

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.
A61K 38/16 (2006.01)



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 200480004889.5

[43] 公开日 2006 年 3 月 29 日

[11] 公开号 CN 1753685A

[22] 申请日 2004.2.20

[21] 申请号 200480004889.5

[30] 优先权

[32] 2003.2.20 [33] KR [31] 10-2003-0010797

[86] 国际申请 PCT/KR2004/000357 2004.2.20

[87] 国际公布 WO2004/073730 英 2004.9.2

[85] 进入国家阶段日期 2005.8.22

[71] 申请人 财团法人牧岩生命工学研究所

地址 韩国京畿道

[72] 发明人 柳贤京 金章性 安珍衡 李好晶
康官烨 林滢权 朴政奂 林仁焕
金圣根 朱学奎 李志贤 尹 烨
朴斗鸿

[74] 专利代理机构 中科专利商标代理有限责任公司
代理人 程金山

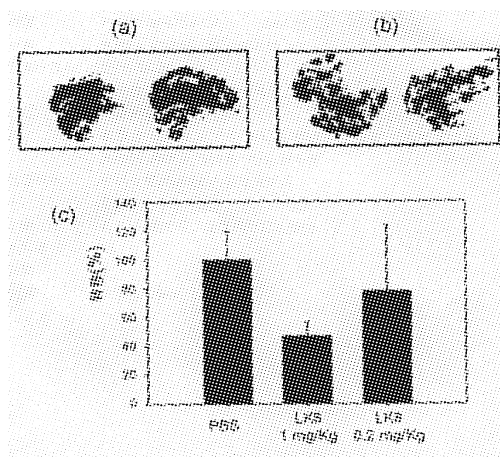
权利要求书 1 页 说明书 11 页 序列表 2 页
附图 6 页

[54] 发明名称

含有 LK8 蛋白作为活性成分的抗癌剂

[57] 摘要

本发明涉及一种包含 LK8 蛋白作为活性成分的抗癌剂。本发明的抗癌剂有效抑制恶性肿瘤的生长和转移。因此，该药剂不仅可有效用于癌转移的抑制剂，也可有效用作原发性恶性肿瘤的治疗剂。



-
1. 一种抗癌剂, 包含 SEQ. ID. No 1 所示的 LK8 蛋白作为有效成分。
 2. 如权利要求 1 中所述的抗癌剂, 其中 LK8 蛋白的有效剂量为 0.1 ~
5 100 mg/kg。
 3. 如权利要求 2 中所述的抗癌剂, 其中 LK8 蛋白的有效剂量为 1 ~ 50
mg/kg。
 4. 如权利要求 1 中所述的抗癌剂, 其中该药剂用于癌转移的抑制。
 5. 如权利要求 1 中所述的抗癌剂, 其中癌症的转移为结肠癌或直肠癌
10 的转移。
 6. 如权利要求 1 中所述的抗癌剂, 其中该药剂用于原发性肿瘤的治疗。
 7. 如权利要求 6 中所述的抗癌剂, 其中原发性肿瘤选自由前列腺癌、
结肠癌、直肠癌和肺癌组成的组。

含有 LK8 蛋白作为活性成分的抗癌剂

5 发明领域

本发明涉及一种含某蛋白作为活性成分的抗癌剂，更明确地，涉及一种抗癌剂，该药剂含一种与载脂蛋白(a)的半胱氨酸卷曲区（kringle）KV38 相对应的蛋白作为活性成分。

10 背景

肿瘤由失控的混乱的异常的细胞增殖发展而成。如果肿瘤显示出破坏性的生长、入侵和转移，则被认为是恶性肿瘤。入侵性是一种浸润或破坏周围组织的特性，尤其，形成组织边界的基底层被这种特性破坏，导致局部扩散及有时肿瘤通过循环系统流入。转移指
15 肿瘤细胞从原发病灶通过淋巴管或血管向其它区域的扩散。广义上讲，转移性也指肿瘤细胞通过腹腔或其它空间直接扩散。

迄今为止，外科手术、放射性治疗和化学治疗已单独或联合应用于癌症治疗。外科手术是除去患病组织的一种方法。这样，特定区域内的肿瘤，如乳房、结肠和皮肤，可由外科手术有效去除。然
20 而，脊椎内的肿瘤或分散性肿瘤如白血病则不能通过外科手术进行适当的治疗。

化学治疗阻断了细胞复制或代谢，并已被应用于乳腺癌、肺癌和睾丸癌的治疗。然而，接受化学治疗的癌症患者严重遭受了全身化疗的副作用的痛苦。其中普遍但严重的例子是晕动病和呕吐。化
25 学治疗的副作用甚至会影响患者的生活，因为这些副作用可能使患者的适应性迅速降低。另外，剂量限制毒性(DLT)也是化学治疗的一个主要副作用，它引起了对药品服用的仔细的关注。粘膜炎就是针对抗癌药的 DLT 的一个例子，这些抗癌药如抗代谢细胞毒剂 5-氟尿嘧啶、甲氨蝶呤、以及抗癌抗生素如多柔比星等。如果患者受
30 化疗副作用影响严重，他或她应该住院并被施以镇痛剂以减轻痛

苦。所以，化学治疗或放射性治疗的副作用是癌症患者治疗中的最大问题。

因此，急需开发一种源于生物体内的抗癌剂以减轻化学治疗的副作用。特别地，在一种生物体内产生的物质中，发现了一种有希望的物质，它不直接攻击癌症细胞，但通过对众多辅助癌细胞生长的内皮细胞发生作用而阻止癌细胞生长。所以，含此物质的抗癌剂不仅可以治疗癌症还可以阻止转移。

Kringle 是一种包含 80 个氨基酸和三个分子内二硫键的蛋白结构。Kringle 结构在许多蛋白中都有发现，如凝血酶原(Walz, D.A. 等, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 74:1069-1073, 1977)、尿激酶(Pennica, D. 等, *Nature*, 301:579-582, 1983)、肝细胞生长因子(Lukker, N. A. 等, *Protein Eng.*, 7:895-903, 1994)和载脂蛋白(a)(下文中称为'apo(a)') (McLean, J.W. 等, *Nature*, 330:132-137, 1987)。Kringle 包含一个单独的折叠单元。Kringle 的功能尚未完被清楚阐明。

Apo(a)包含两种 kringle 域, KIV 和 KV, 和一个无活性的蛋白酶样区域。Kringle 域 KIV 根据氨基酸同源性分为 10 个亚型(KIV-1~KIV-10), 15~40 个拷贝数的该域发现于许多人 apo(a)基因的等位基因中。Apo(a)通过与 apo B-100 共价结合形成一种脂蛋白(a)(下文中称为'Lp(a)'), apo B-100 是低密度脂蛋白(LDL)的一种主要蛋白成分(Fless, G.M., *J. Biol. Chem.*, 261:8712-8717, 1986)。细胞质中 Lp(a)的增加本身就是动脉粥样硬化的主要风险因子(Armstrong, V.W. *et al.*, *Artherosclerosis*, 62:249-257, 1986; Assmann, G., *Am. J. Cardiol.*, 77:1179-1184, 1996)。

基于动脉粥样硬化和癌细胞生长依赖于血管发生的事实，本发明人研究了 KV38 的抗癌活性，KV38 是人 apo(a) kringle 结构的一种。结果显示，本发明人已完成了本发明，证实此蛋白可有效用作一种抗癌剂，这是由于其通过一种 bFGF 样的内源生长因子抑制了血管生成，血管生成在癌细胞生长中是必需的。

30 发明概述

本发明的一个目的是提供一种包含人 apo(a) kringle KV38 (下文中称为 LK8 蛋白)作为活性成分的抗癌剂。

优选实施方案详述

5 为了实现本发明的上述目的, 本发明提供一种包含 LK8 蛋白作为活性成分的抗癌剂。

下文中, 本发明被详述。

本发明的抗癌剂的特征在于含有具有 SEQ. ID. No.1 所示氨基酸序列的 LK8 蛋白作为活性成分。优选使用此药剂作为转移抑制剂,
10 更优选地, 其被应用于抑制结肠癌或直肠癌向肝的转移。

另外, 该抗癌剂优选用于原发性肿瘤的治疗。更优选地, 此药剂用于治疗从由前列腺癌、肺癌、结肠癌和直肠癌的组中选择的癌症。

本发明中抗癌剂优选地含有 0.1 ~ 100 mg/kg LK8 蛋白, 更优选
15 地含 1 ~ 50 mg/kg LK8 蛋白, 施药次数为每天 1 ~ 4 次。但组成不限于上述, 并可能根据病人情况、疾病的种类和进展速度而改变。

本发明中, “KV38” 指一种 apo(a) kringle, “LK8” 指 KV38 的重组蛋白。然而, 除非特别声明, KV38 和 LK8 蛋白都通称为 LK8 蛋白。

20 本发明中的 LK8 蛋白是一个与许多 apo(a) kringle 域的 KV38 kringle 相对应的域, 通过体外以及体内抑制内皮细胞的活性而具有对癌细胞增殖和分化以及转移的抑制效应。如本发明优选实施方案所述, LK8 蛋白的全身用药导致了对原发性肿瘤及其转移的抑制(见图 2~图 6)。因此, 由于其抑制肿瘤生长和转移的功能, 本发明中的
25 LK8 蛋白可有效用作一种针对原发性肿瘤的抗癌剂及一种转移抑制剂。

如果本发明中 LK8 蛋白与常规化学治疗或放射治疗共同使用则其治疗效果将被增强。放射性治疗优选破坏原发性肿瘤, 如果在放射性治疗中施用 LK8 蛋白, 可更有效的阻止转移。对于化学治疗,
30 大剂量化学抗癌剂产生的细胞毒性是最大的问题。如果在化学治疗

中施用本发明的 LK8 蛋白,降低了剂量的化学抗癌剂将带来相同甚至改善了抗癌效果并减轻了细胞毒性。

总之,如果施用 LK8 与外科手术、放射性治疗、化学治疗或免疫治疗同时进行,治疗效果将被最大化。更进一步, LK8 蛋白的连续施用延长了微转移的休眠,抑制了原发性肿瘤的生长并稳定了病情。许多常规抗癌剂被设计用于长期服用,导致诸如连续生产蛋白和产品的天价等问题。它们的替代者是基因治疗。如果用于基因治疗,我们仍然预期 LK8 蛋白能使抗癌剂或转移抑制剂的效果最大化。

10 本发明含 LK8 蛋白的抗癌剂可口服或肠胃外给药并用于药物制剂的一般形式。

通过与通用的填充剂、膨胀剂、粘合剂、湿润剂、崩解剂、稀释剂如表面活性剂、或赋形剂相混合,本抗癌剂可制备用于口服或肠胃外给药。口服给药的固体制剂包括片剂、丸剂、散剂、粒剂或
15 胶囊。这些固体制剂通过混合一种或多种合适的赋形剂制备,如淀粉、碳酸钙、蔗糖或乳糖、明胶等。除了简单的赋形剂,也可使用硬脂酸镁、滑石等润滑剂。口服给药的液体制剂为混悬剂、溶液、乳剂和糖浆,上述制剂在通用的稀释剂如水和液体石蜡外可含有多种赋形剂如湿润剂、甜味剂、芳香剂和防腐剂。肠胃外给药制剂为
20 无菌的水溶液、水不溶性赋形剂、混悬剂、乳剂和栓剂。水不溶性赋形剂和混悬剂可含有,除一种或多种活性化合物外,丙二醇、聚乙二醇、植物油如橄榄油、可注射酯如油酸乙酯等。栓剂可含有,除一种或多种活性化合物外, witepsol、聚乙二醇、吐温 61、可可脂、月桂脂、甘油明胶等。

25 LK8 蛋白的 LD₅₀ 约为 1,000 mg/kg,说明本发明的抗癌剂非常安全(见表 2)。

附图简述

本发明中的优选实施方案参考附图可被最好理解,其中:

30 图 1 是 LK8 基因的表达载体‘pMBRI-LK8 (8.25 kb)’的示意图,

其中 LK8 cDNA (261 bp) 插入于 AOX1 启动子和 AOX1 终止子之间。

图 2 是一组照片和一幅图, 显示了小鼠(C57BL/6)尾静脉中注射的鼠黑素瘤细胞系 B16F10 的肺部转移被 LK8 蛋白的治疗所抑制。

(a) 只用 PBS 处理的小鼠肺部。

5 (b) 用 1 mg/kg LK8 蛋白处理的小鼠肺部。

(c) 图显示 B16F10 细胞向小鼠肺部的转移被 LK8 蛋白处理所抑制。

图 3 是一组照片和一幅图, 显示了植入小鼠脾脏的结直肠癌细胞系 CT-26 向肝的转移被 LK8 蛋白处理所抑制。

10 (a) 经 PBS(对照)处理和 LK8 蛋白(10 mg/kg/天)处理的小鼠肝脏。

(b) 图显示转移入用 PBS(对照)处理和 LK8 蛋白(10 mg/kg/天)处理的小鼠肝脏中的 CT-26 细胞的克隆数。

15 (c) 照片显示转移入用 PBS(对照)处理和 LK8 蛋白(10 mg/kg/天)处理的小鼠肝脏中的 CT-26 癌细胞的分布, 用苏木精&曙红染色。

图 4 是一组图显示随着 LK8 蛋白的施用, 植入人前列腺癌 PC-3 细胞的小鼠内肿瘤尺寸的变化。

(a) 图显示用 100 mg/kg/天 LK8 蛋白处理后肿瘤尺寸的变化。

(b) 图显示用 50 mg/kg/天 LK8 蛋白处理后肿瘤尺寸的变化。

20 图 5 是一幅图显示随着 LK8 蛋白的施用, 植入人肺癌 A549 细胞的小鼠内肿瘤尺寸的变化。

图 6 是一组图显示随着 LK8 蛋白的施用, 植入人直肠结肠癌 LS 174T 细胞的小鼠内肿瘤尺寸(a)和肿瘤重量(b)的变化。

25 实施例

本发明的实际的和目前优选的实施方案例示于下述实施例中。

然而, 本领域内的技术人员应当理解, 由于本公开, 可在本发明的精神和范围内做出修改和改进。

30 实施例 1: LK8 蛋白制备

<1-1>LK8 表达载体 pMBRI-LK8 的构建

为了有效制备 LK8 蛋白, 本发明人首先构建了 LK8 表达载体。

为了表达 LK8 基因, pPIC9 载体(8.0 kb, Invitrogen, Netherland)被用作基础载体。如示意图所示, pPIC9 表达载体顺序包含可提供
5 甲醇诱导的高表达的 AOX1 启动子、可使被表达蛋白分泌的 α -因子分泌信号、3'AOX1(TT)、可使转录有效终止并多腺苷酸化的 AOX1 多腺苷酸化信号、以及一个编码野生型 *Pichia pastoris* 组氨醇脱氢酶的 DNA 片断用作上述菌株转化子的选择标记。

首先, LK8 基因以 SEQ. ID. No 2 中所示引物 'LK8N-XhoI' 和 SEQ.
10 ID. No 3 中所示引物 'LK8C-EcoRI' 进行 PCR 扩增, 以 pET15b/LK8 (见 PCT/KR99/00554) 为模板。PCR 产物用限制性内切酶 *XhoI* 和 *EcoRI* 消化, 然后将消化产物插入用相同限制性内切酶消化过的 pPIC9 载体中。最后, 构建成为 LK8 基因表达载体 'pMBRI-LK8 (8.25 kb)(图 1)。

15

<1-2>含 pMBRI-LK8 的转化子的制备

Pichia pastoris, 一种甲基营养型酵母, 用作制备重组转化子的宿主。

具体地, LK8 基因表达载体 'pMBRI-LK8' 用限制性内切酶 *SacI*
20 处理, 形成线性。此载体通过同源重组插入上述宿主菌株染色体的 AOXI 基因中。此时, 用电穿孔法进行转化。从组氨酸-缺乏培养基中通过检查菌落形成挑选重组酵母转化子。用 PCR 验证 LK8 cDNA 是否已经插入所选重组转化子的 AOXI 区。然后, 重组转化子经过培养并通过甲醇诱导 LK8 基因的表达。结果, LK8 基因的表达被验
25 证, 说明该蛋白在培养基中被大量分泌。

本发明中的分泌 LK8 蛋白由 SEQ. ID. No 1 所示氨基酸序列组成。

<1-3>重组菌株的培养

<1-3-1>种子培养

30

本发明中，通过将 LK8 基因插入 *Pichia pastoris* 得到一个重组菌株。所构建的菌株进行 24 小时的种子培养以得到适量的生物量及活性(当稀释 20 倍时，OD₆₀₀ 为 0.8 – 1.2)。

种子培养在 YDP 培养基(1%酵母浸出物，2%蛋白胨，2%葡萄糖)中进行 24 小时振荡培养。使用 75L 发酵罐。初始培养基体积为 20L，通过补料分批培养法将培养物终体积调节至 40L。

<1-3-2>主培养

在 YPD 培养基中完成种子培养后，以种子培养基作为初始培养基的 30%进行主培养。主培养在含有如下表 1 所示成分的发

酵罐中进行。当发酵被甲醇供应所饱和时，回收 10%以上的发酵物以生产 LK8 蛋白。同时，甲醇被连续加入以诱导蛋白的持续表达。重复此过程以生产 LK8 蛋白。碳源的消耗速率与细胞的数量成正比。所以，当发酵物的一部分被回收时，甲醇的供应速度自动在±20%内进行调节。通过上述培养过程的重复，其中发酵连续进行 200 小时以上，得到了分泌的 250 mg/L LK8 的蛋白培养液。

<表 1>

主培养的培养基组成

培养基种类	成分	浓度
主培养基	甲醇	500 g/L
	微量金属溶液	8 ml/L
微量金属溶液培养基组成	CuSO ₄ ·5H ₂ O	4 g/L
	KI	0.3 g/L
	MnSO ₄ ·H ₂ O	4 g/L
	NaMo·H ₂ O	0.1 g/L
	H ₃ BO ₄	0.01 g/L
	CoCl ₂	0.1 g/L
	ZnCl ₂	3 g/L
	FeSO ₄ ·H ₂ O	10 g/L
	生物素	0.1 g/L
	H ₂ SO ₄	5 ml/L

实施例 2: 通过静脉注射 B16F10 鼠黑素瘤细胞进行肺转移实验

B16F10 细胞(1.8×10^5), 小鼠黑素瘤(以下称为'黑素瘤细胞')(American Type Culture Collection), 尾静脉注射于 C57BL/6 小鼠(Charles River Japan, Inc.)。从第二天起, 将 LK8 蛋白, 由上述<实
5 施例 1>制备, 连续 14 天每天两次皮下注射(1 mg/kg/天 , 0.2 mg/kg/天)。对照组注射 PBS 而不是 LK8 蛋白。在细胞植入的第 13 天, 切开小鼠取肺进行转移了的癌细胞(黑素瘤细胞)克隆计数。

结果, 注射了 PBS 的对照小鼠组的肺中形成了巨大的克隆, 说明黑素瘤细胞的转移(图 2)。相反, 注射了 LK8 蛋白的实验小鼠组
10 中因黑素瘤细胞转移而形成的克隆的数量和尺寸小得多和少得多(图 2b)。总之, 与对照组相比, 1 mg/kg 的 LK8 蛋白处理显示了 53% 的转移抑制(图 2c)。

实施例 3: 通过脾内施用小鼠结直肠癌细胞 CT-26 进行肝转移实验

15 CT-26 细胞(American Type Culture Collection), 小鼠结直肠癌细胞, 被注射入脾内以诱导向肝的转移。然后, 研究了 LK8 蛋白的转移抑制效果。特别地, CT-26 细胞, 在平板上长至 80%成熟, 用 PBS 洗涤, 然后用 0.02% EDTA 分散。单细胞再次用 PBS 洗涤, 然后小心重悬于 PBS。悬液用锥虫蓝染色以细胞计数。将细胞密度调至 $5 \times$
20 $10^5/\text{ml}$, 每只小鼠注射 $100 \mu\text{l}$ 。所用为 6~8 周龄 BALB/c 小鼠(Charles River Japan, Inc.)。手术切开腹部右侧后, 用 30 号针头将癌细胞悬液小心注射入脾脏。LK8 蛋白皮下注射入实验组, 一天两次, 10 mg/kg/天 , 类似地, 将盐水注入对照组。14 天后, 处死小鼠检测其肝脏(图 3a), 计数肝表面所见的克隆数量, 其已用 10% 的福尔马林溶
25 液固定。各组的重量无大的差异。然而, 施以 10 mg/kg/天 LK8 蛋白的实验组中转移到肝脏中的克隆数量比对照组要少得多。注射了 10 mg/kg/天 LK8 蛋白的实验组中克隆数量与对照组相比降低约 60%(图 3b)。另外, 福尔马林固定的肝组织切片用 H&E 染色进行观察。结果, 用 LK8 处理的实验组中肿瘤区域比对照组有限得多(图
30 3c)。

实施例 4：原发性肿瘤的生长抑制

为了研究 LK8 蛋白对体内血管生成抑制效应，采用了一种异种移植肿瘤模型。各相关实验采用 4 周龄随机交叉雌性 Balb/c nu/nu 裸鼠(Charles River Japan, Inc.)，喂养于无菌条件下。

<4-1>人前列腺癌细胞(PC-3)

人前列腺癌 PC-3 细胞(American Type Culture Collection)培养于补充了 10%FBS 的 RPMI 1640 培养基(GIBCO™, Invitrogen Corporation)，然后约 5×10^6 PC-3 细胞皮下注射入裸鼠背部中心肌肉区。植入后的整 10 天后，LK8 蛋白以 100 mg/kg/天进行注射。其间，对照组只注射 PBS 而不是 LK8 蛋白。此处理持续 30 天，然后，每 3 或 4 天测量肿瘤的尺寸。结果显示，肿瘤的生长被 LK8 蛋白所抑制，与对照组相比有约 60%的抑制(图 4a)。当 LK8 蛋白以 50 mg/kg/天注射时，肿瘤生长以相似的方式被抑制，与对照相比有超过 60%的抑制(图. 4b)。

<4-2>人肺癌细胞(A549)

人肺癌 A549 细胞(American Type Culture Collection) 培养于补充了 10% FBS 的 DMEM 培养基(GIBCO™, Invitrogen Corporation)。然后 1×10^7 肿瘤细胞皮下注射入裸鼠背部的中心肌肉区。植入整 5 天后，以 50 mg/kg/天注射 LK8 蛋白。对照组只施用 PBS 而不是 LK8 蛋白。处理持续了 46 天，然后，每 3 或 4 天测量肿瘤尺寸。结果显示，肿瘤生长被 LK8 蛋白的治疗所抑制，与对照组相比抑制了 61% (图 5)。

<4-3>人结直肠癌细胞(LS 174T)

人结直肠癌 LS 174T 细胞(American Type Culture Collection)培养于补充了 10% FBS 的 RPMI 培养基 (GIBCO™, Invitrogen Corporation)。然后 5×10^6 肿瘤细胞皮下注射入裸鼠背部的中心肌

肉区。植入整 5 天后，以 50 mg/kg/天注射 LK8 蛋白。对照组只施用 PBS 而不是 LK8 蛋白。处理持续了 34 天，然后，每 3 或 4 天测量肿瘤的尺寸。结果显示，肿瘤生长被 LK8 蛋白处理所抑制，与对照组相比有 64%的抑制(图 6a)。并且，实验最后一天测量显示，LK8 蛋白处理使肿瘤的重量降低了 68.7% (图. 6b)

实施例 5: LK8 蛋白的急性毒性实验

5 周龄 SPF SD(Sprague Dawley)系大鼠被用于急性毒性的实验。将大鼠分为 5 组，这 5 组大鼠每组分别一次性通过静脉注射施以 LK8 蛋白 260 mg/kg, 364 mg/kg, 510 mg/kg, 714 mg/kg 和 1000 mg/kg(表 2)。14 天后，观察大鼠中的实验材料、LK8 蛋白、用药、死亡、临床症状和重量变化。进行血相检查和血液生化检查，尸检中用肉眼检查胃肠或胸腹部器官任何异常状况。结果显示，施以 1000 mg/kg LK8 蛋白的组检测到微弱的毒性，但在其它组的大多数检测中既未发现毒性也未发生死亡，这些检测包括重量变化、血液检查、血相检查和血液生化检查、尸检等。因此，本实验中所用 LK8 蛋白被认为是安全的物质，因为其在大鼠内高至 1,000 mg/kg的水平时不会导致大鼠体内的任何毒性变化，而且其估计的 LD₅₀ 值在大鼠内远高于 1,000 mg/kg(表 2)。

<表 2>

LK8 蛋白施用后随天数变化的死亡数量

施用量 (mg/kg)	死亡数 /实验 鼠总数	LK8 蛋白施用后的天数														
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
260	0/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
364	0/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
510	0/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
714	0/5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1000	3/5	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

工业应用

如上文所述，LK8 蛋白具有对转移的抑制效应，尤其，当全身施用，对人前列腺癌、肺癌、结肠癌和直肠癌的生长抑制。因此，包含本发明 LK8 蛋白的抗癌剂可有效用作原发性肿瘤的治疗剂或

5 转移抑制剂。

本领域内的技术人员应当理解在前述的描述中公开的概念和特定的实施方案可容易地用作修改或设计其它实现与本发明相同目的的实施方案的基础。本领域内的技术人员还将理解这些等价的实施方案没有背离本发明在所附权利要求中所阐明的精神及范围。

<110> 财团法人牧岩生命工学研究所

<120> 含有 LK8 蛋白作为活性成分的抗癌剂

<130> 2p-11-19

<160> 3

<170> KopatentIn 1.71

<210> 1

<211> 75

<212> PRT

<213> 人类

<400> 1

Cys Met Phe Gly Asn Gly Lys Gly Tyr Arg Gly Lys Lys Ala Thr Thr
1 5 10 15

Val Thr Gly Thr Pro Cys Gln Glu Trp Ala Ala Gln Glu Pro His Arg
20 25 30

His Ser Thr Phe Ile Pro Gly Thr Asn Lys Trp Ala Gly Leu Glu Lys
35 40 45

Asn Tyr Cys Arg Asn Pro Asp Gly Asp Ile Asn Gly Pro Trp Cys Tyr
50 55 60

Thr Met Asn Pro Arg Lys Leu Phe Asp Tyr Cys
65 70 75

<210> 2

<211> 34

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> LK8N-XhoI 引物

<400> 2

tccgctcgag aaaagagaac aagactgtat gttt 34

<210> 3

<211> 31

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> LK8C-EcoRI 引物

<400>	3	
cgaattctta agaggatgca cagagaggga t		31

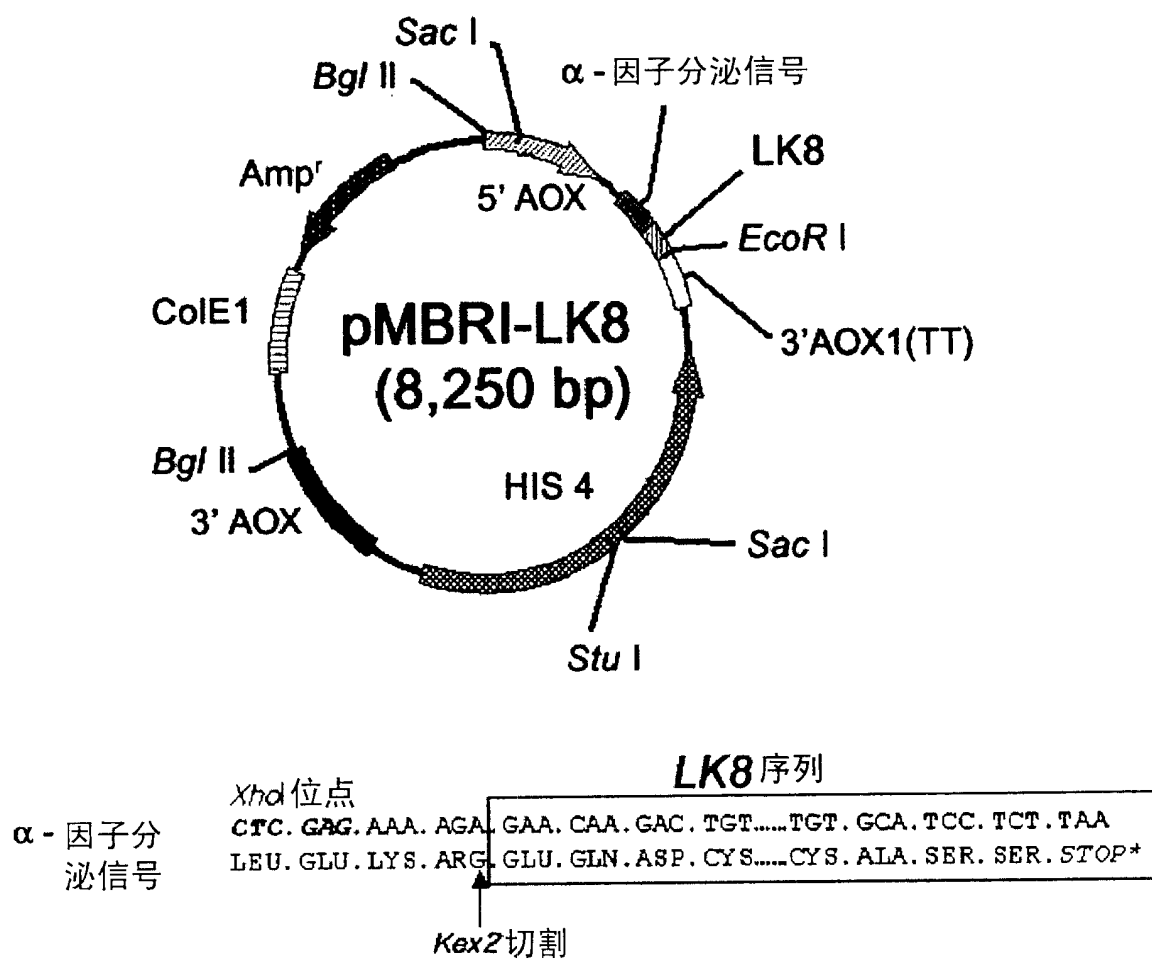


图 1

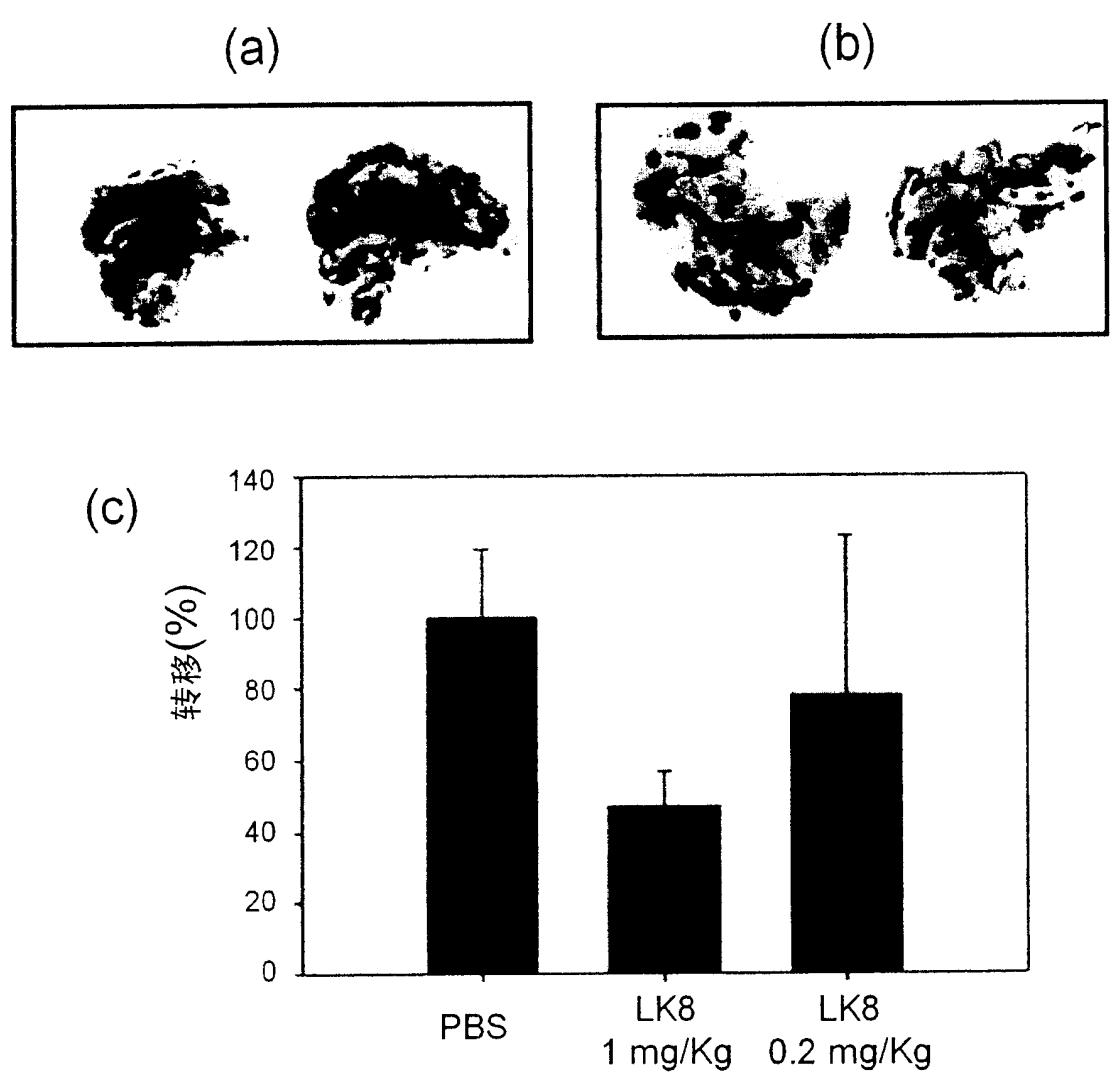


图 2

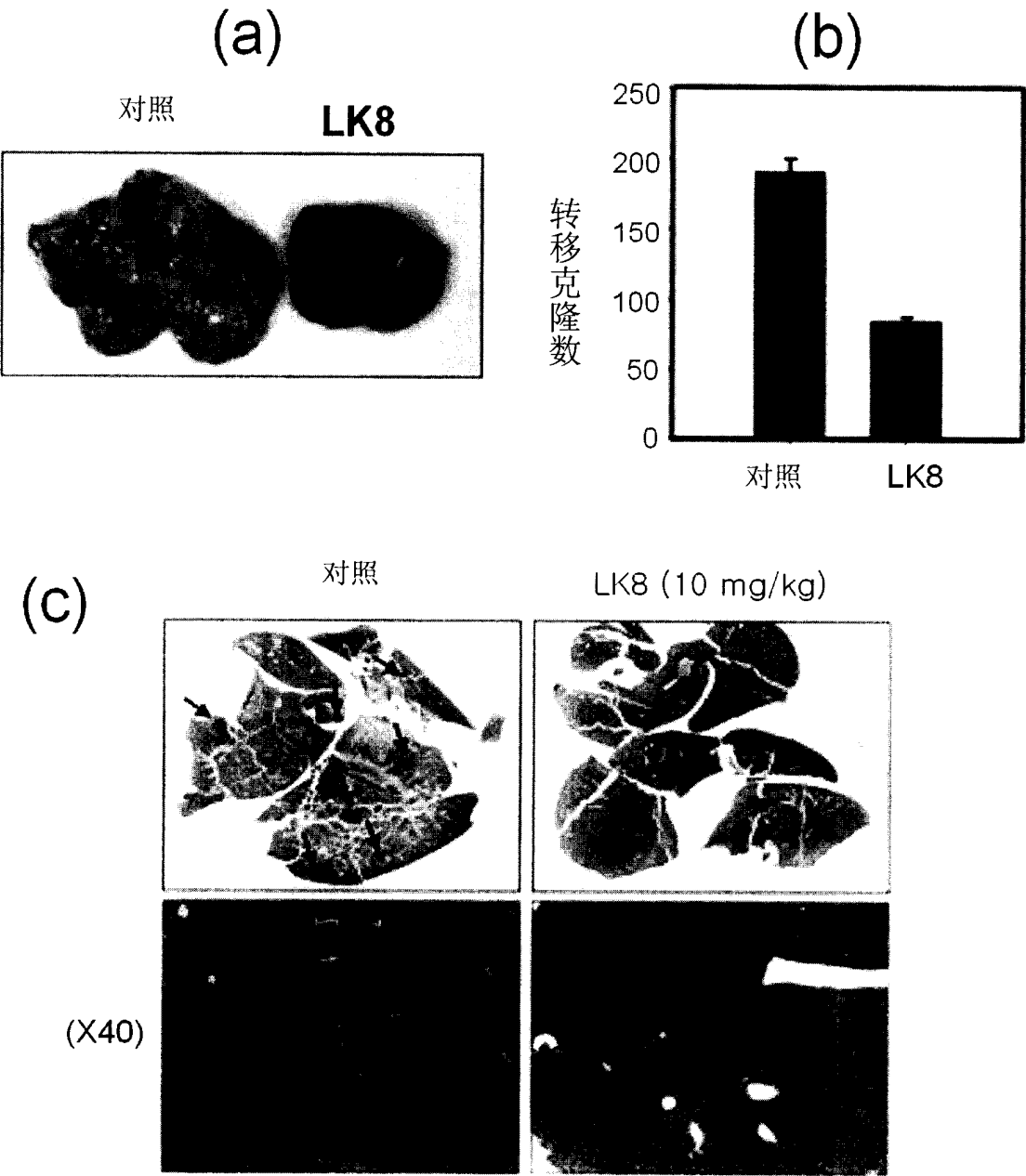


图 3

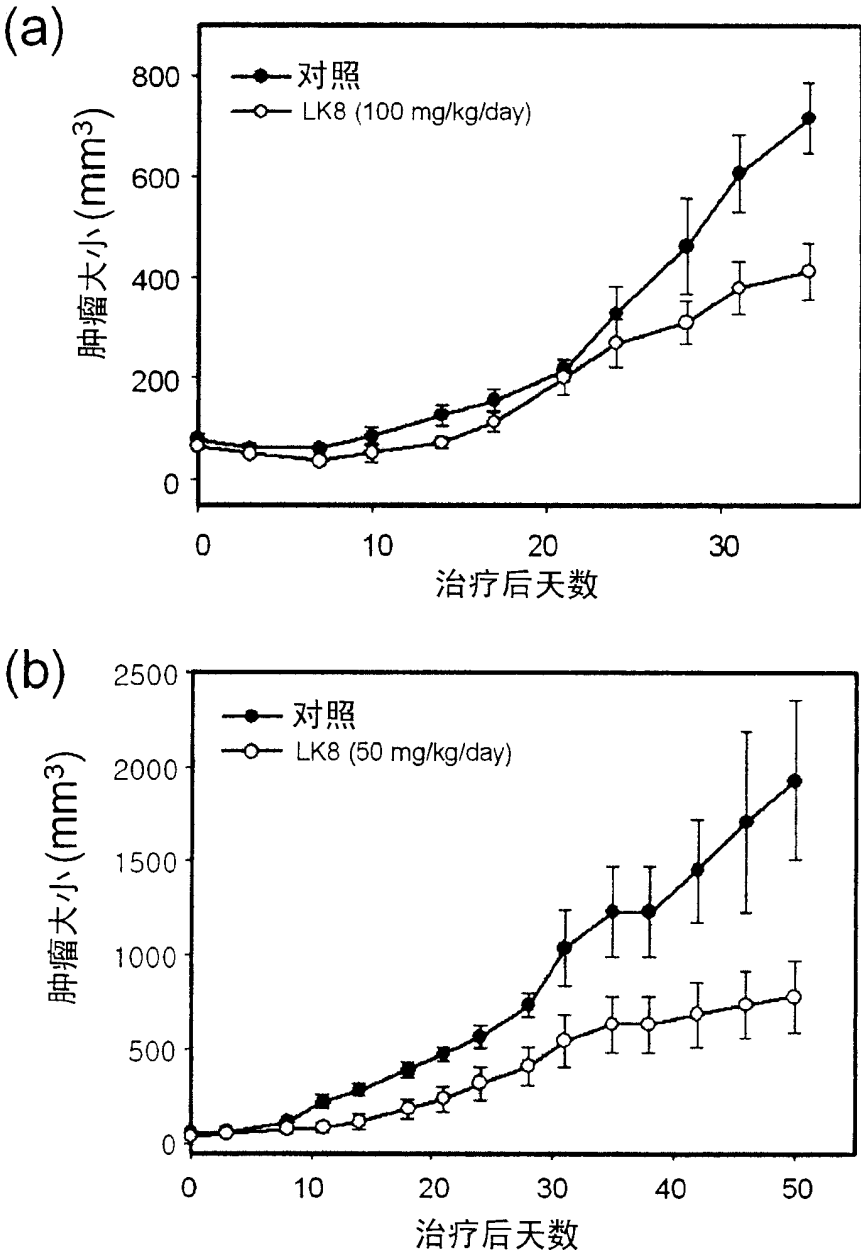


图 4

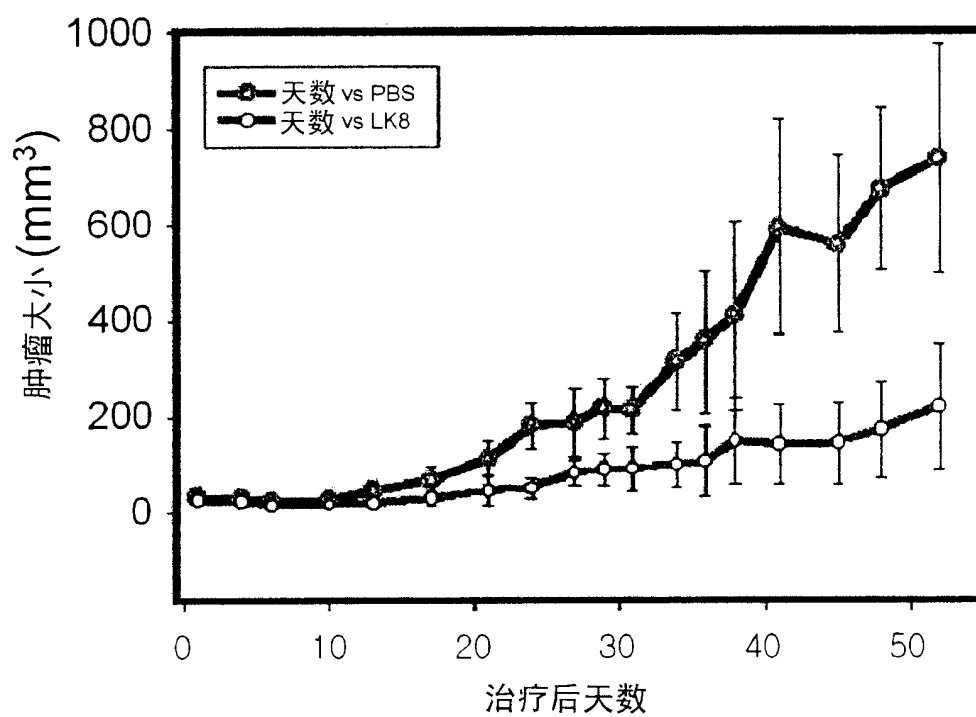


图 5

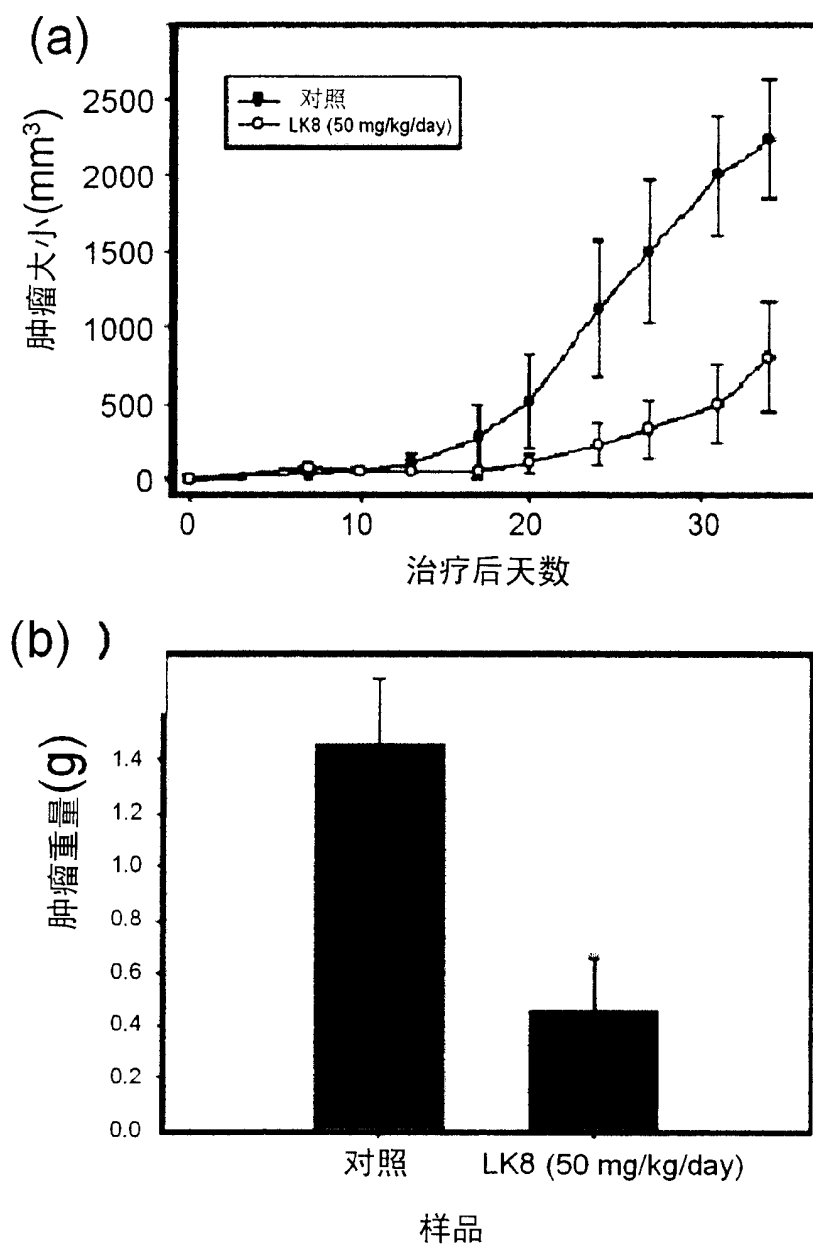


图 6