



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 104871002 A

(43) 申请公布日 2015. 08. 26

(21) 申请号 201380067022. 3

(51) Int. Cl.

(22) 申请日 2013. 12. 18

G01N 33/53(2006. 01)

G01N 33/48(2006. 01)

(30) 优先权数据

2012-277980 2012. 12. 20 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2015. 06. 19

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2013/083915 2013. 12. 18

(87) PCT国际申请的公布数据

W02014/098135 JA 2014. 06. 26

(71) 申请人 国立大学法人北海道大学

地址 日本北海道

申请人 LSIP 基金运营联合公司

(72) 发明人 畠山镇次 田中伸哉

(74) 专利代理机构 北京尚诚知识产权代理有限

公司 11322

代理人 龙淳 徐林茜

权利要求书1页 说明书10页

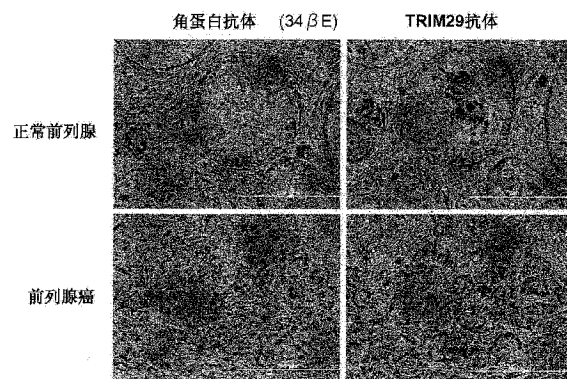
序列表14页 附图2页

(54) 发明名称

用于检测前列腺基底细胞的方法

(57) 摘要

本发明的目的是提供一种通过搜寻在前列腺基底细胞中特异性表达的分子并分析这些分子来检测前列腺基底细胞的方法。该问题能够采用用于检测前列腺基底细胞的方法来解决,该方法的特征在于,其采用免疫组化染色使 TRIM29(三重基序蛋白 29) 蛋白在前列腺基底细胞中的表达可视化。



1. 一种用于检测前列腺基底细胞的方法,包括通过免疫组化染色使三重基序蛋白 29 (TRIM29) 蛋白在前列腺基底细胞中的表达可视化。
2. 根据权利要求 1 所述的用于检测前列腺基底细胞的方法,包括分析前列腺的腺组织结构的形态以及三重基序蛋白 29 (TRIM29) 蛋白的可视化表达。
3. 根据权利要求 1 或 2 所述的用于检测前列腺基底细胞的方法,还包括通过免疫组化染色使细胞角蛋白和 / 或 p63 蛋白的表达可视化。
4. 根据权利要求 3 所述的用于检测前列腺基底细胞的方法,包括分析前列腺的腺组织结构的形态以及细胞角蛋白的可视化表达和 / 或 p63 蛋白的可视化表达。
5. 一种用于识别前列腺基底细胞的存在、减少或消失的方法,包括采用权利要求 1 ~ 4 中任一项所述的用于检测前列腺基底细胞的方法。
6. 一种用于诊断前列腺癌的方法,包括通过免疫组化染色使用 TRIM29 抗体或其抗原结合片段,在从受试者采集的前列腺组织中检测前列腺基底细胞的步骤。
7. 根据权利要求 6 所述的诊断方法,其中,与正常前列腺组织相比的前列腺基底细胞的减少或消失指示前列腺癌的存在。
8. 一种 TRIM29 抗体或其抗原结合片段,其用在前列腺癌的诊断中。
9. 一种用于诊断前列腺癌的诊断组合物,包含 TRIM29 抗体或其抗原结合片段。
10. TRIM29 抗体或其抗原结合片段在制备用于诊断前列腺癌的诊断组合物中的用途。
11. 一种用于检测前列腺基底细胞的免疫组化染色试剂盒,包含 TRIM29 抗体或其抗原结合片段。
12. 根据权利要求 11 所述的用于检测前列腺基底细胞的免疫组化染色试剂盒,还包含细胞角蛋白抗体或其抗原结合片段、和 / 或 p63 抗体或其抗原结合片段。

## 用于检测前列腺基底细胞的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于检测前列腺基底细胞的方法,一种用于识别前列腺基底细胞的存在、减少和消失的方法,以及一种用于检测前列腺基底细胞的免疫组化染色试剂盒。本发明使得能够可靠地检测前列腺基底细胞。本发明还使得能够可靠地确诊前列腺癌。

### 背景技术

[0002] 正常的前列腺由腺细胞和基底细胞组成,观察组织学图片,基底细胞存在于腺细胞周围。

[0003] 雄激素受体、细胞角蛋白 8 和细胞角蛋白 18 在腺细胞中特异性表达,且多数前列腺癌表达作为这些腺细胞的标记物的雄激素受体、细胞角蛋白 8、或细胞角蛋白 18。因此,前列腺癌被认为源于腺细胞。

[0004] 已知基底细胞在前列腺癌中消失。因此,通过采用正常基底细胞中表达的 p36 或细胞角蛋白的抗体来执行前列腺的免疫组化染色并识别基底细胞的消失,从而进行前列腺癌的诊断。

[0005] 引用列表

[0006] 专利文献

[0007] 专利文献 1 :国际公开 W02008/150512

[0008] 专利文献 2 :国际公开 W02005/014781

[0009] 专利文献 3 :国际公开 W02004/018711

[0010] 专利文献 4 :国际公开 W02006/080597

[0011] 专利文献 5 :国际公开 W02004/018711

### 发明内容

[0012] 技术问题

[0013] 关于上述基底细胞的免疫组化染色,仅通过采用 p63 抗体或细胞角蛋白抗体的免疫组化染色,有时难以确定基底细胞是否已经消失。

[0014] 因此,本发明的目的是提供一种通过搜寻在前列腺基底细胞中特异表达的分子并分析这些分子来检测前列腺基底细胞的方法。

[0015] 技术问题的解决方案

[0016] 作为对正常前列腺组织基底细胞中特异表达的分子的大量研究的成果,本发明的发明人已经令人惊讶地发现,三重基序蛋白 29 (TRIM29) 在正常前列腺组织的基底细胞中特异表达。且已经显示出,基底细胞能够通过免疫组化染色的方式使 TRIM29 在前列腺组织中的表达可视化从而进行检测。

[0017] 本发明基于以下这些发现。

[0018] 具体而言,本发明涉及:

[0019] [1] 一种用于检测前列腺基底细胞的方法,包括通过免疫组化染色使三重基序蛋

白 29 (TRIM29) 蛋白在前列腺基底细胞中的表达可视化；

[0020] [2] 根据 [1] 的用于检测前列腺基底细胞的方法, 包括分析前列腺的腺组织结构的形态以及三重基序蛋白 29 (TRIM29) 蛋白的可视化表达；

[0021] [3] 根据 [1] 或 [2] 的用于检测前列腺基底细胞的方法, 还包括通过免疫组化染色使细胞角蛋白和 / 或 p63 蛋白的表达可视化；

[0022] [4] 根据 [3] 的用于检测前列腺基底细胞的方法, 包括分析前列腺的腺组织结构的形态以及细胞角蛋白的可视化表达和 / 或 p63 细胞的可视化表达；

[0023] [5] 一种用于识别前列腺基底细胞的存在、减少或消失的方法, 包括采用上述 [1] ~ [4] 中任一项的用于检测前列腺基底细胞的方法；

[0024] [6] 一种用于诊断前列腺癌的方法, 包括通过免疫组化染色使用 TRIM29 抗体或其抗原结合片段在从受试者采集的前列腺组织中检测前列腺基底细胞的步骤；

[0025] [7] 根据 [6] 的诊断方法, 其中, 与正常前列腺组织相比的前列腺基底细胞的减少或消失指示前列腺癌的存在；

[0026] [8] TRIM29 抗体或其抗原结合片段, 其用在前列腺癌的诊断中；

[0027] [9] 一种用于诊断前列腺癌的诊断组合物, 包含 TRIM29 抗体或其抗原结合片段；

[0028] [10] TRIM29 抗体或其抗原结合片段在制备用于诊断前列腺癌的诊断组合物中的用途；

[0029] [11] 一种用于检测前列腺基底细胞的免疫组化染色试剂盒, 包含 TRIM29 抗体或其抗原结合片段；以及

[0030] [12] 根据 [11] 的用于检测前列腺基底细胞的免疫组化染色试剂盒, 还包含细胞角蛋白抗体或其抗原结合片段, 和 / 或 p63 抗体或其抗原结合片段。

[0031] TRIM29 的基因被报道为与肺癌、卵巢浆液性乳头状腺癌、以及宫颈上皮内瘤样病变有关 (专利文献 1 ~ 4)。还公开了一种通过检查包括 TRIM29 的 80 种 mRNA 来预测前列腺癌的预后的方法 (专利文献 5)。然而, 还未报道 TRIM29 在正常前列腺的基底细胞中表达。

[0032] 发明的有益效果

[0033] 根据本发明的用于检测前列腺基底细胞的方法能够可靠地检测正常的前列腺基底细胞, 并可用于前列腺的组织学研究。该方法与所表达细胞角蛋白和 / 或 p63 的免疫组化染色的结合能够更可靠地检测前列腺基底细胞。

[0034] 根据本发明的用于检测前列腺基底细胞的方法, 以及根据本发明的用于识别前列腺基底细胞的存在、减少和消失的方法, 使得能够确诊前列腺癌。该方法与所表达的细胞角蛋白和 / 或 p63 的免疫组化染色的组合使得能够更可靠地确诊前列腺癌。

## 附图说明

[0035] [图 1] 图 1 是一系列显微图, 其各个示出被施以 TRIM29 多克隆抗体或细胞角蛋白单克隆抗体 (34  $\beta$  E12) 的免疫组化染色的正常前列腺组织或前列腺癌组织。

[0036] [图 2] 图 2 是一对显微照图, 其各个示出被施以 TRIM29 单克隆抗体的免疫组化染色的正常前列腺组织。

[0037] [图 3] 图 3 是一对显微图, 其各个示出被施以 TRIM29 单克隆抗体或细胞角蛋白单

克隆抗体 (34  $\beta$  E12) 的免疫组化染色的正常前列腺组织。

### 具体实施方式

[0038] [1] 用于检测前列腺基底细胞的方法

[0039] 根据本发明的用于检测前列腺基底细胞的方法包括通过免疫组化染色使三重基序蛋白 29 (TRIM29) 蛋白在前列腺基底细胞中的表达可视化。根据该方法,源自前列腺的表达 TRIM29 的细胞能够基于其形态和蛋白表达而被确定为基底细胞。另外,该方法使得能够通过识别前列腺的腺组织结构的形态和 TRIM29 蛋白的可视化表达而检测构成部分腺组织结构的基底细胞。

[0040] 具有可通过本发明的检测方法而检测的前列腺基底细胞的动物种类不受限制,只要其在前列腺中具有基底细胞;并且动物种类的实例包括哺乳动物,如人、猴、狗、猫、雪貂、牛、马、山羊、绵羊、豚鼠、仓鼠、沙鼠、小鼠或大鼠。本发明的检测方法还能够被用在分离的细胞中。例如,该方法还可以被应用于包括来自任何上述哺乳动物的分离基底细胞的原代培养细胞或传代细胞。

[0041] < 前列腺 >

[0042] 前列腺是男性生殖系统中的腺体且位于膀胱下方和直肠前部。前列腺由两种类型的细胞组成:基底细胞和腺细胞。在组织学上,前列腺基底细胞存在于前列腺腺细胞的周围。

[0043] ( 前列腺腺细胞 )

[0044] 前列腺腺细胞特异性地表达雄激素受体、细胞角蛋白 8 和细胞角蛋白 18,并且大多数前列腺癌源自于前列腺腺细胞。

[0045] ( 前列腺基底细胞 )

[0046] 可以通过本发明的检测方法检测的前列腺基底细胞不受限制,只要这些细胞表达 TRIM29。然而,这并不排除不表达 TRIM29 的前列腺基底细胞的存在。

[0047] 除 TRIM29 之外,基底细胞特异性地表达 p63、细胞角蛋白 5 和细胞角蛋白 14。p63 被认为在前列腺的发育中发挥重要作用;基底细胞的核通过使用 4A4 的免疫组化染色而染色,其中 4A4 是一种 p63 单克隆抗体。细胞角蛋白 5 和细胞角蛋白 14 存在于细胞质中并通过使用 34  $\beta$  E12 的免疫组化染色而被染色,其中 34  $\beta$  E12 是一种细胞角蛋白单克隆抗体。单克隆抗体 34  $\beta$  E12 是对除细胞角蛋白 5 和细胞角蛋白 14 以及细胞角蛋白 1 和细胞角蛋白 10 显示出阳性反应的抗体。

[0048] <TRIM29>

[0049] 三重基序蛋白 29 (TRIM29) 属于 TRIM 基因家族,且还称为 ATDC ( 共济失调毛细血管扩张症 D 相关蛋白 )。人的 TRIM29 由 588 个氨基酸构成。TRIM29 具有多个锌指基序和亮氨酸拉链基序并与 DNA 结合。TRIM29 被认为可能作为分化过程中的转录调节因子。已知 TRIM29 与共济失调毛细血管扩张相关,且已被指出与抑制放射敏感性的功能有关。

[0050] 根据本发明,编码可分析的人 TRIM29 蛋白 ( 在下文中也称为人 TRIM29 基因 ) 的核酸的碱基序列被示于 SEQ ID NO :1,且人 TRIM29 蛋白的氨基酸序列被示于 SEQ ID NO :2。然而,要分析的基因不限于具有 SEQ ID NO :1 中所示碱基序列的 TRIM29 基因,只要其在前列腺基底细胞中表达并能够与以下探针或引物杂交,其中该探针或引物能够与具有 SEQ ID

NO :1 的碱基序列的 TRIM29 基因结合。要分析的蛋白也不限于具有 SEQ ID NO :2 中所示氨基酸序列的 TRIM29 蛋白,只要其在前列腺基底细胞中表达且能够与以下抗体结合,其中该抗体能够与具有 SEQ ID NO :2 的氨基酸序列的蛋白结合。换言之,根据本发明,要分析的 TRIM29 可以是具有一个或多个突变的 TRIM29,只要其在前列腺基底细胞中表达。其也不限于人 TRIM29,且可以是哺乳动物 TRIM29,包括例如,人、猴、狗、猫、雪貂、牛、马、山羊、绵羊、豚鼠、仓鼠、沙鼠、小鼠或大鼠的 TRIM29。具有一个或多个突变的 TRIM29 蛋白的实例包括,当以人 TRIM29 作为例子时,由在 SEQ ID NO :2 的氨基酸序列中替换、缺失、插入或增补 1 到多个例如 1、2、3、4、5、6、7、8 或 9 个氨基酸的氨基酸序列构成的蛋白,以及由与 SEQ ID NO :2 的氨基酸序列具有 80%或更高的序列同一性例如 80%或更高、85%或更高、90%或更高、95%或更高、或者 98%或更高序列同一性的氨基酸序列构成的蛋白。

[0051] <TRIM29 蛋白的表达分析>

[0052] 根据本发明的检测方法通过免疫组化染色的 TRIM29 表达分析涉及,但不限于,使 TRIM29 蛋白的表达可视化。通过 TRIM29 蛋白表达的可视化,可以在形态学上在相同的基底细胞中识别出前列腺基底细胞,且前列腺基底细胞和前列腺腺组织结构的形态能够在 TRIM29 蛋白表达的基础上被识别。换言之,本发明的检测方法优选地包括在构成部分腺组织结构的基底细胞中,分析在前列腺的腺组织结构的形态和 TRIM29 蛋白的可视化表达。

[0053] 如本文所用,“可视化”不仅是指通过光学显微镜或荧光显微镜来总体地识别由免疫组化染色引起的着色或荧光,而且包括对例如着色、荧光、冷光或放射(即,信号)的机械检测,并接着识别通过使信号成像得到的图片等。

[0054] 如本文所用,“分析前列腺的腺组织结构的形态以及三重基序蛋白 29 (TRIM29) 蛋白的可视化表达”不仅包括同时观察前列腺腺组织结构的形态和 TRIM29 蛋白的表达,而且还包括,例如,与通过将信号成像得到的图片等相比较地观察前列腺腺组织结构的形态。

[0055] 在前列腺基底细胞中的 TRIM29 蛋白的分析通过免疫组化染色进行。这是因为基底细胞在前列腺组织中的位置以及基底细胞的形态能够通过免疫组化染色进行识别。

[0056] (免疫组化染色)

[0057] 免疫组化染色是已确立的技术,除使用对 TRIM29 特异的抗体外,能够基于已知方法进行。换言之,免疫组化染色是包括通过采用特异性识别抗原的抗体来检测在组织切片细胞中表达的特异性抗原的方法。

[0058] 具体而言,免疫组化染色能够例如如下进行。将前列腺组织冰冻并切片,或将固定的、石蜡包埋的组织块切片以制备组织切片。识别 TRIM29 的抗体与组织切片的表面进行反应。TRIM29 抗体能够用发出信号的物质做标记以检测在各个组织切片上的 TRIM29 蛋白。或者,TRIM29 抗体的二抗可以用发出信号的物质做标记,而不标记 TRIM29 抗体。此外,生物素可以与 TRIM29 抗体或二抗结合,接下来使用发出信号的物质标记与生物素特异结合的抗生物素蛋白。

[0059] 可以用于标记抗体的物质包括,但不限于,荧光染料(例如,若丹明、异硫氰酸荧光素 (FITC) 或稀土金属螯合物)、放射性物质(例如, $^3\text{H}$ 、 $^{14}\text{C}$  或  $^{125}\text{I}$ )、或酶(例如,过氧化物酶、碱性磷酸酶或  $\beta$ -D-半乳糖苷酶)。信号的检测能够采用,但不限于,荧光、放射(放射自显影)、发冷光以及着色进行。例如,当采用若丹明或 FITC 作为荧光染料时,信号能够用荧光显微镜检测。例如当采用碱性磷酸酶并用 NBT/BCIP 实施着色时,信号能够在光学显微

镜下检测且能同时观察细胞形态。

[0060] 具体地,常用方法包括过氧化物酶-抗过氧化物酶法(PAP法)、抗生物素-生物素复合物法(sABC法)、二抗和标记酶被结合到高分子的高分子试剂法、以及采用FITC标记的一抗或采用HRP标记的FITC抗体作为二抗的方法。

[0061] (TRIM29抗体)

[0062] 除采用TRIM29蛋白或其部分多肽作为免疫原之外,根据本发明的用于免疫组化染色的TRIM29抗体能够通过已知方法进行制备。TRIM29抗体可以是多克隆抗体或单克隆抗体;并且优选单克隆抗体。这是因为单克隆抗体通常与其他蛋白产生较少的交叉反应。还可以采用已知的或商业可得的抗体。

[0063] 例如,单克隆抗体能够根据Koehler和Milstein(Nature 256:495-497,1975)的方法进行制备。对于多克隆抗体,例如,单独的NKG2D配体或与BSA或KLH结合的抗原可以与佐剂例如弗氏完全佐剂混合,并定期地皮下免疫接种至兔子,之后一旦血液中的抗体效价升高即采集血液,并且所采集的血液能够被用作抗血清,或者抗体可以在使用前通过已知方法进行纯化。

[0064] 用于免疫分析法中的抗体还可以是包含针对TRIM29蛋白的抗原结合位点的抗体片段(抗原结合片段)。该抗体片段的实例包括F(ab')<sub>2</sub>、Fab'、Fab和Fv。这些抗体片段能够各自通过,例如,用蛋白酶(例如,胃蛋白酶或木瓜蛋白酶)通过常规方法消化抗体并随后通过用于分离和纯化蛋白的常规方法来纯化所得物而获得。

[0065] 在根据本发明的用于检测前列腺基底细胞的方法中,除TRIM29蛋白的表达分析外,还优选实施细胞角蛋白和/或p63蛋白的表达分析。换言之,TRIM29蛋白和细胞角蛋白可以被分析;TRIM29蛋白和p63蛋白可以被分析;或者三种蛋白可以被分析。

[0066] 根据本实施方式,2种或更多种蛋白可以在来自同一受试者(患者)的同一组织切片上分析。此外,2种或更多种蛋白可以在来自同一受试者(患者)的各个不同组织切片上分别分析。

[0067] <细胞角蛋白的表达分析>

[0068] 在本发明检测方法中通过免疫组化染色进行的细胞角蛋白表达分析涉及,但不限于,使细胞角蛋白的表达可视化。通过细胞角蛋白表达的可视化,可以在形态学上在相同的基底细胞中识别出前列腺基底细胞,且前列腺基底细胞和前列腺腺组织结构的形态能够在细胞角蛋白表达的基础上被识别。换言之,本发明的检测方法优选地涉及,分析前列腺腺组织结构的形态,以及细胞角蛋白在形成部分腺组织结构的基底细胞中的可视化表达。

[0069] 除采用对细胞角蛋白特异的抗体外,细胞角蛋白的表达分析可以基于已知方法进行。具体地,除采用对细胞角蛋白特异的抗体外,分析可以根据“TRIM29蛋白的表达分析”中记载的方法进行。细胞角蛋白5的氨基酸序列在SEQ ID NO:4中示出,且细胞角蛋白14的氨基酸序列在SEQ ID NO:6中示出。编码细胞角蛋白5的碱基序列在SEQ ID NO:3中示出,且编码细胞角蛋白14的碱基序列在SEQ ID NO:5中示出。

[0070] 对细胞角蛋白特异的抗体可以是多克隆抗体或单克隆抗体;并且优选单克隆抗体。这是因为单克隆抗体通常与其他蛋白产生较少的交叉反应。还可以采用已知或商业可得的抗体。例如,可以采用34βE12单克隆抗体,其是商业可得的细胞角蛋白单克隆抗体;该抗体识别细胞角蛋白1、5、10和14。

[0071] <p63 蛋白的表达分析>

[0072] 在本发明的检测方法中的 p63 表达分析涉及,但不限于,使 p63 蛋白的表达可视化。通过 p63 蛋白表达的可视化,可以在形态学上在相同的基底细胞中识别出前列腺基底细胞,且前列腺基底细胞和前列腺腺组织结构的形态可以在 p63 蛋白表达的基础上被识别。换言之,本发明的检测方法优选地涉及,分析前列腺腺组织结构的形态,以及 p63 蛋白在构成部分腺组织结构的基底细胞中的可视化表达。

[0073] 除采用对 p63 特异的抗体之外,p63 蛋白的表达分析可以基于已知方法进行。具体而言,除采用对 p63 特异的抗体外,分析可以根据“TRIM29 蛋白的表达分析”记载的方法进行。p63 的氨基酸序列在 SEQ ID NO :8 中示出,且编码 p63 的碱基序列在 SEQ ID NO :7 中示出。

[0074] 对 p63 特异的抗体可以是多克隆抗体或单克隆抗体;并且优选单克隆抗体。这是因为单克隆抗体通常与其他蛋白产生较少的交叉反应。可以采用已知或商业可得的抗体。例如,可以采用 4A4 单克隆抗体,其是商业可得的 p63 单克隆抗体。

[0075] [2] 用于识别前列腺基底细胞的存在、减少或消失的方法

[0076] 根据本发明的用于识别前列腺基底细胞的存在、减少或消失的方法,包括采用根据本发明的用于检测前列腺基底细胞的方法,通过免疫组化染色的方式,使三重基序蛋白 29 (TRIM29) 的表达可视化。在识别方法中,TRIM29 蛋白的表达被检测。TRIM29 蛋白的表达的检测可以以与在根据本发明的用于检测前列腺基底细胞的方法中的“TRIM29 蛋白的表达分析”中记载的相同的方式进行。在检测前列腺基底细胞之后,前列腺基底细胞的存在、减少和消失被识别。

[0077] 在根据本发明的用于识别前列腺基底细胞的存在、减少或消失的方法中,通过免疫组化染色的 TRIM29 蛋白表达的可视化,使得能够观察基底细胞形态和前列腺腺组织结构与 TRIM29 蛋白表达之间的关系,使得能够可靠地识别构成部分腺组织结构的基底细胞的存在、减少或消失。

[0078] 例如,当在组织切片上识别前列腺基底细胞的存在、减少或消失时,在测试样本中 TRIM29 蛋白的“存在”、“减少”或“消失”可以在荧光显微镜或光学显微镜下基于与 TRIM29 蛋白在正常前列腺组织的基底细胞中的表达水平相比较的 TRIM29 蛋白的可视化表达水平而被目测确定。在用相机等拍摄的图像中的信号,如着色、冷光、荧光或放射,可以被机械地可视化以分析 TRIM29 蛋白的表达水平。这样的方法使得能够通过肉眼查看图片来确定测试样品中 TRIM29 蛋白的“存在”、“减少”或“消失”,并且还使得能够通过信号的机械数字化而确定 TRIM29 蛋白的“存在”、“减少”或“消失”。

[0079] 例如,当与正常前列腺组织的基底细胞中的 TRIM29 蛋白的表达水平相比,测试样品中的 TRIM29 蛋白的水平为相当时,前列腺基底细胞可以被确定为“存在”于测试样品中。当在测试样品中几乎无法检测出 TRIM29 蛋白时,前列腺基底细胞可以被确定为“消失”。当测试样品中的 TRIM29 蛋白的水平介于“存在”和“消失”之间时,前列腺基底细胞可以被确定为“减少”。

[0080] <前列腺癌>

[0081] 在前列腺癌中,前列腺基底细胞完全消失,或者减少为一些细胞留存。因此,根据本发明的用于检测前列腺基底细胞的方法以及用于识别前列腺基底细胞的存在、减少和消

失的方法使得能够诊断或确诊前列腺癌。

[0082] [3] 免疫组化染色试剂盒

[0083] 根据本发明的用于检测前列腺基底细胞的免疫组化染色试剂盒包含 TRIM29 抗体。本发明的免疫组化染色试剂盒可以被用在检测前列腺基底细胞的方法中,用在识别前列腺基底细胞的存在、减少或消失的方法中,以及用在诊断前列腺癌的方法中。

[0084] 本发明的免疫组化染色试剂盒优选地包含与 TRIM29 特异结合的抗体或以期望的形式具有其抗原结合位点的片段(抗原结合片段)。此处所用的 TRIM29 抗体可以是在“[1] 用于检测前列腺基底细胞的方法”中记载的 TRIM29 抗体。换言之,抗体可以是单克隆抗体或多克隆抗体。抗体片段没有特别的限制,只要其具有与 TRIM29 特异结合的能力,即,其是具有抗原结合位点的片段(抗原结合片段)。此处所用的抗体片段可以是,例如,Fab、Fab'、F(ab')<sub>2</sub>或 Fv。

[0085] 此外,根据本发明的用于检测前列腺基底细胞的免疫组化染色试剂盒优选地包含细胞角蛋白抗体和/或 p63 抗体。此处所用的细胞角蛋白抗体和 p63 抗体可以是在“[1] 用于检测前列腺基底细胞的方法”中记载的细胞角蛋白抗体和 p63 抗体、或具有其抗原结合位点的片段(抗原结合片段)。

[0086] 此外,根据本发明的用于检测前列腺基底细胞的免疫组化染色试剂盒可以包含一种酶,例如过氧化物酶、碱性磷酸酶、 $\beta$ -D-半乳糖苷酶和葡萄糖氧化酶。该试剂盒还可以包含,例如,作为荧光底物的异硫氰酸荧光素或稀土金属螯合物。试剂盒还可以包含放射性同位素如 <sup>3</sup>H、<sup>14</sup>C 和 <sup>125</sup>I。根据本发明的试剂盒可以采用其他标记物质如生物素、抗生物素蛋白和化学发光物质。本发明的试剂盒可以包含,例如,酶合适底物或化学发光物质。

[0087] 本发明的试剂盒可以包含声明其用于检测前列腺基底细胞的说明书。对用于检测前列腺基底细胞的效果的说明可以存在于试剂盒用的容器上。可以声明该试剂盒用于前列腺癌的诊断或确诊。

[0088] TRIM29 抗体可以被用于制造检测前列腺基底细胞的免疫组化染色试剂盒。细胞角蛋白抗体也可以被用于制造检测前列腺基底细胞的免疫组化染色试剂盒。此外, p63 抗体可以被用于制造检测前列腺基底细胞的免疫组化染色试剂盒。

[0089] 实施例

[0090] 参考实施例在以下详细说明本发明,实施例并非意在限制本发明的范围。

[0091] < 实施例 1 >

[0092] 在此实施例中,采用 TRIM29 抗体进行前列腺组织(正常和癌症)的免疫组化染色。使用在北海道大学医学研究院癌症病理学系(Department of Cancer Pathology, Hokkaido University Graduate School of Medicine)保存和管理的 16 个样本的前列腺标本来进行该免疫组化染色。供分析所用的前列腺标本的概况在表 1 中示出。对 15 个前列腺癌样本和 1 个前列腺上皮内瘤(PIN)样本进行分析。

[0093] [表 1]

[0094] 表 1. 在 15 个前列腺癌病例中的临床病理学发现

[0095]

	<i>n</i> (%)
年龄 (岁)	
<65	2 (13.3)
65-75	7 (46.7)
>75	6 (40)
PSA (ng/ml)	
4<PSA<6	5 (33.3)
6≤PSA<10	8 (53.3)
10<	2 (13.3)
T (原发肿瘤的程度)	
T1c	12(80)
T2a	2 (13.3)
T2b	0 (0)
T2c	1 (6.7)
N (淋巴结转移)	
N0	15(100.0)
N1<	0 (0)
M (远端转移)	
M0	15 (100)
M1<	0 (0)
TNM 期	
I	0 (0)
II	15 (100)
III	0 (0)
IV	0 (0)

[0096] (1) 用 TRIM29 兔多克隆抗体染色

[0097] 将作为一抗的 TRIM29 兔多克隆抗体 (由 Santa Cruz 制备的 (ATDC(H-300) SC-33151) 用稀释剂 (含有 1% BSA 的 PBS) 稀释 200 倍, 并加至各个组织切片。一抗反应在 37°C 进行 30 分钟。用洗涤溶液 (PBS) 将所得的组织切片洗涤三次, 并向组织切片加入含有作为二抗的经过氧化物酶标记的抗兔抗体 (Dako REAL™ EnVision™ Detection Reagent peroxidase rabbit/mouse (检测试剂过氧化物酶兔 / 小鼠)) 的试剂。二抗反应在室温进行 30 分钟。所得物用洗涤溶液洗涤 3 次, 然后用着色液 (Dako 的 REAL™ DAB+CHROMOGEN (色原体)) 进行着色反应。(2) 用细胞角蛋白单克隆抗体进行染色

[0098] 另外, 使用细胞角蛋白单克隆抗体 34 β E12 作为一抗进行前列腺组织 (正常和癌症) 的免疫组化染色。重复以上 (1) 中所记载的步骤, 除使用以 1% BSA 稀释 2 倍的

34 β E12(H1205Nichirei 高分子细胞角蛋白单克隆抗体) 代替稀释 200 倍的 TRIM29 兔多克隆抗体外。

[0099] 如以上 (1) 和 (2) 中记载的免疫组化染色的结果在图 1 中示出。其表明, TRIM29 抗体对正常前列腺组织中的腺细胞周围存在的基底细胞特异性地染色。表明在前列腺癌组织中, 经 TRIM29 抗体染色的细胞和组织减少或消失。这些结果与采用 34 β E12 进行免疫组化染色时得到的结果相当。34 β E12 和 TRIM29 抗体的组合使用能够增加前列腺癌诊断的可靠性。

[0100] < 实施例 2 >

[0101] 在此实施例中, 使用 TRIM29 小鼠单克隆抗体 (抗 -ATDC(A-5) 抗体) (sc-166718) 作为一抗进行正常前列腺的免疫组化染色。

[0102] 重复实施例 1 的 (1) 小节中记载的步骤, 除使用 TRIM29 小鼠单克隆抗体 A-5 作为一抗, 使用抗小鼠 IgG 抗体作为二抗, 且仅使用正常前列腺组织作为样本外。

[0103] 如图 2 所示, 未观察到非特异性的染色且基底细胞被清楚地染色。

[0104] < 实施例 3 >

[0105] 在此实施例中, 使用 TRIM29 小鼠单克隆抗体 (抗 -ATDC(A-5) 抗体) (sc-166718) 和细胞角蛋白单克隆抗体进行正常前列腺的免疫组化染色。

[0106] 重复实施例 2 中所记载的关于 TRIM29 小鼠单克隆抗体的步骤, 并重复实施例 1 的 (2) 小节中所记载的关于细胞角蛋白单克隆抗体的步骤, 除仅使用正常的前列腺组织外。

[0107] 如图 3 所示, 用 TRIM29 小鼠单克隆抗体进行的染色提供了与用细胞角蛋白单克隆抗体染色极为相似的结果; 且这两种免疫组化染色的组合使得能够可靠地鉴别前列腺基底细胞。

[0108] 当对实施例 1 ~ 3 中的免疫组化染色结果进行分析时, 发现对于所有前列腺癌病例, 癌组织部分中的 TRIM29 表达均消失。相比之下, 对于前列腺上皮内瘤, 在基底细胞部分中观察到的 TRIM29 表达与正常前列腺一样。这些结果示于表 2 中。

[0109] [ 表 2 ]

[0110] 表 2. 前列腺癌中 TRIM29 染色的程度

[0111]

在所有腺泡中TRIM29-阳性腺泡的百分比

Gleason 得分	0	0-30	30-60	60-100
Gleason 得分 3 + 3 = 6 (n=8)	8	0	0	0
Gleason 得分 3 + 4 = 7 (n=3)	3	0	0	0
Gleason 得分 4 + 3 = 7 (n=1)	1	0	0	0
Gleason 得分 4 + 4 = 8 (n=2)	2	0	0	0
Gleason 得分 4 + 5 = 9 (n=1)	1	0	0	0
PIN (n=1)	0	0	0	1
正常部位 (n=15)	0	0	0	15

[0112] 工业实用性

[0113] 根据本发明的用于检测前列腺基底细胞的方法可以用于前列腺的组织学研究。根据本发明的用于识别前列腺基底细胞的存在、减少或消失的方法使得能够确诊前列腺癌。此外,上述方法与细胞角蛋白表达分析的结合使得能够更加可靠地确诊前列腺癌。

[0001]

## 序列表

<110> 国立大学法人北海道大学  
 <120> 用于检测前列腺基底细胞的方法  
 <130> 671812/P2012-103-W001/LP0056  
 <150> JP 2012-277980  
 <151> 2012-12-20  
 <160> 8  
 <170> PatentIn 版本3.1  
 <210> 1  
 <211> 1767  
 <212> DNA  
 <213> 智人 (Homo sapiens)  
 <400> 1  
 atggaagctg cagatgcctc caggagcaac gggctgagcc cagaagccag ggatgcccgg 60  
 agcccgtogg gcccagtg gacccctggag aatggcacca aggctgacgg caaggatgcc 120  
 aagaccacca acgggcacgg cggggaggca gctgagggca agagcctggg cagocccctg 180  
 aagccagggg aaggtaggag cgccctgttc gcgggcaatg agtggcggcg acccatcatc 240  
 cagtttctcg agtccgggga cgacaagaac tccaactact tcagcatgga ctctatggaa 300  
 ggcaagaggt cgccgtacgc agggctccag ctgggggctg ccaagaagcc acccgttacc 360  
 tttgccaaa agggcgagct gcgcaagtc attttctcgg agtcccggaa gcccacggtg 420  
 tccatcatgg agcccgggga gaccggcggg aacagctacc cccgggcca caccggcctt 480  
 ttttcacggt ccaagtccgg ctccgaggag gtgctgtgcg actcctgcat cggcaacaag 540  
 cagaaggcgg tcaagtctg cctggtgtgc caggcctct tctgagctg gcatctcaag 600  
 ccccacctgg agggcgccgc ctccgagac caccagctgc tcgagccat ccgggacttt 660  
 gaggcccga agtgtcccgt gcatggcaag acgatggagc tcttctgcca gaccgaccag 720  
 acctgcatct getaccttg catgtccag gacacaaga atcatagcac cgtgacagt 780  
 gaggaggcca agccgagaa ggagacggag ctgtcattgc aaaaggagca gctgcagctc 840  
 aagatcattg agattgagga tgaagctgag aagtggcaga aggagaagga ccgcatcaag 900  
 agcttcacca ccaatgagaa ggccatcctg gacgagaact tccgggaact ggtgcgggac 960  
 ctggagaagc aaaaggagga agtgaggct gcgctggagc agcgggagca ggatgctgtg 1020  
 gaccaagiga aggtgatcat ggatgctctg gatgagagag ccaaggtgct gcatgaggac 1080  
 aagcagaccc gggagcagct gcatagcatc agcactctg tgttgtttct gcaggaattt 1140  
 ggtgcatgta tgagcaatta ctctctcccc ccaccctgc ccaactatca tctctgctg 1200  
 gaggggagg gctgggaca gtcactagge aactcaagg acgacctgct caatgtatgc 1260  
 atgcgccacg ttgagaagat gtgcaaggcg gacctgagcc gtaacttcat tgagaggaac 1320

[0002]

cacatggaga acggtggga ccctcgctat gtgaacaact acacgaacag cttcgggggt 1380  
 gagtggagtg caccggacac catgaagaga tactccatgt acctgacacc caaaggtggg 1440  
 gtcgggacat cataccagcc ctctctctct ggcccgttca ccaaggagac caccagaag 1500  
 aatttcaaca atctctatgg caccaaaggt aactacacct cccgggtctg ggagtactcc 1560  
 tccagcattc agaactctga caatgacctg cccgtctcc aaggeagctc ctctctctcc 1620  
 ctgaaaggct atccctccct catgoggagc caaagcccca aggcccagcc ccagacttgg 1680  
 aaatctggca agcagactat gctgtctcac taccggccat tctactcaa caaaggcaac 1740  
 gggattgggt ccaacgaagc cccatga 1767

<210> 2  
 <211> 588  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 2

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

[0003]

Phe Ser Arg Ser Lys Ser Gly Ser Glu Glu Val Leu Cys Asp Ser Cys  
 165 170 175

Ile Gly Asn Lys Gln Lys Ala Val Lys Ser Cys Leu Val Cys Gln Ala  
 180 185 190

Ser Phe Cys Glu Leu His Leu Lys Pro His Leu Glu Gly Ala Ala Phe  
 195 200 205

Arg Asp His Gln Leu Leu Glu Pro Ile Arg Asp Phe Glu Ala Arg Lys  
 210 215 220

Cys Pro Val His Gly Lys Thr Met Glu Leu Phe Cys Gln Thr Asp Gln  
 225 230 235 240

Thr Cys Ile Cys Tyr Leu Cys Met Phe Gln Glu His Lys Asn His Ser  
 245 250 255

Thr Val Thr Val Glu Glu Ala Lys Ala Glu Lys Glu Thr Glu Leu Ser  
 260 265 270

Leu Gln Lys Glu Gln Leu Gln Leu Lys Ile Ile Glu Ile Glu Asp Glu  
 275 280 285

Ala Glu Lys Trp Gln Lys Glu Lys Asp Arg Ile Lys Ser Phe Thr Thr  
 290 295 300

Asn Glu Lys Ala Ile Leu Glu Gln Asn Phe Arg Asp Leu Val Arg Asp  
 305 310 315 320

Leu Glu Lys Gln Lys Glu Glu Val Arg Ala Ala Leu Glu Gln Arg Glu  
 325 330 335

Gln Asp Ala Val Asp Gln Val Lys Val Ile Met Asp Ala Leu Asp Glu  
 340 345 350

Arg Ala Lys Val Leu His Glu Asp Lys Gln Thr Arg Glu Gln Leu His  
 355 360 365

Ser Ile Ser Asp Ser Val Leu Phe Leu Gln Glu Phe Gly Ala Leu Met  
 370 375 380

Ser Asn Tyr Ser Leu Pro Pro Pro Leu Pro Thr Tyr His Val Leu Leu  
 385 390 395 400

Glu Gly Glu Gly Leu Gly Gln Ser Leu Gly Asn Phe Lys Asp Asp Leu  
 405 410 415

[0004]

Leu Asn Val Cys Met Arg His Val Glu Lys Met Cys Lys Ala Asp Leu  
 420 425 430

Ser Arg Asn Phe Ile Glu Arg Asn His Met Glu Asn Gly Gly Asp His  
 435 440 445

Arg Tyr Val Asn Asn Tyr Thr Asn Ser Phe Gly Gly Glu Trp Ser Ala  
 450 455 460

Pro Asp Thr Met Lys Arg Tyr Ser Met Tyr Leu Thr Pro Lys Gly Gly  
 465 470 475 480

Val Arg Thr Ser Tyr Gln Pro Ser Ser Pro Gly Arg Phe Thr Lys Glu  
 485 490 495

Thr Thr Gln Lys Asn Phe Asn Asn Leu Tyr Gly Thr Lys Gly Asn Tyr  
 500 505 510

Thr Ser Arg Val Trp Glu Tyr Ser Ser Ser Ile Gln Asn Ser Asp Asn  
 515 520 525

Asp Leu Pro Val Val Gln Gly Ser Ser Ser Phe Ser Leu Lys Gly Tyr  
 530 535 540

Pro Ser Leu Met Arg Ser Gln Ser Pro Lys Ala Gln Pro Gln Thr Trp  
 545 550 555 560

Lys Ser Gly Lys Gln Thr Met Leu Ser His Tyr Arg Pro Phe Tyr Val  
 565 570 575

Asn Lys Gly Asn Gly Ile Gly Ser Asn Glu Ala Pro  
 580 585

<210> 3  
 <211> 1773  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<400> 3  
 atgtctcgcc agtcaagtgt gtccttcgag agcgggggca gtcgtagctt cagcaccgcc 60  
 tctgccatca ccccgctctgt ctcccgcacc agcttcacct ccgtgtcccg gtccgggggt 120  
 ggcgggtggtg gtggcttcgg cagggtcagc cttgcgggtg cttgtggagt ggggtgctat 180  
 ggcagccgga gcocttaciaa cctggggggc tccaagagga tatccatcag cactagtggc 240  
 ggcagcttca ggaaccgggtt tgggtgctggt gctggaggcg gctatggctt iggagggtgt 300  
 gccggtagtg gatttggttt cggcggtgga gctgggtggt gctttgggct cgggtggcga 360  
 gctggctttg gagtggtcct cgggtggcct ggctttcctg tctgcccctc tggagggtatc 420

[0005]

caagaggtca ctgtcaacca gagtctcctg actcccctca acctgcaaat cgaccccagc 480  
 atccagaggg tgaggaccga ggagcgcgag cagatcaaga cccccaacaa taagtttggc 540  
 tccttcacg acaaggtgcg gttcctggag cagcagaaca aggttctgga caccaagtgg 600  
 acctgtctgc aggagcaggg caccaagact gtgaggcaga acctggagcc gttgttogag 660  
 cagtacatca acaacctcag gaggcagctg gacagcatcg tgggggaacg gggccgcctg 720  
 gactcagagc tgagaaacat gcaggacctg gtggaagact tcaagaacaa gtatgaggat 780  
 gaaatcaaca agcgtaccac tgctgagaat gagtttgtga tgctgaagaa ggatgtagat 840  
 gctgcctaca tgaacaaggt ggagctggag gccaaagttg atgcactgat ggatgagatt 900  
 aacttcacga agatgttctt tgatgcggag ctgtcccaga tgcagacgca tgtctctgac 960  
 acctcagtgg tcctctccat ggacaacaac cgcaacctgg acctggatag catcatcgct 1020  
 gaggtaagg ccaglatga ggagattgcc aaccgcagcc ggacagaagc cgagtcctgg 1080  
 tatcagacca agtatgagga gctgcagcag acagctggcc ggcattggca tgacctccgc 1140  
 aacaccaagc atgagatctc tgagatgaac cggatgatcc agaggctgag agccgagatt 1200  
 gacaatgtca agaaacagtg cgccaatctg cagaacgcca ttgcggatgc cgagcagcgt 1260  
 ggggagctgg ccccaagga tgcagggaac aagctggccg agctggagga ggccctgcag 1320  
 aaggccaagc aggacatggc cggctgctg cgtgagtacc aggagctcat gaacaccaag 1380  
 ctggccctgg acgtggagat cgccacttac cgcaagctgc tggagggcga ggaatgcaga 1440  
 ctcagtggag aaggagtgg accagtcac atctctgttg tcacaagcag tgtttctct 1500  
 ggatatggca gtggcagtgg ctatggcggg ggcctcggg gaggtcttgg cggcggcctc 1560  
 ggtggaggtc ttgccggagg tagcagtgga agctactact ccagcagcag tgggggtgtc 1620  
 ggccatagtg gtgggctcag tgtggggggc tctggttca gtgcaagcag tggccgaggg 1680  
 ctgggggtgg gctttggcag tggcgggggt agcagctcca gctcaaatt tgtctccacc 1740  
 acctctctct cccggaagag cttcaagagc taa 1773

<210> 4  
 <211> 590  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 4

Met Ser Arg Gln Ser Ser Val Ser Phe Arg Ser Gly Gly Ser Arg Ser  
 1 5 10 15

Phe Ser Thr Ala Ser Ala Ile Thr Pro Ser Val Ser Arg Thr Ser Phe  
 20 25 30

Thr Ser Val Ser Arg Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly Gly Phe Gly Arg

[0006]



290                      295                      300  
 Met Phe Phe Asp Ala Glu Leu Ser Gln Met Gln Thr His Val Ser Asp  
 305                                      310                                      315                                      320  
 Thr Ser Val Val Leu Ser Met Asp Asn Asn Arg Asn Leu Asp Leu Asp  
                                     325                                      330                                      335  
 Ser Ile Ile Ala Glu Val Lys Ala Gln Tyr Glu Glu Ile Ala Asn Arg  
                                     340                                      345                                      350  
 Ser Arg Thr Glu Ala Glu Ser Trp Tyr Gln Thr Lys Tyr Glu Glu Leu  
                                     355                                      360                                      365  
 Gln Gln Thr Ala Gly Arg His Gly Asp Asp Leu Arg Asn Thr Lys His  
                                     370                                      375                                      380  
 Glu Ile Ser Glu Met Asn Arg Met Ile Gln Arg Leu Arg Ala Glu Ile  
 385                                      390                                      395                                      400  
 Asp Asn Val Lys Lys Gln Cys Ala Asn Leu Gln Asn Ala Ile Ala Asp  
                                     405                                      410                                      415  
 Ala Glu Gln Arg Gly Glu Leu Ala Leu Lys Asp Ala Arg Asn Lys Leu  
                                     420                                      425                                      430  
 Ala Glu Leu Glu Glu Ala Leu Gln Lys Ala Lys Gln Asp Met Ala Arg  
                                     435                                      440                                      445  
 Leu Leu Arg Glu Tyr Gln Glu Leu Met Asn Thr Lys Leu Ala Leu Asp  
                                     450                                      455                                      460  
 Val Glu Ile Ala Thr Tyr Arg Lys Leu Leu Glu Gly Glu Glu Cys Arg  
 465                                      470                                      475                                      480  
 Leu Ser Gly Glu Gly Val Gly Pro Val Asn Ile Ser Val Val Thr Ser  
                                     485                                      490                                      495  
 Ser Val Ser Ser Gly Tyr Gly Ser Gly Ser Gly Tyr Gly Gly Gly Leu  
                                     500                                      505                                      510  
 Gly Gly Gly Leu Gly Gly Gly Leu Gly Gly Gly Leu Ala Gly Gly Ser  
                                     515                                      520                                      525  
 Ser Gly Ser Tyr Tyr Ser Ser Ser Ser Gly Gly Val Gly Leu Gly Gly  
                                     530                                      535                                      540  
 Gly Leu Ser Val Gly Gly Ser Gly Phe Ser Ala Ser Ser Gly Arg Gly

[0008]



<210> 6  
 <211> 472  
 <212> PRT  
 <213> 智人  
 <400> 6  
 Met Thr Thr Cys Ser Arg Gln Phe Thr Ser Ser Ser Ser Met Lys Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Cys Gly Ile Gly Gly Gly Ile Gly Gly Gly Ser Ser Arg Ile Ser  
 20 25 30  
 Ser Val Leu Ala Gly Gly Ser Cys Arg Ala Pro Ser Thr Tyr Gly Gly  
 35 40 45  
 Gly Leu Ser Val Ser Ser Ser Arg Phe Ser Ser Gly Gly Ala Tyr Gly  
 50 55 60  
 Leu Gly Gly Gly Tyr Gly Gly Gly Phe Ser Ser Ser Ser Ser Phe  
 65 70 75 80  
 Gly Ser Gly Phe Gly Gly Gly Tyr Gly Gly Gly Leu Gly Ala Gly Leu  
 85 90 95  
 Gly Gly Gly Phe Gly Gly Gly Phe Ala Gly Gly Asp Gly Leu Leu Val  
 100 105 110  
 Gly Ser Glu Lys Val Thr Met Gln Asn Leu Asn Asp Arg Leu Ala Ser  
 115 120 125  
 Tyr Leu Asp Lys Val Arg Ala Leu Glu Glu Ala Asn Ala Asp Leu Glu  
 130 135 140  
 Val Lys Ile Arg Asp Trp Tyr Gln Arg Gln Arg Pro Ala Glu Ile Lys  
 145 150 155 160  
 Asp Tyr Ser Pro Tyr Phe Lys Thr Ile Glu Asp Leu Arg Asn Lys Ile  
 165 170 175  
 Leu Thr Ala Thr Val Asp Asn Ala Asn Val Leu Leu Gln Ile Asp Asn  
 180 185 190  
 Ala Arg Leu Ala Ala Asp Asp Phe Arg Thr Lys Tyr Glu Thr Glu Leu  
 195 200 205  
 Asn Leu Arg Met Ser Val Glu Ala Asp Ile Asn Gly Leu Arg Arg Val  
 210 215 220

[0010]

Leu Asp Glu Leu Thr Leu Ala Arg Ala Asp Leu Glu Met Gln Ile Glu  
 225 230 235 240

Ser Leu Lys Glu Glu Leu Ala Tyr Leu Lys Lys Asn His Glu Glu Glu  
 245 250 255

Met Asn Ala Leu Arg Gly Gln Val Gly Gly Asp Val Asn Val Glu Met  
 260 265 270

Asp Ala Ala Pro Gly Val Asp Leu Ser Arg Ile Leu Asn Glu Met Arg  
 275 280 285

Asp Gln Tyr Glu Lys Met Ala Glu Lys Asn Arg Lys Asp Ala Glu Glu  
 290 295 300

Trp Phe Phe Thr Lys Thr Glu Glu Leu Asn Arg Glu Val Ala Thr Asn  
 305 310 315 320

Ser Glu Leu Val Gln Ser Gly Lys Ser Glu Ile Ser Glu Leu Arg Arg  
 325 330 335

Thr Met Gln Asn Leu Glu Ile Glu Leu Gln Ser Gln Leu Ser Met Lys  
 340 345 350

Ala Ser Leu Glu Asn Ser Leu Glu Glu Thr Lys Gly Arg Tyr Cys Met  
 355 360 365

Gln Leu Ala Gln Ile Gln Glu Met Ile Gly Ser Val Glu Glu Gln Leu  
 370 375 380

Ala Gln Leu Arg Cys Glu Met Glu Gln Gln Asn Gln Glu Tyr Lys Ile  
 385 390 395 400

Leu Leu Asp Val Lys Thr Arg Leu Glu Gln Glu Ile Ala Thr Tyr Arg  
 405 410 415

Arg Leu Leu Glu Gly Glu Asp Ala His Leu Ser Ser Ser Gln Phe Ser  
 420 425 430

Ser Gly Ser Gln Ser Ser Arg Asp Val Thr Ser Ser Ser Arg Gln Ile  
 435 440 445

Arg Thr Lys Val Met Asp Val His Asp Gly Lys Val Val Ser Thr His  
 450 455 460

Glu Gln Val Leu Arg Thr Lys Asn  
 465 470

[0011]

<210> 7  
 <211> 2043  
 <212> DNA  
 <213> 智人

<400> 7  
 atgaatttg aaacttcacg gtgtgccacc ctacagtact gccctgaccc tfacatccag 60  
 ogtttcgtag aaaccccagc tcattttctt tggaaagaaa gttattaccg atccaccatg 120  
 tcccagagca cacagacaaa tgaattcctc agtccagagg ttttccagca tatctgggat 180  
 tttctggaac agcctatatg ttcagttcag cccattgact tgaactttgt ggatgaacca 240  
 tcagaagatg gtgcgacaaa caagattgag attagcatgg actgtatccg catgcaggac 300  
 tcggacctga gtgaccccat gtggccacag tacacgaacc tggggctcct gaacagcatg 360  
 gaccagcaga ttcagaacgg ctectcgtcc accagtcctt ataacacaga ccacgcgcag 420  
 aacagcgtca cggcgccttc gccctacgca cagcccagct ccacettcga tgctctctct 480  
 ccatcacccg ccatcccctc caacaccgac taccaggcc cgcacagttt cgacgtgtcc 540  
 ticcagcagt cgagcaccgc caagtcggcc acctggacgt attccactga actgaagaaa 600  
 ctctactgcc aaattgcaaa gacatgcccc atccagatca aggtgatgac cccacctcct 660  
 caggagctg ttatccgcgc catgcctgtc taaaaaaag ctgagcacgt caoggaggtg 720  
 gtgaagcggg gccccaacca tgagctgagc cgtgaattca acgagggaca gattgccctt 780  
 cctagtcat tgaattcgagt agaggggaac agccatgccc agtatgtaga agatcccatc 840  
 acaggaagac agagtgtgct ggtaccttat gagccacccc aggttggcac tgaattcacg 900  
 acagtcttgt acaatttcat gtgtaacagc agttgtgttg gagggatgaa ccgccgtcca 960  
 attttaatca itgttactct ggaaaccaga gatgggcaag tcttgggccc acgtgtcttt 1020  
 gagggccgga tctgtgcttg cccaggaaga gacaggaagg cggatgaaga tagcatcaga 1080  
 aagcagcaag tttcggacag tacaagaac ggtgatggta cgaagcggcc gtttcgtcag 1140  
 aacacacatg gtatccagat gacatccatc aagaacgaa gatcccaga tgatgaactg 1200  
 ttatacttac cagtgagggg ccgtgagact tatgaaatgc tgttgaagat caaagagtcc 1260  
 ctggaactca tgcagtaoct tctcagcac acaattgaaa cgtacaggca acagcaaacg 1320  
 cagcagcacc agcacttact tcagaaacag acctcaatac agtetccatc ttcatatggt 1380  
 aacagctccc caoctctgaa caaaatgaa agcatgaaca agctgccttc tgtgagccag 1440  
 cttatcaacc ctcagcagcg caacgcctc actcctacaa ccattcctga tggcatggga 1500  
 gccaacattc ccatgatggg caccacatg ccaatggctg gagacatgaa tggactcagc 1560  
 cccaccagc cactccctcc cccactctcc atgccatcca cctcccactg cacaccccca 1620  
 cctcgtatc ccacagattg cagcattgtc agtttcttag cgaggttggg ctgttcatca 1680  
 tgtctggact atttcaagac ccaggggctg accaccatct atcagattga gcattactcc 1740

[0012]

atggatgac tggcaagtct gaaaatcct gagcaattc gacatgcgat ctggaagggc 1800  
 atcctggacc accggcagct ccacgaattc tcctcccctt ctctctctct gcggaaccca 1860  
 agcagtgcct ctacagtcag tgtgggctcc agtgagaccc ggggtgagcg tgttattgat 1920  
 gctgtgcgat tcaccctccg ccagaccatc tctttcccac ccgagatga gtggaatgac 1980  
 ttcaactttg acatggatgc tcgccgcaat aagcaacagc gcatcaaaga ggagggggag 2040  
 tga 2043

<210> 8  
 <211> 680  
 <212> PRT  
 <213> 智人

<400> 8

Met Asn Phe Glu Thr Ser Arg Cys Ala Thr Leu Gln Tyr Cys Pro Asp  
 1 5 10 15

Pro Tyr Ile Gln Arg Phe Val Glu Thr Pro Ala His Phe Ser Trp Lys  
 20 25 30

Glu Ser Tyr Tyr Arg Ser Thr Met Ser Gln Ser Thr Gln Thr Asn Glu  
 35 40 45

Phe Leu Ser Pro Glu Val Phe Gln His Ile Trp Asp Phe Leu Glu Gln  
 50 55 60

Pro Ile Cys Ser Val Gln Pro Ile Asp Leu Asn Phe Val Asp Glu Pro  
 65 70 75 80

Ser Glu Asp Gly Ala Thr Asn Lys Ile Glu Ile Ser Met Asp Cys Ile  
 85 90 95

Arg Met Gln Asp Ser Asp Leu Ser Asp Pro Met Trp Pro Gln Tyr Thr  
 100 105 110

Asn Leu Gly Leu Leu Asn Ser Met Asp Gln Gln Ile Gln Asn Gly Ser  
 115 120 125

Ser Ser Thr Ser Pro Tyr Asn Thr Asp His Ala Gln Asn Ser Val Thr  
 130 135 140

Ala Pro Ser Pro Tyr Ala Gln Pro Ser Ser Thr Phe Asp Ala Leu Ser  
 145 150 155 160

Pro Ser Pro Ala Ile Pro Ser Asn Thr Asp Tyr Pro Gly Pro His Ser  
 165 170 175

[0013]

Phe Asp Val Ser Phe Gln Gln Ser Ser Thr Ala Lys Ser Ala Thr Trp  
 180 185 190

Thr Tyr Ser Thr Glu Leu Lys Lys Leu Tyr Cys Gln Ile Ala Lys Thr  
 195 200 205

Cys Pro Ile Gln Ile Lys Val Met Thr Pro Pro Pro Gln Gly Ala Val  
 210 215 220

Ile Arg Ala Met Pro Val Tyr Lys Lys Ala Glu His Val Thr Glu Val  
 225 230 235 240

Val Lys Arg Cys Pro Asn His Glu Leu Ser Arg Glu Phe Asn Glu Gly  
 245 250 255

Gln Ile Ala Pro Pro Ser His Leu Ile Arg Val Glu Gly Asn Ser His  
 260 265 270

Ala Gln Tyr Val Glu Asp Pro Ile Thr Gly Arg Gln Ser Val Leu Val  
 275 280 285

Pro Tyr Glu Pro Pro Gln Val Gly Thr Glu Phe Thr Thr Val Leu Tyr  
 290 295 300

Asn Phe Met Cys Asn Ser Ser Cys Val Gly Gly Met Asn Arg Arg Pro  
 305 310 315 320

Ile Leu Ile Ile Val Thr Leu Glu Thr Arg Asp Gly Gln Val Leu Gly  
 325 330 335

Arg Arg Cys Phe Glu Ala Arg Ile Cys Ala Cys Pro Gly Arg Asp Arg  
 340 345 350

Lys Ala Asp Glu Asp Ser Ile Arg Lys Gln Gln Val Ser Asp Ser Thr  
 355 360 365

Lys Asn Gly Asp Gly Thr Lys Arg Pro Phe Arg Gln Asn Thr His Gly  
 370 375 380

Ile Gln Met Thr Ser Ile Lys Lys Arg Arg Ser Pro Asp Asp Glu Leu  
 385 390 395 400

Leu Tyr Leu Pro Val Arg Gly Arg Glu Thr Tyr Glu Met Leu Leu Lys  
 405 410 415

Ile Lys Glu Ser Leu Glu Leu Met Gln Tyr Leu Pro Gln His Thr Ile  
 420 425 430

[0014]

Glu Thr Tyr Arg Gln Gln Gln Gln Gln His Gln His Leu Leu Gln  
 435 440 445

Lys Gln Thr Ser Ile Gln Ser Pro Ser Ser Tyr Gly Asn Ser Ser Pro  
 450 455 460

Pro Leu Asn Lys Met Asn Ser Met Asn Lys Leu Pro Ser Val Ser Gln  
 465 470 475 480

Leu Ile Asn Pro Gln Gln Arg Asn Ala Leu Thr Pro Thr Thr Ile Pro  
 485 490 495

Asp Gly Met Gly Ala Asn Ile Pro Met Met Gly Thr His Met Pro Met  
 500 505 510

Ala Gly Asp Met Asn Gly Leu Ser Pro Thr Gln Ala Leu Pro Pro Pro  
 515 520 525

Leu Ser Met Pro Ser Thr Ser His Cys Thr Pro Pro Pro Tyr Pro  
 530 535 540

Thr Asp Cys Ser Ile Val Ser Phe Leu Ala Arg Leu Gly Cys Ser Ser  
 545 550 555 560

Cys Leu Asp Tyr Phe Thr Thr Gln Gly Leu Thr Thr Ile Tyr Gln Ile  
 565 570 575

Glu His Tyr Ser Met Asp Asp Leu Ala Ser Leu Lys Ile Pro Glu Gln  
 580 585 590

Phe Arg His Ala Ile Trp Lys Gly Ile Leu Asp His Arg Gln Leu His  
 595 600 605

Glu Phe Ser Ser Pro Ser His Leu Leu Arg Thr Pro Ser Ser Ala Ser  
 610 615 620

Thr Val Ser Val Gly Ser Ser Glu Thr Arg Gly Glu Arg Val Ile Asp  
 625 630 635 640

Ala Val Arg Phe Thr Leu Arg Gln Thr Ile Ser Phe Pro Pro Arg Asp  
 645 650 655

Glu Trp Asn Asp Phe Asn Phe Asp Met Asp Ala Arg Arg Asn Lys Gln  
 660 665 670

Gln Arg Ile Lys Glu Glu Gly Glu  
 675 680

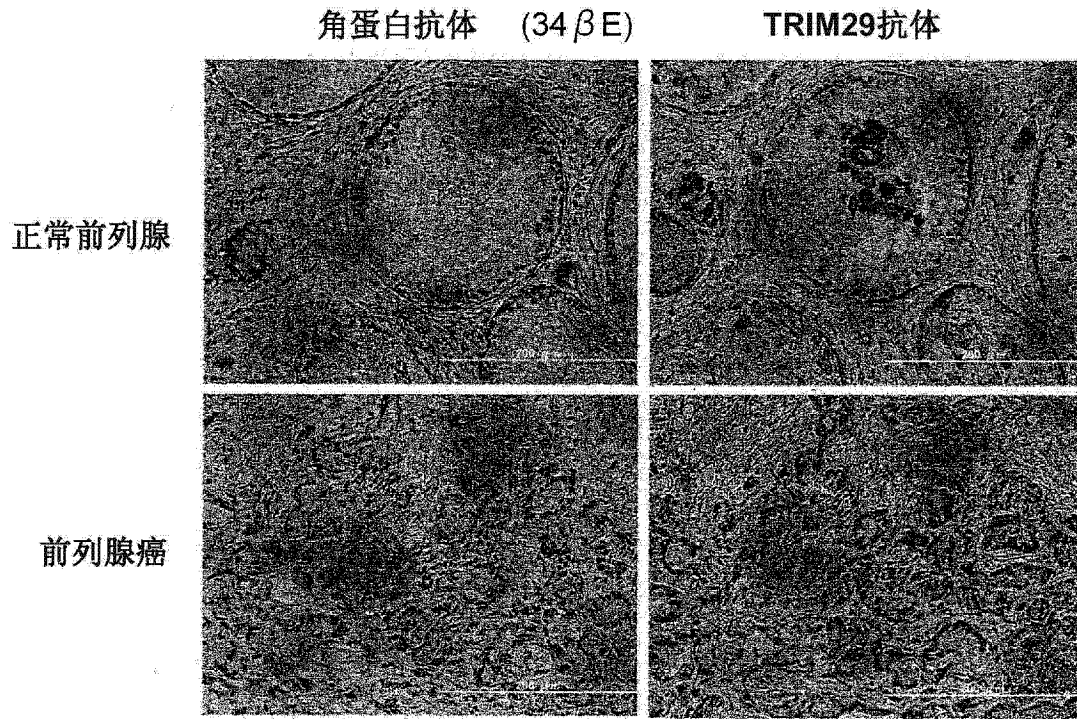


图 1

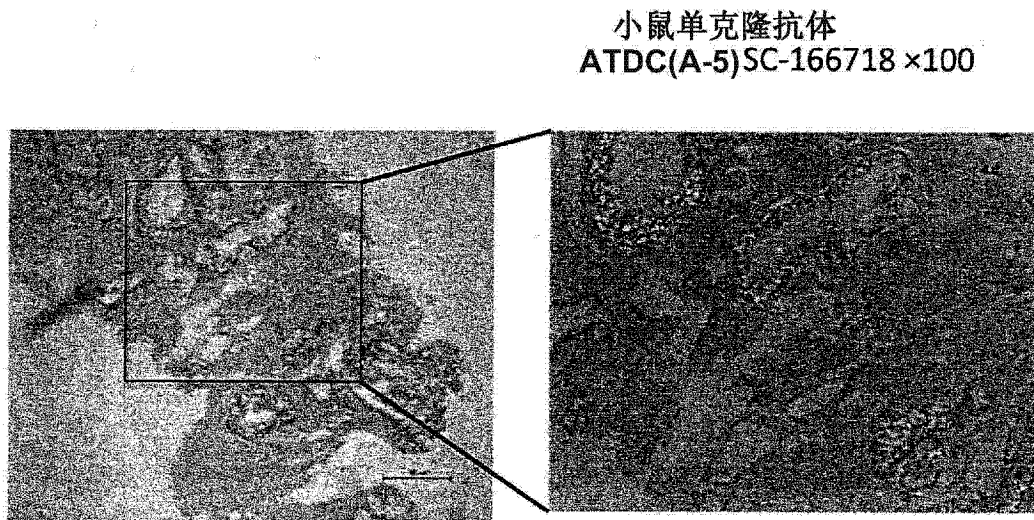


图 2

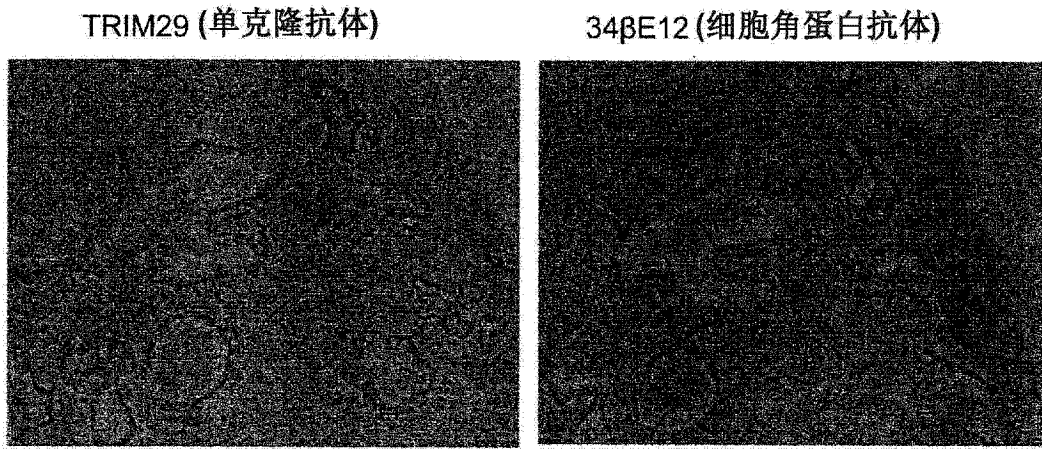


图 3

专利名称(译)	用于检测前列腺基底细胞的方法		
公开(公告)号	<a href="#">CN104871002A</a>	公开(公告)日	2015-08-26
申请号	CN201380067022.3	申请日	2013-12-18
[标]申请(专利权)人(译)	国立大学法人北海道大学 LSIP基金运营联合公司		
申请(专利权)人(译)	国立大学法人北海道大学 LSIP基金运营联合公司		
当前申请(专利权)人(译)	国立大学法人北海道大学 LSIP基金运营联合公司		
[标]发明人	畠山镇次 田中伸哉		
发明人	畠山镇次 田中伸哉		
IPC分类号	G01N33/53 G01N33/48		
CPC分类号	G01N33/57434 G01N2333/435 C07K16/18 G01N2333/4703 G01N2333/4742 G01N2333/4748		
优先权	2012277980 2012-12-20 JP		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

本发明的目的是提供一种通过搜寻在前列腺基底细胞中特异性表达的分子并分析这些分子来检测前列腺基底细胞的方法。该问题能够采用用于检测前列腺基底细胞的方法来解决，该方法的特征在于，其采用免疫组化染色使TRIM29(三重基序蛋白29)蛋白在前列腺基底细胞中的表达可视化。

