

[19] 中华人民共和国国家知识产权局



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200710138159. X

[51] Int. Cl.

C12Q 1/68 (2006.01)
G01N 33/53 (2006.01)
G01N 33/68 (2006.01)
G12N 15/11 (2006.01)
A61K 39/395 (2006.01)
A61K 39/00 (2006.01)

[43] 公开日 2008年1月30日

[11] 公开号 CN 101113478A

[51] Int. Cl. (续)

A61K 48/00 (2006.01)
A61K 31/7088 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

[22] 申请日 2003.9.12

[21] 申请号 200710138159. X

分案原申请号 03825373.9

[30] 优先权

[32] 2002. 9. 30 [33] US [31] 60/414,677

[71] 申请人 肿瘤疗法科学股份有限公司

地址 日本神奈川县

[72] 发明人 中村佑辅 片桐丰雅

[74] 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

代理人 封新琴 巫肖南

权利要求书 3 页 说明书 91 页 附图 5 页

[54] 发明名称

诊断睾丸精原细胞瘤的方法

[57] 摘要

本文描述了用于检测和诊断睾丸精原细胞瘤 (TS) 的客观方法。在一个实施方案中, 该诊断方法包含测定在 TS 和正常细胞之间有区别的 TS - 相关性基因的表达水平。本发明还提供了筛选用于治疗 TS 的治疗剂的方法, 治疗 TS 的方法和接种受试者抗 TS 疫苗的方法。

1. 一种诊断受试者的TS或TS发病诱因的方法,包括测定来自患者的生物学样品中TS-相关性基因表达水平的步骤,其中与所述基因的正常对照水平相比所述的水平升高或降低表明所述受试者患有TS或者存在TS发病风险。

2. 权利要求1的方法,其中所述的TS-相关性基因选自TS 1-346,且与正常对照水平相比水平升高表明该受试者患有TS或者存在TS发病风险。

3. 权利要求2的方法,其中所述的升高是比所述的正常对照水平高至少10%。

4. 权利要求1的方法,其中所述的TS-相关性基因选自TS 347-939,且与正常对照水平相比水平降低表明该受试者患有TS或者存在形成TS的风险。

5. 权利要求4的方法,其中所述的降低是比所述的正常对照水平低至少10%。

6. 权利要求1的方法,其中所述的方法还包括测定多个TS-相关性基因的表达水平的步骤。

7. 权利要求1的方法,其中通过选自如下的任一方法测定表达水平:

(a) 检测TS-相关性基因的mRNA,

(b) 检测TS-相关性基因编码的蛋白质,和

(c) 检测TS-相关性基因编码的蛋白质的生物学活性。

8. 权利要求1的方法,其中通过检测TS-相关性基因探针与所述来自患者的生物学样品的基因转录产物的杂交测定所述的表达水平。

9. 权利要求8的方法,其中所述的杂交步骤在DNA阵列上进行。

10. 权利要求1的方法,其中所述的生物学样品包含上皮细胞。

11. 权利要求1的方法,其中所述的生物学样品包含TS细胞。

12. 权利要求8的方法,其中所述的生物学样品包含来自TS的上皮细胞。

13. 一种TS参照表达谱,它含有选自TS 1-939中的两个或两个以上基因的基因表达谱。

14. 一种TS参照表达谱,它含有选自TS 1-346中的两个或两个以上基因的基因表达谱。

15.一种TS参照表达谱，它含有选自TS 347-939中的两个或两个以上基因的基因表达谱。

16.一种筛选用于治疗或预防TS的化合物的方法，所述的方法包括下列步骤：

- a) 使试验化合物与TS 1-939编码的多肽接触；
- b) 检测多肽与试验化合物之间的结合活性；和
- c) 选择与多肽结合的化合物。

17.一种筛选用于治疗或预防TS的化合物的方法，所述的方法包括下列步骤：

- a) 使候选化合物与表达一种或多种标记基因的细胞接触，其中一种或多种标记基因选自TS 1-939；和
- b) 选择降低选自TS 1-346的一种或多种标记基因的表达水平，或者升高选自TS 347-939的一种或多种标记基因的表达水平的化合物。

18.一种筛选用于治疗或预防TS的化合物的方法，所述的方法包括下列步骤：

- a) 使试验化合物与选自TS 1-939的基因编码的多肽接触；
- b) 检测步骤(a)的多肽的生物学活性；和
- c) 选择与不存在该试验化合物时检测的生物学活性相比，抑制TS 1-346编码的多肽的生物学活性、或者与不存在该试验化合物时检测的生物学活性相比增强TS 347-939编码的多肽的生物学活性的化合物。

19.权利要求17的方法，其中所述的试验细胞包含睾丸精原细胞瘤细胞。

20.一种筛选用于治疗或预防TS的化合物的方法，所述的方法包括下列步骤：

- a) 使候选化合物与细胞接触，该细胞导入了含有一种或多种标记基因的转录调控区和在该转录调控区控制下表达的报告基因的载体，其中一种或多种标记基因选自TS 1-939；
- b) 测定所述报告基因的活性；和
- c) 与对照相比较，当所述标记基因是选自TS 1-346的上调标记基因时，选择降低所述报告基因的表达水平的化合物；或者当所述标记基因是选自TS 347-939的下调标记基因时，选择增强所述报告基因的表达水平的化合物。

21. 试剂盒，包含其中包含与选自TS 1-939的两个或多个核酸序列结合的检测试剂。

22. 阵列，包含与选自TS 1-939的两个或多个核酸序列结合的核酸。

23. 一种治疗或预防受试者TS的方法，包括给所述的受试者施用反义组合物的步骤，所述的组合物包含与选自TS 1-346的编码序列互补的核苷酸序列。

24. 一种治疗或预防受试者TS的方法，包括给所述的受试者施用siRNA组合物的步骤，其中所述的组合物降低选自TS 1-346的核酸序列的表达。

25. 权利要求24的方法，其中所述的siRNA包含作为靶序列的核苷酸序列SEQ ID NO: 85或86。

26. 一种治疗或预防受试者TS的方法，包括给所述的受试者施用药用有效量的与选自TS 1-346的任一基因编码的蛋白质结合的抗体或其片段。

27. 一种治疗或预防受试者TS的方法，包括给所述的受试者施用一种疫苗，该疫苗含有由选自TS 1-346的核酸编码的多肽或所述多肽的免疫学活性片段，或者编码该多肽的多核苷酸。

28. 一种治疗或预防受试者TS的方法，包括给所述的受试者施用增强TS 347-939的表达或活性的化合物的步骤。

29. 一种治疗或预防受试者TS的方法，所述方法包括施用按照权利要求16-20任一项的方法获得的化合物的步骤。

30. 一种治疗或预防受试者TS的方法，包括给所述的受试者施用药用有效量的选自TS 347-939的多核苷酸或其编码的多肽的步骤。

31. 一种用于治疗或预防TS的组合物，所述组合物包含药用有效量的针对选自TS 1-346的多核苷酸的反义多核苷酸或小干扰RNA。

32. 权利要求31的组合物，其中所述的小干扰RNA包含作为靶序列的核苷酸序列SEQ ID NO: 85或86。

33. 一种用于治疗或预防TS的组合物，所述组合物包含药用有效量的与选自TS 1-346的任一基因编码的蛋白质结合的抗体或其片段。

34. 一种用于治疗或预防TS的组合物，所述组合物包含活性成份和可药用载体，所述活性成份是药用有效量的用权利要求16-20任一项的方法选出的化合物。

35. 一种小干扰RNA，其有义链包含核苷酸序列SEQ ID NO: 85或86。

诊断睾丸精原细胞瘤的方法

本申请是申请日为2003年9月12日、申请号为03825373.9、题目为“诊断睾丸精原细胞瘤的方法”的分案申请。

发明领域

本发明涉及诊断睾丸精原细胞瘤的方法。

优先权信息

本申请要求2002年9月30日申请的美国临时申请系列号60/414,677的优先权。

技术背景

尽管睾丸生殖细胞肿瘤(TGCTs)占男性所有癌症的1-2%，但是它们是在年龄从20到40岁的男性群体中发现的最常见的癌症(1)，且在过去几十年中发病率显著递增(2,3)。TGCTs分成两种主要的组织学类型，即精原细胞瘤，类似于未分化的生殖细胞，和非精原细胞瘤，类似于胚胎和胚外两种组织，因为它们具有沿两者中任一途径分化的能力(7)。精原细胞瘤是TGCTs中最常见的组织学睾丸肿瘤且占有TGCTs的大约60%到65%(8)。目前，甲胎蛋白(AFP)，人绒毛膜促性腺激素 β -亚基(HCG)和乳酸脱氢酶(LDH)用作TGCTs的诊断肿瘤标记(9)。然而，尚未鉴定出无合体滋养层巨细胞的精原细胞瘤特异性肿瘤标记。

cDNA微阵列技术能够获得正常和恶性细胞的全面(comprehensive)基因表达谱，且能够比较在恶性和相应正常细胞中的基因表达(Okabe et al., Cancer Res 61:2129-37 (2001); Kitahara et al., Cancer Res 61: 3544-9 (2001); Lin et al., Oncogene 21:4120-8 (2002); Hasegawa et al., Cancer Res 62:7012-7 (2002))。该方法能够揭示癌症细胞的复杂特性，和帮助了解癌发生的机理。鉴定肿瘤中去调节的基因可导致更准确和精确地诊断个体癌症，和开发新的治疗靶(Bienz and Clevers, Cell 103:311-20 (2000))。为了从基因组揭示肿瘤的机理，即普遍性观点，和探索用于诊断和新治疗性药品开发的靶分子，本发明人使用23040个基因的cDNA微阵列分析了肿瘤细胞的表达谱(Okabe

et al., *Cancer Res* 61:2129-37 (2001); Kitahara et al., *Cancer Res* 61:3544-9 (2001); Lin et al., *Oncogene* 21:4120-8 (2002); Hasegawa et al., *Cancer Res* 62:7012-7 (2002))。

设计用于揭示癌发生机理的实验已经帮助鉴定了抗肿瘤剂的分子靶。例如,最初开发用于抑制与Ras相关的生长-信号传导途径的,其活化依赖于翻译后的法尼基化的法尼基转移酶(FTIs)的抑制剂,在动物模型中治疗Ras-依赖型肿瘤有效(He et al., *Cell* 99:335-45 (1999))。使用组合或抗癌药物与抗-HER2单克隆抗体,即trastuzumab对人体进行了临床试验以拮抗原癌基因受体HER2/neu;且成功改善了乳腺癌患者的临床反应和总体存活率(Lin et al., *Cancer Res* 61:6345-9 (2001))。已经开发了选择性灭活bcr-abl融合蛋白的酪氨酸激酶抑制剂,即STI-571,用于治疗bcr-abl酪氨酸激酶的组成型活化在白细胞转化中起决定性作用的慢性骨髓性白血病。这些类型的试剂设计成抑制特定基因产物的致癌活性(Fujita et al., *Cancer Res* 61:7722-6 (2001))。因此,在癌细胞中通常上调的基因产物可用作开发新抗癌剂的潜在靶。

已证实CD8+细胞毒性T淋巴细胞(CTLs)识别在MHC I型分子上呈递的肿瘤相关性抗原(TAAs)产生的表位肽,并裂解肿瘤细胞。自从发现MAGE家族是TAAs的第一个例子后,使用免疫学方法发现了许多其它的TAAs(Boon, *Int J Cancer* 54: 177-80 (1993); Boon and van der Bruggen, *J Exp Med* 183: 725-9 (1996); van der Bruggen et al., *Science* 254: 1643-7 (1991); Brichard et al., *J Exp Med* 178: 489-95 (1993); Kawakami et al., *J Exp Med* 180: 347-52 (1994))。一些发现的TAAs现在处于作为免疫疗法靶的临床开发阶段。至今发现的TAAs包括MAGE(van der Bruggen et al., *Science* 254: 1643-7 (1991)), gp100 (Kawakami et al., *J Exp Med* 180: 347-52 (1994)), SART (Shichijo et al., *J Exp Med* 187: 277-88 (1998)), 和NY-ESO-1 (Chen et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 1914-8 (1997))。另一方面,已证实在肿瘤细胞中特异性过量表达的基因产物显示出作为诱导细胞免疫反应的靶。该基因产物包括p53 (Umano et al., *Brit J Cancer* 84: 1052-7 (2001)), HER2/neu (Tanaka et al., *Brit J Cancer* 84: 94-9 (2001)), CEA (Nukaya et al., *Int J Cancer* 80: 92-7 (1999)), 等等。

尽管在涉及TAAs的基础和临床研究中取得了重要进展(Rosenbeg et al., *Nature Med* 4: 321-7 (1998); Mukherji et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 92:

8078-82 (1995); Hu et al., *Cancer Res* 56: 2479-83 (1996)), 但是仅有有限数量的候选TAAs可用于治疗腺癌, 包括结肠直肠癌。在癌细胞中大量表达且同时其表达局限于癌细胞的TAAs是作为免疫治疗靶的有前景的候选物。另外, 对诱导潜在和特异性抗肿瘤免疫反应的新TAAs的鉴定预期可支持在各种癌症类型中临床使用肽接种方法(Boon and van der Bruggen, *J Exp Med* 183: 725-9 (1996); van der Bruggen et al., *Science* 254: 1643-7 (1991); Brichard et al., *J Exp Med* 178: 489-95 (1993); Kawakami et al., *J Exp Med* 180: 347-52 (1994); Shichijo et al., *J Exp Med* 187: 277-88 (1998); Chen et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 1914-8 (1997); Harris, *J Natl Cancer Inst* 88: 1442-5 (1996); Butterfield et al., *Cancer Res* 59: 3134-42 (1999); Vissers et al., *Cancer Res* 59: 5554-9 (1999); van der Burg et al., *J Immunol* 156: 3308-14 (1996); Tanaka et al., *Cancer Res* 57: 4465-8 (1997); Fujie et al., *Int J Cancer* 80: 169-72 (1999); Kikuchi et al., *Int J Cancer* 81: 459-66 (1999); Oiso et al., *Int J Cancer* 81: 387-94 (1999))。

已经反复报导了来自某些健康供体的肽刺激的外周血单核细胞(PBMCs)与该肽应答产生明显水平的IFN- γ , 但在 ^{51}Cr -释放试验中很少以HLA-A24或-A0201限制性方式发挥对肿瘤细胞的细胞毒性(Kawano et al., *Cancer Res* 60: 3550-8 (2000); Nishizaka et al., *Cancer Res* 60: 4830-7 (2000); Tamura et al., *Jpn J Cancer Res* 92: 762-7 (2001))。然而, HLA-A24和HLA-A0201都是在日本人以及高加索人中常见的HLA等位基因之一(Date et al., *Tissue Antigens* 47: 93-101 (1996); Kondo et al., *J Immunol* 155: 4307-12 (1995); Kubo et al., *J Immunol* 152: 3913-24 (1994); Imanishi et al., *Proceeding of the eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference Oxford University Press, Oxford, 1065* (1992); Williams et al., *Tissue Antigen* 49: 129 (1997))。因此, 由这些HLAs呈递的癌抗原肽对于治疗日本人和高加索人中的癌症特别有用。另外, 已知低亲和性CTL的体外诱导通常由使用高浓度的肽引起, 在抗原呈递细胞(APCs)上产生高水平的特异性肽/MHC复合物, 它会有效激活这些CTL(Alexander-Miller et al., *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 4102-7 (1996))。

含有PYRIN的Apaf-1-样蛋白质(PYPAFs)是最近鉴定的蛋白质(37)。已有报导在人类(*Homo sapiens*)中存在14个PYPAFs基因(38)。据认为含有富

含亮氨酸的重复区, PYRIN, NACHT 和 NACHT-相关性结构域的所有 PYPAF 蛋白在凋亡和炎症信号传导途径中起作用。据报道 N 末端的 PYRIN 结构域与蛋白-蛋白相互作用相关(38)。另外, NACHT 结构域与凋亡蛋白酶激活因子-1 (APAF-1)的核苷酸结合基序具有序列同源性, 且预期结合 ATP(37)。然而, 含有 PYRIN 的 Apaf-1-样蛋白质从未与肿瘤发生相联系。

发明内容

本发明以发现与睾丸精原细胞瘤(TS)相关的基因表达谱为基础。在TS中差异表达的基因本文统称为“TS核酸”或“TS多核苷酸”且相应编码的多肽称为“TS多肽”或“TS蛋白质”。

因此, 本发明的特征在于通过测定诸如组织样品的患者生物学样品中TS-相关性基因的表达水平来诊断或确定受试者的TS易感性(predisposition)的方法。TS相关性基因是指其特征在于与正常细胞相比在从睾丸生殖细胞肿瘤细胞获得的细胞中表达水平存在差异的基因。正常细胞是从睾丸组织获得的细胞。TS-相关性基因是TS 1-939中的一种或多种。与该基因的正常对照水平相比基因表达水平的改变, 例如升高或降低, 表明该受试者患有TS或者存在形成TS的风险。

正常对照水平是指在正常健康个体或已知没有患TS的个体的群体中检测的基因表达水平。对照水平是来自单个参照群体或来自多个表达谱的单个表达谱。例如, 对照水平可以是来自以前检测的细胞的表达谱数据。正常个体是无TS临床症状且无TS家族史的个体。

与正常对照水平相比在试验样品中检测到TS 1-346水平升高表明该受试者(从他们获得样品)患有TS或者存在形成TS的风险。相反, 与正常对照水平相比在试验样品中检测到TS 347-939水平降低表明该受试者患有TS或者存在形成TS的风险。

作为选择, 可比较在该样品中一组TS-相关性基因的表达与同一组基因的TS对照水平。TS对照水平是指在患有TS的群体中发现的TS-相关性基因的表达谱。

基因表达比对照水平升高或降低10%, 25%, 50%。或者, 基因表达比对照水平升高或降低0.1, 0.2, 1, 2, 5, 10或更多倍。表达可通过检测例如, 阵列上TS-相关性基因探针与患者组织样品的基因转录子的杂交来测定。

患者组织样品可以是来自试验受试者，例如已知或怀疑患有TS的患者的任何组织。例如，该组织含有睾丸生殖细胞肿瘤细胞。例如，该组织是来自睾丸的细胞。

本发明还提供了TS 1-346中的两个或多个基因表达水平的TS参照表达谱。另外，本发明提供了TS 1-346或TS 347-939中的两个或多个的表达水平的TS参照表达谱。

本发明还提供了通过将表达TS相关性基因的试验细胞与试剂接触并测定TS相关性基因的表达水平来鉴定可抑制或增强诸如TS 1-939的TS-相关性基因的表达或活性的试剂。该试验细胞是睾丸细胞，例如，来自睾丸生殖细胞肿瘤的睾丸细胞。与该基因的正常对照水平相比水平降低表明该试剂是TS-相关性基因的抑制剂且减少TS的症状。另外，与该基因的正常对照水平或活性相比水平或活性升高表明该试剂是TS相关性基因的表达或功能的增强剂且减少TS的症状，例如，TS 347-939。

本发明还提供了具有与两个或多个TS核酸序列结合或者与该核酸序列编码的基因产物结合的检测试剂的试剂盒。还提供了与两个或多个TS核酸结合的核酸阵列。

治疗方法包括通过给受试者施用反义组合物治疗或预防受试者TS的方法。反义组合物降低特异性靶基因的表达，例如，该反义组合物含有与选自TS 1-346的序列互补的核苷酸。另一方法包括给受试者施用短干扰RNA (siRNA)组合物的步骤。siRNA组合物降低选自TS 1-346的核酸的表达。我们证实了 *PYPAF3* 在睾丸精原细胞瘤中普遍上调且通过小干扰RNA (siRNA) 敲除 *PYPAF3* 转录子抑制睾丸生殖细胞肿瘤细胞的细胞生长。

在另一方法中，治疗或预防受试者TS通过给受试者施用核酶组合物来实现。核酸特异性核酶组合物降低选自TS 1-346的核酸的表达。其它治疗方法包括给受试者施用增加TS 347-939的表达或TS 347-939编码的多肽活性的化合物的那些方法。另外，通过施用TS 347-939编码的蛋白质可治疗TS。该蛋白质可直接施用给患者，或者作为选择，可通过例如，施用携带下调目的标记基因的表达载体或宿主细胞导入患者后体内表达。用于体内表达目的基因的合适机理是本领域已知的。

本发明还包括疫苗和接种方法。例如，治疗或预防受试者TS的方法可通过给受试者施用含有选自TS 1-346的核酸编码的多肽或者该多肽的免疫

学活性片段的疫苗来实现。免疫学活性片段是长度比全长天然存在的蛋白质要短且诱导免疫反应的多肽。例如，免疫活性片段至少有8个残基长且刺激诸如T细胞或B细胞的免疫细胞。免疫细胞刺激可通过检测细胞增殖，细胞因子(例如，IL-2)的作用，或抗体的产生来测量。

除非另有定义，本文使用的所有技术和科学术语与本发明所属领域的普通技术人员通常的理解具有相同的含义。尽管与本文所述相似或相当的方法和材料可用于实施或试验本发明，但是下文描述了合适的方法和材料。本文提及的所有出版物，专利申请，专利，和其它参考文献以其整体引用以供参考。如有冲突，以本说明书，包括定义为准。另外，材料，方法，和实施例仅仅是例证性的而不是限制性的。

本文所述方法的一个优势在于在检测到明显的临床症状之前就可鉴定该疾病。本发明的其它特征和优势从下面的详细描述和权利要求书将是显而易见的。

附图说明

图1表示DNA琼脂糖凝胶的照片，显示了使用扩增RNA制备的cDNA通过半定量RT-PCR检查的代表性28个基因和TUBA的表达。前11个泳道显示了不同TS患者中这些基因的表达水平。最后一条泳道显示了正常个体睾丸中各基因的表达水平。基因代号表示这些基因。

图2A显示了在8个睾丸精原细胞瘤临床样品(编号1, 2, 7, 8, 9, 10, 11和13), 正常人睾丸(TES), 心脏(HER), 肺(LUN), 肝脏(LIV), 肾(KID), 脑(BRA)和骨髓(BM)中通过半定量RT-PCR检查的PYPAF3表达。TUBA3的表达用作内部对照。图2B显示了使用PYPAF3 cDNA片段作为探针的多组织印迹的northern分析。

图3显示了myc-标记的PYPAF3蛋白质的亚细胞定位。用pcDNA3.1-myc/His-PYPAF3质粒转染的COS-7细胞的提取物中Myc-标记的PYPAF3蛋白。用小鼠抗-myc单克隆抗体染色转染细胞并通过FITC-偶连的抗小鼠IgG第二抗体观察。细胞核用DAPI复染。

图4显示经设计用于减少睾丸生殖细胞肿瘤系Tera-2中PYPAF3表达的小干扰RNAs (siRNA)的生长-抑制效果。(A) 半定量RT-PCR表明在两周时抑制睾丸生殖细胞肿瘤系Tera-2中PYPAF3的内源性表达的抑制(siRNAs导入睾丸生殖细胞肿瘤系Tera-2细胞后在含有新霉素的选择培养基中培养。β2-

微球蛋白($\beta 2MG$)用作内部对照。(B)集落形成试验证实了在两周时与作为对照的psiU6BX-EGFP (siEGFP), psiU6BX-Luciferase (siLuc)相比,在睾丸生殖细胞肿瘤系Tera-2细胞中敲除PYPAF3 (Si1, Si2, Si3, Si4,和Si5)的集落的数目减少。(C)在1周时使用细胞计数试剂盒-8对psiU6BX-PYPAF3(Si1, Si2, Si3, Si4,和Si5), psiU6BX-EGFP (siEGFP), psiU6BX-Luciferase (siLuc)之一所处理的睾丸生殖细胞肿瘤系Tera-2细胞进行MTT测定。这些实验也进行三次。

详细描述

本发明部分以发现TS患者睾丸细胞中多个核酸序列表达谱的改变为基础。使用全面(comprehensive)cDNA微阵列系统鉴定基因表达的差异。

使用含有23,040个基因的cDNA微阵列,构建了13个患者的全面基因表达谱。某些基因在TS患者中低或高水平表达。在选择具有检测患者血清或唾液中癌症相关性蛋白的潜力的候选分子标记的过程中,发现了在人睾丸癌症中形成信号抑制策略的一些潜在靶。

本文鉴定的差异表达基因作为TS标记和基因靶用于诊断目的,改变其表达以治疗或减轻TS症状。

在TS患者中其表达水平调整(即,增加或降低)的基因在表3,4中概括且本文统称为“TS-相关性基因”,“TS核酸”或“TS多核苷酸”,且相应编码的多肽称为“TS多肽”或“TS蛋白质”。除非另有说明,“TS”是指本文公开的任一序列。(例如,TS 1-939)。该基因以前已有描述且与数据库登录号一起提供。

通过测量细胞样品中各种基因的表达,可诊断TS。同样,通过测量与各种试剂反应这些基因的表达,可鉴定治疗TS的试剂。

本发明涉及测定(例如,测量)至少一个到多达全部的表3,4所列TS序列的表达。使用GeneBankTM数据库登录项提供的已知序列的序列信息,可使用本领域的普通技术人员熟知的技术检测和测量该TS相关性基因。例如,相应于TS序列的序列数据库登录项中的序列可用于构建探针以便在例如,northern印迹杂交分析中检测TS RNA序列。探针包括参照序列的至少10, 20, 50, 100, 200个核苷酸。作为另一例子,该序列可用于构建特异性扩增该TS序列的引物,例如,在基于扩增的检测方法中,例如基于逆转录的聚合酶链式反应。

然后比较试验细胞群体，例如患者组织样品中一或多个该TS序列的表达水平与参照群体中相同序列的表达水平。参照细胞群体包括其比较参数已知的一种或多种细胞，即，TS细胞或非TS细胞。

与参照细胞群体相比试验细胞群体中的基因表达谱是否表明为TS或对其易感依赖于参照细胞群体的组成。例如，如果参照细胞群体由非-TS细胞组成，则试验细胞群体与参照细胞群体中基因表达谱相似表明该试验细胞群体是非-TS。相反，如果参照细胞群体由TS细胞构成，则试验细胞群体与参照细胞群体之间基因表达谱相似表明该试验细胞群体包括TS细胞。

如果其表达水平相对于参照细胞群体的改变超过参照细胞群体中相应TS序列表达水平的1.0, 1.5, 2.0, 5.0, 10.0或更多倍，则在试验细胞群体中TS标记基因的表达水平认为在表达水平上有改变。

试验细胞群体与参照细胞群体之间的差异基因表达相对于对照核酸，例如管家基因正态化。例如，对照核酸是依赖于该细胞的子宫内膜异位(endometriotic)或非子宫内膜异位(non-endometriotic)状态已知无区别的核酸。试验中的对照核酸和参照核酸的表达水平可用于正态化所比较群体中的信号水平。对照基因包括 β -肌动蛋白，甘油醛3-磷酸脱氢酶或核糖体蛋白P1。

将试验细胞群体与多种参照细胞群体进行比较。多种参照细胞群体中每一种的已知参数可能有差异。因此，可将试验细胞群体与已知含有，例如，TS细胞的第二种参照细胞群体，以及已知含有，例如，非-TS细胞(正常细胞)的第二种参照群体进行比较。试验细胞包含在已知含有，或者怀疑含有TS细胞的受试者的组织类型或细胞样品中。

试验细胞从身体组织或体液，例如，生物学液体(例如血液或尿)中获得。例如，试验细胞从组织中纯化。优选的是，试验细胞群体含有上皮细胞。上皮细胞来源于已知或怀疑是TS的组织。

参照细胞群体中的细胞来自于与试验细胞相似的组织类型。任选的是，参照细胞群体是细胞系，例如TS细胞系(阳性对照)或正常非-TS细胞系(阴性对照)。作为选择，对照细胞群体可来源于其测定参数或条件已知的细胞的分子信息数据库。

受试者优选是哺乳动物。该哺乳动物可以是，例如，人，非人灵长类，小鼠，大鼠，狗，猫，马，或奶牛。

使用本领域已知的方法在蛋白质或核酸水平上测定本文公开的基因的表达。例如，使用特异性识别一或多个该序列的探针进行的Northern杂交分析可用于测定基因表达。作为选择，使用基于逆转录的PCR测定法，例如使用对差异表达序列特异性的引物可测量表达。也可以在蛋白质水平上测定表达，即，通过测量本文所述的基因产物编码的多肽的水平，或其生物学活性。该方法是本领域熟知的且包括，例如，以抗该基因编码的蛋白质的抗体为基础的免疫测定法。该基因编码的蛋白质的生物学活性也是熟知的。

诊断 TS

通过测量试验细胞群体，(即，患者生物学样品)中一种或多种TS核酸序列的表达水平可诊断TS。优选的是，该试验细胞群体含有上皮细胞，例如，从睾丸组织获得的细胞。基因表达也可从血液或诸如尿的其它体液中测量。其它生物学样品可用于测量蛋白质水平。例如，来自待诊断的受试者的血液，或血清中的蛋白质水平可通过免疫测定法或生物学测定法测量。

测定试验细胞或生物学样品中一种或多种TS-相关性基因，例如TS 1-939的表达并与正常对照水平的表达进行比较。正常对照水平是在已知没有患TS的群体中发现的典型TS-相关性基因的表达谱。患者组织样品中TS相关性基因的表达水平升高或降低表明该受试者患有TS或者存在形成TS的风险。例如，与正常对照水平相比在试验群体中TS 1-346的表达增加表明该受试者患有TS或者存在形成TS的风险。相反，与正常对照水平相比在试验群体中TS 347-939的表达降低表明该受试者患有TS或者存在形成TS的风险。

与正常对照水平相比，在试验群体中一或多个TS-相关性基因改变表明该受试者患有TS或者存在形成TS的风险。例如，一组TS-相关性基因(TS 1-346, TS 347-939, 或TS 1-939)改变至少1%, 5%, 25%, 50%, 60%, 80%, 90%或更多。

鉴定抑制或增强TS-相关性基因表达的试剂

通过将表达TS相关性上调基因的试验细胞群体与试剂接触并测定该TS相关性基因的表达水平可鉴定抑制TS-相关性基因的表达或活性的试剂。与正常对照水平相比(或与没有该试剂时的水平相比)在该试剂存在时的表达下降表明该试剂是TS相关性上调基因的抑制剂且可用于抑制TS。

作为选择，通过将表达TS相关性基因的试验细胞群体与试剂接触并测定该TS相关性下调基因的表达水平或活性可鉴定增强TS下调相关性基因的表达或活性的试剂。与TS相关性基因的正常对照表达水平或活性相比表达或活性增加表明该试剂增加下调的TS相关性基因的表达或活性。

试验细胞群体可以是任何表达TS-相关性基因的细胞。例如，该试验细胞群体含有上皮细胞，例如，该细胞是或者来源于睾丸。例如，该试验细胞是来源于睾丸生殖细胞肿瘤的永生化细胞系。作为选择，该试验细胞是用TS-相关性基因转染的细胞或者是用与报道基因可操作地连接的TS相关性基因的调控序列(例如，启动子序列)转染的细胞。

评估受试者中TS的治疗效果

本文鉴定的差异表达的TS序列还允许用于监测TS的治疗过程。在该方法中，试验细胞群体由进行TS治疗的受试者提供。如果需要，可在治疗前，治疗期间或治疗后的各个时间点从受试者获得试验细胞群体。然后测定细胞群体中一或多个TS序列的表达并与包括其TS状况已知的细胞的参照细胞群体进行比较。该参照细胞未接受治疗。

如果参照细胞群体不含TS细胞，在试验细胞群体和参照细胞群体中TS序列之间表达的相似性表明该治疗是有效的。然而，在试验群体和正常对照参照细胞群体中TS序列之间表达的差异表明临床效果或预后不佳。

“有效”是指治疗导致病理性上调基因的表达减少，病理性下调基因的表达增加或受试者睾丸肿瘤的大小，流行，或转移潜力减小。当治疗用于预防性时，“有效”是指治疗延缓或防止TS形成或延缓，防止，或减轻临床TS的症状。使用标准临床方法进行睾丸肿瘤的评估。

有效性可与用于诊断或治疗TS的任何已知方法联合来测定。例如，通过鉴定症状异常，例如睾丸的无痛肿大，可诊断TS。

选择适合于特定个体的治疗TS的治疗剂

个体遗传组成的差异可导致在其代谢各种药物的相对能力上存在差异。在受试者中代谢充当抗-TS剂的试剂可通过诱导受试者细胞从TS状态特征性的基因表达谱改变成非-TS状态特征性的基因表达谱来自我证实。因此，本文公开的差异表达的TS序列允许在来源于选定受试者的试验细胞群体中检测TS的推定治疗性或预防性抑制剂以便确定该试剂是否是受试者中合适的TS抑制剂。

为了鉴定适合于特定受试者的TS抑制剂或增强剂，可将受试者的试验细胞群体与治疗剂接触，并测定一或多个TS 1-939序列的表达。

试验细胞群体含有表达TS相关性基因的TS细胞。优选的是，该试验细胞是上皮细胞。例如，在候选试剂存在下培养试验细胞群体，测量该试验样品的基因表达谱并与一或多个参照谱，例如，TS参照表达谱或非-TS参照表达谱进行比较。

相对于含有TS的参照细胞群体在试验细胞群体中一或多个序列TS 1-346表达的减少或者一或多个序列TS 347-939表达的增加表明该试剂是治疗剂。

该试剂可以是任何化合物或组合物。例如，该试剂是免疫调节剂。

鉴定治疗剂的筛选试验

本文公开的差异表达序列也可用于鉴定治疗TS的候选治疗剂。该方法基于筛选候选治疗剂以确定其是否能将TS症状特征性的TS 1-939序列的表达谱转变成非-TS症状的指标谱。

在该方法中，将细胞与试剂或联合试剂(依次或随后)接触并测量细胞中一或多个TS 1-939序列的表达。将试验群体中TS序列的表达谱与未接触该试剂的参照细胞群体中TS序列的表达水平进行比较。

有效刺激表达不足的基因表达，或者抑制过度表达的基因表达的试剂相信会产生临床效益，可进一步试验该化合物防止动物或试验受试者中子宫内膜囊肿生长，例如子宫内膜腺体和/或基质生长的能力。

在另一实施方案中，本发明提供了筛选候选试剂的方法，该试剂是TS治疗中的潜在目标。正如上文的详细描述，通过控制标记基因的表达水平或活性，可控制TS的发作和进行。因此，通过使用标记基因的表达水平和活性作为指标的筛选可鉴定作为TS治疗的潜在目标的候选试剂。在本发明内容中，该筛选可包括，例如，下列步骤：

- a) 将试验化合物与TS 1-939编码的多肽接触；
- b) 检测该多肽与试验化合物之间的结合活性；和
- c) 选择与该多肽结合的化合物。

作为选择，本发明的筛选方法可包含下列步骤：

- a) 将候选化合物与表达一种或多种标记基因的细胞接触，其中一或多个标记基因选自TS 1-939；和

b) 选择降低选自TS 1-346的一或多个标记基因的表达水平，或者升高选自TS 347-939的一或多个标记基因的表达水平的化合物。

表达标记基因的细胞包括，例如，从TS建立的细胞系；该细胞可用于本发明的上述筛选。

作为选择，本发明的筛选方法可包括下列步骤：

a) 将试验化合物与选自TS 1-939编码的多肽接触；

b) 检测步骤(a)的多肽的生物学活性；和

c) 选择与不存在该试验化合物时检测的生物学活性相比抑制TS 1-346编码的多肽的生物学活性，或者与不存在该试验化合物时检测的生物学活性相比增强TS 347-939编码的多肽的生物学活性的化合物。

筛选所需的蛋白质可使用该标记基因的核苷酸序列作为重组蛋白获得。根据该标记基因的信息，本领域的技术人员可选择该蛋白质的任一生物学活性作为基于选定生物学活性的筛选和测量方法的指标。

作为选择，本发明的筛选方法可包括下列步骤：

a) 将候选化合物与细胞接触，该细胞导入了含有一或多个标记基因的转录调控区和在该转录调控区控制下表达的报告基因的载体，其中一或多个标记基因选自TS 1-939

b) 测量所述报告基因的活性；和

c) 选择与对照相比，当所述标记基因是选自TS 1-346的上调标记基因时降低所述报告基因的表达水平或者当所述标记基因是选自TS 347-939的下调标记基因时增强所述报告基因的表达水平的化合物。

合适的报告基因和宿主细胞是本领域熟知的。筛选所需的报告基因构建体可通过使用标记基因的转录调控区来制备。当标记基因的转录调控区是本领域的技术人员已知的时，报告基因构建体可使用现有的序列信息来制备。当标记基因的转录调控区尚未鉴定时，可根据该标记基因的核苷酸序列信息从基因组文库分离含有该转录调控区的核苷酸片段。

通过筛选分离的化合物是抑制标记基因编码的蛋白质的活性且可用于治疗或预防TS的药物的候选物。

另外，通过本发明的筛选方法可获得的化合物也包括这样的化合物，即通过添加，缺失和/或取代改变了可抑制标记基因编码的蛋白质的活性的该化合物的部分结构。

当作为人类和其它哺乳动物，例如小鼠，大鼠，豚鼠，兔，猫，狗，绵羊，猪，牛，猴，狒狒，和黑猩猩的药物施用以本发明的方法分离的化合物时，该分离的化合物可直接给药或者可使用已知的药品制备方法配制成剂型。例如，根据需要，该药品可作为糖衣片剂，胶囊，酞剂和微胶囊口服，或者以含有水或任何其它可药用液体的无菌溶液或悬液的注射剂形式非口服。例如，该化合物可与可药用载体或介质，特别是无菌水，生理盐水，植物油，乳化剂，悬浮剂，表面活性剂，稳定剂，调味剂，赋形剂，载体，防腐剂，结合剂等以普遍接受的药品添加所需的单位剂量形式混合。在这些制品中活性成份的量使得可获得所需范围内的合适剂量。

可混合成片剂和胶囊的添加剂的例子是诸如明胶，玉米淀粉，黄芪胶和阿拉伯树胶的结合剂；诸如晶状纤维素的赋形剂；诸如玉米淀粉，明胶和海藻酸的膨胀剂；诸如硬脂酸镁的润滑剂；诸如蔗糖，乳糖或糖精的甜味剂；和诸如薄荷，*Gaultheria adeno-thrix*油和樱桃的调味剂。当单位剂量形式是胶囊时，在上述成份中也可进一步包含诸如油类的液体载体。注射用无菌混合物可在正常的药品添加后使用诸如注射用蒸馏水的载体配制。

生理盐水，葡萄糖，和包括诸如D-山梨醇，D-甘露糖，D-甘露醇，和氯化钠的佐剂的其它等渗液可用作注射用水溶液。它们可与诸如醇的合适增溶剂，特别是乙醇，诸如丙二醇和聚乙二醇的多元醇，诸如吐温80 (TM) 和HCO-50的非离子表面活性剂结合使用。

芝麻油或大豆油可用作油质液体且可与作为增溶剂的苯甲酸苄酯 (benzyl benzoate) 或苯甲醇结合使用且可用诸如磷酸盐缓冲液和醋酸钠缓冲液的缓冲液；诸如盐酸普鲁卡因的止痛剂；诸如苯甲醇和苯酚的稳定剂；和抗氧化剂配制。制备的注射剂可装入合适的安瓿中。

可使用本领域的技术人员熟知的方法给患者施用本发明的药物组合，例如作为动脉内，静脉内，或皮下注射剂且也可作为鼻内，经支气管，肌肉内或口服给药。给药的剂量和方法根据患者的体重和年龄和给药方法而变化；然而，本领域的技术人员可按常规选择合适的给药方法。如果所述的化合物可由DNA编码，则可将该DNA插入用于基因治疗的载体中并将该载体施用给患者进行治疗。给药的剂量和方法可根据体重，年龄，和患者的症状而变化，但本领域的技术人员可合适地选择它们。

例如, 尽管与本发明的蛋白质结合并调节其活性的化合物的剂量取决于该症状, 但是当给正常成年人(体重60 kg)口服给药时, 该剂量是每天大约0.1 mg到大约100 mg, 优选每天大约1.0 mg到大约50 mg且更优选每天大约1.0 mg到大约20 mg。

当给正常成年人(体重60 kg)不经肠道, 以注射形式给药时, 尽管根据患者, 靶器官, 症状和给药方法有一些区别, 但是合适的是以每天大约0.01 mg到大约30 mg的剂量, 优选每天大约0.1到大约20 mg且更优选每天大约0.1到大约10 mg的剂量静脉内注射。另外, 对于其它动物, 可相对于60 kgs体重换算出一个给药量。

评估患有TS的受试者的预后

通过比较试验细胞群体中一或多个TS序列的表达与超过发病期表达谱的来自患者的参照细胞群体中该序列的表达还提供了评估患有TS的受试者的预后的方法。通过比较试验细胞群体和参照细胞群体中一或多个TS序列的基因表达, 或者通过比较来自受试者的试验细胞群体在一段时间中的基因表达谱, 可评估该受试者的预后。

与正常对照相比一或多个序列TS 347-939表达的降低或与正常对照相比一或多个序列TS 1-346表达的增加表明预后不佳。一或多个序列TS 347-939表达的增加表明预后良好, 序列TS 1-346表达降低也表明受试者预后良好。

试剂盒

本发明还包括TS-检测试剂, 例如, 特异性结合或鉴定一或多个TS核酸的核酸, 例如与TS核酸的一部分互补的寡核苷酸序列或者与TS核酸编码的蛋白质结合的抗体。该试剂可以试剂盒的形式包装在一起。该试剂可包装在分开的容器中, 例如, 核酸或抗体(与固体基质结合或者与将它们结合到基质上的试剂分开包装), 对照试剂(阳性和/或阴性), 和/或检测标记。该试剂盒中可包括进行该试验的说明书(例如, 书面, 磁带, VCR, CD-ROM, 等)。该试剂盒的测定形式是本领域已知的Northern杂交或夹心ELISA。

例如, 可将TS检测试剂固定在诸如多孔条的固体基质上以形成至少一个TS检测位点。该多孔条的测量或检测区可包括多个含有核酸的位点。试验条也可含有阴性和/或阳性对照的位点。另外, 对照位点可位于与试验条分开的条上。任选的是, 不同检测位点可含有不同量的固定核酸, 即第一

个检测位点的量更高且随后位点的量更低。加入试验样品时，显示有可检测信号的位点数目提供了样品中存在的TS量的定量指标。该检测位点可构成任何合适的可检测形状且一般是横跨试验条宽度的条或点状。

作为选择，该试剂盒可含有核酸底物阵列，该阵列含有一或多个核酸序列。阵列上的核酸可特异性鉴定TS 1-939所示的一或多个核酸序列。根据与阵列试验条或芯片结合的水平可鉴定TS 1-939所示的2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 40或50或更多个序列的表达。底物阵列可以在例如，固体基质，例如美国专利号5,744,305所述的“芯片”上。

阵列和多个的情况

本发明还包括核酸底物阵列，该阵列含有一或多个核酸序列。阵列上的核酸特异性相应于TS 1-939所示的一或多个核酸序列。通过检测与该阵列结合的核酸来鉴定TS 1-939所示的2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 40或50或更多个序列的表达水平。

本发明还包括分离的多个核酸序列(即，两个或多个核酸的混合物)。该核酸序列存在于液相或固相中，例如，固定在诸如硝酸纤维素膜的固相支持物上。多个的情况包括TS 1-939所示的一或多个核酸序列。在各种实施方案中，多个的情况包括TS 1-939所示的2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 15, 20, 25, 40或50或更多个序列。

抑制TS的方法

本发明提供了通过降低TS 1-346的表达或活性或者增加TS 347-939的表达或活性来治疗或减轻受试者TS症状的方法。给患有TS或者具有形成TS风险(或对TS易感)的受试者预防性或治疗性施用治疗化合物。使用标准临床方法或通过检测(例如，TS 1-939)的异常表达或活性水平可鉴定该受试者。治疗剂包括细胞周期调控，细胞增殖，和蛋白激酶活性的抑制剂。

治疗方法包括增加相对于产生TS的相同组织类型中的正常细胞在TS细胞中其表达减少的基因(“表达不足的基因”)中一或多个基因产物的表达或功能或者两者。在这些方法中，可用有效量的化合物治疗该受试者，该化合物可增加受试者中一或多个表达不足的基因的量。给药可以是系统的或者局部的。治疗性化合物包括表达不足的基因的多肽产物，或其生物学活性片段，编码该表达不足的基因且具有允许在TS细胞中表达的表达调控元件的核酸；例如可增加TS细胞中内源性的该基因的表达水平(即，上调该表

达不足的基因的表达)的试剂。施用该化合物可抵抗受试者睾丸细胞中该基因异常性表达不足的影响并改善受试者的临床症状。

该方法还包括减少睾丸细胞中其表达异常性增加的基因(“过度表达基因”)中的一或多个基因产物的表达,或功能或两者。以本领域已知的任一方式可抑制表达。例如,通过给受试者施用抑制,或拮抗该过度表达基因的表达的核酸,例如破坏该过度表达基因的表达的反义寡核苷酸或小干扰RNA可抑制表达。

如上所述,可使用相应于TS 1-346的核苷酸序列的反义核酸降低TS 1-346的表达水平。相应于在TS中上调的TS 1-346的反义核酸可用于治疗TS。具体地说,本发明的反义核酸可通过结合TS 1-346或与其相应的mRNAs,从而抑制该基因的转录或翻译,促进mRNAs的降解,和/或抑制TS 1-346编码的蛋白质的表达,最终抑制该蛋白质的功能来起作用。本文使用的术语“反义核酸”包含与靶序列完全互补的多核苷酸和具有一或多个核苷酸错配,只要该反义核酸可与靶序列特异性杂交的那些多核苷酸。例如,本发明的反义核酸包括在至少15个连续核苷酸的范围内具有至少70%或更高,优选80%或更高,更优选90%或更高,甚至更优选95%或更高的同源性的多核苷酸。可使用本领域已知的算法测定同源性。

本发明的反义核酸衍生物在可产生由标记基因编码的蛋白质的细胞中通过结合编码该蛋白质的DNAs或mRNAs,抑制其转录或翻译,促进mRNAs的降解,和抑制该蛋白质的表达,从而导致抑制该蛋白质的功能来起作用。

本发明的反义核酸衍生物可通过与对该衍生物无活性的合适基质材料混合制成外用制品,例如擦剂或敷剂。

同样,如果需要,该衍生物可通过添加赋形剂,等渗剂,增溶剂,稳定剂,防腐剂,止痛剂等配制成片剂,粉剂,粒剂,胶囊,脂质体胶囊,注射剂,溶液,滴鼻剂和冻干剂。可按已知的方法制备它们。

通过直接施用到患病位点或者通过注射进血管使其到达患病位点可给予患者该反义核酸衍生物。也可使用封固有反义物的介质以增加持久性和膜渗透性。例子有脂质体,多聚-L-赖氨酸,脂类,胆固醇,脂转染剂或它们的衍生物。

本发明的反义核酸衍生物的剂量可根据患者的状况适当调节且按需要量使用。例如,给药的剂量范围为0.1至100 mg/kg,优选0.1至50 mg/kg。

本发明的反义核酸可抑制本发明的蛋白质的表达且因此可用于抑制本发明的蛋白质的生物学活性。另外，可使用含有本发明的反义核酸的表达抑制剂，因为它们可抑制本发明的蛋白质的生物学活性。

本发明的反义核酸包括修饰的寡核苷酸。例如，可使用硫化(thioated)核苷酸给寡核苷酸提供核酸酶抗性。

另外，可使用抗标记基因的siRNA减少该标记基因的表达水平。术语“siRNA”是指防止靶mRNA翻译的双链RNA分子。可使用标准技术将siRNA导入细胞，包括其中DNA是从其转录RNA的模板的那些方法。在本发明的内容中，siRNA包含针对上调标记基因，例如TS 1-346的有义核酸序列和反义核酸序列。构建siRNA以便单个转录子同时具有靶基因的有义和互补反义序列，例如发夹结构。

该方法可用于改变例如，由于细胞恶性转化而上调的细胞中的表达。siRNA与相应于靶细胞中TS 1-346之一的转录子结合导致细胞中该蛋白质的产量减少。该寡核苷酸的长度是至少10个核苷酸且可与天然存在的该转录子一样长。优选的是，该寡核苷酸是19-25个核苷酸长。最优选的是，该寡核苷酸不超过75, 50, 25个核苷酸长。例如，含有作为靶序列的SEQ ID NO: 85或86的核苷酸序列的PYPAF3的siRNAs可抑制TS的细胞增殖。

siRNAs的核苷酸序列可使用可从Ambion网址(http://www.ambion.com/techlib/misc/siRNA_finder.html)获得的siRNA设计计算机程序来设计。该计算机程序根据下列方法选择用于siRNA合成的核苷酸序列。

siRNA靶位点的选择:

1. 从目标转录子的AUG起始密码子开始，向下游扫描AA双核苷酸序列。记录各AA的出现并将3'相邻的19个核苷酸作为潜在的siRNA靶位点。Tuschl等建议针对5'和3'非翻译区(UTRs)和靠近起始密码子(75个碱基之内)的区域设计siRNA，因为这些区域的调控性蛋白结合位点更丰富。UTR-结合蛋白和/或翻译起始复合物可能干涉siRNA核酸内切酶复合物的结合。

2. 比较潜在的靶位点与人基因组数据库并排除与其它编码序列具有明显同源性的任何靶序列的因素。同源性检索可使用BLAST进行，BLAST可在NCBI服务器上以：www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/找到。

3. 选择限定的靶序列用于合成。在Ambion上,可沿该基因长度选择一些优选的靶序列用于评估。

本发明的反义寡核苷酸或siRNA抑制本发明的多肽的表达,因此可用于抑制本发明的多肽的生物学活性。另外,表达抑制剂,包括本发明的反义寡核苷酸或siRNA也是有用的,因为它们可抑制本发明的多肽的生物学活性。因此,含有本发明的反义寡核苷酸或siRNA的组合物可用于治疗TS。

作为选择,通过施用与该基因产物结合或者抑制该基因产物的功能的化合物可抑制过度表达基因中一或多个基因产物的功能。例如,该化合物是结合该过度表达基因产物的抗体。

本发明涉及使用抗体,特别是抗上调标记基因编码的蛋白质的抗体,或该抗体的片段。本文所用的术语“抗体”是指具有仅与用于合成该抗体的抗原(即,上调标记基因产物)或与其近亲的抗原相互作用(即,结合)的特异性结构的免疫球蛋白分子。另外,抗体可以是抗体的片段或修饰抗体,前提是它能结合一或多个标记基因编码的蛋白质。例如,该抗体片段可以是Fab, F(ab')₂, Fv,或单链Fv(scFv),其中来自H和L链的Fv片段通过合适的接头连接(Huston J. S. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 85:5879-5883 (1988))。更具体地说,通过用诸如木瓜蛋白酶或胃蛋白酶的酶处理抗体可产生抗体片段。作为选择,可构建编码该抗体片段的基因,插入表达载体中,并在合适的宿主细胞中表达(参见,例如,Co M. S. et al. J. Immunol. 152:2968-2976 (1994); Better M. and Horwitz A. H. Methods Enzymol. 178:476-496 (1989); Pluckthun A. and Skerra A. Methods Enzymol. 178:497-515 (1989); Lamoyi E. Methods Enzymol. 121:652-663 (1986); Rousseaux J. et al. Methods Enzymol. 121:663-669 (1986); Bird R. E. and Walker B. W. Trends Biotechnol. 9:132-137 (1991))。

通过与诸如聚乙二醇(PEG)的各种分子连接可修饰抗体。本发明提供了该修饰的抗体。该修饰的抗体可通过化学修饰抗体获得。这些修饰方法是本领域常规的。

作为选择,抗体可作为来自非人抗体的可变区和来自人抗体的恒定区之间的嵌合抗体,或者作为含有来自非人抗体的互补决定区(CDR),来自人抗体的构架区(FR),和恒定区的人源化抗体获得。可使用已知技术制备这些抗体。

通过抗癌药的临床开发和控制批准已经验证了针对在癌症细胞中出现的特定分子改变的癌症疗法，例如用于治疗晚期乳腺癌的trastuzumab (Herceptin)，用于慢性骨髓性白血病的imatinib methyrate (Gleevec)，用于非小细胞肺癌(NSCLC)的gefitinib (Iressa)，和用于B-细胞淋巴瘤和套细胞淋巴瘤的rituximab (anti-CD20 mAb)(Ciardiello F, Tortora G. 一种治疗癌症的新方法：靶向表皮生长因子受体。Clin Cancer Res. 2001 Oct;7(10):2958-70. Review.; Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, Fleming T, Eiermann W, Wolter J, Pegram M, Baselga J, Norton L.使用化疗加抗HER2的单克隆抗体用于过度表达HER2的转移乳腺癌。N Engl J Med. 2001 Mar 15;344(11):783-92.; Rehwald U, Schulz H, Reiser M, Sieber M, Staak JO, Morschhauser F, Driessen C, Rudiger T, Muller-Hermelink K, Diehl V, Engert A. 用单克隆抗体治疗复发性CD20+ Hodgkin淋巴瘤有效且耐受性好：德国Hodgkin淋巴瘤研究小组的2期试验。Blood. 2003 Jan 15;101(2):420-424.; Fang G, Kim CN, Perkins CL, Ramadevi N, Winton E, Wittmann S and Bhalla KN. (2000). Blood, 96, 2246-2253.)。这些药物在临床上有效且比传统抗癌剂具有更好的耐受性，因为它们仅靶向转化细胞。因此，这些药物不仅提高了癌症患者的存活率和生活质量，而且证实了分子靶向性癌症疗法的观念。此外，当联合使用时靶向药物可增强标准化疗的效力(Gianni L. (2002). Oncology, 63 Suppl 1, 47-56.; Klejman A, Rushen L, Morrione A, Slupianek A and Skorski T. (2002). Oncogene, 21, 5868-5876.)。因此，将来的癌症治疗很可能包含联合常规药物与针对诸如血管发生和侵入性的肿瘤细胞区别特征的靶特异性试剂。

这些调节方法可离体或体外(例如，通过用该试剂培养细胞)或者，作为选择，在体内(例如，通过给受试者施用该试剂)进行。该方法包含施用蛋白质或蛋白质的组合或核酸分子或核酸分子的组合作为抵消差异表达基因的异常表达或活性的疗法。

其特征在于该基因的水平或生物学活性增加(相对于没有患该疾病或紊乱的受试者)的疾病和紊乱可用拮抗(即，减小或抑制)该过度表达基因的活性的治疗剂进行治疗。拮抗活性的治疗剂可治疗性或预防性给药。

可利用的治疗剂包括，例如，(i)表达不足的序列的多肽，或类似物，衍生物，片段或其同源物；(ii)抗过度表达序列的抗体；(iii)编码表达不足序列

的核酸；(iv)反义核酸或“机能障碍性”核酸(即，由于在一或多个过度表达序列的编码序列内有异源性插入)；(v)小干扰RNA (siRNA)；或(vi)调节物(即，改变过度表达/表达不足的多肽与其结合配偶体之间的相互作用的抑制剂，促效剂和拮抗剂。该机能障碍性反义分子用于通过同源重组“敲除”多肽的内源性功能(参见，例如，Capecchi, *Science* 244: 1288-1292 1989)。

其特征在于降低了(相对于没有患该疾病或紊乱的受试者)水平或生物学活性的疾病和紊乱可用增加活性的治疗剂(即，促效剂)进行治疗。上调活性的治疗剂可以治疗性或预防性方式给药。可利用的治疗剂包括，但不限于，多肽(或其类似物，衍生物，片段或同源物)或增加生物利用率的促效剂。

通过获取患者组织样品(例如，从活检组织)并体外测定其中的RNA或肽水平，表达肽(或其表达改变的基因的mRNAs)的结构和/或活性来定量肽和/或RNA可容易地检测增加或降低的水平。本领域熟知的方法包括，但不限于，免疫测定法(例如，通过Western印迹分析，免疫沉淀之后的十二烷基磺酸钠(SDS)聚丙烯酰胺凝胶电泳，免疫细胞化学，等)和/或检测mRNAs表达的杂交试验(例如，Northern试验，斑点印迹，原位杂交，等)。

预防性给药在表现出疾病的明显临床症状之前进行，以便在其进程上防止或者延迟疾病或紊乱。

治疗性方法包括将细胞与可调节差异表达基因的基因产物的一种或多种活性的试剂接触。调节蛋白质活性的试剂包括核酸或蛋白质，这些蛋白质的天然存在的同类配体，肽，肽模拟物，或其它小分子。例如，该试剂刺激一或多个差异表达不足基因的一种或多种蛋白质活性。

本发明还涉及治疗或预防受试者TS的方法，包括给所述的受试者施用含有选自TS 1-346的核酸编码的多肽或所述多肽的免疫活性片段，或者编码该多肽或其片段的多核苷酸的疫苗。施用该多肽可诱导受试者的抗肿瘤免疫性。为了诱导抗肿瘤免疫性，可施用选自TS 1-346的核酸编码的多肽或所述多肽的免疫活性片段，或编码该多肽的多核苷酸。该多肽或其免疫活性片段可用作抗TS的疫苗。在某些情况下，该蛋白质或其片段可与T细胞受体(TCR)结合或者由诸如巨噬细胞，树突细胞(DC)，或B-细胞的抗原呈递细胞(APC)呈递的形式给药。由于DC的优良抗原呈递能力，在APCs中使用DC是最优选的。

在本发明中，抗TS的疫苗是指当给动物接种时具有诱导抗肿瘤免疫性功能的物质。根据本发明，TS 1-346编码的多肽或其片段建议是可诱导针对表达TS 1-346的TS细胞的有效和特异性免疫反应的HLA-A24或HLA-A*0201限制性表位肽。因此，本发明还包含使用该多肽诱导抗肿瘤免疫性的方法。一般来说，抗肿瘤免疫性包括如下的免疫反应：

- 诱导抗肿瘤的细胞毒性淋巴细胞，
- 诱导识别肿瘤的抗体，和
- 诱导抗肿瘤细胞因子的产生。

因此，当某一蛋白质接种进动物后诱导这些免疫反应中任一项时，该蛋白质确定为具有抗肿瘤免疫性诱导效力。蛋白质诱导的抗肿瘤免疫性可通过体内或体外观察宿主免疫系统对该蛋白质的应答来检测。

例如，检测细胞毒性T淋巴细胞的诱导的方法是熟知的。进入活体的外源物质通过抗原呈递细胞(APCs)的作用呈递给T细胞和B细胞。由于该抗原的刺激T细胞与APC呈递的抗原反应以抗原特异性方式分化成细胞毒性T细胞(或细胞毒性T淋巴细胞；CTLs)，然后增殖(这称为T细胞的活化)。因此，通过APC将该肽呈递给T细胞，并检测CTL的诱导可评估某一蛋白质的CTL诱导。另外，APC具有激活CD4+ T细胞，CD8+ T细胞，巨噬细胞，嗜曙红细胞，和NK细胞的效力。由于CD4+ T细胞和CD8+ T细胞在抗肿瘤免疫性中也是重要的，因此使用这些细胞的激活效力作为指标可评估该肽的抗肿瘤免疫性诱导作用。

使用树突细胞(DCs)作为APC评估CTL的诱导作用的方法是本领域熟知的。DC是APCs中具有最强CTL诱导作用的代表性APC。在该方法中，待测多肽最初与DC接触，然后该DC与T细胞接触。检测与DC接触后对目的细胞具有细胞毒性效力的T细胞表明该待测多肽具有诱导细胞毒性T细胞的活性。可检测CTL的抗肿瘤活性，例如，使用⁵¹Cr-标记的肿瘤细胞的裂解作为指示剂。作为选择，使用³H-胸苷吸收活性或LDH(乳糖脱氢酶)-释放作为指示剂评估肿瘤细胞损伤程度的方法也是熟知的。

除了DC外，外周血单核细胞(PBMCs)也可用作APC。据报道通过在GM-CSF和IL-4存在下培养PBMC可增强CTL的诱导。同样，已表明通过在匙孔帽贝血蓝蛋白(KLH)和IL-7存在下培养PBMC可诱导CTL。

通过这些方法证实具有CTL诱导活性的待测多肽是具有DC活化效力和随后的CTL诱导活性的多肽。因此，诱导抗肿瘤细胞的CTL的多肽可用作抗肿瘤的疫苗。另外，通过与该多肽接触获得诱导抗肿瘤的CTL的能力的APC可用作抗肿瘤疫苗。另外，由于APC呈递该多肽抗原而获得细胞毒性的CTL也可用作抗肿瘤疫苗。这种使用APC和CTL产生的抗肿瘤免疫性治疗肿瘤的方法称为细胞免疫疗法。

一般来说，当使用多肽用于细胞免疫治疗时，已知通过联合具有不同结构的多种多肽并将它们与DC接触可增加CTL-诱导的效力。因此，当用蛋白质片段刺激DC时，使用多种类型的片段混合物是有利的。

作为选择，通过观察诱导抗肿瘤的抗体产生可证实该多肽诱导的抗肿瘤免疫性。例如，当在用该多肽免疫的实验动物中可诱导抗多肽的抗体，且当这些抗体可抑制肿瘤细胞的生长时，该多肽可测定为具有诱导抗肿瘤免疫性的能力。

通过施用本发明的疫苗可诱导抗肿瘤免疫性，且抗肿瘤免疫性的诱导可治疗和预防TS。抗癌疗法或癌症发作的预防包括诸如抑制癌细胞生长，癌症退化，和抑制癌症发生的任一步骤。癌症的治疗或预防也包括患有癌症的个体死亡率的减少，血液中肿瘤标记的减少，伴随癌症的可检测症状的减轻等。该治疗性和预防性效果优选是统计学上显著的。例如，在观察中，疫苗抗细胞增殖疾病的治疗性或预防性效果与没用疫苗给药的对照相比时，显著性水平为5%或更低。例如，可使用Student's t-检验，Mann-Whitney U-检验，或ANOVA进行统计学分析。

上述具有免疫学活性的蛋白质或编码该蛋白质的载体可与佐剂结合。佐剂是指当与具有免疫活性的蛋白质一起(或连续)给药时可增强对该蛋白质的免疫反应的化合物。佐剂的例子包括霍乱毒素，沙门氏菌毒素，明矾等等，但不限于此。此外，本发明的疫苗可与可药用载体适当结合。该载体的例子有无菌水，生理盐水，磷酸盐缓冲液，培养液，等等。另外，该疫苗可按需要含有稳定剂，悬浮剂，防腐剂，表面活性剂，等等。该疫苗可系统或局部给药。可通过单次给药，或通过多次给药加强来进行疫苗给药。

当使用APC或CTL作为本发明的疫苗时，例如，可通过离体方法治疗或预防肿瘤。更具体地说，收集接受治疗或预防的受试者的PBMCs，将该细

胞与该多肽离体接触，并在诱导APC或CTL之后，给受试者施用该细胞。通过将编码该多肽的载体离体导入PBMCs中也可诱导APC。体外诱导的APC或CTL可在给药前进行克隆。通过克隆和生长具有高活性的损伤靶细胞的细胞，可更有效地进行细胞免疫疗法。另外，以该方式分离的APC和CTL可用于不仅针对产生该细胞的个体，而且针对来自其它个体的相似类型肿瘤的细胞免疫疗法。

另外，提供了含有药用有效量的本发明多肽的药用组合物用于治疗或预防诸如癌症的细胞增殖性疾病。该药用组合物可用于产生抗肿瘤免疫性。

抑制TS的药用组合物

药用配制品包括适合于口服，直肠，鼻，局部(包括口腔和舌下)，阴道或肠胃外(包括肌肉内，皮下和静脉内)给药，或者通过吸入或吹入给药的那些配制品。优选的是，通过静脉内给药。该配制品任选以分开的剂量单位包装。

适合于口服给药的药用配制品包括分别含有预定量活性成份的胶囊，扁囊剂或片剂。配制品还包括粉剂，粒剂或溶液，悬液或乳剂。该活性成份任选作为丸状干药糖剂(bolus electuary)或糊剂给药。用于口服给药的片剂和胶囊可含有常规赋形剂，例如结合剂，填充剂，润滑剂，分解剂或润湿剂。片剂可通过压紧或模压制备，任选含有一种或多种配方成份。压紧的片剂可通过在合适的机器中压缩诸如粉末或颗粒的自由流动形式的活性成份来制备，任选与结合剂，润滑剂，惰性稀释剂，润滑剂，表面活性剂或分散剂混合。模压片剂可通过在合适的机器中模压用惰性液体稀释剂润湿的粉状化合物的混合物来制备。片剂可按照本领域熟知的方法包衣。口服液体制品可以是例如，含水或含油悬液，溶液，乳剂，糖浆或酞剂，或者可作为干燥产品提供，在使用前与水或其它合适的载体进行配制。该液体制品可含有常规添加剂，例如悬浮剂，乳化剂，非水载体(可包括食用油)，或防腐剂。任选可配制该片剂以便提供缓释或控制释放其中的活性成份。一个片剂包装可含有一片到每月服用的片数。

用于肠胃外给药的配制品包括可含有抗氧化剂，缓冲剂，制菌剂和导致该配制品与所需接受者血液等渗的溶质的含水和无水无菌注射溶液；和可包含悬浮剂和增稠剂的含水和无水无菌悬液。该配制品在单位剂量或多剂量容器，例如密封的安瓿和小瓶中提供，且可在冷冻干燥(冻干)的条件下

贮存，仅需要在使用前直接加入诸如盐水，注射用水的无菌液体载体。作为选择，可提供该配制品用于连续输注。可从前面所述类型的无菌粉剂，粒剂和片剂制备临时注射溶液和悬液。

用于直肠给药的配制品包括含有诸如椰子油或聚乙二醇的标准载体的栓剂。用于在口腔局部给药，例如颊部或舌下给药的配制品包括在诸如蔗糖和阿拉伯胶或黄芪胶的香味基质中含有该活性成份的锭剂，和在诸如明胶和甘油或蔗糖和阿拉伯胶的基质中含有该活性成份的锭剂。对于鼻内给药，本发明的化合物可作为液体喷雾剂或可分散的粉剂或以滴剂的形式使用。滴剂可用含水或无水基质配制，可还含有一种或多种分散剂，增溶剂或悬浮剂。

对于通过吸入给药，该化合物可从吹入器，喷雾器，增压包或气溶胶喷雾剂给药的其它合适的工具中方便地给药。增压包可含有合适的推进剂，例如二氯二氟甲烷，三氯氟甲烷，二氯四氟乙烷，二氧化碳或其它合适的气体。对于增压气溶胶，该剂量单位可通过提供一个阀门以释放标明的量来确定。

作为选择，对于吸入或吹入给药，该化合物可采用干粉组合物的形式，例如该化合物与诸如乳糖或淀粉的合适粉状基质的粉状混合物。该粉状组合物可在单位剂量形式，例如，胶囊，药筒，明胶或泡状包(blister packs)中提供，从其中借助于吸入器或吹入器施用该粉末。

其它配制品包括释放治疗剂的可植入装置和粘贴膏药。

如果需要，可使用上述配制品调整为持续释放该活性成份。该药用组合物也可含有诸如抗微生物剂，免疫抑制剂或防腐剂的其它活性成份。

应明白除了上文具体提及的成份外，本发明的配制品可包含对于所述配制品类型本领域常规的其它试剂，例如，适合于口服给药的那些配制品可包含香味剂。

优选的单位剂量配制品是含有如下所述的有效剂量，或其合适部分的活性成份的那些配制品。

对于上述每一种情况，该组合物，例如多肽和有机化合物可按从每天大约0.1到大约250 mg/kg的剂量口服或通过注射给药。成人的剂量范围一般从大约5 mg到大约17.5 g/天，优选大约5 mg到大约10 g/天，最优选大约100 mg到大约3 g/天。以分散单位提供的片剂或其它单位剂量形式可方便地含有

在该剂量或者多个该剂量下有效的量，例如，含有大约5 mg到大约500 mg的单位，通常从大约100 mg到大约500 mg的单位。

使用的剂量依赖于许多因素，包括受试者的年龄和性别，治疗的确切疾病，及其严重性。给药途径也依赖于病症及其严重性而变化。

在下面实施例中将进一步描述本发明，该实施例不是对权利要求书所述的本发明的范围的限制。下面实施例举例说明了在TS细胞中差异表达的基因的鉴定和特征描述。

实施例 1: 试验样品的制备

评估从患病组织(例如，来自睾丸生殖细胞肿瘤的睾丸细胞)和正常组织获得的组织以鉴定差异表达的基因或疾病状态，例如，TS。按如下进行该试验。

患者，组织样品，和激光获取的显微解剖(LCM)

TGCT样品从进行睾丸切除术的13个患者获得。这些患者的临床特征在表1中概括。使用了诊断为精原细胞瘤的12个样品和同时为精原细胞瘤和卵黄囊肿瘤的1个样品。

所有样品在-80°C下冷冻，然后包埋于TissueTek OCT培养基(Sakura)中。冷冻标本用恒冷切片机(Sakura)以8- μ m切片进行连续切片并用苏木精和曙红染色以明确分析区域。然后，使用PixCell II LCM System (Arcturus Engineering)按照带有一些修改的厂商方案(21)从各染色组织选择性显微分离精原细胞瘤细胞。

表 1. 13 个睾丸精原细胞瘤的临床特征

病例号	年龄	病理组织学类型	阶段	结果
1	43	精原细胞瘤	I	存活
2	20	精原细胞瘤	I	存活
3	34	精原细胞瘤	I	存活
4	33	精原细胞瘤	I	存活
5	26	精原细胞瘤	I	存活
6	34	精原细胞瘤	I	存活
7	45	精原细胞瘤	I	存活
8	24	精原细胞瘤	I	存活
9	44	精原细胞瘤	I	存活
10	27	精原细胞瘤	I	存活
11	49	精原细胞瘤	I	存活
12	42	精原细胞瘤	III B	存活
13	33	精原细胞瘤 + 卵黄囊肿瘤	II B	存活

提取和纯化RNA和基于T7的RNA扩增

从放入350 μ l RLT裂解缓冲液(QIAGEN)中的获取的细胞提取总RNAs。提取的RNAs在室温下用30个单位的DNase I (QIAGEN)处理15分钟。使用Ampliscribe T7转录试剂盒(Epicentre Technologies)(20)对所有DNase I处理的RNAs进行基于T7的扩增。对每个组织进行两轮扩增产生30 - 238 μ g的扩增RNA (aRNA)。对于对照探针, 通过基于T7的扩增对正常人poly(A)⁺ RNA (Clontech)进行两轮扩增。来自各癌症组织和对照的2.5 μ g的aRNAs等分试样分别在Cy5-dCTP和Cy3-dCTP存在下进行逆转录(22)。

制备cDNA微阵列

建立了“全基因组(genome-wide)” cDNA微阵列系统, 它含有选自国家生物技术信息中心(NCBI)UniGene数据库(build #131)的23,040个cDNAs。简单的说, 使用从各种人器官分离的poly(A)⁺ RNA作为模板通过RT-PCR扩增cDNAs; 扩增子的长度范围不包括重复或poly(A)序列为从200到1,100 bp。使用第III代微阵列点样器(Amersham Biosciences)在7型玻璃片上点样PCR产物; 在单个玻璃片上以一式两份点样4608个基因。制备5组不同的玻璃片(即, 总共23,040个基因), 每组上还点样相同的52个管家基因和两个阴性对照基因(23)。

杂交和数据的获取

除了所有的过程都用自动玻璃片处理器(Amersham Biosciences)进行外按照以前所述的方法进行杂交和洗涤。通过ArrayVision计算机程序(Amersham Biosciences)以光学测定法计算各杂交信号的强度并扣除背景强度。使用52个管家基因的平均信号进行各Cy3-和Cy5-信号强度的正态化。根据背景波动自动计算各表达水平的临界(cut-off)值。计算Cy5/Cy3作为相对表达比率。当Cy3和Cy5信号强度都低于临界值时, 根据以前的报道(23)将该样品中相应基因的表达评估为无。对于其它基因, 使用各样品的原始数据计算Cy5/Cy3比率。

实施例 2: 鉴定TS-相关性基因

鉴定对TS共有的上调或下调基因时, 根据下列标准分析该基因。选择其相对表达水平在超过50%的病例中能够计算且在超过70%的病例中其表达上调或下调的起始基因。另外, 如果在35到50%的病例中能够计算相对表达比率, 也评估该基因上调或下调的所有病例。各基因的相对表达比率(Cy5/Cy3强度比率)分成如下四类之一: (1)上调(表达比率超过5.0); (2)下调

(表达比率低于0.2); (3)表达无改变(表达比率在0.2和5.0之间); 和(4)不表达(或微弱表达但在检测临界值之下)。这些类型用于检测其表达比率的改变在样品中是共有的以及是某一亚群特异性的一组基因。为了检测在精原细胞瘤细胞中通常上调或下调的候选基因, 筛选23,040个基因的全面表达谱以选择表达比率超过5.0或低于0.2的基因。

鉴定具有TS细胞临床相关性表达谱的基因

为了阐明TGCTs形成和进行潜在的遗传事件, 我们借助于全基因组的cDNA微阵列分析了临床材料中的基因表达。微阵列技术使得可以在单次实验中分析几千个基因的表达, 并获得对癌症分子机制的新认识。预期该数据有助于改善临床管理, 从而给癌症患者提供更好的生活质量。

一组研究者使用定制的位于第17号染色体上的基因的cDNA微阵列分析了基因表达谱(13), 因为第17号染色体长臂在TGCTs中通常过量出现。然而在该研究中仅分析了第17号染色体上的636个基因和基因组中其它处的512个基因。根据我们的了解, 我们首次对TGCTs进行了“全基因组”cDNA微阵列分析。

我们特别针对TS, 使用含有23,040个基因的全面cDNA微阵列系统检查了以LCM纯化的精原细胞瘤细胞群体。以该方法选择的癌细胞比例通过显微镜检测估计达到几乎100%。

鉴定了其表达比率超过5.0的346个上调基因(表3), 同时鉴定了其表达比率低于0.2的593个下调基因(表4)。此外, 特别是鉴定了其表达比率超过10.0的213个高度上调基因(数据未显示)。另一方面, 鉴定了其表达比率低于0.1的376个下调基因(数据未显示)。

它们中的一些可能提供了新治疗剂的潜在分子靶, 和/或用作诊断性肿瘤标记。表3列出的基因包括CCND2 (1), POV1 (24), PIM2 (25), JUP (26), 和MYCN (14), 即已知与TS的癌发生或细胞增殖相关的基因。例如CCND2, 它调节RB蛋白的磷酸化并控制G1-S细胞周期关卡, 在TS中通常高表达; 通过过量表达D-型细胞周期蛋白破坏该关卡是人类肿瘤形成的主要途径之一(1)。POV1首先鉴定为在前列腺癌中过量表达的基因(24), 后来表明在所有TS以及睾丸原位癌中高度表达(13)。该基因编码具有12个跨膜结构域的膜转运蛋白且可运输细胞生长必需的营养物和/或代谢产物(27)。因此, 其产物可以是治疗TS和前列腺癌的抗癌药物的潜在分子靶。PIM2, 即编码丝氨酸

苏氨酸激酶的原癌基因，以前报道在造血干细胞，白血病和淋巴瘤细胞系，和TS中高度表达；其产物在造血和致癌性转化中似乎具有决定性作用(25)。JUP也称为 γ -连环蛋白，在细胞粘着和Wnt信号传导途径中起重要作用；JUP受到APC肿瘤抑制基因的调控，据认为其在结肠癌中的致癌活性不同于 β -连环蛋白(26)。在各种人类肿瘤，最常见的是成神经细胞瘤中已经观察到MYCN基因的扩增，且在精原细胞瘤和非-精原细胞瘤中都报道了其过量表达(14)。因此，抑制这些致癌性功能可能是治疗TS的一种新方法。另外，这些上调元件包括与信号转导途径，癌基因，细胞周期，和细胞粘着及细胞骨架相关的重要基因(表5)。

除了已知与睾丸癌有一些相关性的基因外，我们注意到包括PIM-1, RET和VAV2的其它癌基因的过量表达。PIM-1编码丝氨酸/苏氨酸激酶(28)，它在我们的微阵列检查的所有11个提供信息的精原细胞瘤中都过量表达。RET在所有6个提供信息的精原细胞瘤中也过量表达。RET基因编码受体酪氨酸激酶，它是转导细胞生长和分化信号的细胞表面分子；RET基因的种系突变引起两种遗传性癌综合征，即多发性内分泌腺瘤形成2A和2B型 (29)。VAV2，即VAV癌基因家族的一个成员，在我们的微阵列检测的12个提供信息的精原细胞瘤病例中有11个过量表达。VAV蛋白与细胞转化和癌发生相关；它似乎增强转化细胞的转移特性或用作引起诸如Ras的癌蛋白的转化活性的辅助因子(30)。

在另一方面，我们列出的下调基因包括至少一个已知的肿瘤抑制基因，即WT1，其失活引起Wilms肿瘤和WAGR综合征，其特征易于感Wilms肿瘤，无虹膜，泌尿生殖异常，和智力迟钝(31)。在睾丸生殖细胞肿瘤中通常观察到含有WT1的染色体区域丧失杂合性(32)。另外，Wilms肿瘤1-结合蛋白(KIAA0105, WTAP)，即WT1-结合配偶体，在我们的研究中也下调。由于WT1与泌尿生殖系统的正常发育相关，因此其产物可以是与睾丸癌发生相关的一个候选物，尽管其分子机制仍不清楚。

最近通过使用分子靶向药物实现的临床改善强调了发现新分子靶在开发治疗特异性癌症的药物中的重要性。例如，抗-HER2单克隆抗体，即trastuzumab，与抗癌药物联合可拮抗原癌基因受体HER2/neu并导致临床反应的改善和一些乳腺癌患者的存活(33)。STI-571，即酪氨酸激酶抑制剂靶向性bcr-abl，它是现在治疗慢性骨髓性白血病的首选药物(34)，表皮生长因

子受体抑制剂, 即gefitinib, 用于治疗非小细胞肺癌(35)。抗-CD20单克隆抗体, 即rituximab, 可提高B-细胞淋巴瘤或套细胞淋巴瘤患者的完全缓解率和总体存活率(36)。因此, 本文鉴定的且与细胞增殖相关的上调基因产物可以用于设计新型TS治疗剂的有希望的潜在靶。具体地说, 在自分泌细胞生长途径中起作用的分泌蛋白质应当是药物开发中的优良候选物且可成为该癌症类型的新诊断标记。

在本研究分析的13例中有11例按临床病理学分类为I期。因此, 在我们的微阵列上普遍上调或下调的基因很可能与相对早期的癌发生相关。因此, 我们的数据不仅提供了关于癌症相关性基因的新信息而且提供了已知基因与癌发生的新关联。然而, 在本文中描述的信息揭示了TS形成期间遗传活性改变的高度复杂性; 该结果以这一类型癌症的潜在治疗靶和/或生物学标记的一个长表提供。

表3 在睾丸精原细胞瘤中普遍上调5倍或更多的346个基因

TS 编号	登录号	标记	基因名称
1	AI141839	ABCD4	ATP-结合序列盒, 亚家族 D(ALD), 4 号成员
2	X02994	ADA	腺苷脱氨酶
3	U41767	ADAM15	解联蛋白和金属蛋白酶结构域 15(metargidin)
4	AF024714	AIM2	在黑素瘤 2 中缺失
5	H57960	AK3	腺苷酸激酶 3
6	U24266	ALDH4	醛脱氢酶 4(谷氨酸 γ -半醛脱氢酶; 吡咯啉-5-羧酸盐脱氢酶)
7	AA180314	ANKRD2	锚蛋白重复结构域 2(牵张反应肌)
8	AA910946	AP1M2	衔接子相关蛋白复合物 1, mu 2 亚基
9	AA676726	APELIN	Apelin; APJ 受体的肽配体
10	U79268	APEX	APEX 核酸酶(多功能 DNA 修复酶)
11	X00570	APOC1	载脂蛋白 C-I
12	L08424	ASCL1	achaete-scute 复合物(果蝇)同源物-样 1
13	D89052	ATP6F	ATPase, H ⁺ 转运, 溶酶体(液泡质子泵)21kD
14	AF038195	BCS1L	BCS1(酵母同源物)-样基因
15	M88714	BDKRB2	缓激肽受体 B2
16	AF001383	BIN1	桥连整合基因 1
17	W91908	BRAG	B 细胞 RAG 结合蛋白
18	R43935	CACNA1G	钙通道, 电压依赖型, α 1G 亚基

19	U66063	CAMK2G	钙/钙调蛋白依赖型蛋白质激酶(CaM 激酶) II γ
20	AA682870	CCND2	细胞周期蛋白 D2
21	U45983	CCR8	趋化因子(C-C 基序)受体 8
22	M16445	CD2	CD2 抗原(p50), 绵羊红血细胞受体
23	AA083656	CD37	CD37 抗原
24	M37033	CD53	CD53 抗原
25	M81934	CDC25B	细胞分裂周期 25B
26	X63629	CDH3	钙粘着蛋白 3, 1 型, P-钙粘着蛋白(胎盘)
27	M16965	CDR1	小脑变性相关性蛋白(34kD)
28	U51095	CDX1	尾部型同源盒转录因子 1
29	AA319695	CEBPD	CCAAT/增强子结合蛋白(C/EBP), δ
30	U14518	CENPA	着丝粒蛋白 A (17kD)
31	U58514	CHI3L2	几丁质酶 3-样 2
32	X14830	CHRNB1	胆碱能受体, 尼古丁, β 多肽 1 (肌肉)
33	AC002115	COX6B	细胞色素 c 氧化酶亚基 VIb
34	X59932	CSK	c-src 酪氨酸激酶
35	AW167729	CTSC	组织蛋白酶 C
36	AA579959	CYP2S1	从 ESTs 推测的细胞色素 P540 家族成员
37	N20321	D19S1177E	19 号染色体上的 DNA 片段(特有的)1177 表达序列
38	U79775	D21S2056E	21 号染色体上的 DNA 片段(特有的)2056 表达序列
39	AI092999	D2S448	黑素瘤相关性基因
40	Z29093	DDR1	盘基菌蛋白结构域受体家族, 成员 1
41	U49785	DDT	D-多巴色素互变异构酶
42	T78186	DNMT3A	DNA(胞嘧啶-5-)-甲基转移酶 3 α
43	D78011	DPYS	二氢嘧啶酶
44	U88047	DRIL1	dead ringer(果蝇)-样基因 1
45	AA128470	DSP	桥粒斑蛋白(DPI,DPII)
46	X92896	DXS9879E	X 染色体上的 DNA 片段(特有的)9879 表达序列
47	AA233853	E1B-AP5	E1B-55kDa-结合蛋白 5
48	S49592	E2F1	E2F 转录因子 1
49	AA422074	ENO2	烯醇化酶 2, (γ , 神经元)
50	M57736	ENPP1	外切核苷酸焦磷酸酶/磷酸二酯酶 1
51	U07695	EPHB4	EphB4
52	U15655	ERF	Ets2 抑制因子
53	D12765	ETV4	Ets 变异体基因 4(E1A 增强子结合蛋白, E1AF)
54	X86779	FASTK	Fas-活化的丝氨酸/苏氨酸激酶

55	J04162	FCGR3B	IgG 的 Fc 片段,低亲和性 IIIb, (CD16)的受体
56	M60922	FLOT2	筏蛋白 2
57	R72881	GABBR1	γ -氨基丁酸(GABA)B 受体, 1
58	AF077740	GCAT	甘氨酸 C-乙酰转移酶(2-氨基-3-丁酮酸辅酶 A 连接酶)
59	M18185	GIP	胃抑制性多肽
60	AA669536	GJA5	间隙连接蛋白, $\alpha 5$, 40kD(连接蛋白 40)
61	U78027	GLA	半乳糖苷酶, α
62	N26076	GOV	成胶质细胞瘤过量表达
63	D64154	GP110	细胞膜糖蛋白, 110000M(r) (表面抗原)
64	AF062006	GPR49	G 蛋白偶连受体 49
65	AA877534	GPRC5C	G 蛋白偶连受体, 家族 C,第 5 组, 成员 C
66	X68314	GPX2	谷胱甘肽过氧化物酶 2 (胃肠道)
67	AI346758	GYG2	糖原蛋白 2
68	J04501	GYS1	糖原合酶 1(肌肉)
69	U26174	GZMK	粒酶 K(丝氨酸蛋白酶, 粒酶 3; 类胰蛋白酶 II)
70	X57129	H1F2	H1 组蛋白家族, 成员 2
71	AA904505	H3FD	H3 组蛋白家族, 成员 D
72	M16707	H4F2	H4 组蛋白, 家族 2
73	M58285	HEM1	造血蛋白 1
74	AA903016	HM74	推定的趋化因子受体; GTP-结合蛋白
75	D66904	HRMT1L2	HMT1 (hnRNP 甲基转移酶, 啤酒糖酵母)-样 2
76	AW084318	HSPB1	热休克 27kD 蛋白 1
77	AA564686	HSPC025	HSPC025
78	AA775500	HsPOX2	脯氨酸氧化酶 2
79	AI189477	IDH2	异柠檬酸脱氢酶 2(NADP+),线粒体
80	AA436509	IER5	立即早期反应 5
81	X16302	IGFBP2	胰岛素-样生长因子结合蛋白 2(36kD)
82	AJ001563	IGHG3	免疫球蛋白重链恒定区 $\gamma 3$ (G3m 标记)
83	M87790	IGL λ	免疫球蛋白 λ 基因座
84	AI189680	IL1RAP	白介素 1 受体辅助蛋白
85	M20566	IL6R	白介素 6 受体
86	J05272	IMPDH1	IMP(肌苷单磷酸)脱氢酶 1
87	S78296	INA	丝联蛋白神经元中间体纤丝蛋白, α
88	M15395	ITGB2	整联蛋白, $\beta 2$ (抗原 CD18(p95), 淋巴细胞功能相关性抗原 1; 巨噬细胞抗原 1 (mac) β 亚基)
89	X16260	ITIH1	inter-alpha (球蛋白) 抑制剂, H1 多肽
90	AA226073	ITM2C	整合膜蛋白 2C

91	AI205103	ITPK1	肌醇 1,3,4-三磷酸 5/6 激酶
92	Z68228	JUP	连接斑珠蛋白
93	AA707252	KIAA0468	多配体蛋白聚糖 3(N-多配体蛋白聚糖)
94	D52745	KIAA0821	lectomedin-2
95	H06478	KIF3C	驱动蛋白家族成员 3C
96	U06698	KIF5A	驱动蛋白家族成员 5A
97	AA845512	KLF4	Kruppel-样因子 4(肠)
98	X77744	KR18	KRAB 锌指蛋白 KR18
99	X87342	LLGL2	致死性巨大幼虫(果蝇)同源物 2
100	BF971926	LMNA	核纤层蛋白 A/C
101	AI298111	LOC51116	CGI-91 蛋白
102	AA714315	LOC51181	羧基还原酶
103	D89078	LTB4R	白三烯 b4 受体(趋化因子受体-样基因 1)
104	U42376	LY6E	淋巴细胞抗原 6 复合物, 基因座 E
105	AC005546	LYL1	成淋巴细胞白血病产生的序列 1
106	AA179832	M6PR	甘露糖-6-磷酸受体(阳离子依赖型)
107	D87116	MAP2K3	促细胞分裂剂活化的蛋白激酶激酶 3
108	AA583183	MAP4K3	促细胞分裂剂活化的蛋白激酶激酶激酶 激酶 3
109	AA744607	MASL1	富含亮氨酸串联重复的 MFH-扩增的序 列 1
110	X74795	MCM5	小染色体维持缺陷型(啤酒糖酵母)5(细胞 分裂周期 46)
111	U78313	MDFI	MyoD 家族抑制剂
112	L10612	MIF	巨噬细胞迁移抑制因子(糖基化抑制因 子)
113	J05070	MMP9	基质金属蛋白酶 9(明胶酶 B, 92kD 明胶 酶, 92kD 的 IV 型胶原酶)
114	H46518	MRPS26	线粒体核糖体蛋白质 S26
115	AA101822	MSDC1	中胚层发育候选物 1
116	N70019	MT1E	金属硫蛋白 1E(功能型)
117	AI094778	MT2A	金属硫蛋白 2A
118	J04031	MTHFD1	亚甲基四氢叶酸脱氢酶(NADP+依赖型), 次甲基四氢叶酸环化水解酶, 甲酰基四氢 叶酸合成酶
119	X13293	MYBL2	v-myb 鸟类成髓细胞性白血病病毒癌基 因同源物-样基因 2
120	Y00664	MYCN	V-myc 鸟类髓细胞瘤病毒相关性癌基 因, 成神经细胞瘤产生
121	AI188406	NDUFA4	NADH 脱氢酶(泛醌)1 α 亚复合物, 4(9kD, MLRQ)

122	AA989104	NDUFB2	NADH 脱氢酶(泛醌)1 β 亚复合物, 2(8kD, AGGG)
123	X83957	NEB	伴肌动蛋白
124	H08616	NESCA	Nesca 蛋白
125	AA977227	NET-6	tetraspan NET-6 蛋白
126	W46617	NF2	神经纤维瘤蛋白 2(双侧听觉神经瘤)
127	AI300590	NFE2L3	核因子(红细胞衍生的 2)-样基因 3
128	X77909	NFKBIL1	B-细胞抑制剂中 κ 轻链多肽基因增强子的核因子-样基因 1
129	AJ001258	NIPSNAP1	NIPSNAP, <i>C. elegans</i> , 同源物 1
130	U23070	NMA	推定的跨膜蛋白
131	X17620	NME1	非转移性细胞 1, 表达的蛋白质(NM23A)
132	L16785	NME2	非转移性细胞 2, 表达的蛋白质(NM23B)
133	AA242961	NOD1	Caspase 募集结构域 4
134	AI085648	NOLA3	核蛋白家族 A, 成员 3(H/ACA 小核 RNPs)
135	U56079	NPY5R	神经肽 Y 受体 Y5
136	AA628440	NR1I3	核受体亚家族 1, I 组, 成员 3
137	R16767	NRBP	核受体结合蛋白
138	AI049668	OAZ1	鸟氨酸脱羧酶抗酶 1
139	D10523	OGDH	氧化戊二酸脱氢酶(硫辛酰胺)
140	X17094	PACE	成对碱性氨基酸裂解酶(弗林蛋白酶, 膜联受体蛋白)
141	AI146846	PAR3	相似于 <i>C. elegans</i> PAR3 的含三个-PDZ 的蛋白质(分区缺陷型)
142	AI248183	PAX5	成对盒基因 5(B-细胞谱系特异性激活蛋白质)
143	AI265770	PDLIM1	PDZ 和 LIM 结构域 1(elfin)
144	X54936	PGF	胎盘生长因子, 血管内皮生长因子相关性蛋白质
145	AA532444	PHLDA3	血小板-白细胞 C 激酶底物同源物-样结构域, 家族 A, 成员 3
146	X80907	PIK3R2	磷酸肌醇-3-激酶, 调控亚基, 多肽 2(p85 β)
147	M16750	PIM1	pim 癌基因
148	U77735	PIM2	pim-2 癌基因
149	D00244	PLAU	纤溶酶原活化剂, 尿激酶
150	X07743	PLEK	血小板-白细胞 C 激酶底物
151	M80397	POLD1	聚合酶(DNA 指导型), δ 1, 催化亚基 (125kD)
152	S90469	POR	P450(细胞色素)氧化还原酶
153	AF045584	POV1	前列腺癌过度表达基因 1
154	S57501	PPP1CA	蛋白质磷酸酶 1, 催化亚基, α 同种型
155	N44532	PPP1R14C	蛋白质磷酸酶 1, 调控(抑制)亚基 14C

156	AI274279	PRDM4	含 PR 结构域 4
157	AI309741	PRG6	p53-反应性基因 6
158	AF027208	PROML1	prominin (小鼠)-样基因 1
159	M24398	PTMS	parathyrosin
160	U47025	PYGB	磷酸化酶, 糖原; 脑
161	Y15233	PYGL	磷酸化酶, 糖原; 肝(Hers 疾病, 糖原贮存疾病 VI 型)
162	AA346311	RAI3	视黄酸诱导的基因 3
163	M29893	RALA	v-ral 猿猴白血病病毒性癌基因同源物 A (ras 相关性基因)
164	Y00291	RARB	视黄酸受体, β
165	Y12336	RASGRP2	RAS 鸟苷释放蛋白 2(钙和 DAG-调控的基因)
166	X64652	RBMS1	RNA 结合基序, 单链相互作用蛋白 1
167	AF040105	RCL	推定的 c-Myc-反应性基因
168	AA807607	RDGBB	视网膜变性 B β
169	AA932768	REPRIMO	p53-依赖型 G2 停滞的候选介导剂
170	X12949	RET	ret 原癌基因(多发性内分泌腺瘤形成 MEN2A, MEN2B 和髓质甲状腺癌 1, Hirschsprung 疾病)
171	NM_139176	PYPAF3	含 PYRIN 的 Apaf-1-样蛋白 3
172	AA921313	RPL11	核糖体蛋白 L11
173	L11566	RPL18	核糖体蛋白 L18
174	AA402920	RPL18A	核糖体蛋白 L18a
175	AA962580	RPL22	核糖体蛋白 L22
176	AI123363	RPL23A	核糖体蛋白 L23a
177	AI341159	RPL26	核糖体蛋白 L26
178	AA313541	RPL37	核糖体蛋白 L37
179	R50505	RPLP1	核糖体蛋白, 大型, P1
180	AI131289	RPLP2	核糖体蛋白, 大型 P2
181	M81757	RPS19	核糖体蛋白 S19
182	L04483	RPS21	核糖体蛋白 S21
183	N27409	RPS23	核糖体蛋白 S23
184	U14970	RPS5	核糖体蛋白 S5
185	X99920	S100A13	S100 钙结合蛋白 A13
186	AI261620	SAAS	granin-样神经内分泌肽前体
187	U72355	SAFB	支架附着因子 B
188	X98834	SALL2	sal(果蝇)-样基因 2
189	T30682	SCO2	SCO 细胞色素氧化酶缺陷型同源物 2(酵母)

190	AB000887	SCYA19	小诱导型细胞因子亚家族 A(Cys-Cys),成员 19
191	AA534943	SCYB14	小诱导型细胞因子亚家族 B(Cys-X-Cys),成员 14(BRAK)
192	AI080351	SEC63L	SEC63,内质网易位子成份(啤酒糖酵母)样基因
193	K01396	SERPINA1	丝氨酸(或半胱氨酸)蛋白酶抑制剂,分支 A(α 抗蛋白酶,抗胰蛋白酶),成员 1
194	AI050752	SGCB	肌聚糖, β (43kD 肌营养不良蛋白相关性糖蛋白)
195	AA421248	SH3BGR3	SH3 结构域结合的富含谷氨酸的蛋白样基因 3
196	L11932	SHMT1	丝氨酸羟甲基转移酶 1
197	T29731	SHMT2	丝氨酸羟甲基转移酶 2(线粒体)
198	U44403	SLA	Src-样-衔接子
199	J03592	SLC25A6	溶质载体家族 25(线粒体载体; 腺嘌呤核苷酸易位子),成员 6
200	AW511361	SLC29A1	溶质载体家族 29(核苷转运蛋白),成员 1
201	D84454	SLC35A2	溶质载体家族 35(UDP-半乳糖转运蛋白),成员 2
202	M65105	SLC6A2	溶质载体家族 6(神经递质转运蛋白,去甲肾上腺素),成员 2
203	AW504047	SMARCA4	SWI/SNF 相关性, 基质相关性, 肌动蛋白依赖型染色质调节蛋白, 亚家族 a,成员 4
204	AI143147	SNRPF	小核核糖核蛋白多肽 F
205	X70683	SOX4	SRY(性别决定区 Y)-序列盒 4
206	U49240	SPK	symplekin; Huntingtin 相互作用蛋白 I
207	J03161	SRF	血清反应因子(c-fos 血清反应元件-结合转录因子)
208	AA683542	STAU2	staufen(果蝇, RNA-结合蛋白)同源物 2
209	AI151087	T1A-2	肺 I 型细胞膜相关性糖蛋白
210	AA235074	TCF19	转录因子 19(SC1)
211	X82240	TCL1A	T-细胞白血病/淋巴瘤 1A
212	AA399645	TCOF1	Treacher Collins-Franceschetti 综合征 1
213	U85658	TFAP2C	转录因子 AP-2 γ (活化增强子-结合蛋白 2 γ)
214	AI049960	TGIF2	TGFB-诱导因子 2(TALE 家族同源框)
215	AA293042	THY1	Thy 细胞表面抗原
216	AJ005895	TIM17B	线粒体内膜移位酶 17(酵母)同源物 B
217	AA536113	TMEPAI	跨膜蛋白, 前列腺雄性激素诱导的 RNA
218	AI261341	TMP21	跨膜运输蛋白

219	M64247	TNNI3	肌钙蛋白 I,心脏
220	M19309	TNNT1	肌钙蛋白 T1,骨骼, 迟缓
221	M19713	TPM1	原肌球蛋白 1(α)
222	AA890188	TUBG2	微管蛋白, γ 2
223	AA481924	TYROBP	TYRO 蛋白酪氨酸激酶结合蛋白
224	U73379	UBCH10	遍在蛋白载体蛋白 E2-C
225	AA465240	VAV2	vav 2 癌基因
226	Z71621	WNT2B	无翼型 MMTV 整合位点家族, 成员 2B
227	AA644644	YWHAH	酪氨酸 3-单加氧酶/色氨酸 5-单加氧酶活化蛋白, eta 多肽
228	AA555115	LOC51260	假定蛋白质
229	AA056472	LOC57228	来自克隆 643 的假定蛋白质
230	R37098	DKFZp547M236	假定蛋白质 DKFZp547M236
231	AA776240	DKFZP586J0917	DKFZP586J0917 蛋白质
232	AA609417	DKFZp762M136	假定蛋白质 DKFZp762M136
233	N80485	FLJ10199	假定蛋白质 FLJ10199
234	W18181	FLJ10430	假定蛋白质 FLJ10430
235	U69190	FLJ10432	假定蛋白质
236	AA287875	FLJ10549	假定蛋白质 FLJ10549
237	AI206219	FLJ10634	假定蛋白质 FLJ10634
238	AA368409	FLJ10688	假定蛋白质 FLJ10688
239	AI014673	FLJ10709	假定蛋白质 FLJ10709
240	AA219141	FLJ10713	假定蛋白质 FLJ10713
241	AA477929	FLJ10767	假定蛋白质 FLJ10767
242	AK026707	FLJ11328	假定蛋白质 FLJ11328
243	AA306716	FLJ11937	假定蛋白质 FLJ11937
244	AI017753	FLJ20069	假定蛋白质 FLJ20069
245	AA843844	FLJ20171	假定蛋白质 FLJ20171
246	AI360274	FLJ20494	相似于小鼠神经元蛋白质 15.6
247	AI276023	FLJ20539	假定蛋白质 FLJ20539
248	AA058761	FLJ20550	假定蛋白质 FLJ20550
249	Z24980	FLJ22195	假定蛋白质 FLJ22195
250	AA813912	KIAA0130	KIAA0130 基因产物
251	AA394063	KIAA0144	KIAA0144 基因产物
252	AI090862	KIAA0147	果蝇 Scribble 的人类同源物
253	AB007925	KIAA0456	KIAA0456 蛋白质
254	AB014544	KIAA0644	KIAA0644 基因产物
255	AB014590	KIAA0690	KIAA0690 蛋白质
256	AA954348	KIAA0870	KIAA0870 蛋白质
257	AA737525	KIAA1031	KIAA1031 蛋白质
258	AA443202	KIAA1053	KIAA1053 蛋白质
259	W90578	KIAA1198	KIAA1198 蛋白质

260	AA191449	KIAA1254	KIAA1254 蛋白质
261	AI076459	KIAA1272	人 cDNA FLJ12819 fis,克隆 NT2RP2002727, 与 Rattus norvegicus tulip 2 mRNA 微弱相似
262	AA579859	KIAA1273	KIAA1273 蛋白质
263	AA731891	KIAA1517	KIAA1517 蛋白质
264	AI093595	LOC55895	22kDa 过氧化物酶体膜蛋白-样基因
265	AA149846		人 mRNA; cDNA DKFZp762B195 (来自 克隆 DKFZp762B195)
266	AA741366		人 mRNA; cDNA DKFZp761K2312 (来自 克隆 DKFZp761K2312)
267	AA400449	DKFZp434K0621	人 mRNA; cDNA DKFZp434K0621 (来自 克隆 DKFZp434K0621); 部分编码区
268	AI168147		人 HSPC289 mRNA, 部分编码区
269	L02326		人克隆 Hu λ 7 λ -样蛋白 (IGLL2) 基因, 部 分编码区
270	F09520	EST	人克隆 24841 mRNA 序列
271	AA975205		人克隆 23570 mRNA 序列
272	AI348289		人 cDNA: FLJ23227 fis, 克隆 CAE00645, 与 AF052138 人克隆 23718 mRNA 序列高 度相似
273	AA669034		人 cDNA: FLJ23125 fis, 克隆 LNG08217
274	W76303		人 cDNA: FLJ22662 fis, 克隆 HSI08080
275	T04932		人 cDNA: FLJ21545 fis, 克隆 COL06195
276	AA147751		人 cDNA FLJ14146 fis, 克隆 MAMMA1002947
277	N91027		人 cDNA FLJ13549 fis, 克隆 PLACE1007097
278	AA188494	FLJ113352	人 cDNA FLJ13352 fis, 克隆 OVARC1002165, 与 3-氧-5- α -类固醇 4-脱 氢酶 2 (EC 1.3.99.5) 微弱相似
279	AA903456		人 cDNA FLJ13325 fis, 克隆 OVARC1001762, 与 N-末端乙酰转移酶 1 (EC 2.3.1.88) 微弱相似
280	AA628522		人 cDNA FLJ12758 fis, 克隆 NT2RP2001328
281	AA626414		人 cDNA FLJ12436 fis, 克隆 NT2RM1000062
282	AA610175	FLJ12195	人 cDNA FLJ12195 fis, 克隆 MAMMA1000865
283	AW083127		人 cDNA FLJ11856 fis, 克隆 HEMBA1006789

284	F18016		人 cDNA FLJ11018 fis,克隆 PLACE1003602,与胎盘中表达的人 mRNA 高度相似
285	AA442071	EST	人 cDNA FLJ10247 fis,克隆 HEMBB1000705
286	AA036947		人 cDNA FLJ10229 fis,克隆 HEMBB1000136
287	AA234475	NCOA6IP	含有甲基转移酶结构域的PRIP-相互作用 蛋白
288	AI041186		HSPC182 蛋白
289	K01505		DC II 型组织相容性抗原 α -链
290	Z38677		密蛋白 10
291	AA236315		染色体 1 阅读框 27
292	AA411333		ESTs,与锌指-样蛋白[人]微弱相似
293	AA150200		ESTs,与 tuftelin [M.musculus]微弱相似
294	AI341906		ESTs,与 ORF YNL310c[啤酒糖酵母]微弱 相似
295	AI349804	EST	ESTs,与 IQGA_人 RAS GTPASE-活化-样 蛋白 IQGAP1[人]微弱相似
296	W94363		ESTs,与 ALU4_人 ALU 亚家族 SB2 序列 污染预警登录序列微弱相似[人]
297	AA053248		ESTs,与 RS10_人 40S 核糖体蛋白 S10[人] 高度相似
298	AA514648		ESTs,与 LMA1_人层粘连蛋白 α 链前体 [人]高度相似
299	T03298		ESTs,与 LDHH_人 L-乳酸脱氢酶H链[人] 高度相似
300	T55019		ESTs,胎儿脾脏
301	AI088718		ESTs
302	AA024920		ESTs
303	R77448	PLXNA2	ESTs
304	W31174		ESTs
305	AA463626		ESTs
306	AI344249		ESTs
307	R61891		ESTs
308	AA479350		ESTs
309	AA327207		ESTs
310	AA528140		ESTs
311	AA826148	EST	ESTs
312	AA913950		ESTs
313	AI243620		ESTs
314	AI039201		ESTs

315	AA936889		ESTs
316	AA687757		ESTs
317	AI366259		ESTs
318	AA317670		ESTs
319	AI141923		ESTs
320	AA778238	EST	ESTs
321	T72555		ESTs
322	AA602585		ESTs
323	AA527570		ESTs
324	C75253		ESTs
325	AA351680		ESTs
326	N75945		ESTs
327	AA528243		ESTs
328	AA688195		ESTs
329	AA063157		ESTs
330	AA419568		ESTs
331	D85376		ESTs
332	AA521342		ESTs
333	AI365844		ESTs
334	T55926		ESTs
335	R94687		ESTs
336	T61564		ESTs
337	AI305234	LOC152217	ESTs
338	AA233870		ESTs
339	T16470		ESTs
340	T16802		ESTs
341	AA830668	EST	EST
342	AA489212		EST
343	AA758394		EST
344	AA609658		EST
345	AA683373		EST
346	N34387		EST

表4 在睾丸精原细胞瘤中普遍下调0.2倍或更低的593个基因

TS 编 号	登录号	标记	基因名称
347	U57961	13CDNA73	推定的基因产物
348	M35296	ABL2	v-abl Abelson 鼠白血病病毒性癌基因同源物 2(arg, Abelson-相关性基因)
349	AA406601	ABLIM	肌动蛋白结合 LIM 蛋白 1

350	AA815365	ACT	睾丸 CREM 的激活剂
351	AI357650	AD026	AD026 蛋白
352	AF029900	ADAM21	解联蛋白和金属蛋白酶结构域 21
353	X74210	ADCY2	腺苷酸环化酶 2(脑)
354	X03350	ADH2	乙醇脱氢酶 2(I 型), β 多肽
355	L22214	ADORA1	腺苷 A1 受体
356	X66503	ADSS	腺苷酸琥珀酸合成酶
357	AA766028	AF15Q14	AF15q14 蛋白
358	AA434178	AGPAT1	1-酰基甘油-3-磷酸 O-酰基转移酶 1(溶 血磷脂酸酰基转移酶, α)
359	AF038564	AIP4	萎缩蛋白相互作用蛋白 4
360	AI028271	AKAP3	激酶(PRKA)锚蛋白 3
361	AA398240	AKAP4	激酶(PRKA)锚蛋白 4
362	U05861	AKR1C1	醛-酮还原酶家族 1, 成员 C1(二氢二醇 脱氢酶 1;20- α (3- α)-羟基类固醇脱氢酶)
363	D17793	AKR1C3	醛-酮还原酶家族 1, 成员 C3 (3- α 羟基 类固醇脱氢酶,II 型)
364	K03000	ALDH1	醛脱氢酶 1,可溶性
365	M18786	AMY1A	淀粉酶, α 1A;唾液
366	M19383	ANXA4	膜联蛋白 A4
367	Y12226	AP1G1	衔接子相关性蛋白复合物 1, γ 1 亚基
368	AI278652	AP1S2	衔接子相关性蛋白复合物 1, σ 2 亚基
369	AA421206	APG	热休克蛋白(hsp110 家族)
370	AI168526	ARHGAP5	Rho GTPase 活化蛋白 5
371	AI025137	ARHGEF3	Rho 鸟嘌呤核苷酸交换因子(GEF)3
372	AB002305	ARNT2	芳基-烃受体核转运蛋白 2
373	U47054	ART3	ADP-核糖基转移酶 3
374	AA928117	ATP8A2	ATPase,氨基磷脂转运蛋白-样蛋白, I 类, 8A 型, 成员 2
375	H80325	BAZ1A	与锌指结构域相邻的溴结构域, 1A
376	M55575	BCKDHB	支链酮酸脱氢酶 E1, β 多肽(槭糖尿病)
377	D87461	BCL2L2	BCL2-样基因 2
378	AA620708	BCLG	凋亡调节蛋白 BCL-G
379	U70824	BLu	Blu 蛋白
380	AA916688	BRF1	丁酸反应因子 1(EGF-反应因子 1)
381	U03274	BTD	生物素酰胺酶
382	D31716	BTEB1	基本转录元件结合蛋白 1
383	W45244	C3	补体成份 3
384	U36448	CADPS	用于分泌的 Ca^{2+} -依赖型活化蛋白
385	X56667	CALB2	钙结合蛋白 2,(29kD,钙网膜蛋白)
386	AA600048	CALD1	钙调结合蛋白 1
387	R39610	CAPN2	钙蛋白酶 2, (m/II)大亚基

388	AI085802	CAV2	小窝蛋白 2
389	M58583	CBLN1	小脑肽 1 前体
390	D78333	CCT6B	含有 TCP1 的陪伴蛋白,亚基 6B(zeta 2)
391	AA917718	CDC10	CDC10(细胞分裂周期 10,啤酒糖酵母,同源物)
392	L27711	CDKN3	细胞周期蛋白-依赖型激酶抑制剂 3(CDK2-相关性双特异性磷酸酶)
393	AI140736	CDV	CDV 蛋白
394	AF083322	CEP1	中心体蛋白 1
395	AI142230	CETN3	中心粒蛋白, EF-hand 蛋白, 3(CDC31 酵母同源物)
396	J03483	CHGA	嗜铬粒蛋白 A(甲状旁腺分泌蛋白 1)
397	D10704	CHK	胆碱激酶
398	AA400791	CHST3	糖类(软骨素 6/角质素)磺基转移酶 3
399	U65092	CITED1	Cbp/p300-相互作用反式激活蛋白,羧基末端结构域富含 Glu/Asp, 1
400	AI333035	CKAP2	细胞骨架相关性蛋白 2
401	AI078139	CKN1	Cockayne 综合征 1 (典型性)
402	D86322	CLGN	calmegin
403	M64722	CLU	簇蛋白(补体裂解抑制剂, SP-40,40,硫酸化糖蛋白 2,睾酮抑制型前列腺信息 2,载脂蛋白 J)
404	D17408	CNN1	肌钙蛋白 1,碱性,平滑肌
405	L25286	COL15A1	胶原蛋白, XV 型, $\alpha 1$
406	T93566	CPE	羧肽酶 E
407	F21182	CRAT	肉毒碱乙酰基转移酶
408	AI334396	CRSP9	Sp1 转录激活需要的辅因子, 亚基 9(33kD)
409	M55268	CSNK2A2	酪蛋白激酶 2, α 误切(prime)多肽
410	X16312	CSNK2B	酪蛋白激酶 2, β 多肽
411	U16306	CSPG2	硫酸软骨素蛋白聚糖 2 (多功能蛋白聚糖)
412	M33146	CSRP1	富含半胱氨酸和甘氨酸的蛋白质 1
413	AA780301	CTSF	组织蛋白酶 F
414	AB001928	CTSL2	组织蛋白酶 L2
415	AA417733	CUL1	滞蛋白 1
416	Z22780	CYLC1	cyclicin,精子头细胞骨架碱性蛋白 1
417	M14564	CYP17	细胞色素 P450,亚家族 XVII (类固醇 17- α -羟化酶),肾上腺增生
418	U62015	CYR61	富含半胱氨酸,血管发生诱导蛋白, 61
419	AA608804	D6S51E	HLA-B 相关性转录-2
420	AA640753	DDAH1	二甲基精氨酸二甲基氨水解酶 1

421	X62535	DGKA	二酰甘油激酶, α (80kD)
422	AI209130	DJ402G11.8	相似于小鼠 MOV10 的新蛋白质
423	AA432207	DMRT1	双性和 mab-3 相关性转录因子 1
424	AJ000522	DNAH17	动力蛋白, 轴丝, 重多肽 17
425	U53445	DOC1	在卵巢癌中下调的基因 1
426	AA488466	DRG1	发育调节的 GTP-结合蛋白 1
427	X68277	DUSP1	双特异性磷酸酶 1
428	AA313118	DUSP10	双特异性磷酸酶 10
429	U89278	EDR2	早期发育调节蛋白 2 (polyhomeotic 2 的同源物)
430	M62829	EGR1	早期生长反应 1
431	AA398573	EIF5A2	真核翻译启动因子 5A2
432	AI097529	EPAS1	内皮 PAS 结构域蛋白 1
433	U62740	EXT2	exostoses (multiple) 2
434	M14354	F13A1	凝血因子 XIII, A1 多肽
435	D10040	FACL2	脂肪酸辅酶 A 连接酶, 长链 2
436	L13923	FBN1	原纤蛋白 1(Marfan 综合征)
437	AI194045	FE65L2	FE65-LIKE 2
438	AI351061	FEM1B	FEM (C.elegans)同源物 b
439	D14446	FGL1	纤维蛋白原-样基因 1
440	U60115	FHL1	四个半 LIM 结构域 1
441	AA678103	FKBP5	FK506-结合蛋白 5
442	L37033	FKBP8	FK506-结合蛋白 8 (38kD)
443	AA876478	FLJ10578	Sec61 α 型 2
444	AI141417	FLJ10873	UDP-葡萄糖:糖蛋白葡萄糖基转移酶 2
445	AA813008	FOP	FGFR1 癌基因配偶体
446	X74142	FOXG1B	forkhead box G1B
447	AI025916	FSP-2	纤维鞘蛋白(fibrousheathin) II
448	X03674	G6PD	葡萄糖-6-磷酸脱氢酶
449	N34138	GABARAP	GABA(A)受体相关性蛋白
450	U13044	GABPA	GA-结合蛋白转录因子, α 亚基(60kD)
451	S68805	GATM	甘氨酸脒基转移酶(L-精氨酸:甘氨酸脒基转移酶)
452	AA583339	GCNT3	葡萄糖氨基(N-乙酰基)转移酶 3,粘蛋白型
453	AI014575	GCP60	高尔基体定居蛋白 GCP60
454	AA578014	GGA1	ADP-核糖基化因子结合蛋白 GGA1
455	AA523541	GILZ	糖皮质激素诱导的亮氨酸拉链结构基因
456	AA293636	GJA1	间隙连接蛋白, α 1,43kD(连接蛋白 43)
457	AA608780	GKP2	甘油激酶假基因 2
458	AA887118	GLRX2	谷氧还蛋白 2

459	AA446421	GMPS	鸟嘌呤单磷酸合成酶
460	AF055013	GNAI1	鸟嘌呤核苷酸结合蛋白(G 蛋白), α 抑制 活性多肽 1
461	AA401492	GNAS1	鸟嘌呤核苷酸结合蛋白(G 蛋白), α 刺激 活性多肽 1
462	AF007548	GOSR2	高尔基体 SNAP 受体复合物 成员 2
463	AA031372	GPC4	磷脂酰肌醇聚糖 4
464	AI126171	GPP130	II 型高尔基体膜蛋白
465	L42324	GPR18	G 蛋白偶连受体 18
466	X71973	GPX4	谷胱甘肽过氧化物酶 4(磷脂氢过氧化 物酶)
467	L76687	GRB14	生长因子受体结合蛋白 14
468	AI015487	GRTH	促性腺激素调节的睾丸 RNA 解旋酶
469	D87119	GS3955	GS3955 蛋白
470	AA993251	GSTA2	谷胱甘肽 S-转移酶 A2
471	L13275	GSTA3	谷胱甘肽 S-转移酶 A3
472	L02321	GSTM5	谷胱甘肽 S-转移酶 M5
473	U14193	GTF2A2	通用转录因子 IIA,2(12kD 亚基)
474	AI126491	HBACH	胞质乙酰辅酶 A 硫代酸酯水解酶
475	AF019214	HBP1	含 HMG-盒的蛋白质 1
476	W95267	HIBADH	3-羟基异丁酸脱氢酶
477	U40992	HLJ1	DnaJ-样热休克蛋白 40
478	M11058	HMGCR	3-羟基-3-甲基戊二酰基辅酶 A 还原酶
479	X83618	HMGCS2	3-羟基-3-甲基戊二酰基辅酶 A 合成酶 2(线粒体)
480	AI215478	HMMR	透明质酸介导的活动受体(RHAMM)
481	Y09980	HOXD3	同源框 D3
482	AF070616	HPCAL1	海马钙蛋白-样基因 1
483	Y12711	HPR6.6	孕酮结合蛋白
484	AA825654	HRB	HIV Rev 结合蛋白
485	AI027700	HS1-2	推定的跨膜蛋白
486	M65217	HSF2	热休克转录因子 2
487	AI205684	HSPA2	热休克 70kD 蛋白质 2
488	AA971601	HSSOX6	SRY (性别决定区 Y)-序列盒 6
489	AA493561	IGSF4	免疫球蛋白超家族, 成员 4
490	AA916823	IL1A	白介素 1, α
491	M27492	IL1R1	白介素 1 受体, I 型
492	D61009	ING1L	生长抑制剂家族, 成员 1-样基因
493	L08488	INPP1	肌醇聚磷酸盐-磷酸酶
494	AI192189	INPP5A	肌醇聚磷酸盐-5-磷酸酶, 40kD
495	W76477	JUN	v-jun 鸟肉瘤病毒 17 癌基因同源物

496	AA933702	KCNK4	钾内向整流通道, 亚家族 K, 成员 4
497	U25138	KCNMB1	钾大传导性钙活化通道, 亚家族 M, β 成员 1
498	AF064093	KEO4	类似于 <i>Caenorhabditis elegans</i> 蛋白质 C42C1.9
499	D14661	KIAA0105	Wilms' 肿瘤 1- 缔合蛋白
500	AB014531	KIAA0631	极长链酰基-CoA 合成酶; lipidosin
501	H98203	KIAA0987	在肺腺癌中差异表达的基因
502	AA037452	KIAA0992	palladin
503	Y08319	KIF2	驱动蛋白重链成员 2
504	AL044356	KPNB3	核周蛋白(输入蛋白) β 3
505	M59832	LAMA2	层粘连蛋白, α 2(分区蛋白, 先天性肌肉营养障碍)
506	AF064492	LDB2	结合 LIM 结构域的基因 2
507	L13210	LGALS3BP	凝集素, 半乳糖苷结合蛋白, 可溶性, 3 结合蛋白(半乳凝集素 6 结合蛋白)
508	AA252389	LHFP	脂肪瘤 HMGIC 融合配偶体
509	AA191662	LOC51617	HMP19 蛋白质
510	AI160184	LOC51673	脑特异性蛋白
511	AA569922	LOC51706	细胞色素 b5 还原酶 1(B5R.1)
512	AA527435	LOC63928	肝细胞癌抗原基因 520
513	AA173168	LRRFIP2	亮氨酸富集重复(以 FLII)相互作用蛋白 2
514	M83202	LTF	乳运铁蛋白
515	AA459595	LZK1	C3HC4-型锌指蛋白
516	U44378	MADH4	MAD (mothers against decapentaplegic, 果蝇)同源物 4
517	X74837	MAN1A1	甘露糖苷酶, α , 1A 型, 成员 1
518	M69226	MAOA	一元胺氧化酶 A
519	AA157731	MAP1ALC3	微管结合蛋白 1A 和 1B, 轻链 3
520	U07620	MAPK10	促细胞分裂剂活化的蛋白激酶 10
521	D10511	MAT	线粒体乙酰乙酰基-CoA 硫解酶
522	X68836	MAT2A	甲硫氨酸腺苷转移酶 II, α
523	AA228022	MCAM	黑素瘤粘附分子
524	X12556	MCF2	MCF.2 细胞系产生的转化序列
525	AI215620	MCSP	线粒体囊中的含硒蛋白质
526	AA815051	MDG1	微血管内皮分化基因 1
527	L38486	MFAP4	微原纤维蛋白结合蛋白 4
528	AA135566	MGEA6	脑膜瘤表达的抗原 6(螺旋型富含脯氨酸的螺旋)
529	X53331	MGP	基质 Gla 蛋白质
530	U77604	MGST2	微粒体谷胱甘肽 S-转移酶 2

531	M16279	MIC2	以单克隆抗体 12E7, F21 和 O13 鉴定的抗原
532	U38320	MMP19	基质金属蛋白酶 19
533	M93405	MMSDH	甲基丙二酸-半醛脱氢酶
534	AI140756	MP1	金属蛋白酶 1(pitrilysin 家族)
535	AA868815	MSL3L1	雄性特异性致死因子-3(果蝇)-样基因 1
536	X59657	MTP	微粒体甘油三酯转移蛋白(大型多肽, 88kD)
537	J05581	MUC1	粘蛋白 1, 跨膜蛋白
538	AA401638	MUL	Mulibrey 侏儒症
539	AA319638	MYH9	肌球蛋白, 重多肽 9,非肌肉
540	X85337	MYLK	肌球蛋白, 轻多肽激酶
541	D87930	MYPT1	肌球蛋白磷酸酶, 靶亚基 1
542	J02854	MYRL2	肌球蛋白调控轻链 2,平滑肌同种型
543	D50370	NAP1L3	核小体装配蛋白 1-样蛋白 3
544	AA906200	NAP4	Nck, Ash 和磷脂酶 C 结合蛋白
545	AA855085	NCOA4	核受体共激活剂 4
546	U22897	NDP52	核结构域 10 蛋白
547	AI088622	NDUFS2	NADH 脱氢酶(泛醌) Fe-S 蛋白 2(49kD)(NADH-辅酶 Q 还原酶)
548	Y00067	NEF3	神经丝 3(150kD 介质)
549	M58603	NFKB1	B-细胞中 κ 轻多肽基因增强子的核因子 1
550	U83843	NIP7-1	HIV-1 Nef 相互作用蛋白
551	AA707108	NKX3A	NK 同源框 (果蝇),家族 3,A
552	AA340728	NR2F2	核受体亚家族 2,F 组,成员 2
553	AA215284	NSF	N-乙基马来酰亚胺-敏感性因子
554	X55740	NT5	5'核苷酸酶(CD73)
555	X76732	NUCB2	核结合蛋白 2
556	AJ007558	NUP155	核孔蛋白 155kD
557	AA902823	NYD-SP12	NYD-SP12 蛋白
558	AA699559	NYD-SP15	蛋白质激酶 NYD-SP15
559	AI208877	NYD-SP21	睾丸发育相关性 NYD-SP21
560	AA729034	ODC1	鸟氨酸脱羧酶 1
561	AF012549	ODF2	精子尾外部密集纤维 2
562	AA889218	OGN	Osteoglycin(骨诱导因子, mimecan)
563	AA922747	OXR1	氧化抗性蛋白 1
564	M37721	PAM	肽基甘氨酸 α -酰胺化单加氧酶
565	X76770	PAP	poly(A)聚合酶
566	U02020	PBEF	前-B-细胞集落增强因子
567	AA626775	PCDHA5	原钙粘着蛋白 α 5

568	D84307	PCYT2	磷酸胞苷转移酶 2,乙醇胺
569	AA004890	PDCD8	凋亡因子 8(凋亡诱导因子)
570	AA400893	PDE1A	磷酸二酯酶 1A, 钙调蛋白依赖型
571	AI192411	PDGFRA	血小板衍生的生长因子受体, α 多肽
572	C05229	PK4	丙酮酸脱氢酶激酶, 同工酶 4
573	U79296	PDX1	丙酮酸脱氢酶复合物, 含硫辛酰成份 X; E3-结合蛋白
574	J00123	PENK	脑啡肽原
575	AF048755	PEX13	过氧化物酶体生物发生因子 13
576	D25328	PFKP	磷酸果糖激酶, 血小板
577	W58700	PHKB	磷酸化酶激酶, β
578	AA057243	PHRET1	视网膜中含 PH 结构域的蛋白质 1
579	AA515710	PIGN	磷脂酰肌醇聚糖, N 型
580	AA634825	PINK1	PTEN 诱导的推定激酶 1
581	U09117	PLCD1	磷脂酶 C, δ 1
582	AA777648	PMP22	外周髓鞘蛋白 22
583	AF023455	PPEF1	蛋白质磷酸酶, EF hand 钙结合结构域 1
584	AF034803	PPFIBP2	PTPRF 相互作用蛋白, 结合蛋白 2(liprin β 2)
585	Z50749	PPP1R7	蛋白质磷酸酶 1,调控亚基 7
586	M60484	PPP2CB	蛋白质磷酸酶 2(以前的 2A),催化性亚基, β 同种型
587	U37352	PPP2R5C	蛋白质磷酸酶 2,调控亚基 B(B56), γ 同种型
588	AI299911	PPP3CA	蛋白质磷酸酶 3(以前的 2B),催化性亚基, α 同种型(钙调磷酸酶 A α)
589	N29328	PPP4R1	蛋白质磷酸酶 4,调控亚基 1
590	X75756	PRKCM	蛋白质激酶 C, mu
591	AI357236	PRM1	鱼精蛋白 1
592	X07862	PRM2	鱼精蛋白 2
593	AI242370	PRND	朊病毒基因复合物, 下游
594	U51990	PRP18	相似于啤酒糖酵母 Prp18 的前-mRNA 剪接因子
595	Y00971	PRPS2	磷酸核糖基焦磷酸合成酶 2
596	D87258	PRSS11	蛋白酶, 丝氨酸, 11(IGF 结合蛋白)
597	M61900	PTGDS	前列腺素 D 合成酶基因
598	M57399	PTN	多效营养因子(pleiotrophin)(肝素结合生长因子 8,轴突生长启动因子 1)
599	W84417	RANBP9	RAN 结合蛋白 9
600	AA635922	RANGAP1	Ran GTPase 活化蛋白 1
601	AB008109	RGS5	G-蛋白信号传导调节蛋白 5

602	AA778308	RNASE1	核糖核酸酶, RNase A 家族, 1 (胰腺)
603	AA854469	RNF6	环指蛋白(C3H2C3 型)6
604	AI095724	RPL17	核糖体蛋白 L17
605	AF056929	SARCOSIN	肌节肌蛋白
606	Y13647	SCD	硬脂酰-CoA 去饱和酶(δ -9-去饱和酶)
607	AJ224677	SCRG1	瘙痒病反应蛋白 1
608	T36260	SEC23B	Sec23(啤酒糖酵母)同源物 B
609	AA401227	SEC31B-1	分泌途径成份 Sec31B-1
610	AA703667	SEC8	分泌蛋白, SEC8
611	AI026695	SENP1	Sentrin/SUMO-特异性蛋白酶
612	Z11793	SEPP1	含硒蛋白质 P, 血浆, 1
613	AF042081	SH3BGRL	SH3 结构域结合的富含谷氨酸的蛋白质样蛋白
614	AF036269	SH3GL3	SH3-结构域 GRB2-样蛋白 3
615	T35854	SIAH2	seven in absentia(果蝇)同源物 2
616	N53491	SIRT3	sir2-样蛋白 3
617	AA639599	SLC12A2	溶质载体家族 12 (钠/钾/氯转运蛋白), 成员 2
618	N30856	SLC19A2	溶质载体家族 19(硫胺素转运蛋白), 成员 2
619	M55531	SLC2A5	溶质载体家族 2(促进葡萄糖的转运蛋白), 成员 5
620	AA838741	SLC35A1	溶质载体家族 35(CMP-唾液酸转运蛋白), 成员 1
621	AA758636	SMAP	甲状腺激素受体共激活蛋白
622	M88163	SMARCA1	染色质的 SWI/SNF 相关性, 基质相关性, 肌动蛋白依赖型调节蛋白, 亚家族 a, 成员 1
623	W70141	SMARCA3	染色质的 SWI/SNF 相关性, 基质相关性, 肌动蛋白依赖型调节蛋白, 亚家族 a, 成员 3
624	AI222903	SMARCD2	染色质的 SWI/SNF 相关性, 基质相关性, 肌动蛋白依赖型调节蛋白, 亚家族 d, 成员 2
625	AI351686	SMOC1	分泌模块钙结合蛋白 1
626	AA946930	SNRPG	小核核糖核蛋白多肽 G
627	W56480	SOS1	son of sevenless (果蝇)同源物 1
628	Z46629	SOX9	SRY(性别决定区 Y)-盒 9 (campomelic dysplasia, 常染色体性别逆转)
629	AA760720	SPAG6	精子相关性抗原 6
630	AI459767	SPARCL1	SPARC-样蛋白 1(mast9, hevin)

631	AA779272	SPINK2	丝氨酸蛋白酶抑制剂, Kazal 型, 2 (项体蛋白-胰蛋白酶抑制剂)
632	M61199	SSFA2	精子特异性抗原 2
633	AI024234	SSTK	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 SSTK
634	U17280	STAR	类固醇生成急性调控蛋白
635	U14550	STHM	唾液酸转移酶
636	L77564	STK22B	丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 22B (精子形成相关性蛋白)
637	AA935437	STRIN	STRIN 蛋白
638	H10341	SULTX3	磺基转移酶相关性蛋白
639	AA643682	SUV39H2	杂色抑制蛋白 3-9(果蝇)同源物 2;假定蛋白质 FLJ23414
640	Z21437	TAF2G	TATA 盒结合蛋白(TBP)-相关性因子, RNA 聚合酶 II, G,32kD
641	AI093734	TAZ	含有 PDZ-结合基序的转录共激活蛋白 (TAZ)
642	AA628669	TBL2	转导素(β)-样蛋白 2
643	AI243203	TEX14	睾丸表达序列 14
644	S95936	TF	转铁蛋白
645	AA573143	TIMP2	金属蛋白酶的抑制剂 2
646	AI086204	TM4SF6	跨膜蛋白 4 超家族成员 6
647	U81006	TM9SF2	跨膜蛋白 9 超家族成员 2
648	L01042	TMF1	TATA 元件调控因子 1
649	X64559	TNA	四连蛋白(纤溶酶原结合蛋白)
650	X07948	TNP1	转换蛋白 1(组蛋白替换为精蛋白期间)
651	J04088	TOP2A	拓扑异构酶(DNA)II α (170kD)
652	U54831	TOP2B	拓扑异构酶(DNA)II β (180kD)
653	AA913471	TOPK	PDZ-结合激酶; T-细胞起源的蛋白激酶
654	X66397	TPR	易位启动子区(活化 MET 癌基因)
655	M25532	TPX1	睾丸特异性蛋白 1(探针 H4 p3)
656	X63679	TRAM	转运链相关性膜蛋白
657	AF064801	TRC8	肾癌中转移的修补相关性蛋白
658	AI346969	TRIM14	含三部分基序的基因 14
659	AF065388	TSPAN	四穿膜区(tetraspan) 1
660	AA432312	TSPYL	TSPY-样基因
661	AA456299	T-STAR	Sam68-样磷酸酪氨酸蛋白, T-STAR
662	X69490	TTN	肌联蛋白
663	AA709190	TUBA2	微管蛋白, α 2
664	X02308	TYMS	胸苷酸合成酶
665	AI344684	UBE2N	遍在蛋白-连接酶 E2N(与酵母 UBC13 同源)

666	AA416852	UBL3	遍在蛋白-样蛋白 3
667	N44888	UPF3A	相似于酵母 Upf3, 变形体 A
668	AA116022	USP18	遍在蛋白特异性蛋白酶 18
669	AA846445	USP6	遍在蛋白特异性蛋白酶 6(Tre-2 癌基因)
670	BG028760	USP7	遍在蛋白特异性蛋白酶 7(疱疹病毒相关性蛋白)
671	T29210	UTRN	肌养相关蛋白(与肌营养不良蛋白同源)
672	AI018129	VAMP4	泡囊相关性膜蛋白 4
673	D87459	WASF1	WAS 蛋白家族, 成员 1
674	S69790	WASF3	WAS 蛋白家族, 成员 3
675	AA364135	WDR10	WD 重复结构域 10
676	AA160764	WHSC1	Wolf-Hirschhorn 综合征候选物 1
677	X51630	WT1	Wilms 肿瘤 1
678	W55933	WW45	含 WW 结构域的基因
679	N66453	XPC	着色性干皮病, 补充组 C
680	D83407	ZAKI4	唐氏综合征决定区基因 1-样基因 1
681	M92843	ZFP36	与小鼠 Zfp-36 同源的锌指蛋白
682	X84801	ZNF165	锌指蛋白 165
683	AF017433	ZNF213	锌指蛋白 213
684	AA703988	ZNF259	锌指蛋白 259
685	AA897714	ZNF6	锌指蛋白 6 (CMPX1)
686	U54996	ZW10	ZW10(果蝇)同源物, 着丝粒/着丝点蛋白
687	AA936961	LOC57032	相应于乙酰辅酶 A 合成酶
688	AA234377	CL25022	假定蛋白质
689	N35437	DJ1181N3.1	假定蛋白质 DJ1181N3.1
690	Z20328	DKFZp434C0328	假定蛋白质 DKFZp434C0328
691	H19830	DKFZP434G156	假定蛋白质 DKFZp434G156
692	AI127752	DKFZP434I092	DKFZP434I092 蛋白质
693	T65389	DKFZP434J214	DKFZP434J214 蛋白质
694	AA284134	DKFZP434L243	DKFZP434L243 蛋白质
695	AI192351	DKFZP564B167	DKFZP564B167 蛋白质
696	AA865478	DKFZP564J0863	DKFZP564J0863 蛋白质
697	AI306435	DKFZP586A0522	DKFZP586A0522 蛋白质
698	AA709155	FLJ10134	假定蛋白质 FLJ10134
699	AA582581	FLJ10159	假定蛋白质 FLJ10159
700	AI076154	FLJ10283	假定蛋白质 FLJ10283
701	AA759066	FLJ10392	假定蛋白质 FLJ10392
702	AA452368	FLJ10582	假定蛋白质 FLJ10582
703	U69201	FLJ10761	假定蛋白质 FLJ10761
704	AA418149	FLJ10850	假定蛋白质 FLJ10850
705	AA775271	FLJ10914	假定蛋白质 FLJ10914

706	AA293776	FLJ10921	假定蛋白质 FLJ10921
707	AI221110	FLJ10980	假定蛋白质 FLJ10980
708	AA634293	FLJ11088	假定蛋白质 FLJ11088
709	D81610	FLJ11109	假定蛋白质 FLJ11109
710	AA056538	FLJ11210	假定蛋白质 FLJ11210
711	AA781142	FLJ11307	假定蛋白质 FLJ11307
712	AA214211	FLJ13110	假定蛋白质 FLJ13110
713	AI147953	FLJ20010	假定蛋白质
714	C00491	FLJ20121	假定蛋白质 FLJ20121
715	AK024920	FLJ20152	假定蛋白质
716	AA634416	FLJ20425	假定蛋白质 FLJ20425
717	AA809070	FLJ20535	假定蛋白质 FLJ20535
718	H20535	FLJ21324	假定蛋白质 FLJ21324
719	AI346388	FLJ21347	假定蛋白质 FLJ21347
720	AI016734	FLJ22104	假定蛋白质 FLJ22104
721	AA677445	H41	假定蛋白质
722	AA126461	HSA272196	假定蛋白质,克隆 2746033
723	AI003803	HSD-3.1	假定蛋白质
724	AI300283	IMPACT	假定蛋白质 IMPACT
725	D38521	KIAA0077	KIAA0077 蛋白质
726	D86984	KIAA0231	KIAA0231 蛋白质
727	D87438	KIAA0251	KIAA0251 蛋白质
728	D87465	KIAA0275	KIAA0275 基因产物
729	AF007170	KIAA0452	DEME-6 蛋白质
730	AA910738	KIAA0579	KIAA0579 蛋白质
731	N30392	KIAA0608	KIAA0608 蛋白质
732	AB014534	KIAA0634	KIAA0634 蛋白质
733	AI167680	KIAA0643	人 cDNA FLJ13257 fis,克隆 OVARC1000846,与核仁素微弱相似
734	AA506972	KIAA0668	KIAA0668 蛋白质
735	AA665890	KIAA0729	KIAA0729 蛋白质
736	N49366	KIAA0737	KIAA0737 基因产物
737	H09503	KIAA0740	KIAA0740 基因产物
738	AF052170	KIAA0750	KIAA0750 基因产物
739	AA234129	KIAA0863	KIAA0863 蛋白质
740	AA399583	KIAA0874	KIAA0874 蛋白质
741	H03641	KIAA0914	KIAA0914 基因产物
742	AI253232	KIAA0996	KIAA0996 蛋白质
743	AA339816	KIAA1028	KIAA1028 蛋白质
744	AI187395	KIAA1053	KIAA1053 蛋白质
745	AA056734	KIAA1110	KIAA1110 蛋白质
746	AI217997	KIAA1128	KIAA1128 蛋白质

747	AA037467	KIAA1165	假定蛋白质 KIAA1165
748	AA994997	KIAA1223	KIAA1223 蛋白质
749	W68261	KIAA1327	KIAA1327 蛋白质
750	AA781940	KIAA1336	KIAA1336 蛋白质
751	AI082425	KIAA1430	KIAA1430 蛋白质
752	AI243817	KIAA1494	人 cDNA: FLJ23073 fis,克隆 LNG05726
753	AA824313	KIAA1505	KIAA1505 蛋白质
754	D59339	KIAA1529	人 mRNA; cDNA DKFZp434I2420 (来自克隆 DKFZp434I2420)
755	AA044905	KIAA1596	KIAA1596 蛋白质
756	T34177	LOC51255	假定蛋白质
757	AA776749	LOC57821	假定蛋白质 LOC57821
758	R00068	PRO1580	假定蛋白质 PRO1580
759	AI302506	PRO1912	PRO1912 蛋白质
760	AF113020	PRO2463	PRO2463 蛋白质
761	AI218544	FLJ20425	假定蛋白质 FLJ20425
762	AI214973	KIAA1223	KIAA1223 蛋白质
763	AI215074		人 cDNA FLJ11095 fis,克隆 PLACE1005374
764	AA587860		人 cDNA FLJ11205 fis,克隆 PLACE1007843
765	AA043562		人 cDNA FLJ11667 fis,克隆 HEMBA1004697
766	AI277493		人 cDNA FLJ11756 fis,克隆 HEMBA1005595,与胞质动力蛋白重链 微弱相似
767	AI078809		人 cDNA FLJ12627 fis,克隆 NT2RM4001813,与凝集素 BRA-2 微弱 相似
768	AI028392		人 cDNA FLJ13229 fis,克隆 OVARC1000106
769	AA830551		人 cDNA FLJ13848 fis,克隆 THYRO1000855
770	AA853955		人 cDNA FLJ13992 fis,克隆 Y79AA1002139,与 DNAJ 蛋白同源物 1 微弱相似
771	AA320463		人 cDNA: FLJ21127 fis,克隆 CAS06212
772	AA393838		人 cDNA: FLJ21849 fis,克隆 HEP01928
773	AA400674		人 cDNA: FLJ21962 fis,克隆 HEP05564
774	AA148493		人 cDNA: FLJ22300 fis,克隆 HRC04759

775	AA411157	人 cDNA: FLJ22448 fis,克隆 HRC09541
776	AA631197	人 cDNA: FLJ22477 fis,克隆 HRC10815
777	T65582	人 cDNA: FLJ22637 fis,克隆 HSI06677
778	AI192127	人 cDNA: FLJ22712 fis,克隆 HSI13435
779	AA148566	人 cDNA: FLJ22790 fis,克隆 KAIA2176,与 HUMPMCA 人原生质膜 钙泵 ATPase (PMCA4) mRNA 高度相似
780	AA633352	人 cDNA: FLJ23067 fis,克隆 LNG04993
781	AI084531	人 cDNA: FLJ23093 fis,克隆 LNG07264
782	AA450190	人 cDNA: FLJ23316 fis,克隆 HEP12031
783	AA975521	人 cDNA: FLJ23518 fis,克隆 LNG04878
784	AI097058	人 cDNA: FLJ23538 fis,克隆 LNG08010,与 $\beta 2$ 人 MEN1 区克隆 ϵ/β mRNA 高度相似
785	AA405953	人染色体 11 未知 mRNA 序列
786	N32181	人克隆 25056 mRNA 序列
787	AA262802	人克隆 SP329 未知 mRNA
788	AA293837	人 GKAP42 (FKSG21) mRNA,完整编码 区
789	AA970955	人 mRNA; cDNA DKFZp434B0610 (来 自克隆 DKFZp434B0610);部分编码区
790	AA843455	人 mRNA; cDNA DKFZp434E232 (来自 克隆 DKFZp434E232)
791	AA421199	人 mRNA; cDNA DKFZp434L0217 (来 自克隆 DKFZp434L0217);部分编码区
792	AA393597	人 mRNA; cDNA DKFZp434P2072 (来 自克隆 DKFZp434P2072);部分编码区
793	AA976808	人 mRNA; cDNA DKFZp564C046 (来自 克隆 DKFZp564C046)
794	AI280901	人 mRNA; cDNA DKFZp564D016 (来自 克隆 DKFZp564D016)
795	AA443685	人 mRNA; cDNA DKFZp564H142 (来自 克隆 DKFZp564H142)
796	N41310	人 mRNA; cDNA DKFZp564P046 (来自 克隆 DKFZp564P046)
797	AI299718	人 mRNA; cDNA DKFZp586B1922 (来 自克隆 DKFZp586B1922)

798	AA280818		人 mRNA; cDNA DKFZp586G2222 (来自克隆 DKFZp586G2222)
799	AI150152		来自 7q34-q36 的人 PAC 克隆 RP5-981O7
800	AI016755		人 ropporin mRNA,完整编码区
801	AI014769		人 TRAF4 相关性因子 1 mRNA,部分编码区
802	AA004698		人遍在蛋白-样融合蛋白 mRNA,完整编码区
803	AA431698		来自染色体 20p11.212.3 上的克隆 1068E13 的人 DNA 序列。含有两个推定的新基因,一个新蛋白质的基因相似于牛 SCP2(固醇载体蛋白 2)和部分 HSD17B4(羟基类固醇(17-β)脱氢酶 4),EEF1A1(
804	AA126472		来自染色体 6q135 上的克隆 747H23 的人 DNA 序列。含有可溶性苹果酶 1(NADP-依赖型苹果酶,苹果酸氧化还原酶, EC 1.1.1.40)的 ME1 基因的 3'部分,一个新基因和 N-乙酰葡萄糖胺基因的 5'部分
805	AA651872		来自染色体 6q24.1-25.2 上的克隆 RP12G14 的人 DNA 序列。含有新亲环蛋白型肽基-脯氨酰顺-反异构酶基因的 5'端,一个新基因, RPS18(40S 核糖体蛋白 S18)假基因, KATNA1 基因的 3'端
806	A25270		IFN-γ 拮抗剂细胞因子
807	AA650281		很可能是小鼠肿瘤坏死-α-诱导的脂肪-相关性蛋白的直向同源基因
808	AI015633		溶质载体家族 26,成员 8
809	N47682	KIAA1673	ESTs
810	AA578684	KIAA1674	ESTs
811	Z21254	KIAA1771	ESTs,与无名蛋白产物微弱相似[人]
812	R61253	KIAA1877	ESTs
813	W67209	KIAA0251	ESTs,与 p53 调控的 PA26-T2 核蛋白中等相似[人]
814	AA609891		EST
815	W86641		EST
816	AA815470		EST
817	AA992324		EST
818	AA446449		EST

819	AI004873	EST
820	AI093982	EST
821	AA393055	ESTs
822	AI168436	ESTs
823	AA809072	ESTs
824	AA926704	ESTs
825	AI183575	ESTs
826	AA121865	ESTs
827	AA725836	ESTs
828	AA621076	ESTs
829	AI018394	ESTs
830	AA885079	ESTs
831	AI148659	ESTs
832	AA460513	ESTs
833	AA758005	ESTs
834	AA868233	ESTs
835	AA488768	ESTs
836	AA496024	ESTs
837	AA496252	ESTs
838	AI339257	ESTs
839	T64080	ESTs
840	AA844729	ESTs
841	AI041148	ESTs
842	AA813319	ESTs
843	AI138555	ESTs
844	AA633536	ESTs
845	AA688025	ESTs
846	U51712	ESTs
847	N50822	ESTs
848	R38569	ESTs
849	AA889533	ESTs
850	AA629398	ESTs
851	AA628190	ESTs
852	AI041289	ESTs
853	AI204513	ESTs
854	AA001410	ESTs
855	AI027500	ESTs
856	AA658107	ESTs
857	AA923244	ESTs
858	AA723819	ESTs
859	AA437069	ESTs
860	AA400934	ESTs

861	M32093	ESTs
862	AA262466	ESTs
863	AA897137	ESTs
864	AA446184	ESTs
865	AA036631	ESTs
866	H86103	ESTs
867	AA401541	ESTs
868	H05826	ESTs
869	AA406039	ESTs
870	AA448082	ESTs
871	AA446064	ESTs
872	H81935	ESTs
873	AA889152	ESTs
874	AI127656	ESTs
875	AI033705	ESTs
876	AI138800	ESTs
877	AI183653	ESTs
878	AA969732	ESTs
879	AI024328	ESTs
880	AA913732	ESTs
881	AA397520	ESTs
882	AI025509	ESTs
883	AA382504	ESTs
884	AI341170	ESTs
885	AA909257	ESTs
886	AA812677	ESTs
887	AA416673	ESTs
888	AA972840	ESTs
889	W31789	ESTs
890	AI261804	ESTs
891	AI091533	ESTs
892	AA991994	ESTs
893	AI024578	ESTs
894	AI040955	ESTs
895	AA953477	ESTs
896	AA846324	ESTs
897	AA417966	ESTs
898	AA150262	ESTs
899	AA724720	ESTs
900	AI031941	ESTs
901	AA620800	ESTs
902	AA813092	ESTs

903	AA101229	ESTs
904	AA025055	ESTs
905	AA382809	ESTs
906	R60655	ESTs, 与人 ESTs AA412402 证实的 AC005534 2 高度相似 [人]
907	AA521265	ESTs,与 AF117065 1 雄性-特异性致死 因子-3 同源物 1 高度相似[人]
908	D50640	ESTs,与 CN3B_人 CGMP-抑制型 3',5'- 环磷酸二酯酶 B 高度相似[人]
909	W44613	ESTs,与在 Fanconi 贫血症中差异表达 的基因高度相似[人]
910	AA400550	ESTs,与 ALU4_人 ALU 亚家族 SB2 序 列污染预警登录序列中等相似 [人]
911	AA648782	ESTs,与 GNPI_人葡糖胺-6-磷酸异构酶 中等相似[人]
912	AA496122	ESTs,与 KIAA1165 蛋白中等相似[人]
913	AI039250	ESTs,与 p60 剑蛋白中等相似[人]
914	AI187883	ESTs,与肌动蛋白结合蛋白 MAYVEN 微弱相似[人]
915	AA865734	ESTs,与 AF141326 1 RNA 解旋酶 HDB/DICE1 微弱相似[人]
916	D20934	ESTs,与 AF148856 1 未知蛋白微弱相似 [人]
917	AI434204	ESTs,与 Afg1p 微弱相似[啤酒糖酵母]
918	AA876372	ESTs,与 ALU1_人 ALU 亚家族 J 序列污 染预警登录序列微弱相似[人]
919	AI150114	ESTs,与 ALU1_人 ALU 亚家族 J 序列污 染预警登录序列微弱相似[人]
920	AA533191	ESTs,与 ALU7_人 ALU 亚家族 SQ 序列 污染预警登录序列微弱相似[人]
921	AA885514	ESTs,与 CAYP_人钙磷蛋白微弱相似 [人]
922	AA960902	ESTs,与 COXM_人细胞色素 C 氧化酶 多肽 VIIB PRECURSO 微弱相似[人]
923	AI336338	ESTs,与 dJ1108D11.1 微弱相似[人]
924	AI208582	ESTs,与 dJ134E15.1 微弱相似[人]
925	AA927467	ESTs,与 I38428 T-复合物蛋白 10A 微弱 相似[人]
926	AA789329	ESTs,与剑蛋白 p80 亚基微弱相似[人]
927	AA453640	ESTs,与 KCC1_人钙/钙调蛋白依赖型 蛋白激酶 I 型微弱相似[人]
928	AA744373	ESTs,与 KIAA1006 蛋白微弱相似[人]

929	AA393227	ESTs,与 KIAA1016 蛋白质微弱相似 [人]
930	AI126471	ESTs,与 MRJ 微弱相似[人]
931	AA843459	ESTs,与 PRP2 小鼠富含脯氨酸的蛋白质 MP-2 前体微弱相似[M.musculus]
932	R79064	ESTs,与推定的 III 型乙醇脱氢酶微弱相似[D.melanogaster]
933	AA708149	ESTs,与人 ADP/ATP 载体蛋白微弱相似[C.elegans]
934	AA946954	ESTs,与睾丸缩合酶微弱相似 [M.musculus]
935	AA045194	ESTs,与睾丸筑丝蛋白 B1-样蛋白微弱相似[人]
936	AA223199	ESTs,与未知基因产物微弱相似[人]
937	AA843452	ESTs,与 SP:YAD5 CLOAB 微弱相似 [C.elegans]
938	AI224867	ESTs,与锌指蛋白微弱相似[人]
939	AI024879	ESTs,与透明带结合蛋白微弱相似[人]

表 5 在睾丸精原细胞瘤中具有已知功能的代表性上调基因

TS 编号	登录号	标记	基因名称
与信号转导途径相关的基因			
107	D87116	MAP2K3	促细胞分裂剂活化的蛋白激酶激酶 3
97	AA845512	KLF4	Kruppel-样因子 4 (肠)
108	AA583183	MAP4K3	促细胞分裂剂活化的蛋白激酶激酶 激酶激酶 3
162	AA346311	RAI3	视黄酸诱导的基因 3
163	M29893	RALA	v-ral 猿猴白血病病毒癌基因同源物 A(ras 相关性)
120	M13228	MYCN	v-myc 鸟髓细胞瘤病病毒相关性癌基 因,成神经细胞瘤衍生的基因
与癌发生相关的基因			
153	AF045584	POV1	前列腺癌过度表达基因 1
147	M16750	PIM1	pim 癌基因
148	U77735	PIM2	pim-2 癌基因
225	AA465240	VAV2	vav 2 癌基因
170	X12949	RET	ret 原癌基因
与细胞周期相关的基因			
20	AA682870	CCND2	细胞周期蛋白 D2

25	M81934	CDC25B	细胞分裂周期 25B
与细胞粘着和细胞骨架相关的基因			
92	Z68228	JUP	连接斑珠蛋白
45	AA128470	DSP	桥粒斑蛋白(DPI, DPII)
26	X63629	CDH3	钙粘着蛋白 3, 1 型, P-钙粘着蛋白 (胎盘)
96	U06698	KIF5A	驱动蛋白家族成员 5A

半定量RT-PCR

选择29个上调基因并通过应用半定量RT-PCR实验检查其表达水平。使用随机引物(Roche)和Superscript II (Life Technologies, Inc.)从各样品aRNA的3- μ g等分试样逆转录单链cDNAs。稀释各cDNA混合物用于随后使用制备靶DNA- 或 α -tubulin-特异性反应的相同引物组进行PCR扩增。引物序列在表2中列出。 α -tubulin的表达用作内部对照。对PCR反应进行多轮优化以确保产物强度在扩增的线性期内。比较在几乎所有提供信息的病例中其表达为过量表达的29个上调基因(CCND2, GIP, H1F2, NMA, PIM2, POV1, PRDM4, PTMS, RAI3, PYPAF3, T1A-2, TCOF1, TGIF2, FLJ10713, FLJ20069, KIAA0456, KIAA1198, DKFZp434K0621, EST(270), FLJ13352, FLJ12195, EST(285), NCOA6IP, EST(295), PLXNA2, EST(311), EST(320), LOC152217, EST(341))的表达水平的比率, 结果与在绝大多数试验病例的微阵列分析的结果高度相似(图1,图2A)。

表2: RT-PCR的引物序列

TS 编号	基因	正向引物	SEQ ID NO	反向引物	SEQ ID NO
20	CCND2	5'-TGATCAGTGTATG CGAAAAGGT-3'	1	5'-GGTCAAGGTGAGTT TATTGTCCA-3'	2
59	GIP	5'-TTGCCATGGACA AGATTCAC-3'	3	5'-TTGTCTGATCCAGC AAGCAG-3'	4
70	H1F2	5'-CGGAACCAAACC TAAGAAGC-3'	5	5'-CTTCACAGCCTTAG CAGCACTT-3'	6
130	NMA	5'-CCTCTGCAAACA GAATCTTG-3'	7	5'-AAGATGTAGAAGCT TACATAGGGCA-3'	8
148	PIM2	5'-GGAAATAAGGCT TGCTGTTTGT-3'	9	5'-AATAGTGGGTTTCC ACACATGG-3'	10
153	POV1	5'-CACAAACATGCAA TGTGTCTGTG-3'	11	5'-TCCTCTAAGACTTG CAAGCAGC-3'	12
156	PRDM4	5'-CATGAAGGAAAA CGGGATTATG-3'	13	5'-GTGCAGAAAGAGAC TCATCCG-3'	14

159	PTMS	5'-TCCCACCTAACCT CTGCATC-3'	15	5'-GAAGCGCGACCATT TCTTTA-3'	16
162	RAI3	5'-GGCTGATACTTCT CTCATCTTGC-3'	17	5'-GCCACCACATCTTT ATTGCATAC-3'	18
171	PYPAF3	5'-TGGGGTTCTAAG ACAAAGAACTG-3'	19	5'-GTGAGAAAACCAGT GTCAAATCC-3'	20
209	T1A-2	5'-TGCTGGTGCTATT TACTGACGTA-3'	21	5'-AAAAGACCGTTTCT GACTCTGTG-3'	22
212	TCOF1	5'-AAGTGACCTCCTC TCCTTCC-3'	23	5'-CACCCCTTCCTCCAA GTCTTTTAT-3'	24
214	TGIF2	5'-GAACCCAGTGGA TGTAACAGAAC-3'	25	5'-TACTGCAGAGACTT AGCTGGTCC-3'	26
240	FLJ1071 3	5'-ACTTATAGTCCTG CGAGTCTGGG-3'	27	5'-GGCAGGAGAGAAG AACATCTTG-3'	28
244	FLJ2006 9	5'-CATCTCCTTTGTT TCGATAGGA-3'	29	5'-GATCACTGTGGGTC TTAAGCAA-3'	30
253	KIAA04 56	5'-GGGCTGGTGCAG ATCTACTT-3'	31	5'-TCCAACATCTGTTG AGTGACAGT-3'	32
259	KIAA11 98	5'-CACTCAGAATTCT TACCTCCCCT-3'	33	5'-GTGATGTGAAGCAA GGTAGTTCC-3'	34
267	DKFZp4 34K0621	5'-GCCAAAAATGGC TCTCTAGG-3'	35	5'-CAGACACGCACTTG TGGTTTATT-3'	36
270	EST	5'-GTGTCCACTTAGA GCCTCACG-3'	37	5'-ATCCTTCTTCCTATA CTCCCCC-3'	38
278	FLJ1335 2	5'-TTTAATCAGGCCC TGTCTGC-3'	39	5'-GGGGTATAGAAATG GAATGGAGA-3'	40
282	FLJ1219 5	5'-CTGGAAGAAGAA GGAACAGGTCT-3'	41	5'-GGTTGCTGAGATTT TATCTGTGG-3'	42
285	EST	5'-CAAATGCTCTGCT TTGTACTCCT-3'	43	5'-CATGAATGAGCCTG AAATAGTCC-3'	44
287	NCOA6I P	5'-CGGGAGGATTGT AAGATACTGTG-3'	45	5'-ACTTCTCATGAGTT CAGCCTCAG-3'	46
295	EST	5'-GTAGATGTGGGG ACAACAGAGAG-3'	47	5'-TTTAAAGTCACCTT AGGTTGGGG-3'	48
303	PLXNA2	5'-GTTTTTGTGGGGA CTAAGAGTG-3'	49	5'-GGAGGAAGTAGCTA GAAGCTAAG-3'	50
311	EST	5'-CTTTTCCCACAAG AACCATTTC-3'	51	5'-CTGGTGTAATCAGA CACCACGTA-3'	52
320	EST	5'-CTCATCTGTACCC TCACTGGGAT-3'	53	5'-CTAAAGTCTCCCAG TTTCCCCT-3'	54
337	LOC152 217	5'-AAGCCAGAGAGC CTTTCCTC-3'	55	5'-CGGTATTCTTAACA CATCTTGCC-3'	56
341	EST	5'-ACCTAACGTTTGT GCCTTATGTG-3'	57	5'-AGGTTGGAAGATCC ATTCCTT-3'	58

TUBA	5'-CTTGGGTCTGTAA CAAAGCATTC-3'	59	5'-AAGGATTATGAGGA GGTTGGTGT-3'	60
β 2MG	5'-TTAGCTGTGCTCG CGCTACT-3'	61	5'-TCACATGGTTCACA CGGCAC-3'	62

实施例3: 设计成减少PYPAF3表达的siRNA的生长抑制效应

通过cDNA微阵列分析全基因组的表达谱, 我们分离了用于诊断性肿瘤标记, 睾丸生殖细胞肿瘤的治疗和预防的新分子靶。在睾丸精原细胞瘤中普遍上调的基因中, 我们注意到含有PYRIN的Apaf-1-样蛋白3 (PYPAF3(NM_139176)), 通过半定量RT-PCR分析与包括睾丸, 心脏, 肺, 肝脏, 肾, 脑和骨髓的正常人器官相比, 在具有睾丸精原细胞瘤的8个病例中有7个其显著上调。尽管目前我们将PYPAF3鉴定为睾丸精原细胞瘤中的上调基因(bulid #160), 但是我们最初使用代表从国家生物技术信息中心的Unigene数据库(build #131)检索的23,040个基因的cDNA微阵列通过表达谱将该基因列为RMP:RMB5-介导的蛋白质。

使用 *PYPAF3* cDNA 片段作为探针进行的多组织 Northern 印迹分析揭示了仅在睾丸中表达的大约 3.3kb 的转录子。免疫细胞化学试验揭示了 *PYPAF3* 蛋白质存在于整个细胞质中。转染 *PYPAF3* 的小干扰 RNA (siRNA) 可抑制 *PYPAF3* 的 mRNA 表达和睾丸生殖细胞肿瘤细胞的细胞生长。这些发现表明 *PYPAF3* 可能与睾丸精原细胞瘤的肿瘤发生相关, 并提供了用于睾丸生殖细胞肿瘤的靶向治疗开发的有希望的候选物。

细胞系和组织样品

COS-7 细胞和 Tera-2 细胞从美国典型培养物保藏中心(ATCC, Rockville, MD)获得。所有的细胞系在补充了 10% 胎牛血清和 1% 抗生素/抗霉菌溶液 (Sigma, St. Louis, MO) 的合适培养基中以单层生长, Dulbecco's 改良的 Eagle's 培养基 (Sigma) 用于 COS-7 McCoy's 5A (Invitrogen, Carlsbad CA), 并在 37°C 下含有 5% CO₂ 的潮湿空气中维持。

半定量 RT-PCR

正常人睾丸, 心脏, 肺, 肾, 肝脏, 脑, 和骨髓 poly(A)⁺ RNA 通过 Clontech (Palo Alto, CA) 获得。来自各样品的扩增 RNA 的 3- μ g 等分试样使用随机引物 (Roche) 和 Superscript II 逆转录酶 (Invitrogen) 逆转录成单链 cDNAs。稀释各单链 cDNA 用于随后的 PCR 扩增。在 20ml 体积的 PCR 缓冲液 (Takara, Kyoto, Japan) 中完成标准 RT-PCR 程序, 扩增在 94°C 变性 5 分钟, 接着进行

94°C 30 秒, 55°C 30 秒和 72°C 30 秒的 22 个(对于 TUBA3)或 31 个(对于 PYPAF3)循环。引物序列如下: 对于 TUBA3, 正向引物 5'-CTTGGGTCTGTAA CAAAGCATTC-3' (SEQ ID NO:59), 反向为 5'-AAGGATTATGAGGAGGTT GGTGT-3'(SEQ ID NO:60); 对于 PYPAF3, 正向为 5'-TGGGGTTCTAAGACAAAGAACTG-3' (SEQ ID NO:19), 反向为 5'-GTGAGAAAACCAGTGTCAAATCC-3' (SEQ ID NO:20)。

Northern 印迹分析

人多组织印迹(Clontech)与作为探针的 ³²P-标记的 PYPAF3 cDNA 片段进行杂交。按上述通过 RT-PCR 制备 cDNA。按照厂商的建议进行预杂交, 杂交和洗涤。印迹用增感屏在-80°C 下进行放射自显影 7 天。

免疫细胞化学染色

使用正向引物 5'-CGCGGATCCCCTACTATGACATCGCCCCAGC-3' (SEQ ID NO:63)和反向引物 5'-CCGCTCGAGGCAAAAAAAGTCACAGCACGG-3' (SEQ ID NO:64)通过 RT-PCR 扩增 PYPAF3 的完整编码区。PCR 产物用 BamH1 和 Xho1 消化后, 将它克隆进质粒载体 pcDNA3.1-myc/His (Invitrogen) 的合适克隆位点。COS7 细胞用与 FuGene6 转染剂(Roche, Basel, Switzerland) 混合的 pcDNA3.1(+)-PYPAF3-myc/His 转染。COS7-衍生的瞬时转染子用 PBS(-)洗涤两次, 用 4% 低聚甲醛溶液在 4°C 下固定 15 分钟, 用含有 0.1% Triton X-100 的 PBS(-)使其通透 2.5 分钟。细胞用含有 3% BSA 的 PBS(-)覆盖 60 分钟以便在与第一抗反应前封闭非特异性抗体结合位点。PYPAF3 蛋白质用小鼠抗人 c-Myc 9E10 抗体(Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA)作为第一抗且山羊抗小鼠 FITC (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA)作为第二抗进行检测。细胞核用 4',6'-二脒-2'-苯基吲哚二氢氯化物 (Vector Laboratories, Burlingame, CA)复染。用 Eclipse E800 显微镜(Nikon, Tokyo, Japan)获得荧光图像。

用小干扰 RNA (siRNA) 处理睾丸生殖细胞肿瘤细胞

通过 RNA 聚合酶 III 转录 U6RNA 基因产生在 3' 端含尿苷的短转录子。我们使用引物 5'-TGGTAGCCAAGTGCAGGTTATA-3'(SEQ ID NO:65), 和 5'-CCAAAGGGTTTCTGCAGTTTCA-3'(SEQ ID NO:66)和人胎盘 DNA 作模板通过 PCR 扩增了含 U6RNA 启动子区的基因组片段。纯化该产物并使用 TA 克隆试剂盒按照厂商方案(Invitrogen)克隆进 pCR2.1 质粒载体。纯化含有

U6RNA 的 BamHI, XhoI 片段并克隆进 pcDNA3.1(+)的核苷酸 56 和 1257 之间, 使用引物 5'-TGCGGATCCAGAGCAGATTGTACTGAGAGT-3'(SEQ ID NO:67)和 5'-CTCTATCTCGAGTGAGGCGGAAAGAACCA-3'(SEQ ID NO:68)通过 PCR 扩增该片段。连接的 DNA 成为用引物 5'-TTTAAGCTTGAAGACCA TTTTGGAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAACA-3' (SEQ ID NO:69) 和 5'-TTTAAGCTTGAAGACATGGGAAAGAGTGGTCTCA-3' (SEQ ID NO:70) 进行 PCR 扩增的模板。用 HindIII 消化该产物并随后自我连接以产生 psiU6BX 载体质粒。抗 PYPAF3 的 siRNA 表达载体(psiU6BX-PYPAF3)和对照质粒(psiU6BX-EGFP, psiU6BX-Luciferase)通过将表 6 的双链寡核苷酸克隆进 psiU6BX 载体的 BbsI 位点来制备。各 siRNA 表达载体用 Fugene6 (Roche) 转染进内源性表达 PYPAF3 的睾丸生殖细胞肿瘤细胞系 Tera-2 中。通过 Geneticin (Invitrogen)选择后, 通过集落形成试验使用吉姆萨染色评估两周后的细胞增殖并通过细胞计数试剂盒-8 (Dojindo, Kumamoto, 日本)评估一周后的细胞增殖(39)。通过半定量 RT-PCR 鉴定 PYPAF3 mRNA 的敲除效应。

通过半定量 RT-PCR 证实睾丸精原细胞瘤中的 PYPAF3 表达

我们使用 cDNA 微阵列分析了 13 个患者睾丸精原细胞瘤中 23,040 个基因的基因表达谱(12)。在上调基因中, 我们注意到 PYPAF3 在 8 个提供信息的病例中有 7 个过量表达, 该基因的信号强度比睾丸精原细胞瘤患者中的临界值更高。另外, 我们进行了半定量 RT-PCR 分析, 然后证实了与正常人睾丸, 心脏, 肺, 肝脏, 肾, 脑和骨髓相比在 8 例精原细胞瘤中有 7 例的 PYPAF3 表达提高(图 2A)。

多组织 Northern 印迹分析和 PYPAF3 蛋白的亚细胞定位

使用 PYPAF3 cDNA 片段作为探针的 Northern 分析(见材料和方法)揭示了一个仅在睾丸中表达的大约 3.3kb 的转录子(图 2B)。另外, 为了研究 PYPAF3 蛋白质在哺乳动物细胞中的作用, 我们构建了一个质粒来表达 myc-标记的 PYPAF3 蛋白质(见材料和方法)。当该质粒 DNA 瞬时转染进 COS-7 细胞中时, 标记的 PYPAF3 蛋白质存在于转染细胞的整个细胞质中(图 3)。

设计成减少 PYPAF3 表达的小干扰 RNA (siRNA)的生长抑制效应

为了评估 PYPAF3 的生长促进作用, 我们借助于以哺乳动物载体为基础的 RNA 干扰(RNAi)技术敲除睾丸生殖细胞肿瘤细胞系 Tera-2 细胞中的内源性 PYPAF3 表达并检查对细胞生长的影响(参见材料和方法)。如图 4a 所示,

导入psiU6BX-PYP AF3 (Si 4)清楚地降低了Tera-2细胞系中PYP AF3转录子的表达而用对照质粒(psiU6BX-EGFP 和psiU6BX-Luciferase siRNA表达载体)转染的细胞中观察到无影响。为了证实psiU6BX-PYP AF3降低该基因特异性生长,我们对相同的两个细胞系进行了集落形成试验;如图4b和4c所示,导入psiU6BX-PYP AF3 (Si 4)显著抑制Tera-2细胞的生长,与上述降低表达的结果一致,而导入Si 3显著抑制Tera-2细胞的生长,尽管显示PYP AF3转录子水平的敲除几乎无减少。另外,MTT试验还表明使用psiU6BX-PYP AF3 (Si 3和Si 4)抑制PYP AF3表达时显著抑制Tera-2细胞的生长(图4a, b)。每个结果都通过三个独立的实验进行了证实。

表 6. PYP AF3 的小干扰 RNA 的寡核苷酸序列

			SEQ ID NO
Si1	有义	5'-CACCGAGGCTGATGGCAAGAACT TCAAGAGAGTTTCTTGCCATCAGCCTC-3'	71
	反义	5'-AAAAGAGGCTGATGGCAAGAACT CTCTTGAAGTTTCTTGCCATCAGCCTC-3'	72
Si2	有义	5'-CACCGAGATGAATCTCACGGAATTT CAAGAGAATTCCGTGAGATTCATCTC-3'	73
	反义	5'-AAAAGAGATGAATCTCACGGAATTC TCTTGAAATTCCGTGAGATTCATCTC-3'	74
Si3	有义	5'-CACCGTAGGACACTTCTTATTCGTT CAAGAGACGAATAAGAAGTGTCCTAC-3'	75
	反义	5'-AAAAGTAGGACACTTCTTATTCGTT CTCTTGAACGAATAAGAAGTGTCCTAC-3'	76
Si4	有义	5'-CACCGTGATGCATTGTTCTTCATT CAAGAGATGAAGGAACAATGCATCAC-3'	77
	反义	5'-AAAAGTGATGCATTGTTCTTCATC TCTTGAATGAAGGAACAATGCATCAC-3'	78
Si5	有义	5'-CACCGCTTGGCTGTAGATATCTCTT CAAGAGAGAGATATCTACAGCCAAGC-3'	79
	反义	5'-AAAAGCTTGGCTGTAGATATCTCTC TCTTGAAGAGATATCTACAGCCAAGC-3'	80
SiEGFP	有义	5'-CACCGAAGCAGCACGACTTCTTCT TCAAGAGAGAAGAAGTCGTGCTGCTTC-3'	81
	反义	5'-AAAAGAAGCAGCACGACTTCTTCTCT CTTGAAGAAGAAGTCGTGCTGCTTC-3'	82
SiLuciferase	有义	5'-CACCGTGCCTGCTGGTGCCA CTCTTGAAGTTGGCACCAGCAGCGCAC-3'	83
	反义	5'-AAAAGTGCCTGCTGGTGCCA CAAGAGAGTTGGCACCAGCAGCGCAC-3'	84

工业实用性

通过结合激光获取解剖和全基因组cDNA微阵列获得的对本文所述的TS的基因表达分析鉴定了作为癌症预防和治疗靶的特异性基因。根据这些差异表达基因的亚组表达,本发明提供了用于鉴定或检测TS的分子诊断标记。

本文所述的方法也用于鉴定其它的分子靶用于预防,诊断和治疗TS。本文报道的数据增加了对TS的全面了解,有利于开发新的诊断策略,并提供了鉴定用于治疗性药物和预防剂的分子靶的线索。该信息有助于更深入地了解睾丸肿瘤发生,并提供了开发用于诊断,治疗,和最终预防TS的新策略的指导。

本文引证的所有专利,专利申请,和出版物以其整体引用以供参考。另外,尽管详细地并以其具体实施方式描述了本发明,但是对于本领域的技术人员而言显而易见的是可在其中进行各种改变和修饰而不偏离本发明的实质和范围。

参考文献

1. Chaganti, R.S.K.和Houldsworth,J. 成人男性生殖细胞肿瘤的遗传学和生物学。Cancer Res., 60: 1475-1482, 2000。
2. Bergstorm, R., Adami, H.O., Mohner, M., Zatonski, W., Storm, H., Ekblom, A., Tretli, S., Teppo, L., Akre, O.,和Hakulinen, T. 在6个欧洲国家中睾丸癌症增加: 一种出生地的群体现象。J Natl. Cancer Inst., 88: 727-733, 1996。
3. Zheng, T., Holford, T.R., Ma, Z., Ward, B.A., Flannery, J.,和Boyle, P.在年青成年人中生殖细胞睾丸癌症发生率持续增加: 来自1935-1992年美国Connecticut的经验。Int. J. Cancer, 65: 723-729, 1996。
4. Dieckmann KP和Pichlmeier U. 家族性睾丸癌症的流行: 两个患者群体的分析和文献综述。Cancer 80: 1954-1960, 1997。
5. 英国睾丸癌症研究小组。睾丸癌症的病原学: 与先天性异常, 青春期年龄, 不育症, 和锻炼的相关性。Br Med J 308: 1393-1399, 1994。
6. Dong C, Lonnstedt I,和Hemminki K. 家族性睾丸癌症和睾丸癌症患者中组织学类型上的第二原发性癌症。Eur J Cancer 37: 1878-1885, 2001。
7. Smiraglia, D.J., Szymanska,J., Kraggerud S.M.K., Lothe, R.A., Peltomaki, P., 和Plass, C. 精原细胞瘤和非精原细胞瘤睾丸生殖细胞肿瘤中的不同后生表型。Oncogene, 21: 3909-3916, 2002。
8. Richie, J.P. Neoplasms of the testis. In: Walsh, P.C., Retik, A.B., Vaughan

- E.D.Jr., and Wein, A.J. *Cambell's Urology Seventh Edition*, pp2411-2452. Philadelphia: W.B Saunders Co., 1998.
9. Van Brussel, J.P. 和 Mikisch, G.H.J. 前列腺和睾丸癌症的预后因素。 *BJU International*, 83: 910-917, 1999.
 10. Ottesen AM, Kirchhoff M, De-Meyts ER, Maahr J, Gerdes T, Rose H, Lundsteen C, Petersen PM, Philip J, 和 Skakkebaek NE. 使用比较基因组杂交检测精原细胞瘤生殖细胞肿瘤中的染色体畸变。 *Genes Chromosomes Cancer* 20: 412-418, 1997.
 11. Takayama, H., Takakuwa, T., Tsujimoto, Y., Tani, Y., Nonomura, N., Okuyama, A., Nagata, S., 和 Aozasa K. 睾丸生殖细胞肿瘤中的常见Fas基因突变。 *Am J Pathol.*, 161: 635-641, 2002.
 12. Strohmeyer, T., Reese, D., Press, M., Ackermann, R., Hartmann, M., 和 Slamon, D. 正常和恶性人睾丸组织中c-kit原癌基因及其配体干细胞因子(SCF)的表达。 *J Urol.*, 153: 511-515, 1995.
 13. Skotheim, R.I., Monni, O., Mousses, S., Fossa, S.D., Kallioniemi, O.P., Lothe, R.A., 和 Kallioniemi, A. 从基因表达谱对睾丸生殖细胞肿瘤发生的新认识。 *Cancer Res.*, 62: 2359-2364, 2002.
 14. Shuin T, Misaki H, Kubota Y, Yao M, Hosaka M. 人睾丸生殖细胞肿瘤中原癌基因的差异表达。 *Cancer* 73: 1721-1727, 1994.
 15. Van Brussel JP and Mikisch GHJ. 前列腺和睾丸癌症中的预后因素。 *BJU International* 83: 910-917, 1999.
 16. Alizadeh, A.A., Eisen, M.B., Davis, R.E., Ma, C., Lossos, I.S., Rosenwald, A., Boldrick, J.C., Sabet, H., Tran, T., Yu, X., Powell, J.I., Yang, L., Marti, G.E., Moore, T., Hudson, J. Jr., Lu, L., Lewis, D.B., Tibshirani, R., Sherlock, G., Chan, W.C., Greiner, T.C., Weisenburger, D.D., Armitage, J.O., Warnke, R., 和 Staudt, L.M. 通过基因表达谱鉴定的扩散型大B-细胞淋巴瘤的不同类型。 *Nature*, 403: 503-511, 2000.
 17. Kihara, C., Tsunoda, T., Tanaka, T., Yamana, H., Furukawa, Y., Ono, K., Kitahara, O., Zembutsu, H., Yanagawa, R., Hirata, K., Takagi, T., 和 Nakamura, Y. 通过cDNA微阵列分析基因表达谱来预测食管肿瘤对辅助化疗的敏感性。 *Cancer Res.*, 61: 6474-6479, 2001.
 18. Kaneta, Y., Kagami, Y., Katagiri, T., Tsunoda, T., Jin-nai, I., Taguchi, H., Hirai, H., Ohnishi, K., Ueda, T., Emi, N., Tomida, A., Tsuruo, T., Nakamura, Y., 和 Ohno, R. 通过全基因组cDNA微阵列分析预测慢性骨髓性白血病患者中对STI571的敏感性。 *Jpn. J. Cancer Res.*, 93: 849-856, 2002.
 19. Yagyu, R., Hamamoto, R., Furukawa, Y., Okabe, H., Yamamuram T., 和

- Nakamura, Y. 分离和鉴定新的人基因, VANG1, 作为肝细胞癌的治疗靶。Int J Oncol., 20: 1173-1178, 2002.
20. Ishiguro H, Shimokawa T, Tsunoda T, Tanaka T, Fujii Y, Nakamura Y, Furukawa Y. HELAD1, 结肠直肠癌中上调的新型人解旋酶基因的分离。Oncogene, 21: 6387-6394, 2002.
21. Kitahara, O., Furukawa, Y., Tanaka, T., Kihara, C., Ono, K., Yanagawa, R., Nita, M.E., Takagi, T., Nakamura, Y., 和Tsunoda, T. 肿瘤组织和正常上皮激光获取显微解剖后以cDNA微阵列揭示的结肠直肠癌发生期间基因表达的改变。Cancer Res., 61: 3544-3549, 2001.
22. Ono K, Tanaka, T., Tsunoda, T., Kitahara, O., Kihara, C., Okamoto, A., Ochiai, K., Takagi, T., 和Nakamura, Y. 通过cDNA微阵列鉴定与卵巢癌发生相关的基因。Cancer Res., 60: 5007-11, 2000.
23. Saito-Hisaminato, A., Katagiri, T., Kakiuchi, S., Nakamura T., Tsunoda, T., 和Nakamura, Y. 在29个正常人组织中用cDNA微阵列进行的全基因组基因表达谱。DNA Res., 9: 35-45, 2002.
24. Chuaqui RF, Englert CR, Strup SE, Vocke CD, Zhuang Z, Duray PH, Bostwick DG, Linehan WM, Liotta LA, 和Emmert-Buck MR. 鉴定临床侵入性前列腺癌中上调的新转录子。Urology 50: 302-307, 1997.
25. Baytel, D.; Shalom, S.; Madgar, I.; Weissenberg, R.; 和Don, J. 人Pim-2原癌基因及其睾丸表达。Biochim. Biophys. Acta, 1442: 274-285, 1998.
26. Kolligs, F.T., Kolligs, B., Hajra, K.M., Hu, G., Tani, M., Cho, K.R., 和Fearon, E.R. γ -连环蛋白受到APC肿瘤抑制物的调节且其致癌活性不同于 β -连环蛋白。Genes Dev 14: 1319-1331, 2000.
27. Stuart, R.O., Pavlova, A., Beier, D., Li, Z., Krijanovski, Y., 和Nigam, S.K. EEG1, 在上皮器官发生期间表达的推定的转运蛋白: 与肾发生期间胚胎转运蛋白表达的比较。Am. J. Physiol. Renal Physiol 281: 1148-1156, 2001.
28. Dhanasekaran SM, Barrette TR, Ghosh D, Shah R, Varambally S, Kurachi K, Pienta KJ, Rubin MA, 和Chinnaiyan AM, 前列腺癌中预后生物标记的描述。Nature 412: 822-826, 2001.
29. Jhiang SM. 人癌症中的RET原癌基因。Oncogene 19: 5590-5597, 2000.
30. Bustelo XR. Vav家族的调控和信号传导特征。Mol Cell Biol 20: 1461-1477, 2000.
31. Davies R, Moore A, Schedl A, Bratt E, Miyahara K, Ladomery M, Miles C, Menke A, van Heyningen V, 和Hastie N. Wilms'肿瘤抑制基因, WT1的多种作用。Cancer Res 59 (7 supp) 1747s-1750s, 1999.
32. Kraggerud SM, Skotheim RI, Szymanska J, Eknaes M, Fossa SD, Stenwig

- AE, Peltomaki P, 和Lothe RA. 家族性/双方和散在的睾丸生殖细胞肿瘤的基因组谱。 *Genes Chromosomes Cancer* 34: 168-174, 2002。
33. Morina MA, Codony-Servat J, Albanell J, Rojo F, Arribas J和Baselga J. Trastuzumab (herceptin), 一种人源化抗-Her2受体单克隆抗体, 抑制乳腺癌细胞中的基础性和活化的Her2胞外结构域裂解。 *Cancer Res* 61: 4744-4749, 2001。
34. O'Dwyer ME和Druker BJ. 慢性骨髓性白血病中bcr-abl 酪氨酸激酶抑制剂的状态。 *Curr Opin Oncol* 12: 594-597, 2000。
35. Raben D, Helfrich BA, Chan D, Johnson G, 和Bunn PA Jr. ZD1839, 一种选择性表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂, 单独和与放射和化疗联合作为非小细胞肺癌的新治疗策略。 *Semin. Oncol* 20: 37-46, 2002。
36. Reiser M. 和Diehl V. 滤泡性非-Hodgkin's淋巴瘤的当前治疗。 *Eur J Cancer* 38: 1167-1172, 2002。
37. Tschopp J, Martinon F和Burns K. NALPs:与炎症相关的新蛋白质家族。 *Nat Rev Mol Cell Biol* 4: 95-104, 2002。
38. Manji GA, Wang L, Geddes BJ, Brown M, Merriam S, Al-Garawi A, Mak S, Lora JM, Briskin M, Jurman M, Cao J, DiStefano PS和Bertin J. PYPAF1, 一种与ASC装配并调节NF- κ B活化的含有PYRIN的Apaf1-样蛋白质。 *J Biol Chem* 277: 11570-11575, 2002。
39. M. Ishiyama, Y. Miyazono, K. Sasamoto, Y. Ohkura和K. Ueno, 高度水溶性二磺酸化四氮唑盐作为NADH和细胞活力的无色指示剂。 *Talanta* 44: 1299-1305, 1997。

序列表

- <110> 肿瘤疗法科学股份有限公司 (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC.)
 JAPAN AS REPRESENTED BY THE PRESIDENT OF THE UNIVERSITY OF TOKYO
- <120> 诊断睾丸精原细胞瘤的方法
- <130> ONC-A0215P
- <150> US 60/414,677
 <151> 2002-09-30
- <160> 86
- <170> PatentIn version 3.1
- <210> 1
 <211> 22
 <212> DNA
 <213> 人工
- <220>
 <223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列
- <400> 1
 tgatcagtg atgcgaaaag gt 22
- <210> 2
 <211> 23
 <212> DNA
 <213> 人工
- <220>
 <223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列
- <400> 2
 ggccaagggtg agttttattgt cca 23
- <210> 3
 <211> 20
 <212> DNA
 <213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 3

ttgccatgga caagattcac

20

<210> 4

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 4

ttgtctgatc cagcaagcag

20

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 5

cggaaccaaa cctaagaagc

20

<210> 6

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 6

cttcacagcc ttagcagcac tt

22

<210> 7
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 7
cctctgcaaa cagaatcttg 20

<210> 8
<211> 25
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 8
aagatgtaga agcttacata gggca 25

<210> 9
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 9
ggaaataagg cttgctgttt gt 22

<210> 10
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 10
aatagtgggt ttccacacat gg 22

<210> 11
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 11
cacaacatgc aatgtgtctg tg 22

<210> 12
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 12
tcctctaaga cttgcaagca gc 22

<210> 13
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 13
catgaaggaa aacgggatta tg 22

<210> 14
<211> 21
<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 14

gtgcagaaag agactcatcc g

21

<210> 15

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 15

tcccacctaa cctctgcatc

20

<210> 16

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 16

gaagcgcgac catttcttta

20

<210> 17

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 17

ggctgatact tctctcatct tgc

23

<210> 18
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 18
gccaccacat ctttattgca tac 23

<210> 19
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 19
tggggttcta agacaaagaa ctg 23

<210> 20
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 20
gtgagaaaac cagtgtcaaa tcc 23

<210> 21
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 21
tgctggtgct atttactgac gta 23

<210> 22
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 22
aaaagaccgt ttctgactct gtg 23

<210> 23
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 23
aagtgaccctc ctctccttcc 20

<210> 24
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 24
cacccttctc ccaagtcttt tat 23

<210> 25
<211> 23
<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 25

gaaccagtg gatgtaacag aac

23

<210> 26

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 26

tactgcagag acttagctgg tcc

23

<210> 27

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 27

acttatagtc ctgcgagtct ggg

23

<210> 28

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 28

ggcaggagag aagaacatct tg

22

<210> 29
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 29

catctccitt gtttcgatag ga

22

<210> 30
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 30

gatcactgtg ggtcttaagc aa

22

<210> 31
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 31

gggctggtgc agatctactt

20

<210> 32
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 32
tccaacatct gttgagtgac agt 23

<210> 33
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 33
cactcagaat tcttacctcc cct 23

<210> 34
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 34
gtgatgtgaa gcaaggtagt tcc 23

<210> 35
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 35
gccaaaaatg gctctctagg 20

<210> 36
<211> 23
<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 36

cagacacgca ctgtggttt att

23

<210> 37

<211> 21

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 37

gtgtccactt agagcctcac g

21

<210> 38

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 38

atccttcttc ctatacttcc ccc

23

<210> 39

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 39

tttaatcagg ccctgtctgc

20

<210> 40
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 40

ggggtataga aatggaatgg aga

23

<210> 41
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 41

ctggaagaag aaggaacagg tct

23

<210> 42
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 42

ggttgctgag atttatctg tgg

23

<210> 43
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 43

caaatgctct gctttgtact cct

23

<210> 44

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 44

catgaatgag cctgaaatag tcc

23

<210> 45

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 45

cgggaggatt gtaagatact gtg

23

<210> 46

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 46

acttctcatg agttcagcct cag

23

<210> 47

<211> 23

<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 47

gtagatgtgg ggacaacaga gag

23

<210> 48

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 48

tttaaagtca ccttaggttg ggg

23

<210> 49

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 49

gtttttgtgg ggactaagag tg

22

<210> 50

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 50

ggaggaagta gctagaagct aag

23

<210> 51

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 51

cttttccac aagaaccatt tc

22

<210> 52

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 52

ctggtgtaat cagacaccac gta

23

<210> 53

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 53

ctcatctgta ccctcactgg gat

23

<210> 54

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 54

ctaaagtctc ccagtttccc ct

22

<210> 55

<211> 20

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 55

aagccagaga gcctttcctc

20

<210> 56

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 56

cggtattctt aacacatctt gcc

23

<210> 57

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 57

acctaacggt tggccttat gtg

23

<210> 58
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 58

aggttggaag atccatttcc tt

22

<210> 59
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 59

cttgggtctg taacaaagca ttc

23

<210> 60
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 60

aaggattatg aggaggttgg tgt

23

<210> 61
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 61
ttagctgtgc tcgctact 20

<210> 62
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 62
tcacatggtt cacacggcac 20

<210> 63
<211> 29
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 63
cgcgatccc actatgacat cgccccagc 29

<210> 64
<211> 30
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 RT-PCR 的人工合成的引物序列

<400> 64
ccgctcgagg caaaaaagt cacagcacgg 30

<210> 65
<211> 22
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 PCR 的人工合成的引物序列

<400> 65

tggtagccaa gtgcaggtta ta

22

<210> 66

<211> 22

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 PCR 的人工合成的引物序列

<400> 66

ccaaagggtt tctgcagttt ca

22

<210> 67

<211> 30

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 PCR 的人工合成的引物序列

<400> 67

tgcggatcca gagcagattg tactgagagt

30

<210> 68

<211> 29

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 PCR 的人工合成的引物序列

<400> 68

ctctatctcg agtgaggcgg aaagaacca

29

<210> 69
<211> 48
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 PCR 的人工合成的引物序列

<400> 69

tttaagcttg aagaccattt ttggaaaaaa aaaaaaaaaa aaaaaaca

48

<210> 70
<211> 34
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 PCR 的人工合成的引物序列

<400> 70

tttaagcttg aagacatggg aaagagtggg ctca

34

<210> 71
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 71

caccgaggct gatggcaaga aacttcaaga gagtttcttg ccatcagcct c

51

<210> 72
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 72
aaaagaggct gatggcaaga aactctcttg aagtttcttg ccatcagcct c 51

<210> 73
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 73
caccgagatg aatctcacgg aatttcaaga gaattccgtg agattcatct c 51

<210> 74
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 74
aaaagagatg aatctcacgg aattctcttg aaattccgtg agattcatct c 51

<210> 75
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工

<220>
<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 75
caccgtagga cacttcttat tcgttcaaga gacgaataag aagtgtccta c 51

<210> 76
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 76

aaaagtagga cacttccttat tcgtctcttg aacgaataag aagtgccta c 51

<210> 77

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 77

caccgtgatg cattgttcct tcattcaaga gatgaaggaa caatgcatca c 51

<210> 78

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 78

aaaagtgatg cattgttcct tcattccttg aatgaaggaa caatgcatca c 51

<210> 79

<211> 51

<212> DNA

<213> 人工

<220>

<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 79

caccgcttgg ctgtagatat ctcttcaaga gagagatc tacagccaag c 51

<210> 80
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 80

aaaagcttgg cigttagatat ctctctcttg aagagataic tacagccaag c

51

<210> 81
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 81

caccgaagca gcacgacttc ttcttcaaga gagaagaagt cgtgctgctt c

51

<210> 82
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

<400> 82

aaaagaagca gcacgacttc ttctctcttg aagaagaagt cgtgctgctt c

51

<210> 83
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工

<220>

<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列

- <400> 83
caccgtgcgc tgctggtgcc aactctcttg aagttggcac cagcagcgca c 51
- <210> 84
<211> 51
<212> DNA
<213> 人工
- <220>
<223> 用于 siRNA 的人工合成的寡核苷酸序列
- <400> 84
aaaagtgcgc tgctggtgcc aacttcaaga gagttggcac cagcagcgca c 51
- <210> 85
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工
- <220>
<223> siRNA 的靶序列
- <400> 85
gtaggacact tcttattcg 19
- <210> 86
<211> 19
<212> DNA
<213> 人工
- <220>
<223> siRNA 的靶序列
- <400> 86
gtgatgcatt gttccttca 19

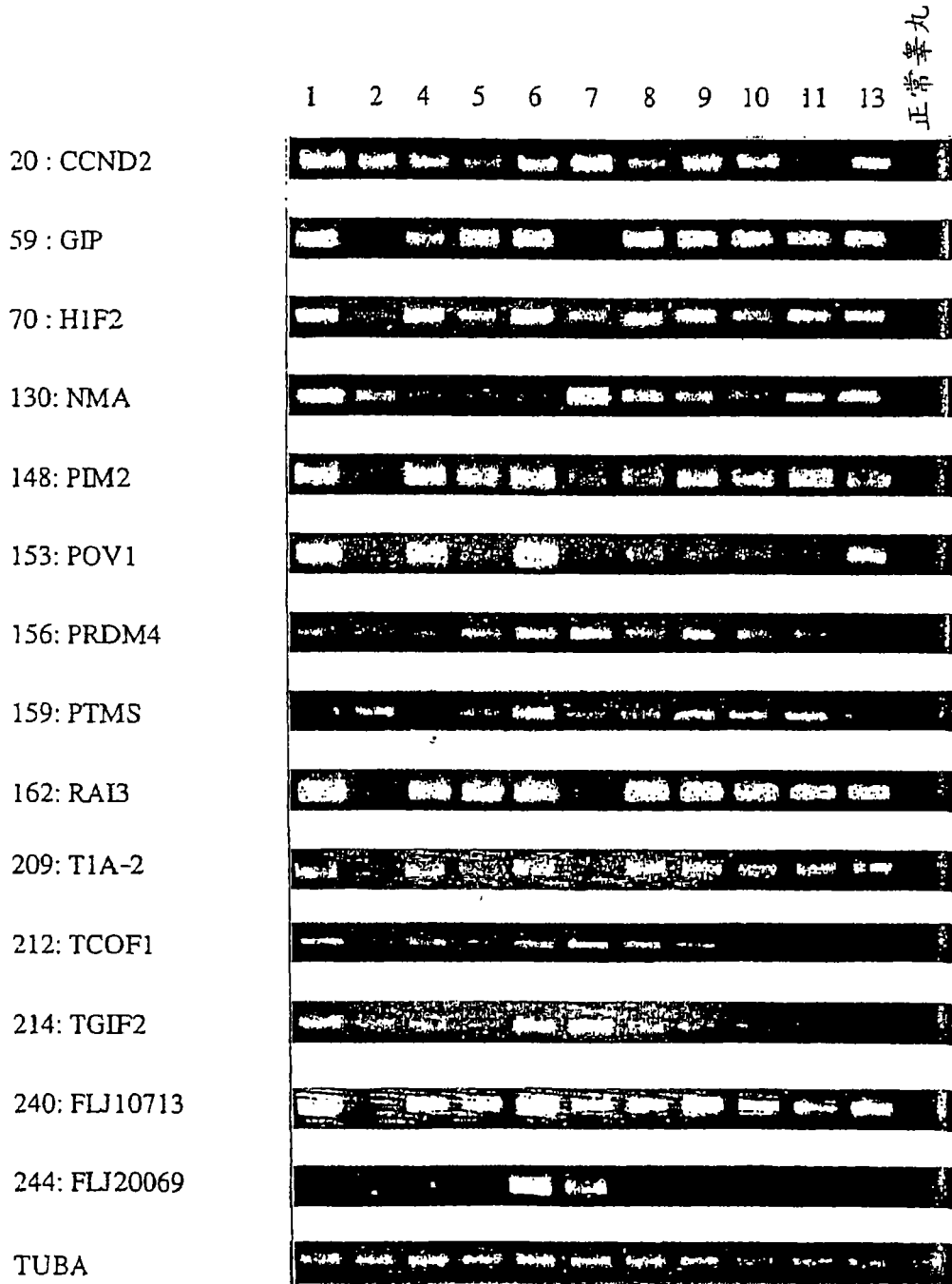


图 1-1

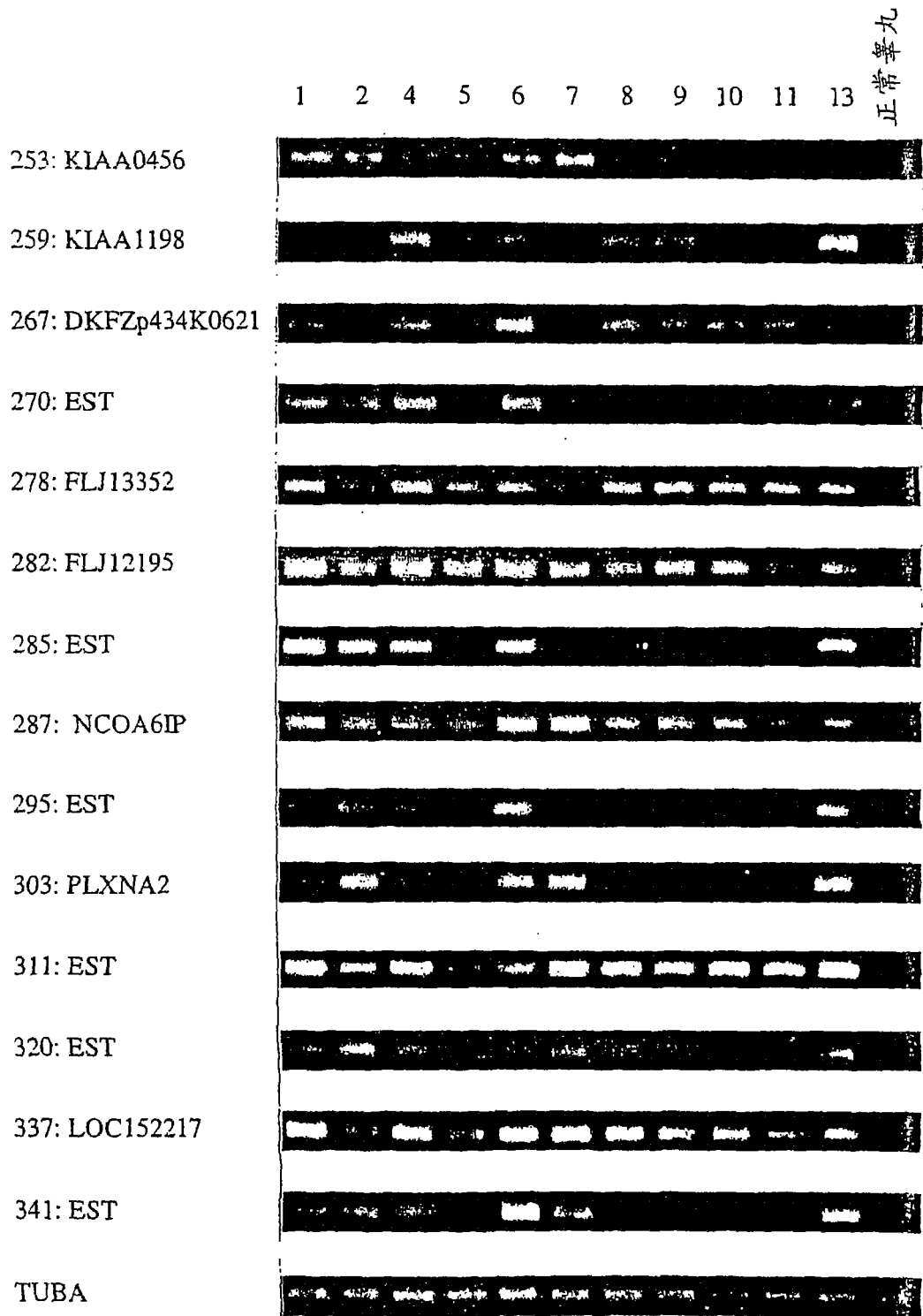


图 1-2

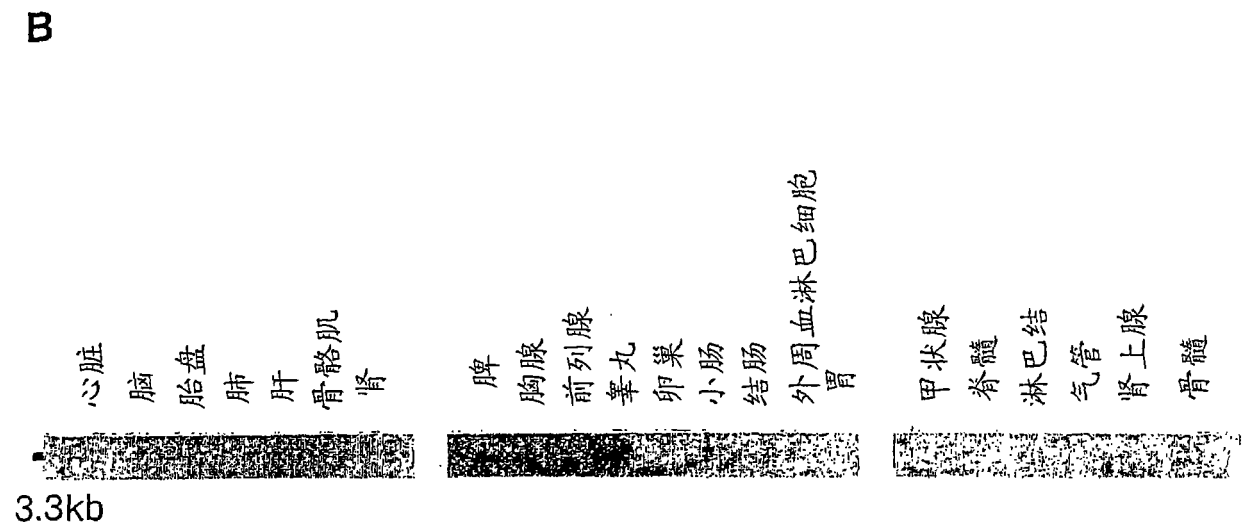
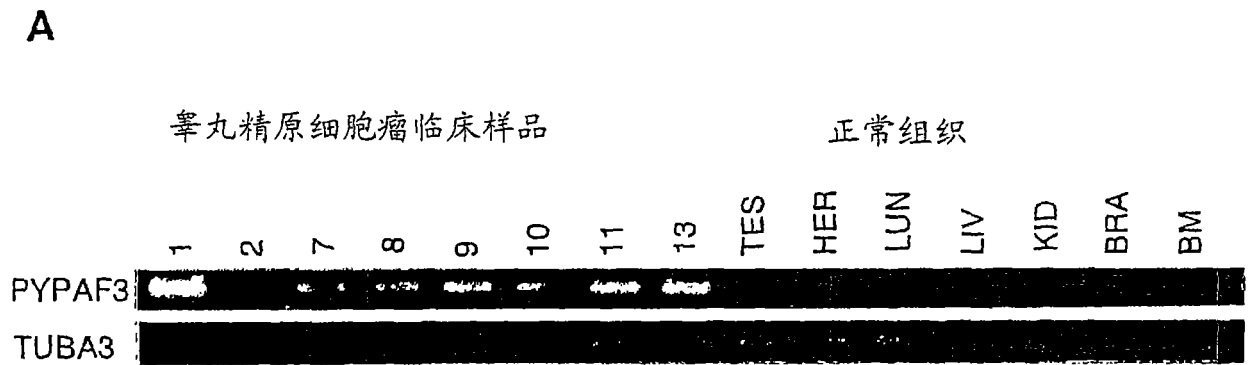


图 2

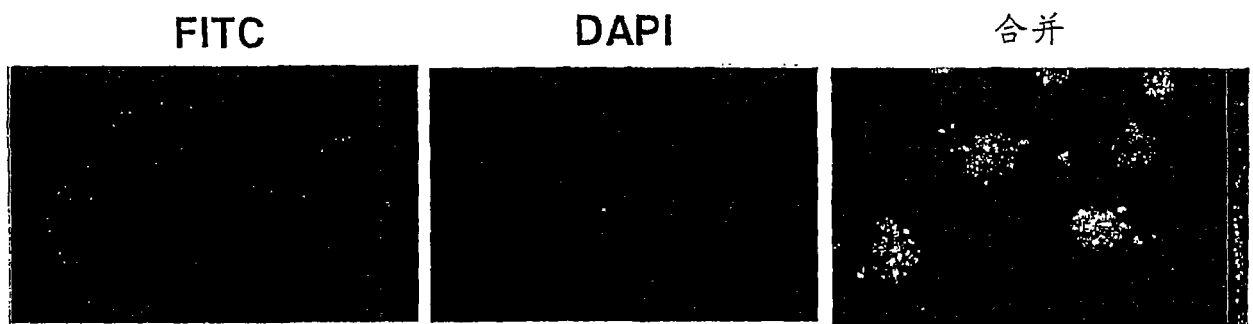


图 3

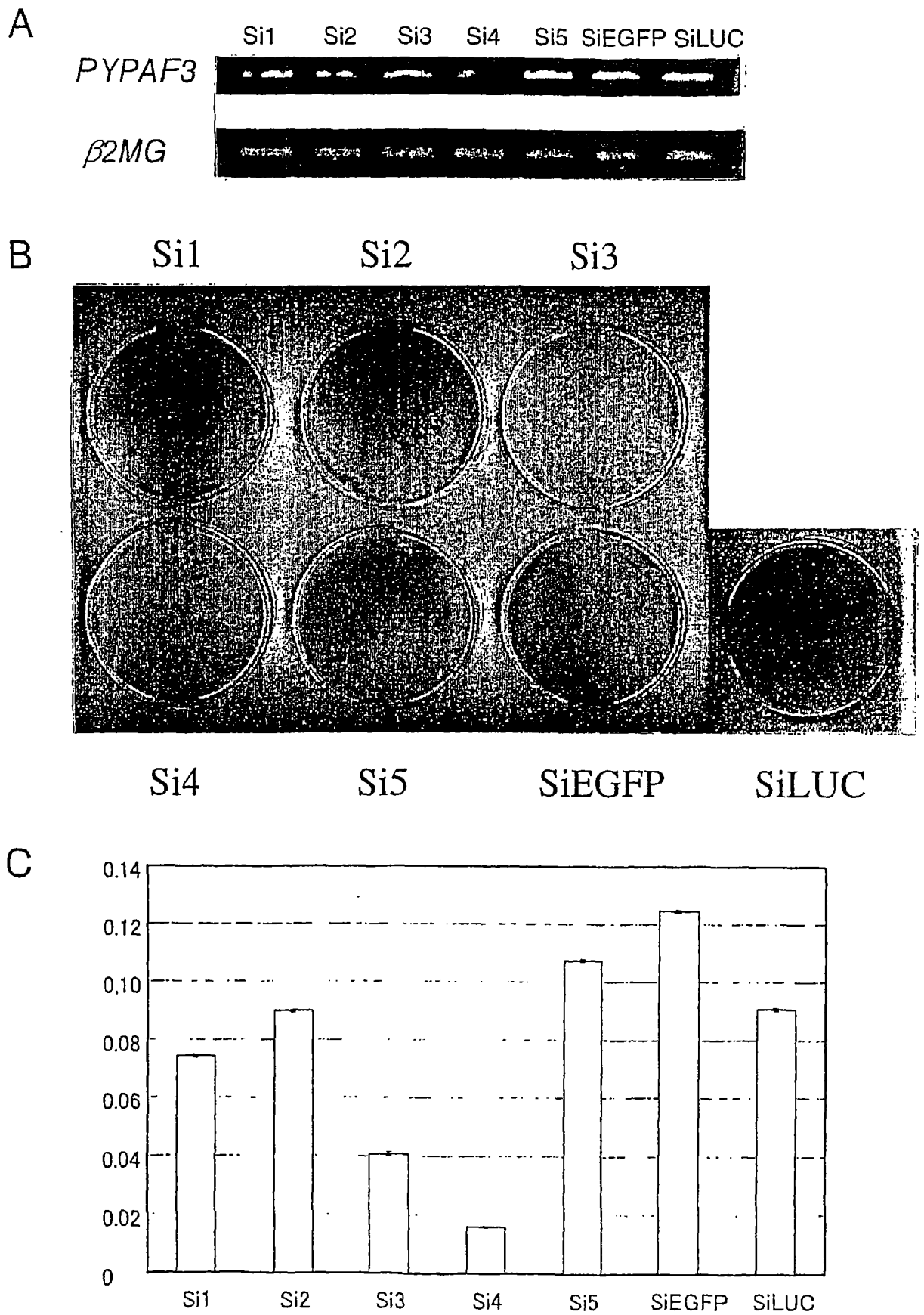


图 4

专利名称(译)	诊断睾丸精原细胞瘤的方法		
公开(公告)号	CN101113478A	公开(公告)日	2008-01-30
申请号	CN200710138159.X	申请日	2003-09-12
[标]申请(专利权)人(译)	肿瘤疗法科学股份有限公司		
申请(专利权)人(译)	肿瘤疗法科学股份有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	肿瘤疗法科学股份有限公司		
[标]发明人	中村佑辅 片桐丰雅		
发明人	中村佑辅 片桐丰雅		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/53 G01N33/68 C12N15/11 A61K39/395 A61K39/00 A61K48/00 A61K31/7088 A61P35/00		
CPC分类号	C12Q1/6886 C12Q2600/158 C12Q2600/118 C12Q2600/136 A61P35/00		
优先权	60/414677 2002-09-30 US		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本文描述了用于检测和诊断睾丸精原细胞瘤(TS)的客观方法。在一个实施方案中，该诊断方法包含测定在TS和正常细胞之间有区别的TS - 相关性基因的表达水平。本发明还提供了筛选用于治疗TS的治疗剂的方法，治疗TS的方法和接种受试者抗TS疫苗的方法。

20 : CCND2
59 : GIP
70 : H1F2
130: NMA
148: PDM2
153: POV1
156: PRDM4
159: PTMS
162: RAB3
209: T1A-2
212: TCOF1
214: TGIF2
240: FLJ10713
244: FLJ20069
TUBA

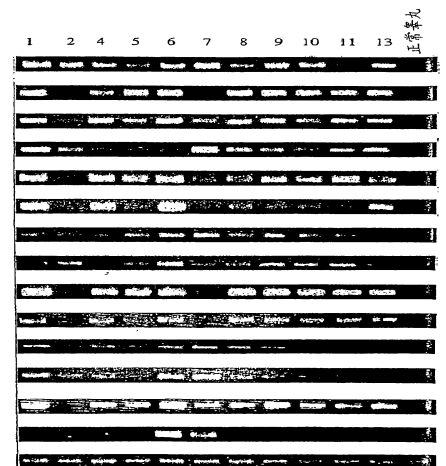


图 1-1