



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101974619 A

(43) 申请公布日 2011. 02. 16

(21) 申请号 201010254955. 1

(22) 申请日 2005. 12. 01

(30) 优先权数据

60/634298 2004. 12. 08 US

(62) 分案原申请数据

200580041847. 3 2005. 12. 01

(71) 申请人 安万特药物公司

地址 美国新泽西州

(72) 发明人 D·格吕内贝格 黄西 S·纳特森

P·奥古斯特

(74) 专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公

司 72001

代理人 孔青 李连涛

(51) Int. Cl.

C12Q 1/68(2006. 01)

G01N 33/53(2006. 01)

G01N 27/62(2006. 01)

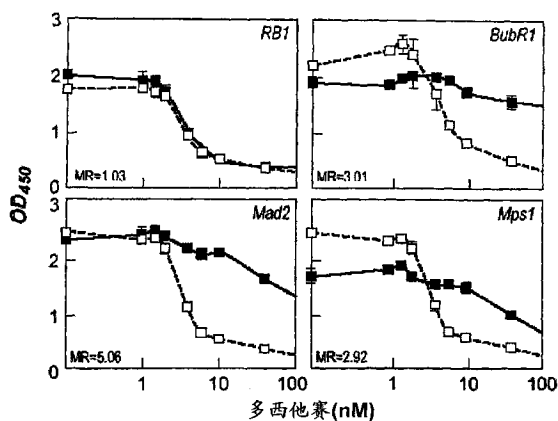
权利要求书 9 页 说明书 25 页 序列表 70 页
附图 11 页

(54) 发明名称

测量对多西他赛抗药性或敏感性的方法

(57) 摘要

本发明涉及某些新颖、有效的方法, 这些方法通过测量特定遗传标记物较对照物的增加或减少, 可预测或监测患者对紫杉醇类分子的反应。本发明还提供了某些试剂盒, 这些试剂盒通过测量特定遗传标记物的核酸或蛋白质水平并与对照物或参照标志比较, 可预测或监测患者对紫杉醇类分子的反应。



1. 一种预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的方法,其包括以下步骤:

- a) 从所述患者的癌症区域获得测试样品;
- b) 获得对照样品;
- c) 测量一种或一种以上遗传标记物的水平;以及
- d) 在测试样品和对照样品之间比较所测量的所述一种或一种以上遗传标记物的水平;

其中,与对照样品相比,在测试样品内所测量的所述一种或一种以上遗传标记物水平的下降表明对紫杉醇类分子抗药性的增强。

2. 权利要求 1 所述的方法,其中所述一种或一种以上遗传标记物选自:

BubR1:人(*Homo sapiens*)的类似于蛋白激酶(BUBR1)mRNA,完全 cds(互补 DNA)(GenBank 登录号:AF046079);

Mad2:人 MAD2 蛋白的 mRNA(GenBank 登录号:AJ000186);

Mps1:人 TTK 蛋白激酶(TTK),mRNA(GenBank 登录号:NM_003318);

Rac1/CDC42 的 GEFT:人 RAC/CDC42 交换因子(GEFT),转录变体 2, mRNA(GenBank 登录号:NM_133483);

Bub1:人 BUB1(不受苯并咪唑 1 同系物抑制的芽殖)(酵母)(BUB1),mRNA(GenBank 登录号:NM_004336);

hSepharse:人额外纺锤体极样 1(酿酒酵母(*S. cerevisiae*))(ESPL1),mRNA(GenBank 登录号:NM_012291);

CamKII δ :人钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶(CaM 激酶)II δ (CAMK2D),转录变体 3, mRNA(GenBank 登录号:NM_001221);

CDK6:人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 6(CDK6), mRNA(GenBank 登录号:NM_001259);
和

GRB2:人生长因子受体结合蛋白 2(GRB2),转录变体 1, mRNA(GenBank 登录号:NM_002086)。

3. 权利要求 1 所述的方法,其中所述紫杉醇类分子选自泰素、多西他赛 XRP9881 和 XRP6258。

4. 权利要求 1 所述的方法,其中所述一种或一种以上遗传标记物的水平是通过 mRNA、DNA 或蛋白质测量的。

5. 权利要求 4 所述的方法,其中所述 mRNA 是采用选自原位杂交、反转录酶聚合酶链式反应、核酸杂交、电泳、Northern 印迹和质谱的技术测量的。

6. 权利要求 4 所述的方法,其中所述 DNA 是采用选自定量聚合酶链式反应、基因组 DNA-芯片、原位杂交、电泳、Southern 印迹和质谱的技术测量的。

7. 权利要求 4 所述的方法,其中所述蛋白质是采用选自免疫测定法、Western 印迹、ELISA 和质谱的技术测量的。

8. 一种预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的方法,其包括以下步骤:

- a) 从所述患者的癌症区域获得测试样品;
- b) 获得对照样品;
- c) 测量一种或一种以上遗传标记物的水平;以及

d) 在测试样品和对照样品之间比较所测量的所述一种或一种以上遗传标记物的水平；

其中,与对照样品相比,在测试样品内所测量的所述一种或一种以上遗传标记物水平的下降表明对紫杉醇类分子敏感性的增强。

9. 权利要求 8 所述的方法,其中所述一种或一种以上遗传标记物选自:

P21(Waf1):人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶抑制剂 1A(p21, Cip1)(CDKN1A),转录变体 1,mRNA(GenBank 登录号:NM_000389);

Pim-1:人 pim-1 癌基因(PIM1),mRNA(GenBank 登录号:NM_002648);

GBP-1:人鸟苷酸结合蛋白 1,干扰素可诱导,67kDa(GBP1),mRNA(GenBank 登录号:NM_002053);

RXRA:人类类视黄醇 X 受体, α (RXRA),mRNA(GenBank 登录号:NM_002957);

SPF45:人 RNA 结合基序蛋白 17(RBM17),mRNA(GenBank 登录号:NM_032905);

Hec1:人动粒相关 2(KNTC2),mRNA(GenBank 登录号:NM_006101);

Raf1:人 raf 癌基因的 mRNA(GenBank 登录号:X03484);

Aurora A:人 aurora- 相关激酶 1(ARK1)mRNA,完全 cds(GenBank 登录号:AF008551);

TACC3:人转化、含酸性卷曲螺旋的蛋白 3(TACC3),mRNA(GenBank 登录号:NM_006342);

RelB:人 v-rel 网状内皮组织增生病毒癌基因同系物 B,B- 细胞 3(鸟类)的 κ 轻多肽基因增强子的核因子(RELB),mRNA(GenBank 登录号:NM_006509);

PRKCD:人蛋白激酶 C, δ (PRKCD),转录变体 1,mRNA(GenBank 登录号:NM_006254);

BRAF35:人高泳动族 20B(HMG20B),mRNA(GenBank 登录号:NM_006339);

HSPA1L:人热休克 70kDa 蛋白 1A(HSPA1A),mRNA(GenBank 登录号:NM_005345);

STK11:人丝氨酸/苏氨酸激酶 11(波-杰综合征)(STK11),mRNA(GenBank 登录号:NM_000455);和

MKK3:人 MAP 激酶激酶 3(MKK3)mRNA,完全 cds(GenBank 登录号:L36719)。

10. 权利要求 8 所述的方法,其中所述紫杉醇类分子选自泰素、多西他赛 XRP9881 和 XRP6258。

11. 权利要求 8 所述的方法,其中所述一种或一种以上遗传标记物的水平是通过 mRNA、DNA 或蛋白质测量的。

12. 权利要求 11 所述的方法,其中所述 mRNA 是采用选自原位杂交、反转录酶聚合酶链式反应、核酸杂交、电泳、Northern 印迹和质谱的技术测量的。

13. 权利要求 11 所述的方法,其中所述 DNA 是采用选自定量聚合酶链式反应、基因组 DNA- 芯片、原位杂交、电泳、Southern 印迹和质谱的技术测量的。

14. 权利要求 11 所述的方法,其中所述蛋白质是采用选自免疫测定法、Western 印迹、ELISA 和质谱的技术测量的。

15. 一种根据权利要求 1 所述的方法预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的试剂盒,其中该试剂盒包括带有可检测标记的抗体、带有可检测标记的抗体片段或带有可检测标记的寡核苷酸,该寡核苷酸含有能在严格条件下与选自如下的所述一种或一种以上遗传标记物杂交的核酸:

BubR1 :人的类似于蛋白激酶 (BUBR1)mRNA,完全 cds (互补 DNA) (GenBank 登录号 : AF046079) ;

Mad2 :人 MAD2 蛋白的 mRNA (GenBank 登录号 :AJ000186) ;

Mps1 :人 TTK 蛋白激酶 (TTK), mRNA (GenBank 登录号 :NM_003318) ;

Rac1/CDC42 的 GEFT :人 RAC/CDC42 交换因子 (GEFT),转录变体 2, mRNA (GenBank 登录号 :NM_133483) ;

Bub1 :人 BUB1 (不受苯并咪唑 1 同系物抑制的芽殖) (酵母) (BUB1), mRNA (GenBank 登录号 :NM_004336) ;

hSeparase :人额外纺锤体极样 1 (酿酒酵母) (ESPL1), mRNA (GenBank 登录号 : NM_012291) ;

CamKII δ :人钙 / 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 (CaM 激酶) II δ (CAMK2D), 转录变体 3, mRNA (GenBank 登录号 :NM_001221) ;

CDK6 :人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 6 (CDK6), mRNA (GenBank 登录号 :NM_001259) ; 和

GRB2 :人生长因子受体结合蛋白 2 (GRB2), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号 : NM_002086) 。

16. 一种根据权利要求 8 所述的方法预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的试剂盒,其中该试剂盒包括带有可检测标记的抗体、带有可检测标记的抗体片段或带有可检测标记的寡核苷酸,该寡核苷酸含有能在严格条件下与选自如下的所述一种或一种以上遗传标记物杂交的核酸:

P21 (Waf1) :人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶抑制剂 1A (p21, Cip1) (CDKN1A), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号 :NM_000389) ;

Pim-1 :人 pim-1 癌基因 (PIM1), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002648) ;

GBP-1 :人鸟苷酸结合蛋白 1, 干扰素可诱导, 67kDa (GBP1), mRNA (GenBank 登录号 : NM_002053) ;

RXRA :人类视黄醇 X 受体, α (RXRA), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002957) ;

SPF45 :人 RNA 结合基序蛋白 17 (RBM17), mRNA (GenBank 登录号 :NM_032905) ;

Hec1 :人动粒相关 2 (KNTC2), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006101) ;

Raf1 :人 raf 癌基因的 mRNA (GenBank 登录号 :X03484) ;

Aurora A :人 aurora- 相关激酶 1 (ARK1)mRNA,完全 cds (GenBank 登录号 :AF008551) ;

TACC3 :人转化、含酸性卷曲螺旋的蛋白 3 (TACC3), mRNA (GenBank 登录号 : NM_006342) ;

RelB :人 v-rel 网状内皮组织增生病毒癌基因同系物 B, B- 细胞 3 (鸟类) 的 κ 轻多肽基因增强子的核因子 (RELB), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006509) ;

PRKCD :人蛋白激酶 C, δ (PRKCD), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号 :NM_006254) ;

BRAF35 :人高泳动族 20B (HMG20B), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006339) ;

HSPA1L :人热休克 70kDa 蛋白 1A (HSPA1A), mRNA (GenBank 登录号 :NM_005345) ;

STK11 :人丝氨酸 / 苏氨酸激酶 11 (波 - 杰综合征) (STK11), mRNA (GenBank 登录号 : NM_000455) ;和

MKK3 :人 MAP 激酶激酶 3(MKK3)mRNA,完全 cds(GenBank 登录号 :L36719)。

17. 一种根据权利要求 1 所述的方法预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的试剂盒,其中该试剂盒包括以下手段:

- a) 从身体样品获取总 RNA ;
- b) 将总 RNA 反转录以获得 cDNA ;以及
- c) 使用一套引物对该 cDNA 进行聚合酶链式反应,

其中,这套引物中的一个或两个具有可检测标记,且两个引物均衍生自选自如下的一种或一种以上遗传标记物的核苷酸序列:

BubR1 :人的类似于蛋白激酶 (BUBR1)mRNA,完全 cds(互补 DNA)(GenBank 登录号 :AF046079) ;

Mad2 :人 MAD2 蛋白的 mRNA(GenBank 登录号 :AJ000186) ;

Mps1 :人 TTK 蛋白激酶 (TTK),mRNA(GenBank 登录号 :NM_003318) ;

Rac1/CDC42 的 GEFT :人 RAC/CDC42 交换因子 (GEFT),转录变体 2,mRNA(GenBank 登录号 :NM_133483) ;

Bub1 :人 BUB1(不受苯并咪唑 1 同系物抑制的芽殖)(酵母)(BUB1),mRNA(GenBank 登录号 :NM_004336) ;

hSepharse :人额外纺锤体极样 1(酿酒酵母)(ESPL1),mRNA(GenBank 登录号 :NM_012291) ;

CamKII δ :人钙 / 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 (CaM 激酶) II δ (CAMK2D),转录变体 3,mRNA(GenBank 登录号 :NM_001221) ;

CDK6 :人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 6(CDK6),mRNA(GenBank 登录号 :NM_001259) ;
和

GRB2 :人生长因子受体结合蛋白 2(GRB2),转录变体 1,mRNA(GenBank 登录号 :NM_002086)。

18. 一种按照权利要求 8 所述的方法预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的试剂盒,其中该试剂盒包括以下手段:

- a) 从身体样品获取总 RNA ;
- b) 将总 RNA 反转录以获得 cDNA ;以及
- c) 使用一套引物对该 cDNA 进行聚合酶链式反应,

其中,这套引物中的一个或两个具有可检测标记,且两个引物均衍生自选自如下的一种或一种以上遗传标记物的核苷酸序列:

P21(Waf1) :人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶抑制剂 1A(p21, Cip1)(CDKN1A),转录变体 1,mRNA(GenBank 登录号 :NM_000389) ;

Pim-1 :人 pim-1 癌基因 (PIM1),mRNA(GenBank 登录号 :NM_002648) ;

GBP-1 :人鸟苷酸结合蛋白 1,干扰素可诱导,67kDa(GBP1),mRNA(GenBank 登录号 :NM_002053) ;

RXRA :人类视黄醇 X 受体, α (RXRA),mRNA(GenBank 登录号 :NM_002957) ;

SPF45 :人 RNA 结合基序蛋白 17(RBM17),mRNA(GenBank 登录号 :NM_032905) ;

Hec1 :人动粒相关 2(KNTC2),mRNA(GenBank 登录号 :NM_006101) ;

Raf1 :人 raf 癌基因的 mRNA (GenBank 登录号 :X03484) ;

Aurora A :人 aurora- 相关激酶 1 (ARK1)mRNA, 完全 cds (GenBank 登录号 :AF008551) ;

TACC3 :人 转化、含酸性卷曲螺旋的蛋白 3 (TACC3), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006342) ;

RelB :人 v-rel 网状内皮组织增生病毒癌基因同系物 B, B- 细胞 3 (鸟类) 的 κ 轻多肽基因增强子的核因子 (RELB), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006509) ;

PRKCD :人蛋白激酶 C, δ (PRKCD), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号 :NM_006254) ;

BRAF35 :人高泳动族 20B (HMG20B), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006339) ;

HSPA1L :人热休克 70kDa 蛋白 1A (HSPA1A), mRNA (GenBank 登录号 :NM_005345) ;

STK11 :人丝氨酸 / 苏氨酸激酶 11 (波 - 杰综合征) (STK11), mRNA (GenBank 登录号 :NM_000455) ;和

MKK3 :人 MAP 激酶激酶 3 (MKK3)mRNA, 完全 cds (GenBank 登录号 :L36719) 。

19. 权利要求 15-18 中任意一项所述的可检测标记, 其中该可检测标记选自酶、放射性同位素、或发荧光的化合物、化学发光分子、不透射线的物质、脂质体, 以及半抗原分子。

20. 一种预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的方法, 其包括以下步骤:

a) 从所述患者的癌症区域获得测试样品;

b) 测量选自以下一种或一种以上遗传标记物的水平:

BubR1 :人的类似于蛋白激酶 (BUBR1)mRNA, 完全 cds (互补 DNA) (GenBank 登录号 :AF046079) ;

Mad2 :人 MAD2 蛋白的 mRNA (GenBank 登录号 :AJ000186) ;

Mps1 :人 TTK 蛋白激酶 (TTK), mRNA (GenBank 登录号 :NM_003318) ;

Rac1/CDC42 的 GEFT :人 RAC/CDC42 交换因子 (GEFT), 转录变体 2, mRNA (GenBank 登录号 :NM_133483) ;

Bub1 :人 BUB1 (不受苯并咪唑 1 同系物抑制的芽殖) (酵母) (BUB1), mRNA (GenBank 登录号 :NM_004336) ;

hSepharse :人额外纺锤体极样 1 (酿酒酵母 (S. cerevisiae)) (ESPL1), mRNA (GenBank 登录号 :NM_012291) ;

CamKII δ :人钙 / 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 (CaM 激酶) II δ (CAMK2D), 转录变体 3, mRNA (GenBank 登录号 :NM_001221) ;

CDK6 :人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 6 (CDK6), mRNA (GenBank 登录号 :NM_001259) ;和

GRB2 :人生长因子受体结合蛋白 2 (GRB2), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号 :NM_002086) 。

c) 测量选自以下一种或一种以上参照遗传标记物的水平:

GAPDH :人 3- 磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPD), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002046) ;和

RPS9 :人 cDNA 克隆 IMAGE :6647283, 部分 cds (GenBank 登录号 :BC071941) ;

d) 比较在测试样品中所测量的所述一种或一种以上遗传标

记物和所述一种或一种以上参照遗传标记物的水平;

其中, 与所述一种或一种以上参照遗传标记物的水平相比, 所述一种或一种以上遗传

标记物水平的下降表明对紫杉醇类分子抗药性的增强。

21. 一种预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的方法,其包括以下步骤:

a) 从所述患者的癌症区域获得测试样品

b) 测量选自以下一种或一种以上遗传标记物的水平:

P21 (Waf1): 人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶抑制剂 1A (p21, Cip1) (CDKN1A), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号: NM_000389);

Pim-1: 人 pim-1 癌基因 (PIM1), mRNA (GenBank 登录号: NM_002648);

GBP-1: 人鸟苷酸结合蛋白 1, 干扰素可诱导, 67kDa (GBP1), mRNA (GenBank 登录号: NM_002053);

RXRA: 人类类视黄醇 X 受体, α (RXRA), mRNA (GenBank 登录号: NM_002957);

SPF45: 人 RNA 结合基序蛋白 17 (RBM17), mRNA (GenBank 登录号: NM_032905);

Hec1: 人动粒相关 2 (KNTC2), mRNA (GenBank 登录号: NM_006101);

Raf1: 人 raf 癌基因的 mRNA (GenBank 登录号: X03484);

Aurora A: 人 aurora- 相关激酶 1 (ARK 1) mRNA, 完全 cds (GenBank 登录号: AF008551);

TACC3: 人转化、含酸性卷曲螺旋的蛋白 3 (TACC3), mRNA (GenBank 登录号: NM_006342);

RelB: 人 ν -rel 网状内皮组织增生病毒癌基因同系物 B, B- 细胞 3 (鸟类) 的 κ 轻多肽基因增强子的核因子 (RELB), mRNA (GenBank 登录号: NM_006509);

PRKCD: 人蛋白激酶 C, δ (PRKCD), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号: NM_006254);

BRAF35: 人高泳动族 20B (HMG20B), mRNA (GenBank 登录号: NM_006339);

HSPA1L: 人热休克 70kDa 蛋白 1A (HSPA1A), mRNA (GenBank 登录号: NM_005345);

STK11: 人丝氨酸 / 苏氨酸激酶 11 (波 - 杰综合征) (STK11), mRNA (GenBank 登录号: NM_000455); 和

MKK3: 人 MAP 激酶激酶 3 (MKK3) mRNA, 完全 cds (GenBank 登录号: L36719);

c) 测量选自以下一种或一种以上参照遗传标记物的水平:

GAPDH: 人 3- 磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPD), mRNA (GenBank 登录号: NM_002046); 和

RPS9: 人 cDNA 克隆 IMAGE: 6647283, 部分 cds (GenBank 登录号: BC071941);

d) 比较在测试样品中所测量的所述一种或一种以上遗传标记物和所述一种或一种以上参照遗传标记物的水平;

其中, 与所述一种或一种以上参照遗传标记物的水平相比, 所述一种或一种以上遗传标记物水平的下降表明对紫杉醇类分子易感性的增强。

22. 权利要求 20 或 21 所述的方法, 其中所述紫杉醇类分子选自泰素、多西他赛 XRP9881 和 XRP6258。

23. 权利要求 20 或 21 所述的方法, 其中所述一种或一种以上遗传标记物的水平是通过 mRNA、DNA 或蛋白质测量的。

24. 权利要求 23 所述的方法, 其中所述 mRNA 是采用选自原位杂交、反转录酶聚合酶链式反应、核酸杂交、电泳、Northern 印迹和质谱的技术测量的。

25. 权利要求 23 所述的方法, 其中所述 DNA 是采用选自定量聚合酶链式反应、基因组 DNA- 芯片、原位杂交、电泳、Southern 印迹和质谱的技术测量的。

26. 权利要求 23 所述的方法,其中所述蛋白质是采用选自免疫测定法、Western 印迹、ELISA 和质谱的技术测量的。

27. 一种根据权利要求 20 所述的方法预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的试剂盒,其中该试剂盒包括带有可检测标记的抗体、带有可检测标记的抗体片段或带有可检测标记的寡核苷酸,该寡核苷酸含有能在严格条件与选自如下的所述一种或一种以上遗传标记物和所述一种或一种以上参照遗传标记物杂交的核酸:

BubR1:人的类似于蛋白激酶 (BUBR1)mRNA,完全 cds(互补 DNA)(GenBank 登录号:AF046079);

Mad2:人 MAD2 蛋白的 mRNA(GenBank 登录号:AJ000186);

Mps1:人 TTK 蛋白激酶 (TTK),mRNA(GenBank 登录号:NM_003318);

Rac1/CDC42 的 GEFT:人 RAC/CDC42 交换因子 (GEFT),转录变体 2,mRNA(GenBank 登录号:NM_133483);

Bub1:人 BUB1(不受苯并咪唑 1 同系物抑制的芽殖)(酵母)(BUB1),mRNA(GenBank 登录号:NM_004336);

hSepharse:人额外纺锤体极样 1(酿酒酵母 (*S. cerevisiae*))(ESPL1),mRNA(GenBank 登录号:NM_012291);

CamKII δ :人钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 (CaM 激酶) II δ (CAMK2D),转录变体 3,mRNA(GenBank 登录号:NM_001221);

CDK6:人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 6(CDK6),mRNA(GenBank 登录号:NM_001259);

GRB2:人生长因子受体结合蛋白 2(GRB2),转录变体 1,mRNA(GenBank 登录号:NM_002086);

GAPDH:人 3-磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPD),mRNA(GenBank 登录号:NM_002046);和

RPS9:人 cDNA 克隆 IMAGE:6647283,部分 cds(GenBank 登录号:BC071941)。

28. 一种根据权利要求 21 所述的方法预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的试剂盒,其中该试剂盒包括带有可检测标记的抗体、带有可检测标记的抗体片段或带有可检测标记的寡核苷酸,该寡核苷酸含有能在严格条件下与选自如下的所述一种或一种以上遗传标记物杂交的核酸:

P21(Waf1):人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶抑制剂 1A(p21, Cip1)(CDKN1A),转录变体 1,mRNA(GenBank 登录号:NM_000389);

Pim-1:人 pim-1 癌基因 (PIM1),mRNA(GenBank 登录号:NM_002648);

GBP-1:人鸟苷酸结合蛋白 1,干扰素可诱导,67kDa(GBP1),mRNA(GenBank 登录号:NM_002053);

RXRA:人类类视黄醇 X 受体, α (RXRA),mRNA(GenBank 登录号:NM_002957);

SPF45:人 RNA 结合基序蛋白 17(RBM17),mRNA(GenBank 登录号:NM_032905);

Hec1:人动粒相关 2(KNTC2),mRNA(GenBank 登录号:NM_006101);

Raf1:人 raf 癌基因的 mRNA(GenBank 登录号:X03484);

Aurora A:人 aurora- 相关激酶 1(ARK1)mRNA,完全 cds(GenBank 登录号:AF008551);

TACC3:人转化、含酸性卷曲螺旋的蛋白 3(TACC3),mRNA(GenBank 登录号:NM_006342);

RelB :人 v-rel 网状内皮组织增生病毒癌基因同系物 B,B- 细胞 3(鸟类) 的 κ 轻多肽基因增强子的核因子 (RELB), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006509) ;

PRKCD :人蛋白激酶 C, δ (PRKCD), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号 :NM_006254) ;

BRAF35 :人高泳动族 20B (HMG20B), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006339) ;

HSPA1L :人热休克 70kDa 蛋白 1A (HSPA1A), mRNA (GenBank 登录号 :NM_005345) ;

STK11 :人丝氨酸 / 苏氨酸激酶 11(波 - 杰综合征) (STK11), mRNA (GenBank 登录号 :NM_000455) ;

MKK3 :人 MAP 激酶激酶 3 (MKK3) mRNA, 完全 cds (GenBank 登录号 :L36719) ;

GAPDH :人 3- 磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPD), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002046) ;和

RPS9 :人 cDNA 克隆 IMAGE :6647283, 部分 cds (GenBank 登录号 :BC071941)。

29. 一种根据权利要求 20 所述的方法预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的试剂盒, 其中该试剂盒包括以下手段 :

a) 从身体样品获取总 RNA ;

b) 将总 RNA 反转录以获得 cDNA ;以及

c) 使用一套引物对该 cDNA 进行聚合酶链式反应,

其中, 这套引物中的一个或两个具有可检测标记, 且两个引物均衍生自选自如下的一种或一种以上遗传标记物的核苷酸序列 :

BubR1 :人的类似于蛋白激酶 (BUBR1) mRNA, 完全 cds (互补 DNA) (GenBank 登录号 :AF046079) ;

Mad2 :人 MAD2 蛋白的 mRNA (GenBank 登录号 :AJ000186) ;

Mps1 :人 TTK 蛋白激酶 (TTK), mRNA (GenBank 登录号 :NM_003318) ;

Rac1/CDC42 的 GEFT :人 RAC/CDC42 交换因子 (GEFT), 转录变体 2, mRNA (GenBank 登录号 :NM_133483) ;

Bub1 :人 BUB1 (不受苯并咪唑 1 同系物抑制的芽殖) (酵母) (BUB1), mRNA (GenBank 登录号 :NM_004336) ;

hSepharse :人额外纺锤体极样 1 (酿酒酵母 (*S. cerevisiae*)) (ESPL1), mRNA (GenBank 登录号 :NM_012291) ;

CamKII δ :人钙 / 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 (CaM 激酶) II δ (CAMK2D), 转录变体 3, mRNA (GenBank 登录号 :NM_001221) ;

CDK6 :人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 6 (CDK6), mRNA (GenBank 登录号 :NM_001259) ;

GRB2 :人生长因子受体结合蛋白 2 (GRB2), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号 :NM_002086) ;

GAPDH :人 3- 磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPD), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002046) ;和

RPS9 :人 cDNA 克隆 IMAGE :6647283, 部分 cds (GenBank 登录号 :BC071941)。

30. 一种根据权利要求 19 所述的方法预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的试剂盒, 其中该试剂盒包括以下手段 :

a) 从身体样品获取总 RNA ;

b) 将总 RNA 反转录以获得 cDNA ;以及

c) 使用一套引物对该 cDNA 进行聚合酶链式反应,

其中,这套引物中的一个或两个具有可检测标记,且两个引物均衍生自选自如下的一种或一种以上遗传标记物的核苷酸序列:

P21(Waf1):人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶抑制剂 1A(p21, Cip1)(CDKN1A),转录变体 1, mRNA(GenBank 登录号:NM_000389);

Pim-1:人 pim-1 癌基因(PIM1), mRNA(GenBank 登录号:NM_002648);

GBP-1:人鸟苷酸结合蛋白 1, 干扰素可诱导, 67kDa(GBP1), mRNA(GenBank 登录号:NM_002053);

RXRA:人类类视黄醇 X 受体, α (RXRA), mRNA(GenBank 登录号:NM_002957);

SPF45:人 RNA 结合基序蛋白 17(RBM17), mRNA(GenBank 登录号:NM_032905);

Hec1:人动粒相关 2(KNTC2), mRNA(GenBank 登录号:NM_006101);

Raf1:人 raf 癌基因的 mRNA(GenBank 登录号:X03484);

Aurora A:人 aurora- 相关激酶 1(ARK1)mRNA, 完全 cds(GenBank 登录号:AF008551);

TACC3:人转化、含酸性卷曲螺旋的蛋白 3(TACC3), mRNA(GenBank 登录号:NM_006342);

RelB:人 v-rel 网状内皮组织增生病毒癌基因同系物 B, B- 细胞 3(鸟类)的 κ 轻多肽基因增强子的核因子(RELB), mRNA(GenBank 登录号:NM_006509);

PRKCD:人蛋白激酶 C, δ (PRKCD), 转录变体 1, mRNA(GenBank 登录号:NM_006254);

BRAF35:人高泳动族 20B(HMG20B), mRNA(GenBank 登录号:NM_006339);

HSPA1L:人热休克 70kDa 蛋白 1A(HSPA1A), mRNA(GenBank 登录号:NM_005345);

STK11:人丝氨酸/苏氨酸激酶 11(波-杰综合征)(STK11), mRNA(GenBank 登录号:NM_000455);

MKK3:人 MAP 激酶激酶 3(MKK3)mRNA, 完全 cds(GenBank 登录号:L36719);

GAPDH:人 3- 磷酸甘油醛脱氢酶(GAPD), mRNA(GenBank 登录号:NM_002046);和

RPS9:人 cDNA 克隆 IMAGE:6647283, 部分 cds(GenBank 登录号:BC071941)。

31. 权利要求 24-27 中任意一项所述的可检测标记, 其中该可检测标记选自酶、放射性同位素、或发荧光的化合物、化学发光分子、不透射线的物质、脂质体, 以及半抗原分子。

测量对多西他赛抗药性或敏感性的方法

[0001] 本申请为分案申请,原申请的申请日为2005年12月1日,申请号为200580041847.3(PCT/US2005/043578),发明名称为“测量对多西他赛抗药性或敏感性的方法”。

发明领域

[0002] 本发明涉及某些新颖、有效且在此之前是未知的方法,这些方法通过测量特定遗传标记物较对照物的增加或减少,可预测或监测患者对于紫杉醇类(taxoid)化合物分子的反应。本发明还提供了某些试剂盒,这些试剂盒通过测量特定遗传标记物的核酸或蛋白质水平并与对照物或参照标记物比较,可预测或监测患者对于紫杉醇类分子的反应。

[0003] 发明背景

[0004] 多西他赛(Docetaxel)是一种抗有丝分裂药物,广泛地用于乳癌、肺癌和卵巢癌的治疗,其次,还用于头颈部、胃部和前列腺的癌症治疗(Hong, Oncology 16:9,2002)。多西他赛通过与 β -微管蛋白结合以及阻止 α -和 β -微管蛋白异二聚体的分解来抑制微管动力学过程,从而终止肿瘤的生长(Ringel和Horwitz, J Natl Cancer Inst 83:288,1991)。多西他赛和一种相关紫杉烷(taxane)即泰素(paclitaxel)的抗肿瘤活性,起因于靶向有丝分裂纺锤体的微管,阻止染色体的排列和分离,阻止细胞周期进程并激活凋亡途径(Wang等, Cancer 88:2619,2000)。通过涉及p53/p21waf1/Cip1、raf/ras和有丝分裂原激活的蛋白激酶(MAPK)的细胞信号事件,泰素的促凋亡活性与Bcl-2的磷酸化和失活被联系起来(Wang等, Cancer 88:2619,2000)。虽然多西他赛是一种比泰素更有效的抗癌剂,但涉及其细胞毒性的途径却尚未很好地确定(Katsumata, Br J Cancer 89:S9,2003)。在所选择的细胞系中观察到了多西他赛通过一种涉及Bcl-2磷酸化和胱天蛋白酶-3(caspase-3)活化的机制所诱导的凋亡(Kolfschoten等, Biochem Pharmacol 63:733,2002)。在各种培养的细胞系内调节紫杉烷诱导的细胞杀伤作用的其它蛋白包括HeLa细胞内的Aurora-A(Anand等, Cancer Cell 13:51,2003)、乳腺癌细胞内的HER-2(Tanabe等, Int J Oncol 22:875,2003)、胶质母细胞瘤细胞内的p21waf1/Cip1(Li等, J Biol Chem 277:11352,2002)以及卵巢癌细胞内的JNK/MKK1(Lee等, J Biol Chem 273:28253,1998)。

[0005] 在本领域内存在着一种需要,即需要鉴别某些可诱导多西他赛抗药性的药用蛋白,这种抗药性使这些蛋白在药物开发过程中可用于鉴别那些可消除其活体内功能并能提高细胞对于抗肿瘤药物化疗敏感性的药剂(小分子、siRNA等)。在本领域内还需要一种测定方法,用于在化疗前可靠地预测哪些患者在接受基于多西他赛抗肿瘤药物的化疗之后会有起色,而哪些患者则不会。申请人在本文中描述了一种新颖的测定方法,该测定方法能预测对于多西他赛的抗药性和/或敏感性,并为能消除癌症抗药性的新疗法的发展提供了某些筛选方法。

[0006] 发明概述

[0007] 依照本发明提供了某些新颖和有效的方法,通过比较患者和对照物体体内特定遗传标记物的活化和/或表达的水平,监测和/或预测患者对紫杉醇类分子的反应。

[0008] 在一实施方案中,本发明提供了一种预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的方法,其包括以下步骤:

[0009] a) 从所述患者的癌症区域获得测试样品;

[0010] b) 获得对照样品;

[0011] c) 测量一种或一种以上遗传标记物的水平;以及

[0012] d) 在测试样品和对照样品之间比较所测量的所述一种或一种以上遗传标记物的水平;

[0013] 其中,与对照样品相比,在测试样品内所测量的所述一种或一种以上遗传标记物水平的下降表明对紫杉醇类分子抗药性的增强。

[0014] 在本发明该方面所提供的特定遗传标记物包括:

[0015] BubR1:人(Homo sapiens)的类似于蛋白激酶(BUBR1)mRNA,完全 cds(互补 DNA)(GenBank 登录号:AF046079);

[0016] Mad2:人MAD2蛋白的mRNA(GenBank 登录号:AJ000186);

[0017] Mps1:人TTK蛋白激酶(TTK),mRNA(GenBank 登录号:NM_003318);

[0018] Rac1/CDC42的GEFT:人RAC/CDC42交换因子(GEFT),转录变体2,mRNA(GenBank 登录号:NM_133483);

[0019] Bub1:人BUB1(不受苯并咪唑1同系物抑制的芽殖)(酵母)(BUB1),mRNA(GenBank 登录号:NM_004336);

[0020] hSeparase:人额外纺锤体极样1(酿酒酵母(S. cerevisiae))(ESPL1),mRNA(GenBank 登录号:NM_012291);

[0021] CamKII δ :人钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶(CaM激酶)II δ (CAMK2D),转录变体3,mRNA(GenBank 登录号:NM_001221);

[0022] CDK6:人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶6(CDK6),mRNA(GenBank 登录号:NM_001259);和

[0023] GRB2:人生长因子受体结合蛋白2(GRB2),转录变体1,mRNA(GenBank 登录号:NM_002086)。

[0024] 在另一实施方案中,本发明涉及一种预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的方法,其包括以下步骤:

[0025] a) 从所述患者的癌症区域获得测试样品;

[0026] b) 获得对照样品;

[0027] c) 测量一种或一种以上遗传标记物的水平;以及

[0028] d) 在测试样品和对照样品之间比较所测量的所述一种或一种以上遗传标记物的水平;

[0029] 其中,与对照样品相比,在测试样品内所测量的所述一种或一种以上遗传标记物水平的下降表明对紫杉醇类分子敏感性的增强。

[0030] 在本发明的这一具体方面,一种或一种以上遗传标记物可选自:

[0031] P21(Waf1):人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶抑制剂1A(p21, Cip1)(CDKN1A),转录变体1,mRNA(GenBank 登录号:NM_000389);

[0032] Pim-1:人pim-1癌基因(PIM1),mRNA(GenBank 登录号:NM_002648);

- [0033] GBP-1 :人鸟苷酸结合蛋白 1,干扰素可诱导,67kDa (GBP1), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002053) ;
- [0034] RXRA :人类类视黄醇 X 受体, α (RXRA), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002957) ;
- [0035] SPF45 :人 RNA 结合基序蛋白 17 (RBM17), mRNA (GenBank 登录号 :NM_032905) ;
- [0036] Hec1 :人动粒相关 2 (KNTC2), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006101) ;
- [0037] Raf1 :人 raf 癌基因的 mRNA (GenBank 登录号 :X03484) ;Aurora A :人 aurora- 相关激酶 1 (ARK1) mRNA, 完全 cds (GenBank 登录号 :AF008551) ;
- [0038] TACC3 :人转化、含酸性卷曲螺旋的蛋白 3 (TACC3), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006342) ;
- [0039] RelB :人 ν -rel 网状内皮组织增生病毒癌基因同系物 B, B- 细胞 3 (鸟类) 的 κ 轻多肽基因增强子的核因子 (RELB), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006509) ;
- [0040] PRKCD :人蛋白激酶 C, δ (PRKCD), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号 :NM_006254) ;
- [0041] BRAF35 :人高泳动族 20B (HMG20B), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006339) ;
- [0042] HSPA1L :人热休克 70kDa 蛋白 1A (HSPA1A), mRNA (GenBank 登录号 :NM_005345) ;
- [0043] STK11 :人丝氨酸 / 苏氨酸激酶 11 (波 - 杰综合征) (STK11), mRNA (GenBank 登录号 :NM_000455) ;和
- [0044] MKK3 :人 MAP 激酶激酶 3 (MKK3) mRNA, 完全 cds (GenBank 登录号 :L36719) 。
- [0045] 在一更进一步的实施方案中, 本发明涉及一种预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的方法, 其包括以下步骤 :
- [0046] a) 从所述患者的癌症区域获得测试样品 ;
- [0047] b) 测量选自以下一种或一种以上遗传标记物的水平 :
- [0048] BubR1 :人的类似于蛋白激酶 (BUBR1) mRNA, 完全 cds (互补 DNA) (GenBank 登录号 :AF046079) ;
- [0049] Mad2 :人 MAD2 蛋白的 mRNA (GenBank 登录号 :AJ000186) ;
- [0050] Mps1 :人 TTK 蛋白激酶 (TTK), mRNA (GenBank 登录号 :NM_003318) ;
- [0051] Rac1/CDC42 的 GEFT :人 RAC/CDC42 交换因子 (GEFT), 转录变体 2, mRNA (GenBank 登录号 :NM_133483) ;
- [0052] Bub1 :人 BUB1 (不受苯并咪唑 1 同系物抑制的芽殖) (酵母) (BUB1), mRNA (GenBank 登录号 :NM_004336) ;
- [0053] hSepharase :人额外纺锤体极样 1 (酿酒酵母 (*S. cerevisiae*)) (ESPL1), mRNA (GenBank 登录号 :NM_012291) ;
- [0054] CamKII δ :人钙 / 钙调蛋白依赖性蛋白激酶 (CaM 激酶) II δ (CAMK2D), 转录变体 3, mRNA (GenBank 登录号 :NM_001221) ;
- [0055] CDK6 :人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 6 (CDK6), mRNA (GenBank 登录号 :NM_001259) ;和
- [0056] GRB2 :人生长因子受体结合蛋白 2 (GRB2), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号 :NM_002086) 。
- [0057] c) 测量选自以下一种或一种以上参照遗传标记物的水平 :GAPDH :人 3- 磷酸甘油

醛脱氢酶 (GAPD), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002046) ;和

[0058] RPS9 :人 cDNA 克隆 IMAGE :6647283, 部分 cds (GenBank 登录号 :BC071941) ;

[0059] d) 比较测试样品中所测量的所述一种或一种以上遗传标记物的水平和所述一种或一种以上参照遗传标记物的水平 ;

[0060] 其中,与所述一种或一种以上参照遗传标记物的水平相比,在所述一种或一种以上遗传标记物水平的下降表明对紫杉醇类分子抗药性的增强。

[0061] 本发明的另一个进一步的实施方案涉及一种预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的方法,其包括以下步骤 :

[0062] a) 从所述患者的癌症区域获得测试样品 ;

[0063] b) 测量选自以下一种或一种以上遗传标记物的水平 :

[0064] P21 (Waf1) :人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶抑制剂 1A (p21, Cip1) (CDKN1A), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号 :NM_000389) ;

[0065] Pim-1 :人 pim-1 癌基因 (PIM1), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002648) ;

[0066] GBP-1 :人鸟苷酸结合蛋白 1, 干扰素可诱导, 67kDa (GBP1), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002053) ;

[0067] RXRA :人类类视黄醇 X 受体, α (RXRA), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002957) ;

[0068] SPF45 :人 RNA 结合基序蛋白 17 (RBM17), mRNA (GenBank 登录号 :NM_032905) ;

[0069] Hec1 :人动粒相关 2 (KNTC2), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006101) ;

[0070] Raf1 :人 raf 癌基因的 mRNA (GenBank 登录号 :X03484) ;

[0071] Aurora A :人 aurora- 相关激酶 1 (ARK1) mRNA, 完全 cds (GenBank 登录号 :AF008551) ;

[0072] TACC3 :人转化、含酸性卷曲螺旋的蛋白 3 (TACC3), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006342) ;

[0073] RelB :人 v-rel 网状内皮组织增生病毒癌基因同系物 B, B- 细胞 3 (鸟类) 的 κ 轻多肽基因增强子的核因子 (RELB), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006509) ;

[0074] PRKCD :人蛋白激酶 C, δ (PRKCD), 转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号 :NM_006254) ;

[0075] BRAF35 :人高泳动族 20B (HMG20B), mRNA (GenBank 登录号 :NM_006339) ;

[0076] HSPA1L :人热休克 70kDa 蛋白 1A (HSPA1A), mRNA (GenBank 登录号 :NM_005345) ;

[0077] STK11 :人丝氨酸 / 苏氨酸激酶 11 (波 - 杰综合征) (STK11), mRNA (GenBank 登录号 :NM_000455) ;和

[0078] MKK3 :人 MAP 激酶激酶 3 (MKK3) mRNA, 完全 cds (GenBank 登录号 :L36719) 。

[0079] c) 测量选自以下一种或一种以上参照遗传标记物的水平 :

[0080] GAPDH :人 3- 磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPD), mRNA (GenBank 登录号 :NM_002046) ;和

[0081] RPS9 :人 cDNA 克隆 IMAGE :6647283, 部分 cds (GenBank 登录号 :BC071941) ;

[0082] d) 比较测试样品中所测量的所述一种或一种以上遗传标记物的水平和所述一种或一种以上参照遗传标记物的水平 ;

[0083] 其中,与所述一种或一种以上参照遗传标记物的水平相比,所述一种或一种以上遗传标记物水平的下降表明对紫杉醇类分子易感性的增强。

[0084] 本发明涉及预测或监测癌症患者对紫杉醇类分子的反应的各种方法。因此,本发明的一个进一步的实施方案包括紫杉醇类分子泰素、多西他赛 XRP9881 和 XRP6258。

[0085] 通过采用下文中详述的各种技术来测量 RNA、DNA 或蛋白质的水平,可评估本发明所述的各种遗传标记物。本发明的另一些实施方案则涉及用于预测或监测患者对紫杉醇类分子的反应的各种试剂盒。

[0086] 通过以下结合附图所作的详细说明,对本发明的上述方面和其它方面、特点和优点将能更好地理解。

[0087] 附图简述

[0088] 图 1 显示了某些基因的特性,它们的下调可产生对多西他赛的抗药性。所显示的多西他赛剂量效应曲线为用 RB1、BubR1、Mad2 和 Mps1 siRNA (实心正方形) 与对照 siRNA (空心正方形) 转染的 HCT116 细胞相比的情况。RB1 是在筛选中没有得分的 siRNA 的一个实例。在加入 WST-1 之后于 450nm 吸收度条件下测量细胞存活率。最小比率 (MR) 是多西他赛剂量为 40nM 时基因的 WST-1 值与对照物 WST-1 值的比率。

[0089] 图 2 显示了将 BubR1 和 Mps1 shRNA (实心正方形) 与对照 shRNA (空心正方形) 比较的剂量效应曲线。

[0090] 图 3 显示了在分别含有 BubR1 shRNA 和 Mps1 shRNA 的细胞内,对 BubR1 shRNA 和 Mps1 mRNA 水平进行的 TaqMan 实时 PCR 分析。

[0091] 图 4 分别显示了在使用或不使用多西他赛处理的情况下,用 Mad2、BubR1 和 Mps1 siRNA 转染的 HCT116 细胞的细胞存活率和形态学。在转染后 24 小时,对细胞不加处理 (-多西他塞) 或以 200nM 多西他赛处理 (+多西他塞),并在处理后 16 和 72 小时以钙荧光素-AM 染色以显现活细胞。

[0092] 图 5 显示了用 Mad2、BubR1、Mps1 和对照 siRNA 转染的 HCT116 细胞继多西他赛处理之后的有丝分裂指数。转染后 24 小时细胞以 200nM 多西他赛处理 16 小时和 72 小时并加以进一步处理。以磷酸化的组蛋白 H3 抗体检测有丝分裂细胞,此处显示为染色细胞核的红色斑点 (有丝分裂指数试剂盒, Cellomics)。用 Hoechst 染料将细胞核染成蓝色。

[0093] 图 6 显示了在分别用 Mps1、BubR1 和 Mad2 siRNA 转染的 HCT116 细胞内,对 Mps1、BubR1 和 Mad2 mRNA 水平进行的 TaqMan 实时 PCR 分析。

[0094] 图 7 显示了用三种有丝分裂检查点基因 siRNA 转染的 HCT116 细胞的细胞周期分析。在用 Mps1、BubR1 和 Mad2 siRNA 转染之后,未用多西他赛 (-多西他赛) 处理细胞或以 200nM 多西他赛 (+多西他赛) 处理 24 小时。在加入多西他赛后 72 小时,收获细胞并分析细胞周期。峰顶的数字表示 DNA 含量,例如 2N、4N、8N、16N 或 32N。

[0095] 图 8 显示了使用稳定敲低细胞系进行的产克隆细胞存活分析。将含有 BubR1 或载体对照 shRNA 的 HCT116 细胞接种在 10cm 培养皿中并在 5nM 多西他赛中保持 10 天。用 PBS 洗涤克隆并以结晶紫染色。

[0096] 图 9 显示了几种基因的剂量效应曲线,这些基因的下调能增加对多西他赛的敏感性。所显示的多西他赛剂量效应曲线为用 RB1、Pim-1、p21、Aurora A 和 TACC3 siRNA (实心正方形) 与对照 siRNA (空心正方形) 转染的 HCT116 细胞相比的情况。最小比率 (MR) 是多西他赛浓度为 40nM 时基因的 WST-1 读数与对照物 WST-1 读数的比率。IC50 (IR) 比率是基因的 IC50 与对照物 IC50 的比率。

[0097] 图 10 显示了 Aurora A shRNA(实心正方形)与载体对照物(空心正方形)比较的剂量效应曲线。

[0098] 图 11 显示了在含有 Aurora A shRNA 的细胞内,对 Aurora A mRNA 水平的 TaqMan 实时 PCR 分析。

[0099] 图 12 显示了用 Pim-1 和 TACC3siRNA(实心正方形)与对照 siRNA(空心正方形)转染的 HCT116 细胞比较在增殖方面的区别。也就是在用 Pim-1、TACC3 和对照 siRNA 转染后的不同时刻,在 6 孔培养板内剩下的细胞数量。

[0100] 图 13 显示了在 siRNA 转染后对 Pim-1 和 TACC3mRNA 水平进行的 TaqMan 分析。

[0101] 图 14 显示了在用 Pim-1 和 BubR1 siRNA 转染的 HCT116 细胞内活性胱天蛋白酶-3 的水平。使用活性胱天蛋白酶-3 beadmates 试剂盒(Upstate),活性胱天蛋白酶-3 的水平显示为荧光强度。检查了 3 种多西他赛的浓度(即 0、5 和 40nM)以及 3 个时刻(即加入多西他赛后 24、48 和 72 小时)的情况。

[0102] 图 15 显示了用 Pim-1 和 BubR1 siRNA 转染的 HCT116 细胞内 AKT 的磷酸化水平。磷酸化 AKT 和总 AKT 水平的比率是用基于珠的测定法(bead-based assay)(Biosource)确定的。转染后 24 小时,对细胞不加处理或以 5nM 和 40nM 多西他赛处理。在多西他赛处理后 48 小时,分析细胞裂解物。计算磷酸化水平,并以磷酸化 AKT(p-AKT)与总 AKT(t-AKT)的比率表示。

[0103] 图 16 以 Western 印迹法结果显示转染后 48 小时 Pim-1 和 BubR1 的水平下降。

[0104] 发明详述

[0105] 本发明以申请者对基因标记物的鉴定为充分依据,该基因标记物可预测受试者对紫杉醇(taxoid)类药物是否具有抗性或敏感性。采用以细胞为基础的 RNA 干扰(RNAi)筛选,申请者观察到对多西他赛的抗药性或敏感性与特定基因标记物相关。

[0106] 本专利说明及专利权要求中使用了许多术语及短语。这些术语及短语的定义如下:

[0107] 在本文中,“预后”这个术语,是指关于因癌症而引起的死亡或疾病进程的预测或可能性,其中包括抗药性以及复发、转移扩散和赘生性疾病。

[0108] 在本文中,“预测”这个术语,是指患者对一种药物或一组药物反应良好或不良的可能性以及这些反应的程度,例如,患者于手术摘除原发性肿瘤后及/或化疗一段时间后是否能存活而无癌症复发。本发明所预见的预测方法可在临床上使用,通过为任何特定患者选择最合适的治疗方法,尤其是紫杉醇类药物的化疗方法,而做出治疗决定。本发明的各种预测方法对预测患者对某种治疗法(包括采用一种给定药物或药物组合的化疗及/或放射治疗)是否反应良好,或在停止化疗或其它形式的治疗后能否长期存活颇有价值。

[0109] 在本文中,“肿瘤”这个术语是指所有良性及恶性的赘生细胞生长和增殖,并指所有的癌前和癌性细胞与组织。

[0110] 在本文中,“癌”和“癌性”是指哺乳动物的某种生理病状,其典型特征为无节制的细胞生长。癌症的例子包括但不限于以下各种癌症:乳腺癌、结肠癌、肺癌、前列腺癌、肝细胞癌、胃癌、胰腺癌、宫颈癌、卵巢癌、肝癌、膀胱癌、尿道癌、癌、黑素瘤、脑癌(包括成胶质细胞瘤和成神经管细胞瘤)、胆道癌、绒膜癌、食道癌、胃癌、血液肿瘤(包括急性淋巴细胞性和髓性白血病)、多发性骨髓瘤、爱滋病相关白血病和成人 T- 细胞白血病淋巴瘤、上皮内

肿瘤（包括鲍恩病和佩吉特病）、淋巴瘤（包括何杰金氏病和淋巴细胞性淋巴瘤）、成神经细胞瘤、口腔癌（包括鳞状细胞癌）、肉瘤（包括平滑肌肉瘤、横纹肌肉瘤、脂肪肉瘤、纤维肉瘤和骨肉瘤）、皮肤癌（包括黑素瘤、卡波西肉瘤、基底细胞性癌和鳞状细胞癌）、睾丸癌（包括胚组织瘤如精原细胞瘤、非精原细胞瘤（畸胎瘤、绒膜癌）、间质瘤以及生殖细胞肿瘤）、甲状腺癌（包括甲状腺腺癌和髓样癌）、肾癌（包括腺癌和维尔姆斯瘤）。

[0111] 在本文中，“患者”这个术语主要是指人，但也可包括非人类灵长类动物、牛、马、猪、绵羊、山羊、狗、猫和啮齿类动物。优选地，受试者是人，其疑似患有癌症，或已确诊患有癌症，或属于患癌高危人群，例如有家族癌症史。在本发明的优选实施方案中，癌为乳腺癌。鉴定疑似患有癌症的受试者的方法包括手检、活组织检查、受试者家族病史、受试者病史或若干成像技术，包括乳房 X 线照相、磁共振成像、磁共振波谱或正电子发射断层扫描。癌症的诊断方法和癌症诊断的临床特性为医疗领域技术人员所熟知。

[0112] 在本文中，“样品”这个术语是指采用相关医疗领域内普通技术人员熟知的方法所取得的组织。活组织检查等各种方法包括分割组织块、显微解剖、以激光为基础的显微解剖或本领域内熟知的其它细胞分离方法。由于病变组织活检材料中细胞类型的可变性和所用诊断方法灵敏度的可变性，分析所需样品的细胞数量可从 1、10、50、100、200、300、500、1000、5000、10,000 至 50,000 或更多不等。合适的样品大小取决于细胞组成和活检状况，确定细胞组成和活检状况时的标准制备步骤及其后在本发明中所采用的核酸分离方法为本领域内普通技术人员所熟知。例如，取自活检的样品可能足以评价 RNA 表达而无需扩增。反之，若小型活检区域中细胞数量未达合适的数量，则需要采用 RNA 转换方法和 / 或扩增方法，或采用其它提高核酸分子分辨率的方法。所述的允许采用有限活检材料的方法为本领域内普通技术人员所熟知。一些例子包括但不限于直接 RNA 扩增、RNA 反转录为 cDNA、cDNA 扩增或生成放射性标记核酸分子。

[0113] 在本文中，关于样品的术语“测试”是指取自身体癌变区域的样品，或取自显示某阶段癌变或癌变特征的身体区域的样品。

[0114] 在本文中，关于样品的术语“对照”是指用于比较目的的样品。优选地，这些样品为“对照”意思是指该样品未显示或据信未患有影响基因表达的疾病或病症，在以这些样品作为标准的疾病方面尤其如此。也可以这样认为：疾病和病症的不同阶段可以加以比较，在此情况下，“对照”样品相当于该疾病或病症的较早阶段。例如，对照样品可以是取自身体上非癌变但可比较部位的样品。此外，对照样品可取自同一个受试者的可比较部位，或与该第一个受试者实质上相似的第二个受试者（物种、年龄、体重、性别等相同或相似）的非癌变部位。最后，对照样品亦可取自对紫杉醇类分子治疗产生良好反应的第二个受试者的癌变部位。

[0115] “核酸分子”是指核苷（腺嘌呤核苷、鸟嘌呤核苷、尿嘧啶核苷或胞嘧啶核苷；“RNA 分子”）或脱氧核苷（腺嘌呤脱氧核苷、鸟嘌呤脱氧核苷、胸腺嘧啶脱氧核苷或胞嘧啶脱氧核苷；“DNA 分子”）的磷酸酯聚合体形式或其磷酸酯类似物（例如硫代磷酸酯和硫酯），可为单链形式或双链螺旋形式。也可能是双链 DNA-DNA、DNA-RNA 和 RNA-RNA 螺旋。核酸分子（特别是 DNA 或 RNA 分子）这个术语仅指该分子的一级和二级结构，并不限于任何特定的三级结构。因此该术语包括双链 DNA 分子，其形式可为直链或环形 DNA 分子（如限制片段）、质粒和染色体。在讨论特定双链 DNA 分子的结构时，可根据仅给出顺着 5' 端至 3' 端

的方向沿着非转录 DNA 链（即含有与 mRNA 同源序列的链）的序列的惯例来描述序列。“重组 DNA 分子”是指已经过分子生物学操作的 DNA 分子。

[0116] 在本文中,为特定蛋白质编码的、分离的核酸分子的“部分”这个术语,是指包含编码肽或多肽的足够数量相邻核苷酸的分离核酸分子的部分或片段。自然,分离核酸分子的一个“部分”不止一个核苷酸,而由这个部分编码的肽或多肽含有许多氨基酸残基,如下文肽和多肽的定义所述。

[0117] 在本文中,“肽”这个术语,是指由肽键共价连接的两个或两个以上氨基酸。在一特定实施方案中,一个肽包含至少 10 个氨基酸,优选至少 20 个、更优选至少 30 个、甚至更优选至少 40 个、最优选 50 个或更多氨基酸。

[0118] 在本文中,“多肽”这个术语,是指由多个相邻氨基酸组成的直链聚合物,特别是多肽的分子量可高于 100kD。

[0119] 在本文中,“遗传标记物”这个术语,是指一生理组成成分,可用其在样品中测定的 RNA、DNA 或蛋白质水平来预测所测试受试者对紫杉醇类药物是否有抗性或敏感性。此外,遗传标记物可编码特定蛋白质,也可用作其活性与身体样品中遗传标记物的水平相关的蛋白质的“替代”标记物。该相关性可以是正比关系,即蛋白质活性水平的下降对应于遗传标记物水平的下降。或者,该相关性也可以是反比关系,即蛋白质活性水平的下降对应于遗传标记物水平的上升。这种生理组成成分包括（但当然不限于）细胞（例如其前体干细胞 (progenitor stem cell)）蛋白质、多肽、DNA、RNA、碳水化合物或脂肪酸,在此仅举数例。在本发明的一个特定实施方案中,根据已测定的基因标记物水平,可预测受试者对紫杉醇类药物是否有抗性或敏感性。此类遗传标记物的例子包括但不限于下列各项:

[0120] BubR1:人的类似于蛋白激酶 (BUBR1)mRNA,完全 cds (互补 DNA) (GenBank 登录号: AF046079);

[0121] Mad2:人 MAD2 蛋白的 mRNA (GenBank 登录号:AJ000186);

[0122] Mps1:人 TTK 蛋白激酶 (TTK), mRNA (GenBank 登录号:NM_003318);

[0123] Rac1/CDC42 的 GEFT:人 RAC/CDC42 交换因子 (GEFT),转录变体 2, mRNA (GenBank 登录号:NM_133483);

[0124] Bub1:人 BUB1 (不受苯并咪唑 1 同系物抑制的芽殖) (酵母) (BUB1), mRNA (GenBank 登录号:NM_004336);

[0125] hSeparase:人额外纺锤体极样 1 (酿酒酵母 (*S. cerevisiae*)) (ESPL1), mRNA (GenBank 登录号:NM_012291);

[0126] CamKII δ :人钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶 (CaM 激酶) II δ (CAMK2D),转录变体 3, mRNA (GenBank 登录号:NM_001221);

[0127] CDK6:人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶 6 (CDK6), mRNA (GenBank 登录号: NM_001259);和

[0128] GRB2:人生长因子受体结合蛋白 2 (GRB2),转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号: NM_002086)。

[0129] P21 (Waf1):人细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶抑制剂 1A (p21, Cip1) (CDKN1A),转录变体 1, mRNA (GenBank 登录号:NM_000389);

[0130] Pim-1:人 pim-1 癌基因 (PIM1), mRNA (GenBank 登录号:NM_002648);

[0131] GBP-1:人鸟苷酸结合蛋白 1,干扰素可诱导,67kDa(GBP1),mRNA(GenBank 登录号:NM_002053);

[0132] RXRA:人类类视黄醇 X 受体, α (RXRA),mRNA(GenBank 登录号:NM_002957);

[0133] SPF45:人 RNA 结合基序蛋白 17(RBM17),mRNA(GenBank 登录号:NM_032905);

[0134] Hec1:人动粒相关 2(KNTC2),mRNA(GenBank 登录号:NM_006101);

[0135] Raf1:人 raf 癌基因的 mRNA(GenBank 登录号:X03484);

[0136] Aurora A:人 aurora- 相关激酶 1(ARK1)mRNA,完全 cds(GenBank 登录号:AF008551);

[0137] TACC3:人转化、含酸性卷曲螺旋的蛋白 3(TACC3),mRNA(GenBank 登录号:NM_006342);

[0138] RelB:人 ν -rel 网状内皮组织增生病毒癌基因同系物 B,B- 细胞 3(鸟类)的 κ 轻多肽基因增强子的核因子 (RELB),mRNA(GenBank 登录号:NM_006509);

[0139] PRKCD:人蛋白激酶 C, δ (PRKCD),转录变体 1,mRNA(GenBank 登录号:NM_006254);

[0140] BRAF35:人高泳动族 20B(HMG20B),mRNA(GenBank 登录号:NM_006339);

[0141] HSPA1L:人热休克 70kDa 蛋白 1A(HSPA1A),mRNA(GenBank 登录号:NM_005345);

[0142] STK11:人丝氨酸 / 苏氨酸激酶 11(波 - 杰综合征)(STK11),mRNA(GenBank 登录号:NM_000455);和

[0143] MKK3:人 MAP 激酶激酶 3(MKK3)mRNA,完全 cds(GenBank 登录号:L36719)。

[0144] 在本文中,“参照遗传标记物”这个术语,是指所测定的 RNA、DNA 或蛋白质水平在服用紫杉醇类药物之前、期间或之后保持不变的生理组成成分。“参照遗传标记物”被称为持家基因。这些基因的选择基于在诸如癌症之类特定疾病的被检验系统中表达水平相对不变。持家基因用于使表达的结果归一化。此类遗传标记物的例子包括但当然不限于以下两项:

[0145] GAPDH:人 3- 磷酸甘油醛脱氢酶 (GAPD),mRNA(GenBank 登录号:NM_002046);和

[0146] RPS9:人 cDNA 克隆 IMAGE:6647283,部分 cds(GenBank 登录号:BC071941);

[0147] 在本文中,“紫杉醇类分子”这个术语,是指属于紫杉烷族的一类化疗化合物。紫杉醇类的具体成员包括但不限于泰素(紫杉醇)、多西他赛(泰索帝)及其类似物(即 XRP9881 和 XRP6258;参见 Ojima 和 Gemey, Curr Opin Investig Drugs 4:737,2004)。由于此类分子为 β - 微管蛋白结合物,可稳定类似于多西他赛的聚合形式的微管,因此可以预期,此处所描述的生物标记物的临床表达将反映对这些药物的类似反应状况。

[0148] 在本文中,“分子”、“化合物”或“药剂”等术语,是指现在已知或以后发现的任何组合物。本专利中应用的化合物或药剂的例子包括有机化合物(例如人造的、天然的和光活性化合物)、肽(例如人造的、天然的和光活性化合物,即 D 型或 L 型氨基酸)、碳水化合物、核酸分子等。

[0149] 在本文中,“杂交严格度”或“严格条件下的杂交”,是指本领域内普通技术人员能够轻易判定的条件,通常是一种取决于探针长度、洗涤温度和盐浓度的经验性计算。通常,较长的探针需要较高的温度,以便进行适当的退火,而较短的探针需要较低的温度。杂交通常取决于当互补链处于低于其解链温度的环境时变性 DNA 的重退火能力。探针与可杂交

序列之间同源性程度越高,所能采用的相对温度越高。于是,较高的相对温度往往使反应条件更严格,而在较低的温度下,则严格度较低。关于杂交反应严格度的进一步细节和解释,可参阅 Ausubel 等, *Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley Interscience Publishers, (1995)。

[0150] 在本文中,“严格条件”或“高度严格条件”是指下列参数:(1) 洗涤时采用低离子强度和高温,例如 50℃ 下的 0.015M 氯化钠/0.0015M 柠檬酸钠/0.1% 十二烷基硫酸钠;(2) 杂交时采用甲酰胺等变性剂,例如 42℃ 下 50% (v/v) 甲酰胺加 0.1% 牛血清白蛋白/0.1% Ficoll/0.1% 聚乙烯吡咯烷酮/pH 6.5 的 50mM 磷酸钠缓冲液以及 750mM 氯化钠、75mM 柠檬酸钠;或(3) 在 42℃ 下过夜杂交,杂交溶液含 50% 甲酰胺,5x SSC (0.75M 氯化钠,0.075M 柠檬酸钠)、50mM 磷酸钠 (pH 6.8)、0.1% 焦磷酸钠、5x Denhardt's 溶液、超声波处理的鲑鱼精子 DNA (50. μ g/ml)、0.1% SDS 和 10% 硫酸葡聚糖,然后在 0.2x SSC (氯化钠/柠檬酸钠) 中于 42℃ 洗涤 10 分钟,再以含有 EDTA 的 0.1x SSC 于 55℃ 进行高严格度洗涤。适度严格条件可按 Sambrook 等, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, New York: Cold Spring Harbor Press, 1989 中的描述加以鉴定,该适度严格条件包括采用严格度低于以上描述的洗涤溶液和杂交条件(如温度、离子强度和 SDS 百分比)。适度严格条件的一个例子为 37℃ 下在一溶液中进行过夜杂交,该溶液含 20% 甲酰胺、5x SSC (150mM 氯化钠、15mM 柠檬酸三钠)、50mM 磷酸钠 (pH 7.6)、5x Denhardt's 溶液、10% 硫酸葡聚糖、和 20mg/ml 变性的片段化鲑鱼精子 DNA,然后于 37-50℃ 在 1x SSC 中洗涤滤膜。专业人员将会根据探针长度等因素调节温度、离子强度等。杂交核酸时的适当严格度取决于核酸分子长度和互补程度,以及其它本领域内众所周知的变量。两个核苷酸序列之间的相似性或同源性越大,则含有这些序列的核酸杂合体的 T_m 越大。核酸杂交的相对稳定性(对应于较高的 T_m) 以下列顺序递减: RNA:RNA、DNA:RNA、DNA:DNA。优选地,可杂交核酸的最低长度至少约为 12 个核苷酸,优选至少约为 16 个、更优选至少约为 24 个、最优选至少约为 36 个核苷酸。

[0151] 在本文中,“标记”或“可检测标记”是指一种带有可检测标记的化合物或组合物,它直接或间接与一种抗体、寡肽或其它有机分子缀合,而生成“标记的”抗体、寡肽或其它有机分子。该标记本身可被检测到(如放射性同位素标记或荧光标记),或者,如果该标记为酶标记,则可催化可检测的底物化合物或组合物的化学改变。

[0152] 在本文中,“直接标记”是指在其自然状态下轻易可见的物体,可为肉眼所见,或借助于滤光器和/或使用刺激(如以紫外光激发荧光)的情况下可见。其例子包括但不限于加色标记、金属溶胶颗粒、染料溶胶颗粒、染色乳胶或染料包封脂质体(见第 4,313,734 号美国专利、第 4,373,932 号美国专利、WO 88/08534、EP-A 0 280 559、0 281 327、第 4,703,017 号美国专利所描述)。其它的直接标记包括放射性核苷酸、不透射线物、荧光部分或发光部分。

[0153] 在本文中,“间接标记”是指可依照本发明加以使用的酶。与免疫测定相关的各种类型的酶为本领域内所熟知,例如,碱性磷酸酶和辣根过氧化物酶、溶菌酶、6-磷酸葡萄糖脱氢酶、乳酸脱氢酶和尿素酶, Eva Engvall 在 *Enzyme Immunoassay ELISA and EMIT* 一文 (*Methods in Enzymology*, 70:419-439 (1980)) 和第 4,857,453 号美国专利中详细地讨论了这些酶以及其它一些酶。

[0154] 在本文中,“试剂盒”这个术语是指包含一个或多个容器以及在容器上或者与容器

相关的标签 (label) 或说明书 (package insert) 的一种产品。在一优选实施方案中, 此类容器可包含带有可检测标记的抗体、带有可检测标记的抗体片段、或带有可检测标记的寡核苷酸。在另一实施方案中, 此类容器提供各种手段, 以便从身体样品获得总 RNA, 将总 RNA 反转录以获得 cDNA, 以及使用一套引物对 cDNA 进行聚合酶链式反应, 这套引物中的一个或两个均具有可检测标记。试剂盒可包括其它容器, 这些容器包含诸如稀释液和缓冲剂、对照抗体、寡肽、或小的有机分子。该标签或说明书可提供组成成分的描述, 以及关于贮藏和旨在体外使用或诊断使用的说明。

[0155] 再则, 按照本发明, 可运用本领域的常规分子生物学、微生物学和重组 DNA 技术。这些技术在文献中得到充分解释。参见: Sambrook, Fritsch 和 Maniatis, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第二版 (1989), Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (本文简称“Sambrook 等, 1989”); DNA Cloning: A Practical Approach, Volumes I 和 II (D. N. Glover 编, 1985); Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait 编, 1984); Nucleic Acid Hybridization [B. D. Hames 和 S. J. Higgins 编 (1985)]; Transcription And Translation [B. D. Hames 和 S. J. Higgins 编 (1984)]; Animal Cell Culture [R. I. Freshney 编 (1986)]; Immobilized Cells And Enzymes [IRL Press, (1986)]; B. Perbal, *A Practical Guide To Molecular Cloning* (1984); F. M. Ausubel 等编, *Current Protocols in Molecular Biology*, John Wiley & Sons, Inc. (1994)。

[0156] 通常, RNAi 技术使用合成的或载体生成的双链 RNA 以诱导含有同源序列的 mRNA 的降解 (McManus 和 Sharp, *Nat Rev genet* 3:737, 2002)。RNAi 筛选已被用来阐明许多生物体中的基因功能, 例如线虫 (*Caenorhabditis elegans*) (Simmer 等, *PLoS Biol* 1:E12, 2003), 果蝇 (Lum 等, *Science* 299:2039, 2003) 和哺乳动物细胞 (Aza-Blanc 等, *Mol Cell* 12:627, 2003)。

[0157] 在本发明中, 使用 HCT116 结肠癌细胞针对 101 种与癌相关的基因 (大多数为激酶族成员) 筛选 siRNA, 并以高分辨率的剂量-效应曲线量化多西他赛的杀伤作用。采用此方法, 申请者已经证明 9 个基因 (包括 BubR1、Bub1、Mad2、Mps1 和 GEFTRac/CDC) 的低水平表达可抑制多西他赛的杀伤作用, 而降低 15 个其它基因 (包括 Pim1、p21、TACC3 和 Aurora-A) 的表达可加强多西他赛所诱导的细胞死亡。

[0158] 因此, 本发明广泛扩展至某些诊断方法和试剂盒, 可将这些诊断方法和试剂盒用于鉴定正在服用多西他赛或考虑服用该药物的个体对该药物是否会有抗性 or 敏感性。

[0159] 申请者已经观察到对多西他赛的抗药性, 抗药性与丧失一组广泛的检查点控制基因相关, 这些基因包括 BubR1、Bub1、Mad2、Mps1 和 GEFTRac/CD。

[0160] 对多西他赛的敏感性增加与若干基因之一的丧失有关, 这些基因包括 GBP-1、STK11、RXRA、Hec1、SPF45、Raf1、RELB、MKK3、PRKCD、HSPA1A、BRAF35、Aurora-A、Pim-1、TACC3 和 p21waf1/Cip1, 抑制这些基因的抑制剂可在多西他赛疗法中用作有价值的辅助药。

[0161] 有丝分裂的检查点基因可通过抑制 Cdc20-APC (后期促进复合物) 作为延迟细胞分裂后期的可靠机制, 直至姊妹染色单体的动粒正确附着于有丝分裂纺锤体上, 并在赤道板上排列 (Zhou 等, *J Cell Sci* 115:3547, 2002), 从而使细胞可靠地退出有丝分裂, 并以精确的 DNA 互补进入另外的细胞周期。如有微管抑制剂存在, 退出有丝分裂的细胞不再能正

确分离其染色体,通常立即凋亡或在若干细胞周期后凋亡(Taylor 和 McKeon, Cell 89 :727, 1997)。微管抑制剂与有丝分裂检查点基因(如 BubR1)丧失这两种因素的结合可使细胞避免有丝分裂阻滞,而不经历细胞凋亡,从而导致染色体不稳定性(CIN)和非整倍性(Shin 等, Cancer Cell 4 :483, 2003)。近来,在将微管抑制剂泰素用于处理其 BubR1 和 Mad2 下调的 MCF-7 细胞时,产生了抗药性资料(Sudo 等, Cancer Res 64 :2502, 2004)。

[0162] Pim-1 基因编码一种属于相关激酶小家族的丝氨酸/苏氨酸激酶。Pim-1 的功能一直与增殖、分化、细胞凋亡,肿瘤发生、组织缺氧、血管生成和有丝分裂联系在一起(Wang 等, Biochim Biophys Acta 1593 :45, 2002)。显微成像资料以及 AKT 低磷酸化资料和升高的胱天蛋白酶-3 活性测量值显示,通过使介导细胞生存的 AKT 信号失活, Pim-1 的下调增强了多西他赛诱导的细胞凋亡。Pim-1 和 p21 在使 HCT116 细胞对多西他赛敏化中具备极为相似的特点;与证明 p21 为 Pim-1 的磷酸化底物这一报道一致(Wang 等, Biochim Biophys Acta 1593 :45, 2002)。在不存在多西他赛的情况下, Pim-1 的下调诱导了一定程度的细胞凋亡,但当该药物存在时效力则更高;然而,在多西他赛不存在时下调转化酸性卷曲螺旋蛋白质 TACC3 并不诱导细胞死亡,表明仅 RNAi 技术本身对细胞增殖没有影响。所述结果表明不同蛋白质的损毁可引起细胞对多西他赛敏化的不同机制。

[0163] 因此,在本发明的一个方面,可根据表 I 和表 II 中所述的一个或多个基因的活化以及这些基因的蛋白质水平来选择治疗策略,并监测所选治疗策略的有效性。

[0164] 在一特定的实施方案中,我们提供了一种方法,监测化疗过程中表 I 和表 II 中所示的一个或多个基因的活化水平,以评价和预测化疗对患者的有效性。对取自肿瘤(如乳腺癌、结肠癌、非小细胞肺癌和胃癌)的活检材料、或取自未确诊癌症患者或正接受治疗的患者的肿瘤活检材料的短期培养物进行处理,以便分离出 DNA(Hafner 等, Arch Pathol Lab Med 127 :1221, 2003; Rodriguez 等, Clin Cell Res 10 :5785, 2004)、信使 RNA(Chang 等, Lancet. 362 :340, 2003)和/或蛋白质(Espina 等, J Immunol Methods 290 :121, 2004),以评价表 I 和表 II 中所描述的基因或其亚群的活化水平或蛋白质水平。基因转录和蛋白质表达图谱可用于诊断和预测可能的治疗策略的疗效,并可作为监测患者治疗反应的有用工具。

[0165] 按照本发明,可用本领域常用的任何现有方法(Ullmann 等, J Biomol Screen 9 :95, 2004; Badiee 等, BMC Biotechnol 3 :23, 2003)从肿瘤样品中分离 RNA。从受试者身上获取一个或多个细胞,并从细胞中分离出 RNA。例如,可从受试者身上获得外周血白细胞(PBL),亦可以获得一细胞样品后,针对需要的细胞类型富集该样品。可采用各种技术将细胞从细胞混合体中分离出来,例如,采用与所需细胞类型上的特定表位结合的抗体来分离细胞。如果所需的细胞是在固体组织中,则可使用显微切割或激光捕获显微切割(LCM)之类的方法分割特定细胞(Bonner 等, Science 278 :1481, 1997; Fend 等, Am J Path 154 :61, 1999)。可用各种方法从组织或细胞样品中提取 RNA,例如硫氰酸胍溶解继以氯化铯离心(Chirgwin 等, Biochemistry 18 :5294, 1979)。可从单个细胞获取 RNA,如从单个细胞制备 cDNA 文库的方法所述(Dulac, Curr Top Dev Biol. 36 :245, 1998)。RNA 样品可针对特定种类进一步富集。例如,在一实施方案中,可从 RNA 样品中分离出 poly(A)+RNA。特别是, poly-T 寡核苷酸可作为 mRNA 的亲合配体被固定于固体载体上。用于该目的的试剂盒已有市售,如 MessageMaker 试剂盒(Life Technologies, Grand Island, N. Y.)。该富集过程可

通过引物特异性 cDNA 合成、或以 cDNA 合成为基础进行多轮线性扩增以及模板指导的体外转录等方法 (Wang 等, Proc Natl Acad. Sci USA 86 :9717, 1989 ;Dulac 等, 同上) 实现。

[0166] 有多种扩增方法适用于本发明的方法, 包括例如聚合酶链式反应 (PCR)、连接酶链式反应 (LCR) (Wu 和 Wallace, Genomics 4 :560, 1989)、自主序列复制 (SSR) (Guatelli 等, Proc Natl Acad Sci USA 87 :1874, 1990)、基于核酸的序列扩增 (NASBA) 和转录扩增 (Kwoh 等, Proc Natl Acad Sci USA 86 :1173, 1989)。PCR 技术专用方法为本领域内所熟知 (例如参见 PCR Technology: Principles and Applications for DNA Amplification (H. A. Erlich 编, Freeman Press, N. Y., N. Y., 1992) ; A Guide to Methods and Applications (Innis 等编, Academic Press, San Diego, Calif., 1990)。

[0167] 可采用本领域技术人员了解的方法标记 RNA 以进行检测。例如, 采用由 Affymetrix 公司等生产的微列阵。采用任何常用方法进行杂交以标记和检测 RNA, 例如用染料如 Cyanine-3 或 Cyanine-5 (Perkin Elmer MPS544001KT) 直接标记 RNA。其它方法包括通过核苷酸反转录使用 Cyanine-3 或 Cyanine-5 (Badiie A 2003)、荧光素或 Alexa 染料 (Molecular Probes) 或其它荧光团对 cDNA 直接标记。再则, 还可利用间接的 cDNA 标记, 如 FairPlay™/ 氨基烯丙基标记 (Stratagene 目录号 :252002)、3DNA 树状聚体标记 (Genisphere Inc) 或酶信号扩增 (MICROMAX TSA, PerkinElmer)。另外, 可使用通过酶、荧光、放射性或发光等方法检测的 RNA 探针量化 RNA。

[0168] 在本发明的一个方面, RNA 取自肿瘤样品, 并运用 Taqman 技术检测遗传标记物。生成引物以检测表 I 和表 II 中标明的特定 RNA 或其亚群, 并用反转录酶来扩增引物。对反转录扩增的特定片段的检测可通过以下方式完成: 凝胶电泳、多聚体电泳、直接 DNA 定序、光检测、荧光信号的丧失、酶反应或经由对互补 RNA 的杂交进行检测。

[0169] 在本发明的另一方面, 利用实时 PCR 来检测寡核苷酸。将取自肿瘤样品的 mRNA 反向翻译为 cDNA。生成引物以通过聚合酶链式反应技术来扩增表 I 和表 II 中标明的特定 RNA 或其亚群。可通过凝胶电泳和溴化乙啶或 CYBR 绿染色, 或通过测量聚合酶所释放的荧光团标记序列特异探针发出的荧光强度来完成 mRNA 水平的检测。

[0170] 在本发明的又一个方面, 采用了 Northern 印迹法。RNA 取自肿瘤样品, 然后凝胶电泳分离, 并转移至一膜上。通过采用 P³² 等放射性同位素标记探针的杂交, 或通过基于酶的显色法或发光法, 来确定 RNA 丰度。

[0171] 在本发明的另一方面, 基因的量可作为转录水平的替代指示物。表 I 和表 II 中的转录物或其亚群的基因的量可以定量地确定, 从而评价肿瘤对多西他赛疗法是否有反应 (Rodriguez 等, Clin Cancer Res 10 :5785, 2004)。由于此评价在新辅助治疗 (手术前的治疗) 之前进行, 所以, 如果患者属于有反应之列, 则可用多西他赛治疗, 如果属于无反应之列, 则可施用另一种化疗药剂。

[0172] 从患者肿瘤活检材料中提取 DNA, 并以本领域技术人员所用方法对其纯化以去除污染物。用来确定肿瘤 DNA 中的基因量的方法包括但不限于定量 PCR、基因组 DNA 芯片、原位杂交或 Southern 印迹法 (Hafner 等, Arch Pathol Lab Med 127 :1221, 2003 ; Rodriguez 等, Clin Cancer Res 10 :5785, 2004)。因此, 这些方法可用于确定表 I 和表 II 中一个基因或多个基因的拷贝数, 并将其与对照样品或参照标记物相比较。

[0173] 在本发明的又一个方面, 蛋白质水平可用作转录水平的替代测量标准。已表明蛋

白质水平与转录水平的抑制或提高相关。因而,本发明包括用来测量与由表 I 和表 II 中转录物编码的多肽产物相关的蛋白质水平的技术。蛋白质作为对多西他赛的预测反应的标记物加以检测和使用。蛋白质检测方法为本领域所熟知。例如,免疫测定是运用抗体检测靶蛋白表达的方法。

[0174] 在一特定实施方案中,免疫测定被用来检测表 I 和表 II 所列的一个或多个基因的蛋白质产物。另外,抗表 I 和表 II 所列任何一种蛋白质的抗体可用于许多其它检测方法中。这些检测方法包括但不限于下列各项:Western 印迹法、ELISA 测定和夹心 ELISA。另外,亦考虑采用其它不使用抗体的测定法,包括那些使用识别由表 I 和表 II 所列转录物所编码蛋白质的 DNA 寡核苷酸或多肽(如适体)的方法。亦可采用生物样品的质谱分析方法,通过确定蛋白水解分裂后肽片段的精确分子量,来确定多肽的组成成分。

[0175] 本发明进一步包含合适的标记,其中包括酶、荧光团,如异硫氰酸荧光素(FITC)、藻红蛋白(PE)、得克萨斯红(Texas red, TR)、罗丹明、游离或螯合的镧系盐、发色团、放射性同位素、螯合剂、染料、胶体金、乳胶颗粒、配体(如生物素)和化学发光剂。

[0176] 在本发明的一个方面,所用放射性标记可为同位素,如 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{35}S 、 ^{36}Cl 、 ^{51}Cr 、 ^{57}Co 、 ^{58}Co 、 ^{59}Fe 、 ^{90}Y 、 ^{125}I 、 ^{131}I 、和 ^{186}Re 等。可通过目前已知和可得到的计算程序定量放射活性水平。反之,亦可采用不透射线的物质。在标记为酶的实施方案中,可采用目前利用的比色法、分光光度法、荧光分光光度法、电流测量法或本领域熟知的气体定量分析法等任何一种技术实现检测。

[0177] 本发明的又一个方面是采用肽结合剂,例如抗体或抗体片段。抗体包括按照常规方法制备的多克隆抗体和单克隆抗体。仅抗体分子的一小部分,即抗原互补位,参与该抗体与其表位的结合(一般内容参见,Clark, W. R. (1986), *The Experimental Foundations of Modern Immunology*, Wiley&Sons, Inc., New York; Roitt, I. (1991), *Essential Immunology*, 第 7 版, Blackwell Scientific Publications, Oxford)。例如, pFc' 和 Fc 区域为补体级联的效应因子,但不参与抗原结合。其 pFc' 区域已被酶断裂,或生成时缺失 pFc' 区域的抗体被称为 F(ab')₂ 片段,它保留完整抗体的两个抗原结合位点。因此,本发明的一个实施方案采用带有可检测标记的抗体片段,如 F(ab')₂。同样,其 Fc 区域已被酶断裂,或其生成时缺失 Fc 区域的抗体被称为 Fab 片段,它保留完整抗体分子的抗原结合位点之一。Fab 片段由一个共价结合的抗体轻链和抗体重链的一部分(被称为 Fd) 组成。Fd 片段为抗体特异性的主要决定子(一个单一 Fd 片段可与多达 10 个不同的轻链相结合而不改变抗体特异性),单独存在的 Fd 片段保留了表位结合能力。

[0178] 正如本领域所熟知的,在抗体的抗原结合部分内,有互补决定区(CDR),而互补决定区直接与抗原的表位和主链区域(FR)发生相互作用,主链区域维持抗原互补位的三级结构(一般内容参见 Clark, 1986; Roitt, 1991)。在 IgG 免疫球蛋白的重链 Fd 片段和轻链中,有 4 个主链区域(FR1 至 FR4),它们分别被 3 个互补决定区(CDR1 至 CDR3)分隔开。这些 CDR,特别是 CD3 区域,尤其是重链 CDR3,在很大程度上决定着抗体特异性。哺乳动物抗体的非 CDR 区域可为同种或异种抗体的相似区域所替代,同时保留原抗体的表位特异性,这已为本领域所公认。这在“人源化”抗体的研发和利用中得到极为清楚的证明,在该“人源化”抗体中非人类 CDR 与人类的 FR 和 / 或 Fc/pFc' 区域共价连接产生功能抗体(参见第 4, 816, 567、5, 225, 539、5, 585, 089、5, 693, 762 和 5, 859, 205 号美国专利)。

[0179] 完全人类单克隆抗体亦可通过对转基因小鼠进行免疫处理来制备,这些转基因小鼠在很大部分基因座上具有人类免疫球蛋白重链和轻链。对这些小鼠(如XenoMouse(Abgenix),HuMAb 小鼠(Medarex/GenPharm))进行免疫处理后,可按照标准的杂种瘤技术制备单克隆抗体。这些单克隆抗体将具备人类免疫球蛋白氨基酸序列,因而,应用于人类时不会引起人类抗小鼠抗体(HAMA)反应。

[0180] 因此,对本领域普通技术人员显而易见的是,本发明亦包括F(ab')₂、Fab、Fv和Fd片段;嵌合抗体(其中Fc和/或FR和/或CDR1和/或CDR2和/或轻链CDR3区域已被同源的人类或非人类序列所替代);嵌合F(ab')₂片段抗体(其中FR和/或CDR1和/或CDR2和/或轻链CDR3区域已被同源的人类或非人类序列所替代);嵌合Fab片段抗体(其中FR和/或CDR1和/或CDR2和/或轻链CDR3区域已被同源的人类或非人类序列所替代)以及嵌合Fd片段抗体(其中FR和/或CDR1和/或CDR2区域已被同源的人类或非人类序列所替代)。本发明亦包括所谓单链抗体。

[0181] 通过参考下列非限制性实施例可更好地理解本发明,这些实施例作为本发明的范例提供。列出以下实施例是为了更充分地说明本发明的优选实施方案,而决不应以任何方式将其解释为限定本发明的广泛范围。

实施例

[0182] 实施例1:siRNA筛选

[0183] 为了鉴别能增加细胞对多西他赛的抗药性或敏感性的基因,在HCT116细胞内针对101种基因进行了siRNA筛选,同时使用一系列多西他赛浓度以产生剂量效应曲线。人的结肠癌细胞系HCT116从ATCC获得,并在37°C与95%CO₂和5%O₂的条件下在补加100单位/ml青霉素、100μg/ml链霉素、4mM L-谷氨酰胺和10%胎牛血清的McCoy 5A中培养。siRNA列表包含癌相关基因,其中包括在对多西他赛具有抗药性的乳房肿瘤中过表达的那些基因,正如基因表达图谱实验所显示(Chang等,Lancet 362:362,2003)。其它的准则是,该目标可经得起药物开发的验证。总的方案概括如下。第一天,将HCT116细胞按每孔5,000个细胞接种在96孔培养板上,第二天按每基因用3-4种siRNA转染。所用siRNA的代表性样品如表I和表II所示。用脂质体试剂Lipofectamine2000(Invitrogen)在96孔培养板上将siRNA(Dharmacon)转染至HCT116细胞内。第三天,将siRNA除去并加入浓度范围为0到40nM的多西他赛。第六天,使用WST-1测定法定量测定细胞存活率。这是一种监测存活细胞内线粒体脱氢酶活性的测定法,该活性导致了四唑盐WST-1的裂解而形成甲臞(formazan)。在测定当天,将培养基从96孔培养板上除去。将WST-1试剂(Roche)在McCoy 5A培养基中稀释10倍并于每孔内加入100μl。然后将培养板于37°C培养40-80分钟,再在SpectroMax(Molecular Devices)上于450nm读数。通过计算实验siRNA与对照siRNA数值的比率,将WST-1值按等级分组,结果共15个基因被鉴定为可增加敏感性,9个基因可增加抗药性,如下文的表III所示。增加敏感性和抗药性的基因可进一步划分为以下两种类型:1)在多西他赛浓度较低时(1-6nM)观察到siRNA改变IC₅₀的效应,或2)在较高浓度时(>6nM)观察到显著的效应和较小的IC₅₀变化。

[0184] 与Mad2、BubR1和Mps1的siRNA相比,靶向Grb2、CDK6、Sepharse,以及钙/钙调蛋白依赖性蛋白激酶IIδ(CamKIID)的siRNA在较低的多西他赛浓度范围(1-6nM)内显

示了更显著的效应和典型的 IC50 变化。总之,这一亚组显示了比有丝分裂检查点基因较弱的抗药性,而且 CamKIID siRNA 形成了最高水平的保护,比对照细胞高出两倍。这些数据显示,四个有丝分裂检查点基因以及其它几个基因的丧失可在不同程度上增加对多西他赛的抗药性。图 1 的数据显示对于用 siRNA 转染随后又接触各种浓度多西他赛的细胞的几条典型的剂量效应曲线。针对四种有丝分裂检查点基因,包括 BubR1、Bub1、Mad2 和 Mps1 (Bub1 的数据未显示) 以及 Rac/Cdc42 的鸟嘌呤核苷酸交换因子 (GEFT) 的 siRNA,显示了对多西他赛的显著抗药性,在较高的多西他赛浓度范围 (> 6nM) 此效应更为显著。对于 Mad2 显示了抗药性的最高水平,其细胞存活率比对照 siRNA 转染的细胞增加五倍。在筛选中大多数 siRNA 没有得分,作为一个代表性实例,我们在此处显示了人的成视网膜细胞瘤 1 (RB1)。

[0185] 综上所述,这些结果显示,siRNA 筛选可帮助人们了解基因表达的下调是如何敏化细胞或在用多西他赛处理时如何保护细胞,以及根据不同的浓度而产生不同的作用机制以减缓多西他赛引起的细胞死亡。

[0186]

表 I: 增加对多西他赛的敏感性的 siRNA 序列:

基因名称	siRNA 序列	SEQ ID NO	siRNA 序列	SEQ ID NO
P21(Waf1)	GCGAUGGAACUUCGACUUU	1	AGACCAUGUGGACCUGUCA	3
	UGGAACUUCGACUUUGUCA	2		
Pim-1	CCUUCGAAGAAAUCCAGAA*	4	UAUUCUUUCGAGCAUGAC	6
	UGGUGUGUGGAGAUUUC	5		
GBP-1	CGAAAGGCAUGUACCAUAA	7	GAACAGGAGCAACUACUAA	9
	GAUACAGGCUGAAGAGAUU	8		
RXRA	GCAAGGACCUGACCUACAC	10	GACCCUGUCACCAACAUUU	12
	GCAAGGACCGGAACGAGAA	11		
SPF45	CAAAUCCGCUGACUGAAAU	13	GACCCUAUGUUUCCUAAUG	15
	GAACAAGACAGACCGAGAU	14		
Hec1	GUGUAUUCGACAACUCUGU	16	GUACUCAGUUGCAGACAUU	18
	GAUUGCAAGAUUGGAACAA	17	GUAUCACAAAUUGGCUAGA	19
Raf1	GCACGAGGAUGUUGCAGUA	20	GACAUGAAAUCCAACAUA	22
	GCAAAGAACAUCAUCAUA	21	GGAAUGAGCUUGCAUGACU	23
Aurora A	GAGAACUGCUACUUUAUAUA	24	GAAGGUCGGAUGCAUGAUG	26
	GAAUAUGCACCACUUGGAA	25	GUAAAGGAAAGUUUGGUA	27
TACC3	GCACCUCGCUUCCCACAAG	28	GAACGAAGAGUCACUGAAG	30
	GAGCGGACCUGUAAAACUA	29		
RelB	GCAGAAAGAGGACAUAUCA	31	GCCCGUCUAUGACAAGAAA	33
	GCAGCGAGCCAUUGCCUUU	32		
PRKCD	GGACGUGGAUUGCAAACAA	34	GAAAGAACGCUUCAACAUC	36
	GCAUGAAUGUGCACCAUAA	35		
BRAF35	GGGCGUACCAGCAGUCUGA	37	GUCUGAAGCCUAUAAGAUG	39

[0187]

	GCUCUGGGCCUCAUGAACAC	38		
HSPA1L	GAGAUCGACUCCUGUUUG	40	GAUCAACGACGGAGACAAG	42
	UGGAGGAGUUCAAGAGAAA	41		
STK11	GAAGAAGGAAAUUCAACUA	43	GAAACAUCCUCCGGCUGAA	45
	GAGAAGCGUUUCCCAGUGU	44		
MKK3	GGUGGAGGCUGAUGACUUG	46	GGAGGGCCAUGUGAAGAUG	48
	GGAGAUUGCUGUGUCUAUC	47	GAUGUGAAGCCUCCAAUG	49
*各序列显示了良好的敲低作用				

[0188]

表 II: 降低对多西他赛的敏感性的 siRNA 序列:				
基因名称	siRNA 序列	SEQ ID NO	siRNA 序列	SEQ ID NO
BubR1	GCAAUGAGCCUUUGGAUUAU*	50	GGAAGAAGAUCUAGAUGUA	52
	GGAACAACCUCAUUCUAAA	51		
Mad2	GAAAUUCGUGGCCGAGUUCU	53	GCCGAGUUCUUCUCAUUCG	55
	GUGGCAUAUAUCCAUCUGA	54	GGAACAACUGAAAGAUUGG	56
Mps1	GUCGUUACAGUCAAGCAAU*	57	GAUGAACUAAGCUUGAAUA	59
	GCACGUGACUACUUUCAA	58	GAGCAGUACCACUAGAAAU	60
GEFT	GAACACAGCCUGGAUAUGU	61	GGAUGAAGAUGAGCUGUAA	63
	GCACCGAGACUAUUUCUUG	62	GCAUGUGGCUCAGAUCUUG	64
Bub1	GUACAACAGUGACCUCCA	65	GCUUGUGAUAAAGAGUCA	67
	GAUGCUGGAUGUGUGAAUA	66	GAUCCACCAGAUGCUAUUG	68
hSeparase	GCUGUCAGAUAGUUGAUUU	69	GUGGACAGUUGUAAAUCUA	71
	GCCUACAGCUUCUAUAGUC	70	GAAGAUCGUUCCUAUACA	72
CamKIID	GCACGAAAGCAAGAGAUUA	73	GCUAGAAUCUGCCGUCUUU	75
	GAAGAAACCAGAUGGAGUA	74	GAUCAAGGCUGGAGCUUUA	76
CDK6	GAACAUGUCGAUCAAGACU	77	GAGUAGUGCAUCGCGAUCU	79
	GUUUGUAACAGAUUUCGAU	78	GUAACAGAUUUCGAUGAAC	80
GRB2	GAACGAAGAAUGUGAUCAG	81	GGUACAAGGCAGAGCUUAA	83
	GUGGAUUAUCACAGAUCUA	82	GUGCCACAGCAGCCGACAU	84
对照序列:				
	GUCGACCAUUAUGUACCGGA	85	GGAUUCGUAACGUGAUUAGC	86
	U		G	
不影响对多西他赛反应的 siRNA 序列:				
RB1	GAAACAGAAGAACCUGAUU	87	GUACAUCUCAGAAUCUUGA	89
	GAAAGGACAUGUGAACUUA	88		
*各序列显示了良好的敲低作用				

[0189] 表 III: 影响对多西他赛反应的基因

[0190] 增加对多西他赛敏感性的 siRNA:

[0191]

基因名称	SEQ ID NO	登录号	IC50 比率	p(IC50 比率)	最小比率	p(最小比率)
P21(Waf1)	90	NM_000389	0.70	0.0004	0.25	0.0000
Pim-1	91	NM_002648	0.80	0.0011	0.30	0.0000
GBP-1	92	NM_002053	0.59	0.0000	0.25	0.0000
RXRA	93	NM_002957	0.64	0.0011	0.36	0.3098
SPF45	94	NM_032905	0.72	0.0000	0.47	0.0000
Hec1	95	NM_006101	0.64	0.0000	0.31	0.0121
Raf1	96	X03484	0.90	0.0059	0.30	0.0000
Aurora A	97	AF008551	0.73	0.0000	1.37	0.0018
TACC3	98	NM_006342	0.29	0.0000	0.85	0.0077
RelB	99	NM_006509	0.56	0.0000	0.77	0.0052
PRKCD	100	NM_006254	0.46	0.0683	0.59	1.0000
BRAF35	101	NM_006339	0.44	0.0000	1.29	0.1361
HSPA1L	102	NM_005345	0.60	0.0404	1.08	1.0000
STK11	103	NM_000455	0.94	0.4544	0.27	0.0000
MKK3	104	L36719	0.51	0.0000	0.82	0.0553

增加对多西他赛抗药性的 siRNA:

基因名称	SEQ ID NO	登录号	IC50 比率	p(IC50 比率)	最小比率	p(最小比率)
BubR1	105	AF046079	1.88	0.2207	3.01	0.5663 [^]
Mad2	106	AJ000186	3.22	0.0076	5.06	1.0000 [^]
Mps1	107	NM_003318	3.55	0.0008	2.92	1.0000 [^]
GEFT for Rac1/CDC42	108	NM_133483	3.50	1.0000	2.42	1.0000 [^]
Bub1	109	NM_004336	1.38	0.0007	2.45	0.0000
hSeparase	110	NM_012291	1.99	0.0000	0.88	1.0000
CamKIID	111	NM_001221	2.03	0.0016	1.29	1.0000
CDK6	112	NM_001259	1.99	0.0000	1.14	1.0000
GRB2	113	NM_002086	1.97	0.0000	1.16	1.0000

不影响对多西他赛的反应的 siRNA:

基因名称	SEQ ID NO	登录号	IC50 比率	p(IC50 比率)	最小比率	p(最小比率)
RB1	114	NM_000321	0.87	0.0061	1.03	0.4863
GAPDH	115	NM_002046	nd	nd	nd	nd
RPS9	116	BC071941	nd	nd	nd	nd

注:

最小比率: 多西他赛剂量最高处 siRNA 与对照物的比率。

[0192]

P 值越小，样品和对照物之间的差异就越显著。

标有符号 ^ 的 p 值很高，因为剂量效应曲线的曲线拟合程度差，即使该差异很显著且可再现。

Nd=未确定

[0193] 实施例 2 :对可增强对多西他赛抗药性的 siRNA 亚类进行交叉验证

[0194] siRNA 筛选法一个潜在的缺点在于这样一种观察,即 siRNA 可与具有部分同一性的转录物退火或引发 micro-RNA (miRNA) 的翻译阻滞,使得靶特异性作用和非特异性(偏离位点的)作用难以区分(Jackson 等, NatBiotechnol 21 :635, 2003)。为了使用带有第二种序列的独立方法证实抗药性,用一种带有编码短发夹(sh)RNA 的 DNA 寡核苷酸的反转录病毒载体感染 HCT116 细胞,产生了 BubR1 和 Mps1 稳定敲低细胞系。该 shRNA 含有一个不同于 siRNA 的序列,靶向于开放读框的一个独特的区域。反转录病毒包装的细胞系 GP2-293 从 Clontech 得到。将细胞保存在补加了 100 单位/ml 青霉素、100 μ g/ml 链霉素、4mM L-谷氨酰胺和 10% 胎牛血清的 DMEM 内。经瞬时转染 GP2-293 细胞而产生病毒。在转染前 24 小时在一 10cm 培养皿上总共接种了 3.6×10^6 个细胞。在用含有 10% FBS 但不含抗生素的 DMEM 转染前 4 小时,更换培养基。用 6 μ g 载体 DNA、6 μ g 包膜质粒 VSV-G(Clontech) 以及 72 μ l 脂质体试剂 Lipofectamine-2000 转染细胞。在 14-16 小时后更换培养基;24 小时之后收获病毒上清液,通过 0.45 μ M 过滤器过滤,并用于在 8 μ g/ml polybrene 存在的条件下感染 HCT116 细胞,感染复数(M.O.I)为 5。在感染后 48 小时在 0.5 μ g/ml 嘌呤霉素中选择细胞达 7 天或直至背景细胞死亡。以 BubR1 和 Mps1 敲低细胞系产生的剂量效应曲线再次显示抗药性增加,在较高的多西他赛浓度下更为显著(图 2),与经 siRNA 瞬间转染所获的结果相似。为了检验 shRNA 是否降低了 mRNA 水平,我们采用了实时 PCR 来检测内源性转录物,并证实与载体对照稳定细胞系相比, BubR1 和 Mps1 稳定敲低细胞系内 RNA 水平降低(图 3)。

[0195] 将细胞溶解并用 RNAqueous-96(Ambion) 提取 RNA。用 Primer Express™ 软件(英国 PE Applied Biosystems)设计 Taqman™ 探针及正向引物和反向引物。除了与所测试的特定基因具有同一性以外,对于探针和引物序列的 BLAST 检索未显示与其它序列具有显著同一性。为了进行实时 PCR,为每孔制备了 20 μ l TaqMan™ 主混合物:4.825 μ l 无 RNA 酶的水、12.5 μ l 2x Universal PCR 主混合物和 0.625 μ l 40x Multiscribe™ 和 RNA 酶抑制剂混合物(Applied Biosystems)、0.9 μ l 正向和反向引物(100 μ M)、0.25 μ l 探针(100 μ M)。每孔加入了 5 μ l 样品 RNA(约 1ng/ml)。在 TaqMan™ ABI Prism 7700 Sequence Detector™(英国 Perkin-Elmer) 上分析板。循环参数为于 48°C, 30 分钟;95°C, 10 分钟;再于 95°C, 15 秒和 60°C, 1 分钟, 40 个循环。从标准曲线外推得到测试基因 mRNA 值并表示为剩余百分数。

[0196] 实施例 3 :通过避免有丝分裂阻滞和产生非整倍性, Mad2、BubR1 和 Mps1 的下调可保护细胞避免多西他赛诱导的死亡

[0197] 正如 WST-1 测定所确定的,在多西他赛存在的情况下,有丝分裂检查点基因的丧失与意味着抗药性的细胞存活率上升相关(图 1)。为了进一步测试 WST-1 测量的有效性,进行了细胞学实验以观察细胞形态学和存活率(图 4)。使用共焦显微镜追踪细胞并使用钙荧光素-AM(一种通过细胞内酯酶而转变成绿色荧光的活体染料)作为新陈代谢活性细胞指示剂。图 4 显示加入多西他赛后 16 小时, Mad2、BubR1 及 Mps1(程度较小) siRNA 转染

的细胞过早地退出了有丝分裂而进入一种明显的分裂间期状态,并呈现一种扁平的细胞形态,而大多数对照 siRNA 转染的细胞则处于有丝分裂阻滞状态,并呈现一种圆形的细胞形态。以前对于其它微管抑制剂已经描述过扁平的细胞表型,并述及细胞从有丝分裂阻滞状态退出、实际上并没有完成有丝分裂而进入一种明显的分裂间期状态的能力(Kung 等, *Proc Natl Acad Sci* 87 :9553,1990 ;Lanni 和 Jacks, *Mol Cell Biol* 18 :1055,1998)。在处理 72 小时,关于 Mad2、BubR1 或 Mps1 siRNA 下调细胞最引人注目的观察结果是增加了许多细胞以及非常大的细胞,而对照 siRNA 转染的细胞与之相比,由于多西他赛处理的结果它们已被实质上消灭。在多西他赛不存在的情况下,在两个不同的时刻,有丝分裂检查点下调的细胞看起来与对照物细胞相似,处理后 72 小时细胞数量的增加,表明在 siRNA 存在的情况下细胞在活跃地增长。

[0198] 在微管抑制剂如秋水酰胺 (colcemid)、洛可达唑 (nocodazole) 和泰素处理之后,有丝分裂检查点受损的细胞能够绕过有丝分裂阻滞并过早地退出有丝分裂 (Taylor 和 McKeon, *Cell* 89 :727,1997 ;Shin 等, *Cancer Cell* 4 :483,2003 ;Masuda 等, *Am J Pathol* 163 :1109,2003 ;Sudo 等, *Cancer Res* 64 :2502,2004)。为了确定经多西他赛处理的 HCT116 细胞经三种特定的检查点基因 Mad2、BubR1 或 Mps1 抑制之后是否过早地退出有丝分裂,我们测量了所转染细胞的有丝分裂指数。将 siRNA 转染的 Mad2、BubR1 或 Mps1 细胞未经处理 (0) 或在经多西他赛处理后 8、16、24、36、48 和 72 小时收获,然后加以固定并与多克隆抗体一起孵育,该多克隆抗体检测组蛋白 H3 的磷酸化作为有丝分裂的迹象 (有丝分裂指数试剂盒, Cellomics)。图 5 以曲线显示了所有时刻的情况。有丝分裂指数在处理 16 小时和 24 小时之间达到高峰,表明在所有情况下均发生了有丝分裂阻滞。对于用对照 siRNA 转染的细胞,有丝分裂指数达到了最高值,但用 Mad2 和 BubR1 siRNA 转染的细胞则显示了有丝分裂指数的显著下降。Mps1 siRNA 的效应不象 Mad2 和 BubR1 那样显著。这些结果清楚地显示,有丝分裂检查点受损的细胞能绕过多西他赛诱导的有丝分裂阻滞状态,而且 BubR1 siRNA 是最有效的,其次是 Mad2 和 Mps1。

[0199] 为了排除有丝分裂指数的变化与敲低效率的重大差异是巧合的可能性,我们采用实时 PCR 来测量有丝分裂检查点转录水平。图 6 所示的实验显示, mRNA 的水平降低到了与 Mad2、BubR1 和 Mps1 siRNA 转染的细胞相当的水平,提示有丝分裂指数的差异更能反映基因的功能。

[0200] 从显微镜观察获得的数据看来,非常大的细胞也许含有异常的 DNA 含量。为了进一步调查这些有丝分裂检查点受损的细胞是否能够克服多西他赛诱导的细胞周期阻滞,重新进入 S 阶段而产生非整倍细胞,我们进行了 FACS 分析以测量 DNA 含量。分别在多西他赛存在或不存在的条件下培养 Mps1、BubR1、Mad2 和对照 siRNA 转染的细胞,固定并用碘化丙啶染色,再进行 FACS 分析。在加入多西他赛后的几个不同时刻收集数据 (数据未显示),图 7 显示了处理后 72 小时的分布图。用 Mps1、BubR1、Mad2 和 siRNA 的转染在多西他赛加入后 72 小时导致了细胞的积聚,其 DNA 含量分别为 8N、16N 以及 32N (BubR1 的情况)。在仅使用对照 siRNA 的情况下,当多西他赛存在时,检测出了 (DNA 含量为) 8N 的克隆,但对于有丝分裂检查点下调的细胞,此 8N 克隆的数量要大得多。在加入多西他赛后一个较早的时刻 (数据未显示),大多数对照细胞被阻滞在 4N,而用 Mps1、BubR1 和 Mad2 siRNA 转染的细胞则从 4N 前进到 8N。这些结果表明,有丝分裂检查点基因的敲低使得细胞能更迅速地积累

至异常的 DNA 水平,而且与野生型细胞比较,越过了更高的倍数性阈值。我们的结果显示了 Mad2、BubR1 和 Mps1 在用以前未表征的微管抑制剂多西他赛调节有丝分裂指数和细胞周期性进化过程中的作用。

[0201] 实施例 4 :在 BubR1 下调细胞内多西他赛抗药性克隆的形成

[0202] 假定与抗微管剂结合的 BubR1 表达不足与非整倍性相关,而且 BubR1 的恢复与激活检查点和非整倍细胞的凋亡相关,那么 BubR1 的凋亡作用对于染色体保真性的调节似乎是很重要的 (Shin 等, *Cancer Cell* 4 :483, 2003)。为了确定有丝分裂检查点基因的永久性下调是否能使细胞以更大的增殖能力增长,测试了 BubR1 和 Mps1 稳定敲低细胞系 (图 4) 在多西他赛持续存在的条件下增殖和建立克隆的能力。由于 Mad2 的损伤对于细胞是致命的,故 Mad2 稳定敲低细胞系无法产生 (Michel 等, *Proc Natl Acad Sci* 101 :4459, 2004)。用 5nM 多西他赛处理 BubR1、Mps1 和对照 shRNA 稳定敲低细胞系达 10 天之后,用结晶紫染色。图 8 显示,与对照细胞系相比,BubR1 敲低细胞系产生了多得多的大克隆。在 5nM 多西他赛存在时,Mps1 敲低细胞系不能产生克隆。当将这些培养板培养 17 天后,在对照培养板上可观察到克隆,但其数量与 BubR1 敲低细胞系相比仍然较少。这些结果将 BubR1 (但不是 Mps1) 的低水平与化疗药物多西他赛存在时细胞的快速生长相关联。

[0203] 实施例 5 :对于能增加对多西他赛敏感性的 siRNA 的交叉验证

[0204] 除了鉴别能保护细胞免遭多西他赛诱导的杀伤的 siRNA 之外,此筛选过程也鉴别了能使细胞对杀伤作用更敏感的 siRNA。在表 III 中,Pim-1、p21^{waf1/Cip1}、GBP-1、RXRA、Hec1、SPF45、Raf1 代表了一组在较高多西他赛浓度下 (> 6nM) 显示具有显著杀伤作用而 IC₅₀ 只有很小变化的 siRNA。致癌的丝氨酸 / 苏氨酸激酶 Pim-1 和细胞周期抑制剂 p21^{waf1/Cip1} 的 siRNA 剂量效应曲线是非常相似的 (图 9),这可能反映了信号通路内的叠加或协作作用;而且先前的报导显示,p21^{waf1/Cip1} 是 Pim-1 的底物 (Wang 等, *BiochimBiophys Acta* 1593 :45, 2002)。更令人感兴趣的是 Pim-1 在前列腺上皮细胞内过表达,这种过表达导致了有丝分裂检查点的干扰和基因的不稳定性 (Roh 等, *Cancer Res* 63 :8079, 2003)。这些结果与 Mad2、BubR1 和 Mps1 的表达不足是一致的,显示了一种具有相反表达水平的可比表型 (参见图 1)。可增加对多西他赛敏感性的另一种 siRNA 是 Hec1。

[0205] 在表 III 中, TACC3、RELB、Aurora-A、PRKCD(PKC)、HSPA1A 以及 BRAF35 代表了一组在较低多西他赛浓度 (1-6nM) 下增加敏感性且 IC₅₀ 发生特有变化的 siRNA。Aurora-A 是在有丝分裂发生时起作用并涉及中心体成熟和纺锤体装配的丝氨酸 / 苏氨酸激酶 (在 Meraldi 等, *Curr Opin Genet Dev* 14 :29, 2004 中综述)。很令人感兴趣的是某些公开的数据显示, Aurora-A 在 HeLa 细胞内的过表达保护了细胞免遭泰素的杀伤,这与我们的 Aurora-A 表达不足增强了多西他赛杀伤作用的结果是一致的 (Anand 等, *Cancer Cell* 3 :51, 2003)。诚然,这是 Aurora-A 的 IC₅₀ 小幅度的下降,代表了存活率下降 25%;但是,通过用反转录病毒递送 shRNA 造成 HCT116 细胞内 Aurora-A 的稳定敲低 (将图 9 与图 10 和图 11 比较),该结果得以完全重现。

[0206] 实施例 6 :Pim1 在多西他赛不存在时可抑制 HCT116 细胞的增殖

[0207] 为了进一步评估筛选出来的阳性结果,重要的是要将在多西他赛不存在时影响细胞存活率的 siRNA 和那些与多西他赛共同起作用而增强杀伤能力的 siRNA 加以区别。为了区别各种可能性,我们研究了 siRNA 转染对增殖的影响,使用台盼蓝排除分析法和细胞

计数来确定转染后 24、48、72 小时 6 孔培养板上存活细胞的数量。我们的结果显示, Pim-1 siRNA 可抑制 HCT116 细胞的增殖, 而 TACC3 siRNA 对增殖则没有影响 (图 12; 图 13 显示了定量敲低), 尽管两种 siRNA 均能提高多西他赛诱导的细胞死亡 (图 9)。

[0208] 实施例 7: 使用 Live/Dead 分析对抗药性基因和敏感性基因进行验证

[0209] 为了直观地比较能对多西他赛产生敏感性和抗药性的 siRNA, 使用了显微成像来确定活细胞与死细胞的比率, 用钙荧光素 -AM 将活细胞染成绿色, 用碘化丙啶 (PI) 将死细胞核染成红色。在加入多西他赛之后 (72 小时), BubR1 siRNA 转染的细胞含有的存活细胞最多, 而 Pim-1 和 TACC3 siRNA 转染的含有的死细胞最多, 对照细胞则介于两者之间 (数据未显示)。虽然单独的 BubR1 siRNA 显示通过 72 小时细胞死亡增加, 但最终该细胞变得对多西他赛具有抗药性。单独的 Pim-1 siRNA 通过 24 小时造成了细胞死亡, 而 TACC3 siRNA 则未造成死亡。这些结果显示, BubR1 的下调与上升的细胞存活率和抗药性相关, 而 Pim-1 和 TACC3 的下调则与上升的细胞死亡率和药物敏感性相关。Pim-1 和 TACC3 均显示在多西他赛存在时其杀伤作用增强, 但这一分析不能区别叠加作用和协作杀伤作用之间的差异。

[0210] 实施例 8: 多西他赛诱导的胱天蛋白酶 -3 活性因 BubR1 的下调而降低但因 Pim-1 的下调而增强

[0211] 多西他赛能诱导凋亡而造成细胞的死亡 (Kim 等, *Int J Mol Med* 11:799, 2003)。为了确定 Pim-1 和 BubR1 siRNA 在多西他赛存在和不存在的情况下是否能调节标准凋亡途径, 我们 (使用 bioplex 分析) 研究了 HCT116 细胞内的活化胱天蛋白酶 -3 水平 (图 14)。在用 40nM 多西他赛处理 48 小时后, 在对照细胞内诱导了胱天蛋白酶 -3 活性, 这种诱导因 Pim-1 的下调而进一步增强, 但因 BubR1 的下调而降低 (中图和下图)。在多西他赛不存在的情况下, Pim-1 的下调导致了处理后 24 小时胱天蛋白酶 -3 活性略有增加, 但在处理后 48 小时和 72 小时则回到了对照水平 (上图), 这表明其它的凋亡机制已被激活以维持通过 WST-1 和 LIVE/DEAD 分析法于处理后 72 小时所观察到的增强杀伤作用。在多西他赛不存在的情况下, BubR1 的下调导致了胱天蛋白酶 -3 活性很轻微的增加, 这与以下观察结果是一致的: 在 LIVE/DEAD 分析中, BubR1 的敲低在处理 72 小时最初造成了细胞的死亡。这些结果进一步提示, Pim-1 和 BubR1 通过胱天蛋白酶 -3 活性的调节作为多西他赛杀伤作用的效应子。

[0212] 实施例 9: 涉及多西他赛诱导的 Pim-1 相关敏感性和 BubR1 相关抗药性的信号通路

[0213] Pim-1 引起的活性有力地表明, Pim-1 在阻止导致细胞死亡的信号事件而促进有利于细胞存活的信号事件过程中起着关键的作用。为了定义与 Pim-1 敲低相关的细胞死亡增加的分子基础, 我们研究了涉及细胞存活的关键细胞通路 AKT 的活化状态。将 HCT116 按每孔 4×10^5 细胞接种在 6 孔培养板上, 并于次日使用脂质体试剂 Lipofectamine 2000 (Invitrogen) 以 16nM siRNA 转染。24 小时之后, 以 5nM 和 40nM 多西他赛处理细胞或不加处理。在加入多西他赛后 24、48 和 72 小时, 用冰冷的裂解缓冲液 (50mM HEPES 缓冲液 (PH7.4)、1% NP40、2.5mM EDTA、100mM 氟化钠、10mM 钠 PP_i 、蛋白酶抑制剂混合片剂 (Roche)、2mM 原钒酸钠) 来溶解细胞, 并以 12,000g 离心 10 分钟。然后采用 DC 蛋白分析法 (BioRad) 定量分析裂解产物的总蛋白水平。使用活性胱天蛋白酶 -3 beadmates 试剂盒 (Upstate) 和 Luminex 100™ 系统并按照制造商推荐的方法确定活性胱天蛋白酶 -3 水平。使

用总 AKT 抗体 bead 试剂盒和磷特异性 AKT^{S473} 抗体 bead 试剂盒 (Biosource) 以及 Luminex 100™ 系统并按照制造商推荐的方法确定总 AKT 和磷酸化 AKT 的水平。

[0214] 图 15 所示的实验结果表明,与对照样品相比,Pim-1 的下调减少了 AKT 的基线磷酸化,而且随着多西他赛浓度的增加这种影响显著地加强。通过比较,BubR1 的下调增加了 AKT 的基线磷酸化而且这种影响在多西他赛浓度较低而不是较高时得到加强,表明在较高剂量时也许有其它的信号通路被激活。

[0215] 申请人进行了 Western 印迹分析,使用抗 Pim-1 和 BubR1 的抗体于第 48 小时测量蛋白水平。将等量蛋白加载 NuPAGE Novex Bis-Tris 凝胶 (Invitrogen)。按照制造商的推荐,使用了抗 Pim-1 (Santa Cruz biotechnology)、BubR1 (BD bioscience) 和 α -微管蛋白 (Sigma) 的抗体。将第二抗体与 HRP (BioRad) 缀合并通过 ECL Western 印迹检测系统 (Amersham Biosciences) 检测,然后再用 Hyperfilm ECL (Amersham Biosciences) 曝光。图 16 所示的实验结果显示,与对照样品相比,Pim-1 和 BubR1 蛋白水平降低,显示了降低的蛋白水平对应于某种功能改变 (图 15)。这些数据表明,Pim-1 蛋白水平的下调能够阻止 AKT 的磷酸化和活化,以迫使细胞趋向凋亡。Pim-1 似乎能通过激活促存活通路而导致细胞的生存。

[0216] 本发明的范围不限于此处所述的特定实施方案。确实,除了此处所述的那些实施方案,本发明的多种修改,通过前面的说明和附图,对于本领域的专业人员将变得显而易见。这类修改均处于所附权利要求的范围内。

[0217] 本文引用的所有参考文献在此整体引用作为参考。

[0218] Anand S, Penrhyn-Lowe S, Venkitaraman AR. (2003) AURORA-A amplification overrides the mitotic spindle assembly checkpoint, inducing resistance to Taxol. *Cancer Cell*. 3 :51-62.

[0219] Aza-Blanc P, Cooper CL, Wagner K, Batalov S, Deveraux QL, Cooke MP. (2003) Identification of modulators of TRAIL-induced apoptosis via RNAi-based phenotypic screening. *Mol Cell*. 12 :627-37.

[0220] Chang JC, Wooten EC, Tsimelzon A, Hilsenbeck SG, Gutierrez MC, Elledge R, Mohsin S, Osborne CK, Chamness GC, Allred DC, O'Connell P. (2003) Gene expression profiling for the prediction of therapeutic response to docetaxel in patients with breast cancer. *Lancet*. 362 :362-9.

[0221] Hong, WK (2002) The current status of docetaxel in solid tumors. *Oncology* 16 :9-15.

[0222] Jackson AL, Bartz SR, Schelter J, Kobayashi SV, Burchard J, Mao M, Li B, Cavet G, Linsley PS. (2003) Expression profiling reveals off-target gene regulation by RNAi. *Nat Biotechnol*. 21 :635-7.

[0223] Katsumata N. (2003) Docetaxel: an alternative taxane in ovarian cancer. *Br J Cancer*. 89 Suppl 3 :S9-S15.

[0224] Kim R, Tanabe K, Uchida Y, Emi M, Toge T. (2003) Effect of Bcl-2 antisense oligonucleotide on drug-sensitivity in association with apoptosis in undifferentiated thyroid carcinoma. *Int J Mol Med*. 11 :799-804.

- [0225] Kolfshoten GM, Hulscher TM, Duyndam MC, Pinedo HM, Boven E. (2002) Variation in the kinetics of caspase-3 activation, Bcl-2 phosphorylation and apoptotic morphology in unselected human ovarian cancer cell lines as a response to docetaxel. *Biochem Pharmacol.* 63 :733-43.
- [0226] Kung AL, Sherwood SW, Schimke RT. (1990) Cell line-specific differences in the control of cell cycle progression in the absence of mitosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 87 :9553-7.
- [0227] Lanni JS, Jacks T. (1998) Characterization of the p53-dependent postmitotic checkpoint following spindle disruption. *Mol Cell Biol.* 18 :1055-64.
- [0228] Lee LF, Li G, Templeton DJ, Ting JP. (1998) Paclitaxel (Taxol)-induced gene expression and cell death are both mediated by the activation of c-Jun NH2-terminal kinase (JNK/SAPK). *J Biol Chem.* 273 :28253-60.
- [0229] Li Y, Dowbenko D, Lasky LA. (2002) AKT/PKB phosphorylation of p21Cip/WAF1 enhances protein stability of p21Cip/WAF1 and promotes cell survival. *J Biol Chem.* 277 :11352-61.
- [0230] Lum L, Yao S, Mozer B, Rovescalli A, Von Kessler D, Nirenberg M, Beachy PA. (2003) Identification of Hedgehog pathway components by RNAi in *Drosophila* cultured cells. *Science.* 299 :2039-45.
- [0231] Masuda A, Maeno K, Nakagawa T, Saito H, Takahashi T. (2003) Association between mitotic spindle checkpoint impairment and susceptibility to the induction of apoptosis by anti-microtubule agents in human lung cancers. *Am J Pathol.* 163 :1109-16.
- [0232] McManus MT, Sharp PA. (2002) Gene silencing in mammals by small interfering RNAs. *Nat Rev Genet.* 3 :737-47.
- [0233] Meraldi P, Honda R, Nigg EA. (2004) Aurora kinases link chromosome segregation and cell division to cancer susceptibility. *Curr Opin Genet Dev.* 14 :29-36.
- [0234] Michel L, Diaz-Rodriguez E, Narayan G, Hernando E, Murty VV, Benzra R. (2004) Complete loss of the tumor suppressor MAD2 causes premature cyclin B degradation and mitotic failure in human somatic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 101 :4459-64.
- [0235] Ojima, I. and Geney, R. 109881 Ayentis (2004) *Curr Opin Investig Drugs* 4 : 737-40.
- [0236] Ringel I, Horwitz SB. (1991) Studies with RP 56976 (taxotere): a semisynthetic analogue of taxol. *J Natl Cancer Inst.* 83 :288-91.
- [0237] Roh M, Gary B, Song C, Said-Al-Naief N, Tousson A, Kraft A, Eltoun IE, Abdulkadir SA. (2003) Overexpression of the oncogenic kinase Pim-1 leads to genomic instability. *Cancer Res.* 63 :8079-84.
- [0238] Shin HJ, Baek KH, Jeon AH, Park MT, Lee SJ, Kang CM, Lee HS, Yoo SH, Chung DH,

- Sung YC, McKeon F, Lee CW. (2003) Dual roles of human BubR1, a mitotic checkpoint kinase, in the monitoring of chromosomal instability. *Cancer Cell*. 4 :483-97.
- [0239] Simmer F, Moorman C, Van Der Linden AM, Kuijk E, Van Den Berghe PV, Kamath R, Fraser AG, Ahringer J, Plasterk RH. (2003) Genome-Wide RNAi of *C. elegans* Using the Hypersensitive *rrf-3* Strain Reveals Novel Gene Functions. *PLoS Biol*. 1 :E12.
- [0240] Sudo T, Nitta M, Saya H, Ueno NT. (2004) Dependence of paclitaxel sensitivity on a functional spindle assembly checkpoint. *Cancer Res*. 64 :2502-8.
- [0241] Tanabe K, Kim R, Inoue H, Emi M, Uchida Y, Toge T. (2003) Antisense Bcl-2 and HER-2 oligonucleotide treatment of breast cancer cells enhances their sensitivity to anticancer drugs. *Int J Oncol*. 22 :875-81.
- [0242] Taylor SS, McKeon F. (1997) Kinetochore localization of murine Bub1 is required for normal mitotic timing and checkpoint response to spindle damage. *Cell*. 89 :727-35.
- [0243] Wang TH, Wang HS, Soong YK (2000) Paclitaxel-induced cell death : where the cell cycle and apoptosis come together. *Cancer*. 88 :2619-28.
- [0244] Wang Z, Bhattacharya N, Mixer PF, Wei W, Sedivy J, Magnuson NS. (2002) Phosphorylation of the cell cycle inhibitor p21^{Cip1}/WAF1 by Pim-1 kinase. *Biochim Biophys Acta*. 1593 :45-55.
- [0245] Zhou J, Yao J, Joshi HC. (2002) Attachment and tension in the spindle assembly checkpoint. *J Cell Sci*. 115 :3547-55.

[0001]

- <110> 安万特药物公司 (AVENTIS PHARMACEUTICALS INC.)
- <120> 测量对多西他赛抗药性或敏感性的方法
- <130> USAV2004/0088 US PCT
- <160> 116
- <170> PatentIn 3.3 版
- <210> 1
- <211> 19
- <212> RNA
- <213> 人工的
- <220>
- <223> siRNA
- <400> 1
gcgauggaac uucgacuuu 19
- <210> 2
- <211> 19
- <212> RNA
- <213> 人工的
- <220>
- <223> siRNA
- <400> 2
uggaacuucg acuuuguca 19
- <210> 3
- <211> 19
- <212> RNA
- <213> 人工的
- <220>
- <223> siRNA
- <400> 3
agaccaugug gaccuguca 19
- <210> 4
- <211> 19
- <212> RNA
- <213> 人工的
- <220>
- <223> siRNA

[0002]

<400> 4 ccuucgaaga aauccagaa	19
<210> 5 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 5 uggugugugg agauauucc	19
<210> 6 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 6 uauuccuuuc gagcaugac	19
<210> 7 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 7 cgaaaggcau guaccauaa	19
<210> 8 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 8 gauacaggcu gaagagauu	19
<210> 9 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	

[0003]

<400> 9		
gaacaggagc aacuacuaa		19
<210> 10		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工的		
<220>		
<223> siRNA		
<400> 10		
gcaaggaccu gaccuacac		19
<210> 11		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工的		
<220>		
<223> siRNA		
<400> 11		
gcaaggaccg gaacgagaa		19
<210> 12		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工的		
<220>		
<223> siRNA		
<400> 12		
gaccuguca ccaacauuu		19
<210> 13		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工的		
<220>		
<223> siRNA		
<400> 13		
caaauccgcu gacugaaau		19
<210> 14		
<211> 19		
<212> RNA		
<213> 人工的		
<220>		

[0004]

<223> siRNA	
<400> 14 gaacaagaca gaccgagau	19
<210> 15 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 15 gaccuaaugu uuccuaaug	19
<210> 16 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 16 guguauucga caacucugu	19
<210> 17 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 17 gauugcaaga uuggaaca	19
<210> 18 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 18 guacucaguu gcagacauu	19
<210> 19 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	

[0005]

<220>		
<223>	siRNA	
<400>	19	
	guaucacaaa uggcuaga	19
<210>	20	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	20	
	gcacggagau guugcagua	19
<210>	21	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	21	
	gcaaagaaca ucauccaau	19
<210>	22	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	22	
	gacaugaaau ccaacaaua	19
<210>	23	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	23	
	ggaaugagcu ugcaugacu	19
<210>	24	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	

[0006]

<220>		
<223>	siRNA	
<400>	24	
	gagaacugcu acuuauaua	19
<210>	25	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	25	
	gaauaugcac cacuuggaa	19
<210>	26	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	26	
	gaaggucgga ugcaugaug	19
<210>	27	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	27	
	gaaaaggaaa guuugguaa	19
<210>	28	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	28	
	gcaccucgcu ucccacaag	19
<210>	29	
<211>	19	
<212>	RNA	

[0007]

<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 29	
gagcggaccu guaaaacua	19
<210> 30	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 30	
gaacgaagag ucacugaag	19
<210> 31	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 31	
gcagaaagag gacauauca	19
<210> 32	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 32	
gcagcgagcc auugccuuu	19
<210> 33	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 33	
gcccguau gacaagaaa	19
<210> 34	
<211> 19	

[0008]

<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 34	
ggacguggau ugcaaaca	19
<210> 35	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 35	
gcaugaaugu gcaccaua	19
<210> 36	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 36	
gaaagaacgc uucaacauc	19
<210> 37	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 37	
gggcguacca gcagucuga	19
<210> 38	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 38	
gcucugggcu caugaacac	19
<210> 39	

[0009]

<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 39	
gucugaagcc uauaagaug	19
<210> 40	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 40	
gagaucgacu cccuguuug	19
<210> 41	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 41	
uggaggaguu caagagaaa	19
<210> 42	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 42	
gaucaacgac ggagacaag	19
<210> 43	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 43	
gaagaaggaa auucaacua	19

[0010]

<210> 44	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 44	
gagaagcguu ucccagugu	19
<210> 45	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 45	
gaaacauccu ccggcugaa	19
<210> 46	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 46	
gguggaggcu gaugacuug	19
<210> 47	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 47	
ggagauugcu gugucuauc	19
<210> 48	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 48	
ggaggccau gugaagaug	19

[0011]

<210> 49	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 49	
gaugugaagc ccuccaag	19
<210> 50	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 50	
gcaaugagcc uuuggauau	19
<210> 51	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 51	
ggaacaaccu caucuaaa	19
<210> 52	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 52	
ggaagaagau cuagaugua	19
<210> 53	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 53	
gaaaucgugg ccgaguucu	19

[0012]

<210> 54	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 54	
guggcauaua uccaucuga	19
<210> 55	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 55	
gccgaguucu ucucuuucg	19
<210> 56	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 56	
ggaacaacug aaagauugg	19
<210> 57	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 57	
gucguuacag ucaagcaau	19
<210> 58	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 58	

[0013]

gcacgugacu acuuucaaa	19
<210> 59	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 59	
gaugaacuaa gcuugaaua	19
<210> 60	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 60	
gagcaguacc acuagaaau	19
<210> 61	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 61	
gagcaguacc acuagaaau	19
<210> 62	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 62	
gcaccgagac uauuuuug	19
<210> 63	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	

[0014]

<400> 63 ggaugaagau gagcuguuaa	19
<210> 64 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 64 gcauguggcu cagaucuug	19
<210> 65 <211> 18 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 65 guacaacagu gaccucca	18
<210> 66 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 66 gaugcuggau gugugaaua	19
<210> 67 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 67 gcuugugaua aagagucaa	19
<210> 68 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	

[0015]

<400> 68 gauccaccag augcuauug	19
<210> 69 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 69 gcugucagau aguugauuu	19
<210> 70 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 70 gccuacagcu ucuauaguc	19
<210> 71 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 71 guggacaguu guaaaucua	19
<210> 72 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 72 gaagaucguu uccuauaca	19
<210> 73 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220>	

[0016]

<223> siRNA	
<400> 73 gcacgaaagc aagagauua	19
<210> 74 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 74 gaagaaacca gauggagua	19
<210> 75 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 75 gcuagaauuc gccgucuuu	19
<210> 76 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 76 gaucaaggcu ggagcuuau	19
<210> 77 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	
<220> <223> siRNA	
<400> 77 gaacaugucg aucaagacu	19
<210> 78 <211> 19 <212> RNA <213> 人工的	

[0017]

<220>		
<223>	siRNA	
<400>	78	
	guuuguaaca gauaucgau	19
<210>	79	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	79	
	gaguagugca ucgcgaucu	19
<210>	80	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	80	
	guaacagaua ucgaugaac	19
<210>	81	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	81	
	gaacgaagaa ugugaucag	19
<210>	82	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	82	
	guggauuauc acagaucua	19
<210>	83	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	

[0018]

<220>		
<223>	siRNA	
<400>	83	
	gguacaaggc agagcuuaa	19
<210>	84	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	84	
	gugccacagc agccgacau	19
<210>	85	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	85	
	gucgaccuu auguaccgga u	21
<210>	86	
<211>	21	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	86	
	ggauucguuaa cgugauuagc g	21
<210>	87	
<211>	19	
<212>	RNA	
<213>	人工的	
<220>		
<223>	siRNA	
<400>	87	
	gaaacagaag aaccugauu	19
<210>	88	
<211>	19	
<212>	RNA	

[0019]

<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 88	
gaaaggacau gugaacuua	19
<210> 89	
<211> 19	
<212> RNA	
<213> 人工的	
<220>	
<223> siRNA	
<400> 89	
guacaucuca gaaucuuga	19
<210> 90	
<211> 2140	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 90	
agctgagggtg tgagcagctg ccgaagtcag ttccttgtgg agccggagct gggcgcggat	60
tcgccgaggc accgaggcac tcagaggagg cgccatgtca gaaccggctg gggatgtccg	120
tcagaacca tgcggcagca aggcctgccg ccgctcttc ggcccagtgg acagegagca	180
gctgagccgc gactgtgatg cgctaatggc gggctgcac caggaggccc gtgagcgatg	240
gaacttcgac tttgtcaccg agacaccact ggagggtgac ttcgcctggg agcgtgtgcg	300
gggccttggc ctgcccaagc tctaccttc cacggggccc cggcgaggcc gggatgagtt	360
gggaggaggc aggcggcctg gcacctcacc tgctctgctg caggggacag cagaggaaga	420
ccatgtggac ctgtcactgt cttgtacct tgtgcctgc tcaggggagc aggtgaagg	480
gtccccaggt ggacctggag actctcaggg tcgaaaacgg cggcagacca gcatgacaga	540
tttctaccac tccaaacgcc ggctgatctt ctccaaggagg aagccctaat ccgccacag	600
gaagcctgca gtccctggaag cgcgagggcc tcaaaggccc gctctacatc ttctgcctta	660
gtctcagttt gtgtgtctta attattattt gtgttttaatt ttaaacaacct cctcatgtac	720
ataccctggc cgccccctgc cccccagcct ctggcattag aattatttaa acaaaaacta	780
ggcggttgaa lgagaggllc ctaagagtgc tgggcalllt lattttatga aatactattt	840
aaagcctcct catcccgtgt tctccttttc ctctctccc gaggttgggt gggccggcct	900
catgccagct acttctcct ccccacttgt ccgctgggtg gtaccctctg gaggggtgtg	960
gctcctccc atcgctgtca caggcggtta tgaaattcac ccccttctt ggacaactcag	1020

[0020]

acctgaattc tttttcattt gagaaglaaa cagatggcac tttgaagggg cctcaccgag	1080
tgggggcatc atcaaaaact ttggagtccc ctcacctcct ctaagglttg gcagggtgac	1140
cctgaagtga gcacagccta gggtgagct ggggacctgg taccctcctg gctctlgata	1200
ccccctctg tcttgtgaag gcagggggaa ggtggggtag tggagcagac caccocgct	1260
gcctcatgg cccctctgac ctgcactggg gageccgtct cagtgttgag ccttttcct	1320
ctttggctcc cctgtacctt ttgaggagcc ccagcttacc cttctctcc agctgggctc	1380
tgcaattccc ctctgtctgt gtcctcccc cttgtctttc ccttcagtac cctctcatgc	1440
tccaggtggc tctgaggtgc ctgtcccacc cccaccccca gctcaatgga ctggaagggg	1500
aagggacaca caagaagaag ggcaccctag ttctacctca ggcagctcaa gcagcagccg	1560
ccccctctc tagctgtggg ggtgagggtc ccatgtggtg gcacaggccc ccttgagtgg	1620
ggttatctct gtgttagggg tatatgatgg gggagtagat cttcttagga gggagacct	1680
ggcccccaa atcgtccagc gaccttctc atccacccca tcctcccca gttcattgca	1740
ctttgattag cagcggaaaca aggagtccaga cattttaaga tgggtggcagt agaggctatg	1800
gacagggcat gccacgtggg ctcatatggg gctgggagta gttgtctttc ctggcactaa	1860
cgttgagccc ctggaggcac tgaagtgctt agtgtacttg gagtattggg gtctgacccc	1920
aaacacctc cagctcctgt aacatactgg cctggactgt tttctctcgg ctccccatgt	1980
gtctgttct ccgtttctcc acctagactg taaacctctc gagggcaggg accacacct	2040
gtactgttct gtgtctttca cagctcctcc cacaatgctg aatatacagc aggtgctcaa	2100
taaatgattc tlagtgactt taaaaaaaa aaaaaaaaaa	2140

<210> 91
 <211> 5449
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 91	
gcgccccggg cgcgcccgcc cgcgccccgc tgcctgcgcc gccgcccggg catgagttag	60
tcgcagacat ggacacccaaa catttctctgc cgctcgattt ctccaccag gtgaactcct	120
ccctcacctc cccgacgggg cgaggctcca tggctgcccc ctgctgcac ccgtcccctgg	180
ggcctggcat cggctccccg ggacagctgc attctccat cagcacctg agctccccca	240
tcaacggcat gggccccct ttctcggta tcagctcccc catgggcccc cactccatgt	300
cggtgcccac cacaccacc ctgggcttca gcactggcag cccccagctc agctcaccta	360
tgaaccccgt cagcagcagc gaggacatca agccccccct gggcctcaat ggcgtcctca	420

[0021]

aggtecccgc ccaccctca ggaaacatgg cttccttcac caagcacatc tgcgcatct	480
goggggaccg ctctcagge aagcactatg gagtgtacag ctgcgagggg tgcaagggt	540
tcttcaagcg gacggtgctc aaggacctga cctacacctg ccgcgacaac aaggactgcc	600
tgattgacaa gcggcagcgg aaccggtgcc agtactgctg ctaccagaag tgcttgcca	660
tggcatgaa gcgggaagcc gtgcaggagg agcggcagcg tggcaaggac cggaacgaga	720
atgaggtgga gtcgaccagc agcccaacg aggacatgcc ggtggagagg atcctggagg	780
ctgagctggc cgtggagccc aagaccgaga cctacgtgga ggcaaacatg ggctgaacc	840
ccagctgcc gaacgacct gtcaccaaca tttgccaagc agccgacaaa cagcttttca	900
ccctggtgga gtgggccaag cggatcccac acttctcaga gctgcccctg gacgaccagg	960
tcctctgct gcgggcagc tggaatgagc tgctcatcgc ctcttctcc caccgctcca	1020
tcgccgtgaa ggacgggatc ctcttgcca ccgggctgca cgtccaccgg aacagcgc	1080
acagcgcagg ggtgggcgcc atcttgaca ggggtctgac ggagcttggt tccaagatgc	1140
gggacatgca gatggacaag acggagctgg gctgcctgcg cgccatcgtc ctctttaacc	1200
ctgactcaa gggctctcg aaccggccg aggtggaggc gctgaggag aaggctctatg	1260
cgctcttga ggctactgc aagcacaagt acccagagca gccgggaagg ttgctaagc	1320
tcttgctccg ctgcccgtct ctgctcca tcgggctcaa atgcttgga catctcttct	1380
tcttcaagct catcggggac acaccattg acaccttct tatggagatg ctggaggcgc	1440
cgcaccaa at gacttaggc tgcgggcccc tcctttgtgc ccaccgttc tggccacct	1500
gcctggacgc cagctgttct tctcagcctg agccctgtcc ctgcccctct ctgctgccc	1560
tgcttgact ttggggcaca gcctgtcact gctctgcta agagatgtgt tgtcacctc	1620
cttattctg ttactacttg tctgtggccc agggcagtg ctttctgag gcagcagcct	1680
tcgtggcaag aactagcgtg agcccagcca ggccctccc caccggctc tcaggacacc	1740
ctgccacacc ccacggggtc tgggcgacta cagggtcttc gggccccagc cctggagctg	1800
caggagttgg gaacggggtc tttgttccg ttgctgttta tcgatgctgg tttcagaat	1860
tcctgtgtgg cctcctgtc tggagtgaca tcttcatctg ctctgaatac tgglgcccag	1920
ccagcccglg acagcttccc cctaaccagg aggggacagc tgggggcgca agctggtgtg	1980
tcctcagcaa agacctcagc gcctcgggg atgagagggg actcgtgggg caagcaagct	2040
gcctgtgct ctgagtgagg gggaaggtag ccccttttc caaagataac tcacagttt	2100
gcctcagc caatgagaac atgagctgcc ctctgtgcaa ggtttcgggg ccacctccag	2160
gctgcagggg cgggtcactc acccccctgt tttctctctg cctlglgtt ctggtttcag	2220

[0022]

actcccgact ccccggtcag accagagtgc cccggcccct ccccagcctg agtctttctcc	2280
ttgctctgcg ggggtgggctg aggccttgtec ttgtttcctg cagggttgge cctggctcgg	2340
gcagggtggg gcatcaccac ctcaactggcc ttgctggagg cacagggtc tcgcgacctg	2400
cagccatctg tgaggcccg cgggatggga ggggaggagg gtggcctggt ggtttccctc	2460
agagggggca ggtggcctgg agagagagg gctcaggaac tgggagcctc gtgggtgggg	2520
cagatgctcc gcggcctgga gtggctctgc cggggcattg gtgggacccc tgctcaggcc	2580
ttctctctgg ctgccagttg tgcctaaaag actcttggaa tctgagaacc cggagtcgca	2640
gcgccctcgg gcctgggcca cacgcaggcc ctgggtgggac caccagcct ggtattgtcc	2700
acggacagcg ttgttcacc agagccttac ttgggagcct cactgaacgc ctgctctggt	2760
tgaaggtggg gtggggggcg gcttggggc ctcctggct cagcccagtg cggcctggcg	2820
ctctcccgc aggcctctgc cccgggctcc ggtggtgcgg gccctctca ggttgaactc	2880
gcctcttttg cactggaagg cctcccttt ggctgagta ctttcccgt tcacgcctca	2940
gtcccgtgga cccagccttt gtcagtggca ggtgcctgaa cagagggtgg atggggggga	3000
taccggaggg ggtcttgtct tcccagccgc agtctaggaa tgatgcgggg ggggtggagc	3060
cttctccata gtctttccc acctggagca ggggcttct cagtggtag gggagctgcc	3120
tacaggttgg accgggaggc agtggccttg agaggcagct ttccagcctt ggtggggaag	3180
aaagtgtcea ttctttgct tctggagct cccagccaga gctgagctta ggcacccgag	3240
tggagcctgc agctgagtct gtccccgaga caggctgtca gagattccag aagcctctcc	3300
tccccgccgc cctccacccc tgctttcag cgttgggat ccctagaggt ggccccctgc	3360
ccgatccacc gtcctgaggc agagtgttga gcctcatacc tgtaccaggt ccccgccag	3420
ctgggccct cccaggcact gccaggaage cccagctgcc cctggcgggt gtggtggaaa	3480
tggcaggagg gtgcaggtac tcttggggc ccagcggtag gagtgcaaaa gaccaacgc	3540
caacacctgg tgcttttgc agccagcgc cacccatccg tgcccggacc cttgggaatg	3600
cccgcggctc cagaggaaaa agcccaggga cggggcctcc gttgcgggg gtcggctgct	3660
tcttgggaac tttgtggtt cggcgctgg ctggctggct ggctgtaaag cactgaagcc	3720
ccccggccgc caaccctga aagcagaacc tggcctcct gccacagca gccttacca	3780
ccgctctacg tgtcccggc acttcccga gccttcccgt cctttctca tcggccttgt	3840
agttgtacag tgctgttgg ttgaaaagg gatgtgtgg gagtgcggct catcactgag	3900
tagagaggta gaattctat ttaaccagac ctgtagtagt attaccaatc cagtccaatt	3960

[0023]

aaggtgattt ttgtaatta ttattatlll ggtgggacaa tctttaattt tctaaagata 4020
gcactaacat cagctcatta gccacctgtg cctgtccccc cctlggcccc gctggatgaa 4080
gcgcttccc cgcagggccc ccaacttccc gtggctgctt cctggggacc cagggcacc 4140
cggcaccttc aggcacgctc ctcagctggt cacctcccgg ctttgcctt cagatggggc 4200
tcctgaggct caggagttaa gatccacag agccgggctc ccctaggctg cgtcgggcat 4260
gcttgaagc tggcctgcca ggaccttcca ccctggggcc tgtgtcagcc gccggccctc 4320
cgcaccctgg aagcacacgg cctctgggaa ggacagccct gaccttcggt tttccgagca 4380
cgggttttcc caagaattct gggctggcgg cctgggtgca gtgctggaga tgaccccag 4440
cccccccc tggggcacc caggaggccc tgccggaatg tgcagcctgt gggtagtcgg 4500
ctgggttccc tgtcgtggag ctggggtgcg tgatctggtg ctcgtccacg caggtgtgtg 4560
gtgtaaacad gtatgtctg tacagagaga cgcgtgtgga gagagccgca caccagcgc 4620
accaggaaa ggcggagcgg ttaccagtgt tttgtgttta tttttaatca agacgtttcc 4680
cctgttttcc tataaatttg cttcgtgtaa gcaagtacat aaggaccctc ctttggtgaa 4740
atccgggttc gaatgaatat ctcaaggcag gagatgcac tattttaaga tgctttggag 4800
cagacagctt tagccgttcc caatccttag caatgcctta gctgggacgc atagctaata 4860
ctttagagag gatgacagat ccataaagag agtaaagata agagaaaatg tctaaagcat 4920
ctggaagggt aaaaaaaaa aatctatllt tgtacaaatg taattttatc cctcatgtat 4980
acttggatat ggcgggggga gggctgggac tgtllcgtll ctgcttctag agattgaggt 5040
gaaagcttcg tccgagaaac gccaggacag acgatggcag aggagagggc tcctgtgacg 5100
gcggcgaggc ttgggaggaa accgccgcaa tgggggtgtc ttccctcggg gcaggagggt 5160
gggcctgagg ctttcaaggg tttcttccc tttcagtaa tttttaaagc cttgctctgt 5220
tgtgtcctgt tgccgctct ggcttctctg tgactgactg tgaagtggct tctccgtacg 5280
attgtctctg aaacatcgtg gccctcaggt ccagggtttg atggacagta gcattagaat 5340
tgtggaaaag gaacacgcaa agggagaagt gtgagaggag aaacaaaata tgagcgttta 5400
aaatacatcg ccattcagtt cgttaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa 5449

<210> 92

<211> 2881

<212> DNA

<213> 人

<400> 92

acagaagtgc tagaagccag tgctcgtgaa ctaaggagaa aaagaacaga caaggaaca 60

[0024]

gcctggacat ggcatcagag atccacatga caggeccaat gtgcctcatt gagaacacta	120
atgggcgact gatggcgaal ccagaagctc tgaagatcct ttctgccatt acacagccta	180
tggtgggtgt ggcaattgtg ggctctacc gcacaggcaa atcctacctg atgaacaagc	240
tggtggaaa gaaaaagggc ttctctctgg gctccacggt gcagtctcac actaaaggaa	300
tctggatgtg gtgtgtgccc cacccaaga agccaggcca catcctagtt ctgctggaca	360
ccgagggtct gggagatgta gagaagggtg acaaccagaa tgactcctgg atcttcgccc	420
tggccgtcct cctgagcagc acctctgtgt acaatagcat aggaaccatc aaccagcagg	480
ctatggacca actgtactat gtgacagagc tgacacatag aalccgalca aalccctcac	540
ctgatgagaa tgagaatgag gttgaggatt cagctgactt tgtgagcttc ttccagact	600
ttgtgtggac actgagagat ttctccctgg acttggaaagc agatggacaa ccctcacac	660
cagatgagta cctgacatac tcctgaagc tgaagaaagg taccagtcaa aaagatgaaa	720
cttttaacct gccagactc tgtatccgga aattcttccc aaagaaaaaa tgctttgtct	780
ttgatcggcc cgttcaccgc aggaagcttg cccagctcga gaaactacaa gatgaagagc	840
tggaccccga alltltgcaa caagtagcag acttctgttc ctacatcttt agtaattcca	900
aaactaaaac tctttcagga ggcatccagg tcaacgggccc tctctagag agcctgggtgc	960
tgacctacgt caatgccatc agcagtgggg atctgccgtg catggagaac gcagtctcgg	1020
ccttggccca gatagagaac tcagctgcag tgcaaaaggc tattgcccac tatgaacagc	1080
agatgggcca gaaggtgcag ctgccacag aaagcctcca ggagctgctg gacctgcaca	1140
gggacagtga gagagaggcc attgaagtct tcatcaggag ttcttcaaa gatgtggacc	1200
atctatttca aaaggagtta gcggcccagc tagaaaaaaa gcgggatgac ttttgtaac	1260
agaatcagga agcatcatca gatcgttgc t caggtttact tcaggtcatt ttcagtcctc	1320
tagaagaaga agtgaaggcg ggaatttatt cgaaaccagg gggctatcgt ctctttgttc	1380
agaagctaca agacctgaag aaaaagtact atgaggaacc gaggaagggg atacaggctg	1440
aagagattct gcagacatac ttgaaatcca aggagtctat gactgatgca attctccaga	1500
cagaccagac tctcacagaa aaagaaaagg agattgaagt ggaacgtgtg aaagctgagt	1560
ctgcacagc ttcagcaaaa atgttgcagg aaatgcaaag aaagaatgag cagatgatgg	1620
aacagaagga gaggagtat caggaacact tgaacaact gactgagaag atggagaacg	1680
acagggcca gttgctgaaa gagcaagaga ggaccctcgc tcttaaactt caggaacagg	1740
agcaactact aaaagaggga tttcaaaaag aaagcagaat aatgaaaaat gagatacagg	1800
atctccagac gaaaatgaga cgacgaaagg calgtacat aagctaaaga ccagagcctt	1860

[0025]

cctgtcacc	ctaaccaagg	cataattgaa	acaatttttag	aatttggaac	aagcgtcact	1920
acatttgata	alaattagat	cttgcaicai	aacaccaaaa	gittataaag	gcatgtggta	1980
caatgatcaa	aatcatgitt	tlletltaaaa	aaaaaaaaaa	gactgtaaal	lglgcaacaa	2040
agatgcattt	acctctgtat	caactcagga	aatctcataa	gctggtagca	ctcaggagaa	2100
gtttattctt	ccagatgacc	agcagtagac	aatgggatac	tgagcagagt	cttaggtaaa	2160
agtcctggga	aatatttggg	cattggctctg	gcccaagtcta	caatgtccca	atatcaagga	2220
caaccaccct	agcttcttag	tgaagacaat	gtacagttat	ccattagatc	aagactacac	2280
ggctctatgag	caataatgtg	atctctggac	attgcccatg	tataatcctc	actgatgatt	2340
tcaagctaaa	gcaaaccacc	ttatacagag	atctagaatc	tctttatggt	ctccagagga	2400
aggtggaaga	aaccatgggc	aggagtagga	attgagtgat	aaacaattgg	gctaatagag	2460
aaaacttctc	ttattgttca	gttcacccag	attataactt	caatgggaca	ctttagacca	2520
ttagacaatt	gacactggat	taaacaatt	cacataatgc	caaatacaca	atgtatttat	2580
agcaacgtat	aatttgcaa	gatggacttt	aaaagatgct	gtgtaactaa	actgaaataa	2640
ttcaattact	tattatttag	aatgttaaag	cttatgatag	tcttttctaa	ttcttaacac	2700
tcatacttga	aatctttccg	agtttcccca	gaagagaata	tgggattttt	tttgacattt	2760
ttgaccatt	taataatgct	cttgtgttta	cctagtatat	gtagactttg	tcttatgtgt	2820
caaaagtcct	aggaaagtgg	ttgatgtttc	ttatagcaat	taaaatttat	ttttgaactg	2880
a						2881

<210> 93
 <211> 2684
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 93						
cccagagagga	gtcgggtggca	gcggcggcgg	cgggaccggc	agcagcagca	gcagcagcag	60
cagcaaccac	tagcctcctg	ccccgcggcg	ctgccgcacg	agccccacga	gccgctcacc	120
ccgccgttct	cagcgtgcc	cgaccccgtc	ggcgcgccct	cccgccgcca	gtcccggcag	180
cgccctcagt	tgtcctccga	ctcgcctcctg	gccttccggc	ccagccgcag	ccacagccgc	240
aacgccacc	gcagccacag	ccacagccac	agccccaggc	atagccttcg	gcacagcccc	300
ggctccggct	cctgcggcag	ctcctctggg	caccgtccct	gcgccgacat	cctggaggtt	360
gggatgctct	lgtccaaaat	caactcgtct	gccacctgc	gcgccgcgc	ctgcaacgac	420
ctgcaagcca	ccaagctggc	gccggccaag	gagaaggagc	ccctggagtc	gcagtaccag	480

[0026]

gtgggcccgc tactgggcag cggcggcttc ggctcggctc actcaggcat ccgcgtctcc	540
gacaacttgc cgggtggccat caaacacgtg gagaaggacc ggatttccga ctggggagag	600
ctgcctaata gcaactcgagt gcccatggaa gtggctctgc tgaagaaggt gagctcgggt	660
ttctccggcg tcattaggct cctggactgg ttcgagaggc ccgacagttt cgtcctgac	720
ctggagaggc ccgagccggt gcaagatctc ttcgacttca tcacggaaag gggagccctg	780
caagaggagc tgccccgcag cttcttctgg cagggtctgg aggccgtgcg gcaactgccac	840
aactgccccg tgctccaccg cgacatcaag gacgaaaaca tccttatcga cctcaatcgc	900
ggcgagctca agctcatcga cttcgggtcg ggggcgctgc tcaaggacac cgtctacacg	960
gacttcgatg ggacccgagt gtatagccct ccagagtgga tccgclacca tcgctaccat	1020
ggcaggtcgg cggcagctcg gtccctgggg atcctgctgt atgatatggt gtgtggagat	1080
attcctttcg agcatgacga agagatcatc aggggccagg tttctttcag gcagagggtc	1140
tcttcagaat gtcagcatct cattagatgg tgcttggccc tgagaccatc agataggcca	1200
accttcgaag aatccagaa ccatccatgg atgcaagatg ttctctgcc ccaggaaact	1260
gctgagatec acctccacag cctgtcgccg gggcccagca aatagcagcc tttctggcag	1320
gtcctcccct ctcttctcag atgcccagg gaggggaaagc ttctgtctcc agcttcccga	1380
gtaccagtga cacgtctcgc caagcaggac agtgcctgat acaggaacaa catttacaac	1440
tcattccaga tcccaggccc ctggaggctg cctccaaca gtggggaaga gtgactctcc	1500
aggggtccta ggcccaact cctcccatag atactctctt cttctcatag gtgtccagca	1560
ttgctggact ctgaaatata ccgggggtgg ggggtggggg tgggtcagaa ccctgccatg	1620
gaactgtttt ctcatcatg agttctgctg aatgcccgca tgggtcaggt aggggggaaa	1680
caggttggga tgggatagga ctagcaccat tttaaagccc tgtcacctct tccgactctt	1740
tctgagtgcc ttctgtgggg actccggctg tgctgggaga aatacttgaa cttgcctctt	1800
ttacctgctg cttctccaaa aatctgctg ggttttgtt cctatttttc tctctgtcc	1860
tcctcacc cctcctcat atgaaagggt ccatggaaga ggctacagg ccaaacgctg	1920
agccacctgc cttttttct gctccttta gtaaaactcc gactgaactg gtcttcctt	1980
ttggttttta cttaactgtt tcaaagccaa gacctcacac acacaaaaaa tgcacaaaca	2040
atgcaatcaa cagaaaagct gtaaatgtgt gtacagttgg catggtagta tacaaaaaga	2100
ttgtagtgga tctaattttt aagaaatttt gcctttaagt tattttacct gtttttgtt	2160
ctgttttga aagatgcgca ttctaactg gaggtcaatg ttatgtattt atttatttat	2220

[0027]

ttatttggtt cccttccat tccaagcttc catagctgct gccctagttt tctttcctcc	2280
tttctcctc tgacttgggg accttttggg ggaggcctgc gacgcttgct ctgtttgtgg	2340
ggtgacggga ctcaggcggg acagtgtgc agctccctgg cttctgtggg gccctcacc	2400
tacttaccca ggtgggtccc ggctctgtgg gtgatgggga ggggcattgc tgactgtgta	2460
tataggataa ttatgaaaag cagttctgga tgggtgacct tccagatcct ctctgggct	2520
gtgttttgag cagcaggtag cctgctggtt ttatctgagt gaaatactgt acaggggaat	2580
aaaagagatc ttatTTTTTT tttatactt ggcgtTTTT gaataaaaac cttttgtctt	2640
aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaaaaaaa aaaa	2684

<210> 94

<211> 2709

<212> DNA

<213> 人

<400> 94

ccctgacccc gcgccccga gcgccctgag gactcagcga aggggtgggcg ccgccgaggc	60
ctcctgccgc tggcgggttt ccgcggagtg ccgcccggct ccgctctgcc gccggcgcgg	120
ctcatgggca gagtcggccg ggcgggcccg cattaaactg aagaaaagat gtccctgtac	180
gatgacctag gagtggagac cagtgactca aaaacagaag gctggtccaa aaactcaaa	240
cttctgcagt ctcagctca ggtgaagaag gcagctctca ctcaggcaaa gagccaaagg	300
acgaaacaaa gtacagtcc cgtcccagtc attgacctga agcgaggtag ctcctcagat	360
gaccggcaaa ttgtggacac tccaccgat gtagcagctg ggctgaagga tcctgttccc	420
agtgggtttt ctgcagggga agttctgatt cccttagctg acgaatatga ccctatgttt	480
cctaattgatt atgagaaagt agtgaagcgc caaagagagg aacgacagag acagcgggag	540
ctgaaagac aaaaggaaat agaagaaagg gaaaaaaggc gtaaagacag acatgaagca	600
agtgggtttg caaggagacc agatccagat tctgatgaag atgaagatta tgagcgagag	660
aggaggaaaa gaagtatggg cggagctgcc attgccccac ccacttctct ggtagagaaa	720
gacaaagagt taccccgaga ttttccttat gaagaggact caagacctcg atcacagtct	780
tccaaagcag ccattcctcc cccagtgtac gaggaacaag acagaccgag atctccaacc	840
ggacclagca actccttctt cgclaacatg gggggcacgg tggcgcaaa gatcatgcag	900
aagtacggct lccgggaggg ccagggtctg gggaagcatg agcagggcct gagcactgcc	960
ttgtcagtgg agaagaccag caagcgtggc ggcaagatca tcgtgggcga cgccacagag	1020
aaagatgcat ccaagaagtc agattcaaat ccgctgactg aaatacttaa gtgtcctact	1080

[0028]

aaagtgtct tactaaggaa catggttggg gcgggagagg tggatgaaga cttggaagtt	1140
gaaaccaagg aagaatgtga aaaatatggc aaagttggaa aatgtgtgat atttgaatt	1200
cctggtgccc ctgatgatga agcagtacgg atatntttag aatttgagag agttgaatca	1260
gcaattaaag cggttgttga cttgaatggg aggtattttg gtggacgggt ggtaaaagca	1320
tgtttctaca atttggacaa attcagggtc ttggatttgg cagaacaagt ttgattttaa	1380
gaactagagc acgagtcac tccggtgac cttaaatgaa ctgcaggctg agaaaagaag	1440
gaaaaaggtc acagcctcca tggctgttgc ataccaagac tcttgggaagg acttctaaga	1500
tatatgttga ttgatccctt ttttatttgg lgglltttta atatagtata aaaatccttt	1560
taaaaaaaca acaatctgtg tgcctctctg gttgtttctc ttttttatta ttactcttga	1620
gttgatgaca tttttgtta gatttcatgg taattctcaa gtgcttcaat gatgcagcat	1680
ttcttgact aaaaaaaaa aaaaaaaaa aactagaaag ttttgggaca tggggttata	1740
ttaaattatt ctttgtttt cttttcttt taataaagcc tgcaagttac taaattgtag	1800
tttcataaat tctgtagtaa agtatcatct tggcagtggtg ccaaaggatga aaatgatgct	1860
ttctctaaca gagaaattct tagtgactcc agtcgtagaa aaacgtcttt acaacctgaa	1920
taagattgaa gaattgtgaa cataccatgg cctattggat gaatcatttgc cgtaggcta	1980
aatcagactg tagggtttgt gatggattta tggagtatgt gggatatagaa atcatgaatc	2040
tagcatttgt ttcagagat tcaagcatag tcttaagggt agatcagaaa tgacaaatga	2100
attcaaaacc tagcaggtgc attgtaaagtg tgtgccaggt tatgttttgg aaatggcagt	2160
tccttggggt catgtttcta ctggcaaaat ttgcaatagt gtctatttgt atgtaatttt	2220
aaaatttata agattatcca cgttggccaa gtaaaactgta ctgccaatag aattctggaa	2280
llgtgagaaa ttgtatcatt gaagttcaggt aggatgtgtg gcttaaaaat ttatcaggac	2340
cacaaaaaag aaaacaaaaa tatttggtag tgaggttcat tgccagggca ggaggtattt	2400
ccagaaaata ctcatgctg tgttctgttc cttgctttcc caaatactgc atgtgacttt	2460
cctaagcggc agctgaaaga ctgcagcccg tgctgtctcc tttggttatt atgacatgaa	2520
agtgtatcaa gaactcagca tttctttgca tccatggact tggtttggag acataaggaa	2580
tattctgacc ctttttaaaa aaggattttc tcatgttttt atttaacata aataaaagaa	2640
taacatttta tcttttgtgg tattatttta ttgaalaaaa ttgagtttta tgataaaaaa	2700
aaaaaaaa	2709

<210> 95

<211> 2150

[0029]

<212> DNA

<213> 人

<400> 95

```

ctcgagccac gaaggeccccg ctglcctgtc tagcagatac ttgcacggtt tacagaaatt      60
cggtcctctgg gtcgtgtcag gaaactggaa aaaaggatcat aagcatgaag cgcagttcag      120
tttccagegg tgggtctggtc cgcctctcca tgcaggagtt aagatcccag gatgtaaata      180
aacaaggcct ctatacccct caaaccaaag agaaccaaac ctttgaaag ttgagtataa      240
acaaaccgac atctgaaaga aaagtctcgc tatttggcaa aagaactagt ggacatggat      300
cccggaatag tcaacttgggt atattttcca gttctgagaa aatcaaggac ccgagaccac      360
ttaatgacaa agcattcatt cagcagtgtg ttcgacaact ctgtgagttt cttacagaaa      420
atggttatgc acataatgtg tccatgaaat ctctacaagc tccctctggt aaagacttcc      480
tgaagatctt cacatttctt tatggtctcc tgtgccctc atacgaactt cctgacacaa      540
agtttgaaga agaggttcca agaactttta aagaccttgg gtatcctttt gcactatcca      600
aaagctccat gtacacagtg ggggctcctc atacatggcc tcacattgtg gcagccttag      660
ttlggctaata agactgcatc aagatacata ctgccatgaa agaaagctca cctttatttg      720
atgatgggca gccttgggga gaagaaactg aagatggaat tatgcataat aagttgtttt      780
tggactacac cataaaatgc tatgagagtt ttatgagtggtg tgcggacagc tttgatgaga      840
tgaatgcaga gctgcagtca aactgaagg atttatttaa tgtggatgct ttaagctgg      900
aatcattaga agcaaaaaac agagcattga atgaacagat tgcaagattg gaacaagaaa      960
gagaaaaaga accgaatcgt ctagagtcgt tgagaaaact gaaggettcc ttacaaggag     1020
atgttcaaaa gtatcaggca tacatgagca atttggagtc tcattcagcc attcttgacc     1080
agaaattaaa tggctcfaat gaggaaattg ctagagtaga actagaatgt gaaacaataa     1140
aacaggagaa cactcgacta cagaatatca ttgacaacca gaagtactca gttgcagaca     1200
ttgagcgaat aatcatgaa agaaatgaat tgcagcagac tattaataaa ttaaccaagg     1260
acctggaagc tgaacaacag aagttgtgga atgaggagtt aaaatatgcc agaggcaaag     1320
aagcgattga aacacaatta gcagagtatc acaattggc tagaaaatta aaacttattc     1380
ctaaaggctc tgagaattcc aaaggttatg actttgaaat taagtttaat cccgaggctg     1440
gtgccaactg ccttgtcaaa tacagggtc aagtttatgt acctcttaag gaactcctga     1500
atgaaactga agaagaaatt aataaagccc taataaaaa aatgggtttg gaggatactt     1560
tagaacaatt gaatgcaatg ataacagaaa gcaagagaag tgtgagaact ctgaaagaag     1620
aagttcaaaa gctggatgat ctttaccac aaaaaattaa ggaagcagag gaagaggatg     1680

```

[0030]

aaaaatgtgc cagttagctt gaggccttgg agaaacacaa gcacctgcta gaaagtactg 1740
 ttaaccaggg gctcagttaa gctatgaatg aatttagatg tggtcagcgg gaataccaac 1800
 tagttgtgca aaccacgact gaagaaagac gaaaagtggg aaataacttg caacgtctgt 1860
 tagagatggt tgctacacat gttgggtctg tagagaaaca tcttgaggag cagattgcta 1920
 aagttgatag agaatatgaa gaatgcatgt cagaagatct ctcggaaaat attaaagaga 1980
 ttagagataa gtatgagaag aaagctactc taattaagtc ttcgaagaa tgaagataaa 2040
 atgttgatca tgtatatata tccatagtga ataaaattgt ctcagtaaaa aaaaaaaaaa 2100
 aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2150

<210> 96
 <211> 2977
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 96
 ccgaatgtga cgcctcccg ctccctcacc cgccgcgggg aggaggagcg ggcgagaagc 60
 tgccgccgaa cgacaggacg ttggggcggc ctggctcctt caggtttaag aattgtttaa 120
 gctgcatcaa tggagcacat acaggagact tggaagacga tcagcaatgg ttttgattc 180
 aaagatgccg tgtttgatgg ctccagctgc atctctccta caatagtcca gcagtttggc 240
 taccagcgcg gggcatcaga tgatggcaaa ctacacagatc cttctaagac aagcaaacct 300
 atccgtgttt tcttgccgaa caagcaaaga acagtggcca atgtgcgaaa tggaatgagc 360
 ttgcatgact gccttatgaa agcactcaag gtgaggggccc tgcaaccaga gtgctgtgca 420
 gtgttcagac ttctccacga acacaaaggt aaaaaagcac gcttagattg gaatactgat 480
 gctgctctt tgattggaga agaacttcaa gtagatttcc tggatcatgt tcccctcaca 540
 acacacaact ttgctcggaa gacgttctg aagcttgctt tctgtgacat ctgtcagaaa 600
 ttctgctca atggatttcg atgtcagact tgtggctaca aatttcatga gcactgtagc 660
 accaaagtac ctactatgtg tgtggactgg agtaacatca gacaactctt attgtttcca 720
 aattccacta ttggtgatag tggagtccca gcactacctt ctttgactat gcgtcgtatg 780
 cgagagtcg tttccaggat gcctgttagt tctcagcaca gatattctac acctcagccc 840
 ttcaccttla acacctccag tcctcatct gaaggttccc tctcccagag gcagaggtcg 900
 acatccacac ctaatgtcca catggtcagc accacgctgc ctgtggacag caggatgatt 960
 gaggatgcaa ttcgaagtca cagcgaatca gcctcactt cagccctgtc cagtagcccc 1020
 aacaatctga gcccaacagg ctggtcacag ccgaaaaccc ccgtgccage acaaagagag 1080

[0031]

cgggcaccag tatctgggac ccaggagaaa aacaaaatta ggccctcgtgg acagagagat	1140
tcaagctatt attgggaaat agaagccagt gaagtgatgc tgtccactcg gattgggtca	1200
ggctcttttg gaactgttta taagggtaaa tggcacggag atgttgcaat aaagatccta	1260
aaggttgtcg acccaacccc agagcaatc caggcctca ggaatgaggt ggctgttctg	1320
cgcaaaacac ggcatgtgaa cattctgctt ttcattgggt acatgacaaa ggacaacctg	1380
gcaattgtga cccagtgggt cgagggcagc agcctctaca aacacctgca tgtccaggag	1440
accaagtttc agalgtlcca gctaattgac attgcccgcc agacggctca gggaatggac	1500
tatttgcatg caaagaacat catccataga gacatgaaat ccaacaatat atttctccat	1560
gaaggcttaa cagtgaaaat tggagatfff ggtttggcaa cagtaaagtc acgctggagt	1620
ggttctcagc aggttgaaca acctactggc tctgtcctct ggatggcccc agaggtgatc	1680
cgaatgcagg ataacaacc attcagtttc cagtcggatg tctactccta tggcatcgta	1740
ttgtatgaac tgatgacggg ggagcttctt tattctcaca tcaacaaccg agatcagatc	1800
atcttcatgg tgggccgagg atatgcctcc ccagatctta gtaagctata taagaactgc	1860
cccaaagcaa tgaagaggct gtagctgac tgtgtgaaga aagtaaagga agagaggcct	1920
ctttttcccc agatcctgtc ttccattgag ctgctccaac actctctacc gaagatcaac	1980
cggagcgtt ccgagccatc cttgcatcgg gcagcccaca ctgaggatat caatgcttgc	2040
acgtgacca cgtccccgag gctgcctgtc ttctagtga cttgacact gtcttcaggc	2100
tgccagggga ggaggagaag ccagcaggca ccactttct gctccccttc tccagaggca	2160
gaacacatgt tttcagagaa gctctgctaa ggaccttcta gactgctcac agggccttaa	2220
cttcatgttg cttcttttc tatcccttg ggccctggga gaaggaagcc atttgcagtg	2280
ctgggtgtc ctgctccctc ccacattcc ccatgctcaa ggcccagcct tctgtagatg	2340
cgcaagtgga tgttgatggt agtacaaaa gcaggggccc agccccagct gttggctaca	2400
tgagtattta gaggaagtaa gtagcaggc agtccagccc tgatgtggag acacatggga	2460
ttttgaaat cagcttctgg aggaatgcat gtcacaggcg ggactttctt cagagagtgg	2520
tgcagcgcca gacatttgc acataaggca ccaaacagcc caggactgcc gagactctgg	2580
ccgccgaag gagcctgctt tggactatg gaactttct taggggacac gtctctctt	2640
cacagcttct aagggttcca gtgcattggg atggttttcc aggcaaggca ctcgccaat	2700
ccgatctca gccctctcag gacagctctt ccatcatgct gaattttgtc ttccaggagc	2760
tgccctatg gggcgggccc cagggccagc ctgtttctct acaaaacaaa caaacaacaa	2820

[0032]

gccttgtttc tctagtcaca tcatgtgtat acaaggaagc caggaatata ggttttcttg 2880
 atgatttggg ttttaatttt gtttttattg cacctgacaa aatacagtta tctgatggtc 2940
 cctcaattat gttattttta taaaataaat taaattt 2977

<210> 97
 <211> 1212
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 97
 atggaccgat ctaaagaaaa ctgcatttca ggacctgtta aggctacagc tccagttgga 60
 ggtccaaaac gtgttctcgt gactcagcaa ttctcttgtc agaatecatt acctgttaat 120
 agtggccagg ctgagcgggt cttgtgtcct tcaaattctt cccagcgcac tcctttgcaa 180
 gcacaaaagc ttgtctccag tcacaagccg gttcagaatc agaagcagaa gcaattgcag 240
 gcaaccagtg tacctcatcc tgtctccagg ccaactgaata acacccaaaa gagcaagcag 300
 cccctgccat cggcacctga aaataatcct gaggaggaac tggcatcaaa acagaaaaat 360
 gaagaatcaa aaaagaggca gtgggctttg gaagactttg aaattggtcg ccctctgggt 420
 aaaggaaagt ttggtaatgt ttatttgga agagaaaagc aaagcaagtt tattctggct 480
 cltaaaagt tattaagc tcagctggag aaagccggag tggagcatca gtcagaaga 540
 gaagtagaaa tacagtcca ccttcggcat cctaataatc ttagactgta tggttatttc 600
 catgatgcta ccagagtcta cctaattctg gaatatgcac cacttggac agtttataga 660
 gaacttcaga aactttcaaa gttgatgag cagagaactg ctacttatat aacagaattg 720
 gcaaatgccc tgtcttactg ccattcgaag agagttatc atagagacat taagccagag 780
 aacttacttc ttggatcagc tggagagctt aaaattgcag attttgggtg gtcagtacat 840
 gctccatctt ccaggaggac cactctctgt ggcaccctgg actacctgcc cctgaaatg 900
 attgaaggtc ggatgcatga tgagaagggt gatctctgga gccttggagt tctttgctat 960
 gaatttttag ttgggaagcc tccttttgag gcaaacacat accaagagac ctacaaaaga 1020
 atatcacggg ttgaattcac attccctgac ttgttaacag agggagccag ggacctcatt 1080
 tcaagactgt tgaagcataa tcccagccag aggccaatgc tcagagaagt acttgaacac 1140
 ccctggatca cagcaaattc atcaaaacca tcaaatgcc aaaacaaaga atcagctagc 1200
 aaacagtctt ag 1212

<210> 98
 <211> 2788
 <212> DNA

[0033]

<213> 人	
<400> 98	
ggcggcggta gcagccaggc ttggcccccg gcgtggagca gacgcggacc cctccttct	60
ggcggcggcg gcgcgggctc agagcccggc aacgggcggg cgggcagaat gagtctgcag	120
gtcttaaacg acaaaaatgt cagcaatgaa aaaaatacag aaaattgcga cttcctgttt	180
tcgccaccag aagttaccgg aagatcgtct gttcttcgtg tgtcacagaa agaaaatgtg	240
ccaccaaga acctggccaa agctatgaag gtgactttc agacacctct gcgggatcca	300
cagacgcaca ggattctaag tcctagcatg gccagcaaac ttgaggctcc tttcactcag	360
gatgacacc ttggactgga aaactcacac ccggtctgga cacagaaaga gaaccaacag	420
ctcatcaagg aagtggatgc caaaactact catggaattc tacagaaacc agtggaggct	480
gacaccgacc tcctggggga tgcaagccca gcctttggga gtggcagctc cagegagtct	540
ggcccaggtg ccctggctga cctggactgc tcaagctctt cccagagccc aggaagtct	600
gagaaccaa tggtgtctcc aggaaaagtg tctggcagcc ctgagcaagc cgtggaggaa	660
aaccttagtt cctattcctt agacagaaga gtgacaccgc cctctgagac cctagaagac	720
ccttgaggga cagagtcca gcacaaagcg gagactccgc acggagccga ggaagaatgc	780
aaagcggaga ctccgcacgg agccgaggag gaatgccggc acggtggggc ctgtctccc	840
gcagcagtgg ccacttcgcc tcctggtgca atccctaagg aagcctgcgg aggagcacc	900
ctgcagggtc tgcctggcga agccctgggc tgcctgcgg gtgtgggcac cccctgcca	960
gcagatggca ctgagacct tacctgtgca cacacctctg ctctgagag cacagcccca	1020
accaaccacc tgggtgctgg cagggccatg accctgagtc ctgaggaaga agtggctgca	1080
ggccaaatgg ccagctctc gaggagcgga cctgtaaaac tagaatttga tgtatctgat	1140
ggcggccacca gcaaaagggc acccccacca aggagactgg gagagaggtc cggcctcaag	1200
cctcccttga ggaaagcagc agtgaggcag caaaaggccc cgcaggaggt ggaggaggac	1260
gacgtagga gcggagcagg agaggacccc cccatgccag cttctcgggg ctcttaccac	1320
ctcgactggg acaaaaatgga tgacccaaac ttcattccgt tcggaggatga caccaagtct	1380
ggttgacagt aggcccagcc cccagaaagc cctgagacca ggctgggcca gccagcggct	1440
gaacagttgc atgctgggcc tgccacggag gagccaggtc cctgtctgag ccagcagctg	1500
cattcagcct cagcggagga cacgcctgtg gtgcagttgg cagccgagac cccaacagca	1560
gagagcaagg agagagcctt gaactctgcc agcacctcgc ttcccacaag ctgtccaggc	1620
agtgagccag tgcccacca tcagcagggg cagcctgcct tggagctgaa agaggagagc	1680

[0034]

ttcagagacc cgcctgaggt tctaggcacg ggcgcggagg tggattacct ggagcagttt	1740
ggaacttctt cgtttaagga gtcggccttg aggaagcagt ccllatacct caagttcgac	1800
ccccctctga gggacagtcc tggtagacca gtgcccgtgg ccaccgagac cagcagcatg	1860
cacggtgcaa atgagactcc ctccaggact cccgcgggaag ccaagcttgt ggagttcgat	1920
ttcttgggag cactggacat tcctgtgcca ggcccacccc caggtgttcc cgcgcctggg	1980
ggcccacccc tgtccaccgg acctatagtg gacctgctcc agtacagcca gaaggacctg	2040
gatgcagtgg taaaggcgac acaggaggag aaccgggagc tgaggagcag gtgtgaggag	2100
ctccacggga agaacctgga actggggaag atcatggaca gttcgaaga ggttgtgtac	2160
caggccatgg aggaagtcca gaagcagaag gaactttcca aagctgaaat ccagaaagtt	2220
ctaaaagaaa aagaccaact taccacagat ctgaactcca tggagaagtc cttctccgac	2280
ctcttcaagc gttttgagaa acagaaagag gtgatcgagg gctaccgcaa gaacgaagag	2340
tactgaaga agtgcgtgga ggattacctg gcaaggatca cccaggaggg ccagaggtag	2400
caagccctga aggcccacgc ggaggagaag ctgcagctgg caaacgagga gatgcccag	2460
gtccggagca aggcccaggc ggaagcgttg gccctccagg ccagcctgag gaaggagcag	2520
atgcgatcc agtcgctgga gaagacagtg gagcagaaga ctaaagagaa cgaggagctg	2580
accaggatct gcgacgacct catctccaag atggagaaga tctgacctcc acggagccgc	2640
tgtececgcc cccctgcctc cgtctgtctg tcctgtctga ttctcttagg tgatcatgtc	2700
tttttctgt cttgtcttca acttttttta aaactagatt gctttgaaaa catgactcaa	2760
taaaagtctt ctttcaattt aaaaaaaaa	2788

<210> 99

<211> 2287

<212> DNA

<213> 人

<400> 99

cgcgccccgc gcagccccgg gcgcccgcgc tcctgcccgg cctgcggccc cagcccttgc	60
gcccctcgtc cgaccgcgga tcgtccacca gaccgtgcct cccggccgcc cggccggccc	120
gcgtgcatgc ttcggctctg gccagcctct gggccgtccg tccccactgg cgggcccatt	180
ccgagtcgcc gcgtcggcag accgcccgtt gcgcccggagc tgggggcctt agggtccccc	240
gacctctcct cactctcgtc cgcctgttcc aggagcacag atgaattgga gatcatcgac	300
gagtacatca aggagaacgg ctccggcctg gacgggggac agccgggccc gggcgagggg	360
ctgccacgcc tgggtgtctc cggggctgcg tccttgagca cggtcacctt ggccctctgt	420

[0035]

gcgccccag ccacgccgc gccttggggc tgccccctgg gccgactagt gtccccagcg	480
ccgggcccgg gcccgcagcc gcacctggtc atcacggagc agcccaagca gcgcggcatg	540
cgcttccgct acgagtgcga gggccgctcg gccggcagca tccttgggga gaggcagacc	600
gaggccagca agacgctgcc cgccatcgag ctccgggatt gtggagggtc gcgggaggtg	660
gaggtgactg cctgcctggt gtggaaggac tggcctcacc gagtccacc ccacagcctc	720
gtggggaaag actgcaccga cggcatctgc aggggtcggc tccggcctca cgtcagcccc	780
cggcacagtt ttaacaacct gggcattcag tgtgtgagga agaaggagat tgaggctgcc	840
attgagcgga agattcaact gggcattgac ccctacaacg ctgggtccct gaagaacct	900
caggaagtag acatgaatgt ggtgaggatc tgcttcagg cctcatatcg ggaccagcag	960
ggacagatgc gccggatgga tcctgtgctt tccgagcccc tctatgacaa gaaatccaca	1020
aacacatcag agctgcggat ttgccgaatt aacaaggaaa gcgggcccgtg caccgggtggc	1080
gaggagctct acttgcctcg cgacaagggtg cagaaaggag acatatacgt ggtgttcagc	1140
agggcctcct ggggaaggctg ggctgacttc tcccaggccg acgtgcaccg ccagallgcc	1200
attgtgttca agacgccgc ctacaggac ctggagattg tcgagcccgt gacagtcaac	1260
gtcttctcgc agcggctcac cgatggggtc tgcagcgagc cattgccttt cacgtacctg	1320
cctcgcgacc atgacagcta cggcgtggac aagaagcgga aacgggggat gcccagcgtc	1380
cttggggagc tgaacagctc tgacccccat ggcatcgaga gcaaaccggc gaagaaaaag	1440
ccggccatcc tggaccactt cctgcccac cacggtcag gcccgttcct cccgccgca	1500
gccctgctgc cagaccctga cttcttctt ggcaccgtgt ccctgcccgg cctggagccc	1560
cctggcgggc ctgacctcct ggacgatggc ttgctctac accctacggc ccccacactc	1620
ttaccatgc tggacctgct gccccggca ccgccacag ctagcgtgtg tgtgtgcagc	1680
ggaggtgccg gggccgtggt tggggagacc cccggccctg aaccactgac actggactcg	1740
taccaggccc cgggccccgg ggatggaggc accgccagcc ttgtgggcag caacatgttc	1800
cccaatcatt accgcgaggc ggccittggg gggggcctcc tateccccgg gcctgaagcc	1860
acgtagcccc gcgatccag aggaggggca ctgggtgggg agggaggtgg aggagccgtg	1920
caatcccaac caggatgtct agcaccceca tccccttggc ccttcctcat gcttctgaag	1980
tggacatatt cagccttggc gagaagctcc gttgcacggg ttccctctg agcccatttt	2040
acagatgagg aaactgagtc cggagaggaa aaggacatg gctcccgtgc actagcttgt	2100
tacagctgcc tctgtccca catgtggggg caccttctcc agtaggattc ggaaaagatt	2160
gtacatatgg gaggagggg cagattcctg gccctcctc cccagactig aaggtggggg	2220

[0036]

gtaggttggg tgttcagagt cttccaata aagatgagtt tttgagcctc aaaaaaaaaa 2280
 aaaaaaaaaa 2287

 <210> 100
 <211> 2850
 <212> DNA
 <213> 人

 <400> 100
 tcgcaacttc gtgtgccggg gcgccggagc cggaggcggc tgtagccac atctcccgag 60
 cgacccccgg cgcccccccg ccgcgcggag gcccgggcca cacctcactg gccgcttgge 120
 ccatcccagt cagcgcgcgg ccgaaccccc tccgcgcgcg ccggggagcg gcgccccgc 180
 cgctgccgcc gcgacccttg gcgcclgccc ctgcaacggg aggtctgcag ggaactggcc 240
 aggcaagggg gcaggcccgt ttctctggg ggttggtgcg ttgtagcagc agcgggagcc 300
 aggactaagg acaagcagga gctgggagcc ccagccccac tgcaggcccc accatggcgc 360
 cgttctgcg catcgccttc aactcctatg agctgggctc cctgcaggcc gaggacgagg 420
 cgaaccagcc cttctglgcc gtgaagatga aggaggcgt cagcacagag cgtgggaaaa 480
 cactggtgca gaagaagccg accatgtatc ctgagtggaa gtcgacgttc gatgccaca 540
 tctatgaggg gcgcgtcadc cagattgtgc taatgcgggc agcagaggag ccagtgtctg 600
 aggtgaccgt ggggtgtgct gtgctggccg agcgcctgcaa gaagaacaat ggcaaggctg 660
 agttctggct ggacctgcag cctcaggcca aggtgttgat gctgttcag tatttccctg 720
 aggacgigga ttcaaacag tctatgcgca gtgaggacga ggccaagtcc ccaacgatga 780
 accgccgcgg agccatcaaa caggcaaaa tccactacat caagaacct gagtttatcg 840
 ccaccttctt tggcaaccc accttctggt ctgtgtgcaa agactttgtc tggggcctca 900
 acaagcaagg ctacaaatgc aggcaatgta acgctgceat ccacaagaa tgcacgaca 960
 agatcatcgg cagatgcact ggcaccgcgg ccaacagccg ggacactala ttccagaaag 1020
 aacgcttcaa catcgacatg ccgcaccgct tcaaggttca caactacatg agccccacct 1080
 tctgtgacca ctgcggcagc ctgctctggg gactggtgaa gcagggatta aagtgtgaag 1140
 actgcggcat gaatgtgac cataaatgcc gggagaaggt ggccaacctc tgcggcatca 1200
 accagaagct tttggetgag gccttgaacc aagtcacca gagagcctcc cggagatcag 1260
 actcagcctc ctcagagcct gttgggatal atcagggttt cgagaagaag accggagttg 1320
 ctggggagga catgcaagac aacagtggga cctacggcaa gatctgggag ggcagcagca 1380
 agtgaacat caacaacttc alcttcaca aggtcctggg caaaggcagc ttcgggaagg 1440

[0037]

tgctgcttgg agagctgaag ggcagaggag agtactttgc catcaaggcc ctcaagaagg 1500
 atgtggtcct gatcgacgac gacgtggagt gcacatggt tgagaagcgg gtgctgacac 1560
 ttgcegcaga gaatcccttt ctcaccacc tcactctgac cttccagacc aaggaccacc 1620
 tgttctttgt gatggagttc ctcaacgggg gggacctgat gtaccacatc caggacaaag 1680
 gccgctttga actctaccgt gccacgtttt atgccgctga gataatgtgt ggactgcagt 1740
 ttctacacag caagggcatc atttacaggg acctcaaact ggacaatgtg ctgctggacc 1800
 gggatggcca catcaagatt gccgactttg ggatgtgcaa agagaacata ttcggggaga 1860
 gccgggccag caccttctgc ggcaccctg actatatcgc ccctgagatc ctacagggcc 1920
 tgaagtacac attctctgtg gactgggtgt ctttcggggt ctttctgtac gagatgctca 1980
 ttggccagtc ccccttccat ggtgatgatg aggatgaact cttcgagtcc atccgtgtgg 2040
 acacgccaca ttatccccg tggatcacca aggagtccaa ggacatcctg gagaagctct 2100
 ttgaaaggga accaaccaag aggctgggag tgaccgaaa catcaaaatc cacccttct 2160
 tcaagaccat aaactggact ctgctggaaa agcggagggt ggagccacct ttcaggccca 2220
 aagtgaagtc acccagagac tacagtaact ttgaccagga gttcctgaac gagaaggegc 2280
 gcctctccta cagcgacaag aacctcatg actccatgga ccagtctgca ttcgctgget 2340
 tctctttgt gaaccccaaa ttcgagcacc tcttgaaga ttgaggttc tggacagatc 2400
 aggetagccc tgcctccac ccacacctgc ccgctccca cgataagcac cagtgggact 2460
 gtggtgactt ctgctgctgg ccccgcccct gcccccagag cgtcctlggc tgccgtctgg 2520
 ccgggtcttc atggtacttc ctctgtgaac tgtgtgtgaa tetgctttc ctctgccttc 2580
 ggagggaaat tglaaatcct gtgittcatt acitgaaatgt agttatctat tgaaaatata 2640
 tattatatac atagacatat atatatatat aataggctgt atatattgct cagtagagaa 2700
 aaacctggg ggactggtga tatgtgatc tttttcaaaa aatatatat atgacaaaaa 2760
 aaaaaaaaaa ggagcacaag ctgtttgaac caccaggitt atttgtgtgt ctaaataaac 2820
 accaaatagt accaaaaaaaa aaaaaaaaaa 2850

<210> 101
 <211> 1584
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 101
 gttggttga gcgtcgcgca gtcgggaggt ccgggaaagt ttctttggag gtccggcccc 60
 gageggccat gtcccacggc cccaagcagc ccggcgcggc cgccgcgccg gcgggcccga 120

[0038]

aggctccggg ccagcatggg ggcttcgtgg tgactgtcaa gcaagagcgc ggcgagggtc 180
 cacgcgcggg cgagaagggg tcccacgagg aggagccggg gaagaaacgc ggctggccca 240
 agggcaagaa gcggaagaag attctgccga atgggcccaa ggcaccggtc acgggctacg 300
 tgcgcttct gaacgagcgg cgcgagcaga tccgcacgcg ccaccggat ctgccccttc 360
 ccgagatcac caagatgctg ggcgcccagt ggagcaagct gcagccaacg gaaaagcagc 420
 ggtacctgga tgaggccgag agagagaagc agcagtacat gaaggagctg cgggctgacc 480
 agcagtctga agcctataag atgtgcacgg agaagatcca ggagaagaag atcaagaaag 540
 aagactcgag ctctgggctc atgaacactc tcctgaatgg acacaagggt ggggactgcg 600
 atggcttctc caccttcgat gttccatct tcaactgaaga gttcttgac caaaacaaag 660
 cgcgtgaggc ggagcttcgg cgcttgccga agatgaatgt ggccctcgag gacgagaacg 720
 cggctactgca gaggcacacg cagagcatga gcagcgcgcg cgagcgtctg gacgaggagc 780
 tggcgtgga ggagcggagg acgctggcgc tgcagcagca gctccaggcc gtgcgccagg 840
 cgctcaccgc cagcttcgcc tcaactgccg tgccgggcac ggcgaaaacg cccacgctgg 900
 gcactctgga cttctacatg gcccggcttc acggagccat cgagcgcgac cccgcccagc 960
 acgagaagct catcgtccgc atcaaggaaa tectggccca ggtcgcacg gagcacctgt 1020
 gaggagtggg cgggcccacg atgcagagga gaagctgtgg gcgcggccct gccacacccc 1080
 acccctgga cgagaggctg ggggtccacc ctttggggcc tggteccatc ctgcacctg 1140
 ggggctccag cccccctaaa attaaatttc tgcagcatcc ctttagcttt caatcccc 1200
 agccccctga acccggaaaa agcaactcgt gcgcgataca cccagaagaa cctcacagcc 1260
 gagggtgccc ctctcggag gacagccacg cgctacactg gctctccggg ccacccccag 1320
 gacacagggc agacgaaacc cccccagc acacggcagg acccccctaa tiactcacta 1380
 cggggggctg tgccatagc cacacaggaa gctgccttgt ggggacttac ctggggtgct 1440
 ccccgcatgc ctgtaccca gatgggtggg ggccggcttt gccatcctg ctctctcca 1500
 gccgagggac cctggtgggg gtggtcctt ctcaactgct gatccggact tttlaataa 1560
 aaacaagtaa aatttggtt ttaa 1584

<210> 102

<211> 2383

<212> DNA

<213> 人

<400> 102

gctgctgcga cagtccacta cctttttcga gactgactcc cgttgccca aggcttccca 60

[0039]

gagcgaacct gtgcggctgc aggcaccggc gcgtcgagtt tccggcgtcc ggaaggaccg	120
agctcttctc gcggatccag tgttccgttt ccagcccca atctcagagc cgagccgaca	180
gagagcaggg aaccggcatg gccaaagccg cggcgatcgg catcgacctg ggcaccacct	240
actcctgcgt ggggtgttc caacacggca aggtggagat catcgccaac gaccagggca	300
accgcaccac cccagctac gtggccttca cggacaccga gcggctcatc ggggatgcgg	360
ccaagaacca gttggcgctg aaccgcaga acaccgtgtt tgacgcgaag cggtgatcg	420
gccgcaagtt cggcgaccgg gtggtgcagt cggacatgaa gcactggcct ttccaggatga	480
tcaacgacgg agacaagccc aaggtgcagg tgagctacaa gggggacacc aaggcattct	540
accccgagga gatctcgtcc atggtgctga ccaagatgaa ggagatgcc gaggcgtacc	600
tgggctacc ggtgaccaac gcggatgaca ccgtgccggc ctacttcaac gactcgcagc	660
gccaggccac caaggatgcg ggtgtgatcg cggggctcaa cgtgctgcgg atcatcaacg	720
agcccacggc cgccccatc gcctacggcc tggacagaac gggcaagggg gagcgcgaacg	780
tgctcatctt tgacctgggc gggggcacct tcgacgtgtc catcctgacg atcgacgacg	840
gcatcttcga ggtgaaggcc acggccgggg acaccacct ggggtggggag gactttgaca	900
acaggctggt gaaccacttc gtggaggagt tcaagagaaa acacaagaag gacatcagcc	960
agaacaagcg agccgtgagg cggctgcgca ccgcctgcga gagggccaag aggaccctgt	1020
cgccagcac ccaggccagc ctggagatcg actccctgtt tgagggcacg gacttttaca	1080
cgccatcac cagggcgagg ttcgaggagc tgtgtccga cctgttccga agcaccctgg	1140
agcccgtgga gaaggctctg cgcgacgcca agctggacaa gcccagatt cacgacctgg	1200
tcttggtcgg gggctccacc cgcacccca aggtgcagaa gctgctgcag gacttttca	1260
acgggcgca cctgaacaag agcatcaacc ccgacgaggc tgtggcctac ggggcggcgg	1320
tgcaggcggc catcctgatg ggggacaagl ccgagaacgt gcaggacctg ctgctgctgg	1380
acgtggctcc cctgtcgtg gggctggaga cggccggagg cgtgatgact gccctgatca	1440
agcgaactc caccatccc accaagcaga cgcagatctt caccacctac tccgacaacc	1500
aaccgggggt gctgatccag gtgtacgagg gcgagagggc catgacgaaa gacaacaatc	1560
tgttggggcg cttcagctg agcggcatcc ctccggcccc cagggcgctg cccagatcg	1620
aggtgacctt cgacatgat gccaacggca tctgaacgt cacggccacg gacaagagca	1680
ccggcaaggc caacaagatc accatcacca acgacaaggg ccgctgagc aaggaggaga	1740
tcgagcgcac ggtgcaggag gcggagaagt acaaagcgga ggacgaggtg cagcgcgaga	1800

[0040]

ggggtgtcagc caagaacgcc ctggagtcct acgccttcaa catgaagagc gccgtggagg 1860
 atgaggggct caagggcaag atcagcgagg ccgacaagaa gaaggtgctg gacaagtgtc 1920
 aagaggtcat ctctggctg gacccaaca ccttggccga gaaggacgag tttgagcaca 1980
 agaggaagga gctggagcag gtgtgtaacc ccatcatcag cggactgtac cagggtgccg 2040
 gtgggtcccgg gcctgggggc ttcggggctc aggggtcccaa gggagggtct gggtcaggcc 2100
 ccaccattga ggaggtagat taggggcctt tccaagattg ctgtttttgt tttggagctt 2160
 caagactttg catttcctag tatttctgtt tgteagttct caatttcctg tgtttgcaat 2220
 gttgaaatth tttggtgaag tactgaactt gcttttttc cggtttctac atgcagagat 2280
 gaattatac tgccatctta cgactatttc ttctttttaa tacacttaac tcaggccatt 2340
 ttttaagttg gttacttcaa agtaaataaa ctttaaaatt caa 2383

<210> 103
 <211> 3283
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 103
 gcgtgtcggg cgcggaaggg ggaggcggcc cggggcggcc gcgagtgagg cgcggggcgg 60
 cgaagggagc ggggtggcg gcaattgctg ccgcggcctt ggatgggctg ggccccctc 120
 gccgtccgc ctctccaca cgcgcggcgg ccgcggcgag ggggacgcgc cggccggggc 180
 ccggcacctt cgggaacccc ccggcccggg gcctgcggcc tgcgccgctt cggccgccgg 240
 gagccccgtg gagccccgc cgcgcgcgg cccgcggac cggacgctga gggcactcgg 300
 ggcggggcgc gcgctcgggc agacgtttgc ggggaggggg gcgcctgccg ggccccggcg 360
 accaccttgg gggtcgcggg ccggctcggg gggcggccag tgcgggccct cgcggggcgc 420
 gggcagcgac cagccctgag cggagctgtt ggccgcggcg ggaggcctcc cggaccccc 480
 cagcccccg aacgctcgc cggccggcg ggagtcggcg cccccggga ggtccgctcg 540
 gtcgtccgcg gcggagcgtt tgctcctggg acaggcggtg ggaccggggc gtcgccggag 600
 acgccccag cgaagtggg ctctccaggt gtgggggtcc cgggggtag cgacgtcgcg 660
 gaccggcct gtgggatggg cggcccggag aagactgcgc tcggccgtgt tcatacttgt 720
 ccglggcct gaggtccccg gaggatgacc tagcactgaa aagccccgc cggcctcccc 780
 aggggtccccg aggacgaagt tgaccctgac cgggccgtct ccagttctg aggccccggg 840
 cccactgaa ctccgctctg agccgcgctc ccggaccccc ggtgcccgcc ggtccgcaga 900
 ccctgcaccg ggcttgact cgcagccggg actgacgtgt agaacaatcg ttctgttg 960

[0041]

aagaagggtt tticccttcc ttttggggtt tttgttgect ttttttttcc tttttttttt	1020
gtaaaalitt ggagaaggga agtcggaaca caaggaagga cgcctcaccg gcggactcag	1080
ggctggcggc gggactccag gaccctgggt ccagcatgga ggtggtggac ccgcagcagc	1140
tgggcatggt cacggagggc gagctgatgt cggtggttat ggacacgttc atccaccgca	1200
tcgactccac cgaggtcacc taccagccgc gcccaagcg ggccaagctc atcggcaagt	1260
acctgatggg ggacctgctg ggggaaggct cttacggcaa ggtgaaggag gtgctggact	1320
cggagacgct gtgcaggagg gccgtcaaga tcctcaagaa gaagaagttg cgaaggatcc	1380
ccaacgggga ggccaacgtg aagaaggaaa ttcaactact gaggaggtta cggcacaaaa	1440
atgtcatcca gctgggtgat gtgttataca acgaagagaa gcagaaaatg tatatggtga	1500
tggaglactg cgtgtgtggc atgcaggaaa tgctggacag cgtgccggag aagcgtttcc	1560
cagtgtgcca ggcccacggg tacttctgtc agctgattga cggcctggag tacctgcata	1620
gccaggcat tgtgcacaag gacatcaagc cggggaacct gctgctcacc accggtggca	1680
ccctcaaaat ctccgacctg ggcgtggccg aggcactgca cccgttcgcg gcggacgaca	1740
cctgccggac cagccagggc tccccggctt tccagccgcc cgagattgcc aacggcctgg	1800
acaccttctc cggttcaag gtggacatct ggtcggctgg ggtcaccctc tacaacatca	1860
ccacgggtct gtacccttc gaaggggaca acatctacaa gttgtttgag aacatcggga	1920
aggggagcta cgccatcccg ggcgactgtg gcccccgct ctctgacctg ctgaaaggga	1980
tgcttgagta cgaaccggcc aagagttct ccatccggca gatccggcag cacagctggt	2040
tccggaagaa acatcctccg gctgaagcac cagtgccat cccaccgagc ccagacacca	2100
aggaccggtg gcgcagcatg actgtggtgc cgtacttga ggacctgcac ggcgcggacg	2160
aggacgagga cctcttcgac atcgaggatg acatcatcta cactcaggac ttcacggtgc	2220
ccggacaggt ccagaagag gaggccagtc acaatggaca gcgccggggc ctccccaaag	2280
ccgtgtgtat gaacggcaca gaggcggcgc agctgagcac caaatccagg gcggagggcc	2340
ggcccccaa ccctgcccgc aaggcctgct ccgccagcag caagatccgc cggtgtcgg	2400
cctgcaagca gcagtgagge tggccgctg cagcccgtgt ccaggagccc cgccaggtgc	2460
ccgcgccagg ccctcagtct tcctgccgtt tccgccgcc ctcccggaga ggtggccgcc	2520
atgtttctgt gccgaccag ccccaggacc tccggagcgc cctgcagggc cgggcagggg	2580
gacagcaggg accgggcgca gccctcccc ctccggccgc cggcagtgca cgggcttgt	2640
tgacttcgca gccccggcg gagccttccc gggcggcgt gggaggaggg aggcggcctc	2700
catgcacttt atgtggagac tactggcccc gccctggcc tcgtgctccg caggcgcccc	2760

[0042]

agcgccgtcc ggcggccccc cgcagacca gctggcgggt gtggagacca ggctcctgac 2820
 cccgccatgc atgcagccc acclggaagc cgcgcggccg ctttggtttt ttgtttggtt 2880
 ggttcattt tcttttttc tttttttt taagaaaaa taaaagggtg atttgagctg 2940
 tgctgtgag ggggttttg gagctgctgg gtggcagggg ggctgtggg lcgggctcac 3000
 gtcgcggccg ccttgecct ctcgggcac cctgctttg cggcccggcc ggagggcagg 3060
 accctcacct ctcccccaag gccactgcgc tctgggacc ccagagaaaa cccggagcaa 3120
 gcaggagtgt gcggtcaata tttatatcat ccagaaaaga aaaacacgag aaacgccatc 3180
 gcgggatggt gcagacgcg cggggactcg gaggtgccc tgccggcgag gcccccacia 3240
 tttgcaata aataaagctt gggaagctg gacctgaaaa aaa 3283

<210> 104
 <211> 2030
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 104
 tggctggcaa tggccttgc gacctcgagc cgggcccacg tggggacctt tggagcacag 60
 cctacgatcc tgggtcaagg ccggtgatg cagaggccag tccatatacc acccaggcct 120
 gcgaggagcg tggccccac ccaccagcc catatgtgca agtgcccttg acagagaggc 180
 tggatcatatc catggtgacc atttatgggc cacaacaggt ccccatctgc gcagtgaacc 240
 ctgtgctgag caccttgacg acgtgatctt gcttcgtcct gcagcactgt gcggggcagg 300
 aaaatccaag aggaagaagg atctacggat atcctgcgat tccaagccac ccgcacccaa 360
 cccacacccc ccccgaacc tggactcccg gaccttcac accattggag acagaaactt 420
 tgaggtggag gctgatgact tgggtaccat ctcaagaactg ggccgtggag cctatgggtt 480
 ggtagagaag gtgcggcac cccagagcgg caccatcatg gccgtgaagc ggatccgggc 540
 caccgtgaac tcacaggagc agaagcggct gctcatggac ctggacatca acatgcgcac 600
 ggtcgcactgt ttctacactg tcaccticta cggggcacta ttcagagagg gagacgtgtg 660
 gatctgcgat gagctcatgg acacatcctt ggacaagttc taccggaagg tgctggataa 720
 aaacatgaca attccagagg acatccttgg ggagattgct gtgtctatcg tgcgggcctt 780
 ggagcatctg cacagcaagc tgcggtgat ccacagagat gtgaagccct ccaatgtcct 840
 tatcaacaag gagggccatg tgaagatgtg tgacttggc atcagtggct acttggtgga 900
 ctctgtggcc aagacgatgg atgccggctg caagccctac atggcccctg agaggatcaa 960
 cccagagctg aaccagaagg gctacaatgt caagtccgac gtctggagcc tgggcatcac 1020

[0043]

catgattgag atggccatcc tgcggtccc ttacgagtc tgggggacce cgttccagca 1080
 gctgaagcag gtgggtgagg agecgtcccc ccagctccca gccgaccgtt tctccccga 1140
 gtttgtggac ttcactgctc agtgcctgag gaagaacccc gcagagcgta tgagctacct 1200
 ggagctgatg gageaccctt tcttcacctt gcacaaaacc aagaagacgg acattgctgc 1260
 cttcgtgaag aagatcctgg gagaagactc ataggggctg gccctcggac cccactccgg 1320
 cctccagag cccacagcc ccatctcggg gggcagtget caccacaccc ataagctact 1380
 gccatcctgg cccagggcat ctgggaggaa ccgagggggc tgctcccacc tggctctgtg 1440
 gcgagccatt tgtccaagt gccaaagaag cagaccattg gggctcccag ccagggcctt 1500
 gtcggcccca ccagtgcctc tcctgtctgc tctaggacc cgtctccagc tgctgagatc 1560
 ctggactgag ggggcctgga tgccccctgt ggatgtctgt gccccagc agcaggctgc 1620
 cagtgcctgg gtggatgggc caccgcttg cccagcctgg atgcatcca agttgtatat 1680
 tttttaatc tctegactga atggactttg cacactttgg cccaggggtg ccacacctt 1740
 atcccggctt tgggtcgggg tacacaagag gggatgagtt gtgtgaatac cccaagactc 1800
 ccatgaggga gatgcatga gccgccaag gccttcccct ggcaactggca aacagggcct 1860
 ctgaggagca caciggetca cccagtctg cccgccaccg ttatcgggtg cttcacctt 1920
 tcgtgtttt ttaatttat cctctgttga tttttcttt tgctttatgg gtttggcttg 1980
 tttttctgc atggtttgga gctgatcgt tctccccac ccctagggg 2030

<210> 105

<211> 3583

<212> DNA

<213> 人

<400> 105

aaaggcctgc agcaggacga ggacctgagc caggaatgca ggatggcggc ggtgaagaag 60
 gaagggggtg ctctgagtga agccatgtcc ctggaggag atgaatggga actgagtaaa 120
 gaaaatgtac aacctttaag gcaagggcgg atcatgtcca cgcttcaggg agcaactggca 180
 caagaatctg cctgtaacaa tactcttcag cagcagaaac gggcatttga atatgaaatt 240
 cgattttaca ctgaaatga cctctggat gtttgggata ggtatatcag ctggacagag 300
 cagaactatc ctcaaggtgg gaaagagagt aatatgtcaa cgttattaga aagagctgta 360
 gaagcactac aaggagaaaa acgatattat agtgatctc gatttctcaa tctctggctt 420
 aaattagggc gtttatgcaa tgagcctttg gatatgtaca gttacttga caaccaaggc 480
 attggtgttl cacttgcctc gttctatc tcatgggcag aagaatatga agctagagaa 540

[0044]

aacttttagga aagcagatgc gatatttcag gaagggattc aacagaagge tgaaccacta	600
gaaagactac agtcccagca ccgacaattc caagctcgag tgtctcggea aactctgttg	660
gcacttgaga aagaagaaga ggaggaagtt tttagtctt ctgtaccaca acgaagcaca	720
ctagctgaac taaagagcaa agggaaaaag acagcaagag ctccaatcat ccgtgtagga	780
ggtgctctca aggctccaag ccagaacaga ggactccaaa atccatttcc tcaacagatg	840
caaaataata gtagaattac tgtttttgat gaaaatgctg atgaggcttc tacagcagag	900
ttgtctaagc ctacagtcca gccatggata gcacccccca tgcccagggc caaagagaat	960
gagctgcaag caggcccttg gaacacagge aggtccttgg aacacaggcc tcgtggcaat	1020
acagcttcac tgatagctgt acccgctgtg cttcccagtt tcaactcata tgtggaagag	1080
actgcacaac agccagttat gacacatgt aaaattgaac ctagtataaa ccacatccta	1140
agcaccagaa agcctggaaa ggaagaagga gatcctctac aaagggttca gagccatcag	1200
caagcgtctg aggagaagaa agagaagatg atgtattgta aggagaagat ttatgcagga	1260
gtaggggaat tctcctttga agaaattcgg gctgaagttt tccggaagaa altaaaagag	1320
caaaggggaag ccgagctatt gaccagtgca gagaagagag cagaaatgca gaaacagatt	1380
gaagagatgg agaagaagct aaaagaaatc caaactactc agcaagaaag aacaggtgat	1440
cagcaagaag agacgatgcc taaaaaggag acaactaac tgcaaattgc ttccgagtct	1500
cagaaaatac caggaatgac tctatccagt tctgtttgtc aagtaactg ttgtgccaga	1560
gaaacttcac ttgaggagaa catttggcag gaacaacctc attctaaagg tcccagtgta	1620
cctttctcca tttttgatga gtttcttctt tcagaaaaga agaataaaag tcctcctgca	1680
gatccccac gagttttagc tcaacgaaga ccccttgacg ttctcaaac ctccagaaagc	1740
atcacctcaa atgaagatgt gtctccagat gtttgtgatg aatttacagg aattgaacc	1800
ttgagcgagg atgccattat cacaggcttc agaaatgtaa caatttgtcc taaccagaa	1860
gacacttgatg actttgccag agcagctcgt tttgtatcca ctcttttca tgagataatg	1920
tccttgaagg atctcccttc tgatcctgag agactgttac cggaagaaga tctagatgta	1980
aagacctctg aggaccagca gacagcttgt ggcactatct acagtcagac tctcagcatc	2040
aagaagctga gcccaattat tgaagacagt cgtgaagcca cacactcctc tggcttctct	2100
ggttcttctg cctcggttgc aagcaacctc tccatcaaat gtcttcaaat tcctgagaaa	2160
ctagaactta ctaatgagac ttcagaaaac cctactcagt caccatggtg itcacagtat	2220
cgcagacagc tactgaagtc cctaccagag ttaagtgctt ctgcagagtt gtgtatagaa	2280

[0045]

gacagaccaa tgcctaagtt ggaaattgag aaggaaattg aattaggtaa tgaggattac	2340
tgcattaaac gagaatacct aataigtgaa gattacaagt tattctgggt ggcgccaaga	2400
aactctgcag aattaacagt aataaaggla tcttctcaac ctgtcccatg ggactttiat	2460
atcaacctca agttaaagga acgtttaaat gaagattttg atcatttttg cagctgttat	2520
caatatcaag atggctgtat tgtttggcac caatatataa actgcttcac ccttcaggat	2580
cttctccaac acagtgaata tattacccat gaaataacag tgttgattat ttataacctt	2640
ttgacaatag tggagatgct acacaaagca gaaatagtcc atggtgactt gagtccaagg	2700
tgctctgattc tcagaaacag aatccacgat ccctatgatt gtaacaagaa caatcaagct	2760
ttgaagatag tggacttttc ctacagtgtt gaccttaggg tgcagctgga tgtttttacc	2820
ctcagcggtt ttcggactgt acagatcctg gaaggacaaa agatcctggc taactgttct	2880
tctccctacc aggtagacct gtttggata gcagatttag cacatttact attgttcaag	2940
gaacacctac aggtctctctg ggatgggtcc tcttgaaaac ttagcctaaa tatttctgag	3000
ctaaaagatg gtgaattgtg gaataaatc tttgtgcgga ttctgaatgc caatgatgag	3060
gccacagtgt ctgttcttgg ggagcttgca gcagaaatga atggggtttt tgacactaca	3120
ttcctaaagtc acctgaacaa agccttatgg aaggtagga agttaactag tcttggggct	3180
ttgtcttttc agtgagctag gcaatcaagt ctcacagatt gctgcctcag agcaatggtt	3240
gtattgtgga aactgaaac tglatgtgct gtaattaat ttaggacaca tttagatgca	3300
ctaccattgc tgttctactt tttgtacag gtatattttg acgtcactga tattttttat	3360
acagtgatat acttactcat ggcttgtct aacttttgtg aagaactatt ttattctaaa	3420
cagactcatt acaaatggtt acctgttat ttaaccatt tgtctctact tttccctgta	3480
cttttcccat ttgtaatttg taaaatgttc tcttatgac accatgtatt ttgtaataa	3540
taaaatagta tctgttaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaa	3583

<210> 106

<211> 1379

<212> DNA

<213> 人

<400> 106

ctgttggagc cgctgtggtt gctglccgcg gactggaagc gcgtgctttt gtttgtgtcc	60
ctggccatgg cgctgcagct ctcccgggag cagggaaica ccttgcgagg gagcgccgaa	120
atcgtggccg agttcttctc attcggcacc aacagcattt tatacagcg tggcatatat	180
ccatctgaaa ccttactctg agtgcagaaa tacggactca ccttgcctgt aactactgat	240

[0046]

cttgagctca taaaatacct aaataatgtg gtggaacaac tgaaagattg gttatacaag	300
tgttcagtte agaaactggt tgtagttatc tcaaatattg aaagtgggta ggtcctggaa	360
agatggcagt ttgatattga gtgtgacaag actgcaaaag atgacagtgc acccagagaa	420
aagtctcaga aagctatcca ggatgaaatc cgttcagtga tcagacagat cacagctacg	480
gtgacatttc tgccactggt ggaagtttct tgttcatttg atctgctgat ttatacagac	540
aaagatttgg ttgtacctga aaaatgggaa gagtcgggac cacagtttat taccaattct	600
gaggaagtcc gccttcgttc atttactact acaatccaca aagtaaatag catggtggcc	660
tacaaaattc ctgtcaatga ctgaggatga catgaggaaa ataatgtaat tgtaattttg	720
aatgtgggtt ttcctgaaat caagtcatct atagttgata tgttttattt cattggttaa	780
ttttacatg gagaaaacca aaatgatact tactgaactg tgtgtaattg ttcctttatt	840
tttttggtac ctatttgact taccatggag ttaacatcat gaatttattg cacattgttc	900
aaaaggaacc aggaggtttt ttgtcaaca ttgtgatgta tattcctttg aagatagtaa	960
ctgtagatgg aaaaacttgt gctataaagc tagatgcttt cctaaatcag atgttttgg	1020
caagtagttt gactcaglat aggtaggag atatttaagt ataaaataca acaaaggaag	1080
tctaaatatt cagaatcttt gtaagggtcc tgaaagtaac tcataatcta taaacaatga	1140
aatattgctg tatagctcct ttgacctc atttcatgta tagttttccc tattgaatca	1200
gtttccaatt atttgacttt aatttatgta acttgaacct atgaagcaat ggatatttgt	1260
actgtttaat gttctgtgat acagaactct taaaaatggt ttttcatglg ttttataaaa	1320
tcaagtttta agtgaaagtg aggaaataaa gtaagtttg ttttaattt gtcttaaaa	1379

<210> 107
 <211> 2984
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 107	
ggaaattcaa acgtgtttgc ggaaaggagt ttgggttcca tcttttcatt tccccagcgc	60
agctttctgt agaaatggaa tccgaggatt taagtggcag agaattgaca attgattcca	120
taatgaacaa agtgagagac attaaaaata agtttaaaaa tgaagacctt actgatgaac	180
taagcttgaa taaaatttct gctgatacta cagataactc gggaactggt aaccaaaatta	240
tgatgatggc aaacaacca gaggactggt tgagtttgtt gctcaacta gagaaaaaca	300
gtgttccgct aagtgatgct cttttaaata aattgattgg tcgttacagt caagcaattg	360
aagcgttcc cccagataaa tatggccaaa atgagagttt tgctagaatt caagtgagat	420

[0047]

ttgctgaatt aaaagctatt caagagccag atgatgcacg tgactacttt caaatggcca	480
gagcaaactg caagaaattt gcttttgttc atatatcttt tgcacaattt gaactgtcac	540
aagghtaatgt caaaaaagt aaacaacttc ttcaaaaagc tgtagaacgt ggagcagtac	600
cactagaaat gctggaaatt gccctgcgga atttaaacct ccaaaaaag cagctgcttt	660
cagaggagga aaagaagaat ttatcagcat ctacggattt aactgccccaa gaatcatttt	720
ccggttcact tgggcattta cagaatagga acaacagttg tgattccaga ggacagacta	780
ctaaagccag gtttttatat ggagagaaca tgccaccaca agatgcagaa ataggttacc	840
ggaaltcalt gagacaaact aacaaaacta aacagtcact cccatttgga agagtcccag	900
ttaaccttct aatagccca gattgtgatg tgaagacaga tgattcagtt gtacctgttt	960
ttatgaaaag acaaacctct agatcagaat gccgagattt ggttgtgcct ggatctaac	1020
caagtggaaa tgattcctgt gaattaagaa atttaagtc tgttcaaaaat agtcatttca	1080
aggaacctct ggtgtcagat gaaaagagtt ctgaacttat tattactgat tcaataacct	1140
tgaagaataa aacggaatca agtcttctag ctaaattaga agaaactaaa gagtatcaag	1200
aaccagaggt tccagagagt aaccagaaac agtggcaatc taagagaaag tcagagtgt	1260
ltaaccagaa tctgctgca tcttcaaatc actggcagat tccggagtta gcccgaaaag	1320
ttaatacaga gcagaaacat accacttttg agcaacctgt cttttcagtt tcaaaacagt	1380
caccaccaat atcaacatct aatggtttg acccaaaatc tatttgtaag acaccaagca	1440
gcaatacctt ggatgattac atgagctggt ttagaactcc agttgtaaag aatgactttc	1500
cacctgcttg tcagttgtea acaccttatg gccaacctgc ctgtttcag cagcaacagc	1560
atcaaatact tgccactcca cttcaaaatt tacaggtttt agcatcttct tcagcaaatg	1620
aatgcatttc ggltaaagga agaatttatt ccattttaaa gcagatagga agtggaggtt	1680
caagcaaggt atttcaggtg ttaaatagaa agaaacagat atatgctata aaatatgtga	1740
acttagaaga agcagataac caaactcttg atagttaccg gaacgaaata gcttatttga	1800
ataaactaca acaacacagt gataagatca tccgacttta tgattatgaa atcacggacc	1860
agtlacatcta catggtaatg gagtggtaa atattgatct taatagttgg cttaaaaaga	1920
aaaaatccat tgatccatgg gaacgcaaga gttactggaa aaatatgtta gaggcagttc	1980
acacaatcca tcaacatggc attgttcaca gtgatcttaa accagctaac tttctgatag	2040
ttgatggaat gctaaagcta attgattttg ggattgcaaa ccaaatgcaa ccagatacaa	2100
caagtgttgt taaagattct caggttggca cagttaatta tatgccacca gaagcaatca	2160
aagatatgtc ttctccaga gagaatggga aatctaagtc aaagataagc cccaaaagtg	2220

[0048]

atgtttggtc cttaggatgt attttgact atatgacila cgggaaaaca ccatttcage 2280
 agataattaa tcagatttct aaattacatg ccataattga tcctaatcat gaaattgaat 2340
 ttcccgatat tccagagaaa gatcttcaag atgtgttaaa gtgttgttta aaaagggacc 2400
 caaacacagag gatatccatt cctgagctcc tggctcatcc ctatgttcaa attcaaactc 2460
 atccagttaa ccaaatggcc aagggaaacca clgaagaaat gaaalatgtt ctgggccaac 2520
 ttgttggtct gaattctcct aactccattt tgaagctgc taaaacttta tatgaacact 2580
 atagtgggtg tgaagtcac aattcttcat cctccaagac ttttgaaaa aaaaggggaa 2640
 aaaaatgatt tgcagttatt cgtaatgtca aataccacct ataaaatata ttggactgtt 2700
 atactcttga atccctgtgg aaatctacat tgaagacaa catcactctg aagtgttacc 2760
 agcaaaaaaa attcagtaga ttatctttaa aagaaaactg taaaaatagc aaccacttat 2820
 ggtactgtat atattgtaga cttgttttct ctgttttatg ctcttggtga atctacttga 2880
 catcatttta ctcttggaaat agtgggtgga tagcaagtat attctaaaaa actttgtaaa 2940
 taaagttttg tggctaaaaat gacacaaaaa aaaaaaaaaa aaaa 2984

<210> 108

<211> 2166

<212> DNA

<213> 人

<400> 108

gggggtcgcct gtgcctgtcc ccgtgtgac cgaaaagtgc tggcaaaaag cggctgctgc 60
 itcggccggg ggggtaagg ggtgccctgg tgaattttc taccctggcc aactcaaatg 120
 aggatggcaa gagagtgac ccttgagag agaggctgag catcatgaag agaagacct 180
 gggagtccc tggggacct gactctggag ctggggcaag gccccccagg gcccgctcagt 240
 ggccctgagga gatggttga tcattccaaa cattgtctca glgtggaac tgaggcagac 300
 agtggtcagg caggaccata tgagaactgg atgttgagc cagctctagc cacaggagag 360
 gagctgccgg aactgacctt gctgaccaca ctgttgagg gccctggaga taagacgcag 420
 ccaccigaag aggagacttt gtcccaagcc cctgagagtg aggaggaaca gaagaagaag 480
 gctctggaag ggagtatgta tgtctgagt gaactgtag aacagagaa aatgtacgtg 540
 gacgacttgg ggcagattgt ggagggttat atggccacca tggctgctca gggggtccc 600
 gagagtcttc gaggccgtga caggattgtg ttgggaata tccagcaaat ctatgagtgg 660
 caccgagact atttcttga agagctacaa cgggtcttga aagatcctga ttggctggct 720
 cagctattca tcaaacacga gcgccggctg catatgtatg tgggtgactg tcagaataag 780

[0049]

cccaagtcag agcatgtggt gtcagagitt ggggacagct acittgagga gctccggcag	840
cagctggggc accgectgca gctgaacgac ctctcatca aacctgtgca gcggatcatg	900
aaataccagc tgctgctcaa ggattttctc aagtattaca atagagctgg gatggatact	960
gcagacctag agcaagctgt ggaggtcatg tgctttglc ccaagcgtg caacgatatg	1020
atgacgctgg ggagattgcg gggatttgag ggcaactga ctgctcaggg gaagctcttg	1080
ggccaggaca ctttctgggt caccgagcct gagctggag ggctgctatc ttcccagggt	1140
cgagagagge gcgtcttct ctttgagcaa atcatcatct tcagtgaagc cctgggagga	1200
ggagtgagag gtggaacaca gcctggatat gtatacaaga acagcattaa ggtgagctgc	1260
ctgggactgg aggggaacct ccaaggigac cttgcccgt ttgactgac ctccagaggg	1320
ccagagggtg ggatccagcg ctatgtctg cagctgcag accctgctat cagtcagcc	1380
tggatcaagc atgtggctca gatcttgag agccaacggg acttctcaa cgcattgcag	1440
tcaccattg agtaccagag acgggagagc cagaccaaca gcctggggcg gccaagaggg	1500
cctggagtgg ggagccctgg aagaattcgg cttggagatc aggcccaggg cagcacacac	1560
acacccatca atggctctct cccctctctg ctgctgtcac ccaaagggga ggtggccaga	1620
gccctcttgc cactggataa acaggecctt ggtgacatcc cccaggctcc ccatgactct	1680
cctccagtct ctccaactcc aaaaacctt ccctgccaag ccagacttgc caagctggal	1740
gaagatgagc tgtaactggt gaaaacctg ggggtgggtg tgactcagcc gcctattccc	1800
caaggagctt cagggcagtc cttctggcac tgctccagaa ttccctctt ttggtgtgtc	1860
tggaggggtg gcaaggctgg gagggatata aacttggagg agaacacct a gacccaagga	1920
ctttttctg cccaaggaac acagtttctt tcagctccca tcctatgca tgcatcatgg	1980
tcccccaaa aggaggatat gtgggtgggt gggagggtg gggcaggggc cagatagaaa	2040
ttattggttt tgtttttaa tttgtttt cctgttttct gagaataaag gttttgttat	2100
atcaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaaaaa	2160
aaaaaa	2166
<210> 109	
<211> 3486	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 109	
gagccgactg cggetgcgcg gggatttoga atcggcgcg gcttctagtt tgcggttcag	60
gtttgccgc tgccggccag cgtcctctgg ccatggacac cccgaaaat gtccttcaga	120

[0050]

tgcttgaagc ccacatgcag agctacaagg gcaatgacce tcttgggtgaa tgggaaagat	180
acatacagtg ggtagaagag aattttctctg agaataaaga atacttgata actttactag	240
aacatttaat gaaggaatth ttagataaga agaaatacca caatgacceca agattcatca	300
gttattgttt aaaatthgct gagtacaaca gtgacctcca tcaatthttt gagthttctgt	360
acaacctagg gattggaacc ctgtcatccc ctctgtacat tgccctgggcg gggcatctgg	420
aagcccaagg agagctgcag catgccagtg ctgtccttca gagaggaatt caaaaccagg	480
ctgaaccag agagthcctg caacaacaat acagthtatt tcagacacgc ctactgaaa	540
cccatttgcc agctcaagct agaacctcag aacctctgca taatgthcag gthttaaatc	600
aatgataac atcaaaatca aatccaggaa ataacatggc ctgcatttct aagaatcagg	660
gthcagagct thctggagtg atathctcag cthgtgataa agagthcaat atggaacgaa	720
gagtgatcac gatttctaaa tcagaatatt ctgtgcactc atctthggca tccaaagthg	780
atgthgagca gththgtatg thttgcaagg agaagcttat tctgtgggaa tcagaattht	840
ctthtgaaga atthgagacc cagaaataca atcaacggag aaagcatgag caatgggtaa	900
atgaagacag acattatag aaaaggaaag aagcaaatgc thttgaagaa cagctatthaa	960
aacagaaaat ggatgaactt cataagaagt tgcathcaggt gthggagaca tcccatgagg	1020
atctgccccg thccccaggaa agthccgagg thaatccagc acgthtggg ccaagthtag	1080
gthccccgca ggaactgaga gcgcatgtc thccagthaac ctathcagcag acaccagthg	1140
acatggaaaa gaaccaaga gaggcacctc ctgthgttcc thctthggca aatgctatth	1200
ctgcagctth gthgtccccg gccaccagcc agagcathgc thctctctgt thctthgaaag	1260
cccagacagth aacagactcc atgththcag thgcccagca agatgctgga thgtgthgaa	1320
agagthactca thgaatthcaag ccacagagth gagcagagat caaagaagg thgtgaaacac	1380
ataagthtgc caacacaagt thththcaca caactccaaa cacathcactg ggaatgtht	1440
aggcaacgcc atccaaagth cagccatcac ccacctgca cacaaaagaa gcattagtht	1500
thcatcatgaa thtththcag gthctctacac thcttgatath thctgathgac aaagatgaa	1560
ggcaatctct agatcaaaat gaagatgcat thgaagccca gththcaaaa aatgthagth	1620
catctggggc thggggagth aataagatca thctthctth gtcatctgct ththcatgtht	1680
thgaagatgg aaacaaagaa aatthgthgath thaccagacc thaaaataaa cccacaggg	1740
ccaggaccth thgagaacgc thgtgcagca gactthctthc aaaaccaaag gaggaagthc	1800
ctcatgctga agagthththg gathgactcaa ctgthtgggg ththctgctgc aacaaaacc	1860

[0051]

tggcaccag tcctaagagc ccaggagact tcacatctgc tgcacaactt gegtclacac	1920
cattccacaa gcttccagtg gagtcagtgc acattttaga agataaagaa aatgtggtag	1980
caaaacagtg taccagggcg actttggatt cttgtgagga aaacatgggtg gtgccttcaa	2040
gggatggaaa attcagtcca attcaagaga aaagcccaaa acaggccttg tcgtctcaca	2100
tgtattcagc atccttactt cgtctgagcc agcctgctgc aggtggggta cttacctgtg	2160
aggcagagtt gggcgttgag gcttgcagac tcacagacac tgacgctgcc attgcagaag	2220
atccaccaga tgctattgct gggctccaag cagaatggat gcagatgagt tcacttggga	2280
ctgttgatgc tccaaacttc attgttggga acccatggga tgataagctg attttcaaac	2340
ttttatctgg gctttctaaa ccagtgagtt cctatccaaa tacttttgaa tggcaatgta	2400
aacttccagc catcaagccc aagactgaat ttcaattggg ttctaagctg gtctatgtcc	2460
atcaccttct tggagaagga gcctttgcc aggtgtacga agctaccag ggagatctga	2520
atgatgctaa aaataaacag aaaltigtgt taaaggtcca aaagcctgcc aaccctggg	2580
aattctacat tgggaccag ttgatggaaa gactaaagcc atctatgcag cacatgttta	2640
tgaagtctta ttctgccac ttattccaga atggcagtgt attagtagga gagctctaca	2700
gctatggaac attattaat gccattaacc tctataaaaa taccctgaa aaagtgatgc	2760
ctcaaggctc tgcctctct tttgctatga gaatgcttta catgattgag caagtgcag	2820
actgtgaaat cattcatgga gacattaaac cagacaatth catacttggga aacggatth	2880
tggaacagga tgatgaagat gatttatctg ctggcttggc actgatlgac ctgggtcaga	2940
gtatagatat gaaactthtt ccaaaaggaa ctatattcac agcaaagtgt gaaacatctg	3000
gttttcagtg tgttgagatg ctccagcaaca aacctggaa ctaccagatc gattactttg	3060
gggttctgc aacagtatal tgcctctct ttggcactta catgaaagtg aaaaatgaag	3120
gaggagagtg taagcctgaa ggtctthttt gaaggtctcc tcatttggat atgtggaatg	3180
aaththttca tgttatgttg aatattccag atgtcatca tcttccatct ttggatttgt	3240
taaggcaaaa gctgaagaaa gtatttcaac aacctatac taacaagatt agggccctac	3300
gtaataggct aattgtactg ctcttagaal gtaagcgttc acgaaaataa aatttgata	3360
tagacagtcc ttaaaaatca cactgtaaat atgaatctgc tcactthaaa cctgtthttt	3420
thtcatttat tgtttatgta aatgtttgtt aaaaataaat cccatggaat atthccatgt	3480
aaaaaa	3486

<210> 110

<211> 6641

[0052]

<212> DNA
 <213> 人

<400> 110
 ggttacattt tggatcctcg cggagtactg gtcaggcggg taagtcctgt acctagggaaa 60
 gagggcgagc tctggggcgc tctccgggtg catgaggagc ttcaaaagag tcaactttgg 120
 gactctgcta agcagccaga aggaggctga agagttgctg cccgccttga aggagttcct 180
 gtccaacct ccagctggtt ttcccagcag ccgatctgat gctgagagga gacaagcttg 240
 tgatgccatc ctgagggtt gcaaccagca gctgactgct aagctagctt gccttaggca 300
 tctggggagc ctgctggagc tggcagagct ggectgtgat ggctacttag tgtctacccc 360
 acagcgtcct cccctctacc tggaaagaa tctctttgtc ttactgcgga atgctgtctg 420
 acaaggaagc ccagaggcca cactccgctt tgctcagccc ctccatgcct gcttgggtgca 480
 gtgctctcgc gaggctgctc cccaggacta tgaggccgtg gctcggggca gcttttctct 540
 gctttggaag ggggcagaag cctgttggg acggcgagct gcatttgagc ctcggtgaa 600
 ggccctgagc ttctagtac tcttgaggga tgaagtagc ccttgtgagg ttctcactt 660
 tgcttctcca acagcctgtc gagcggtagc tgcccatcag ctatttgatg ccagtggcca 720
 tggctctaat gaagcagatg ctgalttctt agatgacctg ctctccagc acgtgatcag 780
 agccctgggtg ggtgagagag ggagctcttc tgggcttctt tctcccaga gggccctctg 840
 cctcttggag ctacaccttg aacactgccg tcgcttttgc tggagccgcc accatgacaa 900
 agccatcagc gcagtggaga aggctcagc ttacctaaag aacaccaatc tagcccctag 960
 ccttcageta tgtcagctgg gggtaagct gctgcagggt ggggaggaag gacctcagc 1020
 agtggccaag cttctgatea aggcacagc tgtcttgagc aagagtatgg aggcaccatc 1080
 acccccactt cgggcattgt atgagagctg ccagttcttc ctttcaggcc tggaaagagg 1140
 caccaagagg cgctatagac ttgatgccat tctgagcctc tttgcttttc ttggagggta 1200
 ctgctctctt ctgcagcagc tgcgggatga tgggtgtgat gggggctcct ccaagcaaca 1260
 gcagcttttt cttcagatgt actttcaggg acttcacctc tacactgtgg tggtttatga 1320
 ctttgcccaa ggctgtcaga tagttgattt ggctgacctg acccaactag tggacagttg 1380
 taaatctacc gttgtctgga tgctggagge cttagagggc ctgtcgggcc aagagctgac 1440
 ggaccacatg gggatgaccg cttcttacac cagtaatttg gcctacagct tctatagtca 1500
 caagctctat gccgaggcct gtgccatctc tgagccgctc tgtcagcacc tgggtttggt 1560
 gaagccagge acttatcccg aggtgcctcc tgagaagtgg cacaggtgct tccggctaca 1620
 agtagagagt ttgaagaaac tgggtaaaca ggcccagggc tgcaagalgg tgatttgtg 1680

[0053]

gctggcagcc ctgcaacct gtagccctga acacatggct gagccagtca ctttctgggt	1740
tcgggtcaag atggatcggg ccagggtcgg agacaaggag ctacagctaa agactctgcg	1800
agacagcctc agtggctggg acccgagac cctggccctc ctgctgaggg aggagctgca	1860
ggcctacaag gcggtcggg ccgacactgg acaggaacgc ttcaacatca tctgtgacct	1920
cctggagctg agccccgagg agacaccagc cggggcctgg gcacgagcca cccacctggt	1980
agaactggct caggtgctct gctaccacga ctttacgcag cagaccaact gctctgctct	2040
ggatgctatc cgggaagccc tgcagcttct ggactctgtg aggcctgagg cccaggccag	2100
agatcagctt ctggacgata aagcacagge cttgctgtgg cttacatct gtactctgga	2160
agccaaaatg caggaaggta tcgagcggga tcggagagcc caggcccctg gtaacttgga	2220
ggaatttgaa gtcaatgacc tgaactatga agataaactc caggaagatc gtttctata	2280
cagtaacatt gccttcaacc tggctgcaga tgctgctcag tccaatgcc tggaccaagc	2340
cctggccctg tggaaggagc tgcttacaaa ggggcaggcc ccagctgtac ggtgtctcca	2400
gcagacagca gcctcactgc agatcctagc agccctctac cagctggtgg caaagcccat	2460
gcaggctctg gaggtctctc tgctgctacg gattgtctct gagagactga aggaccactc	2520
gaaggcagct ggctcctct gccacatcac ccagctctc ctgaccctcg gctgtcccag	2580
ctatgccag ttacacctgg aagaggcagc atcgagcctg aagcatctcg atcagactac	2640
tgacacatac ctgctcttt cctgacctg tgatctgctt cgaagtcaac tctactggac	2700
tcaccagaag gtgaccaagg gtgtctctct gctgctgtct gtgcttcggg atcctgcctt	2760
ccagaagtcc tccaaggctt ggtacttgct gcgtgtccag gtccctgcagc tgggtggcagc	2820
ttaccttagc ctcccgtaa acaacctctc aactcctctg tgggagcagc tctgtgceca	2880
aggctggcag acaactgaga tagctctcat agactcccat aagctcctcc gaagcatcat	2940
cctctgctg atgggcagtg acattctctc aactcagaaa gcagctgtgg agacatcggt	3000
tttgactat ggtgaaaatc tggtaaaaa atggcagggt cttcagagg tgctgagctg	3060
ctcagagaag ctggtctgcc acctgggccc cctgggtagt gtgagtgaag ccaaggcctt	3120
ttgcttgag gccctaaac ttacaacaaa gctgcagata ccacgccagt gtgcctggt	3180
cctgggtctg aagggcgagc tggagctggc ccgcaatgac attgatctct gtcagtcgga	3240
ctcgcagcag gttctgttct tgettgagtc tgcacagag tttggtgggg tgactcagca	3300
cctggactct gtgaagaagg tccacctgca gaagggaag cagcaggccc aggtcccctg	3360
tcctccacag ctcccagagg aggagctctt cctaagaggc cctgctctag agctggtggc	3420

[0054]

cactgtggcc aaggagccig gcccacatagc accttctaca aactcctccc cagtcttgaa	3480
aaccaagccc cagcccatac ccaacttctt gtcccattca cccacctgtg actgctcgt	3540
ctgcgccagc cctgtcctca cagcagtctg tctgcgctgg gtatttgtca cggcaggggt	3600
gaggctggcc atgggccacc aagcccaggg tctggatctg ctgcaggtcg tgctgaaggg	3660
ctgtcctgaa gccgctgagc gcctcaccca agctctccaa gcttcctga atcataaac	3720
acccccctcc ttggttccaa gcctcttggg tgagatcttg gctcaagcat acacactgtt	3780
ggcactggag ggccitgaacc agccatcaaa cgagagcctg cagaaggttc tacagtcagg	3840
gctgaagttt gtagcagcac ggatacccca cctagagccc lggcgagcca gcctgctctt	3900
gatttgggcc ctcaaaaaac taggtggcct cagctgctgt actaccaac tttttgcaag	3960
ctcctggggc tggcagccac cattaataaa aagtgtcctt ggctcagagc cctctaagac	4020
tcagggccaa aaacgttctg gacgagggcg ccaaaaagta gcctctgctc ccttgcgct	4080
caataatacc tctcagaaaag gtctggaagg tagaggactg ccctgcacac ctaaaceccc	4140
agaccggatc aggcaagctg gccctcatgt ccccttcacg gtgtttgagg aagtctgccc	4200
tacagagagc aagcctgaag taccccaggc ccccagggta caacagagag tccagacgcg	4260
cctcaagtg aacttcagtg atgacagtga cttggaagac cctgtctcag ctgaggcctg	4320
gctggcagag gacctaaga gacggggcac tgcttcccgg ggccgggggc gagcaaggaa	4380
ggcctgagc ctaaagacgg atgccgtggt tgccccaggt agtgcccctg ggaaccctgg	4440
cctgaatggc aggagccgga gggccaagaa ggtggcatca agacatttg aggagcggcg	4500
tccccagagg gccagtgacc aggccaggcc tggccctgag atcatgagga ccatccctga	4560
ggaagaactg actgacaact ggagaaaaat gagctttgag atcctcaggg gctctgacgg	4620
ggaagactca gcctcaggtg ggaagactcc agctccgggc cctgaggcag ctcttgaga	4680
atgggagctg ctgaggctgg attccagcaa gaagaagctg cccagcccat gccagacaa	4740
ggagagtac aaggacctg gtctctggct cgggtcccc tcagcccccg tagccactgg	4800
tctttctacc ctggactcca tctgtgactc cctgagtgtt gctttccggg gcattagtca	4860
ctgtcctcct agtgggctct atgccacct ctgcccttc ctggccttgt gccitggcca	4920
ccgggatcct tatgccactg ctttccttgt caccgagtct gtctccatca cctgtcgcca	4980
ccagctgctc acccacctcc acagacagct cagcaaggcc cagaagcacc gaggatact	5040
tgaaatagca gaccagctgc aggggctgag ccttcaggag atgcctggag atgtcccct	5100
ggccccgcatc cagcgcctct tttccttcag ggctttggaa tetggccact tccccagcc	5160
tgaaaaggag agtttcagg agcgcctggc tctgatcccc agtgggggtga ctgtgtgtgt	5220

[0055]

gttggccctg gccaccctcc agcccggaac cgtgggcaac accctcctgc tgacccggt 5280
 ggaaaaggac agtccccag tcagtgtgca gattcccact ggccagaaca agcttcatct 5340
 gcgttcagtc ctgaatgagt ttgatgccat ccagaaggca cagaaagaga acagcagctg 5400
 taclgacaag cgagaatggg ggacagggcg gctggcactg gaccacagga tggaggttct 5460
 catcgcttcc ctagagaagt ctgtgctggg ctgctggaag gggtgctgc tgccgtccag 5520
 tgaggagccc ggccctgccc aggaggcctc ccgcctacag gagctgctac aggactgtgg 5580
 ctggaatat cctgaccgca ctctgctgaa aatcatgctc agtggtgccg gtgccctcac 5640
 ccctcaggac attcaggccc tggcctacgg gctgtgcca acccagccag agcgagccca 5700
 ggagctcctg aatgaggcag taggacgtct acaggcctg acagtaccaa gcaatagcca 5760
 ccttgtcttg gtcctagaca aggacttgca gaagctgccg tgggaaagca tgcccagcct 5820
 ccaagcactg cctgtcacc ggctgccctc ctccgcttc ctactcagct actccatcat 5880
 caaagagtat ggggcctcgc cagtgtgag tcaaggggtg gatccacgaa gtaccttcta 5940
 tgtcctgaac cctcacaata acctgtcaag cacagaggag caatttcgag ccaatttcag 6000
 cagtgaagct ggctggagag gagtggttgg ggaggtgcca agacctgaac aggtgcagga 6060
 agccctgaca aagcatgatt tgtatatcta tgcagggcat ggggctggtg cccgcttct 6120
 tgatgggcag gctgtcctgc ggctgagctg tcgggcagtg gccctgctgt ttggctgtag 6180
 cagtgggcc ctggctgtgc gtggaaacct ggaggggct ggcacgtgc tcaagtacat 6240
 catggctggt tggcccttgt ttctgggtaa tctctgggat glgactgacc gcgacattga 6300
 ccgctacacg gaagctctgc tgcaagctg gcttggagca ggcccagggg ccccccttct 6360
 ctactatgta aaccagccc gccaaactcc ccgactcaag tatcttattg gggctgcacc 6420
 tatagcctat ggcttgctg tctctctgcg gtaacccat ggagctgct tattgatgct 6480
 agaagcctca taactgttct acctccaagg ttagatttaa tccttaggat aactcttita 6540
 aagtgatatt cccagtggt ttatataaaa catttcttt tgatttaacc tcagtataat 6600
 aaagatacat catttaacc ctgaaaaaaaa aaaaaaaaaa a 6641

<210> 111
 <211> 2080
 <212> DNA
 <213> 人

<400> 111
 gcggccgctg ggetcagget gtcgctctg ggctccgagg cctcggcccc gctgcactcc 60
 acctccgccc cctcggactc cctcccctct gettctactc ctctgctcc agtgcggtac 120

[0056]

gtttcgcaac tgcttgccac tegtccctg cctggtgtt tttccatttc cgggccccct	180
cttcttgagt actttacccc ctgcatttgg ggacagggac tggaaaaggg gcgggtggag	240
cgtccagtgg agaagaagga agcgaggccc gcaggaggag gaggatcggc ggactgtggg	300
gaggagacce cacgccaccc tttctggtca tctcccctcc cggcccggcc ctgcgcacac	360
tccctcgcgg gcgagctact ttcggaccag gaaagtaaga gcggccctgg gtgacagcgc	420
cgcggggcca gtcccgggt tagccgcgcg tctgctcgt tctggtcgt cgcgctccca	480
gccagggcac agcccggacc gaggatggt tcgaccacaa cctgcaccag gttcacggac	540
gagtatcagc ttttcgagga gcttgaaag ggggcattct cagtggtag aagatgtatg	600
aaaattccta ctggacaaga atatgctgcc aaaattatca acaccaaaaa gctttctgct	660
agggatcatc agaaactaga aagagaagct agaatctgcc gtcttttgaa gcaccctaat	720
attgtgcgac ttcatalag catacagaa gagggcttc actacttggg gtttgattta	780
gttactggag gtgaactggt tgaagacata gtggcaagag aatactacag tgaagctgat	840
gccagtcatt gtatacagca gattctagaa agtgtaatac attgtcacct aatatggcata	900
gttcacaggg acctgaagcc tgagaatttg cttttagcta gcaaatccaa gggagcagct	960
gtgaaattgg cagactttgg cttagccata gaagtcaag gggaccagca ggcgtggttt	1020
ggttttgctg gcacacctgg atatctttct ccagaagttt tacgtaaaga tccttatgga	1080
aagccagtgg atatgtgggc atgtggtgtc attctctata ttctacttgt ggggtatcca	1140
cccttctggg atgaagacca acacagactc tatcagcaga tcaaggctgg agcttatgat	1200
tttccatcac cagaatggga cacggtgact cctgaagcca aagacctcat caataaaatg	1260
cttactatca accctgcca acgcatcaca gcctcagagg cactgaagca cccatggatc	1320
tgtaacggt ctactgttgc ttcctgatg cacagacagg agactgtaga ctgcttgaag	1380
aaatltaatg ctagaagaaa actaaagggt gccatcttga caactatgct ggctacaagg	1440
aatttctcag cagccaagag tttgttgaag aaaccagatg gagtaaagga gtcaactgag	1500
agttcaata caacaattga ggatgaagat gtgaaagcac gaaagcaaga gattatcaaa	1560
gtcactgaac aactgatcga agctatcaac aatggggact ttgaagccta cacaaaaatc	1620
tgtagccag gccttactgc ttttgaacct gaagctttgg gtaatttagt ggaagggatg	1680
gattttcacc gattctactt tgaatatgct ttgtccaaaa gcaataaacc aatccacact	1740
attattctaa accctcalgt acalctggta ggggatgatg ccgctgcat agcatatatt	1800
aggctcacac agtacatgga tggcagtgga atgccaaga caatgcagtc agaagagact	1860

[0057]

cgtgtgtggc accgccggga tggaaagtgg cagaatgttc attttcatcg ctccgggtca	1920
ccaacagtac ccatcaagcc accctgtatt ccaaatggga aagaaaactt ctccaggaggc	1980
acctctttgt ggcaaaacat ctaaggcctg aaaaccattc acatatgggt ctctctaaatt	2040
tcaacagtgc cacttctgca ttcctctgttc tcaaggcacc	2080
<210> 112	
<211> 11611	
<212> DNA	
<213> 人	
<400> 112	
ggcttcagcc ctgcaggga agaaaagtgc aatgattctg gactgagacg cgcttgggca	60
gaggctatgt aatcgtgtct gtgttgagga ctctgcttcg aggagggaag aggagggatc	120
ggctcgtctc tccggcggcg gcggcggcgg cgactctgca ggccggagttt cgcggcggcg	180
gcaccagggt tacgccagcc ccggggggag gtctctccat ccagcttctg cagcggcgaa	240
agccccagcg cccgagcgcc tgagccggcg gggagcaagt aaagctagac cgatctccgg	300
ggagccccgg agtaggcgag cggcggccgc cagctagttag agcgcacccc ccgccccccc	360
cagcggcggc gcggcggcgg gcgtccagge ggcatggaga aggacggcct gtgcccgcct	420
gaccagcagt acgaatgcgt ggccggagatc ggggagggcg cctatgggaa ggtgttcaag	480
gcccgcgact tgaagaacgg aggccgtttc gtggcgttga agcgcgtgcg ggtgcagacc	540
ggcgaggagg gcatgccgct ctccaccatc cgcgaggtgg cgggtgctgag gcacctggag	600
accttcgagc accccaacgt ggtcaggttg tttgatgtgt gcacagtgtc acgaacagac	660
agagaaacca aactaacttt agtgtttgaa catgtctgatc aagacttgac cacttacttg	720
gataaaagttc cagagcctgg agtgcctact gaaaccataa aggatatgat gtttcagctt	780
ctccgaggtc tggactttct tcattcacac cgagtagtgc atcgcgatct aaaaccacag	840
aacattctgg tgaccagcag cggacaaata aaactcgtg acttcggcct tgccccatc	900
tatagtttcc agatggctct aacctcagtg gtcgtcacgc tgttgtagag agcaccggaa	960
gtcttgctcc agtccagcta cggcaccccc gtggatctct ggagtgttgg ctgcatattt	1020
gcagaaatgt ttcgtagaaa gcctcttttt cgtggaagtt cagatgttga tcaactagga	1080
aaaatcttgg acgtgattgg actcccagga gaagaagact ggcctagaga tgttgcctt	1140
cccaggcagg cttttcattc aaaatctgcc caaccaattg agaagtttgt aacagatata	1200
gatgaactag gcaaagacct acttctgaag tgtttgacat ttaaccagc caaaagaata	1260
tctgcccaca gtgccctgtc tcaccatac ttccaggacc tggaaaggtg caaagaaaac	1320

[0058]

ctggattccc acctgccgcc cagccagaac acctcggagc tgaatacage ctgaggcctc	1380
agcagccgcc ttaagctgat cctgcggaga acacccttgg tggcttatgg gtccccctca	1440
gcaagcccta cagagctgtg gaggattgct atctggagc cttccagctg ctgtcttctg	1500
gacagctctt gcttctccaa ggaaaccgcc tagtttactg ttttgaate aatgcaagag	1560
tgattgcage tttaigtca tttgtttgtt tgtttgtctg tttgtttcaa gaacctggaa	1620
aaattccaga agaagagaag ctgctgacca attgtgctgc catttgattt ttctaacctt	1680
gaatgctgcc agtgtggagt gggtaatcca ggcacagctg agttatgatg taatctctct	1740
gcagctgccg ggcctgattt ggtacttttg agtgtgtgtg tgcattgtgtg tgtgtgtgtg	1800
tgtgtgtgtg tgtgtgtatg tgagagattc tgtgatcttt taaagtgtta cttttttaa	1860
acgacaagaa taattcaatt ttaaagactc aagggtgtca gtaaataaca ggcatttgtt	1920
cactgaaggt gattcaccaa aatagtcttc tcaaattaga aagttaacce catgtcctca	1980
gcatttcttt tetggccaaa agcagtaaat ttgctagcag taaaagatga agttttatac	2040
acacagcaaa aaggagaaaa aattctagta tattttaaga gatgtgcatg cattctattt	2100
agtcttcaga atgctgaatt tacttgttgi aagtctattt taacctctg tatgacatca	2160
tgctttatca ttcttttgg aaaatagcct glaagctttt tattacttgc tataggttta	2220
gggagtgtac ctcatagata ttttaaaaa aagaatagaa agcctttatt tcttggtttg	2280
aaattccttt ctccctttt tttgtgttg ttattgttgt ttgttgtgtt tattttgitt	2340
ttgttttag gaatttgtca gaaactctt cctgttttgg tttggagagt agttctctct	2400
aactagagac aggagtggcc ttgaaatttt cctcatctat tacactgtac ttctgtccac	2460
acactgcctt gttggcaaag tatccatctt gtctatctcc cggcacttct gaaatalatt	2520
gctaccattg tataactaat aacagattgc ttaagctgtt cccatgcacc acctgtttgc	2580
ttgctttcaa tgaaccttct ataaattcgc agtctcagct tatggtttat ggcctcgatt	2640
ctgcaaacct aacagggtca calalgttct ctaatgcagt ccttctacct ggtgtttact	2700
tttctacc aaataatgag taggatcttg tttctgtata cccccaccac tcccattget	2760
accaactgtc accttgtgca ctctttttt atagaagata tttcagtgct cttacctga	2820
gggtatgtct ttagctatgt tttagggcca tacatttact ctatcaaatg atcttttctc	2880
catccccag gctgtgctta tttctagtgc ctgtgtctca ctctgtctct ctacagagcc	2940
agccggcctt gggcattgta aacagctttt cttttttctc ttaactgttt ctctacagtc	3000
ctttatatt cataccatct ctgccttata agtggtttag tgctcagttg gctctagtaa	3060
ccagaggaca cagaaagtat cttttgaaa gtttagccac ctgtgcttct tgactcagag	3120

[0059]

tgcatgcaac agttagatca tgcaacagtt agattatgtt tagggtagg attttcaaaag	3180
aatggagggt gctgcactca gaaaataatt cagatcatgt ttatgcatta ttaagttgta	3240
ctgaattcitt tgcagcttaa tgtgatata gactatcttg aacaagagaa aaaactagga	3300
gatgtttctc ctgaagagct tttgggggtt ggaactattc ttttttaatt gctgtactac	3360
ttaacattgt tctaattcag tagcctgagg aacaggaaca ttgttttcta gagcaagata	3420
ataaaggaga tgggccatac aaatgttttc tacittcggt gtgacaacat tgattaggtg	3480
ttgtcagtac tataaatgct tgagatataa tgaatccaca gcattcaagg tcaggcttac	3540
tcaaagtctc acatggaaaa gtgagttctg cttttccttt gatcgagggt caaaatacaa	3600
agacatlitt gctagggcct acaaattgaa tttaaaaact cactgcactg attcatctga	3660
gctttttggt tagtattcat ggctagagtg aacatagctt tagtttttgc tgttgtaaaa	3720
gtgttttcat aagttcactc aagaaaaatg cagctgttct gaactggaat ltttcagcat	3780
tctttagaat tttaaatgag tagagagctc aacttttatt cctagcatct gcttttgact	3840
catttctagg cagtgcattat gaagaaaaat taaagcacia acattctggc attcaatcgt	3900
tggcagatta tcttcgatg acacagaatg aaagggcctc tcagcctctc tgaactttgt	3960
aaaaatctgt ccccagttct tccatcggtg tagttgttgc atttgagtga atactctctt	4020
gatttatgta ttttatgtcc agattcgcca tttctgaaat ccagatcaa cacaagcagt	4080
cttgccgta gggcattttg aagcagatag tagagtaaga acttagtgac tacagcttat	4140
tcttctgtaa catatggttt caaacatctt tgccaaaagc taagcagtgg tgaactgaaa	4200
aggcatatt gcccgaaggt tacactgaag cagctcatag caagttaaaa tattgtgaca	4260
gatttgaat catgtttgaa tttcatagta ggaccagtac aagaatgtcc ctgctagttt	4320
ctgtttgatg tttggttctg gcggtcagg cattttggga actgttgac aggggtgcagt	4380
caaaacaacc tacatataaa aattacataa aagaaccttg tccatttagc tttcataaga	4440
aatcccatgg caaagagtaa taaaaaggac ctaatcttaa aaatacaatt tctaagcact	4500
tgtaagaacc cagtgggttg gagcctccca ctttgtccct ctttgaagt ggatgggaac	4560
tcaaggtgca aagaacctgt tttggaagaa agcttggggc catttcagcc ccctgtattc	4620
tcatgatttt ctctcaggaa gcacacactg tgaatggcag acttttcatt tagccccagg	4680
tgaactacta aaaatagttg aaaattattc acctagaat agaatctcag cattgtgtta	4740
aataaaaatg aaagcttag aagcatgag atgttctat cttaataaaa gcatgtttct	4800
ttctataga gaaatgtata gtttgactct ccagaatgta ctatccatct tcatgagaaa	4860

[0060]

actctlaaat agtaccaaac attttgaact ttaaattatg tatttaaagt gagggtttaa 4920
 gaaactgtag ctgcttcttt tacaagtggg gcctattaaa gtcagtaatg gccattatig 4980
 ttccattgtg gaaattaat tatgtaagct tcctaatac ataaacatat taaaattcctt 5040
 ctaaaatatt gcttttcttt taagtgacaa ttgactatt cttatgataa gcacatgaga 5100
 gigtcttaca ttttccaaaa gcaggcttta attgcatagt tgagtctagg aaaaaataat 5160
 gttaaaagtg aatatgccac cataattact taattatggt agtatagaaa ctacagaata 5220
 tttaccctgg aaagaaaata ttggaatggt attataaact cttagatatt tatataattc 5280
 aaaagaatgc atgtttcaca ttgtgacaga taaagatgta tgatttctaa ggctttaaaa 5340
 attattcata aaacagtggg caatagataa aggaaattct ggagaaaatg aaggatatta 5400
 aagggtagtt tcaaagctat atatatattg aaggatata tctttatgaa caaatatatt 5460
 gtaaaaattt atactaaggt catctggtaa ctgtgggatt aatatggctg aaaacaaatg 5520
 ttatggagaa gctgtcccaa gcaactaaa ttacctgtac tttttccca tttcaagga 5580
 agaggcaacc acatgaagca atacttctta cacatgccta agaacgttca ttgaaaaat 5640
 aaattttta aaggcatgtg tttctatgc caccaact tttgaaaaat tgtgaacctt 5700
 acccaaaacc alltalcatg tccattaagt atattgggt atataattag gaagatattt 5760
 acatgttcca tctccacagt ggaaaaactt attgaggcta ccaaagtgtg ccaagaaatg 5820
 taagtcctta gagtaattag aatgctggt tttctcaaaa gcatgagaaa ctagcatttt 5880
 catttcttat ttactcctt tctatatcaa tgcaaticac aaccaattt taatacatcc 5940
 ctatatctca agcatttcta tcttgactt tttcagaaaa taaacaaaa ataatecttt 6000
 ggtctctcia tctctgacc ttgtgaagca acagaaatgt aaaaacagaa ggggtccaat 6060
 ttttacagt tttttctca agtagccttt ctggggattt ttattttctt aatgaagtgc 6120
 caatcagctt ttcaaatgt tttctatttc tcagcatttc caggaagtga taacgtttag 6180
 ctaaatgagt agaagtggac ttccttcaac atattgttac cttgtctagc cttaggaaga 6240
 aaacaagagc cacctgaaaa taaatacagg ctcttttoga gcatctgctg aaatactgtt 6300
 acagcaattt gaagttgatg tggtaggaaa ggaaggtgac ttttcttgca aaagtcttc 6360
 taaacattca cactgtccta agagatgagc tttcttggtt tattccggta talccacaa 6420
 ggtggcactt ttagagaaaa acaaatctga tgaagactaa agaggtactt ctaaaagaga 6480
 tttcattcta actttatttt tclgcgcata tttaactctt tctagcact tgtttttgg 6540
 gatgattaat agtctctata atgttctgta acttcaatat ttacttgtt acctaggttc 6600
 lgaacaatlg tctgcaata aattgttctt aaggatggat aatacaccca tttgatcat 6660

[0061]

ttaagtaaag aaagcctagt cattcattca gtcaagaaaa aatttttgaa gtacccagtt	6720
accttacttt tctagattaa aacaggctta gttactaaaa aggcagtcct catctgtgaa	6780
caggatagtt tcgtagaag tataaaactc ctttagtggc cccagttaaa acacacatac	6840
cctctctgct gctttcaaat tccctagcat ggtggccttt caacattgat taaattttaa	6900
aatcctaatt taaagatcag gtgagcaaaa tgagtagcac atcagtaatt cagtagacaa	6960
aacttttgtc tgaaaaattg ctgtattgaa acagagccct aaaataccaa aagaccaggt	7020
aattttaaca tttgtggaat cacaaatgta aattcataag aagctctaata taaaaaaaa	7080
aagtctgaag tatatgagca taacaactta ggagtgtgtc tacatactta acttttgaag	7140
ttttttggca actttatata ctttttttaa atttacaagt ctacttaaag acttcttata	7200
ccccaaatga ttaagttaat tttagaggtc acctttctca cagcagtgtc acttgaatt	7260
tagtagggaa ggatattgca gtatttttca gtttccttag cacagcacca cagaaagcag	7320
cttattcctt ttgagtggca gacactcgac ggtgcctgcc caactttcct cctgagtggc	7380
aagcagatga gtctcagtaa ttcatactga accaaaatgc cacatacact aggggcagtc	7440
agaaaactggc tgagaaaatcc cccgcctcat tcgcccctct gctcccagga actagagtc	7500
agttaaagcc cctatgcaaa aggcgcaatt ccaccccagg gtttgttata acagtggcca	7560
gtctgaacct catttgcctg tgetcaaaac ttgattccca ctgaaagcc ttccgggcgc	7620
gctgcctcgt tgccccccc ctttggcagg agagaggcag tgggcgaggc cgggctgggg	7680
ccccgcctcc cactcacctg cgggtgcctg aaattatgtg cggccccgcg ggctgcttc	7740
cgaggtcaga gtgcctgct gctgtctcag aggcatctgt tctgcaaat ttaggaagaa	7800
aaatgtccct agtagcaaac ggggtgtctt tgtgcataaa taagtacaac acaattctcc	7860
gaaagttegg gtaaaaagag atgcggtagc agctgccttg tgtgaagctg tctacccgc	7920
atctctcagg cgctaaagctc agtttttgtt ttgtttttg tttttttaa gaaaagatgt	7980
ataattgcag gaattttttt ttattttttt attttccatc attctatata tgtgatggtg	8040
aaagatatgc ctggaagaat tttgttttga aaagtttatt ttctgcttcg tcttcagttg	8100
gcaaaagctc tcaattcttt agcttccagt ttcttttctc tcttttctt tgtaggtaa	8160
ttaaaggtat gtaacaaaat latclcalgt agcaggggat tttcatgttg agaggaatct	8220
tccgtgtgag ttgtttggc acacaaaata ccttttctca attttaggag ttggattgt	8280
caaatgtagg tttttctcaa agggggcata taactacata ttgactgcca agaactatga	8340
ctgtagcact aatcagcaca catagagcca cacaattatt taatttctaa ctctctgtgg	8400

[0062]

tccctagaaa aattccgttg atgtgcttag gttaaagttc tgaagatacc cgttgtaccc	8160
ttacttgaaa gtttctaate ttaagtttta tgaatgcaa taatatgtat cagctagcaa	8520
tatttctgtg atcaccaaca actctcagtt tgatcttaaa gtctgaataa taaaacaaat	8580
cccagcagta atacatttct taaacctcac agtgcattgat atatcttttc attctgatcc	8640
tgtgtttgca aaaatataca catgtatata atagtctctc actttttatt catttgtttt	8700
cctattacct gtagtaaata tattagtttag tacatggaat ttatagcacc agctaccccc	8760
aggaacagca cctgacaggc gggggatttt ttttcaagtt gttctacatt tgcataaatt	8820
atttctatta ttattcatgt atgttattta tttctgaatc aactagtc tgtagaaagta	8880
caactgaagg cagaaagtgt taggattttg catclaatgl tcattatcat ggtattgatg	8940
gacctaaaga aataaaaatt agactaagcc cccaataag ctgcatgcat ttgtaacatg	9000
attagtagat llgaaatata agatgtagia ttttgggtat ctagggttt tatcattatg	9060
laaaggaatt aaagtaaagg actttgtagt tgtttttatt aaatatgcat atagtagagt	9120
gcaaaaatat agcaaaaata aaaactaaag gtagaaaagc attttagata tgccttaatt	9180
tagaaactgt gccaggtggc cctcggaata gatgccaggc agagaccagt gcctgggtgg	9240
tgcctcctct tgcctgcct catgaagaag ctccctcac gtgatgtagt gccctcgtag	9300
gtgtcatgtg gagtagtggg aacaggcagt actgttgaga ggagagcagt gtgagagttt	9360
ttctgtagaa gcagaactgt cagcttgtgc cttgaggctt ccagaacgtg tcagatggag	9420
aagtccaagt ttccatgctt caggcaactt agctgtgtac agaagcaatc cagtgtggta	9480
ataaaaagca aggattgcct gtataattta ttataaaata aaagggttt taacaaccaa	9540
caattcccaa cacctcaaaa gcttgttgca ttttttgta ttigaggttt ttatctgaag	9600
gttaaagggc aagtgtttgg tatagaagag cagtatglt taagaaaaga aaaatattgg	9660
ttcacgtaga gtgcaaatta gaactagaaa gttttatagc attatcattt tgagatgtgt	9720
taaagtaggt tttcacigta aatgtatta gtgtttctgc attgccatag ggcttggtta	9780
aaactttctc ttaggtttca ggaagactgt cacatacagt aagctttttt cctctgact	9840
tataatagaa aatgttttga aagtaaaaa aaaaaacta atttggaat ttgacttgtt	9900
agtttctgtg tttgaaatca tggttctaga aatgtagaaa ttgtgtatat cagatactca	9960
tctaggctgt gtgaaccagc ccaagatgac caacatcccc acacctctac atctctgtcc	10020
cctgtatctc ttctttcta ccactaaagt gtccctgct accatcctgg cttgtccaca	10080
tggigtctc catctctc cacatcatgg accacaggtg tgctgtcta ggcttgcca	10140
ccactcccaa cttgacctag ccacattcat ctgagatgg ttctgatgc tgggcacaga	10200

[0063]

ctgtgctcat ggcacccatt agaaatgcct ctatcatctt tgtatgcate ttgatttitta 10260
 aaccaagtca ttgtacagag caticagitt ttgctgtggt accaagagaa aaactaatca 10320
 agaataataa ccacattcca ggctgctggt ttctctccat ctacaggcca cacttttact 10380
 gtatttcttc atacttgaag ttcattctgc tatittcaia tcagggtaca gacttataag 10440
 ggtgcatggt ccttaaaggt gcataattat tcttattecg ttigtattata ttgctacaga 10500
 atgctctggt ttggtgcttt gagttctgca gaccaagaa gcagtgtgga aattcactgc 10560
 ctgggacaca gtcttataag aatggtggca ggtgactttg taccagatgt tgcttctctt 10620
 ttctctgtac acagattgag agttaccaca gtggcctgtc gggccacc cgtgggtgca 10680
 gcacagctct ctgaaagcaa gaaccttctt acctattcta acgtttttgc cctctaagaa 10740
 aatggcctc aggtatggta tagacatagc aagaggggaa gggctgtctc actctagcaa 10800
 ccatccctc attacacaca gaaagccctc ttgaagcaaa agaagaagaa agaagaaag 10860
 cttatctcta aggctactgt ctccagaatg ctctgagctg aatgctcttg ctctttccc 10920
 aagaggcaga tgaataata gccagtttat ctataccctt cctatctgag gaggagaata 10980
 gaaaagtagg gtaaatatgt aacgtaaat atgtcattca aggaccacca aaactttaag 11040
 tacctataca ttaaaaatct ggttttaaaa gtagctcaag taagggatgc tttgtgacc 11100
 agggtttctg aagtcagata gccattctta cctgccctt actctgactt attgggaaag 11160
 ggagaactgc agtgggtggt ctgttgagc ggcaaaggta acatgtcaga aaattcagag 11220
 ggttgcatc caataatcct ttggaaactg gatgtcttac tgggtgctag aatgaaaatg 11280
 taggtattta ttgtcagatg atgaagtca ttgtttttt caaaattggt gttgaaatat 11340
 cactgtccaa tgtgttcaact talgtgaaag ctaaattgaa tgaggcaaaa agagcaata 11400
 gtttgatat ttgtaatacc tttgtattt cttacaataa aatattggt agcaataaa 11460
 aataataaaa acaataactt taaactgctt tctggagatg aattactctc ctggctattt 11520
 tcttttttac ttaaatgtaa aatgagtata actgtagtga gtaaaattca ttaattcca 11580
 agtttttagca gaaaaaaaa aaaaaaaaa a 11611

<210> 113

<211> 3317

<212> DNA

<213> 人

<400> 113

agttctcgcg ggacaccgac ggggagcggg agccaggagg tattgtctct tcggcgaccg 60

ggcggcggca gcggcggcgg cggctgtggc agagtctgtg cctgtggcgg tgacggcggc 120

[0064]

gggagcaagc gctgcccctcg cagagcagcc ttggggctcgc cggccgctcg cagcgttgtg	180
gaggggcggg ccggacgctg agcggagcag ctgcgccacg ggtggcattg tgtgtcccag	240
agtgccggag cgagtcccag aagagaggcg aggctaagcc cagagcgtg ggttgcttca	300
gcaggaaga ctcccctccc cctgcttcag gctgctgagc actgagcagc gctcagaatg	360
gaagccatcg ccaaatatga ctcaaagct actgcagacg acgagctgag cttcaaaagg	420
ggggacatcc tcaaggtttt gaacgaagaa tgtgatcaga actggtacaa ggcagagctt	480
aatggaaaag acggcttcat tccaagaac tacatagaaa tgaaccaca tccgtggttt	540
tttggcaaaa tccccagagc caaggcagaa gaaatgctta gcaaacagcg gcacgatggg	600
gcctttctta tccgagagag tgagagcgct cctggggact tctccctctc tgtcaagttt	660
ggaaacgatg tgcagcactt caaggtgctc cgagatggag ccgggaagta cttcctctgg	720
gtggtgaagt tcaattcttt gaatgagctg gtggattatc acagatctac atctgtctcc	780
agaaaccagc agatattcct gcgggacata gaacaggtgc cacagcagcc gacalacgtc	840
caggccctct ttgactttga tccccaggag gatggagagc tgggcttccg ccggggagat	900
tttatccatg tcatggataa ctacagacccc aactgggtgga aaggagcttg ccacgggcag	960
accggcatgt tccccgcaa ttatgtcacc cccgtgaacc ggaacgtcta agagtcaaga	1020
agcaatlatt taaagaaagt gaaaaatgta aaacacatac aaaagaatta aaccacaag	1080
ctgcctctga cagcagcctg tgagggagtg cagaacacct ggccgggtca ccctgtgacc	1140
ctctcacttt ggttgaact ttagggggtg ggagggggcg ttggatttaa aatgccaaa	1200
acttacctat aaattaagaa gagtttttat tacaatttt cactgctgct cctctttccc	1260
ctcctttgtc tttttttca tccttttttc tcttctgtcc atcagtgcac gacgtttaag	1320
gccacgtata gtccatagctg acgccaataa taaaaaaca gaaaccaagt gggctggtat	1380
tctctctatg caaatgtct gttttagttg gaatgactga aagaagaaca gctgttctctg	1440
tgttcttctg atatacacac aaaaaggagc gggcagggcc gctcgatgcc tttgctgitt	1500
agcttctctc agaggagggg actttagtaga atctgccttc cagcccagac ccccagtgtg	1560
ttttgtccaa gttcacagta gagtagggtg gaaggaaagc atgtctctgc ttccatggct	1620
tctgagaaa gcccacctgg gctgggcgcg gtggctcacg cctgtaatcc cagcactttg	1680
ggaggccaag gtggcggat cacaaggtca ggagttcgag accaacctag ccaacatggt	1740
gaaaccccgct ctctactaaa aataagaaat tagccgggtg tggcacgcac ctgtagtccc	1800
agctacttgg gagcctgagg caggagaatc gcttgaacct ggggaagtgga ggttgagtga	1860

[0065]

gccgggaccg tgccattgta ctccagcctg gglgacagag cgagattccg telcaaaaaa 1920
 aaaaaaaaaa agcccacctg aaagcctgtc tctttccact ttgttggecc ttccagtggg 1980
 attatcgagc atgttgTTTT ttcatagtgc ctttttcctt atttcaaggg ttgcttctga 2040
 gtggigtttt tttttttttt ttaatttggt ttgttttaaa ataagttaa ggccagtccag 2100
 agcttttcag ccaatttgtc tcttactctg tgtaaattt ttccctccg ggcaggggag 2160
 ccagggtaga gcaaaggaga caaagcagga gtggaagggt aggcgttctc ctgcttgtag 2220
 taagccagga ggctttaagc tccagcttta aggttggtga gccccttggg ggttcagga 2280
 actgcttgcc cagggtgcag tgtgagtgtg atgggccacc ggggcaagag ggaagggtac 2340
 cgcccagctc tcccacatcc cacttgatct ggcttacagg ggggtcggaa gctgtctc 2400
 accgtctcgg gggttggtgc ccccgcccc tccctatatg cacccctgga accagcaagt 2460
 cccagacaag gagagcggag gaggaagtca tgggaacgca gcctccagtt gtagcaggtt 2520
 tcaactatcc tatgtgggg tacacagtga gagtactcac ttttcaactg tctgtctctt 2580
 agattgggcc atggcttca tctgtgtcc cctgacctgt ccagggtagt gtgagggcag 2640
 caclgggaag ctggagtgtc gcttggtcct ccttcccag tgggctgtgt tgaactgtgc 2700
 tccccacccc taccgatggt cccaggaagc agggagagtl ggggaaggca agattggaaa 2760
 gacaggaaga ccaagcctc ggcagaactc tctgtctct ctccactctt ggtcccctgt 2820
 ggtgatgtgc ctgtaactt tttctcacc caaacctt cccacgaca aaacaagact 2880
 gcctccctct cttccgggag ctggtgacag ccttgggect ttcaglcaca aagcggccga 2940
 tgggagtctc cctccgactc cagatatgaa cagggccag gcctggagcg tttgtgtgc 3000
 caggagggcg cagctctctt gggcagagcc tgtccccgcc ttccctact cttctcacc 3060
 ctgcttctct tttcctcga gatgataaaa ggaatctggc attclacacc tggaccattt 3120
 gattgtttta ttttgaatt ggtgtatata atgaagcctt gctgaactaa gttttgtgtg 3180
 tatatattta aaaaaaaaaat cagtgtttaa ataaagacct atgtacttaa tcccttaact 3240
 ctgcggatag catttgtag gtagtgatta actgtgaata ataaatacac aatgaattct 3300
 lcaaaaaaaaa aaaaaaa 3317

<210> 114

<211> 4772

<212> DNA

<213> 人

<400> 114

gctcagttgc cggcggggg agggcgcgtc cggtttttct caggggacgt tgaattatt 60

[0066]

tttghtaacgg gagtcgggag aggacggggc gtgccccgac gtgcgcgcgc gtcgtcctcc	120
ccggcgctcc tccacagctc gctggctccc gcccgggaaa ggcgtcatgc cgcccaaac	180
ccccgaaaa acggccgcca ccgccccgc tgccgccgcg gaacccccgg caccgccgcc	240
gccgccccct cctgaggagg acccagagca ggacagcggc ccggaggacc tgcctctcgt	300
caggcttgag ttgaaagaaa cagaagaacc tgattttact gcattatgtc agaaattaa	360
gataccagat catgtcagag agagagcttg gtttaacttg gagaaagttt catctgtgga	420
tggagtattg ggaggttata ttcaaaagaa aaaggaactg tggggaatct gtatcttat	480
tgcagcagtt gacctagatg agatgtcgtt cacttttact gagctacaga aaaacataga	540
aatcagtgtc cataaattct ttaacttact aaaagaaatt gataccagta ccaaagtga	600
taatgctatg tcaagactgt tgaagaagta tgatgtattg tttgactctc tcagcaaat	660
ggaaaggaca tgtgaactta tatatttgac acaaccagc agttcgatat ctactgaaat	720
aaattctgca ttggtgctaa aagtttcttg gatcacattt ttattagcta aaggggaagt	780
attacaaatg gaagatgatc tgggtatttc atttcagtta atgctatgtg tccttgacta	840
ttttattaa ctctcacctc ccatgttgc tcaaagaacca tataaacag ctgttatacc	900
cattaatggt tcacctgaa caccagcgc aggtcagaac aggagtgcac ggatagcaaa	960
acaactagaa aatgatacaa gaattattga agttctctgt aaagaacatg aatgtaatat	1020
agatgaggtg aaaaatgttt atttcaaaaa ttttatacct tttatgaatt ctcttgact	1080
tghtaacatct aatggacttc cagaggttga aaatcttctt aaacgatagc aagaaattta	1140
tcttaaaaat aaagatctag atgcaagatt atttttggat catgataaaa ctcttcagac	1200
tgattctata gacagttttg aaacacagag aacaccacga aaaagtaacc ttgatgaaga	1260
ggtgaatgta attcctccac acactccagt taggactggt atgaacacta tccaacaatt	1320
aatgatgatt ttaaattcag caagtgatca accttcagaa aatctgattt cctattttaa	1380
caactgcaca gtgaatccaa aagaaagtat actgaaaaga gtgaaggata taggatacat	1440
ctttaaagag aaatttgcta aagctgtggg acagggttgt gtcgaaattg gatcacagcg	1500
atacaaaact ggagttcgct tgtattaccg agtaatggaa tccatgctta aatcagaaga	1560
agaacgatta tccattcaaa attttagcaa acttctgaat gacaacattt tccatagtc	1620
tttattggcg tgcgtcttg aggttgtaat ggccacatat agcagaagta catctcagaa	1680
tctlgattct ggaacagatt tgtctttccc atggattctg aatgtgctta atttaaaage	1740
ctttgatttt taaaaagtga tcgaaagttt tatcaaagca gaaggcaact tgacaagaga	1800
aatgataaaa catttagaac gatgtgaaca tcgaatcatg gaatcccttg catggctctc	1860

[0067]

agattcacct ttalltgatc ttattaaaca atcaaaggac cgagaaggac caactgatca	1920
ccttgaatct gcttgtcctc ttaatcttcc tetccagaat aatcacactg cagcagatat	1980
gtatctttct cctgtaagat ctccaaagaa aaaaggttca actacgcgtg taaattctac	2040
tgcaaatgca gagacacaag caacctcagc ctccagacc cagaagccat tgaaatctac	2100
ctctctttca ctgttttata aaaaagtgtg tcggctagcc tatctccggc taaatacact	2160
ttgtgaacgc cttctgtctg agcaccagcaga attagaacat atcatctgga cccttttcca	2220
gcacaccctg cagaatgagt atgaactcat gagagacagg catttggacc aaattatgat	2280
gtgttccatg taiggcatat gcaaagtga gaaatagac cttaaattca aaatcattgt	2340
aacagcatal aaggatcttc ctcatgetgt tcaggagaca ttcaaactg ttttgatcaa	2400
agaagaggag tatgattcta ttatagtatt ctataactcg gtcttcatgc agagactgaa	2460
aacaaatatt ttgcagtatg cttccaccag gccccctacc ttgtcacca tacctcat	2520
tcctcgaagc cttacaagt ttcctagttc acccttacgg attcctggag ggaacatcta	2580
tatttcacce ctgaagagtc catataaaat ttcagaaggt ctgccaacac caacaaaaat	2640
gactccaaga tcaagaatct tagtatcaat tggatgaatca ttcgggactt ctgagaagtt	2700
ccagaaaata aatcagatgg tatgtaacag cgacctgtg ctcaaaagaa gtgctgaagg	2760
aagcaacct cctaaaccac tgaaaaaact acgctttgat attgaaggat cagatgaagc	2820
agatggaagt aaacatctcc caggagagtc caaatttcag cagaaactgg cagaaatgac	2880
ttctactcga acacgaatgc aaaagcagaa aatgaatgat agcatggata cctcaaacia	2940
ggaagagaaa tgaggatctc aggaccttgg tggacactgt glacacctct ggattcattg	3000
tcctcacag atgtgactgt ataactttcc caggttctgt ttatggccac atttaatac	3060
ttcagctctt tttgtggata taaaatgtgc agatgcaatt gtttgggtga ttctaagcc	3120
acttgaatg ttagtcattg ttatttatac aagattgaaa atcttgtgta aatcctgcca	3180
tttaaaaagt ttagcagat tgtttcctct tccaaagtaa aattgctgtg ctttatggat	3240
agtaagaatg gccctagagt gggagtcctg ataaccagg cctgtctgac tactttgect	3300
tccttttag catataggtg atgtttgctc ttgtttttat taatttata gtatattttt	3360
ttaatthaac atgaacacc ttagaaaatg tgcctatct atcttccaaa tgcaatttga	3420
ttgactgccc attcaccaaa attatctga actctctgc aaaaatggat attattagaa	3480
attagaaaa aattactaat tttacacatt agattttatt ttactattgg aatctgatat	3540
actgtgtgct tgttttataa aattttgctt ttaattaaat aaaagctgga agcaaagtat	3600

[0068]

aaccatatga tactatcata ctactgaaac agatttcata cctcagaatg laaaagaact 3660
tactgattat tttcttcate caacttatgt ttttaaatga ggattattga tagtactctt 3720
ggttttata ccattcagat cactgaatth ataaagtacc catctagtac ttgaaaaagt 3780
aaagtgttct gccagatctt aggtatagag gaccctaaca cagtatatcc caagtgcact 3840
ttctaattgt tctgggtcct gaagaattaa gatacaaatt aatthtactc cataaacaga 3900
ctgttaatta taggagcctt aatthttttt tcatagagat ttgtctaatt gcatctcaaa 3960
attattctgc cctccttaat ttgggaaggt ttgtgtttc tctggaatgg tacatgtctt 4020
ccatgtatct tttgaactgg caattgtcta tttatctttt atthttttaa gtcagtatgg 4080
tctaactctg gcatgttcaa agccacaita tttctagtcc aaaattacaa gtaatcaagg 4140
gtcattatgg gttaggcatt aatgtttcta tctgattttg tgcaaaagct tcaaatthaa 4200
acagctgcat tagaaaaaga ggcgcttctc cctccccta cacctaaagg tgtattthaa 4260
ctatcttggtg tgattaactt atttagagat gctgtaactt aaaatagggg atattthagg 4320
tagcttcagc tagctthtag gaaaatcact ttgtctaact cagaattatt thtaaaaaga 4380
aatctgggtct lgttagaaaa caaaatthia tttgtgctc atthtaagttt caaacttact 4440
atthtgacag thattthgat aacaatgaca ctgaaaaact tgactccatt tcatcattgt 4500
ttctgcatga atatcataca aatcagtttag thtttaggtc aagggttac tattctggg 4560
tctthtgcta ctaagttcac attagaatta gtgccagaat thtaggaact tcagagatcg 4620
tgtattgaga thtctthaat aatgcttcag atattattgc thlattgctt thttgtattg 4680
gtthaaactg tacattthaa attgctatgt tactatthtc tacaatthaat agthttgteta 4740
thtthaaata aattagttgt taagagtctt aa 4772

<210> 115
<211> 1260
<212> DNA
<213> 人

<400> 115
aaattgagcc cgcagcctcc cgettcgctc tctgctctc ctgttcgaca gtcagccgca 60
tcttcttttg cgtcgcacgc cgagccacat cgctcagaca ccatggggaa ggtgaaggtc 120
ggagtcaacg gatttggtcg tattggcgc ctggtcacca gggctgctt taactctggt 180
aaagtgata ttgttccat caatgacccc thcattgacc tcaactacat ggtttacatg 240
thccaatag atthccacca tggcaaattc catggcaccg tcaaggctga gaacgggaag 300
cttgtcalca atggaaatcc catcaccatc thccaggagc gagatccctc caaatcaag 360

[0069]

tggggcgalg ctggcgctga gtacgtcgtg gagtccactg gcgtcttcac caccaatggag 420
 aaggctgggg ctcaattgca ggggggagcc aaaagggtca tcctctctgc cccctctgct 480
 gatgccccca tgttcgtcat ggggtgtaac catgagaagt atgacaacag cctcaagatc 540
 atcagcaatg cctcctgcac caccaactgc ttagcacccc tggccaaggt calccatgac 600
 aactttggta tcgtggaagg actcatgacc acagtccatg ccatcactgc caccagaag 660
 actgtggatg gccccccgg gaaactgtgg cgtgatggcc gcggggctct ccagaacatc 720
 atccctgect ctactggcgc tgccaaggct gtgggcaagg tcctccctga gctgaacggg 780
 aagctcactg gcatggcctt ccgtgtcccc actgccaacg tgtcagtggg ggacctgacc 840
 tgccgtctag aaaaacctgc caaatatgat gacatcaaga aggtgggtgaa gcaggcgctg 900
 gagggccccc tcaaggcat cctgggctac actgagcacc aggtggctct ctctgacttc 960
 aacagcgaca cccactcctc cacccttgac gctggggctg gcattgcctt caacgaccac 1020
 tttgtcaagc tcatttcctg gtatgacaac gaatttggt acagcaacag gttgggtggac 1080
 ctcatggccc acatggcctc caaggagtaa gaccctgga ccaccagccc cagcaagagc 1140
 acaagaggaa gagagagacc ctactgctg gggagtccct gccacaetca gtccccacc 1200
 aactgaatc tcccctcctc acagttgcca tgtagacccc ttgaagaggg gaggggccta 1260

<210> 116

<211> 974

<212> DNA

<213> 人

<400> 116

gtttgcttag gtgagcgca gacggggaag cggagccaac atgccagtgg cccggagctg 60
 ggtttgcgc aaaacttatg tgaccccgcg gagacccttc gagaaatctc gtctcgacca 120
 agagctgaag ctgatcgcg agtatgggct ccggaacaaa cgtgaggtct ggagggtcaa 180
 atttacctg gccaatatc gcaaggccgc ccgggaactg ctgacgcttg atgagaagga 240
 cccacggcgt ctgttcgaag gcaacgccct gctgcggcgg ctggtecgca ttgggtgct 300
 ggatgagggc aagatgaagc tggattacat cctgggcctg aagatagagg atttctaga 360
 gagacgcctg cagaccagc tcttcaagct gggcttgcc aagtccatcc accacgctcg 420
 cgtgctgatc cggcagcgc atatcaggta ccacctgga tgggcacctg aatcttcctc 480
 cacctgcccc tctgatggtt gccctacta agcctgctgt ccctatctcc tatgcagccc 540
 tcggaggtga tgggtgtgaa ctcaaccaga ggttacagat tcacccttgc acacagctca 600
 ccagggagct ggggcagcct cttgccccaa tagcccagcg caagggtcac tgcggctcta 660

[0070]

gccgtacacc ttgtgaagge ctctgccagg catgtgggca gctggacagg gtccgcaage	720
aggtggtgaa catcccgtec ttcattgtcc gcctggattc ccagaagcac atcgaattct	780
ctctgcgctc tccctacggg ggtggccgcc cgggccgct gaagaggaag aatgccaaga	840
agggccaggg tggggctggg gctggagacg acgaggagga ggattaagtc cacctgtccc	900
tcctgggctg ctggattgtc tcgttttctt gccaaataaa caggatcagc gctttaaaaa	960
aaaaaaaaaa aaaa	974

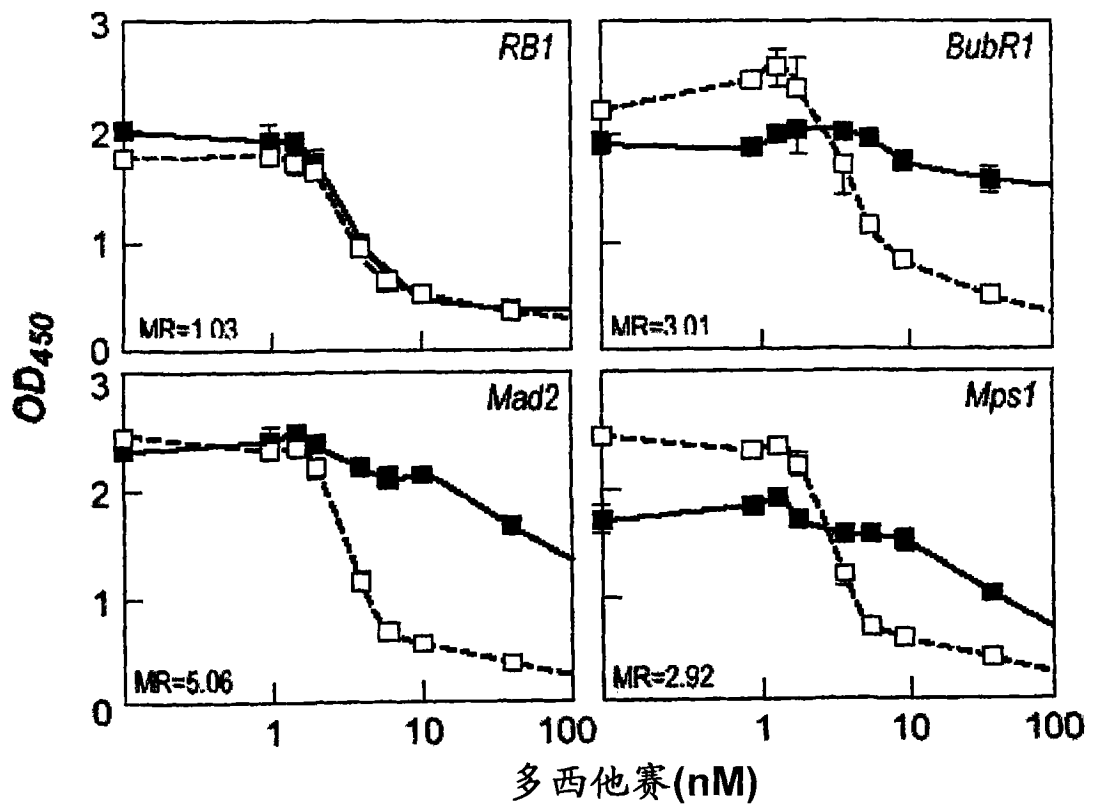


图 1

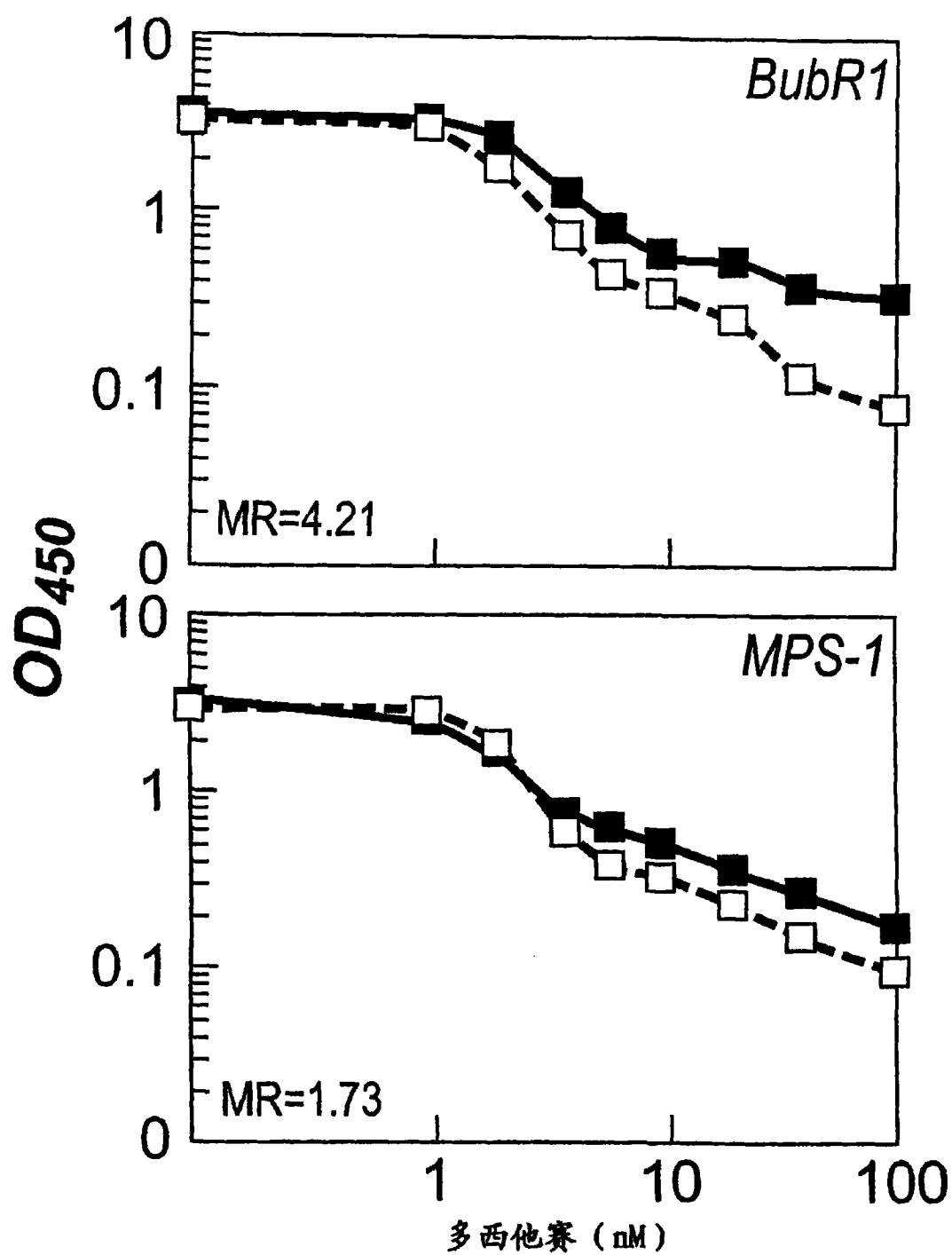


图 2

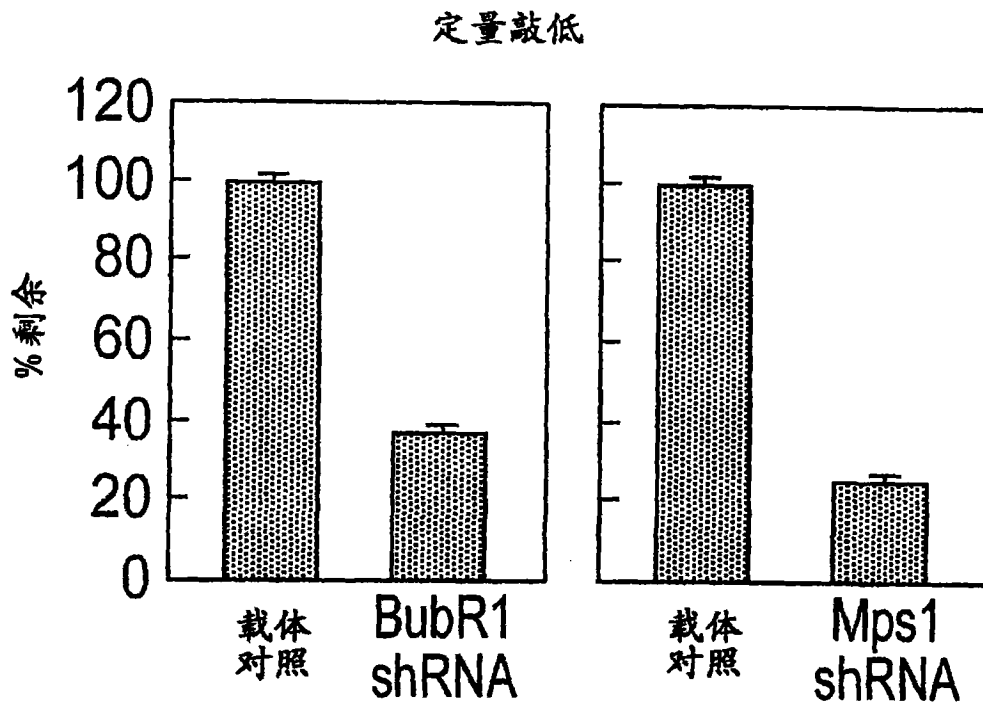


图 3

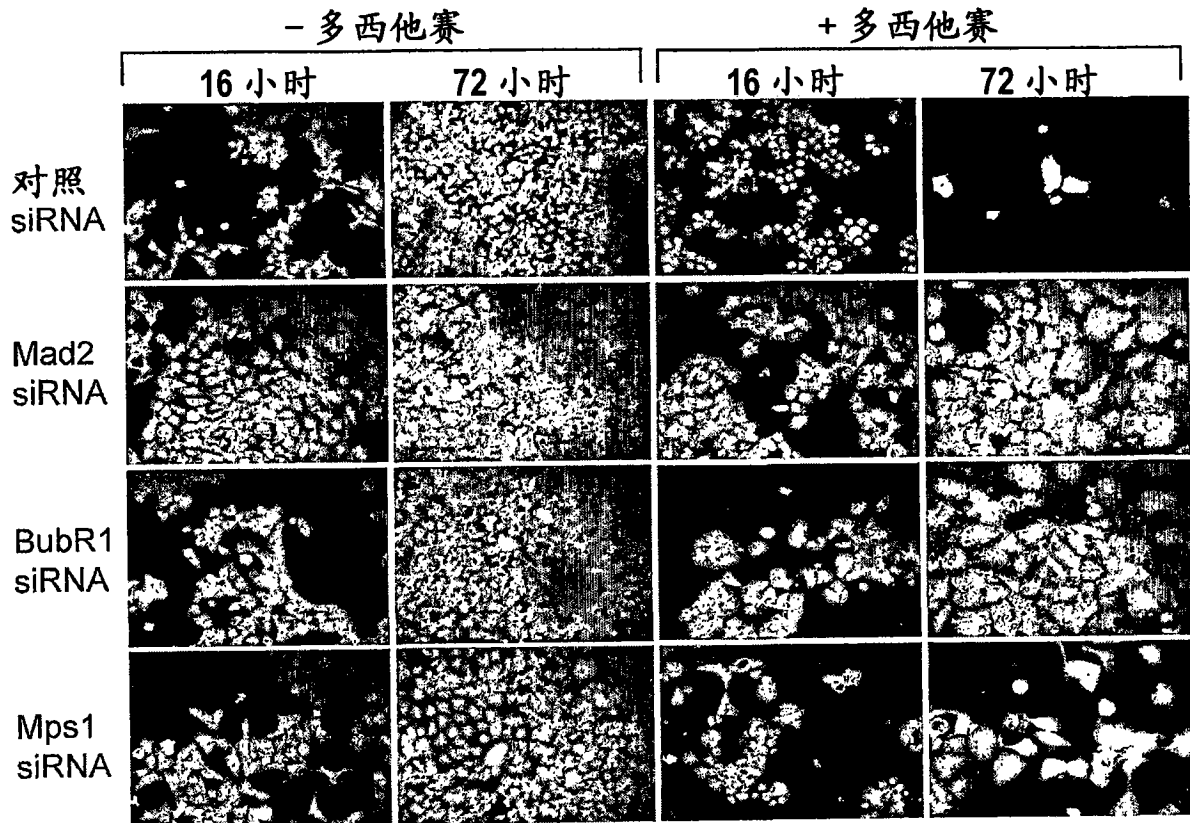


图 4

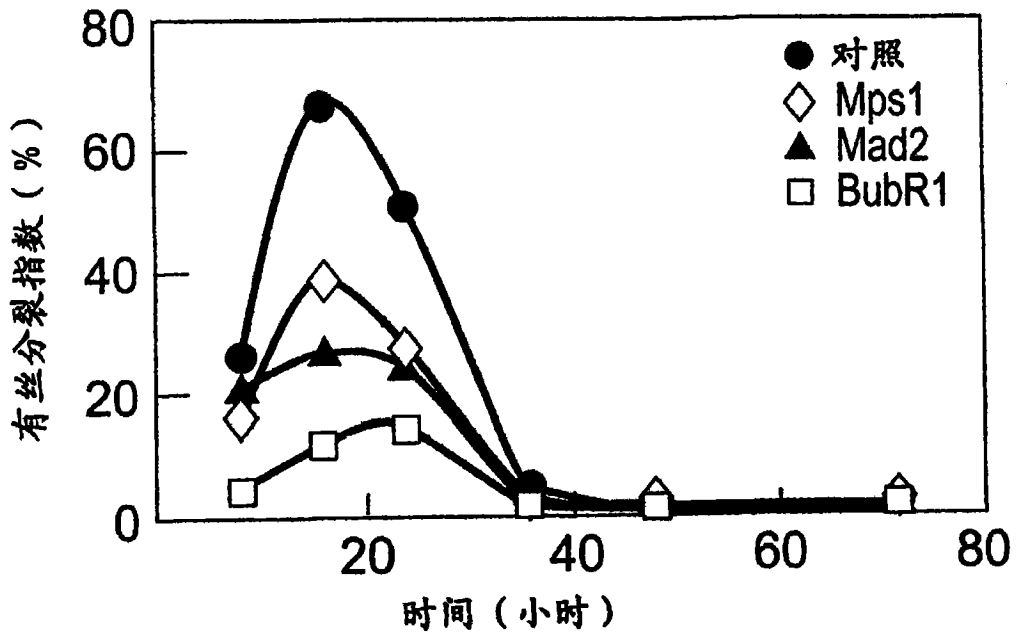


图 5

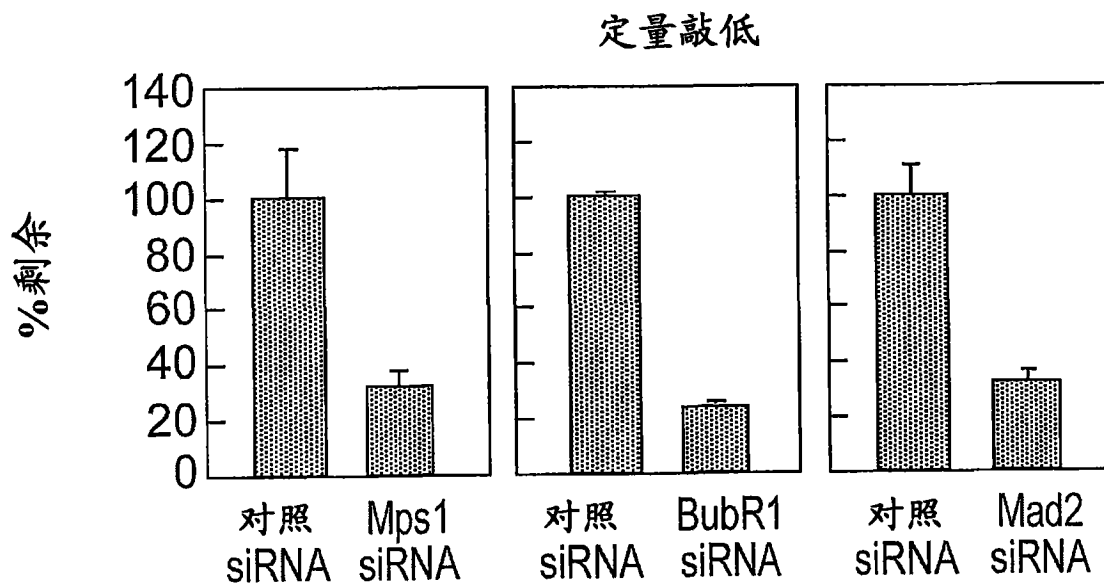


图 6

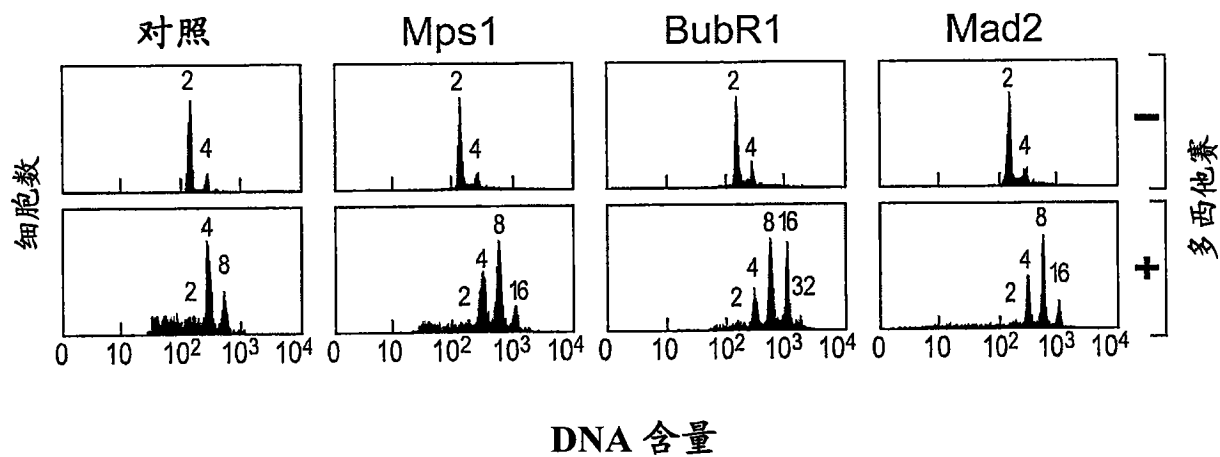


图 7

稳定敲低细胞系 + 5nM 多西他赛

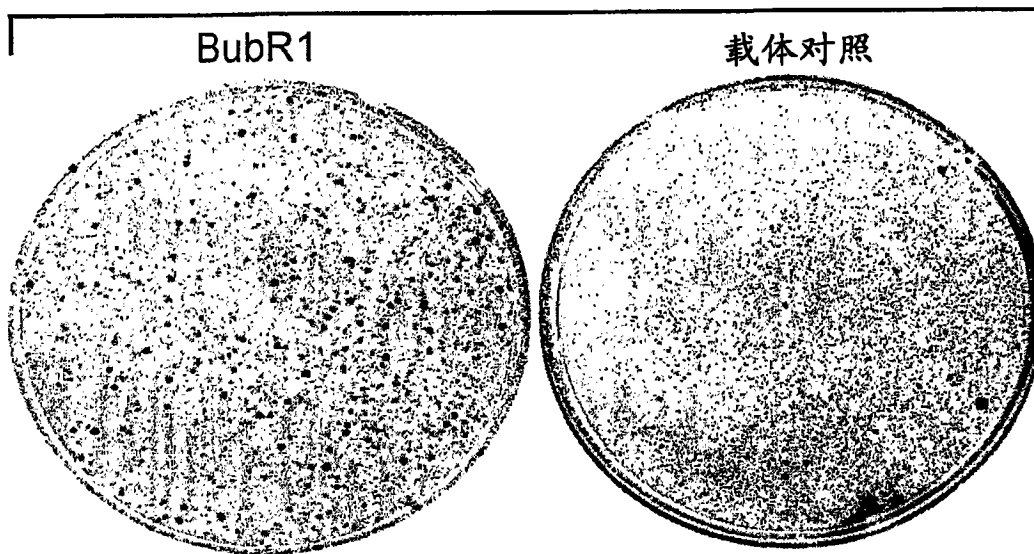


图 8

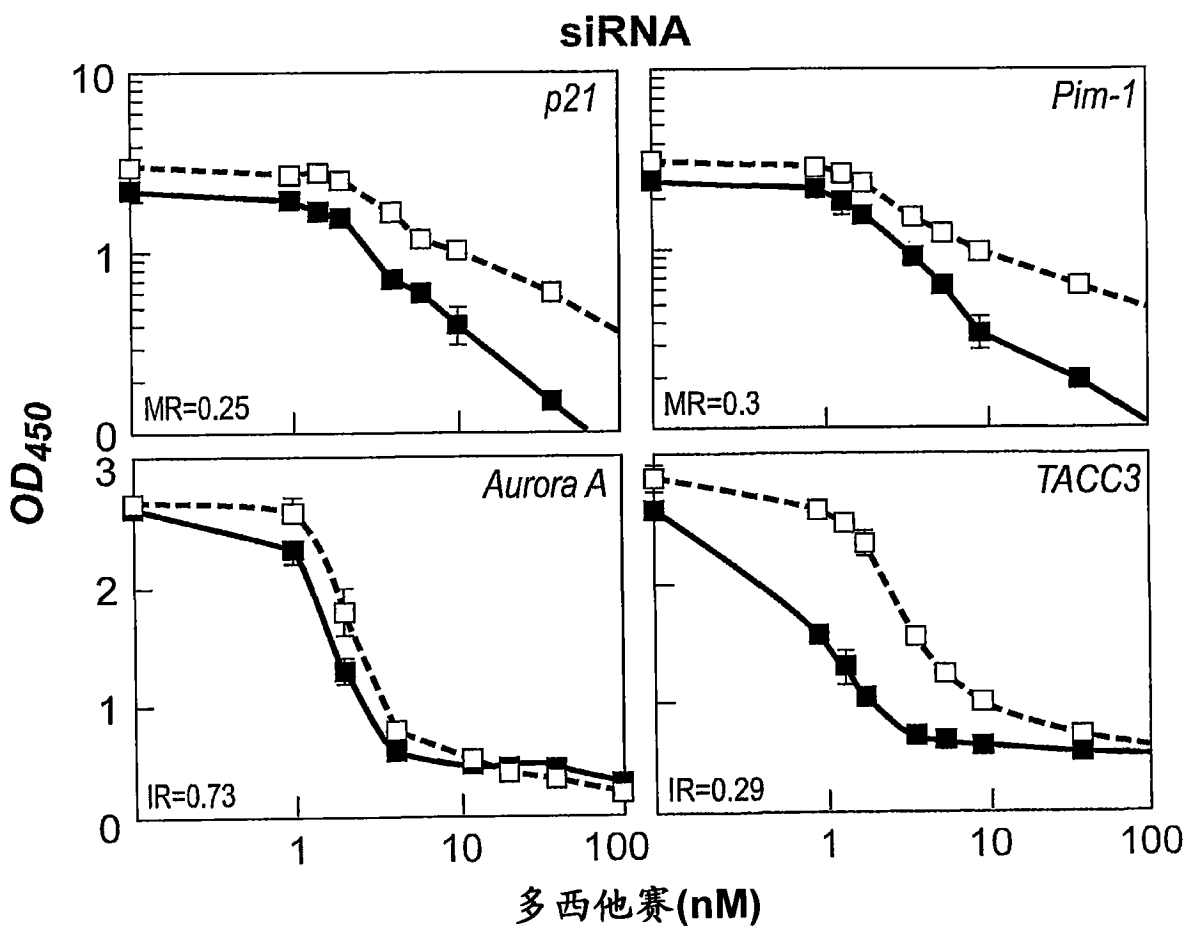


图 9

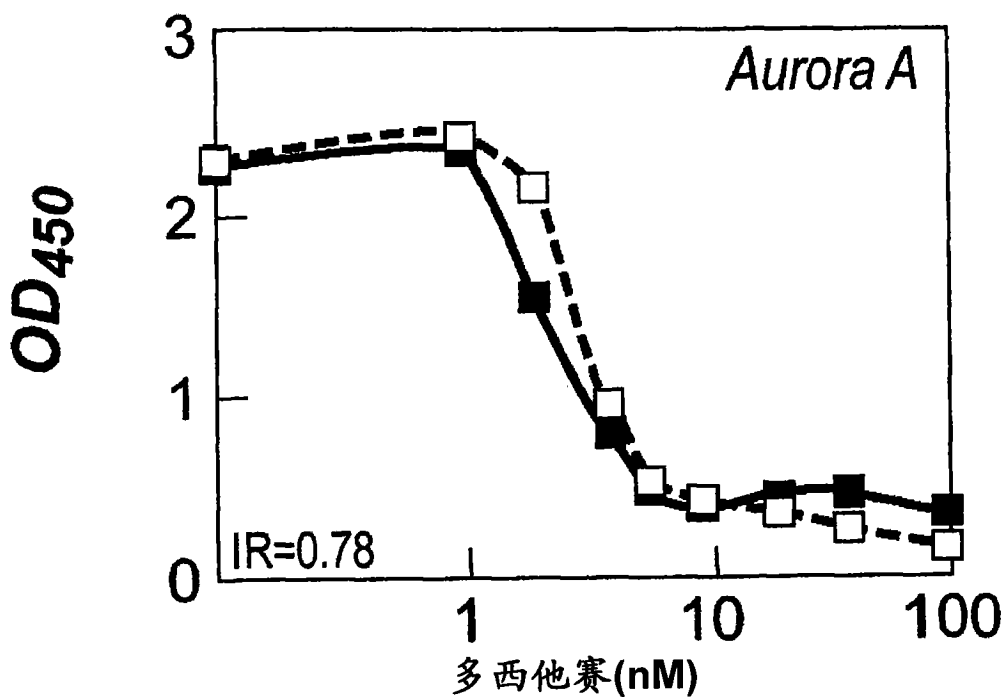


图 10

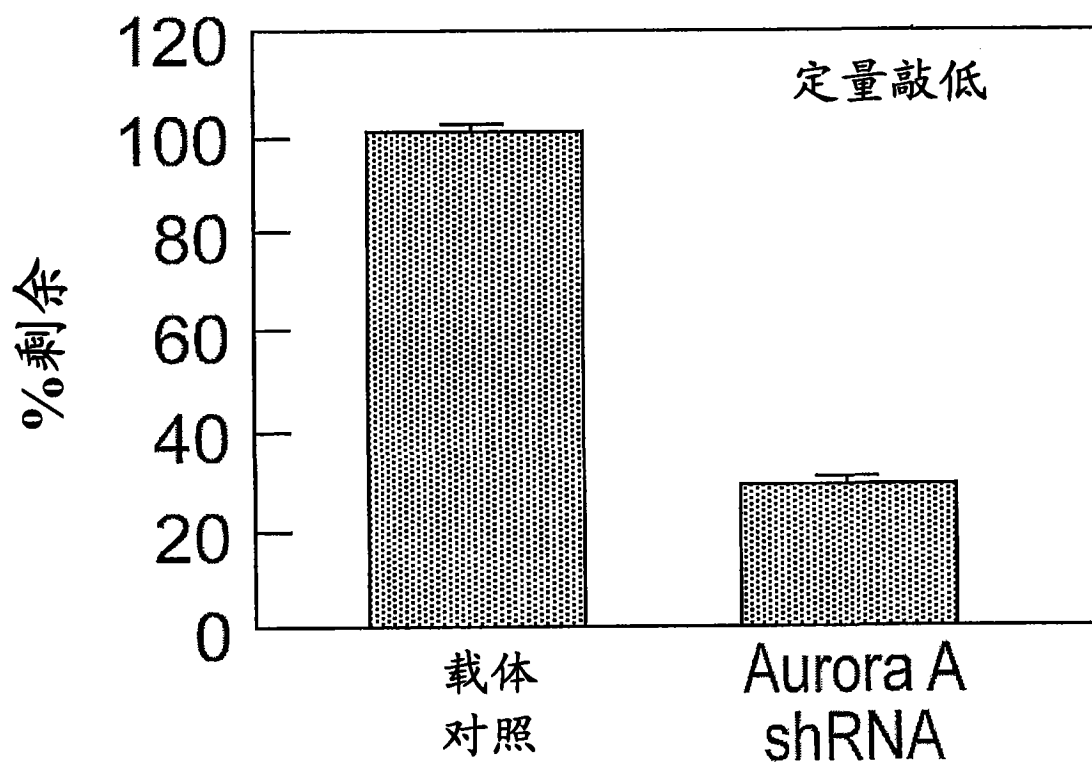


图 11

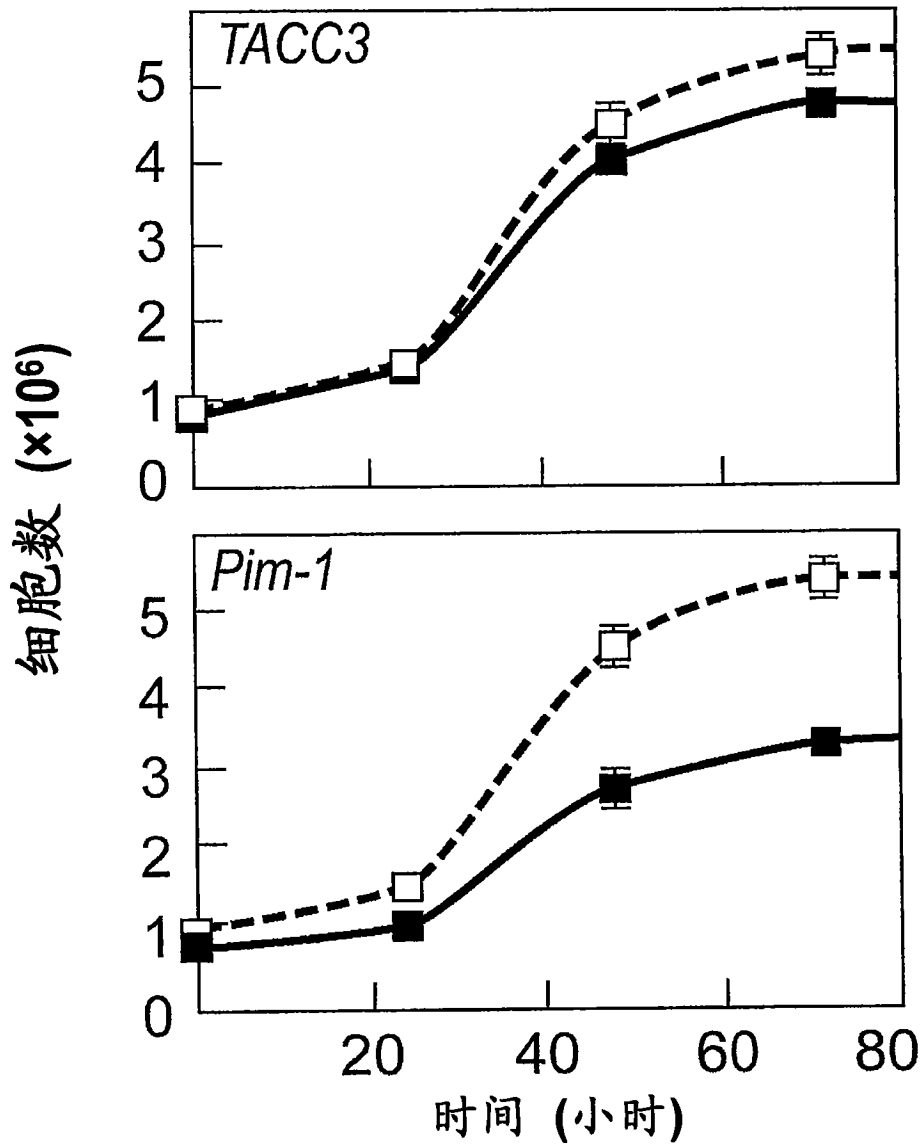


图 12

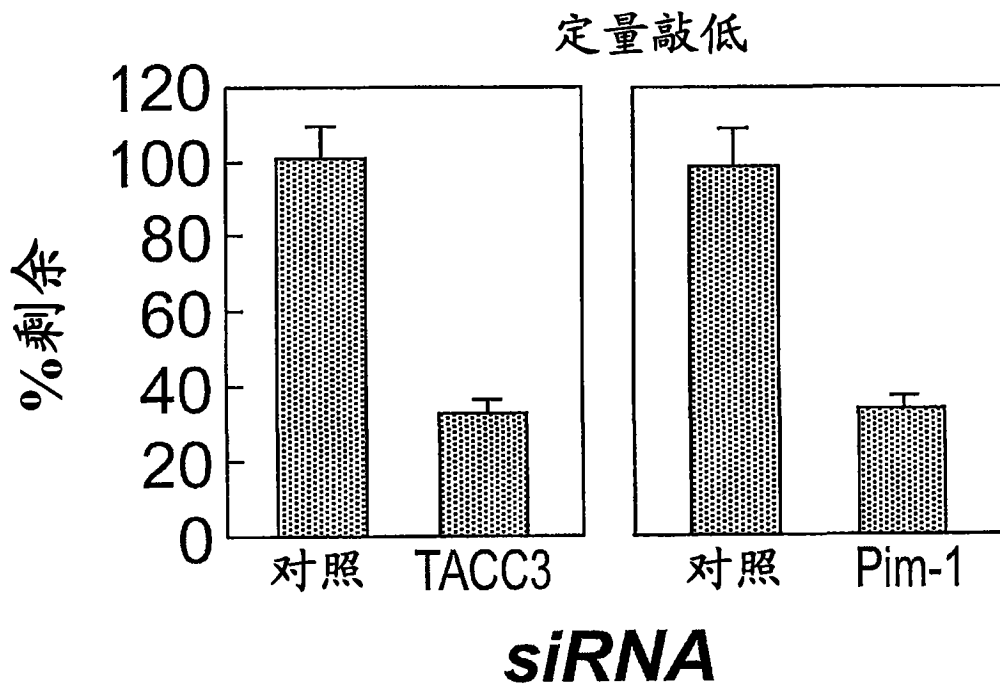


图 13

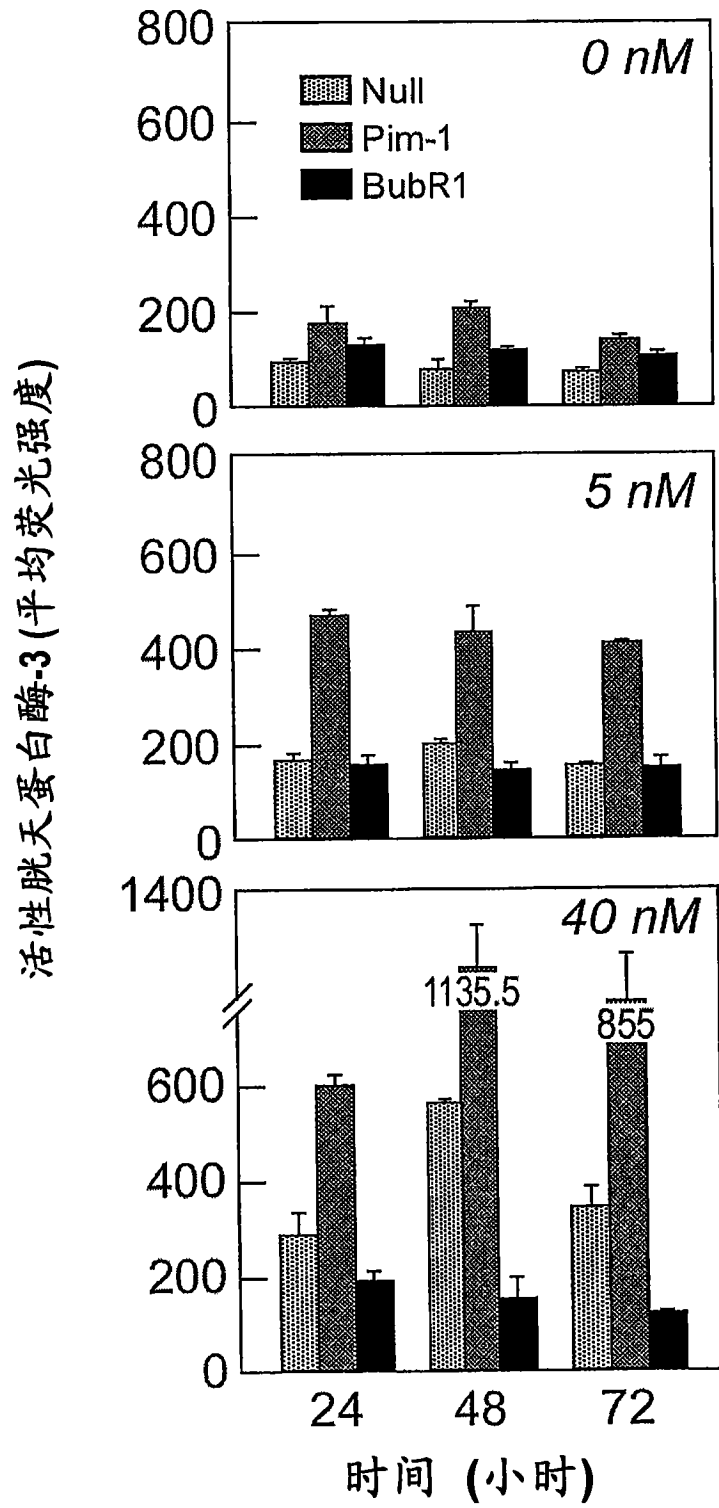


图 14

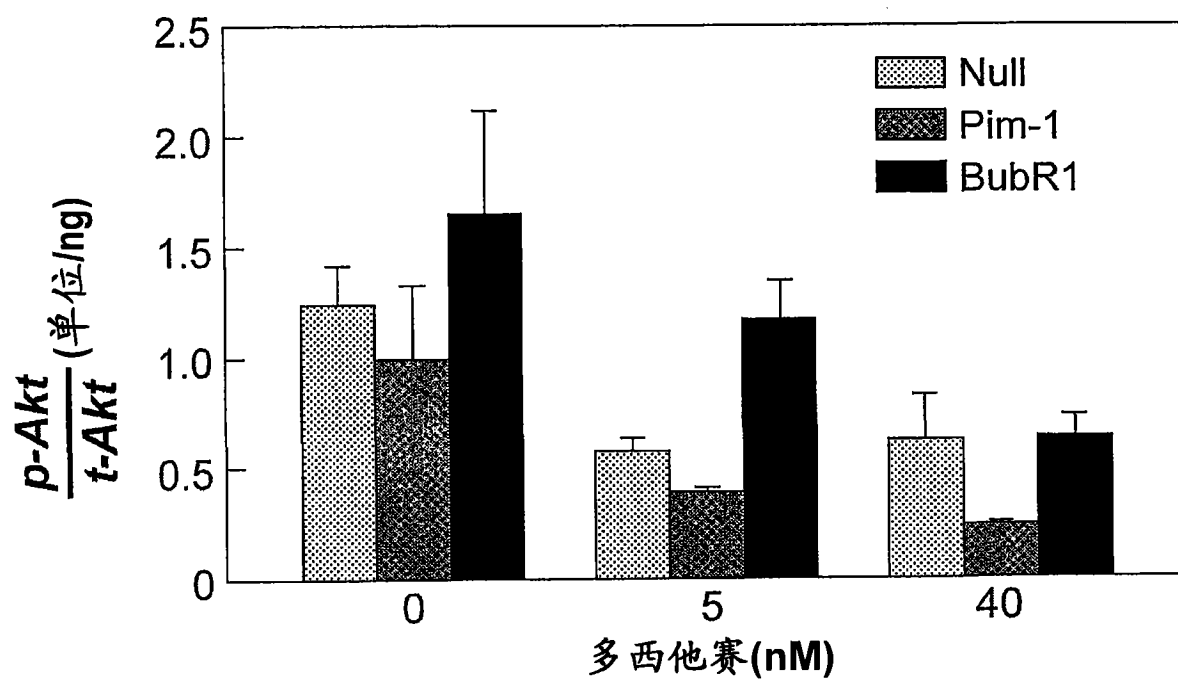


图 15

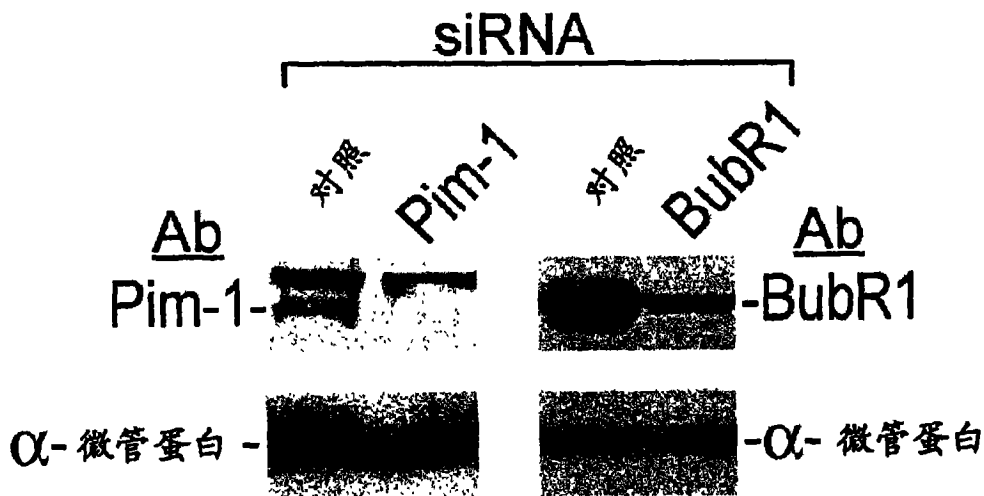


图 16

专利名称(译)	测量对多西他赛抗药性或敏感性的方法		
公开(公告)号	CN101974619A	公开(公告)日	2011-02-16
申请号	CN201010254955.1	申请日	2005-12-01
[标]申请(专利权)人(译)	安万特药物公司		
申请(专利权)人(译)	安万特药物公司		
当前申请(专利权)人(译)	安万特药物公司		
[标]发明人	D·格吕内贝格 黄西 S·纳特森 P·奥古斯特		
发明人	D·格吕内贝格 黄西 S·纳特森 P·奥古斯特		
IPC分类号	G01N33/53 G01N27/62 C12Q1/68		
CPC分类号	C12Q2600/178 C12Q1/6886 G01N33/6893 C12Q2600/158 C12Q2600/106 G01N33/574		
代理人(译)	孔青 李连涛		
优先权	60/634298 2004-12-08 US 11/634298 2004-12-08 US		
其他公开文献	CN101974619B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明涉及某些新颖、有效的方法，这些方法通过测量特定遗传标记物较对照物的增加或减少，可预测或监测患者对紫杉醇类分子的反应。本发明还提供了某些试剂盒，这些试剂盒通过测量特定遗传标记物的核酸或蛋白质水平并与对照物或参照标志比较，可预测或监测患者对紫杉醇类分子的反应。

