



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102803955 A

(43) 申请公布日 2012. 11. 28

(21) 申请号 201080033048. 2

*G01N 33/53* (2006. 01)

(22) 申请日 2010. 05. 21

(30) 优先权数据

61/180, 402 2009. 05. 21 US

(85) PCT申请进入国家阶段日

2012. 01. 20

(86) PCT申请的申请数据

PCT/US2010/035829 2010. 05. 21

(87) PCT申请的公布数据

W02010/135682 EN 2010. 11. 25

(71) 申请人 系统生物学研究所

地址 美国华盛顿州

(72) 发明人 胡志远 C. 劳斯泰德 L. 胡德

(74) 专利代理机构 北京市柳沈律师事务所

11105

代理人 封新琴

(51) Int. Cl.

*G01N 33/48* (2006. 01)

权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 4 页

(54) 发明名称

肝损伤的新标志物

(57) 摘要

鉴定了十四个之前并不知晓与肝损伤相关的标志物。描述了使用这些标志物诊断受试者的肝损伤的方法。

1. 一种用于诊断受试者肝损伤的方法,所述方法包括评估来自所述受试者的生物体液中选自下组的某一种标志物的存在、缺失或浓度变化:去唾液酸糖蛋白受体 1(ASGR1)、去唾液酸糖蛋白受体 2(ASGR2)、甜菜碱-高半胱氨酸 S-甲基转移酶 1(BHMT)、儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)、二氢嘧啶酶(DPYS)、果糖、果糖-1-6-二磷酸酶 1(FBP1)、延胡索酰乙酰乙酸水解酶(FAH)、甘氨酸-N-甲基转移酶(GNMT)、羟酸氧化酶 1(HAO1)、3-羟基-3-甲基戊二酰-辅酶 A 合酶 2(HMGCS2)、L-六氢吡啶羧酸氧化酶(PIPOX)、甲硫氨酸腺苷转移酶 1(MAT1A)、纤溶酶原(PLG)和视黄醇结合蛋白 4(RBP4)的基因产物;

比较所述测试受试者中的所述标志物的浓度与正常受试者中的所述标志物的浓度,其中与正常受试者中的所述浓度相比,去唾液酸糖蛋白受体 1(ASGR1)、去唾液酸糖蛋白受体 2(ASGR2)、甜菜碱-高半胱氨酸 S-甲基转移酶 1(BHMT)、儿茶酚-O-甲基转移酶(COMT)、二氢嘧啶酶(DPYS)、果糖、果糖-1-6-二磷酸酶 1(FBP1)、延胡索酰乙酰乙酸水解酶(FAH)、甘氨酸-N-甲基转移酶(GNMT)、羟酸氧化酶 1(HAO1)、3-羟基-3-甲基戊二酰-辅酶 A 合酶 2(HMGCS2)、L-六氢吡啶羧酸氧化酶(PIPOX)、或甲硫氨酸腺苷转移酶 1(MAT1A)的基因产物水平的增加或纤溶酶原(PLG)或视黄醇结合蛋白 4(RBP4)的基因产物浓度的减少将所述受试者鉴定为具有肝损伤。

2. 权利要求 1 的方法,其中评估和比较至少两种权利要求 1 所述的标志物的浓度。

3. 权利要求 1 的方法,其中所述标志物是 GNMT、CPS1、FAH、BHMT、ALDH1L1、FTCD、MAT1A 或其组合。

4. 权利要求 1 的方法,其进一步包括评估至少一种用于肝损伤的已知标志物的水平。

5. 权利要求 4 的方法,其中所述已知标志物选自下组:ALT、AST、ALP、GGT 和 LDH。

6. 权利要求 1 的方法,其中所述生物体液是血液、血浆、血清、唾液或其组分。

7. 权利要求 1 的方法,其中所述标志物作为蛋白来评估。

8. 权利要求 7 的方法,其中所述评估是通过表面等离子体共振、微阵列、Western 免疫印迹或侧流测定法进行的。

9. 权利要求 1 的方法,其中所述标志物作为 mRNA 来评估。

10. 权利要求 7 的方法,其中所述评估是通过表面等离子体共振、微阵列或 RT-PCR 进行的。

11. 一种用于实施权利要求 7 的方法的试剂盒,所述试剂盒包含与至少一种权利要求 1 中所列标志物的蛋白质具有特异性免疫反应性的抗体和用于检测所述抗体和所述标志物之间形成的复合物的试剂。

12. 权利要求 11 的试剂盒,其含有与至少两种所述标志物具有特异性免疫反应性的抗体,并且其中所述抗体展示在表面上或微阵列中。

13. 一种用于实施权利要求 9 的方法的试剂盒,所述试剂盒包含在严格条件下与编码至少一种权利要求 1 中所列标志物的 mRNA 杂交的探针和用于检测所述探针和所述标志物之间形成的复合物的试剂。

14. 权利要求 13 的试剂盒,其进一步包括用于所述 mRNA 的扩增的试剂。

15. 权利要求 13 的试剂盒,其中所述探针排列在微阵列上。

## 肝损伤的新标志物

### [0001] 相关申请

[0002] 本申请要求 2009 年 5 月 21 日提交的美国申请系列号 61/180,402 的权益。该文件的内容通过提述并入本文。

### 技术领域

[0003] 本发明涉及疾病或受损的肝脏的受试者分泌至循环系统中的生物标志物。更具体而言,本发明涉及使用一种或多种本发明的生物标志物来评估受试者的肝损伤的方法。

### 背景技术

[0004] 本领域存在许多可用的肝损伤生物标志物,包括,例如,丙氨酸转氨酶 (ALT)、天冬氨酸转氨酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、 $\gamma$ -谷氨酰转移酶 (GGT) 和乳酸脱氢酶 (LDH)。肝损伤是美国及其他地区中发病率的主要原因,并且能够由许多因素引起。一个重要因素是以高于推荐剂量的剂量水平摄入对乙酰氨基酚。其他的肝损伤由缺血或再灌注、腹部外科手术、出血性和败血性休克、腹部的其他创伤、肝移植和肝癌引起。

[0005] 已知的标志物并不完全令人满意,或者因为它们不够灵敏,或者不够有特异性,或者二者兼有。本发明通过介绍 14 种可以单独使用或作为小组组合使用或与已知标志物组合使用的新颖且灵敏的标志物而改善了这点。

[0006] 将本文引用的任何文献通过提述以其整体并入,任何涉及的和本领域已知的氨基酸序列或核苷酸序列亦是如此。如此,将作为标志物列出的蛋白质和编码它们的核苷酸序列通过提述并入本文。

### 发明内容

[0007] 在一个方面,本发明涉及鉴定具有肝损伤的受试者的方法,所述方法包括分析获得自所述患者的生物体液中选自下组的 mRNA 或蛋白质的存在、缺失或量的变化:去唾液酸糖蛋白受体 1 (ASGR1)、去唾液酸糖蛋白受体 2 (ASGR2)、甜菜碱-高半胱氨酸 S-甲基转移酶 1 (BHMT)、儿茶酚-O-甲基转移酶 (COMT)、二氢嘧啶酶 (DPYS)、果糖、果糖-1-6-二磷酸酶 1 (FBP1)、延胡索酰乙酰乙酸水解酶 (FAH)、甘氨酸-N-甲基转移酶 (GNMT)、羟酸氧化酶 1 (HAO1)、3-羟基-3-甲基戊二酰-辅酶 A 合酶 2 (HMGCS2)、L-六氢吡啶羧酸氧化酶 (PIPOX) 和甲硫氨酸腺苷转移酶 1 (MAT1A),其中这些 mRNA 或蛋白质中的一种或多种在所述生物体液中的水平增加指示肝损伤,或评估编码纤溶酶原 (PLG) 或视黄醇结合蛋白 (retinal binding protein) 4 (RB P4) 的 mRNA、或作为纤溶酶原 (PLG) 或视黄醇结合蛋白 4 (RB P4) 的蛋白质的存在或缺失或量的变化,其中该 mRNA 或蛋白质在所述生物体液中的水平减少指示肝损伤的存在。

[0008] 在本发明的方法中,可以将任何前述标志物与一种或多种其他前述标志物组合评估,和/或与本领域已知的另外的标志物如 ALT、AST 等组合评估。

[0009] 这些蛋白质的水平可以通过本领域已知的多种方法评估,包括 Western 印迹、免

疫测定法等。在一个实施方案中,可以使用针对多种前述标志物的抗体(如果需要包括针对已知标志物的抗体)的微阵列。Western 印迹可允许通过分子量大小来分析,此外,可以采用其他免疫测定方法,包括均相方法、侧流测定法(lateral flow assay)等。流体中的 mRNA 水平也可以通过本领域已知的方法如逆转录酶 PCR(RT-PCR)、Northern 印迹等来研究。

[0010] 本发明还包括用于分析上文所述新标志物中一种或多种的试剂盒。

[0011] 附图简述

[0012] 图 1 显示在三种评估人和鼠类组织中多种基因的表达的平台中确定的 RNA 水平的编码多种蛋白质的基因的表达水平。

[0013] 图 2 显示肝和 15 种其他正常人组织中多种基因的表达的 Western 印迹测定结果。

[0014] 图 3 显示本发明的生物标志物在施用了毒性剂量的对乙酰氨基酚的小鼠血清中出现的时程。

[0015] 图 4A 比较人肝病患者血清中 FAH 的浓度与对照个体血清中的水平。将这些结果与通过对于肝损伤的标准 ALT 测试获得的结果相关联。

[0016] 图 4B 显示正在恢复中的肝病患者与患有肝癌的患者相比血清中 FAH 的检测水平的时程,也将其与通过用于肝损伤的标准 ALT 测试获得的结果相关联。

[0017] 实施发明的方式

[0018] 鉴定了在循环系统中可检测的用于肝损伤的十四种新的蛋白质生物标志物;它们中的 12 种在例如受试者遭受肝损伤时在血清中显示浓度升高,而它们中的两种显示水平降低。这些标志物可以单独使用,或彼此组合使用和/或与已知标志物组合使用以改善疑似具有肝损伤的受试者中的诊断和预后。对这种损伤的恰当评估会报告治疗方案。

[0019] 最方便地,所述生物体液是血液组分,特别是,血清或血浆,但也可以是唾液、尿液或精液。用于获得这些流体的合适样品的方法是常规方法。

[0020] 蛋白质浓度的评估也在普通技术之内。一种常用的形式是免疫测定法,包括多种形式的侧流测定法、均相免疫测定法等。此外,含有多种抗体的微阵列基板能够使测定的形式流水线化,在其中评估多种标志物。方便的方案牵涉使用表面等离子体共振以检测相关蛋白质对基板上抗体的结合。

[0021] 微阵列也可与标记的蛋白质如荧光或发光样品或与无标记检测方法一起使用。表面等离子体共振(SPR)成像是一种检测相关蛋白质与基板上抗体的结合的方法。SPR 成像以无标记、实时且可重复使用的方式监测蛋白质结合微阵列。由于其是无标记的,该过程快速、经济且没有标记偏差。实时的方面允许观察结合动力学并且允许评价抗体-蛋白质相互作用的性质。由于阵列可以重复使用,大量样品能够高效地在同一传感芯片上进行处理。

[0022] 一般地,SPR 技术检测 SPR 活性表面附近的有效折光率(吸附层的厚度)。在偏振(polarized)时,平行光自活性表面以大于临界角的角度反射,入射的光子耦合成表面等离子体,导致反射光强度的减少。在预先定义位置的结合事件增加局部折光率,改变整个表面上的反射图样。这种图样使用成像仪如 CCD 相机实时记录。由此通过监测由表面上的捕获分子与所靶向的蛋白质的相互作用引起的折光率变化来确定样品溶液中的蛋白质浓度。

[0023] 替代地或附加地,可以使用通过定量质谱进行的评估。这种方法采用质谱仪以检测气相离子。质谱仪采用电离源和质量分析仪。质量分析仪的实例是飞行时间、扇形磁场、

四极管滤器、离子阱、离子回旋共振和扇形静电场 (electrostatic sector)。复杂生物体液的定量蛋白质分析通常通过串联质谱 (MS-MS) - 一种具有多于一个 (并在实践中通常为两个) 分析仪的仪器进行。MS-MS 通过使特定样品离子片段化来生成结构信息以供鉴定。然后将该信息拼合在一起以生成关于原始分子的结构信息并基于其特征性碎片样式来检测靶向蛋白质。

[0024] 定量蛋白质组分析可以通过使用称为多反应监测 (Multiple Reaction Monitoring; MRM) 的质谱方法实现。在 MRM MS-MS 中, 两个分析仪均为静态的, 其中用户选择的特定离子传送通过第一分析仪, 而自这些离子生成的靶特异性碎片由第二分析仪测量。选择和鉴定步骤通过使用充分表征的、标记的标准肽来实现。这产生了具有兼备非常高的测量特异性和灵敏度两者的方法。

[0025] 许多本领域已知的检测蛋白质的方法采用与抗体的免疫反应。本案中使用的“抗体”不仅指完整的单克隆或多克隆抗体, 还指其免疫特异性片段, 一般地包括单链抗体和重组产生的抗体。作为抗体的替代, 也可以使用待检测蛋白质的任何特异性结合配偶体。例如, 可以采用结合作为自杀底物的蛋白质的化合物。或者, 由于许多标志物本身是酶, 也可以使用针对它们的活性的酶测定法来检测它们。

[0026] 还可用的是通过 Western 印迹进行的评估, 其允许根据大小同时测定多种标志物。图 2 显示了本发明的标志物的分子量。

[0027] 生物体液中 mRNA 的水平也可以通过多种方法容易地评估。探针的微阵列也可以用于样品本身或用于经过 RNA 扩增的样品。RNA 通常存在于这些流体的无细胞组分中, 尽管也可能发生肝细胞的脱落 (sloughing); 在这种情况下, 将会需要在测量之前分离 RNA。也可以扩增所述分离的 mRNA。也可以使用无细胞流体的 Northern 印迹, 以及来自所述流体的细胞部分的分离的 mRNA 的 Northern 印迹。通常, 如果所述测量不限于无细胞部分, 那么这些方法不如蛋白质的测量方便。

[0028] 尽管可以在测定法中使用单独的标志物, 但使用两种或更多种标志物的组可获得更可靠的结果。因此, 可以使用作为本发明的部分的标志物的组合, 例如 ASGR1 加 FAH 加 PIPOX, 或 ASGR2 与 PLG 和 MAT1A 的组合。此外, 一种或多种本发明的标志物可与一种或多种已知标志物, 例如 LDH 和 ALT 组合使用。

[0029] 因此, 例如, ASGR1 可以与其余 13 种标志物中的任何一种, 或所述其余标志物中的任何两种, 或所述其余标志物中的任何三种, 所述其余标志物中的任何四种或所述标志物中的多至 13 种的任何组合偶联。对于 ASGR2 和 14 种组成的组中的每种标志物亦是如此。

[0030] 附加地, 或替代地, 可以将肝损伤的一种或多种已知标志物与本发明的任何一种或多种标志物组合。因此, 所述评估可以包括一种或多种本文所述的新发现的标志物与一种或多种已知标志物的组合。所述评估的特异性和准确性随着标志物数量的增加而改善。因此, 所述评估可以包括总共 1-20 或更多种标志物, 至少其中之一是本文所述的 14 种新标志物之一, 或者也可以使用任何中间数, 例如 5、10、12 或 16 种。在一个实施方案中, 将本申请所述的新标志物中的两种单独使用或与一种或多种其他标志物 (其中一些可以是本领域已知的标志物) 组合使用。

[0031] 依赖于测定法中使用的标志物的数目, 构建一般性肝损伤或特定类型的肝损伤的特征性“指纹”可能是有用的。这种指纹可以容易地储存在计算机可读介质中, 并且在个体

之间进行比较以在汇编来自具有多种类型肝损伤的多个个体的数据时构建特别敏锐的诊断。本发明还包括含有多种这样的指纹的计算机可读介质。

[0032] 本发明的诊断和预后需要将标志物的浓度与正常受试者中的浓度比较。正常受试者的值可以通过使用对照受试者来确定,正如在实验室测定中会是典型的情况,其中所述分析在相同条件下进行。对于人类受试者,一种更常见的测定是来自多个正常个体的结果的统计学组合。

[0033] 提供以下实施例以例示而非限制本发明。

#### [0034] 实施例 1. 候选标志物的选择

[0035] 用于可能的分析的候选标志物的选择基于如下假设,即在肝中但通常不在其他供给至循环系统中的组织中高表达的蛋白质会是肝损伤的特异性指示物(在这些高表达的蛋白质由于损伤分泌到血液中时)。因此,获得了关于多种正常组织在 mRNA 水平和蛋白质水平二者的转录组(transcriptome)的信息并示于图 1。如图 1 中所示,将肝中表达水平的差异与除肝之外的任何其他组织中最高水平的表达水平相比(标准化至 z 得分)。因此,正值意指在数据集中对于转录物而言肝中的表达与任何组织相比是最高的。颜色键显示顶部所示特定数据集中确定的列于右侧的每种基因的正值或负值。所述数据集如下:

[0036] Hs\_MPSS :人 MPSS

[0037] Hs\_GNF :人 GNF

[0038] Hs\_EST :人 EST

[0039] Mm\_MPSS\_m :雄性小鼠 MPSS

[0040] Mm\_MPSS\_f :雌性小鼠 MPSS

[0041] Mm\_GNF :小鼠 GNF

[0042] Mm\_EST :小鼠 EST

[0043] MPSS :大规模平行签名检索(Massively Parallel Signature Searching),GNF :诺华研究基金会微阵列(Novartis Research Foundation microarray),和 EST :NCBI 表达序列标签数据库(NCBI Expressed Sequence Tag database)。

[0044] 人 MPSS 数据集生成自使用通过 ISB 获得的数据的 34 种人正常组织 MPSS。小鼠 MPSS 数据集生成自雄性和雌性的 87 种正常组织样品,其来自 NCBI 的 MPSS 小鼠转录组分析工程。人和小鼠 GNF 数据集来自人和小鼠的 GeneAtlas GNF,79 种人样品和 122 种小鼠样品的 gcRNA 数据集可获得自 [symatlas.gnf.org/SymAtlas/](http://symatlas.gnf.org/SymAtlas/)。人和小鼠 EST 数据集可获得自 NCBI 的 UniGene 数据集。为了使得比较来自这三种完全不同的平台的数据成为可能,使用整合分析(meta-analysis)以在各个数据集中对于所有样品将表达值标准化至 z 得分。

#### [0045] 实施例 2. 蛋白质分析

[0046] 为了确认作为标志物的有用性,在 16 种正常人组织包括肝中分析了由图 1 表明具有前景的多种蛋白质的水平,并将结果示于图 2。根据图 2,BHMT、ALDH1L1、FTCD 和 MAT1A 对于肝具有特异性,如 CPS1、FAH、GNMT 等。HA01 和 PIPOX 在骨骼肌中也显示了高水平。FBP1 存在于小肠中,而 COMT 存在于心脏中。然而,这种非特异性可能不会干扰它们作为标志物的使用。另一方面纤溶酶原和 RBB4 分布广泛而在肝中表达贫乏。

#### [0047] 实施例 3. 鼠模型

[0048] 多种蛋白质作为标志物的有效性通过如下测试:使用对乙酰氨基酚在小鼠中诱导

肝损伤,然后通过表面等离子共振 (SPR) 检测与相关抗体的复合物形成来评估血清中的多种蛋白质,并通过 Western 印迹确认。使用已知的标志物 AST 作为对照。

[0049] 使九周龄雄性 C57BL6/J 小鼠禁食 24 小时,然后腹膜内施用 300mg/kg 对乙酰氨基酚。用 CO<sub>2</sub> 对小鼠实施安乐死,并以不同时间间隔通过心脏穿刺收集全血。将所述全血在 4℃ 温育 12 小时,并在 2,000g 离心 10 分钟以获得血清,将该血清储存在 -80℃,然后通过 SPR 抗体阵列如上所述进行分析并通过 Western 印迹验证。(已知标志物血清丙氨酸氨基转移酶 (AST) 的浓度通过酶测定法确定)。

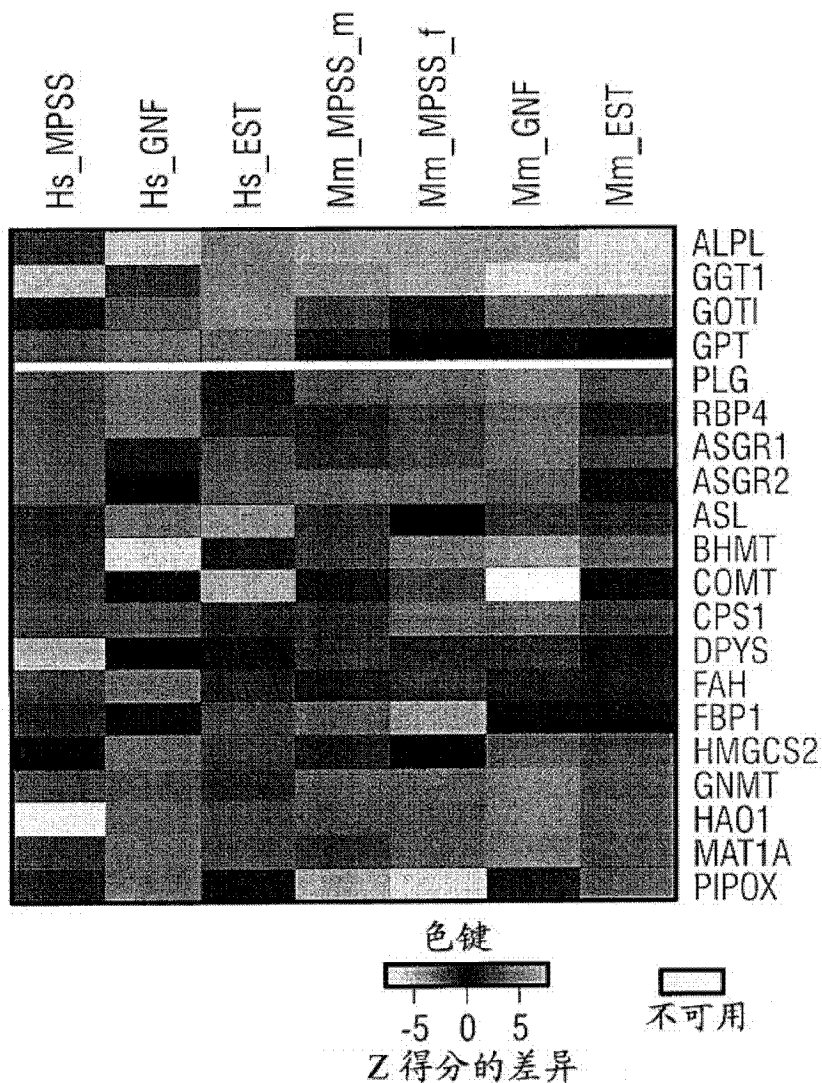
[0050] 所述结果中作为 Western 印迹验证示于图 3。如图所示,在肝损伤事件中血浆水平升高的 12 种标志物在 12-24 小时之后显示升高的水平,其后在血浆中的水平下降。纤溶酶原和 RBP4 二者在该时间显示了血浆水平的降低。对照 AST 在与新标志物相同的时间显示了血清水平的相应升高。

[0051] 实施例 4. 具有肝损伤的人患者中 FAH 的升高

[0052] 将来自具有肝损伤的患者和来自具有正常肝脏的受试者的血清样品通过使用兔抗人 FAH 多克隆抗体进行的检测的 Western 印迹来分析并使用标准标志物 ALT (丙氨酸转氨酶) 来测试。如图 4A 中所示,四名患有肝病的患者使用检测 FAH 的 Western 印迹在 46kDa 处显示了强条带,基本上与标准测试中测定的 ALT 水平成比例。四名对照个体具有较少的 FAH 以及减少的 ALT 水平。

[0053] 图 4B 显示了使用相同的两次测试用两名个体获得的结果,他们中的一名正从肝损伤中恢复,而另一名患有肝癌并最终死亡。如图 4B 中所示,FAH 的水平稳步降低 (如 ALT 水平一样),直到得到成功治疗的患者恢复,而 FAH 和 ALT 二者的水平在肝癌患者中升高,直到死亡之日。

[0054] 使用对来自多名个体的人血清的 Western 印迹获得了额外的确认,他们中的一名,即 A2,显示了广泛性肝损伤。FBP1、DPYS、GST 和 FAH 在该名患者的血清中可以检测,但是在正常个体中则不能。



当前标志物:

- GPT- 丙氨酸氨基转移酶 (ALT)
- GOT1- 天冬氨酸氨基转移酶 (AST)
- ALPL- 碱性磷酸酶 (AP)
- GGT1-γ谷氨酰转移酶转肽酶 (GGT)

新组:

- PLG- 纤溶酶原
- RBP4- 视黄醇结合蛋白 4
- ASGR1- 无唾液糖蛋白受体 1
- ASGR2- 无唾液糖蛋白受体 2
- ASL- 精氨酸琥珀酸裂解酶 (\*)
- BHMT- 甜菜碱 - 高半胱氨酸 S-甲基转移酶 1
- COMT- 儿茶酚 -O- 甲基转移酶

- CPS1- 氨甲酰基 - 磷酸合成酶 1(\*)
  - DPYS- 二氢嘧啶酶
  - FAH- 延胡索酰乙酰乙酸水解酶
  - FBP1- 果糖 -1,6- 二磷酸酶 1
  - HMGCS2-3- 羟基 -3- 甲基戊二酰 - 辅酶 A 合酶 2 辅酶 A 合酶
  - GNMT- 甘氨酸 -N- 甲基转移酶
  - HAO1- 羟酸氧化酶 1
  - MAT1A- 甲硫氨酸腺苷转移酶 1
  - PIPOX-L- 六氢吡啶羧酸氧化酶
- (\*)不是新的

图 1

蛋白质水平的肝特异性

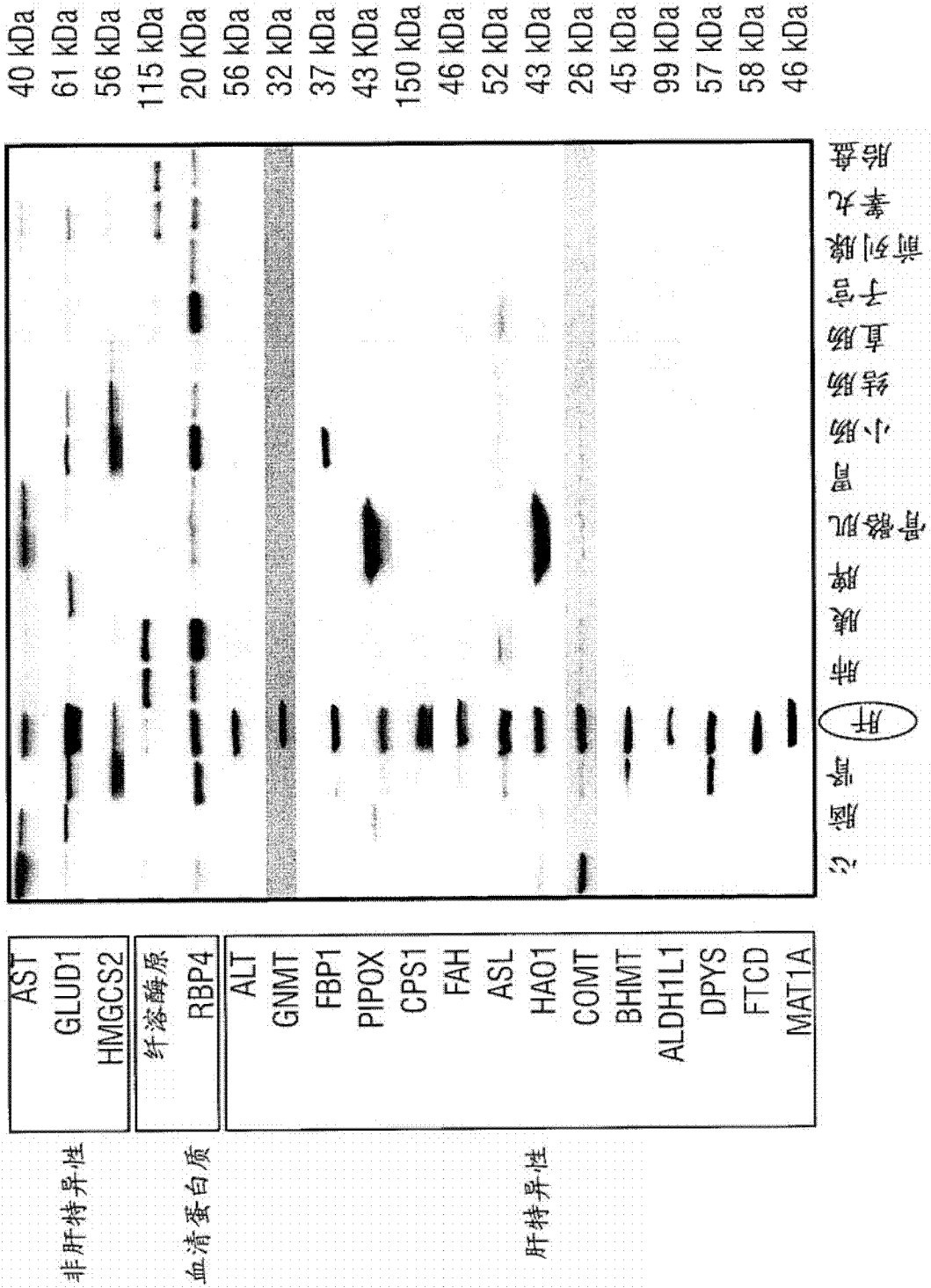


图 2

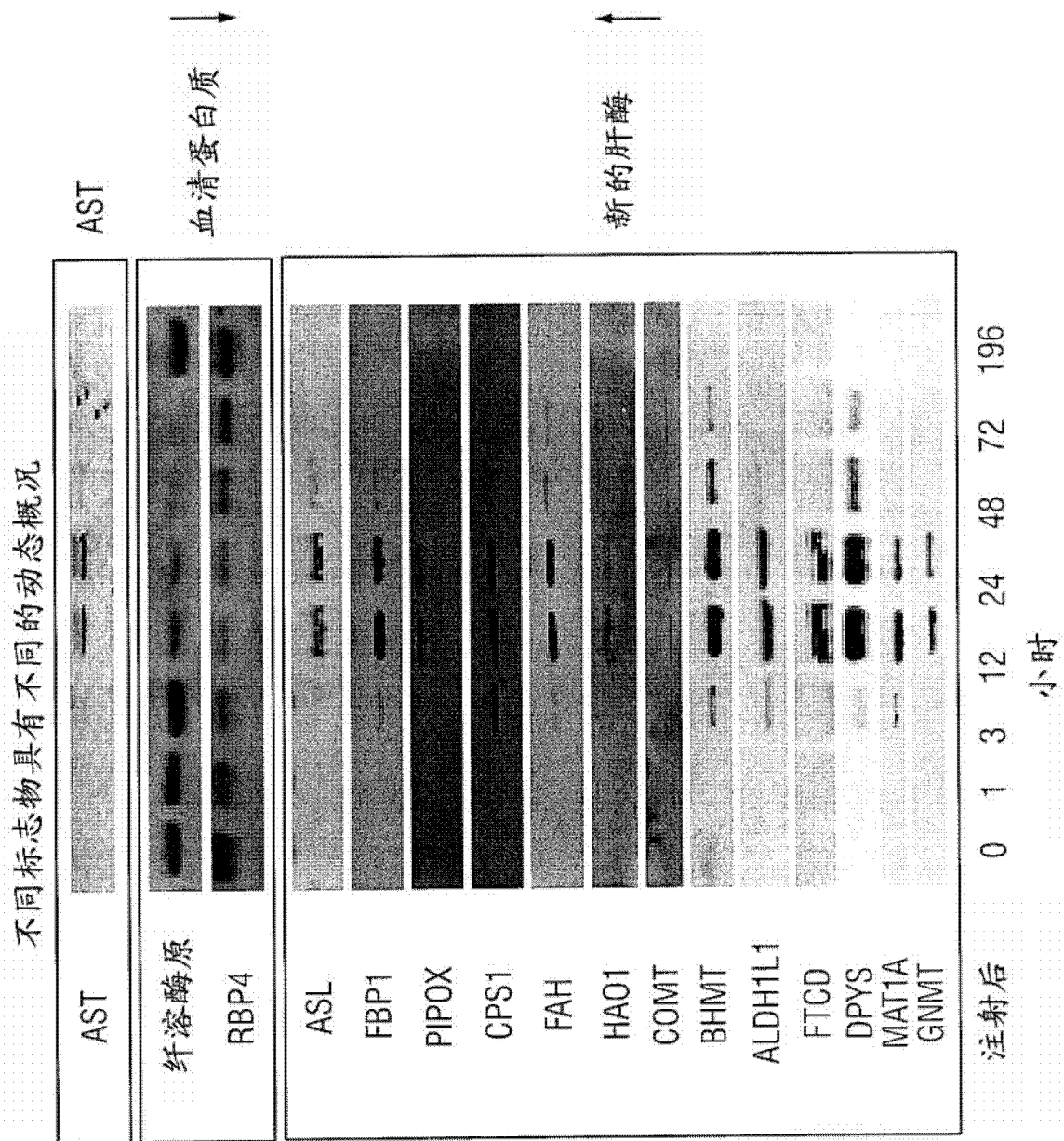


图 3

人患者血清中的 FAH 表达

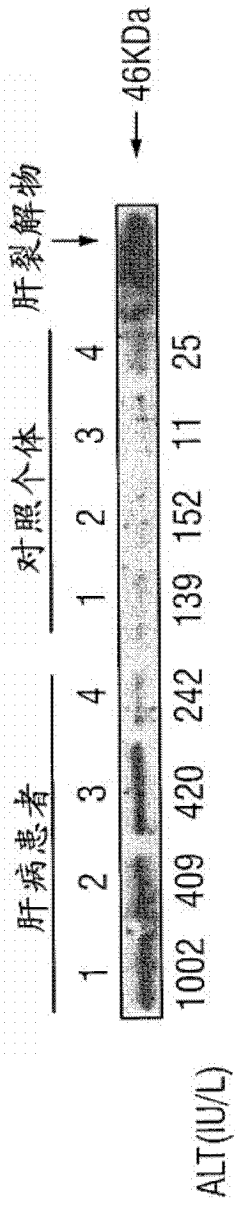


图 4A

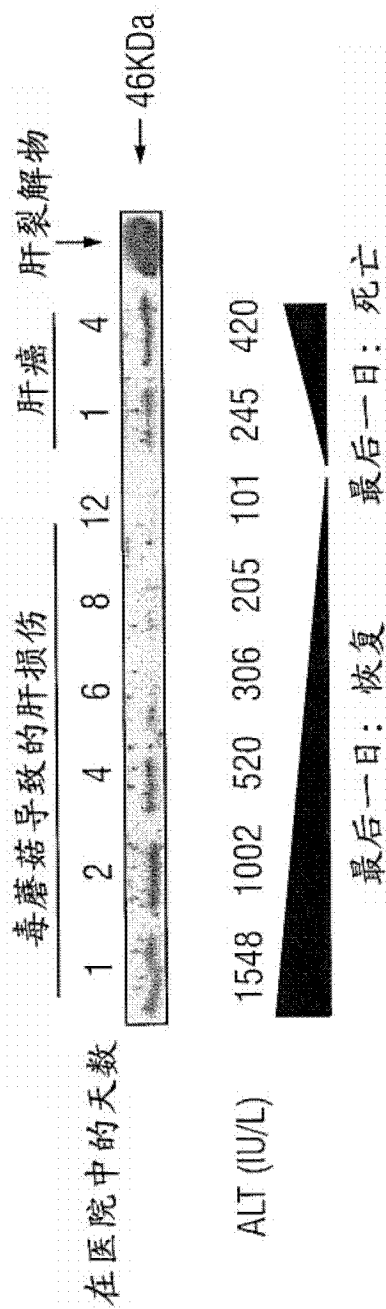
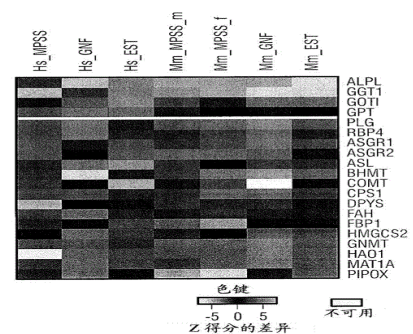


图 4B

专利名称(译)	肝损伤的新标志物		
公开(公告)号	<a href="#">CN102803955A</a>	公开(公告)日	2012-11-28
申请号	CN201080033048.2	申请日	2010-05-21
[标]申请(专利权)人(译)	系统生物学研究所		
申请(专利权)人(译)	系统生物学研究所		
当前申请(专利权)人(译)	系统生物学研究所		
[标]发明人	胡志远 C 劳斯泰德 L 胡德		
发明人	胡志远 C.劳斯泰德 L.胡德		
IPC分类号	G01N33/48 G01N33/53		
CPC分类号	C12Q2600/156 C12Q1/6883 G01N2800/085 G01N33/6893		
优先权	61/180402 2009-05-21 US		
其他公开文献	CN102803955B		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a> <a href="#">SIPO</a>		

摘要(译)

鉴定了十四个之前并不知晓与肝损伤相关的标志物。描述了使用这些标志物诊断受试者的肝损伤的方法。



当前标志物:

GPI- 丙氨酸氨基转移酶 (ALT)  
 GOT1- 天冬氨酸氨基转移酶 (AST)  
 ALPL- 碱性磷酸酶 (AP)  
 GGT1-γ谷氨酰转氨酶 (GGT)  
 新组:  
 PLG- 纤溶酶原  
 RBP4- 视黄醇结合蛋白 4  
 ASGR1- 无唾液糖蛋白受体 1  
 ASGR2- 无唾液糖蛋白受体 2  
 ASL- 精氨酸琥珀酸裂解酶 (\*)  
 BHMT- 甜菜碱-高半胱氨酸 S-甲基转移酶 1  
 COMT-儿茶酚-O-甲基转移酶

CPS1- 羧甲基-磷酸合成酶 1(\*)  
 DPYS- 二氢嘧啶酶  
 FAH- 延胡索酰乙酰乙酸水解酶  
 FBP1- 果糖-1,6-二磷酸酶 1  
 HMGCS2-3-羟基-3-甲基戊二酰-辅酶 A 合酶 2  
 辅酶 A 合酶 2  
 GNMT- 甘氨酸-N-甲基转移酶  
 HAO1- 羟胺氧化酶 1  
 MAT1A- 甲硫氨酸腺苷转移酶 1  
 PIPOX-L- 六氢吡啶羧酸氧化酶 (\*)不是新的