



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 108601794 A

(43)申请公布日 2018.09.28

(21)申请号 201680080143.5

(22)申请日 2016.12.02

(30)优先权数据

2015905035 2015.12.04 AU

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.07.26

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/AU2016/051192 2016.12.02

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/091866 EN 2017.06.08

(71)申请人 联邦科学技术研究组织

地址 澳大利亚首都地区

(72)发明人 C·斯图尔特 R·安布罗斯

A·比恩

(74)专利代理机构 永新专利商标代理有限公司
72002

代理人 王健 林晓红

(51)Int.Cl.

A61K 31/7088(2006.01)

A61K 38/17(2006.01)

A61K 39/395(2006.01)

A61P 37/02(2006.01)

A61P 35/00(2006.01)

权利要求书4页 说明书45页

序列表37页 附图11页

(54)发明名称

调节细胞因子产生

(57)摘要

本发明涉及调节受试者体内的免疫应答和/或细胞因子产生的方法,所述方法包括向所述受试者施用改变C6orf106蛋白活性的化合物。本发明还涉及用于改变受试者体内的C6orf106蛋白活性的化合物,以及用于鉴定此类化合物的筛选方法。

1. 一种调节受试者体内的免疫应答和/或细胞因子产生的方法,所述方法包括向所述受试者施用改变C6orf106蛋白活性的化合物。

2. 根据权利要求1所述的方法,其中所述化合物增大C6orf106蛋白活性,并且其中所述免疫应答减轻并且/或者所述细胞因子产生减少。

3. 根据权利要求2所述的方法,其中增大的C6orf106蛋白活性减少了IRF3依赖性细胞因子转录。

4. 根据权利要求2或权利要求3所述的方法,其中所述化合物为多核苷酸、多肽或小分子。

5. 根据权利要求4所述的方法,其中所述多核苷酸编码包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者或多者具有至少50%同一性的氨基酸序列或其生物活性片段的多肽。

6. 根据权利要求5所述的方法,其中所述多核苷酸可操作地连接到指导所述多核苷酸在所述受试者体内表达的启动子。

7. 根据权利要求6所述的方法,其中所述多核苷酸在表达载体中施用。

8. 根据权利要求7所述的方法,其中所述载体为病毒载体。

9. 根据权利要求4所述的方法,其中所述多肽包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者或多者具有至少50%同一性的氨基酸序列或其生物活性片段。

10. 根据权利要求9所述的方法,其中所述生物活性片段缺少功能性无序区。

11. 根据权利要求1所述的方法,其中所述化合物降低C6orf106蛋白活性,并且其中所述免疫应答增强并且/或者所述细胞因子产生增加。

12. 根据权利要求11所述的方法,其中所述化合物减少包含C6orf106和IRF3的复合物的形成。

13. 根据权利要求11所述的方法,其中降低C6orf106蛋白活性增加了IRF3依赖性细胞因子转录。

14. 根据权利要求11至13中任一项所述的方法,其中所述化合物为多核苷酸、多肽或小分子。

15. 根据权利要求14所述的方法,其中所述多核苷酸减少所述C6orf106基因的表达。

16. 根据权利要求14或权利要求15所述的方法,其中所述多核苷酸选自:反义多核苷酸、有义多核苷酸、编码结合C6orf106的多肽的多核苷酸、双链RNA分子,或由前述这些衍生的经加工的RNA分子。

17. 根据权利要求15或权利要求16所述的方法,其中所述多核苷酸由施用给所述受试者的转基因表达。

18. 根据权利要求14所述的方法,其中所述多核苷酸结合到C6orf106并且降低C6orf106蛋白活性。

19. 根据权利要求18所述的方法,其中所述多核苷酸为RNA适配体、DNA适配体或XNA适配体。

20. 根据权利要求11至14中任一项所述的方法,其中所述化合物结合到C6orf106并且降低C6orf106蛋白活性。

21. 根据权利要求20所述的方法,其中所述化合物为多肽。

22. 根据权利要求21所述的方法,其中所述多肽为抗体或抗原结合片段。

23. 根据权利要求1至22中任一项所述的方法,其中所述免疫应答为IFN应答。
24. 根据权利要求23所述的方法,其中所述免疫应答为I型IFN应答。
25. 根据权利要求1至24中任一项所述的方法,其中所述细胞因子为IFN- α 、IFN- β 和TNF- α 中的一种、多种或全部。
26. 根据权利要求1至25中任一项所述的方法,其中所述免疫应答选自:抗病毒免疫应答、自体免疫应答、炎症应答。
27. 根据权利要求26所述的方法,其中所述免疫应答为抗病毒免疫应答,并且所述免疫应答增强并且/或者所述细胞因子产生增加。
28. 根据权利要求26所述的方法,其中所述免疫应答为炎症应答,并且所述免疫应答减轻并且/或者所述细胞因子产生减少。
29. 根据权利要求1至26中任一项所述的方法,其中所述受试者患有下列病症中的一种或多种:感染、免疫缺陷、自体免疫疾病、炎性病症或癌症。
30. 根据权利要求29所述的方法,其中所述感染为病毒感染。
31. 根据权利要求30所述的方法,其中所述病毒为负链RNA病毒。
32. 根据权利要求30所述的方法,其中所述病毒选自:正黏液病毒科、逆转录病毒科、疱疹病毒科、副黏液病毒科、弹状病毒科、丝状病毒科、双RNA病毒科和冠状病毒科。
33. 根据权利要求30至32中任一项所述的方法,其中还向所述受试者施用刺激对所述病毒的免疫应答的至少一种抗原。
34. 根据权利要求29所述的方法,所述自体免疫疾病选自:溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、肠易激综合征、类风湿性关节炎、多发性关节炎、多发性硬化症、葡萄膜炎、哮喘、1型糖尿病、2型糖尿病、狼疮或慢性阻塞性肺病。
35. 根据权利要求29所述的方法,其中还向所述受试者施用刺激对所述癌症的免疫应答的至少一种抗原。
36. 一种治疗和/或预防受试者体内的感染、免疫缺陷或癌症的方法,所述方法包括向所述受试者施用降低C6orf106蛋白活性的化合物。
37. 一种治疗和/或预防受试者体内的自体免疫疾病的方法,所述方法包括向所述受试者施用增大C6orf106蛋白活性的化合物。
38. 根据权利要求1至37中任一项所述的方法,其中C6orf106包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者具有至少50%同一性的氨基酸序列。
39. 根据权利要求1至38中任一项所述的方法,其中所述受试者是动物。
40. 根据权利要求39所述的方法,其中所述受试者是哺乳动物。
41. 根据权利要求40所述的方法,其中所述受试者是人。
42. 改变C6orf106蛋白活性的化合物在制造用于调节受试者体内的免疫应答和/或细胞因子产生的药物方面的用途。
43. 降低C6orf106蛋白活性的化合物在制造用于治疗受试者体内的感染、免疫缺陷或癌症的药物方面的用途。
44. 增大C6orf106蛋白活性的化合物在制造用于治疗受试者体内的自体免疫疾病的药物方面的用途。
45. 一种改变C6orf106蛋白活性的化合物,其用于调节受试者体内的免疫应答和/或细

胞因子产生。

46. 一种降低C6orf106蛋白活性的化合物,其用于治疗病毒感染或癌症。

47. 一种增大C6orf106蛋白活性的化合物,其用于治疗自体免疫疾病。

48. 一种鉴定改变C6orf106蛋白活性的化合物的方法,所述方法包括:

i) 使细胞与候选化合物接触,以及

ii) 确定所述化合物是增大还是降低所述细胞中的C6orf106蛋白活性。

49. 一种鉴定改变C6orf106蛋白活性的化合物的方法,所述方法包括:

i) 使细胞与候选化合物接触,以及

ii) 确定所述化合物是增加还是减少所述细胞中的IRF3依赖性细胞因子转录。

50. 一种鉴定降低C6orf106蛋白活性的化合物的方法,所述方法包括:

i) 使细胞与候选化合物接触,以及

ii) 确定所述化合物是否减少了所述细胞中的包含C6orf106和IRF3的复合物的形成。

51. 根据权利要求48至50中任一项所述的方法,其包括测定所述细胞中的C6orf106mRNA的水平。

52. 根据权利要求48至50中任一项所述的方法,其包括测定所述细胞中的C6orf106蛋白的水平。

53. 一种鉴定结合C6orf106的化合物的方法,所述方法包括:

i) 使包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者具有至少50%同一性的氨基酸序列或其生物活性片段的多肽与候选化合物接触,以及

ii) 确定所述化合物是否结合所述多肽。

54. 根据权利要求53所述的方法,其中所述候选化合物为抗体或其片段,适配体或小分子。

55. 一种经由电脑模拟鉴定改变C6orf106蛋白活性的化合物的方法,所述方法包括:

i) 产生多肽的三维结构模型,所述多肽包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者具有至少50%同一性的氨基酸序列或其生物活性片段,以及

ii) 设计或筛选可能结合所述结构的化合物,以及/或者

iii) 设计或筛选减少包含C6orf106和IRF3的复合物形成的化合物。

56. 根据权利要求55所述的方法,其还包括测试在ii)中设计或筛选的所述化合物结合C6orf106以及调节C6orf106蛋白活性的能力。

57. 根据权利要求55或权利要求56所述的方法,其还包括测试在ii)中设计或筛选的所述化合物调节病毒感染的能力。

58. 一种天然存在的C6orf106多肽的分离的和/或重组的突变体,所述突变体具有与所述天然存在的分子相比改变的活性。

59. 根据权利要求58所述的分离的和/或重组的突变体,所述突变体包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者具有至少50%同一性但缺少功能性UBA样结构域、功能性无序区和/或功能性FW结构域的氨基酸序列。

60. 根据权利要求58或权利要求59所述的分离的和/或重组的突变体,所述突变体缺少SEQ ID NO:1至11中任意一者的约76个N端氨基酸。

61. 一种分离的和/或外源的多核苷酸,其编码权利要求59或权利要求60所述的分离的

和/或重组的突变体。

调节细胞因子产生

发明领域

[0001] 本发明涉及调节受试者体内的免疫应答和/或细胞因子产生的方法,该方法包括向受试者施用改变C6orf106蛋白活性的化合物。本发明还涉及用于改变受试者体内的C6orf106蛋白活性的化合物,以及用于鉴定此类化合物的筛选方法。

[0002] 发明背景

[0003] 本领域需要鉴定免疫应答调节剂来开发治疗和/或预防免疫相关疾病的新方法。具体而言,需要增强对感染(诸如病毒感染、细菌感染、原生动物感染或真菌感染)的免疫应答的新方法。新兴的感染性疾病造成的问题尤其严重,原因是通常没有可用于治疗或预防此类感染的方法。例如,源自野生动物和家养动物的人畜共患病毒对人和动物的健康构成了严重威胁,并被认为是下一次大流行最可能的来源。由于新兴的感染性疾病不但不可预测,而且缺乏有效的控制措施(诸如针对人的抗病毒疗法),所以遏制新兴的感染性疾病暴发往往很困难。因此,需要使用免疫系统的调节剂来增强免疫应答,从而提供抗感染保护。

[0004] 此外,还需要开发新型的免疫应答调节剂,以便在受试者正在承受免疫缺陷例如获得性免疫缺陷综合征(AIDS)时用于增强其免疫应答。

[0005] 另外,还需要可以减轻过度活跃或不适当的免疫应答的免疫应答调节剂。这在慢性炎症(诸如自体免疫疾病)的情况下尤为重要。使用此类调节剂治疗由损伤(例如,创伤引起的损伤)造成的炎症也是大家感兴趣的。此类调节剂可以缓解炎症。

[0006] 因此,需要鉴定用于调节免疫应答和/或细胞因子产生的新靶标、新方法和新化合物,它们可以在用于治疗诸如感染、免疫缺陷、自体免疫疾病和癌症之类疾病的方法中使用。

发明内容

[0007] 本发明人已经鉴定,改变C6orf106蛋白活性可以调节免疫应答和/或细胞因子产生。

[0008] 因此,在一个方面,本发明提供了一种调节受试者体内的免疫应答和/或细胞因子产生的方法,该方法包括向受试者施用改变C6orf106蛋白活性的化合物。

[0009] 本发明人还发现,C6orf106蛋白结合IRF。因此,在一个实施方案中,该化合物改变了包含C6orf106和IRF3的复合物的形成。

[0010] 在一个实施方案中,该化合物增大了C6orf106蛋白活性,因而减轻了免疫应答并且/或者减少了细胞因子产生。在一个实施方案中,增大的C6orf106蛋白活性减少了IRF3依赖性细胞因子转录。在一个实施方案中,增大C6orf106蛋白活性降低了NF- κ B活性。此类化合物的实例包括但不限于多核苷酸、多肽或小分子。

[0011] 在一个实施方案中,该多核苷酸编码包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者或多者具有至少50%同一性的氨基酸序列或其生物活性片段的多肽。在一个实施方案中,该多核苷酸可操作地连接到指导该多核苷酸在受试者体内表达的启动子。在一个实施方案中,该多核苷酸是表达构建体。

[0012] 在一个实施方案中,该多核苷酸在表达载体中施用。可以使用任何合适的表达载体,其实例包括但不限于真核载体、原核载体或病毒载体。在一个实施方案中,载体为病毒载体。在一个实施方案中,病毒载体为逆转录病毒、慢病毒、腺病毒、疱疹病毒、痘病毒、腺相关病毒载体,或由前述这些衍生的载体。

[0013] 在一个实施方案中,该多肽包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者或多者具有至少50%同一性的氨基酸序列或其生物活性片段。在一个实施方案中,该生物活性片段缺少功能性UBA样结构域。在一个实施方案中,该UBA样结构域包含以SEQ ID NO:12示出的氨基酸序列。在一个实施方案中,该UBA样结构域包含氨基酸序列SEQ ID NO:13。在一个实施方案中,该生物活性片段缺少功能性FW结构域。在一个实施方案中,该FW结构域包含以SEQ ID NO:57示出的氨基酸。在一个实施方案中,该FW结构域包含以SEQ ID NO:58示出的氨基酸序列。在一个实施方案中,该FW结构域包含以SEQ ID NO:60示出的氨基酸序列。在一个实施方案中,该生物活性片段缺少功能性无序区。在一个实施方案中,该无序区包含以SEQ ID NO:61示出的氨基酸序列。在一个实施方案中,该无序区包含以SEQ ID NO:62示出的氨基酸序列。

[0014] 在一个实施方案中,该化合物降低了C6orf106蛋白活性,并且增强了免疫应答并且/或者增加了细胞因子产生。在一个实施方案中,该化合物减少了包含C6orf106和IRF3的复合物的形成。在一个实施方案中,降低C6orf106蛋白活性增加了IRF3依赖性细胞因子转录。在一个实施方案中,降低C6orf106蛋白活性增大了NF- κ B活性。

[0015] 在一个实施方案中,该化合物改变了细胞中C6orf106的易位。

[0016] 增大或降低C6orf106蛋白活性的此类化合物的实例包括但不限于多核苷酸、多肽或小分子。

[0017] 在一个实施方案中,该多核苷酸减少了C6orf106基因的表达。可以用于减少C6orf106基因表达的多核苷酸的实例包括但不限于选自下列的那些:反义多核苷酸、有义多核苷酸、编码结合C6orf106的多肽的多核苷酸、双链RNA(dsRNA)分子,或由前述这些衍生的经加工RNA分子。在一个实施方案中,该dsRNA分子为siRNA、miRNA、shRNA或适配体。

[0018] 在一个实施方案中,该多核苷酸是由施用给受试者的转基因表达的。在一个实施方案中,该转基因位于核酸构建体中。在一个实施方案中,该转基因位于表达载体中。

[0019] 在一个实施方案中,该多核苷酸结合到C6orf106,并降低了C6orf106蛋白活性。在一个实施方案中,该多核苷酸为RNA适配体、DNA适配体或XNA适配体。在一个实施方案中,该适配体结合到C6orf106基因,并减少了C6orf106基因的表达。在一个实施方案中,该适配体结合到C6orf106蛋白,并降低了C6orf106蛋白活性。

[0020] 在一个实施方案中,该化合物结合到C6orf106,并降低了C6orf106蛋白活性。在一个实施方案中,该化合物为抗体或抗原结合片段。在一个实施方案中,该抗体为单克隆抗体、人源化抗体、单链抗体、双链抗体、三链抗体或四链抗体。

[0021] 在一个实施方案中,该化合物是以将基因修饰引入到C6orf106基因或其调控区中为目标的可编程核酸酶。

[0022] 在一个实施方案中,免疫应答为IFN应答。在一个实施方案中,免疫应答为I型IFN应答。

[0023] 在一个实施方案中,细胞因子为IFN- α 、IFN- β 和TNF- α 中的一种、多种或全部。在一

个实施方案中,细胞因子为IFN- α 。在一个实施方案中,细胞因子为IFN- β 。在一个实施方案中,细胞因子为TNF- α 。在一个实施方案中,增大C6orf106蛋白活性抑制了IFN- α 、IFN- β 和TNF- α 中的一种、多种或全部转录。在一个实施方案中,对IFN- α 、IFN- β 和TNF- α 的转录调控不依赖于IRF3和NF κ B的翻译。在一个实施方案中,增大C6orf106蛋白活性抑制了IFN- α 转录。在一个实施方案中,增大C6orf106蛋白活性抑制了IFN- β 转录。在一个实施方案中,增大C6orf106蛋白活性抑制了TNF- α 转录。在一个实施方案中,增大C6orf106蛋白活性并未调节下游IFN和/或TNF- α 的信号传导,例如ISG15或I κ B α 活性。在一个实施方案中,降低C6orf106蛋白活性增加了IFN- α 转录。在一个实施方案中,降低C6orf106蛋白活性增加了IFN- β 转录。在一个实施方案中,降低C6orf106蛋白活性增加了TNF- α 转录。

[0024] 在一个实施方案中,免疫应答选自:抗病毒免疫应答、自体免疫应答和炎症应答。

[0025] 在一个实施方案中,免疫应答为抗病毒免疫应答,并且免疫应答增强并且/或者细胞因子产生增加。

[0026] 在一个实施方案中,免疫应答为炎症应答,并且免疫应答减轻并且/或者细胞因子产生减少。

[0027] 在一个实施方案中,受试者患有下列病症中的一种或多种:感染、免疫缺陷、自体免疫疾病、炎性病症或癌症。

[0028] 在一个实施方案中,感染为病毒感染。在一个实施方案中,病毒为负链RNA病毒。

[0029] 在一个实施方案中,病毒来自下列病毒目:单股反链病毒目(Mononegavirale)、疱疹病毒目(Herpesvirale)或网巢病毒目(Nidovirale)。

[0030] 在一个实施方案中,病毒选自:正黏液病毒科(Orthomyxoviridae)、逆转录病毒科(Retroviridae)、疱疹病毒科(Herpesviridae)、副黏液病毒科(Paramyxoviridae)、弹状病毒科(Rhabdoviridae)、丝状病毒科(Filoviridae)、双RNA病毒科(Bornaviridae)和冠状病毒科(Coronaviridae)。

[0031] 在一个实施方案中,病毒来自单股反链病毒目。在一个实施方案中,单股反链病毒目选自:副黏液病毒科、弹状病毒科、丝状病毒科和双RNA病毒科。

[0032] 在一个实施方案中,还向受试者施用刺激免疫应答的至少一种抗原。在一个实施方案中,所述至少一种抗原是植物抗原(诸如花粉)、病毒抗原、细菌抗原、真菌抗原、原生动物抗原或肿瘤抗原。在一个实施方案中,向受试者施用刺激对病毒的免疫应答的抗原。

[0033] 在一个实施方案中,将降低C6orf106活性的化合物与至少一种抗原或疫苗组合物一起施用,以增强对所述至少一种抗原或疫苗组合物的免疫应答。

[0034] 在一个实施方案中,将降低C6orf106活性的化合物与至少一种癌症抗原一起施用,以增强对所述至少一种癌症抗原的免疫应答。

[0035] 在一个实施方案中,自体免疫疾病选自:溃疡性结肠炎、克罗恩氏病(Crohn's disease)、肠易激综合征、类风湿性关节炎、多发性关节炎、多发性硬化症、葡萄膜炎、哮喘、1型糖尿病、2型糖尿病、狼疮或慢性阻塞性肺病。

[0036] 在一个实施方案中,还向受试者施用刺激对癌症的免疫应答的抗原。

[0037] 在一个方面,本发明提供了一种治疗和/或预防受试者体内的感染或癌症的方法,该方法包括向受试者施用降低C6orf106蛋白活性的化合物。

[0038] 在另一个方面,本发明提供了一种治疗和/或预防受试者体内的自体免疫疾病的

方法,该方法包括向受试者施用增大C6orf106蛋白活性的化合物。

[0039] 在一个实施方案中,C6orf106包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者具有至少50%同一性的氨基酸序列。

[0040] 在一个实施方案中,受试者为动物。在一个实施方案中,受试者为哺乳动物。在一个实施方案中,受试者为人。

[0041] 在一个方面,本发明提供了改变C6orf106蛋白活性的化合物在制造用于调节受试者体内的免疫应答和/或细胞因子产生的药物方面的用途。

[0042] 在另一个方面,本发明提供了降低C6orf106蛋白活性的化合物在制造用于治疗受试者体内的感染、免疫缺陷或癌症的药物方面的用途。

[0043] 在另一个方面,本发明提供了增大C6orf106蛋白活性的化合物在制造用于治疗受试者体内的自体免疫疾病的药物方面的用途。

[0044] 在另一个方面,本发明提供了一种改变C6orf106蛋白活性的化合物,其用于调节受试者体内的免疫应答和/或细胞因子产生。

[0045] 在另一个方面,本发明提供了一种降低C6orf106蛋白活性的化合物,其用于治疗病毒感染或癌症。

[0046] 在另一个方面,本发明提供了一种增大C6orf106蛋白活性的化合物,其用于治疗自体免疫疾病。

[0047] 在另一个方面,本发明提供了一种改变包含C6orf106和IRF3的复合物的形成的化合物,其用于调节受试者体内的免疫应答和/或细胞因子产生。

[0048] 在另一个方面,本发明提供了一种鉴定改变C6orf106蛋白活性的化合物的方法,该方法包括:

[0049] i) 使细胞与候选化合物接触,以及

[0050] ii) 确定该化合物是增大还是降低细胞中的C6orf106蛋白活性。

[0051] 在另一个方面,本发明提供了一种鉴定改变C6orf106蛋白活性的化合物的方法,该方法包括:

[0052] i) 使细胞与候选化合物接触,以及

[0053] ii) 确定该化合物是增加还是减少细胞中的IRF3依赖性细胞因子转录。

[0054] 在另一个方面,本发明提供了一种鉴定降低C6orf106蛋白活性的化合物的方法,该方法包括:

[0055] i) 使细胞与候选化合物接触,以及

[0056] ii) 确定该化合物是否减少了细胞中的包含C6orf106和IRF3的复合物的形成。

[0057] 在一个实施方案中,该方法还包括测试该化合物调节病毒感染的能力。在一个实施方案中,在体外、在胚内或在体内评估病毒感染。在一个实施方案中,在体外评估病毒感染。在一个实施方案中,在体外于HeLa细胞中评估病毒感染。

[0058] 在一个实施方案中,该方法包括确定细胞中C6orf106 mRNA的水平。在一个实施方案中,细胞为哺乳动物细胞或禽类细胞。在一个实施方案中,细胞为人细胞,诸如HeLa细胞。在一个实施方案中,该mRNA水平通过PCR诸如qRT-PCR测定。

[0059] 在一个实施方案中,该方法包括确定细胞中C6orf106蛋白的水平。在一个实施方案中,C6orf106蛋白的水平通过免疫测定来确定。示例性的免疫测定形式包括免疫印迹、蛋

白质印迹、斑点印迹、酶联免疫吸附测定 (ELISA)、放射免疫测定 (RIA) 和酶免疫测定。

[0060] 在另一个方面,本发明提供了一种鉴定结合C6orf106的化合物的方法,该方法包括:

[0061] i) 使包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者具有至少50%同一性的氨基酸序列或其生物活性片段的多肽与候选化合物接触,以及

[0062] ii) 确定该化合物是否结合所述多肽。

[0063] 在一个实施方案中,该候选化合物为抗体或其片段,适配体或小分子。

[0064] 在另一个方面,本发明提供了一种经由电脑模拟鉴定改变C6orf106蛋白活性的化合物的方法,该方法包括:

[0065] i) 产生多肽的三维结构模型,该多肽包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者具有至少50%同一性的氨基酸序列或其生物活性片段,以及

[0066] ii) 设计或筛选可能结合该结构的化合物,以及/或者

[0067] iii) 设计或筛选改变包含C6orf106和IRF3的复合物的形成的化合物。

[0068] 在一个实施方案中,该方法还包括测试在ii)中设计或筛选的化合物结合C6orf106以及调节C6orf106蛋白活性的能力。在一个实施方案中,结合C6orf106蛋白以及调节C6orf106蛋白活性的能力通过免疫测定确定。示例性的免疫测定法形式包括免疫印迹、蛋白质印迹、斑点印迹、酶联免疫吸附测定 (ELISA)、放射免疫测定 (RIA) 和酶免疫测定。

[0069] 在一个实施方案中,该方法还包括测试在ii)中设计或筛选的化合物调节病毒感染的能力。在一个实施方案中,在体外、在胚内或在体内评估病毒感染。在一个实施方案中,在体外评估病毒感染。在一个实施方案中,在体外于HeLa细胞中评估病毒感染。

[0070] 在一个实施方案中,调节C6orf106蛋白活性增大了C6orf106蛋白活性。

[0071] 在一个实施方案中,调节C6orf106蛋白活性降低了C6orf106蛋白活性。

[0072] 在一个方面,本发明提供了天然存在的C6orf106多肽的分离的和/或重组的突变体,该突变体具有与天然存在的分子相比改变的活性。

[0073] 在一个实施方案中,本发明提供了分离的和/或重组的多肽,该多肽包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者具有至少50%同一性但缺少功能性UBA样结构域的氨基酸序列。在一个实施方案中,该UBA样结构域缺少SEQ ID NO:1至11中任意一者的约76个N端氨基酸。在一个实施方案中,该UBA样结构域包含以SEQ ID NO:12示出的氨基酸序列。在一个实施方案中,该UBA样结构域包含以SEQ ID NO:13示出的氨基酸序列。在一个实施方案中,分离的和/或重组的多肽包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者具有至少50%同一性但缺少功能性FW结构域的氨基酸序列。在一个实施方案中,该FW结构域包含以SEQ ID NO:57示出的氨基酸序列。在一个实施方案中,该FW结构域包含以SEQ ID NO:58示出的氨基酸序列。在一个实施方案中,该FW结构域包含以SEQ ID NO:60示出的氨基酸序列。在一个实施方案中,分离的和/或重组的多肽包含与SEQ ID NO:1至11中的任意一者具有至少50%同一性但缺少功能性无序区的氨基酸序列。在一个实施方案中,该无序区包含以SEQ ID NO:61示出的氨基酸序列。在一个实施方案中,该无序区包含以SEQ ID NO:62示出的氨基酸序列。

[0074] 在另一个方面,本发明提供了编码本发明多肽的分离的和/或外源的多核苷酸。

[0075] 在另一个方面,本发明提供了包含编码本发明多肽的分离的和/或外源的多核苷酸的组合物。在一个实施方案中,该组合物还包含一种或多种赋形剂。在一个实施方案中,

该组合物还包含刺激免疫应答的至少一种抗原。

[0076] 本文所公开的或在本申请的说明书中单独或共同指出的步骤、特征、整体、组合物和/或化合物,以及所述步骤或特征中的两者或更多者的任意组合。

[0077] 除非另外明确指出,否则本文中的任何实施方案应当加以必要的变更以便应用于任何其他实施方案。例如,正如技术人员应当理解的,上面提到的用于本发明方法的化合物的实例同样适用于本发明的用途。

[0078] 本发明在范围上不受本文所述具体实施方案的限制,这些实施方案仅旨在用于举例证明。功能上等价的产物、组合物以及方法明显在如本文所述的本发明范围内。

[0079] 在本说明书通篇中,除非另外明确指出或上下文另外要求,否则对单个步骤、单个物质组合物、成组步骤或成组物质组合物的提及应当理解为涵盖那些步骤、物质组合物、成组步骤或成组物质组合物中的一者和多者(即一者或多者)。

[0080] 本发明在下文中借助于以下非限制性实施例并且参照附图来描述。

[0081] 附图简述

[0082] 图1.C6orf106敲低减少了病毒产量。(A)和(B)用靶向C6orf106的siRNA集合、或非特异性RNA(siNT1)将HeLa细胞转染48小时。然后用亨得拉病毒(HeV)、腮腺炎病毒(MuV)、甲型流感病毒(H5N1)、水疱性口炎病毒(VSV)或西尼罗河病毒(WNV),以感染复数(moi)5感染细胞24小时。此时,通过TCID₅₀对Vero细胞测定病毒产量。误差线指示至少3次重复实验的+1标准偏差,并且显著性(以星号表示)是通过单因素ANOVA以及杜恩氏多重比较检验(Dunn's multiple comparison test)确定的。(C)用siRNA转染72小时后的细胞数目。数据被归一化为siNEG值。(D)在如上所述用siRNA转染的细胞中,通过阿尔玛蓝测定法(Alamar blue assay)测得的相对细胞代谢活性。

[0083] 图2.C6orf106在所有脊椎动物物种中高度保守,具有两个推定的功能性结构域和一个无序的C端区。C6orf106蛋白序列来源于NCBI(登录号Q9H6K1.2),使用ClustalW将其与由Ensembl(www.ensembl.org)预测的各种脊椎动物C6orf106序列进行比对。星号指示相同的残基,而框分别指示推定的UBA样结构域和FW结构域的位置。无序的C端是通过Globplot(<http://globplot.embl.de/cgiDict.py>)和PSI预测软件(<http://bioinf.cs.ucl.ac.uk/psipred>)预测的。

[0084] 图3.C6orf106敲低增强了细胞因子响应于聚肌胞苷酸的转录。用靶向C6orf106的siRNA集合、或非特异性RNA(siNT1/siNT2)将HeLa细胞转染48小时,然后用聚肌胞苷酸刺激6小时。(A)通过qRT-PCR和蛋白质印迹法,分别使用C6orf106特异性引物/抗体测定基因敲低。(B)使用qRT-PCR,采用基因特异性引物测量干扰素和促炎性细胞因子相比于GAPDH内参的相对表达。

[0085] 图4.C6orf106过表达抑制了干扰素 α/β 响应于聚肌胞苷酸的转录和分泌。使用Flag标记的C6orf106(C6-Flag)或eGFP或单独的载体(pCAGGs)将HeLa细胞转染24小时,然后用聚肌胞苷酸刺激6小时。(A)使用qRT-PCR,采用基因特异性引物测量干扰素和促炎性细胞因子相比于GAPDH内参的相对表达。(B)通过ELISA检测分泌到细胞培养物上清液中的干扰素 β 。

[0086] 图5.内源细胞因子水平和C6orf106 RNA水平随聚肌胞苷酸刺激的时间变长而增加。(A)用聚肌胞苷酸刺激Mock转染的HeLa细胞6小时,然后提取RNA,通过qPCR分析测定细

胞因子水平。(B) 在用聚肌胞苷酸 (5 μ g/mL) 刺激之后,在指定时间点HeLa细胞中的C6orf106水平和IFN- β mRNA水平。误差线指示3次独立实验的 ± 1 标准偏差,而星号指示如通过单因素ANOVA以及杜恩氏多重比较检验确定的显著性差异(与0小时相比)。(C) 用IFN- β 或NF- κ B萤火虫荧光素酶载体和海肾荧光素酶载体将如图4中那样处理过的HeLa细胞转染24小时。在用聚肌胞苷酸 (5 μ g/mL) 刺激6小时后测定细胞裂解物的荧光素酶活性,相对水平是相对于转染对照海肾荧光素酶归一化得到的。

[0087] 图6. 缺失UBA样结构域增强了C6orf106对细胞因子转录的抑制作用。(A) 使用密码子优化的pCAGGs-C6orf106载体作为模板产生C6orf106缺失突变体。(B) 用Flag标记的C6orf106缺失突变体或单独的载体 (pCAGGs) 将HeLa细胞转染24小时,然后用聚肌胞苷酸刺激6小时。使用qRT-PCR,采用基因特异性引物测量干扰素和促炎性细胞因子相比于GAPDH内参的相对表达。(C) 用等量的Flag-IRF3缺失突变体表达载体和C6缺失突变体表达载体将HeLa细胞反向转染24小时,然后用5 μ g/mL聚肌胞苷酸刺激6小时。然后裂解细胞,再使其与抗IRF3抗体一起经受直接免疫共沉淀。接下来,通过蛋白质印迹法,用抗Flag抗体和抗IRF3抗体探测IP样品(和输入对照)。

[0088] 图7. C6orf106过表达不会削弱转录因子响应于聚肌胞苷酸的核易位。用Flag标记的C6orf106 (C6-Flag) 或eGFP或单独的载体 (pCAGGs) 将HeLa细胞转染24小时,然后用聚肌胞苷酸刺激6小时。(A) 将细胞固定,用抗C6抗体和抗p65抗体标记,然后用核染色剂Dapi复染,或者(B) 用抗C6抗体和抗IRF3抗体标记,然后用核染色剂Dapi复染,接下来放在Leica SP5共聚焦显微镜上观察。

[0089] 图8. C6orf106不会削弱转录因子响应于聚肌胞苷酸的活化或核易位。如图7中所述那样处理HeLa细胞。(A) 在用或不用聚肌胞苷酸处理的情况下,用Flag标记的C6orf106 (C6-Flag) 或eGFP转染的处理组细胞的Fn/c比。误差线指示来自重复两次的实验的典型实验的 ± 1 标准偏差;星号指示如通过单因素ANOVA以及杜恩氏多重比较检验确定的显著性差异。(B) 将如图7中那样处理过的HeLa细胞裂解,并分离为胞质级分与核级分。探测这两种级分中的转录因子IRF3和p65,以及C6和上样对照GAPDH。

[0090] 图9. 内源C6orf106 RNA水平随聚肌胞苷酸刺激的时间变长而增加。(A) 用10 μ g/mL聚肌胞苷酸刺激HeLa细胞4小时、6小时和9小时,然后与同一时间点处的mock(左侧柱)相比较,通过qRT-PCR评估内源C6orf106 RNA水平(右侧柱)。(B) IFN/TNF- α 诱导的信号传导并未由于C6orf106过表达而显著削弱。

[0091] 图10. C6orf106与IRF3形成复合物。(A) C6orf106与IRF3形成复合物,这种结合由于聚肌胞苷酸刺激而增强。裂解如图4中那样处理过的HeLa细胞,再使其与抗IRF3抗体一起经受间接免疫沉淀。接下来,通过蛋白质印迹法,用抗C6抗体和抗IRF3抗体探测IP样品(和输入对照)。(B) 为了显示C6orf106与IRF3形成了复合物,将单独用IRF3转染的HEK293T或用IRF3结合C6orf106转染的HEK293T裂解,再使其与抗IRF3抗体一起经受间接免疫沉淀。通过蛋白质印迹法,用抗FLAG抗体探测IP样品和输入对照。IgG同种型用作该免疫沉淀实验的阴性对照。

[0092] 图11. C6-FLAG缺失突变体具有不同的亚细胞定位,并且对IRF3核移位具有不同的影响。用FLAG标记的C6orf106缺失突变体或单独的载体 (pCAGGs) 将HeLa细胞转染24小时,然后用5 μ g/mL聚肌胞苷酸刺激6小时。将细胞固定,用抗C6/FLAG抗体(绿色)和抗IRF3抗体

(红色)染色,然后放在Leica SP5共聚焦显微镜上观察。(A)收集的图像代表了两个独立实验,比例尺指示10 μ m。然后使用ImageJ软件分析图像,以计算下列各项的Fn/c比:IRF3 (B),或缺失突变体 (C)。误差线指示来自重复两次的实验的典型实验的 ± 1 标准偏差;星号指示如通过单因素ANOVA以及杜恩氏多重比较检验确定的显著性差异。每个柱上方的百分比表示Fn/c比高于阈值0.5的下述细胞的比例:如 (A) 中那样裂解并分离为胞质级分与核级分的 (D) HeLa细胞。探测这两种级分中的转录因子IRF3和p65,以及C6和/或FLAG。

[0093] 序列表注释

- [0094] SEQ ID NO:1-智人 (*H.sapiens*) C6orf106蛋白序列;
- [0095] SEQ ID NO:2-西部大猩猩 (*G.gorilla*) C6orf106蛋白序列;
- [0096] SEQ ID NO:3-绿猴 (*C.sabaeus*) C6orf106蛋白序列;
- [0097] SEQ ID NO:4-小家鼠 (*M.musculus*) C6orf106蛋白序列;
- [0098] SEQ ID NO:5-小棕蝠 (*M.lucifugus*) C6orf106蛋白序列;
- [0099] SEQ ID NO:6-家犬 (*C.familiaris*) C6orf106蛋白序列;
- [0100] SEQ ID NO:7-原鸡 (*G.gallus*) C6orf106蛋白序列;
- [0101] SEQ ID NO:8-绿安乐蜥 (*A.carolinensis*) C6orf106蛋白序列;
- [0102] SEQ ID NO:9-热带爪蟾 (*X.tropicalis*) C6orf106蛋白序列;
- [0103] SEQ ID NO:10-斑马鱼 (*D.rerio*) C6orf106蛋白序列;
- [0104] SEQ ID NO:11-玻璃海鞘 (*C.intestinalis*) C6orf106蛋白序列;
- [0105] SEQ ID NO:12-智人C6orf106蛋白序列的UBA样结构域;
- [0106] SEQ ID NO:13-C6orf106 UBA样结构域的共有序列;
- [0107] SEQ ID NO:14-引物SacI-START-C6 正向;
- [0108] SEQ ID NO:15-引物XhoI-C6-FLAG 反向;
- [0109] SEQ ID NO:16-引物XhoI-C6 (1-276) -FLAG 反向;
- [0110] SEQ ID NO:17-引物XhoI-C6 (1-193) -FLAG 反向;
- [0111] SEQ ID NO:18-引物XhoI-C6 (1-76) -FLAG 反向;
- [0112] SEQ ID NO:19-引物SacI-START-C6-UBA 正向;
- [0113] SEQ ID NO:20-引物IFN- α 正向;
- [0114] SEQ ID NO:21-引物IFN- α 正向;
- [0115] SEQ ID NO:22-引物IFN- β 正向;
- [0116] SEQ ID NO:23-引物IFN- β 反向;
- [0117] SEQ ID NO:24-引物IL-6 正向;
- [0118] SEQ ID NO:25-引物IL-6 反向;
- [0119] SEQ ID NO:26-引物TNF- α 正向;
- [0120] SEQ ID NO:27-引物TNF- α 反向;
- [0121] SEQ ID NO:28-引物ISG15 正向;
- [0122] SEQ ID NO:29-引物ISG15 反向;
- [0123] SEQ ID NO:30-引物I κ B α 正向;
- [0124] SEQ ID NO:31-引物I κ B α 反向;
- [0125] SEQ ID NO:32-引物huC6orf106 正向;

- [0126] SEQ ID NO:33-引物huC6orf106 反向；
- [0127] SEQ ID NO:34-引物GAPDH 正向；
- [0128] SEQ ID NO:35-引物GAPDH 反向；
- [0129] SEQ ID NO:36-siGENOME人C6orf106 SMARTpool靶序列D-016330-02-；
- [0130] SEQ ID NO:37-siGENOME人C6orf106 SMARTpool靶序列D-016330-03-；
- [0131] SEQ ID NO:38-siGENOME人C6orf106 SMARTpool靶序列D-016330-04-；
- [0132] SEQ ID NO:39-siGENOME人C6orf106 SMARTpool靶序列D-016330-17-；
- [0133] SEQ ID NO:40-C6orf106-FLAG蛋白序列；
- [0134] SEQ ID NO:41-C6orf106 (1-276) -FLAG蛋白序列；
- [0135] SEQ ID NO:42-C6orf106 (1-193) -FLAG蛋白序列/C6orf106 (Δ dis) -FLAG蛋白序列；
- [0136] SEQ ID NO:43-C6orf106 (1-76) -FLAG蛋白序列；
- [0137] SEQ ID NO:44-C6orf106 (dUBA) -FLAG蛋白序列；
- [0138] SEQ ID NO:45-C6orf106 (dFW) -FLAG蛋白序列；
- [0139] SEQ ID NO:46-智人C6orf106核苷酸序列；
- [0140] SEQ ID NO:47-西部大猩猩C6orf106核苷酸序列；
- [0141] SEQ ID NO:48-绿猴C6orf106核苷酸序列；
- [0142] SEQ ID NO:49-小家鼠C6orf106核苷酸序列；
- [0143] SEQ ID NO:50-小棕蝠C6orf106核苷酸序列；
- [0144] SEQ ID NO:51-家犬C6orf106核苷酸序列；
- [0145] SEQ ID NO:52-原鸡C6orf106核苷酸序列；
- [0146] SEQ ID NO:53-绿安乐蜥C6orf106核苷酸序列；
- [0147] SEQ ID NO:54-热带爪蟾C6orf106核苷酸序列；
- [0148] SEQ ID NO:55-斑马鱼C6orf106核苷酸序列；
- [0149] SEQ ID NO:56-玻璃海鞘C6orf106核苷酸序列；
- [0150] SEQ ID NO:57-智人C6orf106蛋白序列的FW结构域；
- [0151] SEQ ID NO:58-C6orf106 FW结构域的共有序列；
- [0152] SEQ ID NO:59-C6 (Δ FW) -FLAG蛋白序列；
- [0153] SEQ ID NO:60-智人C6orf106蛋白序列的FW结构域；
- [0154] SEQ ID NO:61-智人C6orf106蛋白序列的无序区；
- [0155] SEQ ID NO:62-智人C6orf106蛋白序列的无序区。

具体实施方式

[0156] 通用技术和选择的定义

[0157] 除非另有明确定义，否则本文中使用的所有技术术语和科学术语都应当被视为具有与本领域(例如，分子生物学领域、细胞培养领域、免疫学领域、免疫组织化学领域、蛋白质化学领域，以及生物化学领域)普通技术人员通常所理解相同的含义。

[0158] 除非另外指明，否则本发明中利用的细胞培养技术和免疫学技术都是本领域技术人员熟知的标准程序。这些技术在下列文献资源通篇中进行描述和解释，这些文献资源诸

如:J.Perbal,A Practical Guide to Molecular Cloning,John Wiley and Sons(1984); J.Sambrook等人,Molecular Cloning:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbour Laboratory Press(1989);T.A.Brown(编辑),Essential Molecular Biology:A Practical Approach,第1、2卷,IRL Press(1991);D.M.Glover和B.D.Hames(编辑),DNA Cloning:A Practical Approach,第1至4卷,IRL Press(1995年,1996年);F.M.Ausubel等人(编辑),Current Protocols in Molecular Biology,Greenhouse Pub.Associates and Wiley-Interscience(1988年,包括到目前为止的所有更新),Ed Harlow和David Lane(编辑),Antibodies:A Laboratory Manual,Cold Spring Harbour Laboratory,(1988); J.E.Coligan等人(编辑),Current Protocols in Immunology,John Wiley&Sons(包括到目前为止的所有更新)。

[0159] 术语“和/或”(例如“X和/或Y”)应当理解为意味着“X和Y”或者“X或Y”,并且应当用来对这两种含义或对任一种含义提供明确的支持。

[0160] 贯穿本说明书的词语“包括(comprise)”或者其变型形式诸如“包含(comprises)”或“含有(comprising)”将被理解为暗示包括所陈述的要素、整体或步骤,或者成组的要素、整体或步骤,但并不排除任何其他要素、整体或步骤,或者成组的要素、整体或步骤。

[0161] 如本文所提及的“转基因”具有生物技术领域中的标准含义,并且包括已经由重组DNA或RNA技术产生或变更的基因序列,并且可以用于改变C6orf106蛋白活性。在一个实例中,转基因编码以沉默C6orf106基因的表达为目标的siRNA、miRNA、shRNA。在一个实例中,转基因编码适配体,该适配体识别C6orf106基因或蛋白并与该基因或蛋白结合。在一个实例中,转基因包含C6orf106基因或其片段。在一个实例中,转基因编码结合蛋白,诸如抗体,该结合蛋白识别C6orf106基因和/或蛋白并与该基因和/或蛋白结合。在一个实例中,转基因编码可编程核酸酶,以及任选的一种或多种用于识别C6orf106基因的靶向序列。可以通过本领域技术人员认识到的任何方法将转基因引入到受试者的细胞中。转基因包括被引入到染色体中的基因序列,以及染色体外的基因序列。转基因典型地将包含编码如本文所述多核苷酸的开放阅读框,该开放阅读框可操作地连接到用于表达该多核苷酸的合适启动子。

[0162] 如本文所用的术语“小分子”,是指分子量低于2000道尔顿、优选地低于1500道尔顿、更优选地低于1000道尔顿、还更优选地低于750道尔顿、还更优选地低于500道尔顿的化学化合物或化学分子。在一个实施方案中,小分子不是多肽。

[0163] 如本文所用,术语“受试者”可以是任何动物。在一个实例中,动物是脊椎动物。例如,动物可以是哺乳动物、禽类、节肢动物、脊索动物、两栖动物或爬行动物。示例性受试者包括但不限于人、灵长类动物、家畜(例如绵羊、牛、鸡、马、驴、猪)、伴侣动物(例如狗、猫)、实验室的试验用动物(例如小鼠、兔、大鼠、豚鼠、仓鼠)、圈养野生动物(例如狐狸、鹿)。在一个实例中,哺乳动物是人。

[0164] 如本文所用,术语“治疗”包括施用足以减轻或消除指定疾病或病症的至少一种症状的治疗有效量的本文所述化合物。

[0165] 如本文所用,术语“预防”包括施用足以停止或阻碍指定疾病或病症的至少一种症状发展的治疗有效量的本文所述化合物。在一个实施方案中,该化合物减轻了病毒对细胞的感染。

[0166] 如本文所用,术语“包含C6orf106和IRF3的复合物”是指包含至少C6orf106和IRF3的复合物。该复合物可以另外包含一种或多种蛋白质、一种或多种RNA分子、一种或多种DNA分子,或者它们的组合。

[0167] 如本文所用,术语“包含IRF3的复合物”包括含有IRF3蛋白或结合IRF3蛋白的复合物,该复合物包含一种或多种蛋白质、一种或多种RNA分子、一种或多种DNA分子或者它们的组合。

[0168] 如本文所用,术语“负链RNA病毒”或“反义链RNA病毒”包括其遗传信息由作为负链或反义链的单链RNA组成并且不编码RNA的病毒。

[0169] 免疫应答

[0170] 如本文所用,术语“免疫应答”具有本领域的普通含义,既包括体液免疫、又包括细胞免疫。免疫应答可以表现为下列中的一者或多者:产生抗原抗体反应、抗原特异性T细胞扩增、肿瘤浸润性淋巴细胞(TIL)增多、产生抗肿瘤或抗肿瘤抗原延迟型超敏反应(DTH)应答、清除病原体、阻抑病原体和/或肿瘤生长和/或扩散、肿瘤缩小、转移减少或消除、复发时间延长、无病原体或肿瘤的存活时间延长,以及存活时间延长。免疫应答可以由下列中的一者或多者介导:B细胞活化、T细胞活化、自然杀伤细胞活化、抗原呈递细胞(例如,B细胞、树突状细胞、单核细胞和/或巨噬细胞)活化、细胞因子产生、趋化因子产生、特定的细胞表面标志物表达(特别是共刺激分子表达)。免疫应答可以用体液应答、细胞应答、Th1或Th2应答或者它们的组合来表征。在一个实施方案中,免疫应答为先天性免疫应答。

[0171] 在一个实施方案中,免疫应答为IFN应答。在一个实施方案中,免疫应答为I型IFN应答。在一个实施方案中,免疫应答为II型IFN应答。在一个实施方案中,免疫应答为III型IFN应答。在一个实施方案中,免疫应答包括IFN- α 、IFN β 和TNF- α 中的一者或多者或全部的表达。在一个实施方案中,可以通过测量IFN- α 、IFN β 和TNF- α 中的一者或多者的水平来测量免疫应答。

[0172] 如本文所用,术语“调节免疫应答”是指增强或减弱对刺激的免疫应答。对免疫应答的调节可以通过本领域技术人员已知的任何方法来测量,并且可以涉及例如测量一种或多种细胞因子的水平。实施例部分中提供了用于测量细胞因子产生的合适方法的实例。

[0173] 如本文所用,术语“调节细胞因子产生”是指增加或减少受试者体内细胞因子的产生。在一个实施方案中,调节细胞因子产生是指增加或减少受试者的细胞所分泌的细胞因子。在一个实施方案中,细胞因子产生由IRF3活性介导。在一个实施方案中,细胞因子处于IFN途径中。在一个实施方案中,细胞因子为IFN- α 、IFN β 和TNF- α 中的一者或多者或全部。可以使用本领域技术人员已知的任何方法(包括但不限于本文在实施例部分中所述的那些方法)来测量对细胞因子产生的调节。细胞因子产生的水平可以在例如患者样本(诸如血液样本、血清样本或血浆样本)中测量。

[0174] 如本文所用,术语“IFN应答”是指涉及IFN途径的免疫应答。在一个实施方案中,免疫应答为I型IFN免疫应答。在一个实施方案中,免疫应答为II型IFN免疫应答。在一个实施方案中,免疫应答为III型IFN免疫应答。在一个实施方案中,IFN应答涉及IFN- α 、IFN β 和TNF- α 中的一者或多者或全部。

[0175] 改变C6orf106蛋白活性的化合物

[0176] 如本文所用,术语“改变C6orf106蛋白活性”是指改变C6orf106调节免疫应答和/

或细胞因子产生的能力。在一个实施方案中,降低C6orf106 mRNA或C6orf106蛋白的水平通过降低C6orf106蛋白活性来改变该蛋白的活性。在一个实施方案中,与C6orf106结合并且调节C6orf106活性(例如降低或抑制C6orf106蛋白活性)的化合物被认为可以改变C6orf106蛋白活性。在一个实施方案中,调节C6orf106活性的化合物调节C6orf106结合IRF3的能力。在一个实施方案中,调节C6orf106活性的化合物调节包含C6orf106和IRF3的复合物的形成。在一个实施方案中,调节C6orf106活性的化合物调节C6orf106与IRF3形成复合物的能力。在一个实施方案中,增加C6orf106 mRNA或C6orf106蛋白或者其生物活性片段的水平通过增大C6orf106蛋白活性来改变该蛋白的活性。在一个实施方案中,调节参与C6orf106的细胞移位的激动剂、抑制剂、受体或蛋白质可以改变C6orf106蛋白活性。在一个实施方案中,改变C6orf106蛋白活性的化合物并未显著变更所处理细胞的代谢活性。在一个实施方案中,用阿尔玛蓝测定法评估这些细胞的代谢活性。

[0177] 如本文所用,术语“减少”、“减轻”或“降低”是指与以施用化合物之前的状态中存在的基因表达、蛋白活性、免疫应答或细胞因子产生相比,基因表达、蛋白活性、免疫应答或细胞因子产生被废除、削减或具有较低的水平。在一个实施方案中,与以施用该化合物之前的状态中存在的基因表达、蛋白活性、免疫应答和/或细胞因子产生相比,基因表达、蛋白活性、免疫应答和/或细胞因子产生减少了至少5%、或至少10%、或至少15%、或至少20%、或至少25%、或至少30%、或至少35%、或至少40%、或至少45%、或至少50%、或至少60%、或至少70%、或至少80%、或至少90%、或至少100%。

[0178] 如本文所用,术语“增加”、“增强”或“增大”是指与以施用化合物之前的状态中存在的基因表达、蛋白活性、免疫应答或细胞因子产生相比,基因表达、蛋白活性、免疫应答或细胞因子产生具有较高或较大的水平。在一个实施方案中,与以施用该化合物之前的状态中存在的基因表达、蛋白活性、免疫应答和/或细胞因子产生相比,基因表达、蛋白活性、免疫应答和/或细胞因子产生增加了至少5%、或至少10%、或至少15%、或至少20%、或至少25%、或至少30%、或至少35%、或至少40%、或至少45%、或至少50%、或至少60%、或至少70%、或至少80%、或至少90%、或至少100%。

[0179] 多核苷酸

[0180] 术语“多核苷酸”与“核酸”可互换使用。多核苷酸是核苷酸单体的聚合物。适合在本发明的方法中使用的多核苷酸可以具有任何长度,并且可以包括脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸、或它们的类似物、或它们的混合物。适合在本发明的方法中使用的多核苷酸可以来源于基因组、cDNA,可以是半合成或合成的多核苷酸,双链或单链的多核苷酸,并且由于其来源或操纵方式不同,具有下述特征:(1)不与自然界中与其相关联的多核苷酸的全部或部分相关联,(2)连接到在自然界中与其连接的多核苷酸(例如启动子)之外的多核苷酸,或者(3)在自然界中不存在。以下是多核苷酸的非限制性实例:基因或基因片段的编码区或非编码区、由连锁分析限定的基因座、外显子、内含子、信使RNA(mRNA)、转移RNA(tRNA)、核糖体RNA(rRNA)、核糖酶、cDNA、重组多核苷酸、支链多核苷酸、质粒、载体、分离的DNA、分离的RNA、嵌合DNA、核酸探针和引物。多核苷酸可以包含经修饰的核苷酸,诸如甲基化核苷酸与核苷酸类似物。如果存在对核苷酸结构的修饰,则这些修饰可以在聚合物组装之前或之后实施。核苷酸的序列可以被非核苷酸组分中断。多核苷酸可以在聚合之后被进一步修饰,诸如通过与标记组分缀合而被进一步修饰。

[0181] 所谓“分离的多核苷酸”，意味着这样的多核苷酸：它通常已经从它处于天然状态时与之缔合或连接的多核苷酸序列分开。优选地，分离的多核苷酸中至少60%、更优选地至少75%、更优选地至少90%不含与其天然缔合或连接的多核苷酸序列。

[0182] 所谓“外源多核苷酸”，意味着存在于无细胞表达系统中的多核苷酸，或存在于天然不包含该多核苷酸、或者相比于该多核苷酸的天然状态以变更的量表达或以变更的速率表达该多核苷酸（例如，就mRNA而言）的细胞中的多核苷酸。在一个实施方案中，将该多核苷酸引入到天然不包含该多核苷酸的细胞中。通常将外源DNA用作mRNA转录的模板，然后将mRNA板翻译为编码转化细胞内的多肽的连续氨基酸残基序列。在另一个实施方案中，该多核苷酸对于细胞是内源的，并且其表达通过重组手段加以变更，例如，将外源控制序列引入感兴趣的内源基因的上游，以使转化细胞能够表达由该基因编码的多肽。

[0183] 适合在本发明中使用的外源多核苷酸包括尚未从它存在于其中的基于细胞的表达系统或无细胞表达系统的其他组分分开多核苷酸，以及在所述基于细胞的系统或无细胞系统中产生的、随后从至少一些其他组分中纯化出来的多核苷酸。

[0184] 本发明的多核苷酸或可用于本发明的多核苷酸可以在严格条件下有选择地与本文所限定的多核苷酸杂交。

[0185] 本发明的多核苷酸在与参考多核苷酸比较时，可以具有一个或多个突变，这些突变为核苷酸残基的缺失、插入或取代。相对于参考序列具有突变的多核苷酸可以是天然存在的（也就是说，从天然来源分离的），或是合成的（例如，通过对核酸进行定点诱变或DNA改组）。本发明的多核苷酸可以具有截短。截短可以是N端截短或C端截短。

[0186] 在一个实施方案中，可以对改变C6orf106蛋白活性的多核苷酸进行修饰或优化，以增强其活性。可以引入核苷酸的修饰或类似物，以改善多核苷酸的性质。改善的性质包括增强对核酸酶的抗性并且/或者增强渗透细胞膜的能力。因此，术语“多核苷酸”包括经合成修饰的碱基，诸如但不限于：肌苷、黄嘌呤、次黄嘌呤、2-氨基腺嘌呤，6-甲基-腺嘌呤、2-丙基-腺嘌呤和其他烷基腺嘌呤，5-卤代尿嘧啶、5-卤代胞嘧啶、6-氮杂胞嘧啶和6-氮杂胸腺嘧啶、假尿嘧啶、4-硫尿嘧啶、8-卤代腺嘌呤、8-氨基腺嘌呤、8-硫代腺嘌呤、8-硫代烷基腺嘌呤、8-羟基腺嘌呤及其他8-取代的腺嘌呤、8-卤代鸟嘌呤、8-氨基鸟嘌呤、8-硫代鸟嘌呤、8-硫代烷基鸟嘌呤、8-羟基鸟嘌呤及其他取代的鸟嘌呤、其他氮杂腺嘌呤和脱氮腺嘌呤、其他氮杂鸟嘌呤和脱氮鸟嘌呤、5-三氟甲基尿嘧啶和5-三氟胞嘧啶。

[0187] 双链RNA或DNA

[0188] 在一个实施方案中，多核苷酸为dsRNA。在一个实施方案中，C6orf106基因的表达被编码用于RNAi的dsRNA分子的转基因降低。

[0189] 术语“RNA干扰”、“RNAi”或“基因沉默”通常是指其中dsRNA分子降低该双链RNA分子与之共有实质同源性或完全同源性的核酸序列的表达的过程。然而已经证实，可以使用非RNA双链分子来实现RNA干扰（参见例如US 20070004667）。

[0190] 本发明包括含有和/或编码用于在本发明中使用的RNA干扰的双链区的多核苷酸。这些多核苷酸典型地为RNA，但可以包含经化学修饰的核苷酸和非核苷酸。

[0191] 这些双链区应当具有至少19个连续的核苷酸，例如约19至23个核苷酸，或者可以更长，例如具有30或50个核苷酸、或者100个或更多个核苷酸。可以使用对应于整个基因转录物的全长序列。优选地，这些双链区的长度为约19个至约23个核苷酸。

[0192] 核酸分子的双链区与靶转录物的同一性程度应当至少为90%，更优选地为95%至100%。核酸分子当然可以包含能够起稳定该分子的作用的无关序列。

[0193] 如本文所用的术语“短干扰RNA”或“siRNA”，是指包含能够（例如通过以序列特异性方式介导RNAi）抑制或下调基因表达的核糖核苷酸的多核苷酸，其中双链部分的长度不足50个核苷酸，优选地长度为约19个至约23个核苷酸。例如，siRNA可以是包含自我互补的有义区和反义区的核酸分子，其中该反义区包含与靶核酸分子或其部分中的核苷酸序列互补的核苷酸序列，并且该有义区具有与靶核酸序列或其部分对应的核苷酸序列。siRNA可以由两个分开的寡核苷酸组装而成，其中一条链是有义链，另一条链是反义链，其中反义链与有义链是自我互补的。

[0194] 如本文所用，术语siRNA意味着等同于用来描述能够介导序列特异性RNAi的多核苷酸的其他术语，例如微小RNA（miRNA）、短发夹RNA（shRNA）、短干扰寡核苷酸、短干扰核酸（siNA）、经修饰的短干扰寡核苷酸、经化学修饰的siRNA、转录后基因沉默RNA（ptgsRNA）及其他。此外，如本文所用，术语RNAi意味着等同于用来描述序列特异性RNA干扰的其他术语，诸如转录后基因沉默、翻译抑制或表观遗传学。例如，siRNA分子可以用来在转录后水平或转录前水平上以表观遗传学方式使基因沉默。在一个非限制性实例中，siRNA分子对基因表达的表观遗传调节可以是siRNA介导的对染色质结构的修饰所引起的，该修饰的目的是更改基因表达。在一个实施方案中，在本发明的方法中使用的siRNA是SEQ ID NO:36至SEQ ID NO:39中的一者或多者。

[0195] 所谓“shRNA”或“短发夹RNA”，意味着其中少于约50个核苷酸、优选地约19个至约23个核苷酸与位于同一个RNA分子上的互补序列碱基配对的RNA分子，并且其中所述序列和互补序列由至少约4个至约15个核苷酸的非配对区隔开，该非配对区在由两个碱基互补区形成的茎结构上方形成单链环。单链环序列的实例包括5' UUCAAGAGA 3'。

[0196] 所包括的shRNA是双指（二指）发夹dsRNA和多指发夹dsRNA，其中该RNA分子包含两个或更多个由单链间隔区隔开的此类茎环结构。

[0197] 如本文所用，“适配体”为这样的单链核酸：它的三维构象能够识别C6orf106基因或C6orf106蛋白并与之结合，从而改变C6orf106基因或蛋白的活性。在一个实施方案中，适配体为DNA或RNA。在一个实施方案中，适配体为DNA和RNA的混合物，并且/或者可以含有一个或多个经修饰的碱基或碱基类似物，在本文中称之为XNA。

[0198] 一旦设计好包含双链区的多核苷酸，就可以通过本领域已知的任何方法（例如通过体外转录、以重组方式或通过合成手段）生成。

[0199] 多肽

[0200] 术语“多肽”和“蛋白质”通常可互换使用。在一些实施方案中，多肽与C6orf106结合并且/或者降低C6orf106的表达或活性。在一些实施方案中，多肽增加C6orf106的表达或活性。在一些实施方案中，多肽结合到C6orf106的激动剂、抑制剂、受体，或者参与C6orf106的移位和/或细胞定位的细胞组分。在一个实施方案中，多肽为C6orf106或其生物活性片段。在一个实施方案中，多肽调节包含C6orf106和IRF3的复合物的形成。

[0201] 在本发明之前，描述C6orf106特征的文献很少（Mungall等人，2003年；Zhang等人，2015年；Jiang等人，2015年）。如本文所用，术语“C6orf106”是指“未表征的C6orf106蛋白”、“染色体6的开放阅读框106”、“DJ391022.4”或“FP852”。在一个实施方案中，C6orf106是对

应于Gene ID 64771或Ensembl标识符ENSG00000196821的智人C6orf106。在一个实施方案中,C6orf106是对应于Gene ID 101134934或Ensembl标识符ENSGGOG00000000388的西部大猩猩C6orf106。在一个实施方案中,C6orf106是对应于Gene ID 103221631或Ensembl标识符ENSCSAG000000009818的绿猴C6orf106。在一个实施方案中,C6orf106是对应于Gene ID 224647或Ensembl标识符ENSMUSG000000056692的小家鼠C6orf106。在一个实施方案中,C6orf106是对应于Ensembl标识符ENSMLUG00000002482的小棕蝠C6orf106。在一个实施方案中,C6orf106是对应于Gene ID 100685164或Ensembl标识符ENSCAFG000000001229的家犬C6orf106。在一个实施方案中,C6orf106是对应于Gene ID 419902或Ensembl标识符ENSGALG000000002778的原鸡C6orf106。在一个实施方案中,C6orf106是对应于Gene ID 100552720或Ensembl标识符ENSACAG000000015742的绿安乐蜥C6orf106。在一个实施方案中,C6orf106是对应于Ensembl标识符ENSXETG000000031607的热带爪蟾C6orf106。在一个实施方案中,C6orf106是对应于Gene ID 541415或Ensembl标识符ENSDARG000000078075的斑马鱼C6orf106。在一个实施方案中,C6orf106是对应于Ensembl标识符ENSCING000000020052的玻璃海鞘C6orf106。在一个实施方案中,C6orf106由SEQ ID NO:46至56中的任意一者或者多者编码,或者由与SEQ ID NO:46至56具有至少50%、或至少60%、或至少65%、或至少70%、或至少75%、或至少80%、或至少85%、或至少90%、或至少95%、或100%同一性的序列或其生物活性片段编码。在一个实施方案中,C6orf106具有与SEQ ID NO:1至11具有至少45%、或至少50%、或至少54%、或至少60%、或至少65%、或至少70%、或至少75%、或至少80%、或至少85%、或至少90%、或至少91%、或至少92%、或至少93%、或至少94%、或至少95%、或至少96%、或至少97%、或至少98%、或至少99%、或100%同一性的氨基酸序列或其生物活性片段。该多肽的活性可以与参考多肽的活性相同,或者相对于参考多肽的活性增强。

[0202] 如本文所用,术语“生物活性片段”是指C6orf106的能够调节免疫应答和/或细胞因子产生的片段。如本文所用的生物活性片段不包括全长多肽。这些生物活性片段可以是任何尺寸的部分,只要保持所限定的活性即可。在一个实施方案中,该生物活性片段结合到IRF3。在一个实施方案中,该生物活性片段结合到包含IRF3的复合物。在一个实施方案中,该生物活性片段缺少选自下列的一个或多个推定结构域:功能性UBA样结构域、功能性无序区或功能性FW结构域(这些结构域和区域在图2中指出)。在一个实施方案中,该生物活性片段缺少功能性UBA样结构域。在一个实施方案中,该生物活性片段缺少功能性无序区。在一个实施方案中,该生物活性片段缺少功能性FW结构域。在一个实施方案中,该生物活性片段缺少功能性UBA样结构域和功能性无序区。优选地,该生物活性片段保持全长蛋白质活性的至少10%、至少50%、至少75%或至少90%,或相对于全长蛋白质具有增强的活性。优选地,该生物活性片段相对于全长蛋白质具有增强的活性。

[0203] 如本文所用,术语“泛素相关样结构域”或“UBA样结构域”是指C6orf106的如图2所示的N端结构域。在一个实施方案中,UBA样结构域是指SEQ ID NO:1至8的第23至63位氨基酸,或SEQ ID NO:10或11的第25至65位氨基酸残基;或SEQ ID NO:9的第23至66位氨基酸残基;或者包含以SEQ ID NO:12或SEQ ID NO:13示出的氨基酸序列,或者是与前述序列中的任意一者具有至少50%同一性的序列。如本文所用,缺少“功能性UBA样结构域”的短语是指这样的C6orf106:它缺少UBA样结构域、缺少UBA样结构域的片段,或在UBA样结构域中包含

破坏UBA样结构域的功能的一个或多个突变,诸如取代、插入或缺失。在一个实施方案中,缺少UBA样结构域的C6orf106缺少SEQ ID NO:1至11中任意一者的约76个N端氨基酸。

[0204] 如本文所用,术语“无序区”是指C6orf106的包含如图2所指示残基的C端区。在一个实施方案中,无序区包含以SEQ ID NO:61示出的氨基酸序列,或者是与SEQ ID NO:61具有至少50%同一性的序列。在一个实施方案中,无序区包含以SEQ ID NO:62示出的氨基酸序列,或者是与SEQ ID NO:62具有至少50%同一性的序列。在一个实施方案中,无序区是指SEQ ID NO:1至3的第241至298位氨基酸,或SEQ ID NO:4至8的第241至291位氨基酸残基;或SEQ ID NO:10的第244至285位氨基酸残基;或SEQ ID NO:11的第244至281位氨基酸残基;或SEQ ID NO:9的第244至281位氨基酸残基,或者是与前述序列中的任意一者具有至少50%同一性的序列。

[0205] 如本文所用,术语“FW结构域”或“Nbr-1样结构域”是指包含如图2所指示的残基的C6orf106结构域。在一个实施方案中,FW结构域是指SEQ ID NO:1至8的第98至190位氨基酸,或SEQ ID NO:10或11的第100至192位氨基酸残基;或SEQ ID NO:9的第100至194位氨基酸残基;包含以SEQ ID NO:57、SEQ ID NO:58或SEQ ID NO:60示出的氨基酸序列,或者是与前述序列中的任意一者具有至少50%同一性的序列。

[0206] 适合在本发明的方法中使用的多肽可以通过其氨基酸序列与参考氨基酸序列的同一性程度(同一性百分比)来限定,或者通过与一个参考氨基酸序列的同一性百分比大于与另一个参考氨基酸序列的同一性百分比来限定。多肽与参考氨基酸序列的同一性百分比典型地通过GAP分析(Needleman和Wunsch,1970年;GCG程序)来确定,该GAP分析的参数为:空位产生罚分=5,空位延伸罚分=0.3。查询序列的长度为至少100个氨基酸,且GAP分析在含有至少100个氨基酸的区域上比对这两个序列。甚至更优选地,查询序列的长度为至少250个氨基酸,且GAP分析在含有至少250个氨基酸的区域上比对这两个序列。甚至更优选地,查询序列的长度为至少290个氨基酸,且GAP分析在含有至少290个氨基酸的区域上比对这两个序列。甚至更优选地,查询序列的长度为至少300个氨基酸,且GAP分析在含有至少300个氨基酸的区域上比对这两个序列。甚至更优选地,GAP分析在全长上比对这两个序列。

[0207] SEQ ID NO:1至11的多肽的氨基酸序列突变体可以通过将适当的核苷酸变化引入到本文所限定的核酸中、或通过体外合成所需多肽来制备。此类突变体包括例如氨基酸序列内残基的缺失、插入或取代。可以制造缺失、插入和取代的组合,以获得最终构建体,前提是最终的多肽产物具有所限定的活性。

[0208] 可以使用本领域已知的任何技术来制备突变体(变更的)多肽,例如使用定向进化策略或合理设计策略(参见下文)。衍生自突变/变更的DNA的产物可以使用本文所述的技术轻易地筛选,以确定它们是否具有调节C6orf106蛋白活性的能力。

[0209] 在设计氨基酸序列突变体时,突变位点的位置和突变的性质将取决于有待改变的一个或多个特征。突变位点可以例如通过以下操作单个地或系列地修饰:(1)根据要获得的结果,首先用可供选择的保守氨基酸取代,接着挑选更多的基团来取代,(2)使靶残基缺失,或者(3)在定位的位点附近插入其他残基。

[0210] 氨基酸序列缺失通常在约1个至15个残基的范围内,更优选地为约1个至10个残基,并且典型地为约1个至5个连续残基。

[0211] 取代突变体在多肽中除去了至少一个氨基酸残基,并且在除去残基的位置插入了

不同的残基。取代诱变最感兴趣的位点包括被鉴定为一个或多个活性位点(例如底物位点或辅因子结合位点)的位点。其他感兴趣的位点为其中获自各种菌株或菌种的特定残基一模一样的那些位点。这些位置对于生物活性来说可能很重要。这些位点,尤其是属于具有至少另外三个保守性相同的位点的序列内的那些位点,优选地以相对保守的方式被取代。此类保守性取代在以“示例性取代”为标题的表1中示出。

[0212] 在一个优选的实施方案中,突变体/变体多肽在与参考多肽比较时,仅具有或具有不超过一个、两个、三个或四个保守氨基酸变化。表1中提供了保守氨基酸变化的细节。如技术人员将意识到的,可以合理地预测此类微小变化在细胞内表达时不会改变多肽的活性。

[0213] 表1-示例性取代

原始 残基	示例性 取代
Ala (A)	val; leu; ile; gly
Arg (R)	lys
Asn (N)	gln; his
Asp (D)	glu
Cys (C)	ser
Gln (Q)	asn; his
Glu (E)	asp
Gly (G)	pro, ala
His (H)	asn; gln
Ile (I)	leu; val; ala
Leu (L)	ile; val; met; ala; phe
Lys (K)	arg
Met (M)	leu; phe
Phe (F)	leu; val; ala
Pro (P)	gly
Ser (S)	thr
Thr (T)	ser
Trp (W)	tyr
Tyr (Y)	trp; phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala

[0216] 另外,如果需要,可以将非天然氨基酸或合成氨基酸类似物作为取代或添加而引入到多肽中。一般来讲,此类氨基酸包括但不限于常见氨基酸的D-异构体、2,4-二氨基丁酸、 α -氨基异丁酸、4-氨基丁酸、2-氨基丁酸、6-氨基己酸、2-氨基异丁酸、3-氨基丙酸、鸟氨酸、正亮氨酸、正缬氨酸、羟脯氨酸、肌氨酸、瓜氨酸、高瓜氨酸、磺基丙氨酸、叔丁基甘氨酸、叔丁基丙氨酸、苯基甘氨酸、环己基丙氨酸、 β -丙氨酸、氟代氨基酸、设计者氨基酸(designer amino acid)诸如 β 甲基氨基酸、Ca-甲基氨基酸、Na-甲基氨基酸,以及氨基酸类

似物。

[0217] 也包括在该范围内的是在合成期间或之后例如通过下列方式被差异性修饰的多肽:生物素化、苄化、糖基化、乙酰化、磷酸化、酰胺化、由已知的保护基团/阻断基团进行衍生化、蛋白水解裂解、与抗体分子或其他细胞配体键联,等等。这些修饰可以用于增大多肽的稳定性和/或生物活性。

[0218] 在一个实施方案中,可以对改变C6orf106蛋白活性的多肽进行修饰或优化,以增强其活性和/或稳定性。这可以通过多样化或选择而进行。在定向进化中,向蛋白质应用随机诱变,并且使用选择方案挑选出具有所需品质(例如增强的活性)的变体。然后应用更多轮的突变和选择。典型的定向进化策略包括三个步骤:

[0219] 1) 多样化:使多肽随机突变和/或重组,以创建大型的基因变体文库。基因变体文库可以通过易错PCR(参见例如Leung,1989年;Cadwell和Joyce,1992年),由通过亲本模板制备的DNA酶I消化片段集合(Stemmer,1994a;Stemmer,1994b;Cramer等人,1998年;Coco等人,2001年)、由简并寡核苷酸(Ness等人,2002年;Coco,2002年)或由这两者的混合物,或者甚至由未消化的亲本模板(Zhao等人,1998年;Eggert等人,2005年)构建,然后通常利用PCR组装。文库也可以由按照同源或非同源重组的方式在体内或在体外重组的亲本序列制备(Ostermeier等人,1999年;Volkov等人,1999年;Sieber等人,2001年)。基因变体文库还可以通过将感兴趣的基因亚克隆到合适的载体中、将该载体转化进“致突变”菌株诸如大肠杆菌(*E.coli*) XL-1红(Stratagene),然后使经转化细菌繁殖合适的代数而构建。基因变体文库还可以通过使感兴趣的多肽经历DNA改组(即,通过随机片段化和重新组装而在体外同源重组所选择突变基因的集合)而构建,如Harayama(1998)概括描述的那样。

[0220] 2) 选择:使用筛选或选择测试该文库是否存在具有所需性质的突变体(变体)。筛选使得能够手动鉴定和分离高性能突变体,而选择则自动消除所有非功能性突变体。筛选可以涉及筛选是否存在已知的保守氨基酸基序。作为替代或除此之外,筛选可以涉及在细胞或者非人的转基因生物或其部分中表达突变的多核苷酸,并且测定例如调节C6orf106蛋白活性的能力的水平,例如量化细胞或者非人的转基因生物或其部分中的所得产物的水平,或提取自细胞或者非人的转基因生物或其部分的所得产物的水平,以及测定产物相对于缺少经突变多核苷酸的对应细胞或者非人的转基因生物或其部分的水平,然后任选地表达亲本(未突变的)多核苷酸。作为替代,筛选可以涉及将标记的底物供给细胞或者非人的转基因生物或其部分,并且测定底物、或细胞或者非人的转基因生物或其部分中的产物、或提取自细胞或者非人的转基因生物或其部分的产物相对于缺少经突变多核苷酸的对应细胞或者非人的转基因生物或其部分的水平,然后任选地表达亲本(未突变的)多核苷酸。

[0221] 3) 扩增:将选择或筛选中鉴定的变体复制许多倍,从而使研究人员能够对它们的DNA测序,以便掌握发生了哪些突变。

[0222] 这三个步骤一起称为定向进化的“一轮”。大多数实验需要不止一轮。在这些实验中,取前一轮的“获胜者”在下一轮中进行多样化,以创建新的文库。实验结束时,使用生物化学方法对所有进化的蛋白质突变体或多核苷酸突变体进行表征。

[0223] 结合剂

[0224] 在一个实施方案中,多肽为结合剂。在一个实施方案中,结合剂为抗体或其片段。在一些实施方案中,抗体与C6orf106结合并且降低C6orf106的表达或活性。在一些实施方

案中,抗体结合到C6orf106与之相互作用的多肽,诸如C6orf106的受体、抑制剂或激动剂。在一个实施方案中,抗体是经修饰以穿透细胞或被细胞(被动或主动)摄取的抗体。

[0225] 如本文所用的术语“抗体”,包括多克隆抗体、单克隆抗体、双特异性抗体、融合双链抗体、三链抗体、异源缀合抗体、包括完整分子的嵌合抗体及其片段,以及其他抗体样分子。抗体包括多种形式的修饰,包括例如但不限于:包含VH结构域或VL结构域的结构域抗体、重链可变区的二聚体(VHH,如针对骆驼科动物所述的VHH)、轻链可变区的二聚体(VLL)、仅包含可以直接接合或通过接头接合的轻链可变区(VL)和重链可变区(VH)的Fv片段,或者包含重链可变区和CH1结构域的Fd片段。技术人员应当理解,抗体可以是与C6orf106结合的任何抗体,诸如可以在Santa Cruz Biotechnology获得的那些(例如sc-398490)。

[0226] 由连接在一起形成单链抗体的重链和轻链的可变区组成的scFv (Bird等人,1988年;Huston等人,1988年),以及scFv的寡聚物(诸如双链抗体和三链抗体)也由术语“抗体”涵盖。术语“抗体”还涵盖含有可变区和部分恒定区的抗体片段,诸如Fab片段、(Fab')₂片段和FabFc₂片段。还涵盖互补决定区(CDR)移植的抗体片段以及抗体片段的寡聚物。Fv的重链组分和轻链组分可以来源于相同的抗体或不同的抗体,从而产生嵌合的Fv区。抗体可以来源于动物(例如小鼠、兔或大鼠),或者可以是嵌合抗体(Morrison等人,1984年)。抗体可以通过本领域已知的任何方法产生。

[0227] 使用本文提供的指导以及本领域技术人员所熟知的那些方法(这些方法在以上引用的参考文献中并且在诸如Harlow和Lane, *Antibodies: a Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, (1988)的出版物中进行了描述),可以轻易地制备在本发明的方法中使用的抗体。

[0228] 这些抗体可以是包含可变轻链(VL)和可变重链(VH)的Fv区,其中轻链和重链可以直接接合或通过接头接合。如本文所用,接头是指这样一种分子:它与轻链和重链共价连接,并且在这两条链之间提供足够大的间距和柔性,使得它们能够实现一种构象,在该构象中它们能够特异性地结合它们所针对的表位。蛋白接头是特别优选的,因为它们可以表达为融合多肽的Ig部分的内在组分。

[0229] 在一个实施方案中,抗体具有细胞内传输的能力。具有细胞内传输能力的抗体包括诸如以下的抗体:骆驼科抗体和美洲驼抗体、鲨鱼抗体(IgNAR)、scFv抗体、胞内抗体或纳米抗体(例如scFv胞内抗体和VHH胞内抗体)。此类抗原结合剂可以按照Harmsen和De Haard (2007年)、Tibary等人(2007年)和Muyldermans等人(2001年)的描述制备。酵母SPLINT抗体文库可用于测试能够破坏蛋白质相互作用的胞内抗体(参见例如Visintin等人(2008年)的关于产生这类文库的方法)。此类结合剂可以包含细胞穿透肽序列或核定位肽序列,诸如Constantini等人(2008年)中所公开的那些。也可用于体内递送的是Vectocell或Diatope肽载体,诸如De Coupade等人(2005年)和Meyer-Losic等人(2006)中所公开的那些。

[0230] 此外,抗体可以与细胞穿透剂(例如细胞穿透肽)融合。细胞穿透肽包括Tat肽、Penetratin、短的两亲性肽(诸如来自Pep家族和MPG家族的那些)、寡聚精氨酸和寡聚赖氨酸。在一个实例中,细胞穿透肽还缀合至脂质(C6至C18脂肪酸)结构域,以改善细胞内递送(Koppelhus等人,2008年)。细胞穿透肽的实例可以在Howl等人(2007年)和Deshayes等人(2008年)中找到。因此,本发明还提供了经由共价键(例如肽键),任选地在N端或C端与细胞穿透肽序列融合的抗体的用途。

[0231] 适合在本发明的方法中使用的多肽(包括C6orf106或其生物活性片段)能够以多种方式产生,包括产生并回收天然多肽、产生并回收重组多肽,以及合成得到合成多肽。在一个实施方案中,分离的多肽是通过在能有效地产生多肽的条件下培养能够表达该多肽的细胞,然后回收多肽而产生的。有效培养条件包括但不限于容许多肽产生的有效培养基、生物反应器、温度、pH和氧条件。有效培养基是指其中培养细胞以产生多肽的任何培养基。这种培养基典型地包含具有可同化的碳、氮及磷酸盐来源的水性介质,以及适当的盐、矿物质、金属及其他营养物质(诸如维生素)。细胞可以在常规的发酵生物反应器、摇瓶、试管、微量滴定皿和培替氏皿(petri plate)中培养。培养可以在适合于宿主细胞的温度、pH和氧含量下进行。此类培养条件在本领域普通技术人员的专门技能范围内。

[0232] 可编程核酸酶

[0233] 在一个实施方案中,多肽是通过修饰C6orf106基因来改变C6orf106蛋白活性的可编程核酸酶。如本文所用,术语“可编程核酸酶”涉及目标在于(“被编程为”)识别和编辑预定基因组位置的核酸酶。在一个实施方案中,该蛋白是目标在于或“被编程为”将基因修饰引入到C6orf106基因或其调节区中的可编程核酸酶。在一个实施方案中,该基因修饰为C6orf106或其调节区中的缺失、取代或。

[0234] 在一个实施方案中,可编程核酸酶可以被编程为通过DNA结合锌指蛋白(ZFP)结构域的组合来识别基因组位置。ZFP识别DNA序列中特定的3-bp,ZFP的组合可以用于识别特定的基因组位置。在一个实施方案中,可编程核酸酶可以被编程为通过转录激活因子样效应物(TALE)DNA结合结构域识别基因组位置。在一个另选实施方案中,可编程核酸酶可以被编程为通过一个或多个RNA序列识别基因组位置。在一个另选实施方案中,可编程核酸酶可以通过一个或多个DNA序列来编程。在一个另选实施方案中,可编程核酸酶可以通过一个或多个杂交DNA/RNA序列来编程。在一个另选实施方案中,可编程核酸酶可以通过RNA序列、DNA序列与杂交DNA/RNA序列中的一者或多者来编程。

[0235] 可以根据本公开加以使用的可编程核酸酶包括但不限于:来源于细菌的成簇规律间隔短回文重复序列(CRISPR)-cas(CRISPR相关)系统的RNA引导的工程化核酸酶(RGEN)、锌指核酸酶(ZFN)、转录激活因子样核酸酶(TALEN)和argonaute核酸酶。

[0236] 在一个实施方案中,该核酸酶为RNA引导的工程改造的核酸酶(RGEN)。在一个实施方案中,RGEN来自古细菌基因组,或者是其重组形式。在一个实施方案中,RGEN来自细菌基因组,或者是其重组形式。在一个实施方案中,RGEN来自I型(CRISPR)-cas(CRISPR相关)系统。在一个实施方案中,RGEN来自II型(CRISPR)-cas(CRISPR相关)系统。在一个实施方案中,RGEN来自III型(CRISPR)-cas(CRISPR相关)系统。在一个实施方案中,该核酸酶为I类RGEN。在一个实施方案中,该核酸酶为II类RGEN。在一个实施方案中,RGEN为多组分酶。在一个实施方案中,RGEN为单组分酶。在一个实施方案中,RGEN为CAS3。在一个实施方案中,RGEN为CAS10。在一个实施方案中,RGEN为CAS9。在一个实施方案中,RGEN为Cpf1(Zetsche等人,2015年)。在一个实施方案中,RGEN是单个RNA或DNA的目标。在一个实施方案中,RGEN是多于一个RNA和/或DNA的目标。在一个实施方案中,可编程核酸酶可以是DNA编程的argonaute(WO 14/189628)。在一个实施方案中,CAS9来自酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*)。

[0237] 小分子

[0238] 在一个实施方案中,改变C6orf106蛋白活性的化合物为小分子。在一个实施方案

中,小分子增大了C6orf106蛋白活性。在一个实施方案中,小分子降低了C6orf106蛋白活性。在一个实施方案中,小分子结合到C6orf106基因并抑制其表达。在一个实施方案中,降低C6orf106执行其正常功能的能力的小分子与C6orf106蛋白结合,从而降低了C6orf106蛋白活性。在一个实施方案中,增强C6orf106活性的小分子与该蛋白结合,从而增大了C6orf106蛋白活性。在一个实施方案中,小分子结合与C6orf106相互作用的多肽,诸如参与C6orf106的细胞移位或定位的激动剂、受体或蛋白质,从而降低或增大C6orf106蛋白活性。

[0239] 在一个实施方案中,施用的化合物可以是前体化合物,该前体化合物无活性或活性相对较差,但在施用后转变(例如代谢)为这样的化合物:与缺少该化合物的同基因细胞相比,该化合物减少抗病毒基因的表达并且/或者降低细胞群体中的蛋白活性。在那些实施方案中,所施用的化合物可以称为前药。作为替代或除此之外,施用的化合物可以被代谢以产生活性代谢物,这些活性代谢物具有下列活性:与缺少该化合物的同基因细胞相比,减少抗病毒基因的表达并且/或者降低细胞群体中的蛋白活性。此类活性代谢物的用途也在本公开的范围之内。

[0240] 取决于该化合物中存在的取代基,该化合物可以任选地以盐的形式存在。适合在本发明中使用的化合物的盐是其中抗衡离子在药学上可接受的那些盐。合适的盐包括与有机或无机的酸或碱形成的那些盐。具体而言,与酸形成的合适的盐包括与无机酸、强有机羧酸诸如未取代的或例如被卤素取代的含1至4个碳原子的烷基羧酸(诸如饱和或不饱和的二羧酸,诸如羟基羧酸,诸如氨基酸)形成的那些盐;或与有机磺酸诸如未取代的或例如被卤素取代的(C1-4)-烷基或芳基磺酸形成的那些盐。在药学上可接受的酸加成盐包括由下列酸形成的那些:盐酸、氢溴酸、硫酸、硝酸、柠檬酸、酒石酸、乙酸、磷酸、乳酸、丙酮酸、乙酸、三氟乙酸、琥珀酸、高氯酸、富马酸、马来酸、乙醇酸、乳酸、水杨酸、草酰乙酸、甲磺酸、乙磺酸、对甲苯磺酸、甲酸、苯甲酸、丙二酸、萘-2-磺酸、苯磺酸、羟乙磺酸、抗坏血酸、苹果酸、邻苯二甲酸、天冬氨酸和谷氨酸、赖氨酸和精氨酸。在药学上可接受的碱盐包括铵盐、碱金属盐(例如钾盐和钠盐)、碱土金属盐(例如钙盐和镁盐),以及与有机碱的盐,其中有机碱例如二环己胺、N-甲基-D-葡萄糖胺、吗啉、硫代吗啉、哌啶、吡咯烷,单-、二-或三-低级烷基胺(例如乙基-、叔丁基-、二乙基-、二异丙基-、三乙基-、三丁基-或二甲基-丙胺),或者单-、二-或三羟基低级烷基胺(例如单-、二-或三乙醇胺)。也可以形成对应的内盐。

[0241] 有机化学和/或药物化学领域的技术人员将认识到,许多有机化合物可以与它们在其中反应或者它们从其沉淀或结晶的溶剂形成复合物。这些复合物被称为“溶剂合物”。例如,与水的复合物被称为“水合物”。当原料药(drug substance)在晶格中以化学计量或非化学计量的量掺入诸如水之类的溶剂时,便存在诸如水合物之类的溶剂合物。按照惯例筛选原料药是否存在诸如水合物之类的溶剂合物,因为在任何阶段都可能遇到这些物质。因此应当理解,可用于本发明的化合物可以诸如水合物之类的溶剂合物的形式存在。适合在本发明中使用的化合物的溶剂化形式是其中相关联溶剂在药学上可接受的那些。例如,水合物是在药学上可接受的溶剂合物的一个实例。

[0242] 可用于本发明的化合物能够以无定形形式或结晶形式存在。许多化合物以多种多晶型形式存在,并且所有此类形式的化合物的用途都由本公开涵盖。

[0243] 可用于本公开的小分子可以使用标准程序来鉴定,这些标准程序诸如筛选候选化合物的文库与C6orf106蛋白的结合,然后确定与该蛋白结合的化合物中的任一种是否降低

了C6orf106蛋白活性。在一个实施方案中,筛选本发明的化合物包括在体外、在胚内或在体内评估该化合物是否调节病毒感染。可用于本公开的小分子也可以使用经由电脑模拟进行筛选的标准程序加以鉴定,这些标准程序可以包括筛选文库中的已知化合物,以鉴定与C6orf106基因或蛋白结合并且降低C6orf106蛋白活性的候选物。

[0244] 多核苷酸或多肽的递送

[0245] 核酸构建体

[0246] 在一个实施方案中,多核苷酸为核酸构建体。在一个实施方案中,该核酸构建体可以包含转基因。如本文所用,“核酸构建体”是指编码例如双链RNA分子(例如siRNA、miRNA、shRNA或适配体)的任何核酸分子,“引导”或“靶向”可编程核酸酶的RNA序列、DNA序列或RNA/DNA杂交序列,或者在载体中编码多肽的多核苷酸。该核酸构建体典型地将是双链DNA或双链RNA,或者它们的组合。另外,该核酸构建体典型地将包含与编码多核苷酸的开放阅读框可操作地连接的合适启动子。该核酸构建体可以包含例如编码双链RNA分子的第一条单链的第一开放阅读框,而互补(第二条)链则由不同的(或优选地相同的)核酸构建体的第二开放阅读框编码。该核酸构建体可以是线性片段或环状分子,并且可能能够、也可能不能够复制。技术人员应当理解,本发明的核酸构建体可以包含在合适的表达载体内。将该核酸构建体转染或转化到受体细胞中允许该细胞表达由该核酸构建体编码的RNA或DNA分子。

[0247] 在另一个实例中,该核酸构建体可以表达相同RNA分子的多个拷贝,以及/或者一个或多个(例如1、2、3、4、5个或更多个,包括多个不同的)RNA分子的多个拷贝,所述RNA分子是包含双链区的RNA分子,例如短发夹RNA。在一个实施方案中,该核酸构建体可以表达编码一种或多种适配体的序列,或者可以加工产生适配体的序列。在一个实例中,该核酸构建体是适合于同源重组的构建体。

[0248] 该核酸构建体还可以含有附加的遗传元件。可以包含在该构建体中的元件的类型不受任何限制,并且可以由本领域的技术人员选择。在一些实施方案中,该核酸构建体作为转基因插入到宿主细胞中。在一个实施方案中,宿主细胞为免疫细胞。在一个实施方案中,免疫细胞为白细胞。在一个实施方案中,白细胞为淋巴细胞或吞噬细胞。在一个实施方案中,淋巴细胞为T细胞或B细胞。在此类情况下,可能期望在该构建体中包含“填充(stuffer)”片段,这些片段被设计用于保护编码RNA分子的序列不受转基因插入过程的损害,还用于降低外部转录通读的风险。这些填充片段还可以包含在该构建体中以增大例如启动子与编码序列和/或终止子组分之间的距离。这种填充片段可以具有5个至5000个或更多个核苷酸的任何长度。两个启动子之间可以存在一个或多个填充片段。在存在多个填充片段的情况下,它们可以具有相同的长度或不同的长度。这些填充DNA片段优选地是不同的序列。优选地,填充序列包括与已经在其中插入了这些序列的细胞或该细胞的子代内发现的序列相同的序列。在另一个实施方案中,该核酸构建体包含侧接编码一个或多个双链RNA的一个或多个开放阅读框的填充区。

[0249] 作为替代,该核酸构建体可以包含转座元件,例如,特征在于侧接编码一个或多个双链RNA的开放阅读框的末端反向重复序列的转座子。合适的转座子的实例包括To12、mini-Tol、Sleeping Beauty、Mariner和Galluhop。

[0250] 可以包含在该核酸构建体中的附加遗传元件的其他实例包括:报告基因,诸如荧光标记蛋白(诸如GFP或RFP)的一个或多个基因;易于测定的酶,诸如 β -半乳糖苷酶、荧光素

酶、 β -葡萄糖醛酸酶、氯霉素乙酰转移酶或分泌的胚胎碱性磷酸酶；或者适于进行免疫测定的蛋白质，诸如激素或细胞因子。可以应用于实施方案中的其他遗传元件包括编码赋予细胞选择性生长优势的蛋白质的那些遗传元件，所述蛋白质诸如腺苷脱氨酶、氨基糖苷磷酸转移酶、二氢叶酸还原酶、潮霉素B-磷酸转移酶；或者编码赋予细胞耐药性的蛋白质的那些遗传元件。

[0251] 在一个实施方案中，附加的遗传元件可以是编码刺激受试者体内的免疫应答的抗原的一种或多种多核苷酸。

[0252] 在将该核酸构建体转染到细胞中的情况下，期望的是启动子和任何附加的遗传元件由天然存在于宿主基因组中的核苷酸序列组成。在一个实施方案中，该核酸构建体包含启动子。技术人员将认识到，可以在本发明中使用诸如组成型启动子或诱导型启动子之类的启动子。在一个实施方案中，启动子为Po1 I、Po1 II或Po1 III启动子。

[0253] 表达载体

[0254] 在一些情况下，可能期望将多核苷酸或核酸构建体插入到表达载体中。在一个实施方案中，可以将该表达载体转移到细胞中，然后使用该细胞产生适合用于本发明的方法的多核苷酸和/或多肽。在一个实施方案中，可以将该表达载体转移到受试者的细胞中，以允许多核苷酸和/或多肽在该受试者体内表达。

[0255] 因此，例如，可以用诸如DNA或RNA之类的多核苷酸将来自受试者的细胞进行工程改造，以便离体编码多肽。然后可以把这些工程改造的细胞提供给将要用多核苷酸或多肽治疗的受试者。在该实施方案中，可以例如通过使用可以用于转化细胞的载体对细胞进行离体工程改造处理，其中该载体含有编码可用于本发明方法的多肽的RNA。此类方法在本领域中是熟知的，并且根据本文的教导内容，它们在本发明中的用途将显而易见。

[0256] 另外，可以通过本领域已知的程序在体内对细胞进行工程改造处理，用于在体内表达多肽。然后可以分离出表达构建体。在一个实例中，用包含编码可用于本发明方法的多肽的RNA的质粒载体转导包装细胞，使得该包装细胞现在产生包含感兴趣基因的感染性病毒颗粒。可以将这些生产细胞施用给受试者，以便在体内对细胞进行工程改造处理，并且在体内表达多核苷酸和/或多肽。在一个实施方案中，将该表达载体直接施用给受试者。根据本发明的教导内容，用于施用本发明多肽的这些方法和其他方法对于本领域技术人员来说应当是显而易见的。

[0257] 如本文所用，“表达载体”是能够转化宿主细胞并且能够实现一种或多种多核苷酸的表达的DNA或RNA载体。优选地，该表达载体还能够在宿主细胞内复制。表达载体可以是原核表达载体、真核表达载体或病毒表达载体。表达载体包括在本发明的宿主细胞中起作用（即，指导基因表达）的任何载体，所述宿主细胞包括细菌细胞、真菌细胞、体内寄生虫细胞、节肢动物细胞、动物细胞、植物细胞和藻类细胞。该载体可以是RNA或DNA。该载体可以是例如质粒、病毒、人造染色体或噬菌体。此类载体包括染色体载体、游离型载体和病毒来源载体，例如来源于细菌质粒、噬菌体和病毒的载体，来源于它们的组合的载体，诸如来源于质粒和噬菌体遗传元件、粘粒和噬菌粒的那些载体。在一个实施方案中，载体为病毒载体。在一个实施方案中，病毒载体为逆转录病毒、慢病毒、腺病毒、疱疹病毒、痘病毒或腺相关病毒载体。

[0258] 逆转录病毒质粒载体所来源的逆转录病毒包括但不限于：莫洛尼鼠 (Moloney

Murine) 白血病毒、脾坏死病毒、鲁斯氏肉瘤 (Rous Sarcoma) 病毒、哈维肉瘤 (Harvey Sarcoma) 病毒、禽类白血病毒、长臂猿白血病毒、人免疫缺陷病毒、腺病毒、骨髓增生性肉瘤病毒和乳腺癌病毒。在一个实施方案中, 逆转录病毒质粒载体来源于莫洛尼鼠白血病毒。

[0259] 此类载体将包含用于表达多肽的一个或多个启动子。可以采用的合适的启动子包括但不限于逆转录病毒LTR、SV40启动子和人巨细胞病毒 (CMV) 启动子。也可以使用细胞启动子, 诸如真核细胞启动子, 包括但不限于组蛋白启动子、RNA聚合酶III启动子和 β -肌动蛋白启动子。可以采用的另外的病毒启动子包括但不限于腺病毒启动子、胸苷激酶 (TK) 启动子和B19细小病毒启动子。根据本文包含的教导内容, 选择合适的启动子对于本领域的技术人员来说将是显而易见的。

[0260] 编码可用于本发明方法的多肽的核酸序列将受到合适启动子的控制。可以采用的合适启动子包括但不限于: 腺病毒启动子, 诸如腺病毒主要晚期启动子; 或异源启动子, 诸如巨细胞病毒 (CMV) 启动子; 呼吸道合胞病毒 (RSV) 启动子; 诱导型启动子, 诸如MMT启动子、金属硫蛋白启动子; 热激启动子; 白蛋白启动子; ApoAI启动子; 人珠蛋白启动子; 病毒胸苷激酶启动子, 诸如单纯性疱疹胸苷激酶启动子; 逆转录病毒LTR (包括上文所述的经修饰逆转录病毒LTR); β -肌动蛋白启动子; 以及人生长激素启动子。启动子也可以是控制编码多肽的基因的天然启动子。

[0261] 采用逆转录病毒质粒载体来转导包装细胞系, 以形成生产细胞系。可以被转染的包装细胞的实例包括但不限于PE501、PA317、Y-2、Y-AM、PA12、T19-14X、VT-19-17-H2、YCRE、YCRIP、GP+E-86、GP+envAm12和DAN这些细胞系, 如Miller (1990年) 中所述。载体可以通过本领域已知的任何手段被转导到包装细胞中。此类手段包括但不限于电穿孔、使用脂质体, 以及CaPO₄沉淀。在一个替代方案中, 逆转录病毒质粒载体可以被包封到脂质体中, 或者与脂质偶联, 然后施用给宿主。

[0262] 生产细胞系将产生感染性逆转录病毒载体颗粒, 这些颗粒包含编码所述多肽的一个或多个核酸序列。然后可以采用此类逆转录病毒载体颗粒在体外或在体内转导真核细胞。这些转导的真核细胞将表达编码所述多肽的一个或多个核酸序列。可以被转导的真核细胞包括但不限于: 间充质细胞、软骨细胞、胚胎干细胞、胚胎癌细胞, 以及造血干细胞、肝细胞、成纤维细胞、成肌细胞、角化细胞、内皮细胞和支气管上皮细胞。

[0263] 在一个实施方案中, 该载体适用于基因疗法, 诸如腺相关病毒载体 (Daya等人, 2008年)。

[0264] 在一个实施方案中, 该载体是能够表达多种功能性RNA或功能性蛋白或它们的组合的载体, 诸如Kabad i等人 (2014年) 中所描述的载体。此类载体可以用于同时施用可编程核酸酶以及一种或多种“引导”或“靶向”序列。此类载体也可以用于同时表达多种双链RNA。

[0265] 在一个实施方案中, 该载体是靶向癌细胞并且优选地感染癌细胞的载体, 诸如CavatakTM或ImlygicTM (talimogene laherparepvec)。

[0266] 细胞和细胞培养

[0267] 技术人员将认识到, 可以通过表达如本文所述的多核苷酸或表达载体而在细胞培养物中产生如本文所述的多肽或其片段。在一个实例中, 细胞为原核细胞或真核细胞。在一个实例中, 细胞来源于哺乳动物、禽类、细菌或节肢动物门 (Arthropoda)。在一个实例中, 细

胞为哺乳动物细胞。在一个实例中,细胞来自传代细胞系。在一个实例中,细胞来自原代细胞系。在一个实例中,细胞来自无限增殖化细胞系。在一个实例中,细胞为贴壁细胞。在一个实例中,细胞为非贴壁细胞(悬浮细胞)。在一个实例中,细胞为免疫细胞。

[0268] 在一个实例中,哺乳动物细胞为HEK细胞、CHO细胞或HeLa细胞。在一个实例中,细胞为HeLa细胞。在一个实例中,细胞来自衍生于鸡胚胎成纤维细胞(CEF)的原代细胞系。在一个实例中,细胞来自无限增殖化的鸡胚细胞系PBS-1。在一个实例中,细胞来自鸡成纤维细胞细胞系DF-1。在一个实例中,细胞为Madin-Darby犬肾(MDCK)细胞。在一个实例中,细胞为MDCK 33016细胞。在一个实例中,细胞为MDCK CCL34细胞。在一个实例中,细胞为来源于非洲绿猴肾的Vero细胞。在一个实例中,细胞为来源于人视网膜的PER.C6细胞。在一个实例中,细胞为AGE1.CR细胞。在一个实例中,细胞来源于MRC-5二倍体细胞系。在一个实例中,细胞为人胚肾细胞(HEK293)。在一个实施方案中,细胞培养物为细菌细胞培养物。在一个实施方案中,细菌细胞为大肠杆菌(E.coli)细胞。在一个实例中,细胞为昆虫细胞。在一个实例中,昆虫细胞来源于粉夜蛾属(Trichoplusia)。在一个实例中,可以在不存在血清的情况下培养细胞。在一个实例中,在有血清存在的情况下培养细胞。

[0269] 本发明的细胞群可以在允许细胞体外扩增的任何细胞培养基中培养。此类培养基和过程是技术人员已知的(参见例如Genzel等人,2009年;Josefsberg等人,2012年;Wolf等人,2011年)。用于培养本发明的细胞群的示例性细胞培养基包括但不限于:Iscove培养基、UltraCHO、CD杂交瘤无血清培养基、episerf培养基、MediV SF103(无血清培养基)、达尔伯克氏改良伊格尔培养基(Dulbecco's modified eagle medium,即DMEM)、伊格尔氏改良伊格尔培养基(Eagles Modified Eagle Medium,即EMEM)、格拉斯哥氏改良伊格尔培养基(Glasgow's modified eagle medium,即GMEM)、SMIP-8、改良伊格尔培养基(MEM)、VP-SFM、基于DMEM的SFM、DMEM/F12、DMEM/哈姆氏F12培养基(DMEM/Ham's F12)、VPSFM/威廉氏培养基E(VPSFM/William's medium E)、ExCell 525(SFM)、腺病毒表达培养基(AEM)和Excell 65629(Genzel等人,2009年)。本领域的技术人员将认识到,这些培养基可以补充有附加的生长因子,例如但不限于氨基酸、激素、维生素和矿物质。任选地,这些培养基可以补充有血清,例如胎牛血清。

[0270] 在一个实例中,使用分批细胞培养过程来培养细胞。在一个实例中,使用灌注细胞培养过程来培养细胞。在一个实例中,在种子培养基和生产培养基中培养细胞。在一个实例中,在搅拌槽式反应器中培养细胞。在一个实例中,该反应器的容积为约1L至约2500L。在一个实例中,在wave生物反应器中培养细胞。在一个实例中,在细胞工厂系统(例如Nunc细胞工厂系统(Genzel等人,2009年))中培养细胞。

[0271] 刺激免疫应答的抗原

[0272] 本发明提供了改变C6orf106蛋白活性的化合物与刺激免疫应答的至少一种抗原相结合的用途。在将这些化合物施用给受试者时,这些化合物可以与至少一种抗原混合或缀合,从而产生保护性免疫应答。在一个实施方案中,将降低C6orf106活性的化合物与至少一种抗原或疫苗组合物一起施用,以增强对所述至少一种抗原或疫苗组合物的免疫应答。

[0273] 所谓“至少一种抗原”,意味着一种或多种抗原类型或抗原决定簇。在一个实施方案中,抗原可以与本发明的化合物缀合。

[0274] 包含与抗原缀合的化合物或者该化合物与抗原的组合的组合物可以施用给患有

某种病症或易患上某种病症或处于患上某种病症的风险的受试者。

[0275] 如本文所用,“抗原”意味着有能力诱导特定免疫应答的物质。抗原可以是处于其生命周期的任何阶段的完整生物体、灭活的完整生物体、从完整生物体分离的片段或组分、该生物体的裂解物或肿瘤裂解物、通过本领域已知的方法进行遗传工程改造或合成工程改造的特异性抗原。此外,所选择的抗原可以来源于成熟的完整生物体或孢子(卵囊)中的任一者或两者。

[0276] 在本发明的方法中使用的抗原也可以由完整细胞或其亚细胞级分组成。此类细胞或其亚细胞级分可以来源于例如肿瘤或受感染组织。

[0277] 优选的所选择抗原包括例如来自下列物质的抗原:

[0278] 花粉;

[0279] 变应原,尤其是诱发哮喘的那些变应原;

[0280] 病毒,诸如本文所述的那些,特别是流感病毒、猫白血病病毒、猫免疫缺陷病毒、HIV-1、HIV-2、狂犬病病毒、麻疹病毒、乙型肝炎病毒、口蹄疫病毒、乳头瘤病毒、巨细胞病毒、单纯疱疹病毒、甲型肝炎病毒、丙型肝炎病毒、HTLV-1和HTLV-2;

[0281] 细菌,诸如炭疽病、麻风病、肺结核、白喉、莱姆病(Lyme disease)、梅毒、伤寒和淋病的致病因子;

[0282] 原生动物,诸如牛巴贝虫(*Babesiosis bovis*)、疟原虫(*Plasmodium*)、利什曼原虫属种(*Leishmania spp.*)、刚地弓形虫(*Toxoplasma gondii*)和克氏锥虫(*Trypanosoma cruzi*);

[0283] 真菌,诸如曲霉属种(*Aspergillus sp.*)、白色念珠菌(*Candida albicans*)、新型隐球菌(*Cryptococcus neoformans*)和荚膜组织胞浆菌(*Histoplasma capsulatum*);

[0284] 寄生虫,诸如蠕虫;以及

[0285] 肿瘤抗原,诸如粘蛋白-1(MUC-1)、癌胚抗原,前列腺特异性膜抗原、前列腺特异性抗原、MZ2-E蛋白、多形上皮粘蛋白(PEM)、叶酸结合蛋白LK26、截短的表皮生长因子受体(EGFR)、Thomsen-Friedenreich(T)抗原、端粒酶、存活素、Melan-A/MART-1、WT1、LMP2、人乳头瘤病毒(HPV)E6E7、人上皮生长因子受体(HER-2/neu)、个体基因型抗原、黑色素瘤相关抗原3(MAGE-3)、p53、NY-ESO-1、前列腺酸性磷酸酶(PAP)、癌睾丸抗原、5T4,以及GM-2和GD-2神经节苷脂。

[0286] 抗原可以是蛋白质、肽、多糖或寡糖(呈游离状态,或与蛋白质载体缀合),或者它们的混合物。蛋白质和肽可以是提取物或裂解物的一部分、由天然来源纯化得到、借助于固相合成技术合成,或者可以借助于重组遗传学获得。多糖和寡糖可以是天然来源分离得到的,或者可以使用酶程序和/或有机合成方法合成。

[0287] 抗原可以形成融合蛋白的一部分,以便在重组宿主细胞中产生融合蛋白时促进其表达和纯化。融合蛋白的非抗原部分通常代表融合多肽的N端区,而羧基端序列包括抗原序列。融合蛋白可以选自谷胱甘肽-S-转移酶、 β -半乳糖苷酶或者任何其他蛋白或其部分,特别是能够利用该蛋白的结合特性或其他亲和特性进行亲和纯化以便纯化所得的融合蛋白的那些。该蛋白还可以与载体蛋白的C端或N端融合。融合蛋白的性质将取决于其中产生融合蛋白的载体系统。细菌表达载体的一个实例是pGEX,在将感兴趣的基因亚克隆到该载体中时,该载体产生了由谷胱甘肽-S-转移酶与感兴趣蛋白组成的融合蛋白。

[0288] 作为替代,任选地与蛋白质载体偶联的合成肽或多肽可以在本发明中使用。合成肽或多肽可以根据标准方法产生。

[0289] 有用的肽或多肽可以包含已知在对动物施用完整的多肽时能够引发抗体和/或抗原特异性CTL应答的多肽的携带表位的部分。该多肽部分的表位是该多肽的免疫原性表位或抗原性表位。

[0290] “免疫原性表位”的定义是,在完整蛋白质为免疫原的情况下,该蛋白质的引发抗体和/或抗原特异性CTL应答的一部分。另一方面,蛋白质分子中可以与抗体或MHC分子结合的区域被定义为“抗原性表位”。蛋白质的免疫原性表位的数量通常少于抗原性表位的数量。

[0291] 关于选择具有抗原性表位的肽或多肽,本领域众所周知的是,模拟蛋白质序列的一部分的相对短的合成肽常规地引发与部分模拟的蛋白质反应的抗血清(参见例如 Sutcliffe等人,1983年)。能够引发蛋白质反应性血清的肽通常由蛋白质的一级序列表示,可以通过一组简单的化学规则来表征,并且既不限于完整蛋白质的免疫显性区域(即免疫原性表位)、也不限于氨基端或羧基端。

[0292] 本发明的携带抗原性表位的肽和多肽优选地包含具有至少七个氨基酸的序列、更优选地包含具有至少九个氨基酸的序列,并且最优选地包含具有介于约15个至30个之间的氨基酸的序列,这些氨基酸被包含在特定多肽的氨基酸序列之内。

[0293] 由CTL上的T细胞受体识别的表位可能不同于抗体所见的那些表位。通常,CTL识别与MHC I类分子结合并且暴露在细胞表面上的肽(来源于在细胞溶质区室中被酶降解的蛋白质)。这些由CTL识别的肽根据MHC等位基因特异性序列基序与MHC I类分子选择性地结合。这些肽可以通过表达克隆进行鉴定(参见van der Bruggen等人,1991年),并且可以使用各种I类和II类结合肽算法进行预测(Pietersz等人,2006年)。

[0294] 作为替代,由CTL识别的肽可以通过经由体外或离体刺激诱导细胞毒性T淋巴细胞来鉴定,其中该刺激使用了源自用于免疫的蛋白抗原的肽。本发明特定的由CTL识别且携带表位的肽和多肽优选地是具有至少六个氨基酸的序列,更优选地是具有介于约7个至20个之间的氨基酸的序列。

[0295] 携带表位的肽和多肽可以通过任何常规手段产生。

[0296] 细菌抗原

[0297] 抗原可以来源于细菌,包括但不限于:幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*)、肺炎衣原体(*Chlamydia pneumoniae*)、沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*)、解脲支原体(*Ureaplasma urealyticum*)、肺炎支原体(*Mycoplasma pneumoniae*)、葡萄球菌属种(*Staphylococcus* spp.)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、链球菌属种(*Streptococcus* spp.)、酿脓链球菌(*Streptococcus pyogenes*)、肺炎链球菌(*Streptococcus pneumoniae*)、草绿色链球菌(*Streptococcus viridans*)、粪肠球菌(*Enterococcus faecalis*)、脑膜炎奈瑟氏菌(*Neisseria meningitidis*)、淋病奈瑟氏菌(*Neisseria gonorrhoeae*)、炭疽杆菌(*Bacillus anthracis*)、沙门氏菌属种(*Salmonella* spp.)、伤寒沙门氏菌(*Salmonella typhi*)、霍乱弧菌(*Vibrio cholera*)、鼠疫巴斯德氏菌(*Pasteurella pestis*)、铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)、弯曲菌属种(*Campylobacter* spp.)、空肠弯曲菌(*Campylobacter jejuni*)、梭菌属种(*Clostridium*

spp.)、艰难梭菌 (*Clostridium difficile*)、分枝杆菌属种 (*Mycobacterium* spp.)、结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)、密螺旋体属种 (*Treponema* spp.)、疏螺旋体属种 (*Borrelia* spp.)、伯氏疏螺旋体 (*Borrelia burgdorferi*)、钩端螺旋体属种 (*Leptospira* spp.)、杜克雷嗜血杆菌 (*Hemophilus ducreyi*)、白喉棒状杆菌 (*Corynebacterium diphtheria*)、百日咳博德特氏菌 (*Bordetella pertussis*)、副百日咳博德特氏菌 (*Bordetella parapertussis*)、支气管炎博德特氏菌 (*Bordetella bronchiseptica*)、流感嗜血杆菌 (*hemophilus influenza*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、志贺氏菌属种 (*Shigella* spp.)、埃立克体属种 (*Ehrlichia* spp.) 和立克次体属种 (*Rickettsia* spp.)

[0298] 细菌抗原可以是天然的、重组的或合成的。此类细菌抗原包括但不限于来自与细胞表面上存在的碳水化合物决定簇结合的细菌的选择素或凝集素,以及蛋白质的细菌受体,诸如纤连蛋白、层粘连蛋白和胶原蛋白。

[0299] 病毒抗原

[0300] 抗原可以来源于病毒,包括但不限于:流感病毒、副流感病毒、腮腺炎病毒、腺病毒、呼吸道合胞病毒、埃-巴二氏病毒 (*Epstein-Barr virus*)、鼻病毒、脊髓灰质炎病毒、柯萨奇病毒 (*Coxsackievirus*)、艾柯病毒 (*Echovirus*)、麻疹病毒、风疹病毒、水痘-带状疱疹病毒、疱疹病毒 (人和动物)、单纯性疱疹病毒、细小病毒 (人和动物)、巨细胞病毒、肝炎病毒、人乳头瘤病毒、甲病毒属 (*Alphavirus*)、布尼亚病毒属 (*Bunyavirus*)、狂犬病病毒、沙粒病毒、线状病毒、双RNA病毒科、HIV 1、HIV 2、HTLV-1、HTLV-II、FeLV、牛LV、FeIV、犬瘟热病毒、犬传染性肝炎病毒、猫杯状病毒、猫鼻气管炎病毒、TGE病毒 (猪)、口蹄疫病毒,以及如本文所述的其他病毒。

[0301] 病毒抗原可以是天然的、重组的或合成的。此类病毒抗原包括但不限于负责附接到细胞表面受体以便引发感染过程的病毒蛋白,诸如 (i) 逆转录病毒 (HIV、HTLV、FeLV及其他) 和疱疹病毒的包膜糖蛋白,以及 (ii) 流感病毒的神经氨酸酶 (neuramidase)。

[0302] 肿瘤抗原

[0303] 在本发明的一个实施方案中,受试者患有癌症,或患上癌症的风险增大。

[0304] 治疗和/或预防本发明的癌症的方法可以包括一种或多种肿瘤相关抗原。肿瘤相关抗原可以是天然的、重组的或合成的。此类肿瘤相关抗原包括但不限于:MUC-1及其肽片段、MZ2-E蛋白、多形上皮粘蛋白,叶酸结合蛋白LK26、MAGE-1或MAGE-3及其肽片段,人绒毛膜促性腺激素 (HCG) 及其肽片段、癌胚抗原 (CEA) 及其肽片段、 α 胎蛋白 (AFP) 及其肽片段、胰腺癌胚抗原及其肽片段,CA 125、15-3、19-9、549、195及其肽片段,前列腺特异性抗原 (PSA) 及其肽片段、前列腺特异性膜抗原 (PSMA) 及其肽片段、鳞状细胞癌抗原 (SCCA) 及其肽片段、卵巢癌抗原 (OCA) 及其肽片段、胰腺癌相关抗原 (PaA) 及其肽片段、Her1/neu及其肽片段、gp-100及其肽片段、突变K-ras蛋白及其肽片段、突变p53及其肽片段、非突变p53及其肽片段、截短的表皮生长因子受体 (EGFR)、嵌合蛋白p210BCR-ABL、端粒酶及其肽片段、存活素及其肽片段、Melan-A/MART-1蛋白及其肽片段、WT1蛋白及肽片段、LMP2蛋白及肽片段、HPV E6 E7蛋白及肽片段、HER-2/neu蛋白及肽片段、个体基因型蛋白及肽片段、NY-ESO-1蛋白及肽片段、PAP蛋白及肽片段、癌睾丸蛋白及肽片段,以及5T4蛋白及肽片段。其他示例性肿瘤抗原 (Cheever等人,2009年)。

[0305] 病症

[0306] 通过用本发明的方法或化合物调节免疫应答来治疗和/或预防的示例性病症包括:感染、免疫缺陷、自体免疫疾病、炎性病症和癌症。示例性病症可能具有不适当增强的免疫应答,或者不适当降低的免疫应答,无论是哪一种都需要进行调节。示例性病症可能具有不适当增强的IFN应答,或者不适当降低的IFN应答,无论是哪一种都需要进行调节。

[0307] 感染

[0308] 在一个实施方案中,待治疗和/或预防的病症是感染。在一个实施方案中,感染是病毒感染、细菌感染、真菌感染或原生动物感染。在一个实施方案中,感染是病毒感染。病毒可以通过降低C6orf106蛋白活性而增强对病毒的免疫应答的任何病毒。在一个实施方案中,病毒是动物病毒。在一个实施方案中,动物病毒是人病毒。在一个实施方案中,病毒是非人病毒。在一个实施方案中,病毒是负链RNA病毒。

[0309] 在本发明中使用的病毒的实例包括单股反链病毒目、疱疹病毒目和网巢病毒目的成员。在一个实施方案中,病毒来自单股反链病毒目。在一个实施方案中,单股反链病毒目选自:副黏液病毒科、弹状病毒科、丝状病毒科和双RNA病毒科。

[0310] 在本发明中使用的病毒的实例包括但不限于选自下列各科的病毒:正黏液病毒科、逆转录病毒科、疱疹病毒科、副黏液病毒科、弹状病毒科、丝状病毒科、双RNA病毒科和冠状病毒科。

[0311] 例如,正黏液病毒科病毒可以是例如甲型流感病毒、乙型流感病毒、丙型流感病毒、传染性鲑鱼贫血病毒属(Isavirus)、托高土病毒属(Thogotovirus)和/或Quarantavirus。流感病毒可以是甲型流感病毒。甲型流感病毒可以选自从动物分离的甲型流感病毒。在一个实施方案中,动物为人或禽类。具体而言,甲型流感病毒可以选自H1N1、H1N2、H1N3、H1N4、H1N5、H1N6、H1N7、H1N9、H2N1、H2N2、H2N3、H2N4、H2N5、H2N7、H2N8、H2N9、H3N1、H3N2、H3N3、H3N4、H3N5、H3N6、H3N8、H4N1、H4N2、H4N3、H4N4、H4N5、H4N6、H4N8、H4N9、H5N1、H5N2、H5N3、H5N6、H5N7、H5N8、H5N9、H6N1、H6N2、H6N3、H6N4、H6N5、H6N6、H6N7、H6N8、H6N9、H7N1、H7N2、H7N3、H7N4、H7N5、H7N7、H7N8、H7N9、H9N1、H9N2、H9N3、H9N5、H9N6、H9N7、H9N8、H10N1、H10N3、H10N4、H10N6、H10N7、H10N8、H10N9、H11N2、H11N3、H11N6、H11N9、H12N1、H12N4、H12N5、H12N9、H13N2、H13N6、H13N8、H13N9、H14N5、H15N2、H15N8、H15N9和H16N3。在一个实施方案中,甲型流感病毒选自H1N1、H3N2、H7N7和/或H5N1。

[0312] 逆转录病毒科可以是例如人免疫缺陷病毒。

[0313] 疱疹病毒科病毒可以是例如HSV-1、HSV-2、水痘-带状疱疹病毒、埃-巴二氏病毒或巨细胞病毒。

[0314] 副黏液病毒科病毒可以是例如副黏液病毒亚科(Paramyxovirinae)或肺炎病毒亚科(Pneumovirinae)。在一个实施方案中,副黏液病毒亚科可以是例如Aquaparamyxovirus、禽腮腺炎病毒属(Avulavirus)、Ferlavirus、亨尼帕病毒属(Henipavirus)、麻疹病毒属(Morbillivirus)、新城鸡瘟病毒、呼吸道病毒属(Respirovirus)或腮腺炎病毒属(Rubulavirus)。在一个实施方案中,肺炎病毒亚科可以是例如间质肺病毒或正肺炎病毒(Orthopneumovirus)。在一个实施方案中,副黏液病毒亚科是新城鸡瘟病毒。

[0315] 弹状病毒科可以是例如狂犬病病毒属(Lyssavirus)、粒外弹状病毒属(Novirhabdovirus)、暂时热病毒属(Ephemerovirus)、Perhabdovirus、蒂布鲁病毒属(Tibrovirus)、核型弹状病毒属(Nucleorhabdovirus)、Tupavirus、水泡病毒属

(Vesiculovirus)、Sprivivirus、细胞质弹状病毒属 (Cytorhabdovirus) 或西格马病毒属 (Sigmapvirus)。在一个实施方案中,弹状病毒科可以是狂犬病病毒、下刚果热病毒、卡拉加斯病毒 (Carajas virus)、金迪普拉病毒 (Chandipura virus)、科卡尔病毒 (Cocal virus)、伊斯法罕病毒 (Isfahan virus)、马拉巴病毒 (Maraba virus)、帛黎病毒 (Piry virus)、水疱性口炎病毒、牛暂时热病毒、蒂布鲁加尔冈病毒 (Tibrogargan virus)、达勒姆病毒 (Durham virus)、鲈鱼弹状病毒、鲤鱼春季毒血症病毒、比目鱼弹状病毒、传染性造血组织坏死病病毒、病毒性出血败血症病毒或蛇头鱼弹状病毒。在一个实施方案中,水疱性口炎病毒是水疱性口炎阿拉戈斯病毒 (Alagoas virus)、水疱性口炎印第安纳病毒 (Indiana virus) 或水疱性口炎新泽西病毒 (New Jersey virus)。

[0316] 丝状病毒科可以是例如埃博拉病毒属 (Ebolavirus)、奎瓦病毒属 (Cuevavirus) 或马尔堡病毒属 (Marburg virus)。埃博拉病毒属可以是例如邦地布优埃博拉病毒 (Bundibugyo ebolavirus)、雷斯顿埃博拉病毒 (Reston ebolavirus)、苏丹埃博拉病毒 (Sudan ebolavirus)、科特迪瓦埃博拉病毒 (Taï Forest ebolavirus) 或扎伊尔埃博拉病毒 (Zaire ebolavirus)。

[0317] 双RNA病毒科可以是例如眼镜蛇1博尔纳病毒 (Elapid 1 bornavirus)、哺乳动物1博尔纳病毒 (Mammalian 1 bornavirus)、雀形目1博尔纳病毒 (Passeriform 1 bornavirus)、雀形目2博尔纳病毒 (Passeriform 2 bornavirus)、鸚形目1博尔纳病毒 (Psittaciform 1 bornavirus)、鸚形目2博尔纳病毒 (Psittaciform 2 bornavirus) 或水禽1博尔纳病毒 (Waterbird 1 bornavirus)。

[0318] 冠状病毒科 (Coronaviridae) 病毒可以是例如冠状病毒亚科 (Coronavirinae) 或凸隆病毒亚科 (Corovirinae)。冠状病毒亚科可以是 α 冠状病毒、 β 冠状病毒、 δ 冠状病毒或 γ 冠状病毒。凸隆病毒亚科可以是 α 冠状病毒或 β 冠状病毒。在一个实施方案中,冠状病毒科可以是SARS (严重急性呼吸综合征) 冠状病毒。

[0319] 在一个实施方案中,病毒选自:流感病毒、犬瘟热病毒、麻疹病毒、呼吸道肠道病毒、东部马脑炎病毒、犬副流感病毒、狂犬病病毒、鸡痘病毒、西部马脑炎病毒、腮腺炎病毒、马脑脊髓炎病毒、产蛋下降综合征病毒、禽类溶瘤病毒、禽类传染性喉气管炎疱疹病毒、新城鸡瘟病毒、牛副流感病毒、天花病毒、传染性法氏囊病、牛茨城病病毒、重组痘病毒、禽类I型、II型或III型腺病毒、猪日本脑炎病毒、黄热病毒、疱疹病毒、辛德毕斯病毒 (Sindbis virus)、传染性支气管炎病毒、塞姆利基森林病毒 (Semliki forest virus)、脑脊髓炎病毒、委内瑞拉马脑炎病毒 (Venezuelan EEV virus)、鸡贫血病毒、马立克氏病病毒 (Marek's disease virus)、细小病毒、口蹄疫病毒、猪繁殖与呼吸综合征病毒、古典猪瘟病毒、蓝舌病病毒、卡巴内病毒 (Kabane virus)、传染性鲑鱼贫血病毒、传染性造血组织坏死病病毒、病毒性出血败血症病毒、邦地布优埃博拉病毒、雷斯顿埃博拉病毒、苏丹埃博拉病毒、科特迪瓦埃博拉病毒、扎伊尔埃博拉病毒、马尔堡病毒属、SARS和传染性胰坏死病毒。

[0320] 在一个实施方案中,感染是细菌感染。在一个实施方案中,细菌选自:幽门螺杆菌、肺炎衣原体、沙眼衣原体、解脲支原体、肺炎支原体、葡萄球菌属种、金黄色葡萄球菌、链球菌属种、酿脓链球菌、肺炎链球菌、草绿色链球菌、粪肠球菌、脑膜炎奈瑟氏菌、淋病奈瑟氏菌、炭疽杆菌、沙门氏菌属种、伤寒沙门氏菌、霍乱弧菌、鼠疫巴斯德氏菌、铜绿假单胞菌、弯曲菌属种、空肠弯曲菌、梭菌属种、艰难梭菌、分枝杆菌属种、结核分枝杆菌、密螺旋体属种、

疏螺旋体属种、伯氏疏螺旋体、钩端螺旋体属种、杜克雷嗜血杆菌、白喉棒状杆菌、百日咳博德特氏菌、副百日咳博德特氏菌、支气管炎博德特氏菌、流感嗜血杆菌、大肠杆菌、志贺氏菌属种、埃立克体属物种和立克次体属种。

[0321] 在一个实施方案中,感染是真菌感染。在一个实施方案中,真菌感染选自:曲霉属种、白色念珠菌、新型隐球菌和荚膜组织胞浆菌。

[0322] 在一个实施方案中,感染是原生动物感染。在一个实施方案中,原生动物选自:牛巴贝虫、疟原虫、利什曼原虫属种、刚地弓形虫和克氏锥虫。

[0323] 免疫缺陷

[0324] 在一个实例中,待治疗和/或预防的病症是免疫缺陷。在一个实例中,免疫缺陷选自:X连锁无丙种球蛋白血症、普通变异免疫缺陷、重症联合免疫缺陷、获得性免疫缺陷综合征、白血病、人免疫缺陷病毒、病毒性肝炎(诸如丙型肝炎)和多发性骨髓瘤。

[0325] 自体免疫疾病

[0326] 在一个实例中,待治疗和/或预防的病症是自体免疫疾病。在一个实例中,用增大C6orf106蛋白活性的化合物治疗患有自体免疫疾病的患者,并且在这种情况下,受试者体内的免疫应答减轻并且/或者细胞因子产生减少。在一个实施方案中,自体免疫疾病的特征在于慢性炎症。在一个实施方案中,自体免疫疾病的特征在于炎症水平增加。在一个实施方案中,自体免疫疾病的特征在于IFN应答增强。在一个实施方案中,自体免疫疾病的特征在于I型IFN应答增强。

[0327] 例如,自体免疫疾病选自:急性播散性脑脊髓炎(ADEM)、急性坏死性出血性脑白质炎、阿狄森氏病(Addison's disease)、无丙种球蛋白血症、淀粉样变性、强直性脊柱炎、抗GBM/抗TBM肾炎、抗磷脂综合征(APS)、自体免疫血管性水肿、自体免疫再生障碍性贫血、自体免疫自主神经机能障碍、自体免疫肝炎、自体免疫高脂血症、自体免疫、免疫缺陷、自体免疫内耳疾病(AIED)、自体免疫心肌炎、自体免疫卵巢炎、自体免疫胰腺炎、自体免疫视网膜病、自体免疫血小板减少性紫癜(ATP)、自体免疫甲状腺疾病、自体免疫荨麻疹、轴突和神经元的神经病变、巴洛病(Balo disease)、白塞氏病(Behcet's disease)、大疱性类天疱疮、心肌病、卡斯特雷曼氏症(Castleman disease)、乳糜泻、查加斯病(Chagas disease)、慢性炎性脱髓鞘性多发性神经病(CIDP)、慢性复发性多灶性骨髓炎(CRMO)、查格-施特劳斯综合征(Churg-Strauss syndrome)、瘢痕性类天疱疮/良性粘膜类天疱疮、克罗恩氏病、耳蜗前庭综合征、柯萨奇病毒性心肌炎、CREST病、原发性混合型冷球蛋白血症、脱髓鞘神经病、疱疹样皮炎、皮炎、德维克氏病(Devic's disease,视神经脊髓炎)、盘状狼疮、德雷斯勒氏综合征(Dressler's syndrome)、纤维化肺泡炎、巨细胞性动脉炎(颞动脉炎)、巨细胞性心肌炎、肾小球性肾炎、古德帕斯彻氏综合征(Goodpasture's syndrome)、肉芽肿性血管炎(GPA)(以前称为韦格纳氏肉芽肿病(Wegener's Granulomatosis))、格雷夫氏病(Graves' disease)、格林-巴利综合征(Guillain-Barre syndrome)、桥本氏脑炎(Hashimoto's encephalitis)、桥本氏甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis)、溶血性贫血、过敏性紫癜、低丙种球蛋白血症、特发性血小板减少性紫癜(ITP)、IgA肾病、IgG4相关性硬化症、包涵体肌炎、间质性膀胱炎、肠易激综合征、幼年型关节炎、幼年型糖尿病(1型糖尿病)、幼年型肌炎、川崎氏综合征(Kawasaki syndrome)、兰伯特-伊顿综合征(Lambert-Eaton syndrome)、白细胞破碎性血管炎、扁平苔藓、萎缩性硬化性苔藓、木样结膜炎、线状IgA疾病(LAD)、狼疮

(SLE)、莱姆病 (Lyme disease)、慢性梅尼埃氏病 (Meniere's disease)、显微镜下多血管炎、混合性结缔组织病 (MCTD)、莫伦氏溃疡 (Mooren's ulcer)、穆-哈二氏病 (Mucha-Habermann disease)、多发性硬化症、重症肌无力、肌炎、发作性嗜睡病、视神经脊髓炎 (德维克氏病 (Devic's))、嗜中性白血球减少症、眼瘢痕性类天疱疮、视神经炎、复发性风湿病、PANDAS (与链球菌属 (Streptococcus) 相关联的儿科自体免疫神经精神疾病)、副肿瘤性小脑变性、阵发性睡眠性血红蛋白尿症 (PNH)、帕-罗二氏综合征 (Parry Romberg syndrome)、Parsonnage-Turner综合征、睫状体平坦部炎 (周边葡萄膜炎)、天疱疮、周围神经病变、静脉周脑脊髓炎、恶性贫血、POEMS综合征、结节性多动脉炎, I型、II型和III型自体免疫多内分泌腺综合征、风湿性多肌痛、多发性肌炎、心肌梗死后综合征、心包切开后综合征、黄体酮皮炎、原发性胆汁性肝硬化、原发性硬化性胆管炎、牛皮癣、牛皮癣性关节炎、特发性肺纤维化、坏疽性脓皮病、纯红细胞再生障碍、雷诺氏现象 (Raynauds phenomenon)、反应性关节炎、反射交感性营养不良、莱特尔氏综合征 (Reiter's syndrome)、复发性多软骨炎、腹膜后纤维化、风湿热、类风湿性关节炎、类肉状瘤病、施密特综合征 (Schmidt syndrome)、巩膜炎、硬皮病、修格连氏综合征 (Sjogren's syndrome)、精子和睾丸自体免疫、僵人综合征、亚急性细菌性心内膜炎 (SBE)、苏萨克氏综合征 (Susac's syndrome)、交感性眼炎、塔卡亚萨氏动脉炎 (Takayasu's arteritis)、颞动脉炎/巨细胞动脉炎、血小板减少性紫癜 (TTP)、托-亨二氏综合征 (Tolosa-Hunt syndrome)、横贯性脊髓炎、1型糖尿病、溃疡性结肠炎、未分化型结缔组织病 (UCTD)、葡萄膜炎、血管炎、囊泡性皮肤病、白癜风和韦格纳氏肉芽肿病。

[0328] 在一个实例中, 自体免疫疾病选自: 溃疡性结肠炎、克罗恩氏病、肠易激综合征、类风湿性关节炎、多发性关节炎、多发性硬化症、葡萄膜炎、哮喘、1型糖尿病、2型糖尿病、狼疮或慢性阻塞性肺病。

[0329] 炎性病症

[0330] 在一个实例中, 待治疗和/或预防的病症是炎性病症。在一个实例中, 炎性病症是通过施用增大C6orf106蛋白活性、因而使免疫应答和/或细胞因子应答减弱的化合物来减轻炎症的任何病症。在一个实施方案中, 该病症是慢性的。在一个实施方案中, 炎性病症是由前述自体免疫疾病中的一种引起的。在一个实施方案中, 炎症是由创伤 (例如由损伤、烧伤或冻伤造成的创伤) 引起的。

[0331] 癌症

[0332] 在一个实例中, 待治疗和/或预防的病症是癌症。如本文所用, “癌症”意味着各种恶性肿瘤中的任一种, 其特征在于有能力侵犯周围组织并且/或者转移到新定殖部位的细胞的增殖。在一个实施方案中, 癌症可以是例如: 膀胱癌、骨癌、肠癌、脑癌、乳腺癌、结肠直肠癌、原发灶不明癌症、宫颈癌、胃癌、头颈癌、肾癌、白血病、肝癌、肺癌、淋巴瘤、间皮瘤、骨髓瘤、卵巢癌、胰腺癌、前列腺癌、皮肤癌、胃癌、睾丸癌、甲状腺癌、子宫癌、阴道癌、外阴癌。在一个实施方案中, 癌症是上皮癌、肉瘤、淋巴瘤、生殖细胞肿瘤或胚细胞瘤。

[0333] 鉴定化合物的方法

[0334] 在一个实施方案中, 可以通过筛选来鉴定改变C6orf106蛋白活性的本发明化合物。此类化合物可以通过本领域技术人员已知的任何方法来鉴定, 这些方法可以包括下列各项中的一项或多项或者全部: i) 评估化合物与C6orf106基因或C6orf106 mRNA结合的能力, ii) 评估化合物改变C6orf106基因表达的能力, iii) 评估化合物与C6orf106蛋白结合的

能力,iv) 评估化合物改变细胞中的C6orf106活性的能力。评估化合物改变C6orf106活性的能力可以涉及评估化合物调节针对感染(诸如病毒发明)的免疫应答的能力。作为替代,评估化合物改变C6orf106活性的能力可以涉及评估化合物诱导免疫应答的能力。评估免疫应答可以涉及但不限于测量细胞因子响应于化合物治疗所达到的水平。在一个实施方案中,测量免疫应答涉及测量IFN- α 、IFN- β 和TNF- α 中的一者或多者或全部的基因和/或蛋白的水平。

[0335] C6orf106基因表达

[0336] 在一个实施方案中,化合物可以通过减少C6orf106基因的表达来降低C6orf106蛋白活性。在一个实施方案中,化合物可以通过增加C6orf106基因或其片段的表达来增大C6orf106蛋白活性。此类化合物可以在体外、在胚内或在体内筛选。体外实验可以包括将在本发明的方法中使用的候选化合物施用给细胞,并且在施用该化合物之前和之后评估C6orf106 mRNA表达的水平。体外研究可以使用任何合适的细胞系来执行。在一个实施方案中,该细胞系为哺乳动物细胞系。在一个实施方案中,该细胞系为人细胞系,诸如HeLa细胞系。胚内研究可以在禽蛋中执行,体内研究则可以使用哺乳动物模型(诸如小鼠模型)执行。基因表达可以使用实时PCR来测量。

[0337] 可以使用允许检测核酸的任何合适的技术,包括允许定量评估组织和/或细胞中C6orf106基因的表达水平的那些技术。例如,经转录基因的水平可以通过RNA印迹法和/或RT-PCR来测定。随着定量(实时)PCR的出现,存在于任何RNA群体中的转录物拷贝的数量可以通过使用感兴趣基因的适当引物来准确地测定。可以对核酸进行标记,然后在基因阵列上杂交,在这种情况下,基因浓度将与阵列中产生的放射性信号或荧光信号的强度成正比。

[0338] “聚合酶链式反应”(“PCR”)是使用由“上游”引物和“下游”引物组成的“引物对”或“引物组”以及聚合反应催化剂(诸如DNA聚合酶,典型地是热稳定的聚合酶)来制备靶多核苷酸的复制拷贝的反应。用于PCR的方法是本领域已知的,并且例如在“PCR”(M.J.McPherson和S.G Moller编辑,(2000) BIOS Scientific Publishers Ltd,Oxford)中教导。可以对从分离自生物样品的逆转录mRNA获得的cDNA执行PCR。

[0339] 另一种核酸扩增技术是逆转录聚合酶链式反应(qRT-PCR)。首先,使用逆转录酶由RNA模板制备互补DNA(cDNA),然后对得到的cDNA执行PCR。

[0340] 另一种扩增方法是EP0320308中公开的连接酶链式反应(“LCR”)。

[0341] Q β 复制酶也可以用作本发明中的又一种扩增方法。在该方法中,在有RNA聚合酶存在的情况下,将具有与靶标的区域互补的区域的RNA的复制序列添加到样品中。聚合酶将复制随后可以被检测的复制序列。

[0342] 使用限制性核酸内切酶和连接酶实现对靶分子(这些靶分子在限制性位点的一条链中含有核苷酸5' α -硫代-三磷酸)的扩增的等温扩增方法也可以在本发明中用来扩增核酸。

[0343] 链置换扩增(SDA)是进行核酸等温扩增的另一种方法,该方法涉及多轮链置换与合成(即切口平移)。

[0344] 靶特异性序列也可以使用循环探针反应(CPR)来检测。在CPR中,使具有非特异性DNA的3' 序列和5' 序列以及特异性RNA的中间序列的探针与存在于样品中的DNA杂交。杂交后用RNA酶H处理反应,并将探针产物鉴定为消化后释放的特殊产物。使原始模板与另一根

循环探针一起退火,并且重复该反应。

[0345] 等温扩增技术的另一个实例是LAMP(环介导的DNA等温扩增)。

[0346] 另外的扩增方法在GB申请号2 202 328和PCT申请号PCT/US89/01025中描述,并且可以根据本发明来使用。

[0347] 其他核酸扩增程序包括基于转录的扩增系统(TAS),具体包括基于核酸序列的扩增(NASBA)和3SR(WO 88/10315)。

[0348] 用于对核苷酸序列进行直接测序的方法是本领域技术人员熟知的,并且可以在例如下列文献中找到:Short Protocols in Molecular Biology,Ausubel等人编辑,第3版,Wiley,(1995年);Sambrook等人,Molecular Cloning,第2版,第13章,Cold Spring Harbor Laboratory Press,(1989年)。测序可以通过任何合适的方法进行,例如双脱氧测序、化学测序、下一代测序技术或其变型形式。直接测序的优点是能够测定特定序列的任一个碱基对中的变化。

[0349] 基于杂交的检测系统包括但不限于TaqMan测定和分子信标。TaqMan测定(US 5,962,233)使用等位基因特异性(ASO)探针,该探针的一端具有供体染料,另一端则具有受体染料,使得这对染料经由荧光共振能量转移(FRET)相互作用。

[0350] C6orf106蛋白活性

[0351] 在一个实施方案中,本发明的化合物可以通过减少或增加C6orf106蛋白的表达或者改变该蛋白的活性来调节该蛋白的活性。可以通过本领域技术人员已知的任何方法来筛选此类化合物与蛋白结合以及调节蛋白活性水平的能力。此类方法可以包括免疫测定法。

[0352] 该化合物能够在有过量的其他多肽存在的情况下与C6orf106结合。实现这种特异性所需要的参数可以使用本领域的常规方法按照惯例确定。优选地,结合剂与C6orf106结合,结合后的信号为背景的至少一倍、或至少两倍、或至少三倍、或至少四倍、或至少五倍,并且更典型地为背景的10倍至100倍。

[0353] 本文涵盖的筛选测定法包括用于检测从受试者分离的生物样品中的蛋白质的任何已知测定法,诸如SDS/PAGE、等电聚焦、包括SDS/PAGE和等电聚焦的二维凝胶电泳、免疫测定法、使用蛋白质的抗体或非抗体配体(诸如小分子(例如化学化合物,蛋白质的激动剂、拮抗剂、别构调节剂、竞争性抑制剂或非竞争性抑制剂))的基于检测的系统。根据这些实施方案,抗体或小分子能够以顺从于检测蛋白质的任何标准的固相或溶液相测定形式使用。本发明清楚地涵盖使用质谱法、MALDI-TOF、生物传感器技术、倏逝光纤技术或荧光共振能量转移来进行光学或荧光检测,诸如荧光活化细胞分选(FACS)。还涵盖了适用于高通量筛选大量样品,特别是高通量光谱共振方法(例如MALDI-TOF、电喷雾MS或纳米电喷雾MS)的测定系统。

[0354] 合适的免疫测定形式包括免疫印迹法、蛋白质印迹法、斑点印迹法、酶联免疫吸附测定(ELISA)、放射免疫测定(RIA)和酶免疫测定。还可以使用修改过的免疫测定,这些测定利用了荧光共振能量转移(FRET)、同位素编码亲和标签(ICAT)、基质辅助激光解吸/电离飞行时间质谱(MALDI-TOF)、电喷雾电离(ESI)、生物传感器技术、倏逝光纤技术或蛋白芯片技术。

[0355] 在一个实施方案中,该测定是半定量测定或定量测定。

[0356] 标准固相ELISA形式特别适用于测定多种样品中的蛋白质或抗体的浓度。

[0357] 此类基于ELISA的系统特别适用于量化样品中蛋白质或抗体的量,诸如通过相对于已知量的标准品校准检测系统来量化。

[0358] 采用另一种形式时,ELISA包括将特异性结合C6orf106的抗体固定在固体基质上,该固体基质诸如膜、聚苯乙烯或聚碳酸酯微孔板、聚苯乙烯或聚碳酸酯检测探头(dipstick)或玻璃载体。然后使样品与所述抗体发生物理关联,于是样品中的抗原被结合或“被捕获”。接下来,可以使用标记抗体检测结合的蛋白质。作为替代,可以使用与第二(检测)抗体结合的第三标记抗体。

[0359] 经由电脑模拟进行筛选

[0360] 在一个实施方案中,可以使用技术人员已知的任何方法,通过经由电脑模拟进行筛选来鉴定此类化合物。已知的这类技术包括但不限于下列文献中提供的那些:Sheridan和Venkataraghavan(1987年);Goodford(1984年);Beddell(1985年);Hol(1986年);Verlinde和Hol(1984年);Walters等人(1998年);Langer和Hoffmann(2001年);Good(2001年);Gane和Dean(2000年);Zhang等人(2015年);Cerqueira等人(2015年);Kuenemann等人(2015年);Westermaier等人(2015年)。

[0361] 就与C6orf106蛋白结合的化合物而言,它通常需要适当水平的立体化学互补性。一般来讲,具有立体化学互补性的分子设计可以借助于在化学上和/或几何学上优化分子与靶受体之间的“配合程度(fit)”的技术来实现。根据本发明,将分子设计为能够与C6orf106蛋白的立体化学构造互补的方法至少有两种。

[0362] 第一种方法是经由电脑模拟将分子从三维结构数据库直接对接到受体位点,主要使用(但不仅限于)几何标准来评估特定分子与位点配合的程度。在这种方法中,减小内部自由度(以及分子构象空间中对应的局部最小值)的数目,方式是只需考虑两个刚性体的几何(硬球体)相互作用,其中一个刚性体(活性位点)包含“凹坑”或“凹槽”,用来形成针对第二个刚性体(作为配体的互补分子)的结合位点。

[0363] Kuntz等人(1982年)和Ewing等人(2001年)阐明了这种方法,这两篇文献中的配体设计算法用Regents of the University of California发行的商业软件包DOCK 4.0版实施,并且在由发行方提供的标题为“Overview of the DOCK program suite”的文档中进一步描述,该文档的内容据此以引用方式并入本文。依据Kuntz算法,感兴趣区域的形状被限定为一系列不同半径的重叠球体。然后搜索一个或多个现存的晶体学数据库,诸如由Cambridge University(University Chemical Laboratory,Lensfield Road,Cambridge CB2 1EW,U.K.)维护的剑桥结构数据库系统、由Research Collaboratory for Structural Bioinformatics(Rutgers University,N.J.,U.S.A.)维护的蛋白质数据库、LeadQuest(Tripos Associates,Inc.,St.Louis,MO)、现有化学品目录数据库(Molecular Design Ltd.,San Leandro,CA)和NCI数据库(National Cancer Institute,U.S.A),寻找与该形状类似、由此得到限定的分子。

[0364] 然后可以修改按这种方式基于几何参数鉴定的分子,以满足与化学互补性相关联的标准,诸如氢键合、离子相互作用和范德瓦尔斯相互作用。可以采用不同的评分函数来将数据库中的分子排序并从中选出最佳分子(参见例如Bohm和Stahl,1999年)。由Tripos Associates,Inc.(St.Louis,MO)销售的软件包FlexX是可以在这种直接对接方法中使用的另一种程序(Rarey等人,1996年)。

[0365] 第二种优选的方法需要评估相应的化学基团(“探针”)在活性位点内和周围的样品位置处与该活性位点的相互作用,从而得到一系列能量值,可以由这些能量值在所选择的能级处生成三维轮廓表面。配体设计的化学探针方法例如由Goodford(1985年)描述,并且在若干个商业软件包诸如GRID(Molecular Discovery Ltd.(West Way House,Elms Parade,Oxford OX2 9LL,U.K.)出品)中实施。依据该方法,一开始就通过用不同的化学探针(诸如水、甲基、胺氮、羧基氧和羟基)探测活性位点来鉴定位点互补分子的化学先决条件。这样便确定了活性位点与每种探针之间的相互作用的有利位点,然后可以由此类位点的所得三维图案生成推定的互补分子。这可以通过能够搜索三维数据库以鉴定结合了期望的药效团模式的分子的程序来完成,也可以通过使用有利的位点和探针作为输入来执行从头设计的程序来完成。

[0366] 适用于搜索三维数据库以鉴定携带期望的药效团的分子的程序包括:MACCS 3D和ISIS/3D(Molecular Design Ltd.,San Leandro,CA)、ChemDBS 3D(Chemical Design Ltd.,Oxford,U.K.)和Sybyl/3DB Unity(Tripos Associates,Inc.,St.Louis,MO)。

[0367] 化学结构的数据库可以从许多来源获得,包括Cambridge Crystallographic Data Centre(Cambridge,U.K.)、Molecular Design,Ltd.(San Leandro,CA)、Tripos Associates,Inc.(St.Louis,MO)和Chemical Abstracts Service(Columbus,OH)。

[0368] 从头设计程序包括Ludi(Biosym Technologies Inc.,San Diego,CA)、Leapfrog(Tripos Associates,Inc.)、Aladdin(Daylight Chemical Information Systems,Irvine,CA)和LigBuilder(中国北京大学)。

[0369] 可以设计模拟物,诸如肽模拟物和有机模拟物,以便在使用当前的计算机建模软件(使用计算机辅助药物设计或CADD)时与肽结合位点配合(Walters,1993年;Munson,1995年)。本公开的范围之内还包括使用此类技术制备的模拟物。在一个实例中,模拟物模拟的是SOCS-3的肽或区域。

[0370] 可以使用能够由几种肽结构衍生出虚拟肽模型的软件来生成模拟物。这可以使用来源于SLATE算法(Perkin等人(1995年),Mills等人(2001年),De Esch等人(2001年),Mills等人(1997年))的软件完成。

[0371] 设计肽类似物、衍生物和模拟物的其他方法也是本领域熟知的,参见例如Farmer(1980年)、Ball和Alewood(1990年)、Morgan和Gainor(1989年)、Freidinger(1989年)、Sawyer(1995年)、Smith等人(1995年)、Smith等人(1994年)和Hirschman等人(1993年)。

[0372] 如果需要,可以合成预期的药物(激动剂或拮抗剂),也可以从诸如供应商之类的合适来源获得预期的药物(激动剂或拮抗剂)。然后可以对预期的药物进行任何标准的结合测定,以检测它对结合C6orf106蛋白的能力的影响,并且/或者可以对预期的药物进行标准测定,以确定它调节C6orf106蛋白的生物活性的能力或调节病毒感染的能力。

[0373] 对于本文所述的所有药物筛选测定,对药物结构作进一步改进通常是必需的,并且这些改进可以通过对由特定的药物筛选测定法提供的任何步骤和/或所有步骤进行连续重复来实现。

[0374] 施用

[0375] 本发明的方法包括通过适当的途径,将改变C6orf106蛋白活性的化合物或组合物单独地施用给受试者或与另一种化合物(诸如刺激免疫应答的抗原)组合而施用给受试者。

[0376] 多种施用途是可能的,包括但不限于口服、饮食、局部、肠胃外(例如,静脉内注射、动脉内注射、肌肉注射、皮内注射、血管内注射或皮下注射)和吸入(例如,支气管内吸入、鼻内吸入或口腔吸入,鼻内滴入)这些施用途。

[0377] 在一个实施方案中,将该化合物或组合物施用到粘膜部位。粘膜部位的实例包括但不限于:呼吸道,诸如鼻区(例如鼻)、气管、支气管和肺;颊部组织或口腔组织,包括口腔(例如嘴和牙龈)和口咽腔;咽喉,包括扁桃体;眼结膜;胃肠道(例如食管、胃、十二指肠、小肠和大肠、结肠和直肠);生殖道/生殖组织(包括但不限于膀胱、输尿管、尿道及相关组织、阴茎、外阴/阴道和子宫颈-阴道组织,以及子宫和输卵管)。

[0378] 待施用组合物的制剂将根据所选择的施用途而变化(例如,溶液、乳液、胶囊)。

[0379] 包含该化合物的组合物可以含有生理上可接受的载体。对于溶液或乳液来说,合适的载体包括水溶液或醇/水溶液、乳液或悬浮液,包括盐水和缓冲介质。胃肠外载体包括氯化钠溶液、林格氏葡萄糖(Ringer's dextrose)、葡萄糖和氯化钠、乳酸林格氏液或不挥发性油。静脉内载体包括各种添加剂、防腐剂或流体、营养物质或电解质补充剂等。对于吸入来说,可以把可溶性组合物装载到用于施用的合适的分配器(例如,喷雾器、雾化器或加压的气溶胶分配器)中。

[0380] 实施例

[0381] 实施例1-材料和方法

[0382] 细胞和病毒:将HeLa细胞(ATCC CCL-2)和Vero细胞(ATCC CRL-81)维持在生长培养基(伊格尔氏改良伊格尔培养基[EMEM],补充有体积百分比为10%的胎牛血清[FBS]、10mM HEPES、2mM L-谷氨酰胺和100U/ml青霉素,以及100μg/ml链霉素[P/S;Life Technologies])中。将A549细胞(ATCC CCL-185)维持在补充有如上所述的FBS、L-谷氨酰胺和P/S的达尔伯克氏改良伊格尔培养基/营养物质混合物F-12(DMEM-F12)中。所有细胞均保持在37℃的加湿温育箱(5%CO₂)中。使用的病毒株如下:亨德拉病毒(HeV)(Hendra virus/Australia/Horse/1994/Hendra);甲型流感病毒(A/chicken/Vietnam/008/2004H5N1);腮腺炎病毒;呼吸道合胞病毒(RSV);水疱性口炎病毒(VSV/Atlanta/Bull/1962);西尼罗河病毒(WNV NY99);(WNV/New York/Crow/1999)。

[0383] TCID₅₀分析:对于50%组织培养感染剂量(TCID₅₀)分析来说,在培养基中制备10倍稀释的组织培养上清液,然后在96孔组织培养物中添加Vero细胞(5×10⁴个细胞/孔)。将板在37℃和5%CO₂下温育3天(HeV,VSV)或6天(WNV,H5N1,MuV),然后对致细胞病变效应评分。通过Reed和Muench(1938年)的方法计算感染效价。

[0384] 产生C6orf106缺失突变体:使用C6orf106特异性引物(表2),利用Q5高保真DNA聚合酶(New England Biolabs;NEB)产生具有特定缺失的扩增子(参见图6)。在清洗和限制酶切消化(SacI和XhoI;NEB)之后,将产物连接到pCAGGs哺乳动物表达载体中,继而转化到化学感受态大肠杆菌(最高效率DH5感受态细胞;Life Technologies)中。使用QIAGEN EndoFree Plasmid Maxi试剂盒,按照制造商的说明扩增并提取质粒。

[0385] 表2-用于产生C6orf106缺失突变体的引物的列表

	引物名称	序列 (5'-3')	SEQ ID NO
	SacI-START-C6 正向	ATTGAGCTCGCCACCATGGAAGG AATG	14
	XhoI-C6-FLAG G 反向	TAGCTCGAGTCATCATTTGTCGTC GTCATC	15
[0386]	XhoI-C6(1-276)-FLAG 反向	TTCTCGAGTCACTTGTCATCGTCA TCCTTGTAATCTCCATGACTAGAG GGGCTC	16
	XhoI-C6(1-193)-FLAG 反向	TTCTCGAGTCACTTGTCATCGTCA TCCTTGTAATCTCCGCTGCTCAGC TGCTGG	17
	XhoI-C6(1-76)-FLAG 反向	TTCTCGAGTCACTTGTCATCGTCA TCCTTGTAATCTCCGCTCATTGAT GGCAC	18
[0387]	SacI-START-C6-UBA 正向	ATTGAGCTCGCCACCATGAGCTT TGTGGAAGAC	19

[0388] 转染:在Opti-MEM(Life Technologies)中使用0.5μL Dharm affect-1(GE Life Sciences),用50nM siRNA集合(GE Life Sciences;包含靶序列D-016330-02-ACACACAGCCGCAUCGUAA、D-016330-03-GAGUCAUACCUCGGGAUA、D-016330-04-GGGUGGACUUUUAGGAGUA、D-016330-17-CAGCAAUUGGCGCCUAUUA的siGENOME人C6orf106SMARTpool M-016330-01-0050)将He La细胞(7×10^4 个)反向转染过夜,之后移除培养基,用转染培养基(生长培养基减去抗生素)置换,并将细胞再温育24小时。对于DNA转染,将300ng DNA与1μL Lipofectamine 2000在Opti-MEM(Life Technologies)中一起温育,并用于反向转染HeLa细胞(1.4×10^5 个/孔)。转染后(h.p.t.)约6小时更换培养基,再温育18小时。在如上的转染培养基中用经转染的高分子量聚肌胞苷酸(Invivo gen)(5-10μg/mL,以及1.5μL Lipofectamine 2000)刺激细胞6小时。

[0389] RNA纯化、逆转录以及定量实时PCR(qRT-PCR):将细胞置于500μL Trizol(Life Technologies)或Trisure(Bioline)中裂解,然后根据制造商的方案提取RNA。在DNA酶处理(RQ1DNA酶,Promega)之后,使用Superscript III RT(Life Technologies)或Sensifast RT(Bioline)第一链cDNA合成方案,用oligo-d(T)和随机六聚体引物将500ng RNA逆转录为DNA。在StepOne Plus PCR循环仪(Applied Biosystems)上使用Sybr green(Applied Biosystems,Foster City,CA)执行qRT-PCR。用于基因检测的PCR循环为:在95℃下维持10分钟,接着是在95℃下维持15秒、然后在60℃下维持1分钟的45个循环。进行熔解曲线分析,以消除引物二聚体假象并验证该测定的特异性。使用 $\Delta\Delta C_t$ 方法分析细胞因子表达和病毒RNA转录数据,并相对于甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)将该数据归一化以用于基因检测。qRT-PCR分析中使用的引物在表3中示出。

[0390] 表3-在qRT-PCR分析中使用的引物的列表

[0391]

引物名称	序列 (5'-3')	SEQ ID NO
IFN- α 正向	CCGTGAGTTTCCCAGAAGAA	20
IFN- α 反向	ACTGCCCAAGATGAAGACCA	21
IFN- β 正向	AGTAGGCGACACTGTTCGCA	22
IFN- β 反向	AGCCTCCCATTCAATTGCCA	23
IL-6 正向	ACCCCCAGGAGAAGATTCCA	24
IL-6 反向	CACCAGGCAAGTCTCCTCATT	25
TNF- α 正向	CAACCTCCTCTCTGCCATCAAGA	26
TNF- α 反向	CTGGAAGACCCCTCCCAGATAGA	27
ISG15 正向	CAGCCATGGGCTGGGAC	28
ISG15 反向	TCCTCACCAGGATGCTCAGA	29
I κ B α 正向	GCAAAATCCTGACCTGGTGT	30
I κ B α 反向	GCTCGTCCTCTGTGAACTCC	31
huC6orf106 正向	TGGGTGATTCTCAGTGTGGAGG	32
huC6orf106 反向	TCTACCTTACGATGCGGCTGTG	33
GAPDH 正向	CTATAAATTGAGCCCGCAGCC	34
GAPDH 反向	ACCAAATCGGTTGACTCCGA	35

[0392] 双荧光素酶测定:用100ng eGFP/C6-FLAG过表达质粒连同100ng ISRE-荧光素酶或NF- κ B-荧光素酶(萤火虫)和50ng海肾荧光素酶构建体一起反向转染HeLa细胞。在转染后20小时,如上所述用聚肌胞苷酸刺激细胞6小时,然后置于被动裂解缓冲液(PLB;Promega)中裂解。接下来,使用双荧光素酶试剂盒(Promega),按照制造商的推荐测定连续裂解物的萤火虫荧光素酶和海肾荧光素酶活性。

[0393] 免疫沉淀和细胞分级分离:对于免疫沉淀,使用Pierce直接免疫沉淀试剂盒,按照制造商(Life Technologies)的说明将25 μ g抗体与50 μ g琼脂糖珠粒偶联。将细胞置于所提

供的与非特异性同种型琼脂糖对照一起预先澄清的NP-40裂解缓冲液中,在4℃下裂解1小时,然后与约1.5μg琼脂糖偶联抗体一起在4℃下温育过夜。洗涤树脂多次,然后使用非还原性样品缓冲液(含有重量体积百分比为2%的SDS),在100℃下洗脱10分钟。使用Pierce NE-PER细胞分级分离试剂盒(Life Technologies),根据制造商的说明由细胞制备胞质级分与核级分,并且在蛋白质印迹分析之前通过BCA测定法(Life Technologies)将总蛋白量化。

[0394] 蛋白质印迹法:将细胞在补充有蛋白酶/磷酸酶抑制剂混合物(Astral Scientific)的SDS裂解缓冲液(50mM Tris-HCl (pH 8.0)、2mM EDTA (pH 8.0)、150mM NaCl、重量体积百分比为0.5%的SDS和10%甘油)或LDS样品缓冲液(Life Technologies)中裂解。使蛋白质裂解物在LDS样品缓冲液(Life Technologies)中的梯度为4%至12%的NuPAGE聚丙烯酰胺凝胶上,在120V下分离,然后使用TransBlot系统(Bio-Rad)将其转移到硝酸纤维素膜上。用3%脱脂奶粉/TBS(+0.05%吐温-20)封闭之后,将这些膜与封闭溶液中的一抗一起在4℃下温育过夜。在封闭溶液中以1:5000稀释缀合HRP的二抗,然后与印迹一起在室温下温育3小时。用TBS-吐温洗涤并漂洗这些膜,在与ECL显影溶液(Bio-Rad)一起温育之后,置于Chemi-Doc(Bio-Rad)上检测。

[0395] 免疫荧光:将细胞在多聚甲醛的PBS溶液中(重量体积比为4%),在室温下固定20分钟,之后在室温下用体积百分比为0.1%的Triton X-100透化,接着在室温下用0.2M甘氨酸淬灭10分钟。把固定的细胞在1%牛血清白蛋白(BSA;Fraction V,Sigma-Aldrich)的PBS溶液中封闭30分钟,接着与封闭溶液中的一抗一起在室温下温育1小时,用0.2%BSA/PBS洗涤3次之后,在1%BSA/PBS中与缀合至Alexa Fluor 488或Alexa Fluor 568(Life Technologies)的二抗一起在室温下温育1小时。将细胞置于PBS中洗涤,再用核染料DAPI(0.5μg/mL)复染,然后放在Leica Sp5共聚焦显微镜上观察或放在CellInsight上分析。

[0396] IFN-βELISA:收集来自在转染后用聚肌胞苷酸刺激的HeLa细胞的细胞培养上清液,并且使用由Elisakit.com提供的夹心ELISA试剂盒,根据制造商的方案分析IFN-β分泌情况。使用多项式回归方法,通过与标准比较来计算IFN-β浓度。

[0397] 实施例2-C6orf106是病毒感染所必需的

[0398] 在研究亨得拉病毒(HeV)感染所必需的蛋白(宿主蛋白)的siRNA筛选中鉴定出了C6orf106。敲低C6orf106导致HeV和NiV感染性病毒的产量显著下降。为了验证对C6orf106的筛选结果,用靶向C6orf106(50nM)的siRNA将HeLa细胞转染48小时,然后用负链RNA病毒感染24小时,接下来,通过Vero细胞中的TCID₅₀测定病毒产量。从用SMARTpool siC6orf106 siRNA转染的HeLa细胞收集的细胞裂解物显示,与用siNEG(不靶向任何基因的阴性对照SMARTpool siRNA)转染的细胞相比,在mRNA和蛋白这两种水平上,C6orf106表达水平都下降了90%。如图1A和图1B所示,与阴性的非靶向对照(siNT1)相比,siC6敲低使HeLa细胞中的病毒产量下降了约1.5个log(约95%)。用副黏液病毒(腮腺炎病毒;MuV)、水泡性口炎病毒(VSV,弹状病毒科)、正黏液病毒(甲型流感病毒株H5N1)或正义RNA病毒(西尼罗河病毒株NY99;WNVNY99)感染细胞,重复这些实验。MuV、H5N1和WNVNY99感染也受到C6orf106敲低的影响。在感染后24小时收集的上清液中观察到HeV病毒(副黏液病毒科)、水泡性口炎病毒(VSV,弹状病毒科)和甲型流感(H5N1)病毒(正黏液病毒科)的病毒滴度均显著下降(图A和图B)。相比之下,siC6orf106对WNVNY99(黄病毒科(Flaviviridae))的滴度没有显著影响,这表明C6orf106促使负链RNA病毒引起感染。

[0399] 为了评估C6orf106敲低对细胞健康的影响,用SMARTpool siC6orf106或siNEG对照转染HeLa细胞,并在转染后72小时评估细胞数量。在转染后72小时进行沉默,在使用siC6orf106的情况下未观察到细胞数量存在显著的差异(图1C)。阿尔玛蓝测定法显示,与用siNEG处理的细胞相比,用siC6orf106 SMARTpool处理的细胞中的代谢活性无显著变化(图1D)。作为细胞死亡的阳性对照,用靶向polo样激酶1(PLK1,一种与诱导凋亡相关联的基因(Liu等人,2003年))的SMARTpool siRNA转染细胞。在用siPLK1转染的细胞中观察到细胞数目和细胞活力双双下降(图1D和图1E)。

[0400] 实施例3-C6orf106在所有脊椎动物物种中高度保守,具有两个推定的功能性结构域

[0401] C6orf106氨基酸序列来源于NCBI(登录号Q9H6K1.2),使用ClustalW软件将其与从Ensembl数据库(<http://www.ensembl.org/index.html>)中提取的同源物进行比对。如图2所示,C6orf106蛋白序列在所有脊椎动物物种中高度保守,其中50%的残基从人序列到海鞘(玻璃海鞘)序列相同。最高程度的保守性在两个推定的功能性结构域中很明显;这两个结构域为泛素相关样(UBA样)结构域和Nbr-1样或FW结构域,后者的特征在于四个色氨酸残基(参见图2)。泛素受体Nbr-1中的这后一个结构域已显示出能够促进与微管相关蛋白MAP1B的相互作用,以及自噬途径与微管网络之间的潜在联系(Marchbanks等人,2012年)。对ClustalW数据库的挖掘表明,C6orf106是迄今为止在人体中鉴定出的唯一一种以UBA样结构域和FW结构域为特征的蛋白质。

[0402] 实施例4-C6orf106敲低增强了细胞因子响应于聚肌胞苷酸的转录

[0403] 接下来评估C6orf106沉默对细胞因子转录的影响。使用合成的双链RNA类似物聚肌胞苷酸-聚胞苷酸(poly(I:C))模拟病毒RNA复制、对干扰素的诱导以及炎性细胞因子转录。如上所述用C6orf106siRNA处理HeLa细胞48小时,然后用转染的聚肌胞苷酸刺激6小时,接下来提取RNA,分析干扰素 α 和 β (IFN- α/β)以及促炎性细胞因子白细胞介素-6(IL-6)与肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的转录情况。

[0404] 图3A显示,在使用C6orf106特异性抗体的情况下,不但C6orf106在RNA水平上成功敲低(如通过qRT-PCR所评估,降低了约90%),而且蛋白质几乎检测不到。在用聚肌胞苷酸刺激的非靶向对照(siNT1/NT2)中,与未受刺激的细胞相比,IFN- α 、IFN- β 、IL-6和TNF- α 的转录全部增加。用细胞内聚肌胞苷酸处理过的HeLa细胞显示出IFN- α/β 、白细胞介素-6(IL-6)和TNF- α 全部大幅上调(图5A和图5B)。对IFN α/β 和TNF- α 的转录诱导在C6orf106敲低细胞中明显增强,但IL-6转录却没有发生可重现的改变(图3B)。这表明C6orf106充当了聚肌胞苷酸诱导的抗病毒信号传导的负调节剂。这一点进一步得到了观察结果的支持,即,在用聚肌胞苷酸刺激后,内源C6orf106 RNA的水平随时间推移而增加(图9A),正如负反馈环路所预测的那样。

[0405] 实施例5-C6orf106过表达抑制了干扰素 α/β 响应于聚肌胞苷酸的转录和分泌

[0406] 为了证实C6orf106作为聚肌胞苷酸诱导的IFN信号传导的负调节剂这一潜在角色,用C6orf106表达载体(pCAGGs-C6-FLAG;SEQ ID NO:40)以及非特异性GFP过表达对照转染HeLa细胞。在转染后18小时,用聚肌胞苷酸刺激细胞6小时,然后如上所述提取RNA并分析干扰素和炎性细胞因子。GFP或单独的载体(pCAGGs)并未削弱细胞因子响应于聚肌胞苷酸的转录(如图4A所示),但C6orf106过表达却导致IFN- α 、IFN- β 和TNF- α 的转录明显减少。对

IL-6转录物的诱导未受C6orf106影响。另外,在通过ELISA评估组织培养上清液中IFN- β 的分泌情况时,观察到过量表达C6orf106的细胞中IFN- β 浓度显著降低。鉴于IFN- β mRNA水平和蛋白水平的相对下降率相似,该现象归因于对于mRNA/蛋白表达减少,C6介导的影响所占的比重下降,这与分泌途径中的阻断相反。有趣的是,下游的IFN和/或TNF- α 信号传导并未受到C6orf106表达的显著影响(图9B),如分别通过ISG15或I κ B α 转录并没有响应于IFN- α 或TNF- α 处理而改变这一现象所显示。

[0407] 使用含有IRF3和/或NF- κ B结合位点的荧光素酶载体评估了C6orf106表达对各单独转录因子的活性的影响。响应于细胞内聚肌胞苷酸,与用GFP转染的细胞相比,C6orf106过表达导致ISRE荧光素酶活性降低了约75%(图5C)。还观察到NF- κ B荧光素酶适度减少。

[0408] 实施例6-C6orf106的UBA样结构域缺失增强了其转录抑制作用

[0409] 为了确定C6orf106的哪些推定的功能性结构域负责其对细胞因子转录的影响。通过缺失UBA样结构域(Δ UBA) SEQ ID NO:44、FW/Nbr-1样结构域(Δ FW) SEQ ID NO:49和无序区(Δ dis) SEQ ID NO:42产生表达质粒,如图6A所示。如图6B所示,在与全长C6orf106-FLAG相比时,缺失UBA样结构域或FW结构域导致响应于聚肌胞苷酸,IFN α/β 和TNF- α mRNA的水平明显更高。相比之下,移除无序区并没有恢复细胞因子的转录,并且在IFN α/β 的情况下,实际上还进一步降低了这些水平。尽管相较于C6orf106-FLAG和其他缺失突变体, Δ dis蛋白本身的总体水平较低,却观察到了这种现象(图11)。有趣的是, Δ dis蛋白的亚细胞定位最接近于全长C6orf106-FLAG(图11),并且与全长C6orf106相似,这种亚细胞定位没有削弱响应于聚肌胞苷酸的IRF3核易位。相比之下, Δ UBA蛋白和 Δ FW蛋白均显示出改变的亚细胞分布, Δ UBA保留在核中,而 Δ FW则更多地保留在胞质内。

[0410] 实施例7-C6orf106不会削弱转录因子响应于聚肌胞苷酸的核易位

[0411] IFN- α/β 转录主要受干扰素应答因子3(IRF3)以及核因子 κ -B(NF κ B)的控制,这两种因子均响应于TLR配体和RLR配体(诸如聚肌胞苷酸)而易位至细胞核。为了研究C6orf106抑制细胞因子转录的机制,在如上所述用聚肌胞苷酸刺激的HeLa细胞中表达C6orf106,然后固定细胞,并标记C6orf106-Flag、IRF3或p65(NF κ B)。在用聚肌胞苷酸刺激的表达C6orf106的细胞中,IRF3和p65的核定位均未受抑制(图7A、图7B和图8A)。然而,在用聚肌胞苷酸刺激后观察到C6orf106-Flag的核染色增加,表明C6orf106可能是在核水平上、而不是在上游信号传导事件上对转录施加其影响。与表达GFP的未受刺激的细胞相比,在表达C6orf106的未受刺激的细胞中,IRF3和p65的核染色也存在适度但明显的增加。

[0412] 在通过诸如聚肌胞苷酸之类的配体活化RLR/TLR之后,信号传导效应物的级联引起IRF3磷酸化、二聚化与核移位。为了评估C6orf106在识别病毒RNA样刺激时后否阻断了IRF3活化,分离了表达GFP和C6orf106的细胞的核级分与胞质级分,并探测磷酸化的IRF3(Ser396)。聚肌胞苷酸刺激增加了表达GFP的细胞和表达C6orf106的细胞这两者中磷酸化IRF3的水平(图8B)。此外,在表达GFP的细胞和表达C6orf106的细胞中观察到p65、磷酸-IRF3和总IRF3在核内的积聚量达到了相等的程度。C6orf106抑制转录因子活化与核易位下游的由IRF3/p65介导的转录。

[0413] 实施例8-C6orf106与IRF3结合,并且这种结合响应于聚肌胞苷酸而增强

[0414] 为了评估C6orf106是否结合IRF3,如上所述将C6orf106-flag与GFP-/+聚肌胞苷酸一起共表达,然后用固定的IRF3抗体直接进行免疫共沉淀。如图10A所示,C6orf106可以

在用IRF3免疫沉淀的裂解物中检测到,并且在有聚肌胞苷酸存在的情况下,C6orf106增加到四倍左右。另外,为了显示C6orf106与IRF3结合,单独用IRF3转染HEK293T细胞,或用IRF3结合C6orf106转染HEK293T细胞。将细胞裂解,再使其与抗IRF3抗体一起经受间接免疫沉淀。对于蛋白质印迹法,用抗FLAG抗体探测IP样品和输入对照。IgG同种型用作该免疫沉淀实验的阴性对照。结果如图10B所示,证实C6orf106与IRF3结合。

[0415] 本领域的技术人员将认识到,可以如特定实施方案中所示对本发明作出众多改变和/或修改,而不脱离如大体上描述的本发明的精神或范围。因此,本发明的实施方案被视为在所有方面都是说明性而非限制性的。

[0416] 本申请要求2015年12月4日提交的标题为“Regulation of cytokine production”的澳大利亚临时申请号2015905035的优先权,该临时申请的全部内容据此以引用方式在此并入。

[0417] 本文所讨论和/或参考的所有出版物都全文并入本文。

[0418] 对已经被包含在本说明书中的文档、法案、材料、装置、物品等的任何讨论都仅仅是为了提供本发明的背景。而不应由于它在本申请的每项权利要求的优先权日之前已经存在,就将其视作承认这些主题中的任一个或全部构成现有技术基础的一部分、或者是本发明相关领域中的公知常识。

[0419] 参考文献

- [0420] Bird et al. (1988) Science 242:423-426.
- [0421] Ball and Alewood (1990) J. Mol. Recognition 3:55.
- [0422] Bohm and Stahl (1999) M. Med. Chem. Res. 9:445.
- [0423] Cadwell and Joyce (1992) PCR Methods Appl. 2:28-33.
- [0424] Cerqueira et al. (2015) Arch Biochem Biophys 582:56-67.
- [0425] Coco et al. (2001) Nature Biotechnology 19:354-359.
- [0426] Coco et al. (2002) Nature Biotechnology 20:1246-1250.
- [0427] Constantini et al. (2008) Cancer Biotherm Radiopharm. 23:3-24.
- [0428] Cramer et al. (1998) Nature 391:288-291.
- [0429] Daya et al. (2008) Clin. Microbiol Rev. 21 (4):583-593.
- [0430] De Esch et al. (2001) J. Med. Chem. 44:1666-1674.
- [0431] De Coupade et al. (2005) Biochem J. 390:407-418.
- [0432] Deshayes et al. (2008) Adv. Drug Deliv. Rev. 60:537-547.
- [0433] Eggert et al. (2005) Chemobiochem. 6:1062-1067.
- [0434] Ewing et al. (2001) J. Comput. Aid. Mol. Design 15:411.
- [0435] Farmer, in Drug Design, E. J. Ariens, ed., Academic Press, New York, 1980, v. 10, pp. 119-143.
- [0436] Freidinger (1989) Trends Pharmacol. Sci. 10:270.
- [0437] Gane and Dean (2000) Curr. Opin. Struct. Biol. 10:401.
- [0438] Good (2001) Current Opinion in Drug Disc. Devel. 5, 301.
- [0439] Goodford (1984) J. Med. Chem. 27:557.
- [0440] Goodford (1985) J. Med. Chem. 28:849.

- [0441] Harayama (1998) Trends Biotechnol.16:76-82.
- [0442] Harmsen and De Haard (2007) Appl.Microbiol.Biotechnol.77:13-22.
- [0443] Hirschman et al. (1993) J.Am.Chem.Soc.115:12550-12568.
- [0444] Hol (1986) Angew.Chem.25:767.
- [0445] Howl et al. (2007) Biochem.Soc.Trans.35:767-769.
- [0446] Huston et al. (1988) Proc Natl Acad Sci.USA.85:5879-5883.
- [0447] Jiang et al. (2015) Tumour Biol.36:7881-7889.
- [0448] Kabadi et al. (2015) Nucleic acid Res.42:e147.
- [0449] Koppelhus et al. (2008) Bioconj.Chem.19:1526-1534.
- [0450] Kuenemann et al. (2015) Prog.Biophys.Mol.Biol 119:20-32.
- [0451] Kontz et al. (1982) J.Mol.Biol.161:269.
- [0452] Langer and Hoffmann (2001) Current Pharmaceutical Design 7:509.
- [0453] Leung et al. (1989) Technique 1:11-15.
- [0454] Liu et al. (2003) (PIk) Proc Natl Acad Sci,100 (10) :5789-94.
- [0455] Makarova et al. (2015) Nature Reviews Microbiology 13:1-15.
- [0456] Marchbanks et al. (2012) Int J Biol 2012:2080 14.doi:10.1155/2012/208014.Epub 2012 May 10.
- [0457] Meyer-Losic et al. (2006) J.Med Chem.49:6908-6916.
- [0458] Mills et al. (2001) J Comp.Aided Mol Des 15:81-96.
- [0459] Mills et al. (1997) J Comp.Aided Mol Des 11:175-192.
- [0460] Morgan and Gainor (1989) Ann.Rep.Med.Chem.24:243.
- [0461] Morrison et al. (1984) Proc.Natl.Acad.Sci.USA 81:6851-6855.
- [0462] Mungall et al. (2003) Nature 425:805-811.
- [0463] Munson (ed.) ,Principles of Pharmacology,1995,Chapman&Hall,Chapter 12.
- [0464] Muyldermans (2001) J.Biotechnol.74:277-302.
- [0465] Needleman and Wunsch (1970) J.Mol.Biol.48:443-453.
- [0466] Ness et al. (2002) Nature Biotechnology 20:1251-1255.
- [0467] Ostermeier et al. (1999) Nat Biotechnol.17:1205-1209.
- [0468] Perkin et al. (1995) J Comp.Aided.Mol.Des.9:479-490.
- [0469] Pietersz et al. (2006) Current Medicinal Chemistry 13:1591.
- [0470] Prasher et al. (1985) Biochem.Biophys.Res.Communi.127:31-36.
- [0471] Rarey et al. (1996) J.Mol.Biol.261:470.
- [0472] Reed and Muench (1938) The American Journal of Hygiene 27:493-497.
- [0473] Sawyer (1995) "Peptidomimetic design and chemical approaches to peptide metabolism",in MD Taylor and GL Amidon,eds.,in Peptide • Based Drug Design: Controlling Transport and Metabolism,Ch.17.
- [0474] Sheridan and Venkataraghavan (1987) Acc.Chem Res.20:322.
- [0475] Sieber et al. (2001) Nature Biotechnology 19:456-460.
- [0476] Smith et al. (1994) J.Am.Chem.Soc.116:9947-9962.

- [0477] Smith et al. (1995) J. Am. Chem. Soc. 117:11113-11123.
- [0478] Stemmer (1994a) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:10747-10751.
- [0479] Stemmer (1994b) Nature 370 (6488) :389-391.
- [0480] Sutcliffe et al. (1983) Science 219:660.
- [0481] Thillet et al (1988) Journal of Biological Chemistry 263:12500-12508.
- [0482] Tibary et al. (2007) Soc. Reprod. Fertil. Suppl. 64:297-313.
- [0483] Visintin et al. (2008) J. Biotechnol. 135:1-15.
- [0484] Verlindé and Hol (1984) Structure 2:577.
- [0485] Volkov et al. (1999) Nucleic Acids Research 27:e18i-vi.
- [0486] Walters, "Computer-Assisted Modeling of Drugs", in Klegerman & Groves (eds.), Pharmaceutical Biotechnology, 1993, Interpharm Press: Buffalo Grove, Ill., pp. 165-174.
- [0487] Walters et al. (1998) Drug Discovery Today 3:160.
- [0488] Westermaier et al. (2015) Methods 71:440-57.
- [0489] Zetsche et al. (2015) Cell 163:1-3.
- [0490] Zhang et al. (2011) Nature Biotechnology 29:149-153.
- [0491] Zhang et al. (2015) J. Chem. Inf. Model 54:324-37.
- [0492] Zhang et al. (2015) Tumour Biol. 36:5979-5985.
- [0493] Zhao et al. (1998) Nature Biotechnology 16:258-261.

序列表

<110> 联邦科学与工业研究组织

<120> 调节细胞因子产生

<130> 524208

<150> AU2015905035

<151> 2015-12-04

<160> 62

<170> PatentIn版本3.5

<210> 1

<211> 298

<212> PRT

<213> 智人

<400> 1

```

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

```

195	200	205
Asn Phe Asn Pro Phe Ala Ser Pro Gln Lys Asn Arg Gln Ser Asp Glu		
210	215	220
Asn Asn Leu Lys Asp Pro Gly Gly Ser Glu Phe Asp Ser Ile Ser Lys		
225	230	235
Asn Thr Trp Ala Pro Ala Pro Asp Thr Trp Ala Pro Ala Pro Asp Gln		
245	250	255
Thr Glu Gln Asp Gln Asn Arg Leu Ser Gln Asn Ser Val Asn Leu Ser		
260	265	270
Pro Ser Ser His Ala Asn Asn Leu Ser Val Val Thr Tyr Ser Lys Gly		
275	280	285
Leu His Gly Pro Tyr Pro Phe Gly Gln Ser		
290	295	
<210> 2		
<211> 298		
<212> PRT		
<213> 西部大猩猩		
<400> 2		
Met Glu Gly Met Asp Val Asp Leu Asp Pro Glu Leu Met Gln Lys Phe		
1	5	10
Ser Cys Leu Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Ser Glu Phe Gln		
20	25	30
Arg Leu Leu Gly Phe Gln Leu Asn Pro Ala Gly Cys Ala Phe Phe Leu		
35	40	45
Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu Gln Ala Ala Ile Gly Ala Tyr Tyr Asp		
50	55	60
Phe Glu Ser Pro Asn Ile Ser Val Pro Ser Met Ser Phe Val Glu Asp		
65	70	75
Val Thr Ile Gly Glu Gly Glu Ser Ile Pro Pro Asp Thr Gln Phe Val		
85	90	95
Lys Thr Trp Arg Ile Gln Asn Ser Gly Ala Glu Ala Trp Pro Pro Gly		
100	105	110
Val Cys Leu Lys Tyr Val Gly Gly Asp Gln Phe Gly His Val Asn Met		
115	120	125
Val Met Val Arg Ser Leu Glu Pro Gln Glu Ile Ala Asp Val Ser Val		
130	135	140
Gln Met Cys Ser Pro Ser Arg Ala Gly Met Tyr Gln Gly Gln Trp Arg		
145	150	155
Met Cys Thr Ala Thr Gly Leu Tyr Tyr Gly Asp Val Ile Trp Val Ile		

165							170							175							
Leu	Ser	Val	Glu	Val	Gly	Gly	Leu	Leu	Gly	Val	Thr	Gln	Gln	Leu	Ser						
180							185							190							
Ser	Phe	Glu	Thr	Glu	Phe	Asn	Thr	Gln	Pro	His	Arg	Lys	Val	Glu	Gly						
195							200							205							
Asn	Phe	Asn	Pro	Phe	Ala	Ser	Pro	Gln	Lys	Asn	Arg	Gln	Ser	Asp	Glu						
210							215							220							
Asn	Asn	Leu	Lys	Asp	Pro	Gly	Gly	Ser	Glu	Phe	Asp	Ser	Ile	Ser	Lys						
225							230							235				240			
Asn	Thr	Trp	Ala	Pro	Ala	Pro	Asp	Thr	Trp	Ala	Pro	Ala	Pro	Asp	Gln						
245							250							255							
Thr	Glu	Gln	Asp	Gln	Asn	Arg	Leu	Ser	Gln	Asn	Ser	Val	Asn	Leu	Ser						
260							265							270							
Pro	Ser	Ser	His	Ala	Asn	Asn	Leu	Ser	Val	Val	Thr	Tyr	Ser	Lys	Gly						
275							280							285							
Leu	His	Gly	Pro	Tyr	Pro	Phe	Gly	Gln	Ser												
290							295														

 $\langle 210 \rangle$ 3

<211> 298

<212> PRT

〈213〉 绿猴

 $\langle 400 \rangle$ 3

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

130	135	140
Gln Met Cys Ser Pro Ser Arg Ala Gly Met Tyr Gln Gly Gln Trp Arg		
145	150	155
Met Cys Thr Ala Thr Gly Leu Tyr Tyr Gly Asp Val Ile Trp Val Ile		
165	170	175
Leu Ser Val Glu Val Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln Leu Ser		
180	185	190
Ser Phe Glu Thr Glu Phe Asn Thr Gln Pro His Arg Lys Val Glu Gly		
195	200	205
Asn Phe Asn Pro Phe Ala Ser Pro Gln Lys Asn Arg Gln Ser Asp Glu		
210	215	220
Asn Asn Leu Lys Asp Pro Gly Gly Ser Glu Phe Asp Ser Ile Ser Lys		
225	230	235
Asn Thr Trp Ala Pro Ala Pro Asp Thr Trp Ala Pro Ala Pro Asp Gln		
245	250	255
Thr Glu Gln Asp Gln Asn Arg Leu Ser Gln Asn Ser Val Asn Leu Ser		
260	265	270
Pro Ser Ser His Ala Asn Asn Leu Ser Val Val Thr Tyr Ser Lys Gly		
275	280	285
Leu His Gly Pro Tyr Pro Phe Gly Gln Ser		
290	295	
<210> 4		
<211> 291		
<212> PRT		
<213> 小家鼠		
<400> 4		
Met Glu Gly Met Asp Val Asp Leu Asp Pro Glu Leu Met Gln Lys Phe		
1	5	10
Ser Cys Leu Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Ser Glu Phe Gln		
20	25	30
Arg Leu Leu Gly Phe Gln Leu Asn Pro Ala Gly Cys Ala Phe Phe Leu		
35	40	45
Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu Gln Ala Ala Ile Gly Ala Tyr Tyr Asp		
50	55	60
Phe Glu Ser Pro Asn Ile Ser Val Pro Ser Met Ser Phe Val Glu Asp		
65	70	75
Val Thr Ile Gly Glu Gly Glu Ser Ile Pro Pro Asp Thr Gln Phe Ile		
85	90	95
Lys Thr Trp Arg Ile Gln Asn Ser Gly Ala Glu Ala Trp Pro Pro Gly		

100	105	110
Val Cys Leu Lys Tyr Val Gly Gly Asp Gln Phe Gly His Val Asn Met		
115	120	125
Val Met Val Arg Ser Leu Glu Pro Gln Glu Ile Ala Asp Val Ser Val		
130	135	140
Gln Met Cys Ser Pro Ser Arg Ala Gly Met Tyr Gln Gly Gln Trp Arg		
145	150	155
Met Cys Thr Ala Thr Gly Leu Tyr Tyr Gly Asp Val Ile Trp Val Ile		
165	170	175
Leu Ser Val Glu Val Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln Leu Ser		
180	185	190
Ser Phe Glu Thr Glu Phe Asn Thr Gln Pro His Arg Lys Val Glu Gly		
195	200	205
Asn Phe Asn Pro Phe Ala Ser Pro Gln Lys Asn Arg Gln Ser Asp Glu		
210	215	220
Asn Asn Leu Thr Asp Pro Gly Gly Ser Glu Phe Asp Ser Ile Ser Lys		
225	230	235
Asn Thr Trp Ala Pro Val Pro Glu Gln Ser Glu Gln Asp Gln Asp Arg		
245	250	255
Leu Ser Gln Ser Ser Val Asn Leu Ser Pro Ser Ser Pro Ala Asn Asn		
260	265	270
Leu Ser Val Val Thr Tyr Ser Lys Gly Leu His Gly Pro Tyr Pro Phe		
275	280	285
Gly Gln Ser		
290		
<210> 5		
<211> 291		
<212> PRT		
<213> 小棕蝠		
<400> 5		
Met Glu Gly Met Asp Val Asp Leu Asp Pro Glu Leu Met Gln Lys Phe		
1	5	10
Ser Cys Leu Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Ser Glu Phe Gln		
20	25	30
Arg Leu Leu Gly Phe Gln Leu Asn Pro Ala Gly Cys Ala Phe Phe Leu		
35	40	45
Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu Gln Ala Ala Ile Gly Ala Tyr Tyr Asp		
50	55	60
Phe Glu Ser Pro Asn Ile Ser Met Pro Ser Met Ser Phe Val Glu Asp		

65	70	75	80
Val Thr Ile Gly Glu Gly Glu Ser Ile Pro Pro Asp Thr Gln Phe Ile			
	85	90	95
Lys Thr Trp Arg Ile Gln Asn Ser Gly Ala Glu Ala Trp Pro Pro Gly			
	100	105	110
Val Cys Leu Lys Tyr Val Gly Gly Asp Gln Phe Gly His Val Asn Met			
	115	120	125
Val Met Val Arg Ser Leu Glu Pro Gln Glu Val Ala Asp Val Ser Val			
	130	135	140
Gln Met Cys Ser Pro Ser Arg Ala Gly Met Tyr Gln Gly Gln Trp Arg			
145	150	155	160
Met Cys Thr Ala Thr Gly Leu Tyr Tyr Gly Asp Val Ile Trp Val Ile			
	165	170	175
Leu Ser Val Glu Val Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln Leu Ser			
	180	185	190
Ser Phe Glu Thr Glu Phe Asn Thr Gln Pro His Arg Lys Val Glu Gly			
	195	200	205
Asn Phe Asn Pro Phe Ala Ser Pro Gln Lys Asn Arg Gln Ser Asp Glu			
	210	215	220
Asn Asn Leu Lys Asp Pro Gly Gly Ser Glu Phe Asp Ser Ile Ser Lys			
225	230	235	240
Asn Thr Trp Ala Pro Ala Pro Asp Gln Thr Glu Gln Asp Glu Asn Arg			
	245	250	255
Leu Ser Gln Asn Ser Val Asn Leu Ser Pro Ser Ser His Ala Asn Asn			
	260	265	270
Leu Ser Val Val Thr Tyr Ser Lys Gln Gln His Lys Thr Tyr Pro Phe			
	275	280	285
Ser Pro Pro			
290			
<210> 6			
<211> 291			
<212> PRT			
<213> 家犬			
<400> 6			
Met Glu Gly Met Asp Val Asp Leu Asp Pro Glu Leu Met Gln Lys Phe			
1	5	10	15
Ser Cys Leu Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Ser Glu Phe Gln			
	20	25	30
Arg Leu Leu Gly Phe Gln Leu Asn Pro Ala Gly Cys Ala Phe Phe Leu			

35	40	45
Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu Gln Ala Ala Ile Gly Ala Tyr Tyr Asp		
50	55	60
Phe Glu Ser Pro Asn Ile Ser Val Pro Ser Met Ser Phe Val Glu Asp		
65	70	75
Val Thr Ile Gly Glu Gly Glu Ser Ile Pro Pro Asp Thr Gln Phe Ile		
85	90	95
Lys Thr Trp Arg Ile Gln Asn Ser Gly Ala Glu Ala Trp Pro Pro Gly		
100	105	110
Val Cys Leu Lys Tyr Val Gly Gly Asp Gln Phe Gly His Val Asn Met		
115	120	125
Val Met Val Arg Ser Leu Glu Pro Gln Glu Ile Ala Asp Val Ser Val		
130	135	140
Gln Met Cys Ser Pro Ser Arg Ala Gly Met Tyr Gln Gly Gln Trp Arg		
145	150	155
Met Cys Thr Ala Thr Gly Leu Tyr Tyr Gly Asp Val Ile Trp Val Ile		
165	170	175
Leu Ser Val Glu Val Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln Leu Ser		
180	185	190
Ser Phe Glu Thr Glu Phe Asn Thr Gln Pro His Arg Lys Val Glu Gly		
195	200	205
Asn Phe Asn Pro Phe Ala Ser Pro Gln Lys Asn Arg Gln Ser Asp Glu		
210	215	220
Asn Asn Leu Lys Asp Pro Gly Gly Ser Gly Phe Asp Ser Ile Ser Lys		
225	230	235
Asn Thr Trp Ala Pro Ala Pro Asp Gln Thr Glu Gln Asp Glu Asn Arg		
245	250	255
Leu Ser Gln Asn Ser Val Asn Leu Ser Pro Ser Ser His Ala Asn Asn		
260	265	270
Leu Ser Val Val Thr Tyr Ser Lys Gly Leu His Gly Pro Tyr Pro Phe		
275	280	285
Gly Gln Ser		
290		
<210> 7		
<211> 291		
<212> PRT		
<213> 原鸡		
<400> 7		
Met Glu Gly Met Asp Val Asp Leu Asp Ala Glu Leu Met Gln Lys Phe		

1	5	10	15
Ser Cys Leu Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Gly Glu Phe Gln			
20	25	30	
Arg Leu Leu Gly Phe Gln Leu Ser Pro Ala Gly Cys Ala Phe Phe Leu			
35	40	45	
Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu Gln Ala Ala Ile Gly Ala Tyr Tyr Asp			
50	55	60	
Phe Glu Ser Pro Asn Ile Asn Val Pro Ser Met Ser Phe Val Glu Asp			
65	70	75	80
Val Thr Ile Gly Glu Gly Glu Ser Ile Pro Pro Asp Thr Gln Phe Thr			
85	90	95	
Lys Thr Trp Arg Ile Gln Asn Thr Gly Thr Glu Val Trp Pro Pro Gly			
100	105	110	
Val Cys Leu Lys Tyr Val Gly Gly Asp Gln Phe Gly His Val Asn Met			
115	120	125	
Val Met Val Arg Ser Leu Glu Pro Gln Glu Ile Ala Asp Val Ser Val			
130	135	140	
Gln Met Cys Ser Pro Ser Thr Ala Gly Met Tyr Gln Gly Gln Trp Arg			
145	150	155	160
Met Cys Thr Ala Thr Gly Leu Tyr Tyr Gly Asp Val Ile Trp Val Ile			
165	170	175	
Leu Ser Val Glu Val Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln Leu Ser			
180	185	190	
Ser Phe Glu Thr Glu Phe Asn Thr Gln Pro His Arg Lys Val Glu Gly			
195	200	205	
Asn Phe Asn Pro Phe Ala Ser Pro Gln Lys Asn Arg Gln Pro Asp Glu			
210	215	220	
Asn Asn Leu Lys Asp Pro Gly Gly Ser Glu Leu Gly Thr Ile Ser Lys			
225	230	235	240
Asn Thr Trp Gly Pro Ala Pro Asp Gln Ile Glu Gln Asp Gln Asn Gly			
245	250	255	
Leu Ser Gln Asn Ser Val Asn Leu Ser Pro Ser Ser His Ser Asn Asn			
260	265	270	
Leu Ser Val Val Thr Tyr Ser Lys Gly Phe His Gly Pro Tyr Pro Phe			
275	280	285	
Gly Gln Ser			
290			
<210> 8			
<211> 291			

<212> PRT

<213> 绿安乐蜥

<400> 8

```

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

```

Gly Gln Ser

290

<210> 9

<211> 280

<212> PRT

<213> 热带爪蟾

<400> 9

Met Glu Gly Met Asp Val Asp Leu Asp Pro Glu Leu Met Gln Lys Phe

1 5 10 15

Ser Cys Leu Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Ser Glu Phe Gln

20 25 30

Arg Leu Leu Gly Phe Gln Leu Asn Pro Ala Gly Cys Ala Phe Phe Leu

35 40 45

Asp Met Thr Asn Cys Ser Tyr Asn Val Lys Ala Val Leu Phe Asn Leu

50 55 60

Tyr Pro Lys Gln Leu Thr Ala Val Leu Leu Pro Cys Ile Phe Ile Leu

65 70 75 80

Tyr Leu Ala Met His Met Leu Pro Ala Val Pro Pro Asp Leu Thr Ile

85 90 95

Thr Arg Thr Trp Ser Phe Thr Asn Ile Thr Gly Ser Glu Ala Trp Pro

100 105 110

Pro Gly Val Cys Leu Arg Tyr Val Gly Gly Asp Gln Phe Gly His Val

115 120 125

Asn Met Val Leu Val Arg Ser Leu Asp Ala Gln Glu Met Thr Asp Val

130 135 140

Ser Val Pro Met Cys Ser Pro Ser Gln Ala Gly Met Tyr Gln Gly Gln

145 150 155 160

Trp Arg Met Cys Thr Ala Thr Gly Leu Tyr Phe Gly Asp Val Ile Trp

165 170 175

Val Ile Leu Ser Val Glu Ala Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln

180 185 190

Leu Ser Ser Phe Glu Thr Glu Phe Asn Thr Gln Pro His Arg Asn Leu

195 200 205

Gly Gly Asn Tyr Asn Pro Phe Ala Ser Pro Gln Lys Ser Arg Ser Pro

210 215 220

Asp Leu Glu Asp Met Gly Thr Trp Gly Pro Gln Thr Glu Pro Ser Glu

225 230 235 240

Asn Glu Glu Asn Gly Leu Ser Gln Thr Ser Val Asn Ile Cys Ala Pro

245 250 255

Asp His Pro Ala Asn Cys Ser Val Ala Thr Tyr Arg Glu Ser Val His
 260 265 270
 Gly Ser Tyr Pro Phe Gly Glu Ser
 275 280
 <210> 10
 <211> 285
 <212> PRT
 <213> 斑马鱼
 <400> 10
 Met Leu Met Glu Gly Met Asp Ile Asp Leu Asp Gln Glu Leu Met Gln
 1 5 10 15
 Lys Phe Ser Cys Met Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Ser Glu
 20 25 30
 Phe Gln Arg Leu Leu Gly Phe Gln Leu Asn Pro Ala Gly Cys Ala Phe
 35 40 45
 Phe Leu Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu Gln Ala Ala Ile Gly Ala Tyr
 50 55 60
 Tyr Asp Phe Glu Ser Pro Asn Ile Asn Thr Pro Ser Met Ser Phe Val
 65 70 75 80
 Glu Asp Val Thr Ile Gly Glu Gly Glu Ser Val Pro Pro Asp Thr Pro
 85 90 95
 Phe Thr Lys Thr Trp Arg Ile Gln Asn Thr Gly Thr Glu Ser Trp Pro
 100 105 110
 Pro Gly Val Cys Leu Lys Tyr Val Gly Gly Asp Gln Phe Gly His Val
 115 120 125
 Asn Met Val Met Val Arg Ser Leu Asp Pro Gln Glu Ile Ser Asp Val
 130 135 140
 Ser Val Gln Met Arg Ser Pro Ala Val Pro Gly Met Tyr Gln Gly Gln
 145 150 155 160
 Trp Arg Met Cys Thr Ala Thr Gly Leu Phe Tyr Gly Asp Val Ile Trp
 165 170 175
 Val Ile Leu Ser Val Glu Glu Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln
 180 185 190
 Leu Ser Ser Phe Lys Thr Glu Phe Asn Thr Gln Pro His Arg Ser Leu
 195 200 205
 Glu Gly Asp Tyr Asn Pro Phe Ala Ser Pro Gln Lys Asn Lys Gln Asp
 210 215 220
 Thr Asn Glu Asp His Leu Lys Asp Pro Gly Gly Pro Trp Glu Ala Pro
 225 230 235 240

Leu Asp Ser Ile Gln Gln Asp Gln Asn Gly Leu Asn His Ser Ser Val			
	245	250	255
Asn Ile Thr Pro Asn Gly Leu Gln Asn Asn Leu Ser Val Val Thr Tyr			
	260	265	270
Ser Gln Gly Ile Asn Gly Pro Phe Pro Phe Gly Gln Ser			
	275	280	285
<210> 11			
<211> 241			
<212> PRT			
<213> 玻璃海鞘			
<400> 11			
Met Glu Glu Thr Glu Gly Val Met Asp Val Asp Gln Cys Leu Val Gly			
1	5	10	15
Lys Phe Ser Ser Met Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Asp Glu			
	20	25	30
Phe Arg Lys Leu Leu Gly Phe Gln Leu Asn Ala Ala Gly Cys Glu Phe			
	35	40	45
Phe Leu Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu His Ala Ala Ile Gly Ala Tyr			
	50	55	60
Tyr Asp Phe Glu Met Pro Ser Ser Lys Ile Pro Ser Met Ser Phe Val			
65	70	75	80
Ser Asp Ile Thr Ile Gly Glu Gly Glu Ala Ile Pro Pro Gly Thr Asp			
	85	90	95
Phe Ile Lys Thr Trp Arg Phe Gln Asn Ser Gly Val Glu Lys Trp Pro			
	100	105	110
Leu Gly Cys Thr Leu Arg Phe Val Asn Gly Glu Arg Met Ser Ser Pro			
	115	120	125
Glu Trp Ile Ser Val Gly Glu Val Gln Pro His Glu Thr Val Asp Val			
	130	135	140
Ser Val Lys Met Arg Ser Pro Ile Asn Ala Gly Leu Tyr Gln Gly Gln			
145	150	155	160
Trp Arg Met Phe Thr Arg Gly Met Ala Pro Phe Gly Asp Ile Ile Trp			
	165	170	175
Val Ile Ile Ser Val Glu Val Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln			
	180	185	190
Met Ser Gln Phe Ser Thr Gly Thr Asn Asn Gln His Gln Leu Asn Thr			
	195	200	205
Thr Gln Asn Asn Pro Phe Ala Val Asp Gly Leu Gly Ala Asn Met Asp			
	210	215	220

Val Asn Val Ser Phe Gly Ser Asn Asn Gly Gly Gln Thr Phe Asp Glu
225 230 235 240

Val

<210> 12

<211> 41

<212> PRT

<213> 智人

<400> 12

Asp Lys Asp Val Leu Ile Ser Glu Phe Gln Arg Leu Leu Gly Phe Gln
1 5 10 15

Leu Asn Pro Ala Gly Cys Ala Phe Phe Leu Asp Met Thr Asn Trp Asn
20 25 30

Leu Gln Ala Ala Ile Gly Ala Tyr Tyr
35 40

<210> 13

<211> 43

<212> PRT

<213> 智人

<220>

<221> X

<222> (7) .. (7)

<223> S或G或D

<220>

<221> X

<222> (10) .. (10)

<223> Q或R

<220>

<221> X

<222> (11) .. (11)

<223> R或K

<220>

<221> X

<222> (18) .. (18)

<223> N或S

<220>

<221> X

<222> (19) .. (19)

<223> P或A

<220>

<221> X
<222> (23) .. (23)
<223> A或E
<220>
<221> X
<222> (31) .. (31)
<223> C或无
<220>
<221> X
<222> (32) .. (32)
<223> S或无
<220>
<221> X
<222> (33) .. (33)
<223> W或Y
<220>
<221> X
<222> (35) .. (35)
<223> L或V
<220>
<221> X
<222> (36) .. (36)
<223> Q或K或H
<220>
<221> X
<222> (38) .. (38)
<223> A或V
<220>
<221> X
<222> (39) .. (39)
<223> I或L
<220>
<221> X
<222> (40) .. (40)
<223> G或F
<220>
<221> X
<222> (41) .. (41)
<223> A或N

<220>

<221> X

<222> (42) .. (42)

<223> Y或L

<400> 13

Asp Lys Asp Val Leu Ile Xaa Glu Phe Xaa Xaa Leu Leu Gly Phe Gln

1 5 10 15

Leu Xaa Xaa Ala Gly Cys Xaa Phe Phe Leu Asp Met Thr Asn Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Asn Xaa Xaa Ala Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Tyr

35 40

<210> 14

<211> 27

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 14

attgagctcg ccaccatgga aggaatg 27

<210> 15

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 15

tagctcgagt catcatttgt cgtcgtcatc 30

<210> 16

<211> 54

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 引物

<400> 16

ttctcgagtc acttgtcatc gtcattccttg taatctccat gactagaggg gctc 54

<210> 17

<211> 54

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>
<223> 引物
<400> 17
ttctcgagtc acttgatc gtcaccttg taatctccgc tgctcagctg ctgg 54
<210> 18
<211> 53
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 18
ttctcgagtc acttgatc gtcaccttg taatctccgc tcattgatgg cac 53
<210> 19
<211> 33
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 19
attgagctcg ccacatgag ctttgtggaa gac 33
<210> 20
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 20
ccgtgagttt ccagaagaa 20
<210> 21
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 21
actgcccaag atgaagacca 20
<210> 22
<211> 20
<212> DNA

<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 22
agtaggcgac actgttcgca 20
<210> 23
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 23
agcctcccat tcaattgcca 20
<210> 24
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 24
acccccagga gaagattcca 20
<210> 25
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 25
caccaggcaa gtctcctcat t 21
<210> 26
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 26
caacctcctc tctgcatca aga 23
<210> 27
<211> 23

<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 27
ctggaagacc cctcccagat aga 23
<210> 28
<211> 17
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 28
cagccatggg ctgggac 17
<210> 29
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 29
tcttcaccag gatgctcaga 20
<210> 30
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 30
gcaaaatcct gacctggtgt 20
<210> 31
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 31
gctcgtcctc tgtgaactcc 20
<210> 32

<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 32
tgggtgattc tcagtgtgga gg 22
<210> 33
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 33
tctaccttac gatgcggctg tg 22
<210> 34
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 34
ctataaattg agcccgagc c 21
<210> 35
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列
<220>
<223> 引物
<400> 35
accaaategg ttgactccga 20
<210> 36
<211> 19
<212> RNA
<213> 人工序列
<220>
<223> siRNA
<400> 36
acacacagcc gcaucguua 19

<210> 37

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> siRNA

<400> 37

gagucaauac cuccggaua 19

<210> 38

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> siRNA

<400> 38

ggguggacuu uuaggagua 19

<210> 39

<211> 19

<212> RNA

<213> 人工序列

<220>

<223> siRNA

<400> 39

cagcaauugg cgccuauua 19

<210> 40

<211> 307

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> C6orf106-FLAG蛋白序列

<400> 40

Met Glu Gly Met Asp Val Asp Leu Asp Pro Glu Leu Met Gln Lys Phe

1 5 10 15

Ser Cys Leu Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Ser Glu Phe Gln

20 25 30

Arg Leu Leu Gly Phe Gln Leu Asn Pro Ala Gly Cys Ala Phe Phe Leu

35 40 45

Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu Gln Ala Ala Ile Gly Ala Tyr Tyr Asp

50 55 60

Phe	Glu	Ser	Pro	Asn	Ile	Ser	Val	Pro	Ser	Met	Ser	Phe	Val	Glu	Asp
65					70					75					80
Val	Thr	Ile	Gly	Glu	Gly	Glu	Ser	Ile	Pro	Pro	Asp	Thr	Gln	Phe	Val
			85						90					95	
Lys	Thr	Trp	Arg	Ile	Gln	Asn	Ser	Gly	Ala	Glu	Ala	Trp	Pro	Pro	Gly
			100						105				110		
Val	Cys	Leu	Lys	Tyr	Val	Gly	Gly	Asp	Gln	Phe	Gly	His	Val	Asn	Met
			115						120				125		
Val	Met	Val	Arg	Ser	Leu	Glu	Pro	Gln	Glu	Ile	Ala	Asp	Val	Ser	Val
			130						135				140		
Gln	Met	Cys	Ser	Pro	Ser	Arg	Ala	Gly	Met	Tyr	Gln	Gly	Gln	Trp	Arg
145						150					155				160
Met	Cys	Thr	Ala	Thr	Gly	Leu	Tyr	Tyr	Gly	Asp	Val	Ile	Trp	Val	Ile
					165					170				175	
Leu	Ser	Val	Glu	Val	Gly	Gly	Leu	Leu	Gly	Val	Thr	Gln	Gln	Leu	Ser
			180						185					190	
Ser	Phe	Glu	Thr	Glu	Phe	Asn	Thr	Gln	Pro	His	Arg	Lys	Val	Glu	Gly
			195						200					205	
Asn	Phe	Asn	Pro	Phe	Ala	Ser	Pro	Gln	Lys	Asn	Arg	Gln	Ser	Asp	Glu
			210						215					220	
Asn	Asn	Leu	Lys	Asp	Pro	Gly	Gly	Ser	Glu	Phe	Asp	Ser	Ile	Ser	Lys
225						230					235				240
Asn	Thr	Trp	Ala	Pro	Ala	Pro	Asp	Thr	Trp	Ala	Pro	Ala	Pro	Asp	Gln
					245					250				255	
Thr	Glu	Gln	Asp	Gln	Asn	Arg	Leu	Ser	Gln	Asn	Ser	Val	Asn	Leu	Ser
			260						265					270	
Pro	Ser	Ser	His	Ala	Asn	Asn	Leu	Ser	Val	Val	Thr	Tyr	Ser	Lys	Gly
			275						280					285	
Leu	His	Gly	Pro	Tyr	Pro	Phe	Gly	Gln	Ser	Gly	Asp	Tyr	Lys	Asp	Asp
			290						295					300	
Asp	Asp	Lys													
305															
<210>	41														
<211>	285														
<212>	PRT														
<213>	人工序列														
<220>															
<223>	C6orf106 (1-276)-FLAG蛋白序列														
<400>	41														

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

<210> 42

<211> 202

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> C6orf106 (1-193)-FLAG蛋白序列/C6orf106 (Δ dis)-FLAG

蛋白序列

<400> 42

```

Met Glu Gly Met Asp Val Asp Leu Asp Pro Glu Leu Met Gln Lys Phe
1           5           10           15
Ser Cys Leu Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Ser Glu Phe Gln
          20           25           30
Arg Leu Leu Gly Phe Gln Leu Asn Pro Ala Gly Cys Ala Phe Phe Leu
          35           40           45
Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu Gln Ala Ala Ile Gly Ala Tyr Tyr Asp
          50           55           60
Phe Glu Ser Pro Asn Ile Ser Val Pro Ser Met Ser Phe Val Glu Asp
65           70           75           80
Val Thr Ile Gly Glu Gly Glu Ser Ile Pro Pro Asp Thr Gln Phe Val
          85           90           95
Lys Thr Trp Arg Ile Gln Asn Ser Gly Ala Glu Ala Trp Pro Pro Gly
          100          105          110
Val Cys Leu Lys Tyr Val Gly Gly Asp Gln Phe Gly His Val Asn Met
          115          120          125
Val Met Val Arg Ser Leu Glu Pro Gln Glu Ile Ala Asp Val Ser Val
          130          135          140
Gln Met Cys Ser Pro Ser Arg Ala Gly Met Tyr Gln Gly Gln Trp Arg
145          150          155          160
Met Cys Thr Ala Thr Gly Leu Tyr Tyr Gly Asp Val Ile Trp Val Ile
          165          170          175
Leu Ser Val Glu Val Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln Leu Ser
          180          185          190
Ser Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
          195          200

```

<210> 43

<211> 85

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> C6orf106 (1-76)-FLAG蛋白序列

<400> 43

```

Met Glu Gly Met Asp Val Asp Leu Asp Pro Glu Leu Met Gln Lys Phe

```

1	5	10	15
Ser Cys Leu Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Ser Glu Phe Gln			
20	25	30	
Arg Leu Leu Gly Phe Gln Leu Asn Pro Ala Gly Cys Ala Phe Phe Leu			
35	40	45	
Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu Gln Ala Ala Ile Gly Ala Tyr Tyr Asp			
50	55	60	
Phe Glu Ser Pro Asn Ile Ser Val Pro Ser Met Ser Gly Asp Tyr Lys			
65	70	75	80
Asp Asp Asp Asp Lys			
85			

<210> 44

<211> 233

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> C6orf106 (dUBA)-FLAG蛋白序列

<400> 44

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

	165		170		175
Ala Pro Ala Pro Asp Gln Thr Glu Gln Asp Gln Asn Arg Leu Ser Gln					
	180		185		190
Asn Ser Val Asn Leu Ser Pro Ser Ser His Ala Asn Asn Leu Ser Val					
	195		200		205
Val Thr Tyr Ser Lys Gly Leu His Gly Pro Tyr Pro Phe Gly Gln Ser					
	210		215		220
Gly Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys					
225		230			
<210> 45					
<211> 240					
<212> PRT					
<213> 人工序列					
<220>					
<223> C6orf106 (dFW)-FLAG蛋白序列					
<400> 45					
Met Glu Gly Met Asp Val Asp Leu Asp Pro Glu Leu Met Gln Lys Phe					
1	5		10		15
Ser Cys Leu Gly Thr Thr Asp Lys Asp Val Leu Ile Ser Glu Phe Gln					
	20		25		30
Arg Leu Leu Gly Phe Gln Leu Asn Pro Ala Gly Cys Ala Phe Phe Leu					
	35		40		45
Asp Met Thr Asn Trp Asn Leu Gln Ala Ala Ile Gly Ala Tyr Tyr Asp					
	50		55		60
Phe Glu Ser Pro Asn Ile Ser Val Pro Ser Met Ser Phe Val Glu Asp					
65		70		75	80
Val Thr Ile Gly Glu Gly Glu Ser Ile Pro Pro Asp Thr Gln Phe Val					
	85		90		95
Lys Thr Trp Arg Ile Gln Asn Ser Asp Val Ile Trp Val Ile Leu Ser					
	100		105		110
Val Glu Val Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln Leu Ser Ser Phe					
	115		120		125
Glu Thr Glu Phe Asn Thr Gln Pro His Arg Lys Val Glu Gly Asn Phe					
	130		135		140
Asn Pro Phe Ala Ser Pro Gln Lys Asn Arg Gln Ser Asp Glu Asn Asn					
145		150		155	160
Leu Lys Asp Pro Gly Gly Ser Glu Phe Asp Ser Ile Ser Lys Asn Thr					
	165		170		175
Trp Ala Pro Ala Pro Asp Thr Trp Ala Pro Ala Pro Asp Gln Thr Glu					

180	185	190
Gln Asp Gln Asn Arg Leu Ser Gln Asn Ser Val Asn Leu Ser Pro Ser		
195	200	205
Ser His Ala Asn Asn Leu Ser Val Val Thr Tyr Ser Lys Gly Leu His		
210	215	220
Gly Pro Tyr Pro Phe Gly Gln Ser Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys		
225	230	235
240		
<210> 46		
<211> 897		
<212> DNA		
<213> 智人		
<400> 46		
atggagggca tggacgtaga cctggacccg gagctgatgc agaagttcag ctgcctgggc 60		
accaccgaca aggacgtgct catctccgag ttccagagge tgctcggett ccagctcaat 120		
cctgccgggt gcgccttctt cctggacatg accaactgga acctacaagc agcaattggc 180		
gcctattatg actttgagag cccaaacatc agtgtgccct ctatgtcctt tgttgaagat 240		
gtcaccatag gagaagggga gtcaatacct ccggatactc agtttgtaaa aacatggcgg 300		
atccagaatt ctggggcaga ggcctggcct ccaggggttt gtcttaaata tgtcggggga 360		
gaccaatttg gacatgtgaa catggtgatg gtgagatcgc tagagcccca agagattgca 420		
gatgtcagcg tccagatgtg cagccccagc agagcaggaa tgtatcaggg acagtggcgg 480		
atgtgcactg ctacaggact ctactatgga gatgtcatct ggggtgattct cagtgtggag 540		
gtgggtggac ttttaggagt aacgcagcag ctgtcatctt ttgaaacgga gttcaacaca 600		
cagccgcata gtaaggtaga aggaaacttc aacccttttg cctctcccca aaagaaccga 660		
caatcagatg aaaacaactt aaaagaccct gggggctccg agttcgactc gatcagcaaa 720		
aacacatggg ctcttgctcc tgacacatgg gctcctgctc ctgaccaaac tgagcaagac 780		
cagaatagac tgtcacagaa ctctgtaa atctgtctccca gcagtcacgc aaacaactta 840		
tcagtagtga cttacagtaa ggggctccat gggccttacc ccttcggcca gtcttaa 897		
<210> 47		
<211> 897		
<212> DNA		
<213> 西部大猩猩		
<400> 47		
atggagggca tggacgtaga cctggacccg gagctgatgc agaagttcag ctgcctgggc 60		
accaccgaca aggacgtgct catctccgag ttccagagge tgctcggett ccagctcaat 120		
cctgccgggt gcgccttctt cctggacatg accaactgga acctacaagc agcaattggc 180		
gcctattatg actttgagag cccaaacatc agtgtgccct ctatgtcctt tgttgaagat 240		
gtcaccatag gagaagggga gtcaatacct ccggatactc agtttgtaaa aacatggcgg 300		
atccagaatt ctggggcaga ggcctggcct ccaggggttt gtcttaaata tgtcggggga 360		
gaccaatttg gacatgtgaa catggtgatg gtgagatcgc tagagcccca agagattgca 420		

gatgtcagcg tccagatgtg cagccccagc agagcaggaa tgtatcaggg acagtggcgg 480
 atgtgcactg ctacaggact ctactatgga gatgtcatct ggggtgattct cagtgtggag 540
 gtgggtggac ttttaggagt aacgcagcag ctgtcatctt ttgaaacgga gttcaacaca 600
 cagccgcatac gtaaggtaga aggaaacttc aacccttttg cctctcccca aaagaaccga 660
 caatcagatg aaaacaactt aaaagaccct gggggctccg agttcgactc gatcagcaaa 720
 aacacatggg ctctgtctcc tgacacatgg gctcctgctc ctgaccaaac tgagcaagac 780
 cagaatagac tgtcacagaa ctctgtaaat ctgtctccca gcagtcacgc aaacaactta 840
 tcagtagtga cttacagtaa ggggctccat gggccttacc ccttcggcca gtcttaa 897

<210> 48

<211> 915

<212> DNA

<213> 绿猴

<400> 48

atggagggca tggacgtgga cctggacccg gagctgatgc agaagttcag ctgcctgggc 60
 actaccgaca aggacgtgct catctccgag ttccagagge tgctcggett ccagctcaat 120
 cctgccgggt gcgccttctt cctggacatg accaactgga acctccaagc agcaattggc 180
 gcctattatg actttgagag cccaaacatc agtgtgccct ctatgtcctt tgttgaagat 240
 gtcaccatag gagaagggga gtcaatacct cctgacactc agtttgtaaa aacatggcgg 300
 atccaaaatt ctggggcaga ggcctggcct ccaggggttt gtcttaaata tgcggggga 360
 gaccaatttg gacatgtgaa catggtgatg gtgagatcgc tagagcccca agagattgca 420
 gatgtcagcg tccagatgtg cagccccagc agagcaggaa tgtatcaggg acagtggcgg 480
 atgtgcactg ctacaggact ctactatgga gatgtcatct ggggtgattct cagtgtggag 540
 gtgggtggac ttttaggagt aacgcagcag ctgtcatctt ttgaaacgga gttcaacaca 600
 cagccgcatac gtaaggtaga aggaaacttc aacccttttg cctctcccca aaagaaccga 660
 caatcagatg aaaacaactt aaaagaccct gggggctccg agttcgactc gatcagcaaa 720
 aacacttggg ctctgtctcc tgacacatgg gctcctgctc ctgaccaaac tgagcaagac 780
 cagaatagac tgtcacagaa ctctgtaaat ctgtctccca gcagtcacgc aaacaactta 840
 tcagtagtga cttacagtaa gacacagccg ccagcccgaa cagcagcggc atgggcagcg 900
 ccagcccggg tctga 915

<210> 49

<211> 876

<212> DNA

<213> 小家鼠

<400> 49

atggagggca tggacgtgga cttggatccg gagctcatgc agaagttcag ctgcctgggc 60
 accacagaca aggacgtgct catctccgag ttccagcgge tactcggett ccagctcaac 120
 ccggccgggt gcgccttctt cctggacatg accaactgga acttacaagc agcgattggc 180
 gcctattatg acttcgagag cccaaatata agtgtgccct ccatgtcctt tgttgaagat 240
 gtcaccatag gagaagggga gtcaataccc cctgataccc agttcataaa aacttggcgg 300

atacagaatt ctggagcaga ggcctggcct ccaggggttt gtcttaaata tgtcggggga 360
 gaccagtttg gacatgtgaa catggtgatg gtgagatcac tagagcccca agagatcgca 420
 gacgtcagcg tccagatgtg cagtcccagc agagcaggca tgtaccaggg acagtggcgg 480
 atgtgcactg ctactggact ctactatgga gatgtcatct gggtgattct cagtgtggag 540
 gtgggtggac ttttaggagt aacgcagcag ctgtcatctt ttgaaacgga attcaacaca 600
 cagccacatc gcaaggtaga aggaaacttc aaccggtttg cctctcccca aaagaaccga 660
 caatcagatg aaaacaacct aacagaccct gggggttccg agttcgactc gatcagcaaa 720
 aatacatggg ctctgttcc tgagcaaagc gagcaagatc aggatagact gtcacagagc 780
 tctgtaaatc tgccccccag cagtcccgcg aacaacttat cagtagtgac ttacagtaag 840
 gggctccacg ggccttacc cttcggccag tcttaa 876

<210> 50

<211> 876

<212> DNA

<213> 小棕蝠

<400> 50

atggagggca tggacgtgga cctggacccc gagctgatgc agaagttcag ctgtctgggc 60
 accaccgaca aggacgtgct catctccgag ttccagcggc tgctcggett ccagctcaac 120
 ccggccggct gcgccttctt cctggacatg accaactgga acctacaagc agcaattggc 180
 gcctattatg acttcgagag cccaaacatc agtatgccct ctatgtcttt tgttgaagat 240
 gtcaccatcg gagaagggga gtcgatacct cctgatactc agtttataaa aacatggcgg 300
 atccagaatt ctggggcaga ggcctggcct ccaggggttt gtcttaaata tgtcggggga 360
 gaccagtttg gacatgtgaa catggtgatg gtgagatcac tagagcccca agaggttgca 420
 gacgtcagcg tccagatgtg cagccccagc agagccggaa tgtatcaggg acagtggcgg 480
 atgtgcactg ctacgggact ctactatgga gatgtcatct gggtgattct cagtgtggag 540
 gtgggtggac ttttaggagt aacgcagcag ctgtcatctt tcgaaacgga gttcaacaca 600
 cagccacatc gcaaggtaga aggaaacttc aaccggtttg cctctcccca aaagaaccga 660
 caatcagatg aaaacaactt aaaagaccct gggggttccg agttcgactc aatcagcaaa 720
 aacacatggg ctctgtctcc tgaccaaacc gagcaagatg agaatagact ctacagaac 780
 tctgtaaatc tgccccccag cagtccgcg aacaacttat cagtagtgac ttacagtaag 840
 gggctccacg ggccttacc cttcggccag tcttaa 876

<210> 51

<211> 876

<212> DNA

<213> 家犬

<400> 51

atggagggca tggacgtgga cctggacccc gagctgatgc agaagttcag ctgcttgggc 60
 accaccgaca aggacgtgct catctccgag ttccagcggc tcctcggett ccagctcaac 120
 ccggccggct gcgccttctt cctggacatg accaactgga acctacaagc agcaattggc 180
 gcctattacg actttgagag cccaaacatc agtgtgccct ctatgtcatt tgttgaagat 240

gtcaccatag gagaagggga gtcgatacct cctgatactc aatttataaa aacatggcgg 300
 atccagaatt ctggggcaga ggcctggcct ccaggggttt gtcttaaata tgtcggggga 360
 gaccaatttg gacatgtgaa catggtgatg gtgagatcgc tagagcccca ggagattgca 420
 gatgtcagcg tccagatgtg cagccccagc agagcaggaa tgtatcaggg acagtggcgg 480
 atgtgcactg ctacaggact ctactatgga gatgtcatct gggtgattct cagtgtggag 540
 gtgggtggac ttttaggagt aacgcagcag ctgtcatctt ttgaaacgga gttcaacaca 600
 cagccacatc gcaaggtaga aggaaacttc aaccggtttg cctctcccca aaagaaccga 660
 caatcagatg aaaacaactt aaaagaccct gggggttccg ggttcgactc gatcagcaaa 720
 aacacatggg ctctgctcc tgaccaaacc gagcaagatg agaatagact ctcacagaac 780
 tctgtaaate tgtccccag cagtcacgca aacaattat cagtagtgac ttacagtaag 840
 gggctccacg ggccttacc cttcggccag tcttaa 876

<210> 52

<211> 876

<212> DNA

<213> 原鸡

<400> 52

atggagggga tggacgtgga tttggacgag gagctgatgc agaagttcag ctgcttgggt 60
 actaccgaca aggacgtgct gatcggcgag ttccagcggc tcctcggett ccagcttagc 120
 ccggccggct gcgccttctt cctcgacatg accaactgga atctacaagc cgccattgga 180
 gcctattatg attttgagag tccaaacatc aacgtaccct ccatgtcett tgttgaagat 240
 gtcacatag gtgaaggaga gtccattcct cctgacacce agtttacgaa aacatggagg 300
 atacaaaaca caggacaga agtatggcct ccaggagttt gtctgaagta cgttggggga 360
 gaccagtttg gccatgtaaa catggtaatg gtcaggtccc tggagcccca ggagattgca 420
 gatgtcagcg ttcagatgtg cagccccagc acagcaggaa tgtatcaggg acagtggcga 480
 atgtgcactg ccacaggact gtattacgga gatgtcatct gggtgatcct cagtgtggaa 540
 gttggaggac ttctaggagt aacacagcag ctgtcatcct ttgaaacgga gttcaacaca 600
 caaccgcacc gcaaggtaga aggaaacttt aaccattcgc cctctccaca gaagaacagg 660
 caaccagatg aaaacaacct aaaagaccct gggggttctg agctaggcac aatcagcaaa 720
 aacacgtggg ggcctgctcc tgaccaaatt gaacaagatc agaatggact gtcacaaaac 780
 tctgtaaate tctccccag cagtcactcg aacaattgt cggtagtgac atacagtaag 840
 gggttccacg gtccttatcc cttcggacag tcttaa 876

<210> 53

<211> 876

<212> DNA

<213> 绿安乐蜥

<400> 53

atggagggga tggacgtgga cttggacgag gagctgatgc agaagttcag ctgcctgggc 60
 accaccgaca aggacgtgct catcggggag ttccagcggc tgctcggett ccaactcagc 120
 cccgccgat gcgccttctt cctggacatg acgaactgga acttacaagc agccattgga 180

gcctactatg attttgagag tccaaacatc aacgtgccct ccatgtcctt cgtagaagat 240
 gtgaccatag gagaaggaga gtccattccc cctgacaccc agtttacaaa aacatggagg 300
 atacagaaca caggggcaga agcatggcct ccagggtgtt gtcttaaata cgtcggggga 360
 gaccagtttg gccatgtgaa catggtgatg gtccgatcat tggagcccca ggagattgca 420
 gatgtcagcg ttcagatgtg cagccccagt actgcaggaa tgtatcaagg acagtggcga 480
 atgtgtactg ccacaggact ctactatgga gacatcatct ggggtgacct cagtgtggaa 540
 gttggaggac ttttaggagt aacacagcag ctgtcatcat ttgaaacaga gttcaacacg 600
 caaccacatc gcaaggtaga aggaaacttt aaccattcg cctctccgca gaagaacagg 660
 caaccagatg aaaacaactt aaaagaccct gggggttccg agctagatac aatcagcaaa 720
 aacacgtggg ggcctgctcc tgaccaaatt gaacaagatc agactgaact atcacaaaac 780
 tctgtaaate tctccccag cagtcaacta aacaacttat cagtagtgac atacagtaag 840
 ggttttcatg gtccttacct ctttggacag tettaa 876

<210> 54

<211> 837

<212> DNA

<213> 热带爪蟾

<400> 54

atggagggga tggacgttga tcttgacca gagctcatgc agaagttcag ttgtttgggg 60
 actactgata aggatgtttt gatttcagaa ttccagcgcc ttcttggttt tcagctcaac 120
 cctgctggct gcgctttttt cctagacatg actaactgga atctccaagc tgcaattgga 180
 gcatattatg actttgaaag cccaagtgtc actgtcccat gcatgtcatt tgtagaagat 240
 gtaactattg gggaggggga atctgtgcca ccagacaccc agtttaccaa gacctggaga 300
 atccagaaca caggatcaga ggcatggccc cctgggtgtgt gtctgcgtta tgtaggggt 360
 gatcagtttg gtcatgtcaa catggtatta gtccgatccc tagatgcaca ggagatgact 420
 gatgtcagtg tgccaatgtg cagtccaagc caggccggca tgtaccaggg ccagtggagg 480
 atgtgtactg ctactggctt ttatttttga gatgttattt ggggtgatact gagtgtagag 540
 gctggaggcc tattgggagt tactcagcaa ctgtcttcat tcgaaacaga atttaatact 600
 caacctcatc gaaatcttgg aggcaactac aaccctttg cttctccaca gaaaagccgg 660
 tcacctgatc tggaggacat gggtagatgg gggcctcaga cagagccctc tgaaaatgag 720
 gagaatggac tttctcagac ctctgtaa atatgtgcac cggatcacc ggccaactgt 780
 tcagttgcaa catatagaga gagtgtgcat gggctctacc cttttggaga atcttaa 837

<210> 55

<211> 858

<212> DNA

<213> 斑马鱼

<400> 55

atgctcatgg agggcatgga catagacctg gatcaggagc tcatgcaaaa attcagctgc 60
 atgggcacca cggataaaga tgtcctcatc tcggagttcc agaggctgct gggatttcag 120
 ctcaaccggg ctggctgcgc cttcttcctg gacatgacca actggaacct tcaagcagct 180

attggtgctt attatgactt tgagagtcca aacatcaaca cgccgtcaat gtcttttgtg 240
 gaagacgtga cgattggaga gggggagtct gtccctcctg acacaccgtt cacaaagaca 300
 tggaggatac agaacacagg tacagagtcg tggccccag gtgtgtgtct gaagtatgtg 360
 ggcggggatc agtttgggtca tgtgaacatg gtaatgggtgc ggtctctgga ccctcaggaa 420
 atatcagatg tgagtgtgca gatgcgtagt ccagctgttc ctggcatgta ccagggccag 480
 tggagaatgt gcacagccac aggactcttc tacggagatg tgatctgggt gattttgagt 540
 gtggaggagg gaggcctgct gggcgtcaca cagcagctat cctccttcaa gacggagttc 600
 aacacgcagc cacaccgcag tctggaggga gactacaacc ctttcgcctc accacagaag 660
 aacaagcagg acaccaatga ggatcatcta aaagaccctg ggggcccctg ggaggcccca 720
 ctggactcca ttcagcaaga tcaaaatgga ctcaatcaca gctctgtaaa tattacacca 780
 aatggtctcc aaaacaactt atcagtagtg acttacagcc agggcattaa tggacccttc 840
 ccgtttggac agtcttaa 858

<210> 56

<211> 1092

<212> DNA

<213> 玻璃海鞘

<400> 56

atggaagaaa ccgagggcgt gatggatgta gaccaatgtt tggtcgggaa gtttagttca 60
 atgggcacga ccgataaaga tgttttaatc gatgagtttc gtaaacttct gggtttccaa 120
 cttaacgctg caggttgcca gttctttcta gacatgacaa actggaactt acacgcggcg 180
 attggcgctt attatgactt cgagatgcct tcgagtaaaa tcccttcaat gtcgttcgtt 240
 agtgacatca caataggaga gggggaagcg attccaccag gaacagattt tataaaaacc 300
 tggagatttc agaattcggg ggtcgagaag tggccactag gttgcaccct tcgcttcgtt 360
 aacggggagc gaatgagttc ccccgagtgg atatcggtgg gcgaggtcca acctcatgaa 420
 accgtcgatg tttcagtga aatgcgaagt ccgataaacg ctggattgta ccagggtcag 480
 tggaggatgt ttacgagggg aatggcgcca ttcggtgata ttatctgggt gatcatatca 540
 gtagagggtg gtgggttgtt gggggtcacg caacaaatgt cacaattctc caccgggacg 600
 aacaaccaac atcagttgaa tacgacgcag aacaatccat tcgctgtgga tggattggga 660
 gcaaacatgg acgttaatgt ttcatttggg agcaataatg gcggacaaac atttgatgaa 720
 gttccgcgga agtgtgaacg aggtacagca catgacgtgt cgtcctgttg ggaaacgaaa 780
 agtccgacct tgacaatgga agagggtttg ggcggggaag gccacaccct gtgtcggatc 840
 gatgaagaaa caacgaacga tgggaataat aacgaggag tgaaatatct ttcgtcaaaa 900
 tcctcgtagc acctcgcagc tcgtcaagcg tcaccttca catcacctc caaactcgtt 960
 gacctggaac gatcgttctc gaccccagat gcccttcac ccattcacc aacaaccaat 1020
 ctactttcaa taaatttcca ggttggttgc ttttatctca actacttcag tcataacagt 1080
 tgtcaaacat ag 1092

<210> 57

<211> 93

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 智人C6orf106蛋白序列的FW结构域

<400> 57

Thr Trp Arg Ile Gln Asn Ser Gly Ala Glu Ala Trp Pro Pro Gly Val

1 5 10 15

Cys Leu Lys Tyr Val Gly Gly Asp Gln Phe Gly His Val Asn Met Val

20 25 30

Met Val Arg Ser Leu Glu Pro Gln Glu Ile Ala Asp Val Ser Val Gln

35 40 45

Met Cys Ser Pro Ser Arg Ala Gly Met Tyr Gln Gly Gln Trp Arg Met

50 55 60

Cys Thr Ala Thr Gly Leu Tyr Tyr Gly Asp Val Ile Trp Val Ile Leu

65 70 75 80

Ser Val Glu Val Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln

85 90

<210> 58

<211> 94

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> C6orf106 FW结构域的共有序列

<220>

<221> misc_feature

<222> (3) .. (5)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (7) .. (8)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (10) .. (10)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (12) .. (12)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature
<222> (15) .. (15)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> misc_feature
<222> (17) .. (18)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> misc_feature
<222> (20) .. (21)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> misc_feature
<222> (23) .. (23)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> misc_feature
<222> (25) .. (34)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> misc_feature
<222> (36) .. (41)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> misc_feature
<222> (43) .. (44)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> misc_feature
<222> (49) .. (49)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> misc_feature
<222> (51) .. (51)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
<220>
<221> misc_feature
<222> (54) .. (56)
<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (58) .. (58)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (66) .. (66)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (68) .. (73)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (76) .. (76)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (81) .. (81)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<220>

<221> misc_feature

<222> (85) .. (85)

<223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸

<400> 58

Thr Trp Xaa Xaa Xaa Asn Xaa Xaa Gly Xaa Glu Xaa Trp Pro Xaa Gly

1 5 10 15

Xaa Xaa Leu Xaa Xaa Val Xaa Gly Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa

20 25 30

Xaa Xaa Val Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Glu Xaa Xaa Asp Val Ser Val

35 40 45

Xaa Met Xaa Ser Pro Xaa Xaa Xaa Gly Xaa Tyr Gln Gly Gln Trp Arg

50 55 60

Met Xaa Thr Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Xaa Gly Asp Xaa Ile Trp Val Ile

65 70 75 80

Xaa Ser Val Glu Xaa Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln

85 90

<210> 59

<211> 191

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> C6 (Δ FW)-FLAG蛋白序列

<400> 59

```

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

```

<210> 60

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 智人C6orf106蛋白序列的FW结构域

<400> 60

```

Ser Met Ser Phe Val Glu Asp Val Thr Ile Gly Glu Gly Glu Ser Ile
1           5           10           15
Pro Pro Asp Thr Gln Phe Val Lys Thr Trp Arg Ile Gln Asn Ser Gly

```

20	25	30
Ala Glu Ala Trp Pro Pro Gly Val Cys Leu Lys Tyr Val Gly Gly Asp		
35	40	45
Gln Phe Gly His Val Asn Met Val Met Val Arg Ser Leu Glu Pro Gln		
50	55	60
Glu Ile Ala Asp Val Ser Val Gln Met Cys Ser Pro Ser Arg Ala Gly		
65	70	75
Met Tyr Gln Gly Gln Trp Arg Met Cys Thr Ala Thr Gly Leu Tyr Tyr		
85	90	95
Gly Asp Val Ile Trp Val Ile Leu Ser Val Glu Val Gly Gly Leu Leu		
100	105	110
Gly Val Thr Gln Gln		
115		

<210> 61

<211> 117

<212> PRT

<213> 人工序列

<220>

<223> 智人C6orf106蛋白序列的无序区

<400> 61

Gly Gly Leu Leu Gly Val Thr Gln Gln Leu Ser Ser Phe Glu Thr Glu		
1	5	10
Phe Asn Thr Gln Pro His Arg Lys Val Glu Gly Asn Phe Asn Pro Phe		
20	25	30
Ala Ser Pro Gln Lys Asn Arg Gln Ser Asp Glu Asn Asn Leu Lys Asp		
35	40	45
Pro Gly Gly Ser Glu Phe Asp Ser Ile Ser Lys Asn Thr Trp Ala Pro		
50	55	60
Ala Pro Asp Thr Trp Ala Pro Ala Pro Asp Gln Thr Glu Gln Asp Gln		
65	70	75
Asn Arg Leu Ser Gln Asn Ser Val Asn Leu Ser Pro Ser Ser His Ala		
85	90	95
Asn Asn Leu Ser Val Val Thr Tyr Ser Lys Gly Leu His Gly Pro Tyr		
100	105	110
Pro Phe Gly Gln Ser		
115		

<210> 62

<211> 108

<212> PRT

Leu	Ser	Ser	Phe	Glu	Thr	Glu	Phe	Asn	Thr	Gln	Pro	His	Arg	Lys	Val
1				5					10					15	
Glu	Gly	Asn	Phe	Asn	Pro	Phe	Ala	Ser	Pro	Gln	Lys	Asn	Arg	Gln	Ser
			20					25					30		
Asp	Glu	Asn	Asn	Leu	Lys	Asp	Pro	Gly	Gly	Ser	Glu	Phe	Asp	Ser	Ile
		35					40					45			
Ser	Lys	Asn	Thr	Trp	Ala	Pro	Ala	Pro	Asp	Thr	Trp	Ala	Pro	Ala	Pro
	50					55					60				
Asp	Gln	Thr	Glu	Gln	Asp	Gln	Asn	Arg	Leu	Ser	Gln	Asn	Ser	Val	Asn
65					70					75					80
Leu	Ser	Pro	Ser	Ser	His	Ala	Asn	Asn	Leu	Ser	Val	Val	Thr	Tyr	Ser
				85					90					95	
Lys	Gly	Leu	His	Gly	Pro	Tyr	Pro	Phe	Gly	Gln	Ser				
			100					105							

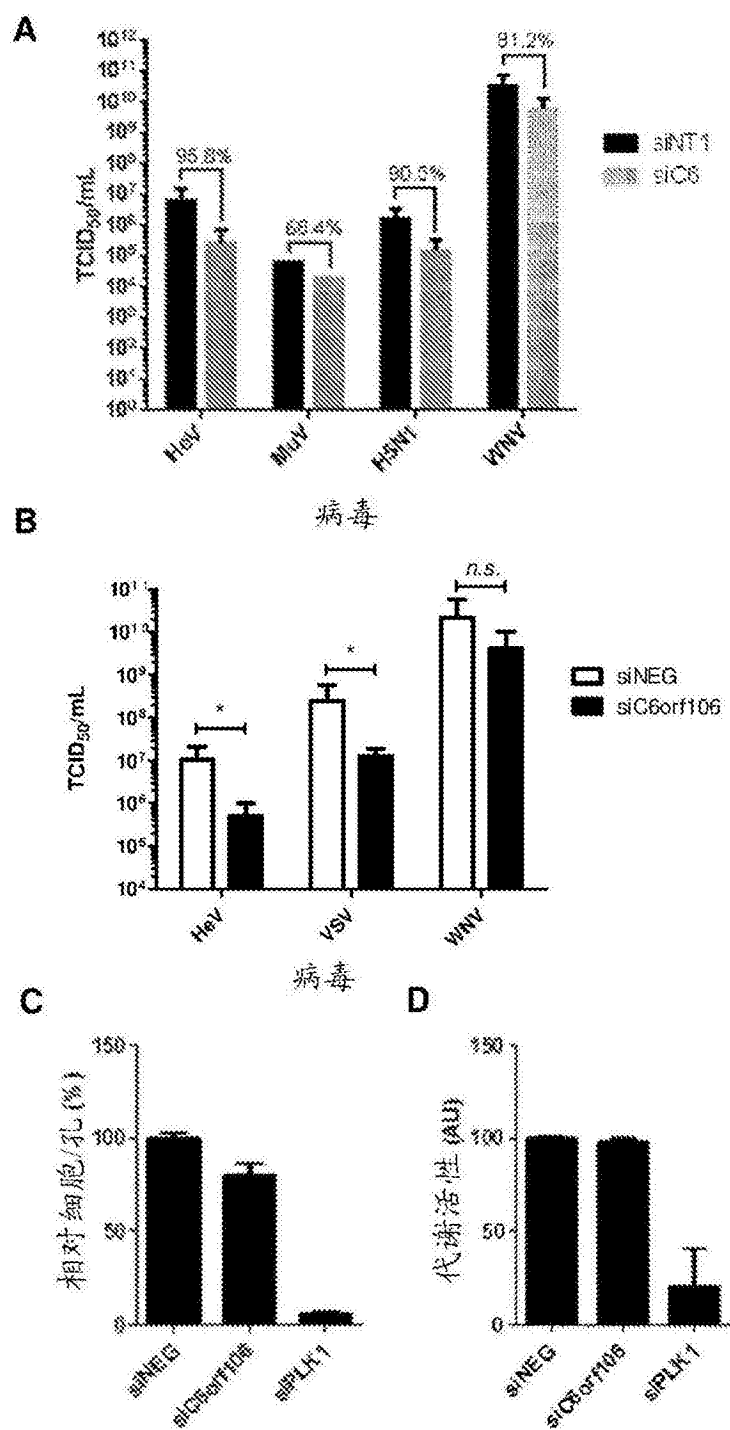


图1

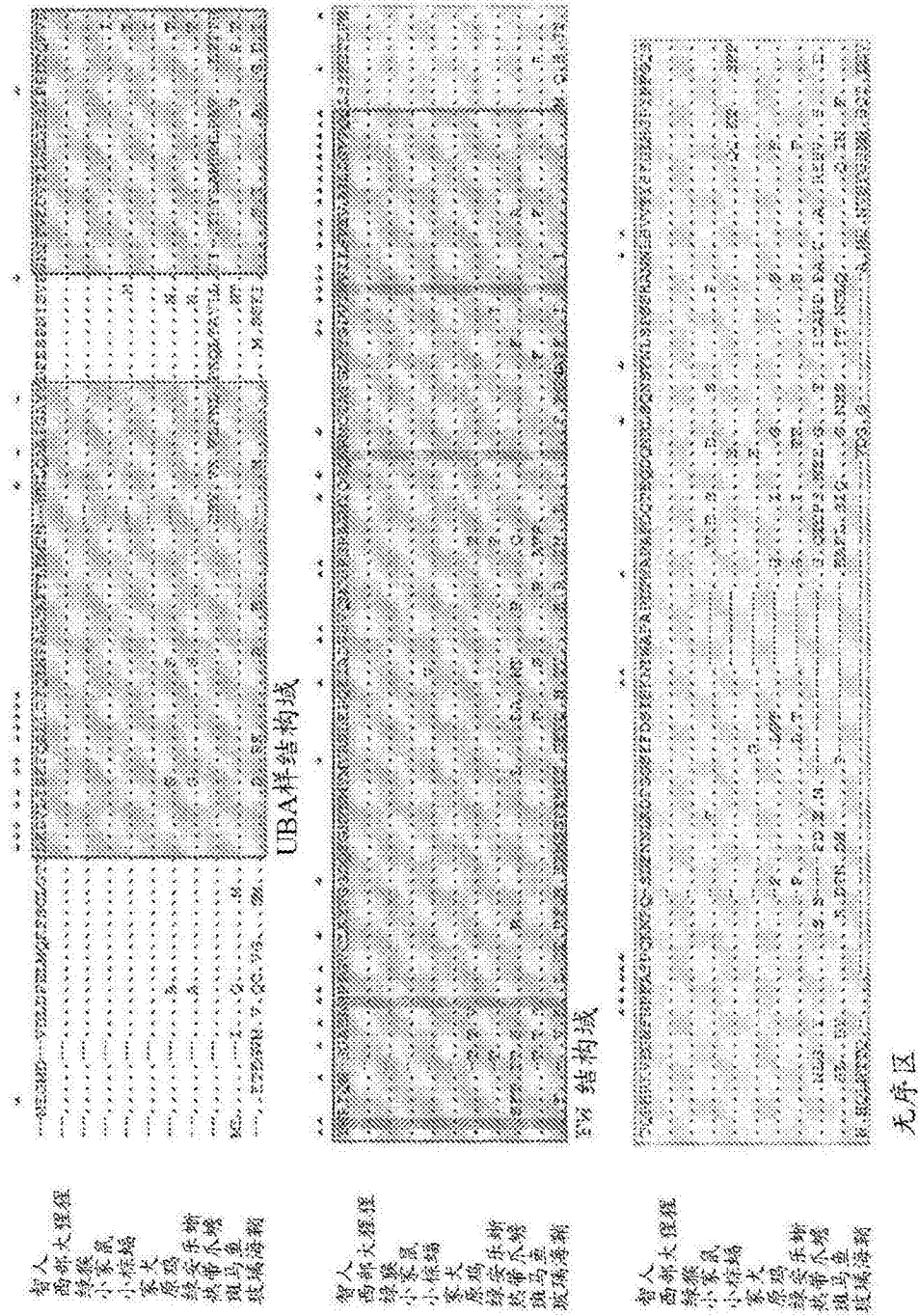


图2

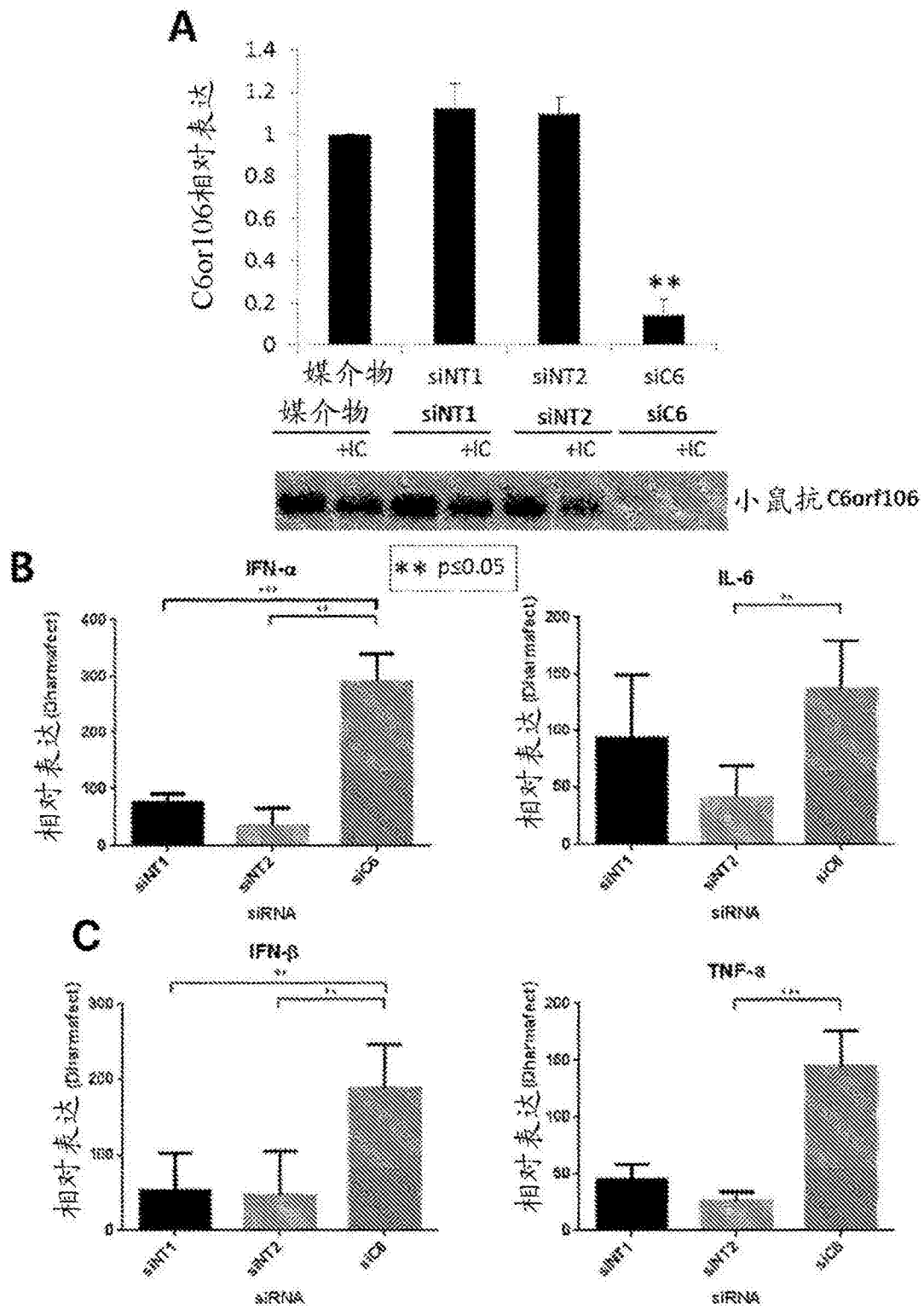


图3

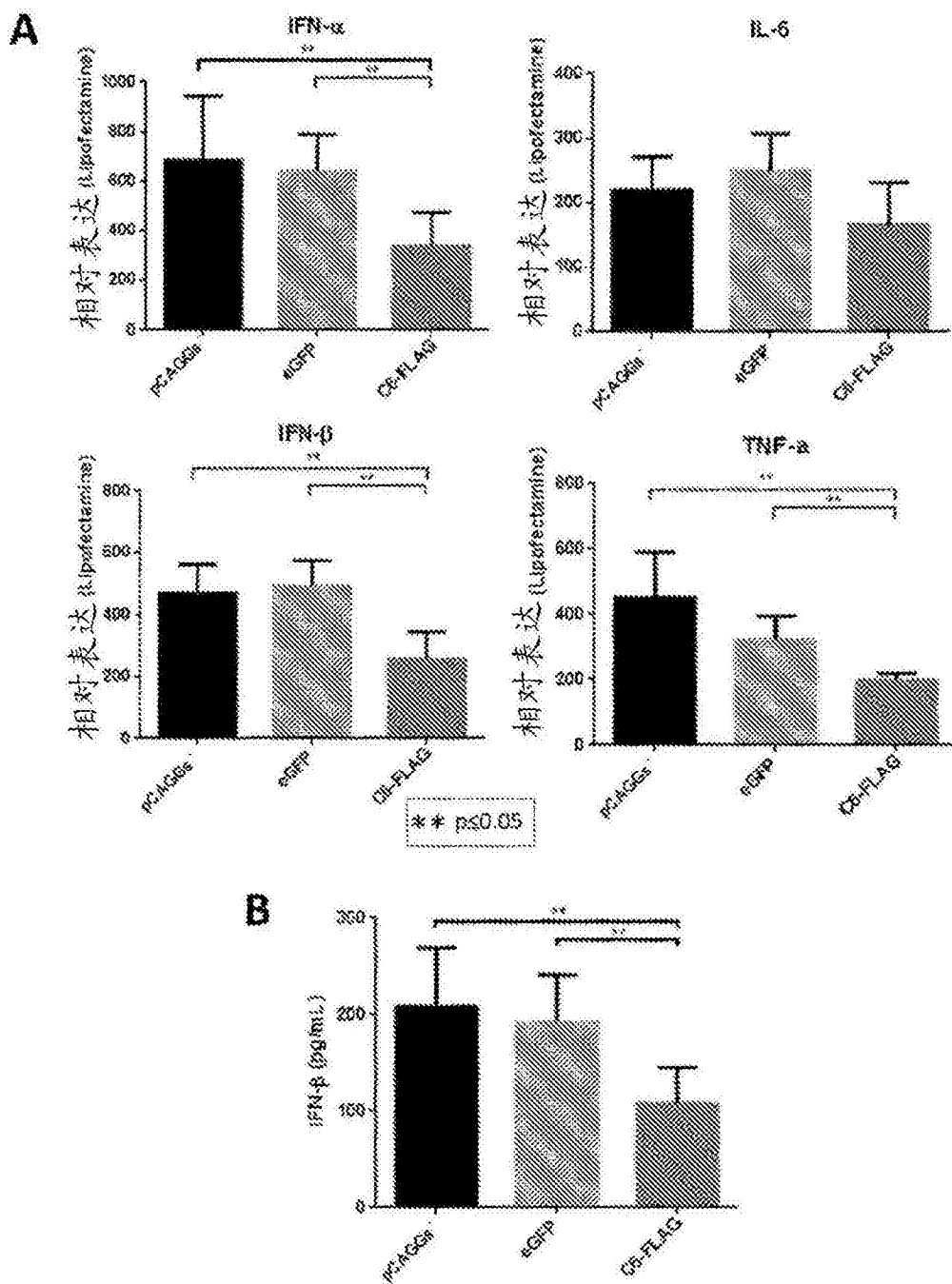


图4

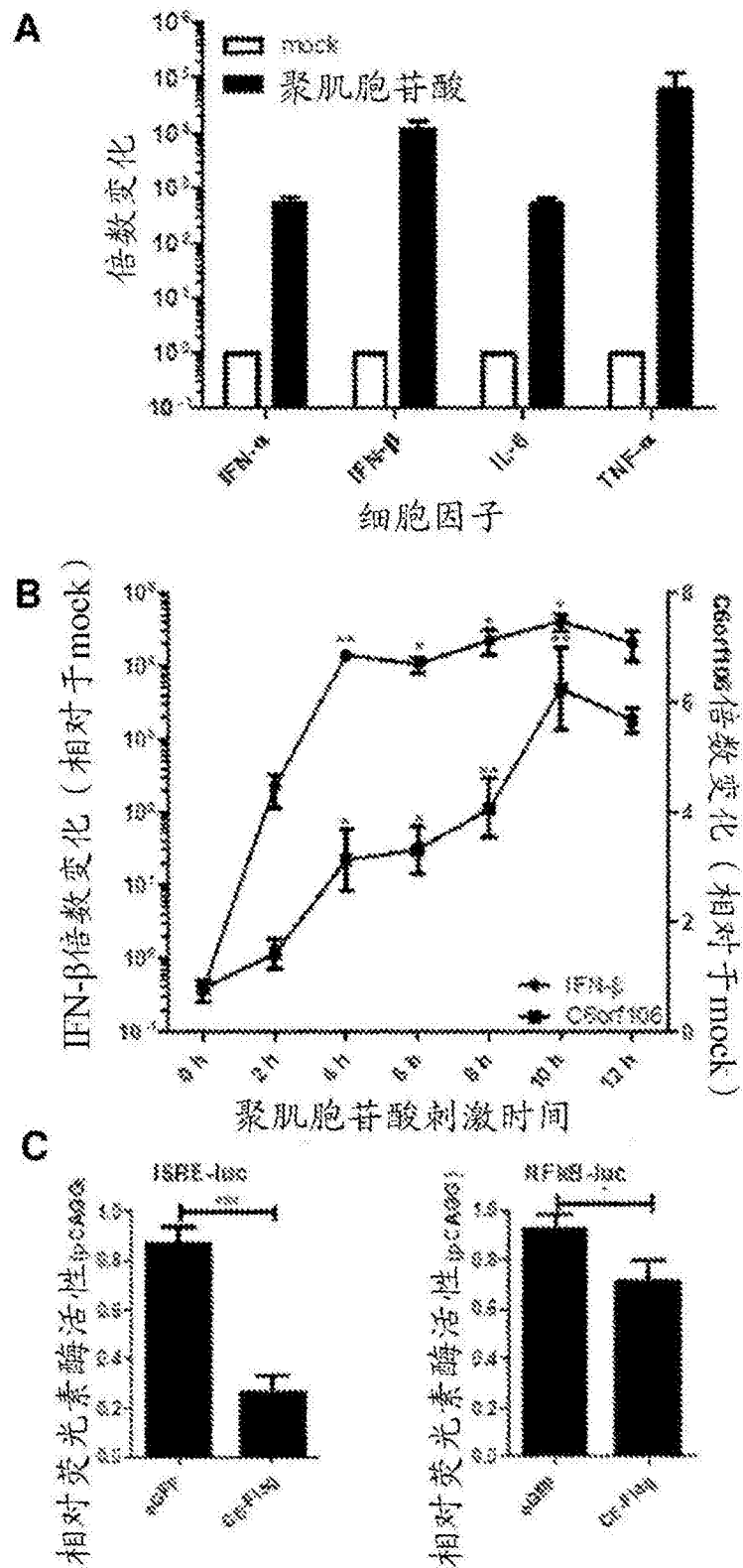


图5

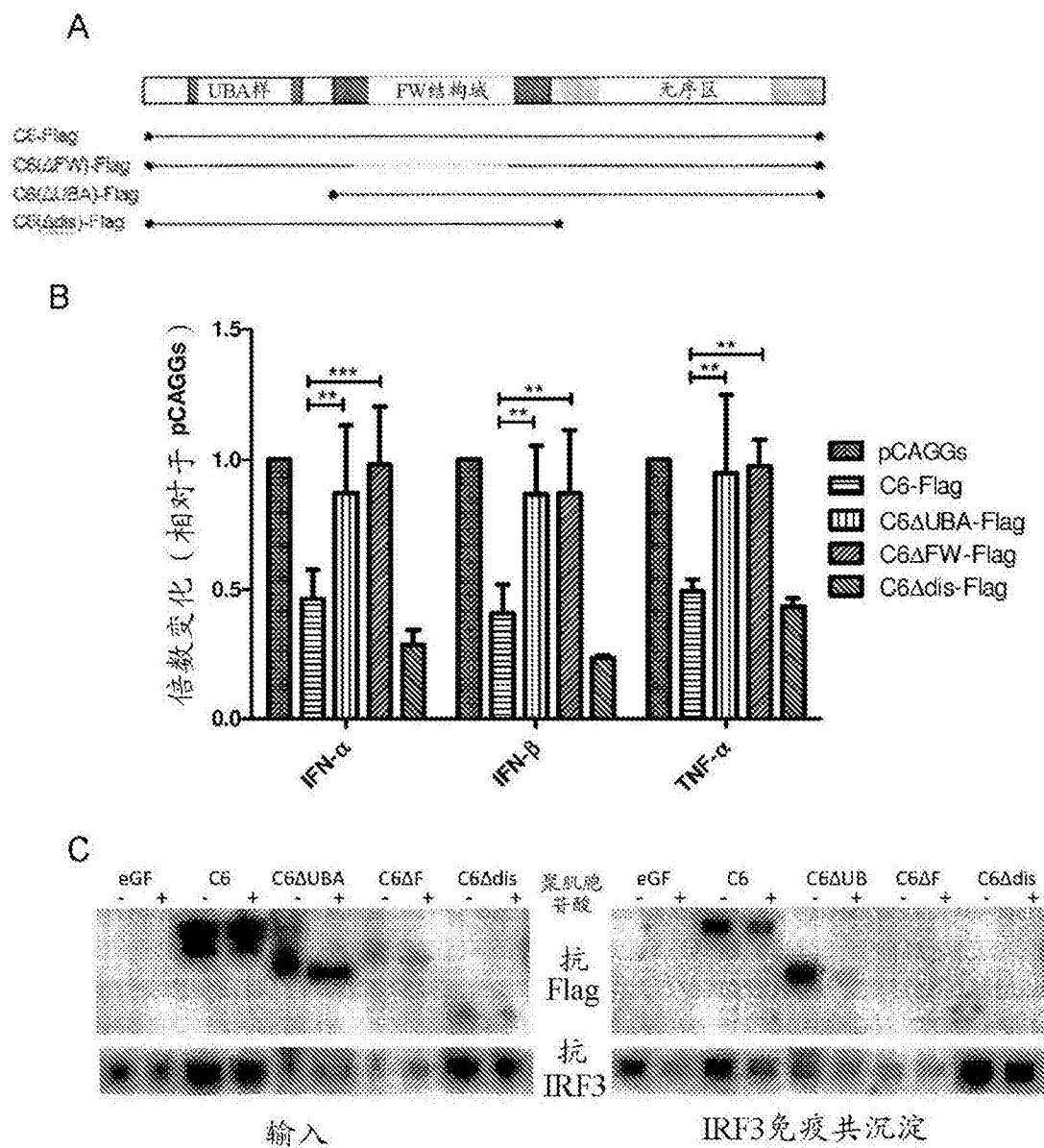


图6

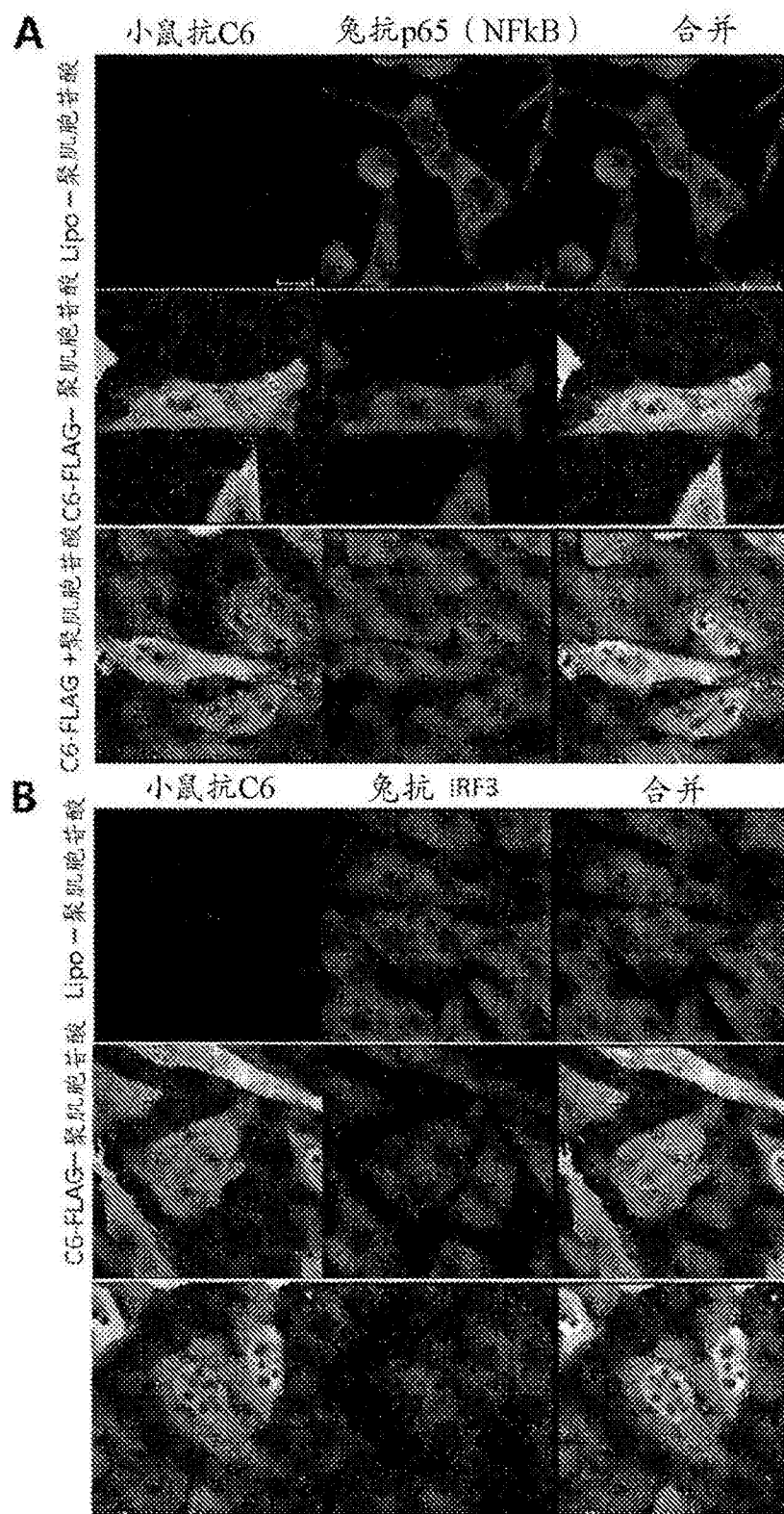


图7

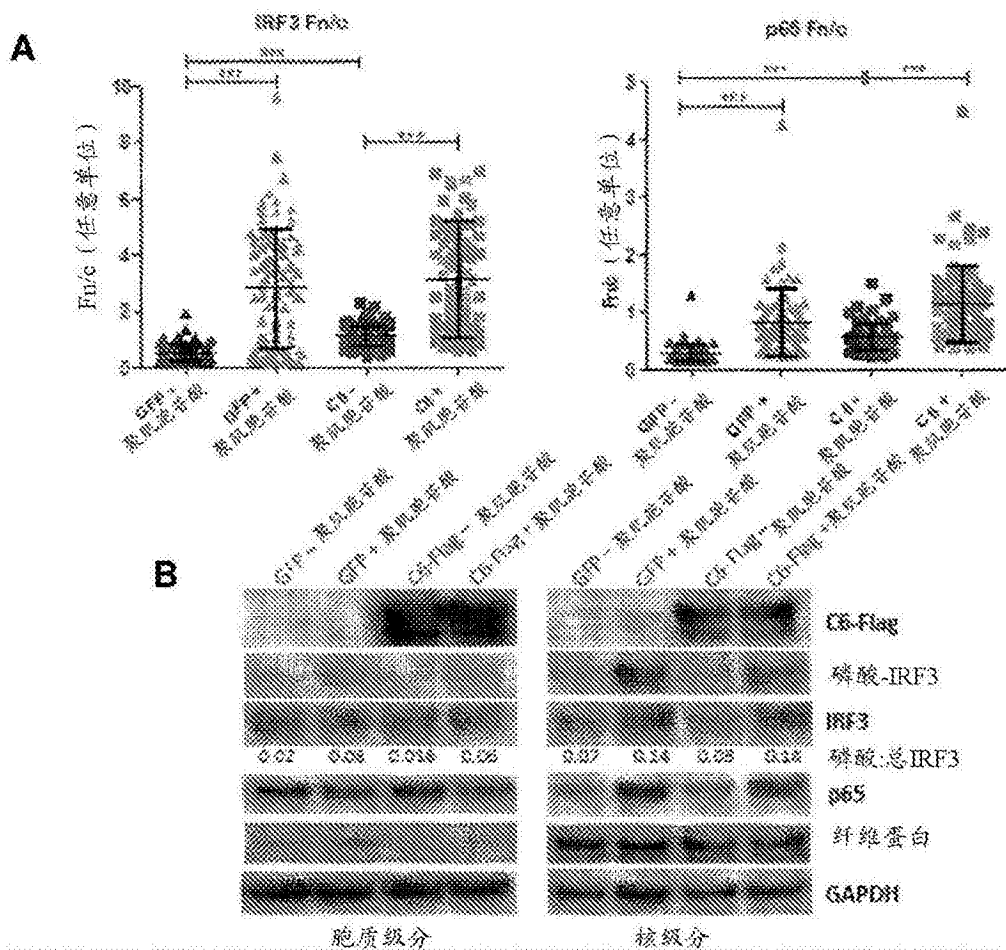


图8

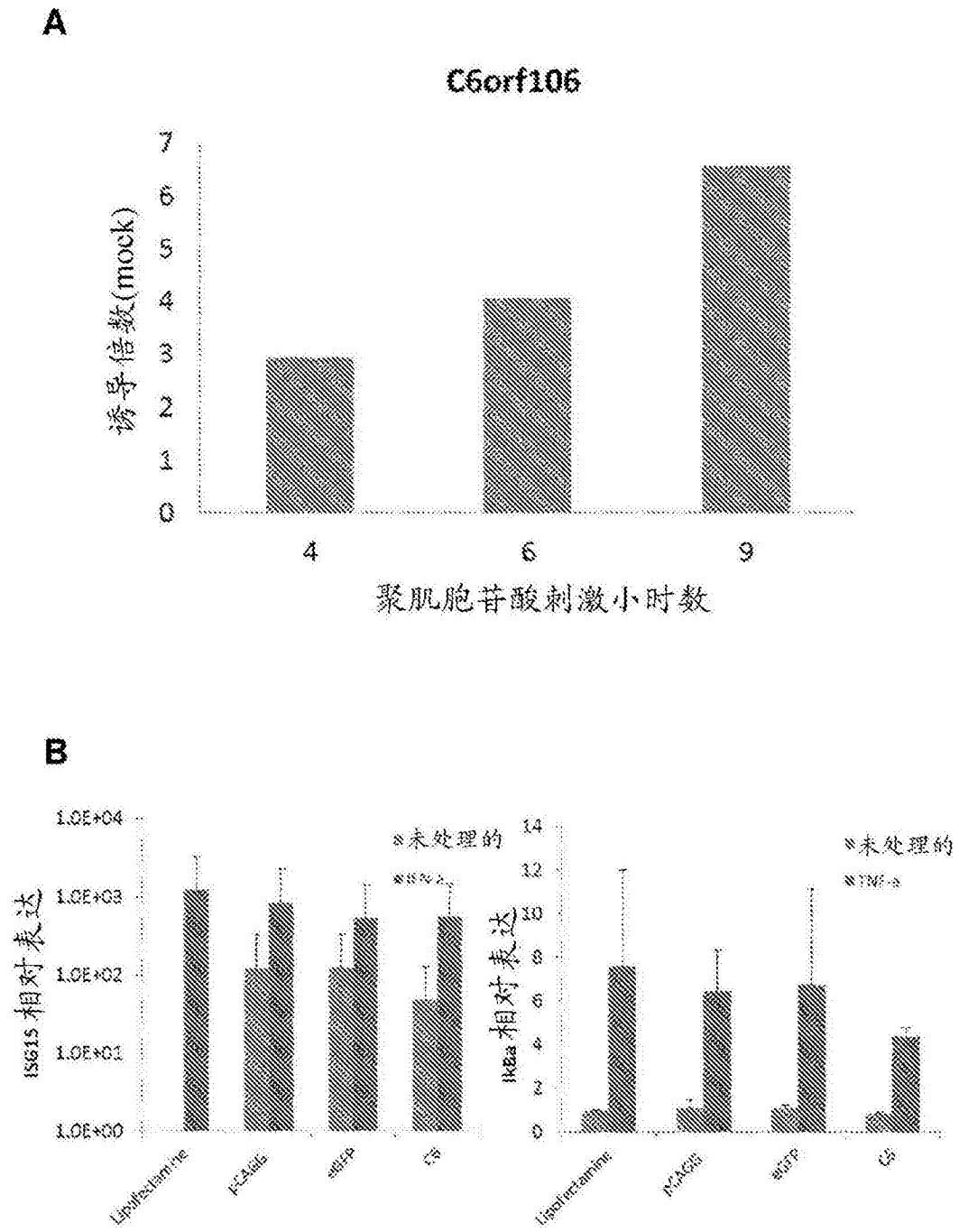


图9

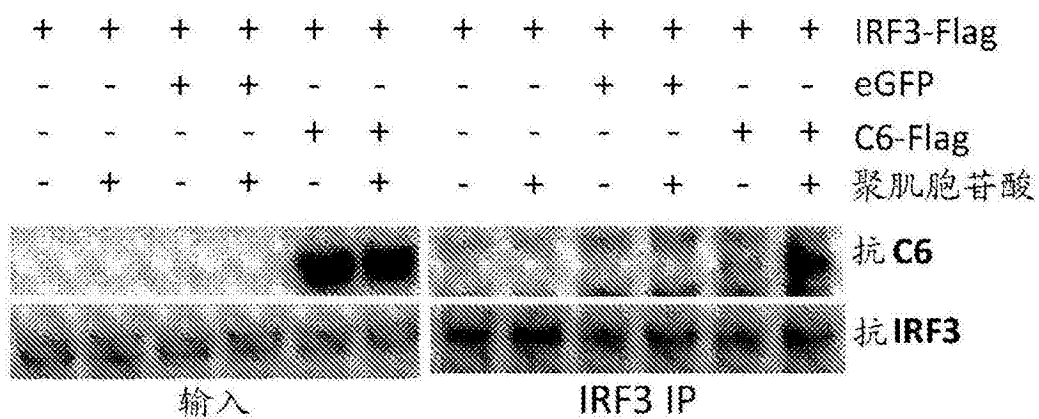
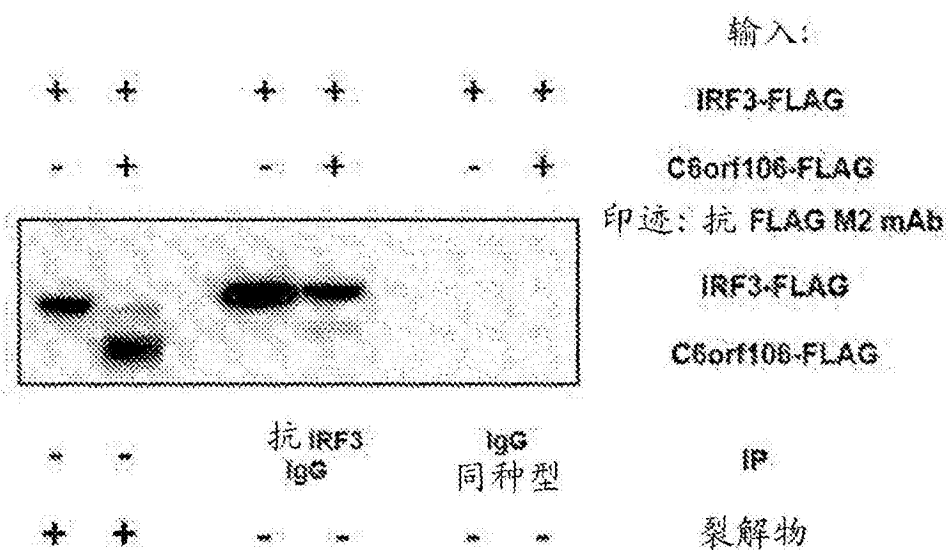
A**B**

图10

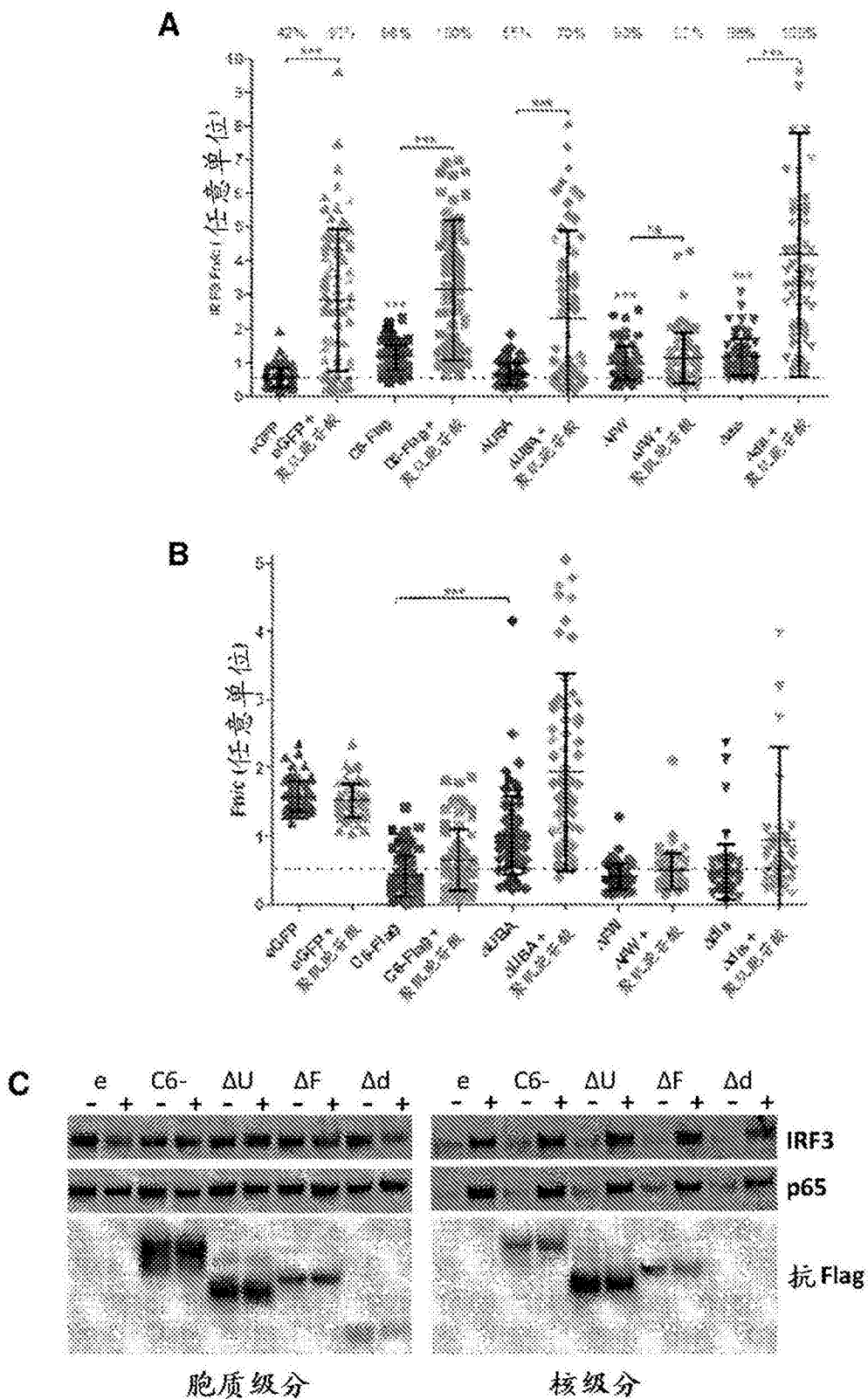


图11