



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 109541212 A

(43)申请公布日 2019.03.29

(21)申请号 201811391610.3

(22)申请日 2018.11.21

(71)申请人 上海易范科生物科技有限公司

地址 200135 上海市浦东新区自由贸易试验区龙东大道3000号1幢A楼1101室B-17单元

(72)发明人 高建新 李林凤 陆虹旻

(51)Int.Cl.

G01N 33/574(2006.01)

G01N 33/577(2006.01)

G01N 33/68(2006.01)

G01N 33/531(2006.01)

权利要求书1页 说明书11页

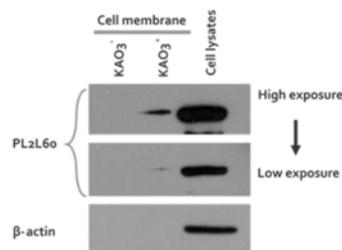
序列表5页 附图11页

(54)发明名称

PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂盒中的应用

(57)摘要

本发明涉及医药技术领域，提供了PL2L60蛋白作为肿瘤诊断标记物的应用，具体涉及PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂盒中的应用，所述的筛查或诊断肿瘤试剂指的是筛查或诊断肿瘤干细胞或肿瘤祖细胞的试剂，所述的肿瘤是指白血病、淋巴癌、乳腺癌、宫颈癌、肺癌、胰腺癌、结肠癌或肝癌。研究结果表明，PL2L60蛋白具有肿瘤特异性和肿瘤广谱性，尤其在肿瘤干/祖细胞表面的特异性表达，以PL2L60为靶标，不但可以研发高效抗体药、细胞治疗技术和肿瘤疫苗，而且可以研发出肿瘤早期诊断试剂，为肿瘤诊断和治疗的进步作出贡献，有利于推动临床肿瘤免疫治疗，具有广阔的临床应用前景。



1. PL2L60蛋白作为肿瘤的分子标记物的应用。
2. PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂或试剂盒中的应用。
3. 根据权利要求2所述的PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂或试剂盒中的应用,其特征在于,所述的筛查或诊断肿瘤试剂指的是筛查或诊断肿瘤干细胞或肿瘤祖细胞的试剂。
4. 根据权利要求2所述的PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂或试剂盒中的应用,其特征在于,所述的试剂盒中包括筛查或诊断肿瘤干细胞或肿瘤祖细胞的试剂。
5. 根据权利要求2所述的PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂或试剂盒中的应用,其特征在于,所述的肿瘤是指白血病、淋巴癌、乳腺癌、宫颈癌、肺癌、胰腺癌、结肠癌或肝癌。
6. 根据权利要求2至5任一所述的PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断Brachyury阳性肿瘤试剂或试剂盒中的应用,其特征在于,所述的试剂包括PL2L60蛋白抗体以及对PL2L60蛋白的表达量进行定量或半定量检测的试剂,所述的试剂盒中包括PL2L60蛋白抗体以及对PL2L60蛋白的表达量进行定量或半定量检测的试剂。
7. 根据权利要求6所述的PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂或试剂盒中的应用,其特征在于,所述抗PL2L60蛋白抗体为KA03单克隆抗体,所述KA03单克隆抗体序列如SEQ ID NO:1所示。

PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂盒中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于生物医学检测领域,涉及PL2L60蛋白作为肿瘤标记物的应用,具体涉及PL2L60蛋白抗体制备早期筛查或诊断肿瘤试剂盒中的应用。

背景技术

[0002] 目前,免疫疗法是探索肿瘤治疗新方法的热点。越来越多的证据表明,要治愈肿瘤需要免疫疗法的配合。免疫疗法主要包括抗体介导的被动免疫疗法和以激活肿瘤特异性免疫细胞为特征的主动免疫疗法。主动免疫疗法可以包括:(1)特异性肿瘤疫苗,(2)免疫生物调节剂(Immunomodulators)和(3)免疫细胞疗法。目前,临幊上免疫疗法比较成功的是以PD-1为靶标的抗体药。其它疗法如免疫细胞疗法等不尽人意。即使CART疗法,也只能是肿瘤免疫治疗的过渡性方案。

[0003] 但是,以PD-1为靶标的免疫疗法有很大的局限性。开始认为抗PD-1抗体阻断抗肿瘤免疫反应中的免疫检查点,可以激活抗肿瘤免疫系统。实践证明,这一假设不成立。事实是,抗PD-1抗体是通过直接识别肿瘤细胞表面表达PD-1,激活ADCC通路而直接杀伤肿瘤细胞,而不是通过阻断PD-1/PD-L1免疫抑制点起作用。由于多数肿瘤不表达PD-1,故抗PD-1抗体药的应用受到很大的限制。此外,2010年4月29日FDA批准的唯一的一个用于治疗晚期前列腺癌的肿瘤疫苗(实为免疫细胞)产品PROVENGE(sipuleucel T)由于其临床效果差而面临失败。总之,由于缺乏肿瘤特异性地广谱肿瘤抗原,无论被动免疫治疗还是主动免疫治疗都遭遇目前难以逾越的瓶颈。

[0004] 要克服目前免疫疗法的瓶颈,需要找到既有肿瘤特异性又有肿瘤广谱性的肿瘤生物标志物(Tumor-specific antigen; TSA)。目前,国内外药企正在研发的肿瘤靶标一般不具有肿瘤特异性和肿瘤广谱性,所以,难以在肿瘤免疫治疗方面有里程碑式的突破。目前,肿瘤免疫治疗的突破需要克服以下几个瓶颈:

[0005] (1)需要肿瘤特异性和广谱性的靶标(TSA),特别是这些靶标可表达在肿瘤干/祖细胞;

[0006] (2)制备相应高效细胞毒性抗体(被动免疫治疗);

[0007] (3)具有不受MHC约束并可被抗原递呈细胞(APC)有效递呈的多肽序列;

[0008] (4)具有培养、扩增免疫功能正常(Immunoocompetent)且不产生免疫耐受(Immunotolerant)的免疫细胞的技术,包括树突状细胞(Dendritic cell; DC)和杀伤细胞(Killer)。

[0009] 如果克服这些瓶颈,肿瘤免疫治疗的时代才会真正到来。但现有技术中,尚无文献对能够在多种肿瘤中特异性表达的基因或蛋白进行记载。

发明内容

[0010] 本发明的发明人通过多年潜心研究发现和鉴定了肿瘤干/祖细胞特异性蛋白PL2L60,它是新型肿瘤干细胞标志物。另外,制备了高效抗PL2L60抗体,从PL2L60蛋白筛选

了具有较强免疫原性的多肽，并在动物试验中证实PL2L60是肿瘤免疫治疗的重要靶标。基于PL2L60的肿瘤免疫治疗方案可以突破当前免疫治疗的瓶颈，有效解决上述问题。

[0011] PL2L60是生殖干细胞基因PIWIL2在肿瘤中异化激活的产物PIWIL2一般表达在生殖干细胞中，在精子生成过程中，通过piwi-piRNA通路参与细胞核重编程或染色质重塑(chromatin remodeling)；还可通过DNA甲基化调节反转录转座子的活性。但是，正常情况下在体细胞中不表达。当体细胞暴露在致癌环境中，DNA受损，PIWIL2基因就会被激活，参与DNA损伤的修复，但是，过表达PIWIL2会诱导肿瘤细胞凋亡。因此，PIWIL2具有肿瘤屏障基因(TBG)的功能。

[0012] 但是，在致癌环境下，当PIWIL2基因内启动子被激活，产生异化激活的蛋白如PL2L60。PL2L60在正常细胞中不表达，主要在转化细胞和肿瘤干/祖细胞中表达，促进肿瘤的发生发展。肿瘤干细胞是肿瘤发生发展的种子细胞，抑制肿瘤干细胞就可以达到抑制甚至治愈肿瘤的目的。

[0013] 肿瘤干细胞可以从正常细胞转化成肿瘤起始干细胞(TIC)，经过癌前干细胞(pCSC)和癌症干细胞(CSC)发展为癌症祖细胞(CPC)，后者成为肿瘤发展的主要种子细胞。PL2L60在癌前干细胞、癌症干细胞、癌症祖细胞和肿瘤细胞株中均有表达，其表达水平与肿瘤细胞增殖能力正相关。更重要的是，PL2L60表达在各种血液肿瘤和实体瘤中，具有肿瘤特异性和广谱性。以PL2L60为靶标设计的免疫治疗方案，可以有效地防治各种血癌和实体瘤。

[0014] PL2L60在癌前干细胞中高水平表达，是自然抗肿瘤免疫(NATI)的有效靶标。抗PL2L60单抗可同时识别人和小鼠的PL2L60，用抗PL2L60的单抗(KA02和KA03克隆)处理癌前干细胞可以有效阻断其在免疫缺陷小鼠中的致瘤能力，所以，从小鼠获得的结果很容易在人重复。最近，我们发现除细胞浆内，PL2L60也可以在部分肿瘤细胞株的表面表达，经鉴定，这些细胞表面表达PL2L60的肿瘤细胞具有肿瘤干/祖细胞的性质，提示单抗KA02和KA03对肿瘤的抑制作用可通过靶向肿瘤干/祖细胞起作用。

[0015] 癌前干细胞可以诱导自然抗肿瘤免疫，抑制癌前干细胞自身的致瘤作用。这种功能是免疫系统通过靶向癌前干细胞表达的PL2L60而发挥作用的，因为用PL2L60多肽致敏树突状细胞(DC-PL2L肿瘤疫苗)，可以激活抗肿瘤免疫，获得与癌前干细胞诱导的抗肿瘤免疫一样的效果。

[0016] 因此，PL2L60蛋白具备作为肿瘤标记物和肿瘤靶标的潜力。

[0017] 本发明的目的在于提供PL2L60蛋白作为肿瘤的分子标记物的应用，具体在于PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂或试剂盒中的应用。

[0018] 本发明的第一方面在于提供PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂或试剂盒中的应用。

[0019] 所述的筛查或诊断肿瘤试剂指的是筛查或诊断肿瘤干细胞或肿瘤祖细胞的试剂。

[0020] 所述的试剂盒中包括筛查或诊断肿瘤干细胞或肿瘤祖细胞的试剂。

[0021] 所述的肿瘤是指白血病、淋巴癌、乳腺癌、宫颈癌、肺癌、胰腺癌、结肠癌或肝癌。

[0022] 进一步，在本发明提供的PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断Brachyury阳性肿瘤试剂或试剂盒中的应用中，所述的试剂包括PL2L60蛋白抗体以及对PL2L60蛋白的表达量进行定量或半定量检测的试剂，所述的试剂盒中包括PL2L60蛋白抗体以及对PL2L60蛋白的表达量进行定量或半定量检测的试剂。

[0023] 优选的，抗PL2L60蛋白抗体为KA03单克隆抗体，KA03单克隆抗体序列如SEQ ID NO:1所示。

[0024] 发明的作用与效果

[0025] 本发明通过大量实验证实了PL2L60蛋白在正常细胞中不表达，主要在转化细胞和肿瘤干/祖细胞中表达，促进肿瘤的发生发展，而肿瘤干细胞或肿瘤祖细胞是肿瘤发生发展的种子细胞，通过检测PL2L60蛋白的表达量，就可能够实现对早期肿瘤的诊断，通过PL2L60蛋白抗体抑制肿瘤干细胞就可以达到抑制甚至治愈肿瘤的目的。

[0026] 此外，研究结果表明，PL2L60蛋白具有肿瘤特异性和肿瘤广谱性，尤其在肿瘤干/祖细胞表面的特异性表达，以PL2L60为靶标，不但可以研发高效抗体药、细胞治疗技术和肿瘤疫苗，而且可以研发出肿瘤早期诊断试剂，为肿瘤诊断和治疗的进步作出贡献，有利于推动临床肿瘤免疫治疗，具有广阔的临床应用前景。

附图说明

[0027] 图1为PIWIL2基因内启动激活及其产物图解，(A) 为PIWIL2基因的表达；(B) 为mRNA的表达；(C) 为蛋白质的表达；

[0028] 图2为PL2L60蛋白与PIWIL2基因表达差异比较；

[0029] 图3为PL2L60蛋白在人和小鼠的各种白血病和肿瘤细胞株中高表达结果；

[0030] 图4为PL2L60蛋白在肿瘤细胞膜表面的表达结果；

[0031] 图5为KA03+细胞表面表达PL2L60结果；

[0032] 图6为KA03+细胞与KA03-细胞致瘤能力比较结果；

[0033] 图7为PL2L60蛋白过表达与KA03+肿瘤细胞数量关系图；

[0034] 图8为PL2L60蛋白提高肿瘤细胞增殖和迁移能力验证结果；

[0035] 图9为PL2L60蛋白提高肿瘤细胞致瘤能力验证图；

[0036] 图10为癌前干细胞诱导自然肿瘤免疫 (Naturally occurring tumor immunity; NOTI) 结果；

[0037] 图11为诱导NOTI是癌前干细胞特有的功能结果图；

[0038] 图12为癌前干细胞诱导的NOTI是非组织特异性的结果图；

[0039] 图13为DC-PL2L疫苗诱导高效抗肿瘤免疫，抑制肺转移癌结果图；

[0040] 图14为PL2L60单抗 (KA02) 有效地抑制肿瘤细胞成瘤和转移结果图；

[0041] 图15为PL2L60单抗 (KA03) 处理人和小鼠肿瘤能有效地抑制各种肿瘤生长结果图；

[0042] 图16为KA03抗体诱导肿瘤细胞凋亡结果图；

[0043] 图17为KA03单抗激活人补体杀死人和小鼠肿瘤细胞结果图。

具体实施方式

[0044] 下面结合实施例和附图对本发明进行详细描述。但下列实施例不应看作对本发明范围的限制。

[0045] 下列实施例中未注明具体条件的实验方法，通常按照常规条件，或按照制造厂商所建议的条件。除非另外说明，物质的百分比和份数均按体积计算。

[0046] 本发明中所用的材料如下：

[0047] 严重联合免疫缺陷(SCID)小鼠:使用8~12周的小鼠,这些小鼠被饲养在动物无害化设施中。

[0048] 人类细胞系:人乳腺癌细胞系MDA-MB-231,人肺癌细胞系A549和人宫颈癌细胞系HeLa均获自美国典型培养物保藏中心(ATCC, Manassas, VA, USA)。将细胞保持在补充有10%胎牛血清(Gibco)和0.1mg/ml青霉素-链霉素(Gibco)的DMEM(Gibco)中。

[0049] 小鼠淋巴瘤细胞系2C4和326T-4在实验室中自行制备:将细胞放置在含有5%CO₂(v/v)的加湿培养箱中,在37℃下保持在R10F(RPMI 1640加10mmol/L胎牛血清,补充有5mmol/L谷氨酰胺,50mmol/L2-甲基苯乙酮,100U/mL青霉素和100mg/ml链霉素)内。

[0050] 抗PL2L60单克隆抗体(KA03mAb,同种型IgM)按照单克隆抗体的常规制备流程在实验室中自行制备,序列如SEQ ID NO:1所示。

[0051] 以下对本发明所用到的分析方法以及实验结果进行详细说明。

[0052] (一) PL2L60蛋白表达具有肿瘤特异性和肿瘤广谱性

[0053] 如图1所示,PIWIL2基因内有多个启动子,在体细胞内通常静默,在肿瘤细胞内可被激活。其中PL2L60蛋白是肿瘤细胞内PIWIL2基因异化激活的主要产物。

[0054] PL2L60蛋白表达具有肿瘤特异性如图2所示,(A)显示了PL2L60特异性单克隆抗体可以识别睾丸(小鼠)和肿瘤细胞(人)中的PIWIL2和PL2L蛋白质:KA01主要识别睾丸中的PIWIL2;KA02和KA03可识别睾丸中的PIWIL2和PL2L40以及人肿瘤细胞(SW480)中的PL2L60和PL2L50;PIWIL2在肿瘤细胞中表达水平很低。

[0055] (B)显示了原发性乳腺癌(1-2)和宫颈癌(3-4)组织中表达高水平PL2L蛋白(2,4),PIWIL2仅在少数凋亡细胞中表达(1,3;箭头所指)。

[0056] (C)显示了在乳腺组织(1-2)和淋巴结(3-4)转移癌中,PIWIL2不表达(1,箭头所指)或仅表达在少量凋亡细胞中(3,箭头所指),但是,PL2L60几乎表达在所有的转移癌细胞中(2,4)。

[0057] (D)显示了PL2L60+细胞同时表达NF-kB:(1)PL2L60单染;(2)NF-kB单染;(3)PL2L60和NF-kB双染;(4)为图(3)方块中细胞放大后,箭头所指为PL2L60和NF-kB双阳性细胞。

[0058] PL2L60蛋白表达的肿瘤光谱性如图3所示,图3(A)~图3(D)分别显示了PL2L60蛋白在人和小鼠的各种白血病和肿瘤细胞株中的表达结果,这些细胞株包括白血病细胞、淋巴瘤、乳腺癌、宫颈癌、肺癌、胰腺癌、结肠癌、肝癌等。HLMVEC-Sv and HLVEC-Pri为早期转化细胞用作阴性对照。所有细胞株中,PIWIL2的水平极低,提示仅仅在少数凋亡细胞中表达,与图2结果一致。结果证实PL2L60表达具有肿瘤特异性和肿瘤广谱性。

[0059] (二) PL2L60促进肿瘤干细胞发生发展

[0060] 细胞膜表达PL2L60的肿瘤细胞具有干细胞的特征。KA03+细胞具有较强的致瘤能力,过表达PL2L60的肿瘤细胞,KA03+细胞增加,增殖能力提高,侵袭、迁移和球状体生成能力增强,这些特征均与肿瘤干细胞有关。结果表明PL2L60+CD44+肿瘤细胞具有干细胞的特征,它可以促进肿瘤干细胞发生发展。具体实验验证结果如图4~图9所示:

[0061] 图4显示了PL2L60蛋白在肿瘤细胞膜表面的表达结果。通常,PL2L60认为表达在细胞浆或细胞核内,但发明人最近发现,部分肿瘤细胞膜表面也表达PL2L60,并分别采用流式细胞分析技术、免疫荧光显微技术以及免疫印迹技术(WB)进行验证:(A)流式细胞分析技术

显示人(MBA-231,HeLa和A549)和小鼠(2C4和326T-4)肿瘤细胞表面也表达PL2L60(KA03+)；(B-C)免疫荧光显微技术证实肿瘤细胞表面(Surface)表达PL2L60。注意：细胞内KA03+细胞(C)多于细胞膜KA03+细胞(B)；(D-E)免疫印迹技术(WB)证明小鼠(D)和人(E)各种肿瘤细胞都表达PL2L60；(F-G)为图D&E的半定量分析结果。

[0062] 此后,用流式细胞分离技术分离KA03+和KA03-乳腺癌细胞(MBA-MD231),分离细胞膜进行免疫印迹技术分析,结果如图5所示,证实KA03+细胞膜内含有PL2L60蛋白,验证了KA03+细胞表面表达PL2L60。

[0063] 图6显示了KA03+细胞与KA03-细胞致瘤能力比较结果。从小鼠(A)肿瘤细胞(B16:黑色素瘤;EL-4:淋巴瘤;LLC:肺癌)和人(B)肿瘤细胞(MDA-MB-231:乳腺癌;A549:肺癌;HeLa:宫颈癌)分离细胞表面KA03+和KA03-的细胞,接种到小鼠肿瘤细胞到免疫功能正常的B6小鼠和人肿瘤细胞到免疫功能缺陷的裸鼠。定期观察和检测肿瘤大小。结果表明:KA03+肿瘤细胞的致瘤能力高于KA03-的肿瘤细胞。与体内实验相反,KA03+细胞在体外培养不易成活,提示像干细胞一样,KA03+肿瘤细胞需要合适的壁龛(niche)才能成活。

[0064] 图7为PL2L60蛋白过表达与KA03+肿瘤细胞数量关系图,显示PL2L60过表达增加KA03+肿瘤细胞,促进细胞增殖:(A)将PL2L60基因(GTX-920)稳定转入人乳腺癌肿瘤细胞(MDA-MB-231和MCF-7)中,对照组转入GFP基因。结果表明转入PL2L60基因的细胞中,具有肿瘤干细胞特征的KA03+细胞增加一倍。(B)将siRNA-E7和siRNA-E21转染MDA-MB-231-GFP和MDA-MB-231-GTX920细胞分别敲除PIWIL2(E7)mRNA和PL2L60(E21)mRNA,结果表明敲除PIWIL2mRNA对细胞增殖没有抑制作用,甚至可以促进肿瘤细胞增殖;但是,敲除PL2L60mRNA显著抑制细胞增殖。再次证实PIWIL2表达对肿瘤有抑制作用,而PIWIL2异化激活可通过诱导肿瘤干细胞促进肿瘤发生发展。

[0065] 图8显示了PL2L60提高肿瘤细胞的增殖和迁移能力。实时成像系统检测表明:乳腺癌细胞MDA-MB-231和MCF-7过表达PL2L60(GTX-920)导致细胞增殖加速(A,B)和侵袭、迁移能力增强(C,D)。

[0066] 图9显示了PL2L60提高肿瘤细胞的致瘤能力:由图A和图B所示,PL2L60(GTX-920)促进乳腺癌细胞(MDA-MB-231和MCF-7)圆球体形成和生长;由图C和图D所示,PL2L60促进肿瘤生成。

[0067] (三)癌前干细胞能诱导广谱自然肿瘤免疫(Naturally occurring tumor immunity;NOTI)

[0068] PL2L60作为肿瘤特异性广谱标志物,是否具有免疫原性,在肿瘤免疫疗法中意义重大。癌前干细胞表达高水平PL2L60蛋白,它是肿瘤干细胞发展的早期阶段,具有良性和恶性分化的潜能。本部分对癌前干细胞和自然肿瘤免疫之间的关系进行探讨,具体结果如图10~图12所示:

[0069] 图10显示了癌前干细胞能诱导自然肿瘤免疫(Naturally occurring tumor immunity;NOTI)。图A和图B中,癌前干细胞(2C4、3B5c和3B6C)和淋巴瘤细胞株EL-4分别接种C57BL/6小鼠(n=6),接种癌前干细胞的小鼠在200天后仍然不长肿瘤,但是接种EL-4的小鼠在接种后第七天长肿瘤;

[0070] 图C和图D中,在210天,预先接种癌前干细胞(3B5C、3B6C)的小鼠再次接种EL-4细胞,EL-4的致瘤能力在这些小鼠中被抑制。其中50%以上的小鼠不长肿瘤(C),即使长肿瘤

的小鼠，肿瘤也非常小(D)。结果表明癌前干细胞能诱导NOTI，防止肿瘤进展。

[0071] 图11显示诱导NOTI是癌前干细胞特有的功能：(A)用癌前干细胞的活细胞和细胞裂解液(5x 106)分别接种B6小鼠8周后，再接种B16F10黑色素瘤细胞(7x 105)。结果显示活细胞和细胞裂解液均能有效地诱导NOTI。(B)用不同浓度的癌前干细胞和淋巴瘤细胞EL-4的裂解液免疫B6C小鼠，8周后接种B16F10细胞。结果显示只有癌前干细胞裂解液能诱导NOTI，EL-4细胞无此能力。裂解液的细胞数量与其诱导的NOTI强度有关。

[0072] 图12显示了癌前干细胞诱导的NOTI是非组织特异性的：(A)用癌前干细胞(pCSC，来源淋巴瘤)、EL-4和B16F10肿瘤细胞的裂解液接种小鼠8周后接种B16F10肿瘤细胞。结果显示只有癌前干细胞裂解液诱导的NOTI最强，可在60%以上的小鼠完全抑制黑色素瘤的生长；(B)图A实验的肿瘤大小。结果显示，癌前干细胞裂解液接种后的NOTI是广谱的，对黑色素瘤和淋巴瘤(图11)的抑制能力是相似的。

[0073] (四)PL2L60蛋白是癌前干细胞诱导NOTI的主要成分

[0074] 采用DC-PL2L疫苗诱导高效抗肿瘤免疫，抑制肺转移癌。用PL2L多肽Pa或Pb致敏骨髓树突状细胞(DC)后，皮下接种C57BL/6小鼠，4周后静脉注射B16F10，两周后处死小鼠收集肺组织，石蜡切片，显微镜下计数转移肿瘤或炎症灶(Counts/section)。如图13结果显示：Pb多肽比Pa多肽诱导较强的NOTI (A)肿瘤发病率；(B)转移瘤和炎症灶；(C)H&E肺组织染色后不同放大倍数的显微照片。上排：炎症灶；下排：转移瘤。

[0075] (五)PL2L60靶向单抗KA02和KA03能够杀伤小鼠和人的肿瘤细胞，有效地抑制人和小鼠肿瘤细胞的成瘤能力

[0076] 图14显示了PL2L60单抗(KA02)有效地抑制肿瘤细胞成瘤和转移。癌前干细胞(2C4G2)用单抗KA02培养上清(100微升)或培养基处理后接种至SCID小鼠腹股沟皮下(n=3/组)。结果表明：KA02单抗处理的细胞没有长成肿瘤(A&B)，但是，培养基处理的均长成肿瘤(B&C)。为了评估KA02单抗对转移瘤的作用，用KA02培养上清处理B16F10黑色素瘤细胞后静脉注射到B6小鼠。两周后小鼠处死，收集肺组织检查转移灶。结果表明KA02处理B16F10的转移能力被显著抑制(D)，注射KA02处理的B16F10细胞的小鼠的肺组织内，显微镜下转移灶明显低于未处理组。

[0077] 图15显示了KA03单抗处理人和小鼠肿瘤能有效地抑制各种肿瘤生长。小鼠癌前干细胞2C4和癌症干细胞326T-4以及人肿瘤细胞(乳腺癌：MDA-MB-231；肺癌：A549；宫颈癌：HeLa)分别用KA03单抗培养上清或培养基处理后接种免疫缺陷小鼠(SCID)观察期肿瘤成瘤率和肿瘤大小。同时，生长肿瘤在直径1.0CM大小用KA03抗体治疗，对照组用培养上清(Ctrl)。如图A-图D所示，KA03抗体可以有效地抑制人和小鼠肿瘤生成，在治疗时，也能有效地抑制肿瘤生长(图E和图F)。

[0078] 图16显示了KA03抗体能诱导肿瘤细胞凋亡。用不同浓度的KA03单抗上清(0,1,2,4,8微升/孔)处理人和小鼠肿瘤细胞24小时后检测其对细胞活力的影响。(A)流式细胞仪检测凋亡细胞例子。(B)KA03处理对肿瘤细胞活力影响的统计结果；(C)不同浓度对细胞凋亡影响的统计结果和(D)细胞在培养空中的显微照片。结果显示：KA03抗体处理人和小鼠肿瘤细胞后，都不同程度地诱导细胞凋亡。这些凋亡细胞可能是肿瘤干细胞。

[0079] 图17显示了KA03单抗可以激活人补体杀死人和小鼠肿瘤细胞。(A)肿瘤细胞与KA03和人补体孵育一小时后用流式细胞仪检查凋亡细胞。(B)肿瘤细胞与KA03和人补体孵

育3小时后,测定细胞活性,确定凋亡细胞的百分率。结果显示:KA03可以有效地诱导肿瘤细胞凋亡。

[0080] 以上显示和描述了本发明的基本原理、主要特征和本发明的优点。本行业的技术人员应该了解,本发明不受上述实施例的限制,上述实施例和说明书中描述的只是说明本发明的原理,在不脱离本发明精神和范围的前提下本发明还会有各种变化和改进,这些变化和改进都落入要求保护的本发明范围内。本发明要求保护范围由所附的权利要求书及其等同物界定。

序列表

<110> 高建新
 <120> PL2L60 蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂盒中的应用
 <130> 2017
 <160> 1
 <170> PatentIn version 3.3

<210> 1
 <211> 1362
 <212> PRT
 <213> KAO3
 <400> 1

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

340 345 350
 Ala Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Tyr Arg Ala Ser Lys
 355 360 365
 Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Asn
 370 375 380
 Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Leu Ile
 385 390 395 400
 Tyr Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly
 405 410 415
 Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu
 420 425 430
 Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ile Arg His Arg Glu Leu
 435 440 445
 Thr Arg Ser Glu Gly Gly Pro Ser Trp Lys Asn Gln Val Thr Leu Lys
 450 455 460
 Val Cys Gly Pro Gly Ile Leu Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr
 465 470 475 480
 Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly
 485 490 495
 Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile
 500 505 510
 Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Ser Gln Leu
 515 520 525
 Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val Phe Leu Lys Ile The
 530 535 540
 Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr Try Tyr Cys Ala
 545 550 555 560
 Arg Arg Gly Asp Tyr Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
 565 570 575
 [0082] Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Ile Leu Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser
 580 585 590
 Leu Ala Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Tyr Arg Ala Ser
 595 600 605
 Lys Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Try Met His Trp Asn Gln Gln
 610 615 620
 Lys Pro Gly Pro Pro Arg Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Leu Glu
 625 630 635 640
 Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe
 645 650 655
 Thr Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr
 660 665 670
 Cys Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg Ser Glu Gly Gly Pro Ser Trp
 675 680 685
 Lys Asn Gln Val Thr Leu Lys Val Ser Gly Pro Gly Ile Leu Lys Pro
 690 695 700
 Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser
 705 710 715 720
 Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly
 725 730 735
 Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn
 740 745 750
 Pro Ser Leu Lys Ser Gln Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn
 755 760 765
 Gln Val Phe Leu Lys Ile Thr Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Ala Thr
 770 775 780
 Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg Gly Asp Tyr Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp
 785 790 795 800

Gly Gln Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln
 805 810 815
 Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Glu Thr Val Thr Ile Thr
 820 825 830
 Cys Arg Ala Ser Gly Asn Gly Asn Ile His Asn Tyr Leu Ala Trp Tyr
 835 840 845
 Gln Gln Lys Gln Gly Lys Ser Pro Gln Leu Leu Val Tyr Asn Ala Lys
 850 855 860
 Thr Leu Ala Asp Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly
 865 870 875 880
 Thr Gln Tyr Ser Leu Lys Ile Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Gly
 885 890 895
 Ser Tyr Tyr Cys Gln His Phe Trp Ser Thr Pro Trp Thr Phe Gly Gly
 900 905 910
 Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Gln Val Thr Leu Lys Glu Cys Gly Pro
 915 920 925
 Gly Ile Leu Lys Pro Ser Gln Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser
 930 935 940
 Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln
 945 950 955 960
 Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu Trp Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp
 965 970 975
 Asp Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys Tyr Tyr Asn Pro Ser Leu Lys
 980 985 990
 Ser Gln Leu Thr Ile Ser Lys Asp Thr Ser Arg Asn Gln Val Phe Leu
 995 1000 1005
 Lys Ile Thr Ser Val Asp Thr Ala Asp Thr Tyr Tyr Cys Ala Arg Arg
 1010 1015 1020
 [0083] Gly Asp Tyr Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
 1025 1030 1035 1040
 Thr Val Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala
 1045 1050 1055
 Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Tyr Arg Ala Ser Lys Ser
 1060 1065 1070
 Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys Pro
 1075 1080 1085
 Gly Gln Pro Pro Pro Leu Leu Ile Tyr Leu Val Ser Asn Leu Glu Ser
 1090 1095 1100
 Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr
 1105 1110 1115 1120
 Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys
 1125 1130 1135
 Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg Ser Glu Gly Gly Pro Ser Trp Lys
 1140 1145 1150
 Asn Gln Val Leu Lys Val Cys Gly Pro Gly Ile Leu Lys Pro Ser Gln
 1155 1160 1165
 Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Phe Ser Gly Phe Ser Leu Ser Thr Ser
 1170 1175 1180
 Gly Met Gly Val Gly Trp Ile Arg Gln Pro Ser Gly Lys Gly Leu Glu
 1185 1190 1195 1200
 Tro Leu Ala His Ile Trp Trp Asp Asp Lys Tyr Tyr Asn Prp Ser
 1205 1210 1215
 Leu Lys Gln Leu Thr Ile Ser Lys Asp The Ser Arg Asn Gln Val Phe
 1220 1225 1230
 Leu Lys Ile Thr Ser Val Asp The Ala Asp Thr Ala Tyr Tyr Cys Ala
 1235 1240 1245
 Arg Arg Gly Asp Tyr Asp Tyr Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr

1250 1255 1260
Ser Val Thr Val Ser Ser Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser
1265 1270 1275 1280
Leu Ala Val Ser Leu Gly Gln Arg Ala Thr Ile Ser Tyr Ala Ser Lys
1285 1290 1295
Ser Val Ser Thr Ser Gly Tyr Ser Tyr Met His Trp Asn Gln Gln Lys
1300 1305 1310
Pro Gly Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro Pro Leu Leu Ile Tyr Leu Val
[0084] 1315 1320 1325
Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser
1330 1335 1340
Gly Thr Asp Phe The Leu Asn Ile His Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala
1345 1350 1355 1340
Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Ile Arg Glu Leu Thr Arg Ser Glu Gly
1345 1350 1355
Gly Pro Ser Trp Lys Asp
1360

序列表

<110> 上海易范科生物科技有限公司

<120> PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂盒中的应用

<160> 1

<170> SIPOSequenceListing 1.0

<210> 1

<211> 1382

<212> PRT

<213> KA03

<400> 1

Ala Ile Val Met Thr His Thr Pro Ser Ser Leu Val Thr Ala Gly Gly

1 5 10 15

Leu Val Thr Met Ser Cys Leu Ser Ser Gly Ala Leu Leu Leu Ser Gly

20 25 30

Ala Gly Ala Thr Leu Thr Thr Gly Gly Leu Pro Gly Pro Pro Leu Leu

35 40 45

Leu Ile Thr Thr Ala Ser Thr Ala Gly Ser Gly Val Pro Ala Ala Pro

50 55 60

Thr Gly Thr Ala Pro Thr Leu Thr Ile Ser Ser Val Gly Ala Gly Ala

65 70 75 80

Leu Ala Val Thr Thr Cys Gly Ala Ala Thr Ser Thr Pro Leu Thr Pro

85 90 95

Gly Thr Thr Leu Gly Leu Leu Gly Val Thr Leu Leu Val Ser Gly Pro

100 105 110

Gly Ile Leu Leu Pro Ser Thr Leu Thr Leu Ser Leu Thr Cys Pro Ser

115 120 125

Gly Pro Ser Gly Met Gly Val Gly Thr Ile Ala Gly Thr Ile Gly Pro

130 135 140

Ser Gly Leu Gly Thr Leu Ala His Ile Thr Thr Ala Ala Ala Leu Thr

145 150 155 160

Thr Ala Pro Ser Leu Leu Ser Gly Leu Thr Ile Ser Leu Ala Thr Ser

165 170 175

Ala Ala Gly Val Pro Leu Leu Ile Thr Ser Val Ala Thr Ala Ala Thr

180 185 190

Ala Ala Thr Thr Cys Ala Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala Gly Ala

195 200 205

Thr Ala Thr Ala Met Ala Thr Thr Gly Gly Gly Thr Ser Val Thr Val

210 215 220

Ser Ser Ser Gly Thr Ser Gly Ser Val Thr Pro Thr Ala Leu Leu Pro
 225 230 235 240
 Ser Gly Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Pro Ser Gly Pro Ser Leu Ser
 245 250 255
 Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Thr Ile Ala Gly Pro Ser Gly Leu Gly
 260 265 270
 Thr Leu Ala His Ile Thr Thr Ala Ala Ala Leu Thr Thr Ala Pro Ser
 275 280 285
 Leu Leu Ser Gly Leu Thr Ile Ser Leu Ala Thr Ser Ala Ala Gly Val
 290 295 300
 Pro Leu Leu Ile Thr Ser Val Ala Thr Ala Thr Thr Cys Ala Ala
 305 310 315 320
 Ala Gly Ala Thr Ala Thr Ala Met Ala Thr Thr Gly Gly Thr Ser
 325 330 335
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ile Leu Leu Thr Gly Ser Pro Ala Ser Leu
 340 345 350
 Ala Val Ser Leu Gly Gly Ala Ala Thr Ile Ser Thr Ala Ala Ser Leu
 355 360 365
 Ser Val Ser Thr Ser Gly Thr Ser Gly Thr Ser Thr Met His Thr Ala
 370 375 380
 Gly Gly Leu Pro Gly Gly Pro Pro Ala Leu Leu Ile Thr Leu Leu Ile
 385 390 395 400
 Thr Leu Val Ser Ala Leu Gly Ser Gly Val Pro Ala Ala Pro Ser Gly
 405 410 415
 Ser Gly Ser Gly Thr Ala Pro Thr Leu Ala Ile His Pro Val Gly Gly
 420 425 430
 Gly Ala Ala Ala Thr Thr Cys Gly His Ile Ala His Ala Gly Leu
 435 440 445
 Thr Ala Ser Gly Gly Pro Ser Thr Leu Ala Gly Val Thr Leu Leu
 450 455 460
 Val Cys Gly Pro Gly Ile Leu Leu Pro Ser Gly Thr Leu Ser Leu Thr
 465 470 475 480
 Cys Ser Pro Ser Gly Pro Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly
 485 490 495
 Thr Ile Ala Gly Pro Ser Gly Leu Gly Thr Leu Ala His Ile
 500 505 510
 Thr Thr Ala Ala Ala Leu Thr Thr Ala Pro Ser Leu Leu Ser Gly Leu
 515 520 525
 Thr Ile Ser Leu Ala Thr Ser Ala Ala Gly Val Pro Leu Leu Ile Thr

530	535	540
Ser Val Ala Thr Ala Ala Thr Ala Ala Thr Ala Thr Thr Cys Ala		
545	550	555
Ala Ala Gly Ala Thr Ala Thr Ala Met Ala Thr Thr Gly Gly Gly Thr		
565	570	575
Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ile Leu Leu Thr Gly Ser Pro Ala Ser		
580	585	590
Leu Ala Val Ser Leu Gly Gly Ala Ala Thr Ile Ser Thr Ala Ala Ser		
595	600	605
Leu Ser Val Ser Thr Ser Gly Thr Ser Thr Met His Thr Ala Gly Gly		
610	615	620
Leu Pro Gly Pro Pro Ala Leu Leu Ile Thr Leu Val Ser Ala Leu Gly		
625	630	635
Ser Gly Val Pro Ala Ala Pro Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Pro		
645	650	655
Thr Leu Ala Ile His Pro Val Gly Gly Ala Ala Ala Thr Thr Thr		
660	665	670
Cys Gly His Ile Ala Gly Leu Thr Ala Ser Gly Gly Pro Ser Thr		
675	680	685
Leu Ala Gly Val Thr Leu Leu Val Ser Gly Pro Gly Ile Leu Leu Pro		
690	695	700
Ser Gly Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Pro Ser Gly Pro Ser Leu Ser		
705	710	715
Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Thr Ile Ala Gly Pro Ser Gly Leu Gly		
725	730	735
Leu Gly Thr Leu Ala His Ile Thr Thr Ala Ala Leu Thr Thr Ala		
740	745	750
Pro Ser Leu Leu Ser Gly Leu Thr Ile Ser Leu Ala Thr Ser Ala Ala		
755	760	765
Gly Val Pro Leu Leu Ile Thr Ser Val Ala Thr Ala Ala Thr Ala Thr		
770	775	780
Thr Thr Cys Ala Ala Ala Gly Ala Thr Ala Thr Ala Met Ala Thr Thr		
785	790	795
Gly Gly Gly Thr Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ile Val Met Thr Gly		
805	810	815
Ser Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly Gly Thr Val Thr Ile Thr		
820	825	830
Cys Ala Ala Ser Gly Ala Gly Ala Ile His Ala Thr Leu Ala Thr Thr		
835	840	845

Gly Gly Leu Gly Gly Leu Ser Pro Gly Leu Leu Val Thr Ala Ala Leu
 850 855 860
 Thr Leu Ala Ala Gly Val Pro Ser Ala Pro Ser Gly Ser Gly
 865 870 875 880
 Thr Gly Thr Ser Leu Leu Ile Ala Ser Leu Gly Pro Gly Ala Pro Gly
 885 890 895
 Ser Thr Thr Cys Gly His Pro Thr Ser Thr Pro Thr Thr Pro Gly Gly
 900 905 910
 Gly Thr Leu Leu Gly Ile Leu Gly Val Thr Leu Leu Gly Cys Gly Pro
 915 920 925
 Gly Ile Leu Leu Pro Ser Gly Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Pro Ser
 930 935 940
 Gly Pro Ser Leu Ser Thr Ser Gly Met Gly Val Gly Thr Ile Ala Gly
 945 950 955 960
 Pro Ser Gly Leu Gly Leu Gly Thr Leu Ala His Ile Thr Thr Ala Ala
 965 970 975
 Ala Leu Thr Thr Ala Pro Ser Leu Leu Thr Thr Ala Pro Ser Leu Leu
 980 985 990
 Ser Gly Leu Thr Ile Ser Leu Ala Thr Ser Ala Ala Gly Val Pro Leu
 995 1000 1005
 Leu Ile Thr Ser Val Ala Thr Ala Ala Thr Thr Thr Cys Ala Ala Ala
 1010 1015 1020
 Gly Ala Thr Ala Thr Ala Met Ala Thr Thr Gly Gly Gly Thr Ser Val
 1025 1030 1035 1040
 Thr Val Ser Ser Ala Ile Val Met Thr Gly Ser Pro Ala Ser Leu Ala
 1045 1050 1055
 Val Ser Leu Gly Gly Ala Ala Thr Ile Ser Thr Ala Ala Ser Leu Ser
 1060 1065 1070
 Val Ser Thr Ser Gly Thr Ser Thr Met His Thr Ala Gly Gly Leu Pro
 1075 1080 1085
 Gly Gly Pro Pro Pro Leu Leu Ile Thr Leu Val Ser Ala Leu Gly Ser
 1090 1095 1100
 Gly Val Pro Ala Ala Pro Ser Gly Ser Gly Thr Ala Pro Thr
 1105 1110 1115 1120
 Leu Ala Ile His Pro Val Gly Gly Ala Ala Ala Thr Thr Thr Cys
 1125 1130 1135
 Gly His Ile Ala Gly Leu Thr Ala Ser Gly Gly Pro Ser Thr Leu
 1140 1145 1150
 Ala Gly Val Leu Leu Val Cys Gly Pro Gly Ile Leu Leu Pro Ser Gly

1155	1160	1165
Thr Leu Ser Leu Thr Cys Ser Pro Ser Gly Pro Ser Leu Ser Thr Ser		
1170	1175	1180
Gly Met Gly Val Gly Thr Ile Ala Gly Pro Ser Gly Leu Gly Leu Gly		
1185	1190	1195
1200		
Thr Leu Ala His Ile Thr Thr Ala Ala Ala Leu Thr Thr Ala Pro Ser		
1205	1210	1215
Leu Leu Gly Leu Thr Ile Ser Leu Ala Thr Ser Ala Ala Gly Val Pro		
1220	1225	1230
Leu Leu Ile Thr Ser Val Ala Thr Ala Ala Thr Ala Thr Thr Cys Ala		
1235	1240	1245
Ala Ala Gly Ala Thr Ala Thr Ala Met Ala Thr Thr Gly Gly Thr		
1250	1255	1260
Ser Val Thr Val Ser Ser Ala Ile Val Met Thr Gly Ser Pro Ala Ser		
1265	1270	1275
1280		
Leu Ala Val Ser Leu Gly Gly Ala Ala Thr Ile Ser Thr Ala Ser Leu		
1285	1290	1295
Ser Val Ser Thr Ser Gly Thr Ser Thr Met His Thr Ala Gly Gly Leu		
1300	1305	1310
Pro Gly Gly Leu Pro Gly Gly Pro Pro Pro Leu Leu Ile Thr Leu Val		
1315	1320	1325
Ser Ala Leu Gly Ser Gly Val Pro Ala Ala Pro Ser Gly Ser Gly Ser		
1330	1335	1340
Gly Thr Ala Pro Thr Leu Ala Ile His Pro Val Gly Gly Ala Ala		
1345	1350	1355
1360		
Ala Thr Thr Thr Cys Gly His Ile Ala Gly Leu Thr Ala Ser Gly Gly		
1365	1370	1375
Gly Pro Ser Thr Leu Ala		
1380		

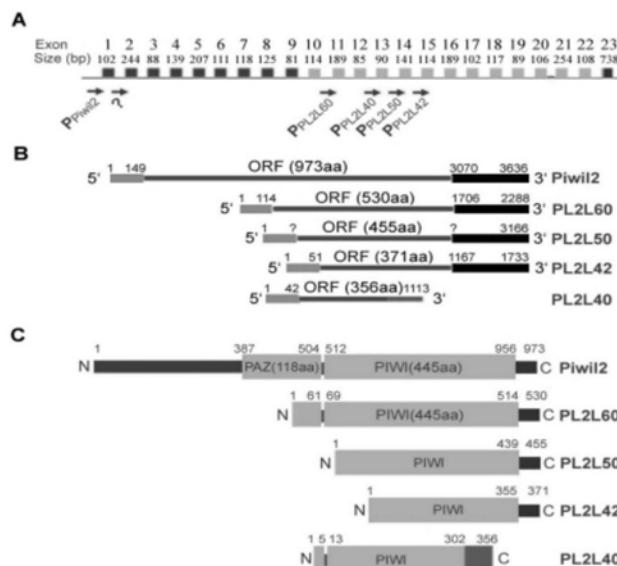


图1

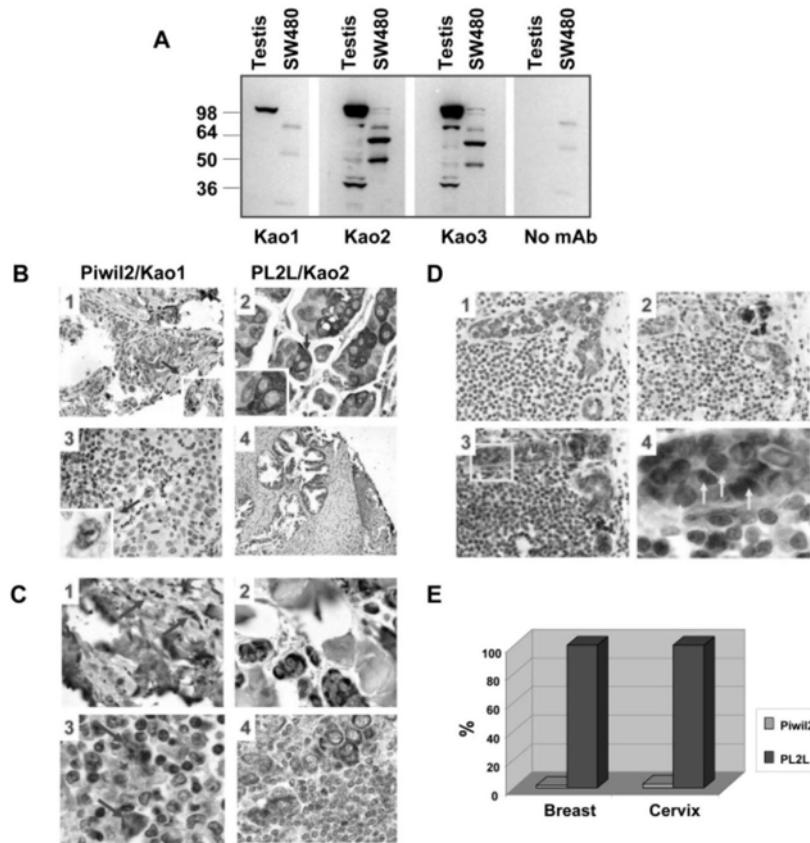


图2

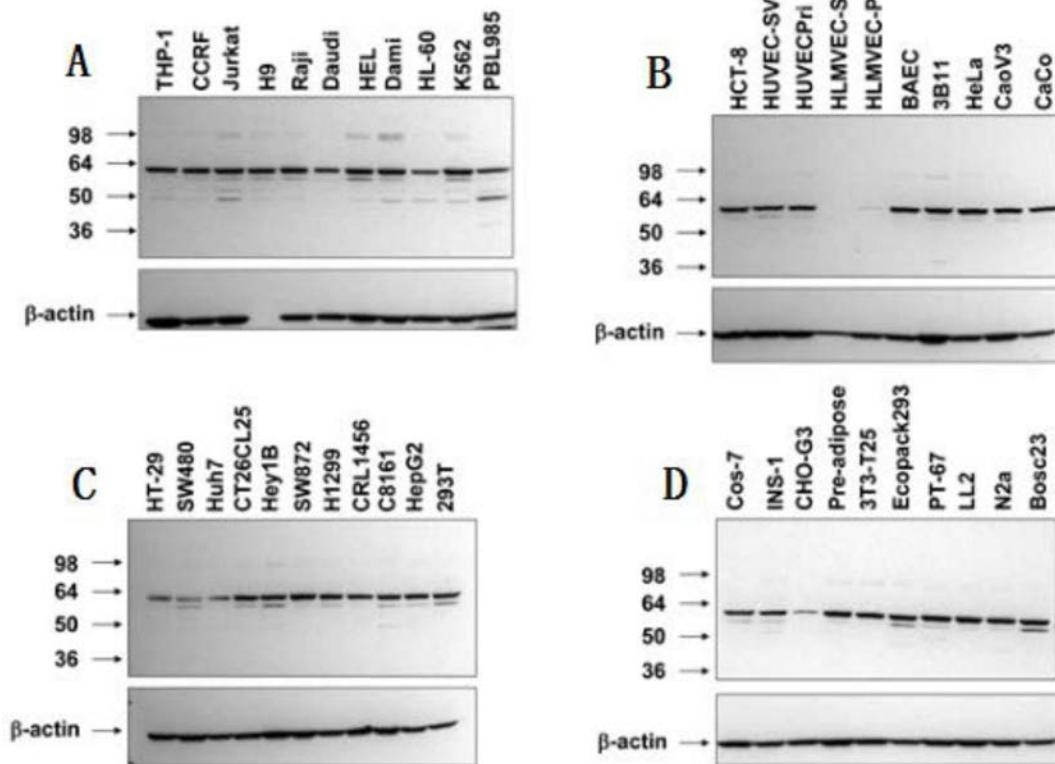


图3

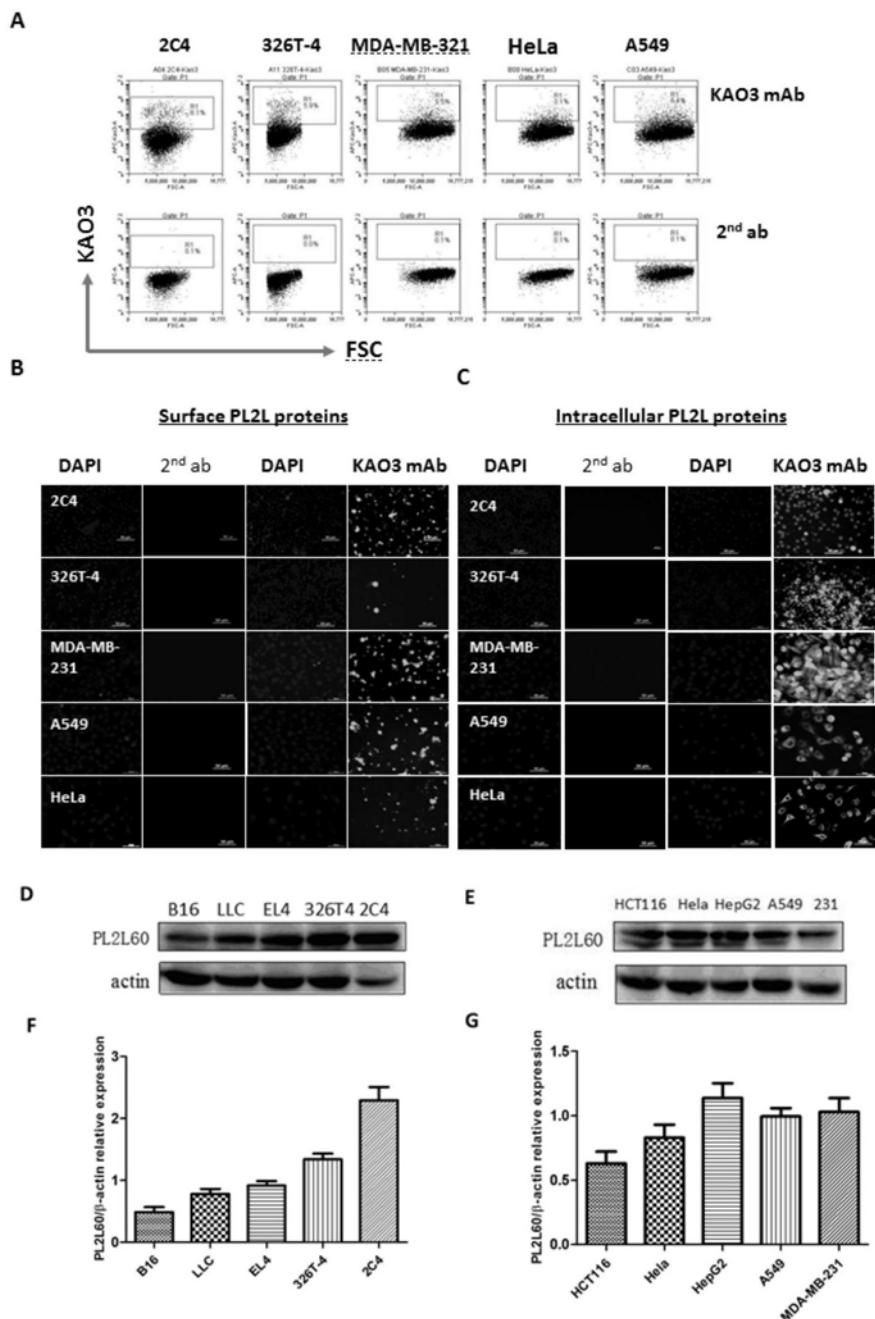


图4

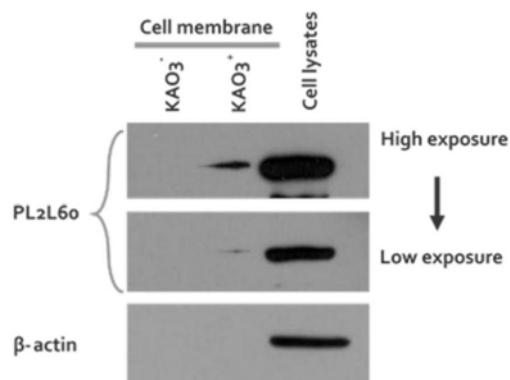


图5

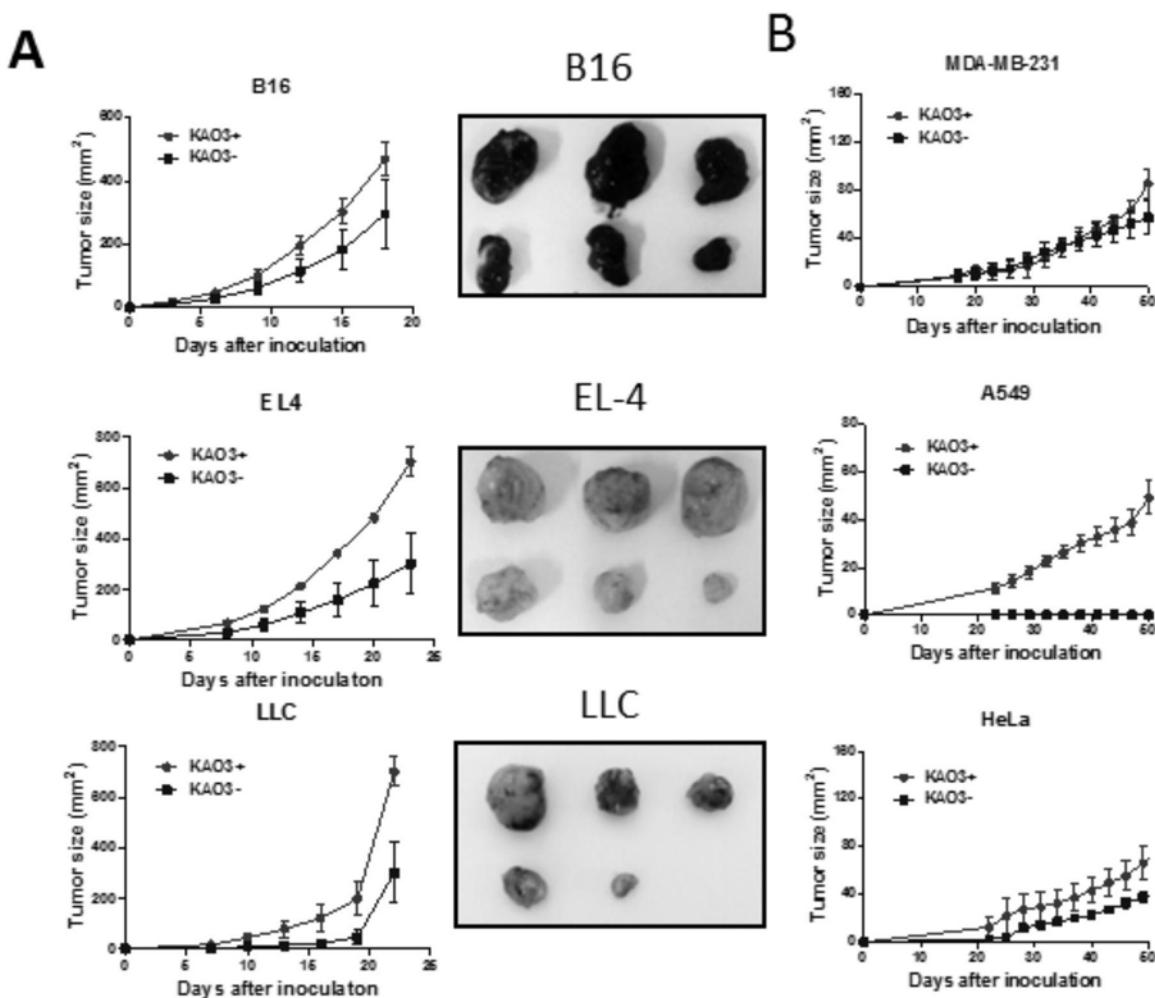


图6

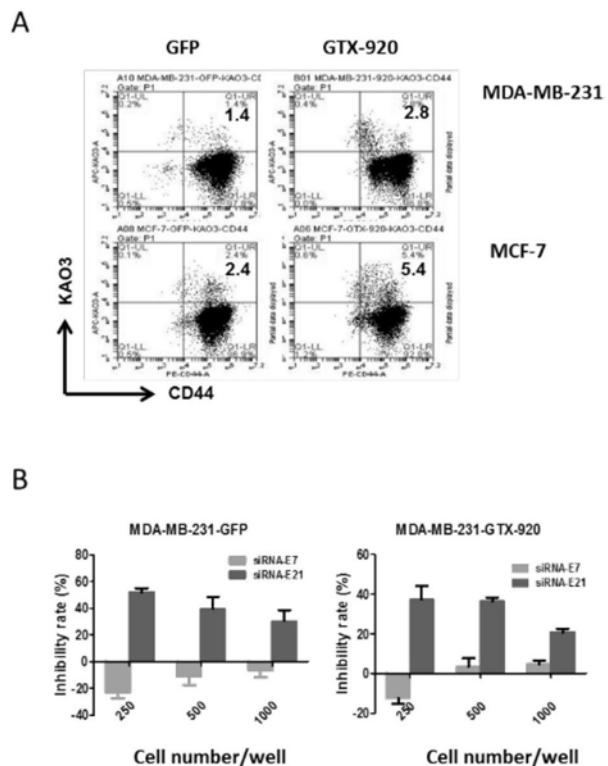


图7

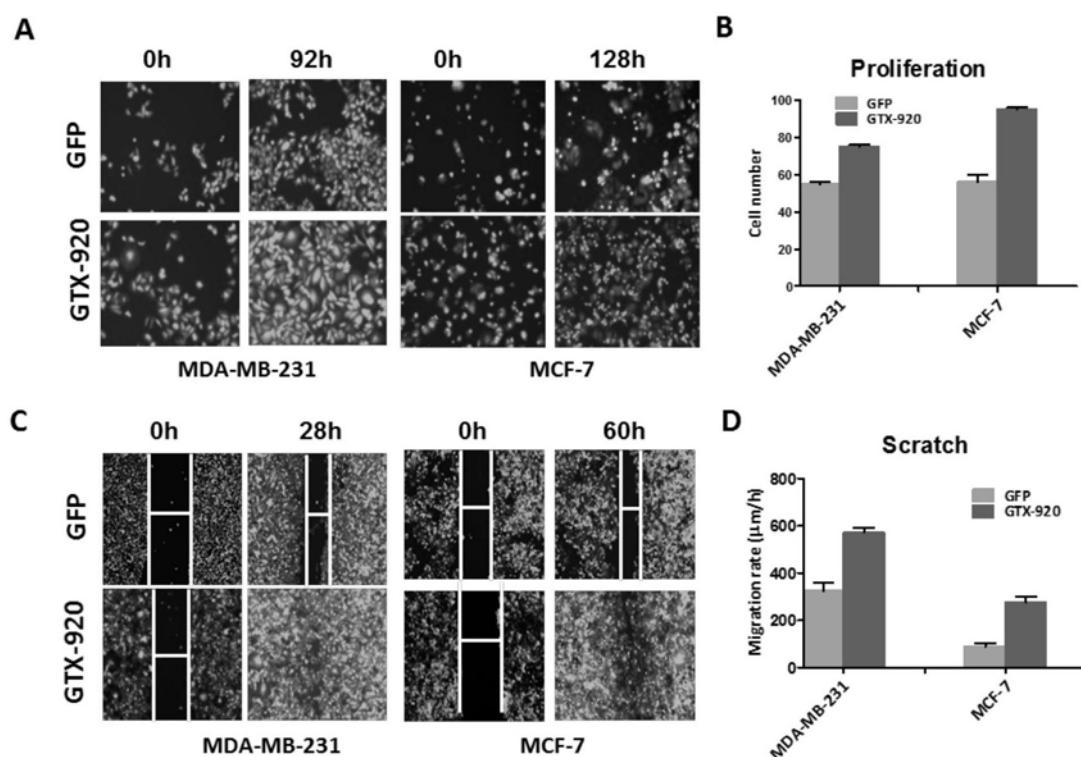


图8

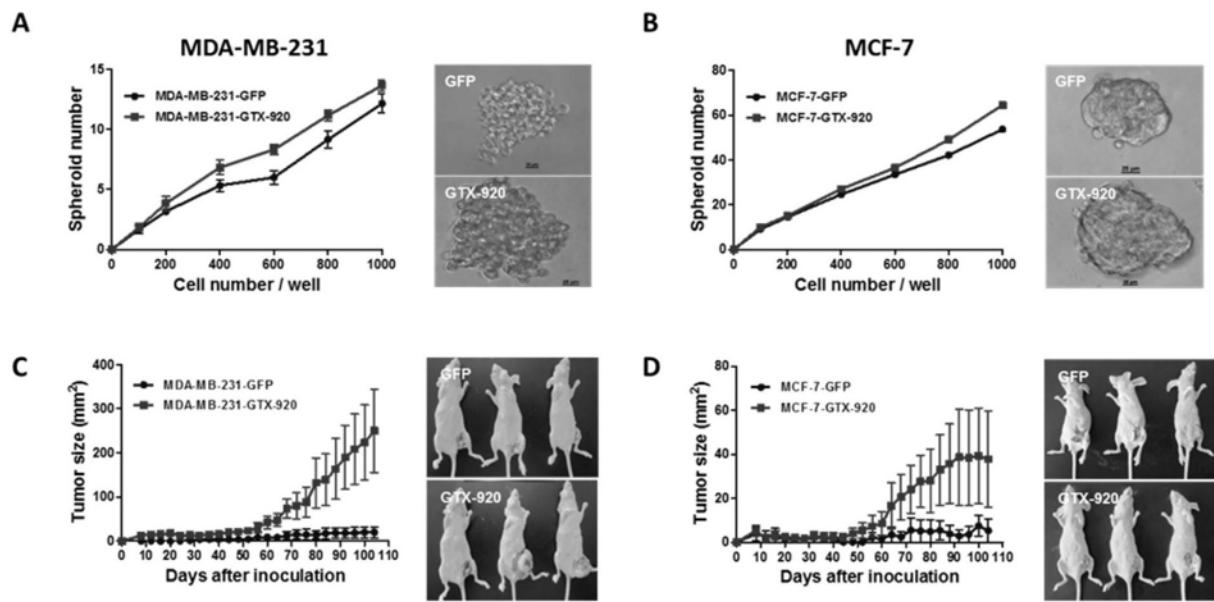


图9

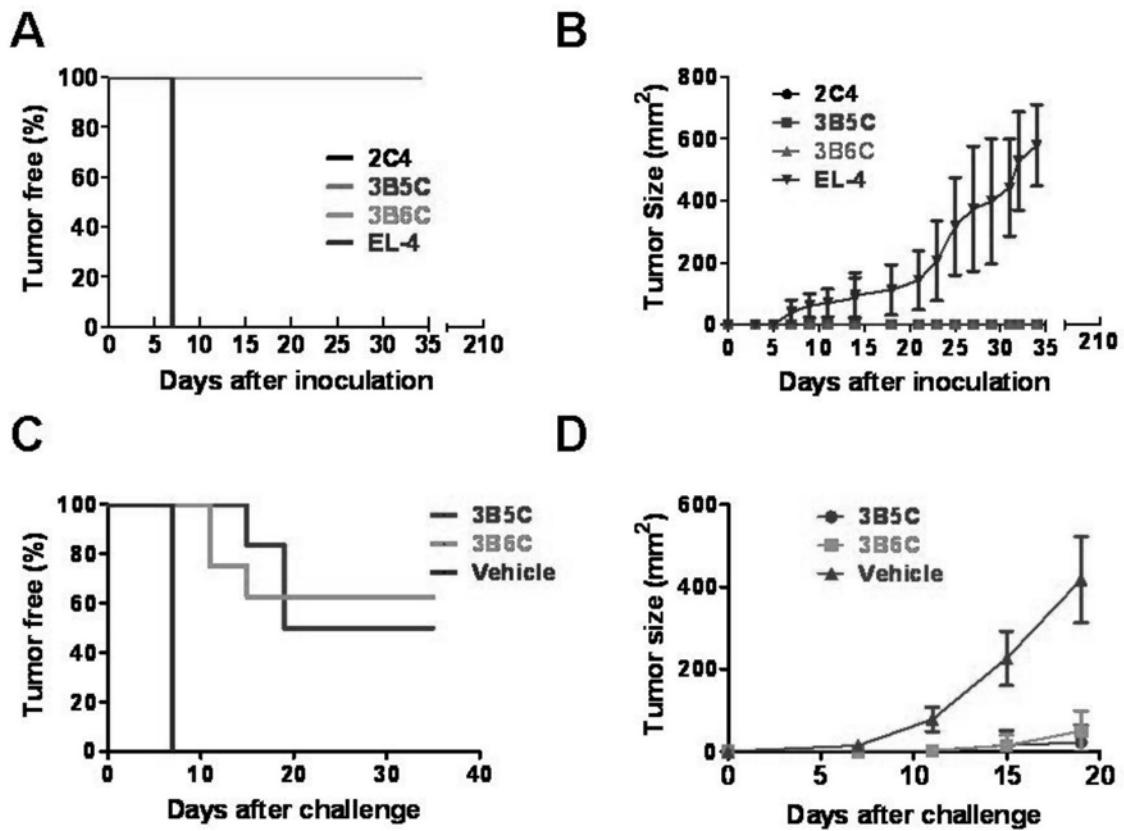


图10

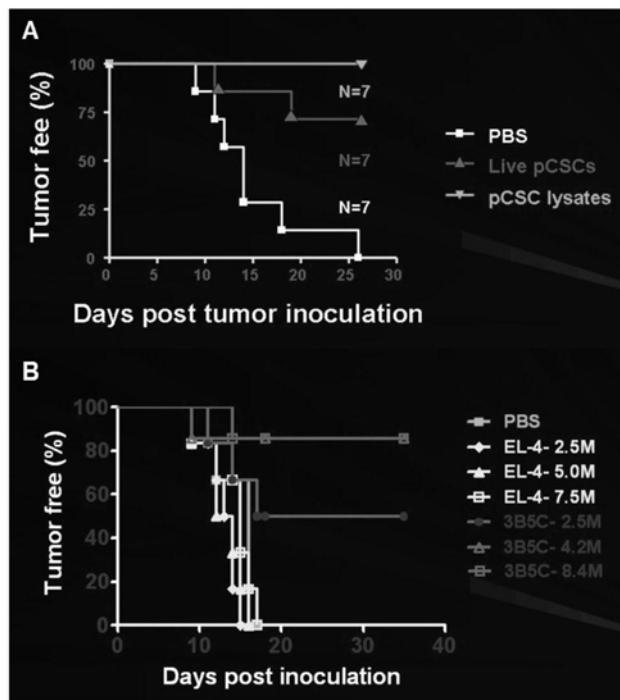


图11

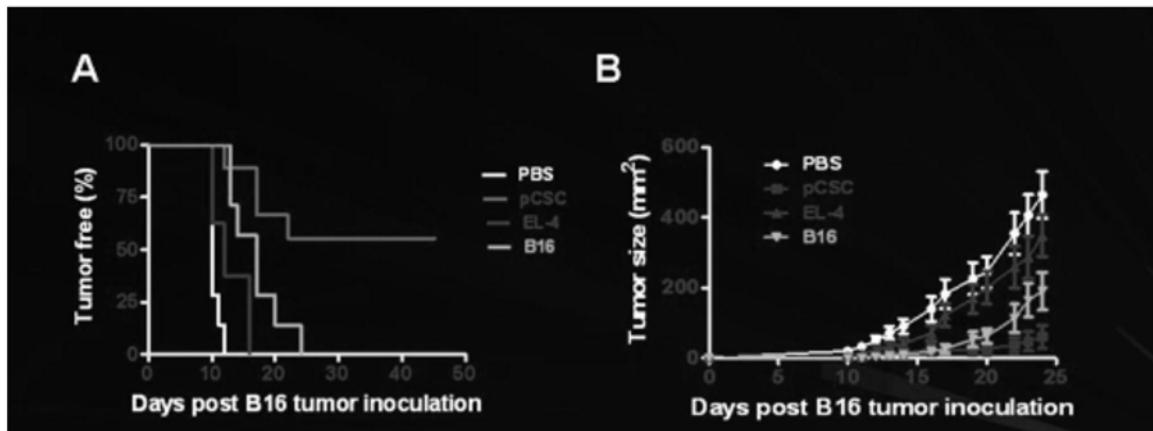


图12

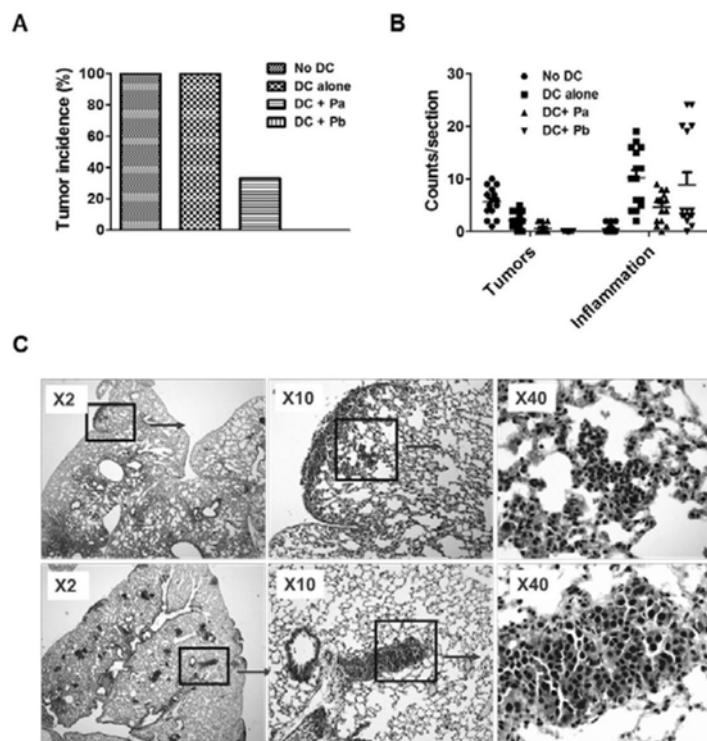


图13

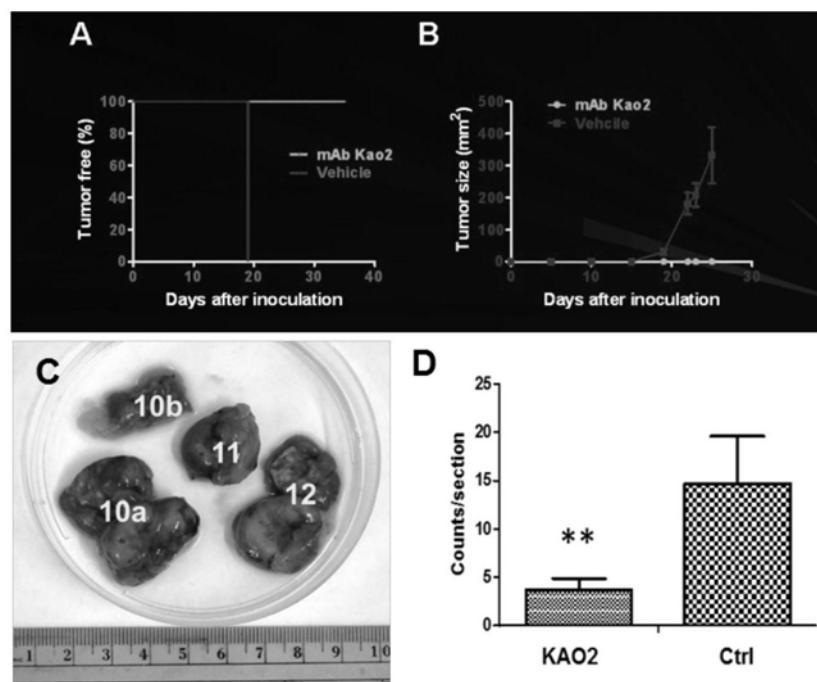


图14

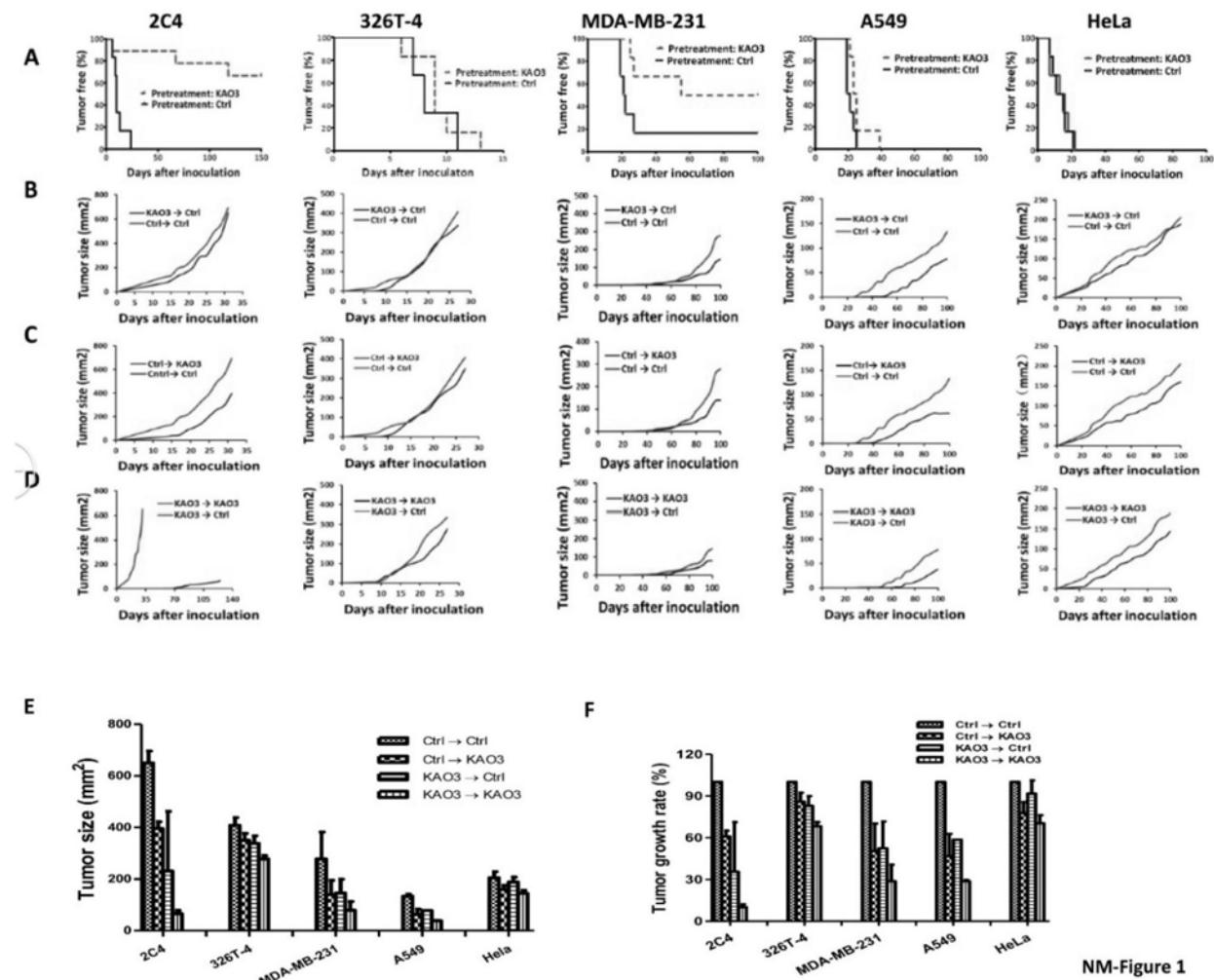


图15

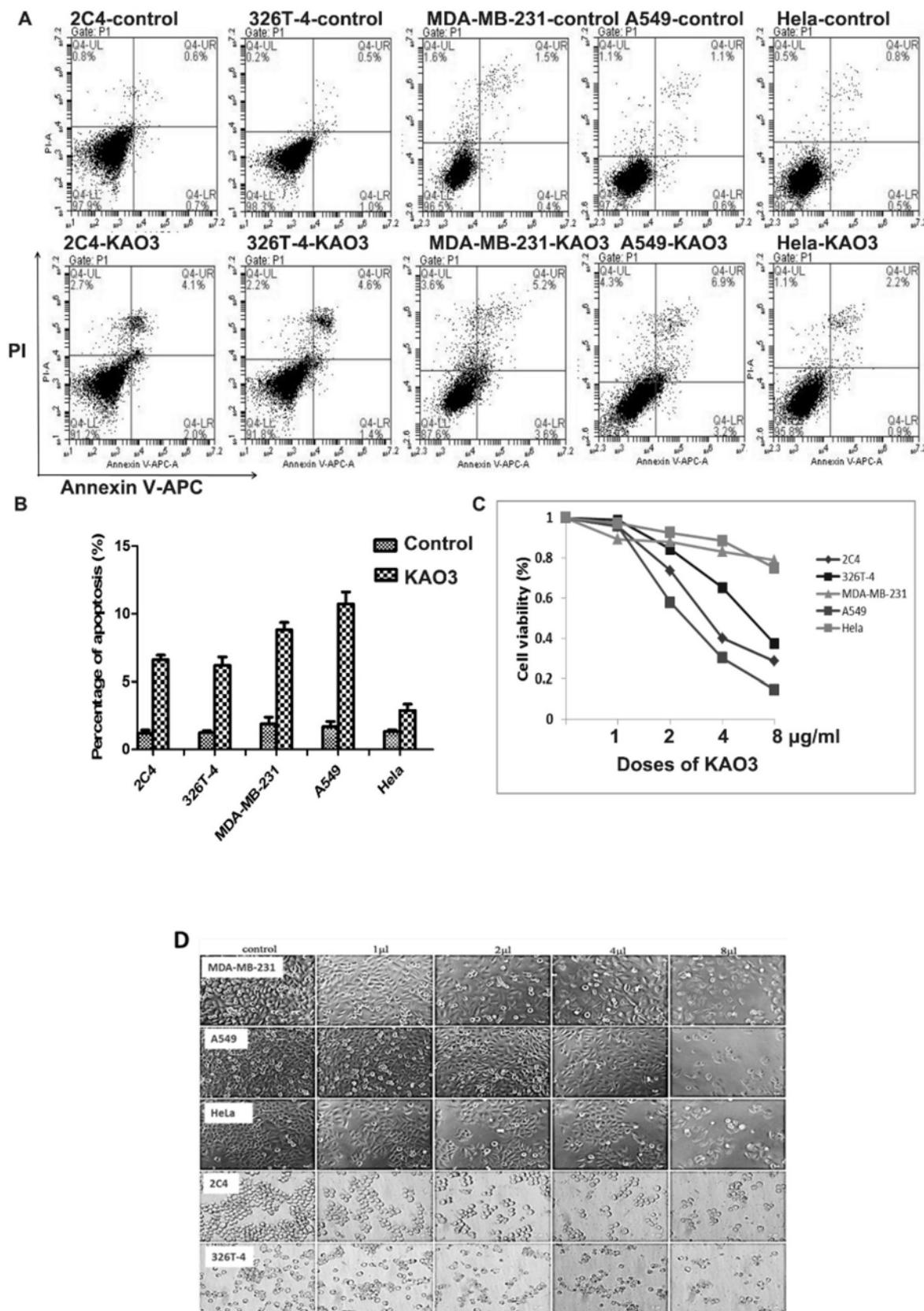


图16

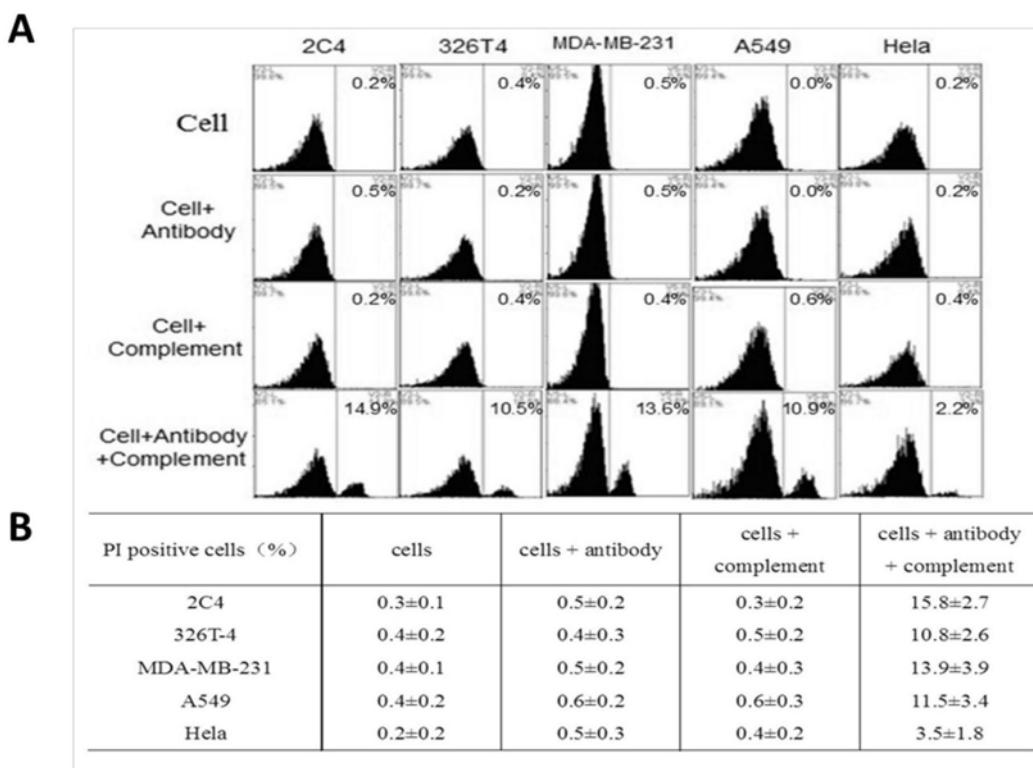


图17

专利名称(译)	PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂盒中的应用		
公开(公告)号	CN109541212A	公开(公告)日	2019-03-29
申请号	CN201811391610.3	申请日	2018-11-21
[标]发明人	高建新 李林凤		
发明人	高建新 李林凤 陆虹昱		
IPC分类号	G01N33/574 G01N33/577 G01N33/68 G01N33/531		
CPC分类号	G01N33/531 G01N33/57484 G01N33/577 G01N33/68		
外部链接	Espacenet Sipo		

摘要(译)

本发明涉及医药技术领域，提供了PL2L60蛋白作为肿瘤诊断标记物的应用，具体涉及PL2L60蛋白在制备早期筛查或诊断肿瘤试剂盒中的应用，所述的筛查或诊断肿瘤试剂指的是筛查或诊断肿瘤干细胞或肿瘤祖细胞的试剂，所述的肿瘤是指白血病、淋巴癌、乳腺癌、宫颈癌、肺癌、胰腺癌、结肠癌或肝癌。研究结果表明，PL2L60蛋白具有肿瘤特异性和肿瘤广谱性，尤其在肿瘤干/祖细胞表面的特异性表达，以PL2L60为靶标，不但可以研发高效抗体药、细胞治疗技术和肿瘤疫苗，而且可以研发出肿瘤早期诊断试剂，为肿瘤诊断和治疗的进步作出贡献，有利于推动临床肿瘤免疫治疗，具有广阔的临床应用前景。

