



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102459639 A

(43) 申请公布日 2012. 05. 16

(21) 申请号 201080027267. X

(22) 申请日 2010. 04. 17

(30) 优先权数据

61/170, 615 2009. 04. 18 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2011. 12. 19

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2010/031528 2010. 04. 17

(87) PCT申请的公布数据

W02010/121231 EN 2010. 10. 21

(71) 申请人 健泰科生物技术公司

地址 美国加利福尼亚州

(72) 发明人 D. 多南 B. 伯林顿

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 张红春

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68 (2006. 01)

权利要求书 2 页 说明书 47 页 附图 29 页

(54) 发明名称

用于评估B细胞淋巴瘤对抗CD40抗体治疗的
响应性的方法

(57) 摘要

本发明提供了对于预测或评估具有B细胞淋巴瘤的患者对抗CD40抗体治疗的响应性有用的方法和试剂盒。

1. 一种用于预测具有B细胞淋巴瘤的受试者对抗CD40抗体治疗的响应性的方法,包括下述步骤:

(a) 测量自所述受试者获得的包含B细胞淋巴瘤细胞的样品中选自下组的一种或多种标志物基因的表达水平:BCL6、IFITM1、CD40、RGS13、VNN2、LMO2、CD79B、CD22、BTG2、IGF1R、CD44、CTSC、EPDR1、UAP1、和PUS7;并

(b) 使用K-最近邻居分析基于来自受试者的样品和类别已知的参照样品中一种或多种标志物基因的表达水平将受试者归为响应或不响应受试者。

2. 权利要求1的方法,其中所述测量表达水平是标准化的。

3. 权利要求1的方法,其中所述参照样品是自己已经测试了對抗CD40抗体治疗的响应性的受试者获得的包含B淋巴瘤细胞的样品。

4. 权利要求3的方法,其中所述参照样品与所述来自预测對抗CD40抗体治疗的响应性的受试者的样品包含相同类型的B淋巴瘤细胞。

5. 权利要求1-4任一项的方法,其中在对受试者归类时测量并使用至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种、至少七种、至少八种、至少九种、至少十种、至少十一种、至少十二种、至少十三种、至少十四种、或所有十五种标志物基因的表达水平。

6. 权利要求5的方法,其中在对受试者归类时测量并使用BCL6、IFITM1、CD22、IGF1R、CD44、EPDR1、和UAP1的表达水平。

7. 权利要求1的方法,其中步骤(b)中对受试者归类如下进行:(1)确定参数K;(2)计算来自受试者的样品中标志物基因的表达水平与每一参照样品中相应标志物基因的表达水平之间的差异;(3)通过选择那些来自受试者的样品和参照样品之间绝对差异加权平均值(WAAD)最小的样品来确定最近参照样品;(4)基于K最近参照样品的已知类别来确定受试者的类别。

8. 权利要求7的方法,其中K-最近邻居分析中的参数K为4、5、6、7、8、9、10、11、12、或13。

9. 权利要求1-8任一项的方法,其中所述抗CD40抗体治疗是用激动性抗CD40抗体进行的治疗。

10. 权利要求9的方法,其中所述激动性抗CD40抗体刺激CD40且增强CD40和CD40配体之间的相互作用。

11. 权利要求9的方法,其中所述激动性抗CD40抗体包含SEQ ID NO:1所示重链氨基酸序列和SEQ ID NO:2所示轻链氨基酸序列。

12. 权利要求9的方法,其中所述激动性抗CD40抗体刺激CD40且不增强或抑制CD40和CD40配体之间的相互作用。

13. 权利要求1-12任一项的方法,其中所述B细胞淋巴瘤是弥漫性大B细胞淋巴瘤(DLBCL)。

14. 权利要求1-12任一项的方法,其中所述B细胞淋巴瘤是非何杰金氏淋巴瘤。

15. 权利要求14的方法,其中所述非何杰金氏淋巴瘤是滤泡性淋巴瘤、套细胞性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、或小淋巴细胞性淋巴瘤。

16. 权利要求1-15任一项的方法,其中所述样品是福尔马林固定、石蜡包埋的活检样品。

17. 权利要求 1-16 任一项的方法,其中所述一种或多种标志物基因的表达水平是通过所述一种或多种标志物基因的 RNA 转录物水平测量的。

18. 权利要求 17 的方法,其中所述 RNA 转录物是通过 qRT-PCR 测量的。

19. 权利要求 17 的方法,其中所述 RNA 转录物是通过微阵列测量的。

20. 权利要求 1-16 任一项的方法,其中所述一种或多种标志物基因的表达水平是通过所述一种或多种标志物基因的蛋白质表达水平测量的。

21. 一种用于预测具有 B 细胞淋巴瘤的受试者对抗 CD40 抗体治疗的响应性的试剂盒,包括用于测量来自受试者的包含 B 淋巴瘤细胞的样品中选自下组的一种或多种标志物基因的表达水平的试剂:BCL6, IFITM1, CD40, RGS13, VNN2, LM02, CD79B, CD22, BTG2, IGF1R, CD44, CTSC, EPDR1, UAP1 和 PUS7,及关于使用 K-最近邻居分析基于来自受试者的样品和类别已知的参照样品中所述一种或多种标志物基因的表达水平将受试者归为响应或不响应受试者的说明书。

22. 权利要求 21 的试剂盒,其中所述试剂包括用于通过 qRT-PCR 检测所述一种或多种标志物基因的表达水平的至少一对引物和至少一种探针。

23. 权利要求 22 的试剂盒,其中所述引物对和探针选自下组:SEQ ID NO:102、103 和 104;SEQ ID NO:108、109 和 110;SEQ ID NO:27、28 和 29;SEQ ID NO:60、61、和 62;SEQ ID NO:93、94、和 95;SEQ ID NO:24、25、和 26;SEQ ID NO:57、58、和 59;SEQ ID NO:90、91 和 92;SEQ ID NO:114、115、和 116;SEQ ID NO:126、127、和 128;SEQ ID NO:30、31、和 32;SEQ ID NO:63、64、和 65;SEQ ID NO:96、97、和 98;SEQ ID NO:12、13、和 14;SEQ ID NO:45、46、和 47;SEQ ID NO:78、79、和 80;SEQ ID NO:141、142、和 143;SEQ ID NO:150、151、和 152;SEQ ID NO:159、160、和 161;SEQ ID NO:15、16、和 17;SEQ ID NO:48、49、和 50;SEQ ID NO:81、82、和 83;SEQ ID NO:9、10、和 11;SEQ ID NO:42、43、和 44;SEQ ID NO:75、76、和 77;SEQ ID NO:6、7、和 8;SEQ ID NO:39、40、和 41;SEQ ID NO:72、73、和 74;SEQ ID NO:174、175、和 176;SEQ ID NO:180、181、和 182;SEQ ID NO:186、187、和 188;SEQ ID NO:165、166、和 167;SEQ ID NO:168、169、和 170;SEQ ID NO:171、172、和 173;SEQ ID NO:21、22、和 23;SEQ ID NO:54、55、和 56;SEQ ID NO:87、88、和 89;SEQ ID NO:129、130、和 131;SEQ ID NO:132、133、和 134;SEQ ID NO:135、136、和 137;SEQ ID NO:138、139、和 140;SEQ ID NO:147、148、和 149;SEQ ID NO:156、157、和 158;SEQ ID NO:177、178、和 179;SEQ ID NO:183、184、和 185;及 SEQ ID NO:189、190、和 191。

用于评估 B 细胞淋巴瘤对抗 CD40 抗体治疗的响应性的方法

[0001] 对相关申请的交叉引用

[0002] 本申请要求 2009 年 4 月 18 日提交的美国临时申请流水号 61/170,615 的优先权，通过述及将其完整收入本文。

发明领域

[0003] 一般而言，本发明涉及预测、评估、帮助评估具有 B 细胞淋巴瘤的或者对抗 CD40 抗体治疗的响应性的领域，及用于治疗鉴定为抗 CD40 抗体治疗候选者的个体的方法。

[0004] 发明背景

[0005] CD40 是肿瘤坏死受体超家族的 I 型跨膜蛋白质。CD40 是涉及 B 细胞增殖和分化、免疫球蛋白同种型转换、及细胞存活力的重要分子。受体信号传导由 CD40 结合 CD40 配体 (CD40L 或 CD154) 来启动，CD40 配体主要在活化的 CD4⁺T 细胞上表达。

[0006] 在正常细胞上，CD40 在具有高度增殖潜力的细胞上表达，包括造血祖细胞、上皮和内皮细胞，及所有抗原呈递细胞（树突细胞、活化的 B 淋巴细胞、和活化的单核细胞）。CD40 在数种类型的 B 细胞血液学恶性肿瘤上高度表达，包括多发性骨髓瘤、非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、和慢性淋巴细胞性白血病 (CLL)。CD40 在 B 细胞恶性肿瘤上的高表达使之成为基于抗体的癌症疗法的诱人的潜在靶物。CD40 还在大多数膀胱癌、显著比例的其它实体瘤（包括头颈癌、肾细胞癌、卵巢和肺癌）上表达。

[0007] 抗 CD40 抗体及其用于治疗 B 细胞血液学恶性肿瘤的用途已有记载。参见例如美国专利 6,946,129 ;6,843,989 ;6,838,261 ;WO 2000/075348 ;US-2002-0197256 ;WO 2006/128103 ;和 WO 2007/075326。已经显示了人源化抗 CD40 抗体经由直接信号转导在血液学肿瘤细胞的一个子集中诱导 CD40 阳性细胞的生长抑制和凋亡。WO 2006/128103 ;WO 2007/075326。另外，人源化抗 CD40 抗体经免疫效应器功能杀死肿瘤细胞，包括抗体依赖性细胞的细胞毒性 (ADCC) 和抗体依赖性细胞的吞噬 (ADCP)。在体内，使用多发性骨髓瘤 (MM) 和非何杰金氏淋巴瘤 (NHL) 的异种移植物模型，抗 CD40 抗体在重度联合免疫缺陷 (SCID) 小鼠中遏制肿瘤生长并改善存活。在数种模型中比较抗 CD40 抗体与利妥昔单抗 (Genentech, Inc.) 揭示了抗 CD40 抗体的抗肿瘤活性至少像利妥昔单抗一样有效。启动了临床试验在具有复发性 and 顽固性多发性骨髓瘤 (MM)、复发性非何杰金氏淋巴瘤 (NHL)、慢性淋巴细胞性淋巴瘤 (CLL)、或复发性弥漫性大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 的患者中测试人源化抗 CD40 抗体。

[0008] 虽然已经显示了抗 CD40 抗体能诱导 CD40 阳性细胞的生长抑制和凋亡，而且在多种类型的 B 细胞淋巴瘤患者中可具有抗肿瘤活性，但是并非所有 B 淋巴瘤细胞都对由抗 CD40 抗体介导的细胞死亡敏感。仍然需要为 B 细胞淋巴瘤患者对抗 CD40 抗体疗法的响应性鉴定一种或多种预测标志物。

[0009] 通过述及完整收录本文中所引用的所有参考文献（包括专利申请和出版物）。

[0010] 发明概述

[0011] 本发明提供了用于预测、评估或帮助评估具有某种类型的 B 细胞淋巴瘤的受试者

对抗 CD40 抗体治疗的响应性的方法和组合物。

[0012] 一方面,本发明提供了用于评估或帮助评估具有 B 细胞淋巴瘤的受试者对抗 CD40 抗体治疗的响应性的方法,包括与参照水平比较来自所述受试者的 B 细胞淋巴瘤样品中选自下组的至少一种标志物基因的测量表达水平:UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B。

[0013] 另一方面,本发明提供了用于在具有 B 细胞淋巴瘤的受试者中预测抗 CD40 抗体治疗的响应性或监测治疗 / 对抗 CD40 抗体治疗的响应性的方法,包括与参照水平比较来自所述受试者的 B 细胞淋巴瘤样品中选自下组的至少一种标志物基因的测量表达水平:UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B。

[0014] 另一方面,本发明提供了用于预测、评估或帮助评估具有 B 细胞淋巴瘤的受试者对抗 CD40 抗体治疗的响应性的方法,包括下述步骤:(a) 测量自所述受试者获得的包含 B 淋巴瘤细胞的样品中选自下组的一种或多种标志物基因的表达水平:IFITM1、CD40、RGS13、VNN2、LMO2、CD79B、CD22、BTG2、IGF1R、CD44、CTSC、EPDR1、UAP1、PUS7、和 BCL6;并(b) 基于来自步骤(a)的一种或多种标志物基因的测量表达水平预测所述受试者是否有可能响应抗 CD40 抗体治疗。在一些实施方案中,测量来自该组的至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种、至少七种、至少八种、至少九种、至少十种、至少十一种、至少十二种、至少十三种、至少十四种、或十五种标志物基因的表达水平并用于预测、评估、或帮助评估。在一些实施方案中,所述预测、评估、或帮助评估是通过与参照水平比较一种或多种标志物基因的测量表达水平来确定的。在一些实施方案中,参照水平是基于如下样品中相应标志物基因的测量表达水平而确定的值或范围,所述样品包含 B 淋巴瘤细胞且来自在抗 CD40 抗体治疗后肿瘤体积增大或缩小的受试者。在一些实施方案中,来自用于确定参照水平的受试者的样品与来自对抗 CD40 抗体治疗的响应性预测的受试者的样品包含相同类型的 B 淋巴瘤细胞。在一些实施方案中,使用基于一种或多种标志物基因的测量表达水平确定的敏感指数值来预测或评估响应性。在一些实施方案中,通过使用本文所述 K-最近邻居分析(nearest neighbors analysis)对受试者归类来预测或评估响应性。

[0015] 另一方面,本发明提供了用于为具有 B 细胞淋巴瘤的受试者制备个性化基因组序型(personalized genomics profile)的方法,包括下述步骤:(a) 测定自所述受试者获得的包含 B 淋巴瘤细胞的样品中选自下组的一种或多种标志物基因的表达水平:IFITM1、CD40、RGS13、VNN2、LMO2、CD79B、CD22、BTG2、IGF1R、CD44、CTSC、EPDR1、UAP1、PUS7、和 BCL6;并(b) 生成总结步骤(a)中获得的一种或多种标志物基因的表达水平的报告。在一些实施方案中,测量来自该组的至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种、至少七种、至少八种、至少九种、至少十种、至少十一种、至少十二种、至少十三种、至少十四种、或至少十五种标志物基因的表达水平并用于生成个性化基因组序型的报告。在一些实施方案中,所述报告包括对所述受试者推荐抗 CD40 抗体治疗。在一些实施方案中,所述推荐是通过与参照水平比较标志物基因的测量表达水平而确定的。在一些实施方案中,参照水平是基于如下样品中相应标志物基因的测量表达水平而确定的值或范围,所述样品来自在抗 CD40 抗体治疗后肿瘤体积增大或缩小的受试者且包含 B 淋巴瘤细胞。在一些实施方案中,由基于标志物基因的测量表达水平确定的敏感指数值来确定所述推荐。在一些实施方案中,通

过使用本文所述 K-最近邻居分析对受试者归类来确定所述推荐。

[0016] 另一方面,本发明提供了用于预测、评估或帮助评估具有 B 细胞淋巴瘤的受试者对抗 CD40 抗体治疗的响应性的方法,包括下述步骤:(a) 测量自所述受试者获得的包含 B 淋巴瘤细胞的样品中选自下组的至少两种标志物基因的表达水平:IFITM1、CD40、RGS13、VNN2、LM02、CD79B、CD22、BTG2、IGF1R、CD44、CTSC、EPDR1、UAP1、PUS7、和 BCL6;(b) 基于步骤 (a) 中的标志物基因的表达水平通过下述方程计算敏感指数值 (SI):

$$[0017] \quad SI = \sum_{j=1}^p \beta_j \frac{x_j - \hat{\mu}_j}{\sqrt{\hat{\sigma}_j^2}}$$

[0018] 其中测量表 4 所示至少一种具有正关联值的标志物基因的和至少一种具有负关联值的标志物基因的表达水平;

[0019] 其中 (i) β_j 是所测量的每一种标志物基因的系数值;(ii) p 是所测量的标志物基因的数目;(iii) X_j 是对于来自要测量表达水平的受试者的样品所测量的每一种标志物的经过换算、标准化的表达水平;而 (iv) μ_j 和 σ_j 是所测量的每一种标志物基因的均值和标准偏差;其中 β_j 、 μ_j 和 σ_j 是自包含 B 淋巴瘤细胞的患者样品确定的。在一些实施方案中,敏感指数的值等于或大于零指示所述受试者有可能响应抗 CD40 抗体治疗,或者敏感指数的值小于零指示所述受试者不太可能响应抗 CD40 抗体治疗。在一些实施方案中,测量至少三种、至少四种、至少五种、至少六种、至少七种、至少八种、至少九种、至少十种、至少十一种、至少十二种、至少十三种、至少十四种、或十五种标志物基因的表达水平并用于计算敏感指数。在一些实施方案中,测量 IFITM1、RGS13、CD79B、CD22、BTG2、CD44、EPDR1、和 UAP1 的表达水平并用于计算敏感指数。在一些实施方案中, β_j 、 μ_j 和 σ_j 是自具有与来自对抗 CD40 治疗的响应性预测的受试者的样品相同类型的 B 淋巴瘤细胞的患者样品确定的。

[0020] 另一方面,本发明提供了用于预测具有 B 细胞淋巴瘤的受试者对抗 CD40 抗体治疗的响应性的方法,包括步骤 (a) 测量自受试者获得的包含 B 淋巴瘤细胞的样品中一种或多种标志物基因的表达水平,其中所述一种或多种标志物基因选自下组:BCL6、IFITM1、CD40、RGS13、VNN2、LM02、CD79B、CD22、BTG2、IGF1R、CD44、CTSC、EPDR1、UAP1、和 PUS7;并 (b) 使用 K-最近邻居分析基于来自受试者的样品和类别已知的参照样品中所述一种或多种标志物基因的表达水平将受试者归为响应或不响应受试者。在一些实施方案中,所述归类是使用加权 K-最近邻居分析确定的。在一些实施方案中,所述归类是使用不加权 K-最近邻居分析确定的。在一些实施方案中,步骤 (b) 中对受试者归类如下进行:(1) 确定参数 K(即最近邻居数目);(2) 计算来自受试者的样品中标志物基因的表达水平和每一参照样品中相应标志物基因的表达水平之间的差异;(3) 通过选择那些来自受试者的样品和参照样品之间绝对差异加权平均值 (WAAD) 最小的样品来确定最近参照样品;并 (4) 基于 K 最近参照样品的已知类别来确定受试者的类别。在一些实施方案中,使用临床试验样品的交叉验证来确定 K。在一些实施方案中, K 为 4、5、6、7、8、9、10、11、12、或 13。在一些实施方案中,所述参照样品是自己已经测试过或已知对抗 CD40 抗体治疗的响应性的受试者获得的包含 B 淋巴瘤细胞的样品。在一些实施方案中,所述参照样品与来自预测或评估对抗 CD40 抗体治疗的响应性的受试者的样品包含相同类型的 B 淋巴瘤细胞。在一些实施方案中,在对受试者归类时测量并使用 BCL6、IFITM1、CD40、RGS13、VNN2、LM02、CD79B、CD22、BTG2、IGF1R、CD44、CTSC、EPDR1、UAP1、和 PUS7 中至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种、

至少七种、至少八种、至少九种、至少十种、至少十一种、至少十二种、至少十三种、至少十四种、或所有十五种标志物基因的表达水平。在一些实施方案中,在对受试者归类时测量并使用 BCL6、IFITM1、CD22、IGF1R、CD44、EPDR1、和 UAP1 的表达水平。在一些实施方案中,测量表达水平是标准化的。

[0021] 另一方面,本发明提供了用于治疗具有 B 细胞淋巴瘤的受试者的方法,包括对所述受试者施用有效量的抗 CD40 抗体,其中已经通过本文所述方法评估了所述受试者中的 B 细胞淋巴瘤的响应性。另一方面,本发明提供了用于治疗具有 B 细胞淋巴瘤的受试者的方法,包括 a) 通过与参照水平比较来自受试者的 B 细胞淋巴瘤样品中选自下组的至少一种标志物基因的测量表达水平以评估所述受试者中的 B 细胞淋巴瘤是否适合于抗 CD40 抗体治疗来为抗 CD40 抗体治疗选择受试者:UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B;并对所述受试者施用有效量的抗 CD40 抗体。另一方面,本发明提供了用于治疗具有 B 细胞淋巴瘤的受试者的方法,包括 a) 如果使用 K-最近邻居分析基于来自受试者的 B 细胞淋巴瘤样品和类别已知的参照样品中选自下组的一种或多种标志物基因的测量表达水平将受试者归为响应受试者的话,为抗 CD40 抗体治疗选择受试者:UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B;并对所述受试者施用有效量的抗 CD40 抗体。

[0022] 在一些实施方案中,所述参照水平是不同 B 细胞淋巴瘤样品中标志物基因的测量表达水平。在一些实施方案中,所述不同 B 细胞淋巴瘤样品包含对由抗 CD40 抗体诱导的细胞死亡有抗性的 B 淋巴瘤细胞。

[0023] 在一些实施方案中,标志物基因的测量表达水平和 / 或参照水平是标准化的。

[0024] 在一些实施方案中,与一种或多种参照水平比较来自受试者的 B 细胞淋巴瘤样品中选自下组的至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种、至少七种、至少八种、至少九种、至少十种、至少十一种、至少十二种、至少十三种、至少十四种、或十五种基因的测量表达水平:UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B。

[0025] 在一些实施方案中,通过检测 mRNA 表达(例如实时定量逆转录 PCR(qRT-PCR))和 / 或检测蛋白质表达(例如免疫组织化学(IHC))来测量表达水平。表 1 所示探针和引物可用于 qRT-PCR。

[0026] 在一些实施方案中,所述 B 细胞淋巴瘤是非何杰金氏淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma)(NHL),包括但不限于滤泡性淋巴瘤(follicular lymphoma)、复发性滤泡性淋巴瘤(relapsed follicular lymphoma)、小淋巴细胞性淋巴瘤(small lymphocytic lymphoma)、套细胞性淋巴瘤(mantle cell lymphoma)、边缘区淋巴瘤(marginal zone lymphoma)、淋巴浆细胞性淋巴瘤(lymphoplasmacytic lymphoma)、蕈样肉芽肿病(mycosis fungoides)/塞扎里综合征(Sezary syndrome)、脾边缘区淋巴瘤(splenic marginal zone lymphoma)、和弥漫性大 B 细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma)(DLBCL)。在一些实施方案中,所述 B 细胞淋巴瘤选自下组:无痛性淋巴瘤(indolent lymphoma)、攻击性淋巴瘤(aggressive lymphoma)、和高度攻击性淋巴瘤(highly aggressive lymphoma)。在一些实施方案中,B 细胞淋巴瘤是复发性和 / 或顽固性淋巴瘤。在一些实施方案中,B 细胞淋巴瘤是复发性 / 顽固性 DLBCL。

[0027] 在一些实施方案中,所述抗 CD40 抗体治疗是用激动性抗 CD40 抗体进行的治疗。在一些实施方案中,所述激动性抗 CD40 抗体刺激 CD40 且增强 CD40 和 CD40 配体之间的相互作用。在一些实施方案中,所述激动性抗 CD40 抗体刺激 CD40 但不增强或抑制 CD40 和 CD40 配体之间的相互作用。在一些实施方案中,所述激动性抗 CD40 抗体包含 SEQ ID NO :1 所示重链氨基酸序列和 SEQ ID NO :2 所示轻链氨基酸序列。

[0028] 又一方面,本发明提供了试剂盒,包含用于测量选自下组的至少一种标志物基因的表达水平的试剂:UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B。

[0029] 在一些实施方案中,所述试剂盒包含用于通过 PCR 扩增至少一种标志物基因的至少一对引物。例如,可使用表 1 所示正向和反向引物。所述试剂盒可进一步包含附着有用于检测扩增基因产物的探针的表面,诸如微阵列,而且本发明涵盖和包括此类表面。在一些实施方案中,所述试剂盒包含用于通过 qRT-PCR 检测选自下组的一种标志物基因(诸如 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B)的表达水平的至少一对引物和至少一种探针。所述试剂盒可进一步包含用于通过 qRT-PCR 检测参照基因的表达水平的引物和探针。在一些实施方案中,所述试剂盒包含特异性识别由标志物基因编码的一种或多种蛋白质的一种或多种抗体。所述试剂盒可进一步包含用于实施本文所述任何方法的其它试剂和/或指令。

[0030] 应当理解,可以组合本文所述各个实施方案的一个、一些、或所有特征以形成本发明的其它实施方案。本发明的这些和其它方面对于本领域技术人员会变得显而易见的。

[0031] 附图简述

[0032] 图 1-1 至 1-26。表 1 所列一些基因的基因库序列。编码 VNN2(图 1-1:SEQ ID NO :258)、RGS13(图 1-2:SEQ ID NO :259)、CD22(图 1-3 和 1-4:SEQ ID NO :260)、CD40(图 1-5:SEQ ID NO :261)、IFITM1(图 1-6:SEQ ID NO :262)、BCL6(图 1-7 和 1-8:SEQ ID NO :263)、EPDR1(图 1-9:SEQ ID NO :264)、IGF1R(图 1-10 至 1-13:SEQ ID NO :265)、BTG2(图 1-14 和 1-15:SEQ ID NO :266)、LMO2(图 1-16:SEQ ID NO :267)、CD79B(图 1-17:SEQ ID NO :268)、CD44(图 1-18 和 1-19:SEQ ID NO :269)、CTSC(图 1-20:SEQ ID NO :270)、UAP1(图 1-21:SEQ ID NO :271)、PUS7(图 1-22 和 1-23:SEQ ID NO :272)、CD22(图 1-24 和 1-25:SEQ ID NO :273)、和 RGS13(图 1-26:SEQ ID NO :274)的 mRNA 的核酸序列。

[0033] 图 2。多变量敏感指数和临床试验 001 中 21 名患者肿瘤直径乘积之和 (SPD) 测量的百分比变化的关联。SPD 百分比变化是通过与基线 SPD 比较最小基线后 SPD 来确定的。正变化指示肿瘤体积增大,而负变化指示肿瘤体积缩小。用于计算敏感指数的重量(系数)显示于表 5。较大的多变量敏感指数值与基线后 SPD 降低有关(Sperman 氏 $\rho = -0.58$; $P = 0.006$)。

[0034] 图 3。BCL6 表达和 26 名具有 DLBCL 的患者的 SPD 测量的百分比变化的关联。SPD 百分比变化是通过与基线 SPD 比较最小基线后 SPD 来确定的。正变化指示肿瘤体积增大,而负变化指示肿瘤体积缩小。

[0035] 图 4。使用标志物基因的 mRNA 表达水平来预测对抗 CD40Ab. 1 治疗的敏感性。SPD 百分比变化是通过与基线 SPD 比较最小基线后 SPD 来确定的。正变化指示肿瘤体积增大,而负变化指示肿瘤体积缩小。

[0036] 图 5。基于标志物基因的 mRNA 表达水平已归为响应 (Dx 阳性) 或不响应 (Dx 阴性) 抗 CD40Ab. 1 治疗的患者的无进展存活。

[0037] 发明详述

[0038] 本发明基于如下的发现,即某些基因在对抗 CD40 抗体诱导的细胞死亡敏感的 B 淋巴瘤细胞与对抗 CD40 诱导的细胞死亡有抗性的 B 淋巴瘤细胞之间差异表达。来自实施例 1 和 2 中所描述的临床试验的数据指示 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 这 15 种基因中一种或多种的表达水平可用于预测、评估或帮助评估对抗 CD40 抗体治疗 (诸如抗 CD40Ab. 1 治疗) 的响应性。一些在敏感性 B 淋巴瘤细胞与抗性 B 淋巴瘤细胞之间差异表达的基因是 CD40 配体下调途径基因;而一些在 B 细胞受体信号传导途径中。因而,这些差异表达基因中一种或多种的表达水平可用于评估或帮助评估具有 B 细胞淋巴瘤的受试者对抗 CD40 抗体治疗的响应性,预测受试者对抗 CD40 抗体治疗的响应性,及监测受试者中的治疗 / 响应性。

[0039] A. 通用技术

[0040] 除非另有说明,本发明的实施将采用分子生物学 (包括重组技术)、微生物学、细胞生物学、生物化学和免疫学的常规技术,这些都在本领域的技术范围内。这些技术在文献中有充分解释,诸如“Molecular Cloning: A Laboratory Manual”,第二版 (Sambrook et al., 1989);“Oligonucleotide Synthesis” (M. J. Gait 编, 1984);“Animal Cell Culture” (R. I. Freshney 编, 1987);“Methods in Enzymology” (Academic Press, Inc.);“Current Protocols in Molecular Biology” (F. M. Ausubel et al. 编, 1987, 及其周期性的更新);“PCR: The Polymerase Chain Reaction” (Mullis et al. 编, 1994)。

[0041] 本发明中所使用的引物、寡核苷酸和多核苷酸可利用本领域已知的标准技术生成。

[0042] 除非另有定义,本文中所使用的技术和科学术语与本发明所属领域普通技术人员通常的理解具有相同的含义。以下文献为本领域技术人员提供了本申请中所使用的许多术语的一般性指导: Singleton et al., Dictionary of Microbiology and Molecular Biology, 第二版, J. Wiley & Sons (New York, N. Y. 1994), 和 March, Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms and Structure, 第四版, John Wiley & Sons (New York, N. Y. 1992)。

[0043] B. 定义

[0044] 如本文中所使用的,术语“具有 B 细胞淋巴瘤的受试者”和“B 细胞淋巴瘤患者”指已经诊断为具有某类型的 B 细胞淋巴瘤或者已经给予某类型的 B 细胞淋巴瘤的可能诊断的受试者。

[0045] 如本文中所使用的,术语“生物标志物”或“标志物”一般指其在哺乳动物组织或细胞中或上的表达或分泌可以通过已知方法 (或本文中所公开的方法) 来检测且预示或可用于预测 (或帮助预测) 哺乳动物细胞或组织对基于抗 CD40 抗体的治疗方案的敏感性及在一些实施方案中预测 (或帮助预测) 个体对基于抗 CD40 抗体的治疗方案的响应性的分子,包括基因、蛋白质、碳水化合物结构、或糖脂。

[0046] 术语“样品”在用于本文时指获得自或衍生自感兴趣的受试者的组合物,其包含有待例如根据物理、生化、化学和 / 或生理特点来表征和 / 或鉴定的细胞和 / 或其它分子实

体。例如,短语“疾病样品”及其各种变化形式指得自感兴趣的受试者的任何样品,预计或已知其包含待表征的细胞和 / 或分子实体。

[0047] “组织或细胞样品”指从受试者或患者的组织得到的相似细胞的集合。组织或细胞样品的来源可以是实体组织,像来自新鲜的、冷冻的和 / 或保存的器官或组织样品或活检样品或穿刺样品;血液或任何血液组分;体液,诸如脑脊液、羊膜液(羊水)、腹膜液(腹水)、或间隙液;来自受试者的妊娠或发育任何时间的细胞。组织样品还可以是原代的或培养的细胞或细胞系。任选的是,组织或细胞样品是从疾病组织 / 器官得到的。组织样品可能包含在自然界中天然不与组织混杂的化合物,诸如防腐剂、抗凝剂、缓冲剂、固定剂、营养物、抗生素、等等。

[0048] 为本发明目的,组织样品的“切片”指一块或一片组织样品,例如从组织样品上切下来的一薄片组织或细胞。应当了解,可以制作多片组织样品切片并依照本发明进行分析,前提是应当了解,本发明包括将组织样品的同一切片用于形态学和分子两个水平的分析或者针对蛋白质和核酸二者进行分析的方法。

[0049] 如本文中所使用的,“B 细胞淋巴瘤样品”或“包含 B 淋巴瘤细胞的样品”指含有来自已经诊断为具有某类型的 B 细胞淋巴瘤的受试者或患者的 B 淋巴瘤细胞的组织或细胞样品。

[0050] 如本文中所使用的,用于“帮助评估”的方法指帮助做出临床决策的方法(例如 B 细胞淋巴瘤对抗 CD40 抗体治疗的响应性),而且对于确定性评估(definitive assessment)可以是或不是结论性的。

[0051] “受试者”或“个体”指哺乳动物,更优选人。哺乳动物包括但不限于人、灵长类、家畜、体育运动用动物、啮齿类、和宠物(例如犬和猫)。

[0052] 如本文中所使用的,“参照值”可以是绝对值;相对值;具有上限和 / 或下限的数值;数值范围;平均值;中值;均值;或与特定对照或基线值比较的数值。

[0053] 术语“阵列”或“微阵列”在用于本文时指可杂交阵列元素,诸如多核苷酸探针(例如寡核苷酸)和抗体在基片上的有序排列。基片可以是固体基片(诸如玻璃载玻片)或半固体基片(诸如硝酸纤维素膜)。核苷酸序列可以是 DNA、RNA、或其任意排列。

[0054] “扩增”在用于本文时一般指生成多拷贝的所需序列的过程。“多拷贝”指至少 2 个拷贝。“拷贝”不必指与模板序列有完美的序列互补性或同一性。例如,拷贝可包括诸如脱氧肌苷的核苷酸类似物、故意引入的序列改变(诸如通过包含能与模板杂交但不互补的序列的引物而引入的序列改变)、和 / 或在扩增过程中发生的序列错误。

[0055] 若基因或生物标志物在第一样品中的表达水平 / 量是该基因或生物标志物在第二样品中的表达水平 / 量的至少约 1.5 倍、1.75 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍或 10 倍,则该基因或生物标志物在第一样品中的表达水平 / 量的“大于”在第二样品中的水平。表达水平 / 量可以基于本领域已知的任何合适标准来测定,包括但不限于 mRNA、cDNA、蛋白质、蛋白质片段和 / 或基因拷贝。表达水平 / 量可以定性和 / 或定量测定。

[0056] “多核苷酸”或“核酸”在本文中可互换使用,指任何长度的核苷酸聚合物,包括 DNA 和 RNA。核苷酸可以是脱氧核糖核苷酸、核糖核苷酸、经过修饰的核苷酸或碱基、和 / 或其类似物,或者是可通过 DNA 或 RNA 聚合酶掺入聚合物的任何底物。多核苷酸可包含经过修饰的核苷酸,诸如甲基化核苷酸及其类似物。如果有的话,对核苷酸结构的修饰可以在装配聚

合物之前或之后进行。核苷酸序列可以由非核苷酸组分中断。多核苷酸可以在聚合后进一步修饰,诸如通过与标记用组分偶联。其它类型的修饰包括例如“帽”,将一个或多个天然存在的核苷酸用类似物替代,核苷酸间修饰诸如例如具有不带电荷连接(例如磷酸甲酯、磷酸三酯、磷酸酰胺酯(phosphoamidate)、氨基甲酸酯等)和具有带电荷连接(例如硫代磷酸酯、二硫代磷酸酯等)的修饰,含有悬垂模块(pendant moiety)诸如例如蛋白质(例如核酸酶、毒素、抗体、信号肽、聚L-赖氨酸等)的修饰、具有嵌入剂(例如吡啶、补骨脂素等)的修饰、含有螯合剂(例如金属、放射性金属、硼、氧化性金属等)的修饰、含有烷化剂的修饰、具有经修饰连接(例如 α 端基异构核酸(anomeric nucleic acid)等)的修饰、以及未修饰形式的多核苷酸。另外,通常存在于糖类中的任何羟基可以用例如膦酸(phosphonate)基团、磷酸(phosphate)基团替换,用标准保护基团保护,或活化以制备与别的核苷酸的别的连接,或者可偶联至固相支持物。5'和3'末端OH可磷酸化或者用胺或1-20个碳原子的有机加帽基团模块取代。其它羟基也可衍生成标准保护基团。多核苷酸还可含有本领域普遍知道的核糖或脱氧核糖糖类的类似物形式,包括例如2'-氧-甲基、2'-氧-烯丙基、2'-氟-或2'-叠氮-核糖,碳环糖类似物, α -端基异构糖,差向异构糖诸如阿拉伯糖、木糖或来苏糖、吡喃糖、呋喃糖、景天庚酮糖,无环类似物及脱碱基核苷类似物诸如甲基核糖核苷。可用备选连接基团替换一个或多个磷酸二酯连接。这些备选连接基团包括但不限于以下实施方案,其中磷酸酯用P(O)S(“硫代酸酯”(thioate))、P(S)S(“二硫代酸酯”(dithioate))、(O)NR₂(“酰胺酯”(amidate))、P(O)R、P(O)OR'、CO或CH₂(“甲缩醛”(formacetal))替代,其中R或R'各自独立为H或者取代或未取代的烷基(1-20个C),任选含有醚(-O-)连接、芳基、烯基、环烷基、环烯基或芳烷基(araldyl)。并非多核苷酸中的所有连接都必需是相同的。前述描述适用于本文中提及的所有多核苷酸,包括RNA和DNA。

[0057] “寡核苷酸”在用于本文时一般指短的多核苷酸,一般是单链,一般是合成的,长度一般但不是必需小于约200个核苷酸。术语“寡核苷酸”与“多核苷酸”并不互相排斥。上文关于多核苷酸的描述同样且完全适用于寡核苷酸。

[0058] “引物”一般是短的单链多核苷酸,一般具有游离的3'-OH基团,其通过与靶序列杂交而结合目的样品中潜在存在的靶,然后促进与靶互补的多核苷酸的聚合。“引物对”指可用于扩增特定靶基因的一部分的5'引物和3'引物。

[0059] 术语“3'(端)”一般指多核苷酸或寡核苷酸中位于同一多核苷酸或寡核苷酸中某一区域或位置的3'端(下游)的另一区域或位置。术语“5'(端)”一般指多核苷酸或寡核苷酸中位于同一多核苷酸或寡核苷酸中某一区域或位置的5'端(上游)的另一区域或位置。

[0060] 短语“基因扩增”指通过它在特定细胞或细胞系中形成多个拷贝的基因或基因片段的过程。所复制的区域(一段扩增的DNA)常常称为“扩增子”。通常,所生成的信使RNA(mRNA)的量,即基因表达的水平,也按所表达特定基因生成的拷贝数的比例升高。

[0061] “检测”包括任何检测手段,包括直接和间接检测。

[0062] 术语“预测”在本文中用于指患者会对药物或药物集有利地或不利地响应的可能性。在一个实施方案中,预测涉及那些响应的程度。在一个实施方案中,预测涉及治疗(例如用特定治疗剂进行的治疗)后患者是否会存活或改善且某段时间没有疾病复发和/或患

者会这样的概率。通过为任何特定患者选择最适合的治疗形态,本发明的预测方法可在临床上用于作出治疗决策。本发明的预测方法在预测患者是否可能有利地响应治疗方案(诸如给定的治疗方案,包括例如施用给定的治疗剂或组合、手术干预、类固醇治疗等)或患者是否可能在治疗方案后长期存活中是有价值的工具。

[0063] 术语“长期”存活在用于本文时指治疗性处理后存活至少1年、5年、8年、或10年。

[0064] “患者响应”可利用表明对患者有益处的任何终点来评估,包括但不限于:(1)一定程度地抑制疾病进展,包括减缓和完全阻滞;(2)减少疾病事件和/或症状的数目;(3)缩小损害尺寸;(4)抑制(即减轻、减缓或完全终止)疾病细胞浸润入临近周围器官和/或组织;(5)抑制(即减轻、减缓或完全终止)疾病扩散;(6)一定程度地减轻与病症有关的一种或多种症状;(7)治疗后无疾病呈现的时间延长;和/或(8)治疗后给定时间点的死亡率降低。

[0065] 术语“抗体”以最广义使用,明确覆盖单克隆抗体(包括全长单克隆抗体)、多特异性抗体(例如双特异性抗体)、及抗体片段,只要它们展现出期望的生物学活性或功能。

[0066] “抗体片段”包含全长抗体的一部分,通常是抗体的抗原结合区或可变区。抗体片段的例子包括 Fab、Fab'、F(ab')₂ 和 Fv 片段;双抗体;线性抗体;单链抗体分子;及由抗体片段形成的多特异性抗体。

[0067] “Fv”是包含完整抗原识别和结合位点的最小抗体片段。此片段由紧密、非共价结合的一个重链可变区和一个轻链可变区的二聚体组成。从这两个结构域的折叠中发出六个高变环(重链和轻链各3个环),贡献出抗原结合的氨基酸残基并赋予抗体以抗原结合特异性。然而,即使是单个可变区(或只包含对抗原特异的三个 CDR 的半个 Fv)也具有识别和结合抗原的能力,尽管亲和力低于完整结合位点。

[0068] 术语“单克隆抗体”在用于本文时指从一群基本上同质的抗体获得的抗体,即构成群体的各个抗体相同和/或结合相同表位,除了生产单克隆抗体的过程中可能产生的可能变体外,此类变体一般以极少量存在。此类单克隆抗体典型的包括包含结合靶物的多肽序列的抗体,其中靶物结合多肽序列是通过包括从众多多肽序列中选择单一靶物结合多肽序列在内的过程得到的。例如,选择过程可以从众多克隆诸如杂交瘤克隆、噬菌体克隆或重组 DNA 克隆的集合中选择独特克隆。应当理解,选定的靶物结合序列可进一步改变,例如为了提高对靶物的亲和力、将靶物结合序列人源化、提高其在细胞培养物中的产量、降低其在体内的免疫原性、创建多特异性抗体等,而且包含改变后的靶物结合序列的抗体也是本发明的单克隆抗体。与典型的包含针对不同决定簇(表位)的不同抗体的多克隆抗体制备物不同,单克隆抗体制备物的每种单克隆抗体针对抗原上的单一决定簇。在它们的特异性之外,单克隆抗体制备物的优势在于它们通常未受到其它免疫球蛋白的污染。修饰语“单克隆”指明抗体从基本上同质的抗体群获得的特征,不应解释为要求通过任何特定方法来生产抗体。例如,将依照本发明使用的单克隆抗体可通过多种技术来生成,包括例如杂交瘤法(例如 Kohler et al., Nature 256:495(1975); Harlow et al., Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 第2版,1988; Hammerling et al., 于: Monoclonal Antibodies and T-Cell Hybridomas, 563-681, Elsevier, N. Y., 1981)、重组 DNA 法(参见例如美国专利 No. 4,816,567)、噬菌体展示技术(参见例如 Clackson et al., Nature 352:624-628(1991); Marks et al., J. Mol. Biol. 222:581-597(1991);

Sidhu et al., *J. Mol. Biol.* 338(2) :299-310(2004); Lee et al., *J. Mol. Biol.* 340(5) :1073-1093(2004); Fellouse, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 101(34) :12467-12472(2004); Lee et al., *J. Immunol. Methods* 284(1-2) :119-132(2004)、及用于在具有部分或整个人免疫球蛋白基因座或编码人免疫球蛋白序列的基因的动物中生成人或人样抗体的技术(参见例如 WO 1998/24893; WO 1996/34096; WO 1996/33735; WO1991/10741; Jakobovits et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90 :2551(1993); Jakobovits et al., *Nature* 362 :255-258(1993); Bruggemann et al., *Year in Immuno.* 7 :33(1993); 美国专利 No. 5,545,806; 5,569,825; 5,591,669(都属于 GenPharm); 5,545,807; WO 1997/17852; 美国专利 No. 5,545,807; 5,545,806; 5,569,825; 5,625,126; 5,633,425; 5,661,016; Marks et al., *Bio/Technology* 10 :779-783(1992); Lonberg et al., *Nature* 368 :856-859(1994); Morrison, *Nature* 368 :812-813(1994); Fishwild et al., *Nature Biotechnology* 14 :845-851(1996); Neuberger, *Nature Biotechnology* 14 :826(1996); Lonberg and Huszar, *Intern. Rev. Immunol.* 13 :65-93(1995))。

[0069] 单克隆抗体在本文中明确包括“嵌合”抗体。“嵌合”抗体(免疫球蛋白)中重链和/或轻链的一部分与衍生自特定物种或属于特定抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,而链的剩余部分与衍生自另一物种或属于另一抗体类别或亚类的抗体中的相应序列相同或同源,以及此类抗体的片段,只要它们展现出期望的生物学活性(美国专利 No. 4,816,567; Morrison et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 81 :6851-6855(1984))。本文中所使用的人源化抗体是嵌合抗体的一个子集。

[0070] 非人(例如鼠)抗体的“人源化”形式指最低限度包含衍生自非人免疫球蛋白的序列的嵌合抗体。在极大程度上,人源化抗体指人免疫球蛋白(受体抗体)中的高变区残基用具有期望特异性、亲和力和能力的非人物种(供体抗体)诸如小鼠、大鼠、兔或非人灵长类动物的高变区残基替换的免疫球蛋白。在有些情况中,将人免疫球蛋白的 Fv 框架区(FR)残基用相应的非人残基替换。此外,人源化抗体可包含在受体抗体或供体抗体中没有找到的残基。进行这些修饰是为了进一步改进抗体的性能诸如结合亲和力。一般而言,人源化抗体将包含至少一个、通常两个基本上整个如下可变域,其中所有或基本上所有高变环对应于非人免疫球蛋白的高变环,且所有或基本上所有 FR 是人免疫球蛋白序列的 FR,尽管 FR 可包含一处或多处提高结合亲和力的氨基酸替代。FR 中这些氨基酸替代的数目通常在重链中不超过 6 处,在轻链中不超过 3 处。人源化抗体任选还将包含至少部分免疫球蛋白恒定区(Fc),通常是人免疫球蛋白的恒定区。更多细节参见 Jones et al., *Nature* 321 :522-525(1986); Riechmann et al., *Nature* 332 :323-329(1988); 和 Presta, *Curr. Op. Struct. Biol.* 2 :593-596(1992)。

[0071] “人抗体”指拥有与由人生成的抗体的氨基酸序列对应的氨基酸序列和/或使用用于生成抗体的任何已知技术生成的抗体。人抗体的这种定义明确排除包含非人抗原结合残基的人源化抗体。

[0072] “亲和力成熟的”抗体指在抗体的一个或多个 CDR/HVR 中具有一处或多处改变、导致该抗体对抗原的亲和力与没有这些改变的亲本抗体相比有所改进的抗体。优选的亲和力成熟的抗体具有纳摩尔或甚至皮摩尔量级的对靶抗原的亲和力。亲和力成熟的抗体可通过本领域已知规程来生成。Marks et al., *Bio/Technology* 10 :779-783(1992) 记载

了通过 VH 和 VL 结构域改组进行的亲和力成熟。以下文献记载了 CDR/HVR 和 / 或框架残基的随机诱变 ;Barbas et al., Proc. Nat. Acad. Sci. USA 91 :3809-3813(1994) ;Schier et al., Gene169 :147-155(1995) ;Yelton et al., J. Immunol. 155 :1994-2004(1995) ; Jackson et al., J. Immunol. 154(7) :3310-9(1995) ;Hawkins et al., J. Mol. Biol. 226 :889-896(1992)。

[0073] 术语“Fc 区”用于定义免疫球蛋白重链的 C- 端区域,其可以通过用木瓜蛋白酶消化完整抗体而产生。Fc 区可以是天然序列 Fc 区或变异 Fc 区。虽然免疫球蛋白重链 Fc 区的边界可以变化,但是人 IgG 重链 Fc 区通常定义为自 Fc 区的大约 Cys226 位置或大约 Pro230 位置的氨基酸残基至羧基末端的区段。免疫球蛋白的 Fc 区一般包含两个恒定域,即 CH2 结构域和 CH3 结构域,而且任选包含 CH4 结构域。“Fc 区链”在本文中指 Fc 区的两条多肽链之一。

[0074] 抗体“效应器功能”指那些可归于抗体 Fc 区(天然序列 Fc 区或氨基酸序列变体 Fc 区)且随抗体同种型而变化的生物学活性。抗体效应器功能的例子包括 :C1q 结合和补体依赖性细胞毒性 ;Fc 受体结合 ;抗体依赖性细胞介导的细胞毒性 (ADCC) ;吞噬作用 ;细胞表面受体(例如 B 细胞受体)下调 ;和 B 细胞活化。

[0075] “抗体依赖性细胞介导的细胞毒性”或“ADCC”指其中结合到某些细胞毒性细胞(例如天然杀伤 (NK) 细胞、嗜中性粒细胞和巨噬细胞)上存在的 Fc 受体 (FcR) 上的分泌型 Ig 使得这些细胞毒性效应细胞能够特异性结合携带抗原的靶细胞,随后用细胞毒素杀死靶细胞的细胞毒性形式。该抗体“武装”(arm) 细胞毒性细胞,而且是此类杀伤作用绝对要求的。介导 ADCC 的主要细胞, NK 细胞,只表达 Fc γ RIII, 而单核细胞表达 Fc γ RI、Fc γ RII 和 Fc γ RIII。Ravetch and Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9 :457-92(1991) 第 464 页表 3 总结了造血细胞上的 FcR 表达。为了评估目的分子的 ADCC 活性,可进行体外 ADCC 测定法,诸如美国专利 No. 5, 500, 362 或 5, 821, 337 或 Presta 美国专利 No. 6, 737, 056 中所记载的。可用于此类测定法的效应细胞包括外周血单个核细胞 (PBMC) 和天然杀伤 (NK) 细胞。或者 / 另外,可在体内评估目的分子的 ADCC 活性,例如在动物模型中,诸如 Clynes et al., PNAS(USA) 95 :652-656(1998) 中所披露的。

[0076] “处理”或“治疗”或“减轻”指治疗性处理,其中目标是若不能治愈则减缓(减轻)所针对的病理学疾患或病症或者预防疾患的复发。如果在接受治疗量的 CD40 结合抗体后,患者在特定疾病的一项或多项体征和症状中显示出可观察和 / 或可测量的降低或消失,那么受试者成功“治疗”了 B 细胞恶性肿瘤。例如,显著的癌细胞数减少或癌细胞消失 ;肿瘤体积缩小 ;肿瘤转移受到抑制(即一定程度的减缓,优选停止) ;肿瘤生长受到一定程度的抑制 ;消退期延长 ;和 / 或与特定癌症有关的一种或多种症状得到一定程度的减轻 ;发病率和死亡率降低 ;及生命质量提高。疾病的体征或症状的减轻还可以由患者感受到。治疗可实现完全响应,定义为癌症的所有体征消失,或者部分响应,其中肿瘤体积缩小,优选超过 50%,更优选 75%。若患者的病情得到稳定,也认为患者得到治疗。在一项标准中,本发明的抗体实现 > 95% 的外周血 B 细胞消减且 B 细胞回到基线的 25%。在一些实施方案中,抗 CD40 抗体治疗有效导致癌症患者的癌症在治疗后 3 个月没有发展 (progression-free), 优选治疗后 6 个月,更优选 1 年,甚至更优选 2 年或更多年。用于评估疾病的成功治疗和改善的这些参数易于通过本领域胜任的内科医师所熟悉的常规流程来测量。

[0077] 术语“非何杰金氏 (Hodgkin) 淋巴瘤”或“NHL”在用于本文时指何杰金氏淋巴瘤以外的淋巴系统癌症。通常可通过何杰金氏淋巴瘤中存在里-施 (Reed-Sternberg) 细胞而非何杰金氏淋巴瘤中不存在所述细胞将何杰金氏淋巴瘤与非何杰金氏淋巴瘤区分开来。

[0078] “有效量”指在必需的剂量和时间上有效实现期望的治疗或预防效果的量。治疗剂的“治疗有效量”可根据诸如个体的疾病状态、年龄、性别和体重及该抗体在个体中引发期望应答的能力等因素而变化。治疗有效量还指该治疗剂的治疗有益效果胜过任何有毒或有害后果的量。“预防有效量”指在必需的剂量和时间上有效实现期望的预防效果的量。通常而非必然,由于预防剂量是在疾病发作之前或在疾病的早期用于受试者的,因此预防有效量将低于治疗有效量。

[0079] 术语“持家基因”指所编码的蛋白质的活性对维持细胞功能来说是至关重要的一组基因。这些基因通常在所有细胞类型中相似表达。

[0080] “关联”或“联系”指以任何方式将第一分析或方案的性能和 / 或结果与第二分析或方案的性能和 / 或结果进行比较。例如,可以将第一分析或方案的结果用于实施第二分析或方案,和 / 或,可以使用第一分析或方案的结果来决定是否应当实施第二分析或方案。就基因表达分析或方案的实施方案而言,可以使用基因表达分析或方案的结果来决定是否应当实施特定治疗方案。

[0081] 术语“标记物”在用于本文时指与试剂诸如核酸探针或抗体直接或间接偶联或融合,以便于检测它所偶联或融合的试剂的化合物或组合物。标记物可以是自身可检测的(例如放射性同位素标记物或荧光标记物),或者在酶标记物的情况中,可催化可检测的底物化合物或组合物的化学改变。

[0082] 如本文中所使用的,“一个”、“一种”、和“所述”、“该”可以指单数或复数(即可以指一个 / 种或多个 / 种),除非另有说明。

[0083] 要理解,本文所述发明的方面和实施方案包括“包含”、“由……组成”、和“基本上由……组成”方面和实施方案。

[0084] C. 本发明的方法

[0085] 本发明提供了用于评估或帮助评估具有 B 细胞淋巴瘤的受试者对抗 CD40 抗体治疗的响应性的方法。本发明还提供了用于预测具有 B 细胞淋巴瘤的受试者中对抗 CD40 抗体治疗的响应性或监测具有 B 细胞淋巴瘤的受试者中的抗 CD40 抗体治疗 / 对抗 CD40 抗体治疗的响应性的方法。本发明提供了用于选择接受抗 CD40 抗体治疗的具有 B 细胞淋巴瘤的受试者及用抗 CD40 抗体治疗受试者的方法。在一些实施方案中,所述方法包括测量自所述受试者获得的包含 B 淋巴瘤细胞的样品中选自下组的一种或多种标志物基因的表达水平: UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LM02、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B;并基于所述一种或多种标志物基因的测量表达水平来预测、评估、或帮助评估所述受试者对抗 CD40 抗体治疗的响应性。在一些实施方案中,所述方法包括将来自所述受试者的 B 细胞淋巴瘤样品中选自 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LM02、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 的至少一种标志物基因的测量的表达水平与各自的标志物基因的参照水平比较。在一些实施方案中,使用基于一种或多种标志物基因的测量的表达水平确定的敏感指数值来预测或评估响应性。在一些实施方案中,通过使用本文所述 K-最近邻居分析对受试者归类来预测或评估响应性。

[0086] 本发明的方法对于临床医师是有用的,即用来鉴定接受抗 CD40 抗体治疗的具有 B 细胞淋巴瘤的患者,帮助抗 CD40 抗体疗法开发期间的患者选择,预测用具体治疗方案治疗各个患者时成功的可能性,评估和监测疾病进展,监测治疗功效,及确定各个患者的预后。任何这些实施方案包括在本发明内。

[0087] 在一些实施方案中, B 细胞淋巴瘤是非何杰金氏淋巴瘤 (NHL), 包括但不限于滤泡性淋巴瘤、复发性滤泡性淋巴瘤、小淋巴细胞性淋巴瘤、套细胞性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、淋巴浆细胞性淋巴瘤、蕈样肉芽肿病 / 塞扎里综合征 (Sezary Syndrome)、脾边缘区淋巴瘤、和弥漫性大 B 细胞淋巴瘤。

[0088] 在一些实施方案中, B 细胞淋巴瘤是无痛性的。在一些实施方案中, B 细胞淋巴瘤是攻击性的。在一些实施方案中, B 细胞淋巴瘤是高度攻击性的。在一些实施方案中, 无痛性 B 细胞淋巴瘤是滤泡性淋巴瘤、边缘区淋巴瘤、或小淋巴细胞性淋巴瘤。在一些实施方案中, 无痛性 B 细胞淋巴瘤是滤泡性淋巴瘤。

[0089] 标志物基因

[0090] B 细胞淋巴瘤样品中一种或多种标志物基因的表达水平可以在本发明的方法中使用, 诸如用于预测、评估或帮助评估 B 细胞淋巴瘤对抗 CD40 抗体治疗的响应性。在一些实施方案中, 相对于参照水平, 一种或多种标志物基因的表达水平可以在本发明的方法中使用。实施例 1 和 2 显示了使用 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 的表达水平来预测、评估或帮助评估对抗 CD40 抗体治疗的响应性。在本发明的方法中使用这些基因中一种或多种的表达水平。在一些实施方案中, 在本发明的方法中测量和 / 或使用至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种、至少七种、至少八种、至少九种、至少十种、至少十一种、至少十二种、至少十三种、至少十四种、或十五种选自 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 的基因的表达水平。

[0091] 本文中用作标志物的基因 (包括序列) 是本领域已知的。例如, 人类基因的基因库登录号的例子有 VNN2 (NM_004665 ; NM_078488 ; AJ132100 ; D89974 ; BC064641 ; CR609799 ; BC126145 ; BC126147 ; 和 AB026705) ; RGS13 (NM_002927 ; NM_144766 ; BT006929 ; BC056866 ; AY562947 ; CR536532 ; CR610389 ; CR599001 ; BC016667 ; AF493935 ; BC036950 ; 和 AF030107) ; CD22 (NM_001771 ; AK026467 ; BC109306 ; BC109307 ; AK225694 ; AK225625 ; X52785 ; 和 X59350) ; LRRC8A (AY143166 ; BC051322 ; AK123611 ; AY358286 ; NM_019594 ; XM_026998 ; AK001199 ; AB037858 ; CR619692 ; CR619448 ; AK024649 ; BC000775 ; AK027495 ; 和 AK074723) ; CD40 (NM_001250 ; NM_152854 ; BC064518 ; AY225405 ; CR619622 ; CR608994 ; CR605787 ; AB209660 ; AK222896 ; AJ300189 ; BT019901 ; 和 BC012419) ; IFITM1 (NM_003641 ; BC000897 ; BT007173 ; BT009859 ; CR456894 ; CR541874 ; CR604902 ; X57351 ; X84958 ; NM_006435 ; BC009696 ; X02490 ; 和 J04164) ; SMN1 (NM_000344 ; BC062723 ; CR611445 ; CR593735 ; BC000908 ; NM_022874 ; BC015308 ; 和 U18423) ; PRKCA (NM_002737 ; AB209475 ; BC109274 ; BC109273 ; AF035594 ; BC053321 ; BX648954 ; AK125425 ; BC062759 ; BC071767 ; BC103691 ; BC101403 ; BC107592 ; AY633609 ; BC122530 ; BC015855 ; AF086287 ; AF035595 ; M22199 ; 和 X52479) ; EPDR1 (DQ914439 ; AY027862 ; NM_017549 ; AJ250475 ; AF202051 ; CR624676 ; CR596656 ; NM_016616 ; BC000686 ; BC018299 ; AF305596 ; 和 BC036816) ;

PRPSAP2 (NM_002767 ;AB007851 ;BX648850 ;AK126398 ;CR457082 ;BC101672 ;BC101670 ;和 BC106050) ;IGF1R (NM_000875 ;NM_015883 ;AY429545 ;CR624013 ;BC078157 ;BC088377 ;BC107089 ;BC111046 ;BC113610 ;BC113612 ;BC010607 ;X04434 M24599 ; 和 U09023) ;BTG2 (NM_006763 ;CR606002 ;CR604962 ;CR595352 ;CR591042 ;BC105948 ;BC105949 ;U72649 ; 和 Y09943) ;LMO2 (BC042426 ;NM_005574 ;BC073973 ;AK127915 ;CR625714 ;CR614368 ;CR604507 ;AF257211 ;BC034041 ;BC035607 ; 和 X61118) ;YIPF3 (AL050274 ;AK000946 ;CR533541 ;CR623137 ;CR622890 ;CR622532 ;CR621993 ;CR619816 ;CR619437 ;CR619054 ;CR618212 ;CR616987 ;CR616384 ;CR615623 ;CR615153 ;CR615118 ;CR612415 ;CR611748 ;CR611260 ;CR610983 ;CR610470 ;CR607768 ;CR606024 ;CR603408 ;CR603202 ;CR602267 ;CR601987 ;CR599615 ;CR598162 ;CR597677 ;CR596581 ;CR596249 ;CR595236 ;CR592266 ;CR590752 ;CR590349 ;NM_015388 ;AK021433 ;AK021655 ;AK022757 ;BC019297 ;和 AF162672) ; 和 BCL6 (NM_001706 ;NM_138931 ;BX649185 ;U00115 ;BC142705 ;BC146796 ;BC150184 ;AL713713 ;AK090890 ;AL832990 ;和 Z21943) 。表 1 还列出了标志物基因的基因库登录号。

[0092] 图 1(1-1 至 1-26) 中显示了一些基因的核酸序列。

[0093] 参照水平

[0094] 将 B 细胞淋巴瘤中一种或多种标志物基因的测量表达水平与参照水平比较。在一些实施方案中,所述参照水平是其表达水平在不同类型的 B 细胞淋巴瘤间(例如在对抗 CD40 抗体敏感的 B 细胞淋巴瘤与对抗 CD40 抗体有抗性的 B 细胞淋巴瘤之间)不变化(不显著变化)的基因的表达水平。在一些实施方案中,使用一种或多种持家基因(诸如 WO 2009/062125 表 8 和表 9 中所显示的基因)的表达水平作为参照水平。

[0095] 在一些实施方案中,使用参照水平将标志物基因的测量表达水平标准化。在一些实施方案中,分别在原比例尺或对数比例尺上,作为标志物基因与参照表达水平之间的比或差异来计算标志物基因的标准化表达水平。

[0096] 可以选择参照基因作为标志物基因的特定标准化对应物。参照基因选择在 B 细胞淋巴瘤样品中具有高均值表达和低方差的。另外,参照基因选择相对于生物学不同细胞系的表达测量间的方差,在各细胞系的复制表达测量间具有相似的方差。另外,参照基因选择与一种或多种标志物具有低统计关联。

[0097] 在一些实施方案中,参照水平是不同 B 细胞淋巴瘤样品中标志物基因的测量表达水平。在一些实施方案中,所述不同 B 细胞淋巴瘤样品包含对抗 CD40 抗体诱导的细胞死亡有抗性的 B 淋巴瘤细胞。

[0098] 在一些实施方案中,参照水平是基于如下样品中相应标志物基因的表达水平而确定的,所述样品来自在抗 CD40 抗体治疗后肿瘤体积增大和 / 或在抗 CD40 抗体治疗后肿瘤体积缩小的受试者且包含 B 淋巴瘤细胞。在一些实施方案中,所述来自用于确定参照水平的受试者的样品与所述来自要预测或评估对抗 CD40 抗体治疗的响应性的受试者的样品包含相同类型的 B 淋巴瘤细胞。在一些实施方案中,使用相同的方法(例如 qRT-PCR)和 / 或试剂(例如引物和探针)来测量样品中标志物基因的表达水平和测量参照样品中相应标志物基因的表达水平。

[0099] 测量表达水平

[0100] 本文中所公开的方法提供了检查淋巴瘤样品（例如 B 细胞淋巴瘤样品）中这些标志物基因中一种或多种的表达水平的方法。在一些实施方案中，相对于参照水平，检查一种或多种标志物基因的表达水平。所述方法和测定法包括那些检查标志物基因（诸如 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 中的一种或多种）的表达的。可以在 mRNA 水平和 / 或蛋白质水平测量表达水平。

[0101] 本发明提供了用于测量来自哺乳动物组织或细胞样品（诸如与 B 细胞淋巴瘤有关的细胞和 / 或组织）的表达水平的方法。例如，为了获得患者样品，进行 H&E 染色并用作组织宏观解剖 (macrodissection) 的指导来富集肿瘤含量。可以通过本领域已知的多种规程来获得样品，包括但不限于手术切除、抽吸或活检。样品可以是新鲜的或冷冻的。在一些实施方案中，样品是固定和包埋在石蜡或类似物中的。在所述方法中，获取哺乳动物组织或细胞样品，并检验一种或多种生物标志物的表达。所述方法可以以多种测定法格式进行，包括检测 mRNA 表达的测定法、检测酶活性存在的酶测定法、和免疫组织化学测定法。在所述组织或细胞中测出此类生物标志物的表达则预示该组织或细胞将会对抗 CD40 抗体治疗敏感 / 有响应。

[0102] 如下所述，可以通过许多方法来分析样品中多种生物标志物的表达，这些方法许多是本领域已知的且本领域技术人员理解的，包括但不限于微阵列（基因和 / 或组织阵列分析）、原位杂交、Northern 分析、PCR 分析（mRNA）、免疫组织化学和 / 或 Western 分析、FACS、蛋白质阵列、质谱术、基于血液的定量测定法（例如血清 ELISA）（用以检验例如蛋白质表达水平）、和 / 或生化酶活性测定法。用于评估基因和基因产物状态的典型方案可见于例如 Ausubel 等编，1995，《Current Protocols In Molecular Biology》，单元 2(Northern 印迹)、4(Southern 印迹)、15(免疫印迹)和 18(PCR 分析)。下文出于例示目的提供了关于检测样品中特定生物标志物（诸如 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 中一种或多种的表达水平）的方案。

[0103] 在一些实施方案中，本发明的方法进一步包括检验组织或细胞样品中 mRNA（诸如至少一种、至少两种、至少三种、至少四种、至少五种、至少六种、至少七种、至少八种、至少九种、至少十种、至少十一种、至少十二种、至少十三种、至少十四种、或十五种来自 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 的基因的 mRNA）的存在和 / 或表达的方案。在一些实施方案中，可通过检验或检测组织或细胞样品中 mRNA 的微阵列技术来分析样品中各种生物标志物的表达。使用核酸微阵列，将来自测试和对照组织样品的测试和对照 mRNA 样品逆转录和标记以生成 cDNA 探针。然后将所述探针杂交至在固体支持物上固定化的核酸阵列。所述阵列配置成阵列的每个成员的序列和位置是已知的。例如，可以将有可能在某些疾病状态中表达的基因选集在固体支持物上形成阵列。经标记探针与特定阵列成员的杂交指示衍生该探针的样品表达该基因。疾病组织的差异基因表达分析可提供有价值的信息。微阵列技术利用核酸杂交技术和计算技术在单一实验中评估数以千计基因的 mRNA 表达序型 (expression profile)（参见例如 2001 年 10 月 11 日公布的 W001/75166；还可参见例如美国专利 5,700,637；5,445,934；和 5,807,522；Lockart, Nature Biotechnology, 14:1675-1680(1996)；Cheung, V. G. et al., Nature Genetics 21(Suppl):15-19(1999)，关于阵列制作的讨论）。DNA 微阵列是包含基因片段的微型阵列，所述基因片段或是在玻璃或其它基质上直接合成或是点到玻璃或其它

基质上。单一阵列中通常呈现数以千计的基因。一个典型的微阵列实验牵涉以下步骤：1) 自分离自样品的 RNA 制备荧光标记的靶物；2) 将经标记的靶物杂交至微阵列；3) 清洗，染色，和扫描阵列；4) 分析扫描图像；并 5) 生成基因表达序型。当前使用两种主要类型的 DNA 微阵列：包含自 cDNA 制备的 PCR 产物的基因表达阵列和寡核苷酸（通常 25-70 聚物）阵列。在形成阵列时，寡核苷酸可以是预制并点到表面上的，或者是直接在表面上合成的（原位）。

[0104] Affymetrix GeneChip®系统是包含通过在玻璃表面上直接合成寡核苷酸而制作的阵列的商品化微阵列系统。探针 / 基因阵列：寡核苷酸（通常 25 聚物）通过组合基于半导体的光刻和固相化学合成技术直接合成到玻璃晶片上。每个阵列包含多至 400,000 种不同寡聚物，每种寡聚物以数以百万计拷贝存在。因为寡核苷酸探针是在阵列上已知位置合成的，所以杂交样式和信号强度可以通过 Affymetrix Microarray Suite 软件解读成基因身份和相对表达水平。每种基因通过一系列不同寡核苷酸探针呈现在阵列上。每个探针由完全匹配寡核苷酸和错配寡核苷酸组成。完全匹配探针具有与特定基因精确互补的序列，因而测量该基因的表达。错配探针因中央碱基位置的单一碱基替代而不同于完全匹配探针，从而扰乱了靶基因转录物的结合。这有助于测定有助于对完全匹配寡聚物测得的信号的背景和非特异性杂交。Microarray Suite 软件将错配探针的杂交强度从完全匹配探针的杂交强度中扣除，以确定每个探针集的绝对或特异强度。探针的选择基于 GenBank 和其它核苷酸库的当前信息。认为所述序列识别基因 3' 末端的独特区域。使用基因芯片杂交炉（“电转烤炉”）来进行多至 64 个阵列的同时杂交。射流站实施探针阵列的清洗和染色。它是完全自动化的，包括四个模块，每个模块持有一个探针阵列。每个模块经由 Microarray Suite 软件使用预编程射流方案独立控制。扫描仪是共焦激光荧光扫描仪，其测量由结合至探针阵列的经标记 cRNA 发射的荧光强度。安装有 Microarray Suite 软件的计算机工作站控制射流站和扫描仪。Microarray Suite 软件可以控制多至八个射流站，使用探针阵列的预编程的杂交、清洗、和染色方案。该软件还获取杂交强度数据并使用适宜的算法将其转变成每种基因的有 / 无呼叫 (presence/absence call)。最后，该软件通过比较分析来检测各实验间基因表达的变化，并将输出格式化为 .txt 文件，其可以与其它软件程序一起用于进一步的数据分析。

[0105] 在一些实施方案中，样品中各种生物标志物的表达还可以通过检验基因删除或基因扩增来评估。基因删除或扩增可以通过本领域已知的任一种或多种方案来测量，例如常规 Southern 印迹、Northern 印迹（用以量化 mRNA 转录）(Thomas, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 77 :5201-5205 (1980))、点印迹 (DNA 分析)、或原位杂交（例如 FISH），其中使用适当标记的探针、细胞发生法 (cytogenetic method) 或比较性基因组杂交 (CGH)，其中使用适当标记的探针。例如，这些方法可用于检测基因的删除或扩增。

[0106] 在一些实施方案中，可以通过使用互补 DNA 探针的杂交测定法（诸如使用经标记核酸探针的原位杂交、Northern 印迹和相关技术）和各种核酸扩增测定法（诸如使用互补引物（诸如对 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 中一种或多种基因特异性的引物）的 RT-PCR，及其它扩增型检测方法，诸如分支 DNA、SISBA、TMA 等等）。来评估样品中各种生物标志物的表达。

[0107] 例如可以使用 Northern、点印迹或 PCR 分析对来自哺乳动物的组织或细胞样品方

便地测定 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LM02、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 基因中任一种或多种的 mRNA。在一些实施方案中,可以通过 RT-PCR 来测定一种或多种生物标志物的表达。在一些实施方案中,RT-PCR 是定量 RT-PCR(qRT-PCR)。在一些实施方案中,RT-PCR 是实时 RT-PCR。在一些实施方案中,RT-PCR 是定量实时 RT-PCR。RT-PCR 测定法诸如定量 PCR 测定法是本领域公知的。在本发明的一个例示性实施方案中,用于检测生物学样品中的 mRNA 的方法包括使用至少一种引物通过逆转录自样品生成 cDNA ;使用多核苷酸作为有义和反义引物扩增如此生成的 cDNA 以扩增其中的 cDNA ;并检测所扩增感兴趣 cDNA 的存在。在一些实施方案中,实时 RT-PCR 是定量 RT-PCR。在一些实施方案中,实时 RT-PCR 可以使用 TaqMan® 化学 (Applied Biosystems) 来实施。在一些实施方案中,实时 RT-PCR 可以使用 TaqMan® 化学 (Applied Biosystems) 和 ABI Prism® 700 序列检测系统 (Applied Biosystems) 来实施。实时 RT-PCR 组合了下述原理,Taq 聚合酶具有 5' -3' 外切核酸酶活性,及双重标记的荧光寡核苷酸产生了只在切割时发射荧光信号的问题(基于荧光共振能量转移的原理)。参见例如 Overbergh, L. et al., J Biomolecular Techniques 14(1) :33-43(2003)。另外,此类方法可以包括一个或多个如下步骤,其容许测定生物学样品中 mRNA 的水平(例如通过同时检验“持家”基因诸如肌动蛋白家族成员和 / 或 WO 2009/062125 表 8 或表 9 中所列举的一种或多种基因的比较性对照 mRNA 序列的水平)。表 1 中提供了可用于进行 qRT-PCR 的引物和探针的例子。

[0108] 在一些实施方案中,使用免疫组织化学和染色方案来检验样品中由 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LM02、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 编码的蛋白质的表达。组织切片的免疫组织化学染色已经显示为评估或检测样品中蛋白质存在的可靠方法。免疫组织化学(“IHC”)技术利用抗体来原位探查和显现细胞抗原,一般通过显色或荧光方法。

[0109] 对于样品制备,可以使用来自哺乳动物(典型的是人类患者)的组织或细胞样品。样品的例子包括但不限于组织活检、血液、肺吸出物、痰或唾液、淋巴液等。可以通过本领域已知的多种规程来获得样品,包括但不限于手术切除、抽吸或活检。组织可以是新鲜的或冷冻的。在一些实施方案中,样品是固定和包埋在石蜡或类似物中的。

[0110] 可以通过常规方法来固定(即保存)组织样品(参见例如“Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology,”第 3 版(1960) Lee G. Luna, HT (ASCP) 编, The Blakston Division McGraw-Hill Book Company, New York ; The Armed Forces Institute of Pathology Advanced Laboratory Methods in Histology and Pathology(1994) Ulreka V. Mikel 编, Armed Forces Institute of Pathology, American Registry of Pathology, Washington, D. C.)。本领域技术人员将领会,固定剂的选择由样品是用于组织学染色还是其它分析的目的来决定。本领域技术人员还将领会,固定时长取决于组织样品的大小和所使用的固定剂。例如,可以使用中性缓冲的福尔马林、Bouin 氏液或低聚甲醛来固定样品。

[0111] 一般而言,将样品首先固定,然后通过酒精递增系列脱水,用石蜡或其它切片介质渗透和包埋使得该组织样品可以切片。或者,可以将组织进行切片并将所得切片固定。例如,可以通过常规方法学将组织样品在石蜡中包埋和加工(参见例如“Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology”,见

上文)。可以使用的石蜡的例子包括但不限于 Paraplast、Broloid、和 Tissuemay。一旦将组织样品包埋,就可以用切片机等等将样品切片(参见例如“Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology”,见上文)。对于此规程,例如,切片的厚度范围可以是约 3 微米至约 5 微米。一旦切片,就可以通过数种标准方法将切片附着至载玻片。载玻片粘合剂的例子包括但不限于硅烷、明胶、聚 L-赖氨酸等等。例如,可以将石蜡包埋的切片附着于带正电荷的载玻片和 / 或聚 L-赖氨酸包被的载玻片。

[0112] 若使用石蜡作为包埋材料,则一般将组织切片脱石蜡和复水。可以通过数种常规标准方法学将组织切片脱石蜡。例如,可以使用二甲苯和酒精逐渐递减系列(参见例如“Manual of Histological Staining Method of the Armed Forces Institute of Pathology”,见上文)。或者,可以使用商品化的脱石蜡用非有机试剂,诸如 Hemo-De7 (CMS, Houston, Texas)。

[0113] 在一些实施方案中,在样品制备后,可以使用 IHC 来分析组织切片。IHC 可以联合别的技术进行,诸如形态学染色和 / 或荧光原位杂交。可利用 IHC 的两种常用方法,即直接和间接测定法。依照第一种测定法,直接测定抗体对靶抗原(例如由 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 任一编码的蛋白质或其片段)的结合。此直接测定法使用经过标记的试剂,诸如荧光标签或酶标记的一抗,其可以在没有进一步抗体相互作用的情况下显现。在一种典型的间接测定法中,未偶联的一抗结合至抗原,然后经过标记的二抗结合至一抗。若二抗偶联有酶标记物,则添加显色或荧光底物以提供抗原显现。因为数个二抗可以与一抗上的不同表位起反应,所以发生了信号放大。

[0114] 用于免疫组织化学的一抗和 / 或二抗通常用可检测模块标记。可利用许多标记物,一般可分成以下几类:

[0115] (a) 放射性同位素,诸如 ^{35}S 、 ^{14}C 、 ^{125}I 、 ^3H 和 ^{131}I 。例如,可使用 Current Protocols in Immunology, 卷 1 和 2, Coligen 等编, Wiley-Interscience, New York, New York, Pubs. 1991 中记载的技术用放射性同位素标记抗体,并可使用闪烁计数来测量放射性。

[0116] (b) 胶体金颗粒。

[0117] (c) 荧光标记物,包括但不限于稀土螯合物(钕螯合物)、德州红、若丹明、荧光素、丹酰、丽丝胺、伞形酮、藻红蛋白、藻蓝蛋白、或商品化荧光团诸如 SPECTRUM ORANGE7 和 SPECTRUM GREEN7 和 / 或上述任一种或多种的衍生物。例如,可使用 Current Protocols in Immunology, 见上文中披露的技术使荧光标记物与抗体偶联。可使用荧光计对荧光进行定量。

[0118] (d) 可利用各种酶-底物标记物且美国专利第 4, 275, 149 号中提供了有关它们中的一些的综述。酶一般催化可使用多种技术测量的显色底物的化学改变。例如,酶可以催化可通过分光光度法测量的底物颜色改变。或者,酶可以改变底物的荧光或化学发光。上文描述了用于对荧光改变进行定量的技术。化学发光底物通过化学反应变成电子激发态,然后可发射可测量(例如使用化学发光计)或给荧光受体提供能量的光。酶标记物的例子包括萤光素酶(例如萤火虫萤光素酶和细菌萤光素酶;美国专利 No. 4, 737, 456)、萤光素、2,3-二氢酞嗪二酮类、苹果酸脱氢酶、尿素酶、过氧化物酶诸如辣根过氧化物酶(HRPO)、碱性磷酸酶、 β -半乳糖苷酶、葡糖淀粉酶、溶菌酶、糖氧化酶(例如葡萄糖氧化酶、半乳糖氧

化酶和葡萄糖-6-磷酸脱氢酶)、杂环氧化酶(诸如尿酸酶和黄嘌呤氧化酶)、乳过氧化物酶、微过氧化物酶等。用于使酶与抗体偶联的技术描述于 O' Sullivan 等, Methods for the Preparation of Enzyme-Antibody Conjugates for use in Enzyme Immunoassay, 于: Methods in Enzym., J. Langone 和 H. Van Vunakis 编, Academic Press, New York, 73: 147-166(1981)。

[0119] 酶-底物组合的例子包括例如:

[0120] (i) 辣根过氧化物酶(HRPO)与作为底物的过氧化氢,其中过氧化氢氧化染料前体(例如邻苯二胺(OPD)或3,3',5,5'-四甲基联苯胺盐酸盐(TMB));

[0121] (ii) 碱性磷酸酶(AP)与作为显色底物的对硝基苯基磷酸酯;和

[0122] (iii) β -D-半乳糖苷酶(β -D-Gal)与显色底物(例如对硝基苯基- β -D-半乳糖苷)或荧光底物(例如4-甲基伞形基- β -D-半乳糖苷)。

[0123] 本领域技术人员可利用许多其它酶-底物组合。有关它们的一般性综述参见美国专利 No. 4,275,149 和 4,318,980。有时,将标记物与抗体间接偶联。熟练技术人员了解实现这一目的的多种技术。例如,可将抗体与生物素偶联,而且可以将上述四大类标记物中的任一种与亲合素偶联,或反之亦然。生物素选择性结合亲合素,由此标记物可与抗体以这种间接方式偶联。或者,为了实现标记物与抗体的间接偶联,将抗体与小型半抗原偶联,并将上述不同类型的标记物之一与抗半抗原抗体偶联。由此,可实现标记物与抗体的间接偶联。

[0124] 在上文讨论的样品制备规程外,可能还需要在 IHC 之前、期间或之后对组织切片进行进一步的处理。例如,可以实施表位修复法,诸如在柠檬酸盐缓冲液中对组织样品进行加热(参见例如 Leong 等, Appl. Immunohistochem. 4(3):201(1996))。

[0125] 在任选的封闭步骤后,将组织切片在合适条件下暴露于第一抗体足够时间,使得第一抗体结合至组织样品中的靶蛋白抗原。实现这一目的的适宜条件可以通过常规实验来确定。抗体与样品的结合程度通过使用上文讨论的任一种可检测标记物来测定。优选的是,标记物是酶标记物(例如 HRPO),其催化显色底物诸如 3,3'-二氨基联苯胺色原体(chromogen)的化学变化。优选的是,将酶标记物偶联至特异性结合第一抗体的抗体(例如第一抗体是家兔多克隆抗体,第二抗体是山羊抗家兔抗体)。

[0126] 在一些实施方案中,IHC 分析中用于检测一种或多种生物标志物表达的抗体是用以主要结合一种或多种感兴趣生物标志物(诸如一种或多种由 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 编码的蛋白质)而生成的抗体。在一些实施方案中,所述抗体是单克隆抗体。抗体在本领域易于获得,包括各种商业来源,而且也可以使用本领域已知的常规技术生成。

[0127] 可以将如此制备的标本放置好并盖上盖玻片。然后进行载玻片评估,例如利用显微镜,并且可以采用本领域常规使用的染色强度标准。例如,染色强度标准可以如下评估:

[0128] 表 A

[0129]

染色样式	得分
在细胞中没有观察到染色。	0

在超过 10%的细胞中检测到微弱 / 刚刚可察觉的染色	1+
在超过 10%的细胞中观察到弱至中等的染色。	2+
在超过 10%的细胞中观察到中等至强的染色。	3+

[0130] 在备选方法中,可以在足以使抗体-生物标志物复合物形成的条件下使样品接触对所述生物标志物特异性的抗体,然后检测所述复合物。可以以多种方式来检测生物标志物的存在,诸如通过 Western 印迹和 ELISA 规程,其用于测定极其广泛的组织和样品,包括血浆或血清。可利用多种使用此类测定法的免疫测定技术,参见例如美国专利第 4,016,043 号;第 4,424,279 号和第 4,018,653 号。这些包括非竞争性类型的单位点和双位点或“三明治/夹心式”测定法,以及传统的竞争性结合测定法。这些测定法也包括经标记抗体对靶生物标志物的直接结合。

[0131] 三明治测定法是最有用且常用的测定法之一。三明治测定技术有许多变化形式,本发明意图涵盖所有这些变化形式。简言之,在一种典型的正向测定法(forward assay)中,将未标记的抗体固定化在固体基片上,使待测试的样品接触所结合的分子。温育足以容许抗体-抗原复合物形成的合适长度的一段时间后,添加对抗原特异性的、用能够生成可检测信号的报告分子标记的第二抗体并温育足以使另一复合物即抗体-抗原-经标记抗体形成的一段时间。洗去任何未反应的物质,并通过由报告分子生成的信号的观察结果来测定抗原的存在。结果可以是定性的,即通过可见信号的简单观察,或者可以量化,即通过与包含已知量的生物标志物的对照样品比较。

[0132] 正向测定法的变化形式包括同时测定法,其中将样品和经标记抗体二者同时添加至所结合的抗体。这些技术是本领域技术人员所熟知的,包括任何显而易见的微小变化。在一种典型的正向三明治测定法中,将具有针对生物标志物的特异性的第一抗体或是共价的或是被动的结合至固体表面。所述固体表面典型地是玻璃或聚合物,最常用的聚合物是纤维素、聚丙烯酰胺、尼龙、聚苯乙烯、聚氯乙烯或聚丙烯。所述固体支持物可以是管、珠、微孔板的盘、或适于实施免疫测定法的任何其它表面的形式。结合过程是本领域众所周知的,一般由交联、共价结合或物理吸附组成,清洗聚合物-抗体复合物,为测试样品做好准备。将待测样品的等分试样添加至固相复合物,并在合适条件(例如室温至 40°C,诸如 25°C 和 32°C 之间,含两端值)下温育足够时间(例如 2-40 分钟或过夜,如果更方便的话)以容许抗体中存在的任何亚基结合。温育期后,将抗体亚基固相清洗并干燥并与对生物标志物的一部分特异性的第二抗体一起温育。所述第二抗体连接有助于指示第二抗体对分子标志物结合的报告分子。

[0133] 在一些实施方案中,所述方法牵涉将样品中的靶生物标志物固定化,然后将固定化的靶物暴露于未标记的或用报告分子标记的特异性抗体。根据靶物的量和报告分子信号的强度,所结合的靶物可以通过用抗体直接标记而可检测的。或者,将经标记的、对第一抗体特异性的第二抗体暴露于靶物-第一抗体复合物以形成靶物-第一抗体-第二抗体三元复合物。该复合物通过报告分子发射的信号来检测。“报告分子”在用于本说明书时指通过其化学本质提供分析上可鉴定的信号从而容许检测抗原所结合抗体的分子。这类测定法中最常用的报告分子是酶、荧光团或含放射性核素的分子(即放射性同位素)和化学发光

分子。

[0134] 在酶免疫测定法的情况中,有酶偶联至第二抗体,一般通过戊二醛或高碘酸盐或酯的手段。然而,正如易于领会的,有极其多种不同偶联技术可供技术人员使用。常用的酶包括辣根过氧化物酶、葡萄糖氧化酶、半乳糖苷酶和碱性磷酸酶等等。与特定酶一起使用的底物一般根据在被相应的酶水解后生成可检测的颜色变化来选择。合适的酶的例子包括碱性磷酸酶和过氧化物酶。也有可能采用荧光底物,其生成荧光产物而非上文所述显色底物。在所有情况中,将酶标记的抗体添加至第一抗体-分子标志物复合物,容许结合,然后洗去过量的试剂。然后将含有适宜底物的溶液添加至抗体-抗原-抗体复合物。底物与第二抗体所连接的酶起反应,给出定性可视信号,其可以进一步量化,通常通过分光光度法,以给出样品中存在的生物标志物量的指示。或者,可以将荧光化合物(诸如荧光素和罗丹明)化学偶联至抗体而不改变其结合能力。在被特定波长的光照射而激活后,荧光团标记的抗体吸收光能,在分子中诱导激发状态,接着以光学显微镜在视觉上可检测的特征性颜色发光。在EIA中,容许荧光标记的抗体结合至第一抗体-分子标志物复合物。洗去未结合的试剂后,将剩余的三元复合物然后暴露于适宜波长的光,所观察到的荧光指示存在感兴趣的分子标志物。免疫荧光和EIA技术都是本领域已完善建立的。然而,也可以采用其它报道分子,诸如放射性同位素、化学发光或生物发光分子。

[0135] 在一些实施方案中,组织或细胞样品中选定的生物标志物的表达还可以通过基于功能或活性的测定法来检验。例如,若生物标志物是酶,则可以实施本领域已知测定法来测定或检测组织或细胞样品中给定酶活性的存在。

[0136] 在评估一种或多种生物标志物的表达水平的任何上述方法中,包含靶分子的样品可通过本领域公知的方法获得,而且它们适于特定类型和位置的感兴趣疾病。组织活检通常用于获得有代表性的疾病组织片。或者,可以已知或认为包含感兴趣疾病细胞的组织/流体的形式间接获取细胞。例如,疾病损伤的样品可通过切除术、支气管镜检、细针抽吸、支气管刷检、或从痰/唾液、胸膜液或血液中获得。可从疾病组织或从其它身体样品诸如尿、痰或血清中检测出基因或基因产物。上述用于检测疾病样品中靶基因或基因产物的同样技术可用于其它身体样品。通过筛选这些身体样品,可实现对于这些疾病的简单早期诊断。另外,通过对这些身体样品测试靶基因或基因产物,可更容易地监测治疗的进程。

[0137] 对组织制备物富集疾病细胞的手段是本领域已知的。例如,可以从石蜡或低温保存的切片中分离组织。感兴趣细胞也可通过流式细胞术或激光捕捉显微解剖而与正常细胞分开。这些以及其它从正常细胞中分离疾病细胞的技术是本领域公知的。如果疾病组织被正常细胞高度污染,那么检测签名基因表达序型可能更为困难,然而最小化污染和/或假阳/阴性结果的技术是已知的,其中一些在下文有描述。例如,也可以对样品评估生物标志物(包括突变)的存在情况,所述标志物已知与感兴趣的疾病细胞有关而与相应的正常细胞无关,反之亦然。

[0138] 在确定组织或细胞样品表达一种或多种指示该组织或细胞样品会对抗CD40抗体治疗敏感的生物标志物之后,可以对哺乳动物(诸如人)施用有效量的抗CD40抗体以治疗侵扰该哺乳动物的病症(诸如B细胞淋巴瘤)。哺乳动物(诸如人)中本文所述各种病理疾患的诊断可以由熟练从业人员做出。

[0139] 比较表达水平和预测、评估或帮助评估B细胞淋巴瘤对抗CD40抗体治疗的响应性

[0140] 本文所述方法包含比较标志物基因的测量表达水平与参照水平的过程。所述参照水平可以是与标志物基因不同的参照基因的测量表达水平或不同样品中同一标志物基因的测量表达水平。

[0141] 在一些实施方案中,将来自受试者的 B 细胞淋巴瘤样品中标志物基因的测量表达水平与该样品中参照基因的测量表达水平比较。在一些实施方案中,参照基因的表达水平在各种类型的 B 淋巴瘤细胞(包括抗 CD40 抗体敏感性和抗性细胞)间基本上不变化。在一些实施方案中,计算标志物基因的测量表达水平对参照的测量表达水平的比,而且该比值可用于评估或帮助评估 B 细胞淋巴瘤对抗 CD 抗体治疗的响应性。

[0142] 在一些实施方案中,将来自受试者的 B 细胞淋巴瘤样品中标志物基因的测量表达水平与参照样品中标志物基因的测量表达水平比较。在一些实施方案中,参照样品包含对抗 CD40 抗体有抗性或不响应的 B 淋巴瘤细胞。例如,实施比较来确定来自受试者的样品中与参照样品中标志物基因的测量表达水平的差异程度(例如比较来自受试者的样品与参照样品中标志物基因的表达水平间的倍数或百分比差异)。在一些实施方案中,与包含对抗 CD40 抗体有抗性或不响应的 B 淋巴瘤细胞的参照样品中标志物基因的表达相比,来自受试者的样品中标志物基因的表达升高或降低提示或指示 B 细胞淋巴瘤对抗 CD40 抗体治疗的响应性。在一些实施方案中,来自受试者的样品的表达水平的升高倍数可以是参照样品的表达水平的至少约 1.5 倍、1.75 倍、2 倍、3 倍、4 倍、5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、或 10 倍。在一些实施方案中,来自受试者的样品的表达水平的降低倍数可以是参照样品的表达水平的不到约 0.01、0.05、0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 或 0.8。

[0143] 在一些实施方案中,将选自下组的一种或多种标志物基因的表达水平与参照水平比较:IFITM1、CD40、RGS13、VNN2、LM02、CD79B、CD22、BTG2、IGF1R、CD44、CTSC、EPDR1、UAP1、和 PUS7。

[0144] 在一些实施方案中,与参照水平相比 IFITM1、CD79B、IGF1R、CD44、CTSC、EPDR1、和 PUS7 中一种或多种的表达水平升高指示所述受试者不太可能响应激动性抗 CD40 抗体治疗。在一些实施方案中,参照水平是通过如下样品中相应标志物基因的表达水平而确定的值或范围,所述样品包含来自在激动性抗 CD40 抗体治疗后肿瘤体积增大的受试者的 B 淋巴瘤细胞。

[0145] 在一些实施方案中,与参照水平相比 CD40、RGS13、VNN2、LM02、CD22、BTG2、和 UAP1 中一种或多种的表达升高指示所述受试者有可能响应激动性抗 CD40 抗体治疗。在一些实施方案中,参照水平是通过如下样品中相应标志物基因的表达水平而确定的值或范围,所述样品包含来自在激动性抗 CD40 抗体治疗后肿瘤体积缩小的受试者的 B 淋巴瘤细胞。

[0146] 在一些实施方案中,测量 BCL6 的表达水平并与参照水平比较。使用 BCL6 的表达水平来预测、评估、或帮助评估受试者对抗 CD40 抗体治疗的响应性。如实施例 1 中所显示的, BCL6 表达趋向于在那些肿瘤在激动性抗 CD40 抗体治疗后增大的受试者中较低。在一些实施方案中,与通过来自肿瘤体积在激动性抗 CD40 抗体治疗后缩小的受试者的样品中 BCL6 的表达水平确定的参照水平相比 BCL6 表达升高可指示该受试者有可能响应激动性抗 CD40 抗体治疗。

[0147] 在一些实施方案中,测量 IFITM1、CD40、RGS13、VNN2、LM02、CD79B、CD22、BTG2、IGF1R、CD44、CTSC、EPDR1、UAP1、PUS7、和 BCL6 中一种或多种的表达水平,并基于标志物基

因的测量表达水平计算敏感指数。例如,可以使用下述方程来确定敏感指数 (SI) :

$$[0148] \quad SI = \sum_{j=1}^p \beta_j \frac{x_j - \hat{\mu}_j}{\sqrt{\hat{\sigma}_j^2}}$$

[0149] 其中测量表 4 所示至少一种具有正关联值的标志物基因的和至少一种具有负关联值的标志物基因的表达水平 ;其中 (i) β_j 是所测量的每一种标志物基因的系数值 ;(ii) p 是所测量的标志物基因的数目 ;(iii) x_j 是对于来自要测量表达水平的受试者的样品所测量的每一种标志物的经过换算、标准化的表达水平 ;而 (iv) μ_j 和 σ_j 是所测量的每一种标志物基因的均值和标准偏差 ;其中 β_j 、 μ_j 和 σ_j 是自来自临床试验的包含 B 淋巴瘤细胞的患者样品确定的。在一些实施方案中,等于或大于零的敏感指数值指示受试者有可能响应抗 CD40 抗体治疗,或其中小于零的敏感指数值指示受试者不太可能响应抗 CD40 抗体治疗。实施例 1 详细记载了如何为参照样品和新样品分析和测定参数。在一些实施方案中,测量 IFITM1、RGS13、CD79B、CD22、BTG2、CD44、EPDR1、和 UAP1 的表达水平,并用于敏感指数计算。在一些实施方案中,测量相等数目的正关联标志物基因和负关联标志物基因,并用于敏感指数计算。

[0150] 用于确定敏感指数的方法是本领域已知的。参见 Zhou H. and Hastie T. (2005) Regularization and variable selection via the elastic net ;J. R. Statist. Soc. B. 67 (2). pp. 301-320 ;Friedman J., Hastie T. and Tibshirani R. 2008. Regularization Paths for Generalized Linear Models via Coordinate Descent. Technical Report, Department of Statistics, Stanford University (World Wide Web-stat. stanford.edu/~hastie/Papers/glmnet.pdf) R package glmnet ;R Development Core Team (2008). R :A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN3-900051-07-0, URL World Wide Web at R-project.org。

[0151] 实施例 2 描述了使用加权 K-最近邻居 (WKNN) 来将患者样品归为响应抗 CD40 抗体治疗的另一种方法。使用 qRT-PCR 来测量 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 这 15 种基因的表达。肿瘤尺寸缩小至少 10% 定义为响应抗 CD40 抗体治疗。15 种基因的权重使用处罚回归 (GLMNET) 来确定。

[0152] 在一些实施方案中,本发明的方法包括使用 K-最近邻居分析基于来自受试者的样品和类别已知的参照样品中 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 中一种或多种标志物基因的表达水平将受试者归为响应或不响应受试者。在一些实施方案中,使用 K-最近邻居分析对受试者归类如下进行 : (1) 确定参数 K (即最近邻居的数目) ; (2) 计算要归类的新样品中标志物基因的测量表达水平和每一参照样品中相应标志物基因的表达水平之间的差异 ; (3) 通过选择那些新样品和参照样品之间决定差异加权平均值 (WAAD) 最小的样品来确定最近参照样品 ;并 (4) 基于 K 最近参照样品的已知类别来确定新样品的类别。权重和 / 或参数 K 使用类别已知的临床试验样品的交叉验证来确定。例如,可使用 5 倍 (诸如 5 倍、6 倍、7 倍、8 倍、9 倍、或 10 倍) 至 N 倍交叉验证来使加权 K 最近邻居归类误差最小化,其中 N 为样品量。在一些实施方案中,K 为介于 4 和 13 (例如 4、5、6、7、8、9、10、11、12、和 13) 之间的整数。在一些实施方

案中,最近参照样品(最近邻居)是那些对于 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 这 15 种标志物基因中每一种,要归类的新样品的表达水平和每一参照样品的表达水平之间决定差异加权平均值(WADD)最小的。在一些实施方案中,WAAD 的权重是来自参照样品肿瘤收缩对 15 种标志物基因的表达水平的弹性净处罚回归的系数的绝对值。在一些实施方案中,由 10 倍交叉验证来选择罚分的量度以使 WKNN 归类误差最小化。15 种基因的权重可使用处罚回归(GLMNET)来确定。在一些实施方案中,使用 qRT-PCR 来测量 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 这 15 种基因的表达水平。在一些实施方案中,K 最近参照样品以它们已知类别标签的投票的方式对它们 WADD 的倒数(即 1 除以 WAAD)做出贡献,并将具有最大总倒数 WAAD 贡献的类别标签指派给新样品。在一些实施方案中,如果患者在抗 CD40 抗体治疗之后具有至少 10% 肿瘤尺寸缩小的话,认为患者响应抗 CD40 抗体治疗。肿瘤尺寸缩小可通过直径乘积之和(SPD)来确定。实施例 2 提供了使用加权 K 最近邻居法的详细描述,以 39 份 DLBCL 患者样品作为参照样品。

[0153] 可以以对所讨论基因标志物的测量值和 / 或参照值的类型适宜的任何便利方式进行比较和 / 或计算来预测、评估或帮助评估。比较或计算过程可以是手工的,或者它可以是自动的(诸如通过机器,包括基于计算机的机器)。在一些实施方案中,测量表达水平是标准化值。例如,可以基于实施例 1 中所描述的“经过换算、标准化的测定值”下的方程将表达水平标准化。对本领域技术人员显而易见的是,可以为标志物基因和 / 或参照基因的表达水平采取重复测量。在一些实施方案中,可对一些测量过的值考虑重复测量。可以通过使用测量值的均值或中值作为“测量值”来考虑重复测量。可以使用本领域已知的统计分析来证实所比较的两个值间差异的显著性。

[0154] 抗 CD40 抗体治疗

[0155] 本发明中所鉴定的标志物基因可用于预测、评估、或帮助评估 B 细胞淋巴瘤对用一种或多种抗 CD40 抗体进行的治疗的响应性。所述抗 CD40 抗体可以是一种或多种激动性抗体(即结合并刺激 CD40)。刺激性抗体可以是不同类型的,诸如:(1) 那些经由 CD40 递送刺激性信号但不提高 CD40 和 CD40L 之间相互作用(例如抗体 G28-5 和自 G28-5 衍生的抗体,记载于美国专利 No. 5, 182, 368 ;和 PCT WO 96/18413) 或降低 CD40 和 CD40L 之间相互作用(例如抗体 HuCD40-M2 和 HuCD40-M3 和人源化抗体,记载于美国专利 No. 5, 674, 492) 的;和(2) 那些经由 CD40 递送刺激性信号且能提高 CD40 和 CD40L 之间相互作用的,例如 S2C6(Francisco et al., 2000, Cancer Res. 60 :3225-31) 和自 S2C6 衍生的抗体。激动性抗体还记载于美国专利 No. 7, 288, 251。所述抗 CD40 抗体可以是一种或多种拮抗性抗体(即结合 CD40 并抑制由 CD40L 诱导的活性)。拮抗性抗 CD40 抗体的例子包括美国公开文本 No. 2007/0110754 中记载的人抗体 CHIR-12. 12 和 WO 97/31025 中记载的抗 CD40 抗体。在一些实施方案中,所述抗 CD40 抗体包含重链氨基酸序列 SEQ ID NO :1 和轻链氨基酸序列 SEQ ID NO :2。

[0156] 本发明的方法可进一步包括给具有 B 细胞淋巴瘤的受试者施用有效量的抗 CD40 抗体,这在基于本文所述测定法 / 方法将所述受试者鉴定为接受治疗的候选人之后进行。可以施用一种或多种抗 CD40 抗体。在一些实施方案中,所述抗 CD40 抗体是与一种或多种其它治疗剂联合施用的。例如,所述抗 CD40 抗体是与一种或多种下列治疗剂联合施用

的: rituximab、gemzar、和 ICE。例如,可以与下列各项联合地给患者施用抗 CD40 抗体: rituximab 疗法; rituximab 加 gemzar; rituximab 加 ICE(异环磷酰胺 (ifosfamide)、卡铂 (carboplatin)、依托泊苷 (etoposide)) (R-ICE); 或 rituximab 加化疗。

[0157] 如本文中所使用的,“联合”施用包括同时施用和 / 或不同时间的施用。联合施用还涵盖共配制剂(即同一组合物中存在不同药物)的施用或不同组合物的施用、不同剂量给药频率或间隔的施用、和使用相同路径或不同路径的施用。

[0158] 抗 CD40 抗体或其功能性片段可用于治疗对使用以下任一药物的治疗没有响应或响应不足或在用这些药物治疗后复发的 NHL 患者: rituximab (Genentech); ocrelizumab (Genentech, Inc.); ibritumomab tiuxetan (Zevalin (TM), Biogen Idec); tositumomab (Bexxar (TM), GlaxoSmithKline); HuMAX-CD20 (TM) (GenMab); IMMU-106 (一种人源化抗 CD20, 也称作 hA20 或 90Y-hLL2, Immunomedics); AME-133 (Applied Molecular Evolution/Eli Lilly); gentuzumab ozogamicin (Mylotarg (TM), 一种人源化抗 CD33 抗体, Wyeth/PDL); alemtuzumab (Campath (TM), 一种抗 CD52 抗体, Schering Plough/Genzyme); epratuzumab (IMMU-103 (TM), 一种人源化抗 CD22 抗体, Immunomedics)。

[0159] 下列参考文献记载了淋巴瘤和 CLL、它们的诊断、治疗和用于测量治疗有效性的标准医学规程: Canellos GP, Lister, TA, Sklar JL: The Lymphomas. W. B. Saunders Company, Philadelphia, 1998; van Besien K and Cabanillas, F: Clinical Manifestations, Staging and Treatment of Non-Hodgkin's Lymphoma, 《Hematology, Basic Principles and Practice》第 3 版第 70 章第 1293-1338 页, Hoffman et al. (编) Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000; 及 Rai, K and Patel, D: Chronic Lymphocytic Leukemia, 《Hematology, Basic Principles and Practice》第 3 版第 72 章第 1350-1362 页, Hoffman et al. (编) Churchill Livingstone, Philadelphia, 2000。

[0160] 在治疗中使用的抗 CD40 抗体包括嵌合抗体、人源化抗体和人抗体。可以在治疗中使用本文中所描述的或本领域已知的任何激动性或拮抗性抗体。例如,可以使用 WO 2006/128103 中记载的人源化抗 CD40 抗体来进行抗 CD40 抗体治疗,而且通过述及将这些抗体及其氨基酸序列收入本文。在一些实施方案中,供本文所述治疗中使用的抗 CD40 抗体结合 B 淋巴瘤细胞上表达的 CD40 (诸如人 CD40) 并诱导 B 淋巴瘤细胞凋亡。所述抗 CD40 抗体还可具有在体内经免疫效应器功能诸如 ADCC、CDC、和 / 或 ADCP 来杀死 B 淋巴瘤细胞的特征。在一些实施方案中,所述抗 CD40 抗体以不高于约 1×10^{-8} 或不高于 1×10^{-9} 的 K_d 值结合 CD40。在一些实施方案中,所述抗 CD40 抗体结合 CD40 并刺激 CD40 (即激动性抗体)。在一些实施方案中,所述抗 CD40 抗体将 CD40 配体对 CD40 的结合提高例如至少 45%、至少 50%、至少 60%、或至少 75%。测定 CD40 配体对 CD40 的结合增加的一种方法记载于美国专利 No. 6, 838, 261 (通过述及将其公开内容收入本文)。在一些实施方案中,所述抗 CD40 是自 WO 00/75348 中记载的鼠单克隆抗体 S2C6 衍生的人源化抗体 (包括 W000/75348 表 3 和 4 中提供的抗体)。在一些实施方案中,所述抗 CD40 抗体包含 SEQ ID NO :1 所示重链氨基酸序列和 SEQ ID NO :2 所示轻链氨基酸序列,例如抗 CD40Ab. 1。

[0161] D. 试剂盒

[0162] 为了在上文所描述或提议的应用中使用,本发明还提供了试剂盒或制品。此类试剂盒可包含至少一种对于检测本文中所描述的标志物基因的表达水平特异性的试剂,而且

可进一步包括关于进行本文中所描述的方法的指令。

[0163] 在一些实施方案中,本发明提供了包含引物和引物对及探针的组合物和试剂盒,所述引物和引物对容许特异性扩增本发明的多核苷酸或其任何特定部分,而所述探针选择性或特异性杂交本发明的核酸分子或其任何部分。探针可以用可检测标记物标记,诸如例如放射性同位素、荧光化合物、生物发光化合物、化学发光化合物、金属整合剂或酶。此类探针和引物可用于检测样品中多核苷酸(诸如与基因 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 对应的多核苷酸)的存在,及用作检测表达如下蛋白质的细胞的手段,所述蛋白质由与基因 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 对应的多核苷酸编码。正如本领域技术人员会理解的,可以基于本文中所提供的序列制备多种不同引物和探针并有效用于扩增、克隆和 / 或测定 mRNA 的存在和 / 或水平。

[0164] 在一些实施方案中,所述试剂盒包含用于检测至少两种、至少三种、至少五种、至少十种、或十五种选自下组的标志物基因的表达水平的试剂:UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B。试剂盒还可以包含对于生成参照值有用的参照样品。所述标志物基因包括但不限于 UAP1, BTG2, CD40, VNN2, RGS13, CD22, LMO2, IFITM1, CTSC, CD44, PUS7, BCL6, EPDR1, IGF1R 和 CD79B。用于检测标志物基因的 mRNA 表达水平的试剂可包含对于扩增一种标志物基因的 mRNA 产物特异性的至少一个引物对。在一些实施方案中,所述引物对可靶向所述 mRNA 序列的 3' 末端(例如靶向 3' UTR 处的 mRNA,其通常是所有转录物变体共同分享的)。在一些实施方案中,所述试剂盒可进一步包含用于捕捉探针的表面或基片(诸如微阵列),所述探针用于检测扩增的核酸。

[0165] 在一些实施方案中,所述试剂盒包含对于使用 qRT-PCR 检测一种标志物基因表达水平特异性的至少一个引物对和探针。表 1 中显示了可以在 qRT-PCR 中使用的引物和探针集的例子。对于检测 IFITM1,可以使用 SEQ ID NO :27、28、和 29、SEQ ID NO :60、61、和 62、及 SEQ ID NO :93、94、和 95 所示引物和探针集。对于检测 CD40,可以使用 SEQ ID NO :24、25、和 26、SEQ ID NO :57、58、和 59、SEQ ID NO :90、91、和 92 所示引物和探针集。对于检测 RGS13,可以使用 SEQ ID NO :114、115、和 116、及 SEQ ID NO :126、127、和 128 所示引物和探针集。对于检测 VNN2,SEQ ID NO :30、31、和 32、SEQ ID NO :63、64、和 65、及 SEQ ID NO :96、97、和 98 所示引物和探针集。对于检测 LMO2,SEQ ID NO :12、13、和 14、SEQ ID NO :45、46、和 47、及 SEQ ID NO :78、79、和 80 所示引物和探针集。对于检测 CD79B, SEQ ID NO :141、142、和 143、SEQ ID NO :150、151、和 152、及 SEQ ID NO :159、160、和 161 所示引物和探针集。对于检测 CD22, SEQ ID NO :15、16、和 17、SEQ ID NO :48、49、和 50、及 SEQ ID NO :81、82、和 83 所示引物和探针集。对于检测 BTG2, SEQ ID NO :9、10、和 11、SEQ ID NO :42、43、和 44、及 SEQ ID NO :75、76、和 77 所示引物和探针集。对于检测 IGF1R, SEQ ID NO :6、7、和 8、SEQ ID NO :39、40、和 41、及 SEQ ID NO :72、73、和 74 所示引物和探针集。对于检测 CD44, SEQ ID NO :174、175、和 176、SEQ ID NO :180、181、和 182、及 SEQ ID NO :186、187、和 188 所示引物和探针集。对于检测 CTSC, SEQ ID NO :165、166、和 167、SEQ ID NO :168、169、和 170、及 SEQ ID NO :171、172、和 173 所示引物和探针集。对于检测 EPDR1, SEQ ID NO :21、22、和 23、SEQ ID NO :54、55、和 56、SEQ ID NO :87、88、和 89、SEQ ID NO :129、130、和 131、SEQ ID

NO :132、133、和 134、SEQ ID NO :135、136、和 137 所示引物和探针集。对于检测 UAP1, SEQ ID NO :138、139、和 140、SEQ ID NO :147、148、和 149、及 SEQ ID NO :156、157、和 158 所示引物和探针集。对于检测 PUS7, SEQ ID NO :177、178、和 179、SEQ ID NO :183、184、和 185、及 SEQ ID NO :189、190、和 191 所示引物和探针集。对于检测 BCL6, SEQ ID NO :102、103、和 104、及 SEQ ID NO :108、109、和 110 所示引物和探针集。

[0166] 用于检测标志物基因的蛋白质表达水平的试剂可包含特异性结合由标志物基因编码的蛋白质的抗体。

[0167] 所述试剂盒可进一步包含载体,其被隔室化以紧密约束方式容纳一个或多个容器,诸如管形瓶、管等,每个容器装有要在所述方法中使用的分开成分之一。例如,所述容器之一可以装有可检测标记或能可检测标记的探针。此类探针可以是对标志物基因特异性的抗体或多核苷酸。若试剂盒利用核酸杂交来检测靶核酸,则所述试剂盒还可以具有装用于扩增所述靶核酸序列的核苷酸的容器和 / 或装有与报告分子(诸如酶标记物、荧光标记物、或放射性同位素标记物)结合的报告分子(诸如生物素结合蛋白,诸如亲合素或链霉亲和素)的容器。

[0168] 典型地,本发明的试剂盒包含上文所描述的容器和一个或多个其它容器,其中装有从商业和使用者观点看需要的材料,包括缓冲剂、稀释剂、滤器、针头、注射器、和印有使用说明书的包装插页。容器上可以存在标签以指出所述组合物用于特定疗法或非治疗性应用,而且还可以指出体内或体外使用的用法,诸如那些上文所描述的。

[0169] 所述试剂盒可进一步包含用于制备组织或细胞样品及自样品制备核酸(诸如 mRNA)的一套指令和材料。

[0170] 本发明提供了多种适用于实施本发明方法的组合物,其可以在试剂盒中使用。例如,本发明提供了可用于这些方法中的表面,诸如阵列。在一个实施方案中,本发明的阵列包含可用于检测本发明突变的各个核酸分子或其集合。例如,本发明的阵列可包含一系列分开放置的核酸寡核苷酸个体或核酸寡核苷酸组合集,它们能与包含靶核酸的样品杂交,由此此类杂交表明存在或缺少本发明的突变。

[0171] 将核酸吸附至固相基片(诸如玻璃载玻片)的数种技术是本领域公知的。一个方法是将修饰的碱基或类似物掺入合成的核酸分子,所述修饰的碱基或类似物包含能够附着于固体基片的模块(moiety),诸如氨基、氨基衍生物或带正电荷的其它基团。然后将合成产物与固相基片(诸如玻璃载玻片)接触,所述固相基片包被有醛或会与扩增产物上的反应性基团形成共价连接的其它反应性基团,并变成共价附着于玻璃载玻片。其它方法(诸如使用氨基硅烷表面化学的那些)也是本领域已知的,其公开于万维网 cmt.corning.com 和 cmgm.stanford.edu/pbrown1。

[0172] 用本领域已知方法也可能将基团附着于寡核苷酸,然后可转化为反应性基团。寡核苷酸中核苷酸的任何附着物都将成为寡核苷酸的部分,然后其能附着于微阵列的固相表面。如所使用的技术要求和 / 或允许的,可进一步修饰扩增的核酸,诸如在附着于固相基片之前或之后,通过裂解成片段或通过附着可检测标记物来进行。

[0173] 以下内容是本发明方法和组合物的实施例。理解的是,鉴于上文所提供的一般性说明,可以实施各种其它实施方案。

实施例

[0174] 实施例 1 :临床试验中与对抗 CD40Ab. 1 治疗的响应性有关的标志物的鉴定

[0175] 临床试验 001 (II 期)

[0176] 一项多中心、II 期、开放标记的研究,用于测定抗 CD40Ab. 1 在复发性 DLBCL 患者中的总体响应率和毒性谱。由中心实验室对肿瘤样品评估病理确认和 CD40 表达。符合条件的患者在诊断时具有从头的或转化的 DLBCL,而且若有在先的无痛性淋巴瘤史的话,则排除在外。要求由含利妥昔单抗的组合化疗和(如果符合条件的话)自体干细胞移植组成的在先疗法。患者在 5 周里接受 6 次 IV 输注抗 CD40Ab. 1 (周期 1),为患者内剂量加载 (intra-patient dose loading) (第 1 天 1mg/kg ;第 4 天 2mg/kg ;第 8 天 4mg/kg) 和此后 8mg/kg/wk。有响应的患者和具有 SD (病情稳定) 的患者符合继续治疗的条件,直至疾病有进展或长达至多 12 个周期。在接受抗 CD40Ab. 1 治疗之前自患者采集肿瘤组织。例如,作为例行淋巴瘤诊断的一部分来采集样品。

[0177] 抗 CD40Ab. 1 是一种针对 CD40 的人源化 IgG1 单克隆抗体。它是由经遗传工程改造的中国仓鼠卵巢 (CHO) 细胞系生成和分泌的。抗 CD40Ab. 1 具有如下氨基酸序列:

[0178] 重链 (SEQ ID NO :1)。斜体、下划线显示的 ASN 294 残基标示碳水化合物模块的位置。

[0179]	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGYSFT GYYIHWVRQA PGKGLEWVAR	50
[0180]	VIPNAGGTSY NQKFKGRFTL SVDNSKNTAY LQMNSLRAED TAVYYCAREG	100
[0181]	IYWWGQGTLV TVSSASTKGP SVFPLAPSSK STSGGTAALG CLVKDYFPEP	150
[0182]	VTVSWNSGAL TSGVHTFPAV LQSSGLYSLS SVVTVPSSSL GTQTYICNVN	200
[0183]	HKPSNTKVDK KVEPKSCDKT HTCPCPAPE LLGGPSVFLF PPKPKDTLMI	250
[0184]	SRTPEVTCVV VDVSHEDPEV KFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQY <u>MST</u> YRVV	300
[0185]	SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKALPAPIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP	350
[0186]	SREEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSGDS	400
[0187]	FFLYSKLTVD KSRWQQGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SPG	443
[0188]	轻链 (SEQ ID NO :2)。	
[0189]	DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRSSQSLV HSNQNTFLHW YQQKPGKAPK	50
[0190]	LLIYTVSNRF SGVPSRFSGS GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YFCSQTTHVP	100
[0191]	WTFGQGTKVE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK	150
[0192]	VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE	200
[0193]	VTHQGLSSPV TKSFNRGEC	219

[0194] 临床试验 002 (I 期)

[0195] 进行了多机构、多剂 I 期研究来测试静脉内抗 CD40Ab. 1 在复发性 NHL 患者中的安全性、药动学特性、免疫原性、和抗肿瘤活性。具有多种 NHL 组织学亚型的患者登记了此研究,包括弥漫性大 B 细胞 (DLBCL ;14)、滤泡 (FCL ;9)、套细胞 (MCL ;9)、边缘区 (MZL ;2) 和小淋巴细胞 (SLL ;1)。用如下的剂量加载方案治疗患者:第 1 天和第 4 天 1mg/kg 抗 CD40Ab. 1, 随后是第 2-5 周期间的患者内剂量放大,四个小组剂量放大至最大剂量 3、4、6、或 8mg/kg。随后,在一个小组中测试了快速剂量加载方案(周期 1 期间使用的总抗 CD40Ab. 1 增加 40%)。有响应的患者或病情稳定的患者符合第二个周期的条件,其中第二个周期由连续四

次每周一次输注小组特定最大剂量的抗 CD40Ab. 1 组成。8 名 DLBCL 患者完成了周期 1 并接受了最大剂量至少 3mg/kg 抗 CD40Ab. 1, 客观响应率为 37.5% (即 1 名 CR 和 2 名 PR) 和 2 名 SD。在 1 名 MCL 患者 (CR) 和 1 名 MZL 患者 (PR) 中看到另外的客观响应。尚未达到这 5 名患者的响应持续时间中值 (范围为 8-37 周)。在接受抗 CD40Ab. 1 治疗之前自患者采集肿瘤组织。例如, 作为例行淋巴瘤诊断的一部分来采集样品。

[0196] 临床样品制备和 qRT-PCR

[0197] 在适宜的 IRB 批准和患者同意下, 自临床调查场所获得来自上文所述 I 期和 II 期临床试验的福尔马林固定、石蜡包埋 (FFPE) 的档案肿瘤组织。在玻璃载玻片上封固自肿瘤组织得来的 4-6 微米切片, 而且使用标准病理学实验室方案对每个病例的一张载玻片进行 H&E 染色。一名经过委员会验证的病理学家对 H&E 载玻片标记肿瘤含量, 并作为指导用于宏观解剖剩余含肿瘤区, 用于使用 Ambion RecoverAll™ 用于 FFPE 组织的总核酸分离试剂盒 (产品目录 No. AM1975 ;Applied Biosystems/Ambion, Austin, TX) 提取 RNA。

[0198] 使用 Applied Biosystems 的高容量逆转录 cDNA 合成试剂盒 (产品目录 No. 4368814 ;Applied Biosystems, Foster City, CA) 在总反应体积 20uL 中逆转录每份样品 450ng 总 RNA。遵循制造商的推荐, 只是缩短成 37°C 60min RT 反应。将 5ng 总 RNA 当量的 cDNA (假设 100% 的 cDNA 合成效率) 产物与 Applied Biosystems 的 2X 通用大师级混合物 (2X Universal Master Mix) (无 UNG) 在每个 PCR 测定孔 15uL 体积中混合。所有扩增在 384 孔中一式三份地进行, 使用 2 步 (95°C 15 秒钟, 60°C 1 分钟) PCR 扩增规程。反应在经过确认的 ABI 7900 实时 PCR 系统上进行 40 个循环。表 1 中显示了所使用的引物和探针的序列。

[0199]

表1: 引物和探针

基因座	GenBank 登录号	探针交叠	正向引物	反向引物	探针
PRKA	NM_002737.2	1	TGACAAAATGTAGAGGCCATTCA (SEQ ID NO:3)	CATCCGTCTCCTCTGCCGATATAA (SEQ ID NO:4)	CCGTCAAACACCACTTT (SEQ ID NO:5)
IGF1R	NM_000875.3	1	TTGCAAGGAAAGAAATTCAAACAC (SEQ ID NO:6)	TGCCTTGAATCCATTTGACTGCTT (SEQ ID NO:7)	ACAACAGCAGTAAGAAGA (SEQ ID NO:8)
BTG2	NM_006763.2	1	CAGGTCCTGCCCTTTTAGAAG (SEQ ID NO:9)	ATCATAAAGAAGAGAGAGACAAAGATTA AG (SEQ ID NO:10)	AGCCTCATGGTCTCAT (SEQ ID NO:11)
LMO2	NM_005574.2	1	GGCCACAGCCCAATCCA (SEQ ID NO:12)	CTTGCCCTAAATGTTCCCTTCT (SEQ ID NO:13)	AGTAACTGACATGATTAGC (SEQ ID NO:14)
CD22	NM_001771.2	1	TTTGAAAGTGAGGCATTGCA (SEQ ID NO:15)	CCGGAGTCCCAGAGTCAA (SEQ ID NO:16)	AGACGTACGTATCAGCG (SEQ ID NO:17)
SMN1	NM_000344.2	1	CTGGAATGTGAAGCGTTATAGAAGAT (SEQ ID NO:18)	CCCTTTTCTTTCCCAACTTGA (SEQ ID NO:19)	CTGGCCTCATTTCT (SEQ ID NO:20)
EPDR1	NM_017549.3	1	CAGCCTCTCTTTCCTCCCTGGTT (SEQ ID NO:21)	TCCCTAGCAATGGACAAAATCA (SEQ ID NO:22)	CCTTATGTTGTAATGTGG (SEQ ID NO:23)
CD40	NM_001250.4	1	GGGATCCTGTTTCCCATCCT (SEQ ID NO:24)	GCTTCTTGGCCACCTTTTIG (SEQ ID NO:25)	TTGGTGGTGGTCTTT (SEQ ID NO:26)

[0200]

基因座	GenBank登录号	探针交叠	正向引物	反向引物	探针
IFITM1	NM_003641.3	1	GGCTTCATAGCAATCGCCTACT (SEQ ID NO:27)	TCACCTCGCCAACCATCTTT (SEQ ID NO:28)	CGTGAAGTCTAGGGACAG (SEQ ID NO:29)
VNN2	NM_004665.2	1	GACTTGTATGTATGGGAGTGAGGAGTT (SEQ ID NO:30)	TCTCTCAAGGGCACAGCTATG (SEQ ID NO:31)	CAGGGCCATTGCAA (SEQ ID NO:32)
PRPSAP2	NM_002767.2	1	GCCRAACTGGAACATAAGAGTGA (SEQ ID NO:33)	GCATGACGGTTCCTGTGAAA (SEQ ID NO:34)	TGCTCGGTGGGATGG (SEQ ID NO:35)
PRKCA	NM_002737.2	1	CGGAGGTGAGGTTTTCCTT (SEQ ID NO:36)	GACGGTTGAATGGCCTCTACA (SEQ ID NO:37)	TGTATAAGCACCTACTGACAAA (SEQ ID NO:38)
IGF1R	NM_000875.3	1	AGGACTTCTTCATGGTCTTACAGTT (SEQ ID NO:39)	AAGTGACATTAAGACGATGTGTATGC (SEQ ID NO:40)	TGTTAGACCATGAACATTT (SEQ ID NO:41)
BTG2	NM_006763.2	1	CAGGCTGTGTTCTTGCACTTTG (SEQ ID NO:42)	GACCATGAGGCTGCTTCTAAAAA (SEQ ID NO:43)	CTGCAAAACAGGTCCCT (SEQ ID NO:44)
LMO2	NM_005574.2	1	TTGGACCCAAAGGGAACACTG (SEQ ID NO:45)	GGTTAAAAAGTTGTGGTTTCCATCTC (SEQ ID NO:46)	TGGAGACGCATTTCCG (SEQ ID NO:47)
CD22	NM_001771.2	1	GACATCCCCTCACGAATATTATG (SEQ ID NO:48)	CTGTCTTTTCTGGGCTTTCC (SEQ ID NO:49)	CCAGTTTCTGCCTCTGA (SEQ ID NO:50)
SMN1	NM_000344.2	1	GGCATAGACGACGACTAAATGACA (SEQ ID NO:51)	TTCTATAACGCTTCACATTCAGATC (SEQ ID NO:52)	CACTAAAGAACGATCAGAC (SEQ ID NO:53)

[0201]

基因座	GenBank登录号	探针交叠	正向引物	反向引物	探针
EPDR1	NM_017549.3	0	CGCACITTTGGCCTTCCCTAGA (SEQ ID NO:54)	TGGAAGGAGATGCAGAAGTCCAGA (SEQ ID NO:55)	CAC TGCTTCATAACCTC (SEQ ID NO:56)
CD40	NM_001250.4	1	CCTGCCAGTCGGCTTCT (SEQ ID NO:57)	GTCCAAGGGTGACATTTTTCG (SEQ ID NO:58)	CTCCAATGTGTCACTG (SEQ ID NO:59)
IFITM1	NM_003641.3	1	GGTTACTAGTAGCCGCCCATATA (SEQ ID NO:60)	GCAGGGCCAGCATTTGC (SEQ ID NO:61)	CAACCTTTGCACCTCCGAC (SEQ ID NO:62)
VNN2	NM_004665.2	1	TGTCCATTTTTTGGCTACTCTGA (SEQ ID NO:63)	CCCAAACACCCAGGCTCTT (SEQ ID NO:64)	CAGTGTGGAACAATG (SEQ ID NO:65)
PRPSAP2	NM_002767.2	0	GCTCCAGTCGCCCAAGATT (SEQ ID NO:66)	CGACGGATGCCTCTGAA (SEQ ID NO:67)	AAACTGTGATATCAGCATGA (SEQ ID NO:68)
PRKCA	NM_002737.2	0	TGGCAACTCAGAAATACTTCGA (SEQ ID NO:69)	ACGTCAATAGGCACGTTTGCT (SEQ ID NO:70)	CTCCCAAGATATAAGAGGC (SEQ ID NO:71)
IGF1R	NM_000875.3	0	GTCCACCTCTCCCCTTCT (SEQ ID NO:72)	CACGGACTTAGTACAAAGCATAAGA (SEQ ID NO:73)	CTCAGTCCAAAGAAC (SEQ ID NO:74)
BTG2	NM_006763.2	0	CCCAAACCGAATCACCTTAAGA (SEQ ID NO:75)	CAGGAGGTGGCCATCCT (SEQ ID NO:76)	ACAGGGTAGGGCAT (SEQ ID NO:77)
LMC2	NM_005574.2	0	TCTCCATGGCATCTTCGTCTT (SEQ ID NO:78)	ATCCCTTACCCACCCCTCAA (SEQ ID NO:79)	ACTCTTAGGCACCTTGG (SEQ ID NO:80)

[0202]

基因座	GenBank登录号	探针交叠	正向引物	反向引物	探针
CD22	NM_001771.2	0	CGGCCTCAGGCACAAGAA (SEQ ID NO:81)	GCAGCCCATCCAGTGTCAAT (SEQ ID NO:82)	ATGTGGACTATGTGATCCT (SEQ ID NO:83)
SMN1	NM_000344.2	0	CATGGTACATGAGTGGCTATCATACTG (SEQ ID NO:84)	GTGAGCACCTTCCTTCTTTTGA (SEQ ID NO:85)	CTATTATATGGGTTTCAGACAA A (SEQ ID NO:86)
EPDR1	NM_017549.3	0	GACTATTGTCTCCTAAACCCAGGACTA (SEQ ID NO:87)	CCCAGTGCATTTAATGACCAAA (SEQ ID NO:88)	AGTTCCTCGTACTGTC (SEQ ID NO:89)
CD40	NM_001250.4	1	ATCAATTTTCCCGACGATCTTC (SEQ ID NO:90)	CGGTGGCATCCATGTAAGT (SEQ ID NO:91)	TGGCTCCAACACTG (SEQ ID NO:92)
IFITM1	NM_003641.3	0	AGGTCCACCCTGATCAACATC (SEQ ID NO:93)	CAGGACCAGACGACATGGT (SEQ ID NO:94)	ACAGGAGACCTCCCT (SEQ ID NO:95)
VNN2	NM_004665.2	0	CAACTTGTGGACGGCCAGTA (SEQ ID NO:96)	GTGCCACTGAGGGAGAACATTT (SEQ ID NO:97)	AAACTGCTTCTACAAGATT (SEQ ID NO:98)
PRPSAP2	NM_002767.2	0	CAGCAGAGACCCTGAAGGAAA (SEQ ID NO:99)	CAAGCCATGAGTTGCCATCA (SEQ ID NO:100)	AGGTGCATATAAGATCTT (SEQ ID NO:101)
BCL6	NM_001706.2	1	CCCATTCGCTCATGCTT (SEQ ID NO:102)	AATGCAGTTTAGACACAGCCAAAC (SEQ ID NO:103)	TGTTATAACTACTCCGGAGACA G (SEQ ID NO:104)
LRRC8A	NM_019594.2	1	AGTTCAGCCACGATGGAAGT (SEQ ID NO:105)	GCGGCATCGCTAAATAAGGA (SEQ ID NO:106)	TTCAGGGAAGGTGGC (SEQ ID NO:107)

[0203]

基因座	GenBank登录号	探针交叠	正向引物	反向引物	探针
BCL6	NM_001706.2	1	CACAGGACTTGAAGTTGTTACTAACT AA (SEQ ID NO:108)	TGACGCAGAAATGGGATGAGA (SEQ ID NO:109)	CTCTCTTTGGGAATGTT (SEQ ID NO:110)
LIRC8A	NM_019594.2	0	CAAAGCAGCCAGACGTTGAAC (SEQ ID NO:111)	CACACCAGATCCGGAAAGACA (SEQ ID NO:112)	TTTCCCTGGGCGCAGG (SEQ ID NO:113)
RGS13	NM_144766.1	0	GGGATTCCTACCCAGATTTCTA (SEQ ID NO:114)	CAGAAACTGTTGTTGGACTGCATAG (SEQ ID NO:115)	AGTCAGAAATGTACCAAAA (SEQ ID NO:116)
YIPF3	NM_015388.2	1	TGAGCTGTAGCTGCGTAAGTACCT (SEQ ID NO:117)	GGCCTTGTGCCCTTTCAGAAAG (SEQ ID NO:118)	CTTGATGCGCTGTCGSC (SEQ ID NO:119)
YIPF3	NM_015388.2	1	TGGCTGCCCTACACATGCT (SEQ ID NO:120)	CAGGATCCCTCTACCACTTTG (SEQ ID NO:121)	CCTGCTCTATCTGCAATTT (SEQ ID NO:122)
YIPF3	NM_015388.2	0	GAGGCTCAGCTGTGATGACAT (SEQ ID NO:123)	CACCCATATCCTCGAAGCTAGAG (SEQ ID NO:124)	AGAACATGGATGATACCTC (SEQ ID NO:125)
RGS13	NM_144766.1	0	TCCAGCCACAGTCCCCTAGA (SEQ ID NO:126)	TCCTGAATGTTCCCTGATGATAGTCTCT (SEQ ID NO:127)	AGATTAACATTGACAGTTCGAC A (SEQ ID NO:128)
EPDR1	NM_017549.3	0	CGAGGGAAGGCGCTGATC (SEQ ID NO:129)	ACATCACTCCATCCTTATACAGCAAA (SEQ ID NO:130)	CCTGCAAGAGATTATTT (SEQ ID NO:131)
EPDR1	NM_017549.3	0	GGATCCTCTTGACATTCCTCAAA (SEQ ID NO:132)	GGCCCCCGGATGGA (SEQ ID NO:133)	CTCCACCTTTGAAGACC (SEQ ID NO:134)

[0204]

基因座	GenBank登录号	探针交叠	正向引物	反向引物	探针
EPDR1	NM_017549.3	0	CGAGGGTGTGGCCATATGA (SEQ ID NO:135)	GAACAGGCATTAGAAATACCCAAAG (SEQ ID NO:136)	TGACTAGATGGCTAAATATG (SEQ ID NO:137)
UAP1	NM_003115.4	0	CTACTGCAAGGCATGCTTTGAT (SEQ ID NO:138)	TGGCCCCCTGCATTGA (SEQ ID NO:139)	TCCCTTCATCATTGCTG (SEQ ID NO:140)
CD79B	NM_000626.2	0	GCCGGTGCAGTTACAGTT (SEQ ID NO:141)	CCCCAAAACCCGTGACAAC (SEQ ID NO:142)	CCTCCAAGGAGCCTC (SEQ ID NO:143)
CLPTM1	NM_001294.1	1	CAAAGCCCTCAACACATTCA (SEQ ID NO:144)	GGTACATAACGGGCATCTTGATG (SEQ ID NO:145)	ACCTGTTCGCCTTTG (SEQ ID NO:146)
UAP1	NM_003115.4	1	CCTATGTCTGGAGAAGGATTAGAAAGT (SEQ ID NO:147)	CGATGATTAGAGGTGCATGGAA (SEQ ID NO:148)	ATGTGGCAGATAAAG (SEQ ID NO:149)
CD79B	NM_000626.2	0	TCTCGCCACCCTCACCAT (SEQ ID NO:150)	GCTGACAGAAAGTAGATGCCATTGT (SEQ ID NO:151)	CAAGGCATCCGGTTTG (SEQ ID NO:152)
CLPTM1	NM_001294.1	0	AAGTCGCCCTGGAAC TTCCT (SEQ ID NO:153)	CACCGAGTCCTGCTCCTCAT (SEQ ID NO:154)	ATGAGTTGTACGAGCAGTC (SEQ ID NO:155)
UAP1	NM_003115.4	1	CATGAGCTGTTGAAAAATGGTATTT (SEQ ID NO:156)	AAAGCTATTCCCTATCGTGGCAAA (SEQ ID NO:157)	AACCAGATACCAAGTTTT (SEQ ID NO:158)
CD79B	NM_000626.2	1	TCCCCAGCTCTTGCCAAAG (SEQ ID NO:159)	CAGAGAACTCCCTCCAAGTTGCT (SEQ ID NO:160)	CTGGAGTAGAAGGACAAACAG (SEQ ID NO:161)

[0205]

基因座	GenBank登录号	探针交叠	正向引物	反向引物	探针
CLPTM1	NM_001294.1	0	GGCAGGCCAGGTTTGT (SEQ ID NO:162)	CGAGATGGCTGGAACACAGA (SEQ ID NO:163)	AGGCGTGTCTGTC (SEQ ID NO:164)
CTSC	NM_001814.3	1	GACTCAGCCCTCTGGGATGGA (SEQ ID NO:165)	GGATCCGGGAAGTAGCCATTCT (SEQ ID NO:166)	TGGATTGTTAAAAACAGCTGG (SEQ ID NO:167)
CTSC	NM_001814.3	0	AGGCGGCTTCCATACCT (SEQ ID NO:168)	CTTCTTCCACCAGCCAAAA (SEQ ID NO:169)	ATTGCAGGAAGTACGCC (SEQ ID NO:170)
CTSC	NM_001814.3	0	CCCAAACCTGCACCACCTGA (SEQ ID NO:171)	CAAGATGTTGGCAAATGCAAA (SEQ ID NO:172)	CTGAAATACAGCAAAA (SEQ ID NO:173)
CD44	NM_000610.3	0	CCTTTGTGGCAATTATTCAFCAGT (SEQ ID NO:174)	GCTTCTATGACAAGCAGCCTTTG (SEQ ID NO:175)	AGGGTCCGATTGG (SEQ ID NO:176)
PUS7	NM_019042.3	0	CTCTGTAGCACAGGCTGGATTG (SEQ ID NO:177)	AGGCTGCAGTGCAAGATTGA (SEQ ID NO:178)	AGTGCATCCTGCAATT (SEQ ID NO:179)
CD44	NM_000610.3	0	CCACTTGGAGGCCTTTCATC (SEQ ID NO:180)	AGGTTGGCGATCAGGAATACA (SEQ ID NO:181)	TCGGGTGTGCTATGGA (SEQ ID NO:182)
PUS7	NM_019042.3	0	CCTTGCCTGGTTTCGATGTT (SEQ ID NO:183)	GAGCAATTCCTGTAGGCTTCTTT (SEQ ID NO:184)	CCCAAAGCATAAAAATT (SEQ ID NO:185)
CD44	NM_000610.3	0	CAACCCGTTGGAACATAACCAATT (SEQ ID NO:186)	AACAATCAGTAGCACATTGCATCTG (SEQ ID NO:187)	AGGGAGCTGGGACACT (SEQ ID NO:188)

[0206]

基因座	GenBank登录号	探针交叠	正向引物	反向引物	探针
PUS7	NM_019042.3	0	TGGACTCACTGAGGCTGACGTA (SEQ ID NO:189)	GATCCCGAGAACCCCTTGATG (SEQ ID NO:190)	TCACCAAGTTTGTGAGTTC (SEQ ID NO:191)
RPL22	NM_000983.3	1	GCTGCCAATTTTGAGCAGTTT (SEQ ID NO:192)	GTTCCAGCTTTTCCGTTCA (SEQ ID NO:193)	TGCAAGAAAGGATCAAA (SEQ ID NO:194)
LOC7281 79	XR_015348.1	1	TCTTGCCTGCCCTGTGTTG (SEQ ID NO:195)	TGCCTTCCCCTTAATAATGCA (SEQ ID NO:196)	AAAATGCGGGTCCCTT (SEQ ID NO:197)
SERBP1	NM_001018067.1	1	CTCCCGTACACAGAGTAACAAA (SEQ ID NO:198)	AAAAATCCCTGCTACCAATACATT (SEQ ID NO:199)	ATGGTAGTCAGTTTGTATTTA G(SEQ ID NO:200)
RPL9	NM_000661.4	1	TCCGTTACAAGATGAGTCTGTGT (SEQ ID NO:201)	CATTCTCTGGATAACAACGTTGA (SEQ ID NO:202)	TGCTCACTTCCCC (SEQ ID NO:203)
CFL1	NM_005507.2	1	TCCATCCCTTGACGGTCTG (SEQ ID NO:204)	AGCCCAAGAGGAATCAAAAGATC (SEQ ID NO:205)	CCTTCCCAAAGTGCCTT (SEQ ID NO:206)
RPL13	NM_000977.2	1	GAGTCATCACTGAGGAAGAGAAGAAAT (SEQ ID NO:207)	TGCCACGGGCCATACG (SEQ ID NO:208)	CAAAGCCTTCGCTAGTC (SEQ ID NO:209)
FLJ1602 5	NM_198505.1	1	CCTACACCCCTTATCCCATACT (SEQ ID NO:210)	CCAGGGCTATGGTTGAATGA (SEQ ID NO:211)	TTATATCGAAACCATCAGCC (SEQ ID NO:212)
RPS10	NM_001014.3	1	CGACCTGCGAGACTCACAAG (SEQ ID NO:213)	GGCACAGCACTCCGTCTGT (SEQ ID NO:214)	AAGCTGACAGATACC (SEQ ID NO:215)

[0207]

基因座	GenBank登录号	探针交叠	正向引物	反向引物	探针
NPM1	NM_002520.5	1	TCTGGCTGTCCCTTTTATAATGCA (SEQ ID NO:216)	CTTGGCAATAGAACCTGGACAAC (SEQ ID NO:217)	AGTGAGAACTTTCCC (SEQ ID NO:218)
CCDC72	NM_015933.3	1	GCAAGAAGAACCCACTGAAACA (SEQ ID NO:219)	GAAAGCCTTATCTTCTCGTCCAT (SEQ ID NO:220)	CCCAAGAAAGCAGGCCA (SEQ ID NO:221)
RPS19	NM_001022.3	1	GGCTGAAAATGGTGGAAAAGG (SEQ ID NO:222)	CTTTGTCCCTGAGGTGTCAGTTT (SEQ ID NO:223)	CCAAGATGGCGGCCG (SEQ ID NO:224)
RPS16	NM_001020.4	1	TGTGGATGAGGCTTCCAAGAA (SEQ ID NO:225)	CAGCAGGTCGGTCACTACT (SEQ ID NO:226)	AGATCAAAGACATCCTCATC (SEQ ID NO:227)
BEF1G	NM_001404.4	1	GGCAGGTGGACTACGAGTCATAC (SEQ ID NO:228)	GTCTCCTCGCTGCCAGGAT (SEQ ID NO:229)	CATGGCGAAACTG (SEQ ID NO:230)
RPS5	NM_001009.3	1	CCGGAACATTAAGACCAATTGC (SEQ ID NO:231)	CCCTTGGCAGCATTTGATGA (SEQ ID NO:232)	AGTGCCTGGCAGATG (SEQ ID NO:233)
BEF1A1	NM_001402.5	1	CTGCCACCCCACTCTTAATCA (SEQ ID NO:234)	GGCCAATTGAACAACAACAGTTCT (SEQ ID NO:235)	TGGTGGAAAGAACGGTC (SEQ ID NO:236)
RPL28	NM_000991.3	1	GGAAGCCTGCCACCTCCTAT (SEQ ID NO:237)	TGGCGGAGCAATCTTTG (SEQ ID NO:238)	TGCGGACCACCATC (SEQ ID NO:239)
ACTG1	NM_001614.2	1	TGTCCCTTGAAGCTTGTATCTGATATCA (SEQ ID NO:240)	TTCAATACAAGGTCAAAATCAGCAA (SEQ ID NO:241)	CACCTGGATTTGTAAGACTT (SEQ ID NO:242)

[0208]

基因座	GenBank登录号	探针交叠	正向引物	反向引物	探针
BTF3	NM_001037637.1	1	AGCCTCAGATGAAAGAAAACAATCA (SEQ ID NO:243)	CACCTTGTGCCTGCAGTTTGG (SEQ ID NO:244)	AACCAGGAAAAAATC (SEQ ID NO:245)
TMSB4X	NM_021109.2	1	AAGCAGCGGAATCGTAATGAG (SEQ ID NO:246)	TGCTTGTGGAAATGTACAGTGCAT (SEQ ID NO:247)	CGTGGCCGCCCAA (SEQ ID NO:248)
TPM3	NM_153649.3	1	CCCTTTTCTGGGTTTGAAGCT (SEQ ID NO:249)	CTGACTGATACAAAGCACAAATTGAGA (SEQ ID NO:250)	CTGTCTCTAGAAAGTGCC (SEQ ID NO:251)
USMG5	NM_032747.2	1	GCTGTGAAAGCAACATAAATGGAT (SEQ ID NO:252)	GGCATGGGAACCTAACAGATGAG (SEQ ID NO:253)	TTAAACTGTCTACGGTTCTTT(S EQ ID NO:254)
EIF1	NM_005801.3	1	CGCTATCCAGAACCTCCACTCT (SEQ ID NO:255)	CAGGTCATCACCCCTTACTTGCA (SEQ ID NO:256)	TCCAGCCCTTTTGCTG (SEQ ID NO:257)

[0209] 数据加工

[0210] 依照下文“标准化、换算、和归类”下的描述预加工作为结果的原始 qRT-PCR, 并如

“敏感指数和分类”下所述计算敏感指数。将 Spearman 氏等级相关用于相关性估值和相应的 P 值。对于多变量敏感指数,选择探针,并使用套索 (lasso) (L1) 和脊 (ridge) (L2) 带处罚的回归 (penalized regression) 的弹性网混合 (elastic net blend) 来评估系数,如 Zhou et al., Statist. Soc. B. 67 :301-320, 2005 所描述的和如 Friedman, Hastie and Tibshirani, Regularization Paths for Generalized Linear Models via Coordinate Descent. Technical Report, Dept. of Statistics, Stanford University at www-stat.stanford.edu/~hastie/Papers/glmnet.pdf 所执行的。使用 χ^2 检验来检验分类变量间的关联。

[0211] 标准化、换算和归类

[0212] 下文是测定数据和模型参数的定义:

[0213] 定义

[0214] 测定数据

[0215] 1 = 参照样品集 (例如 NHL 细胞系)

[0216] N_1 = 样本容量

[0217] p = 探针数目 (不包括标准化者 (normalizer))

[0218]

$$N_{lj}^{(Obs)} = \text{对探针}j\text{检测到的样本容量}$$

[0219]

$$N_{lj}^{(ND)} = \text{对探针}j\text{未检测到的样本容量}$$

[0220]

$$y_{ij}^{(Obs)} = \text{对样品}i\text{、探针}j\text{检测到的原始测定值}$$

[0221]

$$p_i^{(nrm.Obs)} = \text{对样品}i\text{检测到的标准化者的值的数目}$$

[0222]

$$y_{ij}^{(nrm.Obs)} = \text{对样品}i\text{、探针}j\text{检测到的标准化者的值}$$

[0223] 模型参数

[0224]

$$\hat{\mu}_{lj}^{(Obs.raw)} = \text{对探针}j\text{检测到的}log_2\text{测定值的}1\text{集均值 (未标准化的)}$$

[0225]

$$\hat{\sigma}_{lj}^{(Obs)} = \text{对探针}j\text{检测到的}log_2\text{测定值的}1\text{集标准偏差}$$

[0226]

$$\gamma_l^{(ND)} = \text{均值以上的标准偏差的}1\text{集数目}$$

[0227] 对于参照样品集,诸如用于拟合指数系数和分类截留的,使用参照集数据计算均值和标准偏差模型参数 (见下文用于参照集模型参数的公式)。对于新样品,例如要计算指数和类别的一份新样品,必须自参照集 1 取得模型参数,其选择成对于新样品所来源的群体最具代表性的。例如,可以维持其中使用该测定法的每种适应证和疗法线 (line of therapy) 的临床参照集。下文显示了用于计算参照集模型参数和经过换算、标准化的测定值的公式。

[0228] 公式

[0229] 参照集模型参数

[0230] 中间值

$$[0231] \quad \hat{\mu}_i^{(nrm.Obs)} = \frac{1}{p_i^{(nrm.Obs)}} \sum_{j=1}^{p_i^{(nrm.Obs)}} y_{ij}^{(nrm.Obs)} \quad (\text{样品标准化因数})$$

$$[0232] \quad \hat{\mu}_{lj}^{(Obs)} = \frac{1}{N_{lj}^{(Obs)}} \sum_{i=1}^{N_{lj}^{(Obs)}} \left[\log_2 \left(y_{ij}^{(Obs)} \right) - \log_2 \left(\hat{\mu}_i^{(nrm.Obs)} \right) \right] \quad (\text{标准化的均值})$$

[0233] 模型参数

$$[0234] \quad \hat{\sigma}_{lj}^{(Obs)} = \sqrt{\frac{1}{N_{lj}^{(Obs)}} \sum_{i=1}^{N_{lj}^{(Obs)}} \left(\log_2 \left(y_{ij}^{(Obs)} \right) - \log_2 \left(\hat{\mu}_i^{(nrm.Obs)} \right) - \hat{\mu}_{lj}^{(Obs)} \right)^2}$$

$$[0235] \quad \hat{\mu}_{lj}^{(Obs.raw)} = \frac{1}{N_{lj}^{(Obs)}} \sum_{i=1}^{N_{lj}^{(Obs)}} \log_2 \left(y_{ij}^{(Obs)} \right)$$

[0236] 经过换算、标准化的测定值

[0237] 中间值

$$[0238] \quad \hat{\mu}_i^{(nrm.Obs)} = \frac{1}{p_i^{(nrm.Obs)}} \sum_{j=1}^{p_i^{(nrm.Obs)}} y_{ij}^{(nrm.Obs)} \quad (\text{样品标准化因数})$$

[0239] 经过换算、标准化、归类的测定值

$$[0240] \quad x_{ij}^{(Obs)} = - \left[\log_2 \left(y_{ij}^{(Obs)} \right) - \log_2 \left(\hat{\mu}_i^{(nrm.Obs)} \right) \right], \quad i = 1, \dots, N_{lj}^{(Obs)}$$

$$[0241] \quad x_{ij}^{(ND)} = - \left[\hat{\mu}_{lj}^{(Obs.raw)} - \log_2 \left(\hat{\mu}_i^{(nrm.Obs)} \right) + \gamma_{lj}^{(ND)} \hat{\sigma}_{lj}^{(Obs)} \right], \quad i = 1, \dots, N_{lj}^{(ND)}$$

[0242] 将完整的 $N_1 \times p$ 数值矩阵, $\begin{bmatrix} \mathbf{x}_1^{(Obs)} & \dots & \mathbf{x}_p^{(Obs)} \\ \mathbf{x}_1^{(ND)} & \dots & \mathbf{x}_p^{(ND)} \end{bmatrix}$, 输入至敏感指数和分类计算。

[0243] 敏感指数和分类

[0244] 下文是测定数据和模型参数的定义:

[0245] 定义

[0246] 测定数据

[0247] $l =$ 参照样品集 (例如 NHL 细胞系)

[0248] $N_1 =$ 样本容量

[0249] $p =$ 探针对数目

[0250] $x_{ij} =$ 对样品 i 、探针 j 经过换算、标准化的测定值

[0251] $x_{ij'}$ = 如上, 对探针 j 具有抗相关探针对 j' (as above with j' the anti-correlated pair probe to probe j)

[0252] 模型参数

[0253] $\beta_{lj} =$ 探针 j 的 l 集系数

[0254]

$$\hat{\mu}_{lj} = \quad \text{探针 } j \text{ 的经过换算、标准化的测定值的 } l \text{ 集均值}$$

[0255]

$$\hat{\sigma}_{lj}^2 = \quad \text{探针 } j \text{ 的经过换算、标准化的测定值的 } l \text{ 集均值}$$

[0256] c_1 = 分类切点

[0257] 下文显示了用于计算参照集模型参数和敏感指数和分类的公式。

[0258] 公式

[0259] 参照集模型参数

[0260] 探针均值和标准偏差

[0261]
$$\hat{\mu}_{lj} = \frac{1}{N_l} \sum_{i=1}^{N_l} x_{ij}$$

[0262]
$$\hat{\sigma}_{lj}^2 = \frac{1}{N_l} \sum_{i=1}^{N_l} (x_{ij} - \hat{\mu}_{lj})^2$$

[0263] 指数和分类

[0264] 敏感指数

[0265]
$$S_{li} = \sum_{j=1}^p \beta_{lj} \frac{x_{ij} - \hat{\mu}_{lj}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{lj}^2}} - \beta_{lj'} \frac{x_{ij'} - \hat{\mu}_{lj'}}{\sqrt{\hat{\sigma}_{lj'}^2}}$$

[0266] 敏感类别

[0267]

$$T_{li} = \begin{cases} 1 \equiv \text{敏感性的, 若 } S_{li} \geq C_l \\ 0 \equiv \text{抗性的, 否则} \end{cases}$$

[0268] 临床试验 001 结果

[0269] 下文表 2 提供了来自临床试验 001 的测定标本和临床样品的样品计数。对来自 24 名 DLBCL 患者的 29 份档案 FFPE 肿瘤标本进行 qRT-PCR 加工。3 名患者具有多份标本, 而且所有 24 名患者有至少一份标本有可使用的 qRT-PCR 结果。在这 24 人中, 21 人具有基线和至少一次基线后拜访时报告的肿瘤直径乘积之和 (sum of the product of diameters (SPD)) 测量。

[0270] 表 2 : 临床试验 001 样品计数

诊断测定法		临床数据库	
档案 FFPE 标本	29	分析 样本容量 (qRT-PCR 和 SPD 二者可得)	
患者数 (3 人有多份标本)	24		
报告的标本	27		

[0272]	qRT-PCR			
	可使用的qRT-PCR 结果(1份不足)	26		46 临床数据库 中的患者
	独特患者的qRT-PCR (2个患者标本对 一起取平均值)	24	21	39 相对于所报告 基线的SPD变化

[0273] 表3总结了促成敏感指数的主要与配对基因之间的成对 Spearman 氏等级相关。基于细胞系开发样品,平均而言,在特定患者组中具有低表达的基因预期应当具有相应配对的相对高表达,从而提供敏感指数作为上调对下调表达途径之比(即在 \log_2 刻度上)的自我标准化和解读。此第一临床样品中的对之间的相关程度始终是统计学显著的,并且是突出高的,具有较低的相关估值,为 -0.67 ($P = 0.0004$)。这些测试单独构成独立的证实,即在体外测定靶序列在来自此临床群体的肿瘤样品中表达,而且该测定法检测档案 FFPE 组织样品中的表达。

[0274] 表3:主要和配对基因反-相关 ($N = 21$)

[0275]

主要基因*	基因座连接	关联基因	配对
IFITM1	8519	-.85	BTG2
CD40	958	-.84	IGF1R
RGS13	6003	-.70	CD44
VNN2	8875	-.87	CTSC
LMO2	4005	-.67	EPDR1
CD79B	974	-.75	UAP1
CD22	933	-.83	PUS7
* CD40、RGS13、VNN2、LMO2、CD22、BTG2、和UAP1是在敏感性细胞系中具有较高表达的基因。			

[0276] 表4总结了每种探针个别的测量与基线后肿瘤 SPD 最大降低(或最小升高)之间的关联。因为等级相关是基于基线后对基线测量的差异(或比),所以正关联意味着平均而言,探针的较高表达与肿瘤增大有关;而平均而言,负关联意味着较高的探针表达与肿瘤缩小有关。值得注意的是,所有主要-配对探针对(Main-Pair probe pair)与SPD具有反向关联。P值与此样品中有希望的趋势一致。所有P值低于.5(当没有真正的关联时预期为50%)。所有范围是作为自助法(bootstrap)第95百分位置信区间计算得到的,其基于采样时有来自DLBCL患者样品的置换的5,000份复制品, $N = 21$ (based upon 5,000 replicates sampled with replacement from the DLBCL patient sample, $N = 21$)。随着样本容量增

大,会得到较窄的范围。由于产生这些结果不需要构建或检查模型,所以它们包含一种强趋势,其确认了这些 qRT-PCR 探针测量值总体上与用抗 CD40Ab. 1 治疗的患者中肿瘤 SPD 的缩小是相关的。

[0277] 表 4 :SPD 和各探针测量值 (N = 21) 之间的关联

[0278]

主要基因	ρ	P	范围	配对基因	ρ	P	范围
IFITM1	+0.29	0.20	(-0.13, 0.68)	BTG2	-0.27	0.23	(-0.70, 0.19)
CD40	-0.16	0.49	(-0.58, 0.30)	IGF1R	+0.33	0.15	(-0.17, 0.73)
RGS13	-0.32	0.16	(-0.66, 0.13)	CD44	+0.34	0.14	(-0.11, 0.70)
VNN2	-0.26	0.26	(-0.67, 0.21)	CTSC	+0.31	0.17	(-0.17, 0.68)
LMO2	-0.25	0.27	(-0.69, 0.25)	EPDR1	+0.27	0.23	(-0.22, 0.67)
CD79B	+0.22	0.34	(-0.22, 0.61)	UAP1	-0.22	0.35	(-0.59, 0.22)
CD22	-0.25	0.28	(-0.66, 0.21)	PUS7	+0.20	0.39	(-0.26, 0.66)

[0279] 多变量敏感指数是表 3 和 4 中的探针的加权平均值。因为预期细胞系的权重不反映患者肿瘤标本中的最佳权重,所以将细胞系的权重限制成 1 和 -1,对应于有正负号的、相等加权的平均值,其中所述正负号匹配每种探针与细胞系对抗 CD40Ab. 1 的抗性 (即 IC25) 之间的关联。对于临床群体,需要新的权重。作为仅仅基于 21 份样品的初步分析,我们选择使用带处罚的、多变量回归规程来选择和估算 14 种探针中最好的 8 种的权重。表 5 中显示了那些权重 (系数),而图 2 中描绘了所得敏感指数与相对于基线的 SPD 变化之间的关联。较大的多变量敏感指数值与基线后的 SPD 降低有关 (Spearman 氏 $\rho = -0.58, P = 0.006$)。表 4、5、和 6 中的所有范围是作为自助法第 95 百分位置信区间计算得到的,其基于采样时有来自 DLBCL 患者样品的置换的 5,000 份复制品, N = 21。随着样本容量增大,会得到较窄的范围。

[0280] 表 5 :多变量敏感指数的权重 (N = 21)

[0281]

主要基因	系数	范围	配对基因	系数	范围
IFITM1	-0.08	(-11.7, 3.7)	BTG2	-0.62	(-11.6, 0.0)
CD40	0	(-9.5, 8.2)	IGF1R	0	(-9.0, 5.6)
RGS13	+1.13	(-1.9, 8.0)	CD44	-3.39	(-11.9, 0.0)
VNN2	0	(-4.1, 4.1)	CTSC	0	(-8.8, 2.1)

LMO2	0	(-8.5, 2.1)	EPDR1	-0.74	(-4.7, 3.6)
CD79B	+0.04	(-3.2, 9.0)	UAP1	-2.45	(-15.1, 0.0)
CD22	+0.63	(-0.0, 12.7)	PUS7	0	(-7.7, 7.3)

[0282] 使用来自临床试验 001 的 26 份样品, 表 6 显示了得到的 μ_j 和 σ_j 值的范围。

[0283] 表 6 : 基于来自临床试验 001 的数据的 μ_j 和 σ_j 范围

[0284]

μ_j	IFITM1	LMO2	CD40	VNN2	IGF1R	BTG2	CD22	BCL6
下	-4.89	-5.09	-5.09	-5.10	-5.12	-5.02	-5.03	-5.07
上	-4.79	-5.00	-5.02	-5.02	-5.06	-4.92	-4.93	-4.99

[0285]

μ_j	RGS13	EPDR1	CD79B	UAP1	CTSC	CD44	PUS7
下	-5.14	-5.19	-5.10	-5.26	-5.04	-4.97	-5.24
上	-5.00	-5.12	-5.04	-5.18	-4.95	-4.87	-5.16

[0286]

σ_j	IFITM1	LMO2	CD40	VNN2	IGF1R	BTG2	CD22	BCL6
下	0.10	0.09	0.07	0.08	0.06	0.09	0.09	0.08
上	0.17	0.14	0.12	0.13	0.10	0.15	0.14	0.12

[0287]

σ_j	RGS13	EPDR1	CD79B	UAP1	CTSC	CD44	PUS7
下	0.14	0.07	0.06	0.08	0.09	0.09	0.08
上	0.22	0.11	0.10	0.12	0.14	0.16	0.12

[0288] 临床试验 002 结果

[0289] 为具有存档标本的 10 名患者成功生成了原始 qRT-PCR 结果。对于这 10 名患者, 表 7 显示了诊断、治疗组、多变量敏感指数、临床响应、和相对于基线的 SPD 变化。多变量敏感指数权重取自 21 名临床试验 001 患者 (表 5), 所以这些患者组成很小的确认集。敏感指数大于 0 的 4 名患者中有 2 人在抗 CD40Ab. 1 暴露后展现一些肿瘤缩小, 而敏感指数小于等于 0 的 6 名患者中有 4 人展现肿瘤增大或最佳 SPD 响应 (2 名患者的 SPD 不可得, 但是该患

者的最佳临床响应结果可得)。

[0290] 表 7 : 临床试验 002 中 6 名患者的诊断、治疗组、多变量敏感指数、临床响应和 SPD 变化的汇总。

[0291]

样品	Dx.	治疗组	敏感指数	最佳响应	SPD 百分比变化
066-0001	MCL	Pre-2	+0.01	PD	+72.48
066-0015	MCL	V	-0.87	PD	+64.07
066-0009	DLBCL	III	+1.06	PR	-78.02
066-0006	DLBCL	I	-2.31	PR	-66.44
066-0011	T 细胞 LBCL	IV	-0.46	SD(PR)	-10.34
066-0005	DLBCL	I	-2.99	PD	+1,208.94
066-0013	MCL	IV	-3.67	PD	+94.59
066-0019	DLBCL	V	+0.15	SD	-32.64
066-0004	DLBCL	I	-0.46	PD	?
066-0002	DLBCL	Pre-2	+0.99	PD	?

[0292] BCL6。qRT-PCR 测定法含有针对 BCL6 基因的第 15 种探针。虽然目前没有在多变量敏感指数中使用,但是先前将它鉴定为对抗 CD40Ab. 1 的响应的潜在预测物。如图 3 所示,虽然不是与组合 DLBCL 患者样品中的 SPD 变化显著相关 ($P = 0.25, N = 26$),但是 BCL6 在肿瘤增大的患者样品中倾向于较低 ($\rho = -0.23$)。

[0293] 实施例 2 : 使用 15 种基因标志物来确定 DLBCL 患者对抗 CD40Ab. 1 治疗的响应性

[0294] 使用来自实施例 1 所述 I 期 (11 份样品) 和 II 期 (28 份样品) 临床试验的 DLBCL 患者样品,使用加权 K-最近邻居 (KNN) 为肿瘤尺寸缩小至少 10% (本文中定义为抗 CD Ab. 1 敏感性) 开发了基于 qRT-PCT 的分类器,其中 15 种标志物 (UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B) 的权重是使用处罚回归 (GLMNET) 而确定的。模型参数是通过交叉验证而确定的,而强 p 值是经置换检验而计算的。

[0295] 使用加权 K-最近邻居 (WKNN),使用 K 最近参照样品的已知类别给新样品指派类别,其中 K 是介于 4 和 13 之间的整数。最近参照样品 (最近邻居) 是那些针对 UAP1、BTG2、CD40、VNN2、RGS13、CD22、LMO2、IFITM1、CTSC、CD44、PUS7、BCL6、EPDR1、IGF1R 和 CD79B 的 15 项探针测量每一项之间的绝对差异加权平均值 (WAAD) 最小的,其中所述差异是要归类的新样品的探针测量值和那些来自每一参照样品的之间的。WAAD 的权重是来自参照样品种肿瘤收缩对 15 项探针测量的弹性净处罚回归的系数的绝对值。由 10 倍交叉验证来选择罚分

的量度以使 WKNN 归类误差最小化。最佳 K 在训练数据集的 10 倍交叉验证中确定为 5。注意，一些探针测量值的权重可以是 0 (零)，使得并非所有探针测量必然对归类做出贡献，而且相对贡献依赖于参照样品探针测量值及其已知类别。为了确定新样品的预测类别，K 最近参照样品以它们已知类别标签的投票的方式对它们 WAAD 的倒数 (即 1 除以 WAAD) 做出贡献。将具有最大总倒数 WAAD 贡献的类别标签指派给新样品。可使用介于 0 和 1 之间的在先类别权重 (所有类别的权重共计 1 (一)) 作为标准化倒数 WAAD 贡献的乘数以提高或降低归至每一类别的新样品的比例。使用不加权 KNN 获得了相似的结果。

[0296] 使用实施例 1 所述引物和探针对患者样品对所有 15 种基因实施 qRT-PCT。对于 39 份 DLBCL 患者的一份特定样品，为 15 种标志物基因中每一种确定权重 (表 8)。

[0297] 表 8 标志物基因的权重

[0298]

BCL6	IFITM1	CD40	RGS13	VNN2	LMO2	CD79B
1.98010348	1.75845322	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000	0.00000000

[0299]

CD22	BTG2	IGF1R	CD44	CTSC	EPDR1	UAP1
0.05014746	0.00000000	0.35155187	5.33314459	0.00000000	1.55417748	7.13145292

[0300]

PUS7
0.00000000

[0301] 基于上文所述方法，将来自 39 名患者的样品确定为 Dx 阴性 (不响应抗 CD40Ab. 1 治疗) 或 Dx 阳性 (肿瘤响应抗 CD40Ab. 1 治疗缩小至少 10%)。图 4 所示数据指示预测对抗 CD40Ab. 1 治疗的响应性的总体准确度为 79.5% (P = 0.004)。24 名签名阴性患者中 21 人 (88%) 不响应抗 CD40Ab. 1 治疗展现可测量肿瘤收缩。15 名签名阳性患者中 10 人 (67%) 响应抗 CD40Ab. 1 治疗展现显著肿瘤收缩。另外，如图 5 所示，Dx 阳性患者具有延长的无进展存活。这与观察到的肿瘤收缩一致。签名阳性患者 (预测响应) 的无进展存活 (PFS) 与签名阴性患者相比显著延长，中值 PFS 分别为 169 天比 40 天 (p = 0.001)。这些数据指示 15 种基因的 qRT-PCR DLBCL 肿瘤签名有效预测用抗 CD40Ab. 1 刺激 CD40 途径后的后果。

[0302] 虽然为了清楚理解，已经经由说明和实施例较为详细地描述了上述发明，但是说明和实施例不应解释为限制本发明的范围。

VNN2

基因座	NM_004665	2034 bp	mRNA	线性	PRI 03-SEP-2007
定义	人类血管非炎性蛋白 2 (VNN2), 转录物变体 1, mRNA.				
登录号	NM_004665				
型	NM_004665.2 GI:17865813				

```

1 aaaccttgge catggctact tctcttttcc caatctctgt ggcagttttt gccctaataa
61 coctgcaggt tggtaactcag gacagtttta tagctgcagt gtatgaacat gctgtcattt
121 tgccaaataa aacagaaaca ccagtttctc aggaggatgc cttgaatctc atgaacgaga
181 atatagacat tctggagaca gogatcaagc aggcagctga gcagggtgct cgaatcattg
241 tgaotccaga agatgcactt tatggatgga aatttaccag ggaaactggt ttoccttate
301 tggaggatat cccagaccct caggtgaact ggattccgtg tcaagacccc cacagatttg
361 gtcacacacc agtacaagca agactcagct gcctggccaa ggacaactct atctatgtct
421 tggcaaattt gggggacaaa aagccatgta attccogtga ctccacatgt octootaatg
481 gctactttca atacaatacc aatgtgggtg ataatacaga aggaaaactc gtggcaogtt
541 accataagta ccacctgtac tctgagcctc agtttaatgt ccctgaaaag cgggagttgg
601 tgaacttcaa caccgcattt ggaaggtttg gcattttcac gtgctttgat atattctctc
661 atgatcctgg tgttaccctg gtgaaagatt tccatgtgga caccatactg ttcccacag
721 cttggatgaa cgttttgccc cttttgacag ctattgaatt ccattcagct tgggcaatgg
781 gaatgggagt taatcttctt gtggccaaca cacatcatgt cagcctaact atgacaggaa
841 gtggtattta tgcaccaaat ggtcccaaag tgtatcatta tgacatgaag acagagttgg
901 gaaaacttct ctttccagag gtggattcac atcccctato ctogcttgcc tacccaacag
961 ctgttaattg gaatgootac gccaccacca tcaaaccatt tccagtacag aaaaacactt
1021 tcaggggatt tatttccagg gatgggttca acttcacaga actttttgaa aatgcaggaa
1081 accttacagt ctgtcaaaag gagctttgct gtcatttaag ctacagaatg ttacaaaag
1141 aagagaatga agtatacgtt ctaggagctt ttacaggatt acatggccga aggagaagag
1201 agtactggca ggtctgcaca atgctgaagt gcaaaaactac taatttgaca acttgtggac
1261 ggccagtaga aactgcttct acaagatttg aaatgttctc cctcagtgcc acatttgaa
1321 cagagtatgt ttttccctgaa gtgctactta ccgaaattca tctgtcacct ggaaaatttg
1381 aggtgctgaa agatgggctt ttggtaaaca agaatggatc atctgggctt atactaacag
1441 tgtcactctt tgggaggtgg tacacaaagg actcacttta cagctcatgt gggaccagca
1501 attcagcaat aacttacctg ctaatattca tattattaat gatcatagct ttgcaaaata
1561 ttgtaatggt atagggcgtc tttttatcac toagcttctg catcatatgc ttggctgaat
1621 gtgtttatcg gcttcccaag tttactaaga aactttgaag ggctatttca gtagtataga
1681 ccagtgagtc ctaaataatt tttctcatca ataattattt ttttaagtatt atgataatgt
1741 tgtccatttt tttggetact ctgaaatggt gcagtgtgga acaatggaaa gagcctgggt
1801 gtttgggtca gataaatgaa gatcaaaactc cagctccagc ctcaatttgc tggagactttg
1861 tgtgtatggg ggacttgtat gtatgggagt gaggagtttc agggccattg caaacatagc
1921 tgtgcccttg aagagaatag taatgatggg aatttagagg tttatgactg aattcccttt
1981 gacattaag actatttgaa ttcaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaa
    
```

图 1-1

RGS13

基因座 NM_002927 1498 bp mRNA 线性 PRI 24-AUG-2007
定义 人类 G 蛋白信号传导调节物 13(RGS13), 转录物变体 1, mRNA.
登录号 NM_002927
型 NM_002927.3 GI:21464137
关键词 .
来源 人类 (人)

起点

```

1 gaggccagag tgccatcgaa ggtaattata gagacagtaa aatcctttta ctctgggaaa
61 aataaaatgc tgggtgtctc acaaaatttc agaacctgat ttcaaacgga tcataacaaa
121 gaggagatca aatttagcat ggtggactgc tcgacaggat atatttgcata atggaatggt
181 tccacatatt ataccaccaa catgagaaaa aaatgatcat tgtttatttg aagccttgatg
241 atattctaac gctgcctttt ctcttctcat tttagagaaa aatgagcagg cggaaatggt
301 ggatttgtaa gatgtgcaga gatgaatcta agaggcccc ttcaaacctt actttggagg
361 aagtattaca gtgggcccag tcttttgaaa atttaatggc taaaaaatat ggtccagtag
421 tctatgcagc atatttaaaa atggagcaca gtgacgagaa tattcaattc tggatggcat
481 gtgaaaccta taagaaaatt gcctcacggt ggagcagaat ttctagggca aagaagcttt
541 ataagattta catccagcca cagtccccta gagagattaa cattgacagt tcgacaagag
601 agactatcat caggaacatt caggaaccca ctgaaacatg ttttgaagaa gctcagaaaa
661 tagtctatat gcatatggaa agggattcct accccagatt tctaaagtca gaaatgtacc
721 aaaaactttt gaaaactatg cagtccaaca acagtctctg actacaactc aaaagtttaa
781 atagaaaaca gtatattgaa agtgggtggg ttgatctttt tatttagaaa cccacaaaat
841 cagaaacaca gtacaaataa aacagaaatc aaactataag ttgactttta gttcctaaaa
901 agaaacatat ttcaaagca atggaatcta gaattcttat aacatgaata acaaaatgta
961 cagcaagcct atgtagttca attaatatat aaggaaaagg aaggctcttc ttcattgatac
1021 aagcattata aagtttttac tgtagtagtc aattaatgga tatttctctg ttaataaaat
1081 tttgtgtcat aatttcaaaa ttagttcttt aaaaattggt gttatatgaa ttgtgtttct
1141 agcatgaatg ttctatagag tactctaaat aacttgaatt tatagacaaa tgctactcac
1201 agtacaatca attgtattat accatgagaa aatcaaaaag gtgttcttca gagacatttt
1261 atctataaaa ttttcctact attatgttca ttaacaaact tctttatcac atgtatcttc
1321 tacatgtaaa acatttctga tgatttttta acaaaaaata tatgaatttc ttcatttgct
1381 cttgcatcta cattgctata aggatataaaa atgtggtttc tatattttga gatgtttttt
1441 ccttacaatg tgaactcatc gtgatcttgg aaatcaataa agtcaaatat caactaaa
  
```

图 1-2

CD22

基因座 NM_001771 3260 bp mRNA 线性 PRI 03-SEP-2007
 定义 人类 CD22 分子 (CD22), mRNA
 登录号 NM_001771
 型 NM_001771.1 GI:4502650
 关键词
 来源 人类 (人)

起点

```

1 ccatcccata gtgaggggaag acacgcggaa acaggcttgc acccagacac gacaccatgc
61 atctcctcgg cccctggctc ctgctcctgg ttctagaata ctggccttcc tctgactcaa
121 gtaaattgggt ttttgagcac cctgaaaacc tctacgcctg ggagggggcc tgcgtctgga
181 tcccctgcac ctacagagcc ctatagtggtg acctggaaaag ctatcatcctg ttccacaatc
241 ctgagtataa caagaacacc tcgaagtttg atgggacaag actctatgaa agcacaagaag
301 atgggaaggt tccttctgag cagaaaaggg tgcaattcct gggagacaag aataagaact
361 gcacactgag tatccaccgg gtgcacctca atgacagtgg tcagctgggg ctgaggatgg
421 agtccaagac tgagaaatgg atggaacgaa tacacctcaa tgtctctgaa aggccttttc
481 cacctcatat ccagctccct ccagaaattc aagagtcca ggaagtcact ctgacctgct
541 tgctgaattt ctctgctat gggatccga tccaattgca gtggctccta gagggggttc
601 caatgaggca ggctgctgtc acctcgacct ccttgacct caagtctgtc ttccccgga
661 gcgagctcaa gttctcccca cagtggagtc accatgggaa gattgtgacc tgccagcttc
721 aggatgcaga tgggaagttc ctctccaatg acacggtgca gctgaacgtg aagcacacc
781 cgaagtggga gatcaaggtc actcccagtg atgccatagt gagggagggg gactctgtga
841 ccatgacctg cgaggtcagc agcagcaacc cggagtacac gacggtatcc tggctcaagg
901 atgggacctc gctgaagaag cagaatacat tcacgctaaa cctgcgcgaa gtgaccaagg
961 accagagtgg gaagtactgc tgtcaggtct ccaatgacgt gggcccggga aggtcgggaag
1021 aagtgttcct gcaagtgcag tatgccccgg aacctccac ggttcagatc ctccactcac
1081 cggctgtgga gggaaagtcaa gtcgagtttc ttgtcatgtc actggccaat cctcttccaa
1141 caaattacac gtggtaccac aatgggaaaag aaatgcaggg aaggacagag gagaaagtcc
1201 acatcccaa gatcctcccc tggcacgctg ggacttattc ctgtgtggca gaaaacattc
1261 ttggtactgg acagagggggc ccgggagctg agctggatgt ccagtatcct cccaagaagg
1321 tgaccacagt gattcaaaac cccatgccga ttcgagaagg agacacagtg accctttcct
1381 gtaactaca ttccagtaac cccagtgtta cccggtatga atggaaccc catggcgctc
1441 gggaggagcc atcgcttggg gtgctgaaga tccaaaacgt tggctgggac aacacaacca
1501 tcgacctgagc acgttgtaat agttggtgct cgtgggcctc cctgtcgc ctgaatgtcc
1561 agtatgcccc ccgagacgtg agggtcggga aaatcaagcc cctttccgag attcactctg
1621 gaaactcggc cagcctccaa tgtgacttct caagcagcca ccccaaagaa gtccagtctc
1681 tctgggagaa aaatggcagg ctctctgggga aagaaagcca gctgaatttt gactccatct
1741 cccagaaga tgctgggagt tacagctgct gggatgaaca ctccatagga cagacagcgt
1801 ccaaggcctg gacacttgaa gtgctgtatg caccagagg gctgcgtgtg tccatgagcc
1861 cgggggacca agtgatggag gggaaagagt caaccctgac ctgtgagagt gacgccaacc
1921 ctcccgtctc ccactacacc tggtttgact ggaataacca aagcctcccc caccacagcc
1981 agaagctgag attggagccg gtgaaggtcc agcactcggg tgctactggt tgccagggga
2041 ccaacagtgt gggcaagggc cgttcgcctc tcagcaccct tactgtctac tatagcccgg
2101 agaccatcgg caggcgagtg gctgtgggac tcgggtcctg cctcgccatc ctcatcctgg
2161 caatctgtgg gctcaagctc cagcgacgtt ggaagaggac acagagccag caggggcttc
2221 aggagaattc cagcgccag agcttctttg tgaggaataa aaaggttaga agggccccc
2281 tctctgaagg cccccactcc ctgggatgct acaatccaat gatggaagat ggcattagct
2341 acaccacct gcgctttccc gagatgaaca taccacgaac tggagatgca gactcctcag
  
```

图 1-3

```
2401 agatgcagag acctccccgg acctgcgatg acacggtcac ttattcagca ttgcacaagc
2461 gccaagtggg cgactatgag aacgtcattc cagatTTTcc agaagatgag gggattcatt
2521 actcagagct gatccagttt ggggtcgggg agcggcctca ggcacaagaa aatgtggact
2581 atgtgatect caaacattga cactggatgg gctgcagcag aggcactggg ggcagcgggg
2641 gccaggggag tccccgagtt tccccagaca ccgccacatg gcttcctcct gcgtgcatgt
2701 gcgcacacac acacacacac gcacacacac acacacacac tcactgcgga gaaccttgtg
2761 cctggctcag agccagtctt ttgggtgagg gtaaccccaa acctccaaaa ctectgcccc
2821 tgttctcttc cactctcctt gctaccaga aatcatctaa atacctgccc tgacatgcac
2881 acctccccctg ccccaccagc ccactggcca tctccaccg gagctgctgt gtctctgga
2941 tctgctctgc attttcttc ccttctccat ctctctggcc ctctaccctt gatctgacat
3001 cccactcac gaatattatg cccagtttct gcctctgagg gaaagcccag aaaaggacag
3061 aaacgaagta gaaaggggcc cagtctggc ctggcttctc ctttggaggt gaggcattgc
3121 acggggagac gtacgtatca gcggccctt gactctgggg actccgggtt tgagatggac
3181 aactggtgt ggattaacct gccagggaga cagagctcac aataaaaatg gctcagatgc
3241 cacttcaaag aaaaaaaaa
```

图 1-4

CD40

基因座 NM_001250 1616 bp mRNA 线性 PRI 30-SEP-2007
定义 人类 CD40 分子, TNF 受体超家族成员 5 (CD40), 转录物变体 1, mRNA
登录号 NM_001250
型 NM_001250.4 GI:91105420
关键词 .
来源 人类 (人)

起点

```

1  gccaaaggctg  gggcagggga  gtcagcagag  gctcgcctcg  ggcgccagc  ggtcctgccc
61  cctgggtctca  cctcgctatg  gttcgtctgc  ctctgcagtg  cgtcctctgg  ggctgcttgc
121  tgaccgctgt  ccatccagaa  ccaccactg  catgcagaga  aaaacagtac  ctaataaaca
181  gtcagtgtctg  ttctttgtgc  cagccaggac  agaaactggt  gagtgactgc  acagagtcca
241  ctgaaacgga  atgccttcc  tgcggtgaaa  gcgaattcct  agacacctgg  aacagagaga
301  cacactgcca  ccagcacaaa  tactgcgacc  ccaacctagg  gcttcgggct  cagcagaagg
361  gcacctcaga  aacagacacc  atctgcacct  gtgaagaagg  ctggcactgt  acgagtgagg
421  cctgtgagag  ctgtgtcctg  caccgctcat  gctcgcccg  ctctggggct  aagcagattg
481  ctacaggggt  ttctgatacc  atctgcgagc  cctgcccagt  cggcttcttc  tccaatgtgt
541  catctgcttt  cgaaaaatgt  cacccttgg  caagctgtga  gaccaaagac  ctggttgtgc
601  aacaggcagg  cacaaacaag  actgatgttg  tctgtggtcc  ccaggatcgg  ctgagagccc
661  tgggtggtgat  ccccatcatc  ttcgggatcc  tgtttgccat  cctcttgggt  ctggtcttta
721  tcaaaaagg  ggccaagaag  ccaaccaata  aggccccca  cccaagcag  gaaccccagg
781  agatcaattt  tcccagcgt  ctctcctgg  ccaacactgc  tgcctcagtg  caggagactt
841  tacatggatg  ccaaccggtc  acccaggagg  atggcaaaga  gagtgcctc  tcagtgcagg
901  agagacagtg  aggctgcacc  caccaggagg  tgtggccacg  tgggcaaaca  ggcagtggc
961  cagagagcct  ggtgctgctg  ctgctgtggc  gtgagggtga  ggggctggca  ctgactgggc
1021  atagctcccc  gcttctgcct  gcaccctgc  agtttgagac  aggagacctg  gcactggatg
1081  cagaaacagt  tcaccttgaa  gaacctctca  ctccaccctg  gagccatcc  agtctcccaa
1141  cttgtattaa  agacagaggc  agaagtgttg  tgggtggtgt  gttggggtat  ggtttagtaa
1201  tatccaccag  accttccgat  ccagcagttt  ggtgcccaga  gaggcacat  ggtggcttcc
1261  ctgcgcccag  gaagccatat  acacagatgc  ccattgcagc  attgtttgtg  atagtgaaca
1321  actggaagct  gcttaactgt  ccatcagcag  gagactggct  aaataaaatt  agaatatatt
1381  tatacaacag  aatctcaaaa  aactgttga  gtaaggaaaa  aaaggcatgc  tgctgaatga
1441  tgggtatgga  actttttaa  aaagtacatg  cttttatgta  tgtatattgc  ctatggatat
1501  atgtataaat  acaatatgca  tcatatattg  atataacaag  ggttctggaa  gggtagacag
1561  aaaacccaca  gctcgaagag  tgggtgacgtc  tggggtggg  aagaagggtc  tggggg
  
```

图 1-5

IFITM1

基因座 NM_003641 733 bp mRNA 线性 PRI 03-SEP-2007
定义 人类干扰素诱导的跨膜蛋白 1 (9-27) (IFITM1), mRNA.
登录号 NM_003641
型 NM_003641.3 GI:150010588
关键词 .
来源 人类 (人)

起点

```

1 aaacagcagg aaatagaaac ttaagagaaa tacacacttc tgagaaactg aaacgacagg
61 ggaaaggagg tctcaactgag cacogtccca gpatcoggac accacagogg cocttcgctc
121 cacgcagaaa accacacttc tcaaaccttc actcaacacl tcttccccca aagccagaag
181 atgcacaagg aggaacatga ggtggctgtg ctggggggcac cccccagcac catccttcca
241 aggtccaccg tgatcaacat ccacagcgag acctccgtgc ccgaccatgt cgtctgggtcc
301 ctgttcaaca cctctttctt gaactgggtgc tgtctgggct tcatagcatt cgcctactcc
361 gtgaagtcta gggacaggaa gatgggtggc gactgaccg gggccaggc ctatgcctcc
421 accgccaagt gcctgaacat ctgggcccctg attctgggca tctctatgac cartggattc
481 atcctgtrac tggatttcgg ctctgtgaca gtctaccata ctatgttaca gataatacag
541 gaaaaacggg gttactagta gccgcccata gcctgcaacc tttgactcc actgtgcaat
601 gctggcccctg cacgctgggg ctggtgcccc tgcccccttg gtctgcccc tagatacagc
661 agtttatacc cacacacctg totacagtgt cattcaataa agtgcacgtg cttgtgaaaa
721 aaaaaaaaaa aaa
  
```

图 1-6

BCL6

基因座 NM_001706 3537 bp mRNA 线性 PRI 30-SEP-2007
 定义 人类 B 细胞 CLL/淋巴瘤 6 (锌指蛋白 51) (BCL6), 转录物变体 1, mRNA.
 登录号 NM_001706
 型 NM_001706.2 GI:21040323
 关键词 ,
 来源 人类 (人)

起点

```

1 ggccccctcga gcctcgaaacc ggaacctcca aatccgagac gctctgctta tgaggacctc
61 gaaatatgcc ggccagtgaa aaaatcttgt ggctttgagg gcttttggtt ggccaggggc
121 agtaaaaatc tcggagagct gacaccaagt cctccccctgc caegttagcag tggtaaagtc
181 cgaagctcaa attccgagaa ttgagctctg ttgattctta gaactgggggt tcttagaagt
241 ggtgatgcaa gaagtttcta ggaaaggccg gacaccaggt tttgagcaaa atthtgact
301 gtgaagcaag gcattgggtga agacaaaatg gcctcgccgg ctgacagctg tatccagttc
361 acccgccatg ccagtgatgt tcttotcaac cttaatcgtc tcggagctg agacatcttg
421 actgatgttg tcattgttgt gagccgtgag cagtttagag ccataaaaac ggtcctcatg
481 gcctgcagtg gcctgttcta tagcatcttt acagaccagt tgaaatgcaa ccttagtgtg
541 atcaatctag atcctgagat caaccctgag ggattctgca tctcctgga ctcatgtac
601 acatctcggc tcaatttgcg ggagggcaac atcatggctg tgatggccac ggctatgtac
661 ctgcagatgg agcatgttgt ggaoacttgc cggaaagtta ttaaggccag tgaagcagag
721 atggtttctg ccatcaagcc tctcctgtaa gagttcctca acagccggat gctgatgcc
781 caagacatca tggcctatcg gggctgtgag gtgggtggaga acaacctgcc actgaggagc
841 gccctgggt gtgagagcag agcctttgcc ccagcctgt acagtggcct gtccacaccg
901 ccagcctctt attocatgta cagccacctc cctgtcagca gcctcctctt ctccgatgag
961 gagtttcggg atgtccggat gcctgtggcc aaccccttcc ccaaggagcg ggcactccca
1021 tgtgatagtg ccaggccagt cctgggtgag tacagccggc cgaacttggg ggtgtcccc
1081 aatgtgtgcc acagcaatat ctattcacc aaggaacaa tcccagaaga ggcacgaagt
1141 gatatgcact acagtgtggc tgagggcctc aaacctgctg cccctcagc ccgaaatgcc
1201 cctacttcc ctgtgacaa ggccagcaaa gaagaagaga gacctctc ggaagatgag
1261 attgccttgc atttcgagcc ccccaatgca ccctgaauc ggaaggtct ggttagtcca
1321 cagagccccc agaaatctga ctgccagccc aactcgccc aagagctctg cagcagtaag
1381 aatgcctgca tctccagggc ttctggctcc cctccagcca agagccccc tgaccccaaa
1441 gctgcaact ggaagaaata caagttcctc gtgctcaaca gcctcaaca gaatgccaaa
1501 ccagaggggc ctgagcagggc tgagctgggc cgccttccc cagcagccta cacggcccca
1561 cctgcctgcc agccaccat ggagcctgag aaccttgacc tccagtccc aaccaagctg
1621 agtgccagcg gggaggactc caccatocca caagccagcc ggtcaataa catcgttaac
1681 aggtccatga cgggctctcc ccgcagcagc agcgagagcc actcaccact ctacatgcac
1741 cccocgaagt gcacgtctctg cggtctctag tcccacagc atgcagagat gtgctccac
1801 accgctggcc ccacgttccc tgaggagatg ggagagacc agtctgagta ctcagattct
1861 agctgtgaga acggggcctt ctctgcaat gactgtgact gccgctctc tgaggaggcc
1921 tcaactcaaga ggcacacgct gcagaccac agtgacaaac cctacaagtg tgaccgctgc
1981 caggcctcct tccgtacaa gggcaacctc gccagccaca agaccgtcca tacgggtgag
2041 aaacctatc gttgcaacat ctgtggggcc cagttcaacc ggccagcca cctgaaaacc
2101 cacactcgaa tcaactctgg agagaagccc taaaaatgcg aaacctgogg agccagattt
2161 gtacaggtgg cccacctccg tgccatgtg cttatccaca ctggtgagaa gcctatccc
2221 tgtgaaatct gtggcaccgg tttccggcac cttcagactc tgaagagcca cctgcgaatc
2281 cacacaggag agaaacctta ccattgtgag aagtgtaac tgcaattcog tcacaaaagc
2341 cagctgcgac tcaacttgcg ccagaagcat ggcgcatca ccaacaccaa ggtgcaatac
    
```

图 1-7

```
2401  egegtgtcag  ccactgacct  gcctccggag  ctccccaaag  cctgetgaag  catggagtgt
2461  tgatgctttc  gtctccagcc  ccttctcaga  atctacccaa  aggatactgt  aacactttac
2521  aatgttcata  ccatgatgta  gtgcctcttt  catccactag  tgcaaatacat  agctgggggt
2581  tgggggtggg  gggggtcggg  gcctggggga  ctgggagccg  cagcagctcc  cctcccccca
2641  ctgccataaa  acattaagaa  aatcatattg  cttcttctcc  tatgtgtaag  gtgaacctag
2701  ccagcaaaaa  gcaaaaatcat  tttatatgtc  aaagcagggg  agtatgcaaa  agttctgact
2761  tgacttttagt  ctgcaaaaatg  aggaatgtat  atgttttgtg  ggaacagatg  tttcttttgt
2821  atgtaaatgt  gcattctttt  aaaagacaag  acttcagtat  gttgtcaaag  agagggcttt
2881  aattttttta  accaaagggtg  aaggaatata  tggcagagtt  gtaaataatat  aaataatat
2941  atatataaaa  taaatatata  taaacctaac  aaagataatat  taaaaatata  aaactgcgtt
3001  aaaggctcga  ttttgtatct  gcaggcagac  acggatctga  gaatctttat  tgagaaagag
3061  cacttaagag  aatattttaa  gtattgcata  tgtataagta  agaaaatatt  ttgtctaaaa
3121  tgctcagtg  tatttgtatt  tttttgcaag  tgaaggtrta  caatttacia  agtgtgtratt
3181  aaaaaaaaca  aaaagaacaa  aaaaatctgc  agaaggaaaa  atgtgtaatt  ttgttctagt
3241  tttcagtttg  tatatacccg  tacaacgtgt  cctcacgggtg  ccttttttca  oggaagtttt
3301  caatgatggg  cgagcgtgca  ccaccccttt  ttgaagtgtg  ggcagacaca  gggacttgaa
3361  gttgttacta  actaaactct  ctttgggaat  gtttgtctca  tcccattctg  cgtcatgctt
3421  gtgttataac  tactccggag  acagggtttg  gctgtgtcta  aactgcatta  ccgcgttgta
3481  aatatagct  gtacaaatat  aagaataaaa  tgttgaaaag  tcaaactgga  aaaaaaa
```

图 1-8

EPDR1

基因座 NM_017549 2613 bp mRNA 线性 PRI 26-JUN-2007
 定义 人类室管膜素相关蛋白 1 (斑马鱼) (EPDR1), mRNA.
 登录号 NM_017549
 型 NM_017549.3 GI:116008437
 来源 人类 (人)

起点

```

1  tccccctct  taaaacacga  tgcctcccag  gatgctagtg  gcaccactgc  cactgcattt
61  cctgttggca  gcagtgagea  gtgaaaaccg  aagcggcaga  aggcagtggc  agcaggcagt
121  ggcagcaggc  agtggcccag  gcagaaatag  ctcccgcgcg  attcaactgga  gccttccccg
181  ggccctggtc  ccggctaccg  ggactcgcgc  gtccggatct  caaaagcggc  agaggccacc
241  gaagggacag  gaagcacttt  ggtccagacc  acactcccgg  cacagtgcgg  aaagagccgg
301  cgggagccac  tctgatcccg  gacgcctcag  cgcaccttg  ggcttgggct  tgccctcggg
361  ccggggaagg  ctgaccgcga  tgccaggacg  cgctcccctc  cgcaccgtcc  cggggcgcct
421  ggggtgcctg  ctgctgggcg  gcctctgggc  ctggacctg  tggggcctgt  gcagcctggg
481  ggoggtggga  gccccgcgcc  cgtgccaggc  gccgcagcag  tgggaggggc  gcaggttat
541  gtaccagcaa  agtagcgggc  gcaacagccg  cgcctgctc  tctacgacg  ggtcaacca
601  gogcgtgcgg  gtgctggacg  agaggaaggc  gctgatcccc  tgcaagagat  tatttgaata
661  tattttgctg  tataaggatg  gagtgatgtt  tcagattgac  caagccacca  agcattgctc
721  aaagatgacc  ctgacacagc  cctgggatcc  tcttgacatt  cctcaaaact  ccaccttga
781  agaccagtac  tccatcgggg  ggctcagga  gcagatcacc  gtccaggagt  ggtcggacag
841  aaagtcagct  agatcctatg  aaacctggat  tggcatctat  acagtcaagg  attgctatcc
901  tgtccaggaa  acctttacca  taaactacag  tgtgatattg  tctacggcgt  ttttgacat
961  ccagctgggt  attaaagacc  cctcggtgtt  taccctcca  agcacgtgcc  agatggcca
1021  actggagaag  atgagcgaag  actgctcctg  gtgagcctgt  gcatagggaa  gcggcagcat
1081  cggatgtcag  cccctgcgg  ccccagctgg  agatggatat  gagactagtc  aagatgtgaa
1141  tgctaattgg  agagaaatat  aattttagga  agatgcacat  tgatgtgggg  ttttgaugt
1201  tctgattttg  actactcaag  ctctgtttac  agaagaaaat  tgaatggcga  ggggtgtggc
1261  atatgaactg  actagatggc  taatatggac  accttgggtg  tttctaagtc  ctgttcaggg
1321  ctggttttct  gcatgcacgg  gtatacacat  aatgcagtgc  catgcacata  gggaaagggc
1381  agtaagagaa  gtttgccttg  gcagcaagta  tttattgttg  acattattca  gaattagtga
1441  taataaaaag  cagagtgatt  ttggtcaatt  ttattattaa  ttcttaaatt  cctgcagag
1501  aatgccccct  ttattgctgc  accagggttg  gcattgctcc  cactgagccc  tactccccc
1561  tgtccctgca  ctcccttgg  tgccaaaaaa  atgataactt  aaatccctc  cagacttaag
1621  aattttatgg  catggcccaa  ttgatataaa  catttagaag  gaaatgaaa  gctaaaaatg
1681  gaagtaatta  ttectctaaa  gaaacatttt  gagcaaggca  gtttagagaa  tctaattgtc
1741  tacactggca  tagcacagc  catgtaagct  tcttttttt  ctatgcaaga  gtattgatgt
1801  atgtgctgaa  tottcacaga  cttgtcaata  cacaggcagt  attctaaaat  agcactgaac
1861  agggagtcat  gagactattg  tctcctaaac  ccaggactag  agttccctcg  tactgtcact
1921  cttttgggtc  ttaaatgcac  tgggcttgcc  cgcactttgg  ccttccctaga  acaactgctc
1981  ataacctctc  tgtotgactt  ctgcatctcc  ttccaggtea  gctcattcac  aagagttgct
2041  cccaagcctg  gatgagttgc  accttgcctc  ttgagcatgc  atttctcaca  ataattatta
2101  agctgtgtga  taatttctgc  tttcaggaca  ctcatccatt  atcttggctg  tgagctcctt
2161  gggtagcggg  accttgtatg  tttactttta  tatccctagc  acaaagcaag  tgccctggc
2221  atagtcagtg  cctaagtat  togtagagtg  aagaatgcca  gcctctcttg  tcccgggtt
2281  ccttatgtgt  tgaatgtggt  tgagtttgtc  cattgctagg  gagagacttc  cagtaataaa
2341  atttactatt  ctagatgctt  ctactgttat  gttttatctg  ccattttatc  tttcttagtt
2401  accaggagaa  atgtgtgaca  cctatattat  aatgaaaaca  atctcattac  ttatagttta
2461  totatattaa  acaaatttta  ttgcatttta  aagcattctt  tgatactgtt  gcttttgcaa
2521  taaatatgga  taatcttgg  tataaggag  ttaaaaacaat  gctgtaataa  ataaagtgc
2581  tcatgtgatc  aaaatcaaaa  aaaaaaaaaa  aaa
    
```

图 1-9

IGF1R

基因座 定义 NM_000875 11242 bp mRNA 线性 PRI 22-OCT-2007
 人类胰岛素样生长因子 I 受体 (IGF1R),
 登录号 NM_000875 NM_015883
 型 NM_000875.3 GI:119220593
 关键词 .
 来源 人类 (人)

起点

```

1 tttttttttt ttttttttga gaaaggggaa tttcatccca aataaaagga atgaagtctg
61 gctccggagg aggggtccccg aacctcgctgt gggggctcct gtttctctcc gccgcgctct
121 cgctctggcc gacgagtggg gaaatctgag ggcagggcat cgacatccgc aacgactatc
181 agcagctgaa ggcgctggag aactgcacgg tgatcgaggg ctacctccac atccctgctca
241 tctccaaggc cgaggactac cgcagctacc gcttccccaa gctcacggtc attaccgagt
301 aactgctgct gttccgagtg gctggcctcg agagcctcgg agacctcttc cccaacctca
361 cggctcatcg cggctggaaa ctcttctaca actacgcctt ggtcatcttc gagatgacca
421 atctcaagga tattgggctt tacaacctga ggaacattac tcggggggcc atcaggattg
481 agaaaaatgc tgacctctgt tacctctcca ctgtggactg gtccctgatc ctggatgogg
541 tgtccaataa ctacattgtg gggaataaag ccccaaagga atgtggggac ctgtgtccag
601 ggaccatgga ggagaagccg atgtgtgaga agaccaccat caacaatgag tacaactacc
661 gctgctggac cacaaaaccg tgcagaaaaa tgtgccccag cacgtgtggg aagcgggctg
721 gcaccgagaa caatgagtgc tgcacccccg agtgccctgg cagctgcagc gcgctgaca
781 acgacacggc ctgtgtagct tgcgcacct actactatgc cgggtgtctg gtgctgctc
841 gccgcoccaa caoctacagg tttgagggct ggcgctgtgt ggaccgtgac tttgtgcca
901 acatcctcag cgcgagagc agogactcgg aggggtttgt gatccacgac ggcgagtgca
961 tgcaggagtg cccctcgggc ttcactccga accggcagca gagcatgtac tgcacccctt
1021 gtgaaggctc ttgcccgaag gtctgtgagg aagaaaagaa aacaaagacc attgattctg
1081 ttactttctg tcagatgctc caaggatgca ccatcttcaa gggcaatttg ctcatataca
1141 tccgacgggg gaataacatt gcttcagagc tggagaactt catggggctc atcgagggtg
1201 tgacgggcta cgtgaagatc cgcattcttc atgcttgggt ctcttctgct ttctaaaaa
1261 accttcgctt catcctagga gaggagcagc tagaagggaa ttactccttc taogtctctg
1321 acaaccagaa cttgcagcaa ctgtgggact gggaccaccg caacctgac atcaaagcag
1381 ggaaaatgta ctttgccttc aatcccaaat tatgtgtttc cgaatttac cgcattggag
1441 aagtgacggg gactaaaggg cgcctaaagca aaggggacat aacaccagg aacaacgggg
1501 agagagcctc ctgtgaaagt gacgtcctgc atttcaacct caccaccag tcgaagaatc
1561 gcatcatcat aacctggcac cggtaaccgc cccctgacta cagggatctc atcagcttca
1621 cggtttacta caaggaagca ccccttaaga atgtcacaga gtatgatggg caggatgctc
1681 gcggtccaa cagctggaac atggtggagc tggacctccc gcccaacaag gacgtggagc
1741 cggcatctt actacatggg ctgaagccct ggactcagta cgcctttac gtcaaggctg
1801 tgacctcac catggtggag aacgaccata tccgtggggc caagagtgag atcttgtaca
1861 ttgcaccaa tgcttcagtt ccttccattc ccttggacgt tctttcagca tgaactcct
1921 cttctcagtt aatcgtgaag tggaaacctc cctctctgcc caacggcaac ctgagttact
1981 acattgtgag ctggcagcgg cagcctcagg accgctacct ttaccggcac aattactgct
2041 ccaaagacaa aatccccatc aggaagtatg ccgacggcac catcgacatt gaggaggctc
2101 cagagaacco caagactgag gtgtgtgggt gggagaaagg gccttgctgc gectgcccc
2161 aaactgaagc cgagaagcag gccgagaagg aggaggetga ataccgcaa gtctttgaga
2221 atttctgca caactccatc ttctgtgcca gacctgaaag gaagcggaga gatgtcatgc
2281 aagtggccaa caccaccatg tccagccgaa gcaggaacac cacggcgcga gacacctaca
2341 acatcaccga cccggaagag ctggagacag agtacctttt ctttgagagc agagtggata
2401 acaaggagag aactgtcatt tctaaccttc ggcctttcac attgtaccgc atcgatattc
    
```

图 1-10

```

2461 acagctgcaa ccacgaggct gagaagctgg gctgcagcgc ctccaacttc gtctttgcaa
2521 ggactatgcc cgcagaagga gcagatgaca ttcttgggcc agtgacctgg gagccaaggg
2581 ctgaaaactc catcttttta aagtggcggg aacctgagaa tcccaatgga ttgattctaa
2641 tgtatgaaat aaaatacggg tcacaagttg aggatcagcg agaattgtgtg tccagacagg
2701 aatacaggaa gtatggaggg gccaaagctaa accggctaaa cccggggaac tacacagccc
2761 ggattcaggg cacatctctc totgggaatg ggtcgtggac agatcctgtg ttctctatg
2821 tccaggccaa aacaggatat gaaaacttca tccatctgat catcgtctcg cccgtcgtcg
2881 tcctgttgat cgtgggaggg ttggtgatta tgctgtacgt ctccataga aagagaaata
2941 acagcagget ggggaatgga gtgctgtatg cctctgtgaa cccggagtac ttcagcgtg
3001 ctgatgtgta cgttctctgat gagtgggagg tggctcggga gaagatcac atgagcgggg
3061 aacttgggca ggggtcgttt gggatggtct atgaaggagt tgccaagggg gtggtgaaag
3121 atgaacctga aaccagagtg gccattaaaa cagtgaacga ggcgcgaagc atgctgaga
3181 ggattgagtt tctcaacgaa gcttctgtga tgaaggagtt caattgtcac catgtggtgc
3241 gattgctggg tgtggtgtcc caaggccagc caacactggt catcatgga atgatgacac
3301 ggggcgatct caaaagtat ctccggtctc tgaggccaga aatgggaat aatccagtc
3361 tagcacctcc aagcctgagc aagatgattc agatggccgg agagattgca gacggcatgg
3421 catacctcaa cgcctaatag ttcttccaca gagaccttgc tgcccgaat tgcattgtag
3481 ccgaagattt cacagtcaaa atcggagatt ttggtatgac gcgagatata tatgagacag
3541 actattaccg gaaaggaggg aaagggtctc tgcccgtgcg ctggatgtct cctgagtcct
3601 tcaaggatgg agtcttcacc acttactcgg acgtctggtc cttcggggtc gtctctctggg
3661 agatcgcacc actggccgag cagccctacc agggcttgtc caacgagcaa gtctctctgct
3721 tegtcatgga gggcggcctt ctggacaagc cagacaactg tctgacatg ctgtttgaac
3781 tgatgoccat gtgctggcag tataacccca agatgaggcc ttcttctctg gagatcatca
3841 gcagcatcaa agaggagatg gagcctggtc tccgggaggt ctcttctac tacagcaggg
3901 agaacaagct gcccgagccg gaggagctgg acctggagcc agagaacatg gagagcgtcc
3961 cctggacc ccctggcctcc tegtctctcc tgccactgcc cgacagacac tcaggacaca
4021 aggcgagaaa cggccccggc cctgggggtgc tggctctccg cgcagcttc gacgagagac
4081 agccttacgc ccacatgaac gggggccgca agaacgagcg ggccttgccg ctgccccagt
4141 ctctgacctg ctgatccttg gatcctgaat ctgtgcaaac agtaacgtgt gcgcacgcgc
4201 agcgggtggg ggggggagag agagttttaa caatccattc acaagcctcc tgaacctcag
4261 tggatcttca gaactgcctc tgcgtcccgc gggagacagc ttctctgca taaaaccat
4321 ttgggatggt ctttttttca atatgaaagc agctttttat tccctgcca aaccttaac
4381 tgacatgggc ctttaagaac cttaatgaca acacttaata gcaacagagc acttgagaac
4441 cagtctctc actctgtccc tgtccttccc tgttctcctt ttctctctcc tctctgcttc
4501 ataacgaaa aataattgcc acaagtccag ctgggaagcc ctttttatca gtttgaggaa
4561 gtggctgtcc ctgtggcccc atccaaccac tgtacacacc cgcctgacac cgtgggtcat
4621 tacaaaaaaaa cacgtggaga tggaaatttt tacctttatc ttccaccttt ctagggacat
4681 gaaattbaca aagggccatc gttcatccaa ggctgttacc attttaagc tgccaaatth
4741 tgccaaaatc ctgaacttbc tccctcatcg gcccgccgtc gattcctcgt gtccggaggg
4801 atgggtgagc atggcagctg gttgctccat ttgagagaca cgtcggcgac acactccgtc
4861 catccgactg ccctgctgtg gctgctcaag gccacaggca cacaggtctc attgcttctg
4921 actagattat tatttggggg aactggacac aataggtctt tctctcagtg aagggtgggga
4981 gaagctgaac cggcttccct gccctgctc cccagcccc tgcccaacc ccaagaatct
5041 ggtggccatg ggccccgaag cagcctggcg gacaggcttg gagtcaaggg gccccatgcc
5101 tgcttctctc ccagccccag ctccccgcc cgcccccaa gacacagatg ggaaggggtt
5161 tccagggact cagccccact gttgatgcag gtttgcaagg aaagaaattc aaacaccaca
5221 acagcagtaa gaagaaaagc agtcaatgga ttcaagcatt ctaagctttg ttgacattht
5281 ctctgttctc aggacttctc catgggtctt acagttctat gttagacct gaaacattht
5341 catacacatc gtctttaatg tcacttttat aactttttta cggttcagat attcatctat
5401 acgtctgtac agaaaaaaaa aagctgctat ttttttggtt ctgactctt gtggatttaa
5461 tctatgaaaa ccttcaggtc caccctctcc cttttctgct cactccaaga aactctctat
5521 gctttgtact agagtgcgtg actttcttcc tcttttcccg gtaatggata ctctatcac
5581 ataatttgcc atgaactgtt ggatgccttt ttataaatac atcccccatc cctgctccca

```

图 1-11

```

5641 cctgcccctt tagttgtttt ctaaccctga ggctctctgg gcacgaggca gaaagcagge
5701 egggcaccce tcoctgagagg gccgcgctcc tctcccagc ctgccctcac agcattggag
5761 cctgttacag tgcaagacat gatacaaact caggtcagaa aaacaaaggt taaatatttc
5821 acacgtcttt gttcagtggt tccactcacc gtgggtgaga agcctcacc tctctttccc
5881 ttgcctttgc ttaggttgtg acacacatat atatatattt ttttaattct tgggtacaac
5941 agcagtggtt accgcagaca ctaggcattt ggattactat ttttcttaat ggctatttaa
6001 tccttccatc ccacgaaaaa cagctgctga gtccaagggg gcagcagagc gtgggtccggc
6061 agggcctgtt gtggccctcg ccacccccct caccggaccg actgacctgt ctttgggaacc
6121 agaacatccc aagggaactc ctctgcactg gcgttgagtg ggaccccggg atccaggctg
6181 gccacggggg gcaccctcag ggctgtgccc gctggagtgc taggtggagg cagcacagac
6241 gccacgggtg cccaagagcc cctttgcttc ttgctggggg accagggctg tgggtgctggc
6301 ccactttccc tcggccagga atccaggctc ttggggccca ggggtcttgt cttgtttcat
6361 ttttagcact tctcaccaga gagatgacag cacaagagtt gcttctggga tagaaatgtt
6421 taggataaag aacaaagctg ggatagcgtg attgctagtt gtgactgaag attcaacaca
6481 gaaaagaaag ttatcacggc tttttgtctg gtcagcagtt tgtcccactg ctttctctag
6541 tctctatccc atagectgtt ccttttaaaa aaaaaaaaaa ggtattatat gtaggagttt
6601 tcttttaatt tattttgtga taaattacca gtttcaatca ctgtagaaaa gccccattat
6661 gaatttaaat ttcaaggaaa ggggtgtgtg gtgtgtatgt gtgggggtgtg tgtgtgtgag
6721 agtgatggga cagttcttga ttttttgggt tttttttccc ccaaaccattt atctacctca
6781 ctcttatttt ttatatgtgt atatagacaa aagaatacat ctaccctttc tcagcacctg
6841 acaataggcc gttgatactg gtaacctcat ccacgccaca ggcgccacac ccagggtgatg
6901 cagggggaag ccaggctgta tccgggggtc aaagcaacac taactcacct ctctgctcat
6961 ttcagacagc ttgccttttt ctgagatgtc ctgttttgtg ttgctttttt tgttttgttt
7021 tctatcttgg ttccaccaaa ggtgttagat ttctcctcct cctagccagg tggccctgtg
7081 aggccaacga gggcaccaga gcacacctgg gggagccacc aggtgtccc tggctgggtg
7141 tctttggaac aaactgcttc tgtgcagatg gaatgaccaa cacatttctg ccttaagaga
7201 gcagtggttc ct.caggttct gaggagagga aggtgtccag gcagcaccat ctctgtgcca
7261 atcccagggg taaaggcgtg gggcattggg ttgtctccc ttgctgctgc tccatccctg
7321 caggaggctc gcgctgaggc aggaccgtgc ggccatggct gctgcattca ttgagcacia
7381 aggtgcagct gcagcagcag ctggagctga agagtcccc agcctgtgcg ccagatgca
7441 aggtcctctg agctcacagc cagtccctga tagaacacac gcaggagagc agtcccctcc
7501 cctccaggc tgccctctca acttctccct cacctccttc cctaggggta gacagagatg
7561 taccaaacct tccggctgga aagcccagtg gccggcgccg aggtcgtgg cgtcacgccc
7621 ccccgccag ggctgtacct ccgtctccct ggtcctgctg ctcacaggac agacggctcg
7681 ctcccctctt ccagcagctg ctcttacagg cactgatgat ttcgctggga agtgtggcgg
7741 gcagctttgc ctaagcgtgg atggctcttc ggcaattcca gcctaagtga aggcgctcag
7801 gagcctctg ctggaacgcg acccatctct cccaggacc cggggatctt aaggctattg
7861 agaaatactg ttggatcagg gttttgttct tccacactgt aggtgacccc ttggaataac
7921 ggctctcct ctctgtcaca tacctaccgg tttccacaac tggatttcta cagatcattc
7981 agctggttat aagggttttg tttaaactgt ccgagttact gat.gtcattt tgtttttgtt
8041 ttatgtaggt agcttttaag tagaaaacac taacagtgtg gtgccatca tagcaaatgc
8101 ttcagaaaca cctcaataaa agagaaaact tggcttgtgt gatgggtgag tcactttact
8161 ggaccaacc acccaccttg actataccaa ggcacatct atccacagtt ctagecctaac
8221 ttcagctgta tttctctgcc tcttgatttt tctctgtgtg ttccaaataa tcttaagctg
8281 agttgtggca ttttccatgc aacctccttc tgccagcagc tcacactgct tgaagtata
8341 tgaaccactg aggcacatca tgggaattgat gtgagcatta agacgttctc ccacacagcc
8401 ctcccctgag gcagcaggag ctggtgtgta ctggagacac tgttgaactt gatcaagacc
8461 cagaccacc caggtctcct tcggtggatg tcatgacgtt tgacatacct ttggaacgag
8521 cctcctcctt ggaagatgga agaccgtgtt cgtggccgac ctggcctctc ctggcctgtt
8581 tcttaagatg cggagtcaaa tttcaatggt acgaaaagtg gcttcgtaaa atagaagagc
8641 agtcactgtg gaactaccaa atggcgagat gctcgggtgca cattgggggtg ctttgggata
8701 aaagatttat gagccaacta ttctctggca ccagattcta ggccagtttg ttcactgaa
8761 gcttttccca cagcagctca cctctgcagg ctggcagccg aatggcttgc cagtggctct

```

图 1-12

```

8821 gtggcaagat cacactgaga tcgatgggtg agaaggctag gatgcttgtc tagtgttctt
8881 agctgtcacg ttggctcctt ccaggggtggc cagacgggtg tggccactcc cttctaaaac
8941 acaggcgccc tcoctggtgac agtgacccgc cgtgggatgc cttggcccat tccagcagtc
9001 ccagttatgc atttcaagtt tggggtttgt tcttttcgtt aatgttcctc tgtgttgta
9061 gctgtcttca tttcctgggc taagcagcat tgggagatgt ggaccagaga tccactcctt
9121 aagaaccagt ggcgaaagac actttcttct ttcactctga agtagctggt ggtacaaaatg
9181 agaacttcaa gagaggatgt tatttagact gaacctctgt tgcagagat gctgaaagata
9241 cagacctggg acaggtcaga gggtttcatt tttggccttc atcttagatg actggttgcg
9301 tcatttggag aagtgagtg cctttgatgg tggaatgacc ggggtggtggg tacagaacca
9361 ttgtcacagg gatcctggca cagagaagag ttacgagcag caggggtgcag ggcttgggaag
9421 gaatgtgggc aaggttttga acttgattgt tcttgaagct atcagaccac atcgaggctc
9481 agcagtcate cgtgggcatt tggtttcaac aaagaaacct aacatcctac tctggaaact
9541 gatctcggag ttaaggcgaa ttgttcaaga acacaaacta catcgcactc gtcagttgtc
9601 agttctgggg catgacttta gcgttttgtt tctgcgagaa cataacgatc actcattttt
9661 atgtcccacg tgtgtgtgtc cgcactcttc tggccaacat tgttttaact agtcactcat
9721 tagcgttttc aatagggctc ttaagtccag tagattacgg gtagtcagtt gacgaagatc
9781 tggtttacia gaactaatta aatgtttcat tgcatttttg taagaacaga ataattttat
9841 aaaatgtttg tagtttataa ttgccgaaaa taatttaaag acactttttt tttctctgtg
9901 tgtgcaaatg tgtgtttgtg atccattttt tttttttttt tttaggacac ctgtttacta
9961 gctagcttta caatatgcca aaaaaggatt tctccctgac cccatccgtg gttcacccctc
10021 ttttcccccc atgctttttg ccctagttta taacaaagga atgatgatga tttaaaaagt
10081 agttctgtat cttcagtatc ttggtcttcc agaaccctct ggttgggaag gggatcattt
10141 tttactggtc atttcccttt ggagtgtagc tactttaaca gatgaaaga acctcatttg
10201 ccatggaaac agccgaggtg ttggagccca gcagtgcatg gcaccgttcg gcactcggct
10261 tgattgggtc ggctgcccgc attgtcagca cagtgccatg gacatgggaa gacttgactg
10321 cacagccaat ggttttcatg atgattacag catacacagt gatcacataa acgatgacag
10381 ctatggggca cacaggccat ttgcttacat gcctcgtatc atgactgatt actgctttgt
10441 tagaacacag aagagacctt attttattta aggcagaacc ccgaagatac gtatttccaa
10501 tacagaaaag aatttttaat aaaaactata acatacacia aaattggttt taaagttgac
10561 tccacttctc ctaactccag tggattgttg gccatgtctc cccaactcca caatatctct
10621 atcatgggaa acacctgggg tttttgcgct acataggaga aagatctgga aactatttgg
10681 gttttgtttt caacttttca tttggatgtt tggcgttgca cacacacatc caccggtgga
10741 agagacgccc ggtgaaaaca cctgtctgct ttctaagcca gtgaggttga ggtgagaggt
10801 ttgccagagt ttgtctacct ctgggtatcc ctttgtctgg gataaaaaaa atcaaaccag
10861 aaggcgggat ggaatggatg caccgcaaat aatgcatttt ctgagttttc ttgttaaaaa
10921 aaaatttttt taagtaagaa aaaaaaagg aataacatgg ccaatttgtt acataaaatg
10981 actttctgtg tataaattat tcctaaaaaa tctctgtttat ataaaaaatc agtagatgaa
11041 aaaaatttca aaatgttttt gtatattctg ttgtaagaat ttattcctgt tattgcgata
11101 tactctggat tctttacata atggaaaaaa gaaactgtct attttgaatg gctgaagcta
11161 aggcaacggt agtttctctt actctgcttt tttctagtaa agtactacat ggtttaagtt
11221 aaataaataa attctgtatg ca

```

图 1-13

BTG2

基因座 NM_006763 2718 bp mRNA 线性 PRI 25-SEP-2007
定义 人类 BTG 家族, 成员 2 (BTG2), mRNA.
登录号 NM_006763
型 NM_006763.2 GI:28872718
关键词 .
来源 人类 (人)

起点

```

1  cagggtaacg ctgtcttggtg gacccgcact tcccaccoga gacctctcac tgagcccag
61  ccgcgcgcga catgagccac gggaaagggaa ccgacatgct cccggagatc gccgcgcgcg
121 tgggcttcct ctccagcctc ctgaggaccc ggggctgctg gagcagcagc aggccttaagg
181 tcttcagcgg ggcgctccag gaggcactca cagagcacta caaacaccac tggtttcccg
241 aaaagccgtc caagggctcc ggctaccgct gcattcgcat caaccacaag atggaccca
301 tcatcagcag ggtggccagc cagatcggac tcagccagcc ccagctgcac cagctgctgc
361 ccagcagcgt gacctgtgg gtggacccct atgaggtgtc ctaccgcatg ggggaggacg
421 gctccatctg cgtcttgtag gaggaggccc cactggccgc ctctgtggg ctctcacct
481 gcaagaacca agtgctgctg ggccggagca gccctcca gaactacgtg atggcagctc
541 ccagctaggc cctccgccc ccgccctggg cgccgccgtg ctcatgctgc cgtgacaaca
601 ggccaccaca tacctcaacc tgggggaactg tatttttaaa tgaagagcta tttatatata
661 ttattttttt ttaagaaagg aggaaaagaa accaaaagt tttttaaga aaaaaatcc
721 tcaagggag ctgcttgga gtggcctccc cagggtgcct tggagagaac tgttgcgtgc
781 ttgagctctg gagccagtgt ctgcctatag gagggggagc tgttagggg tagacctagc
841 caaggagaag tgggagacgt ttggctagca ccccaggaag atgtgagagg gagcaagcaa
901 ggttagcaac tgtgaacaga gaggtcggga tttgccctgg gggaggaaga gaggccaagt
961 tcagagctct ctgtctccc cagccagaca cctgcatccc tggctcctct attactcagg
1021 ggcattcatg cctggactta aacaatacta tgttatcttt tcttttattt ttctaataag
1081 gtccctgggca gagagtga aa aggcctctcc tgattcctac tgcctaagc tgcttttctt
1141 gaaatcatga cttgtttcta attctaccct caggggcctg tagatgttgc tttccagcca
1201 ggaatctaaa gctttgggtt ttctgagggg ggggaggagg gaactggagg ttattggggg
1261 taggatggaa gggaaactct cacaaaacct ttgctttgct agtgctgctt tgtgtgatg
1321 tgtggcaaat aatttggggg tgatttgcaa tgaattttg ggacccaaag agtatccact
1381 ggggatggtt tttggccaaa actcttccct ttggaaccac atgaaagtct tgatgctgct
1441 gccatgatcc ctttgagagg tggctcaaaa gctacagggg actccaggtc ctttattact
1501 gccttctttt caaaagcaca actctcctct aacctccc tccccctcc cttctggctg
1561 ggtcatagag ctaccgtatt ttctaggaca agagtctca gtcactgtgc aatatgccc
1621 ctgggtccca ggagggtctg gaggaaaact ggctatcaga acctcctgat gccctgggtg
1681 gcttagggaa ccatctctcc tgctctcctt gggatgatgg ctggctagtc agccttgcac
1741 gtattccttg gctgaatggg agagtgcccc atgttctgca agactacttg gtattcttgt
1801 agggccgaca ctaaataaaa gccaaacctt gggcactgtt ttttctccct ggtgctcaga
1861 gcacctgtgg gaaaggttgc tgtctgtctc agtacaatcc aaatttgtcg tagacttgtg
1921 caatatatac tgttgtgggt tggagaaaag tggaaagcta cactgggaag aaactccctt
1981 ccttcaattt ctcagtgaca ttgatgaggg gtcccaaaa gacctcagat ttcccaaacc
2041 gaatcacctt aagaaggaca gggctagggc atttggccag gatggccacc ctctgctgt
2101 tgccccctag tgaggaatct tcacccact tctctaccc ccaggttctc ctcccacag
2161 ccagtccccct ttccctggatt tctaaactgc tcaattttga ctcaaagggt ctatttacca
2221 aacactctcc ctaccatctc ctgccagctc tgccctcctt tcaactctcc acattttgta
2281 ttgccttccc agacctgctt ccagcttcta ttgctttaa gtacactttg gcccacaga
2341 cccaagagct aattttctgg tttgtgggtt gaaacaaagc tgtgaatcac tgcaggctgt
2401 gttcttgcat cttgtctgca aacaggtccc tgccttttta gaagcagcct catggtctca
    
```

图 1-14


```
2461 tgettaatct tgtctctctt ctctctcttta tgatgttcac tttaaaaaca acaaaacccc  
2521 tgagctggac tgttgagcag gcctgtctct cctattaagt aaaaataaat agtagtagta  
2581 tgtttgtaag ctattctgac agaaaagaca aaggttacta attgtatgat agtggtttta  
2641 tatggaagaa tgtacagctt atggacaaat gtacaccttt ttgttacttt aataaaaatg  
2701 tagtaggata aaaaaaaaa
```

图 1-15

LMO2

基因座 NM_005574 2304 bp mRNA 线性 PRI 30-SEP-2007
定义 人类只有 LIM 域的 2 (rhombotin 样 1) (LMO2), mRNA.
登录号 NM_005574
型 NM_005574.2 GI:6633806
关键词 .
来源 人类 (人)

起点

```

1 gaattcgtcc aaactgagga tcacaagtct ccacattctg agtaggagga tgagggctcg
61 agttaggatt tgggtcctgc agggcttgc t aaggaatccc ctgatggcct aggattccac
121 gcagagcaca tctgggtgta gagagctcgc tgcaagggtg aaggctcogc cctatcagat
181 agacaaccag gccaccaaga ggcccagccc tccaaaccct ggatttgcaa catcctcaaa
241 gaacagcaac gggccttgag cagaattgag aaggaatac cccacctgc cctcagccgt
301 taagtgggct ttgctattca caagggcctc tgggtgtcct ggcagagagg ggagatggca
361 cagggcaccg gtgctagggc gccagggcct ccgagaagg aacaggtgca aagcaggcaa
421 ttagcccaga aggtatccgt ggggcaggca gcctagatct gatgggggaa gccaccagga
481 ttacatcatc tgctgtaaca actgctctga aaagaagata ttttcaacc tgaacttgca
541 gtagctagtg gagaggcagg aaaaaggaaa tgaaacagag acagagggaa gcctgagcca
601 aatagacct tcccgagaga ggaggaagcc cggagagaga cgcacggtcc cctccccgcc
661 ctagggccgc cccccctct ctgccctcgg cggcgagcag ggcgcgcgca cccggggccg
721 gaaagggtgc aggggctcgg ggcggccggg cggcgccaca ccatccccgc gggcggcgcg
781 gagccggcga cagcgcgcga gagggaccgg gcggtggcgg cggcgggacc gggatggaag
841 ggagcgcggg gactgtcctt gagcgcggag gggcgagctc gccggcggag gccgagcaag
901 cggagggcag agcggcggcg acggcggcgg cggcggcggc gcccgagcac ccgagggggg
961 ccgagccccg gcagccggcc agccccgcgc ccaaaggga gcgccccgc cccccggcac
1021 cccgcctccc tccccaatgt cctcggccat cgaaaggga agcctggacc cttcagagga
1081 accagtggat gaggtgctgc agatcccccc atccttgcctg acatgcggcg gctgccagca
1141 gaacatcggg gaccgctact tcctgaaggc catcgaccag tactggcacg aggactgcct
1201 gagctgcgac ctctgtggct gccggctggg tgaggtgggg cggcgcctct actacaaact
1261 gggccggaag ctctgccgga gagactatct caggctttt gggcaagacg gtctctgcgc
1321 atcctgtgac aagcggattc gtgcctatga gatgacaatg cgggtgaaag acaaagtgtg
1381 tcacctggaa tgtttcaagt gcgcccctg tcagaagcat ttctgtgtag gtgacagata
1441 cctcctcatc aactctgaca tagtgtgcga acaggacatc tacgagtgga ctaagatcaa
1501 tgggatgata taggcccagag tccccgggca tctttgggga ggtgttact gaagacccg
1561 tctccatggc atcttcgtct t cactcttag gcactttggg ggtttgaggg tggggtaagg
1621 gatttcttag gggatggtag acctttattg ggtatcaaga catagcatcc aagtggcata
1681 attcaggggc tgacacttca aggtgacaga aggaccagcc cttgagggag aacttatggc
1741 cacagcccat ccatagtaac tgacatgatt agcagaagaa aggaacattt aggggcaagc
1801 aggcgctgtg ctatcatgat ggaatttcat atctacagat agagagtgtg tgtgtacaga
1861 cttgttgtga ctttgacgct tgcgaactag agatgtgcaa ttgatttctt ttcttcctgg
1921 ctttttaact cccctgtttc aatcactgtc ctccacacaa ggaaggaca gaaaggagag
1981 tggccattct ttttttcttg gcccccttcc caaggcctta agctttggac ccaagggaaa
2041 actgcatgga gacgcatttc ggttgagaat ggaaaccaca acttttaacc aaacaattat
2101 ttaaagcaat gctgatgaat cactgttttt agacaccttc attttgaggg gaggagtcc
2161 acagattgtt tctatacaaa tataaatctt aaaaagtgtg tcaactattt tattatccta
2221 gattatatca aagtatttgt cgtgtgtaga aaaaaaaaaac agctctgcag gcttaataaa
2281 aatgacagac tgaaaaaaaa aaaa
    
```

图 1-16

CD79B

基因座 NM_000626 1300 bp mRNA 线性 PRI 21-SEP-2008
 定义 人类 CD79b 分子, 免疫球蛋白相关 β
 (CD79B), 转录物变体 1, mRNA.
 登录号 NM_000626
 型 NM_000626.2 GI:90193589

```

1 ctgcagccgg tgcagttaca cgttttcctc caaggagcct cggacgttgt cacgggtttg
61 gggtcggggg cagagcggtg accatggcca ggctggcgtt gtctcctgtg cccagccact
121 ggatggtggc gttgctgctg ctgctctcag ctgagccagt accagcagcc agatcggagg
181 accggtaccg gaatccccaa ggtagtgcct gtctcgggat ctggcagagc ccacgtttca
241 tagccaggaa acggggcctc acgggtgaaaa tgcactgcta catgaacagc gcctccggca
301 atgtgagctg gctctggaag caggagatgg acgagaatcc ccagcagctg aagctggaaa
361 agggccgcat ggaagagtcc cagaacgaat ctctcgccac cctcaccatc caaggcatcc
421 ggtttgagga caatggcatc tacttctgtc agcagaagtg caacaacacc tcggaggtct
481 accagggctg cggcacagag ctgcgagtca tgggattcag caccttggca cagctgaagc
541 agaggaacac gctgaaggat ggtatcatca tgatccagac gctgctgatc atcctcttca
601 tcatcgtgcc tatcttcctg ctgctggaca aggatgacag caaggctggc atggaggaag
661 atcacaccta cgagggcctg gacattgacc agacagccac ctatgaggac atagtacgc
721 tgcggacagg ggaagtgaag tggctctgtg gtgagcacc aggccaggag tgagagccag
781 gtcgccccat gacctgggtg caggctccct ggctcagtg actgcttcgg agctgcctgg
841 ctcatggccc aaccctttc ctggaccccc cagctggcct ctgaagctgg cccaccagag
901 ctgccatttg tctccagccc ctggtcccca gctcttgcca aagggcctgg agtagaagga
961 caacagggca gcaacttga gggagtctc tggggatgga cgggacccag ccttctgggg
1021 gtgctatgag gtgatccgtc cccacacatg ggatggggga ggcagagact ggtccagagc
1081 cgcgaaatgg actcggagcc gagggcctcc cagcagagct tgggaagggc catggacca
1141 actgggcccc agaagagcca caggaacatc attcctctcc cgcaaccact cccaccccag
1201 ggagggcctg gcctccagtg ccttcccccg tggaaataac ggtgtgtcct gagaaaccac
1261 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa
  
```

图 1-17

CD44

基因座 NM_000610 5748 bp mRNA 线性 PRI 23-OCT-2008
 定义 人类 CD44 分子 (印第安人血型) (CD44),
 转录物变体 1, mRNA.
 登录号 NM_000610
 型 NM_000610.3 GI:48255934

```

1  gagaagaaag ccagtgcgtc tctggggcgca ggggcccagtg gggctcggag gcacaggcac
61  cccgcgacac tccaggttcc ccgaccccacg tccctggcag ccccgattat ttacagcctc
121 agcagagcac ggggcggggg cagagggggcc cggccgggag ggctgctact tttaaaacc
181 tctgcgggct gcttagtcac agccccctt gcttgggtgt gtccctgcgt cgtcccctcc
241 ctccgtctta ggtcactggt ttoaacctcg aataaaaact gcagccaact tccgaggcag
301 cctcattgcc cagcggaccc cagcctctgc caggttcggt ccgccatcct cgtcccgtcc
361 tccgcgggcc cctgccccgc gccacgggat cctccagctc ctttgcctcg cgcctccgt
421 togtccgga caccatggac aagttttggt ggcacgcagc ctggggactc tgcctcgtgc
481 cgctgagcct ggcgcagatc gatttgaata taacctgccg ctttgcaggt gtattccacg
541 tggagaaaaa tggtcgctac agcatctctc ggacggaggc cgtgacctc tgcaaggctt
601 tcaatagcac cttgcccaca atggcccaga tggagaaagc tctgagcctc ggatttgaga
661 cctgcaggta tgggttcata gaagggcacg tgggtgattcc ccggatccac cccaaactcc
721 tctgtgcagc aaacaacaca ggggtgtaca tctcaccatc caacacctcc cagtatgaca
781 catattgctt caatgcttca gctccacctg aagaagattg tacatcagtc acagacctgc
841 ccaatgcctt tgatggacca attaccataa ctattgttaa ccgtgatggc acccgctatg
901 tccagaaagg agaatacaga acgaatcctg aagacatcta ccccagcaac cctactgatg
961 atgacgtgag cagcggctcc tccagtgaag ggagcagcac ttcaggaggt tacatctttt
1021 acaccttttc tactgtacac cccatcccag acgaagacag tccctggatc accgacagca
1081 cagacagaat ccttgcctac actttgatga gcactagtgc tacagcaact gagacagcaa
1141 ccaagaggca agaaaacctg gatgggtttt catgggttgt totaccatca gactcaaaga
1201 atcatcttca cacaacaaca caaatggctg gtacgtcttc aaataaccatc tccagcgtc
1261 gggagccaaa tgaagaaaat gaagatgaaa gagacagaca cctcagtttt tctggatcag
1321 gcattgatga tgatgaagat tttatctcca gcaccatttc aaccacacca cgggcttttg
1381 accacacaaa acagaaccag gactggaccc agtggaaacc aagccattca aatccggaag
1441 tgctacttca gacaaccaca aggatgactg atgtagacag aaatggcacc actgcttatg
1501 aaggaaactg gaaccacagaa gcacaccctc cctcatttca ccatgagcat catgaggaag
1561 aagagacccc acattctaca agcacaatcc aggcactcc tagtagtaca acggaagaaa
1621 cagctacca gaaggaacag tggttttggca acagatggca tgagggatat cgcctaacac
1681 ccaaagaaga ctcccattcg acaacaggga cagctgcagc ctcagctcat accagccatc
1741 caatgcaagg aaggacaaca ccaagcccag aggcagttc ctggactgat ttcttcaacc
1801 caatctcaca ccccattgga cgaggtcatc aagcaggaag aaggatggat atggactcca
1861 gtcatagtat aacgcttcag cctactgcaa atccaaacac aggtttggtg gaagatttgg
1921 acaggacagg acctctttca atgacaaagc agcagagtaa ttctcagagc ttctctacat
1981 cacatgaagg cttggaagaa gataaagacc atccaacaac ttctactctg acatcaagca
2041 ataggaatga tgtcacaggt ggaagaagag acccaaatca ttctgaaggc tcaactactt
2101 tactggaagg ttataacctc cattaccac acacgaagga aagcaggacc ttcatcccag
2161 tgaacctcagc taagactggg tcttttggag ttactgcagt tactgttggg gattccaact
2221 ctaatgtcaa tegtccctta tcaggagacc aagacacatt ccaccccagt ggggggtccc
2281 ataccactca tggatctgaa tcagatggac actcacatgg gagtcaagaa ggtggagcaa
2341 acacaacctc tggctctata aggacacccc aaattccaga atggctgatc atcttggcat
2401 cctctttggc cttggctttg attcttgcag tttgcattgc agtcaacagt cgaagaaggt
2461 gtgggcagaa gaaaaagcta gtgatcaaca gtggcaatgg agctgtggag gacagaaagc
2521 caagtggact caacggagag gccagcaagt ctcaggaaat ggtgcatttg gtgaacaagg
2581 agtcgtcaga aactccagac cagtttatga cagctgatga gacaaggaac ctgcagaatg
2641 tggacatgaa gattgggggtg taacacctac accattatct tggaaagaaa caaccgttgg

```

图 1-18

```

2701 aacataacc attacagga gctgggacac ttaacagatg caatgtgcta ctgattgttt
2761 cattgcaat ctttttttagc ataaaatttt ctactctttt tgttttttgt gttttgttct
2821 ttaaagtcag gtccaatttg taaaaacagc attgctttct gaaattaggg cccaattaat
2881 aatcagcaag aatttgatcg ttccagttcc cacttggagg cctttcatcc ctgggtgtg
2941 ctatggatgg cttctaacia aaactacaca tatgtattcc tgatcgccaa cctttccccc
3001 accagctaag gacatttccc agggtaata gggcctggtc cctgggagga aatttgaatg
3061 ggtccatttt gcccttccat agcctaatcc ctgggcattg ctttccactg aggttggggg
3121 ttgggtgtg ctagttaaac atcttcaaca gacccctct agaaattttt cagatgcttc
3181 tgggagacac ccaaaggggtg aagctattta tctgtagtaa actatttate tgtgtttttg
3241 aatattaaa ccctggatca gtcctttgat cagtataatt ttttaaagt accttgtcag
3301 aggcacaaaa gggtttaaac tgattcataa taaatactg tacttcttcg atcttcaoct
3361 tttgtgctgt gattcttcag tttctaacc agcactgtct gggctccctac aatgtatcag
3421 gaagagctga gaatggtaag gagactcttc taagtcttca tctcagagac cctgagttcc
3481 cactcagacc cactcagcca aatctcatgg aagaccaagg agggcagcac tgtttttgtt
3541 tttgtttttt tgtttttttt ttttgacact gtccaaaggt tttccatcct gtcctggaat
3601 cagagttgga agctgaggag cttcagcctc ttttatgggt taatggccac ctgttctctc
3661 ctgtgaaagg ctttgcaag tcacattaag tttgcatgac ctgttatccc tggggcccta
3721 tttcatagag gctggcccta ttagtgatth ccaaaaacia tatggaagtg ccttttgatg
3781 tcttacaata agagaagaag ccaatggaaa tgaaagagat tggcaaaggg gaaggatgat
3841 gccatgtaga tctgtttga cttttttatg gctgtatttg taaacttaa cacaccagtg
3901 tctgttcttg atgcagttgc tatttaggat gagttaagtg cctggggagt cctcaaaag
3961 gttaaaggga ttcccatcat tggaaatctta tcaccagata ggcaagttha tgaccaaaaca
4021 agagagtact ggctttatcc tctaacctca tttttctcc cacttggcaa gtcctttgtg
4081 gcatttatcc atcagtcagg gtgtccgat ggtcctagaa cttccaaagg ctgcttgtca
4141 tagaagccat tgcactata aagcaacggc tctgttaaa tggatctccc tttctgagge
4201 tccactaaa agtcatttgt tacctaaact tatgtgctta acaggcaatg cttctcagac
4261 cacaaagcag aaagaagaag aaaagctcct gactaaatca gggctgggct tagacagagt
4321 tgatctgtag aatatcttba aaggagagat gtcaacttcc tgcactatcc ccagcctctg
4381 cctctcctg tctacctct cccctcctc tctcctcca cttcacccca caatctttaa
4441 aaactcctt tctctctgt gaacatcat ggcagatcc atttctagtg gctctggattt
4501 ctttttcaac ttgaaagaaa ctggacatta ggcactatg tgttgttact
4561 gccactagtg ttcaagtgcc tcttgttttc ccagagattt cctgggtctg ccagaggccc
4621 agacaggctc actcaagctc ttttaactgaa aagcaacaag cactccagg acaaggttca
4681 aatggttac aacagcctct acctgtcgc ccagggagaa aggggtagt atacaagtct
4741 catagccaga gatggttttc cactccttct agatattccc aaaaagagge tgagacagga
4801 ggattatttc aattttattt tggaaattaa tacttttttc cctttattac tgttgtagtc
4861 cctcacttg atatacctct gttttcacga tagaaataag ggaggtctag agcttctatt
4921 ccttggccat tgtcaacgga gagctggcca agtcttcaca aacccttgca acattgcctg
4981 aagtttatgg aataagatgt attctcactc ccttgatctc aagggcgtaa ctctggaagc
5041 acagcttgac tacacgtcat tttaccaat gattttcagg tgacctgggc taagtcattt
5101 aaactgggtc tttataaaag taaaaggcca acatttaatt attttgcaa gcaacctaa
5161 agctaaagat gtaatttttc ttgcaattgt aaatcttttg tgtctcctga agacttccct
5221 taaaattagc tctgagttaa aatcaaaag agacaaaaga catcttcgaa tccatatttc
5281 aagcctggtg gaattggctt ttctagcaga acctttccaa aagttttata ttgagattca
5341 taacaacacc agaattgat tttgtagcca acattcattc aatactgtha tatcagagga
5401 gtaggagaga ggaaacattt gacttatctg gaaaagcaaa atgtacttaa gaataagaat
5461 aacatggctc attcacctt atgttataga tatgtctttg tghtaactat ttgtttgag
5521 tttcaaaga atagccatt gttcattctt gtgctgaca atgaccactg ttattgttac
5581 tttgactttt cagagcacac cctcctctg gttttgtat atttattgat ggatcaataa
5641 taatgaggaa agcatgatat gtatattgct gagttgaaag cacttattgg aaaatattaa
5701 aaggctaaca ttaaagact aaaggaaaca gaaaaaaaa aaaaaaaa

```

图 1-19

CTSC

基因座 NM_001814 1924 bp mRNA 线性 PRI 06-APR-2008
 定义 人类组织蛋白酶 C (CTSC), 转录物变体 1, mRNA.
 登录号 NM_001814
 型 NM_001814.3 GI:167000478

```

1  cgtagctatt tcaagggcgg cgccctcgtgg tggactcacc gctagcccgc agcgcctcggc
61  ttcttggtaa ttcttcacct cttttctcag ctccctgcag catgggtgct gggccctcct
121  tgctgctcgc cgccctcctg ctgcttctct ccggcgacgg cgccgtgcgc tgcgacacac
181  ctgccaactg cacctatctt gacctgctgg gcacctgggt ctccaggtg ggctccagcg
241  gttcccagcg cgatgtcaac tgctcgggta tgggaccaca agaaaaaaaa gtagtgggtgt
301  accttcagaa gctggataca gcatatgatg accttggcaa ttctggccat ttcaccatca
361  ttacaacca aggctttgag atttgtgtga atgactacaa gtggtttgcc ttttttaagt
421  ataaagaaga gggcagcaag gtgaccactt actgcaacga gacaatgact ggggtgggtgc
481  atgatgtggt gggccggaac tgggcttgtt tcaccggaag gaaggtggga actgcctctg
541  agaatgtgta tgtcaacata gcacacctta agaattctca ggaaaagtat tctaataggc
601  tctacaagta tgatcacaac tttgtgaaag ctatcaatgc cattcagaag tcttggactg
661  caactacata catggaatat gagactctta ccctgggaga tatgattagg agaagtgggtg
721  gccacagtcg aaaaatccca aggcccaaac ctgcaccact gactgctgaa atacagcaaa
781  agattttgca tttgccaaca tcttgggact ggagaaatgt tcatggtatc aattttgtca
841  gtccctgttcg aaaccaagca tccctgtggca gctgctactc atttgcttct atgggtatgc
901  tagaagcgag aatccgtata ctaaccaaca attctcagac cccaatccta agccctcagg
961  aggttgtgtc ttgtagccag tatgctcaag gctgtgaagg cggcttccca taccttattg
1021  caggaaagta cgcccaagat tttgggctgg tggagaagc ttgcttcccc tacacaggca
1081  ctgattctcc atgcaaaatg aaggaagact gctttcgtta ttactcctct gactaccact
1141  atgtaggagg tttctatgga ggctgcaatg aagccctgat gaagcttgag ttggtccatc
1201  atgggccccat ggcagttgct tttgaagtat atgatgactt cctccactac aaaaagggga
1261  tctaccacca cactggtcta agagaccctt tcaaccctt tgagctgact aatcatgctg
1321  ttctgcttgt gggctatggc actgactcag cctctgggat ggattactgg attgttaaaa
1381  acagctgggg caccggctgg ggtgagaatg gctacttccg gatccgcaga ggaactgatg
1441  agtgtgcaat tgagagcata gcagtgccag ccacaccaat tcctaaattg tagggtatgc
1501  ctccagtat ttcataatga tctgcatcag ttgtaaaggg gaattggtat attcacagac
1561  tgtagacttt cagcagcaat ctcagaagct tacaataga tttccatgaa gatatttgtc
1621  ttcagaatta aaactgccct taattttaat atacctttca atcggcact ggccatttt
1681  ttctaagtat tcaattaagt gggaaattttc tgaagatgg tcagctatga agtaatagag
1741  tttgcttaat catttgtaat tcaaactatgc tatatttttt aaaatcaatg tgaaacata
1801  gacttatfff taaattgtac caatcacaag aaaataatgg caataattat caaaactfff
1861  aaaaatagatg ctcatatfff taaaataaag ttttaaaaat aactgcaaaa aaaaaaaaaa
1921  aaaa
  
```

图 1-20

UAP1

基因座 NM_003115 2344 bp mRNA 线性 PRI 22-OCT-2008
 定义 人类 UDP-N-乙酰葡萄糖胺焦磷酸化酶 1 (UAP1), mRNA.
 登录号 NM_003115
 型 NM_003115.4 GI:156627574

```

1  cggcgcgctc  cgcgtccgcg  tegtctgttg  tgctcccggc  gctgaactgt  ctgggaggct
61  ggcttccact  ccttcaggcg  tgggcagcca  ctagtctgtg  cgagaggggc  ggggtggccg
121  gggctggcgc  tccacttggc  ccccgctccc  ggcccgcgcc  gcgcgcgagg  cccccggat
181  gagggtatat  altcggagcg  agcgcgggac  gccgatgagt  ggccgcgagg  aaggagctgg
241  agaocggtcgt  agctgcggtc  gcgcgcgagaa  aggtttacag  gtacatacat  tacaccccta
301  tttctacaaa  gcttggctat  tagagcatta  tgaacattaa  tgacctcaaa  ctcaacttgt
361  ccaaagctgg  gcaagagcac  ctactacgtt  totggaatga  gcttgaagaa  gcccaacagg
421  tagaacttta  tgcagagctc  caggccatga  actttgagga  gctgaacttc  ttttccaaa
481  aggcatttga  aggttttaac  cagtcttctc  accaaaagaa  tgtggatgca  cgaatggaac
541  ctgtgcctcg  agaggtatta  ggcagtgcta  caagggatca  agatcagctc  caggcctggg
601  aaagtgaagg  acttttccag  atttctcaga  ataaagtagc  agttctctct  ctagctgggtg
661  ggcaggggac  aagactcggc  gttgcataat  ctaaggggat  gtatgatgtt  ggtttggcat
721  ccogtaagac  acttttccag  attcaagcag  agcgtatcct  gaagctacag  caggttgctg
781  aaaaatatta  tggcaacaaa  tgcattatct  catggtatat  aatgaccagt  ggcagaacaa
841  tggaatctac  aaaggagtct  ttcaccaagc  acaagtactt  tggtttaaaa  aaagagaatg
901  taatcttttt  tcagcaagga  atgctccccg  ccatgagttt  tgatgggaaa  attattttgg
961  aagagaagaa  caaagtttct  atggctccag  atgggaatgg  tggcttttat  cgggcaactg
1021  cagcccagaa  tattgtggag  gatatggagc  aaagaggcat  ttggagcatt  catgtctatt
1081  gtgttgacaa  catattagta  aaagtggcag  acccaagggt  cattggattt  tgcattcaga
1141  aaggagcaga  ctgtggagca  aaggtggtag  agaaaaagaa  ccctacagaa  ccagtggag
1201  tggtttgccg  agtggatgga  gtttaccagg  tggtagaata  tactgagatt  tccctggcaa
1261  cagctcaaaa  acgaagctca  gacggacgac  tgcgtgtcaa  tgcggggaac  attgccaacc
1321  atttcttcc  tgtaccattt  ctgagagatg  ttgtcaatgt  ttatgaaact  cagttgcagc
1381  accatgtggc  tcaaaagaag  attccttatg  tggataccca  aggacagtta  attaagccag
1441  acaaaaccaa  tggataaaag  atggaaaaat  ttgtctttga  catcttccag  ttgcaaaga
1501  agtttgtgg  atatgaagta  ttgagagaag  atgagttttc  cccactaaag  aatgctgata
1561  gtcagaatgg  gaaagacaac  cctactactg  caaggcatgc  tttgatgtcc  ctccatcatt
1621  gctgggtcct  caatgcaggg  ggccatttca  tagatgaaaa  tggctctcgc  ctccagcaa
1681  ttccccgctt  gaaggatgcc  aatgatgtac  caatccaatg  tgaaatctct  cctcttatct
1741  cctatgctgg  agaaggatta  gaaagttagt  tggcagataa  agaattccat  gcacctctaa
1801  tcatcgatga  gaatggagt  catgagctgg  tgaaaaatgg  tatttgaacc  agataccaag
1861  ttttgtttgc  cacgatagga  atagctttta  tttttgatag  accaactgtg  aacctacaag
1921  acgtcttgg  caactgaagt  ttaaataatc  acagggtttt  attttgcctg  ttgaactctt
1981  agagctattg  caaacttccc  aagatccaga  tgactgaatt  tcagatagca  tttttatgat
2041  tcccactca  ttgaaggctc  tatttatata  attttttcca  agccaaggag  accattggcc
2101  atccaggaaa  tttcgtacag  ctgaaaatata  ggcaggatgt  tcaacatcag  tttacttgca
2161  gctggaagca  tttgtttttg  aagttgtaca  tagtaataat  atgtcattgt  acatgttgaa
2221  aggtttctat  ggtactaaaa  gtttgtttta  ttttatcaaa  cattaagctt  ttttaagaaa
2281  ataattgggc  agtgaaataa  atgtatcttc  ttgtctctgg  agtgcacaaa  aaaaaaaaaa
2341  aaaa
    
```

图 1-21

PUS7

基因座 NM_019042 3484 bp mRNA 线性 PRI 11-FEB-2008
 定义 人类假尿苷酸合酶 7 同系物 (酿酒酵母)
 (PUS7), mRNA.
 登录号 NM_019042 XM_496914 XM_499357
 型 NM_019042.3 GI:50727001

```

1  gtgcgagccc  ggccgcccgt  gagtccgctg  gagcgcacat  ggtcctccgc  gcggaaagcg
61  ctgcttttgc  ctggcccgcc  tagccgctgg  ctcacccaag  tggccttcgc  cgctctcttg
121  cgtcccaacc  agagcgctgg  ccacctcgcc  gccagctca  cgcgogccc  gcgctcccag
181  gctccggggt  ttcttaaatg  tttcttgg  gccttaaga  tggagatgac  agaaatgact
241  ggtgtgtcgc  tgaaacgtgg  ggcactgggt  gtgaaagata  atgacagtgg  agtcccagtt
301  gaagagacaa  aaaaacagaa  gctgtcggaa  tgcagtctaa  ccaaaggcca  agatgggcta
361  cagaatgact  ttctgtccat  cagtgaagac  gtgcctcggc  ctccctgacac  tgtcagtact
421  gggaaagggt  gaaagaattc  tgaggctcag  ttggaagatg  aggaagaaga  ggaggaagat
481  ggactttcag  aggagtgcga  ggaggaggaa  tcagagagtt  ttgcagacat  gatgaagcat
541  ggactcactg  aggctgacgt  aggcaccacc  aagtgtgtga  gttctcatca  agggttctcg
601  ggaatcttaa  aaaaagata  ctccgacttc  gttgttcatt  aaataggaaa  agatggacgg
661  atcagccatt  tgaatgactt  gtccattcca  gtggatgagg  aggacccttc  agaagacata
721  tttacagttt  tgacagctga  agaaaagcag  cgattggaag  agctccagct  gttcaaaaat
781  aaggaaacca  gtgttgccat  tgaggttatc  gaggacacca  aagagaaaag  aacctcatc
841  catcaggcta  tcaaatctct  gtttccagga  ttagagacaa  aaacagagga  tagggagggg
901  aagaaataca  ttgtagccta  ccacgcagct  gggaaaagg  ctttggcaaa  tccaagaaa
961  cattcttggc  caaaatctag  gggaaagttac  tgccacttcg  tactatataa  ggaaaacaaa
1021  gacaccatgg  atgctattaa  tgtactctcc  aaatacttaa  gactcaagcc  aaatatattc
1081  tcctacatgg  gaaccaaaga  taaaagggtc  ataacagttc  aagaaattgc  tgttctcaa
1141  ataactgac  aaagacttgc  ccacctgaat  aagtgcctga  tgaactttaa  gctaggaat
1201  ttcagctatc  aaaaaaaccc  actgaaattg  ggagagcttc  aaggaacca  cttcaggtt
1261  ttctcagaa  atataacagg  aactgatgac  caagtacagc  aagctatgaa  ctctctcaag
1321  gagattggat  ttattaacta  ctatggaatg  caaagatttg  gaaccacagc  tgtccctacg
1381  taccaggttg  gaagagctat  actacaaaat  tcttggacag  aagtcatgga  ttaaatattg
1441  aaaccccgct  ctggagctga  aaagggttac  ttggttaaat  gcagagaaga  atgggcaaag
1501  accaaagacc  caactgctgc  cctcagaaaa  ctacctgtca  aaagggtgtg  ggaagggcag
1561  ctgcttcgag  gactttcaaa  atatggaatg  aagaatatag  tctctgcatt  tggcataata
1621  cccagaaata  atcgcttaat  gtatattcat  agctaccaa  gctatgtgtg  gaataacatg
1681  gtaagcaaga  ggatagaaga  ctatggacta  aaacctgttc  caggggacct  cgttctcaa
1741  ggagccacag  ccacctatat  tgaggaagat  gatgttaata  attactctat  ccatgatgtg
1801  gtaatgccct  tgcctgggtt  cgatgttatc  tacccaaagc  ataaaattca  agaagcctac
1861  agggaaatgc  tcacagctga  caatcttgat  attgacaaca  tgagacacaa  aattcgagat
1921  tattccttgt  caggggccta  ccgaaagatc  attattcgtc  ctcagaatgt  tagctgggaa
1981  gtcgttgcac  atgatgatcc  caaaattcca  cttttcaaca  cagatgtgga  caacctagaa
2041  gggaaagacac  caccagtttt  tgcttctgaa  ggcaaataca  gggctctgaa  aatggathtt
2101  tctctacccc  cttctactta  cgccaccatg  gccattcgag  aagtgtctaa  aatggatacc
2161  agtatcaaga  accagacgca  gctgaatata  acctggcttc  gctgagcagt  acctgtcca
2221  cagattagaa  aacgtacaca  agtgtttgct  tcttggctcc  ctgtgcattt  ttgtcttagt
2281  tcagactcat  atatggattt  caaatctttg  taataaaaat  tatttattt  ttttaagttt
2341  tattagctta  aagaaataat  ttgcaatatt  tgtacatgta  cacaaatcct  gaggttctta
2401  attttagctc  agaataataa  ttagtcaaaa  tacacttcag  gtgcttaaat  cagagtaaaa
2461  tgtcagcttt  acaataataa  aaaaaggact  ttggtttaa  gtagcaggtt  taggttttgc
2521  tacattctca  aaagacagca  ggagtatttg  acacatctgt  gatggagtat  acaacaatgc
2581  attttaagag  caaatgcaac  aaaacaaatc  tggactatgg  ataaataatt  tgagagctgc
2641  caccacaaa  tataaataca  gtactcatgc  tgactgaaat  aataagacat  ctacaaattt

```

图 1-22


```
2701 ataaacaaaa agtgattgtc attatcctgc ttatgtacta gattcaggca agcattatag
2761 actttttggg tgcgggtggc ttgcattha tattatcaat gccttgcagg aacgttgcat
2821 tgataggccc attttathtt ttattttttt ttttcgagac aggatctcac tctgtagcac
2881 aggctggatt gcagtgcaat cctgcaatte tcaatcttgc actgcagcct cgacctccca
2941 ggetccagtg actctcccac ctcagcctcc taagttagctg ggagtacagg cgcgcaccac
3001 cacgcctagc tgatttttgt atttttttgt agagacgggg gtttggccat gttgcccagg
3061 ctaactcctg ggattacagg catgagctgt gctggccggg ttttttttcc ttgatgtaaa
3121 cgtgtacagc tgttttatta gtttaaggctt aatttttact ctaggctcct tttatgttca
3181 gaactctttc cactggactg gtatttgcgc aaaaataaat aatggtagag aagaaaacta
3241 taaaaatgga caaggctttc ttctatcagt agcgtttacc ctttgtcacc agtggctttg
3301 gtatttccat gtctggcatt gcataaactt ctctggtgtg aaaggataaa tatgcctttc
3361 taaagttgta tatcaaaatt gtatcaattt ttattttcta tgatttctag aaacaaatgt
3421 aataaatatt tttaaaatct cctttctact ggttatgtaa ataaatcaaa taaatatatc
3481 aaaa
```

图 1-23

CD22

基因座
定义
登录号
型

NM_001771 3293 bp mRNA 线性 PRI 16-MAR-2008
人类 CD22 分子 (CD22), mRNA.
NM_001771
NM_001771.2 GI:157168354

```

1 cttttgctct cagatgctgc cagggctcoot gaagagggaa gacaacgogga aacaggcttg
61 caaccagaca cgacaccatg catctcctcg gccoctggct cctgctcctg gttctagaat
121 acttggcttt ctctgactca agtaaatggg tttttgagca cectgaaacc ctctacgect
181 gggagggggc ctgcgtctgg atccccctgca cctacagagc cctagatggg gacctggaaa
241 gcttcatcct gttccacaat cctgagtata acaagaacac ctogaagttt gatgggacaa
301 gactctatga aagcacaaaag gatgggaagg ttccttctga gcagaaaagg gtgcaattcc
361 tgggagacaa gaataagaac tgcacactga gtabccacc ggtgcacctc aatgacagtg
421 gtcagctggg gctgaggatg gagtccaaga ctgagaaatg gatggaacga atacacctca
481 atgtctctga aaggcctttt ccacctcata tccagctccc tccagaaatt caagagtccc
541 aggaagtccac tctgaactgc ttgctgaatt tctcctgcta tgggtatccg atccaattgc
601 agtggctcct agaggggggtt ccaatgaggc aggctgctgt cacctcgacc tectgacca
661 tcaagtctgt cttcaccogg agcagactca agttctcccc acagtggagt caccatggga
721 agattgtgac ctgccagctt caggatgcag atgggaagtt cctctccaat gacacgggtc
781 agctgaacgt gaagcacacc cogaagttgg agatcaaggt cactccagt gatgccatag
841 tgagggaggg ggaactctgt accatgacct gogaggtcag cagcagcaac coggagtaca
901 cgacggtatc ctggctcaag gatgggacct cgtgaagaa gcagaataca ttcacgctaa
961 acctgcgoga agtgaccaag gaccagagtg ggaagtactg ctgtcaggtc tccaatgacg
1021 tgggcccggg aaggctggaa gaagtgttcc tgcaagtgca gtatgccccg gaaccttcca
1081 cggttcagat cctccactca ccggctgtgg agggaagtca agtcagagttt ctttgcattg
1141 cactggccaa tectcttcca acaaattaca cgtggtacca caatgggaaa gaaatgcagg
1201 gaaggacaga ggagaaaagtc cacatcccaa agatcctccc ctggcacgct gggacttatt
1261 cctgtgtggc agaaaaacatt ctctgtactg gacagagggg cccgggagct gagctggatg
1321 tccagtatcc tcccaagaag gtgaccacag tgattcaaaa ccccatgccg attcgagaag
1381 gagacacagt gacctttcc tglaaactaa altccagtaa cccagtggtt acccggtatg
1441 aatggaaaacc ccattggcgc tgggaggagc catcgtctgg ggtgctgaag atccaaaacg
1501 ttggctggga caacacaacc atcgcctgoc cagcttghta tagttggtgc tctgaggcct
1561 cccctgtgoc cctgaatgtc cagtatgccc cccgagacgt gagggtccgg aaaatcaagc
1621 ccccttccga gattcactct ggaaactcgg tcagcctcca atgtgacttc tcaagcagcc
1681 accccaaaag agtccagttc ttctgggaga aaaatggcag gcttctgggg aaagaaagcc
1741 agctgaattt tgactccatc tccccagaag atgctgggag ttacagctgc tgggtgaaca
1801 actccatagg acagacagcg tccaaggcct ggacacttga agtgcctgat gcaccagga
1861 ggctgctgtg gtccatgagc cccgggggacc aagtgatgga ggggaagagt gcaacctga
1921 cctgtgagag cgaacccaac cctccctct cccactacac ctggtttgac tggataacc
1981 aaagcctccc ctaccacagc cagaagctga gattggagcc ggtgaaggct cagcactcgg
2041 gtgcctactg gtgccagggg accaacagtg tgggcaaggg ccgttcgect ctcagcacc
2101 tcaccgtcta ctatagccc gagaccatcg gcaggcagat ggctgtggga ctcgggtcct
2161 gectcgccat cctcatcctg gcaatctgtg ggtcaagct ccagcgactg tggagagga
2221 cacagagcca gcaggggctt caggagaatt ccagcggcca gagcttcttt gtgaggaata
2281 aaaagggttag aaggggcccc ctctctgaag gccccactc cctgggatgc tacaatccaa
2341 tgatggaaga tggcattagc tacaccacc tgcgcttcc cgagatgaac ataccacgaa
2401 ctggagatgc agagtccca gagatgcaga gacctcccc ggactcgat gacacggta
2461 cttatctcagc attgcacaag cgccaagtgg gcgactatga gaacgtcatt ccagatttc
2521 cagaagatga ggggattcat tactcagagc tgatccagtt tggggtcggg gagcggcctc
2581 aggcacaaga aaatgtggac tatgtgatcc tcaaacattg acactggatg gctgcagca
2641 gaggcactgg gggcagcggg ggccagggaa gtccccgagt tccccagac accgccacat

```

图 1-24

```

2701 ggcttccctcc tgcgcgcgatg tgcgcacaca cacacacaca cgcacacaca cacacacaca
2761 ctcaactgagg agaacctgtg gcttggctca gagccagtct ttttggtgag ggtaacccca
2821 aacctccaaa actcctgccc ctgtttcttt ccactctcct tgcctaccag aaatccatct
2881 aaatacctgc cctgacatgc acacctcccc ctgccccccac cagggccaact ggccatctcc
2941 acccccagct gcttgtgtcc ctctgggat ctgctcgtca tcatttttcc ttcctttctc
3001 catctctctg gccctctacc cctgatctga catccccact cacgaatatt atgcccagtt
3061 tctgcctctg agggaaagcc cagaaaagga cagaaaagaa gttagaaagg gccccagctct
3121 ggcttggctt ctcttttggg agtgaggcat tgcacgggga gacgtacgta tcagcggccc
3181 cttgactctg gggactccgg gtttgagatg gacacactgg tgtggattaa cctgccaggg
3241 agacagagct cacaataaaa atggctcaga tgcacttca aagaaaaaaa aaa
    
```

图 1-25

RGS13

基因座 NM_144766 1458 bp mRNA 线性 PRI 31-JAN-2010
定义 人类 G 蛋白信号传导调节物 13 (RGS13), 转录物变体 2, mRNA.
登录号 NM_144766
型 NM_144766.1 GI:21464138
关键词 .
来源 人类 (人)

起点

```

1 gaggccagag tgccatcgaa ggtaattata gagacagtaa aatcctttta ctctgggaaa
61 aataaaatgc tgggtgtctc acaaaatttc agaacctgat ttcaaacgga tcataacaaa
121 gaggagatca aatttagcat ggtggactgc tcgacaggat atatttgtca atggaatggt
181 tccacatatt ataccaccaa catgagaaaa aatgatcat t.gtttatttg aagcttgaaa
241 aatgagcagg cggaattggt ggatttghta gatgtgcaga gatgaatcta agaggccccc
301 ttcaaacctt actttggagg aagtattaca gtgggcccag tcttttgaaa atttaatggc
361 tacaaaatat ggtccagtag tctatgcagc atatttaaaa atggagcaca gtgacgagaa
421 tattcaattc tggatggcat gtgaaacctc taagaaaatt gcctcacggg ggagcagaat
481 ttctagggca aagaagcttt ataagattta catccagcca cagtccccta gagagattaa
541 cattgacagt tcgacaagag agactatcat caggaacatt caggaacca ctgaaacatg
601 ttttgaagaa gctcagaaaa tagtctatat gcatatggaa agggattcct accccagatt
661 tctaaagtca gaaatgtacc aaaaactttt gaaaactatg cagtccaaca acagtttctg
721 actacaactc aaaagtttaa atagaaaaca gtatattgaa agtggtgggg ttgatctttt
781 tatttagaaa cccacaaaat cagaaacaca gtacaaataa aacagaaatc aaactataag
841 ttgactttta gttcctaaaa agaaacatat ttcaaagca atggaatcta gaattcttat
901 aacatgaata acaaaatgta cagcaagcct atgtagttca attaataat aaggaaaagg
961 aaggctcttc ttcattgatac aagcattata aagtttttac tgtagtagtc aattaatgga
1021 tatttccttg ttaataaaat tttgtgtcat aatttcaaaa ttagttcttt aaaaattggt
1081 gttatatgaa ttgtgtttct agcatgaatg ttctatagag tactctaaat aacttgaatt
1141 tatagacaaa tgctactcac agtacaatca attgtattat accatgagaa aatcaaaaag
1201 gtgttcttca gagacatttt atctataaaa ttttctactc attatgttca ttaacaaact
1261 tctttatcac atgtatcttc tacatgtaaa acatttctga tgatttttta acaaaaaata
1321 tatgaatttc ttcatttgct cttgcactca cattgctata aggatataaa atgtggtttc
1381 tatattttga gatgtttttt ccttacaatg tgaactcatc gtgatcttgg aatcaataa
1441 agtcaaatat caactaaa
    
```

图 1-26

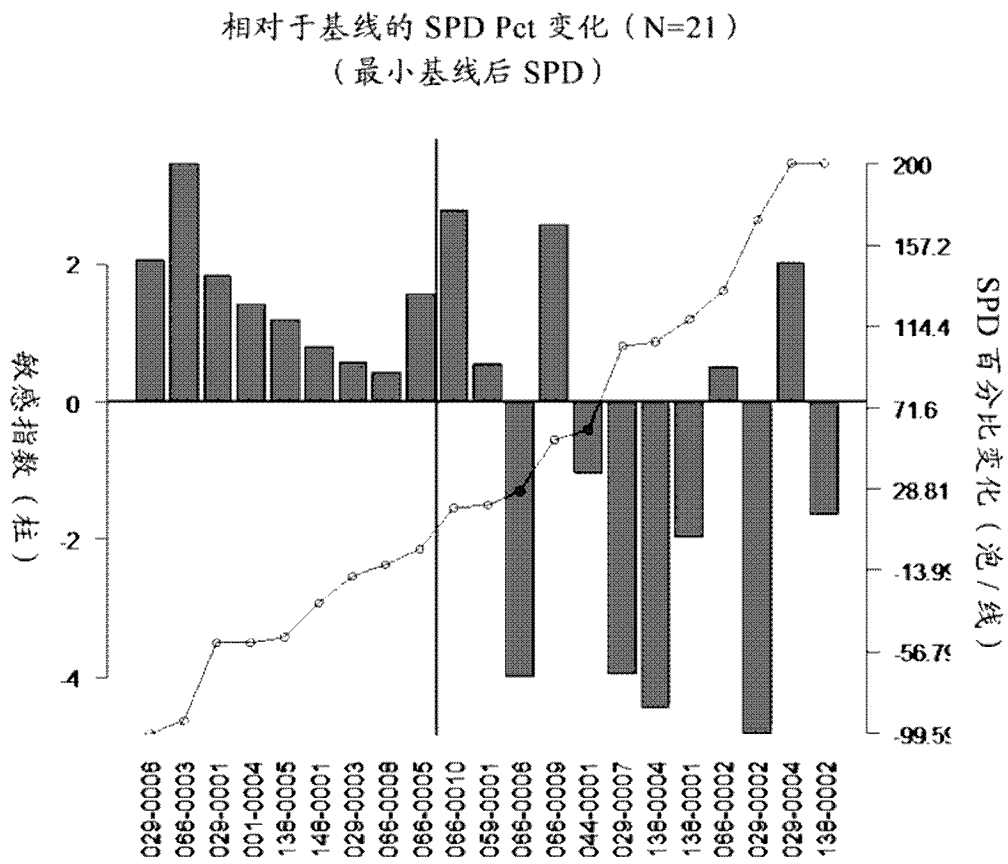


图 2

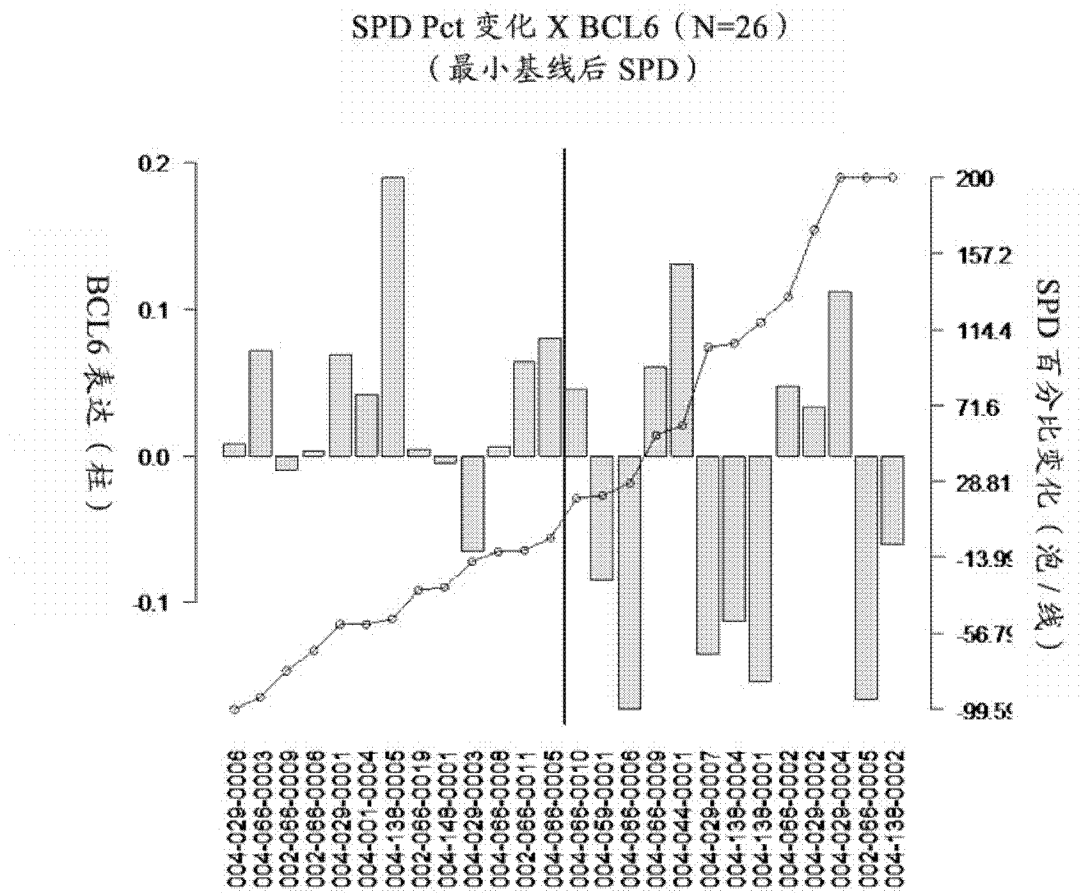


图 3

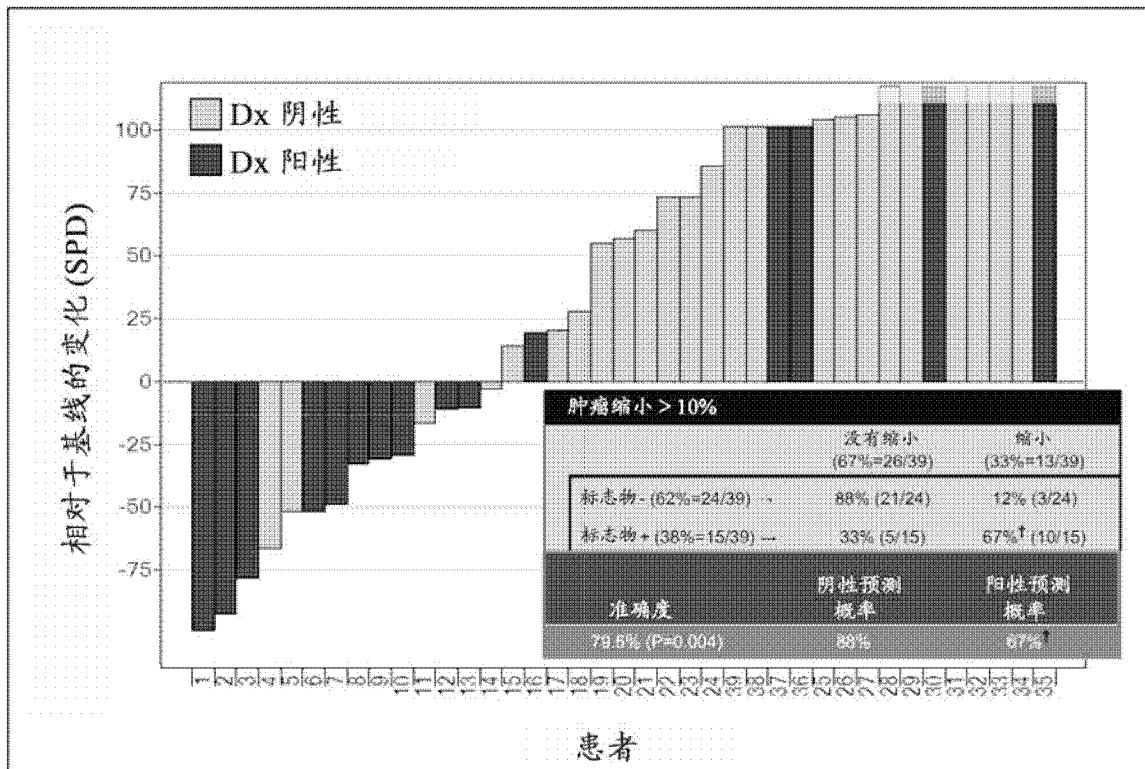


图 4

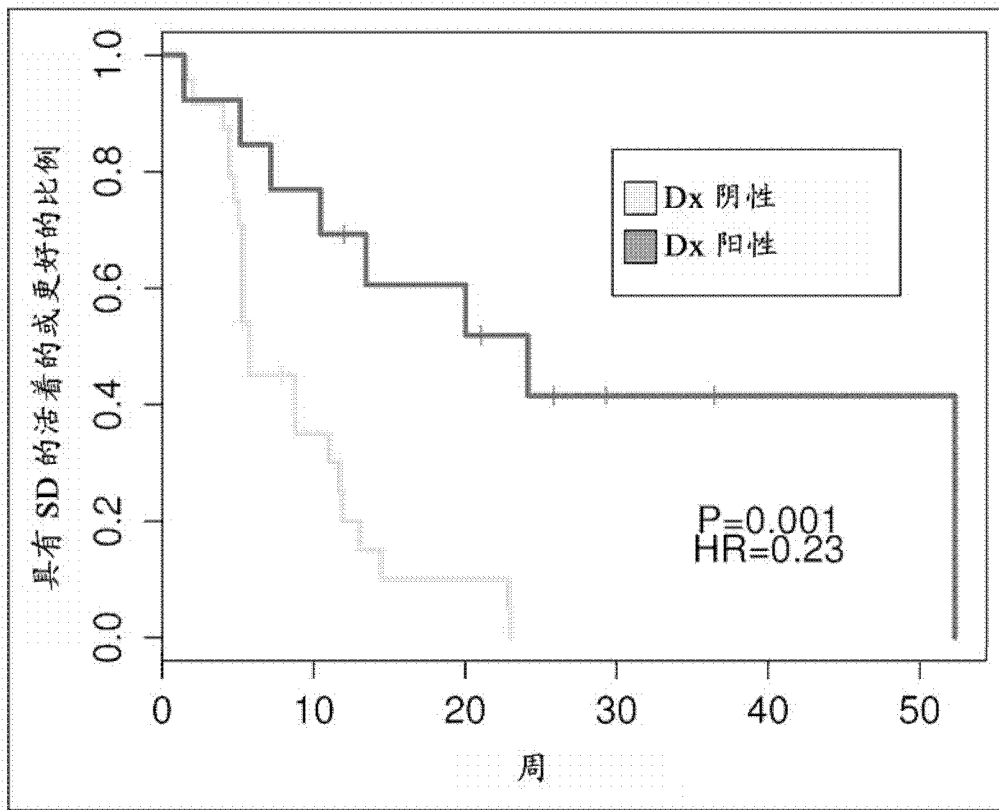


图 5