

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl⁷

[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 00807046.6

C12N 15/12
C12N 15/62 C07K 14/47
C07K 16/18 A61K 35/12
A61K 38/17 A61K 39/00
A61P 35/00 G01N 33/53
C12Q 1/68 A61K 48/00

[43] 公开日 2002 年 6 月 26 日

[11] 公开号 CN 1355844A

[22] 申请日 2000.4.10 [21] 申请号 00807046.6

[30] 优先权

[32] 1999.4.9 [33] US [31] 09/288,950

[32] 1999.7.2 [33] US [31] 09/346,327

[86] 国际申请 PCT/US00/09688 2000.4.10

[87] 国际公布 WO00/61756 英 2000.10.19

[85] 进入国家阶段日期 2001.11.1

[71] 申请人 科里克萨有限公司

地址 美国华盛顿

[72] 发明人 S·G·瑞德 J·许

D·C·狄隆

[74] 专利代理机构 中国国际贸易促进委员会专利商标事
务所

代理人 唐伟杰

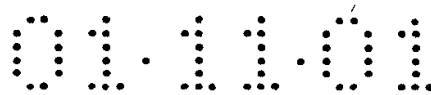
权利要求书 9 页 说明书 70 页 附图页数 1 页

[54] 发明名称 用于免疫治疗和诊断乳腺癌的化合物及其应用方法

[57] 摘要

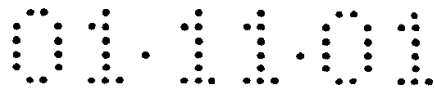
本发明提供用于治疗 and 诊断乳腺癌的化合物和方法。本发明化合物包括含有乳腺肿瘤蛋白的至少一个部分的多肽。本发明还提供含有这些多肽或编码这些多肽的多核苷酸、用于免疫治疗乳腺癌的疫苗和药物组合物,以及用于制备本发明多肽的多核苷酸。

I S S N 1 0 0 8 - 4 2 7 4



权利要求书

1. 含有乳腺蛋白质或其变体的免疫原性部分的分离的多肽，其中所述蛋白质含有由这样一种多核苷酸编码的氨基酸序列，所述多核苷酸含有选自如下组的序列：(a) SEQ ID NOS: 3、10、17、24、45-52、55-67、72、73、89-97、102 和 107 中所示的核苷酸序列；(b) 所述核苷酸序列的互补序列；和 (c) 在中等严谨条件下与 (a) 或 (b) 的序列杂交的序列。
2. 权利要求 1 的分离多肽，其中该多肽含有选自 SEQ ID NO: 98、99 和 101 的氨基酸序列。
3. 分离的多核苷酸，其含有编码权利要求 1 和 2 之任意一项的多肽的核苷酸序列。
4. 含有 SEQ ID NOS: 3、10、17、24、45-52、55-67、72、73、89-97、102 和 107 中所提供的序列的分离多核苷酸。
5. 含有根据权利要求 3 和 4 之任意一项的多核苷酸的表达载体。
6. 用权利要求 5 的表达载体转化的宿主细胞。
7. 权利要求 6 的宿主细胞，其中该宿主细胞选自大肠杆菌、酵母和哺乳动物细胞系。
8. 含有权利要求 1 的多肽和生理上可接受的载体的药物组合物。
9. 含有权利要求 1 的多肽和非特异性免疫应答增强剂的疫苗。
10. 权利要求 9 的疫苗，其中该非特异性免疫应答增强剂是佐剂。



11. 含有权利要求 3 和 4 之任意一项的分离多核苷酸和非特异性免疫应答增强剂的疫苗。

12. 权利要求 11 的疫苗，其中该非特异性免疫应答增强剂是佐剂。

13. 含有多肽和生理上可接受载体的用于治疗乳腺癌的药物组合物，该多肽含有乳腺蛋白的免疫原性部分，其中所述蛋白含有由这样一种多核苷酸编码的氨基酸序列，所述多核苷酸含有选自下组的序列：(a)SEQ ID NOS: 1、2、4-9、11-16、18-23、25-44、53、54、68-71、74-88 和 103-106 中所示的核苷酸序列；(b)所述核苷酸序列的互补序列；和(c)在中等严紧条件下与(a)或(b)的序列杂交的序列。

14. 含有多肽和非特异性免疫应答增强剂的用于治疗乳腺癌的疫苗，所述多肽含有乳腺蛋白的免疫原性部分，其中所述蛋白含有由这样一种多核苷酸编码的氨基酸序列，所述多核苷酸含有选自下组的序列：(a)SEQ ID NOS: 1、2、4-9、11-16、18-23、25-44、53、54、68-71、74-88 和 103-106 中所示的核苷酸序列；(b)所述核苷酸序列的互补序列；和(c)在中等严紧条件下与(a)或(b)的序列杂交的序列。

15. 权利要求 14 的疫苗，其中该非特异性免疫应答增强剂是佐剂。

16. 含有多核苷酸和非特异性免疫应答增强剂的用于治疗乳腺癌的疫苗，该多核苷酸含有选自下组的序列：(a)SEQ ID NOS: 1、2、4-9、11-16、18-23、25-44、53、54、68-71、74-88 和 103-106 中所示的核苷酸序列；(b)所述核苷酸序列的互补序列；和(c)在中等严紧条件下与(a)或(b)的序列杂交的序列。

17. 权利要求 16 的疫苗，其中该非特异性免疫应答增强剂是佐剂。

18. 根据权利要求 8 和 13 之任意一项的药物组合物，用于制备抑制患者乳腺癌发展的药物。

19. 根据权利要求 9、11、14 或 16 之任意一项的疫苗，用于制备抑制患者乳腺癌发展的药物。

20. 含有至少一个根据权利要求 1 的多肽的融合蛋白。

21. 含有根据权利要求 20 的融合蛋白和生理上可接受的载体的药物组合物。

22. 含有根据权利要求 20 的融合蛋白和非特异性免疫应答增强剂的疫苗。

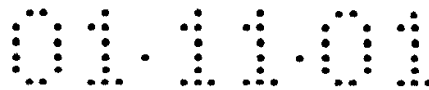
23. 权利要求 22 的疫苗，其中该非特异性免疫应答增强剂是佐剂。

24. 根据权利要求 21 的药物组合物，用于制备抑制患者乳腺癌发展的药物。

25. 根据权利要求 22 的疫苗，用于制备抑制患者乳腺癌发展的药物。

26. 检测患者体内乳腺癌的方法，包括：

(a) 用能够与多肽结合的结合剂接触来自患者的生物样品，该多肽含有乳腺蛋白的免疫原性部分，其中所述蛋白含有由这样一种多核苷酸编码的氨基酸序列，所述多核苷酸含有选自如下组的序列：SEQ ID NOS: 1-97、100 和 102-107 中所示的核苷酸序列；所述核苷酸序列的互补序列；和在中等严谨条件下与 SEQ ID NOS: 1-97、100 和 102-107 中所提供的序列杂交的序列；和



(b) 检测样品中与该结合剂结合的蛋白质或多肽，藉此检测患者中的乳腺癌。

27. 权利要求 26 的方法，其中该结合剂是单克隆抗体。

28. 权利要求 27 的方法，其中该结合剂是多克隆抗体。

29. 监测患者乳腺癌进展趋势的方法，包括：

(a) 用能够与多肽结合的结合剂接触来自患者的生物样品，该多肽含有乳腺蛋白的免疫原性部分，其中所述蛋白含有由这样一种多核苷酸编码的氨基酸序列，所述多核苷酸含有选自如下组的序列：SEQ ID NOS: 1-97、100 和 102-107 中所示的核苷酸序列；所述核苷酸序列的互补序列；和在中等严谨条件下与 SEQ ID NOS: 1-97、100 和 102-107 中所提供的序列杂交的序列；和

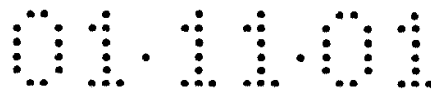
(b) 确定样品中与该结合剂结合的蛋白质或多肽的量；

(c) 重复步骤 (a) 和 (b)；和

(d) 比较步骤 (b) 和 (c) 所检测到的多肽的量，以监测患者中乳腺癌的进展趋势。

30. 与多肽结合的单克隆抗体，该多肽含有乳腺蛋白或所述蛋白之变体的免疫原性部分，该变体仅因保守替代和/或修饰而与所述蛋白不同，其中所述蛋白含有由这样一种多核苷酸编码的氨基酸序列，所述多核苷酸含有选自如下组的序列：(a) SEQ ID NOS: 3、10、17、24、45-52、55-67、72、73、89-97、102 和 107 中所示的核苷酸序列；(b) 所述核苷酸序列的互补序列；和 (c) 在中等严谨条件下与 (a) 或 (b) 的序列杂交的序列。

31. 根据权利要求 30 的单克隆抗体，用于制备抑制患者乳腺癌发展的药物。



32. 权利要求 31 的单克隆抗体, 其中该单克隆抗体与治疗剂偶联。

33. 检测患者中乳腺癌的方法, 包括:

(a) 在聚合酶链式反应中用至少两个寡核苷酸引物接触来自患者的生物样品, 其中至少一个寡核苷酸对编码含有乳腺蛋白免疫原性部分的多肽的多核苷酸是特异的, 所述蛋白含有由包含选自如下组的序列的多核苷酸编码的氨基酸序列: SEQ ID NO: 1-97、100 和 102-107 中所示的核苷酸序列; 所述核苷酸序列的互补序列; 和在中等严紧条件下与 SEQ ID NO: 1-97、100 和 102-107 的序列杂交的序列; 和

(b) 检测样品中在这些寡核苷酸引物存在时扩增的多核苷酸序列, 籍此检测乳腺癌。

34. 权利要求 33 的方法, 其中至少一个该寡核苷酸引物含有包含选自 SEQ ID NOS:1-97、100 和 102-107 的序列的多核苷酸中至少约 10 个连续核苷酸。

35. 诊断试剂盒, 其含有:

(a) 权利要求 30 的一种或多种单克隆抗体; 和

(b) 检测试剂。

36. 诊断试剂盒, 其含有:

(a) 可与由多核苷酸编码的多肽结合的一种或多种单克隆抗体, 该多核苷酸含有选自下组的核苷酸序列: SEQ ID NOS: 1、2、4-9、11-16、18-23、25-44、53、54、68-71、74-88 和 103-106; 所述序列的互补序列; 和在中等严紧条件下与 SEQ ID NO: 1、2、4-9、11-16、18-23、25-44、53、54、68-71、74-88 或 103-106 的序列杂交的序列。

(b) 检测试剂。



37. 权利要求 35 或 36 的试剂盒，其中该单克隆抗体被固定在固相支持物上。

38. 权利要求 37 的试剂盒，其中该固相支持物含有硝酸纤维素、胶乳或塑料材料。

39. 权利要求 35 或 36 的试剂盒，其中该检测试剂含有与结合剂偶联的报道基团。

40. 权利要求 39 的试剂盒，其中该结合剂选自抗免疫球蛋白、G 蛋白、A 蛋白和凝集素。

41. 权利要求 39 的试剂盒，其中该报道基团选自放射性同位素、荧光基团、发光基团、酶、生物素和染料颗粒。

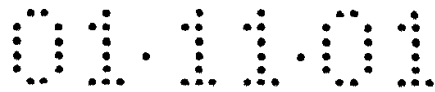
42. 含有至少两个寡核苷酸引物的诊断试剂盒，该寡核苷酸引物的至少一个对编码含有乳腺蛋白免疫原性部分的多肽的多核苷酸是特异的，所述蛋白含有由包含选自如下组的序列的多核苷酸编码的氨基酸序列：SEQ ID NO: 1-97、100 和 102-107 中所示的核苷酸序列；所述核苷酸序列的互补序列；和在中等严紧条件下与 SEQ ID NO: 1-97、100 和 102-107 的序列杂交的序列。

43. 权利要求 42 的诊断试剂盒，其中该寡核苷酸引物的至少一个含有包含选自 SEQ ID NOS: 1-97、100 和 102-107 的序列的多核苷酸中的至少约 10 个连续核苷酸。

44. 检测患者乳腺癌的方法，包括：

(a) 从该患者获得生物样品；

(b) 用对编码含有乳腺蛋白免疫原性部分的多肽的多核苷酸特异



的寡核苷酸探针接触该生物样品，所述蛋白含有由包含选自如下组的序列的多核苷酸编码的氨基酸序列：SEQ ID NO：1-97、100 和 102-107 中所示的核苷酸序列；所述核苷酸序列的互补序列；和在中等严谨条件下与 SEQ ID NO：1-97、100 和 102-107 的序列杂交的序列；和

(c) 检测该样品中与该寡核苷酸探针杂交的多核苷酸序列，藉此检测该患者中的乳腺癌。

45. 权利要求 44 的方法，其中该寡核苷酸探针含有包含选自 SEQ ID NOS：1-97、100 和 102-107 的序列的多核苷酸中的至少约 15 个连续核苷酸。

46. 诊断试剂盒，其包括对编码含有乳腺蛋白免疫原性部分的多肽的多核苷酸特异的寡核苷酸探针，所述蛋白含有由包含选自如下组的序列的多核苷酸编码的氨基酸序列：SEQ ID NO：1-97、100 和 102-107 中所示的核苷酸序列；所述核苷酸序列的互补序列；和在中等严谨条件下与 SEQ ID NO：1-97、100 和 102-107 的序列杂交的序列。

47. 权利要求 46 的诊断试剂盒，其中该寡核苷酸探针含有包含选自 SEQ ID NOS：1-97、100 和 102-107 的序列的多核苷酸中的至少约 15 个连续核苷酸。

48. 治疗患者的乳腺癌的方法，包括步骤：

- (a) 从该患者获得外周血细胞；
- (b) 在至少一种权利要求 1 和 2 之任意一项的多肽存在时孵育该细胞，使得 T 细胞增殖；和给该患者施用该增殖的 T 细胞。

49. 治疗患者的乳腺癌的方法，包括步骤：

- (a) 从该患者获得外周血细胞；
- (b) 在至少一种权利要求 3 和 4 之任意一项的多核苷酸存在时孵

育该细胞，使得 T 细胞增殖；和

(c) 给该患者施用该增殖的 T 细胞。

50. 权利要求 48 和 49 之任意一项的方法，其中将细胞解育步骤重复一或多次。

51. 权利要求 48 和 49 之任意一项的方法，其中步骤 (a) 还包括从该外周血细胞中分离 T 细胞，并且在步骤 (b) 中解育的细胞是该 T 细胞。

52. 权利要求 48 和 49 之任意一项的方法，其中步骤 (a) 还包括从该外周血细胞中分离 CD4+细胞或 CD8+细胞，并且在步骤 (b) 中增殖的细胞是该 CD4+细胞或 CD8+细胞。

53. 权利要求 48 和 49 之任意一项的方法，其中步骤 (b) 还包括对在该多肽存在时增殖的至少一种 T 细胞进行克隆。

54. 治疗患者乳腺癌的组合物，其含有在权利要求 1 和 2 之任意一项的多肽存在时增殖的 T 细胞，以及可药用载体。

55. 治疗患者乳腺癌的组合物，其含有在权利要求 3 和 4 之任意一项的多核苷酸存在时增殖的 T 细胞，以及可药用载体。

56. 治疗患者乳腺癌的方法，包括步骤：

(a) 在至少一种权利要求 1 和 2 之任意一项的多肽存在时解育抗原呈递细胞；和

(b) 给患者施用该解育过的抗原呈递细胞。

57. 治疗患者乳腺癌的方法，包括步骤：

(a) 在至少一种权利要求 3 和 4 之任意一项的多核苷酸存在时解

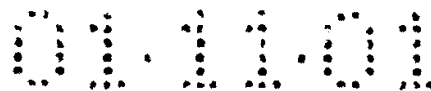
育抗原呈递细胞；和

(b) 给患者施用该孵育过的抗原呈递细胞。

58. 权利要求 56 或 57 的方法，其中该抗原呈递细胞选自树突细胞、巨噬细胞、单核细胞、成纤维细胞、B 细胞或它们的组合。

59. 治疗患者乳腺癌的组合物，其含有在权利要求 1 和 2 之任意一项的多肽存在时孵育过的抗原呈递细胞，以及可药用载体。

60. 治疗患者乳腺癌的组合物，其含有在权利要求 3 和 4 之任意一项的多核苷酸存在时孵育过的抗原呈递细胞，以及可药用载体。



说明书

用于免疫治疗和诊断乳腺癌的化合物及其应用方法

技术领域

一般地，本发明涉及用于治疗 and 诊断乳腺癌的组合物和方法。更具体地，本发明涉及含有优选在乳腺肿瘤组织中表达的蛋白质的至少一部分的多肽，和编码这些多肽的多核苷酸。可以在治疗乳腺癌的疫苗和药物组合物中使用这些多肽和多核苷酸。此外，还可以在乳腺癌的免疫诊断中应用这些多肽和多核苷酸。

发明背景

在美国及全球范围内，乳腺癌是一个显著的女性健康问题。尽管在该疾病的检测和治疗方面已获得了进展，但乳腺癌仍是导致女性癌症相关死亡的第二大原因，在美国每年有 180,000 多名女性患者。对于北美的女性，一生中患乳腺癌的可能性目前是 8 分之 1。

目前还没有预防或治疗乳腺癌的疫苗或其它普遍成功的方法。该疾病的治疗目前依赖于早期诊断（通过常规的乳腺筛检方法）和侵入治疗的结合，其中该侵入治疗可以包括手术、放疗、化疗和激素治疗等各种治疗方法中的一或多种。具体乳腺癌的治疗疗程通常基于各种预后参数进行选择，这些参数包括对特异肿瘤标志的分析。见例如 Porter-Jordan 和 Lippman, 乳腺癌 (Breast Cancer) 8:73-100 (1994)。然而，已确立的标志的使用经常导致难于解释的结果，而且在乳腺癌患者中观察到的高死亡率说明在该疾病的治疗、诊断和预防方面需要改进。

因此，本领域需要治疗和诊断乳腺癌的改良方法。本发明不仅满足了这些需要，而且提供了其它的相关优点。

发明概要

本发明提供用于免疫治疗乳腺癌的化合物和方法。一方面，本发明提

供分离的多肽，该多肽含有乳腺肿瘤蛋白或仅由于保守替代和/或修饰而与所述蛋白质不同的变体的至少免疫原性部分，其中该乳腺肿瘤蛋白含有由这样一种多核苷酸编码的氨基酸序列，所述多核苷酸含有选自如下组的序列：(a) SEQ ID NOS:3、10、17、24、45-52、55-67、72、73、89-97、102 和 107 所示核苷酸序列，(b) 所述核苷酸序列的互补序列，及(c) 在中等严谨条件下与(a)或(b)的序列杂交的序列。在具体的实施方案中。本发明的分离多肽含有 SEQ ID NO:98、99 或 101 的氨基酸序列。

在相关方面，本发明提供编码上述多肽的分离的多核苷酸。在具体的实施方案中，这些多核苷酸含有 SEQ ID NOS:3、10、17、24、45-52 和 55-67、72、73、89-97、102 和 107 所示序列。本发明还提供含有以上多核苷酸的表达载体和这些表达载体转化或转染的宿主细胞。在优选的实施方案中，该宿主细胞选自大肠杆菌(E. coli)、酵母和哺乳动物细胞。

另一方面，本发明提供含有第一和第二本发明多肽，或者是含有一个本发明多肽和一个已知乳腺抗原的融合多肽。

本发明还提供含有至少一种上述多肽，或编码该多肽的多核苷酸，及生理上可接受载体的药物组合物，和含有至少一种或多种该多肽或多核苷酸及非特异性免疫应答增强剂的疫苗。本发明还提供含有一种或多种上述融合蛋白的药物组合物和疫苗。

在相关方面，本发明提供含有至少一种多肽和生理上可接受载体、用于治疗乳腺癌的药物组合物，其中该多肽含有乳腺肿瘤蛋白或其变体的免疫原性部分，该乳腺肿瘤蛋白由含有选自下组的序列的多核苷酸编码：(a) SEQ ID NOS: 1、2、4-9、11-16、18-23、25-44、53、54、68-71、74-88 和 103-106 所示核苷酸序列，(b) 所述核苷酸序列的互补序列，及(c) 在中等严谨条件下与(a)或(b)的序列杂交的序列。本发明还提供含有所述多肽和非特异性免疫应答增强剂用于治疗乳腺癌的疫苗，以及含有至少一种包含了 SEQ ID NOS:1、2、4-9、11-16、18-23、25-44、53、54、68-71、74-88 和 103-106 所示序列的多核苷酸的药物组合物和疫苗。

再一方面，本发明提供用于抑制患者乳腺癌发展的方法，包括施用有效量的至少一种上述药物组合物和/或疫苗。

本发明还提供用于免疫诊断乳腺癌的方法，以及用于该方法的试剂盒。在本发明的一个具体方面中，提供了用于检测患者乳腺癌的方法，包括：(a) 用能够与上述多肽之一结合的结合剂接触获自患者的生物样品；和(b) 检测样品中与该结合剂结合的蛋白质或多肽。在优选的实施方案中，该结合剂是抗体、最优选是单克隆抗体。

在相关方面，本发明提供监测患者乳腺癌进展趋势的方法，包括：(a) 用能够与上述多肽之一结合的结合剂接触获自患者的生物样品；(b) 确定样品中与该结合剂结合的蛋白质或多肽的量；(c) 重复步骤(a)和(b)；和比较步骤(b)和(c)中检测到的多肽的量。

在相关的方面，本发明提供与本发明多肽结合的抗体、优选单克隆抗体，以及含有这种抗体的诊断试剂盒，和应用这些抗体抑制乳腺癌发展的方法。

本发明还提供检测乳腺癌的方法，包括：(a) 从患者获得生物样品；(b) 在聚合酶链式反应中用第一和第二寡核苷酸引物接触该样品，这些寡核苷酸引物的至少一个对编码以上多肽之一的多核苷酸是特异的；和(c) 检测样品中当存在该第一和第二多核苷酸引物时扩增的 DNA 序列。在一个优选的实施方案中，至少一个该寡核苷酸引物含有包含选自 SEQ ID NOS: 1-97、100 和 102-107 的序列的多核苷酸中至少约 10 个连续核苷酸。

再一方面，本发明提供用于检测患者中乳腺癌的方法，包括：(a) 从患者获得生物学样品；(b) 用编码以上多肽之一的多核苷酸所特异的寡核苷酸探针接触该样品；和(c) 检测样品中与该寡核苷酸探针杂交的多核苷酸序列。优选地，该寡核苷酸探针含有包含选自 SEQ ID NOS: 1-97、100 和 102-107 的序列的多核苷酸中至少约 15 个连续核苷酸。

在相关方面，提供含有以上寡核苷酸探针或引物的诊断试剂盒。

参照以下详述，本发明的这些和其它方面将是明了的。本文所公开的所有文献在此以参考文献方式完整地并入本文，就象每篇文献单独并入一样。

附图和序列名称简述

图 1A 和 B 分别显示了在 B511s (填充方块) 或 HLA-A3(空白方块) 转导的自体 LCL 上测量的第一个和第二个 B511S 特异性 CTL 克隆的特异裂解活性。

SEQ ID NO: 1 是 1T-5120 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 2 是 1T-5122 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 3 是 1T-5123 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 4 是 1T-5125 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 5 是 1T-5126 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 6 是 1T-5127 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 7 是 1T-5129 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 8 是 1T-5130 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 9 是 1T-5133 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 10 是 1T-5136 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 11 是 1T-5137 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 12 是 1T-5139 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 13 是 1T-5142 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 14 是 1T-5143 的测定的 3'cDNA 序列
SEQ ID NO: 15 是 1T-5120 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 16 是 1T-5122 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 17 是 1T-5123 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 18 是 1T-5125 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 19 是 1T-5126 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 20 是 1T-5127 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 21 是 1T-5129 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 22 是 1T-5130 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 23 是 1T-5133 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 24 是 1T-5136 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 25 是 1T-5137 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 26 是 1T-5139 的测定的 5'cDNA 序列

SEQ ID NO: 27 是 1T-5142 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 28 是 1T-5143 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 29 是 1D-4315 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 30 是 1D-4311 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 31 是 1E-4440 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 32 是 1E-4443 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 33 是 1D-4321 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 34 是 1D-4310 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 35 是 1D-4320 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 36 是 1E-4448 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 37 是 1S-5105 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 38 是 1S-5110 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 39 是 1S-5111 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 40 是 1S-5116 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 41 是 1S-5114 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 42 是 1S-5115 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 43 是 1S-5118 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 44 是 1T-5134 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 45 是 1E-4441 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 46 是 1E-4444 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 47 是 1E-4322 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 48 是 1S-5103 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 49 是 1S-5107 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 50 是 1S-5113 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 51 是 1S-5117 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 52 是 1S-5112 的测定的 5'cDNA 序列
SEQ ID NO: 53 是 1013E11 的测定的 cDNA 序列
SEQ ID NO: 54 是 1013H10 的测定的 cDNA 序列
SEQ ID NO: 55 是 1017C2 的测定的 cDNA 序列

- SEQ ID NO: 56 是 1016F8 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 57 是 1015F5 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 58 是 1017A11 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 59 是 1013A11 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 60 是 1016D8 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 61 是 1016D12 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 62 是 1015E8 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 63 是 1015D11 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 64 是 1012H8 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 65 是 1013C8 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 66 是 1014B3 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 67 是 1015B2 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 68-71 是先前鉴定抗原的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 72 是 JJ9434 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 73 是 B535S 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 74-88 是先前鉴定抗原的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 89 是 B534S 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 90 是 B538S 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 91 是 B542S 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 92 是 B543S 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 93 是 B501S 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 94 是 B541S 的测定的 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 95 是 1016F8 (又称 B511S) 的延伸 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 96 是 1016D12 (又称 B532S) 的延伸 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 97 是 1012H8 (又称 B533S) 的延伸 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 98 是 B511S 的预测氨基酸序列
- SEQ ID NO: 99 是 B532S 的预测氨基酸序列
- SEQ ID NO: 100 是 P501S 的测定的全长 cDNA 序列
- SEQ ID NO: 101 是 P501S 的预测氨基酸序列



SEQ ID NO: 102 是克隆 # 19605 (又称 1017C2) 的测定的 cDNA 序列, 表现出与任何已知基因均无显著同源性

SEQ ID NO: 103 是克隆 # 19599 的测定的 3' 末端 cDNA 序列, 表现出与肿瘤表达增强基因 (Tumor Expression Enhanced gene) 的同源性

SEQ ID NO: 104 是克隆 # 19599 的测定的 5' 末端 cDNA 序列, 表现出与肿瘤表达增强基因的同源性

SEQ ID NO: 105 是克隆 # 19607 的测定的 cDNA 序列, 表现出与基质溶素 3 的同源性

SEQ ID NO: 106 是克隆 # 19601 的测定的 cDNA 序列, 表现出与胶原蛋白的同源性

SEQ ID NO: 107 是克隆 # 19606 (又称 B546S) 的测定的 cDNA 序列, 表现出与任何已知基因均无显著同源性

发明详述

正如以上指出的, 一般地, 本发明指向用于免疫治疗和诊断乳腺癌的组合物和方法。本发明组合物一般是含有乳腺肿瘤蛋白的至少一个部分的分离多肽。本发明还包括与本发明多肽结合的分子 (例如抗体或其片段) 。这些分子在本文中被称作 “ 结合剂 ” 。

具体地, 本发明公开了含有人乳腺肿瘤蛋白或其变体的至少一个部分的分离多肽, 其中该乳腺肿瘤蛋白包括由含有选自下组的序列的多核苷酸分子编码的氨基酸序列: SEQ ID NOS: 1-97、100 和 102-107 所示核苷酸, 所述核苷酸序列的互补序列, 和它们的变体。在某些具体的实施方案中, 本发明多肽含有选自 SEQ ID NO: 98、99 和 101 中所提供的序列和其变体的氨基酸序列。本文所用术语 “ 多肽 ” 是指包括全长蛋白质在内的任何长度氨基酸链, 其中这些氨基酸残基通过共价肽键连接。因此, 含有以上乳腺蛋白质之一的一部分的多肽可以完全由该部分组成, 或该部分可以存在于一个含有其它序列的更大多肽中。该其它序列可以来自自身蛋白质或可以是异源的, 而且这些序列可以具有免疫反应性和/或抗原性。

本文所用人乳腺肿瘤蛋白的“免疫原性部分”是指能够在乳腺癌患者中引起免疫应答并从而与乳腺癌患者血清中存在的抗体结合的部分。该免疫原性部分一般含有至少约 5 个氨基酸残基、更优选至少约 10 个、最优选至少约 20 个氨基酸残基。可以在抗体结合测定中确定本文所述蛋白质的免疫原性部分。这些测定一般可以采用本领域普通技术人员已知的各种方法中的任何一种来进行，例如描述于 Harlow 和 Lane 的《抗体：实验室手册》(Antibodies: A Laboratory Manual) (Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1988) 中的方法。例如，可以将多肽固定在固相支持物上（见下述），并与患者血清接触以使该血清中的抗体可以和该固定化多肽结合。然后除去未结合的血清，并采用例如 ¹²⁵I 标记的 A 蛋白检测结合的抗体。或者，可以采用多肽制备单克隆和多克隆抗体，以用于检测乳腺癌患者血液或其它体液中的该多肽。制备和鉴定已知序列抗原的免疫原性部分的方法是本领域熟知的，包括那些总结在 Paul, 基础免疫学 (Fundamental Immunology), 第 3 版, Raven Press, 1993, 第 243-247 页中的方法。

本文所用术语“多核苷酸”是指脱氧核糖核苷酸或核糖核苷酸碱基的单链或双链聚合物，包括 DNA 以及包括 HnRNA 和 mRNA 分子在内的相应 RNA 分子，既包括有义链，也包括反义链，还包括 cDNA、基因组 DNA 和重组 DNA，以及完全或部分合成的多核苷酸。HnRNA 分子含有内含子，以广义的一对一方式和 DNA 分子对应。mRNA 分子相应于从中切除内含子后的 HnRNA 和 DNA 分子。多核苷酸可以由完整的基因或其任何部分组成。可操作的反义多核苷酸可以含有该相应多核苷酸的片段，因此“多核苷酸”的定义包括所有这些可操作的反义片段。

本发明的组合物和方法还包括以上多肽和多核苷酸的变体。本文所用多肽“变体”是指仅由于保守性替代和/或修饰而与所述多肽不同的多肽，以致保留了所述多肽的治疗性质、抗原性质和/或免疫原性性质。在一个优选的实施方案中，多肽变体与指定的序列之间相差 5 个或更少氨基酸的替代、缺失或添加。这些变体一般可以通过对以上多肽序列之一进行修饰，然后采用例如本文所述的代表性程序评价该修饰多肽的抗原性质

来鉴定。多肽变体优选表现出与该指定多肽有至少约 70%、更优选至少约 90%、最优选至少约 95% 的一致性（按以下方法确定的）

本文所用“保守替代”是指用一个氨基酸替代另一个具有相似性质的氨基酸，以致肽化学领域的技术人员可以预期该多肽的二级结构和亲水性质基本没有改变。一般地，以下各组氨基酸代表了保守改变：(1) ala、pro、gly、glu、asp、gln、asn、ser、thr；(2) cys、ser、tyr、thr；(3) val、ile、leu、met、ala、phe；(4) lys、arg、his；和(5) phe、tyr、trp、his。

变体还可以，或者作为一种替代方案可以，含有其它修饰，包括对该多肽的抗原性质、二级结构和亲水性质产生最小影响的氨基酸缺失或添加。例如，多肽可以在其 N 末端偶联在翻译同时或在翻译后指导该蛋白质转移的信号（或前导）序列。该多肽还可以和接头或其它序列偶联，以便于该多肽的合成、纯化或鉴定（例如聚 His），或增强该多肽与固相支持物的结合。例如，多肽可以和免疫球蛋白的 Fc 区偶联。

核苷酸“变体”是指由于一或多个核苷酸缺失、替代或插入而与所述核苷酸序列不同的序列。采用标准技术，例如 Adelman 等（DNA, 2: 183, 1983）讲授的寡核苷酸指导的位点特异性诱变，可以容易地引入这些修饰。核苷酸变体可以是天然存在的等位变体、或非天然存在的变体。核苷酸变体的序列优选表现出与该所述序列有至少约 70%、更优选至少约 80%、最优选至少约 90% 的一致性（确定方法见下）。

本发明提供的抗原包括由与本文具体列举的一个或多个 DNA 序列基本同源的 DNA 序列编码的变体。本文所用“基本同源”是指 DNA 序列能够在中等严紧条件下杂交。适合的中等严紧条件包括在 5×SSC、0.5% SDS、1.0mM EDTA (pH 8.0) 的溶液中预洗涤；在 5×SSC 中 50℃-65℃ 杂交过夜，或对于交叉种同源，用 0.5×SSC 于 45℃ 杂交；之后用含有 0.1% SDS 的 2×、0.5×和 0.2×SSC 于 65℃ 20 分钟各进行 2 次洗涤。这些杂交的 DNA 序列也属于本发明的范畴，同样由于密码的简并性编码杂交 DNA 序列所编码的免疫原性多肽的核苷酸序列也属于本发明的范畴。

如果在按下述方法进行最大匹配比对后，两个核苷酸或多肽序列中的

核苷酸或氨基酸残基序列相同，则这两个序列被认为是“一致的”。两个序列间比较的典型方式是在比较窗中对序列进行比较以确定和比较局部区域的序列相似性。本文所用“比较窗”是指具有至少约 20 个连续位置、通常 30-约 75 个、更优选 40-约 50 个连续位置的区段，在该区段中可以在这两个序列最佳比对后比较一个序列和具有相同数目连续位置的参考序列。

为了序列比较，可以采用 Lasergene 生物信息软件包中的 Megalign 程序 (DNASTAR 公司, Madison, WI)，利用默认参数进行序列的最佳比对。该程序体现了以下文献中所述的几个比对策略：Dayhoff, M. O. (1978) 蛋白质的进化改变模型 - 检测远缘关系的矩阵，见 Dayhoff, M. O. (编)《蛋白质序列和结构图集》(Atlas of Protein Sequence and Structure)，国立生物化学研究基金会, Washington DC, 第 5 卷, 增刊 3, 第 345-358 页；Hein J. (1990) 比对和系统发生的统一方法，第 626-645 页，《酶学方法》(Methods in Enzymology) 第 183 卷, Academic Press 公司, San Diego, CA；Higgins, D. G. 和 Sharp, P. M. (1989) 在微机上进行快速灵敏的多序列比对, CABIOS 5:151-153；Myers, E. W. 和 Muller W. (1988) 线性空间中的最佳比对 CABIOS 4: 11-17；Robinson, E. D. (1971) Comb. Theor. 11:105；Santou, N. Nes, M. (1987) 邻近连接法，一种重建系统发生树的新方法, Mol. Biol. Evol. 4:406-425；Sneath, P. H. A. 和 Sokal, R. R. (1973)《数值分类学 - 数值分类学的原理和实践》(Numerical Taxonomy - the Principles and Practice of Numerical Taxonomy)，Freeman Press, San Francisco, CA；Wilbur, W. J. 和 Lipman, D. J. (1983) 核酸和蛋白质数据库的快速相似性查询，美国国家科学院院刊 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA) 80: 726-730。

优选地，“序列一致性百分数”通过在至少有 20 个位置的比较窗中比较两个最佳比对的序列来确定，其中与参考序列（不含有插入或缺失）相比，该比较窗中的多核苷酸序列部分可以含有 20% 或更少，通常 5-15%，或 10-12% 的插入或缺失（即间隔区），以实现这两个序列的最佳比对。该百分数的计算方法是：确定这两个序列中出现一致核酸碱基或

氨基酸残基的位置的数目以获得匹配位置数，用该匹配位置数除以该参考序列的总位置数（即该窗的大小），然后将所获结果乘以 100 以产生该序列一致性百分数。

编码本文所述核苷酸序列的基因的等位基因也包括在本发明范围内。本文所用“等位基因”或“等位序列”是可以由该核酸序列中的至少一个突变产生的基因的另一种形式。等位基因可以导致改变的 mRNA，或其结构或功能可能发生改变或不改变的多肽。任何指定基因都可以没有、或有一种或多种等位形式。一般地，产生等位基因的常见突变可以归为核苷酸的天然缺失、插入或替代。这些改变类型的每一种均可以单独地或联合其它的改变一起，在指定序列中一次或多次出现。

对于具有免疫反应性的乳腺肿瘤多肽，变体还可以通过对以上多肽之一的氨基酸序列进行修饰，然后评价该修饰多肽的免疫反应性来鉴定。对于用于制备诊断结合剂的乳腺肿瘤多肽，可以通过评价修饰多肽在制备用于检测乳腺癌存在与否的抗体方面的能力来鉴定变体。这种修饰序列可以采用例如本文所述的代表程序来制备和测试。

本发明的乳腺肿瘤蛋白，和编码这些蛋白质的多核苷酸分子，可以采用本领域熟知的各种方法之任一种从乳腺肿瘤组织中分离得到。编码本发明乳腺肿瘤蛋白之一的基因（或其部分）的相应多核苷酸序列可以采用扣除技术 (Subtraction technique) 按以下详细描述的方法从乳腺肿瘤 cDNA 文库中分离。SEQ ID NOS: 1-97、100 和 102-107 中提供了这些 DNA 序列的例子。可以采用本领域的熟知技术（见例如 Mullis 等, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 51:263, 1987; Erlich 编, PCR 技术 (PCR Technology), Stockton Press, NY, 1989），利用由此获得的部分多核苷酸序列，设计寡核苷酸引物在聚合酶链式反应 (PCR) 中扩增全长多核苷酸序列。一旦获得编码多肽的多核苷酸序列，可以采用标准诱变技术，例如 Adelman 等 (DNA, 2:183, 1983) 所述的寡核苷酸指导的位点特异性诱变，容易地引入以上任一种修饰。

本文公开的乳腺肿瘤多肽还可以通过合成或重组的方式制备。具有少于约 100 个氨基酸，一般少于约 50 个氨基酸的合成多肽，可以采用本领域

域普通技术人员熟知的技术制备。例如，可以采用任意一种商业可获得的固相技术，例如将氨基酸顺序地添加到生长的氨基酸链上的 Merrifield 固相合成法（见例如 Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2146, 1963），合成这些多肽。多肽自动合成的装置可从供应商例如 Perkin Elmer/Applied BioSystems Division (Foster City, CA) 购买，并可以根据厂家说明书进行操作。

或者，可以通过将编码以上任一种多肽的多核苷酸序列插入表达载体中，然后在适当的宿主中表达该蛋白质，重组产生该多肽。本领域普通技术人员已知的各种表达载体均可以用于表达本发明的重组多肽。可以在含有编码重组多肽的多核苷酸分子的表达载体所转化或转染的任何适当宿主细胞中实现表达。适合的宿主细胞包括原核生物、酵母和高等真核细胞。优选地，所用宿主细胞是大肠杆菌、酵母或哺乳动物细胞系，例如 CHO 细胞。以此方式表达的多核苷酸序列可以编码天然存在的多肽、天然存在多肽的部分、或它们的其它变体。

一般地，无论采用何种制备方法，本文公开的多肽以分离的基本纯的形式被制备出来（即通过氨基酸组成和一级序列分析确定该多肽是均质的）。优选地，该多肽有至少约 90% 的纯度，更优选至少约 95% 的纯度，最优选至少约 99% 的纯度。在以下将作更为详细描述某些优选实施方案中，将这些基本纯的多肽掺入在本文公开的一或多个方法中使用的药物组合物或疫苗中。

在一个相关方面，本发明提供含有第一和第二本发明多肽、或者是一个本发明多肽和一个已知乳腺肿瘤抗原的融合蛋白质，以及这些融合蛋白的变体。

采用已知的重组 DNA 技术，通过将编码所述第一和第二多肽的单个多核苷酸序列组装在适当的表达载体中，可以构建编码本发明融合蛋白质的多核苷酸序列。编码第一多肽的多核苷酸序列的 3' 末端与编码第二多肽的多核苷酸序列的 5' 末端，在有或无肽接头时，连接在一起，使得这些序列的阅读框相符合，以允许这两个 DNA 序列的 mRNA 翻译成保留了该第一和第二多肽的生物学活性的单个融合蛋白质。

可以采用肽接头序列将该第一多肽和第二多肽分开足够长的距离，以保证多肽折叠成其二级和三级结构。采用本领域熟知的标准技术将该多肽接头序列并入该融合蛋白中。可以基于以下因素选择适合的肽接头序列：(1) 能够采取柔性伸展构象；(2) 不能采取与该第一和第二多肽的功能性表位发生相互作用的二级结构；和(3) 缺乏可能与该多肽功能性表位反应的疏水或带电荷残基。优选的肽接头序列含有 Gly、Asn 和 Ser 残基。其它近中性氨基酸，例如 Thr 和 Ala 也可以用于该接头序列中。可以用作接头的有用氨基酸序列包括那些公开于如下文献中的序列：Maratea 等，基因 (Gene) 40:39-46, 1985；Murphy 等，美国国家科学院院刊 83:8258-8262, 1986；美国专利 4,935,233 和美国专利 4,751,180。该接头序列可以长 1-约 50 个氨基酸。当该第一和第二多肽具有能够用以分开这些功能域并防止空间干扰的非必需 N 端氨基酸区域时，则无需这些肽序列。

将这些连接在一起的多核苷酸序列可操作地与适当的转录或翻译调节元件连接起来。将负责多核苷酸表达的调节元件仅定位在编码该第一多肽的多核苷酸序列的 5'端。同样，终止翻译所必需的终止密码子和转录终止信号仅存在于编码该第二多肽的多核苷酸序列的 3'端。

本发明还提供含有本发明多肽及无关免疫原蛋白质的融合蛋白。优选地该免疫原蛋白质能够引起回忆应答。这些蛋白质的实例包括破伤风、结核和肝炎蛋白（见例如 Stoute 等，New Engl. J. Med., 336:86-91 (1997)）。

一般说来，含有乳腺肿瘤蛋白免疫原性部分的本发明多肽可以用于免疫治疗乳腺癌，其中该多肽激起患者自身对乳腺肿瘤细胞的免疫应答。在其它方面，本发明提供了采用由具有 SEQ ID NOS: 1-97、100 和 102-107 所示序列的多核苷酸分子编码的一或多种免疫反应性多肽（或含有一或多种该多肽的融合蛋白和/或编码这些多肽的多核苷酸），免疫治疗患者乳腺癌的方法。本文所用“患者”是指任何恒温动物，优选人类。患者可以被疾病所感染，或可以不带有可检测疾病。因此，可以采用以上免疫反应性多肽（或融合蛋白或编码这些多肽的多核苷酸分子）治疗乳

腺癌或抑制乳腺癌的发展。在一个优选实施方案中，这些多肽在手术去除原发性肿瘤和/或通过施用放疗和常规化疗药物进行治疗之前或之后施用。

在这些方面，该多肽或融合蛋白一般存在于药物组合物和/或疫苗中。药物组合物可以含有一或多种多肽及生理上可接受的载体，而其中的每一种多肽可以含有一或多个上述序列（或其变体）。该疫苗可以含有一或多种该多肽和非特异性免疫应答增强剂，其中该非特异性免疫应答增强剂能够引起或增强针对外源抗原的免疫应答。非特异性免疫应答增强剂的实例包括佐剂、（其中掺入了该多肽的）生物可降解微球体（microsphere）（例如 polylactic galactide）和脂质体。药物组合物和疫苗还可以含有其它乳腺肿瘤抗原表位，这些表位或可以并入组合多肽（即含有多个表位的单一多肽）中，或可以存在于单独的多肽中。

或者，药物组合物或疫苗可以含有编码以上一个或多个多肽的多核苷酸，以致可原位产生该多肽。在这些药物组合物和疫苗中，该多核苷酸可以存在于本领域普通技术人员已知的多种递送系统之任一种中，这些系统包括核酸表达系统、细菌和病毒表达系统。适合的核酸表达系统含有在患者中进行表达所必需的多核苷酸序列（例如适合的启动子）。细菌递送系统包括施用在其表面表达乳腺肿瘤细胞抗原表位的细菌（例如卡介苗（Bacillus-Calmette-Guerrin））。在一个优选实施方案中，可以采用病毒表达系统（例如痘苗病毒或其它痘病毒、逆转录病毒、或腺病毒）引入该多核苷酸分子，该系统可能涉及到非致病性（缺陷型）可复制病毒的使用。适合的系统公开于例如 Fisher-Hoch 等，PNAS 86:317-321, 1989; Flexner 等, Ann, N. Y. Acad. Sci. 569:86-103, 1989; Flexner 等, 疫苗 (Vaccine) 8:17-21, 1990; 美国专利 4,603,112、4,769,330 和 5,017,487; WO 89/01973; 美国专利 4,777,127; GB 2,200,651; EP 0,345,242; WO 91/02805; Berkner, 生物技术 (Biotechniques) 6:616-627, 1988; Rosenfeld 等, 科学 (Science) 252:431-434, 1991; Kolls 等, PNAS 91:215-219, 1994; Kass-Eisler 等, PNAS 90:11498-11502, 1993; Guzman 等, 血液循环 (Circulation)

88:2838-2848, 1993; 和 Guzman 等, *Cir. Res.* 73:1202-1207, 1993. 用于将多核苷酸引入这些表达系统的技术是本领域普通技术人员熟知的。

这些多核苷酸也可以是“裸露的”，参见例如公开的 PCT 申请 WO 90/11092, 和 Ulmer 等, *科学* 259:1745-1749, 1993, 综述参见 Cohen, *科学* 259:1691-1692, 1993. 可以通过将这些裸露的多核苷酸包被在可以有效地运送入细胞的生物可降解小珠上, 增加该多核苷酸的摄取。

给药的途径和频率, 及剂量将随各患者而不同, 可以参照目前用于其它疾病的免疫治疗的给药。一般地, 该药物组合物和疫苗可以通过注射 (例如皮内、肌内、静脉内或皮下)、鼻内 (例如通过吸入) 或口服施用。可以在 3-24 周的时期中施用 1-10 个剂量。优选地, 每隔 3 个月施用 4 个剂量, 而且之后可以定期给予加强用药。其它用药方案可能对于个别患者是适合的。适合的剂量是在被治疗患者中有效引起针对乳腺肿瘤细胞的 (细胞和/或体液) 免疫应答的多肽或多核苷酸量。适合的免疫应答高于基础 (即未治疗) 水平至少 10-50%。一般地, 在一个剂量中存在的 (或由一个剂量中的多核苷酸原位产生的) 多肽量的范围是每 kg 宿主约 1pg-约 100mg 之间, 典型的在约 10pg-约 1mg 之间, 优选在约 100pg-约 1 μ g 之间。适合的剂量体积将随患者的体积大小不同, 但典型的是约 0.01ml-约 5ml 之间。

尽管在本发明的药物组合物中可采用本领域普通技术人员已知的任何适合载体, 但载体的类型将随给药方式的改变而改变。对于非胃肠道用药, 例如皮下注射, 该载体优选含有水、盐水、乙醇、脂质、蜡和/或缓冲液。对于口服用药, 可以采用以上任一种载体或固体载体, 例如甘露醇、乳糖、淀粉、硬脂酸镁、糖精钠、滑石、纤维素、葡萄糖、蔗糖、和/或碳酸镁。还可采用生物可降解微球体 (例如 polylactic glycolide) 作为用于本发明药物组合物的载体。适合的生物可降解微球体公开于例如美国专利 4,897,268 和 5,075,109。

在本发明疫苗中可以采用多种非特异性免疫应答增强剂中之任一种。例如, 可以将佐剂包括在内。大多数佐剂含有设计用以防止抗原快速代

谢的物质，例如氢氧化铝或矿物油，和免疫应答的非特异性刺激剂，例如脂质 A、Bordetella pertussis 或结核分支杆菌 (Mycobacterium tuberculosis)。这些佐剂可从商业途径获得，例如弗氏不完全佐剂和完全佐剂 (Difco Laboratories, Detroit, MI) 和 Merck 佐剂 65 (Merck and Company, Inc., Rahway, NJ)。

本文公开的多肽还可以用于癌症的过继免疫治疗。过继免疫治疗可以大致分为主动或被动免疫治疗。在主动免疫治疗中，治疗方案在于通过施用免疫应答调节剂（例如肿瘤疫苗、细菌佐剂和/或细胞因子）体内刺激内源性宿主免疫系统的抗肿瘤反应。

在被动免疫治疗中，治疗方案涉及递送具有确定肿瘤免疫反应性的能够直接或间接地介导抗肿瘤作用的生物试剂（例如效应细胞或抗体），而无需依赖于完整的宿主免疫系统。效应细胞的例子包括 T 淋巴细胞（例如 CD8+ 细胞毒 T 淋巴细胞、CD4+ T 辅助细胞、 γ/δ T 淋巴细胞、肿瘤浸润淋巴细胞）、杀伤细胞（例如自然杀伤细胞、淋巴因子激活的杀伤细胞）、B 细胞、或表达本公开抗原的抗原呈递细胞（例如树突细胞和巨噬细胞）。还可以采用本文公开的多肽产生抗体或抗独特型抗体（参见美国专利 4,918,164），用于被动免疫治疗。

获得用于过继免疫治疗的足够数量 T 细胞的主要方法是在体外培养免疫 T 细胞。用于将单个抗原特异性 T 细胞扩大至数十亿个并保留其体内抗原识别性质的培养条件是本领域熟知的。典型地，这些体外培养条件是，通常在细胞因子（例如 IL-2）和非分裂饲养细胞时，利用抗原进行间歇性刺激。正如以下指出的，本文所述免疫反应性多肽可以用于快速扩大抗原特异性 T 细胞培养物，以产生足够用于免疫治疗的细胞数目。具体地，采用本领域熟知的标准技术，可以用免疫反应性多肽脉冲（pulse）抗原呈递细胞例如树突细胞、巨噬细胞、单核细胞、成纤维细胞或 B 细胞，也可以将一或多个多核苷酸序列引入抗原呈递细胞中。例如，可以用多核苷酸序列转染或转导抗原呈递细胞，其中所述序列含有适于诱导表达的启动子区，而且能够作为重组病毒或其它表达系统的部分来表达。有几种病毒载体可以用于转导抗原呈递细胞，它们包括痘病

毒、痘苗病毒和腺病毒。可以通过各种方式包括基因枪技术、脂介导的递送、电穿孔、渗透压休克、和微粒递送机制，用本文公开的多核苷酸序列转染抗原呈递细胞，获得有效的可接受表达水平，该水平可由本领域技术人员确定。为了使培养细胞在治疗中有效，该培养 T 细胞必需能够在体内生长和广泛分布，并且能够长期存活。研究表明，通过用补加 IL-2 的抗原进行重复刺激能够诱导相当大数量的培养 T 细胞在体内生长并长期存活（见例如 Cheever, M. 等, “用培养 T 细胞进行的治疗：再论原理 (Therapy With Cultured T Cells: Principles Revisited)”，免疫学综述 (Immunological Reviews), 157:177, 1997)。

本文公开的多肽还可以用于产生和/或分离肿瘤反应性 T 细胞，然后可给患者施用这些细胞。一个方法是，可以通过用相应于本公开多肽免疫原性部分的短肽进行体内免疫，产生抗原特异性 T 细胞系。所获的抗原特异性 CD8⁺ CTL 克隆可以从该患者中分离，并采用标准组织培养技术扩增，然后又返回给该患者。

或者，可以按例如 Chang 等 (Crit. Rev. Oncol. Hematol., 22(3), 213, 1996) 所述的方法，采用相应于这些多肽免疫原性部分的肽通过自体 T 细胞的选择性体外刺激和扩增以提供随后可以用于转移给患者的抗原特异性 T 细胞，从而产生肿瘤反应性 T 细胞亚型。采用商业可获得的细胞分离系统，可以从患者的外周血分离免疫系统的细胞，例如 T 细胞。用包含在递送载体例如微球体中的一或多种该免疫反应性多肽刺激该分离细胞，以提供抗原特异性细胞。然后采用标准技术扩增该肿瘤抗原特异性 T 细胞，并将这些细胞返回施用给该患者。

在其它实施方案中，可以克隆这些多肽特异的 T 细胞和/或抗体的受体，扩增并将其转移至其它载体或效应细胞中用于过继免疫治疗。具体地，可以用适合的基因转染 T 细胞，以将肿瘤特异性单克隆抗体可变区表达成细胞外识别元件并与 T 细胞受体信号传导链连接，从而导致 T 细胞激活、特异性裂解和细胞因子的释放。这使得该 T 细胞能够以独立于 MHC 的方式重新定向其特异性。见例如 Eshhar, Z., 癌症免疫学免疫治疗 (Cancer Immunol Immunother), 45(3-4):131-6, 1997 和 Hwu, P. 等,

癌症研究 (Cancer Res), 55(15):3369-73, 1995。另一个实施方案可以包括肿瘤抗原特异性 α 和 β T 细胞受体链向其它 T 细胞的转染, 参见 Cole, DJ 等, 癌症研究 55(4):748-52, 1995。

在其它实施方案中, 可以用相应于本文所公开多肽的至少免疫原性部分的肽脉冲同基因或自体树突细胞。所获的抗原特异性树突细胞可以转移至患者体内, 或用于刺激 T 细胞以提供抗原特异性 T 细胞再施用给患者。Cheever 等 (免疫学综述, 157:177, 1997) 阐述了肽脉冲树突细胞在产生抗原特异性 T 细胞中的应用, 以及随后这些抗原特异性 T 细胞在小鼠模型中消除肿瘤的应用。

此外, 还可以将表达本公开多核苷酸的载体引入从患者采获的干细胞中, 并体外克隆增殖用于自体移植返回同一患者体内。

在一个具体的实施方案中, 可以采用商业可获得的细胞分离系统, 例如 CellPro 公司 (Bothell, WA) 的 CEPRATE™ 系统 (见美国专利 5, 240, 856; 美国专利 5, 215, 926; WO 89/06280; WO 91/16116 和 WO 92/07243), 从患者外周血分离该免疫系统的细胞例如 T 细胞。用包含在递送载体例如微球体中的一或多种该免疫反应性多肽刺激该分离细胞, 以提供抗原特异性 T 细胞。然后采用标准技术扩增该肿瘤抗原特异性 T 细胞群体, 并将这些细胞返回施用给该患者。

本发明的多肽还可以, 或者作为可供选择的替代方式, 用于产生能够检测转移性人乳腺肿瘤的结合剂, 例如抗体或其片段。本发明的结合剂一般可以采用本领域普通技术人员已知的方法制备, 包括采用本文所述的代表性方法。采用本文所述的代表性测定方法, 结合剂能够区分患有乳腺癌的患者和未患该病的患者。换言之, 产生的抗乳腺肿瘤蛋白或其适合部分的抗体或其它结合剂, 可以在至少约 20% 患有该病的患者中产生指示原发性或转移性乳腺肿瘤的信号, 并在至少大约 90% 未患原发性或转移性乳腺肿瘤的个体中产生指示无该疾病的阴性信号。这些乳腺肿瘤蛋白的适合部分是能够产生在采用全长蛋白质所指示的基本上所有 (即至少约 80%、优选至少约 90%) 乳腺癌患者中指示原发性或转移性乳腺癌存在、而在采用全长蛋白质检测时为阴性的基本上所有样品中指示无

乳腺癌的结合剂的乳腺肿瘤蛋白部分。一般地，可以采用下述的代表性测定方法，例如双抗体三明治测定方法，评价结合剂检测转移性人乳腺肿瘤的能力。

一般地，可以通过制备抗按本文所制备多肽的一或多种抗体（采用例如本文所述的代表性方法），然后测定这些抗体在患者中检测原发性或转移性人乳腺肿瘤的能力，来评价该多肽产生能够检测该肿瘤的抗体的能力。可以通过分析来自患有和未患原发性或转移性乳腺癌的患者的生物样品中是否存在与所制备的这些抗体结合的多肽，实现该测定。这些测试试验可以采用例如下述的代表性方法来进行。产生通过这些方法能够检测到至少 20% 原发性或转移性乳腺肿瘤的抗体的多肽被认为在用于检测原发性或转移性人乳腺肿瘤的测定中是有用的。多肽特异性抗体可以单独使用或联合使用以提高灵敏度。

能够检测原发性或转移性人乳腺肿瘤的多肽可以用作在患者中诊断乳腺癌或监测疾病进展趋势的标志。在一个实施方案中，可以通过相对于预确定的截断值评价从患者获得的生物学样品中以上一或多种多肽的水平，对该患者进行乳腺癌诊断。本文所用适合的“生物学样品”包括血液、血清和尿。

一或多种以上多肽的水平可以采用对该多肽特异的任何结合剂来评价。“结合剂”在本发明的上下文中是指与上述多肽结合的任何物质（例如化合物或细胞）。本文所用“结合”是指两个独立的分子（每一个均可以是游离的（即在溶液中），或存在于细胞或固相支持物表面）之间的非共价连接，以致形成“复合物”。该复合物可以是游离的或（以共价或非共价形式）固定在固体材料上。一般地，可以通过测定形成该复合物的结合常数来评价结合的能力。该结合常数是用复合物各成分浓度的乘积除该复合物的浓度时获得的值。一般地，当复合物形成的结合常数超过约 10^3L/mol 时，在本发明的上下文中两个化合物被称为是相“结合”的。该结合常数可以采用本领域普通技术人员熟知的方法来测定。

满足以上要求的任何物质均可以是结合剂。例如，结合剂可以是含有或不含有肽成分的核糖体、RNA 分子或肽。在一个优选实施方案中，该结

合伴侣是抗体或其片段。这些抗体可以是多克隆或单克隆抗体。此外，该抗体还可以是单链、嵌合、CDR 嫁接的、或人源化的抗体。可以采用本文所述方法和本领域技术人员熟知的其它方法制备抗体。

有多种本领域普通技术人员已知的测定方式可以用于结合伴侣对样品中多肽标志的检测。见例如 Harlow 和 Lane, 抗体: 实验室手册 (Antibodies: A Laboratory Manual), Cold Spring Harbor Laboratory, 1988。在一个优选实施方案中, 该测定涉及用固定在固相支持物上的结合伴侣结合样品中的该多肽并将其与样品其余部分分离。然后可以采用含有报道基团的第二结合伴侣检测该结合的多肽。适合的第二结合伴侣包括与该结合伴侣/多肽复合物结合的抗体。或者, 可以利用竞争实验, 在该实验中将该结合伴侣与样品一起孵育之后, 用报道基团标记多肽并使之能与该固定的结合伴侣结合。该样品成分对该标记多肽与该结合伴侣结合的抑制程度指示了该样品与该固定的结合伴侣的反应性。

所述固体支持物可以是本领域普通技术人员已知的可以附着该抗原的任何材料。例如该固体支持物可以是微量滴定板中的测试孔或硝酸纤维素膜或其它适合的膜。或者, 该支持物可以是小珠或圆盘, 例如玻璃、玻璃纤维、胶乳、或塑料例如聚苯乙烯或聚氯乙烯。该支持物还可以是磁性颗粒或光导纤维传感器, 例如公开于美国专利 5, 359, 681 中的那些。采用本领域技术人员熟知的、在专利和科学文献中有充分描述的各种技术, 可以将该结合剂固定在固相支持物上。在本发明的上下文中, 术语“固定”是指非共价连接例如吸附, 和共价结合(其可以是抗原和固相上官能团之间的直接连接, 或可以通过交联剂形成的连接)。优选通过吸附于微量滴定板孔中或膜上进行固定。在这些情况下, 可以通过在适合缓冲液中使结合剂与该固体支持物接触适当长的时间来实现吸附。该接触时间随温度而改变, 但典型地在约 1 小时和约 1 天之间。一般地, 用约 10ng - 约 10 μ g 量、优选约 100ng - 约 1 μ g 量的结合剂接触一个塑料微量滴定板孔(例如聚苯乙烯或聚氯乙烯), 足以固定足够量的结合剂。

一般可以通过首先用既可与支持物又可与结合剂上的官能团(如羟基或氨基)反应的双功能试剂与该支持物反应, 实现该结合剂与该固体支

持物的共价结合。例如，可以采用苯醌或通过支持物上的醛基和结合伴侣上的胺及活性氢缩合，将该结合剂与具有适当聚合物包衣的支持物共价结合（见例如 Pierce 免疫技术产品目录和手册 (Pierce Immunotechnology Catalog and Handbook), 1991, A12-A13）。

在某些实施方案中，所述测定方法是双抗体三明治实验。可以通过首先使固定在固体支持物上（通常是微量滴定板的孔中）的抗体与样品接触，使得该样品中的多肽可以与该固定的抗体结合，以进行该实验。从该固定的多肽-抗体复合物中除去未结合的样品，并加入能够与该多肽上的不同部位结合的第二抗体（含有报道基团）。然后采用适于该具体报道基团的方法，确定与该固体支持物保持结合的二抗的量。

更具体地，一旦该抗体按以上所述被固定在该支持物上后，典型地封闭该支持物上剩余的蛋白质结合位点。可以采用本领域普通技术人员已知的任何适合的封闭剂，例如牛血清白蛋白或 Tween 20™ (Sigma Chemical 公司, St. Louis, MO)。然后将该固定化抗体与样品一起孵育，并使多肽可以和该抗体结合。在孵育前可用适合的稀释剂例如磷酸缓冲盐溶液 (PBS) 稀释该样品。一般地，适合的接触时间（即孵育时间）为足以检测到获自患有乳腺癌个体的样品中多肽存在的时间。优选地，该接触时间足以使结合水平达到结合和未结合多肽之间到达平衡时所获结合水平的至少大约 95%。本领域的普通技术人员将明了，可以通过测定一段时间内达到的结合水平容易地确定实现平衡所必需的时间。在室温，一般约 30 分钟的孵育时间是足够的。

然后通过用适当缓冲液，例如含有 0.1% Tween 20™ 的 PBS，洗涤该固体支持物，除去未结合的样品。然后向该固体支持物加入含有报道基团的二抗。优选的报道基团包括酶（例如辣根过氧化物酶）、底物、辅因子、抑制剂、染料、放射性核素、发光基团、荧光基团和生物素。抗体与报道基团的偶联可以采用本领域普通技术人员已知的标准方法来实现。

然后使该二抗与该固定的抗体-多肽复合物一起孵育，孵育时间将足以检测该结合多肽。一般可以通过测定一段时间内出现的结合水平确定

适合的时间长度。然后除去未结合的二抗，并利用该报道基团检测结合的二抗。用于检测报道基团的方法取决于该报道基团的性质。对于放射性基团，通常液闪计数或放射自显影法是适合的。可以采用分光光度法检测染料、发光基团和荧光基团。可以采用偶联了一个不同的报道基团（通常是放射性或荧光基团或酶）的抗生物素蛋白检测生物素。一般可以通过加入底物（一般持续一定时间段），随后采用分光光度法或其它分析方法分析反应产物，以检测酶报道基团。

为了确定乳腺癌存在与否，一般将从与该固体支持物保持结合的报道基团检测到的信号和相应于预先确定的截断值的信号作比较。在一个优选实施方案中，该截断值为当该固定化抗体与从未患乳腺癌的患者得到的样品一起孵育时所获得的信号平均值。一般地，如果样品产生的信号高于该预确定截断值 3 个标准差，则该样品被认为是乳腺癌阳性。在另一个优选实施方案中，该截断值采用 Receiver Operator Curve，根据 Sackett 等，临床流行病学：临床医学的基础科学 (Clinical Epidemiology: A Basic Science for Clinical Medicine), Little Brown and Co., 1985, 第 106-7 页的方法来确定。简而言之，在该实施方案中，将相应于诊断测试结果每一个可能截断值的成对真阳性率（即灵敏度）和假阳性率（100% 特异性）作图，然后可以从该图确定截断值。图上最接近上左侧角的截断值（即包括了最大面积的值）是最准确的截断值，而产生的信号高于该方法所确定的截断值的样品可以被认为是阳性的。或者，可以沿着该图向左移动该截断值，以最小化假阳性率，或向右移动以最小化假阴性率。一般地，产生的信号高于该方法所确定的截断值的样品被认为是乳腺癌阳性。

在一个相关的实施方案中，该测定方法以流过或长条测试形式进行，其中该抗体被固定在硝酸纤维素等膜上。在该流过测试中，当样品经过该膜时，样品中的多肽与固定化抗体结合。然后在含有标记的二抗的溶液流经该膜时，该二抗与该抗体-多肽复合物结合。接着可以按以上方法检测结合的二抗。在该长条测试形式中，将结合了抗体的膜的一端浸入含有样品的溶液中。该样品沿该膜迁移通过含有二抗的区域并到达固定

化抗体的区域。固定化抗体区域中二抗的浓缩指示了乳腺癌的存在。典型地，在该位置的二抗浓缩产生能够通过肉眼观察的图形，例如线。无该图形，则指示阴性结果。一般地，对固定在该膜上的抗体量进行选择，使得在生物样品含有的多肽水平足以在以上讨论形式的双抗体三明治测定中产生阳性信号时，能产生肉眼可识别的图形。优选地，固定在该膜上的抗体量在约 25ng - 约 1 μ g 之间，更优选在约 50ng - 约 500ng 之间。典型地，用极少量的生物样品即能够进行这些测试。

当然，有许多其它的测定方法适于本发明抗原或抗体的应用。以上描述仅旨在作为示例。

在另一个实施方案中，以上多肽可以用作乳腺癌进展趋势的标志。在该实施方案中，可以在不同时间进行以上所述的用于诊断乳腺癌的测定，然后评价反应性多肽水平的改变。例如，可以在 6 个月至 1 年的时间内每 24 - 72 小时进行一次该测定，之后按需要进行。一般地，如果在患者中随着时间的过去该结合剂检测到的多肽水平增加，则该患者的乳腺癌处于发展状态。相反，如果反应性多肽的水平保持不变或随时间过去而减少，则乳腺癌没有发展。

可以通过本领域普通技术人员已知的各种技术中的任一种，制备用于以上方法的抗体。见例如 Harlow 和 Lane, 抗体: 实验室手册, Cold Spring Harbor Laboratory, 1988。在一个这样的技术中，最初给多种哺乳动物之任意一种（例如小鼠、大鼠、兔、绵羊和山羊）注射含有该抗原性多肽的免疫原。在该步骤中，本发明的多肽未经修饰充当免疫原。或者，尤其是对于相对短的多肽，如果将该多肽与载体蛋白质（例如牛血清白蛋白或匙孔蛾血蓝蛋白）相连接，则可以引起优良的免疫应答。优选地根据预先确定的方案联合一或多次加强免疫，给该动物宿主注射该免疫原，然后定期采取该动物的血液。然后可以从该血清中，通过例如采用与适当固相支持物偶联的该多肽所进行的亲和层析，纯化对该多肽特异的多克隆抗体。

可以采用例如 Kohler 和 Milstein 的技术（欧洲免疫学杂志 (Eur. J. Immunol.) 6:511-519, 1976）及其改进方法，制备对目的抗原性多肽特

异的单克隆抗体。简而言之，这些方法涉及制备能够产生具有期望特异性（即与目的多肽的反应性）的抗体的永生化细胞系。这些细胞系可以从获自例如按以上所述免疫的动物的脾细胞制备。然后通过例如与骨髓瘤细胞的融合使该脾细胞永生化，其中该骨髓瘤细胞优选与该免疫动物同源。有多种融合技术可以采用。例如，可以将该脾细胞和骨髓瘤细胞与非离子去污剂混合几分钟，然后将它们以低密度铺在支持杂种细胞生长，但不支持骨髓瘤细胞生长的选择培养基上。一个优选的筛选技术采用了 HAT（次黄嘌呤、氨基喋呤、胸苷）筛选。在足够长的时间之后，通常为约 1-2 周，可观察到杂种集落。选择单集落，并测试其与该多肽的结合活性。优选具有高反应性和特异性的杂交瘤。

可以从生长的杂交瘤菌落的上清中分离单克隆抗体。此外，还可以采用各种技术增加产量，例如将该杂交瘤细胞系注射至适合脊椎动物宿主例如小鼠的腹腔内。然后可以从腹水或血液中收获单克隆抗体。杂质可以通过常规技术例如层析、凝胶过滤、沉淀和抽提从这些抗体中除去。本发明多肽可以用于纯化方法中的例如亲和层析步骤中。

本发明的单克隆抗体还可以用作治疗剂，以减小或清除乳腺肿瘤。这些抗体可以单独使用（例如用于抑制转移），或与一或多种治疗剂偶联使用。在此方面适合的治疗剂包括放射性核素、分化诱导剂、药物、毒素和它们的衍生物。优选的放射性核素包括 ^{90}Y 、 ^{123}I 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、 ^{186}Re 、 ^{188}Re 、 ^{211}At 和 ^{212}Bi 。优选的药物包括氨甲喋呤、及嘧啶和嘌呤的类似物。优选的分化诱导剂包括佛波酯和丁酸。优选的毒素包括蓖麻毒素、相思豆毒素、白喉毒素、霍乱毒素、gelonin、假单孢菌外毒素、志贺氏菌毒素和美洲商陆抗病毒蛋白。

治疗剂可以与适合的单克隆抗体直接或间接地（即通过接头基团）偶联（例如共价键合）。当试剂和抗体每一个均有能够与另一个反应的取代基时，它们之间的直接反应是可能的。例如，一个上的亲核基团，例如氨基或巯基可以和另一个上的含有羰基的基团例如酰基或酰基卤，或含有容易离去基团（例如卤素）的烷基反应。

或者，可能期望将治疗剂和抗体通过接头基团偶联。接头基团能够作

为间隔起作用使抗体和药剂分隔开，以避免干扰结合能力。接头基团还可以用于增强药剂或抗体上取代基的化学反应性，由此增加偶联效率。化学反应性的增强还可以利于药剂或药剂上官能基团的应用，否则这种应用将是不可能的。

本领域技术人员将明了，有多种功能相同和相异的双功能或多功能试剂（例如描述于 Pierce 化学制品公司 (Rockford, IL) 的产品目录中的那些）可以用作接头基团。例如，可通过氨基、羧基、巯基或氧化的糖残基实现偶联。有许多文献描述过该方法学，例如 Rodwell 等的美国专利 4,671,958。

当治疗剂游离于本发明免疫偶联物的抗体部分更为有效时，可能期望采用在内化至细胞的过程中或之后可切割的接头基团。有许多不同的可切割接头基团已被描述过。在细胞内从这些接头基团释放药剂的机制包括由二硫键还原（例如 Spittler 的美国专利 4,489,710）、光不稳定键的辐射（例如 Senter 等的美国专利 4,625,014）、衍生的氨基酸侧链的水解（例如 Kohn 等的美国专利 4,638,045）、血清补体介导的水解（例如 Rodwell 等的美国专利 4,671,958）、和酸催化的水解（例如 Blattler 等的美国专利 4,569,789）引起的断裂。

可能期望将一个以上的药剂与一个抗体偶联。在一个实施方案中，多个药剂分子与一个抗体分子偶联。在另一个实施方案中，一种以上类型的药剂可以和一个抗体偶联。无论具体的实施方案如何，可以有多种途径制备带有一个以上药剂的免疫偶联物。例如，可以将一个以上药剂直接与一个抗体分子偶联，或可以采用提供多个连接位点的接头。或者，可以采用载体。

载体可以以多种方式携带药剂，包括直接或通过接头基团共价键合。适合的载体包括蛋白质例如白蛋白（例如 Kato 等的美国专利 4,507,234）、肽和多糖例如氨基葡聚糖（例如 Shih 等的美国专利 4,699,784）。载体还可以通过非共价结合或通过包入例如脂质体囊中（例如美国专利 4,429,008 和 4,873,088）携带药剂。特异用于放射性核素药剂的载体包括放射性卤化小分子和螯合化合物。例如美国专利

4,735,792 公开了代表性的放射性卤化小分子和它们的合成方法。可以从螯合化合物形成放射性核素螯合物，这些螯合化合物包括含有氮和硫原子作为结合金属、或金属氧、放射性核酸的供体原子的那些螯合化合物。例如，Davison 等的美国专利 4,673,562 公开了代表性的螯合化合物和它们的合成方法。

可以采用多种途径施用这些抗体和免疫偶联物。典型地，可以静脉内、肌肉内、皮下或在切除的肿瘤的基底 (bed) 中进行施用。很明显，该抗体/免疫偶联物的精确剂量将随所用的抗体、肿瘤上的抗原密度、和抗体的清除率而改变。

本发明的诊断试剂还可以含有本文公开的多核苷酸的至少一个部分。例如，在基于聚合酶链式反应 (PCR) 的测定中可以使用至少两个寡核苷酸引物，以扩增来源于生物样品的乳腺肿瘤特异性 cDNA，其中至少一个寡核苷酸引物是编码本发明乳腺肿瘤蛋白的多核苷酸所特异的。然后采用本领域熟知的技术，例如凝胶电泳，检测该扩增 cDNA 的存在。同样，可以将对编码本发明乳腺肿瘤蛋白的多核苷酸特异的寡核苷酸探针用于杂交分析中，以检测生物样品中本发明多肽的存在。

本文所用术语“对多核苷酸特异的寡核苷酸引物/探针”是指与所述多核苷酸有至少约 60%、优选至少约 75%、最优选至少约 90% 一致性的寡核苷酸序列，或和与所述多核苷酸有至少约 60%、优选至少约 75%、最优选至少约 90% 一致性的序列反义的寡核苷酸序列。通常可以用于本发明的诊断方法中的寡核苷酸引物和/或探针优选具有至少约 10-40 个核苷酸。在一个优选实施方案中，该寡核苷酸引物含有本文公开的多核苷酸或与本文公开多核苷酸序列反义的多核苷酸中的至少约 10 个连续核苷酸。优选地，用于本发明诊断方法的寡核苷酸探针含有编码本文公开多肽之一的多核苷酸，或与编码本文所公开多肽之一的序列反义的多核苷酸的至少约 15 个连续寡核苷酸。用于基于 PCR 的测定方法和杂交测定方法的技术是本领域熟知的 (见例如 Mullis 等，同上; Ehrlich, 同上)。因此可以采用引物或探针检测生物样品，包括血液、尿和/或乳腺肿瘤组织中的乳腺肿瘤特异性序列。

提供以下实施例作为举例说明，而非进行限制。

实施例

实施例 1

分离和表征乳腺肿瘤多肽

该实施例描述了从乳腺肿瘤 cDNA 文库中分离乳腺肿瘤多肽。

采用 cDNA 合成的 Superscript 质粒系统和质粒克隆试剂盒(BRL Life Technologies, Gaithersburg, MD 20897)，根据厂家说明书，从来自三名患者的乳腺肿瘤 poly A⁺ RNA 库，构建人乳腺肿瘤 cDNA 表达文库。具体地，用 polytron (Kinematica, 瑞士)匀浆乳腺肿瘤组织，然后采用 Trizol 试剂(BRL Life Technologies)按厂家指导提取总 RNA。然后采用 Qiagen oligotex 离心柱 mRNA 纯化试剂盒(Qiagen, Santa Clarita, CA 91355)根据厂家说明书纯化该 poly A⁺ RNA。采用 NotI/Oligo-dT18 引物合成第一链 cDNA。合成双链 cDNA，将其与 EcoRI/BstX I 连接子(Invitrogen, Carlsbad, CA)连接，然后用 NotI 消化。在用 Chroma Spin-1000 柱(Clontech, Palo Alto, CA 94303)进行大小分级分离后，将该 cDNA 连接到 pCDNA3.1 (Invitrogen, Carlsbad, CA)的 EcoRI/NotI 位点中，并通过电穿孔转化 ElectroMax 大肠杆菌 DH10B 细胞(BRL Life Technologies)。

采用同样的程序，从 4 名正常乳腺组织样品库中制备正常的人乳腺 cDNA 表达文库。通过确定独立菌落的数量、带有插入片段的克隆的百分数、插入片的平均大小，并通过序列分析，对这些 cDNA 文库进行表征。该乳腺肿瘤文库含有 1.14×10^7 个独立菌落、90% 以上的克隆含有可见的插入片段而且插入片的平均大小为 936 个碱基对。该正常乳腺 cDNA 文库含有 6×10^6 个独立菌落、83% 的克隆含有插入片段而且插入片的平均大小为 1015 个碱基对。序列分析显示，两个文库均含有从 mRNA 合成的良好复杂 cDNA 克隆，以及最小的 rRNA 和线粒体 DNA 污染。

采用以上乳腺肿瘤和正常乳腺 cDNA 文库，按稍作修饰的 Hara 等所述的方法(血液(Blood), 84:189-199, 1994)，进行 cDNA 文库扣除。具

体地,按下述产生乳腺肿瘤特异的扣除 cDNA 文库。用 EcoRI、NotI 和 SfuI 消化正常乳腺 cDNA 文库 (70 μ g),之后用 DNA 聚合酶 Klenow 片段进行补平反应。酚-氯仿抽提和乙醇沉淀后,将该 DNA 溶解在 100 μ l H₂O 中,热变性后与 100 μ l (100 μ g)Photoprobe 生物素 (Vector Laboratories, Burlingame, CA)混合,用 270W 的太阳灯照射置于冰上的所获混合物 20 分钟。再加入 50 μ l Photoprobe 生物素,重复该生物素化反应。用丁醇抽提 5 次后,乙醇沉淀该 DNA,并将其溶解在 23 μ l H₂O 中形成驱动 DNA(driver DNA)。

为了形成示踪 DNA(tracer DNA),用 BamHI 和 XhoI 消化 10 μ g 乳腺肿瘤 cDNA 文库,酚氯仿抽提后通过 Chroma spin-400 柱 (Clontech)。乙醇沉淀后,将该示踪 DNA 溶解在 5 μ l H₂O。将示踪 DNA 与 15 μ l 驱动 DNA 和 20 μ l 2 \times 杂交缓冲液 (1.5M NaCl/10mM EDTA/50mM HEPES pH7.5/0.2% 十二烷基硫酸钠)混合,用矿物油覆盖,然后进行完全热变性。将该样品立即转移到 68 $^{\circ}$ C 的水浴中,并孵育 20 个小时 (长杂交 [LH])。然后用链霉亲和素处理该反应化合物,之后进行酚/氯仿抽提。重复该过程 3 次以上。沉淀扣除 DNA,将其溶解在 12 μ l H₂O 中,与 8 μ l 驱动 DNA 和 20 μ l 2 \times 杂交缓冲液混合,然后 68 $^{\circ}$ C 杂交 2 小时 (短杂交 [SH])。除去生物素化的双链 DNA 后,将扣除 DNA 连接至氯霉素抗性 pBCSK⁺ (Stratagene, La Jolla, CA 92037) 的 BamHI/XhoI 位点中,然后通过电穿孔转化 ElectroMax 大肠杆菌 DH10B 细胞,产生乳腺肿瘤特异性扣除 cDNA 文库。

为了分析该扣除 cDNA 文库,从该扣除乳腺肿瘤特异性文库中随机挑取 100 个独立克隆,制备质粒 DNA,并在 Perkin Elmer/Applied Biosystems Division 373A 型自动测序仪 (Foster City, CA) 上通过 DNA 测序进行分析。在该扣除乳腺肿瘤特异性 cDNA 文库中发现 38 个不同 cDNA 克隆。分别在 SEQ ID NO: 1-14 中提供了 14 个这些克隆的测定 3' cDNA 序列,在 SEQ ID NO: 15-28 中提供了相应的 5' cDNA 序列。SEQ ID NO: 29-52 中提供了剩余克隆的一条 cDNA 链 (5' 或 3') 的测定序列。采用 EMBL 和 GenBank 数据库 (Release 97) 将这些 cDNA 序列与基因库中的已知序列进行比较,揭示出与 SEQ ID NO: 3、10、17、24 和 45-52 中所提供的序列无显著同

源性。发现 SEQ ID NO:1、2、4-9、11-16、18-23、25-41、43 和 44 中所提供的这些序列表现出与已知的人基因有至少某种程度的同源性。发现 SEQ ID NO:42 的序列表现出与一个已知的酵母基因有一些同源性。

对在以上所述的乳腺扣除中分离的 cDNA 克隆进行菌落 PCR 扩增，并采用微阵列技术 (Synteni, Fremont, CA) 测定乳腺肿瘤、正常乳腺和各种其它正常组织中这些 cDNA 克隆的 mRNA 表达水平。简而言之，将该 PCR 扩增产物按阵列格式点在载玻片上，每个产物在该阵列中占据唯一的一个位置。从待测定的组织样品中提取 mRNA，逆转录，并制备荧光标记 cDNA 探针。用这些标记的 cDNA 探针探测该微阵列，扫描这些载玻片，并测量荧光强度。该强度与杂交强度相关。

采用 GEMTOOLS 软件分析数据。发现 21 个不同的 cDNA 克隆在乳腺肿瘤中超量表达，而在所有测试的正常组织中均以低水平表达。SEQ ID NO: 53-73 中提供了这些克隆的部分确定 cDNA 序列。按上述方法将 SEQ ID NO: 53、54 和 68-71 的序列与基因库中的序列进行比较，揭示了与以前所鉴定的人基因有一定同源性。对于 SEQ ID NO: 55-67、72 (称作 JJ 9434) 和 73 (称作 B535S)，未发现显著同源性。在进一步的研究中，获得了克隆 1016F8 (SEQ ID NO: 56; 又称 B511S) 和 1016D12 (SEQ ID NO: 61; 又称 B532S) 的全长 cDNA 序列，并获得了 1012H8 (SEQ ID NO: 64; 又称 B533S) 的延长 cDNA 序列。在 SEQ ID NO: 95-97 中分别提供了这些 cDNA 序列。SEQ ID NO: 98 和 99 分别提供了 B511S 和 B532S 的预测氨基酸序列。

通过微阵列、northern 分析和实时 PCR，分析乳腺肿瘤组织中以及各种正常组织 (皮肤、PBMC、肠、乳腺、胃、肝、肾、胎儿组织、肾上腺、唾液腺、脊髓、大肠、小肠、骨髓、脑、心脏、结肠和胰脏) 中的 B511S 表达，结果说明 B511S 在乳腺肿瘤，和正常乳腺、皮肤及唾液腺中超量表达，而在测试的所有其它组织中表达低或不能检测到。

通过微阵列、northern 分析和实时 PCR，分析乳腺肿瘤组织中以及各种正常组织 (乳腺、PBMC、食道、HMEC、脊髓、骨骼、胸腺、脑、膀胱、结肠、肝、肺、皮肤、小肠、胃、骨骼肌、胰脏、主动脉、心脏、

脾、肾、唾液腺、骨髓、和肾上腺)中的 B532S 表达,结果显示 B532S 在 20-30% 的乳腺肿瘤中超量表达,而在测试的所有其它组织中表达低或不能检测到。

在进一步的实验中,按以上所述从由常规扣除获得的两个扣除文库中获得 cDNA 片段,并通过 DNA 微阵列进行分析。在一种情况中,该测试品来源于原发性乳腺肿瘤,称作乳腺扣除 2 或 BS2。在第二种情况中,采用转移性乳腺肿瘤作为测试品,称作乳腺扣除 3 或 BS3。驱动物由正常乳腺组成。

按以上所述,将来自这两个文库的 cDNA 片段作为模板用于 DNA 微阵列分析。通过与来源于肿瘤和正常组织 mRNA 的荧光探针杂交,分析 DNA 芯片。从这些探针产生 3 个组,称作乳腺肿瘤/mets、正常非乳腺组织和转移的乳腺肿瘤,以进行这些数据的分析。采用修饰的 Gemtools 分析进行两个比较。第一个比较用以鉴定在乳腺肿瘤中表达升高的模板。第二个用以鉴定在第一个比较中未回收的在转移性乳腺肿瘤中出现表达升高的模板。表达增加的水平(肿瘤表达的平均值相对正常组织表达的平均值)自定在约 2.2 处。

在用于鉴定乳腺肿瘤中超量表达的第一轮比较中,鉴定了两个新基因序列,下文称作 B534S 和 B538S (分别是 SEQ ID NO: 89 和 90),以及 6 个表现出与以前鉴定的基因有一定程度同源性的序列(SEQ ID NO: 74-79)。随后 SEQ ID NO: 75 和 76 的序列被确定为 B535S (SEQ ID NO: 73)的部分。在鉴定转移性乳腺肿瘤中表达升高的第二轮比较中,鉴定了 5 个新序列,下文称作 B535S、B542S、B543S、P501S 和 B541S (分别是 SEQ ID NO: 73 和 91-94),以及 9 个表现出与已知基因有某种同源性的基因序列(SEQ ID NO: 80-88)。克隆 B534S 和 B538S (SEQ ID NO: 89 和 90)表现出在乳腺肿瘤和转移性乳腺肿瘤中均呈超量表达。

在随后的一系列研究中,通过微阵列在乳腺芯片 3 上分析了来自乳腺扣除 2 的 457 个克隆。按以上所述,进行第一轮比较,以鉴定与正常非乳腺组织相比乳腺肿瘤中的超量表达。该分析产生了在乳腺肿瘤中比正常非乳腺组织中表现出表达提高的 6 个 cDNA 克隆。这些克隆中的两个,

称作 1017C2 (SEQ ID NO: 102)和 B546S (SEQ ID NO: 107), 与任何已知的基因都无显著同源性。克隆 B511S 也表现出在乳腺肿瘤中有超量表达, 之前该克隆被称作 1016F8, SEQ ID NO: 95 中提供了其测定的 cDNA 序列, 而 SEQ ID NO: 98 中提供了预测的氨基酸序列。发现剩余的 4 个在乳腺肿瘤中超量表达的克隆与肿瘤表达增强基因 (SEQ ID NO: 103 和 104)、溶基质素 3 (SEQ ID NO: 105)或胶原蛋白 (SEQ ID NO: 106)有一定程度的同源性。

在用于确定在转移性乳腺肿瘤中比在非乳腺正常组织中表达升高的基因的第二轮比较中, 获得了类似第一轮比较的基因分布情况。两个推测的新克隆, 1017C2 和 B546S, 即分别为 SEQ ID NO:102 和 107, 在转移性乳腺肿瘤中超量表达。此外, 肿瘤表达增强基因和 B511S 也表现出在转移性乳腺肿瘤中表达提高。

按 1997 年 2 月 25 日提交的美国专利申请 08/806, 099 中所述的方法, 通过用正常胰脏 cDNA 文库扣除去前列腺肿瘤 cDNA 文库分离抗原 P501S, 发现有 3 个基因在先前扣除的前列腺肿瘤特异性 cDNA 文库中丰富: 人腺激肽释放酶、前列腺特异性抗原 (PSA)、和线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 II。SEQ ID NO: 100 中提供了 P501S 的确定全长 cDNA 序列, SEQ ID NO: 101 中提供了相应的预测氨基酸序列。通过微阵列分析检查乳腺肿瘤中 P501 的表达。发现在前列腺肿瘤、乳腺肿瘤和转移性乳腺肿瘤中有超量表达, 在正常组织中观察到可以忽略的到低的表达量。该数据提示, P501S 可能在各种乳腺肿瘤和在前列腺肿瘤中均超量表达。

实施例 2

制备识别表达乳腺肿瘤抗原的抗原呈递细胞的人 CD8+细胞毒 T 细胞

本实施例描述了识别表达抗原 B511S (又称 1016-F8) (SEQ ID NO: 56) 的靶细胞的 T 细胞的制备。采用经改造表达 B511S 的重组痘苗病毒感染的树突细胞, 按以下方法使人 CD8+ T 细胞体外接触抗原 B511S 基因产物 (也参见 Yee 等, 免疫学杂志 (Journal of Immunology) (1996) 157 (9):4079-86)。通过在 50 μ g/ml GMCSF 和 30 μ g/ml IL-4 存在的情况下

将从外周血来源的单核细胞分化 5 天制备树突细胞 (DC)。收获 DC, 将其以 2×10^5 个细胞/孔的密度接种在 24 孔板的孔中, 并用表达 B511S 的痘苗病毒以 5 的感染复数感染 12 个小时。然后通过加入 $3 \mu\text{g}/\text{ml}$ CD40-配体并以 $100 \mu\text{W}$ 的 UV 辐射 10 分钟, 过夜使 DC 成熟。采用磁珠分离 CD8+ T 细胞, 并在各个孔中 (典型的是 24 孔板的 24 个孔中) 用 7×10^5 个 CD8+ T 细胞和 1×10^6 个辐射过的无 CD8 PBMC, 开始培养物致敏。第 1 天向培养物中加入 $10 \text{ng}/\text{ml}$ IL-7。每 7-10 天用逆转录病毒转导了 B511S 的自体原代成纤维细胞和共刺激分子 B7.1 重复刺激培养物。第 1 天在培养物中补加 15 I.U. 的 IL-2。4 个这样的刺激周期后, 采用 γ 干扰素 Elispot 分析 (见 Lalvani 等, 实验医学杂志 (J. Experimental Medicine) (1997) 186:859-965), 测试 CD8+ 培养物特异性识别 B511S 转导的自体成纤维细胞的能力。简而言之, 将来自各微培养物的 T 细胞加入 96 孔 Elispot 板中, 在该板中含有经转导表达 B511S 或阴性对照抗原 EGFP 的自体成纤维细胞, 然后 37°C 孵育过夜; 孔中还含有 $10 \text{ng}/\text{ml}$ IL-12。鉴定仅在应答 B511S 转导的成纤维细胞时才特异产生 γ 干扰素的培养物; 将这些细胞系进一步扩增, 而且通过有限稀释在经逆转录病毒转导 B511S 的自体 B-LCL 上进行克隆。鉴定能够特异识别 B511S 转导的自体 B-LCL、而非对照抗原 EGFP 或 HLA-A3 转导的自体 B-LCL 的细胞系和克隆。图 1 给出了一个例子, 用于阐明来源于这些实验的人 CTL 细胞系特异识别和裂解表达 B511S 的靶标的能力。

实施例 3

多肽的合成

可以在 Perkin Elmer/Applied Biosystems Division 430A 肽合成仪上, 采用 Fmoc 化学和 HPTU (O-苄并三唑-N, N, N', N'-四甲基脲鎓六氟磷酸) 活化, 合成多肽。可以在该肽的氨基端连接一个 Gly-Cys-Gly 序列, 以提供偶联、结合固定化表面、或标记该肽的方法。从固相支持物上将该肽切割下来可以采用如下切割混合物来进行: 三氟乙酸: 乙二硫醇: 苯甲硫醚: 水: 苯酚 (40:1:2:2:3)。切割 2 小时后, 可以在冷甲基叔丁基醚

中沉淀该多肽。然后将该肽沉淀溶解在含有 0.1%三氟乙酸(TFA)的水中,并将其冻干,再用 C18 反相 HPLC 纯化。可以采用 0% -60% 梯度乙腈(含 0.1% TFA)的水(含 0.1%TFA)溶液洗脱该肽。将该纯化组分冻干后,可以采用电雾化或其它类型的质谱测定以及氨基酸分析,对该肽进行定性分析。

从以上所述可以理解,尽管为了举例说明的目的本文中描述了本发明的具体实施方案,但可以对其进行各种修改而不偏离本发明的精神和范围。

序列表

<110> Corixa Corporation
 Reed, Steven G.
 Xu, Jiangchun
 Dillon, Davin C.

<120> 用于免疫治疗和诊断乳腺癌的化合物及其应用方法

<130> 210121.44602PC

<140> PCT/US00/09688

<141> 2000-04-10

<160> 107

<170> FastSEQ for Windows Version 3.0

<210> 1

<211> 402

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(402)

<223> n = A,T,C or G

<400> 1

tttttttttt	tttttaggag	aactgaatca	aacagatddd	attcaacttt	ttagatgagg	60
aaaacaaatn	atagaaaatn	ngtcataaga	aatgctttct	tataccacta	tctcaaacca	120
ctttcaatat	tttacaaaat	gctcacgcag	caaatatgaa	aagctncaac	acttcccttt	180
gttaacttgc	tgcaatnaat	gcaactttaa	canacataca	aatttcttct	gtatcttaaa	240
agttnaatta	ctaattttaa	tgatnttnt	caagatnttt	attcatatac	ttttaatgac	300
tcnttgccna	tacatacnta	ttttctttac	ttttttttta	cnatnggcc	acagctttca	360
ngcagncnc	aaaaatctta	ccggttaatt	acacgggggt	gt		402

<210> 2

<211> 424

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(424)

<223> n = A,T,C or G

<400> 2

tttttttttt	ttttttaaag	gtacacattt	ctttttcatt	ctgtttnatg	cagcaaataa	60
ttcgttggca	tottctctgt	gatgggcagc	ttgctaaaat	tanactcagg	ccccttagct	120
ncatttccaa	ctnagcccac	gctttcaacc	nngccnaaca	aagaaaatca	gtnnggggta	180
aattctttgc	tgganacaaa	gaactacatt	cctttgtaaa	tnatgctttg	tttgctctgt	240
gcaaacncag	attgaaggga	anaagganac	ttntggggac	ggaaacaact	ngnagaagca	300
gganccgccc	agggncattt	cctcaccatg	cttaatcttg	cnctcacttg	cngggcacca	360
ttaaacttgg	tgcaaaaaggc	gcaattgggtg	nanggaaccc	cacaccttcc	ttaaaaagca	420
gggc						424

<210> 3
 <211> 421
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(421)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 3
 tttttttttt tttttcccaa tttaaaaaag cttttttcat acttcaatta caccanactt 60
 aatnatttca tgagtaaadc ngacattatt atttnaaaat ttgcatattt aaaatttgna 120
 tcanttactt ccagactgtt tgcanaatga agggaggatc actcaagngc tgatctcnca 180
 ctntctgcag tctnctgtcc tgtgcccggg ctaatggatc gacactanat ggacagntcn 240
 cagatcttcc gttcttntcc cttccccaat ttncnaccnc tccccttctt ncccggatcn 300
 tttggggaca tgntaatttt gcnatcctta aaccctgccc gccangggtc ccnanctcag 360
 ggggtggttaa tgttcgncng gcttnttgac cncctgccc ctttnantcc naacccaag 420
 c 421

<210> 4
 <211> 423
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(423)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 4
 tttttttatt tttttttcta tttntnntat ttnntgnggt tcctgtgtgt aattagnang 60
 tgtgtatgcg tangtacnta tgnntgcata tttaacctgt tncctttcca tttttaaaat 120
 aaaatctcaa natngtantt ggttnatggg agtaaanaga gactatngat naattttaac 180
 atggacacng tgaatgtag ccgctnatca ntttaaaact tcattttgaa ggccttttnc 240
 cctccnaata aaaatnccng gcctactgg gtttaagcaac attgcatntc taaagaaacc 300
 acatgcanac nagttaaac tgtgnactgg tcangcaaac cnanntggaa nanaagggn 360
 ttcncccan ggacantcng aattttttta acaaattacn atncccccc ngggggagcc 420
 tgt 423

<210> 5
 <211> 355
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(355)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 5
 acgaccacct natttcgtat ctttcaactc ttttcgaccg gacctcttat tcggaagcgt 60
 tccaggaaga caggctctcaa cttagggatc agatcacggt atcaacgctc tgggatcgct 120
 gcaacctggc acttcaagga agtgcaccga tnacgtctag accggccaac acagatctag 180
 aggtggccaa ctgatcactg taggagctga ctggcaanan tcaaccgggc cccaaccnag 240
 agtgaccaan acnaccattn aggatcacc acaggcactc ctcgtcctag ggccaaccna 300
 ccaaaccgct ggccaatggg ggggtttaat atttggttna aaaattgatt ttaaa 355

<210> 6
 <211> 423

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc feature

<222> (1)...(423)

<223> n = A,T,C or G

<400> 6

tttttttttt	tttttgaca	ggaagtaaaa	tttattggn	antattaana	ggggggcagc	60
acattggaag	ccctcatgan	tcgagggcc	gccacttgc	cagagggcca	cnattgggga	120
tgtacttaac	cccacagccn	tctgggatna	gccgcttttc	agccaccatn	tcttcaaatt	180
catcagcatt	aaacttggtg	aancccccact	tctttaagat	ntgnatcttc	tggcggccag	240
naaacttgaa	cttgccctg	cgcagggcct	caatcacatg	ctccttgctc	tgcagcttgg	300
tgcgnaagga	cntaatnact	tggccnatgt	gaaccctggc	cacantgccc	tggggctttc	360
caaaggcacc	tcgcaagcct	ntttggancc	tgnccgcccc	ngcacaggga	caacatcttg	420
ttt						423

<210> 7

<211> 410

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc feature

<222> (1)...(410)

<223> n = A,T,C or G

<400> 7

ttcgactg	ctaaaacaaa	ccgccttgca	aagttingaaa	aatttatcaa	tggaccaaat	60
aatgctcata	tcnacaagt	tggtgaccgt	tnttatnata	aaaaaatgta	tnatgctcct	120
nanttgttgt	acaataatgt	tccaatttng	gacnttcggc	atctaccctg	gttcacctgg	180
gtaaatatca	ggcagctttt	gatggggcta	ggaaagctaa	cagtactcga	acatgggaaa	240
gaggtctgct	tcgccngtgt	anatgggaaa	naattccgctc	ttgctcngat	ttgtggactt	300
catattgttg	tacatgcaga	tgaatnngaa	gaacttgctca	actactatca	ggatcgtggc	360
tttttnnaaa	agctnatcac	catgttgtaa	gcggcactng	gacttgagcg		410

<210> 8

<211> 274

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc feature

<222> (1)...(274)

<223> n = A,T,C or G

<400> 8

tttttttttt	tttttagtgc	atacatattt	tttattataa	canatatntg	tatatacata	60
taatatatgt	gtatataatcc	acgtgtgtgt	gtgtgtatca	aaaacaacan	aanttttagtg	120
atctatatct	ntngctcaca	tatgcatggg	agataccagt	aaaaaataag	tnaatctcca	180
taatatgttt	taaaactcan	anaaatcnga	gagactnaaa	gaaaacgtn	atcannatga	240
ttgtngataa	tcttgaanaa	tnacnaaac	atat			274

<210> 9

<211> 322

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature
 <222> (1)...(322)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 9
 tttttttttt ttttgtgcct tattgcaccg gcnanaactt ctagcactat attaaactca 60
 ataagagtga taagtgtgaa aatccttgcc ttctctttaa tcttaatgna naggcatctg 120
 gtttttcacc attaantgta ataatggctn tatgtatfff tatnntggg cttnatggag 180
 ttaaaaaagt tttcctctnt cctngttat ctaanagttt tnatcaaaaa tgggtataat 240
 atttngttca gtacttttnc ctgcacctat agatatgatn ctgttatttt ttcttcttng 300
 cctnnanata tgatggatna ca 322

<210> 10
 <211> 425
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(425)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 10
 tttttttttt tttttattct gcagccatta aatgctgaac actagatnct tttttgtgga 60
 ggtcacaaaa taagtacaga atatnacaca cgccctgccc ataaaaagca cagctcccag 120
 ttctatattt acaatatctc tggaattcca ccttcccttc taatttgact aatatttctg 180
 cttctcaggc agcagcgcct tctggcaacc ataagaacca acntgnggac taggtcgggtg 240
 ggccaaggat caggaaacag aanaatggaa gnagcccccn tgacnctatt aanctntnaa 300
 actatctnaa ctgctagttt tcaggcttta aatcatgtaa natacgtgtc cttnttgcgtg 360
 caaccggaag catcctagat ggtacactct ctccagggtgc caggaaaaga tcccaaating 420
 caggn 425

<210> 11
 <211> 424
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(424)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 11
 tttnttant tttttancc nctnntccn tntgttgnag ggggtaccaa atttctttat 60
 ttaaaggaat ggtacaaatc aaaaaactta atttaatttt tnggtacaac ttatagaaaa 120
 ggtaaggaa accccaacat gcatgcactg ccttggtaac cagggnattc cccnccggct 180
 ntggggaaat tagcccaang ctnagctttc attatcactn tccccaggg tntgcttttc 240
 aaaaaaattt nccgccnagc cnaatccggg cncctccatc tggcgcaant tggcacttg 300
 gtccccnat tctttaangg cttncacctn ctcatcggg tnatgtgtct caattaaatc 360
 ccacngatgg gggtcatttt tntcnnttag ccagtttgtg nagttccggt attganaaaa 420
 ccan 424

<210> 12
 <211> 426
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(426)

<223> n = A,T,C or G

<400> 12
 tttttttttt ttttnccttaa aagctttttat ctctctgctta cattacccat ctgttcttgc 60
 atgttgctcg ctttttccac tagagccctt aacaacttaa tcatgggtat ttttaagggct 120
 ctaataattc cnaaactggg atcataaata agtctcgttc tnatgcttgt tttctctcta 180
 tcacactgtg ttngttgctt tttnacatgc tttgtaattt ttggctgaaa gctgaaaaat 240
 nacatacctg gttntacaac ctgaggtaan cagccttnta gtgtgagggt ttatatntta 300
 ctggctaaga gctnggcnc ttnnantant tgttgtanct ntatatgcca naggttttna 360
 tttcncctng tgccttgc ttnagtacccc attnttttag gggttcccta naaactctat 420
 ctnaat 426

<210> 13

<211> 419

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(419)

<223> n = A,T,C or G

<400> 13
 tttttttttt tttttnagat agactctcac tttttogccc aggctggagt gcagtggcgc 60
 aatcaaggct cactgcaacc tctgccttat aaagcatttn ctaaagggtac aagctaaatt 120
 ttaaaaaatat ctctncacaa ctaatgtata acaaaaaatta gttctacctc ataaacncnt 180
 ggctcagccc tcgnaacaca tttccctggt ctcaactgat gaacactcca naaacagAAC 240
 anatntaage ttttccaggc ccagaaaagc tcgcgagggg atttgctntg tgtgtgacac 300
 acttgccacc ctgtggcagc acagctccac acntgctttg ggccgcattt gcaagttctc 360
 tgtaancccc ctgnaagacc cggatcagct gggtngaaat tgcangcnc tttttggca 419

<210> 14

<211> 400

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(400)

<223> n = A,T,C or G

<400> 14
 aanccattgc caagggatc cggaggattg tggctgtcac aggtncggag gcccanaagg 60
 ccctcaggaa agcaaagagc ttgaaaaatg tctctctgtc atggaagccn aagtgaaggc 120
 tcanactgct ccaacaagga tntgcanagg gagatcgcta accttgagga ggccctggcc 180
 actgcagtcn tccccantg gcagaaggat gaattgcggg agactctcan atcccttang 240
 gaagtcctg gatnacttgg accgagcctc nnaagccaat ntccagaaca agtgttgag 300
 aagacaaagc anttcatcga cgccaacccc naccggcctc tnttctcctg ganattgana 360
 cgggcgcccc cgcccagggc cttaataanc cntgaagctn 400

<210> 15

<211> 395

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(395)

<223> n = A,T,C or G

<400> 15
 tgctttgctg cgtccaggaa gattagatng aanaatacat attgatttgc caaatgaaca 60
 agcgagatta gactactga anatccatgc aggtcccatt acaaagcatg gtgaaataga 120
 tgatgaagca attgtgaagc tatecggatgg ctttnatgga gcagatctga gaaatgtttg 180
 tactgaagca ggtatgttcg caattcgtgc tgatcatgat tttgtagtac aggaagactt 240
 catgaaagcn gtcagaanag tggctnattc tnaaagctgg agtctaaatt ggacnacnac 300
 ctntgtattt actgttggan tttttagtgc gcatgacaga ttttgcttan tgtaaaaatn 360
 aagttcaaga aaattatggt agttttggcc attat 395

<210> 16
 <211> 404
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(404)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 16
 ccaccactaa aatcctggct gagccctacn agtacctgtg ccctccccc aggacgagat 60
 nagggcacac cctttaagtn aggtgacagg tcacctttaa gtgaggacag tcagctnaat 120
 ttcacctctt gggcttgagt acctggttct cgtgcccctga ggcgacnctn agccctgcag 180
 ctncatgta cgtgctgcca atngtcttga tcttctccac gccnctnaac ttgggcttca 240
 gtaggagctg caggcnagaa ngaagcgggt aacagcgcca ctccatagcc gcagccnggc 300
 tgcccctgct tctcaaggag ggggtgtgggg ttccctccacc atcgccgcc ttgcaaacac 360
 ntctcanggc ttcctnccg gctnancgca ngacttaagc atgg 404

<210> 17
 <211> 360
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(360)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 17
 ggccagaagc tttccacaaa ccagtgaagg tggcagcaaa gaaagcctct tagacnagga 60
 gctggcagca gctgctatct ngatngacng cagaaaccaa ccactaattc agcaaacaca 120
 acctcatacc tnaccgcttc cctttnaatg gccttcgggtg tgtgcgcaca tgggcacgtg 180
 cggggagaaac catacttatt cccctnttcc cggcctacca cctctnctcc ccttctctt 240
 ctctncaatt actntctcctn ctgcttntt ctnanacta ctgctngtnt cnanagcng 300
 cccgcaatta cctggcaaaa ctcgcgacc ttcgggcagc gctaaanaat gcacatttac 360

<210> 18
 <211> 316
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(316)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 18
 atacatatac acatatatga ttttagatag agccatatac ctngaagtag tanatttggt 60
 tgtgtgtata tgtatgtgtc tactcatttt aaataaactt gtgatagaga tgtaattntg 120
 agccagtttt tcatttgctt aatnactca ccaagtaact aattaagttt tctttactct 180

taatgttnag tagtgagatt ctggtgaagg tgatattaaa aaccattcta tattaattaa	240
cattcatggt gttttttaa agcttatttg aaatcnaatt atgattattt ttcataccag	300
tcgatnttat gtangt	316

<210> 19
 <211> 350
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(350)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 19	
aagggatgca nataatgctg tgtatgagct tgatggaaaa gaactctgta gtgaaaggg	60
tactattgaa catgctnggg ctcggtcacg aggtggaaga ggtagaggac gatactctga	120
ccgttttagt agtcgcagac ctcgaaatga tagacgaaat gctccacctg taagaacaga	180
anatcgtctt atagttgaga atttaccctc aagagtcagc tggcagggtt gttganatac	240
agttttgagt tnttttgatg tggcttttta aaaaagttat gggttactna tgttatattg	300
ttttattaaa agtagtnttn aattaatgga tntgatggaa ttgttgtttt	350

<210> 20
 <211> 367
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(367)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 20	
gntnnnncna agatcctnct ntccccngg gngcccnc cncngtntat naccggtttn	60
ntaanatcnn gccgcncccg aagtctcct nntgccgaga tgncccttat ncnennatgn	120
ncaattntga cctnnggcga anaatggcng nngtgtatca gtntccnctc tgnngnctct	180
tagnatttga ccaactangac ccnctatcct ctcaaaccct gtanncngcc ctaatttg	240
ccaattagtg catgntanag cntcctggcc cagatggcnt ccatatcctg gtncggcttc	300
cgcccctacc angncatcen catctactag agcttatccg ctncntgngg cgcaccggnt	360
ccccnct	367

<210> 21
 <211> 366
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(366)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 21	
ccccacacaa tgggtctaagt anaactgtat tgctctgtag tatagttcca cattggcaac	60
ctacaatggg aaaatccata cataagtcag ttacttcctn atgagcttcc tccttctgaa	120
tcctttatct tctgaagaaa gtacacacct tggtnatgat atctttgaat tgcccttctt	180
tccaggcatc agttggatga ttcacatggt taattatggc attatcatat tcttcatact	240
tgtcatacga aacaccaggt tctgcccna gatgagcttg ttctgcagct cttagcacct	300
tgggaatatt cactctagac cagaacagc tcccgggtgt ccctcatttt ctgaggctta	360
aatttn	366

<210> 22
 <211> 315
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(315)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 22
 acttaatgca atctctggag gataatttgg atcaagaaat aaagaanaaa tgaattagga 60
 gaagaaatna ctgggnata tttcaatatt ttagaacttt aanaatgttg actatgattt 120
 caatatattt gtnaaaactg agatacangt ttgacctata tctgcatttt gataattaaa 180
 cnaatnnatt ctattttnaat gttgtttcag agtcacagca cagactgaaa ctttttttga 240
 atacctnaat atcacacttn tnccttnaat gatggtgaag acaatgatga catgccttna 300
 gcatataatg tcgac 315

<210> 23
 <211> 202
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(202)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 23
 actaatccag tgtggtgnaa ttccatttgg ttgggcaact caggatatta aatttatnat 60
 ttaaaaattc ccaagagaaa naaactccag gccctgattg tttcactggg gaattttacc 120
 aaatgttnca nnaaganatg acgctgattc tgnnaaatct ttttcagaag atagaggaga 180
 acaccaccg nttcatttta tg 202

<210> 24
 <211> 365
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(365)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 24
 ggattttcttg cccttttctc cttttttaag tatcaatgta tgaaatccac ctgtaccacc 60
 ctttttgcca tacaaccgct accacatctg gtcctagaa cctgttttgc tttcatagat 120
 ggatctcgga accnagtgtt naattcattt ttaaacccca ttttagcaga tngtttgctn 180
 tggctctgtct gtattcacca tggggcctgt acacaccacg tgtggttata gtcaaacaca 240
 gtgccctcca ttgtggccac atgggagacc catnaccna tactgcatcc tgggctgatn 300
 acggcactgc atctnaccg acntgggatt gaaccggggg tgggcagcng aattgaacag 360
 gatca 365

<210> 25
 <211> 359
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature

<222> (1)...(359)

<223> n = A,T,C or G

<400> 25

gtttctgct	tcaacagtgc	ttggacggaa	ccggcgctc	gttccccacc	ccggccggcc	60
gcccatagcc	agccctccgt	cacctcttca	ccgcaccctc	ggactgcccc	aaggcccccg	120
ccgccnctcc	ngcgccnccg	agccaccgcc	gccnccncca	cctctccttn	gtcccgcctn	180
nacaacgcgt	ccacctcgca	ngttcgccng	aactaccacc	nggactcata	ngccgcctc	240
aaccgcccga	tcaacctgga	gctctncccc	ccgaenttaa	cctttccntg	tcttacttac	300
nttaaccgcc	gnttattttg	cttnaaaaga	acttttcccc	aatactttct	ttcacctnt	359

<210> 26

<211> 400

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(400)

<223> n = A,T,C or G

<400> 26

agtgaaacag	tatatgtgaa	aaggagtttg	tgannagcta	cataaaaata	ttagatatct	60
ttataatttc	caataggata	ctcatcagtt	ttgaataana	gacatattct	agagaaacca	120
ggtttctggt	ttcagatttg	aactctcaag	agcttggag	ttatcactcc	catcctcag	180
acnacnaana	aatctnaach	aacngaana	caatgacttt	tcttagatct	gtcaaagaac	240
ttcagccacg	aggaaaacta	tcnccctnaa	tactggggac	tgaaagaga	gggtacagag	300
aatcacagtg	aatcatagcc	caagatcagc	ttgcccggag	ctnaagctng	tacgatnatt	360
acttacaggg	accacttcac	agtnngtnga	tnaantgccn			400

<210> 27

<211> 366

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(366)

<223> n = A,T,C or G

<400> 27

gaatttctta	gaaactgaag	tttactctgt	tccaagatat	atcttctactg	tcttaatcaa	60
agggcgctng	aatcatagca	aatattctca	tctttcaact	aactttaagt	agttntcctg	120
gaattttaca	ttttccagaa	aacctcctt	tctgtatctg	tgaaagaaag	tgtgcctcag	180
gctgtagact	gggctgcact	ggcacctgc	gggggactct	ggctnagtgn	ggacatggtc	240
agtattgatt	ttcctcanac	tcagcctgtg	tagctntgaa	agcatggaac	agattacact	300
gcagttnacg	tcatcccaca	catcttgac	tcnagaccc	ggggaggtca	catagtcctg	360
tatgna						366

<210> 28

<211> 402

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(402)

<223> n = A,T,C or G

<400> 28

```

agtgggagcc tctccttcc ccaactcagtt ctttacatcc ccgaggcgca gctgggcnaa      60
ggaagtggcc agctgcagcg cctcctgcag gcagccaacg ttcttgctg tggcctgtgc      120
agacacatcc ttgccaccac ctttaccgtc catcangcct gacacctgct gcacccactc      180
gctngetttt aagccccgat nggctgcatt ctgggggact tgacacaggc ncgatgatctt      240
gccagcctca ttgtccaccg tgaagagcat ggcaaaaagt ctgaggggag tgcattctga      300
anagcttcaa ggcttcattc agggccttng ctnaggcgcc nctctccatc tccnggaata      360
acnagaggct ggtnnnggtn actntcaata aactgcttcg tc                          402

```

<210> 29
<211> 175
<212> DNA
<213> 人

```

<400> 29
cggacgggca tgaccggtcc ggtcagctgg gtggccagtt tcagttcttc agcagaactg      60
tctcccttct tgggggccga gggcttctct ggggaagagga tgagtttggg gcggtactcc      120
ttcagccgct gcacgttggc ctgcagggac tccgtggact tgttccgcct cctcgc      175

```

<210> 30
<211> 360
<212> DNA
<213> 人

```

<400> 30
ttgtatttct tatgatctct gatgggttct tctcgaaaat gccaaagtga agactttgtg      60
gcatgctcca gatttaaadc cagctgaggc tccctttggt ttcagttcca tgtaacaadc      120
tggaaggaaa cttcacggac aggaagactg ctggagaaga gaagcgtggt agccatttg      180
aggctctggg aatcatgtaa aggtaccaca gacctcactt ttagttattt acatcaatga      240
gttctttcag ggaaccaaac ccagaattcg gtgcaaaagc caaacatctt ggtgggattt      300
gataaatgcc ttgggacctg gagtgcctgg cttgtgcaca ggaagagcac cagccgctga      360

```

<210> 31
<211> 380
<212> DNA
<213> 人

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)...(380)
<223> n = A,T,C or G

```

<400> 31
acgctotaag cctgtccacg agctcaatag ggaagcctgt gatgactaca gactttgcca      60
acgctacgcc atggtttatg gatacaatgc tgcctataan cgctacttca ggaagcgccg      120
agggaccnaa tgagactgag ggaagaaaaa aaatctcttt ttttctggag gctggcacct      180
gattttgtat ccccctgtnn cagcattncn gaaatacata ggcttatata caatgcttct      240
ttcctgtata ttctcttctc tggtgcacc cctnttccc gcccccagat tgataagtaa      300
tgaaagtgca ctgcagtnag ggtcaangga gactcancat atgtgattgt tcctnataa      360
acttctggtg tgatactttc

```

<210> 32
<211> 440
<212> DNA
<213> 人

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)...(440)
<223> n = A,T,C or G

<400> 32
 gtgtatggga gccctgact cctcacgtgc ctgatctgtg cccttggtcc caggtcaggc 60
 ccaccccctg cacctccacc tgccccagcc cctgcctctg cccaagtgg ggccagctgc 120
 cctcacttct ggggtggatg atgtgacctt cctnggggga ctgcggaagg gacaagggtt 180
 ccctgaagtc ttacggtcca acatcaggac caagtcccat ggacatgctg acagggtccc 240
 caggggagac cgtntcanta gggatgtgtg cctggctgtg tacgtgggtg tgcagtgcac 300
 gtganaagca cgtggcggct tctggggggc atgtttgggg aaggaagtgt gcccnccacc 360
 cttggagaac ctcagtcccn gtagccccct gccttggcac agcngcatnc acttcaaggg 420
 caccctttgg gggttggggg 440

<210> 33
 <211> 345
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(345)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 33
 tattttaaca atgtttatta ttcatttata cctctataga accaccaccc acaccgagga 60
 gattatttgg agtgggtccc aacctagggc ctggactctg aaatctaact ccccacttcc 120
 ctcattttgt gacttaggtg ggggcatggg tcagtcagaa ctgggtgtctc ctattggatc 180
 gtgcagaagg aggacctagg cacacacata tgggtggccac acccaggagg gttgattggc 240
 aggctggaag acaaaaagtct cccaataaag gcacttttac ctcaaagang ggggtgggagt 300
 tggctctgctg ggaatgttgt tgttgggggtg gggaagantt atttc 345

<210> 34
 <211> 440
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(440)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 34
 tgtaattttt ttattggaaa acaaataac aacttggaaat ggattttgag gcaaattgtg 60
 ccataagcag attttaagtg gctaaacaaa gtttaaaaag caagtaacaa taaaagaaaa 120
 tgtttctggg acaggaccag cagtacaaaa aaatagtgtg cgagtacctg gataatacac 180
 ccgttttgca atagtgcaac ttttaagtac atattgttga ctgtccatag tccacgcaga 240
 gttacaactc cacacttcaa caacaacatg ctgacagttc ctaaagaaaa ctactttaa 300
 aaaggcataa cccagatggt ccctcattt accaactcca tctnagtta gatgtgcaga 360
 agggttana ttttcccaga gtaagcncn tgcaacatgt tacttgatca attttctaaa 420
 ataaggtttt aggacaatga 440

<210> 35
 <211> 540
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(540)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 35
 atagatggaa tttattaagc ttttccatg tgatagcaca tagttttaat tgcattccaaa 60

gtactaacia	aaactctagc	aatcaagaat	ggcagcatgt	tattttataa	caatcaacac	120
ctgtggcttt	taaaatttgg	ttttcataag	ataatttata	ctgaagtaaa	tctagccatg	180
cttttaaaaa	atgcttttagg	tcaactccaag	cttggcagtt	aacatttggc	ataaacaata	240
ataaaacaat	cacaatttaa	taaataacia	atacaacatt	gtaggccata	atcatataca	300
gtataagggg	aaaggtggta	gtgttganta	agcagttatt	agaatagaat	accttggcct	360
ctatgcaaat	atgtctagac	actttgattc	actcagccct	gacattcagt	tttcaaagtt	420
aggaacacag	ttctacagta	tcattttaca	gtttccaaca	cattgaaaac	aagtagaaaa	480
tgatganttg	atttttatta	atgcattaca	tcctcaagan	ttatcaccaa	cccctcaggt	540

<210> 36

<211> 555

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(555)

<223> n = A,T,C or G

<400> 36

cttcgtgtgc	ttgaaaattg	gagcctgccc	ctcggcccat	aagcccttgt	tggaactga	60
gaagtgtata	tggggcccaa	nctactgggtg	ccagaacaca	gagacagcag	cccantgcaa	120
tgctgtcgag	cattgcaaac	gccatgtgtg	gaactaggag	gaggaatatt	ccatcttggc	180
agaaaccaca	gcattggttt	ttttctactt	gtgtgtctgg	gggaatgaac	gcacagatct	240
gtttgacttt	gttataaaaa	tagggctccc	ccacctcccc	cntttctgtg	tnctttattg	300
tagcantgct	gtctgcaagg	gagcccctan	ccctggcag	acananctgc	ttcagtgccc	360
ctttcctctc	tgctaaatgg	atgttgatgc	actggaggtc	ttttancctg	cccttgcattg	420
gcncctgctg	gaggaagana	aaactctgct	ggcatgacct	acagtttctt	gactggangc	480
cntcaacctt	cttggtttaa	gccttgttct	gacctgaca	tntgcttggg	cncctgggtng	540
gnctgggctt	ctnaa					555

<210> 37

<211> 280

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(280)

<223> n = A,T,C or G

<400> 37

ccaccgacta	taagaactat	gccctcgtgt	attcctgtac	ctgcatcacc	caactttttc	60
acgtggattt	tgcttggatc	ttggcaagaa	accctaactc	ccctccagaa	acagtggact	120
ctctaaaaaa	tatcctgact	tctaataaca	ttgatntcaa	gaaaatgacg	gtcacagacc	180
aggtgaactg	ccccnagctc	tcgtaaccag	gttctacagc	gaggctgcac	ccactccattg	240
ttnccttctg	ttcgctttcc	cctacccccac	cccccgccat			280

<210> 38

<211> 303

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(303)

<223> n = A,T,C or G

<400> 38

catcgagctg	gttgtcttct	tgcttgcctt	gtgtcgtaaa	atgggggtcc	cttactgcat	60
------------	------------	------------	------------	------------	------------	----

tatcaagga	aaggcaagac	tgggacgtct	agtccacagg	aagacctgca	ccactgtcgc	120
cttcacacag	gtgaactcgg	aagacaaagg	cgctttggct	nagctggtgn	aagctatcag	180
gaccaattac	aatgacngat	acgatnagat	ccgccntcac	tggggtagca	atgtcctggg	240
tcctaagtct	gtggctcgtg	tcgccnagct	cgaanaggcn	aangctaaag	aacttgccac	300
taa						303

<210> 39
 <211> 300
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(300)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 39						
gactcagcgg	ctgggtgctct	tctgtgtcac	aagcccagca	ctccaggtcc	caaggcattt	60
atcaaatccc	accaagatnt	ttggcttttg	caccgaattc	tgggtttggt	tccctnaaag	120
aactcattga	tgtaaatnac	tnaaagttag	gtctgggtac	cctttacatg	attccccaga	180
cctcanatgg	gctaacacgc	ttctcttctc	cagcagtctt	cctntccgtg	aagttacctt	240
ccagattggt	acatggaact	gaanacaaag	ggagcctcag	ctngatttaa	atctggagca	300

<210> 40
 <211> 318
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(318)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 40						
cccaacacaa	tggctgagga	caaatcagtt	ctctgtgacc	agacatgaga	aggttgccaa	60
tgggctgttg	ggcgaccaag	gccttcccgg	agtcttcgtc	ctctatgagc	tctcgcccat	120
gatgggtgaag	ctgacggaga	agcacaggtc	cttcaccac	ttcctgacag	gtgtgtgcgc	180
catcattggg	ggcatgttca	cagtggctgg	actcatcgat	tcgctcatct	accactcagc	240
acgagccatc	cagaaaaaaaa	ttgatctngg	gaagacnacg	tagtcacctt	cggtncttcc	300
tctgtctcct	ctttctcc					318

<210> 41
 <211> 302
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(302)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 41						
acttagatgg	ggctcgttca	ggggatacca	gcgttcacat	ttttcctttt	aagaaagggt	60
cttggcctga	atgttcccca	tccggacaca	ggctgcatgt	ctctgtnagt	gtcaaagctg	120
ccatnaccat	ctcggtaacc	tactcttact	ccacaatgtc	tatnttact	gcagggctct	180
ataatnagtc	cataatgtaa	atgcttgccc	caagacntat	ggcctgagtt	tatccnaggc	240
ccaaacnatt	accagacatt	cctcttanat	tgaaaacgga	tntctttccc	ttggcaaaga	300
tc						302

<210> 42

<211> 299
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(299)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 42
 cttataaagt ttaaggccaa ggcccgttcc attcttctag caactgacgt tgccagccga 60
 ggtttgacac tacctcatgt aaatgtgggt gtcaactttg acattcctac ccattccaag 120
 gattacatcc atcgagtagg tcgaacagct agagctgggc gctccggaaa ggctattact 180
 tttgtcacac agtatgatgt ggaactcttc cagcgcatag aacacttnat tgggaagaaa 240
 ctaccaggtt ttccaacaca ggatgatgag gttatgatgc tnacggaacg cgtcgcctna 299

<210> 43
 <211> 305
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(305)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 43
 ccaacaatgt caagacagcc gtctgtgaca tcccacctcg tggcctcaan atggcagtca 60
 ccttcattgg caatagcaca gccttccggg agctcttcaa gcgcatctcg gagcagttca 120
 ctgccatggt ccgcccgaag gccttccctcc actggtacac aggcgagggc atggacaaga 180
 tggagttcac cgaggctgag agcaacatga acgacctcgt ctctnagtat cagcagttacc 240
 gggatgccac cgcagaaaana ggaggaggat ttccggtnagg aggccgaaga aggaggcctg 300
 aggca 305

<210> 44
 <211> 399
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(399)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 44
 tttctgtggg ggaaacctga tctcgacnaa attagagaat tttgtcagcg gtatttcggc 60
 tggaacagaa cgaaaacnga tnaatctctg tttcctgtat taaagcaact cगतncccag 120
 cagacacagc tccnaattga ttccttcttt ngattagcac aacagggaga aagaanatgc 180
 ttaacgtatt aagagccnga gactaaacag agctttgaca tgtatgctta ggaaagagaa 240
 agaagcagcn gcccgcgnaa ttngaagcng tttctgttgc cntgganaaa gaatttgagc 300
 ttctttatta ggccaacgaa aaaccccgaa ananaggcnt tacnatacct tngaaaantc 360
 tccngccnna aaaagaaaaga agctttcnga ttcttaacc 399

<210> 45
 <211> 440
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature

<222> (1)...(440)

<223> n = A,T,C or G

<400> 45

gcgggagcag	aagctaaagc	caaagcccaa	gagagtggca	gtgccagcac	tggtgccagt	60
accagtacca	ataacagtgc	cagtgccagt	gccagcacca	gtggtggctt	cagtgctggt	120
gccagcctga	ccgccactct	cacatttggg	ctcttcgctg	gccttgggtg	agctgggtgc	180
agcaccagtg	gcagctctgg	tgcctgtggt	ttctcctaca	agttagattt	taggtatctg	240
ccttggtttc	agtggggaca	tctggggcct	anggggcngg	gataaggagc	tggatgattc	300
taggaaggcc	cangttggag	aangatgtgn	anagtgtgcc	aagacactgc	ttttggcatt	360
ttattccttt	ctgtttctg	gangtcaatt	gacccttnna	ntttctctta	cttgtgtttt	420
canatatngt	taatcctgcc					440

<210> 46

<211> 472

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(472)

<223> n = A,T,C or G

<400> 46

gctctgtaat	ttcacatttt	aaaccttccc	ttgacctcac	attcctcttc	ggccacctct	60
gtttctctgt	tcctcttcac	agcaaaaact	gttcaaaaaga	gttggtgatt	actttcattt	120
ccactttctc	acccccattc	tcccctcaat	taactctcct	tcaccccat	gatgccatta	180
tgtggctntt	attanagtca	ccaaccttat	tctccaaaac	anaagcaaca	aggactttga	240
cttctcagca	gcaactcagct	ctggtncctg	aaacaccccc	gttacttgct	attcctccta	300
cctcataaca	atctccttcc	cagcctctac	tgetgccttc	tctgagttct	tcccagggtc	360
ctaggctcag	atgtagtgta	gctcaaccct	gctacacaaa	gnaatctcct	gaaagcctgt	420
aaaaatgtcc	atncntgtcc	tgtgagtgat	ctnccangna	naataacaaa	tt	472

<210> 47

<211> 550

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(550)

<223> n = A,T,C or G

<400> 47

ccttctctcg	cctggccatc	cccagcatgc	tcattgctgtg	catggagtgg	tgggcctatg	60
aggtcgggag	cttcctcagt	ggtctgtatg	aggatggatg	acggggactg	gtgggaacct	120
gggggcccctg	tctgggtgca	aggcgacagc	tgtctttctt	caccaggcat	cctcggcatg	180
gtggagctgg	gcgctcagtc	catcgtgtat	gaactggcca	tcatttgtga	catggtcctt	240
gcaggcttca	gtgtggctgc	cagtgtccgg	gtangaaacg	ctctgggtgc	tggagacatg	300
gaagcaggca	cggaagtcct	ctaccgtttc	cctgctgatt	acagtgtctt	ttgctgtanc	360
cttcagtgtc	ctgctgttaa	gctgtaagga	tcacntgggg	tacattttta	ctaccgaccg	420
agaacatcat	taatctgggtg	gctcaggtgg	ttccaattta	tgctgtttcc	cacctctttg	480
aagctcttgc	tgctcaggtg	cacgccaatt	ttgaaaagta	aacaacgtgc	ctcggagtgg	540
gaattctgct						550

<210> 48

<211> 214

<212> DNA

<213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(214)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 48
 agaaggacat aaacaagctg aacctgccca agacgtgtga taccagcttc tcagatccag 60
 acaacctcct caacttcaag ctggatcatc gtcctgatna gggcttctac nagagtggga 120
 agtttgtggt cagttttaag gtgggccagg gttacccgca tgatcccccc aagggtgaagt 180
 gtgagacnat ggtctatcac cccnacattg acct 214

<210> 49
 <211> 267
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(267)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 49
 atctgcctaa aatttattca aataatgaaa atnaatctgt ttaagaagaat tcagtctttt 60
 agtttttagg acaactatgc acaaatgtac gatggagaat tctttttgga tnaactctag 120
 gtngaggaac ttaatccaac cggagctntt gtgaagggtca gaanacagga gagggaatct 180
 tggcaaggaa tggagacnga gtttgcaaat tgcagctaga gtnaatngtt ntaaattggga 240
 ctgctnttgt gtctcccang gaaagtt 267

<210> 50
 <211> 300
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(300)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 50
 gactgggtca aagctgcatg aaaccaggcc ctggcagcaa cctgggaatg gctggaggtg 60
 ggagagaacc tgacttctct tccctctcc ctctccaac attactggaa ctctgtcctg 120
 ttgggatctt ctgagcttgt tccctgctg ggtgggacag aggacaaagg agaagggagg 180
 gtctagaaga ggcagcctt ctttgcctc tggggtnaat gagcttgacc tanagtagat 240
 ggagagacca anagcctctg atttttaatt tccataanat gttcnaagta tatntntacc 300

<210> 51
 <211> 300
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(300)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 51
 gggtaaaatc ctgcagcacc cactctggaa aatactgctc ttaattttcc tgaaggtggc 60
 cccctatttc tagttggtcc aggattaggg atgtggggta tagggcattt aaatcctctc 120
 aagcgtctc caagcacc cggcctgggg gtnagtttct catcccgcta ctgctgctgg 180
 gatcaggttn aataaatgga actcttctct tctggcctcc aaagcagcct aaaaactgag 240

gggctctggt agaggggacc tccaccctnn ggaagtccga ggggctnggg aagggtttct 300

<210> 52
 <211> 267
 <212> DNA
 <213> 人
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)..(267)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 52
 aaaatcaact tcntgcatta atanacanat tctanancag gaagtgaana taatthttctg 60
 cacctatcaa ggaacnnaact tgattgcctc tattnaacan atatatcgag ttnctataact 120
 tacctgaata ccnccgcata actctcaacc nanatnctc nccatgacac tcnttctttna 180
 atgctantcc cgaattcttc attatatcng tgatgttcgn cctgtnata taccagcaag 240
 gtatgtncn taactgccga nncaang 267

<210> 53
 <211> 401
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 53
 agscttttagc atcatgtaga agcaaaactgc acctatggct gagataggtg caatgaccta 60
 caagatthttg tgthtttctag ctgtccagga aaagccatct tcagtcttgc tgacagtcaa 120
 agagcaagtg aaaccatttc cagcctaaac tacataaaag cagccgaacc aatgattaaa 180
 gacctctaag gctccataat catcattaaa tatgcccmaa ctcatgtga cthttttattt 240
 tatatacagg taaaaaatca acattaaatc atcttattta catggccatc ggtgctgaaa 300
 ttgagcattt taaatagtag agtaggctgg tatacattag gaaatggact gcactggagg 360
 caaatagaaa actaaagaaa ttagatagggc tggaaatgct t 401

<210> 54
 <211> 401
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 54
 cccaacacaa tggataaaaa cacttatagt aaatggggac attcactata atgatctaag 60
 aagctacaga ttgtcatagt tgthtttctg cthttacaaa ttgtccaga tctggaatgc 120
 cagthttgacc thttgtcttct ataatathttc cthttthttcc cctctthtgaa tctctgtata 180
 thttgattctt aactaaaatt gthtctcttaa atattctgaa tcctggtaat taaaagthttg 240
 ggtgtathttt cthttacctcc aaggaaagaa ctactagcta caaaaaatat thttggaataa 300
 gcattgthttt ggtataaggt acatathttg gthttgaagaca ccagactgaa gtaaacagct 360
 gtgcatccaa thttattatag thtttgtaagt aacaatatgt a 401

<210> 55
 <211> 933
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 55
 thttactgctt ggcaaaagtac cctgagcatc agcagagatg ccgagatgaa atcagggaac 60
 tcctagggga tgggtcttct attacctggg aacacctgag ccagatgcct tacaccacga 120
 tgtgcatcaa ggaatgcctc cgctctacg caccggtagt aaactatccc ggttactcga 180
 caaacccatc acctthtcag atggagctc cthttacctgca ggaataactg thttttatcaa 240
 thttthgggt cthttaccaca accctattht ctgggaagac cctcaggtct thtaaccctt 300
 gagattctcc agggaaaatt ctgaaaaaat acatccctat gccttcatac cattctcagc 360
 tggattaagg aactgcattg ggcagcattt tgccataatt gagggtaaaag tggcagtggc 420

attaactctg	ctccgcttca	agctggctcc	agaccactca	aggccacca	gctgtcgtca	480
agttgcctca	agtccaagaa	tggaatccat	gtgtttgcaa	aaaaagtttg	ctaattttaa	540
gtccttttgc	tataagaatt	aakgagacaa	ttttcctacc	aaaggaagaa	caaaaggata	600
aatataatac	aaaatatatg	tatatggttg	tttgacaaat	tatataactt	aggatacttc	660
tgactgggtt	tgacatccat	taacagtaat	tttaatttct	ttgctgtatc	tggtgaaacc	720
cacaaaaaca	cctgaaaaaa	ctcaagctga	gttccaatgc	gaagggaaat	gattgggttg	780
ggtaactagt	ggtagagtgg	ctttcaagca	tagtttgatc	aaaactccac	tcagtatctg	840
cattactttt	atctctgcaa	atatctgcat	gatagcttta	ttctcagtta	tctttcccca	900
taataaaaaa	tatctgccaa	aaaaaaaaaa	aaa			933

<210> 56
 <211> 480
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 56						
ggctttgaag	catttttgtc	tgtgctcct	gatcttcagg	tcaccacat	gaagttctta	60
gcagtcctgg	tactcttggg	agtttccatc	tttctggctc	ctgccagaa	tccgacaaca	120
gctgctccag	ctgacacgta	tccagctact	ggctctgctg	atgatgaagc	ccctgatgct	180
gaaaccactg	ctgctgcaac	cactgcgacc	actgctgctc	ctaccactgc	aaccacogct	240
gcttctacca	ctgctcgtaa	agacattcca	gttttaccca	aatgggttgg	ggatctcccg	300
aatggtagag	tgtgtccctg	agatggaatc	agcttgagtc	ttctgcaatt	ggtcacaact	360
attcatgctt	cctgtgattt	catccaacta	cttaccttgc	ctacgatatc	ccctttatct	420
ctaatacagtt	tatttttctt	caaataaaaa	ataactatga	gcaacaaaaa	aaaaaaaaaa	480

<210> 57
 <211> 798
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 57						
agcctacctg	gaaagccaac	cagtcctcat	aatggacaag	atccaccagc	tcctcctgtg	60
gactaacttt	gtgatatggg	aagtgaaaat	agttaacacc	ttgcacgacc	aaacgaacga	120
agatgaccag	agtactctta	accccttaga	actgtttttc	cttttgtatc	tgcaatatgg	180
gatggatttg	ttttcatgag	cttctagaaa	tttcaacttc	aagtttattt	ttgcttctctg	240
tgttactgcc	attcctattt	acagtatatt	tgagtgaatg	attatatttt	taaaaagtta	300
catggggcct	ttttggttgt	cctaaactta	caaacattcc	actcattctg	tttgtaactg	360
tgattataat	ttttgtgata	atctctggcc	tgattgaagg	aaatttgaga	ggctgcattt	420
tatatatttt	aaatagattt	gataggtttt	taaattgctt	tttttcataa	ggattttata	480
aagttatttg	gggttgtctg	ggattgtgtg	aaagaaaatt	agaaccccg	tgtattttaca	540
tttaccttgg	tagttttatt	gtggatggca	gttttctgta	gttttgggga	ctgtggtagc	600
tcttgatttg	ttttgcaaat	tacagctgaa	atctgtgtca	tggattaaac	tggcttatgt	660
ggctagaata	ggaagagaga	aaaaatgaaa	tggttggtta	ctaattttat	actcccatta	720
aaaattttta	atgttaagaa	aaccttaaat	aaacatgatt	gatcaatatg	gaaaaaaaaa	780
aaaaaaaaaa	aaaaaaaaaa					798

<210> 58
 <211> 280
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 58						
ggggcagctc	ctgaccctcc	acagccacct	ggctcagccac	cagctggggc	aacgaggggtg	60
gaggtcccac	tgagcctctc	gcctgcccc	gccactcgtc	tggtgcttgt	tgatccaagt	120
cccctgcttg	gtccccca	aggactccca	tccaggcccc	ctctgccttg	ccccttgtca	180
tggaccatgg	tcgtgaggaa	gggtcatg	cccttattta	tgggaacat	ttcattctaa	240
cagaataaac	cgagaaggaa	accagaaaaa	aaaaaaaaaa			280

<210> 59
 <211> 382

<212> DNA

<213> 人

<400> 59

aggcgggagc	agaagctaaa	gccaaagccc	aagagagtgg	cagtgccagc	actggtgcca	60
gtaccagtac	caataacagt	gccagtgcc	gtgccagcac	cagtgggtggc	ttcagtgtctg	120
gtgccagcct	gaccgccact	ctcacatttg	ggctcttcgc	tggccttggg	ggagctggtg	180
ccagcaccag	tggcagctct	ggtgctctgt	gtttctccta	caagtggat	tttagatatt	240
gttaatcctg	ccagtctttc	tcttcaagcc	agggtgcatc	ctcagaaacc	tactcaacac	300
agcactctag	gcagccacta	tcaatcaatt	gaagttgaca	ctctgcatta	aatctatttg	360
ccattaaaaa	aaaaaaaaaa	aa				382

<210> 60

<211> 602

<212> DNA

<213> 人

<400> 60

tgaagagccg	cgcggtggag	ctgctgcccg	atgggactgc	caaccttgcc	aagctgcagc	60
ttgtgggtgga	gaatagtgcc	cagcgggtca	tccacttggc	gggtcagtgg	gagaagcacc	120
gggtcccac	ctcgtgagta	ccgccactcc	gaaagctgca	ggattgcaga	gagctggaat	180
cttctcgacg	gctggcagag	atccaagaac	tgcaccagag	tgtccggggc	gctgctgaag	240
aggcccgcag	gaaggaggag	gtctataagc	agctgatgtc	agagctggag	actctgcca	300
gagatgtgtc	ccggctggcc	tacaccagc	gcacccctga	gatcgtgggc	aacatccgga	360
agcagaagga	agagatcacc	aagatcttgt	ctgatacgaa	ggagcttcag	aaggaaatca	420
actccctatc	tgggaagctg	gaccggacgt	ttgcggtgac	tgatgagctt	gtgttcaagg	480
atgccaagaa	ggcagatgct	gttcggaagg	cctataagta	tctagctgct	ctgcacgaga	540
actgcagcca	gctcatccag	accatcgagg	acacaggcac	catcatgcgg	gaggttcgag	600
ac						602

<210> 61

<211> 1368

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(1368)

<223> n = A,T,C or G

<400> 61

ccagtgagcg	cgcgtaatac	gactcactat	agggcgaatt	gggtaccggg	ccccccctcg	60
agcggccgcc	cttttttttt	tttttttatt	gatcagaatt	caggctttat	tattgagcaa	120
tgaaaacagc	taaaacttaa	ttccaagcat	gtgtagttaa	agtttgcaaa	gtgggatatt	180
gttcacaaaa	cacattcaat	gtttaaacac	tatttatttg	aagaacaaaa	tatattttaa	240
attgtttgct	tctaaaaagc	ccatttcctt	ccaagtctaa	actttgtaat	ttgatattaa	300
gcaatgaagt	tattttgtac	aatctagtta	aacaagcaga	atagcactag	gcagaataaa	360
aaattgcaca	gacgtatgca	attttccaag	atagcattct	ttaaattcag	ttttcagctt	420
ccaaagattg	gttgcccata	atagacttaa	acatataatg	atggctaaaa	aaaataagta	480
tacgaaaaatg	taaaaaagga	aatgtaagtc	cactctcaat	ctcataaaag	gtgagagtaa	540
ggatgctaaa	gcaaaaataa	tgtaggttct	ttttttctgt	ttccgtttat	catgcaatct	600
gcttctttga	tatgccttag	ggttaccctt	ttaagttaga	ggttgtaatg	caatgggtggg	660
aatgaaaatt	gatcaaatat	acaccttgtc	atttcatttc	aaattgcggg	ctggaaaactt	720
ccaaaaaaag	ggtaggcatg	aagaaaaaaa	aaatcmaatc	agaacctctt	caggggtttg	780
kgktctgata	tggcagacar	gatacaagtc	ccaccaggag	atggagcaat	tcaaaataag	840
ggtaatgggc	tgacaaggta	ttattgccag	catgggacag	aatgagcaac	aggctgaaaa	900
gtttttggat	tatatagcac	ctagagtctc	tgatgtaggg	aatttttgtt	agtcaaacat	960
acgctaaact	tccaagggaa	aatctttcag	gtagcctaag	cttgcttttc	tagagtgatg	1020
agttgcattg	ctactgtgat	tttttgaaaa	caaactgggt	ttgtacaagt	gagaaagact	1080
agagagaaag	attttagtct	gtttagcaga	agccatttta	tctgcgtgca	catggatcaa	1140

tatttctgat	cccctatacc	ccaggaaggg	caaaatccca	aagaaatgtg	ttagcaaaat	1200
tggtgatgc	tatcatattg	ctatggacat	tgatcttgcc	caacacaatg	gaattccacc	1260
acactggact	agtggatcca	ctagttctag	agcggccggc	caccgcggtg	gagctccagc	1320
ttttgttccc	tttagtgagg	gttaattgcg	cgcttggcgt	aatcatnn		1368

<210> 62
 <211> 924
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc feature
 <222> (1)...(924)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 62						
caaaggnaca	ggaacagctt	gnaaagtact	gncatncctn	cctgcagggg	ccagcccttt	60
gcctccaaaa	gcaatagga	atttaaaaga	tttnactga	gaaggggncc	acgtttnart	120
tntnaatgtn	tcargnanar	tnccctncaa	atgnrcnctn	cactnactnr	gnatttgggt	180
tnccgnrtnc	mgnactatnt	caggtttgaa	aaactggatc	tgccacttat	cagttatgtg	240
accttaaaga	actccggtta	tttctcagag	cctcagtttc	cttgtctata	agttgggagt	300
aatattaata	ctatcatttt	tccaaggatt	gatgtgaaca	ttaatgaggt	gaaatgacag	360
atgtgtatca	tggttcctaa	taaacatcca	aaatatagta	cttactattg	tcattattat	420
tacttgtttg	aagctaaaga	cctcacaata	gaatcccac	cagcccacca	gacagagytc	480
tgagttttct	agtttggaag	agctattaaa	taacaacktc	tagtgtcaat	tctatacttg	540
ttatggcoaa	gtaactgggc	tcagcatttt	acattcattg	tctctttaag	ttctagcaat	600
gtgaagcagg	aactatgatt	atattgacta	cataaatgaa	gaaattgagg	ctcagataca	660
ttaagtaatt	ctcccagggt	cacacagcta	gaactggcaa	agcctgggat	tgatccatga	720
tcttcagca	ctgaagaatc	ataaatgtaa	ataactgcaa	ggccttttcc	tcagaagagc	780
tcctgggtgct	tgcaccaacc	cactagcact	tgttctctac	aggggaacat	ctgtgggcct	840
gggaatcact	gcacgtcgca	agagatggtg	cttctgatga	attattgttc	ctgtcagtg	900
tgtgaaggca	aaaaaaaaaa	aaaa				924

<210> 63
 <211> 1079
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 63						
agtcccaaga	actcaataat	ctcttatggt	ttcttttgaa	gacttatttt	aatattaac	60
tatttcgggtg	cctgaatgga	aaaatataaa	cattagctca	gagacaatgg	ggtacctggt	120
tggaatccag	ctggcagcta	taagcacegt	tgaaaactct	gacaggcttt	tgccctttt	180
tattaaatgg	cctcacatcc	tgaatgcagg	aatgtgttcg	tttaaataaa	cattaatcct	240
taatgttgaa	ttctgaaaac	acaaccataa	atcatagttg	gtttttctgt	gacaatgatc	300
tagtacatta	tttccctccac	agcaaaccta	cctttccaga	aggtggaaat	tgtatttgca	360
acaatcaggg	caaaaccac	acttgaaaag	cattttacaa	tattatatct	aagttgcaca	420
gaagacccca	gtgatcacta	ggaaatctac	cacagtccag	tttttcta	ccaagaaggt	480
caaacttcgg	ggaataatgt	gtccctcttc	tgctgctgct	ctgaaaaata	ttcgatcaaa	540
acgaagttta	caagcagcag	ttattccaag	attagagttc	atgtgtgat	cccatgtata	600
ctggcaatgt	ttaggtttgc	ccaaaaactc	ccagacatcc	acaatgttgt	tggtgaaacc	660
accacatctg	gtaacctctc	gatcccttag	atgtgtatct	cctgcaaata	taactgtagc	720
tgactctgga	gcctcttgca	ttttctttaa	aaccattttt	aactgattca	ttcgttccgc	780
agcatgccct	ctggtgctct	ccaaatggga	tgtcataagg	caaagctcat	ttcctgacac	840
atccacatgc	acacataaaa	ggtttctcat	cattttggta	cttggaagag	gaataatctc	900
ttggcttttt	aatttcactc	ttgatttctt	caacattata	gctgtgaaat	atccttcttc	960
atgacctgta	ataatctcat	aattacttga	tctctctttt	aggtagctat	aatatggggg	1020
aataacttcc	tgtagaataa	tcacatctgg	gctgtacaaa	gctaagtagg	aacacaccc	1079

<210> 64
 <211> 1001

<212> DNA

<213> 人

<400> 64

gaatgtgcaa	cgatcaagtc	agggtatctg	tggtatccac	cactttgagc	atztatcgat	60
tctatatgtc	aggaacattt	caagttatct	gttctagcaa	ggaaatataa	aatacttata	120
gttaactatg	gcctatctac	agtgcaacta	aaaactagat	tttattcctt	tccacctgtg	180
ggtttgtatt	catttaccac	cctcttttca	ttccctttct	caccacacaca	ctgtgccggg	240
cctcaggcat	atactattct	actgtctgtc	tctgtaagga	ttatcatttt	agcttccaca	300
tatgagagaa	tgcatgcaaa	gtttttcttt	ccatgtctgg	cttatttcac	ttaacataat	360
gacctccgct	tccatccatg	ttatttatat	tacccaatag	tgttcataaa	tatatataca	420
cacatatata	ccacattgca	ttgtccaat	tattcattga	cggaaactgg	ttaatgttat	480
atcgttgcta	ttgtggatag	tgctgcaata	aacacgcaag	tggggatata	atitgaagag	540
tttttttggt	gatgttcctc	caaattttaa	gattgttttg	tctatgtttg	tgaaaatggc	600
gtagtagtatt	tcatagagat	tgcatggaat	ctgtagattg	ctttgggtaa	gtatggttat	660
tttgatggta	ttaatTTTTT	cattccatga	agatgagatg	tctttccatt	gtttgtgtcc	720
tctacatttt	ctttcatcaa	agttttggtg	tatttttgaa	gtagatgtat	ttcaccttat	780
agatcaagtg	tattccctaa	atattttatt	ttttagtagta	ttgtagatga	aattgccttc	840
ttgatttctt	tttcaactaa	ttcattatta	gtgtatggaa	atgttatgga	tttttatttg	900
ttggttttta	atcaaaaaact	gtattaaact	tagagttttt	tgtggagttt	ttaagttttt	960
ctagatataa	gatcatgaca	tctaccaaaa	aaaaaaaaaa	a		1001

<210> 65

<211> 575

<212> DNA

<213> 人

<400> 65

acttgatata	aaaaggatata	ccataatgaa	tattttatac	tgcatccttt	acattagcca	60
ctaaatacgt	tattgcttga	tgaagacctt	tcacagaatc	ctatggattg	cagcatttca	120
cttggctact	tcatacccat	gccttaaaga	ggggcagttt	ctcaaaagca	gaaacatgcc	180
gccagttctc	aagttttcct	cctaactcca	tttgaatgta	agggcagctg	gcccccaatg	240
tggggaggtc	cgaacatttt	ctgaattccc	attttcttgt	tgcgggctaa	atgacagttt	300
ctgtcattac	ttagattccc	gatctttccc	aaagggtggtg	atitacaaag	aggccagcta	360
atagccagaa	atcatgaccc	tgaagagag	atgaaatttc	aagctgtgag	ccaggcagga	420
gctccagtat	ggcaaagggt	cttgagaatc	agccatttgg	tacaaaaaag	atittttaaag	480
cttttatggt	ataccatgga	gcatagaaa	ggctatggat	tgtttaagaa	ctatittttaa	540
gtgttccaga	ccccaaaaag	aaaaaaaaaa	aaaaa			575

<210> 66

<211> 831

<212> DNA

<213> 人

<400> 66

attgggctcc	ttctgctaaa	cagccacatt	gaaatggttt	aaaagcaagt	cagatcaggt	60
gatttgtaaa	attgtattta	tctgtacatg	tatgggcttt	taattcccac	caagaaagag	120
agaaattatc	tttttagtta	aaaccaaatt	tcacttttca	aaatatcttc	caacttattt	180
attggttgtc	actcaattgc	ctatatatat	atatatatat	gtgtgtgtgt	gtgtgtgctc	240
gtgagcgcac	gtgtgtgtat	gcgtgctcat	gtgtgtgtat	gtgtattatc	agacataggt	300
ttctaacttt	tagatagaag	aggagcaaca	tctatgccaa	atactgtgca	ttctacaatg	360
gtgctaactc	cagacctaaa	tgatactcca	tttaatttaa	aaaagagttt	taaataatta	420
tctatgtgcc	tgtatttccc	ttttgagtgc	tgacacaacat	gttaacatat	tagtgtaaaa	480
gcagatgaaa	caaccacgtg	ttctaaagtc	tagggattgt	gctataatcc	ctatittagtt	540
caaaattaac	cagaattctt	ccatgtgaaa	tggaccaaac	tcatattatt	gttatgtaaa	600
tacagagttt	taatgcagta	tgacatccca	caggggaaaa	gaatgtctgt	agtgggtgac	660
tgttatcaaa	tattttatag	aatacaatga	acgggtgaaca	gactggtaac	ttgtttgagt	720
tcccatgaca	gatttgagac	ttgtcaatag	caaatcattt	ttgtatttaa	atitttgtac	780
tgatttgaaa	aacatcatta	aatatcttta	aaagtaaaaa	aaaaaaaaaa	a	831

<210> 67
 <211> 590
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 67
 gtgctctgtg tattttttta ctgcattaga cattgaatag taatttgcgt taagatacgc 60
 ttaaaggctc tttgtgacca tgtttccott tgtagcaata aaatgttttt tacgaaaact 120
 ttctccctgg attagcagtt taaatgaaac agagttcatc aatgaaatga gtatttataaa 180
 taaaaatttg ccttaatgta tcagttcagc tcacaagtat tttaagatga ttgagaagac 240
 ttgaattaaa gaaaaaaaaa ttctcaatca tattttttaa atataagact aaaattggtt 300
 ttaaaacaca tttcaaatag aagtgagttt gaactgacct tatttatact ctttttaagt 360
 ttgttccttt tccctgtgcc tgtgtcaaat cttcaagtct tgctgaaaat acatttgata 420
 caaagttttc tgtagttgtg ttagttcttt tgtcatgtct gtttttggt gaagaaccaa 480
 gaagcagact tttcttttaa aagaattatt tctctttcaa atatttctat cttttttaa 540
 aaattccttt ttatggctta tatacctaca tatttataaaa aaaaaaaaaa 590

<210> 68
 <211> 291
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(291)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 68
 gttccctttt ccggtcggcg tggctcttgcg agtggagtggt ccgctgtgcc cgggcctgca 60
 ccatgagcgt cccggccttc atcgacatca gtgaagaaga tcaggctgct gagcttcgtg 120
 cttatctgaa atctaaagga gctgagattt cagaagagaa ctcggaaggt ggacttcatg 180
 ttgatttagc tcaaattatt gaagcctgtg atgtgtgtct gaaggaggat gataaagatg 240
 ttgaaagtgt gatgaacagt ggggnatcct actcttgatc cggaanccna c 291

<210> 69
 <211> 301
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(301)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 69
 tctatgagca tgccaaggct ctgtgggagg atgaaggagt gcgtgcctgc tacgaacgct 60
 ccaacgagta ccagctgatt gactgtgcc agtacttctt ggacaagatc gacgtgatca 120
 agcaggctga ctatgtgccg agcgatcagg acctgcttcg ctgccgtgtc ctgacttctg 180
 gaatctttga gaccaagttc caggtggacn aagtcaactt ccacatgntt gacgtgggtg 240
 gccagcgcga tgaacgccgc aagtggatcc agtgcttcaa cgatgtgact gccatcatct 300
 t 301

<210> 70
 <211> 201
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 70
 gcggctcttc ctccgggcagc ggaagcggcg cggcggctcg agaagtggcc taaaacttcg 60
 gcgttgggtg aaagaaaatg gccccaacca agcagactgc tcgtaagtcc accggtggga 120

aagcccccg caaacagctg gccacgaaag ccgccaggaa aagcgctccc tctaccggcg 180
gggtgaagaa gcctcatcgc t 201

<210> 71
<211> 301
<212> DNA
<213> 人

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)...(301)
<223> n = A,T,C or G

<400> 71
gccggggtag tcgccgncgc cgcgcgcgct gcagccactg caggcaccgc tgccgcccgc 60
tgagttagtg gcttaggaag gaagaggcca tctcgctcgg agcttcgctc ggaagggctct 120
ttgttccttg cagccctccc acgggaatga caatggataa aagtgagctg gtacanaaag 180
ccaaactcgc tgagcaggct gagcgatatg atgatatggc tgcagccatg aaggcagtca 240
cagaacaggg gcatgaactc ttcaacgaag agagaaatct gctctctggt gcctacaaga 300
a 301

<210> 72
<211> 251
<212> DNA
<213> 人

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)...(251)
<223> n = A,T,C or G

<400> 72
cttggggggt gttgggggag agactgtggg cctggaaata aaacttgtct cctctaccac 60
caccctgtac cctagcctgc acctgtccac atctctgcaa agttcagctt ccttccccag 120
gtctctgtgc actctgtctt ggatgctctg gggagctcat gggaggagga gtctccacca 180
gagggaggct caggggactg gttgggccag ggatgaatat ttgagggata aaaattgtgt 240
aagagccaan g 251

<210> 73
<211> 895
<212> DNA
<213> 人

<400> 73
tttttttttt tttttcccag gccctctttt tatttacagt gataccaaac catccacttg 60
caaattcttt ggtctcccat cagctggaat taagtaggta ctgtgtatct ttgagatcat 120
gtatattgtct ccactttggt ggatacaaga aaggaaggca cgaacagctg aaaaagaagg 180
gtatcacacc gctccagctg gaatccagca ggaacctctg agcatgccac agctgaacac 240
ttaaaagagg aaagaaggac agctgctctt catttatttt gaaagcaaat tcatttgaaa 300
gtgcataaat gtcctatcata agtcaaactg atcaattaga ccttcaacct aggaaacaaa 360
atTTTTTTTT tctatttaat aatacaccac actgaaatta tttgccaatg aatcccaaag 420
atTTGGTACA aatagtacaa ttcgattttg ctttcctctt tcctttcttc agacaaacac 480
caaataaaat gcagggtgaaa gagatgaacc acgactagag gctgacttag aaatttatgc 540
tgactcgatc taaaaaaaat tatgttggtt aatgttaatc tatctaaaat agagcatttt 600
gggaatgctt ttcaaagaag gtcaagtaac agtcatacag ctagaaaagt ccctgaaaaa 660
aagaattggt aagaagtata ataacctttt caaaaccac aatgcagctt agttttcctt 720
tatttatttg tggatcatgaa gactatcccc atttctccat aaaatcctcc ctccatactg 780
ctgcattatg gcacaaaaga ctctaagtgc caccagacag aaggaccaga gtttctgatt 840
ataacaatg atgctgggta atgtttaa atgagaacattg gatattggatg gtcag 895

<210> 74
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(351)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 74
 tgtgcncagg g gatgggtgg gcngtggaga ngatgacaga aaggctggaa ggaanggggg 60
 tgggtttgaa ggccanggcc aaggggnect caggtccgnt tctgnnaagg gacagccttg 120
 aggaaggagn catggcaagc catagctagg ccaccaatca gattaagaaa nnctgagaaa 180
 nctagctgac catcactgtt ggtgnccagt ttcccaacac aatggaatnc caccacactg 240
 gactagngga nccactagtt cttagagcggc cgccaccgcg gtggaacccc aacttttgcc 300
 cctttagnga ggggttaattg cgcgcttggc ntaatcatgg tcataagctg t 351

<210> 75
 <211> 251
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 75
 tacttgacct tctttgaaaa gcattcccaa aatgctctat tttagataga ttaacattaa 60
 ccaacataat tttttttaga tcgagtcagc ataaatttct aagtcagcct ctagtctgtg 120
 ttcattctctt tcacctgcat tttatttggg gtttgtctga agaaaggaaa gaggaagca 180
 aatacgaatt gtactatttg taccaaactt ttgggattca ttggcaaata atttcagtgt 240
 ggtgtattat t 251

<210> 76
 <211> 251
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 76
 tatttaataa tacaccacac tgaattatt tgccaatgaa tcccaaagat ttggtacaaa 60
 tagtacaatt cgtatttgc ttcctctttc ctttcttcag acaaacacca aataaaatgc 120
 aggtgaaaga gatgaaccac gactagaggc tgacttagaa atttatgctg actcgatcta 180
 aaaaaatta tgttgggtaa tgtaactcta tctaaaatag agcatttttg gaatgctttt 240
 caaagaaggt c 251

<210> 77
 <211> 351
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(351)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 77
 actcaccgtg ctgtgtgctg tgtgcttget gcctggcagc ctggccctgc cgctgctcag 60
 gaggggggag gcatgagtga gctacagtgg gaacaggctc aggactatct caagagannn 120
 tatctctatg actcagaaac aaaaaatgcc aacagtttag aagccaaact caaggagatg 180
 caaaaattct ttggcctacc tataactgga atgttaaact cccgcgtcat agaaataatg 240
 cagaagccca gatgtggagt gccagatggt gcagaatact cactatttcc aaatagccca 300
 aaatggactt ccaaagtggc cacctacagg atcgtatcat atactcgaga c 351

<210> 78
 <211> 1574
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 78
 gccctggggg cggaggggag gggcccacca cggccttatt tccgcgagcg cccggcactgc 60
 ccgctccgag cccgtgtctg tcgggtgccg agccaacttt cctgcgtcca tgcagccccg 120
 ccggcaacgg ctgcccgtct cctgggtccgg gccagggggc ccgcgccccca ccgccccgct 180
 gctcgcgctg ctgctgtttg tcgccccggt gggggcgccc gcgggggtccg gggacccccga 240
 cgaccctggg cagcctcagg atgctggggg cccgcgcagg ctccctgcagc agggggcgcg 300
 cgcgggcgctt cacttcttca acttccggtc cggctcgccc agcgcgctgc gagtgtctggc 360
 cgaggtgcag gagggccgcg cgtggattaa tccaaaagag ggatgtaaag ttcacgtggt 420
 cttcagcaca gagcgtaca acccagagtc ttacttccag gaaggtgagg gacgtttggg 480
 gaaatgttct gctcagagtgt ttttcaagaa tcagaaaccc agaccaacta tcaatgtaac 540
 ttgtacacgg ctcatcgaga aaaagaaaag acaacaagag gattacctgc tttacaagca 600
 aatgaagcaa ctgaaaaacc ccttggaat agtcagcata cctgataatc atggacatat 660
 tgatccctct ctgagactca tctgggattt ggctttcctt ggaagctctt acgtgatgtg 720
 ggaaatgaca acacaggtgt cacactacta cttggcacag ctactagtgt tgaggcagtg 780
 gaaaactaat gatgatacaa ttgattttga ttatactggt ctacttcatg aattatcaac 840
 acaggaaata attccctgtc gcattcactt ggtctggtac cctggcaaac ctcttaaagt 900
 gaagtaccac tgtcaagagc tacagacacc agaagaagcc tccggaactg aagaaggatc 960
 agctgtagta ccaacagagc ttagtaattt ctaaaaagaa aaaatgatct ttttccgact 1020
 tctaaacaag tgactatact agcataaatc attcttctag taaaacagct aaggtataga 1080
 cattctaata atttgggaaa acctatgatt acaagtaaaa actcagaaat gcaaagatgt 1140
 tggttttttg tttctcagtc tgcttttagct tttactctg gaagcgcagc cacactgaac 1200
 tctgctcagt gctaaacagt caccagcagg ttcctcaggg tttcagccct aaaatgtaaa 1260
 acctggataa tcagtgtatg ttgcaccaga atcagcattt tttttttaac tgcaaaaaat 1320
 gatggtctca tctctgaatt tatattttctc attcttttga acatactata gctaataat 1380
 tttatgtttg taaattgctt ctatctagca tgttaaacaa agataatata ctttcgatga 1440
 aagtaaatta taggaaaaaa attaactggt ttaaaaagaa cttgattatg ttttatgatt 1500
 tcaggcaagt attcattttt aacttgctac ctacttttaa ataaatgttt acatttctaa 1560
 aaaaaaaaaa aaaa 1574

<210> 79
 <211> 401
 <212> DNA
 <213> 人

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(401)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 79
 catactgtga attgttcttg actccttttc ttgacattca gttttcanaa tttccatctt 60
 tcttctggaa ctaatgtgct gttctcttga ctgcctgctg ggccagcatc cgattgccag 120
 ccagaaacgt cacactgccc aagatggcca ggtacttcaa ggtctggaac atgttgagct 180
 gagtccagta gacatacatg agtcccagca tagcagcatg tcccaggtga aatataatcg 240
 tgctaggagc aaaagtgaag ttggagacat tggcaccaat ccggatccac tagttctaga 300
 gcggccgcca ccgcggtgga gctccagctt ttgttccctt tagtgagggt taattgcgcg 360
 cttggcgtaa tcatggncat agctgtttcc tgtgtgaaat t 401

<210> 80
 <211> 301
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 80
 aaaaatgaaa catctatttt agcagcaaga ggctgtgagg gatggggtag aaaaggcatc 60

```

ctgagagagt tctagaccga cccaggtcct gtggcacact atacgggtca ggaggggtgg      120
aagacaggcc taagctctag gacgggtaat ctcggggcta tttgtggatt tgttagaaac      180
agacattctt ttggcctttt cctggcactg gtggtgccgg caggtgggca gaagtgagcc      240
accagtcact gttcagtcac tgccaccaca gatcttcagc agaatcttcc ggtaatcccc      300
t                                                                                   301

```

```

<210> 81
<211> 301
<212> DNA
<213> 人

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)...(301)
<223> n = A,T,C or G

```

```

<400> 81
tagccagggt gctcaagcta attttattct ttcccaacag gatccatttg gaaaatatca      60
agccttttag atgtggcagc aagagaaagc ggactacgca ggaacgggga gtttgggaga      120
agctctcctg gtgttgactt agggatgaag gctccaggct gctgccagaa atggagtcac      180
cagcagaaga actgntttct ctgataagga tgtcccacca ttttcaagct gttcgtaaaa      240
gttacacagg tccttcttgc agcagtaagt accgtagctt cattttcctt caagcggggt      300
t                                                                                   301

```

```

<210> 82
<211> 201
<212> DNA
<213> 人

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)...(201)
<223> n = A,T,C or G

```

```

<400> 82
tcaacagaca aaaaaagttt attgaatata aaactcaaag gcatcaacag tcctgggccc      60
aagagatcca tggcaggaag tcaagagttc tgcttcaggg tcggtctggg cagccctgga      120
agaagtcatt gcacatgaca gtgatgagtg ccaggaaaac agcatactcc tggaaagtcc      180
acctgctggn cactgnttca t                                                                                   201

```

```

<210> 83
<211> 251
<212> DNA
<213> 人

```

```

<220>
<221> misc_feature
<222> (1)...(251)
<223> n = A,T,C or G

```

```

<400> 83
gtaaggagca tactgtgccc atttattata gaatgcagtt aaaaaaata ttttgaggtt      60
agcctctcca gtttaaaagc acttaacaag aaacacttgg acagcgatgc aatgggtctct      120
cccaaaccgg ctccctctta ccaagtaccg taaacagggt ttgagaacgt tcaatcaatt      180
tcttgatatg aacaatcaaa gcatttaatg caaacatatt tgcttctcaa anaataaaac      240
cattttccaa a                                                                                   251

```

```

<210> 84
<211> 301
<212> DNA

```

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(301)

<223> n = A,T,C or G

<400> 84

```

agtttataat gttttactat gatttagggc ttttttttca aagaacaaaa attataagca      60
taaaaaactca ggtatcagaa agactcaaaa ggctgttttt cactttgttc agattttggt      120
tccaggcatt  aagtgtgtca tacagttggt gccactgctg ttttcctaat gtccgatgtg      180
tgctatgact  gacaactact tttctctggg tctgatcaat tttgcagtan accatttttag      240
ttcttacggc  gtcnataaca aatgcttcaa catcatcagc tccaatctga agtcttgctg      300
c                                                    301

```

<210> 85

<211> 201

<212> DNA

<213> 人

<400> 85

```

tatttgtgta tgtaacattt attgacatct acccactgca agtatagatg aataagacac      60
agtcacacca taaaggagtt tatccttaaa aggagtgaaa gacattcaaa aaccaactgc      120
aataaaaaaag ggtgacataa ttgctaaatg gagtggagga acagtgctta tcaattcttg      180
attgggccac  aatgatatac c                                                    201

```

<210> 86

<211> 301

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(301)

<223> n = A,T,C or G

<400> 86

```

tttataaaat attttattta cagtagagct ttacaaaaat agtctttaat taatacaaat      60
cccttttgca atataactta tatgactatc ttctcaaaaa cgtgacattc gattataaca      120
cataaactac atttatagtt gttaagtcac cttgtagtat aaatatgttt tcatcttttt      180
tttgtaataa ggtacatacc aataacaatg aacaatggac aacaaatctt attttgntat      240
tcttccaatg taaaattcat ctctggccaa aacaaaatta accaaagaaa agtaaaacaa      300
t                                                    301

```

<210> 87

<211> 351

<212> DNA

<213> 人

<220>

<221> misc_feature

<222> (1)...(351)

<223> n = A,T,C or G

<400> 87

```

aaaaaagatt taagatcata aataggtcat tgttgtcaca acacatttca gaatcttaaa      60
aaaacaaaca ttttggcttt ctaagaaaaa gacttttaaa aaaaatcaat tccctcatca      120
ctgaaaggac ttgtacattt ttaaacttcc agtctcctaa ggacagtat ttaatcagaa      180
tgccaatatt accaccctgc tgtagcanga ataaagaagc aagggattaa cacttaaaaa      240
aacngccaaa ttctgaacc  aatcattggt cattttaaaa aagggataaa aaaacnggnt      300

```

aaggggggga gcattttaag taaagaangg ccaagggtgg tatgccngga c 351

<210> 88
 <211> 301
 <212> DNA
 <213> 人
 <220>
 <221> misc_feature
 <222> (1)...(301)
 <223> n = A,T,C or G

<400> 88
 gtttttaggtc tttaccaatt tgattggttt atcaacaggg catgaggttt aaatatatct 60
 ttgaggaaag gtaaagtcaa atttgacttc ataggtcac ggcgctctca ctctctgtgca 120
 ttttctgggtg gaagcacaca gttaattaac tcaagtgtgg cgntagcgat gctttttcat 180
 gngtccattt atccacttgg tgaacttgca cacttgaatg naaactcctg ggtcattggg 240
 ntggccgcaa gggaaaggtc cccaagacac caaaccttgc aggtacacn tgcacaccaa 300
 c 301

<210> 89
 <211> 591
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 89
 tttttttttt tttttttatt aatcaaatga ttcaaaacaa ccatcattct gtcaatgccc 60
 aagcaccag ctggctctct cccacatgt cacactctcc tcagcctctc ccccaaccct 120
 gctctccctc ctcccctgcc ctageccagg gacagagtct aggaggagcc tggggcagag 180
 ctggaggcag gaagagagca ctggacagac agctatggtt tggattgggg aagagattag 240
 gaagtagggt cttaaagacc cttttttagt accagatc cagccatatt cccagctcca 300
 ttattcaaat catttccat agcccagctc ctctctgttc tccccctact accaattctt 360
 tggctcttac acaattttta tccctcaaat attcatcctt ggcccaacca gtcccctgag 420
 cctccctctg gtggagactc ctccacccat gagctcccca gagcatcca gacagagtgc 480
 acagagacct ggggaaggaa gctgaacttt gcagagatgt ggacaggtgc aggctagggt 540
 acaggggtgt ggtagaggag acaagtttta tttccaggcc cacagtctct c 591

<210> 90
 <211> 1978
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 90
 tttttttttt ttttttatca aatgaatact ttattagaga cataacacgt ataaaataaa 60
 tttcttttca tcatggagtt accagatttt aaaaccaacc aacactttct catttttaca 120
 gctaagacat gttaaattct taaatgccat aatttttggt caactgcttt gtcattcaac 180
 tcacaagtct agaatgtgat taagctacaa atctaagtat tcacagatgt gtcttaggct 240
 tggtttgtaa caatctagaa gcaatctggt taaaaaagtg ccaccaaagc attttaaaga 300
 aaccaattta atgccaccaa acataagcct gctatacctg ggaaacaaaa aatctcacac 360
 ctaaattcta gcagagtaaa cgattccaac tagaatgtac tgtatatcca tatggcacat 420
 ttatgacttt gtaatatgta attcataata caggtttagg tgtgtggtat ggagctagga 480
 aaaccaaaagt agtaggatat tatagaaaag atctgatggt aagtataaag tcatatgcct 540
 gatttctca aaccttttgt ttttctcat gtcttctgtc tttatatttt tatcacaac 600
 caagatctaa cagggttctt tctagaggat tattagataa gtaacacttg atcattaagc 660
 acggatcatg cactcattc atggttggtc tatgttccat gaactctaag agcccaactt 720
 atacatggca ctccaagggg atgcttcagc cagaaagtaa agggctgaaa aagtagaaca 780
 atacaaaagc cctcgtgtgg tgggaactgt ggccctcactc ttacttgctc ttccattcaa 840
 aacagtttgg cacctttcca tgacgaggat ctctacaggt aggttaaaat acttttctgt 900
 gctattcagc cagaaatagt ttttgtgctg gatatgattt taaaacagat tttgtctgtc 960
 accagtgcaa aacattaca gatgtctggg ctaatacaaa aacacataag aatctacaac 1020

tttatattta	atactctatt	caaatttaac	tcaaagtaat	gcaaaaataat	tagaagtaaa	1080
aacttaattc	ttctgagagc	tctatattgga	aaagcttcac	atatccacac	acaaatattg	1140
gtatattcat	gcacagggca	aacaactgta	ttctgaagca	taaataaact	caaagtaaga	1200
catcagtagc	tagataccag	ttccagttatt	ggttaatggt	ctctggggat	cccattttaa	1260
gcactctcag	atgaggatct	tgctcagttg	ttagactatc	attagtttga	ttaagcaact	1320
gaagtttact	tcataaatta	ctttttccta	tatccaggac	tctgcctgag	aaattttata	1380
cattcctoca	aaggtaagta	ttctccaaag	gtaagtattt	gactattaac	acaaaggcaa	1440
tgtgattatt	gcataatgac	actaaatatt	atgtggcttt	tctgttaggt	ttataagttt	1500
tcaatgatca	gttcaagaaa	atgcagatca	tatataacta	aggttttaca	ccagtggttg	1560
acaaactatg	gcccacaggc	taaaccagc	ctcccctgt	ttttataaat	aagttttatt	1620
agacataacc	acactcattc	atctctgtat	tgtgtatagc	tgctttcacg	ctatactagc	1680
agaactgaat	agttgtgaca	gagactgtat	ggaccgtgaa	gcataaatat	ttaccatctg	1740
gccatttcta	aaaaaagtgt	gccaattcct	ggtttacact	aaaatataga	gttttagtggg	1800
aagcctattt	gaaatgtgtt	ttttttaggg	gctgtaatta	ccaattaaaa	ttaaggttca	1860
ggtgactcag	caaccaaaca	aaagggatac	taatttttta	tgaacaatat	atttgtattt	1920
tatggacata	aaaggaaact	ttcagaaaga	aaaggaggaa	aataaagggg	gaaagggga	1978

<210> 91

<211> 895

<212> DNA

<213> 人

<400> 91

tttttttttt	ttttttcttg	tttaaaaaaa	ttgttttcat	tttaatgatc	tgagttagta	60
acaaacaaat	gtacaaaatt	gtctttcaca	tttccataca	ttgtgttatg	gaccaaata	120
aaacgctgga	ctacaaatgc	aggtttcttt	atatccttaa	cttcaattat	tgctacttat	180
aaataaagg	gatttgctaa	cacatgcatt	tgtgaacaca	gatgccaaaa	attatacatg	240
taagttaatg	cacaaccaag	agtatacact	gttcatttgt	gcagttatgc	gtcaaatgcg	300
actgacacag	aagcagttat	cctgggatat	ttcactctat	atgaaaagca	tcttggagaa	360
atagattgaa	atacagttta	aaacaaaaat	tgtattctac	aaatacaata	aaatttgcaa	420
cttgcacatc	tgaagcaaca	tttgagaaag	ctgcttcaat	aaccctgctg	ttatattggt	480
tttataggta	tatctccaaa	gtcatggggt	gggatatagc	tgctttaaag	aaaataaata	540
tgtatattaa	aaggaaaatc	acacttttaa	aatgtgagga	aagctttgaa	aacagtctta	600
atgcatgagt	ccatctacat	atcttcaagt	tttggaaaca	gaaagaagtt	tagaattttc	660
aaagtaatct	gaaaactttc	taagccattt	taaaataaga	tttttttccc	catctttcca	720
atgtttccta	tttgatagtg	taatacagaa	atgggcagtt	tctagtgtca	acttaactgt	780
gctaattcat	aagtcattat	acatttatga	cttaagagtt	caaataagtg	gaaattgggt	840
tataatgaaa	atgacaaggg	ggccccttca	gcagccactc	atctgaacta	gtaat	895

<210> 92

<211> 1692

<212> DNA

<213> 人

<400> 92

tttttttttt	tttttaactt	ttagcagtg	ttatttttgt	taaagaaac	caattgaatt	60
gaaggtcaag	acaccttctg	attgcacaga	ttaaacaaga	aagtattact	tatttcaact	120
ttacaaagca	tcttattgat	ttaaaaagat	ccatactatt	gataaagttc	accatgaaca	180
tatatgtaat	aaggagacta	aatatttcat	ttacatatac	tacaacatgt	atttcatatt	240
tctaatacaac	cacaaatcat	ataggaaaat	atcttaggtcc	atgaaaaagt	ttcaaaacat	300
taaaaaatta	aagttttgaa	acaaatcaca	tgtgaaagct	cattaaataa	taacattgac	360
aaataaatag	ttaatcagct	ttacttatta	gctgctgcca	tgcatctctg	gcattccatt	420
ccaagcgagg	gtcagcatgc	agggtataat	ttcatactat	gcgaccgtaa	agagctacag	480
ggcttatttt	tgaagtgaaa	gtcacaggg	tctttcattc	tctttcaag	gaagatcact	540
catggctgct	aaactgttcc	catgaagagt	acaaaaaaag	cacctttctg	aatgtttact	600
gtgaagattc	atgacaacat	atttttttta	acctgttttg	aaggagtttt	gtttaggaga	660
ggggatgggc	cagtagatgg	agggtatctg	agaagccctt	ttctgtttta	aaatataatg	720
attcactgat	gtttatagta	tcaacagctc	tttaagaaca	atgaggaatt	aaaactacag	780
gatacgtgga	atttaaatgc	aaattgcatt	catggatata	cctacatctt	gaaaaacttg	840
aaaaggaaaa	actattccca	aagaaggtcc	tgatacttaa	gacagcttgc	tgggtttgat	900

caaagcagaa	agcatatact	ttcaagtgag	aaaacagcag	tggcaggctt	gagtcttcca	960
agcaatcaaa	tctgtaaagc	agatggttac	tagtaagtct	agttatggga	gtctgagttc	1020
taactcatgc	tgtgcttgct	ggatttgctg	gctcttttcc	gctctctgtg	atgctggact	1080
ggcttgtcag	gtgacatgct	ctcaaagttg	tgactggact	cgttgtgctg	ccgggtgtac	1140
ctcttgcact	tgcaggcagt	gactactgtg	atthttgtagg	tgcgtgtgct	gccatcttgg	1200
cactgcagct	ggattctctg	ggtacgggtt	ttgtcattga	cacaccgcca	ctcctgggag	1260
ctcctcctgc	tccagtaact	tgttccatag	cctcctccaa	tccagttagg	gagcactggc	1320
aggggcaagc	actcgccagc	acacaccagc	tccttcagag	ggctgatgct	ggtgcaactgg	1380
ccatcagaga	tgtatttggg	ggaacgcagt	tcccggcaac	ccacttgaac	ccgagtgttc	1440
cgatccagtc	cagtgttact	gaaatgcctg	cctccatttc	tggcttgatt	caacgtgctg	1500
ttgctgctgg	ggtgtgctgg	aacaggttta	accacatgtg	aataaaggat	ttctgtggca	1560
tcatttttaa	aagccaaaca	gcttttcatt	aggatgcatg	caaggggaag	gagatagaaa	1620
tgaatggcag	gaggaagcat	ggtgagtaga	ggatttgctt	gactgaagag	ctggttaatt	1680
cttttgcctc	tg					1692

<210> 93
 <211> 251
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 93						
cccaccctac	ccaaatatta	gacaccaaca	cagaaaagct	agcaatggat	tcccttctac	60
tttgttaaat	aaataagtta	aatattttaa	tgctgtgtgc	tctgtgatgg	caacagaagg	120
accaacaggc	cacatcctga	taaaaggtaa	gaggggggtg	gatcagcaaa	aagacagtgc	180
tgtgggctga	ggggacctgg	ttcttgtgtg	ttgcccctca	agactcttcc	cctacaaata	240
actttcatat	g					251

<210> 94
 <211> 735
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 94						
tttttttttt	tttttccact	tctcagttta	tttctgggac	taaatttggg	tcagagctgc	60
agagaagggg	tgggccctga	gcttgaggat	gaaagtgcc	cagggagatt	gagacgcaac	120
ccccgccctg	gacagttttg	gaaattgttc	ccagggttca	actagagaga	cacggtcagc	180
ccaatgtggg	ggaagcagac	cctgagtcca	ggagacatgg	ggtcaggggc	tggagagatg	240
aacattctca	acatctctgg	gaaggaatga	gggtctgaaa	ggagtgtcag	ggctgtccct	300
gcagcagggtg	gggatgccgg	tgtgctgagt	cctgggatga	ctcaggagtt	ggcctggatg	360
gtttcctgga	tccacttggg	gaacttgacg	aggttcgtgt	agacaccggg	tctgttgggc	420
cgggcacaag	ggtaatctcc	ccaggacacg	agtccctgca	gggagccatt	gcagaccaca	480
ggccccccag	aatcaccctg	gcaggagtct	ctacctgctt	tgtcaccggc	gcagaacatg	540
gtgtcatcta	tctgtctcgg	gtaagcatcc	tcgcaccttt	tctgacttag	cacgtgata	600
ttcaagcact	ggaggacctt	agggaaagtgc	acttgggggc	tcttggttgt	ccccagcca	660
gacaccaagc	actttgtccc	agcagagggg	caatgagagg	agacgttgat	gggtctgaca	720
tctttagtgg	gacga					735

<210> 95
 <211> 578
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 95						
cttgccttct	cttaggcttt	gaagcatttt	tgtctgtgct	ccctgatctt	caggtcacca	60
ccatgaagtt	cttagcagtc	ctggtaactc	tgggagtttc	catctttctg	gtctctgccc	120
agaatccgac	aacagctgct	ccagctgaca	cgtatccagc	tactggtcct	gctgatgatg	180
aagccccctga	tgctgaaacc	actgctgctg	caaccactgc	gaccactgct	gctcctacca	240
ctgcaaccac	cgctgcttct	accactgctc	gtaaagacat	tccagtttta	cccaaatggg	300
ttggggatct	ccogaatggg	agagtgtgtc	cctgagatgg	aatcagcttg	agtcttctgc	360
aattggtcac	aactattcat	gcttctctgtg	atthcatcca	actacttacc	ttgcctacga	420

tatcccccttt	atctctaate	agttttatfff	ctttcaaata	aaaaataact	atgagcaaca	480
aaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaaa	540
aaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaaa	aaaaaaaaaaa			578

<210> 96
 <211> 594
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 96						
atggcaaaga	atggacttgt	aatttgcate	ctgggtgatca	ccttactcct	ggaccagacc	60
accagccaca	catccagatt	aaaagccagg	aagcacagca	aacgtcagag	gagagacaag	120
gatggagatc	tgaagactca	aattgaaaag	ctctggacag	aagtcaatgc	cttgaaggaa	180
attcaagccc	tcgacagagt	ctgtctccga	ggcactaaag	ttcacaagaa	atgctacctt	240
gcttcagaag	gtttgaagca	tttccatgag	gccaatgaag	actgcatttc	caaaggagga	300
atcctggtta	tccccagcaa	ctccgacgaa	atcaacgccc	tccaagacta	tggtaaaagg	360
agcctgccag	gtgtcaatga	cttttggctg	ggcatcaatg	acatggtcac	ggaaggcaag	420
tttgttgacg	tcaacggaat	cgctatctcc	ttcctcaact	gggaccgtgc	acagcctaac	480
ggtggcaagc	gagaaaactg	tgtcctgttc	tccaatcag	ctcagggcaa	gtggagtgat	540
gaggcctgtc	gcagcagcaa	gagatacata	tgcgagttca	ccatccctca	atag	594

<210> 97
 <211> 3101
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 97						
tgttggggcc	tcagcctccc	aagtagctgg	gaetacaggt	gcctgccacc	acgccagct	60
aattttttgt	atatttttta	gtagagacgg	ggtttcaccg	tggtctcaat	ctcctgacct	120
cgtgatctgc	cagccttggc	ctcccaaagt	gtattctctt	tttattatta	ttattatfff	180
tgagatggag	tctgtctctg	tcgcccaggc	tgtagtgagc	tggtgcgac	tctgctcact	240
gcaagctccg	cctcctgggt	tcatgccatt	ctcctgcctc	agcctcccga	gtagctggga	300
ctacaggccc	ctgccaccac	accgggctaa	ttttttgtat	tttttagtaga	gacagggttt	360
caccatgtta	gccagggtgg	tctctatctt	ctgacctcgt	gatccgacctg	cctcagctctc	420
tcaaagtgtc	gggattacag	gcgtgagcca	ccgcgaccag	ccaactattg	ctgtttattt	480
ttaaatata	tttaaagaaa	caattagatt	tgttttcttt	ctcattcttt	tacttctact	540
cttcatgtat	gtataattat	aattgtgttt	tctattacct	tttctccttt	tactgtattg	600
gactataata	attgtgctca	ctaatttctg	ttcactaata	ttatcagctt	agataatact	660
ttatttttta	acttatata	tgagtattaa	attgatcagt	tttatttgta	attatctatc	720
ttccgcttgg	ctgaatata	cttcttaagc	ttataacttc	ttgttctttc	catgttattt	780
ttttcttttt	tttaattgat	tgaatttctt	ctgacactca	ttctagtaac	ttttttctcg	840
gtgtgcaacg	taagttata	tttgtttctc	agatttgaga	tctgccataa	gtttgaggct	900
ttattttttt	tttttatttg	ctttatggca	agtcggacaa	cctgcatgga	tttggcatca	960
atgtagtcac	ccatatctaa	gagcagcact	tgcttcttag	catgatgagt	tgtttctgga	1020
ttgtttcttt	atfttactta	tattcctggg	agattcttat	atfttccctt	caactctatt	1080
cagcatttta	ggaattctta	ggactttctg	agaatttttag	ctttctgtat	taaatgtttt	1140
taatgagtat	tgcatftttct	caaaaagcac	aaatatacaat	agtgtacaca	tgaggaaaac	1200
tatatata	ttctgttgca	gatgacagca	tctcataaca	aaatcctagt	tacttctatt	1260
aaaagacagc	tctcctccaa	tatactatga	ggtaacaaaa	atfttgtagtg	tgtaattttt	1320
ttaatattag	aaaactcatc	ttacattgtg	cacaaatttc	tgaagtgata	atacttcaact	1380
gtttttctat	agaagtaact	taatattggc	aaaattactt	atfttgaattt	aggttttggc	1440
tttcatcata	tacttctca	ttaacatttc	cctcaatcca	taaatgcaat	ctcagtttga	1500
atcttccatt	taaccagaa	gttaattttt	aaaaccttaa	taaaatttga	atgtagctag	1560
atattatttg	ttggttacat	attagtcaat	aatttatatt	acttacaatg	atcagaaaat	1620
atgatctgaa	tttctgctgt	cataaattca	ataacgtatt	ttaggcctaa	acctttccat	1680
ttcaaactct	tgggtctggg	aattgaaaat	aatcattatc	ttttgttttc	tggccaaaaa	1740
tgctgcccat	ttatttctat	ccctaattag	tcaaactttc	taataaatgt	atfttaacgtt	1800
aatgatgttt	atfttgcttgt	tgtatactaa	aaccattagt	ttctataatt	taaatgtcac	1860
ctaataatgag	tgaaaatgtg	tcagaggctg	gggaagaatg	tggatggaga	aagggagggt	1920
gttgatcaaa	aagtacccaa	gtttcagtta	cacaggaggc	atgagattga	tctagtgcac	1980

```

aaaatgatga gtataataaa taataatgca ctgtatatatt tgaattgct aaaagtagat 2040
ttaaattga tttacataat attttacata tttataaagc acatgcaata tgttggtaca 2100
tgtatagaat gtgcaacgat caagtcaggg tatctgtggt atccaccact ttgagcattt 2160
atcgattcta tatgtcagga acatttcaag ttatctgttc tagcaaggaa atataaaata 2220
cattatagtt aactatggcc tatctacagt gcaactaaac actagatttt attcctttcc 2280
aactgtgggt ttgtattcat ttaccaccct cttttcattc cttttctcac ccacacactg 2340
tgccgggct caggcatata ctattctact gtctgtctct gtaaggatta tcatttttagc 2400
ttccacatat gagagaatgc atgcaaagtt tttctttcca tgtctggctt atttcactta 2460
acaaaatgac ctccgcttcc atccatgta tttatattac ccaatagtgt tcataaatat 2520
atatacacac atataacca cattgcattt gtccaattat tcattgacgg aaactgggta 2580
atgttatatc gttgctattg tgaatagtgc tgcaataaac acgcaagtgg ggatataatt 2640
tgaagagttt tttgttgat gttccataca aattttaaga ttgtttgtc tatgtttgtg 2700
aaaatggcgt tagtattttc atagagattg cattgaatct gtagattgct ttgggtaagt 2760
atggttattt tgatggattt aattttttca ttccatgaag atgagatgct tttccatttg 2820
tttgtgtcct ctacattttc tttcatcaaa gttttgtgtt atttttgaag tagatgtatt 2880
tcaccttata gatcaagtgt attccctaaa tattttattt ttgtagctat tgtagatgaa 2940
attgccttct cgatttcttt ttcacttaat tcattattag tgtatggaaa tgttatggat 3000
ttttatttgt tggtttttaa tcaaaaactg tattaactt agagtttttt gtggagtttt 3060
taagtttttc tagatataag atcatgacat ctaccaaaaa a 3101

```

<210> 98
<211> 90
<212> PRT
<213> 人

```

<400> 98
Met Lys Phe Leu Ala Val Leu Val Leu Leu Gly Val Ser Ile Phe Leu
1 5 10 15
Val Ser Ala Gln Asn Pro Thr Thr Ala Ala Pro Ala Asp Thr Tyr Pro
20 25 30
Ala Thr Gly Pro Ala Asp Asp Glu Ala Pro Asp Ala Glu Thr Thr Ala
35 40 45
Ala Ala Thr Thr Ala Thr Thr Ala Ala Pro Thr Thr Ala Thr Thr Ala
50 55 60
Ala Ser Thr Thr Ala Arg Lys Asp Ile Pro Val Leu Pro Lys Trp Val
65 70 75 80
Gly Asp Leu Pro Asn Gly Arg Val Cys Pro
85 90

```

<210> 99
<211> 197
<212> PRT
<213> 人

```

<400> 99
Met Ala Lys Asn Gly Leu Val Ile Cys Ile Leu Val Ile Thr Leu Leu
1 5 10 15
Leu Asp Gln Thr Thr Ser His Thr Ser Arg Leu Lys Ala Arg Lys His
20 25 30
Ser Lys Arg Arg Val Arg Asp Lys Asp Gly Asp Leu Lys Thr Gln Ile
35 40 45
Glu Lys Leu Trp Thr Glu Val Asn Ala Leu Lys Glu Ile Gln Ala Leu
50 55 60
Gln Thr Val Cys Leu Arg Gly Thr Lys Val His Lys Lys Cys Tyr Leu
65 70 75 80
Ala Ser Glu Gly Leu Lys His Phe His Glu Ala Asn Glu Asp Cys Ile
85 90 95
Ser Lys Gly Gly Ile Leu Val Ile Pro Arg Asn Ser Asp Glu Ile Asn
100 105 110
Ala Leu Gln Asp Tyr Gly Lys Arg Ser Leu Pro Gly Val Asn Asp Phe

```

	115		120		125														
Trp	Leu	Gly	Ile	Asn	Asp	Met	Val	Thr	Glu	Gly	Lys	Phe	Val	Asp	Val				
	130					135					140								
Asn	Gly	Ile	Ala	Ile	Ser	Phe	Leu	Asn	Trp	Asp	Arg	Ala	Gln	Pro	Asn				
145					150					155					160				
Gly	Gly	Lys	Arg	Glu	Asn	Cys	Val	Leu	Phe	Ser	Gln	Ser	Ala	Gln	Gly				
				165						170					175				
Lys	Trp	Ser	Asp	Glu	Ala	Cys	Arg	Ser	Ser	Lys	Arg	Tyr	Ile	Cys	Glu				
			180					185						190					
Phe	Thr	Ile	Pro	Gln															
	195																		

<210> 100
 <211> 3410
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 100

gggaaccagc	ctgcacgcgc	tggtccggg	tgacagccgc	ggcctcggc	caggatctga	60
gtgatgagac	gtgtccccac	tgaggtgcc	cacagcagca	ggtgttgagc	atgggctgag	120
aaagctggacc	ggcaccaaag	ggctggcaga	aatgggcgcc	tggctgattc	ctaggcagtt	180
ggcggcagca	aggaggagag	gccgcagctt	ctggagcaga	gccgagacga	agcagttctg	240
gagtgcctga	acggccccct	gagccctacc	cgccctggccc	actatggtcc	agaggctgtg	300
ggtgagccgc	ctgctgcggc	accggaagc	ccagctcttg	ctggtcaacc	tgctaaccctt	360
tgccctggag	gtgtgttttg	ccgcaggcat	cacctatgtg	ccgcctctgc	tgctggaagt	420
gggggtagag	gagaagttca	tgaccatggt	gctgggcatt	ggtccagtgc	tgggcctggt	480
ctgtgtcccg	ctcctaggct	cagccagtga	ccactggcgt	ggacgctatg	gccgccgccg	540
gcccttcate	tgggcaactgt	ccttgggcat	cctgctgagc	ctctttctca	tcccaagggc	600
cggctggcta	gcagggctgc	tgtgcccgga	tcccaggccc	ctggagctgg	caactgctcat	660
cctgggcgtg	gggctgctgg	acttctgtgg	ccaggtgtgc	tteactccac	tggaggccct	720
gctctctgac	ctcttccggg	accggacca	ctgtgcaccg	gcctactctg	tctatgcctt	780
catgatcagt	cttgggggct	gcttgggcta	cctcctgcct	gccattgact	gggacaccag	840
tgccctggcc	ccctacctgg	gcaccagga	ggagtgcctc	tttggcctgc	tcaccctcat	900
cttccctcacc	tgcgtagcag	ccacactgct	ggtggctgag	gaggcagcgc	tgggccccac	960
cgagccagca	gaagggctgt	cggccccctc	cttgtgcgcc	caactgctgc	catgccgggc	1020
ccgcttgget	ttccggaacc	tgggcgcctt	gcttccccgg	ctgcaccagc	tgtgctgccg	1080
catgccccgc	accctgcgcc	ggctcttctg	ggctgagctg	tgcagctgga	tggcactcat	1140
gaccttcacg	ctgttttaca	cggatttctg	gggcgagggg	ctgtaccagg	gcgtgccccag	1200
agctgagccg	ggcaccgagg	cccggagaca	ctatgatgaa	ggcgttcgga	tgggcagcct	1260
ggggctgttc	ctgcagtgcg	ccatctccct	ggtcttctct	ctggtcatgg	accggctggt	1320
gcagcgattc	ggcaactcag	cagtctatct	ggccagtgtg	gcagctttcc	ctgtggtctg	1380
cgggtgccaca	tgccctgtccc	acagtgtggc	cgtgggtgaca	gcttcagccg	ccctcaccgg	1440
gttcaccttc	tcagccctgc	agatcctgcc	ctacacactg	gcctccctct	accaccggga	1500
gaagcaggtg	ttcctgcccc	aataccgagg	ggacactgga	ggtgctagca	gtgaggacag	1560
cctgatgacc	agcttccctgc	caggccctaa	gcctggagct	ccctcccta	atggacacgt	1620
gggtgctgga	ggcagtgggc	tgtccccacc	tccaccgcgc	ctctgcgggg	cctctgcctg	1680
tgatgtctcc	gtacgtgtgg	tgggtgggtga	gcccaccgag	gccaggggtg	ttccgggccg	1740
gggcatctgc	ctggacctcg	ccatcctgga	tagtgcttcc	ctgctgtccc	aggtggcccc	1800
atccctgttt	atgggctcca	ttgtccagct	cagccagtct	gtcactgctc	atatggtgtc	1860
tgccgcaggg	ctgggtctgg	tcgccattta	ctttgctaca	caggtagtat	ttgacaagag	1920
cgacttggcc	aaatactcag	cgtagaaaac	ttccagcaca	ttgggggtgga	gggcctgcct	1980
caactgggtcc	cagctccccg	ctcctgttag	ccccatgggg	ctgccgggct	ggccgccagt	2040
ttctgtttgct	gccaaagtaa	tgtggtctct	tgtgtgccacc	ctgtgctgct	gaggtgcgta	2100
gctgcacagc	tgggggctgg	ggcgtccctc	tctctctctc	ccagtctcta	gggctgctctg	2160
actggaggcc	ttccaagggg	gtttcagctc	ggacttatac	agggaggcca	gaagggctcc	2220
atgcaactgga	atgcccgggac	tctgcaggtg	gattaccagc	gctcaggggt	aacagctagc	2280
ctctctagtgt	agacacacct	agagaagggc	ttttgggagc	tgaataaact	cagtcacctg	2340
gtttcccctc	tctaagcccc	ttaacctgca	gcttcgttta	atgtagctct	tgcatgggag	2400
tttctaggat	gaaacactcc	tccatgggat	ttgaacatat	gacttatttg	taggggaaga	2460
gtcctgaggg	gcaacacaca	agaaccaggt	ccctcagcc	cacagcactg	tctttttgct	2520
gateccacccc	cctcttacct	tttatcagga	tgtggcctgt	tggtccttct	gttgccatca	2580

```

cagagacaca ggcatttaaa tatttaactt atttatttaa caaagtagaa gggaaatccat 2640
tgctagcttt tctgtgttgg tgtctaatat ttgggtaggg tgggggatcc ccaacaatca 2700
gggtcccctga gatagctggt cattgggctg atcattgcca gaatcttctt ctctctgggg 2760
ctggcccccc aaaatgccta acccaggacc ttggaaattc tactcatccc aaatgataat 2820
tccaaatgct gttaccaag gttagggtgt tgaaggaagg tagagggtgg ggcttcaggt 2880
ctcaacggct tccctaacca cccctcttct cttggcccag cctgggtccc cccactcca 2940
ctccccctca ctctctctag gactgggctg atgaaggcac tgcccanaat ttcccctacc 3000
cccaactttc ccctaccccc aactttcccc accagctcca caaccctgtt tggagctact 3060
gcaggaccag aagcacaag tgcggtttcc caagcctttg tccatctcag cccccagagt 3120
atatctgtgc ttggggaatc tcacacagaa actcaggagc accccctgcc tgagctaagg 3180
gaggtcttat ctctcagggg gggtttaagt gccgtttgca ataatgtcgt cttattttatt 3240
tagcgggggtg aatattttat actgtaagtg agcaatcaga gtataatggt tatgggtgaca 3300
aaattaaagg ctttcttata tgtttaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 3360
aaaaaaaaara aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaataaa aaaaaaaaaa 3410

```

<210> 101

<211> 553

<212> PRT

<213> 人

<400> 101

```

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

```

Val Arg Met Gly Ser Leu Gly Leu Phe Leu Gln Cys Ala Ile Ser Leu
 325 330 335
 Val Phe Ser Leu Val Met Asp Arg Leu Val Gln Arg Phe Gly Thr Arg
 340 345 350
 Ala Val Tyr Leu Ala Ser Val Ala Ala Phe Pro Val Ala Ala Gly Ala
 355 360 365
 Thr Cys Leu Ser His Ser Val Ala Val Val Thr Ala Ser Ala Ala Leu
 370 375 380
 Thr Gly Phe Thr Phe Ser Ala Leu Gln Ile Leu Pro Tyr Thr Leu Ala
 385 390 395 400
 Ser Leu Tyr His Arg Glu Lys Gln Val Phe Leu Pro Lys Tyr Arg Gly
 405 410 415
 Asp Thr Gly Gly Ala Ser Ser Glu Asp Ser Leu Met Thr Ser Phe Leu
 420 425 430
 Pro Gly Pro Lys Pro Gly Ala Pro Phe Pro Asn Gly His Val Gly Ala
 435 440 445
 Gly Gly Ser Gly Leu Leu Pro Pro Pro Ala Leu Cys Gly Ala Ser
 450 455 460
 Ala Cys Asp Val Ser Val Arg Val Val Val Gly Glu Pro Thr Glu Ala
 465 470 475 480
 Arg Val Val Pro Gly Arg Gly Ile Cys Leu Asp Leu Ala Ile Leu Asp
 485 490 495
 Ser Ala Phe Leu Leu Ser Gln Val Ala Pro Ser Leu Phe Met Gly Ser
 500 505 510
 Ile Val Gln Leu Ser Gln Ser Val Thr Ala Tyr Met Val Ser Ala Ala
 515 520 525
 Gly Leu Gly Leu Val Ala Ile Tyr Phe Ala Thr Gln Val Val Phe Asp
 530 535 540
 Lys Ser Asp Leu Ala Lys Tyr Ser Ala
 545 550

<210> 102
 <211> 940
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 102
 tttactgctt ggcaagtac cctgagcatc agcagagatg ccgagatgaa atcaggggaac 60
 tcctagggga tgggtcttct attacctggg aacacctgag ccagatgcct tacaccacga 120
 tgtgcatcaa ggaatgcctc cgcctctacg caccggtagt aaacatatcc cggttactcg 180
 acaaaccocat cacctttcca gatggacgct ccttacctgc aggaataact gtgtttatca 240
 atatttgggc tcttcaccac aaccctatt tctgggaaga ccctcaggtc tttaacccct 300
 tgagattctc cagggaaaat tctgaaaaaa tacatcccta tgccttcata ccattctcag 360
 ctggattaag gaactgcatt gggcagcatt ttgccataat tgagtgtaaa gtggcagtgg 420
 cattaactct gctccgcttc aagctggctc cagaccactc aaggcctccc cagcctgttc 480
 gtcaagtgtt cctcaagtcc aagaatgaa tccatgtgtt tgcaaaaaaa gtttgctaata 540
 ttttaagtct ttcgtataag aattaatgag acaattttcc taccaaagga agaacaaaag 600
 gataaatata atacaaaata tatgtatatg gttgtttgac aaattatata acttaggata 660
 cttctgactg gttttgacat ccattaacag taattttaat ttctttgctg tatctgggta 720
 aaccacaaa aacmctgaa aaaactcaag ctgacttcca ctgcgaaggg aaattattgg 780
 tttgtgtaac tagtggtaga gtggctttca agcatagttt gatcaaaact ccactcagta 840
 tctgcattac ttttatytyt gcaaatatct gcatgatagc tttattytca gttatctttc 900
 ccataataa aaaatatctg ccaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 940

<210> 103
 <211> 529
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 103

ttttttttt	ttttactga	tagatggaat	ttattaagct	tttcacatgt	gatagcacat	60
agttttaatt	gcatccaaag	tactaacaaa	aactctagca	atcaaraatg	gcagcatggt	120
attttataac	aatcaacacc	tgtggctttt	aaaatttggg	tttcataara	taattttatac	180
tgaagtaaat	ctagccatgc	ttttaaaaaa	tgcttttaggt	cactccaagc	ttggcagtta	240
acatttgga	taaacaataa	taaaacaatc	acaatttaat	aaataacaaa	tacaacattg	300
taggccataa	tcatatacag	tataaggaaa	aggkggtagt	gttgagtaag	cagttattag	360
aatagaatac	cttggcctct	atgcaaatat	gtctaracac	tttgattcac	tcagccctga	420
cattcagttt	tcaaagtagg	agacaggttc	tacagtatca	ttttacagtt	tccaacacat	480
tgaaaacaag	tagaaaatga	tgagttgatt	tttattaatg	cattacatc		529

<210> 104

<211> 469

<212> DNA

<213> 人

<400> 104

cccaacacaa	tggataaaaa	cacttatagt	aaatggggac	attcactata	atgatctaag	60
aagctacaga	ttgtcatagt	tgttttcctg	ctttacaaaa	ttgctccaga	tctggaatgc	120
cagtttgacc	tttgtcttct	ataatatttc	ctttttttcc	cctctttgaa	tctctgtata	180
tttgattctt	aactaaaatt	gttctcttaa	atattctgaa	tcttggtaat	taaaagtttg	240
ggtgtatttt	ctttacctcc	aaggaaagaa	ctactagcta	caaaaaatat	tttggataaa	300
gcattgtttt	ggtataaggt	acatattttg	gttgaagaca	ccagactgaa	gtaaacagct	360
gtgcatccaa	tttattatag	ttttgtaagt	aacaatatgt	aatcaaactt	ctaggtgact	420
tgagagtgga	acctcctata	tcattattta	gcaccgtttg	tgacagtaa		469

<210> 105

<211> 744

<212> DNA

<213> 人

<400> 105

ggcctgggac	aggattgagg	tatgttgcag	cctccagggc	ctggggctctc	ctgcatgaag	60
aatacccctc	cccatttgac	tgtgaacttt	ttggcctgga	ttctggagaa	cagatttcca	120
ggattgtcag	ccagaaggca	gacagatgca	ggcacctacc	aagacctgac	ctcaggaagt	180
ggccctgcc	tcagcccag	ttgctcagcc	agggtgaaag	gcatggggc	cccagcacc	240
ttgcttcagt	gccagcccct	ggaaggaacc	tcacaacagg	gatacagcaa	ggacactcca	300
gttccccag	tcctgccatg	gtgctaccct	gagggacagg	gatggagaca	gggcagccag	360
gtttgccagg	acctgcatag	cgggcccagg	actgcccttc	ctcttaagtc	atgccaaagc	420
ctccctgcc	agtctgagac	agtcgctggc	aggtgaccac	gacctgcgtg	gccctcccgg	480
cagttgtcat	ggtggttgta	ccccaccca	tccccctgag	gagacatggg	ctcagtccca	540
tgccctggtg	ccacagccac	aaagatggcc	atgggtctct	agcctgatat	tcgtggcctg	600
gcaggggtca	gcaccctga	gggatccaa	gccatggtca	gaggaaagtg	ttggcaggct	660
cggcacagcc	aaagaagtca	ggaccacga	gacgggggaa	gccttcagaa	gccttcacct	720
tcacagggtc	aaacttccag	taga				744

<210> 106

<211> 401

<212> DNA

<213> 人

<400> 106

acattgttag	gtgctgacct	agacagagat	gaactgaggt	ccttgttttg	ttttgttcat	60
aatacaaagg	tgctaattaa	tagtatttca	gatacttgaa	gaatgttgat	ggtgctagaa	120
gaatttgaga	agaaatactc	ctgtattgag	ttgtatcgtg	tggtgtattt	tttaaaaaat	180
ttgatttagc	attcatattt	tccatcttat	toccaaattaa	aagtatgcag	attattttgcc	240
caaattcttct	tcagattcag	catttgttct	ttgccagtct	cattttcatc	ttcttccatg	300
gttccacaga	agctttgttt	cttgggcaag	cagaaaaatt	aaattgtacc	tattttgtat	360
atgtgagatg	tttaataaaa	ttgtgaaaaa	aatgaaataa	a		401

<210> 107

<211> 1009

<212> DNA

<213> 人

<400> 107

cgagctatta	tggtacggaa	ctttttttaa	tgaggaattt	catgatgatt	taggaatttt	60
ctctcttgga	aaaggcttcc	cctgtgatga	aaatgatgtg	ccagctaaaa	ttgtgtgcca	120
tttaaaaact	gaaaatattt	taaaattatt	tgtctatatt	ctaaattgag	ctttggatca	180
aacttttaggc	caggaccagc	tcatgcgttc	tcattcttcc	ttttctcact	ctttctctca	240
tcactcacct	ctgtattcat	tctgtttgtt	gggatagaaa	aatcataaag	agccaacca	300
tctcagaacg	ttgtggattg	agagagacac	tacatgactc	caagtatatg	agaaaaggac	360
agagctctaa	ttgataactc	tgtagttcaa	aaggaaaaga	gtatgcccaa	ttctctctac	420
atgacatatt	gagatttttt	ttaatcaact	tttaagatag	tgatgttctg	ttctaaactg	480
ttctgtttta	gtgaaggtag	atttttataa	aacaagcatg	gggattcttt	tctaaggtaa	540
tattaatgag	aagggaaaaa	agtatcttta	acagctcttt	gttgaagcct	gtggtagcmc	600
attatgttta	taattgcaca	tgtgcacata	atctattatg	atccaatgca	aatacagctc	660
caaaaatatt	aatgtatat	atattttaaa	atgcctgagg	aaatacattt	ttcttaataa	720
actgaagagt	ctcagtatgg	ctattaanaa	aattattagc	ctcctgttgt	gtggctgcaa	780
aacatcacaa	agtgaccggt	cttgagacct	gtgaactgct	gccctgttta	gtaaataaaa	840
ttaatgcatt	tctagagggg	gaatatctgc	catccagtgg	tggaaatgtg	gagtaaagaa	900
gctggtggtc	tgcttctgtg	ctgtatgcca	gccttttgcc	ttaagttgag	aggaggtcaa	960
ctttagctac	tgtctttggt	ttgagagcca	tggcaaaaaa	aaaaaaaaaa		1009

说明书附图

克隆3-6-8

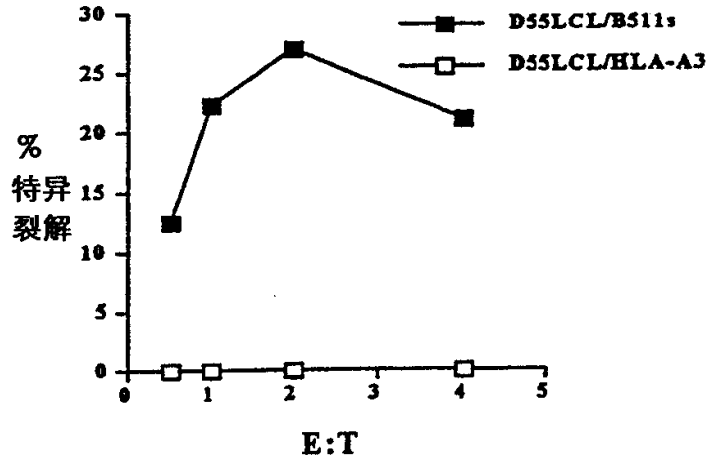


图1A

克隆3-6-7

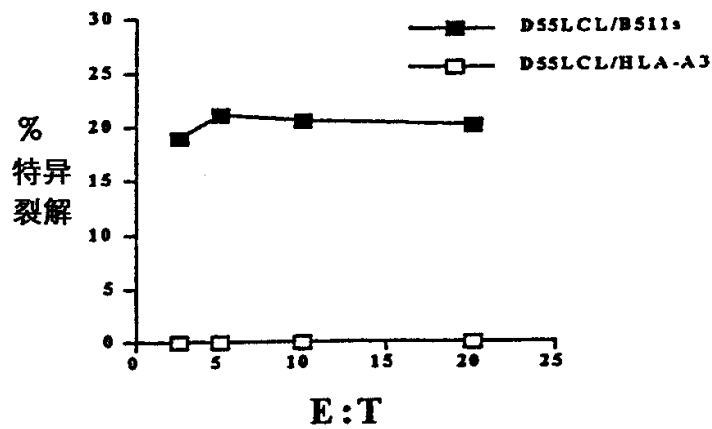


图1B

图1: 在B511s (填充方块) 或HLA-A3 (空白方块) 转导的自体LCL上测量的B511s特异性CTL克隆3-6-8和3-6-7的特异裂解活性。每个数据点为三次重复测量的平均值。

图1A和1B