



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 117136309 A

(43) 申请公布日 2023. 11. 28

(21) 申请号 202280024678.6

(22) 申请日 2022.03.21

(30) 优先权数据

10-2021-0037912 2021.03.24 KR

10-2022-0034295 2022.03.18 KR

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.09.25

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/KR2022/003918 2022.03.21

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/203314 KO 2022.09.29

(71) 申请人 财团法人峨山社会福祉财团

地址 韩国首尔

申请人 蔚山大学校产学协力团

人文景观有限公司

(72) 发明人 金宗才 金敬坤 李范熙 金闇娜

张旻厚 郑晃教 都孝尙

(74) 专利代理机构 北京清亦华知识产权代理事

务所(普通合伙) 11201

专利代理师 宋融冰

(51) Int.Cl.

G01N 33/68 (2006.01)

权利要求书2页 说明书22页

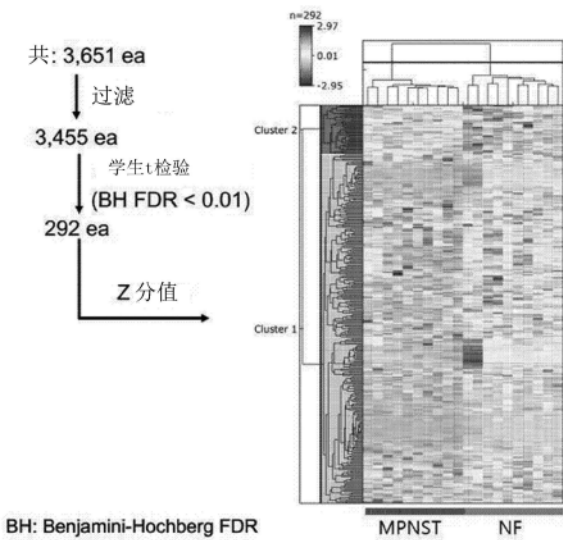
序列表27页 附图37页

(54) 发明名称

用于恶性周围神经鞘瘤的鉴别诊断的组合物

(57) 摘要

本发明涉及一种用于恶性周围神经鞘瘤(MPNST)的鉴别诊断的组合物、包含该组合物的鉴别诊断试剂盒、使用该组合物提供MPNST的鉴别诊断所需信息的方法、筛选用于预防、减轻和治疗MPNST的物质的方法等。使用本发明的能够检测蛋白质标志物的组合物具有使得能够预测和诊断患有1型神经纤维瘤病的患者是否发生恶性肿瘤的效果。



1. 一种用于恶性周围神经鞘瘤 (MPNST) 的鉴别诊断的组合物, 包含:

作为活性成分的试剂, 所述试剂测量选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达水平或其mRNA的表达水平。

2. 根据权利要求1所述的组合物, 所述组合物能够从I型神经纤维瘤病 (NF-1) 中诊断MPNST并将所述MPNST与所述NF-1区分开。

3. 根据权利要求1所述的组合物, 其中用于测量所述蛋白质的表达水平的所述试剂是对所述蛋白质具有特异性的抗体或适体。

4. 根据权利要求1所述的组合物, 其中用于测量所述mRNA的表达水平的所述试剂是与所述mRNA特异性结合的引物组或探针。

5. 一种用于恶性周围神经鞘瘤 (MPNST) 的鉴别诊断的试剂盒, 包含根据权利要求1至4中任一项所述的组合物。

6. 根据权利要求5所述的试剂盒, 所述试剂盒包含说明书, 所述说明书用于当检测到选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达或其mRNA的表达时, 或当其表达水平高于良性神经纤维瘤样品的表达水平时, 将病例确定为MPNST。

7. 一种提供恶性周围神经鞘瘤 (MPNST) 的鉴别诊断所需信息的方法, 包括:

测量从受试者分离的生物样品中的选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达水平或其mRNA的表达水平。

8. 根据权利要求7所述的方法, 还包括:

当检测到选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达或其mRNA的表达时, 或者当其表达水平高于从I型神经纤维瘤病 (NF-1) 患者中分离的生物样品的表达水平时, 将病例诊断为MPNST。

9. 根据权利要求7所述的方法, 其中所述受试者是怀疑患有MPNST或诊断患有NF-1的患者。

10. 根据权利要求7所述的方法, 其中所述生物样品是选自由以下组成的组中的一种或多种: 血液、全血、血浆、尿液、组织、细胞、器官、骨髓、微针抽吸样本、微针冲洗液、核心针活检样本和唾液。

11. 根据权利要求7所述的方法, 其中所述蛋白质表达水平通过选自由以下组成的组中的一种或多种方法测量: 蛋白质印迹、酶联免疫吸附测定 (ELISA)、放射免疫测定 (RIA)、放射免疫扩散、Ouchterlony免疫扩散、Rocket免疫电泳、组织免疫染色、免疫沉淀测定、补体固定测定、质谱、荧光激活细胞分选 (FACS) 和蛋白质芯片。

12. 根据权利要求7所述的方法, 其中所述mRNA表达水平通过选自由以下组成的组中的一种或多种方法测量: PCR、RNA酶保护测定、RNA印迹、DNA印迹、原位杂交和DNA芯片。

13. 一种筛选用于预防、减轻或治疗恶性周围神经鞘瘤 (MPNST) 的物质的方法, 包括:

(a) 使候选物质与分离的细胞或组织接触;

(b) 测量所述细胞或组织中参与选自由TGF- β 信号传导途径、ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和RhoGDI信号传导途径组成的组中的信号传导途径的一种或多种信号传导蛋白的活性, 或编码所述蛋白质的基因的表达水平; 和

(c) 当与所述候选物质接触的细胞或组织中所述蛋白质的活性或编码所述蛋白质的基

因的表达水平低于与所述候选物质接触之前的水平时,将所述候选物质确定为用于预防、减轻或治疗MPNST的物质。

14.根据权利要求13所述的方法,其中所述信号传导蛋白是激酶。

15.根据权利要求14所述的方法,其中所述激酶是由选自由CDK4、STK10、CDK5、MAP2K1、ALPK3、PNKP、PDK3、PHKG1、CFL1和PACSIN3组成的组中的一种或多种基因编码的激酶。

16.根据权利要求13所述的方法,其中所述分离的细胞或组织是神经细胞或神经组织。

用于恶性周围神经鞘瘤的鉴别诊断的组合物

技术领域

[0001] 本发明涉及用于恶性周围神经鞘瘤 (malignant peripheral nerve sheath tumor, MPNST) 的鉴别诊断的组合物、包含所述组合物的鉴别诊断试剂盒、使用所述组合物提供MPNST的鉴别诊断所需信息的方法以及筛选用于预防、缓解和治疗MPNST的物质的方法。

[0002] 本发明要求2021年3月24日提交的韩国专利申请第10-2021-0037912号和2022年3月18日提交的韩国专利申请第10-2022-0034295号的优先权和权益,其公开内容通过引用整体并入本文。

背景技术

[0003] I型神经纤维瘤病 (Neurofibromatosis type I, 以下简称“NF-1”) 由Fredrich von Recklinghausen于1882年首次描述,是最常见的遗传性疾病之一。NF-1通过常染色体显性遗传来遗传,影响全世界1:3,000人。NF-1的特点是皮肤上的多个咖啡斑和皮肤中的神经纤维瘤。此外,不同程度的神经、骨骼和肿瘤表现也可能影响患者。NF-1患者具有患中枢和周围神经系统肿瘤的风险,包括丛状神经纤维瘤 (plexiform neurofibromas, PN; 27%)、视神经胶质瘤 (optic nerve gliomas; 15-20%)、嗜铬细胞瘤 (pheochromocytomas; 1%) 和恶性周围神经鞘瘤 (malignant peripheral nerve sheath tumor, MPNST; 8-13%)。这比一般人群高出约1,000倍。

[0004] 恶性周围神经鞘瘤 (以下简称“MPNST”) 是对NF-1患者生存率影响最大的并发症之一。已知它是由PN的恶变引起的,PN是一种良性髓鞘肿瘤,但当出现剧烈疼痛、纤维化面积急剧增大和神经系统症状时必须产生怀疑。

[0005] 到目前为止,18F-氟脱氧葡萄糖正电子发射计算机断层扫描 (18F-fluorodeoxyglucose positron emission computerized tomography, 18F-FDG-PET) 已被用于区分良性肿瘤和MPNST,并且当怀疑为恶性肿瘤时,基于组织学结果诊断MPNST。

[0006] 在大多数MPNST中,组织学上形成梭形细胞 (spindle cell) 束,观察到具有核分化的细胞并浸润周围组织。为了诊断MPNST,使用S100蛋白染色,其在50%至90%的MPNST中呈阳性,并且此外,Leu-7蛋白和髓鞘碱性蛋白 (myelin basic protein) 在约50%的MPNST中呈阳性。波形蛋白 (Vimentin) 也是用于MPNST诊断的病理标志物,但其对梭形细胞具有特异性,并在MPNST特异性诊断中受到限制。因此,需要能够明确判断NF-1中MPNST进程的病理指标。

[0007] MPNST是一种诊断后需要手术切除的疾病。手术后,约50%的MPNST有复发风险,并且当手术未能实现完全切除时,可能需要化学治疗和放射治疗。尽管如此,MPNST患者的5年生存率仍保持在20%至50%。

[0008] 在迄今为止还没有可以靶向MPNST的治疗方法的情况下,人们认为寻找可以在血液或尿液中早期诊断MPNST的生物标志物能够有助于提升患者的生存率。

发明内容

[0009] [技术问题]

[0010] 作为对恶性周围神经鞘瘤 (MPNST) 和良性神经纤维瘤组织进行广泛的定量和定性蛋白质组分析的结果,本发的发明人鉴定了在MPNST组织中特异性表达的蛋白质,从而完成了本发明。

[0011] 因此,本发明旨在提供一种用于MPNST的鉴别诊断的组合物。

[0012] 本发明还旨在提供一种用于MPNST的鉴别诊断的试剂盒,其包含根据本发明的组合物。

[0013] 本发明还旨在提供一种提供MPNST的鉴别诊断所需信息的方法。

[0014] 本发明还旨在提供一种用于预防、减轻或治疗MPNST的组合物。

[0015] 本发明还旨在提供一种筛选用于预防、减轻或治疗MPNST的物质的方法。

[0016] 然而,本发明要解决的技术问题不限于上述问题,并且本领域普通技术人员从以下描述中将充分理解本文中未描述的其他问题。

[0017] [技术方案]

[0018] 为了实现本发明的目的,本发明提供了一种用于MPNST的鉴别诊断的组合物,其包含作为活性成分的试剂,所述试剂测量选自由内皮唾液酸蛋白 (endosialin)、SPARC样蛋白 1 (SPARC-like protein 1) 和中性粒细胞胶原酶 (neutrophil collagenase) 组成的组中的一种或多种蛋白质的表达水平或其mRNA的表达水平。

[0019] 在本发明的一个实施方案中,所述组合物可以从I型神经纤维瘤病 (NF-1) 中诊断MPNST,并将其与NF-1区分开。

[0020] 在本发明的另一个实施方案中,测量蛋白质的表达水平的试剂可以是对该蛋白质具有特异性的抗体或适体,但本发明不限于此。

[0021] 在本发明的又一个实施方案中,测量mRNA的表达水平的试剂可以是与该mRNA特异性结合的引物组或探针,但本发明不限于此。

[0022] 另外,本发明提供了用于MPNST的鉴别诊断的试剂盒,其包含根据本发明的组合物。

[0023] 在本发明的一个实施方案中,试剂盒可以包含说明书,该说明书用于当检测到选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达或其mRNA的表达时,或当其表达水平高于良性神经纤维瘤样品的表达水平时,将病例确定为MPNST。

[0024] 另外,本发明提供了一种提供MPNST的鉴别诊断所需信息的方法,包括测量从受试者分离的生物样品中的选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达水平或其mRNA的表达水平。

[0025] 另外,本发明提供了一种进行MPNST的鉴别诊断的方法,包括测量从受试者分离的生物样品中的选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达水平或其mRNA的表达水平。

[0026] 在本发明的一个实施方案中,所述方法还可以包括当检测到选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达或其mRNA的表达时,或当其表达水平高于从NF-1患者分离的生物样品的表达水平时,将病例诊断为

MPNST。

[0027] 在本发明的另一个实施方案中,受试者可以是怀疑患有MPNST或诊断患有NF-1的患者。

[0028] 在本发明的另一个实施方案中,生物样品可以是选自由以下组成的组中的一种或多种:血液、全血、血浆、尿液、组织、细胞、器官、骨髓、微针抽吸样本、微针冲洗液、核心针活检(core needle biopsy)样本和唾液,但本发明不限于此。

[0029] 在本发明的另一个实施方案中,蛋白质表达水平可以通过选自由以下组成的组中的一种或多种方法测量:蛋白质印迹(western blotting)、酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、放射免疫扩散、Ouchterlony免疫扩散(Ouchterlony immunodiffusion)、Rocket免疫电泳(Rocket immunoelectrophoresis)、组织免疫染色、免疫沉淀测定、补体固定测定、质谱(Mass spectrometry)、荧光激活细胞分选(FACS)和蛋白质芯片,但本发明不限于此。

[0030] 在本发明的另一个实施方案中,mRNA表达水平可以通过选自由以下组成的组中的一种或多种方法测量:PCR、RNA酶保护测定、RNA印迹(northern blotting)、DNA印迹(southern blotting)、原位杂交和DNA芯片,但本发明不限于此。

[0031] 另外,本发明提供了一种用于预防或治疗MPNST的药物组合物,其包含作为活性成分的参与选自由TGF- β 信号传导途径、ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架(actin-cytoskeleton)信号传导途径和RhoGDI信号传导途径组成的组中的信号传导途径的一种或多种蛋白质的活性的抑制剂,或编码所述蛋白质的基因的表达的抑制剂。

[0032] 此外,本发明提供了一种预防或治疗MPNST的方法,包括向有此需要的受试者施用参与选自由TGF- β 信号传导途径、ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和RhoGDI信号传导途径组成的组中的信号传导途径的一种或多种蛋白质的活性的抑制剂,或编码所述蛋白质的基因的表达的抑制剂。

[0033] 此外,本发明提供了参与选自由TGF- β 信号传导途径、ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和RhoGDI信号传导途径组成的组中的信号传导途径的一种或多种蛋白质的活性的抑制剂或者编码所述蛋白质的基因的表达的抑制剂用于预防或治疗MPNST的用途。

[0034] 另外,本发明提供了一种用于预防或改善MPNST的保健功能食品组合物,其包含作为活性成分的参与选自由TGF- β 信号传导途径、ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和RhoGDI信号传导途径组成的组中的信号传导途径的一种或多种蛋白质的活性的抑制剂,或编码所述蛋白质的基因的表达的抑制剂。

[0035] 在本发明的一个实施方案中,信号传导蛋白可以是激酶(kinase),但本发明不限于此。

[0036] 在本发明的另一个实施方案中,激酶可以由选自由CDK4、STK10、CDK5、MAP2K1、ALPK3、PNKP、PDK3、PHKG1、CFL1和PACSIN3组成的组中的一种或多种基因编码的激酶,但本发明不限于此。

[0037] 在本发明的另一个实施方案中,所述蛋白质活性抑制剂可以是选自由以下组成的组中的一种或多种:与所述蛋白质特异性结合的肽、抗体、适体和化合物,但本发明不限于此。

[0038] 在本发明的另一个实施方案中,信号传导蛋白活性抑制剂可以是选自由以下组成的组中的一种或多种:司美替尼(selumetinib)、夫拉平度(alvociclib)、purvalanol、帕博西利(palbociclib)、瑞博西利(ribociclib)、阿贝西利(abemaciclib)、福他替尼(fostamatinib)、比美替尼(binimetinib)、根赤壳菌素(radicicol)、AZD-8330、二氢硫辛酸(dihydrolipoic acid)、阿特波龙(alsterpaullone)、hymenialdisine、靛玉红-3'-单肟(indirubin-3'-monoxime)、olomoucine、SU9516和6-苯基[5H]吡咯并[2,3-B]吡嗪,但本发明不限于此。

[0039] 在本发明的另一个实施方案中,所述基因表达抑制剂可以是选自由以下组成的组中的一种或多种:与该基因的mRNA互补结合的miRNA、siRNA、shRNA、核酶(ribozyme)、DNA酶、肽核酸(peptide nucleic acid,PNA)和反义寡核苷酸,但本发明不限于此。

[0040] 另外,本发明提供了一种筛选用于预防、减轻或治疗MPNST的物质的方法,包括:(a)使候选物质与分离的细胞或组织接触;(b)测量所述细胞或组织中参与选自由TGF- β 信号传导途径、ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和RhoGDI信号传导途径组成的组中的信号传导途径的一种或多种信号传导蛋白的活性,或编码所述蛋白质的基因的表达式;和(c)当与所述候选物质接触的细胞或组织中所述蛋白质的活性或编码所述蛋白质的基因的表达式低于与所述候选物质接触之前的水平时,将所述候选物质确定为用于预防、减轻或治疗MPNST的物质。

[0041] 在本发明的一个实施方案中,信号传导蛋白可以是激酶,但本发明不限于此。

[0042] 在本发明的另一个实施方案中,激酶可以由选自由CDK4、STK10、CDK5、MAP2K1、ALPK3、PNKP、PDK3、PHKG1、CFL1和PACIN3组成的组中的一种或多种基因编码的激酶,但本发明不限于此。

[0043] 在本发明的又一个实施方案中,分离的细胞或组织可以是神经细胞或神经组织,但本发明不限于此。

[0044] [有益效果]

[0045] 本发明涉及一种用于恶性周围神经鞘瘤(MPNST)的鉴别诊断的组合物,并且本发明的能够检测蛋白质标志物的组合物可用于预测、诊断和治疗I型神经纤维瘤病(NF-1)患者中的恶性肿瘤。

附图说明

[0046] 图1a和1b是使用良性神经纤维瘤病(NF)和恶性周围神经鞘瘤(MPNST)组织进行定量蛋白质组分析的时间序列流程图。

[0047] 图2是说明蛋白质组数据分析方法的示意图。

[0048] 图3是蛋白质丰度分布(distribution of protein abundance)图,说明了NF和MPNST组织的蛋白质定量结果。

[0049] 图4示出了使用维恩图分析对NF和MPNST两组进行定性蛋白质组分析的结果。

[0050] 图5a和5b示出了研究NF和MPNST组织中表达增加10倍的蛋白质的结果,其中图5a示出了选择细胞外分泌体中表达的蛋白质的结果,并且图5b示出了选择降解细胞外基质的蛋白质的结果。

[0051] 图6a至图6j是显示NF和MPNST组织中S-100蛋白同种型和波形蛋白(vimentin)的

表达模式的研究结果的图,其中图6a示出了S100-A1蛋白的结果,图6b示出了S100-A4蛋白的结果,图6c示出了S100-A6蛋白的结果,图6d示出了S100-A7蛋白的结果,图6e示出了S100-A8蛋白的结果,图6f示出了S100-A9蛋白的结果,图6j示出了S100-A10蛋白的结果,图6h示出了S100-A13蛋白的结果,图6i示出了S100-B蛋白的结果,并且图6j示出了波形蛋白的结果(F1-F10表示患者的MPNST位点样品,并且F11-F20表示患者的良性NF位点样品。具体地,F1和F2是患者1的MPNST位点样品;F3和F4是患者2的MPNST位点样品;F5和F6是患者3的MPNST位点样品;F7和F8是患者4的MPNST位点样品;F9和F10是患者5的MPNST位点样品;F11和F12是患者1的良性NF位点样品;F13和F14是患者2的良性NF位点样品;F15和F16是患者3的良性NF位点样品;F17和F18是患者4的良性NF位点样品;并且F19和F20是患者5的良性NF位点样品(参见表3))

[0052] 图7是显示良性NF和MPNST组织中内皮唾液酸蛋白表达模式的研究结果的图。

[0053] 图8是显示良性NF和MPNST组织中SPARC样蛋白1表达模式的研究结果的图。

[0054] 图9是显示良性NF和MPNST组织中中性粒细胞胶原酶表达模式的研究结果的图。

[0055] 图10a至图10c显示了良性NF和MPNST组织中表达发生变化的蛋白质组的层次聚类分析(hierarchical cluster analysis)的结果,其中图10a是将整体结果可视化的图,图10b显示MPNST中表达增加的蛋白质聚类,并且图10c显示MPNST中表达降低的蛋白质聚类。

[0056] 图11显示MPNST特异性蛋白质的基因本体分析的结果。

[0057] 图12显示MPNST特异性蛋白质的生物反应路径分析(ingenuity pathway analysis,IPA)的结果。

[0058] 图13至图21是与良性NF相比,MPNST中表达或活性特异性增加的激酶的丰度的比较分析图,其中图13显示CDK4丰度的结果,图14显示MAP2K1丰度的结果,图15显示PDK3丰度的结果,图16显示STK10的丰度结果,图17显示ALPK3丰度结果,图18显示PHKG1丰度结果,图19显示CDK5丰度的结果,图20显示PNKP丰度的结果,并且图21显示PACSIN3丰度的结果。

[0059] 图22显示良性NF和MPNST组织中MMP8蛋白(中性粒细胞胶原酶)的免疫组织化学(IHC)结果(A1和B1表示NF组织,并且A2和B2表示MPNST组织)。

[0060] 图23显示使用MPNST患者的血液分析在存在或不存在肿瘤切除的情况下MMP8蛋白(中性粒细胞胶原酶)表达的差异的酶联免疫吸附测定(ELISA)结果。

[0061] 图24显示与良性NF相比,MPNST中的表达或活性特异性增加的ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和激酶的免疫组织化学(IHC)结果(A1至J1表示NF组织,并且A2至J2表示MPNST组织)。

具体实施方式

[0062] 本发明涉及筛选用于鉴别诊断I型神经纤维瘤病(NF-1)转变为恶性周围神经鞘瘤(MPNST)的病例的多种生物标志物的方法和MPNST治疗剂,该治疗剂靶向由MPNST特异性刺激的激活的信号传导途径或表达增加的激酶,并且作为发现MPNST特异性诊断标志物 and 新的治疗靶标的深入研究的结果,本发明的发明人发现了本文公开的多种蛋白质和信号传导途径,从而完成了本发明。

[0063] 以下,对本发明进行详细说明。

[0064] 本发明涉及用于MPNST的鉴别诊断的组合物,其包含作为活性成分的试剂,所述试

剂测量选自下表1中公开的蛋白质组成的组中的一种或多种蛋白质的表达水平或其mRNA的表达水平。

[0065] [表1]

[0066]	UniProt登录号	基因	蛋白质	SEQ ID NO:
	Q9HCU0	CD248	内皮唾液酸蛋白	1
	Q14515	SPARCL1	SPARC样蛋白1	2
	P22894	MMP8	中性粒细胞胶原酶	3

[0067] 在本发明的一个实施方案中,通过使用MPNST和良性NF组织的蛋白质组分析,鉴定了MPNST特异性的蛋白质,并且在这些蛋白质中,选择了可以在血液或尿液中检测到三种类型的蛋白质(内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶),并且显示其能够用作MPNST的生物标志物(参见实施例2至4和6)。

[0068] 内皮唾液酸蛋白可以由CD248基因编码,由SEQ ID NO:1的氨基酸序列组成,并且包括蛋白质同种型(其中氨基酸1至324从SEQ ID NO:1的氨基酸序列中缺失)。SPARC样蛋白1可以由SPARCL1基因编码并由SEQ ID NO:2的氨基酸序列组成,并且包括蛋白质同种型(其中氨基酸1至125从SEQ ID NO:2的氨基酸序列中缺失)。此外,中性粒细胞胶原酶可以由MMP8基因编码并由SEQ ID NO:3的氨基酸序列组成。

[0069] 本文使用的术语“蛋白质”与多肽或肽可互换使用,并且是指例如天然状态的蛋白质中常见的氨基酸残基的聚合物。术语“mRNA”是指将遗传信息(基因特异性碱基序列)传递至核糖体的RNA,其在蛋白质合成中从特定基因指定氨基酸序列。

[0070] 本文使用的术语“表达”是指细胞中蛋白质或核酸的生成。

[0071] 本文使用的术语“鉴别诊断(differential diagnosis)”是指将特定疾病或病症与表现出类似症状的其他疾病或病症区分开。鉴别诊断方法是用于确认可能存在多种选择的病症的存在的系统诊断方法。这种方法本质上是将候选状态的概率降低到可以忽略不计的水平的消除过程或信息获取过程。该术语也用于指从良性NF到MPNST的转变的确定。

[0072] 在本发明中,所述组合物可以鉴别诊断MPNST和NF-1。

[0073] 本文使用的术语“I型神经纤维瘤病(NF-1)”或“良性神经纤维瘤病”是指由Fredrich von Recklinghausen于1882年首次报道的疾病,其作为遗传性疾病在皮肤、骨骼系统和神经系统中表现出各种临床症状。I型神经纤维瘤病具有特征性症状,例如皮肤上的咖啡斑(cafe-au-lait-spots)、腋窝雀斑(axillary freckling)、腹股沟雀斑(inguinal freckling)、多发性神经纤维瘤(neurofibroma)、Lisch结节(Lisch nodule)(虹膜上的小黑素细胞错构瘤)、视神经胶质瘤(optic glioma)和骨发育不良。此外,I型神经纤维瘤病还具有诸如身材矮小、脊柱侧弯、学习障碍的症状。大多数发生在I型神经纤维瘤病患者中的肿瘤是良性的,但在极少数情况下,可能会发展成恶性肿瘤,并且可能发生在身体任何有神经的部位。根据研究,据报道67%的I型神经纤维瘤病例在1岁前发现,25-90%的病例伴有咖啡斑,这是特征性皮肤病变,并且据报道最多16%的病例会变为恶性。

[0074] 本文使用的术语“恶性周围神经鞘瘤(MPNST)”与“恶性神经鞘瘤”可互换使用,并且通常发生在四肢和头颈部,而很少发生在腹腔、骨盆和泌尿生殖系统。一般而言,MPNST与NF-1相关,已知神经纤维瘤病患者一生中患MPNST的风险为约10%,并且MPNST是预后极差、恶性程度高的不可治愈的疾病之一。

[0075] 当本发明的组合物用于测量蛋白质的表达水平时,用于测量蛋白质的表达水平的试剂可以是该蛋白质特异性的抗体或适体,但本发明不限于此。

[0076] 本文使用的术语“抗体”是指针对抗原位点的特定蛋白质分子。出于本发明的目的,抗体是指与标志物蛋白特异性结合的抗体,并且包括所有多克隆抗体、单克隆抗体和重组抗体。另外,只要具有抗原-抗体结合性,整个抗体的一部分也包含在本发明的抗体中,并且包括与本发明的蛋白质特异性结合的所有种类的免疫球蛋白抗体。例如,本文使用的抗体包括具有两条全长轻链和两条全长重链的完整抗体形式和抗体的功能片段,即Fab、F(ab')₂和Fv,其各自具有抗原结合功能。另外,本发明的抗体包括特殊抗体,例如人源化抗体和嵌合抗体以及重组抗体,只要其能够与蛋白质特异性结合即可。

[0077] 本文所用术语“适体(aptamer)”是指能够与样品中待检测分析物特异性结合的物质,是指本身具有稳定三级结构的单链核酸(DNA、RNA或修饰的核酸),并且可以特异性地确认样品中目标蛋白的存在。适体可通过如下制备:通过确定与待确认的目标蛋白具有选择性和高结合亲和力的寡核苷酸序列来合成寡核苷酸,并根据制备适体的一般方法,用-SH、-COOH、-OH或NH₂修饰寡核苷酸的5'端或3'端,以与适体芯片的官能团结合,但本发明不限于此。

[0078] 包含对表1中列出的蛋白质具有特异性的抗体的本发明的组合物可以进一步包含检测蛋白质的已知方法所需的试剂,并且可以在没有使用该组合物检测蛋白质的已知方法的情况下测量受试者(从本发明的受试者获得的生物样品)中的蛋白质表达水平。

[0079] 另外,当本发明的组合物用于测量mRNA的表达水平时,用于测量mRNA的表达水平的试剂可以是与该mRNA特异性结合的引物组或探针,但本发明不限于此。

[0080] 本文所用的术语“引物”是指具有短的游离3'端羟基基团的核酸序列,其可以与互补模板形成碱基对,并作为模板链复制的起点。引物可以在聚合试剂(即,DNA聚合酶或逆转录酶)和四种不同的三磷酸核苷的存在下,在适当的缓冲溶液中、在适当的温度启动DNA合成。

[0081] 本文使用的术语“探针”是指诸如RNA或DNA的核酸片段,其短至几个碱基或长至数百个碱基,能够特异性结合mRNA,并且可以被标记以确认特定mRNA的存在或不存在。探针可以以寡核苷酸探针、单链DNA探针、双链DNA探针或RNA探针的形式制造。合适的探针和杂交条件的选择可以基于本领域已知的内容进行改变。

[0082] “引物”或“探针”可以使用合成固体支持物如亚磷酰胺(phosphoramidite)的方法或其他公知的方法来化学合成。另外,引物或探针可以根据本领域已知的方法以各种方式修饰至不妨碍与mRNA的杂交的程度。这样的修饰的实例是甲基化、加帽、用一种或多种同源物取代天然核苷酸以及核苷酸之间的修饰,例如不带电荷的接头(例如,磷酸甲酯、磷酸三酯、氨基磷酸酯、氨基甲酸酯等)或带电荷的接头(例如,硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等),以及荧光或酶标记物质(labeling material)的结合。

[0083] 包含对表1中列出的蛋白质的mRNA具有特异性的引物组或探针的本发明的组合物还可包含检测RNA的已知方法所需的试剂。通过用使用本发明的组合物检测RNA的已知方法(但不限于此),可以测量受试者中蛋白质标志物的mRNA水平。

[0084] 另外,在本发明中,由于编码蛋白质的mRNA的基因的核酸序列已登记在基因库中,因此基于该序列,本领域普通技术人员可以设计特异性扩增基因的特定区域的反义寡核苷

酸、引物对或探针。

[0085] 反义寡核苷酸可以使用固相支持物例如亚磷酰胺或其他公知的方法化学合成,并且包括所有功能等同物。另外,上述“引物”或“探针”的描述可以同等地应用于此。

[0086] 术语“功能等同物”意指改变的突变序列的核苷酸和核酸序列,包括例如参考序列(reference)中的一个或多个取代、缺失或添加,以及不会导致参考序列和主题(subject)序列之间多种功能差异的净效应。传统来讲,这样的基本上等同的序列与参考序列仅相差约35%, (即,当与相应的参考序列相比并除以基本上等同的序列中剩余的总数时,基本上等同的序列中残基的取代、添加或缺失的数量约为0.35或更少),并且其实例如说明书中所列出的那样变化。这样的序列与所列出的序列具有65%的序列同一性。与所列出的氨基酸序列相比,根据本发明的基本上等同的序列(例如突变的氨基酸序列)优选具有至少80%的序列同一性,更优选至少90%的序列同一性。考虑到遗传密码的冗余或简并性,基本上等同的本发明的核苷酸序列可以具有例如较低百分比的序列同一性。核苷酸序列优选具有至少约65%的序列同一性,更优选约75%的序列同一性,最优选约95%的序列同一性。出于本发明的目的,具有基本上等同的生物活性和基本上等同的合成特征的序列被认为是基本上等同的。为了确定等同物,必须忽略成熟序列的截短(例如,通过产生虚假(spurious)终止密码子的突变)。

[0087] 作为本发明的另一方面,本发明提供了用于MPNST的鉴别诊断的试剂盒,其包含根据本发明的组合物。

[0088] 在本发明中,试剂盒可以包含说明书,该说明书用于当检测到选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达或其mRNA的表达时,或者当其表达水平高于良性神经纤维瘤样品的表达水平时,将病例确定为MPNST。

[0089] 本发明的试剂盒可以包含识别目标蛋白作为标志物的抗体或识别mRNA作为标志物的引物组或探针,以及由一种或多种适合分析方法的组分组成的组合物、溶液或装置。

[0090] 作为具体的方面,诊断试剂盒可以是包括用于进行逆转录聚合酶反应的要素的诊断试剂盒。逆转录聚合酶反应试剂盒包括各自对标志物基因具有特异性的引物组。引物是对于每个标志物基因具有特异性序列的核苷酸,并且长度为约7至50bp,并且更优选地,长度为约10至30bp。另外,诊断试剂盒可以包括对对照基因的核酸序列具有特异性的引物。除上述以外,逆转录酶反应试剂盒还可以包括测试管或其他合适的容器、反应缓冲溶液(具有各种pH和镁浓度)、脱氧核糖核苷酸(dNTP)、酶(例如Taq聚合酶和逆转录酶)、DNA酶抑制剂和RNA酶抑制剂、DEPC-水和无菌水。

[0091] 作为另一具体方面,诊断试剂盒可以是包含使用DNA芯片所需的要素的诊断试剂盒。DNA芯片试剂盒可包括附着有cDNA或对应于基因或其片段的寡核苷酸的基底,以及用于制造荧光标记探针的试剂、制剂和酶。另外,基底可以包括对应于对照基因或其片段的cDNA或寡核苷酸。

[0092] 作为本发明的又一个方面,本发明可以提供用于提供MPNST的鉴别诊断所需信息的方法,包括测量从受试者分离的生物样品中的选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达水平或其mRNA的表达水平。

[0093] 作为本发明的又一个方面,本发明提供了用于MPNST的鉴别诊断的方法,该方法包

括测量从受试者分离的生物样品中的选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达水平或其mRNA的表达水平。

[0094] 用于MPNST的鉴别诊断的方法还可以使用多种生物标志物快速且方便地诊断除了产生的病变组织之外的体液样品(例如,尿液或血浆)中的从NF-I到MPNST的转变,通过该方法可以实现对MPNST的立即响应。

[0095] 因此,用于MPNST的鉴别诊断方法可有效用于治疗NF-I。

[0096] 在本发明中,该方法还可以包括当检测到选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达或其mRNA的表达时,或者当其表达水平高于从NF-1患者中分离的生物样品的表达水平时,将病例诊断为MPNST。

[0097] 在本发明的又一个方面,本发明可以提供一种治疗MPNST的方法,该方法包括以下步骤:

[0098] (a) 测量从受试者分离的生物样品中的选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达水平或其mRNA的表达水平;

[0099] (b) 当检测到选自由内皮唾液酸蛋白、SPARC样蛋白1和中性粒细胞胶原酶组成的组中的一种或多种蛋白质的表达或其mRNA的表达时,或者当其表达水平高于从从NF-1患者中分离的生物样品的表达水平时,将病例诊断为MPNST;和

[0100] (c) 治疗(b)中诊断的MPNST。

[0101] 在本发明中,MPNST的治疗可以使用诸如化学疗法、放射疗法、手术或生物疗法等方法。

[0102] 在本发明中,“化学疗法”是指使用用于治疗特定疾病的化学品以及当时使用的所有药物的作用。

[0103] 在本发明中,所述药物可以是选自由以下组成的组中的一种或多种抗癌剂:例如紫杉醇(paclitaxel)、阿霉素(doxorubicin)、5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)、顺铂(cisplatin)、伊马替尼(imatinib)、卡铂(carboplatin)、奥沙利铂(oxaliplatin)、替加氟(tegafur)、伊立替康(irinotecan)、多西他赛(docetaxel)、环磷酰胺(cyclophosphamide)、吉西他滨(gemcitabine)、异环磷酰胺(ifosfamide)、丝裂霉素C(mitomycin C)、长春新碱(vincristine)、依托泊苷(etoposide)、甲氨蝶呤(methotrexate)、拓扑替康(topotecan)、他莫昔芬(tamoxifen)、长春瑞滨(vinorelbine)、喜树碱(camptothecin)、道诺霉素(danorubicin)、苯丁酸氮芥(chlorambucil)、苔藓抑素-1(bryostatin-1)、卡奇霉素(calicheamicin)、美登素(maytansine)、左旋咪唑(levamisole)、DNA重组干扰素 α -2a(DNA recombinant interferon α -2a)、米托蒽醌(mitoxantrone)、尼莫司汀(nimustine)、干扰素 α -2a(interferon α -2a)、去氧氟尿苷(doxifluridine)、福美司坦(formestane)、醋酸亮丙瑞林(leuprolide acetate)、醋酸甲地孕酮(megestrol acetate)、卡莫氟(carmofur)、替尼泊苷(teniposide)、博来霉素(bleomycin)、卡莫司汀(carmustine)、七铂(heptaplatin)、依西美坦(exemestane)、阿那曲唑(anastrozole)、雌莫司汀(estramustine)、卡培他滨(capecitabine)、醋酸戈舍瑞林(goserelin acetate)、多糖钾(polysaccharide potassium)、醋酸甲羟孕酮(medroxyprogesterone acetate)、表柔比星(epirubicin)、来曲唑(letrozole)、吡柔比星(pirarubicin)、拓扑替康(topotecan)、六甲蜜胺(altretamine)、柠檬酸托瑞米芬

(toremifene citrate)、BCNU、泰索帝(taxotere)、放线菌素D(actinomycin D)、其合成类似物以及修饰的或表现出相同功效的物质,但本发明不限于此。

[0104] 本发明中,所述药物可以是下表2所列蛋白的拮抗剂,例如表2所列信号传导蛋白活性的抑制剂,例如选自由以下组成的组中的一种或多种:司美替尼、夫拉平度(alvociclib)、purvalanol、帕博西利(palbociclib)、瑞博西利、阿贝西利、福他替尼(fostamatinib)、比美替尼(binimetinib)、根赤壳菌素、AZD-8330、二氢硫辛酸、阿特波龙、hymenialdisine、靛玉红-3'-单肟、奥洛莫辛(olomoucine)、SU9516和6-苯基[5H]吡咯并[2,3-B]吡嗪,但本发明不限于此。

[0105] 在本发明中,“放射疗法”是指将患者暴露于高能辐射,包括但不限于X射线、伽马射线和中子。这种类型的治疗可包括外部光治疗、内部放射治疗、植入放射、近距离放射治疗和全身放射治疗,但本发明不限于此。

[0106] 在本发明中,“手术”包括涉及手(hand)或手连同装置对个体的身体的有条不紊的动作以实现治愈、治疗或诊断效果的任何治疗或诊断程序。

[0107] 在本发明中,“生物疗法”是指通过使用含来自生物体的物质或生物体的生物制剂来直接/间接地利用人体的免疫系统的治疗方法,并且生物制剂包括仅通过物理或化学测试无法评价效力和安全性的疫苗、过敏原、抗原、激素、细胞因子、酶、血液和血浆、免疫血清、单克隆抗体、发酵产物、抗毒素和实验室诊断剂。

[0108] 在本发明中,生物制剂可以是选自由以下组成的组中的一种或多种:例如阿达木单抗(adalimumab)、阿仑单抗(alemtuzumab)、贝伐单抗(bevacizumab)、西妥昔单抗(cetuximab)、达雷木单抗(daratumumab)、帕尼单抗(panitumumab)、利妥昔单抗(rituximab)、曲妥珠单抗(trastuzumab)、帕妥珠单抗(pertuzumab)、伊匹单抗(ipilimumab)、纳武利尤单抗(nivolumab)、派姆单抗(pembrolizumab)、阿特珠单抗(atezolizumab)、杜瓦鲁单抗(durvalumab)、阿维单抗(avelumab)、托珠单抗(tocilizumab)、斯鲁利单抗(sarilumab)、萨特利珠单抗(satralizumab)和司妥昔单抗(siltuximab),但本发明不限于此。

[0109] 本文使用的术语“检测”意指测量和确认目标物质(本发明中的标志物蛋白)的存在(表达),或者测量和确认目标物质的表达水平的变化。在相同的情况下,测量蛋白质的表达水平是指测量是否发生表达(即,测量表达的存在或不存在),或测量该蛋白质的定性和定量变化水平。测量可以通过定性方法(分析)和定量方法进行,而没有限制。在蛋白质水平的测量中,定性和定量方法的类型是本领域众所周知的,并且包括本文描述的实验方法。每种方法的具体蛋白质水平比较方法是本领域众所周知的。因此,所期望的蛋白质的检测包括检测表1中列出的蛋白质的存在,或者确认该蛋白质表达水平的增加(上调)或减少(下调)。

[0110] 另外,术语“鉴别诊断”除了上述含义之外还包括确定受试者对特定疾病或障碍的易患性、确定受试者当前是否患有特定疾病或障碍、确定患有特定疾病或障碍的受试者的预后,或治疗测定(therapeutics)(例如,用于监测受试者的状态以提供有关治疗效率的信息)。

[0111] 在本发明中,受试者可以是怀疑患有MPNST的患者,或诊断患有NF-1的患者。

[0112] 在本发明中,生物样品可以是但不限于从待对其进行MPNST鉴别诊断的受试者收

集的任何一种,并且可以包括例如组织、细胞、血液、血浆、血清、唾液、鼻液、痰液、滑液、羊水、腹水、宫颈分泌物、阴道分泌物、尿液和脑脊液,其通过活检获得,并且还包括微针抽吸样本和微针冲洗液。优选地,可以对选自生物液体样品组成的组中的一种或多种进行测量,例如,血液、全血、血浆、尿液、组织、细胞、器官、骨髓、微针抽吸样本、微针清洗液、核心针活检样本和唾液。本发明除了可以从已发生疾病的病变组织来诊断MPNST之外,还可以从体液样品(例如,尿液或血浆)来诊断MPNST,并且由于其提高了诊断的有效性、速度、便利性和安全性,因此具有重大的技术意义。

[0113] 生物样品可以在用于检测或诊断之前进行预处理。例如,这可以包括均化(homogenization)、过滤、蒸馏、提取、浓缩、干扰组分的灭活以及试剂的添加。可以准备样品以提高蛋白质标志物的检测灵敏度,例如,可以通过使用阴离子交换色谱、亲和色谱、尺寸排阻色谱、液相色谱、连续提取或凝胶电泳来预处理从患者收集的血清样品。

[0114] 蛋白质表达水平的测量可以通过本领域已知的任何测量蛋白质表达的方法进行,而没有特别限制,并且可以是例如选自以下组成的组中的一种或多种:蛋白质印迹、酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)、放射免疫扩散、Ouchterlony免疫扩散、Rocket免疫电泳、组织免疫染色、免疫沉淀测定、补体结合测定、质谱、荧光激活细胞分选(FACS)和蛋白质芯片。

[0115] mRNA表达水平的测量可以根据本领域已知的测量基因表达的方法,通过选自PCR、RNA酶保护测定、RNA印迹、DNA印迹、原位杂交和DNA芯片组成的组中的一种或多种来进行,但本发明不限于此。

[0116] 本文使用的术语“分析”优选指“测量”,定性分析可以指测量和确认目标物质的存在,并且定量分析可以指测量和确认目标物质的表达水平或量的变化。在本发明中,分析或测量可以通过定性和定量方法二者进行,而没有限制,并且优选通过定量方法进行。

[0117] 同时,已知NF-1中MPNST的发病机制涉及异常激活,例如瘤内NF-1的完全缺失、RAS-MAPK信号的过度激活、CDKN2A基因的缺失、多梳抑制复合体2(PRC2)的组成基因SUZ12和EED的缺失、肿瘤抑制基因TP53的缺失、PI3K-AKT-mTOR信号传导途径、表皮生长因子受体(EGFR)、血小板源性生长因子受体(PDGF-R)或血管内皮生长因子受体(VEGFR)的异常激活。基于此,已经对MPNST进行了各种临床研究,但还没有研究显示显著治疗效果。因此,需要使用新方法来找新的治疗靶标和候选物质。

[0118] 在本发明中,根据这样的需要,发现了在MPNST中特异性激活的四种信号传导途径——ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径、RhoGDI信号传导途径、TGF- β 信号传导途径,以及在MPNST中表达或活性特异性增加的十种激酶(即由CDK4、MAP2K1、PDK3、STK10、ALPK3、PHKG1、CDK5、PNKP、CFL1和PACSIN3基因编码的激酶),并证实它们可以用作MPNST的新治疗靶标(参见实施例5和7)。

[0119] 因此,作为本发明的又一个方面,本发明可以提供用于预防或治疗MPNST的药物组合物,其包含作为活性成分的一种或多种蛋白质的活性的抑制剂或编码所述一种或多种蛋白质的基因的表达的抑制剂,所述一种或多种蛋白质参与选自TGF- β 信号传导途径、ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和RhoGDI信号传导途径组成的组中的信号传导途径。

[0120] 作为本发明的又一个方面,本发明可以提供用于预防或改善MPNST的保健功能食

品组合物,其包含作为活性成分的参与选自由TGF- β 信号传导途径、ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和RhoGDI信号传导途径组成的组中的信号传导途径的一种或多种蛋白质的活性的抑制剂,或编码所述蛋白质的基因的表达的抑制剂。

[0121] “TGF- β 信号传导 (TGF- β) 信号传导蛋白”包括直接/间接参与TGF- β 信号传导途径的所有蛋白质。例如,TGF- β 信号传导蛋白是SMAD1、SMAD2、SMAD3、SMAD5、SMAD9、血小板反应蛋白-1、Rock、Cdc42/RAC、PAK、LIMK、PI3K、Ras、Raf、MEK1/2、ERK1/2、JNK、P38、丝切蛋白 (Cofilin)、mTOR或AKT。

[0122] “整合素连接激酶 (ILK) 信号传导蛋白”包括直接/间接参与ILK信号传导途径的所有蛋白质。例如,ILK信号传导蛋白是mTOR、AKT、VEGF、NF- κ GSK3 β 、SNAIL、AP-1、MMP9、JAK2、Cdc42/RAC、SNAIL1、JNK、PI3K、AP-1、C-Jun、HIF1 α 、COX2或 β -连环蛋白。

[0123] 肌动蛋白-细胞骨架信号传导蛋白可以包括直接/间接参与肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径的所有蛋白质。例如,肌动蛋白-细胞骨架信号传导蛋白是PI3K、CaM、PKA、Rho、ROCK、Ras、Rac、桩蛋白 (Paxillin)、FAK、丝切蛋白、皮层蛋白 (Cortactin)、WAVE、PIX、TIAM1、Vav、PAK1、GEF、VASP、MEKK、MEK、MLCK、MLC、LIMK、ADF、CapZ、Hsp90、凝溶胶蛋白 (Gelsolin)、ADF、细丝蛋白、抑制蛋白 (Profilin)、RhoGEF、肌球蛋白、ACTN、黏着斑蛋白、ACTN、PFN、MEK1/2或ERK1/2。

[0124] “Rho GDP解离抑制剂 (RhoGDI) 信号传导蛋白”包括直接/间接参与RhoGDI信号传导途径的所有蛋白质。例如,RhoGDI信号传导蛋白是MKK4/7、JNK、C-Jun、PARP、ROCK1、ROCK2、Cdc42、eNOS、Tau、MLCP、MLC、CRMP2、内收蛋白 (Adducin)、LIMK、PKN、BORGS、Citron、WASP、MRCK、PI3K、PAK、PAR6或PAR3。

[0125] 在本发明中,信号传导蛋白可以是激酶,并且激酶可以是选自由下表2所列的蛋白质组成的组中的一种或多种激酶,但本发明不限于此。

[0126] 在本发明中,下表2中的激酶中,“CDK4”、“STLK10”和“PHKG1”可参与ILK信号传导途径;“CDK5”可参与肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和RhoGDI信号传导途径;“MAP2K1”和“CFL1”可参与肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和TGF- β 信号传导途径;“ALPK3”可参与心脏发育;“PNKP”可参与DNA损伤和修复;“PDK3”可参与丙酮酸代谢和柠檬酸 (TCA) 循环;“PACSIN3”可参与肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径,但本发明不限于此。

[0127] [表2]

UniProt 登录号	基因	蛋白质	SEQ ID NO.
P11802	CDK4	细胞周期蛋白依赖性激酶 4	4
O94804	STK10	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 10	5
Q00535	CDK5	细胞周期蛋白依赖性样激酶 5	6
Q02750	MAP2K1	双特异性丝裂原激活蛋白激酶激酶 1	7
Q96L96	ALPK3	α -蛋白激酶 3	8
Q9T60	PNKP	双功能多核苷酸磷酸酶/激酶	9
Q15120	PDK3	[丙酮酸脱氢酶(乙酰基转移)]激酶同	10

[0128]

[0129]		工酶 3, 线粒体的	
	Q16816 Q9UKS6	PHKG1 PACS1N3	磷酸化酶 b 激酶 γ 催化链、骨骼肌/ 心脏蛋白激酶 C 同种型和神经元蛋 白中的酪蛋白激酶底物 3
	P23528	CFL1	丝切蛋白
			11 12 13

[0130] 在本发明中,由于已证实表2中列出的蛋白质(包括p-MEK)在MPNST中特异性上调,因此可抑制所述蛋白质的物质(例如所述蛋白质的拮抗剂)可用作MPNST治疗剂。

[0131] 在本发明中,蛋白质活性的抑制剂可以是与蛋白质特异性结合的肽、抗体、适体和化合物,但本发明不限于此。

[0132] 本文使用的术语“抗体”和“适体”的定义如上所述。

[0133] 在本发明中,信号传导蛋白活性的抑制剂可以是选自由以下组成的组中的一种或多种:司美替尼、夫拉平度、purvalanol、帕博西利、瑞博西利、阿贝西利、福他替尼、比美替尼、根赤壳菌素、AZD-8330、二氢硫辛酸、阿特波龙、hymenialdisine、靛玉红-3'-单肟、奥洛莫辛、SU9516和6-苯基[5H]吡咯并[2,3-B]吡嗪,但本发明不限于此。

[0134] 在本发明中,基因表达抑制剂可以是选自由以下组成的组中的一种或多种:与基因的mRNA互补结合的miRNA、siRNA、shRNA、核酶、DNA酶、肽核酸(PNA)和反义寡核苷酸,但本发明不限于此。

[0135] 本文使用的术语“反义寡核苷酸”涵盖基于核酸的分子,其具有与目标mRNA、特别是mRNA的种子(seed)序列互补的序列,因此可以与mRNA形成双链体。因此,本文使用的术语“反义寡核苷酸”可被描述为“基于互补核酸的抑制剂”。

[0136] 本文使用术语“互补”来描述反义寡核苷酸是指反义寡核苷酸与mRNA靶标足够互补,以在预定的杂交或退火条件下、优选地在生理条件下选择性地与mRNA靶标杂交,并且涵盖基本上互补和完全互补二者,优选地意指完全互补。

[0137] 本发明中的反义寡核苷酸包括各种分子。反义寡核苷酸是DNA或RNA分子,并且更优选地是RNA分子。选择性地,本发明中使用的反义寡核苷酸可以是核糖核苷酸(RNA)、脱氧核糖核苷酸(DNA)、2'-O-修饰的寡核苷酸、硫代磷酸酯骨架的脱氧核糖核苷酸、肽核酸(PNA)或锁核酸(locked nucleic acid, LNA)。2'-O-修饰的寡核苷酸可以是例如2'-O-烷基寡核苷酸、2'-O-C1-3烷基寡核苷酸或2'-O-C1-3甲基寡核苷酸。

[0138] 本文使用的术语“miRNA”、“siRNA”和“shRNA”是指主要与从目标基因转录的mRNA结合以介导RNA干扰或基因沉默从而抑制mRNA翻译的核酸分子。由于miRNA、siRNA和shRNA可以在翻译水平抑制目标基因的表达,因此它们可以用于有效的基因敲低方法或基因治疗方法。

[0139] 本文使用的术语“核酶”可以识别目标RNA分子中的特定核苷酸序列并对其进行位点特异性消化,从而抑制目标基因的蛋白质表达。

[0140] 本文使用的术语“PNA”是指核酸模拟物,例如DNA模拟物,并且这里脱氧核糖磷酸骨架被假肽骨架取代,并且仅保留了四种原始核碱基。已知PNA的中性骨架在低离子强度条件下提供对DNA和RNA的杂交特异性,并且可以用作反义剂或抗原剂,通过诱导转录或翻译抑制或抑制复制来对基因表达进行序列特异性调节。

[0141] 同时,本发明的组合物中的信号传导蛋白的活性抑制剂或编码该蛋白质的基因的

表达抑制剂的含量可以根据疾病的症状、症状的进展和患者的病况进行适当调整,并且其含量可以为例如,基于组合物的总重量的0.0001至99.9wt%,或0.001至50wt%,但本发明不限于此。含量比是基于除去溶剂后的干燥量的值。

[0142] 根据本发明的药物组合物还可包含药物组合物制备中常规使用的合适的载体、赋形剂和稀释剂。赋形剂可以是例如选自由以下组成的组中的一种或多种:稀释剂、粘合剂、崩解剂、润滑剂、吸附剂、保湿剂、薄膜包衣材料和控释添加剂。

[0143] 本发明的药物组合物可以配制成根据常规方法的散剂、颗粒剂、缓释颗粒剂、肠溶颗粒剂、液体剂、眼用溶液、酞剂、乳剂、混悬剂、酒精剂、锭剂、芳香水、柠檬水、片剂、缓释片、肠溶片、舌下片、硬胶囊、软胶囊、缓释胶囊、肠溶胶囊、丸剂、酞剂、软提取物、干提取物、流提取物、注射剂、胶囊剂、灌流剂、硬膏剂、洗剂、糊剂、喷雾剂、吸入剂、贴剂、无菌注射剂或外用制剂如气雾剂,并且外用制剂可以配制为乳膏剂、凝胶剂、贴剂、喷雾剂、软膏剂、硬膏剂、洗剂、搽剂、糊剂或巴布剂的形式。

[0144] 可包含在根据本发明的药物组合物中的载体、赋形剂和稀释剂可包括乳糖、右旋糖、蔗糖、寡糖、山梨糖醇、甘露糖醇、木糖醇、赤藓糖醇、麦芽糖醇、淀粉、阿拉伯胶、藻酸盐、明胶、磷酸钙、硅酸钙、纤维素、甲基纤维素、微晶纤维素、聚乙烯吡咯烷酮、水、羧基苯甲酸甲酯、羧基苯甲酸丙酯、滑石粉、硬脂酸镁和矿物油。

[0145] 药物组合物可以与常用的稀释剂或赋形剂例如填充剂、增稠剂、粘合剂、润湿剂、崩解剂和表面活性剂一起配制。

[0146] 作为用于根据本发明的片剂、散剂、颗粒剂、胶囊剂、丸剂和锭剂的添加剂,可以使用赋形剂,例如玉米淀粉、马铃薯淀粉、小麦淀粉、乳糖、蔗糖、葡萄糖、果糖、二甘露醇、沉淀碳酸钙、合成硅酸铝、磷酸一氢钙、硫酸钙、氯化钠、碳酸氢钠、纯化羊毛脂、微晶纤维素、糊精、藻酸钠、甲基纤维素、羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、高岭土、尿素、胶态硅胶、羟丙基淀粉、羟丙基甲基纤维素(HPMC) 1928、HPMC 2208、HPMC 2906、HPMC 2910、丙二醇、酪蛋白、乳酸钙和Primojel;粘合剂,例如明胶、阿拉伯树胶、乙醇、琼脂粉、邻苯二甲酸醋酸纤维素、羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钙、葡萄糖、纯化水、酪蛋白酸钠、甘油、硬脂酸、羧甲基纤维素钠、甲基纤维素钠、甲基纤维素、微晶纤维素、糊精、羧基纤维素、羟丙基淀粉、羟甲基纤维素、纯化虫胶、淀粉粉、羟丙基纤维素、羟丙基甲基纤维素、聚乙烯醇和聚乙烯吡咯烷酮;崩解剂,例如羟丙基甲基纤维素、玉米淀粉、琼脂粉、甲基纤维素、膨润土、羟丙基淀粉、羧甲基纤维素钠、柠檬酸钙、十二烷基硫酸钠、硅酸酐、1-羟丙基纤维素、葡聚糖、离子交换树脂、聚乙酸乙烯酯、甲醛处理的酪蛋白和明胶、海藻酸、直链淀粉、瓜尔豆胶、碳酸氢钠、聚乙烯吡咯烷酮、磷酸钙、凝胶淀粉、阿拉伯树胶、支链淀粉、果胶、多聚磷酸钠、乙基纤维素、蔗糖、硅酸镁铝、二山梨醇溶液和轻质无水硅酸;以及润滑剂,例如硬脂酸钙、硬脂酸镁、硬脂酸、氢化植物油、滑石粉、石灰石高岭土、凡士林、硬脂酸钠、可可脂、水杨酸钠、水杨酸镁、聚乙二醇4000和聚乙二醇6000、液体石蜡、氢化大豆油(Lubri蜡)、硬脂酸铝、硬脂酸锌、十二烷基硫酸钠、氧化镁、聚乙二醇、合成硅酸铝、硅酸酐、高级脂肪酸、高级醇、硅油、石蜡油、聚乙二醇脂肪酸醚、淀粉、氯化钠、乙酸钠、油酸钠、二亮氨酸和轻质无水硅酸。

[0147] 作为用于根据本发明的液体制剂的添加剂,可以使用水、稀盐酸、稀硫酸、柠檬酸钠、单硬脂酸蔗糖、聚氧乙烯山梨糖醇脂肪酸酯(Tween酯)、聚氧乙烯单烷基醚、羊毛脂醚、羊毛脂酯、乙酸、盐酸、乙酸、盐酸、氨水、碳酸铵、氢氧化钾、氢氧化钠、谷醇溶蛋白、聚乙烯

吡咯烷酮、乙基纤维素和羧甲基纤维素钠。

[0148] 对于根据本发明的糖浆剂,可以使用白糖、其他糖或甜味剂的溶液,并且如果需要,可以使用调味剂、着色剂、防腐剂、稳定剂、助悬剂、乳化剂和增稠剂。

[0149] 对于根据本发明的乳剂,可以使用纯化水,并且如果需要,可以使用乳化剂、防腐剂、稳定剂和香料。

[0150] 对于根据本发明的混悬剂,可以使用助悬剂例如阿拉伯树胶、黄蓍胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素、羧甲基纤维素钠、微晶纤维素、藻酸钠、羟丙基甲基纤维素 (HPMC)、HPMC 1828、HPMC 2906或HPMC 2910,并且如果需要,可以使用表面活性剂、防腐剂、稳定剂、着色剂和香料。

[0151] 根据本发明的注射剂可包含溶剂,例如可注射无菌水、注射用0.9%氯化钠、林格氏溶液、注射用葡萄糖、注射用葡萄糖+氯化钠、PEG、乳酸盐林格氏溶液、乙醇、丙二醇、非挥发性油——芝麻油、棉籽油、花生油、大豆油、玉米油、油酸乙酯、肉豆蔻酸异丙酯或苯甲酸苯酯;增溶剂,例如苯甲酸钠、水杨酸钠、乙酸钠、尿素、氨基甲酸乙酯、单乙基乙胺、苯基丁氮酮、丙二醇、Tween、烟酰胺、乌洛托品或二甲基乙酰胺;缓冲剂,例如弱酸及其盐(乙酸和乙酸钠)、弱碱及其盐(氨和醋酸铵)、有机化合物、蛋白质、白蛋白、蛋白胍或树胶;等渗剂,例如氯化钠;稳定剂,例如亚硫酸氢钠(NaHSO_3)、二氧化碳气体、焦亚硫酸钠($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$)、亚硫酸钠(Na_2SO_3)、氮气(N_2)或乙二胺四乙酸;抗氧化剂,例如0.1%二硫化钠、甲醛次硫酸钠、硫脲、乙二胺四乙酸二钠或丙酮亚硫酸氢钠;镇痛剂,例如苯甲醇、氯丁醇、盐酸普鲁卡因、葡萄糖或葡萄糖酸钙;或助悬剂,例如CMC钠、藻酸钠、Tween 80或单硬脂酸铝。

[0152] 对于根据本发明的栓剂,可以使用基质,例如可可脂、羊毛脂、Witepsol、聚乙二醇、甘油明胶、甲基纤维素、羧甲基纤维素、硬脂酸酯和油酸酯的混合物、Subanal、棉籽油、花生油、棕榈油、可可脂+胆固醇、卵磷脂、Lanette蜡、单硬脂酸甘油酯、Tween或Span、Imhausen、monolene(单硬脂酸丙二醇酯)、甘油、Adeps Solidus、Buytyrum Tego-G、Cebes Pharma 16、hexalide base 95、Cotomar、Hydrokote SP、S-70-XXA、S-70-XX75(S-70-XX95)、Hydrokote 25、Hydrokote 711、Idropostal、Massa estrarium、A、AS、B、C、D、E、I、T)、Mass-MF、Masupol、Masupol-15、neosuppostal-N、paramount-B、supposiro(OSI、OSIX、A、B、C、D、H、L)、栓剂基质IV型(AB、B、A、BC、BBG、E、BGF、C、D、299)、Suppostal(N、Es)、Wecoby(W、R、S、M、Fs)或Tegester三甘油酯基质(TG-95、MA、57)。

[0153] 用于口服施用的固体制剂可以是片剂、丸剂、散剂、颗粒剂或胶囊剂,并且这样的固体制剂可以通过将至少一种赋形剂例如淀粉、碳酸钙、蔗糖、乳糖和明胶与活性成分混合来制备。另外,除了简单的赋形剂以外,还可以使用润滑剂如硬脂酸镁和滑石粉。

[0154] 作为用于口服施用的液体制剂,可以使用混悬剂、内用液体剂、乳剂或糖浆剂,并且可以包括通常使用的简单稀释剂如水或液体石蜡以及各种类型的赋形剂,例如,润湿剂、甜味剂、香料和防腐剂。用于肠胃外施用的制剂可以是无菌水溶液、非水溶剂、混悬剂、乳剂、冻干剂或栓剂。作为非水溶剂或混悬剂,可以使用丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油、或可注射酯如油酸乙酯。

[0155] 根据本发明的药物组合物以药学有效量施用。本文所用的“药学有效量”是指足以适用于医学治疗的合理效益/风险比来治疗疾病的量,并且有效剂量可以通过包括患者疾病的类型和严重程度、药物活性、对药物的敏感性、施用时间、施用途径和排泄率、治疗持

续时间和同时使用的药物在内的参数以及医学领域众所周知的其他参数来确定。

[0156] 本发明的药物组合物可以单独施用或与其他治疗剂组合施用,并且可以与常规治疗剂顺序或同时施用,或者以单剂量或多剂量施用。考虑到所有上述参数,重要的是用最小剂量实现最大效果而不产生副作用,并且这样的剂量可以由本领域普通技术人员容易地确定。

[0157] 本发明的药物组合物可以通过各种途径施用于受试者。所有施用途均可预期,并且本发明的药物组合物可通过例如口服施用、皮下注射、腹膜内施用、静脉内、肌内或鞘内注射、舌下施用、颊(buccal)施用、直肠插入、阴道插入、眼部施用、耳部施用、鼻部施用、吸入、通过口或鼻喷雾、皮肤施用或透皮施用来施用。

[0158] 本发明的药物组合物根据作为活性成分的药物类型以及各种参数例如待治疗的疾病、施用途、患者的年龄、性别和体重以及疾病的严重程度来确定。

[0159] 本文使用的术语“受试者”是指需要治疗的目标,并且更具体地,是指哺乳动物例如人或非人灵长类动物、小鼠、大鼠、狗、猫、马或牛。

[0160] 在本发明中,“施用”是指通过任何合适的方法向受试者提供本发明的给定组合物。

[0161] 在本发明中,“预防”是指抑制或延迟目标疾病的发作的所有行动,并且“治疗”是指涉及通过施用根据本发明的药物组合物来减轻或有益地改变目标疾病的症状和相关代谢异常的症状的所有行动。

[0162] 本文所用的术语“保健功能食品”是指根据保健功能食品法第6727号,使用对人体具有有用功能的原料或成分制造和加工的食品,并且是指为了对健康产生有益影响(例如控制营养物质或对人体结构和功能的生理作用)而食用的东西。本发明的保健功能食品可以包含常规的食品添加剂,并且除非另有规定,否则作为食品添加剂的适用性是根据食品药品安全部批准的韩国食品添加剂法典的一般规则和一般性测试方法通过相应项目的规格和标准来判断的。

[0163] 作为本发明的又一个方面,本发明可以提供一种筛选用于预防、减轻或治疗MPNST的物质的方法,其包括:(a)使候选物质与分离的细胞或组织接触;(b)测量所述细胞或组织中参与选自TGF- β 信号传导途径、ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和RhoGDI信号传导途径组成的组中的信号传导途径的一种或多种信号传导蛋白的活性,或编码所述蛋白质的基因的表达式;以及(c)当与所述候选物质接触的细胞或组织中所述蛋白质的活性或编码所述蛋白质的基因的表达式低于与所述候选物质接触之前的水平时,将所述候选物质确定为用于预防、减轻或治疗MPNST的物质。

[0164] 在本发明中,候选物质可以包括但不限于低分子量化合物、高分子量化合物、微生物培养物或提取物、天然物质提取物、核酸、蛋白质、糖和脂质,并且可以包括能够降低参与选自TGF- β 信号传导途径、ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和RhoGDI信号传导途径组成的组中的信号传导途径的一种或多种信号传导蛋白的活性或编码所述蛋白质的基因的表达式水平的任何物质。

[0165] 核酸可以选自以下组成的组:微RNA、siRNA、shRNA、反义RNA、适体、锁核酸(LNA)、肽核酸(PNA)和吗啉代,但本发明不限于此。

[0166] 在本发明中,所述信号传导蛋白可以是激酶,并且所述激酶可以由选自以下

组成的组中的一种或多种基因编码的激酶:CDK4、STK10、CDK5、MAP2K1、ALPK3、PNKP、PDK3、PHKG1、CFL1和PACSIN3,但本发明不限于此。

[0167] 在本发明中,分离的细胞或组织可以是神经细胞或神经组织,但本发明不限于此。

[0168] 本发明中使用的术语在考虑本发明的功能的同时尽可能地选自当前广泛使用的通用术语,但这些可能会根据本领域技术人员的意图、先例和新技术的出现而变化。另外,在某些情况下,还存在申请人任意选择的术语,并且在这种情况下,其含义将在相应发明的说明书中详细描述。因此,本发明中使用的术语应当基于术语的含义和整个发明的内容来定义,而不是简单地基于本发明中使用的术语的名称。

[0169] 在整个说明书中,当一个部分“包括”组件时,除非另有明确说明,否则意味着它还可以包括其他组件而不是排除了其他组件。当提供了固有含义所允许的制造和材料公差时,本文使用的术语“大约”或“基本上”被用于所指示的数值或接近所指示的数值。使用上述术语是为了防止不道德的侵权者对公开内容的不正当使用,在本公开中引用正确或绝对值以帮助理解本发明。

[0170] 在整个说明书中,马库什型表达中所包括的术语“其组合”是指选自由马库什型表达中描述的成分组成的组中的一种或多种的混合物或组合,即,选自由组分的组成的组中的一种或多种。

[0171] [发明方式]

[0172] 下面给出优选实施例以更好地理解本发明。然而,提供以下实施例是为了更容易理解本发明,并且本发明的内容不限于以下实施例。

[0173] [实施例]

[0174] 实施例1.样品制备和蛋白质组分析

[0175] 1.1.样品制备

[0176] 从5名诊断患有I型神经纤维瘤病(NF-1)的患者处收集MPNST组织,并使用从5名患者处收集的良性神经纤维瘤病组织作为对照。MPNST患者的信息如下表3所示。

[0177] [表3]

[0178]	患者	NF-1 生殖细胞突变	MPNST 来源	病理特征
	1	c.7285C>T (p.R2429*)	右股骨	梭形细胞肉瘤,低级别,与低级别 MPNST 一致,发生于神经纤维瘤中, 0.2 x 9.1 x 5.2 cm, 肌肉中
	2	c.1316T>C (p.L439P)	右大腿	发生于神经纤维瘤中的 MPNST, 高级别, 9.7 x 7 x 6.5 cm
	3	c.6791dup (p.Y2264fs)	前臂	MPNST, FNCLCC 级别, 处于神经纤维瘤背景中, 2 x 1.5 x 1.1 cm, 前臂、真皮和皮下
	4	未发现	骨盆	梭形细胞肿瘤, 与 MPNST 一致, 低级别, 处于神经纤维瘤背景中, 12 x 7 x 5 cm, 左侧耻骨区
	5	c.2990G>C (p.R997T)	骨盆	发生于神经纤维瘤中的 MPNST, FNCLCC 级别, 碎片化, 24 x 17 x 5.5 cm 聚集体, 盆腔

[0179] 将收集的样品组织固定在福尔马林中,然后包埋在石蜡中。为了分离蛋白质组,如图1a和1b的流程图所示,将福尔马林固定石蜡包埋(FFPE)的组织载玻片用刀片分离,置于管中,并用200μL庚烷在25℃下脱石蜡1小时。随后,为了样品的破碎、提取和均化,添加5% SDS和100μL 50mM三乙胺碳酸氢盐缓冲液,以使用自适应聚焦声学(AFA)超声波发生器裂解样品。然后,使用胰蛋白酶/LysC蛋白酶消化样品以制备肽,然后使用LC-MS分析蛋白质组。

[0180] 1.2.蛋白质组分析

[0181] 通过LC-MS进行蛋白质组分析。使用Q-Exactive Plus BioPharm版本(ThermoFisher, USA)作为用于质谱(以下简称“MS”)的设备,并且使用UltiMate™3000 RSLCnano系统(ThermoFisher, USA)作为用于液相色谱(以下简称“LC”)的设备。使用自动样品供给装置供给5.0μL样品,并使用与NanoLC耦合的离子阱质谱仪以250nL/min的流速进行分析。

[0182] 使用内径75μm且外径360μm的熔融石英毛细管柱C18作为LC中使用的柱。以250nL/min的流速分析样品200分钟,并以从5%溶液B到50%溶液B(80%乙腈、0.1%甲酸、5%DMSO)的浓度梯度进行分离90分钟。

[0183] MS的参数为MS1分辨率70000、MS1最大填充时间20毫秒和数据相关采集(DDA)方法(前10),并且在包括MS2分辨率17500、MS2最大填充时间100毫秒和自动增益控制(AGC)1e6的条件下进行MS。

[0184] 实施例2.蛋白质组数据分析和使用其鉴定MPNST特异性蛋白质

[0185] 对实施例1中收集的MPNST和良性神经纤维瘤病(NF)组织样品进行蛋白质组数据分析。

[0186] 首先,如图2所示,每条原始数据均使用Proteome discovery 2.2软件(Thermo, USA)进行分析。使用Uniprot提供的人类蛋白质组参考数据库,通过无标记定量算法提取蛋白质的定性和定量信息。对于定性分析,肽搜索条件中的固定修饰条件使用半胱氨酸的脲甲基化(carbamidomethylation),并且应用N末端乙酰化和甲硫氨酸氧化作为可变修饰条件。将前体离子的初始质量误差调整为10ppm,将碎片离子的质量误差调整为20ppm,并且在将肽映射到蛋白质时,使用独特(unique)肽和剃刀(razor)肽。对于无标记定量,使用独特肽的峰强度。

[0187] 结果如图3所示,证实从每个样品获得的蛋白质组的定量值的分布是均匀的。

[0188] 此外,使用样品的定量蛋白质组数据进行主成分分析(PCA)。结果如图4所示,证实可以通过MPNST和NF两组之间的蛋白质组的定量和定性差异来区分两组。更具体地,参考图4的右图,在良性NF组织中鉴定出3,483种蛋白质,并且在MPNST组织中鉴定出3,601种蛋白质。141种蛋白质仅在MPNST组织中鉴定出,而在良性NF组织中未鉴定出,而在相反的情况下鉴定出23种蛋白质。

[0189] 实施例3.MPNST中表达增加的蛋白质的衍生

[0190] 通过使用火山图分析进行定量蛋白质组分析,如图5a所示,与良性NF相比,MPNST表现出至少10倍的表达增加,并且研究了主要在细胞外分泌体中表达的蛋白质(由红色框显示)。这是因为外分泌体分泌的蛋白质可以在血液或尿液中检测到,这有利于采集样品进行诊断。

[0191] 结果,如图5a右侧所示,选择了24种蛋白质,例如CD248、DNAJB4、POTEE、SPARCL1和TBC1D4。

[0192] 另外,如图5b所示,研究了细胞外基质降解蛋白(蛋白质细胞外基质)(由红色框显示)。这是因为细胞外基质中表达的蛋白质也可以在血液或尿液中检测到。此外,基质降解是癌细胞浸润周围组织时发生的现象,因此这些蛋白质是基于细胞恶性肿瘤。

[0193] 结果,如图5b的右侧所示,选择了CD248、SPARCL1、CILP2、MMP8和SPON1蛋白。

[0194] 比较例1.MPNST和良性NF中S-100蛋白表达模式的研究

[0195] 研究了S-100蛋白的表达模式,S-100蛋白通常被用作区分良性NF和MPNST的重要病理指标。

[0196] 对总共九种S-100蛋白同种型的研究结果如图6a至6i所示,根据个体患者,良性NF和MPNST之间的表达模式存在差异。这样的结果清楚地揭示了S-100蛋白作为区分良性NF和MPNST的特异性标志物的局限性。

[0197] 此外,作为区分良性NF和MPNST的另一种标志物的波形蛋白的研究结果,良性NF和MPNST之间的表达模式没有差异。

[0198] 综上所述,上述结果表明,常规使用的标志物S-100和波形蛋白作为MPNST特异性生物标志物在临床应用方面具有明显的局限性。

[0199] 实施例4.MPNST的诊断标志物的选择

[0200] 4.1.内皮唾液酸蛋白(CD248)

[0201] 内皮唾液酸蛋白是由CD248基因编码的蛋白质,是一种参与肿瘤血管再生的分子,被分泌到细胞外基质并存在于外泌体中。

[0202] 如图7证实的,内皮唾液酸蛋白特异性发现于从5名患者获得的所有MPNST组织中。特别是,由于内皮唾液酸蛋白存在于外泌体中,因此预期在血液和尿液样品中检测到,因此预期其作为MPNST诊断标志物具有高实用性。

[0203] 4.2.SPARC样蛋白1(SPARCL1)

[0204] SPARCL1基因编码的SPARC样蛋白1是一种主要分泌到细胞外的与钙、细胞外基质和胶原蛋白结合的蛋白质。

[0205] 如图8所示,证实SPARC样蛋白1在良性NF中未检测到,但在MPNST中特异性表达。由于这种蛋白质也在细胞外发现并存在于外泌体中,因此预期会在血液和尿液样品中检测到,因此预期作为MPNST诊断标志物具有高实用性。

[0206] 4.3.中性粒细胞胶原酶(MMP8)

[0207] MMP8基因编码的中性粒细胞胶原酶是一种降解细胞外基质的蛋白酶,并且已知参与癌症转移和各种炎症反应。

[0208] 如图9所示,证实中性粒细胞胶原酶在从5名患者收集的所有MPNST组织中特异性表达。特别地,由于中性粒细胞胶原酶被分泌至细胞外基质,因此预期会在血液和尿液样品中检测到,因此预期其作为MPNST诊断标志物具有高实用性。

[0209] 实施例5.新MPNST治疗靶标的发现

[0210] 5.1.层次聚类分析

[0211] 通过层次聚类分析将MPNST中表达特异性增加的蛋白质组分为两个聚类。更具体地,如图10a所示,从两组鉴定的总共3,624种蛋白质中,对于每组,提取在80%或更多样品中鉴定的3,455种蛋白质,并且对两组进行Student T检验,选择满足Benjamini-Hochberg $FDR < 0.01$ 的292种蛋白质。计算相应蛋白质的定量信息的Z分数并进行K均值聚类分析,确认形成两个聚类。使用g:Profiler(<https://biit.cs.ut.ee/gprofiler/>)对每个聚类所对应的蛋白质进行生物过程、细胞区室和分子功能的研究。

[0212] 参考图10b,聚类1包括在MPNST中表达增加的蛋白质,其中在功能方面发现了通过与细胞外基质结合而起作用的蛋白质,例如肌动蛋白或肌肉骨骼蛋白质。

[0213] 参考图10c,聚类2包括在MPNST中表达降低的蛋白质,其中发现了通常分泌至细胞外基质或存在于外泌体中的蛋白质。

[0214] 5.2.通过G0分析和生物反应路径分析(IPA)发现靶信号传导途径

[0215] 对144种MPNST特异性蛋白进行基因本体(GO)分析和QIAGEN IPA,以确认涉及MPNST中表达发生特异性变化的蛋白的途径。将144种MPNST特异性蛋白的登录号输入ShinyGO和IPA服务器,以研究涉及144种MPNST特异性蛋白的生物过程、细胞区室和分子功能。

[0216] 结果,如图11和12所示,证实了ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和RhoGDI信号传导途径在MPNST中被特异性激活。另外,在推断该信号传导途径的上层信号传导时,预测这是基于TGF- β 的激活。

[0217] 5.3.作为新治疗靶标的激酶的发现

[0218] 与实施例5.2中发现的信号传导途径相关,在MPNST中表达特异性增加或活性特异性增加的激酶可以用作治疗靶标。因此,本发明人发现了在MPNST中表达水平增加的激酶。

[0219] 结果,如图13至图21所示,证实了在MPNST中诸如CDK4、MAP2K1、PDK3、STK10、ALPK3、PHKG1、CDK5、PNKP和PACIN3的激酶增加。因此,这些激酶的抑制剂(例如针对这些激酶的拮抗剂)可以用于MPNST治疗。

[0220] 特别是,由于福他替尼表现出针对CDK4、MAP2k1、STK1和PHKG1的多重拮抗作用,因此预期可用作MPNST治疗剂。

[0221] 实施例6.MPNST诊断标志物的验证

[0222] 对MPNST患者的组织进行IHC染色,以验证实施例4中发现的MPNST诊断标志物中MMP8蛋白的表达。

[0223] 结果,如表4和图22所示,与NF组织相比,证实MMP8蛋白(中性粒细胞胶原酶)在MPNST组织中过表达。

[0224] [表4]

[0225]	MPNST-003*	MPNST-010*
	PSY (19S-105596 F5)	LSJ (20S 121739 A1)
	NF1/ MPNST	NF1/ MPNST
MMP8	1+/3+	1+/3+

[0226] √ 表达 (1+) 弱, (2+) 中等, (3+) 强

[0227] 此外,通过ELISA证实了血液中MMP8蛋白表达的差异(从血液中很容易获得患者的样品)。具体来说,对正常组(WT00)、NF1患者(SEL00)、MPNST患者中具有完全OP后肿瘤切除的MPNST患者(清除)、由于根据肿瘤切除方式肿瘤未完全切除而可能患有肿瘤的患者(中等)以及未切除肿瘤或具有肿瘤转移的患者(受累,involvement)的血浆进行ELISA。

[0228] 结果,如表5和图23所示,证实了在肿瘤未完全切除的患者(中等)和发生转移或肿瘤未切除的患者(受累)的血浆中,MMP8蛋白表达增加。从以上证实MMP8蛋白表达根据肿瘤切除的存在或不存在而具有差异的结果可以证实MMP8可以用作MPNST诊断标志物。

[0229] [表5]

[0230]

		手术切除边缘	MMP8 (pg/ml)
WT		WT1	15.048
		WT2	30.861
		WT3	7.559
		WT4	55.949
		WT5	71.280
		WT6	20.267
		WT7	22.179
		WT8	51.115
		WT9	15.048
		WT10	51.115
NF1		SEL22	23.743
		SEL23	40.393
		SEL44	-0.465
		SEL45	37.622
		SEL66	48.004
		SEL69	51.806
		SEL70	30.514
	SEL74	23.569	
MPNST (OP后)	阴性(清除)	MPNST-002	-1.687
		MPNST-005	11.914
	阳性(中等)	MPNST-003	222.625
		MPNST-004	213.218
		MPNST-010	87.241
	阳性(受累)	MPNST-001	284.413

[0231] 实施例7.MPNST治疗靶标的验证

[0232] 为了呈现实例5中发现的作为MPNST治疗靶标的ILK信号传导途径、肌动蛋白-细胞骨架信号传导途径和各种激酶的异常激活程度,对MPNST患者组织中的ILK、丝切蛋白、MEK、p-MEK和PACIN3蛋白质组进行IHC染色。

[0233] 结果,如表6和图24所示,证实与NF组织相比,在MPNST组织中ILK、丝切蛋白、MEK、p-MEK和PACIN3蛋白质组的表达增加。

[0234] [表6]

	MPNST-003 ⁺ PSY (19S-105596 F5)	MPNST-010 ⁺ LSJ (20S 121739 A1)
	NF1/ MPNST	NF1/ MPNST
丝切蛋白	1+/3+	1+/3+
ILK	1+/2+	1+/3+
MEK1	1+/3+	1+/3+
p-MEK1	1+/1+	1+/3+
PACIN3	1+/2+	1+/3+

[0236] √ 表达 (1+) 弱, (2+) 中等, (3+) 强

[0237] 本领域普通技术人员应当理解,本发明的上述描述是示例性的,并且在不脱离本发明的技术精神或基本特征的情况下,可以容易地将本文公开的示例性实施方案修改为其他具体形式。因此,上述示例性实施方案应当被解释为说明性的并且在任何方面不受限制。

[0238] [工业实用性]

[0239] 本发明涉及一种用于恶性周围神经鞘瘤 (MPNST) 的鉴别诊断的组合物,预期使用本发明的用于检测蛋白质标志物的组合物可以有效地用于快速预测和诊断NF-1患者是否发生恶性肿瘤。因此,本发明具有工业实用性。

序列表

<110> 财团法人峨山社会福祉财团 (THE ASAN FOUNDATION)
蔚山大学校产学协力团 (UNIVERSITY OF ULSAN FOUNDATION FOR INDUSTRY COOPERATION)

人文景观有限公司 (HUMANSCAPE INC.)

<120> 用于恶性周围神经鞘瘤的鉴别诊断的组合物

<130> PIIB6230435P

<150> KR 10-2021-0037912

<151> 2021-03-24

<150> KR 10-2022-0034295

<151> 2022-03-18

<160> 13

<170> KoPatentIn 3.0

<210> 1

<211> 757

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 1

```

Met Leu Leu Arg Leu Leu Leu Ala Trp Ala Ala Ala Gly Pro Thr Leu
1           5           10           15
Gly Gln Asp Pro Trp Ala Ala Glu Pro Arg Ala Ala Cys Gly Pro Ser
           20           25           30
Ser Cys Tyr Ala Leu Phe Pro Arg Arg Arg Thr Phe Leu Glu Ala Trp
           35           40           45
Arg Ala Cys Arg Glu Leu Gly Gly Asp Leu Ala Thr Pro Arg Thr Pro
           50           55           60
Glu Glu Ala Gln Arg Val Asp Ser Leu Val Gly Ala Gly Pro Ala Ser
65           70           75           80
Arg Leu Leu Trp Ile Gly Leu Gln Arg Gln Ala Arg Gln Cys Gln Leu
           85           90           95
Gln Arg Pro Leu Arg Gly Phe Thr Trp Thr Thr Gly Asp Gln Asp Thr
           100          105          110
Ala Phe Thr Asn Trp Ala Gln Pro Ala Ser Gly Gly Pro Cys Pro Ala
           115          120          125
Gln Arg Cys Val Ala Leu Glu Ala Ser Gly Glu His Arg Trp Leu Glu
           130          135          140
Gly Ser Cys Thr Leu Ala Val Asp Gly Tyr Leu Cys Gln Phe Gly Phe
145          150          155          160

```

Glu Gly Ala Cys Pro Ala Leu Gln Asp Glu Ala Gly Gln Ala Gly Pro		
165	170	175
Ala Val Tyr Thr Thr Pro Phe His Leu Val Ser Thr Glu Phe Glu Trp		
180	185	190
Leu Pro Phe Gly Ser Val Ala Ala Val Gln Cys Gln Ala Gly Arg Gly		
195	200	205
Ala Ser Leu Leu Cys Val Lys Gln Pro Glu Gly Gly Val Gly Trp Ser		
210	215	220
Arg Ala Gly Pro Leu Cys Leu Gly Thr Gly Cys Ser Pro Asp Asn Gly		
225	230	235
Gly Cys Glu His Glu Cys Val Glu Glu Val Asp Gly His Val Ser Cys		
245	250	255
Arg Cys Thr Glu Gly Phe Arg Leu Ala Ala Asp Gly Arg Ser Cys Glu		
260	265	270
Asp Pro Cys Ala Gln Ala Pro Cys Glu Gln Gln Cys Glu Pro Gly Gly		
275	280	285
Pro Gln Gly Tyr Ser Cys His Cys Arg Leu Gly Phe Arg Pro Ala Glu		
290	295	300
Asp Asp Pro His Arg Cys Val Asp Thr Asp Glu Cys Gln Ile Ala Gly		
305	310	315
Val Cys Gln Gln Met Cys Val Asn Tyr Val Gly Gly Phe Glu Cys Tyr		
325	330	335
Cys Ser Glu Gly His Glu Leu Glu Ala Asp Gly Ile Ser Cys Ser Pro		
340	345	350
Ala Gly Ala Met Gly Ala Gln Ala Ser Gln Asp Leu Gly Asp Glu Leu		
355	360	365
Leu Asp Asp Gly Glu Asp Glu Glu Asp Glu Asp Glu Ala Trp Lys Ala		
370	375	380
Phe Asn Gly Gly Trp Thr Glu Met Pro Gly Ile Leu Trp Met Glu Pro		
385	390	395
Thr Gln Pro Pro Asp Phe Ala Leu Ala Tyr Arg Pro Ser Phe Pro Glu		
405	410	415
Asp Arg Glu Pro Gln Ile Pro Tyr Pro Glu Pro Thr Trp Pro Pro Pro		
420	425	430
Leu Ser Ala Pro Arg Val Pro Tyr His Ser Ser Val Leu Ser Val Thr		
435	440	445
Arg Pro Val Val Val Ser Ala Thr His Pro Thr Leu Pro Ser Ala His		
450	455	460
Gln Pro Pro Val Ile Pro Ala Thr His Pro Ala Leu Ser Arg Asp His		

465	470	475	480
Gln Ile Pro Val	Ile Ala Ala Asn Tyr Pro Asp Leu Pro Ser Ala Tyr		
	485	490	495
Gln Pro Gly Ile	Leu Ser Val Ser His Ser Ala Gln Pro Pro Ala His		
	500	505	510
Gln Pro Pro Met	Ile Ser Thr Lys Tyr Pro Glu Leu Phe Pro Ala His		
	515	520	525
Gln Ser Pro Met	Phe Pro Asp Thr Arg Val Ala Gly Thr Gln Thr Thr		
	530	535	540
Thr His Leu Pro	Gly Ile Pro Pro Asn His Ala Pro Leu Val Thr Thr		
545	550	555	560
Leu Gly Ala Gln	Leu Pro Pro Gln Ala Pro Asp Ala Leu Val Leu Arg		
	565	570	575
Thr Gln Ala Thr	Gln Leu Pro Ile Ile Pro Thr Ala Gln Pro Ser Leu		
	580	585	590
Thr Thr Thr Ser	Arg Ser Pro Val Ser Pro Ala His Gln Ile Ser Val		
	595	600	605
Pro Ala Ala Thr	Gln Pro Ala Ala Leu Pro Thr Leu Leu Pro Ser Gln		
	610	615	620
Ser Pro Thr Asn	Gln Thr Ser Pro Ile Ser Pro Thr His Pro His Ser		
625	630	635	640
Lys Ala Pro Gln	Ile Pro Arg Glu Asp Gly Pro Ser Pro Lys Leu Ala		
	645	650	655
Leu Trp Leu Pro	Ser Pro Ala Pro Thr Ala Ala Pro Thr Ala Leu Gly		
	660	665	670
Glu Ala Gly Leu	Ala Glu His Ser Gln Arg Asp Asp Arg Trp Leu Leu		
	675	680	685
Val Ala Leu Leu	Val Pro Thr Cys Val Phe Leu Val Val Leu Leu Ala		
	690	695	700
Leu Gly Ile Val	Tyr Cys Thr Arg Cys Gly Pro His Ala Pro Asn Lys		
705	710	715	720
Arg Ile Thr Asp	Cys Tyr Arg Trp Val Ile His Ala Gly Ser Lys Ser		
	725	730	735
Pro Thr Glu Pro	Met Pro Pro Arg Gly Ser Leu Thr Gly Val Gln Thr		
	740	745	750
Cys Arg Thr Ser	Val		
	755		
<210>	2		
<211>	664		

<212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 2
 Met Lys Thr Gly Leu Phe Phe Leu Cys Leu Leu Gly Thr Ala Ala Ala
 1 5 10 15
 Ile Pro Thr Asn Ala Arg Leu Leu Ser Asp His Ser Lys Pro Thr Ala
 20 25 30
 Glu Thr Val Ala Pro Asp Asn Thr Ala Ile Pro Ser Leu Arg Ala Glu
 35 40 45
 Ala Glu Glu Asn Glu Lys Glu Thr Ala Val Ser Thr Glu Asp Asp Ser
 50 55 60
 His His Lys Ala Glu Lys Ser Ser Val Leu Lys Ser Lys Glu Glu Ser
 65 70 75 80
 His Glu Gln Ser Ala Glu Gln Gly Lys Ser Ser Ser Gln Glu Leu Gly
 85 90 95
 Leu Lys Asp Gln Glu Asp Ser Asp Gly His Leu Ser Val Asn Leu Glu
 100 105 110
 Tyr Ala Pro Thr Glu Gly Thr Leu Asp Ile Lys Glu Asp Met Ser Glu
 115 120 125
 Pro Gln Glu Lys Lys Leu Ser Glu Asn Thr Asp Phe Leu Ala Pro Gly
 130 135 140
 Val Ser Ser Phe Thr Asp Ser Asn Gln Gln Glu Ser Ile Thr Lys Arg
 145 150 155 160
 Glu Glu Asn Gln Glu Gln Pro Arg Asn Tyr Ser His His Gln Leu Asn
 165 170 175
 Arg Ser Ser Lys His Ser Gln Gly Leu Arg Asp Gln Gly Asn Gln Glu
 180 185 190
 Gln Asp Pro Asn Ile Ser Asn Gly Glu Glu Glu Glu Glu Lys Glu Pro
 195 200 205
 Gly Glu Val Gly Thr His Asn Asp Asn Gln Glu Arg Lys Thr Glu Leu
 210 215 220
 Pro Arg Glu His Ala Asn Ser Lys Gln Glu Glu Asp Asn Thr Gln Ser
 225 230 235 240
 Asp Asp Ile Leu Glu Glu Ser Asp Gln Pro Thr Gln Val Ser Lys Met
 245 250 255
 Gln Glu Asp Glu Phe Asp Gln Gly Asn Gln Glu Gln Glu Asp Asn Ser
 260 265 270
 Asn Ala Glu Met Glu Glu Glu Asn Ala Ser Asn Val Asn Lys His Ile
 275 280 285

Gln Glu Thr Glu Trp Gln Ser Gln Glu Gly Lys Thr Gly Leu Glu Ala		
290	295	300
Ile Ser Asn His Lys Glu Thr Glu Glu Lys Thr Val Ser Glu Ala Leu		
305	310	315 320
Leu Met Glu Pro Thr Asp Asp Gly Asn Thr Thr Pro Arg Asn His Gly		
	325	330 335
Val Asp Asp Asp Gly Asp Asp Asp Gly Asp Asp Gly Gly Thr Asp Gly		
	340	345 350
Pro Arg His Ser Ala Ser Asp Asp Tyr Phe Ile Pro Ser Gln Ala Phe		
	355	360 365
Leu Glu Ala Glu Arg Ala Gln Ser Ile Ala Tyr His Leu Lys Ile Glu		
	370	375 380
Glu Gln Arg Glu Lys Val His Glu Asn Glu Asn Ile Gly Thr Thr Glu		
385	390	395 400
Pro Gly Glu His Gln Glu Ala Lys Lys Ala Glu Asn Ser Ser Asn Glu		
	405	410 415
Glu Glu Thr Ser Ser Glu Gly Asn Met Arg Val His Ala Val Asp Ser		
	420	425 430
Cys Met Ser Phe Gln Cys Lys Arg Gly His Ile Cys Lys Ala Asp Gln		
	435	440 445
Gln Gly Lys Pro His Cys Val Cys Gln Asp Pro Val Thr Cys Pro Pro		
450	455	460
Thr Lys Pro Leu Asp Gln Val Cys Gly Thr Asp Asn Gln Thr Tyr Ala		
465	470	475 480
Ser Ser Cys His Leu Phe Ala Thr Lys Cys Arg Leu Glu Gly Thr Lys		
	485	490 495
Lys Gly His Gln Leu Gln Leu Asp Tyr Phe Gly Ala Cys Lys Ser Ile		
	500	505 510
Pro Thr Cys Thr Asp Phe Glu Val Ile Gln Phe Pro Leu Arg Met Arg		
	515	520 525
Asp Trp Leu Lys Asn Ile Leu Met Gln Leu Tyr Glu Ala Asn Ser Glu		
	530	535 540
His Ala Gly Tyr Leu Asn Glu Lys Gln Arg Asn Lys Val Lys Lys Ile		
545	550	555 560
Tyr Leu Asp Glu Lys Arg Leu Leu Ala Gly Asp His Pro Ile Asp Leu		
	565	570 575
Leu Leu Arg Asp Phe Lys Lys Asn Tyr His Met Tyr Val Tyr Pro Val		
	580	585 590
His Trp Gln Phe Ser Glu Leu Asp Gln His Pro Met Asp Arg Val Leu		

595	600	605
Thr His Ser Glu Leu Ala Pro	Leu Arg Ala Ser	Leu Val Pro Met Glu
610	615	620
His Cys Ile Thr Arg Phe Phe	Glu Glu Cys Asp Pro	Asn Lys Asp Lys
625	630	635
His Ile Thr Leu Lys Glu Trp	Gly His Cys Phe Gly	Ile Lys Glu Glu
645	650	655
Asp Ile Asp Glu Asn Leu Leu	Phe	
660		
<210>	3	
<211>	467	
<212>	PRT	
<213>	智人(Homo sapiens)	
<400>	3	
Met Phe Ser Leu Lys Thr Leu	Pro Phe Leu Leu Leu Leu	His Val Gln
1	5	10
Ile Ser Lys Ala Phe Pro Val	Ser Ser Lys Glu Lys Asn	Thr Lys Thr
20	25	30
Val Gln Asp Tyr Leu Glu Lys	Phe Tyr Gln Leu Pro Ser	Asn Gln Tyr
35	40	45
Gln Ser Thr Arg Lys Asn Gly	Thr Asn Val Ile Val Glu	Lys Leu Lys
50	55	60
Glu Met Gln Arg Phe Phe Gly	Leu Asn Val Thr Gly Lys	Pro Asn Glu
65	70	75
Glu Thr Leu Asp Met Met Lys	Lys Pro Arg Cys Gly Val	Pro Asp Ser
85	90	95
Gly Gly Phe Met Leu Thr Pro	Gly Asn Pro Lys Trp Glu	Arg Thr Asn
100	105	110
Leu Thr Tyr Arg Ile Arg Asn	Tyr Thr Pro Gln Leu Ser	Glu Ala Glu
115	120	125
Val Glu Arg Ala Ile Lys Asp	Ala Phe Glu Leu Trp Ser	Val Ala Ser
130	135	140
Pro Leu Ile Phe Thr Arg Ile	Ser Gln Gly Glu Ala Asp	Ile Asn Ile
145	150	155
Ala Phe Tyr Gln Arg Asp His	Gly Asp Asn Ser Pro Phe	Asp Gly Pro
165	170	175
Asn Gly Ile Leu Ala His Ala	Phe Gln Pro Gly Gln Gly	Ile Gly Gly
180	185	190
Asp Ala His Phe Asp Ala Glu	Glu Thr Trp Thr Asn Thr	Ser Ala Asn

195	200	205
Tyr Asn Leu Phe Leu Val Ala Ala His Glu Phe Gly His Ser Leu Gly		
210	215	220
Leu Ala His Ser Ser Asp Pro Gly Ala Leu Met Tyr Pro Asn Tyr Ala		
225	230	235
Phe Arg Glu Thr Ser Asn Tyr Ser Leu Pro Gln Asp Asp Ile Asp Gly		
245	250	255
Ile Gln Ala Ile Tyr Gly Leu Ser Ser Asn Pro Ile Gln Pro Thr Gly		
260	265	270
Pro Ser Thr Pro Lys Pro Cys Asp Pro Ser Leu Thr Phe Asp Ala Ile		
275	280	285
Thr Thr Leu Arg Gly Glu Ile Leu Phe Phe Lys Asp Arg Tyr Phe Trp		
290	295	300
Arg Arg His Pro Gln Leu Gln Arg Val Glu Met Asn Phe Ile Ser Leu		
305	310	315
Phe Trp Pro Ser Leu Pro Thr Gly Ile Gln Ala Ala Tyr Glu Asp Phe		
325	330	335
Asp Arg Asp Leu Ile Phe Leu Phe Lys Gly Asn Gln Tyr Trp Ala Leu		
340	345	350
Ser Gly Tyr Asp Ile Leu Gln Gly Tyr Pro Lys Asp Ile Ser Asn Tyr		
355	360	365
Gly Phe Pro Ser Ser Val Gln Ala Ile Asp Ala Ala Val Phe Tyr Arg		
370	375	380
Ser Lys Thr Tyr Phe Phe Val Asn Asp Gln Phe Trp Arg Tyr Asp Asn		
385	390	395
Gln Arg Gln Phe Met Glu Pro Gly Tyr Pro Lys Ser Ile Ser Gly Ala		
405	410	415
Phe Pro Gly Ile Glu Ser Lys Val Asp Ala Val Phe Gln Gln Glu His		
420	425	430
Phe Phe His Val Phe Ser Gly Pro Arg Tyr Tyr Ala Phe Asp Leu Ile		
435	440	445
Ala Gln Arg Val Thr Arg Val Ala Arg Gly Asn Lys Trp Leu Asn Cys		
450	455	460
Arg Tyr Gly		
465		
<210>	4	
<211>	303	
<212>	PRT	
<213>	智人(Homo sapiens)	

<400> 4
 Met Ala Thr Ser Arg Tyr Glu Pro Val Ala Glu Ile Gly Val Gly Ala
 1 5 10 15
 Tyr Gly Thr Val Tyr Lys Ala Arg Asp Pro His Ser Gly His Phe Val
 20 25 30
 Ala Leu Lys Ser Val Arg Val Pro Asn Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly
 35 40 45
 Leu Pro Ile Ser Thr Val Arg Glu Val Ala Leu Leu Arg Arg Leu Glu
 50 55 60
 Ala Phe Glu His Pro Asn Val Val Arg Leu Met Asp Val Cys Ala Thr
 65 70 75 80
 Ser Arg Thr Asp Arg Glu Ile Lys Val Thr Leu Val Phe Glu His Val
 85 90 95
 Asp Gln Asp Leu Arg Thr Tyr Leu Asp Lys Ala Pro Pro Pro Gly Leu
 100 105 110
 Pro Ala Glu Thr Ile Lys Asp Leu Met Arg Gln Phe Leu Arg Gly Leu
 115 120 125
 Asp Phe Leu His Ala Asn Cys Ile Val His Arg Asp Leu Lys Pro Glu
 130 135 140
 Asn Ile Leu Val Thr Ser Gly Gly Thr Val Lys Leu Ala Asp Phe Gly
 145 150 155 160
 Leu Ala Arg Ile Tyr Ser Tyr Gln Met Ala Leu Thr Pro Val Val Val
 165 170 175
 Thr Leu Trp Tyr Arg Ala Pro Glu Val Leu Leu Gln Ser Thr Tyr Ala
 180 185 190
 Thr Pro Val Asp Met Trp Ser Val Gly Cys Ile Phe Ala Glu Met Phe
 195 200 205
 Arg Arg Lys Pro Leu Phe Cys Gly Asn Ser Glu Ala Asp Gln Leu Gly
 210 215 220
 Lys Ile Phe Asp Leu Ile Gly Leu Pro Pro Glu Asp Asp Trp Pro Arg
 225 230 235 240
 Asp Val Ser Leu Pro Arg Gly Ala Phe Pro Pro Arg Gly Pro Arg Pro
 245 250 255
 Val Gln Ser Val Val Pro Glu Met Glu Glu Ser Gly Ala Gln Leu Leu
 260 265 270
 Leu Glu Met Leu Thr Phe Asn Pro His Lys Arg Ile Ser Ala Phe Arg
 275 280 285
 Ala Leu Gln His Ser Tyr Leu His Lys Asp Glu Gly Asn Pro Glu
 290 295 300

<210> 5
 <211> 968
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 5
 Met Ala Phe Ala Asn Phe Arg Arg Ile Leu Arg Leu Ser Thr Phe Glu
 1 5 10 15
 Lys Arg Lys Ser Arg Glu Tyr Glu His Val Arg Arg Asp Leu Asp Pro
 20 25 30
 Asn Glu Val Trp Glu Ile Val Gly Glu Leu Gly Asp Gly Ala Phe Gly
 35 40 45
 Lys Val Tyr Lys Ala Lys Asn Lys Glu Thr Gly Ala Leu Ala Ala Ala
 50 55 60
 Lys Val Ile Glu Thr Lys Ser Glu Glu Glu Leu Glu Asp Tyr Ile Val
 65 70 75 80
 Glu Ile Glu Ile Leu Ala Thr Cys Asp His Pro Tyr Ile Val Lys Leu
 85 90 95
 Leu Gly Ala Tyr Tyr His Asp Gly Lys Leu Trp Ile Met Ile Glu Phe
 100 105 110
 Cys Pro Gly Gly Ala Val Asp Ala Ile Met Leu Glu Leu Asp Arg Gly
 115 120 125
 Leu Thr Glu Pro Gln Ile Gln Val Val Cys Arg Gln Met Leu Glu Ala
 130 135 140
 Leu Asn Phe Leu His Ser Lys Arg Ile Ile His Arg Asp Leu Lys Ala
 145 150 155 160
 Gly Asn Val Leu Met Thr Leu Glu Gly Asp Ile Arg Leu Ala Asp Phe
 165 170 175
 Gly Val Ser Ala Lys Asn Leu Lys Thr Leu Gln Lys Arg Asp Ser Phe
 180 185 190
 Ile Gly Thr Pro Tyr Trp Met Ala Pro Glu Val Val Met Cys Glu Thr
 195 200 205
 Met Lys Asp Thr Pro Tyr Asp Tyr Lys Ala Asp Ile Trp Ser Leu Gly
 210 215 220
 Ile Thr Leu Ile Glu Met Ala Gln Ile Glu Pro Pro His His Glu Leu
 225 230 235 240
 Asn Pro Met Arg Val Leu Leu Lys Ile Ala Lys Ser Asp Pro Pro Thr
 245 250 255
 Leu Leu Thr Pro Ser Lys Trp Ser Val Glu Phe Arg Asp Phe Leu Lys
 260 265 270

Ile	Ala	Leu	Asp	Lys	Asn	Pro	Glu	Thr	Arg	Pro	Ser	Ala	Ala	Gln	Leu
275							280					285			
Leu	Glu	His	Pro	Phe	Val	Ser	Ser	Ile	Thr	Ser	Asn	Lys	Ala	Leu	Arg
290						295					300				
Glu	Leu	Val	Ala	Glu	Ala	Lys	Ala	Glu	Val	Met	Glu	Glu	Ile	Glu	Asp
305					310					315					320
Gly	Arg	Asp	Glu	Gly	Glu	Glu	Glu	Asp	Ala	Val	Asp	Ala	Ala	Ser	Thr
				325					330					335	
Leu	Glu	Asn	His	Thr	Gln	Asn	Ser	Ser	Glu	Val	Ser	Pro	Pro	Ser	Leu
			340					345					350		
Asn	Ala	Asp	Lys	Pro	Leu	Glu	Glu	Ser	Pro	Ser	Thr	Pro	Leu	Ala	Pro
		355					360					365			
Ser	Gln	Ser	Gln	Asp	Ser	Val	Asn	Glu	Pro	Cys	Ser	Gln	Pro	Ser	Gly
370						375					380				
Asp	Arg	Ser	Leu	Gln	Thr	Thr	Ser	Pro	Pro	Val	Val	Ala	Pro	Gly	Asn
385					390					395					400
Glu	Asn	Gly	Leu	Ala	Val	Pro	Val	Pro	Leu	Arg	Lys	Ser	Arg	Pro	Val
				405					410					415	
Ser	Met	Asp	Ala	Arg	Ile	Gln	Val	Ala	Gln	Glu	Lys	Gln	Val	Ala	Glu
			420					425					430		
Gln	Gly	Gly	Asp	Leu	Ser	Pro	Ala	Ala	Asn	Arg	Ser	Gln	Lys	Ala	Ser
		435					440					445			
Gln	Ser	Arg	Pro	Asn	Ser	Ser	Ala	Leu	Glu	Thr	Leu	Gly	Gly	Glu	Lys
450						455					460				
Leu	Ala	Asn	Gly	Ser	Leu	Glu	Pro	Pro	Ala	Gln	Ala	Ala	Pro	Gly	Pro
465					470					475					480
Ser	Lys	Arg	Asp	Ser	Asp	Cys	Ser	Ser	Leu	Cys	Thr	Ser	Glu	Ser	Met
				485					490				495		
Asp	Tyr	Gly	Thr	Asn	Leu	Ser	Thr	Asp	Leu	Ser	Leu	Asn	Lys	Glu	Met
			500					505					510		
Gly	Ser	Leu	Ser	Ile	Lys	Asp	Pro	Lys	Leu	Tyr	Lys	Lys	Thr	Leu	Lys
		515					520					525			
Arg	Thr	Arg	Lys	Phe	Val	Val	Asp	Gly	Val	Glu	Val	Ser	Ile	Thr	Thr
			530				535					540			
Ser	Lys	Ile	Ile	Ser	Glu	Asp	Glu	Lys	Lys	Asp	Glu	Glu	Met	Arg	Phe
545					550					555					560
Leu	Arg	Arg	Gln	Glu	Leu	Arg	Glu	Leu	Arg	Leu	Leu	Gln	Lys	Glu	Glu
				565					570					575	
His	Arg	Asn	Gln	Thr	Gln	Leu	Ser	Asn	Lys	His	Glu	Leu	Gln	Leu	Glu

580	585	590
Gln Met His Lys Arg Phe Glu	Gln Glu Ile Asn Ala Lys	Lys Lys Lys Phe
595	600	605
Phe Asp Thr Glu Leu Glu Asn	Leu Glu Arg Gln Gln Lys	Gln Gln Val
610	615	620
Glu Lys Met Glu Gln Asp His	Ala Val Arg Arg Arg Glu	Glu Ala Arg
625	630	635
Arg Ile Arg Leu Glu Gln Asp	Arg Asp Tyr Thr Arg Phe	Gln Glu Gln
645	650	655
Leu Lys Leu Met Lys Lys Glu	Val Lys Asn Glu Val Glu	Lys Leu Pro
660	665	670
Arg Gln Gln Arg Lys Glu Ser	Met Lys Gln Lys Met Glu	Glu His Thr
675	680	685
Gln Lys Lys Gln Leu Leu Asp	Arg Asp Phe Val Ala Lys	Gln Lys Glu
690	695	700
Asp Leu Glu Leu Ala Met Lys	Arg Leu Thr Thr Asp Asn	Arg Arg Glu
705	710	715
Ile Cys Asp Lys Glu Arg Glu	Cys Leu Met Lys Lys Gln	Glu Leu Leu
725	730	735
Arg Asp Arg Glu Ala Ala Leu	Trp Glu Met Glu Glu His	Gln Leu Gln
740	745	750
Glu Arg His Gln Leu Val Lys	Gln Gln Leu Lys Asp Gln	Tyr Phe Leu
755	760	765
Gln Arg His Glu Leu Leu Arg	Lys His Glu Lys Glu Arg	Glu Gln Met
770	775	780
Gln Arg Tyr Asn Gln Arg Met	Ile Glu Gln Leu Lys Val	Arg Gln Gln
785	790	795
Gln Glu Lys Ala Arg Leu Pro	Lys Ile Gln Arg Ser Glu	Gly Lys Thr
805	810	815
Arg Met Ala Met Tyr Lys Lys	Ser Leu His Ile Asn Gly	Gly Gly Ser
820	825	830
Ala Ala Glu Gln Arg Glu Lys	Ile Lys Gln Phe Ser Gln	Gln Glu Glu
835	840	845
Lys Arg Gln Lys Ser Glu Arg	Leu Gln Gln Gln Gln Lys	His Glu Asn
850	855	860
Gln Met Arg Asp Met Leu Ala	Gln Cys Glu Ser Asn Met	Ser Glu Leu
865	870	875
Gln Gln Leu Gln Asn Glu Lys	Cys His Leu Leu Val Glu	His Glu Thr
885	890	895

Gln Lys Leu Lys Ala Leu Asp Glu Ser His Asn Gln Asn Leu Lys Glu
 900 905 910
 Trp Arg Asp Lys Leu Arg Pro Arg Lys Lys Ala Leu Glu Glu Asp Leu
 915 920 925
 Asn Gln Lys Lys Arg Glu Gln Glu Met Phe Phe Lys Leu Ser Glu Glu
 930 935 940
 Ala Glu Cys Pro Asn Pro Ser Thr Pro Ser Lys Ala Ala Lys Phe Phe
 945 950 955 960
 Pro Tyr Ser Ser Ala Asp Ala Ser
 965

<210> 6
 <211> 292
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 6

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

Ala Glu Leu Ala Asn Ala Gly Arg Pro Leu Phe Pro Gly Asn Asp Val		
195	200	205
Asp Asp Gln Leu Lys Arg Ile Phe Arg Leu Leu Gly Thr Pro Thr Glu		
210	215	220
Glu Gln Trp Pro Ser Met Thr Lys Leu Pro Asp Tyr Lys Pro Tyr Pro		
225	230	235
Met Tyr Pro Ala Thr Thr Ser Leu Val Asn Val Val Pro Lys Leu Asn		
	245	250
Ala Thr Gly Arg Asp Leu Leu Gln Asn Leu Leu Lys Cys Asn Pro Val		
	260	265
Gln Arg Ile Ser Ala Glu Glu Ala Leu Gln His Pro Tyr Phe Ser Asp		
	275	280
Phe Cys Pro Pro		285
290		
<210>	7	
<211>	393	
<212>	PRT	
<213>	智人(Homo sapiens)	
<400>	7	
Met Pro Lys Lys Lys Pro Thr Pro Ile Gln Leu Asn Pro Ala Pro Asp		
1	5	10
Gly Ser Ala Val Asn Gly Thr Ser Ser Ala Glu Thr Asn Leu Glu Ala		
	20	25
Leu Gln Lys Lys Leu Glu Glu Leu Glu Leu Asp Glu Gln Gln Arg Lys		
	35	40
Arg Leu Glu Ala Phe Leu Thr Gln Lys Gln Lys Val Gly Glu Leu Lys		
	50	55
Asp Asp Asp Phe Glu Lys Ile Ser Glu Leu Gly Ala Gly Asn Gly Gly		
65	70	75
Val Val Phe Lys Val Ser His Lys Pro Ser Gly Leu Val Met Ala Arg		
	85	90
Lys Leu Ile His Leu Glu Ile Lys Pro Ala Ile Arg Asn Gln Ile Ile		
	100	105
Arg Glu Leu Gln Val Leu His Glu Cys Asn Ser Pro Tyr Ile Val Gly		
	115	120
Phe Tyr Gly Ala Phe Tyr Ser Asp Gly Glu Ile Ser Ile Cys Met Glu		
	130	135
His Met Asp Gly Gly Ser Leu Asp Gln Val Leu Lys Lys Ala Gly Arg		
145	150	155
		160

Ile Pro Glu Gln Ile Leu Gly Lys Val Ser Ile Ala Val Ile Lys Gly		
	165	170 175
Leu Thr Tyr Leu Arg Glu Lys His Lys Ile Met His Arg Asp Val Lys		
	180	185 190
Pro Ser Asn Ile Leu Val Asn Ser Arg Gly Glu Ile Lys Leu Cys Asp		
	195	200 205
Phe Gly Val Ser Gly Gln Leu Ile Asp Ser Met Ala Asn Ser Phe Val		
	210	215 220
Gly Thr Arg Ser Tyr Met Ser Pro Glu Arg Leu Gln Gly Thr His Tyr		
225	230	235 240
Ser Val Gln Ser Asp Ile Trp Ser Met Gly Leu Ser Leu Val Glu Met		
	245	250 255
Ala Val Gly Arg Tyr Pro Ile Pro Pro Pro Asp Ala Lys Glu Leu Glu		
	260	265 270
Leu Met Phe Gly Cys Gln Val Glu Gly Asp Ala Ala Glu Thr Pro Pro		
	275	280 285
Arg Pro Arg Thr Pro Gly Arg Pro Leu Ser Ser Tyr Gly Met Asp Ser		
	290	295 300
Arg Pro Pro Met Ala Ile Phe Glu Leu Leu Asp Tyr Ile Val Asn Glu		
305	310	315 320
Pro Pro Pro Lys Leu Pro Ser Gly Val Phe Ser Leu Glu Phe Gln Asp		
	325	330 335
Phe Val Asn Lys Cys Leu Ile Lys Asn Pro Ala Glu Arg Ala Asp Leu		
	340	345 350
Lys Gln Leu Met Val His Ala Phe Ile Lys Arg Ser Asp Ala Glu Glu		
	355	360 365
Val Asp Phe Ala Gly Trp Leu Cys Ser Thr Ile Gly Leu Asn Gln Pro		
	370	375 380
Ser Thr Pro Thr His Ala Ala Gly Val		
385	390	
<210>	8	
<211>	1907	
<212>	PRT	
<213>	智人(Homo sapiens)	
<400>	8	
Met Glu Val Ala Trp Leu Val Tyr Val Leu Gly Gln Gln Pro Leu Ala		
1	5	10 15
Arg Gln Gly Glu Gly Gln Ser Arg Leu Val Pro Gly Arg Gly Leu Val		
	20	25 30

Leu Trp Leu Pro Gly Leu Pro Arg Ser Ser Pro Ser Trp Pro Ala Val		
35	40	45
Asp Leu Ala Pro Leu Ala Pro Ala Arg Pro Arg Gly Pro Leu Ile Cys		
50	55	60
His Thr Gly His Glu Gln Ala Gly Arg Glu Pro Gly Pro Gly Ser Ser		
65	70	75
Thr Lys Gly Pro Val Leu His Asp Gln Asp Thr Arg Cys Ala Phe Leu		
85	90	95
Pro Arg Pro Pro Gly Pro Leu Gln Thr Arg Arg Tyr Cys Arg His Gln		
100	105	110
Gly Arg Gln Gly Ser Gly Leu Gly Ala Gly Pro Gly Ala Gly Thr Trp		
115	120	125
Ala Pro Ala Pro Pro Gly Val Ser Lys Pro Arg Cys Pro Gly Arg Ala		
130	135	140
Arg Pro Gly Glu Gly Gln Gln Gln Val Thr Thr Ala Arg Pro Pro Ala		
145	150	155
Ile Asn Arg Gly Ala Arg Gln Pro Arg Ala Gly Ala Ala Ala Ala Gly		
165	170	175
Arg Gly Pro Gly Ala Gly Ala Trp Arg Thr Gly Glu Ala Ala Ala Ser		
180	185	190
Ala Gly Pro Ala Val Gly Glu Gly Gly Ala Met Gly Ser Arg Arg Ala		
195	200	205
Pro Ser Arg Gly Trp Gly Ala Gly Gly Arg Ser Gly Ala Gly Gly Asp		
210	215	220
Gly Glu Asp Asp Gly Pro Val Trp Ile Pro Ser Pro Ala Ser Arg Ser		
225	230	235
Tyr Leu Leu Ser Val Arg Pro Glu Thr Ser Leu Ser Ser Asn Arg Leu		
245	250	255
Ser His Pro Ser Ser Gly Arg Ser Thr Phe Cys Ser Ile Ile Ala Gln		
260	265	270
Leu Thr Glu Glu Thr Gln Pro Leu Phe Glu Thr Thr Leu Lys Ser Arg		
275	280	285
Ser Val Ser Glu Asp Ser Asp Val Arg Phe Thr Cys Ile Val Thr Gly		
290	295	300
Tyr Pro Glu Pro Glu Val Thr Trp Tyr Lys Asp Asp Thr Glu Leu Asp		
305	310	315
Arg Tyr Cys Gly Leu Pro Lys Tyr Glu Ile Thr His Gln Gly Asn Arg		
325	330	335
His Thr Leu Gln Leu Tyr Arg Cys Arg Glu Glu Asp Ala Ala Ile Tyr		

340	345	350
Gln Ala Ser Ala Gln Asn Ser Lys Gly Ile Val Ser Cys Ser Gly Val		
355	360	365
Leu Glu Val Gly Thr Met Thr Glu Tyr Lys Ile His Gln Arg Trp Phe		
370	375	380
Ala Lys Leu Lys Arg Lys Ala Ala Ala Lys Leu Arg Glu Ile Glu Gln		
385	390	395
Ser Trp Lys His Glu Lys Ala Val Pro Gly Glu Val Asp Thr Leu Arg		
405	410	415
Lys Leu Ser Pro Asp Arg Phe Gln Arg Lys Arg Arg Leu Ser Gly Ala		
420	425	430
Gln Ala Pro Gly Pro Ser Val Pro Thr Arg Glu Pro Glu Gly Gly Thr		
435	440	445
Leu Ala Ala Trp Gln Glu Gly Glu Thr Glu Thr Ala Gln His Ser Gly		
450	455	460
Leu Gly Leu Ile Asn Ser Phe Ala Ser Gly Glu Val Thr Thr Asn Gly		
465	470	475
Glu Ala Ala Pro Glu Asn Gly Glu Asp Gly Glu His Gly Leu Leu Thr		
485	490	495
Tyr Ile Cys Asp Ala Met Glu Leu Gly Pro Gln Arg Ala Leu Lys Glu		
500	505	510
Glu Ser Gly Ala Lys Lys Lys Lys Lys Asp Glu Glu Ser Lys Gln Gly		
515	520	525
Leu Arg Lys Pro Glu Leu Glu Lys Ala Ala Gln Ser Arg Arg Ser Ser		
530	535	540
Glu Asn Cys Ile Pro Ser Ser Asp Glu Pro Asp Ser Cys Gly Thr Gln		
545	550	555
Gly Pro Val Gly Val Glu Gln Val Gln Thr Gln Pro Arg Gly Arg Ala		
565	570	575
Ala Arg Gly Pro Gly Ser Ser Gly Thr Asp Ser Thr Arg Lys Pro Ala		
580	585	590
Ser Ala Val Gly Thr Pro Asp Lys Ala Gln Lys Ala Pro Gly Pro Gly		
595	600	605
Pro Gly Gln Glu Val Tyr Phe Ser Leu Lys Asp Met Tyr Leu Glu Asn		
610	615	620
Thr Gln Ala Val Arg Pro Leu Gly Glu Glu Gly Pro Gln Thr Leu Ser		
625	630	635
Val Arg Ala Pro Gly Glu Ser Pro Lys Gly Lys Ala Pro Leu Arg Ala		
645	650	655

Arg Ser Glu Gly Val Pro Gly Ala Pro Gly Gln Pro Thr His Ser Leu		
660	665	670
Thr Pro Gln Pro Thr Arg Pro Phe Asn Arg Lys Arg Phe Ala Pro Pro		
675	680	685
Lys Pro Lys Gly Glu Ala Thr Thr Asp Ser Lys Pro Ile Ser Ser Leu		
690	695	700
Ser Gln Ala Pro Glu Cys Gly Ala Gln Ser Leu Gly Lys Ala Pro Pro		
705	710	715
Gln Ala Ser Val Gln Val Pro Thr Pro Pro Ala Arg Arg Arg His Gly		
725	730	735
Thr Arg Asp Ser Thr Leu Gln Gly Gln Ala Gly His Arg Thr Pro Gly		
740	745	750
Glu Val Leu Glu Cys Gln Thr Thr Thr Ala Pro Thr Met Ser Ala Ser		
755	760	765
Ser Ser Ser Asp Val Ala Ser Ile Gly Val Ser Thr Ser Gly Ser Gln		
770	775	780
Gly Ile Ile Glu Pro Met Asp Met Glu Thr Gln Glu Asp Gly Arg Thr		
785	790	795
Ser Ala Asn Gln Arg Thr Gly Ser Lys Lys Asn Val Gln Ala Asp Gly		
805	810	815
Lys Ile Gln Val Asp Gly Arg Thr Arg Gly Asp Gly Thr Gln Thr Ala		
820	825	830
Gln Arg Thr Arg Ala Asp Arg Lys Thr Gln Val Asp Ala Gly Thr Gln		
835	840	845
Glu Ser Lys Arg Pro Gln Ser Asp Arg Ser Ala Gln Lys Gly Met Met		
850	855	860
Thr Gln Gly Arg Ala Glu Thr Gln Leu Glu Thr Thr Gln Ala Gly Glu		
865	870	875
Lys Ile Gln Glu Asp Arg Lys Ala Gln Ala Asp Lys Gly Thr Gln Glu		
885	890	895
Asp Arg Arg Met Gln Gly Glu Lys Gly Met Gln Gly Glu Lys Gly Thr		
900	905	910
Gln Ser Glu Gly Ser Ala Pro Thr Ala Met Glu Gly Gln Ser Glu Gln		
915	920	925
Glu Val Ala Thr Ser Leu Gly Pro Pro Ser Arg Thr Pro Lys Leu Pro		
930	935	940
Pro Thr Ala Gly Pro Arg Ala Pro Leu Asn Ile Glu Cys Phe Val Gln		
945	950	955
Thr Pro Glu Gly Ser Cys Phe Pro Lys Lys Pro Gly Cys Leu Pro Arg		

				965				970				975			
Ser	Glu	Glu	Ala	Val	Val	Thr	Ala	Ser	Arg	Asn	His	Glu	Gln	Thr	Val
				980				985				990			
Leu	Gly	Pro	Leu	Ser	Gly	Asn	Leu	Met	Leu	Pro	Ala	Gln	Pro	Pro	His
				995				1000				1005			
Glu	Gly	Ser	Val	Glu	Gln	Val	Gly	Gly	Glu	Arg	Cys	Arg	Gly	Pro	Gln
				1010				1015				1020			
Ser	Ser	Gly	Pro	Val	Glu	Ala	Lys	Gln	Glu	Asp	Ser	Pro	Phe	Gln	Cys
1025				1030				1035				1040			
Pro	Lys	Glu	Glu	Arg	Pro	Gly	Gly	Val	Pro	Cys	Met	Asp	Gln	Gly	Gly
				1045				1050				1055			
Cys	Pro	Leu	Ala	Gly	Leu	Ser	Gln	Glu	Val	Pro	Thr	Met	Pro	Ser	Leu
				1060				1065				1070			
Pro	Gly	Thr	Gly	Leu	Thr	Ala	Ser	Pro	Lys	Ala	Gly	Pro	Cys	Ser	Thr
				1075				1080				1085			
Pro	Thr	Ser	Gln	His	Gly	Ser	Thr	Ala	Thr	Phe	Leu	Pro	Ser	Glu	Asp
1090				1095				1100							
Gln	Val	Leu	Met	Ser	Ser	Ala	Pro	Thr	Leu	His	Leu	Gly	Leu	Gly	Thr
1105				1110				1115				1120			
Pro	Thr	Gln	Ser	His	Pro	Pro	Glu	Thr	Met	Ala	Thr	Ser	Ser	Glu	Gly
				1125				1130				1135			
Ala	Cys	Ala	Gln	Val	Pro	Asp	Val	Glu	Gly	Arg	Thr	Pro	Gly	Pro	Arg
				1140				1145				1150			
Ser	Cys	Asp	Pro	Gly	Leu	Ile	Asp	Ser	Leu	Lys	Asn	Tyr	Leu	Leu	Leu
1155				1160				1165							
Leu	Leu	Lys	Leu	Ser	Ser	Thr	Glu	Thr	Ser	Gly	Ala	Gly	Gly	Glu	Ser
1170				1175				1180							
Gln	Val	Gly	Ala	Ala	Thr	Gly	Gly	Leu	Val	Pro	Ser	Ala	Thr	Leu	Thr
1185				1190				1195				1200			
Pro	Thr	Val	Glu	Val	Ala	Gly	Leu	Ser	Pro	Arg	Thr	Ser	Arg	Arg	Ile
				1205				1210				1215			
Leu	Glu	Arg	Val	Glu	Asn	Asn	His	Leu	Val	Gln	Ser	Ala	Gln	Thr	Leu
				1220				1225				1230			
Leu	Leu	Ser	Pro	Cys	Thr	Ser	Arg	Arg	Leu	Thr	Gly	Leu	Leu	Asp	Arg
1235				1240				1245							
Glu	Val	Gln	Ala	Gly	Arg	Gln	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Arg	Gly	Ser	Trp
1250				1255				1260							
Gly	Pro	Gly	Pro	Ser	Ser	Leu	Thr	Val	Pro	Ala	Ile	Val	Val	Asp	Glu
1265				1270				1275				1280			

Glu Asp Pro Gly Leu Ala Ser Glu Gly Ala Ser Glu Gly Glu Gly Glu		
1285	1290	1295
Val Ser Pro Glu Gly Pro Gly Leu Leu Gly Ala Ser Gln Glu Ser Ser		
1300	1305	1310
Met Ala Gly Arg Leu Gly Glu Ala Gly Gly Gln Ala Ala Pro Gly Gln		
1315	1320	1325
Gly Pro Ser Ala Glu Ser Ile Ala Gln Glu Pro Ser Gln Glu Glu Lys		
1330	1335	1340
Phe Pro Gly Glu Ala Leu Thr Gly Leu Pro Ala Ala Thr Pro Glu Glu		
1345	1350	1355
Leu Ala Leu Gly Ala Arg Arg Lys Arg Phe Leu Pro Lys Val Arg Ala		
1365	1370	1375
Ala Gly Asp Gly Glu Ala Thr Thr Pro Glu Glu Arg Glu Ser Pro Thr		
1380	1385	1390
Val Ser Pro Arg Gly Pro Arg Lys Ser Leu Val Pro Gly Ser Pro Gly		
1395	1400	1405
Thr Pro Gly Arg Glu Arg Arg Ser Pro Thr Gln Gly Arg Lys Ala Ser		
1410	1415	1420
Met Leu Glu Val Pro Arg Ala Glu Glu Glu Leu Ala Ala Gly Asp Leu		
1425	1430	1435
Gly Pro Ser Pro Lys Ala Gly Gly Leu Asp Thr Glu Val Ala Leu Asp		
1445	1450	1455
Glu Gly Lys Gln Glu Thr Leu Ala Lys Pro Arg Lys Ala Lys Asp Leu		
1460	1465	1470
Leu Lys Ala Pro Gln Val Ile Arg Lys Ile Arg Val Glu Gln Phe Pro		
1475	1480	1485
Asp Ala Ser Gly Ser Leu Lys Leu Trp Cys Gln Phe Phe Asn Ile Leu		
1490	1495	1500
Ser Asp Ser Val Leu Thr Trp Ala Lys Asp Gln Arg Pro Val Gly Glu		
1505	1510	1515
Val Gly Arg Ser Ala Gly Asp Glu Gly Pro Ala Ala Leu Ala Ile Val		
1525	1530	1535
Gln Ala Ser Pro Val Asp Cys Gly Val Tyr Arg Cys Thr Ile His Asn		
1540	1545	1550
Glu His Gly Ser Ala Ser Thr Asp Phe Cys Leu Ser Pro Glu Val Leu		
1555	1560	1565
Ser Gly Phe Ile Ser Arg Glu Glu Gly Glu Val Gly Glu Glu Ile Glu		
1570	1575	1580
Met Thr Pro Met Val Phe Ala Lys Gly Leu Ala Asp Ser Gly Cys Trp		

1585	1590	1595	1600
Gly Asp Lys Leu Phe Gly Arg Leu Val Ser Glu Glu Leu Arg Gly Gly			
	1605	1610	1615
Gly Tyr Gly Cys Gly Leu Arg Lys Ala Ser Gln Ala Lys Val Ile Tyr			
	1620	1625	1630
Gly Leu Glu Pro Ile Phe Glu Ser Gly Arg Thr Cys Ile Ile Lys Val			
	1635	1640	1645
Ser Ser Leu Leu Val Phe Gly Pro Ser Ser Glu Thr Ser Leu Val Gly			
	1650	1655	1660
Arg Asn Tyr Asp Val Thr Ile Gln Gly Cys Lys Ile Gln Asn Met Ser			
1665	1670	1675	1680
Arg Glu Tyr Cys Lys Ile Phe Ala Ala Glu Ala Arg Ala Ala Pro Gly			
	1685	1690	1695
Phe Gly Glu Val Pro Glu Ile Ile Pro Leu Tyr Leu Ile Tyr Arg Pro			
	1700	1705	1710
Ala Asn Asn Ile Pro Tyr Ala Thr Leu Glu Glu Asp Leu Gly Lys Pro			
	1715	1720	1725
Leu Glu Ser Tyr Cys Ser Arg Glu Trp Gly Cys Ala Glu Ala Pro Thr			
	1730	1735	1740
Ala Ser Gly Ser Ser Glu Ala Met Gln Lys Cys Gln Thr Phe Gln His			
1745	1750	1755	1760
Trp Leu Tyr Gln Trp Thr Asn Gly Ser Phe Leu Val Thr Asp Leu Ala			
	1765	1770	1775
Gly Val Asp Trp Lys Met Thr Asp Val Gln Ile Ala Thr Lys Leu Arg			
	1780	1785	1790
Gly Tyr Gln Gly Leu Lys Glu Ser Cys Phe Pro Ala Leu Leu Asp Arg			
	1795	1800	1805
Phe Ala Ser Ser His Gln Cys Asn Ala Tyr Cys Glu Leu Leu Gly Leu			
	1810	1815	1820
Thr Pro Leu Lys Gly Pro Glu Ala Ala His Pro Gln Ala Lys Ala Lys			
1825	1830	1835	1840
Gly Ser Lys Ser Pro Ser Ala Gly Arg Lys Gly Ser Gln Leu Ser Pro			
	1845	1850	1855
Gln Pro Gln Lys Lys Gly Leu Pro Ser Pro Gln Gly Thr Arg Lys Ser			
	1860	1865	1870
Ala Pro Ser Ser Lys Ala Thr Pro Gln Ala Ser Glu Pro Val Thr Thr			
	1875	1880	1885
Gln Leu Leu Gly Gln Pro Pro Thr Gln Glu Glu Gly Ser Lys Ala Gln			
	1890	1895	1900

Gly Met Arg

1905

<210> 9

<211> 521

<212> PRT

<213> 智人(Homo sapiens)

<400> 9

Met Gly Glu Val Glu Ala Pro Gly Arg Leu Trp Leu Glu Ser Pro Pro

1 5 10 15

Gly Gly Ala Pro Pro Ile Phe Leu Pro Ser Asp Gly Gln Ala Leu Val

20 25 30

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

35 40 45

Thr Gln Val Glu Leu Val Ala Asp Pro Glu Thr Arg Thr Val Ala Val

50 55 60

Lys Gln Leu Gly Val Asn Pro Ser Thr Thr Gly Thr Gln Glu Leu Lys

65 70 75 80

Pro Gly Leu Glu Gly Ser Leu Gly Val Gly Asp Thr Leu Tyr Leu Val

85 90 95

Asn Gly Leu His Pro Leu Thr Leu Arg Trp Glu Glu Thr Arg Thr Pro

100 105 110

Glu Ser Gln Pro Asp Thr Pro Pro Gly Thr Pro Leu Val Ser Gln Asp

115 120 125

Glu Lys Arg Asp Ala Glu Leu Pro Lys Lys Arg Met Arg Lys Ser Asn

130 135 140

Pro Gly Trp Glu Asn Leu Glu Lys Leu Leu Val Phe Thr Ala Ala Gly

145 150 155 160

Val Lys Pro Gln Gly Lys Val Ala Gly Phe Asp Leu Asp Gly Thr Leu

165 170 175

Ile Thr Thr Arg Ser Gly Lys Val Phe Pro Thr Gly Pro Ser Asp Trp

180 185 190

Arg Ile Leu Tyr Pro Glu Ile Pro Arg Lys Leu Arg Glu Leu Glu Ala

195 200 205

Glu Gly Tyr Lys Leu Val Ile Phe Thr Asn Gln Met Ser Ile Gly Arg

210 215 220

Gly Lys Leu Pro Ala Glu Glu Phe Lys Ala Lys Val Glu Ala Val Val

225 230 235 240

Glu Lys Leu Gly Val Pro Phe Gln Val Leu Val Ala Thr His Ala Gly

245 250 255

Leu Tyr Arg Lys Pro Val Thr Gly Met Trp Asp His Leu Gln Glu Gln		
260	265	270
Ala Asn Asp Gly Thr Pro Ile Ser Ile Gly Asp Ser Ile Phe Val Gly		
275	280	285
Asp Ala Ala Gly Arg Pro Ala Asn Trp Ala Pro Gly Arg Lys Lys Lys		
290	295	300
Asp Phe Ser Cys Ala Asp Arg Leu Phe Ala Leu Asn Leu Gly Leu Pro		
305	310	315
Phe Ala Thr Pro Glu Glu Phe Phe Leu Lys Trp Pro Ala Ala Gly Phe		
325	330	335
Glu Leu Pro Ala Phe Asp Pro Arg Thr Val Ser Arg Ser Gly Pro Leu		
340	345	350
Cys Leu Pro Glu Ser Arg Ala Leu Leu Ser Ala Ser Pro Glu Val Val		
355	360	365
Val Ala Val Gly Phe Pro Gly Ala Gly Lys Ser Thr Phe Leu Lys Lys		
370	375	380
His Leu Val Ser Ala Gly Tyr Val His Val Asn Arg Asp Thr Leu Gly		
385	390	395
Ser Trp Gln Arg Cys Val Thr Thr Cys Glu Thr Ala Leu Lys Gln Gly		
405	410	415
Lys Arg Val Ala Ile Asp Asn Thr Asn Pro Asp Ala Ala Ser Arg Ala		
420	425	430
Arg Tyr Val Gln Cys Ala Arg Ala Ala Gly Val Pro Cys Arg Cys Phe		
435	440	445
Leu Phe Thr Ala Thr Leu Glu Gln Ala Arg His Asn Asn Arg Phe Arg		
450	455	460
Glu Met Thr Asp Ser Ser His Ile Pro Val Ser Asp Met Val Met Tyr		
465	470	475
Gly Tyr Arg Lys Gln Phe Glu Ala Pro Thr Leu Ala Glu Gly Phe Ser		
485	490	495
Ala Ile Leu Glu Ile Pro Phe Arg Leu Trp Val Glu Pro Arg Leu Gly		
500	505	510
Arg Leu Tyr Cys Gln Phe Ser Glu Gly		
515	520	
<210>	10	
<211>	406	
<212>	PRT	
<213>	智人(Homo sapiens)	
<400>	10	

Met	Arg	Leu	Phe	Arg	Trp	Leu	Leu	Lys	Gln	Pro	Val	Pro	Lys	Gln	Ile
1				5					10					15	
Glu	Arg	Tyr	Ser	Arg	Phe	Ser	Pro	Ser	Pro	Leu	Ser	Ile	Lys	Gln	Phe
				20				25					30		
Leu	Asp	Phe	Gly	Arg	Asp	Asn	Ala	Cys	Glu	Lys	Thr	Ser	Tyr	Met	Phe
				35			40					45			
Leu	Arg	Lys	Glu	Leu	Pro	Val	Arg	Leu	Ala	Asn	Thr	Met	Arg	Glu	Val
				50			55				60				
Asn	Leu	Leu	Pro	Asp	Asn	Leu	Leu	Asn	Arg	Pro	Ser	Val	Gly	Leu	Val
65				70				75						80	
Gln	Ser	Trp	Tyr	Met	Gln	Ser	Phe	Leu	Glu	Leu	Leu	Glu	Tyr	Glu	Asn
				85				90					95		
Lys	Ser	Pro	Glu	Asp	Pro	Gln	Val	Leu	Asp	Asn	Phe	Leu	Gln	Val	Leu
				100				105					110		
Ile	Lys	Val	Arg	Asn	Arg	His	Asn	Asp	Val	Val	Pro	Thr	Met	Ala	Gln
				115			120						125		
Gly	Val	Ile	Glu	Tyr	Lys	Glu	Lys	Phe	Gly	Phe	Asp	Pro	Phe	Ile	Ser
				130			135				140				
Thr	Asn	Ile	Gln	Tyr	Phe	Leu	Asp	Arg	Phe	Tyr	Thr	Asn	Arg	Ile	Ser
145				150				155						160	
Phe	Arg	Met	Leu	Ile	Asn	Gln	His	Thr	Leu	Leu	Phe	Gly	Gly	Asp	Thr
				165				170					175		
Asn	Pro	Val	His	Pro	Lys	His	Ile	Gly	Ser	Ile	Asp	Pro	Thr	Cys	Asn
				180				185					190		
Val	Ala	Asp	Val	Val	Lys	Asp	Ala	Tyr	Glu	Thr	Ala	Lys	Met	Leu	Cys
				195			200					205			
Glu	Gln	Tyr	Tyr	Leu	Val	Ala	Pro	Glu	Leu	Glu	Val	Glu	Glu	Phe	Asn
				210			215				220				
Ala	Lys	Ala	Pro	Asp	Lys	Pro	Ile	Gln	Val	Val	Tyr	Val	Pro	Ser	His
225				230				235						240	
Leu	Phe	His	Met	Leu	Phe	Glu	Leu	Phe	Lys	Asn	Ser	Met	Arg	Ala	Thr
				245				250					255		
Val	Glu	Leu	Tyr	Glu	Asp	Arg	Lys	Glu	Gly	Tyr	Pro	Ala	Val	Lys	Thr
				260				265					270		
Leu	Val	Thr	Leu	Gly	Lys	Glu	Asp	Leu	Ser	Ile	Lys	Ile	Ser	Asp	Leu
				275			280					285			
Gly	Gly	Gly	Val	Pro	Leu	Arg	Lys	Ile	Asp	Arg	Leu	Phe	Asn	Tyr	Met
				290			295				300				
Tyr	Ser	Thr	Ala	Pro	Arg	Pro	Ser	Leu	Glu	Pro	Thr	Arg	Ala	Ala	Pro

305	310	315	320
Leu Ala Gly Phe Gly Tyr Gly Leu Pro Ile Ser Arg Leu Tyr Ala Arg			
	325	330	335
Tyr Phe Gln Gly Asp Leu Lys Leu Tyr Ser Met Glu Gly Val Gly Thr			
	340	345	350
Asp Ala Val Ile Tyr Leu Lys Ala Leu Ser Ser Glu Ser Phe Glu Arg			
	355	360	365
Leu Pro Val Phe Asn Lys Ser Ala Trp Arg His Tyr Lys Thr Thr Pro			
	370	375	380
Glu Ala Asp Asp Trp Ser Asn Pro Ser Ser Glu Pro Arg Asp Ala Ser			
385	390	395	400
Lys Tyr Lys Ala Lys Gln			
	405		
<210>	11		
<211>	387		
<212>	PRT		
<213>	智人(Homo sapiens)		
<400>	11		
Met Thr Arg Asp Glu Ala Leu Pro Asp Ser His Ser Ala Gln Asp Phe			
1	5	10	15
Tyr Glu Asn Tyr Glu Pro Lys Glu Ile Leu Gly Arg Gly Val Ser Ser			
	20	25	30
Val Val Arg Arg Cys Ile His Lys Pro Thr Ser Gln Glu Tyr Ala Val			
	35	40	45
Lys Val Ile Asp Val Thr Gly Gly Gly Ser Phe Ser Pro Glu Glu Val			
	50	55	60
Arg Glu Leu Arg Glu Ala Thr Leu Lys Glu Val Asp Ile Leu Arg Lys			
65	70	75	80
Val Ser Gly His Pro Asn Ile Ile Gln Leu Lys Asp Thr Tyr Glu Thr			
	85	90	95
Asn Thr Phe Phe Phe Leu Val Phe Asp Leu Met Lys Arg Gly Glu Leu			
	100	105	110
Phe Asp Tyr Leu Thr Glu Lys Val Thr Leu Ser Glu Lys Glu Thr Arg			
	115	120	125
Lys Ile Met Arg Ala Leu Leu Glu Val Ile Cys Thr Leu His Lys Leu			
	130	135	140
Asn Ile Val His Arg Asp Leu Lys Pro Glu Asn Ile Leu Leu Asp Asp			
145	150	155	160
Asn Met Asn Ile Lys Leu Thr Asp Phe Gly Phe Ser Cys Gln Leu Glu			

	165		170		175
Pro Gly Glu Arg Leu Arg Glu Val Cys Gly Thr Pro Ser Tyr Leu Ala					
	180		185		190
Pro Glu Ile Ile Glu Cys Ser Met Asn Glu Asp His Pro Gly Tyr Gly					
	195		200		205
Lys Glu Val Asp Met Trp Ser Thr Gly Val Ile Met Tyr Thr Leu Leu					
	210		215		220
Ala Gly Ser Pro Pro Phe Trp His Arg Lys Gln Met Leu Met Leu Arg					
225		230		235	240
Met Ile Met Ser Gly Asn Tyr Gln Phe Gly Ser Pro Glu Trp Asp Asp					
	245		250		255
Tyr Ser Asp Thr Val Lys Asp Leu Val Ser Arg Phe Leu Val Val Gln					
	260		265		270
Pro Gln Asn Arg Tyr Thr Ala Glu Glu Ala Leu Ala His Pro Phe Phe					
	275		280		285
Gln Gln Tyr Leu Val Glu Glu Val Arg His Phe Ser Pro Arg Gly Lys					
	290		295		300
Phe Lys Val Ile Ala Leu Thr Val Leu Ala Ser Val Arg Ile Tyr Tyr					
305		310		315	320
Gln Tyr Arg Arg Val Lys Pro Val Thr Arg Glu Ile Val Ile Arg Asp					
	325		330		335
Pro Tyr Ala Leu Arg Pro Leu Arg Arg Leu Ile Asp Ala Tyr Ala Phe					
	340		345		350
Arg Ile Tyr Gly His Trp Val Lys Lys Gly Gln Gln Gln Asn Arg Ala					
	355		360		365
Ala Leu Phe Glu Asn Thr Pro Lys Ala Val Leu Leu Ser Leu Ala Glu					
	370		375		380
Glu Asp Tyr					
385					
<210>	12				
<211>	424				
<212>	PRT				
<213>	智人(Homo sapiens)				
<400>	12				
Met Ala Pro Glu Glu Asp Ala Gly Gly Glu Ala Leu Gly Gly Ser Phe					
1	5		10		15
Trp Glu Ala Gly Asn Tyr Arg Arg Thr Val Gln Arg Val Glu Asp Gly					
	20		25		30
His Arg Leu Cys Gly Asp Leu Val Ser Cys Phe Gln Glu Arg Ala Arg					

35					40					45						
Ile	Glu	Lys	Ala	Tyr	Ala	Gln	Gln	Leu	Ala	Asp	Trp	Ala	Arg	Lys	Trp	
50					55					60						
Arg	Gly	Thr	Val	Glu	Lys	Gly	Pro	Gln	Tyr	Gly	Thr	Leu	Glu	Lys	Ala	
65					70					75					80	
Trp	His	Ala	Phe	Phe	Thr	Ala	Ala	Glu	Arg	Leu	Ser	Ala	Leu	His	Leu	
85					90					95						
Glu	Val	Arg	Glu	Lys	Leu	Gln	Gly	Gln	Asp	Ser	Glu	Arg	Val	Arg	Ala	
100					105					110						
Trp	Gln	Arg	Gly	Ala	Phe	His	Arg	Pro	Val	Leu	Gly	Gly	Phe	Arg	Glu	
115					120					125						
Ser	Arg	Ala	Ala	Glu	Asp	Gly	Phe	Arg	Lys	Ala	Gln	Lys	Pro	Trp	Leu	
130					135					140						
Lys	Arg	Leu	Lys	Glu	Val	Glu	Ala	Ser	Lys	Lys	Ser	Tyr	His	Ala	Ala	
145					150					155					160	
Arg	Lys	Asp	Glu	Lys	Thr	Ala	Gln	Thr	Arg	Glu	Ser	His	Ala	Lys	Ala	
165					170					175						
Asp	Ser	Ala	Val	Ser	Gln	Glu	Gln	Leu	Arg	Lys	Leu	Gln	Glu	Arg	Val	
180					185					190						
Glu	Arg	Cys	Ala	Lys	Glu	Ala	Glu	Lys	Thr	Lys	Ala	Gln	Tyr	Glu	Gln	
195					200					205						
Thr	Leu	Ala	Glu	Leu	His	Arg	Tyr	Thr	Pro	Arg	Tyr	Met	Glu	Asp	Met	
210					215					220						
Glu	Gln	Ala	Phe	Glu	Thr	Cys	Gln	Ala	Ala	Glu	Arg	Gln	Arg	Leu	Leu	
225					230					235					240	
Phe	Phe	Lys	Asp	Met	Leu	Leu	Thr	Leu	His	Gln	His	Leu	Asp	Leu	Ser	
245					250					255						
Ser	Ser	Glu	Lys	Phe	His	Glu	Leu	His	Arg	Asp	Leu	His	Gln	Gly	Ile	
260					265					270						
Glu	Ala	Ala	Ser	Asp	Glu	Glu	Asp	Leu	Arg	Trp	Trp	Arg	Ser	Thr	His	
275					280					285						
Gly	Pro	Gly	Met	Ala	Met	Asn	Trp	Pro	Gln	Phe	Glu	Glu	Trp	Ser	Leu	
290					295					300						
Asp	Thr	Gln	Arg	Thr	Ile	Ser	Arg	Lys	Glu	Lys	Gly	Gly	Arg	Ser	Pro	
305					310					315					320	
Asp	Glu	Val	Thr	Leu	Thr	Ser	Ile	Val	Pro	Thr	Arg	Asp	Gly	Thr	Ala	
325					330					335						
Pro	Pro	Pro	Gln	Ser	Pro	Gly	Ser	Pro	Gly	Thr	Gly	Gln	Asp	Glu	Glu	
340					345					350						

Trp Ser Asp Glu Glu Ser Pro Arg Lys Ala Ala Thr Gly Val Arg Val
 355 360 365
 Arg Ala Leu Tyr Asp Tyr Ala Gly Gln Glu Ala Asp Glu Leu Ser Phe
 370 375 380
 Arg Ala Gly Glu Glu Leu Leu Lys Met Ser Glu Glu Asp Glu Gln Gly
 385 390 395 400
 Trp Cys Gln Gly Gln Leu Gln Ser Gly Arg Ile Gly Leu Tyr Pro Ala
 405 410 415
 Asn Tyr Val Glu Cys Val Gly Ala
 420
 <210> 13
 <211> 166
 <212> PRT
 <213> 智人(Homo sapiens)
 <400> 13
 Met Ala Ser Gly Val Ala Val Ser Asp Gly Val Ile Lys Val Phe Asn
 1 5 10 15
 Asp Met Lys Val Arg Lys Ser Ser Thr Pro Glu Glu Val Lys Lys Arg
 20 25 30
 Lys Lys Ala Val Leu Phe Cys Leu Ser Glu Asp Lys Lys Asn Ile Ile
 35 40 45
 Leu Glu Glu Gly Lys Glu Ile Leu Val Gly Asp Val Gly Gln Thr Val
 50 55 60
 Asp Asp Pro Tyr Ala Thr Phe Val Lys Met Leu Pro Asp Lys Asp Cys
 65 70 75 80
 Arg Tyr Ala Leu Tyr Asp Ala Thr Tyr Glu Thr Lys Glu Ser Lys Lys
 85 90 95
 Glu Asp Leu Val Phe Ile Phe Trp Ala Pro Glu Ser Ala Pro Leu Lys
 100 105 110
 Ser Lys Met Ile Tyr Ala Ser Ser Lys Asp Ala Ile Lys Lys Lys Leu
 115 120 125
 Thr Gly Ile Lys His Glu Leu Gln Ala Asn Cys Tyr Glu Glu Val Lys
 130 135 140
 Asp Arg Cys Thr Leu Ala Glu Lys Leu Gly Gly Ser Ala Val Ile Ser
 145 150 155 160
 Leu Glu Gly Lys Pro Leu
 165

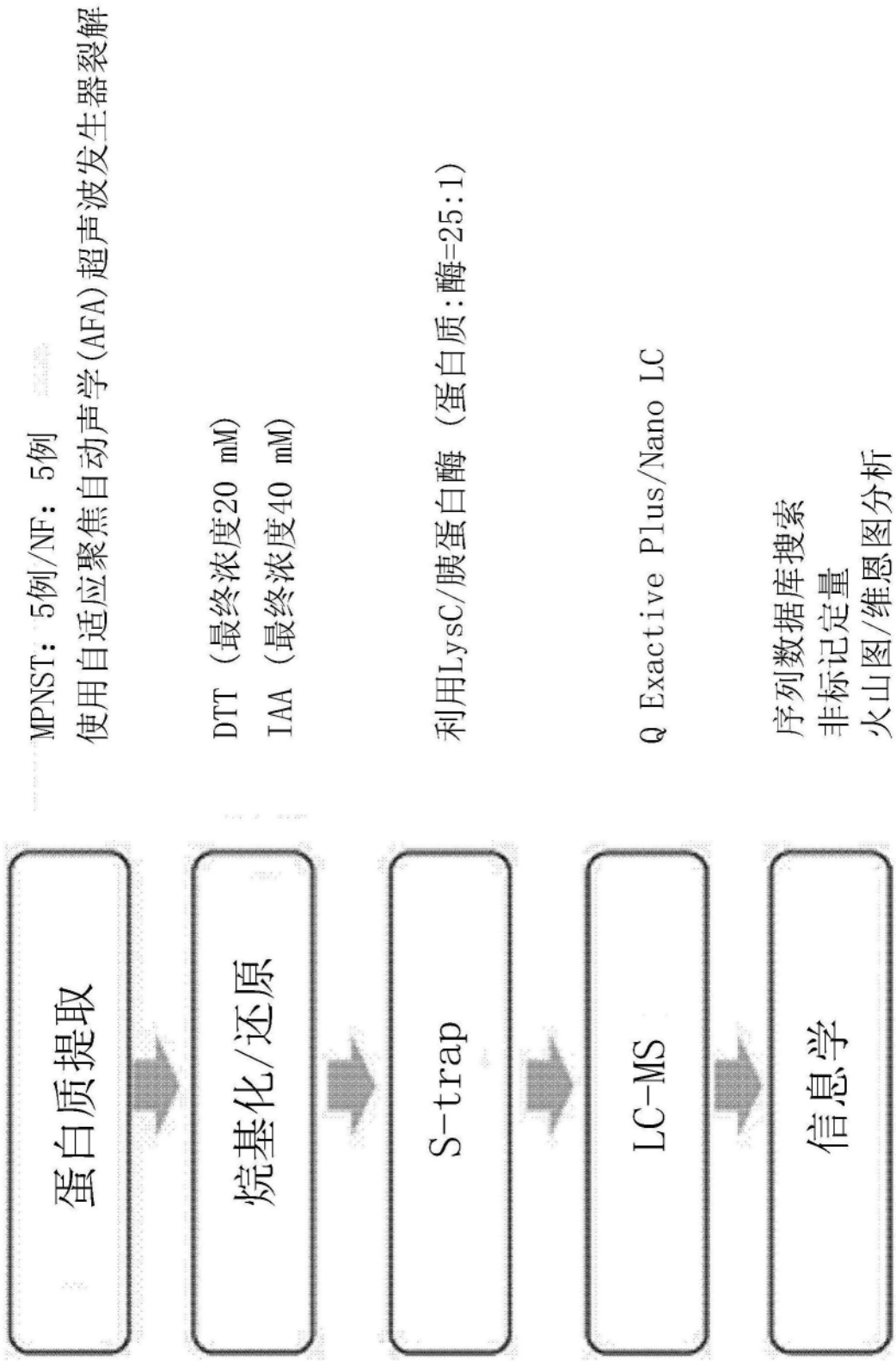


图1a

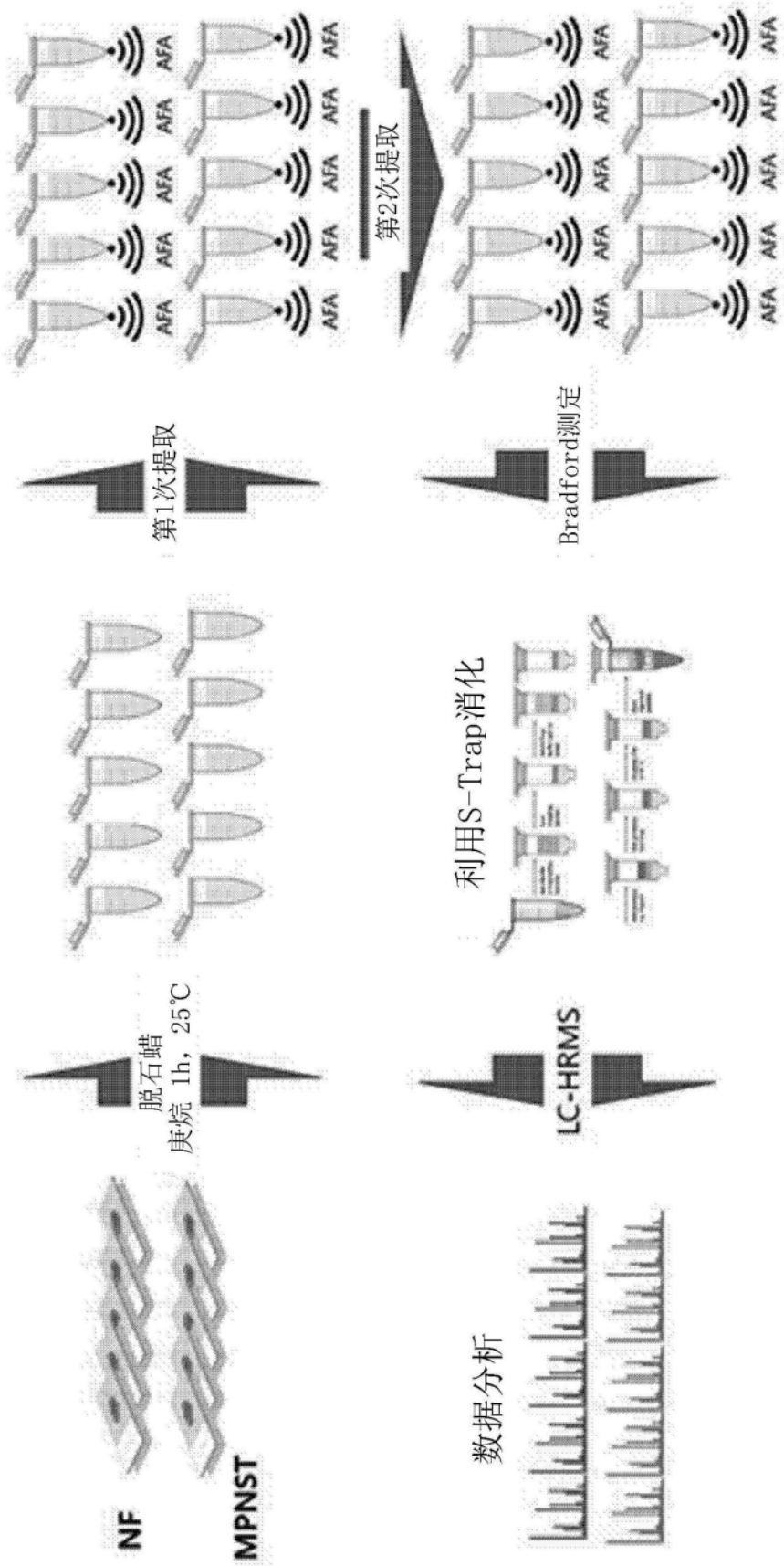


图1b

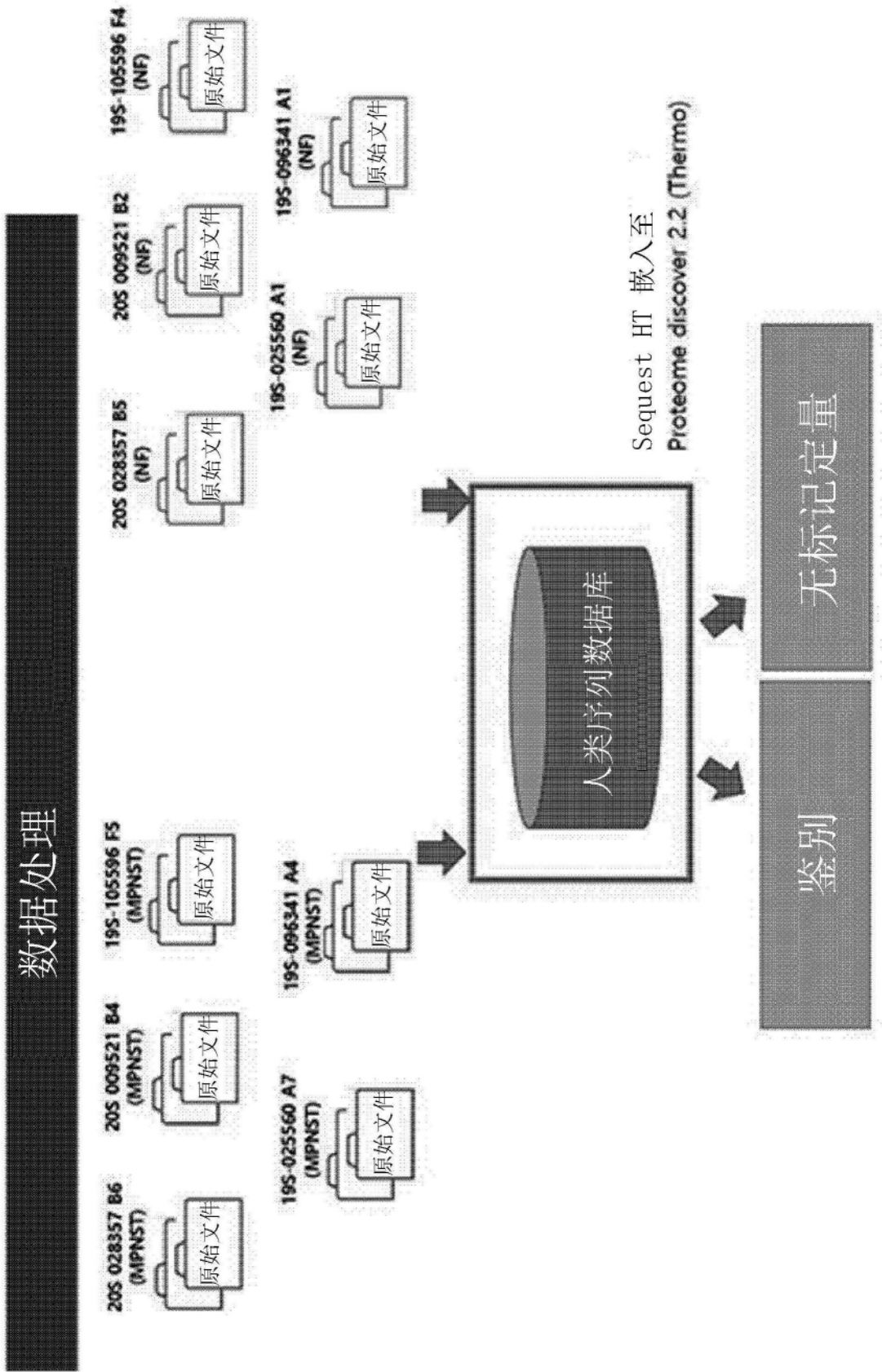


图2

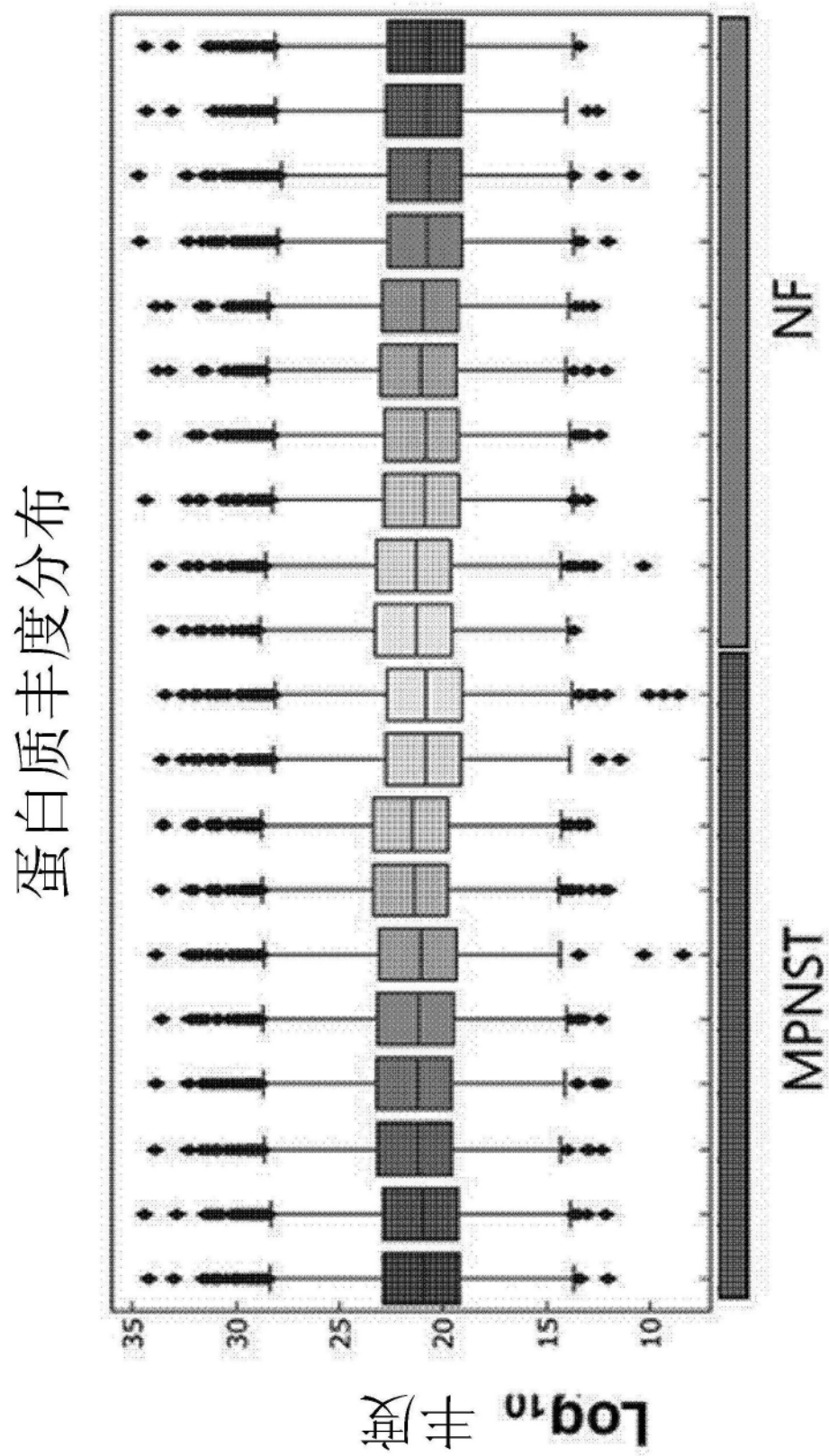


图3

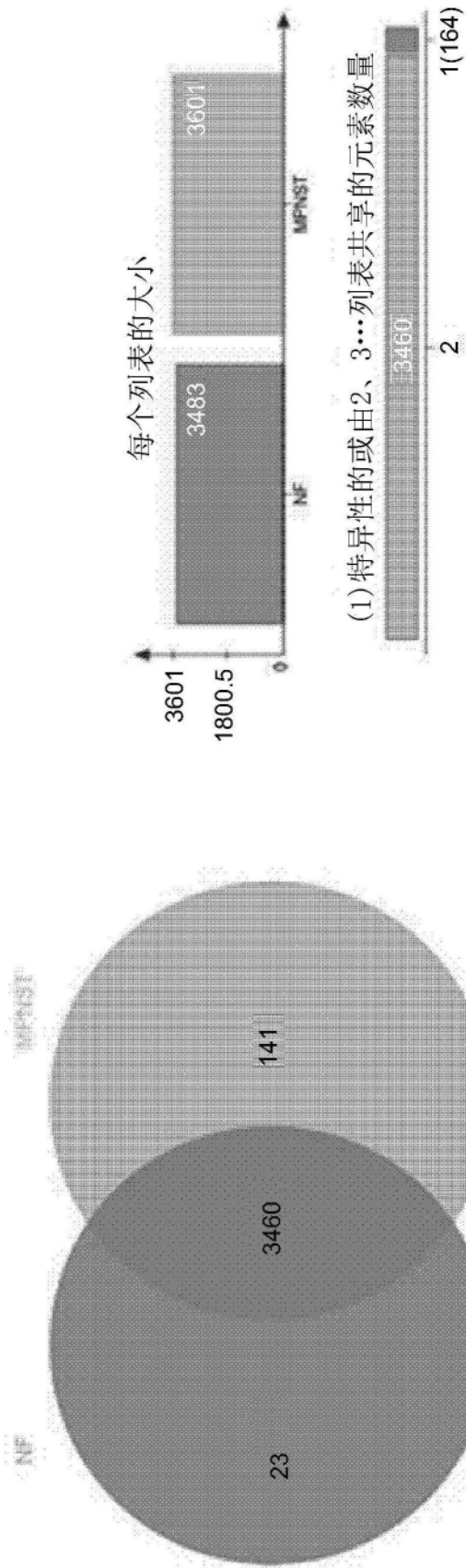


图4

Term	RT	Genes	Count	2 ^o	P-Value	Benjamini
sarcolemmal reticulum membrane	RT		5	5.9	1.7E-5	2.7E-3
myosin filament	RT		4	4.7	<5E-5	5.9E-3
Z disc	RT		5	5.9	2.1E-3	1.0E-1
extracellular exosome	RT		24	28.2	2.9E-3	1.1E-1
I band	RT		3	3.5	4.9E-3	1.4E-1
Z disc	RT		24	28.2	2.1E-2	4.4E-1
proteinaceous extracellular matrix	RT		5	5.0	3.4E-2	5.5E-1
sarcolemmal reticulum lumen	RT		2	2.4	5.6E-2	5.2E-1
prosarcolemmal density	RT		4	4.7	3.2E-2	6.1E-1
perinuclear region of cytoplasm	RT		7	6.2	6.4E-2	6.5E-1
actin cytoskeleton	RT		4	4.7	7.7E-2	6.9E-1
mitochondrion	RT		11	12.9	8.1E-2	6.7E-1

58

比率 (MPNST/NF) > 10 的蛋白质

Term	RT	Gene	Count	5	3	P-Value	Benjamini
astrocytic reticulum membrane	RT		5	5.9	1.7E-5	2.7E-3	
myosin filament	RT		4	4.7	4.9E-5	5.3E-3	
Z disc	RT		5	5.9	2.1E-3	1.0E-1	
extracellular exosome	RT		24	28.2	2.9E-3	1.1E-1	
I band	RT		3	3.5	4.9E-3	1.4E-1	
myofibril	RT		24	28.2	2.1E-2	4.4E-1	
protonaceous extracellular matrix	RT		5	5.9	3.4E-2	5.5E-1	
astrocytic reticulum lumen	RT		2	2.4	3.6E-2	5.2E-1	
postsynaptic density	RT		4	4.7	5.2E-2	6.1E-1	
perinuclear region of cytoplasm	RT		7	8.2	6.4E-2	6.3E-1	
actin cytoskeleton	RT		4	4.7	7.7E-2	6.9E-1	
mitochondrion	RT		11	12.9	8.0E-2	6.7E-1	

UNIPROT ACCESSION	GENE NAME
Q9HCJ0	CD248 molecule (CD248)
Q14515	SOLAC like 1 (SOLAC1)
Q01010	sercylase intermediate layer protein 2 (C1122)
P22894	matrix metalloproteinase 8 (MMP8)
Q9HCB6	800000 X (SPURX1)

图5b

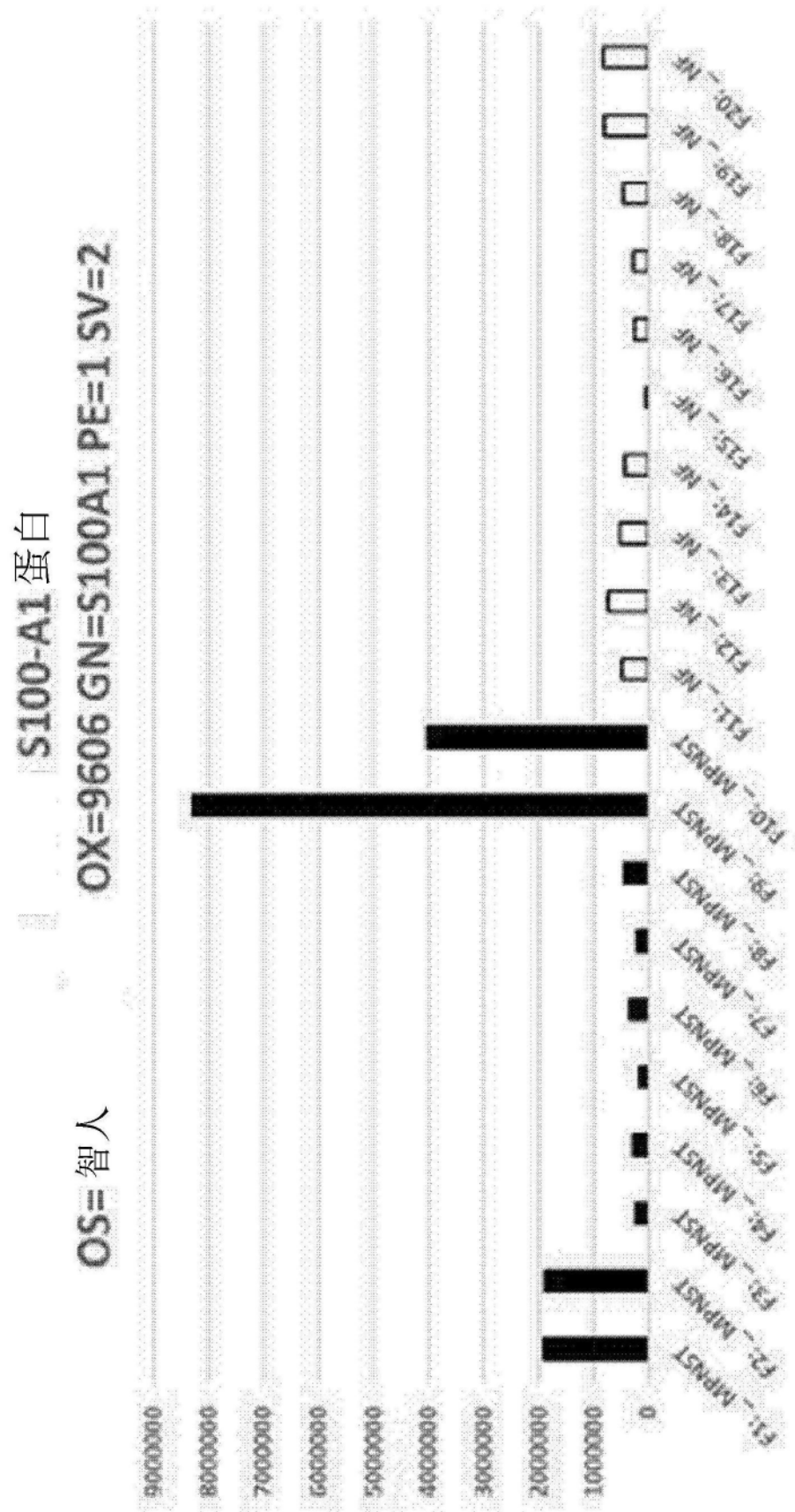


图6a

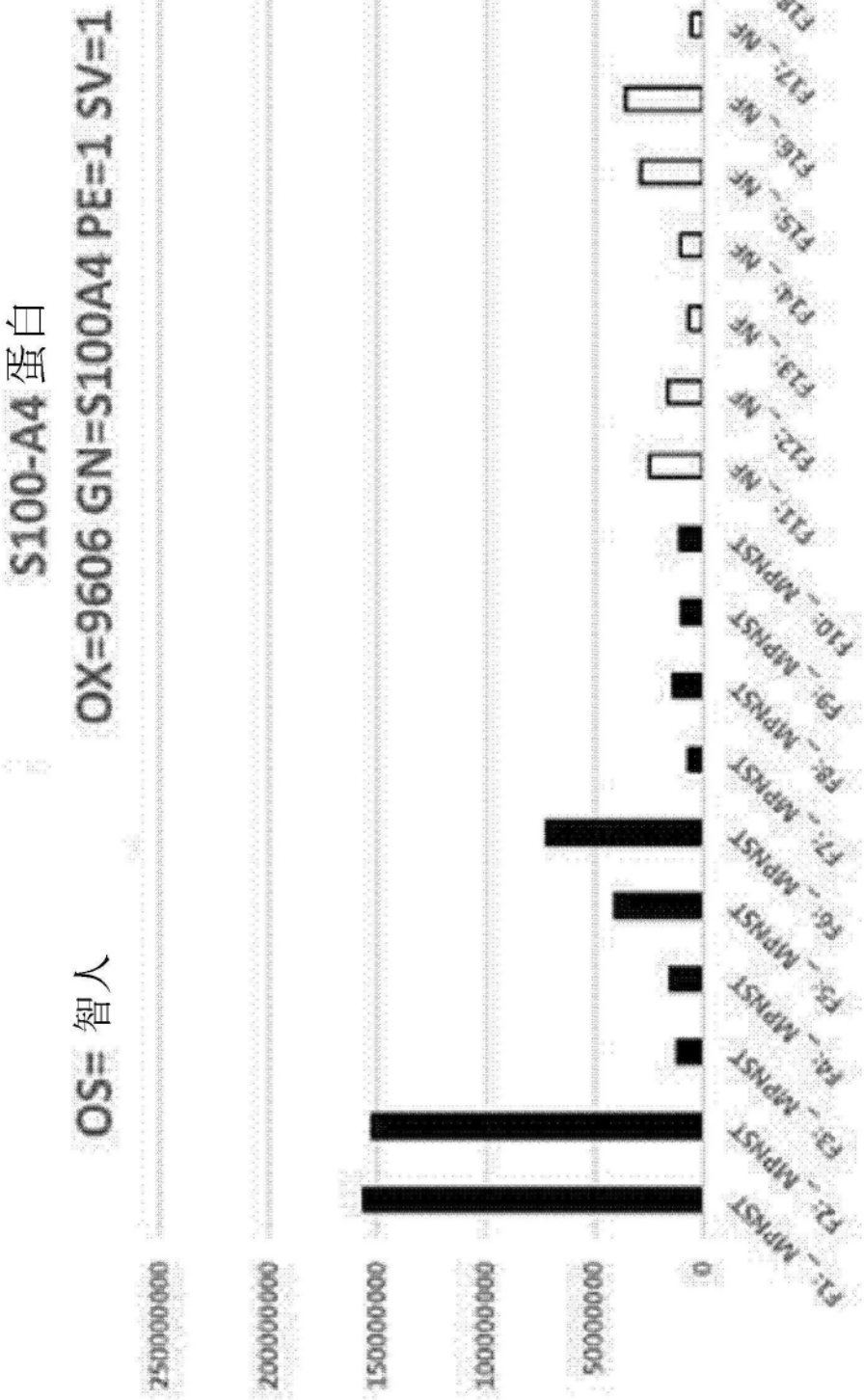


图6b

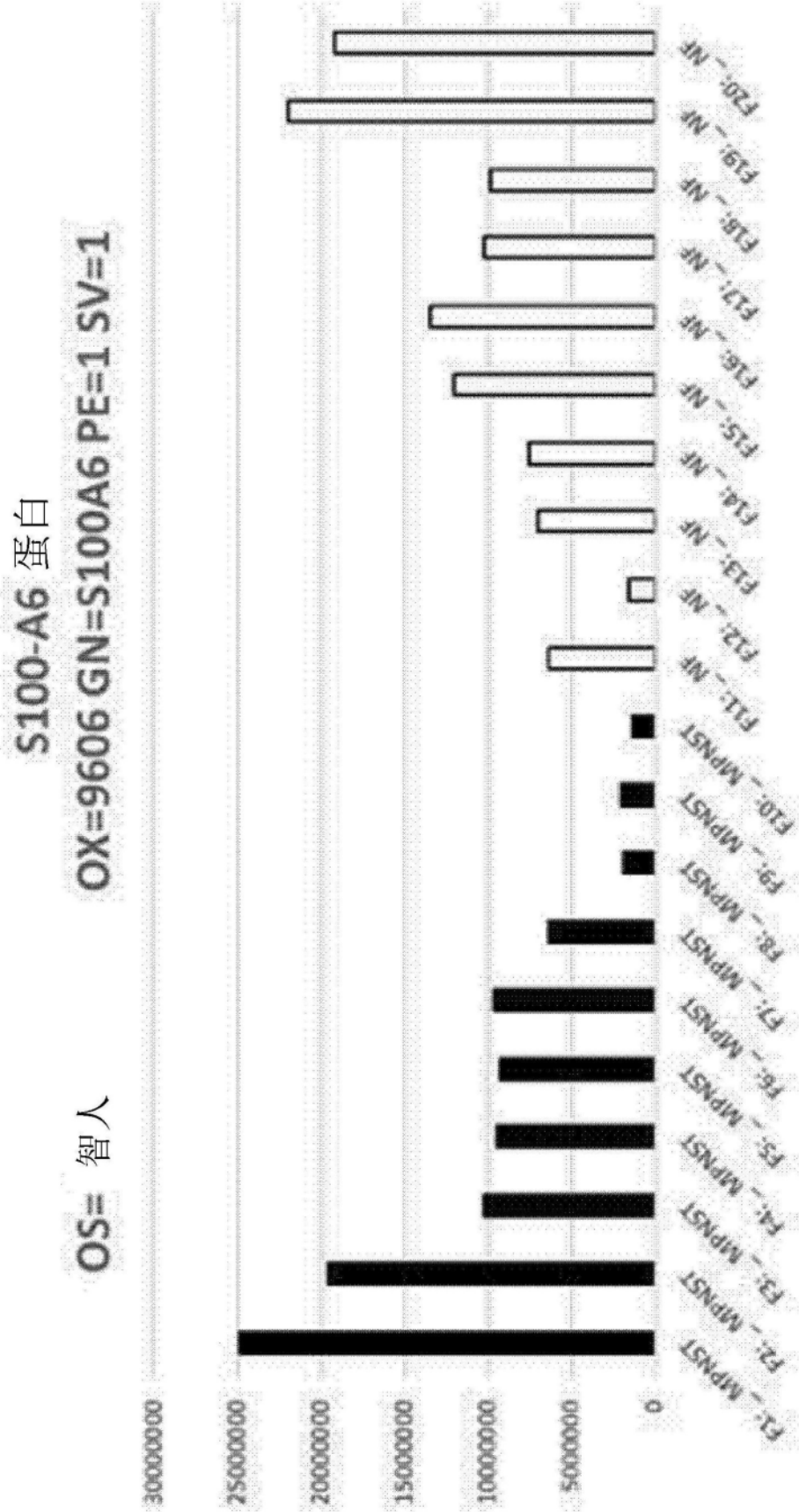


图6c

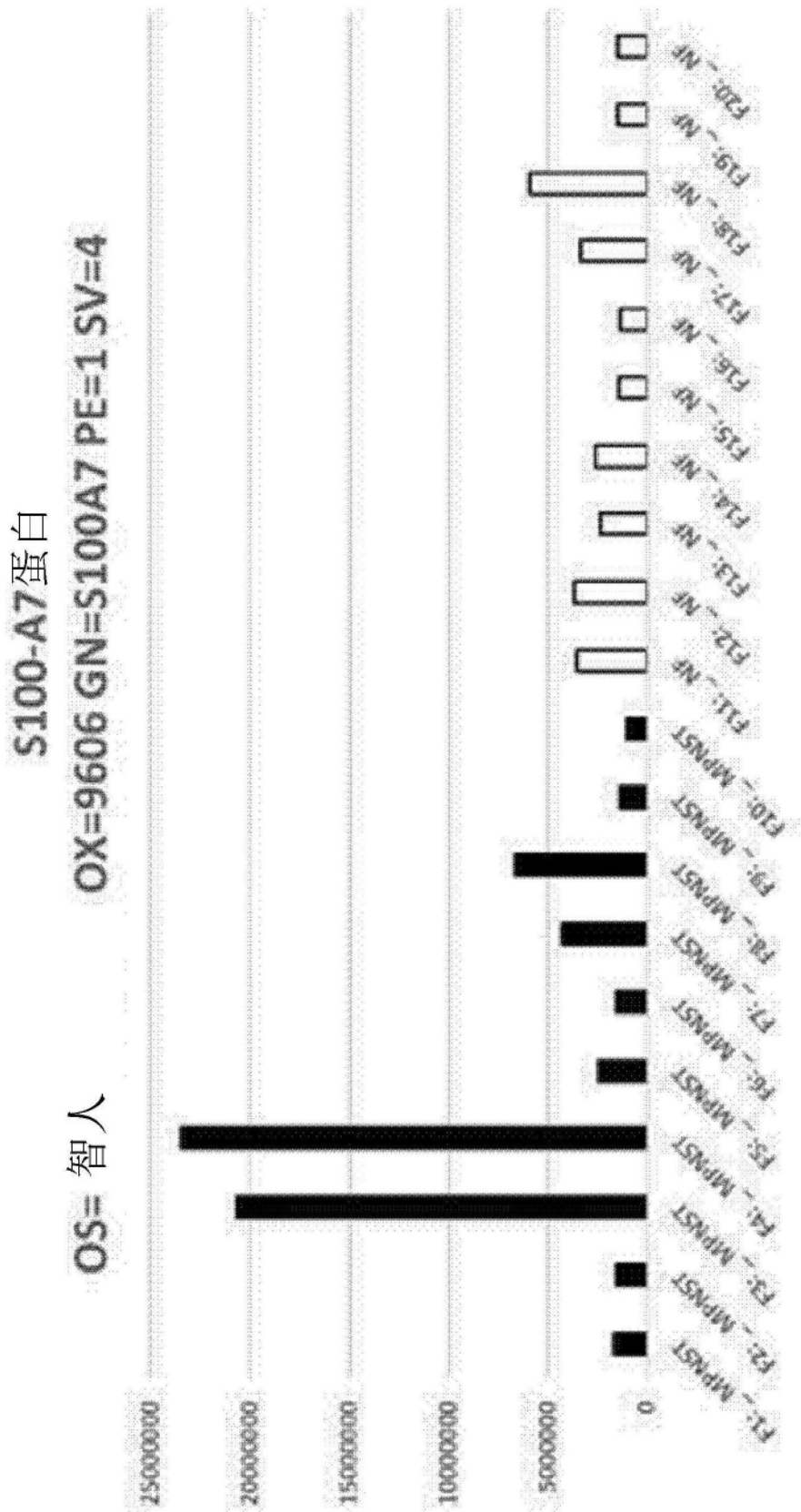


图6d

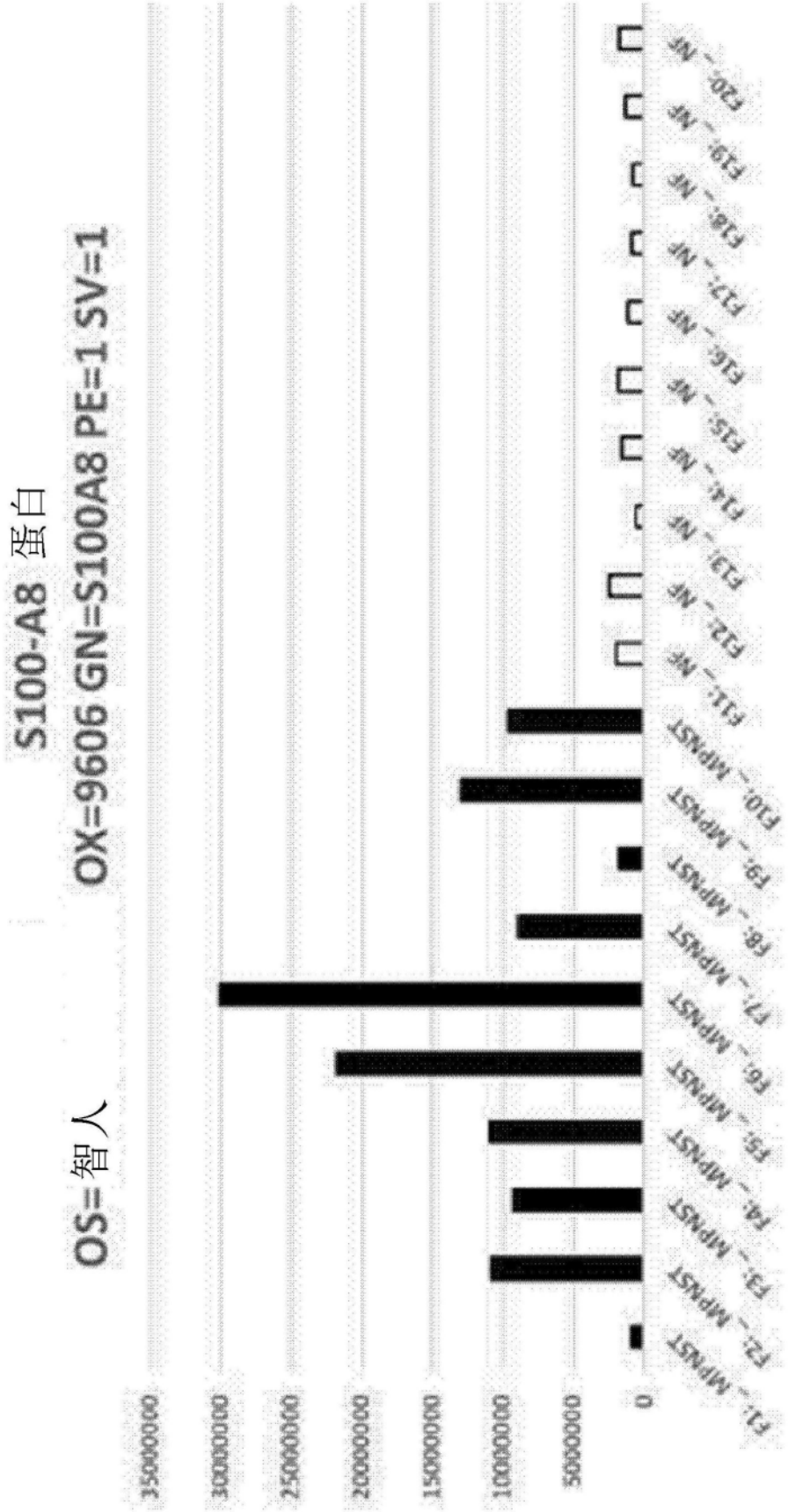


图6e

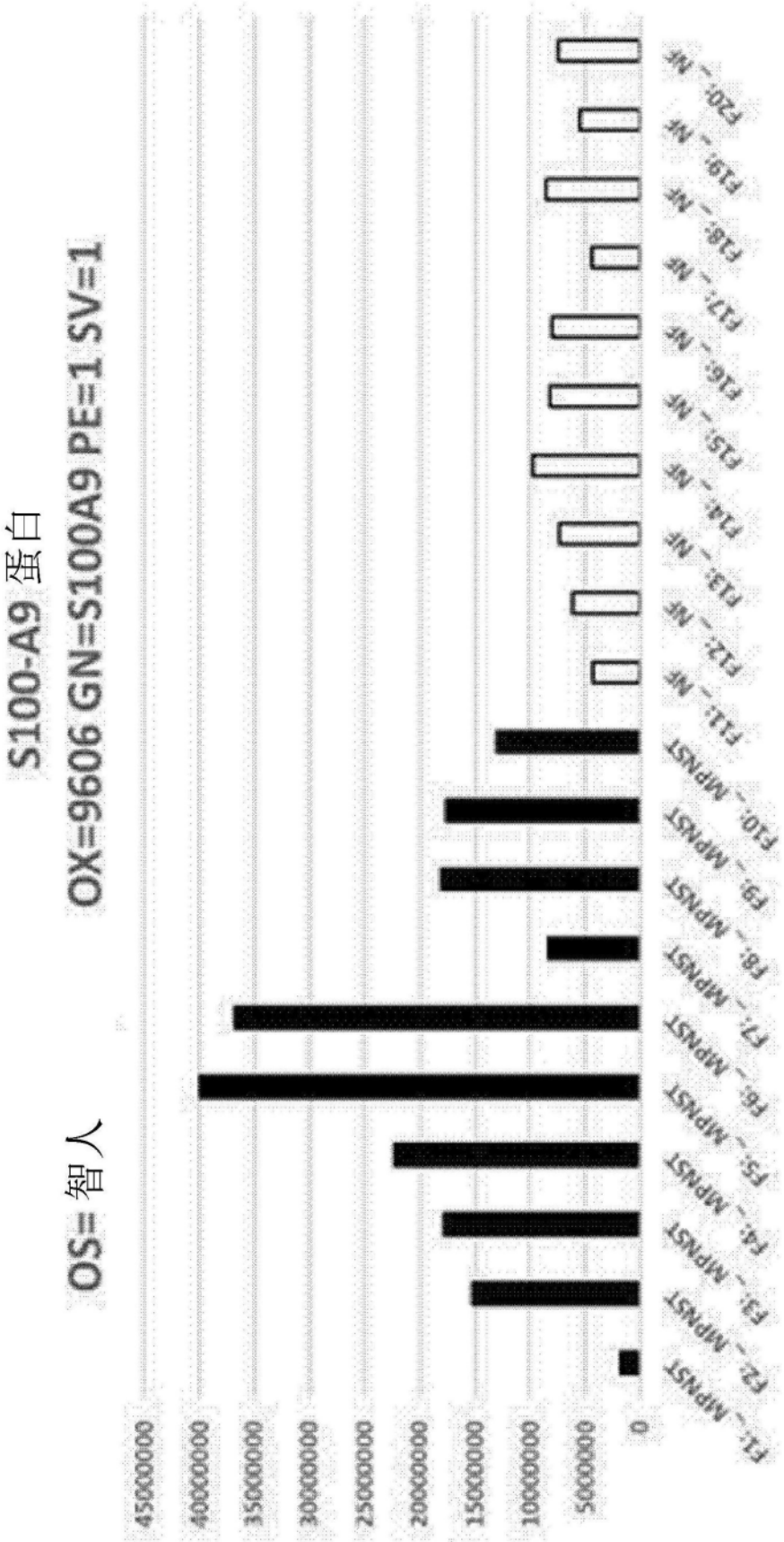


图6f

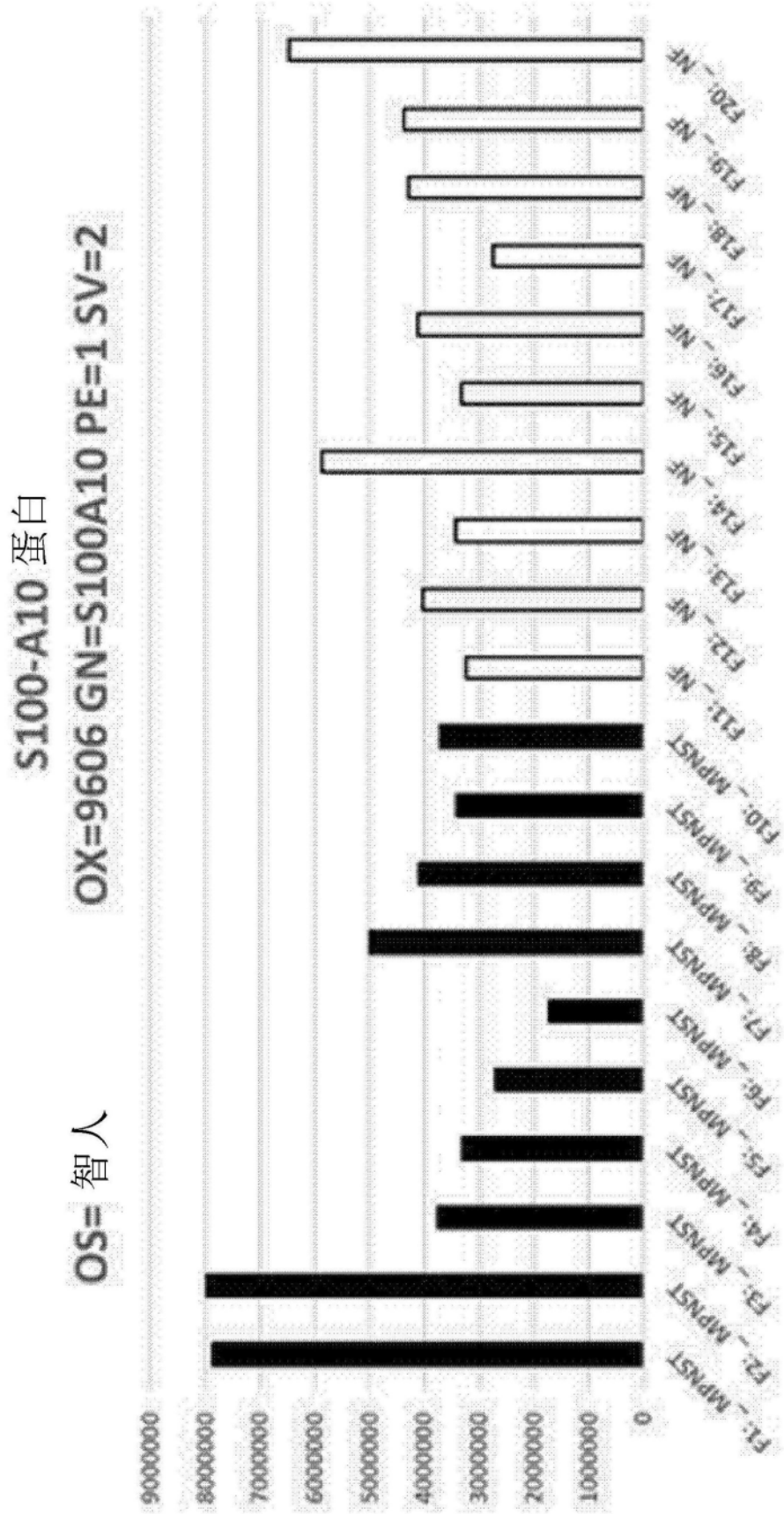


图6g

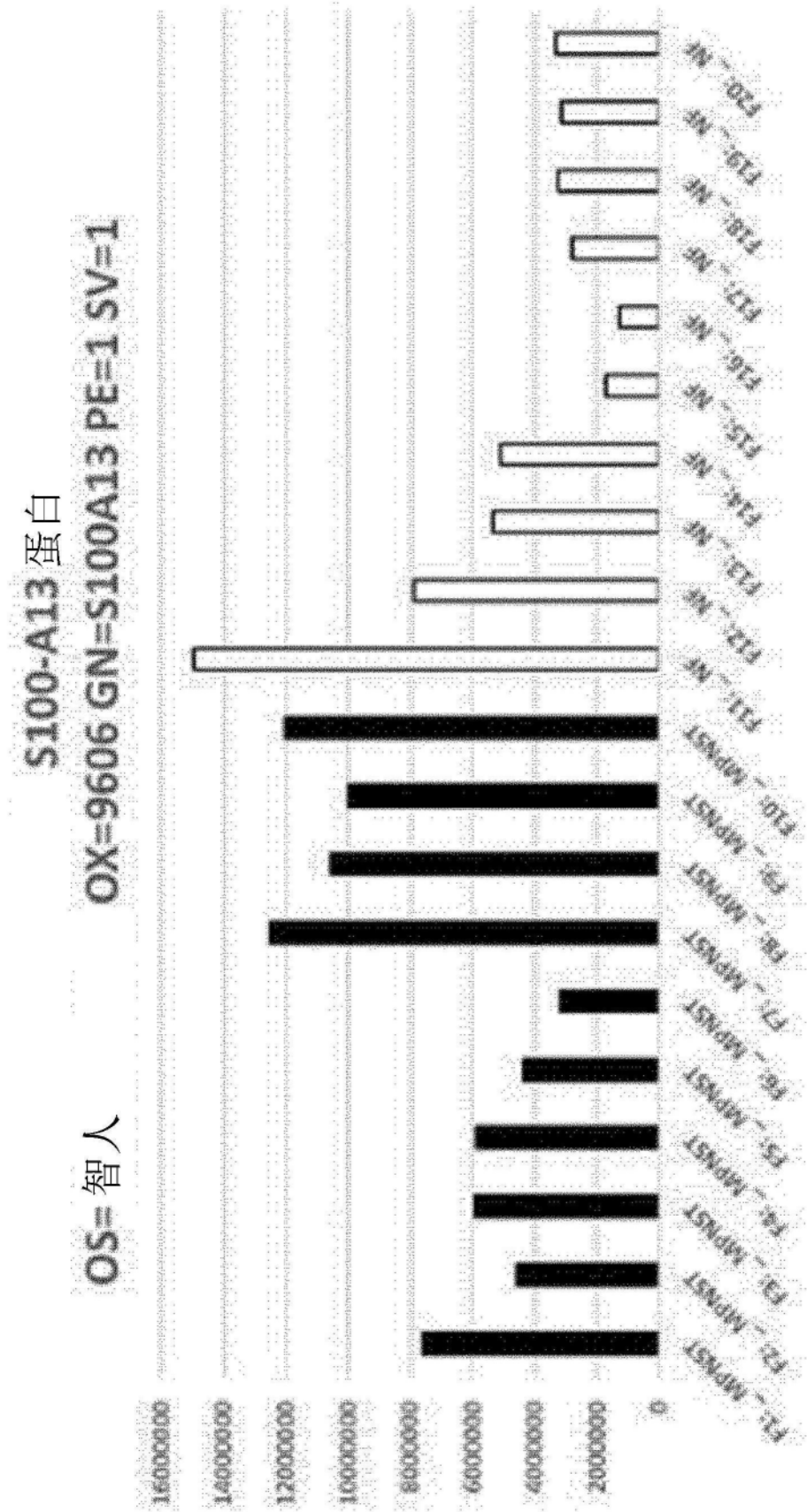


图6h

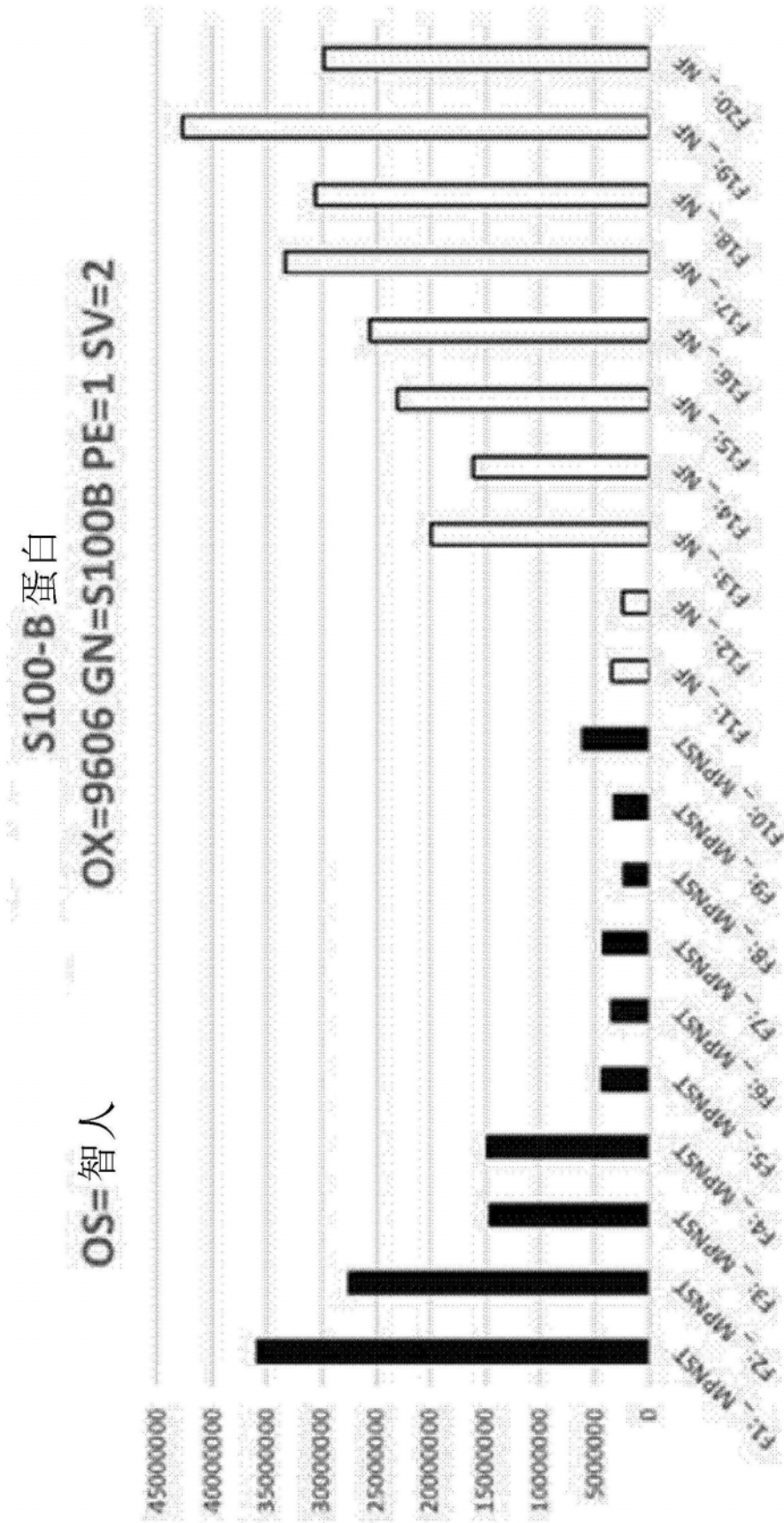


图6i

波形蛋白

OS= 智人 OX=9606 GN=VIM PE=1 SV=4

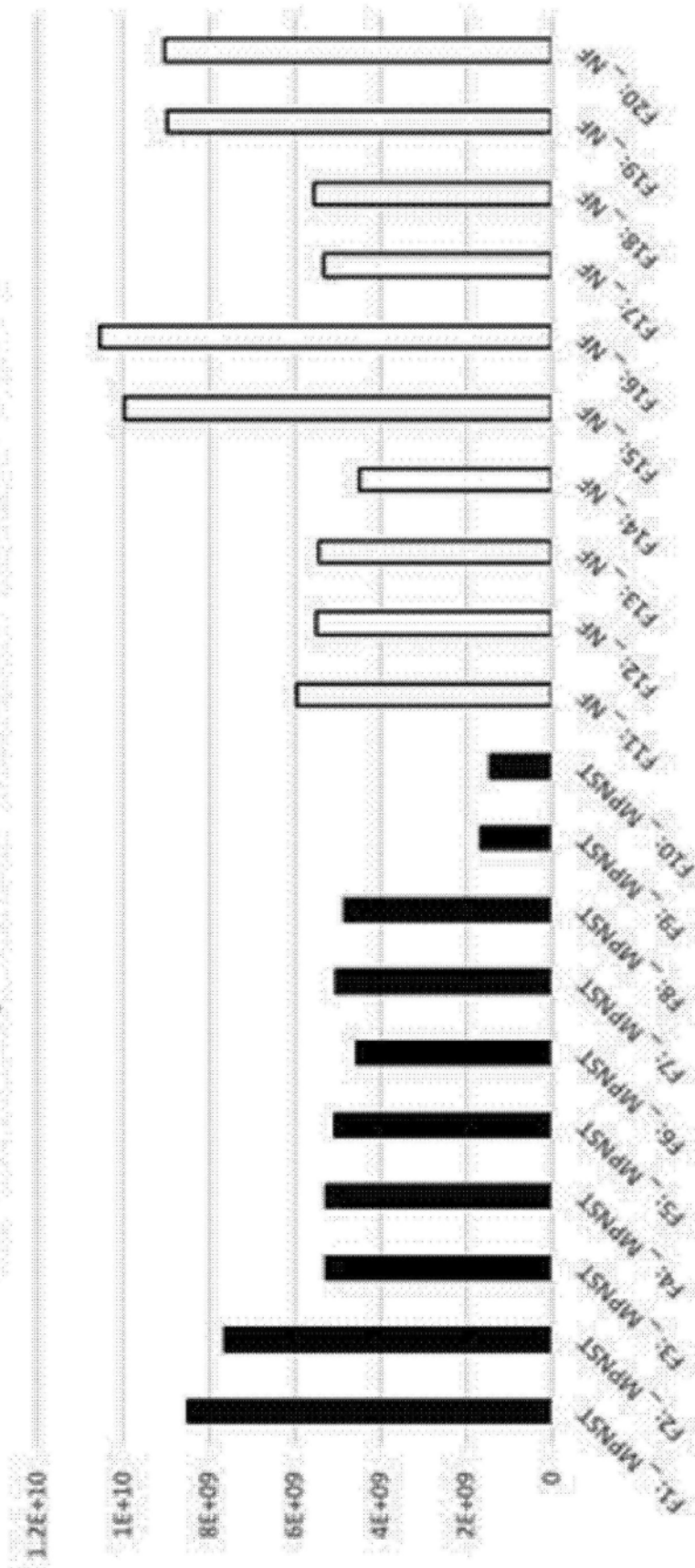


图6j

内皮唾液酸蛋白

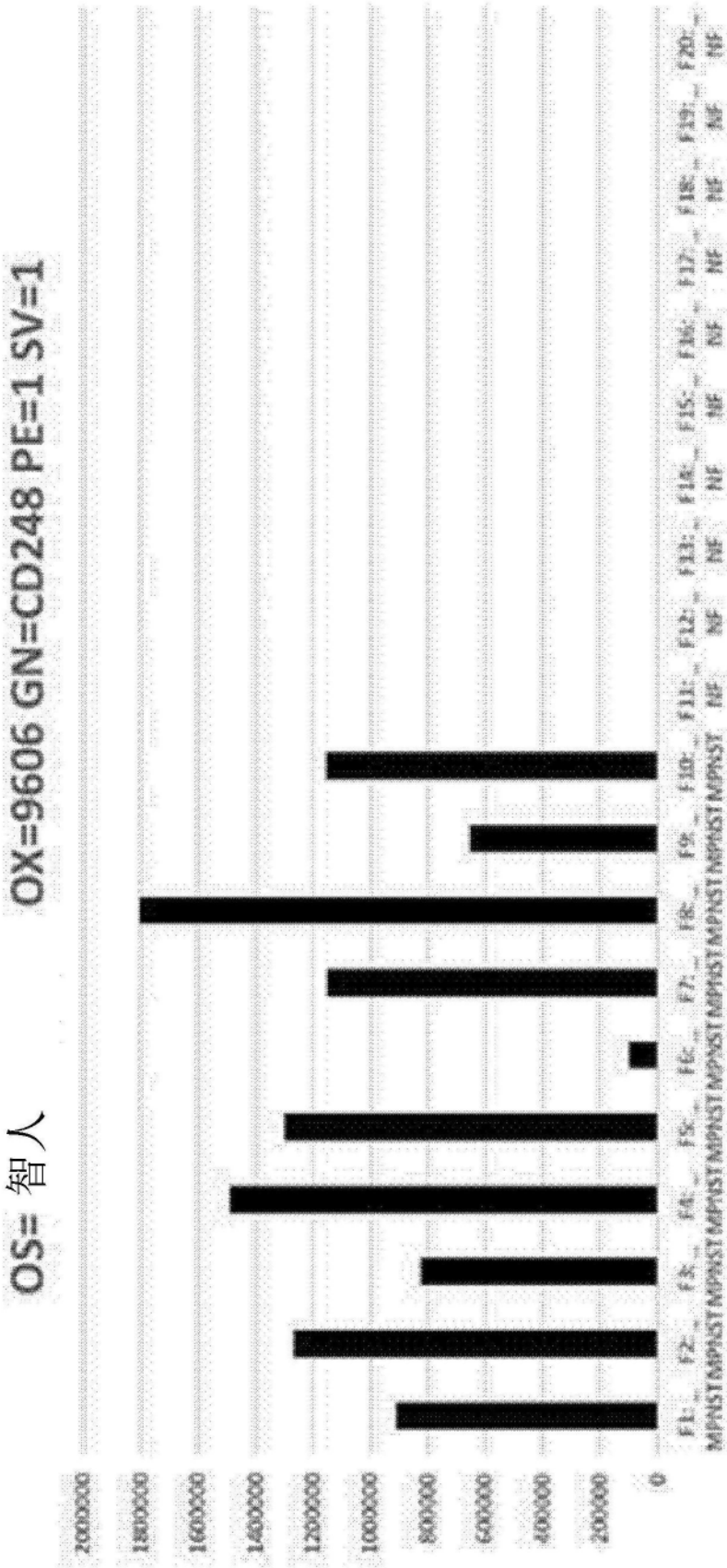


图7

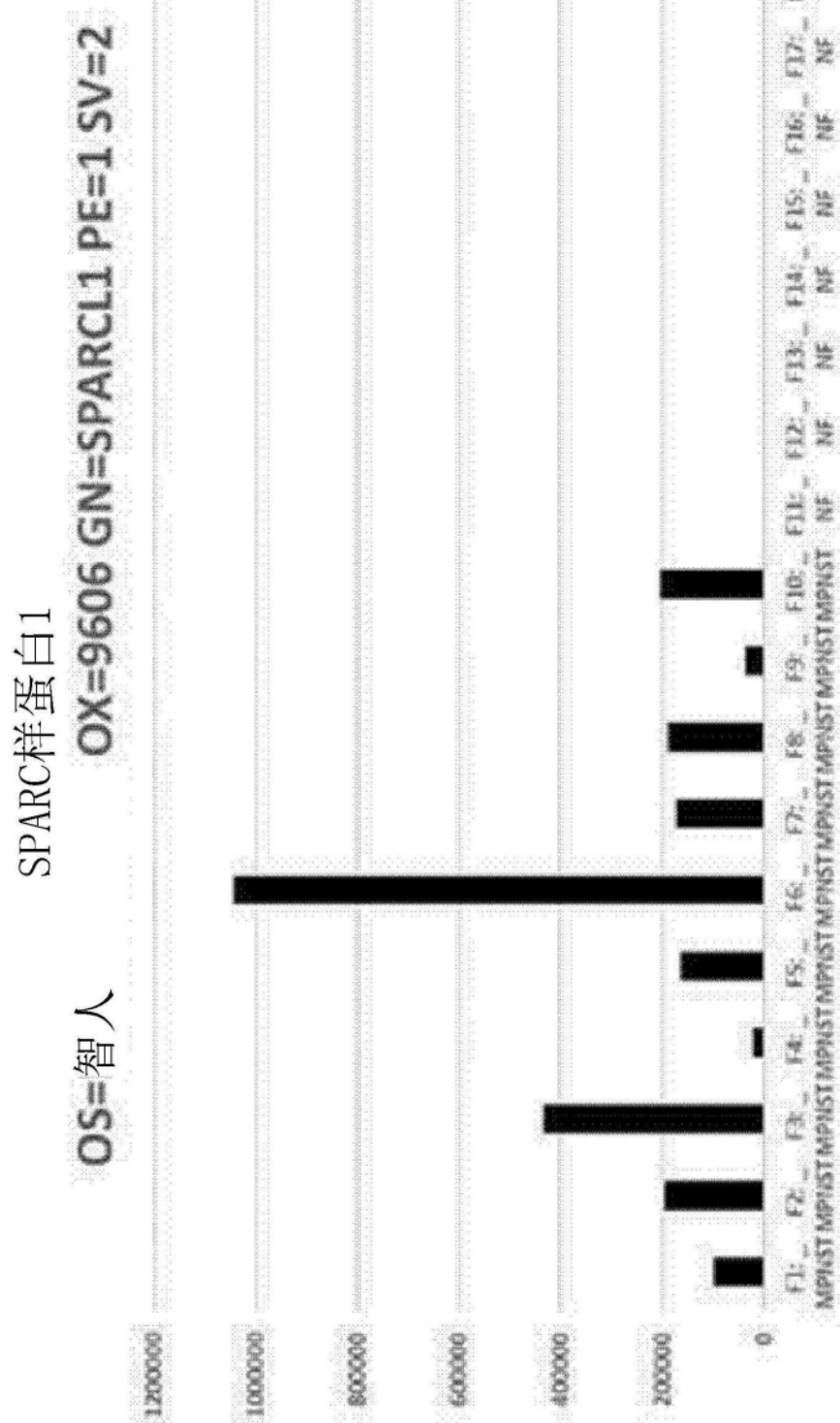


图8

中性粒细胞胶原酶

OS= 智人 OX=9606 GN=MMP8 PE=1 SV=1

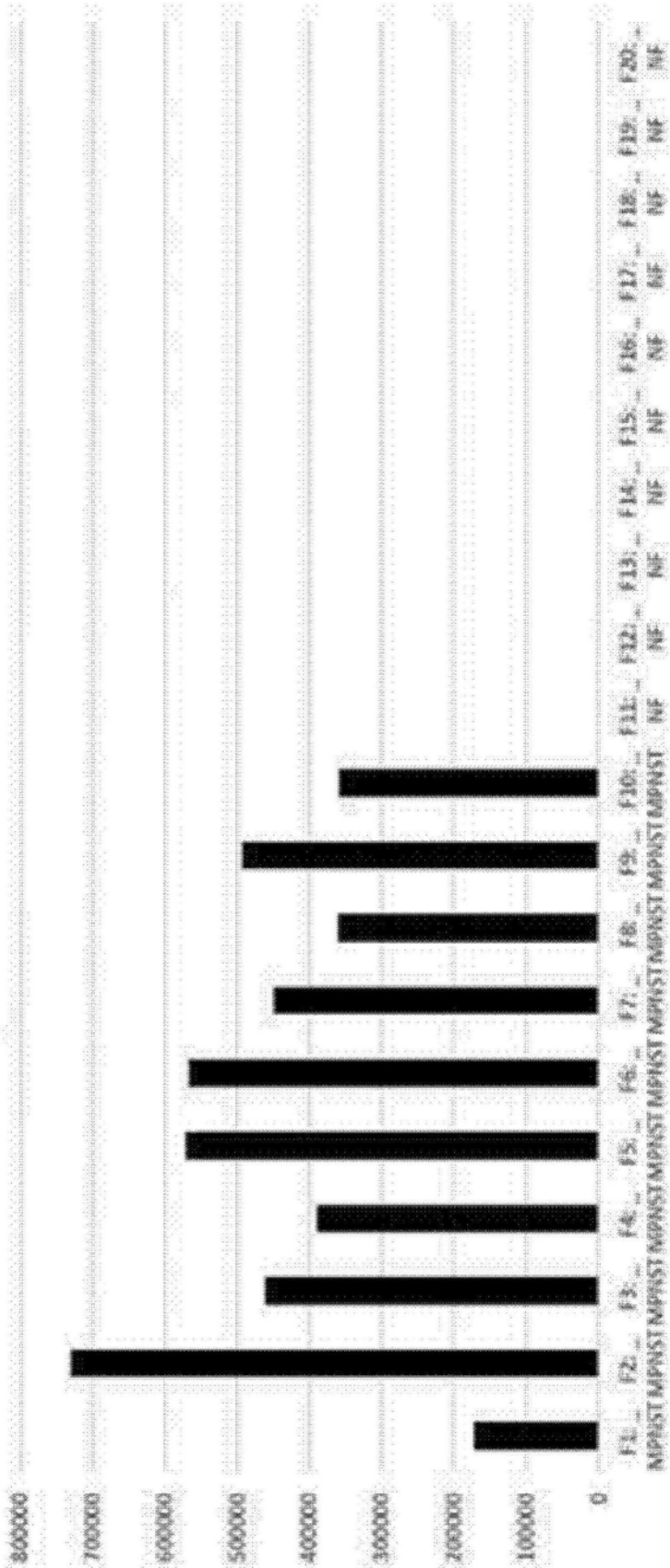
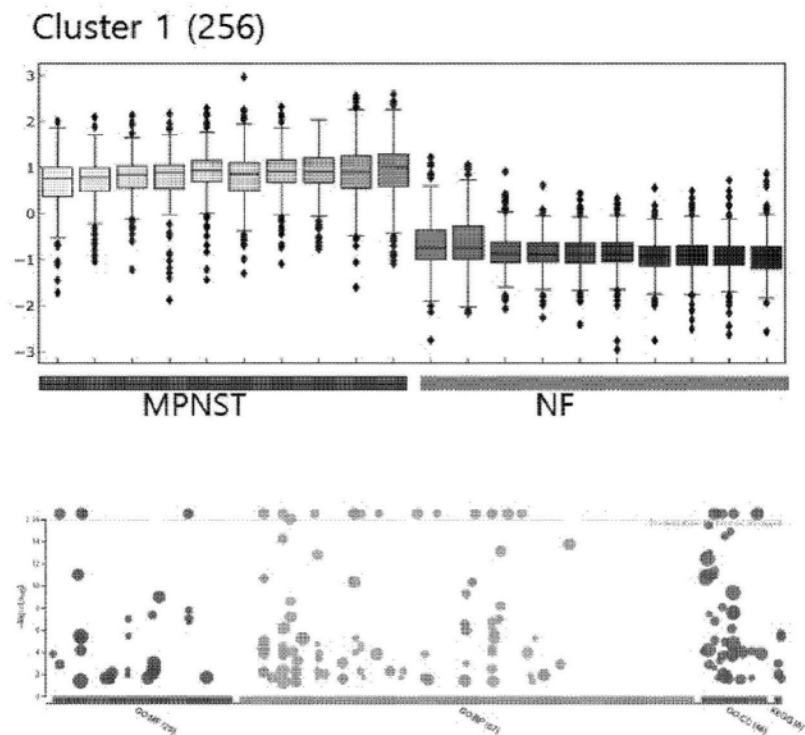


图9



分子功能

Term name	Term ID	Padj	-log ₁₀ (Padj)
structural constituent of muscle	GO:0008307	1.244 × 10 ⁻²⁹	
actin binding	GO:0003779	1.677 × 10 ⁻²⁸	
cytoskeletal protein binding	GO:0008092	7.456 × 10 ⁻²⁴	
actin filament binding	GO:0051015	5.502 × 10 ⁻¹⁷	
structural molecule activity	GO:0005198	9.878 × 10 ⁻¹²	

生物过程

Term name	Term ID	Padj	-log ₁₀ (Padj)
actin-myosin filament sliding	GO:0033275	2.323 × 10 ⁻³²	
muscle filament sliding	GO:0030049	2.323 × 10 ⁻³²	
muscle contraction	GO:0006936	5.138 × 10 ⁻²⁸	
muscle system process	GO:0003012	6.089 × 10 ⁻²⁷	
myofibril assembly	GO:0030239	2.159 × 10 ⁻²⁸	

细胞隔室

Term name	Term ID	Padj	-log ₁₀ (Padj)
contractile fiber	GO:0043292	2.306 × 10 ⁻³³	
myofibril	GO:0030016	1.182 × 10 ⁻³¹	
sarcomere	GO:0030017	9.128 × 10 ⁻³⁰	
I band	GO:0031674	1.359 × 10 ⁻³³	
supramolecular fiber	GO:0099512	1.416 × 10 ⁻³¹	

KEGG

Term name	Term ID	Padj	-log ₁₀ (Padj)
Hypertrophic cardiomyopathy (HCM)	KEGG:05410	2.302 × 10 ⁻⁵	
Dilated cardiomyopathy (DCM)	KEGG:05414	4.279 × 10 ⁻⁵	
Cardiac muscle contraction	KEGG:04260	1.071 × 10 ⁻³	
Tight junction	KEGG:04530	9.604 × 10 ⁻³	
Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy (AR...)	KEGG:05412	2.530 × 10 ⁻²	

图10b



细胞隔室

KEGG

Term name	Term ID		Padj	$-\log_{10}(P_{adj})$	z
Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infection	KEGG:05167		3.905×10^{-3}		
Influenza A	KEGG:05164		3.680×10^{-2}		
Leishmaniasis	KEGG:05140		3.953×10^{-2}		
Tuberculosis	KEGG:05152		4.390×10^{-2}		

75

114种MPNST特异性蛋白的GO分析

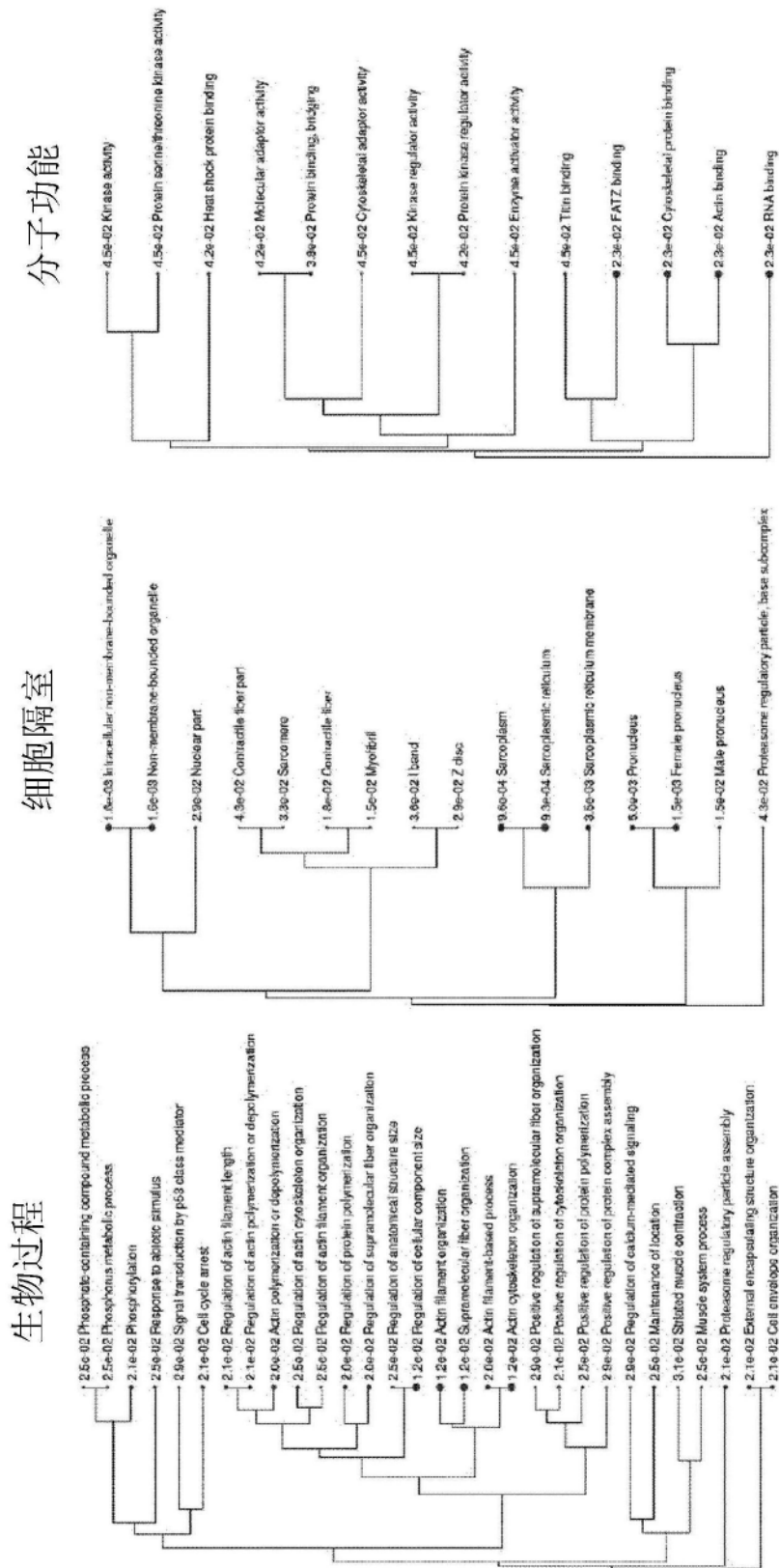


图11

Top Canonical Pathways				
Name	p-value	Overlap		
Calcium Signaling	5.92E-19	13.6 %	27/198	
ILK Signaling	2.17E-14	11.9 %	22/185	
Cellular Effects of Sildenafil (Viagra)	2.65E-12	13.5 %	17/126	
Actin Cytoskeleton Signaling	2.58E-11	9.4 %	20/212	
Epithelial Adherens Junction Signaling	4.11E-11	11.4 %	37/329	
Top Upstream Regulators				
Upstream Regulators				
Name	p-value	Predicted Activation		
TGFB1	8.03E-11	Activated		
MEF2C	9.14E-11	Activated		
MYOCD	1.71E-09	Activated		
miR-16-5p (and other miRNAs w/seed AGCA/GCA)	1.49E-07	Inhibited		
SMAD3	1.65E-07			
Causal Network				
Name	p-value	Predicted Activation		
tubulysin	1.07E-14			
pyrocamide	1.44E-14			
nocodimstat	1.44E-12			
domatinostat	1.99E-12			
Hdac	2.76E-12			

图12

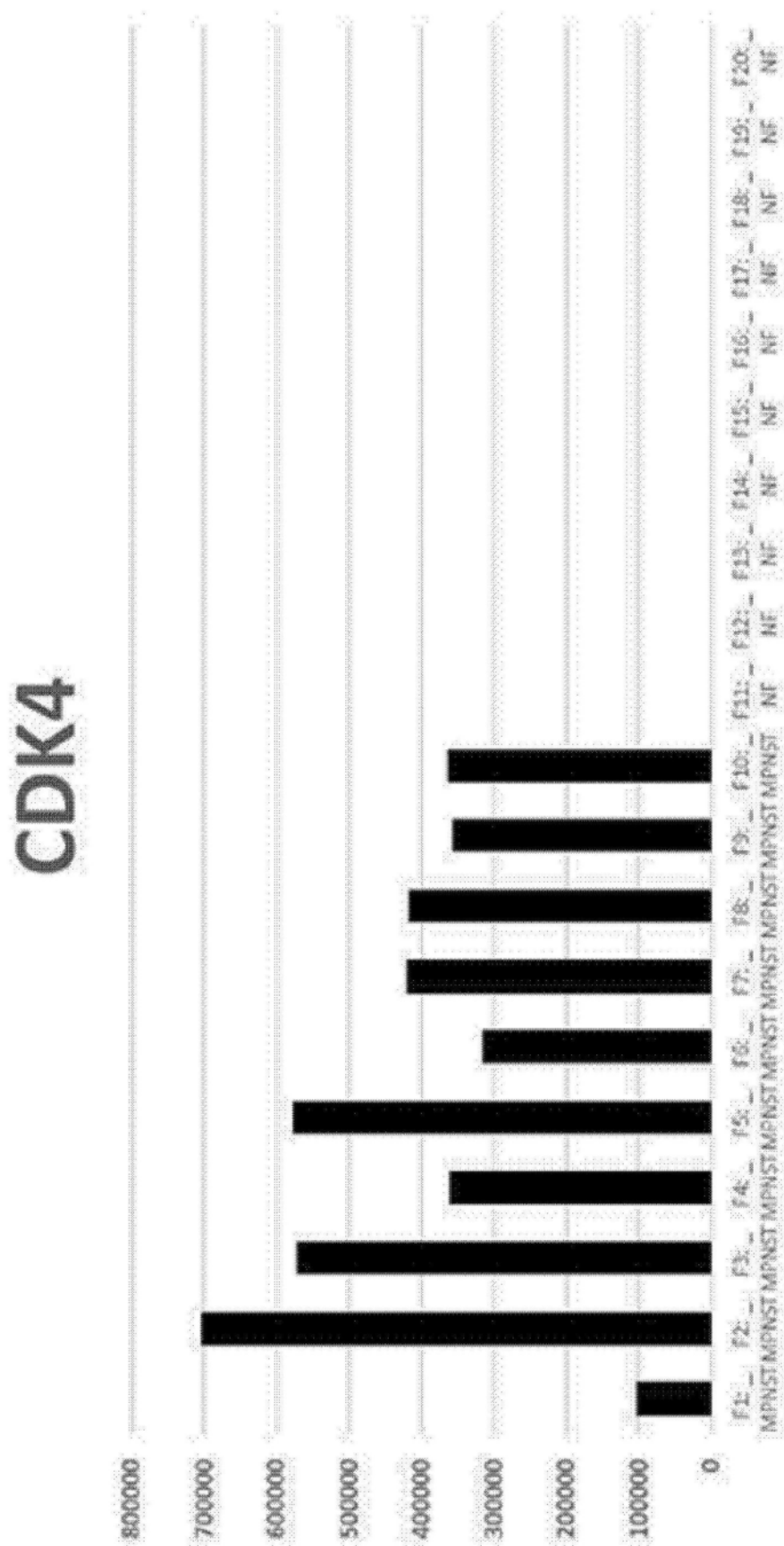


图13

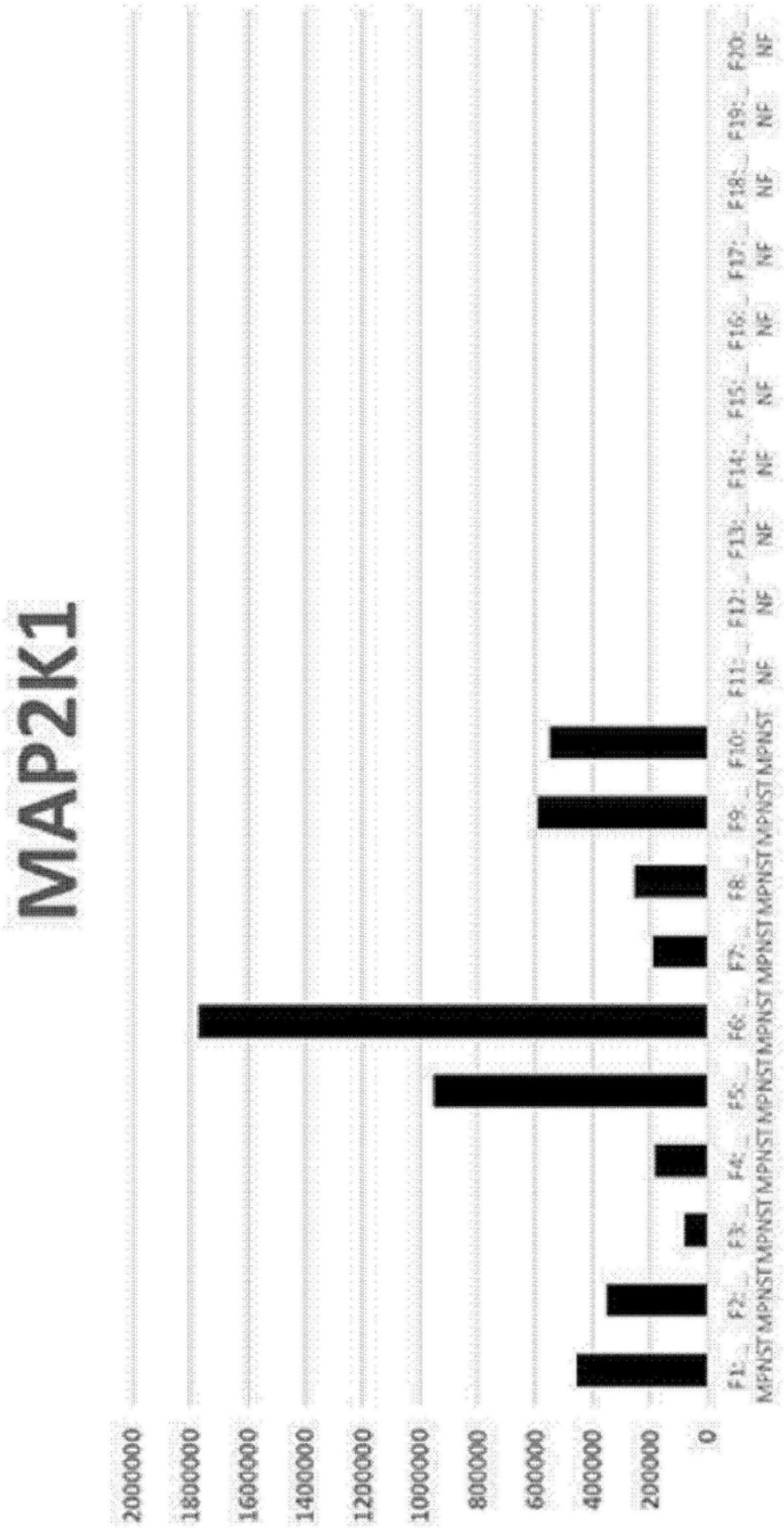


图14

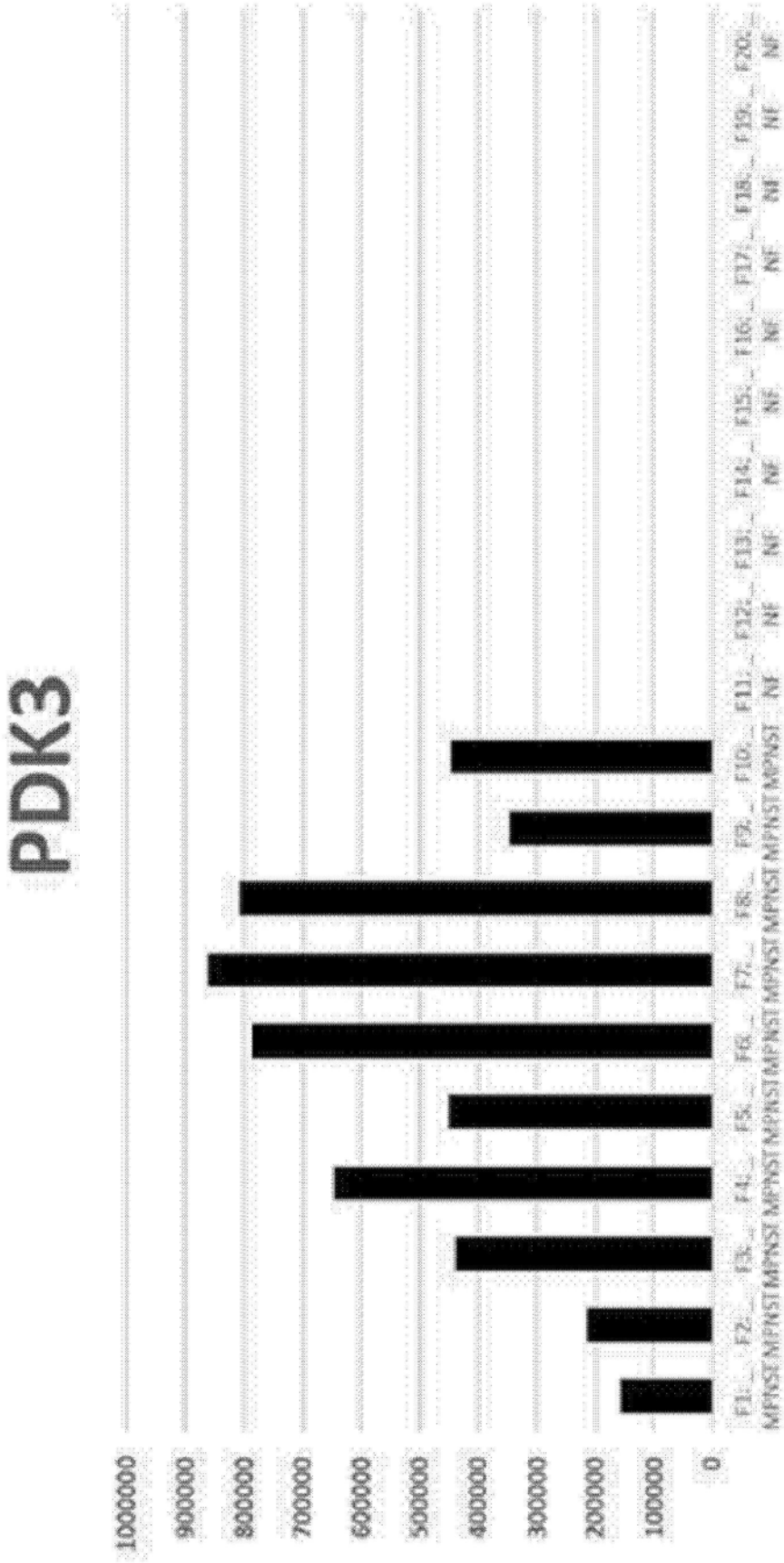


图15

STK10

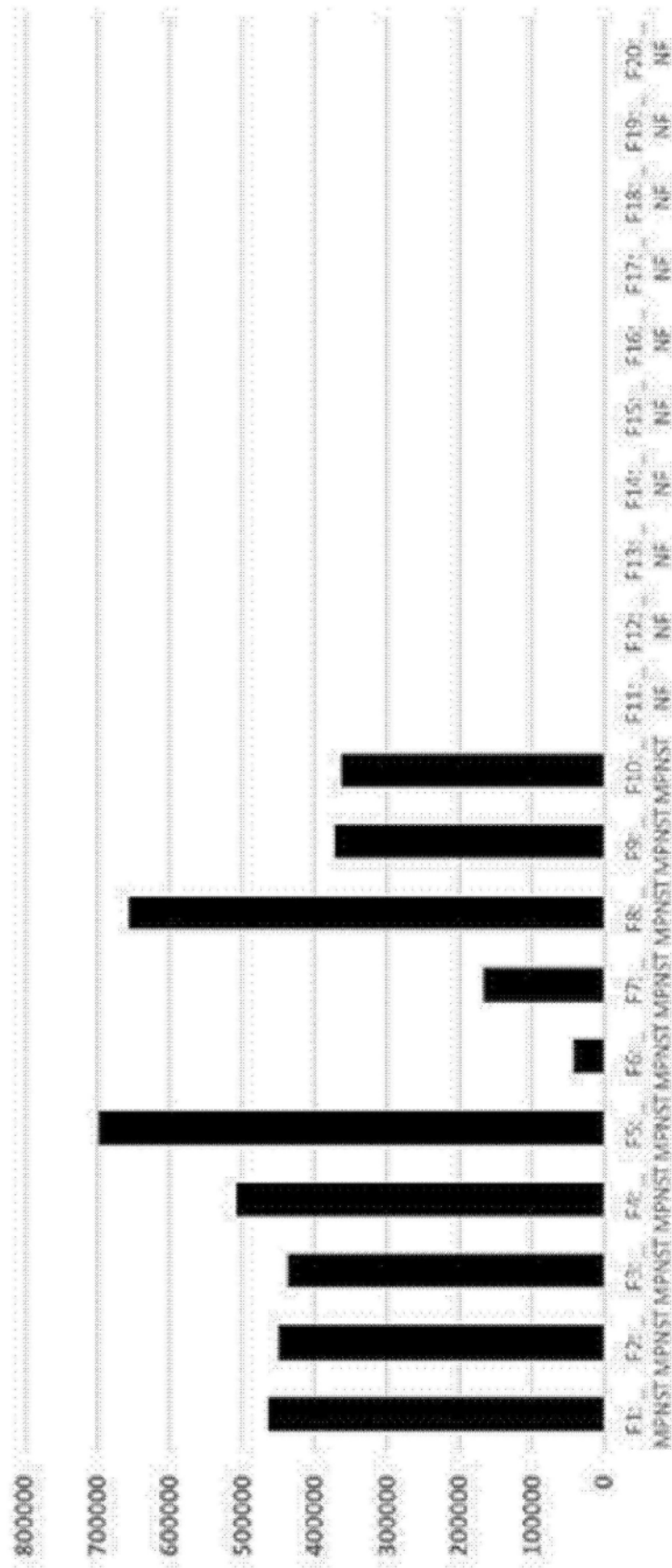


图16

ALPK3

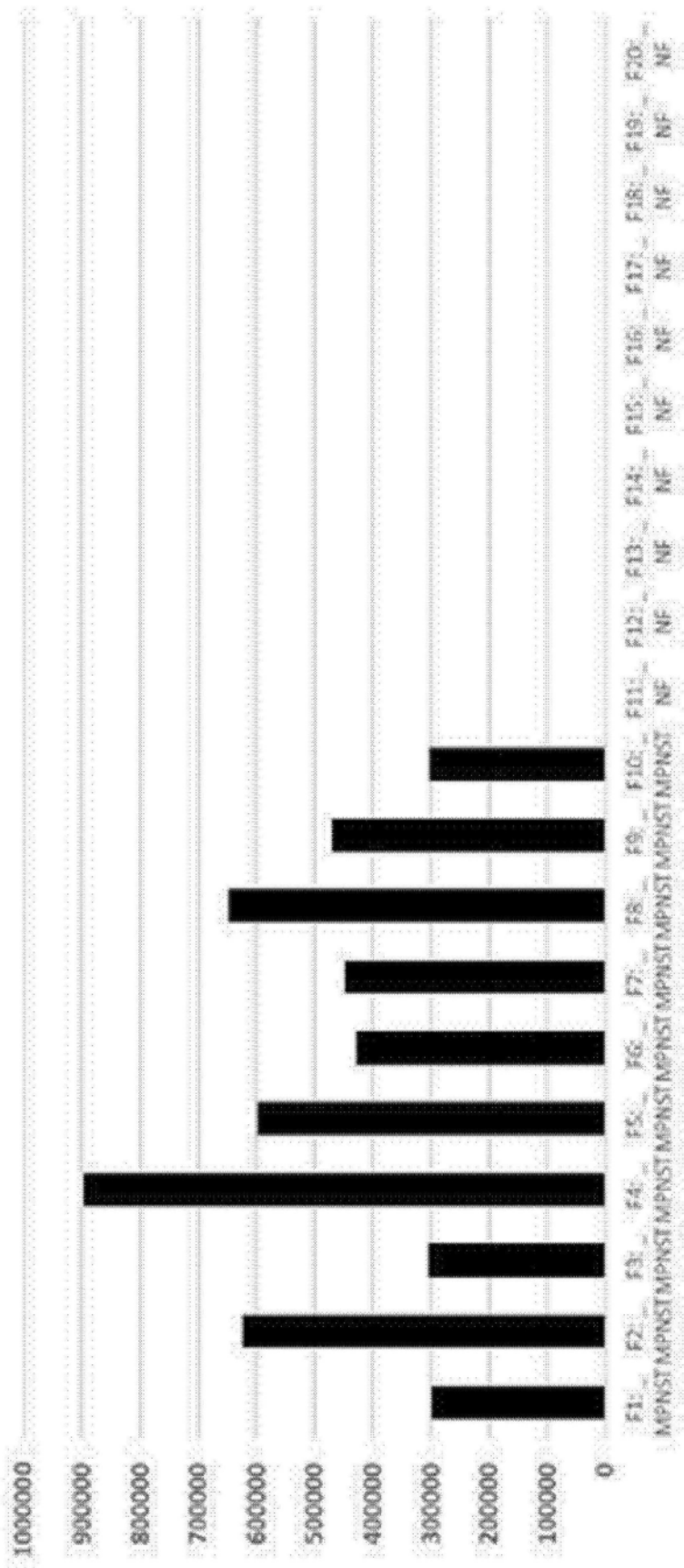


图17

PHKG1

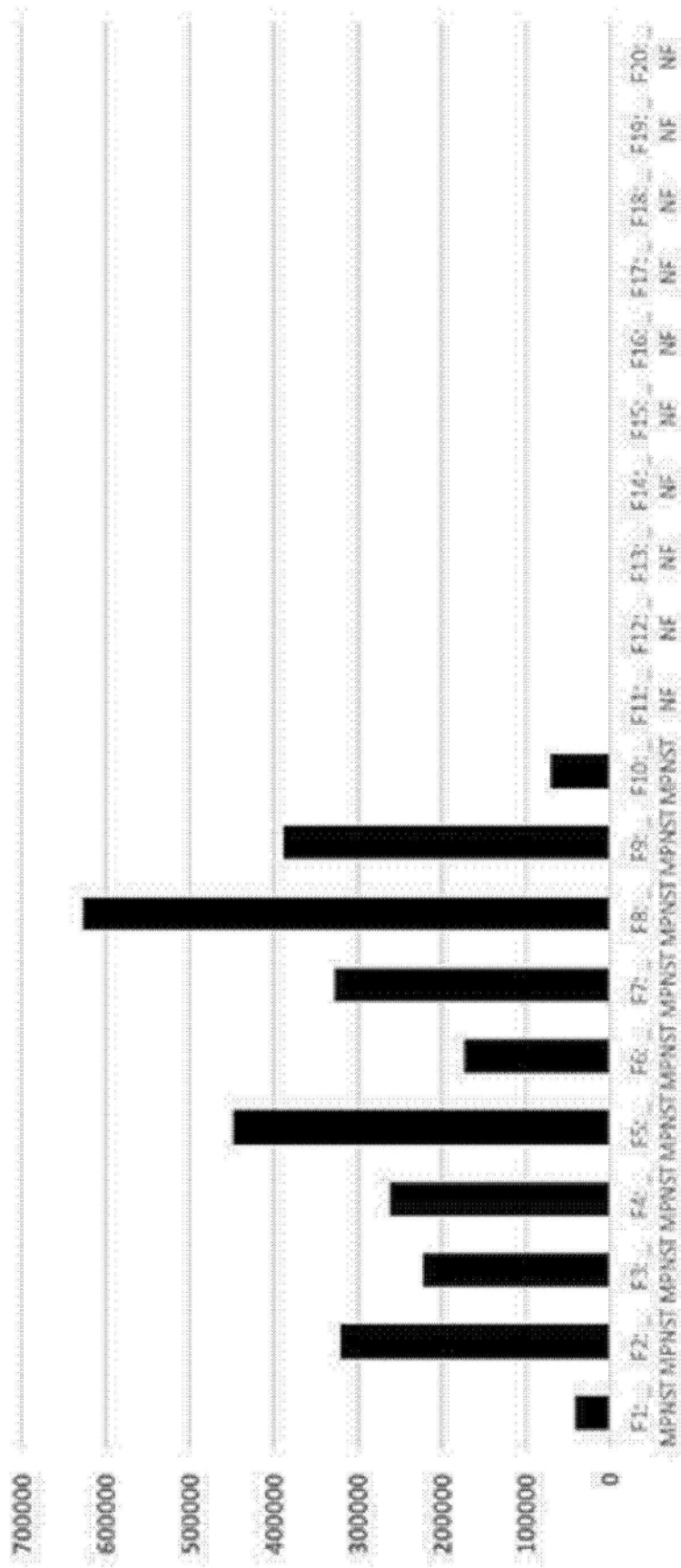


图18

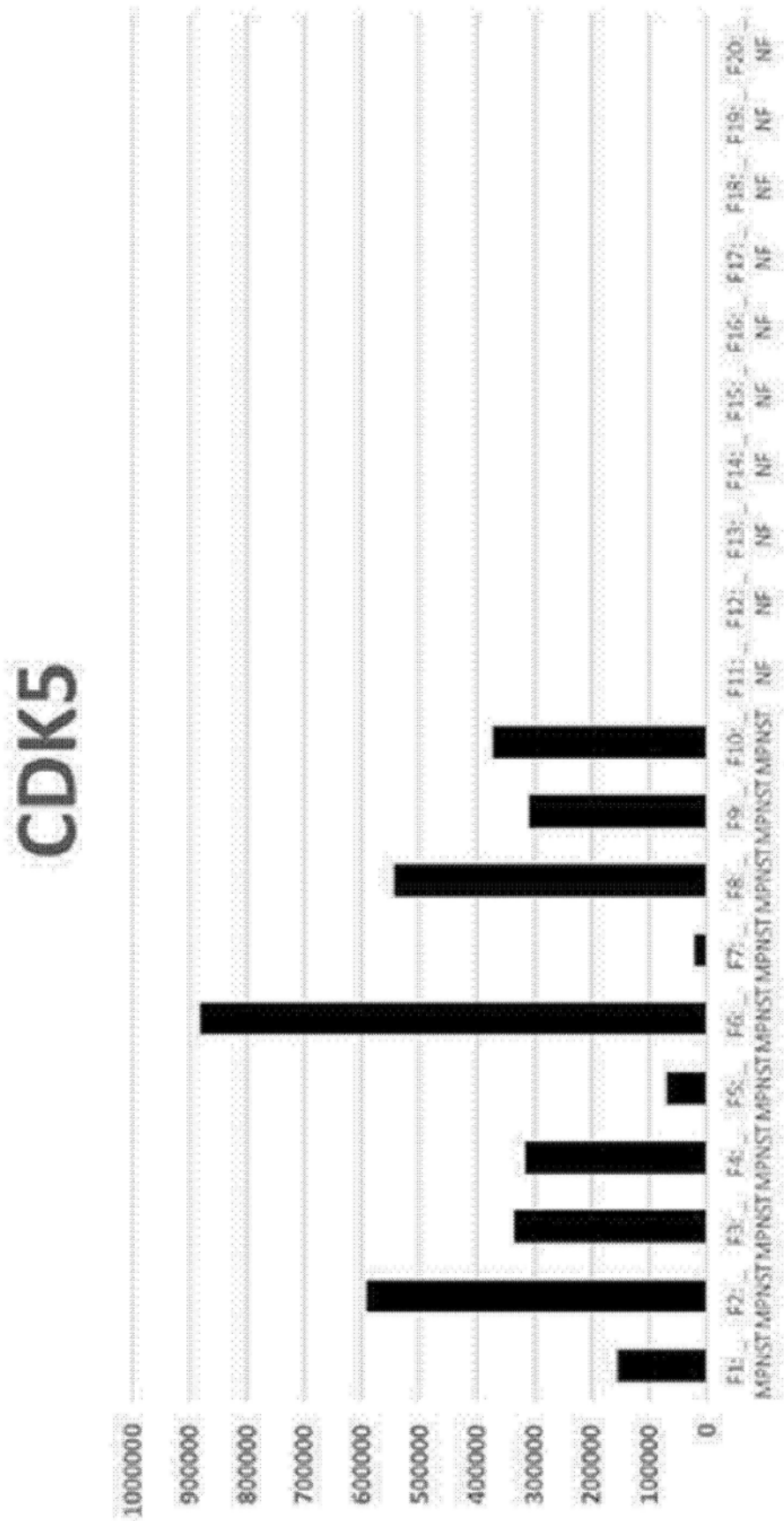


图19

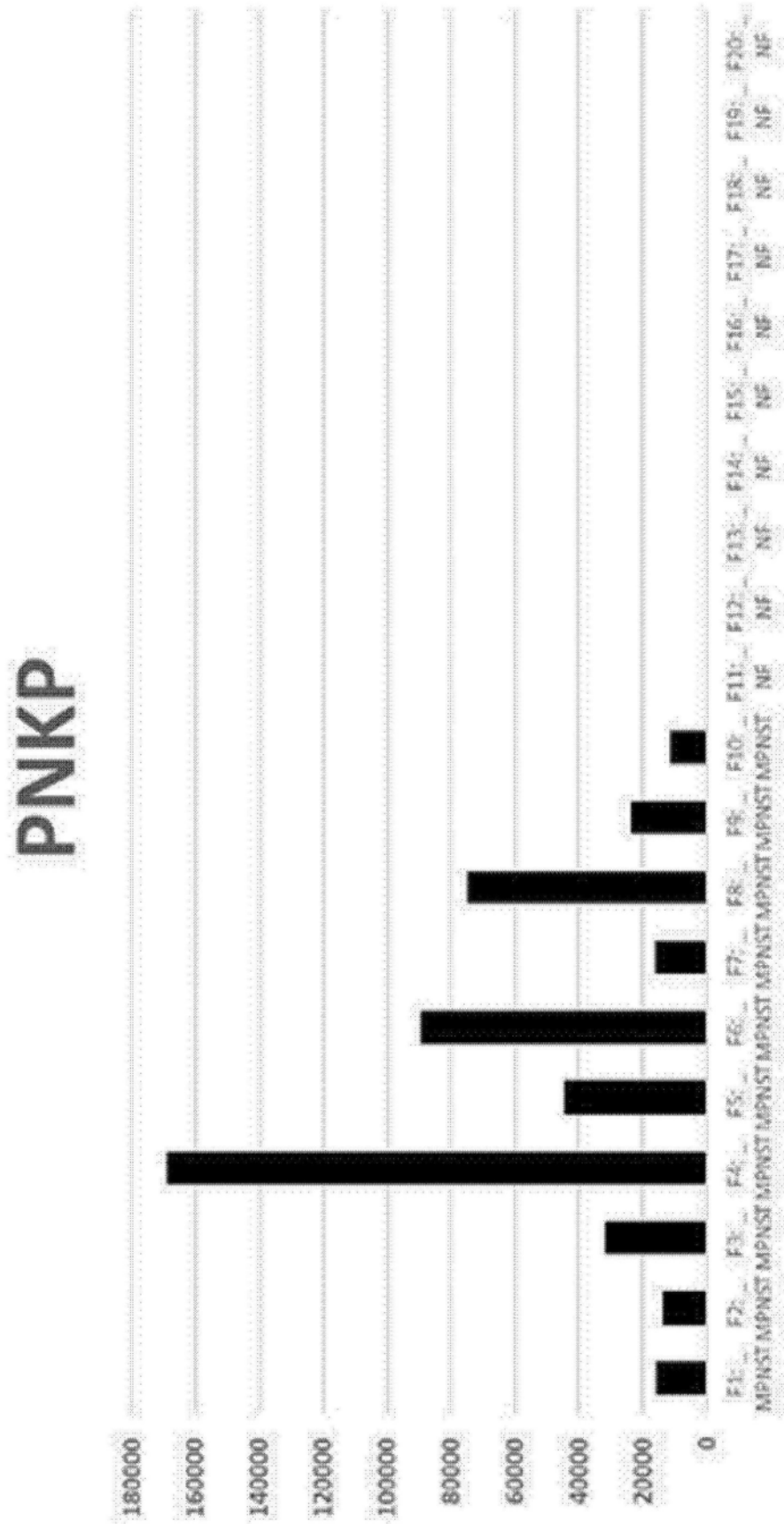


图20

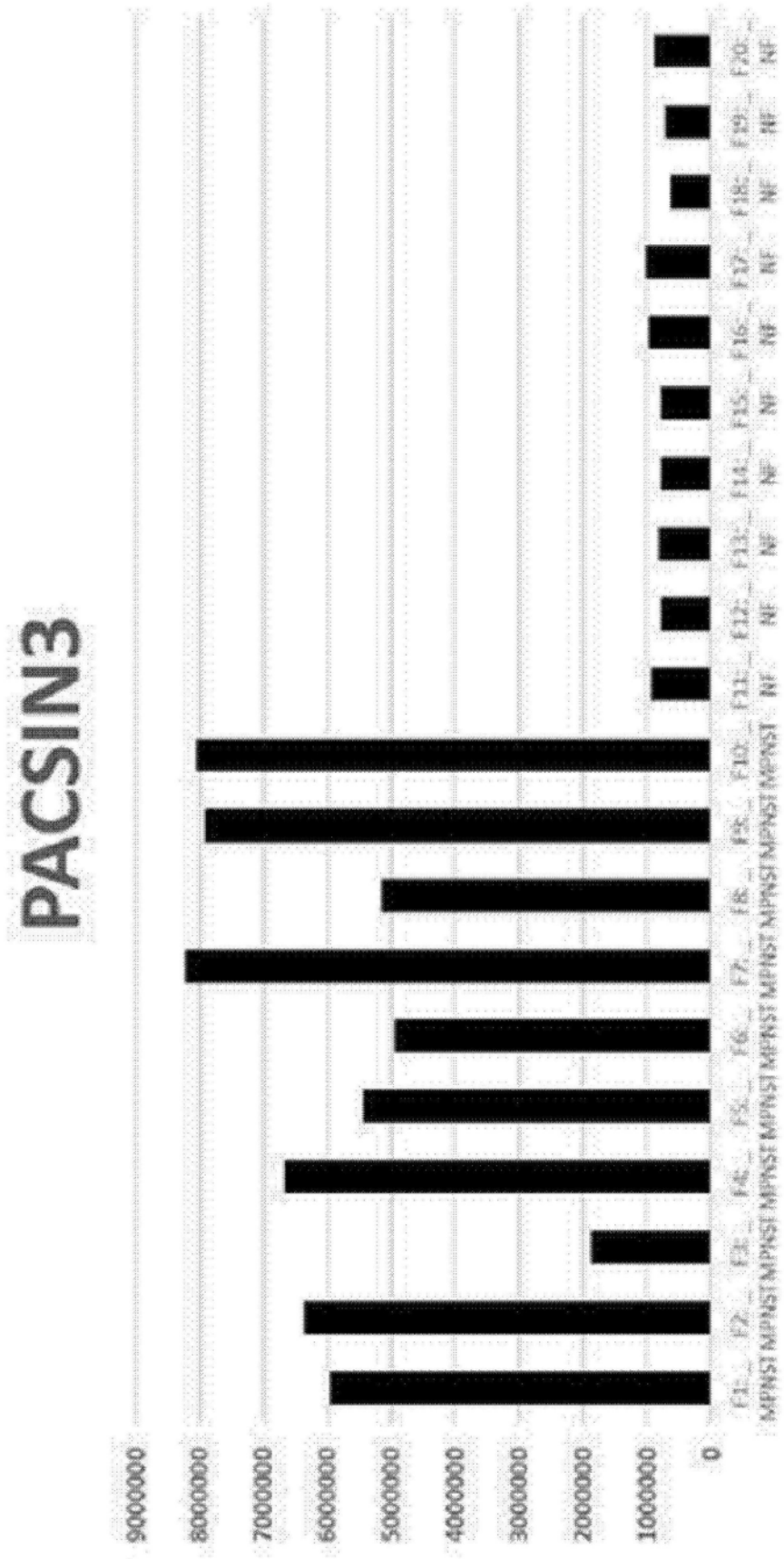


图21

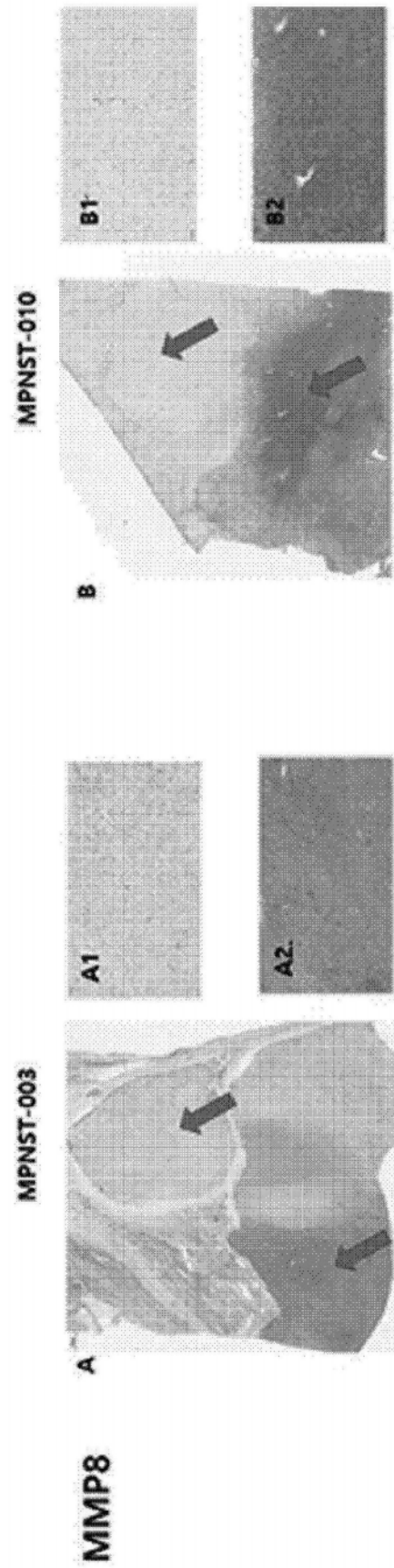


图22

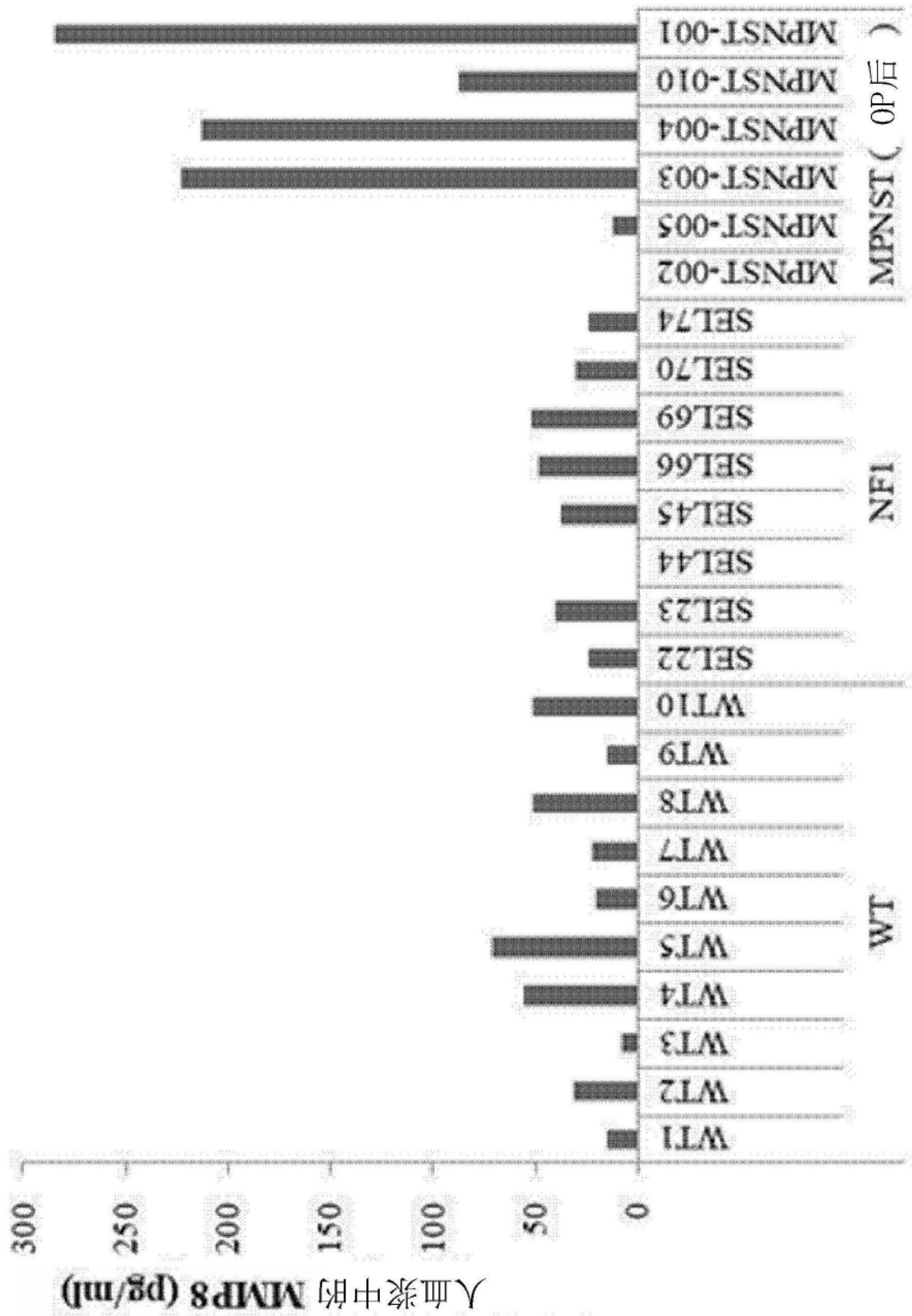


图23

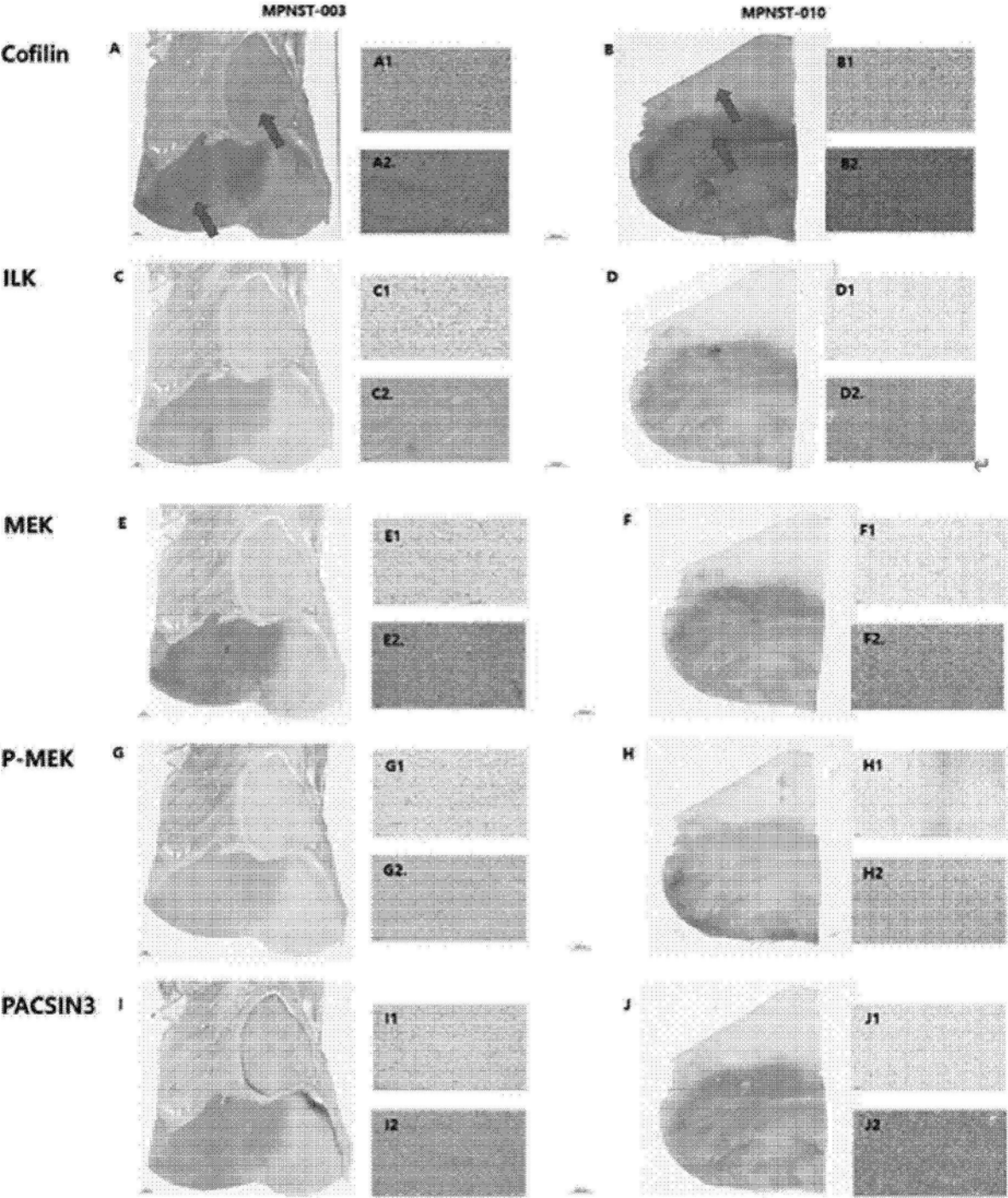


图24