

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl<sup>7</sup>

C07H 21/00

C12Q 1/68



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02805272.2

[43] 公开日 2004 年 4 月 28 日

[11] 公开号 CN 1492875A

[22] 申请日 2002.2.21 [21] 申请号 02805272.2

[30] 优先权

[32] 2001. 2. 21 [33] US [31] 60/271,254

[86] 国际申请 PCT/US2002/005278 2002.2.21

[87] 国际公布 WO02/068444 英 2002.9.6

[85] 进入国家阶段日期 2003.8.21

[71] 申请人 希龙公司

地址 美国加利福尼亚州

[72] 发明人 C·莱因哈德 A·B·杰斐逊

V·W·占

[74] 专利代理机构 上海专利商标事务所

代理人 周承泽

权利要求书 3 页 说明书 34 页 序列表 43 页  
附图 12 页

[54] 发明名称 用于诊断和作为癌症治疗靶标的  
TTK

[57] 摘要

本发明提供了通过检测 TTK 的表达水平鉴定癌细胞的方法，以及利用哺乳动物癌症中这些基因的不同表达的诊断、预测和治疗方法。这些方法可在确定受试者对一具体治疗作出反应的能力中起作用，如作为合理治疗的基础。此外本发明提供了鉴定在癌症中调节这些基因活性的药物的试验，这些基因参与癌症，本发明也提供了通过抑制 TTK 活性抑制肿瘤生长的方法。

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

1. 一种减少癌细胞生长的方法，其特征在于，该方法包括：  
使癌细胞接触可有效降低细胞中酪氨酸苏氨酸激酶(TTK)多肽活性的试剂量；  
5 其中所述癌细胞中 TTK 多肽活性的降低可减少细胞生长。
2. 如权力要求 1 所述的方法，其特征在于，所述 TTK 活性的降低是 TTK 多肽水平降低的结果。
3. 如权力要求 2 所述的方法，其特征在于，所述试剂是 TTK 反义多核苷酸。
4. 如权力要求 3 所述的方法，其特征在于，所述 TTK 反义多核苷酸包含在以病毒为基础的载体中。  
10
5. 如权力要求 1 所述的方法，其特征在于，所述 TTK 活性的降低是 TTK 多核苷酸水平降低的结果。
6. 如权力要求 1 所述的方法，其特征在于，所述试剂是特异性结合 TTK 的单克隆抗体。
7. 如权力要求 1 所述的方法，其特征在于，所述 TTK 多肽包括 SEQ ID NO:14  
15 的氨基酸序列。
8. 一种鉴定可减少癌细胞生长的候选试剂的试验，其特征在于，该试验包括：  
检测当候选试剂存在时 TTK 多肽的活性；和  
将当候选试剂存在时 TTK 多肽的活性和没有候选试剂时 TTK 多肽的活性进行比较；  
20 较；  
其中，相当于没有候选试剂时的 TTK 活性，候选试剂存在时 TTK 活性的降低说明候选试剂降低了癌细胞的生长。
9. 如权力要求 8 所述的试验，其中所述检测步骤使用 SEQ ID NO:26 的多肽作为底物。
10. 如权力要求 8 所述的试验，其中所述检测步骤使用易受 TTK 磷酸化影响的  
25 SEQ ID NO:26 的片断作为底物。
11. 如权力要求 10 所述的试验，其中所述片断包括 SEQ ID NO:27 或 28 的多肽。
12. 如权力要求 10 所述的试验，其中所述多肽片断是生物素化的。
13. 如权力要求 8 所述的试验，其中所述 TTK 多肽是使用选自杆状病毒、细菌、  
30 酵母和哺乳动物系统的系统的表达产物。
14. 如权力要求 13 所述的试验，其中所述 TTK 多肽是使用杆状病毒系统的表达产物。

15. 如权力要求 8 所述的方法，其中所述 TTK 多肽包括 SEQ ID NO:14 的氨基酸序列。
16. 一种鉴定降低 TTK 活性的试剂的方法，其特征在于，所述方法包括：  
使呈现提高的 TTK 编码多核苷酸表达的癌细胞与候选试剂接触；以及  
5 确定候选试剂对 TTK 多肽活性的效果；  
其中，TTK 活性的降低说明所述试剂可降低 TTK 活性并抑制癌细胞生长。
17. 如权力要求 16 所述的方法，其中所述 TTK 活性的降低是 TTK 多肽水平降低的结果。
18. 如权力要求 16 所述的方法，其中所述 TTK 活性的降低是 TTK mRNA 水平降  
10 低的结果。
19. 如权力要求 17 所述的方法，其中所述候选试剂是 TTK 反义多核苷酸。
20. 如权力要求 19 所述的方法，其中所述 TTK 反义多核苷酸含在以病毒为基础的载体中。
21. 如权力要求 16 所述的方法，其中所述癌细胞是乳腺癌细胞。
- 15 22. 如权力要求 16 所述的方法，其中所述癌细胞是结肠癌细胞。
23. 如权力要求 16 所述的方法，其中所述 TTK 多肽包括 SEQ ID NO:14 的氨基酸序列。
24. 如根据权力要求 18 所述的方法，其中所述 TTK 活性通过检测 TTK-编码多核苷酸的表达来测定。
- 20 25. 一种检测受试者卵巢癌以外的癌症的方法，其特征在于，所述方法包括：  
在获自癌症疑似病例的试验细胞中检测 TTK 多肽的表达；以及  
将试验细胞中 TTK 多肽的表达水平与相同组织类型的正常非癌细胞中的表达水平进行比较。  
其中，检测到试验细胞中 TTK 多肽的表达水平相对于正常非癌细胞中的表达水  
25 平显著增加说明受试者患有卵巢癌以外的癌症。
26. 如权力要求 25 所述的方法，其中所述试验细胞是结肠细胞。
27. 如权力要求 25 所述的方法，其中所述试验细胞是乳房细胞。
28. 一种检测受试者中卵巢癌以外的癌症的方法，其特征在于，所述方法包括：  
在获自癌症疑似病例的试验细胞中检测 TTK 多核苷酸的表达；以及  
30 将试验细胞中 TTK 多核苷酸的表达水平与相同组织类型的正常非癌细胞中的表达水平进行比较。  
其中，检测到试验细胞中 TTK 多核苷酸的表达水平相对于正常非癌细胞中的表

达水平显著增加说明受试者患有卵巢癌以外的癌症。

29. 如权力要求 29 所述的方法，其中所述试验细胞是结肠细胞。

30. 如权力要求 29 所述的方法，其中所述试验细胞是乳房细胞。

31. 一种预测受试者中卵巢癌以外的癌症疾病的方法，其特征在于，所述方法  
5 包括：

检测受试者的试验癌细胞中 TTK-编码多核苷酸的表达；以及

将试验癌细胞中 TTK-编码多核苷酸的表达水平与作为对照的非癌细胞中的表  
达水平进行比较。

其中，试验癌细胞中 TTK 的表达水平相对于作为对照的非癌细胞中的表达水平  
10 是癌症疾病预后的指示。

32. 如权力要求 31 所述的方法，其中所述检测表达是通过检测 TTK-编码转录物  
进行的。

33. 如权力要求 31 所述的方法，其中所述试验细胞是结肠细胞。

34. 如权力要求 31 所述的方法，其中所述试验细胞是乳房细胞。

15

## 用于诊断和作为癌症治疗靶标的 TTK

### 发明领域

本发明的涉及疾病诊断和癌症治疗以及抗癌剂的鉴定。

### 发明的背景

有丝分裂关卡基因在发育中的作用及在疾病如癌症中的潜在作用已广泛研究。有丝分裂关卡包括一些不同的确保正确细胞分裂的机制。例如，纺锤体关卡相应于在赤道板染色体不正确的排列而调节(细胞分裂)后期开始的定时。如果检测到缺陷，转换信号以暂停细胞周期进一步进行，直到达到正确的两极结合纺锤体。一些哺乳动物纺锤体关卡相关蛋白开始在芽殖酵母中鉴定，最近被确定并部分特征鉴定。这些蛋白与所有的活性人类着丝粒相关，包括在后期开始前有丝分裂早期阶段的新着丝粒。发现与关卡蛋白复合体(BUB1、BUBR1、BUB3、MAD2)、后期促进复合体(Tsg24、p55CDC)联系的蛋白，和其它与有丝分裂关卡调控(ERK1、3F3/2抗原表位、hZW10)联系的蛋白仅和活性着丝粒特异性联系，说明只有活性着丝粒参与纺锤体关卡。Saffery R 等, *Hum Genet.* 107:376-84(2000)。

酪氨酸苏氨酸激酶(TTK)，一种蛋白激酶，磷酸化丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸羟氨酸(Mills 等, *Biol. Chem.* 267:16000-6(1992))。激酶与 TTK 联系最紧密，包括 SPLK1 丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸激酶、Pim1、PBS2、CDC2 丝氨酸/苏氨酸激酶和 TTK 激酶(Mills 等, *Biol. Chem.* 267:16000-6(1992))。人 TTK 的核苷和氨基酸序列在如 GenBank Accession No. M86699 中提供。TTK 表达在静止细胞和低增殖指数的组织中显著减少或缺乏(Hogg 等, *Oncogene* 9:89-96(1994))。TTK mRNA 在人睾丸、胸腺、骨髓和其它含许多增殖细胞的组织中表达，且在含少量或没有分裂细胞的组织中没有检测到。TTK 表达在一些迅速增殖细胞系中检测到，包括许多癌细胞系。TTK 表达也在来自两个恶性卵巢癌患者的样品组织样本中检测到(Mills 等, *ibid.*; Schmandt 等, *J. Immunol.* 152:96-105(1994))。TTK 表达与细胞增殖相关，并在细胞周期调控中发挥作用(Hogg 等, *ibid.*)。非常低水平的 TTK mRNA 和蛋白质在饥饿细胞中存在。当细胞被引导进入细胞周期时，TTK mRNA、蛋白质的水平和激酶活性在细胞周期的 G1/S 期增加，在 G2/M 达到顶峰。TTK mRNA 水平及激酶活性在 G1 早期剧烈下降，而蛋白质水平大量地维持着。TTK 是酿酒酵母 (*S. cerevesiae*) 激

酶 mps1 和 *S. pombe* 蛋白 mph1 的人同源物，它们都参与细胞周期纺锤体关卡，因此显示 TTK 是纺锤体关卡基因(例如参见 Cahill 等, *Genomics* 58:181-7(1999))。

尽管有丝分裂关卡损伤在人类癌症中发现(如，这类损伤存在于约 40%人肺癌细胞系中)，MAD 有丝分裂关卡基因和 BUB 基因家族中的突变很少发生。Haruki N 等, *Cancer Lett.* 162:201-205(2001); Mimori K 等, *Oncol Rep.* 8:39-42(2001); Cahill 等, *ibid.*)。因此需要鉴定在人类癌症中发挥作用的有丝分裂关卡基因，因为它们可作为提供信息的诊断和/或预测指示物和治疗对象。

### 发明概述

本发明提供了通过检测 TTK 的表达水平鉴定癌细胞的方法，以及利用哺乳动物癌症中这些基因的不同表达的诊断、预测和治疗方法。这些方法可在确定受试者对一具体治疗作出反应的能力中起作用，如作为合理治疗的基础。此外本发明提供了鉴定在癌症中调节这些基因活性的药物的试验，这些基因参与癌症，本发明也提供了通过抑制 TTK 活性抑制肿瘤生长的方法。

在第一个实施方案中，本发明提供了鉴定被怀疑患有癌症(如肺、结肠、前列腺(prostate)或乳房组织活组织检查)的受试者样品中 TTK 水平的方法，包括定量样品中 TTK 水平。鉴定样品中 TTK 水平增加提供了在样本细胞中细胞周期关卡损伤的指示。

在另一个实施方案中，发明提供了确定恶性或前恶性生长的特征，包括确定(或定性或定量)生长细胞中的 TTK 水平，与在癌症和/或正常组织不同阶段中已知的水平比较。例如，为确定一具体受试者结肠癌的特征，癌症的样品可去除，确定癌症中 TTK 的水平，与正常组织和/或来自相同细胞类型的结肠癌不同阶段中的水平比较。因此样品中鉴定的 TTK 水平可作为恶性或前恶性生长的许多特征的指示，由已知组织和癌症的特征确定。TTK 的水平可直接与其它单个样品中的水平比较，或者可与来自多样品数据的标准比较。

在又一个实施方案中，样品的 TTK 水平可用于作为确定恶性或前恶性生长的受试者的适当治疗干涉的一个指标。例如，高增长的 TTK 水平可指示需要更多的侵入性治疗，因为它指示较晚起的癌症。另外，TTK 的表达水平可指示一具体药物的受试者的反应，特别是通过有丝分裂关卡影响癌症的治疗干涉。

在另外一个实施方案中，发明描述了鉴定抑制肿瘤剂的方法，具体是乳腺或结肠肿瘤，通过使表达 TTK 的细胞接触候选试剂，并评估试剂对 TTK 活性的效果。

因此，一方面发明描述了在受试者中诊断癌症的方法，方法包括在获得自受试

者的试验样品中检测 TTK 多核苷酸或多肽，从而确定基因产物的表达水平；比较试验样品中 TTK 的表达水平和相应于相同组织的正常细胞中的表达水平；其中发现试验样品中的 TTK 表达水平比正常细胞中的表达水平显著增加说明试验细胞示癌细胞。在具体实施方案中，癌症是除卵巢癌外的癌症，对结肠癌和乳腺癌具有特别的兴趣。

另一方面，发明描述了确定受试者中癌症疾病预测的方法，方法包括检测来自受试者的试验细胞中 TTK 的表达水平；其中试验细胞中相对于对照细胞中表达水平的 TTK 的表达水平指示癌症疾病的预测。例如，当对照细胞是正常细胞时，试验细胞中相对于正常细胞的 TTK 表达水平上升显示受试者中癌细胞继续存在，因此预测比当试验细胞中 TTK 的表达水平相当于正常(非癌症)细胞中发现的水平时相对较差。在具体的实施方案中，除卵巢癌外的癌症的发展引起特别的兴趣，尤其是结肠癌和乳腺癌。

另外一方面，发明描述了抑制癌细胞生长的方法，包括导入反义多核苷酸到细胞中抑制 TTK 表达，其中 TTK 表达的抑制抑制了癌细胞的复制。

还有一方面，发明描述了评估受试者肿瘤负担的方法，方法包括检测来自受试者试验样品中的 TTK 表达水平，试验样品怀疑包括提高的 TTK 表达；其中检测试验样品中的 TTK 表达水平指示受试者的肿瘤负担，试验样品中相对于对照非癌细胞的 TTK 表达水平上升表明受试者中存在肿瘤。

又一方面，发明描述了鉴定具有抗 TTK 活性的试剂的方法，方法包括使呈现提高的 TTK 表达的癌症细胞接触候选试剂；并确定候选试剂对 TTK 活性的效果；其中 TTK 活性减少表明试剂有抗 TTK 活性。在具体的实施方案中，TTK 活性通过检测 TTK 表达或检测 TTK 生物活性来测定。

而另一方面，发明描述了鉴定抑制癌细胞生长的候选试剂的试验，包括使表达 TTK 多肽的细胞接触候选试剂；检测 TTK 多肽的活性，比较候选试剂存在时细胞中 TTK 多肽的活性和没有候选试剂时细胞中 TTK 多肽的活性；其中相对于没有候选试剂时细胞中 TTK 活性，候选试剂存在时 TTK 活性的减少表明候选试剂降低 TTK 活性并抑制癌细胞的生长。

发明的一个主要目的是使用 TTK 作为治疗对象，例如通过鉴定调节，通常减少靶细胞中 TTK 活性的候选试剂，如为了抑制细胞生长。

本发明的一个目的是通过抑制有丝分裂关卡基因产物的活性抑制肿瘤生长，具体是通过抑制目的肿瘤细胞中的 TTK 活性。

发明的另一目的是简化合理的癌症治疗。例如，当受试者中的癌症与增高的

TTK 活性水平相联系时，相应地选择治疗试剂以促进 TTK 活性水平降低。

本发明的又一目的是在癌症中 TTK 表达水平的基础上设计临床试验，更具体的是在结和其他病人特征的基础上设计临床试验。

发明的另一个目的是鉴定 TTK 表达和干扰的关系，这在选择的疾病进展评估中会产生有效的变化。

发明的一个优势是在恶性或前恶性生长中以 TTK 表达为基础设计疾病进展的能力。

本发明的另一优势是使用更系统的方法用于以目的标记为基础的癌症疾病的发明。

本领域的技术人员通过阅读下面更详细描述的方法的细节可了解这些和其它发明的目的、优势和特征。

#### 附图简述

图 1 是说明由 PCR 检测的在不同正常组织类型中 TTK 表达的柱状图。

图 2 是说明由 PCR 检测的在不同肿瘤细胞系中 TTK 表达的柱状图。

图 3-6 是说明结肠直肠癌病人中 IGF2、MAPKAPK2、TTK 和 MARCKS 表达分布的图。

图 7 和 8 是说明反义抑制 TTK 表达后 MDA-MB-231 细胞生长抑制的图。

图 9 是说明反义抑制 TTK 表达后 SW620 细胞生长抑制的图。

图 10 是说明反义抑制 TTK 表达后在软琼脂中 SW620 细胞群落形成抑制的图。

图 11 是说明反义抑制 TTK 对正常的无限纤维原细胞没有可检测的效果的图。

图 12 是说明从 SW620 细胞去除 TTK 诱导细胞死亡的柱状图。

#### 优选实施方案的详细说明

在描述本发明前，需要理解的是本发明不限于所述具体方法学，当然也可多样化。也需理解的是本文使用的术语仅是为了描述具体实施方案，并不想要限制，因为本发明的范围仅由所附的权利要求限制。

当提供了一系列数值时，应理解除非明确地另有所指，在此范围上限和下限之间的各干涉值也被具体说明，它们可至下限单位的十分之一。在一定范围中任意规定值或干涉值和此一定范围中任何其它规定值或干涉值之间的每个较小范围包括在发明中。这些较小范围的上限和下限可独立地包括或排除于范围中，每个范围也包括在发明中，其中任一、无一或两个界限都包括在较小范围中，满足一



定范围中任何特定排除的界限。当一定的范围包括一个或两个界限时，排除任一或两个那些包含的界限的范围也包括在发明中。

除非另外定义，所有本文使用的技术和科学术语有相同的意义，如本发明所属领域普通技术人员普遍理解的。尽管任何与那些本文所述类似或相同的方法和材料可用于本发明的实践或试验，现在描述优选方法和材料。本文提到的所有出版物纳入参考文献并描述与引用的出版物相关的方法和/或材料。

必须指出的是如本文和所附加的权利要求中所用，除非另有说明单数形式也包括复数所指物。因此，例如，提及“一个细胞”包括这些细胞的复数，提到“此试剂”涉及一种或更多试剂和那些本领域技术人员所知的它们的同等物等。

提供了这里讨论的出版物，这仅是因为其公开先于本申请的申请日。本文没有任何地方承认，由于前面的发明，本发明不能在这些出版物之前授权。此外，出版物提供的日期也许与可能需要单独确定的实际的出版物日期不同。

### 定义

术语“多核苷酸”和“核酸”，在本文交换使用，涉及任何长度核苷的聚合形式，或核苷酸或脱氧核苷酸。因此，这些术语包括，但不限于，单、双或多链 DNA 或 RNA、基因组 DNA、cDNA、DNA-RNA 杂交，或包括嘌呤和嘧啶碱基或其它天然、化学或生物化学修饰、非天然或衍生核苷碱基的聚合体。这些术语进一步包括，但不限于，包括内含子序列的 mRNA 或 cDNA(例如参见 Niwa 等, (1999) *Cell* 99(7):691-702)。多核苷酸的主链可包括糖和磷酸基团(如在 RNA 或 DNA 中典型发现的)，或者修饰或置换的糖或磷酸基团。另外，多核苷酸的主链可包括合成亚基的聚合体如氨基磷酸酯，因此可以是寡脱氧核苷氨基磷酸酯或混合氨基磷酸酯-磷酸二酯寡聚体。Peyrottes 等, (1996) *Nucl. Acids Res.* 24:1841-1848; Chaturvedi 等, (1996) *Nucl. Acids Res.* 24:2318-2323。多核苷酸可包括修饰过的核苷，如甲基化核苷和核苷类似物、uracyl、其它糖，及连接基团如荧光核糖和 thioate 和核苷分枝。核苷序列可又非核苷成分中断。多核苷酸可在聚合后进一步修饰，如结合标记成分。包括在此定义中的其它类型的修饰是加帽、用类似物置换一个或更多天然发生的核苷、引入附着多核苷酸到蛋白质的方法、金属离子、标记成分、其它多核苷酸或固体支持物。

术语“多核苷酸”和“蛋白质”，在本文交换使用，是涉及任何长度氨基酸的聚合形式，包括编码和非编码氨基酸、化学或生物化学修饰或衍生的氨基酸和具有修饰过的肽主链的多肽。术语包括融合蛋白，包含但不限于，有不同氨基酸序

列的融合蛋白，与不同和同源前导序列融合，有或没有 N 末端甲硫氨酸残基；免疫标记蛋白质等。

如本文所用，“TTK 多核苷酸”和“TTK 多肽”包括具有与人 TTK 类似或相同序列的多核苷酸和多肽(GenBank 加入号 M86699；SEQ ID NO:13 和 14)，或酿酒酵母 (*S. cerevesiae*) 激酶 mps1 基因和基因产物(SEQ ID NO:29 和 30)，*S. pombe* 蛋白 mph1 基因和基因产物(SEQ ID NO:31 和 32)，其它涉及 TTK 的基因和基因产物，如 SPK1(SEQ ID NO:15 和 16)、Pim1(SEQ ID NO:17 和 18)、TIK(SEQ ID NO:23 和 24)，至少约 65%，至少约 80%交加，至少约 85%更佳，可以是约 90%、91%、92%、93%、94%、95%、96%、97%、98%、99%或更多。序列类似性和序列同一性在参考序列基础上计算，可是更长序列的亚群，如保守基序、编码区域、侧翼区域等。参考序列通常至少约 18nt 长，更常见的是至少约 30 nt 长，可延长到在比较的全序列。一般而言，序列同一性百分比的计算可通过计数质疑序列和试验序列间配对残基的数量(如核苷残基或氨基酸残基)，并将总配对数除以在最强比对区域中发现的各序列残基数目。因此，11 个残基的质疑序列中的 10 个残基与试验序列配对，上述同一性百分比为 11 分之 10 或约 90.9%。在计算机基础上序列分析的算法在本领域已知，如 BLAST(例如参见 Altschul 等, *J. Mol. Biol.*, 215:403-10(1990))，具体是 Smith-Waterman 同源搜索算法如用于 MPSRCH 程序(Oxford Molecular)。为了本发明的目的，计算同一性百分比的优选方法是使用下列的 Smith-Waterman 算法。总体 DNA 序列同一性必须大于 65%，如用于 MPSRCH 程序(Oxford Molecular)的 Smith-Waterman 同源搜索算法所确定，使用具下列搜索参数的精确缺口搜索：缺口开放罚分为 12；缺口衍生罚分为 1。人 TTK cDNA 以 SEQ ID NO:13 的多核苷酸序列表示，人 TTK 多肽以 SEQ ID NO:14 的序列表示。

“反义多核苷酸”或“反义寡核苷酸”在本文交换使用以代表未修饰或修饰过的核酸，具有与给定多核苷酸序列(如编码 TTK 的多核苷酸序列)互补的核苷序列，包括与给定多核苷酸序列(如编码 TTK 的多核苷酸的启动子)转录或翻译联系的多核苷酸序列，其中反义多核苷酸能和 TTK-编码多核苷酸序列杂交。有特殊兴趣的是或在体外或体内能抑制 TTK-编码多核苷酸的转录和/或翻译的反义多核苷酸。

如本文所用，术语“cDNA”用于包括共享天然成熟 mRNA 种类中发现的序列元件排列的所有核酸，其中序列元件是外显子(如编码编码多肽的可读阅读框的序列)和 3'及 5'非编码区域。正常 mRNA 种类有邻近的外显子，通过核 RNA 剪接去除间隔内含子以产生连续编码 TTK 的可读阅读框。

如“变化多肽”中所用，“变体”是指由一个或更多相对参考氨基酸序列的氨

氨基酸改变的氨基酸序列。变体可有“保守”变化，其中置换的氨基酸有类似结构或化学特性，如用异亮氨酸置换亮氨酸。更罕见的是，变体可有“非保守”变化，如用色氨酸置换甘氨酸。类似的小变化也可包括氨基酸缺失或插入，或两者都有。确定哪些和多少氨基酸残基可置换、插入或缺失而不去除生物或免疫活性的指南，可用本领域熟知的计算机程序发现，如 DNASStar 软件。

“缺失”定义为氨基酸或核苷序列中的变化，其中与参考氨基酸序列或核苷序列相比，分别缺失一个或更多氨基酸或核苷残基。缺失可以是任何长度，但优选的是约 50、20、15、10、5 或 3 个氨基酸或核苷长度。

“插入”或“添加”是氨基酸或核苷序列中的变化，导致与参考氨基酸序列或核苷序列相比，分别加入一个或更多氨基酸或核苷残基。插入或添加可以是任何长度，但优选的是约 50、20、15、10、5 或 3 个氨基酸或核苷长度。

“置换”来自用不同氨基酸或核苷分别置换一个或更多氨基酸或核苷，如与参考氨基酸序列或核苷序列相比。置换可以是任何长度，但优选的是约 50、20、15、10、5 或 3 个氨基酸或核苷长度。

术语“单核苷多态性”和“SNP”指相对于参考序列的单碱基变化的多态性。

术语“生物活性”指基因产物，通常是多肽，具有天然发生基因产物的结构、调节或生物功能，如蛋白质。“免疫活性”定义天然、重组或合成多肽，或任何它的寡肽的能力，以在适当动物或细胞中引起特异的免疫应答和结合特异的抗体。

如本文所用，术语“衍生”指相对于参考核酸或氨基酸序列的一个核酸或氨基酸序列的化学修饰。这些修饰的说明是用烷基、酰基或氨基基团置换氢。核酸衍生物一般编码多肽，编码的多肽保留由参考核酸编码的多肽的必要生物特征(如，“亲本”分子)。

如本文所用，术语“分离”意味着描述感兴趣的化合物(或多核苷酸或多肽)，化合物所处环境不同于天然发生的化合物所处的环境。“分离”意味着包括样品中的化合物，样品显著浓缩用于感兴趣的化合物和/或其中感兴趣的化合物部分或充分纯化。

如本文所用，术语“充分纯化”指从其天然环境中去除的化合物(或多核苷酸或多肽)，且至少 60%没有，较佳的是 75%没有，最佳的是 90%没有与其天然相联系的其它成分。

“严紧性”通常在从约-5℃温度(低于探针或抗体温度 5℃)到低于温度约 20 到 25 的范围中发生。如本领域技术人员所理解的，严紧性杂交可用于鉴定或检测相同多核苷酸序列或者鉴定或检测类似或相关多核苷酸序列。

如本文所用，术语“杂交”包括“核酸链通过碱基配对连接互补链的任何过程”（Coombs, 生物技术字典, Stockton Press, 纽约 NY(1994)）。在聚合酶链反应技术中采用的扩增描述于 Dieffenbach 等, PCR 引物, 实验室手册, Cold Spring Harbor Press, Plainview NY(1995)。

如本文所用，术语“转化”指永久或暂时遗传变化，在下列结合新 DNA(即细胞外源 DNA)的细胞中诱导。遗传变化可通过结合新 DNA 到宿主细胞基因组或者暂时或稳定维持新 DNA 作为游离成分获得。当细胞是哺乳动物细胞时，永久遗传变化一般通过引导 DNA 到细胞基因组中达到。

如本文所用，术语“构建物”指重组核酸，一般是重组 DNA，产生重组核酸用于表达具体核苷序列，或用于构建其它重组核苷序列。

如本文所用，术语“差异表达”一般指在试验细胞中表达水平与参考细胞中的水平显著不同的多核苷酸，如，当与相同类型的非癌细胞相比时，癌细胞中 mRNA 以至少约 25%、至少约 50%到约 75%、至少约 90%增加或减少水平发现，通常至少约 1.2 倍、至少约 1.5 倍、至少约 2 倍、至少约 5 倍、至少约 10 倍、或者至少约 50 倍或更多增加或减少。比较可在 2 种组织间进行，例如，如一种试验使用原位杂交或另一种使组织中细胞类型间一定程度识别的试验方法。比较也可在取自它们组织来源的细胞间进行。“差异表达”指基因时间和/或细胞表达模式中定量以及定性的不同，在如正常和赘生性肿瘤细胞间，和/或经历不同肿瘤发展事件的肿瘤细胞间。

如本文所用，术语“相应于”或“表现”，例如，短语“相应于差异表达基因的多核苷酸”用于指给定多核苷酸和从中获得多核苷酸的基因(如，获得自基因编码区域、基因剪接变体、外显子等的多核苷酸)或多核苷酸在更严紧条件下杂交的基因之间的关系。

如本文所用，“差异表达的多核苷酸”指核酸分子(RNA 或 DNA)，包括表现或相应于差异表达基因的序列，如差异表达的多核苷酸包括独特识别差异表达基因的序列(如，编码基因产物的可读阅读框；非编码序列)，从而在样品中差异表达的多核苷酸的检测与样品中存在差异表达的基因相关。“差异表达的多核苷酸”也意味着包括所示多核苷酸的片断，如保留生物活性的片断以及与所示多核苷酸同源、显著类似、或显著相同(如有约 90%序列同一性)的核酸。

如本文所用，“诊断”一般包括确定受试者对疾病或紊乱的感受性，确定受试者是否受疾病或紊乱的影响，受疾病或紊乱的影响(如，鉴定转移前或转移癌症状态、癌症阶段或癌症对治疗的反应)的受试者的预测，和治疗(监控受试者的情况

以提供用于治疗效果或功效的信息)。

如本文所用,“与癌症联系的多肽”(如,在与结肠癌联系的多肽中)指多肽在癌细胞中相对同样类型的正常细胞以相对更高或更低的水平存在。

术语“生物样品”包括从生物体获得的多种样品种类并可用于诊断或监控试验。术语包括血液和其它生物来源的液体样品、固体组织样品,如活组织检查样本或组织培养物或从那里获得的细胞和其后代。术语包括在获得后以任何方式操作的样品,如用试剂处理、溶解、或浓缩某些成分。术语包括临床样品,也包括在细胞培养、细胞上清液、细胞溶解产物、血清、血浆、生物液体和组织样品中的细胞。

如本文所用,术语“治疗”、“处理(treating)”、“处理(treat)”等一般指获得理想的药理和/或生理效果。效果可根据完全或部分防止疾病或它的症状起预防作用,和/或根据部分或完全稳定或治疗疾病和/或对疾病的反效果起治疗作用。如本文所用,“治疗”涵盖对哺乳动物疾病的任何治疗,具体是人,包括:(a)防止疾病或症状在受试者上产生,可先倾向于疾病或症状但还未诊断具有;(b)抑制疾病症状,即抑制其发展;或者缓解疾病症状,即引起疾病或症状的退化。因此“治疗癌症”包括一种或更多细胞增殖的抑制、转移的抑制等。

术语“个体”、“受试者”、“宿主”和“病人”,在本文交换使用,指任何受试哺乳动物,它们的诊断、治疗或疗法是所需的,具体是人。其它被试的可包括牛、狗、猫、豚鼠、兔、大鼠、小鼠、马等等。

如本文所用,短语“特异性结合对”包括一个特异性结合部分和结合伙伴,他们对彼此有特殊的特异性并在严紧条件下优先于其它分子彼此结合。具体结合对的例子是抗原和抗体、分子和受体以及互补核苷序列。本领域的技术人员通过阅读本说明可了解结合对的其它例子。此外,术语“特异性结合对”也可用于特异性结合部分和结合伙伴之一或两者都包括部分大分子。在特异性结合对是核酸序列的实施方案中,优选的是在10到200核苷长度,更优选的是大于15到100核苷长度。

“抗体”意味免疫球蛋白蛋白质,能结合抗原。如本文所用,抗体意味着包括完整抗体及任何能结合抗原表位、抗原或感兴趣的抗原片断的抗体片断(如, $F(ab')_2$ 、 $Fab'$ 、 $Fab$ 、 $Fv$ )。

发明的抗体具免疫反应性或免疫专一性,因此特异和选择结合感兴趣的蛋白质,如人TTK蛋白质。优选免疫反应性的和对人TTK免疫专一的抗体。人TTK抗体优选免疫专一性的-即与相关材料没有显著交叉反应,尽管它们也许识别TTK同

源交叉品种(across species)。术语“抗体”包括所有类型的抗体(如单抗和多抗)。

“特异性结合”意味抗体高亲合力和/或高亲和性地结合特异多肽,如 TTK 蛋白的抗原表位。抗体结合到此特异多肽上的抗原表位强于相同的抗体结合任何其它的抗原表位,具体是那些可存在于分子中,与同样样品联系或在其中,如感兴趣的特异多肽。特异性结合感兴趣的特异的抗体能以弱但可检测的水平结合其它多肽(如显示 10%或更低的结合感兴趣的特异的抗体)。这种弱结合或背景结合,可从结合感兴趣的化合物或多肽的特异抗体中辨别,如通过用适当对照。

术语“癌症”、“赘生物”、“肿瘤”等在本文交换使用,指表现出相对自发生长的细胞,因此它们表现出异常生长表性,特征为对照的细胞增殖显著减少。一般,本应用中检测或治疗的感兴趣的细胞包括前恶性(如良性增生)、恶性、转移和非转移细胞。

如本文所用,“TTK 活性”指 TTK 多肽在磷酸化受体底物中的活性。

如本文所用,“调节 TTK 活性”指 TTK 活性的增加或减少,可由于,例如试剂与 TTK 多肽相互作用(如可逆或不可逆结合抑制剂,从而干扰在 TTK 活性磷酸化中 TTK 多肽与供体分子或接受(受体)分子的相互作用)、抑制 TTK 转录和/或翻译(如通过与 TTK 基因或 TTK 转录物的反义相互作用,通过促进 TTK 表达的转录因子的调节)等。本发明对导致 TTK 活性下降的 TTK 活性调节感兴趣。在此情况下,TTK 活性可通过抑制剂相对没有试剂时的 TTK 活性下降至少 10%、25%、50%、75%、85%、90%到 100%。TTK 活性可通过测定酶活性、测定 TTK 多肽水平或测定 TTK 转录水平来评估。比较 TTK 活性也可通过比较试验样品中测定的 TTK 活性(或定性或定量)和标准 TTK 活性(如与正常细胞相联系的在没有抑制剂或拮抗剂时的 TTK 活性水平,选定组织类型的癌细胞的 TTK 活性水平等)。

### 总结

人 TTK 是有丝分裂关卡基因,编码 857 个氨基酸的蛋白质,表现出混合特异性(tyr/thr)激酶活性。例如参见 Mills GB 等, *J Biol Chem.* 267:16000-6(1992)。本发明以 TTK 在结肠肿瘤细胞中相对正常结肠细胞表达不同的发现为基础,如微阵列分析所测。不同表达在来自不同形式癌症的细胞系中证实,表明 TTK 作为一个更普遍的机制参与癌症。此外,用反义寡核苷酸“敲除”TTK 信息破坏 TTK 功能使增殖减少、抑制不依赖贴壁生长并诱导癌细胞系程序性死亡,包括转移性乳腺癌细胞系(MDA-MB-213)和结肠直肠癌细胞系(SW620)。这些数据说明 TTK 在癌症化疗中可作为治疗对象,其中 TTK 过度表达。

TTK 与癌症相联系的鉴定和抑制 TTK 活性(如通过减少 TTK 表达)的证实作为发

明材料和方法的基础，如本文所示和讨论的，用于如诊断病人的癌症，具体是接受降低 TTK 活性治疗的癌症。发明也提供了设计和选择适当治疗和/或预防治疗，可通过靶向那些最有可能产生作用的进行流水治疗。发明也提供了与异常 TTK 水平相联系的癌症的治疗(如与 TTK 过度表达或过度生成联系)，例如抑制基因产物生成(如降低转录和/或翻译的水平)、减少 TTK 活性(如减少 TTK 基因产物生成(如在转录或翻译水平)和/或降低一种或更多 TTK 激酶的活性)。

现在更详细地描述发明的不同方面。

### 诊断方法

发明的一个方面以一个发现为基础，TTK 活性在癌细胞(具体是结肠癌和乳腺癌)中以比相同细胞类型的正常细胞高的水平存在。此发现作为鉴定癌细胞以及鉴定接受抑制 TTK 活性治疗的肿瘤的基础，如，通过在转录或翻译或两者水平上抑制 TTK 表达等。

TTK 基因产物如 TTK 编码 mRNA 或 TTK 多肽有特别兴趣作为标记(例如在体液(如血液)或在组织中)来检测癌症发生途径中最早的变化(如从非癌症组织中区分癌症组织)和/或监控不同治疗和预防干涉的效果。例如，与相同类型正常细胞或组织比较相对增加的 TTK 表达水平可指示较差的预测，因此允许对病人采取更具侵入性的治疗(如化疗或放射治疗)或反之亦然。替代肿瘤具体特征与患者对治疗的反应和结果间的相互关联可确定预测指示物，这样可基于肿瘤分子分布设计专门的治疗。这些治疗包括靶向抗体、拮抗物(如小分子)和基因治疗。确定 TTK 表达和比较病人的分布与正常组织中已知的表达以及疾病的变体可确定对病人尽可能最佳的治疗，既根据治疗的特征也根据病人的舒适水平。替代肿瘤标记如多核苷酸，也可用于更好的分类，从而诊断和治疗癌症的不同形式的疾病状态。两种广泛用于肿瘤学且受益于鉴定 TTK 表达水平的分类划分癌症疾病的阶段，为癌症组织的性质分级。

TTK 多核苷酸以及它们的编码基因产物，可用于监控患有或易患癌症的病人以在潜在恶性发展总形态水平可检测之前检测分子水平的潜在恶性发展。此外，检测 TTK 基因产物可用作治疗方法，如评估用多核苷酸或它们编码基因产物的治疗的效果，评估如病人治疗前、中和后的肿瘤负担。

此外，多核苷酸鉴定为响应在一种癌症中不同表达且因此对此种癌症重要的基因，多核苷酸也可指示其它类型癌症的发展或发展风险，如多核苷酸表现为在不同癌症种类中不同表达的基因。因此，例如，与对转移性结肠癌有临床指示的基

因相应的多核苷酸表达也可对胃癌或子宫癌症有临床指示。

在以 TTK 酶活性或 TTK 多肽表达水平或 TTK 编码多核苷酸为基础进行的诊断、预测、风险评估或肿瘤负担测定中，活性或表达水平可与适当的癌症或非癌症对照样品比较。例如，如果 TTK 活性相对同种组织类型的正常非癌细胞增加 25%、50%、75%、90%到 100%，或另外提高 5 倍、10 倍、50 倍或 100 倍以上，则可作出癌症的诊断。

在癌细胞中相对于例如不同潜在恶性癌细胞间的非癌细胞(如非恶性肿瘤细胞对高潜在恶性的细胞)不同表达的其它基因产物，除了试验细胞中 TTK 不同表达也可测试。这些示例基因产物包括，但不必须限于 MAPKAP 激酶 2 (SEQ ID.No. 33 和 34)、MARCKS (SEQ ID.No. 35 和 36) 和/或 IGF2 (SEQ ID.No. 37 和 38)。

**分段** 分段是医生用于描述病人中癌症状态如何发展的方法。分段协助医生确定预测、计划治疗和评估治疗的结果。分段系统根据癌症种类变化，但一般包括下列“TNM”系统：肿瘤类型，用 T 表示；癌症是否转移至邻近淋巴结，用 N 表示；癌症是否转移至体内更远的部分，用 M 表示。通常，如果癌症仅在主要损伤区域可检测而没有扩散到任何淋巴结，称为阶段 I。如果只扩散到最近的淋巴结，称为阶段 II。在阶段 II 中，癌症一般扩散到主要损伤位置附近。癌症扩散到体内较远的部分，如肝脏、骨、脑或其它位置，是阶段 IV，最高级的阶段。

TTK 的不同表达水平可促进分段方法精细调整，通过鉴定癌症侵入性的标记，如转移潜力，和存在于身体不同区域。因此，处于阶段 II 的癌症有大为不同的 TTK 表达水平，可表示有高转移潜力的癌症并可用于改变阶段 II 肿瘤的界限为阶段 III 肿瘤，证明需要更具侵入性的治疗。

**划为癌症等级** 分级是用于描述肿瘤有多类似相同类型的正常组织的术语。肿瘤显微镜下的外形用于在参数的基础上鉴定肿瘤级别，如细胞形态、细胞组织和其它分化标记。作为一般原则，肿瘤的级别与它的生长速度或侵入性相当，未分化或高等级肿瘤通常比很好分化或低等级肿瘤更具攻击性。下列指南一般用于划分肿瘤等级：1) GX 等级不能评估；2) G1 很好分化；G2 中等较好分化；3) G3 分化差；4) G4 未分化。TTK 活性水平(如表达水平)对确定肿瘤等级特别有价值，因为它们不仅能帮助确定肿瘤细胞的不同状况，它们也可鉴定除了分化对确定肿瘤攻击性有价值的因素，如转移潜力。

**结肠癌的检测** 相应于 TTK 的多核苷酸和多肽可用于检测受试者中的结肠癌。结肠直肠癌是人类最常见赘生物，也许是遗传性瘤最频繁的形式。预防和早期检测在控制和治疗结肠直肠癌中是关键因素。结肠直肠癌开始是息肉，息肉



是在结肠内侧形成的小的、良性生长的细胞。过了几年后，一些息肉聚集其它的突变并成为癌症。多种家族性结肠直肠癌疾病已鉴定，总结如下：1) 家族性腺瘤息肉病 (FAP)；2) 加德纳综合症；3) 遗传性非息肉结肠癌 (HNPCC)；4) 德系犹太人中的家族性结肠直肠癌。表达适当多肽和多核苷酸可用于诊断、预测和控制结肠直肠癌。检测直肠癌可用 TTK 单独表达水平或结合在结肠癌中不同表达的其它基因的表达水平确定。确定结肠癌的攻击性和/或转移潜力可通过比较 TTK 水平和与正常细胞相连的水平，比较另一种已知不同表达的序列的总水平，或其它癌症组织的标记，如表达 p53、DCC、rat、FAP (例如参见 Fearon ER 等, *Cell* (1990) 61(5):759; Hamilton SR 等, *Cancer* (1993) 72:957; Bodmer W 等, *Nat Genet* (1994) 4(3):217; Fearon ER, *Ann N Y Acad Sci.* (1995) 768:101) 或 MAPKAP 激酶 2 (SEQ ID. No. 33 和 34)、MARCKS (SEQ ID. No. 35 和 36) 和/或 IGF2 (SEQ ID. No. 37 和 38)。例如，结肠癌的发展可通过测定基因表达的水平检测，基因相应于本文所述的多核苷酸、致癌基因的水平 (如 ras) 或肿瘤抑制基因 (如 FAP 或 p53)。因此特异标记多核苷酸的表达可用于区分正常和癌症结肠组织，区分不同细胞来源的结肠癌，区分具有不同潜在转移速度的结肠癌等。回顾癌症标记，参见，如 Hanahan 等 (2000) *Cell* 100:57-70。

#### 乳腺癌的检测 大部分乳腺癌是腺癌亚类，可总

结如下：1) 原位 ductal 癌症 (DCIS)，包括粉刺状癌症；2) 渗透 (或侵入) ductal 癌症 (IDC)；3) 原位小叶癌 (LCIS)；4) 渗透 (或侵入) 小叶癌 (LIC)；5) 炎性乳腺癌；6) 骨髓癌症；7) 粘蛋白癌症；8) 乳头佩吉特病；9) 叶状柄癌症；10) 管状癌症。

TTK 表达水平可用于诊断和控制乳腺癌，以及区分乳腺癌的类型。检测乳腺癌可用 TTK 表达水平确定，TTK 单独表达或结合已知在乳腺癌中不同表达的其它基因的表达。确定乳腺癌的攻击性和/或转移潜力也可通过比较 TTK 水平和比较在癌症组织中另一种已知变化的序列的水平，如 ER 表达。此外，乳腺癌的发展可通过测定 TTK 表达相对甾类激素 (如睾丸激素或雌激素) 水平或其它激素 (如生长激素、胰岛素) 的比例检测。因此，特异标记多核苷酸和多肽的表达可用于区分正常和癌症的胸组织，区分不同细胞来源的乳腺癌，区分具有不同潜在转移速度的乳腺癌等。

#### 检测方法

本领域已知的一些用于分析来自个体的生物样品的方法增加 TTK 基因产物的表达 (如 RNA 或蛋白质)，通过检测来自受试者生物样品的 TTK 基因产物。如先前所讨论，这种分析的目的可用于诊断，检测现有癌症的存在，帮助鉴别癌症类型，协助医生确定癌症的严重性或可能的发展，和/或最优化治疗癌症。在具体非限制

的实施方案中，方法有助于检测癌细胞、促进诊断受试者的癌症和癌症的严重性（如肿瘤等级、肿瘤负担等）、促进确定受试者的预测和评估受试者对治疗的反应（如提供测定治疗效果，通过如评估化疗中或之后的肿瘤负担）。在另外的实施方案中，方法有助于分类或分层癌细胞，如用于选择病人加入临床试验人群，用于选择适当治疗（根据癌细胞表达分布选择治疗）等。

### 试剂盒

检测方法可提供作为试剂盒的一部分。因此，发明进一步提供检测 TTK 活性存在和/或水平的试剂盒，如在生物样品中，检测 TTK-编码 mRNA 和/或从而编码的多肽或者测定 TTK 活性。用这些试剂盒的过程可由临床实验室、实验性实验室、医学实践者或私人进行。发明用于检测癌细胞中不同表达的 TTK 多肽的试剂盒包括特异性结合多肽的部分，可以是特异的抗体。发明用于检测癌细胞中不同表达的 TTK-编码多核苷酸的试剂盒包括于多核苷酸特异性杂交的部分，如引物。发明检测 TTK 活性的试剂盒包括能被 TTK 磷酸化的受体底物，和标记供体底物。试剂盒可随意提供其它在操作过程中有用的成分，包括但不限于缓冲液、展开剂、标记、反应表面、检测方法、对照样品、标准、说明和解释信息。

### 筛选 TTK 核酸或多肽

检测 TTK 活性的方法包括筛选表现表达的 TTK 基因或其等位基因的 TTK 核酸序列的存在，检测 TTK 多肽。方法使用来自个体的生物样品，这些个体怀疑含核酸序列或多肽。生物样品的例子包括血液、血浆、血清、组织样品、肿瘤样品、唾液和尿。

检测 TTK 核酸或多肽的示例方法包括：(a) 确定 TTK 基因编码的多肽的存在；(b) 使用能结合 TTK 核酸序列（如一种已知互补序列）的特异性结合成分，特异性结合成分包括在严紧条件下与 TTK 序列杂交的核酸 (c) 使用物质包括对 TTK 核酸序列或其编码的多肽有特异性的抗体结构域，用于检测特异性结合成分到其结合伴侣的被标记特异性结合成分是可检测的；(d) 使用包括一种或更多引物的 PCR 确定来自病人样品的 TTK 相对水平；(e) 使用 TTK 活性试验，如 TTK 底物的磷酸化。

确定 TTK 水平包括正常 TTK 和/或 TTK 变体形式的水平。基因的一种变体形式可包含与野生型序列相比一个或更多插入、缺失、置换和/或加入一个或更多核苷，也许改变或也许没有改变基因功能。由于遗传密码的简并性，核酸水平的区别不必然反映在编码多肽的氨基酸序列的不同。然而，基因突变或其它不同可导致移框或终止密码子，可严重影响产生多肽（如果有）的性质，或者编码多肽的点突变或总体突变变化，包括在多肽中插入、缺失、置换和/或加入一个或更多氨基酸区

域。

启动子序列或其它调控区域的突变可改变(如减少或提高)来自基因的表达或影响 mRNA 转录物的加工或稳定性。

有许多方法用于在试验样品中检测具体核酸序列。试验可在含 mRNA 或 cDNA 的制品中进行, mRNA 或 cDNA 以反映样品中 mRNA 转录物相对水平的方式产生于分离的 mRNA。RNA 水平可确定特异扩增反应如使用一对或更多引物 PCR, 可用于扩增核酸区域, 优选的是与其它基因同源性较少的区域。用于试验的核酸可从细胞中取出的核酸中制备, 或在使用许多其它技术如限制性酶消化和电泳的库中制备。

核酸可用 TTK-特异探针筛选。这种探针在序列上相应于 TTK 基因区域或它的互补区域。在严谨条件下, 这种探针与试验核酸的特异杂交指示在样品中存在 TTK 核酸。为了有效筛选的目的, 超过一种的探针可用于相同的试验样品。探针可包含少到 15、20、50 或 100 SEQ ID.No. 13 的 TTK 基因的核苷, 或可长达 500、1kb 或者长度为 3.8kb 或更长。

如果序列在试验样品中存在, 等位基因-或变体-特异寡核苷酸可类似地用于 PCR 以特异扩增具体序列。评估 PCR 带是否含基因变体可采用本领域技术人员熟悉的一些方法。PCR 产物可, 例如以使其在变性聚丙烯酰胺 DNA 序列胶上呈现突变或多态性的方法处理, 特异的带连接选定的基因变体。这可同时或连续进行以确定正常 TTK 序列的水平, 如确定总 TTK 的结合水平。

在启动子或其它调节序列中没有损伤也可通过确定转录产生的 mRNA 水平或从 mRNA 翻译产生的多肽水平来评估。核酸分子序列中存在不同可用限制性酶消化的方法检测, 如在 DNA 指纹分析方法中, 当一种或更多限制性酶用于切割核酸样品时, 比较产生的限制图谱和获得自含正常基因或变体或等位基因的样品的图谱, 样品用同样的酶或几种酶消化。

可提供核酸的试验样品, 例如从细胞中提取核酸, 如来自肿瘤活组织检查的细胞。

#### 检测 TTK 多肽

有许多确定试验样品中存在或没有 TTK 多肽的方法。可测试样品是否存在特异性结合成分如抗体(或抗体混合物)的结合伴侣, 特异于野生型 TTK 和/或一种或更多 TTK 多肽的具体变体(如等位基因变体)。在这些情况中, 可在适当条件下使特异性结合成分如抗体与样品特异性结合来进行试验。当使用一组抗体时, 不同报告标记可用于每种抗体, 从而可确定每种抗体的结合。除了用抗 TTK 抗体检测 TTK 多肽, TTK 多肽也可用 TTK-特异活性试验鉴定。

### 试验

结合剂(如抗体或核酸序列)也可固定在小的不连续的位置和/或如固体支持物或诊断芯片上的阵列。这些方法有具体价值,因为它们可提供大灵敏性,具体通过使用荧光标记反应物,仅需非常少量的来自试验个体的生物样品且允许多种不同试验同时进行。后一种优势是有用的,因为它提供了与 TTK 试验协作的不同蛋白质(如致癌基因或肿瘤抑制物)的试验。因此,本发明进一步提供了固定于一种或更多结合剂的支持物或诊断芯片,结合剂能特异性结合 TTK 核酸或多肽,随意结合其它进行试验需要的反应物。

### TTK 多肽表达的方法

TTK 编码的全长或部分多肽可在任何表达系统中表达,包括例如细菌、酵母、昆虫、两栖动物和哺乳动物系统。合适载体和宿主细胞描述于美国专利号 5,654,173。用标准重组 DNA 技术纯化合适的多核苷酸构建物,技术描述于,例如 Sambrook 等,(1989) 分子克隆:实验室手册,第二版。(冷泉港出版社, Cold Spring, 纽约), 遵循现有的规则描述于美国 NHS 部门, 国家卫生研究所(NIH) 重组 DNA 研究指南。

细菌 细菌的表达系统包括那些描述于 Chang 等, *Nature*(1978) 275:615, Goeddel 等, *Nature*(1979) 281:544, Goeddel 等, *Nucleic Acids Res.* (1980) 8:4057; EP 0 036, 776, 美国专利号 4, 551, 433, DeBoer 等, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (美国) (1983) 80:21-25 和 Siebenlist 等, *Cell*(1980) 20:269。

酵母 酵母的表达系统包括那些描述于 Hinnen 等, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (美国) (1978) 75:1929; Ito 等, *J. Bacteriol.* (1983) 153:163; Kurtz 等, *Mol. Cell. Biol.* (1986) 6:142; Kurtz 等, *J. Basic Microbiol.* (1985) 25:141; Gleeson 等, *J. Gen. Microbiol.* (1986) 132:3459, Roggenkamp 等, *Mol. Gen. Genet.* (1986) 202:302) Das 等, *J. Bacteriol.* (1984) 158:1165; De Louvencourt 等, *J. Bacteriol.* (1983) 154:737, Van den Berg 等, *Bio/Technology*(1990) 8:135; Kurtz 等, *J. Basic Microbiol.* (1985) 25:141; Cregg 等, *Mol. Cell. Biol.* (1985) 5:3376, 美国专利号 4, 837, 148 和 4, 929, 555; Beach 和 Nurse, *Nature*(1981) 300:706; Davidow 等, *Curr. Genet.* (1985) 10:380, Gallardin 等, *Curr. Genet.* (1985) 10:49, Balance 等, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* (1983) 112:284-289; Tilburn 等, *Gene*(1983) 26:205-221, Yelton 等, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (美国) (1984) 81:1470-1474, Kelly 和 Hynes, *EMBO J.* (1985) 4:475479; EP 0 244, 234 和 WO 91/00357。

昆虫细胞 昆虫中异源基因的表达如美国专利号 4, 745, 051, Friesen 等(1986)

“杆状病毒基因表达的调控”收录于：杆状病毒的分子生物(W. Doerfler 编), EP 0 155, 476, 和 Vlak 等, *J. Gen. Virool.* (1988) 69:765-776, Miller 等, *Ann. Rev. Microbiol.* (1998) 42:177, Carbonell 等, *Gene*(1988) 73:409, Maeda 等, *Nature* (1985) 315:592-594, Lebacqz-Verheyden 等, *Mol. Cell. Biol.* (1988) 8:3129; Smith 等, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (美国) (1985) 82:8404, Miyajima 等, *Gene*(1987) 58:273; Martin 等, *DNA*(1988) 7:99 中所述获得。许多杆状病毒株和变体和来自宿主的相应允许的昆虫宿主细胞, 描述于 Luckow 等, *Bio/Technology*(1988) 6:47-55; Miller 等, *Generic Engineering* (Setlow, J. K 等编), 第 8 卷(Plenum Publishing, 1986), pp. 277-279, Maeda 等, *Nature*(1985) 315:592-594。

哺乳动物细胞 哺乳动物表达如 Dijkema 等, *EMBO J.* (1985) 4:761, Gorman 等, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (美国) (1982) 79:6777, Boshart 等, *Cell.* (1985) 41:521 和美国专利号 4, 399, 216 中所述获得。哺乳动物表达的其它特征如 Ham 和 Wallace, *Meth. Enz.* (1979) 58:44, Barnes 和 Sato, *Anal. Biochem.* (1980) 102:255, 美国专利号 4, 767, 704、4, 657, 866、4, 927, 762、4, 560, 655、WO 90/103430, WO 87/00195 和美国 RE 30, 985 中所述促进。

#### 鉴定化疗剂的筛选试验

发明也包括鉴别调节 TTK 活性试剂的筛选试验, 在受侵入的细胞中特异性地降低异常 TTK 活性, 如 TTK 不同表达的癌症或前癌细胞。这些试验可在体外或体内进行。

#### 候选试剂

如本文所用, 术语“试剂”描述任何能改变不同表达基因的基因产物的表达或生理功能的分子。一般, 试验混合物的集合用不同试剂浓度平行进行以获得对不同浓度的不同反应。通常, 这些浓度中的一种作为阴性对照, 即零浓度或低于检测水平。

候选试剂涵盖许多化学种类, 包括但不限于有机分子(如具有大于 50 和小于约 2, 500 道尔顿分子量的小的有机化合物)、肽、单克隆抗体、反义多核苷酸和核酶等。候选试剂可包括与蛋白质结构上相互作用必需的功能基团, 具体是氢键, 通常包括至少一个氨基、羰基、羟基或羧基基团, 优选的是至少 2 种功能化学基团。候选试剂通常包括碳环或杂环结构和/或芳香族或者用一个或更多上述功能基团置换的聚芳香族结构。候选试剂也在生物分子中发现, 包括但不限于: 多核苷酸、肽、糖类、脂肪酸、类固醇、嘌呤、嘧啶、衍生物、结构类似物或其组合。

候选试剂从多种来源获得, 包括合成或天然化合物的库。例如, 许多方法可用

于随机和定向合成多种有机化合物及生物分子，包含随机寡核苷酸和寡肽的表达。另外，以细菌、真菌、植物和动物提取物形式的天然化合物的库已可使用或生产。另外，天然或合成产生的库和化合物通过常规化学、物理和生化方法修饰，可用于产生组合库。已知的药理试剂可进行定向或随机化学修饰，如酰化、烷化、酯化、酰胺化等，来生成结构类似物。候选试剂可评估 TTK 活性的调节，或单独或集中。

### 体外筛选候选试剂

多种体外试验可用于筛选候选试剂获得理想生物活性，包括但不限于，体外标记蛋白质-蛋白质结合分析、蛋白质-DNA 结合分析(如鉴定影响表达的试剂)、电泳迁移率变动分子、蛋白质结合的免疫分析等。例如，通过提供大量不同表达多肽的生成，可鉴定结合的配体或底物，调节或模拟多肽的作用。鉴别这些配体和底物进一步的方法在下面提供。纯化的多肽也可用于确定 3 维环状结构，用作模拟分子内相互作用、转录调控等。

筛选试验是结合试验，其中一个或更多分子可结合标记，标记直接或间接提供可检测的信号。不同的标记包括放射性同位素、荧光剂、化学发光剂、酶、特异性结合分子、粒子如磁性粒子等。特异性结合分子包括配对如生物素和链霉抗生物素蛋白、地高辛和抗地高辛等。对特异性结合成分，互补成分通常用提供检测的分子标记，根据已知操作过程。

多种其它可包括在本文所述的筛选试验中。当试验是结合试验时，包含的反应物像盐、中性蛋白质，如用于促进最佳蛋白质-蛋白质结合、蛋白质-DNA 结合和/或减少非特异性或背景相互反应的清蛋白、洗涤剂。可使用提高试验效果的反应物，如蛋白酶抑制剂、核酸酶抑制剂、抗微生物剂等。成分的混合物以提供必需结合的顺序加入。在适当温度进行培育，通常在 4 和 40°C 之间。选择最佳活性的培育时间，但也可最优化以促进快速高通量筛选。一般 0.1 和 1 小时之间足够。

许多哺乳动物基因在酵母和低等动物中有同系物。这些同系物生理作用和与其它蛋白质体内或体外相互作用的研究可推动理解生物功能。除了以遗传互补为基础的模式系统，酵母显示成为研究蛋白质-蛋白质相互作用的有力工具，通过描述于 Chien 等, 1991 *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* (1984) 88:9578-9582 的双杂交系统。

### 体内筛选候选试剂

候选试剂可在非人的动物癌症模型中筛选(如在注射癌细胞的动物中；在用于改变不同表达基因的表达的转基因动物中，如本文所述，例如，转基因“敲除”、或转基因“敲入”、编码所有或部分不同表达基因产物且包括可操作连接报告基因

的多核苷等)，

一般，候选试剂给药于动物，确定候选试剂的效果。候选试剂可以理想和/或合适传送试剂的方式给药，以产生所需结果。例如，候选试剂可通过注射(如静脉内、肌肉、皮下注射，或直接注入待获得所需效果的组织)、口服或其它理想方式给药。通常，体内筛选包括一些接受不同量和浓度候选试剂的动物(从没有试剂到可成功传送给动物上限量的试剂量)，可包括以不同配方传送试剂。试剂可单独或结合两种或更多给药，特别是当试剂组合给药产生协同作用时。

试剂给药对转基因动物的效果可通过评估基因产物表达、被注射的肿瘤细胞的生长等监控。

#### 鉴定的候选试剂

具有所需药理活性的化合物可在生理学可接受运载体中给药于宿主，通过调节不同表达基因产物的表达用于治疗可作用的情况。治疗试剂可以多种方式给药，口头、局部、肠胃外，如皮下、腹膜内、病毒感染、血管内等。口头和吸入治疗有具体的兴趣。取决于导入的方式，化合物可以多种方法配制。配方中治疗活性化合物的浓度变化从约 0.1-100wt%。治疗试剂在治疗过程中可以单剂量或多剂量给药。

药物组合物可以不同形式制备，如颗粒、片剂、药丸、栓剂、胶囊、药膏、洗液等。药物等级有机或无机运载体和/或适于口头和局部使用的稀释液，可用于构成含治疗活性化合物的组合物。本领域已知的稀释液包括含水介质、植物和动物油和脂肪。用于不同渗透压的稳定剂、润湿剂和乳化剂、盐类或者用于维持适当 pH 值的缓冲液，及皮肤渗透增加剂可用作佐剂。

#### 筛选调节 TTK 活性的药物的方法

根据本发明的 TTK 多肽或 TTK-编码核酸可用于筛选影响或调解 TTK 活性或功能的分子。这些分子对治疗和/或预防有用。筛选潜在有助于治疗或预防癌症的物质由本发明提供。一般，发明的方法促进鉴定 TTK 活性的调节物(如通过调节 TTK 多肽或其它 TTK 基因产物的活性，或通过基因产物的靶向活性影响 TTK 活性，基因产物作用于引起 TTK 活性的级联反应中 TTK 上游或下游)，使用降低一般特别感兴趣的 TTK 活性的试剂。鉴别为 TTK 活性调节物的物质在抵抗癌症中表现出发展，因为它们为设计和研究用于体内的药物提供了基础。

筛选调节多肽活性物质的方法包括在合适反应培养基中使一种或更多试验物质接触多肽，测试处理多肽的活性(如磷酸化其底物的能力)并比较此活性和未用一种或几种试验物质处理的对比反应培养基中多肽的活性。处理和未处理多肽间

活性的不同指示相关的一种或几种试验物质的调节效果。

结合库技术提供测试潜在巨大数量的不同物质的有效方法，用于调节多肽活性。这些库和它们的使用在本领域已知。使用肽文库优选。试验物质也可根据与多肽相互作用筛选，如在酵母双杂交系统中。这可在测试物质调节多肽活性的实际能力前用作粗略筛选。另外，筛选可用于筛选试验物质结合 TTK 特异性结合伴侣。

鉴定为用作 TTK 多肽功能调节物的物质本质可以是肽或非肽。非肽“小分子”通常在许多体内药物使用中优选。因此，物质的拟似物和模拟物(具体如果是肽)可按药物使用设计。

### TTK 活性分析

TTK 活性可用本领域已知的适当激酶试验测定。例如，不通过限制的方法，可使用的方法描述于 Hogg 等(Oncogene 1994 9:98-86), Mills 等(J. Biol. Chem. 1992 267:16000-006) 和 Tomizawa 等 2001(FEBS Lett. 2001 492:221-7), Schmandt 等, (J. Immunol. 1994, 152:96-105)。此外，丝氨酸、苏氨酸和酪氨酸激酶试验描述于 Ausubel 等(分子生物的简要操作, 1997, 17.6 单元)。

TTK 分析一般使用 TTK 多肽、标记供体底物和 TTK 特异或非特异的受体底物。在这些试验中，TTK 从供体底物转移标记部分到受体底物，激酶活性通过从供体底物转移到受体底物的标记部分的量测定。

TTK 多肽可用如上详述的不同表达系统生成，从细胞中纯化，以裂开或未裂开的重组融合蛋白形式且有非 TTK 多肽序列，例如在其 N-或 C-末端的 His 标记或  $\beta$ -半乳糖苷酶。如果癌细胞系用作待分析的 TTK 的来源，TTK 活性可在癌细胞系中分析。用于 TTK 分析的适当供体底物包括易受 TTK 脱磷酸化影响的分子，包含  $\gamma$ -标记的 ATP 和 ATP 类似物，其中标记是  $^{33}\text{P}$ 、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{35}\text{S}$  或其它放射性同位素或合适荧光标记。用于 TTK 分析的适当受体底物包括易受 TTK 磷酸化影响的多肽或其它分子。受体底物通常来自体内 TTK 靶的片断。受体底物片断可以是 8 到 50 个氨基酸长度，大多是 10 到 30 氨基酸，优选的是约 10、12、15、18、20 和 25 个氨基酸长度。进一步的 TTK 受体底物可用一批不同多肽或其它分子根据经验确定。适于 TTK 分析的 TTK 靶包括 tau 和 cdc25。一旦反应进行，TTK 受体底物通常能从反应的其它成分中纯化。纯化常常通过分子相互作用完成，其中受体底物通过与链霉抗生物素蛋白相互作用进行生物素化和纯化，或存在可特异识别受体底物的特异抗体。反应可在多种条件下进行，如在固体支持物上、在胶中、在溶液中或活细胞中。



TTK 磷酸化的一种示例受体底物是 SEQ ID NO:26 的人蛋白质 cdc25, TTK 在氨基酸位置 214 和 216 的丝氨酸残基磷酸化。cdc25 的两个片断用作下面所述的激酶试验中的底物。这些片断包括肽 A (SEQ ID NO:27), 相应于 cdc25 多肽的 209 到 225 氨基酸, 或者肽 B (SEQ ID NO:28) 相应于 cdc25 多肽的 210 到 223 氨基酸。在此分析中, 使用两种生物素化的多肽, 包括 SEQ ID NO:27(生物素-SGSGSGLYRSPSPENLNRPR-NH<sub>2</sub>)或 SEQ ID NO:28(生物素-GGGGLYRSPSPENLNRK-OH。

选择检测方法取决于用作供体分子的标记类型, 可包括例如用放射能照像、闪烁、扫描或荧光图象摄影测定掺入的放射或荧光。

### 抑制肿瘤生长和其它治疗目标的方法

发明进一步提供减少癌细胞生长的方法, 具体是乳腺或结肠癌细胞。一般, 方法包括使以相对正常细胞异常的水平表达 TTK 的癌细胞接触一种物质, 这种物质可 (1) 调节 TTK 的表达, 通常减少 TTK 表达(如相应于 TTK 的反义多核苷酸); 或 (2) 另外在具有异常 TTK 活性的癌细胞中调节, 通常减少 TTK 多肽水平和/或 TTK 活性。

“降低癌细胞生长”, 包括但不限于, 减少癌细胞增值和降低正常细胞发展癌症表型或形态的发生率。癌细胞生长是否得到降低可用任何已知试验确定, 包括但不限于, [<sup>3</sup>H]-胸苷掺入; 计数一段时间的细胞数量; 检测、测定与结肠癌相联系的标记(如 CEA、CA19-9 和 LASA)和/或本领域熟知的用于评估肿瘤负担的方法。

本发明提供治疗癌症(具体是乳腺和结肠癌或与异常高的 TTK 活性相联的其它癌症)的方法, 方法一般包括将试剂给药于个体, 试剂以降低癌细胞生长以治疗癌症的足够的量来减少 TTK 活性。物质或物质的具体量是否有效治疗癌症可用多种已知诊断试验中任一种评估, 如在结肠癌的情况中, S 状结肠镜、直肠镜、直肠检测、用活组织检查的结肠镜、对比放射显影研究、CAT 扫描、血管照相术和检测在个体血液中与结肠癌相关的肿瘤标记。物质可全身或局部给药。因此, 在一些实施方案中, 物质局部给药, 结肠癌生长在给药位置减少。局部给药对治疗有用, 如实体瘤。

在一种实施方案中, 发明特征为作为反义多核苷酸且降低 TTK 活性的多核苷酸。反义 TTK 多核苷酸一般包括至少约 20 到 3000 个核苷的多核苷酸, 通常至少约 20 到 1000 个核苷且更常见的是至少约 8 到 50 个核苷, 优选的是约 26、20、18、17、15、10 个核苷。示例 TTK 多核苷酸提供于实施例和 SEQ ID NO:1-12 中, 尽管 SEQ ID NO:13 的任何反义片断足够。

根据表达分布选择治疗。例如，如果病人的肿瘤表明肿瘤产生相对于正常细胞异常的高水平 TTK，然后选择在治疗如 TTK-表达肿瘤中有效的药物，用于治疗该病人。

### 药物组合物

发明的药物组合物可包括治疗有效量的多肽、抗体、多核苷酸(包含反义核苷和核酶)或者小分子或其它鉴定为调节 TTK 活性的化合物，优选降低 TTK 活性。如本文所用，术语“治疗有效量”指治疗、改进或预防目标疾病或情况的治疗试剂的量，或者表现出可检测的治疗或预防效果的量。效果可检测，如通过化学标记或抗原水平。治疗效果也包括减少身体症状如降低的血液温度，和/或对减少受试者肿瘤负担的效果(如肿瘤大小减少或抑制肿瘤生长)。用于受试者精确有效的量取决于受试者的大小和健康、情况的性质和程度、给药选择的治疗或治疗组合。因此，预先指定精确的有效量没有用。然而，特定情形的有效量由常规实验确定且处于临床医生的判断中。为了本发明的目的，一般给药个体中的有效剂量从约 0.01 mg/kg 到 50 mg/kg 或 0.05mg/kg 到 10 mg/kg DNA 构建物。

药物组合物也包含药物可接受运载体。术语“药物可接受运载体”指给药治疗试剂的运载体，如抗体或多肽、基因和其它治疗试剂。术语指本身不诱导有害接受组合物的个体的抗体产生的任何药物运载体，可无不适当毒性地给药。合适运载体可以是大、缓慢代谢的大分子如蛋白质、多糖、聚乳酸、聚乙醇酸、聚合氨基酸、氨基酸共聚物和失活病毒颗粒。这些运载体为本领域普通技术人员熟知。治疗组合物中的药物可接受运载体包括液体如水、盐水、甘油和乙醇。辅佐物质也可存在于这些载体中，如润湿剂或乳化剂、pH 缓冲物质等。通常，治疗组合物制备成可注射的，或液体溶液或悬浮液；适于溶液或悬浮液中的固体形式，注射前也可准备液体载体。脂质体包含在药物可接受运载体的定义中。药物可接受运载盐类也可存在于药物组合物中，例如无机酸盐类如氯化物、氢溴酸盐、磷酸盐、硫酸盐等；有机酸盐类如醋酸盐、丙酸盐、丙二酸、安息香酸盐等。关于药物可接受赋形剂的充分讨论在雷明顿药物科学(Mark Pub. Co., N. J. 1991)中。运载体或其它材料的精确性质取决于给药途径，如口头、静脉内、皮肤或皮下、鼻、肌肉、腹膜内途径。

口头给药的药物组合物可以片剂、胶囊、粉末或液体形式。片剂可包括固体运载体如凝胶或佐剂。液体药物组合物一般包括液体运载体如水、石油、动物或植物油、矿物油或合成油。可包括生理盐水溶液、葡萄糖或其它糖溶液或乙二醇如

乙二醇、乙二醇或聚乙烯。

对于静脉内、皮肤或皮下注射，或注射在疼痛位置，活性组分以肠胃外可接受水溶液的形式，有适当 pH、等渗性和稳定性。适当溶液，例如，随意包含但不限于等渗载体如氯化钠、防腐剂、稳定剂、缓冲液、抗氧化剂和/或其它所需添加剂。

药物给药以预防有效的量或治疗有效的量给药。给药的量、给药速度和时程取决于在治疗者的性质和严重性。剂量等的决定可由本领域技术人员在所示方法的基础上确定，通常考虑待治疗的紊乱、各病人的情况、传送的位置、给药方法和其它实践者已知的因素。先前提过的技术和操作的例子可发现于雷明顿药物科学，第 16 版，Osol, A. (编)，1980。

另外，靶向治疗通过使用靶向系统如抗体或细胞特异配体，可用于更特异地传送活性试剂到某些种类的细胞。靶向出于多种原因是理想的；例如如果试剂是不可接受的毒性，或如果另外需要过高的剂量，或如果另外不能进入靶细胞。靶向可获得，例如给药受试者药物-抗体复合物，其中抗体特异于癌症-相联抗原，且药物降低癌细胞生长。靶向可通过偶联获得(如连接，直接或通过连接分子，或共价或非共价，以形成药物-抗体复合物)药物到特异于癌症-相联抗原的抗体。偶联药物到抗体的方法在本领域熟知，不需要在本文中详细阐述。

药物试剂也可通过导入细胞的编码基因的表达在靶细胞中产生，如在病毒或脂质载体。载体可靶向待治疗的具体细胞，或者它可包含调节元件，元件由靶细胞或多或少打开。

另外，试剂可以前体的形式给药，通过产生的活化试剂转化成活性形式，或靶向待治疗的细胞。组合物可单独或结合其它治疗给药，或同时或继续取决于待治疗的情况。

### 用于治疗的传送方法

一旦配制，发明的组合物或用发明的方法鉴定的组合物可直接给药于受试者(如作为多核苷酸或多肽)。直接传送组合物一般可通过肠胃外注射达到，如皮下、腹膜内、静脉内或肌肉、肿瘤内或组织间隙。给药的其它方式包括口头和肺部给药、栓剂、和经皮给药、针、和基因枪或无针注射器。剂量治疗可以是单剂量或多剂量安排。

一旦发现相应于发明的多核苷酸的基因与增生紊乱相关，如赘生物、发育异常和增生，紊乱可通过给药治疗试剂接受治疗，治疗试剂以提供的多核苷酸、相应的多肽或其它相应的分子(如反义、核酶等)为基础。

给药的剂量和方式在治疗组合物的具体性质，病人的情况、年龄和重量，疾病的发展和它相关因素的基础上确定。例如，给药发明的多核苷酸治疗组合物试剂包括局部或全身给药，包含注射、口头给药、粒子枪或导管插入给药和局部给药。优选的是治疗多核苷酸组合物包含表达构建物，此构建物包括可操作地连接于含至少 12、15、17、18、22、25、30 或 35 个本文所示多核苷酸的邻近核苷的多核苷酸的启动子。可使用不同的方法直接给药治疗组合物到身体的具体位置。例如，定位一个小的转移性损伤且在肿瘤体内几个不同位置注射几次治疗组合物。另外，鉴定为肿瘤服务的动脉，注射治疗组合物到这种动脉中，以传送治疗组合物到肿瘤中。有坏死中心的肿瘤被抽出并将组合物直接注入肿瘤目前空的中心。反义组合物直接给药于肿瘤表面，例如，通过局部使用组合物。X 射线用于协助某些上述传送方法。

也可使用受体调节靶向传送治疗组合物，治疗组合物包含反义多核苷酸、次基因组多核苷酸或具体组织的抗体。受体调节 DNA 传送技术描述于，如 Findeis 等, *Trends Biotechnol.* (1993) 11:202; Chiou 等, *Gene Therapeutics: 直接基因转移的方法和应用 (Methods And Applications of Direct Gene Transfer)* (J. A. Wolff 编) (1994); Wu 等, *J. Biol. Chem.* (1988) 263:621; Wu 等, *J. Biol. Chem.* (1994) 269:542; Zenke 等, *Proc. Natl. Acad. Sci. (美国)* (1990) 87:3655; Wu 等, *J. Biol. Chem.* (1991) 266:338。含多核苷酸的治疗组合物以从约 100 ng 到约 200 mg DNA 的范围给药，用于基因治疗操作中的局部给药。约 500 ng 到约 50 mg、约 1  $\mu$ g 到约 2 mg、约 5  $\mu$ g 到约 500  $\mu$ g 和约 20  $\mu$ g 到约 100  $\mu$ g DNA 的范围也可用于基因治疗操作中。因素如作用的方法(例如提高或抑制编码的基因产物的水平)和转化效果和表达是要考虑的，会影响反义次基因组多核苷酸最终效果所需的剂量。当更大区域组织需要更大表达时，在连续的给药操作中重新给药更大量的反义次基因组多核苷酸或相同量，或者几次给药于不同的邻近或接近的组织部分，例如也许需要肿瘤位置以产生积极的治疗效果。对于编码多肽或具抗炎症活性的蛋白质的多核苷酸相关基因，适当的使用、剂量和给药描述于 USPN 5,654,173。

本发明的治疗多核苷酸和多肽可用基因传送载体传送。基因传送载体可以是病毒或非病毒来源(一般可参见 Jolly, *Cancer Gene Therapy* (1994) 1:51; Kimura, *Human Gene Therapy* (1994) 5:845; Connelly, *Human Gene Therapy* (1995) 1:185; 和 Kaplitt, *Nature Genetics* (1994) 6:148)。这些编码序列的表达可用内源哺乳动物或异源启动子诱导。这些编码序列的表达或是组成型或是调节型。

以病毒为基础的传送所需多核苷酸的载体和在所需细胞中的表达在本领域熟

知。示例以病毒为基础的载体，包括但不限于，重组反转录病毒(例如参见 WO 90/07936; WO 94/03622; WO 93/25698; WO 93/23234; USPN 5, 219, 740; WO 93/11230; USPN 4, 777, 127; GB 专利号 2, 200, 651; EP 0 345 242; 和 WO 91/02805)，以甲病毒属为基础的载体(如辛德比斯病毒载体、Semliki 森林病毒(Semliki forest virus)(ATCC VR-67; ATCC VR-1247)、罗斯河病毒(ATCC VR-373; ATCC VR-1246)和委内瑞拉马病毒(ATCC VR-923、ATCC VR-1250、ATCC VR 1249; ATCC VR-532)，腺伴随病毒(AAV)载体(例如参见 WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO 95/11984 和 WO 95/00655)。连接于杀死的腺病毒的 DNA 的给药如 Curiel, *Hum. Gen Ther.* (1992) 3:147 中所述，也可使用。

非病毒传送载体和方法也可使用，包括但不限于，单独连接或未连接于杀死的腺病毒的聚阳离子凝聚 DNA(例如参见 Curiel, *Hum. Gen Ther.* (1992) 3:147); 配体-连接 DNA(例如参见 Wu, *J. Biol. Chem.* (1989) 264:16985); 真核细胞传送载体细胞(例如参见 USPN 5, 814, 482; WO 95/07994; WO 96/17072; WO 95/30763; 和 WO 97/42338)和核电荷中性或与细胞膜融合。裸露 DNA 也可使用。示例裸露 DNA 导入方法描述于 WO 90/11092 和 USPN 5, 580, 859。作为基因传送载体的脂质体描述于 USPN 5, 422, 120; WO 95/13796; WO 94/23697; WO 91/14445; 和 EP 0524968。其它方法描述书 Philip, *Mol. Cell. Biol.* (1994) 14:2411 和 Woffendin, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1994) 91:1581。

更多适合使用的非病毒传送载体包括机械传送系统如描述在 Woffendin, 等, *Proc. Natl. Acad. Sci.* (1994) 91(24):11581 中的方法。此外，编码序列和这种表达产物可通过沉积光聚合水凝胶材料或使用电离辐射传送(例如可参见 USPN 5, 206, 152 和 WO 92/11033)。其它用于传送编码序列的基因传送的常规方法包括，例如使用手控基因转移粒子枪(例如可参见 USPN 5, 149, 655); 使用活化转移的基因的电离辐射(例如可参见 USPN 5, 206, 152 和 WO 92/11033)。

作为使用病毒载体的替代，导入核酸到细胞中的其它已知方法包括电穿孔、磷酸钙共沉淀、机械技术如微量注射、脂质体调节的转移和直接 DNA 吸收和受体-调节 DNA 转移。选择性靶向 TTK 核酸至受影响的细胞类型的基因转移技术优选。这种例子包括受体-调节基因转移，其中核酸通过聚赖氨酸连接于蛋白质配体，配体特异于在靶细胞表面存在的受体。

### 筛选影响 TTK 表达物质

本发明也提供了在筛选调节启动子活性和增加或减少 TTK 表达的物质

中，所有或部分 TTK 启动子和/或增强子区域的核酸序列的使用。可进行此试验以鉴别用于治疗 and/或预防目的的抗癌剂。启动子活性水平，如起始转录的能力，可定量如通过评估启动子转录产生的 mRNA 的量或通过评估启动子转录产生的 mRNA 翻译生成的蛋白质产物的量。表达系统中存在的具体 mRNA 的量可确定，如使用能与 mRNA 杂交的具体寡核苷酸，寡核苷酸标记或可用于具体扩增反应入 PCR。报告基因的使用通过参考蛋白质生成促进确定启动子活性。

一般，在 TTK 启动子和/或增强子控制下的报告基因可转录成 mRNA，mRNA 可翻译成可检测并在表达后优选定量的肽或多肽产物。报告基因优选编码催化产生可检测信号反应的酶，优选视觉可检测信号如有色的产物。许多例子已知，包括  $\beta$ -半乳糖苷酶和荧光素酶。 $\beta$ -半乳糖苷酶的可通过在底物上产生蓝色来分析，分析用肉眼或使用分光光度计来测定吸光率。例如荧光作为荧光素酶活性的结果产生，可用分光光度计定量。可使用放射性分析，如用 chloramphenicol 乙酰转移酶，它也可在非放射性分析中使用。来自报告基因表达的基因产物的存在和/或量可用能结合产物的分子确定，如抗体或其片断。结合分子可用任何标准技术直接或间接标记。

本领域技术人员熟知多种可能的报告基因和分析技术，这些技术可用于根据目前所示的技术确定基因活性。可使用任何适当的报告/分析且本发明打算涵盖这些系统。

鉴别调解或影响启动子活性的物质后，物质可进一步研究。此外，它可生产和/或用于制备，即生产或配置组合物如药剂、药物组合物或药物。

### 综合疾病信息系统

样品中的 TTK 水平可用于综合疾病信息系统以协助分析如建议病人干涉、设计临床试验、进行药物经济 (pharmacoeconomic) 分析和图解不同病人一段时间的疾病发展。例如，根据发明的方法确定的 TTK 信息可用于系统如描述于美国专利号 6,108,635 Herren 等在 2000 年 8 月 22 日发表。这个系统可收集给予多个位置病人的医学治疗的结果。例如参见美国专利号 5,713,350 Yokota 等在 1998 年 2 月 3 日发表。

### 实施例

提出下列实施例以提供本领域技术人员关于如何获得和使用本发明的完整阐述和描述，不打算限制发明者认为他们是发明的范围，也不想声称下面的实验是

所有或仅有的进行的实验。做了努力来确保关于使用数量的精确性(如量、温度等)但一些实验误差和偏差应该予以考虑。除非另外说明,部分是重量份数,分子量是重量平均分子量,温度是摄氏度,压力是大气压或接近大气压。

### 实施例 1: 病人组织样品的来源

用激光捕获显微解剖(LCM)技术从病人中收集正常和癌症组织,技术在本领域熟知(例如参见 Ohyama 等(2000) *Biotechniques* 29:530-6; Curran 等, (2000) *Mol. Pathol.* 53:64-8; Suarez-Quian 等(1999) *Biotechniques* 26:328-35; Simone 等(1998) *Trends Genet* 14:272-6; Conia 等(1997) *J. Clin. Lab. Anal.* 11:28-38; Emmert-Buck 等(1996) *Science* 274:998-1001)。表 1(插入实施例最后一页之后)提供了从中分离样品的各个病人的信息,包括:病人身份和途径报告 ID,为病人设计的数量和用于鉴别目的的病理报告;肿瘤的解剖位置(解剖位置, AnatomicalLoc);主要肿瘤大小;主要肿瘤等级;组织病理学等级;肿瘤侵入的局部位置的描述(局部入侵, Local Invasion);淋巴结转移的存在(淋巴结转移, Lymph Node Metastasis);淋巴结转移的发生率(以转移阳性淋巴结的数量相对检测淋巴结的数量提供)(淋巴结转移发生率);局部淋巴结等级;鉴别或检测远离肿瘤位置的转移和它们的位置(远距离转移和位置, Distant Met& Loc);远距离转移的描述(描述远距离转移, Description Distant Met);远距离转移等级(远距离转移等级, Distant Met Grade);关于病人或肿瘤的一般评论(评论, Comments)。任何病人中没有描述腺瘤;腺瘤发育异常(病理学家描述为发育异常)描述于病人身份号 695。两个病人中描述了结外延伸,病人身份号 784 和 791。七个病人中描述了淋巴血管入侵,病人身份号 128、278、517、534、784、786 和 791。七个病人中描述了淋巴管侵入,病人身份号 52、264、268、392、393、784 和 791。

### 实施例 2: TTK 的差异表达

从分离自病人细胞的总 RNA 中制备的 cDNA 探针,病人细胞在实施例 1 中描述。由于 LCM 提供具体细胞类型的分离以供应显著同源的细胞样品,这提供了类似的纯 RNA 样品。

总 RNA 首先用含 T7 RNA 聚合酶启动子的引物反转录成 cDNA,接着进行第二条 DNA 链的合成。cDNA 随后用 T7 启动子-调节表达在体外转录以生成反义 RNA(例如参见 Luo 等(1999) *Nature Med* 5:117-122),然后反义 RNA 转变成 cDNA。第二套 cDNAs 再次体外转录,用 T7 启动子来提供反义 RNA。随意地,RNA 再次转变成 cDNA,

允许至第三轮的 T7-调节扩增以生成更多的反义 RNA。因此过程提供了两或三轮体外转录来产生用于荧光标记的最终 RNA。荧光探针生成通过首先加入对照 RNA 导反义 RNA 混合物，从起始物质的 RNA 中生成荧光标记 cDNA。从肿瘤 RNA 样品中制备的荧光标记 cDNAs 与从正常细胞 RNA 样品中制备的荧光标记 cDNAs 比较。例如，来自正常细胞的 cDNA 探针用 Cy3 荧光染料(绿色)标记且从肿瘤细胞制备的 cDNA 探针用 Cy5 荧光染料(红色)标记。

使用的每个阵列有相同的空间分布和对照点设置。每个微阵列分成两个区域，每个区域在各半边有一列十二组 32 x12 个点，每列总共有约 9,216 个点。两个区域同样地点样，提供每列至少两种各克隆的重复。点样用从 0.5 kb 到 2.0 kb 的 PCR 扩增产物进行，用分子动力学基因 III 点样仪(Molecular Dynamics Gen III spotter)根据生产商推荐点样。阵列上各个 24 区域的第一排有约 32 个对照点，包括 4 个阴性对照点和 8 个试验多核苷酸。试验多核苷酸在标记反应前掺入每个样品，用 2-600 pg/片浓度的范围和 1:1 的比率。对于每个阵列的设计，两张片与在标记反应中反标记的试验样品杂交。对每个样品，这提供了每个克隆约 4 次重复测定，两次一种颜色，两次另一种颜色。

差异表达分析通过混合来自同一个病人相同量的肿瘤细胞和正常细胞的探针进行。阵列通过 60°C 在 5X SSC/0.2% SDS/1 mM EDTA 中培育约 2 小时进行预杂交，然后用水洗三次并用异丙醇洗两次。阵列预杂交后，接着探针混合物在高严谨条件下(42°C 在 50%甲酰胺、5X SSC 和 0.2% SDS 中过夜)与阵列杂交。杂交后，阵列在 55°C 如下洗三次：1)第一次用 1X SSC/0.2% SDS 洗；2)第二次用 0.1 X SSC/0.2% SDS 洗；3)第三次用 0.1 X SSC 洗。

然后用分子动力学基因 III 双色激光扫描仪/探测器(Molecular Dynamics Gen III dual color laser-scanner/detector)扫描阵列寻找绿色和红色荧光。图像用 BioDiscovery Autogene 软件处理，每次扫描的数据设置标准化以提供表达相对于标准的比率。分析微阵列实验的数据，根据的算法描述于美国应用序列号 60/252,358, 2000 年 11 月 20 日提交, E. J. Moler、M. A. Boyle 和 F. M. Randazzo, 题目为“cDNA 微阵列数据的精度和准确度”(Precision and accuracy in cDNA microarray data), 专利申请特别纳入本文的参考文献。

重复实验，这次用相反的颜色标记 2 种探针以在两种“颜色方向”中进行分析。每个实验不时用另两张片(每个颜色方向一种)重复。阵列上每种序列的荧光水平以 8 个来自四列的重复点/基因几何平均数的比率表示，或来自 2 列或一些其它列的 4 个重复点/基因。数据用存在于每个重复区的掺入的阳性对照标准化，此标准



化的精度包含于各差异显著性的最终确定中。各点样的荧光强度也与各重复区的阴性对照比较以确定每个样品中哪些点检测出显著表达水平。

荧光强度的数据分析应用于每组重复点样以评估各差别测定的精度和显著性，导致 p-值试验零假说，每个病人肿瘤和正常样品间表达水平没有差别。在微阵列最初分析中，如果  $p > 10^{-3}$  接受假设，那些点的差异比率设为 1.000。所有其它点在肿瘤和正常样品间表达有显著不同。如果肿瘤样品有可检测的表达且正常样品没有，比率截在 1000，因为正常样品中的表达值为零，该比率是数学上没用的值（如无穷大）。如果正常样品有可检测的表达且肿瘤样品没有，比率截止 0.001，因为肿瘤样品中的表达值为零且该比率是数学上没用的值。后两种情况本文称为“开关”。数据库表用 95%置信水平 ( $p > 0.05$ ) 处理。

结肠肿瘤细胞中相对于匹配正常结肠细胞的 TTK 表达水平的不同，在 39%病人中大于或等于 2 倍（“ $\geq 2x$ ”），在 36%病人中大于或等于 2.5 倍，在 27%检测病人中大于或等于 5 倍。

一些正常组织和肿瘤细胞系的定量 PCR，具体是结肠直肠癌细胞系用于分析 TTK 表达。进行定量实时 PCR，首先根据生产商的说明用 Roche RNA 分离试剂盒 (Roche RNA Isolation Kit) 从细胞中分离 RNA。使用一张 RNA 显微照片合成 cDNA 的第一条链，用 MMLV 反转录酶 (Ambion)、生产商的缓冲液和推荐浓度的寡 dT、核苷和 RNA 酶抑制剂。cDNA 的第一条链作为定量实时 PCR 的模板，如机器手册推荐使用 Roche 光周期计 (light-cycler)。TTK 用正向引物 CGGAATCAAGTCTTCTAGCT (SEQ ID NO:1) 和反向引物 GGTTGCTCAAAGTTGGTATG (SEQ ID NO:2) 扩增。PCR 产物在循环的基础上定量，扩增进入与内部标准比较扩增的线性阶段，使用生产商提供的软件。cDNA 的第一条链反应中量或总模板的少许不同用标准化肌动蛋白量消除，肌动蛋白在不同定量 PCR 反应中扩增，反应用正向引物 5'-CGGAAATCGTGCGTGACATTAAG-3' (SEQ ID NO:3) 和反向引物 5'-TGATCTCCTTCTGCATCCTGTCGG-3' (SEQ ID NO:4)。在正常组织中的 TTK mRNA 水平的结果显示于图 1；肿瘤细胞系中 TTK mRNA 水平的结果显示于图 2。分析的细胞系的简述提供在下面的表格中。

细胞系	组织来源	细胞系	组织来源
MDA-MB-231	人乳房; 高转移潜力(肺中的微转移; 腺癌; 胸膜渗出)	Caco-2	人结肠直肠腺癌
MDA-MB-435	人乳房; 高转移潜力(肺中的大转移)	SW620	人结肠直肠腺癌; 来自转移位置(淋巴结)
MCF-7	人乳房; 非转移	LS174T	高转移潜力 人结肠直肠腺癌
MDA-MB-468	人乳房; 腺癌	LOVO	人结肠直肠腺癌; 结肠; 来自转移位置(结肠)
Alab	人乳房, 转移	HT29	人结肠直肠腺癌; 结肠
SKOV3	人卵巢 腺癌	SW480	人结肠直肠腺癌; 结肠
OVCAR3	人卵巢 腺癌	HCT116	人结肠直肠腺癌; 结肠
KM12C	人结肠; 低转移潜力	Colo 320DN	人结肠直肠腺癌; 结肠
KM12L4	人结肠; 高转移潜力(来自Km12C)	T84	人结肠直肠腺癌; 结肠; 来自转移位置(肺)
DU145	人前列腺; 癌症; 来自转移位置: 脑	HCT15	人结肠直肠腺癌; 结肠
HT1080	人肉瘤细胞系	CCD112	人结肠直肠腺癌, 低转移潜力
HMVEC	初级人微血管内皮细胞	DLD1	人结肠; 结肠直肠腺癌
184B5	正常乳房内皮细胞; 化学转化	293	肾上皮细胞
LNCAP	前列腺癌; 转移至左上锁骨 淋巴	GRDP2	初级前列腺上皮
U373MG	成胶质细胞	IMR90	初级肺纤维原细胞
WOCA	初级前列腺上皮	PC3	前列腺癌; 雄激素受体 阴性

TTK 在正常细胞中表达(图 1), 用鉴别为最高表达 TTK 基因的正常组织的胸腺和睾丸。然而, 与大部分野生型组织相比, 许多癌细胞表现出显著提高水平的 TTK 表达(图 2)。

### 实施例 3: 用差异表达数据分等级聚集和分层结肠癌

来自实施例 2 的差异表达模式通过应用分等级聚集方法于数据组分析(参见 Eisen 等(1998) *PNAS* 95:14863-14868)。简而言之, 分等级聚集算法以 Sokal 和 Michener(Sokal, RR 和 Michener, CD(1985) *Kans. Sci. Bull* 大学 38, 1409-1438) 的平均连接方法为基础, 方法被发展用于聚集相关矩阵。此算法的目的是计算系

统树图，将所有要素集合于单一的树中。对任意组  $n$  个基因，计算上对角线类似矩阵，矩阵含所有配对基因的相似得分。扫描矩阵以鉴定最高值(代表类似基因配对)。使用这种技术，鉴定了四组差异表达模式并分配给串。

将分等级聚集应用于来自实施例 2 的数据，显示 IGF2(胰岛素类似生长因子 2)、TTK(细胞周期中包含的丝氨酸、苏氨酸、酪氨酸激酶)、MAPKAPK2(有丝分裂原-活化蛋白质(MAP)激酶-活化蛋白激酶)、和 MARCKS(肉豆蔻酰化丙氨酸-丰富 C 激酶底物，是蛋白激酶 C 的底物)同时正调节，如检测的 33 个结肠癌病人样品中的 9 个中发现的。这些实验的数据存在于图 3-6 中的图形中。同时正调节说明这些基因共调节，具有增高血清水平的 IGF2 的病人可以是治疗 TTK、MAPKAP 激酶 2、MARCKS 和/或 IGF2 的候选者。

#### 实施例 4: TTK 表达的反义调节

TTK 的其它功能信息用反义敲除技术产生。进一步分析癌细胞中的 TTK 表达来确定肿瘤发生中基因产物的作用和功能，如在促进转移表型中。

设计一些不同的 TTK mRNA 互补寡核苷酸作为潜在反义寡核苷酸，测试它们抑制 TTK 表达的能力。每个设计的反义寡核苷酸抑制基因表达的能力通过转染到 SW620 结肠直肠癌细胞中测试。对于各转染复合物，运载体分子，lipitoid 或 cholesterolid 优选，制备成水中 0.5 mM 的作用浓度，超声处理以产生均匀溶液，通过 0.45  $\mu$ m PVDF 膜过滤。然后反义或对照寡核苷酸制备成无菌微孔过滤器水中 100 mM 的作用浓度。寡核苷酸进一步用 OptiMEM™ (Gibco/BRL) 在 microfuge 管中稀释至 2  $\mu$ M，或约 20  $\mu$ g 寡/ml OptiMEM™。通常以约 1.5-2 nmol lipitoid/ $\mu$ g 量的反义寡核苷酸在单独 microfuge 管中的 lipitoid 或 cholesterolid，在相同体积的 OptiMEM™ 中稀释，OptiMEM™ 用于稀释寡核苷酸。立即加入稀释的 lipitoid 到稀释的反义寡核苷酸中，并用吸管上下混合。加入寡核苷酸到细胞至 30nM 的终浓度。

靶 mRNA (TTK) 在转染细胞中的水平用 Roche LightCycler™ 实时 PCR 仪在癌细胞系中定量。靶 mRNA 的值相对内部对照(如  $\beta$ -肌动蛋白)标准化。对每个 20  $\mu$ l 反应，提取的 RNA 置于无菌 0.5 或 1.5ml microfuge 管中，加入水至 12.5  $\mu$ l 总体积。每管加入 7.5  $\mu$ l 缓冲液/酶混合物，通过混合(按列出的顺序)2.5  $\mu$ l H<sub>2</sub>O、2.0  $\mu$ l 10X 反应缓冲液、10  $\mu$ l 寡 dT (20 pmol)、1.0  $\mu$ l dNTP 混合物(各 10mM)、0.5  $\mu$ l RNasin® (20u) (Ambion, Inc., Hialeah, FL)、0.5  $\mu$ l MMLV 反转录酶(50u) (Ambion, Inc.) 制备。组分用吸管上下混合，反应混合物在 42°C 培育 1 小时。各管

的组分在扩增前离心。

扩增混合物以下列顺序混合制备：1 X PCR 缓冲液 II、3 mM MgCl<sub>2</sub>、140μM 各种 dNTP、0.175 pmol 各寡(oligo)、1:50,000 dil 绿色 SYBR®、0.25mg/ml BSA、1 单位 Taq 聚合酶和 H<sub>2</sub>O 至 20μl。(PCR 缓冲液 II 来自 Perkin-Elmer, Norwalk, CT 以 10X 浓度存在)。在 1X 浓度中，它包含 10mM Tris pH8.3 和 50mM KCl。绿色 SYBR®(Molecular Probes, Eugene, OR) 是结合双链 DNA 时发荧光的颜料。随着双链 PCR 产物在扩增中生成，来自绿色 SYBR®的荧光增加。每 20μl 等分扩增混合物加入 2μl 模板 RT，扩增根据标准操作进行。

下列反义寡核苷酸显示在转染试验中可有效去除 TTK RNA:

寡 79-5AS: GGGACTCTTCCAAATGGGCATGACT (SEQ ID NO:5)

寡 79-9AS: TCCAGTAACTCTTGCGTCCCATGG (SEQ ID NO:6)

合成每个这些反义寡核苷酸的反向对照，因为具反义寡核苷酸相同序列的寡核苷酸存在于反向中(反向对照)。

寡 79-5RC: TCAGTACGGGTAAACCTTCTCAGGG (SEQ ID NO:7)

寡 79-9RC: GGTACCCTTGCGTTCTCAATGACCT (SEQ ID NO:8)

反义寡核苷酸导入试验细胞中，对相应基因 TTK 表达的效果以及诱导癌症表型的效果检测如下所述:

#### 实施例 5: TTK 表达对增殖的效果

TTK 对增殖的效果在转移癌细胞系(MDA-MB-231(“231”))、SW620 结肠直肠癌细胞或 847 人无限纤维原细胞中评估。转染如实施例 4 中所述进行。

细胞接种到 96-孔培养皿中，约 60-80%铺满。反义或反向对照寡核苷酸用 OptiMEM™ 稀释至 2 μM 并加到 OptiMEM™ 中，在其中传送载体被稀释，SW620 中是 lipitoid 116-6 或 MDA-MB-231 中是 1:1lipitoid 1:胆固醇(cholesteroid)1。寡核苷酸/传送载体混合物进一步在细胞上血清培养基中稀释。所有实验的寡核苷酸终浓度是 300nM，所有实验中寡核苷酸相对传送载体的最终比率为 1.5 nmol lipitoid/μg 寡核苷酸。细胞 37°C 过夜转染且转染混合物第二天用新鲜培养基替换。

转染反义寡核苷酸到 SW620 结肠直肠癌细胞(图 7)和 231 细胞(图 8)都导致增殖相较匹配反向对照(RC)和寡核苷酸速度下降，但没有抑制 847 人无限纤维原细胞的生长(图 11)，说明可能的组织或转化特异性对 TTK 蛋白质的功能作用。

### 实施例 6: TTK 表达对集落形成的效果

TTK 表达对集落形成的效果在软琼脂试验中测试。进行软琼脂试验首先在新培养基中形成 2ml 0.6%琼脂的底层,这是在铺层细胞的几小时内。细胞层通过用 0.05%胰蛋白酶从平板中去除如上所述转染的细胞从而在底层形成,并用培养基洗两次。细胞用 Coulter 计数器计数,在培养基中悬浮至  $10^6$  每 ml。 $10\ \mu\text{l}$  等分样品用培养基接种于 96-孔板(以核对用 WST1 计数),或为软琼脂试验进一步稀释。2000 个细胞接种于 0.6%琼脂底层上相同孔的  $800\ \mu\text{l}$  0.4%琼脂中。细胞层琼脂凝固后,在顶部滴下 2ml 培养基且反义或反向对照寡核苷酸在没有传送载体的情况下加入。每 3-4 天加入新鲜培养基和寡核苷酸。集落在 10 天到 3 周中形成。集落区域用肉眼计数。Wst-1 代谢值可用于弥补起始细胞数的微小区别。较大的区域可扫描以直观记录区别。

如图 9 所示,TTK(79-9AS)的反义寡核苷酸导致集落大小和数量相较对照反向对照寡核苷酸(79-9RC)减少,或相对于对照寡核苷酸(52-3AS:TAGGTCTTTGGCCGGTGATGGGTCG(SEQ ID NO:9)和 52-3RC:GCTGGGTAGTGGCCGGTTTCTGGAT(SEQ ID NO:10))。52-3 反义寡核苷酸是对于 hD53 mRNA,作为实验中的阴性对照。

### 实施例 7: 细胞死亡对 TTK 消耗的诱导(“反义敲除”)

SW620 细胞如增殖试验所述转染。为了顺式铂氨(cis)存在时细胞毒性的效果,遵循相同的操作但细胞在  $2\ \mu\text{M}$  药物存在时被留下。每天通过测定培养基中由于细胞膜破损释放的 LDH 酶的量来监控细胞活性。用来自 Roche Molecular Biochemicals 的细胞毒性检测试剂盒测定 LDH 的活性。数据以在相同时间点和处理时培养基中释放的 LDH 相对孔中存在的总 LDH 的比率提供(rLDH/tLDH)。使用 BCL2(已知的抗细胞程序性死亡的基因)反义和反向对照寡核苷酸的正对照显示缺少 BCL2 信息导致细胞死亡相较于用对照寡核苷酸处理增加(由于转染的背景细胞毒性)。

测试下列反义寡核苷酸去除与所示集落相应的基因的信息水平的能力。寡核苷酸名字:AS 或 RC 提供了靶基因的名字或寡核苷酸的名字,以及寡核苷酸是反义(AS)或反向对照(RC)。

寡核苷酸名字： 反义(AS)或反向对照(RC)	寡核苷酸序列	SEQ ID NO
Chir39-5: AS	ACTCATCTGGCTGGGCTATGGTGGT	SEQ ID NO:11
Chir39-5: RC	TGGTGGTATCGGGTCGGTCTACTCA	SEQ ID NO:12
Chir79-9: AS	TCCAGTAACTCTTGC GTTCCCATGG	SEQ ID NO:6
Chir79-9: RC	GGTACCCTTGC GTTCTCAATGACCT	SEQ ID NO:8

如图 12 所示, Chir79-9 (TTK) 反义不使细胞对顺式铂氨治疗以可检测的水平敏感, 但导致死亡在第 3 天相较于对照寡核苷酸增加。

#### 实施例 8: 调节 TTK 活性试剂的样品分析

此分析可在微量滴定板中进行。TTK 用杆状病毒表达系统纯化为 6x His 标记融合蛋白。TTK 激酶缓冲液中的 20 $\mu$ l 的 20nM TTK (100k Da) 加入 5 $\mu$ l 候选试剂, TTK 激酶缓冲液包括 50mM HEPES pH7.4、2mM MgCl<sub>2</sub>、10 mM MnCl<sub>2</sub>、1 mM NaF、50 mM NaCl、1 mM DTT 和 1mg/ml BSA, 候选试剂稀释于微量滴定板孔中的 20% DMSO、10 $\mu$ l 的 2.8 $\mu$ M 来自 cdc25 的生物素化的底物肽溶液, 如生物素-SGSGSGLYRSPSPENLNRPR-NH<sub>2</sub> (SEQ ID NO:27) 或生物素-GGGGLYRSPSPENLNRK-OH (SEQ ID NO:28) 和 5 $\mu$ l 的 80 nM <sup>33</sup>P- $\gamma$ ATP。混合样品, 培育 2 小时且每个反应用 20 $\mu$ l 0.5M EDTA pH8.0 终止。50 $\mu$ l 样品转移至 96 孔平底链霉抗生物素蛋白覆盖薄平板, 样品在平板中室温培育 1 小时。平板的孔用 250 $\mu$ l 钙和无镁的磷酸缓冲盐水洗, 加入闪烁液至样品中。TTK 的活性通过计算 <sup>33</sup>P 的释放测定, 通过闪烁用来自 <sup>33</sup>P- $\gamma$ ATP 的 TTK 转移至底物肽。

调节 TTK 活性的试剂可通过比较候选试剂存在时 TTK 活性和没有候选试剂时 TTK 活性来鉴定。

本发明用它的具体实施方案描述, 本领域技术人员应该理解可作不同变化且同等物可被替换而不离开发明的实际精神和范围。此外, 可进行许多修饰来使具体情况、材料、物质的组合物、过程、一步或几步过程适应本发明的目的、精神和范围。所有这些修饰确定为发明的范围内。

- <110> C. 莱因哈德  
A. B. 杰斐逊  
V. W. 占
- <120> 用于诊断和作为癌症治疗靶标的TTK
- <130> PP-16923.003
- <140> 待定
- <141> 2002-02-21
- <150> 60/289,813
- <151> 2001-02-21
- <160> 38
- <170> FastSEQ for Windows Version 4.0
- <210> 1  
<211> 20  
<212> DNA  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成的寡核苷酸
- <400> 1  
cggaatcaag tcttctagct 20
- <210> 2  
<211> 21  
<212> DNA  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成的寡核苷酸
- <400> 2  
ggttgctcaa aagttggtat g 21
- <210> 3  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成的寡核苷酸
- <400> 3  
cgggaaatcg tgcgtgacat taag 24
- <210> 4  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> 人工序列
- <220>  
<223> 合成的寡核苷酸
- <400> 4  
tgatctcctt ctgcatcctg tcgg 24
- <210> 5  
<211> 25  
<212> DNA

---

<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的寡核苷酸	
<400> 5	
gggactcttc caaatgggca tgact	25
<210> 6	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的寡核苷酸	
<400> 6	
tccagtaact cttgcgttcc catgg	25
<210> 7	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的寡核苷酸	
<400> 7	
tcagtacggg taaaccttct caggg	25
<210> 8	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的寡核苷酸	
<400> 8	
ggtacccttg cgttctcaat gacct	25
<210> 9	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的寡核苷酸	
<400> 9	
taggtctttg gccggtgatg ggtcg	25
<210> 10	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 合成的寡核苷酸	
<400> 10	
gctggtagt ggccggtttc tggat	25
<210> 11	
<211> 25	
<212> DNA	
<213> 人工序列	



```

<220>
<223> 合成的寡核苷酸

<400> 11
actcatctgg ctgggctatg gtggt                25

<210> 12
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 合成的寡核苷酸

<400> 12
tgggtggtatc gggctcggtct actca                25

<210> 13
<211> 3866
<212> DNA
<213> 智人 (Homo sapien)

<220>
<221> CDS
<222> (1026)... (3551)

<221> misc_feature
<222> (0)... (0)
<223> TTK

<400> 13
ggaattcctt tttttttttt tttgagatgg agtttcactc ttgttgcca ggctggagtg 60
caatgcaca atctcagctt actgcaacct cgcctcccg ggttcaagcg attctcctgc 120
ctcagcctct caagtagctg ggattacagg catgtgccac caccctggc taactaattt 180
cttttctatt tagtagagat ggggtttcac catgttggtc aggttggtct tgaactcctg 240
acctcaggtg atccacttgc cttggcctcc caaagtgcta ggattacagc cgtgaaactg 300
tgcttggtg attctttttt tgttggttga ttttgaaac aggggtctccc ttggtcggcc 360
aggctggagt gcagtgggtc gatcttggtc cactataacc tccacctcct ggtttcaagt 420
gatcctccca ctttagcctc ctgagtagct gtgattacag gcgtgcacca ccacaccgg 480
ctaatttttg tatttttatt agagacaggg tttcaccatg ttggccaggc tgttctcaa 540
ctcctggact caagggatcc gcctgcctcc acttcccaaa gtcccagatg tacaggtgtg 600
agtcaccatg cctgacctta taattcttaa gtcatttttt ctgggtccatt tcttcttag 660
ggtcctcaca acaaatctgc attaggcggg acaataatcc ttaacttcat gattcacaaa 720
aggaagatga agtgattcat gatttagaaa ggggaagtag taagcccact gcacactcct 780
ggatgatgat ctaaatacca gatacagtaa aaatggggta tgggaaggtg gaatacaaaa 840
tttggtttaa attaattatc taaatatcta aaaacatttt tggtacattt gttgatgtga 900
atgtaagact gtacagactt cctagaaaac agtttgggtt ccactctttc atttcccag 960
tgcagttttc ttagaagatg gaatccgagg atttaagtgg cagagaattg acaattgatt 1020
ccata atg aac aaa gtg aga gac att aaa aat aag ttt aaa aat gaa gac 1070
      Met Asn Lys Val Arg Asp Ile Lys Asn Lys Phe Lys Asn Glu Asp
          1           5           10           15

ctt act gat gaa cta agc ttg aat aaa att tct gct gat act aca gat 1118
Leu Thr Asp Glu Leu Ser Leu Asn Lys Ile Ser Ala Asp Thr Thr Asp
          20           25           30

aac tcg gga act gtt aac caa att atg atg atg gca aac aac cca gag 1166
Asn Ser Gly Thr Val Asn Gln Ile Met Met Met Ala Asn Asn Pro Glu
          35           40           45

gac tgg ttg agt ttg ttg ctc aaa cta gag aaa aac agt gtt ccg cta 1214
Asp Trp Leu Ser Leu Leu Leu Lys Leu Glu Lys Asn Ser Val Pro Leu
          50           55           60

agt gat gct ctt tta aat aaa ttg att ggt cgt tac agt caa gca att 1262
Ser Asp Ala Leu Leu Asn Lys Leu Ile Gly Arg Tyr Ser Gln Ala Ile
          65           70           75

```

gaa gcg ctt ccc cca gat aaa tat ggc caa aat gag agt ttt gct aga	1310
Glu Ala Leu Pro Pro Asp Lys Tyr Gly Gln Asn Glu Ser Phe Ala Arg	
80 85 90 95	
att caa gtg aga ttt gct gaa tta aaa gct att caa gag cca gat gat	1358
Ile Gln Val Arg Phe Ala Glu Leu Lys Ala Ile Gln Glu Pro Asp Asp	
100 105 110	
gca cgt gac tac ttt caa atg gcc aga gca aac tgc aag aaa ttt gct	1406
Ala Arg Asp Tyr Phe Gln Met Ala Arg Ala Asn Cys Lys Lys Phe Ala	
115 120 125	
ttt gtt cat ata tct ttt gca caa ttt gaa ctg tca caa ggt aat gtc	1454
Phe Val His Ile Ser Phe Ala Gln Phe Glu Leu Ser Gln Gly Asn Val	
130 135 140	
aaa aaa agt aaa caa ctt ctt caa aaa gct gta gaa cgt gga gca gta	1502
Lys Lys Ser Lys Gln Leu Leu Gln Lys Ala Val Glu Arg Ser Gly Ala Val	
145 150 155	
cca cta gaa atg ctg gaa att gcc ctg cgg aat tta aac ctc caa aaa	1550
Pro Leu Glu Met Leu Glu Ile Ala Leu Arg Asn Leu Asn Leu Gln Lys	
160 165 170 175	
aag cag ctg ctt tca gag gag gaa aag aag aat tta tca gca tct acg	1598
Lys Gln Leu Leu Ser Glu Glu Glu Lys Lys Asn Leu Ser Ala Ser Thr	
180 185 190	
gta tta act gcc caa gaa tca ttt tcc ggt tca ctt ggg cat tta cag	1646
Val Leu Thr Ala Gln Glu Ser Phe Ser Gly Ser Leu Gly His Leu Gln	
195 200 205	
aat agg aac aac agt tgt gat tcc aga gga cag act act aaa gcc agg	1694
Asn Arg Asn Asn Ser Cys Asp Ser Arg Gly Gln Thr Thr Lys Ala Arg	
210 215 220	
ttt tta tat gga gag aac atg cca cca caa gat gca gaa ata ggt tac	1742
Phe Leu Tyr Gly Glu Asn Met Pro Pro Gln Asp Ala Glu Ile Gly Tyr	
225 230 235	
cgg aat tca ttg aga caa act aac aaa act aaa cag tca tgc cca ttt	1790
Arg Asn Ser Leu Arg Gln Thr Asn Lys Thr Lys Gln Ser Cys Pro Phe	
240 245 250 255	
gga aga gtc cca gtt aac ctt cta aat agc cca gat tgt gat gtg aag	1838
Gly Arg Val Pro Val Asn Leu Leu Asn Ser Pro Asp Cys Asp Val Lys	
260 265 270	
aca gat gat tca gtt gta cct tgt ttt atg aaa aga caa acc tct aga	1886
Thr Asp Asp Ser Val Val Pro Cys Phe Met Lys Arg Gln Thr Ser Arg	
275 280 285	
tca gaa tgc cga gat ttg gtt gtg cct gga tct aaa cca agt gga aat	1934
Ser Glu Cys Arg Asp Leu Val Val Pro Gly Ser Lys Pro Ser Gly Asn	
290 295 300	
gat tcc tgt gaa tta aga aat tta aag tct gtt caa aat agt cat ttc	1982
Asp Ser Cys Glu Leu Arg Asn Leu Lys Ser Val Gln Asn Ser His Phe	
305 310 315	
aag gaa cct ctg gtg tca gat gaa aag agt tct gaa ctt att att act	2030
Lys Glu Pro Leu Val Ser Asp Glu Lys Ser Ser Glu Leu Ile Ile Thr	
320 325 330 335	
gat tca ata acc ctg aag aat aaa acg gaa tca agt ctt cta gct aaa	2078
Asp Ser Ile Thr Leu Lys Asn Lys Thr Glu Ser Ser Leu Leu Ala Lys	
340 345 350	

tta gaa gaa act aaa gag tat caa gaa cca gag gtt cca gag agt aac	2126
Leu Glu Glu Thr Lys Glu Tyr Gln Glu Pro Glu Val Pro Glu Ser Asn	
355 360 365	
cag aaa cag tgg caa gct aag aga aag tca gag tgt att aac cag aat	2174
Gln Lys Gln Trp Gln Ala Lys Arg Lys Ser Glu Cys Ile Asn Gln Asn	
370 375 380	
cct gct gca tct tca aat cac tgg cag att ccg gag tta gcc cga aaa	2222
Pro Ala Ala Ser Ser Asn His Trp Gln Ile Pro Glu Leu Ala Arg Lys	
385 390 395	
ggt aat aca gag cag aaa cat acc act ttt gag caa cct gtc ttt tca	2270
Val Asn Thr Glu Gln Lys His Thr Thr Phe Glu Gln Pro Val Phe Ser	
400 405 410 415	
ggt tca aaa cag tca cca cca ata tca aca tct aaa tgg ttt gac cca	2318
Val Ser Lys Gln Ser Pro Pro Ile Ser Thr Ser Lys Trp Phe Asp Pro	
420 425 430	
aaa tct att tgt aag aca cca agc agc aat acc ttg gat gat tac atg	2366
Lys Ser Ile Cys Lys Thr Pro Ser Ser Asn Thr Leu Asp Asp Tyr Met	
435 440 445	
agc tgt ttt aga act cca gtt gta aag aat gac ttt cca cct gct tgt	2414
Ser Cys Phe Arg Thr Pro Val Lys Asn Asp Phe Pro Pro Ala Cys	
450 455 460	
cag ttg tca aca cct tat ggc caa cct gcc tgt ttc cag cag caa cag	2462
Gln Leu Ser Thr Pro Tyr Gly Gln Pro Ala Cys Phe Gln Gln Gln Gln	
465 470 475	
cat caa ata ctt gcc act cca ctt caa aat tta cag gtt tta gca tct	2510
His Gln Ile Leu Ala Thr Pro Leu Gln Asn Leu Gln Val Leu Ala Ser	
480 485 490 495	
tct tca gca aat gaa tgc att tcg gtt aaa gga aga att tat tcc ata	2558
Ser Ser Ala Asn Glu Cys Ile Ser Val Lys Gly Arg Ile Tyr Ser Ile	
500 505 510	
tta aag cag ata gga agt gga ggt tca agc aag gta ttt cag gtg tta	2606
Leu Lys Gln Ile Gly Ser Gly Gly Ser Ser Lys Val Phe Gln Val Leu	
515 520 525	
aat gaa aag aaa cag ata tat gct ata aaa tat gtg aac tta gaa gaa	2654
Asn Glu Lys Lys Gln Ile Tyr Ala Ile Lys Tyr Val Asn Leu Glu Glu	
530 535 540	
gca gat aac caa act ctt gat agt tac cgg aac gaa ata gct tat ttg	2702
Ala Asp Asn Gln Thr Leu Asp Ser Tyr Arg Asn Glu Ile Ala Tyr Leu	
545 550 555	
aat aaa cta caa caa cac agt gat aag atc atc cga ctt tat gat tat	2750
Asn Lys Leu Gln Gln His Ser Asp Lys Ile Ile Arg Leu Tyr Asp Tyr	
560 565 570 575	
gaa atc acg gac cag tac atc tac atg gta atg gag tgt gga aat att	2798
Glu Ile Thr Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Val Met Glu Cys Gly Asn Ile	
580 585 590	
gat ctt aat agt tgg ctt aaa aag aaa aaa tcc att gat cca tgg gaa	2846
Asp Leu Asn Ser Trp Leu Lys Lys Lys Lys Ser Ile Asp Pro Trp Glu	
595 600 605	
cgc aag agt tac tgg aaa aat atg tta gag gca gtt cac aca atc cat	2894
Arg Lys Ser Tyr Trp Lys Asn Met Leu Glu Ala Val His Thr Ile His	
610 615 620	

caa cat ggc att gtt cac agt gat ctt aaa cca gct aac ttt ctg ata 2942  
 Gln His Gly Ile Val His Ser Asp Leu Lys Pro Ala Asn Phe Leu Ile  
 625 630 635

gtt gat gga atg cta aag cta att gat ttt ggg att gca aac caa atg 2990  
 Val Asp Gly Met Leu Lys Leu Ile Asp Phe Gly Ile Ala Asn Gln Met  
 640 645 650 655

caa cca gat aca aca agt gtt gtt aaa gat tct cag gtt ggc aca gtt 3038  
 Gln Pro Asp Thr Thr Ser Val Val Lys Asp Ser Gln Val Gly Thr Val  
 660 665 670

aat tat atg cca cca gaa gca atc aaa gat atg tct tcc tcc aga gag 3086  
 Asn Tyr Met Pro Pro Glu Ala Ile Lys Asp Met Ser Ser Arg Glu  
 675 680 685

aat ggg aaa tct aag tca aag ata agc ccc aaa agt gat gtt tgg tcc 3134  
 Asn Gly Lys Ser Lys Ser Lys Ile Ser Pro Lys Ser Asp Val Trp Ser  
 690 695 700

tta gga tgt att ttg tac tat atg act tac ggg aaa aca cca ttt cag 3182  
 Leu Gly Cys Ile Leu Tyr Tyr Met Thr Tyr Gly Lys Thr Pro Phe Gln  
 705 710 715

cag ata att aat cag att tct aaa tta cat gcc ata att gat cct aat 3230  
 Gln Ile Ile Asn Gln Ile Ser Lys Leu His Ala Ile Ile Asp Pro Asn  
 720 725 730 735

cat gaa att gaa ttt ccc gat att cca gag aaa gat ctt caa gat gtg 3278  
 His Glu Ile Glu Phe Pro Asp Ile Pro Glu Lys Asp Leu Gln Asp Val  
 740 745 750

tta aag tgt tgt tta aaa agg gac cca aaa cag agg ata tcc att cct 3326  
 Leu Lys Cys Cys Leu Lys Arg Asp Pro Lys Gln Arg Ile Ser Ile Pro  
 755 760 765

gag ctc ctg gct cat cca tat gtt caa att caa act cat cca gtt aac 3374  
 Glu Leu Leu Ala His Pro Tyr Val Gln Ile Gln Thr His Pro Val Asn  
 770 775 780

caa atg gcc aag gga acc act gaa gaa atg aaa tat gtt ctg ggc caa 3422  
 Gln Met Ala Lys Gly Thr Thr Glu Glu Met Lys Tyr Val Leu Gly Gln  
 785 790 795

ctt gtt ggt ctg aat tct cct aac tcc att ttg aaa gct gct aaa act 3470  
 Leu Val Gly Leu Asn Ser Pro Asn Ser Ile Leu Lys Ala Ala Lys Thr  
 800 805 810 815

tta tat gaa cac tat agt ggt ggt gaa agt cat aat tct tca tcc tcc 3518  
 Leu Tyr Glu His Tyr Ser Gly Gly Glu Ser His Asn Ser Ser Ser Ser  
 820 825 830

aag act ttt gaa aaa aaa agg gga aaa aaa tga tttgcagtta ttcgtaatgt 3571  
 Lys Thr Phe Glu Lys Lys Arg Gly Lys Lys \*  
 835 840

cagataggag gtataaaata tattggactg ttatactctt gaatccctgt gaaatctac 3631  
 atttgaagac aacatcactc tgaagtgtta tcagcaaaaa aaattcagtg agattatctt 3691  
 taaaagaaaa ctgtaaaaaat agcaaccact tatggcactg tatatattgt agacttgttt 3751  
 tctctgtttt atgctcttgt gtaacttact tgacatcatt ttactcttgg aatagtggtt 3811  
 ggatagcaag tatattctaa aaaactttgt aaataaagtt ttgtggctaa aatga 3866

&lt;210&gt; 14

&lt;211&gt; 841

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 智人 (Homo sapiens)

&lt;400&gt; 14

Met Asn Lys Val Arg Asp Ile Lys Asn Lys Phe Lys Asn Glu Asp Leu  
 1 5 10 15  
 Thr Asp Glu Leu Ser Leu Asn Lys Ile Ser Ala Asp Thr Thr Asp Asn  
 20 25 30  
 Ser Gly Thr Val Asn Gln Ile Met Met Met Ala Asn Asn Pro Glu Asp  
 35 40 45  
 Trp Leu Ser Leu Leu Leu Lys Leu Glu Lys Asn Ser Val Pro Leu Ser  
 50 55 60  
 Asp Ala Leu Leu Asn Lys Leu Ile Gly Arg Tyr Ser Gln Ala Ile Glu  
 65 70 75 80  
 Ala Leu Pro Pro Asp Lys Tyr Gly Gln Asn Glu Ser Phe Ala Arg Ile  
 85 90 95  
 Gln Val Arg Phe Ala Glu Leu Lys Ala Ile Gln Glu Pro Asp Asp Ala  
 100 105 110  
 Arg Asp Tyr Phe Gln Met Ala Arg Ala Asn Cys Lys Lys Phe Ala Phe  
 115 120 125  
 Val His Ile Ser Phe Ala Gln Phe Glu Leu Ser Gln Gly Asn Val Lys  
 130 135 140  
 Lys Ser Lys Gln Leu Leu Gln Lys Ala Val Glu Arg Gly Ala Val Pro  
 145 150 155 160  
 Leu Glu Met Leu Glu Ile Ala Leu Arg Asn Leu Asn Leu Gln Lys Lys  
 165 170 175  
 Gln Leu Leu Ser Glu Glu Glu Lys Lys Asn Leu Ser Ala Ser Thr Val  
 180 185 190  
 Leu Thr Ala Gln Glu Ser Phe Ser Gly Ser Leu Gly His Leu Gln Asn  
 195 200 205  
 Arg Asn Asn Ser Cys Asp Ser Arg Gly Gln Thr Thr Lys Ala Arg Phe  
 210 215 220  
 Leu Tyr Gly Glu Asn Met Pro Pro Gln Asp Ala Glu Ile Gly Tyr Arg  
 225 230 235 240  
 Asn Ser Leu Arg Gln Thr Asn Lys Thr Lys Gln Ser Cys Pro Phe Gly  
 245 250 255  
 Arg Val Pro Val Asn Leu Leu Asn Ser Pro Asp Cys Asp Val Lys Thr  
 260 265 270  
 Asp Asp Ser Val Val Pro Cys Phe Met Lys Arg Gln Thr Ser Arg Ser  
 275 280 285  
 Glu Cys Arg Asp Leu Val Val Pro Gly Ser Lys Pro Ser Gly Asn Asp  
 290 295 300  
 Ser Cys Glu Leu Arg Asn Leu Lys Ser Val Gln Asn Ser His Phe Lys  
 305 310 315 320  
 Glu Pro Leu Val Ser Asp Glu Lys Ser Ser Glu Leu Ile Ile Thr Asp  
 325 330 335  
 Ser Ile Thr Leu Lys Asn Lys Thr Glu Ser Ser Leu Leu Ala Lys Leu  
 340 345 350  
 Glu Glu Thr Lys Glu Tyr Gln Glu Pro Glu Val Pro Glu Ser Asn Gln  
 355 360 365  
 Lys Gln Trp Gln Ala Lys Arg Lys Ser Glu Cys Ile Asn Gln Asn Pro  
 370 375 380  
 Ala Ala Ser Ser Asn His Trp Gln Ile Pro Glu Leu Ala Arg Lys Val  
 385 390 395 400  
 Asn Thr Glu Gln Lys His Thr Thr Phe Glu Gln Pro Val Phe Ser Val  
 405 410 415  
 Ser Lys Gln Ser Pro Pro Ile Ser Thr Ser Lys Trp Phe Asp Pro Lys  
 420 425 430  
 Ser Ile Cys Lys Thr Pro Ser Ser Asn Thr Leu Asp Asp Tyr Met Ser  
 435 440 445  
 Cys Phe Arg Thr Pro Val Val Lys Asn Asp Phe Pro Pro Ala Cys Gln  
 450 455 460  
 Leu Ser Thr Pro Tyr Gly Gln Pro Ala Cys Phe Gln Gln Gln His  
 465 470 475 480  
 Gln Ile Leu Ala Thr Pro Leu Gln Asn Leu Gln Val Leu Ala Ser Ser  
 485 490 495  
 Ser Ala Asn Glu Cys Ile Ser Val Lys Gly Arg Ile Tyr Ser Ile Leu  
 500 505 510  
 Lys Gln Ile Gly Ser Gly Gly Ser Ser Lys Val Phe Gln Val Leu Asn  
 515 520 525  
 Glu Lys Lys Gln Ile Tyr Ala Ile Lys Tyr Val Asn Leu Glu Glu Ala  
 530 535 540

Asp Asn Gln Thr Leu Asp Ser Tyr Arg Asn Glu Ile Ala Tyr Leu Asn  
 545 550 555 560  
 Lys Leu Gln Gln His Ser Asp Lys Ile Ile Arg Leu Tyr Asp Tyr Glu  
 565 570 575  
 Ile Thr Asp Gln Tyr Ile Tyr Met Val Met Glu Cys Gly Asn Ile Asp  
 580 585 590  
 Leu Asn Ser Trp Leu Lys Lys Lys Ser Ile Asp Pro Trp Glu Arg  
 595 600 605  
 Lys Ser Tyr Trp Lys Asn Met Leu Glu Ala Val His Thr Ile His Gln  
 610 615 620  
 His Gly Ile Val His Ser Asp Leu Lys Pro Ala Asn Phe Leu Ile Val  
 625 630 635 640  
 Asp Gly Met Leu Lys Leu Ile Asp Phe Gly Ile Ala Asn Gln Met Gln  
 645 650 655  
 Pro Asp Thr Thr Ser Val Val Lys Asp Ser Gln Val Gly Thr Val Asn  
 660 665 670  
 Tyr Met Pro Pro Glu Ala Ile Lys Asp Met Ser Ser Ser Arg Glu Asn  
 675 680 685  
 Gly Lys Ser Lys Ser Lys Ile Ser Pro Lys Ser Asp Val Trp Ser Leu  
 690 695 700  
 Gly Cys Ile Leu Tyr Tyr Met Thr Tyr Gly Lys Thr Pro Phe Gln Gln  
 705 710 715 720  
 Ile Ile Asn Gln Ile Ser Lys Leu His Ala Ile Ile Asp Pro Asn His  
 725 730 735  
 Glu Ile Glu Phe Pro Asp Ile Pro Glu Lys Asp Leu Gln Asp Val Leu  
 740 745 750  
 Lys Cys Cys Leu Lys Arg Asp Pro Lys Gln Arg Ile Ser Ile Pro Glu  
 755 760 765  
 Leu Leu Ala His Pro Tyr Val Gln Ile Gln Thr His Pro Val Asn Gln  
 770 775 780  
 Met Ala Lys Gly Thr Thr Glu Glu Met Lys Tyr Val Leu Gly Gln Leu  
 785 790 795 800  
 Val Gly Leu Asn Ser Pro Asn Ser Ile Leu Lys Ala Ala Lys Thr Leu  
 805 810 815  
 Tyr Glu His Tyr Ser Gly Gly Glu Ser His Asn Ser Ser Ser Ser Lys  
 820 825 830  
 Thr Phe Glu Lys Lys Arg Gly Lys Lys  
 835 840

<210> 15

<211> 2735

<212> DNA

<213> 酿酒酵母 (Saccharomyces cerevisiae)

<220>

<221> CDS

<222> (34)...(2499)

<400> 15

agaaaagata gtgttacaca acatcaacta aaa atg gaa aat att aca caa ccc 54  
 Met Glu Asn Ile Thr Gln Pro  
 1 5

aca cag caa tcc acg cag gct act caa agg ttt ttg att gag aag ttt 102  
 Thr Gln Gln Ser Thr Gln Ala Thr Gln Arg Phe Leu Ile Glu Lys Phe  
 10 15 20

tct caa gaa cag atc ggc gaa aac att gtg tgc agg gtc att tgt acc 150  
 Ser Gln Glu Gln Ile Gly Glu Asn Ile Val Cys Arg Val Ile Cys Thr  
 25 30 35

acg ggt caa att ccc atc cga gat ttg tca gct gat att tca caa gtg 198  
 Thr Gly Gln Ile Pro Ile Arg Asp Leu Ser Ala Asp Ile Ser Gln Val  
 40 45 50 55

ctt aag gaa aaa cga tcc ata aag aaa gtt tgg aca ttt ggt aga aac 246  
 Leu Lys Glu Lys Arg Ser Ile Lys Lys Val Trp Thr Phe Gly Arg Asn

60	65	70	
cca gcc tgt gac tat cat tta gga aac att tca aga ctg tca aat aag			294
Pro Ala Cys Asp Tyr His Leu Gly Asn Ile Ser Arg Leu Ser Asn Lys			
75	80	85	
cat ttc caa ata cta cta gga gaa gac ggt aac ctt tta ttg aat gac			342
His Phe Gln Ile Leu Leu Gly Glu Asp Gly Asn Leu Leu Leu Asn Asp			
90	95	100	
att tcc act aat ggg acc tgg tta aat ggg caa aaa gtc gag aag aac			390
Ile Ser Thr Asn Gly Thr Trp Leu Asn Gly Gln Lys Val Glu Lys Asn			
105	110	115	
agc aat cag tta ctg tct caa ggt gat gaa ata acc gtt ggt gta ggc			438
Ser Asn Gln Leu Leu Ser Gln Gly Asp Glu Ile Thr Val Gly Val Gly			
120	125	130	135
gtg gaa tca gat att tta tct ctg gtc att ttc ata aac gac aaa ttt			486
Val Glu Ser Asp Ile Leu Ser Leu Val Ile Phe Ile Asn Asp Lys Phe			
140	145	150	
aag cag tgc ctc gag cag aac aaa gtt gat cgc ata aga tct aac ctg			534
Lys Gln Cys Leu Glu Gln Asn Lys Val Asp Arg Ile Arg Ser Asn Leu			
155	160	165	
aaa aat acc tct aaa ata gct tct cct ggt ctt aca tca tct act gca			582
Lys Asn Thr Ser Lys Ile Ala Ser Pro Gly Leu Thr Ser Ser Thr Ala			
170	175	180	
tca tca atg gtg gcc aac aag act ggt att ttt aag gat ttt tcg att			630
Ser Ser Met Val Ala Asn Lys Thr Gly Ile Phe Lys Asp Phe Ser Ile			
185	190	195	
att gac gaa gtg gtg ggc cag ggt gca ttt gcc aca gta aag aaa gcc			678
Ile Asp Glu Val Val Gly Gln Gly Ala Phe Ala Thr Val Lys Lys Ala			
200	205	210	215
att gaa aga act act ggg aaa aca ttc gcg gtg aag att ata agt aaa			726
Ile Glu Arg Thr Thr Gly Lys Thr Phe Ala Val Lys Ile Ile Ser Lys			
220	225	230	
cgc aaa gta ata ggc aat atg gat ggt gtg aca aga gag tta gaa gta			774
Arg Lys Val Ile Gly Asn Met Asp Gly Val Thr Arg Glu Leu Glu Val			
235	240	245	
ttg caa aag ctc aat cat cca agg ata gta cga ttg aaa gga ttt tat			822
Leu Gln Lys Leu Asn His Pro Arg Ile Val Arg Leu Lys Gly Phe Tyr			
250	255	260	
gaa gat act gag agt tat tat atg gtg atg gag ttc gtt tct ggt ggt			870
Glu Asp Thr Glu Ser Tyr Tyr Met Val Met Glu Phe Val Ser Gly Gly			
265	270	275	
gac tta atg gat ttt gtt gct gct cat ggt gcg gtt gga gaa gat gct			918
Asp Leu Met Asp Phe Val Ala Ala His Gly Ala Val Gly Glu Asp Ala			
280	285	290	295
ggg agg gag ata tcc agg cag ata ctc aca gca ata aaa tac att cac			966
Gly Arg Glu Ile Ser Arg Gln Ile Leu Thr Ala Ile Lys Tyr Ile His			
300	305	310	
tct atg ggc atc agc cat cgt gac cta aag ccc gat aat att ctt att			1014
Ser Met Gly Ile Ser His Arg Asp Leu Lys Pro Asp Asn Ile Leu Ile			
315	320	325	
gaa caa gac gat cct gta ttg gta aag ata acc gac ttt ggt ctg gca			1062
Glu Gln Asp Asp Pro Val Leu Val Lys Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala			

330	335	340	
aaa gta caa gga aat ggg tct ttt atg aaa acc ttc tgt ggc act ttg			1110
Lys Val Gln Gly Asn Gly Ser Phe Met Lys Thr Phe Cys Gly Thr Leu			
345	350	355	
gca tat gtg gca cct gaa gtc atc aga ggt aaa gat aca tcc gta tct			1158
Ala Tyr Val Ala Pro Glu Val Ile Arg Gly Lys Asp Thr Ser Val Ser			
360	365	370	375
cct gat gaa tac gaa gaa agg aat gag tac tct tcg tta gtg gat atg			1206
Pro Asp Glu Tyr Glu Glu Arg Asn Glu Tyr Ser Ser Leu Val Asp Met			
	380	385	390
tgg tca atg gga tgt ctt gtg tat gtt atc cta acg ggc cac tta cct			1254
Trp Ser Met Gly Cys Leu Val Tyr Val Ile Leu Thr Gly His Leu Pro			
	395	400	405
ttt agt ggt agc aca cag gac caa tta tat aaa cag att gga aga ggc			1302
Phe Ser Gly Ser Thr Gln Asp Gln Leu Tyr Lys Gln Ile Gly Arg Gly			
	410	415	420
tca tat cat gaa ggg ccc ctc aaa gat ttc cgg ata tct gaa gaa gca			1350
Ser Tyr His Glu Gly Pro Leu Lys Asp Phe Arg Ile Ser Glu Glu Ala			
	425	430	435
aga gat ttc ata gat tca ttg tta cag gtg gat cca aat aat agg tcg			1398
Arg Asp Phe Ile Asp Ser Leu Leu Gln Val Asp Pro Asn Asn Arg Ser			
	445	450	455
aca gct gca aaa gcc ttg aat cat ccc tgg atc aag atg agt cca ttg			1446
Thr Ala Ala Lys Ala Leu Asn His Pro Trp Ile Lys Met Ser Pro Leu			
	460	465	470
ggc tca caa tca tat ggt gat ttt tca caa ata tcc tta tca caa tcg			1494
Gly Ser Gln Ser Tyr Gly Asp Phe Ser Gln Ile Ser Leu Ser Gln Ser			
	475	480	485
ttg tcg cag cag aaa tta tta gaa aat atg gac gat gct caa tac gaa			1542
Leu Ser Gln Gln Lys Leu Leu Glu Asn Met Asp Asp Ala Gln Tyr Glu			
	490	495	500
ttt gtc aaa gcg caa agg aaa tta caa atg gag caa caa ctt caa gaa			1590
Phe Val Lys Ala Gln Arg Lys Leu Gln Met Glu Gln Gln Leu Gln Glu			
	505	510	515
cag gat cag gaa gac caa gat gga aaa att caa gga ttt aaa ata ccc			1638
Gln Asp Gln Glu Asp Gln Asp Gly Lys Ile Gln Gly Phe Lys Ile Pro			
	520	525	530
gca cac gcc cct att cga tat aca cag ccc aaa agc att gaa gca gaa			1686
Ala His Ala Pro Ile Arg Tyr Thr Gln Pro Lys Ser Ile Glu Ala Glu			
	540	545	550
act aga gaa caa aaa ctt tta cat tcc aat aat act gag aat gtc aag			1734
Thr Arg Glu Gln Lys Leu Leu His Ser Asn Asn Thr Glu Asn Val Lys			
	555	560	565
agc tca aag aaa aag ggt aat ggt agg ttt tta act tta aaa cca ttg			1782
Ser Ser Lys Lys Lys Gly Asn Gly Arg Phe Leu Thr Leu Lys Pro Leu			
	570	575	580
cct gac agc att att caa gaa agc ctg gag att cag caa ggt gtg aat			1830
Pro Asp Ser Ile Ile Gln Glu Ser Leu Glu Ile Gln Gln Gly Val Asn			
	585	590	595
cca ttt ttc att ggt aga tcc gag gat tgc aat tgt aaa att gaa gac			1878
Pro Phe Phe Ile Gly Arg Ser Glu Asp Cys Asn Cys Lys Ile Glu Asp			



```

600          605          610          615
aat agg ttg tct cga gtt cat tgc ttc att ttc aaa aag agg cat gct 1926
Asn Arg Leu Ser Arg Val His Cys Phe Ile Phe Lys Lys Arg His Ala
          620          625          630

gta ggc aaa agc atg tat gaa tct ccg gca caa ggt tta gat gat att 1974
Val Gly Lys Ser Met Tyr Glu Ser Pro Ala Gln Gly Leu Asp Asp Ile
          635          640          645

tgg tat tgc cac acc gga act aac gtg agc tat tta aat aat aac cgc 2022
Trp Tyr Cys His Thr Gly Thr Asn Val Ser Tyr Leu Asn Asn Asn Arg
          650          655          660

atg ata cag ggt acg aaa ttc ctt tta caa gac gga gat gaa atc aag 2070
Met Ile Gln Gly Thr Lys Phe Leu Leu Gln Asp Gly Asp Glu Ile Lys
          665          670          675

atc att tgg gat aaa aac aat aaa ttt gtc att ggc ttt aaa gtg gaa 2118
Ile Ile Trp Asp Lys Asn Asn Lys Phe Val Ile Gly Phe Lys Val Glu
680          685          690          695

att aac gat act aca ggt ctg ttt aac gag gga tta ggt atg tta caa 2166
Ile Asn Asp Thr Thr Gly Leu Phe Asn Glu Gly Leu Gly Met Leu Gln
          700          705          710

gaa caa aga gta gta ctt aag caa aca gcc gaa gaa aaa gat ttg gtg 2214
Glu Gln Arg Val Val Leu Lys Gln Thr Ala Glu Glu Lys Asp Leu Val
          715          720          725

aaa aag tta acc cag atg atg gca gct caa cgt gca aat caa ccc tcg 2262
Lys Lys Leu Thr Gln Met Met Ala Ala Gln Arg Ala Asn Gln Pro Ser
          730          735          740

gct tct tct tca tca atg tcg gct aag aag ccg cca gtt agc gat aca 2310
Ala Ser Ser Ser Ser Met Ser Ala Lys Lys Pro Pro Val Ser Asp Thr
          745          750          755

aat aat aac ggc aat aat tcg gta cta aac gac ttg gta gag tca ccg 2358
Asn Asn Asn Gly Asn Asn Ser Val Leu Asn Asp Leu Val Glu Ser Pro
760          765          770          775

att aat gcg aat acg ggg aac att ttg aag aga ata cat tcg gta agt 2406
Ile Asn Ala Asn Thr Gly Asn Ile Leu Lys Arg Ile His Ser Val Ser
          780          785          790

tta tcg caa tca caa att gat cct agt aag aag gtt aaa agg gca aaa 2454
Leu Ser Gln Ser Gln Ile Asp Pro Ser Lys Lys Val Lys Arg Ala Lys
          795          800          805

ttg gac caa acc tca aaa ggc ccc gag aat ttg caa ttt tcg taa 2499
Leu Asp Gln Thr Ser Lys Gly Pro Glu Asn Leu Gln Phe Ser *
          810          815          820

ccaaggacaa ataccatag aaaatgctgc cctttttaa gagagaagat ggtagatacc 2559
aataactcaga attcccagta caaagaacca atatcggagt caataaacag tatgatgaac 2619
ttgctttcgc aaataaaaga tactactcag aagcaccag taataaagga tgcagatagc 2679
tcgagatttg gtaaggttga gtttagggac ttttatgacg aagtttcacg gaattc 2735

```

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 821

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; 酿酒酵母 (Saccharomyces cerevisiae)

&lt;400&gt; 16

```

Met Glu Asn Ile Thr Gln Pro Thr Gln Gln Ser Thr Gln Ala Thr Gln
  1          5          10          15
Arg Phe Leu Ile Glu Lys Phe Ser Gln Glu Gln Ile Gly Glu Asn Ile

```

20 25 30  
 Val Cys Arg Val Ile Cys Thr Thr Gly Gln Ile Pro Ile Arg Asp Leu  
 35 40 45  
 Ser Ala Asp Ile Ser Gln Val Leu Lys Glu Lys Arg Ser Ile Lys Lys  
 50 55 60  
 Val Trp Thr Phe Gly Arg Asn Pro Ala Cys Asp Tyr His Leu Gly Asn  
 65 70 75 80  
 Ile Ser Arg Leu Ser Asn Lys His Phe Gln Ile Leu Leu Gly Glu Asp  
 85 90 95  
 Gly Asn Leu Leu Leu Asn Asp Ile Ser Thr Asn Gly Thr Trp Leu Asn  
 100 105 110  
 Gly Gln Lys Val Glu Lys Asn Ser Asn Gln Leu Leu Ser Gln Gly Asp  
 115 120 125  
 Glu Ile Thr Val Gly Val Gly Val Glu Ser Asp Ile Leu Ser Leu Val  
 130 135 140  
 Ile Phe Ile Asn Asp Lys Phe Lys Gln Cys Leu Glu Gln Asn Lys Val  
 145 150 155 160  
 Asp Arg Ile Arg Ser Asn Leu Lys Asn Thr Ser Lys Ile Ala Ser Pro  
 165 170 175  
 Gly Leu Thr Ser Ser Thr Ala Ser Ser Met Val Ala Asn Lys Thr Gly  
 180 185 190  
 Ile Phe Lys Asp Phe Ser Ile Ile Asp Glu Val Val Gly Gln Gly Ala  
 195 200 205  
 Phe Ala Thr Val Lys Lys Ala Ile Glu Arg Thr Thr Gly Lys Thr Phe  
 210 215 220  
 Ala Val Lys Ile Ile Ser Lys Arg Lys Val Ile Gly Asn Met Asp Gly  
 225 230 235 240  
 Val Thr Arg Glu Leu Glu Val Leu Gln Lys Leu Asn His Pro Arg Ile  
 245 250 255  
 Val Arg Leu Lys Gly Phe Tyr Glu Asp Thr Glu Ser Tyr Tyr Met Val  
 260 265 270  
 Met Glu Phe Val Ser Gly Gly Asp Leu Met Asp Phe Val Ala Ala His  
 275 280 285  
 Gly Ala Val Gly Glu Asp Ala Gly Arg Glu Ile Ser Arg Gln Ile Leu  
 290 295 300  
 Thr Ala Ile Lys Tyr Ile His Ser Met Gly Ile Ser His Arg Asp Leu  
 305 310 315 320  
 Lys Pro Asp Asn Ile Leu Ile Glu Gln Asp Asp Pro Val Leu Val Lys  
 325 330 335  
 Ile Thr Asp Phe Gly Leu Ala Lys Val Gln Gly Asn Gly Ser Phe Met  
 340 345 350  
 Lys Thr Phe Cys Gly Thr Leu Ala Tyr Val Ala Pro Glu Val Ile Arg  
 355 360 365  
 Gly Lys Asp Thr Ser Val Ser Pro Asp Glu Tyr Glu Glu Arg Asn Glu  
 370 375 380  
 Tyr Ser Ser Leu Val Asp Met Trp Ser Met Gly Cys Leu Val Tyr Val  
 385 390 395 400  
 Ile Leu Thr Gly His Leu Pro Phe Ser Gly Ser Thr Gln Asp Gln Leu  
 405 410 415  
 Tyr Lys Gln Ile Gly Arg Gly Ser Tyr His Glu Gly Pro Leu Lys Asp  
 420 425 430  
 Phe Arg Ile Ser Glu Glu Ala Arg Asp Phe Ile Asp Ser Leu Leu Gln  
 435 440 445  
 Val Asp Pro Asn Asn Arg Ser Thr Ala Ala Lys Ala Leu Asn His Pro  
 450 455 460  
 Trp Ile Lys Met Ser Pro Leu Gly Ser Gln Ser Tyr Gly Asp Phe Ser  
 465 470 475 480  
 Gln Ile Ser Leu Ser Gln Ser Leu Ser Gln Gln Lys Leu Leu Glu Asn  
 485 490 495  
 Met Asp Asp Ala Gln Tyr Glu Phe Val Lys Ala Gln Arg Lys Leu Gln  
 500 505 510  
 Met Glu Gln Gln Leu Gln Glu Gln Asp Gln Glu Asp Gln Asp Gly Lys  
 515 520 525  
 Ile Gln Gly Phe Lys Ile Pro Ala His Ala Pro Ile Arg Tyr Thr Gln  
 530 535 540  
 Pro Lys Ser Ile Glu Ala Glu Thr Arg Glu Gln Lys Leu Leu His Ser  
 545 550 555 560  
 Asn Asn Thr Glu Asn Val Lys Ser Ser Lys Lys Lys Gly Asn Gly Arg

565 570 575  
 Phe Leu Thr Leu Lys Pro Leu Pro Asp Ser Ile Ile Gln Glu Ser Leu  
 580 585 590  
 Glu Ile Gln Gln Gly Val Asn Pro Phe Phe Ile Gly Arg Ser Glu Asp  
 595 600 605  
 Cys Asn Cys Lys Ile Glu Asp Asn Arg Leu Ser Arg Val His Cys Phe  
 610 615 620  
 Ile Phe Lys Lys Arg His Ala Val Gly Lys Ser Met Tyr Glu Ser Pro  
 625 630 635 640  
 Ala Gln Gly Leu Asp Asp Ile Trp Tyr Cys His Thr Gly Thr Asn Val  
 645 650 655  
 Ser Tyr Leu Asn Asn Arg Met Ile Gln Gly Thr Lys Phe Leu Leu  
 660 665 670  
 Gln Asp Gly Asp Glu Ile Lys Ile Ile Trp Asp Lys Asn Asn Lys Phe  
 675 680 685  
 Val Ile Gly Phe Lys Val Glu Ile Asn Asp Thr Thr Gly Leu Phe Asn  
 690 695 700  
 Glu Gly Leu Gly Met Leu Gln Glu Gln Arg Val Val Leu Lys Gln Thr  
 705 710 715 720  
 Ala Glu Glu Lys Asp Leu Val Lys Lys Leu Thr Gln Met Met Ala Ala  
 725 730 735  
 Gln Arg Ala Asn Gln Pro Ser Ala Ser Ser Ser Ser Met Ser Ala Lys  
 740 745 750  
 Lys Pro Pro Val Ser Asp Thr Asn Asn Asn Gly Asn Asn Ser Val Leu  
 755 760 765  
 Asn Asp Leu Val Glu Ser Pro Ile Asn Ala Asn Thr Gly Asn Ile Leu  
 770 775 780  
 Lys Arg Ile His Ser Val Ser Leu Ser Gln Ser Gln Ile Asp Pro Ser  
 785 790 795 800  
 Lys Lys Val Lys Arg Ala Lys Leu Asp Gln Thr Ser Lys Gly Pro Glu  
 805 810 815  
 Asn Leu Gln Phe Ser  
 820

<210> 17  
 <211> 2525  
 <212> DNA  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (289)... (1230)

<400> 17  
 tcctgccccg cggcgctgcc gcaagagccc cagcagccc tcacccccgcc gttctcagcg 60  
 ctgccccgacc ccgctggcgc gccctcccgc cgccagtccc ggcagcgcgcc tcagttgtcc 120  
 tccgactcgc cctcggcctt ccgcccagc cgcagccaca gccgcaacgc caccgcgagc 180  
 cacagccaca gccacagccc caggcatagc cttcggcaca gccccggctc cggtcctcgc 240  
 ggcagctcct ctgggcaccg tcctcgcgcc gacatcctgg aggttggg atg ctc ttg 297  
 Met Leu Leu  
 1

tcc aaa atc aac tcg ctt gcc cac ctg cgc gcc gcg ccc tgc aac gac 345  
 Ser Lys Ile Asn Ser Leu Ala His Leu Arg Ala Ala Pro Cys Asn Asp  
 5 10 15

ctg cac gcc acc aag ctg gcg ccc ggc aag gag aag gag ccc ctg gag 393  
 Leu His Ala Thr Lys Leu Ala Pro Gly Lys Glu Lys Glu Pro Leu Glu  
 20 25 30 35

tcg cag tac cag gtg ggc ccg cta ctg ggc agc ggc ggc ttc ggc tcg 441  
 Ser Gln Tyr Gln Val Gly Pro Leu Leu Gly Ser Gly Gly Phe Gly Ser  
 40 45 50

gtc tac tca ggc atc cgc gtc tcc gac aac ttg ccg gtg gcc atc aaa 489  
 Val Tyr Ser Gly Ile Arg Val Ser Asp Asn Leu Pro Val Ala Ile Lys  
 55 60 65

cac gtg gag aag gac cgg att tcc gac tgg gga gag ctg cct aat ggc 537  
His Val Glu Lys Asp Arg Ile Ser Asp Trp Gly Glu Leu Pro Asn Gly  
70 75 80

act cga gtg ccc atg gaa gtg gtc ctg ctg aag aag gtg agc tcg ggt 585  
Thr Arg Val Pro Met Glu Val Val Leu Leu Lys Lys Val Ser Ser Gly  
85 90 95

ttc tcc ggc gtc att agg ctc ctg gac tgg ttc gag agg ccc gac agt 633  
Phe Ser Gly Val Ile Arg Leu Leu Asp Trp Phe Glu Arg Pro Asp Ser  
100 105 110 115

ttc gtc ctg atc ctg gag agg ccc gag ccg gtg caa gat ctc ttc gac 681  
Phe Val Leu Ile Leu Glu Arg Pro Glu Pro Val Gln Asp Leu Phe Asp  
120 125 130

ttc atc acg gaa agg gga gcc ctg caa gag gag ctc gcc cgc agc ttc 729  
Phe Ile Thr Glu Arg Gly Ala Leu Gln Glu Glu Leu Ala Arg Ser Phe  
135 140 145

ttc tgg cag gtg ctg gag gcc gtg cgg cac tgc cac aac tgc ggg gtg 777  
Phe Trp Gln Val Leu Glu Ala Val Arg His Cys His Asn Cys Gly Val  
150 155 160

ctc cac cgc gac atc aag gac gaa aac atc ctt atc gac ctc aat cgc 825  
Leu His Arg Asp Ile Lys Asp Glu Asn Ile Leu Ile Asp Leu Asn Arg  
165 170 175

ggc gag ctc aag ctc atc gac ttc ggg tcg ggg gcg ctg ctc aaa gac 873  
Gly Glu Leu Lys Leu Ile Asp Phe Gly Ser Gly Ala Leu Leu Lys Asp  
180 185 190 195

acc gtc tac acg gac ttc gat ggg acc cga gtg tat agc cct cca gag 921  
Thr Val Tyr Thr Asp Phe Asp Gly Thr Arg Val Tyr Ser Pro Pro Glu  
200 205 210

tgg atc cgc tac cat cgc tac cat ggc agg tcg gcg gca gtc tgg tcc 969  
Trp Ile Arg Tyr His Arg Tyr His Gly Arg Ser Ala Ala Val Trp Ser  
215 220 225

ctg ggg atc ctg ctg tat gat atg gtg tgt gga gat att cct ttc gag 1017  
Leu Gly Ile Leu Leu Tyr Asp Met Val Cys Gly Asp Ile Pro Phe Glu  
230 235 240

cat gac gaa gag atc atc agg ggc cag gtt ttc ttc agg cag agg gtc 1065  
His Asp Glu Glu Ile Ile Arg Gly Gln Val Phe Phe Arg Gln Arg Val  
245 250 255

tct tca gaa tgt cag cat ctc att aga tgg tgc ttg gcc ctg aga cca 1113  
Ser Ser Glu Cys Gln His Leu Ile Arg Trp Cys Leu Ala Leu Arg Pro  
260 265 270 275

tca gat agg cca acc ttc gaa gaa atc cag aac cat cca tgg atg caa 1161  
Ser Asp Arg Pro Thr Phe Glu Glu Ile Gln Asn His Pro Trp Met Gln  
280 285 290

gat gtt ctc ctg ccc cag gaa act gct gag atc cac ctc cac agc ctg 1209  
Asp Val Leu Leu Pro Gln Glu Thr Ala Glu Ile His Leu His Ser Leu  
295 300 305

tcg ccg ggg ccc agc aaa tag cagcctttct ggcaggtcct ccctctctt 1260  
Ser Pro Gly Pro Ser Lys \*  
310

gtcagatgcc cgaggaggga gaagcttctg tctccagctt cccgagtacc agtgacacgt 1320  
ctcgccaagc aggacagtgc ttgatacagg aacaacattt acaactcatt ccagatccca 1380  
ggcccctgga ggctgcctcc caacagtgag gaagagtgac tctccagggg tcttaggctt 1440

```

caactcctcc catagatact ctcttcttct cataggtgtc cagcattgct ggactgctga 1500
aatatcccg gggtgggggg tgggggtggg tcagaaccct gccatggaac tgtttccttc 1560
atcatgagtt ctgctgaatg ccgcgatggg tcaggtaggg gggaacagg ttgggatggg 1620
ataggactag caccatttta agtccctgtc acctcttccg actctttctg agtgccttct 1680
gtggggactc cggctgtgct gggagaaata cttgaacttg cctcttttac ctgctgcttc 1740
tccaaaaatc tgccctgggtt ttgttcccta tttttctctc ctgtcctccc tcaccccctc 1800
cttcatatga aaggtgcat ggaagaggct acagggccaa acgctgagcc acctgcccct 1860
ttttctgctt cctttagtaa aactccgagt gaactggtct tccttttgg tttttactta 1920
actgtttcaa agccaagacc tcacacacag aaaaaatgca caaacaatgc aatcaacaga 1980
aaagctgtaa atgtgtgtac agttggcatg gtagtataca aaaagattgt agtggatcta 2040
atttttcaga aattttgctt ttaagttatt ttacctgttt ttgtttcttg ttttgaaga 2100
tgcgcattct aacctggagg tcaatgttat gtatttattt atttatttat ttggttccct 2160
tcctattcca agcttccata gctgctgcc tagttttctt tcctccttc ctctctgac 2220
ttggggacct tttgggggag ggctgagcag cttgctctgt ttgtgggtg acgggactca 2280
ggcgggacag tgctgcagct ccctggcttc tgtggggccc ctcacctact taccagggtg 2340
ggtcccggct ctgtgggtga tggggagggg cattgctgac tgtgtatata ggataattat 2400
gaaaagcagt tctggatggt gtgccttcca gatcctctct ggggctgtgt tttgagcagc 2460
aggtagcctg gctggtttta tctgagttaa atactgtaca ggggaataaa agagatctta 2520
ttttt 2525

```

<210> 18

<211> 313

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 18

```

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

```

<210> 19  
 <211> 3401  
 <212> DNA  
 <213> 酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (789)... (2795)

<400> 19  
 atcgatacaa ctccccagaa atactactgt tgagagtcca tgcaagacg tagtatagta 60  
 ttgcaacagg aaaaaaaaaat ctattgcgt agcactctgt atctatttta tatactgtt 120  
 tctatatttg attaatctct tgttatcttg gtgatgatcg cacaagtatg tactcctgta 180  
 tctgcaagaa tatctgtttt aaacttttca aagcaaggaa accccgtctt atataggta 240  
 tccgcaaagg tcacattttc ttgcaaatag aagaaaaagc acccacaagc acactaacac 300  
 agtgccagag caaaactata tcttttgcac cggatctcaa acgctgttct tatcgcatct 360  
 gtcttctgcc ttcatctgc atttaccttt tctttttcat cctctatttg ccttttcatt 420  
 agtggcaatt tttccagttt tttccctctg cgtcccgttg cacctgaaag gatctttcta 480  
 acgtgtgttg tctactagtg agcgatttctg tgagccatac acgttctata gaaaattgaa 540  
 taaactttac ttcaaaggga tctggacaca gagataactg cttacctgct tgccggaaga 600  
 aaagaattac taaaaaagaa gacaagggtg gctgctattg tgggtacacg tttcacagaa 660  
 ctactttttc cttgtccttc tccagacatc aacgtcatac aactaaaact gataaagtac 720  
 ccgtttttcc gtacatttct atagatacat tattatatta agcagatcga gacgttaatt 780  
 tctcaaag atg gaa gac aag ttt gct aac ctc agt ctc cat gag aaa act 830  
           Met Glu Asp Lys Phe Ala Asn Leu Ser Leu His Glu Lys Thr  
           1                  5                          10

ggt aag tca tct atc caa tta aac gag caa aca ggc tca gat aat ggc 878  
 Gly Lys Ser Ser Ile Gln Leu Asn Glu Gln Thr Gly Ser Asp Asn Gly  
   15                  20                          25                  30

tct gct gtc aag aga aca tct tcg acg tcc tcg cac tac aat aac atc 926  
 Ser Ala Val Lys Arg Thr Ser Ser Thr Ser Ser His Tyr Asn Asn Ile  
                   35                          40                          45

aac gct gac ctt cat gct cgt gta aaa gct ttt caa gaa caa cgt gca 974  
 Asn Ala Asp Leu His Ala Arg Val Lys Ala Phe Gln Glu Gln Arg Ala  
                   50                          55                          60

ttg aaa agg tct gcc agc gtg ggc agt aat caa agc gag caa gac aaa 1022  
 Leu Lys Arg Ser Ala Ser Val Gly Ser Asn Gln Ser Glu Gln Asp Lys  
                   65                          70                          75

ggc agt tca caa tca cct aaa cat att cag cag att gtt aat aag cca 1070  
 Gly Ser Ser Gln Ser Pro Lys His Ile Gln Gln Ile Val Asn Lys Pro  
                   80                          85                          90

ttg ccg cct ctt ccc gta gca gga agt tct aag gtt tca caa aga atg 1118  
 Leu Pro Pro Leu Pro Val Ala Gly Ser Ser Lys Val Ser Gln Arg Met  
                   95                          100                          105                  110

agt agc caa gtc gtg caa gcg tcc tcc aag agc act ctt aag aac gtt 1166  
 Ser Ser Gln Val Val Gln Ala Ser Ser Lys Ser Thr Leu Lys Asn Val  
                   115                          120                          125

ctg gac aat caa gaa aca caa aac att acc gac gta aat att aac atc 1214  
 Leu Asp Asn Gln Glu Thr Gln Asn Ile Thr Asp Val Asn Ile Asn Ile  
                   130                          135                          140

gat aca acc aaa att acc gcc aca aca att ggt gta aat act ggc cta 1262  
 Asp Thr Thr Lys Ile Thr Ala Thr Thr Ile Gly Val Asn Thr Gly Leu  
                   145                          150                          155

cct gct act gac att acg ccg tca gtt tct aat act gca tca gca aca 1310  
 Pro Ala Thr Asp Ile Thr Pro Ser Val Ser Asn Thr Ala Ser Ala Thr  
                   160                          165                          170

cat aag gcg caa ttg ctg aat cct aac aga agg gca cca aga agg ccg 1358

His Lys Ala Gln Leu Leu Asn Pro Asn Arg Arg Ala Pro Arg Arg Pro  
 175 180 185 190  
 ctt tct acc cag cac cct aca aga cca aat gtt gcc ccg cat aag gcc 1406  
 Leu Ser Thr Gln His Pro Thr Arg Pro Asn Val Ala Pro His Lys Ala  
 195 200 205  
 cct gct ata atc aac aca cca aaa caa agt tta agt gcc cgt cga ggg 1454  
 Pro Ala Ile Ile Asn Thr Pro Lys Gln Ser Leu Ser Ala Arg Arg Gly  
 210 215 220  
 ctc aaa tta cca cca gga gga atg tca tta aaa atg ccc act aaa aca 1502  
 Leu Lys Leu Pro Pro Gly Gly Met Ser Leu Lys Met Pro Thr Lys Thr  
 225 230 235  
 gct caa cag ccg cag cag ttt gcc cca agc cct tca aac aaa aaa cat 1550  
 Ala Gln Gln Pro Gln Gln Phe Ala Pro Ser Pro Ser Asn Lys Lys His  
 240 245 250  
 ata gaa acc tta tca aac agc aaa gtt gtt gaa ggg aaa aga tcg aat 1598  
 Ile Glu Thr Leu Ser Asn Ser Lys Val Val Glu Gly Lys Arg Ser Asn  
 255 260 265 270  
 ccg ggt tct ttg ata aat ggt gtg caa agc aca tcc acc tca tca agt 1646  
 Pro Gly Ser Leu Ile Asn Gly Val Gln Ser Thr Ser Thr Ser Ser Ser  
 275 280 285  
 acc gaa ggc cca cat gac act gta ggc act aca ccc aga act gga aac 1694  
 Thr Glu Gly Pro His Asp Thr Val Gly Thr Thr Pro Arg Thr Gly Asn  
 290 295 300  
 agc aac aac tct tca aat tct ggt agt agt ggt ggt ggt ggt ctt ttc 1742  
 Ser Asn Asn Ser Ser Asn Ser Gly Ser Ser Gly Gly Gly Gly Leu Phe  
 305 310 315  
 gca aat ttc tcg aaa tac gtg gat atc aaa tcc ggc tct ttg aat ttt 1790  
 Ala Asn Phe Ser Lys Tyr Val Asp Ile Lys Ser Gly Ser Leu Asn Phe  
 320 325 330  
 gca ggc aaa cta tcg cta tcc tct aaa gga ata gat ttc agc aat ggt 1838  
 Ala Gly Lys Leu Ser Leu Ser Ser Lys Gly Ile Asp Phe Ser Asn Gly  
 335 340 345 350  
 tct agt tcg aga att aca ttg gac gaa cta gaa ttt ttg gat gaa ctg 1886  
 Ser Ser Ser Arg Ile Thr Leu Asp Glu Leu Glu Phe Leu Asp Glu Leu  
 355 360 365  
 ggt cat ggt aac tat ggt aac gtc tca aag gta ctg cat aag ccc aca 1934  
 Gly His Gly Asn Tyr Gly Asn Val Ser Lys Val Leu His Lys Pro Thr  
 370 375 380  
 aat gtt att atg gcg acg aag gaa gtc cgt ttg gag cta gat gag gct 1982  
 Asn Val Ile Met Ala Thr Lys Glu Val Arg Leu Glu Leu Asp Glu Ala  
 385 390 395  
 aaa ttt aga caa att tta atg gaa cta gaa gtt ttg cat aaa tgc aat 2030  
 Lys Phe Arg Gln Ile Leu Met Glu Leu Glu Val Leu His Lys Cys Asn  
 400 405 410  
 tct ccc tat att gtg gat ttt tat ggt gca ttc ttt att gag ggc gcc 2078  
 Ser Pro Tyr Ile Val Asp Phe Tyr Gly Ala Phe Phe Ile Glu Gly Ala  
 415 420 425 430  
 gtc tac atg tgt atg gaa tac atg gat ggt ggt tcc ttg gat aaa ata 2126  
 Val Tyr Met Cys Met Glu Tyr Met Asp Gly Gly Ser Leu Asp Lys Ile  
 435 440 445  
 tac gac gaa tca tct gaa atc ggc ggc att gat gaa cct cag cta gcg 2174

Tyr Asp Glu Ser Ser Glu Ile Gly Gly Ile Asp Glu Pro Gln Leu Ala  
 450 455 460  
 ttt att gcc aat gct gtc att cat gga cta aaa gaa ctc aaa gag cag 2222  
 Phe Ile Ala Asn Ala Val Ile His Gly Leu Lys Glu Leu Lys Glu Gln  
 465 470 475  
 cat aat atc ata cac aga gat gtc aaa cca aca aat att tta tgt tca 2270  
 His Asn Ile Ile His Arg Asp Val Lys Pro Thr Asn Ile Leu Cys Ser  
 480 485 490  
 gcc aac caa ggc acc gta aag ctg tgc gat ttc ggt gtt tct ggt aat 2318  
 Ala Asn Gln Gly Thr Val Lys Leu Cys Asp Phe Gly Val Ser Gly Asn  
 495 500 505 510  
 ttg gtg gca tct tta gcg aag act aat att ggt tgt cag tca tac atg 2366  
 Leu Val Ala Ser Leu Ala Lys Thr Asn Ile Gly Cys Gln Ser Tyr Met  
 515 520 525  
 gca cct gaa cga atc aaa tcg ttg aat cca gat aga gcc acc tat acc 2414  
 Ala Pro Glu Arg Ile Lys Ser Leu Asn Pro Asp Arg Ala Thr Tyr Thr  
 530 535 540  
 gta cag tca gac atc tgg tct tta ggt tta agc att ctg gaa atg gca 2462  
 Val Gln Ser Asp Ile Trp Ser Leu Gly Leu Ser Ile Leu Glu Met Ala  
 545 550 555  
 cta ggt aga tat ccg tat cca cca gaa aca tac gac aac att ttc tct 2510  
 Leu Gly Arg Tyr Pro Tyr Pro Glu Thr Tyr Asp Asn Ile Phe Ser  
 560 565 570  
 caa ttg agc gct att gtt gat ggg ccg cca ccg aga tta cct tca gat 2558  
 Gln Leu Ser Ala Ile Val Asp Gly Pro Pro Pro Arg Leu Pro Ser Asp  
 575 580 585 590  
 aaa ttc agt tct gac gca caa gat ttt gtt tct tta tgt cta caa aag 2606  
 Lys Phe Ser Ser Asp Ala Gln Asp Phe Val Ser Leu Cys Leu Gln Lys  
 595 600 605  
 att ccg gaa aga aga cct aca tac gca gct tta aca gag cat cct tgg 2654  
 Ile Pro Glu Arg Arg Pro Thr Tyr Ala Ala Leu Thr Glu His Pro Trp  
 610 615 620  
 tta gta aaa tac aga aac cag gat gtc cac atg agt gag tat atc act 2702  
 Leu Val Lys Tyr Arg Asn Gln Asp Val His Met Ser Glu Tyr Ile Thr  
 625 630 635  
 gaa cga tta gaa agg cgc aac aaa atc tta cgg gaa cgt ggt gag aat 2750  
 Glu Arg Leu Glu Arg Arg Asn Lys Ile Leu Arg Glu Arg Gly Glu Asn  
 640 645 650  
 ggt tta tct aaa aat gta ccg gca tta cat atg ggt ggt tta tag 2795  
 Gly Leu Ser Lys Asn Val Pro Ala Leu His Met Gly Gly Leu \*  
 655 660 665  
 cgtaaatc caataaaag caaacaggca cgtgaatata acaacaaaaa aaaagcagac 2855  
 gaaaagctac tgtggaatg atgcggcgaa tacaaaaaaa cttacatat acatatgttt 2915  
 attgtaataa acttgcatc tactcgttat agacatatat atatatat atccatatat 2975  
 atatatcgtc tgacttcctt ttgtcgaacc taaaaaaggg cacgaattat gacagagtat 3035  
 tgaggggatg ttatttcaag caccggcaag tgaagcgtat tggacgtcaa tatatttgtt 3095  
 tattcgatta ttgctacggc catcgactcc tcgaaattat ttactgttcgg ggctgacaac 3155  
 gcaagaaaga aaaaatgctc tgaattgctc tgatggtttt tccgctctt acggctcaag 3215  
 gctaggaag aaaaaaagt ccaaatcat cgagaaaata aaagggtttt tgaagttca 3275  
 aatccacgtt attgagagta gatgtggagt ctggaccagg aactatacct gtatcttacc 3335  
 ctaacttcta aattttgcta ctttcacgga aaacagtaaa taattaccta tcaagataaa 3395  
 gagctc 3401

&lt;210&gt; 20



<211> 668  
 <212> PRT  
 <213> 酿酒酵母 (*Saccharomyces cerevisiae*)  
 <400> 20  
 Met Glu Asp Lys Phe Ala Asn Leu Ser Leu His Glu Lys Thr Gly Lys  
 1 5 10 15  
 Ser Ser Ile Gln Leu Asn Glu Gln Thr Gly Ser Asp Asn Gly Ser Ala  
 20 25 30  
 Val Lys Arg Thr Ser Ser Thr Ser Ser His Tyr Asn Asn Ile Asn Ala  
 35 40 45  
 Asp Leu His Ala Arg Val Lys Ala Phe Gln Glu Gln Arg Ala Leu Lys  
 50 55 60  
 Arg Ser Ala Ser Val Gly Ser Asn Gln Ser Glu Gln Asp Lys Gly Ser  
 65 70 75 80  
 Ser Gln Ser Pro Lys His Ile Gln Gln Ile Val Asn Lys Pro Leu Pro  
 85 90 95  
 Pro Leu Pro Val Ala Gly Ser Ser Lys Val Ser Gln Arg Met Ser Ser  
 100 105 110  
 Gln Val Val Gln Ala Ser Ser Lys Ser Thr Leu Lys Asn Val Leu Asp  
 115 120 125  
 Asn Gln Glu Thr Gln Asn Ile Thr Asp Val Asn Ile Asn Ile Asp Thr  
 130 135 140  
 Thr Lys Ile Thr Ala Thr Thr Ile Gly Val Asn Thr Gly Leu Pro Ala  
 145 150 155 160  
 Thr Asp Ile Thr Pro Ser Val Ser Asn Thr Ala Ser Ala Thr His Lys  
 165 170 175  
 Ala Gln Leu Leu Asn Pro Asn Arg Arg Ala Pro Arg Arg Pro Leu Ser  
 180 185 190  
 Thr Gln His Pro Thr Arg Pro Asn Val Ala Pro His Lys Ala Pro Ala  
 195 200 205  
 Ile Ile Asn Thr Pro Lys Gln Ser Leu Ser Ala Arg Arg Gly Leu Lys  
 210 215 220  
 Leu Pro Pro Gly Gly Met Ser Leu Lys Met Pro Thr Lys Thr Ala Gln  
 225 230 235 240  
 Gln Pro Gln Gln Phe Ala Pro Ser Pro Ser Asn Lys Lys His Ile Glu  
 245 250 255  
 Thr Leu Ser Asn Ser Lys Val Val Glu Gly Lys Arg Ser Asn Pro Gly  
 260 265 270  
 Ser Leu Ile Asn Gly Val Gln Ser Thr Ser Thr Ser Ser Ser Thr Glu  
 275 280 285  
 Gly Pro His Asp Thr Val Gly Thr Thr Pro Arg Thr Gly Asn Ser Asn  
 290 295 300  
 Asn Ser Ser Asn Ser Gly Ser Ser Gly Gly Gly Gly Leu Phe Ala Asn  
 305 310 315 320  
 Phe Ser Lys Tyr Val Asp Ile Lys Ser Gly Ser Leu Asn Phe Ala Gly  
 325 330 335  
 Lys Leu Ser Leu Ser Ser Lys Gly Ile Asp Phe Ser Asn Gly Ser Ser  
 340 345 350  
 Ser Arg Ile Thr Leu Asp Glu Leu Glu Phe Leu Asp Glu Leu Gly His  
 355 360 365  
 Gly Asn Tyr Gly Asn Val Ser Lys Val Leu His Lys Pro Thr Asn Val  
 370 375 380  
 Ile Met Ala Thr Lys Glu Val Arg Leu Glu Leu Asp Glu Ala Lys Phe  
 385 390 395 400  
 Arg Gln Ile Leu Met Glu Leu Glu Val Leu His Lys Cys Asn Ser Pro  
 405 410 415  
 Tyr Ile Val Asp Phe Tyr Gly Ala Phe Phe Ile Glu Gly Ala Val Tyr  
 420 425 430  
 Met Cys Met Glu Tyr Met Asp Gly Gly Ser Leu Asp Lys Ile Tyr Asp  
 435 440 445  
 Glu Ser Ser Glu Ile Gly Gly Ile Asp Glu Pro Gln Leu Ala Phe Ile  
 450 455 460  
 Ala Asn Ala Val Ile His Gly Leu Lys Glu Leu Lys Glu Gln His Asn  
 465 470 475 480  
 Ile Ile His Arg Asp Val Lys Pro Thr Asn Ile Leu Cys Ser Ala Asn  
 485 490 495  
 Gln Gly Thr Val Lys Leu Cys Asp Phe Gly Val Ser Gly Asn Leu Val

```

      500              505              510
Ala Ser Leu Ala Lys Thr Asn Ile Gly Cys Gln Ser Tyr Met Ala Pro
      515              520              525
Glu Arg Ile Lys Ser Leu Asn Pro Asp Arg Ala Thr Tyr Thr Val Gln
      530              535              540
Ser Asp Ile Trp Ser Leu Gly Leu Ser Ile Leu Glu Met Ala Leu Gly
      545              550              555
Arg Tyr Pro Tyr Pro Pro Glu Thr Tyr Asp Asn Ile Phe Ser Gln Leu
      560              565              570
Ser Ala Ile Val Asp Gly Pro Pro Pro Arg Leu Pro Ser Asp Lys Phe
      575              580              585
Ser Ser Asp Ala Gln Asp Phe Val Ser Leu Cys Leu Gln Lys Ile Pro
      590              595              600
Glu Arg Arg Pro Thr Tyr Ala Ala Leu Thr Glu His Pro Trp Leu Val
      605              610              615
Lys Tyr Arg Asn Gln Asp Val His Met Ser Glu Tyr Ile Thr Glu Arg
      620              625              630
Leu Glu Arg Arg Asn Lys Ile Leu Arg Glu Arg Gly Glu Asn Gly Leu
      635              640              645
Ser Lys Asn Val Pro Ala Leu His Met Gly Gly Leu
      650              655              660
      665

```

<210> 21  
 <211> 1883  
 <212> DNA  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (121)... (1203)

```

<400> 21
gtgagccacc gcccccagcc tggcctggca tttctttgag ttcaggaagt gtgacaagga 60
tttgacacc cagaataag cgtgtcgaga agagcacaag cagaggatcc agcgctcggc 120
atg gcg gag cca gat ctg gag tgc gag cag atc cgt ctg aag tgt att 168
Met Ala Glu Pro Asp Leu Glu Cys Glu Gln Ile Arg Leu Lys Cys Ile
  1          5          10          15

cgt aag gag ggc ttc ttc acg gtg cct ccg gaa cac agg ctg gga cga 216
Arg Lys Glu Gly Phe Phe Thr Val Pro Pro Glu His Arg Leu Gly Arg
  20          25          30

tgc cgg agt gtg aag gag ttt gag aag ctg aac cgc att gga gag ggt 264
Cys Arg Ser Val Lys Glu Phe Glu Lys Leu Asn Arg Ile Gly Glu Gly
  35          40          45

acc tac ggc att gtg tat cgg gcc cgg gac acc cag aca gat gag att 312
Thr Tyr Gly Ile Val Tyr Arg Ala Arg Asp Thr Gln Thr Asp Glu Ile
  50          55          60

gtc gca ctg aag aag gtg cgg atg gac aag gag aag gat ggc atc ccc 360
Val Ala Leu Lys Lys Val Arg Met Asp Lys Glu Lys Asp Gly Ile Pro
  65          70          75          80

atc agc agc ttg cgg gag atc acg ctg ctg ctc cgc ctg cgt cat ccg 408
Ile Ser Ser Leu Arg Glu Ile Thr Leu Leu Leu Arg Leu Arg His Pro
  85          90          95

aac atc gtg gag ctg aag gag gtg gtt gtg ggg aac cac ctg gag agc 456
Asn Ile Val Glu Leu Lys Glu Val Val Val Gly Asn His Leu Glu Ser
  100         105         110

atc ttc ctg gtg atg ggt tac tgt gag cag gac ctg gcc agc ctc ctg 504
Ile Phe Leu Val Met Gly Tyr Cys Glu Gln Asp Leu Ala Ser Leu Leu
  115         120         125

gag aat atg cca aca ccc ttc tgc gag gct cag gtc aag tgc atc gtg 552

```

Glu Asn Met Pro Thr Pro Phe Ser Glu Ala Gln Val Lys Cys Ile Val  
 130 135 140  
 ctg cag gtg ctc cgg ggc ctc cag tat ctg cac agg aac ttc att atc 600  
 Leu Gln Val Leu Arg Gly Leu Gln Tyr Leu His Arg Asn Phe Ile Ile  
 145 150 155 160  
 cac agg gac ctg aag gtt tcc aac ttg ctc atg acc gac aag ggt tgt 648  
 His Arg Asp Leu Lys Val Ser Asn Leu Leu Met Thr Asp Lys Gly Cys  
 165 170 175  
 gtg aag aca gcg gat ttc ggc ctg gcc cgg gcc tat ggt gtc cca gta 696  
 Val Lys Thr Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Ala Tyr Gly Val Pro Val  
 180 185 190  
 aag cca atg acc ccc aag gtg gtc act ctc tgg tac cga gcc cct gaa 744  
 Lys Pro Met Thr Pro Lys Val Val Thr Leu Trp Tyr Arg Ala Pro Glu  
 195 200 205  
 ctg ctg ttg gga acc acc acg cag acc acc agc atc gac atg tgg gct 792  
 Leu Leu Leu Gly Thr Thr Thr Gln Thr Thr Ser Ile Asp Met Trp Ala  
 210 215 220  
 gtg ggc tgc ata ctg gcc gag ctg ctg gcg cac agg cct ctt ctc ccc 840  
 Val Gly Cys Ile Leu Ala Glu Leu Leu Ala His Arg Pro Leu Leu Pro  
 225 230 235 240  
 ggc act tcc gag atc cac cag atc gac ttg atc gtg cag ctg ctg ggc 888  
 Gly Thr Ser Glu Ile His Gln Ile Asp Leu Ile Val Gln Leu Leu Gly  
 245 250 255  
 acg ccc agt gag aac atc tgg ccg ggc ttt tcc aag ctg cca ctg gtc 936  
 Thr Pro Ser Glu Asn Ile Trp Pro Gly Phe Ser Lys Leu Pro Leu Val  
 260 265 270  
 ggc cag tac agc ctc cgg aag cag ccc tac aac aac ctg aag cac aag 984  
 Gly Gln Tyr Ser Leu Arg Lys Gln Pro Tyr Asn Asn Leu Lys His Lys  
 275 280 285  
 ttc cca tgg ctg tcg gag gcc ggg ctg cgc ctg ctg cac ttc ctg ttc 1032  
 Phe Pro Trp Leu Ser Glu Ala Gly Leu Arg Leu Leu His Phe Leu Phe  
 290 295 300  
 atg tac gac cct aag aaa agg gcg acg gcc ggg gac tgc ctg gag agc 1080  
 Met Tyr Asp Pro Lys Lys Arg Ala Thr Ala Gly Asp Cys Leu Glu Ser  
 305 310 315 320  
 tcc tat ttc aag gag aag ccc cta ccc tgt gag ccg gag ctc atg ccg 1128  
 Ser Tyr Phe Lys Glu Lys Pro Leu Pro Cys Glu Pro Glu Leu Met Pro  
 325 330 335  
 acc ttt ccc cac cac cgc aac aag cgg gcc gcc cca gcc acc tcc gag 1176  
 Thr Phe Pro His His Arg Asn Lys Arg Ala Ala Pro Ala Thr Ser Glu  
 340 345 350  
 ggc cag agc aag cgc tgt aaa ccc tga cgggtggcct ggcacacgcc 1223  
 Gly Gln Ser Lys Arg Cys Lys Pro \*  
 355 360  
 tgtattccca caccaggtct tccgatcagt ggtgtctgtg aagggtgccg cgagccaggc 1283  
 tgaccaggcg cccgggatcc agctcatccc cttggetggg aacatcctcc actgactcc 1343  
 tcccactgtc tgccctgaac ccaactgtgc ccccagaaaa aggcgggtg acaccggggg 1403  
 ctcccagccc gtgcaccctg gaagggcagg tctggcggct ccatccgtgg ctgcaggggt 1463  
 ctcatgtggt cctcctcget atgttgaaa tgtgcaacca ctgcttcttg ggaggagtgg 1523  
 tgggtgcagt cccccgctg tctttgagtt gtggtggacc gctggcctgg gatgagaggg 1583  
 cccagaagac ctctgatac cctctcagtc gcccggggct gtcccgtgca tgggttggt 1643  
 gtggggaccc caggtgggccc tggcaggact ccagatgagg acaagaggga caaggtatgg 1703  
 ggtgggagcc acaattgagg ataccocgag ctaccaggag agccctgggc tggaggtga 1763

gctggatccc tgctccccac acggaggacc caacaggagg ccgtggctct gatgctgagc 1823  
 gaagctatag gctcttgggtg gataaaagct tttttaacag aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 1883

<210> 22  
 <211> 360  
 <212> PRT  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 22  
 Met Ala Glu Pro Asp Leu Glu Cys Glu Gln Ile Arg Leu Lys Cys Ile  
 1 5 10 15  
 Arg Lys Glu Gly Phe Phe Thr Val Pro Pro Glu His Arg Leu Gly Arg  
 20 25 30  
 Cys Arg Ser Val Lys Glu Phe Glu Lys Leu Asn Arg Ile Gly Glu Gly  
 35 40 45  
 Thr Tyr Gly Ile Val Tyr Arg Ala Arg Asp Thr Gln Thr Asp Glu Ile  
 50 55 60  
 Val Ala Leu Lys Lys Val Arg Met Asp Lys Glu Lys Asp Gly Ile Pro  
 65 70 75 80  
 Ile Ser Ser Leu Arg Glu Ile Thr Leu Leu Leu Arg Leu Arg His Pro  
 85 90 95  
 Asn Ile Val Glu Leu Lys Glu Val Val Gly Asn His Leu Glu Ser  
 100 105 110  
 Ile Phe Leu Val Met Gly Tyr Cys Glu Gln Asp Leu Ala Ser Leu Leu  
 115 120 125  
 Glu Asn Met Pro Thr Pro Phe Ser Glu Ala Gln Val Lys Cys Ile Val  
 130 135 140  
 Leu Gln Val Leu Arg Gly Leu Gln Tyr Leu His Arg Asn Phe Ile Ile  
 145 150 155 160  
 His Arg Asp Leu Lys Val Ser Asn Leu Leu Met Thr Asp Lys Gly Cys  
 165 170 175  
 Val Lys Thr Ala Asp Phe Gly Leu Ala Arg Ala Tyr Gly Val Pro Val  
 180 185 190  
 Lys Pro Met Thr Pro Lys Val Val Thr Leu Trp Tyr Arg Ala Pro Glu  
 195 200 205  
 Leu Leu Leu Gly Thr Thr Thr Gln Thr Thr Ser Ile Asp Met Trp Ala  
 210 215 220  
 Val Gly Cys Ile Leu Ala Glu Leu Leu Ala His Arg Pro Leu Leu Pro  
 225 230 235 240  
 Gly Thr Ser Glu Ile His Gln Ile Asp Leu Ile Val Gln Leu Leu Gly  
 245 250 255  
 Thr Pro Ser Glu Asn Ile Trp Pro Gly Phe Ser Lys Leu Pro Leu Val  
 260 265 270  
 Gly Gln Tyr Ser Leu Arg Lys Gln Pro Tyr Asn Asn Leu Lys His Lys  
 275 280 285  
 Phe Pro Trp Leu Ser Glu Ala Gly Leu Arg Leu Leu His Phe Leu Phe  
 290 295 300  
 Met Tyr Asp Pro Lys Lys Arg Ala Thr Ala Gly Asp Cys Leu Glu Ser  
 305 310 315 320  
 Ser Tyr Phe Lys Glu Lys Pro Leu Pro Cys Glu Pro Glu Leu Met Pro  
 325 330 335  
 Thr Phe Pro His His Arg Asn Lys Arg Ala Ala Pro Ala Thr Ser Glu  
 340 345 350  
 Gly Gln Ser Lys Arg Cys Lys Pro  
 355 360

<210> 23  
 <211> 2299  
 <212> DNA  
 <213> 小家鼠 (Mus musculus)

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (142)...(1698)

<400> 23

```

ccggacttcc atgggcagca gcagcggcag ggaacggagg gcgaatagat ttcagagcct 60
gcacctgaag tacaattcga atcctgctcc agggagcagag ccaactgtccg gatccagaaa 120
ctttggccac tgggaggaaa a atg gcc agt gat acc cca ggt ttc tac atg 171
Met Ala Ser Asp Thr Pro Gly Phe Tyr Met
1 5 10

gac aaa ctt aat aaa tac cgc cag atg cac gga gta gcc att acg tat 219
Asp Lys Leu Asn Lys Tyr Arg Gln Met His Gly Val Ala Ile Thr Tyr
15 20 25

aaa gaa ctt agt act tcg gga cct cca cat gac aga agg ttt aca ttt 267
Lys Glu Leu Ser Thr Ser Gly Pro Pro His Asp Arg Arg Phe Thr Phe
30 35 40

caa gtt tta ata gat gag aag gaa ttt gga gaa gcc aaa ggt aga tca 315
Gln Val Leu Ile Asp Glu Lys Glu Phe Gly Glu Ala Lys Gly Arg Ser
45 50 55

aag acg gag gca aga aac gct gca gcc aaa tta gct gtt gat ata ctt 363
Lys Thr Glu Ala Arg Asn Ala Ala Lys Leu Ala Val Asp Ile Leu
60 65 70

gat aac gaa aac aag gtg gat tgt cac acg agt gca tgt gag caa ggc 411
Asp Asn Glu Asn Lys Val Asp Cys His Thr Ser Ala Cys Glu Gln Gly
75 80 85 90

ttg ttc gtt ggt aac tac ata ggc ctt gtc aat agc ttt gcc cag aag 459
Leu Phe Val Gly Asn Tyr Ile Gly Leu Val Asn Ser Phe Ala Gln Lys
95 100 105

aaa aag ctg tct gta aat tat gaa cag tgt gag ccc aac tct gag ttg 507
Lys Lys Leu Ser Val Asn Tyr Glu Gln Cys Glu Pro Asn Ser Glu Leu
110 115 120

cct caa aga ttt att tgt aaa tgc aaa att ggg cag aca atg tat ggt 555
Pro Gln Arg Phe Ile Cys Lys Cys Lys Ile Gly Gln Thr Met Tyr Gly
125 130 135

act ggt tca ggt gtc acc aaa cag gag gca aag cag ttg gct gcg aaa 603
Thr Gly Ser Gly Val Thr Lys Gln Glu Ala Lys Gln Leu Ala Ala Lys
140 145 150

gaa gcc tat cag aag ctg tta aag agc ccg ccg aaa act gcc gga aca 651
Glu Ala Tyr Gln Lys Leu Leu Lys Ser Pro Pro Lys Thr Ala Gly Thr
155 160 165 170

tcc tct agc gtt gtc aca tct aca ttc agt ggc ttt tcc agc agc tcg 699
Ser Ser Ser Val Val Thr Ser Thr Phe Ser Gly Phe Ser Ser Ser Ser
175 180 185

tct atg aca agt aat ggt gtt tcc cag tca gca cct gga agt ttt tcc 747
Ser Met Thr Ser Asn Gly Val Ser Gln Ser Ala Pro Gly Ser Phe Ser
190 195 200

tca gag aac gtg ttt acg aac ggt ctc gga gaa aat aaa agg aaa tca 795
Ser Glu Asn Val Phe Thr Asn Gly Leu Gly Glu Asn Lys Arg Lys Ser
205 210 215

gga gta aaa gta tcc cct gat gat gtg caa aga aat aaa tat acc ttg 843
Gly Val Lys Val Ser Pro Asp Asp Val Gln Arg Asn Lys Tyr Thr Leu
220 225 230

gac gcc agg ttt aac agc gat ttt gaa gac ata gaa gaa att ggc tta 891
Asp Ala Arg Phe Asn Ser Asp Phe Glu Asp Ile Glu Glu Ile Gly Leu
235 240 245 250

ggt gga ttt ggt caa gtt ttc aaa gcg aaa cac aga att gat gga aag 939
Gly Gly Phe Gly Gln Val Phe Lys Ala Lys His Arg Ile Asp Gly Lys

```

aga tac gct att aag cgc gtt aaa tat aac acg gag aag gcg gag cac	255	260	265	987
Arg Tyr Ala Ile Lys Arg Val Lys Tyr Asn Thr Glu Lys Ala Glu His				
	270	275	280	
gaa gta caa gcg ctg gca gaa ctc aat cac gtc aac att gtc caa tac				1035
Glu Val Gln Ala Leu Ala Glu Leu Asn His Val Asn Ile Val Gln Tyr				
	285	290	295	
cat agt tgt tgg gag gga gtt gac tat gat cct gag cac agc atg agt				1083
His Ser Cys Trp Glu Gly Val Asp Tyr Asp Pro Glu His Ser Met Ser				
	300	305	310	
gat aca agt cga tac aaa acc cgg tgc ctc ttt att caa atg gaa ttc				1131
Asp Thr Ser Arg Tyr Lys Thr Arg Cys Leu Phe Ile Gln Met Glu Phe				
	315	320	325	330
tgt gat aaa gga act ttg gag caa tgg atg aga aac aga aat cag agt				1179
Cys Asp Lys Gly Thr Leu Glu Gln Trp Met Arg Asn Arg Asn Gln Ser				
	335	340	345	
aaa gtg gac aaa gct ttg att ttg gac tta tat gaa caa atc gtg acc				1227
Lys Val Asp Lys Ala Leu Ile Leu Asp Leu Tyr Glu Gln Ile Val Thr				
	350	355	360	
gga gtg gag tat ata cac tcg aaa ggg tta att cac aga gat ctt aag				1275
Gly Val Glu Tyr Ile His Ser Lys Gly Leu Ile His Arg Asp Leu Lys				
	365	370	375	
cca ggt aat ata ttt tta gta gat gaa aga cac att aag atc gga gac				1323
Pro Gly Asn Ile Phe Leu Val Asp Glu Arg His Ile Lys Ile Gly Asp				
	380	385	390	
ttt ggc ctt gca aca gcc ctg gaa aat gat gga aaa tcc cga aca agg				1371
Phe Gly Leu Ala Thr Ala Leu Glu Asn Asp Gly Lys Ser Arg Thr Arg				
	395	400	405	410
aga aca gga act ctt caa tac atg agt cca gaa cag tta ttt tta aag				1419
Arg Thr Gly Thr Leu Gln Tyr Met Ser Pro Glu Gln Leu Phe Leu Lys				
	415	420	425	
cac tat gga aaa gaa gtg gac atc ttt gct ttg ggc ctt att cta gct				1467
His Tyr Gly Lys Glu Val Asp Ile Phe Ala Leu Gly Leu Ile Leu Ala				
	430	435	440	
gaa ctt ctt cac acg tgc ttc acg gag tca gag aaa ata aag ttt ttc				1515
Glu Leu Leu His Thr Cys Phe Thr Glu Ser Glu Lys Ile Lys Phe Phe				
	445	450	455	
gaa agt cta aga aaa ggc gac ttc tct aat gat ata ttc gac aac aaa				1563
Glu Ser Leu Arg Lys Gly Asp Phe Ser Asn Asp Ile Phe Asp Asn Lys				
	460	465	470	
gaa aaa agc ctt cta aaa aaa cta ctc tca gag aaa ccc aag gac cga				1611
Glu Lys Ser Leu Leu Lys Lys Leu Leu Ser Glu Lys Pro Lys Asp Arg				
	475	480	485	490
cct gag aca tct gaa atc ctg aag acc ttg gct gaa tgg agg aac atc				1659
Pro Glu Thr Ser Glu Ile Leu Lys Thr Leu Ala Glu Trp Arg Asn Ile				
	495	500	505	
tca gag aaa gaa aag aaa cac atg tta ggg cct ttc tga gaaaacattc				1708
Ser Glu Lys Glu Lys Lys His Met Leu Gly Pro Phe *				
	510	515		
cttctgccgt ggttttcctt taacgatctg cagtctgagg ggagtatcag tgaatattat				1768
ccttcttttc ttaataccac tctcccagac aggttttggg tagggtgacc cacagacatt				1828

```

gtatttatta ggctatgaaa aagtatgccc atttcctcaa ttgtaattg ctgggcctgt 1888
ggctggctag ctagccaaat atgtaaagtc ttgtttctcg tctgcccaaa gagaaaggca 1948
ggctcctgtg tgggaagtca cagagccccc aaagccaact ggatgaggaa ggactctggc 2008
ttttggcata aaaaagagct ggtagtca ga gctggggcag aaggtcctgc agacagacag 2068
acagacagac agacagagac acaaagacat ggactagaat ggaggagggg gggaggaagg 2128
gagggagggg gagagagaga gaaaaagaaa gagagagaga ggacatggag acaaaatggc 2188
ttaagttagc tgggctacct gagagactgt cccagaaaac agccaacaa ccttccttat 2248
gctatataga tgtctcagtg tctttatcat taaacaccaa gcaggagtgc t 2299

```

<210> 24

<211> 518

<212> PRT

<213> 小家鼠 (*Mus musculus*)

<400> 24

```

Met Ala Ser Asp Thr Pro Gly Phe Tyr Met Asp Lys Leu Asn Lys Tyr
1          5          10          15
Arg Gln Met His Gly Val Ala Ile Thr Tyr Lys Glu Leu Ser Thr Ser
20        25        30
Gly Pro Pro His Asp Arg Arg Phe Thr Phe Gln Val Leu Ile Asp Glu
35        40        45
Lys Glu Phe Gly Glu Ala Lys Gly Arg Ser Lys Thr Glu Ala Arg Asn
50        55        60
Ala Ala Ala Lys Leu Ala Val Asp Ile Leu Asp Asn Glu Asn Lys Val
65        70        75        80
Asp Cys His Thr Ser Ala Cys Glu Gln Gly Leu Phe Val Gly Asn Tyr
85        90        95
Ile Gly Leu Val Asn Ser Phe Ala Gln Lys Lys Lys Leu Ser Val Asn
100       105       110
Tyr Glu Gln Cys Glu Pro Asn Ser Glu Leu Pro Gln Arg Phe Ile Cys
115       120       125
Lys Cys Lys Ile Gly Gln Thr Met Tyr Gly Thr Gly Ser Gly Val Thr
130       135       140
Lys Gln Glu Ala Lys Gln Leu Ala Ala Lys Glu Ala Tyr Gln Lys Leu
145       150       155       160
Leu Lys Ser Pro Pro Lys Thr Ala Gly Thr Ser Ser Ser Val Val Thr
165       170       175
Ser Thr Phe Ser Gly Phe Ser Ser Ser Ser Met Thr Ser Asn Gly
180       185       190
Val Ser Gln Ser Ala Pro Gly Ser Phe Ser Ser Glu Asn Val Phe Thr
195       200       205
Asn Gly Leu Gly Glu Asn Lys Arg Lys Ser Gly Val Lys Val Ser Pro
210       215       220
Asp Asp Val Gln Arg Asn Lys Tyr Thr Leu Asp Ala Arg Phe Asn Ser
225       230       235       240
Asp Phe Glu Asp Ile Glu Glu Ile Gly Leu Gly Gly Phe Gly Gln Val
245       250       255
Phe Lys Ala Lys His Arg Ile Asp Gly Lys Arg Tyr Ala Ile Lys Arg
260       265       270
Val Lys Tyr Asn Thr Glu Lys Ala Glu His Glu Val Gln Ala Leu Ala
275       280       285
Glu Leu Asn His Val Asn Ile Val Gln Tyr His Ser Cys Trp Glu Gly
290       295       300
Val Asp Tyr Asp Pro Glu His Ser Met Ser Asp Thr Ser Arg Tyr Lys
305       310       315       320
Thr Arg Cys Leu Phe Ile Gln Met Glu Phe Cys Asp Lys Gly Thr Leu
325       330       335
Glu Gln Trp Met Arg Asn Arg Asn Gln Ser Lys Val Asp Lys Ala Leu
340       345       350
Ile Leu Asp Leu Tyr Glu Gln Ile Val Thr Gly Val Glu Tyr Ile His
355       360       365
Ser Lys Gly Leu Ile His Arg Asp Leu Lys Pro Gly Asn Ile Phe Leu
370       375       380
Val Asp Glu Arg His Ile Lys Ile Gly Asp Phe Gly Leu Ala Thr Ala
385       390       395       400
Leu Glu Asn Asp Gly Lys Ser Arg Thr Arg Arg Thr Gly Thr Leu Gln
405       410       415
Tyr Met Ser Pro Glu Gln Leu Phe Leu Lys His Tyr Gly Lys Glu Val

```

```

          420          425          430
Asp Ile Phe Ala Leu Gly Leu Ile Leu Ala Glu Leu Leu His Thr Cys
          435          440          445
Phe Thr Glu Ser Glu Lys Ile Lys Phe Phe Glu Ser Leu Arg Lys Gly
          450          455          460
Asp Phe Ser Asn Asp Ile Phe Asp Asn Lys Glu Lys Ser Leu Leu Lys
465          470          475          480
Lys Leu Leu Ser Glu Lys Pro Lys Asp Arg Pro Glu Thr Ser Glu Ile
          485          490          495
Leu Lys Thr Leu Ala Glu Trp Arg Asn Ile Ser Glu Lys Glu Lys Lys
          500          505          510
His Met Leu Gly Pro Phe
          515

```

<210> 25  
 <211> 2055  
 <212> DNA  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (211)... (1632)

<400> 25  
 caggaagact ctgagtcgga cgttggccta cccagtcgga aggcagagct gcaatctagt 60  
 taactacctc cttccccta gatttccttt cattctgctc aagtcttcgc ctgtgtccga 120  
 tcctatctca ctttctctcc tctttagaca agcctcagac tccaggcttg agctagggtt 180  
 tgtttttctc ctggtgagaa ttccaagacc atg tct acg gaa ctc ttc tca tcc 234  
 Met Ser Thr Glu Leu Phe Ser Ser  
 1 5

aca aga gag gaa gga agc tct ggc tca gga ccc agt ttt agg tct aat 282  
 Thr Arg Glu Glu Gly Ser Ser Gly Ser Gly Pro Ser Phe Arg Ser Asn  
 10 15 20

caa agg aaa atg tta aac ctg ctc ctg gag aga gac act tcc ttt acc 330  
 Gln Arg Lys Met Leu Asn Leu Leu Leu Glu Arg Asp Thr Ser Phe Thr  
 25 30 35 40

gtc tgt cca gat gtc cct aga act cca gtg ggc aaa ttt ctt ggt gat 378  
 Val Cys Pro Asp Val Pro Arg Thr Pro Val Gly Lys Phe Leu Gly Asp  
 45 50 55

tct gca aac cta agc att ttg tct gga gga acc cca aaa tgt tgc ctc 426  
 Ser Ala Asn Leu Ser Ile Leu Ser Gly Gly Thr Pro Lys Cys Cys Leu  
 60 65 70

gat ctt tcg aat ctt agc agt ggg gag ata act gcc act cag ctt acc 474  
 Asp Leu Ser Asn Leu Ser Ser Gly Glu Ile Thr Ala Thr Gln Leu Thr  
 75 80 85

act tct gca gac ctt gat gaa act ggt cac ctg gat tct tca gga ctt 522  
 Thr Ser Ala Asp Leu Asp Glu Thr Gly His Leu Asp Ser Ser Gly Leu  
 90 95 100

cag gaa gtg cat tta gct ggg atg aat cat gac cag cac cta atg aaa 570  
 Gln Glu Val His Leu Ala Gly Met Asn His Asp Gln His Leu Met Lys  
 105 110 115 120

tgt agc cca gca cag ctt ctt tgt agc act ccg aat ggt ttg gac cgt 618  
 Cys Ser Pro Ala Gln Leu Leu Cys Ser Thr Pro Asn Gly Leu Asp Arg  
 125 130 135

ggc cat aga aag aga gat gca atg tgt agt tca tct gca aat aaa gaa 666  
 Gly His Arg Lys Arg Asp Ala Met Cys Ser Ser Ser Ala Asn Lys Glu  
 140 145 150



aat gac aat gga aac ttg gtg gac agt gaa atg aaa tat ttg ggc agt	714
Asn Asp Asn Gly Asn Leu Val Asp Ser Glu Met Lys Tyr Leu Gly Ser	
155 160 165	
ccc att act act gtt cca aaa ttg gat aaa aat cca aac cta gga gaa	762
Pro Ile Thr Thr Val Pro Lys Leu Asp Lys Asn Pro Asn Leu Gly Glu	
170 175 180	
gac cag gca gaa gag att tca gat gaa tta atg gag ttt tcc ctg aaa	810
Asp Gln Ala Glu Glu Ile Ser Asp Glu Leu Met Glu Phe Ser Leu Lys	
185 190 195 200	
gat caa gaa gca aag gtg agc aga agt ggc cta tat cgc tcc ccg tcg	858
Asp Gln Glu Ala Lys Val Ser Arg Ser Gly Leu Tyr Arg Ser Pro Ser	
205 210 215	
atg cca gag aac ttg aac agg cca aga ctg aag cag gtg gaa aaa ttc	906
Met Pro Glu Asn Leu Asn Arg Pro Arg Leu Lys Gln Val Glu Lys Phe	
220 225 230	
aag gac aac aca ata cca gat aaa gtt aaa aaa aag tat ttt tct ggc	954
Lys Asp Asn Thr Ile Pro Asp Lys Val Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Gly	
235 240 245	
caa gga aag ctc agg aag ggc tta tgt tta aag aag aca gtc tct ctg	1002
Gln Gly Lys Leu Arg Lys Gly Leu Cys Leu Lys Lys Thr Val Ser Leu	
250 255 260	
tgt gac att act atc act cag atg ctg gag gaa gat tct aac cag ggg	1050
Cys Asp Ile Thr Ile Thr Gln Met Leu Glu Glu Asp Ser Asn Gln Gly	
265 270 275 280	
cac ctg att ggt gat ttt tcc aag gta tgt gcg ctg cca acc gtg tca	1098
His Leu Ile Gly Asp Phe Ser Lys Val Cys Ala Leu Pro Thr Val Ser	
285 290 295	
ggg aaa cac caa gat ctg aag tat gtc aac cca gaa aca gtg gct gcc	1146
Gly Lys His Gln Asp Leu Lys Tyr Val Asn Pro Glu Thr Val Ala Ala	
300 305 310	
tta ctg tcg ggg aag ttc cag ggt ctg att gag aag ttt tat gtc att	1194
Leu Leu Ser Gly Lys Phe Gln Gly Leu Ile Glu Lys Phe Tyr Val Ile	
315 320 325	
gat tgt cgc tat cca tat gag tat ctg gga gga cac atc cag gga gcc	1242
Asp Cys Arg Tyr Pro Tyr Glu Tyr Leu Gly Gly His Ile Gln Gly Ala	
330 335 340	
tta aac tta tat agt cag gaa gaa ctg ttt aac ttc ttt ctg aag aag	1290
Leu Asn Leu Tyr Ser Gln Glu Glu Leu Phe Asn Phe Phe Leu Lys Lys	
345 350 355 360	
ccc atc gtc cct ttg gac acc cag aag aga ata atc atc gtg ttc cac	1338
Pro Ile Val Pro Leu Asp Thr Gln Lys Arg Ile Ile Ile Val Phe His	
365 370 375	
tgt gaa ttc tcc tca gag agg ggc ccc cga atg tgc cgc tgt ctg cgt	1386
Cys Glu Phe Ser Ser Glu Arg Gly Pro Arg Met Cys Arg Cys Leu Arg	
380 385 390	
gaa gag gac agg tct ctg aac cag tat cct gca ttg tac tac cca gag	1434
Glu Glu Asp Arg Ser Leu Asn Gln Tyr Pro Ala Leu Tyr Tyr Pro Glu	
395 400 405	
cta tat atc ctt aaa ggc ggc tac aga gac ttc ttt cca gaa tat atg	1482
Leu Tyr Ile Leu Lys Gly Tyr Arg Asp Phe Phe Pro Glu Tyr Met	
410 415 420	

gaa ctg tgt gaa cca cag agc tac tgc cct atg cat cat cag gac cac 1530  
 Glu Leu Cys Glu Pro Gln Ser Tyr Cys Pro Met His His Gln Asp His  
 425 430 435 440

aag act gag ttg ctg agg tgt cga agc cag agc aaa gtg cag gaa ggg 1578  
 Lys Thr Glu Leu Arg Cys Arg Ser Gln Ser Lys Val Gln Glu Gly  
 445 450 455

gag cgg cag ctg cgg gag cag att gcc ctt ctg gtg aag gac atg agc 1626  
 Glu Arg Gln Leu Arg Glu Gln Ile Ala Leu Leu Val Lys Asp Met Ser  
 460 465 470

cca tga taacattcca gccactggct gctaacaagt caccaaaaag acaactgcaga 1682  
 Pro \*

aacctgagc agaagaggc cttctggatg gccaaaccca agattattaa aagatgtctc 1742  
 tgcaaaccaa caggctacca acttgatcc aggctggga atggattagg ttcagcaga 1802  
 gctgaaagct ggtggcagag tcttggagct ggctctataa ggcagccttg agttgcatag 1862  
 agatttgtat tggttcaggg aactctggca ttcttttcc caactcctca tgtcttctca 1922  
 caagccagcc aactctttct ctctgggctt cgggctatgc aagagcgttg tctaccttct 1982  
 ttctttgtat ttctcttctt tgtttcccc tctttctttt ttaaaaatgg aaaaataaac 2042  
 actacagaat gag 2055

<210> 26  
 <211> 473  
 <212> PRT  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 26  
 Met Ser Thr Glu Leu Phe Ser Ser Thr Arg Glu Glu Gly Ser Ser Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Gly Pro Ser Phe Arg Ser Asn Gln Arg Lys Met Leu Asn Leu Leu  
 20 25 30  
 Leu Glu Arg Asp Thr Ser Phe Thr Val Cys Pro Asp Val Pro Arg Thr  
 35 40 45  
 Pro Val Gly Lys Phe Leu Gly Asp Ser Ala Asn Leu Ser Ile Leu Ser  
 50 55 60  
 Gly Gly Thr Pro Lys Cys Leu Asp Leu Ser Asn Leu Ser Ser Gly  
 65 70 75 80  
 Glu Ile Thr Ala Thr Gln Leu Thr Thr Ser Ala Asp Leu Asp Glu Thr  
 85 90 95  
 Gly His Leu Asp Ser Ser Gly Leu Gln Glu Val His Leu Ala Gly Met  
 100 105 110  
 Asn His Asp Gln His Leu Met Lys Cys Ser Pro Ala Gln Leu Leu Cys  
 115 120 125  
 Ser Thr Pro Asn Gly Leu Asp Arg Gly His Arg Lys Arg Asp Ala Met  
 130 135 140  
 Cys Ser Ser Ser Ala Asn Lys Glu Asn Asp Asn Gly Asn Leu Val Asp  
 145 150 155 160  
 Ser Glu Met Lys Tyr Leu Gly Ser Pro Ile Thr Thr Val Pro Lys Leu  
 165 170 175  
 Asp Lys Asn Pro Asn Leu Gly Glu Asp Gln Ala Glu Glu Ile Ser Asp  
 180 185 190  
 Glu Leu Met Glu Phe Ser Leu Lys Asp Gln Glu Ala Lys Val Ser Arg  
 195 200 205  
 Ser Gly Leu Tyr Arg Ser Pro Ser Met Pro Glu Asn Leu Asn Arg Pro  
 210 215 220  
 Arg Leu Lys Gln Val Glu Lys Phe Lys Asp Asn Thr Ile Pro Asp Lys  
 225 230 235 240  
 Val Lys Lys Lys Tyr Phe Ser Gly Gln Gly Lys Leu Arg Lys Gly Leu  
 245 250 255  
 Cys Leu Lys Lys Thr Val Ser Leu Cys Asp Ile Thr Ile Thr Gln Met  
 260 265 270  
 Leu Glu Glu Asp Ser Asn Gln Gly His Leu Ile Gly Asp Phe Ser Lys  
 275 280 285  
 Val Cys Ala Leu Pro Thr Val Ser Gly Lys His Gln Asp Leu Lys Tyr  
 290 295 300

Val Asn Pro Glu Thr Val Ala Ala Leu Leu Ser Gly Lys Phe Gln Gly  
 305 310 315 320  
 Leu Ile Glu Lys Phe Tyr Val Ile Asp Cys Arg Tyr Pro Tyr Glu Tyr  
 325 330 335  
 Leu Gly Gly His Ile Gln Gly Ala Leu Asn Leu Tyr Ser Gln Glu Glu  
 340 345 350  
 Leu Phe Asn Phe Phe Leu Lys Lys Pro Ile Val Pro Leu Asp Thr Gln  
 355 360 365  
 Lys Arg Ile Ile Ile Val Phe His Cys Glu Phe Ser Ser Glu Arg Gly  
 370 375 380  
 Pro Arg Met Cys Arg Cys Leu Arg Glu Glu Asp Arg Ser Leu Asn Gln  
 385 390 395 400  
 Tyr Pro Ala Leu Tyr Tyr Pro Glu Leu Tyr Ile Leu Lys Gly Gly Tyr  
 405 410 415  
 Arg Asp Phe Phe Pro Glu Tyr Met Glu Leu Cys Glu Pro Gln Ser Tyr  
 420 425 430  
 Cys Pro Met His His Gln Asp His Lys Thr Glu Leu Leu Arg Cys Arg  
 435 440 445  
 Ser Gln Ser Lys Val Gln Glu Gly Glu Arg Gln Leu Arg Glu Gln Ile  
 450 455 460  
 Ala Leu Leu Val Lys Asp Met Ser Pro  
 465 470

<210> 27  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 27  
 Ser Gly Leu Tyr Arg Ser Pro Ser Met Pro Glu Asn Leu Asn Arg Pro  
 1 5 10 15  
 Arg

<210> 28  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 28  
 Gly Leu Tyr Arg Ser Pro Ser Met Pro Glu Asn Leu Asn Arg  
 1 5 10

<210> 29  
 <211> 2295  
 <212> DNA  
 <213> 酿酒酵母 (Saccharomyces cerevisiae)

<220>  
 <221> CDS  
 <222> (1)... (2295)

<400> 29  
 atg tca aca aac tca ttc cat gat tat gtg gat tta aaa tcg aga act 48  
 Met Ser Thr Asn Ser Phe His Asp Tyr Val Asp Leu Lys Ser Arg Thr  
 1 5 10 15  
 aat aca cga cag ttt tca gat gac gaa gag ttc act acg cct cca aaa 96  
 Asn Thr Arg Gln Phe Ser Asp Asp Glu Glu Phe Thr Thr Pro Pro Lys  
 20 25 30  
 cta agc aat ttc gga tca gct tta ctt tcc cac aca gaa aaa act tca 144  
 Leu Ser Asn Phe Gly Ser Ala Leu Leu Ser His Thr Glu Lys Thr Ser  
 35 40 45

gca tca gag ata tta tca agt cat aat aat gac aag atc gca aat cga 192  
 Ala Ser Glu Ile Leu Ser Ser His Asn Asn Asp Lys Ile Ala Asn Arg  
 50 55 60

tta gaa gaa atg gac agg agt tca tca agg agt cac ccc cca ccg tca 240  
 Leu Glu Glu Met Asp Arg Ser Ser Ser Arg Ser His Pro Pro Pro Ser  
 65 70 75 80

atg ggc aat ttg aca tcc ggt cat act agt acc tca tcg cat tca acc 288  
 Met Gly Asn Leu Thr Ser Gly His Thr Ser Thr Ser Ser His Ser Thr  
 85 90 95

ttg ttc gga cga tat ctg aga aat aat cac cag act agc atg acg acg 336  
 Leu Phe Gly Arg Tyr Leu Arg Asn Asn His Gln Thr Ser Met Thr Thr  
 100 105 110

atg aac act agt gac ata gag ata aat gtt gga aat agt ctt gat aag 384  
 Met Asn Thr Ser Asp Ile Glu Ile Asn Val Gly Asn Ser Leu Asp Lys  
 115 120 125

agt ttt gaa agg ata agg aat ttg cga caa aat atg aaa gaa gat att 432  
 Ser Phe Glu Arg Ile Arg Asn Leu Arg Gln Asn Met Lys Glu Asp Ile  
 130 135 140

acg gca aag tat gct gaa agg aga agt aag aga ttt tta ata tcc aat 480  
 Thr Ala Lys Tyr Ala Glu Arg Arg Ser Lys Arg Phe Leu Ile Ser Asn  
 145 150 155 160

agg aca acg aag ctg ggt cct gca aag aga gcg atg act ttg aca aat 528  
 Arg Thr Thr Lys Leu Gly Pro Ala Lys Arg Ala Met Thr Leu Thr Asn  
 165 170 175

atc ttt gat gag gat gtg cct aac tct cca aac cag cca ata aat gca 576  
 Ile Phe Asp Glu Asp Val Pro Asn Ser Pro Asn Gln Pro Ile Asn Ala  
 180 185 190

agg gag aca gtg gaa tta cca ctt gag gat tct cac caa aca aac ttt 624  
 Arg Glu Thr Val Glu Leu Pro Leu Glu Asp Ser His Gln Thr Asn Phe  
 195 200 205

aaa gaa cga aga gag aat acg gat tat gat tca att gat ttt gga gat 672  
 Lys Glu Arg Arg Glu Asn Thr Asp Tyr Asp Ser Ile Asp Phe Gly Asp  
 210 215 220

ttg aat cct atc cag tat att aaa aaa cat aat ctt ccc aca agt gac 720  
 Leu Asn Pro Ile Gln Tyr Ile Lys Lys His Asn Leu Pro Thr Ser Asp  
 225 230 235 240

ctt cca cta ata tct caa atc tac ttt gat aaa caa aga gaa gaa aat 768  
 Leu Pro Leu Ile Ser Gln Ile Tyr Phe Asp Lys Gln Arg Glu Glu Asn  
 245 250 255

aga caa gca gca ctc cga aaa cat agt tcc aga gaa ttg ctt tat aaa 816  
 Arg Gln Ala Ala Leu Arg Lys His Ser Ser Arg Glu Leu Leu Tyr Lys  
 260 265 270

agt agg tct tct tcc tct tca ctt tct agt aac aac tta ttg gca aac 864  
 Ser Arg Ser Ser Ser Ser Ser Leu Ser Ser Asn Asn Leu Leu Ala Asn  
 275 280 285

aag gac aat tct ata aca tcc aat aat ggt tct caa ccc agg cga aaa 912  
 Lys Asp Asn Ser Ile Thr Ser Asn Asn Gly Ser Gln Pro Arg Arg Lys  
 290 295 300

gtt tct act gga tca tct tca tct aag tca tcg atc gaa ata aga aga 960  
 Val Ser Thr Gly Ser Ser Ser Ser Lys Ser Ser Ile Glu Ile Arg Arg  
 305 310 315 320

gct ctc aag gag aat att gat act agc aat aac agc aat ttc aac agc	1008
Ala Leu Lys Glu Asn Ile Asp Thr Ser Asn Asn Ser Asn Phe Asn Ser	
325 330 335	
cca att cat aaa att tat aaa gga att tcc aga aat aaa gat tcc gac	1056
Pro Ile His Lys Ile Tyr Lys Gly Ile Ser Arg Asn Lys Asp Ser Asp	
340 345 350	
tcc gaa aaa aga gaa gta ctg cga aac ata agc ata aat gca aat cac	1104
Ser Glu Lys Arg Glu Val Leu Arg Asn Ile Ser Ile Asn Ala Asn His	
355 360 365	
gct gat aat ctc ctt caa caa gag aat aag aga cta aaa cga tca ttg	1152
Ala Asp Asn Leu Leu Gln Gln Glu Asn Lys Arg Leu Lys Arg Ser Leu	
370 375 380	
gat gat gca ata acg aat gag aat ata aac agt aaa aat cta gaa gta	1200
Asp Asp Ala Ile Thr Asn Glu Asn Ile Asn Ser Lys Asn Leu Glu Val	
385 390 395 400	
ttt tac cat cga cct gct ccc aaa cct cca gtc acc aag aaa gtt gaa	1248
Phe Tyr His Arg Pro Ala Pro Lys Pro Pro Val Thr Lys Lys Val Glu	
405 410 415	
att gtt gaa cct gca aag tcc gct tct tta tcg aat aat aga aat ata	1296
Ile Val Glu Pro Ala Lys Ser Ala Ser Leu Ser Asn Asn Arg Asn Ile	
420 425 430	
att aca gta aat gac tcc cag tac gaa aaa ata gaa ctt ttg ggt aga	1344
Ile Thr Val Asn Asp Ser Gln Tyr Glu Lys Ile Glu Leu Leu Gly Arg	
435 440 445	
ggt gga tcc tcc aga gtt tac aag gtg aaa gga tct ggc aat agg gta	1392
Gly Gly Ser Ser Arg Val Tyr Lys Val Lys Gly Ser Gly Asn Arg Val	
450 455 460	
tac gcg ctc aaa agg gtg tct ttt gac gct ttt gac gat tca agt att	1440
Tyr Ala Leu Lys Arg Val Ser Phe Asp Ala Phe Asp Asp Ser Ser Ile	
465 470 475 480	
gat gga ttc aaa gga gaa ata gaa ctt ctg gaa aaa ttg aaa gac caa	1488
Asp Gly Phe Lys Gly Glu Ile Glu Leu Leu Glu Lys Leu Lys Asp Gln	
485 490 495	
aag cgt gta atc caa cta cta gat tat gaa atg ggg gat ggt tta ttg	1536
Lys Arg Val Ile Gln Leu Leu Asp Tyr Glu Met Gly Asp Gly Leu Leu	
500 505 510	
tat ttg ata atg gaa tgt ggt gat cat gat ttg tca caa atc ctt aac	1584
Tyr Leu Ile Met Glu Cys Gly Asp His Asp Leu Ser Gln Ile Leu Asn	
515 520 525	
caa aga agc ggc atg cca ctg gat ttt aat ttt gtt aga ttc tat aca	1632
Gln Arg Ser Gly Met Pro Leu Asp Phe Asn Phe Val Arg Phe Tyr Thr	
530 535 540	
aag gaa atg ttg ctg tgc att aaa gta gtt cat gat gcg ggc ata gtt	1680
Lys Glu Met Leu Leu Cys Ile Lys Val Val His Asp Ala Gly Ile Val	
545 550 555 560	
cat tcg gat tta aaa cct gca aat ttt gtt tta gtg aaa ggt atc tta	1728
His Ser Asp Leu Lys Pro Ala Asn Phe Val Leu Val Lys Gly Ile Leu	
565 570 575	
aaa atc att gat ttt ggt ata gca aac gcg gta ccg gaa cat acg gtg	1776
Lys Ile Ile Asp Phe Gly Ile Ala Asn Ala Val Pro Glu His Thr Val	
580 585 590	

aat ata tat cgt gaa act caa att ggg act cca aat tat atg gca cca 1824  
 Asn Ile Tyr Arg Glu Thr Gln Ile Gly Thr Pro Asn Tyr Met Ala Pro  
 595 600 605

gaa gca cta gtt gct atg aat tac aca caa aat agt gag aac caa cat 1872  
 Glu Ala Leu Val Ala Met Asn Tyr Thr Gln Asn Ser Glu Asn Gln His  
 610 615 620

gag gga aac aag tgg aaa gtg ggg aga cca tct gat atg tgg tca tgc 1920  
 Glu Gly Asn Lys Trp Lys Val Gly Arg Pro Ser Asp Met Trp Ser Cys  
 625 630 635 640

ggt tgt att ata tat cag atg att tac ggg aaa ccc cca tat ggc agt 1968  
 Gly Cys Ile Ile Tyr Gln Met Ile Tyr Gly Lys Pro Pro Tyr Gly Ser  
 645 650 655

ttc caa ggc caa aat agg ctg ttg gct att atg aat cct gat gtg aaa 2016  
 Phe Gln Gly Gln Asn Arg Leu Leu Ala Ile Met Asn Pro Asp Val Lys  
 660 665 670

atc cca ttt cct gaa cat act agc aat aat gaa aag att cca aag tct 2064  
 Ile Pro Phe Pro Glu His Thr Ser Asn Asn Glu Lys Ile Pro Lys Ser  
 675 680 685

gcc att gaa tta atg aaa gca tgt ctg tac agg aac cca gac aaa aga 2112  
 Ala Ile Glu Leu Met Lys Ala Cys Leu Tyr Arg Asn Pro Asp Lys Arg  
 690 695 700

tgg act gtg gat aaa gtc ctg agt agc act ttc ctt caa cct ttt atg 2160  
 Trp Thr Val Asp Lys Val Leu Ser Ser Thr Phe Leu Gln Pro Phe Met  
 705 710 715 720

ata tcc gga tcg att atg gaa gac ctt att agg aat gcc gtt aga tat 2208  
 Ile Ser Gly Ser Ile Met Glu Asp Leu Ile Arg Asn Ala Val Arg Tyr  
 725 730 735

ggc tct gag aag cct cat ata tca caa gat gat ctc aat gat gtg gta 2256  
 Gly Ser Glu Lys Pro His Ile Ser Gln Asp Asp Leu Asn Asp Val Val  
 740 745 750

gac act gtt tta agg aaa ttt gca gat tac aaa att tag 2295  
 Asp Thr Val Leu Arg Lys Phe Ala Asp Tyr Lys Ile \*  
 755 760

<210> 30

<211> 764

<212> PRT

<213> 酿酒酵母 (Saccharomyces cerevisiae)

<400> 30

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

130 135 140  
 Thr Ala Lys Tyr Ala Glu Arg Arg Ser Lys Arg Phe Leu Ile Ser Asn  
 145 150 155 160  
 Arg Thr Thr Lys Leu Gly Pro Ala Lys Arg Ala Met Thr Leu Thr Asn  
 165 170 175  
 Ile Phe Asp Glu Asp Val Pro Asn Ser Pro Asn Gln Pro Ile Asn Ala  
 180 185 190  
 Arg Glu Thr Val Glu Leu Pro Leu Glu Asp Ser His Gln Thr Asn Phe  
 195 200 205  
 Lys Glu Arg Arg Glu Asn Thr Asp Tyr Asp Ser Ile Asp Phe Gly Asp  
 210 215 220  
 Leu Asn Pro Ile Gln Tyr Ile Lys Lys His Asn Leu Pro Thr Ser Asp  
 225 230 235 240  
 Leu Pro Leu Ile Ser Gln Ile Tyr Phe Asp Lys Gln Arg Glu Glu Asn  
 245 250 255  
 Arg Gln Ala Ala Leu Arg Lys His Ser Ser Arg Glu Leu Leu Tyr Lys  
 260 265 270  
 Ser Arg Ser Ser Ser Ser Leu Ser Ser Asn Asn Leu Leu Ala Asn  
 275 280 285  
 Lys Asp Asn Ser Ile Thr Ser Asn Asn Gly Ser Gln Pro Arg Arg Lys  
 290 295 300  
 Val Ser Thr Gly Ser Ser Ser Lys Ser Ser Ile Glu Ile Arg Arg  
 305 310 315 320  
 Ala Leu Lys Glu Asn Ile Asp Thr Ser Asn Asn Ser Asn Phe Asn Ser  
 325 330 335  
 Pro Ile His Lys Ile Tyr Lys Gly Ile Ser Arg Asn Lys Asp Ser Asp  
 340 345 350  
 Ser Glu Lys Arg Glu Val Leu Arg Asn Ile Ser Ile Asn Ala Asn His  
 355 360 365  
 Ala Asp Asn Leu Leu Gln Gln Glu Asn Lys Arg Leu Lys Arg Ser Leu  
 370 375 380  
 Asp Asp Ala Ile Thr Asn Glu Asn Ile Asn Ser Lys Asn Leu Glu Val  
 385 390 395 400  
 Phe Tyr His Arg Pro Ala Pro Lys Pro Pro Val Thr Lys Lys Val Glu  
 405 410 415  
 Ile Val Glu Pro Ala Lys Ser Ala Ser Leu Ser Asn Asn Arg Asn Ile  
 420 425 430  
 Ile Thr Val Asn Asp Ser Gln Tyr Glu Lys Ile Glu Leu Leu Gly Arg  
 435 440 445  
 Gly Gly Ser Ser Arg Val Tyr Lys Val Lys Gly Ser Gly Asn Arg Val  
 450 455 460  
 Tyr Ala Leu Lys Arg Val Ser Phe Asp Ala Phe Asp Asp Ser Ser Ile  
 465 470 475 480  
 Asp Gly Phe Lys Gly Glu Ile Glu Leu Leu Glu Lys Leu Lys Asp Gln  
 485 490 495  
 Lys Arg Val Ile Gln Leu Leu Asp Tyr Glu Met Gly Asp Gly Leu Leu  
 500 505 510  
 Tyr Leu Ile Met Glu Cys Gly Asp His Asp Leu Ser Gln Ile Leu Asn  
 515 520 525  
 Gln Arg Ser Gly Met Pro Leu Asp Phe Asn Phe Val Arg Phe Tyr Thr  
 530 535 540  
 Lys Glu Met Leu Leu Cys Ile Lys Val Val His Asp Ala Gly Ile Val  
 545 550 555 560  
 His Ser Asp Leu Lys Pro Ala Asn Phe Val Leu Val Lys Gly Ile Leu  
 565 570 575  
 Lys Ile Ile Asp Phe Gly Ile Ala Asn Ala Val Pro Glu His Thr Val  
 580 585 590  
 Asn Ile Tyr Arg Glu Thr Gln Ile Gly Thr Pro Asn Tyr Met Ala Pro  
 595 600 605  
 Glu Ala Leu Val Ala Met Asn Tyr Thr Gln Asn Ser Glu Asn Gln His  
 610 615 620  
 Glu Gly Asn Lys Trp Lys Val Gly Arg Pro Ser Asp Met Trp Ser Cys  
 625 630 635 640  
 Gly Cys Ile Ile Tyr Gln Met Ile Tyr Gly Lys Pro Pro Tyr Gly Ser  
 645 650 655  
 Phe Gln Gly Gln Asn Arg Leu Leu Ala Ile Met Asn Pro Asp Val Lys  
 660 665 670  
 Ile Pro Phe Pro Glu His Thr Ser Asn Asn Glu Lys Ile Pro Lys Ser

```

        675                680                685
Ala Ile Glu Leu Met Lys Ala Cys Leu Tyr Arg Asn Pro Asp Lys Arg
   690                695                700
Trp Thr Val Asp Lys Val Leu Ser Ser Thr Phe Leu Gln Pro Phe Met
   705                710                715                720
Ile Ser Gly Ser Ile Met Glu Asp Leu Ile Arg Asn Ala Val Arg Tyr
   725                730                735
Gly Ser Glu Lys Pro His Ile Ser Gln Asp Asp Leu Asn Asp Val Val
   740                745                750
Asp Thr Val Leu Arg Lys Phe Ala Asp Tyr Lys Ile
   755                760

<210> 31
<211> 2079
<212> DNA
<213> 裂殖酵母探针 (Schizosaccharomyces pombe)

<220>
<221> CDS
<222> (30)...(2066)

<400> 31
ggaatgctcg ttttttagta actgtgttt atg tct aag cgc aat cct cct gtg 53
                               Met Ser Lys Arg Asn Pro Pro Val
                               1                5

act aat atc gcg gac ttg gtg tca gat tct tcc tta gat gaa gac tcg 101
Thr Asn Ile Ala Asp Leu Val Ser Asp Ser Ser Leu Asp Glu Asp Ser
   10                15                20

ctt tct ttt ctc gaa gag ctt cag gat cca gaa tta tac ttc aaa aac 149
Leu Ser Phe Leu Glu Glu Leu Gln Asp Pro Glu Leu Tyr Phe Lys Asn
   25                30                35                40

gac act ttc tct tcc aag agt agc cat tct gat ggc acc gtt act ggg 197
Asp Thr Phe Ser Ser Lys Ser Ser His Ser Asp Gly Thr Val Thr Gly
   45                50                55

gat acg ttg cgt agg cag tca agc ggt gca act gct tta gag aga ttg 245
Asp Thr Leu Arg Arg Gln Ser Ser Gly Ala Thr Ala Leu Glu Arg Leu
   60                65                70

gtc tca cat cct cgt act aaa aat ttt gat ttg caa gga aat gga gga 293
Val Ser His Pro Arg Thr Lys Asn Phe Asp Leu Gln Gly Asn Gly Gly
   75                80                85

caa aat tct gct ttg aag gaa gtg aat act cca gca tat cag tca atg 341
Gln Asn Ser Ala Leu Lys Glu Val Asn Thr Pro Ala Tyr Gln Ser Met
   90                95                100

cac cat ttc gag cat tta ata aca ccc ttg ccc tct act aat gcg tct 389
His His Phe Glu His Leu Ile Thr Pro Leu Pro Ser Thr Asn Ala Ser
   105                110                115                120

cac agt gaa gtt tca ctc agt gca gga gtg aat gat ctc aat tct aat 437
His Ser Glu Val Ser Leu Ser Ala Gly Val Asn Asp Leu Asn Ser Asn
   125                130                135

tcg gag cat gat ttg tta cct aaa agt gta aac aaa acc ccc ggt tct 485
Ser Glu His Asp Leu Leu Pro Lys Ser Val Asn Lys Thr Pro Gly Ser
   140                145                150

tta tca att tca aga cga cga aga atc ggc aga att gga tta ggc cct 533
Leu Ser Ile Ser Arg Arg Arg Arg Ile Gly Arg Ile Gly Leu Gly Pro
   155                160                165

cca aag cgt gct gag tac acg ttg acg gat ccc tcg aag act tcc gat 581

```



Pro Lys Arg Ala Glu Tyr Thr Leu Thr Asp Pro Ser Lys Thr Ser Asp	
170	175 180
acc aaa aac tct aca gaa gca gat gag gat att gaa atg aaa tct cga	629
Thr Lys Asn Ser Thr Glu Ala Asp Glu Asp Ile Glu Met Lys Ser Arg	
185	190 195 200
gaa gta tca cca gct tcc aac tct gtt gct gca aca act tta aaa cct	677
Glu Val Ser Pro Ala Ser Asn Ser Val Ala Ala Thr Thr Leu Lys Pro	
	205 210 215
ctg cag ctg cat aac act cct ttg caa aca tcc cag gag cat ccc aaa	725
Leu Gln Leu His Asn Thr Pro Leu Gln Thr Ser Gln Glu His Pro Lys	
	220 225 230
cct tct ttt cat cct tct cag ttt gag agc tct ttt tct cct agg gtg	773
Pro Ser Phe His Pro Ser Gln Phe Glu Ser Ser Phe Ser Pro Arg Val	
	235 240 245
cag ttt gat cac gat gtt gaa aga aga gct agt gaa ctt cat tct cgt	821
Gln Phe Asp His Asp Val Glu Arg Arg Ala Ser Glu Leu His Ser Arg	
	250 255 260
cca gtc acc gtt ttc caa gag cct cag cgt tct gct tct caa cca tat	869
Pro Val Thr Val Phe Gln Glu Pro Gln Arg Ser Ala Ser Gln Pro Tyr	
265	270 275 280
gaa tct cat gct ctt tct cca aag gtg gct ccg tta ttt gat aac agt	917
Glu Ser His Ala Leu Ser Pro Lys Val Ala Pro Leu Phe Asp Asn Ser	
	285 290 295
caa gct act ccc ata ccc aag cgt cag cag gac gtt gtt act gtt gcc	965
Gln Ala Thr Pro Ile Pro Lys Arg Gln Gln Asp Val Val Thr Val Ala	
	300 305 310
aat cta caa ttt atc aaa tta gga gtt gtt gga aag ggt gga agt agt	1013
Asn Leu Gln Phe Ile Lys Leu Gly Val Val Gly Lys Gly Gly Ser Ser	
	315 320 325
atg gta tat cgc ata ttt tcc ccc gat aac agt cgt tta tac gct ttg	1061
Met Val Tyr Arg Ile Phe Ser Pro Asp Asn Ser Arg Leu Tyr Ala Leu	
	330 335 340
aaa gag gtg aac ttt att aat gca gac caa act act ata caa gga tac	1109
Lys Glu Val Asn Phe Ile Asn Ala Asp Gln Thr Thr Ile Gln Gly Tyr	
345	350 355 360
aag aac gaa att gca tta tta aga aag ctt tca ggc aat gat cgc ata	1157
Lys Asn Glu Ile Ala Leu Leu Arg Lys Leu Ser Gly Asn Asp Arg Ile	
	365 370 375
att aaa tta tat gct gcc gaa gtt aat gat act tta ggg caa ctc aat	1205
Ile Lys Leu Tyr Ala Ala Glu Val Asn Asp Thr Leu Gly Gln Leu Asn	
	380 385 390
atg gtg atg gaa tgc gga gaa acg gat tta gca aac ctt tta atg aaa	1253
Met Val Met Glu Cys Gly Glu Thr Asp Leu Ala Asn Leu Leu Met Lys	
	395 400 405
aac atg aag aaa ccc att aat ctt aat ttc atc aga atg tat tgg gag	1301
Asn Met Lys Lys Pro Ile Asn Leu Asn Phe Ile Arg Met Tyr Trp Glu	
	410 415 420
caa atg cta gag gcg gtc cag gta gtt cat gat caa aat ata gtg cat	1349
Gln Met Leu Glu Ala Val Gln Val Val His Asp Gln Asn Ile Val His	
425	430 435 440
tcg gat ttg aag ccg gcc aat ttc ctg ctt gta gaa ggg aat ttg aag	1397

Ser Asp Leu Lys Pro Ala Asn Phe Leu Leu Val Glu Gly Asn Leu Lys  
 445 450 455  
 ctg att gat ttt ggc att gcc aaa gca att ggt aat gac acc act aat 1445  
 Leu Ile Asp Phe Gly Ile Ala Lys Ala Ile Gly Asn Asp Thr Thr Asn  
 460 465 470  
 atc cat cgt gat tcc cac atc ggt act att aat tat atg gca cct gaa 1493  
 Ile His Arg Asp Ser His Ile Gly Thr Ile Asn Tyr Met Ala Pro Glu  
 475 480 485  
 gct ttg aca gac atg aat gct cac aca aac tct ggc gtg aaa ctc gta 1541  
 Ala Leu Thr Asp Met Asn Ala His Thr Asn Ser Gly Val Lys Leu Val  
 490 495 500  
 aag ttg ggc agg ccc agc gac gtg tgg agt ttg gga tgt ata tta tat 1589  
 Lys Leu Gly Arg Pro Ser Asp Val Trp Ser Leu Gly Cys Ile Leu Tyr  
 505 510 515 520  
 cag atg gtg tat ggg agg gcc ccg ttt gct cat cta aaa atg atc caa 1637  
 Gln Met Val Tyr Gly Arg Ala Pro Phe Ala His Leu Lys Met Ile Gln  
 525 530 535  
 gct ata gca gct atc cct aat gaa caa tat cac att cat ttc ccc gaa 1685  
 Ala Ile Ala Ala Ile Pro Asn Glu Gln Tyr His Ile His Phe Pro Glu  
 540 545 550  
 gtt gcc tta cct gct aat gct gtc cag gag aaa gag gga tcg ttg cca 1733  
 Val Ala Leu Pro Ala Asn Ala Val Gln Glu Lys Glu Gly Ser Leu Pro  
 555 560 565  
 ggt gta act gtc ggg cct gat cta atg gat gtt atg aaa aga tgc ctg 1781  
 Gly Val Thr Val Gly Pro Asp Leu Met Asp Val Met Lys Arg Cys Leu  
 570 575 580  
 gaa agg gat caa cgg aag aga ctt aca ata ccg gaa ttg ctg gtt cat 1829  
 Glu Arg Asp Gln Arg Lys Arg Leu Thr Ile Pro Glu Leu Leu Val His  
 585 590 595 600  
 ccc ttt tta aac cct ttg cca tcc tat ttg aca cct ttg gcc aaa aag 1877  
 Pro Phe Leu Asn Pro Leu Pro Ser Tyr Leu Thr Pro Leu Ala Lys Lys  
 605 610 615  
 ccg tta cct gtt tct ggg cac acc aat aat gct cat cca ctt aga ctc 1925  
 Pro Leu Pro Val Ser Gly His Thr Asn Asn Ala His Pro Leu Arg Leu  
 620 625 630  
 agc aca gaa atc tca gct tct caa tta tca atg att ata gaa agg tcg 1973  
 Ser Thr Glu Ile Ser Ala Ser Gln Leu Ser Met Ile Ile Glu Arg Ser  
 635 640 645  
 gtg gag ttg agt aag cac aag cga tta aat aag gaa ctt att gat agc 2021  
 Val Glu Leu Ser Lys His Lys Arg Leu Asn Lys Glu Leu Ile Asp Ser  
 650 655 660  
 atg gct tat gat tgc gtt agc aat tta cga aaa atg cca gaa tag 2066  
 Met Ala Tyr Asp Cys Val Ser Asn Leu Arg Lys Met Pro Glu \*  
 665 670 675  
 aggcactaaa ttt 2079  
 <210> 32  
 <211> 678  
 <212> PRT  
 <213> 裂殖酵母探针 (Schizosaccharomyces pombe)  
 <400> 32  
 Met Ser Lys Arg Asn Pro Pro Val Thr Asn Ile Ala Asp Leu Val Ser

1                    5                    10                    15  
 Asp Ser Ser Leu Asp Glu Asp Ser Leu Ser Phe Leu Glu Glu Leu Gln  
                   20                    25                    30  
 Asp Pro Glu Leu Tyr Phe Lys Asn Asp Thr Phe Ser Ser Lys Ser Ser  
                   35                    40                    45  
 His Ser Asp Gly Thr Val Thr Gly Asp Thr Leu Arg Arg Gln Ser Ser  
                   50                    55                    60  
 Gly Ala Thr Ala Leu Glu Arg Leu Val Ser His Pro Arg Thr Lys Asn  
 65                    70                    75                    80  
 Phe Asp Leu Gln Gly Asn Gly Gly Gln Asn Ser Ala Leu Lys Glu Val  
                   85                    90                    95  
 Asn Thr Pro Ala Tyr Gln Ser Met His His Phe Glu His Leu Ile Thr  
                   100                    105                    110  
 Pro Leu Pro Ser Thr Asn Ala Ser His Ser Glu Val Ser Leu Ser Ala  
                   115                    120                    125  
 Gly Val Asn Asp Leu Asn Ser Asn Ser Glu His Asp Leu Leu Pro Lys  
 130                    135                    140  
 Ser Val Asn Lys Thr Pro Gly Ser Leu Ser Ile Ser Arg Arg Arg Arg  
 145                    150                    155                    160  
 Ile Gly Arg Ile Gly Leu Gly Pro Pro Lys Arg Ala Glu Tyr Thr Leu  
                   165                    170                    175  
 Thr Asp Pro Ser Lys Thr Ser Asp Thr Lys Asn Ser Thr Glu Ala Asp  
                   180                    185                    190  
 Glu Asp Ile Glu Met Lys Ser Arg Glu Val Ser Pro Ala Ser Asn Ser  
                   195                    200                    205  
 Val Ala Ala Thr Thr Leu Lys Pro Leu Gln Leu His Asn Thr Pro Leu  
                   210                    215                    220  
 Gln Thr Ser Gln Glu His Pro Lys Pro Ser Phe His Pro Ser Gln Phe  
 225                    230                    235                    240  
 Glu Ser Ser Phe Ser Pro Arg Val Gln Phe Asp His Asp Val Glu Arg  
                   245                    250                    255  
 Arg Ala Ser Glu Leu His Ser Arg Pro Val Thr Val Phe Gln Glu Pro  
                   260                    265                    270  
 Gln Arg Ser Ala Ser Gln Pro Tyr Glu Ser His Ala Leu Ser Pro Lys  
                   275                    280                    285  
 Val Ala Pro Leu Phe Asp Asn Ser Gln Ala Thr Pro Ile Pro Lys Arg  
                   290                    295                    300  
 Gln Gln Asp Val Val Thr Val Ala Asn Leu Gln Phe Ile Lys Leu Gly  
 305                    310                    315                    320  
 Val Val Gly Lys Gly Gly Ser Ser Met Val Tyr Arg Ile Phe Ser Pro  
                   325                    330                    335  
 Asp Asn Ser Arg Leu Tyr Ala Leu Lys Glu Val Asn Phe Ile Asn Ala  
                   340                    345                    350  
 Asp Gln Thr Thr Ile Gln Gly Tyr Lys Asn Glu Ile Ala Leu Leu Arg  
                   355                    360                    365  
 Lys Leu Ser Gly Asn Asp Arg Ile Ile Lys Leu Tyr Ala Ala Glu Val  
                   370                    375                    380  
 Asn Asp Thr Leu Gly Gln Leu Asn Met Val Met Glu Cys Gly Glu Thr  
 385                    390                    395                    400  
 Asp Leu Ala Asn Leu Leu Met Lys Asn Met Lys Lys Pro Ile Asn Leu  
                   405                    410                    415  
 Asn Phe Ile Arg Met Tyr Trp Glu Gln Met Leu Glu Ala Val Gln Val  
                   420                    425                    430  
 Val His Asp Gln Asn Ile Val His Ser Asp Leu Lys Pro Ala Asn Phe  
                   435                    440                    445  
 Leu Leu Val Glu Gly Asn Leu Lys Leu Ile Asp Phe Gly Ile Ala Lys  
                   450                    455                    460  
 Ala Ile Gly Asn Asp Thr Thr Asn Ile His Arg Asp Ser His Ile Gly  
 465                    470                    475                    480  
 Thr Ile Asn Tyr Met Ala Pro Glu Ala Leu Thr Asp Met Asn Ala His  
                   485                    490                    495  
 Thr Asn Ser Gly Val Lys Leu Val Lys Leu Gly Arg Pro Ser Asp Val  
                   500                    505                    510  
 Trp Ser Leu Gly Cys Ile Leu Tyr Gln Met Val Tyr Gly Arg Ala Pro  
                   515                    520                    525  
 Phe Ala His Leu Lys Met Ile Gln Ala Ile Ala Ala Ile Pro Asn Glu  
                   530                    535                    540  
 Gln Tyr His Ile His Phe Pro Glu Val Ala Leu Pro Ala Asn Ala Val



Tyr Glu Asn Leu Tyr Ala Gly Arg Lys Cys Leu Leu Ile Val Met Glu  
 125 130 135

tgt ttg gac ggt gga gaa ctc ttt agc cga atc cag gat cga gga gac 843  
 Cys Leu Asp Gly Gly Glu Leu Phe Ser Arg Ile Gln Asp Arg Gly Asp  
 140 145 150 155

cag gca ttc aca gaa aga gaa gca tcc gaa atc atg aag agc atc ggt 891  
 Gln Ala Phe Thr Glu Arg Glu Ala Ser Glu Ile Met Lys Ser Ile Gly  
 160 165 170

gag gcc atc cag tat ctg cat tca atc aac att gcc cat cgg gat gtc 939  
 Glu Ala Ile Gln Tyr Leu His Ser Ile Asn Ile Ala His Arg Asp Val  
 175 180 185

aag cct gag aat ctc tta tac acc tcc aaa agg ccc aac gcc atc ctg 987  
 Lys Pro Glu Asn Leu Leu Tyr Thr Ser Lys Arg Pro Asn Ala Ile Leu  
 190 195 200

aaa ctc act gac ttt ggc ttt gcc aag gaa acc acc agc cac aac tct 1035  
 Lys Leu Thr Asp Phe Gly Phe Ala Lys Glu Thr Thr Ser His Asn Ser  
 205 210 215

ttg acc act cct tgt tat aca ccg tac tat gtg gct cca gaa gtg ctg 1083  
 Leu Thr Thr Pro Cys Tyr Thr Pro Tyr Tyr Val Ala Pro Glu Val Leu  
 220 225 230 235

ggt cca gag aag tat gac aag tcc tgt gac atg tgg tcc ctg ggt gtc 1131  
 Gly Pro Glu Lys Tyr Asp Lys Ser Cys Asp Met Trp Ser Leu Gly Val  
 240 245 250

atc atg tac atc ctg ctg tgt ggg tat ccc ccc ttc tac tcc aac cac 1179  
 Ile Met Tyr Ile Leu Leu Cys Gly Tyr Pro Pro Phe Tyr Ser Asn His  
 255 260 265

ggc ctt gcc atc tct ccg ggc atg aag act cgc atc cga atg ggc cag 1227  
 Gly Leu Ala Ile Ser Pro Gly Met Lys Thr Arg Ile Arg Met Gly Gln  
 270 275 280

tat gaa ttt ccc aac cca gaa tgg tca gaa gta tca gag gaa gtg aag 1275  
 Tyr Glu Phe Pro Asn Pro Glu Trp Ser Glu Val Ser Glu Glu Val Lys  
 285 290 295

atg ctc att cgg aat ctg ctg aaa aca gag ccc acc cag aga atg acc 1323  
 Met Leu Ile Arg Asn Leu Leu Lys Thr Glu Pro Thr Gln Arg Met Thr  
 300 305 310 315

atc acc gag ttt atg aac cac cct tgg atc atg caa tca aca aag gtc 1371  
 Ile Thr Glu Phe Met Asn His Pro Trp Ile Met Gln Ser Thr Lys Val  
 320 325 330

cct caa acc cca ctg cac acc agc cgg gtc ctg aag gag gac aag gag 1419  
 Pro Gln Thr Pro Leu His Thr Ser Arg Val Leu Lys Glu Asp Lys Glu  
 335 340 345

cgg tgg gag gat gtc aag ggg tgt ctt cat gac aag aac agc gac cag 1467  
 Arg Trp Glu Asp Val Lys Gly Cys Leu His Asp Lys Asn Ser Asp Gln  
 350 355 360

gcc act tgg ctg acc agg ttg tga gcagaggatt ctgtgttcct gtccaaactc 1521  
 Ala Thr Trp Leu Thr Arg Leu \*  
 365 370

agtctgttt cttagaatcc ttttattccc tgggtctcta atgggacctt aaagaccatc 1581  
 tggatcatc ttctatttt gcagaagaga aactgaggcc cagaggcgga gggcagtctg 1641  
 ctcaaggcca cgcagctggt gactggttgg ggcagaccgg acccaggttt cctgactcct 1701  
 ggcccaagtc tcttctcct atcctgctggg atcactgggg ggctctcagg gaacagcage 1761  
 agtgccatag ccaggctctc tgctgccag cgctggggtg aggctgccgt tgtcagcgtg 1821

```

gaccactaac cagcccgtct tctctctctg ctcccacccc tgcgcctc accctgcct 1881
tggtgtctct gtctctcacg tctctcttct gctgtctctc ctacctgtct tctggctctc 1941
tctgtaccct tcctgggtgct gccgtgcccc caggaggaga tgaccagtgc cttggccaca 2001
atgcgcttg actacgagca gatcaagata aaaaagattg aagatgcatc caaccctctg 2061
ctgctgaaga ggcggaagaa agctcgggcc ctggaggctg cggctctggc cactgagcc 2121
accgcgcct cctgcccacg ggaggacaag caataactct ctacaggaat atatttttta 2181
aacgaagaga cagaactgtc cacatctgcc tctctctc ctcagctgca tggagcctgg 2241
aactgcatca gtgactgaat tc 2263

```

<210> 34

<211> 370

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 34

```

Met Leu Ser Asn Ser Gln Gly Gln Ser Pro Pro Val Pro Phe Pro Ala
1 5 10 15
Pro Ala Pro Pro Gln Pro Pro Thr Pro Ala Leu Pro His Pro Pro
20 25 30
Ala Gln Pro Pro Pro Pro Pro Gln Gln Phe Pro Gln Phe His Val
35 40 45
Lys Ser Gly Leu Gln Ile Lys Lys Asn Ala Ile Ile Asp Asp Tyr Lys
50 55 60
Val Thr Ser Gln Val Leu Gly Leu Gly Ile Asn Gly Lys Val Leu Gln
65 70 75 80
Ile Phe Asn Lys Arg Thr Gln Glu Lys Phe Ala Leu Lys Met Leu Gln
85 90 95
Asp Cys Pro Lys Ala Arg Arg Glu Val Glu Leu His Trp Arg Ala Ser
100 105 110
Gln Cys Pro His Ile Val Arg Ile Val Asp Val Tyr Glu Asn Leu Tyr
115 120 125
Ala Gly Arg Lys Cys Leu Leu Ile Val Met Glu Cys Leu Asp Gly Gly
130 135 140
Glu Leu Phe Ser Arg Ile Gln Asp Arg Gly Asp Gln Ala Phe Thr Glu
145 150 155 160
Arg Glu Ala Ser Glu Ile Met Lys Ser Ile Gly Glu Ala Ile Gln Tyr
165 170 175
Leu His Ser Ile Asn Ile Ala His Arg Asp Val Lys Pro Glu Asn Leu
180 185 190
Leu Tyr Thr Ser Lys Arg Pro Asn Ala Ile Leu Lys Leu Thr Asp Phe
195 200 205
Gly Phe Ala Lys Glu Thr Thr Ser His Asn Ser Leu Thr Thr Pro Cys
210 215 220
Tyr Thr Pro Tyr Tyr Val Ala Pro Glu Val Leu Gly Pro Glu Lys Tyr
225 230 235 240
Asp Lys Ser Cys Asp Met Trp Ser Leu Gly Val Ile Met Tyr Ile Leu
245 250 255
Leu Cys Gly Tyr Pro Pro Phe Tyr Ser Asn His Gly Leu Ala Ile Ser
260 265 270
Pro Gly Met Lys Thr Arg Ile Arg Met Gly Gln Tyr Glu Phe Pro Asn
275 280 285
Pro Glu Trp Ser Glu Val Ser Glu Glu Val Lys Met Leu Ile Arg Asn
290 295 300
Leu Leu Lys Thr Glu Pro Thr Gln Arg Met Thr Ile Thr Glu Phe Met
305 310 315 320
Asn His Pro Trp Ile Met Gln Ser Thr Lys Val Pro Gln Thr Pro Leu
325 330 335
His Thr Ser Arg Val Leu Lys Glu Asp Lys Glu Arg Trp Glu Asp Val
340 345 350
Lys Gly Cys Leu His Asp Lys Asn Ser Asp Gln Ala Thr Trp Leu Thr
355 360 365
Arg Leu
370

```

<210> 35

<211> 1074

<212> DNA

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<221> CDS

<222> (628)... (831)

<400> 35

```

ttttactttt ttaagcaca aaatthtgtt tttttctcc cctccccaca gatcccatct 60
caaatcattc tgtaaccac cattccaaca ggtagaggag agcttaaaca cttcttctct 120
ctgccttggt tctatthttt taththtttg catcagatatt aatgthtttg catactctcc 180
atctttatcc aaaaatgtaa acttcttttg tcaatctatg gatatgccca tatatgaaag 240
agatgggtgg gtcaaaaagg gatatcaaat gaagtgatag gggtcacaaat ggggaaatgg 300
aagtgtgtaca taacattgcc aaaaataatg gccactagaa atgggtgtaa ggctgtcttt 360
ttthtaaga aaagtattta ccatgtatth tgtgaggcag gtttacaaca ctacaagtct 420
tgactaagaa ggaaagagga aaaaagaaaa aacaccaata cccatattta aaaaaaaaaa 480
aatgatcata gtcttaggag ttcatttaaa ccataggaac ttttcaacta tctcatgtta 540
gggtgtaccag tcagtgatta agtagaacta caagttatat aggctgtatt gtttattgct 600
ggtttatgac ctttaataaag tgtaatt atg tat tac cag cag ggt gtt ttt aac 654
Met Tyr Tyr Gln Gln Gly Val Phe Asn
1 5

```

```

tgt gac tat tgt ata aaa aca aat ctt gat atc cag aag cac atg aag 702
Cys Asp Tyr Cys Ile Lys Thr Asn Leu Asp Ile Gln Lys His Met Lys
10 15 20 25

```

```

ttt gcg act ttc cac cct gcc cat ttt tgt aaa act gca gtc atc ttg 750
Phe Ala Thr Phe His Pro Ala His Phe Cys Lys Thr Ala Val Ile Leu
30 35 40

```

```

gac ctt tta aac aca aat ttt aaa etc aac caa gct gtg ata agc gga 798
Asp Leu Leu Asn Thr Asn Phe Lys Leu Asn Gln Ala Val Ile Ser Gly
45 50 55

```

```

atg gtt act gtt tat act gtg gta tgt ttt tga ttacagcaga taatgctttc 851
Met Val Thr Val Tyr Thr Val Val Cys Phe *
60 65

```

```

ttttccagtc atctttgaga ataaaggaaa aaaaaaatct tcagatgcaa tggthttgtg 911
tagcatcttg tctatcatgt tttgtaaatg ctggagaagc gtcgaccaat ttgacttaga 971
gatggaatgt aactttgctt acaaaaattg ctattaaact cctacttaag gtgttcta 1031
tttctgtgag cacactaaaa acaaaaatat atgtgaataa aat 1074

```

<210> 36

<211> 67

<212> PRT

<213> 智人 (Homo sapiens)

<400> 36

```

Met Tyr Tyr Gln Gln Gly Val Phe Asn Cys Asp Tyr Cys Ile Lys Thr
1 5 10 15
Asn Leu Asp Ile Gln Lys His Met Lys Phe Ala Thr Phe His Pro Ala
20 25 30
His Phe Cys Lys Thr Ala Val Ile Leu Asp Leu Leu Asn Thr Asn Phe
35 40 45
Lys Leu Asn Gln Ala Val Ile Ser Gly Met Val Thr Val Tyr Thr Val
50 55 60
Val Cys Phe
65

```

<210> 37

<211> 1356

<212> DNA

<213> 智人 (Homo sapiens)

<220>

<221> CDS

<222> (553)... (1095)

<400> 37  
 ttctcccgca accttccctt cgctccctcc cgtccccccc agctcctagc ctccgactcc 60  
 ctccccccct cagcggccgc ctctcgcctt cggcgaacca aagtggatta attacacgct 120  
 ttctgtttct ctccgtgctg ttctctcccg ctgtgcgctt gcccgctctt cgtgtctctc 180  
 tctccccctc gccctctctt cggccccccc ctttcacgtt cactctgtct ctcccactat 240  
 ctctgcccc ctctatcctt gatacaacag ctgacctcat ttcccgatac cttttcccc 300  
 ccgaaaagta caacatctgg cccgccccag cccgaagaca gcccgctctc cctggacaat 360  
 cagacgaatt ctcccccccc cccccaaaaa aaaagccate cccccgctct gccccgtcgc 420  
 acattcggcc cccgcgactc ggccagagcg gcgctggcag aggagtgtcc ggcaggaggg 480  
 ccaacgcccc ctgttcggtt tgcgacacgc agcaggaggg tggcgggcag cgtcgcgggc 540  
 ttccagacac ca atg gga atc cca atg ggg aag tcg atg ctg gtg ctt ctc 591  
                   Met Gly Ile Pro Met Gly Lys Ser Met Leu Val Leu Leu  
                   1                                  5                                  10  
  
 acc ttc ttg gcc ttc gcc tcg tgc tgc att gct gct tac cgc ccc agt 639  
 Thr Phe Leu Ala Phe Ala Ser Cys Cys Ile Ala Ala Tyr Arg Pro Ser  
           15                                  20                                  25  
  
 gag acc ctg tgc ggc ggg gag ctg gtg gac acc ctc cag ttc gtc tgt 687  
 Glu Thr Leu Cys Gly Gly Glu Leu Val Asp Thr Leu Gln Phe Val Cys  
           30                                  35                                  40                                  45  
  
 ggg gac cgc ggc ttc tac ttc agc agg ccc gca agc cgt gtg agc cgt 735  
 Gly Asp Arg Gly Phe Tyr Phe Ser Arg Pro Ala Ser Arg Val Ser Arg  
                                   50                                  55                                  60  
  
 cgc agc cgt ggc atc gtt gag gag tgc tgt ttc cgc agc tgt gac ctg 783  
 Arg Ser Arg Gly Ile Val Glu Glu Cys Cys Phe Arg Ser Cys Asp Leu  
                                   65                                  70                                  75  
  
 gcc ctc ctg gag acg tac tgt gct acc ccc gcc aag tcc gag agg gac 831  
 Ala Leu Leu Glu Thr Tyr Cys Ala Thr Pro Ala Lys Ser Glu Arg Asp  
                                   80                                  85                                  90  
  
 gtg tcg acc cct ccg acc gtg ctt ccg gac aac ttc ccc aga tac ccc 879  
 Val Ser Thr Pro Pro Thr Val Leu Pro Asp Asn Phe Pro Arg Tyr Pro  
                                   95                                  100                                  105  
  
 gtg ggc aag ttc ttc caa tat gac acc tgg aag cag tcc acc cag cgc 927  
 Val Gly Lys Phe Phe Gln Tyr Asp Thr Trp Lys Gln Ser Thr Gln Arg  
           110                                  115                                  120                                  125  
  
 ctg cgc agg ggc ctg cct gcc ctc ctg cgt gcc cgc cgg ggt cac gtg 975  
 Leu Arg Arg Gly Leu Pro Ala Leu Leu Arg Ala Arg Arg Gly His Val  
                                   130                                  135                                  140  
  
 ctc gcc aag gag ctc gag gcg ttc agg gag gcc aaa cgt cac cgt ccc 1023  
 Leu Ala Lys Glu Leu Glu Ala Phe Arg Glu Ala Lys Arg His Arg Pro  
                                   145                                  150                                  155  
  
 ctg att gct cta ccc acc caa gac ccc gcc cac ggg ggc gcc ccc cca 1071  
 Leu Ile Ala Leu Pro Thr Gln Asp Pro Ala His Gly Gly Ala Pro Pro  
                                   160                                  165                                  170  
  
 gag atg gcc agc aat cgg aag tga gcaaaactgc cgcaagtctg cagcccggcg 1125  
 Glu Met Ala Ser Asn Arg Lys \*  
           175                                  180  
  
 ccaccatcct gcagctcct cctgaccacg gacgtttcca tcaggttcca tcccgaata 1185  
 ctctcgggtc cagtccccc tgggcttct cctgaccacg tcccgtgcc ccgctcccc 1245  
 gaaacaggct actctcctcg gccccctcca tgggctgag gaagcacagc agcatcttca 1305  
 aacatgtaca aaatcgattg gctttaaaca ccttccat accctcccc c 1356

<210> 38  
 <211> 180  
 <212> PRT  
 <213> 智人 (Homo sapiens)



&lt;400&gt; 38

```

Met Gly Ile Pro Met Gly Lys Ser Met Leu Val Leu Leu Thr Phe Leu
 1           5           10           15
Ala Phe Ala Ser Cys Cys Ile Ala Ala Tyr Arg Pro Ser Glu Thr Leu
      20           25           30
Cys Gly Gly Glu Leu Val Asp Thr Leu Gln Phe Val Cys Gly Asp Arg
      35           40           45
Gly Phe Tyr Phe Ser Arg Pro Ala Ser Arg Val Ser Arg Arg Ser Arg
 50           55           60
Gly Ile Val Glu Glu Cys Cys Phe Arg Ser Cys Asp Leu Ala Leu Leu
65           70           75           80
Glu Thr Tyr Cys Ala Thr Pro Ala Lys Ser Glu Arg Asp Val Ser Thr
      85           90           95
Pro Pro Thr Val Leu Pro Asp Asn Phe Pro Arg Tyr Pro Val Gly Lys
      100          105          110
Phe Phe Gln Tyr Asp Thr Trp Lys Gln Ser Thr Gln Arg Leu Arg Arg
      115          120          125
Gly Leu Pro Ala Leu Leu Arg Ala Arg Arg Gly His Val Leu Ala Lys
      130          135          140
Glu Leu Glu Ala Phe Arg Glu Ala Lys Arg His Arg Pro Leu Ile Ala
      145          150          155          160
Leu Pro Thr Gln Asp Pro Ala His Gly Gly Ala Pro Pro Glu Met Ala
      165          170          175
Ser Asn Arg Lys
      180

```

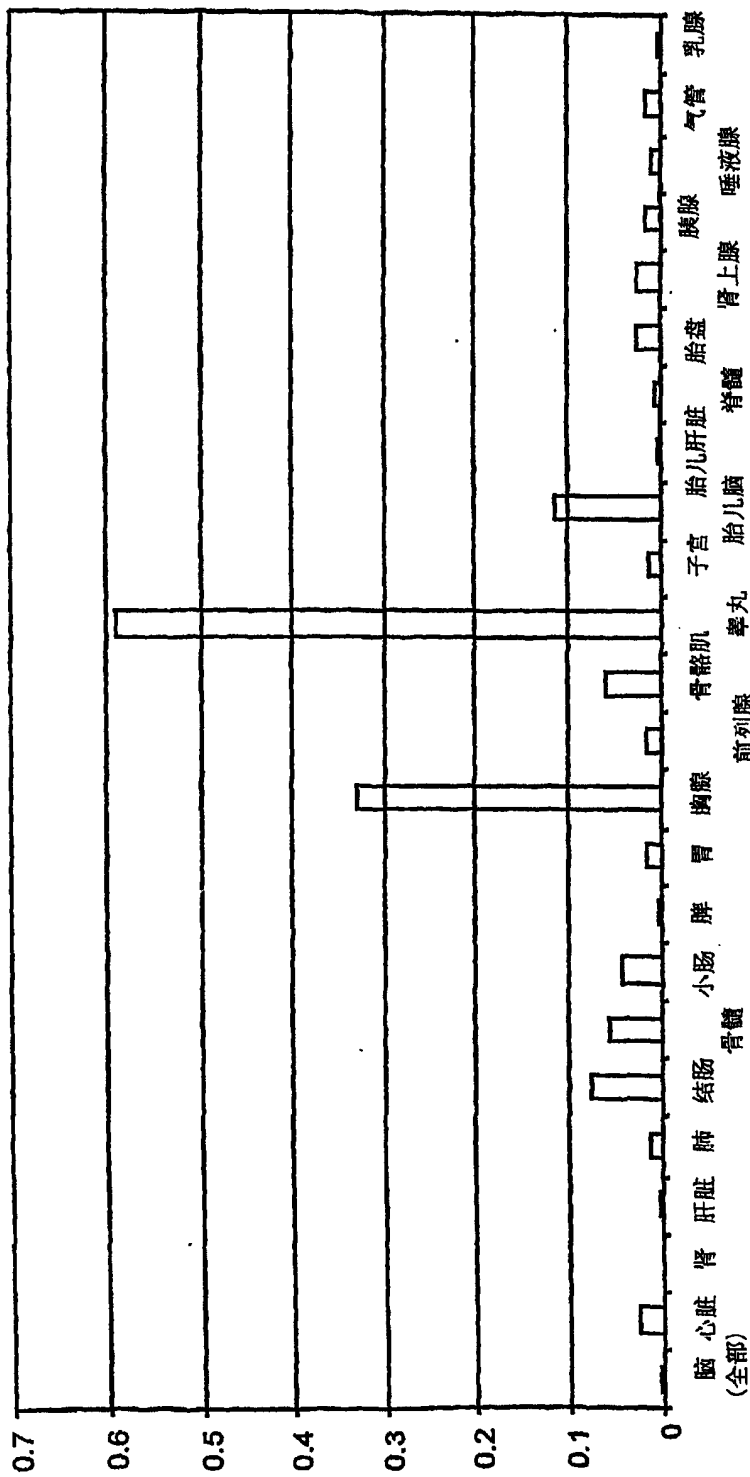


图 1

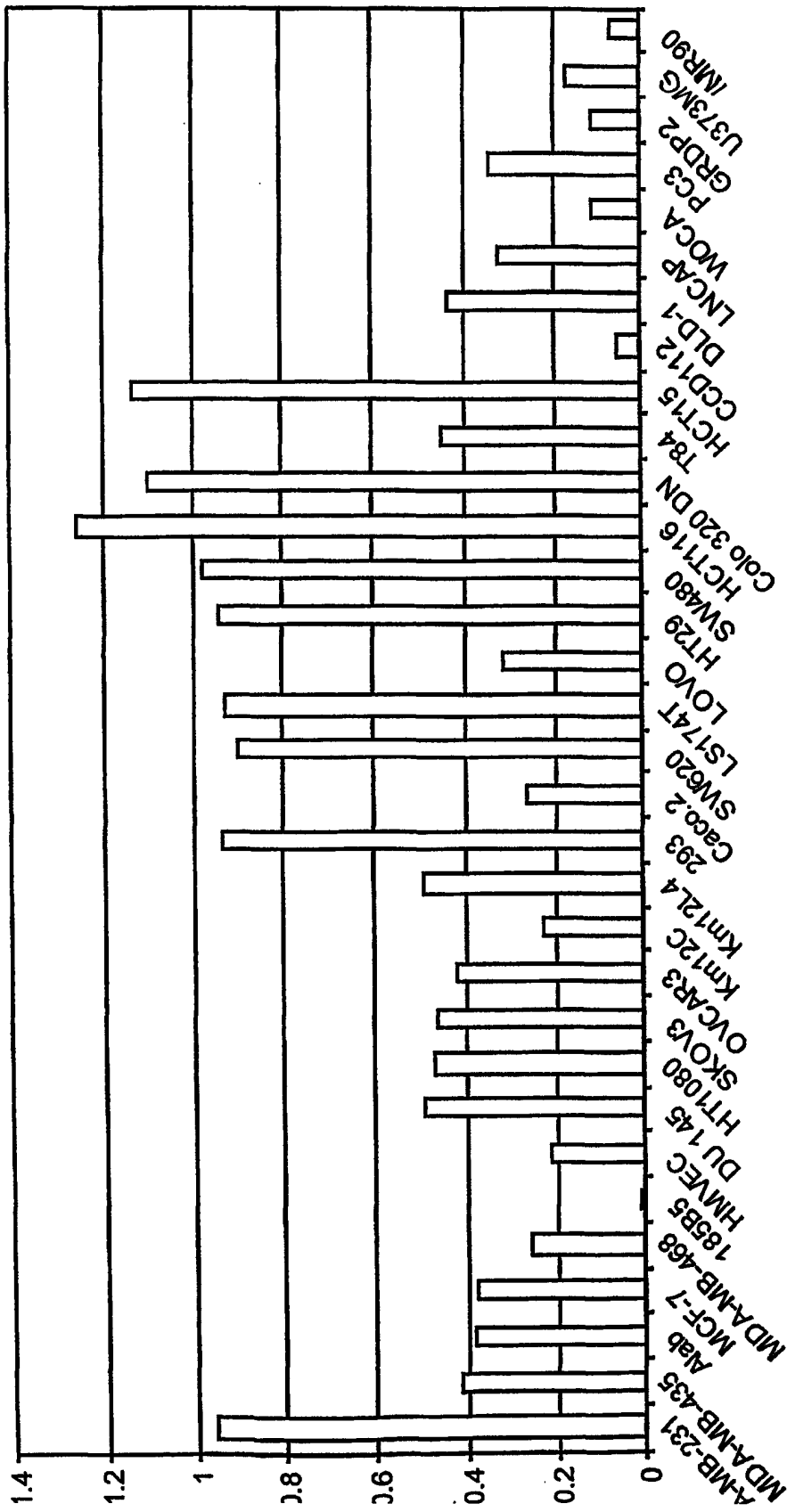


图 2

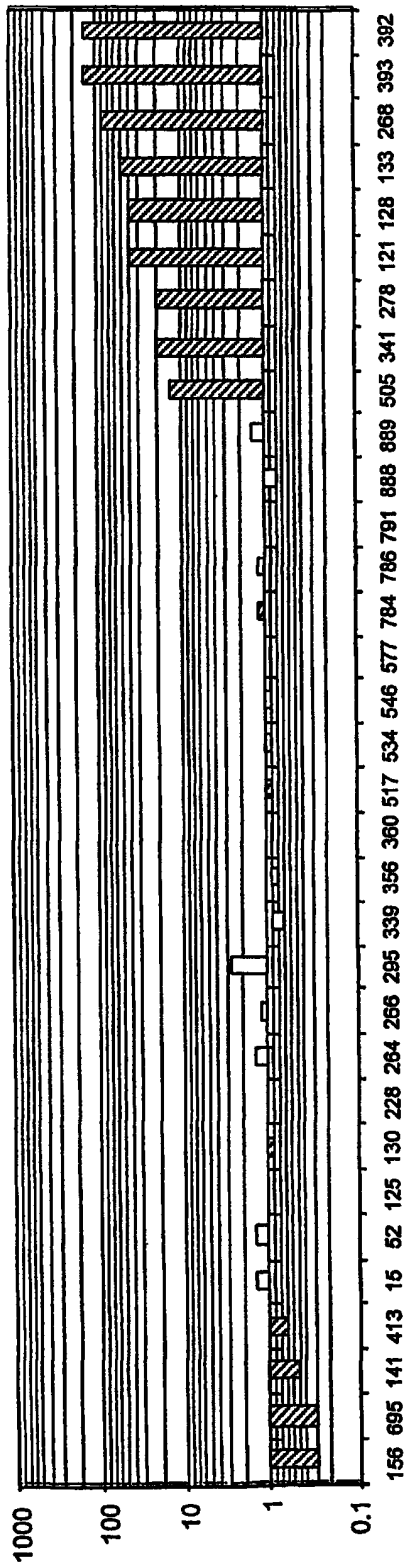


图 3

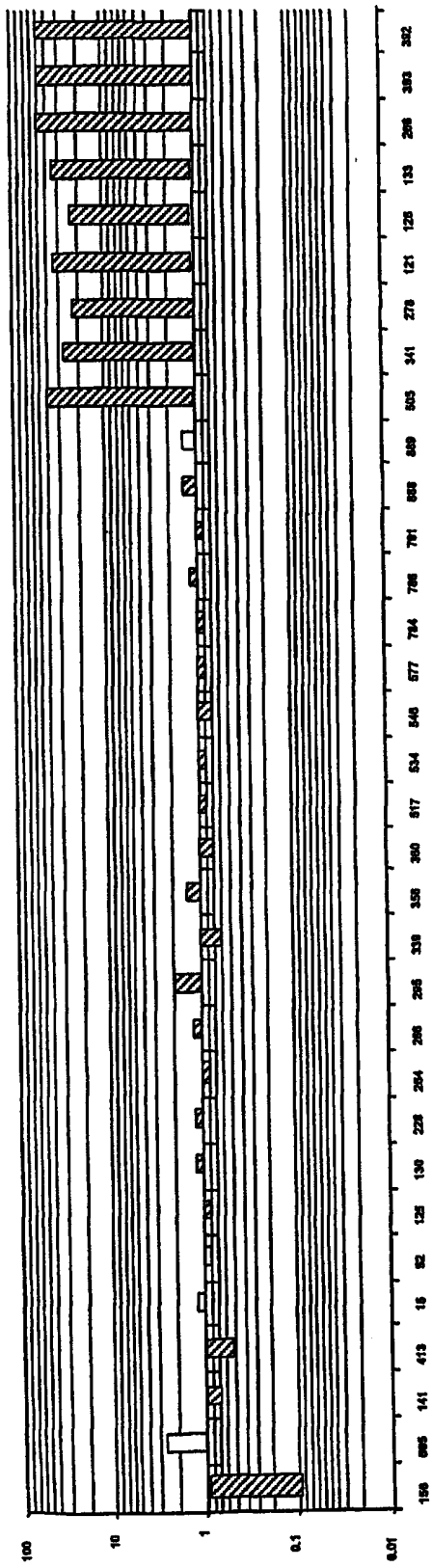


图 4

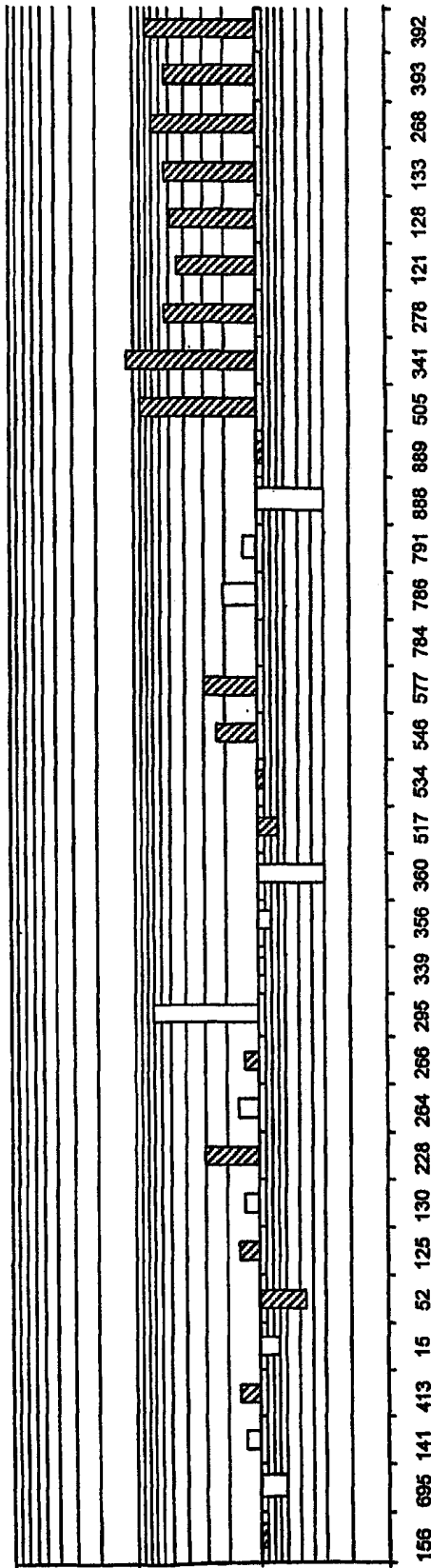


图 5

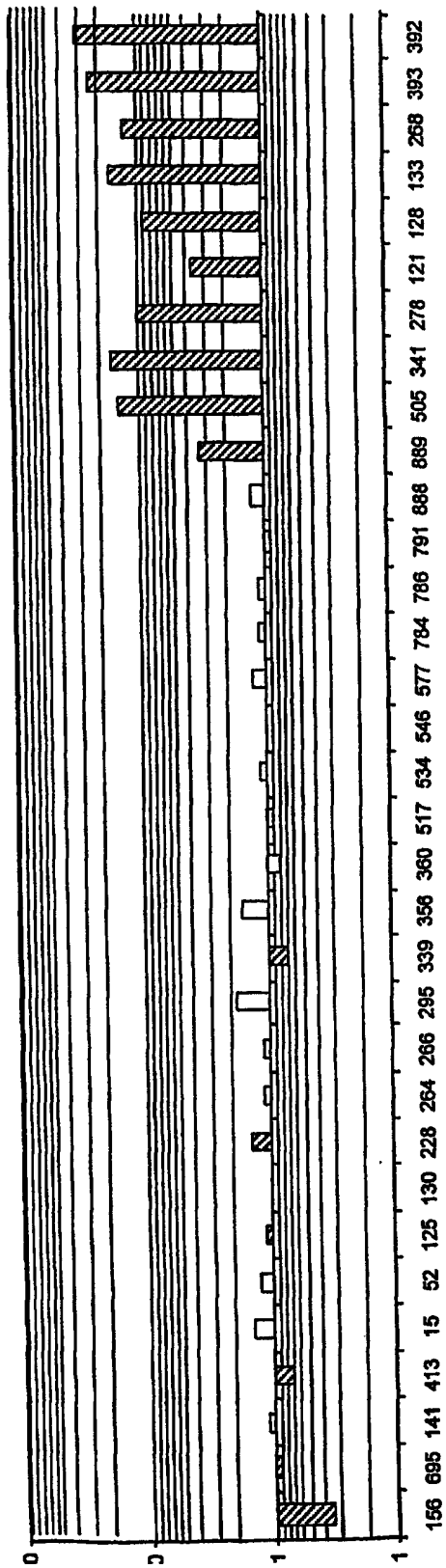


图 6

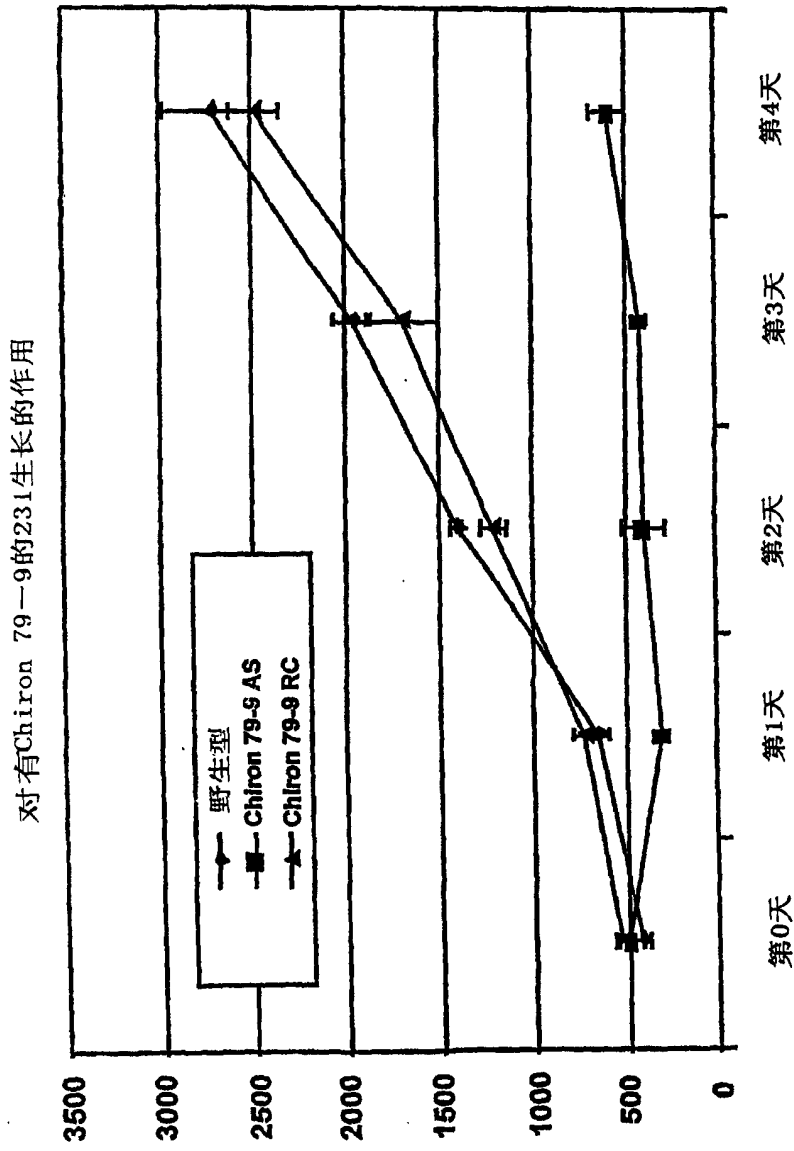


图 7



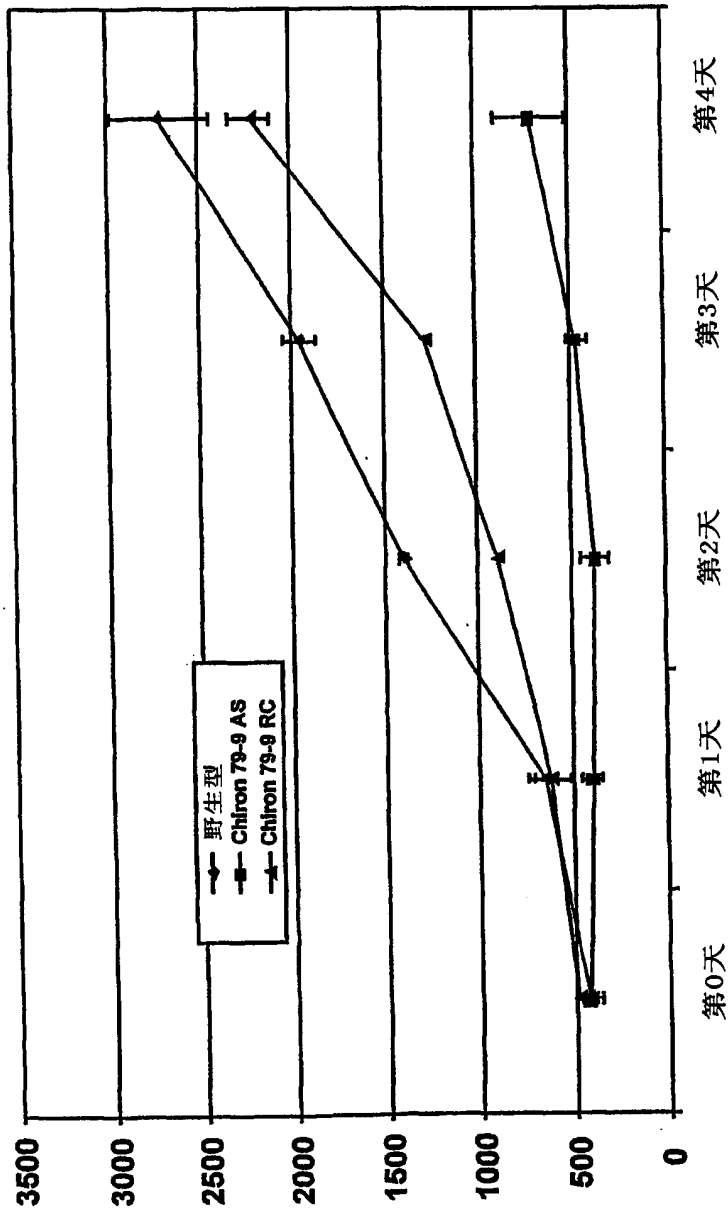


图 8

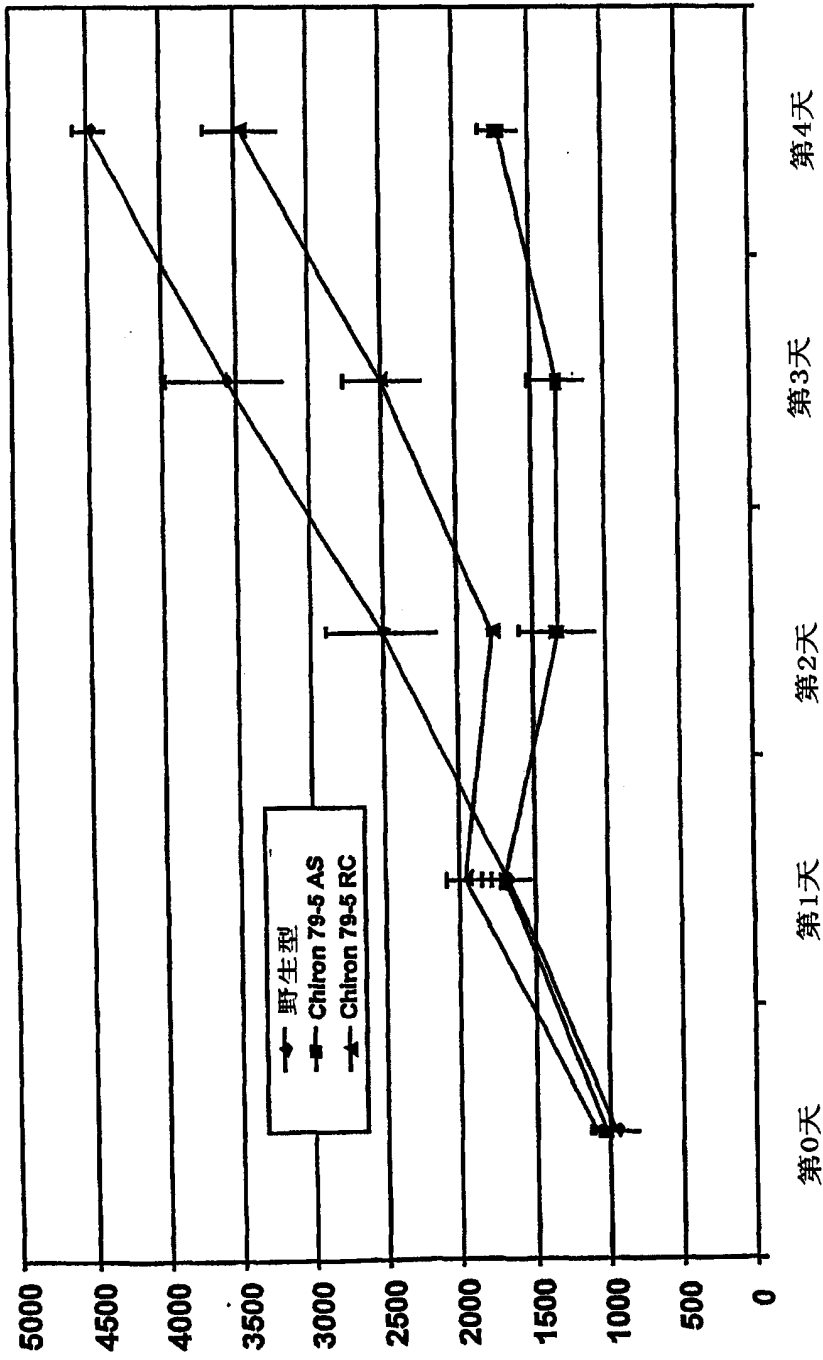


图 9

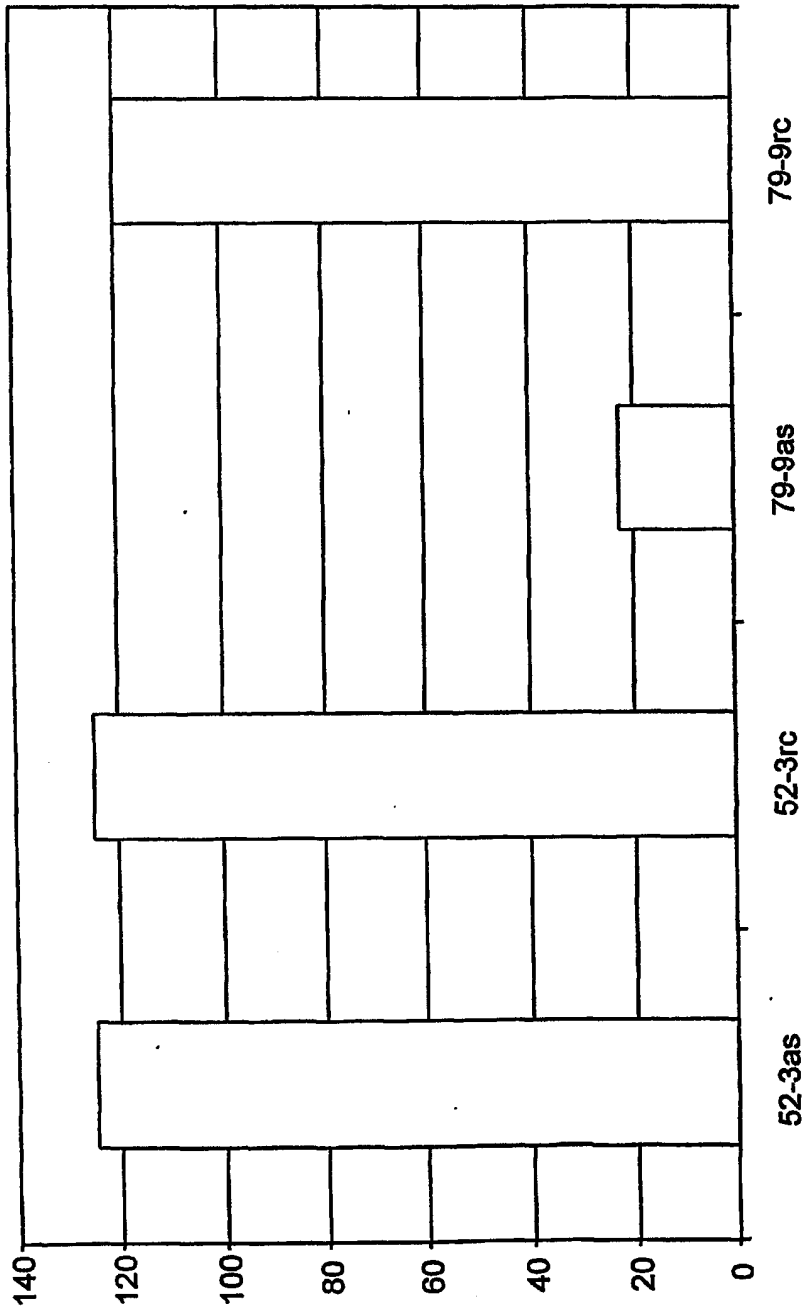


图 10

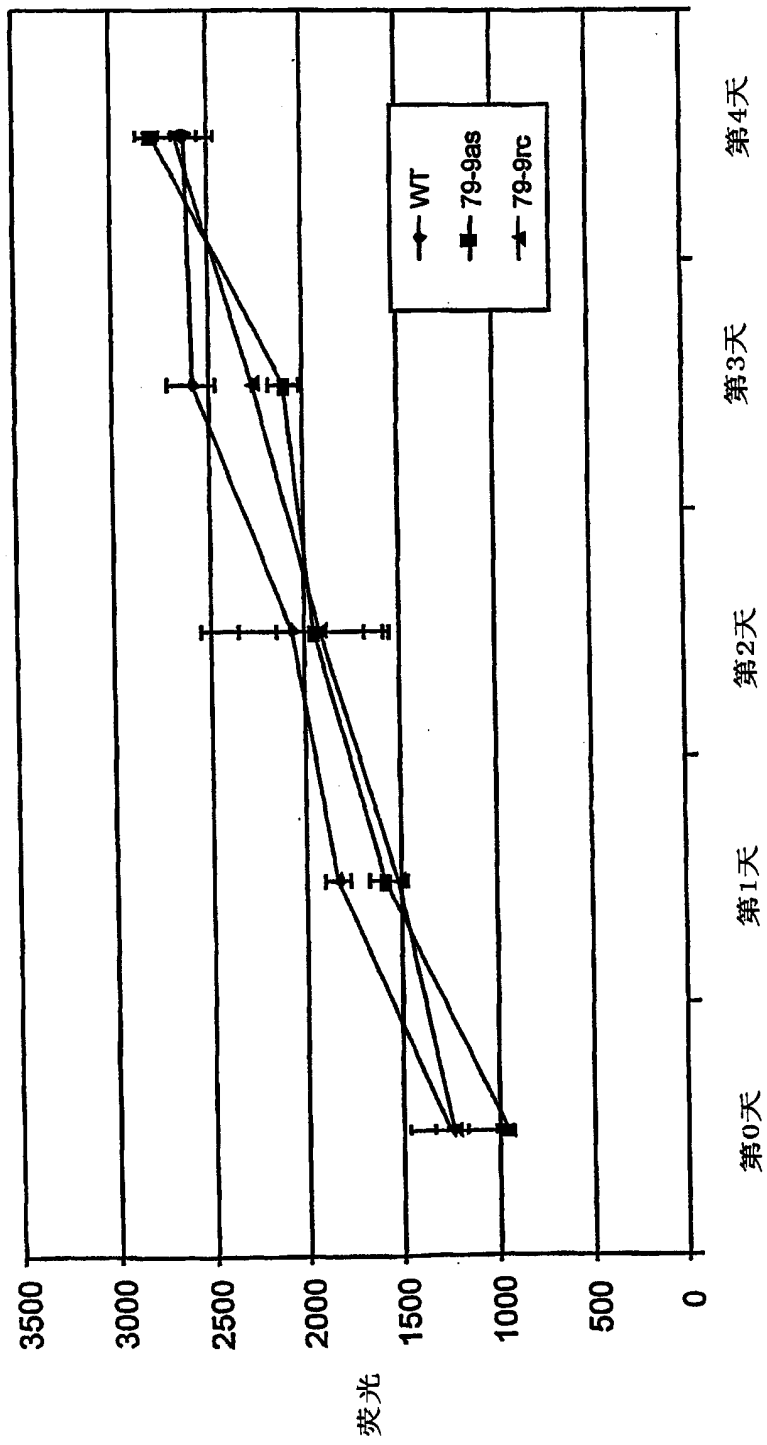


图 11

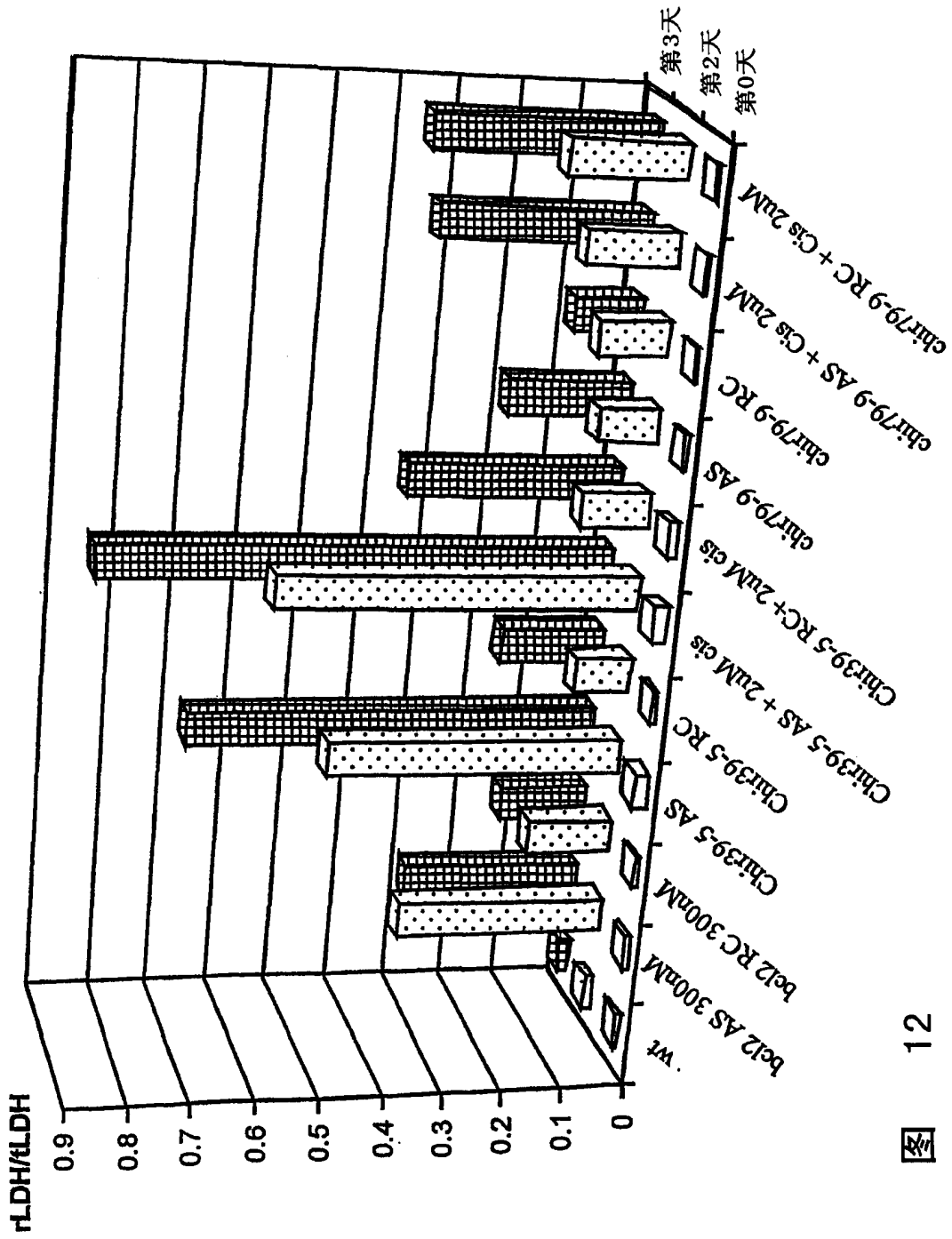


图 12