



(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

(22) 申请日 2015.11.25

G·瑟斯顿

(65) 同一申请的已公布的文献号

(74) 专利代理机构 中国贸促会专利商标事务所
有限公司 11038

申请公布号 CN 107205368 A

代理人 罗菊华

(43) 申请公布日 2017.09.26

(51) Int.CI.

C12N 15/87 (2006.01)

(30) 优先权数据

C12N 5/10 (2006.01)

62/087,992 2014.12.05 US

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

(56) 对比文件

2017.06.05

CN 101506235 A, 2009.08.12

(86) PCT国际申请的申请数据

CN 101133083 A, 2008.02.27

PCT/US2015/062614 2015.11.25

WO 2013056352 A1, 2013.04.25

(87) PCT国际申请的公布数据

审查员 张团委

W02016/089692 EN 2016.06.09

(73) 专利权人 瑞泽恩制药公司

权利要求书3页 说明书69页

地址 美国纽约

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SIRPa多肽的SIRPa基因,所述SIRPa多肽包含人SIRPa多肽的胞外域和内源啮齿动物SIRPa多肽的胞内域,其中所述SIRPa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SIRPa基因包含内源啮齿动物SIRPa基因的外显子1、5、6、7和8和人SIRPa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SIRPa多肽的SIRPa基因,所述SIRPa多肽包含人SIRPa多肽的胞外域和内源啮齿动物SIRPa多肽的胞内域,其中所述SIRPa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SIRPa基因包含内源啮齿动物SIRPa基因的外显子1、5、6、7和8和人SIRPa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. 嗜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嗜齿动物模型的用途,其中所述嗜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嗜齿动物,所述评估包括将候选药物施用给所述嗜齿动物和监测所述嗜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嗜齿动物,所述嗜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,其中所述嗜齿动物的基因组还包含编码SIRPa多肽的SIRPa基因,所述SIRPa多肽包含人SIRPa多肽的胞外域和内源啮齿动物SIRPa多肽的胞内域,其中所述SIRPa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SIRPa基因包含内源啮齿动物SIRPa基因的外显子1、5、6、7和8和人SIRPa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,其中所述嗜齿动物是大鼠或小鼠。

24. 权利要求17所述的用途,其中所述嗜齿动物的基因组还包含编码SIRPa多肽的SIRPa基因,所述SIRPa多肽包含人SIRPa多肽的胞外域和内源啮齿动物SIRPa多肽的胞内域,其中所述SIRPa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SIRPa基因包含内源啮齿动物SIRPa基因的外显子1、5、6、7和8和人SIRPa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,其中所述嗜齿动物是大鼠或小鼠。

27. 权利要求19所述的方法,其中所述嗜齿动物的基因组还包含编码SIRPa多肽的SIRPa基因,所述SIRPa多肽包含人SIRPa多肽的胞外域和内源啮齿动物SIRPa多肽的胞内域,其中所述SIRPa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SIRPa基因包含内源啮齿动物SIRPa基因的外显子1、5、6、7和8和人SIRPa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一大挑战。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，以允许对人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人造血干细胞的更有效的体内系统，所述人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、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SIRPa基因的步骤,所述基因组片段包含编码全部或部分的人SIRPa多肽(例如,编码人SIRPa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SIRPa多肽(例如,编码人SIRPa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SIRPa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SIRPa多肽的SIRPa基因的基因组,所述SIRPa多肽包含人SIRPa多肽的胞外部分(例如,与人SIRPa多肽的残基28-362对应的氨基酸)和内源SIRPa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。

[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SIRPa基因,所述SIRPa基因编码连接至内源SIRPa多肽的胞内部分的人SIRPa多肽的胞外部(例如,与人SIRPa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SIRPa基因,所述SIRPa基因编码连接至内源SIRPa多肽的胞内部分的人SIRPa多肽的胞外部(例如,与人SIRPa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SIRPa多肽的SIRPa基因的基因组,所述SIRPa多肽包含人SIRPa多肽的胞外部(例如,与人SIRPa多肽的残基28-362对应的氨基酸)和内源SIRPa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;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)的水平的改变、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SIRPa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SIRPa多肽的SIRPa基因,所述SIRPa多肽包含人SIRPa多肽的胞外部分(例如,与人SIRPa多肽的残基28-362对应的氨基酸)和内源SIRPa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 $\mu\text{g}/\text{mL}$,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/SIRPa小鼠($\text{CD47}^{\text{hu}/\text{hu}}\text{SIRPa}^{\text{hu}/\text{hu}}$)中的抗CD47抗体的示例性药动学曲线。Ab J、Ab F、Ab G and 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。

[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/SIRPa小鼠($\text{CD47}^{\text{hu}/\text{hu}}\text{SIRPa}^{\text{hu}/\text{hu}}$)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,否则本文中使用的所有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*)、栗酒裂殖酵母(*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(MACVECTORTM10.0.2,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-氧化腺苷、8-氧化鸟苷、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、20、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);增强蛋白稳定性序列;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 Lerrick 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、剪接接受位点、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片段编码一个或多人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次跨膜蛋白，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、SIRPa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

	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
[0098]	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 字
[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，SIRPa）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在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SIRPa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-SIRPa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SIRPa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-SIRPa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-SIRPa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)

GCCTACACCAGGGAGAGCAGGGAGGAGGTGGACTGAGGTTG
GGCGGCTCCGAGGTCCAGGGCGAGCTTGGCCAGAGGGAGTAGA
GAGCAGCGGGCTGCGCAGGGACGCGTGCCGTGAGTTCCGGTG
AGCGTGTGTCCCAGCTCCGTCTTCAGGCCGGCCAGGACA
CGAACGCCGAAGAGAGCTGGCTGGAGGGACGGGGCCGTGAGC
AGAGAGTGCAACCCGCGCAGCCCCGGGACAGGCTGATTCTGG
CGCTCTCCGCCGGAGCCTGCCAGGGCTGGGTGTGAGGCTGGCG
TCACGTCAACGAGCAGAGGCCAGGCAGGGGGCGAGTGCAGCG
TGCAGGGGGCGCGAGCACGCGCGCGCACCCCCGGCAG
CCTGGCGGCCGCTCCTGCCTGTCAGTGCTGCCGCTGCTGGTC
GGTCGTTCCCTTGAAAGGCAGCAGCGGAGGCGGGCTGCTCCA
GACACCTGCAGCGGCCGACCCCCCGCGCGAGATGTGGCC
CTTGGCGGCCGCTGTTGCTGGCTCCTGCTGCTGCCGTT
CAGCTCAACTACTGTTAGTAACGTCAACTCCATAGAGTTCAC
TTCATGCAATGAAACTGTGGTATCCCTGATCGTCCGTAAT
GTGGAGGCGCAAAGCACCGAAGAAATGTTGTGAAGTGGAA

[0117]

GTTGAACAAATCGTATTTCATCTATGATGGAAATAAAAATA
GCACTACTACAGATCAAAACTTACCGAGTGCAAAATCTCAGT
CTCAGACTTAATCAATGGCATTGCCTCTTGAAAATGGATAAG
CGCGATGCCATGGTGGAAACTACACTTGCAGTGAACAGA
GTTATCCAGAGAAGGCAAAACAGTTATAGAGCTGAAAAACCG
CACGGCCTTCAACACTGACCAAGGATCAGCCTGTTCTACGA
GGAGGAGAAAGGAGGTTGCAAATTAGTTCGTGGTTTCTCC
AAATGAAAAGATCCTCATTGTTATTTCCAATTGGCTATAC
TCCTGTTCTGGGGAAAGTTGGTATTTAACACTCAAATATAA
ATCCAGCCATACGAATAAGAGAATCATTCTGCTGCTCGTTGCC
GGGCTGGTGCTCACAGTCATCGTGGTTGGAGCCATCCTT
CTCATCCCAGGAGAAAAGCCGTGAAGAATGCTTCTGGACTT
GGCCTCATTGTAATCTCTACGGGGATATTAATACTACTTCAGT
ACAATGTGTTATGACAGCTTGGAAATGACCTCTTCACCAT
TGCCATATTGATCACTCAAGTGCTGGCTACGTCTTGCTTG
GTCGGGCTGTGTCTGCATCATGGCATGTGAGCCAGTGCAC
GGCCCCCTTGATTCAGGTTGGGATCATAGCTCTAGCA
GAACRACTTGGATTAGTTATATGAAGTTGTCGAATAGGTGA
AGGGAAGTGACGGACTGTAACCTGGAAGTCAGAAATGGAAGAAT
ACAGTTGTCTAACGCACCAAGGTCTCACGACTCACAGCTGGAAGG
AACAGACAACAGTAACTGACTTCCATCCAGGAAAACATGTCACAT
AAATGATTACTAACGTTATTCAGGAAACGAGCTGTACTTACATAATA
AAAAAAATATGATGTGCTGTGTAACCAATTGGAATCCCATTCT
ATTGTTCTACTCAACTAGGGCAAACGTTCAAGGGCAACTTCC
AAGAATGATGCTGTTAGATCCTAGAGTCTCTGAACACTGAGTT
AAATTGATTCCGAGTGAGACTCGCCAAGCAACTAACCTGAGGGTTA
GTTACCCAGAGATACTTACGTTGAGCTGAGCTGCTGCTGCTAGC
TAGTAAACTCAGGTTGCCAGCAGCTTGCACCTCCGCTGCTAGC
TGAATAACAAGACTGCCACTCTGGGTCTAGTGATAGAGACTGA
AGTAGAAAAACGAATGTGGTTGGGCAAATCCGTGTGGCCCTC
TGTGTGCTATGATATTGATGGCACTGGTGTCTCATTCTGGGGGT
TGCCATCATTCACACACACCCCTTGACATACAGTGCACCCAGT

[0118]

TTTGAATACATTTTTGCACCCGTCCCCTGCTACTTGATT
TGC GTT ATG AT A T A T A T A T A T A A T A C C T T C C T C T T A A A
C A T G G T C C T G T G A C A C A A T A G T C A G T G C A G A A A G G A G C A G A C
T T A T C G C A A A G C A C T G T G C T C A A A C T C T C A G A A A A A A A G G A A
A A A A A A A A A A G C T A T A G T G T A A C A T A T G T A T T C C A G A C C T C T G
G T T T A A A G G C A A A G A A A A A A A T C T A C A G T G T T C T C T C A T G T
T T T C T G A T C G G A G G C A T G A C A A A G C A A G A C T G A A A T C T G A A C T G
T G T C T C C T G C A T G G C A A C A C G T G T C T C G T C A G G C C C T C G C A A G G
C C C G G G G A G G G G G T T C T A C G C C T C T G T C T C T T G T G C A T G C T G
A A C A C T C A T C G C C T T C C T A C T G T A T C C T G C C T C C T G C A G C C T C C C T
C T T C C T C C T C C T C T C C T C T C C T C C T C C T C C T C C T C C T C C T C C T C C T C
T C C T C C A A G T T G A A A G G T C A A A C A A A C T A C C A C A T T C C T C A C C
C A G T T A G A A G A A A C C A C C G T C T G A C A G T T G A T C G C A T G G A
G T A C T T T A G A T T A T T A G C A C C T G T T T A C C T C G T T G T G G G C G T
G T T T G T A T G T G C A C A T G T A T G A A G T C G G C A C A T G C A C C T T C T G T A T
G G G C A G A G G C G T G G C A T C T A C A G A A G A G C A G A T G C C A A C T T T G T
G C T T T A G T G A A T A C A T T A A A A A A A A C C A A C G G T C C T T A T T
G A G T G G A A T T C T A T T G A T G C A A A T A T T G A G C T C T T A A G A C T T T
A A A A C T A G A T A A T G T G C C A A G C T T T A G G A C T G C T C A C C A G T G C C
C T C T G A A G A A A C A C C A G T A C T T T C C T G T T G T G A A T A A A G G C
A T A T T G T A T T G T G T T G C A T C A C T A A T G G T T A T T C T T C T T A G T C C
A C T G A A T G T T C C A T G T G C C T C T C G T A T G C C A A A C T T T T G T C A T C
T T T C A T G T G G G G A C C A A T G G T T G T C T G T G G C A A A C C T A A A C C T
A T G A C C T G C T G A G G C C T C T C A G A A A A C T G A C C A C A G T A C C A A G A
T A G T A C T C G C A A A G A A A A G T A G G T C C C T C C C T G G T T T G T A G C
T G T C G C C A A T A T T A G C G T A A T T C C A A G G A G C T G A A C G C C T T A T A T
A A A T C T G A T G G C A C C T G A T G C T T T A G T T C T G A A A A T A T T A C A C T
C G G A T C A T G T G T G A C T T A A A C A A A G T T T G A T G A A G A G A G
C A A A A A A A A A G C A G G T G G A T T G G A A C A G T T C A G G G T T T T T
T G T T T T T G T T T T G T T T T G T T T T T T T T A T T T T G T T T T C T
G T T C T G T T A G A A A A G T C A G G T G T C T G T C A G G C T A T C T T A T
A G T C A A T T T T T A C G A A C T A A A G T A G T A C C T T T A A T A T G T A G T

[0119]

CAACGCCCTCTGCTCGGGGTTCAGTTGGTCTAACAGCTG
TCATGTTCTCATGCTGCCTGCCACTGAGGCAGTGAGTGCCTA
GACAGTCCCATCGGTGGTAGCCAGGGAAACGAAAGACGAAC
ACTCTGCTCCTAATAATCAACTCTGTATGAAGGATGGCAGCAT
TAAGAGTCCTCCTGCCTGGCATTATTGGGCCAGTCACCCTTT
AAATCAAACCCGAGTGGCTCCAGTTCTCGTCCCAGATTAA
AATTGCTAACAGTATGGGGGCACCACGCATCTGTTGTCCCAC
AATGCGCTTTCTCTCCAAATCCGATTCTGCTGTCATAGCCTC
TATTCAATTTTATTGTCTGCCCTCCACTTATACAATCGTAGA
GAGCAATGCCATTGTCACTTCTGCAACAGTTTGAGCCTTA
TGGCTGAATCCCATTTCCTCTTCAAACAGTTGCTCCATTG
CTCCTCCCGCACGGCTGTCCGTACAGTCATCCATCCATCTGGGG
GCCTCTTCATCTCACCCCTCCTGGTGCTCGTGGATCTGCT
TACCTCTGTGGGTTTTTTTTTGACTTATTCTCTCACTG
GACTTTAAGATTACTCCACAGCGAAAGTGCTGCCTCCCTTCT
GCCCGCAGTGTCTCGTACTTAGATACTACTCAGTGCTGACATT
TGATGGAAAAGTTGCCTGCACTAAATTCTCTTTAATAGGGT
GAACTAGAGTTGGAGTTCTCTCTCTCTCTCTCTCCCTCCCTCC
CTCCCTCCCTCCCTCCCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
TCTTCTTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTT
CTCACAGGCTTGAGAATTATAAAAGGTGACAGTCACCTGAAAA
TCACAGGTCTGGCTGTTAAATTGTTGAGAAATATCCGATTAAAA
GTCTTGTGGCTGTGTCTTAATAGGCTCTTCAAGGACGTTGAGT
CAATAGAGTGGCTGAACCATACTGAGTTATAAAGCTAAAAAC
TGATGCACCCACTCTGCTATTATCGTGTAGTAAGAGTTGAGCT
ATATCATTGTCTAGGTTATCTGCTACAGTGGTATTCAAATAT
GGCCACCAGAGGATATGTGAAATATAAGCACCTGTATTGCCTG
TGTTGAGAACTGGAGGGAAAACAAAAAATGTCTGGCAACCC
GCCTTTAACCGTAATTAAATTGACAGTTATTAGAGATAAGAGT
TTCAAAAATCTCTTAACGCCACAACCCACAGAGGGTCTGTT
TGCCATCTCAGTGGCTCACAGATATGATCCAAGTTAACTGAAA

[0120]

GAGATGAGCAGTACCCAGGAAATTGTCCTGCCTTAACCTGGCT
 GTCCTTAATTATGACTGTTAATGCTGAATTTCATCCGTCTAGTG
 TTTGAGGGTAAAGAAAAGCCTTTAAATAAGTATTCTGTAAA
 ACGGCATCGGTGGATCTCTGTGCTATCACGGGTGAAAGAG
 GGAAACATTCTTATTAAAGCAGAGCATTATTACAGAAAG
 CCATTGTTGAGAATTAGTCCCACATCATATAAATATCCATTAACCA
 TTCTAAATTGTAAGAGAACTCCAGTGTTGCTATGCACAAGGAAC
 CTCCTGGGGGCCTTTGCATAGCAATTAAAGGTATGCTATTG
 TCAGTAGCCATTTTGCACTGATTAAAGACCAAAGTTGTTTAC
 AGCTGTGTTACCCCTAAAGTTTTTATGTATTAAATCAATT
 ATCACTGTTGAAGCTTGAATACCTGCAATCTTGCCAAGATACT
 TTTTATTAAAAAAATAACTGTGAAATATTACCCGTAAATATTATA
 TATACTTAATAAACATTAAAGCTA (SEQ ID NO: 1)

小鼠 CD47 氨基酸同种型 1 (XP_006521873.1)

[0121]

MWPLAAALLGSCCGSAQLLFSNVNSIEFTSCNETVVIPICIVRNV
EAQSTEEMFVKWKLNSYIFIYDGNKNSTTDQNFTSAKISVSD
LINGIASLKMDKR DAMVGNYTCEVTELSREGKTVIELKNRTAFN
TDQGSACS YEEKGGCKLVS WFSPNEKILIVIFPILA ILLFWGKFGI
LTLKYKSSHTNKRI ILLVAGLVLTVIVVVGA ILLIPGEKPVKNASGL
GLIVISTGILILLQYNVFMTA FGMTSFTIA IITQVLGYVLALVGLCLC
IMACEPVHGPLLISGLGI ALAELLGLV YMKFVE(SEQ ID NO: 2)

小鼠 CD47 mRNA 同种型 2 (XM_006521811.1)

GCCTACACCAGGGAGAGCAGGGAGGAGGAGTTGGACTGAGGTTG
 GCGGGCTCCGAGGTCCAGGGCGAGCTGGCCAGAGGGAGTAGA
 GAGCAGCGGGCTGCGCAGGGACCGTGCCGTGAGTTCCGGTG
 AGCGTGTGTCCCAGCTCCGTCTTCAGGCCGGCCAGGACA
 CGAAGCCGGAAGAGAGCTGGCTGGAGGGACGGGGCCGTGAGC
 AGAGAGTGCAACCCGCGCAGCCCCGGGACAGGCTGATTCTGG
 CGCTCTCCGCCGGAGCCTGCCAGGGCTGGGTGTGAGGCTGGCG
 TCACGTCAACGAGCAGAGGCCAGGCCAGGGCGGAGTGC GCG

TGCGCGGGCGCGAGCACGCGCGCGCACCCCCGGCAG
CCTGGCGGCCGCTCCTGCCTGTCAGTGCTCGCGCTGCTGGTC
GGTCGTTCCCTGAAGGCAGCAGCGGAGGCAGCGGCTGCTCCA
GACACCTGCGCGCGACCCCCCGCGCGAGATGTGGCC
CTTGGCGCGCGCTGTTGCTGGCTCCTGCTGCTGC GGTT
CAGCTCAACTACTGTTAGTAACGTCAACTCCATAGAGTTCAC
TTCATGCAATGAAACTGTGGTCATCCCTGCATCGTCCGTAAT
GTGGAGGCGCAAAGCACCGAAGAAATGTTGTGAAGTGGAA
GTTGAACAAATCGTATATTTCATCTATGATGGAAATAAAAATA
GCACTACTACAGATCAAAACTTACCGAGTGCAAAATCTCAGT
CTCAGACTTAATCAATGGCATTGCCTCTTGAAAATGGATAAG
CGCGATGCCATGGTGGAAACTACACTGCGAAGTGACAGA
GTTATCCAGAGAAGGCAAAACAGTTAGAGCTGAAAAACCG
CACGGTTCTGGTTCTCCAAATGAAAAGATCCTCATTGTT
ATTTCCAATTTGGCTACTCCTGTTCTGGAAAGTTG
GTATTTAACACTCAAATATAATCCAGCCATACGAATAAGAG
AATCATTCTGCTGCTCGTTGCCGGCTGGCTCACAGTCAT
CGTGGTTGGAGCCATCCTCTCATCCCAGGAGAAAAGCC
CGTGAAGAATGCTCTGGACTTGGCCTCATTGTAATCTCTACG
GGGATATTAATACTACTTCAGTACAATGTGTTATGACAGCTT
TGGAAATGACCTCTTCACCATTGCCATTGATCACTCAAGTG
CTGGGCTACGTCCCTGCTTGGCTGGCTGTCTGCATC
ATGGCATGTGAGCCAGTGCACGGCCCCCTTGATTCAGGT
TTGGGGATCATAGCTCTAGCAGAACTACTTGGATTAGTTATA
TGAAGTTGTCGCTCCAACCAGAGGACTATCCAACCTCCTA
GGAA TAGGTGAAGGAAAGTGACGGACTGTAACTTGGAAGTCAG
AAATGGAAGAATACAGTTGCTAAGCACCAGGTCTCACGACTCA
CAGCTGGAAGGAACAGACAACAGTAACTGACTTCCATCCAGGAA
AACATGTCACATAAAATGATTACTAAGTTATTCAGCAGCTGT
ACTTTACATAATAAAAAAATGATGTGCTGTGTAACCAATTGGA
ATCCCATTCTATTGTTCTACTCAACTAGGGCAAACGTTCA
GGGGCAACTCCAAGAATGATGCTGTTAGATCCTAGAGTCTCTG

[0122]

AACACTGAGTTAAATTGATTCCGAGTGAGACTCGCCAAGCACTA
ACCTGAGGGTTAGTTACCCAGAGATACTATGAAAAACAGTGGTA
TCCAGCAAGCCTAGTAAACTCAGGTGCCAGCAGCTTGCCACT
TCCGCTGCTAGCTGAATAACAAGACTGCCACTCTGGTCATAGT
GATAGAGACTGAAGTAGAAAAACGAATGTGGTGGCAAATCCC
GTGTGGCCCCCTGTGTGCTATGATATTGATGGCACTGGTGTCTTC
ATTCTGGGGGTTGCCATCATTCACACACACACCCCTTGACATACA
GTGCACCCCAGTTGAATACATTTCGCACCCCTGTCCCGTTC
TGCTACTTGATTGCGTTATGATATATATATATATATAACCTT
TCTCCTCTTAAACATGGCCTGTGACACAATAGTCAGTGCAGA
AAGGAGCCAGACTTATCGCAAAGCACTGTGCTCAAACACTCTCA
GAAAAAAAAGGAAAAAAAAAAAGCTATAGTTGTAACATATGTA
TTCCAGACCTCTGGTTAAAGGCAAAAGAAAAAAATCTACAGT
GTTTCTCTCATGTTCTGATCGGAGGCATGACAAAGCAAGACT
GAAATCTGAACGTGCTCCTGCATGGCAACACGTGTCTCCGTCA
GGCCCTCGCAAGGCCGGGGAGGGGTTCTACGCCCTTGTCTC
TTTGTGCATGCTGAACACTCATGCCCTCCTACTGTATCCTGCCT
CCTGCAGCCTCCCTCTCCTCCTCCTCTCCTCCTCCTCCTCCTC
TCCTCCTCCTCCTCTCCTCCAAGTTGAAAGGTCAAACAAACACT
ACCACATTCCCTACCCAGTTAGAAGAAAACCACCGTCTGACAGT
TGTGATCGCATGGAGTACTTTAGATTATTAGCACCTGTTTACCT
CGTTGTGGCGTGTGTATGTGACATGTATGAAGTCGGCACAT
GCACCTCTGTATGGCAGAGGCCTGGCATCTACAGAAGAGCAG
ATGCCAACTTGTGCTTTAGTGAATACATTAAAAAAACCA
AACGGCCTTATTGAGTGGATTCTATTGATGCAAATATTGAGC
TCTTAAGACTTAAACTAGATAATGTGCCAAGCTTTAGGACTG
CTCACCACTGCCCTCTGAAGAACACCAAGTACTTTCTGTTG
TGTAATAAAGGCATATTGTATTGTTGCATCACTAATGGTTAT
TTCTCTTAGTCCACTGAATGTTCCATGTGCCTCTCGTATGCCAA
ACTTTGTCACTTCATGTGGGGACCAAATGGTTGTCTGTGGC
AACACCTAAACCTATGACCTGCTGAGGCCTCTCAGAAAATGACC
ACAGTACCAAGATAGTACTCGCAAAGAAAAGTAGGTTCCCTCCC

[0123]

TGGTTTGTAGCTGTCGCCAATATTAGCGTAATTCCAAGGAGCTGA
ACGCCTTATATAAATCTGATGGCACCTGATGCTTAGTTCTGAA
AATATTACACTCGGATCATGTTGATGACTAAACAAAGTTT
GATGAAGAGAGCAAAAAAAAAGCAGGTGGATTGGAACAGTTTC
AGGGTTTTTGTGTTTGTGTTTGTGTTGTTTTTTTAT
TTTGTTTCTGTTCTGTTAGAAAAGTCAGGTGTTCTGTCA
GGCTATCTTATAGTCAATTGTTTACGAACAAAGTAGTACCTT
TAATATGTAGTCAACGCCCTCTGCTCGGGTTCAGTTGGTCT
TAACCAGCTGTCATGTTCTATGCTGCCTGCCACTGAGGCAC
GAGTGCCTAGACAGTCCCCTCGGTGGTAGCCAGGGAAACGAAA
GACGAACACTCAACTCTGCTCCTAATAATCAACTCTGTATGAAG
GATGGCAGCATTAAAGAGTCCTCCTGCCTGGCATTATTGGGCCAG
TTCACCCCTTTAAATCAAACCCGCAGTGGCTCCAGTTCTCGTC
CCATCAGATTAAATTGCTAACAGTATGGGGGCACCACGCATCT
GTTTGTCCCACAATGCGCTTCTCTCCAAATCCGATTCTGC
TGTCAAGCCTCTATTCAATTATTATTGTCTGCCCTCCACTTAT
ACAATCGTAGAGAGCAATGCCATTGTCACTTCTGCAACAGTT
TTGAGCCTTATGGCTGAATCCCATTCTCTCTCTCAAACAGT
TTGCTCCATTGCTCCTCCGCACGGCTGTCCGTACAGTCATCCA
TCCATCTGGGGCCTTTCATCTCACCCTCCTGGTGCTCGT
GGATCTCTGCTTACCTCTGTGGTTTTTTTTTGTACTTAT
TCTCTCACTGGACTTAAGATTACTCCACAGCGAAAGTGCTGC
CTCCCTTTCTGCCCGCAGTGTCTGCGTACTTAGATACTACTCA
GTGCTGACATTGATGGCAAAAGTTGCCTGCACTAAATTCTCTT
TTAATAGGGTGAACTAGAGTTGGAGTTTTCTCTTTCTCT
TTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
CTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCTCTCTCTCTCT
TCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTT
TTTGACAAATCTCACAGGCTTGAGAATTATAAAAGGTGACAG
TTCACCTGAAAATCACAGGTCTGGTCTGTTAAATTGTTGAGAAA
TATCCGATTAAAAGTCTGTGGCTGTGTCCTAATAGGCTCTTTC
AGGACGTTGTAGTCAATAGAGTGGCTGAACCATACTGAGTTAT

[0124]

AAAGCTAAAAACTGATGCACCCACTCTGCTATTATCGTGTAGT
 AAGAGTCAGCTGTATATCATTGTCTAGGTTATCTTGTACAG
 TGGGTATTCAAATATGCCACCAGAGGATATGTGAAATAAGCA
 CCTGTATTGCCTGTTGAGAAGTGGAGGGAAAACAAAAAAT
 GTCTGGCAACCCTTGCCCTTTAACCGTAATTGACAGTTA
 TTAGAGATAAGAGTTCAAAACTCTTAACGCCACAACCCA
 CAGAGGGTCTGTTGCCATCTCAGTGGCTCACAGATATGATCC
 AAGTTAACTTGAAAGAGATGAGCAGTACCCAGGAAATTGTCCTG
 CCTTAACTCTGGCTGCCTTAATTATGACTGTTAATGCTGAATT
 TCCATCCGTCTAGTGTGAGGGAAAGAAAAGCCTTTAAAT
 AAGTATTCTGTAAAACGGCATCGGTGGATCTCTGTGTTGCTAT
 CACGGGTGAAAGAGGGAAACATTCTTATTAAAGCAGAGC
 ATTATTACAGAAAGCCATTGTTGAGAATTAGTCCCACATCATAT
 AAATATCCATTAACCATTCTAAATTGTAAGAGAACTCCAGTGTGC
 TATGCACAAGGAACCTCCTGGGGCCTTTGCATAGCAATT
 AAGGTATGCTATTGTCAGTAGCCATTGTCAGTGATTAAAGA
 CCAAAGTTTTACAGCTGTGTTACCCCTAAAGGTTTTTA
 TGTATTAAATCAATTACTGTTGAAGCTTGAATACCTGCAAT
 CTTGCCAAGATACTTTTATTAAAAAAATAACTGTGAAATATT
 ACCCTGTAATATTATATACTTAATAAAACATTAAAGCTA (SEQ ID
 NO: 3)

小鼠 CD47 氨基酸同种型 2 (XP_006521874.1)

MWPLAAALLGSCCCGSAQLLFSNVNSIEFTSCNETVVIPICRNV
EAQSTEEMFVKWLKNKSYIFIYDGNKNSTTDQNFTSAKISVSD
LINGIASLKMDKRDAVGNYTCEVTELSREGKTVIELKNRTVS
WFSPNEKILIVIFPILAILFWGKFGILTLKYKSSHTNKRILLLVAGLV
LTVIVVVVGAILLIPGEKPVKNASGLGLIVISTGILILLQYNVFMTAFG
MTSFTIAILITQVLGYVLALVGLCLCIMACEPVHGPLLISGLIIALAE
LLGLVYMKFVASNQRTIQPPRNR(SEQ ID NO: 4)

小鼠 CD47 mRNA 同种型 3 (XM_006521807.1)

[0126]

GCCTACACCGGGAGAGCAGGGAGGAGGTGGACTGAGGTTG
GGCGGCTCCGAGGTCCAGGGCGAGCTTGGCCAGAGGGAGTAGA
GAGCAGCGGGCTGCGCAGGGACCGTGCCGTGAGTCCGGTG
AGCGTGTGTCCCAGCTCCGTCTTCAGGCCGGCCAGGACA
CGAACGCCGAAGAGAGCTGGCTGGAGGGACGGGGCCGTGAGC
AGAGAGTGCAACCCCGCGCAGCCCCGGGACAGGCTGATTCTGG
CGCTCTCCGCCGGAGCCTGCCAGGGCTGGGTGTGAGGCTGGCG
TCACGTCAACGAGCAGAGGCCAGGCAGGGCGGAGTGCAGC
TGCAGGGGGCGCGAGCACGCGCGCGCACCCCCGGCAG
CCTGGCGGCCGCTCCTGCCTGTCAGTGCAGGGCGCTGCTGGTC
GGTCGTTCCCTGAAGGCAGCAGCGGAGGCAGGGCTGCTCCA
GACACCTGCGGCCGCGACCCCCCGCGCGAGATGTGGCC
CTTGGCGGCCGCGCTGTTGCTGGCTCCTGCTGCTGCCGTT
CAGCTCAACTACTGTTAGTAACGTCAACTCCATAGAGTTCAC
TTCATGCAATGAAACTGTGGTCATCCCTGCATCGTCCGTAAT
GTGGAGGCGCAAAGCACCGAAGAAATGTTGTGAAGTGGAA
GTTGAACAAATCGTATATTTCATCTATGATGGAAATAAAATA
GCACTACTACAGATCAAAACTTACCACTGCAAAATCTCAGT
CTCAGACTTAATCAATGGCATTGCCTCTTGAAAATGGATAAG
CGCGATGCCATGGTGGAAACTACACTTGCGAAGTGACAGA
GTTATCCAGAGAAGGCAAAACAGTTAGAGCTGAAAAACCG
CACGGCCTTCAACACTGACCAAGGATCAGCCTGTTCTACGA
GGAGGAGAAAGGAGGTTGCAAATTAGTTCGTGGTTCTCC
AAATGAAAAGATCCTCATTGTTATTTCCAATTGGCTATAC
TCCTGTTCTGGGAAAGTTGGTATTTAACACTCAAATATAA
ATCCAGCCATACGAATAAGAGAATCATTCTGCTGCTCGTTGCC
GGGCTGGTGCTCACAGTCATCGTGGTTGGAGCCATCCTT
CTCATCCCAGGAGAAAAGCCCGTGAAGAATGCTCTGGACTT
GGCCTCATTGTAATCTCTACGGGATATTAATACTACTTCAGT
ACAATGTGTTATGACAGCTTGGAAATGACCTCTTCACCAT
TGCCATATTGATCACTCAAGTGCTGGCTACGTCCTGCTTG
GTCGGGCTGTGTCTGCATGGCATGTGAGGCCAGTGCAC

GGCCCCCTTGATTCAGGTTGGGATCATAGCTCTAGCA
GAACTACTTGGATTAGTTATATGAAGTTGTCGCTTCCAACC
AGAGGACTATCCAACCTCCTAGGAAAGCTGTAGAGGAACCCC
TTAACGAATAGGTGAAGGGAAGTGACGGACTGTAACCTGGAAG
TCAGAAATGGAAGAATACAGTTGTCAGTGTCTAACGCACCAGGTCTCACG
ACTCACAGCTGGAAGGAACAGACAACAGTAAC TGACTTCCATCC
AGGAAAACATGTCACATAAAATGATTACTAAGTTATATTCAAAGCA
GCTGTACTTACATAATAAAAAAAATGATGTGCTGTGTAACCAA
TTGGAATCCCATTTCATTGTTCTACTCAACTAGGGGCAAACG
TTTCAGGGGCAACTCCAAGAATGATGCTGTTAGATCCTAGAGT
CTCTGAACACTGAGTTAAATTGATTCCGAGTGAGACTCGCCAAG
CACTAACCTGAGGGTTAGTTACCCAGAGATACCTATGAAAAACAG
TGGTATCCAGCAAGCCTAGTAAACTCAGGTTGCCAGCAGCTTG
CCACTTCCGCTGCTAGCTGAATAACAAGACTGCCACTTCTGGGTC
ATAGTGATAGAGACTGAAGTAGAAAAACGAATGTGGTGGCAA
ATCCC GTGTGGCCCCTGTGTGCTATGATATTGATGGCACTGGTG
TCTTCATTCTTGGGGGTTGCCATCATTCACACACACCCCTTGACA
TACAGTGACCCCAGTTGAATACATTTCGCACCCCTGTCCC
GTTCTGCTACTTGATTGCGTTATGATATATATATATATATAATAC
CTTTCTCCTCTTAAACATGGCCTGTGACACAATAGTCAGTTGC
AGAAAGGAGCCAGACTTATCGCAAAGCACTGTGCTCAAACACT
TCAGAAAAAAAGGAAAAAAAAAAAGCTATAGTTGTAACATAT
GTATTCCAGACCTCTGGTTAAAGGCAAAGAAAAAAATCTAC
AGTGTTCCTCTCATGTTCTGATCGGAGGCATGACAAAGCAAG
ACTGAAATCTGAACCTGTGTCTCCTGCATGGCAACACGTGTCTCCG
TCAGGCCCTCGCAAGGCCGGGGAGGGGGTTCTACGCCTCTGT
CTCTTGTGCATGCTGAACACTCATGCCTCCTACTGTATCCTG
CCTCCTGCAGCCTCCCTCTCCTCCTCTCCTCTCCTCTCT
TCCTCCTCCTCCTCTCCTCCAAGTTGAAAGGTCAAACAAA
ACTACCACATTCCCTACCCAGTTAGAAGAAAACCACCGTCCGTGAC
AGTTGTGATCGCATGGAGTACTTTAGATTATTAGCACCTGTTTT
ACCTCGTTGTGGCGTGTGTCACATGTATGAAGTCGG

[0127]

CACATGCACCTTCTGTATGGCAGAGGCGTGGCATCTACAGAAGA
GCAGATGCCAACTTGTGCTTTAGTGAATACATTAAAAAAA
AACCAACGGCCTTATTGAGTGGATTCTATTGATGCAAATATT
GAGCTCTTAAGACTTAAAAGTAGATAATGTGCCAAGCTTTAG
GACTGCTCACCAAGTGCCCTCTGAAGAACACCAGTACTTTTC
GTTTGTGAATAAAAGGCATATTGTATTGTGTTGCATCACTAATG
GTTATTCTTCTTAGTCCACTGAATGTTCCATGTGCCTCTCGTATG
CCAAACTTTGTCACTTCATGTGGGACCAAATGGTTGTCTG
TGGCAAACCTAAACCTATGACCTGCTGAGGCCTCTCAGAAA
GACCACAGTACCAAGATAGTACTTCGCAAAGAAAAGTAGGTTCC
CTCCCTGGTTTAGCTGTCGCCAATATTAGCGTAATTCCAAGGA
GCTGAACGCCTTATATAAATCTGATGGCACCTGATGCTTTAGTT
CTGAAAATATTACACTCGGATCATGTTGTTGATGACTAAACAAA
GTTTGATGAAGAGAGCAAAAAAGCAGGTGGATTGGAACA
GTTTCAGGGTTTTTTGTTTTGTTTTGTTTTGTTTTTTTT
TTTATTGTTCTGTTCTGTTAGAAAAGTCAGGTGTTCT
GTCAGGCTATCTTATAGTCATTTTACGAACAAAGTAGTA
CCTTTAATATGAGTCACGCCCTCTGCTGGGTTCAAGTTG
GGTCTAACCAAGCTGTCATGTTCTCTGCTGCCACTGAGG
CACTGAGTGCCTAGACAGTCCCCTCGGTGGTAGCCAGGGAAAC
GAAAGACGAACCTAAACTCTGCTCCTAATAATCAACTCTGTAT
GAAGGATGGCAGCATTAAAGAGTCCTCCTGCCCTGGCATTATTGG
CCAGTTCACCCCTTTAAATCAAACCCGCAGTGGCTCCAGTTCT
CGTCCCCTCAGATTAAATTGCTAACAGTATGGGGGGACCAACGC
ATCTGTTGTCCCACAATGCGCTTCTCTCCAAATCCGATT
CTGCTGTCATAGCCTCTATTCAATTATTATTGTCTGCCCTCCA
CTTATACAATCGTAGAGAGCAATGCCATTGTCACCTCTGCAACA
GTTTTTGAGCCTTATGGCTGAATCCATTCTCTCTTTCAA
CTGTTGCTCCATTGCTCCTCCGCACGGCTGTCCGTACAGTCATC
CCATCCATCTGGGGGCCTTCTCATCTCACCCTCCTGGTGCTT
CGTGGATCTGCTTACCTCTGTGGTTTTTTTTTTGACT
TATTCTCTCACTGGACTTAAGATTACTCCACAGCGAAAGTGCT

[0128]

GCCTCCCTTTCTGCCCGCAGTGTCTGCGTACTTAGATACTACT
CAGTGCTGACATTGATGGCAAAAGTTGCCTGCACTTAAATTCT
CTTTTAATAGGGTGAACTAGAGTTGGAGTTTTCTCTTTTC
TCTTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
TCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCTCTCTCTCT
CTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTT
CTTTTTGACAAATCTCACAGGCTTGAGAATTATAAAAGGTGA
CAGTCACCTGAAAATCACAGGTCTGGTCTGTTAAATTGTTGAG
AAATATCCGATTAAAAGTCTTGTGGCTGTGCCTAATAGGCTCT
TTCAGGACGTTGAGTCAATAGAGTGGCTGAACCATACTGAGTT
TATAAAGCTAAAAACTGATGCACCCACTCTGCTATTATCGTGT
GTAAGAGTTCAGCTGTATATCATTGTCTAGGTTATCTTGCCTACA
GTGGGTATTCAAATATGCCACCAAGAGGATATGTGTAAATATAAGC
ACCTGTATTGCCTGTTGAGAACTGGAGGGAAAACAAAAAA
TGTCTGGCAACCCTTGCCTTTAACCGTAATTGACAGTT
[0129] ATTTAGAGATAAGAGTTCAAAATCTCTTAACGCCACAACCC
ACAGAGGGTCTGTTGCCATCTCAGTGGCTCACAGATATGAT
CCAAGTTAACTGAAAGAGATGAGCAGTACCCAGGAAATTGTCC
TGCCTTAACCTGGCTGTCCTAATTGACTGTTAATGCTGAAT
TTCCATCCGTCTAGTGTGAGGGTAAAGAAAAGCCTTTTAA
ATAAGTATTCTGTAAAACGGCATCGTGGGATCTCTGTGTTGCT
ATCACGGGTGAAAGAGGGAAACATTCTTATTAAAGCAGA
GCATTATTACAGAAAGCCATTGTTGAGAATTAGTCCCACATCAT
ATAAAATCCATTAACCATTCTAAATTGTAAGAGAACTCCAGTGT
GCTATGCACAAGGAACCTCCTGGGGCCTTTGCATAGCAA
TTAAAGGTATGCTATTGTCAGTAGCCATTGTCAGTGAATTAA
AGACCAAAGTTGTTACAGCTGTGTTACCCCTAAAGGTTTTT
TTATGTATTAAATCAATTACTGTTGAAGCTTGAATACCTGC
AATCTTGCCAAGATACTTTTATTAAAAAAATAACTGTGTAAA
TATTACCCGTAAATTATATACTTAATAAAACATTAAAGCTA
(SEQ ID NO: 5)

小鼠 CD47 氨基酸同种型 3 (XP_006521870.1)

MWPLAAALLGSCCCGSAQLLFSNVNSIEFTSCNETVVIPI CIVRN VEAQSTEEMFVKWKL NKS YIFIYDGNKNSTTDQNFTSAKISVSD LINGIASLKMDKRDAMVGNYTCEVTELSREGKTVIELKNRTAFN TDQGSACSYEEKGGCKLVS WFSPNEKILIVIFPILA ILLFWGKFGI LTLKYKSSHTNKRI ILLVAGLVLT VIVVVGAI LIPGEKPVKNASGL GLIVISTGILILLQYNVFMTA FGMTSFTIA ILITQVLGYVL ALVGLCLC IMACEPVHGPLLISGLGII A LAELLGLVYMKFVASN QRTI QPPRKA VEE PLNE(SEQ ID NO: 6)

小鼠 CD47 mRNA 同种型 4 (XM_006521808.1)

[0130] GCCTACACCGGGAGAGCAGGGAGGAGTTGGACTGAGGTTG GGC GGCTCCGAGGTCCAGGGCGAGCTTGGCCAGAGGGAGTAGA GAGCAGCGGGCTGCGCAGGGACGCGTGCCGTGAGTTCCGGTG AGCGTGTGTCCC ATGCTCCGTCTTCAGGCCGGCCCAGGACA CGAAGCCGGAAGAGAGCTGGCTGGAGGGACGGGGCCGTGAGC AGAGAGTGCAACCGCGCAGCCCCGGGACAGGCTGATTCTTGG CGCTCTCCGCCGGAGCCTGCCAGGGCTGGTGTGAGGCTGGCG TCACGTCAACGAGCAGAGGCCAGGCAGGGCGGAGTGC GCG TGCGCGGGCGGCAGCACGCCGCAGCGCACCCCCGGCAG CCTGGCGGCCGCTCCTGCCTGTCACTGCTGCCGCTGCTGGTC GTCGTTCCCTGAAGGCAGCAGCGAGGCGGGCTGCTCCA GACACCTGCGCGCGACCCCCCGCGCGCGAGATGTGGCC CTTGGCGCGCGCTGTTGCTGGCTCCTGCTGCTGCCGTT CAGCTCAACTACTGTTAGTAACGTCAACTCCATAGAGTTCAC TTCATGCAATGAAACTGTGGTCATCCCTGCATCGTCCGTAAT GTGGAGGCGCAAAGCACCGAAGAAATGTTGTGAAGTGGAA GTTGAACAAATCGTATATTTCATCTATGATGGAAATAAAAATA GCACTACTACAGATCAAAACTTACCA GTGCAAAATCTCA GT CTCAGACTTAATCAATGGCATTGCCTCTTGAAAATGGATAAG CGCGATGCCATGGTGGAAACTACACTTGCAGTGAAGTACAGA GTTATCCAGAGAAGGCAAAACAGTTAGAGCTGAAAAACCG

CACGGTTCTGGTTTCTCCAAATGAAAAGATCCTCATTGTT
ATTTCCAATTTGGCTATACTCCTGTTCTGGGGAAAGTTG
GTATTTAACACTCAAATATAAATCCAGCCATACGAATAAGAG
AATCATTCTGCTGCTCGTTGCCGGCTGGTGCACAGTCAT
CGTGGTTGTTGGAGCCATCCTCATCCCAGGAGAAAAGCC
CGTGAAGAATGCTCTGGACTTGGCCTCATTGTAATCTCTACG
GGGATATTAATACTACTTCAGTACAATGTGTTATGACAGCTT
TGGAATGACCTCTTCACCATTGCCATTGATCACTCAAGTG
CTGGGCTACGTCCCTGCTTGGTCGGCTGTGTCTGCATC
ATGGCATGTGAGCCAGTGCACGGCCCCCTTGATTTCAGGT
TTGGGGATCATAGCTCTAGCAGAACTACTTGGATTAGTTATA
TGAAGTTGTCGCTCCAACCAGAGGACTATCCAACCTCCTA
GGAAAGCTGTAGAGGAACCCCTAACGCATTAAAGAGTCAA
AAGGAATGATGAATGACGAATAGGTGAAGGGAAAGTGACGGACT
GTAACCTGGAAGTCAGAAATGGAAGAATACAGTTGTCTAAC
CAGGTCTTCACGACTCACAGCTGGAAGGAACAGACAACAGTAAC
TGACTTCCATCCAGGAAAACATGTACATAATAAAAAAAATGATGTG
ATATTCAAAGCAGCTGTACTTACATAATAAAAAAAATGATGTG
CTGTGTAACCAATTGGAATCCCATTTCATTGTTCTACTCAACT
AGGGGCAAACGTTCAGGGCAACTTCCAAGAATGATGCTTGT
AGATCCTAGAGTCTCTGAACACTGAGTTAAATTGATTCCGAGTG
AGACTCGCCAAGCACTAACCTGAGGGTAGTTACCCAGAGATA
TATGAAAAACAGTGGTATCCAGCAAGCCTAGTAAACTCAGGTTG
CCAGCAGCTTGCCACTTCCGCTGCTAGCTGAATAACAAGACTGC
CACTTCTGGGTCAAGTGTAGAGACTGAAGTAGAAAAACGAAT
GTGGTTGGGCAAATCCCGTGTGGCCCCCTGTGTGCTATGATATTG
ATGGCACTGGTGTCTCATTCTTGGGGTTGCCATCATTACACAC
ACCCCTTGACATACAGTGCACCCAGTTGAATACATTTTTT
GCACCCGTCCCGTTCTGCTACTTGAATTGCGTTATGATATATA
TATATATATAATACCTTCTCCTCTTAAACATGGCCTGTGACAC
AATAGTCAGTTGCAGAAAGGAGCCAGACTTATTGCAAAGCACT
GTGCTCAAACCTTCAGAAAAAAAGGAAAAAAAGCTAT

[0131]

AGTTGTAACATATGTATTCCAGACCTCTGGTTAAAGGCAAAAGA
AAAAAAAATCTACAGTGTTCCTCATGTTTCTGATGGAGGCAT
GACAAAGCAAGACTGAAATCTGAACGTGTCTCCTGCATGGCAA
CACGTGTCTCCGTCAGGCCCTCGCAAGGCCGGGAGGGGGTTC
TACGCCTCTTGTCTCTTGTGCATGCTAACACTCATGCCCTTCC
TACTGTATCCTGCCTCCTGCAGCCTCCCTCTCCTCCCTTCC
TCTTCCTCCTCTCCTCCTCCTCCTCTCCTCCAAGTTGAAA
GGTCAAACAAAACCTACCACATTCCCTACCCAGTTAGAAGAAAAC
CACCGTCCTGACAGTTGTGATCGCATGGAGTACTTTAGATTATA
GCACCTGTTTACCTCGTTGTGGCGTGTATGTGCACATG
TATGAAGTCGGCACATGCACCTCTGTATGGCAGAGGCGTGGCA
TCTACAGAAGAGCAGATGCCAACTTGTGCTTTAGTGAATACATT
AAAAAAAAAAAAACCAACGGCCTTATTGAGTGGAATTCTATTGA
TGCAAATATTGAGCTTTAAGACTTAAAACTAGATAATGTGCC
AAGCTTTAGGACTGCTACCAGTGCCCTCTGAAGAACACCAAG
TACTTTCTGTTGTGAATAAAGGCATATTGTATTGTGTTG
CATCACTAATGGTTATTCTTCTTAGTCCACTGAATGTTCCATGTG
CCTCTCGTATGCCAAACTTTGTCATCTTCATGTGGGACCAAA
TGGTTGTCTGGCAAACCTAACCTATGACCTGCTGAGGCCTC
TCAGAAAACGTGACCACAGTACCAAGATAGTACTTCGCAAAGAAA
AGTAGGTTCCCTCCCTGGTTTAGCTGTCGCCAATATTAGCGTA
ATTCCAAGGAGCTGAACGCCCTTATATAAATCTGATGGCACCTGAT
GCTTTAGTTCTGAAAATATTACACTCGGATCATGTTGTTGATGA
CTTAAACAAAGTTTGATGAAGAGAGCAAAAAAAAGCAGGTG
GATTGGAACAGTTCAGGGTTTTGTTGTTGTTGTTGTTGTTGTT
TGTTTTTTTTTATTGTTGTTCTGTTCTGTAGAAAAGT
CAGGTGTTCTGTCAGGCTATCTTATAGTCAATTCTTACGA
ACTAAAGTAGTACCTTTAATATGTAGTCAACGCCCTCTGCTCGG
GGTCAGTTGGTCTTAACCAGCTGTCATGTTCTATGCTGCC
TGCCACTTGAGGCACTGAGTGCCCTAGACAGTCCCCTCGGTGGTA
GCCAGGGAAACGAAAGACGAACACTCAACTCTGCTCCTAATAATC
AACTCTCTGTATGAAGGATGGCAGCATTAAAGAGTCCTCCTGCCTG

[0132]

GGCATTATTGGGCCAGTCACCCCTTTAAATCAAACCCGCAGTG
GCTCCCAGTCTCGTCCCATCAGATTAAATTGCTAACAGTATGGG
GGGCACCACGCATCTGTTGTCCCACAATGCGCTTCTCTCCC
AAATCCCGATTCTGCTGTCATAGCCTCTATTCAATTAAATTATT
GTCTGCCCTCCACTTATAACAATCGTAGAGAGCAATGCCATTGTCA
CTTCTGCAACAGTTTGAGCCTTATGGCTGAATCCCATT
CTTCTCTTCAAACGTGTTGCTCCATTGCTCCTCCGCACGGCTGT
CCGTACAGTCATCCCATCCATCTGGGGCCTCTTCATCTCTCAC
CTTCCTGGTGCTCGTGGATCTCTGCTTACCTCTGTGGGTTTT
TTTTTTTTGACTTATTCTCTCACTGGACTTAAGATTACTCCA
CAGCGAAAGTGCTGCCTCCCTTCTGCCCGCAGTGTCTGCGTA
CTTAGATACTACTCAGTGCTGACATTGATGGAAAAGTTGCCT
GCACTTAAATTCTCTTTAATAGGGTGAACTAGAGTTGGAGTT
TTTCTCTTTCTCTTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCTCT
CTCTCTCTCTCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCTCCCT
CTCTCTCTCTTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCT
TTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCTTCT
TTATAAAAGGTGACAGTCACCTGAAAATCACAGGTCTGGTCTGT
TTAAATTGTTGAGAAATATCCGATTAAAGTCTTGTGGCTGTCC
TAATAGGCTCTTCAAGGACGTTGAGTCAATAGAGTTGGCTGAA
CCATACTTGAGTTATAAGCTAAAAACTGATGCACCCACTCTG
CTATTATCGTGTAGTAAGAGTTCAAGCTGAGCTGTATATCATTGTCTAGGTT
TATCTTGTCTACAGTGGTATTCAAATATGCCACCAAGAGGATAT
GTGTAAATATAAGCACCTGTATTGCCCTGTTGAGAACTGGAG
GGAAAACAAAAATGTCTGGCAACCCCTTGCCTTTAACCGTAA
TTAATTGACAGTTATTAGAGATAAGAGTTCAAAATCTCTTA
ACTGCCACAACCCACAGAGGGCTTGTGTTGCCATCTCAGTGGC
TCACAGATATGATCCAAGTTAACTCTGGCTGCTTAATTATGACTG
AGGAAATTGTCTGCCTTAACCTGCTGCTGCTTAATTATGACTG
TTAATGCTGAATTCCATCCGTCTAGTGTGAGGGTAAAGAAA
AGCCTTTAAATAAGTATTCTGAAAACGGCATCGGTGGGATC
TTCTGTGTTGCTACGGGTGAAAGAGGGAAACATTCTTATT

[0133]

TATTAAGCAGAGCATTATTCAGAAAGCCATTGTTGAGAATTAGT
 TCCCACATCATATAAATATCCATTAAACCATTCTAAATTGTAAGAGAA
 CTCCAGTGTGCTATGCACAAGGAACCTCTCCTGGGGGCCTTTT
 TGCATAGCAATTAAAGGTATGCTATTGTCAGTAGCCATTTTGC
 AGTGATTAAAGACCAAAGTTGTTACAGCTGTGTTACCCTAA
 AGGTTTTTTTATGTATTAAATCAATTACTGTTGAAGCTT
 TGAATACCTGCAATCTTGCCAAGATACTTTTATTAAAAAAAT
 AACTGTGTAAATATTACCCCTGTAATATTATATACTTAATAAAAACAT
 TTTAAGCTA (SEQ ID NO: 7)

小鼠 CD47 氨基酸同种型 4 (XP_006521871.1)

MWPLAAALLLGSCCGSAQLLFSNVNSIEFTSCNETVVIPI CIVRN V
EAQSTEEMFVKWKL NKS YIFIYDGNKNSTTDQNFTSAKISVSD
LINGIASLKMDKRDAMVGNYTCEVTELSREGKTVIELKNRTVS
WFSPNEKILIVIFPILAILFWGKFGILTLKYKSSHTNKRIILLVAGLV
LTVIVVVVGAILLIPGEKPVKNASGLGLIVISTGILILLQYNVFMTAFG
MTSFTIAILITQVLGYVLALVGLCLCIMACEPVHGPLLISGLGII ALAE
LLGLVYMKFVASNQRTIQPPRKAVEEPLNAFKESKGMMNDE(SEQ ID NO: 8)

[0134]

人 CD47 mRNA 同种型 1 (XM_005247909.1)

AGTGGGAGCGCGCGTGC CGCGCGCCGTGCAGCCTGGGCAGTGG
GTCCTGCCTGTGACCGCGGGCGCGGCTGGTCGGCCTGCCTGTAACG
GCGGCCGGCGGCTGCTGCTCCGGACACCTGCGGCCGGCGGCCGA
CCCCGCGGCCGGCGCGGAGATGTGGCCCTGGTAGC GGGCGCT
GTTGCTGGCTCGCGTGCTGCGGATCAGCTAGCTACTATT
TAATAAAAACAAAATCTGTAGAATTCACGTTTGTAAATGACACT
GTCGT CATTCCATGCTTGTACTAATATGGAGGCACAAAACA
CTACTGAAGTATACGTAAAGTGGAAATTAAAGGAAGAGATAT
TTACACCTTGATGGAGCTCTAAACAAGTCCACTGTCCCCAC
TGACTTTAGTAGTGCAAAATTGAAGTCTCACAATTACTAAAA
GGAGATGCCTCTTGAGATGGATAAGAGTGATGCTGTCTCA

CACACAGGAAACTACACTTGTGAAGTAACAGAATTAACCAGA
GAAGGTGAAACGATCATCGAGCTAAAATATCGTGTGTTCAT
GGTTTCTCCAAATGAAAATATTCTTATTGTTATTTCCCAATT
TTTGCTATACTCCTGTTCTGGGGACAGTTGGTATTAAAACAC
TTAAATATAGATCCGGTGGTATGGATGAGAAAACAATTGCTTT
ACTTGTGCTGGACTAGTGATCACTGTCATTGTCATTGTTGGA
GCCATTCTTCGTCCCAGGTGAATATTCAATTAAAGAACATGCTA
CTGGCCTTGGTTAATTGACTTCTACAGGGATATTAATATTA
CTTCACTAATGTGTTAGTACAGCGATTGGATTAACCTCCT
TCGTCATTGCCATATTGGTTATTCAAGGTGATAGCCTATATCCTC
GCTGTGGTTGGACTGAGTCTCTGTATTGCGGCGTGTATACCA
ATGCATGGCCCTTTCTGATTCAGGTTGAGTATCTTAGCTC
TAGCACAAATTACTTGGACTAGTTATATGAAATTGTGGAATA
ACTGAAGTGAAGTGATGGACTCCGATTGGAGAGTAGTAAGACG
TGAAAGGAATACACTTGTGTTAAGCACCATGGCCTGATGATTG
ACTGTTGGGGAGAAGAAACAAGAAAAAGTAACTGGTTGTCACCTA
TGAGACCCCTACGTGATTGTTAGTTAAGTAAAGTTTATTCAAAGCAGCT
GTAATTAGTTAATAAAATAATTATGATCTATGTTGTTGCCAATT
GAGATCCAGTTTTGTTATTAAATCAATTAGGGCAATAGT
AGAATGGACAATTCCAAGAATGATGCCCTTCAGGTCCTAGGGCC
TCTGGCCTCTAGGTAAACCAGTTAAATTGGTTCAGGGTGATAACT
ACTTAGCACTGCCCTGGTGATTACCCAGAGATATCTATGAAAACC
AGTGGCTTCCATCAAACCTTGCCAACTCAGGTTCACAGCAGCTT
TGGGCAGTTATGGCAGTATGGCATTAGCTGAGAGGTGTCTGCCAC
TTCTGGGTCAATGGAATAATAAAATTAAAGTACAGGCAGGAATTGG
TTGGGAGCATCTGTATGATCTCCGTATGATGTGATATTGATGGAG
ATAGTGGCCTCATTCTGGGGTTGCCATTCCCACATTCCCCCTT
CAACAAACAGTGTAAACAGGTCTCCAGATTAGGGTACTTTA
TTGATGGATATGTTCTTTATTCACATAACCCCTGAAACCCCTG
TCTTGTCTCCTGTTACTGCTCTGCTGTACAAGATGTAGCACCT
TTTCTCCTCTTGAACATGGCTAGTGACACGGTAGCACCAGTTG
CAGGAAGGAGGCCAGACTGTTCTCAGAGCACTGTGTTCACACTT

[0135]

TTCAGCAAAAATAGCTATGGTGTAAACATATGTATTCCCTTCCTCT
GATTGAAGGCAGAAATCTACAGTGTCTCACTCTTTCTGAT
CTGGGGCATGAAAAAAGCAAGATTGAAATTGAACATGAGTCTC
CTGCATGGCAACAAAATGTGTCAACCACAGGCCAACAGGCCA
GCCCTGAAATGGGATTATTACTGTTGTATCTATGTTGCATGATAA
ACATTCATCACCTCCTCGTAGTCCTGCCTCGTACTCCCCTCC
CCTATGATTGAAAAGTAAACAAAACCCACATTCCTATCCTGGTTA
GAAGAAAATTAATGTTCTGACAGTTGTGATCGCCTGGAGTACTTT
TAGACTTTAGCATTGTTTACCTGTTGTGGATGTGTGTTGT
ATGTGCATACGTATGAGATAGGCACATGCATCTCTGTATGGACAA
AGGTGGGGTACCTACAGGAGAGCAAAGGTTAATTGTGCTTTA
GTAAAAACATTAAATACAAAGTTCTTATTGGGTGGAATTATATT
TGATGCAAATATTGATCACTAAAACTTAAAACCTAGGTAA
TTGCCACGCTTTGACTGCTCACCAATACCCGTAAAAAACAGT
AATTCTCCTGTTGTGATAAGATATTGATATTGTAGTTGCATT
AATAATAGTTATTCTTAGTCATCAGATGTTCCGTGCTCCTT
TATGCCAAATTGATTGTCATATTGATGTTGGACCAAGTAGTTG
CCCATGGCAAACCTAAATTGACCTGCTGAGGCCTCTCAGAAA
ACTGAGCATACTAGCAAGACAGCTCTTGAAAAAAATATG
TATACACAAATATACGTATATCTATATACGTATGTATACACA
CATGTATATTCTCCTGATTGTGAGCTGTCAAAATAAACATA
TATAGAGGGAGCTGTATTCTTATACAAACTGATGGCTCCTGCA
GCACTTTCTGAAATATTGACATTGCTAACCTAGTTGT
TACTTAAAAACTCAGTTGATGAAAGGAGGGAAAAGCAGATGG
ACTTGAAAAAGATCCAAGCTCCTATTAGAAAAGGTATGAAAATCT
TTATAGAAAATTTTATAAAACTAAAGTTGTACCTTTAATATGTA
GTAAACTCTCATTTATTGGGTCGCTCTGGATCTCATCCATCCA
TTGTGTTCTCTTAATGCTGCCTGCCTTGAGGCATTCACTGCC
TAGACAATGCCACCAAGAGATAGTGGGGAAATGCCAGATGAAAC
CAACTCTGCTCTCACTAGTTGTCAGCTCTGGATAAGTGACC
ACAGAAGCAGGAGTCCTCCTGCTGGCATCATTGGGCCAGTTCC
TTCTCTTAAATCAGATTGTAATGGCTCCAAATTCCATCACATC

[0136]

ACATTTAAATTGCAGACAGTGTTCGCACATCATGTATCTGTTTG
TCCCATAATATGCTTTACTCCCTGATCCCAGTTCTGCTGTTGAC
TCTTCCATTCAAGTTTATTGTGTGTTCTCACAGTGACACCATT
TGTCTTCTGCAACAACCTTCCAGCTACTTTGCCAAATTCTA
TTTGTCTTCTCCTTCAAAACATTCTCCTTGCAGTCCTCTTCATCT
GTGTAGCTGCTCTTGTCTTAACCTACCTCCTATAGTACTT
ATGCATCTCTGCTTAGTTCTATTAGTTTTGGCCTGCTCTTC
TTGATTTAAAATTCTCTATAGCTAGAGCTTTCTTCTTCATT
CTCTCTCCTGCAGTGTTCGCATACATCAGAAGCTAGGTACATAA
GTTAAATGATTGAGAGTTGGCTGTATTAGATTATCACTTTTAAT
AGGGTGAGCTTGAGAGTTTCTTCTTCTGTTTTTTGTT
TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGACTAATTACATGCTC
TAAAAAACCTCAAAGGTGATTATTTCTCCTGGAAACTCCAGGT
CCATTCTGTTAAATCCCTAACAGAATGTCAGAATTAAAATAACAGGG
CTATCCCGTAATTGGAAATATTCTTTTCAGGATGCTATAGCAA
TTTAGTAAGTGACCACCAATTGTTATTGCACTAACAAAGCTCA
AAACACGATAAGTTACTCCTCCATCTCAGTAATAAAAATTAAAGCT
GTAATCAACCTCTAGGTTCTCTGTCTTAAATGGGTATTCAA
AATGGGGATCTGTGGTGTATGTATGGAAACACATACTCCTTAATT
ACCTGTTGGAAACTGGAGAAATGATTGTCGGCAACCGTTA
TTTTTATTGTATTGTTGGTTGAGGGATTTTTATAAACAGTT
TACTTGTGTCAATTAAAATTACTAACCTGCCATCACCTGCTGG
GTCCTTGTAGGTCAATTCAAGTCAACTGGATAATCCAGGT
AACTTGAAGAGATGAGCAGTGAGTGACCAGGCAGTTCTGC
CTTAGCTTGACAGTTCTTAATTAAAGATCATTGAAGACCAGCTT
CTCATAAATTCTCTTTGAAAAAAAGAAAGCATTGTACTAAG
CTCCTCTGTAAGACAACATCTAAATCTAAAAGTGTGTTATCAT
GACTGGTGAGAGAAGAAAACATTGTTTTATTAAATGGAGCAT
TATTACAAAAAGCCATTGTTGAGAATTAGATCCCACATCGTATAA
ATATCTATTAAACCATTCTAAATAAGAGAACTCCAGTGCTATG
TGCAAGATCCTCTTGGAGCTTTGCATAGCAATTAAAGGTGT
GCTATTGTCAGTAGCCATTGGAGCTTTGCAGTGATTGAAGACCAAAG

[0137]

TTGTTTACAGCTGTGTTACCGTTAAAGGTTTTTTATATGTA
TTAAATCAATTATCACTGTTAAAGCTTGAATATCTGCAATCTT
GCCAAGGTACTTTTATTAAAAAAAACATAACTTGTAATAT
TACCCTGTAATATTATATACCTAATAAAAACATTTAAGCTA(SEQ
ID NO: 9)

人 CD47 氨基酸同种型 1 (XP_005247966.1)

MWPLVAALLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPC
FVTNMEAQNTTEVYVKWFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIE
VSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTEL TREGETIIELKY
RVVSWFSPNENILIVIFPIFAILFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIAL
LVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVF
STAIGLTSFVIAILVIQVIAYILA VVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILA
LAQLLGLVYMKFVE
(SEQ ID NO: 10)

[0138]

人 CD47 mRNA 同种型 2 (NM_198793.2)

GGGGAGCAGGCAGGGAGCGGGCGGAAGCAGTGGGAGCGCG
CGTCGCGCGGCCGTGCAGCCTGGCAGTGGTCCTGCCTGTGA
CGCGCGCGGGCGGTGGTCCTGCCTGTAAACGGCGGCGGGCTG
CTGCTCCAGACACCTGCAGCGGCGGCGACCCCGCGGGCGGCG
GCGGAGATGTGGCCCCCTGGTAGCGCCGCTGTTGCTGGGCTCG
GCCTGCTGCGGATCAGCTCAGCTACTATTTAATAAAAACAAAT
CTGTAGAATTCACGTTTGTAAATGACACTGTCGTATTCCATG
CTTTGTTACTAATATGGAGGCACAAAACACTACTGAAGTATA
GTAAAGTGGAAATTAAAGGAAGAGATATTACACCTTGATG
GAGCTCTAAACAAGTCCACTGTCCCCACTGACTTTAGTAGTG
CAAAAATTGAAGTCTCACAAATTACTAAAAGGAGATGCCTCTT
GAAGATGGATAAGAGTGATGCTGTCACACACAGGAAACTA
CACTTGTGAAGTAACAGAACCTAACAGAGAAGGTGAAACGAT
CATCGAGCTAAATACGTGTTCATGGTTTCTCCAAAT
GAAAATATTCTATTGTTATTTCCAATTGGCTATACTCCT

GTTCTGGGGACAGTTGGTATTAAAACACTTAAATATAGATCC
GGTGGTATGGATGAGAAAACAATTGCTTACTTGTGCTGGA
CTAGTGATCACTGTCATTGTCATTGGAGCCATTCTTTCG
TCCCAGGTGAATATTCACTAAAGAATGCTACTGGCCTGGTT
AATTGTGACTTCTACAGGGATATTAATATTACTCACTACTATG
TGTTTAGTACAGCGATTGGATTAACCTCCTCGTCATTGCCAT
ATTGGTTATTCAAGGTGATAGCCTATATCCTCGCTGTGGTTGGA
CTGAGTCTCTGTATTGCCCGTGTACCAATGCATGCCCTC
TTCTGATTCAGGTTGAGTATCTAGCTCTAGCACAAATTACT
TGGACTAGTTATATGAAATTGTGGCTCCAATCAGAACAGACT
ATACAAACCTCCTAGGAATAACTGAAGTGAAGTGATGGACTCCGA
TTGGAGAGTAGTAAGACGTGAAAGGAATACACTTGTGTTAACG
ACCATGCCCTGATGATTCACTGTTGGGGAGAAGAAACAAGAAA
AGTAACGGTTGTCACCTATGAGACCCCTACGTGATTGTTAGTAA
GTTTTATTCAAAGCAGCTGTAATTAGTTAATAAAATAATTATGAT
CTATGTTGTTGCCAATTGAGATCCAGTTTTGTTGTTATTTTA
ATCAATTAGGGCAATAGTAGAATGGACAATTCCAAGAATGATG
CCTTCAGGTCTAGGGCCTCTGGCCTCTAGGTAAACCAGTTAAA
TTGGTTCAAGGTGATAACTACTTAGCACTGCCCTGGTATTACCC
AGAGATATCTATGAAAACCAGTGGCTCCATCAAACCTTGCCAA
CTCAGGTTCACAGCAGCTTGGCAGTTATGGCAGTATGGCATT
GCTGAGAGGTGTCGCCACTCTGGTCAATGGAATAATAATTAA
AGTACAGGCAGGAATTGGTTGGGAGCATCTGTATGATCTCCGT
ATGATGTGATATTGATGGAGATAGTGGCCTCATTCTGGGGTTG
CCATTCCCACATTCCCCCTCAACAAACAGTGTAAACAGGTCTTC
CCAGATTAGGGTACTTTATTGATGGATATGTTCTTCTTATTCA
CATAACCCCTGAAACCCTGTCTTGTCTCCTGTTACTGCTCTG
CTGTACAAGATGTAGCACCTTCTCCTCTTGAACATGGTCTAGT
GACACGGTAGCACCAGTTGCAGGAAGGAGGCCAGACTGTTCTCA
GAGCACTGTGTTCACACTTCAGAAAAATAGCTATGGTTGTA
CATATGTATTCCCTCCTGATTGAAGGAAAAATCTACAGTGT
TTCTCACTTCTTCTGATCTGGGCATGAAAAAAGCAAGATTG

[0139]

AAATTGAACTATGAGTCTCCTGCATGGCAACAAAATGTGTGTCA
CCATCAGGCCAACAGGCCAGCCCTGAATGGGGATTATTACTGT
TGTATCTATGTTGCATGATAAACATTACACCTCCTCTGTAGTC
CTGCCTCGTACTCCCCTCCCTATGATTGAAAAGTAAACAAAAC
CCACATTCCTATCCTGGTTAGAAGAAAATTAATGTTCTGACAGTT
GTGATCGCCTGGAGTACTTTAGACTTTAGCATTGCTTTTACC
TGTTGTGGATGTGTGTTGTATGTGCATACGTATGAGATAGGCAC
ATGCATCTCTGTATGGACAAAGGTGGGGTACCTACAGGAGAGCA
AAGGTTAATTGTGCTTTAGTAAAAACATTAAATACAAAGTTC
TTTATTGGGTGGAATTATATTGATGCAAATATTGATCACTTAAAA
CTTTAAAACCTCTAGGTAATTGCCACGCTTTGACTGCTCACC
AATACCCTGTAAAAATACGTAATTCTCCTGTTGTGAATAAGATA
TTCATATTGTAGTTGCATTAATAATAGTTATTCTTAGTCCATCAGA
TGTTCCCGTGTGCCTCTTATGCCAAATTGATTGTCAATTTCATG
TTGGGACCAAGTAGTTGCCATGGCAAACCTAAATTGACCT
GCTGAGGCCTCTCAGAAAATGAGCATACTAGCAAGACAGCTCT
TCTGAAAAAAAAAATGTATACACACATGTATATTCTCCTGATTGTGTAGC
TATACGTATGTATACACACATGTATATTCTCCTGATTGTGTAGC
TGTCCAAAATAAACATATAGAGGGAGCTGTATTCTTATACA
AATCTGATGGCCTCTGCAGCACTTTCTCTGAAAATATTACA
TTTGCTAACCTAGTTGTTACTTAAAAATCAGTTGATGAAAG
GAGGGAAAAGCAGATGGACTTGAAAAAGATCCAAGCTCCTATT
GAAAAGGTATGAAAATCTTATAGTAAAATTTTATAAAACTAAAG
TTGTACCTTTAATATGTAGTAAACTCTCATTTATTGGGGTCGCT
CTTGGATCTCATCCATTGTGTTCTCTTAATGCTGCCTGCCT
TTGAGGCATTCACTGCCCTAGACAATGCCACAGAGAGATGGGG
GAAATGCCAGATGAAACCAACTCTGCTCTCACTAGTTGTCAGCT
TCTCTGGATAAGTGACCACAGAAGCAGGAGTCCTCCTGCTGGGG
CATCATTGGGCCAGTCCTCTCTTAAATCAGATTGTAATGGCT
CCCAAATTCCATCACATCACATTAAATTGCAGACAGTGTGTTGCA
CATCATGTATCTGTTGTCCCATAATATGCTTTACTCCCTGATC
CCAGTTCTGCTGTTGACTCTCCATTGAGTTTATTGTGTGT

[0140]

TCTCACAGTGACACCATTGTCCTTCTGCAACAACCTTCCAG
CTACTTTGCCAAATTCTATTGTCTCCTCAAAACATTCTCCT
TTGCAGTTCTCTCATCTGTGTAGCTGCTCTTGTCTCTAACCT
ACCATTCTATAGTACTTATGCATCTGCTTAGTCTATTAGTTT
TTGGCCTGCTCTCTCCTGATTTAAAATTCTCTATAGCTAGA
GCTTTCTTCTTCATTCTCTCCTGCAGTGTTCGCATACATC
AGAAGCTAGGTACATAAGTTAAATGATTGAGAGTTGGCTGTATT
GATTATCACTTTAATAGGGTAGCTGAGAGTTTCTTCTTCTT
CTGTTTTTTTTGTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTG
ACTAATTACATGCTCTAAAAACCTCAAAGGTGATTATTTCT
CCTGGAAACTCCAGGTCCATTCTGTTAAATCCCTAAGAATGTCA
GAATTAAAATAACAGGGCTATCCCGTAATTGGAAATATTCTTTT
TCAGGATGCTAGTCAATTAGTAAGTGACCACCAAATTGTTATT
TGCACAAACAAAGCTAAAACACGATAAGTTACTCCTCCATCTC
AGTAATAAAATTAGCTGTAATCAACCTCTAGGTTCTCTGTC
TTAAAATGGGTATTCAAAAATGGGATCTGTGGTGTATGTATGGAA
ACACATACTCCTTAATTACCTGTTGGAAACTGGAGAAATGAT
TGTGGGCAACCCTTATTGTTATTGTATTGTTGGTTGAGGGAA
TTTTTTATAAACAGTTTACTTGTGTCATATTAAAATTACTAAC
TGCCATCACCTGCTGGGTCTTGTAGGTCAATTTCAGTGACTA
ATAGGGATAATCCAGGTAACTTGAAGAGATGAGCAGTGAGTGAC
CAGGCAGTTTCTGCCTTAGCTTGCAGTTCTTAATTAAAGATC
ATTGAAGACCAGCTTCTCATAAATTCTCTTTGAAAAAAAAGA
AAGCATTGTACTAAGCTCCTGTAAAGACAACATCTAAATCTTA
AAAGTGTGTTATCATGACTGGTGAGAGAAGAAAACATTGTT
TTATTAAATGGAGCATTATTACAAAAAGCCATTGTTGAGAATTAG
ATCCCACATCGTATAAATATCTATTAAACCATTCTAAATAAGAGAA
CTCCAGTGTGCTATGTGCAAGATCCTCTTGGAGCTTTTGCA
TAGCAATTAAAGGTGTGCTATTGTCAGTAGCCATTGTTGAGCTT
GATTGAAGACCAAAAGTTGTTACAGCTGTGTTACCGTTAAAGG
TTTTTTTTATATGTATTAAATCAATTACTGTTAAAGCTT
GAATATCTGCAATCTTGCCAAGGTACTTTTATTAAAAAA

[0141]

CATAACTTGTAAATATTACCCCTGTAATATTATATATACTTAATAAAAA
 CATTTTAAGCTATTTGTTGGGCTATTCTATTGCTGCTACAGCAGA
 CCACAAGCACATTCTGAAAAATTAAATTATTAATGTATTTTAAG
 TTGCTTATATTCTAGGTAACAATGTAAAGAACATGATTAAAATTAA
 TTATGAATTTTTGAGTATAATACCCAATAAGCTTTAATTAGAGCA
 GAGTTTAATTAAAAGTTTAAATCAGTC
 (SEQ ID NO: 11)

人 CD47 氨基酸同种型 2 (NP_942088.1)

MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFVTN
MEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIEVS
QLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTRGETIIELKYRV
VSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVA
GLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAI
GLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQ
LLGLVYMKFVASNQKTIOPPRNN(SEQ ID NO: 12)

[0142]

人 CD47 mRNA 同种型 3 (XM_005247908.1)

AGTGGGAGCGCGCGTGCCGCGCGGCCGTGCAGCCTGGCAGTGG
GTCCTGCCTGTGACCGCGGGCGGCGGTCGGTCCCTGCCTGTAACG
GCGGCGGCGGCTGCTGCTCCGGACACCTGCGGCGGCCGGCGCA
CCCCGCGGCGGGCGCGGAGATGTGGCCCCTGGTAGCGGCGCT
GTTGCTGGGCTCGGCGTGCTGCGGATCAGCTCAGCTACTATT
TAATAAAACAAATCTGTAGAATTCACGTTTGTAAATGACACT
GTCGTCATTCCATGCTTGTACTAATATGGAGGCACAAAACA
CTACTGAAGTATACGTAAAGTGGAAATTAAAGGAAGAGATAT
TTACACCTTGATGGAGCTCTAAACAAAGTCCACTGTCCCCAC
TGACTTTAGTAGTGCAAAATTGAAGTCTCACAAATTACTAAAAA
GGAGATGCCTCTTGAAGATGGATAAGAGTGATGCTGTCTCA
CACACAGGAAACTACACTTGTGAAGTAACAGAATTAAACCAGA
GAAGGTGAAACGATCATCGAGCTAAATATCGTGTGTTCAT
GGTTTCTCCAAATGAAAATTCTTATTGTTATTTCCCAATT

TTTGCTATACTCCTGTTCTGGGGACAGTTGGTATTAAAAACAC
TTAAATATAGATCCGGTGGTATGGATGAGAAAACAATTGCTTT
ACTTGTGCTGGACTAGTGATCACTGTCATTGTCATTGTTGGA
GCCATTCTTCTCGTCCCAGGTGAATATTCAATTAAAGAATGCTA
CTGGCCTTGGTTAATTGTGACTTCTACAGGGATTAATATTAA
CTTCACTACTATGTGTTAGTACAGCGATTGGATTAACCTCCT
TCGTCATTGCCATATTGGTTATTCAGGTGATAGCCTATATCCTC
GCTGTGGTTGGACTGAGTCTCTGTATTGC GGCGTGTATACCA
ATGCATGGCCCTCTCTGATTTCAGGTTGAGTATCTTAGCTC
TAGCACAAATTACTGGACTAGTTATATGAAATTGTGGCTTC
CAATCAGAAGACTATACAACCTCCTAGGAAAGCTGTAGAGGA
ACCCCTTAATGAATAACTGAAGTGAAGTGATGGACTCCGATTG
GAGAGTAGTAAGACGTGAAAGGAATACACTTGTGTTAACGCACC
ATGGCCTTGATGATTCACTGTTGGGAGAAGAAACAAGAAAAGT
AACTGGTTGTCACCTATGAGACCCTACGTGATTGTTAGTTAAGTT
TTTATTCAAAGCAGCTGTAATTAGTTAATAAAATAATTATGATCTA
TGTTGTTGCCAATTGAGATCCAGTTTTGTTGTTATTAAATC
AATTAGGGGCAATAGTAGAATGGACAATTCCAAGAACATGATGCCT
TTCAGGTCCCTAGGGCCTCTGGCCTCTAGGTAAACCAGTTAAATTG
GTTCAGGGTGATAACTACTTAGCACTGCCCTGGTATTACCCAGA
GATATCTATGAAAACCAGTGGCTCCATCAAACCTTGCCAACTC
AGGTTCACAGCAGCTTGGCAGTTATGGCAGTATGGCATTAGCT
GAGAGGGTGTGCCACTTCTGGTCAATGGAATAATAATTAAAGT
ACAGGCAGGAATTGGTTGGGAGCATCTGTATGATCTCCGTATGA
TGTGATATTGATGGAGATAGTGGCCTCATTCTGGGGTTGCCAT
TCCCACATTCCCCCTCAACAAACAGTGTAAACAGGTCCCTCCAG
ATTTAGGGTACTTTATTGATGGATATGTTCTTATTCACATAA
CCCCTGAAACCCCTGCTTGTCTGCCTCCTGTTACTGCTCTGCTGTA
CAAGATGTAGCACCTTCTCCTCTTGAACATGGCTAGTGACA
CGGTAGCACCAGTTGCAGGAAGGAGCCAGACTTGTCTCAGAGC
ACTGTGTTCACACTTCAGAAAAATAGCTATGGTTGTAACATAT
GTATTCCCTCCTCTGATTGAAGGAAAAATCTACAGTGTCTTCTT

[0143]

CACTTCTTTCTGATCTGGGCATGAAAAAAGCAAGATTGAAATT
TGAACATATGAGTCTCCTGCATGGCAACAAAATGTGTGTCACCATC
AGGCCAACAGGCCAGCCCTGAATGGGGATTATTACTGTTGTAT
CTATGTTGCATGATAAACATTCATCACCTCCTGTAGTCCTGC
CTCGTACTCCCCCTCCCTATGATTGAAAAGTAAACAAAACCCAC
ATTCCTATCCTGGTTAGAAGAAAATTAATGTTCTGACAGTTGTGA
TCGCCTGGAGTACTTTAGACTTTAGCATTGTTTACCTGTT
GTGGATGTGTGTTGTATGTCATACGTATGAGATAGGCACATGCA
TCTTCTGTATGGACAAAGGTGGGTACCTACAGGAGAGCAAAGG
TTAATTGTCCTTAGTAAAAACATTAAATACAAAGTTCTTAT
TGGGTGGAATTATATTGATGCAAATATTGATCACTAAAACCTT
AAAACCTCTAGGTAAATTGCCACGCTTTGACTGCTCACCAATAC
CCTGTAAAAATACGTAATTCTCCTGTTGTAAATAAGATATTCA
ATTGTTGTCATTAATAATAGTTATTCTTAGTCATCAGATGTT
CCCGTGTGCCTCTTATGCCAAATTGATTGTCATATTGTTGG
GACCAAGTAGTTGCCATGGCAAACCTAAATTGACCTGCTG
AGGCCTCTCAGAAAATGAGCATACTAGCAAGACAGCTCTTCTG
AAAAAAAAAATATGTATACACAAATATACGTATATCTATATATAC
GTATGTATACACACATGTATATTCTCCTGATTGTTAGCTGTC
CAAAATAATAACATATAGAGGGAGCTGTATTCTTATACAAATC
TGATGGCTCCTGCAGCACTTTCTGAAATATTACATT
GCTAACCTAGTTGTTACTTAAAAATCAGTTGATGAAAGGAG
GGAAAAGCAGATGGACTTGAAAAAGATCCAAGCTCCTATTAGAA
AAGGTATGAAAATCTTATAGTAAAATTGTTATAAAACTAAAGTTG
TACCTTTAATATGTAGTAAACTCTCATTATTGGGGTCGCTCTT
GGATCTCATCCATTGTGTTCTCTTAATGCTGCCTGCCTTCTG
AGGCATTCACTGCCCTAGACAATGCCACCAGAGATAGTGGGGGA
AATGCCAGATGAAACCAACTCTGCTCTCACTAGTTGTCAGCTC
TCTGGATAAGTGACCACAGAAGCAGGAGTCCTCCTGCTGGCA
TCATTGGGCCAGTCCTCTCTTAAATCAGATTGTAATGGCTCC
CAAATTCCATCACATCACATTAAATTGCAGACAGTGTGTTGCACA
TCATGTATCTGTTGTCCCATAATATGCTTTACTCCCTGATCCC

[0144]

AGTTCTGCTGTTGACTCTTCCATTCAAGTTATTTATTGTGTGTTC
TCACAGTGACACCATTGTCCTTCTGCAACAACCTTCCAGCT
ACTTTGCCAAATTCTATTGTCCTCCTCAAAACATTCTCCTT
GCAGTTCCCTTCATCTGTGTAGCTGCTCTTGTCTCTTAACCTA
CCATTCCCTATAGTACTTATGCATCTGCTTAGTTCTATTAGTTTT
TGGCCTGCTCTCCTTGATTAAAATTCCCTATAGCTAGAG
CTTTCTTCTTCATTCTCTCCTGCAGTGTGTCATACATCA
GAAGCTAGGTACATAAGTTAAATGATTGAGAGTTGGCTGTATTTAG
ATTTATCACTTTAATAGGGTGAGCTGAGAGTTTCTTCTTCT
GTTTTTTTTTGTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAC
[0145] TAATTCACATGCTCTAAAAACCTCAAAGGTGATTATTTCTCC
TGGAAACTCCAGGTCCATTCTGTTAAATCCCTAAGAACATGTCAGA
ATTAAAATAACAGGGCTATCCCGTAATTGGAAATATTCTTTTC
AGGATGCTATAGTCAATTAGTAAGTGACCACCAAATTGTTATTG
CACTAACAAAGCTAAAACACGATAAGTTACTCCTCCATCTCAG
TAATAAAAATTAAGCTGTAATCAACCTCTAGGTTCTCTGTCTT
AAAATGGGTATTCAAAATGGGGATCTGTGGTGTATGTATGGAAA
CACACTCCTTAATTACCTGTTGGAAACTGGAGAAATGATT
GTCGGGCAACCGTTATTTTATTGTATTGTTGGTTGAGGGAT
TTTTTATAAACAGTTTACTTGTGTCATATTAAAATTACTAACT
GCCATCACCTGCTGGGTCCTTGTAGGTCAATTCAAGTCAAA
TAGGGATAATCCAGGTAACTTGAAGAGATGAGCAGTGAGTGAC
CAGGCAGTTTCTGCCCTTAGCTTGAAGCTTAATTAAAGATC
ATTGAAGACCAGCTTCTCATAAAATTCTCTTTGAAAAAAAAGA
AAGCATTGTACTAAGCTCTGTAAAGACAACATCTTAAATCTTAA
AAAGTGTGTTATCATGACTGGTGAGAGAAGAAAACATTGTTT
TTATTAAATGGAGCATTATTACAAAAAGCCATTGTTGAGAATTAG
ATCCCACATCGTATAAATATCTATTAAACCATTCTAAATAAGAGAA
CTCCAGTGTGCTATGTCAAGATCCTCTTGGAGCTTTTGCA
TAGCAATTAAAGGTGTGCTATTGTCAGTAGCCATTGTTGCAGT
GATTGAAAGACCAAAAGTTGTTACAGCTGTGTTACCGTTAAAGG
TTTTTTTTATATGTATTAAATCAATTACTGTTAAAGCTTT

GAATATCTGCAATCTTGCCAAGGTACTTTTATTAAAAAAA
CATAACTTGTAATATTACCCTGTAATATTATATATACTTAATAAAA
CATTTAAGCTA(SEQ ID NO: 13)

人 CD47 氨基酸同种型 3 (XP_005247965.1)

MWPLVAALLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFVTN
MEAQNTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIEVS
QLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTREGETIIELKYRV
VSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLV
GLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAI
GLTSFVIAILVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQ
LLGLVYMKFVASNQKTIQPPRKAVEEPLNE(SEQ ID NO: 14)

人 CD47 mRNA 同种型 4 (NM_001777.3)

[0146]

GGGGAGCAGGCAGGGAGCGGGCGGAAGCAGTGGGAGCGCG
 CGTCGCCGCCGTGCAGCCTGGCAGTGGTCCTGCCTGTGA
 CGCGCGCGCGGTGGTCCTGCCTGTAAACGGCGCGCGCTG
 CTGCTCCAGACACCTGCGCGCGCGACCCCGCGCGCG
 GCGGAGATGTGGCCCTGGTAGCGCGCGCTGTTGCTGGGCTC
GGCGTGCTGCGGATCAGCTCAGCTACTATTAAATAAAACAAA
ATCTGTAGAATTCACGTTTGTAAATGACACTGTCGTATTCC
ATGCTTGTACTAATATGGAGGCACAAAACACTACTGAAGT
ATACGTAAAGTGGAAATTAAAGGAAGAGATATTACACCTT
TGATGGAGCTCTAAACAAGTCCACTGTCCCCACTGACTTTAG
TAGTGCAAAAATTGAAGTCTCACAAATTACTAAAAGGAGATGC
CTCTTGAAGATGGATAAGAGTGATGCTGTCTCACACACAGG
AAACTACACTTGTGAAGTAACAGAACGAGAAGGTGA
AACGATCATCGAGCTAAATACGTGTTTCATGGTTTC
TCCAAATGAAAATTCTTATTGTTATTCCCATTGCT
ATACTCCTGTTCTGGGACAGTTGGTATTAAAACACTTAA
TATAGATCCGGTGGTATGGATGAGAAAACAATTGCTTACTT
GTTGCTGGACTAGTGATCACTGTCATTGTCATTGTTGGAGCC

ATTCTTTCGTCCCAGGTGAATATTCATTAAAGAATGCTACT
GGCCTTGGTTAATTGTGACTTCTACAGGGATATTAATATTA
CTTCACTACTATGTGTTAGTACAGCGATTGGATTAACCTCC
TTCGTCATTGCCATATTGGTTATTCAGGTGATAGCCTATATC
CTCGCTGTGGTTGGACTGAGTCTCTGTATTGCGCGTGTATA
CCAATGCATGCCCTCTGATTTCAGGTTGAGTATCTTA
GCTCTAGCACAATTACTTGGACTAGTTATATGAAATTGTG
GCTTCCAATCAGAACACTATACAACCTCCTAGGAAAGCTGTA
GAGGAACCCCTTAATGCATTCAAAGAATCAAAAGGAATGATG
AATGATGAATAACTGAAGTGAAGTGATGGACTCCGATTGGAG
AGTAGTAAGACGTGAAAGGAATACACTTGTGTTAACCATG
GCCTTGATGATTCACTGTTGGGGAGAAGAAACAAGAAAAGTAAC
TGGTTGTCACCTATGAGACCCTACGTGATTGTTAGTTAAGTTT
TATTCAAAGCAGCTGTAATTAGTTAATAAAATAATTATGATCTA
TGTTGTTGCCAATTGAGATCCAGTTTGTGTTATTAAAT
CAATTAGGGCAATAGTAGAATGGACAATTCCAAGAATGATGC
CTTCAGGTCTAGGGCCTCTGGCCTCTAGGTAAACCAGTTAAAT
TGGTCAGGGTATAACTACTTAGCACTGCCCTGGTATTACCCA
GAGATATCTATGAAAACCAGTGGCTCCATCAAACCTTGCCAA
CTCAGGTTCACAGCAGCTTGGCAGTTAGGCAGTATGGCATT
AGCTGAGAGGTGTCTGCCACTTCTGGTCAATGGAATAATAAT
TAAGTACAGGCAGGAATTGGTTGGGAGCATCTGTATGATCTC
CGTATGATGTGATATTGATGGAGATAGTGGCCTCATTCTGGGG
GTTGCCATTCCCACATTCCCCCTCAACAAACAGTGTAAACAGGTC
CTTCCCAGATTAGGGTACTTTATTGATGGATATGTTTCCTTT
ATTACACATAACCCCTGAAACCCCTGTCTTGTCCCTCTTGAACATG
CTTCTGCTGTACAAGATGTAGCACCTTCTCCTCTTGAACATG
GTCTAGTGACACGGTAGCACCGAGTTGCAGGAAGGAGCCAGACTT
GTTCTCAGAGCACTGTGTTCACACTTTCAGCAAAAATAGCTATG
GTTGTAACATATGTATTCCCTCCTGATTGAAGGCAAAAATC
TACAGTGTTCCTCACTCTTCTGATCTGGGGCATGAAAAAAG
CAAGATTGAAATTGAACTATGAGTCTCCTGCATGGCAACAAAA

[0147]

TGTGTGTCACCATCAGGCCAACAGGCCAGCCCTGAATGGGGAT
TTATTACTGTTGTATCTATGTTGCATGATAAACATTACACCTT
CCTCCTGTAGTCCTGCCTCGTACTCCCCTCCCTATGATTGAAA
AGTAAACAAAACCCACATTCCTATCCTGGTTAGAAGAAAATTA
ATGTTCTGACAGTTGTGATCGCCTGGAGTACTTTAGACTTTAG
CATTCTGTTTACCTGTTGTGGATGTGTGTTGTATGTGCATAC
GTATGAGATAGGCACATGCATCTTCTGTATGGACAAAGGTGGGG
TACCTACAGGAGAGCAAAGGTTAATTTGTGCTTTAGTAAAAAA
CATTAAATACAAAGTTCTTATTGGGTGGAATTATATTGATGC
AAATATTGATCACTAAAACCTTAAAACCTCTAGGTAATTGC
CACGCTTTGACTGCTCACCAATACCCTGTAAAAATACGTAATT
CTTCCTGTTGTGAATAAGATATTGATATTGTAGTTGCATTAA
TAATAGTTATTCTTAGTCATCAGATGTTCCGTGCTCTT
ATGCCAAATTGATTGTCATATTGATGTTGGGACCAAGTAGTTG
CCCATGGCAAACCTAAATTATGACCTGCTGAGGCCTCTCAGAA
AACTGAGCATACTAGCAAGACAGCTCTCTGAAAAAAAAATA
TGTATACACAAATATACGTATATCTATATACGTATGTATAT
ACACACATGTATATTCTCCTGATTGTTAGCTGTCCAAAATAA
TAACATATATAGAGGGAGCTGTATTCTTATACAAATCTGATG
GCTCCTGCAGCACTTTCTGAAATATTACATTGCT
ACCTAGTTGTTACTTAAAAATCAGTTGATGAAAGGAGGGA
AAAGCAGATGGACTTGAAAAAGATCCAAGCTCCTATTAGAAAA
GGTATGAAAATCTTATAGTAAAATTTTATAAAACTAAAGTTGT
ACCTTTAATATGTAGTAAACTCTCATTATTGGGTTCGCTCTT
GGATCTCATCCATTGTGTTCTCTTAATGCTGCCTGCCTTT
GAGGCATTCACTGCCCTAGACAATGCCACCAGAGATAGTGGGG
AAATGCCAGATGAAACCAACTCTGCTCTCACTAGTTGTCAGCTT
CTCTGGATAAGTGACCACAGAAGCAGGAGTCCTCCTGCTGGC
ATCATTGGGCCAGTCCTCTCTTAAATCAGATTGTAATGGCT
CCCAAATTCCATCACATCACATTAAATTGCAGACAGTGTGTTGC
ACATCATGTATCTGTTGTCCATAATATGCTTTACTCCCTGA
TCCCAGTTCTGCTGTTGACTCTCCATTCAAGTTTATTATTGTG

[0148]

TGTTCTCACAGTGACACCATTGTCCTTCTGCAACAAACCTTC
CAGCTACTTTGCCAAATTCTATTGTCTCCTCCTCAAAACATT
TCCTTGCAAGTCCTCTCATCTGTAGCTGCTCTTGTCT
AACTTACCATTCCTATAGTACTTATGCATCTGCTTAGTTCTAT
TAGTTTTGGCCTGCTCTCCTGATTAAAATTCCCTCTA
TAGCTAGAGCTTCTTCATTCTCTCCTGCAGTGT
GCATACATCAGAAGCTAGGTACATAAGTTAAATGATTGAGAGTT
GGCTGTATTAGATTATCACTTTAATAGGGTAGCTGAGAG
TTTCTTCTTCTGTTTTTTTTGTTTTTTTTTTTTTTTT
TTTTTTTTGACTAATTACATGCTAAAAACCTCAAAGGT
GATTATTTCTCCTGGAAACTCCAGGTCCATTCTGTTAAATCC
CTAAGAATGTCAGAATTAAAATAACAGGGCTATCCCGTAATTGG
AAATATTCTTTTCAGGATGCTATAGTCAATTAGTAAGTGAC
CACCAAATTGTTATTGCACTAACAAAGCTAAAACACGATAAG
TTTACTCCTCCATCTCAGTAATAAAAGCTGTAATCACCT
TCTAGGTTCTTGCTTAAAGGGTATTCAAAAATGGGATC
TGTGGTGTATGTATGGAAACACATACTCCTTAATTACCTGTT
TGGAAACTGGAGAAATGATTGTCGGCAACCGTTATT
GTATTATTGGTTGAGGGATTAAACAGTTACTTGT
GTCATATTAAAATTACTAACTGCCATCACCTGCTGGGTCCT
TGTTAGGTCAATTCACTGACTAATAGGGATAATCCAGGTAAC
TGAAGAGATGAGCACTGAGTGACCAAGCAGTTCTGCCTTA
GCTTGACAGTTCTAATTAAAGATCATTGAAGACCAGCTTCTCA
TAAATTCTTTGAAAAAGAAAGCATTGACTAAGCTCC
TCTGTAAGACAACATCTAAATCTAAAGTGTGTTATCATGAC
TGGTGAGAGAAGAAAACATTGTTATTAAATGGAGCATT
TTTACAAAAAGCCATTGTTGAGAATTAGATCCCACATCGTATAA
ATATCTATTAAACCATTCTAAATAAGAGAACTCCAGTGTGCTAT
GTGCAAGATCCTCTTGAGCTTTGCATAGCAATTAAAGGT
GTGCTATTGTCAGTAGCCATTGTCAGTGATTGAAGACCA
AAGTTGTTTACAGCTGTGTTACCGTTAAAGGTTTTTATA
TGTATTAAATCAATTACTGTTAAAGCTTGAATATCTGCA

[0149]

ATCTTGCCAAGGTACTTTTATTAAAAAAACATAACTTG
 TAAATATTACCCGTAAATATTATATACTTAATAAACATTAA
 AGCTATTTGTTGGGCTATTCTATTGCTGCTACAGCAGACCACA
 AGCACATTCTGAAAAATTAAATTATTAAATGTATTTAAGTTG
 CTTATATTCTAGGTAAACAATGTAAAGAATGATTAAAATATTAAAT
 TATGAATTTTGAGTATAATACCCAATAAGCTTTAATTAGAGC
 AGAGTTTAATTAAAAGTTAAATCAGTC(SEQ ID NO: 15)

人 CD47 氨基酸同种型 4 (NP_001768.1)

MWPLVAALLLGSACCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFTN
MEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIEVS
QLLKGDASLKMDSKDAVSHTGNYTCEVTELTRGETIELKYRV
VSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTIALLVA
GLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLHYYVFSTAI
GLTSFVIALVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLISGLSILALAQ
LLGLVYMKFVASNQKTIQPPRKAVEEPLNAFKESKGMMNDE(SEQ ID
NO: 16)

[0150]

人源化 CD47 氨基酸同种型 1

MWPLAAALLLGSCCCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFT
NMEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIE
VSQLLKGDASLKMDSKDAVSHTGNYTCEVTELTRGETIELKY
RVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTI
ALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLH
YYVFSTAIGLTSFVIALVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLI
SGLSILALAQLLGLVYMKFVE(SEQ ID NO: 17)

人源化 CD47 氨基酸同种型 2

MWPLAAALLLGSCCCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFT
NMEAQNTTEVYVKWKFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIE
VSQLLKGDASLKMDSKDAVSHTGNYTCEVTELTRGETIELKY
RVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTI

**ALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLH
YYVFSTAIGLTSFVIALVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLI
SGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQRTIQPPRNR(SEQ ID NO: 18)**

人源化 CD47 氨基酸同种型 3

**MWPLAAALLLGSCCCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFT
NMEAQNTTEVYVKWFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIE
VSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTRGETIIELKY
RVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTI
ALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLH
YYVFSTAIGLTSFVIALVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLI
SGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQRTIQPPRKAVEEPLNE (SEQ ID
NO: 19)**

人源化 CD47 氨基酸同种型 4

**MWPLAAALLLGSCCCGSAQLLFNKTKSVEFTFCNDTVVIPCFT
NMEAQNTTEVYVKWFKGRDIYTFDGALNKSTVPTDFSSAKIE
VSQLLKGDASLKMDKSDAVSHTGNYTCEVTELTRGETIIELKY
RVVSWFSPNENILIVIFPIFAILLFWGQFGIKTLKYRSGGMDEKTI
ALLVAGLVITVIVIVGAILFVPGEYSLKNATGLGLIVTSTGILILLH
YYVFSTAIGLTSFVIALVIQVIAYILAVVGLSLCIAACIPMHGPLLI
SGLSILALAQLLGLVYMKFVASNQRTIQPPRKAVEEPLNAFKESKGM
MNDE (SEQ ID NO: 20)**

[0151] 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果子功能。

[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loxP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loxP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SIRPa(CD172a)、IL-3、M-CSF、GM-CSF和TPO的一个或多个个人或人源化

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 $^{\text{Hu}}$ 、IL-3/GM-CSF $^{\text{Hu}}$ 、hSIRPa $^{\text{tg}}$ 、TP0 $^{\text{Hu}}$)。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 (SIRPa)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SIRPa(CD172a)、IL-3、M-CSF、GM-CSF和TP0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)SIRPa(CD172a)蛋白。在某些实施方案中，本发明的非人动物还包含SIRPa基因，所述SIRPa包含内源部分和人部分(例如，人SIRPa基因的外显子2-4)，其中所述人部分编码SIRPa蛋白的胞外域(例如，与人SIRPa蛋白的残基28-362对应的氨基酸)，内源部分编码内源SIRPa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SIRPa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SIRPa基因的啮齿动物(例如，人SIRPa基因的外显子2-4可操作地连接至内源啮齿动物SIRPa基因的外显子1和5-8，使得人源化SIRPa基因编码具有来自人SIRPa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SIRPa蛋白的胞内部分的SIRPa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)和鼴形鼠科(例如,鼴鼠、竹鼠和鼢鼠)。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/0la.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) Science 274 (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,非肥胖糖尿病/严重复合型免疫缺乏症(NOD/SCID)小鼠表达SIRPa蛋白,所述SIRPa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SIRPa等位基因不代表其他小鼠品系中存在的SIRPa等位基因,一般来讲,物种间的CD47和SIRPa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) Vox Sanguinis 78: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-SIRPa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SIRPa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/kg、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用途径(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作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SIRPa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化，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炎性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性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，炎性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的药物的药动力学特性、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,以确定根除实质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。然后通过在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,其可为原发癌的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人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/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, As i SI限制性位点为斜体): (GCAGACATGA TTACTTCAGA GCTTCAAAG CTAGATACTG TACCTTGCAT ATTCCAACAC) **GCGATCGC** ATTTAACAGAT TTTCCATCCT AGTGGAAAGA TATGATTGAT TTCATCCTAT TTACTTGTA TATTAAAGTA CAGTAGAACCC TGCCACTTTT (SEQ ID N0:33)。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): :GGATCCATT TAAAGTAATAG AATAGGATT TTAATTGTT CAGTGTTC CAGTGTTC GTGATAGAGC TGTCCCTGCAC AGACCTGTT (CTCGAG **ATAA CTTCGTATAA TGTATGCTAT ACGAAGTTAT** ATGCATGGCCTCCGCCGG GTTTGGCGC CTCCCGCGGG) (SEQ ID N0:34)。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): C A T G T C T G G A **ATAACTTCGT ATAATGTATG CTATACGAAG TTAT GCTAGT AACTATAACG** GTCCCTAAGGT AGCGACTAGC (ATTAGTATGG AAGGTCCGTC CACTGTCCAG GTTCCTCTTG CGGAGCTCTT TGTCTCTCTG GACTCTGTAT ACAGTGTTG) (SEQ ID N0:35)。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): GGATCCATT TAAAGTAATAG AATAGGATT TTAATTGTT CAGTGTTC CAGTGTTC GTGATAGAGC TGTCCCTGCAC AGACCTGTT (CTCGAG **ATAA CTTCGTATAA TGTATGCTAT ACGAAGTTAT** GCTAGTAACATAACGGTCC TAAGGTAGCG ACTAGC) ATT AGTATGGAAG GTCCGTCCAC TGTCCAGGTT CCTCTTGCAG AGCTCTTGT CTCTCTGGAC TCTGTATACA CTGCTTGCAT (SEQ ID N0:36)。

[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]	7190mTU	正向	TGCAGAAGTCACTAGGAGGAAT	(SEQ ID NO:21)
		探针	TCAGTCAACTTCTTCTGGTTGTT CC	(SEQ ID NO:22)
		反向	GTGCCAGACTCACTTCTATCCA	(SEQ ID NO:23)
[0221]	7190mTD	正向	TGCTGCCAATATAACGGCTTCTG	(SEQ ID NO:24)
		探针	CAGCTCTCATAGCCAACATGGTG CC	(SEQ ID NO:25)
		反向	TCAAGCAGAGCCTGGTTATCTG	(SEQ ID NO:26)
[0222]	7190hTU	正向	GTCGTCATTCCATGCTTGTAC	(SEQ ID NO:27)
		探针	TGGAGGCACAAAACACTACTGAAG TATACG	(SEQ ID NO:28)
		反向	GGACAGTGGACTTGTAGAGC	(SEQ ID NO:29)
[0223]	7190hTD	正向	GGCTTGGTGGCTGATTGTTCT	(SEQ ID NO:30)
		探针	AGCACCCAAACTGATATGCCGTGA TTTG	(SEQ ID NO:31)
		反向	TGGGAACCTGGTGTTCAGTCTA	(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°C下以 $200\times g$ 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°C下以 $200\times g$ 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°C下以 $200\times g$ 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 (1.5×10^7 /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200 μ L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
	Ab B, hIgG4s	27545
	Ab C, hIgG4s	24620
	Ab D, hIgG1	29882
	Ab E, hIgG4	33423
	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) μ L抗CD47抗体(5倍连续稀释),然后向平板的全部孔加入80 μ L 0.5%小鼠RBC。轻敲平板混合并在室温(24-27°C)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($\mu\text{g/mL} \pm \text{SEM}$)							
	抗体	6 小时	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 7 天
[0240]	Ab F	116.7±14.0	196.4±10.6	96.0±13.3	24.7±7.0	3.7±0.42	<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
	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
	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
	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
[0241]							307.6±61.1

[0242] 实施例5.人源化CD47/SIRPa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SIRPa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SIRPa基因,所述人部分编码人SIRPa蛋白的胞外域(例如,人SIRPa蛋白的氨基酸28–362),所述内源部分编码内源SIRPa蛋白的胞内域(例如,编码鼠科SIRPa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/SIRPa小鼠通过人源化SIRPa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/SIRPa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SIRPa基因的野生型($n=5$)和小鼠纯合子组(CD47^{hu/hu}SIRPa^{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 $CD47^{hu/hu}SIRPa^{hu/hu}$ 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， $CD47^{hu/hu}SIRPa^{hu/hu}$ 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 $CD47^{hu/hu}SIRPa^{hu/hu}$ 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($\sim 38.5\text{--}45.1\%$)，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SIRPa)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 ttggcggct ccgaggtcca 60
[0017] gggcgagctt ggccagaggg agtagagagc agcggggctg cgcagggacg cgtgccgtga 120
[0018] gttccggta gcgtgtgtt cccatgctcc cgtcttcag gccggcccaag gacacgaagc 180
[0019] cggaaagagag ctggctggag ggacggggc cgtgagcaga gagtgcacc cgcgcagccc 240
[0020] cggggacagg ctgattcttgc gcgcctccg ccggagcctg cccagggctg ggtgtgaggc 300
[0021] tggcgtcacg tcaacgagca gagggcggca ggcggggcgg agtgcgcgtg cgcggggcgg 360
[0022] cgagcacgca cgccgcgcga ccccccggca gcctggggcgg ccgcctctgc ctgtcaactgc 420
[0023] tgccggcgtc ctggcggcgtc gttcccttg aaggcagcag cggaggcggc ggctgctcca 480
[0024] gacacctgcg gcggcgaccc cccggcggc cggagatgtg gcccttggcg gcggcgctgt 540
[0025] tgctggcgtc ctgctgtgc ggttcagctc aactactgtt tagtaacgtc aactccatag 600
[0026] agttcaacttc atgcaatgaa actgtggta tcccttgcatt cgtccgtaat gtggaggcgc 660
[0027] aaagcacca agaaatgttt gtgaagtggaa agttgaacaa atcgatatatt ttcatctatg 720
[0028] atggaaataa aaatagcact actacagatc aaaactttac cagtcaaaaa atctcagtct 780
[0029] cagacttaat caatggcatt gccttttga aaatggataa gcgcgtgcc atgggtggaa 840
[0030] actacacttg cgaagtgaca gagttatcca gagaaggcaa aacagttata gagctgaaaa 900
[0031] accgcacggc cttcaacact gaccaaggat cagcctgttc ttacgaggag gagaaggag 960
[0032] gttgcaattt agttcgtgg ttttccaa atgaaaagat cctcattgtt atttccaa 1020
[0033] ttttggctat actcctgttc tggggaaagt ttgttatattt aacactcaaa tataaatcca 1080
[0034] gccatatacgaa taagagaatc attctgctgc tcgttgcgg gctggcgtc acagtcatcg 1140
[0035] tggttggcgtt agccatcctt ctcatcccg gagaaggcc cgtgaagaat gcttctggac 1200
[0036] ttggcctcat tgtaatctt acggggatata taataactact tcagtacaat gtgttatgaa 1260
[0037] cagctttgg aatgacatctt ttcaccattt ccatattgtt cactcaagtgc tggcgtacg 1320
[0038] tccttgctt ggtcggcgtt tgtctgtca tcatggcatg tgagccgtt cacggcccc 1380
[0039] tttgatttc aggttgggg atcatagctc tagcagaact acttggatta gtttatatgaa 1440
[0040] agtttgcga ataggtgaag ggaagtgcg gactgttaact tggaagtgcg aaatggaaga 1500
[0041] atacagttgtt ctaagcacca ggtcttcacg actcacagct ggaaggaaca gacaacagta 1560

[0042]	actgacttcc atccaggaaa acatgtcaca taaatgatta ctaagttat attcaaagca	1620
[0043]	gctgtacttt acataataaa aaaaatatga tgtgctgtgt aaccaattgg aatcccattt	1680
[0044]	ttctattgtt tctactcaac tagggcaaa cgtttcaggg gcaacttcca agaatgatgc	1740
[0045]	ttgttagatc cttagagtctc tgaacactga gtttaaattt attccgagtg agactcgcca	1800
[0046]	agcactaacc tgagggttag ttacccagag atacctatga aaaacagtgg tatccagcaa	1860
[0047]	gccttagtaa actcaggttg ccagcagtt tgccacttcc gctgctagct gaataacaag	1920
[0048]	actgccactt ctgggtcata gtgatagaga ctgaagtaga aaaacgaatg tggggca	1980
[0049]	aatcccgtgt ggcccctctg tgtgctatga tattgtggc actgtgtct tcattcttgg	2040
[0050]	gggttgcct catcacaca caccctttg acatacagt cacccagtt ttgaatacat	2100
[0051]	ttttttgca ccctgtcccg ttctgctact ttgatttgcg ttatgatata tatatatata	2160
[0052]	tataataacct ttctccctt ttaaacatgg tcctgtgaca caatagttagt ttgcagaaag	2220
[0053]	gagccagact tattcgcaaa gcactgtgct caaactcttc agaaaaaaag gaaaaaaaaa	2280
[0054]	aaaagctata gttgtAACAT atgtattcca gacctcttgtt ttaaaggcaa aaaaaaaaaa	2340
[0055]	atctacagtg ttcttcctca tgtttctga tcggaggcat gacaaagcaa gactgaaatc	2400
[0056]	tgaactgtgt ctccctgcattt gcaacacgtg tctccgtcag gccctcgcaaa gccccgggaa	2460
[0057]	gggggttcta cgcctttgtt ctctttgtt catgctgaa actcatcgcc ttccactgt	2520
[0058]	atcctgcctc ctgcagccctc cctttccctc ctccctttcc tttcccttctt ccctccctc	2580
[0059]	ctcctccctt tcctccaagt ttgaaaggc aaacaaaact accacattcc ctacccagtt	2640
[0060]	agaagaaaaac caccgtccctg acagttgtga tcgcatggag tactttttaga ttattagcac	2700
[0061]	ctgttttac ctgcgttgcg ggcgttttg tatgtgcaca tgtatgaagt cggcacatgc	2760
[0062]	acttctgtta tggcagagg cgtggcatct acagaagagc agatgccaac ttgtgtctt	2820
[0063]	tagtgaatac attaaaaaaa aaaaaccaac ggtcatttatt gagtggattt ctatttgatg	2880
[0064]	caaataattt agctcttaa gactttaaa ctagataatg tgccaaagctt ttaggactgc	2940
[0065]	tcaccagtgc cctctgaaga aacaccagta cttttcctg tttgttaat aaaggcatat	3000
[0066]	ttgtatttgcgtt gtttgcattca ctaatggta tttcttctta gtccactgaa tgtttccatg	3060
[0067]	tgcctctcgat atgccaact tttgtcatc tttcatgtgg ggaccaaatg gtttgcgt	3120
[0068]	ggcaaaaccta aacctatgac ctgctgaggc ctctcagaaaa actgaccaca gtaccaagat	3180
[0069]	agtacttcgc aaagaaaaagt aggttccctc cctggttttg tagctgtcgc caatattagc	3240
[0070]	gtaattccaa ggagctgaac gcctttatataa atctgtatg gcacctgtatg cttttagttc	3300
[0071]	tgaaaatatt tacactcgga tcatgttgc gatgacttaa acaaagttt gatgaagaga	3360
[0072]	gcaaaaaaaaaa agcaggtgga tttggAACAG tttcagggtt tttttgtttt ttgtttttt	3420
[0073]	ttttttgtttt tttttttttt attttttttt ttctgttctc tgtagaaaaa gtcaggtgtt	3480
[0074]	ctctgtcagg ctatcttat agtcaatttt ttttacgaac taaagtagta ctttttaata	3540
[0075]	tgttagtcaac gcccctctgc tcgggttca gttttggc ttaaccagct gtcatgttct	3600
[0076]	ctatgctgcc tgccacttga ggcactgagt gcccctagaca gtcccatcggtt gtttagccag	3660
[0077]	ggaaacgaaa gacgaactca actcttgctc ctaataatca actctgtatg tgaaggatgg	3720
[0078]	cagcattaag agtccctctg cctggcattt attggccag ttccacccctt taaatcaaaa	3780
[0079]	cccgcagtgg ctcccagttc tcgtccatc agatttaat tgctaacagt atggggggca	3840
[0080]	ccacgcattctt gtttgcgttccca acaatgcgtt tttctctccc aaatccgat ttctgtgtc	3900
[0081]	atagcctcta ttcaattttt attttgttc tgccctccac ttatacaatc gtagagagca	3960
[0082]	atgccatttg tcactttctg caacagttt ttgagcctt atggctgaat cccattttc	4020
[0083]	ttcttttca aactgtttgc tccattgctc ctcccgacg gctgtccgtt cagtcatccc	4080

[0084] atccatctgg gggcctctt catctctcac ccttcctggt gcttcgtgga tctctgctta 4140
 [0085] cctctgtggg tttttttttt ttttttgac ttattcttct cactggactt taagattact 4200
 [0086] tccacagcga aagtgcgtcc tccctttct gcggcagtg ttctcggtac ttttagatact 4260
 [0087] actcagtgc gacatttgat ggcaaaagtt gcctgcactt aaattctct ttttaatagg 4320
 [0088] gtgaactaga gttggagttt tttctctttt tttctcttt ctctctctct ctctctct 4380
 [0089] ctctctctct ctctctctct ctccctccct ccctccctcc ctccctccct ccctctctct 4440
 [0090] ctcttttct ttctttctttt ctttcttctt ttctttctt ctttcttctt ttctttcttt 4500
 [0091] ttttgacaaa tctcacaggc tttgagaatt ataaaagggtt acagttcacc tgaaaatcac 4560
 [0092] aggtctggtc tgtttaaattt gttgagaaat atccgattaa aagtcttgc gctgtgtcct 4620
 [0093] aataggctct ctttcaggac gtttagtca atagagtggc tgaaccatac ttgagtttat 4680
 [0094] aaagctaaaaa aactgatgca cccactctgc tattatcgta ttagtaagag ttcaagctgt 4740
 [0095] tatcattgtc taggttatac ttgtcctaca gtgggtattt aaatatggcc accagaggat 4800
 [0096] atgtgtaaat ataagcacct gtatggcct gttgtgaga actggaggaa aaacaaaaaaaaa 4860
 [0097] tgtctggcaa cccttgccct tttaaccgt aattaatttga cagtttattt agagataaga 4920
 [0098] gtttcaaaaa atctctaacc tgccacaacc cacagagggt cttgtttgc catcttcagt 4980
 [0099] ggctcacaga tatgatccaa gttaacttga aagagatgag cagtagccag gaaattgtcc 5040
 [0100] tgcccttaac tctggctgtc ctttattatg actgtttat gctgaattttt ccatccgtct 5100
 [0101] agtgtttgag ggtttttttt aaataagtat ttctgtaaaa cggcatcggt 5160
 [0102] gggatcttct gtgttgctat cacgggtgaa agagggaaac atttcttattt ttattaaagc 5220
 [0103] agagcattat ttacagaaaag ccattgttga gaatttagttt ccacatcata taaatatcca 5280
 [0104] ttaaccattt taaattgttaa gagaactcca gtgttgctat gcacaaggaa ctctcctggg 5340
 [0105] ggcctttttt tgcatagcaa tttaaggat gctatttgc agtagccatt tttgcagtg 5400
 [0106] atttaagac caaagttgtt ttacagctgt gttaccctt aagttttttt ttttatgtat 5460
 [0107] taaatcaattt tttttttttt aaataactgt gtaaatatttta ccctgttaata ttatataac ttaataaaaac 5520
 [0108] ttatataaaa aaataactgt gtaaatatttta ccctgttaata ttatataac ttaataaaaac 5580
 [0109] atttaagct 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 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 ttggcggtt ccgagggtcca 60		
[0161]	ggcgagctt ggccagaggg agtagagagc agcggggctg cgcaggacg cgtgccgtga 120		
[0162]	gttccggta gcgtgtgt cccatgctcc cgtctttcag gccggcccag gacacgaagc 180		
[0163]	cggaaagagag ctggctggag ggacggggc cgtgagcaga gagtgcaacc cgccgagccc 240		
[0164]	cggggacagg ctgattcttgc gcgcctcccg ccggagcctg cccagggctg ggtgtgaggc 300		
[0165]	tggcgtcacg tcaacgagca gaggcgcca ggcggggcgg agtgcgcgtg cgccggggcgg 360		
[0166]	cgagcacgcg cgcgcgcga cccccggca gcctggggcgg ccgcctcgtc ctgtcaactgc 420		
[0167]	tgcggcgctg ctggtcggc gttcccttg aaggcagcag cggaggcggc ggctgctcca 480		

- [0168] gacaccctgcg gcggcgaccc cccggcggcg cggagatgtg gcccttggcg gcggcgctgt 540
[0169] tgctgggctc ctgctgctgc ggttcagctc aactactgtt tagtaacgctc aactccatag 600
[0170] agttcaattc atgcaatgaa actgtggtca tcccttgcatt cgtccgtaat gtggaggcg 660
[0171] aaaggcaccga agaaaatgttt gtgaagtggaa agttgaacaa atcgttatatt ttcatctatg 720
[0172] atggaaataa aaatagcact actacagatc aaaactttac cagtgcacaaa atctcagtt 780
[0173] cagacttaat caatggcatt gcctcttgc aatggataa gcgcgatgcc atgggtggaa 840
[0174] actacacttg cgaagtgaca gagttatcca gagaaggcaa aacagtataa gagctgaaaa 900
[0175] accgcacggt ttctgggtt tctccaaatg aaaagatcct cattgttatt ttcccaattt 960
[0176] tggctatact cctgttctgg ggaaagttt gtatTTAAC actcaaataat aaatccagcc 1020
[0177] atacgaataa gagaatcatt ctgctgctcg ttgcgggct ggtgctcaca gtcatcgtgg 1080
[0178] ttgttggagc catccttctc atcccaggag aaaagccgt gaagaatgct tctggacttg 1140
[0179] gcctcattgt aatctctacg gggatattaa tactacttca gtacaatgtt tttatgacag 1200
[0180] cttttggaaat gaccttttc accattgcca tattgatcac tcaagtgcgt ggctacgtcc 1260
[0181] ttgcttggtt cgggctgtgt ctctgcatca tggcatgtga gccagtgcac ggccccctt 1320
[0182] tgatttcagg tttggggatc atagctctag cagaactact tggatttagtt tatatgaagt 1380
[0183] ttgtcgcttc caaccagagg actatccaaac ctccctaggaa taggtgaagg gaagtgcacgg 1440
[0184] actgttaactt ggaagtcaga aatggaaagaa tacagttgtc taagcaccag gtcttcacga 1500
[0185] ctcacagctg gaaggaacacg acaacagtaa ctgacttcca tccaggaaaaa catgtcacat 1560
[0186] aaatgattac taagttata ttcaaagcag ctgtacttta cataataaaaaa aaaatatgat 1620
[0187] gtgctgtgtt accaatttggaa atcccatttt tctattgttt ctactcaact agggcaaac 1680
[0188] gtttcagggg caacttccaa gaatgatgct tgtagatcc tagagtctct gaacactgag 1740
[0189] tttaaattga ttccgagtga gactcgccaa gcactaacct gagggtagt tacccagaga 1800
[0190] tacctatgaa aaacagtggt atccagcaag ccttagtaaa ctcagggtgc cagcagctt 1860
[0191] gccacttccg ctgctagctg aataacaaga ctgcccattc tgggtcatag tgatagagac 1920
[0192] tgaagttagaa aaacgaatgt ggttggcaa atcccgtgtg gcccctctgt gtgctatgat 1980
[0193] attgatggca ctgggtgtt cattcttggg gtttgcattt attcacacac acccccttga 2040
[0194] catacagtgc accccagttt tgaatacatt tttttgcac cctgtcccgt tctgctactt 2100
[0195] tgatttgcgt tatgatatat atatatatat ataatacatt ttctccctt taaacatgg 2160
[0196] cctgtgacac aatagtcagt tgcaaaaaagg agccagactt attcgcaaaag cactgtgctc 2220
[0197] aaactttca gaaaaaaaaagg aaaaaaaaaaa aaagctatag ttgtaacata tgtattccag 2280
[0198] acctctggtt taaaggcaaa agaaaaaaaaa tctacagtgt ttcttctcat gttttctgtat 2340
[0199] cggaggcatg acaaagcaag actgaaatct gaactgtgtc tcctgcattt caacacgtgt 2400
[0200] ctccgtcagg ccctcgcaag gcccggggag ggggttctac gccttgcgtc tctttgtgc 2460
[0201] atgctgaaca ctcatcgctt tcctactgtt tcctgcctcc tgcagcctcc ctcttcctcc 2520
[0202] tccttcctt ctcccttc ttccttc tcccttc tcccttc tcccaagtt tgaaagggtca 2580
[0203] aacaaaacta ccacattccc tacccagttt gaagaaaaacc accgtcctga cagttgtat 2640
[0204] cgcatggagt acttttagat tattagcacc tgttttacc tcgtttgtgg gcgtgttgt 2700
[0205] atgtgcacat gtatgaagtc ggcacatgca cttctgtat gggcagaggc gtggcatcta 2760
[0206] cagaagagca gatgccaact ttgtgtttt agtgaataca ttaaaaaaaa aaaaccaacg 2820
[0207] gtccttattt agtggattt tatttgcattt aaatatttga gctttaag actttaaaac 2880
[0208] tagataatgt gccaagctt taggactgtt caccagtgcctt ctctgaagaa acaccagttac 2940
[0209] tttttccctgt ttgtgtata aaggcatatt tttttgttgc ttgcattcaca taatggttat 3000

[0210] ttcttcttag tccactgaat gttccatgt gcctctgta tgccaaactt tttgtcatct 3060
 [0211] ttcatgtggg gaccaaatgg tttgtctgtg gcaaaccctaa acctatgacc tgctgaggcc 3120
 [0212] ttcagaaaaa ctgaccacag taccaagata gtacttcgca aagaaaagta ggttccctcc 3180
 [0213] ctgggttgt agctgtcgcc aatattagcg taattccaag gagctgaacg cctttatata 3240
 [0214] aatctgatgg cacctgatgc ttttagttct gaaaatattt acactcgat catgttggt 3300
 [0215] atgacttaaa caaagtttg atgaagagag caaaaaaaaaa gcaggtggat ttggAACAGT 3360
 [0216] ttcagggttt ttttgggg tttttttt tttttttt tttttttt tttttttt 3420
 [0217] tctgttctct gttagaaaaag tcaggtgtc tctgtcaggc tatcttata gtcaattttt 3480
 [0218] ttacgaact aaagtagtac cttaaatat gtatcaacg cccctctgct cggggttcag 3540
 [0219] tttgggtct taaccagctg tcatgttctc tatgctgcct gccacttgag gcactgagtg 3600
 [0220] ccctagacag tcccattcggt ggtagccagg gaaacgaaag acgaactcaa ctcttgctcc 3660
 [0221] taataatcaa ctctctgtat gaaggatggc agcattaaga gtcctcctgc ctggcattta 3720
 [0222] ttgggccagt tcaccctctt taaatcaaac ccgcagtggc tcccaattttt cgtcccatca 3780
 [0223] gatTTAAATT gctaacagta tggggggcac cacgcacatctg tttgtccccaaatgcgcctt 3840
 [0224] ttctctccca aatcccgatt tctgctgtca tagcctctat tcaatttttta tttattgtct 3900
 [0225] gccctccact tatacaatcg tagagagcaa tgccattttt cacttctgc aacagttttt 3960
 [0226] tgaggcttta tggctgaatc ccatttttct tctctttcaa actgtttgct ccattgctcc 4020
 [0227] tccgcacgg ctgtccgtac agtcatccca tccatctggg ggcctcttc atctctcacc 4080
 [0228] ctccctgggt ctgcgtggat ctgcgttac ctgcgtgggt tttttttt ttttttgact 4140
 [0229] tattcttctc actggacttt aagattactt ccacagcgaa agtgcgcct ccctttctg 4200
 [0230] cccgcagtgt tctgcgtact ttagatacta ctcagtgctg acatttgatg gcaaaagttt 4260
 [0231] cctgcactta aatttctctt ttaataggg tgaacttagag ttggagtttt tttctttttt 4320
 [0232] ttctcttttctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc tccctccctc 4380
 [0233] cctccctccc tccctccctc cctctctctc tcttttctt tctttcttc tttctttctt 4440
 [0234] tctttcttc tttctttctt tctttctttt tttgacaaat ctcacaggct ttgagaattt 4500
 [0235] taaaaggtga cagttcacct gaaaatcaca ggtctggct gttaaattt tgagaaata 4560
 [0236] tccgattaaa agtcttggtt ctgtgtccta ataggctctc tttcaggacg ttgttagtcaa 4620
 [0237] tagagtggct gaaccataact tgagttata aagctcaaaa actgatgcac ccactctgt 4680
 [0238] attatcggtt tagtaagagt tcagctgtat atcattgtct aggttatct tgtctacag 4740
 [0239] tgggtattca aatatggcca ccagaggata tgtgtaaata taagcacctg tatttgctg 4800
 [0240] ttgttgagaa ctggagggaa aacaaaaaat gtctggcaac ctttgcctt ttaaccgtt 4860
 [0241] attaattgac agtttattta gagataagag ttttcaaaaaa tctcttaact gccacaaccc 4920
 [0242] acagagggtc ttgtttgcc atttcagtg gctcacagat atgatccaag ttaacttgaa 4980
 [0243] agagatgagc agtacccagg aaattgtcct gccttaact ctggctgtcc ttaattatga 5040
 [0244] ctgttaatg ctgaattttc catccgtcta gtgtttgagg gtaaagaaaa gcctttttt 5100
 [0245] aataagtatt tctgtaaaaac ggcacatcggtg ggatcttctg ttttgctatc acgggtgaaa 5160
 [0246] gagggaaaca ttcttatttt ttatataagca gagcatttt tacagaaagc cattgttgag 5220
 [0247] aatttagttcc cacatcatat aaatatccat taaccattct aaattgttaag agaactccag 5280
 [0248] ttttgctatg cacaaggaac tctcctgggg gcctttttt gcatagcaat taaaggtatg 5340
 [0249] ctatttgtaa gtagccattt ttgcgtgtt tttaaagacc aaagggttt tacagctgtt 5400
 [0250] ttacccttaa aggtttttt tttatgtatt aaatcaattt atcactgttt gaagctttga 5460
 [0251] atacctgcaaa tctttgcca gatactttt tatttaaaaaa aataactgtg taaatattac 5520

[0252] cctgtaatat tataatact 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 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 ttggcggct ccgaggtcca 60		
[0302]	ggcgagctt ggccagaggg agtagagagc agcggggctg cgcagggacg cgtgccgtga 120		
[0303]	gttccggta gcgtgtgtgt cccatgctcc cgtcttcag gccggccag gacacgaagc 180		
[0304]	cggaaagagag ctggctggag ggacggggc cgtgagcaga gagtgcaacc cgccgagccc 240		
[0305]	cggggacagg ctgattttg gcgcctccg ccggagocgt cccagggctg ggtgtgagge 300		
[0306]	tggcgtcacg tcaacgagca gaggcggcca ggcggggcgg agtgcgcgtg cgccggggcgg 360		
[0307]	cgagcacgca cgccgcgcga cccccggca gcctggggcgg ccgcctctgc ctgtcactgc 420		
[0308]	tgcggcgctg ctggcggtc gttcccttg aaggcagcag cggaggcggc ggctgctcca 480		
[0309]	gacacctgca gcggcgaccc cccggcggcg cggagatgtg gcccttggcg gcggcgctgt 540		
[0310]	tgctgggctc ctgctgtgc ggtcagctc aactacttt tagtaacgtc aactccatag 600		
[0311]	agttcacttc atgcaatgaa actgtggta tcccttgcatt cgtcgtaat gtggaggcgc 660		
[0312]	aaagcaccga agaaatgttt gtgaagtggaa agttgaacaa atcgatatatt ttcatctatg 720		
[0313]	atggaaataa aaatagcaact actacagatc aaaactttac cagtcaaaaa atctcagtct 780		
[0314]	cagacttaat caatggcatt gcctcttga aaatggataa gcgcgatgcc atggggaa 840		
[0315]	actacacttg cgaagtgaca gagttatcca gagaaggcaa aacagttata gagctaaaaa 900		
[0316]	accgcacggc cttcaacact gaccaaggat cagcctgttc ttacgaggag gagaaaggag 960		
[0317]	gttgcaaatt agttcgtgg tttctccaa atgaaaagat cctcattgtt atttcccaa 1020		
[0318]	ttttggctat actcctgttc tgggaaagt ttggatattt aacactcaaa tataaatcca 1080		
[0319]	gccatacgaa taagagaatc attctgctgc tcgttgcgg gctggcgtc acagtcatcg 1140		
[0320]	tgttgttgg agccatccctt ctcatcccg gagaaaagcc cgtaaagaat gcttctggac 1200		
[0321]	ttggcctcat tgtaatctt acgggatat taatactact tcagtacaat gtgttatgaa 1260		
[0322]	cagctttgg aatgacccctt ttaccatttgc ccatattgtt cactcaagtgc ctggcgtacg 1320		
[0323]	tccttgctt ggtcggctg tgtctgtca tcatggcatg tgaggcagtgc cacggcccc 1380		
[0324]	ttttgatttc aggtttgggg atcatagctc tagcagaact acttggatta gtttatgaa 1440		
[0325]	agtttgcgc ttccaaaccag aggactatcc aaccccttag gaaagctgtc gagaaacccc 1500		
[0326]	ttaacgaata ggtgaaggga agtgcggac tgtaacttgg aagtcaaaaa tggaaagaaata 1560		
[0327]	cagttgtcta agcaccaggt cttcacgact cacagctggaa aggaacagac aacagtaact 1620		
[0328]	gacttccatc caggaaaaaca tgtcacataa atgattacta agtttatatt caaaggcagct 1680		
[0329]	gtactttaca taataaaaaaa aatatgatgt gctgtgtac caattggaaat cccattttc 1740		
[0330]	tattgttct actcaactag gggcaaacgt ttcaggggca acttccaaga atgatgcttgc 1800		
[0331]	ttagatccta gagtctctga acactgagtt taaattgatt ccgagtgaga ctcgccaagc 1860		
[0332]	actaacctga gggttagtta cccagagata cctatgaaaaa acagtggat ccagcaagcc 1920		
[0333]	ttagtaaact cagggtgcca gcagcttgc cacttccgtt gctagctgaa taacaagact 1980		
[0334]	gccacttctg ggtcatagtg atagagactg aagtagaaaaa acgaatgtgg ttgggcaaat 2040		
[0335]	cccggtggc ccctctgtgt getatgatatt tgatggcact ggtgtctca ttcttgggg 2100		

[0336] ttgccatcat tcacacacac cccttgaca tacagtgcac cccagtttg aatacattt 2160
 [0337] tttgcaccc tgtcccggtc tgctactttg atttgcgtta tgatatatat atatatatat 2220
 [0338] aatacctttt ctcccttttta aacatggtcc tgtgacacaa tagtcagttg cagaaaggag 2280
 [0339] ccagacttat tcgcaaagca ctgtgctaa actcttcaga aaaaaaggaa aaaaaaaaaa 2340
 [0340] agctatagtt gtaacatatg tattccagac ctctgggta aaggcaaaag aaaaaaaaaatc 2400
 [0341] tacagtgttt cttctcatgt ttctgtatcg gaggcatgac aaagcaagac taaaatctga 2460
 [0342] actgtgtctc ctgcattggca acacgtgtct ccgtcaggcc ctgcaggc ccggggagg 2520
 [0343] gtttctacgc ctctgtctc ttgttgcatt gctgaacact catgccttc ctactgtatc 2580
 [0344] ctgcctcctg cagcctccct ctccctcctc ctcttcctt tccctcctt ctcctcctc 2640
 [0345] ctcccttcc tccaagttt aaggtcaaa caaaactacc acattcccta cccagttaga 2700
 [0346] agaaaaaccac cgctctgaca gttgtatcg catggagttt ttttagatta ttagcacctg 2760
 [0347] ttttacctc gtttgtggc gtgttgtat gtgcacatgt atgaagtgg cacatgcacc 2820
 [0348] ttctgtatgg gcagaggcgt ggcattaca gaagagcaga tgccaaactt gtgttttag 2880
 [0349] tgaatacatt aaaaaaaaaa aaccaacggt ctttattttag tggaattcta tttgatgcaa 2940
 [0350] atatttgagc tcttaagac tttaaaacta gataatgtgc caagcttta ggactgctca 3000
 [0351] ccagtgcctt ctgaagaaac accagtactt ttccctgttt gtgtataaaa ggcataattt 3060
 [0352] tatttgttgc ttcatcaactt atggttattt cttcttagtc cactgaatgt ttccatgtgc 3120
 [0353] ctctcgatg ccaaactttt tgcattttt catgtggga ccaaattgtt tgcgtgtgg 3180
 [0354] aaacctaaac ctatgacctg ctgaggcctc tcagaaaact gaccacagta ccaagatagt 3240
 [0355] acttcgcaaa gaaaagtagg ttccctccct ggtttgttag ctgtgccttatttgcgtt 3300
 [0356] attccaagga gctgaacgcc ttatataaa tctgtatggca cctgtatgtt ttagttctga 3360
 [0357] aaatatttac actcggatca ttttgttgcattt gacttaaaca aagttttgtt gaagagagca 3420
 [0358] aaaaaaaaaagc aggtggattt ggaacagttt cagggttttt tttttttt gttttttgtt 3480
 [0359] tttgtttttt ttttttttattt tttgttttc tttttttttt tagaaaagtc aggtgttctc 3540
 [0360] tgtcaggctt tctttatagt caatttttt tacgaactaa agtagtacct ttaaatatgt 3600
 [0361] agtcaacgcc cctctgctcg gggttcagtt ttgggtctt accagctgtc atgttctcta 3660
 [0362] tgctgcctgc cacttgaggc actgagtgcc cttagacagtc ccattggtagcc 3720
 [0363] aacgaaagac gaactcaact ctgtcccta ataatcaact ctctgtatga aggatggcag 3780
 [0364] cattaagagt cctctgcctt gggcattattt gggccagttc accctttta aatcaaacc 3840
 [0365] gcagtggctc ccagttctcg tcccatcaga tttaattgc taacagtatg gggggccacca 3900
 [0366] cgcattgttt ttgtcccaca atgcgtttt ctctcccaaa tcccgatttc tgctgtcata 3960
 [0367] gcctctattt aatttttattt tattgtctgc cctccactta tacaatcgta gagagcaatg 4020
 [0368] ccatttgtca ctgttgcata cagtttttg agcctttatg gctgaatccc atttttctt 4080
 [0369] tctttcaaac tttttgtcc attgtccctc ccgcacggct gtccgtacag tcatcccattc 4140
 [0370] catctggggg cctcttcat ctctcaccctt ccgtggatct tcgtggatct ctgttacc 4200
 [0371] ctgtgggttt tttttttttt ttttgactta ttcttctcact tggactttaa gattacttcc 4260
 [0372] acagcgaaag tgctgcctcc ctgttgcctc cgcagtttgc tgcgtactttt agatactact 4320
 [0373] cagtgcgtac atttgatggc aaaagttgcc tgcacttaaa tttctttttt taatagggtg 4380
 [0374] aacttagagtt ggagttttt tctttttttt ctctttctc tctctctc tctctctc 4440
 [0375] tctctctc tctctctc cccctcccccc tccctccctc cccctcccccc tctctctc 4500
 [0376] tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4560
 [0377] tgacaaatct cacaggctt gagaattata aaaggtgaca gttcacctga aatcacagg 4620

[0378] tctggtctgt ttaaatgtt gagaaatatac cgattaaaaag tcttgtggct gtgcctaata 4680
 [0379] aggctcttt tcaggacgtt gtagtcaata gagtggtcgaccatactt agtttataaa 4740
 [0380] gctcaaaaac tgatgcaccc actctgttat tatcgtgtt gtaagagttc agctgttatata 4800
 [0381] cattgtctag gtttatcttg tcctacagtg ggtattcaaa tatgccacc agaggatatg 4860
 [0382] tgtaaatata agcacctgta tttgcctgtt gttgagaact ggagggaaaa caaaaaatgt 4920
 [0383] ctggcaaccc ttgccttt taaccgtaat taattgacag tttatTTTgataagagtt 4980
 [0384] ttcaaaaatc tcttaactgc cacaacccac agagggtctt gtttgccat cttcagtggc 5040
 [0385] tcacagatat gatccaagtt aacttggaaag agatgagcag tacccaggaa attgtcctgc 5100
 [0386] cttaactct ggctgtcctt aattatgact gtttaatgtt gaatTTTCCA tccgtctagt 5160
 [0387] gtttggggtaaagaaaaagc cttttttaaa taagtatttc tgtaaaacgg catcggtggg 5220
 [0388] atcttctgtt ttgctatcac gggtgaaaga gggaaacatt tcttattttt attaaggcaga 5280
 [0389] gcattattta cagaaagcca ttgttgagaa tttagtccca catcatataa atatccatta 5340
 [0390] accattctaa attgtaagag aactccagtg ttgctatgca caaggaactc tcctggggc 5400
 [0391] cttttttgc atagcaatta aaggtagtctt atttgtcagt agccattttt tgcagtgtt 5460
 [0392] taaagaccaa agttgttta cagctgtgtt acccttaaag gtttttttt tatgtattaa 5520
 [0393] atcaattttt cactgttga agcttgaat acctgcaatc tttgccaaga tactttttt 5580
 [0394] tttaaaaaaaaaa taactgtgtt aatattaccc tgaatatttata tataactta 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 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 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 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 ttggcggtt ccgagggtcca 60			
[0449]	ggcgagctt ggccagaggg agtagagagc agcggggctg cgcagggacg cgtgccgtga 120			
[0450]	gttccggta gcgtgttgt cccatgctcc cgtcttcag gccggcccag gacacgaagc 180			
[0451]	cggaaagagag ctggctggag ggacggggc cgtgagcaga gagtgcaacc cgccgcagccc 240			
[0452]	cggggacagg ctgattcttgc gcgcctccgc ccggagcctg cccagggctg ggtgtgaggc 300			
[0453]	tggcgtcacg tcaacgagca gaggcggcca ggcggggcgg agtgcgcgtg cgccggggcgg 360			
[0454]	cgagcacgcg cgccgcgcga cccccggca gcctggggcgg ccgcctccgc ctgtcaactgc 420			
[0455]	tgcggcgctg ctggcggtc gttcccttg aaggcagcag cggaggcggc ggctgctcca 480			
[0456]	gacacctgca gcccggcggc cccggcggc cggagatgtg gcccttggcg gcggcgctgt 540			
[0457]	tgctgggctc ctgctgctgc gttcagctc aactactgtt tagtaacgtc aactccatag 600			
[0458]	atttcacttc atgcaatgaa actgtggta tcccttgcatt cgtccgtaat gtggaggcgc 660			
[0459]	aaagcaccga agaaatgttt gtgaagtggaa agttgaacaa atcgatattttt tcatactat 720			
[0460]	atggaaataa aaatagcact actacagatc aaaactttac cagtcaaaaa atctcagtct 780			
[0461]	cagacttaat caatggcatt gcctcttgc aaatggataa gcgcgatgcc atggggaa 840			

[0462] actacacttg cgaagtgaca gagttatcca gagaaggcaa aacagttata gagctaaaa 900
 [0463] accgcacggc ttctgtgtt tctccaaatg aaaagatcct catttttattt ttcccaattt 960
 [0464] tggctatact cctgttctgg ggaaagttt gatatTTAAC actcaaataat aaatccagcc 1020
 [0465] atacgaataa gagaatcatt ctgtgctcg ttgccggct ggtgctaca gtcatcggt 1080
 [0466] ttgttggagc catccttctc atcccaggag aaaagcccgt gaagaatgct tctggactt 1140
 [0467] gcctcattgt aatctctacg gggatattaa tactacttca gtacaatgtg tttatgacag 1200
 [0468] cttttggaat gaccttttc accattgcca tattgatcac tcaagtgtg ggctacgtcc 1260
 [0469] ttgcttttgtt cggtgtgtt ctctgcatca tggcatgtga gccagtgcac ggccccctt 1320
 [0470] tgatttcagg tttggggatc atagctctag cagaactact tggatttagtt tatatgaagt 1380
 [0471] ttgtcgcttc caaccagagg actatccaac ctcctaggaa agctgttagag gaaccctta 1440
 [0472] acgcatttaa agagtcaaaa ggaatgatga atgacgaata ggtgaaggga agtgcacggac 1500
 [0473] tgtaacttgg aagtcaaaaa tggaagaata cagttgtcta agcaccaggc ctgcacgact 1560
 [0474] cacagctgga aggaacacac aacagtaact gacttccatc cagggaaaca tgtcacataa 1620
 [0475] atgattacta agtttatatt caaagcagct gtactttaca taataaaaaaa aatatgatgt 1680
 [0476] gctgtgtaac caattggaat cccatTTTC tattgtttct actcaactag gggcaaacgt 1740
 [0477] ttcaaggggca acttccaaga atgatgctt ttagatccta gagttctgtca acactgagtt 1800
 [0478] taaattgatt ccgagtgaga ctgcctaaggc actaacctga gggtagtta cccagagata 1860
 [0479] cctatgaaaa acagtggat ccagcaagcc ttagtaact caggttgcac gcagcttgc 1920
 [0480] cacttccgct gctagctgaa taacaagact gccacttctg ggtcatagtg atagagactg 1980
 [0481] aagtagaaaa acgaatgtgg ttggcaaat cccgtgtggc ccctctgtgt gctatgatat 2040
 [0482] ttagggact ggtgtttca ttcttgggg ttagccatcat tcacacacac cccttgaca 2100
 [0483] tacagtgcac cccagtttt aatacatttt tttgcaccc tgtccgttc tgctacttt 2160
 [0484] atttgcgtta tgatatatat atatatatat aataccctt ctccttta aacatggtcc 2220
 [0485] tgtgacacaa tagtcagttt cagaaaggag ccagacttat tcgcaaagca ctgtgctcaa 2280
 [0486] actcttcaga aaaaaaggaa aaaaaaaaaa agctatagtt gtaacatatg tattccagac 2340
 [0487] ctctggttta aaggcaaaag aaaaaaaaaatc tacagtgttt cttctcatgt tttctgtatcg 2400
 [0488] gaggcatgac aaagcaagac tgaatctga actgtgtctc ctgcattggca acacgtgtct 2460
 [0489] ccgtcaggcc ctgcaggc ccggggaggg ggttctacgc ctctgtctc ttgttgcac 2520
 [0490] gctgaacact catgccttc ctactgtatc ctgcctcctg cagccctt cttccctc 2580
 [0491] ctcttcctt tcctcctt cctcccttc ctccttcc tccaagttt aaaggtcaaa 2640
 [0492] caaaactacc acattcccta cccagtttta agaaaaccac cgtcctgaca gttgtatcg 2700
 [0493] catggagtac ttttagatta ttagcacctt ttttaccc tttttgtggc gtgtttgtat 2760
 [0494] gtgcacatgt atgaagtcgg cacatgcacc ttctgtatgg gcagaggcgt ggcacatcaca 2820
 [0495] gaagagcaga tgccaaactt gtgttttag tgaatacatt aaaaaaaaaa aaccaacggt 2880
 [0496] ctttatttgg tggaaattcta ttgtatgca atatttgagc tcttaagac tttaaaacta 2940
 [0497] gataatgtgc caagcttta ggactgctca ccagtccct ctgaagaaac accagtactt 3000
 [0498] ttccctgttt gtgtataaaa ggcataattt tattttgttt tgcatcacta atggttttt 3060
 [0499] ctcttagtc cactgaatgt ttccatgtgc ctctcgatg ccaaactttt tgtcatctt 3120
 [0500] catgtggga ccaaattgggt tgcgtgtggc aaacctaaac ctatgacctg ctgaggcctc 3180
 [0501] tcagaaaaact gaccacagta ccaagatagt acttcgcaaa gaaaagttagg ttccctccct 3240
 [0502] gttttgttag ctgtcgccaa tattagcgta attccaagga gctgaacgcc tttatataaa 3300
 [0503] tctgtatggca cctgtatgtt ttagttctga aaatatttac actcgatca tggatgtt 3360

- [0504] gacttaaaca aagtttgat gaagagagca aaaaaaaagc aggtggattt ggaacagttt 3420
 [0505] cagggtttt tttgttttt gtttttgtt tttgttttt ttttttatt tttgttttc 3480
 [0506] tttctctgt tagaaaagtc aggtgttctc tgtcaggcta tcttatagt caatttttt 3540
 [0507] tacgaactaa agtagtacct ttaatatgt agtcaacgcc cctctgctcg gggttcagtt 3600
 [0508] ttgggtctta accagctgtc atttctcta tgctgcctgc cacttgaggc actgagtgcc 3660
 [0509] ctagacagtc ccatcggtgg tagccaggga aacgaaagac gaactcaact ctgctccta 3720
 [0510] ataatcaact ctctgtatga aggatggcag cattaagagt ctcctgcct gggcattatt 3780
 [0511] gggccagttc accctctta aatcaaacc cgcagtggc tcagttctcg tcccatcaga 3840
 [0512] tttaaattgc taacagtatg gggggcacca cgcatctgtt ttgtcccaca atgcgctttt 3900
 [0513] ctctccaaa tcccgatttgc tgctgtcata gcctctattt aatttttatt tattgtctgc 3960
 [0514] cctccactta tacaatcgta gagagcaatg ccatttgtca ctttctgaa cagttttttt 4020
 [0515] agcctttatg gctgaatccc attttcttc tcttcaaac tgttgtcc attgctcctc 4080
 [0516] ccgcacggct gtccgtacag tcatccatc catctgggg cctcttcat ctctcaccct 4140
 [0517] tcctggtgct tcgtggatct ctgcttacct ctgtgggattt tttttttttt ttttgactta 4200
 [0518] ttcttcac tggacttaa gattacttcc acagcgaaag tgctgcctcc ctttctgcc 4260
 [0519] cgcagtgttc tgcgtacttt agatactact cagtgcgtac atttgatggc aaaagttgcc 4320
 [0520] tgcaactaaa ttctctttt taatagggtg aactagagtt ggagttttt tctttttttt 4380
 [0521] ctctttctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc tctctctctc cctccctccc 4440
 [0522] tccctccctc cctccctccc tctctctctc ttttcttcc tttctttctt tctttcttc 4500
 [0523] tttcttctt tctttcttcc tttctttttt tgacaaatct cacaggctt gagaattata 4560
 [0524] aaaggtgaca gttcacctga aaatcacagg tctggtctgt ttaaattgtt gagaatatac 4620
 [0525] cgattaaaag tcttggctgtc gtgtcctaattt aggctcttt tcaggacgtt gtagtcaata 4680
 [0526] gagttggctga accatacttg agttataaa gctcaaaaaac tgatgcaccc actctgctat 4740
 [0527] tatcggttta gtaagagttc agctgtatattt cattgtctag gtttatcttgc tcctacagt 4800
 [0528] ggtattcaaa tatggccacc agaggatatg tgtaaatata agcacctgta ttgcctgtt 4860
 [0529] gttgagaact ggagggaaaa caaaaaatgt ctggcaaccc tttgcctttt taaccgtaat 4920
 [0530] taattgacag ttatatttta gataagagtt ttcaaaaatc tcttaactgc cacaacccac 4980
 [0531] agagggctt gtttgcctt cttcagtgcc tcacagatattt gatccaagtt aacttgaaag 5040
 [0532] agatgagcag tacccaggaa attgtcctgc cttaactctt ggctgtcctt aattatgact 5100
 [0533] gttaatgct gaattttcca tccgtctagt gtttgagggt aaagaaaagc cttttttaaa 5160
 [0534] taagtatttc tgtaaaaacgg catcggtggg atcttctgtt ttgcatac gggtaaaaga 5220
 [0535] gggaaacatt tcttattttt attaagcaga gcattattta cagaaagcca ttgttgagaa 5280
 [0536] ttagttccca catcatataa atatccatta accattctaa attgttaagag aactccagtg 5340
 [0537] ttgcatacga caaggaactc tcctggggc cttttttgc atagcaatta aaggtatgt 5400
 [0538] atttgtcagt agccattttt tgcaatgtttaaa agttttttaa cactgttgc agcttgaat 5460
 [0539] acccttaaag gttttttttt tatgtttaaa atcaattttt cactgttgc agcttgaat 5520
 [0540] acctgcaatc ttgccttgc tacccaggaa attgtcctgc cttaactctt ggctgtcctt aattatgact 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
[0549]	Ser Ala Gln Leu Leu Phe Ser Asn Val Asn Ser Ile Glu Phe Thr Ser		15
[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 Asp Gln Asn		
[0556]	65	70	75
[0557]	Phe Thr Ser Ala Lys Ile Ser Val Ser Asp Leu Ile Asn Gly Ile Ala		80
[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
[0567]	Leu Thr Leu Lys Tyr Lys Ser Ser His Thr Asn Lys Arg Ile Ile Leu		160
[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
[0577]	Ile Thr Gln Val Leu Gly Tyr Val Leu Ala Leu Val Gly Leu Cys Leu		240
[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
[0587]	Glu		320

[0588] <210> 9
[0589] <211> 5021
[0590] <212> DNA
[0591] <213> 智人
[0592] <400> 9
[0593] agtgggagcg cgctgcgcg cggccgtgca gcctggcag tgggtcctgc ctgtgacg 60
[0594] cggcggcggt cggtcctgcc ttaacggcg gggcgccgt ctgcgtccga cacctgcggc 120
[0595] ggcggccggc acccccggc gggcgccggatgtggcccc tggtagccgc gctgtgctg 180
[0596] ggctcggcgt gtcggatc agtcagcta ctatataaa aacaaaatc tgtagaattc 240
[0597] acgtttgtatgacactgt cgtcattcca tgctttgtta ctaatatgga ggcacaaaac 300
[0598] actactgaag tatacgtaaa gtggaaattt aaaggaagag atatttacac ctttgatgga 360
[0599] getctaaaca agtccactgt cccactgac ttttagtagt caaaaattga agtctcacaa 420
[0600] ttactaaaag gagatgcctc ttgaagatg gataagagt atgcgtctc acacacagga 480
[0601] aactacactt gtgaagtaac agaattaacc agagaaggtaa acgatcat cgagctaaaa 540
[0602] ttcgtgtt tttcatggtt ttctccaaat gaaaatattt ttattgttat tttccaaatt 600
[0603] ttgcatac tcctgttctg gggacagttt ggtttaaaa cactaaata tagatccgg 660
[0604] ggtatggatg agaaaacaat tgcttactt gttgctggac tagtgatcac tgtcattgtc 720
[0605] attgtggag ccattcttt cgtcccggtt gaatattcat taaagaatgc tactggcct 780
[0606] ggttaattt tgacttctac aggatatta atattactt actactatgt gtttagtaca 840
[0607] gcgattggat taacccctt cgtcattgcc atattggta ttcaggtat agcctatatc 900
[0608] ctcgctgtgg ttggactgag tctctgtatt gcggcgtgta taccaatgca tggccctctt 960
[0609] ctgatttcag gttttagtat cttagctcta gcacaattt ttggactgtt ttatatgaaa 1020
[0610] ttgtggaat aactgaagtg aagtgtgga ctccgattt gagatgtt agacgtgaaa 1080
[0611] ggaatacact tgggtttaa caccatggcc ttgtatgattt actgttgggg agaagaaaca 1140
[0612] agaaaagtaa ctgggtgtca cctatgagac cttacgttga ttgttagtta agttttatt 1200
[0613] caaagcagct gtaatttagt taataaaata attatgatct atgtgtttt cccaaattgag 1260
[0614] atccagtttt ttgttgttat tttatcaa tttagggcaa tagtagatg gacaatttcc 1320
[0615] aagaatgtt ctttcaggt cctaggccct ctggcctcta ggtaaccagt taaattgg 1380
[0616] tcagggtgtt aactacttag cactgccctg gtgattaccc agagatatct atgaaaacca 1440
[0617] gtggcttcca tcaaaccctt gccaacttcg gttcacagca gcttggca gttatggcag 1500
[0618] tatggcatta gctgagaggt gtcgtccact tctgggtcaa tggataata attaagtac 1560
[0619] aggcaggaat ttgggtggga gcatcttgc ttagtccgtt atgtgttattt attgtggag 1620
[0620] atagtggtcc tcattcttgg ggggtgccat tcccacattt ccccttcaac aaacagtgt 1680
[0621] acaggtcctt cccagattt gggactttt attgtatggat atgtttctt tttattcaca 1740
[0622] taacccttgc aaacccttgc ttgtccctt gttacttgc tctgtgtac aagatgtac 1800
[0623] acctttctc ctcttgcac atggcttagt gacacggtag caccagttgc aggaaggagc 1860
[0624] cagactgtt ctcagagcac tgggttcaca ctggcgtca aaaatagcta tgggtgtaac 1920
[0625] atatgtattt cttccctctg atttgaaggc aaaaatctac agtgtttctt cacttcttt 1980
[0626] ctgatctggg gcataaaaaa agcaagattt aatattgaaatc tatgtgtctc ctgcgtggca 2040
[0627] aacaaaatgtt tggtagtgc accattcatc accttcctt tggtagtgc cctcgactc 2100
[0628] tggtagtgc accattcatc accttcctt tggtagtgc cctcgactc 2160
[0629] ccctccctt atgattgaaa agtaaacaaccacattt cctatccgtt ttagaagaaa 2220

[0630] attaatgttc tgacagttgt gatgcctgg agtactttta gacttttagc attcgaaaa 2280
 [0631] tacctgtttg tggatgtgtg ttttatgtg catacgtatg agataggcac atgcataatcc 2340
 [0632] tgtatggaca aagggtgggt acctacagga gagcaaaggta taattttgtg cttttagtaa 2400
 [0633] aaacatttaa atacaaaggta ctttattggg tggaattata tttgatgcaa atatttgatc 2460
 [0634] acttaaaaact tttaaaactt ctaggttaatt tgccacgctt tttgactgct caccaataacc 2520
 [0635] ctgtaaaaat acgttaattct tcctgtttgt gtaataagat attcatattt gtagttgcat 2580
 [0636] taataatagt tatttcttag tccatcagat gttcccggtg gcctttta tgccaaatttg 2640
 [0637] attgtcatat ttcatgttgg gaccaagtag tttgcccattg gcaaaccctaa atttatgacc 2700
 [0638] tgctgaggcc tctcagaaaaa ctgagcatac tagcaagaca gctttcttg aaaaaaaaaaa 2760
 [0639] tatgtatata caaatatata cgtatatcta tatatacgtatgtatataca cacatgtata 2820
 [0640] ttcttccttg attgtgttagc tgtccaaat aataacatata atagaggggag ctgtattcc 2880
 [0641] ttatacaaattt ctgatggctc ctgcagcact ttttccttctt gaaaatattt acattttgt 2940
 [0642] aaccttagttt gttactttaa aaatcagttt ttagaaagg aatgaaaggc agatggactt 3000
 [0643] gaaaaagatc caagctccta ttagaaaagg tatgaaaatc tttatagtaa aatttttat 3060
 [0644] aaactaaagt tgtaccccttta aatatgttgtt aaactctcat ttatttggg ttcgctctt 3120
 [0645] gatctcatcc atccattgtg ttctctttaa tgctgcctgc cttttggggc attcaactgcc 3180
 [0646] cttagacaatg ccaccagaga tagtggggaa aatgccagat gaaaccaact cttgctctca 3240
 [0647] ctatgttca gcttcctcttgg ataagtgacc acagaagcag gagttcttctt gcttggcat 3300
 [0648] cattgggcca gttccttctc tttaaatcag atttgtatg gctccaaat tccatcacat 3360
 [0649] cacatttaaa ttgcagacag tgtttgcac atcatgtatc tgtttgcata cataatatgc 3420
 [0650] tttttactcc ctgatcccag tttctgtgt tgactcttcc attcagttt atttattgt 3480
 [0651] ttttctcaca gtgacaccat ttgcctttt ctgcaacaac ctttccagct actttggcca 3540
 [0652] aattctatcc ttcttcttcc tcaaaacattt ctccttgcata gttccttcc atctgtgttag 3600
 [0653] ctgctctttt gtctcttaac ttaccattcc tatagtactt tatgcatactc tgcttagttc 3660
 [0654] tattagttt ttggccttgc tcttcctt gatttaaaaa ttcccttat agcttagagct 3720
 [0655] ttctttctt tcattcttc ttccctgcgt gttttgcata catcagaagc taggtacata 3780
 [0656] agttaaatga ttgagagttt gctgtattta gatttatcac tttttaatag ggtgagctt 3840
 [0657] agagttttctt ttctttctt tttttttttt tgttttttttt tttttttttt tttttttttt 3900
 [0658] ttttgactaa ttcacatgc tctaaaaacc ttcaaagggtt attatttttc tcctggaaac 3960
 [0659] tccaggtcca ttctgtttaa atccctaaga atgtcagaat taaaataaca gggctatccc 4020
 [0660] gtaattggaa atatttctt tttcaggatg ctatagtcaa ttttagtaatg gaccaccaaa 4080
 [0661] ttgttatttg cactaacaaa gctaaaaaca cgataagttt actcctccat ctcagtaata 4140
 [0662] aaaattaagc tgtaatcaac ctcttaggtt tctctgtct taaaatgggtt attcaaaaat 4200
 [0663] ggggatctgtt ggtgtatgtt tggaaacaca tactccttaa tttacctgtt gttggaaact 4260
 [0664] ggagaaatga ttgtcgggca accgtttattt ttttattgtt ttttattttgg ttgagggtt 4320
 [0665] tttttataaa cagttttact tttgtcatat tttaaaaattt ctaactgcca tcacactgt 4380
 [0666] gggtcctttt ttaggtcatt ttcaatgtactt aataggata atccaggtaa ctttgaagag 4440
 [0667] atgagcagtg agtgaccagg cagttttctt gcctttagct ttgacagttc ttaattaaga 4500
 [0668] tcattgaaga ccagcttctt catabaaattt cttttttgaa aaaaagaaag catttgact 4560
 [0669] aagctccttctt gtaagacaac atcttaaaatc tttaaaaggta tgttatcatg actgggtgaga 4620
 [0670] gaagaaaaca ttttggggattt attaaatggaa gcattattta caaaaagcca ttgttgagaa 4680
 [0671] ttagatccca catcgatataa atatcttattt accattctaa ataaagagaa ctccagttt 4740

[0672]	gctatgtca agatcctctc ttggagcttt tttgcatacg aattaaagggt gtgctatttgc 4800
[0673]	tcatgtcca ttttttgca gtgatttcaa gaccaaagggt gtttacagc tgtgttaccg 4860
[0674]	ttaaagggttt tttttttat atgtattaaa tcaatttatac actgtttaaa gctttgaata 4920
[0675]	tctgcaatct ttgccaagggt actttttat ttaaaaaaaaaa acataacttt gtaaatatta 4980
[0676]	ccctgtataa ttatataaac 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 ggccggaaagc agtgggagcg cgctgtgcgcg cggccgtgca 60
[0726] gcctggcag tgggtcctgc ctgtgacgcg cggcggcggt cggtcctgcc tgtaacggcg 120
[0727] gcccggctg ctgctccaga cacctgcggc ggcggcggcg accccgcggc gggcgcggag 180
[0728] atgtggcccc tggtagcggc gcttgtcgt ggctcggcgt gctcggatc agctcagcta 240
[0729] ctatttaata aaacaaaatc tgtagaattc acgttttta atgacactgt cgtcattcca 300
[0730] tgctttgtta ctaatatgga ggcacaaaaac actactgaag tatacgtaaa gtggaaattt 360
[0731] aaaggaagag atatttacac ctttgatgga gctctaaaca agtccactgt ccccaactgac 420
[0732] tttagtagtg caaaaattga agtctcacaa ttactaaaaag gagatgcctc ttgaagatg 480
[0733] gataagagtg atgctgtctc acacacagga aactacactt gtgaagtaac agaattaacc 540
[0734] agagaaggtg aaacgatcat cgagctaaaa tatcgtgtt tttcatggtt ttctccaaat 600
[0735] gaaaatattc ttattgttat tttccaatt tttgctatac tcctgttctg gggacagttt 660
[0736] ggtattaaaa cacttaata tagatccggt ggtatggat agaaaaacaat tgctttactt 720
[0737] gttgctggac tagtgatcac tgtcattgtc attgttggag ccattcttt cgtcccagg 780
[0738] gaatattcat taaagaatgc tactggcatt ggttaattt tgacttctac agggatattt 840
[0739] atattacttc actactatgt gtttagtaca gcgattggat taaccctcatt cgtcattgcc 900
[0740] atattggta ttcaaggatgat agcctatac ctcgctgtt ttggactgag tctctgtatt 960
[0741] gccgcgtgta taccaatgca tggccctt ctgatttcag gttttagtat cttagctcta 1020
[0742] gcacaattac ttggacttagt ttatatgaaa tttgtggattt ccaatcagaa gactatacaa 1080
[0743] ccccttagga ataactgaag tgaagtgtt gactccgatt tggagagtag taagacgtg 1140
[0744] aaggaataca cttgtgttta agcaccatgg ctttgatgtat tcactgttgg ggagaagaaa 1200
[0745] caagaaaaatgta aactgggtt caccatgtt acccttacgt gatttttagt taagttttt 1260
[0746] ttcaaaaggatc ctgttaattt gtttaataaaa taattatgtat ctatgttgg tggccaaattt 1320
[0747] agatccagtt ttttgttgg atttttaatc aatttagggc aatagtagaa tggacaattt 1380
[0748] ccaagaatga tgccttcag gtcctaggc ctctggcctc taggttaacca gtttaattt 1440
[0749] gttcagggtt ataactactt agcactgccc tgggtgattac ccagagatat ctatgaaaac 1500
[0750] cagtggcttc catcaaacct ttgccaactc aggttcacag cagcttggg cagttatggc 1560
[0751] agtatggcat tagctgagag gtgtctgcca cttctgggtc aatgaaataa taaattaagt 1620
[0752] acaggcagga atttggttgg gagcatctt gatgtatcc gtatgtatgt atattgttgg 1680
[0753] agatagtggt cctcattttt ggggttgcc attccacat tcccccttca acaaacagtg 1740
[0754] taacagggtcc ttcccagatt taggtactt ttattgtatgg atatgtttc cttttattca 1800
[0755] cataaccctt tggaaaccctg tctgtccctc ctgttactt cttctgtt acaagatgtt 1860

[0756] gcacctttc tcctcttga acatggctca gtgacacggc agcaccaggc gcaggaaggc 1920
 [0757] gccagacttg ttctcagagc actgtgttca cactttcag caaaaatagc tatggttgt 1980
 [0758] acatatgtat tcccttcctc tgatttgaag gcaaaaatct acagtgttgc ttcacttctt 2040
 [0759] ttctgatctg gggcatgaaa aaagcaagat tgaatttga actatgagtc tcctgcatgg 2100
 [0760] caacaaaatg tgtgtcacca tcaggccaac aggcccagccc ttgaatgggg atttattact 2160
 [0761] gttgtatcta tggatcgatca taaacattca tcacccctt cctgttagtcc tgcctcgat 2220
 [0762] tccccctccc ctatgatttga aaagtaaaca aaacccacat ttccatccct ggttagaaga 2280
 [0763] aaattaatgt tctgacagtt gtgatcgctt ggagttactt tagacttttgc gattcgat 2340
 [0764] ttacccgtt tgtggatgtg tggttgcattg tgcatacgta tgagataggc acatgcatct 2400
 [0765] tctgtatggc caaagggtggc gtacccatcag gagagcaaaat gttttttttt tgcttttagt 2460
 [0766] aaaaaacattt aaatacaaag ttctttattt ggttggatata tatttgcatttgc aaatatttgc 2520
 [0767] tcacttaaaa cttttaaaac ttcttaggtaa tttgccacgc tttttgacttgc ctcaccaata 2580
 [0768] ccctgtaaaa atacgttaattt cttccgtttt gtgtataaag atattcatat ttgttagttgc 2640
 [0769] attaataata gttatttctt agtccatcag atgttccctt gtgcctctt tatgcacaaat 2700
 [0770] tgattgtcat atttcatgtt gggaccaagt agtttgcctt tggccaaacctt aaatttatgt 2760
 [0771] cctgctgagg cctctcagaa aactgagcat actagcaaga cagctttctt tggaaaaaaa 2820
 [0772] aatatgtata cacaaatata tacgtatatac tatataatc tatgtatatac cacacatgt 2880
 [0773] tattttctt tgattgtgtt gctgtccaaa ataataacat atatagaggg agctgtatttgc 2940
 [0774] ctttatacaa atctgatggc tcctgcagca cttttccctt ctgaaaatatttgc 3000
 [0775] ctaaccttagt ttgttactttt aaaaatcagt tttgtatggaa ggaggggaaaaa gcagatggac 3060
 [0776] ttggaaaaaaa tccaagctcc tattttttttt ggtatggaaa tctttatagt aaaattttttt 3120
 [0777] ataaaactaaa gttgtacattt ttaatatgtt gtaaaactctt atttttttttgggttcgtct 3180
 [0778] tggatctcat ccatccattt tggttctttt aatgctgcctt gccttttgc gatttcactt 3240
 [0779] cccttagacaa tgccaccaga gatagtgggg gaaatgccag atgaaaccaa ctcttgctct 3300
 [0780] cacttgttgc cagttctctt ggataagtga ccacagaagc aggagtcctt ctgttgggc 3360
 [0781] atcattgggc cagttccctt tctttaaatc agatttgcattt tggctccaa attccatcac 3420
 [0782] atcacatttta aattgcagac agtgttttgc acatcatgtt tctttttgtt cccataaatat 3480
 [0783] gctttttact ccctgatccc agtttctgtt gttgactttt ccattcagtt ttatatttttgc 3540
 [0784] tgtgttctca cagtgacacc atttgcattt ttctgcaaca acctttccag ctacttttgc 3600
 [0785] caaattctat ttgttctctt cttcaaaaaca ttctccctt cagttctctt tcatctgtt 3660
 [0786] agctgctctt ttgttcttta acttaccattt cctatagtttac ttatgcatttgc tctgcttagt 3720
 [0787] tctattttttttt tttttttttt gctttttttt ttgtttttttt aattttttttt atagcttagat 3780
 [0788] cttttttttt ttttccattttt ttttcccttgc gttttttttt tacatcagaa gcttaggtaca 3840
 [0789] taagttaaat gattgagatg tggctgtattt tagatttttac accttttaat agggtgagat 3900
 [0790] tgagagttttt cttttttttt gttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 3960
 [0791] tttttttttttt aatttcacat gctctaaaaa cttcaaaagg tgattttttt tctcctggaa 4020
 [0792] actccaggc cattctgtttt aaatccctaa gaatgtcaga attaaaatataa cagggttac 4080
 [0793] ccgttaattgg aaatatttttctt ttttccatggc tgctatagtc aattttttttt gttttttttt 4140
 [0794] aattttttttt ttttccatggc tgctatagtc aattttttttt gttttttttt tttttttttt 4200
 [0795] taaaaaattaa gctgtatca accttcttgc ttctcttgc tttttttttt tttttttttt 4260
 [0796] atggggatct gtgggtgtatg tatggaaaca catactccctt aattttttttt gttttttttt 4320
 [0797] ctggagaaat gattgtcggttca acccgtttta tttttttttt tttttttttt gttttttttt 4380

[0798] ttttttata aacagttta cttgtgtcat attttaaaat tactaactgc catcacctgc 4440
 [0799] tgggtcctt tgtaggtca tttcagtga ctaataggga taatccaggt aactttgaag 4500
 [0800] agatgagcag tgagtgacca ggcagtttt ctgccttag ctgtacagt tcttaattaa 4560
 [0801] gatcattgaa gaccagctt ctcataaatt tctctttt aaaaaaagaa agcatttgta 4620
 [0802] ctaagctcct ctgtaagaca acatctaaa tcttaaaagt gttgttatca tgactggta 4680
 [0803] gagaagaaaa cattttgtt ttattaaatg gaggattt tacaaaaagc cattgttgag 4740
 [0804] aatttagatcc cacatcgat aaatatctat taaccattt aaataaagag aactccagtg 4800
 [0805] ttgctatgtc caagatcctc tctggagct ttttgcata gcaattaaag gtgtgctatt 4860
 [0806] tgtcagtagc cattttttt cagtgattt aagaccaaag ttgtttaca gctgtgttac 4920
 [0807] cgtaaagggt tttttttt atatgtatta aatcaattt tcactgttta aagctttgaa 4980
 [0808] tatctgcaat ctttgccaag gtactttttt atttaaaaaa aaacataact ttgtaaatat 5040
 [0809] tacccgtaa tattatata acttaataaa acattttaaat cttttgtt gggctattt 5100
 [0810] tattgctgct acagcagacc acaagcacat ttctgaaaaa tttaatttt taatgttatt 5160
 [0811] ttaagttgct tatattctag gtaacaatgt aaagaatgtt ttaaaatatt aattatgaat 5220
 [0812] ttttgagta taataccaa taagcttta attagagcag agtttaatt 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 cgctgtgcgc cggccgtgca gcctggcag tgggtcctgc ctgtgacg 60		
[0865]	cggcggcggt cggtcctgcc ttaaacggcg gcccggctg ctgctccgga cacctgcggc 120		
[0866]	ggcggcggcg acccccggc gggcggag atgtggcccc tggtagcggc gctgttgctg 180		
[0867]	ggctcggcgt gtcggatc agtcagcta ctattataaa aaacaaaatc tgtagaattc 240		
[0868]	acgtttgtatg acacactgt cgtcattcca tgctttgttta ctaatatggaa ggcacaaaaac 300		
[0869]	actactgaag tatacgtaaa gtggaaattt aaaggaagag atatttacac ctttgatggaa 360		
[0870]	gctctaaaca agtccactgt ccccaactgac ttttagtagtg caaaaattga agtctcacaa 420		
[0871]	ttactaaaag gagatgcctc ttgttgcgtt gataaggatc atgcgtctc acacacaggg 480		
[0872]	aactacactt gtgaagtaac agaattaacc agagaaggatc aaacgatcat cgagctaaaa 540		
[0873]	tatcgttttgc tttcatggtt ttctccaaat gaaaatatttgc ttattgttat ttcccaatt 600		
[0874]	tttgctatac tcctgttctg gggacagttt ggtttaaaa cactaaata tagatccgg 660		
[0875]	ggatggatg agaaaaacaat tgctttactt gttgctggac tagtgcac tgcattgtc 720		
[0876]	attgttggag ccattttttt cgtcccggtt gaatattcat taaagaatgc tactggcctt 780		
[0877]	ggtttaatttgc tgacttctac aggatatta atattacttc actactatgt gtttagtaca 840		
[0878]	gcgattggat taacccctt cgtcattgcc atattggta ttccggatgat agcctatatc 900		
[0879]	ctcgctgtgg ttggactgag tctctgtt gccggcgttaccaatgca tggccctt 960		
[0880]	ctgatttcag gtttggatctt ctagctcta gcacaattac ttggactgtt tatatgaaa 1020		
[0881]	tttgtggctt ccaatcagaat gactatacaa cctccttagga aagctgtaga ggaacccctt 1080		

[0882] aatgaataac tgaagtgaag tggactc cgattggag agtagtaaga cgtgaaaggaa 1140
[0883] atacacttgt gtttaagcac catggcctt atgattcaact gttggggaga agaaaacaaga 1200
[0884] aaagtaactg gttgtcacct atgagaccct tacgtgattt ttagttaagt ttttattcaa 1260
[0885] agcagctgta atttagttaa taaaataatt atgatctatg ttgttgccc aattgagatc 1320
[0886] cagtttttgc ttgttatttt taatcaatta gggcaatag tagaatggac aatttccaag 1380
[0887] aatgatgcct ttcatggcctt agggcctctg gcctctaggta aaccagttt aattggttca 1440
[0888] ggggtataac tacttagcac tgccctggtg attaccaga gatatctatg aaaaccagt 1500
[0889] gcttccatca aacctttgcc aactcaggtt cacagcagct ttgggcagtt atggcagtt 1560
[0890] ggcattagct gagagggtgtc tgccacttct gggtaatgg aataataaaat taagtacagg 1620
[0891] caggaatttgc gttgggagca tcttgtatga tctccgtatg atgtgatatt gatggagata 1680
[0892] gtggcctca ttcttggggg ttgcattcc cacattcccc cttcaacaaa cagtgtaca 1740
[0893] ggtcctccc agatttaggg tacttttattt gatggatatg ttttcctttt attcacataa 1800
[0894] cccctgaaa ccctgtcttgc tcctcctgtt acttgcttct gctgtacaag atgtacacc 1860
[0895] ttttcctc tttgaacatg gtctagtgtac acggtagcac cagttgcagg aaggagccag 1920
[0896] acttgttctc agagcactgt gttcacactt ttcagcaaaa atagctatgg ttgtacata 1980
[0897] tgtattccct tcctctgatt tgaaggcaaa aatctacagt gtttcttcac ttctttctg 2040
[0898] atctggggca tgaaaaaaagc aagattgaaa tttgaactat gagtctcctg catggcaaca 2100
[0899] aatgtgtgt caccatcagg ccaacaggcc agcccttgcgatgggattttt ttactgtt 2160
[0900] atctatgttgc catgataaac attcatcacc ttccctctgt agtcctgcct cgtactcccc 2220
[0901] ttcccctatg attgaaaagt aaacaaaacc cacatttgc atcctggtta gaagaaaatt 2280
[0902] aatgttctga cagttgtgtat cgcctggagt acttttagac ttttagcatt cgtttttac 2340
[0903] ctgtttgtgg atgtgtgttt gtatgtgcac acgtatgaga taggcacatg catctctgt 2400
[0904] atggacaaag gtggggtacc tacaggagag caaaggtaa ttttgcgtt ttagtaaaaa 2460
[0905] catttaaaaata caaagttctt tattgggtgg aattatattt gatgcaaaa tttgatcact 2520
[0906] taaaactttt aaaaacttcta ggtaatttgc cacgctttt gactgctcac caataccctg 2580
[0907] taaaaatacg taattcttcc tttttgtgtataa ataaatattt catatttgc gttgcattaa 2640
[0908] taatagttat ttcttagtcc atcagatgtt cccgtgtgcc tcttttatgc caaatttgc 2700
[0909] gtcataatttgc atgtgggac caagtagttt gccatggca aacctaattt tatgacactgc 2760
[0910] tgaggcctct cagaaaaactg agcataactg caagacagct cttcttgcgaa aaaaaaatat 2820
[0911] gtatacacaa atatatacgt atatctat atacgtatgt atatacacac atgtatattc 2880
[0912] ttcccttgcgtt gttagctgtt cccaaataat aacatata gaggagctg tttcccttgc 2940
[0913] tacaaatctg atggcctctg cagcactttt tcctctgaa aatatttaca ttttgcataac 3000
[0914] ctatgttgcgtt actttaaaaa tcagtttgcgatgggaaat gaaaggagg gaaaaggcaga tggacttgc 3060
[0915] aaagatccaa gctccttataa gaaaaggat gaaaatctt atagtaaaaat tttttataaa 3120
[0916] ctaaaaggatgtt accttttaat atgtgttataa ctctcattttt tttgggggttc gctcttggat 3180
[0917] ctcatccatc cattgtgttc tctttatgc tgcctgcctt ttgaggcatt cactgcctt 3240
[0918] gacaatgcca ccagagatag tggggaaat gcccggatgaa accaacttgc gctctacta 3300
[0919] gttgtcagct tctctggata agtgaccaca gaagcaggag tcctcctgcgt tggcatcat 3360
[0920] tggccagtt cttctctttt aaatcagatt tggacttgc cccaaatttcc atcacatcac 3420
[0921] atttaaatttgc cagacagtgtt tttgcacatc atgtatctgt tttgtcccat aatatgtttt 3480
[0922] ttactccctg atcccagttt ctgtgttgc tcttccattt cagttttattt tattgtgtgt 3540
[0923] tctcacatgtt acaccatttgc tcctttctg caacaacattt tccagctact tttgccaat 3600

[0924]	tctatttgc ttccttc aaacattc cttgcagg ccttcatc tgttagctg	3660
[0925]	ctctttgtc tcttaactt ccattcctat agtactttat gcatctctgc ttatcttat	3720
[0926]	tagtttttg gccttgcct tctccttgat tttaaaattt cttctatagc tagagctttt	3780
[0927]	cttctttca ttctctttc ctgcagggtt ttgcatacat cagaagctag gtacataagt	3840
[0928]	taaatgattt agagttggct gtattttagat ttatcactt ttaatagggt gagcttgaga	3900
[0929]	gtttcttcc ttctgtttt tttttttgt tttttttt tttttttt tttttttt	3960
[0930]	tgactaattt cacatgcctt aaaaacctt aaaggtgatt attttctcc tggaaactcc	4020
[0931]	aggtccattt tgtttaatc cctaagaatg tcagaattaa aataacaggg ctatcccgtt	4080
[0932]	attggaaata ttctttttt caggatgcta tagtcaattt agtaagtgac caccaaattt	4140
[0933]	ttatggcac taacaaagct caaaacacga taagttact cctccatctc agtaataaaaa	4200
[0934]	attaagctgt aatcaacattt ctaggtttt cttgtcttaa aatgggtt caaaaatggg	4260
[0935]	gatctgtggt gtatgtatgg aaacacatac tccttaattt acctgttgtt ggaaactgga	4320
[0936]	gaaatgattt tcgggcaacc gtttattttt tattgtattt tatttgttg agggattttt	4380
[0937]	ttataaacag ttttacttgt gtcataattt aaaattacta actgccatca cctgctgggg	4440
[0938]	tccttgcata ggtcattttc agtactaat aggataatc caggtactt tgaagagatg	4500
[0939]	agcagtgggt gaccaggcag ttttctgcc tttagcttg acaggctta attaagatca	4560
[0940]	ttgaagacca gctttctcat aaatttctt tttgaaaaaa aagaaagcat ttgtactaag	4620
[0941]	cctctctgttta agacaacatc ttaaatctta aaagtgtgt tatcatgact ggtgagagaa	4680
[0942]	gaaaacattt tgtttttattt aaatggagca ttatttacaa aaagccattt ttgagaatta	4740
[0943]	gatccccat cgtataaata tctattaacc attctaaata aagagaactc cagtgttgt	4800
[0944]	atgtgcaaga tcctctcttg gagttttt gcatagcaat taaaggtgtt ctatttgtca	4860
[0945]	gtagccattt tttgcagggtt atttgaagac caaagttttt ttacagctgtt gttaccgtt	4920
[0946]	aaggttttt ttttatatg tattaaatca atttatact gtttaaagct ttgaatatct	4980
[0947]	gcaatcttgc ccaaggactt ttttattt aaaaaaaaaa taactttgtt aatattaccc	5040
[0948]	tgtatatttataataacttta ataaaacattt ttaagctt	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				
[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				
[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	cggggagcgc	ggcgaaagc	agtggagcgc	cgcgtgcgcg	cggccgtgca	60
[1000]	gcctggcag	tgggtctgc	ctgtgacgcg	cggcggcggt	cggtcctgcc	tgtaacggcg	120
[1001]	gcccggctg	ctgctccaga	cacctgcggc	ggcggcggcg	accccgccgc	ggcgcggag	180
[1002]	atgtggccc	tggtagcggc	gctgttgctg	ggctcggcggt	gctgcggatc	agctcagcta	240
[1003]	ctattnata	aaacaaaatc	tgtagaattc	acgtttgtt	atgacactgt	cgtcattcca	300
[1004]	tgcattgtt	ctaatatgga	ggcacaaaaac	actactgaag	tatacgtaaa	gtggaaattt	360
[1005]	aaaggaagag	atatttacac	ctttagatgga	gctctaaaca	agtccactgt	ccccactgac	420
[1006]	tttagtagtgc	caaaaatttgc	agtctcacaa	ttactaaaag	gagatgcctc	tttgaagatg	480
[1007]	gataagagtgc	atgctgtctc	acacacagga	aactacactt	gtgaagtaac	agaattaacc	540

[1008] agagaaggtg aaacgatcat cgagctaaaa tatcggttgc tttcatggtt ttctccaaat 600
 [1009] gaaaatattc ttattgttat tttcccaatt tttgctatac tcctgttctg gggacagttt 660
 [1010] ggtttaaaaa cacttaaata tagatccggt ggtatggat agaaaacaat tgctttactt 720
 [1011] gttgctggac tagtgatcac tgtcattgtc attgttggag ccattcttt cgtcccagg 780
 [1012] gaatattcat taaagaatgc tactggcctt gggttaattt tgacttctac agggatatta 840
 [1013] atattacttc actactatgt gtttagtaca gcgattggat taacctcctt cgtcattgcc 900
 [1014] atattggta ttcaggtgat agcttatatc ctcgctgtgg ttggactgag tctctgtatt 960
 [1015] gccccgtgtt taccaatgca tggccctt ctgatttcag gtggactgtat ctttagctcta 1020
 [1016] gcacaattac ttggacttagt ttatatgaaa ttgtggctt ccaatcagaa gactatacaa 1080
 [1017] ccccttagga aagctgtaga ggaacccctt aatgcattca aagaatcaaa aggaatgatg 1140
 [1018] aatgtatgaat aactgaagt aagtgtatggc ctccgattt gagagtagta agacgtgaaa 1200
 [1019] ggaatacact tgtgtttaa caccatggcc ttgatgatc actgttgggg agaagaaaca 1260
 [1020] agaaaagtaa ctgggtgtca cctatgagac ccttacgtga ttgttagtta agttttattt 1320
 [1021] caaagcagct gtaattttgt taataaaata attatgatct atgtgtttt cccaatttgc 1380
 [1022] atccagtttt ttgtgttat tttaatcaa tttagggcaa tagtagaatg gacaatttcc 1440
 [1023] aagaatgatg ccttcagggt cctaggccct ctggcctcta ggtaaccagt ttaatttgtt 1500
 [1024] tcagggtgat aactacttag cactgccctg gtgatttacc agagatatct atgaaaacca 1560
 [1025] gtggcttcca tcaaaccctt gccaacttcag gttcacagca gcttggca gttatggcag 1620
 [1026] tatggcatta gctgagaggt gtctgccact tctgggtcaa tggataata aattaagtac 1680
 [1027] aggccaggaat ttgggtggga gcatcttgc tgcattccgt atgtgtgat attgtggag 1740
 [1028] atagtggtcc tcattcttgg gggttgcatt tcccacattt ccccttcaac aaacagtgt 1800
 [1029] acaggccctt cccagattt gggactttt attgtggat atgtttcct tttattcaca 1860
 [1030] taaccccttg aaaccctgtc ttgcctcctt gttacttgc tctgtgtac aagatgtac 1920
 [1031] acctttctc ctcttgcac atggcttagt gacacggtag caccagttgc aggaaggagc 1980
 [1032] cagactgtt ctcagagcac tgtgttcaca ctttcagca aaaatagcta tgggtgtaac 2040
 [1033] atatgtattc ctttcctctg atttgaaggc aaaaatctac agtgtttctt cacttctttt 2100
 [1034] ctgatctggg gcataaaaaa agcaagattt aaatttgcac tatagtctc ctgcattggca 2160
 [1035] acaaaaatgtg tgtcaccatc agggcaacag gccagccctt gaatggggat ttattactgt 2220
 [1036] tgtatctatg ttgcattgata aacattcatc accttcctcc tgcattcctg cctgtactc 2280
 [1037] ccctccctt atgattgaaa agttaaacaat acccacattt cctatcctgg tttagaagaaa 2340
 [1038] attaatgttc tgacagttgt gatgcctgg agtactttt gacttttagc attcggtttt 2400
 [1039] tacctgtttt tggatgtgt tttgtatgtc catacgat agataggcac atgcattttc 2460
 [1040] tgtatggaca aagggtgggtt acctacagga gagcaaaggtaatttgtc ttgttagttaa 2520
 [1041] aaacatttaa atacaaagtt ctttattggg tggattata tttgatgcaat atatttgatc 2580
 [1042] actttaaact tttttttttt ctaggttattt tgccacgtt tttgactgtc caccaatacc 2640
 [1043] ctgtttttt acgttaatttcc tcctgtttgt gtaataagat attcatattt gtagttgcatt 2700
 [1044] taataatagt tatttcttag tccatcgat gttcccggtt gccttttta tgccaaattt 2760
 [1045] attgtcatat ttcatgttgg gaccaagtag tttgcccattt gcaaaacctaa atttatgacc 2820
 [1046] tgctgaggcc tctcagaaaaa ctgagcatac tagcaagaca gctttcttgg aaaaaaaaaa 2880
 [1047] tatgtatataca caaatatata cgtatatacata tatatacgtatgtatataca cacatgtata 2940
 [1048] ttcttccttg attgtgttagc tgccaaat aataacatata atagagggag ctgtattcct 3000
 [1049] ttatacaaattt ctgtatggcctc ctgcagcact ttttccttgc gaaaatattt acattttgct 3060

[1050] aacctagttt gttactttaa aaatcagttt tcatggaaagg agggaaaagc agatggactt 3120
 [1051] gaaaaagatc caagctccca tttagaaaagg tatgaaaatc tttatagtaa aatttttat 3180
 [1052] aaactaaagt tgtacccccc aatatgtgt aaactctcat ttatttgggg ttcgccttg 3240
 [1053] gatctcatcc atccattgtg ttctctttaa tgctgcctgc ctttgaggc attcactgcc 3300
 [1054] ctagacaatg ccaccagaga tagtggggga aatgccagat gaaaccaact cttgctctca 3360
 [1055] ctagttgtca gcttcctcgg ataagtgacc acagaagcag gagtcctcct gcttggcat 3420
 [1056] cattggcca gttccttc tttaaatcag atttgaatg gctccaaat tccatcacat 3480
 [1057] cacattnaaa ttgcagacag tgtttgcac atcatgtatc tgtttgcata cataatatgc 3540
 [1058] ttttactcc ctgatcccag ttctgcgtg tgactctcc attcagttt atttattgtg 3600
 [1059] tggctcaca gtgacaccat ttgcctttt ctgcaacaac cttccagct actttgcc 3660
 [1060] aattctattt gtcttcctt tcaaaccatt ctcccttgc gttccttc atctgtgttag 3720
 [1061] ctgctttttt gtctcttaac ttaccattcc tatagtaattt tatgcatttc tgcttagttc 3780
 [1062] tattagtttt ttggccttgc tcttcctt gattnnnnnn ttccttctat agcttagagct 3840
 [1063] ttctttctt tcattcttc ttccgcgtt gtttgcata catcagaagc taggtacata 3900
 [1064] agttaaatga ttgagagttt gctgtattt gatttatac ttttaatag ggtgagctt 3960
 [1065] agagtttctt ttctttctgt tttttttttt tgttttttt tttttttttt tttttttttt 4020
 [1066] tttgactaa ttccacatgc tctaaaaacc ttcaaagggtt atttttttc tcctggaaac 4080
 [1067] tccaggtcca ttctgtttaa atccctaaga atgtcagaat taaaataaca gggctatccc 4140
 [1068] gtaattggaa atatttctt ttcaggatg ctatgtcaa ttttagtaatg gaccaccaaa 4200
 [1069] ttgttatttgc cactaacaaa gctaaaaca cgataagttt actccctccat ctcagtaata 4260
 [1070] aaaattaagc tgtaatcaac cttctagttt tctcttgc taaaatgggtt attcaaaaat 4320
 [1071] ggggatctgtt ggttatgtt tgaaaacaca tactccttaa tttacctgtt gttggaaact 4380
 [1072] ggagaaatga ttgtcgccca accgttttattt ttttatttgc ttttatttgg ttgagggtt 4440
 [1073] ttttataaa cagtttact tgcgtcatat tttaaaattt ctaactgccat tcacactgc 4500
 [1074] gggcccttgc ttaggtcatt ttccgtact aatagggata atccaggtaa ctttgaagag 4560
 [1075] atgagcagtgc agtgaccagg cagttttctt gcctttagct ttgcacgttc ttaattaaga 4620
 [1076] tcattgttgc ccagcttctt cattaaatttgc tcttttttgc aaaaagaaag catttgcatt 4680
 [1077] aagctccctt gtaagacaac atctttaatc tttttttttt tttttttttt tttttttttt 4740
 [1078] gaagaaaaca ttttgcattt attaaatggatc gcattatttgc caaaaagccat ttgttgagaa 4800
 [1079] tttagatccca catcgatataa atatcttattt accattcttgc ataaagagaa ctccagttt 4860
 [1080] gctatgttgc agatcccttc ttggagctttt tttgcattttc aattttttttt gttttttttt 4920
 [1081] tcagtagccat tttttttgc tttttttttt gttttttttt gttttttttt gttttttttt 4980
 [1082] tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 5040
 [1083] tctgcattttt ttgcattttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 5100
 [1084] ccctgtatataa ttatataatc tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 5160
 [1085] ttgcgttac agcagaccat aagcacattt ctgaaaaattt taattttttt tttttttttt 5220
 [1086] aagttgttgc tattttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 5280
 [1087] tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt tttttttttt 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 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 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 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 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	235 240
[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 Leu Leu Leu Gly Ser Cys Cys Cys Gly		
[1241]	1 5 10 15		
[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 80		
[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 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]	320		
[1330]	Asn Asp Glu		
[1331]	<210> 21		
[1332]	<211> 22		
[1333]	<212> DNA		
[1334]	<213> 人工序列		
[1335]	<220>		
[1336]	<221> 来源		
[1337]	<223> /注=“ 人工序列描述:合成		
[1338]	引物”		
[1339]	<400> 21		
[1340]	tgcagaagtc actaggagga at 22		
[1341]	<210> 22		
[1342]	<211> 27		
[1343]	<212> DNA		
[1344]	<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 agccaaactat 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 cctggttatc 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 catgcttgc 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] ggacagtggc 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 ctgattttc 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 taccttgcatttccaaacac 60
[1460] gcgatcgcat tttaagattt tccatcctag tgaaaaagata tgatttgatt catcctattt 120
[1461] actttgtata tttaaagtaca 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 cagtttct gtgatagagc 60
[1472] tgtcctgcac agacctgttt ctcgagataa cttcgatataa tgtatgctat acgaagttat 120
[1473] atgcatggcc tccgcgccgg gtttggcgc ctccgcggg 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] gtcctaagggt agcgacttagc attagtatgg aagggtccgtc cactgtccag gttcctcttg 120
[1485] cgagactctt tgtctcttg 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 cagtttct gtgatagagc 60
[1496] tgtcctgcac agacctgttt ctcgagataa cttcgatataa tgtatgctat acgaagttat 120
[1497] gctagtaact ataacggtcc taaggttagcg actagcatta gtatggaagg tccgtccact 180
[1498] gtccaggttc ctcttgccga gctcttgtc tctctggact ctgtatacac tgcttgcat 239

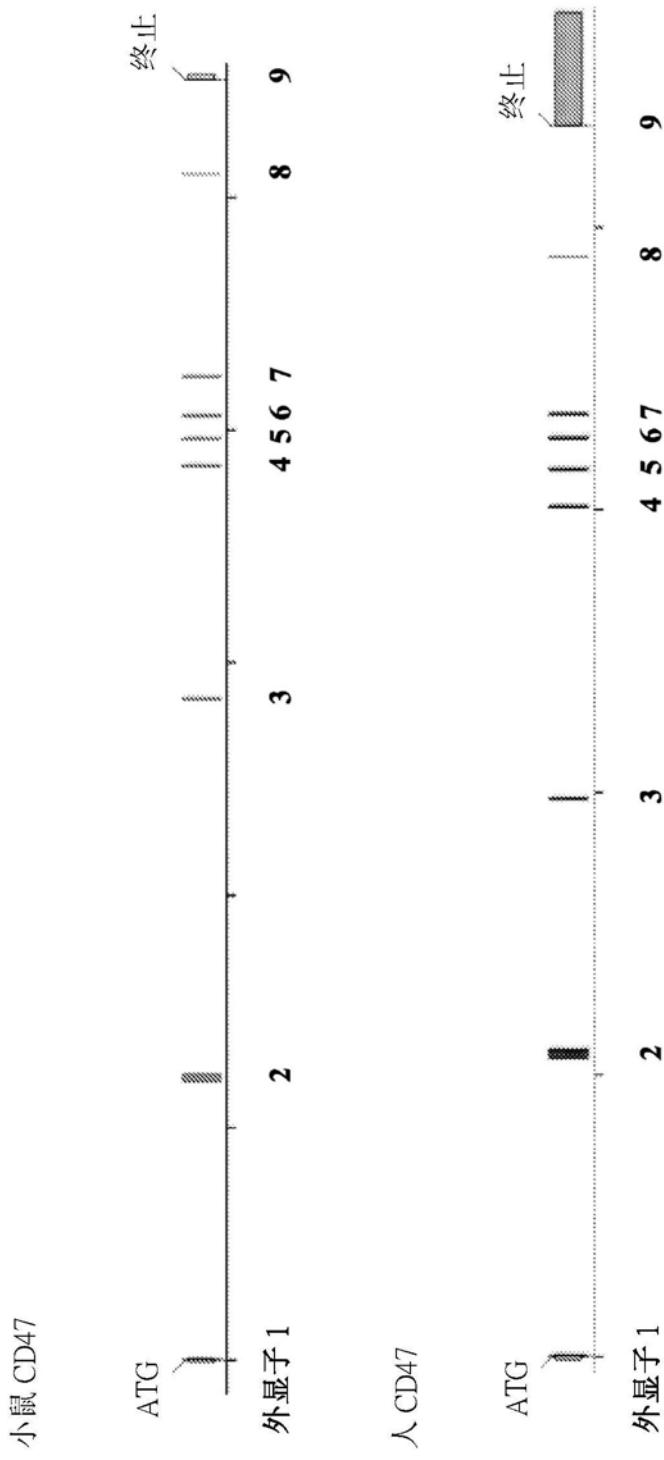


图1

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

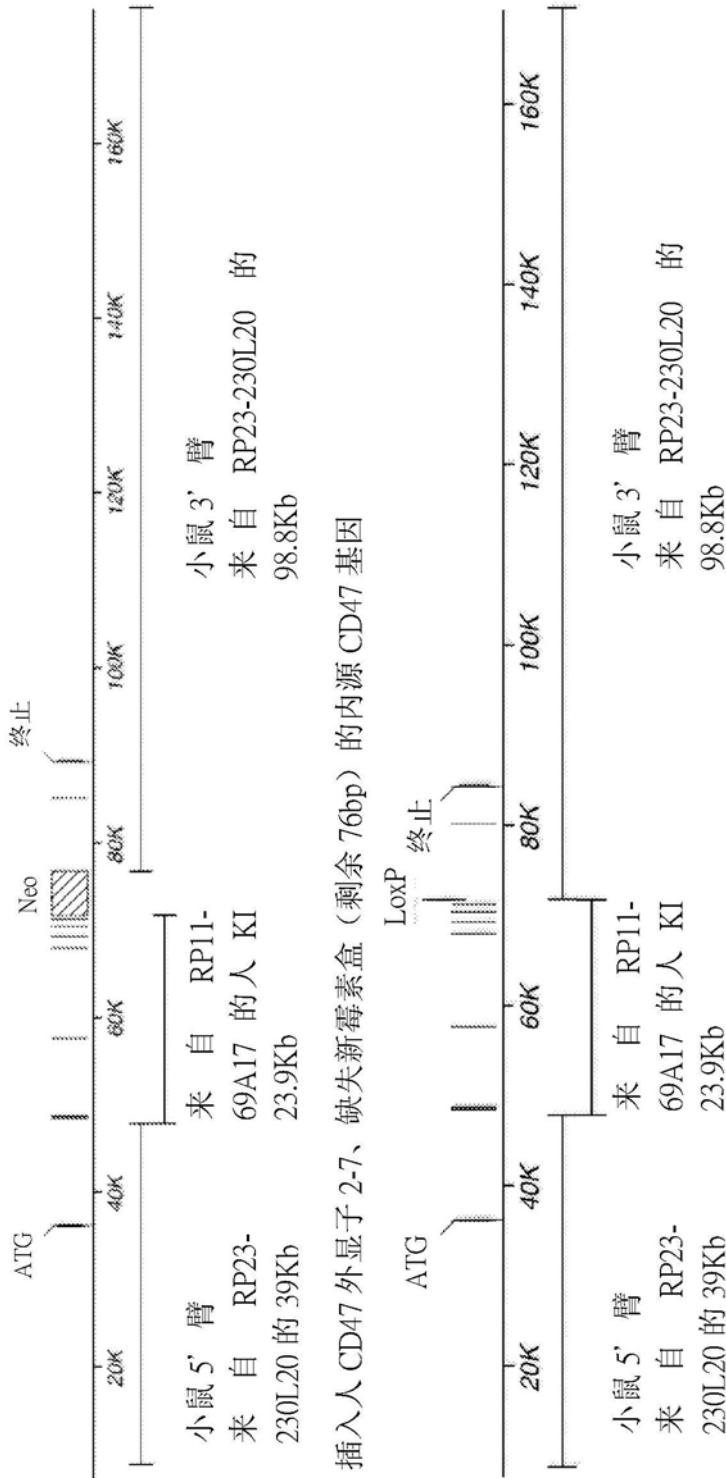


图2

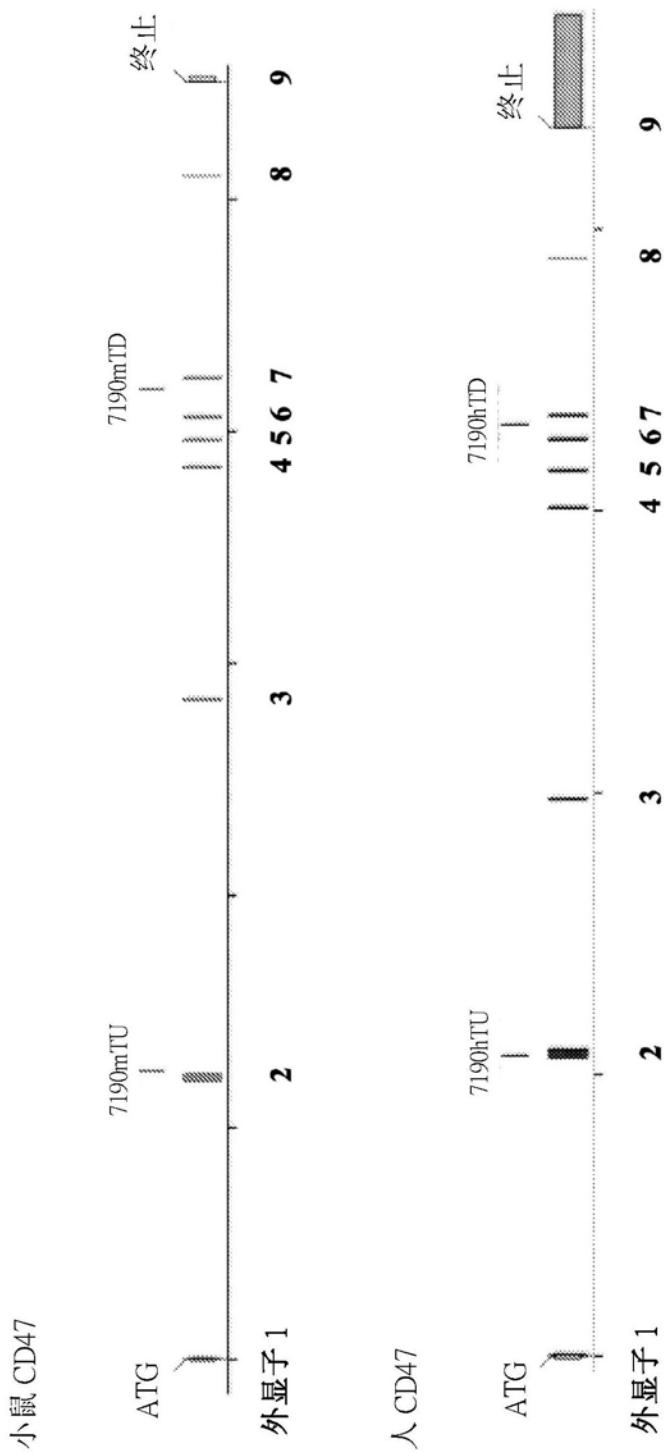
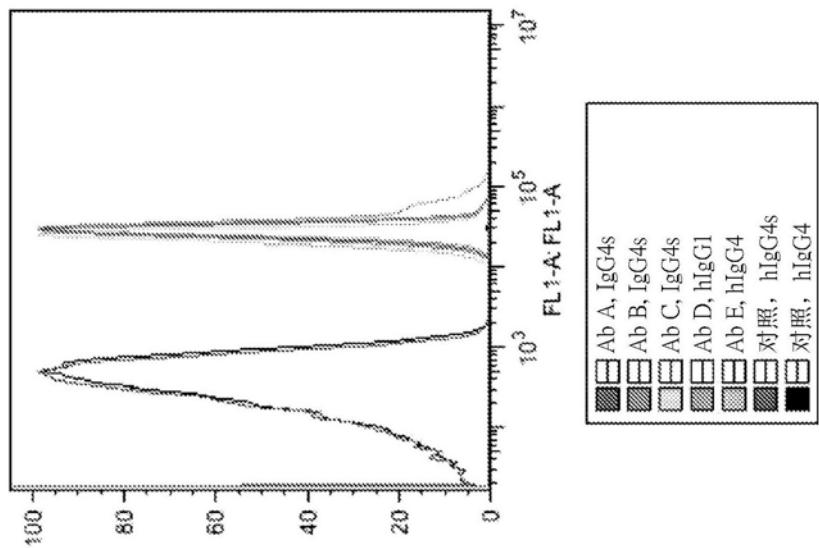


图3



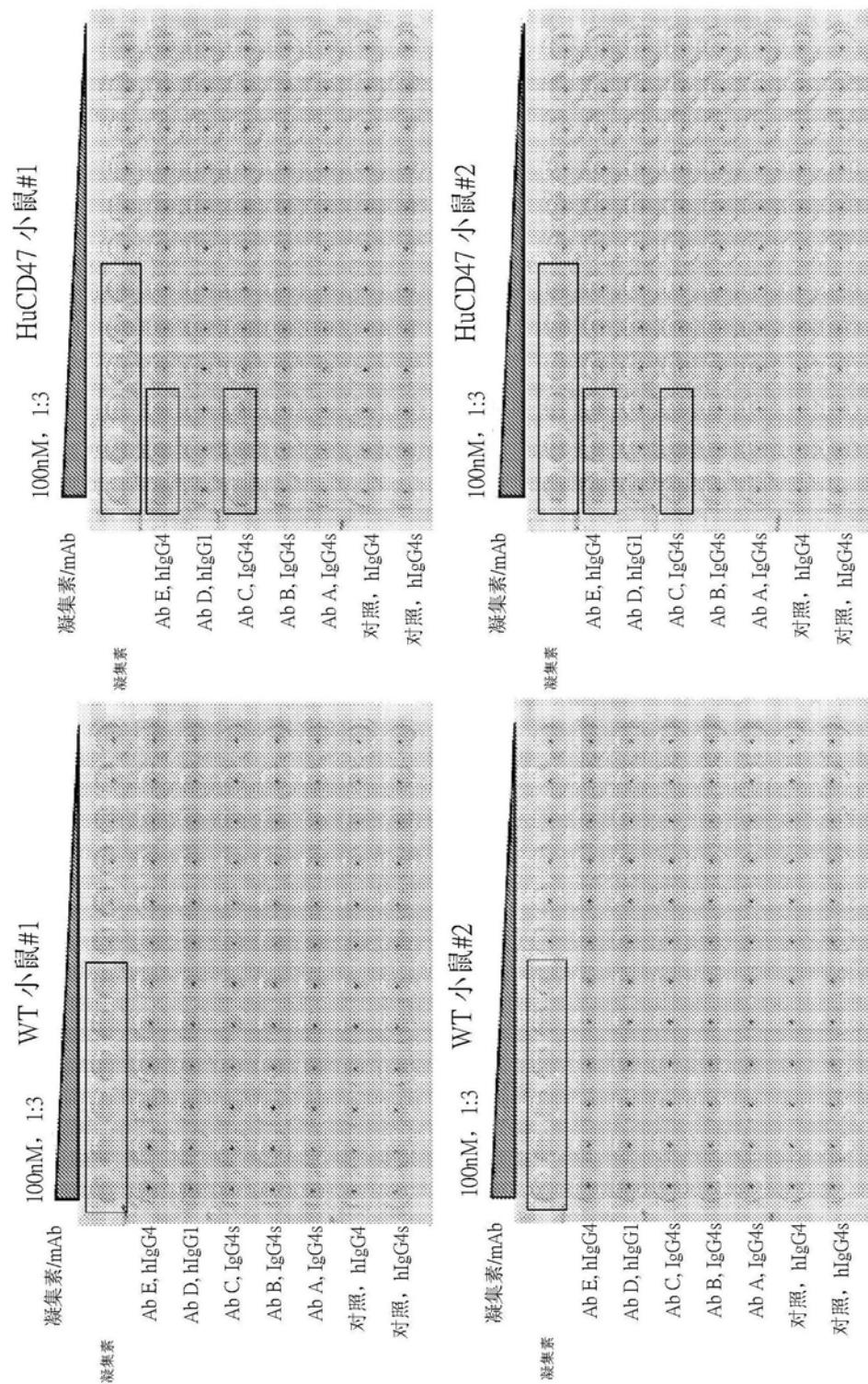


图5

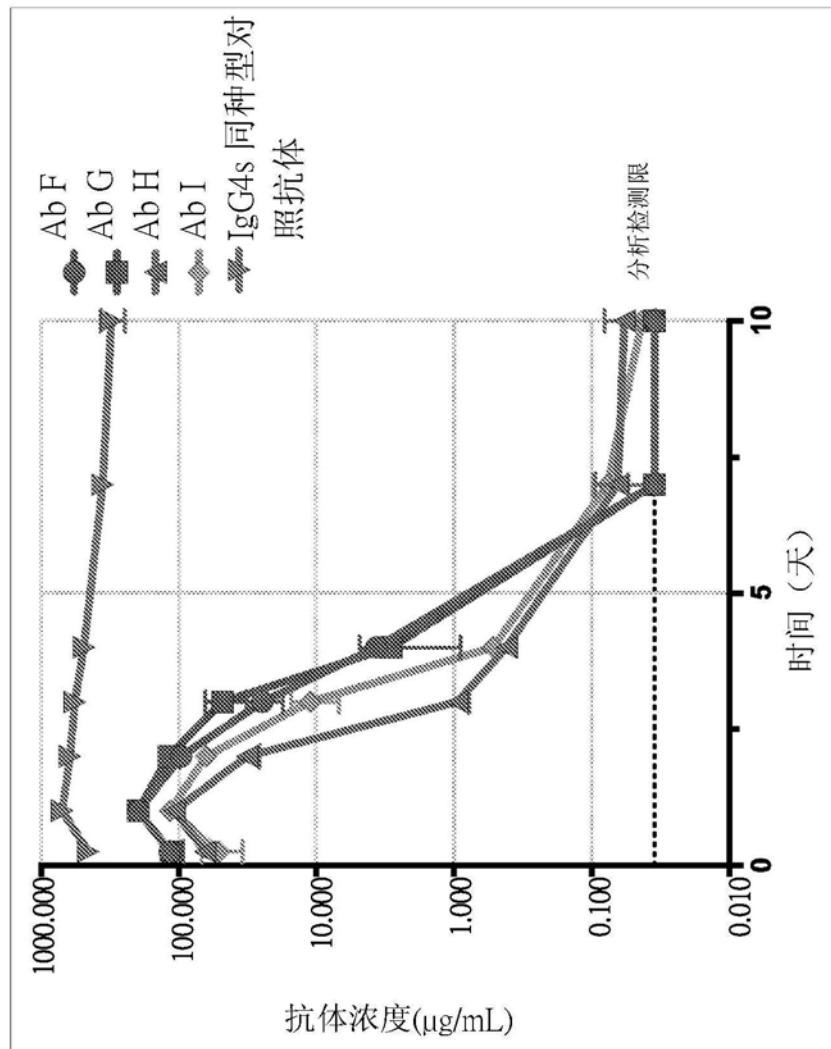


图6

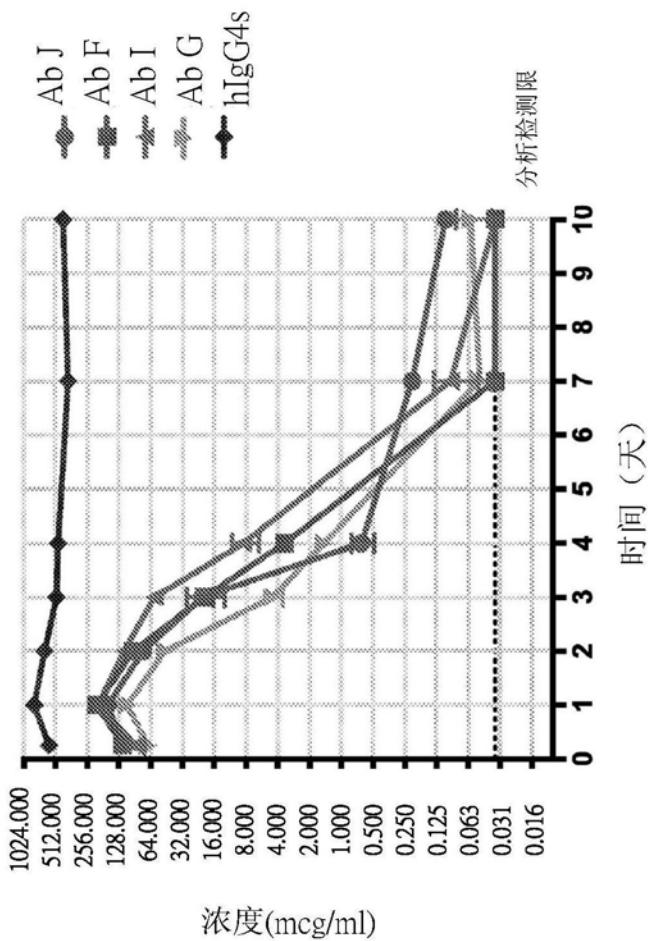


图7

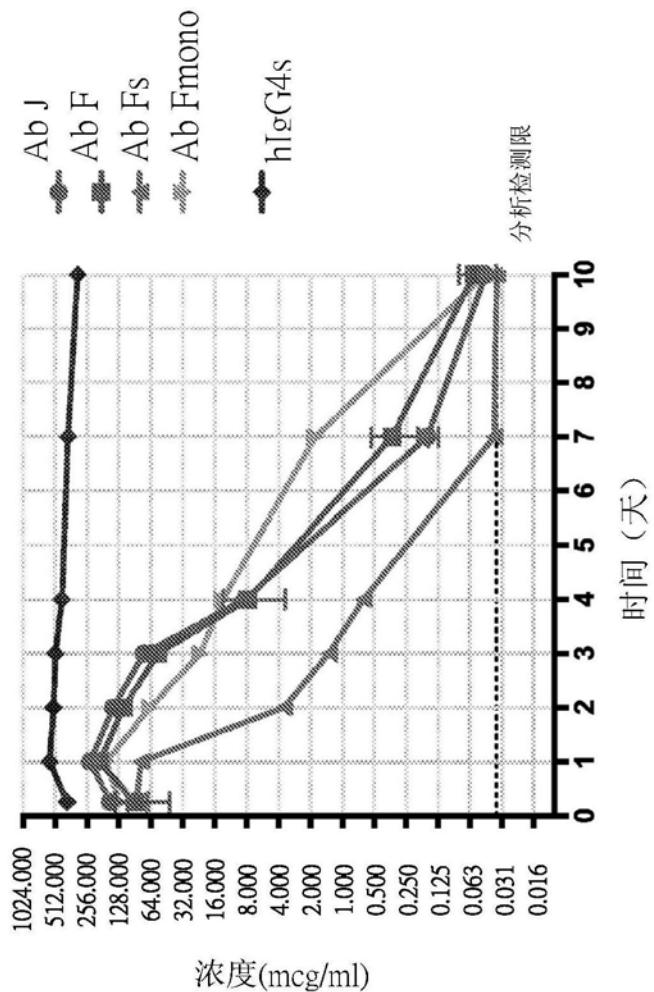


图8

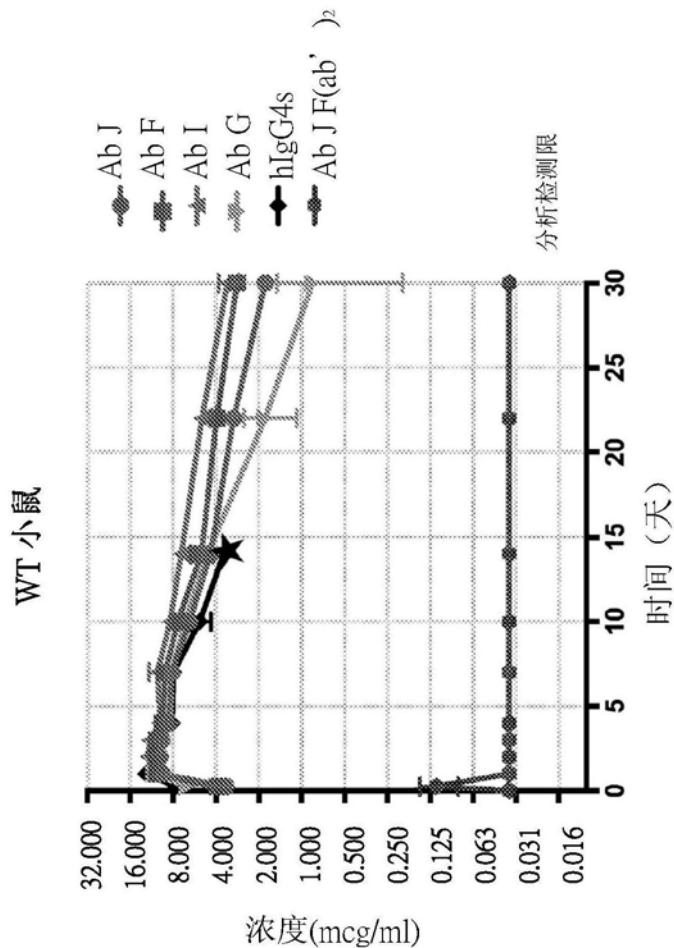


图9