(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 101798600 A
(43)申请公布日 2010.08.11

(21)申请号 201010139034.0

(22)申请日 2010.04.02

(71)申请人 上海生物芯片有限公司
地址 201203 上海市浦东新区李冰路 151 号

(72)发明人 张庆华 阳圣 杨燕青 张雯

(74)专利代理机构 上海大邦律师事务所 31252
代理人 周东萍

(51)Int.Cl.
C12Q 1/68(2006.01)
G01N 33/53(2006.01)
A61K 48/00(2006.01)
A61K 39/395(2006.01)
A61P 35/04(2006.01)

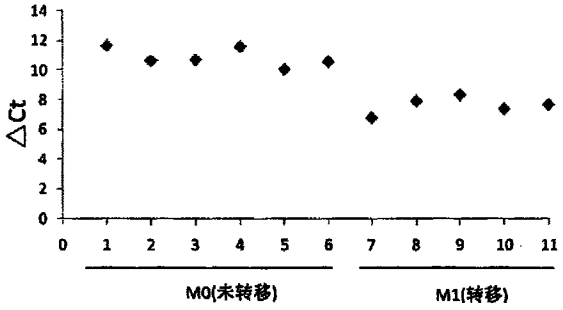
权利要求书 1 页 说明书 5 页 序列表 4 页
附图 2 页

(54)发明名称

SERPINE2 基因的用途

(57)摘要

本发明公开一种 SERPINE2 基因的用途，用于制备早期诊断肿瘤转移的产品。本发明还公开了 SERPINE2 基因在制备或筛选治疗肿瘤的药物中的用途。本发明与胃癌转移相关的 SERPINE2 基因，可作为早期诊断肿瘤转移的标志物，辅助医生制定个性化的治疗方案，同时可作为控制肿瘤转移的药物治疗靶标。



CN 101798600 A

1. 一种 SERPINE2 基因的用途，其特征在于，用于制备早期诊断肿瘤转移的产品。

2. 根据权利要求 1 所述的用途，其特征在于，所述早期诊断肿瘤转移的产品包括：用实时定量 PCR、基因芯片检测或免疫检测诊断肿瘤转移的产品。

3. 根据权利要求 2 所述的用途，其特征在于，所述用实时定量 PCR 诊断肿瘤转移的产品至少包括一对特异扩增 SERPINE2 基因的引物；所述用基因芯片检测诊断肿瘤转移的产品包括：与 SERPINE2 基因的核酸序列杂交的探针；所述用免疫检测诊断肿瘤转移的产品包括：与 SERPINE2 蛋白特异性结合的抗体。

4. 一种用于早期诊断肿瘤转移的试剂盒，其特征在于，所述试剂盒包含特异性针对 SERPINE2 基因的引物或探针，或包含特异性结合 SERPINE2 蛋白的抗体。

5. 一种 SERPINE2 基因的用途，其特征在于，用于制备治疗肿瘤转移的药物。

6. 根据权利要求 5 所述的用途，其特征在于，所述治疗肿瘤转移的药物包括：抑制 SERPINE2 基因表达或抑制 SERPINE2 蛋白活性的物质。

7. 一种 SERPINE2 基因的用途，其特征在于，用于筛选治疗肿瘤转移的药物。

8. 一种 SERPINE2 基因编码或表达的蛋白质的用途，其特征在于，用于筛选治疗肿瘤转移的药物。

9. 根据权利要求 1、5、或 7 所述的用途，其特征在于，所述 SERPINE2 基因编码 SEQ ID NO：1 所示的氨基酸序列。

10. 根据权利要求 1、5、或 7 所述的用途，其特征在于，所述肿瘤包括胃癌、肝癌、胰腺癌、结肠癌、直肠癌、肺癌、乳腺癌、睾丸癌、口腔鳞状细胞癌、或白血病肿瘤。

SERPINE2 基因的用途

技术领域

[0001] 本发明涉及生物工程技术领域，尤其涉及一种与胃癌转移相关的 SERPINE2 基因的用途。

背景技术

[0002] 胃癌是世界上高发的恶性肿瘤之一，在 1990-1992 年的中国恶性肿瘤死亡抽样调查显示，胃癌的死亡率接近 25.2/10 万人（男性 32.8/10 万人，女性 17.0/10 万人），占 1990-1992 年死亡的肿瘤病人的 23.2%，居各类恶性肿瘤之首。虽然近年来胃癌的死亡率有明显下降，但是依然很高，多数胃癌患者是发现了临床症状如腹部不适、隐痛、泛酸、嗳气或消瘦、黑便等症状后进行胃镜和活检确诊，一经确诊，多为晚期，错过了治疗的最佳时期。

[0003] 胃癌的筛查手段包括：影像学检查、胃镜加活检、血清学检测如胃蛋白酶元、CEA、CA 系列抗原等。传统的影像学检测能够有效检出大的淋巴结转移，但是至少有 25%的转移淋巴结小于 5mm 且 MRI、PET 等影像学手段无法检出。血清学检测普遍存在灵敏度低、特异性差，尤其是对早期胃癌的检出率、有效性都很低。目前最有效的手段就是胃镜加活检，胃镜检查和病理学诊断均基于形态学的判断，对于操作人员的经验技术有较高的要求，这种非客观、非标准化的检测存在较大的误诊／漏诊率，而且对有不典型增生、早期胃癌、胃癌进展期等组织学特征进行的区分，目前尚难以有明确的界限。

[0004] 丝氨酸蛋白酶抑制剂 (Serpins) 是最大且分布最广泛的蛋白酶抑制剂超家族，通过构象变化抑制酶的活性，它们控制许多重要的蛋白级联水解，部分丝氨酸蛋白酶抑制剂的突变会导致蛋白错误折叠或者产生致病的失活蛋白多聚物。

[0005] SERPINE2 是分子量为 44kDa 的分泌蛋白，是胰蛋白酶 (trypsin)、凝血酶 (thrombin)、纤溶酶 (plasmin)、组织型纤溶酶原激活物 (tPA)、尿激酶型纤溶酶原激活物 (uPA) 和前列腺蛋白 (prostasin) 的抑制剂，能增强肿瘤的侵袭能力，SERPINE2 在脑组织、神经胶质细胞和神经元中高表达，但是在正常胰腺以及慢性胰腺炎组织中几乎不表达。SERPINE2 在肿瘤中的研究很少，目前尚无关于 SERPINE2 与胃癌转移相关的研究或产品应用报道。

发明内容

[0006] 本发明要解决缺乏客观准确的肿瘤转移早期诊断方法的技术问题，提供一种与胃癌转移相关的 SERPINE2 基因的用途，可作为肿瘤转移的早期分子诊断标志物。

[0007] 为了解决上述技术问题，本发明通过如下技术方案实现：

[0008] 在本发明的一个方面，提供了一种 SERPINE2 基因的用途，用于制备早期诊断肿瘤转移的产品。

[0009] 优选的，所述早期诊断肿瘤转移的产品包括：用实时定量 PCR、基因芯片检测、或免疫检测诊断肿瘤转移的产品。

[0010] 所述用实时定量 PCR 诊断肿瘤转移的产品至少包括一对特异扩增 SERPINE2 基因

的引物。

[0011] 所述用基因芯片检测诊断肿瘤转移的产品包括：至少一个与 SERPINE2 基因的核酸序列杂交的探针，该探针序列与 SERPINE2 基因序列的任意连续 9 个核苷酸序列相同或互补。

[0012] 所述用免疫检测诊断肿瘤转移的产品包括：与 SERPINE2 蛋白特异性结合的抗体。

[0013] 在本发明中，可以使用一系列本领域已知的方法来制备针对 SERPINE2 蛋白特异的抗体。例如，将提纯的人 SERPINE2 基因产物或它的抗原片段或人工合成的含有与 SERPINE2 蛋白有连续 5 个相同的氨基酸的多肽片段注射入动物体内以产生多抗体。同样，表达人 SERPINE2 蛋白或它的抗原片段的细胞也可以用来对动物致免疫而产生抗体。根据本发明制备的抗体也可以是单克隆抗体，这些单克隆抗体可用杂交瘤技术制备。

[0014] 在本发明中，所述探针可以是 DNA、RNA、DNA-RNA 嵌合体、PNA 或其它衍生物。所述探针的长度没有限制，只要完成特异性杂交、与目的核苷酸序列特异性结合，任何长度都可以。

[0015] 在本发明的另一方面，还提供了一种用于早期诊断肿瘤转移的试剂盒，所述试剂盒包含特异性针对 SERPINE2 基因的引物或探针，或包含特异性结合 SERPINE2 蛋白的抗体。

[0016] 利用本发明的试剂盒，可以检测肿瘤病人 SERPINE2 基因的表达情况，从而判断肿瘤病人是否会发生肿瘤转移，进而制定个性化的治疗方案。

[0017] 在本发明的另一方面，还提供了一种 SERPINE2 基因的用途，用于制备治疗肿瘤转移的药物。

[0018] 优选的，所述治疗肿瘤转移的药物包括：抑制 SERPINE2 基因表达或抑制 SERPINE2 蛋白活性的物质。更优选的，所述治疗肿瘤转移的药物包括：通过 RNA 干扰抑制 SERPINE2 基因表达的核糖核酸，或用于抑制 SERPINE2 蛋白活性的蛋白质。

[0019] 在本发明的另一方面，还提供了一种 SERPINE2 基因的用途，用于筛选治疗肿瘤转移的药物。

[0020] 在本发明的另一方面，还提供了一种 SERPINE2 基因编码或表达的蛋白质的用途，用于筛选治疗肿瘤转移的药物。

[0021] 上述肿瘤包括胃癌、肝癌、胰腺癌、结肠癌、直肠癌、肺癌、乳腺癌、睾丸癌、口腔鳞状细胞癌、或白血病肿瘤，优选为胃癌。

[0022] 上述 SERPINE2 基因编码 SEQ ID NO：1 所示的氨基酸序列。优选的，该 SERPINE2 基因为 SEQ ID NO：2 所示的核苷酸序列。

[0023] 本发明与胃癌转移相关的 SERPINE2 基因，可作为早期诊断肿瘤转移的标志物，辅助医生制定个性化的治疗方案、改善患者预后，同时也可作为控制肿瘤转移的药物治疗靶标，为设计和筛选抗肿瘤转移药物提供新的靶点。

附图说明

[0024] 下面结合附图和具体实施方式对本发明作进一步详细的说明。

[0025] 图 1 是本发明实施例 1 胃癌组织样本中提取的总 RNA 的 2100 峰图；

[0026] 图 2 是本发明实施例 1 的 SERPINE2 基因在转移和非转移胃癌中差异表达的表达谱芯片结果图；

[0027] 图 3 是本发明实施例 2 的 SERPINE2 基因在胃癌样本中差异表达的实时定量 PCR 结果图；

[0028] 图 4 是本发明实施例 2 的 SERPINE2 基因在胃癌样本中差异表达的芯片与定量 PCR 结果比较图；

[0029] 图 5 是本发明实施例 3 的 SERPINE2 蛋白在胃癌转移和未转移样本中差异表达图。

具体实施方式

[0030] 下列实施例中，未注明具体条件的实验方法，通常按常规条件，如《精编分子生物学实验指南》(F.M. 奥斯伯，R.E. 金斯顿，J.G. 塞德曼等主编，马学军，舒跃龙的译．北京：科学出版社，2004) 中所述的方法进行。

[0031] 实施例 1 表达谱芯片实验检测 SERPINE2 基因在胃癌组织中的表达情况

[0032] 1. 临床样品的准备

[0033] 胃癌手术切除标本，经病理学诊断确诊胃癌，配对留取 25 例胃癌病灶及其 5cm 以上的癌旁组织，-80℃冻存，液氮运输。临床病理诊断包含有转移和非转移的信息。胃癌的诊断标准参照全国胃癌病理协作组拟定的胃粘膜活检病理诊断的统一标准。

[0034] 2. 总 RNA 的提取、质量检测和纯化

[0035] (1) 激光显微切割 (Laser capture microdissection，LCM) 获取高纯度细胞

[0036] 25 对胃癌及其癌旁正常组织冰冻切片连续 4 ～ 6 片 8μm 贴附于显微切割仪专用膜（瑞士 MMI 公司）上，固定染色步骤均按 Ambion LCM 染色试剂盒说明书室温操作。贴有切片的膜浸入 95％乙醇 30 ～ 40s；75％乙醇 30 ～ 40s；50％乙醇 25 ～ 30s 固定；滴加 150μl 甲酚紫染色 8 ～ 10s；50％乙醇 25 ～ 30s；75％乙醇 25 ～ 30s；95％乙醇 30 ～ 40s；100％乙醇 30 ～ 40s，2 次；二甲苯淋洗 3 ～ 4 次；二甲苯放置 5min；通风橱斜置，晾干 5min。在 MMI 激光显微切割系统的视野中选取目的细胞约 5000 个左右进行切割收集。

[0037] (2) 总 RNA 的提取

[0038] LCM 取得的细胞置入 1.5ml 离心管，加入 100μl TRIzol(Invitrogen)，上下颠倒混匀。加入约 1/5 体积的氯仿，上下颠倒充分混匀 1 分钟左右，室温下静置 10 分钟。4℃，13200rpm 离心 15 分钟后小心取出上清，转入新的 1.5ml 离心管，加入等体积的异丙醇，轻轻颠倒混匀，室温静置 10 分钟。4℃，13200rpm 离心 15 分钟后，小心吸去上清，向沉淀中加入 2/5 体积的 70％乙醇，轻轻混匀洗涤，4℃，13200rpm 离心 15 分钟。小心吸去上清，打开管盖室温晾干后加入适量无 RNA 酶的水充分溶解沉淀，采用无 RNA 酶的 DNA 酶 I 处理去除基因组 DNA 的污染。

[0039] (3) 总 RNA 的质量检测

[0040] 用 Agilent 210000 bioanalyzer 分析提取的 RNA，清晰的峰形和最低的背景荧光显示完整、未降解的 RNA（见图 1）。

[0041] (4) 总 RNA 的纯化

[0042] 对通过质量检测的 25 对总 RNA 使用 QIAGEN RNeasy Kit 纯化，详细方法见说明书。

[0043] 3. 表达谱芯片实验

[0044] (1) 实验过程

[0045] 采用 Affymetrix exon 表达谱芯片，实验过程严格按照 Affymetrix 表达谱芯片操

作手册进行。

[0046] (2) 数据预处理和差异筛选

[0047] 芯片所得到的原始数据经过均一化、背景质量检测，得到基因表达值，利用 MeV 4.5 的 SAM 模块结合临床资料的转移分型进行分析。

[0048] (3) 结果

[0049] 应用 SAM 软件筛选在 25 对转移和非转移胃癌中差异表达的基因（取 FDR＝0.01），找到了 SERPINE2 基因（图 2），其中，图 2 的上方是样本编号，样本编号下面是表达图谱，红色表示基因上调（相对于该基因的平均数），绿色表示下调，黑色表示未变化。SERPINE2 基因编码 SEQID NO:1 所示的氨基酸序列。优选的，该 SERPINE2 基因为 SEQ ID NO:2 所示的核苷酸序列。

[0050] 实施例 2 实时定量 PCR 检测 SERPINE2 基因表达的改变

[0051] (1) 内参设定及引物设计、合成

[0052] 内参选用 β-actin，引物设计采用 PrimerExpresS 3.0 软件以序列长度为 19-22bp，且 Tm 值 59 ℃ ～ 60 ℃ 为优化条件，SERPINE2 基因的正向引物为：TTCCATCTGCTCCCACTTCAA(SEQ IDNO:3)，反向引物为：GTCATGAGGCCTCGACTTCAC(SEQ ID NO：4)，设计的引物由生工合成。

[0053] (2)RNA 提取和逆转录 cDNA 合成

[0054] RNA 的提取、质量检测和纯化步骤同实施例 1 所述。

[0055] 在 PCR 管中加入总 RNA、引物、DEPC 水，65℃温浴 5 分钟，稍微离心，立即放置冰上 5 分钟。

[0056] 然后在 PCR 管中继续添加 5× 反应缓冲液、RNase 抑制剂、10mM dNTP 混合液、逆转录酶，42℃温浴 60 分钟之后 70℃ 5 分钟终止反应，保存于 -20℃备用。

[0057] (3) 实时定量 PCR

[0058] 反应采用 ABI 7300 定量 PCR 仪，试剂采用 SYBR Green Realtime PCR Master Mix(Toyobo)，逆转录产物 1 ： 10 稀释，取 1ul 进行实时 PCR 反应，反应程序为：50℃ 2 分钟；再 95℃ 10 分钟；然后 95℃ 15 秒及 60℃ 1 分钟，进行 40 个循环；最后 95℃ 15 秒，60℃ 1 分钟，95℃ 15 秒。

[0059] 反应结束，得本发明 SERPINE2 基因在胃癌和癌旁正常样本中的差异表达。SERPINE2 在 11 个胃癌样本中表达情况的定量 PCR 结果见图 3，在图 3 中，横坐标为样本号；M0 表示未转移，M1 表示有转移；纵坐标为以 β-actin 为内参基因的 ΔCt 值（Ct 中 C 代表 Cycle，t 代表 threshold，Ct 值的含义是每个反应管内的荧光信号到达设定的域值时所经历的循环数，Ct 越小说明其表达量越高；ΔCt 值为同一样本中 SERPINE2 目的基因的 Ct 值与内参基因的 Ct 值相减所得的值）。图 3 表明 SERPINE2 基因在转移胃癌样本中的表达量高于未转移胃癌样本。

[0060] SERPINE2 在 11 对胃癌样本中表达情况的芯片与定量 PCR 结果比较见图 4，在图 4 中，横坐标为样本号；M0 表示未转移，M1 表示有转移；纵坐标为 Log Ratio 值，即癌 (T) 和癌旁 (N) 比值取 Log 值；qPCR 内参基因为 β-actin。由图 4 可知，外显子芯片实验和实时定量 PCR 实验的结果都表明 SERPINE2 基因在发生转移的胃癌样本中表达明显升高，而在未转移的胃癌样本中表达正常或下降。因此，可通过实时定量 PCR 或基因芯片诊断胃癌是否发生

转移：设计 SERPINE2 基因的 PCR 引物或探针，检测胃癌组织中 SERPINE2 基因的表达量，如果 SERPINE2 基因的表达量显著升高，则说明胃癌转移的可能性高，如果 SERPINE2 基因的表达量正常，则说明胃癌转移的可能性低。由于有研究表明 SERPINE2 基因在胰腺癌、结肠癌、乳腺癌、口腔鳞状细胞癌和睾丸癌中的表达均升高，且对睾丸癌的研究发现，在小鼠皮下注射 SERPINE2 过表达细胞的培养基能够促进淋巴结转移，而注射被 RNA 沉默 SERPINE2 表达细胞的培养基能抑制淋巴结转移，因此，可通过实时定量 PCR 或基因芯片，检测肿瘤组织中 SERPINE2 基因的表达量，从而早期诊断肿瘤是否发生转移。

[0061] 实施例 3 Western Blot 检测 SERPINE2 蛋白的表达情况

[0062] (1) 组织中总蛋白的提取：

[0063] 视胃癌和癌旁组织样本的多少加入 100-200μl RIPA（中）裂解液，冰上裂解 30 分钟后，然后在 4℃下 13200rpm 离心 15 分钟，取上清分装于 0.5ml 离心管中并置于 -20℃保存。

[0064] (2) 蛋白含量的测定：lowry 法测蛋白含量。

[0065] (3)SDS-PAGE 电泳：12％胶 10 孔板，每孔上样 40μg 蛋白，80V 恒压电泳浓缩胶 15min，至分离胶时加压至 120V 电泳至槽底。

[0066] (4) 转膜：切去多余的胶，每块胶剪 1 张 PVDF 膜和 6 张滤纸，按照滤纸 +PVDF 膜 + 胶 + 滤纸顺序置于电转夹中，胶的一侧靠近电泳电源的负极，恒流 200A，2 小时，取出 PVDF 膜。

[0067] (5) 封闭：将膜置于适量 5％奶粉的 TBST，室温下摇床上摇动封闭 2 小时。

[0068] (6) 一抗：将 SERPINE2 一抗用 TBST 以 1 ： 400 稀释，将膜室温下孵育 2 小时后，用 TBST 在室温下脱色摇床上洗 3 次，每次 5 分钟。

[0069] (7) 二抗：同上方法准备二抗（抗鼠）稀释液并将膜室温下孵育 2 小时后，用 TBST 在室温下脱色摇床上洗 3 次，每次 5 分钟。

[0070] (8) 化学发光、显影、定影

[0071] 将 A 和 B 两种试剂 (ECL Western blotting detection reagents，GE) 在保鲜膜上等体积混合，将膜蛋白面朝下与此混合液充分接触，2 分钟后，去尽残液，包好，放入 X- 光片夹中。在暗室中根据信号的强弱适当调整曝光时间，一般为 1min 或 5min，多次压片，得图 5。在图 5 中，“T”指胃癌组织，“N”指癌旁组织。由图 5 可知，SERPINE2 在发生了淋巴结转移的胃癌组织中高表达，而在没有出现淋巴结转移的胃癌组织中正常表达。

[0072] 实施例 4 抗肿瘤转移药物的筛选

[0073] 以 SERPINE2 基因作为靶点，设计和筛选抗肿瘤转移药物。具体方法如下。

[0074] 用候选药物处理高表达 SERPINE2 基因的肿瘤转移体系，该 SERPINE2 基因为 SEQ ID NO：2 所示的核苷酸序列，然后检测上述体系中 SERPINE2 基因的表达水平或检测上述体系中表达的 SERPINE2 蛋白的活性。若候选物质可降低 SERPINE2 基因的表达或降低过表达 SERPINE2 蛋白的活性，则表明该候选药物是能控制肿瘤转移的潜在物质。

[0075] 以上所述实施例仅表达了本发明的实施方式，其描述较为具体和详细，但并不能因此而理解为对本发明专利范围的限制。应当指出的是，对于本领域的普通技术人员来说，在不脱离本发明构思的前提下，还可以做出若干变形和改进，这些都属于本发明的保护范围。因此，本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

<110> 上海生物芯片有限公司

<120>SERPINE2 基因的用途

<160>4

<170>PatentIn version 3.3

<210>1
<211>409
<212>PRT
<213>Homo sapiens

<400>1
Met Ser Asp Cys Arg Ser Ser Leu Val Glu Gly Thr Met Asn Trp His
1 5 10 15
Leu Pro Leu Phe Leu Leu Ala Ser Val Thr Leu Pro Ser Ile Cys Ser
20 25 30
His Phe Asn Pro Leu Ser Leu Glu Glu Leu Gly Ser Asn Thr Gly Ile
35 40 45
Gln Val Phe Asn Gln Ile Val Lys Ser Arg Pro His Asp Asn Ile Val
50 55 60
Ile Ser Pro His Gly Ile Ala Ser Val Leu Gly Met Leu Gln Leu Gly
65 70 75 80
Ala Asp Gly Arg Thr Lys Lys Gln Leu Ala Met Val Met Arg Tyr Gly
85 90 95
Val Asn Gly Val Gly Lys Ile Leu Lys Lys Ile Asn Lys Ala Ile Val
100 105 110
Ser Lys Lys Asn Lys Asp Ile Val Thr Val Ala Asn Ala Val Phe Val
115 120 125
Lys Asn Ala Ser Glu Ile Glu Val Pro Phe Val Thr Arg Asn Lys Asp
130 135 140
Val Phe Gln Cys Glu Val Arg Asn Val Asn Phe Glu Asp Pro Ala Ser
145 150 155 160
Ala Cys Asp Ser Ile Asn Ala Trp Val Lys Asn Glu Thr Arg Asp Met
165 170 175
Ile Asp Asn Leu Leu Ser Pro Asp Leu Ile Asp Gly Val Leu Thr Arg

180 185 190
Leu Val Leu Val Asn Ala Val Tyr Phe Lys Gly Leu Trp Lys Ser Arg
195v200 205
Phe Gln Pro Glu Asn Thr Lys Lys Arg Thr Phe Val Ala Ala Asp Gly
210 215 220
Lys Ser Tyr Gln Val Pro Met Leu Ala Gln Leu Ser Val Phe Arg Cys
225 230 235 240
Gly Ser Thr Ser Ala Pro Asn Asp Leu Trp Tyr Asn Phe Ile Glu Leu
245 250 255
Pro Tyr His Gly Glu Ser Ile Ser Met Leu Ile Ala Leu Pro Thr Glu
260 265 270
Ser Ser Thr Pro Leu Ser Ala Ile Ile Pro His Ile Ser Thr Lys Thr
275 280 285
Ile Asp Ser Trp Met Ser Ile Met Val Pro Lys Arg Val Gln Val Ile
290 295 300
Leu Pro Lys Phe Thr Ala Val Ala Gln Thr Asp Leu Lys Glu Pro Leu
305 310 315 320
Lys Val Leu Gly Ile Thr Asp Met Phe Asp Ser Ser Lys Ala Asn Phe
325 330 335
Ala Lys Ile Thr Arg Ser Glu Asn Leu His Val Ser His Ile Leu Gln
340 345 350
Lys Ala Lys Ile Glu Val Ser Glu Asp Gly Thr Lys Ala Ser Ala Ala
355 360 365
Thr Thr Ala Ile Leu Ile Ala Arg Ser Ser Pro Pro Trp Phe Ile Val
370 375 380
Asp Arg Pro Phe Leu Phe Phe Ile Arg His Asn Pro Thr Gly Ala Val
385 390 395 400
Leu Phe Met Gly Gln Ile Asn Lys Pro
405

<210>2
<211>2186
<212>DNA
<213>Homo sapiens

<400>2
gttacctctg cctgggcaga gggaggtgac gcgcggtgtg gggaaagcct ttaacttggc 60
ctctggcagc cgatttaacc cgagcgagca ggtctttgct attttcatca tctgtagaaa 120
cgggagttgc gaggcggatg agtgactgca ggtcgtcctt ggtggaagga accatgaact 180

ggcatctccc cctcttcctc ttggcctctg tgacgctgcc ttccatctgc tcccacttca 240
atcctctgtc tctcgaggaa ctaggctcca acacggggat ccaggttttc aatcagattg 300
tgaagtcgag gcctcatgac aacatcgtga tctctcccca tgggattgcg tcggtcctgg 360
ggatgcttca gctgggggcg gacggcagga ccaagaagca gctcgccatg gtgatgagat 420
acggcgtaaa tggagttggt aaaatattaa agaagatcaa caaggccatc gtctccaaga 480
agaataaaga cattgtgaca gtggctaacg ccgtgtttgt taagaatgcc tctgaaattg 540
aagtgccttt tgttacaagg aacaaagatg tgttccagtg tgaggtccgg aatgtgaact 600
ttgaggatcc agcctctgcc tgtgattcca tcaatgcatg ggttaaaaat gaaaccaggg 660
atatgattga caatctgctg tccccagatc ttattgatgg tgtgctcacc agactggtcc 720
tcgtcaacgc agtgtatttc aagggtctgt ggaaatcacg gttccaaccc gagaacacaa 780
agaaacgcac tttcgtggca gccgacggga aatcctatca agtgccaatg ctggcccagc 840
tctccgtgtt ccggtgtggg tcgacaagtg cccccaatga tttatggtac aacttcattg 900
aactgcccta ccacggggaa agcatcagca tgctgattgc actgccgact gagagctcca 960
ctccgctgtc tgccatcatc ccacacatca gcaccaagac catagacagc tggatgagca 1020
tcatggtgcc caagagggtg caggtgatcc tgcccaagtt cacagctgta gcacaaacag 1080
atttgaagga gccgctgaaa gttcttggca ttactgacat gtttgattca tcaaaggcaa 1140
attttgcaaa aataacaagg tcagaaaacc tccatgtttc tcatatcttg caaaaagcaa 1200
aaattgaagt cagtgaagat ggaaccaaag cttcagcagc aacaactgca attctcattg 1260
caagatcatc gcctccctgg tttatagtag acagaccttt tctgtttttc atccgacata 1320
atcctacagg tgctgtgtta ttcatggggc agataaacaa accctgaaga gtatacaaaa 1380
gaaaccatgc aaagcaacga ctactttgct acgaagaaag actcctttcc tgcatctttc 1440
atagttctgt taaatatttt tgtacatcgc ttctttttca aaactagttc ttaggaacag 1500
actcgatgca agtgtttctg ttctgggagg tattggaggg aaaaaacaag caggatggct 1560
ggaacactgt actgaggaat gaatagaaag gcttccagat gtctaaaaga ttctttaaac 1620
tactgaactg ttacctaggt taacaaccct gttgagtatt tgctgtttgt ccagttcagg 1680
aatttttgtt ttgttttgtc tatatgtgcg gcttttcaga agaaatttaa tcagtgtgac 1740
agaaaaaaaa atgttttatg gtagctttta ctttttatga aaaaaaaatt atttgccttt 1800
taaattcttt tcccccatcc ccctccaaag tcttgatagc aagcgttatt ttgggggtag 1860
aaacggtgaa atctctagcc tctttgtgtt tttgttgttg ttgttgttgt tgttttatat 1920
aatgcatgta ttcactaaaa taaaatttaa aaaactcctg tcttgctaga caaggttgct 1980
gttgtgcagt gtgcctgtca ctactggtct gtactccttg gatttgcatt tttgtatttt 2040
gtacaaagta aaaataaact gttatgagta gtaaaaataa agctatttct ctgctatttg 2100
aaaatacaat agaagaaact gagcctttta gacattcgtc agcctcttct aataaacctt 2160
tgtactatgt aaacatcagg aaattc 2186

<210>3
<211>21
<212>DNA
<213> 人工序列

<220>
<221>misc_feature
<222>(1)..(21)
<223>引物

<400>3
ttccatctgc tcccacttca a 21

<210>4
<211>21
<212>DNA
<213>人工序列

<220>
<221>misc_feature
<222>(1)..(21)
<223>引物

<400>4
gtcatgaggc ctcgacttca c 21

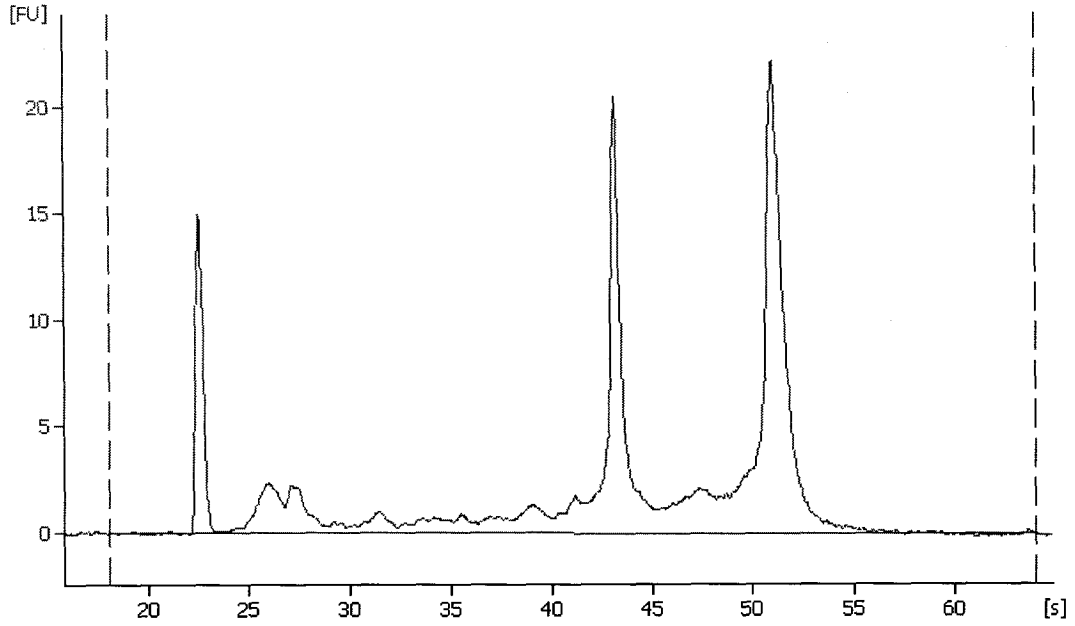

[FU]
20
15
10
5
0
20
25
30
35
40
45
50
55
60
[s]

图 1

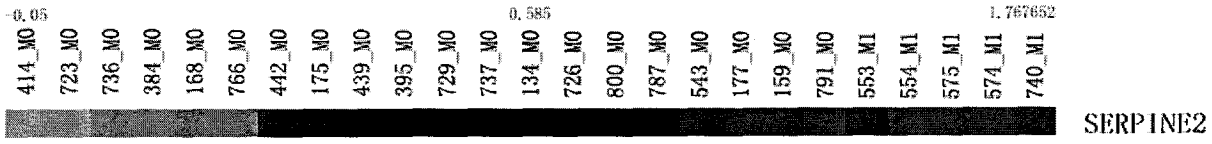

-0.05
0.585
1.767652
414_M0
723_M0
736_M0
384_M0
168_M0
766_M0
442_M0
175_M0
439_M0
395_M0
729_M0
737_M0
134_M0
726_M0
800_M0
787_M0
543_M0
177_M0
159_M0
791_M0
553_M1
554_M1
575_M1
574_M1
740_M1
SERP1NE2

图 2

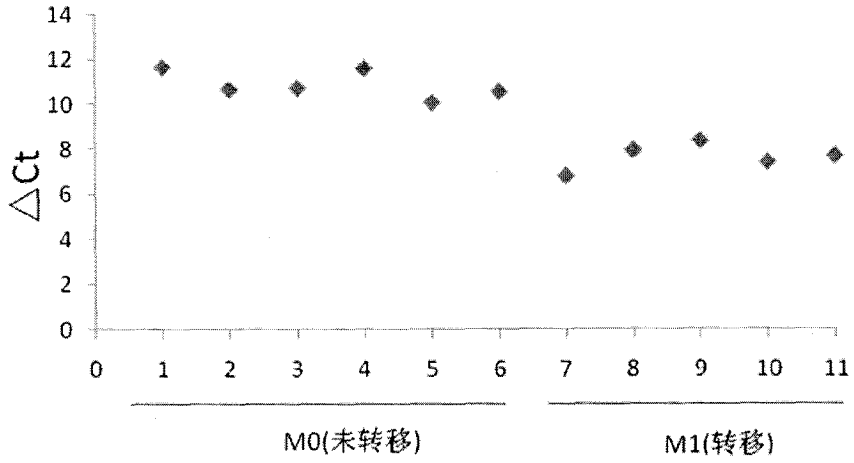

14
12
10
8
6
4
2
0
△Ct
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
M0(未转移)
M1(转移)

图 3

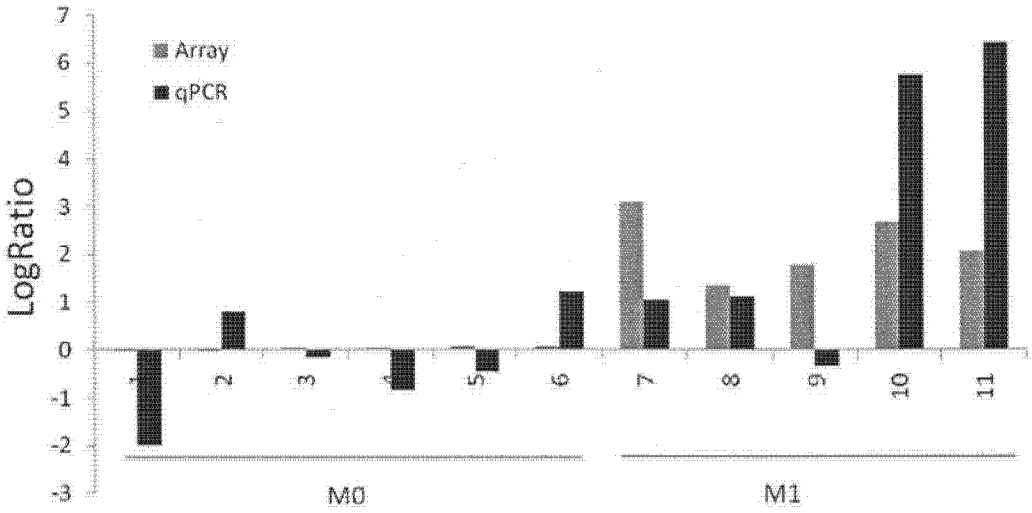

Array
qPCR
LogRatio
7
6
5
4
3
2
1
0
-1
-2
-3
1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
M0
M1

图 4

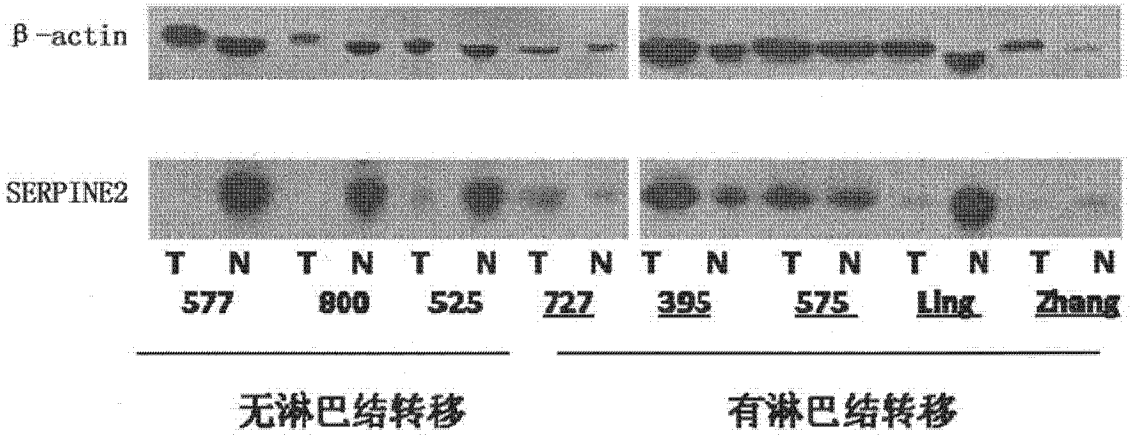
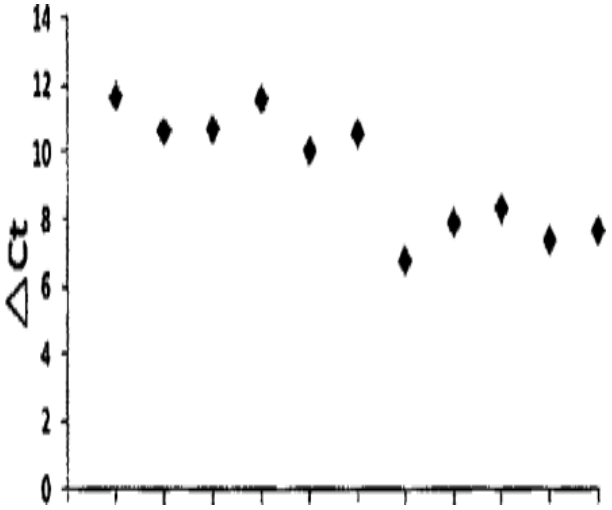

β-actin
SERPINE2
T N T N T N T N T N T N T N T N
577 800 525 727 395 575 Ling Zhang
无淋巴结转移
有淋巴结转移

图 5

专利名称(译)	SERPINE2基因的用途		
公开(公告)号	CN101798600A	公开(公告)日	2010-08-11
申请号	CN201010139034.0	申请日	2010-04-02
[标]申请(专利权)人(译)	上海生物芯片有限公司		
申请(专利权)人(译)	上海生物芯片有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	上海生物芯片有限公司		
[标]发明人	张庆华 阳圣 杨燕青 张雯		
发明人	张庆华 阳圣 杨燕青 张雯		
IPC分类号	C12Q1/68 G01N33/53 A61K48/00 A61K39/395 A61P35/04		
其他公开文献	CN101798600B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开一种SERPINE2基因的用途，用于制备早期诊断肿瘤转移的产品。本发明还公开了SERPINE2基因在制备或筛选治疗肿瘤的药物中的用途。本发明与胃癌转移相关的SERPINE2基因，可作为早期诊断肿瘤转移的标志物，辅助医生制定个性化的治疗方案，同时可作为控制肿瘤转移的药物治疗靶标。