

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200610143178.7

[51] Int. Cl.

C12Q 1/68 (2006.01)

G01N 33/50 (2006.01)

[43] 公开日 2007年5月23日

[11] 公开号 CN 1966724A

[22] 申请日 2006.9.15

[21] 申请号 200610143178.7

[30] 优先权

[32] 2005.9.15 [33] US [31] 60/717790

[71] 申请人 维里德克斯有限责任公司

地址 美国新泽西州

[72] 发明人 T·维纳 J·梅罗特拉 S·瓦德

A·马祖德 J·巴登 J·巴库斯

[74] 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

代理人 李波 刘玥

权利要求书2页 说明书73页 附图2页

[54] 发明名称

检测基因甲基化

[57] 摘要

本发明涉及检测基因甲基化。本发明提供了一种诊断增殖性疾病的存在或预测其过程的方法,包括使用选自 Seq. ID. NO. 1-35 和 44-53 的试剂,测定生物样本中标志物的甲基化状态。本发明还提供了一种用于实施上述方法的试剂盒,其中包括核酸扩增和检测试剂。

1. 一种诊断增殖性疾病的存在或预测其过程的方法，包括使用选自 Seq. ID. NO. 1-35 和 44-53 的试剂，测定生物样本中标志物的甲基化状态。
2. 根据权利要求1中所述的方法，还包括测量参照标志物的存在。
3. 根据权利要求2中所述的方法，其中参照标志物选自 β 肌动蛋白。
4. 权利要求中所述的方法，其中使用标志物组合。
5. 根据权利要求4所述的方法，其中标志物组合包括 GSTP1 的标志物以及 APC、TIMP、RASSF1A、RARF2、PTGS2 或 14-3-3 的标志物。
6. 根据权利要求4中所述的方法，其中标志物的试剂包括 Seq. ID. No. 1-35 和 44-53 中的一个成员。
7. 权利要求1中所述的方法，其中样本是前列腺组织。
8. 权利要求1中所述的方法，其中样本是尿液、血清、血浆或循环细胞。
9. 一种包含选自 Seq. ID No. 1-43 的一个成员的组合物。
10. 一种组合物，包含多于一种权利要求10的组合物混合物。
11. 一种用于实施根据权利要求1中所述的测试的试剂盒，包括核酸扩增和检测试剂。
12. 权利要求11中所述的试剂盒，其中扩增和检测试剂选自 Seq. ID No. 1-43。
13. 权利要求12中所述的试剂盒，其中扩增和检测试剂选自 Seq. ID No. 1-25，并且含有选自 Seq. ID No. 36-43 的试剂。
14. 权利要求11中所述的试剂盒，还包括说明书。
15. 权利要求11中所述的试剂盒，其中试剂检测选自 GSTP1 和 APC、TIMP、RASSF1a、RARF2、PTGS2 或 14-3-3 的基因的超甲基化。
16. 权利要求11中所述的试剂盒，还包括用于扩增和检测组成型表达的基因存在的试剂。
17. 权利要求11中所述的试剂盒，还包括用于扩增和检测组成型表达的基因存在的试剂。
18. 权利要求1中所述的方法，还包括确定甲基化比率和测定甲基化比率是否超过截止值。

19. 权利要求 1 中所述的方法，用于治疗监测。
20. 权利要求 1 中所述的方法，用于筛选。
21. 权利要求 1 中所述的方法，用于分辨由不同于权利要求 1 的方法所获得的不明确的或不确定的癌症分析结果。

检测基因甲基化

技术领域

本发明涉及探询甲基化基因的用途，例如用于细胞增殖性疾病（如癌症）的诊断和预后分析。相关的基因包括谷胱甘肽 S-转移酶（GSTP1）基因或其部分。

背景技术

在高等真核生物中，只在位于 CpG 二核苷酸的鸟苷 5' 的胞嘧啶上发生 DNA 甲基化。这种修饰对于基因表达具有重要的调控作用，特别是当涉及到位于基因启动子区的 CpG 丰富区域（CpG 岛）。在永生化和转化细胞中，正常未甲基化 CpG 岛经常发生异常甲基化而且这种异常甲基化与某些肿瘤抑制基因或改善某些人类癌症相关的基因的转录失活有关。

谷胱甘肽 S-转移酶（GST）催化细胞内解毒反应，它通过催化谷胱甘肽与具有化学活性的亲电子基结合使亲电子致癌物失活（C. B. Pickett, 等, *Annu. Rev. Biochem.*, 58:743, 1989; B. Coles, 等, *CRC Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol.*, 25:47, 1990; T. H. Rushmore, 等, *J. Biol. Chem.* 268:11475, 1993）。人 GST 由不同的基因座中某些不同的基因编码，分为 α 、 μ 、 π 和 θ 四个家族（B. Mannervik, 等, *Biochem. J.*, 282:305, 1992）。许多人类癌症如前列腺癌和肝癌表现为 GSTP1 表达水平相对于它们的源组织减少。

在前列腺癌的情况下，具体地说，设计可区别良性前列腺增生和前列腺癌的甲基化特异性 PCR（“MSP”）的引物和探针是很复杂的。如果研究者设定检测为 100% 特异性，所公开的最好的引物/探针组一般最高达到 75% 的灵敏度；而如果研究者设定检测为 100% 灵敏度，则其特异性不足 60%。用新的引物和探针组合可以得到更稳定可靠的测定法。本发明就实现了这一需求。

发明内容

在本发明的一个方面中，用于检测受试者的前列腺组织或其它样本中的细胞增殖性疾病的方法，包括使扩增和检测某些基因的超甲基化区域中使用的试剂接触细胞成分。

在本发明的另一方面中，至少一种所述的超甲基化基因是可联合一种或多种其它基因而测定的 GSTP1。

在本发明的另一方面中，怀疑含甲基化靶序列的核酸样本可从生物样本中获得，用引导部分靶序列的试剂来处理样本，扩增核酸靶，并且与已知正常样本比较扩增样本的甲基化程度。在本发明的另一方面中，对不太可能甲基化的序列进行了扩增和检测，以与扩增的甲基化序列进行比较。

在另一方面中，本发明提供了用于检测细胞增殖性疾病的方法。这种方法通过扩增基因来完成，其中所述基因的甲基化状态是细胞增殖性疾病的指示物。检测方法可以包括：用修饰未甲基化胞嘧啶的试剂接触含有核酸的样品或生物流体、用区别修饰的甲基化和未甲基化核酸的寡核苷酸引物或引导序列来扩增样品的核酸、以及根据扩增期间有无扩增产物来检测甲基化核酸。

本发明的方法包括确定样本甲基化比率。甲基化比率是指在疾病状态下超甲基化的标志物（或标志物的区域）的甲基化水平相对于同样条件下未超甲基化的标志物的甲基化水平的比值（或者相对于同样条件下未超甲基化的相同标志物的区域）。当通过在疾病状态下超甲基化标志物的甲基化与另一个未超甲基化标志物的甲基化的比较来确定甲基化比率时，第二个标志物称为参照标志物。

在本发明的另一方面中，通过定量实时 PCR 来确定甲基化比率。

在本发明的另一方面中，提供了用于诊断和/或预后分析的报道分子。

在另一个实施方案中，本发明提供了用于检测甲基化核酸的试剂盒。试剂盒包括一个或多个容器；第一个容器装有修饰未甲基化胞嘧啶的试剂，第二个容器装有引导扩增含 CpG 的核酸的试剂，其中该试剂可区分修饰的甲基化和未甲基化核酸。

在本发明的另一方面中，用本发明的方法或试剂盒检测的核酸序列包括启动子或其部分。

在本发明的另一方面中，用于检测某些基因的甲基化部分的方法和试剂盒包括鉴定另外核酸存在的步骤和/或组分。将目的甲基化基因受到处理（例如扩增）影响的程度与其它核酸进行比较，来确定标志物的甲基化程度。

附图说明

图 1 是利用现有技术的探针和引物进行 MSPCR 分析的结果图。

图2是根据本发明用水解探针和引物进行 MSPCR 分析的结果图。

具体实施方式

某些基因的超甲基化与前列腺癌发生相关。在本说明书中将含有所述基因或所述基因的部分的核酸序列称为标志物。标志物包括含以下所述的基因或基因的部分的核酸：GSTP1 (Seq. ID. No.54)、RARβ2 (Seq. ID. No.57)、RASSF1A (Seq. ID. No. 64)、TIMP3 (Seq. ID. No. 58)、APC (启动子=Seq. ID. No. 59, 基因=Seq. ID. No. 60)、β-肌动蛋白 (Seq. ID. No. 55 和 56)、PTGS2 (启动子=Seq. ID. No. 61, 基因=Seq. ID. No. 62) 和 14-3-3σ (Seq. ID. No. 63)。

检测所述超甲基化的鉴定法包括例如 MSP 和限制性内切酶分析的技术。启动子区是检测所述的超甲基化分析特别值得注意的靶。GSTP1 的启动子区的序列分析表明，接近 72%的核苷酸是 CG，并且约 10%的核苷酸是 CpG 二核苷酸。

本发明提供了在受试者的组织或其它生物样本中确定标志物的某些区域的甲基化状态的方法，其中扩增和检测与增殖性疾病相关的 DNA。由于特殊区域（如启动子）的超甲基化常导致标志物编码的蛋白质水平减少（即转录水平降低），因此期望鉴定所述的区域是否发生超甲基化。在 GSTP1 基因情况中，这是最常见的。超甲基化区域是那些与正常组织比较，患病组织样本中甲基化达到了统计学上显著更高程度的区域。

针对本发明的目的，使用特异于某些标志物区域的核酸探针或报道分子来检测生物流体或组织中标志物基因甲基化区域的存在。通过例如 PCR 的技术，基于标志物序列的某些部分的寡核苷酸引物特别适用于扩增 DNA。可以使用含可检测量的相关多核苷酸的任何样品。本发明优选的样品为泌尿生殖源组织，特别是前列腺组织。样本优选包括上皮细胞。

本发明一些引物/探针或报道分子试剂被用来检测标志物基因表达控制序列的甲基化。这些是调控核酸序列转录、有时也调控翻译的核酸序列。因而，表达控制序列可包括如下序列：启动子、增强子、转录终止子、起始密码子（即 ATG）、内含子剪接信号、可使 mRNA 准确翻译的维持正确基因读框的序列及终止密码子。

GSTP1 启动子是有用的标志物的典型表达控制序列。它是能指导基因转录产生谷胱甘肽 S-转移酶蛋白的多核苷酸序列。启动子区位于结构基因上游或

5'位。它包括足以使得启动子依赖型基因表达对于细胞类型特异性、组织特异性都是可控制的、或者对于外部信号或试剂是诱导的一些元件；所述的元件可位于多核苷酸序列的5'区或3'区。

本发明的一种方法包括用结合核酸的试剂接触含标志物的靶细胞。靶细胞的成分为核酸，例如DNA或RNA。试剂包括探针和引物（如PCR或MSP引物）或被设计成用于扩增和检测靶序列的其它分子。例如，试剂可包括结合或键合它们自身报道分子片段的引导序列，如称为Scorpion试剂或Scorpion报道分子的试剂，参见Whitcombe等人的美国专利6,326,145和6,270,967（此处全部引用作为参考）所述。虽然它们描述不同，但用于本说明书中的“引物”和“引导序列”术语是指引导核酸序列扩增的分子或其部分。

一种检测甲基化模式的敏感方法包括联合使用甲基化敏感酶与聚合酶链反应（PCR）。在DNA经过酶消化后，只有甲基化抑制DNA裂解，那么位于限制性酶切位点两侧的引物才能进行PCR扩增。根据来源于GSTP1转录起始位点的M24485（Genbank）基因组位点数，本发明设计的PCR引物的典型靶区域包括位于约-71和+59bp的区域两侧的引物。

本发明的方法也包括用修饰未甲基化胞嘧啶的试剂来接触含核酸的样品；利用CpG特异性寡核苷酸引物来扩增样品中含CpG的核酸；并且检测甲基化的核酸。优选的修饰是将未甲基化的胞嘧啶转化成可区分甲基化的胞嘧啶和未甲基化的胞嘧啶的另一种核苷酸。优选地，修饰未甲基化的胞嘧啶使之转变为尿嘧啶的试剂是亚硫酸氢钠，然而也可用修饰未甲基化胞嘧啶、而不能修饰甲基化胞嘧啶的其它试剂。亚硫酸氢钠（ NaHSO_3 ）修饰是最优选的，并易与胞嘧啶的5,6-双键发生反应，但不易与甲基化的胞嘧啶发生反应。胞嘧啶与亚硫酸氢根离子发生反应生成磺化胞嘧啶反应中间体，易脱氨基形成磺化尿嘧啶。磺酸酯基团在碱性条件下去除最终形成尿嘧啶。在PCR过程中，Taq聚合酶将尿嘧啶识别为胸腺嘧啶，得到的产物仅仅在起始模板中5-甲基胞嘧啶存在的位置上含有胞嘧啶。相似地，Scorpion报道分子，试剂及其它检测系统也是用这种方式处理来区别未修饰和修饰的样本。

修饰（如用亚硫酸氢盐）后，本发明中用于扩增样品中含CpG核酸的引物，可特异性区别未处理的DNA、甲基化和未甲基化DNA。在甲基化特异性PCR（MSPCR）中，未甲基化DNA的引物和引导序列优选在3CG碱基对中

有 T 碱基，以此来区别在甲基化 DNA 中残留的 C，并且用互补序列设计得到反义引物。由于在有义引物中缺少 C 而反义引物中没有 G，所以未甲基化 DNA 的 MSP 引物或引导序列通常包括相对较少的 C 或 G（C 修饰成 U（尿嘧啶），U 在扩增产物中变成了 T（胸腺嘧啶））。

本发明的引物是具有足够长度和适当序列的寡核苷酸，这种序列在多态性基因座的大量核酸上为聚合反应提供特异性起始。当接触本发明的探针或报道分子时，本发明的引物所扩增的序列显示了甲基化状态和诊断信息。与现有的技术相比，它们更灵敏、更特异。

本发明的引物最优选地是能起始引物延伸产物的合成的、八个或更多的脱氧核糖核酸或核糖核酸，其中它们基本上与多态性基因座链互补。有利于合成的环境条件包括存在核苷三磷酸、适于聚合的试剂（如 DNA 聚合酶）、合适的温度和 pH。为了达到最大扩增效率，引物的引导片段或引导序列优选单链，也可以是双链。如果是双链，在用于制备延伸产物之前首先将其处理以分开链。在诱导聚合的试剂下，引物必须要有足够的长度来引导延伸产物的合成。引物的确切长度取决于如温度、缓冲液和核苷酸组成等因素。优选地根据众所周知的设计方针或规则，寡核苷酸引物最优选地包括约 12-20 个核苷酸，尽管它们可能包括更多或更少的核苷酸。

本发明的引物设计成基本与待扩增的基因组的基因座的每条链互补，并且还包含如上所述的合适的 G 或 C。这就意味着在适于聚合的试剂情况下，引物必须能足够地与它们各自的链互补以便杂交。也就是说，引物必须与要杂交的序列 5' 和 3' 两侧序列足够互补，才能使基因组的基因座得到扩增。

本发明的引物应用于扩增方法。即，相对于所包括的反应步骤数，产生较多数量的靶基因座的反应（优选酶促链式反应）。在最优选的实施方案中，反应产生了指数量级更大量的靶基因座。此类反应包括 PCR 反应。一般地，一条引物与基因座的负（-）链互补，另一条引物与基因座的正（+）链互补。引物与变性核酸进行退火，随后由酶（如 DNA 聚合酶 I 的大片段（Klenow））和核苷酸进行延伸，最终形成含有靶基因座序列的新合成的“+”和“-”链。链式反应产物是不连续的核酸双链体，其末端对应于所用特异性引物的末端。

可以使用适当的方式制备本发明的引物，如常规的磷酸二酯和磷酸三酯方法（包括自动方法）。在一种所述的自动化的实施方案中，以二乙基亚磷酰胺

作为起始材料, 根据 Beaucage 等人 (Tetrahedron Letters, 22: 1859-1862, 1981) 所述进行合成。在美国专利 No.4,458,066 中描述了在修饰的固体支持物上合成寡核苷酸的方法。

纯化的及未纯化的任何核酸样品都能用作起始核酸, 前提是含有(或疑似含有) 包含靶基因座(如 CpG) 的特异核酸序列。因此, 例如, 本方法可以使用 DNA 或 RNA(包括信使 RNA)。DNA 或 RNA 可以是单链或双链。如果 RNA 作为模板, 应当使用最适于将模板反转录成 DNA 的酶和/或条件。另外, 也可以用两条链分别作为 DNA 和 RNA 的 DNA-RNA 杂交链。也可以使用核酸的混合物, 或者可以利用以前使用相似的或不同的引物进行扩增反应所产生的核酸。所扩增的特异核酸序列(即靶基因座) 可以是高分子的片段, 或者最初也可作为不连续的分子存在以便特异序列构成完整的核酸。

用于检测甲基化 CpG 的含有核酸的样品可以来自任何来源, 如组织(特别是前列腺组织和淋巴组织)、血液、淋巴、尿液和精液, 并通过例如 Maniatis 等人 (Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor, N. Y., pp 280, 281, 1982) 所述的多种技术进行提取。

如果提取的样本不纯, 在扩增前可以用一定量的试剂处理, 该试剂有效开放样本的细胞、流体、组织或动物细胞膜, 并且暴露和/或分离核酸链。暴露和分离核酸链的裂解和核酸变性步骤可更易于扩增。

当样本的靶核酸序列含有两条链时, 在其作为模板前, 必须将核酸链解开。既可作为单独步骤也可与引物延伸产物的合成一起进行解链。使用各种适宜的变性条件, 包括物理、化学或酶促方法, 来实施解链。一种解链的物理方法包括加热核酸直至使其变性。典型的热变性温度包括温度范围大约 80-105°C 最多 10 分钟。通过来自称为解旋酶的一类酶或者具有解旋酶活性的 RecA 酶, 并且在核糖 ATP(已知可变性 DNA) 存在的条件下诱导解链。Kuhn Hoffmann-Berling (CSH-Quantitative Biology, 43:63, 1978) 描述了使用解旋酶、适于核酸解链的反应条件。C. Radding (Ann. Rev. Genetics, 16:405-437, 1982) 综述了使用 RecA 的技术。这些技术的改进现在是众所周知的。

不管核酸最初是双链还是单链, 当核酸的互补链分开时, 分开的链都适于作为用于另外核酸链合成的模板。在允许引物杂交到模板上的条件下进行合成。通常合成在缓冲水溶液中进行, 优选在 pH7-9, 最优选 pH 约 8。优选将摩

尔过量（对于基因组核酸，引物:模板一般为约 $10^8:1$ ）的两个寡核苷酸引物加入含有已解开的模板链的缓冲液中。如果本发明方法用于诊断应用，可能不知道互补链的量，因此无法总是确切地测定相对于互补链的引物量。然而，实际来看，当要扩增的序列存在于复杂的长链核酸混合物中时，所加的引物量通常在摩尔量上要比互补链（模板）过量。优选摩尔量大大过量，以提高本方法的效率。

将足量的脱氧核糖核苷三磷酸 dATP、dCTP、dGTP 和 dTTP 以足够量单独加入或与引物一起加入到合成混合物中，并将所得的溶液加热到约 90-100°C 最多 10 分钟，优选 1 到 4 分钟。在该加热阶段后，溶液冷却到室温，以适于引物杂交。将适当的可实现引物延伸反应的试剂（“用于聚合的试剂”）加入到冷却的混合物中，并在本领域公知的条件下进行反应。如果用于聚合的试剂是热稳定的，也可将该试剂与其他试剂一起加入。该合成（或扩增）反应可以在室温直到用于聚合的试剂不再发生作用的温度下进行。

用于聚合的试剂可以是能实现引物延伸产物合成的任何化合物或系统，优选酶。满足此目的的适宜的酶包括，例如，大肠杆菌 (*E. coli*) DNA 聚合酶 1、大肠杆菌 DNA 聚合酶 I 的 Klenow 片段、T4 DNA 聚合酶、其它可用的 DNA 聚合酶、聚合酶突变蛋白 (muten)、反转录酶和其它酶，包括热稳定酶（例如，在升到足以导致变性的温度时可进行引物延伸的酶）。优选的试剂是 Taq 聚合酶。合适的酶会便于以适宜的方式组合核苷酸以形成与每一基因座的核酸链互补的引物延伸产物。通常，合成在每一引物的 3' 末端开始，并沿着模板链向 5' 方向进行，直到合成终止，这产生不同长度的分子。然而，使用上面描述的不同方法，用于聚合的试剂也可以是由 5' 末端起始合成，并朝另一方向进行。

最优选地，扩增方法是 PCR。只要通过使用本发明引物的 PCR 所扩增的甲基化和非甲基化基因座也能相似地通过其它方法扩增，也可使用另外的扩增方法。

通过特异于如 Mullis 等人的美国专利 4,683,195（此处全部引用作为参考）所述的产物的探针或报道分子，扩增产物优选鉴定为甲基化或非甲基化。用于检测多核苷酸的探针和报道分子领域中的进展对于本领域技术人员是众所周知的。任选地，核酸的甲基化模式能够通过其他的技术得以证实，如限制酶消化

以及 Southern 印迹分析。能够用于检测 5' CpG 甲基化的甲基化敏感型限制性内切酶的实例包括 SmaI、SacII、EagI、MspI、HpaII、BstUI 和 BssHII。

本发明最优选的方法包括确定甲基化比率。这可以通过确定获得的标志物扩增得到的甲基化种类的量与扩增的参照标志物或扩增的非甲基化标志物区的量之间的比率而得到。以上最好使用实时定量 PCR。当比率高于确定的或预先确定的截止值 (cutoff) 或阈值, 就认为是超甲基化, 并显示具有增殖性疾病, 如癌症 (在 GSTP1 情况下为前列腺癌)。根据已知方法确定截止值, 这些方法至少用于两套样本: 具有已知疾病状况的样本和具有已知正常状况的样本。本发明的参照标志物也用作内部对照。参照标志物优选是在样本的细胞中组成表达的基因, 如 β 肌动蛋白。

本发明方法和试剂盒可以包括适于多路技术 (multiplexing) 的步骤和试剂。也就是说, 每次能够鉴定多于一种标志物。

由于与标志物相关的基因的转录水平降低经常是表达控制序列 (例如启动子序列) 的多核苷酸序列和/或特殊元件超甲基化的结果, 因此制备了与这些序列匹配的引物。因此, 通过在标志物的表达控制区或启动子区中检测特定区域的甲基化, 本发明提供了检测或诊断细胞增殖性疾病的方法。用于检测这些区域甲基化的探针适用于所述的诊断或预后方法。下面显示用于检测标志物的优选分子。括号中表示的是标志物基因的简称与所用检测系统的类型。反义仅指的是引物的方向, 这样指定是相关于其与相关引物对的另一成员的引物序列。至于基因组 DNA, 不必是反义的。

SEQ ID NO. 1 (GSTP1 SCORPION):

CCCCGAACGTCGACCGCTCGGGG-BHQ-HEG-CGATTTCGGGGATTTTAGGGCGT

SEQ ID NO. 2 (GSTP1 SCORPION 反义引物):

AAAATCCCGCGAACTCCCGCC

SEQ ID NO. 3 (GSTP1 SCORPION):

CCCGAACGTCGACCGCTTTCGGG-BHQ-HEG-CGATTTCGGGGATTTTAGGGCGT

SEQ ID NO. 4 (GSTP1 SCORPION 反义引物):

AAAATCCCGCGAACTCCCGCC

SEQ ID NO. 5 (GSTP1 SCORPION):

CGCGGGGAGTTCGCGGGCGCCG-BHQ-HEG-ACTAAATCACGACGCCGACCGC

SEQ ID NO. 6 (GSTP1 SCORPION 反义引物):

CGGTAGTTGCGCGGCGATTC

SEQ ID NO. 7 (GSTP1 SCORPION):

CGGGAGTTCGCGGGTCCCG-BHQ-HEG-ACTAAATCACGACGCCGACCGC

SEQ ID NO. 8 (GSTP1 SCORPION 反义引物):

CGGTAGTTGCGCGGCGATTC

SEQ ID NO. 9 (GSTP1 SCORPION):

GTGGTTGATGTTTGGGGTATCAACCAC-BHQ-HEG_AATCCCACAAACTCCCACCAACC

SEQ ID NO. 10 (GSTP1 SCORPION 反义引物):

GTGGTGATTTTGGGGATTTTAGGGTGT

SEQ ID NO. 11 (GSTP1 SCORPION):

ACCCAGTGGTTGATGTTTGGGGT-BHQ-HEG-AATCCCACAAACTCCCACCAACC

SEQ ID NO. 12 (GSTP1 SCORPION 反义引物):

GTGGTGATTTTGGGGATTTTAGGGTGT

SEQ ID NO. 13 (GSTP1 SCORPION):

CCCCACAGGTTGGTGGGAGTTTGTGGGG-BHQ-HEG-

CCCAATACTAAATCACAACACCAACCAC

SEQ ID NO. 14 (GSTP1 SCORPION 反义引物):

TGGTTAGTTGTGTGGTGATTTTGGGGA

SEQ ID NO. 15 (GSTP1 SCORPION):

CCCCGAACGTCGACCGCTCGGGG-BHQ-HEG- CGATTCGGGGATTTTAGGGCGT
SEQ ID NO. 16 (GSTP1 SCORPION 反义引物):
 AAAATCCCGCGAACTCCCGCC

SEQ ID NO. 17 (GSTP1 SCORPION):
 CGCACGCCGAACGTCGACCGCAAACGTGCG-BHQ-HEG-
 CGATTTTCGGGGATTTTAGGGCGT
SEQ ID NO. 18 (GSTP1 SCORPION 反义引物):
 AAAATCCCGCGAACTCCCGCC

SEQ ID NO. 19 (GSTP1 SCORPION):
 CGCACGGCGAACTCCCGCCGACGTGCG BHQ-HEG-TGTAGCGGTCGTCGGGGTTG
SEQ ID NO. 20 (GSTP1 SCORPION 反义引物):
 GCCCAATACTAAATCACGACG

SEQ ID NO. 21 (GSTP1 SCORPION):
 CCGACGCACAAAAAACACCCCTAAAATCCGTCGG-BHQ-HEG-
 GGTTAGTTGTGTGGTGATTTT
SEQ ID NO. 22 (GSTP1 SCORPION 反义引物):
 CACAACACCAACCACTCTC

SEQ ID NO. 23 (GSTP1 TAQMAN 引物):
 CGTGATTTAGTATTGGGGCGGAGCGGGGC

SEQ ID NO. 24 (GSTP1 TAQMAN 引物):
 ATCCCCGAAAAACGAACCGCGCGTA

SEQ ID NO. 25 (GSTP1 TAQMAN 探针):
 TCGGAGGTCGCGAGGTTTTCGTTGGA

SEQ ID NO. 26 (RARB2 SCORPION):
 GCCGCCGTCGAGAACGCGAGCGGGCGGC-BHQ-HEG-TACCCCGACGATACCCAAAC
SEQ ID NO. 27 (RARB2 SCORPION 反义引物):
 GGGATTAGAATTTTTTATGCGAGTTGT

SEQ ID NO. 28 (RARB2 SCORPION):
 CGGCAGGATTGGGATGTCGAGCTGCCG-BHQ-HEG-TACCCCGACGATACCCAAAC
SEQ ID NO. 29 (RARB2 SCORPION 反义引物):
 GGGATTAGAATTTTTTATGCGAGTTGT

SEQ ID NO. 30 (RASSF1A SCORPION):
 GCCGCGGTTTCGTTTCGGTTCGCGGC-BHQ-HEG-CCCGTACTTCGCTAACTTTAAACG
SEQ ID NO. 31 (RASSF1A SCORPION 反义引物):
 GCGTTGAAGTCGGGGTTC

SEQ ID NO. 32 (TIMP3 SCORPION):
 GCGGCGAGTTCGGGTTGTAGCGCCGC-BHQ-HEG-CGCCTCTCCAAAATTACCGTAC
SEQ ID NO. 33 (TIMP3 SCORPION 反义引物):
 GCGTCGGAGGTTAAGGTTGT

SEQ ID NO. 34 (APC SCORPION):
 GCCGGCGGGTTTTCGACGGGCCCGGC-BHQ-HEG-CGAACCAAAAACGCTCCCCA
SEQ ID NO. 35 (APC SCORPION 反义引物):
 GTCGGTTACGTGCGTTTATATTTAG

SEQ ID NO. 36 (ACTIN SCORPION):

GCGCCCAACCGCACAAAGGGCGC-BHQ-HEG-GGGTATATTTTCGAGGGGTACG
SEQ ID NO. 37 (ACTIN SCORPION 反义引物):
 CGACCCGCACTCCGCAAT

SEQ ID NO. 38(ACTIN SCORPION):
 CCGCGCATCACCACCCACACGCGCGG-BHQ-HEG-GGAGTATATAGGTTGGGGAAGTTTG
SEQ ID NO. 39 (ACTIN SCORPION 反义引物):
 AACACACAATAACAAACACAAATTCAC

SEQ ID NO. 40 (ACTIN SCORPION):
 CCCGGCTAAACCCACCATCCAGCCGGG-BHQ-HEG-GGGAGGGTAGTTTAGTTGTGGTT
SEQ ID NO. 41 (ACTIN SCORPION 反义引物):
 CAAAACAAAAAACTAAATCTACACAACC

SEQ ID NO. 42 (ACTIN SCORPION):
 CCGCGGAACATTCAACTCAACCGCGG-BHQ-HEG-GGAGGAGGAAGGTAGGTTTTT
SEQ ID NO. 43 (ACTIN SCORPION 反义引物):
 ACATACAACAATCAATAACATAAAACCAC

SEQ ID NO. 44 (PTGS2/COX2 SCORPION):
 CACGCCCGCTATCTAGGCGTG-BHQ-HEG-GTTTGTTCGACGTGATTTTTTCGA
SEQ ID NO. 45 (PTGS2/COX2 反义引物):
 GCAAAAAATCCCCTCTCCCGC

SEQ ID NO. 46 (PTGS2/COX2 SCORPION):
 GCCGCGCACAAATTTCCGCGGC-BHQ-HEG-GAATTGGTTTTTCGGAAGCGTTTCG
SEQ ID NO. 47 (PTGS2/COX2 反义引物):
 CCCGAATTCCACCGCC

SEQ ID NO. 48 (PTGS2/COX2 SCORPION):
 GGCGGAACGCACAAATTTCCGCC-BHQ-HEG-GAATTGGTTTTTCGGAAGCGTTTCG
SEQ ID NO. 49 (PTGS2/COX2 反义引物):
 CCCGAATTCCACCGCC

SEQ ID NO. 50 (PTGS2/COX2 SCORPION):
 TGCCGCCGCGTATCTAATGGCGGCA-BHQ-HEG-GTTTGTTCGACGTGATTTTTTCGA
SEQ ID NO. 51 (PTGS2/COX2 反义引物):
 GCAAAAAATCCCCTCTCCCGC

SEQ ID NO. 52 (14-3-3 SCORPION):
 CGGCCTTCGCTCTTCGAAAAGGCCG-BHQ-HEG-GGTAGTTTTTATGAAAGGCGTCGTG
SEQ ID NO. 53 (14-3-3 反义引物):
 CTAACCGCCACCACGTT

BHQ=Black Hole 猝灭剂 (BioSearch Technologies, San Fransisco, CA)

HEG=六甘醇

本发明的试剂盒可用多种成分构造, 前提是它们都至少含有本发明的一种引物或探针或检测分子 (如 Scorpion 报道分子)。在一个实施方案中, 试剂盒包括用于扩增和检测超甲基化标志物片段的试剂。任选地, 本试剂盒包括从样本中提取核酸的样本制备试剂和/或物品 (例如试管)。

在优选的试剂盒中, 包含一管 MSP 所必需的试剂, 如对应的 PCR 引物组、热稳定 DNA 聚合酶 (如 Taq 聚合酶) 以及适当的检测试剂 (如水解探针或分子信标)。在任选的优选试剂盒中, 检测试剂为 Scorpion 报道分子或试剂。检测试剂也可以用单独的染料引物或对双链 DNA 特异的荧光染料, 如溴化乙锭。优选引物的量产生高浓度。试剂盒中的额外材料包括: 适宜的反应管或小瓶, 屏障成分, 一般是蜡珠, 任选地包含镁; 必需的缓冲液和试剂, 如 dNTPs; 对照核酸和/或任何额外的缓冲液、化合物、辅因子、离子组分、蛋白质和酶、聚合物以及在 MSP 反应中所用到的其它成分。或者, 试剂盒包括核酸提取试剂和材料。

实施例

实施例 1: 比较例

根据文献中的引物和探针设计了水解探针分析法, 并针对用于检测具有临床局限性疾病的患者的前列腺癌的定量分析。本分析法包含用于区别肿瘤性和非肿瘤性前列腺组织的核心 CpG 启动子区。

以下是本设计所测验的引物和双标记水解探针序列:

正向引物 GSTP1; (-192) MU17 AGTTGCGCGGCGATTTC (Seq. ID No.65)

反向引物 GSTP1; (-74) ML22 GCCCCAATACTAAATCACGACG (Seq. ID No.20)

探针 (5' FAM/3' TAMRA) GSTP1; (-152) MP23

CGGTCGACGTTTCGGGGTGTAGCG (Seq. ID. No. 66)

在 12 个良性前列腺增生 (BPH) 的样本、12 个临床局限性前列腺癌 (肿瘤) 样本以及 2 个正常样本中分析 GSTP1 甲基化水平。数据结果用检测到的 GSTP1 的总拷贝数表示, 见图 1 所示。将截止值定为良性样本展示的最高拷贝数时, 对于检测前列腺癌, 分析法显示了 75% 的灵敏性。在良性前列腺增生症和临床局限性前列腺癌的前列腺组织中, GSTP1 甲基化分布水平是, 这表明这种鉴定法需要用另外标志物补充才能是中等的临床相关的。

实施例2（根据本发明的水解探针鉴定法）

为了进一步提高 GSTP1 分析法的灵敏性和特异性，设计了 MSP 引物和探针，并对实施例 1 中的相同样本进行检测。该设计定位在 CpG 岛的更下游处，包含部分核心启动子区和外显子 1。本实施例测试所用的引物和双标记水解探针序列如下：

正向引物：(-71) MU29 CGTGATTAGTATTGGGGCGGAGCGGGGC
(Seq. ID No. 23)

反向引物：(+59) ML25 ATCCCCGAAAACGAACCGCGCGTA (Seq. ID
No.24)

探针（5'FAM/3'TAMRA）GSTP1; (-23) MP26

TCGGAGGTCGCGAGGTTTTCGTTGGA (Seq. ID No. 25)

数据结果用检测到的 GSTP1 的总拷贝数表示，见图 2 所示。当截止值定为良性样本展示的最高拷贝数时，对于检测前列腺癌，该分析法显示了 100% 的敏感性和 100% 的特异性。

GSTP1 的 1.5kb CpG 岛范围为从启动子到外显子 3，并具有广泛的甲基化。两个转录结合位点 AP1 和 SP1 刚好位于外显子 1 上游，由于 SP1 中 CpG 的含量很高，AP1 和 SP1 是本实施例中所用探针和引物设计的焦点。此区经证明是分析设计的一个很好的区域，这是因为转录因子和结合在 AP1 和 SP1 位点的甲基-CpG 结合蛋白质之间会进行竞争，以诱导染色质凝缩和基因沉默。

实施例3：Scorpion MSP

设计用于以下标志物和参照标志物的 Scorpion 试剂：

Seq. ID No. 19, 20 (GSTP1)

Seq. ID No. 38, 39 (肌动蛋白)

Seq. ID No. 28, 29 (RARβ2)

Seq. ID No. 30, 31 (RASSF1A)

Seq. ID No. 32, 33 (TIMP3)

Seq. ID No. 34, 35 (APC)

Seq. ID No. 50, 51 (PTGS2)

Seq. ID No. 52, 53 (14-3-3 σ)

使用 Oligo6 引物设计软件 (Molecular Biology Insights, Cascade, CO, 美国) 和 Visual OMP (DNA Software, Inc., 120½ West Washington Street Ann Arbor, MI, 美国) 对设计物测试其二级结构和不适当的二聚体形成。使用 DNA mfold 程序 (<http://bioinfo.math.rpi.edu/~mfold/dna/form1.cgi>) 和 Visual OMP (DNA Software, Inc., 120½ West Washington Street Ann Arbor, MI, 美国) 对 Scorpion 折叠和扩增子探测进行了模拟。使用标准的亚磷酸化学法 (Scandinavian Gene Synthesis AB, Koping, 瑞典) 和 Biosearch Technologies (Novato, CA, 美国), 在自动 DNA 合成仪上合成 Scorpion 和引物。

实施例 3 Scorpion 试剂测试:

实施例 2 中所述的试剂在多种人类 DNA 样本上进行测试。这些样本包括商用的甲基化 (鸟嘌呤前面的所有胞嘧啶都在第 5 位甲基化) 和非甲基化的人类基因组 DNA (Chemicon, Temecula, CA, 美国), 它们分别作为正和负模板。来自人乳腺癌细胞系 MCF-7 和结肠癌细胞系 HCT116 的基因组 DNA 也分别用作 GSTP1 甲基化的阳性对照和阴性对照 (美国典型培养物保藏中心, Manassas, VA, 美国)。

使用商用的亚硫酸氢钠转换试剂盒 (Zymo Research, Orange, CA, 美国) 修饰基因组 DNA。这种处理将非甲基化 DNA 中的所有胞嘧啶都转换为尿嘧啶, 然而在甲基化 DNA 中只有不位于鸟嘌呤前方的胞嘧啶才转换为尿嘧啶。所有位于鸟嘌呤前的胞嘧啶 (在 CpG 二核苷酸中) 仍是胞嘧啶。

在 25 μ l 反应体系中扩增亚硫酸氢钠修饰的基因组 DNA (100-150ng), 反应体系包括以下组分: 67mM Tris pH 8.8, 16.6 mM (NH₄)₂SO₄, 6.7mM MgCl₂, 10mM β -巯基乙醇; dATP、dCTP、dGTP、dTTP 各 1.25 mM, 1 U Hot start Taq DNA 聚合酶, 250 nM Scorpion 探针, 250 nM 反向或正向引物 (取决于 scorpion 设计), 625 nM 钝态参照染料, ROX (仅仅用于 ABI7900)。

然后在 ABI 7900HT 序列检测系统和/或 Cepheid SmartCycler[®] PCR 仪中使用定量实时 PCR 方法测试样本。

PCR 条件如下:

ABI 7900 运行条件:

95°C 5 分钟；然后 40 循环的 95°C 30 秒、59°C 30 秒和 72°C 30 秒；最后在 72°C 延伸 5 分钟。每次循环在 59°C 时收集光数据。

Cepheid smart cycler 运行条件：

95°C 60 秒；然后 40 循环的 95°C 30 秒、59°C 30 秒，最后在 72°C 延伸 5 分钟。每次循环在 59°C 时收集光数据。

Scorpion 试剂显示的 PCR 效率为：当用 GSTP1 试剂时为 91.2%；当用肌动蛋白试剂时为 95.2%。C_t 平均值为：

GSTP1	28
β肌动蛋白	30
APC	29
TIMP3	30
RASSF1A	29
RARB2	29
PTGS2	33
14-3-3 S	32

实施例 4：分子信标比较

得到的分子信标用于检测沿实施例 1 中所述基因部分的 GSTP1 超甲基化。这些信标用于对包含实施例 2 中所述的样本的 PCR 反应。在每种情况中，分别对β肌动蛋白进行共扩增以获得甲基化比率。在检测甲基化 GSTP1 DNA 和非甲基化的β肌动蛋白 DNA 时，GSTP1 和β肌动蛋白 Scorpion 探针-引物组合显示了更好的性能。用于所设计的 Scorpion 组的 C_t 阈值多于 1.5 C_t，比分子信标探针更好（分子信标的 C_t 平均值为 28.82，Scorpion 报道分子的 C_t 值为 27.30）。结果如下：

通用甲基化 DNA, ng	500	250	100	50	10	5
Scorpion (GSTP1/β肌动蛋白拷贝数比)	272	310	285	296	339	288
分子信标 (GSTP1/β肌动蛋白拷贝数比)	759	735	758	767	797	814

实施例 5 甲基化比截止值

如实施例 2 所述，对已知具有临床病症的患者的前列腺组织样本进行 PCR。计算出的甲基化比率如下。使用下述程序分析数据。在应用算法前，必须遵照以下先决条件。

对于β肌动蛋白：对于两份复制样品，CT 值<40（通过实时 PCR 仪来测定）

对于“甲基化”的 GSTP1 结果：对于两份复制样品，CT 值<40（通过实时 PCR 仪来测定）

上述的两个标准曲线的斜率大于-4（PCR 效率>80%）

R2: 0.99，在标准曲线上 4 个相关的数据点

阳性分析对照须产生一个阳性结果

常规包括的无模板的对照（标准曲线）须为阴性

若满足先决条件，就可根据标准曲线计算出每个基因（GSTP1 和肌动蛋白基因）的拷贝数。进而可使用公式：（GSTP1 拷贝数/β-肌动蛋白拷贝数）×1000，计算出每个样本的比率（包括阳性对照）。通过使用能产生高特异性和高灵敏度的比率来确定截止值。对于 142 个经福尔马林固定石蜡包埋前列腺的组织，对 GSTP1 将截止设为 10，提供了 87%的灵敏度和 100%的特异性。使用下列标准，所产生的比率用来确定某一给定样本的甲基化状态。

结果	拷贝数 (mGSTP1)	拷贝数 (β-肌动蛋白)	比值×1000
甲基化的 GSTP1	>2	>2	>10
未甲基化的 GSTP1	任意值	>200	<10
未确定的	<2	<200	

本领域技术人员清楚，可调整截止值，优选地设定灵敏性和特异值以适应应用它们的目的（例如，筛选、治疗监控、不明确诊断的反射测试）。

实施例 6 组合标期物（预后的）

根据实施例 1 所述准备以下组合的 Scorpion 试剂：GSTP1 标志物和 RAR β 2、GSTP1 和 APC，以及 GSTP1 和 PTGS2。通过重复运行 50 个已知状况（即正常、良性增生、前列腺癌）的前列腺组织样本，根据实施例 2，组合使用标

标志物作为多路 PCR。以下是预期的结果:

标志物	Seq. ID No.	灵敏度	特异性
GSTP1+RAR β 2		90%	100%
GSTP1+APC		96.2%	92.9
GSTP1+PTGS2		96.2	100

序列表

<110> VENER, Tatiana
 MEHROTRA, Jyoti
 VARDE, Shobha
 MAZUMDER, Abhijit
 BADEN, Jon
 BACKUS, John

<120> 检测基因甲基化

<130> VDX5027USNP

<140> 60/717790

<141> 2005-09-15

<160> 66

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (23)..(23)

<223> -BHQ-HEG-

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (23)..(23)

<223> -BHQ (Black Hole 猝灭剂) -HEG (六甘醇) -

<400> 1

ccccgaacgt cgaccgctcg gggcgatttc ggggatttta gggcgt

46

- <210> 2
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> GSTP1 Scorpion 反义引物
- <400> 2
 aaaatccgc gaactccgc c 21
- <210> 3
 <211> 46
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> GSTP1 Scorpion
- <220>
 <221> 修饰碱基
 <222> (23)..(23)
 <223> -BHQ-HEG-
- <400> 3
 cccgaacgc gaccgttc gggcgattc ggggattta ggcgt 46
- <210> 4
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> GSTP1 Scorpion 反义引物
- <400> 4
 aaaatccgc gaactccgc c 21
- <210> 5
 <211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (22)..(22)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 5

cggcgggagt tcgcgggcgc cgactaaatc acgacgccga ccgc

44

<210> 6

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion 反义引物

<400> 6

cggttagttg cgcgcgatt tc

22

<210> 7

<211> 41

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (19)..(19)

<223> -BHQ-HEG-

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (25)..(25)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 7

cgggagtgc cgggtcccga ctaaatacag acgccgaccg c

41

<210> 8

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion 反义引物

<400> 8

cggtagtgc cgcggcgatt tc

22

<210> 9

<211> 50

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (27)..(27)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 9

gtggtgatg ttgggggat caaccacaat cccacaaact cccaccaacc

50

<210> 10

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion 反义引物

<400> 10	
gtggtgatt tggggatttt aggggtg	27
<210> 11	
<211> 47	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> GSTP1 Scorpion	
<220>	
<221> 修饰碱基	
<222> (24)..(24)	
<223> -BHQ-HEG-	
<400> 11	
accccgatgg ttgatgttg gggtaatccc acaaactccc accaacc	47
<210> 12	
<211> 27	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> GSTP1 Scorpion	
<400> 12	
gtggtgatt tggggatttt aggggtg	27
<210> 13	
<211> 56	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> GSTP1 Scorpion	

<220>
 <221> 修饰碱基
 <222> (28)..(28)
 <223> -BHQ-HEG-

 <400> 13
 cccacaggt tgggggagt ttgtggggcc caatactaaa tcacaacacc aaccac 56

<210> 14
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> GSTP1 Scorpion 反义引物

<400> 14
 tggtagttg tgtggtgatt ttgggga 27

<210> 15
 <211> 46
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> GSTP1 Scorpion

<220>
 <221> 修饰碱基
 <222> (23)..(23)
 <223> -BHQ-HEG-

<400> 15
 cccccaactg cgaccgctcg gggcgatttc ggggatttta gggcgt 46

<210> 16
 <211> 21
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion 反义引物

<400> 16

aaaatcccgc gaactcccgc c

21

<210> 17

<211> 53

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (30)..(30)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 17

cgcacgccga acgtcgaccg caaacgtgcg cgatttcggg gatttaggg cgt

53

<210> 18

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion 反义引物

<400> 18

aaaatcccgc gaactcccgc c

21

<210> 19

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (27)..(27)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 19

gacacggcga actcccgccg acgtgcgtgt agcggtcgtc ggggttg

47

<210> 20

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion 反义引物

<400> 20

gccccaatc taaatcacga cg

22

<210> 21

<211> 55

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (34)..(34)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 21

ccgacgcaca aaaaaacacc ctaaatccg tcggggttag ttgtgtgtg atttt

55

<210> 22

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Scorpion 反义引物

<400> 22

cacaacacca accactcttc

20

<210> 23

<211> 29

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Taqman 引物

<400> 23

cgtgatttag tattggggcg gagcggggc

29

<210> 24

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Taqman 引物

<400> 24

atccccgaaa aacgaaccgc gcgta

25

<210> 25

<211> 26

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 Taqman 探针

<400> 25

tcggaggtcg cgaggtttc gttgga

26

<210> 26
 <211> 48
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> RARB2 Scorpion

<220>
 <221> 修饰碱基
 <222> (28)..(28)
 <223> -BHQ-HEG-

<400> 26
 gccgccgtcg agaacgcgag cggggcgcta ccccgacgat acccaaac 48

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

<220>
 <223> RARB2 Scorpion 反义引物

<400> 27
 gggattagaa tttttatgc gagttgt 27

<210> 28
 <211> 47
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> RARB2 Scorpion

<220>
 <221> 修饰碱基
 <222> (27)..(27)
 <223> -BHQ-HEG-

- <400> 28
cggcaggatt gggatgtcga gctgccgtac cccgacgata cccaac 47
- <210> 29
 <211> 27
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> RARB2 Scorpion 反义引物
- <400> 29
gggattagaa tttttatgc gagttgt 27
- <210> 30
 <211> 49
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> RASSF1A Scorpion
- <220>
 <221> 修饰碱基
 <222> (25)..(25)
 <223> -BHQ-HEG-
- <400> 30
gccgcggttt cgctcggttc gggccccgt acttcgctaa cttaaacg 49
- <210> 31
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> 人工序列
- <220>
 <223> RASSF1A Scorpion 反义引物
- <400> 31

gcgttgaagt cggggttc

18

<210> 32

i) <211> 48

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

l) <223> TIMP3 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (26)..(26)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 32

gcggcgagtt cgggtttag cgcccgcc tcctcaaat tacctac

48

<210> 33

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> TIMP3 Scorpion 反义引物

<400> 33

gcgtcggagg ttaaggtgt t

21

<210> 34

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> APC Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (25)..(25)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 34

gccggcgggt ttcgacggg cggccgaac caaaacgctc ccca

44

<210> 35

<211> 25

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> APC Scorpion 反义引物

<400> 35

gtcggttacg tgcgtttata tttag

25

<210> 36

<211> 44

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 肌动蛋白 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (22)..(22)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 36

gcgccaacc gcacaaggc gcgggtatat ttcgagggg tacg

44

<210> 37

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 肌动蛋白 Scorpion 反义引物

<400> 37
cgacccgcac tccgcaat 18

<210> 38
<211> 52
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 肌动蛋白 Scorpion

<220>
<221> 修饰碱基
<222> (27)..(27)
<223> -BHQ-HEG-

<400> 38
ccgcgcatca ccacccaca cgcgcgggga gtatataggt tggggaagt tg 52

<210> 39
<211> 27
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 肌动蛋白 Scorpion 反义引物

<400> 39
aacacacaat aacaacaca aattcac 27

<210> 40
<211> 50
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 肌动蛋白 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (27)..(27)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 40

cccgctaaa cccaccatcc agccgggggg agggtagttt agttgtggtt

50

<210> 41

<211> 29

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 肌动蛋白 Scorpion 反义引物

<400> 41

caaaacaaaa aaactaatc tacacaacc

29

<210> 42

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 肌动蛋白 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (26)..(26)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 42

ccgcggaaca ttaactcaa ccgcggggag gaggaaggta ggtttt

47

<210> 43

<211> 29

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 肌动蛋白 Scorpion 反义引物

<400> 43

acatacaaca atcaataaca taaaccac

29

<210> 44

<211> 47

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> PTGS2/COX2 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (22)..(22)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 44

cacgccgccg tatctaggcg tggttgttt cgacgtgatt tttcga

47

<210> 45

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> PTGS2/COX2 反义引物

<400> 45

gcaaaaaatc ccctctcccg c

21

<210> 46

<211> 45

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> PTGS2/COX2 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (22)..(22)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 46

gccgcgcaca aattccgcg gcgaattgt ttcggaagc gttcg

45

<210> 47

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> PTGS2/COX2 反义引物

<400> 47

cccgaattcc accgcc

16

<210> 48

<211> 46

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> PTGS2/COX2 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (23)..(23)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 48

ggcggaacgc acaaattcc gccgaattgg tttcgaag cgttcg

46

<210> 49

<211> 16

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> PTGS2/COX2 反义引物

<400> 49

cccgaattcc accgcc

16

<210> 50

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> PTGS2/COX2 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (26)..(26)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 50

tgccgccgcc gtatctaag gcggcagtt gttcgacgt gatttttcg a

51

<210> 51

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> PTGS2/COX2 反义引物

<400> 51

gcaaaaaatc ccctctcccg c

21

<210> 52

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 14-3-3 Scorpion

<220>

<221> 修饰碱基

<222> (26)..(26)

<223> -BHQ-HEG-

<400> 52

cggccttcgc tcttcgcaaa aggccgggta gttttatga aaggcgtcgt g 51

<210> 53

<211> 18

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 14-3-3 反义引物

<400> 53

ctaaccgccc accacgtt 18

<210> 54

<211> 4260

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> misc_feature

<223> >gi|341173|gb|M24485.1|HUMGSTP1G 智人 (克隆 pHGST-pi)
谷胱甘肽 S-转移酶 pi (GSTP1) 基因, 完整 cds

<400> 54

aacaagagat caatatctag aataaatgga gatctgcaaa tcaacagaaa gtaggcagca 60

aagccaaaga aatagccta aggcacagcc actaaaagga acgtgatcat gtccttgca 120

gggacatggg tggagctgga agccgtagc ctcagcaaac tcacacagga acagaaaacc 180

agcgagaccg catggtctca cttataagtg ggagctgaac aatgagaaca catggtcaca 240

tggcggcgat caacacacac tggcctgt tgagcgggt gctggggagg gagagtacca 300
 ggaagaatag ctaaggata ctggcctaa tacctgggtg atgggatgat ctgtacagca 360
 aaccatcatg gcgcacacac ctatgtaaca aacctgcaca tctgcacat gtaccccaga 420
 acttcaaata aaagtggac ggccaggcgt ggtggctcac gcctgtaac ccagcacttt 480
 gggaaagccga ggcgtgcaga tcacctagg tcaggagttc gagaccagcc cggccaacat 540
 ggtgaaacc cgtcttact aaaaataca aaatcagcca gatgtggcac gcacctataa 600
 ttccacctac tgggaggct gaagcagaat tgctgaacc cgagaggcgg aggttcagt 660
 gagcccgga gatcgcgcca ctgactcca gctgggcca cagcgtgaga ctacgtcata 720
 aaataaata aaataacaca aaataaata aataaata aataaata aataataaa 780
 ataaataaa ataaataaa ataaataaa ataaagcaat ttctttct ctaagcggcc 840
 tccaccctc tccctgcc tgaagcgg gtgtgcaagc tccgggatcg cagcgtctt 900
 aggaattc cccccgat gtccggcgc gccagttcg tgcacact tcgctcgggt 960
 ccttctctg ctgtctgtt actcctagg ccccgctgg gacctggaa agaggaaag 1020
 gttccccgg ccagctcgc ggcactccg gggactccag ggcgccctc tgcggccgac 1080
 gcccggggtg cagcggcgc cgggctggg gccggcggga gtccgaggga cctccagaa 1140
 gagcggcgg cgccgtgact cagcactggg gcggagcggg gcgggaccac cttataagg 1200
 ctggaggcc gcgaggcctt cgctggagt tcgcccgcc agtcttcgcc accagtagt 1260
 acgcgggcc cgtccccgg ggtgggct cagagctccc agcatgggc caaccgcag 1320
 catcagccc gggtccccg caggctctt cccccctc gagaccggg acggggcct 1380
 aggggacca ggactcccc agtccgtta gcgcttca gggggcccgg agcgcctcg 1440
 ggaggatgg gacccgggg gcgggagg gggcaggct gcgctaccg gccttgca 1500
 tctccccg ggtccagca aactttct ttctcctgc agtccgcc tacaccgtg 1560

tctatttccc agttcgaggt aggagcatgt gctcggcagg gaaggaggc aggggctggg 1620

gctgcagccc acagcccctc gccaccccg agagatccga acccccttat cctccgctcg 1680

tgtggctttt acccgggcc tccttctgt tcccgcctc tccgcatg cctgctccc 1740

gccccagtgt tgttgaaat ctccggagga acctgttac ctgtccctc cctgcactcc 1800

tgaccttcc cggggttct gcgaggcga gtcggcccgg tcccacatc tcgtacttct 1860

ccctccccgc aggccgctgc gcggccctgc gcatgctgt ggcagatcag ggccagagct 1920

ggaaggagga ggtggtgacc gtggagacgt ggaggaggg ctactcaaa gcctcctgcg 1980

taagtacca tccccggca aggggagggg gtctgggcc ttaggggct gtactagga 2040

tcgggggacg cccaagctca gtcccctcc ctgagcatg cctccccaa cagtatacg 2100

ggcagctccc caagttccag gacggagacc tcacctgta ccagccaat accatcctgc 2160

gtcacctggg ccgaccctt ggtgagtct gaacctcaa gtccaggga ggcagggca 2220

agcctctgcc cccggagccc tttgtttaa atcagctgcc ccgagccct ctggagtga 2280

ggaaactgag acccactgag gttacgtagt ttgccaagg tcaagcctgg gtcctgcaa 2340

tccttgccct gtccaggct gcctccagg tgcaggga gctctgagca cctgctgtgt 2400

ggcagtctct catcctcca cgcacatct ctcccctc tccaggctg gggctcacag 2460

acagccccct ggttgccca tcccagtga ctgtgtgtg atcaggcgc cagtcacgcg 2520

gcctgctccc ctccaccaa cccagggt ctatgggaag gaccagcagg aggcagccct 2580

ggtggacatg gtgaatgacg gcgtggagga cctccgctgc aaatacatct cctcatcta 2640

caccaactat gtgagcatct gcaccagggt tggcactgg gggctgaaca aaaaagggg 2700

ctctgtgc cctaccccc ctaccctc aggtggctt ggctgacccc ttctgggtc 2760

aggtgcagg ggctgggtca gctctggcc agggcccag ggcctggga caagacaaa 2820

cctgcacct tattgctgg gacatcaacc agccaagtaa cgggtcatgg gggcaggtgc 2880

aaggacagag acctccagca actggtggtt tctgatcicc tggggtggcg agggcttct 2940

ggagtagcca gaggtggagg aggattgtc gccagttct ggatggaggt gctggcactt 3000

ttagctgagg aaaatatgca gacacagagc acattgggg acctgggacc agttcagcag 3060

aggcagcgtg tgtgcgctg cgtgtgctg tgtgtgctg tgtgtgtga cgcttcatt 3120

tgtgtcgggt ggtaaggag atagagatgg gcgggcagta ggcccaggtc ccgaagcct 3180

tgaaccact ggtttgaggt ctctaaggg caatgggggc cattgagaag tctgaacagg 3240

gctgtgtctg aatgtgaggt ctagaaggat cctccagaga agccagctct aaagctttg 3300

caatcatctg gtgagagaac ccagcaagga tggacaggca gaatgaata gagatgagtt 3360

ggcagctgaa gtggacagga ttigtacta gcctggtgt ggggagcaag cagaggagaa 3420

tctgggactc tgggtctgg cctggggcag acgggggtgt ctcaggggct gggagggatg 3480

agagtaggat gatacatggt ggtgtctggc aggaggcggg caaggatgac tatgtgaagg 3540

cactgcccgg gcaactgaag cctttgaga ccctgctgtc ccagaaccag ggaggcaaga 3600

ccttcattgt gggagaccag gtgagcatct ggccccatgc tgttccttc tcgccacct 3660

ctgctccag atggacacag gtgtgagcca ttgtttagc aaagcagagc agacctaggg 3720

gatggctta ggccctctgc cccaattcc tccagcctgc tcccgtgctg tgagtccta 3780

gccccctgc cctgcagatc tcctcgtg actacaacct gctggacttg ctgctgatcc 3840

atgagtcct agcccctggc tgcttgatg cgttccccct gctctcagca tatgtggggc 3900

gcctcagtgc ccggcccaag ctaaggcct tctggcctc cctgagtac gtgaacctcc 3960

ccatcaatgg caacgggaaa cagtgaggt tggggggact ctgagcggga ggcagagttt 4020

gccttcctt ctccaggacc aataaaatt ctaagagagc tactatgagc actgtttc 4080

ctgggacggg gcttaggggt tctcagcctc gaggtcgggt ggagggcaga gcagaggact 4140

agaaaacagc tctccagca cagtcagtgg cttcctggag ccctcagcct ggctgtgtt 4200

actgaacctc acaaactaga agaggaagaa aaaaaagag agagagaaac aaagagaaat 4260

<210> 55
 <211> 2011
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <221> misc_feature
 <223> B-肌动蛋白

>gi|28337|emb|Y00474.1|HSACTBPR 人类 β -肌动蛋白基因 5'-侧翼区,
 CpG 岛 1656 至 1955

<400> 55
 gagctctgtc tcttgccag ctgaatggag gccacagcgc aacacaggtc ctgcctgggg 60
 atcaggctctg ctctgaccc caccttgctg cctggagccg cccacctgac aacctctcat 120
 ccctgctctg tagatccggt cccatcccca ctgccaccc caccceccca gcaactccacc 180
 cagtcaacg ttccacgaac ccccagaacc agccctcatc aacaggcagc aagaagggcc 240
 ccccgcccat cgccccacaa cgccagccgg gtgaactgta gcgtggcag gtctgaggc 300
 agctgaaaga tacaaggcca gggacaggac agtcccatcc ccaggaggca gggagtatac 360
 aggctgggga agtttgcct tgcgtgggtt ggtgatggag gaggctcagc aagtctctg 420
 gactgtgaac ctgtgtctgc cactgtgtgc tgggtggtgg tcatcttcc caccaggctg 480
 tggcctctgc aacctcaag ggaggagcag gtcccattgg ctgagcacag cctgtacgt 540
 gaactgaaca agcagcctcc ttctggcca caggttccat gtccttatat ggactcatct 600
 ttgcctattg cgacacacac tcaatgaaca cctactacgc gctgcaaaga gccccgcagg 660
 cctgaggtgc ccccacctca ccactctcc tattttgtg taaaaatcca gcttctgtc 720
 accacctcca aggaggggga ggaggaggaa ggcaggttcc tctaggctga gccgaatgcc 780

cctctgtggt cccacgccac tgatcgctgc atgccacca cctgggtaca cacagtctgt 840
 gattcccgga gcagaacgga ccctgccac ccggtctgt gtgctactca gtggacagac 900
 ccaaggcaag aaagggtagc aaggacaggg tctcccagg ctggcttga gttcctagca 960
 ccgccccgcc cccaatcctc tgtggacat ggagtcttg tcccagagt cccccagcg 1020
 cctccagatg gtctgggagg gcagttcagc tgtggctgcg catagcagac atacaacgga 1080
 cgggtggccc agaccaggc tgttagacc cagcccccc gccccgcagt gcctaggtca 1140
 cccactaac ccccaggcct ggtcttgct gggcgtgact gttacctca aaagcaggca 1200
 gctccagggt aaaaggtagc ctgccctga gagcccact cctcccagg gctgcggctg 1260
 gtaggtttg tagcctcat cacggccac ctccagccac tggaccgtg gcccctgcc 1320
 tgtctgggg agtgtgtcc tgcacteta atggccgcaa gccacctgac tcccccaaca 1380
 ccacacteta cctcctaagc ccaggctct ccttagtgac ccaccagca catttagcta 1440
 gctgagcccc acagccagag gtcctcaggc cctgcttca gggcagttgc tctgaagtcg 1500
 gcaaggggga gtgactgcct ggccactcca tgcctcca gagctcctt tgcaggagcg 1560
 tacagaacc agggccctgg caccctgca gaccctggc caccacact gggcgctcag 1620
 tgccaagag atgtccacac ctaggatgc ccgcggtgg tggggggccc gagagacggg 1680
 caggccgggg gcaggcctgg ccatgcgggg ccgaaccggg cactgccag cgtggggcgc 1740
 gggggccacg gcgcgcgcc ccagccccg ggcccagcac ccaaggcgg ccaacgcaa 1800
 aactcctcct cctcctctc ctaatctc ctctcgctct tttttttt cgaaaagga 1860
 ggggagaggg ggtaaaaaa tgctgactg tcggcgaagc cgtgagtga gcggcgggg 1920
 gccaatcgcg tgcgccgtc cgaaagtgc ctttatggc tcgagcggc gcggcggcgc 1980
 cctataaac ccagcggcgc gacgcgccac c 2011

<210> 56

<211> 1792

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> misc_feature

<223> >gi|5016088|ref|NM_001101.2| 智人肌动蛋白, β (ACTB), mRNA

<400> 56

cgctccgcc ccgcgagcac agagcctcgc cttgccgat ccgccgccg tccacaccg 60

ccgccagctc accatggatg atgatatgc cgcgctcgtc gtcgacaacg gctccggcat 120

gtgcaaggcc ggcttcgctg gcgacgatgc cccccggcc gtctccct ccacgtggg 180

gcgccccagg caccagggcg tgatggggg catgggtcag aaggattcct atgtgggca 240

cgaggcccag agcaagagag gcatcctcac cctgaagtac cccatcgagc acggcatcgt 300

caccaactgg gacgacatgg agaaaatctg gcaccacacc ttctacaatg agctgcgtgt 360

ggctcccag gagcaccgctg tctgctgac cgaggcccc ctgaaccca agccaaccg 420

cgagaagatg acccagatca tgtttgagac cttcaacacc ccagccatgt acgttgctat 480

ccaggctgtg ctatccctgt acgctctgg ccgtaccact ggcatcgtga tggactccgg 540

tgacggggtc acccacactg tgcccatcta cgaggggtat gccctcccc atgcatcct 600

gcgtctggac ctggctggcc gggacctgac tgactacctc atgaagatcc tcaccgagcg 660

cggtacagc ttcaccacca cggccgagcg ggaaatcgtg cgtgacatta aggagaagct 720

gtgctacgtc gccctggact tcgagcaaga gatggccacg gctgcttcca gctcctcct 780

ggagaagagc tacgagctgc ctgacggcca ggatcacc attggcaatg agcggttccg 840

ctgccctgag gactcttcc agccttctt cctgggcatg gagtctgtg gcatccagca 900

aactacctc aactccatca tgaagtgtga cgtggacatc cgaaagacc tgtacgcaa 960

cacagtgtg tctggcgga ccacatgta ccctggcatt gccgacagga tgcagaagga 1020

gatcaactgcc ctggcaccca gcacaatgaa gatcaagatc atgctctc ctgagcgcaa 1080
 gtactccgtg tggatcggcg gctccatcct ggctctgctg tccacctcc agcagatgtg 1140
 gatcagcaag caggagtatg acgagtcgg ccctccatc gtccaccgca aatgctteta 1200
 ggccgactat gacttagttg cgttacacc tttctgaca aacctaaact tgcgcagaaa 1260
 acaagatgag atggcatgg ctttattgt ttttttgt ttgtttgt tttttttt 1320
 ttttgctt gactcaggat taaaaactg gaacggtgaa ggtgacagca gtcggttga 1380
 gcgagcatcc cccaaagtc acaatgtgc cgaggacttt gattgcacat tgtgtttt 1440
 ttaatgtca ttccaaatat gagatgcatt gttacaggaa gtccctgcc atcctaaaag 1500
 ccacccact tctcttaag gagaatgcc cagtcctctc ccaagtccac acaggggagg 1560
 tgatagcatt gcttctgtg aaattatga atgcaaaatt ttttaactc tcgcctaat 1620
 actttttat ttgtttat ttgaatgat ggccttctg gccccctt cccccctt 1680
 gtccccaac ttgagatga tgaaggctt ttgtctcct gggagtgggt ggaggcagcc 1740
 aggcttacc tgtacctga ctgagacca gttgaataaa agtgcacacc tt 1792

<210> 57
 <211> 2762
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <221> misc_feature
 <223> RARB2

>gi|14916495|ref|NM_016152.2| 智人视黄酸
 受体, β (RARB), 转录变体 2, mRNA

<400> 57
 gtgacagaag tagtaggaag tgagctgttc agaggcagga ggtctattc ttgccaag 60

gggggaccag aattcccat gcgagctgt tgaggactgg gatgccgaga acgcgagcga 120
tccgagcagg gttgtctgg gcaccgtcgg ggtaggatcc ggaacgcatt cggaaggctt 180
tttgaagca ttacttga aggagaactt gggatcttc tgggaacccc ccgccccggc 240
tggattggcc gagcaagcct ggaaaatgca attgaaacac agagcaccag ctctgaggaa 300
ctctgccaa gcccccatc tccacttct cccctcgag tgtacaaacc ctgcttctc 360
tgccaggaca aatcatcagg gtaccactat ggggtcagcg cctgtgaggg atgtaagggc 420
ttttccgca gaaglattca gaagaatag attacactt gtcaccgaga taagaactgt 480
gttattaata aagtcaccag gaatcgtgc caatactgtc gactccagaa gtgctttgaa 540
gtgggaatgt ccaagaatc tgcaggaat gacaggaaca agaaaaagaa ggagacttcg 600
aagcaagaat gcacagagag ctatgaaatg acagctgagt tggacgatct cacagagaag 660
atccgaaaag ctaccagga aacttccct tcaactgcc agctgggtaa atacaccag 720
aattccagtg ctgaccatcg agtccgactg gacctggcc tctgggacaa attcagttaa 780
ctggccacca agtgcattat taagatctg gagtttcta aacgtctgcc tggtttact 840
ggcttgacca tcgagacca aattacctg ctgaaggccg cctgcctgga catcctgatt 900
cttagaattt gcaccagta taccocagaa caagacacca tgactttctc agacggcctt 960
accctaaac gaactcagat gcacaatgct ggatttggc ctctgactga ccttgtgtc 1020
accttgcca accagctct gcctttgaa atggatgaca cagaacagg ccttctcagt 1080
gccatctgct taatctgtg agaccgccag gacctgagg aaccgacaaa agtagataag 1140
ctacaagaac cattgctgga agcactaaaa atttatatca gaaaaagacg accagcaag 1200
cctcacatgt ttcaaagat cttaatgaaa atcacagatc tccgtagcat cagtgtctaa 1260
gggtcagagc gtgtaattac ctgaaaatg gaaattcctg gatcaatgcc acctctcatt 1320
caagaaatgc tgagaattc tgaaggacat gaaccttga cccaagtgc aagtgggaac 1380

acagcagagc acagtcctag catctcacc cagctcagtg aaaacagtg ggtcagtcag 1440
 tcaccactcg tgcaataaga catttctag ctactcaaa cattccccag taccttcagt 1500
 tccaggattt aaaatgaag aaaaaacatt ttactgctg cttagtttt ggactgaaaa 1560
 gatattaaaa ctcaagaag accaagaagt ttcataatg atcaatata atactcctca 1620
 ctgtgtaact tacctagaaa tacaacctt tccaattta aaaaatcagc catttcagc 1680
 aaccagaaac tagtfaaaag ctctatttt cctcttgaa cactcaagat gcatggcaaa 1740
 gaccagtc aaatgattta ccctggta agtttctgaa gactttgtac atacagaagt 1800
 atggctctgt tctttcata ctgtatgtt ggtgcttcc tttgtctg catactcaa 1860
 ataaccatga caccaaggt atgaataga ctactgtaca cgctaccta ggtcaaaaa 1920
 gataactgic ttgcttcat ggaatagtc agacatcaag gtaagaaac aggactattg 1980
 acaggactat tgtacagtat gacaagataa ggctgaagat atttacttt agttagtatg 2040
 gaagcttgc ttgctctt ctgatgctc caaactgcat cttttattc atgtgcca 2100
 gtaaaagtat acaaattccc tgcactagca gaagagaatt ctgtatcagt gtaactgcca 2160
 gttcagttaa tcaaatgca tttgtcaat tgtaaatgic actttaaatt aaaagtggtt 2220
 tattactgt ttaatgacat aactacacag ttagtfaaaa aaaattttt tacagtaatg 2280
 atagcctcca aggcagaaac actttcagt gtttaagttt tgttactg tcacaagcc 2340
 attagggaaa tttcatggga taattagcag gctggctac cactggacca tgtaactcta 2400
 gtgcttcc tgattcatg ctgatattg gattttttc cagcccttct tgatgccaag 2460
 ggctaattat attacatccc aaagaacag gcatagaatc tgcctcctt gacctgttc 2520
 aatcactatg aagcagagtg aaagctgtg tagagtggtt aacagataca agtgcagtt 2580
 tcttagttct catttaagca ctactggaat tttttttt gatataatg caagtctgtg 2640
 atgtacttc actggctctg tttgtacatt gagattgtt gtttaacaat gctttctatg 2700

ttcatatact gtttacctt ttccatggac tctcctggca aagaataaaa tatatttatt 2760

tt 2762

<210> 58

<211> 5487

<212> DNA

<213> 智人

<220>

<221> misc_feature

<223> TIMP3

>gi|21536431|ref|NM_000362.3| 智人组织金属蛋白酶
3 抑制剂 (Sorsby fundus 营养不良, 假炎性)
(TIMP3), mRNA

<400> 58

tctgtcact tgcccagag ctgaccttg tctttgtcca cttctcagcg aggatggcac 60

ttcagggagc ccttcccta ctatgcaga gagagcaggc cctcccagc catgtccaac 120

ccagaactct gttttgttt ctcatagcc ctgacatcac agaaatcac cctgtgcatt 180

catggatgc cacgggggca agggcttgt gttgctaac ccagcatcct gaaccgtgtt 240

tgttgaatga atacagaacc cgtttgctc tgggagagca cagaaaacag tcttctatca 300

tatatcatag ccagctgcaa acagcagatg gcttccata tcccagagag taagaaccag 360

agagagagag aaagagagag agtttgggtc ttctctct gtgcctgctc tctccagaga 420

aactggaggg gtagcagtta gcattcccc gctggttcca ccaagcacag tcaaggtctc 480

taggacatgg ccaccctca cctgtggaag cggctctgct ggggtgggtg ggtgttagtt 540

ggttctggtt tgggtcagag acaccagtg gccaggtgg gcgtggggcc agggcgcaga 600

cgagaagggg cacgagggtc ccgctccgag gaccagcgg caagcaccgg tccggggcgc 660

gccccagccc acccactgc gtgccacgg cggcattatt ccctataagg atctgaacga 720

tccggggcg gcccccccc gttaccctt gccccggcc cggccccctt ttggagggc 780

cgatgaggta atgcggctct gccattggtc tgaggggcg gggccaaca gcccaggcg 840

gggtccccgg gggcccagcg ctatatcact cggccgcca ggcagcggcg cagagcgggc 900

agcaggcagg cggcggggcg tcagacggct tctctctc ctttgctcc tccagctct 960

gctccttcgc cgggaggccg cccgccgagt cctgcgccag cggcaggca gcctcgtgc 1020

gccccatccc gtcccggcg gcactcggag ggcagcggcg cggaggcaa ggtgccccg 1080

cacggcccgg cggcgagcg agctcgggt gcagcagccc cggcggcggc gcgcacggca 1140

actttggaga ggcgagcagc agccccggca gcggcggcag cagcggcaat gacccttgg 1200

ctcgggctca tcgtctctt gggcagctgg agcctggggg actggggcg cgaggcgtgc 1260

acatgctgc ccagccccc ccaggacgcc ttctgcaact ccgacatct gatccgggc 1320

aaggtggtgg ggaagaagct ggtaaaggag gggccctcg gcacgtgt ctacaccatc 1380

aagcagatga agatgtacc aggcttacc aagatcccc atgtcagta catccacag 1440

gaagctccg agagtcttg tggccttaag ctggaggta acaagtacca gtacctgtg 1500

acaggtcgcg tctatgatg caagatgtac acggggctgt gcaacttct ggagaggtg 1560

gaccagctca cctctccca gcgcaagggg ctgaactatc ggtatcact gggttgtaac 1620

tgcaagatca agtctgcta ctacctcct tgccttga ctccaagaa cgagtgtc 1680

tgaccgaca tgcttccaa tttegggtac cctggctacc agtccaaca ctaccctgc 1740

atccggcaga agggcggcta ctgcagctgg taccaggat gggcccccc gataaaagc 1800

atcatcaat ccacagacc ctgagcgcca gacctgccc cacctactt cctcccttc 1860

ccgtgagct tccttggac actaactct cccagatgat gacaatgaaa ttagtcctg 1920

tttcttga aatttagcac ttggaacatt taaagaaagg tctatgctgt catatgggt 1980

ttattggaa ctatctctt gggccccc tgcccctct tttggttt gacatcttc 2040

attccacct gggaattct ggtgcatgc cagaagaat gaggaacctg tattctctt 2100

ctcgtgata atataatctc tttttttta ggaaaacaaa aatgaaaac tactccatt 2160

gaggattgta attcccacc ctctgcttc tccccacct caccatctcc cagaccctct 2220

tcctttgcc ctctctcc aatacataa ggacacagac aaggaactg ctgaaaggcc 2280

aaccattca ggatcagta aaggcagca gcagatagac tcaaggtg tgaaagatg 2340

tatacaccag gagctgccac tgcattgcc aaccagactg tgtctgctg tgtctgcatg 2400

taagagtgag ggaggaagg aaggaactac aagagagtgc gagatgatgc agcacacaca 2460

caattcccca gccagtgat gcttgtgtg accagatgtt cctgagtctg gagcaagcac 2520

ccaggccaga ataacagagc ttcttagt ggtgaagact taaacatctg cctgaggta 2580

ggaggcaatt tgctgcctt gtacaaaagc tcaggtgaaa gactgagatg aatgtcttc 2640

ctctccctgc ctcccaccag acttctctt ggaaaacgct ttgtagatt tggccaggag 2700

ctttttta tgtaattgg ataaatacac acaccatata ctatccacag atagccaa 2760

gtagattgg gtagaggata ctattccag aatagtgtt agctcaccta ggggatag 2820

ttgtataca cattgcata taccacatg gggacataag ctaattttt tacaggacac 2880

agaattctgt tcaatgctg taaatatgcc aatagttaa tctctctat tttgtgtc 2940

ttgctgtt gaagaaaac atgacattcc aagttgacat ttttttca ttttaattaa 3000

aattgaaat tctgaacacc gtcagcacc tctctccct atcatgggtc atctgacccc 3060

gtccgctc ctgtccctg ctcatgtt ggggcctt cttaactgc ctctctgct 3120

tagctcagat ggcagatgag agttagtca aggcctggg cacaggagg agagctcag 3180

agtgctctgc ctgcttggc tgaggagaca cctctctgg gtgtggagac agcttggtc 3240

ctttcccta gctccctgt ggtgaatgc cacctctga gatctcacc tcttgaatt 3300

aaaattgtg gtcactggg aaagcctgag ttgcaacca gtttagggt tctgtgtg 3360

tttttttt ttttttgaa ataaaactat aatataaatt ctctattaa ataaaattat 3420

tttaagttt agtgcacaaa gtgagatgct gagagtaggt gataatgtat attttacaga 3480

gtgggggttg gcaggatggt gacattgaac atgattgctc tctgtctctt ttttcagctt 3540

atgggtattt atcttctatt agtatttga tcttcagttc attccacttt aggaaacaga 3600

gctgcccaatt gaaacagaag aagaaaaaa aaaaaagcag cagacaacac actgtagagt 3660

ctgacacaca cacaagtgcc caggcaaggt gcttggcaga accgcagagt gggaagagag 3720

taccggcatc gggtttctt gggatcaatt tcattaccgt gtacctttcc cattgtggtc 3780

atgccattg gcagggggag aatgggaggc ttggccttct ttgtgaggca gtgtgagcag 3840

aagctgatgc cagcatgca ctggtttga agggatgagc ccagacttga tgttttggga 3900

ttgtccttat ttaacctca aggtctcgca tgggtggggcc cctgaccaac ctacacaagt 3960

tcctcccac aagtggacat cagtgtctc tctgtgaggc atctggccat tcgcactccc 4020

tggtgtggtc agcctctctc acacaaggag gaacttgggt gaaggctgag tgtgaggcac 4080

ctgaagttc cctgaggagt cgataaatta gcagaaccac atccccatct gttaggcctt 4140

ggtgaggagg ccctgggcaa agaagggtct ttcgcaaagc gatgtcagag ggcggttttg 4200

agctttctat aagctatagc tttgttatt tcaccggtc acttactgta taatttaaaa 4260

tcatttatgt agctgagaca ctctgtatt tcaatcatat catgaacatt ttatttggct 4320

aaatctgtg tcatgttag gctgtaatat gtgtacattg tgttaagag aaaaatgaaa 4380

cccacatgcc gccattttcc tgaatcaaat tctgcagtgg aatggagagg aaaatacttc 4440

taggcaagca gctagactgg tgaattgggg gaaatagaag gaactagtaa ctgagactcc 4500

tccagcctcc tcctattgg aatccaatg gctcctggag taggaaaaaa gtttaacta 4560

cattcatgtt ctgttctgt gtcactcggc cctgggtagt ctaccattta cttcacccca 4620

agtcctgctg cccatccagt tgggaagcca tgattttct aagaatccag ggccatggga 4680

gatacaattc caagttctcg cticcctctt tgggcatctc ttctgcctcc caatcaagga 4740
 agctccatgc tcaggctctc agctctcggg ccagtgctct gctctgtcca ggtaggtaa 4800
 tactgggaga ctctgtctt ttaccctccc ctctgtccag acctgcctca tggtagaac 4860
 atggttcttg aacaattaa gaaacaaatg actttttgga atagccctgt ctagggcaaa 4920
 ctgtggcccc caggagacac tacccttcca tgccccagac ctctgtcttg catgtgaaa 4980
 ttgacaatct ggactacccc aagatggcac ccaagtgtt ggcttctggc tacctaaggt 5040
 taacatgca ctagagtatt ttatgagag acaaacatta taaaatctg atggcaaaag 5100
 caaaacaaaa tggaaagtag gggaggtgga tggacaaca acttccaaat tggctcttg 5160
 gaggcgagag gaaggggaga acttgagaaa tagttttgc ttgggggta gaggttctt 5220
 agattctccc agcatccgcc ttcccttta gccagtctgc tgcctgaaa cccagaagt 5280
 atggagagaa accaacaaga gatctcgaac cctgtctaga aggaatgtat ttgttgctaa 5340
 attcgtagc actgtttaca gtttctcc atgtattta tgaatttat attccgtgaa 5400
 tgtatattgt ctgtaatgt tgcataatgt tcactttta tagtgtgtcc ttattctaa 5460
 acagtaaagt ggtttattt ctatcac 5487

<210> 59
 <211> 866
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <221> misc_feature
 <223> APC

>gi|551463|gb|U02509.1|HSU02509 人类腺瘤样结肠息肉
 (APC) 基因, 启动子序列

<220>
 <221> misc_feature

<222> (315)..(315)
 <223> n 是 a, c, g, 或 t

<400> 59
 acttatatat ctgacagttg attgtcctc acctctaat tggaaattaa gcatcacctg 60
 gttcgattta atgcaatgta gaattgcat taaaatacta cattaaagcc tcagattgt 120
 agtagctaac agcacttcta tgtatgtgc agggactgct ctaaatactt catatatatt 180
 aactcctcta tictgtactt ctgtcccg tttatacagc aggaaattga aacactgaga 240
 ggtaagtaa ctaaagttac agagctagag tgacaggagt aaagctcaa ctcaggcaac 300
 ccagacgtcc agagntctga tcctcactac taagctgcta gcatagcttt tctggaact 360
 attttaatt caatataatt cgaatgatct atctaacaag tcactcict gacaactcag 420
 tgacttgtaa tgtaaaatta ttcatgtaa ttacttaat attattgitt ctctgtgctg 480
 caaaaatcat agcaatcgag atgtaattta ttactctccc tcccactcc ggcattctgt 540
 gctaatcctt ctgccctgcg gacctcccc gactctttac tatgctgtc aactgccatc 600
 aactccttg ctgctgggg actggggccg tgagggcata cccccagggg gtacggggct 660
 agggctaggc aggctgtgcg gttggcgggg gccctgtgcc cactgcgga gtgcgggtcg 720
 ggaagcggag agagaagcag ctgtgtaac cgctggatgc ggaccagggc gctccccatt 780
 cccgtcggga gcccgcgat tggctgggtg tgggcgcacg tgaccgacat gtggctgtat 840
 tggtcagcc cgccagggtg tcactg 866

<210> 60
 <211> 10386
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <221> misc_feature
 <223> >gi|21626462|ref|NM_000038.2| 智人腺瘤样结肠息肉

(APC), mRNA

<220>

<221> misc_feature

<222> (9521)..(9521)

<223> n 是 a, c, g, 或 t

<400> 60

attgaggact cggaaatgag gtccaagggt agccaaggat ggctgcagct tcatatgac 60

agttgttaaa gcaagtgag gcaactgaaga tggagaactc aaatcttca caagagctag 120

aagataattc caatcatctt acaaaactgg aaactgagc atctaatag aaggaagtac 180

ttaaacaact acaaggaagt attgaagatg aagctatggc ttctctgga cagattgatt 240

tattagagcg tcttaaagag cftaacttag atagcagtaa tttccctgga gtaaaactgc 300

ggtcaaaaat gtccctccgt tcttatgaa gccgggaagg atctgtatca agccgttctg 360

gagagtgcag tcctgttctc atgggttcat ttccaagaag agggtttga aatggaagca 420

gagaaagtac tggatatta gaagaactg agaaagagag gtcattgctt ctgctgac 480

tgacaaaaga agaaaaggaa aaagactggt attacgtca acttcagaat ctactaaaa 540

gaatagatag tcttccttta actgaaaatt ttccttaca aacagatag accagaaggc 600

aattggaata tgaagcaagg caatcagag ttgcatgga agaacaacta ggtacctgcc 660

aggatagga aaaacgagca cagcgaagaa tagccagaat tcagcaaatc gaaaaggaca 720

tacttctat acgacagctt ttacagtccc aagcaacaga agcagagagg tcatctcaga 780

acaagcatga aaccggctca catgatgctg agcggcagaa tgaaggtaa ggagtgggag 840

aatcaacat ggcaacttct ggtaatggtc agggttcaac tacacgaatg gaccatgaaa 900

cagccagtgt tttgattct agtagcacac actctgcacc tcgaaggctg acaagtcac 960

tggaaccaa ggtgaaaatg gtgtattcat tgtgtcaat gcttggtact catgataagg 1020

atgatatgc gcgaacttg ctagctatgt ctagctccca agacagctgt atatccatgc 1080

gacagtctgg atgtcttct ctcctcatcc agctttfaca tggcaatgac aaagactctg 1140
 tattgttggg aaattcccg ggagcagaaag aggctcgggc cagggccagt gcagcactcc 1200
 acaacatcat tcactcacag cctgatgaca agagaggcag gcgtaaatc cgagtccttc 1260
 atcttttga acagatacgc gcttactgtg aaacctgtg ggagtggcag gaagctcatg 1320
 aaccaggcat ggaccaggac aaaaatcaa tgccagctcc tgtgaacat cagatctgtc 1380
 ctgctgtgtg tgttctaag aaacttcat ttgatgaaga gcatagacat gcaatgaatg 1440
 aactaggggg actacaggcc attgcagaat tattgcaagt ggactgtgaa atgtacgggc 1500
 ttactaatga ccactacagt attacactaa gacgatatgc tggaaatggct ttgacaaact 1560
 tgacttttg agatgtagcc aacaaggcta cgctatgctc tatgaaaggc tgcagagag 1620
 cacttgtggc ccaactaaaa tctgaaagt aagacttaca gcaggttatt gcaagtgtt 1680
 tgaggaattt gtcttggcga gcagatgtaa atagtaaaaa gacgttgcga gaagtggaa 1740
 ggtgaaagc attgatgaa tgtgcttag aagttaaaaa ggaatcaacc ctcaaagcg 1800
 tattgagtgc cttatggaat ttgtcagcac attgactga gaataaagct gatatatgtg 1860
 ctgtagatgg tgcacttga ttttgggtg gcactctac ttaccggagc cagacaaaca 1920
 ctttagccat tattgaaagt ggaggtggga tattacggaa tgtgtccagc ttgatagcta 1980
 caaatgagga ccacaggcaa atcctaagag agaacaactg tctacaaact ttattacaac 2040
 acttaaaatc tcatagttt acaatagtca gtaatgcatg tggaaacttg tggaaatctc 2100
 cagcaagaaa tcctaaagac caggaagcat tatgggacat gggggcagtt agcatgctca 2160
 agaacctcat tcattcaag cacaaaatga ttgctatggg aagtgtgca gcttaagga 2220
 atctcatggc aaataggcct gcgaagtaca aggatgcaa tattatgtct cctggctcaa 2280
 gcttgccatc tcttcatgtt aggaacaaaa aagccctaga agcagaatta gatgctcagc 2340
 acttatcaga aacttttgac aatatagaca atttaagtcc caaggcatct catcgtagta 2400

agcagagaca caagcaaagt cictatggtg attatgttt tgacaccaat cgacatgatg 2460
 ataatagtc agacaatttt aatactggca acatgactgt ccttcacca tattgaata 2520
 ctacagtgt acccagctcc tctcatcaa gaggaagctt agatagtct cgttctgaaa 2580
 aagatagaag ttggagaga gaacgcggaa tiggctagg caactacat ccagcaacag 2640
 aaaatccagg aacttctca aagcgaggtt gcagatctc caccactgca gccagattg 2700
 ccaaagtcag ggaagaagt gcagccattc ataccttca ggaagacaga agttctgggt 2760
 ctaccactga attacattgt gtgacagatg agagaaatgc acttagaaga agctctgctg 2820
 cccatacaca ttcaaacact tacaattca ctaagtcgga aaatcaaat aggacatgtt 2880
 ctatgcctta tgccaaatta gaatacaaga gatcttcaa tgatagtta aatagtgtca 2940
 gtagtagtga tggttatggt aaaagagtc aaatgaaacc ctcgattgaa tctattctg 3000
 aagatgatga aagtaagttt gcagttatg gtcaatacc agccgaccta gcccataaaa 3060
 tacatagtc aaatcatatg gatgataatg atggagaact agatacacca ataaattata 3120
 gtcttaata ttcagatgag cagtgaact ctggaaggca aagtcctca cagaatgaaa 3180
 gatgggcaag acccaaacac ataatagaag atgaaataa acaaagtgag caaagacaat 3240
 caaggaatca aagtacaact tctctgttt atactgagag cactgatgat aaacacctca 3300
 agtccaacc acatttggga cagcaggaat gtgttctcc atacaggta cggggagcca 3360
 atggttcaga aacaatcga gtgggttcta atcatggaat taatcaaat gtaagccagt 3420
 ctttgttca agaagatgac tatgaagatg ataagcctac caattatagt gaacgttact 3480
 ctgaagaaga acagcatgaa gaagaagaga gaccaacaaa ttatagcata aaatataatg 3540
 aagagaaacg tcatgtgat cagcctattg attatagttt aaaatagcc acagatattc 3600
 ctctatcaca gaaacagtca tttcattct caaagagttc atctggacaa agcagtaaaa 3660
 ccgaacatat gtctcaagc agtgagaata cgccacacc tcatctaata gccaaagagc 3720

agaatcagct ccatccaagt tctgcacaga gtagaagtgg tcagcctcaa aaggctgcca 3780
 ctgcaaagt ttctctatt aaccaagaaa caatacagac ttattgtga gaagatactc 3840
 caaatgttt tcaagatgt agttcattat catctttgtc atcagctgaa gatgaaatag 3900
 gatgtaatca gacgacacag gaagcagatt ctgctaatac cctgcaaata gcagaaataa 3960
 aagaaaagat tggaaactagg tcagctgaag atcctgtgag cgaagtcca gcagtgtcac 4020
 agcacctag aaccaaattc agcagactgc agggttctag tttatctca gaatcagcca 4080
 ggcaaaaagc tgtgaattt tcttcaggag cgaaatctcc ctccaaaagt ggtgctcaga 4140
 cacccaaaag tccacctgaa cactatgttc aggagacccc actcatgttt agcagatgta 4200
 ctctgtcag ttcactgat agttttgaga gtcgttcgat tgccagctcc gttcagagtg 4260
 aacctgcag tggaatgga agtggcatta taagccccag tgatctcca gatagccctg 4320
 gacaacctat gccaccaagc agaagtaaaa cacctccacc acctcctcaa acagctcaaa 4380
 ccaagcgaga agtacctaaa aataaagcac ctactgctga aaagagagag agtggaccta 4440
 agcaagctgc agtaaatgct gcagttcaga ggggccaggt tcttccagat gctgatactt 4500
 tattacatt tgccacggaa agtactccag atggatttc ttgtcatcc agcctgagtg 4560
 ctctgagcct cgatgagcca ttatacaga aagatgtgga attaagaata atgcctccag 4620
 ttcaggaaaa tgacaatggg aatgaaacag aatcagagca gcctaaagaa tcaaatgaaa 4680
 accaagagaa agaggcagaa aaaactattg attctgaaaa ggacctatta gatgattcag 4740
 atgatgatga tattgaaata ctagaagaat gtattattc tgccatgcca acaaagtcac 4800
 cacgtaaagc aaaaaagcca gccagactg ctcaaaaatt acctccacct gtggcaagga 4860
 aaccaagtca gctgcctgtg tacaacttc taccatcaca aaacaggtg caaccccaaa 4920
 agcatgttag tttacaccg ggggatgata tgccacgggt gtattgtgtt gaaggacac 4980
 ctataaactt ttccacagct acatctctaa gtgatctaac aatcgaatcc cctccaaatg 5040

agttagctgc tggagaagga gttagaggag gagcacagtc aggtgaattt gaaaaacgag 5100
 ataccattcc tacagaaggc agaagtacag atgaggctca aggaggaaaa acctcatctg 5160
 taaccatacc tgaattggat gacaataaag cagaggaagg tgatattctt gcagaatgca 5220
 ttaattctgc tatgcccaaa gggaaaagtc acaagccttt ccgtgtgaaa aagataatgg 5280
 accaggtcca gcaagcatct gcgtcgtctt ctgcacccaa caaaaatcag ttagatggta 5340
 agaaaaagaa accaacttca ccagtaaac ctataccaca aaatactgaa tataggacac 5400
 gtgtaagaaa aaatgcagac tcaaaaaata atttaaatgc tgagagagtt ttctcagaca 5460
 acaaaagattc aaagaaacag aattgaaaa ataattcaa ggacttcaat gataagctcc 5520
 caaataatga agatagagtc agaggaagtt ttgcttttga ttcacctcat cattacacgc 5580
 ctattgaagg aactccttac tgtttttcac gaaatgattc ttgagttct ctagattttg 5640
 atgatgatga tgttgacctt tccagggaaa aggctgaatt aagaaaggca aaagaaaata 5700
 aggaatcaga ggctaaagtt accagccaca cagaactaac ctccaaccaa caatcagcta 5760
 ataagacaca agctattgca aagcagccaa taatcgagg tcagcctaaa cccatacttc 5820
 agaaacaatc cacttttccc cagtcacca aagacatacc agacagaggg gcagcaactg 5880
 atgaaaagtt acagaatttt gctattgaaa atactccagt ttgcttttct cataattcct 5940
 ctctgagttc tctcagtgac attgaccaag aaaacaacaa taaagaaaat gaacctatca 6000
 aagagactga gcccctgac tcacaggag aaccaagtaa acctcaagca tcaggctatg 6060
 ctctaaatc attcatggt gaagataccc cagtttgttt ctcaagaaac agttctctca 6120
 gttctcttag tattgactct gaagatgacc tgttcagga atgtataagc tccgcaatgc 6180
 caaaaaagaa aaagccttca agactcaagg gtgataatga aaaacatagt cccagaaata 6240
 tgggtggcat attagtgtaa gatcgcacac ttgattgaa agatatacag agaccagatt 6300
 cagaacatgg tctatcccct gattcagaaa attttgattg gaaagctatt caggaaggtg 6360

caaattccat agtaagtagt ttacatcaag ctgctgctgc tgcattgta tctagacaag 6420
cttcgtctga ttcagattcc atccttccc tgaatcagg aatctctctg ggatcacat 6480
ttcatcttac acctgatcaa gaagaaaaac cctttacaag taataaggc ccacgaattc 6540
taaaaccagg ggagaaaagt acattgaaa ctaaaagat agaattctgaa agtaaaggaa 6600
tcaaaggagg aaaaaagtt tataaaagt tgattactgg aaaagttcga tctaattcag 6660
aaattcagg ccaaatgaaa cagccccttc aagcaaacat gccttcaatc tctcgaggca 6720
ggacaatgat tcatattcca ggagttcga atagctctc aagtacaagt cctgtttcta 6780
aaaaggccc acccctaag actccagcct caaaagccc tagtgaaggc caaacagcca 6840
ccactctcc tagaggagcc aagccatctg tgaatcaga attaagcct gttgccaggc 6900
agacatccca aataggtggg tcaagtaaag caccttctag atcaggatct agagattcga 6960
ccccitcaag acctgcccag caaccattaa gtagacctat acagtctcct ggccgaaact 7020
caattcccc tggtagaaat ggaataagtc ctctaaca attatctcaa ctccaagga 7080
catcatcccc tagtactgct tcaactaagt cctcaggttc tggaaaaatg tcatatacat 7140
ctccaggtag acagatgagc caacagaacc ttaccaaca aacaggttta tccaagaatg 7200
ccagtagtat tccaagaagt gagtctgct ccaaggact aatcagatg aataatgta 7260
atggagccaa taaaaggta gaacttcta gaatgtctc aactaatca agtggagtg 7320
aatctgatag atcagaaga cctgtattag tacgccagtc aacttcatc aaagaagtc 7380
caagcccaac ctaagaaga aaattggagg aatctgctc attgaatct ctttccat 7440
catctagacc agcttctccc actaggtccc aggcacaaac tccagttta agtcctccc 7500
ttcctgatat gtctctatcc acacattcgt ctgttcaggc tggggatgg cgaaaactcc 7560
cacctaactc cagtcccact atagagtata atgatggaag accagcaaag cgccatgata 7620
ttgcaggtc tcattctgaa agtcttcta gacttcaat caataggtca ggaacctgga 7680

aacgtgagca cagcaaacat tcatcatccc ttctcagagt aagcacttgg agaagaactg 7740
 gaagttcatc ttcaattctt tctgcttcat cagaatccag tgaaaaagca aaaagtgagg 7800
 atgaaaaaca tgtgaactct attcaggaa ccaaacaag taaagaaaac caagtatccg 7860
 caaaaggaac atggagaaaa ataaaagaaa atgaatttc tcccacaaat agtacttctc 7920
 agaccgtttc ctcaggtgct acaaatgggt ctgaatcaaa gactctaatt tatcaaatgg 7980
 cacctgctgt ttctaaaaca gaggatggtt gggtgagaat tgaggactgt cccattaaca 8040
 atcctagatc tggaagatct cccacaggta atactcccc ggtgattgac agtgtttcag 8100
 aaaaggcaaa tccaacatt aaagattcaa agataatca ggcaaaacaa aatgtgggta 8160
 atggcagtgt tccatgctt accgtgggtt tgaaaaatcg cctgaactcc ttattcagg 8220
 tggatgcccc tgaccaaaaa ggaactgaga taaaaccagg acaaaataat cctgtccctg 8280
 tatcagagac taatgaaagt tctatagtgg aacgtacccc attcagtctc agcagctcaa 8340
 gcaaacacag ttacactagt gggactgttg ctgccagagt gactcctttt aattacaacc . 8400
 caagccctag gaaaagcagc gcagatagca cttcagctc gccatctcag atcccaactc 8460
 cagtgaataa caacacaaag aagcgagatt ccaaaactga cagcacagaa tccagtggaa 8520
 cccaaagtcc taagcgcct tctgggtctt acctgtgac atctgttaa aagagaggaa 8580
 gaatgaaact aagaaaattc tatgtaatt acaactgcta tatagacatt tgtttcaaa 8640
 tgaaacttta aaagactgaa aaattttgta aataggtttg attcttgta gagggtttt 8700
 gttctggaag ccatattga tagtatactt tgtcttact ggtcttattt tgggaggcac 8760
 tcttgatggt taggaaaaaa atagtaaagc caagtatgtt tgtacagat gttttacatg 8820
 tatttaaagt agcatcccat cccaactcc ttaattatt gctgtctta aaataatgaa 8880
 cactacagat agaaaatag atatattgct gttatcaatc attttagat tataaactga 8940
 ctaaacttac atcagggaaa aattggattt tatgcaaaaa aaaatgtttt tgccttgtg 9000

agtcacatcta acatcataat taatcatgtg gctgtgaaat tcacagtaat atggttcccg 9060
atgaacaagc ttaccacagc ctgtttgctt tactgcatga atgaaactga tgggtcaatt 9120
tcagaagtaa tgattaacag ttatgtggtc acatgatgtg catagagata gctacagtgt 9180
aataatttac actatittgt gtcceaaca aaacaaaaat ctgtgtaact gtaaacatt 9240
gaatgaaact atttacctg aactagattt tatctgaaag taggtagaat tttgctatg 9300
ctgtaatttg ttgtatattc tggfatttga ggtgagatgg ctgctctttt attaatgaga 9360
catgaattgt gtcacaacag aaactaaatg aacatttcag aataaattat tgctgtatgt 9420
aaactgttac tgaaattggt attgtttga agggctctgt tcacatttg tattaataat 9480
tgttfaaat gcctcttita aaagcttata taaattttt ncttcagctt ctatgcatta 9540
agagtaaaat tcctcttact gtaataaaaa caatgaaga agactgttgc cacttaacca 9600
ttccatgctg tggcacttat ctattcctga aattcttita tgtgattagc tcactctgat 9660
tttaacatt ttccactta aactttttt tcttactcca ctggagctca gtaaaagtaa 9720
attcatgtaa tagcaatgca agcagcctag cacagactaa gcattgagca taataggccc 9780
acataatttc ctcttctta atattataga aattctgtac ttgaaattga ttcttagaca 9840
ttgcagtctc ttcgaggctt tacagtgtaa actgtcttgc ccttcatct tctgttgca 9900
actgggtctg acatgaacac ttttatcac cctgtatgtt agggcaagat ctgagcagt 9960
aagtataatc agcactttgc catgctcaga aaattcaat cacatggaac tttagaggta 10020
gatttaatac gattaagata ttcagaagta ttttttagaa tcctgcctg ttaaggaaac 10080
tttatttg gtaggtacag ttctgggta catgttaagt gtccccttat acagtgagg 10140
gaagtctcc ttctgaagg aaaataaact gacacttatt aactaagata attacttaa 10200
tatacttcc ctgattgtt ttaaagatc agagggtgac tgatgataca tgcatacata 10260
ttgttgaat aatgaaaat ttatttttag tgataagatt catacactct gtatttggg 10320

agagaaaacc ttttaagca tgggtgggca ctcagatagg agtgaataca cctacctggt 10380

ggtcac 10386

<210> 61
 <211> 7273
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <221> misc_feature
 <223> PTGS2

>gi|3282785|gb|AF044206.1| 智人环加氧酶 (COX-2)
 基因, 启动子和外显子 1

<400> 61
 ggtaccagg ctggagtga ctggtgat catagctcac taacctgaa ctctggct 60
 taggcaatcc tottgcttg gcctccaaa gtgccaggat tacaggcatg agccaccaca 120
 gtggagctct caattcgtat actaataatt tgtgtctct cttttttcc ttagcctgac 180
 tagagtaatt aactttatg cttttaaag aaccacctt tggttttac ccatttctt 240
 tttgatatt ctgttttga ttgattgat atctactctt atttttatt atttctttc 300
 ctctgcttac ttgaattta attactttc tttttgtag tctcctaaaa tagaagctta 360
 tattattgat ttgatctt tcttctttc tattacagca ctcaatgcta taaattccc 420
 tctaagcatt gctttcactg catctacaa tattcaact ctattgtat ttagctcaa 480
 agaggtctt aatttctatt gggattctc ttgacctat gtgtattca gaagigtcc 540
 gtgtgatctc caaatattg ggagttttc agctatctt ctattaatca ttcttggtt 600
 aattctattg tggcctgaga gcatatattg tatgattat attctgtaa atgtgttaag 660
 gtgtgtctta tggtcagaa tgcggttat ctgctatat gttcctaga gaataatga 720
 tttctgctg ttattgata aagtagtcta tagatgtcag ttacatctcg ttgattaatg 780

gtgctgtga gttcagctat gtccaaatg atttctgtc tgctgtatct gtctattct 840
 gacacaaggc tgttgaagtc tccaaccata ataatgaatt aatctatctt tctttgcagt 900
 tttatcaatt ttgtcttata tatattgatg ctccattgtt tggcacatac acattaagaa 960
 ttgttatgct ttcttgaga atttaccttt ccataacatg taacatttcc ctttattcct 1020
 gataatctt cttgctcaa agtttgcct gttggaaatt accagaacta ctctggcttt 1080
 atttgattag tgttagcatg ctctctctt ctctattctt acacttttaa tgtatacttg 1140
 actttgtatt taaagtgggg ttctataga aaacatatac ttgtagggt gggaagtaa 1200
 ataaaagaa atacttgggt atggtttga tccactctaa caatctctat gtttaattg 1260
 atgtattag accattgata cttatcttt taccctcctc cctgtgatta cccagagagc 1320
 tgcttaaatt gattattgat atagacaaat taataattaa tatctaccgt ttgtactgt 1380
 ttctatctt tcaatgcct tactttctg tctatctt ttctctctt tctgttaatt 1440
 taggtttga gttatctat atcattctat ttctctccc ttctcagcat atgaattac 1500
 ttcttttg acttttttag tggctgcct gaaggttga atgtacattt acaaccagtc 1560
 ccaatctct tcaaaaaac acaactctg tcatggcta gtgcaagtac ctaataataa 1620
 gaagtcactc ctaattctt tctctctc ttgtatctt tactgttatt cattcactt 1680
 gtacataagc tgtaatctt caatacatta ttgtattat tattcaaaa catgttatct 1740
 attatatcta tttaaaataa gaaaaatag ccaggtgcag tggcttactc atgtaatccc 1800
 agcactttgg gagaccgatg gattgctaga gctcaggaat tcgagaccag cctgggcaac 1860
 atagtgaac cctgtctcta ctaaaaatac aaaaaaaaa attgctgggc atggtggcat 1920
 gggcctgtgg tcacagctac tggggaggct gaggtgagag gattgcttga gcctgggagg 1980
 cagaggttgc agtgaacaa aatcaagcta ctgactcca gcctaagtga cagagtgaga 2040
 ccctgtctca aaaaaaaaa gaaagaatta ttttattta tcttactta ttctctct 2100

aatgctctt gttctttag tatgtagtc caagtttcta acctgtatca ttttcttat 2160

ctcaataact tctttaaca ttctcaca agcagatcta ctggccacag aatgcctcaa 2220

tttcattg tctgagaaaa ccttattct ccttcacttt tgaagataa tttgtaggg 2280

tacagaattc taggtgtag gtttttccc ctcaaagtga aatatttcat tccactctt 2340

tctctttgt atggtatctg agaagaagtc agatgtaatt cttatcatta ttacttaaaa 2400

gattgctctt gttccttct ctctctcct tccctcttt cctctctgt atattacacc 2460

ttttatagt gccccatatt tcttagatat tatgtttgg tttctctg tgtttttc 2520

ttgattctc agttttagaa gtctctatt atatatctgc aatcgcaggg attcttctc 2580

ctgccatgc cagtctacta ataagccctt acagacatig ttgactctg ttccagtgt 2640

ttgatctct agcattctc tgattattc ttggaattgc catctgtcta cttacattac 2700

caacctatc ttgtgtgtg tcttatcata gtaattgcag ttgtttaat tcataggtg 2760

ttgtaattc aacatctcta ccatattga cattgattct gatgcttgc ctgtcttacc 2820

aagctatgt ttgtctttt agtgtgactt ctaattttt gttgaaagcc aggcattgat 2880

tactgagtga aagaaactca atacattgta atgtgacgat aagagttcag gggaagtga 2940

gcattctata gtccatagc aggtctcggc cttttagtga gcctgtcct atgaacggtg 3000

acttcaaca agtgccttc attccactct tttctgtcc ttaagtggga caagatcact 3060

gggggggggc tagaattggg tatttccctt ctccaatgta gaagctaaag agagggtgg 3120

agttgggtat tttcttccc ctgtatggaa agctagaggc agttaaatt ggatatttc 3180

cttctctaa ttcagtagg ctgcgacaaa aatcccgaca gtttaggctc taatattata 3240

aaataattc tcttgatgat aggccttatt aagaacacta tactctgatg gagctgaggg 3300

ggagtttct ctgatattca ctgcgagaac ctctgtaggc tccaggaagc aaaactcaca 3360

aaagtgtggg agtctccag aattttctt ttgcagactt atctgcactg aacctccaga 3420

aatfcacaa ttacagtca ggtttccta cccaggtact ggttticatg gagtttctg 3480

cctgtgcatt tctgtccag taagtgttc ttctgtatg gtctgtctt caaattttt 3540

aagtagggtt atgacctgic gcctcacttc tctgacagtt ctgagagtgt tgattttca 3600

gtttgcttag attttactt gtttttagga tgaagtgaca attccaagc tctcctga 3660

catgccagat cagaaactga aagtcctaag cctcatattc tgtgcgtggg tatgtcaca 3720

tctgcctgc tccagtgcc ccacctcaca ctctcttcc ctctctgtc ccctgtgag 3780

attttaggt ccaatacaaa gactgtgtc aactcattca actactggc tcatctgagt 3840

attataatga acaatcaca aaaaaatga agtaaaagaa aaatccatca aagaattgag 3900

atattgaga aaaagaagg agatcaggtt ttataaac ttagaaatag atttttaag 3960

tgttcttca tgactatg tgaaggact ttcttaatt taacaaatta tgtgcttctg 4020

ttatagcct caaaactct tgtgtagcta agaatggta aataatcagg cttactaaa 4080

ggactaacgt aaagatctc tgtaagtaac attctgcta ctcaaggaag agataaactt 4140

catggcataa ccttgccaaa gtatactaag aataaccctg acacaaagct ctttttcag 4200

ccaacatgcc atgaaagaaa gaagacaagg ggtgatctcc actctctaag tgaaccacta 4260

aaccaccaa agaagaacg agggaaatag aaagaggacc ctgcctgag ataatggatc 4320

tgtatgtatg agtagtagaa cctgtctcaa agtacaagga agggaaaaaa aagttagttt 4380

atttgaatt ttggacatta agagtcttta ttgtcattt tcttttaact cacatgaatg 4440

gcttatcact tcaattaata aatatticat ttctttcaa tctatattca tgaacaaat 4500

ctgaaatgaa cagtgcaca tgtgaatgtt tagaacatta taaaattaa cacaaaatct 4560

gtctggcaat ctcttagca tcttaggaaa aaagttgaca aaattcaag cagcagaagg 4620

gggcagtaaa actcaacaga aagctctgga agatttttaa gattcttctt tatttcttt 4680

tcatgtagag tatttcccaa caaatttcag acgctaatag aaattttgta caacagatcc 4740

atatattgc ctaaaataga cacagaaaca ttgatatatg caaacatgag agctataagt 4800

ttfacatgat caaaccttt tttttatggt acacaatagt cacagtactt ttccatataa 4860

aacaggttta gtggctctaa tttagttgg cacattfaat acactcccat gaccagcatc 4920

ccaaatgtac ctatccgttt tattttatg tctcagaatt gtcagttatt taataaatta 4980

tgtaactttt ttccctatgc tcagattgc acttctttct aaaactctgc ccatccttaa 5040

agtcccagat tctcctgaa ctttttttt tgactttcca agtacetgga actcttcact 5100

ctatcctgct atataagtga cagaattcc actatgggat agatggagt caattccttt 5160

gagtttaaaa taactaaat ataattatt cttatgccct gttttccct cacttttga 5220

tccaaatctc tttcagaca acagaacaat taatgtctga taaggaagac aatgatgatg 5280

atcactcaa aataagcttg aattcaggat tgtaatgtaa aattttagta ctctctcaca 5340

gtatggattc taacatggct tctaaccba actaacatta gtagctctaa ctataaactt 5400

caaattcag tagatgcaac ctactcctt aaaatgaac agaagattga aattattaaa 5460

ttatcaaaaa gaaaatgatc cacgctctta gttgaaatt catgtaagat tccatgcaat 5520

aaataggagt gccataaatg gaatgatgaa atagactag aggaggagaa aggcttccca 5580

gatgagatgg aattttatgc atccgtgtct catgaagaat cagatgtgta cactaagcaa 5640

aacagttaaa aaaaaaacct ccaagtgagi ctcttatta ttttttctt ataagacttc 5700

tacaaatga ggtacctggt gtagttttat ttcaggtttt atgctgtcat tttcctgtaa 5760

tgctaaggac ttaggacata actgaatttt ctattttcca cttctttct ggtgtgtgtg 5820

tatatatata tgtatatata cacacacaca tatacatata tatattttta gtatctcacc 5880

ctcacatgct cctccctgag cactacccat gatagatgtt aaacaaaagc aaagatgaaa 5940

ttccaactgt taaaatctcc ctccatcta attaatcct catccaacta tgttccaaaa 6000

cgagaataga aaattagccc caataagccc aggcaactga aaagtaaatg ctatgttga 6060

ctt|gatcca tgg|tcacaac tcataatctt ggaaaagtgg acagaaaaga caaaagagtg 6120

aactt|aaaa ct|gaattta ttt|accagt atctcctatg aagg|gctagt aac|caaaata 6180

atccac|gat cagg|gagaga aatgcctta gg|catacgtt ttgg|acattt agc|gtccctg 6240

caaatt|ctgg ccat|cggcgc ttc|ctt|gtc cat|cagaagg cagg|aaactt tat|att|gtg 6300

accc|gtggag ct|cacattaa ct|att|acag gg|taactgct tagg|accagt att|at|gagga 6360

gaatt|acct t|ccc|cctc tctt|ccaag aa|acaaggag ggg|gtgaagg tac|ggagaac 6420

agtatt|ctt ct|gtt|gaaag ca|act|tagct a|caa|gataa att|acagcta t|gt|actga 6480

agg|tagctat t|catt|ccac aaa|taagag tttt|taaaa ag|ctat|gtat gt|at|gtcctg 6540

catat|gagc ag|atatacag c|tatta|agc g|tc|gtcacta aa|c|ataaaa cat|gt|cagcc 6600

ttct|taacc t|act|gccc cag|tct|gtcc cg|ac|gtgact t|c|ct|gaccc t|c|aa|agacg 6660

tacag|accag ac|ac|ggcggc gg|cggcggga gag|gggattc c|t|gc|gcccc c|gg|acc|tcag 6720

ggcc|gctcag att|ct|ggag ag|gaag|ccaa g|t|c|cttct gcc|t|cccc g|t|at|cccat 6780

ccaag|gcat cag|tccagaa ct|gg|ctctc ga|ag|c|ctc gg|caa|agact gc|ga|agaaga 6840

aaag|acatct gg|cggaaacc t|gt|c|g|cctg gg|c|g|gtgga act|c|gg|ggag gag|agg|gagg 6900

gatc|agacag gag|agt|gggg act|ac|cccc ct|g|ct|ccaa att|gg|ggcag ct|c|ct|gggt 6960

ttcc|gattt ct|att|tccg tgg|t|aaaa acc|t|gccc c|acc|gggtt ac|g|caattt 7020

ttta|agg|gga gag|gag|g|gaa aa|att|t|gtg ggg|gt|acgaa aag|gc|ggaaa gaa|ac|agtca 7080

tttc|gtcaca tgg|g|ctt|gtt ttt|c|agt|ctt at|aaaa|agga ag|gt|t|ctc g|tt|ag|c|gac 7140

caatt|gcat ac|gact|gca g|t|gag|c|tca gg|ag|c|ac|gtc cag|ga|actcc tc|ag|c|agcgc 7200

ctct|tcagc tcc|acag|cca gac|gccc|ca gac|ag|caaag c|t|ac|cccc gc|g|c|g|c|gcc 7260

ctgccc|gaag ct| 7273

<210> 62
 <211> 4465
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <221> misc_feature
 <223> >gi|4506264|ref|NM_000963.1| 智人
 前列腺-内过氧化物合酶 2 (前列腺 G/H 合酶
 和环加氧酶) (PTGS2), mRNA

<400> 62
 caattgcat acgacttga gtgagcgtca ggagcacgtc caggaactcc tcagcagcgc 60
 ctcttcagc tccacagcca gacgcctca gacagcaaag cctacccccg cgccgcgccc 120
 tgcccgcgc tcggatgctc gcccgcgccc tgctgctgtg cgcggctcctg gcgctcagcc 180
 atacagcaaa tccttgctgt tcccacccat gtcaaaaccg aggtgtatgt atgagtgtgg 240
 gatttgacca gtataagtgc gattgtaccc ggacaggatt ctatggagaa aactgctcaa 300
 caccggaatt ttgacaaga ataaaattat ttctgaaacc cactccaaac acagtgcact 360
 acatacttac ccactcaag ggattttgga acgtgtgaa taacattccc ttcttcgaa 420
 atgcaattat gagttatgct ttgacatcca gatcacattt gattgacagt ccaccaactt 480
 acaatgctga ctatggctac aaaagctggg aagccttctc taacctctcc tattatacta 540
 gagcccttc tcctgtgctt gatgattgcc cgactccctt ggggtgcaaa ggtaaaaagc 600
 agcttcctga tcaaatgag attgtgaaa aattgcttct aagaagaag ttcacccctg 660
 atccccaggg ctcaaacatg atgtttgcat tcttgccca gcacttcacg catcagtttt 720
 tcaagacaga tcataagcga gggccagctt tccaacagg gctgggcat ggggtggact 780
 taaatcatat ttacggtgaa actctggcta gacagcgtaa actgcgctt tcaaggatg 840
 gaaaaatgaa atacagata attgatggag agatgtatcc tcccacagtc aaagatactc 900
 aggcagagat gatctaccct cctcaagtcc ctgagcatct acggtttgct gtggggcagg 960

aggtctttgg tctgggcct ggtctgatga tgtatgccac aatctggctg cggaacaca 1020
 acagagtatg cgatgtgctt aaacaggagc atcctgaatg gggatgatgag cagttgttcc 1080
 agacaagcag gctaatactg ataggagaga ctattaagat tgtgattgaa gattatgtgc 1140
 aacacttgag tggctatcac ttcaactga aattgaccc agaactactt tcaacaac 1200
 aattccagta ccaaaatcgt attgctgctg aatttaacac cctctatcac tggcatcccc 1260
 ttctgcctga caccttcaa attcatgacc agaatacaa ctatcaacag tttatctaca 1320
 acaactctat attgctgga catggaatta cccagttgtg tgaatcatic accaggcaaa 1380
 ttgctggcag ggttgctggt ggtaggaatg ttccaccgc agtacagaaa gtatcacagg 1440
 ctccattga ccagagcagg cagatgaaat accagctttt taatgagtac cgcaaacgct 1500
 ttatgctgaa gccctatgaa tcattgaag aacttacagg agaaaaggaa atgtctgcag 1560
 agttggaagc actctatggt gacatcgatg ctgtggagct gtatcctgcc ctctggtag 1620
 aaaagcctcg gccagatgcc atctttggtg aaacctggtg agaagttgga gcaccattct 1680
 cctgaaagg acttatgggt aatgttatat gttctcctgc ctactggaag ccaagcactt 1740
 ttggtggaga agtgggtttt caaatcatca acactgcctc aattcagtct ctcatctgca 1800
 ataacgtgaa gggctgtccc ttacttcat tcagtgtcc agatccagag ctcattaaaa 1860
 cagtcacat caatgcaagt tcttccgct cggactaga tgatatcaat cccacagtac 1920
 tactaaaaga acgttcgact gaactgtaga agtctaata tcatattat ttattatat 1980
 gaacctgic tattaattta attatttaaat aatatttata ttaaactcct tatgttactt 2040
 aacatcttct gtaacagaag tcagtactcc tgttgcggag aaaggagtca tacttgtgaa 2100
 gactttatg tcactactct aaagatttg ctgttgctgt taagtttga aaacagtttt 2160
 tattctgttt tataaaccag agagaaatga gtttgacgt cttttactt gaattcaac 2220
 ttatattata agaacgaaag taaagatgtt tgaatactta aacactatca caagatggca 2280

aaatgctgaa agttttaca ctgtcgaagt ttccaatgca tcttccatga tgcattagaa 2340
gtaactaatg ttgaaattt taaagtactt ttggftattt ttctgtcatc aaacaaaaac 2400
aggatcaggt gcattattaa atgaatattt aaattagaca ttaccagtaa ttcatgtct 2460
actttttaa atcagcaatg aaacaataat ttgaaattc taaatcata gggtagaatc 2520
acctgtaaaa gcttgttga ttcttaaag ttattaaact tgtacatata ccaaaaagaa 2580
gctgtcttg atttaaatct gtaaatcag atgaaattt actacaattg ctgttaaaa 2640
tatttataa gtgatgtcc ttttcacca agagtataa ccttttagt gtgactgta 2700
aaactcctt ttaatcaaa atgccaaatt tattaagggt gtggagccac tgcagtgtta 2760
tctcaaaata agaattttt gtgagatat tccagaattt gtttatatgg ctggtaacat 2820
gtaaaatcta taccagaaa aggtctacc tttaaataa gcaataaca agaagaaaac 2880
caaattatg ttcaattta ggtttaaact ttgaagcaa actttttt atcctgtgc 2940
actgcaggcc tggactcag attttctat gaggtaatg aagtaccaag ctgtgctga 3000
ataacgatat gtttctcag attttctgt gtacagtta atttagcgt ccatatcaca 3060
ttgcaaaagt agcaatgacc tcataaata cctctcaaa atgcttaaat tcattcaca 3120
cattaattt atcctagct tgaagccaat tcagtaggt cattggaatc aagcctggct 3180
acctgcagc tgttccttt ctttctctt tttagccatt ttgctaagag acacagtct 3240
ctcatcact cgttctcct atttgttt actagtta agatcagagt tcacttctt 3300
tggactctgc ctatatttc ttacctgaac tttgcaagt ttcaggtaa acctcagctc 3360
aggactgcta tttagctcct cttaagaaga ttaaagaga aaaaaaagg cccttttaa 3420
aatagtatac acttattta agtgaaaagc agagaattt attatagct aatttagct 3480
atctgtaacc aagatggatg caaagaggct agtcctcag agagaactgt acggggttg 3540
tgactggaaa aagttacgt cccattctaa ttaatgccct ttcttatta aaaacaaaac 3600

caaatgatat ctaagtagtt ctcagcaata ataataatga cgataatact tctttccac 3660
 atctcattgt cactgacatt taatggctact gtatattact taatttattg aagattatta 3720
 tttatgtcct attaggacac tatggtata aactgtgttt aagcctacaa tcattgatt 3780
 tttttgta tgcacaatc agtatathtt ctttgggggtt acctctctga atattatgta 3840
 aacaatccaa agaaatgatt gtattaagat ttgtgaataa attttagaa atctgattgg 3900
 catattgaga tatttaaggt tgaatgtttg tccttaggat aggcctatgt gctagcccac 3960
 aaagaatatt gtctcattag cctgaatgtg ccataagact gacctttaa aatgttttga 4020
 gggatctgtg gatgcttctg taattgttc agccacaatt tattgagaaa atattctgtg 4080
 tcaagcactg tgggttttaa ttttttaa tcaaacgctg attacagata atagtattta 4140
 tataaataat tgaaaaaaat tttcttttgg gaagaggag aaaatgaaat aaatattcatt 4200
 aaagataact caggagaatc ttctttacaa ttttactgtt agaatgttta aggttaagaa 4260
 agaaatagtc aatatgcttg tataaaacac tgttcactgt ttttttaa aaaaaactt 4320
 gatttattat taacattgat ctgctgacaa aacctgggaa ttgggttgt gtatcgaat 4380
 gtttcagtgc ctcagacaaa tgtgtattta acttatgtaa aagataagtc tggaataaaa 4440
 tgtctgttta ttttgtact attta 4465

<210> 63
 <211> 1336
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <221> misc_feature
 <223> 14-3-3-Sigma

>gi|45238846|ref|NM_006142.3| 智人 stratifin (SFN), mRNA

<400> 63
 gagagacaca gaggccgca ttgtccag gcagcagta gcccggccc gcctgtgtg 60
 tcccagagc catggagaga gccagctga tccagaaggc caagctggca gagcaggccg 120
 aacgtatga ggacatggca gcctcatga aaggcgccgt ggagaagggc gaggagctct 180
 cctgcgaaga gcgaaacctg ctctcagtag cctataagaa cgtgggtggc ggccagaggg 240
 ctgctggag ggtgctgtcc agtattgagc agaaaagcaa cgaggagggc tcggaggaga 300
 aggggcccga ggtgctgtg taccgggaga aggtggagac tgagctccag ggcgtgtgcg 360
 acaccgtct gggcctgtg gacagccacc tcatcaagga gccggggac gccgagagcc 420
 gggcttcta cctgaagatg aagggtgact actaccgcta cctggccgag gtggccaccg 480
 gtgacgaaa gaagcgcac attgactcag cccggtcagc ctaccaggag gccatggaca 540
 tcagcaagaa ggagatgccg cccaccaacc ccatccgct gggcctggcc ctgaacttt 600
 ccgtctcca ctacgagatc gccaacagcc ccgaggaggc catctctcg gccaaagaca 660
 cttcagca ggccatggct gatctgcaca cctcagcga ggactcctac aaagacagca 720
 ccctcatcat gcagctgtg cgagacaacc tgacactgtg gacggccgac aacgccgggg 780
 aagagggggg cgagctccc caggagcccc agagctgagt gttgcccgc accgccccgc 840
 cctgccccct ccagtcccc accctgccga gaggactagt atgggtggg aggccccacc 900
 ctctcccc aggcctgtt ctgtccaa agggctccgt ggagaggac tggcagagct 960
 gaggccacct ggggtgggg atcccactct tctgcagct gttgagcga cctaaccact 1020
 ggatcatgcc cccccctg tctccgacc cgttctcc cgacccagg accaggctac 1080
 ttccccct ctctgccc cctctgccc ctgtgcctc tgatcgtagg aattgaggag 1140
 tgtcccct tgtgctgag aactggacag tggcaggggc tggagatggg tgtgtgtg 1200
 tgtgtgtg tgtgtgtg tgtgcgcg cgccagtca agaccgagat tgaggaaag 1260
 catgtctgt ggtgtgacc atgttctc tcaataaagt tcccgtga cactcaaaa 1320

aaaaaaaaaa aaaaaa

1336

<210> 64
 <211> 1968
 <212> DNA
 <213> 智人

<220>
 <221> misc_feature
 <223> RASSF1A

>gi|25777678|ref|NM_007182.4| 智人 Ras 相关
 (RalGDS/AF-6) 结构域家族 1 (RASSF1), 转录变体 A,mRNA

<400> 64
 tctcctcagc tccttcccgc cgcccagctc ggatcctggg ggaggcgtg aagtcggggc 60
 ccgccctgtg gccccgccc gcccgcgctt gctagcggcc aaagccagcg aagcacgggc 120
 ccaaccgggc catgtcgggg gagcctgagc tcattgagct gcgggagctg gcaccgctg 180
 ggcgcgctgg gaaggccgc acccgctgg agcgtgcca cgcgctgcgc atcgcgggg 240
 gcaccgctg caaccacaca cggcagctgg tccctggccg tggccaccgc ttccagcccg 300
 cggggcccgc cagcacacg tggcgcacc tctgtggcga cttcatctgg ggcgtcgtgc 360
 gcaaaggcct gcagtgcgcg cattcaagt tcacctgcca ctaccgctgc cgcgcgctcg 420
 tctgcctgga ctgttgcggg ccccgggacc tgggctggga acccgcggtg gagcgggaca 480
 cgaacgtgga cgagcctgtg gagtgggaga cacctgacct ttctcaagct gagattgagc 540
 agaagatcaa ggagtacaat gccagatca acagcaacct ctcatgagc ttgaacaagg 600
 acggttctta cacaggcttc atcaaggctc agctgaagct ggtgcgccct gtctctgtgc 660
 cctccagcaa gaagccacc tccttcagc atgcccggcg gggcccagga cggggcacia 720
 gtgtcaggcg ccgcacttcc tttacctgc ccaagatgc tgtcaagcac ctgcatgtgc 780

tgtcacgcac aagggcacgt gaagtcattg aggccctgct gcgaaagttc ttggtggtgg 840
 atgacccccg caagtttgca ctcttgagc gcgctgagcg tcacggccaa gtgtacttgc 900
 ggaagctgtt ggatgatgag cagccccctgc ggctgaggct cctggcaggg cccagtgaca 960
 aggccctgag cttgtcctg aaggaaaatg actctgggga ggtgaactgg gacgcctca 1020
 gcatgcctga actacataac ttctacgta tctgcagcg ggaggaggag gacacctcc 1080
 gccagatcct gcagaagtac tcctattgcc gccagaagat ccaagaggcc ctgcacgcct 1140
 gccccctgg gtgacctctt gtacccccag gtggaaggca gacagcaggc agcgccaagt 1200
 gcgtgccgtg tgagtgtgac agggccagtg ggccctgtgg aatgagtgtg catggaggcc 1260
 ctctgtgct gggggaatga gccagagaa cagcgaagta gcttgctccc tgtgtccacc 1320
 tgtgggtgta gccaggtatg gctctgcacc cctctgccct cactactggg ccttagtggg 1380
 ccagggctgc cctgagaagc tgctccaggc ctgcagcagg agtggtgcag acagaagtct 1440
 cctcaatttt tigtctcagaa gtgaaaatct tgagaccct gcaaacagaa cagggtcatg 1500
 ttgcagggg tgacggccct catctatgag gaaagtttt ggatctttaa tgtggtctca 1560
 ggatatacct atcagagcta aggggtgggt ctcagaataa ggcaggcatt gaggaagagt 1620
 ctgtgtttct ctctacagt ccaactctc acacaccctg aggtcaggga gtgctggctc 1680
 acagtacagc atgtgcctta atgctcata tgaggaggat gtccctgggc cagggtctgt 1740
 gtgaatgtgg gcactggccc aggttcatac ctatttgct aatcaaagcc aggtctctc 1800
 cctcaggtgt ttttatgaa gtgcgtgaat gtatgtaatg tgtggtggcc tcagctgaat 1860
 gcctcctgtg gggaaagggg ttgggtgac agtcatcctc agggcctggg gcctgagaga 1920
 attgctcaa taaagatttc aagatcctca aaaaaaaaa aaaaaaaaa 1968

<210> 65

<211> 17

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> GSTP1 引物

<400> 65

agttgcgagg cgatttc

17

<210> 66

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 探针 (5'FAM/3'TAMRA) GSTP1

<400> 66

cggtcgacgt tcgggtgta gcg

23

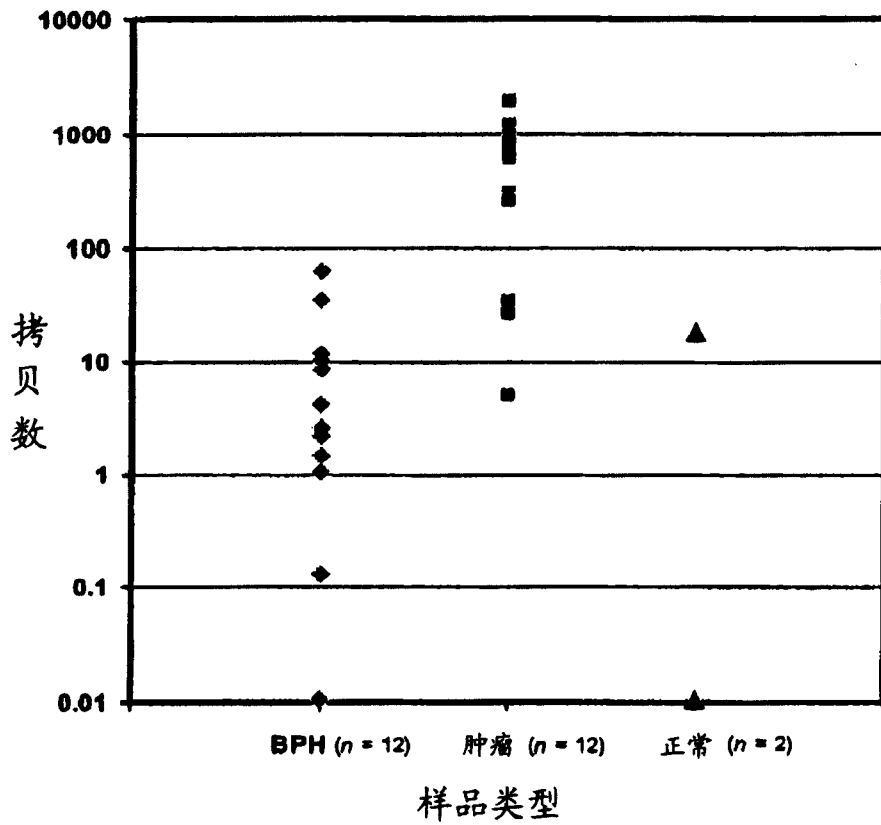


图1

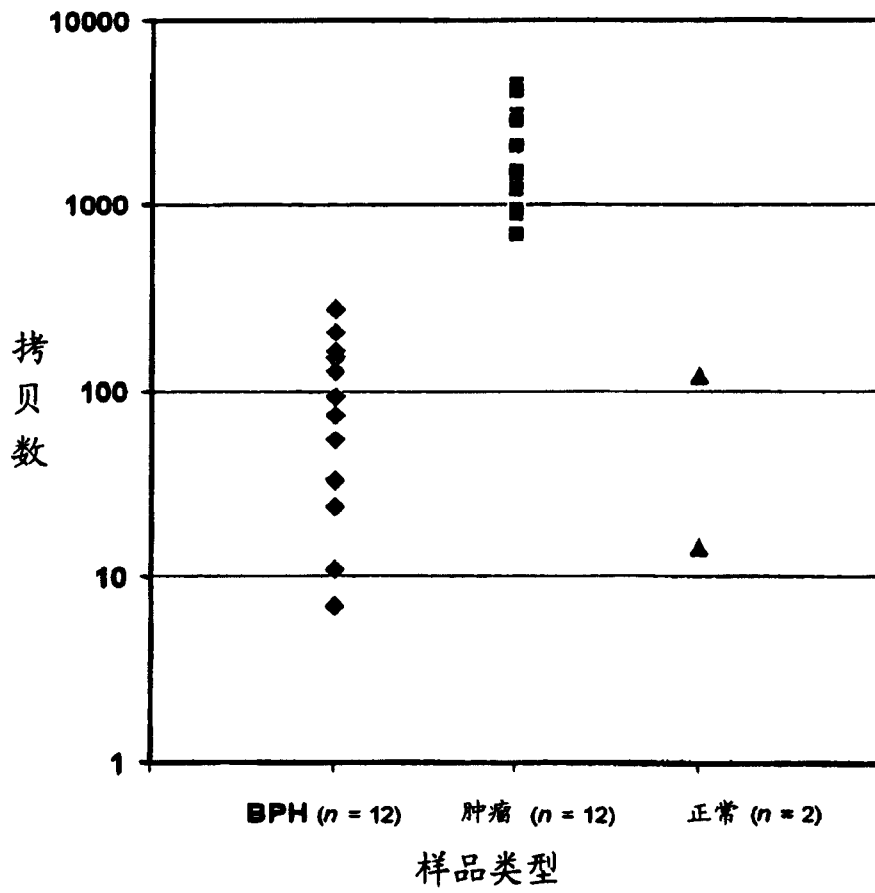


图2