



(21) 申请号 202080090551.5
(22) 申请日 2020.12.16
(65) 同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 115151644 A
(43) 申请公布日 2022.10.04
(30) 优先权数据
2019-239677 2019.12.27 JP
(85) PCT国际申请进入国家阶段日
2022.06.27
(86) PCT国际申请的申请数据
PCT/JP2020/046891 2020.12.16
(87) PCT国际申请的公布数据
W02021/131944 JA 2021.07.01
(73) 专利权人 国立大学法人神户大学
地址 日本兵库县
(72) 发明人 白川利朗 国村尚人 北川孝一
(74) 专利代理机构 北京林达刘知识产权代理事
务所(普通合伙) 11277
专利代理师 刘新宇 李茂家

(51) Int.Cl.
C12N 15/62 (2006.01)
C07K 19/00 (2006.01)
C12N 15/861 (2006.01)
C12N 15/12 (2006.01)
C07K 14/47 (2006.01)
C07K 14/705 (2006.01)
A61K 48/00 (2006.01)
A61K 38/17 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)
A61P 15/14 (2006.01)

(56) 对比文件
CN 105814202 A, 2016.07.27
付伟; 秦鸿雁; 严学倩; 于恒超; 韩骅; 梁英
民. LIM结构域蛋白FHL1C抑制Notch信号途径的
转录激活研究. 现代生物医学进展. 2011, (04),
第66-70页.

审查员 林薇

权利要求书1页 说明书16页
序列表27页 附图13页

(54) 发明名称

癌基因治疗药

(57) 摘要

提供新颖的癌基因治疗手段。更具体而言，提供一种核酸，其具有(A) 编码具有CD44细胞外功能的蛋白的核酸、(B) 编码具有Notch核心区域功能的蛋白的核酸、(C) 编码具有HIF-3 α 4功能的蛋白的核酸按照(A) - (B) - (C)的顺序连接而成的结构。

1. 一种核酸,其为核酸(A)、核酸(B)和核酸(C)按照(A)-(B)-(C)的顺序连接而成,核酸(A)为(a-1):由序列号1的碱基序列构成的核酸,核酸(B)为(b-1):由序列号2的碱基序列构成的核酸,核酸(C)为(c-1):由序列号3的碱基序列构成的核酸。
2. 一种核酸,其为下述(A)、(B)、(C)按照(A)-(B)-(C)的顺序连接而成,
 - (A) 编码具有CD44细胞外功能的蛋白的核酸、
 - (B) 编码具有Notch核心区域功能的蛋白的核酸、
 - (C) 编码具有HIF-3 α 4功能的蛋白的核酸,其中,
 - 核酸(A)为(a-1):由序列号1的碱基序列构成的核酸,
 - 核酸(B)为(b-1):由序列号2的碱基序列构成的核酸,
 - 核酸(C)为(c-1):由序列号3的碱基序列构成的核酸。
3. 一种核酸,(d-1)由序列号4的碱基序列构成。
4. 权利要求1~3中任一项所述的核酸所编码的蛋白。
5. 以能够表达的方式整合有权利要求1~3中任一项所述的核酸的载体。
6. 根据权利要求5所述的载体,其中,载体为腺病毒载体。
7. 一种抗癌组合物,其包含权利要求1~3中任一项所述的核酸或权利要求5或6所述的载体。
 8. 根据权利要求7所述的抗癌组合物,其为注射剂。
 9. 根据权利要求7或8所述的抗癌组合物,其用于治疗乳腺癌、前列腺癌、胃癌、或胰腺癌。
 10. 根据权利要求7或8所述的抗癌组合物,其用于治疗三阴性乳腺癌。
11. 权利要求1~3中任一项所述的核酸或权利要求5或6所述的载体在三阴性乳腺癌的治疗药的制造中的用途。
12. 根据权利要求11所述的用途,其中,所述治疗药为注射剂。

癌基因治疗药

技术领域

[0001] 本发明涉及例如新颖的癌基因治疗药或方法、及其有效成分等。本说明书中记载的全部文献(包括以下作为现有技术文献列举的非专利文献1~12)的内容通过参照而整合于本说明书。

背景技术

[0002] 近年来,作为针对癌的新兴治疗方法之一,使用病毒载体的基因治疗法受到了关注。其为有效利用各种病毒的特性而将病毒用作基因的“转运者”、病毒载体的方法。作为该基因导入方法之一,有体内基因治疗,能够将整合有治疗基因的重组病毒载体直接给药于体内来进行疾病的治疗。癌基因治疗与化学疗法等现有治疗方法的作用机制不同,是将基因导入癌细胞而直接抑制与癌的发生、增殖有关的基因、或者将抑癌基因导入细胞而直接诱导细胞死亡。因此,预期可能成为对于用现有的化学疗法、放射线疗法难以治疗的癌而言有效的治疗方法。

[0003] 现有技术文献

[0004] 非专利文献

[0005] 非专利文献1:Kosaki R.,Watanabe K.,Yamaguchi Y. (1999).Overproduction of hyaluronan by expression of the hyaluronan synthase Has2enhances anchorage-independent growth and tumorigenicity.Cancer Res.1999Mar 1;59(5):1141-5.

[0006] 非专利文献2:Bourguignon LY.,Zhu H.,Shao L.,Chen YW. (2001).CD44interaction with c-Src kinase promotes cortactin-mediated cytoskeleton function and hyaluronic acid-dependent ovarian tumor cell migration.J Biol Chem.2001Mar 9;276(10):7327-36.Epub 2000Nov 17.

[0007] 非专利文献3:Fujita Y.,Kitagawa M.,Nakamura S.,Azuma K.,Ishii G.,Higashi M.,Kishi H.,Hiwasa T.,Koda K.,Nakajima N.,Harigaya K. (2002).CD44 signaling through focal adhesion kinase and its anti-apoptotic effect.FEBS Lett.2002Sep 25;528(1-3):101-8.

[0008] 非专利文献4:Bazil V.,Horejsi V. (1992).Shedding of the CD44 adhesion molecule from leukocytes induced by anti-CD44 monoclonal antibody simulating the effect of a natural receptor ligand.J Immunol.1992Aug 1;149(3):747-53.

[0009] 非专利文献5:Murakami D.,Okamoto I.,Nagano O.,Kawano Y.,Tomita T.,Iwatsubo T.,De Strooper B.,Yumoto E.,Saya H. (2003).Presenilin-dependent gamma-secretase activity mediates the intramembranous cleavage of CD44.Oncogene.2003Mar 13;22(10):1511-6.

[0010] 非专利文献6:Ueda M.,Saji H. (2014).Radiolabeled Probes Targeting Hypoxia-Inducible Factor-1-Active Tumor Microenvironments.ScientificWorldJou

rnal.2014;2014:165461.doi:10.1155/2014/165461.Epub2014Aug 18.

[0011] 非专利文献7:Gao N.,Shen L.,Zhang Z.,Leonard SS.,He H.,Zhang XG.,Shi X.,Jiang BH.(2004).Arsenite induces HIF-1alpha and VEGF through PI3K,Akt and reactive oxygen species in DU145 human prostate carcinoma cells.Mol Cell Biochem.2004Jan;255(1-2):33-45.

[0012] 非专利文献8:Kopan R.,Ilagan MX.(2009).The canonical Notch signaling pathway:unfolding the activation mechanism.Cell.2009Apr17;137(2):216-33.doi:10.1016/j.cell.2009.03.045.

[0013] 非专利文献9:Shona,T.,Graeme,J.(2009).A Cancer Gene Therapy Approach that Targets Tumor-associated Hyaluronan.Cancer Growth and Metastasis 2009(2) November 2009with 31Reads.

[0014] 非专利文献10:Morsut L.,Roybal KT.,Xiong X.,Gordley RM.,Coyle SM.,Thomson M.,Lim WA.(2016).Engineering Customized Cell Sensing and Response Behaviors Using Synthetic Notch Receptors.Cell.2016Feb11;164(4):780-91.doi:10.1016/j.cell.2016.01.012.Epub 2016Jan 28.

[0015] 非专利文献11:Makino Y.,Cao R.,Svensson K.,Bertilsson G.,Asman M.,Tanaka H.,Cao Y.,Berkenstam A.,Poellinger L.(2001).Inhibitory PAS domain protein is a negative regulator of hypoxia-inducible gene expression.Nature.2001Nov 29;414(6863):550-4.

[0016] 非专利文献12:Maynard MA.,Evans AJ.,Hosomi T.,Hara S.,Jewett MA.,Ohh M.(2005).Human HIF-3alpha4 is a dominant-negative regulator of HIF-1and is down-regulated in renal cell carcinoma.FASEB J.2005Sep;19(11):1396-406.

发明内容

[0017] 发明要解决的问题

[0018] 本发明人们以提供新颖的癌基因治疗药或方法为主要目的进行了研究。

[0019] 用于解决问题的方案

[0020] 对于使从外部导入的基因在癌细胞内表达而言,重要的是运载基因的病毒载体。作为病毒载体,有例如逆转录病毒、慢病毒、仙台病毒等。

[0021] 但是,由于病毒载体中可插入的基因的容量是受到限制的,因此,现状是需要为在允许量的范围内插入基因、得到其效果的设计。并且,得到的抑癌效果受该插入基因所具有的功能限制,由于存在该制约而需要找到将要插入病毒载体的基因的容量抑制在允许范围内且更高效地得到其效果的方法。即,能否研制出在有限的容量中在以下高效地发挥抑癌效果的基因,会成为提高使用病毒载体的癌治疗药的效果的关键点。

[0022] 因此,研究了各种基因的改变、组合,尝试了制作抑癌效果特别高的人工基因。其结果是,发现使CD44(特别是细胞外部分)、Notch(特别是核心区域)和HIF-3 α 4融合而成的人工基因会发挥非常高的抑癌效果。本发明人们基于该见解进而反复进行了改良。

[0023] 本发明例如包括以下项中记载的主题。

[0024] 项1.

- [0025] 一种核酸,其具有下述(A)、(B)、(C)按照(A)-(B)-(C)的顺序连接而成的结构,
- [0026] (A) 编码具有CD44细胞外功能的蛋白的核酸、
- [0027] (B) 编码具有Notch核心区域功能的蛋白的核酸、
- [0028] (C) 编码具有HIF-3 α 4功能的蛋白的核酸。
- [0029] 项2.
- [0030] 一种核酸,其具有核酸(A)、核酸(B)和核酸(C)按照(A)-(B)-(C)的顺序连接而成的结构,
- [0031] 核酸(A)为:
- [0032] (a-1):由序列号1的碱基序列构成的核酸;或
- [0033] (a-2):由在(a-1)的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成且编码能够与透明质酸结合的蛋白的核酸,
- [0034] 核酸(B)为:
- [0035] (b-1):由序列号2的碱基序列构成的核酸;或
- [0036] (b-2):由在(b-1)的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成且编码能被蛋白酶切断的蛋白的核酸,
- [0037] 核酸(C)为:
- [0038] (c-1):由序列号3的碱基序列构成的核酸;或
- [0039] (c-2):由在(c-1)的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成且编码能够与HIF-1 α 结合的蛋白的核酸。
- [0040] 项3.
- [0041] 根据项1所述的核酸,其中,
- [0042] 核酸(A)为:
- [0043] (a-1):由序列号1的碱基序列构成的核酸;或
- [0044] (a-2):由在(a-1)的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成且编码能够与透明质酸结合的蛋白的核酸,
- [0045] 核酸(B)为:
- [0046] (b-1):由序列号2的碱基序列构成的核酸;或
- [0047] (b-2):由在(b-1)的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成,并且编码前述具有按照(A)-(B)-(C)的顺序连接而成的结构的核酸所编码的蛋白中的、能被蛋白酶切断的蛋白的核酸,
- [0048] 核酸(C)为:
- [0049] (c-1):由序列号3的碱基序列构成的核酸;或
- [0050] (c-2):由在(c-1)的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成且编码能够与HIF-1 α 结合的蛋白的核酸。
- [0051] 项4.
- [0052] 一种核酸,(d-1)由序列号4的碱基序列构成;或者
- [0053] (d-2)由在序列号4的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成,并且具有编码能够与透明质酸结合的蛋白的部分、编码能被蛋白酶切断的蛋白的部分和编码能够与HIF-1 α 结合的蛋白的部分依次连接而成的结构;或者

- [0054] (d-3) 由在序列号4的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成且编码具有抗癌作用的蛋白。
- [0055] 项5。
- [0056] 根据项1~4中任一项所述的核酸,其中,前述蛋白酶为ADAM蛋白酶或 γ -分泌酶。
- [0057] 项6。
- [0058] 项1~5中任一项所述的核酸所编码的蛋白。
- [0059] 项7。
- [0060] 以能够表达的方式整合有项1~5中任一项所述的核酸的载体。
- [0061] 项8。
- [0062] 根据项7所述的载体,其中,载体为腺病毒载体。
- [0063] 项9。
- [0064] 一种抗癌组合物,其包含项1~5中任一项所述的核酸或项7或8所述的载体。
- [0065] 项10。
- [0066] 根据项9所述的抗癌组合物,其为注射剂。
- [0067] 项11。
- [0068] 根据项9或10所述的抗癌组合物,其用于治疗乳腺癌、前列腺癌、胃癌、或胰腺癌。
- [0069] 项12。
- [0070] 根据项9或10所述的抗癌组合物,其用于治疗三阴性乳腺癌。
- [0071] 发明的效果
- [0072] 可提供抗癌效果非常高的新颖的癌基因治疗药。该治疗药对于现有的癌治疗药无效的癌症或不常见的癌症也可发挥效果,例如,也可以优选用于三阴性(雌激素受体阴性、孕激素受体阴性、HER2阴性)乳腺癌等。

附图说明

- [0073] 图1示出制作的CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因的序列。
- [0074] 图2a示出人CD44的碱基序列和氨基酸序列。带有下划线的部分为CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因制作时使用的部分。
- [0075] 图2b-1示出Notch的碱基序列。
- [0076] 图2b-2示出Notch的碱基序列(续)。带有下划线的部分为CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因制作时使用的部分。
- [0077] 图2b-3示出Notch的碱基序列(续)。
- [0078] 图2b-4示出Notch的氨基酸序列。带有下划线的部分为CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因制作时使用的部分。
- [0079] 图2c示出人HIF-3 α 4的碱基序列和氨基酸序列。带有下划线的部分为CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因制作时使用的部分。
- [0080] 图3示出使各基因重组腺病毒载体在体外感染细胞、通过实时PCR试验评价各基因是否正常导入而得到的结果。
- [0081] 图4示出使包含ADX730(整合有CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因的基因重组腺病毒载体)的各基因重组腺病毒载体在体外感染细胞、通过实时PCR试验对于ADX730的CD44诱饵

受体的诱饵 (Decoy) 功能是否抑制了作为CD44下游基因的存活蛋白和CCL2基因的表达进行了比较研究的结果。

[0082] 图5示出使包括ADX730在内的各基因重组腺病毒载体在体外感染细胞、通过实时PCR试验对于ADX730的HIF-3 α 的HIF-1 α 功能抑制作用是否抑制了作为HIF-1 α 靶基因的VEGF、细胞周期蛋白G2和Bcl-xL基因的表达进行了比较研究的结果。

[0083] 图6示出对于移植了MDA-MB-231人三阴性乳腺癌细胞的裸小鼠进行包括ADX730在内的各基因重组腺病毒载体的肿瘤内给药(注射)并研究其肿瘤增殖抑制效果而得到的结果。上侧示出给药日程的概要图。下侧以图的形式示出通过给药各基因重组腺病毒载体或PBS(磷酸缓冲生理盐水)使肿瘤体积发生了何种变化。

[0084] 图7示出在图6中上侧的给药日程中向移植了MDA-MB-231人三阴性乳腺癌细胞的裸小鼠进行包括ADX730在内的各基因重组腺病毒载体或PBS的肿瘤内给药(注射)时的、摘出的肿瘤的照片(n=5)。

[0085] 图8a示出使用DU-145细胞通过实时PCR试验评价使基因重组腺病毒载体在体外感染细胞、是否正常导入了CD44/Notch/HIF-3 α 融合基因而得到的结果。

[0086] 图8b示出使用MKN45细胞通过实时PCR试验评价使基因重组腺病毒载体在体外感染细胞、是否正常导入了CD44/Notch/HIF-3 α 融合基因而得到的结果。

[0087] 图8c示出使用PANC-1细胞通过实时PCR试验评价使基因重组腺病毒载体在体外感染细胞、是否正常导入了CD44/Notch/HIF-3 α 融合基因而得到的结果。

具体实施方式

[0088] 以下对本发明所包含的各实施方式进一步进行详细说明。本发明优选包含例如特定的人工核酸、整合有该人工核酸的病毒载体、含有该病毒载体的抗癌用组合物、和使用该组合物的癌治疗方法等,但是不限于这些,本发明包括所有的公开于本说明书、本领域技术人员能够认识到的发明。

[0089] 本发明中包含的人工核酸优选为具有下述(A)、(B)和(C)按照(A)-(B)-(C)的顺序连接而成的结构的核酸,(A)编码具有CD44细胞外功能的蛋白的核酸、(B)编码具有Notch核心区域功能的蛋白的核酸、(C)编码具有HIF-3 α 功能的蛋白的核酸。有时将该核酸称为“本发明的核酸”。需要说明的是,本发明中,核酸可以是DNA、RNA、PNA等,特别优选为DNA。另外,在具有按照(A)-(B)-(C)的顺序连接而成的结构的核酸中,(A)侧可以为3'末端,也可以为5'末端,优选为5'末端。

[0090] CD44为针对透明质酸等的受体之一,通过与配体(例如透明质酸)结合而聚集并转导信号。已知由此而引起c-Src、FAK、MAPK之类的各种细胞增殖、细胞迁移相关激酶的活化等细胞内现象。另外还已知,该信号转导后,会被蛋白酶切断,细胞内结构域向核迁移,被切掉的细胞外结构域作为可溶性CD44而游离。由于这样的性质,CD44在大肠癌、乳腺癌、胃癌、胰腺癌、前列腺癌等多种癌细胞中高表达,也作为癌干细胞的标志物在进行研究。

[0091] 本发明中,CD44细胞外功能为针对配体的受体功能,该功能例如优选包括透明质酸结合能力。

[0092] 由此,作为具有CD44细胞外功能的蛋白,例如,可以是CD44细胞外部分的完整蛋白;在不损害针对配体的受体功能的范围内也可以包含CD44的细胞膜部分;或者可以为

CD44的细胞外部分的部分蛋白。进一步地,只要具有该功能,则也可以在这样的蛋白中缺失、置换或添加1或2个以上的氨基酸。核酸(A)只要为编码这样的多肽的核酸就没有特别限制。

[0093] 更具体而言,作为核酸(A),优选的核酸可列举例如下述的(a-1)或(a-2)。

[0094] (a-1):由序列号1的碱基序列构成的核酸

[0095] (a-2):由在(a-1)的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上(例如1~30、1~20、1~10个;或者,1、2、3、4、或5个)碱基的碱基序列构成且编码能够与透明质酸结合的蛋白的核酸

[0096] 需要说明的是,蛋白是否能够与透明质酸结合例如可通过求出它们的解离常数来判断。

[0097] Notch为在细胞表面表达的受体,Notch信号转导系统是承担细胞间信号转导的主要信号转导系统之一。多数情况下,细胞间信号转导的机制为如下方式:送出信号侧的细胞产生、释放可溶性的配体,其与接收信号侧的细胞的细胞表面的受体结合。进而,在接收细胞侧,以下游磷酸化级联为代表的细胞内信号转导通路被激活,特定转录因子的活性发生改变,由此来调节基因表达。另一方面,Notch信号转导系统具有通过与相邻细胞间的直接相互作用而进行信号转导的特征。作为受体起作用的Notch在细胞表面与作为配体的Delta或Serrate(哺乳类中为Jagged)结合,进而施加物理性的力而引起结构改变,Notch的细胞内结构域由于ADAM蛋白酶或 γ -分泌酶之类的蛋白切断酶(蛋白酶)的作用而发生分离。如此地从细胞膜游离出的Notch的细胞内结构域向核迁移,在靶基因的上游与转录因子、辅激活物进行相互作用而调节其转录。

[0098] 本发明中,Notch核心区域是指包含由于蛋白酶的作用而被切断的部位的区域,Notch核心区域功能为可被能够切断Notch核心区域的蛋白酶切断(优选可有限范围分离)的功能。

[0099] 因此,作为具有Notch核心区域功能的蛋白,例如,可以是仅包含Notch核心区域中蛋白酶切断所必需的部分的蛋白;只要可因为蛋白酶的作用而被切断则可以为与蛋白酶切断所必需的部分一起包含蛋白酶切断所必需的部分的前后的1或2个以上(例如1~30、1~20、1~10个;或者,1、2、3、4、或5个)氨基酸的蛋白。进一步地,只要可因为蛋白酶的作用而被切断,则可以在这样的蛋白中缺失、置换或添加了1或2个以上(例如1~30、1~20、1~10个;或者,1、2、3、4、或5个)氨基酸。核酸(B)只要为编码这样的蛋白的核酸就没有特别限制。

[0100] 更具体而言,作为核酸(B),优选的核酸可列举例如下述的(b-1)或(b-2)。

[0101] (b-1):由序列号2的碱基序列构成的核酸

[0102] (b-2):由在(b-1)的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成且编码能被蛋白酶切断的蛋白的核酸

[0103] 需要说明的是,作为蛋白酶,如上所述可优选列举ADAM蛋白酶(ADAM蛋白酶)和 γ -分泌酶(γ -secretase),更优选编码可被这些中的任一种或两种蛋白酶切断的多肽的核酸。需要说明的是,ADAM蛋白酶为属于称为去整合素和金属蛋白酶(A Disintegrin And Metalloprotease)家族的组的蛋白水解酶。

[0104] 需要说明的是,蛋白是否能被蛋白酶切断可通过用蛋白酶处理蛋白后进行电泳(例如SDS-PAGE)来确认。

[0105] 另外, (b-2) 更优选为编码下述蛋白的核酸 (b-2'), 所述蛋白为: 在 (b-1) 的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成且具有前述按照 (A) - (B) - (C) 的顺序连接而成的结构的核酸所编码的蛋白中的、当配体结合于核酸 (A) 所编码的蛋白时能被细胞内蛋白酶切断的蛋白。

[0106] HIF (Hypoxia Inducible Factor; 低氧诱导因子) 为当细胞内陷入低氧状态时被活化的转录因子, 是由HIF-1 α 和HIF-1 β 构成的杂二聚体。已明确, HIF-1 α 不仅通常在氧浓度下被PHD分解, 而且还会因为在小鼠中发现的被称为IPAS (Inhibitory PAS domain protein, 抑制性PAS结构域蛋白) 的转录因子而受到抑制。IPAS已被鉴定为作为HIF之一的HIF-3 α 的剪接变体。IPAS虽然本身不显示转录活性, 但是通过与HIF-1 α 的相互作用而抑制与DNA的结合、抑制HIF-1 α 的功能。已经明确了, 在人的情况下, 被鉴定为HIF-3 α 的剪接变体的HIF-3 α 4发挥与IPAS同样的功能。

[0107] 因此, 本发明中, HIF-3 α 4功能是指可抑制HIF-1 α 的功能, 更具体而言, 为与HIF-1 α 相互作用 (结合) 的功能。

[0108] 因此, 作为具有HIF-3 α 4功能的蛋白, 例如, 可以为HIF-3 α 4本身; 只要可抑制HIF-1 α 则也可以为在HIF-3 α 4中进一步添加有1或2个以上 (例如1~30、1~20、1~10个; 或者, 1、2、3、4或5个) 氨基酸的蛋白。进一步地, 只要可抑制HIF-1 α , 则可以在这样的蛋白中缺失、置换或添加1或2个以上 (例如1~30、1~20、1~10个, 或者, 1、2、3、4或5个) 氨基酸。核酸 (C) 只要为编码这样的蛋白的核酸就没有特别限制。

[0109] 更具体而言, 作为核酸 (C), 优选的核酸可列举例如下述的 (c-1) 或 (c-2)。

[0110] (c-1): 由序列号3的碱基序列构成的核酸

[0111] (c-2): 由在 (c-1) 的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成且编码能够与HIF-1 α 结合的蛋白的核酸

[0112] 需要说明的是, 蛋白能否与HIF-1 α 结合可通过使用成为对象的蛋白、HIF-1 α 、和识别这些的抗体通过免疫共沉淀法等来研究。

[0113] 另外, 在核酸 (A)、核酸 (B) 和核酸 (C) 的连接中, 这些核酸可以直接连接, 各核酸也可以借助接头而连接。作为接头, 只要是不损害本发明的核酸的效果的范围则没有特别限制, 例如, 优选由1或2个以上碱基构成的核酸。

[0114] 本发明的核酸 (具有按照 (A) - (B) - (C) 的顺序连接而成的结构的核酸) 的碱基长度优选为例如8000bp以下, 更优选为7500、7000、6500、6000、5500、5000、4500、4000、3500或3000bp以下。

[0115] 另外, 作为本发明的核酸的一个优选方式, 可列举 (d-1) 由序列号4的碱基序列构成的核酸。进而, 作为本发明的核酸的另一优选方式, 还可列举 (d-2) 由在序列号4的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成且编码能够与透明质酸结合的蛋白的部分、编码能被蛋白酶切断的蛋白的部分、和编码能够与HIF-1 α 结合的蛋白的部分依次连接而成的核酸。另外, 进一步还可列举 (d-3) 由在序列号4的碱基序列中缺失、置换或添加了1或2个以上碱基的碱基序列构成且编码具有抗癌作用的蛋白的核酸。核酸所编码的蛋白是否具有抗癌作用可通过使该核酸以能表达的方式整合于腺病毒载体并对癌细胞进行给药来研究。

[0116] 需要说明的是, (a-2)、(b-2)、(b-2')、(c-2)、(d-2) 或 (d-3) 中缺失、置换或添加的

碱基的数量或构成接头的碱基的数量例如可优选为1~100(1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20、21、22、23、24、25、26、27、28、29、30、31、32、33、34、35、36、37、38、39、40、41、42、43、44、45、46、47、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65、66、67、68、69、70、71、72、73、74、75、76、77、78、79、80、81、82、83、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、或100)个。另外,本发明中的碱基的种类没有特别限制,优选为A(腺嘌呤)、T(胸腺嘧啶)、G(鸟嘌呤)、C(胞嘧啶)或U(尿嘧啶)。

[0117] 另外,本发明的核酸可以通过公知的方法或由公知的方法容易想到的方法来制造。例如,可以通过基因工程学手法来制造。例如,可以通过从人源试样中提取编码CD44、Notch和HIF-3 α 4的DNA或RNA并根据需要对这些进行人工突变、连接而制造,或者,也可以进行化学合成而制造。

[0118] 虽然不希望在理论上受约束,但是可认为本发明的核酸所编码的蛋白显示抗癌效果是基于下述那样的作用机制。本发明的核酸所编码的融合蛋白包含(i)具有CD44细胞外功能的蛋白部分、(ii)具有Notch核心区域功能的蛋白部分、和(iii)具有HIF-3 α 4功能的蛋白部分。因此,可以使(i)作为诱饵受体起作用,并且借助(ii)将信号转导给(iii)。在使(i)融合于(ii)的上游时,其会变得更有效。并且通过使(iii)融合于(ii)的下游,从而能够抑制肿瘤中已被激活的HIF-1 α 。认为由此将要插入病毒载体的基因抑制在允许范围内且能够发挥包括多种作用机制的抗肿瘤效果。

[0119] 以能够表达的方式整合有本发明的核酸的载体对于癌治疗或者还对于本发明的核酸的增产而言是有用的。作为载体,可列举例如质粒载体、黏粒载体、F黏粒(fosmid)载体、和病毒载体等。在为了治疗癌而使用本发明的核酸时,特别优选病毒载体。作为病毒载体,可列举例如腺病毒载体、逆转录病毒载体、慢病毒载体、仙台病毒载体等。其中,优选腺病毒载体。另外,也可以使用增殖性的病毒载体和非增殖性的病毒载体中的任意者。特别地,优选增殖性或非增殖性的腺病毒载体。本发明的核酸与载体的整合可以通过公知的方法或可由公知的方法容易地想到的方法来进行。

[0120] 包含以能够表达的方式整合有本发明的核酸的载体的抗癌组合物发挥非常优异的抗癌效果(特别是癌治疗效果)。该抗癌组合物的给药方式只要发挥抗癌效果就没有特别限定。例如,通常优选肿瘤内给药,但是根据载体情况也可以为静脉内给药。另外,该抗癌组合物的剂形也是只要发挥抗癌效果就没有特别限制。例如,优选为注射剂。

[0121] 抗癌组合物可以根据需要适宜含有上述载体以外的成分。作为这样的其它成分,可列举药学上允许的载体(例如水)等,可以根据治疗部位、抗癌组合物的剂形选择使用适当的载体。

[0122] 这样的抗癌组合物也可以基于公知的方法来制备。

[0123] 关于成为该抗癌组合物的治疗对象的癌种类,只要发挥抗癌效果就没有特别限定。可列举例如实体瘤和血液肿瘤,更具体而言,虽无特别限定但可列举例如脑瘤、上颌癌、鼻咽癌、肺癌、食道癌、直肠癌、大肠癌、肝癌、胃癌、胆囊癌、胰腺癌、皮肤癌、乳腺癌、子宫癌、卵巢癌、前列腺癌、肾癌、膀胱癌、甲状腺癌、多发性骨髓瘤、淋巴瘤、急性髓系白血病、慢性髓系白血病等,对乳腺癌、前列腺癌、胃癌、胰腺癌等特别有效。需要说明的是,该抗癌组合物的抗癌效果非常高,因此也可以用于现有的癌治疗药无效或不常见的癌症,是优选的。例如,可以优选用于三阴性(雌激素受体阴性、孕激素受体阴性、HER2阴性)乳腺癌等。另外,

该抗癌组合物的抗癌效果的种类也没有特别限制。例如,优选可以抑制肿瘤的增殖和/或浸润。

[0124] 需要说明的是,本说明书中“包含”还包括“实质上由……构成”和“由……构成”(The term “comprising” includes “consisting essentially of” and “consisting of.”)。另外,本发明包括所有的、本说明书中说明的构成要件中的任意方式的组合。

[0125] 另外,上述的对本发明的各实施方式进行说明的各种特性(性质、结构、功能等)在对本发明所包含的主题进行规定时,可以任意地进行组合。即,本发明包括所有的、由本说明书中记载的可组合的各特性的所有组合构成的主题。

[0126] 实施例

[0127] 以下示出例子对本发明的实施方式进行更具体地说明,但是本发明的实施方式不受下述的例子限定。

[0128] <实验手法>

[0129] 插入DNA(CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因)的构建

[0130] 如下述那样制作具有(A)编码具有CD44细胞外功能的蛋白的核酸、(B)编码具有Notch核心区域功能的蛋白的核酸和(C)编码具有HIF-3 α 4功能的蛋白的核酸按照(A)-(B)-(C)的顺序连接而成的结构的核酸。需要说明的是,也将本实施例中实际制作的该核酸的一种优选方式记作“CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因”。

[0131] CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因的制作委托GENEWIZ Solid science. Superior service. 进行。使用将这3种人基因分别进行SwaI (TaKaRa, Siga, Japan) 限制酶处理、电泳和纯化而得的产物作为插入DNA。需要说明的是,融合基因的各结构域参考公知文献(特别是上述非专利文献9、10、和12)、跨膜结构域检索工具TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>)、信号肽序列检索工具SignalP (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/>) 而设计。将制作的CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因的序列示于图1。另外,将使用的3种人基因(CD44、Notch、和HIF-3 α 4)的碱基序列分别示于图2a~2c。

[0132] 载体DNA的制作

[0133] 用于整合插入DNA的载体DNA使用了Adenovirus Dual Expression Kit (TaKaRa, Siga, Japan) 所附带的pAxCawtit2黏粒载体。黏粒载体也与插入DNA同样地利用限制酶处理将克隆位点所具有的SwaI序列切断,通过苯酚-氯仿提取而进行纯化。

[0134] 重组黏粒载体的制作和向大肠杆菌中的转化导入

[0135] 为了将上述制作的插入DNA和pAxCawtit2黏粒载体连接,使用Ligation Mix (TaKaRa, Siga, Japan) 进行连接反应(16°C、30分钟)。反应后,使用反应溶液并利用基于试剂盒说明书的方法进行向大肠杆菌HST08 Premium Competent Cells (TaKaRa, Siga, Japan) 的转化。转化后的大肠杆菌HST08 Premium Competent Cells接种于添加有100 μ g/ml 氨苄青霉素的LB琼脂培养基 (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) 中,在37°C下培养一晚。将培养后在LB琼脂培养基上生长出的菌落作为模板,使用KOD FX Neo (TOYOBO CO., LTD., Osaka, Japan) 进行插入确认PCR,通过琼脂糖凝胶电泳确认是否正常进行了转化。确认后,将合适的菌落在添加有100 μ g/ml 氨苄青霉素的LB液体培养基 (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) 中传代培养,之后使用Genopure Plasmid Maxi Kit (Roche) 从培养物中提取黏粒载体。所提取的黏粒载体的尺寸超过40kbp,因此进一步利用NruI (NEW ENGLAND BioLabs) 进

行限制酶处理且进行连接,以将大部分腺病毒基因组删除、缩小黏粒尺寸,使用同样提取的缩小黏粒载体利用DNA测序分析来确认序列。

[0136] 基于限制酶处理和苯酚-氯仿提取的重组腺病毒载体的制作

[0137] 对于如上进行了制作和序列确认的重组黏粒载体DNA,用BspT104I (TaKaRa, Siga, Japan) 进行限制酶处理。限制酶处理后利用苯酚-氯仿提取和乙醇沉淀进行纯化,溶解于30 μ l 灭菌纯化水。使用其中的1 μ l 进行琼脂糖电泳,确认利用限制酶BspT104I的消化。确认后,对于在60mm细胞培养用培养皿 (TPP) 中培养至铺满的HEK293细胞 (国立研究开发法人医药基盘·健康·营养研究所),使用BspT104I消化后黏粒10 μ g且利用Lipofectamine LTX (invitrogen, Waltham, MA) 进行脂质转染。然后,回收培养的细胞,播种于Biocoat Collagen I Cellware 96-Well Plate (CORNING, NY, USA)。播种起5天后和10天后,向各孔中加入含有10%胎牛血清 (FBS; Sigma Aldrich, St. Louis, MO) 的杜尔贝科改良伊戈尔培养基 (D-MEM; FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan) 50 μ l, 进一步培养,直至全部细胞完全退变为止。在播种起18天后完成判定,将细胞完全退变的孔回收至4个1.5ml的Eppendorf管中,重复进行6次利用液氮的冷冻和利用37 $^{\circ}$ C温浴的解冻。在最后一次冷冻融化后进行离心 (5,000rpm、5分钟、4 $^{\circ}$ C),将回收的上清作为一次病毒液来保存。这些过程全部按照基于Adenovirus Dual Expression Kit (TaKaRa, Siga, Japan) 的手册的方法来进行。

[0138] 需要说明的是,将以能够表达的方式整合有CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因的腺病毒载体记作ADX730。

[0139] 高效价重组腺病毒载体的纯化

[0140] 在Biocoat Collagen I Cellware 24-Well Plate (CORNING, NY, USA) 中,将HEK293细胞和A549细胞 (国立研究开发法人医药基盘·健康·营养研究所) 分别培养至达到70~100%铺满。培养后去除培养基,对于每1孔,添加0.1ml的5%FBS-D-MEM和上述所制作的一次病毒液10 μ l,使病毒感染各细胞。进行感染时,在培养箱内 (37 $^{\circ}$ C、5%CO₂) 每隔15分钟进行将板缓慢振荡数次的操作,进行4次。感染1小时后,向各孔中进一步添加0.4ml的5%FBS-D-MEM,培养3天。培养后,选择一个A549细胞未确认到退变、HEK293细胞完全退变的克隆,将该细胞连同培养液一起回收。回收的细胞与一次病毒液同样地重复进行6次利用液氮的冷冻和利用37 $^{\circ}$ C温浴的解冻。在最后一轮的冷冻融化后进行离心 (5,000rpm、5分钟、4 $^{\circ}$ C),将回收的上清作为二次病毒液保存。

[0141] 然后,在I型胶原包被的25cm²烧瓶 (IWAKI) 中,将HEK293细胞培养至达到70~100%铺满,轻柔地添加0.5ml的5%FBS-D-MEM和上述制作的二次病毒液15 μ l,进行病毒感染。感染时,在培养箱内 (37 $^{\circ}$ C、5%CO₂) 内每隔15分钟进行将板缓慢地振荡数次的操作,进行4次。感染1小时后,向各孔中进一步添加4.5ml的5%FBS-D-MEM,培养3天。培养后,确认全部细胞均已退变,将该细胞连同培养液一起回收。回收的细胞与一次病毒液同样地重复进行6次利用液氮的冷冻和利用37 $^{\circ}$ C温浴的解冻。在最后一次冷冻融化后进行离心 (3,000rpm、10分钟、4 $^{\circ}$ C),将回收的上清作为三次病毒液保存。进一步地,在I型胶原包被的75cm²烧瓶 (IWAKI) 中,将HEK293细胞培养至70~100%铺满,轻柔地添加2ml的5%FBS-D-MEM和上述制作的三次病毒液50 μ l,进行病毒感染。进行感染时,在培养箱内 (37 $^{\circ}$ C、5%CO₂) 内每隔15分钟进行将板缓慢地振荡数次的操作,进行4次。感染1小时后,向各孔中进一步添

加13ml的5%FBS-D-MEM,培养3天。培养后,确认全部细胞均已退变,将该细胞连同培养液一起回收。将回收的细胞与一次病毒液同样地重复进行6次利用液氮的冷冻和利用37℃温浴的解冻。在最后一次冷冻融化后进行离心(3,000rpm、10分钟、4℃),将回收的上清作为四次病毒液保存。这些过程全部按照基于Adenovirus Dual Expression Kit (TaKaRa, Siga, Japan)的手册的方法进行。

[0142] 重组腺病毒载体DNA的结构确认

[0143] 在上述制备四次病毒液并分注保存时,一个样品在最后一次冷冻融化后进行离心(5,000rpm、5分钟、4℃),将上清全部去除而仅回收保存细胞(cell pack,细胞包)。向细胞包中加入以下试剂,使总量达到400 μ l。

[0144] 10 \times TNE缓冲液40 μ l

[0145] 蛋白酶K(20mg/ml)4 μ l

[0146] 灭菌纯化水直到400 μ l

[0147] 将制备的细胞包用涡旋充分搅拌后,添加10%SDS 4 μ l,进一步通过涡旋进行搅拌。在50℃下孵育1小时后,进行苯酚-氯仿提取和氯仿提取各两次,进行乙醇沉淀。乙醇沉淀后,溶解于包含RNaseA的50 μ l的TE缓冲液中,使用其中的15 μ l进行利用限制酶XhoI的限制酶处理。限制酶处理后,通过琼脂糖电泳确认得到的产物的电泳图谱。这些过程全部按照基于Adenovirus Dual Expression Kit (TaKaRa, Siga, Japan)的手册的方法进行。

[0148] 另外,使用预先设计和制作的插入DNA特异性引物(表1)且以细胞包为模板进行PCR反应。使用得到的PCR产物进行琼脂糖电泳,确认该插入DNA的电泳图谱。同时,设计黏粒载体DNA特异性引物和测序分析用引物(表2),使用这些以细胞包为模板进行PCR反应。使用得到的PCR产物进行琼脂糖电泳和纯化,将其作为模板通过DNA测序分析进行序列确认。

[0149] [表1]

引物名称	序列 (5'→3')
[0150] CD44 SwaI-F	Forward : 5'- ACC ATT TAA ATA TGG ACA AGT TTT GGT GGC -3'
HIF-3 α 4 SwaI-R	Reverse : 5'- CGG ATT TAA ATT CAG GGC CAC CAA GGG GG -3'

[0151] [表2]

引物名称	序列 (5'→3')
[0152] pAxCAwtit2 seq-F1	5'- GCG GCT CTA GAG CCT CTG CTA ACC AT -3'
pAxCAwtit2 seq-F2	5'- GGA CAA GIT TTG GTG GCA CGC AGC CT -3'
pAxCAwtit2 seq-F3	5'- CCT GAA GAC ATC TAC CCC AGC AAC CC -3'
pAxCAwtit2 seq-F4	5'- TGC CTC TTC GAC GGC TTT GAC TGC CA -3'
pAxCAwtit2 seq-F5	5'- GGA GAT TGA CAA CCG GCA GTG TGT GC -3'
pAxCAwtit2 seq-F6	5'- TCA TGC GCC TCA CCA TCA GCT ACC TG -3'
pAxCAwtit2 seq-F7	5'- ACA AGC CAC CTG CGC AGA CTT CTC CA -3'
pAxCAwtit2 seq-R	5'- GCT CAA GGG GCT TCA TGA TGT CCC CA -3'

[0153] 重组腺病毒载体的大量培养和纯化

[0154] 为了将上述制作的重组腺病毒载体用于此后的实验中,进行了大量培养和纯化。对于5个康宁225cm²烧瓶(CORNING, NY, USA),以达到70~100%铺满的方式接种HEK293细胞。轻柔地添加15ml的5%FBS-D-MEM和上述制作的三次病毒液150 μ l,进行病毒感染。进行

感染时,在培养箱内(37℃、5%CO₂)每隔15分钟进行将板缓慢地振荡数次的操作,进行4次。感染1小时后,向各孔中进一步添加35ml的5%FBS-D-MEM并培养3天。培养后确认全部细胞均已退变,将该细胞连同培养液一起回收。回收后进行一次离心(3000rpm、10分钟、4℃),去除上清并加入新的10%FBS-D-MEM 5ml,将细胞颗粒重悬浮。然后,重复进行6次利用液氮的冷冻和利用37℃温浴的解冻。在最后一次冷冻融化后进行离心(3000rpm、10分钟、4℃),再次回收细胞。仅回收上清,加入Benzonase Nuclease (25U/μl) (TaKaRa, Siga, Japan) 5ml并孵育(37℃、30分钟)。然后,添加上清和等量的1×Dilution Buffer (TaKaRa, Siga, Japan),使用20ml注射器 (TaKaRa, Siga, Japan),用0.45μm注射器前端预过滤器 (TaKaRa, Siga, Japan) 过滤裂解物(lysate)。此时,同时向Adeno-X Maxi Purification Assembly (TaKaRa, Siga, Japan) 的过滤器中以流速3ml/min (~1滴/秒)滴加5ml的1×平衡缓冲液 (TaKaRa, Siga, Japan) 进行平衡。将过滤后的裂解物通入平衡化后的过滤器而捕获病毒,之后将过滤器用20ml的1×洗涤缓冲液 (TaKaRa, Siga, Japan) 进行洗涤。洗涤后将过滤器拆下,将过滤器安装到含有3ml的1×洗脱缓冲液 (TaKaRa, Siga, Japan) 的5ml过滤器 (TaKaRa, Siga, Japan) 上,从其中挤出并回收1ml的1×洗脱缓冲液。回收后,将过滤器孵育(室温、5分钟)一次,然后挤出剩余的2ml 1×洗脱缓冲液,洗脱病毒。这些过程全部按照基于Adeno-X Maxi Purification Kit (TaKaRa, Siga, Japan) 的手册的方法来进行。

[0155] 重组腺病毒载体的效价测定

[0156] 如下所述地进行上述制作的重组腺病毒载体的效价测定。向12孔平底细胞培养板 (CORNING, NY, USA) 中接种HEK293细胞,向各孔中滴加从100倍稀释至1000万倍稀释进行了10倍稀释的病毒液,培养两天。培养后,将培养基全部去除,将细胞稍微干燥后滴加冷甲醇 (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan) 1ml,孵育(-20℃、10分钟)。然后,将甲醇全部去除,用含1%牛血清白蛋白 (BSA ;Sigma Aldrich, St. Louis, MO) 的杜尔贝科PBS(-) “Nissui” (PBS; NISSUI PHARMACEUTICAL CO., LTD., Tokyo, Japan) 洗涤三次。洗涤后滴加用含有1%BSA的PBS稀释1000倍的小鼠抗六邻体抗体 (TaKaRa, Siga, Japan) 0.5ml,一边在摇床上振荡一边孵育(37℃、1小时)。反应后用包含1%BSA的PBS洗涤三次,滴加用包含1%BSA的PBS稀释500倍的HRP缀合大鼠抗小鼠抗体 (TaKaRa, Siga, Japan) 0.5ml,一边用摇床振荡一边孵育(37℃、1小时)。反应后用包含1%BSA的PBS洗涤三次,滴加用1×稳定过氧化物酶缓冲液 (TaKaRa, Siga, Japan) 稀释10倍的10×DAB底物 (TaKaRa, Siga, Japan) 0.5ml,孵育(室温、10分钟)。反应后将反应液全部去除并加入1ml的PBS,一边在显微镜下观察退变细胞一边确定其效价。这些过程全部按照基于Adeno-X Rapid Titer Kit (TaKaRa, Siga, Japan) 的手册的方法来进行。

[0157] 细胞和培养基

[0158] 用于实验的HEK293细胞使用包含10%FBS和1%100U/ml青霉素和100mg/ml链霉素 (P/S; Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) 的D-MEM在37℃、5%CO₂条件下培养, A549细胞用包含10%FBS和1%P/S的Ham's F-12K (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan) 在37℃、5%CO₂条件下进行培养。另外,MDA-MB-231细胞 (The European Collection of Cell Cultures) 用包含15%FBS和1%P/S的Leibovitz's L-15培养基 (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan) 在37℃、无CO₂平衡的条件下进行培养。

[0159] 各种重组病毒

[0160] 用于实验的ADX730、整合有SOCS3基因的基因重组腺病毒载体 (rAd-SOCS3)、整合有p53基因的基因重组腺病毒载体 (rAd-p53) 和整合有LacZ基因的基因重组腺病毒载体 (rAd-LacZ) 在大量培养和纯化后,用Slide-A-Lyzer Dialysis Cassette (Extra Strength) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA) 进行缓冲液交换,交换为含有甘油 (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) 10%、1mol/l-Tris-HCl缓冲液 (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) 1%的透析缓冲液,分别适量分注,于-80℃下保存。

[0161] 需要说明的是,rAd-SOCS3和rAd-p53是公知的作为癌基因治疗药候补的腺病毒载体。

[0162] 流式细胞术

[0163] 使ADX730实际体外感染细胞,对于AD730中整合的融合基因的CD44区域的表达量的增减比较,使用流式细胞术进行评价。对于6孔平底细胞培养板 (CORNING, NY, USA),以 1×10^6 细胞/孔接种MDA-MB-231细胞,在37℃、无CO₂平衡的条件下培养一晚。培养后,分别以40感染复数 (multiplicity of infection, MOI) 感染ADX730、rAd-SOCS3、rAd-p53、rAd-LacZ,进一步培养48小时。然后用PBS洗涤细胞,回收,使用Blocking One Histo (Nacalai Tesque, Kyoto, Japan) 在室温下进行10分钟封闭。封闭后,再次用PBS洗涤细胞,滴加200倍稀释FITC抗小鼠/人CD44克隆:IM7 (BioLegend, San Diego, CA) 或100倍稀释FITC大鼠IgG2a, κ 同种型对照克隆:RTK2758 (BioLegend, San Diego, CA),在冰上遮光下反应30分钟。反应后,再次用PBS洗涤细胞,滴加100倍稀释BD Pharmingen 7-AAD (BD Biosciences, San Diego, CA),在冰上遮光下反应5分钟。反应后用PBS洗涤,使用Guava easyCyte (Merck Millipore, Burlington, MA) 进行测定。数据分析按照附带的软件InCyte来进行。

[0164] 实时PCR

[0165] 在确认由包含ADX730的各基因重组腺病毒载体引起的基因导入时,利用实时PCR法确认由其功能得到的效果。向6孔平底细胞培养板中以 1×10^6 个细胞/孔接种MDA-MB-231细胞,通过使用Anaeropack Kenki 5% (Mitsubishi Gas Chemical Company, Inc., Tokyo, Japan) 和透明质酸钠 (40kDa ~ 80kDa) (PG Research, Tokyo, Japan) 而在37℃、5%CO₂、1% ≤ 0.04mg/ml条件下分别培养一晚。培养后,分别以40MOI感染ADX730、rAd-SOCS3、rAd-p53、rAd-LacZ,进一步培养48小时。然后回收细胞,使用NucleoSpin RNA (TaKaRa, Siga, Japan) 提取总RNA。进而由提取的RNA使用PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser (TaKaRa, Siga, Japan) 合成cDNA,使用以其为模板制作的引物 (表3)、TB Green Premix Ex Taq II (TaKaRa, Siga, Japan) 和Thermal Cycler Dice实时系统 (TaKaRa, Siga, Japan) 进行PCR反应和基于比较C_t法 ($\Delta \Delta C_t$ 法) 的分析。

[0166] [表3]

基因	序列 (5'→3')
Bcl-xL	正向引物: 5'- CCC AGA AAG GAT ACA GCT GG -3'
	反向引物: 5'- GCG ATC CGA CTC ACC AAT AC -3'
CCL2	正向引物: 5'- AAG ATC TCA GTG CAG AGG CTC G -3'
	反向引物: 5'- TTG CTT GTC CAG GTG GTC CAT -3'
细胞周期蛋白G2	正向引物: 5'- GCT GAA AGC TTG CAA CTG CCG AC -3'
	反向引物: 5'- GGT ATC GTT GGC AGC TCA GGA AC -3'
HIF-3 α 4	正向引物: 5'- GGG AGA CAT GGC TTA CCT GT -3'
	反向引物: 5'- GCG TAC TCT TCA TGC GCA AG -3'
p53	正向引物: 5'- CAG CCA AGT CTG TGA CTT GCA CGT AC -3'
	反向引物: 5'- CTA TGT CGA AAA GTG TTT CTG TCA TC -3'
SOCS3	正向引物: 5'- GAC CAG CGC CAC TTC TTC AC -3'
	反向引物: 5'- CTG GAT GCG CAG GTT CTT G -3'
存活蛋白	正向引物: 5'- AGA ACT GGC CCT TCT TGG AGG -3'
	反向引物: 5'- CTT TTT ATG TTC CTC TAT GGG GTC -3'
VEGF	正向引物: 5'- GGG CCT CCG AAA CCA TGA AC -3'
	反向引物: 5'- CAA GGC TCC AAT GCA CCC AA -3'

[0167] 小鼠和被检体的采集

[0168] 小鼠和被检体的采集

[0169] 为了进行ADX730与其它癌基因治疗药的抗肿瘤效果的研究比较,进行了使用小鼠的体内实验。对于6周龄雌BALB/cAJcl-nu/nu (CLEA Japan, Inc., Tokyo, Japan), 向小鼠的右侧腰部皮下接种MDA-MB-231细胞 1×10^6 个细胞/70 μ l与Matrigel Martrix Basement Membrane HC (CORNING, NY, USA) 70 μ l的混合物,对各组每5只进行肿瘤的移植 (n=5)。从确认肿瘤定植起14天后,将ADX730 (1×10^9 PFU/50 μ l)、rAd-SOCS3 (1×10^9 PFU/50 μ l)、rAd-p53 (1×10^9 PFU/50 μ l)、rAd-LacZ (1×10^9 PFU/50 μ l) 或PBS 50 μ l以隔天方式肿瘤内给药八次 (第14, 16, 18, 20, 22, 24, 26, 28天)。从病毒给药起始日起每周两次总计进行五次肿瘤直径测定,测定结束后回收肿瘤,经过利用4%聚甲醛磷酸盐缓冲液 (FUJIFILM Wako Pure Chemical Corporation, Osaka, Japan) 的固定后在4 $^{\circ}$ C保存或在-80 $^{\circ}$ C保存。测定长径 (L) 和短径 (W),通过 $(W^2 \times L) / 2$ 的算式计算出肿瘤的体积。

[0170] <结果>

[0171] 流式细胞术

[0172] 若针对CD44比较各样品的平均荧光强度,则可知:相对于感染作为其它癌基因治疗药的rAd-SOCS3、rAd-p53或作为阴性对照的rAd-LacZ的情况而言,感染ADX730时其值高 (表4)。

[0173] [表4]

[0174] CD44细胞表面表达分析

样品 ID	数据	R4 . 百分比	R4 . 平均值
		基于以P01.R1.R2设门的R4 . 百分比 (%)	基于以P01.R1.R2设门的 R4 . 平均值
[0175] 无病毒	10.21.2019	100.00	146.61
ADX730	10.21.2019	100.00	215.74
Ad-LacZ	10.21.2019	100.00	155.31
Ad-SOCS3	10.21.2019	100.00	103.64
Ad-p53	10.21.2019	100.00	113.49

[0176] 实时PCR

[0177] [各重组腺病毒载体的导入确认]

[0178] 使包含ADX730的各基因重组腺病毒载体在体外感染细胞,通过实时PCR试验评价各基因的导入是否正常进行。需要说明的是,作为内源性对照基因,使用TBP (TATA-Box结合蛋白) 基因(用于测定TBP基因表达的正向引物:5' -GCCAGCTTCGGAGAGTTCTGGGATT-3'、反向引物:5' -CGGGCACGAAGTGCAATGGTCTTTA-3')。将与该对照基因的表达相对比值作为结果示于图3。

[0179] 研究(a)中,使用靶向HIF-3 α 4的引物,进行利用ADX730的CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因的导入确认和其比较,确认与其它载体相比CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因的表达显著增加。研究(b)中,使用靶向SOCS3的引物,进行利用rAd-SOCS3的SOCS3基因导入确认和其比较,确认与其它载体相比SOCS3基因的表达显著增加。研究(c)中,使用靶向p53的引物,进行利用rAd-p53的p53基因导入确认和其比较,确认与其它载体相比p53基因的表达显著增加。

[0180] [ADX730对CD44下游基因的抑制]

[0181] 使包含ADX730的各基因重组腺病毒载体在体外感染细胞,通过实时PCR试验对是否通过ADX730的CD44诱饵受体的诱饵(decoy)功能抑制了CD44下游基因进行比较研究(图4)。研究(a)中,使用靶向CD44下游的存活蛋白的引物并比较其表达,确认利用ADX730进行的D44/Notch/HIF-3 α 4融合基因的导入使存活蛋白基因的表达显著减少。研究(b)中,使用靶向CD44下游的CCL2的引物并比较其表达,确认利用ADX730进行的D44/Notch/HIF-3 α 4融合基因的导入使CCL2基因的表达显著减少。

[0182] [ADX730对HIF-3 α 4靶基因的抑制]

[0183] 使包含ADX730的各基因重组腺病毒载体在体外感染细胞,通过实时PCR试验对ADX730的HIF-3 α 4的HIF-1 α 功能抑制作用是否抑制了靶基因的表达进行比较研究(图5)。研究(a)中,使用靶向HIF-1 α 靶基因的VEGF的引物并比较了其表达,确认ADX730的导入使该表达显著减少。研究(b)中,使用靶向HIF-1 α 靶基因的细胞周期蛋白G2的引物并比较其表达,确认了:通过导入ADX730,其表达与rAd-SOCS3、rAd-p53相比显著减少。研究(c)中,使用靶向HIF-1 α 靶基因的Bcl-xL的引物并比较其表达,确认了:通过导入ADX730,其表达与rAd-SOCS3相比显著减少。

[0184] 体内试验

[0185] 将包含ADX730的各基因重组腺病毒载体(该研究中,也可以称为癌基因治疗药)肿瘤内给药(注射)至移植了MDA-MB-231人三阴性乳腺癌细胞的裸小鼠,进行其经过观察。对裸小鼠移植癌细胞起14天后开始各治疗药的给药,持续进行了隔天方式的共计八次肿瘤内给药。在移植癌细胞起28天后,获知相对于其它治疗药、对照组而言ADX730给药组显著抑制

了肿瘤的增大(图6)。另外,给药结束后取出全部肿瘤,对其进行比较(图7)。

[0186] 由该结果可知,ADX730即使对于三阴性乳腺癌之类的用现有的治疗药难以治疗的癌也显示高的癌治疗效果。

[0187] 另外,进一步在上述的实时PCR的研究中使用源自乳腺癌的MDA-MB-231细胞,将使用的细胞变更为源自前列腺癌的DU-145细胞、源自胃癌的MKN45细胞、或源自胰腺癌的PANC-1细胞,通过实时PCR法进行利用包含ADX730的各基因重组腺病毒载体的基因导入的确认和由其功能得到的效果的确认。需要说明的是,接种细胞数为 5×10^5 个细胞/孔,使用靶向HIF-3 α 4的引物组(表3)来进行利用ADX730的CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因的导入确认和其比较。将结果示于图8a(DU-145细胞)、图8b(MKN45细胞)、和图8c(PANC-1细胞)。在使用任一细胞时,均确认到了CD44/Notch/HIF-3 α 4融合基因的表达显著增加。

- [0001] 序列表
- [0002] <110> 国立大学法人神戸大学(NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION KOBE UNIVERSITY)
- [0003] <120> 癌基因治疗药
- [0004] <130> P20-246W0
- [0005] <150> JP 2019-239677
- [0006] <151> 2019-12-27
- [0007] <160> 39
- [0008] <170> PatentIn version 3.5
- [0009] <210> 1
- [0010] <211> 735
- [0011] <212> DNA
- [0012] <213> 智人(Homo sapiens)
- [0013] <400> 1
- [0014] atggacaagt tttggtggca cgcagcctgg ggactctgcc tcgtgccgct gaggcctggcg 60
- [0015] cagatcgatt tgaatataac ctgccgcttt gcaggtgtat tccacgtgga gaaaaatggt 120
- [0016] cgctacagca tctctcggac ggaggccgct gacctctgca aggctttcaa tagcaccttg 180
- [0017] cccacaatgg cccagatgga gaaagctctg agcatcggat ttgagacctg caggtatggg 240
- [0018] ttcatagaag ggcacgtggt gattccccgg atccaccca actccatctg tgcagcaaac 300
- [0019] aacacagggg tgtacatcct cacatccaac acctcccagt atgacacata ttgcttcaat 360
- [0020] gcttcagctc cacctgaaga agattgtaca tcagtcacag acctgcccga tgcctttgat 420
- [0021] ggaccaatta ccataactat tgtaaccgt gatggcacc gctatgtcca gaaaggagaa 480
- [0022] tacagaacga atcctgaaga catctacccc agcaacccta ctgatgatga cgtgagcagc 540
- [0023] ggctctcca gtgaaaggag cagcacttca ggaggttaca tcttttacac cttttctact 600
- [0024] gtacaccca tcccagacga agacagtccc tggatcaccg acagcacaga cagaatccct 660
- [0025] gctaccagac actcacatgg gagtcaagaa ggtggagcaa acacaacctc tggctctata 720
- [0026] aggacacccc aaatt 735
- [0027] <210> 2
- [0028] <211> 1029
- [0029] <212> DNA
- [0030] <213> 智人(Homo sapiens)
- [0031] <400> 2
- [0032] atcctggact acagcttcgg ggggtggggcc gggcgcgaca tcccccgcc gctgatcgag 60
- [0033] gaggcgtgcg agctgcccga gtgccaggag gacgcgggca acaaggtctg cagcctgcag 120
- [0034] tgcaacaacc acgcgtgceg ctgggacggc ggtgactgct ccctcaactt caatgacccc 180
- [0035] tggaagaact gcacgcagtc tctgcagtgc tggaagtact tcagtgcagg ccaactgtgac 240
- [0036] agccagtgca actcagccgg ctgcctcttc gacggctttg actgccagcg tgcggaaggc 300
- [0037] cagtgcaccc ccctgtacga ccagtactgc aaggaccact tcagcgacgg gcaactgcgac 360
- [0038] cagggtgca acagcgcgga gtgcgagtgg gacgggctgg actgtgcgga gcatgtaccc 420
- [0039] gagaggctgg cggccggcac gctggtggtg gtggtgctga tgccgccgga gcagctgcgc 480
- [0040] aacagctcct tccacttctt gcgggagctc agccgcgtgc tgcacaccaa cgtggtcttc 540
- [0041] aagcgtgacg cacacggcca gcagatgatc ttcccctact acggccgcca ggaggagctg 600

[0042]	cgcaagcacc ccatcaagcg tgccgccgag ggctgggccc cacctgacgc cctgctgggc	660
[0043]	caggtgaagg cctcgtgct ccctgggtgc agcgagggtg ggccggcgcg gagggagctg	720
[0044]	gaccccatgg acgtccgcg ctccatcgtc tacctggaga ttgacaaccg gcagtgtgtg	780
[0045]	caggcctcct cgcagtgtt ccagagtgc accgacgtgg ccgcattcct gggagcgtc	840
[0046]	gcctcgtg gcagcctcaa catcccctac aagatcgagg ccgtgcagag tgagaccgtg	900
[0047]	gagccgcccc cgccggcgca gctgcacttc atgtacgtgg cggcggccgc ctttgtgctt	960
[0048]	ctgttcttcg tgggctcgg ggtgctgctg tcccgaagc gccggcgca gcatggccag	1020
[0049]	ctctggttc	1029
[0050]	<210>	3
[0051]	<211>	1106
[0052]	<212>	DNA
[0053]	<213>	智人(Homo sapiens)
[0054]	<400>	3
[0055]	gactggcgag ccatggcgt ggggctcag cgcgaaggt cgaccacgga gctgcgcaag	60
[0056]	gaaaagtccc gggatcggc ccgagccgg cgcagccagg agaccgaggt gctgtaccag	120
[0057]	ctggetcaca cgctgccctt cgcccgggc gtcagcggc acctggacaa ggctctatc	180
[0058]	atgcgctca ccatcagcta cctgcgatg caccgctct gcgccgagg ggagtggaac	240
[0059]	caggtgggag cagggggaga accactgat gcctgtacc tgaaggcct ggagggcttc	300
[0060]	gtcatggtgc tcaccgccga gggagacatg gttacctgt cggagaatgt cagcaaacac	360
[0061]	ctggcctca gtcagetgga gctcattgga cacagcatct ttgatttcat ccaccctgt	420
[0062]	gaccaagagg agcttcagga cgccctgacc cccagcaga ccctgtccag gaggaaggtg	480
[0063]	gaggcccca cggagcgtg cttctcctg cgcataaga gtacgtcac cagccgagg	540
[0064]	cgcacctca acctcaaggc ggccacctg aaggtgctga actgctctgg acatatgagg	600
[0065]	gcctacaagc cacctgcga gacttctcca gctgggagcc ctgactcaga gccccgctg	660
[0066]	cagtgcctgg tgctcatctg cgaagccatc cccaccag gcagcctgga gccccactg	720
[0067]	ggccgagggg ctttctcag ccgccacag ctggacatga agttcaccta ctgtgacgac	780
[0068]	aggattgcag aagtggctgg ctatagtccc gatgacctga tcggctgttc cgcctacgag	840
[0069]	tacatccacg cgctggactc cgacgcgtc agcaagagca tccacacctg tatgtatccc	900
[0070]	atttccccag gtgcgaagc agctgcaca tggccccag ctgacaccag gacccccag	960
[0071]	ctcccatac ccaggatgc actgcctccc cacctcaaca ccagctcct gctcccgaag	1020
[0072]	ccccaggaa ctgtctcctt cttgcccc tcatacccag tcccagatc tttctctccc	1080
[0073]	cattgcccc cttggtggcc ctgac	1106
[0074]	<210>	4
[0075]	<211>	2870
[0076]	<212>	DNA
[0077]	<213>	人工序列(Artificial Sequence)
[0078]	<220>	
[0079]	<223>	ADX730的DNA序列
[0080]	<400>	4
[0081]	atggacaagt tttggtggca cgcagcctgg ggactctgcc tcgtgccgct gagcctggcg	60
[0082]	cagatcgatt tgaatataac ctgccgttt gcaggtgtat tccacgtgga gaaaaatggt	120
[0083]	cgctacagca tctctcggac ggaggccgct gacctctgca aggtttcaa tagcaccttg	180

[0084]	cccacaatgg	cccagatgga	gaaagctctg	agcatcggat	ttgagacctg	caggtatggg	240
[0085]	ttcatagaag	ggcacgtggt	gattccccgg	atccaccca	actccatctg	tgcagcaaac	300
[0086]	aacacagggg	tgtacatcct	cacatccaac	acctcccagt	atgacacata	ttgcttcaat	360
[0087]	gcttcagctc	cacctgaaga	agattgtaca	tcagtcacag	acctgccccaa	tgctttgat	420
[0088]	ggaccaatta	ccataactat	tgtaaccgt	gatggcacc	gctatgtcca	gaaaggagaa	480
[0089]	tacagaacga	atcctgaaga	catctacccc	agcaacccta	ctgatgatga	cgtgagcagc	540
[0090]	ggctcctcca	gtgaaaggag	cagcaactca	ggaggttaca	tcttttacac	cttttctact	600
[0091]	gtacaccca	tcccagacga	agacagtccc	tggatcaccg	acagcacaga	cagaatccct	660
[0092]	gctaccagac	actcacatgg	gagtcaagaa	ggtggagcaa	acacaacctc	tggtcctata	720
[0093]	aggacacccc	aaattatcct	ggactacagc	ttcgggggtg	gggccgggcg	cgacatcccc	780
[0094]	ccgccgctga	tcgaggaggc	gtgcgagctg	cccagtgcc	aggaggacgc	gggcaacaag	840
[0095]	gtctgcagcc	tgcagtcaa	caaccacgcg	tgcggtggg	acggcgggtga	ctgctccctc	900
[0096]	aacttcaatg	accctgga	gaactgcagc	cagtctctgc	agtgtctgaa	gtacttcagt	960
[0097]	gacggccact	gtgacagcca	gtgcaactca	gccggctgcc	tcttcgacgg	ctttgactgc	1020
[0098]	cagcgtgcgg	aaggccagtg	caaccctctg	tacgaccagt	actgcaagga	ccacttcagc	1080
[0099]	gacgggact	gcgaccagg	ctgcaacagc	gcggagtgcg	agtgggacgg	gctggactgt	1140
[0100]	gcggagcatg	taccgagag	gctggcggcc	ggcacgctgg	tggtggtggt	gctgatgccg	1200
[0101]	ccggagcagc	tgcgcaacag	ctccttcac	ttcctgcggg	agctcagccg	cgtgctgcac	1260
[0102]	accaacgtgg	tcttaagcg	tgacgcacac	ggccagcaga	tgatcttccc	ctactacggc	1320
[0103]	cgcgaggagg	agctgcgcaa	gcacccatc	aagcgtccg	ccgagggctg	ggccgcacct	1380
[0104]	gacgccctgc	tgggccaggt	gaaggcctcg	ctgctccctg	gtggcagcga	gggtgggcg	1440
[0105]	cggcggagg	agctggacc	catggacgtc	cgcggctcca	tcgtctacct	ggagattgac	1500
[0106]	aaccggcagt	gtgtgcaggc	ctcctgcag	tgcttcaga	gtgccaccga	cgtggccgca	1560
[0107]	ttctgggag	cgctgcctc	gctgggcagc	ctcaacatcc	cctacaagat	cgaggccgtg	1620
[0108]	cagagtgaga	ccgtggagcc	gccccgccg	gcgcagctgc	acttcatgta	cgtggcggcg	1680
[0109]	gccgcctttg	tgttctgtt	cttcgtgggc	tgcgggtgc	tgctgtccc	caagcggcg	1740
[0110]	cggcagcatg	gccagctctg	gttcgactgg	cgagccatgg	cgctggggct	gcagcgcgca	1800
[0111]	aggtcagcca	cggagctgcg	caaggaag	tcccgggatg	cggcccgcag	ccggcgcagc	1860
[0112]	caggagaccg	aggtgtgta	ccagctggct	cacacgtgc	ccttcgccg	cggcgtcagc	1920
[0113]	gcccacctgg	acaaggctc	tatcatgcgc	ctcaccatca	gctacctgcg	catgcaccgc	1980
[0114]	ctctgcgccg	caggggagtg	gaaccagtg	ggagcagggg	gagaaccact	ggatgcctgc	2040
[0115]	tacctgaagg	ccctggagg	cttcgtcatg	gtgctaccg	ccgagggaga	catggcttac	2100
[0116]	ctgtcggaga	atgtcagcaa	acacctggc	ctcagtcagc	tgagctcat	tgacacagc	2160
[0117]	atctttgatt	tcateccacc	ctgtgaccaa	gaggagcttc	aggacgcct	gacccccag	2220
[0118]	cagaccctgt	ccaggaggaa	ggtggaggcc	cccacggagc	ggtgcttctc	cttgcgatg	2280
[0119]	aaggtacgc	tcaccagccg	cgggcgcacc	ctcaacctca	aggcggccac	ctggaaggtg	2340
[0120]	ctgaaactgct	ctggacatat	gaggcctac	aagccactg	cgcagacttc	tccagctggg	2400
[0121]	agccctgact	cagagcccc	gctgcagtc	ctggtgtca	tctgcgaagc	catccccac	2460
[0122]	ccaggcagcc	tgagcccc	actgggccga	ggggccttc	tcagccgcca	cagcctggac	2520
[0123]	atgaagtca	cctactgtga	cgacaggatt	gcagaagtgg	ctggctatag	tccgatgac	2580
[0124]	ctgatcggct	gttccgcta	cgagtacatc	cacgcgctgg	actccgacgc	ggtcagcaag	2640
[0125]	agcatccaca	cctgtatgta	tccatttcc	ccaggtgcga	agccagctgc	cacatggccc	2700

[0126] ccagctgaca ccaggacccc ccagctcccc ataccccagg atgcactgcc tccccacctc 2760
 [0127] aacaccagct ccctgtcccc caagcccaca ggaactgtct ccttccttgc ccctcatac 2820
 [0128] ccagtcccca gatctttctc tcccatttg cccccttggg ggcctgac 2870
 [0129] <210> 5
 [0130] <211> 951
 [0131] <212> PRT
 [0132] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
 [0133] <220>
 [0134] <223> ADX730的氨基酸序列
 [0135] <400> 5
 [0136] Met Asp Lys Phe Trp Trp His Ala Ala Trp Gly Leu Cys Leu Val Pro
 [0137] 1 5 10 15
 [0138] Leu Ser Leu Ala Gln Ile Asp Leu Asn Ile Thr Cys Arg Phe Ala Gly
 [0139] 20 25 30
 [0140] Val Phe His Val Glu Lys Asn Gly Arg Tyr Ser Ile Ser Arg Thr Glu
 [0141] 35 40 45
 [0142] Ala Ala Asp Leu Cys Lys Ala Phe Asn Ser Thr Leu Pro Thr Met Ala
 [0143] 50 55 60
 [0144] Gln Met Glu Lys Ala Leu Ser Ile Gly Phe Glu Thr Cys Arg Tyr Gly
 [0145] 65 70 75 80
 [0146] Phe Ile Glu Gly His Val Val Ile Pro Arg Ile His Pro Asn Ser Ile
 [0147] 85 90 95
 [0148] Cys Ala Ala Asn Asn Thr Gly Val Tyr Ile Leu Thr Ser Asn Thr Ser
 [0149] 100 105 110
 [0150] Gln Tyr Asp Thr Tyr Cys Phe Asn Ala Ser Ala Pro Pro Glu Glu Asp
 [0151] 115 120 125
 [0152] Cys Thr Ser Val Thr Asp Leu Pro Asn Ala Phe Asp Gly Pro Ile Thr
 [0153] 130 135 140
 [0154] Ile Thr Ile Val Asn Arg Asp Gly Thr Arg Tyr Val Gln Lys Gly Glu
 [0155] 145 150 155 160
 [0156] Tyr Arg Thr Asn Pro Glu Asp Ile Tyr Pro Ser Asn Pro Thr Asp Asp
 [0157] 165 170 175
 [0158] Asp Val Ser Ser Gly Ser Ser Ser Glu Arg Ser Ser Thr Ser Gly Gly
 [0159] 180 185 190
 [0160] Tyr Ile Phe Tyr Thr Phe Ser Thr Val His Pro Ile Pro Asp Glu Asp
 [0161] 195 200 205
 [0162] Ser Pro Trp Ile Thr Asp Ser Thr Asp Arg Ile Pro Ala Thr Arg His
 [0163] 210 215 220
 [0164] Ser His Gly Ser Gln Glu Gly Gly Ala Asn Thr Thr Ser Gly Pro Ile
 [0165] 225 230 235 240
 [0166] Arg Thr Pro Gln Ile Ile Leu Asp Tyr Ser Phe Gly Gly Gly Ala Gly
 [0167] 245 250 255

[0168]	Arg Asp Ile Pro Pro Pro Leu Ile Glu Glu Ala Cys Glu Leu Pro Glu
[0169]	260 265 270
[0170]	Cys Gln Glu Asp Ala Gly Asn Lys Val Cys Ser Leu Gln Cys Asn Asn
[0171]	275 280 285
[0172]	His Ala Cys Gly Trp Asp Gly Gly Asp Cys Ser Leu Asn Phe Asn Asp
[0173]	290 295 300
[0174]	Pro Trp Lys Asn Cys Thr Gln Ser Leu Gln Cys Trp Lys Tyr Phe Ser
[0175]	305 310 315 320
[0176]	Asp Gly His Cys Asp Ser Gln Cys Asn Ser Ala Gly Cys Leu Phe Asp
[0177]	325 330 335
[0178]	Gly Phe Asp Cys Gln Arg Ala Glu Gly Gln Cys Asn Pro Leu Tyr Asp
[0179]	340 345 350
[0180]	Gln Tyr Cys Lys Asp His Phe Ser Asp Gly His Cys Asp Gln Gly Cys
[0181]	355 360 365
[0182]	Asn Ser Ala Glu Cys Glu Trp Asp Gly Leu Asp Cys Ala Glu His Val
[0183]	370 375 380
[0184]	Pro Glu Arg Leu Ala Ala Gly Thr Leu Val Val Val Val Leu Met Pro
[0185]	385 390 395 400
[0186]	Pro Glu Gln Leu Arg Asn Ser Ser Phe His Phe Leu Arg Glu Leu Ser
[0187]	405 410 415
[0188]	Arg Val Leu His Thr Asn Val Val Phe Lys Arg Asp Ala His Gly Gln
[0189]	420 425 430
[0190]	Gln Met Ile Phe Pro Tyr Tyr Gly Arg Glu Glu Glu Leu Arg Lys His
[0191]	435 440 445
[0192]	Pro Ile Lys Arg Ala Ala Glu Gly Trp Ala Ala Pro Asp Ala Leu Leu
[0193]	450 455 460
[0194]	Gly Gln Val Lys Ala Ser Leu Leu Pro Gly Gly Ser Glu Gly Gly Arg
[0195]	465 470 475 480
[0196]	Arg Arg Arg Glu Leu Asp Pro Met Asp Val Arg Gly Ser Ile Val Tyr
[0197]	485 490 495
[0198]	Leu Glu Ile Asp Asn Arg Gln Cys Val Gln Ala Ser Ser Gln Cys Phe
[0199]	500 505 510
[0200]	Gln Ser Ala Thr Asp Val Ala Ala Phe Leu Gly Ala Leu Ala Ser Leu
[0201]	515 520 525
[0202]	Gly Ser Leu Asn Ile Pro Tyr Lys Ile Glu Ala Val Gln Ser Glu Thr
[0203]	530 535 540
[0204]	Val Glu Pro Pro Pro Pro Ala Gln Leu His Phe Met Tyr Val Ala Ala
[0205]	545 550 555 560
[0206]	Ala Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu Leu Ser
[0207]	565 570 575
[0208]	Arg Lys Arg Arg Arg Gln His Gly Gln Leu Trp Phe Met Ala Leu Gly
[0209]	580 585 590

[0210]	Leu Gln Arg Ala Arg Ser Thr Thr Glu Leu Arg Lys Glu Lys Ser Arg
[0211]	595 600 605
[0212]	Asp Ala Ala Arg Ser Arg Arg Ser Gln Glu Thr Glu Val Leu Tyr Gln
[0213]	610 615 620
[0214]	Leu Ala His Thr Leu Pro Phe Ala Arg Gly Val Ser Ala His Leu Asp
[0215]	625 630 635 640
[0216]	Lys Ala Ser Ile Met Arg Leu Thr Ile Ser Tyr Leu Arg Met His Arg
[0217]	645 650 655
[0218]	Leu Cys Ala Ala Gly Glu Trp Asn Gln Val Gly Ala Gly Gly Glu Pro
[0219]	660 665 670
[0220]	Leu Asp Ala Cys Tyr Leu Lys Ala Leu Glu Gly Phe Val Met Val Leu
[0221]	675 680 685
[0222]	Thr Ala Glu Gly Asp Met Ala Tyr Leu Ser Glu Asn Val Ser Lys His
[0223]	690 695 700
[0224]	Leu Gly Leu Ser Gln Leu Glu Leu Ile Gly His Ser Ile Phe Asp Phe
[0225]	705 710 715 720
[0226]	Ile His Pro Cys Asp Gln Glu Glu Leu Gln Asp Ala Leu Thr Pro Gln
[0227]	725 730 735
[0228]	Gln Thr Leu Ser Arg Arg Lys Val Glu Ala Pro Thr Glu Arg Cys Phe
[0229]	740 745 750
[0230]	Ser Leu Arg Met Lys Ser Thr Leu Thr Ser Arg Gly Arg Thr Leu Asn
[0231]	755 760 765
[0232]	Leu Lys Ala Ala Thr Trp Lys Val Leu Asn Cys Ser Gly His Met Arg
[0233]	770 775 780
[0234]	Ala Tyr Lys Pro Pro Ala Gln Thr Ser Pro Ala Gly Ser Pro Asp Ser
[0235]	785 790 795 800
[0236]	Glu Pro Pro Leu Gln Cys Leu Val Leu Ile Cys Glu Ala Ile Pro His
[0237]	805 810 815
[0238]	Pro Gly Ser Leu Glu Pro Pro Leu Gly Arg Gly Ala Phe Leu Ser Arg
[0239]	820 825 830
[0240]	His Ser Leu Asp Met Lys Phe Thr Tyr Cys Asp Asp Arg Ile Ala Glu
[0241]	835 840 845
[0242]	Val Ala Gly Tyr Ser Pro Asp Asp Leu Ile Gly Cys Ser Ala Tyr Glu
[0243]	850 855 860
[0244]	Tyr Ile His Ala Leu Asp Ser Asp Ala Val Ser Lys Ser Ile His Thr
[0245]	865 870 875 880
[0246]	Cys Met Tyr Pro Ile Ser Pro Gly Ala Lys Pro Ala Ala Thr Trp Pro
[0247]	885 890 895
[0248]	Pro Ala Asp Thr Arg Thr Pro Gln Leu Pro Ile Pro Gln Asp Ala Leu
[0249]	900 905 910
[0250]	Pro Pro His Leu Asn Thr Ser Ser Leu Leu Pro Lys Pro Gln Gly Thr
[0251]	915 920 925

[0252] Val Ser Phe Leu Ala Pro Ser Tyr Pro Val Pro Arg Ser Phe Ser Pro
 [0253] 930 935 940
 [0254] His Leu Pro Pro Trp Trp Pro
 [0255] 945 950
 [0256] <210> 6
 [0257] <211> 1023
 [0258] <212> DNA
 [0259] <213> 智人(Homo sapiens)
 [0260] <400> 6
 [0261] atggacaagt tttggtggca cgcagcctgg ggactctgcc tcgtgccgct gaggcctggcg 60
 [0262] cagatcgatt tgaatataac ctgccgcttt gcaggtgtat tccacgtgga gaaaaatggt 120
 [0263] cgctacagca tctctcggac ggagggcctg gacctctgca aggccttcaa tagcaccttg 180
 [0264] cccacaatgg cccagatgga gaaagctctg agcatcggat ttgagacctg caggtatggg 240
 [0265] ttcatagaag ggcacgtggt gattccccgg atccaccca actccatctg tgcagcaaac 300
 [0266] aacacagggg tgtacatcct cacatccaac acctcccagt atgacacata ttgcttcaat 360
 [0267] gcttcagctc cacctgaaga agattgtaca tcagtcacag acctgcccga tgcctttgat 420
 [0268] ggaccaatta ccataactat tgtaaccgt gatggcacc gctatgtcca gaaaggagaa 480
 [0269] tacagaacga atcctgaaga catctacccc agcaacccta ctgatgatga cgtgagcagc 540
 [0270] ggctcctcca gtgaaaggag cagcacttca ggaggttaca tcttttacac cttttctact 600
 [0271] gtacaccca tcccagacga agacagtccc tggatcaccg acagcacaga cagaatccct 660
 [0272] gctaccagac actcacatgg gactcaagaa ggtggagcaa acacaacctc tggctcctata 720
 [0273] aggacacccc aaattccaga atggctgac atcttggcat ccctcttggc cttggctttg 780
 [0274] attcttgacg tttgcattgc agtcaacagt cgaagaaggt gtgggcagaa gaaaaagcta 840
 [0275] gtgatcaaca gtggcaatgg agctgtggag gacagaaagc caagtggact caacggagag 900
 [0276] gccagcaagt ctcagaaat ggtgcatttg gtgaacaagg agtcgtcaga aactccagac 960
 [0277] cagtttatga cagctgatga gacaaggaac ctgcagaatg tggacatgaa gattgggggtg 1020
 [0278] taa 1023
 [0279] <210> 7
 [0280] <211> 7693
 [0281] <212> DNA
 [0282] <213> 智人(Homo sapiens)
 [0283] <400> 7
 [0284] atgccgccgc tcttggcgcc cctgctctgc ctggcgctgc tgcccgcgct cgccgcacga 60
 [0285] ggcccgcgat gctcccagcc cggtagagacc tgctgaaatg gcgggaagtg tgaagcggcc 120
 [0286] aatggcacgg aggctgcgt ctgtggcggg gccttcgtgg gcccgcgatg ccaggacccc 180
 [0287] aaccctgcc tcagcacccc ctgcaagaac gccgggacat gccacgtggt ggaccgcaga 240
 [0288] ggcgtggcag actatgcctg cagctgtgcc ctgggcttct ctgggcccct ctgcctgaca 300
 [0289] cccctggaca acgctgcct caccaacccc tgccgcaacg ggggcacctg cgacctgctc 360
 [0290] acgctgacgg agtacaagtg ccgctgccc cccggtggtg cagggaatc gtgccagcag 420
 [0291] gctgaccctg gcgcctcaa cccctgcgcc aacggtggcc agtgcctgcc cttcgaggcc 480
 [0292] tcctacatct gccactgccc acccagcttc catggcccca cctgccggca ggatgtcaac 540
 [0293] gagtgtggcc agaagcccag gctttgccc caggaggca cctgccacaa cgaggctcggc 600

[0294]	tcctaccgct	gcgtctgccg	cgccacccac	actggcccca	actgcgagcg	gccctacgtg	660
[0295]	ccctgcagcc	cctcgccttg	ccagaacggg	ggcacctgcc	gccccacggg	cgacgtcacc	720
[0296]	cacgagtgtg	cctgcctgcc	aggcttcacc	ggccagaact	gtgaggaaaa	tatcgacgat	780
[0297]	tgtccaggaa	acaactgcaa	gaacgggggt	gcctgtgtgg	acggcgtgaa	cacctacaac	840
[0298]	tgcccgtgcc	cgccagagtg	gacaggtcag	tactgtaccg	aggatgtgga	cgagtgccag	900
[0299]	ctgatgccaa	atgcctgcca	gaacggcggg	acctgccaca	acaccacggg	tggtacaac	960
[0300]	tgcgtgtgtg	tcaacggctg	gactggtgag	gactgcagcg	agaacattga	tgactgtgcc	1020
[0301]	agcggccct	gcttcacgg	cgccacctgc	catgacctgt	tggcctcctt	ttactgcgag	1080
[0302]	tgtcccatg	gccgcacagg	tctgctgtgc	cacctcaacg	acgcatgcat	cagcaacccc	1140
[0303]	tgtaacgagg	gctccaactg	cgacaccaac	cctgtcaatg	gcaaggccat	ctgcacctgc	1200
[0304]	ccctcgggg	acacggggcc	ggcctgcagc	caggacgtgg	atgagtgtct	gctgggtgcc	1260
[0305]	aaccctgcg	agcatcgggg	caagtgcac	aacacgtgg	gctccttcga	gtgccagtgt	1320
[0306]	ctgcagggt	acacggggcc	ccgatgcgag	atcgacgtca	acgagtgcgt	ctcgaacccg	1380
[0307]	tgccagaacg	acgccacctg	cctggaccag	attggggagt	tccagtgcac	gtgcatgccc	1440
[0308]	ggctacgagg	gtgtgactg	cgaggtcaac	acagacgagt	gtgccagcag	cccctgcctg	1500
[0309]	cacaatggcc	gctgcctgga	caagatcaat	gagttccagt	gcgagtgtcc	cacgggcttc	1560
[0310]	actgggcac	tgtgccagta	cgatgtggac	gagtgtgcca	gcacccctg	caagaatggt	1620
[0311]	gccaaagtcc	tggacggacc	caacacttac	acctgtgtgt	gcacggaagg	gtacacgggg	1680
[0312]	acgcactgcg	aggtggacat	cgatgagtgc	gaccccgacc	cctgccacta	cggtcctgct	1740
[0313]	aaggacggcg	tcgccacctt	cacctgcctc	tgccgccag	gctacacggg	ccaccactgc	1800
[0314]	gagaccaaca	tcaacgagtg	ctccagccag	ccctgccgcc	tacggggcac	ctgccaggac	1860
[0315]	ccggacaacg	cctacctctg	cttctgcctg	aaggggacca	caggacccaa	ctgcgagatc	1920
[0316]	aacctggatg	actgtgccag	cagcccctgc	gactcgggca	cctgtctgga	caagatcgat	1980
[0317]	ggctacgagt	gtgcctgtga	gccgggctac	acaggagca	tgtgtaacag	caacatcgat	2040
[0318]	gagtgtgagg	gcaacccctg	ccacaacggg	ggcacctgcg	aggacggcat	caatggcttc	2100
[0319]	acctgccgct	gccccgagg	ctaccagac	cccacctgcc	tgtctgaggt	caatgagtgc	2160
[0320]	aacagcaacc	cctgcgtcca	cggggcctgc	cgggacagcc	tcaacgggta	caagtgcgac	2220
[0321]	tgtgacctg	ggtggagtgg	gaccaactgt	gacatcaaca	acaacgagtg	tgaatccaac	2280
[0322]	ccttgtgtca	acggcggcac	ctgcaaagac	atgaccagtg	gcategtgtg	cacctgccgg	2340
[0323]	gagggttca	gcggtcccaa	ctgccagacc	aacatcaacg	agtgtgcgtc	caacccatgt	2400
[0324]	ctgaacaagg	gcacgtgtat	tgacgacgtt	gccgggtaca	agtgcaactg	cctgctgccc	2460
[0325]	tacacaggtg	ccacgtgtga	ggtggtgctg	gccccgtgtg	ccccagccc	ctgcagaaac	2520
[0326]	ggcggggagt	gcaggcaatc	cgaggactat	gagagcttct	cctgtgtctg	ccccacggct	2580
[0327]	ggggccaaag	ggcagacctg	tgaggtcgac	atcaacgagt	gcgttctgag	cccgtgccgg	2640
[0328]	cacggcgcac	cctgccagaa	caccacggc	gsstaccgct	gccactgcca	ggccggctac	2700
[0329]	agtggcgca	actgcgagac	cgacatcgac	gactgccggc	ccaacccgtg	tcacaacggg	2760
[0330]	ggctcctgca	cagacggcat	caacacggcc	ttctgcgact	gcctgcccgg	cttccggggc	2820
[0331]	actttctgtg	aggaggacat	caacgagtgt	gccagtgacc	cctgccgcaa	cggggccaac	2880
[0332]	tgcacggact	gcgtggacag	ctacacgtgc	acctgccccg	caggcttcag	cgggatccac	2940
[0333]	tgtgagaaca	acacgcctga	ctgcacagag	agctcctgct	tcaacggtgg	cacctgcgtg	3000
[0334]	gacggcatca	actcgttcac	ctgcctgtgt	ccacccggct	tcacgggcag	ctactgccag	3060
[0335]	cacgtagtca	atgagtgcga	ctcacgacc	tgectgctag	gcggcacctg	tcaggacggt	3120

[0336] cgcggtctcc acaggtgcac ctgccccag ggctacactg gccccaactg ccagaacctt 3180
[0337] gtgcaactggt gtgactcctc gccctgcaag aacggcggca aatgctggca gaccacacacc 3240
[0338] cagtaccgct gcgagtgcc cagcggttg accggccttt actgcgactg gcccagcgtg 3300
[0339] tcctgtgagg tggctgcgca gcgacaaggt gttgacgttg cccgcctgtg ccagcatgga 3360
[0340] gggctctgtg tggacgcggg caacacgcac cactgccgct gccaggcggg ctacacaggc 3420
[0341] agctactgtg aggacctggt ggacgagtgc tcaccagcc cctgccagaa cggggccacc 3480
[0342] tgcacggact acctggcgg ctactcctgc aagtgcgtgg ccggctacca cggggtgaac 3540
[0343] tgctctgagg agatcgacga gtgcctctcc caccctgcc agaacggggg cacctgcctc 3600
[0344] gacctccca acacctaaa gtgctcctgc ccacggggca ctcagggtgt gcaactgtgag 3660
[0345] atcaacgtgg acgactgcaa tcccccggt gacccctgt cccggagccc caagtgttt 3720
[0346] aacaacggca cctgcgtgga ccagggtggc ggctacagct gcacctgcc gccgggcttc 3780
[0347] gtgggtgagc gctgtgagg ggatgtcaac gactgcctgt ccaatccctg cgacgcccgt 3840
[0348] ggcaccaga actgcgtgca gcgcgtcaat gacttccact gcgagtgcc tgctggtcac 3900
[0349] accgggcgcc gctgcgagtc cgtcatcaat ggctgcaaag gcaagccctg caagaatggg 3960
[0350] ggcacctgcg ccgtggcctc caacaccgcc cgcgggttca tctgcaagt ccctgcgggc 4020
[0351] ttgagggcg ccacgtgtga gaatgacgt cgtacctgc gcagcctgc ctgcctcaac 4080
[0352] ggcggcacat gcactccgg cccgcgcagc cccacctgcc tgtgcctggg ccccttcacg 4140
[0353] ggccccgaat gccagttccc ggccagcagc ccctgcctgg gcggcaacc ctgctacaac 4200
[0354] caggggacct gtgagcccac atccgagagc cccttctacc gttgcctgtg ccccgccaaa 4260
[0355] ttcaacgggc tcttgtgcca catcctggac tacagcttcg ggggtggggc cgggcgcgac 4320
[0356] atccccgc cgctgatga ggaggcgtgc gagctcccc agtgccagga ggacgcgggc 4380
[0357] aacaaggtct gcagcctgca gtgcaacaac cacgcgtgc gctgggacgg cggtgactgc 4440
[0358] tccctcaact tcaatgacc ctggaagaac tgcacgcagt ctctgcagt ctggaagtac 4500
[0359] ttcagtgac gccactgtga cagccagtgc aactcagcc gctgcctctt cgacggcttt 4560
[0360] gactgccagc gtgcggaagg ccagtgaac ccctgtacg accagtactg caaggaccac 4620
[0361] ttcagcgac ggcactgca ccagggtgc aacagcggc agtgcgagt ggacgggctg 4680
[0362] gactgtgcgg agcatgtacc cgagaggctg gcggccggca cgctggtggt ggtggtgctg 4740
[0363] atgcccccgg agcagctgc caacagctcc ttccacttcc tgcgggagct cagccgcgtg 4800
[0364] ctgcacacca acgtggtctt caagcgtgac gcacacggcc agcagatgat ctccctac 4860
[0365] tacggccgc aggaggagct gcgcaagcac cccatcaagc gtgccccga gggctgggc 4920
[0366] gcacctgacg ccctgtggg ccaggtaag gcctcgtgc tcctggtgg cagcagggt 4980
[0367] gggcggcggc ggaggagct ggacccatg gacgtccgc gctccatct ctacctggag 5040
[0368] attgacaacc ggcagtgtgt gcaggcctc tcgagtgt tccagagtgc caccgactg 5100
[0369] gccgattcc tgggagcgt cgcctcgtg ggcagcctca acatccccta caagatcgag 5160
[0370] gccgtgcaga gtgagaccgt ggagccccc ccgccgggc agctgcact catgtactg 5220
[0371] gggcggccg ctttgtgct tctgttctc gtgggctgc ggggtgctgt gtcccgaag 5280
[0372] cgccggcggc agcatggcca gctctggtc cctgagggt tcaaagtgc tgaggccagc 5340
[0373] aagaagaagc ggcgggagcc cctcggcgag gactccgtgg gcctcaagcc cctgaagaac 5400
[0374] gcttcagac gtgccctcat ggacgacaac cagaatgagt ggggggacga ggacctggag 5460
[0375] accaagaagt tccggtcga ggagcccgt gttctgcctg acctggacga ccagacagac 5520
[0376] caccggcagt ggactcagca gcacctgat gccgctgacc tgcgcatgtc tgccatggc 5580
[0377] cccacaccgc cccagggtga ggttgaccg cactgcatgg acgtcaatgt ccgcgggct 5640

[0378]	gatggcttca ccccgctcat gatcgctcc tgcagcggg gcggcctgga gacgggcaac	5700
[0379]	agcgaggaag aggaggacgc gccggcgtc atctccgact tcatctacca gggcgccagc	5760
[0380]	ctgcacaacc agacagaccg cacgggcgag accgccttgc acctggccgc ccgctactca	5820
[0381]	cgctctgatg ccgccaagcg cctgctggag gccagcgcag atgccaacat ccaggacaac	5880
[0382]	atgggcccga ccccgctgca tgcggctgtg tctgccgacg cacaaggtgt cttccagatc	5940
[0383]	ctgatccgga accgagccac agacctgat gcccgcatgc atgatggcac gacgccactg	6000
[0384]	atcttggtg cccgctggc cgtggaggc atgctggagg acctcatcaa ctcacagcc	6060
[0385]	gacgtcaacg ccgtagatga cctgggcaag tccgccctgc actgggcccgc cgccgtgaac	6120
[0386]	aatgtggatg ccgcaattgt gctcctgaag aacggggcta acaaagatat gcagaacaac	6180
[0387]	agggaggaga caccctgtt tctggcccgc cgggagggca gctacgagac cgccaaggtg	6240
[0388]	ctgctggacc actttgcaa ccgggacatc acggatcata tggaccgct gccgcgcgac	6300
[0389]	atcgacagg agcgcacgca tcacgacatc gtgaggctgc tggacgagta caacctggtg	6360
[0390]	cgcagcccgc agctgcacgg agccccgtg gggggcacgc ccacctgtc gccccgctc	6420
[0391]	tgctgcccga acggctacct gggcagcctc aagcccggcg tgcagggcaa gaaggtccgc	6480
[0392]	aagcccagca gaaaggcct ggcctgtgga agcaaggagg ccaaggacct caaggcacgg	6540
[0393]	aggaagaagt cccaggatgg caagggtgc ctgctggaca gctccggcat gctctcgccc	6600
[0394]	gtggactccc tggagtcacc ccatggctac ctgtcagacg tggcctcgc gccactgctg	6660
[0395]	ccctcccgt tccagcagtc tccgtcgtg ccctcaacc acctgcctgg gatgcccagc	6720
[0396]	accacctgg gcatcgggca cctgaacgtg gcggccaagc ccgagatggc ggcgctgggt	6780
[0397]	ggggcgggcc ggctggcctt tgagactggc ccacctgtc tctcccact gctgtggcc	6840
[0398]	tctggacca gcacctcct gggctccagc agcggagggg ccctgaattt cactgtgggc	6900
[0399]	gggtccacca gtttgaatgg tcaatgcgag tggctgtccc ggctgcagag cggcatggtg	6960
[0400]	ccgaaccaat acaacctct gcgggggagt gtggcaccag gccccctgag cacacaggcc	7020
[0401]	ccctccctgc agcatggcat ggtaggcccg ctgcacagta gccttctgtc cagcgcctg	7080
[0402]	tcccagatga tgagctacca gggcctgccc agcaccggc tggccacca gcctcacctg	7140
[0403]	gtcagaccc agcagtgca gccacaaaac ttacagatgc agcagcagaa cctgcagcca	7200
[0404]	gcaaacatcc agcagcagca aagcctgcag ccgccaccac caccaccaca gccgcacct	7260
[0405]	ggcgtgagct cagcagccag cggccacctg ggccggagct tctgagtg agagccgagc	7320
[0406]	caggcagacg tgcagccact gggccccagc agcctggcgg tgcacactat tctgccccag	7380
[0407]	gagagccccg cctgcccac gtcgtgcca tctcgtgtg tcccaccgt gaccgcagcc	7440
[0408]	cagttcctga cccccctc gcagcacagc tactcctgc ctgtggacaa cccccagc	7500
[0409]	caccagctac aggtgcctga gcacccttc ctgaccctt cgccggagtc gcccgaccaa	7560
[0410]	tggtgtcct cgtcgcgca ctctaattgt tctgactggt ctgaggcgt gtcgtcgccc	7620
[0411]	ccgacctca tgcagtcca gatcgcgcg atcccggagg cgttcaagta atagctcgag	7680
[0412]	gtgccagcag ctc	7693
[0413]	<210>	8
[0414]	<211>	1106
[0415]	<212>	DNA
[0416]	<213>	智人(Homo sapiens)
[0417]	<400>	8
[0418]	gactggcgag ccatggcgt ggggctgcag cgcgcaaggt cgaccacgga gctgcgcaag	60
[0419]	gaaaagtccc gggatgcggc ccgagccgg cgcagccagg agaccgaggt gctgtaccag	120

[0420] ctggctcaca cgctgccctt cgcccgcggc gtcagcgccc acctggacaa ggcctctatc 180
 [0421] atgcgcctca ccatcagcta cctgcgcatg caccgcctct gcgccgcagg ggagtggaa 240
 [0422] caggtgggag cagggggaga accactggat gcttgetacc tgaaggccct ggagggttc 300
 [0423] gtcatggtgc tcaccgccga gggagacatg gcttacctgt cggagaatgt cagcaaacac 360
 [0424] ctgggcctca gtcagctgga gctcattgga cacagcatct ttgatttcat ccaccctgt 420
 [0425] gaccaagagg agcttcagga cgccctgacc ccccagcaga ccctgtccag gaggaaggtg 480
 [0426] gagggcccca cggagcggtg cttctccttg cgcatgaaga gtacgctcac cagccgcggg 540
 [0427] cgcaccctca acctcaaggc ggccacctgg aaggtgctga actgctctgg acatatgagg 600
 [0428] gcctacaagc cacctgcgca gacttctcca gctgggagcc ctgactcaga gccccgctg 660
 [0429] cagtgcctgg tgctcatctg cgaagccatc ccccaccag gcagcctgga gccccactg 720
 [0430] ggccgagggg ctttctcag ccgccacagc ctggacatga agttcaccta ctgtgacgac 780
 [0431] aggattgcag aagtggctgg ctatagtccc gatgacctga tcggctgttc cgcctacgag 840
 [0432] tacatccacg cgctggactc cgacgcggtc agcaagagca tccacacctg tatgtatccc 900
 [0433] atttccccag gtgcgaagcc agctgccaca tggccccag ctgacaccag gacccccag 960
 [0434] ctcccatac cccaggatgc actgcctccc cacctcaaca ccagctcctt gctcccacag 1020
 [0435] cccaagaa ctgtctcctt cttgcccc tcataccag tcccagatc tttctctccc 1080
 [0436] catttcccc cttggtggcc ctgac 1106
 [0437] <210> 9
 [0438] <211> 340
 [0439] <212> PRT
 [0440] <213> 智人(Homo sapiens)
 [0441] <400> 9
 [0442] Met Asp Lys Phe Trp Trp His Ala Ala Trp Gly Leu Cys Leu Val Pro
 [0443] 1 5 10 15
 [0444] Leu Ser Leu Ala Gln Ile Asp Leu Asn Ile Thr Cys Arg Phe Ala Gly
 [0445] 20 25 30
 [0446] Val Phe His Val Glu Lys Asn Gly Arg Tyr Ser Ile Ser Arg Thr Glu
 [0447] 35 40 45
 [0448] Ala Ala Asp Leu Cys Lys Ala Phe Asn Ser Thr Leu Pro Thr Met Ala
 [0449] 50 55 60
 [0450] Gln Met Glu Lys Ala Leu Ser Ile Gly Phe Glu Thr Cys Arg Tyr Gly
 [0451] 65 70 75 80
 [0452] Phe Ile Glu Gly His Val Val Ile Pro Arg Ile His Pro Asn Ser Ile
 [0453] 85 90 95
 [0454] Cys Ala Ala Asn Asn Thr Gly Val Tyr Ile Leu Thr Ser Asn Thr Ser
 [0455] 100 105 110
 [0456] Gln Tyr Asp Thr Tyr Cys Phe Asn Ala Ser Ala Pro Pro Glu Glu Asp
 [0457] 115 120 125
 [0458] Cys Thr Ser Val Thr Asp Leu Pro Asn Ala Phe Asp Gly Pro Ile Thr
 [0459] 130 135 140
 [0460] Ile Thr Ile Val Asn Arg Asp Gly Thr Arg Tyr Val Gln Lys Gly Glu
 [0461] 145 150 155 160

[0462] Tyr Arg Thr Asn Pro Glu Asp Ile Tyr Pro Ser Asn Pro Thr Asp Asp
 [0463] 165 170 175
 [0464] Asp Val Ser Ser Gly Ser Ser Ser Glu Arg Ser Ser Thr Ser Gly Gly
 [0465] 180 185 190
 [0466] Tyr Ile Phe Tyr Thr Phe Ser Thr Val His Pro Ile Pro Asp Glu Asp
 [0467] 195 200 205
 [0468] Ser Pro Trp Ile Thr Asp Ser Thr Asp Arg Ile Pro Ala Thr Arg His
 [0469] 210 215 220
 [0470] Ser His Gly Ser Gln Glu Gly Gly Ala Asn Thr Thr Ser Gly Pro Ile
 [0471] 225 230 235 240
 [0472] Arg Thr Pro Gln Ile Pro Glu Trp Leu Ile Ile Leu Ala Ser Leu Leu
 [0473] 245 250 255
 [0474] Ala Leu Ala Leu Ile Leu Ala Val Cys Ile Ala Val Asn Ser Arg Arg
 [0475] 260 265 270
 [0476] Arg Cys Gly Gln Lys Lys Lys Leu Val Ile Asn Ser Gly Asn Gly Ala
 [0477] 275 280 285
 [0478] Val Glu Asp Arg Lys Pro Ser Gly Leu Asn Gly Glu Ala Ser Lys Ser
 [0479] 290 295 300
 [0480] Gln Glu Met Val His Leu Val Asn Lys Glu Ser Ser Glu Thr Pro Asp
 [0481] 305 310 315 320
 [0482] Gln Phe Met Thr Ala Asp Glu Thr Arg Asn Leu Gln Asn Val Asp Met
 [0483] 325 330 335
 [0484] Lys Ile Gly Val
 [0485] 340
 [0486] <210> 10
 [0487] <211> 2556
 [0488] <212> PRT
 [0489] <213> 智人(Homo sapiens)
 [0490] <220>
 [0491] <221> misc_feature
 [0492] <222> (891) .. (891)
 [0493] <223> Xaa可以是任何天然存在的氨基酸
 [0494] <400> 10
 [0495] Met Pro Pro Leu Leu Ala Pro Leu Leu Cys Leu Ala Leu Leu Pro Ala
 [0496] 1 5 10 15
 [0497] Leu Ala Ala Arg Gly Pro Arg Cys Ser Gln Pro Gly Glu Thr Cys Leu
 [0498] 20 25 30
 [0499] Asn Gly Gly Lys Cys Glu Ala Ala Asn Gly Thr Glu Ala Cys Val Cys
 [0500] 35 40 45
 [0501] Gly Gly Ala Phe Val Gly Pro Arg Cys Gln Asp Pro Asn Pro Cys Leu
 [0502] 50 55 60
 [0503] Ser Thr Pro Cys Lys Asn Ala Gly Thr Cys His Val Val Asp Arg Arg

[0504]	65	70	75	80
[0505]	Gly Val Ala Asp Tyr Ala Cys Ser Cys Ala Leu Gly Phe Ser Gly Pro			
[0506]		85	90	95
[0507]	Leu Cys Leu Thr Pro Leu Asp Asn Ala Cys Leu Thr Asn Pro Cys Arg			
[0508]		100	105	110
[0509]	Asn Gly Gly Thr Cys Asp Leu Leu Thr Leu Thr Glu Tyr Lys Cys Arg			
[0510]		115	120	125
[0511]	Cys Pro Pro Gly Trp Ser Gly Lys Ser Cys Gln Gln Ala Asp Pro Cys			
[0512]		130	135	140
[0513]	Ala Ser Asn Pro Cys Ala Asn Gly Gly Gln Cys Leu Pro Phe Glu Ala			
[0514]	145	150	155	160
[0515]	Ser Tyr Ile Cys His Cys Pro Pro Ser Phe His Gly Pro Thr Cys Arg			
[0516]		165	170	175
[0517]	Gln Asp Val Asn Glu Cys Gly Gln Lys Pro Arg Leu Cys Arg His Gly			
[0518]		180	185	190
[0519]	Gly Thr Cys His Asn Glu Val Gly Ser Tyr Arg Cys Val Cys Arg Ala			
[0520]		195	200	205
[0521]	Thr His Thr Gly Pro Asn Cys Glu Arg Pro Tyr Val Pro Cys Ser Pro			
[0522]		210	215	220
[0523]	Ser Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Arg Pro Thr Gly Asp Val Thr			
[0524]	225	230	235	240
[0525]	His Glu Cys Ala Cys Leu Pro Gly Phe Thr Gly Gln Asn Cys Glu Glu			
[0526]		245	250	255
[0527]	Asn Ile Asp Asp Cys Pro Gly Asn Asn Cys Lys Asn Gly Gly Ala Cys			
[0528]		260	265	270
[0529]	Val Asp Gly Val Asn Thr Tyr Asn Cys Pro Cys Pro Pro Glu Trp Thr			
[0530]		275	280	285
[0531]	Gly Gln Tyr Cys Thr Glu Asp Val Asp Glu Cys Gln Leu Met Pro Asn			
[0532]		290	295	300
[0533]	Ala Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys His Asn Thr His Gly Gly Tyr Asn			
[0534]	305	310	315	320
[0535]	Cys Val Cys Val Asn Gly Trp Thr Gly Glu Asp Cys Ser Glu Asn Ile			
[0536]		325	330	335
[0537]	Asp Asp Cys Ala Ser Ala Ala Cys Phe His Gly Ala Thr Cys His Asp			
[0538]		340	345	350
[0539]	Arg Val Ala Ser Phe Tyr Cys Glu Cys Pro His Gly Arg Thr Gly Leu			
[0540]		355	360	365
[0541]	Leu Cys His Leu Asn Asp Ala Cys Ile Ser Asn Pro Cys Asn Glu Gly			
[0542]		370	375	380
[0543]	Ser Asn Cys Asp Thr Asn Pro Val Asn Gly Lys Ala Ile Cys Thr Cys			
[0544]	385	390	395	400
[0545]	Pro Ser Gly Tyr Thr Gly Pro Ala Cys Ser Gln Asp Val Asp Glu Cys			

[0546]		405		410		415
[0547]	Ser Leu Gly Ala Asn Pro Cys Glu His Ala Gly Lys Cys Ile Asn Thr					
[0548]		420		425		430
[0549]	Leu Gly Ser Phe Glu Cys Gln Cys Leu Gln Gly Tyr Thr Gly Pro Arg					
[0550]		435		440		445
[0551]	Cys Glu Ile Asp Val Asn Glu Cys Val Ser Asn Pro Cys Gln Asn Asp					
[0552]		450		455		460
[0553]	Ala Thr Cys Leu Asp Gln Ile Gly Glu Phe Gln Cys Met Cys Met Pro					
[0554]		465		470		475
[0555]	Gly Tyr Glu Gly Val His Cys Glu Val Asn Thr Asp Glu Cys Ala Ser					
[0556]		485		490		495
[0557]	Ser Pro Cys Leu His Asn Gly Arg Cys Leu Asp Lys Ile Asn Glu Phe					
[0558]		500		505		510
[0559]	Gln Cys Glu Cys Pro Thr Gly Phe Thr Gly His Leu Cys Gln Tyr Asp					
[0560]		515		520		525
[0561]	Val Asp Glu Cys Ala Ser Thr Pro Cys Lys Asn Gly Ala Lys Cys Leu					
[0562]		530		535		540
[0563]	Asp Gly Pro Asn Thr Tyr Thr Cys Val Cys Thr Glu Gly Tyr Thr Gly					
[0564]		545		550		555
[0565]	Thr His Cys Glu Val Asp Ile Asp Glu Cys Asp Pro Asp Pro Cys His					
[0566]		565		570		575
[0567]	Tyr Gly Ser Cys Lys Asp Gly Val Ala Thr Phe Thr Cys Leu Cys Arg					
[0568]		580		585		590
[0569]	Pro Gly Tyr Thr Gly His His Cys Glu Thr Asn Ile Asn Glu Cys Ser					
[0570]		595		600		605
[0571]	Ser Gln Pro Cys Arg Leu Arg Gly Thr Cys Gln Asp Pro Asp Asn Ala					
[0572]		610		615		620
[0573]	Tyr Leu Cys Phe Cys Leu Lys Gly Thr Thr Gly Pro Asn Cys Glu Ile					
[0574]		625		630		635
[0575]	Asn Leu Asp Asp Cys Ala Ser Ser Pro Cys Asp Ser Gly Thr Cys Leu					
[0576]		645		650		655
[0577]	Asp Lys Ile Asp Gly Tyr Glu Cys Ala Cys Glu Pro Gly Tyr Thr Gly					
[0578]		660		665		670
[0579]	Ser Met Cys Asn Ser Asn Ile Asp Glu Cys Ala Gly Asn Pro Cys His					
[0580]		675		680		685
[0581]	Asn Gly Gly Thr Cys Glu Asp Gly Ile Asn Gly Phe Thr Cys Arg Cys					
[0582]		690		695		700
[0583]	Pro Glu Gly Tyr His Asp Pro Thr Cys Leu Ser Glu Val Asn Glu Cys					
[0584]		705		710		715
[0585]	Asn Ser Asn Pro Cys Val His Gly Ala Cys Arg Asp Ser Leu Asn Gly					
[0586]		725		730		735
[0587]	Tyr Lys Cys Asp Cys Asp Pro Gly Trp Ser Gly Thr Asn Cys Asp Ile					

[0588]		740		745		750
[0589]	Asn Asn Asn	Glu Cys Glu Ser Asn Pro Cys Val Asn Gly Gly Thr Cys				
[0590]		755		760		765
[0591]	Lys Asp Met Thr Ser Gly Ile Val Cys Thr Cys Arg Glu Gly Phe Ser					
[0592]		770		775		780
[0593]	Gly Pro Asn Cys Gln Thr Asn Ile Asn Glu Cys Ala Ser Asn Pro Cys					
[0594]		785		790		795 800
[0595]	Leu Asn Lys Gly Thr Cys Ile Asp Asp Val Ala Gly Tyr Lys Cys Asn					
[0596]		805		810		815
[0597]	Cys Leu Leu Pro Tyr Thr Gly Ala Thr Cys Glu Val Val Leu Ala Pro					
[0598]		820		825		830
[0599]	Cys Ala Pro Ser Pro Cys Arg Asn Gly Gly Glu Cys Arg Gln Ser Glu					
[0600]		835		840		845
[0601]	Asp Tyr Glu Ser Phe Ser Cys Val Cys Pro Thr Ala Gly Ala Lys Gly					
[0602]		850		855		860
[0603]	Gln Thr Cys Glu Val Asp Ile Asn Glu Cys Val Leu Ser Pro Cys Arg					
[0604]		865		870		875 880
[0605]	His Gly Ala Ser Cys Gln Asn Thr His Gly Xaa Tyr Arg Cys His Cys					
[0606]		885		890		895
[0607]	Gln Ala Gly Tyr Ser Gly Arg Asn Cys Glu Thr Asp Ile Asp Asp Cys					
[0608]		900		905		910
[0609]	Arg Pro Asn Pro Cys His Asn Gly Gly Ser Cys Thr Asp Gly Ile Asn					
[0610]		915		920		925
[0611]	Thr Ala Phe Cys Asp Cys Leu Pro Gly Phe Arg Gly Thr Phe Cys Glu					
[0612]		930		935		940
[0613]	Glu Asp Ile Asn Glu Cys Ala Ser Asp Pro Cys Arg Asn Gly Ala Asn					
[0614]		945		950		955 960
[0615]	Cys Thr Asp Cys Val Asp Ser Tyr Thr Cys Thr Cys Pro Ala Gly Phe					
[0616]		965		970		975
[0617]	Ser Gly Ile His Cys Glu Asn Asn Thr Pro Asp Cys Thr Glu Ser Ser					
[0618]		980		985		990
[0619]	Cys Phe Asn Gly Gly Thr Cys Val Asp Gly Ile Asn Ser Phe Thr Cys					
[0620]		995		1000		1005
[0621]	Leu Cys Pro Pro Gly Phe Thr Gly Ser Tyr Cys Gln His Val Val					
[0622]		1010		1015		1020
[0623]	Asn Glu Cys Asp Ser Arg Pro Cys Leu Leu Gly Gly Thr Cys Gln					
[0624]		1025		1030		1035
[0625]	Asp Gly Arg Gly Leu His Arg Cys Thr Cys Pro Gln Gly Tyr Thr					
[0626]		1040		1045		1050
[0627]	Gly Pro Asn Cys Gln Asn Leu Val His Trp Cys Asp Ser Ser Pro					
[0628]		1055		1060		1065
[0629]	Cys Lys Asn Gly Gly Lys Cys Trp Gln Thr His Thr Gln Tyr Arg					

[0630]	1070	1075	1080
[0631]	Cys Glu Cys Pro Ser Gly Trp Thr Gly Leu Tyr Cys Asp Val Pro		
[0632]	1085	1090	1095
[0633]	Ser Val Ser Cys Glu Val Ala Ala Gln Arg Gln Gly Val Asp Val		
[0634]	1100	1105	1110
[0635]	Ala Arg Leu Cys Gln His Gly Gly Leu Cys Val Asp Ala Gly Asn		
[0636]	1115	1120	1125
[0637]	Thr His His Cys Arg Cys Gln Ala Gly Tyr Thr Gly Ser Tyr Cys		
[0638]	1130	1135	1140
[0639]	Glu Asp Leu Val Asp Glu Cys Ser Pro Ser Pro Cys Gln Asn Gly		
[0640]	1145	1150	1155
[0641]	Ala Thr Cys Thr Asp Tyr Leu Gly Gly Tyr Ser Cys Lys Cys Val		
[0642]	1160	1165	1170
[0643]	Ala Gly Tyr His Gly Val Asn Cys Ser Glu Glu Ile Asp Glu Cys		
[0644]	1175	1180	1185
[0645]	Leu Ser His Pro Cys Gln Asn Gly Gly Thr Cys Leu Asp Leu Pro		
[0646]	1190	1195	1200
[0647]	Asn Thr Tyr Lys Cys Ser Cys Pro Arg Gly Thr Gln Gly Val His		
[0648]	1205	1210	1215
[0649]	Cys Glu Ile Asn Val Asp Asp Cys Asn Pro Pro Val Asp Pro Val		
[0650]	1220	1225	1230
[0651]	Ser Arg Ser Pro Lys Cys Phe Asn Asn Gly Thr Cys Val Asp Gln		
[0652]	1235	1240	1245
[0653]	Val Gly Gly Tyr Ser Cys Thr Cys Pro Pro Gly Phe Val Gly Glu		
[0654]	1250	1255	1260
[0655]	Arg Cys Glu Gly Asp Val Asn Glu Cys Leu Ser Asn Pro Cys Asp		
[0656]	1265	1270	1275
[0657]	Ala Arg Gly Thr Gln Asn Cys Val Gln Arg Val Asn Asp Phe His		
[0658]	1280	1285	1290
[0659]	Cys Glu Cys Arg Ala Gly His Thr Gly Arg Arg Cys Glu Ser Val		
[0660]	1295	1300	1305
[0661]	Ile Asn Gly Cys Lys Gly Lys Pro Cys Lys Asn Gly Gly Thr Cys		
[0662]	1310	1315	1320
[0663]	Ala Val Ala Ser Asn Thr Ala Arg Gly Phe Ile Cys Lys Cys Pro		
[0664]	1325	1330	1335
[0665]	Ala Gly Phe Glu Gly Ala Thr Cys Glu Asn Asp Ala Arg Thr Cys		
[0666]	1340	1345	1350
[0667]	Gly Ser Leu Arg Cys Leu Asn Gly Gly Thr Cys Ile Ser Gly Pro		
[0668]	1355	1360	1365
[0669]	Arg Ser Pro Thr Cys Leu Cys Leu Gly Pro Phe Thr Gly Pro Glu		
[0670]	1370	1375	1380
[0671]	Cys Gln Phe Pro Ala Ser Ser Pro Cys Leu Gly Gly Asn Pro Cys		

[0672]	1385	1390	1395
[0673]	Tyr Asn Gln Gly Thr Cys Glu Pro Thr Ser Glu Ser Pro Phe Tyr		
[0674]	1400	1405	1410
[0675]	Arg Cys Leu Cys Pro Ala Lys Phe Asn Gly Leu Leu Cys His Ile		
[0676]	1415	1420	1425
[0677]	Leu Asp Tyr Ser Phe Gly Gly Gly Ala Gly Arg Asp Ile Pro Pro		
[0678]	1430	1435	1440
[0679]	Pro Leu Ile Glu Glu Ala Cys Glu Leu Pro Glu Cys Gln Glu Asp		
[0680]	1445	1450	1455
[0681]	Ala Gly Asn Lys Val Cys Ser Leu Gln Cys Asn Asn His Ala Cys		
[0682]	1460	1465	1470
[0683]	Gly Trp Asp Gly Gly Asp Cys Ser Leu Asn Phe Asn Asp Pro Trp		
[0684]	1475	1480	1485
[0685]	Lys Asn Cys Thr Gln Ser Leu Gln Cys Trp Lys Tyr Phe Ser Asp		
[0686]	1490	1495	1500
[0687]	Gly His Cys Asp Ser Gln Cys Asn Ser Ala Gly Cys Leu Phe Asp		
[0688]	1505	1510	1515
[0689]	Gly Phe Asp Cys Gln Arg Ala Glu Gly Gln Cys Asn Pro Leu Tyr		
[0690]	1520	1525	1530
[0691]	Asp Gln Tyr Cys Lys Asp His Phe Ser Asp Gly His Cys Asp Gln		
[0692]	1535	1540	1545
[0693]	Gly Cys Asn Ser Ala Glu Cys Glu Trp Asp Gly Leu Asp Cys Ala		
[0694]	1550	1555	1560
[0695]	Glu His Val Pro Glu Arg Leu Ala Ala Gly Thr Leu Val Val Val		
[0696]	1565	1570	1575
[0697]	Val Leu Met Pro Pro Glu Gln Leu Arg Asn Ser Ser Phe His Phe		
[0698]	1580	1585	1590
[0699]	Leu Arg Glu Leu Ser Arg Val Leu His Thr Asn Val Val Phe Lys		
[0700]	1595	1600	1605
[0701]	Arg Asp Ala His Gly Gln Gln Met Ile Phe Pro Tyr Tyr Gly Arg		
[0702]	1610	1615	1620
[0703]	Glu Glu Glu Leu Arg Lys His Pro Ile Lys Arg Ala Ala Glu Gly		
[0704]	1625	1630	1635
[0705]	Trp Ala Ala Pro Asp Ala Leu Leu Gly Gln Val Lys Ala Ser Leu		
[0706]	1640	1645	1650
[0707]	Leu Pro Gly Gly Ser Glu Gly Gly Arg Arg Arg Arg Glu Leu Asp		
[0708]	1655	1660	1665
[0709]	Pro Met Asp Val Arg Gly Ser Ile Val Tyr Leu Glu Ile Asp Asn		
[0710]	1670	1675	1680
[0711]	Arg Gln Cys Val Gln Ala Ser Ser Gln Cys Phe Gln Ser Ala Thr		
[0712]	1685	1690	1695
[0713]	Asp Val Ala Ala Phe Leu Gly Ala Leu Ala Ser Leu Gly Ser Leu		

[0714]	1700	1705	1710
[0715]	Asn Ile Pro Tyr Lys Ile Glu Ala Val Gln Ser Glu Thr Val Glu		
[0716]	1715	1720	1725
[0717]	Pro Pro Pro Pro Ala Gln Leu His Phe Met Tyr Val Ala Ala Ala		
[0718]	1730	1735	1740
[0719]	Ala Phe Val Leu Leu Phe Phe Val Gly Cys Gly Val Leu Leu Ser		
[0720]	1745	1750	1755
[0721]	Arg Lys Arg Arg Arg Gln His Gly Gln Leu Trp Phe Pro Glu Gly		
[0722]	1760	1765	1770
[0723]	Phe Lys Val Ser Glu Ala Ser Lys Lys Lys Arg Arg Glu Pro Leu		
[0724]	1775	1780	1785
[0725]	Gly Glu Asp Ser Val Gly Leu Lys Pro Leu Lys Asn Ala Ser Asp		
[0726]	1790	1795	1800
[0727]	Gly Ala Leu Met Asp Asp Asn Gln Asn Glu Trp Gly Asp Glu Asp		
[0728]	1805	1810	1815
[0729]	Leu Glu Thr Lys Lys Phe Arg Phe Glu Glu Pro Val Val Leu Pro		
[0730]	1820	1825	1830
[0731]	Asp Leu Asp Asp Gln Thr Asp His Arg Gln Trp Thr Gln Gln His		
[0732]	1835	1840	1845
[0733]	Leu Asp Ala Ala Asp Leu Arg Met Ser Ala Met Ala Pro Thr Pro		
[0734]	1850	1855	1860
[0735]	Pro Gln Gly Glu Val Asp Ala Asp Cys Met Asp Val Asn Val Arg		
[0736]	1865	1870	1875
[0737]	Gly Pro Asp Gly Phe Thr Pro Leu Met Ile Ala Ser Cys Ser Gly		
[0738]	1880	1885	1890
[0739]	Gly Gly Leu Glu Thr Gly Asn Ser Glu Glu Glu Glu Asp Ala Pro		
[0740]	1895	1900	1905
[0741]	Ala Val Ile Ser Asp Phe Ile Tyr Gln Gly Ala Ser Leu His Asn		
[0742]	1910	1915	1920
[0743]	Gln Thr Asp Arg Thr Gly Glu Thr Ala Leu His Leu Ala Ala Arg		
[0744]	1925	1930	1935
[0745]	Tyr Ser Arg Ser Asp Ala Ala Lys Arg Leu Leu Glu Ala Ser Ala		
[0746]	1940	1945	1950
[0747]	Asp Ala Asn Ile Gln Asp Asn Met Gly Arg Thr Pro Leu His Ala		
[0748]	1955	1960	1965
[0749]	Ala Val Ser Ala Asp Ala Gln Gly Val Phe Gln Ile Leu Ile Arg		
[0750]	1970	1975	1980
[0751]	Asn Arg Ala Thr Asp Leu Asp Ala Arg Met His Asp Gly Thr Thr		
[0752]	1985	1990	1995
[0753]	Pro Leu Ile Leu Ala Ala Arg Leu Ala Val Glu Gly Met Leu Glu		
[0754]	2000	2005	2010
[0755]	Asp Leu Ile Asn Ser His Ala Asp Val Asn Ala Val Asp Asp Leu		

[0756]	2015	2020	2025
[0757]	Gly Lys Ser Ala Leu His Trp Ala Ala Ala Val Asn Asn Val Asp		
[0758]	2030	2035	2040
[0759]	Ala Ala Val Val Leu Leu Lys Asn Gly Ala Asn Lys Asp Met Gln		
[0760]	2045	2050	2055
[0761]	Asn Asn Arg Glu Glu Thr Pro Leu Phe Leu Ala Ala Arg Glu Gly		
[0762]	2060	2065	2070
[0763]	Ser Tyr Glu Thr Ala Lys Val Leu Leu Asp His Phe Ala Asn Arg		
[0764]	2075	2080	2085
[0765]	Asp Ile Thr Asp His Met Asp Arg Leu Pro Arg Asp Ile Ala Gln		
[0766]	2090	2095	2100
[0767]	Glu Arg Met His His Asp Ile Val Arg Leu Leu Asp Glu Tyr Asn		
[0768]	2105	2110	2115
[0769]	Leu Val Arg Ser Pro Gln Leu His Gly Ala Pro Leu Gly Gly Thr		
[0770]	2120	2125	2130
[0771]	Pro Thr Leu Ser Pro Pro Leu Cys Ser Pro Asn Gly Tyr Leu Gly		
[0772]	2135	2140	2145
[0773]	Ser Leu Lys Pro Gly Val Gln Gly Lys Lys Val Arg Lys Pro Ser		
[0774]	2150	2155	2160
[0775]	Ser Lys Gly Leu Ala Cys Gly Ser Lys Glu Ala Lys Asp Leu Lys		
[0776]	2165	2170	2175
[0777]	Ala Arg Arg Lys Lys Ser Gln Asp Gly Lys Gly Cys Leu Leu Asp		
[0778]	2180	2185	2190
[0779]	Ser Ser Gly Met Leu Ser Pro Val Asp Ser Leu Glu Ser Pro His		
[0780]	2195	2200	2205
[0781]	Gly Tyr Leu Ser Asp Val Ala Ser Pro Pro Leu Leu Pro Ser Pro		
[0782]	2210	2215	2220
[0783]	Phe Gln Gln Ser Pro Ser Val Pro Leu Asn His Leu Pro Gly Met		
[0784]	2225	2230	2235
[0785]	Pro Asp Thr His Leu Gly Ile Gly His Leu Asn Val Ala Ala Lys		
[0786]	2240	2245	2250
[0787]	Pro Glu Met Ala Ala Leu Gly Gly Gly Gly Arg Leu Ala Phe Glu		
[0788]	2255	2260	2265
[0789]	Thr Gly Pro Pro Arg Leu Ser His Leu Pro Val Ala Ser Gly Thr		
[0790]	2270	2275	2280
[0791]	Ser Thr Val Leu Gly Ser Ser Ser Gly Gly Ala Leu Asn Phe Thr		
[0792]	2285	2290	2295
[0793]	Val Gly Gly Ser Thr Ser Leu Asn Gly Gln Cys Glu Trp Leu Ser		
[0794]	2300	2305	2310
[0795]	Arg Leu Gln Ser Gly Met Val Pro Asn Gln Tyr Asn Pro Leu Arg		
[0796]	2315	2320	2325
[0797]	Gly Ser Val Ala Pro Gly Pro Leu Ser Thr Gln Ala Pro Ser Leu		

[0798]	2330	2335	2340
[0799]	Gln His Gly Met Val Gly Pro Leu His Ser Ser Leu Ala Ala Ser		
[0800]	2345	2350	2355
[0801]	Ala Leu Ser Gln Met Met Ser Tyr Gln Gly Leu Pro Ser Thr Arg		
[0802]	2360	2365	2370
[0803]	Leu Ala Thr Gln Pro His Leu Val Gln Thr Gln Gln Val Gln Pro		
[0804]	2375	2380	2385
[0805]	Gln Asn Leu Gln Met Gln Gln Gln Asn Leu Gln Pro Ala Asn Ile		
[0806]	2390	2395	2400
[0807]	Gln Gln Gln Gln Ser Leu Gln Pro Pro Pro Pro Pro Pro Gln Pro		
[0808]	2405	2410	2415
[0809]	His Leu Gly Val Ser Ser Ala Ala Ser Gly His Leu Gly Arg Ser		
[0810]	2420	2425	2430
[0811]	Phe Leu Ser Gly Glu Pro Ser Gln Ala Asp Val Gln Pro Leu Gly		
[0812]	2435	2440	2445
[0813]	Pro Ser Ser Leu Ala Val His Thr Ile Leu Pro Gln Glu Ser Pro		
[0814]	2450	2455	2460
[0815]	Ala Leu Pro Thr Ser Leu Pro Ser Ser Leu Val Pro Pro Val Thr		
[0816]	2465	2470	2475
[0817]	Ala Ala Gln Phe Leu Thr Pro Pro Ser Gln His Ser Tyr Ser Ser		
[0818]	2480	2485	2490
[0819]	Pro Val Asp Asn Thr Pro Ser His Gln Leu Gln Val Pro Glu His		
[0820]	2495	2500	2505
[0821]	Pro Phe Leu Thr Pro Ser Pro Glu Ser Pro Asp Gln Trp Ser Ser		
[0822]	2510	2515	2520
[0823]	Ser Ser Pro His Ser Asn Val Ser Asp Trp Ser Glu Gly Val Ser		
[0824]	2525	2530	2535
[0825]	Ser Pro Pro Thr Ser Met Gln Ser Gln Ile Ala Arg Ile Pro Glu		
[0826]	2540	2545	2550
[0827]	Ala Phe Lys		
[0828]	2555		
[0829]	<210> 11		
[0830]	<211> 363		
[0831]	<212> PRT		
[0832]	<213> 智人(Homo sapiens)		
[0833]	<400> 11		
[0834]	Met Ala Leu Gly Leu Gln Arg Ala Arg Ser Thr Thr Glu Leu Arg Lys		
[0835]	1	5	10 15
[0836]	Glu Lys Ser Arg Asp Ala Ala Arg Ser Arg Arg Ser Gln Glu Thr Glu		
[0837]		20	25 30
[0838]	Val Leu Tyr Gln Leu Ala His Thr Leu Pro Phe Ala Arg Gly Val Ser		
[0839]		35	40 45

[0840]	Ala His Leu Asp Lys Ala Ser Ile Met Arg Leu Thr Ile Ser Tyr Leu
[0841]	50 55 60
[0842]	Arg Met His Arg Leu Cys Ala Ala Gly Glu Trp Asn Gln Val Gly Ala
[0843]	65 70 75 80
[0844]	Gly Gly Glu Pro Leu Asp Ala Cys Tyr Leu Lys Ala Leu Glu Gly Phe
[0845]	85 90 95
[0846]	Val Met Val Leu Thr Ala Glu Gly Asp Met Ala Tyr Leu Ser Glu Asn
[0847]	100 105 110
[0848]	Val Ser Lys His Leu Gly Leu Ser Gln Leu Glu Leu Ile Gly His Ser
[0849]	115 120 125
[0850]	Ile Phe Asp Phe Ile His Pro Cys Asp Gln Glu Glu Leu Gln Asp Ala
[0851]	130 135 140
[0852]	Leu Thr Pro Gln Gln Thr Leu Ser Arg Arg Lys Val Glu Ala Pro Thr
[0853]	145 150 155 160
[0854]	Glu Arg Cys Phe Ser Leu Arg Met Lys Ser Thr Leu Thr Ser Arg Gly
[0855]	165 170 175
[0856]	Arg Thr Leu Asn Leu Lys Ala Ala Thr Trp Lys Val Leu Asn Cys Ser
[0857]	180 185 190
[0858]	Gly His Met Arg Ala Tyr Lys Pro Pro Ala Gln Thr Ser Pro Ala Gly
[0859]	195 200 205
[0860]	Ser Pro Asp Ser Glu Pro Pro Leu Gln Cys Leu Val Leu Ile Cys Glu
[0861]	210 215 220
[0862]	Ala Ile Pro His Pro Gly Ser Leu Glu Pro Pro Leu Gly Arg Gly Ala
[0863]	225 230 235 240
[0864]	Phe Leu Ser Arg His Ser Leu Asp Met Lys Phe Thr Tyr Cys Asp Asp
[0865]	245 250 255
[0866]	Arg Ile Ala Glu Val Ala Gly Tyr Ser Pro Asp Asp Leu Ile Gly Cys
[0867]	260 265 270
[0868]	Ser Ala Tyr Glu Tyr Ile His Ala Leu Asp Ser Asp Ala Val Ser Lys
[0869]	275 280 285
[0870]	Ser Ile His Thr Cys Met Tyr Pro Ile Ser Pro Gly Ala Lys Pro Ala
[0871]	290 295 300
[0872]	Ala Thr Trp Pro Pro Ala Asp Thr Arg Thr Pro Gln Leu Pro Ile Pro
[0873]	305 310 315 320
[0874]	Gln Asp Ala Leu Pro Pro His Leu Asn Thr Ser Ser Leu Leu Pro Lys
[0875]	325 330 335
[0876]	Pro Gln Gly Thr Val Ser Phe Leu Ala Pro Ser Tyr Pro Val Pro Arg
[0877]	340 345 350
[0878]	Ser Phe Ser Pro His Leu Pro Pro Trp Trp Pro
[0879]	355 360
[0880]	<210> 12
[0881]	<211> 30

- [0882] <212> DNA
[0883] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0884] <220>
[0885] <223> 引物 (CD44_SwaI-F)
[0886] <400> 12
[0887] accatttaaa tatggacaag ttttgggtggc 30
[0888] <210> 13
[0889] <211> 29
[0890] <212> DNA
[0891] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0892] <220>
[0893] <223> 引物 (HIF-3a4_SwaI-R)
[0894] <400> 13
[0895] cggatttaaa ttcagggcca ccaaggggg 29
[0896] <210> 14
[0897] <211> 26
[0898] <212> DNA
[0899] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0900] <220>
[0901] <223> 引物 (pAxCAwtit2_seq-F1)
[0902] <400> 14
[0903] gcggctctag agcctctgct aaccat 26
[0904] <210> 15
[0905] <211> 26
[0906] <212> DNA
[0907] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0908] <220>
[0909] <223> 引物(pAxCAwtit2_seq-F2)
[0910] <400> 15
[0911] ggacaagttt tgggtggcacg cagcct 26
[0912] <210> 16
[0913] <211> 26
[0914] <212> DNA
[0915] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0916] <220>
[0917] <223> 引物 (pAxCAwtit2_seq-F3)
[0918] <400> 16
[0919] cctgaagaca tctaccccag caacce 26
[0920] <210> 17
[0921] <211> 26
[0922] <212> DNA
[0923] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

- [0924] <220>
[0925] <223> 引物 (pAxCAwtit2_seq-F4)
[0926] <400> 17
[0927] tgccctcttcg acggctttga ctgccca 26
[0928] <210> 18
[0929] <211> 26
[0930] <212> DNA
[0931] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0932] <220>
[0933] <223> pAxCAwtit2_seq-F5
[0934] <400> 18
[0935] ggagattgac aaccggcagt gtgtgc 26
[0936] <210> 19
[0937] <211> 26
[0938] <212> DNA
[0939] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0940] <220>
[0941] <223> 引物 (pAxCAwtit2_seq-F6)
[0942] <400> 19
[0943] tcattgcgctt caccatcage tacctg 26
[0944] <210> 20
[0945] <211> 26
[0946] <212> DNA
[0947] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0948] <220>
[0949] <223> 引物 (pAxCAwtit2_seq-F7)
[0950] <400> 20
[0951] acaagccacc tgcgcagact tctcca 26
[0952] <210> 21
[0953] <211> 26
[0954] <212> DNA
[0955] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0956] <220>
[0957] <223> 引物 (pAxCAwtit2_seq-R)
[0958] <400> 21
[0959] gctcaagggg cttcatgatg tcccca 26
[0960] <210> 22
[0961] <211> 20
[0962] <212> DNA
[0963] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0964] <220>
[0965] <223> 引物 (Bcl-xL 的正向引物)

- [0966] <400> 22
[0967] cccagaaagg atacagctgg 20
[0968] <210> 23
[0969] <211> 20
[0970] <212> DNA
[0971] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0972] <220>
[0973] <223> 引物 (Bcl-xL 的反向引物)
[0974] <400> 23
[0975] gcgatccgac tcaccaatac 20
[0976] <210> 24
[0977] <211> 22
[0978] <212> DNA
[0979] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0980] <220>
[0981] <223> 引物 (CCL2 的正向引物)
[0982] <400> 24
[0983] aagatctcag tgcaaggct cg 22
[0984] <210> 25
[0985] <211> 21
[0986] <212> DNA
[0987] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0988] <220>
[0989] <223> 引物 (CCL2 的反向引物)
[0990] <400> 25
[0991] ttgctgtcc aggtgtcca t 21
[0992] <210> 26
[0993] <211> 23
[0994] <212> DNA
[0995] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[0996] <220>
[0997] <223> 引物 (细胞周期蛋白G2 的正向引物)
[0998] <400> 26
[0999] gctgaaagct tgcaactgcc gac 23
[1000] <210> 27
[1001] <211> 23
[1002] <212> DNA
[1003] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1004] <220>
[1005] <223> 引物 (细胞周期蛋白G2 的反向引物)
[1006] <400> 27
[1007] ggtatcggtg gcagctcagg aac 23

- [1008] <210> 28
[1009] <211> 20
[1010] <212> DNA
[1011] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1012] <220>
[1013] <223> 引物 (HIF-3a4 的正向引物)
[1014] <400> 28
[1015] gggagacatg gcttacctgt 20
[1016] <210> 29
[1017] <211> 20
[1018] <212> DNA
[1019] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1020] <220>
[1021] <223> 引物 (HIF-3a4 的反向引物)
[1022] <400> 29
[1023] gcgtactctt catgcgcaag 20
[1024] <210> 30
[1025] <211> 26
[1026] <212> DNA
[1027] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1028] <220>
[1029] <223> 引物 (p53 的正向引物)
[1030] <400> 30
[1031] cagccaagtc tgtgacttgc acgtac 26
[1032] <210> 31
[1033] <211> 26
[1034] <212> DNA
[1035] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1036] <220>
[1037] <223> 引物 (p53 的反向引物)
[1038] <400> 31
[1039] ctatgtcgaa aagtgtttct gtcac 26
[1040] <210> 32
[1041] <211> 20
[1042] <212> DNA
[1043] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1044] <220>
[1045] <223> 引物 (SOCS3 的正向引物)
[1046] <400> 32
[1047] gaccagcgcc acttcttcac 20
[1048] <210> 33
[1049] <211> 19

- [1050] <212> DNA
[1051] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1052] <220>
[1053] <223> 引物 (SOCS3 的反向引物)
[1054] <400> 33
[1055] ctggatgcgc aggttcttg 19
[1056] <210> 34
[1057] <211> 21
[1058] <212> DNA
[1059] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1060] <220>
[1061] <223> 引物 (存活蛋白的正向引物)
[1062] <400> 34
[1063] agaactggcc cttcttggag g 21
[1064] <210> 35
[1065] <211> 24
[1066] <212> DNA
[1067] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1068] <220>
[1069] <223> 引物 (存活蛋白的反向引物)
[1070] <400> 35
[1071] ctttttatgt tcctctatgg ggtc 24
[1072] <210> 36
[1073] <211> 20
[1074] <212> DNA
[1075] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1076] <220>
[1077] <223> 引物 (VEGF 的正向引物)
[1078] <400> 36
[1079] gggcctccga aacctgaac 20
[1080] <210> 37
[1081] <211> 20
[1082] <212> DNA
[1083] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1084] <220>
[1085] <223> 引物 (VEGF 的反向引物)
[1086] <400> 37
[1087] caaggetcca atgcacccaa 20
[1088] <210> 38
[1089] <211> 25
[1090] <212> DNA
[1091] <213> 人工序列(Artificial Sequence)

-
- [1092] <220>
[1093] <223> 引物 (TBP 的正向引物)
[1094] <400> 38
[1095] gccagcttcg gagagttctg ggatt 25
[1096] <210> 39
[1097] <211> 25
[1098] <212> DNA
[1099] <213> 人工序列(Artificial Sequence)
[1100] <220>
[1101] <223> 引物 (TBP 的反向引物)
[1102] <400> 39
[1103] cgggcacgaa gtgcaatggt cttta 25

1 atg gac aag ttt tgg tgg cac gca gcc tgg gga ctc tgc ctc gtg ccg ctg agc ctg gcg cag atc gat ttg aat ata acc
M D K F W W H A A W G L C L V P L S L A Q I D L N I T
82 tgc cgc ttt gca ggt gta ttc cac gtg gag aaa aat ggt cgc tac agc atc tct cgg acg gag gcc got gac ctc tgc aag
C R F A G V F H V E K N G R Y S I S R T E A A D L C K
163 gct ttc aat agc acc ttg ccc aca atg gcc cag atg gag aaa gct ctg agc atc gga ttt gag acc tgc agg tat ggg ttc
A F N S T L P T M A Q M E K A L S I G F E T C R Y G F
244 ata gaa ggg cac gtg gtg att ccc cgg atc cac ccc aac tcc atc tgt gca gca aac aac aca ggg gtg tac atc ctc
I E G H V V I P R I H P N S I C A A N N T G V Y I L
322 aca tcc aac acc tcc cag tat gac aca tat tgc ttc aat gct tca gct cca cct gaa gaa gat tgt aca tca gtc aca gac
T S N T S Q Y D T Y C F N A S A P P E E D C T S V T D
403 ctg ccc aat gcc ttt gat gga oca att acc ata act att gtt aac cgt gat ggc acc cgc tat gtc cag aaa gga gaa tac
L P N A F D G P I T I T I V N R D G T R Y V Q K G E Y
484 aga acg aat cct gaa gac atc tac ccc agc aac cct act gat gat gac gtg agc agc ggc tcc tcc agt gaa agg agc
R T N P E D I Y P S N P T D D D V S S G S S S E R S
562 agc act tca gga ggt tac atc ttt tac acc ttt act gta cac ccc atc oca gac gaa gac agt ccc tgg atc acc gac
S T S G G Y I F Y T F S T V H P I P D E D S P W I T D
643 agc aca gac aga atc cct gct acc aga cac tca cat ggg agt caa gaa ggt gga gca aac aca acc tct ggt cct ata
S T D R I P A T R H S H G S Q E G G A N T T S G P I
721 agg aca ccc caa att
R T P Q I
736 atc ctg gac tac agc ttc ggg ggt ggg gcc ggg cgc gac atc ccc ccc ccc ctg atc gag gag gcg tgc gag ctg ccc gag tgc cag gag
I L D Y S F G G G A G R D I P P P L I E E A C E L P E C Q E
826 gac gcg ggc aac aag gtc tgc agc ctg cag tgc aac aac cac gcg tgc ggc tgg gac ggc ggt gac tgc tcc ctc aac ttc aat gac ccc
D A G N K V C S L Q C N N H A C G W D G G D C S L N F N D P
916 tgg aag aac tgc acg cag tct ctg cag tgc tgg aag tac ttc agt gac ggc cac tgt gac agc cag tgc aac tca gcc ggc tgc ctc ttc gac
W K N C T Q S L Q C W K Y F S D G H C D S Q C N S A G C L F D
1009 ggc ttt gat tgc cag cgt gcg gaa ggc cag tgc aac ccc ctg tac gac cag tac tgc aag gac cac ttc agc gac ggg cac tgc gac cag
G F D C Q R A E G Q C N P L Y D Q Y C K D H F S D G H C D Q
1099 ggc tgc aac agc gcg gag tgc gag tgg gac ggg ctg gac tgt gcg gag cat gta ccc gag agg ctg gcg gcc ggc acg ctg gtc gtc gtc
G C N S A E C E W D G L D C A E H V P E R L A A G T L V V V
1189 gtg ctg atg ccc cgc gag cag ctg cgc aac agc tcc ttc cac ttc ctg cgg gag ctc agc cgc gtc cag cac acc aac gtc gtc ttc aag cgt
V L M P P E Q L R N S F H F L R E L S R V L H T N V F K R
1282 gac gca cac ggc cag cag atg atc ttc ccc tac tac ggc cgc gag gag gag ctg cgc aag cac ccc atc aag cgt gcc gcc gag ggc tgg
D A H G Q Q M I F P Y Y G R E E L R K H P I K R A A E G W
1372 gcc gca cct gac gcc ctg ctg ggc cag gtc aag gcc tgc ctg ctc cct ggt ggc agc gag ggt ggg cgg cgg cgg ags gag ctg gac ccc
A A P D A L G Q V K A S L L P G G S E G G R R R E L D P
1462 atg gac gtc cgc ggc tcc atc gtc tac ctg gag att gac aac cgg cag tgt gtc cag gcc tcc tgc cag tgc ttc cag agt gcc acc gac gtc
M D V R G S I V Y L E I D N R Q C V Q A S S Q C F Q S A T D V
1555 gcc gca ttc ctg gga gcg ctc gcc tgc ctg ggc agc ctc aac ccc tac aag atc gag gcc gtc cag agt gag acc gtc gag gcc ccc
A A F L G A L A S L G S L N I P Y K I E A V Q S E T V E P P
1645 ccc cgc gcg cag ctg cac ttc atg tac gtc gcg gcg gcc gcc ttt gtc ctt ctg ttc ttc gtc ggc tgc ggg gtc ctg ctg tcc cgc aag cgc
P P A Q L H F M Y V A A A A F V L L F F V G C G V L L S R K R
1738 cgg cgg cag cat ggc cag ctg tgg ttc
R R Q H G Q L W F
1765 atg gcg ctg ggg ctg cag cgc gca agg tgc acc acg gag ctg cgc aag gaa aag tcc cgg gat gcg gcc cgc agc cgg
M A L G L Q R A R S T T E L R K E K S R D A A R S R
1843 cgc agc cag gag acc gag gtc ctg tac cag ctg gct cac acg ctg ccc ttc gcc cgc ggc gtc agc gcc cac ctg gac aag
R S Q E T E V L Y Q L A H T L P F A R G V S A H L D K
1924 gcc tet atc agc ctc acc atc agc tac ctg cgc atg cac cgc ctc tgc gcc gca ggg gag tgg aac cag gtc gga gca
A S I M R L T I S Y L R M H R L C A A G E W N R V G A
2005 ggg gga gaa cca ctg gat gcc tgc tac ctg aag gcc ctg gag ggc ttc gtc atg gtc ctc acc gcc gag gga gac atg
G G E P L D A C Y L K A L E G F V M V L T A E G D M
2083 gct tac ctg tgc gag aat gtc agc aaa cac ctg ggc ctc agt cag ctg gag ctc att gga cac agc atc ttt gat ttc atc
A Y L S E N V S K H L G L S Q L E L I G H S I F D F I
2164 cac ccc tgt gac caa gag gag ctt cag gac gcc cct acc ccc cag cag acc ctg tcc agg agg aag gtc gag gcc ccc
H P C D Q E E L Q D A L T P Q Q T L S R R K V E A P
2242 acg gag cgg tgc ttc tcc ttg cgc atg aag agt acg ctc acc agc cgc ggg cgc acc ctc aac ctc aag gcg gcc acc tgg
T E R C F S L R M K S T L T S R G R T L N L K A A T W
2323 aag gtc ctg aac tgc tct gga cat atg agg gcc tac aag oca cct gcg cag act tet cca gct ggg agc cct gac tca
K V L N C S G H M R A Y K P P A Q T S P A G S P D S
2401 gag ccc ccc ctg cag tgc ctg gtc ctc atc tgc gaa gcc atc ccc cac cca ggc agc ctg gag ccc cca ctg ggc cga ggg
E P P L Q C L V L I C E A I P H P G S L E P P L G R G
2482 gcc ttc ctc agc cgc cac agc ctg gac atg aag ttc acc tac tgt gac gac agg att gca gaa gtc gct ggc tat agt ccc
A F L S R H S L D M K F T Y C D D R I A E V A G Y S P
2563 gat gac ctg atc ggc tgt tcc gcc tac gag tac atc cac gcg ctg gac tcc gac gcg gtc agc aag agc atc cae acc tgt
D D L I G C S A Y E Y I H A L D S D A V S K S I H T C
2644 atg tat ccc att tcc cca ggt gcg aag oca gct gcc aca tgg ccc cca get gac acc agg acc ccc cag ctc ccc ata ccc
M Y P I S P G A K P A A T W P P A D T R T P Q L P I P
2725 cag gat gca ctg cct ccc cac ctc aac acc agc tcc ctg ctc ccc aag ccc caa gga act gtc tcc ttc ctg gcc ccc tca
Q D A L P P H L N T S S L L P K P Q G T V S F L A P S
2806 tac cca gtc ccc aga tet ttc tet ccc cat ttg ccc cct tgg tgg ccc
Y P V P R S F S P H L P P W W P

图1

(GenBank : FJ216964. 1)

atggacaagttttgggtggcagcagcctggggactctgcccctgctgcccgtgagcctggcgcagatcgatttgaatat
aacctgccgctttgcagggtgtattccacgtggagaaaaatggctcgtacagcattctcggacggaggccgctgacc
cttgcgaagctttcaatagcaccctgcccacaatggcccagatggagaaagctctgagcattcgatttgagaccctgc
aggtatgggttcatagaagggcacgtgggtgattccccggatccaccccaactccattctgtgcagcaacaacacagg
ggtgtacatccctcacatccaacacctcccagtatgacacatatgcttcaatgcttcagctccacctgaagaagatt
gtacatcagtcacagacctgcccattgctttgatggaccaattaccataactattgtaaccgtgatggcaccgct
tatgtccagaaaggagaatacagaacgaatccctgaagacattaccacagcaacctactgatgatgacgtgagcag
cggctccctccagtgaaaggagcagcactcaggagggtacatttttacacctttctactgtacacccatcccag
acgaagacagctcccctggatcaccgacagcagacagaaatcccctgctaccagacactcacatgggagtcagaagggt
ggagcaaacacaacctctggctctataaggacaccccaattccagaatggctgatcattctggcatcccctctggc
cttggctttgattcttgcagtttgcattgcagtcacagtcgaagaagggtgtgggcagaagaaaaagctagtgatca
acagtgccaatggagctgtggaggacagaaagccaagtggaactaacggagaggccagcaagctcaggaaatgggtg
catttggngaacaaggagtcgtcagaaacccagaccagtttatgacagctgatgagacaaggaacctgcagaatgt
ggacatgaagattgggggtgtaa

(GenBank : ACI46596. 1)

MDKFWHAAWGLCLVPLSLAQIDLNITCRFAGVFHVEKNGRYSISRTEADLCKAFNSTLPTMAQMEKALSIGFETC
RYGFIEGHVVIPRIHPNSICAANNTGVYILTSNTSQDYTYCFNASAPPEEDCTSVTDLPNAFDGPITITIVNRDGR
YVQKGEYRTNPEDIYPSNPTDDDVSSGSSSERSSTSGGYIFYTFSTVHPIPDEDSPWITDSTDRIPATRSHGSQEG
GANTTSGPIRTPQIPEWLIILASLLALALILAVCIAVNSRRRCGQKKLVINSGNGAVEDRKPSGLNGEASKSQEMV
HLVNKESSETPDQFMTAETRNLQNVDMKIGV

图2a

Notch

(GenBank : AF308602. 1)

atgccgccgctccctggcgccccctgctctgcccggcgctgctgcccgcgctcgccgcacgaggccccgcgatgctccca
gcccgggtgagaccctgctgaaatggcggggaagtgatgaagcggccaatggcacggaggccctgcgtctgtggcggggct
tcgtgggccccgcgatgccaggacccccaccctgctcagcaccctcgaagaacgcccgggacatgccacgtgggtg
gaccgcagaggcgtggcagactatgcccgcagctgtgcccgggctctctgggccccctgcccagacccccggga
caacgctgctcaccacccccctgcccgaacgggggacactgcgacctgctcagctgacggagtaaacgtgcccgt
gccccggcgctggctcagggaaatcgtgcccagcaggctgaccctgcccctccaacccccgcgccaacgggtggccag
tgccctgcccctcgaggccctctacatctgcccactgcccaccagcttccatggccccaccctgcccgcaggatgtcaa
cgagtgtggccagaagcccaggctttgcccgcacggaggcaccctgccacaacgaggctggctccctaccgctgctct
gcccgcgccaccacactggcccccaactgcccagcggcccctacgtgcccctgcccgcctgcccctgcccagaacgggggc
accctgcccgcaccacggggcagctcaccacagagtgtgcccctgcccagggcttaccggccagaactgtgaggaaaa
tatcgacgatgtccaggaaacaactgcaagaacgggggtgcccctgtgtggacggcgtgaacacctacaactgcccgt
gccccgcagagtggacaggtcagctactgtaccgaggatgtggacgagtgccagctgatgccaaaatgcccctgcccagaac
ggcgggaccctgccacaacaccacgggtggctacaactgcgtgtgtgtcaacggctggactgggtgaggactgcagcga
gaacatfgatgactgtgcccagcgcgcccctgcttccacggcgcccaccctgcccctgaccctgtggcccctctttactgccc
agtgctccccatggcccgcacaggctgctgtgcccaccctcaacgacgcatgcatcagcaacccccctgtaacgagggtccc
aacctgcccagacccaaccctgtcaatggcaaggccatctgcaccctgcccctcgggggtacacgggccccggcctgcccagcca
ggacgtggatgagtgctcgcctgggtgccaacccccctgcccagcagctgcccggcaagtgcataaacacgctgggctccctcg
agtgcccagtgctgcccagggctacacgggcccccgatgcccagatcgacgtcaacgagtgctctgcaacccccctgcccag
aacgacgcccaccctgcccggaccagatggggagctccagtgcatgtgcatgcccggctacgagggtgtgcccctgcccag
ggctcaacacagacagagtgctgcccagcagccccctgcccctgcccacaatggcccgtgcccctggacaagatcaatgagttccagt
gcccagtgccccacgggcttaccctgggcatctgtgcccagctagatgtggacgagtgctgcccagcaccctcgaagaat
gggtgccaagtgcccggacggaccaacacttacaccctgtgtgtgcccaggaagggtacacggggacgcaactgcccaggt
ggacatcgatgagtgcccagccccgacccccctgcccactacggctccctgcaaggacggcgtgcccaccctcaccctgcccct
gcccggcaggctacacgggcccaccctgcccagaccacaatcaacgagtgctccagccagcccctgcccgcctacggggc
accctgcccagggaccggacaacgcccctaccctctgctctgcccctgaaggggaccacaggaccacaactgcccagatcaaccct
ggatgactgtgcccagcagccccctgcccagctgcccaccctgctgcccagcaagatcgatggctacgagtgctgcccctgctgagc
cgggctacacagggagcatgtgtaacagcaacatcgatgagtgctgcccggcaacccccctgcccacaacgggggacaccctgccc
gaggacggcatcaatggcttaccctgcccgtgcccggagggtaccacgacccccaccctgcccctgctgagggtcaatga
gtgcaacagcaacccccctgcccgtcccaggggctgcccggacagcccctcaacgggtacaagtgcgactgtgaccctgggt
ggagtgggaccaactgtgacatcaacaacaacgagtgatgaatccaacccccctgtgtcaacggcggcaccctgcccagac
atgaccagtgccatcgtgtgcccactgcccgggagggtctcagcggctcccacctgcccagaccacaatcaacgagtgctgccc
gtcccacccatgtctgaacaagggcacgtgtatgacgacgtgcccgggtacaagtgcacactgcccctgctgcccctaca
caggtgccacgtgtgagggtgctgcccggcctgtgcccggcagccccctgcccagaaacggcggggagtgcccaggaatcc

图2b-1

gaggac tatgagagct tctcc tgtgtctgccccacggctggggccaaagggcagacc tgtgaggtcgacatcaacga
gtgcttctlgagcccggtgccggcaccggcgcatcc tggcagaacaccacggcgsstaccgctgccactgccaggccg
gctacagtgggcgcaactgcgagaccgacatcgacgactgccggcccaaccgctgtcacaacgggggctcc tgcaca
gacggcatcaaacaggcctctgcgactgcc tggccggcttccggggcacttctgtgaggaggacatcaacgagtg
tgccagtgacccc tggcgaacggggccaactgcacggactgcgtggacagctacacgtgcacc tggcccgcaggct
tcagcgggatccactgtgagaacaacacgcc tgcacagagagctcc tgcctcaacgg tggcacc tgcgtggac
ggcatcaactcgttcacc tgcctgtgtccaccggcttcacgggcagctactgccagcacgtagtcaatgagtgca
ctcagaccctgcc tgc taggcggcacc tgcaggacggctgcggctccacaggtgcacc tggcccagggtcaca
ctggcccac tggcagaacctgtgtcactgg tgtgactcc tggccc tgcagaacggcggcaaatgctggcagacc
cacaccag taccgctgcgag tggcccagcggctggaccggcctt tacc tgcgactgcccagcgtgtcc tgtgaggt
ggctgcgcagcgacaaggtgtgtgactgtgccagca tggagggtctgtgtggacgcgggcaacacgc
accactgccctgccaggcgggctacacaggcagctactgtgaggacctgg tggacgag tgc taccagcccc tgc
cagaacggggccacc tgcacggactacc tgggcggctactcc tgc aagtgcgtggccggctaccacggggtgaactg
ctctgaggagatcgacgag tgcctctcccacccc tggcagaacgggggcacc tgcctgcacc tcccacacc taca
ag tgcctgccacggggcactcagggtgtgcactgtgagatcaacgtggacgactgcaatcccccg tggacccc
gtgtcccggagccc aagtgtt taacaacggcacc tgcgtggaccagg tggcggctacagctgcacc tggccgccc
gggctctgtgggtgagcgtgtgagggggatgtcaacgag tgcctgtccaatccc tgcgacgcccgtggcaccaga
actgcgtgcagcgcgtcaatgactccactgcgag tgcctgtc tggctcacaccgggcggcctgcgag tccgtcact
aatggctgcaaaggcaagccc tgcagaatgggggcacc tgcgcc tggcc tccaacaccgcccgcgggtcactctg
caagtgccttgcgggcttcgagggcgccacgtgtgagaatgacgctcgtacc tgcggcagcc tgcgctgcc tcaacg
gggcacatgcactcggcccgcgcagccccacc tgcctgtgcc tgggcccc ttcacggccccgaatgccag ttc
ccggccagcagcccc tgcctgggcggcaacccc tgc tacaaccaggggacc tgtgagcccacatccgagagcccc t
ctaccgtgcctgtgccccgcaaat tcaacgggctctgtgtccacatcc tggactacagctt cgggggtggggccg
ggcgcgacatcccccgccgtgatcgaggaggcgtgcgagctgcccgag tggcaggaggacgcgggcaacaaggtc
tgcacc tgcagtgcaacaaccacgcgtgcggctgggacggcgg tgc tgcctcaact tcaatgacccc tggaa
gaa tgcacgcagctctc tgcag tgc tggaa g t t cag tgcaggccactgtgacagccag tgc aactcagccggct
gctctctgcaggctt tgc tgc cagcgtgcggaaggccag tgc aaccccc t g t a c g a c c a g t a c t g c a a g g a c c a c
t t c a g c g a c g g g c a c t g c g a c c a g g g c t g c a a c a g c g g a g t g c g a g t g g g a c g g g c t g g a c
acccgagaggctggcggccggcagcctgg tgg tgg tgg tgc t g a t g c c g c g g a g c a g e t g c g c a a c a g e t c c t t c c
a c t t c c t g c g g g a g c t a g c c g c t g c t g c a c a c c a a c g t g g t c t t c a a g c g t g a c g c a c a g g c c a g a t g a t c
t t c c c t a c t a c g g c c g c g a g g a g a g c t g c g c a a g c a c c c a t c a a g c g t g c c g c g a g g g c t g g g c c g c a c c t g a
c g c c c t g c t g g g c c a g g t g a a g g c c t c g c t g c t c c c t g g t g g c a g c g a g g g t g g g c g g c g g a g g g a g c t g g a c c
c a t g g a c g t c c g c g g c t c c a t c g t c t a c c t g g a g a t t g a c a a c c g g c a g t g t g t g c a g g c c t c c t c g c a g t g c t t c
c a g a g t g c c a c c g a c g t g g c c g a t t c c t g g g a g c g c t c g c c t g c t g g g c a g c c t a a c a t c c c c t a c a a g a t c g a
g g c c g t g c a g a g t g a g a c c g t g g a g c c g c c c c c g c g g c g c a g e t g c a c t t c a t g t a c g t g g c g g c g g c c c t t g
t g c t t c t g t t c t c g t g g g c t g c g g g t g c t g c t g t c c c g c a a g c g c c g g c g g c a g c a t g g c c a g c t c t g g t t c c c t

图2b-2

gagggcttcaaagtgtctgaggccagcaagaagaagcggcgggagccccctggcgaggactccgtgggacctcaagcc
 cc tgaagaacgcttcagacgggtgccccatggacgacaaccagaatgagtggggggacgaggacctggagaccaaga
 agtccggctcgaggagccccgtggtcttgccctgacctggacgaccagacagaccaccggcagtggtacctcagcagcac
 ctggatgccgctgacctgcgcatgtctgccatggccccacaccgccccagggtaggttgacgccgactgcatgga
 cgtcaatgtcccggggctgatggcttacccegc tcatgatgccctcctgcagcgggggaggcc tggagacgggca
 acagcgaggaagaggaggacgcgcccggcctcattccgacttcattaccagggcgccagcctgcacaaccagaca
 gaccgcacgggcgagaccgcttgcacctggccgcccgtactcaagctctgatgccgccaagcgcctgctggaggc
 cagcgcagatgccaacatccaggacaacatgggcccaccccgtgcatgccgctgtgtctgccgacgcacaaggtg
 tctccagatcctgatccggaaccgagccacagacc tggatgcccgatgcatgatggcacgacgccactgatcc t g
 gctgcccgcctggccgtggagggtatgctggaggacctcatcaactcacacgccgacgtcaacgccgtagatgacct
 gggcaagtccgccc tgcactgggcccgcgcccgtgaacaa t tggatgccgcagttgtgtctcctgaagaacggggct a
 acaaagatatgcagaacaacagggaggagacacccc t g t t c tggccgcccgggaggggcagctacgagaccgccaag
 gtgctgctggaccactttgccaacgggacatcacggatcatalggaccgctgccgcgcgacatcgcacaggagcg
 catgcatcacgacatcgtgaggctgctggacgagtaaacctgggtgccagcccgcagctgcacggagccccgctgg
 gggcacgcccacctgtcgccccgcctgctcgcccaacggctacctgggcagcctcaagcccggcgtgcagggc
 aagaaggtccgcaagcccagcagcaaaagcctggcctgtggaagcaaggaggccaaggacctcaaggcacggaggaa
 gaagtcccaggatggcaagggtgcttgcctggacagctccggcatgctctcgcccgtggacctccctggagtcacccc
 atggctacctgtcagacgtggcctcgccgccactgctgccc tccccgttccagcagctccgtccgtgcccc tcaac
 cacc tgcctgggatgcccgcaccccacctgggcatcgggcacctgaacgtggcggccaagcccgagatggcggcgt
 ggg tggggcgggcggcggctggcctttgagactggcccacctcgtctctcccacctgctgtggcctctggcaccagca
 ccgtcctgggctccagcagcggaggggccc tgaatttcaactgtgggggggtccaccagtttgaatgg tcaatgcgag
 tggctgtcccggctgcagagcggcatggtgccgaaccaatacaacctctgcgggggagttgtggcaccaggccccct
 gagcacacaggccccctccc tgcagcatggcatggtaggcccgtgcacagtacctt gctgccagcgcctgtccc
 agatgatgagctaccagggcctgcccagcaccggctggccaccagcctcacc tgggtgcagaccagcaggtgcag
 ccacaaaacttacagatgcagcagcagaacctgcagccagcaaacatccagcagcagcaagcctgcagccgccacc
 accaccaccacagccgcaccttggcgtgagctcagcagccagcggccacctgggcccggagcttcttgagtggagagc
 cgagccaggcagacgtgcagccactgggccccagcagcctggcgggtgcacactatctgccccaggagagccccgcc
 ctgcccacgtcgctgccatctctgctggtcccacctgaccgcagcccagttcttgacgccccctgcagcacag
 ctactcctcgctgtggacaacacccccagccaccagctacaggtgcttgagcacccttcttgacctctgcccgg
 agtgcggcgaccaatggctgctctctgctgcccgcactcaatgtgtctgactggcttgaggggctgtctgctgccccg
 acctccatgcagctccagatcgccgcgcatcccggaggcgttcaagtaatagctcgagggtgccagcagctc

图2b-3

(GenBank : AAG33848. 1)

MPPLLAPLLCLALLPALAARGPRCSQPGETCLNGGKCEAANGTEACVCGGAFVGPQCQDPNPCLSTPCKNAGTCHVV
 DRRGVADYACSCALGFSGPLCLTPLDNACLTNPCRNGGTCDLLTLTEYKCRCPGWGKSCQQADPCASNPCANGGQ
 CLPFEASYICHPPSFHGPTCRQDVNECGQKPRLCRHGGTCHNEVGSYRCVCRATHTGPNCEPYVPCSPSPCQNGG
 TCRPTGDVTHECACLPGFTGQNCENIDDCPGNNCKNGGACVDGVNTYNCPCPPEWTGQYCTEDVDECQLMPNACQN
 GGTCHNTHGGYNCVCVNGWTGEDCSENIDDCASAAACFHGATCHDRVASFYCECPHGRTGLLCHLNDACISNPCNEGS
 NCDTNPVNGKAICTCPSGYTGPAQSQDVDECSLGNPCEHAGKCINTLGSFECQCLQGYTGPRCEIDVNECVSNPCQ
 NDATCLDQIGEFQCMCPGYEGVHCEVNTDECASSPLHNCRCLDKINEFQCECPTGFTGHLQYDVECASTPCKN
 GAKCLDGPNTYTCVCTEGYTGTHCEVDIDECDPDPCHYGSKDGVATFTCLCRPGYTGHHCEETNINECSSQPCLRG
 TCQDPDNAYLCFLKGTTPNCEINLDDCASSPCDSGTCLDKIDGYEACCEPGYTGSMCNSNIDECAGNPCHNGGTC
 EDGINGFTCRCPEGYHDPCLSEVNECNSNPCVHGACRDSLNGYKCDGDPGWSGTNCDINNNECESNPCVNGGTCKD
 MTSGIVCTCREGFSGPNCQTNINECASNPCLNKGTCIDDVAGYKCNCLLPYTGATCEVVLAPCAPSPCRNGGECRS
 EDYESFSCVPTAGAKGQTCEVDINECVLSPCRHGASCQNTHGXYRCHCQAGYSGRNCETDIDDCRPNPCHNGGSCT
 DGINTAFCDCLPGFRGTFCCEEDINECASDPCRNGANCTDCVDSYTC TCPAGFSGHCENNTPDCTESSCFNGGTCDV
 GINSFTCLCPPGFTGSYQHVNECDSRPCLLGGTCQDGRGLHRCTCPQGYTGPNQNLVHWCSSPCKNGGKQWQT
 HTQYRCECPSGWTGLYCDVPSVSCEVAAQRQGVVARLCOHGGLCVDAGNTHHCRCQAGYTGSYCEDLVDECSPSPC
 QNGATCTDYLGGYSCKCVAGYHGVCSEEIDECLSHPCQNGGTCLDLNPTYKCS CPRGTQGVHCEINVDDCNPPVDP
 VSRSPKCFNNGTCVDQVGGYSTCPPGFVGERCEGDVNECLSNPCDARGTQNCVQRVNDHFCECRAGHTGRRCESVI
 NGCKGKPKNGGTCAVASNTARGFICKCPAGFEGATCENDARTCGSLRCLNGGTCISGPRSPTCLCLGPFTGPECQF
 PASSPCLGGNPCYNQGTCEPTSESPFYRCLCPAKFNGLLCHILDYSFGGGAGRIDPPPLIEEACELPECQEDAGNKV
CSLQCNNHACGWDGGDCSLNFNDPWKNTQSLQWKYFSDGHCDSCNSAGCLFDGFDCQRAEQCNPLYDQYCKDH
FSDGHCDQGCNSAECEWDGLDCAEHVPERLAAGTLVVVVLMPPEQLRNSSFHFLRELSRVLHTNVVFKRDAHQQMI
FPYYGREEELRKHP IKRAAEGWAAPDALLGOVKASLLPGGSEGGRRRRELDPMDVRSIVYLEIDNRQCQVASSQCF
QSATDVA AFLGALASLSLNIPIYKIEAVQSETVEPPPAQLHFMYVAAAFLVLLFFVGCGLLSRKRRRQHGLWFP
 EGFKVSEASKKKRREPLGEDSVGLKPLKNASDGALMDDNQNEWGDEDELETKKFRFEPPVLPDLDDQTDHRQWTQQH
 LDAADLRMSAMAPTPPQGEVDADCMDVNVRGPDGFTPLMIASCSGGLETGNSEEEEDAPAVISDFIYQGASLHNQT
 DRTGETALHLAARYSRSDAAKRLEASADANIQDNMGRTPLHAAVSADAQGVFQILIRNRATDL DARMHDGTTPLIL
 AARLAVEGML EDL INSHADVNVDL GKSALHWA AVNNVDAAVVLLKNGANKDMQNNREETPLFLAAREGSYETAK
 VLLDHFANRDI TDHMDRLPRDIAQERMHHDIVRLLDEYNLVRSPQLHGAPLGGTPTLSPPLCSPNGYLGSLKPGVQG
 KKVRKPSSKGLACGSKEAKDLKARRKKSQDGKGLLDSSGMLSPVD SLESPHGYLSDVASPPLLSPFFQQSPSVPLN
 HLPMPDTHLGI GHLNVAAKPEMAALGGGRLAFETGPPRLSHLPVASGTSTVLGSSSGGALNFTVGGSTSLNGQCE
 WLSRLQSGMVPNQYNPLRGSVAPGPLSTQAPSLQHG MVGPLHSSLAASALSQMMSYQGLPSTRLATQPHLVQTQQVQ
 PQNLQMQQNLPANIQQQSLQPPPPPPQPHLVGSSAASGHLGRSFLSGEPSQADVQPLGPSSLAVHTILPQESPA
 LPTSLPSSLVPPVTAQFLTPPSQHSYSSPVDNTPSHQLQVPEHPFLTPSPESPQWSSSSPHSNVSDWSEGVSSPP
 TSMQSQIARIPEAFK

图2b-4

HIF-3 α 4

(GenBank : AB118749. 1)

gactggcgagccatggcgctggggctgcagcgcgcaaggtcgaccacggagctgcgcaaggaaaagtcccgggatgc
ggccccagccggcgagccaggagaccgaggtgctgtaccagctggctcacacgtgcccttcgccccggcgctca
gcgcccacctggacaaggccctatcatgcgctcaccatcagctacctgcgcatgcaccgctctgcgccgaggg
gagtggaaaccaggtgggagcaggggagaaccactggatgacctgctacctgaaggccctggagggttcgtcatggt
gctcaccgccgagggagacatggcttacctgtcggagaaatgicagcaaacacctgggctcagtcagctggagctca
ttggacacagcattttgatctcatccacctgtgaccaagaggagcttcaggacgcccagccccagcagacc
ctgtccaggaggaaggtggaggccccacggagcggctctctcttgcgcatgaagagtacgctcaccagccgcg
gcgcacctcaacctcaaggcggccacctggaaggtgctgaactgctctggacataagaggcctacaagccacctg
cgcagactctccagctgggagccctgactcagagccccgctgcagtgcttggtgctcatctgcgaagccatcccc
caccaggcagctggagccccactgggcccaggggctctctcagccgccacagctggacatgaagttcaccta
ctgtgacgacaggattgcagaagtggctggctatagtcggatgacctgatcggtgttcgctcagagtacatcc
acgcgctggactccgacgcggtcagcaagagcatccacacctgtatgtatccatttccccaggtgcgaagccagct
gccacatggccccagctgacaccaggacccccagctccccataccccaggatgcactgccccccacctcaacac
cagctccctgctccccaaagcccaaggaactgtctctctcttgcccccataccccagctccccagatcttctctc
ccatttgccccccttggtggccctgac

(GenBank : BAD93355. 1)

MALGLQRRSTTELRKEKSRDAARSRRSQETEVLYQLAHTLPFARGVSAHLDKASIMRLTISYLRMHRLCAAGEWNQ
VGAGGEPLDACYLKALEGFVMVLTAEGDMAYLSENVSKHLGLSQLELIGHSIFDFIHPCDQEELQDALTPQQLSRR
KVEAPTERCFLRMKSTLTSRGRNLNKAATWKVLNCSGHMRAYKPPAQTSPAGSPDSEPPLQLVLICEAIPHPGS
LEPPLGRGAFLSRHSLDMKFTYCDDRIA EVAGYSPDDLIGCSAYEYIHALDSDAVSKSIHTCMYPI SPGAKPAATWP
PADTRTPQLPIPQDALPPLHNTSSLLPKPQGTVSFLAPSYVPRSFSPHLPWWP

图2c

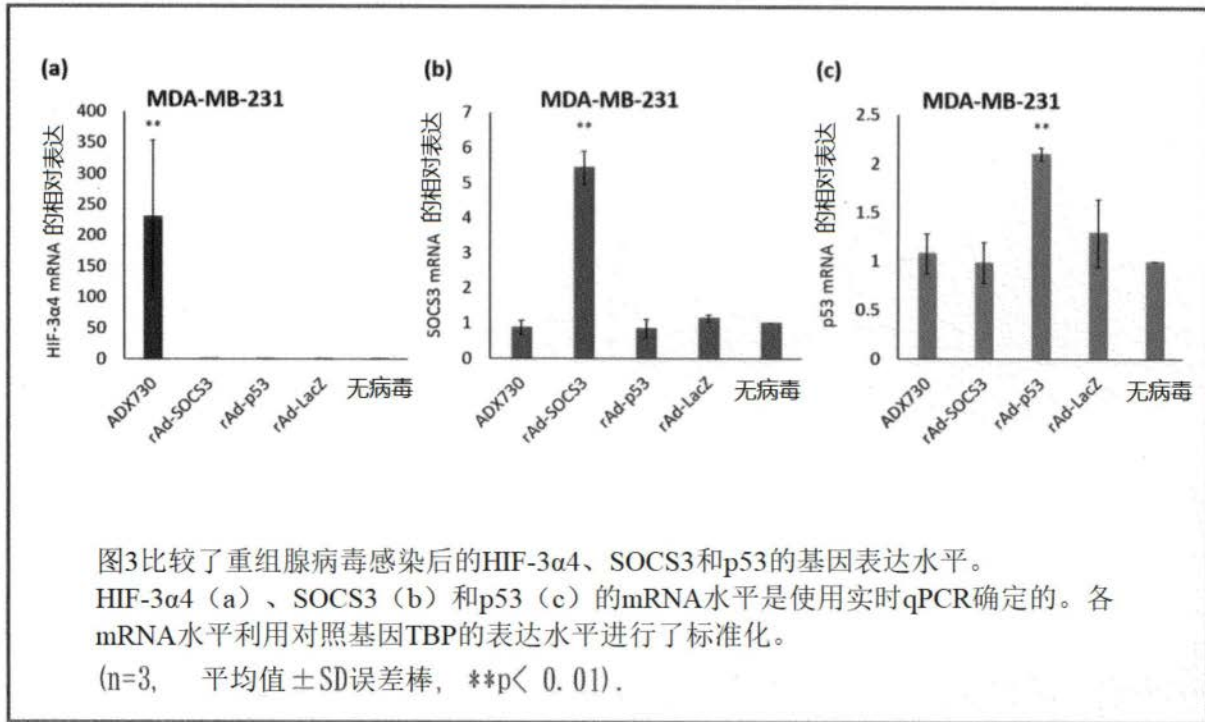


图3

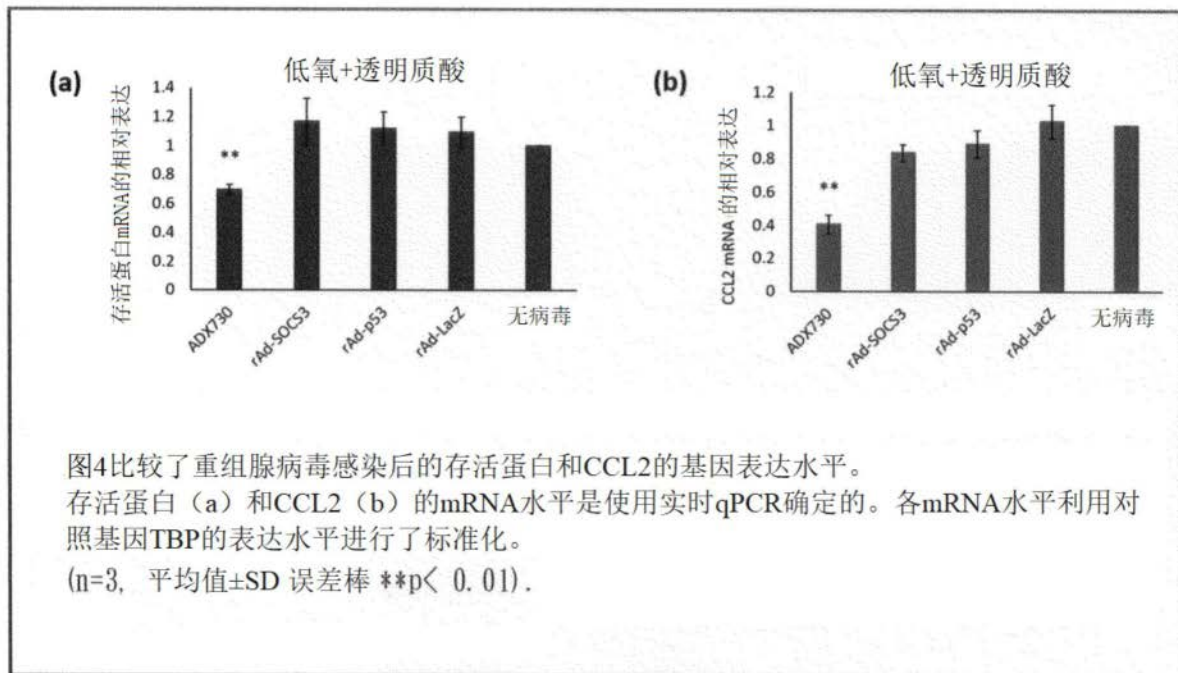


图4

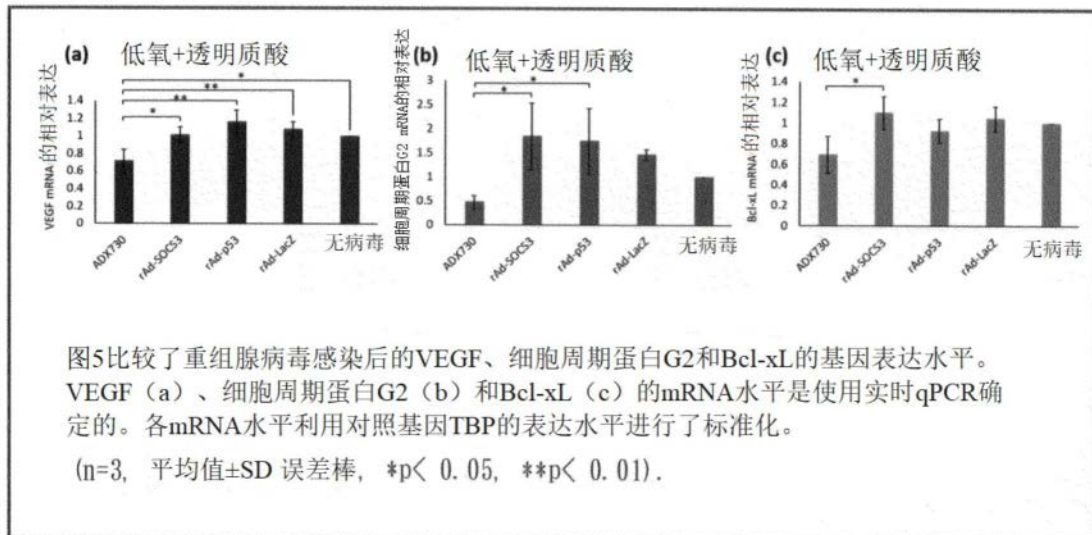


图5

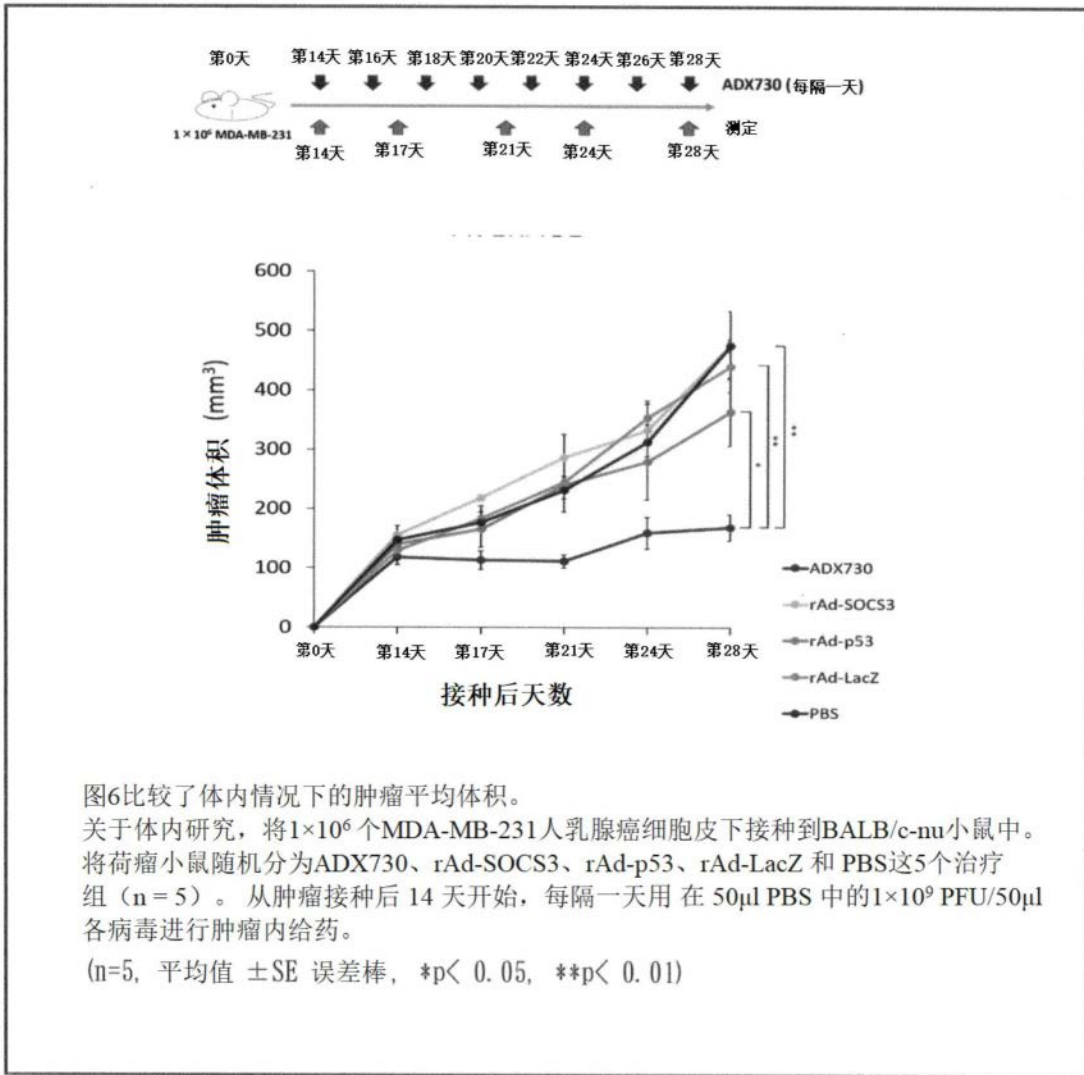


图6

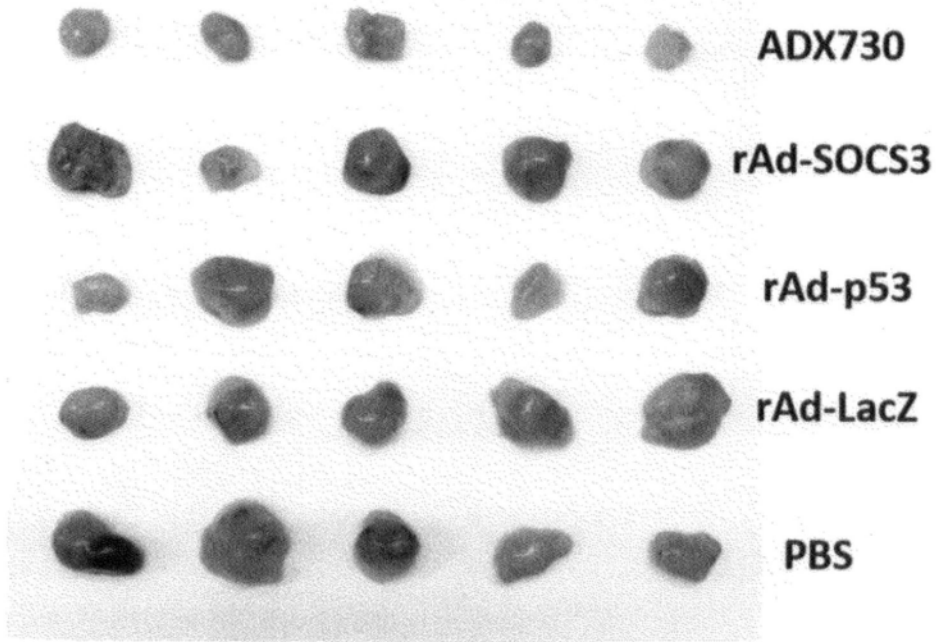


图7

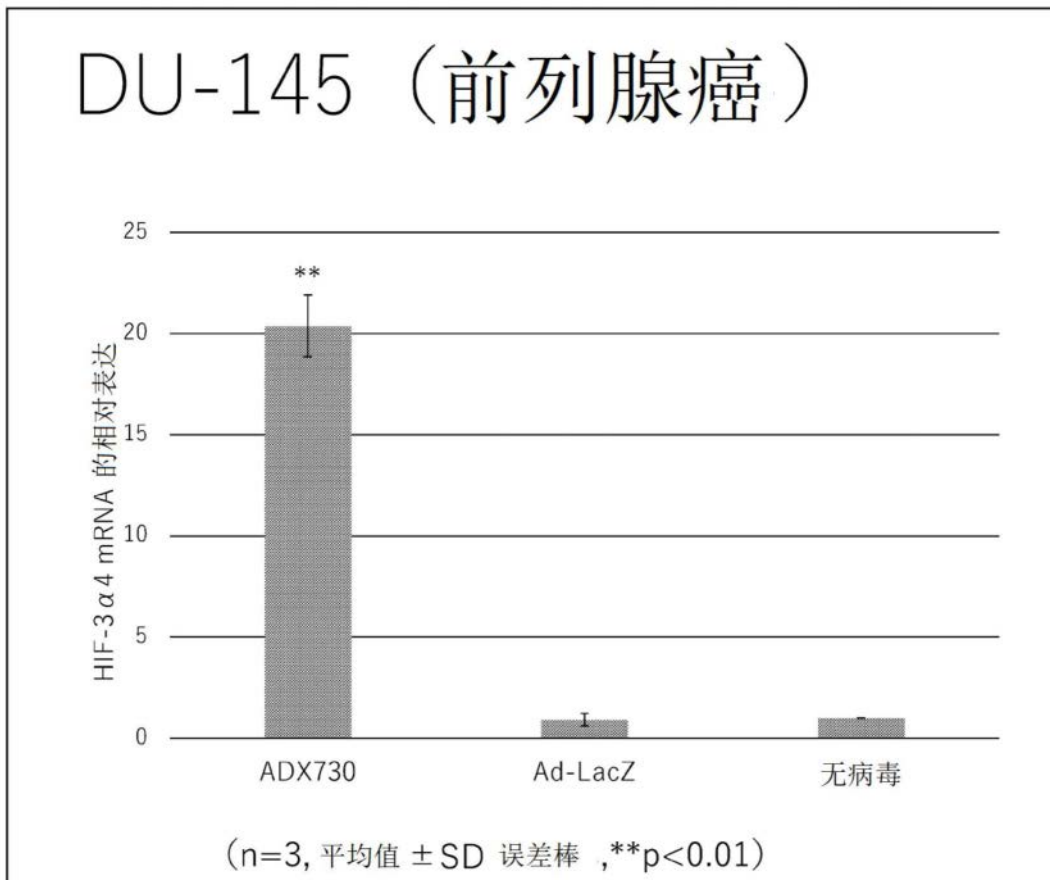


图8a

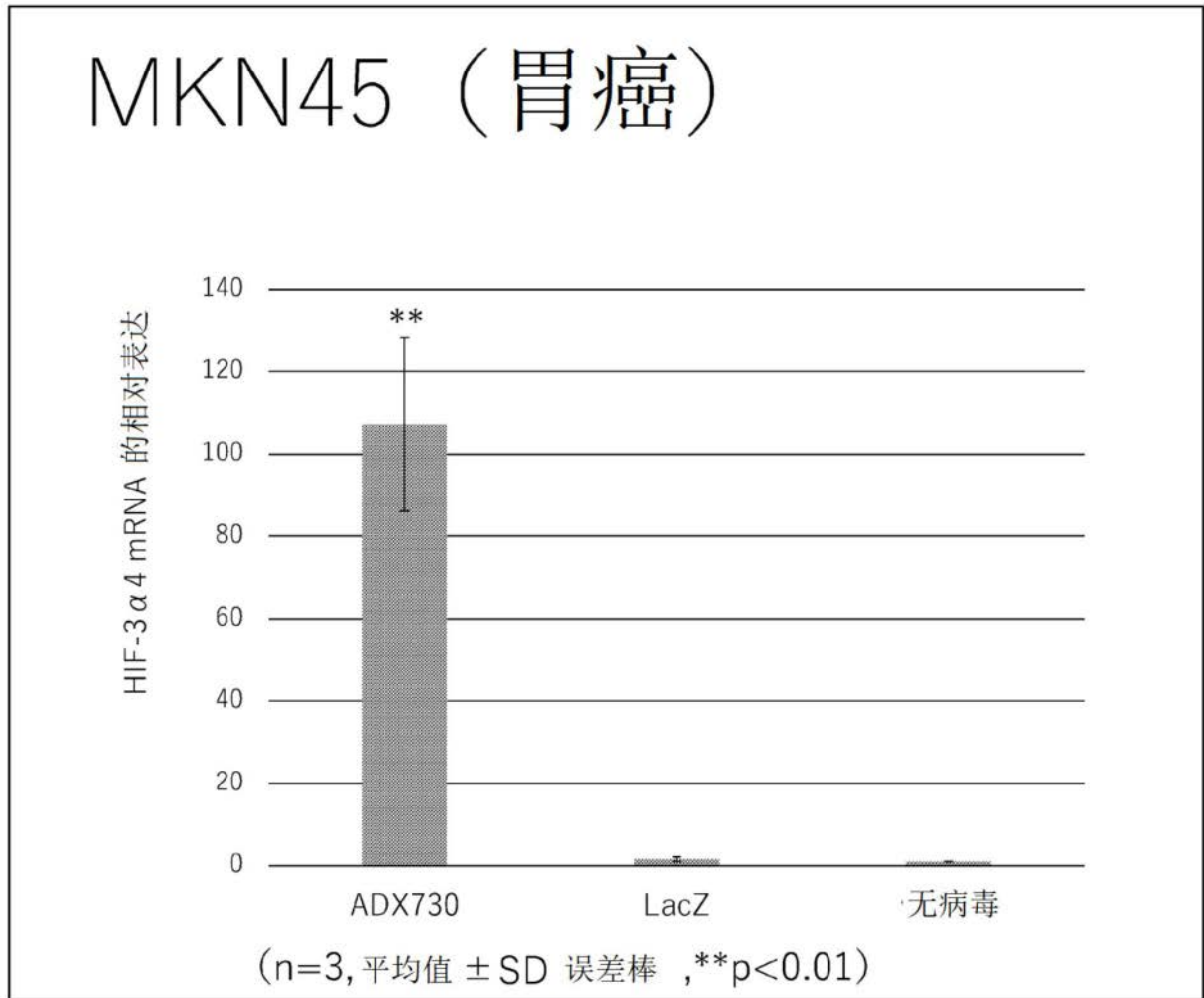


图8b

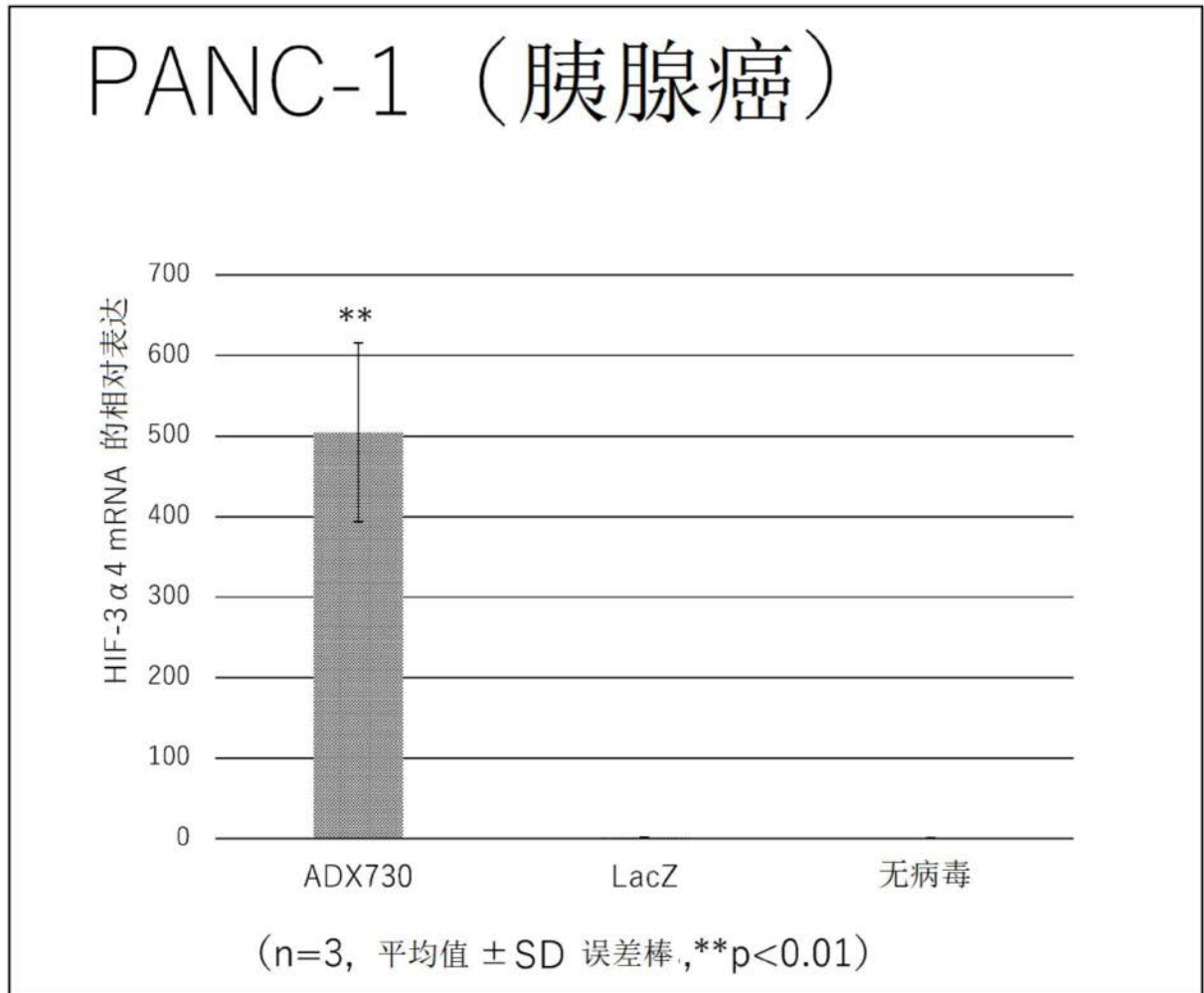


图8c