



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 102365551 A

(43) 申请公布日 2012. 02. 29

(21) 申请号 201080014115. 6 *C12Q 1/68* (2006. 01)
(22) 申请日 2010. 04. 07 *G01N 33/53* (2006. 01)
(30) 优先权数据 *C12N 15/09* (2006. 01)
2009-095561 2009. 04. 10 JP
(85) PCT申请进入国家阶段日
2011. 09. 27
(86) PCT申请的申请数据
PCT/JP2010/056293 2010. 04. 07
(87) PCT申请的公布数据
W02010/117010 JA 2010. 10. 14
(71) 申请人 LSIP 基金运营联合公司
地址 日本东京
(72) 发明人 一宫慎吾 菊地智树 外冈晓子
佐藤昇志
(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 李巍
(51) Int. Cl.
G01N 33/574 (2006. 01) 权利要求书 1 页 说明书 10 页
序列表 6 页 附图 3 页

(54) 发明名称
肿瘤标记物及其利用

(57) 摘要

本发明用于检测检体样本中的 SNX5, 通过将本发明用作对甲状腺乳头癌具有特异性的肿瘤标记物, 能使甲状腺乳头癌的诊断变容易。另外, 本发明提供一种运用此肿瘤标记物的甲状腺乳头癌判断技术。

1. 一种用于检测甲状腺乳头癌的肿瘤标记物的方法,其特征在于:
包括检测检体样本中的 SNX5 蛋白质或其片段的步骤。
2. 根据权利要求 1 所述的方法,其特征在于:
所述步骤是通过使用抗 SNX5 抗体的免疫分析来进行的。
3. 根据权利要求 2 所述的方法,其特征在于:
所述抗 SNX5 抗体是由融合瘤 48C2 产生的小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体,或是与该小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体具有同等的结合活性的单克隆抗体。
4. 一种用于检测甲状腺乳头癌的肿瘤标记物的方法,其特征在于:
包括检测检体样本中的 SNX5 基因或其片段的步骤。
5. 根据权利要求 4 所述的方法,其特征在于:
所述步骤是通过使核酸探针与 SNX5 基因或其片段杂交来进行的。
6. 根据权利要求 5 所述的方法,其特征在于:
所述核酸探针是包含序列号 4~9 中任意序列号所示的核苷酸序列或其互补序列的寡核苷酸。
7. 根据权利要求 1 至 6 中任一项所述的方法,其特征在于:
所述检体样本是由采自检体的组织或该组织的细胞所制备的切片或细胞溶解物。
8. 根据权利要求 7 所述的方法,其特征在于:所述组织为甲状腺组织。
9. 根据权利要求 1 至 8 中任一项所述的方法,其特征在于:
所述检体是有可能患有甲状腺疾病的患者。
10. 一种用以检测甲状腺乳头癌的肿瘤标记物的试剂盒,其特征在于:
具有抗 SNX5 抗体。
11. 根据权利要求 10 所述的试剂盒,其特征在于:
所述抗 SNX5 抗体是由融合瘤 48C2 产生的小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体,或是与该小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体具有同等的结合活性的单克隆抗体。
12. 一种用以检测甲状腺乳头癌的肿瘤标记物的试剂盒,其特征在于:
具有能与 SNX5 基因或其片段杂交的寡核苷酸。
13. 根据权利要求 12 所述的试剂盒,其特征在于:
所述寡核苷酸包含序列号 4~9 中任意序列号所示的核苷酸序列或其互补序列。

肿瘤标记物及其利用

技术领域

[0001] 本发明涉及一种肿瘤标记物及其利用,更详细来说,涉及一种适于甲状腺乳头癌诊断的肿瘤标记物的检测方法及此方法中所使用的工具。

背景技术

[0002] 甲状腺乳头癌是甲状腺癌中发生率最高的恶性肿瘤,且在转移到肺或颈部淋巴结时可能会预后不良。因此,甲状腺乳头癌的诊断非常重要。对于甲状腺乳头癌的诊断而言,病理组织学的研究是不可欠缺的。然而,除了甲状腺乳头癌以外,也存在很多其它呈现为乳头状构造物的恶性肿瘤,因此不仅很难判断病灶是否为原发性,而且也很难判定淋巴结转移的肿瘤性病变。

[0003] 甲状腺乳头癌的病理组织的特征是根据在甲状腺组织中进行特异性表达的分子的表达方式来评价的。作为已知的甲状腺标记物,已知有甲状腺球蛋白或甲状腺转录因子 1(thyroid transcription factor 1:TTF-1)等。已知甲状腺球蛋白是由甲状腺组织分泌的为二聚体的糖蛋白。在甲状腺疾病下,甲状腺球蛋白在细胞中或血液中的浓度会提高。

[0004] [现有技术文献]

[0005] 专利文献 1:W02006/133361;2006 年 12 月 14 日国际公开。

[0006] 专利文献 2:国际专利申请日本国公表,“特表 2008-500033 号”;2008 年 1 月 10 日公表。

[0007] 非专利文献 1:Otsuki, T et al., SNX5, a New Member of the Sorting Nexin Family, Binds to the Fanconi Anemia Complementation Group A Protein. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 265:630-635(1999)

[0008] 非专利文献 2:Teasdale, R. D. et al., A large family of endosome-localized proteins related to sorting nexin 1. *Biochem. J.* 358:7-16(2001)

发明内容

[0009] 血液中的甲状腺球蛋白量的测定被用于观察甲状腺癌手术后的病情变化(尤其是用于判断转移的可能性)。然而,甲状腺球蛋白的测定无法判断甲状腺癌是良性还是恶性。另外,在目前所报告的在甲状腺组织中作特异性表达的分子当中,存有在其它器官中也表达的分子。因此,人们热切期望一种对甲状腺乳头癌具有特异性且优异的肿瘤标记物。

[0010] 本发明是鉴于所述问题而完成的,其目的在于提供一种对甲状腺乳头癌具有特异性的肿瘤标记物、及使用此肿瘤标记物的甲状腺乳头癌判断技术。

[0011] 本发明的发明人等制作了针对人类 SNX5 蛋白质的抗体,并使用此抗人类 SNX5 抗体实施了针对各种人类正常组织及肿瘤性病变的免疫组织化学染色,结果发现:SNX5 对甲状腺的滤泡上皮表现出了特异的反应,尤其是对作为来源于甲状腺的恶性肿瘤的甲状腺乳头癌表现出了强烈的反应性;而在呈其它组织型的甲状腺癌、来源于胃肠道的乳头状腺癌、来源于肺的乳头状腺癌中几乎未发现 SNX5 的表达。根据该发现结果,本发明的发明人完成

了本发明。

[0012] 也就是说,本发明的方法是检测肿瘤标记物的方法,其特征在于:包括检测检体样本中的 SNX5 的步骤。

[0013] 在本发明的方法中,所述检体样本优选是从检体采集的组织或该组织的培养物或该组织的切片,也可以是由从检体采集的组织或该组织的培养物所制备的细胞溶解物。另外,所述组织优选是甲状腺组织,也可以是血液等体液。

[0014] 在本发明的方法中,所述检体优选是有可能患有甲状腺疾病的患者,也可以是甲状腺乳头癌已发病的患者。

[0015] 所述 SNX5 优选是 SNX5 蛋白质或其片段。在此情况时,检测所述 SNX5 的步骤优选是使用抗 SNX5 抗体的免疫分析。所使用的抗 SNX5 抗体优选是抗人类 SNX5 抗体,更优选是抗人类 SNX5 单克隆抗体,尤其优选是由融合瘤 48C2 产生的小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体,或是与该小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体具有同等的结合活性的单克隆抗体。

[0016] 另外,所述 SNX5 也可以是 SNX5 基因或其片段。在此情况时,检测所述 SNX5 的步骤优选是使核酸探针与 SNX5 基因或其片段进行杂交的步骤。所述核酸探针优选是杂交探针,也可以是 PCR(Polymerase Chain Reaction:聚合酶链式反应)引物。

[0017] 本发明的方法更优选既包括检测 SNX5 蛋白质或其片段的步骤,又包括检测 SNX5 基因或其片段的步骤。

[0018] 所述方法能够是提供甲状腺乳头癌的诊断标准的方法,也能够是提供乳头状形态的恶性肿瘤的鉴别判断标准的方法。另外,所述方法也能够是提供甲状腺乳头癌的病变是否为原发病灶的判定标准的方法。所述方法也能够是提供颈部淋巴结转移的肿瘤是否是来源于甲状腺的判断标准的方法。

[0019] 本发明的试剂盒是用以检测肿瘤标记物的试剂盒,其特征在于具有抗 SNX5 抗体。本发明的试剂盒优选是还具有用以检测所述抗体的试剂。所述抗体优选是抗人类 SNX5 抗体,更优选是抗人类 SNX5 单克隆抗体,尤其优选是由融合瘤 48C2 产生的小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体或是与该小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体具有同等的结合活性的单克隆抗体。

[0020] 本发明的试剂盒是用以检测肿瘤标记物的试剂盒,其特征在于:具有能与 SNX5 基因或其片段杂交的寡核苷酸。本发明的试剂盒优选还具有用以检测所述寡核苷酸的试剂。所述寡核苷酸优选是对 SNX5 基因或其片段的杂交探针,但也可以是 PCR 引物。

[0021] 所述试剂盒优选是用以提供甲状腺乳头癌的诊断标准的试剂盒,也能够是用以提供乳头状形态的恶性肿瘤的鉴别判断标准的试剂盒。另外,所述试剂盒也能够是提供甲状腺乳头癌的病变是否为原发病灶的判定标准的试剂盒。进而,所述试剂盒也能够是用以提供颈部淋巴结转移的肿瘤是否是来源于甲状腺的判断标准的试剂盒。

[0022] 本发明的其他目的、特征和优越点在以下的记述中将会十分明了。另外,本发明的益处将通过以下的说明和附图而变得明确。

[0023] [发明的效果]

[0024] 通过运用本发明,能够对适于诊断是否为甲状腺乳头癌的肿瘤标记物进行检测。

附图说明

[0025] 图 1 是利用抗人类 SNX5 单克隆抗体,对导入了 pCMV-SNX5 的人类 293 细胞的细胞

可溶性组分实施了蛋白质印迹 (Western blot) 的结果图 ;在对照中,使用了导入有 pCMV、pCMV-mutant AIRE#1 或 pCMV-mutant AIRE#2 的人类 293 细胞。

[0026] 图 2 是利用抗人类 SNX5 单克隆抗体,对导入了 pCMV-SNX5 的人类 293 细胞实施了免疫组织化学染色的结果图 ;在对照中,使用了导入 pCMV 的人类 293 细胞,任何细胞均是由多聚甲醛来固定的。

[0027] 图 3 是利用抗人类 SNX5 单克隆抗体,对人类腺癌组织的福尔马林固定石蜡包埋切片实施了免疫组织化学染色的结果图 ;图 3 的 (a) 表示甲状腺乳头癌中的免疫组织化学染色结果,图 3 的 (b) 表示肺腺癌中的免疫组织化学染色结果,图 3(c) 表示乳腺癌中的免疫组织化学染色结果。

[0028] 图 4 是利用抗人类 SNX5 多克隆抗体,对人类腺癌组织的福尔马林固定石蜡包埋切片实施了免疫组织化学染色的结果图。

[0029] 图 5 是对甲状腺的正常组织及癌组织中的人类 SNX5 基因实施了定量 RT-PCR 的结果图。

具体实施方式

[0030] 如上所述,本发明人等发现 :SNX5 虽然在作为来源于甲状腺的恶性肿瘤的甲状腺乳头癌中高度表达,但在呈其它组织型的甲状腺癌、来源于胃肠道的乳头状腺癌、来源于肺的乳头状腺癌中几乎未发现表达。

[0031] 现有技术中已启示了人类 sorting nexin-5 (SNX5) 是与细胞内的内质网输送相关的分子,且与细胞的游走密切相关 (例如参照非专利文献 1 及 2)。另外,在专利文献 1 中列举了多个与多发性骨髓瘤相关的基因的候补,其中 1 个候补就是 SNX5。在专利文献 2 中列举了多个与肿瘤相关的结合 MHC (major histocompatibility complex :主要组织相容性复合体) 分子的肽 (抗原肽) 的候补,其中 1 个候补是 SNX5 蛋白质的部分断片 (氨基酸 292 ~ 300 ;专利文献 2 的序列号 524)。然而,甲状腺乳头癌中的 SNX5 的特异性在任何一个文献中都没有启示或揭示。对此,本发明提供一种关于甲状腺乳头癌的优异的肿瘤标记物。

[0032] (1. 肿瘤标记物)

[0033] 本发明提供关于甲状腺乳头癌的优异的肿瘤标记物。在一个实施方式中,本发明的肿瘤标记物为 SNX5 蛋白质或其片段。在其它实施方式中,本发明的肿瘤标记物为 SNX5 基因或其片段。

[0034] 本说明书中叙述的 SNX5 蛋白质为 :包含序列号 1 所示的氨基酸序列的多肽 ;或,包含序列号 1 所示氨基酸序列的 1 个或多个氨基酸经缺失、取代或附加后的氨基酸序列的、具有 SNX5 活性的多肽。另外,SNX5 蛋白质可以由包含序列号 2 所示的核苷酸序列的多核苷酸来编码的多肽 ;也可以是,由包含序列号 2 所示核苷酸序列的 1 个或多个碱基经缺失、取代或附加后的核苷酸序列的多核苷酸来编码,且具有 SNX5 活性的多肽 ;也可以是由可与包含序列号 2 所示核苷酸序列的多核苷酸在严格的条件下杂交的多核苷酸来编码,且具有 SNX5 活性的多肽 ;或者也可以是由与包含序列号 2 所示的核苷酸序列的多核苷酸具有 80% 以上的同源性的多核苷酸来编码,且具有 SNX5 活性的多肽。

[0035] 从使用多肽 (氨基酸) 的观点而言,所述“1 个或多个”优选是在 1 ~ 30 个的范

围内,更优选是在 1 ~ 20 个的范围内,进而优选是在 1 ~ 10 个的范围内,最优选是在 1 ~ 5 个的范围内。另外,本技术领域人员可以根据目标多肽的长度,而容易地理解到所述的“1 个或多个”所表示的氨基酸个数范围是何程度。

[0036] 从使用多核苷酸(碱基)的观点而言,所述“1 个或多个”优选是在 1 ~ 100 个的范围内,更优选是在 1 ~ 50 个的范围内,进而优选是在 1 ~ 30 个的范围内,最优选是在 1 ~ 15 个的范围内。另外,本技术领域人员可以根据目标多核苷酸的长度,而容易地理解到所述“1 个或多个”所表示的碱基个数范围是何程度。例如,在涉及后述的寡核苷酸时,“1 个或多个”优选是在 1 ~ 10 个的范围内,更优选是在 1 ~ 7 个的范围内,进而优选是在 1 ~ 5 个的范围内,最优选是在 1 ~ 3 个的范围内。

[0037] 本说明书中,与目标多肽或目标多核苷酸的同源性优选是 80% 以上,更优选是 85% 以上,进而优选是 90% 以上,最优选是 95% 以上。

[0038] 在本说明书中,术语“SNX5 活性”是指:与使用包含序列号 1 所示的氨基酸序列的多肽作为抗原而产生的抗 SNX 抗体之间的结合能力。所述 SNX 抗体只要是后述的抗 SNX5 抗体即可,优选是后述的 48C2 抗体。另外,所述多肽既可以是重组人类 SNX5 蛋白质,也可以是分离纯化的天然人类 SNX5 蛋白质。

[0039] 在本说明书中,SNX5 基因是对包含序列号 1 所示的氨基酸序列的多肽进行编码的多核苷酸;或是,对包含序列号 1 所示氨基酸序列的 1 个或多个氨基酸经缺失、取代或附加后的氨基酸序列的、具有 SNX5 活性的多肽,进行编码的多核苷酸。另外,SNX5 基因可以是包含序列号 2 所示的核苷酸序列的多核苷酸;也可以是,对包含序列号 2 所示核苷酸序列的 1 个或多个碱基经缺失、取代或附加后的核苷酸序列的、具有 SNX5 活性的多肽,进行编码的多核苷酸;也可以是,对可与包含序列号 2 所示核苷酸序列的多核苷酸在严格的条件下杂交且具有 SNX5 活性的多肽,进行编码的多核苷酸;或者也可以是,对与包含序列号 2 所示核苷酸序列的多核苷酸具有 80% 以上的同源性且具有 SNX5 活性的多肽,进行编码的多核苷酸。

[0040] 序列号 1 为登录在 GenBank(寄存编号 AF121855)中的 SNX5 的氨基酸序列。序列号 2 为对序列号 1 所示的氨基酸序列进行编码的核苷酸序列序列号 2 对应于登录在 GenBank(寄存编号 AF121855)中的 SNX5 的核苷酸序列(序列号 3)的开放阅读框(第 181 位~第 1395 位)。

[0041] 本说明书中的术语“多肽”可以与“肽”或“蛋白质”交换使用,指的是氨基酸的聚合物。另外,多肽的“片段”是指此多肽的部分断片。本发明的多肽可以重组形成,也可以化学合成,也可以从天然供给源分离出来。

[0042] 本说明书中的术语“多核苷酸”可以与“基因”、“核酸”或“核酸分子”交换使用,指的是核苷酸的聚合物。另外,多核苷酸的“片段”是指此多核苷酸的部分断片。在本说明书中,术语“核苷酸序列”可以与“核酸序列”或“碱基序列”交换使用。

[0043] 本发明的多核苷酸能以 RNA(例如 mRNA)的形态或 DNA 的形态(例如 cDNA 或基因组 DNA)存在。DNA 可以是双链或单链。单链 DNA 或 RNA 可以是编码链(作为义链而周知),或者可以是非编码链(作为反义链而周知)。

[0044] 在本说明书,术语“寡核苷酸”是指多个乃至数十个核苷酸结合而成的物质,可以与“多核苷酸”交换使用。

[0045] 在本说明书中,术语“严格的(杂交)条件”是指在杂交溶液(含有:50%甲酰胺、5×SSC(150mM的NaCl、15mM的柠檬酸三钠)、50mM的磷酸钠(pH7.6)、5×邓哈特溶液(Denhard's solution)、10%硫酸葡聚糖、20 μg/ml的改性断裂鲑鱼精DNA)中于42℃下培养一晚后,于约65℃下,在0.1×SSC中洗涤滤膜。但根据所要杂交的多核苷酸的不同,可以适当地改变高严格度下的洗涤条件,例如在使用来源于哺乳类的DNA的情况下,优选在含有0.1% SDS(sodium dodecyl sulfate:十二烷基磺酸钠)的0.5×SSC(standard saline citrate:标准柠檬酸盐)溶液中,于65℃下进行洗涤(优选15分钟×2次);在使用来源于E. 大肠杆菌(*Escherichia coli*)的DNA的情况下,优选在含有0.1% SDS的0.1×SSC中于68℃下进行洗涤(优选15分钟×2次);在使用RNA的情况下,优选在含有0.1% SDS的0.1×SSC中于68℃下进行洗涤(优选15分钟×2次);在使用寡核苷酸的情况下,优选在含有0.1% SDS的0.1×SSC中于杂交温度下进行洗涤(优选15分钟×2次)。

[0046] 通过使用本发明的肿瘤标记物,可以提供呈现乳头状形态的恶性肿瘤的判断标准,因此,是否为甲状腺乳头癌变得容易判断。另外,本发明在判定病变是否为原发病灶时非常有效。进而,只要使用本发明,便可更加明确地判断颈部淋巴结转移肿瘤是来源于甲状腺,还是来源于其它组织(肺、乳腺等)。

[0047] (2. 肿瘤标记物的检测方法)

[0048] 本发明提供肿瘤标记物的检测方法。本发明的肿瘤标记物的检测方法的特征在于包括检测检体样本中的SNX5的步骤。在一个实施方式中,本发明的检测方法包括检测SNX5蛋白质或其片段的步骤。在其它实施方式中,本发明的检测方法包括检测SNX5基因或其片段的步骤。

[0049] 在本说明书中,“检体样本”是指从检体采集的任意组织(包括血液等体液)或细胞,由这些组织或细胞所制备的组织切片或细胞溶解物也可以是包含在检体样本中。作为本发明中优选使用的检体样本,可列举肿瘤组织及血清,但并不限定于是这些。另外,作为取得样本的第一阶段来将组织或细胞直接从检体上取下的步骤是由医生实施的,这属于本发明的范围之外。另外,利用根据本发明的方法所获得的结果来判定是否患病的步骤也是由医生实施的,这也属于本发明的范围之外。

[0050] 作为本发明的对象的检体优选是有可能患有甲状腺疾病的患者,更优选是甲状腺乳头癌已发病的患者,也可以是无发病的人。在本发明的方法中,所述检体样本优选是从有可能患有甲状腺疾病的患者采集的甲状腺组织或其培养物、或者是由这些组织或其培养物所制备的组织切片或细胞溶解物,但并不限于此。本领域技术人员可容易地理解到:样本的取得顺序可以根据所需的组织或细胞来适当选择。

[0051] 在检测SNX5蛋白质的实施方式中,检测SNX5的步骤可以是使用了抗SNX5抗体的免疫分析。在本说明书中,术语“免疫分析”是指利用基于抗原抗体反应的免疫学结合反应来进行的分析。利用免疫学结合反应的分析例如有:免疫组织化学、免疫电子显微镜法、蛋白质印迹、免疫沉淀法、三明治酶联免疫分析(ELISA:sandwich enzyme-linked immunosorbent assay)、放射性免疫分析、抗体分析(例如免疫扩散分析)以及亲和层析等。这些技术在此领域中众所周知,技术人员可容易地实行本发明。

[0052] 作为抗SNX5抗体,优选抗人类SNX5抗体,更优选单克隆抗体,尤其优选由融合瘤(hybridoma)48C2产生的小鼠抗人类SNX5单克隆抗体(也称作48C2抗体)。本发明人等

发现：48C2 抗体能识别人类 SNX5 蛋白质的 N 末端侧（序列号 1 的 1 ~ 177 位；序列号 10）（不示出结果）。也就是说，“SNX5 蛋白质的片段”是包含序列号 1 所示的氨基酸序列的部分序列的多肽，优选是含有序列号 10 所示的氨基酸序列、或有连续 8 个以上氨基酸的氨基酸序列的多肽。另外，阅读了本说明书的本领域技术人员可容易地理解到：具有与 48C2 抗体同等的结合特性的单克隆抗体也包含在适用于本发明的抗体的范围内。

[0053] 在检体样本是从检体采集的组织或其培养物或切片时，所述免疫分析可以是指免疫组织化学染色。在检体样本是由从检体采集的组织或其培养物所制备的细胞溶解物时，所述免疫分析也可以是指蛋白质印迹。另外，在检体样本是从检体采集的血液时，所述免疫分析可以是指 ELISA。这些免疫分析优选用于手术前的鉴别诊断，也可以在检查手术后有无转移时使用。

[0054] 由融合瘤 48C2 产生的小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体不仅适于利用蛋白质印迹来检测 SNX5 蛋白质、福尔马林固定石蜡切片中的 SNX5 蛋白质，也使多聚甲醛固定组织中的 SNX5 蛋白质的鉴定成为了可能。以前曾报告有 SNX5 在细胞质中的功能，使用此小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体的结果也表明 SNX5 仅局限在细胞质内。这一结果支持了该小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体的特异性。另外，该融合瘤 48C2 现由北海道公立大学法人札幌医科大学知识产权管理室（电话：060-8556；住址：札幌市中央区南 1 条西 17 丁目）管理保存，必要时可分开出让。

[0055] 在进行恶性肿瘤的病理组织诊断时，免疫组织化学上的探讨非常重要。只要使用对特定器官或组织具有特异性的肿瘤标记物，那么还未能确定原发病灶的转移性病变的确诊就会变得容易，并且可以快速地确定诊断或治疗的方针。以前虽然发现了各种器官的特异的分子标记物，但实际用于病理组织诊断的抗体仍受到限制。尤其是仍未发现适于鉴别甲状腺乳头癌的合适的抗体。

[0056] 对通常的病理组织检测中所使用的福尔马林固定石蜡切片，使用小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体进行免疫组织化学染色，结果是在来源于甲状腺的乳头癌中发现了 SNX5 的强表达，而在作为其它腺癌的代表例的来源于肺癌或乳癌的癌组织中完全没有发现表达。为了验证这一结果，使用了市售的兔子抗人类 SNX5 多克隆抗体进行了免疫组织化学染色，结果同样发现肿瘤细胞中的 SNX5 的高表达。如此，SNX5 作为甲状腺乳头癌的肿瘤标记物非常优异。另外，所述小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体使多聚甲醛固定组织的免疫组织分析成为可能，是非常优异的检测工具。

[0057] 在检测 SNX5 基因的实施方式中，检测 SNX5 的步骤可以是使核酸探针与 SNX5 基因或其片段杂交的步骤。在本说明书中，“核酸探针”只要能与目标核酸进行杂交便可，其无特别限定，既可以是所谓的杂交探针，也可以是 PCR 引物。杂交技术及 PCR 技术在此领域中众所周知，技术人员可容易地实行本发明。若检体样本是从检体采集的组织样本，可以采用在此领域中公知的各种手法，例如可以采用 *in situ* 杂交技术、*in situ* PCR 技术等。另外，若检体样本是从检体采集的血液，例如可以采用惯用的 PCR 技术。

[0058] 核酸探针只要是含有 SNX5 基因（或其互补链）的一部分序列的寡核苷酸便可，其无特别限定，既可以是包含序列号 4 或 5 所示的核苷酸序列或其互补序列的寡核苷酸，也可以是包含序列号 6 ~ 9 所示的核苷酸序列或其互补序列的寡核苷酸。另外，由于 48C2 抗体能识别人类 SNX5 蛋白质的 N 末端侧，因此核酸探针也可以是编码所述“SNX5 蛋白质的片段”

的寡核苷酸。

[0059] 在 In situ 杂交的情况时,核酸探针优选是包含序列号 1 所示核苷酸序列中的 15 ~ 50 个连续碱基或该核苷酸序列的互补序列中的 15 ~ 50 个连续碱基的寡核苷酸,更优选包含 20 ~ 50 个所述连续碱基,进而优选包含 20 ~ 45 个所述连续碱基,最优选包含 25 ~ 40 个所述连续碱基。另外,在运用 PCR(含有 in situ PCR)的情况时,核酸探针优选是包含序列号 1 所示核苷酸序列中的 15 ~ 50 个连续碱基或该核苷酸序列的互补序列中的 15 ~ 50 个连续碱基的寡核苷酸,更优选包含 15 ~ 40 个所述连续碱基,进而优选包含 15 ~ 35 个所述连续碱基,最优选包含 25 ~ 35 个所述连续碱基。

[0060] 另外,本实施方式的检测方法的特征在于包括检测 SNX5 基因的步骤,优选还包括检测所述 SNX5 蛋白质的步骤。

[0061] 如此,通过使用本发明的肿瘤标记物的检测方法,可以提供乳头形态的恶性肿瘤的判断标准,因此便能够容易地判断是否为甲状腺乳头癌。另外,本发明在判定病变是否为原发病灶时非常有效。进而,只要使用本发明,可更加明确地判断颈部淋巴结转移肿瘤是来源于甲状腺,还是来源于其它组织(肺、乳腺等)。也就是说,本发明的方法可以是甲状腺乳头癌诊断标准的提供方法(例如,用以诊断甲状腺乳头癌的数据的取得方法),也可以是乳头形态的恶性肿瘤的鉴别判断标准的提供方法(例如,用以鉴别乳头形态的恶性肿瘤的数据的取得方法)。另外,本发明的方法也可以是甲状腺乳头癌的病变是否为原发病灶的判定标准的提供方法(例如,用以判定甲状腺乳头癌的病变是否为原发病灶的数据的取得方法)。进而,本发明的方法也可以是颈部淋巴结转移肿瘤是否来源于甲状腺的判断标准的提供方法(例如,用以判定颈部淋巴结转移肿瘤是否来源于甲状腺的数据的取得方法)。

[0062] (3. 肿瘤标记物的检测工具)

[0063] 本发明提供用以检测肿瘤标记物的试剂盒。本发明的试剂盒的特征在于具有用以检测检体样本中的 SNX5 的工具。

[0064] 在本说明书中,术语“试剂盒”是指具有内包了特定材料的容器(例如瓶、板、管、盘等)的包装体,材料包含在包装体组合物的其中一种物质中的这一形态也在术语“试剂盒”的概念范围内。试剂盒优选具有各种材料的使用指示书。在本说明书中,涉及试剂盒的场合,所述“具有”是指内包在构成试剂盒的各容器的任意一方中的这一状态。另外,本发明的试剂盒可以是将多个不同的组合物捆绑成 1 个的包装体,在本发明的试剂盒为溶液形态时,其也可以内包在容器中。本发明的试剂盒既可以在同一容器中混合具有物质 A 和物质 B,也可以在不同容器中具有物质 A 和物质 B。“指示书”既可以在纸或其它介质上书写或印刷,或者也可以刻录在磁带、计算机可读的磁盘或磁带、CD-ROM 等电子介质上。本发明的试剂盒能够具有内包稀释剂、溶剂、洗涤液或其它试剂的容器。进而,本发明的试剂盒也可以具有采集检体样本时所需的器具和试剂。另外,本发明的试剂盒也可以具有从检体样本制备切片或细胞溶解物时所需的器具及试剂。

[0065] 在一个实施方式中,本发明的试剂盒具有用以检测 SNX5 蛋白质或其片段的抗体。所述抗体优选是抗人类 SNX5 抗体,更优选是抗人类 SNX5 单克隆抗体,尤其优选是由融合瘤 48C2 产生的小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体或与该小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体具有同等的结合活性的单克隆抗体。另外,本发明的试剂盒优选还具有用以检测所述抗体的试剂,也可以将含有用以检测 SNX5 蛋白质或其片段的抗体作为上述组合物来提供。

[0066] 在其它实施方式中,本发明的检测试剂盒具有用以检测 SNX5 基因或其片段的寡核苷酸。所述寡核苷酸优选是能与 SNX5 基因或其片段杂交的寡核苷酸。所述寡核苷酸优选是针对 SNX5 基因或其片段的杂交探针或 PCR 引物。另外,本发明的试剂盒优选还具有用以检测所述寡核苷酸的试剂,也可以将含有用以检测 SNX5 基因或其片段的寡核苷酸作为上述组合物来提供。

[0067] 本发明的试剂盒优选是用以提供甲状腺乳头癌的诊断标准的试剂盒,也能够是用以提供乳头状形态的恶性肿瘤的鉴别判断标准的试剂盒。另外,本发明的试剂盒也能够是用以提供甲状腺乳头癌的病变是否为原发病灶的判定标准的试剂盒。进而,本发明的试剂盒也能够是用以提供颈部淋巴结转移肿瘤是否是来源于甲状腺的判断标准的试剂盒。

[0068] 如此,本发明的目的在于提供肿瘤标记物,并提供通过检测该肿瘤标记物而获得甲状腺乳头癌的诊断标准。阅读了本说明书的本领域技术人员根据本说明书中的记载和技术常识,可容易地理解能够以各种形态实行本发明。

[0069] [实施例]

[0070] (1. 人类 SNX5cDNA 的取得)

[0071] 将从人类 HacaT 细胞提取的总 RNA 作为模板,使用正向引物 (pCMV-HA-SNX5 FW : 5' -CAGGCCCGAATTCGGATGGCCGCGGTTCCCGAG-3' (序列号 4)) 和反向引物 (pCMV-HA-SNX5 RV : 5' -GATCTCGGTCGACCGTGAAGGCATATCAGTTAT-3' (序列号 5)) 来进行 RT-PCR,由此获得了人类 SNX5cDNA。将所获得的人类 SNX5cDNA 插入到大肠杆菌用表达载体 pET3c (Novagen) 和哺乳动物用表达载体 pCMV-HA (BD Bioscience) 中,由此分别制作了 pET3c-SNX5 和 pCMV-HA-SNX5。在此,pCMV-HA-SNX5 FW 是在人类 SNX5cDNA 的 5' 区域的序列 (ATGGCCGCGGTTCCCGAG (序列号 6)) 中连结了限制性酶部位等的引物,pCMV-HA-SNX5 RV 是在人类 SNX5cDNA 的 3' 区域的序列 (ataactgatatgccttcac (序列号 7)) 的互补序列中连结了限制性酶部位等的引物。

[0072] (2. 抗人类 SNX5 单克隆抗体的制作)

[0073] 培养导入了 pET3c-SNX5 的大肠杆菌 BL21,利用异丙基-β-D-硫代吡喃半乳糖苷 (IPTG : isopropyl β-D-thiogalactopyranoside) 诱导蛋白质合成。接着,将人类 SNX5 蛋白质从菌体成分中分离 / 浓缩。将所获得的蛋白质作为免疫原,使用完全佐剂 (仅初次免疫时) 或不完全佐剂 (2 次或其以后的免疫时) 作为佐剂,对 6 ~ 8 周龄的 Balb/c 小鼠实施腹腔内免疫 (100 μg / 个体)。每隔一周进行一次追加免疫,进行 2 个月,在采集脾细胞的 3 天前进行最终免疫。使用聚乙二醇使采集的脾细胞与 NS0 小鼠骨髓瘤细胞融合,在 96 孔板中,在含有 HAT (Hypoxanthine-aminopterin-thymidine : 次黄嘌呤 - 氨基蝶呤 - 胸腺嘧啶脱氧核苷)、10% FBS (fatal bovine serum : 胎牛血清) 的 RPMI1640 培养基中将此融合细胞培养 2 ~ 3 周。使用培养上清液进行蛋白质印迹法,由此筛出了抗人类 SNX5 单克隆抗体。

[0074] (3. 对哺乳动物细胞的基因导入)

[0075] 向用含有 10% FBS、青霉素 / 链霉素的 DMEM 培养基 (DMEM : Dulbecco' s Modified Eagle Medium) 培养而得的人类 293 细胞,用 LF2000 (Invitrogen 公司) 依照制造商的操作说明书导入了 pCMV-SNX5。在此,将从转化体提取的总 RNA 作为模板,使用正向引物 (SNX5 AMP FW : 5' -ccggttaaagagcaaagacg-3' (序列号 8)) 和反向引物 (SNX5 AMP RV :

5' -agctctgcaaaaggagaca-3' (序列号 9)) 进行了 RT-PCR, 从而确认到了转化体中的 SNX5 的表达。

[0076] (4. 蛋白质印迹分析)

[0077] 将导入了 pCMV-SNX5 的人类 293 细胞培养 3 天后, 用含有 0.5% NP-40 的溶解用缓冲液对其施以可溶化。使用 5 ~ 20% 的梯度凝胶来进行 SDS-PAGE (sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis: 十二烷基磺酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳), 把被施以了可溶化的组分中含有的蛋白质分离。将分离的蛋白质转印至尼龙膜上, 利用抗人类 SNX5 单克隆抗体进行了 1 小时的一次抗体反应, 利用过氧化酶复合物化山羊抗小鼠 IgG 抗体进行了 1 小时的二次抗体反应。使用 ECL 试剂盒 (Amersham 公司制造), 使信号可视化。

[0078] 如图 1 所示, 虽然在 50kDa 的位置检测到了非特异性的条带, 但是对 SNX5 (分子量 47kDa) 具有特异性的信号仅在导入了 pCMV-SNX5 的细胞中检测到。而同样的信号未从基因被导入了阴性对照 (CMV、pCMV-mutant AIRE#1、pCMV-mutant AIRE#2) 的细胞中发现。

[0079] (5. 免疫组织化学染色)

[0080] 将导入了 pCMV-SNX5 的人类 293 细胞培养 3 天后, 用多聚甲醛固定, 使用抗人类 SNX5 单克隆抗体作为一次抗体, 使用将 Alexa596 复合物化的山羊抗小鼠 IgG 抗体作为二次抗体, 在室温下使其分别反应 1 小时, 由此进行了免疫组织化学染色。使用 IX71 荧光显微镜 (Olympus 公司制造) 检测了信号。图 2 中表示有导入了 pCMV-SNX5 的细胞 (左)、导入了 pCMV 作为阴性对照的细胞 (右)。可知抗人类 SNX5 单克隆抗体与 SNX5 特异性地反应。

[0081] 另外, 使用腺癌组织的福尔马林固定石蜡包埋切片, 利用抗人类 SNX5 单克隆抗体进行了免疫组织化学染色。使用自动免疫染色装置 (DAKO 公司制造) 检测了信号 (图 3)。如图 3 的 (a) 所示, 在甲状腺乳头癌中发现了 SNX5 的强表达。然而, 在肺腺癌 (图 3 的 (b)) 及乳腺癌 (图 3 的 (c)) 中却没有发现 SNX5 的表达 (图 3 的 (b))。

[0082] 此外, 使用市售的兔子抗人类 SNX5 多克隆抗体 (H40; Santa Cruz Biotechnology), 对使用所建立的抗人类 SNX5 单克隆抗体进行调查而得的、肿瘤组织中的 SNX5 表达分布 (图 4) 进行了验证。如图 4 所示, 在使用甲状腺乳头癌的福尔马林固定石蜡切片来进行的免疫组织化学染色中, 从肿瘤细胞中发现了 SNX5 的强表达。

[0083] 此外, 使用小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体, 分析了呈现乳头状增殖的各种恶性肿瘤中的 SNX5 的表达。其结果示于表 1。如表 1 所示, 在甲状腺以外的 20 例的上皮性恶性肿瘤 (包括胃癌、结肠癌及胰腺癌) 以及 5 例的肉瘤·非上皮性恶性肿瘤的各例中, 均完全没有发现 SNX5 的表达。

[0084] [表 1]

[0085]

肿瘤组织	SNX5 阳性病例	SNX5 阴性病例	总计
甲状腺乳头癌 (原发病灶)	19	1	20
甲状腺乳头癌 (淋巴结转移病灶)	11	1	12

肺乳头型腺癌	0	5	5
乳腺乳头腺管癌	0	4	4
甲状腺以外的上皮性恶性肿瘤	0	20	20
肉瘤·非上皮性肿瘤	0	5	5

[0086] (6. 定量 PCR)

[0087] 从经活检从检体中取得的正常甲状腺组织、或经手术从甲状腺癌已发病的患者摘除的甲状腺癌组织中提取总 RNA, 使用反转录酶 (Invitrogen) 制作了 cDNA。接着, 使用此 cDNA 作为模板, 且使用 PCR 探针 (产品编号: Hs00429583) 进行了定量 PCR (Applied Biosystems)。将 ribosomal RNA 作为对照, 分析了所获得的值, 然后利用 delta delta CT 法 (ABI 7000; Applied Biosystems) 进行了比较探讨。另外, 人类组织的基因分析仅限于 SNX5 的表达分析, 在使用人类组织时, 是在充分的知情同意的情况下介通伦理委员会来进行研究的。对数据的保护加以了万分注意, 且遵守了人权的保护及法令。

[0088] 将甲状腺癌 3 例的结果示于图 5。如图所示, 确认到 SNX5 基因在甲状腺癌组织中的表达比在正常甲状腺组织中高。

[0089] 如此, 本发明人等首次发现 SNX5 能对甲状腺乳头癌作出高表达。另外, 本发明人等建立的小鼠抗人类 SNX5 单克隆抗体不仅使福尔马林固定石蜡切片的分析成为了可能, 而且使多聚甲醛固定组织的免疫组织分析也成为了可能。根据本发明所获得的见解认为, 与已知的作为甲状腺标记物的甲状腺球蛋白或 TTF-1 等相比, SNX5 为优异的标记物, 其能在病理诊断时提供有益的信息。另外, 通过使用了抗人类 SNX5 单克隆抗体的 ELISA 法等, 能够进行来源于甲状腺的肿瘤性病变的血清诊断。

[0090] 本发明不限于所述各实施方式, 可在权利要求所示的范围内进行各种变更, 适当地组合不同实施方式中分别揭示的技术方案而获得的实施方式也包含在本发明的技术范围内。

[0091] 另外, 本说明书中记载的学术文献和专利文献均在本说明书中作为了参考引用。

[0092] [工业上的利用可能性]

[0093] 通过使用本发明, 能够使甲状腺乳头癌的早期诊断和确诊变得容易。本发明提供了如此优异的工具, 可以在医学、药学领域中利用, 且能够大大有助于医药品、生物化学试剂的开发。

[0001]

序列表

<110> LSIP 基金运营联合公司

<120> 肿瘤标记物及其利用

<130> PM1015

<140> PCT/JP2010/056293

<141> 2010-04-07

<150> JP 2009-095561

<151> 2009-04-10

<160> 10

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 404

<212> PRT

<213> 人

<400> 1

Met Ala Ala Val Pro Glu Leu Leu Gln Gln Gln Glu Glu Asp Arg Ser
 1 5 10 15

Lys Leu Arg Ser Val Ser Val Asp Leu Asn Val Asp Pro Ser Leu Gln
 20 25 30

Ile Asp Ile Pro Asp Ala Leu Ser Glu Arg Asp Lys Val Lys Phe Thr
 35 40 45

Val His Thr Lys Thr Thr Leu Pro Thr Phe Gln Ser Pro Glu Phe Ser
 50 55 60

Val Thr Arg Gln His Glu Asp Phe Val Trp Leu His Asp Thr Leu Ile
 65 70 75 80

Glu Thr Thr Asp Tyr Ala Gly Leu Ile Ile Pro Pro Ala Pro Thr Lys
 85 90 95

Pro Asp Phe Asp Gly Pro Arg Glu Lys Met Gln Lys Leu Gly Glu Gly
 100 105 110

Glu Gly Ser Met Thr Lys Glu Glu Phe Ala Lys Met Lys Gln Glu Leu
 115 120 125

Glu Ala Glu Tyr Leu Ala Val Phe Lys Lys Thr Val Ser Ser His Glu
 130 135 140

[0002]

Val Phe Leu Gln Arg Leu Ser Ser His Pro Val Leu Ser Lys Asp Arg	145	150	155	160
Asn Phe His Val Phe Leu Glu Tyr Asp Gln Asp Leu Ser Val Arg Arg		165	170	175
Lys Asn Thr Lys Glu Met Phe Gly Gly Phe Phe Lys Ser Val Val Lys		180	185	190
Ser Ala Asp Glu Val Leu Phe Thr Gly Val Lys Glu Val Asp Asp Phe		195	200	205
Phe Glu Gln Glu Lys Asn Phe Leu Ile Asn Tyr Tyr Asn Arg Ile Lys	210		215	220
Asp Ser Cys Val Lys Ala Asp Lys Met Thr Arg Ser His Lys Asn Val	225		230	235
Ala Asp Asp Tyr Ile His Thr Ala Ala Cys Leu His Ser Leu Ala Leu		245	250	255
Glu Glu Pro Thr Val Ile Lys Lys Tyr Leu Leu Lys Val Ala Glu Leu		260	265	270
Phe Glu Lys Leu Arg Lys Val Glu Gly Arg Val Ser Ser Asp Glu Asp		275	280	285
Leu Lys Leu Thr Glu Leu Leu Arg Tyr Tyr Met Leu Asn Ile Glu Ala	290		295	300
Ala Lys Asp Leu Leu Tyr Arg Arg Thr Lys Ala Leu Ile Asp Tyr Glu	305		310	315
Asn Ser Asn Lys Ala Leu Asp Lys Ala Arg Leu Lys Ser Lys Asp Val		325	330	335
Lys Leu Ala Glu Ala His Gln Gln Glu Cys Cys Gln Lys Phe Glu Gln		340	345	350
Leu Ser Glu Ser Ala Lys Glu Glu Leu Ile Asn Phe Lys Arg Lys Arg		355	360	365
Val Ala Ala Phe Arg Lys Asn Leu Ile Glu Met Ser Glu Leu Glu Ile	370		375	380
Lys His Ala Arg Asn Asn Val Ser Leu Leu Gln Ser Cys Ile Asp Leu	385		390	395
Phe Lys Asn Asn				400

[0003]

<210> 2

<211> 1215

<212> DNA

<213> 人

<400> 2

```

atggccgagg ttcccagatt gctgcagcag caggaggagg accgcagcaa gctgagatct 60
gtatctgtgg acctgaatgt tgatccctcg cttcagattg acataacctga tgcgctcagt 120
gagagagaca aagtcaaatt tacagtgcac acaaagacca cactgcccac gtttcagagc 180
ccagagtttt ctgttacaag gcaacatgaa gactttgtgt ggctacatga cactcttatt 240
gaaacaacag actatgctgg gcttattatt ccacctgctc ctacgaagcc cgactttgat 300
ggtcctcgag agaagatgca gaaactggga gaaggtgaag ggtctatgac caaagaagaa 360
tttgccaaga tgaacaaga actggaagct gagtatctcg ctgtgtttaa gaagactgtg 420
tcctcccatg aagtctttct tcagcggcct tcttctcacc ctgttctcag taaagatcgc 480
aactttcatg ttttctgga atatgatcag gatctaagtg ttaggcggaa aaatactaaa 540
gagatgtttg gtggcttctt caaaagtgtg gtgaaaagtg ctgatgaagt cttttttact 600
ggagttaagg agglagatga cttctttgag caagagaaga acttccttat taactattac 660
aataggatca aagattcttg tgtgaaagct gacaaaatga ccagatctca taaaaatggt 720
gccgatgact atatccacac cgcagcctgc ttacatagcc tggctttaga agagcccaca 780
gtcatcaaaa agtacctatt gaaggttgct gagctatttg aaaaactaag gaaagtagag 840
ggtcgagttt catcagatga agatttgaag ctaacagagc tcctccgata ctacatgctc 900
aacattgaag ctgctaagga tcctcttatac agacgcacca aagccctcat tgactatgag 960
aactcaaaaa aagctctgga taaggcccgg ttaaagagca aagacgtcaa gttggctgag 1020
gcacaccagc aggagtgtct ccagaaatgt gaacaacttt ccgaatctgc aaaagaagaa 1080
ctgataaatt tcaaacggaa gagagtggca gcatttagaa agaatctaata tgaatgtct 1140
gaactggaaa taaaacatgc caggaacaat gtctcccttt tgcagagctg tattgacttg 1200
ttcaagaata actga 1215

```

<210> 3

<211> 1547

<212> DNA

<213> 人

<400> 3

```

tgccatcttg gactcgggct gagtaataaa ttccccccgc accgaaaacgc ggtctttctc 60
tagacgcgctc ttgctgggag agtgtccggt gcttcccgctc cgtgtcgcgg ccctgcggtt 120
ggcggcctcc tcgtggagcg gagcaaggcc aggcggcccc tgctcgagtc ccgcgtcgcc 180
atggccgagg ttcccagatt gctgcagcag caggaggagg accgcagcaa gctgagatct 240
gtatctgtgg acctgaatgt tgatccctcg cttcagattg acataacctga tgcgctcagt 300
gagagagaca aagtcaaatt tacagtgcac acaaagacca cactgcccac gtttcagagc 360
ccagagtttt ctgttacaag gcaacatgaa gactttgtgt ggctacatga cactcttatt 420
gaaacaacag actatgctgg gcttattatt ccacctgctc ctacgaagcc cgactttgat 480
ggtcctcgag agaagatgca gaaactggga gaaggtgaag ggtctatgac caaagaagaa 540
tttgccaaga tgaacaaga actggaagct gagtatctcg ctgtgtttaa gaagactgtg 600
tcctcccatg aagtctttct tcagcggcct tcttctcacc ctgttctcag taaagatcgc 660
aactttcatg ttttctgga atatgatcag gatctaagtg ttaggcggaa aaatactaaa 720

```

[0004]

```

gagatgtttg gtggcttctt caaaagtgtg gtgaaaagtg ctgatgaagt cctttttact 780
ggagttaagg aggtagatga cttctttgag caagagaaga acttccttat taactattac 840
aataggatca aagattcttg tgtgaaagct gacaaaatga ccagatctca taaaaatggt 900
gccgatgact atatccacac cgcagcctgc ttacatagcc tggctttaga agagcccaca 960
gtcatcaaaa agtacctatt gaaggttgct gagctatttg aaaaactaag gaaagtagag 1020
ggtcggagttt catcagatga agatttgaag ctaacagagc tectccgata ctacatgctc 1080
aacattgaag ctgctaagga tctcttatac agacgcacca aagccctcat tgactatgag 1140
aactcaaca aagctctgga taaggccggg ttaaagagca aagacgtcaa gttggctgag 1200
gcacaccagc aggagtgtg ccagaaattt gaacaacttt ccgaatctgc aaaagaagaa 1260
ctgataaatt tcaaacggaa gagagtggca gcatttagaa agaatctaat tgaaatgtct 1320
gaactggaaa taaaacatgc caggaacaat gtctcccttt tgcagagctg tattgacttg 1380
ttcaagaata actgatatgc cttcactcag aagaaaagaa atgaatgtga aagaaagcca 1440
agcatcactt gcacttaaat cattaccacg gaagatatat tagcttcaac tttagttaa 1500
aattatgtga ataaatattt tgatttctac aaatctaac atttaa 1547
    
```

<210> 4
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：引物

<400> 4
 caggccccgaa ttcggatggc cgcggttccc gag 33

<210> 5
 <211> 33
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：引物

<400> 5
 gatctcggtc gaccgtgaag gcataatcagt tat 33

<210> 6
 <211> 18
 <212> DNA
 <213> 人工序列

<220>
 <223> 人工序列的描述：引物

<400> 6
 atggccgcgg ttcccagag 18

[0005]

<210> 7	
<211> 19	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 引物	
<400> 7	
ataactgata tgccttcac	19
<210> 8	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 引物	
<400> 8	
ccggttaaag agcaaagacg	20
<210> 9	
<211> 20	
<212> DNA	
<213> 人工序列	
<220>	
<223> 人工序列的描述: 引物	
<400> 9	
agctctgcaa aaggagaca	20
<210> 10	
<211> 177	
<212> PRT	
<213> 人	
<400> 10	
Met Ala Ala Val Pro Glu Leu Leu Gln Gln Gln Glu Glu Asp Arg Ser	
1 5 10 15	
Lys Leu Arg Ser Val Ser Val Asp Leu Asn Val Asp Pro Ser Leu Gln	
20 25 30	

[0006]

Ile Asp Ile Pro Asp Ala Leu Ser Glu Arg Asp Lys Val Lys Phe Thr
 35 40 45

Val His Thr Lys Thr Thr Leu Pro Thr Phe Gln Ser Pro Glu Phe Ser
 50 55 60

Val Thr Arg Gln His Glu Asp Phe Val Trp Leu His Asp Thr Leu Ile
 65 70 75 80

Glu Thr Thr Asp Tyr Ala Gly Leu Ile Ile Pro Pro Ala Pro Thr Lys
 85 90 95

Pro Asp Phe Asp Gly Pro Arg Glu Lys Met Gln Lys Leu Gly Glu Gly
 100 105 110

Glu Gly Ser Met Thr Lys Glu Glu Phe Ala Lys Met Lys Gln Glu Leu
 115 120 125

Glu Ala Glu Tyr Leu Ala Val Phe Lys Lys Thr Val Ser Ser His Glu
 130 135 140

Val Phe Leu Gln Arg Leu Ser Ser His Pro Val Leu Ser Lys Asp Arg
 145 150 155 160

Asn Phe His Val Phe Leu Glu Tyr Asp Gln Asp Leu Ser Val Arg Arg
 165 170 175

Lys

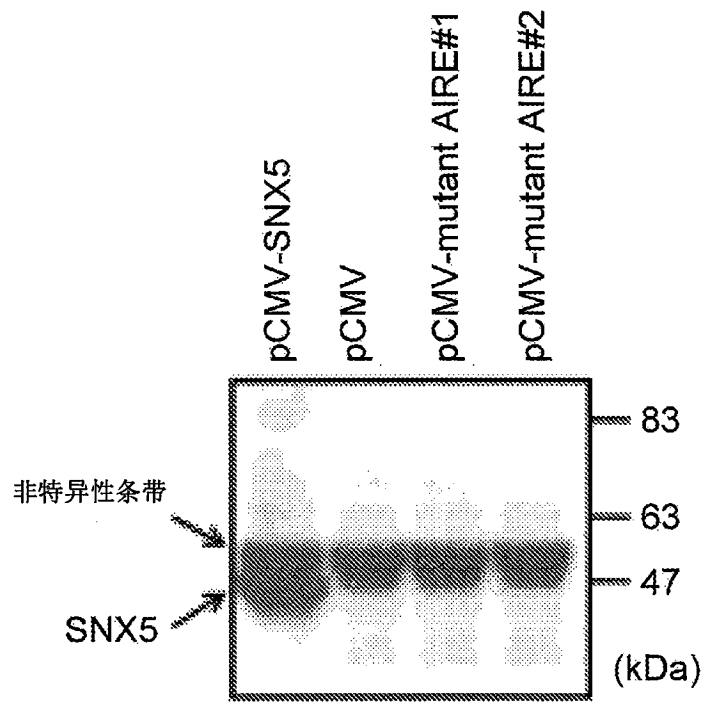


图 1

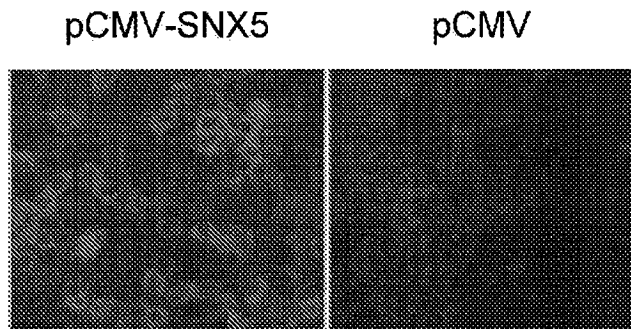
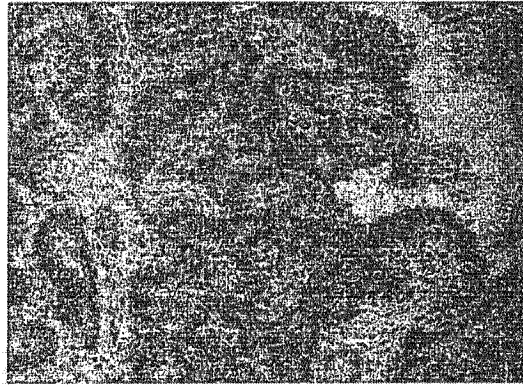
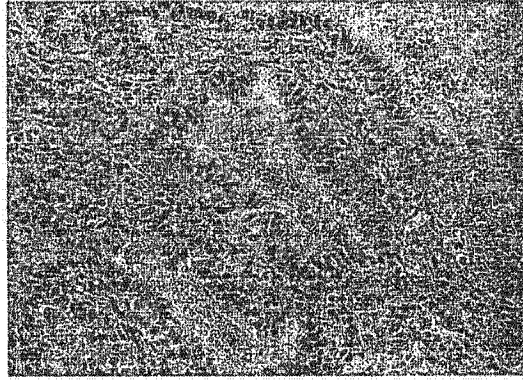


图 2

(a)



(b)



(c)

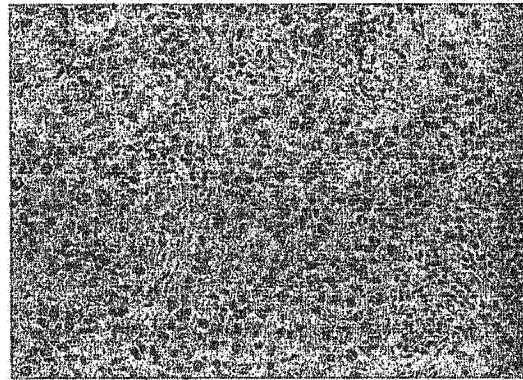


图 3

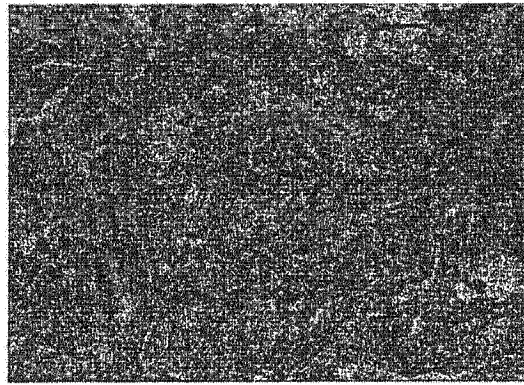


图 4

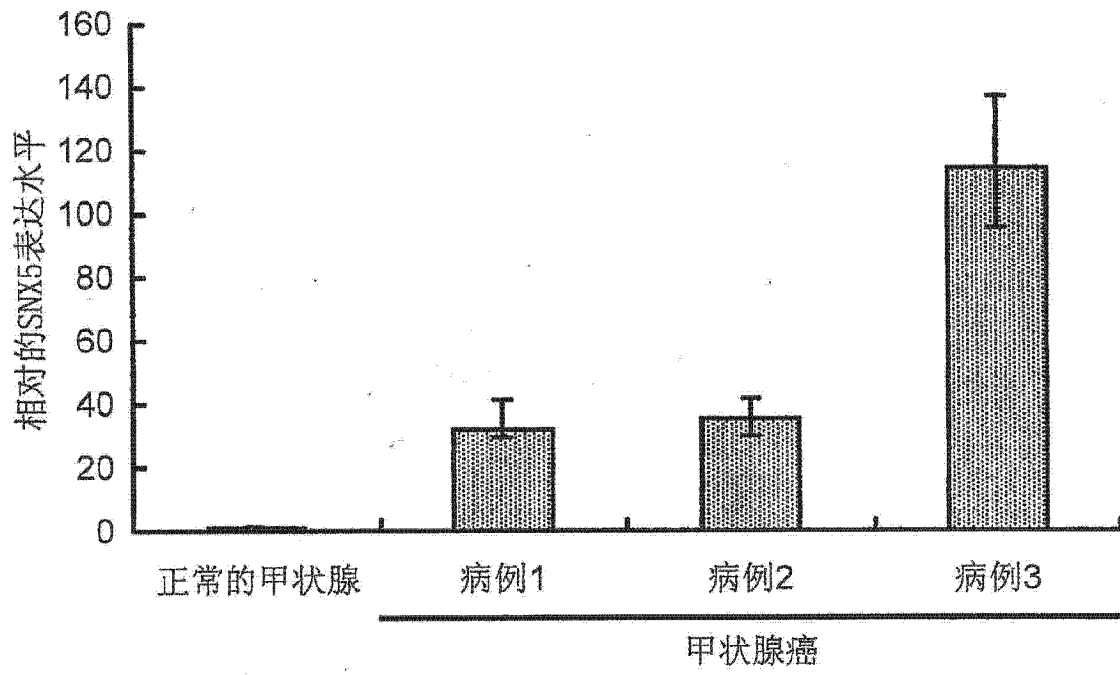


图 5

专利名称(译)	肿瘤标记物及其利用		
公开(公告)号	CN102365551A	公开(公告)日	2012-02-29
申请号	CN201080014115.6	申请日	2010-04-07
[标]申请(专利权)人(译)	LSIP基金运营联合公司		
申请(专利权)人(译)	LSIP基金运营联合公司		
当前申请(专利权)人(译)	LSIP基金运营联合公司		
[标]发明人	一宫慎吾 菊地智树 外冈晓子 佐藤昇志		
发明人	一宫慎吾 菊地智树 外冈晓子 佐藤昇志		
IPC分类号	G01N33/574 C12Q1/68 G01N33/53 C12N15/09		
CPC分类号	G01N33/57407 C12Q1/6886 C12Q2600/112 G01N2800/046		
代理人(译)	李巍		
优先权	2009095561 2009-04-10 JP		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明用于检测检体样本中的SNX5，通过将本发明用作对甲状腺乳头癌具有特异性的肿瘤标记物，能使甲状腺乳头癌的诊断变容易。另外，本发明提供一种运用此肿瘤标记物的甲状腺乳头癌判断技术。

