

(12) 按照专利合作条约所公布的国际申请

(19) 世界知识产权组织
国际局

(43) 国际公布日
2019 年 3 月 7 日 (07.03.2019)



(10) 国际公布号
WO 2019/041127 A1

- (51) 国际专利分类号:
A61K 45/00 (2006.01) *A61P 31/18* (2006.01)
- (21) 国际申请号: PCT/CN2017/099466
- (22) 国际申请日: 2017 年 8 月 29 日 (29.08.2017)
- (25) 申请语言: 中文
- (26) 公布语言: 中文
- (71) 申请人: 中山大学 (SUN YAT-SEN UNIVERSITY) [CN/CN]; 中国广东省广州市海珠区新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。
- (72) 发明人: 张辉(ZHANG, Hui); 中国广东省广州市海珠区新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。
陈灿灿(CHEN, Cancan); 中国广东省广州市海珠区新港西路135号, Guangdong 510275 (CN)。
- (74) 代理人: 广州粤高专利商标代理有限公司(YOGO PATENT AND TRADEMARK AGENCY LIMITED COMPANY); 中国广东省广州市天河区体育西路191号中石化大厦B塔4416室, Guangdong 510620 (CN)。
- (81) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的国家保护): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW。
- (84) 指定国(除另有指明, 要求每一种可提供的地区保护): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), 欧亚 (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), 欧洲 (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG)。

本国际公布:

— 包括国际检索报告(条约第21条(3))。

(54) Title: USE OF CBX4 AS ACTIVATION TARGET FOR HIV-1 LATENT INFECTION

(54) 发明名称: CBX4作为HIV-1潜伏感染激活靶点的应用

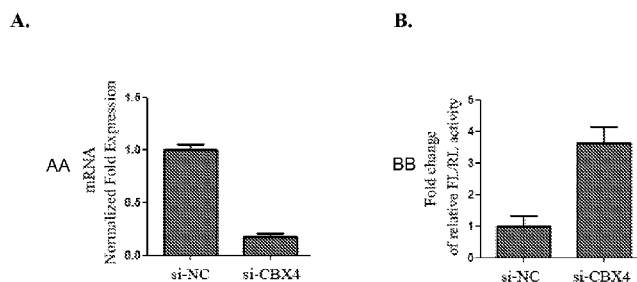


图 1

AA mRNA Normalized Fold Expression
BB Fold change of relative FL/RL activity

(57) Abstract: Disclosed is the use of CBX4 as an activation target for HIV-1 latent infection.

(57) 摘要: 本发明公开了CBX4作为HIV-1潜伏感染激活靶点的应用。

WO 2019/041127 A1

CBX4 作为 HIV-1 潜伏感染激活靶点的应用

技术领域

- 5 本发明涉及疾病相关功能靶点技术领域，具体地，涉及 HIV-1 潜伏感染激活靶点技术领域，更具体地，涉及 CBX4 作为 HIV-1 潜伏感染激活靶点的应用。

背景技术

- HIV-1 病毒是一种感染人类免疫系统细胞的慢病毒，它通过攻击人体 T 淋巴细胞，破坏人体免疫系统，最终导致获得性免疫缺陷综合征“艾滋病”的产生。
- 10 该病毒最初发现于 1981 年，在此之后的三十余年研究人员一直致力于对该病毒控制及清除，期望能够治愈该疾病。目前的常规治疗方法为简称 cART 的联合抗逆转录病毒疗法，该治疗方法能够有效的抑制病毒的复制，从而将病人外周血中的病毒载量控制到较低的水平。但是目前的通用治疗方法只能够在一定程度上控制病毒，并不能有效的清除。究其原因是因为 HIV-1 可潜伏在细胞内形成 HIV-1
- 15 储藏库，常规药物不能影响这些储藏库，并且病人一旦停止治疗，它们会因为各种原因被激活，从而导致病情反复。综上所述，HIV-1 储藏库的存在已成为 HIV-1 治愈的巨大障碍，如何有效的清除 HIV-1 储藏库是目前 HIV-1 领域的研究热点之一。当今的主流方法“shock and kill”是采用先激活后杀灭的思路。因此，研发安全、高效的 HIV-1 潜伏感染激活剂是当前亟待解决的问题之一。目前已有多种
- 20 HIV-1 潜伏感染激活剂被开发，根据它们的作用靶点可以分为以下几种类型，包括：组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDACi)、组蛋白甲基转移酶抑制剂(HMTi)、DNA 甲基转移酶抑制剂 (DNMTi)、蛋白激酶 C 激活剂 (PKC)、Bromodomain 抑制剂。

- CBX4 属于 CBX 蛋白家族，是多梳蛋白复合体 PRC1 的重要组分。CBX 蛋白家族包括：CBX2，CBX4，CBX6，CBX7，CBX8 五个成员。它们的 N 端拥有一个 CHROMO 结构域，这个结构域具有 H3K27 三甲基化的结合能力；C 端有一个保守区域叫做 C-Box，它负责 PRC1 复合体的组装。其中 CBX4 不仅对 H3K27 三甲基化有一定的亲和性，其与 H3K9 三甲基化也表现出显著的亲和力。现有技术中报道的 CBX4 的功能主要为参与调控个体发育、干细胞分化以及肿瘤
- 30 的发生。截至目前为止尚未有研究未公开 CBX4 是一个全新的 HIV-1 潜伏感染激

活作用靶点。

发明内容

本发明的目的在于提供 CBX4 作为 HIV-1 潜伏感染激活全新靶点的应用。

为了实现上述目的，本发明是通过以下技术方案予以实现的：

5 本发明通过研究发现抑制 CBX4 具有良好的 HIV-1 潜伏激活能力。本发明通过敲低 TZM-bl 细胞中的 CBX4 基因的表达量，使用双荧光素酶报告基因检测 HIV-1 的 LTR 的转录水平，结果发现敲低 CBX4 能够有效促进 HIV-1 LTR 的转录。本发明继而在 J-lat 10.6 HIV-1 潜伏感染细胞模型中有效敲低 CBX4 蛋白的表达情况，发现 J-lat10.6 细胞能够有效被激活，GFP 基因表达上调。本发明还构建
10 CBX4 表达质粒，在 TZM-bl 细胞中过表达 CBX4 蛋白，双荧光素酶报告基因检测发现，随着 CBX4 蛋白表达增加，HIV-1 的 LTR 的转录活性相应降低，两者的关系存在浓度梯度效应。进一步检测发现 CBX4 蛋白表达降低会降低 HIV-1 LTR H3K9 三甲基化，H3K27 三甲基化的富集程度，从而激活 HIV-1 潜伏感染。所以，本发明要求保护 CBX4 作为 HIV-1 潜伏感染激活靶点的应用。

15 因为 CBX4 可以作为 HIV-1 潜伏感染激活靶点，所以，抑制 CBX4 基因或 CBX 家族基因的化合物或其衍生物，或降解 CBX4 蛋白或 CBX 家族蛋白的化合物或其衍生物可以制备成 HIV-1 潜伏感染激活剂。

所述衍生物为化合物在药学上可接受的盐或酯。

所述药学上可接受的盐为钠、钾、钙、铁、亚铁或锌盐。

20 所述药学上可接受的酯为乙酯或丁酯。

与现有技术相比，本发明具有如下有益效果：

本发明首次发现 CBX4 可以作为 HIV-1 潜伏感染激活靶点，为进一步研发 HIV-1 相关药物提供了强有力的理论基础和实践基础。

附图说明

25 图 1 为高效敲低 TZM-bl 细胞中的 CBX4 基因的表达，能够有效促进 HIV-1 LTR 的转录活性，其中，图 A 为通过 q-PCR 检测 si-CBX4 在该细胞系中的敲低效率；图 B 为利用双荧光素酶报告基因检测 LTR 转录活性并进行分析。

图 2 为使用 shRNA-CBX4 敲低 J-lat 10.6 HIV-1 潜伏感染细胞中的 CBX4 基因能够有效激活 HIV-1 潜伏感染储存库，其中，图 A 为利用 q-PCR 检测
30 shRNA-CBX4 在 J-lat 10.6 细胞系中敲低 CBX4 的效率；图 B 为运用流式细胞术

检测 CBX4 敲低后, 该细胞模型中 HIV-1 潜伏感染的激活效果。

图 3 为构建 CBX4 表达质粒, 在 TZM-bl 细胞中过表达 CBX4 蛋白能够抑制 HIV-1 的 LTR 的转录, 其中, 图 A 为通过 Western Blot 技术检测构建的 pcDNA3.1-CBX4-FLAG 过表达质粒的表达效果; 图 B 为利用双荧光素酶报告基因检测随着 LTR 转录活性与 CBX4 过表达之间的梯度效应。

图 4 为 CBX4 蛋白表达降低会降低 HIV-1 LTR 的 H3K9 三甲基化 (图 A), H3K27 三甲基化 (图 B) 的富集程度, 从而激活 HIV-1 潜伏感染。

具体实施方式

下面结合说明书附图和具体实施例对本发明作出进一步地详细阐述, 所述实施例只用于解释本发明, 并非用于限定本发明的范围。下述实施例中所使用的试验方法如无特殊说明, 均为常规方法; 所使用的材料、试剂等, 如无特殊说明, 为可从商业途径得到的试剂和材料。

实施例 1

敲低 CBX4 基因表达能够有效促进 HIV-1 LTR 的转录活性, 具体实验方法如下:

- (1) 取生长良好的 TZM-bl 细胞, 接种于 24 孔板中。使用的培养基是完全培养基: 高糖 DMEM, 10%胎牛血清以及 1%双抗, 培养条件是 5%二氧化碳、37℃;
- (2) 24h 贴壁后, 分别共同转染 pcDNA3.1-Tat 质粒和 siRNA-CBX4 或 siRNA-NC, 如 1) 的条件继续培养;
- (3) 48h 后, 收取细胞沉淀, 取一种一部分使用 Trizol 法提取 RNA, 反转获得 cDNA, 使用 CBX4 特异性 Q-PCR 引物检测 CBX4 的 mRNA 表达水平, 确定 siRNA-CBX4 的敲低效率;
- (4) 取剩余细胞, 裂解后利用双荧光素酶报告基因检测方法, 检测不同转染处理组中的 HIV-1 LTR 的转录活性;
- (5) 对比 CBX4 敲低后, HIV-1 LTR 的转录活性。

实验结果如图 1 所示。从图中可以看出, 在 TZM-bl 细胞中, siRNA-CBX4 能够有效敲低细胞内源的 CBX4 基因, 其敲低效率大约为 80%左右。对比发现, 敲低 CBX4 能够有效的提升 HIV-1 LTR 的转录水平。

实施例 2

抑制 J-lat 10.6 HIV-1 潜伏感染细胞中的 CBX4 有效激活 HIV-1 潜伏感染储存库，具体实验方法如下：

(1) 合成特定碱基序列，退火构建针对 CBX4 的 shRNA，PLKO.1-CBX4 并测序确认序列正确。

5 (2) 取生长良好的人肾上细胞株 239T 细胞，接种于 10cm 平底板中。使用的培养基是完全培养基：高糖 DMEM，10%胎牛血清以及 1%双抗，培养条件是 5%二氧化碳、37℃；

(3) 24h 贴壁后，转染 PLKO.1-CBX4 或 PLKO.1-NC 和 psPAX2 、VSV-G 至细胞中，如 2) 的条件继续培养；

10 (4) 48h 后，收取上清，使用 PEG-6000 离心浓缩病毒颗粒，使用 ELISA P24 试剂盒检测病毒 P24；

(5)取生长良好的 J-lat10.6 细胞，计数后，用 4) 中得到的病毒进行感染，病毒用量约为每一个 10cm 板中的病毒感染 $2-3 \times 10^6$ /ml 细胞；(感染时使用促感染试剂 polybrene)；

15 (6) 感染 6h 后换液，使用 PBS 清洗三次，弃上清，使用 1640 培养基（10%胎牛血清，1%双抗）培养，培养条件是 5%二氧化碳、37℃；

(7) 第二天，在培养基中加入适量嘌呤霉素，浓度约为 $1-2 \mu\text{g/ml}$ ，5%二氧化碳、37℃培养 2 周，定期更换含有嘌呤霉素的 1640 培养基，以获得稳定感染 shRNA-CBX4 的 J-lat 10.6 细胞；

20 (8) 取部分细胞使用 Trizol 裂解提 RNA,反转获得 cDNA,使用 CBX4 特异性 Q-PCR 引物检测 CBX4 的 mRNA 表达水平；

(9) 使用流式细胞仪检测相应细胞的 GFP 表达水平，并作统计图分析结果。

实验结果如图 2 所示。从图中可以看出，在 J-lat 10.6 HIV-1 潜伏感染细胞有效敲低 CBX4 后能够有效激活 HIV-1 潜伏感染储存库。

25 实施例 3

在 TZM-bl 细胞中过表达 CBX4 蛋白能够抑制 HIV-1 的 LTR 的转录活性，具体实验方法如下：

(1) 订购 CBX4 cDNA 质粒模板，设计合适的引物，构建 CBX4 过表达质粒，pcDNA3.1-CBX4-FLAG；

(2) 取生长良好的 TZM-bl 细胞铺于 6 孔透明板中, 每孔 1×10^6 细胞, 使用的培养基是完全培养基: 高糖 DMEM, 10%胎牛血清以及 1%双抗, 培养条件是 5%二氧化碳、37℃;

(3) 24h 贴壁后, 转染 pcDNA3.1-CBX4-FLAG 质粒, 如 2) 的条件继续培养;

5 (4) 48h 后, 收取细胞, 使用 RIPA 裂解液裂解细胞, 通过 western blot 检测 CBX4 过表达水平, 确定 pcDNA3.1-CBX4-FLAG 过表达质粒的效果;

(5) 取生长良好的 TZM-bl 细胞铺于 24 孔透明板中, 每孔 1×10^5 细胞, 使用的培养基是完全培养基: 高糖 DMEM, 10%胎牛血清以及 1%双抗, 培养条件是 5%二氧化碳、37℃;

10 (6) 24h 贴壁后, 分别转染不同浓度的 pcDNA3.1-CBX4-FLAG 质粒和 pcDNA3.1-Tat 质粒, pcDNA3.1-CBX4-FLAG 梯度设定从 0-500ng, 用 pcDNA3.1 调节质粒的一致性, 如 2) 的条件继续培养;

(7) 48h 后, 收取细胞, 使用裂解液裂解利用双荧光素酶报告基因检测方法, 检测不同转染处理组中的 HIV-1 LTR 的转录活性。

15 实验结果如图 3 所示。从图中可以看出, 随着 CBX4 蛋白表达量的上升, HIV-1 LTR 的转录活性逐渐降低。

实施例 4

CBX4 蛋白表达降低会降低 HIV-1 LTR 的 H3K9 三甲基化, H3K27 三甲基化的富集程度, 具体实验方法如下:

20 (1)取生长良好的 TZM-bl, 接种于 10cm 平底板中。使用的培养基是完全培养基: 高糖 DMEM, 10%胎牛血清以及 1%双抗, 培养条件是 5%二氧化碳、37℃;

(2) 24h 贴壁后, 分别共同转染 pcDNA3.1-Tat 质粒和 siRNA-CBX4 或 siRNA-NC, 如 1) 的条件继续培养;

25 (3) 48h 后, 收取细胞沉淀, 利用 H3K9 三甲基化和 H3K27 三甲基化 ChIP 抗体, 通过 ChIP 检测 HIV-1 LTR 的 H3K9 三甲基化和 H3K27 三甲基化的富集程度;

(4)取生长良好的 J-lat10.6 细胞, 计数后用 shRNA-SCR 和 shRNA-CBX4 分别感染细胞, 病毒用量约为每一个 10cm 板中的病毒感染 $2 \sim 3 \times 10^6$ /ml 细胞;(感染时使用促感染试剂 polybrene);

(5)感染 6h 后换液，使用 PBS 清洗三次，弃上清，使用 1640 培养基（10% 胎牛血清，1%双抗）培养，培养条件是 5%二氧化碳、37℃；

(6)第二天，在培养基中加入适量嘌呤霉素，浓度约为 1~2 μ g/ml，5%二氧化碳、37℃培养 2 周，定期更换含有嘌呤霉素的 1640 培养基，以获得稳定感染 shRNA-CBX4 的 J-lat 10.6 细胞；

(7)收取细胞沉淀，利用 H3K9 三甲基化和 H3K27 三甲基化 ChIP 抗体，通过 ChIP 检测 HIV-1 LTR 的 H3K9 三甲基化和 H3K27 三甲基化的富集程度；

(8)对比分析，CBX4 敲低前后对 HIV-1 LTR 的 H3K9 三甲基化和 H3K27 三甲基化的富集程度。

10 CBX4 是 HIV-1 潜伏感染激活的有效靶点，抑制 CBX4（及 CBX 家族）基因或降解 CBX4（及 CBX 家族）蛋白的化合物及其衍生物，特别是其为药学可接受的盐、酯，如其钠、钾、钙、铁、亚铁、锌盐、乙酯、丁酯等同样可以激活 HIV-1 潜伏感染，便于 HIV 的后续治疗。

权 利 要 求 书

1. CBX4 作为 HIV-1 潜伏感染激活靶点的应用。

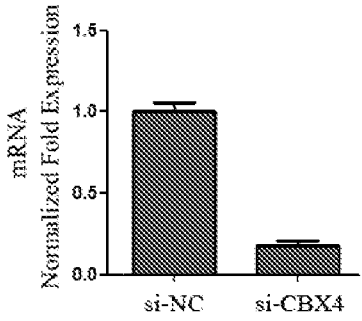
2. 根据权利要求 1 所述的应用，其特征在于，所述应用具体为将抑制 CBX4 基因或 CBX 家族基因的化合物或其衍生物，或降解 CBX4 蛋白或 CBX 家族蛋白的化合物或其衍生物制备成 HIV-1 潜伏感染激活剂。

3. 根据权利要求 2 所述的应用，其特征在于，所述衍生物为化合物在药学上可接受的盐或酯。

4. 根据权利要求 3 所述的应用，其特征在于，所述药学上可接受的盐为钠、钾、钙、铁、亚铁或锌盐。

5. 根据权利要求 3 所述的应用，其特征在于，所述药学上可接受的酯为乙酯或丁酯。

A.



B.

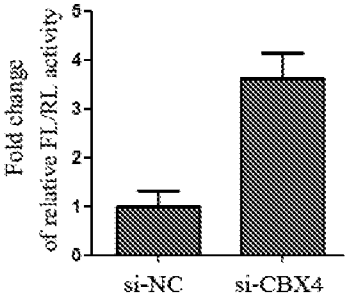
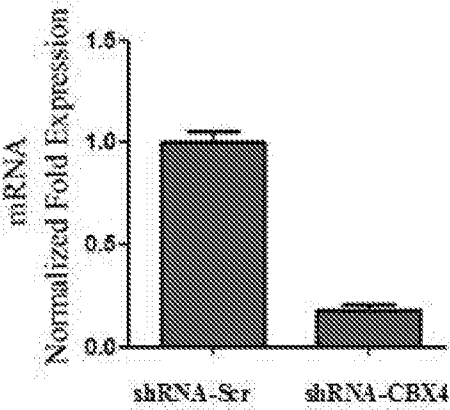


图 1

A.



B.

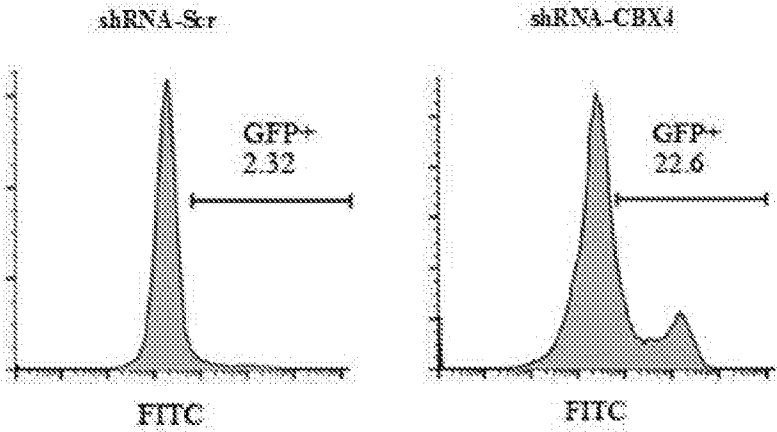
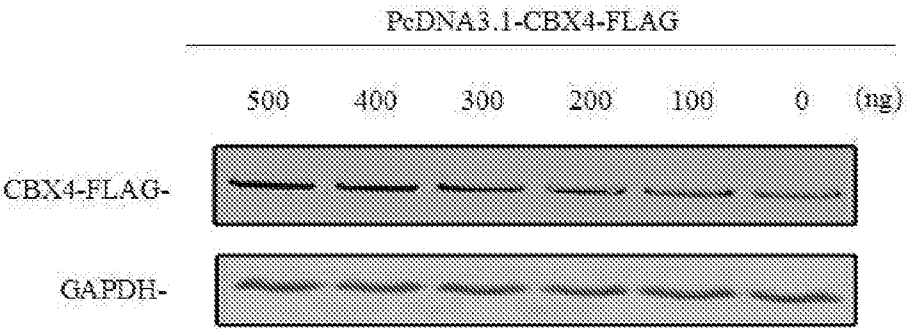


图 2

A.



B.

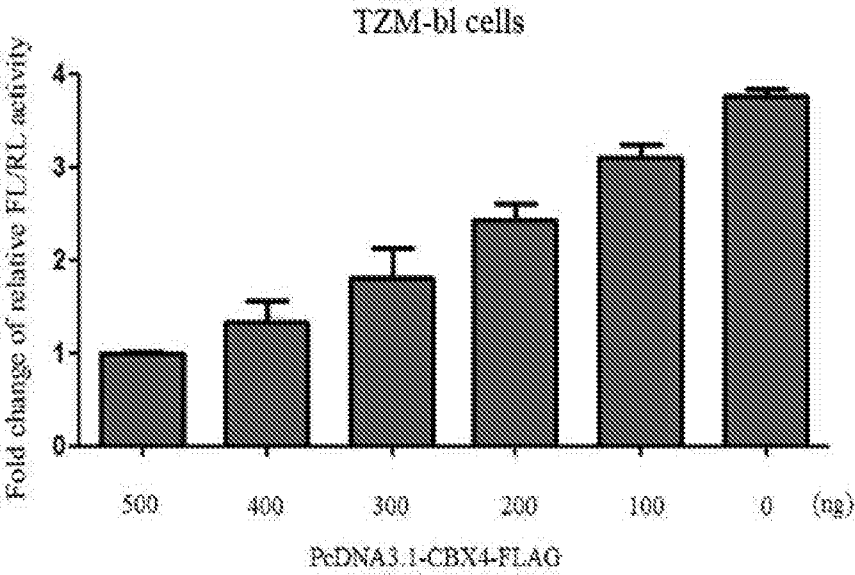
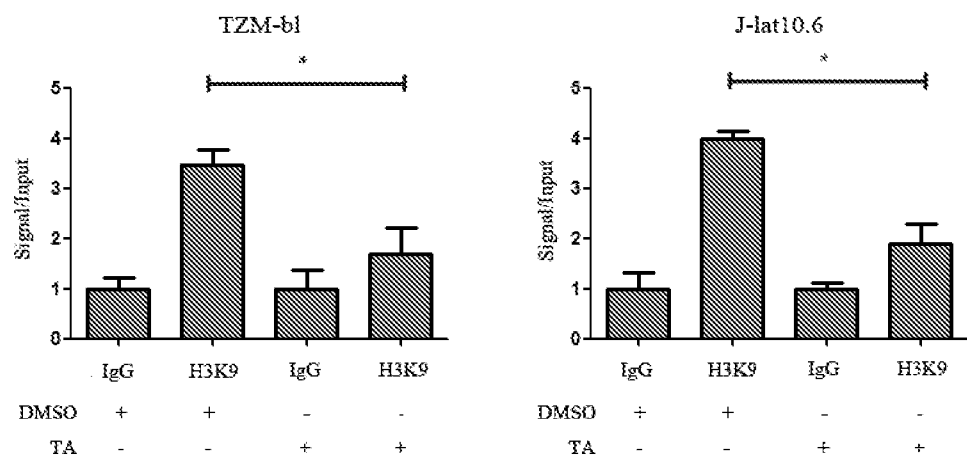


图 3

A.



B.

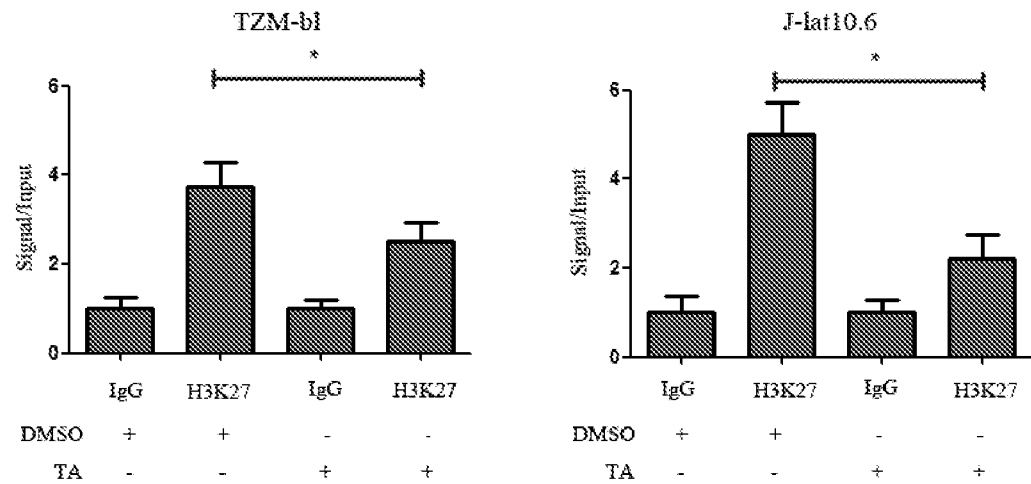


图 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/099466

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A61K 45/00 (2006.01) i; A61P 31/18 (2006.01) i

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A61K, A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

DWPI, SIPOABS, CPRSABS, CPEA, TWABS, CNABS, JPABS, MOABS, HKABS, CNMED, TWMED, KRABS, AUABS, DEABS, RUABS, SGABS, ILABS, FRABS, LEXIS, CNKI, WANFANG, ISI Web of Science, Elsevier Science: CBX4, HIV, 艾滋病, 病毒, human immunodeficiency virus, virus

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WANG, Xin et al. Role of CBX4 in the Colorectal Carcinoma Metastasis-Response. Cancer Research. 18 November 2016 (18.11.2016). 76(24), pp.7277 to 7289	1-5
A	ZHENG, Changli et al. MicroRNA-195 Functions as a Tumor Suppressor by Inhibiting CBX4 in Hepatocellular Carcinoma. ONCOLOGY REPORTS. 19 January 2015 (19.01.2015). 33(3), pp. 1115 to 1122	1-5
A	王伯庆. CBX4 在肝细胞癌中的生物学功能及其对肝癌预后的影响和分子机制. 中国博士学位论文全文数据库. 15 February 2015 (15.02.2015), no. 2, E072-79. (WANG, Boqing. Biological Function of CBX4 and Its Prognostic Significance and Corresponding Molecular Mechanisms in Hepatocellular Carcinoma. CDFD.)	1-5

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“E” earlier application or patent but published on or after the international filing date	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“&” document member of the same patent family
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search 09 May 2018	Date of mailing of the international search report 31 May 2018
Name and mailing address of the ISA State Intellectual Property Office of the P. R. China No. 6, Xitucheng Road, Jimenqiao Haidian District, Beijing 100088, China Facsimile No. (86-10) 62019451	Authorized officer LI, Yang Telephone No. (86-10) 62411031

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/CN2017/099466

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	曾凯等. CBX 与肿瘤关系的研究进展. 实用肿瘤学杂志. 31(2), 28 April 2017 (28.04.2017), pp. 165 to 169. (ZENG, Kai et al. Research Progress of CBX Protein and Tumor. Practical Oncology Journal.)	1-5
A	US 7842123 B2 (MILO EHUD et al.) 30 November 2010 (30.11.2010)	1-5

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/CN2017/099466

Patent Documents referred in the Report	Publication Date	Patent Family	Publication Date
US 7842123 B2	30 November 2010	US 2009199708 A1	13 August 2009
		WO 2008053287 A1	08 May 2008

国际检索报告

国际申请号

PCT/CN2017/099466

A. 主题的分类

A61K 45/00(2006.01)i; A61P 31/18(2006.01)i

按照国际专利分类(IPC)或者同时按照国家分类和IPC两种分类

B. 检索领域

检索的最低限度文献(标明分类系统和分类号)

A61K, A61P

包含在检索领域中的除最低限度文献以外的检索文献

在国际检索时查阅的电子数据库(数据库的名称, 和使用的检索词(如使用))

DWPI, SIPOABS, CPRABS, CPEA, TWABS, CNABS, JPABS, MOABS, HKABS, CNMED, TWMED, KRABS, AUABS, DEABS, RUABS, SGABS, ILABS, FRABS, LEXIS, CNKI, 万方, ISI Web of Science, Elsevier Science:CBX4, HIV, 艾滋病, 病毒, human immunodeficiency virus, virus

C. 相关文件

类 型*	引用文件, 必要时, 指明相关段落	相关的权利要求
A	Wang X等. "Role of CBX4 in the Colorectal Carcinoma Metastasis-Response" Cancer Research, 第76卷, 第24期, 2016年 11月 18日 (2016 - 11 - 18), 第7277-7289页	1-5
A	Zheng CL等. "microRNA-195 functions as a tumor suppressor by inhibiting CBX4 in hepatocellular carcinoma" ONCOLOGY REPORTS, 第33卷, 第3期, 2015年 1月 19日 (2015 - 01 - 19), 第1115-1122页	1-5
A	王伯庆. "CBX4在肝细胞癌中的生物学功能及其对肝癌预后的影响和分子机制" 中国博士学位论文全文数据库, 第02期, 2015年 2月 15日 (2015 - 02 - 15), E072-79	1-5
A	曾凯等. "CBX与肿瘤关系的研究进展" 实用肿瘤学杂志, 第31卷, 第2期, 2017年 4月 28日 (2017 - 04 - 28), 第165-169页	1-5
A	US 7842123 B2 (MILO EHUD等) 2010年 11月 30日 (2010 - 11 - 30)	1-5

☐ 其余文件在C栏的续页中列出。☒ 见同族专利附件。

* 引用文件的具体类型:

“A” 认为不特别相关的表示了现有技术一般状态的文件

“E” 在国际申请日的当天或之后公布的在先申请或专利

“L” 可能对优先权要求构成怀疑的文件, 或为确定另一篇引用文件的公布日而引用的或者因其他特殊理由而引用的文件 (如具体说明的)

“O” 涉及口头公开、使用、展览或其他方式公开的文件

“P” 公布日先于国际申请日但迟于所要求的优先权日的文件

“T” 在申请日或优先权日之后公布, 与申请不相抵触, 但为了理解发明之理论或原理的在后文件

“X” 特别相关的文件, 单独考虑该文件, 认定要求保护的发明不是新颖的或不具有创造性

“Y” 特别相关的文件, 当该文件与另一篇或者多篇该类文件结合并且这种结合对于本领域技术人员为显而易见时, 要求保护的发明不具有创造性

“&” 同族专利的文件

国际检索实际完成的日期

2018年 5月 9日

国际检索报告邮寄日期

2018年 5月 31日

ISA/CN的名称和邮寄地址

中华人民共和国国家知识产权局(ISA/CN)
中国北京市海淀区蓟门桥西土城路6号 100088

传真号 (86-10)62019451

受权官员

李洋

电话号码 62411031

国际申请号	PCT/CN2017/099466
-------	-------------------

检索报告引用的专利文件			公布日 (年/月/日)	同族专利			公布日 (年/月/日)
US	7842123	B2	2010年 11月 30日	US	2009199708	A1	2009年 8月 13日
				WO	2008053287	A1	2008年 5月 8日

表 PCT/ISA/210 (同族专利附件) (2015年1月)