



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109312407 A

(43)申请公布日 2019.02.05

(21)申请号 201780035692.5

(22)申请日 2017.06.08

(30)优先权数据

62/347,436 2016.06.08 US

(85)PCT国际申请进入国家阶段日

2018.12.07

(86)PCT国际申请的申请数据

PCT/US2017/036515 2017.06.08

(87)PCT国际申请的公布数据

W02017/214373 EN 2017.12.14

(71)申请人 豪夫迈·罗氏有限公司

地址 瑞士巴塞尔

(72)发明人 R·L·约克 X·叶

T·E·雅努阿里奥

(74)专利代理机构 北京坤瑞律师事务所 11494

代理人 岑晓东

(51)Int.Cl.

C12Q 1/6886(2018.01)

权利要求书5页 说明书56页

序列表78页 附图43页

(54)发明名称

用于癌症的诊断和治疗方法

(57)摘要

本发明提供用于癌症的诊断和治疗方法。本发明提供基于本发明的生物标志物的表达水平(例如SMARCA2的表达水平或SMARCA2启动子处H3K27的占据水平),确定具有癌症的患者是否有可能响应包含H3K27甲基化的抑制剂的治疗的方法,预测具有癌症的患者对包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的响应性的方法,为具有癌症的患者选择疗法的方法,和治疗癌症的方法。

1. 一种鉴定可能受益于包含一种或多种组蛋白3赖氨酸27 (H3K27) 甲基化的抑制剂的治疗的具有癌症的患者的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平,其中与参照表达水平相比该样品中SMARCA2的降低的表达水平将该患者鉴定为可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者。

2. 一种为具有癌症的患者的治疗优化治疗功效的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平,其中与参照表达水平相比该样品中SMARCA2的降低的表达水平指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

3. 一种预测具有癌症的患者对包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的响应性的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平,其中与参照表达水平相比该样品中SMARCA2的降低的表达水平指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

4. 一种为具有癌症的患者选择治疗的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平,其中与参照表达水平相比该样品中SMARCA2的降低的表达水平指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

5. 权利要求1-4任一项的方法,其中自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低至少约10%。

6. 权利要求5的方法,其中自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低至少约25%。

7. 权利要求6的方法,其中自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低至少约50%。

8. 权利要求7的方法,其中自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低至少约75%。

9. 权利要求8的方法,其中自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低至少约90%。

10. 权利要求1-9任一项的方法,其中该SMARCA2的表达水平是中值表达水平。

11. 权利要求1-9任一项的方法,其中该SMARCA2的表达水平是均值表达水平。

12. 权利要求1-11任一项的方法,其中该参照表达水平选自由(i) 在在先时间点自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平;(ii) 参照群体中SMARCA2的表达水平;或(iii) SMARCA2的预指派表达水平组成的组。

13. 权利要求1-12任一项的方法,其中该参照SMARCA2的表达水平是中值表达水平。

14. 权利要求1-12任一项的方法,其中该参照SMARCA2的表达水平是均值表达水平。

15. 权利要求1-14任一项的方法,其中该表达水平是mRNA表达水平。

16. 权利要求15的方法,其中该mRNA表达水平是通过RNA-Seq, PCR, qPCR, RT-PCR, 原位杂交, 基因表达概况分析, 基因表达系列分析, 或微阵列分析测定的。

17. 权利要求16的方法,其中该mRNA表达水平是通过qPCR测定的。

18. 权利要求16的方法,其中该mRNA表达水平是通过RNA-Seq测定的。

19. 权利要求1-14任一项的方法,其中该表达水平是蛋白质表达水平。

20. 权利要求19的方法,其中该蛋白质表达水平是使用选自由免疫组织化学(IHC), 免疫荧光, 质谱术, 流式细胞术, 和Western印迹组成的组的方法测定的。

21. 权利要求20的方法,其中该蛋白质表达水平是通过IHC测定的。

22. 权利要求1-21任一项的方法,其中自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低且该方法进一步包含对该患者施用治疗有效量的一种或多种H3K27甲基化的抑制剂。

23. 权利要求22的方法,其中施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂是在测定SMARCA2的表达水平之后。

24. 权利要求22的方法,其中施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂是在测定SMARCA2的表达水平之前。

25. 一种治疗具有癌症的患者的方法,该方法包含对该患者施用治疗有效量的一种或多种H3K27甲基化的抑制剂,其中自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平已经测定是与参照表达水平相比降低的。

26. 权利要求1-25任一项的方法,进一步包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平。

27. 一种鉴定可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的具有癌症的患者的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平,其中与参照占据水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平将该患者鉴定为可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者。

28. 一种为具有癌症的患者的治疗优化治疗功效的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平,其中与参照占据水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

29. 一种预测具有癌症的患者对包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的响应性的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平,其中与参照占据水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

30. 一种为具有癌症的患者选择治疗的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平,其中与参照占据水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

31. 权利要求26-30任一项的方法,其中自患者获得的样品中H3K27的占据水平相对于参照占据水平升高至少约10%。

32. 权利要求31的方法,其中自患者获得的样品中H3K27的占据水平相对于参照占据水平升高至少约50%。

33. 权利要求32的方法,其中自患者获得的样品中H3K27的占据水平相对于参照占据水平升高至少约100%。

34. 权利要求33的方法,其中自患者获得的样品中H3K27的占据水平相对于参照占据水平升高至少约500%。

35. 权利要求34的方法,其中自患者获得的样品中H3K27的占据水平相对于参照占据水平升高至少约1,000%。

36. 权利要求26-35任一项的方法,其中该SMARCA2启动子处H3K27的占据水平是中值表达水平。

37. 权利要求26-35任一项的方法,其中该SMARCA2启动子处H3K27的占据水平是均值表达水平。

38. 权利要求26-37任一项的方法,其中该参照占据水平选自由(i)在在先时间点自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平;(ii)参照群体中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平;或(iii)SMARCA2启动子处H3K27的预指派占据水平的组成的组。

39. 权利要求26-38任一项的方法,其中该SMARCA2启动子处H3K27的参照占据水平是中值表达水平。

40. 权利要求26-38任一项的方法,其中该SMARCA2启动子处H3K27的参照占据水平是均值表达水平。

41. 权利要求26-40任一项的方法,其中该SMARCA2启动子处H3K27的参照占据水平是通过ChIP-seq或ChIP-PCR测定的。

42. 权利要求26-41任一项的方法,其中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平相对于参照占据水平升高且该方法进一步包含对该患者施用治疗有效量的一种或多种H3K27甲基化的抑制剂。

43. 权利要求42的方法,其中施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂是在测定SMARCA2启动子处H3K27的占据水平之后。

44. 权利要求42的方法,其中施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂是在测定SMARCA2启动子处H3K27的占据水平之前。

45. 一种治疗具有癌症的患者的方法,该方法包含对该患者施用治疗有效量的一种或多种H3K27甲基化的抑制剂,其中自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平已经测定是与参照占据水平相比升高的。

46. 权利要求27-45任一项的方法,进一步包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平。

47. 权利要求1-46任一项的方法,进一步包含鉴定一种或多种编码核小体重塑蛋白的基因中的突变。

48. 权利要求47的方法,其中该核小体重塑蛋白是SWI/SNF家族蛋白。

49. 权利要求48的方法,其中该SWI/SNF家族蛋白是BRG1,SNF5(INI1),SWI/SNF复合物155kDa亚基,SWI/SNF复合物170kDa亚基,BAF,zipzap蛋白,或BAF180。

50. 权利要求48或49的方法,其中该一种或多种编码SWI/SNF家族蛋白的基因选自由SMARCA4,SMARCB1,SMARCC1,SMARCC2,ARID1A,ARID2,和PBRM1组成的组。

51. 权利要求1-50任一项的方法,其中该自患者获得的样品是细胞样品,组织样品,全血样品,血浆样品,或血清样品。

52. 权利要求51的方法,其中该细胞样品是肿瘤细胞样品。

53. 权利要求51的方法,其中该组织样品是肿瘤组织样品。

54. 权利要求1-53任一项的方法,其中该癌症包含一种或多种编码SWI/SNF家族蛋白的基因中的突变。

55. 权利要求54的方法,其中该一种或多种编码SWI/SNF家族蛋白的基因选自由

SMARCA4, SMARCB1, SMARCC1, SMARCC2, ARID1A, ARID2, 和PBRM1组成的组。

56. 权利要求55的方法, 其中该癌症包含SMARCA4, SMARCB1, 或ARID1A中一种或多种中的突变。

57. 权利要求1-56任一项的方法, 其中该癌症选自由卵巢癌, 肺癌, 胃的癌, 膀胱癌, 乳腺癌, 皮肤癌, 结肠直肠癌, 胃癌, 淋巴样癌, 宫颈癌, 腹膜癌, 胰腺癌, 成胶质细胞瘤, 肝癌, 膀胱癌, 结肠癌, 直肠癌, 子宫内膜癌, 子宫癌, 唾液腺癌, 肾癌, 前列腺癌, 外阴癌, 甲状腺癌, 肛门癌, 阴茎癌, 和头和颈癌组成的组。

58. 权利要求57的方法, 其中该癌症是卵巢癌。

59. 权利要求58的方法, 其中该卵巢癌是卵巢透明细胞癌。

60. 权利要求58的方法, 其中该卵巢癌是卵巢小细胞癌。

61. 权利要求60的方法, 其中该卵巢小细胞癌是高钙血型卵巢小细胞癌。

62. 权利要求57的方法, 其中该癌症是肺癌。

63. 权利要求57的方法, 其中该癌症是胃癌。

64. 权利要求57的方法, 其中该癌症是膀胱癌。

65. 权利要求1-56任一项的方法, 其中该癌症是横纹肌样(rhabdoid)癌。

66. 权利要求65的方法, 其中该横纹肌样癌是肾癌或脑癌。

67. 权利要求65或66的方法, 其中该横纹肌样癌是恶性横纹肌样癌。

68. 权利要求67的方法, 其中该恶性横纹肌样癌是SMARCB1突变型恶性横纹肌样癌。

69. 权利要求1-68任一项的方法, 其中该一种或多种H3K27甲基化的抑制剂包含H3K27三甲基化的抑制剂。

70. 权利要求1-69任一项的方法, 其中该H3K27三甲基化的抑制剂是EZH2抑制剂。

71. 权利要求70的方法, 其中该EZH2抑制剂是小分子。

72. 权利要求71的方法, 其中该EZH2抑制剂选自由EPZ-6438, CPI-169, CPI-1205, EPZ005687, GSK-126, GSK343, 和GSK503组成的组。

73. 权利要求72的方法, 其中该EZH2抑制剂是EPZ-6438。

74. 权利要求72的方法, 其中该EZH2抑制剂是CPI-169。

75. 权利要求72的方法, 其中该EZH2抑制剂是CPI-1205。

76. 权利要求1-75任一项的方法, 其中该一种或多种H3K27甲基化的抑制剂破坏polycomb阻抑性复合物2(PRC2)的形成或活性。

77. 权利要求76的方法, 其中该一种或多种H3K27甲基化的抑制剂包含SUZ12拮抗剂, EED拮抗剂, 或jumonji拮抗剂。

78. 权利要求1-77任一项的方法, 该方法包含对该患者施用第一H3K27甲基化的抑制剂和第二H3K27甲基化的抑制剂。

79. 权利要求78的方法, 其中该第一H3K27甲基化的抑制剂和该第二H3K27甲基化的抑制剂是共施用的。

80. 权利要求78的方法, 其中该第一H3K27甲基化的抑制剂和该第二H3K27甲基化的抑制剂是顺序施用的。

81. 权利要求1-80任一项的方法, 进一步包括对该患者施用另外的治疗剂。

82. 权利要求81的方法, 其中该另外的治疗剂是抗癌剂。

83. 权利要求81或82的方法, 其中该另外的治疗剂和该一种或多种H3K27甲基化的抑制剂是共施用的。

84. 权利要求81或82的方法, 其中该另外的治疗剂和该一种或多种H3K27甲基化的抑制剂是顺序施用的。

85. 权利要求82-84任一项的方法, 其中该抗癌剂选自由化疗剂, 生长抑制剂, 细胞毒剂, 放射疗法中使用的药剂, 抗血管发生剂, 凋亡剂, 抗微管蛋白剂, 和免疫疗法剂组成的组。

86. 权利要求85的方法, 其中该抗癌剂是化疗剂。

87. 权利要求1-86任一项的方法, 其中该患者是人。

88. 一种组合物, 其包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂, 供一种治疗罹患癌症的患者的方法中使用, 其中自该患者获得的样品已经测定是样品中具有与参照表达水平相比降低的SMARCA2的表达水平。

89. 一种组合物, 其包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂, 供一种治疗罹患癌症的患者的方法中使用, 其中自该患者获得的样品已经测定是样品中具有与参照占据水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平。

90. 权利要求88或89的组合物, 其中该患者是人。

91. 一种用于鉴定可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的试剂盒, 该试剂盒包含:

(a) 能够测定样品中SMARCA2的表达水平的多肽或多核苷酸; 和

(b) 关于使用该多肽或多核苷酸来鉴定可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的用法说明书。

92. 一种用于鉴定可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的试剂盒, 该试剂盒包含:

(a) 能够测定样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平的试剂; 和

(b) 关于使用该试剂来鉴定可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的用法说明书。

93. 权利要求91或92的试剂盒, 其中该患者是人患者。

用于癌症的诊断和治疗方法

[0001] 序列表

[0002] 本申请含有序列表,已经以ASCII格式电子提交且据此通过援引完整收录。2017年6月7日创建的所述ASCII拷贝命名为50474-141W02_Sequence_Listing_6.7.17_ST25,而且大小为201,338个字节。

发明领域

[0003] 本发明涉及用于使用H3K27甲基化的抑制剂治疗增殖性细胞病症(例如癌症)的诊断和治疗方法。还提供的是相关试剂盒和组合物。

[0004] 发明背景

[0005] 癌症仍然是人类健康的最致命威胁之一。某些癌症能以不受控制的方式快速生长和转移,使得及时检测和治疗极其困难。在美国,癌症每年侵袭几乎130万新患者,而且是位居心脏病之后的第二位死亡原因,大约占四例死亡中的一例。

[0006] 大约20%的人癌症与SWI/SNF复合物(一种通过破坏组蛋白-DNA接触影响基因调节的染色质重塑复合物)的亚基中的体细胞突变有关。SWI/SNF复合物由大约12个亚基构成,由两个互相排斥的催化性ATP酶亚基,SMARCA4 (BRG1) 和SMARCA2 (BRM);数个另外的核心复合物成员,包括SMARCB1 (SNF5, INI1), SMARCC1, 和SMARCC2;和两种SWI/SNF复合物独有的亚基(即BAF复合物的ARID1A亚基和PBAF复合物的ARID2和PBRM1亚基)组成。一般而言,尚未表征由特定SWI/SNF突变引起的肿瘤发生的根本机制。

[0007] SWI/SNF复合物的一种拮抗剂,polycomb阻抑性组2 (PRC2) 复合物,含有组蛋白甲基转移酶EZH2,其牵涉经由组蛋白3处赖氨酸27 (H3K27) 的甲基化的转录沉默。在一些情况中,靶向EZH2能提供抗肿瘤益处,尽管缺乏相关诊断性生物标志物。

[0008] 如此,仍然需要开发用于诊断和治疗最适合包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)的治疗的患者群体的改良方法。

[0009] 发明概述

[0010] 本发明提供用于治疗增殖性细胞病症(例如癌症)的诊断和治疗方法,试剂盒,和组合物。

[0011] 在一个方面,本发明的特征是一种鉴定可能受益于包含一种或多种组蛋白3赖氨酸27 (H3K27) 甲基化的抑制剂的治疗的具有癌症的患者的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平,其中与参照表达水平相比该样品中SMARCA2的降低的表达水平将该患者鉴定为可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者。

[0012] 在另一个方面,本发明的特征是一种为具有癌症的患者的治疗优化治疗功效的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平,其中与参照表达水平相比该样品中SMARCA2的降低的表达水平指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

[0013] 在另一个方面,本发明的特征是一种预测具有癌症的患者对包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的响应性的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中

SMARCA2的表达水平,其中与参照表达水平相比该样品中SMARCA2的降低的表达水平指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

[0014] 在另一个方面,本发明的特征是一种为具有癌症的患者选择治疗的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平,其中与参照表达水平相比该样品中SMARCA2的降低的表达水平指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

[0015] 在任何前述方面的一些实施方案中,自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低至少约10%。在一些实施方案中,自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低至少约25%。在一些实施方案中,自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低至少约50%。在一些实施方案中,自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低至少约75%。在一些实施方案中,自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低至少约90%。该SMARCA2的表达水平可以是中值表达水平或均值表达水平。在一些实施方案中,该参照表达水平选自(i)在在先时间点自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平;(ii)参照群体中SMARCA2的表达水平;或(iii)SMARCA2的预指派表达水平组成的组。该参照SMARCA2的表达水平可以是中值表达水平或均值表达水平。

[0016] 在任何前述方面的一些实施方案中,该SMARCA2的表达水平是mRNA表达水平。在一些实施方案中,该mRNA表达水平是通过RNA-Seq,PCR,qPCR,RT-PCR,原位杂交,基因表达概况分析,基因表达系列分析,或微阵列分析测定的。在一些实施方案中,该mRNA表达水平是通过RNA-Seq测定的。在一些实施方案中,该mRNA表达水平是通过qPCR测定的。在一些实施方案中,该表达水平是蛋白质表达水平。在一些实施方案中,该蛋白质表达水平是使用选自免疫组织化学(IHC),免疫荧光,质谱术,流式细胞术,和Western印迹组成的组的方法测定的。在一些实施方案中,该蛋白质表达水平是通过IHC测定的。

[0017] 在任何前述方法的一些实施方案中,自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低且该方法进一步包含对该患者施用治疗有效量的一种或多种H3K27甲基化的抑制剂。在一些实施方案中,施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂是在测定SMARCA2的表达水平之后。在其它实施方案中,施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂是在测定SMARCA2的表达水平之前。

[0018] 在另一个方面,本发明的特征是一种治疗具有癌症的患者的方法,该方法包含对该患者施用治疗有效量的一种或多种H3K27甲基化的抑制剂,其中自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平已经测定是与参照表达水平相比降低的。

[0019] 在任何前述方法的一些实施方案中,本发明进一步包括测定自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27三甲基化(H3K27me₃))。占据水平可以是自患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的甲基化(例如单甲基化,二甲基化,或三甲基化)(例如H3K27me₃)。

[0020] 在另一个实施方案,本发明的特征是一种鉴定可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的具有癌症的患者的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me₃),其中与参照占据水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me₃)将该患者鉴定为可能受益于包含一种

或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的。

[0021] 在另一个实施方案,本发明的特征是一种为具有癌症的患者的治疗优化治疗功效的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3),其中与参照占据水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的

治疗。

[0022] 在另一个实施方案,本发明的特征是一种预测具有癌症的患者对包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的响应性的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3),其中与参照占据水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的

治疗。

[0023] 在另一个实施方案,本发明的特征是一种为具有癌症的患者选择治疗的方法,该方法包含测定自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3),其中与参照占据水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)指示该患者具有升高的可能性受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的

治疗。

[0024] 在一些实施方案中,自患者获得的样品中H3K27的占据水平(例如H3K27me3)相对于参照占据水平升高至少约10%。在一些实施方案中,自患者获得的样品中H3K27的占据水平(例如H3K27me3)相对于参照占据水平升高至少约50%。在一些实施方案中,自患者获得的样品中H3K27的占据水平(例如H3K27me3)相对于参照占据水平升高至少约100%。在一些实施方案中,自患者获得的样品中H3K27的占据水平(例如H3K27me3)相对于参照占据水平升高至少约500%。在一些实施方案中,自患者获得的样品中H3K27的占据水平(例如H3K27me3)相对于参照占据水平升高至少约1,000%。该SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)可以是中值表达水平或均值表达水平。在一些实施方案中,该参照占据水平选自(i)在在先时间点自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3);(ii)参照群体中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3);或(iii)SMARCA2启动子处H3K27的预指派占据水平(例如H3K27me3)组成的组。该SMARCA2启动子处H3K27的参照占据水平(例如H3K27me3)可以是中值表达水平或均值表达水平。该SMARCA2启动子处H3K27的参照占据水平(例如H3K27me3)可以通过ChIP-seq或ChIP-PCR测定的。

[0025] 在一些实施方案中,SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)相对于参照占据水平升高且该方法进一步包含对该患者施用治疗有效量的一种或多种H3K27甲基化的抑制剂。在一些实施方案中,施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂是在测定SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)之后。在一些实施方案中,施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂是在测定SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)之前。

[0026] 在另一个方面,本发明的特征是一种治疗具有癌症的患者的方法,该方法包含对该患者施用治疗有效量的一种或多种H3K27甲基化的抑制剂,其中自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)已经测定是与参照占据水平相比升高的。在一些实施方案中,该方法进一步包括测定自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平。

[0027] 在任何前述方面的一些实施方案中,该方法进一步包括鉴定一种或多种编码核小体重塑蛋白的基因中的突变。在一些实施方案中,该核小体重塑蛋白是SWI/SNF家族蛋白。在一些实施方案中,该SWI/SNF家族蛋白是BRG1,SNF5 (INI1),SWI/SNF复合物155kDa亚基,SWI/SNF复合物170kDa亚基,BAF,zipzap蛋白,或BAF180。在一些实施方案中,该一种或多种编码SWI/SNF家族蛋白的基因选自由SMARCA4,SMARCB1,SMARCC1,SMARCC2,ARID1A,ARID2,和PBRM1组成的组。

[0028] 在任何前述方面的一些实施方案中,该自患者获得的样品是细胞样品,组织样品,全血样品,血浆样品,或血清样品。在一些实施方案中,该样品是肿瘤细胞样品。在一些实施方案中,该样品是肿瘤组织样品。

[0029] 在任何前述方面的一些实施方案中,该癌症包含一种或多种编码SWI/SNF家族蛋白的基因中的突变(例如与一种或多种编码SWI/SNF家族蛋白的基因中的突变相关或以其为特征的癌症)。在一些实施方案中,该一种或多种编码SWI/SNF家族蛋白的基因选自由SMARCA4,SMARCB1,SMARCC1,SMARCC2,ARID1A,ARID2,和PBRM1组成的组。在一些实施方案中,该癌症包含SMARCA4,SMARCB1,或ARID1A中一种或多种中的突变。

[0030] 在任何前述方面的一些实施方案中,该癌症选自由卵巢癌(例如卵巢小细胞癌,例如高钙血型卵巢小细胞癌),肺癌,胃的癌,膀胱癌,乳腺癌,皮肤癌,结肠直肠癌,胃癌,淋巴瘤,宫颈癌,腹膜癌,胰腺癌,成胶质细胞瘤,肝癌,膀胱癌,结肠癌,直肠癌,子宫内膜癌,子宫癌,唾液腺癌,肾癌,前列腺癌,外阴癌,甲状腺癌,肛门癌,阴茎癌,和头和颈癌组成的组。在一些实施方案中,该癌症是卵巢癌。在一些实施方案中,该卵巢癌是卵巢透明细胞癌。在一些实施方案中,该卵巢癌是卵巢小细胞癌,例如高钙血型卵巢小细胞癌。在一些实施方案中,该癌症是肺癌。在一些实施方案中,该癌症是胃癌。在一些实施方案中,该癌症是膀胱癌。在一些实施方案中,该癌症是横纹肌样(rhabdoid)癌。在一些实施方案中,该横纹肌样癌是肾癌或脑癌。在一些实施方案中,该横纹肌样癌是恶性横纹肌样癌。在一些实施方案中,该恶性横纹肌样癌是SMARCB1突变型恶性横纹肌样癌。

[0031] 在任何前述方面的一些实施方案中,该一种或多种H3K27甲基化的抑制剂包含H3K27甲基化的抑制剂。在一些实施方案中,该H3K27甲基化的抑制剂是EZH2抑制剂。在一些实施方案中,该EZH2抑制剂是小分子。在一些实施方案中,该EZH2抑制剂选自由EPZ-6438,CPI-169,CPI-1205,EPZ005687,GSK-126,GSK343,和GSK503组成的组。在一些实施方案中,该EZH2抑制剂是EPZ-6438。在一些实施方案中,该EZH2抑制剂是CPI-169。在一些实施方案中,该EZH2抑制剂是CPI-1205。

[0032] 在一些实施方案中,该一种或多种H3K27甲基化的抑制剂破坏polycomb阻抑性复合物2 (PRC2) 的形成或活性。在一些实施方案中,该一种或多种H3K27甲基化的抑制剂包含SUZ12拮抗剂,EED拮抗剂,或jumonji拮抗剂。

[0033] 在一些实施方案中,该方法包括对该患者施用第一H3K27甲基化的抑制剂和第二H3K27甲基化的抑制剂。在一些实施方案中,该第一H3K27甲基化的抑制剂和该第二H3K27甲基化的抑制剂是共施用的。在其它实施方案中,该第一H3K27甲基化的抑制剂和该第二H3K27甲基化的抑制剂是顺序施用的。

[0034] 在一些实施方案中,该方法包括对该患者施用另外的治疗剂。在一些实施方案中,该另外的治疗剂是抗癌剂。在一些实施方案中,该另外的治疗剂和该一种或多种H3K27甲基

化的抑制剂是共施用的。在一些实施方案中,该另外的治疗剂和该一种或多种H3K27甲基化的抑制剂是顺序施用的。在一些实施方案中,该抗癌剂选自化疗剂,生长抑制剂,细胞毒剂,放射疗法中使用的药剂,抗血管发生剂,凋亡剂,抗微管蛋白剂,和免疫疗法剂组成的组。在一些实施方案中,该抗癌剂是化疗剂。

[0035] 在另一个方面,本发明的特征是一种组合物,其包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂,供一种治疗罹患癌症的患者的方法中使用,其中自该患者获得的样品已经测定是样品中具有与参照表达水平相比降低的SMARCA2的表达水平。

[0036] 在另一个方面,本发明的特征是一种组合物,其包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂,供一种治疗罹患癌症的患者的方法中使用,其中自该患者获得的样品已经测定是样品中具有与参照占据水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)。

[0037] 在另一个方面,本发明的特征是一种用于鉴定可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的试剂盒,该试剂盒包含:(a)能够测定样品中SMARCA2的表达水平的多肽或多核苷酸;和(b)关于使用该多肽或多核苷酸来鉴定可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的用法说明书。

[0038] 在另一个方面,本发明的特征是一种用于鉴定可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的试剂盒,该试剂盒包含:(a)能够测定样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)的试剂;和(b)关于使用该试剂来鉴定可能受益于包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的用法说明书。

[0039] 在任何前述方面的一些实施方案中,该患者是人患者。

[0040] 附图简述

[0041] 图1A是示意性板图,显示图1B和1C中使用的实验设置。在每个孔中标示EPZ-6438的浓度。

[0042] 图1B是板的成对照片,显示对照(即非SMARCA4突变型细胞)响应渐增剂量的EPZ-6438的集落形成。

[0043] 图1C是板的系列照片,显示EPZ-6438敏感性和EPZ抗性SMARCA4突变型细胞响应渐增剂量的EPZ-6438的集落形成。TOV-112D和COV434是卵巢癌细胞系;SNU-484是胃癌细胞系;NCI-H1703,NCI-H522,NCI-H661,H1299,A549,NCI-H1568,和HCC-15是肺癌细胞系;而UM-UC-3是膀胱癌细胞系。使用SNF5突变型G401细胞和ARID1A突变型A2780细胞作为对照。

[0044] 图2A是示意性板图,显示图2B和2C中使用的实验设置。在每个孔中标示药物的浓度。

[0045] 图2B是系列照片,显示EPZ-6438敏感性细胞系,SNU-484和TOV112D响应渐增剂量的各种EZH2抑制剂:EPZ-6438,CPI-169,和GSK126的集落形成。使用组蛋白脱乙酰基酶抑制剂,trichostatin A(TSA)作为阳性对照。

[0046] 图2C是系列照片,显示EPZ-6438抗性细胞系,H1299和A549响应渐增剂量的各种EZH2抑制剂:EPZ-6438,CPI-169,和GSK126的集落形成。使用组蛋白脱乙酰基酶抑制剂,trichostatin A(TSA)作为阳性对照。

[0047] 图3A是系列照片,显示通过CRISPR的EZH2的遗传删除对EPZ-6438抗性细胞系:RMG,ES-2,OVISE,H1299,和A549的蛋白质表达和集落形成的影响。对在用靶向EZH2或荧光素酶(gLuc)的慢病毒引导RNA感染后的早期(1周)和稍晚(2周)时间点收集的裂解物进行

Western印迹。

[0048] 图3B是系列照片,显示通过CRISPR的EZH2的遗传删除对EPZ-6438敏感性细胞系:TOV-21G和TOV-112D的蛋白质表达和集落形成的影响。对在用靶向EZH2或萤光素酶(gLuc)的慢病毒引导RNA感染后的早期(1周)和稍晚(2周)时间点收集的裂解物进行Western印迹。

[0049] 图4A是系列照片,显示在用5 μ M EPZ-6438或DMSO对照处理21天后指定细胞系的形态变化。

[0050] 图4B是系列柱状图,显示在处理7天和13天之后用渐增剂量的EPZ-6438(0 μ M,0.74 μ M,2.2 μ M,和6.7 μ M)处理指定细胞系后的胱天蛋白酶3/7活化。作为一式三份样品间胱天蛋白酶3/7荧光细胞计数相对于DMSO对照的平均倍数变化(fc)呈现数据。误差棒代表标准偏差。

[0051] 图4C是用指定浓度的EPZ-6438处理7天后活性胱天蛋白酶3/7阳性细胞的系列荧光图像。

[0052] 图4D是系列照片,显示代表性SMARCA4突变型细胞系中针对 β -半乳糖苷酶的染色。

[0053] 图4E是柱状图,显示EPZ-6438介导的对DNA合成的抑制,如通过处理8周后,相对于EPZ-6438抗性细胞系NCI-H1568,NCI-H522细胞中的5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(Edu)掺入测量的。灰色柱代表DMSO对照。黑色柱代表EPZ-6438处理。

[0054] 图4F是显示一天两次口服施用EPZ-6438处理23天后对NCI-H522异种移植物的体内生长的剂量依赖性抑制的图。实心圆圈代表该媒介对照,正方形代表30mg/kg的剂量,三角形代表100mg/kg的剂量,而空心圆圈指示450mg/kg的剂量。作为肿瘤体积在时间上的三次回归样条呈现数据。

[0055] 图4G是系列Western印迹,作为在第7天,一天两次口服施用指定剂量的EPZ-6438后3小时自一队动物收集的NCI-H522肿瘤异种移植组织中靶物抑制的结果显示H3K27甲基化。

[0056] 图5是系列免疫印迹,显示EPZ-6438敏感性细胞和EPZ-6438抗性细胞的各种经修饰组蛋白,以及EZH2和SUZ12的表达。组蛋白3(H3)充当阳性对照。

[0057] 图6是系列免疫印迹,显示渐增剂量的EPZ-6438对处理6天后EPZ-6438敏感性细胞和EPZ-6438抗性细胞的经修饰组蛋白(单,二,和三甲基化形式的H3K27)表达的影响。

[0058] 图7是在EPZ-6438敏感性(n=6)和抗性(n=5)SMARCA4突变型模型之间最差异表达($\log_2$ 倍数变化 >1 , $p \leq 0.05$)的基因的有监督分析图。作为自 $\log_2$ rpkm(读出每千碱基每百万定位读出)推导的z-得分报告表达估值。

[0059] 图8是系列免疫印迹,显示EPZ-6438敏感性细胞和EPZ-6438抗性细胞的各种SWI/SNF复合物成员的蛋白质表达。ARID1A突变型A2780细胞系充当SMARCA4免疫印迹的对照。

[0060] 图9是柱状图,显示在基线时(黑色点)和6天(实心柱)和10天(空心柱)之后响应EPZ-6438处理的EPZ-6438敏感性细胞和EPZ-6438抗性细胞的SMARCA2mRNA的表达。

[0061] 图10A是基因组浏览器图,显示在EPZ-6438敏感性SNU-484和TOV-112D细胞系中,而非在EPZ-6438抗性H1299细胞系中H3K27me3对SMARCA2启动子的结合。

[0062] 图10B是相对于H1299细胞在TOV-112D细胞中显示受到H3K27me3结合的SMARCA2启动子区域的放大视图。

[0063] 图11是显示SMARCA4突变型癌细胞系间SMARCA2基因启动子中三个位置(圆圈=

chr9:2015841-2015938; 正方形=chr9:2016847-2016917; 而三角形=chr9:2016214-201633) 和对照区域 (肌动蛋白启动子) 处H3K27me3 ChIP DNA富集的定量PCR分析的结果的图。作为在输入裂解物中观察到的水平的百分比, Y轴代表H3K27me3IP中该区域的平均富集。误差棒指示自两份独立免疫沉淀估算的均值的标准偏差。

[0064] 图12是柱状图, 显示在EPZ-6438抗性H1299细胞系中和在EPZ-6438敏感性TOV-112D细胞系中相对于对照区域 (灰色和白色柱) SMARCA2启动子 (黑色柱) 处H3K27三甲基化 (H3K27me3) 的ChIP-PCR读出。两个没有HeK27me3的基因区域的对照IgG免疫沉淀和PCR充当对照。

[0065] 图13是柱状图, 显示在TOV-112D细胞中响应DMSO (白色柱) 或EPZ-6438 (黑色柱) 的SMARCA2启动子和两个对照区域处H3K27me3的ChIP-PCR读出。

[0066] 图14A是一组板照片, 显示已经经历SMARCA2 (BRM) 遗传敲除的野生型细胞响应EPZ-6438的集落形成。

[0067] 图14B是一组免疫印迹, 显示相对于组蛋白3对照, 图10A的细胞的SMARCA2蛋白质的表达。

[0068] 图15A是免疫印迹, 显示不溶性核级分中强力霉素对螺旋酶表达的影响。用0.5μg/mL强力霉素处理4天后, 将细胞分级成细胞溶胶级分, 可溶性核级分, 和不溶性核级分。GAPDH充当细胞溶胶级分的对照, H3充当不溶性核级分的对照, 而PARP充当可溶性和不溶性核级分的对照。

[0069] 图15B是免疫印迹, 显示SMARCA2或SMARCA4的SMARCC1免疫沉淀的结果, 显示强力霉素诱导的螺旋酶能与核心SWI/SNF复合物蛋白再联合。

[0070] 图16A是散点图, 显示TOV-112D细胞中强力霉素 (dox) 诱导的SMARCA2 (x轴) 和SMARCA4 (y轴) 表达后所有基因的log2倍数表达变化估值。在诱导任一螺旋酶后显著差异表达的基因集合显著交叠 ($P < 2e-16$, Fisher氏精确检验)。自这项分析过滤载体对照TOV-112D细胞中受到dox处理非特异性影响的基因。

[0071] 图16B是Venn图, 描绘TOV-112D细胞中dox诱导的SMARCA4或SMARCA2表达, 或用1μM EPZ-6438处理 (+EZH2i) 后显著差异表达 ($\log_2 fc \geq 1$, $p < 0.05$) 的基因之间的交叠。

[0072] 图17A是系列免疫印迹, 显示靶向SMARCA2的shRNA (shBRM) 或非靶向性对照 (shNTC) 表达后EPZ-6438敏感性细胞系G401中各种剂量的EPZ-6438对经修饰组蛋白表达的影响。

[0073] 图17B是系列板照片, 显示在表达shNTC或shBRM的细胞中G401细胞响应渐增浓度的EPZ-6438的集落形成。

[0074] 图17C是系列免疫印迹, 显示靶向SMARCA2的shRNA (shBRM) 或非靶向性对照 (shNTC) 表达后EPZ-6438敏感性细胞系COV434中各种剂量的EPZ-6438对H3K27me3表达的影响。

[0075] 图17D是一组板照片, 显示在表达shNTC或shBRM的细胞中COV434细胞响应渐增浓度的EPZ-6438的集落形成。

[0076] 图17E是系列免疫印迹, 显示靶向SMARCA2的shRNA (shBRM) 或非靶向性对照 (shNTC) 表达后EPZ-6438敏感性细胞系SNU-484中各种剂量的EPZ-6438对H3K27me3表达的影响。

[0077] 图17F是一组板照片,显示在表达shNTC或shBRM的细胞中SNU-484细胞响应渐增浓度的EPZ-6438的集落形成。

[0078] 图18A是系列免疫印迹,显示靶向SMARCA2的shRNA (shBRM) 或非靶向性对照 (shNTC) 表达后EPZ-6438敏感性细胞系TOV-112中各种剂量的EPZ-6438对经修饰组蛋白表达的影响。

[0079] 图18B是系列板照片,显示在表达shNTC或shBRM的细胞中TOV-112D细胞响应渐增浓度的EPZ-6438的集落形成。

[0080] 图18C是显示相对于经shNTC处理的TOV-112D细胞,经shBRM处理的TOV-112D细胞中响应渐增浓度的EPZ-6438的胰天蛋白酶3/7活性的剂量依赖性诱导的图。

[0081] 图19A是作为三个分开的已经遗传消融SMARCA2的TOV-112D克隆中渐增浓度的EPZ-6438的结果显示胰天蛋白酶3/7活性的倍数变化 (fc) 的图。自用表达靶向SMARCA2的配对引导RNA的载体转染的TOV-112D细胞生成克隆。Ctrl-P指示亲本稳定Cas9细胞,而gCtrl-1和gCtrl-2指示展现没有SMARCA2删除的克隆。

[0082] 图19B是系列免疫印迹,显示EPZ-6438对来自图19A的克隆的影响,以确认EPZ-6438诱导SMARCA2表达的能力。

[0083] 图19C是散点图,描绘表达非靶向性shRNA (x轴) 或SMARCA2靶向性shRNA (y轴) 的TOV-112D细胞中用5 μ M EPZ-6438处理后所有基因的log₂倍数表达变化估值。估值是自三份独立处理每种细胞系推导的。

[0084] 图19D是热图,描绘受到SMARCA2敲除或shRNA介导的敲低显著遏制的EPZ-6438诱导的基因的Z-得分标准化的表达。shBRM和gBRM分别指shSMARCA2或SMARCA2引导RNA。

[0085] 图19E是柱状图,显示用5 μ M EPZ-6438处理后表达稳定的靶向SMARCA2的shRNA的TOV-112D细胞中和经由CRISPR改造成遗传消融SMARCA2表达的克隆中的组织蛋白酶B (CTSB) mRNA水平。

[0086] 图19F是用EPZ-6438处理后表达靶向SMARCA2的shRNA或三种分开的靶向CTSB的shRNA的TOV112D细胞关于SMARCA2和CTSB的表达的免疫印迹。H3K27me₃充当EPZ-6438处理的对照。

[0087] 图19G是显示响应渐增浓度的EPZ-6438的胰天蛋白酶3/7活性的图,显示靶向CTSB的shRNA的表达显著遏制用EPZ-6438处理后胰天蛋白酶3/7的活化。

[0088] 图20是系列荧光图像,显示相对于ARID1A野生型细胞系,ARID1A突变型细胞系响应EZH2抑制剂:EPZ-6438和CPI-169的集落形成。

[0089] 图21是系列照片,显示在一组ARID1A突变型癌细胞系间用各种剂量的EPZ-6438处理对克隆发生性生长的影响,其中一个子集对EPZ-6438敏感。剂量给药进度表与图1A中所示相同。

[0090] 图22是系列免疫印迹和显示集落形成的照片,显示在ARID1A突变型和野生型细胞中遗传消融EZH2在表型上复制 (phenocopy) EPZ-6438对集落形成的影响。用表达靶向EZH2 (gEZH2-#4, #5) 或作为阴性对照的萤光素酶 (gLuc-#1, #2) 的引导RNA的慢病毒感染稳定表达Cas9的细胞。对在感染后的早期 (1周) 和晚期 (2周) 时间点收集的裂解物实施针对EZH2和它的底物H3K27me₃的免疫印迹。在2周时间点对集落形成成像。

[0091] 图23A是显示细胞数的系列柱状图和相应的显示集落形成的照片,描绘EZH2甲基

转移酶抑制剂CPI-169对ARID1A突变型卵巢细胞系的集落形成的影响。使用SYTO60红色荧光核酸染料对集落染色。对于柱状图,自平行培养板对细胞计数。

[0092] 图23B是显示细胞数的系列柱状图和相应的显示集落形成的照片,描绘EZH2甲基转移酶抑制剂CPI-169对ARID1A野生型卵巢细胞系的集落形成的影响。使用SYTO60红色荧光核酸染料对集落染色。对于柱状图,自平行培养板对细胞计数。

[0093] 图24是显示在ARID1A突变型细胞系中使用EPZ-6438或CPI-169的EZH2抑制对腺泡形成的影响的系列照片,证明另外对EPZ-6438关于克隆发生性生长的效果有抗性的两种ARID1A突变型细胞系(OVTOKO和OVISE)中活性的缺乏。A2780细胞充当阳性对照,演示EZH2介导的对克隆发生性生长和腺泡形成二者的抑制。

[0094] 图25是显示在TOV-21G异种移植物中响应一天两次施用指定剂量的EPZ-6438达28天的体内肿瘤体积(mm^3)随时间的图。作为以自然尺度绘图的随时间的肿瘤体积的三次回归样条呈现数据。

[0095] 图26是检测H3K27me3的系列免疫印迹,证明在第7天,一天两次口服施用指定剂量的EPZ-6438后3小时自一队动物收集的TOV-21G肿瘤异种移植物组织中的靶物抑制。

[0096] 图27A是显示EPZ-6438敏感性,SNF5突变型细胞(深色圆圈);EPZ-6438敏感性,SMARCA4突变型细胞(深色正方形);EPZ-6438敏感性,ARID1A突变型细胞(深色三角形);EPZ-6438抗性,SMARCA4突变型细胞(浅色圆圈);EPZ-6438抗性,ARID1A突变型细胞(浅色正方形);和野生型(WT)细胞(浅色圆圈)中SMARCA2mRNA的组成性表达的图。

[0097] 图27B是显示EPZ-6438敏感性细胞较之EPZ-6438抗性细胞中SMARCA2mRNA的组成性表达的图。

[0098] 图28A是显示SMARCB1突变型恶性横纹肌样肿瘤(MRT)细胞系响应用EPZ-6438($5\mu\text{M}$)或DNA甲基转移酶抑制剂5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-Aza; $1\mu\text{M}$)处理6天的EZH2,SMARCA2,和TKTL1表达水平的倍数变化的图。EZH2mRNA是阴性对照而TKTL1mRNA是5-Aza处理的对照。

[0099] 图28B是系列免疫印迹,显示SMARCB1突变型MRT细胞响应EPZ-6438($5\mu\text{M}$)或5-Aza($1\mu\text{M}$)的SMARCA2和H3K27me3表达。

[0100] 图29是显示相对于基线表达(黑色点)EPZ-6438敏感性和EPZ-6438抗性ARID1A突变型细胞系中响应用EPZ-6438处理6天($5\mu\text{M}$;灰色柱)的SMARCA2表达的倍数变化的图。Hec-1A和SK-OV-3是对EPZ-6438处理不敏感的ARID1A突变型细胞系。RMG-1细胞是ARID1A野生型且对EPZ-6438不敏感。

[0101] 发明详述

[0102] I. 前言

[0103] 本发明提供用于增殖性细胞病症(例如癌症(例如横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样癌,例如恶性横纹肌样脑癌或恶性横纹肌样肾癌)),卵巢癌,肺癌,胃癌,膀胱癌,乳腺癌,皮肤癌,结肠直肠癌,胃癌,淋巴样癌,宫颈癌,腹膜癌,胰腺癌,成胶质细胞瘤,肝癌,膀胱癌,结肠癌,子宫内膜癌,子宫癌,肾癌,前列腺癌,甲状腺癌,和头和颈癌))的治疗的诊断方法,治疗方法,和组合物。本发明至少部分基于发现SMARCA2表达水平可在预测对包括H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)的治疗的敏感性;为包括H3K27甲基化的抑制剂的治疗优化治疗功效;为具有癌症的患者选择牵涉施用H3K27甲基化的抑制剂的疗法;和用包括H3K27甲基化的抑制剂的疗法治疗具有癌症的患者的方法中用作生物标志物(例如预测性

生物标志物)。在一些情况中,SMARCA2的降低的表达水平(例如阻抑)可用于预测对包括H3K27甲基化的抑制剂的治疗的响应性。在其它情况中,SMARCA2启动子处H3K27的升高的占据水平(例如H3K27三甲基化(H3K27me3))可用于预测对包括H3K27甲基化的抑制剂的治疗的响应性。本发明还提供使用SMARCA2的表达水平或甲基化状态作为预后生物标志物的方法,因为具有低SMARCA2表达的患者可预期具有比具有更高SMARCA2表达的患者要好的对H3K27甲基化的抑制剂的响应。类似地,具有高SMARCA2启动子处H3K27占据水平(例如H3K27me3)的患者可预期具有比具有低占据水平的患者要好的对H3K27甲基化的抑制剂的响应。

[0104] II. 定义

[0105] 要理解的是,本文中描述的发明的各个方面和实施方案包括“包含”,“由……组成”,和“本质上由……组成”方面和实施方案。如本文中使用的,单数形式“一个”,“一种”,和“所述/该”包括复数提及物,除非另外指明。

[0106] 如本文中使用的术语“约”指此技术领域中的技术人员容易知道的相应数值的通常误差范围。本文中提到“约”数值或参数包括(且描述)涉及该数值或参数本身的实施方案。

[0107] 如本文中使用的,术语“SWI/SNF复合物蛋白”或“SWI/SNF家族蛋白”可互换使用,指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的SWI/SNF(转换/蔗糖不可发酵)复合物的一个成员,除非另外指明。例示性的SWI/SNF复合物蛋白是BRG1,SNF5(INI1),SWI/SNF复合物155kDa亚基,SWI/SNF复合物170kDa亚基,BAF,zipzap蛋白,和BAF180。例示性的编码SWI/SNF家族蛋白的基因是SMARCA4,SMARCB1,SMARCC1,SMARCC2,ARID1A,ARID2,和PBRM1。

[0108] 如本文中使用的,术语“SMARCA2”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然SMARCA2(染色质的SWI/SNF相关,基质联合,肌动蛋白依赖性调节物,亚家族A,成员2),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的SMARCA2以及源自细胞中加工的任何形式的SMARCA2。该术语还涵盖SMARCA2的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人SMARCA2的核酸序列在SEQ ID NO:1中列出。人SMARCA2编码蛋白brahma同系物(BRM),它的一种例示性氨基酸序列在SEQ ID NO:13中显示。

[0109] 如本文中使用的,术语“SMARCA4”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然SMARCA4(染色质的SWI/SNF相关,基质联合,肌动蛋白依赖性调节物,亚家族A,成员4),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的SMARCA4以及源自细胞中加工的任何形式的SMARCA4。该术语还涵盖SMARCA4的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人SMARCA4的核酸序列在SEQ ID NO:2中列出。人SMARCA4编码蛋白BRG1,它的一种例示性氨基酸序列在SEQ ID NO:14中显示。

[0110] 如本文中使用的,术语“SMARCB1”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然SMARCB1(染色质的SWI/SNF相关,基质联合,肌动蛋白依赖性调节物,亚家族B,成员1),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的SMARCB1以及源自细胞中加工的任何形式的SMARCB1。该术语还涵盖SMARCB1

的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人SMARCB1的核酸序列在SEQ ID NO:3中列出。人SMARCB1编码蛋白SNF5 (INI1),它的一种例示性氨基酸序列在SEQ ID NO:15中显示。

[0111] 如本文中使用的,术语“SMARCC1”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然SMARCC1(染色质的SWI/SNF相关,基质联合,肌动蛋白依赖性调节物,亚家族C,成员1),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的SMARCC1以及源自细胞中加工的任何形式的SMARCC1。该术语还涵盖SMARCC1的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人SMARCC1的核酸序列在SEQ ID NO:4中列出。人SMARCC1编码SWI/SNF复合物的155kDa亚基,它的一种例示性氨基酸序列在SEQ ID NO:16中显示。

[0112] 如本文中使用的,术语“SMARCC2”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然SMARCC2(染色质的SWI/SNF相关,基质联合,肌动蛋白依赖性调节物,亚家族C,成员2),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的SMARCC2以及源自细胞中加工的任何形式的SMARCC2。该术语还涵盖SMARCC2的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人SMARCC2的核酸序列在SEQ ID NO:5中列出。人SMARCC2编码SWI/SNF复合物的170kDa亚基,它的一种例示性氨基酸序列在SEQ ID NO:17中显示。

[0113] 如本文中使用的,术语“ARID1A”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然ARID1A(富AT的相互作用域1A(SWI样)),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的ARID1A以及源自细胞中加工的任何形式的ARID1A。该术语还涵盖ARID1A的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人ARID1A的核酸序列在SEQ ID NO:6中列出。人ARID1A编码蛋白BAF250a,它的一种例示性氨基酸序列在SEQ ID NO:18中显示。

[0114] 如本文中使用的,术语“ARID2”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然ARID2(富AT的相互作用域2(ARID,RFX样)),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的ARID2以及源自细胞中加工的任何形式的ARID2。该术语还涵盖ARID2的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人ARID2的核酸序列在SEQ ID NO:7中列出。人ARID2编码zipzap蛋白,它的一种例示性氨基酸序列在SEQ ID NO:19中显示。

[0115] 如本文中使用的,术语“PBRM1”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然PBRM1(Polybromo 1),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的PBRM1以及源自细胞中加工的任何形式的PBRM1。该术语还涵盖PBRM1的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人PBRM1的核酸序列在SEQ ID NO:8中列出。人PBRM1编码蛋白BAF180,它的一种例示性氨基酸序列在SEQ ID NO:20中显示。

[0116] 如本文中使用的,术语“PRC2”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的PCR2(polycomb阻抑性复合物2)的一个成员,除非另外指明。例示性PRC2蛋白是EZH2,SUZ12,EED,和jumonji。

[0117] 如本文中使用的,术语“EZH2”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长

动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然EZH2(zeste 2Polycomb阻抑性复合物2的增强物),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的EZH2以及源自细胞中加工的任何形式的EZH2。该术语还涵盖EZH2的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人EZH2的核酸序列在SEQ ID NO:9中列出。由人EZH2基因编码的一种例示性EZH2蛋白的氨基酸序列在SEQ ID NO:21中显示。

[0118] 如本文中使用的,术语“SUZ12”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然SUZ12(SUZ12Polycomb阻抑性复合物2亚基),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的SUZ12以及源自细胞中加工的任何形式的SUZ12。该术语还涵盖SUZ12的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人SUZ12的核酸序列在SEQ ID NO:10中列出。由人SUZ12基因编码的一种例示性SUZ12蛋白的氨基酸序列在SEQ ID NO:22中显示。

[0119] 如本文中使用的,术语“EED”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然EED(胚胎外胚层发育),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的EED以及源自细胞中加工的任何形式的EED。该术语还涵盖EED的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人EED的核酸序列在SEQ ID NO:11中列出。由人EED基因编码的一种例示性EED蛋白的氨基酸序列在SEQ ID NO:23中显示。

[0120] 如本文中使用的,术语“JARID2”指来自任何脊椎动物来源,包括哺乳动物,诸如灵长动物(例如人)和啮齿动物(例如小鼠和大鼠)的任何天然JARID2(Jumonji,富AT的相互作用域2),除非另外指明。该术语涵盖“全长”,未加工的JARID2以及源自细胞中加工的任何形式的JARID2。该术语还涵盖JARID2的天然发生变体,例如剪接变体或等位变体。一种例示性人JARID2的核酸序列在SEQ ID NO:12中列出。人JARID2编码蛋白jumonji,它的一种例示性氨基酸序列在SEQ ID NO:24中显示。

[0121] 如本文中使用的,术语“H3K27甲基化的抑制剂”指本领域当前知道的或未来会鉴定的任何H3K27甲基化抑制剂,而且包括在施用于患者时导致该患者中与H3K27的三甲基化有关的生物学活性受到抑制的任何化学实体。此类H3K27抑制剂包括但不限于低分子量抑制剂,抗体或抗体片段,反义构建物,小抑制性RNA(即通过dsRNA的RNA干扰;RNAi),和核酶。在一些实施方案中,H3K27抑制剂是EZH2抑制剂。

[0122] 如本文中使用的,术语“EZH2抑制剂”和“EZH2甲基转移酶抑制剂”指本领域当前知道的或未来会鉴定的任何EZH2抑制剂,而且包括在施用于患者时导致该患者中与EZH2活性有关的生物学活性(包括在其它情况中源自EZH2对它的天然配体的结合的任何下游生物学效应)受到抑制的任何化学实体。此类EZH2抑制剂包括能阻断EZH2甲基转移酶或与在患者中治疗癌症有关的EZH2甲基转移酶的任何下游生物学效应的任何药剂。此类抑制剂可通过直接结合EZH2并抑制它的甲基转移酶活性来起作用。或者,此类抑制剂可通过占据polycomb阻抑性复合物2(PRC2)的非EZH2域,由此使得EZH2对染色质不可及,因而它的正常生物学活性受到阻止或降低来起作用。或者,此类抑制剂可通过调控PRC2蛋白的联合,或增强EZH2的遍在蛋白化和胞吞降解来起作用。EZH2抑制剂包括但不限于低分子量抑制剂,抗体或抗体片段,反义构建物,小抑制性RNA(即通过dsRNA的RNA干扰;RNAi),和核酶。在一个实施方案中,EZH2抑制剂是特异性结合人EZH2的小有机分子,诸如EPZ-6438,CPI-169,CPI-

1205, EPZ005687, GSK-126, GSK343, 和GSK503。

[0123] 如本文中使用的,“启动子”包括能够驱动编码序列在培养的细胞,例如哺乳动物细胞中的转录的所有序列。如此,本发明的方法中使用的启动子包括牵涉调节或调控基因(例如SMARCA2)的转录时机和/或速率的顺式作用转录控制元件和调节序列。例如,启动子可以是牵涉转录调节的顺式作用转录控制元件,包括增强子,启动子,转录终止子,复制起点,染色体整合序列,5'和3'非翻译区,或内含子序列。这些顺式作用序列典型地与蛋白或其它生物分子相互作用来进行(开启/关闭,调节,调控,等)转录。

[0124] “患者”或“受试者”在本文中指正正在经历,已经经历,有风险发生细胞增殖性疾病或病症,诸如癌症的一种或多种体征,症状,或其它指标,或具有其家族史的对于治疗适格的动物(包括例如哺乳动物,诸如犬,猫,马,家兔,动物园动物,牛,猪,绵羊,非人灵长动物,和人)。意图作为患者包括的是未显示疾病的任何临床体征的参与临床研究试验,参与流行病学研究,或一度用作对照的任何患者。患者可以是先前用H3K27甲基化的抑制剂,另一种药物治疗过的,或先前未治疗过的。患者可以是在治疗开始时未接触所使用的另外的药物的,即患者在“基线”(即在本文中的治疗方法中施用第一剂H3K27甲基化的抑制剂之前的一个设定时间点,诸如在治疗开始之前筛选受试者的日子)时可以是先前未用例如除了包括H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)的疗法以外的疗法治疗过的。此类“未接触(naive)”患者或受试者一般认为是用此类另外的药物的治疗的候选者。

[0125] 本文中的术语“抗体”以最广义使用且涵盖各种抗体结构,包括但不限于单克隆抗体,多克隆抗体,多特异性抗体(例如双特异性抗体),和抗体片段,只要它们展现期望的抗原结合活性。

[0126] 如本文中可互换使用的,“多核苷酸”或“核酸”指任何长度的核苷酸聚合物且包括DNA和RNA。核苷酸可以是脱氧核糖核苷酸,核糖核苷酸,经修饰的核苷酸或碱基,和/或它们的类似物,或可由DNA或RNA聚合酶,或通过合成反应掺入聚合物的任何底物。如此,例如,如本文中定义的多核苷酸包括但不限于单和双链DNA,包括单和双链区的DNA,单和双链RNA,和包括单和双链区的RNA,包含DNA和RNA的杂合分子,它可以是单链的,或更典型地是双链的,或包括单和双链区。另外,如本文中使用的术语“多核苷酸”指包含RNA或DNA或RNA和DNA二者的三链区。此类区中的链可来自相同分子或来自不同分子。该区可包括一种或多种分子的整个,但是更典型地是只牵涉一些分子的一个区。三股螺旋区的分子之一常常是寡核苷酸。术语“多核苷酸”具体包括cDNA。

[0127] 多核苷酸可包含经修饰的核苷酸,诸如甲基化核苷酸和它们的类似物。如果存在的话,对核苷酸结构的修饰可以在装配聚合物之前或之后给予。核苷酸的序列可以由非核苷酸成分中断。多核苷酸可以在合成之后进一步修饰,诸如通过与标记物缀合。其它类型的修饰包括例如“帽”,将一个或多个天然发生核苷酸用类似物替代,核苷酸间修饰诸如例如那些具有不带电荷连接(例如甲基磷酸酯,磷酸三酯,磷酰胺酯(phosphoamidate),氨基甲酸酯,等等)和具有带电荷连接(例如硫代磷酸酯,二硫代磷酸酯,等等)的,那些含有悬垂模块(pendant moiety),诸如例如蛋白质(例如核酸酶,毒素,抗体,信号肽,聚L-赖氨酸,等等)的,那些具有嵌入剂(例如吡啶,补骨脂素,等等)的,那些含有螯合剂(例如金属,放射性金属,硼,氧化性金属,等等)的,那些含有烷化剂的,那些具有经修饰连接(例如 α 端基异构(anomeric)核酸)的,以及未修饰形式的多核苷酸。另外,通常存在于糖中的任何羟基基团

可以用例如膦酸(phosphonate)基团,磷酸(phosphate)基团替换,用标准保护基团保护,或活化以准备与另外的核苷酸的另外的连接,或可缀合固体或半固体支持物。可磷酸化或用胺或1至20个碳原子的有机加帽基团模块取代5'和3'末端OH。其它羟基也可衍生成标准保护基团。多核苷酸也可含有本领域普遍知道的核糖或脱氧核糖的糖的类似物形式,包括例如2'-O-甲基-,2'-O-烯丙基-,2'-氟-,或2'-叠氮-核糖,碳环糖类似物, α -端基异构糖,差向异构糖诸如阿拉伯糖,木糖或来苏糖,吡喃糖的糖,呋喃糖的糖,景天庚酮糖,无环类似物,和无碱基核苷类似物诸如甲基核糖核苷。可用备选连接基团替换一个或多个磷酸二酯连接。这些备选连接基团包括但不限于以下实施方案,其中磷酸酯用P(O)S(“硫代酸酯”(thioate)),P(S)S(“二硫代酸酯”(dithioate)), $(O)NR_2$ (“酰胺酯”(amidate)),P(O)R,P(O)OR',CO或CH₂(“甲缩醛”(formacetal))替换,其中每个R或R'独立为H或取代或未取代的烷基(1-20个C),任选含有醚(-O-)连接,芳基,烯基,环烷基,环烯基或芳烃基(araldyl)。多核苷酸中的所有连接并非必须是相同的。多核苷酸可含有一处或多处不同类型的如本文中描述的修饰和/或多处相同类型的修饰。前面的描述适用于本文中提及的所有多核苷酸,包括RNA和DNA。

[0128] 如本文中使用的,“寡核苷酸”一般指短的,单链的多核苷酸,其在长度上小于约250个核苷酸,但这不是必须的。寡核苷酸可以是合成的。术语“寡核苷酸”和“多核苷酸”并不互相排斥。上文关于多核苷酸的描述同等且完全可适用于寡核苷酸。

[0129] 术语“引物”指能够与核酸杂交且容许互补核酸聚合(一般通过提供游离的3'-OH基团)的单链多核苷酸。

[0130] 术语“小分子”指具有约2000道尔顿或更小(例如约1500道尔顿或更小,或约1000道尔顿或更小),优选约750道尔顿或更小(例如介于约450-650道尔顿之间,例如介于约500-600道尔顿之间,例如介于约525-575道尔顿之间)的分子量的任何分子。

[0131] 术语“检测”包括任何检测手段,包括直接和间接检测。

[0132] 如本文中使用的术语“生物标志物”指能在样品中检测的指标分子或分子集合(例如预测,诊断,和/或预后指标)且包括例如甲基化的组蛋白(例如H3K27me3,例如H3K27的占据水平),SWI/SNF,或SWI/SNF复合物成员或亚基(例如SMARCA2,例如SMARCA2的表达水平)。生物标志物可以是预测生物标志物且充当具有特定疾病或病症(例如增殖性细胞病症(例如癌症))的患者对用H3K27甲基化的抑制剂的治疗的敏感性或益处的可能性的指标。生物标志物包括但不限于多核苷酸(例如DNA和/或RNA(例如mRNA)),多核苷酸拷贝数改变(例如DNA拷贝数),多肽,多肽和多核苷酸修饰(例如翻译后修饰),碳水化合物,和/或基于糖脂的分子标志物。在一些实施方案中,生物标志物是基因。

[0133] 如本文中使用的,生物标志物的“量”或“水平”是生物学样品中的可检测水平。这些可通过本领域技术人员知道的和本文中也公开的方法来测量。

[0134] 术语“表达的水平”或“表达水平”一般指生物学样品中生物标志物的量。“表达”一般指信息(例如基因编码的和/或表观遗传的信息)转化成细胞中存在和运转的结构的过程。因此,如本文中使用的,“表达”可以指转录成多核苷酸,翻译成多肽,或甚至多核苷酸和/或多肽修饰(例如多肽的翻译后修饰)。转录的多核苷酸,翻译的多肽,或多核苷酸和/或多肽修饰(例如多肽的翻译后修饰)的片段也应视为表达的,无论是它们源自通过可变剪接生成的转录物或降解的转录物,或者是源自多肽的翻译后加工,例如通过蛋白水解。“表达

的基因”包括那些转录成多核苷酸为mRNA,然后翻译成多肽的,还有那些转录成RNA但不翻译成多肽的(例如转运和核糖体RNA)。

[0135] 如本文中使用的,术语“占据水平”指甲基化(例如组蛋白(例如组蛋白H3)在一个或多个组蛋白甲基化位点(例如组蛋白H3的赖氨酸27(H3K27)处的单甲基化或优选的二或三甲基化)的程度。特定基因组区域处的占据水平可通过染色质免疫沉淀(ChIP)技术,诸如ChIP-seq或ChIP-PCR来评估。

[0136] “升高的表达”,“升高的表达水平”,“升高的水平”,“上升的表达”,“上升的表达水平”,或“上升的水平”指相对于对照,诸如不具有疾病或病症(例如癌症)的一名或多名个体,内部对照(例如持家型生物标志物),或来自一组/群体患者的样品中生物标志物的中值表达水平,个体中生物标志物的升高的表达或升高的水平。

[0137] “降低的表达”,“降低的表达水平”,“降低的水平”,“下降的表达”,“下降的表达水平”,或“下降的水平”指相对于对照,诸如不具有疾病或病症(例如癌症)的一名或多名个体,内部对照(例如持家型生物标志物),或来自一组/群体患者的样品中生物标志物的中值表达水平,个体中生物标志物的降低的表达或降低的水平。在一些实施方案中,降低的表达是很少的表达或不表达。

[0138] 术语“持家基因”在本文中指编码其活性对于细胞功能的维持而言是必要的且典型地在所有细胞类型中相似存在的蛋白质的一种基因或一组基因。

[0139] 如本文中使用的“扩增”一般指生成多个拷贝的期望序列的过程。“多个拷贝”意味着至少两个拷贝。“拷贝”并不必然意味着与模板序列的完全序列互补性或同一性。例如,拷贝可包括核苷酸类似物诸如脱氧肌苷,有意的序列改变(诸如经由包含与模板可杂交但不互补的序列的引物引入的序列改变),和/或扩增期间发生的序列错误。

[0140] 如本文中使用的“聚合酶链式反应”或“PCR”技术一般指其中如例如美国专利No.4,683,195中所述扩增微量的核酸,RNA和/或DNA的特定区段的规程。一般地,来自感兴趣区域的末端或以外的序列信息需要是可得的,使得能设计寡核苷酸引物;这些引物会是在序列上与要扩增的模板的相对链相同或相似的。两种引物的5'末端核苷酸可以与所扩增物质的末端一致。可使用PCR自总基因组DNA,和自总细胞RNA转录的cDNA,噬菌体,或质粒序列,等扩增特定RNA序列,特定DNA序列。一般参见Mullis et al.,Cold Spring Harbor Symp.Quant.Biol.51:263(1987)和Erlich,ed.,PCR Technology,(Stockton Press,NY,1989)。如本文中使用的,PCR视为用于扩增核酸测试样品,包含使用已知核酸(DNA或RNA)作为引物的核酸聚合酶反应方法的一个但非唯一的例子且利用核酸聚合酶来扩增或生成特定核酸区段或扩增或生成与特定核酸互补的特定核酸区段。

[0141] “定量实时聚合酶链式反应”或“qRT-PCR”指PCR的一种形式,其中在PCR反应的每一个步骤时测量PCR产物的量。这种技术已经描述于多份出版物,包括例如Cronin et al.,Am.J.Pathol.164(1):35-42(2004)和Ma et al.,Cancer Cell 5:607-616(2004)。

[0142] 术语“微阵列”指可杂交阵列元件,优选多核苷酸探针在基片上的有序排列。

[0143] 如本文中使用的,术语“样品”指自受试者(例如感兴趣的个体)获得或衍生的,含有要例如基于物理,生化,化学,和/或生理特征来表征和/或鉴定的细胞和/或其它分子实体的组合物。例如,短语“疾病样品”及其变异指自感兴趣的受试者获得的,会预期或已知含有要表征的细胞和/或分子实体的任何样品。样品包括但不限于组织样品(例如肿瘤组织样

品), 原代或培养的细胞或细胞系, 细胞上清液, 细胞裂解物, 血小板, 血清, 血浆, 玻璃体液, 淋巴液, 滑液, 滤泡液 (follicular fluid), 精液, 羊水, 乳液, 全血, 血液衍生的细胞, 尿液, 脑脊髓液, 唾液, 痰, 泪液, 汗液, 粘液, 肿瘤裂解物, 和组织培养液, 组织提取物诸如匀浆化组织, 肿瘤组织, 细胞提取物, 和其组合。

[0144] “组织样品”或“细胞样品”意味着自受试者或个体的组织获得的相似细胞的集合。组织或细胞样品的来源可以是实体组织, 如来自新鲜, 冷冻和/或保存的器官, 组织样品, 活检, 和/或抽吸物; 血液或任何血液成分, 诸如血浆; 体液, 诸如脑脊髓液, 羊水, 腹膜液, 或间隙液 (interstitial fluid); 来自受试者的妊娠或发育中任何时间的细胞。组织样品还可以是原代或培养的细胞或细胞系。任选地, 组织或细胞样品自疾病组织/器官获得。例如, “肿瘤样品”是自肿瘤或其它癌性组织获得的组织样品。组织样品可以含有多种细胞类型 (例如肿瘤细胞和非肿瘤细胞, 癌性细胞和非癌性细胞) 的混合群体。组织样品可含有在自然界中并不天然与该组织混杂的化合物, 诸如防腐剂, 抗凝血剂, 缓冲剂, 固定剂, 营养物, 抗生素, 等等。

[0145] 如本文中使用的, “参照样品”, “参照细胞”, “参照组织”, “对照样品”, “对照细胞”, 或“对照组织”指用于比较目的的样品, 细胞, 组织, 标准, 或水平。在一个实施方案中, 参照水平, 参照样品, 参照细胞, 参照组织, 对照样品, 对照细胞, 或对照组织是自同一受试者或个体的健康和/或未患病身体部位 (例如组织或细胞) 获得的。例如, 参照水平, 参照样品, 参照细胞, 参照组织, 对照样品, 对照细胞, 或对照组织可以是邻近患病细胞或组织的健康和/或未患病细胞或组织 (例如邻近肿瘤的细胞或组织)。在另一个实施方案中, 参照样品是自同一受试者或个体的身体的未治疗组织和/或细胞获得的。在还有另一个实施方案中, 参照水平, 参照样品, 参照细胞, 参照组织, 对照样品, 对照细胞, 或对照组织是自不是该受试者或个体的个体的健康和/或未患病身体部位 (例如组织或细胞) 获得的。在甚至另一个实施方案中, 参照水平, 参照样品, 参照细胞, 参照组织, 对照样品, 对照细胞, 或对照组织是自不是该受试者或个体的个体的身体的未治疗组织和/或细胞获得的。

[0146] “关联”意味着以任何方式比较第一分析或方案的性能和/或结果与第二分析或方案的性能和/或结果。例如, 可以在进行第二方案中使用第一分析或方案的结果和/或可以使用第一分析或方案的结果来决定是否应当实施第二分析或方案。就多肽分析或方案的实施方案而言, 可以使用多肽表达分析或方案的结果来决定是否应当实施特定治疗方案。就多核苷酸分析或方案的实施方案而言, 可以使用多核苷酸表达分析或方案的结果来决定是否应当实施特定治疗方案。

[0147] “个体响应/应答/反应”或“响应/应答/反应”可使用指示对个体的益处的任何终点来评估, 包括但不限于: (1) 一定程度地抑制疾病进展 (例如癌症进展), 包括减缓或完全阻滞; (2) 缩小肿瘤尺寸; (3) 抑制 (即减轻, 减缓, 或完全停止) 癌细胞浸润入邻近外周器官和/或组织; (4) 抑制 (即减轻, 减缓, 或完全停止) 转移; (5) 一定程度地减轻与疾病或病症 (例如癌症) 有关的一种或多种症状; (6) 存活 (包括总体存活和无进展存活) 的长度延长或延伸; 和/或 (7) 治疗后给定时间点时的死亡率降低。

[0148] 患者对用用药物的治疗的“有效响应”或“响应性”和类似用语指对处于疾病或病症 (诸如癌症) 风险或具有疾病或病症 (诸如癌症) 的患者给予的临床或治疗益处。在一个实施方案中, 此类益处包括下述任一项或多项: 延长存活 (包括总体存活和/或无进展存活);

导致客观响应(包括完全响应或部分响应);或改善癌症的体征或症状。在一个实施方案中,使用至少一种生物标志物(例如SMARCA2的表达水平或SMARCA2启动子处H3K27(例如H3K27me3)的占据水平)来鉴定预测具有相对于不表达该至少一种生物标志物的患者升高的可能性对用药物治疗(例如包含H3K27甲基化的抑制剂的治疗)响应性的患者。在一个实施方案中,使用至少一种生物标志物(例如SMARCA2的表达水平或SMARCA2启动子处H3K27(例如H3K27me3)的占据水平)来鉴定预测具有相对于不以相同水平表达该至少一种生物标志物的患者升高的可能性对用药物(例如H3K27甲基化的抑制剂)的治疗响应性的患者。

[0149] “治疗有效量”指治疗剂在哺乳动物中治疗或预防疾病或病症的量。在癌症的情况下,治疗有效量的治疗剂可减少癌细胞的数目;缩小原发性肿瘤尺寸;抑制(即一定程度减缓,优选停止)癌细胞浸润入周围器官;抑制(即一定程度减缓,优选停止)肿瘤转移;一定程度抑制肿瘤生长;和/或一定程度减轻与病症有关的一种或多种症状。就药物可阻止现有癌细胞生长和/或杀死现有癌细胞的程度而言,它可以是细胞抑制性的和/或细胞毒性的。对于癌症疗法,体内功效可通过例如评估存活的持续时间,距疾病进展的时间(TTP),响应率(例如CR和PR),响应的持续时间,和/或生活质量来测量。

[0150] “病症”是会受益于治疗的任何状况,包括但不限于慢性和急性病症或疾病,包括那些使哺乳动物易患上所讨论病症的病理状况。

[0151] “突变”是相对于参照核苷酸序列,诸如野生型序列的核苷酸删除,插入,或替代。

[0152] 短语“鉴定突变”指比较样品中的核苷酸序列与参照核苷酸序列,诸如野生型核苷酸序列以鉴定该序列中的删除,插入,或替代的行为。

[0153] 术语“癌症”和“癌性”指或描述哺乳动物中典型地以不受调节的细胞生长为特征的生理状况。此定义中包括的是良性和恶性癌症。癌症的例子包括但不限于横纹肌样(rhabdoid)癌;癌瘤;淋巴瘤;母细胞瘤(包括髓母细胞瘤和视网膜母细胞瘤);肉瘤(包括脂肪肉瘤和滑膜细胞肉瘤);神经内分泌肿瘤(包括类癌瘤,胃泌素瘤,和胰岛细胞癌);间皮瘤;施旺细胞瘤(包括听神经瘤);脑膜瘤;腺癌;黑素瘤;和白血病或淋巴样恶性。此类癌症的更具体例子包括卵巢癌(例如卵巢透明细胞癌,或卵巢小细胞癌,例如高钙血型卵巢小细胞癌),膀胱癌(例如尿路上皮膀胱癌(例如移行细胞或尿路上皮癌,非肌肉侵入性膀胱癌,肌肉侵入性膀胱癌,和转移性膀胱癌)和非尿路上皮膀胱癌);鳞状细胞癌(例如上皮鳞状细胞癌);肺癌,包括小细胞肺癌(SCLC),非小细胞肺癌(NSCLC),肺的腺癌,和肺的鳞癌;腹膜癌;肝细胞癌;胃癌或胃的癌,包括胃肠癌;胰腺癌;成胶质细胞瘤;宫颈癌;卵巢癌;肝癌;肝瘤;乳腺癌(包括转移性乳腺癌);结肠癌;直肠癌;结肠直肠癌;子宫内膜或子宫癌;唾液腺癌;肾癌或肾的癌;前列腺癌;外阴癌;甲状腺癌;肝的癌;肛门癌;阴茎癌;梅克尔(Merkel)细胞癌;蕈样真菌病;睾丸癌;食管癌;胆管肿瘤;头和颈癌;和造血恶性。在一些实施方案中,癌症是横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样癌,畸胎样/横纹肌样癌,儿科横纹肌样癌)。在一些实施方案中,癌症是肾(例如肾癌或肾上腺癌),脑,或其它软组织的横纹肌样癌。在一些实施方案中,卵巢癌是卵巢小细胞癌,例如高钙血型卵巢小细胞癌。任何癌症可以处于早期阶段或晚期阶段。“早期阶段癌症”或“早期阶段肿瘤”意味着并非侵入性或转移性的或归类为0,1,或2期癌症的癌症。

[0154] 如本文中使用的,术语“肿瘤”指所有赘生性细胞生长和增殖,无论是恶性的还是良性的,和所有癌前和癌性细胞和组织。术语“癌症”,“癌性”,和“肿瘤”在本文中提及时并

不互相排斥。

[0155] “SUZ12拮抗剂”指能够结合SUZ12,降低SUZ12表达水平,或中和,阻断,抑制,消除,降低,或干扰SUZ12生物学活性(包括但不限于SUZ12信号传导和SUZ12介导的甲基转移酶活性)的分子。例如,能够中和,阻断,抑制,消除,降低,或干扰SUZ12生物学活性的分子可通过结合PRC2蛋白(例如EED或jumonji)上的一个或多个SUZ12结合位点来发挥它的效果。作为在本发明的方法中有用的SUZ12特异性拮抗剂包括的是特异性结合SUZ12的多肽,抗SUZ12抗体,和其抗原结合片段。SUZ12特异性拮抗剂还包括SUZ12多肽的拮抗性变体,至少与编码SUZ12多肽的核酸分子的片段互补的反义核碱基寡聚物;至少与编码SUZ12多肽的核酸分子的片段互补的小RNA;靶向SUZ12的核酶;针对SUZ12的肽体(peptibody);和SUZ12适体(aptamer)。SUZ12特异性拮抗剂还包括结合SUZ12且能够阻断,抑制,消除,降低,或干扰SUZ12生物学活性的非肽小分子。在某些实施方案中,SUZ12拮抗剂将SUZ12的表达水平或生物学活性降低或抑制至少10%,20%,30%,40%,50%,60%,70%,80%,90%或更多。

[0156] “EED拮抗剂”指能够结合EED,降低EED表达水平,或中和,阻断,抑制,消除,降低,或干扰EED生物学活性(包括但不限于EED信号传导和EED介导的甲基转移酶活性)的分子。例如,能够中和,阻断,抑制,消除,降低,或干扰EED生物学活性的分子可通过结合PRC2蛋白(例如SUZ12或jumonji)上的一个或多个EED结合位点来发挥它的效果。作为在本发明的方法中有用的EED特异性拮抗剂包括的是特异性结合EED的多肽,抗EED抗体,和其抗原结合片段。EED特异性拮抗剂还包括EED多肽的拮抗性变体,至少与编码EED多肽的核酸分子的片段互补的反义核碱基寡聚物;至少与编码EED多肽的核酸分子的片段互补的小RNA;靶向EED的核酶;针对EED的肽体(peptibody);和EED适体(aptamer)。EED特异性拮抗剂还包括结合EED且能够阻断,抑制,消除,降低,或干扰EED生物学活性的非肽小分子。在某些实施方案中,EED拮抗剂将EED的表达水平或生物学活性降低或抑制至少10%,20%,30%,40%,50%,60%,70%,80%,90%或更多。

[0157] “jumonji拮抗剂”指能够结合jumonji,降低jumonji表达水平,或中和,阻断,抑制,消除,降低,或干扰jumonji生物学活性(包括但不限于jumonji信号传导和jumonji介导的甲基转移酶活性)的分子。例如,能够中和,阻断,抑制,消除,降低,或干扰jumonji生物学活性的分子可通过结合PRC2蛋白(例如SUZ12或EED)上处一个或多个jumonji结合位点来发挥它的效果。作为在本发明的方法中有用的jumonji特异性拮抗剂包括的是特异性结合jumonji的多肽,抗jumonji抗体,和其抗原结合片段。jumonji特异性拮抗剂还包括jumonji多肽的拮抗性变体,至少与编码jumonji多肽的核酸分子的片段互补的反义核碱基寡聚物;至少与编码jumonji多肽的核酸分子的片段互补的小RNA;靶向jumonji的核酶;针对jumonji的肽体(peptibody);和jumonji适体(aptamer)。jumonji特异性拮抗剂还包括结合jumonji且能够阻断,抑制,消除,降低,或干扰jumonji生物学活性的非肽小分子。在某些实施方案中,jumonji拮抗剂将jumonji的表达水平或生物学活性降低或抑制至少10%,20%,30%,40%,50%,60%,70%,80%,90%或更多。

[0158] 术语“药学配制剂”指其形式允许其中含有的活性组分的生物学活性是有效的,且并不含有对会施用该配制剂的受试者有不可接受的毒性的另外的成分的制剂。

[0159] “药学可接受赋形剂”指药学配制剂中除了活性组分以外对受试者无毒的组分。药学可接受赋形剂包括但不限于缓冲剂,载剂,稳定剂,或防腐剂。

[0160] 术语“药学可接受盐”表示并非生物学或其它方面不想要的盐。药学可接受盐包括酸和碱加成盐二者。短语“药学可接受”表示该物质或组合物必须与构成配制剂的其它组分和/或正在用其治疗的哺乳动物在化学上和/或毒理学上相容。

[0161] 术语“药学可接受酸加成盐”表示那些与无机酸(诸如氢氯酸,氢溴酸,硫酸,硝酸,碳酸,磷酸)和有机酸(选自脂肪族,环脂肪族,芳香族,芳香脂肪族,杂环,羧基,和磺酸基类的有机酸,诸如甲酸,乙酸,丙酸,乙醇酸/羟基乙酸,葡萄糖酸,乳酸,丙酮酸,草酸,苹果酸,马来酸/顺丁烯二酸,丙二酸,琥珀酸,延胡索酸/反丁烯二酸,酒石酸,柠檬酸,天冬氨酸,抗坏血酸,谷氨酸,氨基葡萄糖,苯甲酸,肉桂酸,扁桃酸,双羟萘酸,苯基乙酸,甲磺酸,乙磺酸,对甲苯磺酸,和水杨酸)形成的药学可接受盐。

[0162] 术语“药学可接受碱加成盐”表示那些与有机或无机碱形成的药学可接受盐。可接受无机碱的例子包括钠,钾,铵,钙,镁,铁,锌,铜,锰,和铝盐。自药学可接受有机无毒碱衍生的盐包括伯,仲,和叔胺,取代的胺(包括天然发生的取代的胺),环胺,和碱离子交换树脂(诸如异丙胺,三甲胺,二乙胺,三乙胺,三丙胺,乙醇胺,2-二乙基氨基乙醇,氨基丁三醇,二环己基胺,赖氨酸,精氨酸,组氨酸,咖啡因,普鲁卡因,哈胺,胆碱,甜菜碱,乙二胺,葡萄糖胺,泛影葡胺,可可碱,嘌呤,腺嘌呤,腺嘌呤,和聚胺树脂)的盐。

[0163] 如本文中使用的,“治疗/处理”指试图改变所治疗的个体的自然进程的临床干预,而且可以或是为了预防或是在临床病理学的过程中实施的。治疗的期望效果包括但不限于预防疾病的发生或复发,缓解症状,削弱疾病的任何直接或间接病理学后果,预防转移,减缓疾病进展的速率,改善或减轻疾病状态,和消退或改善的预后。在一些实施方案中,使用H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)来延迟疾病的发生或减缓疾病的进展。

[0164] 术语“抗癌疗法”指在治疗癌症中有用的疗法。抗癌治疗剂的例子包括但不限于细胞毒剂,化疗剂,生长抑制剂,放射疗法中使用的药剂,抗血管发生剂,凋亡剂,抗微管蛋白剂,和治疗癌症的其它药剂,例如抗CD20抗体,血小板衍生生长因子抑制剂(例如GLEEVEC™(甲磺酸伊马替尼)),COX-2抑制剂(例如塞来考昔),干扰素,细胞因子,结合一种或多种下述靶物的拮抗剂(例如中和性抗体):PDGFR- β ,BlyS,APRIL,BCMA受体,TRAIL/Apo2,其它生物活性和有机化学剂,等等。其组合也包括在本发明中。

[0165] 如本文中使用的术语“细胞毒剂”指抑制或防止细胞的功能和/或引起细胞的破坏的物质。该术语意图包括放射性同位素(例如At²¹¹,I¹³¹,I¹²⁵,Y⁹⁰,Re¹⁸⁶,Re¹⁸⁸,Sm¹⁵³,Bi²¹²,P³²,和Lu的放射性同位素),化疗剂,例如甲氨蝶呤,阿霉素,长春花生物碱(长春新碱,长春碱,依托泊苷),多柔比星,美法仑,丝裂霉素C,苯丁酸氮芥,柔红霉素或其它嵌入剂,酶和其片段诸如溶核酶,抗生素,和毒素诸如小分子毒素或细菌,真菌,植物或动物起源的酶活性毒素,包括其片段和/或变体,和下文公开的各种抗肿瘤或抗癌剂。下文描述了其它细胞毒剂。杀肿瘤剂引起肿瘤细胞的破坏。

[0166] “化疗剂”是在癌症的治疗中有用的化学化合物。化疗剂的例子包括烷化剂类(alkylating agents),诸如塞替派(thiotepa)和CYTOXAN®环磷酰胺(cyclophosphamide);磺酸烷基酯类(alkyl sulfonates),诸如白消安(busulfan),英丙舒凡(improsulfan)和哌泊舒凡(piposulfan);氮丙啶类(aziridines),诸如苯佐替派(benzodopa),卡波醌(carboquone),美妥替派(meturedopa),和乌瑞替派(uredopa);乙撑亚胺类(ethylenimines)和甲基蜜胺类(methylamelamines),包括六甲蜜胺

(altretamine), 三乙撑蜜胺(triethylenemelamine), 三乙撑磷酰胺(triethylenephosphoramide), 三乙撑硫代磷酰胺(triethylenethiophosphoramide) 和三羟甲蜜胺(trimethylolomelamine); 番荔枝内酯类(acetogenins) (尤其是布拉他辛(bullatacin) 和布拉他辛酮(bullatacinone)); δ -9-四氢大麻酚(tetrahydrocannabinol) (屈大麻酚(dronabinol), **MARINOL®**); β -拉帕醌(lapachone); 拉帕醇(lapachol); 秋水仙素类(colchicines); 白桦脂酸(betulinic acid); 喜树碱(camptothecin) (包括合成类似物托泊替康(topotecan) (**HYCAMTIN®**), CPT-11 (伊立替康(irinotecan), **CAMPTOSAR®**), 乙酰喜树碱, 东莨菪亭(scopolectin), 和9-氨基喜树碱); 苔藓抑素(bryostatin); callystatin; CC-1065 (包括它的阿多来新(adozelesin), 卡折来新(carzelesin) 和比折来新(bizelesin) 合成类似物); 鬼臼毒素(podophyllotoxin); 鬼臼酸(podophyllinic acid); 替尼泊苷(teniposide); 隐藻素类(cryptophycins) (特别是隐藻素1和隐藻素8); 多拉司他汀(dolastatin); duocarmycin (包括合成类似物, KW-2189和CB1-TM1); 艾榴塞洛素(eleutherobin); pancratistatin; sarcodictyin; 海绵抑素(spongistatin); 氮芥类(nitrogen mustards), 诸如苯丁酸氮芥(chlorambucil), 萘氮芥(chlornaphazine), 胆磷酰胺(cholophosphamide), 雌莫司汀(estramustine), 异环磷酰胺(ifosfamide), 双氯乙基甲胺(mechlorethamine), 盐酸氧氮芥(mechlorethamine oxide hydrochloride), 美法仑(melphalan), 新氮芥(novembichin), 苯芥胆甾醇(phenesterine), 泼尼莫司汀(prednimustine), 曲磷胺(trofosfamide), 尿嘧啶氮芥(uracil mustard); 亚硝脲类(nitrosoureas), 诸如卡莫司汀(carmustine), 氯脲菌素(chlorozotocin), 福莫司汀(fotemustine), 洛莫司汀(lomustine), 尼莫司汀(nimustine), 和雷莫司汀(ranimustine); 抗生素类, 诸如烯二炔(enediynes) 类抗生素(例如加利车霉素(calicheamicin), 尤其是加利车霉素 γ 1I 和加利车霉素 ω 1I (参见例如 Nicolaou et al., Angew. Chem. Intl. Ed. Engl. 33:183-186 (1994))); 蒽环类抗生素(dynemicin), 包括 dynemicin A; 埃斯波霉素(esperamicin); 以及新制癌素(neocarzinostatin) 发色团和相关色蛋白烯二炔类抗生素发色团, 阿克拉霉素(aclacinomycin), 放线菌素(actinomycin), 氨苄霉素(authramycin), 偶氮丝氨酸(azaserine), 博来霉素(bleomycin), 放线菌素C(cactinomycin), carabycin, 洋红霉素(carminomycin), 嗜癌霉素(carzinophilin), 色霉素(chromomycin), 放线菌素D(dactinomycin), 柔红霉素(daunorubicin), 地托比星(detorubicin), 6-二氮-5-氧-L-正亮氨酸, **ADRIAMYCIN®** 多柔比星(doxorubicin) (包括吗啉代多柔比星, 氰基吗啉代多柔比星, 2-吡咯代多柔比星和脱氧多柔比星), 表柔比星(epirubicin), 依索比星(esorubicin), 伊达比星(idarubicin), 麻西罗霉素(marcellomycin), 丝裂霉素类(mitomycins) 诸如丝裂霉素C, 霉酚酸(mycophenolic acid), 诺拉霉素(nogalamycin), 橄榄霉素类(olivomycins), 培洛霉素(peplomycin), potfiromycin, 嘌呤霉素(puromycin), 三铁阿霉素(quelamycin), 罗多比星(rodorubicin), 链黑菌素(streptonigrin), 链佐星(streptozocin), 杀结核菌素(tubercidin), 乌苯美司(ubenimex), 净司他丁(zinostatin), 佐柔比星(zorubicin); 抗代谢物类, 诸如甲氨蝶呤(methotrexate) 和5-氟尿嘧啶(5-FU); 叶酸类似物类, 诸如二甲叶酸(denopterin), 甲氨蝶呤(methotrexate), 蝶罗呤(pteropterin), 三甲曲沙(trimetrexate); 嘌呤类似物类, 诸如氟达拉滨

(fludarabine), 6-巯基嘌呤 (mercaptopurine), 硫咪嘌呤 (thiamiprine), 硫鸟嘌呤 (thioguanine); 嘧啶类似物类, 诸如安西他滨 (ancitabine), 阿扎胞苷 (azacitidine), 6-氮尿苷 (azauridine), 卡莫氟 (carmofur), 阿糖胞苷 (cytarabine), 双脱氧尿苷 (dideoxyuridine), 去氧氟尿苷 (doxifluridine), 依诺他滨 (enocitabine), 氟尿苷 (floxuridine); 雄激素类, 诸如卡鲁睾酮 (calusterone), 丙酸屈他雄酮 (dromostanolone propionate), 表硫雄醇 (epitiostanol), 美雄烷 (mepitiostane), 睾内酯 (testolactone); 抗肾上腺类, 诸如氨鲁米特 (aminoglutethimide), 米托坦 (mitotane), 曲洛司坦 (trilostane); 叶酸补充剂, 诸如亚叶酸 (frolinic acid); 醋葡醛内酯 (aceglatone); 醛磷酸胺糖苷 (aldophosphamide glycoside); 氨基乙酰丙酸 (aminolevulinic acid); 恩尿嘧啶 (eniluracil); 安吡啶 (amsacrine); bestrabucil; 比生群 (bisantrene); 依达曲沙 (edatraxate); 地磷酰胺 (defofamine); 地美可辛 (demecolcine); 地吡醌 (diaziquone); elfornithine; 依利醋铵 (elliptinium acetate); 埃坡霉素 (epothilone); 依托格鲁 (etoglucid); 硝酸镓; 羟脲 (hydroxyurea); 香菇多糖 (lentinan); 氯尼达明 (lonidainine); 美登木素生物碱类 (maytansinoids), 诸如美登素 (maytansine) 和安丝菌素 (ansamitocin); 米托胍脲 (mitoguazone); 米托蒽醌 (mitoxantrone); 莫哌达醇 (mopidanmol); 二胺硝吡啶 (nitraerine); 喷司他丁 (pentostatin); 蛋氨酸芥 (phenamet); 吡柔比星 (pirarubicin); 洛索蒽醌 (losoxantrone); 2-乙基酰肼 (ethylhydrazide); 丙卡巴肼 (procarbazine); **PSK®** 多糖复合物 (JHS Natural Products, Eugene, OR); 雷佐生 (razoxane); 根霉素 (rhizoxin); 西佐喃 (sizofiran); 螺旋锗 (spirogermanium); 细交链孢菌酮酸 (tenuazonic acid); 三亚胺醌 (triaziquone); 2,2',2''-三氯三乙胺; 单端孢菌素类 (trichothecenes) (尤其是T-2毒素, 疣孢菌素 (verrucurin) A, 杆孢菌素 (roridin) A 和蛇行菌素 (anguidine)); 乌拉坦 (urethan); 长春地辛 (vindesine) (**ELDISINE®**, **FILDESIN®**); 达卡巴嗪 (dacarbazine); 甘露莫司汀 (mannomustine); 二溴甘露醇 (mitobronitol); 二溴卫矛醇 (mitolactol); 哌泊溴烷 (pipobroman); gacytosine; 阿糖胞苷 (arabinoside) ("Ara-C"); 塞替派 (thiotepa); 类紫杉醇类 (taxoids), 例如紫杉烷, 包括 **TAXOL®** 帕利他塞 (paclitaxel) (Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, N.J.), **ABRAXANE™** 帕利他塞的不含克列莫佛 (Cremophor), 清蛋白改造纳米颗粒配制剂 (American Pharmaceutical Partners, Schaumburg, Illinois) 和 **TAXOTERE®** 多西他塞 (docetaxel) (**Rhône-Poulenc Rorer, Antony, France**); 苯丁酸氮芥 (chlorambucil); 吉西他滨 (gemcitabine) (**GEMZAR®**); 6-巯鸟嘌呤 (thioguanine); 巯基嘌呤 (mercaptopurine); 甲氨蝶呤 (methotrexate); 铂 (platinum) 或基于铂的化学疗法药剂和铂类似物, 诸如顺铂 (cisplatin), 卡铂 (carboplatin), 奥沙利铂 (oxaliplatin) (**ELOXATIN™**), 沙铂 (satraplatin), 吡铂 (picoplatin), 奈达铂 (nedaplatin), 三铂 (triplatin), 和脂铂 (lipoplatin); 长春碱 (vinblastine) (**VELBAN®**); 铂; 依托泊苷 (etoposide) (VP-16); 异环磷酰胺 (ifosfamide); 米托蒽醌 (mitoxantrone); 长春新碱 (vincristine) (**ONCOVIN®**); 奥沙利铂 (oxaliplatin); 亚叶酸 (leucovorin); 长春瑞滨 (vinorelbine) (**NAVELBINE®**); 能灭瘤 (novantrone); 依达曲沙 (edatrexate); 道诺霉素 (daunomycin); 氨基蝶呤 (aminopterin); 伊本膦酸盐

(ibandronate); 拓扑异构酶抑制剂RFS 2000; 二氟甲基鸟氨酸(DMF0); 类视黄酸类(retinoids), 诸如视黄酸(retinoic acid); 卡培他滨(capecitabine) (**XELODA®**); 任何上述物质的药学可接受盐或酸; 以及两种或更多种上述物质的组合, 诸如CHOP (环磷酰胺, 多柔比星, 长春新碱, 和泼尼松龙的组合疗法的缩写) 和FOLF0X (奥沙利铂(ELOXATIN™) 与5-FU和亚叶酸组合的治疗方案的缩写)。另外的化疗剂包括作为抗体药物缀合物有用的细胞毒剂, 诸如美登木生物碱(例如DM1) 和奥瑞斯他汀(auristatin) (例如MMAE和MMAF)。

[0167] 化疗剂还包括起调节, 降低, 阻断, 或抑制能促进癌生长的激素的效果作用的“抗激素剂”或“内分泌治疗剂”, 而且常常是系统或全身治疗的形式。它们自身可以是激素。例子包括抗雌激素类和选择性雌激素受体调控剂类(SERM), 包括例如他莫昔芬(tamoxifen) (包括**NOLVADEX®**他莫昔芬), **EVISTA®**雷洛昔芬(raloxifene), 屈洛昔芬(droloxifene), 4-羟基他莫昔芬, 曲沃昔芬(trioxifene), 那洛昔芬(keoxifene), LY117018, 奥那司酮(onapristone), 和**FARESTON®**托瑞米芬(toremifene); 抗孕酮类; 雌激素受体下调剂类(ERD); 发挥遏制或关闭卵巢的功能的药剂, 例如促黄体生成激素释放激素(LHRH) 激动剂, 诸如**LUPRON®**和**ELIGARD®**醋酸亮丙瑞林(leuprolide acetate), 醋酸戈舍瑞林(goserelin acetate), 醋酸布舍瑞林(buserelin acetate) 和曲普瑞林(tripterelin); 其它抗雄激素类, 诸如氟他米特(flutamide), 尼鲁米特(nilutamide) 和比卡米特(bicalutamide); 和抑制在肾上腺中调节雌激素生成的酶芳香酶的芳香酶抑制剂, 诸如例如4(5)-咪唑, 氨鲁米特(aminoglutethimide), **MEGASE®**醋酸甲地孕酮(megestrol acetate), **AROMASIN®**依西美坦(exemestane), 福美坦(formestane), 法偈唑(fadrozole), **RIVISOR®**伏氯唑(vorozole), **FEMARA®**来曲唑(letrozole), 和**ARIMIDEX®**阿那曲唑(anastrozole)。另外, 化疗剂的此类定义包括二膦酸盐类(bisphosphonates), 诸如氯膦酸盐(clodronate) (例如**BONEFOS®**或**OSTAC®**), **DIDROCAL®**依替膦酸盐(etidronate), NE-58095, **ZOMETA®**唑来膦酸/唑来膦酸盐(zoledronic acid/zoledronate), **FOSAMAX®**阿伦膦酸盐(alendronate), **AREDIA®**帕米膦酸盐(pamidronate), **SKELID®**替鲁膦酸盐(tiludronate), 或**ACTONEL®**利塞膦酸盐(risedronate); 以及曲沙他滨(troxacitabine) (1,3-二氧戊环核苷胞嘧啶类似物); 反义寡核苷酸, 特别是那些抑制涉及异常细胞增殖的信号传导途经中的基因表达的, 诸如例如PKC- α , Raf, H-Ras, 和表皮生长因子受体(EGF-R); 疫苗, 诸如**THERATOPE®**疫苗和基因疗法疫苗, 例如**ALLOVECTIN®**疫苗, **LEUVECTIN®**疫苗, 和**VAXID®**疫苗; **LURTOTECAN®**拓扑异构酶1抑制剂; **ABARELIX®**rmRH; 二甲苯磺酸拉帕替尼(lapatinib ditosylate) (ErbB-2和EGFR双重酪氨酸激酶小分子抑制剂, 也称为GW572016); 和任何上述物质的药学可接受盐或酸。

[0168] 化疗剂还包括抗体, 诸如阿仑珠单抗(alemtuzumab) (Campath), 贝伐珠单抗(bevacizumab) (**AVASTIN®**, Genentech); 西妥昔单抗(cetuximab) (**ERBITUX®**, Imclone); 帕尼单抗(panitumumab) (**VECTIBIX®**, Amgen), 利妥昔单抗(rituximab) (**RITUXAN®**, Genentech/Biogen Idec), 帕妥珠单抗(pertuzumab) (**OMNITARG®**, 2C4, Genentech), 曲妥珠单抗(trastuzumab) (**HERCEPTIN®**, Genentech), 托西莫单抗(tositumomab) (Bexxar, Corixa), 和抗体药物缀合物, 吉妥珠单抗奥佐米星(gemtuzumab

ozogamicin) (**MYLOTARG®**, Wyeth)。具有作为与本发明的化合物组合的药剂的治疗潜力的另外的人源化单克隆抗体包括:阿泊珠单抗 (apolizumab), 阿塞珠单抗 (aselizumab), atlizumab, 巴匹珠单抗 (bapineuzumab), bivatuzumab mertansine, 莫坎妥珠单抗 (cantuzumab mertansine), 西利珠单抗 (cedelizumab), 培舍珠单抗 (certolizumab pegol), cidfusituzumab, cidtuzumab, 达克珠单抗 (daclizumab), 依库珠单抗 (eculizumab), 依法珠单抗 (efalizumab), 依帕珠单抗 (epratuzumab), 厄利珠单抗 (erlizumab), 非维珠单抗 (felvizumab), 芳妥珠单抗 (fontolizumab), 吉妥珠单抗奥佐米星 (gemtuzumab ozogamicin), 英妥珠单抗奥佐米星 (inotuzumab ozogamicin), 伊匹木单抗 (ipilimumab), 拉贝珠单抗 (labetuzumab), 林妥珠单抗 (lintuzumab), 马妥珠单抗 (matuzumab), 美泊利单抗 (mepolizumab), 莫维珠单抗 (motavizumab), motovizumab, 那他珠单抗 (natalizumab), 尼妥珠单抗 (nimotuzumab), nolovizumab, numavizumab, ocrelizumab, 奥马珠单抗 (omalizumab), 帕利珠单抗 (palivizumab), 帕考珠单抗 (pascolizumab), pecfusituzumab, pectuzumab, 培克珠单抗 (pexelizumab), ralivizumab, 雷珠单抗 (ranibizumab), reslivizumab, 瑞利珠单抗 (reslizumab), resyvizumab, 罗维珠单抗 (rovelizumab), 卢利珠单抗 (ruplizumab), 西罗珠单抗 (sibrotuzumab), 西利珠单抗 (siplizumab), 索土珠单抗 (sontuzumab), tacatuzumab tetraxetan, tadocizumab, 他利珠单抗 (talizumab), 特非珠单抗 (tefibazumab), 托珠单抗 (tocilizumab), 托利珠单抗 (toralizumab), tucotuzumab 西莫白介素 (celmoleukin), tucusituzumab, umavizumab, 乌珠单抗 (urtioxazumab), 优特克单抗 (ustekinumab), 维西珠单抗 (visilizumab), 和抗白介素-12 (ABT-874/J695, Wyeth Research and Abbott Laboratories), 其为经遗传修饰以识别白介素-12p40蛋白的重组专有人序列, 全长IgG1 λ 抗体。

[0169] 化疗剂还包括“EGFR抑制剂”, 其指结合EGFR或以其它方式直接与EGFR相互作用并阻止或降低它的信号传导活性的化合物, 而且另外称作“EGFR拮抗剂”。此类药剂的例子包括结合EGFR的抗体和小分子。结合EGFR的抗体的例子包括MAb 579 (ATCC CRL HB8506), MAb 455 (ATCC CRL HB8507), MAb 225 (ATCC CRL 8508), MAb 528 (ATCC CRL 8509) (参见美国专利No. 4, 943, 533, Mendelsohn等人) 和其变体, 诸如嵌合化225 (C225或西妥昔单抗; **ERBUTIX®**) 和重构人225 (H225) (参见WO 96/40210, Imclone Systems Inc.); IMC-11F8, 一种完全人的EGFR靶向性抗体 (Imclone); 结合II型突变型EGFR的抗体 (美国专利No. 5, 212, 290); 结合EGFR的人源化和嵌合抗体, 如美国专利No. 5, 891, 996中描述的; 和结合EGFR的人抗体, 诸如ABX-EGF或帕尼单抗 (Panitumumab) (参见WO 98/50433, Abgenix/Amgen); EMD 55900 (Stragliotto et al., Eur. J. Cancer 32A:636-640 (1996)); EMD7200 (matuzumab), 一种针对EGFR且与EGF和TGF- α 二者竞争EGFR结合的人源化EGFR抗体 (EMD/Merck); 人EGFR抗体, HuMax-EGFR (GenMab); 称作E1.1, E2.4, E2.5, E6.2, E6.4, E2.11, E6.3, 和E7.6.3且在US 6, 235, 883中描述的完全人抗体; MDX-447 (Medarex Inc); 和mAb 806或人源化mAb 806 (Johns et al., J. Biol. Chem. 279 (29):30375-30384 (2004))。抗EGFR抗体可以与细胞毒剂缀合, 如此生成免疫缀合物 (参见例如EP 659, 439A2, Merck Patent GmbH)。EGFR拮抗剂包括小分子, 诸如美国专利No. 5, 616, 582, 5, 457, 105, 5, 475, 001, 5, 654, 307, 5, 679, 683, 6, 084, 095, 6, 265, 410, 6, 455, 534, 6, 521, 620, 6, 596, 726, 6, 713, 484, 5, 770, 599, 6, 140, 332, 5, 866, 572, 6, 399, 602, 6, 344, 459, 6, 602, 863, 6, 391, 874, 6, 344, 455, 5,

760,041,6,002,008,和5,747,498,以及PCT公开文本WO 98/14451,WO 98/50038,WO 99/09016,和WO 99/24037中描述的化合物。具体的小分子EGFR拮抗剂包括OSI-774 (CP-358774,厄洛替尼(erlotinib), **TARCEVA®**, Genentech/OSI Pharmaceuticals); PD 183805 (CI 1033, 2-丙烯酰胺, N-[4-[(3-氯-4-氟苯基)氨基]-7-[3-(4-吗啉基)丙氧基]-6-喹唑啉基]-, 二氢氯化物, Pfizer Inc.); ZD1839, 吉非替尼(gefitinib) (**IRESSA®**) 4-(3'-氯-4'-氟苯胺基)-7-甲氧基-6-(3-吗啉代丙氧基)喹唑啉, AstraZeneca); ZM 105180 ((6-氨基-4-(3-甲基苯基)-氨基)-喹唑啉, Zeneca); BIBX-1382 (N8-(3-氯-4-氟-苯基)-N2-(1-甲基-哌啶-4-基)-嘧啶并[5,4-d]嘧啶-2,8-二胺, Boehringer Ingelheim); PKI-166 ((R)-4-[4-[(1-苯基乙基)氨基]-1H-吡咯并[2,3-d]嘧啶-6-基]-苯酚); (R)-6-(4-羟基苯基)-4-[(1-苯基乙基)氨基]-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶); CL-387785 (N-[4-[(3-溴苯基)氨基]-6-喹唑啉基]-2-丁炔酰胺); EKB-569 (N-[4-[(3-氯-4-氟苯基)氨基]-3-氰基-7-乙氧基-6-喹唑啉基]-4-(二甲基氨基)-2-丁烯酰胺) (Wyeth); AG1478 (Pfizer); AG1571 (SU 5271; Pfizer); 和双重EGFR/HER2酪氨酸激酶抑制剂, 诸如拉帕替尼(lapatinib) (**TYKERB®**, GSK572016或N-[3-氯-4-[(3-氟苯基)甲氧基]苯基]-6[[[2-甲基磺酰基]乙基]氨基]甲基]-2-呋喃基]-4-喹唑啉胺)。

[0170] 化疗剂还包括“酪氨酸激酶抑制剂”, 包括前一段中提到的EGFR靶向性药物; 小分子HER2酪氨酸激酶抑制剂, 诸如自Takeda可得的TAK165; CP-724,714, 一种口服ErbB2受体酪氨酸激酶选择性抑制剂 (Pfizer和OSI); 优先结合EGFR但抑制HER2和EGFR过表达性细胞二者的双重HER抑制剂, 诸如EKB-569 (自Wyeth可得); 拉帕替尼(lapatinib) (GSK572016; 自Glaxo-SmithKline可得), 一种口服HER2和EGFR酪氨酸激酶抑制剂; PKI-166 (自Novartis可得); 泛HER抑制剂, 诸如卡奈替尼(canertinib) (CI-1033; Pharmacia); Raf-1抑制剂, 诸如自ISIS Pharmaceuticals可得的, 抑制Raf-1信号传导的反义剂ISIS-5132; 非HER靶向性TK抑制剂, 诸如甲磺酸伊马替尼(imatinib mesylate) (**GLEEVEC®**, 自Glaxo SmithKline可得); 多靶向性酪氨酸激酶抑制剂, 诸如舒尼替尼(sunitinib) (**SUTENT®**, 自Pfizer可得); VEGF受体酪氨酸激酶抑制剂, 诸如瓦他拉尼(vatalanib) (PTK787/ZK222584, 自Novartis/Schering AG可得); MAPK细胞外调节激酶I抑制剂CI-1040 (自Pharmacia可得); 喹唑啉, 诸如PD 153035, 4-(3-氯苯胺基)喹唑啉; 吡啶并嘧啶; 嘧啶并嘧啶; 吡咯并嘧啶, 诸如CGP 59326, CGP 60261和CGP 62706; 吡啶并嘧啶, 4-(苯基氨基)-7H-吡咯并[2,3-d]嘧啶; 姜黄素(二阿魏酰甲烷, 4,5-双(4-氟苯胺基)-酞酰亚胺); 含有硝基噻吩模块的tyrphostine; PD-0183805 (Warner-Lambert); 反义分子(例如那些结合编码HER的核酸的); 喹啉啉(美国专利No.5,804,396); tryphostin(美国专利No.5,804,396); ZD6474 (AstraZeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); 泛HER抑制剂, 诸如CI-1033 (Pfizer); Affinitac (ISIS 3521; Isis/Lilly); 甲磺酸伊马替尼(**GLEEVEC®**); PKI 166 (Novartis); GW2016 (Glaxo SmithKline); CI-1033 (Pfizer); EKB-569 (Wyeth); Semaxinib (Pfizer); ZD6474 (AstraZeneca); PTK-787 (Novartis/Schering AG); INC-1C11 (Imclone), 雷帕霉素(西罗莫司, **RAPAMUNE®**); 或如任何下述专利公开文本中描述的: 美国专利No.5,804,396; WO 1999/09016 (American Cyanamid); WO 1998/43960 (American Cyanamid); WO 1997/38983 (Warner Lambert); WO 1999/06378 (Warner Lambert); WO

1999/06396 (WarnerLambert); WO 1996/30347 (Pfizer, Inc); WO 1996/33978 (Zeneca); WO 1996/3397 (Zeneca) 和 WO 1996/33980 (Zeneca)。

[0171] 化疗剂还包括地塞米松 (dexamethasone), 干扰素, 秋水仙素 (colchicine), 氯苯氨啉 (metoprine), 环孢霉素 (cyclosporine), 两性霉素 (amphotericin), 甲硝唑 (metronidazole), 阿仑单抗 (alemtuzumab), 阿利维A酸 (alitretinoin), 别嘌醇 (allopurinol), 氨磷汀 (amifostine), 三氧化二砷 (arsenic trioxide), 天冬酰胺酶 (asparaginase), 活的BCG, 贝伐珠单抗 (bevacuzimab), 贝沙罗汀 (bexarotene), 克拉屈滨 (cladribine), 里本灵 (clofarabine), darbepoetin alfa, 地尼白介素 (denileukin), 右雷佐生 (dexrazoxane), 阿法依伯汀 (epoetin alfa), 厄洛替尼 (elotinib), 非格司亭 (filgrastim), 醋酸组氨瑞林 (histrelin acetate), ibritumomab, 干扰素 α -2a, 干扰素 α -2b, lenalidomide, 左旋咪唑 (levamisole), 美司钠 (mesna), 甲氧沙林 (methoxsalen), 诺龙 (nandrolone), 奈拉滨 (nelarabine), 诺非单抗 (nofetumomab), 奥普瑞白介素 (oprelvekin), palifermin, 帕米膦酸盐 (pamidronate), 培加酶 (pegademase), 培门冬酶 (pegaspargase), PEG非格司亭 (pegfilgrastim), 培美曲塞二钠 (pemetrexed disodium), 普卡霉素 (plicamycin), 卟吩姆钠 (porfimer sodium), 喹纳克林 (quinacrine), 拉布立酶 (rasburicase), 沙格司亭 (sargramostim), 替莫唑胺 (temozolomide), VM-26, 6-TG, 托瑞米芬 (toremifene), tretinoin, ATRA, 戊柔比星 (valrubicin), 唑来膦酸盐 (zoledronate), 和唑来膦酸 (zoledronic acid), 和其药学可接受盐。

[0172] 化疗剂还包括氢化可的松 (hydrocortisone), 醋酸氢化可的松 (hydrocortisone acetate), 醋酸可的松 (cortisone acetate), 替可的松匹伐酯 (tixocortol pivalate), 曲安奈德 (triamcinolone acetonide), 曲安西龙醇 (triamcinolone alcohol), 莫米松 (mometasone), 安西奈德 (amcinonide), 布地奈德 (budesonide), 地奈德 (desonide), fluocinonide, fluocinolone acetonide, 倍他米松 (betamethasone), 倍他米松磷酸钠 (betamethasone sodium phosphate), 地塞米松 (dexamethasone), 地塞米松磷酸钠 (dexamethasone sodium phosphate), 氟可龙 (fluocortolone), 氢化可的松-17-丁酸盐 (hydrocortisone-17-butyrate), 氢化可的松-17-戊酸盐 (hydrocortisone-17-valerate), aclometasone dipropionate, 戊酸倍他米松 (betamethasone valerate), 二丙酸倍他米松 (betamethasone dipropionate), 泼尼卡酯 (prednicarbate), 氯倍他松-17-丁酸盐 (clobetasone-17-butyrate), 氯倍他松-17-丙酸盐 (clobetasol-17-propionate), 己酸氟考龙 (fluocortolone caproate), 特戊酸氟考龙 (fluocortolone pivalate) 和醋酸氟甲叉龙 (fluprednidene acetate); 免疫选择性抗炎肽 (ImSAID), 诸如苯丙氨酸-谷氨酰胺-甘氨酸 (FEG) 和它的D-异构体形式 (feG) (IMULAN BioTherapeutics, LLC); 抗风湿药物, 诸如硫唑嘌呤 (azathioprine), 环孢素 (ciclosporin) (环孢霉素 (cyclosporine) A), D-青霉胺, 金盐, 羟氯喹, 来氟米特 (leflunomide) 米诺环素 (minocycline), 柳氮磺吡啶 (sulfasalazine), 肿瘤坏死因子 α (TNF α) 阻断剂, 诸如依那西普 (etanercept) (ENBREL®), 英夫利昔单抗 (infliximab) (REMICADE®), 阿达木单抗 (adalimumab) (HUMIRA®), certolizumab pegol (CIMZIA®), golimumab (SIMPONI®), 白介素-1 (IL-1) 阻断剂, 诸如阿那白滞素 (anakinra) (KINERET®), T细胞共刺激阻断剂, 诸如

abatacept(**ORENCIA®**),白介素-6(IL-6)阻断剂,诸如tocilizumab(**ACTEMERA®**);白介素-13(IL-13)阻断剂,诸如lebrikizumab;干扰素 α (IFN)阻断剂,诸如rontalizumab; β 7整联蛋白阻断剂,诸如rhuMAb Beta7;IgE途径阻断剂,诸如抗M1prime;分泌型同三聚LTa3和膜结合型异三聚LTa1/ β 2阻断剂,诸如抗淋巴毒素 α (LTa);混杂调查性药剂,诸如thioplantin,PS-341,丁酸苯酯,ET-18-OCH₃,和法尼基转移酶抑制剂(L-739749,L-744832;多酚,诸如槲皮素(queracetin),白藜芦醇(resveratrol),piceatannol,没食子酸表没食子儿茶精(epigallocatechine gallate),茶黄素(theaflavin),黄烷醇(flavanol),原花青素(procyanidins),白桦脂酸(betulinic acid);自噬抑制剂,诸如氯喹; δ -9-四氢大麻酚(tetrahydrocannabinol)(屈大麻酚(dronabinol),**MARINOL®**); β -拉帕醌(lapachone);拉帕醇(lapachol);秋水仙素类(colchicines);白桦脂酸(betulinic acid);乙酰喜树碱,东莨菪亭(scopolectin),和9-氨基喜树碱);鬼臼毒素(podophyllotoxin);替加氟(tegafur)(**UFTORAL®**);贝沙罗汀(bexarotene)(**TARGRETIN®**);二膦酸盐类(bisphosphonates),诸如氯膦酸盐(clodronate)(例如**BONEFOS®**或**OSTAC®**),依替膦酸盐(etidronate)(**DIDROCAL®**),NE-58095,唑来膦酸/唑来膦酸盐(zoledronic acid/zoledronate)(**ZOMETA®**),阿伦膦酸盐(alendronate)(**FOSAMAX®**),帕米膦酸盐(pamidronate)(**AREDIA®**),替鲁膦酸盐(tiludronate)(**SKELID®**),或利塞膦酸盐(risedronate)(**ACTONEL®**);和表皮生长因子受体(EGF-R);疫苗,诸如**THERATOPE®**疫苗;哌立福辛(perifosine),COX-2抑制剂(例如塞来考昔(celecoxib)或艾托考昔(etoricoxib)),蛋白体抑制剂(例如PS341);CCI-779;tipifarnib(R11577);orafenib,ABT510;Bcl-2抑制剂,诸如oblimersen sodium(**GENASENSE®**);pixantrone;法尼基转移酶抑制剂,诸如lonafarnib(SCH 6636, SARASAR™);和任何上述物质的药学可接受盐或酸;以及两种或更多种上述物质的组合。

[0173] 如本文中使用的术语“前体药物/前药”指与母体药物/母药相比对肿瘤细胞的细胞毒性较小且能够酶促活化或转变成活性更高的母体形式的药学活性物质的前体形式。参见例如Wilman,“Prodrugs in Cancer Chemotherapy,”Biochemical Society Transactions,14,pp.375-382,615th Meeting Belfast(1986)和Stella et al.,“Prodrugs:A Chemical Approach to Targeted Drug Delivery,”Directed Drug Delivery,Borchardt et al.,(ed.),pp.247-267,Humana Press (1985)。本发明的前药包括但不限于含磷酸盐/酯前药,含硫代磷酸盐/酯前药,含硫酸盐/酯前药,含肽前药,D-氨基酸修饰前药,糖基化前药,含 β -内酰胺前药,含任选取代的苯氧基乙酰胺前药或含任选取代的苯乙酰胺前药,可转化成活性更高且无细胞毒性的药物的5-氟胞嘧啶和其它5-氟尿苷前药。可衍生成供此发明中使用的前药形式的细胞毒性药物的例子包括但不限于上文描述的那些化疗剂。

[0174] “生长抑制剂”在本文中使用时指或在体外或在体内抑制细胞(例如其生长依赖于H3K27me3的细胞)生长和/或增殖的化合物或组合物。如此,生长抑制剂可以是显著降低处于S期的细胞的百分比的药剂。生长抑制剂的例子包括阻断细胞周期行进(处于S期以外的位置)的药剂,诸如诱导G1停滞和M期停滞的药剂。经典的M期阻断剂包括长春药(vinca)(长

春新碱(vincristine)和长春碱(vinblastine)),紫杉烷(taxane),和拓扑异构酶II抑制剂诸如蒽环类抗生素多柔比星(doxorubicin)((8S-顺式)-10-[(3-氨基-2,3,6-三脱氧- α -L-来苏-吡喃己糖基)氧基]-7,8,9,10-四氢-6,8,11-三羟基-8-(羟基乙酰基)-1-甲氧基-5,12-萘二酮,即(8S-cis)-10-[(3-amino-2,3,6-trideoxy- α -L-lyxo-hexapyranosyl)oxy]-7,8,9,10-tetrahydro-6,8,11-trihydroxy-8-(hydroxyacetyl)-1-methoxy-5,12-naphthacenedione),表柔比星(epirubicin),柔红霉素(daunorubicin),依托泊苷(etoposide),和博来霉素(bleomycin)。那些阻滞G1的药剂也溢出进入S期停滞,例如DNA烷化剂诸如他莫昔芬(tamoxifen),泼尼松(prednisone),达卡巴嗪(dacarbazine),双氯乙基甲胺(mechlorethamine),顺铂(cisplatin),甲氨蝶呤(methotrexate),5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil),和ara-C。别的信息可见于“The Molecular Basis of Cancer”,Mendelsohn和Israel编,第1章,题为“Cell cycle regulation, oncogenes, and anti-neoplastic drugs”,Murakami等人著(WB Saunders:Philadelphia,1995),尤其是第13页。紫杉烷(帕利他赛(paclitaxel)和多西他赛(docetaxel))均是自紫杉树衍生的抗癌药。自欧洲紫杉衍生的多西他赛(**TAXOTERE®**, Rhone-Poulenc Rorer)是帕利他赛(**TAXOL®**, Bristol-Myers Squibb)的半合成类似物。帕利他赛和多西他赛促进自微管蛋白二聚体装配成微管且通过阻止解聚使微管稳定,这导致对细胞中的有丝分裂的抑制。

[0175] “放射疗法/放疗”意味着使用定向伽马射线或贝塔射线来诱发对细胞的足够损害,从而限制它正常发挥功能的能力或全然破坏细胞。会领会的是,会有本领域知道的许多方式来确定治疗的剂量和持续时间。典型的治疗作为一次施用来给予且典型的剂量范围是每天10至200个单位(戈瑞(Gray))。

[0176] 如本文中使用的,“施用”意味着将一定剂量的化合物(例如抑制剂或拮抗剂)或药学组合物(例如包括抑制剂或拮抗剂的药学组合物)给予受试者(例如患者)的方法。施用可以是任何合适的手段,包括胃肠外,肺内,和鼻内,和如果期望用于局部治疗的话,损伤内施用。胃肠外输注包括例如肌肉内,静脉内,动脉内,腹膜内,或皮下施用。部分取决于施用是短暂的还是长期的,剂量给药可以通过任何合适的路径,例如通过注射,诸如静脉内或皮下注射。本文中涵盖各种剂量给药进度表,包括但不限于单次施用或多个时间点的多次施用,推注施用,和脉冲输注。

[0177] 术语“共施用”在本文中用于指施用两种或更多种治疗剂,其中至少部分施用在时间上交叠。因而,并行施用包括如下的剂量给药方案,一种或多种药剂的施用中断后继续施用一种或多种其它药剂。

[0178] “降低或抑制”意味着引起20%,30%,40%,50%,60%,70%,75%,80%,85%,90%,95%,或更大的总体降低的能力。例如,降低或抑制可以指例如EZH2或EZH2的激动剂的活性和/或功能的水平。另外,降低或抑制可以指例如所治疗的病症的症状,转移的存在或大小,或原发性肿瘤的大小。

[0179] 术语“包装插页”用于指通常包括在治疗用产品的商业包装中的说明书,其含有关于关注此类治疗用产品的使用的适应征,用法,剂量,施用,组合疗法,禁忌症,和/或警告的信息。

[0180] “制品”是包含至少一种试剂,例如用于治疗疾病或病症(例如癌症)的药物,或用于特异性检测本文中描述的生物标志物(例如SMARCA2的表达水平或SMARCA2启动子处

H3K27 (例如H3K27me3) 的占据水平) 的探针的任何制造物 (例如包装或容器) 或试剂盒。在某些实施方案中, 制造物或试剂盒以用于实施本文中描述的方法的单位推销, 分销, 或销售。

[0181] 短语“基于”在本文中使用时意味着使用关于一种或多种生物标志物的信息来告知诊断决定, 治疗决定, 包装插页上提供的信息, 或营销/促销指导, 等。

[0182] III. 方法

[0183] A. 诊断方法

[0184] 本发明提供用于鉴定和/或监测可能受益于包括一种或多种组蛋白3赖氨酸27 (H3K27) 甲基化 (例如H3K27me3) 的抑制剂的治疗的具有癌症 (例如横纹肌样癌 (例如恶性横纹肌样癌, 例如恶性横纹肌样脑癌或恶性横纹肌样肾癌)), 卵巢癌 (例如卵巢透明细胞癌, 或卵巢小细胞癌, 例如高钙血型卵巢小细胞癌), 肺癌, 胃癌, 膀胱癌, 乳腺癌, 皮肤癌, 结肠直肠癌, 胃癌, 淋巴样癌, 宫颈癌, 腹膜癌, 胰腺癌, 成胶质细胞瘤, 肝癌, 膀胱癌, 结肠癌, 子宫内膜癌, 子宫癌, 肾癌, 前列腺癌, 甲状腺癌, 和头和颈癌)) 的患者的方法。该方法包括检测来自患者的样品 (例如组织样品 (例如肿瘤组织样品)) 中的一种或多种生物标志物, 其中一种或多种此类生物标志物指示该患者是否对包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂, 诸如H3K27甲基化的抑制剂, 例如EZH2抑制剂, 例如EPZ-6438的治疗敏感或响应。还提供的是用于为具有癌症的患者的治疗优化治疗功效的方法, 其中该治疗包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂。本文中进一步提供的是用于预测具有癌症的患者对包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的响应性的方法。还有, 本文中提供的是用于为具有癌症的患者选择疗法的方法。任何方法可进一步包括将治疗有效量的H3K27甲基化的抑制剂施用于该患者。另外, 任何方法可进一步包括将有效量的另外的治疗剂 (例如第二治疗剂, 例如第二H3K27甲基化的抑制剂或抗癌剂) 施用于该患者。

[0185] 本发明提供基于测定自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平, 用于鉴定可能受益于包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的具有癌症的患者, 为具有癌症的患者的治疗优化治疗功效, 预测具有癌症的患者对包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的响应性, 和为具有癌症的患者选择疗法的方法, 其中与参照水平相比该样品中降低的SMARCA2的表达水平指示该患者具有升高的可能性受益于包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗。更加特别地, 任何前述方法可基于测定来自患者的样品中对监测该患者是否对H3K27甲基化抑制 (例如H3K27me3抑制) 响应或敏感有用的SMARCA2的表达水平。

[0186] 本发明进一步提供基于测定自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平 (例如H3K27me3), 用于鉴定可能受益于包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的具有癌症的患者, 为具有癌症的患者的治疗优化治疗功效, 预测具有癌症的患者对包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的响应性, 和为具有癌症的患者选择疗法的方法, 其中与参照占据水平相比该样品中升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平 (例如通过检测H3K27处的单, 二, 或三甲基化 (H3K27me3) 测量的) 指示该患者具有升高的可能性受益于包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗。更加特别地, 任何前述方法可基于测定来自患者的样品中对监测该患者是否对H3K27甲基化抑制 (例如H3K27me3抑制) 响应或敏感有用的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平 (例如H3K27me3)。

[0187] 所公开的方法和测定法提供方便, 有效, 且潜在划算, 的手段来获得在评估用于治疗患者的适宜或有效疗法中有用的数据和信息。例如, 患者可在H3K27甲基化的抑制剂的治

疗之前和/或之后提供组织样品(例如肿瘤活检或血液样品)并可经由各种体外测定法检查样品以确定该患者的细胞是否对H3K27甲基化抑制(例如通过H3K27甲基化的抑制剂,诸如EZH2抑制剂(例如EPZ-6438))敏感。

[0188] 本发明还提供用于监测患者对H3K27甲基化的抑制剂的敏感性或响应性的方法。该方法可以以多种测定法格式进行,包括检测基因或蛋白质表达水平的测定法,检测适宜活性的生化测定法,和/或免疫测定法(例如免疫沉淀,例如染色质免疫沉淀(ChIP)测定法)。

[0189] 患者样品中SMARCA2的表达水平的测定可预示患者是否是对H3K27甲基化的抑制剂的一种或多种生物学效应敏感的。来自具有癌症的患者的样品中相对于参照水平的更低SMARCA2表达水平(即阻抑)与H3K27甲基化的抑制剂对此类患者的治疗功效有关联。参照表达水平可以是来自正在测试对H3K27甲基化的抑制剂的响应性的患者的组/群体的样品中的SMARCA2表达水平或来自具有特定癌症(例如与SWI/SNF复合物蛋白中的突变无关的癌症)的患者的组/群体的样品中的均值或中值SMARCA2表达水平,或来自健康或非癌性组织的样品。

[0190] 类似地,自患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27(例如H3K27me3)占据水平的测定可预示患者是否是或会是对H3K27甲基化的抑制剂的生物学效应敏感的。来自具有癌症的患者的样品中相对于参照水平的升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)与H3K27甲基化的抑制剂对此类患者的治疗功效有关联。参照占据水平可以是来自正在测试对H3K27甲基化的抑制剂的响应性的患者的组/群体的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)或来自具有特定癌症(例如与SWI/SNF复合物蛋白中的突变无关的癌症)的患者的组/群体的样品中的均值或中值SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3),或来自健康或非癌性组织的样品。

[0191] SMARCA2表达或SMARCA2启动子处H3K27占据任一或二者的评估还可用于监测患者对H3K27甲基化的抑制剂(例如H3K27me3抑制剂,例如EZH2抑制剂)的响应。可以通过比较在开始治疗(例如用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂)之前获得的样品中生物标志物与在治疗之后获得的样品中的相应生物标志物在治疗过程里监测已经测定是对用H3K27甲基化的抑制剂的治疗响应的患者。在一些情况中,在用H3K27甲基化的抑制剂的治疗的过程里升高的SMARCA2表达水平指示患者对该治疗响应。类似地,依照一些实施方案,在用H3K27甲基化的抑制剂的治疗的过程里样品中降低的SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3)指示患者对该治疗响应。

[0192] 在一个方面,本发明提供一种确定具有癌症的患者是否会响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗的方法,其包括测定(i)在H3K27甲基化的抑制剂施用于患者之前,(ii)在H3K27甲基化的抑制剂施用于患者之后,或(iii)在此类治疗之前和之后获得的来自患者的样品中SMARCA2的表达水平。SMARCA2的表达相对于参照表达水平的变化(例如降低)指示该患者会很可能响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。在一些实施方案中,可告知该患者他们具有升高的可能性响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗和/或提供抗癌疗法包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的推荐。

[0193] 在另一个方面,本发明提供一种为患者优化抗癌疗法的治疗功效的方法,其包括作为生物标志物检测(i)在H3K27甲基化的抑制剂施用于患者之前,(ii)在任何H3K27甲

基化的抑制剂施用于患者之后,或(iii)在此类治疗之前和之后获得的来自该患者的样品中SMARCA2的表达水平。在一些情况中,SMARCA2的表达相对于参照水平的变化(例如降低)指示该患者会很可能响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。可告知该患者他们具有升高的可能性响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗和/或提供抗癌症疗法包括H3K27甲基化的抑制剂的推荐。

[0194] 在另一个方面,本发明提供一种用于为具有癌症的患者选择疗法的方法,其包括作为生物标志物检测(i)在任何H3K27甲基化的抑制剂施用于患者之前,(ii)在任何H3K27甲基化的抑制剂施用于患者之后,或(iii)在此类治疗之前和之后获得的来自患者的样品中SMARCA2的表达。在一些情况中,SMARCA2的表达相对于参照水平的变化(例如降低)指示该患者会很可能响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。可告知该患者他们具有升高的可能性响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗和/或提供抗癌症疗法包括H3K27甲基化的抑制剂的推荐。

[0195] 在另一个实施方案中,本发明提供一种监测患者对H3K27甲基化的抑制剂的敏感性或响应性的方法。此方法包括评估患者样品中SMARCA2的表达水平并预测该患者对H3K27甲基化的抑制剂的敏感性或响应性,其中SMARCA2的表达的变化(例如升高或降低)与该患者对用H3K27甲基化的抑制剂的有效治疗的敏感性或响应性有关联。

[0196] 依照此方法的一个实施方案,在施用H3K27甲基化的抑制剂之前自该患者获得生物学样品并提交测定法以评估该样品中SMARCA2的表达产物的水平。如果SMARCA2的表达相对于参照表达水平降低,那么该患者确定对用H3K27甲基化的抑制剂的治疗敏感或响应。可告知该患者他们具有升高的可能性对用H3K27甲基化的抑制剂的治疗敏感或响应和/或提供抗癌症疗法包括H3K27甲基化的抑制剂的推荐。在此方法的另一个实施方案中,在施用H3K27甲基化的抑制剂之前和之后自该患者获得生物学样品,并提交测定法以评估该样品中SMARCA2的表达产物的水平。如果在施用H3K27甲基化的抑制剂之后SMARCA2的表达相对于在施用H3K27甲基化的抑制剂之前获得的样品升高,那么该患者确定对该治疗响应,而且可建议该患者继续用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

[0197] 在一个分开的方面,本发明提供一种确定具有癌症的患者是否会响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗的方法,其包括测定(i)在任何H3K27甲基化的抑制剂施用于患者之前,(ii)在H3K27甲基化的抑制剂施用于患者之后,或(iii)在此类治疗之前和之后获得的来自患者的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)。在一些实施方案中,SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3)相对于参照水平的变化(例如降低)指示该患者会很可能响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。可告知该患者他们具有升高的可能性响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗和/或提供抗癌症疗法包括H3K27甲基化的抑制剂的推荐。

[0198] 在另一个方面,本发明提供一种为患者优化抗癌症疗法的治疗功效的方法,其包括作为生物标志物检测(i)在任何H3K27甲基化的抑制剂施用于患者之前,(ii)在H3K27甲基化的抑制剂施用于患者之后,或(iii)在此类治疗之前和之后获得的来自该患者的样品中SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3)。在一些情况中,SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)相对于参照水平的变化(例如降低)指示该患者会很可能响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。可告知该患者他们具有升高的可能性响应用H3K27甲基化的

抑制剂的治疗和/或提供抗癌症疗法包括H3K27甲基化的抑制剂的推荐。

[0199] 在另一个方面,本发明提供一种用于为具有癌症的患者选择疗法的方法,其包括作为生物标志物检测(i)在任何H3K27甲基化的抑制剂施用于患者之前,(ii)在任何H3K27甲基化的抑制剂施用于患者之后,或(iii)在此类治疗之前和之后获得的来自患者的样品中SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3)。在一些情况中,SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)相对于参照水平的变化(例如降低)指示该患者会很可能响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。可告知该患者他们具有升高的可能性响应用H3K27甲基化的抑制剂的治疗和/或提供抗癌症疗法包括H3K27甲基化的抑制剂的推荐。

[0200] 在另一个实施方案中,本发明提供一种监测患者对H3K27甲基化的抑制剂的敏感性或响应性的方法。此方法包括评估患者样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)并预测该患者对一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的敏感性或响应性,其中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平的变化(例如升高或降低)与该患者对用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的有效治疗的敏感性或响应性有关联。

[0201] 依照此方法的一个实施方案,在施用任何H3K27甲基化的抑制剂之前自该患者获得生物学样品并提交测定法以评估该样品中SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3)的水平。在一些情况中,如果SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)相对于参照占据水平升高,那么该患者确定对用H3K27甲基化的抑制剂的治疗敏感或响应。可告知该患者他们具有升高的可能性对用H3K27甲基化的抑制剂的治疗敏感或响应和/或提供抗癌症疗法包括H3K27甲基化的抑制剂的推荐。在此方法的另一个实施方案中,在施用H3K27甲基化的抑制剂之前和之后自该患者获得生物学样品,并提交测定法以评估该样品中SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3)的水平。如果在施用H3K27甲基化的抑制剂之后SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3)相对于在施用H3K27甲基化的抑制剂之前获得的样品升高,那么该患者确定对该治疗响应,而且可建议该患者继续用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

[0202] 在任何前述方法的一些实施方案中,自患者获得的样品(例如组织样品(例如肿瘤组织样品))中SMARCA2的表达水平已经测定为相对于参照表达水平降低约1%或更多(例如约2%或更多,约3%或更多,约4%或更多,约5%或更多,约6%或更多,约7%或更多,约8%或更多,约9%或更多,约10%或更多,约11%或更多,约12%或更多,约13%或更多,约14%或更多,约15%或更多,约20%或更多,约25%或更多,约30%或更多,约35%或更多,约40%或更多,约45%或更多,约50%或更多,约55%或更多,约60%或更多,约65%或更多,约70%或更多,约75%或更多,约80%或更多,约85%或更多,约90%或更多,约95%或更多,约98%或更多,约99%或更多,或约100%,例如约1%至约5%,约5%至约10%,约10%至约15%,约15%至约20%,约20%至约25%,约25%至约30%,约30%至约35%,约35%至约40%,约40%至约45%,约45%至约50%,约50%至约55%,约55%至约60%,约60%至约65%,约65%至约70%,约70%至约75%,约75%至约80%,约80%至约85%,约85%至约90%,约90%至约95%,约90%至约100%,约1%至约10%,约10%至约20%,约20%至约30%,约30%至约40%,约40%至约50%,约50%至约60%,约60%至约70%,约70%至约80%,约80%至约90%,约90%至约100%,约1%至约25%,约25%至约50%,约50%至约75%,或约75%至约100%)。

[0203] 在任何方法的一些实施方案中,降低的表达水平指与参照样品,参照细胞,参照组织,对样品,对照细胞,对照组织,或内部对照(例如持家基因)相比的总体降低。

[0204] 或者,自患者获得的样品(例如组织样品(例如肿瘤组织样品))中SMARCA2的表达水平可以测定是升高的(例如在开始施用用H3K27甲基化的抑制剂的治疗之后的时间点相对于在开始施用用H3K27甲基化的抑制剂的治疗之前的时间点)。在一些实施方案中,样品中SMARCA2的表达水平相对于参照表达水平(例如在开始用H3K27的治疗之前的时间点)升高约1%或更多(例如约2%或更多,约3%或更多,约4%或更多,约5%或更多,约6%或更多,约7%或更多,约8%或更多,约9%或更多,约10%或更多,约11%或更多,约12%或更多,约13%或更多,约14%或更多,约15%或更多,约20%或更多,约25%或更多,约30%或更多,约35%或更多,约40%或更多,约45%或更多,约50%或更多,约55%或更多,约60%或更多,约65%或更多,约70%或更多,约75%或更多,约80%或更多,约85%或更多,约90%或更多,约95%或更多,约100%或更多,约110%或更多,约120%或更多,约130%或更多,约140%或更多,约150%或更多,约200%或更多,约250%或更多,约300%或更多,约350%或更多,约400%或更多,约450%或更多,约500%或更多,约550%或更多,约600%或更多,约650%或更多,约700%或更多,约750%或更多,约800%或更多,约850%或更多,约900%或更多,约950%或更多,约1,000%或更多,约2,000%或更多,约5,000%或更多,或约10,000%或更多,例如约1%至约5%,约5%至约10%,约10%至约15%,约15%至约20%,约20%至约25%,约25%至约30%,约30%至约35%,约35%至约40%,约40%至约45%,约45%至约50%,约50%至约55%,约55%至约60%,约60%至约65%,约65%至约70%,约70%至约75%,约75%至约80%,约80%至约85%,约85%至约90%,约90%至约95%,约95%至约100%,约100%至约200%,约200%至约300%,约300%至约400%,约400%至约500%,约500%至约600%,约600%至约700%,约700%至约800%,约800%至约1,000%,约1,000%至约2,000%,约2,000%至约5,000%,约5,000%至约10,000%,约1%至约10%,约10%至约20%,约20%至约30%,约30%至约40%,约40%至约50%,约50%至约60%,约60%至约70%,约70%至约80%,约80%至约90%,约90%至约100%,约1%至约25%,约25%至约50%,约50%至约75%,约75%至约100%,约1,000%至约5,000%,或约5,000%至约10,000%)。在一些实施方案中,样品中SMARCA1的表达水平相对于参照表达水平(例如在开始用H3K27的治疗之前的时间点)升高(例如约1倍,约1.1倍,约1.2倍,约1.3倍,约1.4倍,约1.5倍,约1.6倍,约1.7倍,约1.8倍,约1.9倍,约2倍,约2.1倍,约2.2倍,约2.3倍,约2.4倍,约2.5倍,约3倍,约3.5倍,约4倍,约4.5倍,约5倍,约5.5倍,约6倍,约6.5倍,约7倍,约7.5倍,约8倍,约8.5倍,约9倍,约9.5倍,约10倍,约11倍,约12倍,约13倍,约14倍,约15倍,约16倍,约17倍,约18倍,约19倍,约20倍,约30倍,约40倍,约50倍,约100倍,约500倍,约1,000倍或更多,例如约1倍至约1.5倍,约1.5倍至约2倍,约2倍至约3倍,约3倍至约4倍,约4倍至约5倍,约5倍至约6倍,约6倍至约7倍,约7倍至约8倍,约9倍至约10倍,约10倍至约50倍,约50倍至约100倍,约100倍至约500倍,约500倍至约1,000倍,约1倍至约10倍,约10倍至约100倍,约100倍至约1,000倍,或更多)。

[0205] 在任何方法的一些实施方案中,上升或升高的表达水平指与参照样品,参照细胞,参照组织,对样品,对照细胞,对照组织,或内部对照(例如持家基因)相比的总体升高。

[0206] 在一些实施方案中,SMARCA2的表达水平是中值表达水平(例如中值蛋白质表达水

平或中值基因表达水平,例如中值mRNA表达水平)。或者,SMARCA2的表达水平可以是均值表达水平(例如均值蛋白质表达水平或均值基因表达水平,例如均值mRNA表达水平)。

[0207] 在一些情况中,参照表达水平是在在先时间点自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平。在其它情况中,参照表达水平是参照群体中SMARCA2的表达水平(例如来自同一患者或不同受试者,例如健康受试者的健康组织样品,或多个个体或患者的平均(例如均值或中值)占据水平)。在一些情况中,参照表达水平是SMARCA2的预指派表达水平。例如,预指派表达水平可以是在统计学上或主观地衍生自与作为本文中描述的方法的一部分自患者获得的样品不同的一份或多份样品,例如健康样品,例如来自同一或不同个体的。参照表达水平可以是蛋白质表达水平或mRNA表达水平,例如依照患者的样品中检测的表的类型。

[0208] 在任何前述方法的一些实施方案中,自患者获得的样品(例如组织样品(例如肿瘤组织样品))中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平相对于参照占据水平升高约1%或更多(例如约2%或更多,约3%或更多,约4%或更多,约5%或更多,约6%或更多,约7%或更多,约8%或更多,约9%或更多,约10%或更多,约11%或更多,约12%或更多,约13%或更多,约14%或更多,约15%或更多,约20%或更多,约25%或更多,约30%或更多,约35%或更多,约40%或更多,约45%或更多,约50%或更多,约55%或更多,约60%或更多,约65%或更多,约70%或更多,约75%或更多,约80%或更多,约85%或更多,约90%或更多,约95%或更多,约100%或更多,约110%或更多,约120%或更多,约130%或更多,约140%或更多,约150%或更多,约200%或更多,约250%或更多,约300%或更多,约350%或更多,约400%或更多,约450%或更多,约500%或更多,约550%或更多,约600%或更多,约650%或更多,约700%或更多,约750%或更多,约800%或更多,约850%或更多,约900%或更多,约950%或更多,约1,000%或更多,约2,000%或更多,约5,000%或更多,或约10,000%或更多,例如约1%至约5%,约5%至约10%,约10%至约15%,约15%至约20%,约20%至约25%,约25%至约30%,约30%至约35%,约35%至约40%,约40%至约45%,约45%至约50%,约50%至约55%,约55%至约60%,约60%至约65%,约65%至约70%,约70%至约75%,约75%至约80%,约80%至约85%,约85%至约90%,约90%至约95%,约95%至约100%,约100%至约200%,约200%至约300%,约300%至约400%,约400%至约500%,约500%至约600%,约600%至约700%,约700%至约800%,约800%至约1,000%,约1,000%至约2,000%,约2,000%至约5,000%,约5,000%至约10,000%,约1%至约10%,约10%至约20%,约20%至约30%,约30%至约40%,约40%至约50%,约50%至约60%,约60%至约70%,约70%至约80%,约80%至约90%,约90%至约100%,约1%至约25%,约25%至约50%,约50%至约75%,约75%至约100%,约1,000%至约5,000%,或约5,000%至约10,000%)。在一些实施方案中,样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平相对于参照占据水平升高(例如约1倍,约1.1倍,约1.2倍,约1.3倍,约1.4倍,约1.5倍,约1.6倍,约1.7倍,约1.8倍,约1.9倍,约2倍,约2.1倍,约2.2倍,约2.3倍,约2.4倍,约2.5倍,约3倍,约3.5倍,约4倍,约4.5倍,约5倍,约5.5倍,约6倍,约6.5倍,约7倍,约7.5倍,约8倍,约8.5倍,约9倍,约9.5倍,约10倍,约11倍,约12倍,约13倍,约14倍,约15倍,约16倍,约17倍,约18倍,约19倍,约20倍,约30倍,约40倍,约50倍,约100倍,约500倍,约1,000倍或更多,例如约1倍至约1.5倍,约1.5倍至约2倍,约2倍至约3倍,约3倍至约4倍,约4倍至约5倍,约5倍至约6倍,约6倍至约7倍,约7倍至约8倍,约9倍至约10倍,约10倍至约50倍,约50倍至约100倍,约100倍至约

500倍,约500倍至约1,000倍,约1倍至约10倍,约10倍至约100倍,约100倍至约1,000倍,或更多)。

[0209] 在任何方法的一些实施方案中,上升或升高的占据水平指与参照样品,参照细胞,参照组织,对照样品,对照细胞,对照组织,或内部对照(例如持家基因)相比的总体升高。

[0210] 或者,自患者获得的样品(例如组织样品(例如肿瘤组织样品))中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平可以测定是降低的(例如在开始施用用H3K27甲基化的抑制剂的治疗之后的时间点相对于在开始施用用H3K27甲基化的抑制剂的治疗之前的时间点)。在一些实施方案中,样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平相对于参照占据水平(例如在开始用H3K27甲基化的抑制剂的治疗之前自该患者获得的)降低约1%或更多(例如约2%或更多,约3%或更多,约4%或更多,约5%或更多,约6%或更多,约7%或更多,约8%或更多,约9%或更多,约10%或更多,约11%或更多,约12%或更多,约13%或更多,约14%或更多,约15%或更多,约20%或更多,约25%或更多,约30%或更多,约35%或更多,约40%或更多,约45%或更多,约50%或更多,约55%或更多,约60%或更多,约65%或更多,约70%或更多,约75%或更多,约80%或更多,约85%或更多,约90%或更多,约95%或更多,约98%或更多,约99%或更多,或约100%,例如约1%至约5%,约5%至约10%,约10%至约15%,约15%至约20%,约20%至约25%,约25%至约30%,约30%至约35%,约35%至约40%,约40%至约45%,约45%至约50%,约50%至约55%,约55%至约60%,约60%至约65%,约65%至约70%,约70%至约75%,约75%至约80%,约80%至约85%,约85%至约90%,约90%至约95%,约90%至约100%,约1%至约10%,约10%至约20%,约20%至约30%,约30%至约40%,约40%至约50%,约50%至约60%,约60%至约70%,约70%至约80%,约80%至约90%,约90%至约100%,约1%至约25%,约25%至约50%,约50%至约75%,或约75%至约100%))。

[0211] 在任何方法的一些实施方案中,降低的占据水平指与参照样品,参照细胞,参照组织,对照样品,对照细胞,对照组织,或内部对照(例如持家基因)相比的总体降低。

[0212] 在一些实施方案中,SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)是中值占据水平(例如如通过ChIP-seq或ChIP-PCR测量的)。或者,SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)可以是均值占据水平(例如如通过ChIP-seq或ChIP-PCR测量的)。

[0213] 在一些情况中,参照占据水平是在在先时间点自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)。在其它情况中,参照占据水平是参照群体中(例如来自同一患者或不同受试者,例如健康受试者的健康组织样品,或多个个体或患者的平均(例如均值或中值)占据水平) SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)。在一些情况中,参照占据水平是SMARCA2启动子处H3K27的预指派占据水平(例如H3K27me3)。例如,预指派占据水平可以是在统计学上或主观地衍生自与作为本文中描述的方法的一部分自患者获得的样品不同的一份或多份样品,例如健康样品,例如来自同一或不同个体的。

[0214] 在任何前述方法中,生物标志物(例如相对于参照水平阻抑的SMARCA2,或相对于参照水平高的SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3))将具有一种或多种编码SWI/SNF复合物蛋白(例如SMARCA4,SMARCB1,SMARCC1,SMARCC2,ARID1A,ARID2,和/或PBRM1)的基因中的突变的罹患癌症的患者鉴定为具有升高的可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。在一些情况中,生物标志物(例如相对于参照水平阻抑的SMARCA2或高的SMARCA2启

动子处H3K27占据(例如H3K27me3))将卵巢癌患者鉴定为具有升高的可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。在一些情况中,生物标志物(例如相对于参照水平阻抑的SMARCA2或高的SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3))将卵巢透明细胞癌患者鉴定为具有升高的可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。在一些情况中,生物标志物(例如相对于参照水平阻抑的SMARCA2或高的SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3))将肺癌患者鉴定为具有升高的可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。在一些情况中,生物标志物(例如相对于参照水平阻抑的SMARCA2或高的SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3))将胃癌患者鉴定为具有升高的可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。在一些情况中,生物标志物(例如相对于参照水平阻抑的SMARCA2或高的SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3))将膀胱癌患者鉴定为具有升高的可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。在一些情况中,生物标志物(例如相对于参照水平阻抑的SMARCA2或高的SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3))将横纹肌样癌患者(例如恶性横纹肌样癌患者,例如SMARCB1突变型横纹肌样癌患者,肾横纹肌样癌患者,或脑横纹肌样癌患者)鉴定为具有升高的可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。在一些情况中,生物标志物(例如相对于参照水平阻抑的SMARCA2或高的SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3))将乳腺癌患者鉴定为具有升高的可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗。在一些情况中,生物标志物(例如相对于参照水平阻抑的SMARCA2或高的SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3))将皮肤癌患者鉴定为具有升高的可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的

[0215] 可通过许多方法学来分析样品中本文中描述的各种生物标志物的存在和/或表达水平(量),其中许多是本领域中已知且熟练技术人员理解的,包括但不限于免疫组织化学(“IHC”),Western印迹分析,免疫沉淀,分子结合测定法,酶联免疫吸附测定法(ELISA),酶联免疫过滤测定法(ELIFA),荧光激活细胞分选(“FACS”),MassARRAY,蛋白质组学,基于血液的定量测定法(例如血清ELISA),生化酶活性测定法,原位杂交,荧光原位杂交(FISH),Southern分析,Northern分析,全基因组测序,聚合酶链式反应(PCR)(包括定量实时PCR(qRT-PCR)和其它扩增类型检测方法,诸如例如分支的DNA,SISBA,TMA等),RNA-Seq,微阵列分析,基因表达概况分析,和/或基因表达系列分析(“SAGE”),以及可通过蛋白质,基因,和/或组织阵列分析实施的许多种测定法中的任一种。用于评估基因和基因产物状态的典型方案见于例如Ausubel et al.,eds.,1995,Current Protocols In Molecular Biology, Units 2(Northern Blotting),4(Southern Blotting),15(Immunoblotting)和18(PCR Analysis)。还可使用多重免疫测定法诸如那些可从Rules Based Medicine或Meso Scale Discovery(“MSD”)获得的。可依照已知方法(例如染色质免疫沉淀(ChIP),ChIP-Seq,或ChIP-PCR)来检测和量化染色质修饰,诸如组蛋白甲基化(例如H3K27me3)。

[0216] 在任何前述方法中,生物标志物(例如SMARCA2)的存在和/或表达水平(量)可以是核酸表达水平。在一些情况中,使用定量聚合酶链式反应(qPCR),逆转录PCR(RT-PCR),RNA-Seq,多路qPCR或RT-qPCR,微阵列分析,SAGE,MassARRAY技术,或原位杂交(例如FISH)测定核酸表达水平。在一些情况中,在肿瘤组织,肿瘤细胞,肿瘤浸润性免疫细胞,基质细胞,或其组合中测定生物标志物(例如SMARCA2)的表达水平。

[0217] 在一种特定情况中,生物标志物(例如SMARCA2)的表达水平是mRNA表达水平。用于

评估细胞中的mRNA的方法是公知的且包括例如使用下一代测序技术的RNA-Seq (例如全转录组鸟枪测序),使用互补DNA探针的杂交测定法 (诸如使用经过标记的对一种或多种基因特异性的核糖核酸探针的原位杂交,Northern印迹和相关技术)和各种核酸扩增测定法 (诸如使用对一种或多种基因特异性的互补引物的RT-PCR,和其它扩增型检测方法,诸如例如分支的DNA,SISBA,TMA等等)。另外,此类方法可包括一个或多个容许测定生物学样品中靶mRNA的水平步骤 (例如通过同时检查“持家”基因诸如肌动蛋白家族成员的比较性对照mRNA序列的水平)。任选地,可以测定扩增的靶cDNA的序列。任选方法包含通过微阵列技术在组织或细胞样品中检查或检测mRNA诸如靶mRNA的方案。使用核酸微阵列,将来自测试和对照组织样品的测试和对照mRNA样品逆转录并标记以生成cDNA探针。然后,将探针与在固体支持物上固定化的核酸阵列杂交。阵列配置为使得阵列每个成员的序列和位置是已知的。例如,可将其表达与包括H3K27甲基化的抑制剂的治疗的增加或降低的临床益处相关的基因选集在固体支持物上呈阵列。经标记探针与特定阵列成员的杂交指示衍生该探针的样品表达该基因。

[0218] 在任何前述方法中,通过测定生物标志物的蛋白质表达水平来测量生物标志物 (例如SMARCA2或BRM1) 的存在和/或表达水平 (量)。在某些情况中,该方法包含使生物学样品与特异性结合本文中描述的生物标志物的抗体在允许生物标志物结合的条件下接触,并检测抗体和生物标志物之间是否形成复合物。此类方法可以是体外或体内方法。可使用本领域知道的测量蛋白质表达水平的任何方法。例如,在一些情况中,使用选自由流式细胞术 (例如荧光激活细胞分选 (FACSTM)),Western印迹,ELISA,ELIFA,免疫沉淀,免疫组织化学 (IHC),免疫荧光,放射免疫测定法,点印迹,免疫检测方法,HPLC,表面等离振子共振,光谱术,质谱术,和HPLC组成的组的方法测定生物标志物 (例如SMARCA2或BRM1) 的蛋白质表达水平。在一些情况中,在肿瘤细胞 (例如来自活检) 中测定生物标志物 (例如SMARCA2或BRM1) 的蛋白质表达水平。

[0219] 在某些实施方案中,使用IHC和染色方案来检查样品中生物标志物蛋白质 (例如PD-L1) 的存在和/或表达水平/量。组织切片的IHC染色已经显示是一种测定或检测样品中蛋白质的存在的可靠方法。在任何方法,测定法和/或试剂盒的一些实施方案中,该生物标志物是BRM1。

[0220] IHC可以与另外的技术组合实施,诸如形态学染色和/或原位杂交 (例如FISH)。有IHC的两种通用方法;直接和间接测定法。依照第一种测定法,直接测定抗体对靶抗原的结合。这种直接测定法使用经标记试剂,诸如发荧光的标签或酶标记的一抗,其能在没有别的抗体相互作用的情况下显现。在一种典型的间接测定法中,未缀合的一抗结合抗原,然后经标记的二抗结合一抗。在二抗缀合酶标记物的情况下,添加显色或荧光底物以提供抗原的显现。因为数个二抗可以与一抗上的不同表位反应,所以发生信号放大。

[0221] 在一些实施方案中,在>0%的样品中,在至少1%的样品中,在至少5%的样品中,在至少10%的样品中,在至少15%的样品中,在至少15%的样品中,在至少20%的样品中,在至少25%的样品中,在至少30%的样品中,在至少35%的样品中,在至少40%的样品中,在至少45%的样品中,在至少50%的样品中,在至少55%的样品中,在至少60%的样品中,在至少65%的样品中,在至少70%的样品中,在至少75%的样品中,在至少80%的样品中,在至少85%的样品中,在至少90%的样品中,在至少95%的样品中,或更多,通过IHC检测生

物标志物(例如BRM1)的存在。可使用已知方法对样品打分,例如由病理学家或通过自动化图像分析。

[0222] 在一些实施方案中,本发明的方法包括鉴定一种或多种编码核小体重塑蛋白的基因中的突变(例如SWI/SNF家族蛋白或SWI/SNF复合物蛋白,例如编码BRG1, SNF5, INI1, 或BAF的基因,例如SMARCA4, SMARCB1, SMARCC1, SMARCC2, ARID1A, ARID2, 和PBRM1)。在一些实施方案中,一种或多种编码核小体重塑蛋白的基因中的突变将患者鉴定为具有更大的可能性具有样品中降低的(阻抑的)SMARCA2的表达水平和/或升高的(上升的)SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)。

[0223] 可依照本领域知道的和本文中描述的方法来鉴定突变。在一些实施方案中,通过测定自患者获得的样品中核酸序列(例如DNA序列或RNA序列)并比较该序列与参照序列(例如野生型序列)来鉴定突变(例如一种或多种编码核小体重塑蛋白的基因中的突变,例如SWI/SNF家族蛋白或SWI/SNF复合物蛋白,例如BRG1, SNF5 (INI1), SWI/SNF复合物155kDa亚基, SWI/SNF复合物170kDa亚基, 或BAF, zipzap蛋白, 或BAF180, 或由SMARCA4, SMARCB1, SMARCC1, SMARCC2, ARID1A, ARID2, 和PBRM1任一编码的蛋白质)。

[0224] 在某些情况中,参照水平,参照样品,参照细胞,参照组织,对照样品,对照细胞,或对照组织是来自同一受试者或个体的一份样品或多份样品的组合,其在不同于获得测试样品时的一个或多个时间点获得。例如,参照水平,参照样品,参照细胞,参照组织,对照样品,对照细胞,或对照组织在早于获得测试样品时的时间点从同一受试者或个体获得。如果参照样品在癌症的初始诊断期间获得而测试样品在癌症变成转移性时的更晚时候获得,那么此类参照水平,参照样品,参照细胞,参照组织,对照样品,对照细胞,或对照组织可以是有用的。

[0225] 在某些实施方案中,参照水平,参照样品,参照细胞,参照组织,对照样品,对照细胞,或对照组织是来自一个或多个并非患者的健康个体的多份样品的组合。在某些实施方案中,参照水平,参照样品,参照细胞,参照组织,对照样品,对照细胞,或对照组织是来自患有疾病或病症(例如癌症)的,并非患者或个体的一个或多个个体的多份样品的组合。在某些实施方案中,参照水平,参照样品,参照细胞,参照组织,对照样品,对照细胞,或对照组织是来自并非患者的一个或多个个体的正常组织的合并RNA样品或合并血浆或血清样品。在某些实施方案中,参照水平,参照样品,参照细胞,参照组织,对照样品,对照细胞,或对照组织是来自患有疾病或病症(例如癌症)的,并非患者的一个或多个个体的肿瘤组织的合并RNA样品或合并血浆或血清样品。在某些实施方案中,参照水平是跨越一组样品(例如一组组织样品(例如一组肿瘤组织样品))的生物标志物的中值表达水平。在某些实施方案中,参照水平是跨越具有特定疾病或病症(例如增殖性细胞病症(例如癌症))的患者的群体的生物标志物的中值表达水平。

[0226] 在一些实施方案中,在开始抗癌疗法,例如用于治疗癌症或管理或改善其症状的疗法之后收集自该患者获得的样品。因此,在一些实施方案中,在施用化疗药或开始化疗方案之后收集该样品。

[0227] 在任何前述方法的一些实施方案中,提供基于测定SMARCA2的表达水平或SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3),用于鉴定可能受益于包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的具有癌症的患者,为具有癌症的患者的治疗优化治疗功效,预测具

有癌症的患者对包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的治疗的响应性,和为具有癌症的患者选择疗法的方法,其中该样品还包括一种或多种编码核小体重塑蛋白的基因中的突变。因此,本发明的方法进一步提供一种鉴定一种或多种编码核小体重塑蛋白(例如SWI/SNF家族蛋白,例如BRG1,SNF5(INI1),SWI复合物155kDa亚基,SWI复合物170kDa亚基,BAF,zipzap蛋白,或BAF180)的基因中的突变的方法。编码核小体重塑蛋白的基因包括但不限于SMARCA4,SMARCB1,SMARCC1,SMARCC2,ARID1A,ARID2,和PBRM1。在一些情况中,癌症具有一种或多种编码核小体重塑蛋白的基因(例如一种或多种编码SWI/SNF家族蛋白的基因,例如SMARCA4,SMARCB1,SMARCC1,SMARCC2,ARID1A,ARID2,或PBRM1)中的突变鉴定更有可能具有降低的SMARCA2的表达水平和/或升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)的患者。

[0228] B. 用H3K27甲基化的抑制剂的治疗

[0229] 本发明提供用于治疗具有癌症(例如横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样脑癌或恶性横纹肌样肾癌),卵巢癌(例如卵巢透明细胞癌,或卵巢小细胞癌,例如高钙血型卵巢小细胞癌),肺癌,胃癌,膀胱癌,乳腺癌,皮肤癌,结肠直肠癌,胃癌,淋巴样癌,宫颈癌,腹膜癌,胰腺癌,成胶质细胞瘤,肝癌,膀胱癌,结肠癌,子宫内膜癌,子宫癌,肾癌,前列腺癌,甲状腺癌,和头和颈癌)的患者的方法。在一些情况中,本发明的方法包含对患者施用H3K27甲基化的抑制剂。本文中描述的或本领域知道的任何H3K27甲基化的抑制剂可以与本发明的任何方法联合使用。

[0230] 在一些情况中,该方法牵涉测定自患者获得的样品中SMARCA2的表达水平并基于该样品中与参照水平相比降低的SMARCA2的表达水平将包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的疗法施用于该患者。在一些情况中,施用H3K27甲基化的抑制剂在SMARCA2的表达水平已经测定为相对于参照水平降低之后。在一些情况中,当前正在用H3K27甲基化的抑制剂治疗的患者可在测定SMARCA2的表达水平相对于参照水平降低之后继续接受包括H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

[0231] 在一些情况中,该方法牵涉测定自患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27单,二,或三甲基化;例如H3K27me3)并基于该样品中与参照水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)将包括一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的疗法施用于该患者。在一些情况中,施用H3K27甲基化的抑制剂在SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)已经测定为相对于参照水平升高之后。在一些情况中,当前正在用H3K27甲基化的抑制剂治疗的患者可在测定SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)相对于参照水平升高之后继续接受包括H3K27甲基化的抑制剂的治疗。

[0232] 在任何前述方法中,可在自患者获得的样品(例如组织样品(例如肿瘤组织样品))中SMARCA2的表达水平已经测定为相对于参照表达水平降低约1%或更多(例如约2%或更多,约3%或更多,约4%或更多,约5%或更多,约6%或更多,约7%或更多,约8%或更多,约9%或更多,约10%或更多,约11%或更多,约12%或更多,约13%或更多,约14%或更多,约15%或更多,约20%或更多,约25%或更多,约30%或更多,约35%或更多,约40%或更多,约45%或更多,约50%或更多,约55%或更多,约60%或更多,约65%或更多,约70%或更多,约75%或更多,约80%或更多,约85%或更多,约90%或更多,约95%或更多,约98%或更多,约99%或更多,或约100%)时施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂。

[0233] 在一些实施方案中, SMARCA2的表达水平是中值表达水平(例如中值蛋白质表达水平或中值基因表达水平, 例如中值mRNA表达水平)。或者, SMARCA2的表达水平可以是均值表达水平(例如均值蛋白质表达水平或均值基因表达水平, 例如均值mRNA表达水平)。

[0234] 在一些情况中, 参照表达水平是在在先时间点自该患者获得的样品中SMARCA2的表达水平。在其它情况中, 参照表达水平是参照群体中SMARCA2的表达水平(例如来自同一患者或不同受试者, 例如健康受试者的健康组织样品, 或多个个体或患者的平均(例如均值或中值)占据水平)。在一些情况中, 参照表达水平是SMARCA2的预指派表达水平。例如, 预指派表达水平可以是在统计学上或主观地衍生自与作为本文中描述的方法的一部分自患者获得的样品不同的一份或多份样品, 例如健康样品, 例如来自同一或不同个体的。参照表达水平可以是蛋白质表达水平或mRNA表达水平, 例如依照患者的样品中检测的表的类型。

[0235] 在任何前述方法的一些实施方案中, 可在自患者获得的样品(例如组织样品(例如肿瘤组织样品))中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)已经测定为相对于参照占据水平升高约1%或更多(例如约2%或更多, 约3%或更多, 约4%或更多, 约5%或更多, 约6%或更多, 约7%或更多, 约8%或更多, 约9%或更多, 约10%或更多, 约11%或更多, 约12%或更多, 约13%或更多, 约14%或更多, 约15%或更多, 约20%或更多, 约25%或更多, 约30%或更多, 约35%或更多, 约40%或更多, 约45%或更多, 约50%或更多, 约55%或更多, 约60%或更多, 约65%或更多, 约70%或更多, 约75%或更多, 约80%或更多, 约85%或更多, 约90%或更多, 约95%或更多, 约100%或更多, 约110%或更多, 约120%或更多, 约130%或更多, 约140%或更多, 约150%或更多, 约200%或更多, 约250%或更多, 约300%或更多, 约350%或更多, 约400%或更多, 约450%或更多, 约500%或更多, 约550%或更多, 约600%或更多, 约650%或更多, 约700%或更多, 约750%或更多, 约800%或更多, 约850%或更多, 约900%或更多, 约950%或更多, 约1,000%或更多, 约2,000%或更多, 约5,000%或更多, 或约10,000%或更多)时施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂。

[0236] 在一些实施方案中, SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)是中值占据水平(例如如通过ChIP-seq或ChIP-PCR测量的)。或者, SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)可以是均值占据水平(例如如通过ChIP-seq或ChIP-PCR测量的)。

[0237] 在一些情况中, 参照占据水平是在在先时间点自该患者获得的样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)。在其它情况中, 参照占据水平是参照群体中(例如来自同一患者或不同受试者, 例如健康受试者的健康组织样品, 或多个个体或患者的平均(例如均值或中值)占据水平) SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)。在一些情况中, 参照占据水平是SMARCA2启动子处H3K27的预指派占据水平(例如H3K27me3)。例如, 预指派占据水平可以是在统计学上或主观地衍生自与作为本文中描述的方法的一部分自患者获得的样品不同的一份或多份样品, 例如健康样品, 例如来自同一或不同个体的。

[0238] 在某些实施方案中, 该方法包括当相对于参照表达水平降低的SMARCA2的表达水平鉴定患者为具有升高的可能性受益于H3K27甲基化的抑制剂的治疗时对具有一种或多种编码SWI/SNF复合物蛋白的基因(例如SMARCA4, SMARCB1, SMARCC1, SMARCC2, ARID1A, ARID2, 和/或PBRM1)中的突变的罹患癌症的患者施用H3K27甲基化的抑制剂(例如H3K27抑制剂, 例如EZH2抑制剂, 例如EPZ-6438, CPI-169, EPZ005687, GSK-126, GSK343, 或GSK503)。在一些情况中, 该方法包括当相对于参照表达水平降低的SMARCA2的表达水平鉴定患者为具有升高

的可能性受益于H3K27甲基化的抑制剂的治疗时对卵巢癌患者施用H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)。在一些情况中,该方法包括当相对于参照表达水平降低的SMARCA2的表达水平鉴定患者为具有升高的可能性受益于H3K27甲基化的抑制剂的治疗时对卵巢透明细胞癌患者施用H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)。在一些情况中,该方法包括当相对于参照表达水平降低的SMARCA2的表达水平鉴定患者为具有升高的可能性受益于H3K27甲基化的抑制剂的治疗时对肺癌患者施用H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)。在一些情况中,该方法包括当相对于参照表达水平降低的SMARCA2的表达水平鉴定患者为具有升高的可能性受益于H3K27甲基化的抑制剂的治疗时对胃癌患者施用H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)。在一些情况中,该方法包括当相对于参照表达水平降低的SMARCA2的表达水平鉴定患者为具有升高的可能性受益于H3K27甲基化的抑制剂的治疗时对膀胱癌患者施用H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)。在一些情况中,该方法包括当相对于参照表达水平降低的SMARCA2的表达水平鉴定患者为具有升高的可能性受益于H3K27甲基化的抑制剂的治疗时对横纹肌样癌患者(例如恶性横纹肌样癌患者,例如SMARCB1突变型横纹肌样癌患者)施用H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)。在一些情况中,该方法包括当相对于参照表达水平降低的SMARCA2的表达水平鉴定患者为具有升高的可能性受益于H3K27甲基化的抑制剂的治疗时对乳腺癌患者施用H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)。在一些情况中,该方法包括当相对于参照表达水平降低的SMARCA2的表达水平鉴定患者为具有升高的可能性受益于H3K27甲基化的抑制剂的治疗时对皮肤癌患者施用H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂)。

[0239] 在任何上述方法中,一种或多种H3K27甲基化的抑制剂的施用可具有患者中来自H3K27甲基化的抑制剂的治疗或其所致的细胞或生物学应答,完全响应,部分响应,稳定的疾病(无进展或复发),或具有稍后复发的响应的治疗效果(即益处)。例如,有效响应可以是诊断为(i)表达与参照水平相比降低水平的SMARCA2或(ii)具有与参照水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)的患者中缩小的肿瘤尺寸(体积),延长的无进展存活(PFS),和/或延长的总体存活(OS)。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂的施用具有肿瘤尺寸(体积)缩小1%或更多(例如2%,3%,4%,5%,6%,7%,8%,9%,10%,20%,30%,40%,50%,60%,70%,80%,或90%或更多)的治疗效果。降低的SMARCA2的表达和/或升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)预测此类治疗功效。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂的施用具有无进展存活(PFS)延长1天或更久(例如2天,3天,4天,5天,6天,1周,2周,3周,1个月,2个月,3个月,4个月,5个月,6个月,7个月,8个月,9个月,10个月,11个月,或1年或更久)的治疗效果。

[0240] 供本发明的方法中使用的H3K27甲基化的抑制剂

[0241] 本文中提供的是用于在患者中治疗增殖性细胞病症(例如癌症(例如横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样脑癌或恶性横纹肌样肾癌)),卵巢癌(例如卵巢透明细胞癌,或卵巢小细胞癌,例如高钙血型卵巢小细胞癌),肺癌,胃癌,膀胱癌,乳腺癌,皮肤癌,结肠直肠癌,胃癌,淋巴样癌,宫颈癌,腹膜癌,胰腺癌,成胶质细胞瘤,肝癌,膀胱癌,结肠癌,子宫内膜癌,子宫癌,肾癌,前列腺癌,甲状腺癌,和头和颈癌))或延迟其进展的方法,其包含对该患者施用治疗有效量的一种或多种H3K27甲基化的抑制剂。

[0242] 在一些实施方案中,H3K27甲基化的抑制剂可抑制牵涉H3K27的甲基化(例如单甲

基化,二甲基化,或三甲基化)的一种或多种蛋白质的活性。在一些实施方案中,H3K27甲基化的抑制剂是破坏polycomb阻抑性复合物2 (PRC2) 的形成或活性的药剂。例如,H3K27甲基化的抑制剂可通过拮抗或降低,阻断,或抑制SUZ12,EED,RBAP,和/或JARID2中一种或多种的表达来破坏PRC2的形成或活性。在一些实施方案中,H3K27甲基化的抑制剂可以是小分子(例如小分子H3K27me3抑制剂,例如EZH2抑制剂)。在一些实施方案中,H3K27甲基化的抑制剂可以是蛋白质(例如肽)。在一些实施方案中,H3K27甲基化的抑制剂可以是抗体,其抗原结合片段,免疫粘附素,融合蛋白,寡肽,或适体。

[0243] 在一些实施方案中,H3K27甲基化的抑制剂是EZH2抑制剂。EZH2抑制剂是降低,阻断,抑制,消除,或干扰EZH2的甲基转移酶活性的分子。在一些实施方案中,EZH2抑制剂是小分子。EZH2的小分子抑制剂的例子包括但不限于EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,GSK503,和其药学可接受盐。EZH2抑制剂可仅仅抑制EZH2或可抑制EZH2和一种或多种另外的靶物。在一些实施方案中,与EZH1相比,EZH2抑制剂优先抑制EZH2。

[0244] 剂量和施用

[0245] 一旦鉴定出对H3K27甲基化的抑制剂的治疗响应或敏感的患者,就可进行单独的或与其它治疗剂组合的H3K27甲基化的抑制剂的治疗。此类治疗可导致例如肿瘤尺寸缩小或无进展存活 (PFS) 和/或总体存活 (OS) 延长。此外,H3K27甲基化的抑制剂和至少一种另外的治疗剂的组合的治疗优选对患者导致叠加,更优选协同(或大于叠加)的治疗益处。优选地,在这种组合方法中,H3K27甲基化的抑制剂和至少一种另外的治疗剂的至少一次施用之间的时机是约1个月或更少,更优选约2周或更少。

[0246] 本领域技术人员会领会,在诊断患者对H3K27甲基化的抑制剂可能的响应性后将治疗有效量的H3K27甲基化的抑制剂施用于他们的方式会由主治医师斟酌。施用的模式(包括剂量,与其它药剂的组合,施用的时机和频率,等等)可以受到患者对此类H3K27甲基化的抑制剂可能的响应性的诊断以及患者的状况和历史影响。如此,甚至预测对H3K27甲基化的抑制剂相对不敏感的具有癌症的患者仍可受益于其治疗,特别是与其它药剂(包括可改变患者对该拮抗剂的响应性的药剂)的组合。

[0247] 包含H3K27甲基化的抑制剂的组合物会以与优良医学实践一致的方式配制,定剂量,和施用。在此背景中考虑的因素包括所治疗的癌症的特定类型(例如横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样脑癌或恶性横纹肌样肾癌)),卵巢癌(例如卵巢透明细胞癌,或卵巢小细胞癌,例如高钙血型卵巢小细胞癌),肺癌,胃癌,膀胱癌,乳腺癌,皮肤癌,结肠直肠癌,胃癌,淋巴样癌,宫颈癌,腹膜癌,胰腺癌,成胶质细胞瘤,肝癌,膀胱癌,结肠癌,子宫内膜癌,子宫癌,肾癌,前列腺癌,甲状腺癌,和头和颈癌),所治疗的特定哺乳动物(例如人),患者个体的临床状况,癌症的原因,药剂的投递部位,可能的副作用,抑制剂的类型,施用的方法,施用的进度安排,和医学从业人员知道的其它因素。要施用的H3K27甲基化的抑制剂的有效量会取决于此类考虑。

[0248] 根据诸如特定拮抗剂类型等因素,具有本领域普通技能的内科医师能容易地确定所需要的药学组合物的有效量及开出这样的处方。例如,内科医师能以多剂如下H3K27甲基化的抑制剂开始,其在药学组合物中以比实现期望的治疗效果所需水平要低的水平采用,并逐渐提高剂量,直至实现期望的效果。拮抗剂的给定剂量或治疗方案的有效性可以例如通过使用标准功效度量评估患者中的体征和症状来测定。

[0249] 在某些例子中,H3K27甲基化的抑制剂可以是施用于受试者的唯一药剂(即作为单一疗法)。

[0250] 在某些例子中,至少两次用相同的H3K27甲基化的抑制剂治疗患者。如此,初始和第二次H3K27甲基化的抑制剂暴露可以用相同的抑制剂,或者所有H3K27甲基化的抑制剂暴露用相同的H3K27甲基化的抑制剂,即头两次暴露,优选所有暴露的治疗用一种类型的H3K27甲基化的抑制剂。

[0251] H3K27甲基化的抑制剂或其药学可接受盐的治疗可依照标准方法进行。

[0252] 如果提供H3K27甲基化的抑制剂的多次暴露的话,每一次暴露可以使用相同或不同施用手段来提供。在一个实施方案中,每一次暴露是通过口服施用给予的。在一个实施方案中,每一次暴露是通过静脉内施用。在另一个实施方案中,每一次暴露是通过皮下施用给予的。在还有另一个实施方案中,暴露是通过静脉内和皮下施用二者给予的。

[0253] 疗法的持续时间可以继续像医嘱指示的那样长时间或直至实现期望的治疗效果(例如本文中描述的那些)。在某些实施方案中,疗法继续1个月,2个月,4个月,6个月,8个月,10个月,1年,2年,3年,4年,5年,或多年的时段直至受试者终身。

[0254] 然而,如上所述,对于H3K27甲基化的抑制剂的这些建议量要加以诸多治疗上的考量。在选择适宜剂量和日程安排中,关键的因素是获得的结果,如上文指示的。在一些实施方案中,尽可能接近增殖性细胞病症(例如癌症)的首次体征,诊断,表现,或出现,施用H3K27甲基化的抑制剂。

[0255] 施用路径

[0256] H3K27甲基化的抑制剂和任何另外的治疗剂可以以与优良医学实践一致的方式配制,定剂量,和施用。在此背景中考虑的因素包括所治疗的特定病症(例如癌症),所治疗的特定哺乳动物,患者个体的临床状况,病症的原因,药剂的投递部位,施用的方法,施用的进度安排,和医学从业人员知道的其它因素。H3K27甲基化的抑制剂无需但任选与一种或多种当前用于预防或治疗病症(例如癌症)的药剂并行配制和/或施用。

[0257] 对于癌症的预防或治疗,本文中描述的H3K27甲基化的抑制剂(当单独或与一种或多种其它另外的治疗剂组合使用时)的适宜剂量会取决于要治疗的疾病的类型,疾病的严重程度和过程,施用H3K27甲基化的抑制剂是为了预防还是治疗目的,先前的疗法,患者的临床史和对H3K27甲基化的抑制剂的响应,和主治医师的斟酌。一次性或在一系列治疗里将H3K27甲基化的抑制剂恰当地施用于患者。对于几天或更长时间里的重复施用,取决于状况,治疗一般会持续直至发生期望的疾病症状遏制。此类剂量可以间歇施用,例如每周或每三周(例如使得患者接受例如约2至约20,或例如约6剂H3K27甲基化的抑制剂)。可以施用较高的一剂初始加载剂,接着是较低的一剂或多剂。然而,其它剂量方案可能是有用的。此疗法的进展易于通过常规技术和测定法来监测。

[0258] H3K27甲基化的抑制剂可以通过任何合适手段来施用,包括口服,胃肠外,表面,皮下,腹膜内,肺内,鼻内,和/或损伤内施用。胃肠外输注包括肌肉内,静脉内,动脉内,腹膜内,或皮下施用。还涵盖鞘内施用。另外,H3K27甲基化的抑制剂可以通过脉冲输注恰当地施用,例如用递减剂量的H3K27甲基化的抑制剂。任选地,剂量给药通过口服施用给予。

[0259] 如果提供H3K27甲基化的抑制剂的多次暴露的话,每一次暴露可以使用相同或不同施用手段来提供。在一个实施方案中,每一次暴露是通过口服施用给予的。例如,可以以

片剂形式提供一种或多种H3K27甲基化的抑制剂,诸如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,和/或GSK503。例如,可以一天两次施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂,诸如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,和/或GSK503。在另一个实施方案中,每一次暴露是静脉内(i.v.)给予的。在另一个实施方案中,每一次暴露是通过皮下(s.c.)施用给予的。在还有另一个实施方案中,暴露是通过静脉内和皮下施用二者给予的。

[0260] 组合疗法

[0261] 任何前述方法可包括施用超过一种治疗剂。在一些情况中,本发明提供一种通过施用第一H3K27甲基化的抑制剂和第二(例如不同的)H3K27甲基化的抑制剂来治疗个体的方法。在其它情况中,本发明提供一种通过与另外的(例如不同的)治疗剂(例如抗癌剂)组合施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂来治疗个体的方法。

[0262] 在一些情况中,该方法包括施用抗癌剂,诸如化疗剂,生长抑制剂,生物疗法,免疫疗法,或放疗剂。另外,细胞毒性剂,抗血管发生剂,和抗增殖剂可以与H3K27甲基化的抑制剂组合使用。在一些情况中,该H3K27甲基化的抑制剂与抗癌症疗法,诸如手术组合使用。

[0263] 组合疗法可提供“协同作用”及证实是“协同性”的,即当一起使用活性组分时所实现的效果大于分开使用化合物时所产生的效果之和。当活性组分为如下情况时可获得协同效应:(1)共配制和施用或在组合的单位剂量配制剂中同时投递;(2)作为分开的配制剂交替或平行投递;或(3)通过一些其它方案。当在交替疗法中投递时,在顺序施用或投递化合物时,可获得协同效应。一般地,在交替疗法期间,顺序(即连续)施用有效剂量的每种活性组分,而在组合疗法中,一起施用有效剂量的两种或更多种活性组分。

[0264] 如上文描述的,治疗方法可包括施用两种或更多种(例如三种或更多种)H3K27甲基化的抑制剂(例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,和/或GSK503)的组合。在一些情况中,与破坏PCR2的形成或活性的药剂组合施用H3K27甲基化的抑制剂,例如H3K27me3抑制剂(例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,或GSK503)。在一些情况中,与SUZ12拮抗剂组合施用H3K27甲基化的抑制剂,例如H3K27me3抑制剂(例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,或GSK503)。在一些情况中,与EED拮抗剂组合施用H3K27甲基化的抑制剂,例如H3K27me3抑制剂(例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,或GSK503)。在一些情况中,与RBAP拮抗剂组合施用H3K27甲基化的抑制剂,例如H3K27me3抑制剂(例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,或GSK503)。在一些情况中,与JARID2拮抗剂组合施用H3K27甲基化的抑制剂,例如H3K27me3抑制剂(例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,或GSK503)。在一些情况中,与降低SUZ12的表达的药剂组合施用H3K27甲基化的抑制剂,例如H3K27me3抑制剂(例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,或GSK503)。在一些情况中,与降低EED的表达的药剂一起施用H3K27甲基化的抑制剂,例如H3K27me3抑制剂(例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,或GSK503)。在一些情况中,与降低jumonji的表达的药剂一起施用H3K27甲基化的抑制剂,例如H3K27me3抑制剂(例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,或GSK503)。

[0265] 该方法还可牵涉与化疗剂,诸如多西他赛,多柔比星,和环磷酰胺组合对该患者施用有效量的H3K27甲基化的抑制剂。

[0266] 在其它情况中,该方法包含与免疫治疗,诸如治疗性抗体组合施用H3K27甲基化的抑制剂。在一个实施方案中,该治疗性抗体是结合癌细胞表面标志物或肿瘤相关抗原(TAA)的抗体。在一个实施方案中,该治疗性抗体是抗HER2抗体,曲妥珠单抗(例如**HERCEPTIN®**)。在一个实施方案中,该治疗性抗体是抗HER2抗体,帕妥珠单抗(OMNITARG™)。在另一个实施方案中,该治疗性抗体或是裸抗体或是抗体-药物缀合物(ADC)。

[0267] 不希望受理论束缚,认为通过促进激活性共刺激分子或通过抑制负面共刺激分子来增强T细胞刺激可促进肿瘤细胞死亡,由此治疗癌症或延迟癌症进展。因此,在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对激活性共刺激分子的激动剂联合施用。在一些情况中,激活性共刺激分子可包括CD40,CD226,CD28,OX40,GITR,CD137,CD27,HVEM,或CD127。在一些情况中,针对激活性共刺激分子的激动剂是结合CD40,CD226,CD28,OX40,GITR,CD137,CD27,HVEM,或CD127的激动性抗体。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对抑制性共刺激分子的拮抗剂联合施用。在一些情况中,抑制性共刺激分子可包括CTLA-4(也称作CD152),TIM-3,BTLA,VISTA,LAG-3,B7-H3,B7-H4,ID0,TIGIT,MICA/B,或精氨酸酶。在一些情况中,针对抑制性共刺激分子的拮抗剂是结合CTLA-4,TIM-3,BTLA,VISTA,LAG-3,B7-H3,B7-H4,ID0,TIGIT,MICA/B,或精氨酸酶的拮抗性抗体。

[0268] 在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对CTLA-4(也称作CD152)的拮抗剂,例如阻断性抗体联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与ipilimumab(也称作MDX-010,MDX-101,或**YERVOY®**)联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与tremelimumab(也称作ticilimumab或CP-675,206)联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对B7-H3(也称作CD276)的拮抗剂,例如阻断性抗体联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与MGA271联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对TGF- β 的拮抗剂,例如metelimumab(也称作CAT-192),fresolimumab(也称作GC1008),或LY2157299联合施用。

[0269] 在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与包括表达嵌合抗原受体(CAR)的T细胞(例如细胞毒性T细胞或细胞毒性淋巴细胞(CTL))的过继转移的治疗联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与包括包括显-阴性TGF β 受体,例如显-阴性TGF β 类型II受体的T细胞的过继转移的治疗联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与包括HERCREEM方案(参见例如ClinicalTrials.gov Identifier NCT00889954)的治疗联合施用。

[0270] 在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对CD137(也称作TNFRSF9,4-1BB,或ILA)的激动剂,例如激活性抗体联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与urelumab(也称作BMS-663513)联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对CD40的激动剂,例如激活性抗体联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与CP-870893联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对OX40(也称作CD134)的激动剂,例如激活性抗体联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与抗OX40抗体(例如AgonOX)联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对CD27的激动剂,例如激活性抗体联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与CDX-1127联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对吡啶胺-2,3-双加氧酶(IDO)的拮抗

剂联合施用。在一些情况中,该IDO拮抗剂是1-甲基-D-色氨酸(也称作1-D-MT)。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与PD-1轴结合拮抗剂联合施用。在一些情况中,该PD-1轴结合拮抗剂是PD-L1抗体。

[0271] 在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与抗体-药物缀合物联合施用。在一些情况中,该抗体-药物缀合物包含mertansine或单甲基奥瑞斯他汀(auristatin) E (MMAE)。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与抗NaPi2b抗体-MMAE缀合物(也称作DNIB0600A或RG7599)联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与trastuzumab emtansine(也称作T-DM1,ado-trastuzumab emtansine,或**KADCYLA®**,Genentech)联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与DMUC5754A联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与靶向内皮素B受体(EDNBR)的抗体-药物缀合物,例如与MMAE缀合的针对EDNBR的抗体联合施用。

[0272] 在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与抗血管发生剂联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对VEGF,例如VEGF-A的抗体联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与贝伐珠单抗(也称作**AVASTIN®**,Genentech)联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与针对血管生成素2(也称作Ang2)的抗体联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与MEDI3617联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与抗肿瘤剂联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与靶向CSF-1R(也称作M-CSFR或CD115)的药剂联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与抗CSF-1R(也称作IMC-CS4)联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与干扰素,例如干扰素 α 或干扰素 γ 联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与Roferon-A(也称作重组干扰素 α -2a)联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与GM-CSF(也称作重组人粒细胞巨噬细胞集落刺激因子,rhu GM-CSF,沙格司亭(sargramostim),或**LEUKINE®**)联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与IL-2(也称作阿地白介素(aldesleukin)或**PROLEUKIN®**)联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与IL-12联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与靶向CD20的抗体联合施用。在一些情况中,该靶向CD20的抗体是obinutuzumab(也称作GA101或**GAZYVA®**)或利妥昔单抗(rituximab)。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与靶向GITR的抗体联合施用。在一些情况中,该靶向GITR的抗体是TRX518。

[0273] 在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与癌症疫苗联合施用。在一些情况中,该癌症疫苗是肽癌症疫苗,其在一些情况中是个性化肽疫苗。在一些情况中,该肽癌症疫苗是多价长肽,多重肽,肽混合物,杂合肽,或经肽脉冲的树突细胞疫苗(参见例如Yamada et al.,Cancer Sci.104:14-21,2013)。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与佐剂联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与包含TLR激动剂,例如Poly-ICLC(也称作**HILTONOL®**),LPS,MPL,或CpG ODN的治疗联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与肿瘤坏死因子(TNF) α 联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与IL-1,例如IL-1 β 联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与HMGB1联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与IL-10拮抗剂联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与IL-4拮抗剂联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与IL-13拮抗剂联合施用。在一些情况中,H3K27甲基化的抑制剂可以与HVEM拮抗剂联合施用。

在一些情况中, H3K27甲基化的抑制剂可以与ICOS激动剂, 例如通过施用ICOS-L, 或针对ICOS的激动性抗体联合施用。在一些情况中, H3K27甲基化的抑制剂可以与靶向CX3CL1的治疗联合施用。在一些情况中, H3K27甲基化的抑制剂可以与靶向CXCL9的治疗联合施用。在一些情况中, H3K27甲基化的抑制剂可以与靶向CXCL10的治疗联合施用。在一些情况中, H3K27甲基化的抑制剂可以与靶向CCL5的治疗联合施用。在一些情况中, H3K27甲基化的抑制剂可以与LFA-1或ICAM1激动剂联合施用。在一些情况中, H3K27甲基化的抑制剂可以与选择蛋白激动剂联合施用。

[0274] 一般而言, 对于疾病的预防或治疗, 另外的治疗剂的适宜剂量会取决于要治疗的疾病的类型, 抗体的类型, 疾病的严重程度和过程, 施用一种或多种H3K27甲基化的抑制剂和/或另外的药剂是为了预防还是治疗目的, 先前的疗法, 患者的临床史和对H3K27甲基化的抑制剂和另外的药剂的响应, 和主治医生的斟酌。一次性或在一系列治疗里将H3K27甲基化的抑制剂和另外的药剂恰当地施用于患者。H3K27甲基化的抑制剂典型地如上文所列施用。取决于疾病的类型和严重程度, 约20mg/m²至600mg/m²另外的药剂是施用于患者的初始候选剂量, 例如通过一次或多次分开的施用或通过连续输注。一种典型日剂量可以范围自约或约20mg/m², 85mg/m², 90mg/m², 125mg/m², 200mg/m², 400mg/m², 500mg/m²或更多, 取决于上文所述因素。对于几天或更长时间里的重复施用, 取决于状况, 治疗会持续直至发生期望的疾病症状遏制。如此, 可以将约20mg/m², 85mg/m², 90mg/m², 125mg/m², 200mg/m², 400mg/m², 500mg/m², 600mg/m² (或其任何组合) 的一或多剂施用于患者。此类剂量可以间歇施用, 例如每周或每两, 三, 四, 五, 或六周 (例如使得患者接受例如约2至约20, 或例如约6剂另外的药剂)。可以施用较高的一剂初始加载剂, 接着是较低的一剂或多剂。然而, 其它剂量方案可能是有用的。此疗法的进展易于通过常规技术和测定法来监测。

[0275] 在一个实施方案中, 受试者先前从未施用过任何药物来治疗癌症。在另一个实施方案中, 受试者或患者先前施用过一种或多种药物来治疗癌症。在又一个实施方案中, 受试者或患者并不响应先前施用的一种或多种药物。受试者可能不响应的此类药物包括例如抗肿瘤剂, 化疗剂, 细胞毒剂, 和/或生长抑制剂。

[0276] VI. 组合物

[0277] 在一个方面, 本发明部分基于下述发现, 即包括H3K27甲基化的抑制剂 (例如H3K27me3抑制剂, 例如EZH2抑制剂) 的组合对治疗罹患癌症的患者是有用的, 其中该癌症与相对于参照水平降低的SMARCA2表达和/或升高的SMARCA2启动子处H3K27占据 (例如H3K27me3) 有关。

[0278] 在某些实施方案中, 提供的是包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂 (例如H3K27me3抑制剂, 例如EZH2抑制剂, 例如EPZ-6438, CPI-169, EPZ005687, GSK-126, GSK343, 或GSK503) 的组合物, 其供一种治疗罹患癌症 (例如横纹肌样癌 (例如恶性横纹肌样癌 (例如恶性横纹肌样脑癌或恶性横纹肌样肾癌)), 卵巢癌 (例如卵巢透明细胞癌, 或卵巢小细胞癌, 例如高钙血型卵巢小细胞癌), 肺癌, 胃的癌, 膀胱癌, 乳腺癌, 皮肤癌, 结肠直肠癌, 胃癌, 淋巴样癌, 宫颈癌, 腹膜癌, 胰腺癌, 成胶质细胞瘤, 肝癌, 膀胱癌, 结肠癌, 子宫内膜癌, 子宫癌, 肾癌, 前列腺癌, 甲状腺癌, 和头和颈癌) 的患者的方法中使用, 其中自该患者获得的样品已经测定为样品中具有与参照表达水平相比降低的SMARCA2的表达水平。

[0279] 在其它实施方案中, 提供的是包含一种或多种H3K27甲基化的抑制剂 (例如

H3K27me3抑制剂,例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438,CPI-169,EPZ005687,GSK-126,GSK343,或GSK503)的组合物,其供一种治疗罹患癌症(例如横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样癌,例如恶性横纹肌样脑癌或恶性横纹肌样肾癌),卵巢癌(例如卵巢透明细胞癌,或卵巢小细胞癌,例如高钙血型卵巢小细胞癌),肺癌,胃的癌,膀胱癌,乳腺癌,皮肤癌,结肠直肠癌,胃癌,淋巴样癌,宫颈癌,腹膜癌,胰腺癌,成胶质细胞瘤,肝癌,膀胱癌,结肠癌,子宫内膜癌,子宫癌,肾癌,前列腺癌,甲状腺癌,和头和颈癌)的患者中使用,其中自该患者获得的样品已经测定为样品中具有与参照占据水平相比升高的SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)。

[0280] V. 诊断试剂盒

[0281] 本文中提供的是诊断试剂盒,其包括一种或多种试剂(例如多肽或多核苷酸),用于测定来自具有疾病或病症(例如增殖性细胞病症(例如癌症((例如横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样癌,例如恶性横纹肌样脑癌或恶性横纹肌样肾癌),卵巢癌(例如卵巢透明细胞癌,或卵巢小细胞癌,例如高钙血型卵巢小细胞癌),肺癌,胃的癌,膀胱癌,乳腺癌,皮肤癌,结肠直肠癌,胃癌,淋巴样癌,宫颈癌,腹膜癌,胰腺癌,成胶质细胞瘤,肝癌,膀胱癌,结肠癌,子宫内膜癌,子宫癌,肾癌,前列腺癌,甲状腺癌,和头和颈癌)))的个体或患者的样品中生物标志物(例如SMARCA2阻抑)的存在。在一些情况中,样品中生物标志物的降低的表达水平鉴定出具有更高可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的患者。在一些情况中,样品中生物标志物相对于参照水平的降低的存在指示用H3K27甲基化的抑制剂治疗个体时更高可能性的功效。任选地,该试剂盒可进一步包括使用该试剂盒来鉴定具有更高可能性受益于H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的使用说明书。在另一种情况中,该试剂盒可进一步包括如果在样品中个体表达相对于参照表达水平降低的水平生物标志物,使用该试剂盒选择药物(例如包括H3K27甲基化的抑制剂,例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438的药物)来治疗疾病或病症(例如癌症)的使用说明书。

[0282] 在另一个实施方案,诊断试剂盒可包括一种或多种试剂(例如能够测定样品中SMARCA2启动子处H3K27的占据水平(例如H3K27me3)的试剂,例如ChIP-seq或ChIP-PCR试剂),用于测定来自具有疾病或病症(例如增殖性细胞病症(例如癌症((例如横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样癌,例如恶性横纹肌样脑癌或恶性横纹肌样肾癌),卵巢癌(例如卵巢透明细胞癌,或卵巢小细胞癌,例如高钙血型卵巢小细胞癌),肺癌,胃的癌,膀胱癌,乳腺癌,皮肤癌,结肠直肠癌,胃癌,淋巴样癌,宫颈癌,腹膜癌,胰腺癌,成胶质细胞瘤,肝癌,膀胱癌,结肠癌,子宫内膜癌,子宫癌,肾癌,前列腺癌,甲状腺癌,和头和颈癌)))的个体或患者的样品中生物标志物(例如SMARCA2启动子处H3K27)的存在。在一些情况中,样品中生物标志物的存在或占据水平鉴定出具有更高可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的患者。在一些情况中,样品中生物标志物相对于参照占据水平的升高的占据水平指示用H3K27甲基化的抑制剂治疗个体时更高可能性的功效。任选地,该试剂盒可进一步包括使用该试剂盒来鉴定具有更高可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的使用说明书。在另一种情况中,该试剂盒可进一步包括如果在样品中个体表达相对于参照水平升高的占据水平的生物标志物,使用该试剂盒选择药物(例如包括H3K27甲基化的抑制剂,例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438的药物)来治疗疾病或病症(例如癌症)的使用说明书。

[0283] 本文中描述的试剂盒的任何实施方案可进一步包括一种或多种试剂(例如多肽或

多核苷酸),用于鉴定来自具有疾病或病症(例如增殖性细胞病症(例如癌症((例如横纹肌样癌(例如恶性横纹肌样癌,例如恶性横纹肌样脑癌或恶性横纹肌样肾癌),卵巢癌(例如卵巢透明细胞癌,或卵巢小细胞癌,例如高钙血型卵巢小细胞癌),肺癌,胃的癌,膀胱癌,乳腺癌,皮肤癌,结肠直肠癌,胃癌,淋巴样癌,宫颈癌,腹膜癌,胰腺癌,成胶质细胞瘤,肝癌,膀胱癌,结肠癌,子宫内膜癌,子宫癌,肾癌,前列腺癌,甲状腺癌,和头和颈癌)))的个体或患者的样品中一种或多种编码核小体重塑蛋白的基因(例如SWI/SNF复合物蛋白,例如编码BRG1,SNF5,INI1,或BAF的基因,例如SMARCA4,SMARCB1,SMARCC1,SMARCC2,ARID1A,ARID2,和PBRM1)中的突变。在一些情况中,一种或多种编码核小体重塑蛋白的基因中的突变的存在鉴定出具有更高可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者。在一些情况中,一种或多种编码核小体重塑蛋白的基因中的突变的存在鉴定出具有更高可能性具有阻抑的SMARCA2的表达水平(例如相对于参照表达水平降低的表达水平)或相对于参照占据水平升高的SMARCA2启动子处H3K27占据(例如H3K27me3)的患者。在一些实施方案中,该试剂盒可进一步包括如果样品具有一种或多种编码核小体重塑蛋白的基因(例如SWI/SNF复合物蛋白,例如编码BRG1,SNF5,INI1,或BAF的基因,例如SMARCA4,SMARCB1,SMARCC1,SMARCC2,ARID1A,ARID2,和PBRM1)中的突变,使用该试剂盒测试样品中的SMARCA2阻抑和/或SMARCA2启动子处H3K27占据的使用说明书。任选地,该试剂盒可进一步包括使用该试剂盒鉴定具有更高可能性受益于用H3K27甲基化的抑制剂的治疗的患者的使用说明书。在另一种情况中,该试剂盒可进一步包括依照一种或多种测试的结果使用该试剂盒选择药物(例如包括H3K27甲基化的抑制剂,例如EZH2抑制剂,例如EPZ-6438的药物)来治疗疾病或病症(例如癌症)的使用说明书。

实施例

[0284] 提供下述实施例来例示而非限制当前请求保护的发明。

[0285] 实施例1:材料和方法

[0286] 细胞系和培养

[0287] 于37℃在5%CO₂下在补充有10%胎牛血清(FBS)和GlutaMAX的RPMI1640中维持所有细胞。经由感染表达Cas9的慢病毒(pLenti6.3),接着用杀稻瘟素选择,生成稳定的Cas9表达系。为了生成EZH2敲除细胞系,将靶向EZH2的引导RNA(靶向序列:gEZH2-#4,AAGACCCACCAAAACGTCCAGG(SEQ ID NO:25);gEZH2-#5,TGGGGTCTTTATCCGCTCAGCGG(SEQ ID NO:26))和对照(gLuc-#1,gLuc-#2)克隆入pLK0.1载体。分配慢病毒包装性293T细胞,48小时之后转染5μg pLK0.1-puro gRNA质粒,delta8.9和VSVG的1:2.3:0.2摩尔比的DNA混合物。用Lipofectamine 2000(2μl/μg DNA,Thermo Fisher)进行转染。转染后72小时收获病毒。用自293T细胞收集的培养液的1/10稀释液感染靶细胞。在转染后72小时之后用毒性浓度的嘌呤霉素选择感染的靶细胞。

[0288] 克隆发生测定法

[0289] 依照倍增时间,在每块6孔板中分配1,800-5,000个细胞。在分配之后24小时,取出培养基并用以不同浓度含有EPZ-6438的培养基替换。每3至4天替换具有EPZ-6438的新鲜培养基直至对照细胞达到汇合以停止培养。对于评估EZH2敲除的影响的研究,在嘌呤霉素选择后7天分配细胞。取出培养基,并将细胞用PBS清洗并用0.5%结晶紫于室温染色20分钟。

取出染料,用水清洗细胞单层,并将板清洗并拍照。

[0290] 凋亡和衰老的评估

[0291] 经由(a)使用Incucyte胱天蛋白酶-3/7凋亡测定法(Essen Biosciences,目录号4440)的活细胞成像分析或经由使用胱天蛋白酶-Glo 3/7测定法(Promega,G8090)的静态时间点评估监测凋亡。对于基于Incucyte的测定法(图4B),在96孔板中分配300-600个细胞(基于倍增时间),并在24小时时,用以指定浓度含有EPZ-6438和胱天蛋白酶3/7试剂(Essen Bioscience)的培养基替换培养基。每3至4天替换含有EPZ-6438和胱天蛋白酶3/7试剂的新鲜培养基。每3小时收集相衬和荧光图像,并依照Incucyte方案对荧光对象的数目计数并分析。以在指定时间点针对DMSO对照标准化的胱天蛋白酶3/7荧光计数呈现数据。对于通过胱天蛋白酶-Glo测定凋亡(图18C,19G),在96孔板中以500个细胞每孔分配TOV112D细胞并用指定浓度的EPZ-6438处理6天。在指定时,依照制造商的说明书测量胱天蛋白酶3/7活性,并将结果针对DMSO对照孔中的信号标准化。为了评估衰老诱导,依照制造商的说明书使用衰老细胞组织化学染色试剂盒(Sigma)将细胞针对 β -半乳糖苷酶活性染色。

[0292] 亚细胞分级。

[0293] 为了测定蛋白质的相对亚细胞分布,在200 μ l含有10mM HEPES,[pH 7.9],10mM KCl,1.5mM MgCl₂,0.34M蔗糖,10%甘油,1mM DTT,和蛋白酶磷酸酶抑制剂的缓冲液A中重悬浮 3×10^6 个细胞。添加来自10%储液的Triton X-100至0.1%的终浓度并立即混合。将裂解物在冰上温育5分钟,然后于4℃以1300g旋转4分钟。小心取出含有细胞溶胶级分的上清液,并将核团粒用没有TritonX-100的缓冲液A清洗一次,然后于4℃以1300g旋降4分钟。在缓冲液B(3mM EDTA,0.2mM EGTA,1mM DTT,蛋白酶磷酸酶抑制剂)中重悬浮团粒并在冰上温育30分钟,之后于4℃以1700g离心4分钟。取出含有可溶性核蛋白质的上清液并用200 μ l缓冲液B进一步清洗染色质团粒并于4℃以1700g离心4分钟。在缓冲液C(50mM Tris-HCl,[pH 7.4],0.5M NaCl,1%TritonX-100和0.1%SDS)中重悬浮团粒并以20秒开和30秒关超声处理30轮,之后通过SDS-PAGE和Western印迹分析。

[0294] Western印迹

[0295] 对于评估EPZ-6438影响的研究,将细胞用各种剂量的EPZ-6438处理6天。在第3天,引入含有EPZ-6438的新鲜培养基。在含有1M NaCl的RIPA缓冲液中裂解细胞团粒并以速度10匀浆3分钟(NextAdvance,BulletBlender® 24)。在4-12%bis-Tris或3-8%Tris-乙酸酯凝胶中溶解12 μ g或18 μ g蛋白质并转移至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。如下文表1中所示,将膜与一抗一起温育过夜。使用IRDYE®二抗进行通过Odyssey成像仪(LI-COR)的检测。

[0296] 表1:用于蛋白质检测的抗体

蛋白质	抗体克隆
EZH2	CST 5246
SUZ12	Active Motif 39357
H3K27me3	CST 9733

[0297]

[0298]

H3K27me2	CST 9728
H3K27me1	Active Motif 61015
H3K27ac	Active Motif 39685
H3K36me2	Active Motif 61019
总H3	CST 3638
BRG1 (SMARCA4)	sc-17796
BRM (SMARCA2)	CST 11966
SMARCA4	sc-17796
SMARCA2	CST 11966
SMARCC1 (155)	sc-9746
SMARCC2 (BAF170)	A301-039A
SMARCB1 (SNF5)	CST8745
SMARCE1 (BAF57)	A300-810A
SMARCD1 (BAF60A)	A301-595A
ARID1A	CST12354
ACTL6A (BAF53a)	A301-391
ARID2	A302-230A
PBRM1	A301-591A
肌动蛋白	CST 4970

[0299] 免疫沉淀

[0300] 对于免疫共沉淀,在100 μ l核裂解缓冲液(50mM Hepes (pH 7.8), 3mM MgCl₂, 25%甘油, 0.5%Nonidet P-40, 0.42M NaCl, 300mM NaCl, 1mM DTT, 0.1mM PMSF, DNA酶5U/ μ l, Benzonase 5U/ μ l, 和蛋白酶和磷酸酶抑制剂)中裂解8x 10⁶个细胞的核团粒。将悬浮液于37℃温育10分钟并用2 μ l 0.5M EDTA停止核酸酶反应。在离心(14000g)10分钟之后收集核级分。在温和旋转中将裂解物使用30 μ L Oynabeads蛋白G (Life Technologies)于4℃预澄清60分钟。取得部分(10%)裂解物作为输入对照。将剩余裂解物与5 μ g抗SMARCC1一抗IgG一起温育过夜,之后添加50 μ L Oynabeads蛋白G并在温和旋转中于4℃温育另外2小时。使用低盐免疫共沉淀清洗缓冲液(20mM Tris • HCl, pH 8.0, 150mM NaCl, 1.5mM MgCl₂, 0.5% Nonidet P-40, 0.2mM EDTA)将免疫沉淀清洗两次,之后添加30 μ L含有DTT (Bio-Rad)的NuPAGE LDS样品缓冲液并于95℃加热5分钟。将上清液针对指定蛋白质进行免疫印迹。

[0301] RNA干扰, CRISPR基因编辑, 和可诱导orf表达。

[0302] 使用DSIR算法设计靶向SMARCA2, CTSB, 或对照的各个shRNA并克隆入使用miR-3G

发夹表达背景的经修饰的pLKO慢病毒载体,如Watanabe et al.,RNA Biol.13(1):25-33 (2016)中描述的。使用下面的shRNA序列:shNTC (5'-AACCACGTGAGGCATCCAGGC-3';SEQ ID NO:29),shSMARCA2 (5'-TCGTCGAGCAATCATTTGGTT-3';SEQ ID NO:30),shCTSB-1 (5'-TTCGATTCCACAGTGATCCTG-3';SEQ ID NO:31),shCTSB-2 (5'-TTGTAGGTCGGGCTGTAGCCA-3';SEQ ID NO:32),和shCTSB-3 (5'-TAGTTGACCAGCTCATCCGAC-3';SEQ ID NO:33)。

[0303] 使用MIT算法(Crispr Design Tool.Zhang Lab,MIT,2015.Web)设计靶向EZH2或LacZ对照的引导RNA并克隆入pLKO慢病毒载体,用于稳定的慢病毒感染。使用下面的引导RNA序列:gluc-1 (5'-GCCGGCGCCATTCTATCCGC-3';SEQ ID NO:34),gluc-2 (5'-GGCATGCGAGAATCTCACGC-3';SEQ ID NO:35),gEZH2-4 (5'-AAGACCCCAACAAAACGTCC-3';SEQ ID NO:36),和gEZH2-5 (5'-TGGGGTCTTTATCCGCTCAG-3';SEQ ID NO:37)。将靶向SMARCA2的配对引导RNA (5'-GACAGCTCTACTGTATGCG-3';SEQ ID NO:38和5'-CTCTACCAAGACGCCGAG-3';SEQ ID NO:39)克隆入pUC57_AIO_U6H1_EF1_Cas9_eGFP载体背景,用于转染以共表达引导RNA,Cas9和eGFP报告物。将经过序列验证的Cas9克隆入慢病毒载体pLenti6.3,用于Cas9在癌细胞系中的稳定表达。将SMARCA2 (NM_003070.4)和SMARCA4 (NM_003072.3)可读框克隆入强力霉素诱导型载体,pInducer20。

[0304] 为了生成慢病毒颗粒,使用Lipofectamine 2000 (Invitrogen)用delta8.9包装质粒,VSVG-包膜质粒和各自的pLKO载体转染293T细胞。在转染之后48小时收集含有慢病毒颗粒的培养基,穿过0.45微米滤器过滤,并在8mg/ml polybrene存在下用于转导各自的癌细胞系。使用6孔板以1800rpm应用旋转-感染方案45分钟 (Allegen X-12R离心机,Beckman Coulter),接着于37℃温育3天,之后添加嘌呤霉素 (1-1.5µg/ml)或G418 (500µg/ml)。为了生成TOV112D SMARCA2敲除克隆,使用Lipofectamine 2000 (Invitrogen)用pUC57_AIO_U6H1_EF1_Cas9_eGFP载体转染细胞。在转染后3天,对细胞进行GFP分选和单细胞克隆。对克隆测序以确认SMARCA2基因破坏。

[0305] RNA-seq

[0306] 依照制造商的方案使用Qiagen RNeasy Plus迷你试剂盒提取总RNA。实施样品的质量控制以测定RNA数量和质量,之后通过RNA-seq加工它们。使用NanoDrop 8000 (Thermo Scientific)测定RNA样品的浓度并通过片段分析仪 (Advanced Analytical Technologies)测定RNA的完整性。使用0.5µg总RNA作为输入材料用于使用TruSeq RNA样品制备试剂盒v2 (Illumina)的文库制备。使用2200带站和高灵敏度D1K筛选带 (Agilent Technologies)确认文库的容量,并使用文库量化试剂盒 (KAPA)通过基于qPCR的方法测定它们的浓度。扩增文库并在Illumina HiSeq2500 (Illumina)上测序以生成30M的单末端50碱基对读出。

[0307] 针对读出质量 (保留至少70%的循环具有≥23的Phred得分的读出)和核糖体RNA污染过滤所有RNA-seq样品的fastq序列文件。然后使用GSNAP比对工具比对剩余读出与人参照基因组 (GRCh38),如Wu and Nacu,Bioinformatics.26(7):873-881 (2010)中描述的。使用下面的GSNAP参数生成比对:“-M 2 -n 10 -B 2 -i 1 -N 1 -w 200000 -E 1 -pairmax-rna =200000 -clip-overlap”。在Bioconductor包,HTSeqGenie (v 4.2.0)中执行这些步骤,和所得比对的下游加工以获得读出计数每基因 (在RefSeq基因模型的编码外显子上)。只有独特定位的读出用于下游分析。一式三份实施所有实验和测序,未处理的

SMARCA4突变型,EPZ-6438敏感性,和EPZ-6438抗性细胞系的小组除外,其中作为单个对未处理的系测序。

[0308] 基因表达水平评估和差异表达基因的鉴定

[0309] 对于下面的分析,只考虑其表达水平在多份样品中可靠评估的基因(在至少4份样品中观察到超过15个比对读出)。使用voom/limma分析框架(版本3.28.17)生成基因表达估值,用calcNormFactors()函数调节观察到的文库容量,如Law et al.,Genome Biol.15(2):R29(2014)中描述的。

[0310] 对于每种基因,使用由voom返回的权重和表达估值在一种精度加权的线性模型的框架中量化差异表达。使用这种办法来鉴定在对EPZ-6438敏感和抗性的细胞系之间;在已经或尚未用EPZ-6438处理的初级或shRNA表达性TOV-112细胞之间;和在表达或不表达SMARCA2或SMARCA4构建物的TOV-112细胞之间具有显著不同的表达水平的基因。

[0311] 在评估shRNA敲除的影响时,通过将下面的线性模型拟合每种基因来控制shRNA构建物的非特异性影响:

[0312] $y_{ijk} = \beta + \eta_i + \phi_j + \eta\phi_{ij} + \epsilon_{ijk}$

[0313] 在这种模型中,所有系数是固定的效应。假设 y_{ijk} 代表在处理条件j和实验重复k中表达shRNA构建物i的基因的观察表达水平。 β 代表截距, η 是捕捉所表达的shRNA(shSMARCA2或非靶向对照)的固定效应, ϕ 是捕捉EPZ-6438的效应的固定效应, $\eta\phi$ 是在其中shRNA发夹特异性靶向SMARCA2的细胞中捕捉药物的效应的相互作用效应,而 ϵ 代表残留误差,假设以方差 σ^2 正态分布。为了确定shRNA敲除的影响,比较下面的假设:

[0314] $H_0: \beta \neq 0, \eta_i \neq 0, \phi_j \neq 0, \eta\phi_{ij} \neq 0$

[0315] $H_1: \beta \neq 0, \eta_i \neq 0, \phi_j \neq 0, \eta\phi_{ij} = 0$

[0316] 基于在经验性Bayes方差收缩之后生成的缓和化(moderated)t-统计量对每种基因的观察表达差异指派显著性以生成p值。然后使用Benjamini-Hochberg办法为多重检验修正这些p值,如Benjamini and Hochberg,Genome Biol.15(2):R29(2014)中描述的。将具有小于0.05的经修正p值和大于1的log2表达水平变化的基因定义为差异表达的。

[0317] Taqman基因表达测定法

[0318] 将细胞用5 μ M EPZ-6438处理6天或10天。每3-4天替换含有5 μ M EPZ-6438的新鲜培养基。在第6天或第10天收获细胞。通过RNeasy Plus迷你试剂盒(QIAGEN)制备RNA。通过SMARCA2探针(Hs01030846_m1)和Taqman一步RT-PCR大师级混合试剂试剂盒(ThermoFisher Scientific)检测基因表达水平。使用7900HT SDS(ThermoFisher Scientific)实施分析。相对于持家基因呈现表达水平,GAPDH($2^{-\Delta Ct}$)。

[0319] ChIP-seq

[0320] 将细胞用1%甲醛于室温固定10分钟。通过添加含有600mM NaCl的标准裂解缓冲液来分离染色质。通过超声处理将DNA剪切成300至500bp大小片段。在0.4 μ g H2Av抗体(Active Motif 39715)和750ng经超声处理的果蝇染色质存在下用抗H3K27me3抗体(Millipore 07-449)免疫沉淀染色质。自ChIP和输入DNA制备Illumina测序文库。量化所得DNA文库并使用Illumina的HiSeq 2500作为150bp配对末端读出测序。片段具有约500bp的平均长度。

[0321] ChIP-PCR

[0322] 对于每份样品,收获 10×10^6 个细胞并用1x PBS清洗。固定细胞并遵循与truChIP染色质剪切试剂试剂盒(Covaris)一起提供的说明书剪切。将细胞用1%甲醛固定5分钟,然后用缓冲液淬灭5分钟。然后用冷的2x PBS清洗细胞。分离核并使用Covaris AFA聚焦超声发生器剪切20分钟。用500 μ g经剪切染色质和10 μ g抗H3K27me3 (Active Motif目录号39155)或抗家兔IgG进行IP。使用Magna ChIP试剂盒(Millipore)进行IP。对于每次IP,将50 μ l Dynabeads蛋白A和G的混合物(50/50混合物)与一抗一起温育3小时。将珠添加至500 μ g经剪切染色质。将珠和抗体于4℃温育过夜。然后用下面的清洗缓冲液清洗珠:低盐,高盐,LiCl清洗缓冲液,和TE缓冲液。在摇动中于64℃在具有蛋白酶K的ChIP洗脱缓冲液中自珠提取DNA过夜。然后使用QIAquick PCR纯化试剂盒(Qiagen)纯化DNA。用30 μ l水洗脱DNA。使用1.0 μ l洗脱的DNA进行每次SYBR绿色PCR反应。使用下面的引物扩增SMARCA2:正向,GTAGGCAGGCCTTTAGGCAA (SEQ ID NO:27);反向,GCCGGACATCCCGAACTTTA (SEQ ID NO:28)。用于扩增没有H3K27me3的区域的阴性对照引物购自Active Motif(目录号:71001,71002)。运行下面的PCR条件:50℃达2分钟,95℃达10分钟,40个循环的95℃达15秒和57℃达1分钟。

[0323] 甲基纤维素集落形成

[0324] 用70 μ l Matrigel基质(Corning)包被24孔板的孔并容许于室温凝结。在含有2% Matrigel基质的400 μ l RPMI+10%FBS中在基底基质之上分配细胞($n=5,000$)。用400 μ l培养基中的各自的化合物处理细胞以补充旧的培养基。在开始实验之后10天在Zeiss Axio观察者A1显微镜上对集落成像。

[0325] 异种移植植物研究

[0326] 在体外培养TOV-21G和NCI-H522细胞(美国典型培养物保藏中心,Manassas,VA)并在HBSS:Matrigel(BD Biosciences;Franklin Lakes,NJ) (1:1,v:v)中收获,用于后续接种入雌性小鼠。将TOV-21G细胞接种入Fox Chase **SCIO®**Beige小鼠(Charles River Laboratories, San Diego,CA)。将NCI-H522细胞接种入BALB/c裸小鼠(Vital River Laboratories, Beijing, China)。将携带已建立的肿瘤的小鼠分入同等尺寸肿瘤的组($n=5$,最少)以接受递增剂量的EPZ-6438。以0.2ml的体积以目标剂量需要的浓度在0.5%羧甲基纤维素钠和0.1%Tween-80中一周一次配制EPZ-6438。所有配制剂保存于4℃,恢复至室温,并通过漩涡震荡来混合,之后一天两次通过管饲法口服施用,自第1天起直至研究结束。使用公式自垂直的长度和宽度测径器测量计算肿瘤体积:

[0327] 肿瘤体积(mm^3) = $0.5 \times (\text{长度} \times \text{宽度}^2)$ 。

[0328] 在第7天在最后一剂后3小时自携带肿瘤的小鼠收集用于药效学分析的血浆和肿瘤样品。在含有1M NaCl的RIPA缓冲液中裂解肿瘤组织并以速度10匀浆3分钟(NEXTADVANCE, BULLET **BLENDER®** 24),之后进行Western印迹。

[0329] 使用一种混合模拟办法来分析随时间来自同一动物的肿瘤体积的重复测量。使用三次回归样条将非线性概况拟合至每个组中的log2换算的肿瘤体积的时间过程。使用R版本2.13.0(R Development Core Team 2008;R Foundation for Statistical Computing;Vienna,Austria)中的包“nlme”(版本3.1-97)经由一种线性混合效应模型进行拟合。在Prism(用于Mac的5.0b版)(GraphPad Software;La Jolla,CA)中以自然尺度将拟合的肿瘤体积绘图。

[0330] 实施例2:对EZH2抑制敏感的EPZ-6438抗性SMARCA4突变型细胞系的鉴定

[0331] 在自不同肿瘤类型衍生的一组11种SMARCA4突变型癌细胞系间使用EZH2靶向性组蛋白甲基转移酶抑制剂,EPZ-6438作为H3K27甲基化的抑制剂来测试H3K27me3抑制对集落形成的影响:卵巢癌细胞(TOV-112D和COV434),胃癌细胞(SNU-484),肺癌细胞(NCI-H1703, NCI-H522, NCI-H661, H1299, A549, NCI-H1568, 和HCC-15),和膀胱癌细胞(UM-UC-3)。在这些SMARCA4突变型细胞的一个子集中观察到集落形成的剂量依赖性抑制,这不依赖于组织衍生(图1A和1C)。另外,EPZ-6438处理后生长抑制的程度与在特征在于SMARCB1/SNF5(G401)或ARID1A(A2780)中的突变的模型中观察到的相似(图1B)。在一组(n=8)SWI/SNF野生型模型中没有观察到活性。

[0332] 实施例3:EZH2抑制特异性的评估

[0333] 为了测定EPZ-6438的效果是否是对EZH2抑制特异性的,对另外两种EZH2甲基转移酶抑制剂,GSK-126和CPI-169,测试对集落形成的影响。正如用EPZ-6438观察到的,GSK-126和CPI-169在对EPZ-6438敏感的SMARCA4突变型细胞中以剂量依赖性方式抑制集落形成,但是对EPZ-6438抗性的SMARCA4突变型细胞没有影响(图2A-2C)。另外,在对EPZ-6438敏感的SMARCA4突变型细胞(TOV-112D)中EZH2经由CRISPR的遗传删除导致集落形成的抑制,但是在EPZ-6438抗性,SMARCA4突变型细胞中它对集落形成没有影响(H1299和A549;图3A和3B)。总之,这些数据显示在SMARCA4突变型细胞中EPZ-6438对集落形成的影响是上靶且依赖于EZH2的。

[0334] 为了测定SMARCA4突变型癌胞对EPZ-6438的差异敏感性是否与差异全局PRC2活性有关,检查H3K27甲基化的水平。没有观察到EPZ-6438敏感性和EPZ-6438抗性细胞系间单,二,或三甲基化的H3K27中的明显差异,也没有观察到PRC2构件EZH2或SUZ12的表达水平的任何差异(图5)。而且,EPZ-6438以剂量依赖性方式在EPZ-6438敏感性和EPZ-6438抗性细胞系间以相似的程度抑制单,二,和三甲基化的H3K27,指示差异细胞活性不是由于EPZ-6438抑制EZH2的能力的差异(图6)。

[0335] EZH2抑制引起异质表型应答。与抗性模型形成对比,EPZ-6438敏感性模型在处理21天之后一致地获取突出的形态变化,特征在于细胞变平和变大(图4A)。在EPZ-6438处理7天后在TOV-112D细胞中观察到强凋亡应答,而数种其它模型显示延长暴露于EPZ-6438后凋亡细胞亚群的证据(图4B和4C)。在一些SMARCA4突变型EPZ-6438敏感性模型中观察到衰老相关 β -半乳糖苷酶表达的升高。这在缺乏凋亡的证据的COV434和NCI-HS22细胞系中最显著(图4D)。另外, β -半乳糖苷酶阳性细胞(例如NCI-H661细胞)亚群在稍后的时间点展现凋亡的证据。衰老诱导的动力学有变化。例如,通过EPZ-6438处理7天,COV434模型展现均质 β -半乳糖苷酶表达,然而在NCI-HS22细胞中直至EPZ-6438处理少数周没有观察到均质 β -半乳糖苷酶表达,尽管基于Edu掺入,这些细胞仍然处于非增殖性状态(图4E)。每天两次(BID)施用EPZ-6438后处理携带作为异种移植物生长的NCI-HS22细胞的SCID小鼠导致肿瘤生长的剂量依赖性抑制(图4F),其中响应450mg/kg BID剂量而发生最强肿瘤生长抑制(72% TGI)和H3K27me3和H3K27me2降低(图4G)。

[0336] 实施例4:SMARCA2阻抑作为H3K27甲基化的抑制剂敏感性的生物标志物的鉴定

[0337] 为了阐明EPZ-6438敏感性的根本差异,在11种SMARCA4突变型模型间进行基因表达概况分析。表达差异最大的基因的有监督分析揭示EPZ-6438敏感性模型展现更大数目的普遍阻抑基因(图7)。在上调的基因间,旁系同源(paralog)SWI/SNF螺旋酶,SMARCA2的表达

水平在对EZH2抑制敏感的所有SMARCA4突变型模型中降低。为了确认这些结果,在该组SMARCA4突变型癌细胞系间通过Western印迹检查数个核心SWI/SNF复合物成员的蛋白质表达水平。虽然大多数SWI/SNF构件在EPZ-6438敏感性和EPZ-6438抗性细胞系间以同等程度表达,观察到SMARCA2阻抑与EPZ-6438敏感性的惊人联系(图8)。另外通过定量RT-PCR在SMARCA2mRNA转录物的水平观察到这种SMARCA2阻抑(图9)。相关基因组数据的分析没有揭示这个细胞子集中与SMARCA2丧失有关的SMARCA2中的拷贝数损失或突变。另外,用DNA甲基转移酶抑制剂5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-aza)处理并不影响SMARCA2 mRNA水平,指示DNA甲基化不是SMARCA2阻抑的起因。为了测定SMARCA2是否可能处于EZH2介导的遏制下,用EPZ-6438处理细胞,之后通过定量RT-PCR检查SMARCA2mRNA水平。在EPZ-6438敏感性,而非EPZ-6438抗性细胞系中EZH2抑制导致SMARCA2转录物和蛋白质的强诱导(图9)。为了测定SMARCA2是否受到EZH2直接遏制,在EPZ-6438敏感性模型(TOV-112D)和EPZ-6438抗性(H1299)模型中进行H3K27me3ChIP-seq。ChIP-seq分析揭示在EPZ-6438敏感性TOV-112D细胞中,而非在EPZ-6438抗性H1299细胞中SMARCA2启动子受到H3K27me3结合(图10A和10B)。经由PCR在SMARCA2启动子内的三个靶向位置处在一整组SMARCA4突变型细胞系间通过ChIP-PCR确认了H3K27me3占据(图11)。在TOV-112D细胞中EPZ-6438处理导致H3K27me3与SMARCA2基因启动子的联合的显著降低(图12和13)。总之,这些数据指示EZH2介导直接SMARCA2阻抑。

[0338] 为了测试基础阻抑的SMARCA2是否引起EZH2抑制剂敏感性,在野生型模型中删除SMARCA2(BRM1)。SMARCA2的强迫敲除并不导致EZH2抑制剂敏感性,指示低SMARCA2表达不是野生型细胞中的EZH2抑制剂敏感性的起因(图14A和14B)。

[0339] 实施例5:SMARCA2补偿SMARCA4转录的能力的评估

[0340] 为了解决在这种细胞背景中SMARCA2是否能补偿SMARCA4的转录效应,改造TOV-112D细胞以表达强力霉素(dox)诱导型SMARCA2或SMARCA4构建物。这些细胞的强力霉素处理导致SMARCA2或SMARCA4蛋白质的诱导,局限于不溶性核级分且与核心SWI/SNF复合物蛋白,SMARCC1再联合(图15A和15B)。SMARCA2和SMARCA4的dox诱导型表达后的基因表达变化的分析揭示受到这些螺旋酶调节的基因中的统计学显著交叠(图16A; $P<2e-16$,Fisher氏精确检验)。SMARCA2和SMARCA4的诱导导致基因表达的上调,在SMARCA2和SMARCA4之间分享超过70%的最强烈诱导的基因($\log_2$ 倍数变化 ≥ 2)。这些基因与在EZH2抑制剂处理后去阻抑的基因显著交叠(图16B; $P<2e-16$,Fisher氏精确检验)。

[0341] 实施例6:EPZ-6438敏感性细胞中SMARCA2和EZH2之间的相关性的评估

[0342] 为了测定EZH2抑制后的SMARCA2去阻抑是否是EPZ-6438在敏感性模型中介导表型效应所必需的,在细胞中表达靶向SMARCA2的shRNA以特异性阻止SMARCA2的诱导。如图17A-17F中显示的,shBRM而非非靶向性对照(shNTC)在COV434细胞,SNU-484细胞,和G401细胞中消除SMARCA2(BRM)的剂量依赖性诱导,但是对EPZ-6438抑制H3K27甲基化的能力没有影响。重要的是,SMARCA2shRNA并不影响EPZ-6438抑制集落形成的能力。在SMARCA4突变型细胞系,NCI-H661中获得相似的结果,提示单独的SMARCA2的阻抑并非EZH2抑制后的生长缺陷普遍需要的。然而,在响应EZH2抑制而经历凋亡的SMARCA4突变型模型,TOV-112D中,在这些细胞中shBRM的表达阻止集落形成的剂量依赖性抑制(图18A和18B),以及凋亡的剂量依赖性诱导(图18C)。TOV-112D细胞代表对EPZ-6438展现凋亡应答的所测试的唯一模型,提示

SMARCA2的去阻抑可能是EZH2抑制的这种特定表现应答必需的。在通过CRISPR介导的基因组编辑改造成消融SMARCA2基因的TOV-112D细胞中确认了这一发现(图19A和19B)。为了阐明EPZ-6438介导的SMARCA2的去阻抑促成凋亡的机制,在shBRM表达存在或缺失下,以及在SMARCA2K0克隆中评估受到EZH2抑制调节的基因表达变化。EZH2抑制导致对照细胞中基因表达的强上调,但是阻断SMARCA2的诱导在全局上对受到EPZ-6438调节的基因的总目数或幅度具有很少的影响(图19C和19D)。鉴定了少数目的受到shSMARCA2和SMARCA2基因消融二者特异性影响的基因,包括组织蛋白酶B(CTSB)。CTSB转录物和蛋白质在EZH2抑制后在对照细胞中强上调,而且这种上调通过靶向SMARCA2受到阻断(图19E和19F)。为了测定在TOV-112D细胞中CTSB是否能响应EZH2抑制而促成凋亡,表达三种分开的靶向CTSB的shRNA。shCTSB的表达响应EPZ-6438而显著遏制胱天蛋白酶3/7的活化(图19G)。与直接阻断SMARCA2的诱导相反,阻断CTSB诱导并不完全消除胱天蛋白酶3/7活化,提示CTSB能响应EZH2抑制而促成凋亡,但是可能并不完全足以介导凋亡。

[0343] 实施例7:其它SWI/SNF复合物突变在H3K27甲基化的抑制剂敏感性中的作用的评估

[0344] 与SMARCA4突变型癌细胞系中的观察结果相似,在ARID1A突变型癌细胞系的一个子集中(图20和21),以及在两种SMARCB1突变型恶性横纹肌样肿瘤系中观察到集落形成中的抑制。生长抑制依赖于EZH2,因为在EPZ-6438敏感性模型TOV-21G中EZH2的遗传消融抑制克隆发生性生长。在EPZ-6438抗性,ARID1A突变型模型OVISe中,或在不包含任何SWI/SNF复合物成员中的已知突变的对照模型中EZH2的遗传消融对集落形成没有影响(图22)。另外使用另一种EZH2抑制剂(CPI-169;图23)和通过使用Matrigel在3D培养中培养ARID1A突变型细胞(图24)在表型上复制(phenocopy)对EZH2抑制的差异敏感性。观察到的体外活性进一步转换成体内功效,因为以450mg/kg BID的剂量处理包含TOV-21G肿瘤异种移植物的SCID小鼠导致肿瘤生长抑制(图25和26)。组成性SMARCA2转录物水平的分析揭示在对EPZ-6438敏感的SMARCB1突变型和ARID1A突变型癌细胞系中SMARCA2受到阻抑(图27A和27B)。在SWI/SNF复合物基因是野生型的一组细胞系中没有观察到EPZ-6438对集落形成或SMARCA2阻抑的影响。用EPZ-6438而非5-氮杂-2'-脱氧胞苷处理SMARCB1突变型MRT系G401导致SMARCA2水平的诱导(图28A和28B)。在ARID1A突变型细胞系的背景下,EPZ-6438导致EPZ-6438敏感性A2780细胞中,而非EPZ-6438抗性HEC1A或SK-OV-3细胞中SMARCA2的诱导(图29)。这些数据指示在SMARCB1和ARID1A突变型癌症的背景下EZH2介导的SMARCA2阻抑还预示对EZH2抑制的敏感性。

[0345] 其它实施方案

[0346] 虽然为了清楚理解的目的已经通过举例说明较为详细地描述了前述发明,但是描述和例子不应解释为限制本发明的范围。通过援引明确完整收录本文中引用的所有专利和科学文献的公开内容。

序列表

<110> 基因泰克公司(Genentech, Inc.)

豪夫迈·罗氏有限公司(F. Hoffmann-La Roche AG)

<120> 用于癌症的诊断和治疗方法

<130> 50474-141W02

<150> US 62/347,436

<151> 2016-06-08

<160> 39

<170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 5959

<212> RNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 1

```

gaauuccgga ugcucagaug aaagccccga gaucacagag acccggcgag aucacagaga 60
cccggccuga aggaacgugg aaagaccaau guaccuguuu ugaccgguug ccuggagcaa 120
gaaguuccag uuggggagaa uuucagaag auaaagucgg agauugugga aagacuugac 180
uugcagcauu acucuacuga cuggcagaga caggagaggu agaugucaac gcccacagac 240
ccuggugcga ugccccaccc agggccuucg ccggguccug ggccuucucc ugggccaauu 300
cuugggccua guccaggacc aggaccaucc ccagguuccg uccacagcau gauggggcca 360
aguuccggac cuccaagugu cucccauccu augccgacga ugggguccac agacuucca 420
caggaaggca ugcaucaaau gcauaagccc aucgauggua uacaugaca ggggauugua 480
gaagacaucc auuguggauc caugaagggc acugguaugc gaccaccuca cccaggcaug 540
ggcccucccc agaguccaau ggaucaacac agccaagguu auaugucacc acaccaucu 600
ccaauaggag cccagagca cgucuccagc ccuaugucug gaggaggccc aacuccaccu 660
cagaugccac caagccagcc gggggcccuc auccaggug auccgcaggc caugagccag 720
cccaacagag guccucacc uuucaguccu guccagcugc aucagcuucg agcucagauu 780
uuagcuuaua aaauvcuggc ccgaggccag cccuucuccg aaacgcugca gcuvcaguc 840
caggggaaaa ggacguugcc uggcuugcag caacaacagc agcagcaaca gcagcagcag 900
cagcagcagc agcagcagca gcagcagcaa cagcagccgc cgcaaccaca gacgcagcaa 960
caacagcagc cgccccuugu uaacuacaac agaccaucug gcccggggcc ggagcugagc 1020
ggcccgagca ccccgagaa gcugccggug cccgcgcccg gcggccggcc cucgcccgcg 1080
ccccccgag ccgcgcagcc gcccgcggcc gcagugcccg ggccucagu gccgcagccg 1140
ggccggggc agccucgcc cguccuccag cugcagcaga agcagagccg caucagcccc 1200
auccagaaac cgcaaggccu ggaccccgug gaaauucugc aagagcggga auacagacuu 1260
cagggccgca uagcucauag gauacaagaa cuggaaaauc ugccuggcuc uuugccacca 1320
gauuuuagaa ccaaagcaac cguggaacua aaagcacuuc gguuacuaa uuuccagcgu 1380
cagcugagac aggagguggu ggccugcaug cgcagggaca cgaccugga gacggcucuc 1440

```

aacuccaaag	cauacaaacg	gagcaagcgc	cagacucuga	gagaagcucg	caugaccgag	1500
aagcuggaga	agcagcagaa	gauugagcag	gagaggaaac	gccgucagaa	acaccaggaa	1560
uaccugaaca	guauuuugca	acaugcaaaa	gauuuuaagg	aauaucaucg	gucuguggcc	1620
ggaaagaucc	agaagcucuc	caaagcaguu	gcaacuuggc	augccaacac	ugaaagagag	1680
cagaagaagg	agacagagcg	gauugaaaag	gagagaauvc	ggcgacugau	ggcugaagau	1740
gaggaggguu	auagaaaacu	gauugaucaa	aagaaaagaca	ggcguuuagc	uuaccuuuug	1800
cagcagaccg	augaguauvu	agccaauvcg	accaauvcgg	uuuggggagca	caagcaagcc	1860
caggcagcca	aagagaagaa	gaagaggagg	aggaggaaga	agaaggcuga	ggagaaugca	1920
gaggguuggg	agucugcccu	gggaccggau	ggagagccca	uagauagagag	cagccagaug	1980
agugaccucc	cugucaaaagu	gacucacaca	gaaaccggca	agguucuguu	cggaccagaa	2040
gcacccaaaag	caagucagcu	ggacgccugg	cuggaaauga	auccugguua	ugaaguugcc	2100
ccuagaucug	acagugaaga	gagugauucu	gauuaugagg	aagaggauga	ggaagaagag	2160
uccaguaggc	aggaaaccga	agagaaaaua	cuccuggauc	caaauagcga	agaaguuuuc	2220
gagaaggauv	cuaagcagau	cauugagaca	gcuaagcaag	acguggauga	ugaauacagc	2280
augcaguaca	gugccagggg	cucccagucc	uacuacaccg	uggcucaugc	caucucggag	2340
uggguuggaga	aacagucugc	ccuccuaauu	aaugggaccc	uaaagcauuu	ccagcuccag	2400
ggccuggaau	ggaugguuuc	ccuguauauu	aacaacuuga	acggaaucuu	agccgaugaa	2460
auggggcuug	gaaagaccuu	acagaccuuu	gcacucauca	cuuauvcugau	ggagcacaaa	2520
agacucaauv	gccccuauuc	caucauuguu	ccccuuucga	cucuaucuaa	cuggacauau	2580
gaauuuugaca	aaugggcucc	uucuguggug	aagauuuucu	acaaggguaa	uccugccaug	2640
cgucgcuccc	uuguccccca	gcuacggagu	ggcaauuuaa	auguccucuu	gacuacuuau	2700
gaguauauua	uaaaagacaa	gcacauuucu	gcaaagauuc	gguggaaaau	caugauagug	2760
gacgaaggcc	accgaaugaa	gaauccacc	ugcaagcuga	cucaggucuu	gaacacucac	2820
uauguggccc	ccagaaggau	ccucuugacu	gggaccccgc	ugcagaauaa	gcucccugaa	2880
cucuggggccc	uccucaacu	ccuccuccca	acaauuuuuu	agagcugcag	cacauuugaa	2940
caaugguuca	augcuccauu	ugccaugacu	ggugaaaggg	uggacuuaaa	ugaagaagaa	3000
acuauauuga	ucaucaggcg	ucuacauaag	guguuaagac	cauuuuuacu	aaggagacug	3060
aagaaagaag	uugaauccca	gcuucccgaa	aaaguggauu	augugaucaa	gugugacaug	3120
ucagcucugc	agaagauucu	guaucgccau	augcaagcca	aggggauccu	ucucacagau	3180
gguucugaga	aagauaagaa	ggggaaagga	ggugcuuaa	cacuuauaga	cacuauuauv	3240
caguugagaa	aaaucugcaa	ccaccuauau	auguuucagc	acauugagga	auccuuugcu	3300
gaacaccuag	gcuaauucaa	uggggucauc	aauggggcug	aacuguaucg	ggccucaggg	3360
aaguuugagc	ugcuugaucg	uauucugcca	aaauugagag	cgacuaauca	ccgagugcug	3420
cuuuucugcc	agaugacauc	ucucaugacc	aucauggagg	auuauuuugc	uuuucggaac	3480
uuuccuuuacc	uacgccuuga	uggcaccacc	aagucugaag	aucgugcugc	uuugcugaag	3540
aaauucaaug	aaccuggauc	ccaguauuuu	auuuucuuvc	ugagcacaa	agcugguggc	3600
cugggcuuua	aucuucaggc	agcugauaca	guggucaucu	uugacagcga	cuggaauccu	3660
caucaggauc	ugcaggccca	agaccgagcu	caccgcaucg	ggcagcagaa	cgagguccgg	3720
guacugaggc	ucuguaccgu	gaacagcgug	gaggaaaaga	uccucgcggc	cgcaaaauac	3780

aagcugaacg uggaucaagaa agugauccag gcgggcaugu uugaccaaaa gucuucaagc 3840
cacgagcgga gggcauuccu gcaggccauc uuggagcaug aagaggaaaa ugaggaagaa 3900
gaugaaguac cggacgauga gacucugaac caaauuguu cucgacgaga agaagaauuu 3960
gaccuuuuua ugcggaugga cauggaccgg cggagggaag augcccggaa cccgaaacgg 4020
aagccccguu uauuggagga ggaugagcug ccucuccugga ucauuuagga ugacgcugaa 4080
guagaaaaggc ucaccuguga agaagaggag gaaaaauau uugggagggg gucccgccag 4140
cgccgugacg uggacuacag ugacgcccuc acggagaagc aguggcuaag ggccaucgaa 4200
gacggcaauu uggaggaaaau ggaagaggaa guacggcuua agaagcgaag aagacgaaga 4260
aauguggaua aagauccugc aaaagaagau guggaaaaag cuaagaagag aagaggccgc 4320
ccucccgug agaaacuguc accaaauccc cccaaacuga caaagcagau gaacgcuauc 4380
aucgauacgu guauaaacua caaagauagu uguaacgugg agaaggugcc caguuuuu 4440
caguuggaaa uagaaggaaa caguucaggg cgacagcuca gugaagucu cauucaguua 4500
ccuucaggaa aagaauuacc agaauacuau gaauuaauua ggaagccagu ggauuucaaa 4560
aaaauaaagg aaaggauucg uauucauaag uaccggagcc uaggcgaccu ggagaaggau 4620
gucaugcuuc ucugucacaa cgcucagacg uucaaccugg agggauccca gaucuaugaa 4680
gacuccaucg ucuuacaguc aguuuuuag agugcccggc agaaaauugc caaagaggaa 4740
gagagugagg augaaagcaa ugaagaggag gaagaggag augaagaaga gucagagucc 4800
gaggcaaaaau cagucaaggu gaaaauuuag cucaauaaaa aagaugacaa aggccgggac 4860
aaagggaaaag gcaagaaaag gccaaaucga ggaaaagcca aaccuguagu gagcgauuuu 4920
gacagcgaug aggagcagga ugaacgugaa cagucagaag gaagugggac ggaugaugag 4980
ugaucaguau ggaccuuuuu ccuugguaga acugaauucc uuccucccuu gucucauuuc 5040
uacccaguga guucauuugu cauauaggca cuggguuguu ucuauaucu caucgucuau 5100
aaacuagcuu uaggauagug ccagacaaac auauagauuc augguuuaa aaacacacac 5160
auacacaaaau auuuguuaca uauugugacc aaaugggccu caaagauuca gauugaaaca 5220
aacaanaaagc uuugaugga aaauaugugg guggauagua uauuuuauug ggugggucua 5280
auuugguaac gguuugauug ugccugguuu uauaccugu ucagaugaga agauuuuugu 5340
cuuuuguagc acugauaacc aggagaagcc auuaaaagcc acugguuuuu uuauuuuua 5400
ucaggcaauu uucgagguuu uuauuuuguu gguauuguuu uuuuacacug ugguacauau 5460
aagcaacuau auuaggugau aaauguacag uaguuaagau ucaccugcau auacguuuuu 5520
ccauuuuauug cucuaugauc ugaacaaaag cuuuuuugaau uguauaagau uuauugucua 5580
uguaaacaau gcuaauuuuu uuugcucuug auuuuuuuuu aaguuuuguu gaaagcgcu 5640
uugaauauug caaucuauau aguguauugg augguucuuu uugucacccu gaucuccuau 5700
guuaccaaug uguaucgucu ccuucucccu aaaguguacu uauucuuugc uuucuuugca 5760
caaugucuuu gguugcaagu cauaagccug aggcaauua auuccagua uuucgaagaa 5820
ugugguguug gugcuuuucc auuaaagaaa uauuuucgu ugaaaaaaa aaaaaaaaaa 5880
aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 5940
aaaaaaaaaa aaggaauuc 5959

<210> 2

<211> 5779

<212> RNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 2

```

ggagaggccg cgcggugcu gagggggagg ggagccggcg agcgcgcgcg cagcgggggc 60
gcggguggcg cgcgugugug ugaagggggg gcgguggccg aggcgggcgg gcgcgcgcgc 120
gaggcuuccc cucguuuggc ggcggcggcg gcuucuuugu uucgugaaga gaagcgagac 180
gcccuuucug ccccgggccc cgcgcggagg ggcgggggag gcgccgggaa gucgacggcg 240
ccggcggcuc cugcgucucg ccuuuuugcc caggcuagag ugcaguggug cggucauggu 300
ucacugcagc cucaaccucc uggacucagc aggaggccac ugucugcagc ucccgugaag 360
auguccacuc cagacccacc ccugggcgga acuccucggc cagguccuuc cccgggcccc 420
ggccuuuccc cuggagccau gcuggggcccu agcccggguc ccucgccggg cuccggccac 480
agcaugaugg ggcccagccc agggccgccc ucagcaggac accccauccc caccagggg 540
ccuggagggg acccucagga caaauugcac cagaugcaca agcccaugga guccaugcau 600
gagaagggca ugucggacga cccgcgcuaa aaccagauga aaggaauggg gaugcgguca 660
ggggggccau cugggauggg gcccccgccc agcccaugg accagcacuc ccaagguuac 720
cccucgcccc ugguuggcuc ugagcaugcc ucuaguccag uuccagccag uggcccgucu 780
ucggggcccc agaugucuuu cgggccagga ggugccccgc uggauggugc ugacccccag 840
gccuuggggc agcagaaccg gggcccaacc ccauuuaacc agaaccagcu gcaccagcuc 900
agagcucaga ucauggccua caagaugcug gccagggggc agccccuccc cgaccaccug 960
cagauggcgg ugcagggcaa gcggccgaug cccgggaugc agcagcagau gccaacgcua 1020
ccuccacccu cgguguccgc aacaggaccc ggccucggcc cuggcccugg ccccgggccc 1080
ggucccggcc cggcaccucc aaauuacagc aggccucaug guaugggagg gcccaacaug 1140
ccuuccccag gaccucggg cgugccccc gggaugccag gccagccucc uggagggccu 1200
cccaagcccu ggccugaagg acccauggcg aaugcugcug ccccccagag caccucag 1260
aagcugauuc cccgcagcc aacgggccc ccuuccccc cgccccugc cguccaccc 1320
gccgccucgc ccgugaugcc accgcagacc caguccccc ggagccggc ccagcccgcg 1380
cccauggugc cacugcacca gaagcagagc cgcauaccc ccauccagaa gccgcggggc 1440
cucgaccucg uggagauccu gcaggagcgc gaguacaggc ugcaggcucg caucgcacac 1500
cgaauucagg aacuugaaaa ccuucccggg uccugggccg gggauuugcg aaccaaagcg 1560
accuuugagc ucaaggcccu caggcugcug aaauuccaga ggcagcugcg ccaggaggug 1620
guggugugca ugcggaggga cacagcgcug gagacagccc ucaaugcuua ggccuacaag 1680
cgagcaagc gccagucccu gcgcgaggcc cgcaucacug agaagcugga gaagcagcag 1740
aagaucgagc aggagcgcaa gcgccggcag aagcaccagg aaauccucaa uagcauucuc 1800
cagcaugcca aggaauucaa ggaauaucac gaauccguca caggcaaaau ccagaagcug 1860
accaaggcag uggccacgua ccaugccaac acggagcggg agcagaagaa agagaacgag 1920
cggaucgaga aggagcgcau gcggaggcuc auggcugaag augaggagg guaccgcaag 1980
cucaucgacc agaagaagga caagcggcug gccuaccucu ugcagcagac agacgaguac 2040
guggcuuacc ucacggagcu ggugcggcag cacaaggcug cccaggucgc caaggagaaa 2100
aagaagaaaa agaaaaagaa gaaggcagaa aaugcagaag gacagacgcc ugccauuggg 2160

```

ccggauggcg	agccucugga	cgagaccagc	cagaugagcg	accucccggu	gaaggugauc	2220
cacguggaga	gugggaagau	ccucacaggc	acagaugccc	ccaaagccgg	gcagcuggag	2280
gccuggcucg	agaugaaccc	gggguaugaa	guagcuccga	ggucugauag	ugaagaaagu	2340
ggcucagaag	aagaggaaga	ggaggaggag	gaagagcagc	cgcaggcagc	acagccuccc	2400
acccugcccc	uggaggagaa	gaagaagauu	ccagauccag	acagcgauga	cgucucugag	2460
guggacgcgc	ggcacaucau	ugagaaugcc	aagcaagaug	ucgaugauga	auauggcgug	2520
ucccaggccc	uugcacgugg	ccugcagucc	uacuaugccg	uggcccaguc	ugucacugag	2580
agaguggaca	agcagucagc	gcuuaugguc	aauggugucc	ucaaacagua	ccagaucaaa	2640
gguuuggagu	ggcugguguc	ccuguacaac	aacaaccuga	acggcauccu	ggccgacgag	2700
augggccugg	ggaagaccu	ccagaccauc	gcgcucauca	cguaccucau	ggagcacaaa	2760
cgcaucaaug	ggcccuuccu	caucaucgug	ccucucucua	cgcuguccaa	cugggcguac	2820
gaguugaca	agugggcccc	cuccguggug	aaggugucuu	acaagggauc	cccagcagca	2880
agacgggccu	uuguccccca	gcuccggagu	gggaaguuca	acgucuugcu	gacgacguac	2940
gaguacauca	ucaaagacaa	gcacauccuc	gccaaagauc	guuggaagua	caugauugug	3000
gacgaagguc	accgcaugaa	gaaccaccac	ugcaagcuga	cgcaggugcu	caacacgcac	3060
uauguggcac	cccgccgccu	gcugcugacg	ggcacaccgc	ugcagaacaa	gcuucccgag	3120
cucugggcgc	ugcucaacuu	ccugcugccc	accaucuuca	agagcugcag	caccuucgag	3180
cagugguuua	acgcacccuu	ugccaugacc	ggggaaaagg	uggaccugaa	ugaggaggaa	3240
accuuucuca	ucauccggcg	ucuccacaaa	gugcugcggc	ccuucuuugc	ccgacgacuc	3300
aagaaggaag	ucgaggccca	guugcccga	aagguggagu	acgucaucua	gugcgacaug	3360
ucugcgcugc	agcgagugcu	cuaccgccac	augcaggcca	agggcgugcu	gcugacugau	3420
ggcuccgaga	aggacaagaa	gggcaaaggc	ggcaccaaga	cccugaugaa	caccaucaug	3480
cagcugcgga	agaucugcaa	ccacccuac	auguuccagc	acaucgagga	guccuuuucc	3540
gagcacuugg	gguucacugg	cggcauuguc	caagggcugg	accuguaccg	agccucgggu	3600
aaauuugagc	uucuuugauag	aaauucuuccc	aaacuccgag	caaccaacca	caaagugcug	3660
cuguucugcc	aaaugaccuc	ccucaugacc	aucauggaag	auuacuuugc	guaucgcggc	3720
uuuaaaauacc	ucaggcuuga	uggaaccacg	aaggcggagg	accggggcau	gcugcugaaa	3780
accuucaacg	agcccggcuc	ugaguacuuc	aucuuccugc	ucagcacccg	ggcugggggg	3840
cucggccuga	accuccaguc	ggcagacacu	gugaucuuu	uugacagcga	cuggaauccu	3900
caccaggacc	ugcaagcgca	ggaccgagcc	caccgcaucg	ggcagcagaa	cgaggugcgu	3960
gugcuccgcc	ucugcaccgu	caacagcgug	gaggagaaga	uccuagcugc	agccaaguac	4020
aagcucaacg	uggaccagaa	ggugauccag	gccggcaugu	ucgaccagaa	guccuccagc	4080
caugagcggc	gcgccuuccu	gcaggccauc	cuggagcacg	aggagcagga	ugagagcaga	4140
cacugcagca	cgggcagcgg	cagugccagc	uucgcccaca	cugccccucc	gccagcgggc	4200
gucaaccccc	acuuggagga	gccaccucua	aaggaggaag	acgaggugcc	cgacgacgag	4260
accgucaacc	agaugaucgc	ccggcacgag	gaggaguuug	aucuguucau	gcgcauggac	4320
cuggaccgca	ggcgcgagga	ggcccgaac	cccgaagcga	agccgcgccu	cauggaggag	4380
gacgagcucc	ccucguggau	caucaaggac	gacgcggagg	uggagcggcu	gaccugugag	4440
gaggaggagg	agaagauguu	cggccguggc	ucccgccacc	gcaaggaggu	ggacuacagc	4500

gacucacuga cggagaagca guggcucaag gccaucgagg agggcacgcu ggaggagau 4560
 gaagaggagg uccggcagaa gaaaucauca cggaagcgca agcgagacag cgacgccggc 4620
 uccuccaccc cgaccaccag caccgcgagc cgcgacaagg acgacgagag caagaagcag 4680
 aagaagcgcg ggcgggccgc ugcgagaaa cucucccua acccaccaa ccucaccaag 4740
 aagaugaaga agauugugga ugccgugauc aaguacaagg acagcagcag uggacgucag 4800
 cucagcgagg ucuucaucca gcugcccucg cgaaaggagc ugcccagua cuacgagcuc 4860
 auccgcaagc ccguggacuu caagaagaua aaggagcgca uucgcaacca caaguaccgc 4920
 agccucaacg accuagagaa ggacgucaug cuccugugcc agaacgcaca gaccuuaac 4980
 cuggaggggcu ccugaucua ugaagacucc aucgucuugc agucggucuu caccagcgug 5040
 cggcagaaaa ucgagaagga ggaugacagu gaaggcgagg agagugagga ggaggaagag 5100
 ggcgaggagg aaggcuucca auccgaauu cgguccguca aagugaagau caagcuuggc 5160
 cggaaggaga aggcacagga ccggcugaag ggcgggccggc ggcgggccgag ccgagggucc 5220
 cgagccaagc cggucgugag ugacgaugac agugaggagg aacaagagga ggaccgcua 5280
 ggaaguggca gcgaagaaga cugagccccg acauuccagu cugacccccg agccccucgu 5340
 uccagagcug agauggcaua ggccuuagca guaacgggua gcagcagaug uaguuuacaga 5400
 cuuggaguua aacuguaaua acaaaagaau cuuccauuu uauacagcag agaagcugua 5460
 ggacuguuug ugacuggccc uguccuggca ucaguagcau cuguaacagc auuaacuguc 5520
 uuaaagagag agagagagaa uuccgaauug gggaacacac gauaccuguu uuucuuuucc 5580
 guugcuggca guacugugc gccgcaguuu ggagucacug uaguuaagug uggaugcaug 5640
 ugcgucaccg uccacuccuc cuacuguaau uuauuggaca ggucagacuc gccgggggcc 5700
 cggcgagggg augucagugu cacuggaugu caaacaguaa uaaauaaaac caacaacaaa 5760
 acgcacagcc aaaaaaaaa 5779

<210> 3

<211> 1857

<212> RNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 3

gccccggccc cgccccagcc cuccugaucc cucgcagccc ggcuccggcc gcccgccucu 60
 gccgccgcaa ugaugaugau ggcgugagc aagaccuucg ggcaagaagc cgugaaguuc 120
 cagcuggagg acgacggcga guucuacaug aucggcuucc aggugggaaa cuaccuccgu 180
 auguuccgag guucucugua caagagauac ccucacucu ggaggcgacu agccacugug 240
 gaagagagga agaaaauagu ugcaucguca caugguaaaa aaacaaaacc uaacacuaag 300
 gaucacggau acacgacucu agccaccagu gugaccucgu uaaaagccuc ggaaguggaa 360
 gagauucugg auggcaacga ugagaaguac aaggcugugu ccaucagcac agagcccccc 420
 accuaccuca gggaacagaa ggccaagagg aacagccagu ggguaccac ccuguccaac 480
 agucuccacc acuuagaugc cgugccaugc uccacaacca ucaacaggaa ccgcaugggc 540
 cgagacaaga agagaaccuu ccccccuuugc uuugaugacc augaccagc ugugauccau 600
 gagaacgcau cucagcccga ggugcugguc cccaucggc uggacaugga gaucgauggg 660
 cagaagcugc gagacgccuu caccuggaac augaaugaga aguugaugac gccugagaug 720

uuucagaaa uccucuguga cgaucuggau uugaacccgc ugacguuugu gccagccauc 780
 gccucugcca ucagacagca gaucgagucc uacccacagg acagcauccu ggaggaccag 840
 ucagaccagc gcgucaucau caagcugaac auccaugugg gaaacauuuc ccugguggac 900
 caguugagu gggacauguc agagaaggag aacucaccag agaaguugc ccugaagcug 960
 ugcucggagc uggggguuggg cggggaguuu gucaccacca ucgcuaacag cauccgggga 1020
 cagcugagcu ggcaucagaa gaccuacgcc uucagcgaga acccucugcc cacaguggag 1080
 auugccaucc ggaacacggg cgaucgggac caguggugcc cacugcugga gacucugaca 1140
 gacgcugaga uggagaagaa gauccgcgac caggacagga acacgaggcg gaugaggcgu 1200
 cuugccaaca cgggcccggc cugguaacca gcccaucagc acacggcucc cacggagcau 1260
 cucagaagau ugggccgccu cuccuccauc uucuggcaag gacagaggcg aggggacagc 1320
 ccagcgccau ccugaggau cggugggggu ggaguggggg cuuccaggug gcccuucccg 1380
 guacacauuc cauuguuga gcccagucc ugccccccac cccaccucc cuaccucc 1440
 ccagucucug gggucaggaa gaaaccuuau uuuaagguugu guuuuguuuu uguauaggag 1500
 cccagggcag ggcuaguaac aguuuuuaaa uaaaaggcaa caggucaugu ucauuuucu 1560
 aaaucuagug uuuuuuuu uucuguuaca auaguguugc uuuguaagc agguuagagu 1620
 gcacaguguc ccaauuguu ccuggcacug caaaaccaa uuaaacauc ccacaaagaa 1680
 uucugacauc aauguguuuu ccucagucag gucuauuua agauucuaga aguuccuuu 1740
 guaaaacuug ccuuuaaaac ucuuccuccu aaugccauc gaucucuua cauuggcua 1800
 cugugggauc uuuccucuua gguugaauu cuacgugaau aucaaagugc cuuuuuc 1857

<210> 4

<211> 5190

<212> RNA

<213> 人 (Homo sapiens)

<400> 4

ggaaaucccg cgaggccggg gugggccagg cuguggggac gacgggcugc gacgauggcc 60
 gcagcggcgg gcggcggcgg gccggggaca gcgguaggcg ccacgggcuu cggggauucg 120
 gcggcagccg caggccuagc uguuuauca cggaaggau ggggcccggc caccaaguuu 180
 ugggagagcc cggagacggu gucccagcug gauucggugc gggucuggcu gggcaagcac 240
 uacaagaagu auguucagc ggaugcuccu accaauaaaa cacuggcugg gcugguggug 300
 cagcuucuu aguuccagga agauggccuu gggaagcaug ucaccaacc gcccuucacc 360
 aaacucccug caaaguguuu cauggauuuc aaagcuggag gcgccuuuug ucacauucuu 420
 ggggcugcuu acaaguauaa aaaugaacag ggauggcgga gguuugaccu acagaaccca 480
 ucucgaaugg aucguaaugu ggaaauuuu augaacauug aaaaaacau ggugcagaac 540
 aauguuuuga ccagacccaa caucuaccuc auuccagaca uugaucugaa guuggcuaac 600
 aaauugaaag auaucauca acgacaucag ggaacauuu cggaugagaa gucaaaagcu 660
 ucccaccaca uuuaaccuau uucuuuccu caagacgaug aagaugguu gagaccggug 720
 augagaaaag agaagcaagu guuagugcau uggggcuuuu acccagacag cuaugauacu 780
 uggguccaua guaaugaugu ugaugcugaa auugaagauc caccaauucc agaaaaacca 840
 uggaagguuc augugaaaug gauuuuggac acugauuuu ucaaugaau gaugaauag 900

gaggaauuag agguuggauga aaauaggaag ccugugaguu uucgucagcg gauuucaccc 960
 aagaauagaag agccagucag aaguccagaa agaagagaua gaaaagcauc agcuaaugcu 1020
 cgaaagagga aacauucgcc uucgccuccc ccuccgacac caacagaauc acggaagaag 1080
 agugggaaga aaggccaagc uagccuuuau gggaagcgca gaagucagaa agaggaagau 1140
 gagcaagaag aucuaacca ggaauuggaa gaccaacac cuguacccaa uauagaagaa 1200
 guaguacuuc caaaaaau guaccuaaag aaagauagug aaaauacacc uguuaaagga 1260
 ggaacuguag cggaucuaa uagagcaggau gaagaaacag ucacagcagg aggaaaggaa 1320
 gaugaagauc cugccaaaag ugaucagagu cgaucaguug accuugggga agauaaugug 1380
 acagagcaga ccaaucacau uauuauuccu aguuaugcau caugguuuga uuauaacugu 1440
 auucauguga uugaacggcg ugcucuuccu gaguucuua auggaaaaa caaauccaag 1500
 acuccagaaa uauacuuggc auaucgaaau uuuaugauug acagcuauug ucuaaacccc 1560
 caagaguauu uaacuagcac ugcuuugcgg aggaacuuga cuggagaugu gugugcugug 1620
 augagggucc augccggggg agagcagugg ggacucguua auuaccaagu ugacccggaa 1680
 aguagacca uggcaauagg accuccuccu acuccucau uuuauguau agcugauacc 1740
 ccucuggcuu gugccucuga ucuucgauca ccucagguuc cugcugcuca acagaugcua 1800
 aauuuuccug agaaaaacaa ggaaaaacca guugauuugc agaacuugg ucuccguacu 1860
 gacauuuacu ccaagaaaac auuagcaaag aguaaaggug cuagugcugg aagaggaugg 1920
 acugaacagg agaccuuuc acuccuggag gcccuggaga uguacaagga ugauuggaac 1980
 aaagugucgg aacauuugg aagucguacu caggauaau gcauccuca cuuuuugaga 2040
 cuucccauug aggaccuau ccuugagaau ucagaugcuu cccuugggcc uuuggccuac 2100
 cagccugucc ccuucaguca gucaggaaau ccaguuuaga guacuguugc uuuuuuggca 2160
 ucuguggugg acccucgcu ggcaucugcu gcagcaaaag cggcuuugga ggaguuuucu 2220
 cggguccggg aggagguacc acuggaaau guugaagcuc augucaagaa aguacaagaa 2280
 gcagcacgag ccucugggaa aguggauccc accuacgguc uggagagcag cugcauugca 2340
 ggcacagggc ccgaugagcc agagaagcu gaaggagcug aagaggaaaa aauggaagcc 2400
 gaccucugaug gucagcagcc ugaaaaggca gaaaauaaag uggaaauga aacggaugaa 2460
 ggugauaaaag cacaagaugg agaaaauaga aaaaauagug aaaaggaaca ggauagugaa 2520
 gugagugagg auaccaaauc agaagaaaag gagacugaag agaacaaga acucaguagu 2580
 acauguaaaag aaagagaaaag ugauacuggg aagaagaaag uagaacauga aauuuccgaa 2640
 ggaaauguug ccacagccgc agcagcugcu cuugccucag cggcuacca agccaagcac 2700
 cuggcugcag uggaagaaaag aaagaaucaag ucccugguag cucucuuggu ugagacacaa 2760
 augaagaaac uagagaucua acuucgacau uuugaagggc uggaaacuau cauggacaga 2820
 gagaaagaag cucuagaaca acagaggcag caguugcuua cugaacgcca aaacuuccac 2880
 auggaacagc ugaaguauugc ugaauuacga gcacgacagc aauggaaca gcagcagcau 2940
 ggccagaacc cucaacaggc acaccagcac ucaggaggac cuggccuggc cccacuugga 3000
 gcagcagggc acccuggcau gaugccucau caacagcccc cucccuaccc ucugaugcac 3060
 caccagaugc caccaccuca uccaccccag ccaggucaga uaccaggccc agguuccaug 3120
 augcccgggc agcacaugcc aggccgcaug auucccacug uugcagccaa cauccacccc 3180
 ucugggagug gcccuacccc uccuggcaug ccaccaaugc caggaaacau cuuaggaccc 3240

cggguacccc ugacagcacc uaacggcaug uaucccccuc caccacagca gcagccaccg 3300
 ccaccaccac cugcagaugg ggucccuccg ccuccugcuc cuggcccgcc agccucagcu 3360
 gcuccuuagc cuggaagaug cagggaaaccu ccacgcccac caccaugagc uggagugggg 3420
 augacaagac uuguguuccu caacuuccuu ggguuucuuu caggauuuu cuucucacag 3480
 cuccaagcac gugucccgug ccuccccacu ccucuuaacca cccucucucug ugacacuuuu 3540
 uguguugggu ccucagccaa cacucaaggg gaaaccugua gugacagugu gcccgugua 3600
 uccuuaaaau aaccugcauc uccccugucc ugguguggga guaagcugac aguucucug 3660
 cagguccugu caacuuaugc augcuauugc uuuaccuuu ucucucuucc aguuuuuugc 3720
 uuugucuuau gcuucuaugg auaaugcuau auaaucuuu ucuuuuuuauc uuucuguuau 3780
 uauuguuuuu aaggagagca uccuaaguuu auaggaacca aaaaauaaug augggcagaa 3840
 gggggggaa uagccacaggg gacaaaccuu aaggcauuu aagugaccuu auuucugcuu 3900
 uucugagcua agaauggugc ugaugguaaa guuugagacu uuugccacac acaauuuugu 3960
 gaaaauuuuu cgagauggg aaggagaacc ucagugauuu uauucccuag ugaggccucu 4020
 gagggccucc acacugccug gcagaacaua ccacugaacu aguaugugcu agaggagggc 4080
 acaaacaucc gcuccuuccc uaggccugcu ggcucugguu uucuaugcag augaucauu 4140
 ggauuggggg ugaguguuuu guuuuucugg gggcagugug agcuuugagg guuggaauau 4200
 ugggagggau uccuuaguuu ccucaacuag ccuggaaagu uaggagucua ggguaaauac 4260
 cccccaauga gucuagccua cuauucacug cuuugugugc auuuuuuucu cccucuuuaa 4320
 aaaaccuuuu aaaagaaaaa aaaaaguaga uagugcuaaa uauuuagcuc augaaacuug 4380
 guuaggauug cuggggguac aaguccccaa acuaccucuu guuacaguag ccagggagug 4440
 gaauuucguc aaccgguacu uuuaagguu ggauugggac ggaaaaguga agcaggauau 4500
 uagcuccuuu uaccuucucc cuuccauuuc ugagaucua cauuccaucu aucacagguu 4560
 uuucaaagag augcugaggg uaacaaggaa cucacuuggc agucagagca ucaugcuuug 4620
 agguuugggg ugcucaggcu gggaggguag aaugccauuc cagaggacaa gccacaaaaa 4680
 ugccuuuuuu ugagcucgua uuuaaccucg cugauaagug acuugagagu ucccgguuuu 4740
 uuccucuuuu ccuucccucc cuucuguccu uccaugugug gggaaagggu guuuuuggua 4800
 gagcuugguu uccaaagcgc cuggcuuucu cacuucacau ucuaagugg caguuucauu 4860
 auuuagaaug caagguggac aucuuuugga uauuuuuuuc uauauuuuuc uaaagcuuuu 4920
 cauaugagag gguaauaggga gguguuuuua aaacacuuga gaacuuuuuu ccuuauauuc 4980
 agaaagcaaa aaaaauaaaac cacaauugag auuugccuuu caaacccuca gguuugccuc 5040
 uaaccaggug ucccugguca ccaucagagu acuggaauac gggaaccgag gaggaccuug 5100
 guccuuuuuu uuuuuguucg gacucuuggg aguggaaaug ggaugaguuu auccacugga 5160
 gcuuuagucc caugcauuug cuccagaaag 5190
 <210> 5
 <211> 4022
 <212> RNA
 <213> 人(Homo sapiens)
 <400> 5
 ggaauucucc gagccggaga agauggcggu gcggaagaag gacggcggcc ccaacgugaa 60

guacuacgag gccgcggaca ccgugaccca guucgacaac gugcggcugu ggcucggcaa 120
 gaacuacaag aaguauauac aagcugaacc acccaccaac aagucccugu cuagccuggu 180
 uguacaguug cuacaauuuc aggaagaagu uuuuggcaaa caugucagca augcaccgcu 240
 cacuaaacug ccgaucaaa uuuuccuaga uuucaaagcg ggaggcuccu ugugccacau 300
 ucuugcagcu gccuacaaau ucaagaguga ccagggauagg cggcguuacg auuuccagaa 360
 uccaucacgc auggaccgca auguggaaau guuuauagacc auugagaagu ccuuggugca 420
 gaauaaauugc cugucucgac cuaacauuuu ucugugccca gaaauugagc ccaaacuacu 480
 agggaaaauua aaggacauua ucaagagaca ccagggaaaca gucacugagg auaagaacaa 540
 ugccucccau guuguguauc cugucccgagg gaaucuagaa gaagaggaa uggguacgacc 600
 agucaugaag agggauaagc agguucuuu gcacuggggc uacuauccug acaguuaacga 660
 cacguggauc ccagcgagug aaauugaggc aucuguggaa gaugcucaa cuccugagaa 720
 accuaggaag guucaugcaa aguggauccu ggacaccgac accuucuaug aauggaugaa 780
 ugaggaagac uaugaaguaa augaugacaa aaaccuguc ucccgccgaa agaagauuuc 840
 agccaagaca cugacagaug aggugaacag cccagauuca gaucgacggg acaagaagg 900
 gggaaacua uagaagagga agcgcucucc cucuccuua ccaacccag aagucaaaga 960
 agaaaaaugc aagaaagguc ccuacacacc uuacacuaag ucaaagcgug gccacagaga 1020
 agaggagcaa gaagaccuga cuaaggacau ggacgagccc ucaccagucc ccauguaga 1080
 agaggugaca cuucccaaaa cagucaacac aaagaaagac ucagagucgg cccagucuaa 1140
 aggcggcacc augaccgacc uggaugaaca ggaagaugaa agcauggaga cgacgggcaa 1200
 ggaugaggau gagaacagua cggggaacaa gggagagcag accaagaau cagaccugca 1260
 ugaggacaau gugacugaac agaccaccca caucaucauu cccagcuacg cugccugguu 1320
 ugacuacaau aguguucaug ccuugagcg gagggcucuc cccgaguucu ucaacggcaa 1380
 gaacaagucc aagacuccag agaucuaccu ggccuauca aacuuuuga uugacacua 1440
 ccgacugaac cccaagagu aucuuaccuc uaccgccugc cgccgaaacc uagcggguga 1500
 ugucugugcc aucucgaggg uccaugccuu ccuagaacag ugaggguuua uuaacuacca 1560
 gguggaugcu gagagucgac caaccccau ggggccuccg ccuaccucuc acuucaugu 1620
 cuuggcugac acaccaucag ggcuggugcc ucugcagccc aagacaccuc agcagaccuc 1680
 ugcuucccaa caaauugcu acuuuccuga caaaggcaaa gagaaaccaa cagacaugca 1740
 aaacuuuggg cugcgcacag acauguacac aaaaaagaau gcuccucca agagcaaggc 1800
 ugcagccagu gccacucgug aguggacaga acaggaaacc cugcuuccc uggaggcacu 1860
 ggaaauguac aaagaugacu ggaacaaagu guccgagcau gugggaagcc gcacacagga 1920
 cgagugcauc uugcauuuuc uucgucucc cauugaagac ccuaccugg aggacucaga 1980
 ggccucccuu gggcccccugg ccuaccaacc caucccuuc agucagucgg gcaaccucgu 2040
 uaugagcacu guugccuucc ugccucugc cgucgaucgc cgagucgcu cugcugcugc 2100
 aaagucagcc cuagaggagu ucuccaaaau gaaggaagag guaccacgg ccuuggugga 2160
 ggcccauguu cgaaaagugg aagaagcagc caaaguaaca ggcaaggcgg accugccuu 2220
 cggucuggaa agcaguggca uugcuggaac caccucugau gagccugagc ggauugagga 2280
 gagcgggaau gacgaggcuc ggguggaagg ccaggccaca gaugagaaga aggagcccaa 2340
 ggaaccccga gaaggagggg gugcuauaga ggaggaagca aaagagaaaa ccagcgaggc 2400

ucccaagaag gaugaggaga aagggaaga aggcgacagu gagaaggagu ccgagaagag 2460
 ugauggagac ccaauagucg auccugagaa ggagaaggag ccaaaggaag ggcaggagga 2520
 agugcugaag gaaguggugg agucugaggg ggaaaggaag acaaaggugg agcgggacau 2580
 uggcgagggc aaccucucca ccgcugcugc cgccgcccg gccgcccg cagugaaagc 2640
 uaagcacuug gcugcuguug aggaaaggaa gaucaaaucu uugguggccc ugcuggugga 2700
 gacccagaug aaaaaguugg agaucaaacu ucggcacuuu gaggagcugg agacuaucan 2760
 ggaccgggag cgagaagcac uggaguauca gaggcagcag cuccuggccg acagacaagc 2820
 cuuccacaug gagcagcuga aguauccgga gaugagggcu cggcagcagc acuuccaaca 2880
 gaugcaccaa cagcagcagc agccaccacc agcccugccc ccaggcuccc agccuauccc 2940
 cccaacaggg gcugcugggc caccgcagu ccauggcuug gcuguggcuc cagccucugu 3000
 agucccugcu ccugcuggca guggggcccc uccaggaagu uugggcccuu cugaacagau 3060
 ugggcaggca gggucaacuc gagggccaca gcagcagcaa ccagcuggag cccccagcc 3120
 uggggcaguc ccaccagggg uuuuuuuuu uggacccau ggccccucac cguuuuuuu 3180
 ccaacaaacu ccuccucaa ugaugccagg ggcagugcca ggcagcgggc acccaggcgu 3240
 ggcggguauu gcuccuuugg guuuugccuuu uggcaugccg ccuccuccuc cuccuccugc 3300
 uccauccauc aucccauuug guagucuagc ugacuccauc aguauuaacc uccccgcucc 3360
 uccuaaccug augggaucac caccaucucc cguucgcccc gggacucucc cccaccuaa 3420
 ccugccugug uccauggcga acccucuaca uccuaaccug ccggcgacca ccaccaugcc 3480
 aucuuuccuug ccucucgggc cggggcucgg auccgcccga gcccuaagcc cugccauugu 3540
 ggcagcuguu cagggaacc uccugcccag ugccagccca cugccagacc caggcacccc 3600
 ccugccucca gacccacag ccccgagccc aggcacgguc accccugugc caccuccaca 3660
 gugaggagcc agccagacau cucuuuuuu caccuccugu ggacauacg guuccaggaa 3720
 cagcccuucc cccaccacug ggaccuccc cagccuggag aguucacac uacguaagga 3780
 aagcuccuuc cgccccucca aagccucac caugccuac agaggcaugc auuuuauauc 3840
 aguauucaa ggacuucugu uuaaaagau uuuauaauu cugggagaga ggauaggau 3900
 ggaaugcugc ccuaaaggaa gggcugguga agguuuaua caagguucua uuaaccacuu 3960
 cuaagguuac accuccucc aaacuacugc auuuucuaug gauuuuuuu aaaaaggau 4020
 uc 4022

<210> 6

<211> 6418

<212> RNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 6

cccagccca ccgccacccc caccucaac caacugcuca cgucgccag cucggcccgg 60
 ggcuaccagg gcuaccccg gggcgacuac aguggcgggc cccaggacgg gggcgccggc 120
 aaggggccgg cggacauggc cucucagugu uggggggcug cggcgccggc agcugcgcg 180
 gcggccgcu cgggaggggc ccaacaaagg agccaccacg cgcccaugag ccccgggagc 240
 agcggcgcg gggggcagcc gcucgcccgg acccucagc cauccagucc aauggaucag 300
 augggcaaga ugagaccuca gccauaugc gggacuaacc cauacucgca gcaacaggga 360

ccuccgucag gaccgcagca aggacauggg uaccagggc agccauacgg gucccagacc 420
 ccgcagcggg acccgaugac caugcagggc cgggcgcaga gugccauggg cggccucucu 480
 uauacacagc agauuccucc uuauggacaa caaggcccca gcggguaugg ucaacagggc 540
 cagacuccau auuacaacca gcaaaguccu caccucagc agcagcagcc acccuacucc 600
 cagcaaccac cgucccagac ccucuaugcc caaccuucgu aucagcagca gccacagucu 660
 caaccaccac agcuccaguc cucucagccu ccuacucucc agcagccauc ccagccucca 720
 caucagcagu ccccggucc auacccucc cagcagucga cgacacagca gcaccccccag 780
 agccagcccc ccuacucaca gccacaggcu cagucuccuu accagcagca gcaaccucag 840
 cagccagcac ccucgacgu cucccagcag gcugcguauc cucagcccca gucucagcag 900
 ucccagcaaa cugccuauuc ccagcagcgc uucccuccac cgcaggagcu aucucaagau 960
 ucauuugggu cucaggcauc cucagccccc ucaaugaccu ccaguaaggg agggcaagaa 1020
 gauaugaacc ugagccuua gucaagacc uccagcuugc cugaucuauc ugguucaaua 1080
 gaugaccucc ccauggggac agaaggagcu cugaguccug gagugagcac aucagggauu 1140
 uccagcagcc aaggagagca gaguaaucca gcucagucuc cuuucucucc ucauaccucc 1200
 ccuacaccugc cuggcauccg aggcccuucc ccgucuccug uuggcucucc cgccaguguu 1260
 gcucagucuc gcucaggacc acucucgccu gcugcagugc caggcaacca gaugccaccu 1320
 cggccaccca guggccaguc ggacagcauc augcauccuu ccaugaacca aucaagcauu 1380
 gccaagauc gagguuauau gcagaggaac cccagaugc cccaguacag uccccccag 1440
 cccggcucag ccuuauucucc gcgucagccu uccggaggac agauacacac aggcaugggc 1500
 uccuaccagc agaacuccau ggggagcuau ggucuccagg ggggucagua uggcccacaa 1560
 gguggcuauc ccaggcagcc aaacuauauu gccuugccca augccaacua cccagugca 1620
 ggcauggcug gaggcuaaaa cccaugggu gccggagguc aaugcaugg acagccuggc 1680
 aucccaccuu auggcacacu ccuuccaggg aggaugaguc acgccuccau gggcaaccgg 1740
 ccuuauggcc cuaacauggc caauaugcca ccucagguug ggucagggau gugucccca 1800
 ccagggggca ugaaccggaa aacccaagaa acugcuguc ccaugcaugu ugcugccaac 1860
 ucuauccaaa acaggccgcc aggcuacccc aaauugaauc aagggggcau gaugggaacu 1920
 ggaccuccuu auggacaagg gauuaauagu auggcuggca ugaucaacc ucagggacc 1980
 ccuauuucca uggguggaac cauggccaac aaucucgag ggauggcagc cagcccagag 2040
 augaugggcc uuggggauu aaaguuaacu ccagccacca aaugaacaa caaggcagau 2100
 gggacaccca agacagaau caaauccaag aaauccaguu cuucuacuac aaccaaugag 2160
 aagaucacca aguuguauga gcuggguugu gagccugaga ggaagaugug gguggaccgu 2220
 uaucuggccu ucacugagga gaaggccaug ggcaugacaa aucugccugc uguggguagg 2280
 aaaccucugg accucuaucg ccucuaugug ucugugaagg agauuggugg auugacucag 2340
 gucaacaaga acaaaaaaugg gcgggaacuu gcaaccaacc ucaauguggg cacaucagc 2400
 agugcugcca gcuccuugaa aaagcaguau auccaguguc ucuaugccuu ugaugcaag 2460
 auugaacggg gagaagacc uccccagac auuuuugcag cugcugauuc caagaagucc 2520
 cagccaaga uccagccucc cucuccugc ggaucaggau cuaugcagg gccccagacu 2580
 cccagucuaa ccagcaguuc cauggcagaa ggaggagacu uaaagccacc aacuccagca 2640
 uccacaccac acagucagau cccccauug ccaggcauga gcaggagcaa uucaguuggg 2700

auccaggaug	ccuuuaauga	uggaagugac	uccacauucc	agaagcggaa	uuccaugacu	2760
ccaaacccug	gguaucagcc	caguaugaau	accucugaca	ugauggggcg	cauguccuau	2820
gagccaaaau	aggauccuua	uggcagcaug	aggaaagcuc	cagggaguga	ucccuucaug	2880
uccucagggc	agggcccca	cggcgggaug	ggugaccccu	acagucgugc	ugccggcccu	2940
gggcuaggaa	auguggcgau	gggaccacga	cagcacuau	ccuauaggag	uccuuauag	3000
agagugagga	cggagccugg	aaauagggccu	gagggaaaca	ugagcacugg	ggccccacag	3060
ccgaauucu	ugccuuccaa	cccagacucg	gggauguauu	cuccuagccg	cuaccccccg	3120
cagcagcagc	agcagcagca	gcaacgacau	gauuccuau	gcaaucagu	cuccacccaa	3180
ggcaccccu	cuggcagccc	cuuccccagc	cagcagacua	caauguauca	acagcaacag	3240
cagaauuaca	agcggccaau	ggauggcaca	uauggccuc	cugccaagcg	gcacgaaggg	3300
gagauguaca	gcgugccaua	cagcacuggg	caggggcagc	cucagcagca	gcaguugccc	3360
ccagcccagc	cccagccugc	cagccagcaa	caagcugccc	agccuucccc	ucagcaagau	3420
guauacaacc	aguauggcaa	ugccuauccu	gccacugcca	cagcugcuac	ugagcgccga	3480
ccagcaggcg	gccccagaa	ccaauuucca	uuccaguuu	gccgagaccg	ugucucugca	3540
ccccuggca	ccaaugccca	gcaaaacaug	ccaccacaaa	ugauggggcg	ccccauacag	3600
gcaucagcug	agguugcuca	gcaaggcacc	auguggcagg	ggcguaauga	caugaccuau	3660
aaauaugcca	acaggcagag	cacgggcucu	gccccccagg	gccccgccua	ucauggcgug	3720
aaccgaacag	augaaaugcu	gcacacagau	cagagggcca	accacgaagg	cucguggccu	3780
ucccauggca	cacgccagcc	cccuauggu	cccucugccc	cugugccccc	caugacaagg	3840
ccccuccau	cuaacuacca	gccccacca	agcaugcaga	aucacauucc	ucagguaucc	3900
agcccugcuc	cccugccccg	gccaauggag	aaccgcaccu	cuccuagcaa	gucuccauuc	3960
cugcacucug	ggaugaaaau	gcagaaggca	ggucccccag	uaccugccuc	gcacauagca	4020
ccugccccug	ugcagcccc	caugauucgg	cgggauauca	ccuucccacc	uggcucuguu	4080
gaagccacac	agccuguguu	gaagcagagg	aggcggcuca	caaugaaaga	cauuggaacc	4140
ccggaggcau	ggcggguauu	gaugucccuc	aagucugguc	uccuggcaga	gagcacaugg	4200
gcauuagaua	ccaaucaacu	ccugcuguau	gaugacaaca	gcaucaugac	cuucaaccuc	4260
agucagcucc	cagggguugcu	agagcuccuu	guagaauauu	uccgacgaug	ccugauugag	4320
aucuuuggca	uuuuaaagga	guaugaggug	ggugacccag	gacagagaac	gcuacuggau	4380
ccugggaggu	ucagcaaggu	gucuagucca	gcucccaugg	agggugggga	agaagaagaa	4440
gaacuucua	guccuaaacu	agaagaggaa	gaagaagagg	aaguaguuga	aaaugaugag	4500
gagauagccu	uuucaggcaa	ggacaagcca	gcuucagaga	auagugagga	gaagcugauc	4560
aguaaguuu	acaagcuucc	aguaaagauc	guacagaaga	augauccauu	ugugguggac	4620
ugcucagaua	agcuuggggc	ugugcaggag	uuugacagug	gccugcugca	cuggcggaau	4680
gguggggggg	acaccacuga	gcauauccag	accacauucg	agagcaagac	agagcugcug	4740
ccuucccg	cucacgcacc	cugcccacca	gccccucgga	agcaugugac	aacagcagag	4800
gguaaccag	ggacaacaga	ccaggagggg	ccccaccug	auggaccucc	agaaaaacgg	4860
aucacagcca	cuauggauga	cauguugucu	acucggucua	gcaccuugac	cgaggauuga	4920
gcuaagagu	cagaggccau	caaggagagc	agcaaguuc	cauugggcau	uagcccagca	4980
cagagccacc	ggaacaucaa	gauccuagag	gacgaacccc	acaguaagga	ugagacccca	5040

cuguguaccc uucuggacug gcaggauucu cuugccaagc gcugcgucug uguguccaau 5100
 accauucgaa gccugucauu ugugccaggc aaugacuug agauguccaa acaccaggg 5160
 cugcugcuca uccugggcaa gcugauccug cugcaccaca agcaccaga acggaagcag 5220
 gcaccacuaa cuuaugaaaa ggaggaggaa caggaccaag gggugagcug caacaaagug 5280
 gagugguggu gggacugcuu ggagaugcuc cgggaaaaca ccuugguuac acucgccaac 5340
 aucucggggc aguuggaccu aucuccauac cccgagagca uuugccugcc uguccaggac 5400
 ggacuccuac acugggcagu uugcccuuca gcugaagccc aggaccccuu uuccaccug 5460
 ggccccaaug ccguccuuuc cccgcagaga cuggucuugg aaaccucag caaacucagc 5520
 auccaggaca acaaugugga ccugaauucug gccacacccc ccuucagccg ccuggagaag 5580
 uuuguauagca cuauggugcg cuuccucagu gaccgaaaga acccggugug ccgggagaug 5640
 gcugugguac ugcuggccaa ccuggcucag ggggacagcc uggcagcucg ugccauugca 5700
 gugcagaagg gcaguaucgg caaccuccug ggcuuccuag aggacagccu ugccgccaca 5760
 caguuccagc agagccaggc cagccuccuc cacaugcaga acccaccuu ugagccaacu 5820
 aguguggaca ugaugcggcg ggcugcccg gcgcugcuug ccuuggccaa gguggacgag 5880
 aaccacucag aguuuacucu guacgaauca cggcuguugg acaucucggu aucaccguug 5940
 augaacucau ugguuuacaca agucauuugu gauguacugu uuuugauugg ccagucauga 6000
 cagccguggg acaccuccc ccccgugug ugugugcgug uguggagaac uuagaaacug 6060
 acuguugccc uuuaauuaug caaaaccacc ucagaaucca guuuaccug ugcuguccag 6120
 cuucuccuu gggaaaaagu cucuccuguu ucucucuccu ccuuccaccu cccuccuc 6180
 caucaccuca cgccuuucug uuccuugucc ucaccuacu cccucagga cccuaccca 6240
 cccucuuuga aaagacaaag cucugccuac auagaagacu uuuuuuuuu uaaccaaagu 6300
 uacuguuguu uacagugagu uuggggaaaa aaaauaaaau aaaauggcu uucccagucc 6360
 uugcaucaac gggaugccac auuucuuac uuuuuuuuu gguaaaaaaaa aaaaaaaa 6418

<210> 7

<211> 5508

<212> RNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 7

auggcaaacu cgacggggaa ggcgccuccg gacgagcgga gaaaggga cuuuccug 60
 gacgagcugc ggcaguucca ccacagcaga gggucgccuu uuaaaaaau cccugcgug 120
 ggugggaagg agcuggaucu ucacggucuc uacaccagag ucacuacuu aggcggauuc 180
 gcgaagguuu cugagaagaa ucagugggga gaaauuguug aagaguucua cuuuccaga 240
 aguuguucua acgcugccuu ugcuuuaaaa caguauuacu ugcguuaccu agaaaaguac 300
 gagaaaguuc aucauuuugg ggaggaugau gaugagguac caccgggcaa uccaaagcca 360
 cagcuuccua uuggugcaau uccaucucc uacaauuacc agcaacacag ugugucggau 420
 uaucugcguc aaaguuuagg gcuguccaug gacuuuaau cgccaaauga uuauaauaaa 480
 uuggugcuuu cacuguuauc uggacuccca aaugaagugg acuuugcuau uaacguaugc 540
 acucuccuau caaaugaaag caagcacguc augcaacuug aaaaagauc uaaaaucauc 600
 acuuuacuac uugcuuaugc cgggguguuu gacgacacuu uaggaucuu uuccacugua 660

uuuggagaag	aauggaaaga	gaagacugau	agagacuucg	uuuaguuuug	gaaagacauc	720
guugaugaua	augaaguucg	ugaccucauu	ucugacagaa	acaagucuca	ugaagguaca	780
ucaggagaa	ggauuuggga	gucuuuuuu	cauccaccuc	gaaagcuggg	cauuuacgau	840
auugaaggac	agcggguacu	ucagauugca	gugauuuuga	gaaauuuuc	cuuugaggag	900
ggcaauguuu	agcucuuggc	agcuauucgu	accugucuuc	guuuccuauu	acuuucugca	960
cauagucauu	uuuuuuuuu	aaggcaauua	ggccuugaca	cauuaggaaa	uauugcagcu	1020
gagcuuuuac	uggacccug	ugauuucaaa	acuacucauc	ugauguuua	uacuguuaca	1080
aaaugucuaa	ugucaaggga	uagauuuuuu	aagaugagag	gcauggaaa	uuugggaaa	1140
cuuugcaaag	cagaagauaa	ugguguuuuu	auuugugaau	auguggauca	ggauuccuac	1200
agagagauca	uuugucaucu	cacuuuaccu	gaugugcugc	uuguaaucuc	aacacucgag	1260
gugcuauaca	ugcucacgga	aauggggagau	guugcuugca	caaaaauugc	aaaaguagaa	1320
aagagcauag	acauguuagu	gugucugguu	ucuauggaua	uucagauguu	uggcccugau	1380
gcacuagcug	cgguaaaaacu	cauugaacac	ccaaguucca	gucaucaauu	guuauucugaa	1440
auuaggccac	aagcuauaga	gcaaguucca	accagacuc	auguagcauc	ugccccagcu	1500
uccagagcag	uuuguagcgca	gcauguugcu	ccaccuccag	gaauagugga	aaauagauagu	1560
gagaaguuug	cuugucagug	gcuaaaugcu	cauuuuugaag	uaaauccaga	uuguucuguu	1620
ucucgagcag	aaauguauuc	ugaauaccuc	ucgacuugca	guaaaauagc	ucguggugga	1680
auccuaacau	caacuggauu	uuauaaaugu	cuuagaacgg	ucuuuccaaa	ucauacagug	1740
aagagagugg	aggauuccag	uagcaauugg	caggcacaua	uucauguggu	aggaguaaaa	1800
cggagggcua	uaccacuucc	cauucagaug	uacuaucagc	agcaaccagu	uucuacuucu	1860
guuguucgug	uuuguuucgu	uccugaugua	ucuccugcuc	cuucaccugc	aggaaucucu	1920
cauggaucac	aaaccuauag	aaaccuuuuu	cagaggacuc	cuguugccaa	ccaauucuca	1980
aaucugacug	caacacaaa	gucuuuuuccu	guacaaggug	uucuuuacug	ggcacaaaacu	2040
guuuaagaa	uuccacaaaa	uccuuuaccu	cauaccacc	agcaacaaaa	ugcuccagug	2100
acugucauuc	aaaguaaagc	uccaaauuccu	ugugaaguug	uuuaggcuac	aguuaucag	2160
aaauccauac	cccagacagg	aguuccuguu	aguauugcug	uuggaggagg	accuccacag	2220
aguucuguug	uucagaauca	uaguacaggg	ccacaaccug	uuacaguugu	gaauucucag	2280
acauugcuuc	accauccauc	uguaauucca	cagcagucuc	cauuacacac	agugguacca	2340
ggacagaucc	cuucaggcac	uccuguuua	guaaaucaac	aagcuguccc	acagagucuu	2400
acguuuggca	gaguacagaa	cauaccagca	uguacuucua	caguuuucaca	gggucaacag	2460
uuauucacca	cauaccccca	accugugcaa	acuuaucuc	aacagacauc	agcugguagc	2520
cagucacaag	auacuguuau	cauagcacc	ccacaguaug	uaacaacuuc	ugcauccauu	2580
auugucucag	caacuucagu	acagaauuuu	cagguagcua	caggacaaa	gguuacuauu	2640
gcuggugucc	caaguccaca	agccucaagg	guaggguuuc	agaacauugc	acaaaaaccu	2700
cuccuuucuc	agcaaguuuu	aucuacagug	guacagcagc	cuauucaaca	accacagcag	2760
ccaacccaac	aaagcguagu	gauuguaagc	cagccagcuc	aacaagguca	aacuuuugca	2820
ccagccauuc	acaaaauugu	ucuuugcuaa	ccagcagcuc	uuccagcugg	ucagacagu	2880
cagcuuacug	gacaaccuaa	cauaacucca	ucuuuucac	cauaccugu	cccagcuacu	2940
aaauaccaag	ucccuacugc	caugucgucg	uccucuaccc	cucaaucaca	gggaccaccu	3000

ccuacuguca	gucaaauguu	aucugugaaa	aggcagcaac	agcagcaaca	uucaccagca	3060
ccccaccac	agcagguaca	aguacaagu	cagcagcccc	aacaaguaca	gaugcaagu	3120
caaccucaac	agucgaaugc	aggaguuggu	cagccugccu	cuggugaguc	gagucugau	3180
aaacagcuuc	ugcuuccgaa	acgugguccu	ucaacaccag	gugguaagcu	uauucucca	3240
gcuccacaga	uuccucuccc	uaauaaugca	agagcuccua	gcccucaggu	ggucuaucag	3300
guggccagua	accaagccgc	agguuuugga	gugcaggggc	aaacuccagc	ucagcagcua	3360
uugguugggc	agcaaaaugu	ucaguugguc	ccaagugcaa	ugccaccuc	agggggagua	3420
caaacugugc	ccauuucgaa	cuuacaaaua	uugccagguc	cacugaucuc	aaauagccca	3480
gcaaccauuu	uccaagggac	uucuggcaac	cagguaacca	uaacaguugu	gccaaauacg	3540
aguuuugcac	cugcaacugu	gagucaggga	aaugcaacuc	agcucauugc	uccagcagga	3600
auuaccauga	gcggaacgca	gacaggaguu	ggacuuccag	uacaaacgcu	uccagccacu	3660
caagcaucuc	cugcuggaca	aucaucaugu	acuacugcua	cucucccauu	caaaggugau	3720
aaaauaaauu	gccaaaagga	ggaggaagca	aaggaagcaa	cagguuuaca	uguucaugaa	3780
cguaaaauug	aagucaugga	gaacccgucc	ugccgacgag	gagccacaaa	caccagcaau	3840
ggggauacaa	aggaaaauga	aaugcaugug	ggaagucuuu	uaaaugggag	aaaguacagu	3900
gacucaaguc	uaccuccuuc	aaacucaggg	aaaauucaaa	gugagacuaa	ucagugcuca	3960
cuaaucagua	augggccauc	auuggaauua	ggugagaau	gagcaucugg	gaaacagaac	4020
ucagaacaaa	uagacaugca	agauaucaaa	agugauuuga	gaaaaccgcu	aguuaaugga	4080
aucugugauu	uugauaaaagg	agaugguucu	cauuuaagca	aaaacauucc	aaaucauaaa	4140
acuuccaauc	auguaggaaa	uggugagaua	ucuccaaugg	aaccacaagg	gacuuuagau	4200
aucacucagc	aagauacugc	caaaggugau	caacuagaaa	gaauuucuaa	uggaccugua	4260
uuuacuuugg	gugguucauc	ugugagcagu	auacaggagg	cuucaaaugc	ggcaacacag	4320
cauuuuagug	guacugauuu	gcuuaaugga	ccucuagcuu	caaguuuuga	uucagaugug	4380
ccucagcaac	gcccagugu	aguugucuca	ccacauucua	caaccucugu	uauacaggga	4440
caucaaauca	uagcaguucc	cgacucagga	ucaaaguuu	cccuuucucc	ugcccuauca	4500
ucugacguuc	ggucuacaaa	uggcacagca	gaaugcaaaa	cuguaaagag	gccagcagag	4560
gauacugaua	gggaaacagu	cgcaggaauu	ccaaauaaag	uaggaguua	aauguuuaa	4620
aucagugacc	ccaacaaugc	uggcugcagc	gcaacaauug	uugcugugcc	agcaggagca	4680
gauccaagca	cuguagcuua	aguagcaaua	gaaagugcug	uucagcaaaa	gcaacagcau	4740
ccaccaacau	auguacagaa	uguggucccg	cagaacacuc	cuaugccacc	uucaccagcu	4800
guacaagugc	agggccagcc	uaacaguucu	cagccuucuc	cauucagugg	auccagucag	4860
ccuggagau	caauagaaaa	accuggacag	aacuucaugu	gucuguggca	gucuuguuaa	4920
aagugguuuc	agacaccuc	acagguuuuc	uaccaugcag	caacugaaca	uggaggaaaa	4980
gauguauauc	cagggcagug	ucuuugggaa	gguuugagc	cuuuucagcg	acagcgguuu	5040
ucuuuuauua	cccacuugca	ggauaagcac	uguucaaagg	augcccuacu	ugcaggauua	5100
aaacaagaug	aaccaggaca	agcaggaagu	cagaagucuu	cuaccaagca	gccaacugua	5160
gggggcacaa	gcucaacucc	uagagcacia	aaggccauug	ugaaucaucc	cagugcugca	5220
cuuauggcuc	ugaggagagg	aucaagaaac	cuugucuuuc	gagauuuuac	agaugaaaaa	5280
gagggacca	uaacuaaaca	cauccgacua	acagcugccu	uaauauuaaa	aaauauuggu	5340

aaauauucag aauguggucg cagauuguua aagagacaug aaaauaacuu aucagugcua 5400
 gccauuagua acauggaagc uuccuccacc cuugccaaau gccuuuuga acuaaauuuu 5460
 acaguucaga guaaggaaca agaaaaagac ucagaaaugc ugcaguga 5508
 <210> 8
 <211> 5070
 <212> RNA
 <213> 人(Homo sapiens)
 <400> 8
 aggagcaaua gcagcagccg uggcgccacg gggcgaggcg cggcggucgg ugaccggccg 60
 gggcugcagg cggcggacgg cuggaaguug gauuccaugg guuccaagag aagaagagcu 120
 accuccccuu ccagcagugu cagcggggac uuugaugaug ggcaccauuc ugugucaaca 180
 ccaggcccaa gcaggaaaag gaggagacuu uccaauucuc caacuguaga uccuauugcc 240
 gugugccaug aacucuaaua uaccauccga gacuuaaagg augaacaggg cagacuucuc 300
 ugugagcucu ucauuagggc accaaagcga agaaaucaac cagacuauua ugaagugguu 360
 ucucagccca uugacuugau gaaaauccaa cagaaacuaa aauggaaga guaugaugau 420
 guuaauuugc ugacugcuga cuuccagcuu cuuuuuuaca augcaaaguc cuauuauaag 480
 ccagauucuc cugaauauaa agccgcuugc aaacucuggg auuuguaccu ucgaacaaga 540
 aaugaguuuug uucagaaagg agaagcagau gacgaagau augaugaaga ugggcaagac 600
 aaucagggca cagugacuga aggaucuuu ccagcuuacu ugaaggagau ccuggagcag 660
 cuucuugaag ccuaguuugu agcuacaaau ccaucaggac gucucauuag cgaacuuuuu 720
 cagaaacugc cuucuaaagu gcaauaucca gauuauuauug cauaauuaa ggagccuaua 780
 gaucucaaga ccuugccca gaggauacag aauggaagcu acaaaaguau ucaugcaaug 840
 gccaaagaua ugaucuccu cgcaaaaaau gccaaaacuu auaaugagcc uggcucucua 900
 guauucaagg augcaauuuc aaauaaaaaa auauuyuaa ugaaaaaggc ugaaauugaa 960
 caucaugaaa uggcuuaguc aagucuuuagc augaggacuc cauccaaccu ugcugcagcc 1020
 agacugacag guccuucaca caguuaaggc agccuuggug aagagagaaa ucccacuagc 1080
 aaguauuacc guaauaaaag agcaguacaa ggaggucguu uaucagcaau uacaauaggc 1140
 cuucaauaug gcucagaaaag ugaagaagau gcugcuuuag cugcugcacg cuaugaagag 1200
 ggagagucag aagcagaaaag caucacuucc uuuauggaug uuucaaaucc uuuuuuacag 1260
 cuuuauagaca caguuaggag uuugcggaau aaccaagggc agcuauuagc ugaaccuuuu 1320
 uaccuuuugc cuucaaaagaa aaaauacccu gauuauuacc agcaauuaa aaugcccuaa 1380
 ucacuacaac agauccgaac aaaacugaag aaucagaau augaaacuuu agaucauuug 1440
 gagugugauc ugaauuuuau guuugaaaau gccaaacgcu auaaugugcc caauucagcc 1500
 aucuacaagc gaguucuaaa auugcagcaa guuaugcagg caaagaagaa agagcuugcc 1560
 aggagagacg auaucgagga cggagacagc augaucucuu cagccaccuc ugauacuggu 1620
 agugccaaaa gaaaaaguaa aaagaacaua agaaagcagc gaaugaaaau cuuauucaau 1680
 guuguucuuug aagcucgaga gccagguuca ggcagaagac uuugugaccu auuuauuguu 1740
 aaaccauucca aaagggacua uccugauuuu uauaaaauca ucuuggagcc aauggacuug 1800
 aaaauaaauug agcauaacau ccgcaaugac aaauaugcug gugaagaggg aaugauagaa 1860

gacaugaagc ugauguuccg gaaugccagg cacuaaaug aggagggcuc ccagguuuau 1920
 aaugaugcac auauccugga gaaguucac aaggagaaaa ggaaagagcu gggcccacug 1980
 ccugaugaug augacauggc uucucccaaa cucaagcuga guaggaagag uggcauuucu 2040
 ccuaaaaaau caaaaauacau gacuccaau gacagaaaac uaaaugaggu cuaugaagcu 2100
 guaaagaacu auacugauaa gaggggucgc cgccucagug ccuaauuuu gaggcuuccc 2160
 ucuagaucug aguugccuga cuacuauucg acuaauaaaa agcccaugga cauggaaaaa 2220
 auucgaaguc acaugauggc caacaaguac caagauauug acucuauggu ugaggacuuu 2280
 gucaugaugu uuaauaaugc cuguaccuac aaugaaccgg agucuuugau cuacaaagau 2340
 gcucuuuguu uacacaaaagu ccugcuugaa acacgcagag accuggaggg agauggagac 2400
 ucucaugucc caaaugugac uuugcugauu caagagcuua uccacaaucu uuuuguguca 2460
 gucaugaguc aucaggauga ugagggaaga ugcuacagcg auucuuuagc agaaaauccu 2520
 gcuguggauc ccaacuucc uaacaaacca ccccuacau uugacauau uaggaagaau 2580
 guugaaaaua aucgcuaccg ucggcuugau uuauuucaag agcauauuu ugaaguauug 2640
 gaacgagcaa gaaggauaa ucggacagau ucagaaauu augaagagc aguagaacuu 2700
 cagcaguuuu uuauuuuuu ucgugaugaa cucugcaaaa auggagagau ucuucuuuca 2760
 ccggcacuca gcuaauccac aaaacauuu gcauaaagug uggagaaaga gagaaaggaa 2820
 aaauugccaa aagaaauaga ggaagauaaa cuaaaacgag aagaagaaaa aagagaagcu 2880
 gaaaagagug aagaauccuc ugguugcugc ggccucucag gcuaacucg cacauacagc 2940
 caggacugua gcuuuuuuu cagcauguac cauguuggag auuacgucua uguggaaccu 3000
 gcagaggcca accuacaacc acuaucguc uguauugaaa gacuguggga ggauucagcu 3060
 gaaaaagaag uuuuuuagag ugacuauuac aacaaaguuc caguuaagua aaaucuaggc 3120
 aagugugugg ucauguuuu caaggaauac uuuaaguuu gcccagaaaa cuuccgagau 3180
 gaggauguuu uuugucugua aucacggua ucugccaaaa ccaaauuuu uaagaaaaau 3240
 aaacugugga ccaugcccau cagcucaguc agguuugucc cucgggaugu gccucugccu 3300
 gugguucgcg ugccucucgu auuugcaau gcagauaaag gugaugaga gaagaauaca 3360
 gacaacucag aggacaguc agcugaagac aaauuuuacu uggaaaagga aaaagaagau 3420
 gucccugugg aaauugucca ugguuaccca guuugccacu acuuugagca gcuccauuac 3480
 aaugacaugu ggcugaaggu uggcgacugu gucuucacua agucccaugg ccuggugcgu 3540
 ccucgugugg gcagaauga aaaaguuagg guucgagau gagcugcaua uuuuuuaggc 3600
 ccaucuuuca uucacccaga agaaacagag caugagccca caaaaauuu cuacaaaaaa 3660
 gaaguauuu uagauaaucu ggaagaaacc ugccccauga cauguauucu cggaaguguu 3720
 gcuguguugu cauucaagga cuuccucucc ugcaagccaa cugaaauacc agaaaugac 3780
 auucugcuuu gugagagccg cuacaauag agcgacaagc agaagaagaa auucaaagga 3840
 uugaagaggu uuucacucuc ugcuaaagug guagaugau aaauuuacua cuucagaaaa 3900
 ccaauuguu cucagaagga gccaucaccu uuugcuggaa agaagauuca guugcuagaa 3960
 gcuaaaauu cccaguuaga agguaggagau gaugauauug aagagauggg agaagaagau 4020
 agugagucua ccccaaaguc ugccaaaggc agugcaaaga aggaaggcuc caaacggaaa 4080
 aucaacauga guggcuacau ccuguucagc agugagauga gggcugugau uaaggcccaa 4140
 caccagacu acucuuucgg ggagcucagc cgccuggugg ggacagaag gagaaaucuu 4200

gagacagcca agaaagcaga auaugaaggc augaugggug gcuaucgccc aggccuucca 4260
 ccuuugcagg gcccaguuga uggccuuguu agcaugggca gcaugcagcc acuucacccu 4320
 ggggggcccuc caccaccacca ucuuccgcca ggugugccug gccucccggg cauccacca 4380
 ccggguguga ugaaccaagg aguggccccc augguaggga cuccagcacc ggguggaagu 4440
 ccuaugggac aacagguggg aguuuugggg ccuccaaggc agcaggcacc accuccauau 4500
 cccggccccc auccagcugg acccccuguc auacagcagc caacaacacc cauguuugua 4560
 gcucggccgc caaagaccca gcggcuucuu cacucagagg ccuaccugaa auacauugaa 4620
 ggacucagug cggaguccaa cagcauuagc aagugggauc agacacuggc agcucgaaga 4680
 cgcgacgucc auuugucgaa agaacaggag agccgccuac ccucucacug gcugaaaagc 4740
 aaaggggccc acaccaccau ggcagaugcc cucuggcgcc uucgagauuu gaugcuccgg 4800
 gacaccucca acauucgcca agcauacaac cuagaaaug uuuaaucaca ucauuacguu 4860
 ucuuuuauau agaagcauaa agaguugugg aucaguagcc auuuuaguua cugggggugg 4920
 ggggaaggaa caaaggagga uauuuuuuau ugcauuuac uguacaucac aaggccauuu 4980
 uuauauacgg acacuuuuua uaagcuauuu cauuuuguuu guuauuuuaa guugacuuua 5040
 ucaauuacac aaagauuuuu uugcauaaaa 5070

<210> 9

<211> 2576

<212> RNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 9

gaauuccggg cgacgcgagg gaacaacgag agucggcgag cgggacgaag aaauaauaug 60
 ggccagacug ggaagaaauc ugagaaggga ccaguuuugu ggccgaagcg uguaaaauca 120
 gaguacaugc gacugagaca gcucaagagg uucagacgag cugaugaagu aaagaguaug 180
 uuuauguucc aucgucagaa aauuuuggaa agaacggaaa ucuaaaacca agaauaggaa 240
 cagcgaaggga uacagccugu gcacaucug acucuguga gcucauugcg cgggacuagg 300
 gaguguucgg ugaccaguga cuuggauuuu ccaacacaag ucaucccauu aaagacucug 360
 aaugcaguug cuucaguacc cauaauguau ucuuggucuc ccuacagca gaauuuuauug 420
 guggaagaug aaacuguuuu acuaaacaau ccuuauaugg gagaugaagu uuuaugaucag 480
 gaugguacuu ucauugaaga acuaauaaaa aauuaugaug ggaaaguaca cggggauaga 540
 gaaugugggu uuauaaauga ugaaauuuuu guggaguugg ugaaugcccu uggucaauau 600
 aaugaugaug acgaugauga ugauggagac gaucugaag aaagagaaga aaagcagaaa 660
 gaucuggagg aucaccgaga ugauaaagaa agccggccac cucggaaaau uccuucugau 720
 aaaaauuugg aggccauuuc cucaauuuu ccagauaagg gcacagcaga agaacuuaag 780
 gaaaaauuaa aagaacucac cgaacagcag cuccaggcg cacuuccucc ugaauaguacc 840
 cccaacauag auggaccaa ugcuaaaucu guucagagag agcaaagcuu acacuccuuu 900
 cauacguuu ucuguaggcg auguuuuuaa uaugacugcu uccuacauc uuuucaugca 960
 acaccaaca cuuauaagcg gaagaacaca gaaacagcuc uagacaaca accuugugga 1020
 ccacaguuu accagcauuu ggaggagca aaggaguuuu cugcugcucu caccgcugag 1080
 cggauaaaaga cccacacaaa acguccagga ggccgcagaa gaggacggcu ucccauaaac 1140

aguagcaggc ccagcacccc caccuuuauu gugcuggaau caaaggauac agacagugau 1200
 agggaaagcag ggacugaaac ggggggagag aacaugaua aagaagaaga agagaagaaa 1260
 gaugaaacuu cgagcuccuc ugaagcaau ucucgguguc aaacaccaau aaagaugaag 1320
 ccaauuuuug aaccuccuga gaauguggag uggaguggug cugaagccuc aauguuuga 1380
 guccucauug gcacuuacua ugacaauuuc ugugccauug cuagguuau ugggaccaa 1440
 acauguagac agguuuga guuuagaguc aaagaauucua gcaucauagc uccagcuccc 1500
 gcugaggauug uggauacucc uccaaggaaa aagaagagga aacaccgguu gugggcugca 1560
 cacugcagaa agauacagcu gaaaaaggac ggcuccucua accauguuu caacuaucua 1620
 ccugugauc auccacggca gccuugugac aguucgugcc cuugugugau agcacaaaau 1680
 uuuugugaaa aguuuuguca auguaguuca gagugucua accgcuuucc gggauccgc 1740
 ugcaaagcac agugcaacac caagcagugc ccgugcuacc uggcuguccg agagugugac 1800
 ccugaccucu gucuuacuug uggagccgc gaccuuggg acaguaaaa uguguccugc 1860
 aagaacugca guauucagcg gggcuccaaa aagcaucua ugcuggcacc aucugacgug 1920
 gcaggcuggg ggauiuuuau caaagaucuu gucagaaaa augaaaucau cucagaauac 1980
 uguggagaga uuauuuucua agaugaagcu gacagaagag ggaaagugua ugauaaauac 2040
 augugcagcu uucuguucaa cuugaacaau gaauiuuug uggaucaac ccgcaagggu 2100
 aacaaaauuc guuuugcaaa ucauucggua aaucuaacu gcuugcaaa aguuauaug 2160
 guuaacggug aucacaggau agguauuuuu gccaaagag ccauccagac uggcgaagag 2220
 cuguuugug auuacagaua cagccaggcu gaugcccuga aguaugucgg caucgaaaga 2280
 gaaauggaaa ucccuugaca ucugcuaccu ccucuccuc cucugaaaca gcugccuag 2340
 cuucaggaac cucgaguacu gugggcauu uagaaaaaga acaugcagu ugaaauucug 2400
 aauiugcaaa guacuguaag aauiuuuuu aguaaugagu uuaaaaauca acuuuuuuu 2460
 gccuucucac cagcugcaaa guguuuugua ccagugaauu uuugcaaua ugcaguaug 2520
 uacauuuuuc aacuuugaau aaagaauacu ugaacuugaa aaaaaaaaa aaaaaa 2576

<210> 10

<211> 4441

<212> RNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 10

cucugaggag acacuuuuuu uuuccuccu ccuuccucc ucuccuccuc ccuuccuuc 60
 ccucuccuc ccucuccuc uccuuccccc cucgguccgc cggagccugc uggggcgagc 120
 gguugguauu gcaggcgcuu gcucuccggg gccgccggc gguagcugg ggggggagg 180
 aggcaggaac cgcgauggcg ccucagaagc acggcggugg gggagggggc ggcucggggc 240
 ccagcgcggg guccggggga ggcggcuucg gggguucggc ggcgguggcg gcggcgacgg 300
 cuucgggcgg caaauccggc ggcgggagcu guggaggggg uggcaguua ucggccuccu 360
 ccuuccucc cgcggcggca ggcggggggc cugcgguguu accggugaag aagccgaaa 420
 uggagcacgu ccaggcugac cacgagcuu uccuccaggc cuuugagaag ccaacacaga 480
 ucuauagauu ucuucgaacu cggaauucua uagcaccau auuuugcac agaacucuua 540
 cuuacauguc ucaucgaaac uccagaacaa acaucaaag gaaaacauu aaaguugaug 600

auauguuau	aaaaguagag	aaaaugaaag	gagagcaaga	aucucauagc	uugucagcuc	660
auuugcagcu	uacguuuacu	gguuuuucc	acaaaaauga	uaagccauca	ccaaacucag	720
aaaaugaaca	aaauucuguu	accuggaag	uccugcuugu	gaaaguuugc	cacaaaaaaa	780
gaaaggaugu	aaguugucca	auaaggcaag	uucccacagg	uaaaaagcag	gugccuuuga	840
auccugaccu	caaucaaca	aaacccggaa	auuucccguc	ccuugcaguu	uccaguaaug	900
aauuugaacc	uaguaacagc	cauaugguga	agucuuacuc	guugcuauuu	agagugacuc	960
guccaggaag	aagagaguuu	aauggaauga	uuauuggaga	aaccaaugaa	aaauuugaug	1020
ucaaugaaga	gcuuccagcc	agaagaaaac	gaaaucguga	ggauggggaa	aagacauuug	1080
uugcacaaa	gacaguauuu	gauaaaaaca	ggcgcuuaca	gcuuuuagau	ggggaauaug	1140
aaguagccau	gcaggaaaug	gaagaauguc	cauaagcaa	gaaaagagca	acaugggaga	1200
cuaauucuga	ugggaagagg	cugccuccau	ucgaaacauu	uucucaggga	ccuacguugc	1260
aguucacucu	ucguuggaca	ggagagacca	augauaaauc	uacggcuccu	auugccaaac	1320
cucuugccac	uagaaaauca	gagagucucc	aucaggaaaa	caagccuggu	ucaguuaaac	1380
cuacucaaac	uauugcuguu	aaagaaucau	ugacuacaga	ucuacaaaca	agaaaagaaa	1440
aggauacucc	aaaugaaaac	cgacaaaaau	uaagaauauu	uuaucaguuu	cucuauaaca	1500
acaauacaag	gcaacaaacu	gaagcaagag	augaccugca	uugcccuugg	uguacucuga	1560
acugccgcaa	acuuuauagu	uuacucaagc	aucuuaaaac	cugccauagc	agauuuaucu	1620
ucaacuaugu	uuaucaucca	aaaggugcua	ggauagaugu	uucuaucuu	gaguguuau	1680
auggcuccua	ugcaggaaau	ccucaggaua	uucaucgcca	accuggauuu	gcuuuuaguc	1740
gcaacggacc	aguuaagaga	acaccuauca	cacauauucu	ugugucagg	ccaaaacgaa	1800
caaaagcaag	caugucugaa	uuucuuugaau	cugaagaugg	ggaaguagaa	cagcaaagaa	1860
cauauaguag	uggccacaau	cgucuguauu	uccauaguga	uaccugcuua	ccucuccguc	1920
cacaagaaau	ggaaguagau	agugaagaug	aaaaggaucc	ugaauggcua	agagaaaaaa	1980
ccauuacaca	aaugaagag	uuuucugaug	uuauugaagg	agagaaagaa	gugaugaaac	2040
ucuggaaucu	ccaugucaug	aagcaugggu	uuauugcuga	caaucaaaug	aaucaugccu	2100
guaugcuguu	uguagaaaau	uauggacaga	aaauaaauaa	gaagaauuu	ugucgaaacu	2160
ucaugcuuca	ucuagucagc	augcaugacu	uuauucuuau	uagcauaaug	ucaauagaua	2220
aagcuguuac	caagcuccgu	gaaaugcagc	aaaaauuaga	aaagggggaa	ucugcuuccc	2280
cugcaaaccga	agaaaauacu	gaagaacaaa	augggacagc	aauggauuu	agugaaauua	2340
acucaaaaaga	gaaagcuuug	gaaacagaua	gugucucagg	gguuucaaaa	cagagcaaaa	2400
aacaaaaacu	cugaaaagcu	cuaaccccau	guuauggaca	aacacugaaa	uuacauuuua	2460
gggaauucau	ccucuaagaa	uuauuuuuuu	guuuuuuau	auauguucca	aacaggcacu	2520
guuagaugaa	guaaaugauu	ucaacaagga	uuuuuguau	agguuucua	uucacuucuu	2580
uaugcagcau	uacauguaua	ucacuuuuau	ugaugucauu	aaaacauucu	guacuuuaag	2640
caugaaaagc	aaauuuucaa	aguauuuuuu	aacucaacaa	augucaucaa	auauguugaa	2700
uuuaucuaga	aaauuuucaa	uuuuuuuuu	agaauuuuuu	ugcauuuau	aacggcgugu	2760
uuuucacuuu	guauuuugua	gacauuuucu	uggggaggga	aaauuggaau	gguucccuuu	2820
uuuagaaauu	gaaguggucu	ucauauugua	acuacagaaa	aggaaaaaaa	uagaaauuga	2880
aggauuuuuu	ugaaauuaua	uugcauuacu	auuugcaguc	aaacuugau	ccuuguuuuu	2940

gaaaucauuu gucaauucgg aaugaaaaau uauaauguaa uuuuacauua cauaaguucc 3000
 uuuuacaauu aaaaaauagc acuucuucau cuuaugccug uuugagaaga uauuaauuu 3060
 ucacauuguu gacagugaaa ugcuauguug guuuuaaaga uuacagacca uuuguuuuca 3120
 uguggauaa uuuagugcau ugcucacccg guauguuuuu uuuuuuaac uugaacauuu 3180
 ugcuuuuuu guuuuucuuu uuuaauuaga uaucacacg gaaaauaag cuguucauu 3240
 cuuuaaaaua ggauugcaaa ccaaggaaag aacgcuuug agauuuuag augucacuu 3300
 uaaggggaga aguguucuaa aaaagucaac cagaaaacug uuaugccuuu uauuuguuug 3360
 caaggauguc uuuguaaugu guuucaugaa uagaauaucc aaugagaua agcugacuug 3420
 aaucuuuuug agcauuuuug cccuguguua uauguguuuc acgcacauau uugcaguugg 3480
 auuuucucca acagaaagug gauucacuac uggcacauua acaagcacca auagguuuu 3540
 auuccaacuc cgagcacugu gguugagua caucaccuca auuuuuuuu auccuuuaag 3600
 auauugcau uucauuuuc uuuuuuaua aggaucuaug cugcuguaa uacagguuu 3660
 uuuuuuuua aaauuucuu ccaccaccau cagaugcagu ucccuuuuu guuuauugaa 3720
 gggauauua agcuuucuaa uggugucuu agaaaauuu aaaauguaa uacugauuug 3780
 acuggucuuu aagauguguu uaacugugag gcuauuuaac gaauagugug augugauuu 3840
 gucauccagu auuaaguuc uagucuuua uuuuuguguu uaaaaaaaa uaggaaagag 3900
 ggaaacugca gcuuucuuu cagauuccuu gauugguaag cucuccaaau gaugaguuc 3960
 aguaaacucu gauuuuugcc ucuggauagu agaucucgag cguuuauuc gggcuuuau 4020
 uugcuaaagc ugugcacaua uguaaaaaaa aaaaaaaaa gauuauuuu ggggagaugu 4080
 agguguagaa uuauugcuu ugcuuuuu uaagcaguua ugcucuuau gcuaaaaaga 4140
 aggcuaugcau uguuugcaca aaaaguuggu gauucccacc ccaaauagua auaaaaauac 4200
 uucuguugag uaaacuuuu augucaucgu aaaagcugga aaaauccuu uguuucuuu 4260
 uauaaaaaaaa gugcuuuuc auauguaccc uugauaacag auuuugaaga auccuguaa 4320
 gaugauaaag cauuugaug guacaguaga uguaaaaaa auucaguua aaagaacuu 4380
 uguuuuaca uuaaaguuu auuugaauc aaugauuuu guacauaaag uucauaaua 4440
 u 4441

<210> 11

<211> 1879

<212> RNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 11

gggggaaggg agacauacuu aaucugccc ucuaauucca acggaccuu caucugugag 60
 acugccggga gggcggcggg aaaagggcaa gacgggagu ggggaaggga aggagccagg 120
 aagccgcgcg ggagggcgcg cgcgcgcgcc cuuuuucag caguguggcg gggucgcacg 180
 cacccccgcc ucggcggcug ggcgcgauuu gcgacagugg ggggggcggu ggagguggcg 240
 gcggcagcgg caacuugcg gcaagcucgg gccgggcuug cuugacggcg gugugcgga 300
 ggccccgcc caggcggcag gaaccuggag ggaggcggag gaauaugucc gagagggaag 360
 ugucgacugc gccggcggga acagacaugc cugcgccaa gaagcagaag cugagcagug 420
 acgagaacag caauccagac cucucuggag acgagaauga ugacgcuguc aguauagaaa 480

gugguacaaa cacugaacgc ccugauacac cuacaaacac gccaaaugca ccuggaagga 540
 aaaguugggg aaagggaaaa uggaagucua agaaaugcaa auauucuuuc aaauguguaa 600
 auagucucua ggaagaucau aaccaaccau uguuuggagu ucaguuaaac uggcacagua 660
 aagaaggaga uccaauagug uuugcaacug uaggaagcaa cagaguuaacc uuguaugaau 720
 gucauucaca aggagaaauc cgguguugc aaucuuacgu ggaugcugau gcugaugaaa 780
 acuuuuacac uuugcaugg accuaugaua gcaauacgag ccauccucug cuggcuguag 840
 cuggaucuag aggcauaauu aggauaauaa auccuaauac aaugcagugu auaaagcacu 900
 auguuggcca uggaauugcu aucaaugagc ugaaauucca uccaagagau ccaauucuu 960
 uccugucagu aaguaaagau caugcuuuac gauuauggaa uauccagacg gacacucugg 1020
 uggcaauauu uggaggcgua gaagggcaca gagaugaagu ucuaagugcu gauuaugauc 1080
 uuugggguga aaaaauaaag uccuguggua uggaucuuuc ucuaaaacu uggaggauca 1140
 auucaaaagag aaugaugaau gcaauuaagg aaucuuaua uuauaaucca auaaaaacua 1200
 acaggccauu uauuucucag aaaauccauu uuccugauuu uucuaaccaga gacauacua 1260
 ggaauuaugu ugaauugug cgaugguuag gcgaauugau acuuucuaag ucuugugaaa 1320
 augccauugu gugcuggaaa ccuggcaaga uggaaugauga uauagauaaa auuaaaccca 1380
 gugaaucuua ugugacuauu cuugggcgau uugauuacag ccagugugac auuugguaca 1440
 ugagguuuuc uauggauuuc uggcaaaaga ugcuuugauu gggcaaucaa guuggcaaac 1500
 uuuauguuug ggaauuagaa guagaagauc cucaaaaagc caaanguaca acacugacuc 1560
 aucaaaaag ugguugcugcu auucgacaaa ccaguuuag cagggauagc agcauucua 1620
 uagcuguuug ugaugaugcc aguauuugc gcugggaucg acuucgauaa aaucuuuug 1680
 ccuaaucaaa auuagagugu guuuguuguc uguguaaaau agaauuaag uaucuugcua 1740
 guaagggcac guagagcau uagaguuguc uuucagcau caaucaggcu gagcugaug 1800
 uagugauguu uacauuguu acauucuuug uacugucuuc cugcucagac ucuacugcu 1860
 uuaauaaaaa uuuauuuu 1879

<210> 12

<211> 4068

<212> RNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 12

guuuuacuaa agugaauuuu uuuuuguuug cuucguucgu cuuuggcucu uuuuuuuucc 60
 uucccaauuu cggauuuuuu ucaaggcgaa ucuggcuuug ggggaagagg aagaaaaguc 120
 ggauuacaag aucaaccacc accaacaaca auaaaaacca ccaggauuu uuuuugcaaa 180
 uuucugacgg cuuuuuuuuc augaagcau ugucuccuuu ugcaaucagc auuuggaucu 240
 cagaauagagc aaggaaagac ccaagaggaa uaucuuucag aagaaauacg augacaguga 300
 ugggaauuccg uggucaaga aacggguugu acguaaaguc cuuuuuuugu ccugaagga 360
 auucaagaau ucccagaaga ggcagcaugc ggaaggcau gcugggagcc ugaaaacugu 420
 gaaugggcuc cuugguaaag accagucuaa gggauuagga ccagcaucag aacagucaga 480
 gaaugaaaag gacgaugcau cccaaguguc cuccacuagc aacgaugua guucuuucaga 540
 uuugaagaa gggccgucga ggaaaaggcc caggcugcaa gcacaaagga aguugcuca 600

gucucagccg aaauagucca gcacaacucc aguaaaagaua guggagccau ugcuaacccc 660
uccagcuacu cagauaucag accucucuaa aaggaagccu aagacagaag auuuucuuac 720
cuuucucugc cuucgagguu cuccugcgcu gcccaacagc augguguauu uuggaagcuc 780
ucaggaugag gaggaagucg aggaggaaga ugaugagaca gaagacguca aaacagccac 840
caacaauvcu ucaucuucan gccagucgac ccccaggaaa ggaaaaaccc acaaacaugu 900
ucacaacggg cauguuuuca augguuccag caggucaaca cgggagaagg aaccuguuca 960
aaaacacaaa agcaaagagg ccacucccg c aaaggagaag cacagcgau c accgggcuga 1020
cagccgcccg gagcaggcuu cagcuuaacca ccccgagcg gccccucca cggguuccuc 1080
ggccaagggg cuugcugcca cccaucacca cccccucug caucggucgg cucaggacuu 1140
acggaaacag guuuucuaagg uaaacggagu cacucgaug ucaucucugg gugcaggugu 1200
aaccagugcc aaaaagaugc gcgaggucag accuucacca uccaaaacug ugaaguacac 1260
ugccacggug acgaaggggg cugucacaua caccaaagcc aagagagaac uggucaagga 1320
caccaaaacc aaucaccaca agcccaguuc cgcugucaac cacacaau c cagggaaaac 1380
ugaaaguagc aaugcaaaaa cccgcaaaca ggugcuaucc cucggggggg cguccaaguc 1440
cacugggccc gccgucaaug gccucaaggu caguggcagg uugaacccaa agucaugcac 1500
uaaggaggug ggggggaggc agcugcgga gggccugcag cugcgggagg ggcugcgga 1560
cucaagagg agacuggaag aggcacacca ggcggagaag ccgcagucgc ccccaagaa 1620
gaugaaagg gcggcuggcc ccgccgaagg ccuggcagg aaggccccg ccgagagagg 1680
ucugcugaac ggacacguga agaaggaagu gccggagcg agucuggaga ggaucggcc 1740
gaagcgggcc acggccggga agagcacgcc aggcagacaa gcacauggca aggcggacag 1800
cgccuccugu gaaaaucguu cuaccucgca accggagucc gugcacaagc cgcaggacuc 1860
gggcaaggcc gagaaggggc gcggcaaggc cggguggggc gccauggacg agauccccgu 1920
ccucaggccc uccgccaagg aguuccacga uccgcuauc uacaucagu cgguccgcgc 1980
ucagguggag aaguucggga ugugcagggg gaucuuuuu ccggacuggc ggcccagag 2040
caagcucaac gaugagaugc gguuugucac gcagauucag cacauccaca agcugggcc 2100
gcgcuggggc cccaacgugc agcggcuggc cugcaucaag aagcaccuca aaucucagg 2160
caucaccaug gacgagcucc cgcucauagg gggcugugag cucgaccugg ccugcuuuu 2220
ccggcugauu aaugagaugg gcggcaugca acaagugacu gaacuaaaa aauggaacaa 2280
acuaucagac augcugcgca uccccaaaac ugcccaggaa cggcuggcca agcugcagga 2340
agccuacugc caguacauac uuucguanga cuccugucc ccagaggagc accggcggu 2400
ggagaaggag gugcugaugg agaaggagau ccuggagaag cgcaaggggc cgcuggaagg 2460
ccacacagag aacgaccacc acaaguucca ccucugccc cgcuuagagc ccaagaau 2520
gcucauccac ggcguggccc ccaggaacgg cuuccgcagc aagcucaagg aggugggcca 2580
ggcccaguu aagacuggcc ggcggcgacu cuucgcucag gaaaaagaag uggucaagga 2640
agaggaggag gacaaaggcg uccucaauga cuuccacaag ugcaucuaua agggaagguc 2700
uguuuucua acaacuuuuu aucgaacagc gaggaauauc augagcaugu guuucagcaa 2760
ggagccugcc ccagccgaaa ucgagcaaga guacuggagg cuaguggaag agaaggacug 2820
ccacguggca gugcacugcg gcaaggugga caccaacacu cacggcagug gauucccagu 2880
aggaaaauca gaacccuuuu cgaggcaugg auggaaccuc accguccucc ccauaaacac 2940

aggguccauc cugcgucacc ucggugcugu gccuggagug acuaauuccu ggcuaaaauau 3000
 uggcaugguc uuuucuaccu caugcugguc ucgagaccaa aaucaccuuc cauacauuga 3060
 cuacuacac acuggugcug acugcauuug guauugcauu ccugcugagg aggagaacaa 3120
 gcuggaagau gugguccaca cccugcugca agccaauggc accccagggc ugcagaugcu 3180
 ggaaagcaac gucaugaucu ccccggaggu gcugugcaaa gaggggauca aggugcacag 3240
 gaccgugcag cagaguggcc aguuugucgu cugcuucccg ggauccuuug uguccaaagu 3300
 gugcuguggg uacagcgugu cugaaaccgu gcacuuugcu accaccagu ggacaaguau 3360
 gggcuuugag accgccaagg aaaugaagcg ugcacauaua gcuaagccau ucuccaugga 3420
 gaaguacuc uaccagauug cacaagcaga agcaaaaaa gaaaacgguc ccacucucag 3480
 uaccaucua gcccuccugg augagcucag ggauacagag cuacggcagc gcaggcagcu 3540
 guucgaggcu ggccuccacu ccuccgcacg cuauggcagc cacgauggca gcagcacggu 3600
 ggcggacggg aagaaaaagc cucgaaagug gcugcaguug gagacgucag agaggaggug 3660
 ucagaucugc cagcaccugu gcuaucuguc caugguggua caagagaacg aaaacgucgu 3720
 guucugucug gagugugcuc ugcgccacgu ggagaaacag aaguccugcc gagggcugaa 3780
 guugauguac cgcuaugaug aggaacagau uaucagucug gucaaucaga ucugcggcaa 3840
 agugucuggu aaaaacggca gcauugagaa cugucuccau aaaccacac caaaaagagg 3900
 uccccgcaag agagcgacag uggacgugcc cccucccg gcugucagcc uccaguucan 3960
 ccaaaagugc uucgagcuac aucaugaaga ugccaacgc ccguggucga uuuaauaua 4020
 uuuuuuugua auuaauauau ucuaguugg aguacuugcu guaggau 4068

<210> 13

<211> 1590

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 13

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

115	120	125
Gly Ala Pro Glu His Val Ser	Ser Pro Met Ser	Gly Gly Gly Pro Thr
130	135	140
Pro Pro Gln Met Pro Pro Ser	Gln Pro Gly Ala Leu	Ile Pro Gly Asp
145	150	155
Pro Gln Ala Met Ser Gln Pro	Asn Arg Gly Pro Ser	Pro Phe Ser Pro
165	170	175
Val Gln Leu His Gln Leu Arg	Ala Gln Ile Leu Ala Tyr	Lys Met Leu
180	185	190
Ala Arg Gly Gln Pro Leu Pro	Glu Thr Leu Gln Leu Ala	Val Gln Gly
195	200	205
Lys Arg Thr Leu Pro Gly Leu	Gln Gln Gln Gln Gln Gln	Gln Gln Gln Gln
210	215	220
Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln	Gln Gln Gln Gln Gln Gln	Gln Gln Gln Pro Gln
225	230	235
Gln Gln Pro Pro Gln Pro Gln	Thr Gln Gln Gln Gln Gln	Pro Ala Leu
245	250	255
Val Asn Tyr Asn Arg Pro Ser	Gly Pro Gly Pro Glu Leu	Ser Gly Pro
260	265	270
Ser Thr Pro Gln Lys Leu Pro	Val Pro Ala Pro Gly Gly	Arg Pro Ser
275	280	285
Pro Ala Pro Pro Ala Ala Ala	Gln Pro Pro Ala Ala Ala	Val Pro Gly
290	295	300
Pro Ser Val Pro Gln Pro Ala	Pro Gly Gln Pro Ser Pro	Val Leu Gln
305	310	315
Leu Gln Gln Lys Gln Ser Arg	Ile Ser Pro Ile Gln Lys	Pro Gln Gly
325	330	335
Leu Asp Pro Val Glu Ile Leu	Gln Glu Arg Glu Tyr Arg	Leu Gln Ala
340	345	350
Arg Ile Ala His Arg Ile Gln	Glu Leu Glu Asn Leu Pro	Gly Ser Leu
355	360	365
Pro Pro Asp Leu Arg Thr Lys	Ala Thr Val Glu Leu Lys	Ala Leu Arg
370	375	380
Leu Leu Asn Phe Gln Arg Gln	Leu Arg Gln Glu Val Val	Ala Cys Met
385	390	395
Arg Arg Asp Thr Thr Leu Glu	Thr Ala Leu Asn Ser Lys	Ala Tyr Lys
405	410	415
Arg Ser Lys Arg Gln Thr Leu	Arg Glu Ala Arg Met Thr	Glu Lys Leu
420	425	430

Glu Lys Gln Gln Lys Ile Glu Gln Glu Arg Lys Arg Arg Gln Lys His		
435	440	445
Gln Glu Tyr Leu Asn Ser Ile Leu Gln His Ala Lys Asp Phe Lys Glu		
450	455	460
Tyr His Arg Ser Val Ala Gly Lys Ile Gln Lys Leu Ser Lys Ala Val		
465	470	475
Ala Thr Trp His Ala Asn Thr Glu Arg Glu Gln Lys Lys Glu Thr Glu		
	485	490
Arg Ile Glu Lys Glu Arg Met Arg Arg Leu Met Ala Glu Asp Glu Glu		
	500	505
Gly Tyr Arg Lys Leu Ile Asp Gln Lys Lys Asp Arg Arg Leu Ala Tyr		
	515	520
Leu Leu Gln Gln Thr Asp Glu Tyr Val Ala Asn Leu Thr Asn Leu Val		
	530	535
Trp Glu His Lys Gln Ala Gln Ala Ala Lys Glu Lys Lys Lys Arg Arg		
545	550	555
Arg Arg Lys Lys Lys Ala Glu Glu Asn Ala Glu Gly Gly Glu Ser Ala		
	565	570
Leu Gly Pro Asp Gly Glu Pro Ile Asp Glu Ser Ser Gln Met Ser Asp		
	580	585
Leu Pro Val Lys Val Thr His Thr Glu Thr Gly Lys Val Leu Phe Gly		
	595	600
Pro Glu Ala Pro Lys Ala Ser Gln Leu Asp Ala Trp Leu Glu Met Asn		
	610	615
Pro Gly Tyr Glu Val Ala Pro Arg Ser Asp Ser Glu Glu Ser Asp Ser		
625	630	635
Asp Tyr Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Glu Ser Ser Arg Gln Glu Thr		
	645	650
Glu Glu Lys Ile Leu Leu Asp Pro Asn Ser Glu Glu Val Ser Glu Lys		
	660	665
Asp Ala Lys Gln Ile Ile Glu Thr Ala Lys Gln Asp Val Asp Asp Glu		
	675	680
Tyr Ser Met Gln Tyr Ser Ala Arg Gly Ser Gln Ser Tyr Tyr Thr Val		
	690	695
Ala His Ala Ile Ser Glu Arg Val Glu Lys Gln Ser Ala Leu Leu Ile		
705	710	715
Asn Gly Thr Leu Lys His Tyr Gln Leu Gln Gly Leu Glu Trp Met Val		
	725	730
Ser Leu Tyr Asn Asn Asn Leu Asn Gly Ile Leu Ala Asp Glu Met Gly		

740	745	750
Leu Gly Lys Thr Ile Gln Thr	Ile Ala Leu Ile Thr Tyr	Leu Met Glu
755	760	765
His Lys Arg Leu Asn Gly Pro Tyr	Leu Ile Ile Val Pro Leu Ser Thr	
770	775	780
Leu Ser Asn Trp Thr Tyr Glu Phe Asp	Lys Trp Ala Pro Ser Val Val	
785	790	795
Lys Ile Ser Tyr Lys Gly Thr Pro Ala	Met Arg Arg Ser Leu Val Pro	
805	810	815
Gln Leu Arg Ser Gly Lys Phe Asn Val	Leu Leu Thr Thr Tyr Glu Tyr	
820	825	830
Ile Ile Lys Asp Lys His Ile Leu Ala	Lys Ile Arg Trp Lys Tyr Met	
835	840	845
Ile Val Asp Glu Gly His Arg Met Lys	Asn His His Cys Lys Leu Thr	
850	855	860
Gln Val Leu Asn Thr His Tyr Val Ala	Pro Arg Arg Ile Leu Leu Thr	
865	870	875
Gly Thr Pro Leu Gln Asn Lys Leu Pro	Glu Leu Trp Ala Leu Leu Asn	
885	890	895
Phe Leu Leu Pro Thr Ile Phe Lys Ser	Cys Ser Thr Phe Glu Gln Trp	
900	905	910
Phe Asn Ala Pro Phe Ala Met Thr Gly	Glu Arg Val Asp Leu Asn Glu	
915	920	925
Glu Glu Thr Ile Leu Ile Ile Arg Arg	Leu His Lys Val Leu Arg Pro	
930	935	940
Phe Leu Leu Arg Arg Leu Lys Lys Glu	Val Glu Ser Gln Leu Pro Glu	
945	950	955
Lys Val Glu Tyr Val Ile Lys Cys Asp	Met Ser Ala Leu Gln Lys Ile	
965	970	975
Leu Tyr Arg His Met Gln Ala Lys Gly	Ile Leu Leu Thr Asp Gly Ser	
980	985	990
Glu Lys Asp Lys Lys Gly Lys Gly Gly	Ala Lys Thr Leu Met Asn Thr	
995	1000	1005
Ile Met Gln Leu Arg Lys Ile Cys Asn	His Pro Tyr Met Phe Gln	
1010	1015	1020
His Ile Glu Glu Ser Phe Ala Glu His	Leu Gly Tyr Ser Asn Gly	
1025	1030	1035
Val Ile Asn Gly Ala Glu Leu Tyr Arg	Ala Ser Gly Lys Phe Glu	
1040	1045	1050

Leu Leu Asp Arg Ile Leu Pro Lys Leu Arg Ala Thr Asn His Arg		
1055	1060	1065
Val Leu Leu Phe Cys Gln Met Thr Ser Leu Met Thr Ile Met Glu		
1070	1075	1080
Asp Tyr Phe Ala Phe Arg Asn Phe Leu Tyr Leu Arg Leu Asp Gly		
1085	1090	1095
Thr Thr Lys Ser Glu Asp Arg Ala Ala Leu Leu Lys Lys Phe Asn		
1100	1105	1110
Glu Pro Gly Ser Gln Tyr Phe Ile Phe Leu Leu Ser Thr Arg Ala		
1115	1120	1125
Gly Gly Leu Gly Leu Asn Leu Gln Ala Ala Asp Thr Val Val Ile		
1130	1135	1140
Phe Asp Ser Asp Trp Asn Pro His Gln Asp Leu Gln Ala Gln Asp		
1145	1150	1155
Arg Ala His Arg Ile Gly Gln Gln Asn Glu Val Arg Val Leu Arg		
1160	1165	1170
Leu Cys Thr Val Asn Ser Val Glu Glu Lys Ile Leu Ala Ala Ala		
1175	1180	1185
Lys Tyr Lys Leu Asn Val Asp Gln Lys Val Ile Gln Ala Gly Met		
1190	1195	1200
Phe Asp Gln Lys Ser Ser Ser His Glu Arg Arg Ala Phe Leu Gln		
1205	1210	1215
Ala Ile Leu Glu His Glu Glu Glu Asn Glu Glu Glu Asp Glu Val		
1220	1225	1230
Pro Asp Asp Glu Thr Leu Asn Gln Met Ile Ala Arg Arg Glu Glu		
1235	1240	1245
Glu Phe Asp Leu Phe Met Arg Met Asp Met Asp Arg Arg Arg Glu		
1250	1255	1260
Asp Ala Arg Asn Pro Lys Arg Lys Pro Arg Leu Met Glu Glu Asp		
1265	1270	1275
Glu Leu Pro Ser Trp Ile Ile Lys Asp Asp Ala Glu Val Glu Arg		
1280	1285	1290
Leu Thr Cys Glu Glu Glu Glu Glu Lys Ile Phe Gly Arg Gly Ser		
1295	1300	1305
Arg Gln Arg Arg Asp Val Asp Tyr Ser Asp Ala Leu Thr Glu Lys		
1310	1315	1320
Gln Trp Leu Arg Ala Ile Glu Asp Gly Asn Leu Glu Glu Met Glu		
1325	1330	1335
Glu Glu Val Arg Leu Lys Lys Arg Lys Arg Arg Arg Asn Val Asp		

1340	1345	1350
Lys Asp Pro Ala Lys Glu Asp Val Glu Lys Ala	Lys Lys Arg Arg	
1355	1360	1365
Gly Arg Pro Pro Ala Glu Lys Leu Ser Pro Asn	Pro Pro Lys Leu	
1370	1375	1380
Thr Lys Gln Met Asn Ala Ile Ile Asp Thr Val	Ile Asn Tyr Lys	
1385	1390	1395
Asp Arg Cys Asn Val Glu Lys Val Pro Ser Asn	Ser Gln Leu Glu	
1400	1405	1410
Ile Glu Gly Asn Ser Ser Gly Arg Gln Leu Ser	Glu Val Phe Ile	
1415	1420	1425
Gln Leu Pro Ser Arg Lys Glu Leu Pro Glu Tyr	Tyr Glu Leu Ile	
1430	1435	1440
Arg Lys Pro Val Asp Phe Lys Lys Ile Lys Glu	Arg Ile Arg Asn	
1445	1450	1455
His Lys Tyr Arg Ser Leu Gly Asp Leu Glu Lys	Asp Val Met Leu	
1460	1465	1470
Leu Cys His Asn Ala Gln Thr Phe Asn Leu Glu	Gly Ser Gln Ile	
1475	1480	1485
Tyr Glu Asp Ser Ile Val Leu Gln Ser Val Phe	Lys Ser Ala Arg	
1490	1495	1500
Gln Lys Ile Ala Lys Glu Glu Glu Ser Glu Asp	Glu Ser Asn Glu	
1505	1510	1515
Glu Glu Glu Glu Glu Asp Glu Glu Glu Ser Glu	Ser Glu Ala Lys	
1520	1525	1530
Ser Val Lys Val Lys Ile Lys Leu Asn Lys Lys	Asp Asp Lys Gly	
1535	1540	1545
Arg Asp Lys Gly Lys Gly Lys Lys Arg Pro Asn	Arg Gly Lys Ala	
1550	1555	1560
Lys Pro Val Val Ser Asp Phe Asp Ser Asp Glu	Glu Gln Asp Glu	
1565	1570	1575
Arg Glu Gln Ser Glu Gly Ser Gly Thr Asp Asp	Glu	
1580	1585	1590
<210> 14		
<211> 1647		
<212> PRT		
<213> 人(Homo sapiens)		
<400> 14		
Met Ser Thr Pro Asp Pro Pro Leu Gly Gly Thr	Pro Arg Pro Gly Pro	

1	5	10	15
Ser Pro Gly Pro Gly Pro Ser Pro Gly Ala Met Leu Gly Pro Ser Pro			
20	25	30	
Gly Pro Ser Pro Gly Ser Ala His Ser Met Met Gly Pro Ser Pro Gly			
35	40	45	
Pro Pro Ser Ala Gly His Pro Ile Pro Thr Gln Gly Pro Gly Gly Tyr			
50	55	60	
Pro Gln Asp Asn Met His Gln Met His Lys Pro Met Glu Ser Met His			
65	70	75	80
Glu Lys Gly Met Ser Asp Asp Pro Arg Tyr Asn Gln Met Lys Gly Met			
85	90	95	
Gly Met Arg Ser Gly Gly His Ala Gly Met Gly Pro Pro Pro Ser Pro			
100	105	110	
Met Asp Gln His Ser Gln Gly Tyr Pro Ser Pro Leu Gly Gly Ser Glu			
115	120	125	
His Ala Ser Ser Pro Val Pro Ala Ser Gly Pro Ser Ser Gly Pro Gln			
130	135	140	
Met Ser Ser Gly Pro Gly Gly Ala Pro Leu Asp Gly Ala Asp Pro Gln			
145	150	155	160
Ala Leu Gly Gln Gln Asn Arg Gly Pro Thr Pro Phe Asn Gln Asn Gln			
165	170	175	
Leu His Gln Leu Arg Ala Gln Ile Met Ala Tyr Lys Met Leu Ala Arg			
180	185	190	
Gly Gln Pro Leu Pro Asp His Leu Gln Met Ala Val Gln Gly Lys Arg			
195	200	205	
Pro Met Pro Gly Met Gln Gln Gln Met Pro Thr Leu Pro Pro Pro Ser			
210	215	220	
Val Ser Ala Thr Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro Gly Pro			
225	230	235	240
Gly Pro Gly Pro Ala Pro Pro Asn Tyr Ser Arg Pro His Gly Met Gly			
245	250	255	
Gly Pro Asn Met Pro Pro Pro Gly Pro Ser Gly Val Pro Pro Gly Met			
260	265	270	
Pro Gly Gln Pro Pro Gly Gly Pro Pro Lys Pro Trp Pro Glu Gly Pro			
275	280	285	
Met Ala Asn Ala Ala Ala Pro Thr Ser Thr Pro Gln Lys Leu Ile Pro			
290	295	300	
Pro Gln Pro Thr Gly Arg Pro Ser Pro Ala Pro Pro Ala Val Pro Pro			
305	310	315	320

Ala Ala Ser Pro Val Met Pro Pro Gln Thr Gln Ser Pro Gly Gln Pro		
325	330	335
Ala Gln Pro Ala Pro Met Val Pro Leu His Gln Lys Gln Ser Arg Ile		
340	345	350
Thr Pro Ile Gln Lys Pro Arg Gly Leu Asp Pro Val Glu Ile Leu Gln		
355	360	365
Glu Arg Glu Tyr Arg Leu Gln Ala Arg Ile Ala His Arg Ile Gln Glu		
370	375	380
Leu Glu Asn Leu Pro Gly Ser Leu Ala Gly Asp Leu Arg Thr Lys Ala		
385	390	400
Thr Ile Glu Leu Lys Ala Leu Arg Leu Leu Asn Phe Gln Arg Gln Leu		
405	410	415
Arg Gln Glu Val Val Val Cys Met Arg Arg Asp Thr Ala Leu Glu Thr		
420	425	430
Ala Leu Asn Ala Lys Ala Tyr Lys Arg Ser Lys Arg Gln Ser Leu Arg		
435	440	445
Glu Ala Arg Ile Thr Glu Lys Leu Glu Lys Gln Gln Lys Ile Glu Gln		
450	455	460
Glu Arg Lys Arg Arg Gln Lys His Gln Glu Tyr Leu Asn Ser Ile Leu		
465	470	480
Gln His Ala Lys Asp Phe Lys Glu Tyr His Arg Ser Val Thr Gly Lys		
485	490	495
Ile Gln Lys Leu Thr Lys Ala Val Ala Thr Tyr His Ala Asn Thr Glu		
500	505	510
Arg Glu Gln Lys Lys Glu Asn Glu Arg Ile Glu Lys Glu Arg Met Arg		
515	520	525
Arg Leu Met Ala Glu Asp Glu Glu Gly Tyr Arg Lys Leu Ile Asp Gln		
530	535	540
Lys Lys Asp Lys Arg Leu Ala Tyr Leu Leu Gln Gln Thr Asp Glu Tyr		
545	550	560
Val Ala Asn Leu Thr Glu Leu Val Pro Gln His Lys Ala Ala Gln Val		
565	570	575
Ala Lys Glu Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Lys Ala Glu Asn Ala		
580	585	590
Glu Gly Gln Thr Pro Ala Ile Gly Pro Asp Gly Glu Pro Leu Asp Glu		
595	600	605
Thr Ser Gln Met Ser Asp Leu Pro Val Lys Val Ile His Val Glu Ser		
610	615	620
Gly Lys Ile Leu Thr Gly Thr Asp Ala Pro Lys Ala Gly Gln Leu Glu		

625	630	635	640
Ala Trp Leu Glu Met Asn Pro Gly Tyr Glu Val Ala Pro Arg Ser Asp			
	645	650	655
Ser Glu Glu Ser Gly Ser Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu Glu			
	660	665	670
Gln Pro Gln Ala Ala Gln Pro Pro Thr Leu Pro Val Glu Glu Lys Lys			
	675	680	685
Lys Ile Pro Asp Pro Asp Ser Asp Asp Val Ser Glu Val Asp Ala Arg			
	690	695	700
His Ile Ile Glu Asn Ala Lys Gln Asp Val Asp Asp Glu Tyr Gly Val			
705	710	715	720
Ser Gln Ala Leu Ala Arg Gly Leu Gln Ser Tyr Tyr Ala Val Ala His			
	725	730	735
Ala Val Thr Glu Arg Val Asp Lys Gln Ser Ala Leu Met Val Asn Gly			
	740	745	750
Val Leu Lys Gln Tyr Gln Ile Lys Gly Leu Glu Trp Leu Val Ser Leu			
	755	760	765
Tyr Asn Asn Asn Leu Asn Gly Ile Leu Ala Asp Glu Met Gly Leu Gly			
	770	775	780
Lys Thr Ile Gln Thr Ile Ala Leu Ile Thr Tyr Leu Met Glu His Lys			
785	790	795	800
Arg Ile Asn Gly Pro Phe Leu Ile Ile Val Pro Leu Ser Thr Leu Ser			
	805	810	815
Asn Trp Ala Tyr Glu Phe Asp Lys Trp Ala Pro Ser Val Val Lys Val			
	820	825	830
Ser Tyr Lys Gly Ser Pro Ala Ala Arg Arg Ala Phe Val Pro Gln Leu			
	835	840	845
Arg Ser Gly Lys Phe Asn Val Leu Leu Thr Thr Tyr Glu Tyr Ile Ile			
	850	855	860
Lys Asp Lys His Ile Leu Ala Lys Ile Arg Trp Lys Tyr Met Ile Val			
865	870	875	880
Asp Glu Gly His Arg Met Lys Asn His His Cys Lys Leu Thr Gln Val			
	885	890	895
Leu Asn Thr His Tyr Val Ala Pro Arg Arg Leu Leu Leu Thr Gly Thr			
	900	905	910
Pro Leu Gln Asn Lys Leu Pro Glu Leu Trp Ala Leu Leu Asn Phe Leu			
	915	920	925
Leu Pro Thr Ile Phe Lys Ser Cys Ser Thr Phe Glu Gln Trp Phe Asn			
930	935	940	

Ala Pro Phe Ala Met Thr Gly Glu Lys Val Asp Leu Asn Glu Glu Glu			
945	950	955	960
Thr Ile Leu Ile Ile Arg Arg Leu His Lys Val Leu Arg Pro Phe Leu			
	965	970	975
Leu Arg Arg Leu Lys Lys Glu Val Glu Ala Gln Leu Pro Glu Lys Val			
	980	985	990
Glu Tyr Val Ile Lys Cys Asp Met Ser Ala Leu Gln Arg Val Leu Tyr			
	995	1000	1005
Arg His Met Gln Ala Lys Gly Val Leu Leu Thr Asp Gly Ser Glu			
	1010	1015	1020
Lys Asp Lys Lys Gly Lys Gly Gly Thr Lys Thr Leu Met Asn Thr			
	1025	1030	1035
Ile Met Gln Leu Arg Lys Ile Cys Asn His Pro Tyr Met Phe Gln			
	1040	1045	1050
His Ile Glu Glu Ser Phe Ser Glu His Leu Gly Phe Thr Gly Gly			
	1055	1060	1065
Ile Val Gln Gly Leu Asp Leu Tyr Arg Ala Ser Gly Lys Phe Glu			
	1070	1075	1080
Leu Leu Asp Arg Ile Leu Pro Lys Leu Arg Ala Thr Asn His Lys			
	1085	1090	1095
Val Leu Leu Phe Cys Gln Met Thr Ser Leu Met Thr Ile Met Glu			
	1100	1105	1110
Asp Tyr Phe Ala Tyr Arg Gly Phe Lys Tyr Leu Arg Leu Asp Gly			
	1115	1120	1125
Thr Thr Lys Ala Glu Asp Arg Gly Met Leu Leu Lys Thr Phe Asn			
	1130	1135	1140
Glu Pro Gly Ser Glu Tyr Phe Ile Phe Leu Leu Ser Thr Arg Ala			
	1145	1150	1155
Gly Gly Leu Gly Leu Asn Leu Gln Ser Ala Asp Thr Val Ile Ile			
	1160	1165	1170
Phe Asp Ser Asp Trp Asn Pro His Gln Asp Leu Gln Ala Gln Asp			
	1175	1180	1185
Arg Ala His Arg Ile Gly Gln Gln Asn Glu Val Arg Val Leu Arg			
	1190	1195	1200
Leu Cys Thr Val Asn Ser Val Glu Glu Lys Ile Leu Ala Ala Ala			
	1205	1210	1215
Lys Tyr Lys Leu Asn Val Asp Gln Lys Val Ile Gln Ala Gly Met			
	1220	1225	1230
Phe Asp Gln Lys Ser Ser Ser His Glu Arg Arg Ala Phe Leu Gln			

1235	1240	1245
Ala Ile Leu Glu His Glu	Glu Gln Asp Glu Ser	Arg His Cys Ser
1250	1255	1260
Thr Gly Ser Gly Ser Ala	Ser Phe Ala His Thr	Ala Pro Pro Pro
1265	1270	1275
Ala Gly Val Asn Pro Asp	Leu Glu Glu Pro Pro	Leu Lys Glu Glu
1280	1285	1290
Asp Glu Val Pro Asp Asp	Glu Thr Val Asn Gln	Met Ile Ala Arg
1295	1300	1305
His Glu Glu Glu Phe Asp	Leu Phe Met Arg Met	Asp Leu Asp Arg
1310	1315	1320
Arg Arg Glu Glu Ala Arg	Asn Pro Lys Arg Lys	Pro Arg Leu Met
1325	1330	1335
Glu Glu Asp Glu Leu Pro	Ser Trp Ile Ile Lys	Asp Asp Ala Glu
1340	1345	1350
Val Glu Arg Leu Thr Cys	Glu Glu Glu Glu Glu	Lys Met Phe Gly
1355	1360	1365
Arg Gly Ser Arg His Arg	Lys Glu Val Asp Tyr	Ser Asp Ser Leu
1370	1375	1380
Thr Glu Lys Gln Trp Leu	Lys Ala Ile Glu Glu	Gly Thr Leu Glu
1385	1390	1395
Glu Ile Glu Glu Glu Val	Arg Gln Lys Lys Ser	Ser Arg Lys Arg
1400	1405	1410
Lys Arg Asp Ser Asp Ala	Gly Ser Ser Thr Pro	Thr Thr Ser Thr
1415	1420	1425
Arg Ser Arg Asp Lys Asp	Asp Glu Ser Lys Lys	Gln Lys Lys Arg
1430	1435	1440
Gly Arg Pro Pro Ala Glu	Lys Leu Ser Pro Asn	Pro Pro Asn Leu
1445	1450	1455
Thr Lys Lys Met Lys Lys	Ile Val Asp Ala Val	Ile Lys Tyr Lys
1460	1465	1470
Asp Ser Ser Ser Gly Arg	Gln Leu Ser Glu Val	Phe Ile Gln Leu
1475	1480	1485
Pro Ser Arg Lys Glu Leu	Pro Glu Tyr Tyr Glu	Leu Ile Arg Lys
1490	1495	1500
Pro Val Asp Phe Lys Lys	Ile Lys Glu Arg Ile	Arg Asn His Lys
1505	1510	1515
Tyr Arg Ser Leu Asn Asp	Leu Glu Lys Asp Val	Met Leu Leu Cys
1520	1525	1530

Gln Asn Ala Gln Thr Phe Asn Leu Glu Gly Ser Leu Ile Tyr Glu		
1535	1540	1545
Asp Ser Ile Val Leu Gln Ser Val Phe Thr Ser Val Arg Gln Lys		
1550	1555	1560
Ile Glu Lys Glu Asp Asp Ser Glu Gly Glu Glu Ser Glu Glu Glu		
1565	1570	1575
Glu Glu Gly Glu Glu Glu Gly Ser Glu Ser Glu Ser Arg Ser Val		
1580	1585	1590
Lys Val Lys Ile Lys Leu Gly Arg Lys Glu Lys Ala Gln Asp Arg		
1595	1600	1605
Leu Lys Gly Gly Arg Arg Arg Pro Ser Arg Gly Ser Arg Ala Lys		
1610	1615	1620
Pro Val Val Ser Asp Asp Asp Ser Glu Glu Glu Gln Glu Glu Asp		
1625	1630	1635
Arg Ser Gly Ser Gly Ser Glu Glu Asp		
1640	1645	

<210> 15

<211> 385

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 15

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

Val	Pro	Cys	Ser	Thr	Thr	Ile	Asn	Arg	Asn	Arg	Met	Gly	Arg	Asp	Lys
145						150				155					160
Lys	Arg	Thr	Phe	Pro	Leu	Cys	Phe	Asp	Asp	His	Asp	Pro	Ala	Val	Ile
					165				170					175	
His	Glu	Asn	Ala	Ser	Gln	Pro	Glu	Val	Leu	Val	Pro	Ile	Arg	Leu	Asp
			180					185					190		
Met	Glu	Ile	Asp	Gly	Gln	Lys	Leu	Arg	Asp	Ala	Phe	Thr	Trp	Asn	Met
		195					200					205			
Asn	Glu	Lys	Leu	Met	Thr	Pro	Glu	Met	Phe	Ser	Glu	Ile	Leu	Cys	Asp
		210				215					220				
Asp	Leu	Asp	Leu	Asn	Pro	Leu	Thr	Phe	Val	Pro	Ala	Ile	Ala	Ser	Ala
225					230				235						240
Ile	Arg	Gln	Gln	Ile	Glu	Ser	Tyr	Pro	Thr	Asp	Ser	Ile	Leu	Glu	Asp
			245					250					255		
Gln	Ser	Asp	Gln	Arg	Val	Ile	Ile	Lys	Leu	Asn	Ile	His	Val	Gly	Asn
			260					265					270		
Ile	Ser	Leu	Val	Asp	Gln	Phe	Glu	Trp	Asp	Met	Ser	Glu	Lys	Glu	Asn
		275					280					285			
Ser	Pro	Glu	Lys	Phe	Ala	Leu	Lys	Leu	Cys	Ser	Glu	Leu	Gly	Leu	Gly
		290				295					300				
Gly	Glu	Phe	Val	Thr	Thr	Ile	Ala	Tyr	Ser	Ile	Arg	Gly	Gln	Leu	Ser
305					310				315						320
Trp	His	Gln	Lys	Thr	Tyr	Ala	Phe	Ser	Glu	Asn	Pro	Leu	Pro	Thr	Val
			325					330					335		
Glu	Ile	Ala	Ile	Arg	Asn	Thr	Gly	Asp	Ala	Asp	Gln	Trp	Cys	Pro	Leu
		340					345					350			
Leu	Glu	Thr	Leu	Thr	Asp	Ala	Glu	Met	Glu	Lys	Lys	Ile	Arg	Asp	Gln
		355					360					365			
Asp	Arg	Asn	Thr	Arg	Arg	Met	Arg	Arg	Leu	Ala	Asn	Thr	Gly	Pro	Ala
		370				375					380				
Trp															
385															
<210>	16														
<211>	1104														
<212>	PRT														
<213>	人(Homo sapiens)														
<400>	16														
Met	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Gly	Gly	Pro	Gly	Thr	Ala	Val	Gly	Ala
1				5					10					15	

Thr	Gly	Phe	Gly	Asp	Ser	Ala	Ala	Ala	Ala	Gly	Leu	Ala	Val	Tyr	Arg
20				25				30							
Arg	Lys	Asp	Gly	Gly	Pro	Ala	Thr	Lys	Phe	Trp	Glu	Ser	Pro	Glu	Thr
35				40				45							
Val	Ser	Gln	Leu	Asp	Ser	Val	Arg	Val	Trp	Leu	Gly	Lys	His	Tyr	Lys
50				55				60							
Lys	Tyr	Val	His	Ala	Asp	Ala	Pro	Thr	Asn	Lys	Thr	Leu	Ala	Gly	Leu
65				70				75				80			
Val	Val	Gln	Leu	Leu	Gln	Phe	Gln	Glu	Asp	Ala	Phe	Gly	Lys	His	Val
85				90				95							
Thr	Asn	Pro	Ala	Phe	Thr	Lys	Leu	Pro	Ala	Lys	Cys	Phe	Met	Asp	Phe
100				105				110							
Lys	Ala	Gly	Gly	Ala	Leu	Cys	His	Ile	Leu	Gly	Ala	Ala	Tyr	Lys	Tyr
115				120				125							
Lys	Asn	Glu	Gln	Gly	Trp	Arg	Arg	Phe	Asp	Leu	Gln	Asn	Pro	Ser	Arg
130				135				140							
Met	Asp	Arg	Asn	Val	Glu	Met	Phe	Met	Asn	Ile	Glu	Lys	Thr	Leu	Val
145				150				155				160			
Gln	Asn	Asn	Cys	Leu	Thr	Arg	Pro	Asn	Ile	Tyr	Leu	Ile	Pro	Asp	Ile
165				170				175							
Asp	Leu	Lys	Leu	Ala	Asn	Lys	Leu	Lys	Asp	Ile	Ile	Lys	Arg	His	Gln
180				185				190							
Gly	Thr	Phe	Thr	Asp	Glu	Lys	Ser	Lys	Ala	Ser	His	His	Ile	Tyr	Pro
195				200				205							
Tyr	Ser	Ser	Ser	Gln	Asp	Asp	Glu	Glu	Trp	Leu	Arg	Pro	Val	Met	Arg
210				215				220							
Lys	Glu	Lys	Gln	Val	Leu	Val	His	Trp	Gly	Phe	Tyr	Pro	Asp	Ser	Tyr
225				230				235				240			
Asp	Thr	Trp	Val	His	Ser	Asn	Asp	Val	Asp	Ala	Glu	Ile	Glu	Asp	Pro
245				250				255							
Pro	Ile	Pro	Glu	Lys	Pro	Trp	Lys	Val	His	Val	Lys	Trp	Ile	Leu	Asp
260				265				270							
Thr	Asp	Ile	Phe	Asn	Glu	Trp	Met	Asn	Glu	Glu	Asp	Tyr	Glu	Val	Asp
275				280				285							
Glu	Asn	Arg	Lys	Pro	Val	Ser	Phe	Arg	Gln	Arg	Ile	Ser	Thr	Lys	Asn
290				295				300							
Glu	Glu	Pro	Val	Arg	Ser	Pro	Glu	Arg	Arg	Asp	Arg	Lys	Ala	Ser	Ala
305				310				315				320			
Asn	Ala	Arg	Lys	Arg	Lys	His	Ser	Pro	Ser	Pro	Pro	Pro	Pro	Thr	Pro

				325					330					335			
Thr	Glu	Ser	Arg	Lys	Lys	Ser	Gly	Lys	Lys	Gly	Gln	Ala	Ser	Leu	Tyr		
				340					345					350			
Gly	Lys	Arg	Arg	Ser	Gln	Lys	Glu	Glu	Asp	Glu	Gln	Glu	Asp	Leu	Thr		
				355					360					365			
Lys	Asp	Met	Glu	Asp	Pro	Thr	Pro	Val	Pro	Asn	Ile	Glu	Glu	Val	Val		
				370					375					380			
Leu	Pro	Lys	Asn	Val	Asn	Leu	Lys	Lys	Asp	Ser	Glu	Asn	Thr	Pro	Val		
385									390					395			400
Lys	Gly	Gly	Thr	Val	Ala	Asp	Leu	Asp	Glu	Gln	Asp	Glu	Glu	Thr	Val		
				405					410					415			
Thr	Ala	Gly	Gly	Lys	Glu	Asp	Glu	Asp	Pro	Ala	Lys	Gly	Asp	Gln	Ser		
				420					425					430			
Arg	Ser	Val	Asp	Leu	Gly	Glu	Asp	Asn	Val	Thr	Glu	Gln	Thr	Asn	His		
				435					440					445			
Ile	Ile	Ile	Pro	Ser	Tyr	Ala	Ser	Trp	Phe	Asp	Tyr	Asn	Cys	Ile	His		
				450					455					460			
Val	Ile	Glu	Arg	Arg	Ala	Leu	Pro	Glu	Phe	Phe	Asn	Gly	Lys	Asn	Lys		
465									470					475			480
Ser	Lys	Thr	Pro	Glu	Ile	Tyr	Leu	Ala	Tyr	Arg	Asn	Phe	Met	Ile	Asp		
				485					490					495			
Ser	Tyr	Arg	Leu	Asn	Pro	Gln	Glu	Tyr	Leu	Thr	Ser	Thr	Ala	Cys	Arg		
				500					505					510			
Arg	Asn	Leu	Thr	Gly	Asp	Val	Cys	Ala	Val	Met	Arg	Val	His	Ala	Gly		
				515					520					525			
Gly	Glu	Gln	Trp	Gly	Leu	Val	Asn	Tyr	Gln	Val	Asp	Pro	Glu	Ser	Arg		
				530					535					540			
Pro	Met	Ala	Met	Gly	Pro	Pro	Pro	Thr	Pro	His	Phe	Asn	Val	Leu	Ala		
545									550					555			560
Asp	Thr	Pro	Leu	Ala	Cys	Ala	Ser	Asp	Leu	Arg	Ser	Pro	Gln	Val	Pro		
				565					570					575			
Ala	Ala	Gln	Gln	Met	Leu	Asn	Phe	Pro	Glu	Lys	Asn	Lys	Glu	Lys	Pro		
				580					585					590			
Val	Asp	Leu	Gln	Asn	Phe	Gly	Leu	Arg	Thr	Asp	Ile	Tyr	Ser	Lys	Lys		
				595					600					605			
Thr	Leu	Ala	Lys	Ser	Lys	Gly	Ala	Ser	Ala	Gly	Arg	Gly	Trp	Thr	Glu		
				610					615					620			
Gln	Glu	Thr	Leu	Leu	Leu	Leu	Glu	Ala	Leu	Glu	Met	Tyr	Lys	Asp	Asp		
625									630					635			640

Trp Asn Lys Val Ser Glu His Val Gly Ser Arg Thr Gln Asp Glu Cys			
645	650	655	
Ile Leu His Phe Leu Arg Leu Pro Ile Glu Asp Pro Tyr Leu Glu Asn			
660	665	670	
Ser Asp Ala Ser Leu Gly Pro Leu Ala Tyr Gln Pro Val Pro Phe Ser			
675	680	685	
Gln Ser Gly Asn Pro Val Met Ser Thr Val Ala Phe Leu Ala Ser Val			
690	695	700	
Val Asp Pro Arg Val Ala Ser Ala Ala Lys Ala Ala Leu Glu Glu			
705	710	715	720
Phe Ser Arg Val Arg Glu Glu Val Pro Leu Glu Leu Val Glu Ala His			
725	730	735	
Val Lys Lys Val Gln Glu Ala Ala Arg Ala Ser Gly Lys Val Asp Pro			
740	745	750	
Thr Tyr Gly Leu Glu Ser Ser Cys Ile Ala Gly Thr Gly Pro Asp Glu			
755	760	765	
Pro Glu Lys Leu Glu Gly Ala Glu Glu Glu Lys Met Glu Ala Asp Pro			
770	775	780	
Asp Gly Gln Gln Pro Glu Lys Ala Glu Asn Lys Val Glu Asn Glu Thr			
785	790	795	800
Asp Glu Gly Asp Lys Ala Gln Asp Gly Glu Asn Glu Lys Asn Ser Glu			
805	810	815	
Lys Glu Gln Asp Ser Glu Val Ser Glu Asp Thr Lys Ser Glu Glu Lys			
820	825	830	
Glu Thr Glu Glu Asn Lys Glu Leu Ser Ser Thr Cys Lys Glu Arg Glu			
835	840	845	
Ser Asp Thr Gly Lys Lys Lys Val Glu His Glu Ile Ser Glu Gly Asn			
850	855	860	
Val Ala Thr Ala Ala Ala Ala Leu Ala Ser Ala Ala Thr Lys Ala			
865	870	875	880
Lys His Leu Ala Ala Val Glu Glu Arg Lys Ile Lys Ser Leu Val Ala			
885	890	895	
Leu Leu Val Glu Thr Gln Met Lys Lys Leu Glu Ile Lys Leu Arg His			
900	905	910	
Phe Glu Gly Leu Glu Thr Ile Met Asp Arg Glu Lys Glu Ala Leu Glu			
915	920	925	
Gln Gln Arg Gln Gln Leu Leu Thr Glu Arg Gln Asn Phe His Met Glu			
930	935	940	
Gln Leu Lys Tyr Ala Glu Leu Arg Ala Arg Gln Gln Met Glu Gln Gln			

945	950	955	960
Gln His Gly Gln Asn Pro Gln Gln Ala His Gln His Ser Gly Gly Pro			
	965	970	975
Gly Leu Ala Pro Leu Gly Ala Ala Gly His Pro Gly Met Met Pro His			
	980	985	990
Gln Gln Pro Pro Pro Tyr Pro Leu Met His His Gln Met Pro Pro Pro			
	995	1000	1005
His Pro Pro Gln Pro Gly Gln Ile Pro Gly Pro Gly Ser Met Met			
	1010	1015	1020
Pro Gly Gln His Met Pro Gly Arg Met Ile Pro Thr Val Ala Ala			
	1025	1030	1035
Asn Ile His Pro Ser Gly Ser Gly Pro Thr Pro Pro Gly Met Pro			
	1040	1045	1050
Pro Met Pro Gly Asn Ile Leu Gly Pro Arg Val Pro Leu Thr Ala			
	1055	1060	1065
Pro Asn Gly Met Tyr Pro Pro Pro Pro Gln Gln Gln Pro Pro Pro			
	1070	1075	1080
Pro Pro Pro Ala Asp Gly Val Pro Pro Pro Pro Ala Pro Gly Pro			
	1085	1090	1095
Pro Ala Ser Ala Ala Pro			
	1100		
<210> 17			
<211> 1213			
<212> PRT			
<213> 人(Homo sapiens)			
<400> 17			
Met Ala Val Arg Lys Lys Asp Gly Gly Pro Asn Val Lys Tyr Tyr Glu			
1	5	10	15
Ala Ala Asp Thr Val Thr Gln Phe Asp Asn Val Arg Leu Trp Leu Gly			
	20	25	30
Lys Asn Tyr Lys Lys Tyr Ile Gln Ala Glu Pro Pro Thr Asn Lys Ser			
	35	40	45
Leu Ser Ser Leu Val Val Gln Leu Leu Gln Phe Gln Glu Glu Val Phe			
	50	55	60
Gly Lys His Val Ser Asn Ala Pro Leu Thr Lys Leu Pro Ile Lys Cys			
65	70	75	80
Phe Leu Asp Phe Lys Ala Gly Gly Ser Leu Cys His Ile Leu Ala Ala			
	85	90	95
Ala Tyr Lys Phe Lys Ser Asp Gln Gly Trp Arg Arg Tyr Asp Phe Gln			

100	105	110
Asn Pro Ser Arg Met Asp Arg	Asn Val Glu Met Phe Met	Thr Ile Glu
115	120	125
Lys Ser Leu Val Gln Asn Asn Cys	Leu Ser Arg Pro Asn Ile Phe	Leu
130	135	140
Cys Pro Glu Ile Glu Pro Lys	Leu Leu Gly Lys Leu Lys Asp	Ile Ile
145	150	155
Lys Arg His Gln Gly Thr Val Thr	Glu Asp Lys Asn Asn Ala Ser	His
165	170	175
Val Val Tyr Pro Val Pro Gly	Asn Leu Glu Glu Glu Glu Trp	Val Arg
180	185	190
Pro Val Met Lys Arg Asp Lys	Gln Val Leu Leu His Trp Gly	Tyr Tyr
195	200	205
Pro Asp Ser Tyr Asp Thr Trp	Ile Pro Ala Ser Glu Ile Glu	Ala Ser
210	215	220
Val Glu Asp Ala Pro Thr Pro	Glu Lys Pro Arg Lys Val His	Ala Lys
225	230	235
Trp Ile Leu Asp Thr Asp Thr	Phe Asn Glu Trp Met Asn Glu	Glu Asp
245	250	255
Tyr Glu Val Asn Asp Asp Lys	Asn Pro Val Ser Arg Arg Lys	Lys Ile
260	265	270
Ser Ala Lys Thr Leu Thr Asp	Glu Val Asn Ser Pro Asp Ser	Asp Arg
275	280	285
Arg Asp Lys Lys Gly Gly Asn	Tyr Lys Lys Arg Lys Arg Ser	Pro Ser
290	295	300
Pro Ser Pro Thr Pro Glu Val	Lys Glu Glu Lys Cys Lys Lys	Gly Pro
305	310	315
Ser Thr Pro Tyr Thr Lys Ser	Lys Arg Gly His Arg Glu Glu	Glu Gln
325	330	335
Glu Asp Leu Thr Lys Asp Met	Asp Glu Pro Ser Pro Val Pro	Asn Val
340	345	350
Glu Glu Val Thr Leu Pro Lys	Thr Val Asn Thr Lys Lys Asp	Ser Glu
355	360	365
Ser Ala Pro Val Lys Gly Gly	Thr Met Thr Asp Leu Asp Glu	Gln Glu
370	375	380
Asp Glu Ser Met Glu Thr Thr	Gly Lys Asp Glu Asp Glu Asn	Ser Thr
385	390	395
Gly Asn Lys Gly Glu Gln Thr	Lys Asn Pro Asp Leu His Glu	Asp Asn
405	410	415

Val Thr Glu Gln Thr His His Ile Ile Ile Pro Ser Tyr Ala Ala Trp		
420	425	430
Phe Asp Tyr Asn Ser Val His Ala Ile Glu Arg Arg Ala Leu Pro Glu		
435	440	445
Phe Phe Asn Gly Lys Asn Lys Ser Lys Thr Pro Glu Ile Tyr Leu Ala		
450	455	460
Tyr Arg Asn Phe Met Ile Asp Thr Tyr Arg Leu Asn Pro Gln Glu Tyr		
465	470	475
Leu Thr Ser Thr Ala Cys Arg Arg Asn Leu Ala Gly Asp Val Cys Ala		
485	490	495
Ile Ser Arg Val His Ala Phe Leu Glu Gln Trp Gly Leu Ile Asn Tyr		
500	505	510
Gln Val Asp Ala Glu Ser Arg Pro Thr Pro Met Gly Pro Pro Pro Thr		
515	520	525
Ser His Phe His Val Leu Ala Asp Thr Pro Ser Gly Leu Val Pro Leu		
530	535	540
Gln Pro Lys Thr Pro Gln Gln Thr Ser Ala Ser Gln Gln Met Leu Asn		
545	550	555
Phe Pro Asp Lys Gly Lys Glu Lys Pro Thr Asp Met Gln Asn Phe Gly		
565	570	575
Leu Arg Thr Asp Met Tyr Thr Lys Lys Asn Ala Pro Ser Lys Ser Lys		
580	585	590
Ala Ala Ala Ser Ala Thr Arg Glu Trp Thr Glu Gln Glu Thr Leu Leu		
595	600	605
Leu Leu Glu Ala Leu Glu Met Tyr Lys Asp Asp Trp Asn Lys Val Ser		
610	615	620
Glu His Val Gly Ser Arg Thr Gln Asp Glu Cys Ile Leu His Phe Leu		
625	630	635
Arg Leu Pro Ile Glu Asp Pro Tyr Leu Glu Asp Ser Glu Ala Ser Leu		
645	650	655
Gly Pro Leu Ala Tyr Gln Pro Ile Pro Phe Ser Gln Ser Gly Asn Pro		
660	665	670
Val Met Ser Thr Val Ala Phe Leu Ala Ser Val Val Asp Pro Arg Val		
675	680	685
Ala Ser Ala Ala Ala Lys Ser Ala Leu Glu Glu Phe Ser Lys Met Lys		
690	695	700
Glu Glu Val Pro Thr Ala Leu Val Glu Ala His Val Arg Lys Val Glu		
705	710	715
Glu Ala Ala Lys Val Thr Gly Lys Ala Asp Pro Ala Phe Gly Leu Glu		

				725					730					735			
Ser	Ser	Gly	Ile	Ala	Gly	Thr	Thr	Ser	Asp	Glu	Pro	Glu	Arg	Ile	Glu		
				740					745					750			
Glu	Ser	Gly	Asn	Asp	Glu	Ala	Arg	Val	Glu	Gly	Gln	Ala	Thr	Asp	Glu		
				755					760					765			
Lys	Lys	Glu	Pro	Lys	Glu	Pro	Arg	Glu	Gly	Gly	Gly	Ala	Ile	Glu	Glu		
				770					775					780			
Glu	Ala	Lys	Glu	Lys	Thr	Ser	Glu	Ala	Pro	Lys	Lys	Asp	Glu	Glu	Lys		
785							790					795			800		
Gly	Lys	Glu	Gly	Asp	Ser	Glu	Lys	Glu	Ser	Glu	Lys	Ser	Asp	Gly	Asp		
				805					810					815			
Pro	Ile	Val	Asp	Pro	Glu	Lys	Glu	Lys	Glu	Pro	Lys	Glu	Gly	Gln	Glu		
				820					825					830			
Glu	Val	Leu	Lys	Glu	Val	Val	Glu	Ser	Glu	Gly	Glu	Arg	Lys	Thr	Lys		
				835					840					845			
Val	Glu	Arg	Asp	Ile	Gly	Glu	Gly	Asn	Leu	Ser	Thr	Ala	Ala	Ala	Ala		
				850					855					860			
Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Ala	Val	Lys	Ala	Lys	His	Leu	Ala	Ala	Val	Glu		
865							870					875			880		
Glu	Arg	Lys	Ile	Lys	Ser	Leu	Val	Ala	Leu	Leu	Val	Glu	Thr	Gln	Met		
				885					890					895			
Lys	Lys	Leu	Glu	Ile	Lys	Leu	Arg	His	Phe	Glu	Glu	Leu	Glu	Thr	Ile		
				900					905					910			
Met	Asp	Arg	Glu	Arg	Glu	Ala	Leu	Glu	Tyr	Gln	Arg	Gln	Gln	Leu	Leu		
				915					920					925			
Ala	Asp	Arg	Gln	Ala	Phe	His	Met	Glu	Gln	Leu	Lys	Tyr	Pro	Glu	Met		
				930					935					940			
Arg	Ala	Arg	Gln	Gln	His	Phe	Gln	Gln	Met	His	Gln	Gln	Gln	Gln	Gln		
945							950					955			960		
Pro	Pro	Pro	Ala	Leu	Pro	Pro	Gly	Ser	Gln	Pro	Ile	Pro	Pro	Thr	Gly		
				965					970					975			
Ala	Ala	Gly	Pro	Pro	Ala	Val	His	Gly	Leu	Ala	Val	Ala	Pro	Ala	Ser		
				980					985					990			
Val	Val	Pro	Ala	Pro	Ala	Gly	Ser	Gly	Ala	Pro	Pro	Gly	Ser	Leu	Gly		
				995					1000					1005			
Pro	Ser	Glu	Gln	Ile	Gly	Gln	Ala	Gly	Ser	Thr	Arg	Gly	Pro	Gln			
				1010					1015					1020			
Gln	Gln	Gln	Pro	Ala	Gly	Ala	Pro	Gln	Pro	Gly	Ala	Val	Pro	Pro			
				1025					1030					1035			

Gly Val Pro Pro Pro Gly Pro His Gly Pro Ser Pro Phe Pro Asn		
1040	1045	1050
Gln Gln Thr Pro Pro Ser Met Met Pro Gly Ala Val Pro Gly Ser		
1055	1060	1065
Gly His Pro Gly Val Ala Gly Asn Ala Pro Leu Gly Leu Pro Phe		
1070	1075	1080
Gly Met Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Ala Pro Ser Ile Ile Pro		
1085	1090	1095
Phe Gly Ser Leu Ala Asp Ser Ile Ser Ile Asn Leu Pro Ala Pro		
1100	1105	1110
Pro Asn Leu Met Gly Ser Pro Pro Ser Pro Val Arg Pro Gly Thr		
1115	1120	1125
Leu Pro Pro Pro Asn Leu Pro Val Ser Met Ala Asn Pro Leu His		
1130	1135	1140
Pro Asn Leu Pro Ala Thr Thr Thr Met Pro Ser Ser Leu Pro Leu		
1145	1150	1155
Gly Pro Gly Leu Gly Ser Ala Ala Ala Gln Ser Pro Ala Ile Val		
1160	1165	1170
Ala Ala Val Gln Gly Asn Leu Leu Pro Ser Ala Ser Pro Leu Pro		
1175	1180	1185
Asp Pro Gly Thr Pro Leu Pro Pro Asp Pro Thr Ala Pro Ser Pro		
1190	1195	1200
Gly Thr Val Thr Pro Val Pro Pro Pro Gln		
1205	1210	

<210> 18

<211> 2285

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 18

Met Ala Ala Gln Val Ala Pro Ala Ala Ala Ser Ser Leu Gly Asn Pro		
1	5	10
Pro Pro Pro Pro Pro Ser Glu Leu Lys Lys Ala Glu Gln Gln Gln Arg		
20	25	30
Glu Glu Ala Gly Gly Glu Ala Ala Ala Ala Ala Ala Glu Arg Gly		
35	40	45
Glu Met Lys Ala Ala Ala Gly Gln Glu Ser Glu Gly Pro Ala Val Gly		
50	55	60
Pro Pro Gln Pro Leu Gly Lys Glu Leu Gln Asp Gly Ala Glu Ser Asn		
65	70	75
		80

Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ala Gly Ser Gly Gly Gly Pro Gly Ala		
85	90	95
Glu Pro Asp Leu Lys Asn Ser Asn Gly Asn Ala Gly Pro Arg Pro Ala		
100	105	110
Leu Asn Asn Asn Leu Thr Glu Pro Pro Gly Gly Gly Gly Gly Gly Ser		
115	120	125
Ser Asp Gly Val Gly Ala Pro Pro His Ser Ala Ala Ala Ala Leu Pro		
130	135	140
Pro Pro Ala Tyr Gly Phe Gly Gln Pro Tyr Gly Arg Ser Pro Ser Ala		
145	150	155
Val Ala Ala Ala Ala Ala Ala Val Phe His Gln Gln His Gly Gly Gln		
165	170	175
Gln Ser Pro Gly Leu Ala Ala Leu Gln Ser Gly Gly Gly Gly Gly Leu		
180	185	190
Glu Pro Tyr Ala Gly Pro Gln Gln Asn Ser His Asp His Gly Phe Pro		
195	200	205
Asn His Gln Tyr Asn Ser Tyr Tyr Pro Asn Arg Ser Ala Tyr Pro Pro		
210	215	220
Pro Ala Pro Ala Tyr Ala Leu Ser Ser Pro Arg Gly Gly Thr Pro Gly		
225	230	235
Ser Gly Ala Ala Ala Ala Ala Gly Ser Lys Pro Pro Pro Ser Ser Ser		
245	250	255
Ala Ser Ala Ser Ser Ser Ser Ser Ser Phe Ala Gln Gln Arg Phe Gly		
260	265	270
Ala Met Gly Gly Gly Gly Pro Ser Ala Ala Gly Gly Gly Thr Pro Gln		
275	280	285
Pro Thr Ala Thr Pro Thr Leu Asn Gln Leu Leu Thr Ser Pro Ser Ser		
290	295	300
Ala Arg Gly Tyr Gln Gly Tyr Pro Gly Gly Asp Tyr Ser Gly Gly Pro		
305	310	315
Gln Asp Gly Gly Ala Gly Lys Gly Pro Ala Asp Met Ala Ser Gln Cys		
325	330	335
Trp Gly Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ala Ser Gly Gly		
340	345	350
Ala Gln Gln Arg Ser His His Ala Pro Met Ser Pro Gly Ser Ser Gly		
355	360	365
Gly Gly Gly Gln Pro Leu Ala Arg Thr Pro Gln Pro Ser Ser Pro Met		
370	375	380
Asp Gln Met Gly Lys Met Arg Pro Gln Pro Tyr Gly Gly Thr Asn Pro		

385	390	395	400
Tyr Ser Gln Gln Gln Gly Pro Pro Ser Asp Pro Gln Gln Gly His Gly			
	405	410	415
Tyr Pro Gly Gln Pro Tyr Gly Ser Gln Thr Pro Gln Arg Tyr Pro Met			
	420	425	430
Thr Val Gln Gly Arg Ala Gln Ser Ala Met Gly Gly Leu Ser Tyr Thr			
	435	440	445
Gln Gln Ile Pro Pro Tyr Gly Gln Gln Gly Pro Ser Gly Tyr Gly Gln			
	450	455	460
Gln Gly Gln Thr Pro Tyr Tyr Asn Gln Gln Ser Pro His Pro Gln Gln			
465	470	475	480
Gln Gln Pro Pro Tyr Ser Gln Gln Pro Pro Ser Gln Thr Pro His Ala			
	485	490	495
Gln Pro Ser Tyr Gln Gln Gln Pro Gln Ser Gln Pro Pro Gln Leu Gln			
	500	505	510
Ser Ser Gln Pro Pro Tyr Ser Gln Gln Pro Ser Gln Pro Pro His Gln			
	515	520	525
Gln Ser Pro Ala Pro Tyr Pro Ser Gln Gln Ser Thr Thr Gln Gln His			
	530	535	540
Pro Gln Ser Gln Pro Pro Tyr Ser Gln Pro Gln Ala Gln Ser Pro Tyr			
545	550	555	560
Gln Gln Gln Gln Pro Gln Gln Pro Ala Pro Ser Thr Leu Ser Gln Gln			
	565	570	575
Ala Ala Tyr Pro Gln Pro Gln Ser Gln Gln Ser Gln Gln Thr Ala Tyr			
	580	585	590
Ser Gln Gln Arg Phe Pro Pro Pro Gln Glu Leu Ser Gln Asp Ser Phe			
	595	600	605
Gly Ser Gln Ala Ser Ser Ala Pro Ser Met Thr Ser Ser Lys Gly Gly			
	610	615	620
Gln Glu Asp Met Asn Leu Ser Leu Gln Ser Arg Pro Ser Ser Leu Pro			
625	630	635	640
Asp Leu Ser Gly Ser Ile Asp Asp Leu Pro Met Gly Thr Glu Gly Ala			
	645	650	655
Leu Ser Pro Gly Val Ser Thr Ser Gly Ile Ser Ser Ser Gln Gly Glu			
	660	665	670
Gln Ser Asn Pro Ala Gln Ser Pro Phe Ser Pro His Thr Ser Pro His			
	675	680	685
Leu Pro Gly Ile Arg Gly Pro Ser Pro Ser Pro Val Gly Ser Pro Ala			
690	695	700	

Ser Val Ala Gln Ser Arg Ser Gly Pro Leu Ser Pro Ala Ala Val Pro			
705	710	715	720
Gly Asn Gln Met Pro Pro Arg Pro Pro Ser Gly Ser Ser Asp Ser Ile			
	725	730	735
Met His Pro Ser Met Asn Gln Ser Ser Ile Ala Gln Asp Arg Gly Tyr			
	740	745	750
Met Gln Arg Asn Ser Gln Met Pro Gln Tyr Ser Ser Pro Gln Pro Gly			
	755	760	765
Ser Ala Leu Ser Pro Arg Gln Leu Ser Gly Gly Gln Ile His Thr Gly			
	770	775	780
Met Gly Ser Tyr Gln Gln Asn Ser Met Gly Ser Tyr Gly Pro Gln Gly			
785	790	795	800
Gly Gln Tyr Gly Pro Gln Gly Gly Tyr Pro Arg Gln Pro Asn Tyr Asn			
	805	810	815
Ala Leu Pro Asn Ala Asn Tyr Pro Ser Ala Gly Met Ala Gly Gly Ile			
	820	825	830
Asn Pro Met Gly Ala Gly Gly Gln Met His Gly Gln Pro Gly Ile Pro			
	835	840	845
Pro Tyr Gly Thr Leu Pro Pro Gly Arg Met Ser His Ala Ser Met Gly			
	850	855	860
Asn Arg Pro Tyr Gly Pro Asn Asn Gly Gln Tyr Ala Thr Ser Gly Trp			
865	870	875	880
Val Arg Asp Val Ser Pro Pro Gly Gly Met Asn Arg Lys Thr Gln Glu			
	885	890	895
Thr Ala Val Ala Met His Val Ala Ala Asn Ser Ile Gln Asn Arg Pro			
	900	905	910
Pro Gly Tyr Pro Asn Met Asn Gln Gly Gly Met Met Gly Thr Gly Pro			
	915	920	925
Pro Tyr Gly Gln Gly Ile Asn Ser Met Ala Gly Met Ile Asn Pro Gln			
	930	935	940
Gly Pro Pro Tyr Ser Met Gly Gly Thr Met Ala Asn Asn Ser Ala Gly			
945	950	955	960
Met Ala Ala Ser Pro Glu Met Met Gly Leu Gly Asp Val Lys Leu Thr			
	965	970	975
Pro Ala Thr Lys Met Asn Asn Lys Ala Asp Gly Thr Pro Lys Thr Glu			
	980	985	990
Ser Lys Ser Lys Lys Ser Ser Ser Ser Thr Thr Thr Asn Glu Lys Ile			
	995	1000	1005
Thr Lys Leu Tyr Glu Leu Gly Gly Gly Pro Glu Arg Lys Met Trp			

1010	1015	1020
Val Asp Arg Tyr Leu Ala	Phe Thr Glu Glu Lys	Ala Met Gly Met
1025	1030	1035
Thr Asn Leu Pro Ala Val	Gly Arg Lys Pro Leu	Asp Leu Tyr Arg
1040	1045	1050
Leu Tyr Val Ser Val Lys	Glu Ile Gly Gly Leu	Thr Gln Val Asn
1055	1060	1065
Lys Asn Lys Lys Trp Arg	Glu Leu Ala Thr Asn	Leu Asn Val Gly
1070	1075	1080
Thr Ser Ser Ser Ala Ala	Ser Ser Leu Lys Lys	Gln Tyr Ile Gln
1085	1090	1095
Cys Leu Tyr Ala Phe Glu	Cys Lys Ile Glu Arg	Gly Glu Asp Pro
1100	1105	1110
Pro Pro Asp Ile Phe Ala	Ala Ala Asp Ser Lys	Lys Ser Gln Pro
1115	1120	1125
Lys Ile Gln Pro Pro Ser	Pro Ala Gly Ser Gly	Ser Met Gln Gly
1130	1135	1140
Pro Gln Thr Pro Gln Ser	Thr Ser Ser Ser Met	Ala Glu Gly Gly
1145	1150	1155
Asp Leu Lys Pro Pro Thr	Pro Ala Ser Thr Pro	His Ser Gln Ile
1160	1165	1170
Pro Pro Leu Pro Gly Met	Ser Arg Ser Asn Ser	Val Gly Ile Gln
1175	1180	1185
Asp Ala Phe Asn Asp Gly	Ser Asp Ser Thr Phe	Gln Lys Arg Asn
1190	1195	1200
Ser Met Thr Pro Asn Pro	Gly Tyr Gln Pro Ser	Met Asn Thr Ser
1205	1210	1215
Asp Met Met Gly Arg Met	Ser Tyr Glu Pro Asn	Lys Asp Pro Tyr
1220	1225	1230
Gly Ser Met Arg Lys Ala	Pro Gly Ser Asp Pro	Phe Met Ser Ser
1235	1240	1245
Gly Gln Gly Pro Asn Gly	Gly Met Gly Asp Pro	Tyr Ser Arg Ala
1250	1255	1260
Ala Gly Pro Gly Leu Gly	Asn Val Ala Met Gly	Pro Arg Gln His
1265	1270	1275
Tyr Pro Tyr Gly Gly Pro	Tyr Asp Arg Val Arg	Thr Glu Pro Gly
1280	1285	1290
Ile Gly Pro Glu Gly Asn	Met Ser Thr Gly Ala	Pro Gln Ser Asn
1295	1300	1305

Leu Met Pro Ser Asn Pro Asp Ser Gly Met Tyr Ser Pro Ser Arg		
1310	1315	1320
Tyr Pro Pro Gln Gln Gln Gln Gln Gln Gln Arg His Asp Ser		
1325	1330	1335
Tyr Gly Asn Gln Phe Ser Thr Gln Gly Thr Pro Ser Gly Ser Pro		
1340	1345	1350
Phe Pro Ser Gln Gln Thr Thr Met Tyr Gln Gln Gln Gln Asn		
1355	1360	1365
Tyr Lys Arg Pro Met Asp Gly Thr Tyr Gly Pro Pro Ala Lys Arg		
1370	1375	1380
His Glu Gly Glu Met Tyr Ser Val Pro Tyr Ser Thr Gly Gln Gly		
1385	1390	1395
Leu Pro Gln Gln Gln Gln Leu Pro Pro Ala Gln Pro Gln Pro Ala		
1400	1405	1410
Ser Gln Pro Gln Ala Ala Gln Pro Ser Pro Gln Gln Asp Val Tyr		
1415	1420	1425
Asn Gln Tyr Gly Asn Ala Tyr Pro Ala Thr Ala Thr Ala Ala Thr		
1430	1435	1440
Glu Arg Arg Pro Ala Gly Gly Pro Gln Asn Gln Phe Pro Phe Gln		
1445	1450	1455
Phe Gly Arg Asp Arg Val Ser Ala Pro Pro Gly Thr Asn Ala Gln		
1460	1465	1470
Gln Asn Met Pro Pro Gln Met Met Gly Gly Pro Ile Gln Ala Ser		
1475	1480	1485
Ala Glu Val Ala Gln Gln Gly Thr Met Trp Gln Gly Arg Asn Asp		
1490	1495	1500
Met Thr Tyr Asn Tyr Ala Asn Arg Gln Ser Thr Gly Ser Ala Pro		
1505	1510	1515
Gln Gly Pro Ala Tyr His Gly Val Asn Arg Thr Asp Glu Val Leu		
1520	1525	1530
His Thr Asp Gln Arg Ala Asn His Glu Gly Ser Trp Pro Ser His		
1535	1540	1545
Gly Thr Arg Gln Pro Pro Tyr Gly Pro Ser Ala Pro Val Pro Pro		
1550	1555	1560
Met Thr Arg Pro Pro Pro Ser Asn Tyr Gln Pro Pro Pro Ser Met		
1565	1570	1575
Gln Asn His Ile Pro Gln Val Ser Ser Pro Ala Pro Leu Pro Arg		
1580	1585	1590
Pro Met Glu Asn Arg Thr Ser Pro Ser Lys Ser Pro Phe Leu His		

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

Gln Glu Gly Pro Pro Pro Asp Gly Pro Pro Glu Lys Arg Ile Thr		
1895	1900	1905
Ala Thr Met Asp Asp Met Leu Ser Thr Arg Ser Ser Thr Leu Thr		
1910	1915	1920
Glu Asp Gly Ala Lys Ser Ser Glu Ala Ile Lys Glu Ser Ser Lys		
1925	1930	1935
Phe Pro Phe Gly Ile Ser Pro Ala Gln Ser His Arg Asn Ile Lys		
1940	1945	1950
Ile Leu Glu Asp Glu Pro His Ser Lys Asp Glu Thr Pro Leu Cys		
1955	1960	1965
Thr Leu Leu Asp Trp Gln Asp Ser Leu Ala Lys Arg Cys Val Cys		
1970	1975	1980
Val Ser Asn Thr Ile Arg Ser Leu Ser Phe Val Pro Gly Asn Asp		
1985	1990	1995
Phe Glu Met Ser Lys His Pro Gly Leu Leu Leu Ile Leu Gly Lys		
2000	2005	2010
Leu Ile Leu Leu His His Lys His Pro Glu Arg Lys Gln Ala Pro		
2015	2020	2025
Leu Thr Tyr Glu Lys Glu Glu Glu Gln Asp Gln Gly Val Ser Cys		
2030	2035	2040
Asn Lys Val Glu Trp Trp Trp Asp Cys Leu Glu Met Leu Arg Glu		
2045	2050	2055
Asn Thr Leu Val Thr Leu Ala Asn Ile Ser Gly Gln Leu Asp Leu		
2060	2065	2070
Ser Pro Tyr Pro Glu Ser Ile Cys Leu Pro Val Leu Asp Gly Leu		
2075	2080	2085
Leu His Trp Ala Val Cys Pro Ser Ala Glu Ala Gln Asp Pro Phe		
2090	2095	2100
Ser Thr Leu Gly Pro Asn Ala Val Leu Ser Pro Gln Arg Leu Val		
2105	2110	2115
Leu Glu Thr Leu Ser Lys Leu Ser Ile Gln Asp Asn Asn Val Asp		
2120	2125	2130
Leu Ile Leu Ala Thr Pro Pro Phe Ser Arg Leu Glu Lys Leu Tyr		
2135	2140	2145
Ser Thr Met Val Arg Phe Leu Ser Asp Arg Lys Asn Pro Val Cys		
2150	2155	2160
Arg Glu Met Ala Val Val Leu Leu Ala Asn Leu Ala Gln Gly Asp		
2165	2170	2175
Ser Leu Ala Ala Arg Ala Ile Ala Val Gln Lys Gly Ser Ile Gly		

2180	2185	2190
Asn Leu Leu Gly Phe Leu Glu Asp Ser Leu Ala Ala Thr Gln Phe		
2195	2200	2205
Gln Gln Ser Gln Ala Ser Leu Leu His Met Gln Asn Pro Pro Phe		
2210	2215	2220
Glu Pro Thr Ser Val Asp Met Met Arg Arg Ala Ala Arg Ala Leu		
2225	2230	2235
Leu Ala Leu Ala Lys Val Asp Glu Asn His Ser Glu Phe Thr Leu		
2240	2245	2250
Tyr Glu Ser Arg Leu Leu Asp Ile Ser Val Ser Pro Leu Met Asn		
2255	2260	2265
Ser Leu Val Ser Gln Val Ile Cys Asp Val Leu Phe Leu Ile Gly		
2270	2275	2280
Gln Ser		
2285		
<210> 19		
<211> 1835		
<212> PRT		
<213> 人(Homo sapiens)		
<400> 19		
Met Ala Asn Ser Thr Gly Lys Ala Pro Pro Asp Glu Arg Arg Lys Gly		
1 5 10 15		
Leu Ala Phe Leu Asp Glu Leu Arg Gln Phe His His Ser Arg Gly Ser		
20 25 30		
Pro Phe Lys Lys Ile Pro Ala Val Gly Gly Lys Glu Leu Asp Leu His		
35 40 45		
Gly Leu Tyr Thr Arg Val Thr Thr Leu Gly Gly Phe Ala Lys Val Ser		
50 55 60		
Glu Lys Asn Gln Trp Gly Glu Ile Val Glu Glu Phe Asn Phe Pro Arg		
65 70 75 80		
Ser Cys Ser Asn Ala Ala Phe Ala Leu Lys Gln Tyr Tyr Leu Arg Tyr		
85 90 95		
Leu Glu Lys Tyr Glu Lys Val His His Phe Gly Glu Asp Asp Asp Glu		
100 105 110		
Val Pro Pro Gly Asn Pro Lys Pro Gln Leu Pro Ile Gly Ala Ile Pro		
115 120 125		
Ser Ser Tyr Asn Tyr Gln Gln His Ser Val Ser Asp Tyr Leu Arg Gln		
130 135 140		
Ser Tyr Gly Leu Ser Met Asp Phe Asn Ser Pro Asn Asp Tyr Asn Lys		

145	150	155	160
Leu Val Leu Ser Leu Leu Ser Gly Leu Pro Asn Glu Val Asp Phe Ala			
	165	170	175
Ile Asn Val Cys Thr Leu Leu Ser Asn Glu Ser Lys His Val Met Gln			
	180	185	190
Leu Glu Lys Asp Pro Lys Ile Ile Thr Leu Leu Leu Ala Asn Ala Gly			
	195	200	205
Val Phe Asp Asp Thr Leu Gly Ser Phe Ser Thr Val Phe Gly Glu Glu			
	210	215	220
Trp Lys Glu Lys Thr Asp Arg Asp Phe Val Lys Phe Trp Lys Asp Ile			
225	230	235	240
Val Asp Asp Asn Glu Val Arg Asp Leu Ile Ser Asp Arg Asn Lys Ser			
	245	250	255
His Glu Gly Thr Ser Gly Glu Trp Ile Trp Glu Ser Leu Phe His Pro			
	260	265	270
Pro Arg Lys Leu Gly Ile Asn Asp Ile Glu Gly Gln Arg Val Leu Gln			
	275	280	285
Ile Ala Val Ile Leu Arg Asn Leu Ser Phe Glu Glu Gly Asn Val Lys			
	290	295	300
Leu Leu Ala Ala Asn Arg Thr Cys Leu Arg Phe Leu Leu Leu Ser Ala			
305	310	315	320
His Ser His Phe Ile Ser Leu Arg Gln Leu Gly Leu Asp Thr Leu Gly			
	325	330	335
Asn Ile Ala Ala Glu Leu Leu Leu Asp Pro Val Asp Phe Lys Thr Thr			
	340	345	350
His Leu Met Phe His Thr Val Thr Lys Cys Leu Met Ser Arg Asp Arg			
	355	360	365
Phe Leu Lys Met Arg Gly Met Glu Ile Leu Gly Asn Leu Cys Lys Ala			
	370	375	380
Glu Asp Asn Gly Val Leu Ile Cys Glu Tyr Val Asp Gln Asp Ser Tyr			
385	390	395	400
Arg Glu Ile Ile Cys His Leu Thr Leu Pro Asp Val Leu Leu Val Ile			
	405	410	415
Ser Thr Leu Glu Val Leu Tyr Met Leu Thr Glu Met Gly Asp Val Ala			
	420	425	430
Cys Thr Lys Ile Ala Lys Val Glu Lys Ser Ile Asp Met Leu Val Cys			
	435	440	445
Leu Val Ser Met Asp Ile Gln Met Phe Gly Pro Asp Ala Leu Ala Ala			
450	455	460	

Val	Lys	Leu	Ile	Glu	His	Pro	Ser	Ser	Ser	His	Gln	Met	Leu	Ser	Glu
465						470					475				480
Ile	Arg	Pro	Gln	Ala	Ile	Glu	Gln	Val	Gln	Thr	Gln	Thr	His	Val	Ala
				485						490				495	
Ser	Ala	Pro	Ala	Ser	Arg	Ala	Val	Val	Ala	Gln	His	Val	Ala	Pro	Pro
				500						505				510	
Pro	Gly	Ile	Val	Glu	Ile	Asp	Ser	Glu	Lys	Phe	Ala	Cys	Gln	Trp	Leu
				515						520				525	
Asn	Ala	His	Phe	Glu	Val	Asn	Pro	Asp	Cys	Ser	Val	Ser	Arg	Ala	Glu
				530						535				540	
Met	Tyr	Ser	Glu	Tyr	Leu	Ser	Thr	Cys	Ser	Lys	Leu	Ala	Arg	Gly	Gly
545						550					555				560
Ile	Leu	Thr	Ser	Thr	Gly	Phe	Tyr	Lys	Cys	Leu	Arg	Thr	Val	Phe	Pro
						565					570				575
Asn	His	Thr	Val	Lys	Arg	Val	Glu	Asp	Ser	Ser	Ser	Asn	Gly	Gln	Ala
				580							585				590
His	Ile	His	Val	Val	Gly	Val	Lys	Arg	Arg	Ala	Ile	Pro	Leu	Pro	Ile
				595						600					605
Gln	Met	Tyr	Tyr	Gln	Gln	Gln	Pro	Val	Ser	Thr	Ser	Val	Val	Arg	Val
				610										615	620
Asp	Ser	Val	Pro	Asp	Val	Ser	Pro	Ala	Pro	Ser	Pro	Ala	Gly	Ile	Pro
625						630								635	640
His	Gly	Ser	Gln	Thr	Ile	Gly	Asn	His	Phe	Gln	Arg	Thr	Pro	Val	Ala
				645							650				655
Asn	Gln	Ser	Ser	Asn	Leu	Thr	Ala	Thr	Gln	Met	Ser	Phe	Pro	Val	Gln
				660							665				670
Gly	Val	His	Thr	Val	Ala	Gln	Thr	Val	Ser	Arg	Ile	Pro	Gln	Asn	Pro
				675							680				685
Ser	Pro	His	Thr	His	Gln	Gln	Gln	Asn	Ala	Pro	Val	Thr	Val	Ile	Gln
				690							695				700
Ser	Lys	Ala	Pro	Ile	Pro	Cys	Glu	Val	Val	Lys	Ala	Thr	Val	Ile	Gln
705						710					715				720
Asn	Ser	Ile	Pro	Gln	Thr	Gly	Val	Pro	Val	Ser	Ile	Ala	Val	Gly	Gly
				725							730				735
Gly	Pro	Pro	Gln	Ser	Ser	Val	Val	Gln	Asn	His	Ser	Thr	Gly	Pro	Gln
				740							745				750
Pro	Val	Thr	Val	Val	Asn	Ser	Gln	Thr	Leu	Leu	His	His	Pro	Ser	Val
				755							760				765
Ile	Pro	Gln	Gln	Ser	Pro	Leu	His	Thr	Val	Val	Pro	Gly	Gln	Ile	Pro

770	775	780
Ser Gly Thr Pro Val Thr Val Ile Gln Gln Ala Val Pro Gln Ser His		
785	790	795
Thr Phe Gly Arg Val Gln Asn Ile Pro Ala Cys Thr Ser Thr Val Ser		800
	805	810
Gln Gly Gln Gln Leu Ile Thr Thr Ser Pro Gln Pro Val Gln Thr Ser		815
	820	825
Ser Gln Gln Thr Ser Ala Gly Ser Gln Ser Gln Asp Thr Val Ile Ile		830
	835	840
Ala Pro Pro Gln Tyr Val Thr Thr Ser Ala Ser Asn Ile Val Ser Ala		845
	850	860
Thr Ser Val Gln Asn Phe Gln Val Ala Thr Gly Gln Met Val Thr Ile		865
	870	875
Ala Gly Val Pro Ser Pro Gln Ala Ser Arg Val Gly Phe Gln Asn Ile		880
	885	890
Ala Pro Lys Pro Leu Pro Ser Gln Gln Val Ser Ser Thr Val Val Gln		895
	900	905
Gln Pro Ile Gln Gln Pro Gln Gln Pro Thr Gln Gln Ser Val Val Ile		910
	915	920
Val Ser Gln Pro Ala Gln Gln Gly Gln Thr Tyr Ala Pro Ala Ile His		925
	930	935
Gln Ile Val Leu Ala Asn Pro Ala Ala Leu Pro Ala Gly Gln Thr Val		940
	945	950
Gln Leu Thr Gly Gln Pro Asn Ile Thr Pro Ser Ser Ser Pro Ser Pro		955
	960	965
Val Pro Ala Thr Asn Asn Gln Val Pro Thr Ala Met Ser Ser Ser Ser		970
	975	980
Thr Pro Gln Ser Gln Gly Pro Pro Pro Thr Val Ser Gln Met Leu Ser		985
	990	995
Val Lys Arg Gln Gln Gln Gln Gln His Ser Pro Ala Pro Pro Pro		1000
	1005	1010
Gln Gln Val Gln Val Gln Val Gln Gln Pro Gln Gln Val Gln Met		1015
	1020	1025
Gln Val Gln Pro Gln Gln Ser Asn Ala Gly Val Gly Gln Pro Ala		1030
	1035	1040
Ser Gly Glu Ser Ser Leu Ile Lys Gln Leu Leu Leu Pro Lys Arg		1045
	1050	1055
Gly Pro Ser Thr Pro Gly Gly Lys Leu Ile Leu Pro Ala Pro Gln		1060
	1065	1070
	1075	1080

Ile Pro Pro Pro Asn Asn Ala Arg Ala Pro Ser Pro Gln Val Val		
1085	1090	1095
Tyr Gln Val Ala Ser Asn Gln Ala Ala Gly Phe Gly Val Gln Gly		
1100	1105	1110
Gln Thr Pro Ala Gln Gln Leu Leu Val Gly Gln Gln Asn Val Gln		
1115	1120	1125
Leu Val Pro Ser Ala Met Pro Pro Ser Gly Gly Val Gln Thr Val		
1130	1135	1140
Pro Ile Ser Asn Leu Gln Ile Leu Pro Gly Pro Leu Ile Ser Asn		
1145	1150	1155
Ser Pro Ala Thr Ile Phe Gln Gly Thr Ser Gly Asn Gln Val Thr		
1160	1165	1170
Ile Thr Val Val Pro Asn Thr Ser Phe Ala Pro Ala Thr Val Ser		
1175	1180	1185
Gln Gly Asn Ala Thr Gln Leu Ile Ala Pro Ala Gly Ile Thr Met		
1190	1195	1200
Ser Gly Thr Gln Thr Gly Val Gly Leu Pro Val Gln Thr Leu Pro		
1205	1210	1215
Ala Thr Gln Ala Ser Pro Ala Gly Gln Ser Ser Cys Thr Thr Ala		
1220	1225	1230
Thr Pro Pro Phe Lys Gly Asp Lys Ile Ile Cys Gln Lys Glu Glu		
1235	1240	1245
Glu Ala Lys Glu Ala Thr Gly Leu His Val His Glu Arg Lys Ile		
1250	1255	1260
Glu Val Met Glu Asn Pro Ser Cys Arg Arg Gly Ala Thr Asn Thr		
1265	1270	1275
Ser Asn Gly Asp Thr Lys Glu Asn Glu Met His Val Gly Ser Leu		
1280	1285	1290
Leu Asn Gly Arg Lys Tyr Ser Asp Ser Ser Leu Pro Pro Ser Asn		
1295	1300	1305
Ser Gly Lys Ile Gln Ser Glu Thr Asn Gln Cys Ser Leu Ile Ser		
1310	1315	1320
Asn Gly Pro Ser Leu Glu Leu Gly Glu Asn Gly Ala Ser Gly Lys		
1325	1330	1335
Gln Asn Ser Glu Gln Ile Asp Met Gln Asp Ile Lys Ser Asp Leu		
1340	1345	1350
Arg Lys Pro Leu Val Asn Gly Ile Cys Asp Phe Asp Lys Gly Asp		
1355	1360	1365
Gly Ser His Leu Ser Lys Asn Ile Pro Asn His Lys Thr Ser Asn		

1370	1375	1380
His Val Gly Asn Gly Glu	Ile Ser Pro Met Glu	Pro Gln Gly Thr
1385	1390	1395
Leu Asp Ile Thr Gln Gln	Asp Thr Ala Lys Gly	Asp Gln Leu Glu
1400	1405	1410
Arg Ile Ser Asn Gly Pro	Val Leu Thr Leu Gly	Gly Ser Ser Val
1415	1420	1425
Ser Ser Ile Gln Glu Ala	Ser Asn Ala Ala Thr	Gln Gln Phe Ser
1430	1435	1440
Gly Thr Asp Leu Leu Asn	Gly Pro Leu Ala Ser	Ser Leu Asn Ser
1445	1450	1455
Asp Val Pro Gln Gln Arg	Pro Ser Val Val Val	Ser Pro His Ser
1460	1465	1470
Thr Thr Ser Val Ile Gln	Gly His Gln Ile Ile	Ala Val Pro Asp
1475	1480	1485
Ser Gly Ser Lys Val Ser	His Ser Pro Ala Leu	Ser Ser Asp Val
1490	1495	1500
Arg Ser Thr Asn Gly Thr	Ala Glu Cys Lys Thr	Val Lys Arg Pro
1505	1510	1515
Ala Glu Asp Thr Asp Arg	Glu Thr Val Ala Gly	Ile Pro Asn Lys
1520	1525	1530
Val Gly Val Arg Ile Val	Thr Ile Ser Asp Pro	Asn Asn Ala Gly
1535	1540	1545
Cys Ser Ala Thr Met Val	Ala Val Pro Ala Gly	Ala Asp Pro Ser
1550	1555	1560
Thr Val Ala Lys Val Ala	Ile Glu Ser Ala Val	Gln Gln Lys Gln
1565	1570	1575
Gln His Pro Pro Thr Tyr	Val Gln Asn Val Val	Pro Gln Asn Thr
1580	1585	1590
Pro Met Pro Pro Ser Pro	Ala Val Gln Val Gln	Gly Gln Pro Asn
1595	1600	1605
Ser Ser Gln Pro Ser Pro	Phe Ser Gly Ser Ser	Gln Pro Gly Asp
1610	1615	1620
Pro Met Arg Lys Pro Gly	Gln Asn Phe Met Cys	Leu Trp Gln Ser
1625	1630	1635
Cys Lys Lys Trp Phe Gln	Thr Pro Ser Gln Val	Phe Tyr His Ala
1640	1645	1650
Ala Thr Glu His Gly Gly	Lys Asp Val Tyr Pro	Gly Gln Cys Leu
1655	1660	1665

Trp	Glu	Gly	Cys	Glu	Pro	Phe	Gln	Arg	Gln	Arg	Phe	Ser	Phe	Ile
1670														
1675														
1680														
Thr	His	Leu	Gln	Asp	Lys	His	Cys	Ser	Lys	Asp	Ala	Leu	Leu	Ala
1685														
1690														
1695														
Gly	Leu	Lys	Gln	Asp	Glu	Pro	Gly	Gln	Ala	Gly	Ser	Gln	Lys	Ser
1700														
1705														
1710														
Ser	Thr	Lys	Gln	Pro	Thr	Val	Gly	Gly	Thr	Ser	Ser	Thr	Pro	Arg
1715														
1720														
1725														
Ala	Gln	Lys	Ala	Ile	Val	Asn	His	Pro	Ser	Ala	Ala	Leu	Met	Ala
1730														
1735														
1740														
Leu	Arg	Arg	Gly	Ser	Arg	Asn	Leu	Val	Phe	Arg	Asp	Phe	Thr	Asp
1745														
1750														
1755														
Glu	Lys	Glu	Gly	Pro	Ile	Thr	Lys	His	Ile	Arg	Leu	Thr	Ala	Ala
1760														
1765														
1770														
Leu	Ile	Leu	Lys	Asn	Ile	Gly	Lys	Tyr	Ser	Glu	Cys	Gly	Arg	Arg
1775														
1780														
1785														
Leu	Leu	Lys	Arg	His	Glu	Asn	Asn	Leu	Ser	Val	Leu	Ala	Ile	Ser
1790														
1795														
1800														
Asn	Met	Glu	Ala	Ser	Ser	Thr	Leu	Ala	Lys	Cys	Leu	Tyr	Glu	Leu
1805														
1810														
1815														
Asn	Phe	Thr	Val	Gln	Ser	Lys	Glu	Gln	Glu	Lys	Asp	Ser	Glu	Met
1820														
1825														
1830														
Leu	Gln													
1835														
<210>	20													
<211>	1582													
<212>	PRT													
<213>	人(Homo sapiens)													
<400>	20													
Met	Gly	Ser	Lys	Arg	Arg	Arg	Ala	Thr	Ser	Pro	Ser	Ser	Ser	Val
1														
5														
10														
15														
Gly	Asp	Phe	Asp	Asp	Gly	His	His	Ser	Val	Ser	Thr	Pro	Gly	Pro
20														
25														
30														
Arg	Lys	Arg	Arg	Arg	Leu	Ser	Asn	Leu	Pro	Thr	Val	Asp	Pro	Ile
35														
40														
45														
Val	Cys	His	Glu	Leu	Tyr	Asn	Thr	Ile	Arg	Asp	Tyr	Lys	Asp	Glu
50														
55														
60														
Gly	Arg	Leu	Leu	Cys	Glu	Leu	Phe	Ile	Arg	Ala	Pro	Lys	Arg	Arg
65														
70														
75														
80														

Gln	Pro	Asp	Tyr	Tyr	Glu	Val	Val	Ser	Gln	Pro	Ile	Asp	Leu	Met	Lys		
85								90				95					
Ile	Gln	Gln	Lys	Leu	Lys	Met	Glu	Glu	Tyr	Asp	Asp	Val	Asn	Leu	Leu		
100								105				110					
Thr	Ala	Asp	Phe	Gln	Leu	Leu	Phe	Asn	Asn	Ala	Lys	Ser	Tyr	Tyr	Lys		
115								120				125					
Pro	Asp	Ser	Pro	Glu	Tyr	Lys	Ala	Ala	Cys	Lys	Leu	Trp	Asp	Leu	Tyr		
130								135				140					
Leu	Arg	Thr	Arg	Asn	Glu	Phe	Val	Gln	Lys	Gly	Glu	Ala	Asp	Asp	Glu		
145								150				155				160	
Asp	Asp	Asp	Glu	Asp	Gly	Gln	Asp	Asn	Gln	Gly	Thr	Val	Thr	Glu	Gly		
165								170				175					
Ser	Ser	Pro	Ala	Tyr	Leu	Lys	Glu	Ile	Leu	Glu	Gln	Leu	Leu	Glu	Ala		
180								185				190					
Ile	Val	Val	Ala	Thr	Asn	Pro	Ser	Gly	Arg	Leu	Ile	Ser	Glu	Leu	Phe		
195								200				205					
Gln	Lys	Leu	Pro	Ser	Lys	Val	Gln	Tyr	Pro	Asp	Tyr	Tyr	Ala	Ile	Ile		
210								215				220					
Lys	Glu	Pro	Ile	Asp	Leu	Lys	Thr	Ile	Ala	Gln	Arg	Ile	Gln	Asn	Gly		
225								230				235				240	
Ser	Tyr	Lys	Ser	Ile	His	Ala	Met	Ala	Lys	Asp	Ile	Asp	Leu	Leu	Ala		
245								250				255					
Lys	Asn	Ala	Lys	Thr	Tyr	Asn	Glu	Pro	Gly	Ser	Gln	Val	Phe	Lys	Asp		
260								265				270					
Ala	Asn	Ser	Ile	Lys	Lys	Ile	Phe	Tyr	Met	Lys	Lys	Ala	Glu	Ile	Glu		
275								280				285					
His	His	Glu	Met	Ala	Lys	Ser	Ser	Leu	Arg	Met	Arg	Thr	Pro	Ser	Asn		
290								295				300					
Leu	Ala	Ala	Ala	Arg	Leu	Thr	Gly	Pro	Ser	His	Ser	Lys	Gly	Ser	Leu		
305								310				315				320	
Gly	Glu	Glu	Arg	Asn	Pro	Thr	Ser	Lys	Tyr	Tyr	Arg	Asn	Lys	Arg	Ala		
325								330				335					
Val	Gln	Gly	Gly	Arg	Leu	Ser	Ala	Ile	Thr	Met	Ala	Leu	Gln	Tyr	Gly		
340								345				350					
Ser	Glu	Ser	Glu	Glu	Asp	Ala	Ala	Leu	Ala	Ala	Ala	Arg	Tyr	Glu	Glu		
355								360				365					
Gly	Glu	Ser	Glu	Ala	Glu	Ser	Ile	Thr	Ser	Phe	Met	Asp	Val	Ser	Asn		
370								375				380					
Pro	Phe	Tyr	Gln	Leu	Tyr	Asp	Thr	Val	Arg	Ser	Cys	Arg	Asn	Asn	Gln		

385	390	395	400
Gly Gln Leu Ile Ala Glu Pro Phe Tyr His Leu Pro Ser Lys Lys Lys			
	405	410	415
Tyr Pro Asp Tyr Tyr Gln Gln Ile Lys Met Pro Ile Ser Leu Gln Gln			
	420	425	430
Ile Arg Thr Lys Leu Lys Asn Gln Glu Tyr Glu Thr Leu Asp His Leu			
	435	440	445
Glu Cys Asp Leu Asn Leu Met Phe Glu Asn Ala Lys Arg Tyr Asn Val			
	450	455	460
Pro Asn Ser Ala Ile Tyr Lys Arg Val Leu Lys Leu Gln Gln Val Met			
465	470	475	480
Gln Ala Lys Lys Lys Glu Leu Ala Arg Arg Asp Asp Ile Glu Asp Gly			
	485	490	495
Asp Ser Met Ile Ser Ser Ala Thr Ser Asp Thr Gly Ser Ala Lys Arg			
	500	505	510
Lys Ser Lys Lys Asn Ile Arg Lys Gln Arg Met Lys Ile Leu Phe Asn			
	515	520	525
Val Val Leu Glu Ala Arg Glu Pro Gly Ser Gly Arg Arg Leu Cys Asp			
	530	535	540
Leu Phe Met Val Lys Pro Ser Lys Arg Asp Tyr Pro Asp Tyr Tyr Lys			
545	550	555	560
Ile Ile Leu Glu Pro Met Asp Leu Lys Ile Ile Glu His Asn Ile Arg			
	565	570	575
Asn Asp Lys Tyr Ala Gly Glu Glu Gly Met Ile Glu Asp Met Lys Leu			
	580	585	590
Met Phe Arg Asn Ala Arg His Tyr Asn Glu Glu Gly Ser Gln Val Tyr			
	595	600	605
Asn Asp Ala His Ile Leu Glu Lys Leu Leu Lys Glu Lys Arg Lys Glu			
	610	615	620
Leu Gly Pro Leu Pro Asp Asp Asp Asp Met Ala Ser Pro Lys Leu Lys			
625	630	635	640
Leu Ser Arg Lys Ser Gly Ile Ser Pro Lys Lys Ser Lys Tyr Met Thr			
	645	650	655
Pro Met Gln Gln Lys Leu Asn Glu Val Tyr Glu Ala Val Lys Asn Tyr			
	660	665	670
Thr Asp Lys Arg Gly Arg Arg Leu Ser Ala Ile Phe Leu Arg Leu Pro			
	675	680	685
Ser Arg Ser Glu Leu Pro Asp Tyr Tyr Leu Thr Ile Lys Lys Pro Met			
690	695	700	

Asp Met Glu Lys Ile Arg Ser His Met Met Ala Asn Lys Tyr Gln Asp			
705	710	715	720
Ile Asp Ser Met Val Glu Asp Phe Val Met Met Phe Asn Asn Ala Cys			
	725	730	735
Thr Tyr Asn Glu Pro Glu Ser Leu Ile Tyr Lys Asp Ala Leu Val Leu			
	740	745	750
His Lys Val Leu Leu Glu Thr Arg Arg Asp Leu Glu Gly Asp Glu Asp			
	755	760	765
Ser His Val Pro Asn Val Thr Leu Leu Ile Gln Glu Leu Ile His Asn			
	770	775	780
Leu Phe Val Ser Val Met Ser His Gln Asp Asp Glu Gly Arg Cys Tyr			
785	790	795	800
Ser Asp Ser Leu Ala Glu Ile Pro Ala Val Asp Pro Asn Phe Pro Asn			
	805	810	815
Lys Pro Pro Leu Thr Phe Asp Ile Ile Arg Lys Asn Val Glu Asn Asn			
	820	825	830
Arg Tyr Arg Arg Leu Asp Leu Phe Gln Glu His Met Phe Glu Val Leu			
	835	840	845
Glu Arg Ala Arg Arg Met Asn Arg Thr Asp Ser Glu Ile Tyr Glu Asp			
	850	855	860
Ala Val Glu Leu Gln Gln Phe Phe Ile Lys Ile Arg Asp Glu Leu Cys			
865	870	875	880
Lys Asn Gly Glu Ile Leu Leu Ser Pro Ala Leu Ser Tyr Thr Thr Lys			
	885	890	895
His Leu His Asn Asp Val Glu Lys Glu Arg Lys Glu Lys Leu Pro Lys			
	900	905	910
Glu Ile Glu Glu Asp Lys Leu Lys Arg Glu Glu Glu Lys Arg Glu Ala			
	915	920	925
Glu Lys Ser Glu Asp Ser Ser Gly Ala Ala Gly Leu Ser Gly Leu His			
	930	935	940
Arg Thr Tyr Ser Gln Asp Cys Ser Phe Lys Asn Ser Met Tyr His Val			
945	950	955	960
Gly Asp Tyr Val Tyr Val Glu Pro Ala Glu Ala Asn Leu Gln Pro His			
	965	970	975
Ile Val Cys Ile Glu Arg Leu Trp Glu Asp Ser Ala Glu Lys Glu Val			
	980	985	990
Phe Lys Ser Asp Tyr Tyr Asn Lys Val Pro Val Ser Lys Ile Leu Gly			
	995	1000	1005
Lys Cys Val Val Met Phe Val Lys Glu Tyr Phe Lys Leu Cys Pro			

1010	1015	1020
Glu Asn Phe Arg Asp Glu	Asp Val Phe Val Cys	Glu Ser Arg Tyr
1025	1030	1035
Ser Ala Lys Thr Lys Ser	Phe Lys Lys Ile Lys	Leu Trp Thr Met
1040	1045	1050
Pro Ile Ser Ser Val Arg	Phe Val Pro Arg Asp	Val Pro Leu Pro
1055	1060	1065
Val Val Arg Val Ala Ser	Val Phe Ala Asn Ala	Asp Lys Gly Asp
1070	1075	1080
Asp Glu Lys Asn Thr Asp	Asn Ser Glu Asp Ser	Arg Ala Glu Asp
1085	1090	1095
Asn Phe Asn Leu Glu Lys	Glu Lys Glu Asp Val	Pro Val Glu Met
1100	1105	1110
Ser Asn Gly Glu Pro Val	Cys His Tyr Phe Glu	Gln Leu His Tyr
1115	1120	1125
Asn Asp Met Trp Leu Lys	Val Gly Asp Cys Val	Phe Ile Lys Ser
1130	1135	1140
His Gly Leu Val Arg Pro	Arg Val Gly Arg Ile	Glu Lys Val Trp
1145	1150	1155
Val Arg Asp Gly Ala Ala	Tyr Phe Tyr Gly Pro	Ile Phe Ile His
1160	1165	1170
Pro Glu Glu Thr Glu His	Glu Pro Thr Lys Met	Phe Tyr Lys Lys
1175	1180	1185
Glu Val Phe Leu Ser Asn	Leu Glu Glu Thr Cys	Pro Met Thr Cys
1190	1195	1200
Ile Leu Gly Lys Cys Ala	Val Leu Ser Phe Lys	Asp Phe Leu Ser
1205	1210	1215
Cys Lys Pro Thr Glu Ile	Pro Glu Asn Asp Ile	Leu Leu Cys Glu
1220	1225	1230
Ser Arg Tyr Asn Glu Ser	Asp Lys Gln Met Lys	Lys Phe Lys Gly
1235	1240	1245
Leu Lys Arg Phe Ser Leu	Ser Ala Lys Val Val	Asp Asp Glu Ile
1250	1255	1260
Tyr Tyr Phe Arg Lys Pro	Ile Val Pro Gln Lys	Glu Pro Ser Pro
1265	1270	1275
Leu Leu Gly Lys Lys Ile	Gln Leu Leu Glu Ala	Lys Phe Ala Glu
1280	1285	1290
Leu Glu Gly Gly Asp Asp	Asp Ile Glu Glu Met	Gly Glu Glu Asp
1295	1300	1305

Ser Glu Ser Thr Pro Lys Ser Ala Lys Gly Ser Ala Lys Lys Glu		
1310	1315	1320
Gly Ser Lys Arg Lys Ile Asn Met Ser Gly Tyr Ile Leu Phe Ser		
1325	1330	1335
Ser Glu Met Arg Ala Val Ile Lys Ala Gln His Pro Asp Tyr Ser		
1340	1345	1350
Phe Gly Glu Leu Ser Arg Leu Val Gly Thr Glu Trp Arg Asn Leu		
1355	1360	1365
Glu Thr Ala Lys Lys Ala Glu Tyr Glu Gly Met Met Gly Gly Tyr		
1370	1375	1380
Pro Pro Gly Leu Pro Pro Leu Gln Gly Pro Val Asp Gly Leu Val		
1385	1390	1395
Ser Met Gly Ser Met Gln Pro Leu His Pro Gly Gly Pro Pro Pro		
1400	1405	1410
His His Leu Pro Pro Gly Val Pro Gly Leu Pro Gly Ile Pro Pro		
1415	1420	1425
Pro Gly Val Met Asn Gln Gly Val Ala Pro Met Val Gly Thr Pro		
1430	1435	1440
Ala Pro Gly Gly Ser Pro Tyr Gly Gln Gln Val Gly Val Leu Gly		
1445	1450	1455
Pro Pro Arg Gln Gln Ala Pro Pro Pro Tyr Pro Gly Pro His Pro		
1460	1465	1470
Ala Gly Pro Pro Val Ile Gln Gln Pro Thr Thr Pro Met Phe Val		
1475	1480	1485
Ala Pro Pro Pro Lys Thr Gln Arg Leu Leu His Ser Glu Ala Tyr		
1490	1495	1500
Leu Lys Tyr Ile Glu Gly Leu Ser Ala Glu Ser Asn Ser Ile Ser		
1505	1510	1515
Lys Trp Asp Gln Thr Leu Ala Ala Arg Arg Arg Asp Val His Leu		
1520	1525	1530
Ser Lys Glu Gln Glu Ser Arg Leu Pro Ser His Trp Leu Lys Ser		
1535	1540	1545
Lys Gly Ala His Thr Thr Met Ala Asp Ala Leu Trp Arg Leu Arg		
1550	1555	1560
Asp Leu Met Leu Arg Asp Thr Leu Asn Ile Arg Gln Ala Tyr Asn		
1565	1570	1575
Leu Glu Asn Val		
1580		
<210> 21		

<211> 746

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 21

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

275	280	285
Cys Phe Lys Tyr Asp Cys Phe Leu His Pro Phe His Ala Thr Pro Asn		
290	295	300
Thr Tyr Lys Arg Lys Asn Thr Glu Thr Ala Leu Asp Asn Lys Pro Cys		
305	310	315
Gly Pro Gln Cys Tyr Gln His Leu Glu Gly Ala Lys Glu Phe Ala Ala		
325	330	335
Ala Leu Thr Ala Glu Arg Ile Lys Thr Pro Pro Lys Arg Pro Gly Gly		
340	345	350
Arg Arg Arg Gly Arg Leu Pro Asn Asn Ser Ser Arg Pro Ser Thr Pro		
355	360	365
Thr Ile Asn Val Leu Glu Ser Lys Asp Thr Asp Ser Asp Arg Glu Ala		
370	375	380
Gly Thr Glu Thr Gly Gly Glu Asn Asn Asp Lys Glu Glu Glu Glu Lys		
385	390	395
Lys Asp Glu Thr Ser Ser Ser Ser Glu Ala Asn Ser Arg Cys Gln Thr		
405	410	415
Pro Ile Lys Met Lys Pro Asn Ile Glu Pro Pro Glu Asn Val Glu Trp		
420	425	430
Ser Gly Ala Glu Ala Ser Met Phe Arg Val Leu Ile Gly Thr Tyr Tyr		
435	440	445
Asp Asn Phe Cys Ala Ile Ala Arg Leu Ile Gly Thr Lys Thr Cys Arg		
450	455	460
Gln Val Tyr Glu Phe Arg Val Lys Glu Ser Ser Ile Ile Ala Pro Ala		
465	470	475
Pro Ala Glu Asp Val Asp Thr Pro Pro Arg Lys Lys Lys Arg Lys His		
485	490	495
Arg Leu Trp Ala Ala His Cys Arg Lys Ile Gln Leu Lys Lys Asp Gly		
500	505	510
Ser Ser Asn His Val Tyr Asn Tyr Gln Pro Cys Asp His Pro Arg Gln		
515	520	525
Pro Cys Asp Ser Ser Cys Pro Cys Val Ile Ala Gln Asn Phe Cys Glu		
530	535	540
Lys Phe Cys Gln Cys Ser Ser Glu Cys Gln Asn Arg Phe Pro Gly Cys		
545	550	555
Arg Cys Lys Ala Gln Cys Asn Thr Lys Gln Cys Pro Cys Tyr Leu Ala		
565	570	575
Val Arg Glu Cys Asp Pro Asp Leu Cys Leu Thr Cys Gly Ala Ala Asp		
580	585	590

His Trp Asp Ser Lys Asn Val Ser Cys Lys Asn Cys Ser Ile Gln Arg		
595	600	605
Gly Ser Lys Lys His Leu Leu Leu Ala Pro Ser Asp Val Ala Gly Trp		
610	615	620
Gly Ile Phe Ile Lys Asp Pro Val Gln Lys Asn Glu Phe Ile Ser Glu		
625	630	635
Tyr Cys Gly Glu Ile Ile Ser Gln Asp Glu Ala Asp Arg Arg Gly Lys		
	645	650
Val Tyr Asp Lys Tyr Met Cys Ser Phe Leu Phe Asn Leu Asn Asn Asp		
	660	665
Phe Val Val Asp Ala Thr Arg Lys Gly Asn Lys Ile Arg Phe Ala Asn		
	675	680
His Ser Val Asn Pro Asn Cys Tyr Ala Lys Val Met Met Val Asn Gly		
	690	695
Asp His Arg Ile Gly Ile Phe Ala Lys Arg Ala Ile Gln Thr Gly Glu		
705	710	715
Glu Leu Phe Val Asp Tyr Arg Tyr Ser Gln Ala Asp Ala Leu Lys Tyr		
	725	730
Val Gly Ile Glu Arg Glu Met Glu Ile Pro		
	740	745

<210> 22

<211> 739

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 22

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

Arg Thr Leu Thr Tyr Met Ser His Arg Asn Ser Arg Thr Asn Ile Lys		
115	120	125
Arg Lys Thr Phe Lys Val Asp Asp Met Leu Ser Lys Val Glu Lys Met		
130	135	140
Lys Gly Glu Gln Glu Ser His Ser Leu Ser Ala His Leu Gln Leu Thr		
145	150	155
Phe Thr Gly Phe Phe His Lys Asn Asp Lys Pro Ser Pro Asn Ser Glu		
165	170	175
Asn Glu Gln Asn Ser Val Thr Leu Glu Val Leu Leu Val Lys Val Cys		
180	185	190
His Lys Lys Arg Lys Asp Val Ser Cys Pro Ile Arg Gln Val Pro Thr		
195	200	205
Gly Lys Lys Gln Val Pro Leu Asn Pro Asp Leu Asn Gln Thr Lys Pro		
210	215	220
Gly Asn Phe Pro Ser Leu Ala Val Ser Ser Asn Glu Phe Glu Pro Ser		
225	230	235
Asn Ser His Met Val Lys Ser Tyr Ser Leu Leu Phe Arg Val Thr Arg		
245	250	255
Pro Gly Arg Arg Glu Phe Asn Gly Met Ile Asn Gly Glu Thr Asn Glu		
260	265	270
Asn Ile Asp Val Asn Glu Glu Leu Pro Ala Arg Arg Lys Arg Asn Arg		
275	280	285
Glu Asp Gly Glu Lys Thr Phe Val Ala Gln Met Thr Val Phe Asp Lys		
290	295	300
Asn Arg Arg Leu Gln Leu Leu Asp Gly Glu Tyr Glu Val Ala Met Gln		
305	310	315
Glu Met Glu Glu Cys Pro Ile Ser Lys Lys Arg Ala Thr Trp Glu Thr		
325	330	335
Ile Leu Asp Gly Lys Arg Leu Pro Pro Phe Glu Thr Phe Ser Gln Gly		
340	345	350
Pro Thr Leu Gln Phe Thr Leu Arg Trp Thr Gly Glu Thr Asn Asp Lys		
355	360	365
Ser Thr Ala Pro Ile Ala Lys Pro Leu Ala Thr Arg Asn Ser Glu Ser		
370	375	380
Leu His Gln Glu Asn Lys Pro Gly Ser Val Lys Pro Thr Gln Thr Ile		
385	390	395
Ala Val Lys Glu Ser Leu Thr Thr Asp Leu Gln Thr Arg Lys Glu Lys		
405	410	415
Asp Thr Pro Asn Glu Asn Arg Gln Lys Leu Arg Ile Phe Tyr Gln Phe		

420	425	430
Leu Tyr Asn Asn Asn Thr Arg Gln Gln Thr Glu Ala Arg Asp Asp Leu		
435	440	445
His Cys Pro Trp Cys Thr Leu Asn Cys Arg Lys Leu Tyr Ser Leu Leu		
450	455	460
Lys His Leu Lys Leu Cys His Ser Arg Phe Ile Phe Asn Tyr Val Tyr		
465	470	475
His Pro Lys Gly Ala Arg Ile Asp Val Ser Ile Asn Glu Cys Tyr Asp		480
485	490	495
Gly Ser Tyr Ala Gly Asn Pro Gln Asp Ile His Arg Gln Pro Gly Phe		
500	505	510
Ala Phe Ser Arg Asn Gly Pro Val Lys Arg Thr Pro Ile Thr His Ile		
515	520	525
Leu Val Cys Arg Pro Lys Arg Thr Lys Ala Ser Met Ser Glu Phe Leu		
530	535	540
Glu Ser Glu Asp Gly Glu Val Glu Gln Gln Arg Thr Tyr Ser Ser Gly		
545	550	555
His Asn Arg Leu Tyr Phe His Ser Asp Thr Cys Leu Pro Leu Arg Pro		
565	570	575
Gln Glu Met Glu Val Asp Ser Glu Asp Glu Lys Asp Pro Glu Trp Leu		
580	585	590
Arg Glu Lys Thr Ile Thr Gln Ile Glu Glu Phe Ser Asp Val Asn Glu		
595	600	605
Gly Glu Lys Glu Val Met Lys Leu Trp Asn Leu His Val Met Lys His		
610	615	620
Gly Phe Ile Ala Asp Asn Gln Met Asn His Ala Cys Met Leu Phe Val		
625	630	635
Glu Asn Tyr Gly Gln Lys Ile Ile Lys Lys Asn Leu Cys Arg Asn Phe		
645	650	655
Met Leu His Leu Val Ser Met His Asp Phe Asn Leu Ile Ser Ile Met		
660	665	670
Ser Ile Asp Lys Ala Val Thr Lys Leu Arg Glu Met Gln Gln Lys Leu		
675	680	685
Glu Lys Gly Glu Ser Ala Ser Pro Ala Asn Glu Glu Ile Thr Glu Glu		
690	695	700
Gln Asn Gly Thr Ala Asn Gly Phe Ser Glu Ile Asn Ser Lys Glu Lys		
705	710	715
Ala Leu Glu Thr Asp Ser Val Ser Gly Val Ser Lys Gln Ser Lys Lys		
725	730	735

Gln Lys Leu
 <210> 23
 <211> 441
 <212> PRT
 <213> 人(Homo sapiens)
 <400> 23
 Met Ser Glu Arg Glu Val Ser Thr Ala Pro Ala Gly Thr Asp Met Pro
 1 5 10 15
 Ala Ala Lys Lys Gln Lys Leu Ser Ser Asp Glu Asn Ser Asn Pro Asp
 20 25 30
 Leu Ser Gly Asp Glu Asn Asp Asp Ala Val Ser Ile Glu Ser Gly Thr
 35 40 45
 Asn Thr Glu Arg Pro Asp Thr Pro Thr Asn Thr Pro Asn Ala Pro Gly
 50 55 60
 Arg Lys Ser Trp Gly Lys Gly Lys Trp Lys Ser Lys Lys Cys Lys Tyr
 65 70 75 80
 Ser Phe Lys Cys Val Asn Ser Leu Lys Glu Asp His Asn Gln Pro Leu
 85 90 95
 Phe Gly Val Gln Phe Asn Trp His Ser Lys Glu Gly Asp Pro Leu Val
 100 105 110
 Phe Ala Thr Val Gly Ser Asn Arg Val Thr Leu Tyr Glu Cys His Ser
 115 120 125
 Gln Gly Glu Ile Arg Leu Leu Gln Ser Tyr Val Asp Ala Asp Ala Asp
 130 135 140
 Glu Asn Phe Tyr Thr Cys Ala Trp Thr Tyr Asp Ser Asn Thr Ser His
 145 150 155 160
 Pro Leu Leu Ala Val Ala Gly Ser Arg Gly Ile Ile Arg Ile Ile Asn
 165 170 175
 Pro Ile Thr Met Gln Cys Ile Lys His Tyr Val Gly His Gly Asn Ala
 180 185 190
 Ile Asn Glu Leu Lys Phe His Pro Arg Asp Pro Asn Leu Leu Leu Ser
 195 200 205
 Val Ser Lys Asp His Ala Leu Arg Leu Trp Asn Ile Gln Thr Asp Thr
 210 215 220
 Leu Val Ala Ile Phe Gly Gly Val Glu Gly His Arg Asp Glu Val Leu
 225 230 235 240
 Ser Ala Asp Tyr Asp Leu Leu Gly Glu Lys Ile Met Ser Cys Gly Met
 245 250 255
 Asp His Ser Leu Lys Leu Trp Arg Ile Asn Ser Lys Arg Met Met Asn

260	265	270
Ala Ile Lys Glu Ser Tyr Asp Tyr Asn Pro Asn Lys Thr Asn Arg Pro		
275	280	285
Phe Ile Ser Gln Lys Ile His Phe Pro Asp Phe Ser Thr Arg Asp Ile		
290	295	300
His Arg Asn Tyr Val Asp Cys Val Arg Trp Leu Gly Asp Leu Ile Leu		
305	310	315
Ser Lys Ser Cys Glu Asn Ala Ile Val Cys Trp Lys Pro Gly Lys Met		
325	330	335
Glu Asp Asp Ile Asp Lys Ile Lys Pro Ser Glu Ser Asn Val Thr Ile		
340	345	350
Leu Gly Arg Phe Asp Tyr Ser Gln Cys Asp Ile Trp Tyr Met Arg Phe		
355	360	365
Ser Met Asp Phe Trp Gln Lys Met Leu Ala Leu Gly Asn Gln Val Gly		
370	375	380
Lys Leu Tyr Val Trp Asp Leu Glu Val Glu Asp Pro His Lys Ala Lys		
385	390	395
Cys Thr Thr Leu Thr His His Lys Cys Gly Ala Ala Ile Arg Gln Thr		
405	410	415
Ser Phe Ser Arg Asp Ser Ser Ile Leu Ile Ala Val Cys Asp Asp Ala		
420	425	430
Ser Ile Trp Arg Trp Asp Arg Leu Arg		
435	440	

<210> 24

<211> 1266

<212> PRT

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 24

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

				85					90					95			
Ser	Ser	Asp	Phe	Glu	Glu	Gly	Pro	Ser	Arg	Lys	Arg	Pro	Arg	Leu	Gln		
				100					105					110			
Ala	Gln	Arg	Lys	Phe	Ala	Gln	Ser	Gln	Pro	Asn	Ser	Pro	Ser	Thr	Thr		
				115					120					125			
Pro	Val	Lys	Ile	Val	Glu	Pro	Leu	Leu	Pro	Pro	Pro	Ala	Thr	Gln	Ile		
				130					135					140			
Ser	Asp	Leu	Ser	Lys	Arg	Lys	Pro	Lys	Thr	Glu	Asp	Phe	Leu	Thr	Phe		
145							150				155				160		
Leu	Cys	Leu	Arg	Gly	Ser	Pro	Ala	Leu	Pro	Asn	Ser	Met	Val	Tyr	Phe		
				165						170				175			
Gly	Ser	Ser	Gln	Asp	Glu	Glu	Glu	Val	Glu	Glu	Glu	Asp	Asp	Glu	Thr		
				180					185					190			
Glu	Asp	Val	Lys	Thr	Ala	Thr	Asn	Asn	Ala	Ser	Ser	Ser	Cys	Gln	Ser		
				195					200					205			
Thr	Pro	Arg	Lys	Gly	Lys	Thr	His	Lys	His	Val	His	Asn	Gly	His	Val		
				210					215					220			
Phe	Asn	Gly	Ser	Ser	Arg	Ser	Thr	Arg	Glu	Lys	Glu	Pro	Val	Gln	Lys		
225							230				235				240		
His	Lys	Ser	Lys	Glu	Ala	Thr	Pro	Ala	Lys	Glu	Lys	His	Ser	Asp	His		
				245						250				255			
Arg	Ala	Asp	Ser	Arg	Arg	Glu	Gln	Ala	Ser	Ala	Asn	His	Pro	Ala	Ala		
				260						265				270			
Ala	Pro	Ser	Thr	Gly	Ser	Ser	Ala	Lys	Gly	Leu	Ala	Ala	Thr	His	His		
				275					280					285			
His	Pro	Pro	Leu	His	Arg	Ser	Ala	Gln	Asp	Leu	Arg	Lys	Gln	Val	Ser		
				290					295					300			
Lys	Val	Asn	Gly	Val	Thr	Arg	Met	Ser	Ser	Leu	Gly	Ala	Gly	Val	Thr		
305							310				315				320		
Ser	Ala	Lys	Lys	Met	Arg	Glu	Val	Arg	Pro	Ser	Pro	Ser	Lys	Thr	Val		
				325						330				335			
Lys	Tyr	Thr	Ala	Thr	Val	Thr	Lys	Gly	Ala	Val	Thr	Tyr	Thr	Lys	Ala		
				340					345					350			
Lys	Arg	Glu	Leu	Val	Lys	Asp	Thr	Lys	Pro	Asn	His	His	Lys	Pro	Ser		
				355					360					365			
Ser	Ala	Val	Asn	His	Thr	Ile	Ser	Gly	Lys	Thr	Glu	Ser	Ser	Asn	Ala		
				370					375					380			
Lys	Thr	Arg	Lys	Gln	Val	Leu	Ser	Leu	Gly	Gly	Ala	Ser	Lys	Ser	Thr		
385						390				395					400		

Gly Pro Ala Val Asn Gly Leu Lys Val Ser Gly Arg Leu Asn Pro Lys		
405	410	415
Ser Cys Thr Lys Glu Val Gly Gly Arg Gln Leu Arg Glu Gly Leu Gln		
420	425	430
Leu Arg Glu Gly Leu Arg Asn Ser Lys Arg Arg Leu Glu Glu Ala His		
435	440	445
Gln Ala Glu Lys Pro Gln Ser Pro Pro Lys Lys Met Lys Gly Ala Ala		
450	455	460
Gly Pro Ala Glu Gly Pro Gly Lys Lys Ala Pro Ala Glu Arg Gly Leu		
465	470	475
Leu Asn Gly His Val Lys Lys Glu Val Pro Glu Arg Ser Leu Glu Arg		
485	490	495
Asn Arg Pro Lys Arg Ala Thr Ala Gly Lys Ser Thr Pro Gly Arg Gln		
500	505	510
Ala His Gly Lys Ala Asp Ser Ala Ser Cys Glu Asn Arg Ser Thr Ser		
515	520	525
Gln Pro Glu Ser Val His Lys Pro Gln Asp Ser Gly Lys Ala Glu Lys		
530	535	540
Gly Gly Gly Lys Ala Gly Trp Ala Ala Met Asp Glu Ile Pro Val Leu		
545	550	555
Arg Pro Ser Ala Lys Glu Phe His Asp Pro Leu Ile Tyr Ile Glu Ser		
565	570	575
Val Arg Ala Gln Val Glu Lys Phe Gly Met Cys Arg Val Ile Pro Pro		
580	585	590
Pro Asp Trp Arg Pro Glu Cys Lys Leu Asn Asp Glu Met Arg Phe Val		
595	600	605
Thr Gln Ile Gln His Ile His Lys Leu Gly Arg Arg Trp Gly Pro Asn		
610	615	620
Val Gln Arg Leu Ala Cys Ile Lys Lys His Leu Lys Ser Gln Gly Ile		
625	630	635
Thr Met Asp Glu Leu Pro Leu Ile Gly Gly Cys Glu Leu Asp Leu Ala		
645	650	655
Cys Phe Phe Arg Leu Ile Asn Glu Met Gly Gly Met Gln Gln Val Thr		
660	665	670
Glu Leu Lys Lys Trp Asn Lys Leu Ser Asp Met Leu Arg Ile Pro Lys		
675	680	685
Thr Ala Gln Glu Arg Leu Ala Lys Leu Gln Glu Ala Tyr Cys Gln Tyr		
690	695	700
Ile Leu Ser Tyr Asp Ser Leu Ser Pro Glu Glu His Arg Arg Leu Glu		

705	710	715	720
Lys Glu Val Leu Met Glu Lys Glu Ile Leu Glu Lys Arg Lys Gly Pro			
	725	730	735
Leu Glu Gly His Thr Glu Asn Asp His His Lys Phe His Pro Leu Pro			
	740	745	750
Arg Leu Glu Pro Lys Asn Gly Leu Ile His Gly Val Ala Pro Arg Asn			
	755	760	765
Gly Phe Arg Ser Lys Leu Lys Glu Val Gly Gln Ala Gln Leu Lys Thr			
	770	775	780
Gly Arg Arg Arg Leu Phe Ala Gln Glu Lys Glu Val Val Lys Glu Glu			
785	790	795	800
Glu Glu Asp Lys Gly Val Leu Asn Asp Phe His Lys Cys Ile Tyr Lys			
	805	810	815
Gly Arg Ser Val Ser Leu Thr Thr Phe Tyr Arg Thr Ala Arg Asn Ile			
	820	825	830
Met Ser Met Cys Phe Ser Lys Glu Pro Ala Pro Ala Glu Ile Glu Gln			
	835	840	845
Glu Tyr Trp Arg Leu Val Glu Glu Lys Asp Cys His Val Ala Val His			
	850	855	860
Cys Gly Lys Val Asp Thr Asn Thr His Gly Ser Gly Phe Pro Val Gly			
865	870	875	880
Lys Ser Glu Pro Phe Ser Arg His Gly Trp Asn Leu Thr Val Leu Pro			
	885	890	895
Asn Asn Thr Gly Ser Ile Leu Arg His Leu Gly Ala Val Pro Gly Val			
	900	905	910
Thr Ile Pro Trp Leu Asn Ile Gly Met Val Phe Ser Thr Ser Cys Trp			
	915	920	925
Ser Arg Asp Gln Asn His Leu Pro Tyr Ile Asp Tyr Leu His Thr Gly			
	930	935	940
Ala Asp Cys Ile Trp Tyr Cys Ile Pro Ala Glu Glu Glu Asn Lys Leu			
945	950	955	960
Glu Asp Val Val His Thr Leu Leu Gln Ala Asn Gly Thr Pro Gly Leu			
	965	970	975
Gln Met Leu Glu Ser Asn Val Met Ile Ser Pro Glu Val Leu Cys Lys			
	980	985	990
Glu Gly Ile Lys Val His Arg Thr Val Gln Gln Ser Gly Gln Phe Val			
	995	1000	1005
Val Cys Phe Pro Gly Ser Phe Val Ser Lys Val Cys Cys Gly Tyr			
	1010	1015	1020

Ser Val Ser Glu Thr Val His Phe Ala Thr Thr Gln Trp Thr Ser		
1025	1030	1035
Met Gly Phe Glu Thr Ala Lys Glu Met Lys Arg Arg His Ile Ala		
1040	1045	1050
Lys Pro Phe Ser Met Glu Lys Leu Leu Tyr Gln Ile Ala Gln Ala		
1055	1060	1065
Glu Ala Lys Lys Glu Asn Gly Pro Thr Leu Ser Thr Ile Ser Ala		
1070	1075	1080
Leu Leu Asp Glu Leu Arg Asp Thr Glu Leu Arg Gln Arg Arg Gln		
1085	1090	1095
Leu Phe Glu Ala Gly Leu His Ser Ser Ala Arg Tyr Gly Ser His		
1100	1105	1110
Asp Gly Ser Ser Thr Val Ala Asp Gly Lys Lys Lys Pro Arg Lys		
1115	1120	1125
Trp Leu Gln Leu Glu Thr Ser Glu Arg Arg Cys Gln Ile Cys Gln		
1130	1135	1140
His Leu Cys Tyr Leu Ser Met Val Val Gln Glu Asn Glu Asn Val		
1145	1150	1155
Val Phe Cys Leu Glu Cys Ala Leu Arg His Val Glu Lys Gln Lys		
1160	1165	1170
Ser Cys Arg Gly Leu Lys Leu Met Tyr Arg Tyr Asp Glu Glu Gln		
1175	1180	1185
Ile Ile Ser Leu Val Asn Gln Ile Cys Gly Lys Val Ser Gly Lys		
1190	1195	1200
Asn Gly Ser Ile Glu Asn Cys Leu His Lys Pro Thr Pro Lys Arg		
1205	1210	1215
Gly Pro Arg Lys Arg Ala Thr Val Asp Val Pro Pro Ser Arg Ala		
1220	1225	1230
Val Ser Leu Gln Phe Ile Gln Lys Cys Phe Glu Leu His His Glu		
1235	1240	1245
Asp Ala Gln Arg Pro Trp Ser Ile Tyr Ile Tyr Phe Phe Val Ile		
1250	1255	1260
Ile Ile Phe		
1265		
<210> 25		
<211> 23		
<212> RNA		
<213> 人(Homo sapiens)		
<400> 25		

aagacccac caaacgucc agg 23

<210> 26

<211> 23

<212> RNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 26

uggggucuuu auccgcucag cgg 23

<210> 27

<211> 20

<212> DNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 27

gtaggcaggc ctttaggcaa 20

<210> 28

<211> 20

<212> DNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 28

gccggacatc ccgaacttta 20

<210> 29

<211> 21

<212> DNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 29

aaccacgtga ggcattccagg c 21

<210> 30

<211> 21

<212> DNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 30

tcgtcgagca atcatttggt t 21

<210> 31

<211> 21

<212> DNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 31

ttcgattcca cagtgtcct g 21

<210> 32

<211> 21

<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)
<400> 32
ttgtaggtcg ggctgtagcc a 21
<210> 33
<211> 21
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)
<400> 33
tagttgacca gctcatccga c 21
<210> 34
<211> 20
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)
<400> 34
gccggcgcca ttctatccgc 20
<210> 35
<211> 20
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)
<400> 35
ggcatgag aatctcacgc 20
<210> 36
<211> 20
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)
<400> 36
aagacccac caaacgtcc 20
<210> 37
<211> 20
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)
<400> 37
tggggtcttt atccgctcag 20
<210> 38
<211> 19
<212> DNA
<213> 人(Homo sapiens)
<400> 38

gacagctcta ctgtatgcg 19

<210> 39

<211> 19

<212> DNA

<213> 人(Homo sapiens)

<400> 39

ctctcaccaa gacgccgag 19

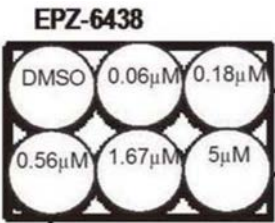


图1A

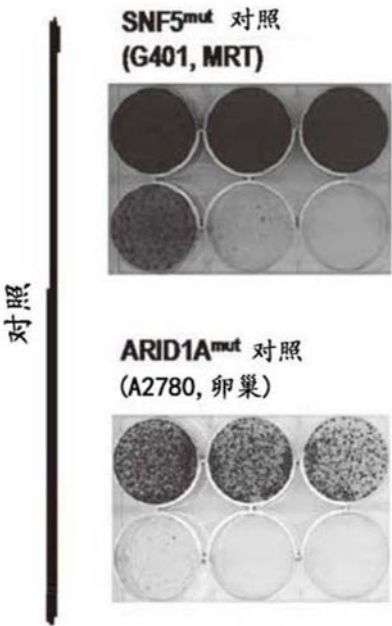


图1B

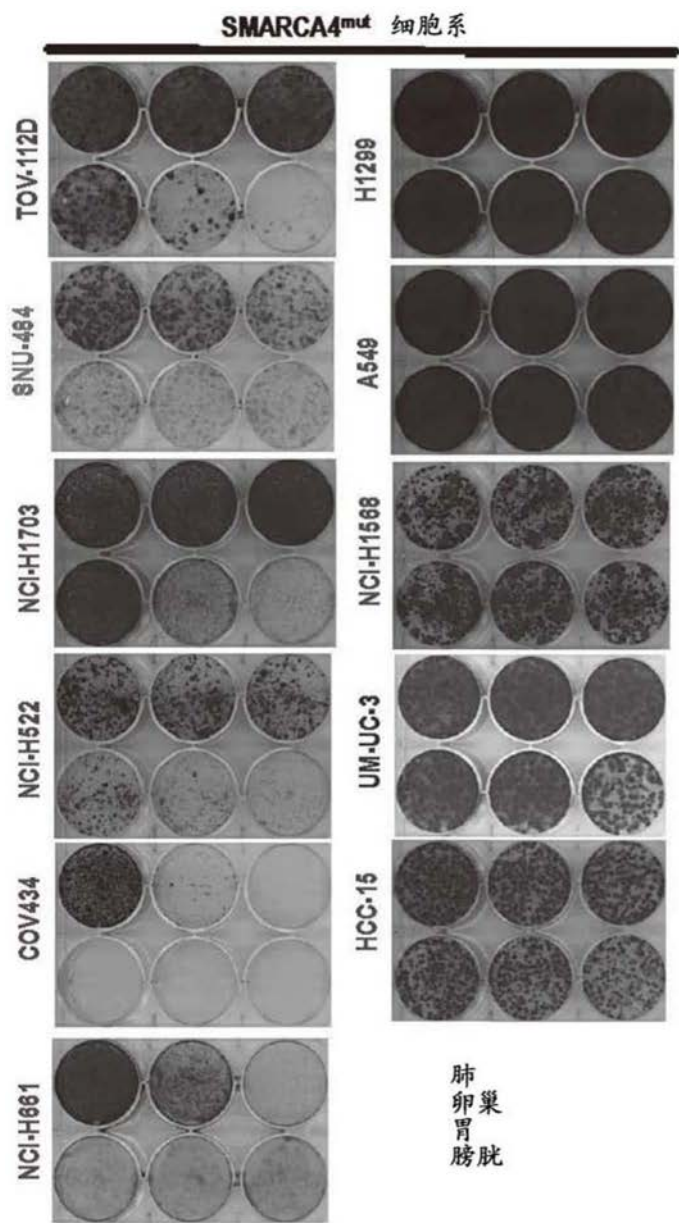


图1C

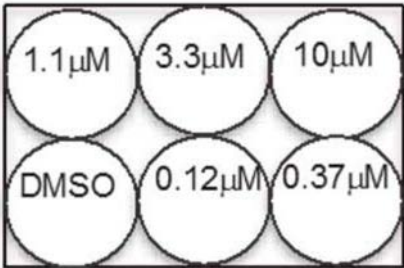


图2A

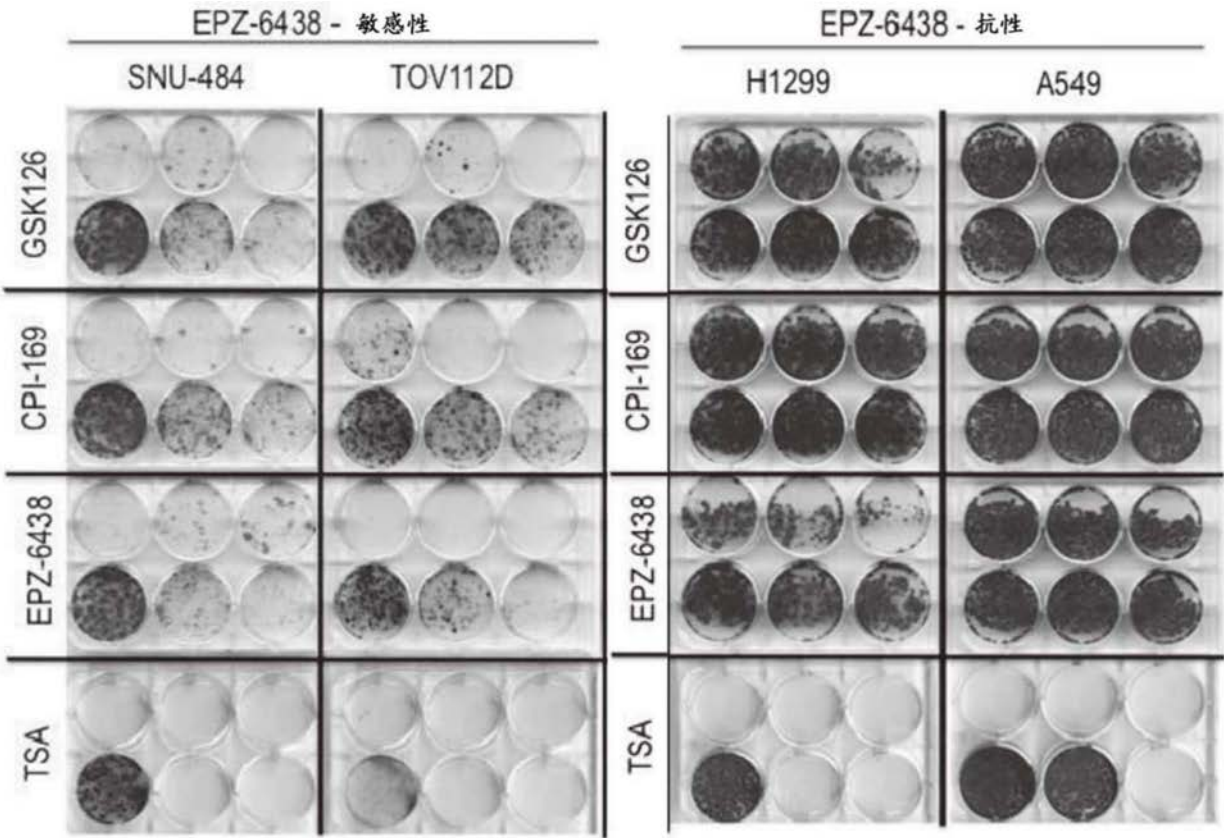


图 2B

图 2C

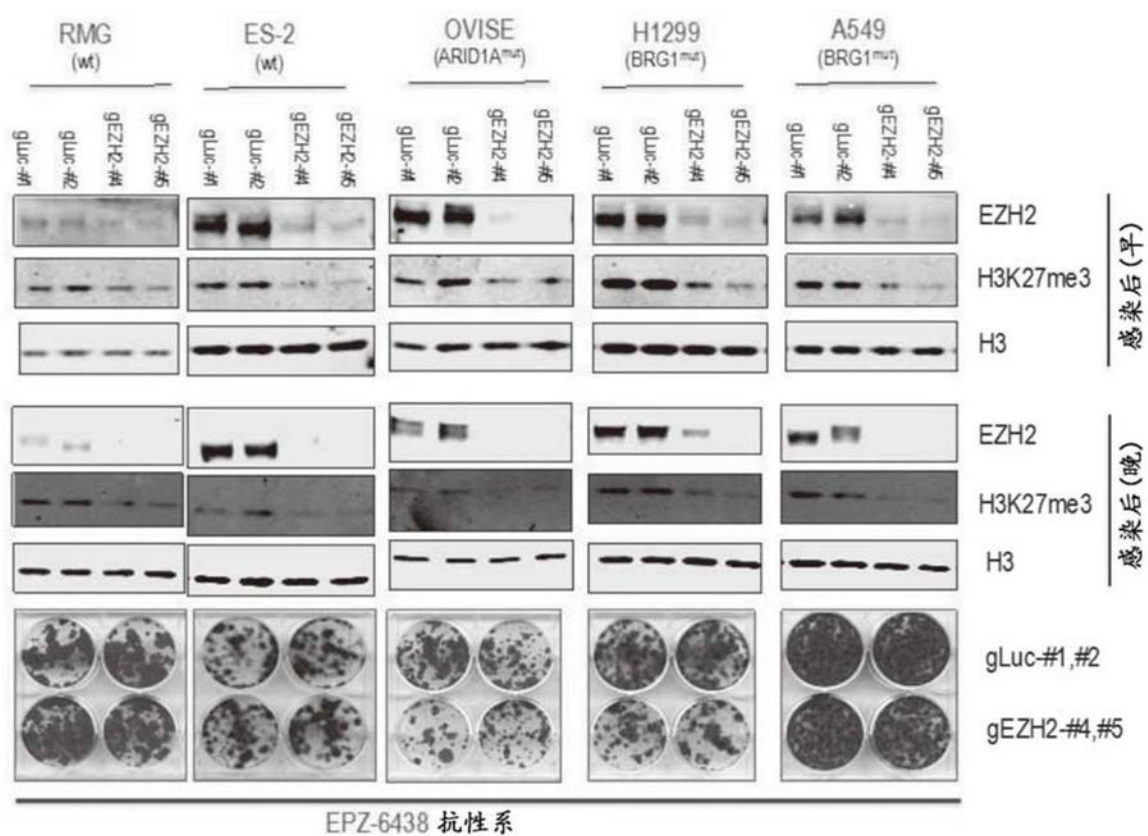


图3A

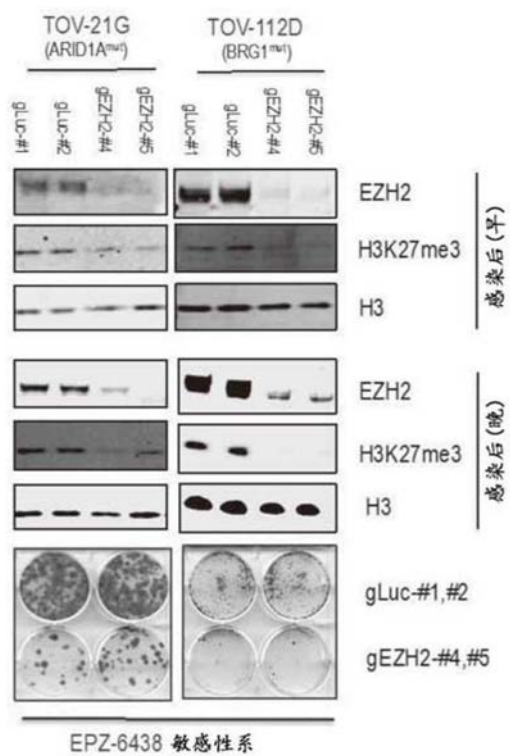


图3B

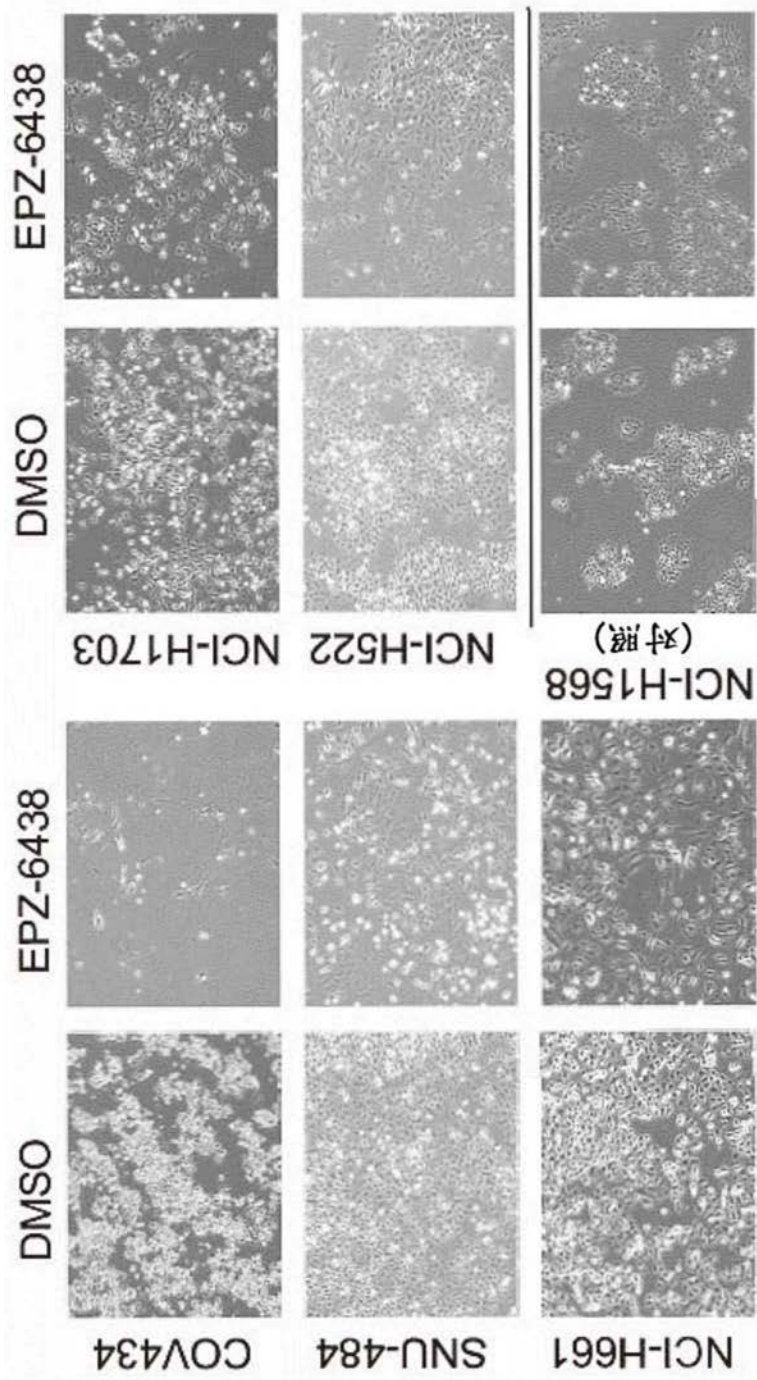


图4A

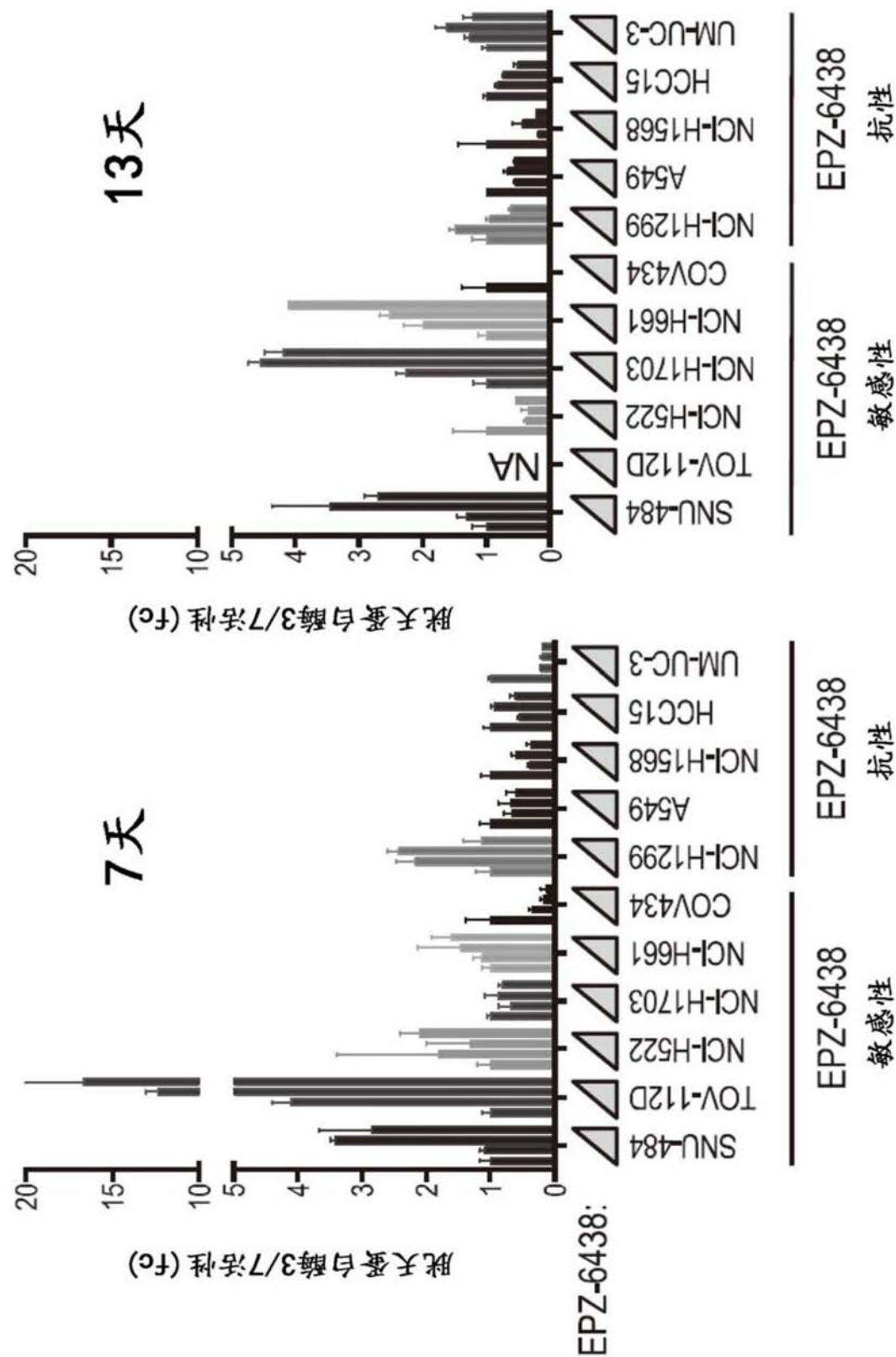


图4B

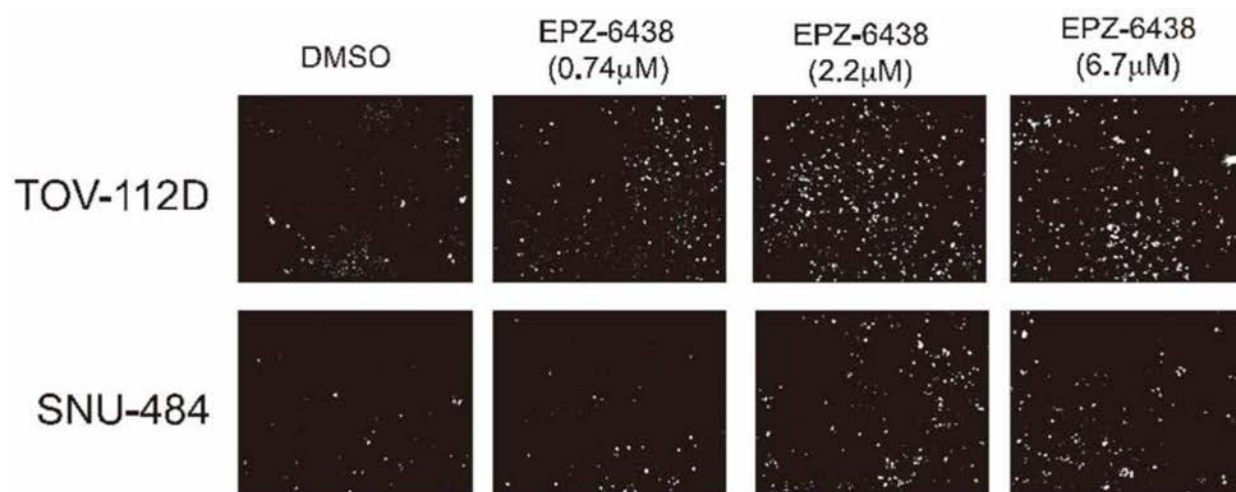


图4C

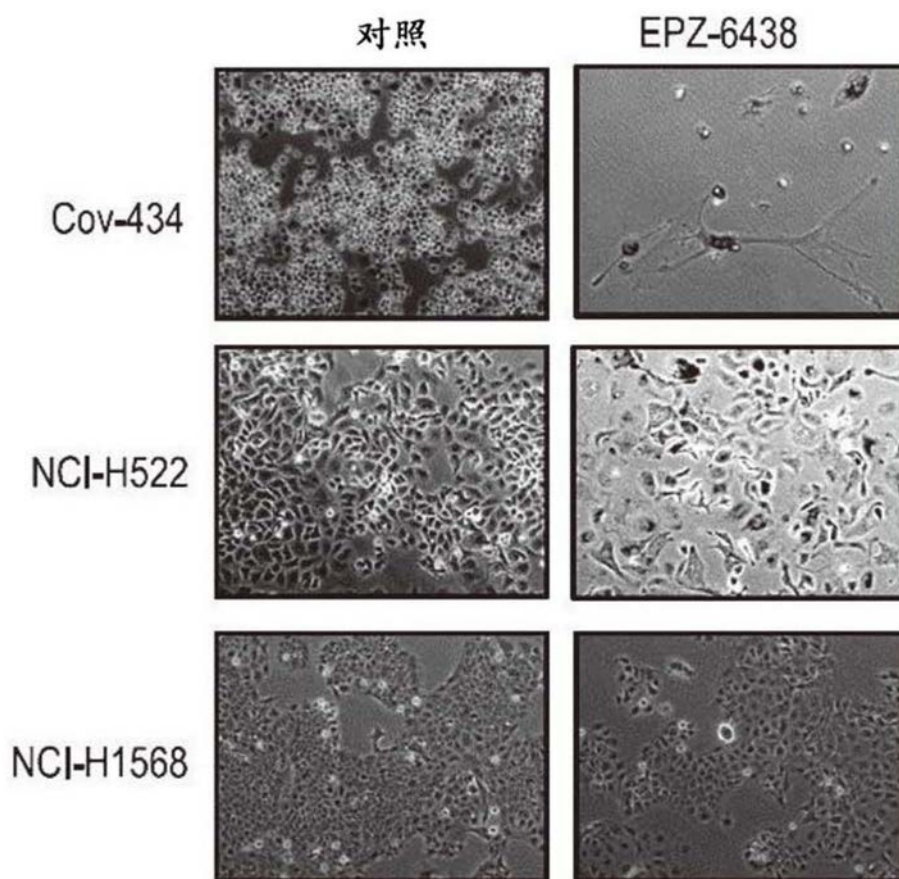


图4D

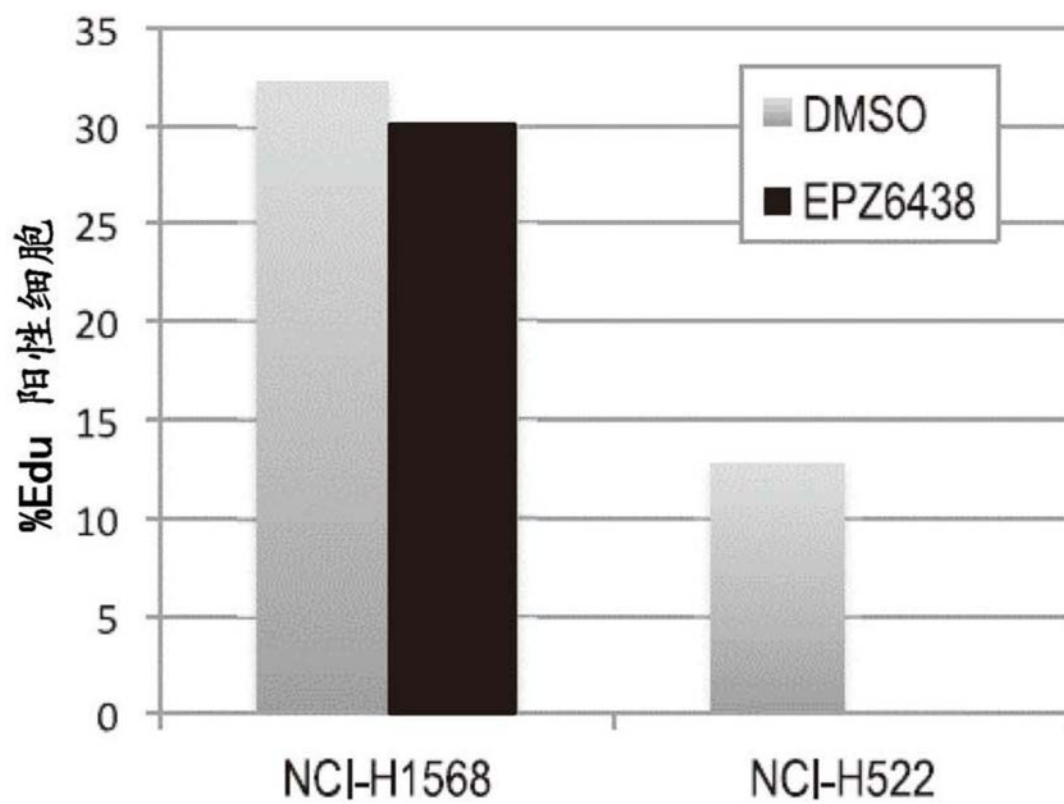


图4E

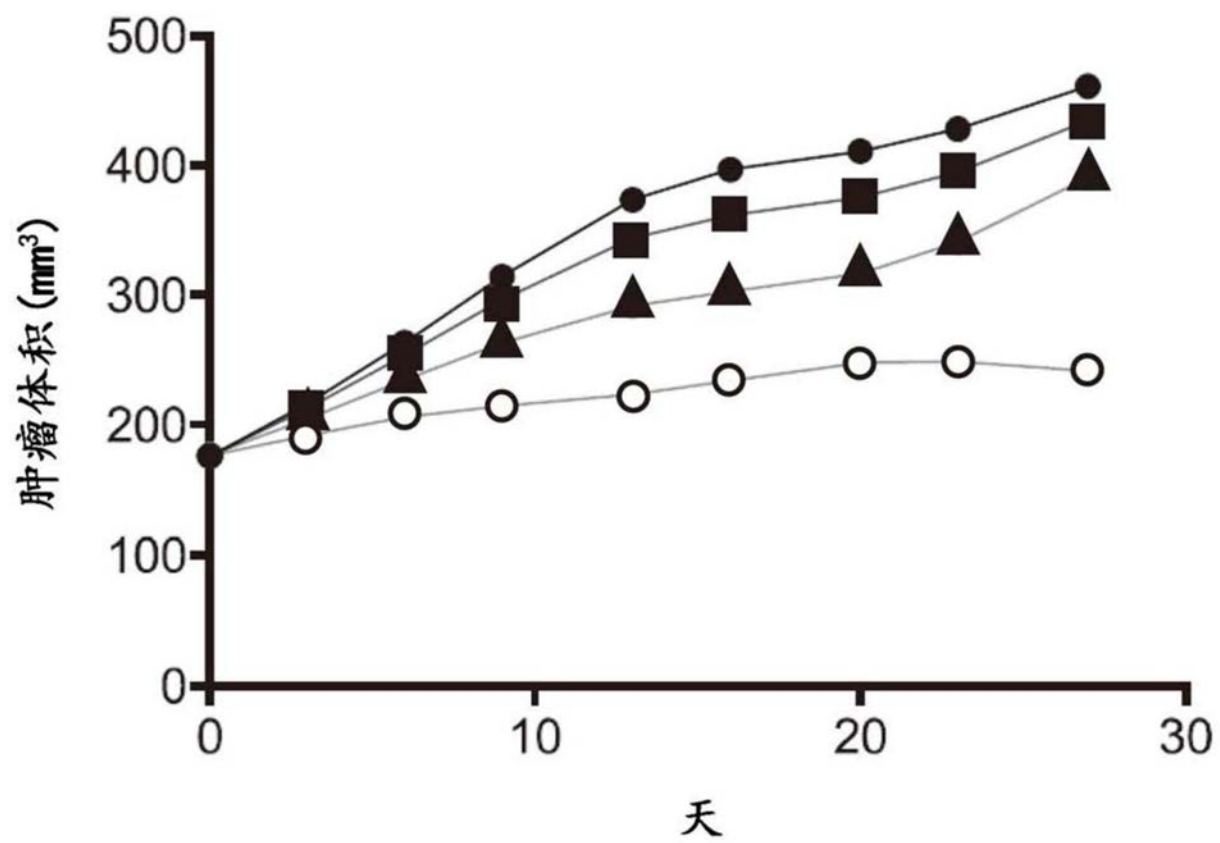


图4F

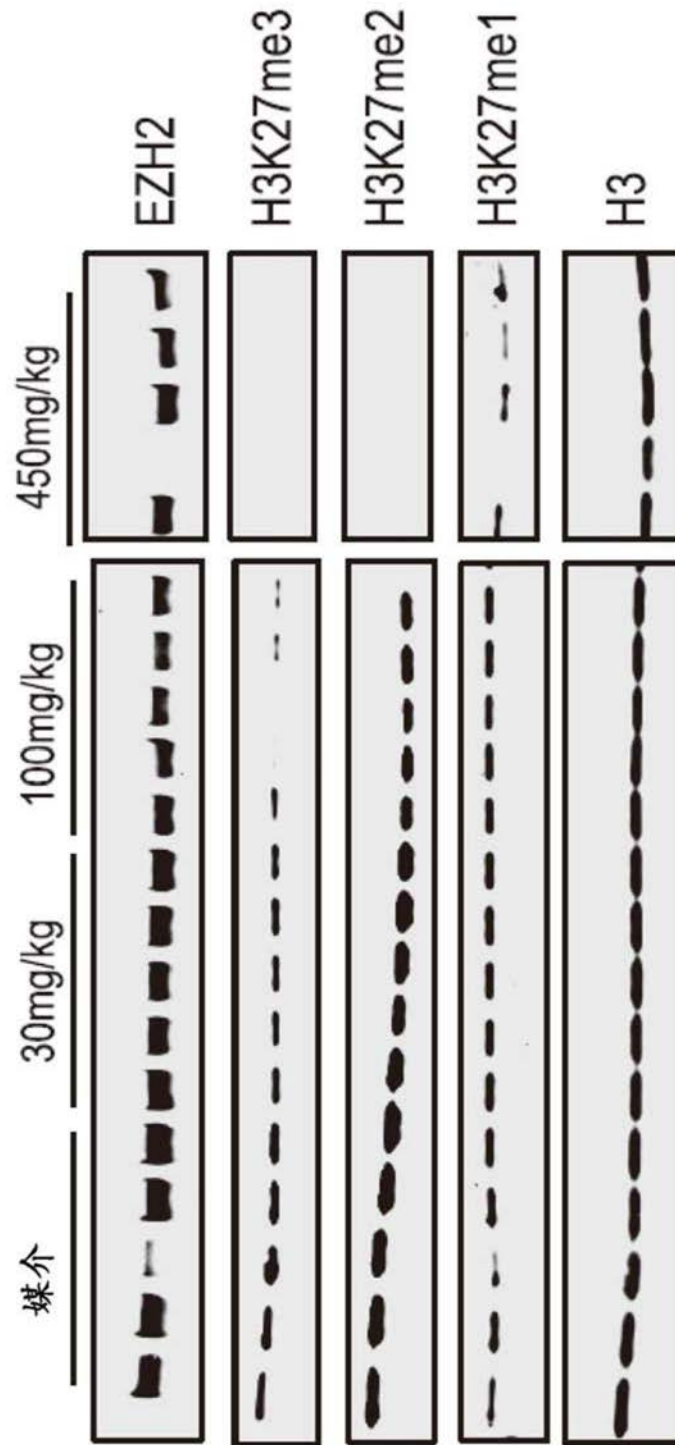


图4G

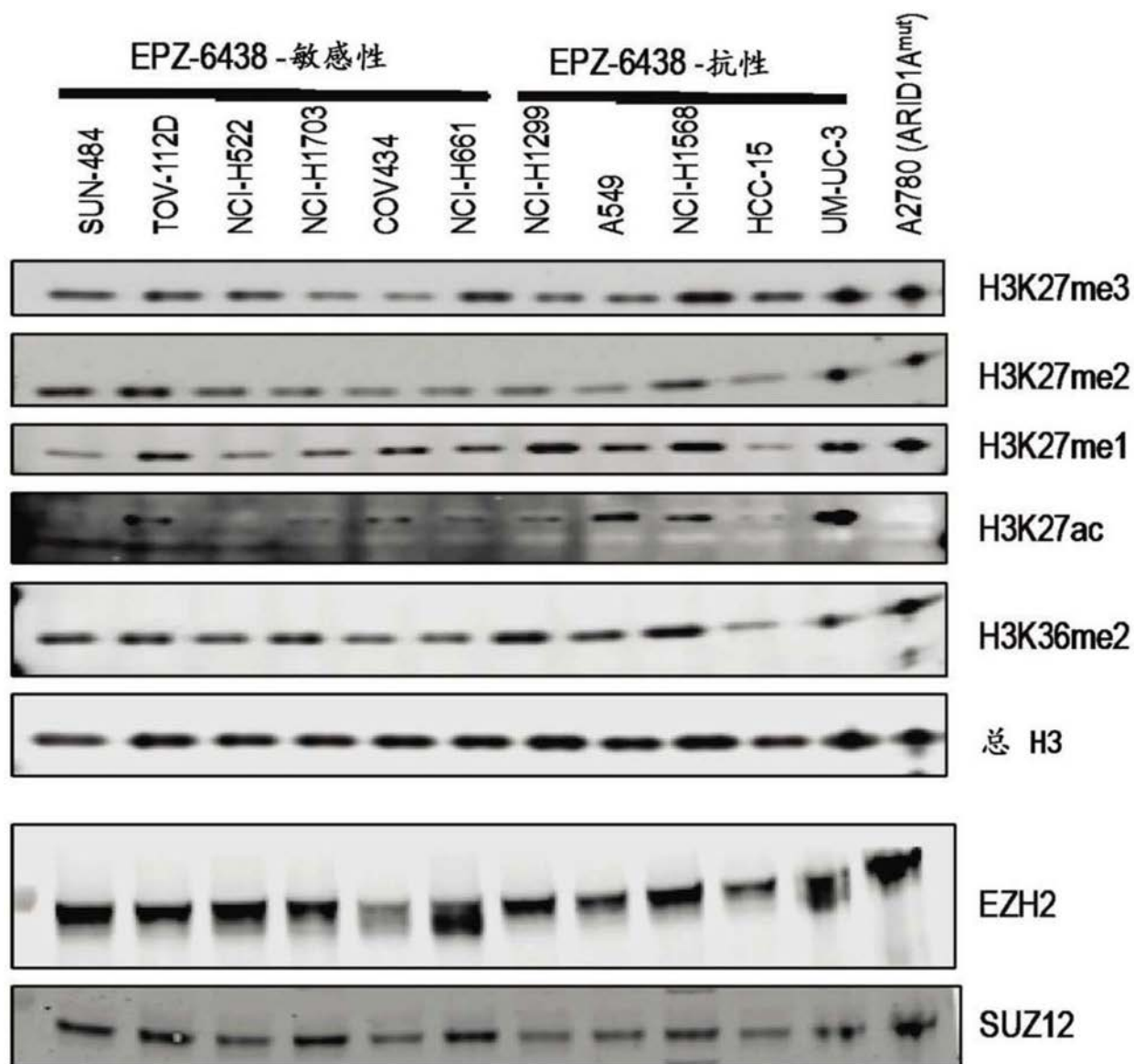


图5

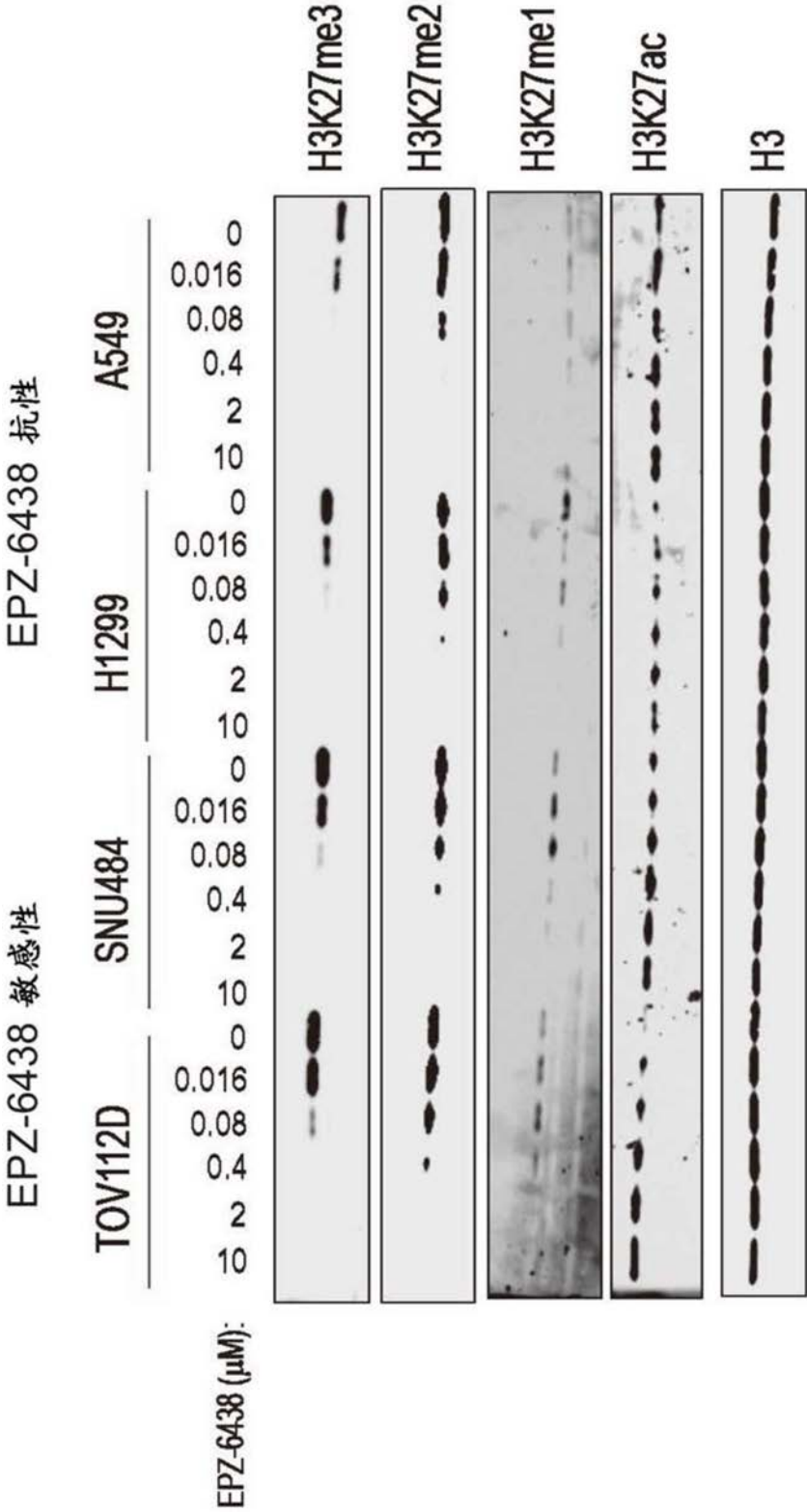


图6

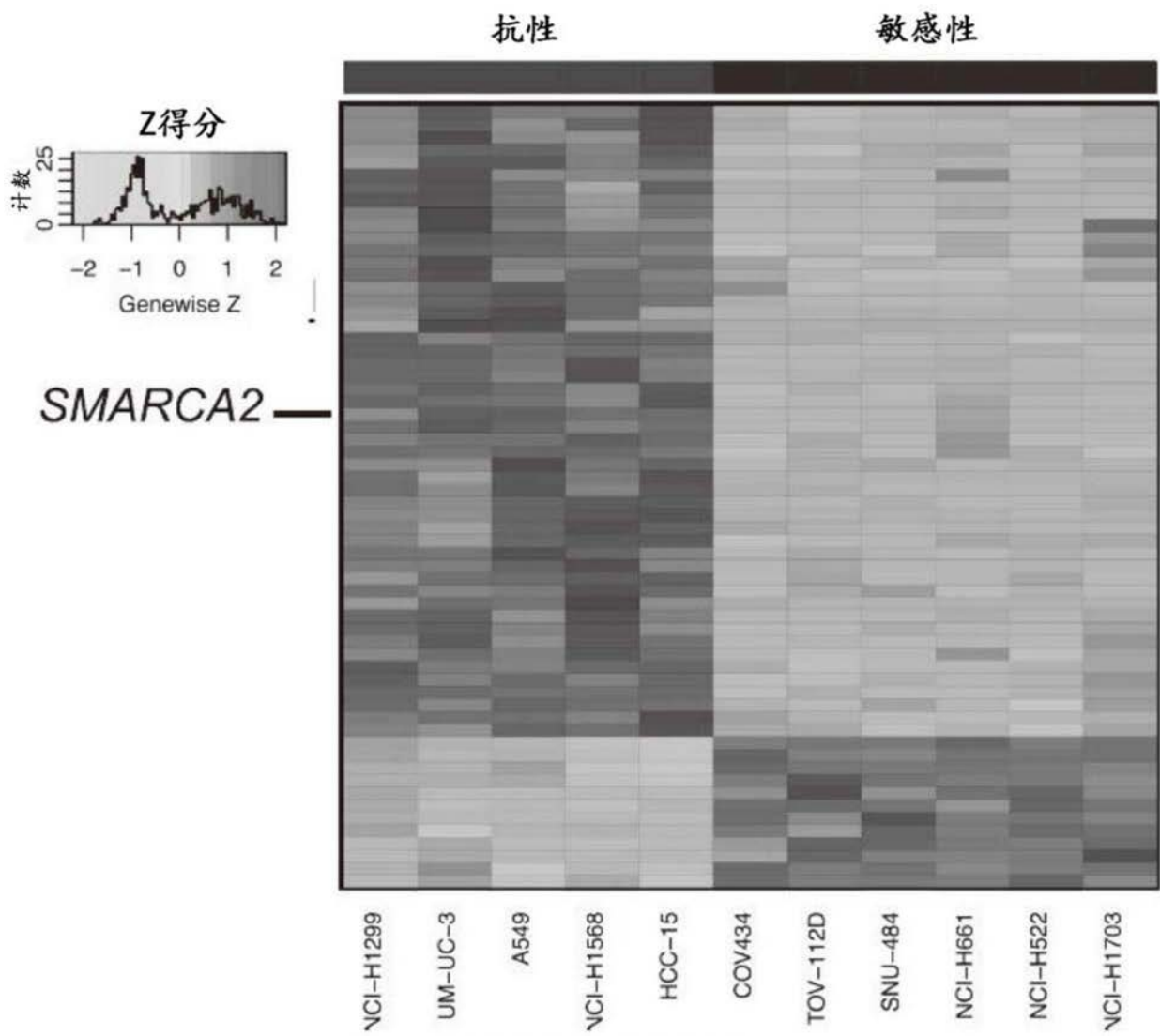


图7

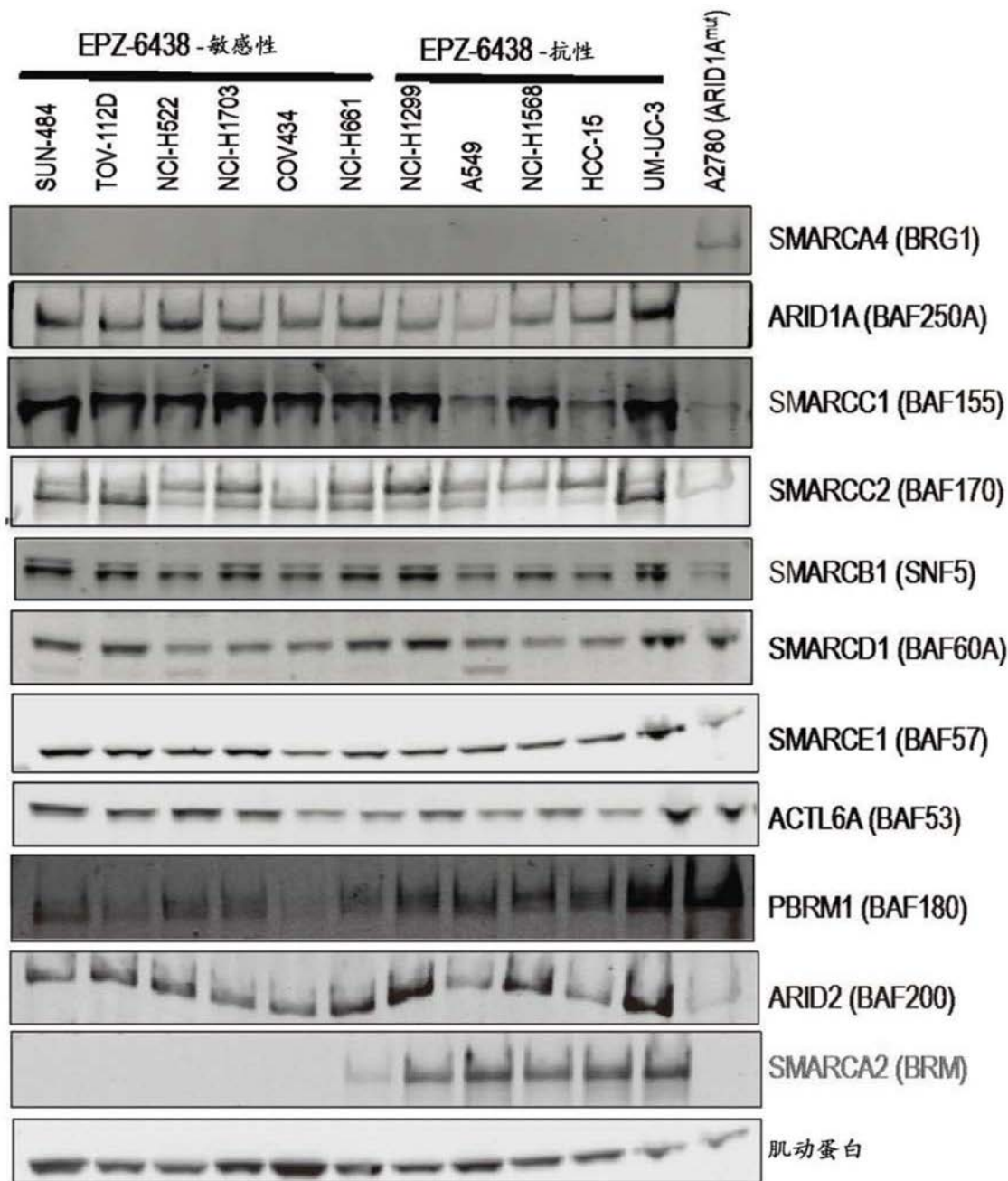


图8

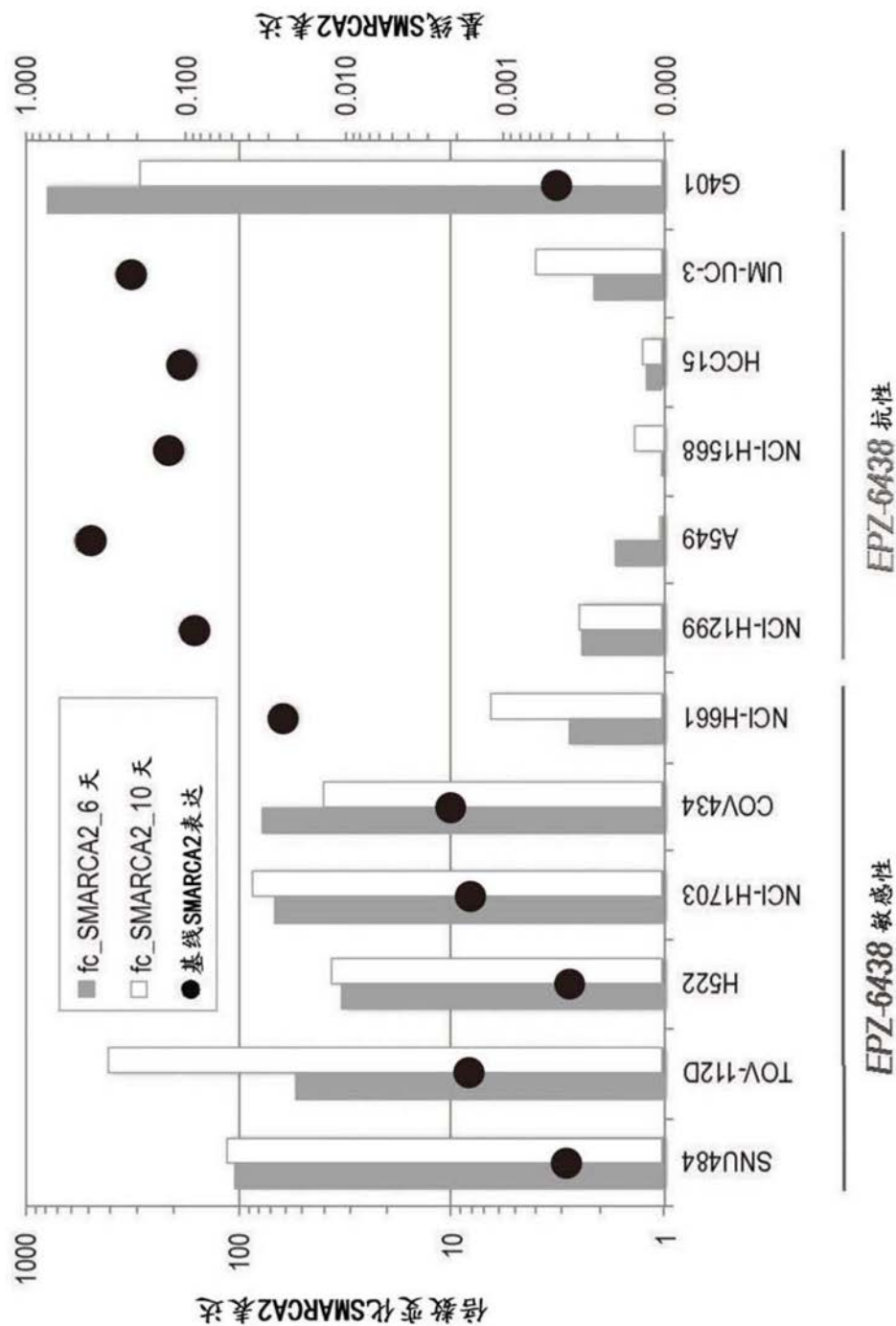


图6

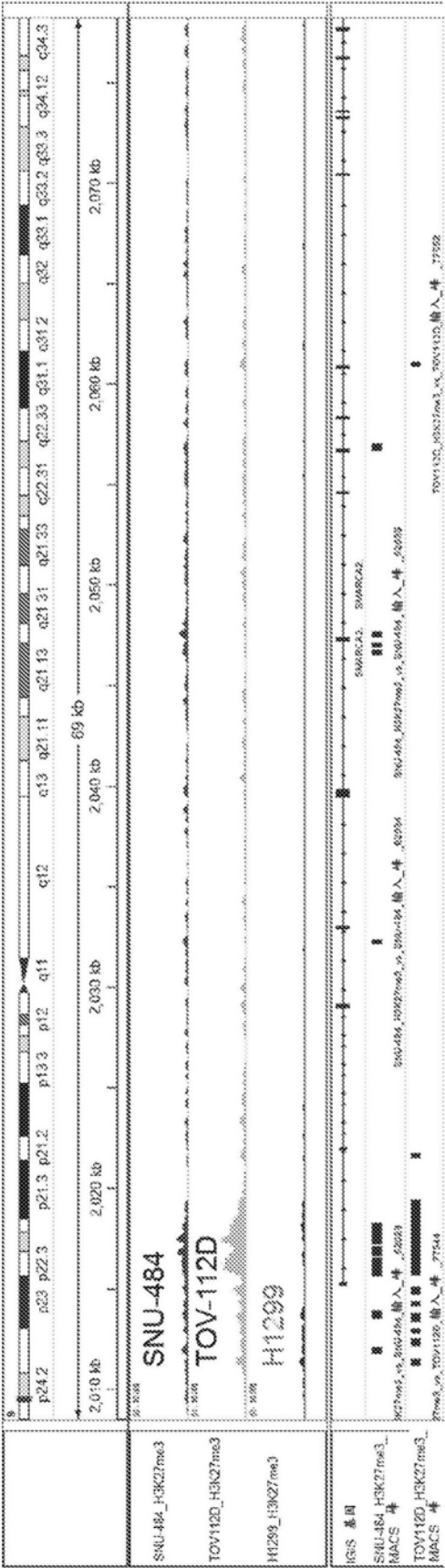


图10A

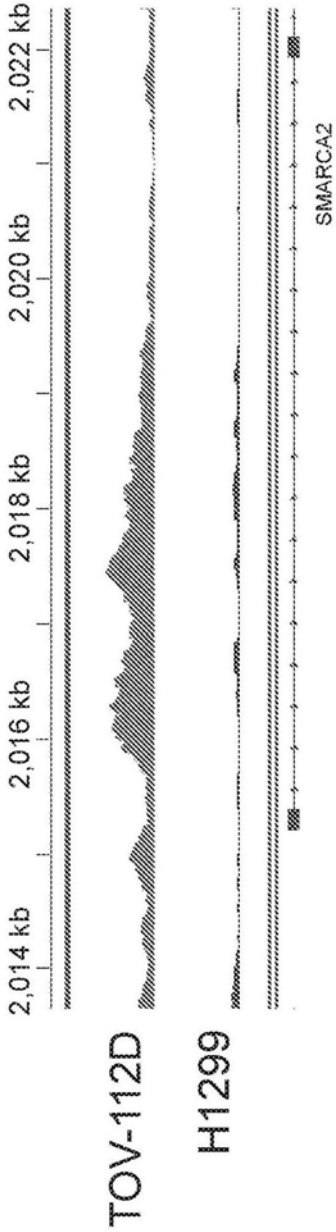


图10B

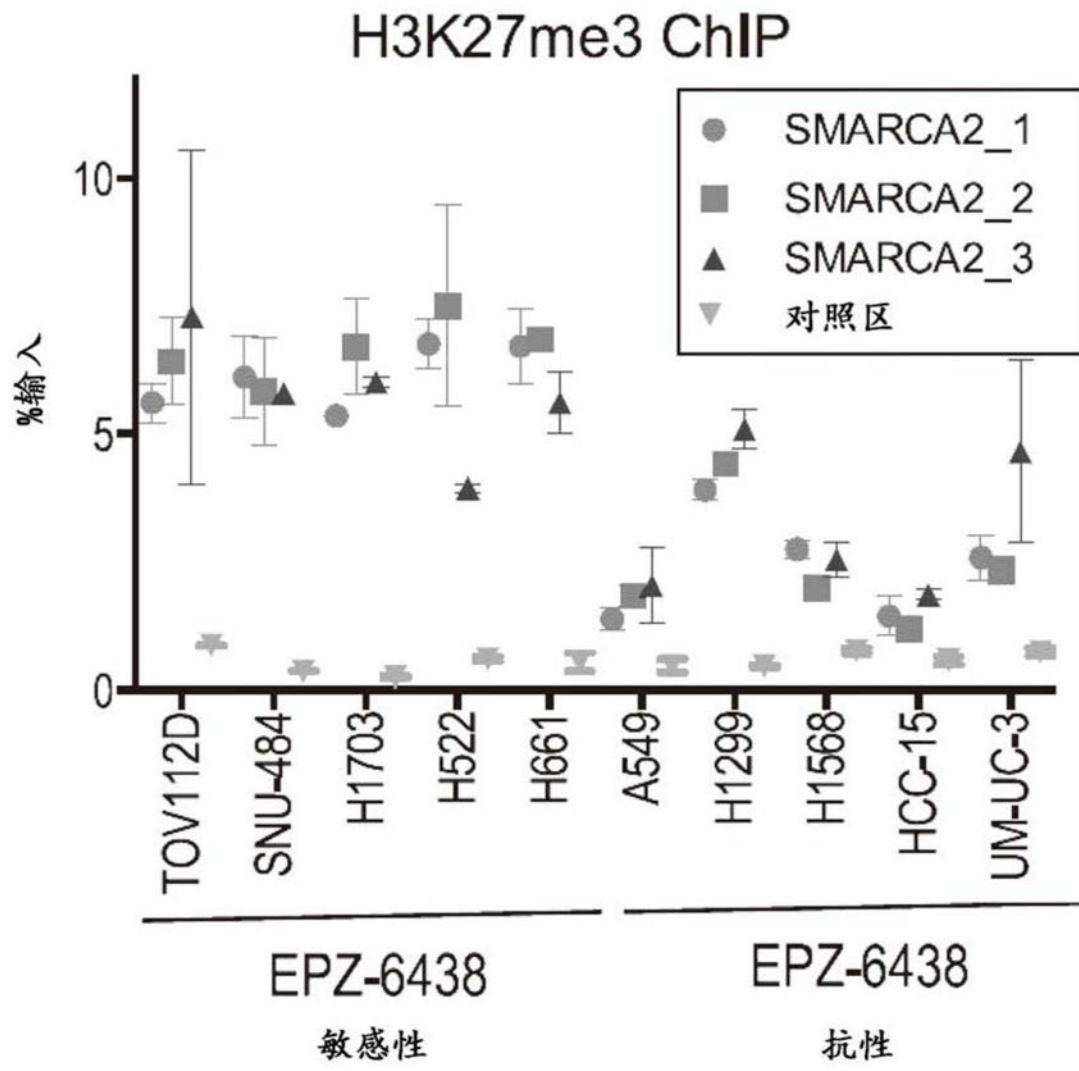


图11

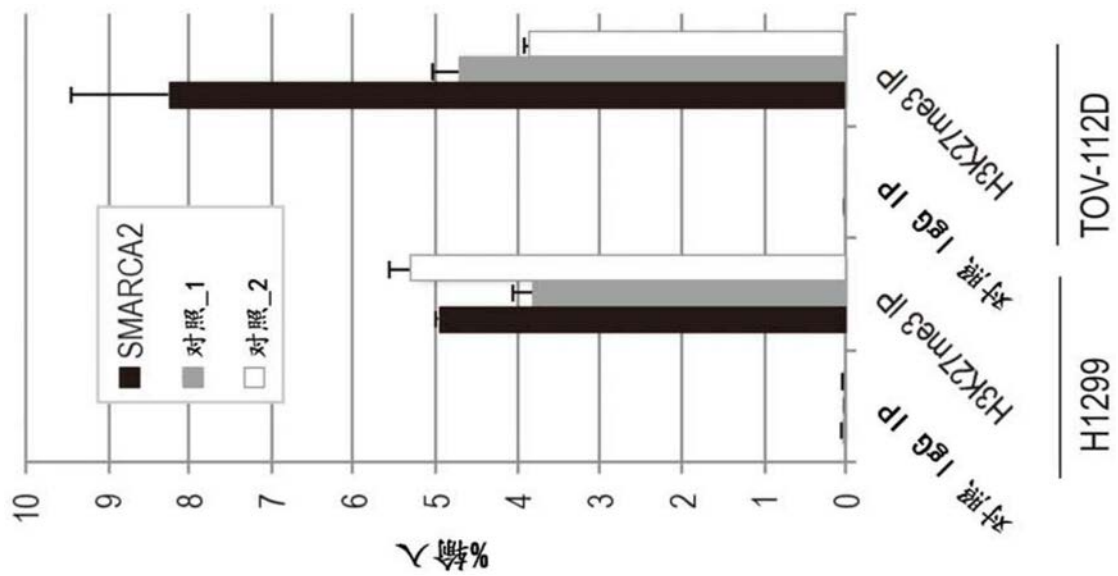


图12

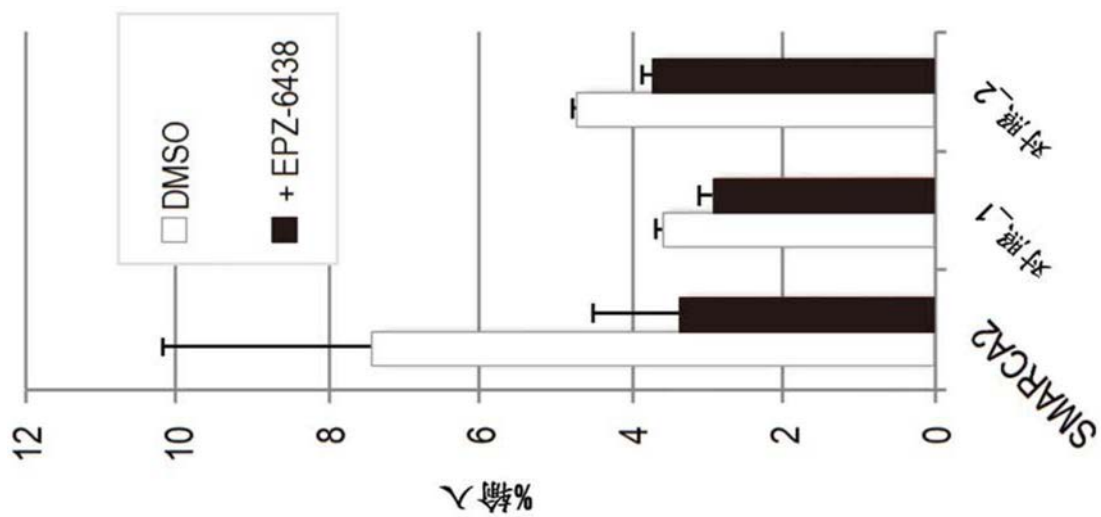


图13

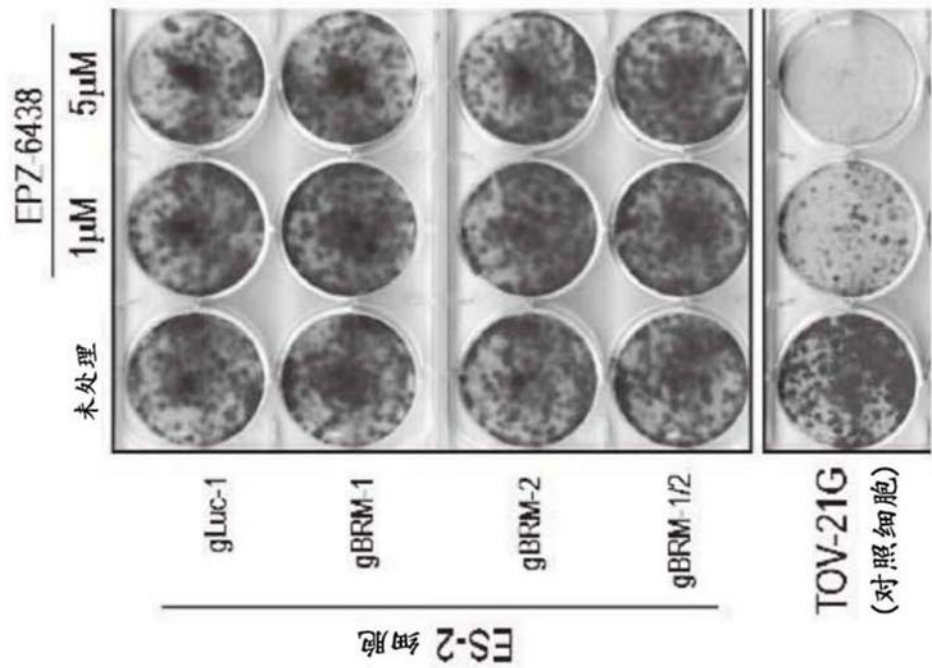


图14A

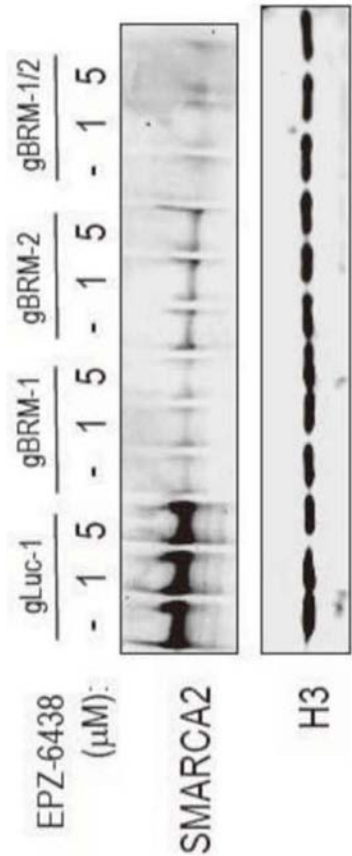


图14B

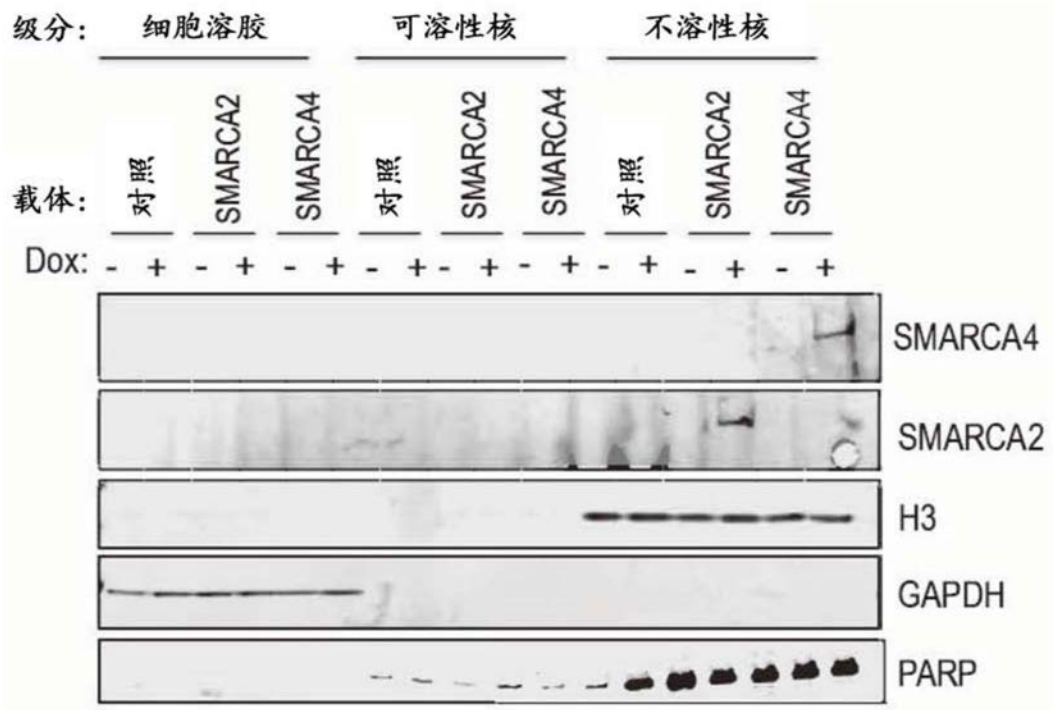


图15A

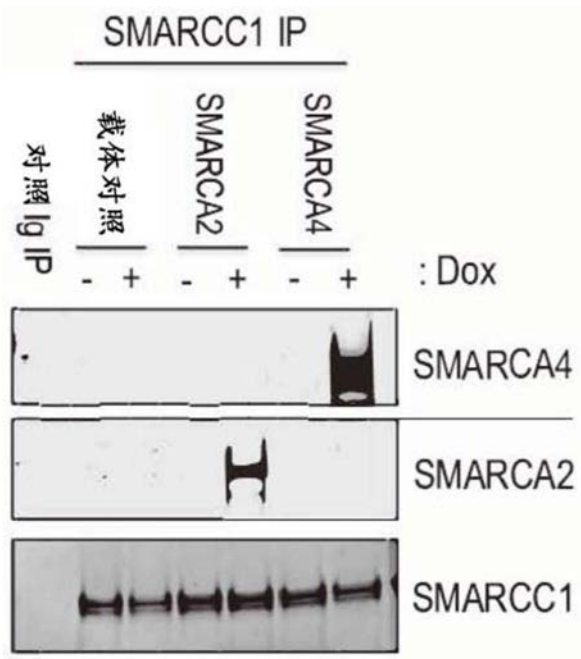


图15B

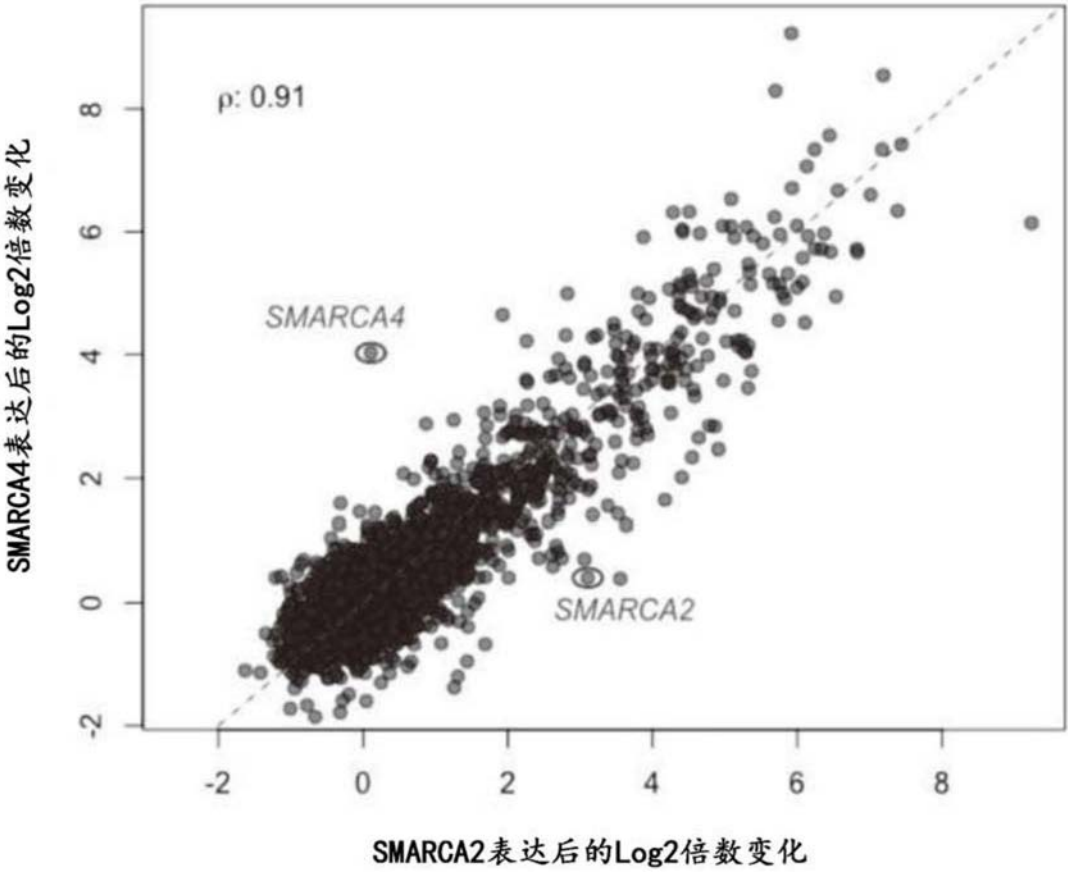


图16A

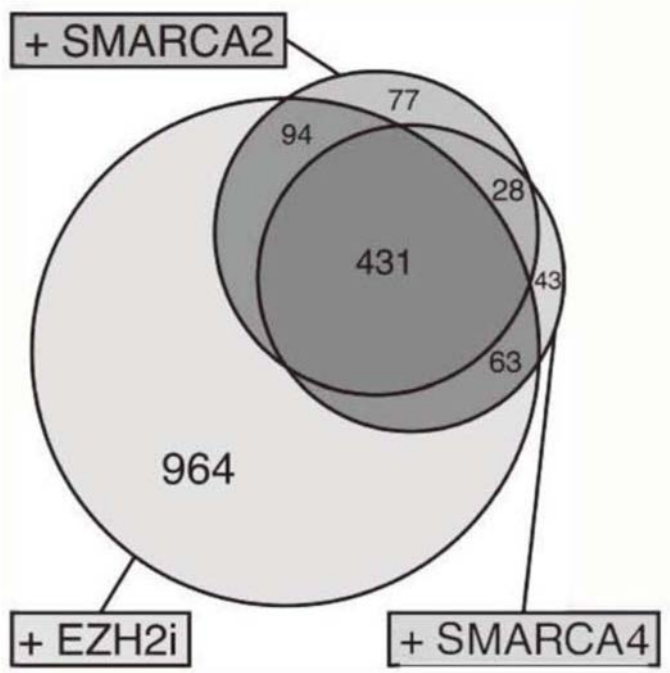


图16B

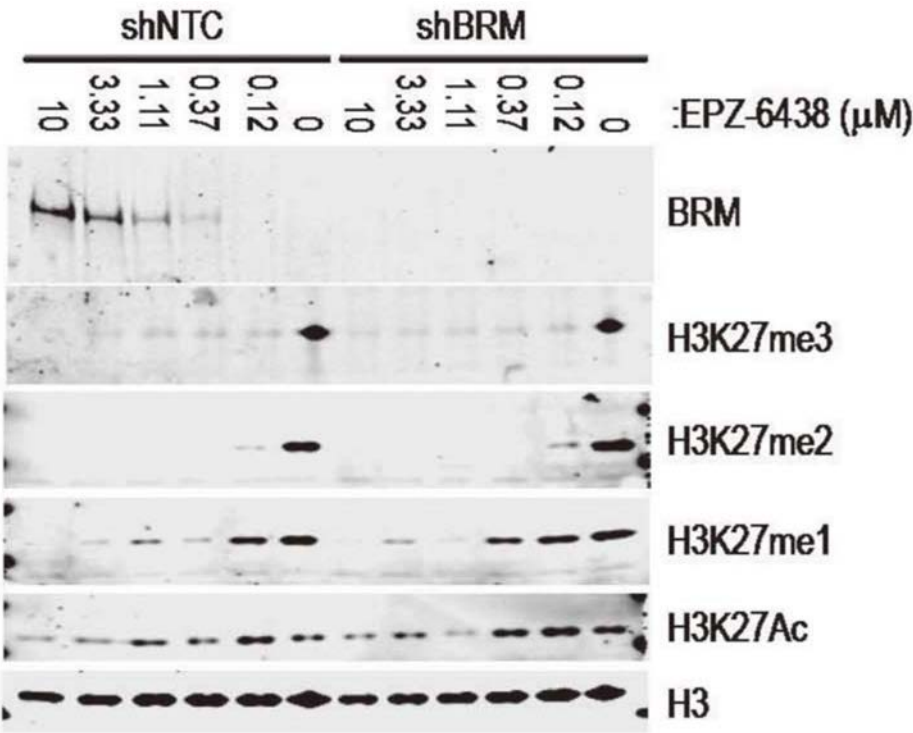


图17A

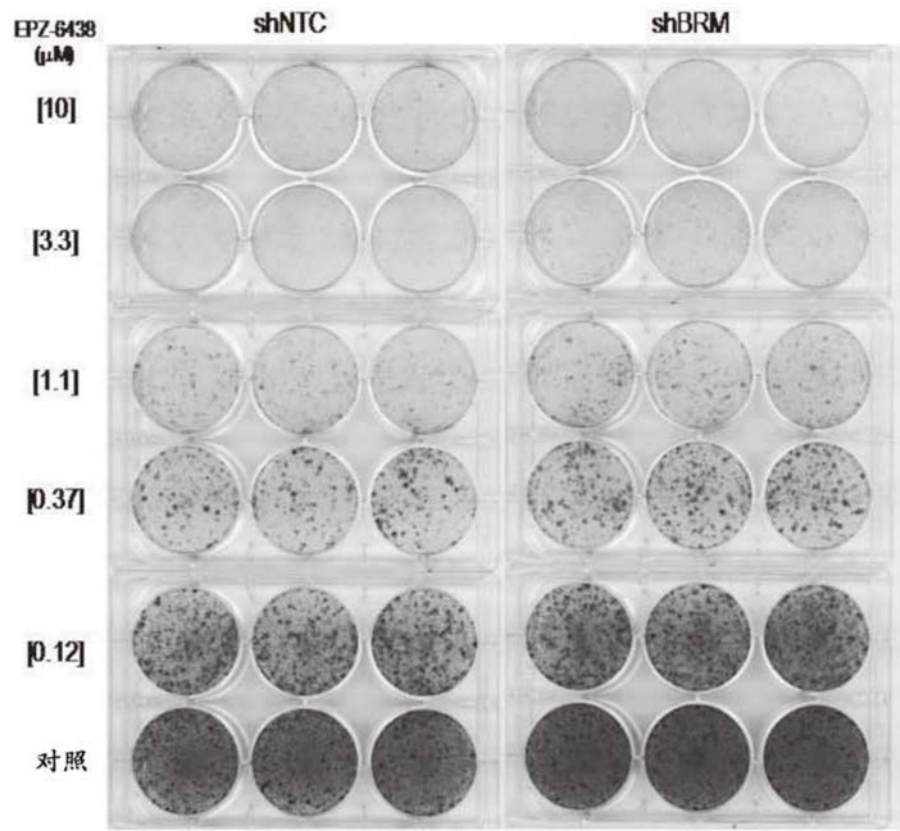


图17B

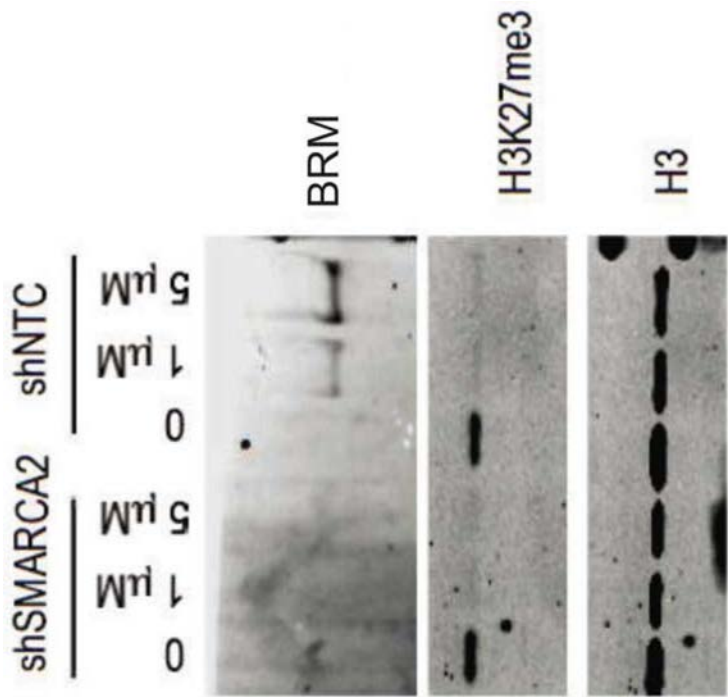


图17C

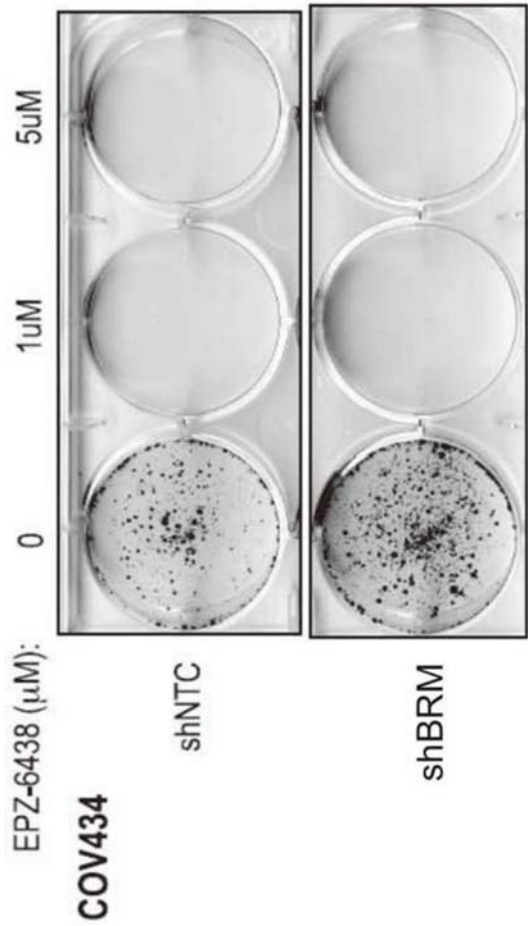


图17D

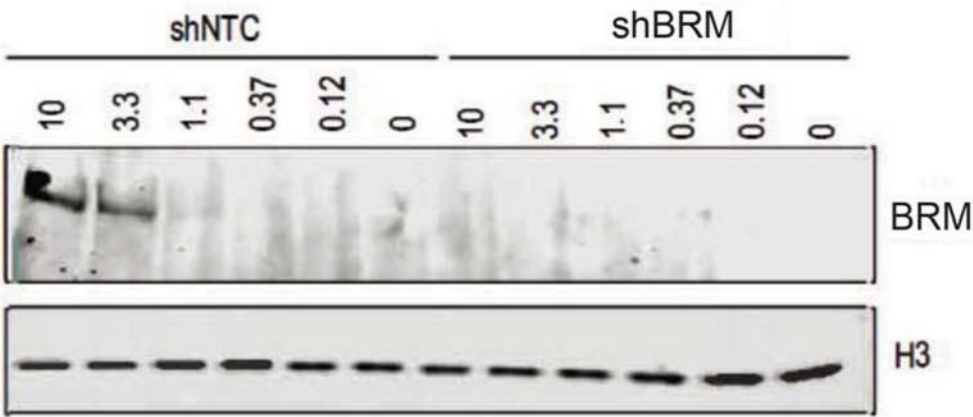


图17E

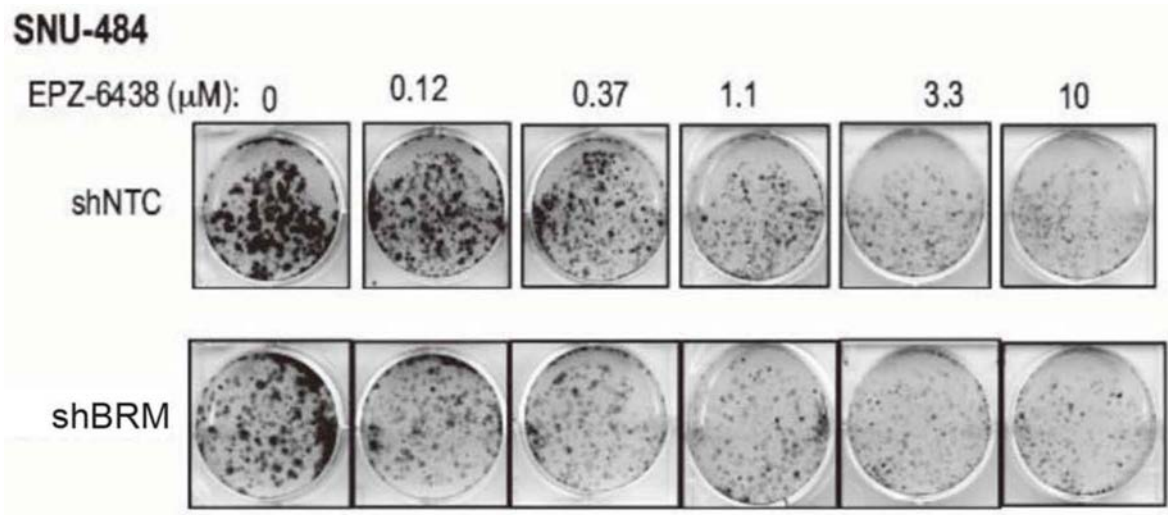


图17F

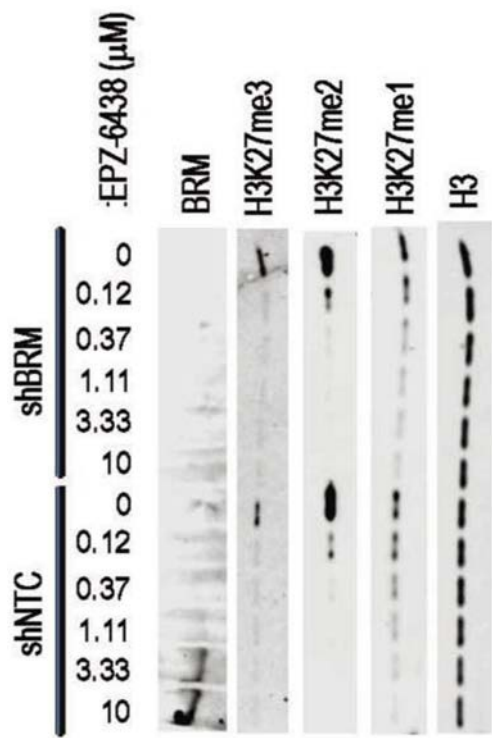


图18A

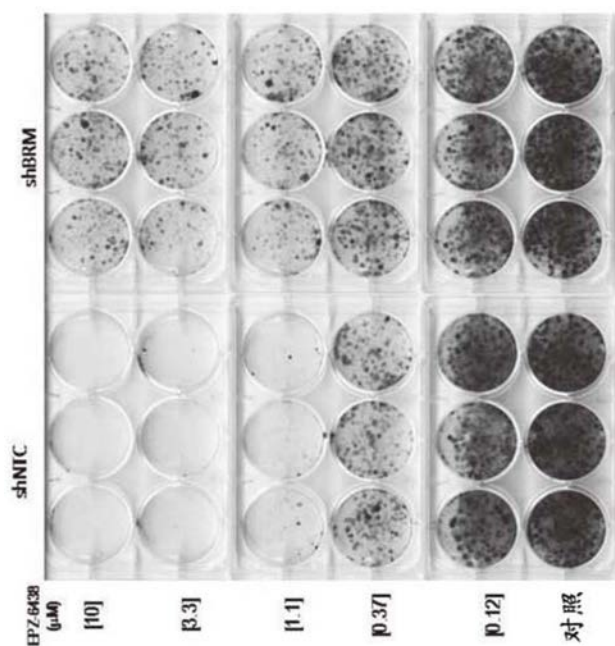


图18B

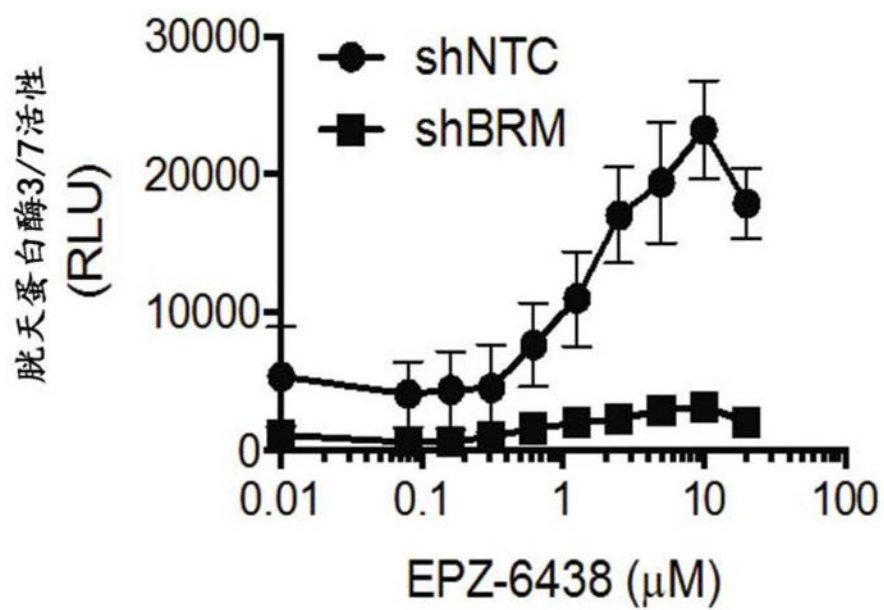


图18C

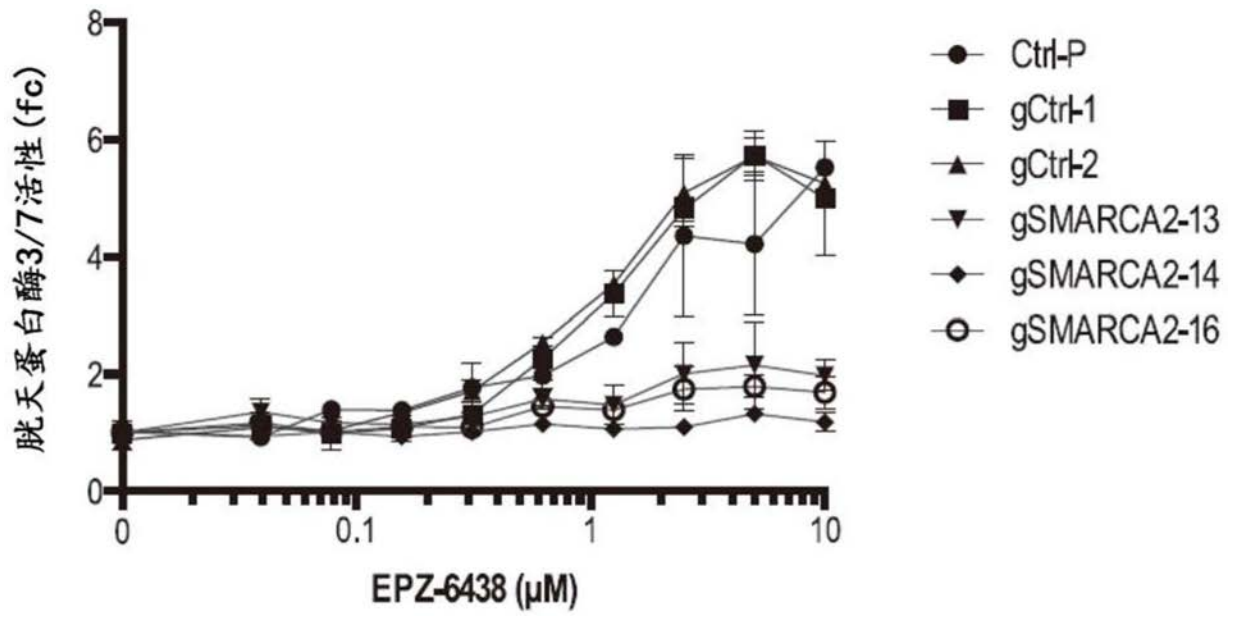


图19A

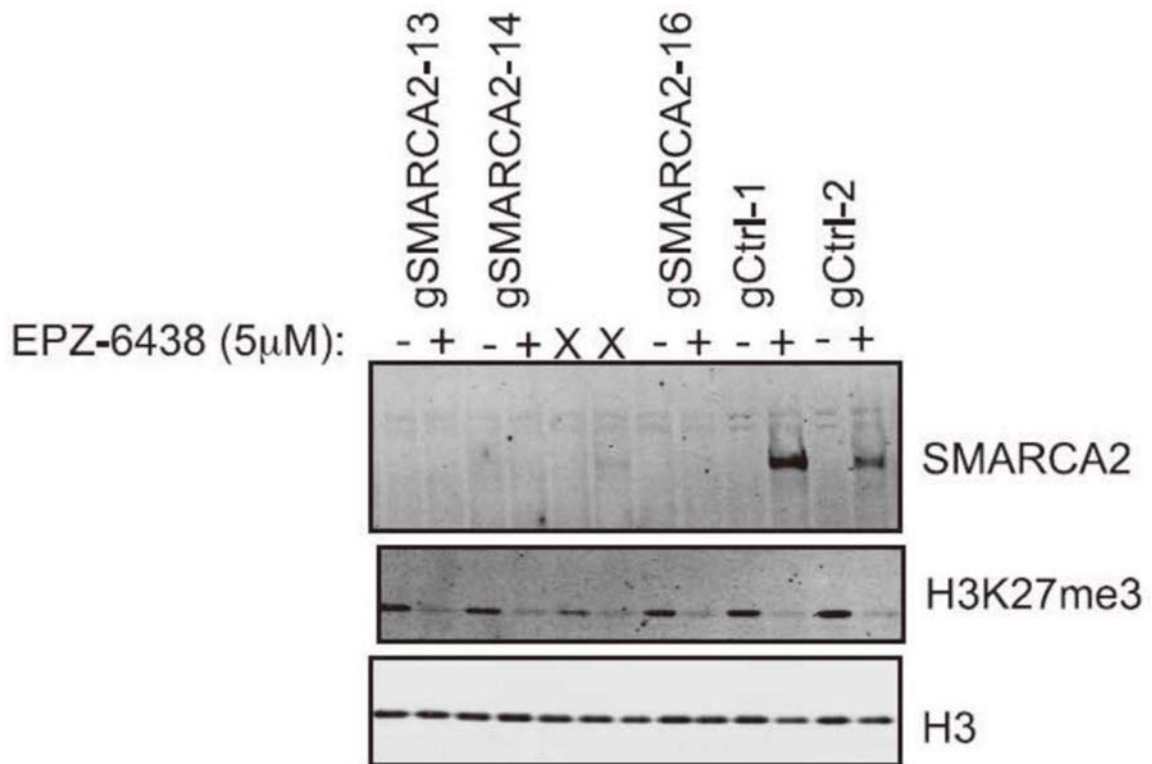


图19B

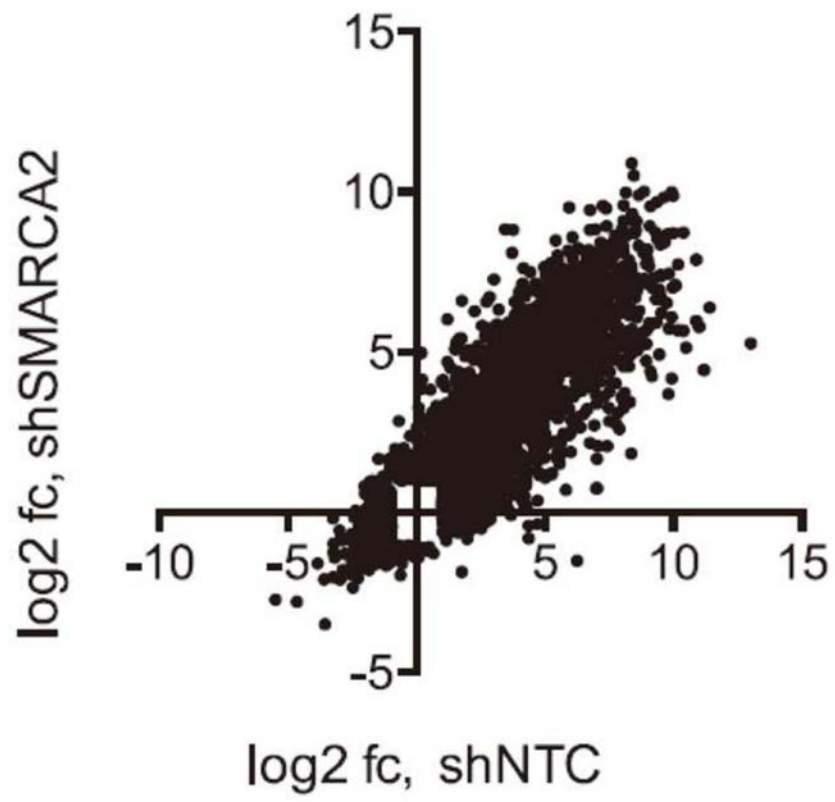


图19C

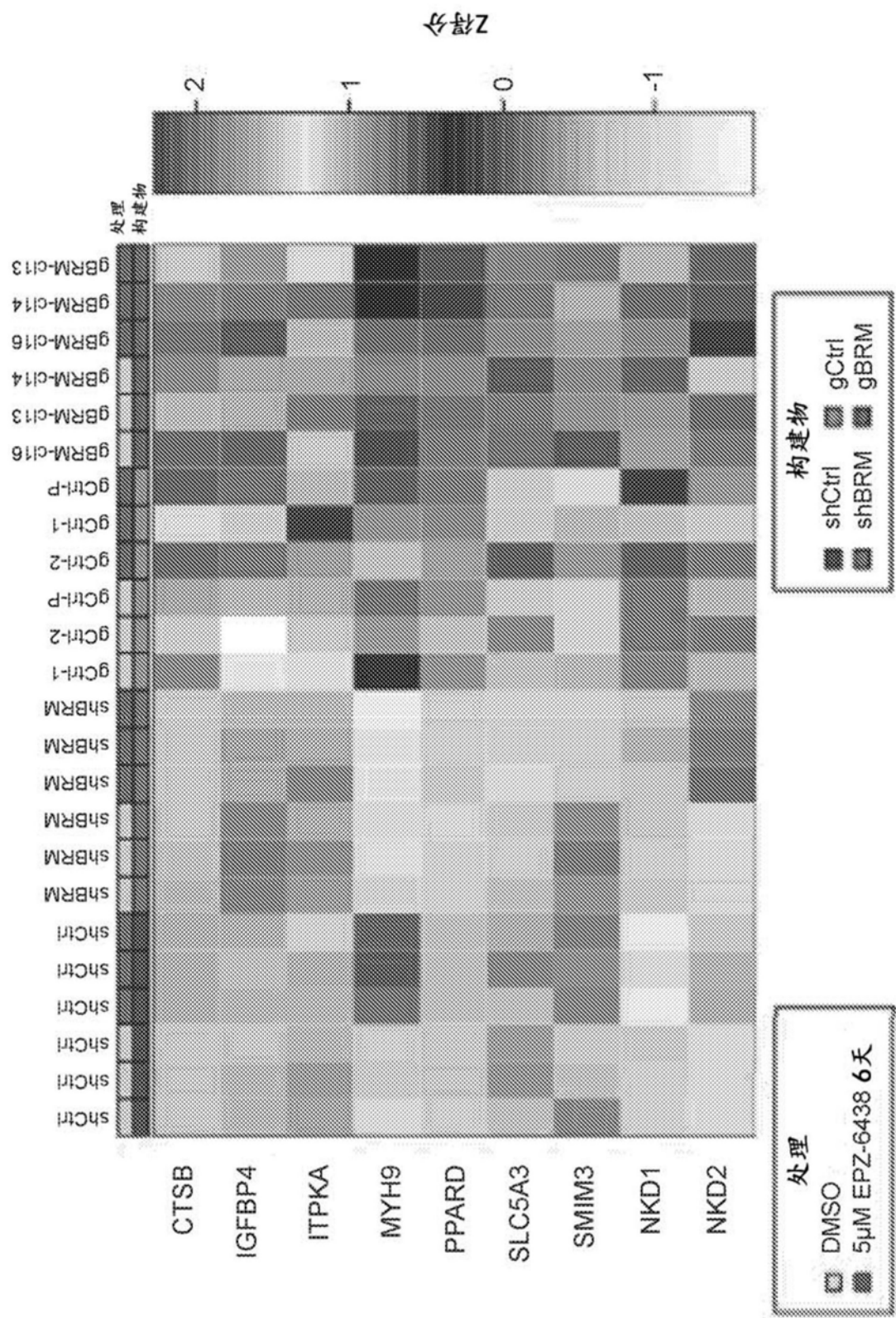


图19D

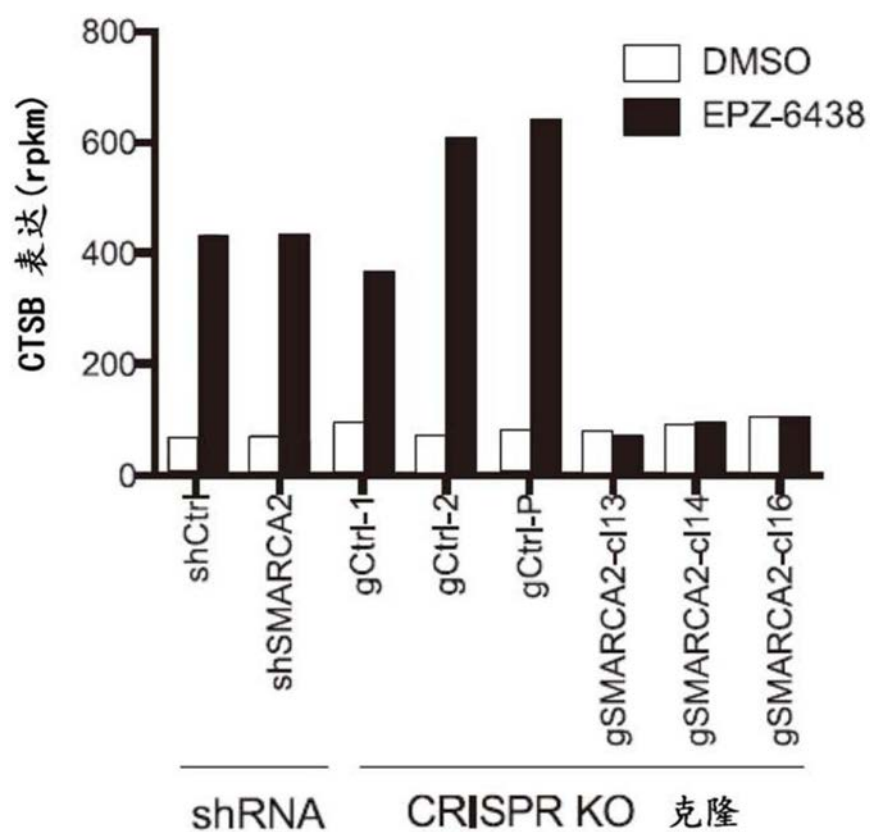


图19E

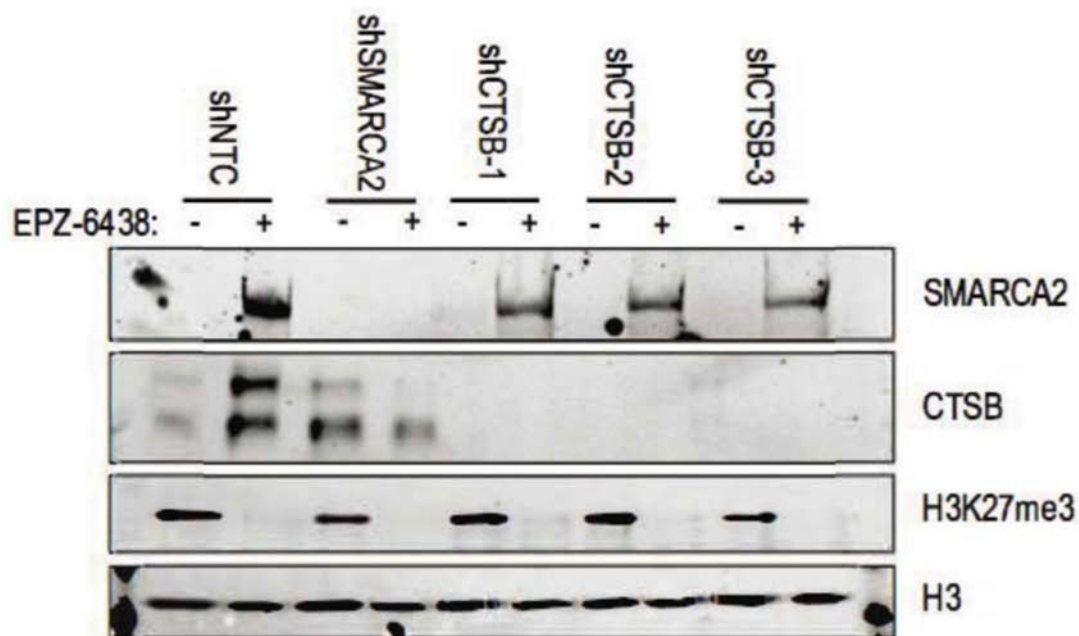


图19F

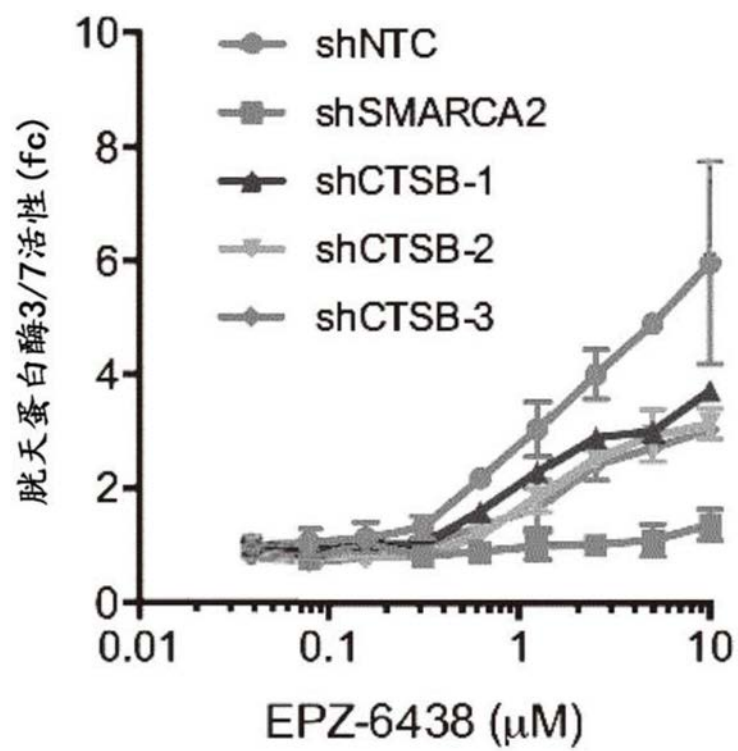


图19G

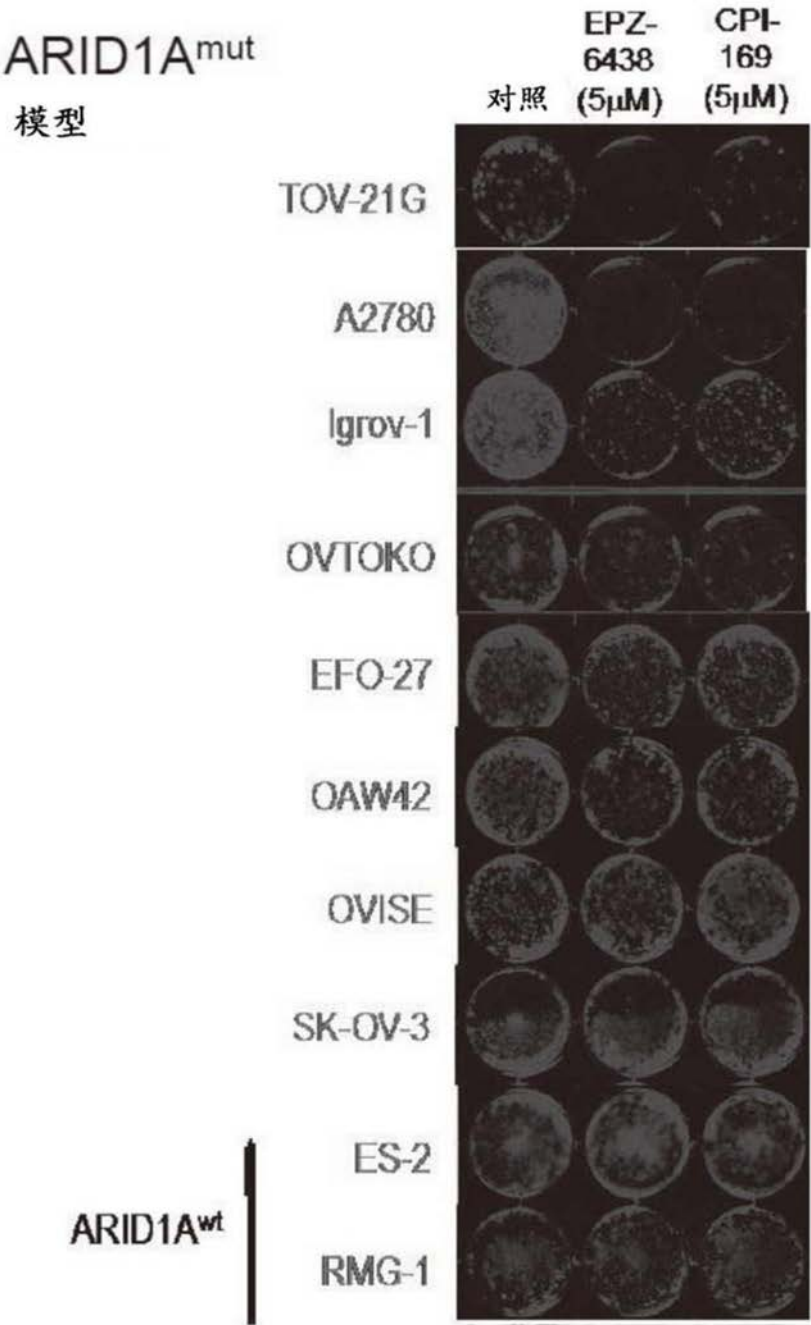


图20

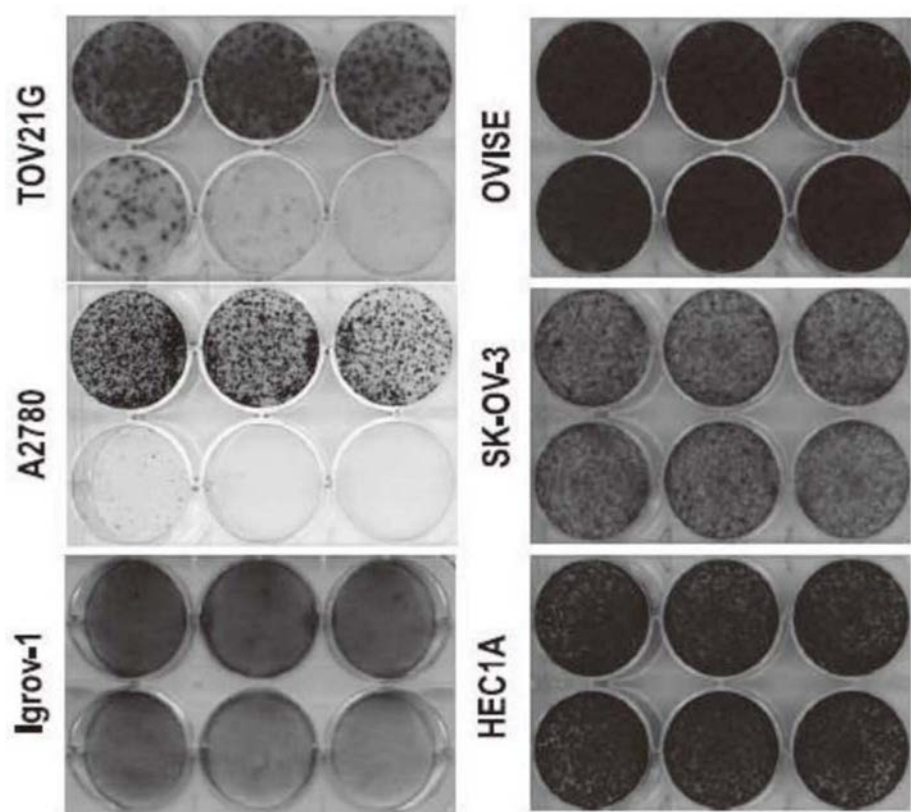


图21

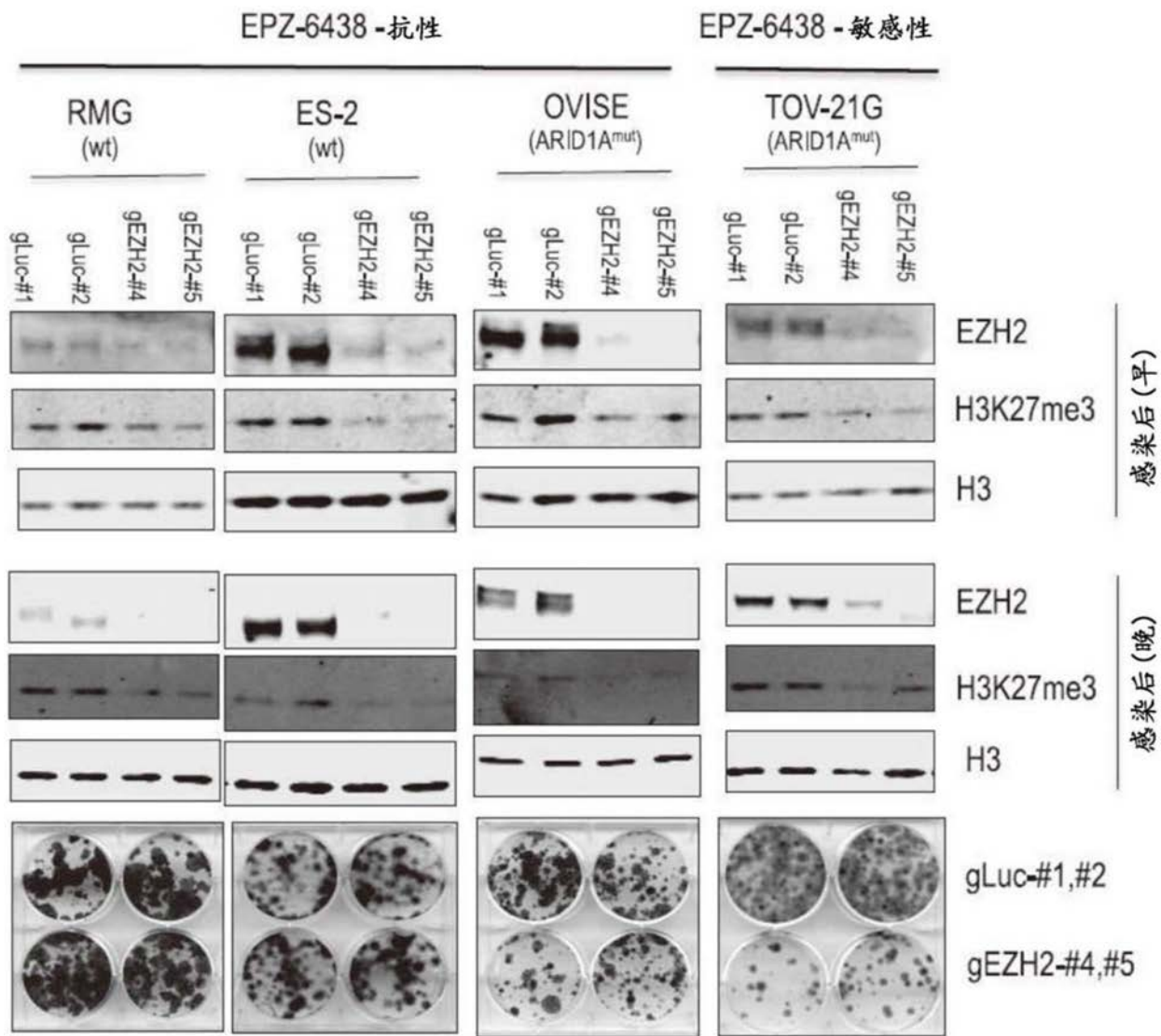


图22

ARID1A突变型卵巢系

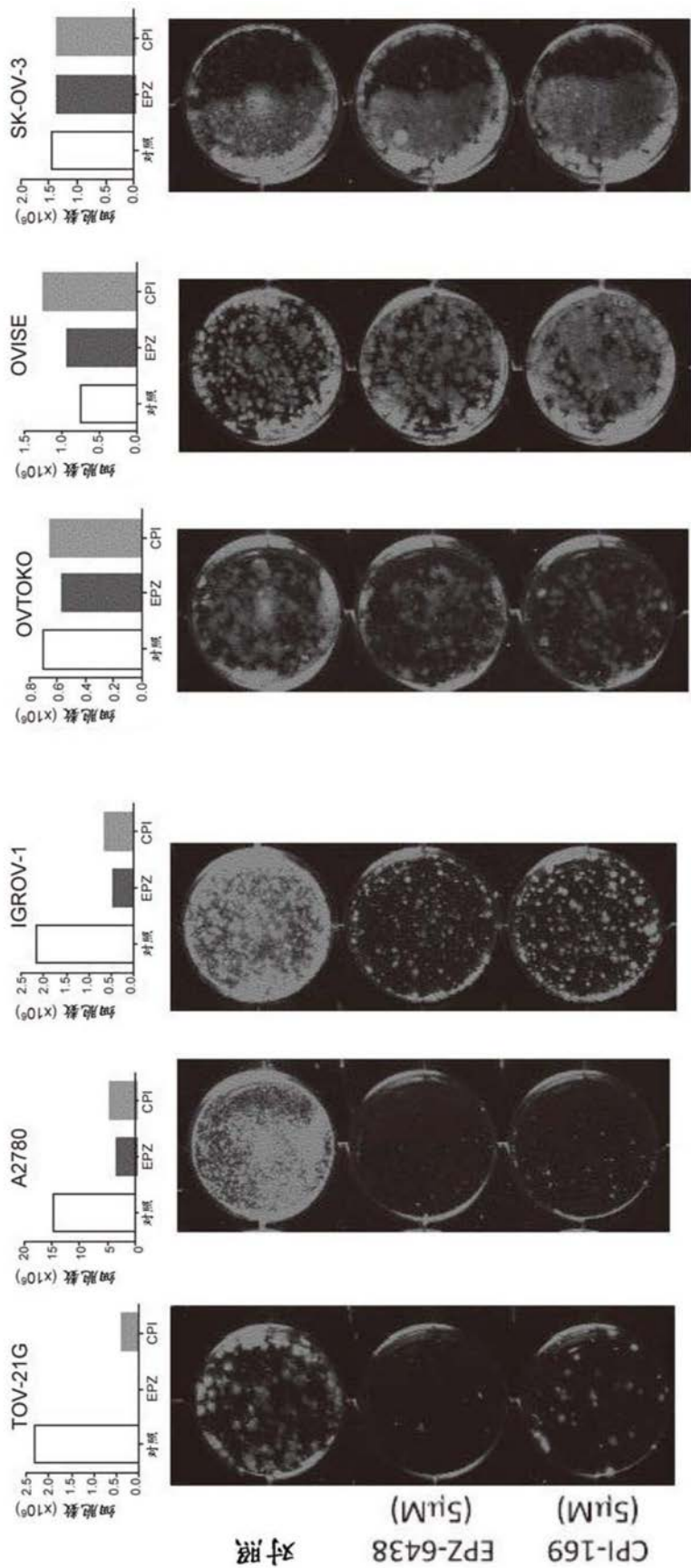


图23A

ARID1A野生型卵巢系

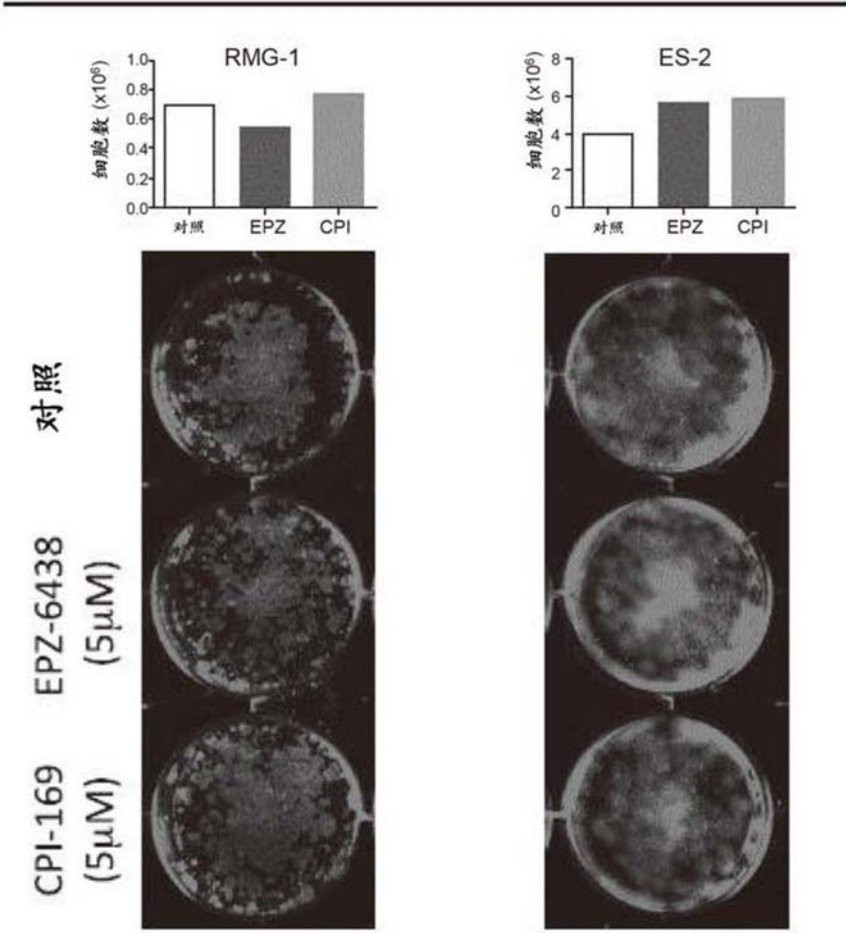


图23B

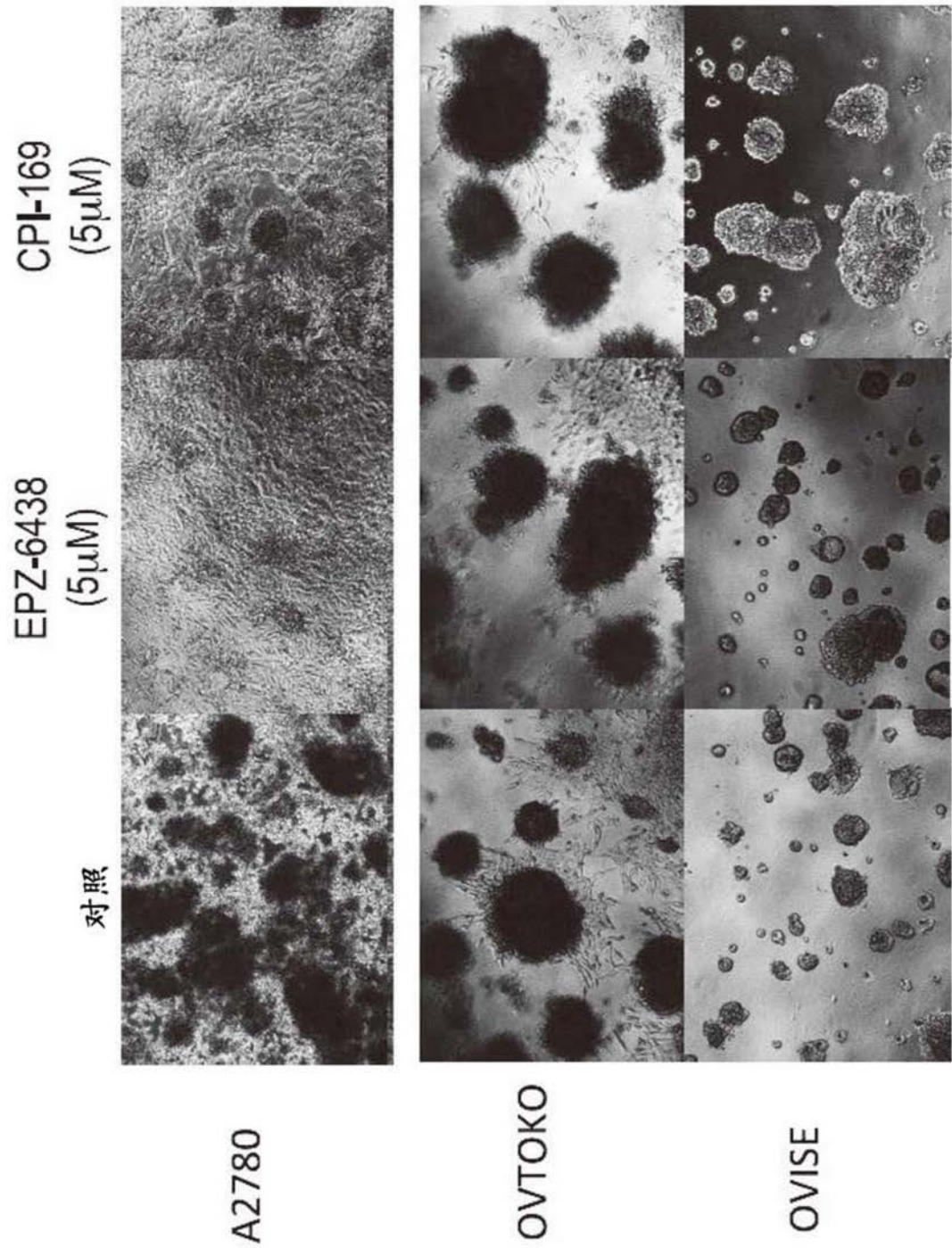


图24

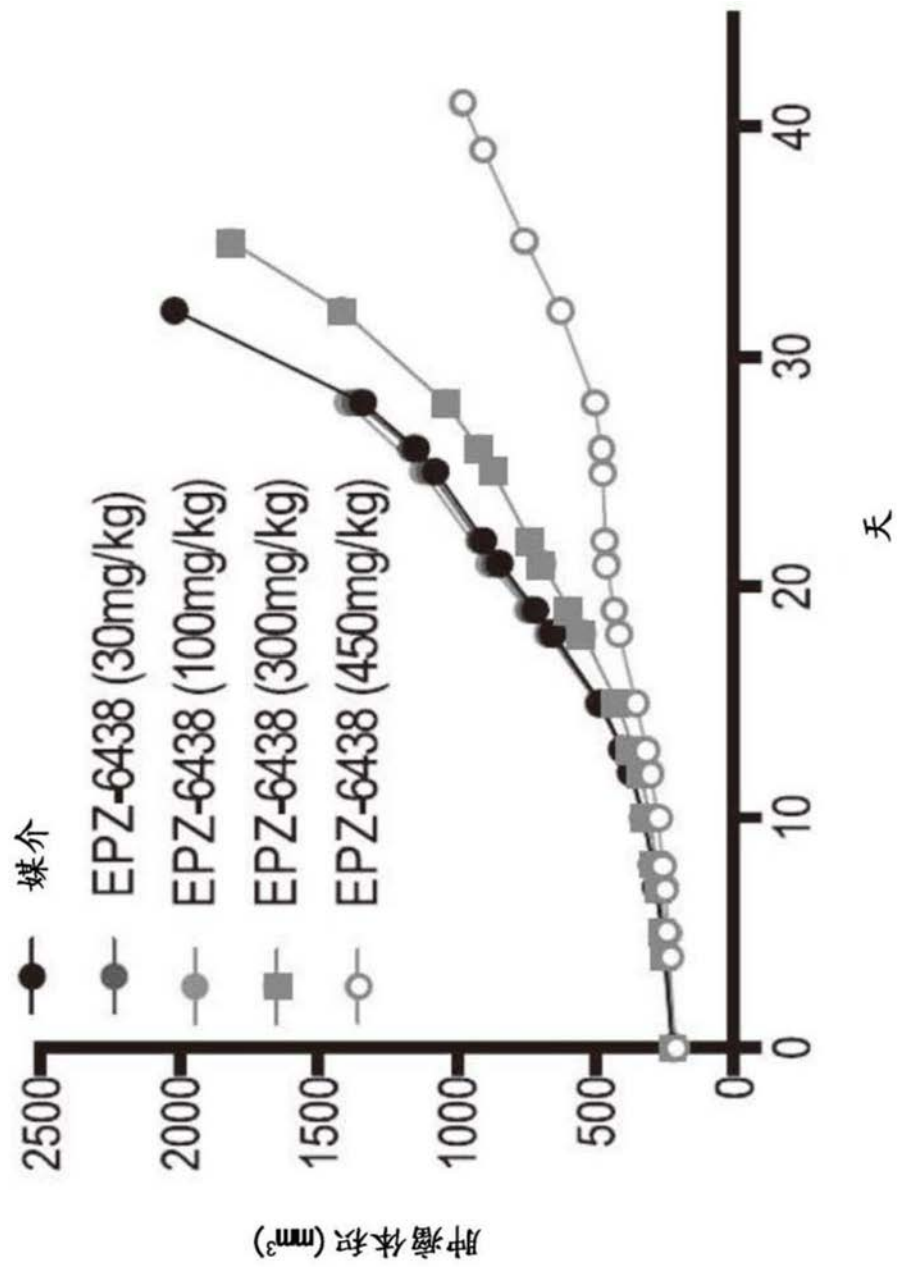


图25

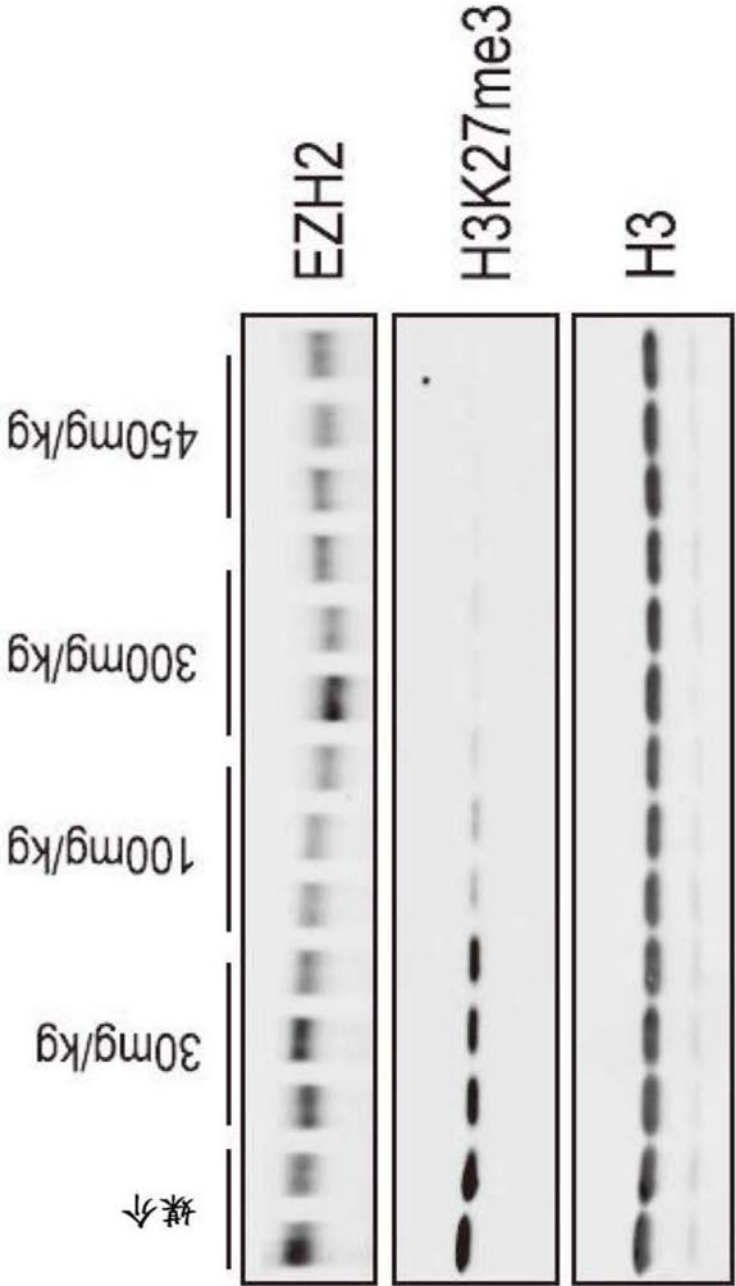


图26

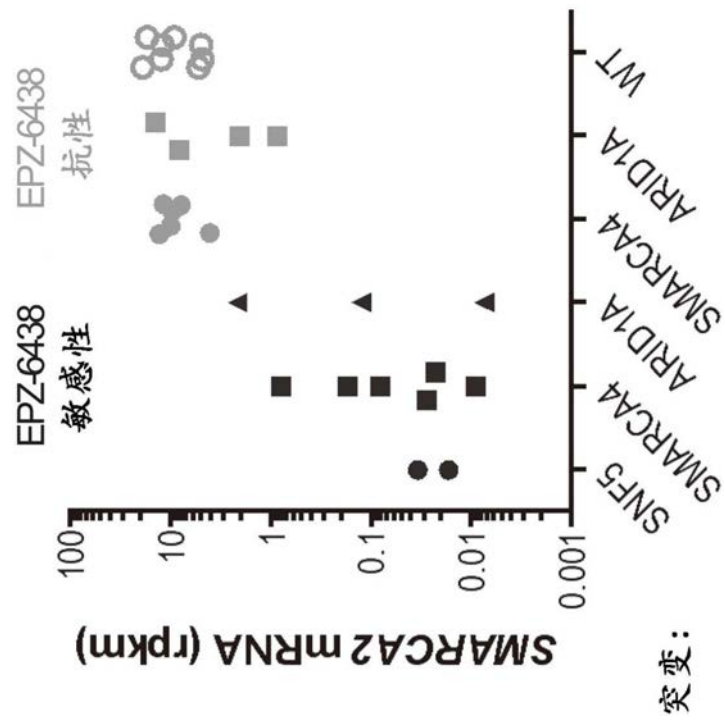


图27A

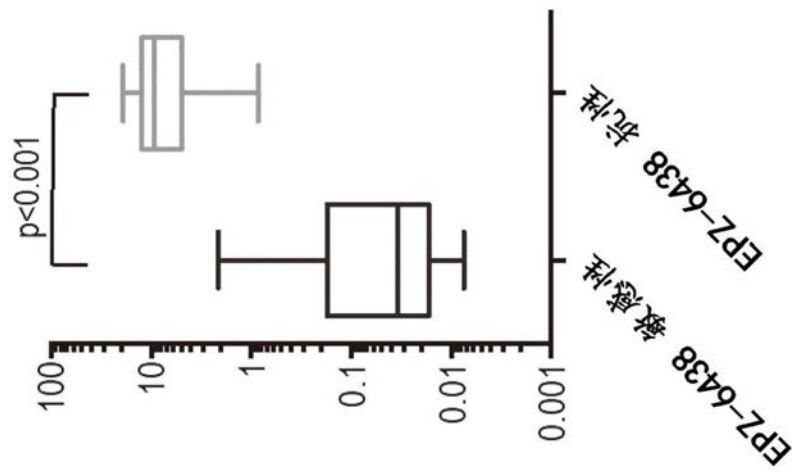


图27B

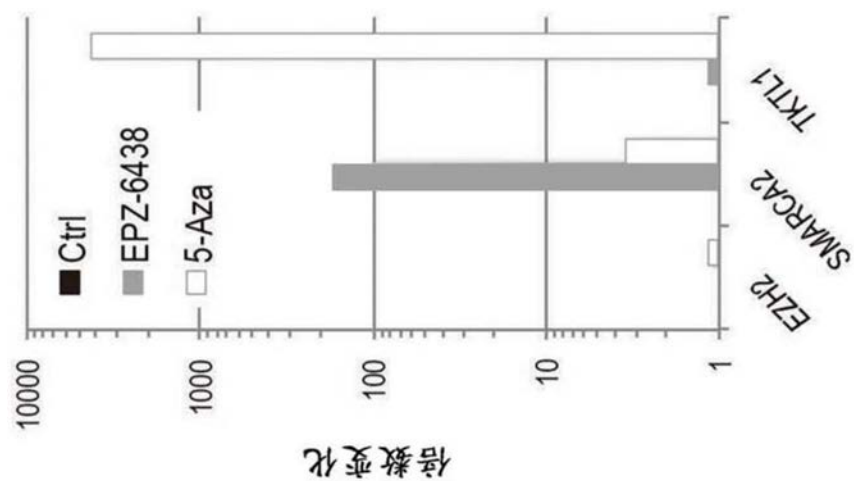


图28A

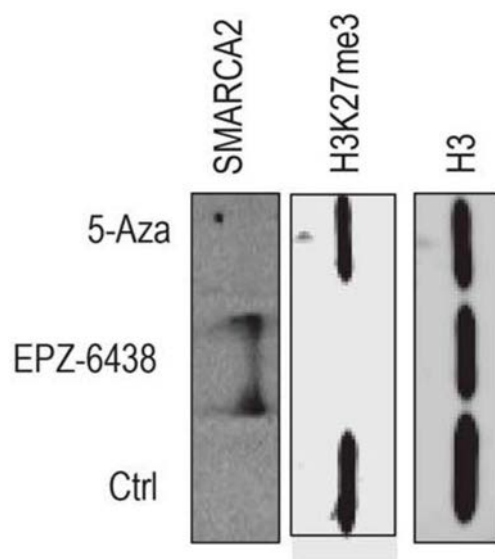


图28B

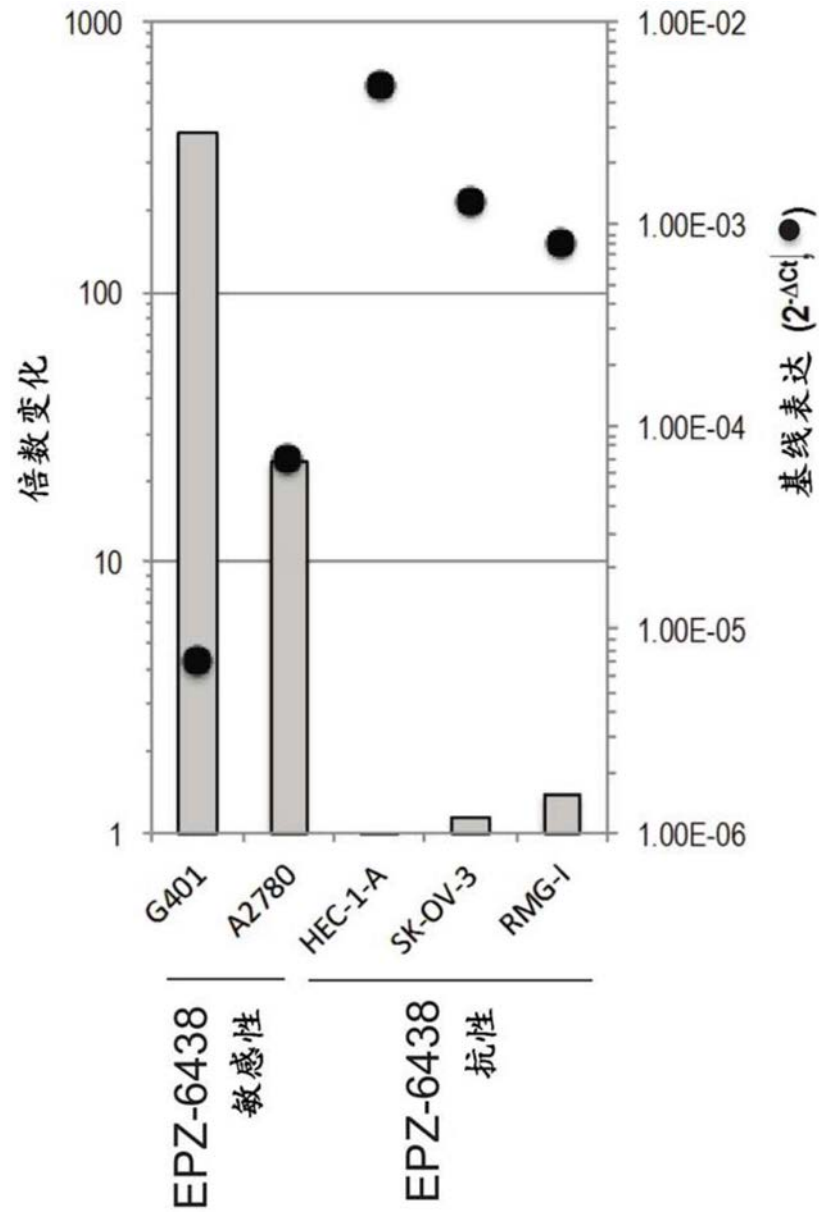


图29