttaataca ttaggggcaa tagtagaatg gacaatttcc	1320
[0615]	agaatgatg ctttcaggt ctagggcct ctggcctcta ggtaaccagt taaattgggt	1380
[0616]	tcagggtgat aactacttag cactgccctg gtgattacc agagatatct atgaaaacca	1440
[0617]	gtggcttcca tcaaacctt gccaaactcag gttcacagca gctttgggca gttatggcag	1500
[0618]	tatggcatta gctgagaggt gtctgccact tctgggtcaa tggaataata aattaagtac	1560
[0619]	aggcaggaat ttggttggga gcatcttgta tgatctccgt atgatgtgat attgatggag	1620
[0620]	atagtgggcc cttctcttg gggttgcat tcccacattc ccccttcaac aaacagtgt	1680
[0621]	acaggtcctt ccagattta gggctacttt attgatggat atgttttctt tttattcaca	1740
[0622]	taacccttg aaacctgtc ttgtcctctt gttacttgct tctgctgtac aagatgtagc	1800
[0623]	acctttctc ctctttgaac atggcttagt gacacgtag caccagtgc aggaaggagc	1860
[0624]	cagacttgtt ctgagagcac tgtgttcaca ctttcagca aaaatagcta tggttgtaac	1920
[0625]	atatgtattc ctttctctg atttgaagc aaaaatctac agtgtttctt cacttctttt	1980
[0626]	ctgatctggg gcatgaaaa agcaagattg aaatttgaac tatgagtctc ctgcatggca	2040
[0627]	acaaaatgtg tgtcaccatc aggccaacag gccagccctt gaatggggat ttattactgt	2100
[0628]	tgtatctatg ttgcatgata aacattcatc accttctctc tgtagtctg cctcgctactc	2160
[0629]	cccttccct atgattgaaa agtaaacaaa accacattt cctatcctgg ttagaagaaa	2220

[0630] attaatgttc tgacagttgt gatcgcttg agtactttta gacttttagc attcgttttt 2280
 [0631] tacctgtttg tggatgtgtg tttgtatgtg catacgtatg agataggcac atgcatcttc 2340
 [0632] tgtatggaca aaggtgggt acctacagga gagcaaaggt taattttgtg ctttttagtaa 2400
 [0633] aaacatttaa atacaaagtt ctttattggg tggaattata tttgatgcaa atatttgatc 2460
 [0634] acttaaaact tttaaaactt ctaggtaatt tgccacgctt tttgactgct caccaatacc 2520
 [0635] ctgtaaaaat acgtaattct tcctgtttgt gtaataagat attcatattt gtagttgcat 2580
 [0636] taataatagt tatttccttag tccatcagat gtcccgctg gccctcttta tgccaaattg 2640
 [0637] attgtcatat ttcatgttg gaccaagtag tttgccatg gcaaacctaa atttatgacc 2700
 [0638] tgctgaggcc tctcagaaaa ctgagcatac tagcaagaca gctcttcttg aaaaaaaaaa 2760
 [0639] tatgtatata caaatatata cgtatatcta tatatacgtg tgtatataca cacatgtata 2820
 [0640] ttcttccttg attgtgtagc tgtccaaaat aataacatat atagaggag ctgtattcct 2880
 [0641] ttatacaaat ctgatggctc ctgcagcact ttttccttct gaaaatattt acattttgct 2940
 [0642] aacctagttt gttactttaa aaatcagttt tgatgaaagg agggaaaagc agatggactt 3000
 [0643] gaaaaagatc caagctccta ttagaaaagg tatgaaaatc tttatagtaa aattttttat 3060
 [0644] aaactaaagt tgtacctttt aatatgtagt aaactctcat ttatttgggg ttcgctcttg 3120
 [0645] gatctcatcc atccattgtg ttctctttaa tgctgctgc cttttgaggc attcactgcc 3180
 [0646] ctagacaatg ccaccagaga tagtggggga aatgccagat gaaaccaact cttgctctca 3240
 [0647] ctagttgtca gcttctctgg ataagtgacc acagaagcag gagtcctcct gcttgggcat 3300
 [0648] cattgggcca gttccttctc tttaaatcag atttgtaatg gctcccaat tccatcacat 3360
 [0649] cacatttaaa ttgcagacag tgttttgcac atcatgtatc tgttttgtcc cataatatgc 3420
 [0650] tttttactcc ctgatcccag tttctgctgt tgactcttcc attcagtttt atttatgtg 3480
 [0651] tgttctcaca gtgacaccat ttgtcctttt ctgcaacaac ctttcagct acttttgcca 3540
 [0652] aattctattt gtcttctcct tcaaaacatt ctctttgca gttcctctc atctgtgtag 3600
 [0653] ctgctctttt gtctcttaac ttaccattcc tatagtactt tatgcatctc tgcttagttc 3660
 [0654] tattagtttt ttggccttgc tcttctcctt gattttaaaa ttcttctat agctagagct 3720
 [0655] tttcttctt tcatctctc ttctgcagt gttttgcata catcagaagc taggtacata 3780
 [0656] agttaaatga ttgagagttg gctgtattta gatttatcac tttttaatag ggtgagcttg 3840
 [0657] agagttttct ttctttctgt tttttttttt tgtttttttt tttttttttt tttttttttt 3900
 [0658] ttttgactaa tttcacatgc tctaaaaacc ttcaaagtg attatttttc tcttgaaac 3960
 [0659] tccaggtcca ttctgtttaa atccctaaga atgtcagaat taaaataaca gggctatccc 4020
 [0660] gtaattggaa atatttcttt tttcaggatg ctatagtcaa tttagtaagt gaccaccaa 4080
 [0661] ttgttatttg cactaacaaa gctcaaaaca cgataagttt actcctccat ctgagtaata 4140
 [0662] aaaattaagc tgtaatcaac cttctaggtt tctcttgtct taaaatgggt attcaaaaat 4200
 [0663] ggggatctgt ggtgtatgta tggaacaca tactccttaa tttacctgtt gttgaaact 4260
 [0664] ggagaaatga ttgtcgggca accgtttatt ttttattgta ttttatttgg ttgagggatt 4320
 [0665] tttttataaa cagttttact tgtgtcatat tttaaaatta ctaactgcc tccactgctg 4380
 [0666] gggctccttg ttaggtcatt tttagtgact aatagggata atccaggtaa ctttgaagag 4440
 [0667] atgagcagtg agtgaccagg cagtttttct gcccttagct ttgacagttc ttaattaaga 4500
 [0668] tcatgaaga ccagcttct cataaatttc tctttttgaa aaaaagaaag catttgtact 4560
 [0669] aagctcctct gtaagacaac atcttaaact ttaaaagtgt tgttatcatg actggtgaga 4620
 [0670] gaagaaaaca tttgttttt attaaatgga gcattattta caaaaagcca ttgttgagaa 4680
 [0671] ttagatccca catcgataa atatctatta accattctaa ataaagagaa ctccagtgtt 4740

[0672] gctatgtgca agatcctctc ttggagcttt tttgcatagc aattaaaggt gtgctatttg 4800
 [0673] tcagtagcca tttttttgca gtgatttgaa gaccaaagtt gttttacagc tgtgttaccg 4860
 [0674] ttaaagggttt ttttttttat atgtattaaa tcaatttatac actgtttaaa gctttgaata 4920
 [0675] tctgcaatct ttgccaaggt acttttttat ttaaaaaaaaa acataacttt gtaaataatta 4980
 [0676] ccctgtaata ttatatatac ttaataaaac attttaagct a 5021
 [0677] <210> 10
 [0678] <211> 293
 [0679] <212> PRT
 [0680] <213> 智人
 [0681] <400> 10
 [0682] Met Trp Pro Leu Val Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Ala Cys Cys Gly
 [0683] 1 5 10 15
 [0684] Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe
 [0685] 20 25 30
 [0686] Cys Asn Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala
 [0687] 35 40 45
 [0688] Gln Asn Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp
 [0689] 50 55 60
 [0690] Ile Tyr Thr Phe Asp Gly Ala Leu Asn Lys Ser Thr Val Pro Thr Asp
 [0691] 65 70 75 80
 [0692] Phe Ser Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala
 [0693] 85 90 95
 [0694] Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr
 [0695] 100 105 110
 [0696] Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu
 [0697] 115 120 125
 [0698] Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu
 [0699] 130 135 140
 [0700] Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe
 [0701] 145 150 155 160
 [0702] Gly Ile Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr
 [0703] 165 170 175
 [0704] Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val
 [0705] 180 185 190
 [0706] Gly Ala Ile Leu Phe Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala Thr
 [0707] 195 200 205
 [0708] Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His
 [0709] 210 215 220
 [0710] Tyr Tyr Val Phe Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr Ser Phe Val Ile Ala
 [0711] 225 230 235 240
 [0712] Ile Leu Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu
 [0713] 245 250 255

[0714]	Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile	
[0715]	260	265 270
[0716]	Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr	
[0717]	275	280 285
[0718]	Met Lys Phe Val Glu	
[0719]	290	
[0720]	<210> 11	
[0721]	<211> 5288	
[0722]	<212> DNA	
[0723]	<213> 智人	
[0724]	<400> 11	
[0725]	ggggagcagg cgggggagcg ggcgggaagc agtgggagcg cgcgtgcgcg cggccgtgca	60
[0726]	gcctgggcag tgggtcctgc ctgtgacgcg cggcgcgcggt cggtcctgcc tgtaacggcg	120
[0727]	gcggcggctg ctgctccaga cacctgcggc ggcggcgcgcg accccgcggc gggcgcgagg	180
[0728]	atgtggcccc tggtagcggc gctgttgctg ggctcggcgt gctgcggatc agctcagcta	240
[0729]	ctatttaata aaacaaaatc tgtagaattc acgttttgta atgacactgt cgtcattcca	300
[0730]	tgctttgtta ctaatatgga ggcacaaaac actactgaag tatacgtaaa gtggaaattt	360
[0731]	aaaggaagag atatttacac ctttgatgga gctctaaaca agtccactgt cccactgac	420
[0732]	tttagtagtg caaaaattga agtctcacia ttactaaaag gagatgcctc tttgaagatg	480
[0733]	gataagagtg atgctgtctc acacacagga aactacactt gtgaagtaac agaattaacc	540
[0734]	agagaagggtg aaacgatcat cgagctaaaa tatcgtgttg tttcatggtt ttctccaaat	600
[0735]	gaaaatattc ttattgttat tttcccaatt tttgtatac tcctgttctg gggacagttt	660
[0736]	ggtattaaaa cacttaata tagatccggt ggtatggatg agaaaacaat tgctttactt	720
[0737]	gttctgggac tagtgatcac tgtcattgtc attgttggag ccattccttt cgtcccagg	780
[0738]	gaatattcat taaagaatgc tactggcctt ggtttaattg tgacttctac agggatatta	840
[0739]	atattacttc actactatgt gtttagtaca gcgattggat taacctcctt cgtcattgcc	900
[0740]	atattgggta ttcaggatgat agcctatata ctcgctgtgg ttggactgag tctctgtatt	960
[0741]	gcggcgtgta taccaatgca tggccctctt ctgatttcag gtttgagtat cttagctcta	1020
[0742]	gcacaattac ttggactagt ttatatgaaa tttgtggctt ccaatcagaa gactatacaa	1080
[0743]	cctcctagga ataactgaag tgaagtgatg gactccgatt tggagagtag taagacgtga	1140
[0744]	aaggaataca cttgtgttta agcaccatgg ctttgatgat tcaactgttg ggagaagaaa	1200
[0745]	caagaaaagt aactggttgt cacctatgag acccttacgt gattgttagt taagttttta	1260
[0746]	ttcaaagcag ctgtaattta gtttaataaaa taattatgat ctatgttgtt tgcccaattg	1320
[0747]	agatccagtt ttttgttgtt atttttaatc aattaggggc aatagtagaa tggacaattt	1380
[0748]	ccaagaatga tgcctttcag gtcctagggc ctctggcctc taggtaacca gtttaaatg	1440
[0749]	gttcagggtg ataactactt agcactgccc tgggtgattac ccagagatat ctatgaaaac	1500
[0750]	cagtggcttc catcaaacct ttgccaaact aggttcacag cagctttggg cagttatggc	1560
[0751]	agtatggcat tagctgagag gtgtctgcca cttctgggtc aatggaataa taaattaagt	1620
[0752]	acaggcagga atttggttgg gagcatcttg tatgatctcc gtatgatgtg atattgatgg	1680
[0753]	agatagtggc cctcattctt gggggttgcc attccacat tcccccttca acaaacagt	1740
[0754]	taacagggtc ttcccagatt tagggactt ttattgatgg atatgttttc cttttattca	1800
[0755]	cataaccctc tgaaaccctg tcttgtcctc ctgttacttg cttctgctgt acaagatgta	1860

[0756]	gcaccttttc	tcctctttga	acatggtcta	gtgacacggt	agcaccagtt	gcaggaagga	1920
[0757]	gccagacttg	ttctcagagc	actgtgttca	cacttttcag	caaaaatagc	tatggttgta	1980
[0758]	acatatgtat	tccttctctc	tgatttgaag	gcaaaaatct	acagtgtttc	ttcacttctt	2040
[0759]	ttctgatctg	gggcatgaaa	aaagcaagat	tgaaatttga	actatgagtc	tcctgcatgg	2100
[0760]	caacaaaatg	tgtgtcacca	tcaggccaac	aggccagccc	ttgaatgggg	atttattact	2160
[0761]	gttgatctta	tgttgcatga	taaacattca	tcaccttcct	cctgtagtcc	tgccctgtac	2220
[0762]	tccccttccc	ctatgattga	aaagtaaaca	aaaccacat	ttcctatcct	ggttagaaga	2280
[0763]	aaattaatgt	tctgacagtt	gtgatcgctt	ggagtacttt	tagactttta	gcattcgttt	2340
[0764]	tttacctgtt	tgtggatgtg	tgtttgtatg	tgcatcacga	tgagataggc	acatgcatct	2400
[0765]	tctgtatgga	caaaggtggg	gtacctacag	gagagcaaag	gttaattttg	tgcttttagt	2460
[0766]	aaaaacattt	aaatacaaag	ttctttattg	ggtggaatta	tatttgatgc	aaatatattg	2520
[0767]	tcacttaaaa	cttttaaaac	ttctaggtaa	tttgccacgc	tttttgactg	ctcaccaata	2580
[0768]	ccctgtaaaa	atacgtaatt	cttctgtttt	gtgtaataag	atattcataat	ttgtagttgc	2640
[0769]	attaataata	gttatttctt	agtccatcag	atgttcccg	gtgcctcttt	tatgccaaat	2700
[0770]	tgattgtcat	atttcatgtt	gggaccaagt	agtttgccca	tggaacacct	aaatttatga	2760
[0771]	cctgctgagg	cctctcagaa	aactgagcat	actagcaaga	cagctcttct	tgaaaaaaaaa	2820
[0772]	aatatgtata	cacaaatata	tacgtatata	tatatatacg	tatgtatata	cacacatgta	2880
[0773]	tattcttctt	tgattgtgta	gctgtccaaa	ataataacat	atatagaggg	agctgtattc	2940
[0774]	ctttatacaa	atctgatggc	tcctgcagca	ctttttcctt	ctgaaaatat	ttacattttg	3000
[0775]	ctaacctagt	ttgttacttt	aaaaatcagt	tttgatgaaa	ggagggaata	gcagatggac	3060
[0776]	ttgaaaaaga	tccaagctcc	tattagaaaa	ggtatgaaaa	tctttatagt	aaaatttttt	3120
[0777]	ataaactaaa	gttgtagctt	ttaatatgta	gtaaaccttc	atttatttgg	ggttcgtctt	3180
[0778]	tggatctcat	ccatccattg	tgttctcttt	aatgctgcct	gccttttgag	gcattcactg	3240
[0779]	ccctagacaa	tgccaccaga	gatagtgggg	gaaatgccag	atgaaaccaa	ctcttgctct	3300
[0780]	cactagtgtg	cagcttctct	ggataagtga	ccacagaagc	aggagtccct	ctgcttgggc	3360
[0781]	atcattgggc	cagttccttc	tctttaaatc	agatttgtaa	tggctcccaa	attccatcac	3420
[0782]	atcacattta	aattgcagac	agtgttttgc	acatcatgta	tctgttttgc	cccataatat	3480
[0783]	gctttttact	ccctgatccc	agtttctgct	gttgactctt	ccattcagtt	ttattttattg	3540
[0784]	tgtgttctca	cagtgcaccc	atttgcctt	ttctgcaaca	acctttccag	ctacttttgc	3600
[0785]	caaattctat	ttgtcttctc	cttcaaaaca	ttctcctttg	cagttcctct	tcattctgtgt	3660
[0786]	agctgctctt	ttgtctctta	acttaccatt	cctatagtac	tttatgcac	tctgcttagt	3720
[0787]	tctattagtt	ttttggcctt	gctcttctcc	ttgattttaa	aattccttct	atagctagag	3780
[0788]	cttttctttc	tttcattctc	tcttctgca	gtgttttgca	tacatcagaa	gctaggtaca	3840
[0789]	taagttaaat	gattgagagt	tggctgtatt	tagattttatc	actttttaat	agggtgagct	3900
[0790]	tgagagtttt	ctttcttctt	gttttttttt	tttgtttttt	tttttttttt	tttttttttt	3960
[0791]	ttttttgact	aatttcacat	gctctaaaaa	ccttcaaagg	tgattatttt	tctcctggaa	4020
[0792]	actccaggtc	cattctgttt	aaatccctaa	gaatgtcaga	attaaaataa	cagggtctatc	4080
[0793]	ccgtaattgg	aaatatctct	tttttcagga	tgctatagtc	aatttagtaa	gtgaccacca	4140
[0794]	aattgttatt	tgactaaca	aagctcaaaa	cacgataagt	ttactcctcc	atctcagtaa	4200
[0795]	taaaaattaa	gctgtaatca	accttctagg	tttctcttgt	cttaaaatgg	gtattcaaaa	4260
[0796]	atggggatct	gtgggtgatg	tatggaaaca	catactcctt	aattttacctg	ttgttggaata	4320
[0797]	ctggagaaat	gattgtcggg	caaccgttta	ttttttattg	tattttattt	ggttgaggga	4380

[0798] tttttttata aacagtttta cttgtgtcat attttaaaat tactaactgc catcacctgc 4440
 [0799] tggggtcctt tgtaggtca ttttcagtga ctaataggga taatccaggt aactttgaag 4500
 [0800] agatgagcag tgagtacca ggcagttttt ctgccttttag ctttgacagt tcttaattaa 4560
 [0801] gatcattgaa gaccagcttt ctcataaatt tctctttttg aaaaaaagaa agcatttgta 4620
 [0802] ctaagctcct ctgtaagaca acatcttaaa tcttaaaagt gttgttatca tgactggtga 4680
 [0803] gagaagaaaa cattttgttt ttattaaatg gagcattatt tacaaaaagc cattgttgag 4740
 [0804] aattagatcc cacatcgat aaatatctat taaccattct aaataaagag aactccagt 4800
 [0805] ttgctatgtg caagatcctc tcttgagct tttttgcata gcaattaaag gtgtgctatt 4860
 [0806] tgtcagtagc catttttttg cagtgatttg aagaccaaag ttgttttaca gctgtgttac 4920
 [0807] cgtaaaggt tttttttttt atatgtatta aatcaattta tcaactgtta aagctttgaa 4980
 [0808] tatctgcaat ctttgccaag gtactttttt atttaaaaaa aaacataact ttgtaaatat 5040
 [0809] taccctgtaa tattatata acttaataaa acattttaag ctattttgtt gggctatttc 5100
 [0810] tattgtgct acagcagacc acaagcacat ttctgaaaaa tttaatttat taatgtattt 5160
 [0811] ttaagttgct tatattctag gtaacaatgt aaagaatgat ttaaaatatt aattatgaat 5220
 [0812] tttttgagta taatacccaa taagctttta attagagcag agttttaatt aaaagtttta 5280
 [0813] aatcagtc 5288
 [0814] <210> 12
 [0815] <211> 305
 [0816] <212> PRT
 [0817] <213> 智人
 [0818] <400> 12
 [0819] Met Trp Pro Leu Val Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Ala Cys Cys Gly
 [0820] 1 5 10 15
 [0821] Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe
 [0822] 20 25 30
 [0823] Cys Asn Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala
 [0824] 35 40 45
 [0825] Gln Asn Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp
 [0826] 50 55 60
 [0827] Ile Tyr Thr Phe Asp Gly Ala Leu Asn Lys Ser Thr Val Pro Thr Asp
 [0828] 65 70 75 80
 [0829] Phe Ser Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala
 [0830] 85 90 95
 [0831] Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr
 [0832] 100 105 110
 [0833] Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu
 [0834] 115 120 125
 [0835] Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu
 [0836] 130 135 140
 [0837] Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe
 [0838] 145 150 155 160
 [0839] Gly Ile Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr

[0840]	165	170	175
[0841]	Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val		
[0842]	180	185	190
[0843]	Gly Ala Ile Leu Phe Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala Thr		
[0844]	195	200	205
[0845]	Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His		
[0846]	210	215	220
[0847]	Tyr Tyr Val Phe Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr Ser Phe Val Ile Ala		
[0848]	225	230	235
[0849]	Ile Leu Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu		
[0850]	245	250	255
[0851]	Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile		
[0852]	260	265	270
[0853]	Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr		
[0854]	275	280	285
[0855]	Met Lys Phe Val Ala Ser Asn Gln Lys Thr Ile Gln Pro Pro Arg Asn		
[0856]	290	295	300
[0857]	Asn		
[0858]	305		
[0859]	<210> 13		
[0860]	<211> 5078		
[0861]	<212> DNA		
[0862]	<213> 智人		
[0863]	<400> 13		
[0864]	agtgggagcg cgcgtgcgcg cggccgtgca gcctgggcag tgggtcctgc ctgtgacgcg	60	
[0865]	cggcggcggt cggctctgcc tgtaacggcg gcggcggctg ctgctccgga cacctgcggc	120	
[0866]	ggcggcggcg accccgcggc gggcgcgag atgtggcccc tggtagcggc gctgttgctg	180	
[0867]	ggctcggcgt gctgcggatc agctcagcta ctatttaata aaacaaaatc tgtagaattc	240	
[0868]	acgttttgta atgacactgt cgtcattcca tgctttgtta ctaatatgga ggcacaaaac	300	
[0869]	actactgaag tatacgtaaa gtggaaatth aaaggaagag atatttacac ctttgatgga	360	
[0870]	gctctaaaca agtccactgt cccactgac tttagtagtg caaaaattga agtctcacia	420	
[0871]	ttactaaaag gagatgcctc tttgaagatg gataagagtg atgctgtctc acacacagga	480	
[0872]	aactacactt gtgaagtaac agaattaacc agagaagggtg aaacgatcat cgagctaaaa	540	
[0873]	tatcgtgttg tttcatggtt ttctccaaat gaaaatattc ttattgttat ttcccaatt	600	
[0874]	tttgctatac tcctgttctg gggacagttt ggtattaaaa cacttaaata tagatccggt	660	
[0875]	ggtatggatg agaaaacaat tgctttactt gttgctggac tagtgatcac tgtcattgtc	720	
[0876]	attgttgtag ccattctttt cgtcccagggt gaattattcat taaagaatgc tactggcctt	780	
[0877]	ggtttaattg tgacttctac agggatatta atattacttc actactatgt gtttagtaca	840	
[0878]	gcgattgatg taacctcctt cgtcattgcc atattgggtta ttcagggtgat agcctatatc	900	
[0879]	ctcgtgtggg ttggactgag tctctgtatt gcggcgtgta taccaatgca tggccctctt	960	
[0880]	ctgatttcag gtttgagtat cttagctcta gcacaattac ttggactagt ttatatgaaa	1020	
[0881]	tttgtggcct ccaatcagaa gactatacaa cctcctagga aagctgtaga ggaaccctt	1080	

[0882]	aatgaataac tgaagtgaag tgatggactc cgatttggag agtagtaaga cgtgaaagga	1140
[0883]	atacacttgt gtttaagcac catggccttg atgattcact gttggggaga agaaacaaga	1200
[0884]	aaagtaactg gttgtcacct atgagaccct tacgtgattg ttagttaagt ttttattcaa	1260
[0885]	agcagctgta atttagttaa taaaataatt atgatctatg ttgtttgccc aattgagatc	1320
[0886]	cagttttttg ttgttatttt taatcaatta ggggcaatag tagaatggac aatttccaag	1380
[0887]	aatgatgcct ttcaggtcct agggcctctg gcctctaggt aaccagttaa aattggttca	1440
[0888]	gggtgataac tacttagcac tgccctgggtg attaccaga gatatctatg aaaaccagtg	1500
[0889]	gcttccatca aacctttgcc aactcaggtt cacagcagct ttgggcagtt atggcagtat	1560
[0890]	ggcattagct gagaggtgtc tgccacttct ggggtcaatgg aataataaat taagtacagg	1620
[0891]	caggaatttg gttgggagca tcttgatga tctccgtatg atgtgatatt gatggagata	1680
[0892]	gtggtcctca ttcttggggg ttgccattcc cacattcccc cttcaacaaa cagtgtaca	1740
[0893]	ggtccttccc agatttaggg tacttttatt gatggatatg ttttctttt attcacataa	1800
[0894]	ccccgtgaaa ccctgtcttg tctcctgtt acttgcttct gctgtacaag atgtagcacc	1860
[0895]	ttttctctc tttgaacatg gtctagtac acggtagcac cagttgcagg aaggagccag	1920
[0896]	acttgttctc agagcactgt gttcacactt ttcagcaaaa atagctatgg ttgtaacata	1980
[0897]	tgtattccct tctctgatt tgaaggcaaa aatctacagt gtttcttcac ttcttttctg	2040
[0898]	atctggggca tgaaaaaagc aagattgaaa tttgaactat gagtctcctg catggcaaca	2100
[0899]	aaatgtgtgt caccatcagg ccaacaggcc agcccttgaa tggggattta ttactgttgt	2160
[0900]	atctatgttg catgataaac attcatcacc ttctcctgt agtcctgcct cgtactcccc	2220
[0901]	ttccccatg attgaaaagt aaacaaaacc cacatttcct atcctggta gaagaaaatt	2280
[0902]	aatgttctga cagttgtgat cgctggagt acttttagac ttttagcatt cgttttttac	2340
[0903]	ctgtttgtgg atgtgtgtt gtatgtgat acgtatgaga taggcacatg catcttctgt	2400
[0904]	atggacaaag gtggggtagc tacaggagag caaaggtaa ttttgtgctt ttagtaaaaa	2460
[0905]	catttaaata caaagtctt tattgggttg aattatattt gatgcaata tttgatcact	2520
[0906]	taaaactttt aaaacttcta ggtaatttgc cacgctttt gactgtcac caataccctg	2580
[0907]	taaaaatacg taattcttcc tgtttgtgta ataagatatt catatttgta gttgcattaa	2640
[0908]	taatagtatt ttcttagtcc atcagatgtt cccgtgtgcc tcttttatgc caaattgatt	2700
[0909]	gtcatatttc atgttgggac caagtagttt gcccatggca aacctaaatt tatgacctgc	2760
[0910]	tgaggcctct cagaaaactg agcatactag caagacagct cttcttgaaa aaaaaatat	2820
[0911]	gtatacaca atatatagc atatctatat atacgtatg atatacacac atgtatattc	2880
[0912]	ttccttgatt gtgtagctgt ccaaaataat aacatatata gagggagctg tattccttta	2940
[0913]	tacaaatctg atggctcctg cagcactttt tcttctgaa aatatttaca ttttgctaac	3000
[0914]	ctagtttggt actttaaaaa tcagttttga tgaaaggagg gaaaagcaga tggacttgaa	3060
[0915]	aaagatccaa gtcctatta gaaaaggat gaaaatctt atagtaaaat tttttataaa	3120
[0916]	ctaaagtgtg accttttaat atgtagtaaa ctctcattta tttggggttc gctcttgat	3180
[0917]	ctcatccatc cattgtgttc tctttaatgc tgccctgcct ttgaggcatt cactgcccta	3240
[0918]	gacaatgcca ccagagatag tgggggaaat gccagatgaa accaactctt gctctcacta	3300
[0919]	gttgtcagct tctctggata agtgaccaca gaagcaggag tctctctgct tgggcatcat	3360
[0920]	tgggccagtt cttctctttt aaatcagatt tgtaatggct cccaaattcc atcacatcac	3420
[0921]	atttaaattg cagacagtgt tttgcacatc atgtatctgt tttgtcccat aatatgcttt	3480
[0922]	ttactccctg atcccagttt ctgctgttga ctcttcatt cagttttatt tattgtgtgt	3540
[0923]	tctcacagtg acaccatttg tcttttctg caacaacctt tccagctact tttgccaaat	3600

[0924]	tctatttgtc ttctccttca aaacattctc ctttgcagtt cctcttcac tgtgtagctg	3660
[0925]	ctcttttgtc tcttaactta ccattcctat agtactttat gcatctctgc ttagttctat	3720
[0926]	tagttttttg gccttgcctc tctccttgat tttaaaattc cttctatagc tagagctttt	3780
[0927]	ctttctttca ttctctcttc ctgcagtgtt ttgcatacat cagaagctag gtacataagt	3840
[0928]	taaatgattg agagttggct gtatttagat ttatcacttt ttaatagggt gagcttgaga	3900
[0929]	gttttctttc tttctgtttt ttttttttgt tttttttttt tttttttttt tttttttttt	3960
[0930]	tgactaattt cacatgctct aaaaaccttc aaaggtgatt atttttctcc tggaaactcc	4020
[0931]	aggtccattc tgtttaaatc cctaagaatg tcagaattaa aataacaggg ctatcccgtg	4080
[0932]	attggaaata tttctttttt caggatgcta tagtcaattt agtaagtgcac caccaaattg	4140
[0933]	ttatttgcac taacaaagct caaaacacga taagtttact cctccatctc agtaataaaa	4200
[0934]	attaagctgt aatcaacctt ctaggtttct cttgtcttaa aatgggtatt caaaaatggg	4260
[0935]	gatctgtggt gtatgtatgg aaacacatac tccttaattt acctgttgtt ggaaactgga	4320
[0936]	gaaatgattg tcgggcaacc gtttattttt tattgtattt tatttggttg agggattttt	4380
[0937]	ttataaacag ttttacttgt gtcataattt aaaattacta actgccatca cctgctgggg	4440
[0938]	tcctttgtta ggctattttc agtgactaat agggataatc caggtaactt tgaagagatg	4500
[0939]	agcagtgagt gaccaggcag tttttctgcc tttagctttg acagttctta attaagatca	4560
[0940]	ttgaagacca gctttctcat aaatttctct ttttgaaaaa aagaaagcat ttgtactaag	4620
[0941]	ctcctctgta agacaacatc ttaaacttta aaagtgttgt tatcatgact ggtgagagaa	4680
[0942]	gaaaacattt tgtttttatt aaatggagca ttatttacia aaagccattg ttgagaatta	4740
[0943]	gatcccacat cgtataaata tctattaacc attctaaata aagagaactc cagtgttgct	4800
[0944]	atgtgaaga tcctctcttg gagctttttt gcatagcaat taaaggtgtg ctatttgcga	4860
[0945]	gtagccattt ttttgcagtg atttgaagac caaagttgtt ttacagctgt gttaccgtta	4920
[0946]	aaggtttttt tttttatatg tattaaatca atttatcact gtttaaagct ttgaatatct	4980
[0947]	gcaatctttg ccaaggtact tttttattta aaaaaaaca taactttgta aatattacc	5040
[0948]	tgtaatatata tatatactta ataaaacatt ttaagcta	5078
[0949]	<210> 14	
[0950]	<211> 312	
[0951]	<212> PRT	
[0952]	<213> 智人	
[0953]	<400> 14	
[0954]	Met Trp Pro Leu Val Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Ala Cys Cys Gly	
[0955]	1 5 10 15	
[0956]	Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe	
[0957]	20 25 30	
[0958]	Cys Asn Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala	
[0959]	35 40 45	
[0960]	Gln Asn Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp	
[0961]	50 55 60	
[0962]	Ile Tyr Thr Phe Asp Gly Ala Leu Asn Lys Ser Thr Val Pro Thr Asp	
[0963]	65 70 75 80	
[0964]	Phe Ser Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala	
[0965]	85 90 95	

[0966]	Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr	
[0967]	100	105 110
[0968]	Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu	
[0969]	115	120 125
[0970]	Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu	
[0971]	130	135 140
[0972]	Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe	
[0973]	145	150 155 160
[0974]	Gly Ile Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr	
[0975]	165	170 175
[0976]	Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val	
[0977]	180	185 190
[0978]	Gly Ala Ile Leu Phe Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala Thr	
[0979]	195	200 205
[0980]	Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His	
[0981]	210	215 220
[0982]	Tyr Tyr Val Phe Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr Ser Phe Val Ile Ala	
[0983]	225	230 235 240
[0984]	Ile Leu Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu	
[0985]	245	250 255
[0986]	Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile	
[0987]	260	265 270
[0988]	Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr	
[0989]	275	280 285
[0990]	Met Lys Phe Val Ala Ser Asn Gln Lys Thr Ile Gln Pro Pro Arg Lys	
[0991]	290	295 300
[0992]	Ala Val Glu Glu Pro Leu Asn Glu	
[0993]	305	310
[0994]	<210> 15	
[0995]	<211> 5346	
[0996]	<212> DNA	
[0997]	<213> 智人	
[0998]	<400> 15	
[0999]	ggggagcagg cgggggagcg ggcgggaagc agtgggagcg cgcgtgcgcg cggccgtgca	60
[1000]	gcctgggcag tgggtcctgc ctgtgacgcg cggcggcggt cggtcctgcc tgtaacggcg	120
[1001]	gcggcggctg ctgctccaga cacctgcggc ggcgggcgcg accccgcggc gggcgcgag	180
[1002]	atgtggcccc tggtagcggc gctgttgctg ggctcggcgt gctgcggatc agctcagcta	240
[1003]	ctatttaata aaacaaaatc tgtagaatc acgttttgta atgacactgt cgtcattcca	300
[1004]	tgctttgtta ctaatatgga ggcacaaaac actactgaag tatacgtaaa gtggaaattt	360
[1005]	aaaggaagag atatttacac ctttgatgga gctctaaaca agtccactgt cccactgac	420
[1006]	tttagtagtg caaaaattga agtctcacia ttactaaaag gagatgcctc ttggaagatg	480
[1007]	gataagagtg atgctgtctc acacacagga aactacactt gtgaagtaac agaattaacc	540

[1008]	agagaaggtg aaacgatcat cgagctaaaa tatkgtgttg ttcatggtt ttctccaaat	600
[1009]	gaaaatattc ttattgttat ttcccaatt ttgctatac tcctgttctg gggacagttt	660
[1010]	ggtattaaaa cacttaaata tagatccggt ggtatggatg agaaaacaat tgctttactt	720
[1011]	gttgctggac tagtgatcac tgtcattgtc attgttgag ccattctttt cgtcccaggt	780
[1012]	gaatattcat taaagaatgc tactggcctt ggtttaattg tgacttctac agggatatta	840
[1013]	atattacttc actactatgt gtttagtaca gcgattggat taacctcctt cgtcattgcc	900
[1014]	atattggtta ttcaggatgat agcctatata ctcgctgttg ttggactgag tctctgtatt	960
[1015]	gcggcgtgta taccaatgca tggccctctt ctgatttcag gtttgagtat cttagctcta	1020
[1016]	gcacaattac ttggactagt ttatatgaaa ttgtggcctt ccaatcagaa gactatacaa	1080
[1017]	cctcctagga aagctgtaga ggaacccctt aatgcattca aagaatcaaa aggaatgatg	1140
[1018]	aatgatgaat aactgaagtg aagtatgga ctccgatttg gagagtagta agacgtgaaa	1200
[1019]	ggaatacact tgtgtttaag caccatggcc ttgatgattc actgttgggg agaagaaaca	1260
[1020]	agaaaagtaa ctggttgta cctatgagac cttacgtga ttgttagtta agtttttatt	1320
[1021]	caaagcagct gtaatttagt taataaaata attatgatct atgttggttg cccaattgag	1380
[1022]	atccagtttt ttgttgttat ttttaataca ttaggggcaa tagtagaatg gacaatttcc	1440
[1023]	aagaatgatg ctttcaggt ctagggcct ctggcctcta ggtaaccagt taaattgggt	1500
[1024]	tcagggtgat aactacttag cactgccctg gtgattacc agagatatct atgaaaacca	1560
[1025]	gtggcttcca tcaaaccttt gccaaactcag gttcacagca gctttgggca gttatggcag	1620
[1026]	tatggcatta gctgagaggt gtctgccact tctgggtcaa tggaataata aattaagtac	1680
[1027]	aggcaggaat ttggttggga gcatcttgta tgatctccgt atgatgtgat attgatggag	1740
[1028]	atagtgttcc tcattcttgg gggttgccat tcccacattc ccccttcaac aaacagtgt	1800
[1029]	acaggtcctt cccagattta gggtactttt attgatggat atgttttcct ttattcaca	1860
[1030]	taacccttg aaacctgtc ttgtcctcct gttacttgct tctgctgtac aagatgtagc	1920
[1031]	accttttctc ctcttgaac atggtctagt gacacggtag caccagttgc aggaaggagc	1980
[1032]	cagacttggt ctcagagcac tgtgttcaca ctttcagca aaaatagcta tggttgtaac	2040
[1033]	atatgtattc ctttcctctg atttgaaggc aaaaatctac agtgtttctt cacttctttt	2100
[1034]	ctgatctggg gcatgaaaaa agcaagattg aaatttgaac tatgagtctc ctgcatggca	2160
[1035]	acaaaatgtg tgtcaccatc aggccaacag gccagccctt gaatggggat ttattactgt	2220
[1036]	tgtatctatg ttgcatgata aacattcatc accttctcc ttagtctctg cctctactc	2280
[1037]	cccttccct atgattgaaa agtaaacaaa acccacattt cctatcctgg ttagaagaaa	2340
[1038]	attaatgttc tgacagtgtg gatcgcttg agtactttta gacttttagc attcgttttt	2400
[1039]	tacctgttg tggatgtgtg ttgtatgtg catacgtatg agataggcac atgcatcttc	2460
[1040]	tgtatggaca aagggtgggt acctacagga gagcaaagg taattttgtg cttttagtaa	2520
[1041]	aaacatttaa atacaaagt ctttattggg tggaattata ttgatgcaa atatttgatc	2580
[1042]	acttaaaact tttaaaact ctaggtaatt tgccacgctt ttgactgct caccaatacc	2640
[1043]	ctgtaaaaat acgtaattct tcctgttgt gtaataagat attcatattt gtagttgcat	2700
[1044]	taataatagt tatttcttag tccatcagat gttccctgt gcctctttta tgccaaattg	2760
[1045]	attgtcatat ttcatgttg gaccaagtag ttgccccatg gcaaacctaa atttatgacc	2820
[1046]	tgctgaggcc tctcagaaaa ctgagcatac tagcaagaca gctcttcttg aaaaaaaaa	2880
[1047]	tatgtataca caaatatata cgtatatcta tatatacgta tgtatataca cacatgtata	2940
[1048]	ttcttccttg attgtgtagc tgtccaaaat aataacatat atagaggag ctgtattcct	3000
[1049]	ttatacaaat ctgatggctc ctgcagcact ttttcttct gaaaatattt acattttgct	3060

[1050]	aacctagttt gttactttaa aaatcagttt tgatgaaagg agggaaaagc agatggactt	3120
[1051]	gaaaaagatc caagctccta ttagaaaagg tatgaaaatc tttatagtaa aattttttat	3180
[1052]	aaactaaagt tgtacctttt aatatgtagt aaactctcat ttatttgggg ttgcctcttg	3240
[1053]	gatctcatcc atccattgtg ttctctttaa tgctgcctgc cttttgaggc attcactgcc	3300
[1054]	ctagacaatg ccaccagaga tagtggggga aatgccagat gaaaccaact cttgctctca	3360
[1055]	ctagttgtca gcttctctgg ataagtgacc acagaagcag gagtcctcct gcttgggcat	3420
[1056]	cattgggcca gttccttctc tttaaatcag atttgtaatg gctcccaat tccatcacat	3480
[1057]	cacatttaaa ttgcagacag tgttttgcac atcatgtatc tgttttgtcc cataatatgc	3540
[1058]	tttttactcc ctgatcccag tttctgctgt tgactcttcc attcagtttt atttattgtg	3600
[1059]	tgttctcaca gtgacaccat ttgtcctttt ctgcaacaac ctttcagct acttttgcca	3660
[1060]	aattctattt gtcttctcct tcaaaacatt ctcttttga gttcctcttc atctgtgtag	3720
[1061]	ctgctctttt gtctcttaac ttaccattcc tatagtactt tatgcatctc tgcttagttc	3780
[1062]	tattagtttt ttggccttgc tcttctcctt gattttaaaa ttcttctat agctagagct	3840
[1063]	ttcttttctt tcattctctc ttctgcagt gttttgcata catcagaagc taggtacata	3900
[1064]	agttaaatga ttgagagttg gctgtattta gatttatcac tttttaatag ggtgagcttg	3960
[1065]	agagttttct ttctttctgt tttttttttt tgtttttttt tttttttttt tttttttttt	4020
[1066]	ttttgactaa tttcacatgc tctaaaaacc ttcaaagggt attatttttc tcttgaaac	4080
[1067]	tccaggtcca ttctgtttaa atccctaaga atgtcagaat taaaataaca gggctatccc	4140
[1068]	gtaattggaa atatttcttt tttcaggatg ctatagtcaa tttagtaagt gaccaccaa	4200
[1069]	ttgttatattg cactaacaaa gctcaaaaca cgataagttt actcctccat ctcaagtaata	4260
[1070]	aaaattaagc tgtaatcaac cttctaggtt tctcttgtct taaaatgggt attcaaaaat	4320
[1071]	ggggatctgt ggtgtatgta tggaacaca tactccttaa tttacctgtt gttggaaact	4380
[1072]	ggagaaatga ttgtcgggca accgtttatt ttttattgta ttttatttgg ttgagggt	4440
[1073]	ttttataaaa cagttttact tgtgtcatat tttaaaatta ctaactgcca tcacctgtg	4500
[1074]	gggtcctttg ttaggtcatt ttcatgact aataggata atccaggtaa ctttgaagag	4560
[1075]	atgagcagtg agtgaccagg cagtttttct gccttttagct ttgacagttc ttaattaaga	4620
[1076]	tcattgaaga ccagctttct cataaatttc tctttttgaa aaaaagaaag catttgtact	4680
[1077]	aagtcctct gtaagacaac atcttaaatc ttaaaagtgt tgttatcatg actggtgaga	4740
[1078]	gaagaaaaca tttgttttt attaaatgga gcattattta caaaaagcca ttgttgagaa	4800
[1079]	ttagatccca catcgataa atatctatta accattctaa ataaagagaa ctccagtgtt	4860
[1080]	gctatgtgca agatctctc ttggagcttt tttgcatagc aattaaaggt gtgctatttg	4920
[1081]	tcagtagcca tttttttgca gtgatttgaa gaccaaagtt gttttacagc tgtgttaccg	4980
[1082]	ttaaaggttt ttttttttat atgtattaaa tcaatttata actgtttaaa gctttgaata	5040
[1083]	tctgcaatct ttgccaaggt acttttttat ttaaaaaaaa acataacttt gtaaatatta	5100
[1084]	ccctgtaata ttatatatac ttaataaaac attttaagct attttggttg gctatttcta	5160
[1085]	ttgctgctac agcagaccac aagcacattt ctgaaaaatt taatttatta atgtattttt	5220
[1086]	aagttgctta tattctaggt aacaatgtaa agaattgattt aaaatattaa ttatgaattt	5280
[1087]	tttgagtata ataccaata agcttttaat tagagcagag ttttaattaa aagtttttaa	5340
[1088]	tcagtc	5346
[1089]	<210>	16
[1090]	<211>	323
[1091]	<212>	PRT

[1092]	<213> 智人															
[1093]	<400> 16															
[1094]	Met	Trp	Pro	Leu	Val	Ala	Ala	Leu	Leu	Leu	Gly	Ser	Ala	Cys	Cys	Gly
[1095]	1				5					10					15	
[1096]	Ser	Ala	Gln	Leu	Leu	Phe	Asn	Lys	Thr	Lys	Ser	Val	Glu	Phe	Thr	Phe
[1097]				20					25				30			
[1098]	Cys	Asn	Asp	Thr	Val	Val	Ile	Pro	Cys	Phe	Val	Thr	Asn	Met	Glu	Ala
[1099]				35				40					45			
[1100]	Gln	Asn	Thr	Thr	Glu	Val	Tyr	Val	Lys	Trp	Lys	Phe	Lys	Gly	Arg	Asp
[1101]		50						55				60				
[1102]	Ile	Tyr	Thr	Phe	Asp	Gly	Ala	Leu	Asn	Lys	Ser	Thr	Val	Pro	Thr	Asp
[1103]	65					70					75					80
[1104]	Phe	Ser	Ser	Ala	Lys	Ile	Glu	Val	Ser	Gln	Leu	Leu	Lys	Gly	Asp	Ala
[1105]					85					90					95	
[1106]	Ser	Leu	Lys	Met	Asp	Lys	Ser	Asp	Ala	Val	Ser	His	Thr	Gly	Asn	Tyr
[1107]				100					105					110		
[1108]	Thr	Cys	Glu	Val	Thr	Glu	Leu	Thr	Arg	Glu	Gly	Glu	Thr	Ile	Ile	Glu
[1109]				115				120					125			
[1110]	Leu	Lys	Tyr	Arg	Val	Val	Ser	Trp	Phe	Ser	Pro	Asn	Glu	Asn	Ile	Leu
[1111]		130					135					140				
[1112]	Ile	Val	Ile	Phe	Pro	Ile	Phe	Ala	Ile	Leu	Leu	Phe	Trp	Gly	Gln	Phe
[1113]	145					150					155					160
[1114]	Gly	Ile	Lys	Thr	Leu	Lys	Tyr	Arg	Ser	Gly	Gly	Met	Asp	Glu	Lys	Thr
[1115]					165					170				175		
[1116]	Ile	Ala	Leu	Leu	Val	Ala	Gly	Leu	Val	Ile	Thr	Val	Ile	Val	Ile	Val
[1117]					180				185					190		
[1118]	Gly	Ala	Ile	Leu	Phe	Val	Pro	Gly	Glu	Tyr	Ser	Leu	Lys	Asn	Ala	Thr
[1119]			195					200					205			
[1120]	Gly	Leu	Gly	Leu	Ile	Val	Thr	Ser	Thr	Gly	Ile	Leu	Ile	Leu	Leu	His
[1121]		210						215				220				
[1122]	Tyr	Tyr	Val	Phe	Ser	Thr	Ala	Ile	Gly	Leu	Thr	Ser	Phe	Val	Ile	Ala
[1123]	225					230					235					240
[1124]	Ile	Leu	Val	Ile	Gln	Val	Ile	Ala	Tyr	Ile	Leu	Ala	Val	Val	Gly	Leu
[1125]					245					250					255	
[1126]	Ser	Leu	Cys	Ile	Ala	Ala	Cys	Ile	Pro	Met	His	Gly	Pro	Leu	Leu	Ile
[1127]				260					265					270		
[1128]	Ser	Gly	Leu	Ser	Ile	Leu	Ala	Leu	Ala	Gln	Leu	Leu	Gly	Leu	Val	Tyr
[1129]			275					280					285			
[1130]	Met	Lys	Phe	Val	Ala	Ser	Asn	Gln	Lys	Thr	Ile	Gln	Pro	Pro	Arg	Lys
[1131]		290					295					300				
[1132]	Ala	Val	Glu	Glu	Pro	Leu	Asn	Ala	Phe	Lys	Glu	Ser	Lys	Gly	Met	Met
[1133]	305					310					315					320

[1134]	Asn Asp Glu
[1135]	<210> 17
[1136]	<211> 293
[1137]	<212> PRT
[1138]	<213> 人工序列
[1139]	<220>
[1140]	<221> 来源
[1141]	<223> /注=" 人工序列描述:合成
[1142]	多肽"
[1143]	<400> 17
[1144]	Met Trp Pro Leu Ala Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Cys Cys Cys Gly
[1145]	1 5 10 15
[1146]	Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe
[1147]	20 25 30
[1148]	Cys Asn Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala
[1149]	35 40 45
[1150]	Gln Asn Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp
[1151]	50 55 60
[1152]	Ile Tyr Thr Phe Asp Gly Ala Leu Asn Lys Ser Thr Val Pro Thr Asp
[1153]	65 70 75 80
[1154]	Phe Ser Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala
[1155]	85 90 95
[1156]	Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr
[1157]	100 105 110
[1158]	Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu
[1159]	115 120 125
[1160]	Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu
[1161]	130 135 140
[1162]	Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe
[1163]	145 150 155 160
[1164]	Gly Ile Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr
[1165]	165 170 175
[1166]	Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val
[1167]	180 185 190
[1168]	Gly Ala Ile Leu Phe Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala Thr
[1169]	195 200 205
[1170]	Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His
[1171]	210 215 220
[1172]	Tyr Tyr Val Phe Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr Ser Phe Val Ile Ala
[1173]	225 230 235 240
[1174]	Ile Leu Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu
[1175]	245 250 255

[1176]	Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile
[1177]	260 265 270
[1178]	Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr
[1179]	275 280 285
[1180]	Met Lys Phe Val Glu
[1181]	290
[1182]	<210> 18
[1183]	<211> 305
[1184]	<212> PRT
[1185]	<213> 人工序列
[1186]	<220>
[1187]	<221> 来源
[1188]	<223> /注=" 人工序列描述:合成
[1189]	多肽"
[1190]	<400> 18
[1191]	Met Trp Pro Leu Ala Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Cys Cys Cys Gly
[1192]	1 5 10 15
[1193]	Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe
[1194]	20 25 30
[1195]	Cys Asn Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala
[1196]	35 40 45
[1197]	Gln Asn Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp
[1198]	50 55 60
[1199]	Ile Tyr Thr Phe Asp Gly Ala Leu Asn Lys Ser Thr Val Pro Thr Asp
[1200]	65 70 75 80
[1201]	Phe Ser Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala
[1202]	85 90 95
[1203]	Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr
[1204]	100 105 110
[1205]	Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu
[1206]	115 120 125
[1207]	Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu
[1208]	130 135 140
[1209]	Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe
[1210]	145 150 155 160
[1211]	Gly Ile Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr
[1212]	165 170 175
[1213]	Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val
[1214]	180 185 190
[1215]	Gly Ala Ile Leu Phe Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala Thr
[1216]	195 200 205
[1217]	Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His

[1218]	210	215	220
[1219]	Tyr Tyr Val Phe Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr Ser Phe Val Ile Ala		
[1220]	225	230	235
[1221]	Ile Leu Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu		
[1222]	245	250	255
[1223]	Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile		
[1224]	260	265	270
[1225]	Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr		
[1226]	275	280	285
[1227]	Met Lys Phe Val Ala Ser Asn Gln Arg Thr Ile Gln Pro Pro Arg Asn		
[1228]	290	295	300
[1229]	Arg		
[1230]	305		
[1231]	<210> 19		
[1232]	<211> 312		
[1233]	<212> PRT		
[1234]	<213> 人工序列		
[1235]	<220>		
[1236]	<221> 来源		
[1237]	<223> /注=" 人工序列描述:合成		
[1238]	多肽"		
[1239]	<400> 19		
[1240]	Met Trp Pro Leu Ala Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Cys Cys Cys Gly		
[1241]	1	5	10
[1242]	Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe		
[1243]	20	25	30
[1244]	Cys Asn Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala		
[1245]	35	40	45
[1246]	Gln Asn Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp		
[1247]	50	55	60
[1248]	Ile Tyr Thr Phe Asp Gly Ala Leu Asn Lys Ser Thr Val Pro Thr Asp		
[1249]	65	70	75
[1250]	Phe Ser Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala		
[1251]	85	90	95
[1252]	Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr		
[1253]	100	105	110
[1254]	Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu		
[1255]	115	120	125
[1256]	Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu		
[1257]	130	135	140
[1258]	Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe		
[1259]	145	150	155
			160

[1260]	Gly Ile Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr
[1261]	165 170 175
[1262]	Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val
[1263]	180 185 190
[1264]	Gly Ala Ile Leu Phe Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala Thr
[1265]	195 200 205
[1266]	Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His
[1267]	210 215 220
[1268]	Tyr Tyr Val Phe Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr Ser Phe Val Ile Ala
[1269]	225 230 235 240
[1270]	Ile Leu Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu
[1271]	245 250 255
[1272]	Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile
[1273]	260 265 270
[1274]	Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr
[1275]	275 280 285
[1276]	Met Lys Phe Val Ala Ser Asn Gln Arg Thr Ile Gln Pro Pro Arg Lys
[1277]	290 295 300
[1278]	Ala Val Glu Glu Pro Leu Asn Glu
[1279]	305 310
[1280]	<210> 20
[1281]	<211> 323
[1282]	<212> PRT
[1283]	<213> 人工序列
[1284]	<220>
[1285]	<221> 来源
[1286]	<223> /注=" 人工序列描述:合成
[1287]	多肽"
[1288]	<400> 20
[1289]	Met Trp Pro Leu Ala Ala Ala Leu Leu Leu Gly Ser Cys Cys Cys Gly
[1290]	1 5 10 15
[1291]	Ser Ala Gln Leu Leu Phe Asn Lys Thr Lys Ser Val Glu Phe Thr Phe
[1292]	20 25 30
[1293]	Cys Asn Asp Thr Val Val Ile Pro Cys Phe Val Thr Asn Met Glu Ala
[1294]	35 40 45
[1295]	Gln Asn Thr Thr Glu Val Tyr Val Lys Trp Lys Phe Lys Gly Arg Asp
[1296]	50 55 60
[1297]	Ile Tyr Thr Phe Asp Gly Ala Leu Asn Lys Ser Thr Val Pro Thr Asp
[1298]	65 70 75 80
[1299]	Phe Ser Ser Ala Lys Ile Glu Val Ser Gln Leu Leu Lys Gly Asp Ala
[1300]	85 90 95
[1301]	Ser Leu Lys Met Asp Lys Ser Asp Ala Val Ser His Thr Gly Asn Tyr

[1302]	100	105	110
[1303]	Thr Cys Glu Val Thr Glu Leu Thr Arg Glu Gly Glu Thr Ile Ile Glu		
[1304]	115	120	125
[1305]	Leu Lys Tyr Arg Val Val Ser Trp Phe Ser Pro Asn Glu Asn Ile Leu		
[1306]	130	135	140
[1307]	Ile Val Ile Phe Pro Ile Phe Ala Ile Leu Leu Phe Trp Gly Gln Phe		
[1308]	145	150	155
[1309]	Gly Ile Lys Thr Leu Lys Tyr Arg Ser Gly Gly Met Asp Glu Lys Thr		
[1310]	165	170	175
[1311]	Ile Ala Leu Leu Val Ala Gly Leu Val Ile Thr Val Ile Val Ile Val		
[1312]	180	185	190
[1313]	Gly Ala Ile Leu Phe Val Pro Gly Glu Tyr Ser Leu Lys Asn Ala Thr		
[1314]	195	200	205
[1315]	Gly Leu Gly Leu Ile Val Thr Ser Thr Gly Ile Leu Ile Leu Leu His		
[1316]	210	215	220
[1317]	Tyr Tyr Val Phe Ser Thr Ala Ile Gly Leu Thr Ser Phe Val Ile Ala		
[1318]	225	230	235
[1319]	Ile Leu Val Ile Gln Val Ile Ala Tyr Ile Leu Ala Val Val Gly Leu		
[1320]	245	250	255
[1321]	Ser Leu Cys Ile Ala Ala Cys Ile Pro Met His Gly Pro Leu Leu Ile		
[1322]	260	265	270
[1323]	Ser Gly Leu Ser Ile Leu Ala Leu Ala Gln Leu Leu Gly Leu Val Tyr		
[1324]	275	280	285
[1325]	Met Lys Phe Val Ala Ser Asn Gln Arg Thr Ile Gln Pro Pro Arg Lys		
[1326]	290	295	300
[1327]	Ala Val Glu Glu Pro Leu Asn Ala Phe Lys Glu Ser Lys Gly Met Met		
[1328]	305	310	315
[1329]	Asn Asp Glu		
[1330]	<210> 21		
[1331]	<211> 22		
[1332]	<212> DNA		
[1333]	<213> 人工序列		
[1334]	<220>		
[1335]	<221> 来源		
[1336]	<223> /注=" 人工序列描述:合成		
[1337]	引物"		
[1338]	<400> 21		
[1339]	tgcagaagtc actaggagga at 22		
[1340]	<210> 22		
[1341]	<211> 27		
[1342]	<212> DNA		
[1343]	<213> 人工序列		

[1344] <220>
[1345] <221> 来源
[1346] <223> /注=" 人工序列描述:合成
[1347] 探针"
[1348] <400> 22
[1349] tcagtcaact tcttctgggt tgtttcc 27
[1350] <210> 23
[1351] <211> 23
[1352] <212> DNA
[1353] <213> 人工序列
[1354] <220>
[1355] <221> 来源
[1356] <223> /注=" 人工序列描述:合成
[1357] 引物"
[1358] <400> 23
[1359] gtgccagact cactttctat cca 23
[1360] <210> 24
[1361] <211> 22
[1362] <212> DNA
[1363] <213> 人工序列
[1364] <220>
[1365] <221> 来源
[1366] <223> /注=" 人工序列描述:合成
[1367] 引物"
[1368] <400> 24
[1369] tgctgccaat atacggcttc tg 22
[1370] <210> 25
[1371] <211> 26
[1372] <212> DNA
[1373] <213> 人工序列
[1374] <220>
[1375] <221> 来源
[1376] <223> /注=" 人工序列描述:合成
[1377] 探针"
[1378] <400> 25
[1379] cagctctcat agccaactat ggtgcc 26
[1380] <210> 26
[1381] <211> 22
[1382] <212> DNA
[1383] <213> 人工序列
[1384] <220>
[1385] <221> 来源

[1386] <223> /注=" 人工序列描述:合成
[1387] 引物"
[1388] <400> 26
[1389] tcaagcagag cctggttatac tg 22
[1390] <210> 27
[1391] <211> 23
[1392] <212> DNA
[1393] <213> 人工序列
[1394] <220>
[1395] <221> 来源
[1396] <223> /注=" 人工序列描述:合成
[1397] 引物"
[1398] <400> 27
[1399] gtcgtcattc catgctttgt tac 23
[1400] <210> 28
[1401] <211> 30
[1402] <212> DNA
[1403] <213> 人工序列
[1404] <220>
[1405] <221> 来源
[1406] <223> /注=" 人工序列描述:合成
[1407] 探针"
[1408] <400> 28
[1409] tggaggcaca aaacactact gaagtatacg 30
[1410] <210> 29
[1411] <211> 22
[1412] <212> DNA
[1413] <213> 人工序列
[1414] <220>
[1415] <221> 来源
[1416] <223> /注=" 人工序列描述:合成
[1417] 引物"
[1418] <400> 29
[1419] ggacagtgga cttgtttaga gc 22
[1420] <210> 30
[1421] <211> 21
[1422] <212> DNA
[1423] <213> 人工序列
[1424] <220>
[1425] <221> 来源
[1426] <223> /注=" 人工序列描述:合成
[1427] 引物"

[1428]	<400> 30
[1429]	ggcttggtgg ctgattgttc t 21
[1430]	<210> 31
[1431]	<211> 28
[1432]	<212> DNA
[1433]	<213> 人工序列
[1434]	<220>
[1435]	<221> 来源
[1436]	<223> /注=" 人工序列描述:合成
[1437]	探针"
[1438]	<400> 31
[1439]	agcacccaaa ctgatatgcc tgtatttg 28
[1440]	<210> 32
[1441]	<211> 23
[1442]	<212> DNA
[1443]	<213> 人工序列
[1444]	<220>
[1445]	<221> 来源
[1446]	<223> /注=" 人工序列描述:合成
[1447]	引物"
[1448]	<400> 32
[1449]	tggaactgg tgtttcaagt cta 23
[1450]	<210> 33
[1451]	<211> 158
[1452]	<212> DNA
[1453]	<213> 人工序列
[1454]	<220>
[1455]	<221> 来源
[1456]	<223> /注=" 人工序列描述:合成
[1457]	多核苷酸"
[1458]	<400> 33
[1459]	gcagacatga ttacttcaga gctttcaaag ctagatactg taccttgcatttccaacac 60
[1460]	gcgatcgcat tttaagattt tccatcctag tggaaagata tgatttgatt catcctattt 120
[1461]	actttgtata ttaaagtaca gtagaacctg ccactttt 158
[1462]	<210> 34
[1463]	<211> 160
[1464]	<212> DNA
[1465]	<213> 人工序列
[1466]	<220>
[1467]	<221> 来源
[1468]	<223> /注=" 人工序列描述:合成
[1469]	多核苷酸"

- [1470] <400> 34
[1471] ggatccattt taagtaatag aataggattt ttaattgttc cagtgtttct gtgatagagc 60
[1472] tgtcctgcac agacctgttt ctcgagataa ctctgtataa tgtatgctat acgaagttat 120
[1473] atgcatggcc tccgcgccgg gttttggcgc ctcccgcggg 160
[1474] <210> 35
[1475] <211> 160
[1476] <212> DNA
[1477] <213> 人工序列
[1478] <220>
[1479] <221> 来源
[1480] <223> /注=" 人工序列描述:合成
[1481] 多核苷酸"
[1482] <400> 35
[1483] catgtctgga ataacttcgt ataatgtatg ctatacgaag ttatgctagt aactataacg 60
[1484] gtccctaaggt agcgactagc attagtatgg aaggccgctc cactgtccag gttcctcttg 120
[1485] cggagctctt tgtctctctg gactctgtat acactgcttg 160
[1486] <210> 36
[1487] <211> 239
[1488] <212> DNA
[1489] <213> 人工序列
[1490] <220>
[1491] <221> 来源
[1492] <223> /注=" 人工序列描述:合成
[1493] 多核苷酸"
[1494] <400> 36
[1495] ggatccattt taagtaatag aataggattt ttaattgttc cagtgtttct gtgatagagc 60
[1496] tgtcctgcac agacctgttt ctcgagataa ctctgtataa tgtatgctat acgaagttat 120
[1497] gctagtaact ataacggcc taaggtagcg actagcatta gtatggaagg tccgtccact 180
[1498] gtccagggttc ctcttgccga gctctttgtc tctctggact ctgtatacac tgcttgcat 239

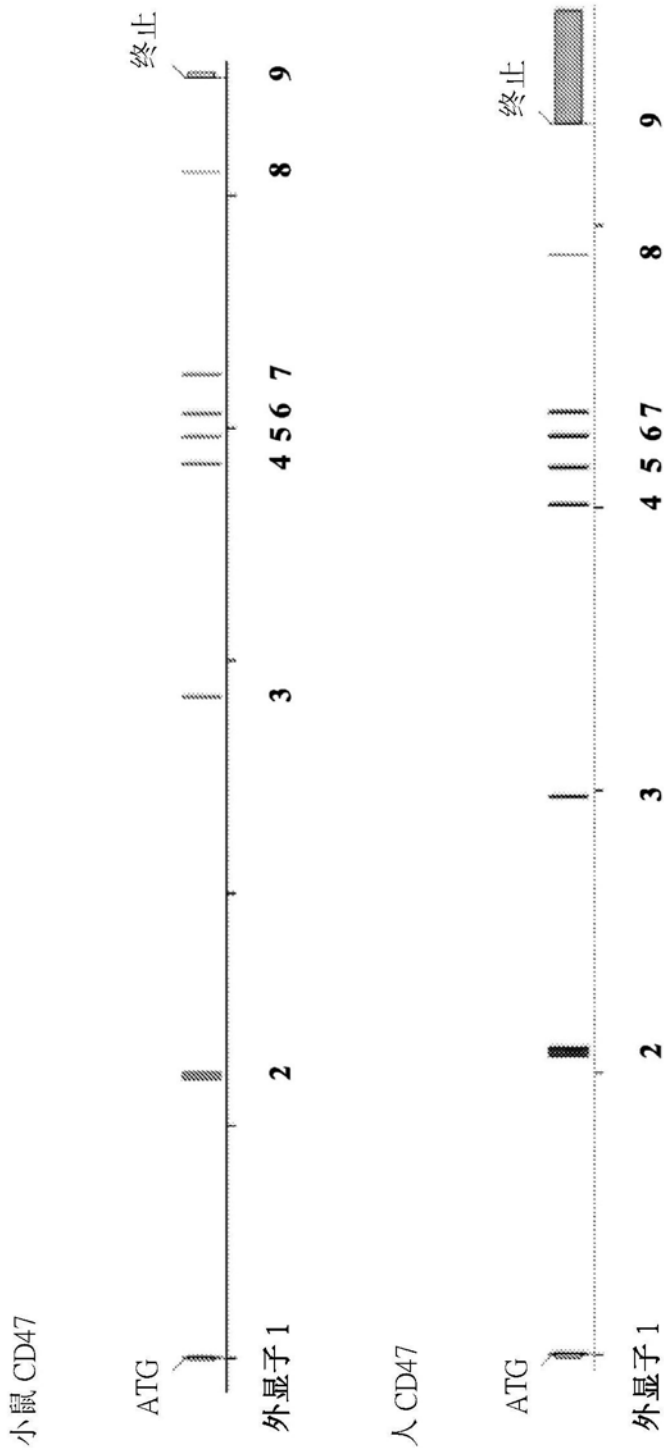
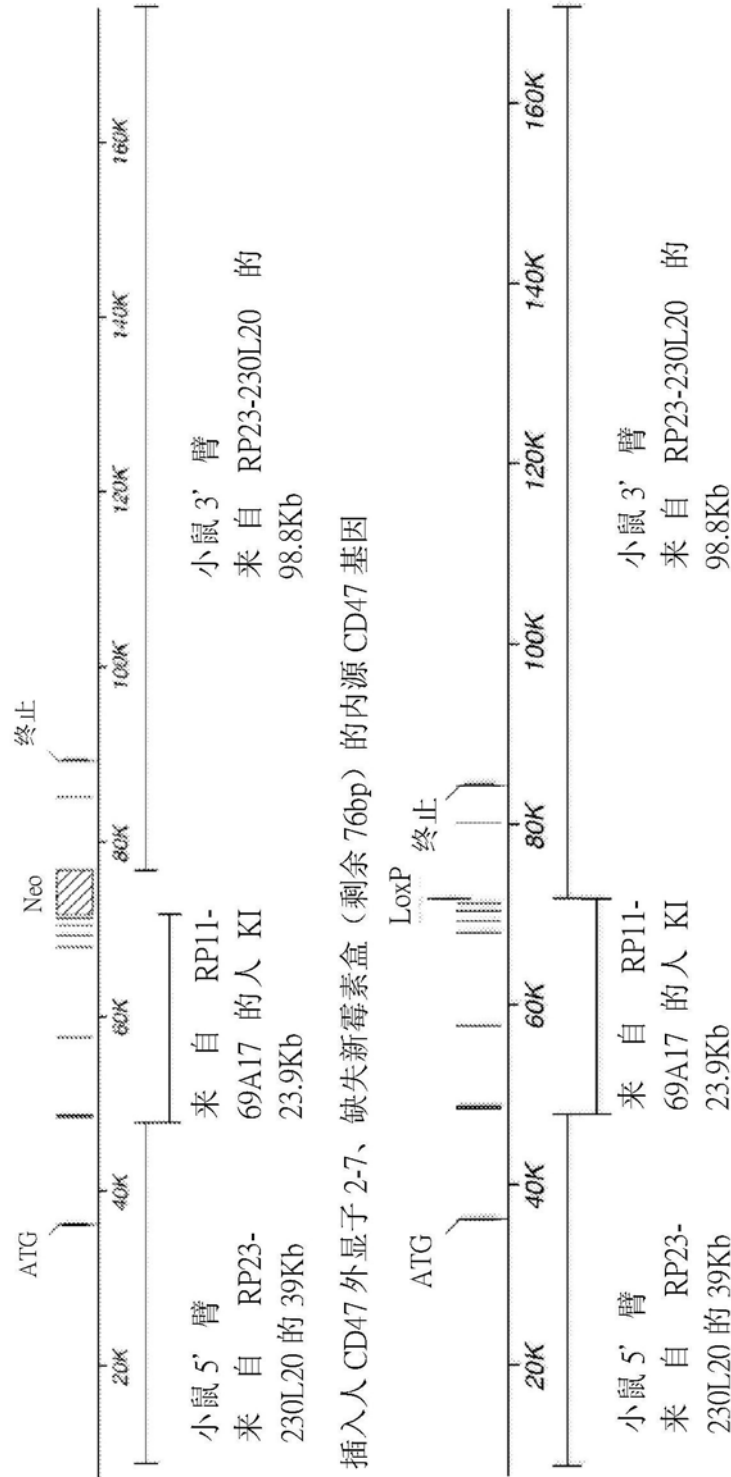


图1

插入人 CD47 外显子 2-7、新霉素盒完整(~4995bp)的内源 CD47



插入人 CD47 外显子 2-7、缺失新霉素盒（剩余 76bp）的内源 CD47 基因

图2

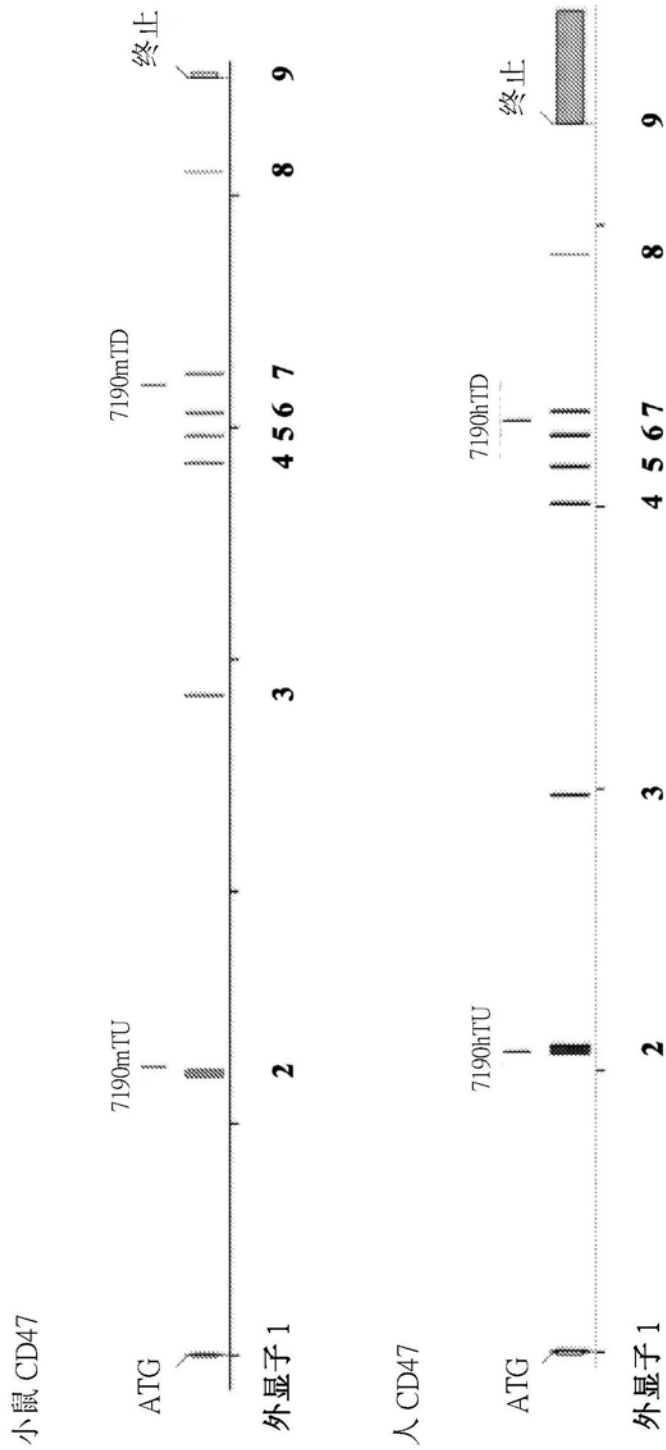


图3

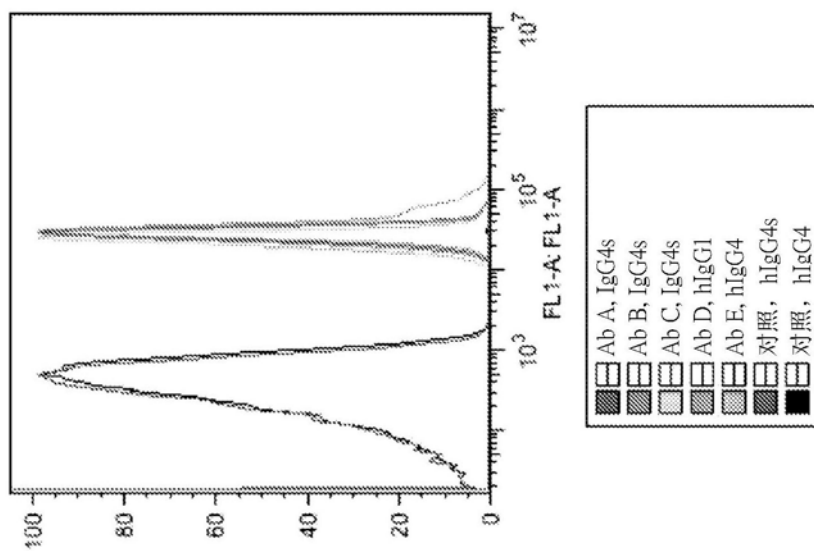


图4

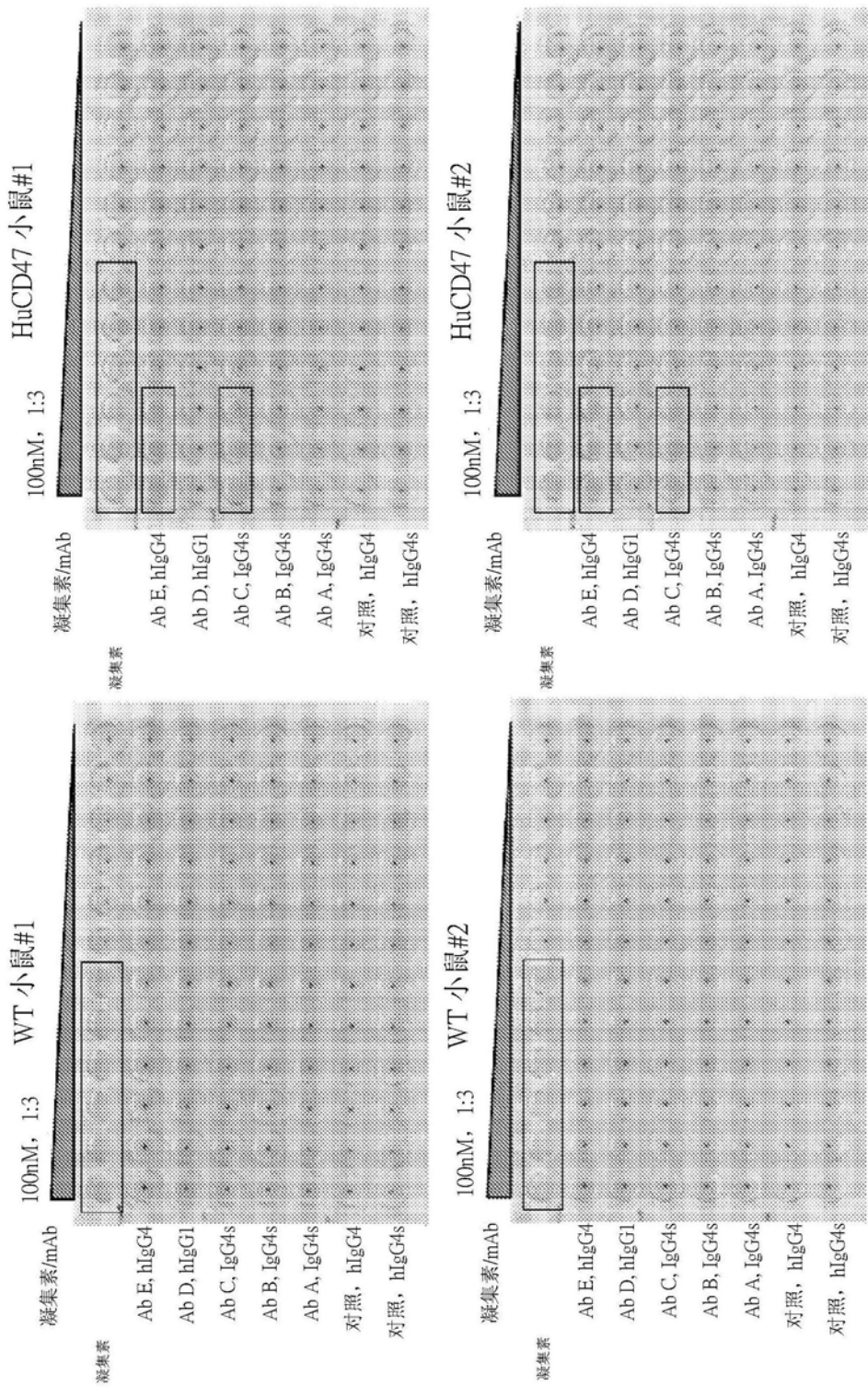


图5

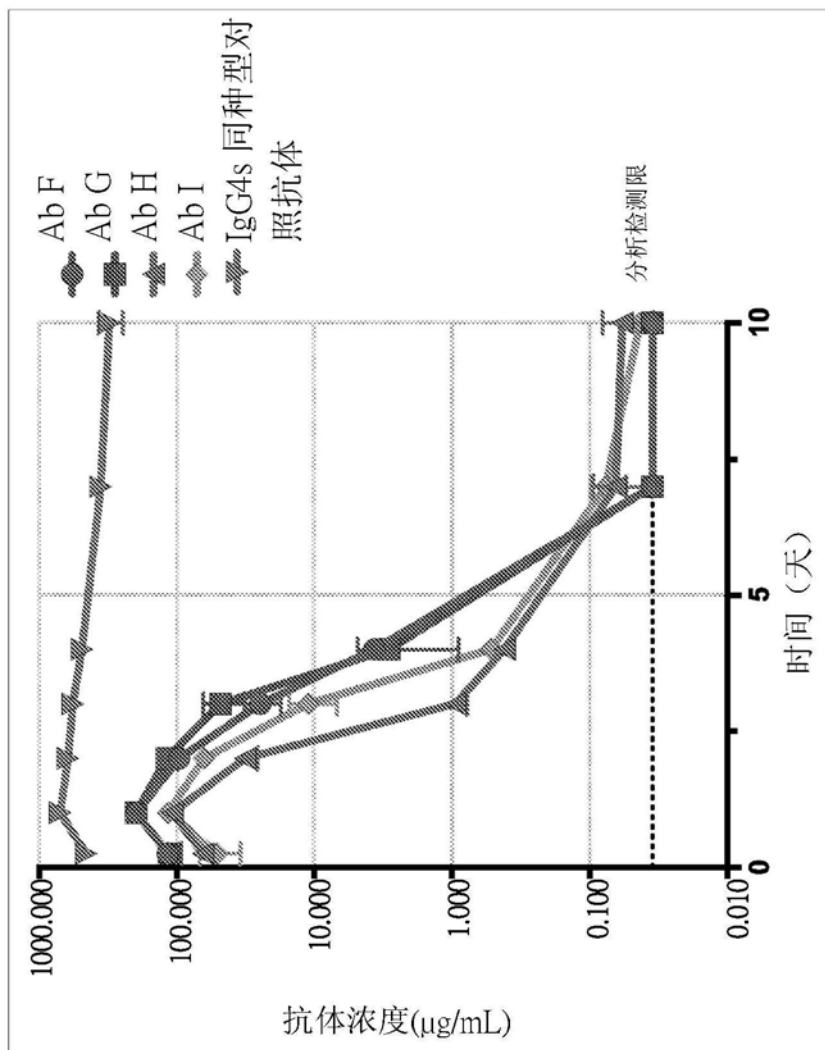


图6

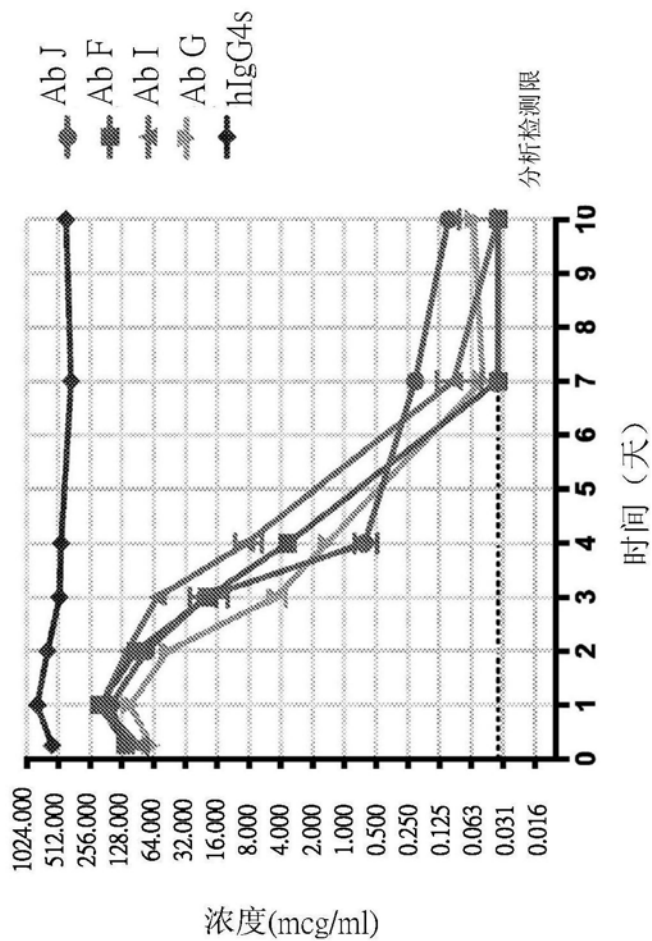


图7

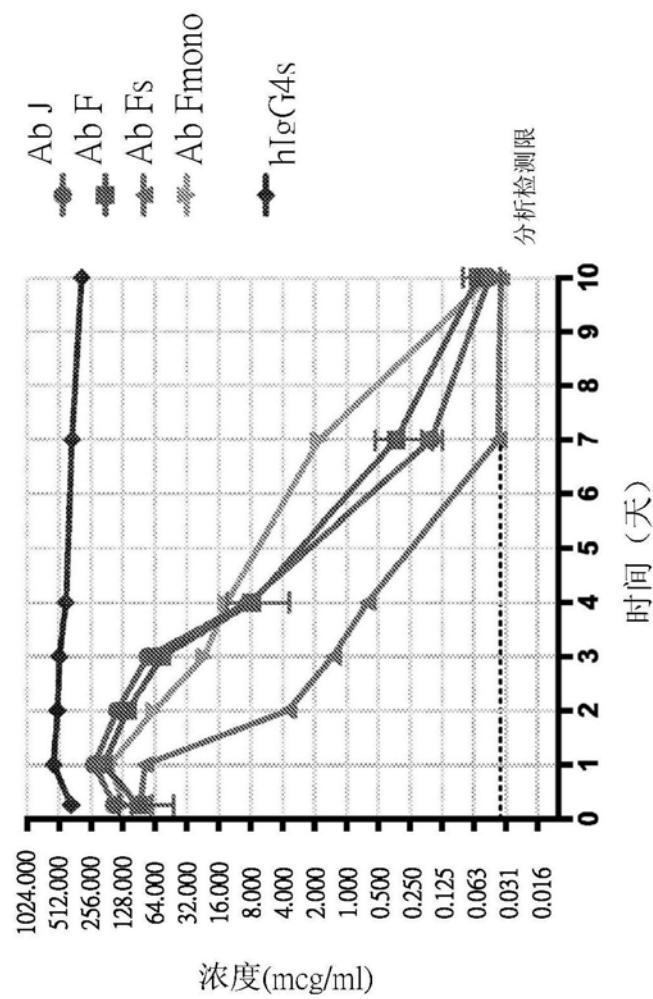


图8

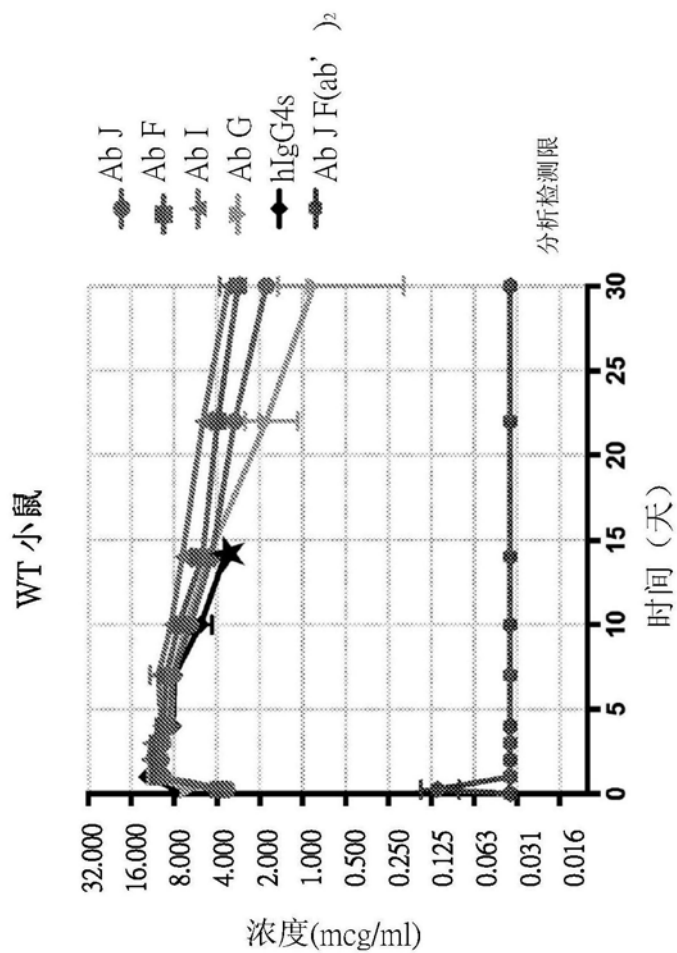


图9