

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2005-514910

(P2005-514910A)

(43) 公表日 平成17年5月26日(2005.5.26)

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード (参考)	
<b>C 1 2 N 15/09</b>	C 1 2 N 15/00	Z N A A	4 B O 2 4
<b>A 6 1 K 38/00</b>	A 6 1 K 45/00		4 B O 6 3
<b>A 6 1 K 45/00</b>	A 6 1 P 35/00		4 C O 8 4
<b>A 6 1 P 35/00</b>	C O 7 K 14/47		4 H O 4 5
<b>C O 7 K 14/47</b>	C 1 2 Q 1/68	A	
審査請求 有 予備審査請求 有 (全 126 頁) 最終頁に続く			

(21) 出願番号	特願2003-513493 (P2003-513493)	(71) 出願人	501394136
(86) (22) 出願日	平成14年7月19日 (2002. 7. 19)		ボード オブ トラスティーズ オブ ザ
(85) 翻訳文提出日	平成16年3月22日 (2004. 3. 22)		ユニヴァースティ オブ イリノイ
(86) 国際出願番号	PCT/US2002/022868		アメリカ合衆国 6 1 8 0 1 イリノイ州
(87) 国際公開番号	W02003/007884		アーバナ サウス ライト ストリート
(87) 国際公開日	平成15年1月30日 (2003. 1. 30)		5 0 6 ヘンリー アドミニストレイシ
(31) 優先権主張番号	60/306, 730		ョン ビルディング 3 5 2
(32) 優先日	平成13年7月20日 (2001. 7. 20)	(74) 代理人	100083806
(33) 優先権主張国	米国 (US)		弁理士 三好 秀和
(31) 優先権主張番号	PCT/US02/06254	(72) 発明者	プリミアノ、 トーマス
(32) 優先日	平成14年2月28日 (2002. 2. 28)		アメリカ合衆国 イリノイ州 6 0 6 1 1
(33) 優先権主張国	米国 (US)		シカゴ イー、 オハイオ ストリート
			2 1 1 スイート 2 6 1 9
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 乳癌の処置に対する遺伝子標的を同定するための方法および試薬

## (57) 【要約】

本発明は、薬物開発のための標的として腫瘍細胞の成長に不可欠な哺乳動物遺伝子を同定するための方法および試薬を提供し、この薬物は上記の遺伝子発現を阻害し、そしてそれによって腫瘍細胞の成長を阻害する。

**【特許請求の範囲】****【請求項 1】**

哺乳動物細胞の成長を阻害する化合物を同定するための方法であって、

(a) 該化合物の存在環境下または非存在環境下で細胞を培養するステップと、

(b) 表 3 に示される 1 または複数の遺伝子の発現または活性について該細胞をアッセイするステップと、

(c) 表 3 に示される少なくとも 1 つの遺伝子の発現または活性が、該化合物の非存在環境下よりも該化合物の存在環境下において低い場合に該化合物を同定するステップと、を含む方法。

**【請求項 2】**

前記細胞が腫瘍細胞であることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

10

**【請求項 3】**

前記細胞がヒト腫瘍細胞であることを特徴とする請求項 2 に記載の方法。

**【請求項 4】**

前記化合物の存在環境下における細胞成長を該化合物の非存在環境下における細胞成長と比較するステップをさらに含むことを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 5】**

前記表 3 の細胞性遺伝子の発現が、相補的核酸とのハイブリダイゼーションによって検出されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 6】**

前記表 3 の細胞性遺伝子の発現が、免疫学的試薬を用いて検出されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

20

**【請求項 7】**

前記表 3 の細胞性遺伝子の発現が、該細胞性遺伝子の産物の活性についてアッセイすることによって検出されることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

**【請求項 8】**

表 3 における細胞性遺伝子の発現が、表 3 における細胞性遺伝子由来のプロモーターに作動可能に連結されたレポーター遺伝子を含む組み換え哺乳動物細胞を用いて、前記化合物の非存在環境下よりも該化合物の存在環境下において該レポーター遺伝子の発現の減少を検出してアッセイされることを特徴とする請求項 1 に記載の方法。

30

**【請求項 9】**

前記化合物の存在環境下および非存在環境下における細胞成長をアッセイするステップと、細胞成長および表 3 において同定される遺伝子を阻害する化合物を同定するステップをさらに含むことを特徴とする請求項 8 に記載の方法。

**【請求項 10】**

前記細胞が腫瘍細胞であることを特徴とする請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 11】**

前記細胞がヒト腫瘍細胞であることを特徴とする請求項 10 に記載の方法。

**【請求項 12】**

前記表 3 の細胞性遺伝子の発現が、相補的核酸とのハイブリダイゼーションによって検出されることを特徴とする請求項 9 に記載の方法。

40

**【請求項 13】**

前記表 3 の細胞性遺伝子の発現が、免疫学的試薬を用いて検出されることを特徴とする請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 14】**

前記表 3 の細胞性遺伝子の発現が、該細胞性遺伝子の産物の活性についてアッセイすることによって検出されることを特徴とする請求項 9 に記載の方法。

**【請求項 15】**

請求項 1、4、8 または 9 の方法に従って同定される腫瘍細胞の成長を阻害する化合物であって、RNA 合成またはタンパク質合成のインヒビターではない化合物。

50

## 【請求項 16】

腫瘍細胞の成長を阻害する化合物を同定するための標的遺伝子であって、表3において同定される遺伝子であり、該遺伝子発現の阻害または該遺伝子の産物の活性の阻害が腫瘍細胞の成長を阻害する標的遺伝子。

## 【請求項 17】

腫瘍細胞の成長を阻害するための方法であって、表3における遺伝子の発現を阻害する有効量の化合物に腫瘍細胞を接触させるステップを含む方法。

## 【請求項 18】

腫瘍細胞の成長を阻害するための方法であって、表3における遺伝子の発現を阻害する有効量の化合物に腫瘍細胞を接触させるステップを含み、該化合物が請求項1、4、8または9の方法に従って同定される方法。

10

## 【請求項 19】

異常な細胞増殖または腫瘍細胞の成長に関連した疾患または状態の処置の有効性を評価するための方法であって、

(a) 請求項15に従った化合物を用いた処置の前および後に、異常な細胞増殖または腫瘍細胞の成長に関連した疾患または状態を有する動物から細胞を含む生物学的サンプルを獲得するステップと、

(b) 請求項15に従った化合物を用いた処置後の表3における少なくとも1つの遺伝子の発現を請求項15に従った化合物を用いた処置前の該遺伝子の発現と比較するステップと、

20

(c) 表3における少なくとも1つの遺伝子の発現が、処置前よりも処置後で低い場合に、該請求項15に従った化合物を用いた処置が、異常な細胞増殖または腫瘍細胞の成長に関連した疾患または状態の処置に対する有効性を有することを決定するステップと、を含む方法。

## 【請求項 20】

異常な細胞増殖または腫瘍細胞の成長に関連した疾患または状態を処置するための方法であって、該疾患または状態を有する動物に、表3における遺伝子の発現を阻害する請求項1、4、8または9の方法に従って産生される治療有効量の化合物を投与するステップを含む方法。

## 【請求項 21】

哺乳動物細胞において表3で同定される遺伝子の発現または活性を阻害する化合物であって、請求項1、4、8または9の方法に従って同定され、RNA合成またはタンパク質合成のインヒビターではない化合物。

30

## 【請求項 22】

配列番号229～配列番号314によって同定される配列のうちのいずれか1つのアミノ酸配列を有するペプチド。

## 【請求項 23】

請求項22に従ったペプチドのペプチド模倣物、有機模倣物または化学模倣物であって、模倣物である対象のペプチドと実質的に同じ腫瘍細胞の成長阻害活性を有する模倣物。

## 【発明の詳細な説明】

40

## 【技術分野】

## 【0001】

(発明の詳細な説明)

(発明の背景)

本出願は、2001年7月20日に出願された、米国仮出願の出願第60/306,730号に対する優先権を主張する。

## 【0002】

本出願は、国立衛生研究所からの助成金番号R01 CA62099によって援助された。政府は、本発明において特定の権利を有し得る。

## 【0003】

50

## ( 1 . 発明の分野 )

本発明は、腫瘍細胞の成長を阻害するための方法および試薬に関する。具体的には本発明は、薬物開発のための標的として腫瘍細胞の成長に不可欠な遺伝子を同定して、このような遺伝子を阻害し、それによって腫瘍成長を阻害する。本発明は、化合物をスクリーニングして上記の遺伝子のインヒビターを同定するための方法を提供し、そして上記のインヒビターを用いて腫瘍細胞の成長を阻害するための方法を提供する。本発明はまた、本発明の遺伝子抑制因子によってコードされるペプチド、ならびに腫瘍細胞の成長を阻害するためのその模倣物およびアナログを提供する。また本発明によって、1または複数の腫瘍細胞型の腫瘍細胞から調製される均一化されたランダムフラグメントのcDNAライブラリが提供され、このcDNAフラグメントは、生理学的に中性的な刺激因子でのレシピエント細胞の処理によって誘導され得る。

10

## 【 0 0 0 4 】

## ( 2 . 関連分野の概要 )

ヒトゲノムのドラフト配列の完了は、当該分野で公知のヒト遺伝子および推定のヒト遺伝子の部分的リストを与え、この総数は、30,000と45,000との間であると見積もられる ( Venterら、2001、Science 291:1304~1351 ; Landerら、2001、Nature 409:860~921 )。これらの遺伝子は、薬物に対する多くの潜在的な標的を提供し、これらのうちのいくつかは、癌の成長の妨げに有用であり得る。しかし臨床的に有用なジーンターゲットング抗癌薬の開発は、このヒト遺伝子のリストを癌の主要な特徴、すなわち制御不能な腫瘍成長に関与するものに絞る能力によって非常に容易になり得る。腫瘍細胞の成長に不可欠な遺伝子を同定し、そしてどの遺伝子が腫瘍特異的役割を果たし、そして正常な細胞成長に必要とされないかを決定することは特に有用である。これらの遺伝子は、腫瘍特異的な抗癌剤の開発に対する特に興味深い標的である。

20

## 【 0 0 0 5 】

先行技術における腫瘍特異的薬物ターゲットングの努力の大半は、癌遺伝子に集中しており、この機能は、異なる形態の癌に関連している ( PerkinsおよびStern、1997、CANCER: PRINCIPLES AND PRACTICE OF ONCOLOGY、Devitaら編 ( Philadelphia: Lippincott - Raven ) 79~102頁)。癌遺伝子標的は、現在の化学療法レジメンにおいて使用される薬物によって標的される「正常な」細胞性酵素よりも「腫瘍特異的」であると当該分野において考えられている。この癌遺伝子の腫瘍特異性は、癌遺伝子に関連した遺伝子変化 (例えば新生物形成細胞に特異的な突然変異またはリアレンジ) の存在によって主に示唆されていた。癌遺伝子は、突然変異されるかまたはリアレンジされる場合があるが、遺伝子産物の構造変化を伴わずに単に上昇したレベルまたは細胞周期の不適当な段階で発現される場合もある ( PerkinsおよびStern、1997、同書)。突然変異される場合でさえも、癌遺伝子によってコードされるタンパク質は、「正常な」癌原遺伝子産物に比べて質的に新規な機能を滅多に獲得しない。それ故突然変異された癌遺伝子、リアレンジされた癌遺伝子または過剰発現された癌遺伝子の産物は、その活性化された癌遺伝子産物の機能が異常に調節されることを除いて一般にはその正常な細胞相対物と同じ生化学的機能を果たす。

30

40

## 【 0 0 0 6 】

当該分野で公知のどの「古典的な」癌遺伝子も、伝統的なメカニズム依存性のスクリーニング手順によって発見される臨床的に有用な抗癌薬物に対する標的として同定されていないことは注目に値する。むしろ既知の化学療法薬物の細胞標的 (例えばジヒドロ葉酸還元酵素 (メトトレキサートおよび他の葉酸代謝拮抗薬によって阻害される)、トポイソメラーゼII (エピドフィロトキシン、アントラサイクリンまたはアクリジン薬物によって「毒される」)、あるいは紡錘体を形成する微小管 (ピンカアルカロイド類およびタキサン) の標的) は、正常細胞および新生物形成細胞の両方の成長および増殖に不可欠である。抗癌薬物の腫瘍選択性は、それらの標的は主に増殖中の細胞において機能するという

50

事実に単に基づくわけではなく、むしろ抗癌薬物標的の阻害に対する腫瘍特異的の反応に基づくようである。例えば Scolnick および Halazonetis (2000、Nature 406 430~435) は、高い画分の腫瘍細胞系統が CHFR と称される遺伝子において欠損されることを開示した。微小管阻害薬の存在環境下において、CHFR は前期において細胞周期を阻止するようである。しかし CHFR 欠損腫瘍細胞は、薬物に衝撃を与えられた異常な前期に進行し (Scolnick および Halazonetis、2000、同書)、ここでこの細胞は、有糸分裂の終局またはアポトーシスを通じて死ぬ (Torres および Horwitz、1998、Cancer Res. 58: 3620~3626)。CHFR に加えて、腫瘍細胞は、種々の細胞周期チェックポイント制御をしばしば欠損し、そしてこれらの欠損の利用は、実験治療における主要な傾向である (O'Connor、1997、Cancer Surv. 29: 151~182; Pihan および Doxsey、1999、Semin. Cancer Biol. 9: 289~302)。しかし大半の場合において、抗癌薬物標的の阻害が腫瘍細胞において細胞死または恒久的な成長阻止を選択的に誘導する理由は未知である。従って、当該分野において腫瘍細胞におけるさらなる分子標的を同定する必要性が存在し、この阻害は、腫瘍細胞の成長を阻止する。

10

## 【0007】

未知の遺伝子または既知の遺伝子の未知の機能を同定するための当該分野で公知の1つの方法は、本発明者らのうちの幾人かによって開発された遺伝子抑制因子テクノロジーである (米国特許第 5, 217, 889 号、同第 5, 665, 550 号、同第 5, 753, 432 号、同第 5, 811, 234 号、同第 5, 866, 328 号、同第 5, 942, 389 号、同第 6, 043, 340 号、同第 6, 060, 134 号、同第 6, 083, 745 号、同第 6, 083, 746 号、同第 6, 197, 521 号、同第 6, 268, 134 号、同第 6, 281, 011 号および同第 6, 326, 488 号 (これらの各々は、その全体において参考として援用される))。遺伝子抑制因子 (GSE) は、それが由来する遺伝子の機能を妨げる生物学的に活性な cDNA フラグメントである。GSE は、遺伝子発現を阻害するアンチセンス RNA 分子または機能的タンパク質ドメインに対応するペプチドをコードし得、これらは優性インヒビターとしてタンパク質機能を妨げる。生物学的に活性な GSE の単離に対する一般的戦略は、標的遺伝子 (単数または複数) のランダムに断片化された DNA を含む発現ライブラリの調製を含む。次いでこのライブラリは、レシピエント細胞に導入され、その後所望の表現型について選択され、そしてその選択された細胞から生物学的に活性な GSE が回収される。GSE 選択に対する出発物質として1つの cDNA を用いることによって、標的遺伝子の特異的インヒビターを作製し得、そして標的タンパク質における機能的ドメインをマッピングし得る。出発物質として複数の遺伝子の混合物またはゲノム全体を用いることによって、GSE 選択により特定の細胞機能を担う遺伝子を同定し得る。なぜならこのような遺伝子は、この機能を阻害する GSE を生じさせるからである。このアプローチの変形において、ライブラリ調製について使用されるベクターは、そのベクター中にクローニングされた cDNA フラグメントの調節発現を可能にする配列を含む。

20

30

## 【0008】

この方法を使用して、細胞をネガティブな成長選択に供することによって腫瘍細胞の成長に必要とされる遺伝子を同定し得る。この型の選択の一例は、プロモデオキシウリジン (BrdU) 自殺選択として当該分野で公知であり、これは条件致死突然変異株 (Stettenら、1977、Exp. Cell Res. 108: 447~452) および成長阻害 DNA 配列 (Padmanabhanら、1987、Mol. Cell Biol. 7: 1894~1899) を選択するために長い間使用されている。BrdU 自殺選択の基本原理は、BrdU の存在環境下でその DNA を複製する細胞の破壊である。BrdU は、DNA に取り込む光活性ヌクレオチドであり、そしてヘキスト 33342 の存在環境下において白色光を用いた照射下で致死的な DNA 架橋を引き起こす。この選択を生き残る唯一の細胞は、BrdU が存在する間に DNA を複製しない細胞 (例えば成長阻害遺

40

50

伝子またはGSEを発現する細胞)である。この方法の1つの利点は、生存細胞の極めて低いバックグラウンドである。誘導性ベクターの制御下でGSEライブラリとともに使用した場合、この選択方法は、誘導性因子の存在環境または非存在環境に対するその表現型の無感受性によって、自発的に生じるBrdU耐性変異体を排除する。この技術の別の主要な利点は、弱い成長阻害GSEに対する感受性である。少ない画分のGSE含有細胞のみが、GSE誘導によって成長阻害される場合でさえも、このような細胞はBrdU自殺を生き残り、そしてクローンの回収を誘発する。

#### 【0009】

成長阻害GSEの単離に対するこのアプローチの適用性は、PestovおよびLauによって第一に実証された(1994、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:12549~12553)。この研究者らは、IPTG誘導性のプラスミド発現ベクターを用いて、G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>移行に関連した19のマウス遺伝子由来のcDNAフラグメントの混合物から細胞分裂抑制性のGSEを単離した。この研究において、この混合物中の遺伝子のうちの3つは、成長阻害GSEを生じさせた(PestovおよびLau、1994、同書)。引き続き研究において、Pestovら(1998、Oncogene 17:13187~3197)は、同じアプローチを用いて、名目上全長のマウスcDNAの40,000クローンのライブラリから、成長阻害活性を有する1つの全長cDNAクローンおよび1つの短縮型cDNAクローンを単離した。しかし、当該分野で開示される方法は、哺乳動物細胞(例えば腫瘍細胞)由来のmRNA集団全体を表すランダムフラグメントのライブラリの形質導入について効率よく使用されることができない。なぜならこの方法は、ライブラリ構築についてプラスミド発現ベクターに頼り、そして限られた数の細胞のみが、このようなライブラリによって安定にトランスフェクトされ得るからである。

#### 【0010】

機能に基づいて遺伝子を同定するための方法を特に使用することによって、腫瘍細胞の成長に不可欠な新規の遺伝子および既知の遺伝子の新規の機能を発見する必要性が、当該分野において残存する。また、治療薬物処置に対する標的、特に腫瘍細胞の成長の阻害に対する標的を同定する必要性、および同定される標的を阻害し、それによって腫瘍細胞の成長を阻害する化合物を開発する必要性が当該分野において存在する。

#### 【0011】

(発明の要旨)

本発明は、腫瘍細胞の成長を阻害することによって、癌の処置についての薬物開発に対する標的である遺伝子を同定する。このような遺伝子は、インビトロで腫瘍細胞の成長を阻害する遺伝子抑制因子(GSE)の遺伝子選択を通じて、本明細書中で開示されるように同定される。この選択は、複数の遺伝子を明らかにし、このうちのあるものは、以前に細胞増殖における役割を果たすことが公知であったが、一方他のものは、本発明前に細胞増殖に関与することが公知ではなかった。この後者の遺伝子は、新規の薬物標的を構成し、そして表3に示される。

#### 【0012】

第一の実施態様において、本発明は、哺乳動物細胞の成長を阻害する化合物を同定する方法を提供し、この方法は、

(a) この化合物の存在環境下または非存在環境下で細胞を培養するステップと、

(b) 表3に示される1または複数の遺伝子のサンプルにおける発現または活性についてこの細胞をアッセイするステップと、

(c) 表3に示される少なくとも1つの遺伝子のサンプルにおける発現または活性が、この化合物の非存在環境下よりもこの化合物の存在環境下においてより低い場合にこの化合物を同定するステップを含む。

#### 【0013】

好ましい実施態様において、この細胞は哺乳動物細胞であり、好ましくはヒト細胞であり、そして最も好ましくはヒト腫瘍細胞である。さらなる好ましい実施態様において、遺

伝子阻害は、この遺伝子に相補的な核酸とのハイブリダイゼーション、この遺伝子の活性についての生化学的アッセイ、またはこの遺伝子産物を含む抗原に特異的な抗体との免疫学的反応によって検出される。好ましい実施態様において、この細胞は、レポーター遺伝子が表3における細胞性遺伝子由来のプロモーターに作動可能に連結された組換え細胞であり、この化合物の非存在環境下よりもこの化合物の存在環境下においてレポーター遺伝子の発現の減少を検出する。さらなる好ましい実施態様において、この細胞は、この化合物の存在環境下および非存在環境下において細胞成長についてアッセイされ、細胞成長および表3において同定される遺伝子を阻害する化合物を同定する。

**【0014】**

本発明はまた、本発明の方法によって同定される腫瘍細胞の成長を阻害する化合物、およびこの化合物の薬学的処方物を提供する。本発明は特に、本発明のセンス配向された遺伝子抑制因子によってコードされるペプチドを提供する。さらに本発明は、このペプチドのいずれかのすべてまたは一部分を含むペプチド模倣物、そのペプチド模倣物、有機模倣物または化学模倣物を提供する。

10

**【0015】**

第二の実施態様において、本発明は、異常な細胞増殖または腫瘍細胞の成長に関連した疾患または状態の処置の有効性を評価するための方法を提供し、この方法は、

(a) 表3において同定される遺伝子の発現または活性を阻害する化合物を用いた処置の前および後に、異常な細胞増殖または腫瘍細胞の成長に関連した疾患または状態を有する動物から細胞を含む生物学的サンプルを獲得するステップと、

20

(b) この化合物を用いた処置後の表3における少なくとも1つの遺伝子の発現または活性をこの化合物を用いた処置前の遺伝子の発現または活性と比較するステップと、

(c) 表3における少なくとも1つの遺伝子の発現または活性が、処置前よりも処置後で低い場合に、この化合物を用いた処置が、異常な細胞増殖または新生物形成細胞の成長に関連した疾患または状態の処置に対する有効性を有することを決定するステップを含む。好ましい実施態様において、この細胞は哺乳動物細胞であり、最も好ましくはヒト細胞であり、最も好ましくは腫瘍細胞である。

**【0016】**

第三の態様において、本発明は、腫瘍細胞の成長を阻害するための方法を提供し、この方法は、腫瘍細胞を表3における遺伝子の発現を阻害する有効量の化合物と接触させるステップを含む。

30

**【0017】**

第四の態様において、本発明は、異常な細胞増殖または腫瘍細胞の成長に関連した疾患または状態を処置するための方法を提供し、この方法は、この疾患または状態を有する動物に、表3における遺伝子の発現を阻害する治療有効量の化合物を投与するステップを含む。

**【0018】**

腫瘍細胞の成長を阻害し得る治療有効量の本発明のペプチドまたはペプチド模倣物、および薬学的に受容可能なキャリアまたは希釈剤を含む本発明の方法に従って有効な薬学的に受容可能な組成物がまた提供される。

40

**【0019】**

本発明の特定の好ましい実施態様は、以下の特定の好ましい実施態様のより詳細な説明、および添付の特許請求の範囲から明らかになる。

**【0020】**

(好ましい実施態様の詳細な説明)

本発明は、細胞成長(好ましくは腫瘍細胞の成長)に関与する標的遺伝子、これらの遺伝子の発現または活性を阻害する化合物を同定するための方法、およびこれらの遺伝子の発現または活性を阻害することによって腫瘍細胞の成長を特に阻害するための方法を提供する。好ましくは、本発明の方法は、正常な細胞成長に実質的に影響を及ぼさない。

**【0021】**

50

本発明は、腫瘍細胞の成長に必要とされる遺伝子を同定するための方法を提供する。このような遺伝子（これは、新規の抗癌薬物に対する潜在的な標的である）は、遺伝子抑制因子（GSE）の発現選択を通じて同定される。GSEは、生物学的に活性なセンス配向またはアンチセンス配向のcDNAフラグメントであり、これは由来する遺伝子の機能を阻害する。細胞増殖に關与する遺伝子由来のGSEの発現は、細胞成長を阻害することが期待される。創意に富んだ方法に従って、このようなGSEは、細胞のいわゆる「自殺選択」によって単離され、この成長は、成長している細胞を特に殺傷する細胞培養条件下で阻害される。好ましい実施態様において、この自殺選択プロトコルは、プロモデオキシウリジン（BrdU）自殺選択であり、これにおいて細胞はBrdUとともにインキュベートされ、次いで明るい光で照らされる。成長している細胞は、BrdUを染色体DNAに取り込み、DNAを光での照射に感受性にし、この光は成長している細胞を特に殺傷する。誘導性のレトロウイルスベクターにおけるヒトcDNAフラグメントの均一化された（重複を減少された）ライブラリから始まるGSEが産生される。好ましい実施態様において、このレシピエント細胞は腫瘍細胞であり、最も好ましくはヒト腫瘍細胞（例えば乳癌細胞）である。

10

**【0022】**

本発明の目的について、「細胞（単数）」または「細胞（複数）」への言及は等価であることが意図され、そして当該分野で公知のように成長および維持される哺乳動物細胞のインビトロ培養細胞を特に包含する。

**【0023】**

本発明の目的について、複数形での「細胞性遺伝子」への言及は、1つの遺伝子ならびに2つ以上の遺伝子を包含することが意図される。当業者によって、細胞性遺伝子発現の調節の効果、すなわち細胞性遺伝子由来のプロモーターの転写制御下のレポーター構造体が、第一の遺伝子において検出され得、次いでこの効果は、第二または任意の数のさらなる遺伝子、あるいはレポーター遺伝子構造体を試験することによって追試され得ることがまた理解される。あるいは、2つ以上の遺伝子またはレポーター遺伝子構造体の発現は、本発明の範囲内において同時にアッセイされ得る。

20

**【0024】**

組換え発現構造体は、当業者によって理解されるように、適切な哺乳動物細胞に導入され得る。この構造体の好ましい実施態様は、伝達性ベクターにおいて産生され、より好ましくはウイルスベクターであり、そして最も好ましくは当該分野で公知のようなレトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ随伴ウイルスベクターおよびワクシニアウイルスベクターである。一般的には、MAMMALIAN CELL BIOTECHNOLOGY: A PRACTICAL APPROACH (Butler編)、Oxford University Press: New York, 1991、57~84頁を参照のこと。

30

**【0025】**

さらに好ましい実施態様において、本発明の組換え細胞は、腫瘍細胞のmRNA全体からのランダムなcDNAフラグメントを含む誘導性のレトロウイルスベクターをコードする構造体を含み、ここでこのフラグメントは、各々誘導性プロモーターの転写制御下にある。より好ましい実施態様において、この誘導性プロモーターは、効果が誘導因子によって調節され得るトランス作用因子に反応する。この誘導因子は、実験的に操作され得る任意の因子（温度、および最も好ましくは誘導因子の存在環境または非存在環境を含む）であり得る。好ましくは、この誘導因子は化学化合物であり、最も好ましくは、トランス作用因子に特異的な生理学的に中性の化合物である。本明細書中に開示されるような誘導性プロモーターを含む構造体の使用において、この組換え発現構造体からのランダムなcDNAフラグメントの発現は、誘導性プロモーターから転写を誘導する誘導因子と組換え細胞を接触させること、またはこのようなプロモーターから転写を阻害する因子を除去することによって媒介される。種々の誘導性プロモーターおよび同族のトランス作用因子が先行技術で公知であり、細胞培養の温度を上昇させることによって活性化され得る熱ショック

40

50

クプロモーター、ならびにより好ましくはプロモーター/因子対(例えばtetプロモーターおよび哺乳動物転写因子とのその融合)(米国特許第5,654,168号、同第5,851,796号および同第5,968,773号において開示されるような)、ならびにラクトースオペロンの細菌性lacプロモーターおよびその同族のlacリプレッサータンパク質を含む。好ましい実施態様において、この組換え細胞は、lacリプレッサータンパク質およびランダムなcDNAフラグメントをコードする組換え発現構造体を、1または多数のlac反応性因子を含むプロモーターの制御下で発現し、ここでこのフラグメントの発現は、細胞を生理学的に中性の誘導因子であるイソプロピルチオ-β-D-ガラクトシドに接触させることによって誘導され得る。この好ましい実施態様において、このlacリプレッサーは、3'SS(Stratagene, LaJolla, CAから市販される)として同定される組換え発現構造体によってコードされる。

10

**【0026】**

本発明はまた、成長阻害GSEの選択に適切なレシピエント細胞系統を提供する。好ましい実施態様において、この細胞系統は、トランス作用因子(例えばlacリプレッサー)を含むように、そしてライブラリが構築されるレトロウイルスベクターの親和性と同族のレトロウイルスレセプターをさらに発現するように改変されたヒト乳癌細胞、ヒト肺癌細胞、ヒト結腸癌細胞およびヒト前立腺癌細胞である。好ましい実施態様において、この細胞は、細菌性のlacオペロンリプレッサーであるlacIを発現するように(IPTG誘導性の遺伝子発現を可能にするため)、そして同種指向性のマウスレトロウイルスレセプターを発現するように(同種指向性の組換えレトロウイルスでの高効率の感染を可能にするため)改変される。別の好ましい実施態様において、この細胞は、lacIおよびマウスの同種指向性レトロウイルスレセプターを発現するように改変されている、テロメラーゼを不死化された正常なヒト線維芽細胞、ならびに網膜色素上皮細胞および乳房上皮細胞である。

20

**【0027】**

本発明は、腫瘍細胞の成長を制御する遺伝子を同定するための遺伝子抑制因子(GSE)を産生する方法の改変を利用する。これらのDNAフラグメントは、本明細書中で「GSE」と称されて、細胞中で発現される場合に標的遺伝子の機能を阻害または改変し得るセンス配向およびアンチセンス配向の遺伝子フラグメントの両方を意味する。両方の型の機能的GSEは、標的遺伝子のDNAのランダムな断片化によって作製され得、そして所望の細胞表現型(例えば細胞成長阻害)を与えるフラグメントの機能ベースの選択によって同定され得る。このような機能ベースのGSE選択は、選択された標的に対する遺伝子インヒビターを開発し得、タンパク質の機能的ドメインを同定し得、そして種々の複雑な表現型に關与する遺伝子を同定し得る。

30

**【0028】**

GSE選択の一般化概要は、図1に示される。本来モデル細菌系を用いて開発されたが(参考として援用される米国特許第5,217,889号を参照のこと)、この方法は、哺乳動物細胞における使用に適応されている。代表的なcDNA由来のランダムフラグメントの1%未満がGSE活性を有するので、GSE選択に必要とされる発現ライブラリのサイズは、全長cDNAの機能ベースの選択について使用され得る対応するサイズのライブラリよりも大きい。レトロウイルスベクターが使用されて、このような大きなライブラリを哺乳動物細胞に送達する。なぜならこれは、極めて高い画分(100%まで)のレシピエント細胞への安定な形質導入について必要とされ得るストレスのない送達系だからである。これらのレトロウイルスベクターのライブラリの調製において、パッケージング細胞系統が使用され(最も好ましくはヒト293ベースのパッケージング細胞系統(例えばBOSC23)(Pearlら、1993、Proc.Natl.Acad.Sci.USA 90:8392~8396))、これは、一過性のトランスフェクション後に効率的かつ均質なレトロウイルスパッケージングを提供する(GudkovおよびRoninson、1997、METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY: cDNA LIBRARY PROTOCOLS、CowellおよびAustin編(Toto

40

50

wa, N. J.: Humana Press)、221~240頁)。さらに、大規模な発現選択は、従来のレトロウイルスベクターにおける改変を必要とした。本発明の均一化された腫瘍ライブラリを産生するために使用されるレトロウイルスベクターは、1つの構成的発現プロモーターおよび1つの誘導性プロモーターを保有し、これは、非誘導性条件下でのプロモーター衝突の問題を最小限にする。本発明の改変レトロウイルスベクターの好ましい実施態様は、レトロウイルス中のLTRプロモーターから細菌性ネオマイシン耐性遺伝子(neo、哺乳動物細胞においてG418を用いて選択可能)を発現する。このベクターはまた、選択可能なマーカー遺伝子に対して3'かつ2~4の細菌性lacオペレーター配列を含むサイトメガロウイルス(CMV)またはラウス肉腫ウイルス(RSV)のLTR由来のプロモーターを含む調節可能なプロモーターの近傍にマルチプルクローニング部位を含む。この調節可能なプロモーターは、レトロウイルスLTRに対してアンチ配向にクローニングされる。これらのウイルスのうちの一つであるLNXC03の機構の図は、図2に示される。別の実施態様において、このneo遺伝子は、グリーン蛍光タンパク質をコードする遺伝子(Kandelら、1997、Somat. Cell Genet. 23:325~340)またはホタルルシフェラーゼをコードする遺伝子(Changら、1999、Oncogene 18:4808~4818)に交換される。成長阻害に対するポジティブコントロールとして、ヒトp21(腫瘍細胞の成長を強力に阻害することが公知のCDKインヒビター)を発現するLNXC03の実施態様を使用した(参考として援用される国際特許出願、公開番号WO01/38532を参照のこと)。

10

#### 【0029】

20

本発明は、異なる型の癌由来の1または多数のヒト細胞系統由来のポリ(A)+RNA調製物の混合物からの均一化されたcDNAフラグメントライブラリを提供する。この均一化されたライブラリは、ベクター、好ましくはレトロウイルスベクター、そして最も好ましくはそのベクター中にクローニングされたcDNAフラグメントの調節発現を可能にする配列を含むレトロウイルスベクターにおいて調製される。好ましい実施態様において、このベクターは、レトロウイルスベクターLNXC03であり、これはイソプロピル-β-D-チオ-ガラクトシド(IPTG)(生理学的に中性の因子)によって誘導性のプロモーターを含む。

#### 【0030】

30

本発明は、均一化されたcDNAフラグメントライブラリ(ヒト腫瘍細胞において発現される遺伝子の大半を表す)から成長阻害GSEを単離するための方法を提供する。本発明の方法とともに提供されるような均一化されたcDNAフラグメントライブラリは、 $5 \times 10^7$ オーダーでクローンを含み(Gudkovら、1994、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:3644~3748; Levensonら、1999、Somat. Cell Molec. Genet. 25:9~26)、これは1つの遺伝子当たり1,000を超えるcDNAフラグメントに対応する。このサイズのライブラリからの個々のGSEの選択は、高い感受性および低いバックグラウンドを有する手順、最も好ましくはBrdU自殺選択を必要とする。BrdU自殺選択の原理は、図3に例示される。好ましい実施態様において、GSEは、成長のインヒビターがBrdUの添加前に誘導されるならば、誘導性プロモーター、最も好ましくは生理学的に中性の因子(例えばIPTG)によって誘導され得るプロモーターの制御下で発現される。BrdU選択後、この誘導物質は培養細胞から洗い流され、そして成長阻害GSEで感染された細胞は増殖し始め、従って選択されたGSEを有する細胞のコロニーを提供する。

40

#### 【0031】

BrdU自殺は、成長阻害遺伝子、すなわちGSEを選択するために使用され得る唯一の技術ではない。1つの別のアプローチにおいて、細胞は、細胞膜に組み込まれ、そして各回の細胞分裂で娘細胞間に再分配される蛍光染料で標識される。結果として、標識後に最も少ない回数分裂した細胞は、最も高い蛍光を示し、そしてFACSによって単離され得る(Mainesら、1995、Cell Growth Differ. 6:665~671)。DNA結合性の蛍光染料での染色の変更に基づいて、浮遊する死細胞を回収

50

するか、またはアポトーシス細胞を単離することによって、誘導物質の添加の際に死ぬ細胞を単離することがまた可能である。これらの方法が使用されて、MDR1遺伝子(Zuhn, 1996, Ph.D. Thesis, Department of Genetics, University of Illinois at Chicago, Chicago, IL)またはBCL2(参考として援用される米国特許第5,789,389号)から調製される1遺伝子のcDNAフラグメントライブラリからGSEを単離している。これらのアプローチのいずれかに理論上の問題は存在せず、そしてこれらのすべては、低い複雑性のライブラリにおいて成長阻害因子を富化するように働く。BrdU選択と比較した場合のこれらの代案の唯一の不都合は、極めて複雑な均一化ライブラリから選択されるべき珍しいクローンを妨げ得るより高い自発的なバックグラウンド比率を有することである。従って、BrdU選択は、本発明の方法の好ましい実施態様である。

10

#### 【0032】

成長阻害GSEを同定するようにGSEテクノロジーを適応させるための先行技術の方法(PestovおよびLau, 1994, 同書)は、腫瘍細胞のcDNA全体に適用する場合に有用性が限定された。この先行技術の方法は、哺乳動物細胞(例えば腫瘍細胞)由来のmRNA集団全体を表すライブラリの形質導入について効果的に使用されることができない。なぜならこの方法は、ライブラリ構築についてプラスミド発現ベクターに頼り、そして限られた数の細胞のみが、このようなライブラリによって安定にトランスフェクトされ得るからである。この制約を克服するために、本発明は、細菌性LacIリプレッサーを通じてIPTGによって調節される一組の誘導性のレトロウイルスベクターを提供する。この誘導系は、大半の感染細胞の間で遜色のないレベルの誘導を提供する。この誘導されたレベルの発現は、異なる用量のIPTGを使用することによって精密に調節され得る。

20

#### 【0033】

本発明の方法は、本明細書中においてこのIPTG誘導性のレトロウイルス系の使用によって例示されて、ヒト乳癌細胞から均一化されたcDNAライブラリを作製する。このライブラリを使用して、乳癌細胞系統における成長阻害を誘導するGSEを選択した。このアプローチを使用して、BrdU自殺選択によって富化された90を超える遺伝子が同定された。これらのGSEの多くは、腫瘍細胞に再導入された場合に成長阻害効果を有することを示した。創意に富んだ方法を使用して同定される遺伝子に含まれるのは、公知の癌遺伝子であり、このうちのいくつかは、乳癌、ならびに細胞増殖における公知の役割を有する他の遺伝子に特に関連している。しかしこの同定された遺伝子の多くは、公知の機能を有さないか、または細胞周期の進行における役割を果たすことが以前に公知ではなかった。従ってこの後者の遺伝子およびその産物は、癌の処置についての新規の標的を表す。さらに、乳癌細胞の増殖を阻害したGSEを生じさせる遺伝子のいくつかは、正常な細胞成長に不可欠ではないようである。なぜなら、これらの遺伝子のホモ接合ノックアウトは、成熟マウスの発育を妨げないからである。

30

#### 【0034】

本発明は、GSEライブラリおよび本発明のネガティブ成長選択方法を使用して同定されるGSEを含む未知の遺伝子をクローニングするための方法を提供する。本発明の方法のこの態様の実施において、NCBIデータベースにおける公知のヒト遺伝子との相同性を有さないGSEを使用して、当該分野で公知の任意の技術によって未知の遺伝子をクローニングする。

40

#### 【0035】

好ましい実施態様において、ゲノムDNAは、2段階選択されるライブラリ形質導入細胞から単離され、そしてプライマーとしてインサートに隣接するベクター由来配列を使用して、PCRについての鑄型として使用される。選択された細胞からのインサートのPCR増幅された混合物は、ベクターに再クローニングされる。さらに好ましい実施態様において、このベクターは、PCR産物の直接クローニングを容易にするInvitrogen Life TechnologiesからのTAクローニングベクターである。選択

50

されたフラグメントのライブラリ由来のプラスミドクローンは、プライマーとしてインサートに隣接するベクター由来配列を使用して、ハイスループットDNA配列決定法によって配列決定される。成長阻害GSEの配列は、NCBI nrデータベースにおけるBLAST相同性検索についての照会として使用されて、選択されたGSEフラグメントを生じる遺伝子を同定する。

#### 【0036】

照会がこのデータベースにおいて見出されることができない場合、一对の逆方向プライマーが、GSE配列に従って設計される。均一化されたGSEライブラリが由来する同じヒト細胞系統由来のcDNAは、鋳型として使用される。レース法(RACE)が、当該分野で公知の技術を用いて行われて、cDNAの欠失部分を獲得する(Frohmanら、1988、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:8998~9002; また、参考として援用される米国特許第5,578,467号および同第5,334,515号を参照のこと)。未知の遺伝子の全長cDNAは、RACE産物をGSEクローンと集合することによって獲得され得る。好ましい実施態様において、GSEは、BLAST検索(NCBIヒトESTデータベース)に使用される。最も長く対応するESTは、I.M.A.G.E. Consortium(米国菌培養収集所またはResearch Geneticsによって配信される)から得られ、そして配列が照合される。NCBIからのORF Finderが使用されて、GSEから推定のオープンリーディングフレームを同定し、これは、このcDNAフラグメントが、3'部分または/および5'部分を欠失するか否かの決定に役立つ。このRACEプライマーは、EST配列に基づいて伸長されたcDNA配列に従って設計されて、末端セグメントを増幅する。

#### 【0037】

あるいは、NCBIデータベースにおいて公知のヒト遺伝子との相同性を有さないGSEは、このGSEの末端配列由来のプライマーを使用してPCR増幅される。次いでこのPCR産物は、GSEライブラリが由来する同じヒト細胞系統から構築されるcDNAライブラリをスクリーニングするためのプローブとして使用される。このプローブとハイブリダイズするポジティブクローンが配列決定されて、推定のオープンリーディングフレームを同定する。cDNAが全長ではない場合において、RACE実験は本明細書中の上記のように行われる。

#### 【0038】

本発明は、GSEライブラリおよび本発明のネガティブ成長選択方法を使用して同定されるGSEに対応する遺伝子発現または遺伝子産物の活性を測定するための方法を提供する。本発明の方法のこの態様の実施において、遺伝子発現または遺伝子産物の活性は、化合物の存在環境下または非存在環境下で細胞においてアッセイされて、この化合物がこのような遺伝子または遺伝子産物の発現または活性を阻害するか否かを決定する。好ましい実施態様において、遺伝子発現は、当該分野で公知の任意の技術を用いて(例えば検出可能に標識されたプローブを用いた細胞性mRNAとのノーザンブロットハイブリダイゼーションの比較(例えば、Sambrookら、2001、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANUAL、第3版、Cold Spring Harbor Laboratory Press: N.Y.に開示されるように))、あるいはインビトロ増幅方法(例えば、Noonanら(1990、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:7160~7164)によって開示されるような定量的逆転写-ポリメラーゼ連鎖反応(RT-PCR)アッセイ)、またはこの遺伝子産物に特異的な抗体を用いたウエスタンブロットティング(Sambrookら、2001、同書)によってアッセイされる。遺伝子産物の活性は、各々の遺伝子産物に特異的なアッセイ(例えばこの遺伝子産物に特異的な抗体を用いたイムノアッセイ、または遺伝子産物機能の生化学的アッセイ)を用いてアッセイされる。

#### 【0039】

あるいは、遺伝子発現は、GSEライブラリおよび本発明のネガティブ成長選択方法を用いて同定されるGSEに対応する遺伝子由来のプロモーターを有する組換え発現構造体

を用いてアッセイされ、ここでこのプロモーターは、レポーター遺伝子に作動可能に連結される。次いでこのレポーター遺伝子は、遺伝子発現に対する試験化合物の効果の敏感かつ簡便な指標として使用され、そして細胞、好ましくは腫瘍細胞の成長に必要とされる遺伝子の発現または活性を阻害する化合物が容易に同定されることを可能にする。これらの構造体に対する宿主細胞は、対応する成長促進遺伝子を発現する任意の細胞を有する。本発明のこの態様の実施に有用なレポーター遺伝子としては、ホタルルシフェラーゼ、Renilla (ウミシイタケ) ルシフェラーゼ、クロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ、ガラクトシダーゼ、グリーン蛍光タンパク質およびアルカリホスファターゼが挙げられるがこれらに限定されない。

#### 【0040】

本発明は、本明細書中に開示されるGSEネガティブな成長選択方法を使用して同定されている本発明のGSEのいくつかによってコードされるペプチドを提供する。このようなペプチドは、表5および配列番号229~314として配列表に示される。これらのペプチドのあるものは、細胞増殖における役割を果たすことが以前に公知であったタンパク質由来であり、そして他のものは、本発明においてこのような役割を最初に特定されたタンパク質由来である。しかし、あらゆる同定されたペプチドは、腫瘍細胞増殖の新規のインヒビターである。また、当業者の理解内での関連化合物(例えば化学模倣物、有機模倣物またはペプチド模倣物)が提供される。本明細書中で使用される場合、用語「模倣物」、「ペプチド模倣物(peptide mimetic)」、「ペプチド模倣物(peptidomimetic)」、「有機模倣物」および「化学模倣物」は、ペプチド誘導體、ペプチドアナログ、および原子配置が、本発明のGSEによってコードされるペプチドの配向と等しい3次元配向である化学化合物を包含することが意図される。本明細書中で使用されるような句「~に等しい」は、このペプチドにおいて特定の原子または化学部分の置換を有する化合物を包含することが意図され、この部分は、模倣化合物においてこの原子および部分の同じまたは十分に類似の配置または配向を生じる結合長、結合角およびその配置を有し、本発明のGSEのペプチドの生物学的機能を有することが理解される。本発明のペプチド模倣物において、化学成分の3次元配置は、ペプチド骨格およびこのペプチドにおける成分のアミノ酸側鎖の3次元配置と構造的および/または機能的に等しく、実質的な生物学的活性を有する本発明のペプチドのこのようなペプチド模倣物、有機模倣物および化学模倣物をもたらす。これらの用語は、例えば本明細書中で参考として援用されるFauchere、1986、Adv. Drug Res. 15:29; VeberおよびFreidinger、1985、TINS 392頁; ならびにEvansら、1987、J. Med. Chem. 30:1229によって例示されるように、当該分野における理解に従って使用される。

#### 【0041】

ファーマコフォアが、本発明の各々のペプチドGSEの生物学的活性について存在することが理解される。ファーマコフォアは、生物学的活性に対する構造的要件の理想化された3次元定義を含むとして当該分野で理解される。ペプチド模倣物、有機模倣物および化学模倣物は、現行のコンピュータモデリングソフトウェアを用いて各々のファーマコフォアを適合するように設計され得る(コンピュータ支援薬物設計)。このような模倣物は、本発明のペプチドGSEにおける置換原子からの位置情報に基づいた構造-機能分析によって産生される。

#### 【0042】

本発明によって提供されるようなペプチドは、当該分野で公知の化学合成技術(特に、例えば市販の自動ペプチド合成機を用いた固相合成技術)のいずれかによって有利に合成され得る。本発明の模倣物は、ペプチド合成について簡便に使用される固相法または液相法によって合成され得る(例えば、Merrifield、1963、J. Amer. Chem. Soc. 85:2149~54; Carpino、1973、Acc. Chem. Res. 6:191~98; Birr、1978、ASPECT OF THE MERRIFIELD PEPTIDE SYNTHESIS、Springer-Verl

10

20

30

40

50

ag: Heidelberg; THE PEPTIDES: ANALYSIS, SYNTHESIS, BIOLOGY, 第1, 2, 3, 5巻 (GrossおよびMeinhof er編), Academic Press: New York, 1979; Stewartら, 1984, SOLID PHASE PEPTIDE SYNTHESIS, 第2版, Pierce Chem. Co.: Rockford, Ill.; Kent, 1988, Ann. Rev. Biochem. 57: 957~89; ならびに Greggら, 1990, Int. J. Peptide Protein Res. 55: 161~214 (これらは本明細書中でその全体において参考として援用される)を参照のこと)。

#### 【0043】

固相法論の使用が好ましい。手短に言えば、N保護されたC末端アミノ酸残基が、不溶性支持体(例えばジビニルベンゼン架橋ポリスチレン、ポリアクリルアミド樹脂、キーゼルゲール/ポリアミド(pepsyn K)、CPG、セルロース、ポリプロピレン膜、アクリル酸コートポリエチレンロッドなど)に結合される。脱保護、中和および逐次保護されるアミノ酸誘導体の結合のサイクルが使用されて、アミノ酸配列に従ってC末端からアミノ酸を結合する。いくつかの合成ペプチドについて、酸感受性樹脂を使用するFMO C戦略が使用され得る。この点で好ましい固体支持体は、ジビニルベンゼン架橋ポリスチレン樹脂であり、これは、種々の機能的形態(クロロメチル樹脂、ヒドロキシメチル樹脂、パラアセトアミドメチル樹脂、ベンズヒドリルアミン(BHA)樹脂、4-メチルベンズヒドリルアミン(MBHA)樹脂、オキシム樹脂、4-アルコキシベンジルアルコール樹脂(Wang樹脂)、4-(2', 4'-ジメトキシフェニルアミノメチル)-フェノキシメチル樹脂、2, 4-ジメトキシベンズヒドリル-アミン樹脂および4-(2', 4'-ジメトキシフェニル-FMOC-アミノ-メチル)-フェノキシアセトアミドノルロイシル-MBHA樹脂(RinkアミドMBHA樹脂)を含む)で市販される。さらに、酸感受性樹脂はまた、所望であればC末端酸を提供する。アミノ酸について特に好ましい保護基は、塩基不安定性の9-フルオレニルメトキシ-カルボニル(FMOC)である。

#### 【0044】

BOC(t-ブチルオキシカルボニル)基およびFMOC基と化学的に適合性のアミノ酸の側鎖官能基に適切な保護基は、当該分野で周知である。FMOC化学を使用する場合、以下の保護アミノ酸誘導体が好ましい: FMOC-Cys(Trit)、FMOC-Ser(But)、FMOC-Asn(Trit)、FMOC-Leu、FMOC-Thr(Trit)、FMOC-Val、FMOC-Gly、FMOC-Lys(BOC)、FMOC-Gln(Trit)、FMOC-Glu(OBut)、FMOC-His(Trit)、FMOC-Tyr(But)、FMOC-Arg(PMC(2, 2, 5, 7, 8-ペンタメチルクロマン-6-スルホニル))、FMOC-Arg(BOC)<sub>2</sub>、FMOC-ProおよびFMOC-Trp(BOC)。このアミノ酸残基は、当該分野で公知の種々の結合剤および結合化学を用いることによって(例えば、DIC(ジイソプロピル-カルボジイミド)、DCC(ジシクロヘキシルカルボジイミド)、BOP(ベンゾトリアゾリル-N-オキシトリスジメチルアミノホスホニウムヘキサ-フルオロホスフェート)、PyBOP(ベンゾトリアゾール-1-イル-オキシ-トリス-ピロリジノホスホニウムヘキサフルオロ-ホスフェート)、PyBrop(プロモ-トリス-ピロリジノホスホニウムヘキサフルオロホスフェート)との直接結合; 等方性無水物の能力を介した結合; 活性エステル(例えばペンタフルオロフェニルエステル)を介した結合; またはHOBt(1-ヒドロキシベンゾトリアゾール)活性エステルの能力を介した結合)、またはFMOC-アミノ酸フッ化物および塩化物を用いることによって、あるいはFMOC-アミノ酸-N-カルボキシ無水物を用いることによって結合され得る。HOBtまたはHOAt(7-アザヒドロキシベンゾトリアゾール)の存在環境下におけるHBTU(2-(1H-ベンゾトリアゾール-1-イル), 1, 1, 3, 3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート)またはHATU(2-(1H-7-アザ-ベンゾトリアゾール-1-イル), 1, 1, 3, 3-テトラメチルウロニウムヘキサフルオロホスフェート)との

活性化が好ましい。

【0045】

固相法は手動で行われ得るが、市販のペプチド合成機（例えばApplied Biosystems 431Aなど；Applied Biosystems, Foster City, CA）での自動合成が好ましい。代表的な合成において、第一の（C末端の）アミノ酸が、クロロトリチル樹脂上にセットされる。ABI FastMocプロトコル（ABIユーザー広報32および33、Applied Biosystems）に従った逐次の脱保護（20% ピペリジン/NMP（N-メチルピロリドンを用いて））および結合サイクルが使用されて、ペプチド配列全体を確立する。無水酢酸によるキャッピングを用いた二重結合および三重結合がまた使用され得る。

10

【0046】

合成の模倣ペプチドは、樹脂から開裂され、そして適切なスカベンジャーを含むTFA（トリフルオロ酢酸）での処理によって脱保護される。多くのこのような開裂試薬（例えばReagent K（0.75g 結晶性フェノール、0.25mL エタンジチオール、0.5mL チオアニソール、0.5mL 脱イオン水、10mL TFA）および他の試薬が使用され得る。ペプチドは、濾過によって樹脂から分離され、そしてエーテル沈殿によって単離される。さらなる精製は、従来方法（例えばゲル濾過および逆相HPLC（高速液体クロマトグラフィー））によって達成され得る。本発明に従った合成カルシトニン模倣物は、薬学的に受容可能な塩（特に有機塩基および無機塩基の塩を有する塩基付加塩）の形態にあり得る。酸性アミノ酸残基の塩基付加塩は、当業者に周知の手順に従って適切な塩基または無機塩基とのペプチドの処理によって調製されるか、あるいはこの所望の塩は、適切な塩基からの凍結乾燥によって直接得られ得る。

20

【0047】

一般に当業者は、本明細書中に記載されるようなペプチドは、種々の化学技術によって改変されて、未改変ペプチドと本質的に同じ活性を有する化合物および必要に応じて他の所望の性質を有する化合物を産生し得ることを認識する。例えば、ペプチドのカルボン酸基は、薬学的に受容可能な陽イオンの塩の形態で提供され得る。ペプチド内のアミノ基は、薬学的に受容可能な酸付加塩（例えばHCl塩、HBr塩、酢酸塩、安息香酸塩、トルエンスルホン酸塩、マレイン酸塩、酒石酸塩および他の有機塩）の形態であり得るか、またはアミドに転換され得る。チオールは、多くの十分に認識された保護基のうちのいずれか1つ（例えばアセトアミド基）で保護され得る。当業者はまた、環状構造を本発明のペプチドに導入するための方法を認識し、その結果、ネイティブの結合構成がより近づけられる。例えば、カルボキシル末端またはアミノ末端のシステイン残基がペプチドに付加され得、その結果、酸化される場合にこのペプチドはジスルフィド結合を含み、それによって環状ペプチドを作製する。他のペプチド環化方法は、チオエーテル、ならびにカルボキシル末端およびアミノ末端のアミドおよびエステルの形成を有する。

30

【0048】

特に、種々の技術が、対応するペプチド化合物と同じまたは類似の所望の生物学的活性を有するペプチド誘導体およびアナログの構築に利用されるが、溶解度、安定性ならびに加水分解およびタンパク質分解に対する感受性に関してこのペプチドよりも有利な活性を有するペプチド誘導体およびアナログの構築に利用される。このような誘導体およびアナログは、N末端アミノ基、C末端カルボキシル基で改変されたペプチドおよび/またはこのペプチド内の1以上のアミド結合を非アミド結合に変化させるペプチドを有する。2つ以上のこのような改変が、1つのペプチド模倣物構造において連結され得ることが理解される（例えばC末端カルボキシル基での改変、およびこのペプチド内の2つのアミノ酸間への-CH<sub>2</sub>-カルバメート結合の包含）。

40

【0049】

アミノ末端改変は、アルキル化、アセチル化、カルボベンゾイル基の付加およびスクシンイミド基の形成を有する。具体的には、次いでN末端アミノ基が、式RC(O)NH（ここでRはアルキル、好ましくは低級アルキルである）のアミド基を形成するように

50

反応され得、そして酸ハロゲン化物、 $RC(O)Cl$ または酸無水物との反応によって付加される。代表的には、この反応は、およそ等モルまたは過剰量（例えばおよそ5当量）の酸ハロゲン化物を、好ましくは過剰（例えばおよそ10当量）の第三級アミン（例えばジイソプロピルエチルアミン）を含む不活性希釈剤（例えばジクロロメタン）におけるペプチドと接触させて、反応中に生成された酸を捕獲することによって行われ得る。反応条件は、他の点では従来通りである（例えば室温で30分間）。低級アルキルのN置換を提供するための末端アミノのアルキル化、その後の上記のような酸ハロゲン化物との反応は、式 $RC(O)NR-$ のN-アルキルアミド基を提供する。あるいは、このアミノ末端は、無水コハク酸との反応によってスクシンイミド基に共有結合され得る。およそ等モル量または過剰の無水コハク酸（例えばおよそ5当量）が使用され、そして末端のアミノ基は、Wollenbergら、米国特許第4,612,132号（本明細書中でその全体において参考として援用される）に記載されるように、適切な不活性溶媒（例えばジクロロメタン）における過剰（例えば10当量）の第三級アミン（例えばジイソプロピルエチルアミン）の使用を含む当該分野で周知の方法によってスクシンイミドに転換される。コハク酸基が、例えば $C_2 \sim C_6$ -アルキル置換基またはSR置換基で置換され得、これらは、従来様式で調製されて、このペプチドのN末端で置換スクシンイミドを提供することがまた理解される。このようなアルキル置換基は、Wollenbergら（上記）によって記載される様式において、低級オレフィン（ $C_2 \sim C_6$ -アルキル）を無水マレイン酸と反応させることによって調製され、そしてSR置換基は、RSHを無水マレイン酸と反応させることによって調製される（ここでRは上記で規定される通りである）。別の有利な実施態様において、このアミノ末端は、ベンジルオキシカルボニル-NH-基または置換ベンジルオキシカルボニル-NH-基を形成するように誘導体化される。この誘導体は、好ましくは第三級アミンを含む適切な不活性希釈剤（例えばジクロロメタン）におけるおよそ等量または過剰のベンジルオキシカルボニルクロリド（CBZ-Cl）または置換CBZ-Clと反応させて、反応中に生成された酸を捕獲することによって産生される。なお別の誘導体において、このN末端は、適切な不活性希釈剤（ジクロロメタン）における等量または過剰（例えば5当量）の $RS(O)_2Cl$ との反応によってスルホンアミド基を含み、末端のアミンをスルホンアミドに転換する（ここでRはアルキルおよび好ましくは低級アルキルである）。好ましくは、この不活性希釈剤は、過剰（例えば10当量）の第三級アミン（例えばジイソプロピルエチルアミン）を含み、反応中に産生された酸を捕獲する。反応条件は、他の点では従来通りである（例えば室温で30分間）。カルバメート基は、適切な不活性希釈剤（例えばジクロロメタン）における等量または過剰（例えば5当量）の $ROC(O)Cl$ または $ROC(O)OC_6H_4$ との反応によってアミノ末端で産生されて、末端のアミンをカルバメートに転換する（ここでRはアルキル、好ましくは低級アルキルである）。好ましくは、この不活性希釈剤は、過剰（例えばおよそ10当量）の第三級アミン（例えばジイソプロピルエチルアミン）を含み、反応中に産生された任意の酸を捕獲する。反応条件は、他の点では従来通りである（例えば室温で30分間）。尿素基は、適切な不活性希釈剤（例えばジクロロメタン）における等量または過剰（例えば5当量）の $RN=C=O$ との反応によってアミノ末端で形成されて、末端のアミンを尿素（すなわち $RNHCO$ ）基に転換する（ここでRは上記で規定される通りである）。好ましくは、この不活性希釈剤は、過剰（例えばおよそ10当量）の第三級アミン（例えばジイソプロピルエチルアミン）を含む。反応条件は、他の点では従来通りである（例えば室温でおよそ30分間）。

#### 【0050】

C末端のカルボキシル基がエステル（例えば $C(O)OR$ （ここでRはアルキルおよび好ましくは低級アルキルである））によって置換される場合のペプチド模倣物の調製において、ペプチド酸を調製するように使用される樹脂が利用され、そして側鎖保護ペプチドが、塩基および適切なアルコール（例えばメタノール）を用いて開裂される。次いで側鎖保護基は、フッ化水素での処理による慣例方法において除去され、所望のエステルを

獲得する。C末端のカルボキシル基がアミド、 $C(O)NR_3R_4$ によって置換される場合のペプチド模倣物の調製において、ベンズヒドリルアミン樹脂が、ペプチド合成についての固体支持体として使用される。合成の完了の際に、この支持体からペプチドを解放するためのフッ化水素処理は、遊離のペプチドアミド（すなわちC末端が $C(O)NH_2$ である）を直接生じる。あるいは、側鎖保護ペプチドを支持体から開裂するためのアンモニアを用いた反応と連結されたペプチド合成の間のクロロメチル化樹脂の使用は、遊離のペプチドアミドを生じ、そしてアルキルアミンまたはジアルキルアミンを用いた反応は、側鎖保護アルキルアミドまたはジアルキルアミド（すなわちC末端が $C(O)NRR_1$ である（ここでRおよび $R_1$ はアルキルおよび好ましくは低級アルキルである））を生じる。次いで側鎖保護物が、フッ化水素での処理による慣例方法において除去されて、遊離のアミド、アルキルアミドまたはジアルキルアミドを与える。

#### 【0051】

別の実施態様において、C末端のカルボキシル基またはC末端のエステルは、N末端アミノ基でのそれぞれカルボキシル基またはエステルの $OH$ またはエステル( $OR$ )の置換によって環化されるように誘導され得、環状ペプチドを形成する。例えば、ペプチド酸を与えるための合成および開裂後、遊離酸は、例えば塩化メチレン( $CH_2Cl_2$ )、ジメチルホルムアミド(DMF)またはそれらの混合物における適切なカルボキシル基活性化物質（例えばジシクロヘキシルカルボジイミド(DCC)）によって、溶液中で活性化エステルに転換される。次いでこの環状ペプチドは、N末端アミンでの活性化エステルの置換によって形成される。環化、どちらかといえば重合は、当該分野で周知の方法に従って、極めて希薄な溶液の使用によって増大され得る。

#### 【0052】

当該分野で理解され、そして本発明によって提供されるようなペプチド模倣物は、本発明のセンス配向のGSEの各々によってコードされる代表的なペプチドに構造的に類似するが、当該分野で公知の方法および以下の参考文献(Spatola、1983、CHEMISTRY AND BIOCHEMISTRY OF AMINO ACIDS, PEPTIDES, AND PROTEINS, (Weinstein編)、Marcel Dekker: New York、267頁; Spatola、1983、Peptide Backbone Modifications 1:3; Morley、1980、Trends Pharm. Sci. 463~468頁; Hudsonら、1979、Int. J. Pept. Prot. Res. 14:177~185; Spatolaら、1986、Life Sci. 38:1243~1249; Hann、1982、J. Chem. Soc. Perkin Trans. I 307~314; Almquistら、1980、J. Med. Chem. 23:1392~1398; Jennings-Whiteら、1982、Tetrahedron Lett. 23:2533; Szellikeら、1982、欧州特許出願、公開番号EP045665A; Holladayら、1983、Tetrahedron Lett. 24:4401~4404; およびHruby、1982、Life Sci. 31:189~199(これらの各々は、本明細書中において参考として援用される))においてさらに記載される方法によって、以下からなる基より選択される結合によって必要に応じて置換される1以上のペプチド結合を有する： $CH_2NH$ 、 $CH_2S$ 、 $CH_2CH_2$ 、 $CH=C$ 、 $CH(OH)CH_2$  および  $CH_2SO$ 。このようなペプチド模倣物は、ポリペプチド実施態様を超える有利な利点を有し得、この利点は、例えば作製がより経済的であること、より大きな化学安定性または増大された薬理的性質(半減期、吸収、効力、効能などのような)、減少された抗原性および他の性質を有することを含む。

#### 【0053】

本発明の腫瘍阻害ペプチドの模倣アナログはまた、従来の薬物設計または合理的な薬物設計の原理を使用して獲得され得る(Andrewsら、1990、Proc. Alfred Benzon Symp. 28:145~165; McPherson、1990

、Eur. J. Biochem. 189: 1~24; Holb, 1989a, MOLECULAR RECOGNITION: CHEMICAL AND BIOCHEMICAL PROBLEMS, (Roberts 編); Royal Society of Chemistry: 84~93頁; Hol, 1989b, Arzneim-Forsch. 39: 1016~1018; Hol, 1986, Agnew Chem. Int. Ed. Engl. 25: 767~778 (これらの開示は、本明細書中で参考として援用される)を参照のこと)。

#### 【0054】

従来の薬物設計方法に従って、所望の模倣分子は、構造が「ネイティブの」ペプチドの構造と同様の特性を有するランダムに試験される分子によって獲得される。結合分子の特定の基の変化から生じる量的寄与は、ペプチドの腫瘍阻害活性と比べて推定模倣物の生物学的活性を測定することによって決定され得る。合理的な薬物設計の好ましい実施態様において、模倣物は、ペプチドの最も安定な3次元コンホメーションの特性を共有するように設計される。従って、例えば模倣物は、本明細書中で開示されるように、本発明の腫瘍阻害ペプチドによって示されるものと類似のイオン相互作用、疎水性相互作用またはファンデルワールス相互作用を引き起こすに十分な様式で配向される化学基を有するように設計され得る。

10

#### 【0055】

合理的な模倣物設計を行うための好ましい方法は、例えばHol, 1989a、同書; Hol, 1989b、同書; およびHol, 1986、同書によって例示されるようなペプチドの3次元構造の表示を形成し得るコンピュータシステムを利用する。本発明のペプチドのペプチド模倣物、有機模倣物および化学模倣物の分子構造は、当該分野で市販されるコンピュータ支援設計プログラムを用いて当業者に従って作製される。このようなプログラムの例としては、SYBYL 6.5 (登録商標)、HQ SAR<sup>TM</sup> およびALCHEMY 2000<sup>TM</sup> (Tripos); GALAXY<sup>TM</sup> およびAM2000<sup>TM</sup> (AM Technologies, Inc., San Antonio, TX); CATALYST<sup>TM</sup> およびCERIUS<sup>TM</sup> (Molecular Simulations, Inc., San Diego, CA); CACHE PRODUCTS<sup>TM</sup>、TSAR<sup>TM</sup>、AMBER<sup>TM</sup> およびCHEM-X<sup>TM</sup> (Oxford Molecular Products, Oxford, CA)ならびにCHEMBUILDER3D<sup>TM</sup> (Interactive Simulations, Inc., San Diego, CA)が挙げられる。

20

30

#### 【0056】

例えば当該分野で認識される分子モデリングプログラムをを使用して、本明細書中で開示されるペプチドを用いて産生されるペプチド模倣物、有機模倣物および化学模倣物は、従来の化学合成技術、最も好ましくは、コンビナトリアル・ケミストリー方法を含むハイスループットスクリーニングを供給するように設計される技術を用いて産生される。本発明のペプチド模倣物、有機模倣物および化学模倣物の産生に有用なコンビナトリアル方法は、例えばSIDDCO, Tuscon, Arizona; Tripos, Inc.; Calbiochem/Novabiochem, San Diego, CA; Symyx Technologies, Inc., Santa Clara, CA; Medichem Research, Inc., Lemont, IL; Pharm-Eco Laboratories, Inc., Bethlehem, PA; またはN.V. Organon, Oss, Netherlandsによって提供されるようなファージディスプレイ、固相合成およびコンビナトリアル・ケミストリーアレイを有する。本発明のペプチド模倣物、有機模倣物および化学模倣物のコンビナトリアル・ケミストリー産生は、当該分野で公知の方法に従って産生され、これは、以下において開示される技術を含むがこれらに限定されない: Terrett, 1998, COMBINATORIAL CHEMISTRY, Oxford University Press, London; Galllopら, 1994, 「Applications of combinatorial

40

50

technologies to drug discovery. 1. Background and peptide combinatorial libraries」、J. Med. Chem. 37:1233~51; Gordonら、1994、「Applications of combinatorial technologies to drug discovery. 2. Combinatorial organic synthesis, library screening strategies, and future directions」、J. Med. Chem. 37:1385~1401; Lookら、1996、Bioorg. Med. Chem. Lett. 6:707~12; Ruhlmanら、1996、J. Amer. Chem. Soc. 118:253~4; Gordonら、1996、Acc. Chem. Res. 29:144~54; ThompsonおよびEllman、1996、Chem. Rev. 96:555~600; FruchtelおよびJung、1996、Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 35:17~42; Pavia、1995、「The Chemical Generations of Molecular Diversity」、Network Science Center、www.netsci.org; Adnanら、1995、「Solid Support Combinatorial Chemistry in Lead Discovery and SAR Optimization」、同書、DaviesおよびBriant、1995、「Combinatorial Chemistry Library Design using Pharmacophore Diversity」、同書、Pavia、1996、「Chemically Generated Screening Libraries: Present and Future」、同書; ならびにHorlbeckに対する米国特許第5,880,972号; Agrafiotisらに対する同第5,463,564号; Balajiらに対する同第5,331,573号; およびLernerらに対する同第5,573,905号。

**【0057】**

本発明はまた、本明細書中で同定される遺伝子（特に表3に示される遺伝子）を使用して、この遺伝子の発現または活性のインヒビターを同定するために化合物をスクリーニングするための方法を提供する。本発明の方法のこの態様の実施において、細胞成長に必要とされる遺伝子（特に表3において同定される遺伝子）を発現する細胞は、試験化合物の存在環境下および非存在環境下においてアッセイされ、そしてそれによってこの遺伝子または遺伝子産物の発現または活性を減少する試験化合物が同定される。さらに、このアッセイは、自殺選択条件下で行われ得、ここでこの遺伝子の発現または活性を阻害することによって細胞成長を阻害する化合物が、細胞の生存について選択する。別の実施態様において、本発明のレポーター遺伝子構造体を使用され、ここでこのレポーター遺伝子の発現は、試験化合物の存在環境下で減少されるが、この試験化合物の非存在環境下では減少されない。

**【0058】**

本発明の方法は、腫瘍細胞、最も好ましくはヒト腫瘍細胞の成長を阻害する化合物の同定に有用である。本発明はまた、同定される化合物を提供し、そしてこの同定される化合物を用いて腫瘍細胞、最も好ましくはヒト腫瘍細胞の成長を阻害するための方法を提供する。例示的な化合物としては、遺伝子産物の活性を妨げる中和抗体; 本発明の方法に従ったGSEとして開発されるかまたは当該分野で公知の他の方法によって同定されるかのいずれかのアンチセンスオリゴヌクレオチド; リボザイム; 3重らせん構造のオリゴヌクレオチド; および遺伝子発現または活性の「低分子」インヒビター（好ましくは、表3における遺伝子の発現の媒介を担う遺伝子産物または調節因子に特異的に結合する低分子）が挙げられる。本発明の遺伝子が使用されて、このような遺伝子によってコードされるタンパク質を含む生物学的経路を同定し得ることが当業者によって認識される。任意の数のこのような経路が使用されて、腫瘍細胞の成長を阻害する化合物を同定し得る。

**【0059】**

本発明はまた、薬学的組成物として、本明細書中において開示される方法によって同定される化合物の実施態様を提供する。本発明の薬学的組成物は、それ自身公知の様式において（例えば、従来の混合プロセス、溶解プロセス、粒状化プロセス、糖剤作製プロセス、湿式粉碎プロセス、乳化プロセス、カプセル化プロセス、捕捉プロセスまたは凍結乾燥プロセスの手段によって）製造され得る。

#### 【0060】

従って本発明に従った使用についての薬学的組成物は、薬学的に使用され得る調製物への活性化化合物のプロセッシングを容易にする賦形剤および補助剤を含む1以上の生理学的に受容可能なキャリアを用いた従来様式で処方され得る。適切な処方物は、選択される投与経路に依存する。

10

#### 【0061】

無毒性の薬学的塩は、酸（例えば塩酸、リン酸、臭化水素酸、硫酸、スルフィン酸、ギ酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、硝酸、安息香酸、クエン酸、酒石酸、マレイン酸、ヨウ化水素酸、酢酸のようなアルカン酸（ $\text{HOOC} - (\text{CH}_2)_n - \text{CH}_3$ （ここでnは0~4である））など）の塩を有する。無毒性の薬学的な塩基付加塩は、塩基（例えばナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウムなど）の塩を有する。当業者は、広範な種々の無毒性の薬学的に受容可能な付加塩を認識する。

#### 【0062】

注入について、本発明の方法に従って同定される腫瘍細胞の成長阻害化合物は、適切な水溶液（例えばハンス溶液、リンガー溶液または生理的塩類溶液の緩衝液のような生理学的に適合性の緩衝液）において処方され得る。経粘膜投与および経皮投与について、透過されるべき障壁に適切な浸透剤がこの処方物において使用される。このような浸透剤は、一般的に当該分野で公知である。

20

#### 【0063】

経口投与について、化合物は、当該分野で周知の薬学的に受容可能なキャリアと活性化化合物を結合することによって容易に処方され得る。このようなキャリアは、本発明の化合物が、処置されるべき患者による経口摂取について、錠剤、丸剤、糖剤、カプセル、液体、ゲル、シロップ、スラリー、懸濁液などとして処方されることを可能にする。経口用途についての薬学的調製物は、固体賦形剤とともに得られ得、所望であれば適切な補助剤を添加した後に、得られる混合物を必要に応じて粉碎し、そしてこの顆粒の混合物を処理して、錠剤または糖剤のコアを獲得する。適切な賦形剤は、特に糖（ラクトース、スクロース、マンニトールまたはソルビトールを含む）のようなフィラー；例えばトウモロコシデンプン、コムギデンプン、イネデンプン、ジャガイモデンプン、ゼラチン、トラガカントゴム、メチルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースナトリウムおよび/またはポリビニルピロリドン（PVP）のようなセルロース調製物である。所望であれば、崩壊剤（例えば架橋されたポリビニルピロリドン、寒天またはアルギン酸もしくはその塩（例えばアルギン酸ナトリウム））が添加され得る。

30

#### 【0064】

糖剤のコアは、適切なコーティングとともに提供される。この目的について、濃縮された糖溶液が使用され得、これは、必要に応じてアラビアゴム、タルク、ポリビニルピロリドン、カルボポールゲル、ポリエチレングリコールおよび/または二酸化チタン、ラッカー溶液、ならびに適切な有機溶媒または溶媒混合物を含み得る。染料または顔料は、識別のため、または活性化化合物用量の異なる組み合わせを特徴付けるために錠剤または糖剤のコーティングに添加され得る。

40

#### 【0065】

経口で使用され得る薬学的調製物としては、ゼラチンから作られるプッシュフィットカプセル、ならびにゼラチンから作られるソフトシールカプセル、および可塑剤（例えばグリセロールまたはソルビトール）が挙げられる。このプッシュフィットカプセルは、フィラー（例えばラクトース）、結合剤（例えばデンプン）および/または潤滑剤（例えばタルクもしくはステアリン酸マグネシウム）ならびに必要に応じて安定剤と混合して活性成

50

分を含み得る。ソフトカプセルにおいて、活性化合物は、適切な液体（例えば脂肪油、液体パラフィンまたは液体ポリエチレングリコール）に溶解または懸濁され得る。さらに、安定剤が添加され得る。経口投与についてのすべての処方物は、このような投与に適切な投薬量であるべきである。口腔投与について、組成物は、従来様式において処方される錠剤またはロゼンジの形態をとり得る。

**【0066】**

吸入による投与について、本発明に従った使用についての化合物は、適切な推進剤（例えばジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、二酸化炭素または他の適切な気体）の使用とともに、加圧パックまたは噴霧器からのエーロゾルスプレー提示の形態で簡便に送達される。加圧エーロゾルの場合において、投薬単位は、計量された量を送達するための弁を提供することによって決定され得る。化合物および適切な粉末ベース（例えばラクトースまたはデンプン）の粉末混合物を含む吸入器または注入器における使用についての例えばゼラチンのカプセルおよびカートリッジが処方され得る。

10

**【0067】**

注入（例えばボラス注入または連続的注入）による非経口投与についての化合物が処方され得る。注入についての処方物は、添加された防腐剤とともに、単位投薬形態（例えばアンプルまたは複数用量の容器）において与えられ得る。この組成物は、油性または水性のビヒクルにおける懸濁液、溶液またはエマルジョンのような形態をとり得、そして調合剤（例えば懸濁剤、安定剤および/または分散剤）を含み得る。

20

**【0068】**

非経口投与についての薬学的処方物は、水溶性形態における活性化合物の水溶液を含む。さらに、活性化合物の懸濁液は、適切な油性注入懸濁液として調製され得る。適切な親油性溶媒またはビヒクルは、脂肪油（例えばゴマ油）または合成脂肪酸エステル（例えばオレイン酸エチルもしくはトリグリセリド）あるいはリポソームを含む。水性注入懸濁液は、この懸濁液の粘性を増大する物質（例えばカルボキシメチルセルロースナトリウム、ソルビトールまたはデキストラン）を含み得る。必要に応じてこの懸濁液はまた、適切な安定剤またはこの化合物の溶解度を増大する因子を含み、高度に濃縮された溶液の調製を可能にし得る。あるいはこの活性成分は、使用前に適切なビヒクル（例えば滅菌された発熱物質を含まない水）と構成するために粉末形態であり得る。この化合物はまた、直腸組成物（例えば坐剤または停留浣腸（例えばカカオ脂もしくは他のグリセリドのような従来の坐剤ベースを含む））において処方され得る。

30

**【0069】**

上記の処方物に加えて、この化合物はまた、デポー調製物として処方され得る。このような持続性作用のある処方物は、移植（例えば皮下移植もしくは筋肉内移植）または筋肉内注入によって投与され得る。従って例えばこの化合物は、適切な高分子材料もしくは疎水性材料（例えば受容可能な油におけるエマルジョンとして）またはイオン交換樹脂とともに、あるいは微溶性誘導體（例えば微溶性塩）として処方され得る。

**【0070】**

本発明の疎水性化合物についての薬学的キャリアは、ベンジルアルコール、非極性界面活性剤、水混和性有機ポリマーおよび水相を含む共溶媒系である。この共溶媒系は、V P D共溶媒系であり得る。V P Dは、3% w/v ベンジルアルコール、8% w/v の非極性界面活性剤、ポリソルベート80および65% w/v ポリエチレングリコール300（残りの量は無水エタノールで補填する）の溶液である。このV P D共溶媒系（V P D:5 W）は、水溶液中の5% デキストロースで1:1希釈されたV P Dからなる。この共溶媒系は、疎水性化合物を良好に溶解し、そしてそれ自身全身性投与の際に低毒性を生じる。当然共溶媒系の比率は、その溶解度および毒性の特質を破壊することなく相当に変化され得る。さらにこの共溶媒成分の同一性は変化され得（例えば、他の低毒性の非極性界面活性剤が、ポリソルベート80の代わりに使用され得）、ポリエチレングリコールの画分サイズは変化され得（他の生体適合性ポリマー（例えばポリビニルピロリドン）

40

50

がポリエチレングリコールを置換し得)、そして他の糖または多糖類がデキストロースの代わりとなり得る。

【0071】

あるいは、疎水性の薬学的化合物についての他の送達系が利用され得る。リポソームおよびエマルジョンは、疎水性薬物についての送達ビヒクルまたはキャリアの周知の例である。特定の有機溶媒(例えばジメチルスルホキシド)がまた利用され得るが、より大きな毒性の犠牲を通常払う。さらにこの化合物は、徐放性システム(例えば、治療因子を含む固体の疎水性ポリマーの半透性マトリックス)を用いて送達され得る。種々の徐放性材料が確立されており、そして当業者によって周知である。徐放性カプセルは、その化学性質に依存して、100日超まで数週間化合物を放出し得る。この治療試薬の化学性質および生物学的安定性に依存して、タンパク質および核酸の安定化についてのさらなる戦略が利用され得る。

10

【0072】

薬学的組成物はまた、適切な固相またはゲル相のキャリアまたは賦形剤を含み得る。このようなキャリアまたは賦形剤の例としては、炭酸カルシウム、リン酸カルシウム、種々の糖、デンプン、セルロース誘導体、ゼラチンおよびポリマー(例えばポリエチレングリコール)が挙げられるがこれらに限定されない。

【0073】

本発明の化合物は、薬学的に適合性の対イオンを有する塩として提供され得る。薬学的に適合性の塩は、多くの酸(塩酸、硫酸、酢酸、乳酸、酒石酸、リンゴ酸、コハク酸、リン酸、臭化水素酸、スルフィン酸、ギ酸、トルエンスルホン酸、メタンスルホン酸、硝酸(nitric)、安息香酸、クエン酸、酒石酸、マレイン酸、ヨウ化水素酸、酢酸のようなアルカン酸、 $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{CH}_3$ (ここでnは0~4である)などを含むがこれらに限定されない)とともに形成され得る。塩は、対応する遊離塩基形態である水性溶媒または他のプロトン性溶媒においてより可溶性である傾向がある。無毒性の薬学的な塩基付加塩は、塩基(例えばナトリウム、カリウム、カルシウム、アンモニウムなど)の塩を有する。当業者は、広範な種々の無毒性の薬学的に受容可能な付加塩を認識する。

20

【0074】

本発明の化合物の薬学的組成物は、種々の手段(全身性投与、限局性投与または局所投与を含む)を通じて処方および投与され得る。処方および投与についての技術は、「Remington's Pharmaceutical Sciences」、Mack Publishing Co.、Easton、PAに見出され得る。投与の様式は、体における所望の標的部位への送達を最大にするように選択され得る。適切な投与経路は、例えば経口投与、直腸投与、経粘膜投与、経皮投与または腸管投与;非経口送達(筋肉内注入、皮下注入、骨髄内注入、ならびに鞘内注入、直接心室内注入、静脈内注入、腹腔内注入、鼻内注入または眼内注入を含む)を含み得る。

30

【0075】

あるいは、しばしばデポー処方物または徐放性処方物において、例えば特定の組織への直接的な化合物の注入を介して全身性様式よりもむしろ局所に化合物を投与し得る。

【0076】

本発明における使用に適切な薬学的組成物は、活性成分が、その意図された目的を達成するに有効な量で含まれる組成物を有する。より具体的には、治療有効量は、処置されている被験体の発達を妨げるに有効な量、またはこの被験体の現在の症状を緩和するに有効な量を意味する。有効量の決定は、特に本明細書中で提供される詳細な開示に鑑みて、当業者の能力の範囲で申し分ない。

40

【0077】

本発明の方法において使用される任意の化合物について、治療有効用量は、本明細書中に開示されるように、最初は細胞培養アッセイから見積もられ得る。例えば、用量は動物モデルにおいて処方されて、細胞培養において決定されるような $\text{EC}_{50}$ (50%の増大に有効な用量)、すなわち、細菌の細胞成長の最大の半分の阻害を達成する試験化合物の

50

濃度を有する循環濃度範囲を達成し得る。このような情報が使用されて、ヒトにおける有用な用量をより正確に決定し得る。

【0078】

しかし、任意の特定の患者についての特定の用量レベルが、種々の因子（利用される特定の化合物の活性、年齢、体重、一般的健康状態、性別、食餌、投与時間、投与経路ならびに排出速度、薬物の組み合わせ、治療を受けている特定の疾患の重篤度および処方医師の判断を含む）に依存することが理解される。

【0079】

本発明の好ましい化合物は、特定の薬理的性質を有する。このような性質は、経口バイオアベイラビリティ、低毒性、低い血清タンパク質結合、ならびに望ましいインビトロ半減期およびインビボ半減期を含むがこれらに限定されない。アッセイが使用されて、これらの望ましい薬理的性質を予測し得る。バイオアベイラビリティを予測するために使用されるアッセイは、ヒトの腸管細胞の単層（Caco-2細胞の単層を含む）を横切る輸送を含む。血清タンパク質結合は、アルブミン結合アッセイから予測され得る。このようなアッセイは、Oravcovaら（1996、J. Chromat. B 677: 1~27）による概説において記載される。化合物の半減期は、化合物の投薬の頻度に反比例する。化合物のインビトロ半減期は、KuhnzおよびGieschen（1998、DRUG METABOLISM AND DISPOSITION、第26巻、1120~1127頁）によって記載されるようなマイクロソーム半減期のアッセイから予測され得る。

10

20

【0080】

このような化合物の毒性および治療効能は、細胞培養または実験動物における標準的な薬学的手順（例えばLD<sub>50</sub>（集団の50%に対する致死量）およびED<sub>50</sub>（集団の50%における治療有効量）の決定について）によって決定され得る。毒性効果と治療効果との間の用量比は、治療指数であり、そしてこれは、LD<sub>50</sub>とED<sub>50</sub>との間の比として表され得る。高い治療指数を示す化合物が好ましい。これらの細胞培養アッセイおよび動物研究から得られるデータは、ヒトにおける使用についての投薬範囲の処方に使用され得る。このような化合物の投薬量は、好ましくは、わずかな毒性を有するかまたは毒性を有さないED<sub>50</sub>を有する循環濃度の範囲内にある。投薬量は、利用される投薬形態および利用される投与経路に依存してこの範囲内で変化し得る。正確な処方、投与経路および投薬量は、患者の状態を考慮して個々の医師によって選択され得る（例えば、Finglerら、1975、「The Pharmacological Basis of Therapeutics」、第1章、1頁を参照のこと）。

30

40

【0081】

投薬量および投薬間隔は、個々に調整されて、腫瘍細胞の成長阻害効果を維持するのに十分な活性成分の血漿レベルを提供し得る。全身性投与についての通常の患者の投薬量は、1日当たり100~2000mgに及ぶ。患者の体表面積の点で言うと、通常の投薬量は、1日当たり50~910mg/m<sup>2</sup>に及ぶ。通常の平均血漿レベルは、0.1~1000μM内に維持されるべきである。局所投与または選択的取り込みの場合において、化合物の有効な局所濃度は、血漿濃度に関連されることはできない。

【0082】

以下の実施例は、本発明の特定の好ましい実施態様をさらに例示することが意図され、まったく限定されない。

【0083】

（実施例）

（1. MCF-7ヒト乳癌細胞からの均一化腫瘍ライブラリの産生）

均一化cDNAフラグメントライブラリを、MCF-7乳癌細胞系統（エストロゲンレセプターポジティブのp53に対する野生型；ATCC受託番号HTB22、米国菌培養収集所、Manassas, VA）から作製した。MCF-7細胞からのポリ(A)+RNAを使用して、GudkovおよびRoninson（1997）に記載される手順の

50

改変を通じて、均一化された cDNA フラグメントの集団を調製した。手短に言えば、RNA を、100 で 9 分間の加熱によって断片化した。二重鎖 cDNA を、逆転写プライマー (5' - GGATCCTCACTCACTCANNNNNNNNN - 3' ; 配列番号 1) を用いて Gibco Super script キットを使用してこの熱断片化 RNA から作製した。このプライマーは、ランダムプライミングについてその 3' 末端にランダムオクタマー配列を含み、そしてこれは、BamHI 制限部位とともに、すべての 3 つのオープンリーディングフレームにおいて TGA 停止コドンを提供するタグ (その二重鎖形態において「停止アダプター」と称される) を保有する。PCR アッセイを使用して、この cDNA 調製物における 2 - ミクログロブリン、 $\beta$  - アクチンおよびエストロゲンレセプターの mRNA 配列の存在を確立した。二重鎖 cDNA フラグメントを、以下のアダプターと連結した:

5' GTACCTGAGTTATAGGATCCCTGCCATGCCATGCCATG  
3' (配列番号 2)

3' CCTAGGGACGGTACGGTACGGTAC

5' (配列番号 3)

後者のアダプター (「開始アダプター」) は、BamHI 部位とともにすべての 3 つのフレームにおいて翻訳開始部位を含んだ。二重鎖 cDNA を、開始アダプターおよび停止アダプターにアニーリングするプライマーを用いた PCR によって増幅した。この開始アダプターは、cDNA フラグメントの両方の末端で最初に連結されるが、この PCR 産物は、2 つの異なるプライマーによって支配的に作製され、そして開始アダプターを 3' 末端ではなく 5' 末端にのみ含んだ。この望ましい結果は、逆方向反復によって隣接される配列の再生の際に形成されるフライパンの柄のような構造による PCR 阻害に起因した「PCR 抑制効果」によって説明された (Siebertら、1995、Nucleic Acids Res. 23: 1087 ~ 1088)。さらに、3' 末端での任意の残りの開始アダプターを、クローニングの前に BamHI 消化によって引き続いて除去した。増幅された cDNA フラグメント集団を、2 - ミクログロブリン、 $\beta$  - アクチンおよびエストロゲンレセプターの配列の存在について再び試験した。この手順は、ランダムに開始し、そして終結する二重鎖 cDNA フラグメント (100 ~ 400 bp サイズ) の集団を産生し、これは、元の mRNA の 5' 方向および 3' 方向に対応する末端で異なるアダプターによってタグ化された。この 5' アダプターは、3 つのオープンリーディングフレームにおいて翻訳開始コドンを含み、そしてこの 3' アダプターは、すべての 3 つのリーディングフレームにおいて停止コドンを含んだ。このようなフラグメントは、センス配向でクローニングされる場合に、親タンパク質に由来するペプチドの合成を指向するか、またはアンチセンス配向でクローニングされる場合に、アンチセンス RNA 分子を生じさせた。

【0084】

この cDNA フラグメントの混合物を、Cot 分別に基づいた Patanjaliら (1991、Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88: 1943 ~ 1947) の手順の改変を通じて均一化に供した。均一化を、24 時間、48 時間、72 時間または 96 時間の間、変性 cDNA 部分を再アニーリングすることによって達成した。一本鎖産物を、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィーによって、再アニーリングされた二重鎖 DNA から分離した。cDNA フラグメントの均一化を、MCF-7 細胞における異なるレベルに対して発現され、そして各々の一本鎖画分で行われる遺伝子に対応するプローブとのザザンハイブリダイゼーションによって試験した。この分析は、 $\beta$  - アクチン (豊富な mRNA 種) の含量が、均一化時間にわたって減少し、最も低い含量は、96 時間の時点で見出されたことを示した。逆に、わずかに豊富な cDNA 配列 (c-MYC) および豊富ではない cDNA 配列 (MDR1) (これは、均一化の前に MCF-7 cDNA において検出不可能であった) は、96 時間までに  $\beta$  - アクチンと匹敵するレベルに増大し、これは、96 時間の画分が最良に均一化されたことを示唆した。96 時間の画分の均一化を確認するために、この DNA を BamHI で消化し (小規模で)、プラスミドベクターに連結し、そしてエレクトロポレーションによって E. coli (Top10) に形

質転換した。コロニーハイブリダイゼーション分析を、異なる遺伝子について放射能標識されたプローブを用いて、10,000個のコロニーがプレートングされたニトロセルロースフィルターに対して行った。1フィルター当たり以下のシグナル数を得た： - アクチンは3つのシグナル；MDR1は3つのシグナル；C-MYCは2つのシグナル；C-FOSは2つのシグナル。これらの結果は、試験された遺伝子由来の配列は、平均してこのライブラリの3,000~5,000クローンのうちの1つにおいて見出されることを示し、そしてまた、96時間の画分が均一化されたことを確認した。

#### 【0085】

この均一化cDNA画分を、PCRによって増幅し、そしてIPTG誘導性のレトロウイルスベクター、LNXC03 (ChangおよびRoninson、1996、Gene 183:137~142) に連結した。この連結反応は、およそ5000万個のクローンのライブラリを産生した。このライブラリにおけるパーセント組換えを、LNXC03の挿入部位に隣接するプライマーを用いて、細菌性コロニー由来のDNAのPCRによって評価した。インサートを含むクローン数は、131/150、すなわち87%であった。大半のインサートは、100bp~300bpのサイズに及んだ。ライブラリのさらなる特徴付けについて、このインサートの画分を、pcDNA3ベクターに再クローニングした。pcDNA3における69のランダムに選ばれたクローンのインサート配列を、ハイスループットDNAシーケンサーを用いて決定し、そしてパブリックドメインのデータベースにおける公知の遺伝子配列との相同性について分析した。インサートのうちの52が公知の遺伝子に照合されず、16が異なるヒト遺伝子に対応し、そして1つの配列が細菌起源であることが見出された。この均一化されたMCF-7 cDNAフラグメントライブラリを使用して、乳癌細胞における成長阻害GSEを選択した。

#### 【0086】

##### (2. 乳癌レシピエント細胞の産生)

実施例1に記載される均一化腫瘍ライブラリを、MCF-7ヒト乳癌細胞から調製した。GSE選択についてのレシピエント細胞として、異なる乳癌細胞系統、MDA-MB-231 (ATCC受託番号HTB26) を選択した。この系統は、MCF-7に比べて乳癌のより悪性なクラスを代表し、これはエストロゲンレセプターネガティブであり、そしてp53欠損であった。RNA供給源およびレシピエントとしての異なる細胞系統の選択は、異なる型の乳癌に対してより有効であるような成長阻害GSEの単離に向けられた。

#### 【0087】

MDA-MB231細胞を、第一に同種指向性レトロウイルスでの感染に感受性にし、このウイルスは、簡便なパッケージング細胞系統を用いて高い力価で容易に作製され得、そしてヒトまたは未改変のヒト細胞に感染性ではなかった。MDA-MB-231細胞を、レトロウイルスベクターLXHis (Levensonら、1998、Hum. Gene Ther. 9:1233~1236) においてマウス同種指向性レセプターに対する遺伝子を保有する両種指向性組換えウイルスで感染させ、そしてこの感染した細胞集団を、ヒスチジノールで選択した。同種指向性レトロウイルスでの感染に対するこの選択細胞の感受性を、グリーン蛍光タンパク質 (GFP) に対する遺伝子を保有する同種指向性レトロウイルスLXSE (Kandelら、1997、同書) でこのような細胞を感染させることによって決定した。86%を超えるLXSE感染細胞が、GFP蛍光に対してポジティブであり (フローサイトメトリーによって決定されるように)、それに対応して高い感染率であることを示した。次にこれらの細胞を、LacIリプレッサー (Fieckら、1992、Nucleic Acids Res. 20:1785~1791) およびハイグロマイシン耐性マーカーを保有する3'SSプラスミド (Stratagene) で感染し、そして安定なトランスフェクタントをハイグロマイシンで選択した。この選択されたトランスフェクタントをサブクローニングし、そして33の単細胞クローンを、LacI阻害性プロモーターのIPTG調節発現について個々に試験した。この試験を、LacI調節性CMVプロモーターからルシフェラーゼを発現するpCMVlucプラスミド (Stratagene) での細胞クローンの一過性トランスフェクションによ

って行った。ポジティブコントロールとして、同じアッセイを、以前に特徴付けられた良好に調節される線維肉腫細胞系統 HT1080 3'SS6 (Chang および Roninson、1996、同書; Changら、1999、同書) に対して行った。試験されたクローンのうちの3つが、HT1080 3'SS6と類似のレベルでIPTGの存在環境下においてルシフェラーゼ発現の誘導を示した。

#### 【0088】

これらのクローンを、以下のアッセイによってさらに試験した。第一のアッセイは、LXSE同種指向性レトロウイルスでの感染、その後のGFP蛍光のFACS分析であり、同種指向性感染に対する感受性を決定した。第二のアッセイは、IPTG調節性レトロウイルス、LNLucCO3 (Chang および Roninson、1996) での同種指向性レトロウイルスの形質導入、その後のG418選択およびルシフェラーゼ発現のIPTG誘導性についての試験であった。第三のアッセイは、IPTG調節性同種指向性レトロウイルス、LNp21CO3 (Changら、1999、同書) (これは、細胞周期インヒビター、p21 (IPTG誘導性の遺伝子インヒビターについてのポジティブコントロール) を保有する) での感染、その後のIPTGの存在環境下および非存在環境下でのBrdU自殺選択 (以下に記載される) であった。これらのアッセイの結果に基づいて、MDA-MB231 3'SS31と呼ばれる細胞系統を、成長阻害GSE選択についての最適条件として選択した。この細胞系統は、同種指向性レトロウイルスでのおよそ80%の感染能力、IPTGによるおよそ10倍の誘導能力 (これは、HT1080 3'SS6について同時に決定された値よりも高い)、およびLNp21CO3での感染の際のBrdU自殺のクローン原性生存の20倍を超える増大を示した。

#### 【0089】

##### (3. 腫瘍細胞の成長を阻害する遺伝子抑制因子の単離)

LNXC03ベクターにおけるMCF-7由来の均一化腫瘍ライブラリを、Roninsonら (1998、Methods Enzymol. 292: 225~248) に記載されるように、BOSC23パッケージング細胞系統 (Pearら、1993、同書) を用いて、同種指向性レトロウイルスの形質導入によってMDA-MB231 3'SS31細胞系統に形質導入した。2億 ( $2 \times 10^8$ ) のレシピエント細胞を感染し、そしてG418で選択した。この感染率 (G418耐性コロニーの頻度によって決定されるように) は36%であった。8千万 ( $8 \times 10^7$ ) のG418選択されたインフェクタントを、以下のようなBrdU自殺に対するIPTG依存性の耐性についての選択に供した。細胞を、P150当たり  $10^6$  細胞でプレティングし、そして  $50 \mu\text{M}$  IPTGで36時間処理し、次いで  $50 \mu\text{M}$  IPTGおよび  $50 \mu\text{M}$  BrdUで48時間処理した。細胞をその後  $10 \mu\text{M}$  ヘキスト33342とともに3時間インキュベートし、そしてライトボックス上で15分間蛍光白色光で照らして、IPTGの存在環境下で成長しそしてBrdUを取り込んだ細胞を破壊した。次いで細胞を、リン酸緩衝化生理食塩水で2回洗浄し、そして7~10日間IPTGまたはBrdUを含まないG418含有培地において回収した。次いでこの生存細胞を、同じ条件下でBrdU選択の第二ステップに供した。コントロールプレートを、IPTGの非存在環境下で選択し、そして代表的なプレートを染色して、コロニーを計数した (これらの結果を図4に示す)。IPTGの存在環境下における第二ステップの選択後の生存コロニー数は、IPTGの非存在環境下における対応する数よりもおよそ3倍多かった。対照的に、インサートを含まないLNXC03ベクターで感染されたコントロール細胞は、IPTGの存在環境下または非存在環境下においてBrdU自殺における差異は見られなかった。ポジティブコントロールとして、細胞をp21発現性LNp21CO3で感染したが、IPTGの存在環境下における生存細胞数は多すぎて計数できなかった。これらの結果は、IPTG誘導性の成長阻害GSEの首尾良い選択と一致して、BrdU自殺選択を生き残るライブラリ感染細胞の頻度は、IPTG依存性様式で増大したことを実証した。

#### 【0090】

ゲノムDNAを、2段階選択されたライブラリ形質導入細胞から単離し、そしてプライ

マーとしてインサートに隣接するベクター由来配列を用いて、PCRについての鑄型として使用した。選択細胞由来のインサートのPCR増幅混合物を、LNXC03ベクターに再クローニングし、そして選択フラグメントのライブラリからほぼ3,000のランダムに選ばれたプラスミドクローンを、PPD Discovery, Inc., Menlo Park, CAによるハイスループットDNA配列決定によって配列決定した。ヒトcDNAフラグメントを含む1482のクローンを、NCBIデータベースを用いたBLAST相同性検索によってこれらの配列の間で同定し、そして分析して、選択されたcDNAフラグメントを生じさせる遺伝子を同定した。93の遺伝子が、2つ以上の配列決定されたクローンを生じさせることを見出し、これは選択されたライブラリにおけるこのような遺伝子の富化を示し、67の遺伝子が、3つ以上のクローンによって表された。富化された遺伝子のうちの49個は、2つ以上の同一ではない配列によって表された。この富化クローンの配列は、表4および配列表に提供された。これらのクローンの多くは、対応する遺伝子産物由来のペプチドをコードした。これらの成長障害ペプチドの配列は、表5および配列番号229~314として配列表において提供された。対応する受託番号、ならびに選択されたクローン数および各々の遺伝子由来の異なる配列数を有する富化遺伝子を、表1に列挙した。表2は、細胞増殖に関与することが以前に公知であった富化遺伝子を列挙し、そして表3は、細胞増殖に関与することが以前には公知でなかった富化遺伝子を列挙した。

10

#### 【0091】

以下の規準を、遺伝子の表2または表3への割り当てについて使用した。各々の遺伝子の機能を、NCBIのLocusLinkデータベースにおいて対応するエントリーに従って第一に確認した。この情報に基づいて、基本的な細胞機能（例えば全般的な転写または翻訳）に不可欠な遺伝子、および細胞周期進行または発癌における役割を果たすことが公知の遺伝子を表3から除外し、そして表2に割り当てた。次いで他の遺伝子の機能を、検索のキーワードとしてLocusLinkに列挙される遺伝子のすべての一般的名称を使用して、当該分野のデータベース検索を通じて調査した。この分析を通じて、さらなる遺伝子を、以下の規準によって表2に割り当てた：(i) 遺伝子の過剰発現（単独または組み合わせで）が、新生物形成の形質転換または細胞の不死化を促進することが示された場合；(ii) 遺伝子機能または遺伝子発現の障害が、細胞成長の障害または細胞死を生じることが示された場合；(iii) 遺伝子のホモ接合体ノックアウトが、哺乳動物における胚致死であることが示された場合；または(iv) 遺伝子が、任意の型の癌の相当多量の画分において、遺伝子変化（例えば遺伝子の増幅、リアレンジまたは点突然変異）を通じて活性化されることが見出された場合。次いで上記の規準のいずれも満たさなかった遺伝子を、表3に割り当てた。

20

30

#### 【0092】

##### (4. 腫瘍細胞の成長を阻害する遺伝子抑制因子の分析)

富化遺伝子を代表する個々に選択されたクローンを、GSE活性についての機能的試験によって分析した。これらのアッセイの結果を、表1に要約した。第一のアッセイは、MDA-MB-231-3'5S31細胞への個々の推定GSEクローン(LNXC03ベクターにおける)の形質導入、その後の感染集団(LNXC03のneo遺伝子についての)のG418選択、およびBrdU自殺のIPTG依存性生存についての形質導入集団の試験を含んだ。後者のアッセイは、以下の通りに行われた。感染細胞(P100当たり200,000、三部で)を、50μM IPTGで72時間処理し、次いで50μM IPTGおよび50μM BrdUで48時間処理した。平行した一組の細胞を、同じ様式(ただしIPTGを含まず三部で)で処理した。次いで細胞を、白色光で照射し、そしてBrdUおよびIPTGの非存在環境下において12~14日間回収した。結果を、P100当たりの平均のコロニー数として、標準偏差で表した。各々の組のアッセイにおいて、インサートを含まないLNXC03ベクターを、ネガティブコントロールとして使用した。ポジティブコントロールとして、CDKインヒビターp21を発現するLNXC03ベクターを使用した。このコントロールは、過剰にポジティブな値の生存コロニーを

40

50

矛盾なく与えた。別のポジティブコントロールは、増殖関連の転写因子 *Stat3* 由来の *GSE* を含み、これは、複数のアッセイにおいて、中位であるが再現可能にポジティブな結果を生じた。表 1 は、*IP TG* の存在環境下および非存在環境下において生存するコロニー数の差異の *t* 試験分析が、 $P < 0.05$  という有意性値を提供する場合に、ポジティブであるとして（機能的アッセイの行において「A」）このアッセイ（*BrdU* 自殺の *IP TG* 依存性生存）の結果を列挙した。ポジティブ *GSE* の亜集団に対するこの分析の結果を、図 5 に示した。

#### 【0093】

*BrdU* 自殺の *IP TG* 依存性生存についてのアッセイを、ポジティブな結果を有する 38 の遺伝子由来の *GSE* について行った。このアッセイにおいてポジティブと与えられたいくつかの感染細胞集団をまた、*IP TG* による直接的な成長阻害についてのより厳密なアッセイによって試験した。しかしどの試験集団も、*IP TG* によって顕著な成長阻害を示さなかった。類似の結果（*BrdU* 選択においてはポジティブであるが、成長阻害アッセイにおいてはポジティブではない）が、ユビキチン結合酵素をコードする弱い成長阻害 *cDNA* クローンについて、*Pestov* ら（1998、同書）によって報告された。このような細胞集団における *BrdU* 自殺の増大が、感染細胞間の *GSE* 発現および機能の異質性を反映するか否かを決定するために、複数（10 以上）のクローン細胞系統を、感染集団の亜集団から作製し、そして *IP TG* によって成長阻害される能力について試験した。このプロセスを通じて、19 の富化遺伝子由来の *GSE* を含む *IP TG* 阻害性細胞系統を産生した。このアッセイによってポジティブと与えられた遺伝子を、表 1 に示した（機能的アッセイの行において「B」）。これらの *GSE* 含有細胞系統と対照的に、インサートを含まない *LNXC03* ベクターで形質転換された細胞は、*IP TG* の存在環境下において成長阻害を示さなかった。ポジティブな細胞系統を用いた *IP TG* 成長阻害アッセイの結果を、図 6 に示した。

#### 【0094】

7 つの試験遺伝子からの推定 *GSE* は、コントロールの *LNXC03* ウイルスまたは他の試験クローンで感染された細胞に比べて、*G418* 耐性インフェクタントの収量を非常に減少した。これらのクローンで感染された *G418* 耐性細胞の得られる小集団が拡張し、そして *BrdU* 自殺の *IP TG* 依存性生存について試験された場合、これらの集団のほとんどすべてが、ネガティブな結果を生じた。際立って、このカテゴリー（表 1 の機能的アッセイの行において「C」）における大半の遺伝子は、細胞成長の重要なポジティブレギュレーターであることが公知であり（*JUN B*、*INT-2*、*MCM-3* 複製タンパク質、プロテインキナーゼ *C* の および *アイソフォーム*）、従って、成長阻害 *GSE* を生じさせることが期待された。*LNXC03* ベクターは、*IP TG* の非存在環境下において十分な基礎的発現を提供することが公知であるので（*Chang* および *Roninson*、1996）、この群は、最も強い機能的 *GSE* を有し得るようであり、この *GSE* は、*IP TG* の非存在環境下でさえも細胞成長を阻害した。概して言えば、51 の遺伝子全体からの *GSE* が、機能的アッセイ（*BrdU* 自殺の *IP TG* 依存性生存または *IP TG* 依存性の成長阻害）、あるいは推定のポジティブな規準（明白な感染率の減少）によって今までのところ確認されていた。

#### 【0095】

表 2 に示される遺伝子は、細胞成長または新生物形成の形質転換のポジティブレギュレーターであることが公知であった。これらは、細胞周期進行（例えば *CCND1* および *CDK2*）または *DNA* 複製（例えば *PCNA*、*RPA3* または *MCM-3*）、成長因子（例えば *INT-2* / *FGF-3* および *TGFB1*）および成長因子レセプター（例えば *FGFR1*、*CKIT*）、細胞増殖のポジティブレギュレーターであることが公知の転写因子（例えば *STAT3*、*c-FOS*、*NF-B-1*）、いくつかの増殖関連シグナル伝達タンパク質（例えば *PKC*（発癌プロモーターの主な標的）の 3 つの *アイソフォーム*）および 3 つのインテグリンタンパク質、ならびにタンパク質合成に必要とされるいくつかのリボソーム成分に直接関与する遺伝子を有した。富化遺伝子は、多くの公知の癌原遺

伝子（例えばJunBおよびc-FOS（これらは、NIH 3T3細胞における19遺伝子のライブラリからPestovおよびLau（1994、同書）によって単離された3つの成長阻害GSEのうちの2つを生じさせた）、FOS関連遺伝子、INT-2、c-KIT、LYNB（YES癌原遺伝子）、MET、RAN（RASファミリーのメンバー）、癌において増幅されることが公知のいくつかの成長促進遺伝子（CCND1、CDK2、FGFR1）、ならびに癌において過剰発現されることが報告されたいくつかの遺伝子）を有した。富化遺伝子のいくつかは、乳癌との特異的関連を有し、これは、乳癌遺伝子として本来同定されたINT-2（Petersら、1984、Nature 309:273~275）、乳癌の実質的少数において増幅されることが見出されたCCND1およびFGFR1（BarnesおよびGillett、1998、Breast Cancer Res Treat. 52:1~15; Jacquemierら、1994、Int. J. Cancer 59:373~378）ならびにHSPCA（これは、非悪性の乳房組織より高いレベルで、試験された乳癌のすべて（全部で143）において発現されることが示された）（Jameelら、1992、Int. J. Cancer 50:409~415）を有した。選択配列間の多量のこのような遺伝子は、乳癌細胞におけるポジティブな成長レギュレーターの解明に対して、このアプローチの強力な批准を提供した。

10

#### 【0096】

表3の遺伝子は、成長調節における公知の機能を有さなかった。これらの遺伝子は、いくつかの転写因子、シグナル伝達または細胞接着に関与するタンパク質、RNA輸送またはタンパク質輸送およびタンパク質プロセッシングに関与する多くのタンパク質、細胞成長に関連しない多種多様の他の機能を有する遺伝子群、ならびに機能が現在未知である10の遺伝子をコードする。

20

#### 【0097】

特に見所として挙げられるのは、表3の遺伝子のうち少なくとも3つが、正常な細胞の成長に不可欠ではないらしいことであった。なぜなら、マウスにおけるこれらの遺伝子のホモ接合体ノックアウトは、成熟動物の発生を妨げないからである（いくつかの限定された発生異常を除く）。これらの遺伝子は、LICAM（Dahmeら、1997、Nat. Genet. 17:346~349）、ICAM2（Gerwinら、1999、Immunity 10:9~19）およびフォンウィルブランド因子（Denisら、1998、Proc Natl Acad Sci USA 95:9524~9529）を有した。乳癌細胞に対するこれらの遺伝子由来のGSEの効果は、このような「不可欠ではない」遺伝子の阻害は、望ましい腫瘍特異的な抗増殖効果または組織特異的な抗増殖効果を有し得ることを示唆した。

30

#### 【0098】

選択ライブラリにおいて富化された外見上不可欠ではない遺伝子の際立った例は（これは、乳癌処置に対する非常に有望な標的として独立して同定されている）、HSPCA（表2に含まれる）によって提供された。この遺伝子（これは、シャペロンタンパク質の熱ショック応答ファミリーに属し、このタンパク質は、成熟タンパク質のリホールディングにおける役割を果たす）の基本的機能は、細胞成長に必要とされるはずであることを示さなかった。しかしHSPCAは、腫瘍形成経路に関与するいくつかのタンパク質（Raf、Met、ステロイドレセプターおよびHERキナーゼファミリーのメンバーを含む）を安定化させる役割を果たすことが見出され、そして抗腫瘍抗生物質ゲルダナマイシン（Stebbinsら、1997、Cell 89:239~250）の標的として役立つことが見出された。このHSPCAを阻害するゲルダナマイシンアナログ17-AGは、乳癌細胞系統の成長を阻止することが示されており（MDA-MB-231を含む; Munsterら、2001、Cancer Res. 61:2945~2952）、そしてこのような細胞を化学療法誘導性のアポトーシスに感受性にすることが示された（Munsterら、2001、Clin Cancer Res 7:2228~2236）。17-AGは、現在臨床試験の段階にある。HSPCAの例は、GSE選択によって同

40

50

定された他の外見上不可欠ではない遺伝子が、癌の処置に対する類似の有望な標的を提供するようであることを示唆した。これらの潜在的な新規の標的のいくつかは、次の節により詳細に記載される。

【0099】

(5. 潜在的な新規の薬物標的)

選択遺伝子のいくつかは、癌の薬物開発に対する潜在的な新規の標的としての考慮を保証した。非限定的な例は、以下の通りであった。

【0100】

(L1CAM) L1細胞接着分子(L1CAM)は、8つのセンス配向のGSEおよび4つのアンチセンス配向のGSEによって成長阻害GSEの組で代表された。L1CAMは、神経細胞、造血細胞および特定の上皮細胞において発現される免疫グロブリンスーパーファミリーの200~220kDaのI型膜糖タンパク質であった。L1CAMの非ニューロン(短縮)形態は、黒色腫、神経芽細胞腫、および他の腫瘍細胞型(乳房を含む)において高度に発現された。L1CAMは、膜結合形態においてだけではなく、脳および腫瘍細胞の細胞外マトリックスにおいても見出された。可溶性のL1CAMは、グリオーマ細胞の移動を指向し、そして抗L1CAM抗体のうちの一つは、この移動を阻害することが見出された(Izumotoら、1996、Cancer Res. 56:1440~1444)。このような抗体は、初期のプロトタイプ因子として有用であり、癌の薬物標的としてL1CAMを批准し得る。

10

【0101】

細胞表面分子として、L1CAMは、異なる型の薬物に容易に到達可能なはずである。図7Aおよび7Bは、クローンのIPTG阻害細胞系統におけるL1CAM由来のGSEの形態学的効果を例示した。IPTGでの4日間の処理は、細胞形態を激変に変え、この細胞は、ラメリポディアおよび外見上病巣の接着プラークを発達した(図7A)。この効果は、L1CAMの標的化から予測されているように、IPTG誘導性GSEが細胞接着に影響を及ぼすことを示唆した。GSE誘導は、細胞成長を阻止するだけでなく、15~20%のIPTG処理細胞において有糸分裂の終局も誘導した。有糸分裂の終局は、腫瘍細胞死の主要な形態であり(Changら、1999、同書)、これは、異常な有糸分裂形状および複数の小核を有する細胞の形成によって特徴付けられた(図7B)。GSEが有糸分裂の終局を誘導する能力は、GSE阻害性標的の潜在的な有望さについての良好な一般的徴候であった。

20

30

【0102】

ヒトL1CAM遺伝子は、重篤なX連鎖した神経学的症候群(CRASH:脳梁発育不全、遅滞、失語症、痙攣性対麻痺および水頭症)を伴う患者において変異した。L1CAM「ノックアウト」(-/-)マウスは、成熟期に発達し、そして外見上正常に見えた(成熟マウスよりもわずかに小さい)が、このマウスは、CRASH様神経学的欠損に起因して寿命が短く、これは、神経突起成長の減少に関連し得た(Dahmeら、1997、同書)。これらの所見は、成人の癌患者におけるL1CAMの標的化は、神経系以外では主要な毒性を有するはずがないことを示唆し、ここで大半の薬物は、血液脳関門に起因して侵入しない。さらにこの神経学的効果は、胚発生の間のL1CAMの欠如にのみ由来し、そして成人におけるL1CAM阻害から発達しない見込みが大いにあった。

40

【0103】

(ICAM2)細胞間接着分子2(ICAM2)は、2つのセンス配向のGSEおよび1つのアンチセンス配向のGSEによって成長阻害GSEの組で代表された。ICAM2は、L1CAMと多くの類似点を有し、そしてまた、正常な細胞の成長に不可欠ではなかった(Gerwinら、1999、同書)。例えば抗ICAM2抗体は、プロトタイプ薬物についての興味深い可能性であった。

【0104】

(NIN283)この遺伝子は、神経損傷の際にシュワン細胞において誘導されていると最近記載されており(Arakiら、2001、J. Biol. Chem. 276:3

50

4131~34141)、そしてNIN283と称された。NIN283の誘導は、シュワン細胞の損傷応答の一部であり、次いでこれは、損傷された神経の成長を促進するように作用した。NIN283はまた、神経成長因子(NGF)によって誘導された。LICAMのように、NIN283は、主に脳において発現した。これは、リソソームに局在化し、進化において高度に保存され(DrosophilaおよびC. elegansにおいて同定可能なホモログを有する)、そして1つのジンクフィンガーモチーフおよびRINGフィンガーモチーフの独特の組み合わせを含んだ。これらの構造的長および局在化に基づいて、Arakira(2001、同書)は、NIN283は、ユビキチン媒介性のタンパク質修飾およびタンパク質分解に参与し得ることを推測した。タンパク質修飾におけるこの推定機能、ストレス誘導性および進化の保存によって、NIN283は、上記で議論されるHSPCAに対するアナログのようであった。 10

#### 【0105】

ここで、この遺伝子は、乳癌の成長阻害アッセイにおいて最も強力な機能的に活性なGSEのうちの1つを生じさせることが見出された。NIN283の機能的ドメインに対して利用可能な情報は、この目的タンパク質の低分子インヒビターの構造ベースの合理的設計に有用なはずであった。

#### 【0106】

(ATF4) Activating transcription factor 4は、これらの選択アッセイにおいて最も高度に富化されたアンチセンスGSEを生じさせた。ATF4のホモ接合体ノックアウトは、重要ではない発生異常(眼のレンズにおいて; Tanakara, 1998, Genes Cells 3: 801~810; Hettmannら, 2000, Dev. Biol. 222: 110~123)にのみ帰着し、これは、この因子が、正常な細胞成長に不可欠ではないことを示した。本明細書中で開示される結果は、ATF4を乳癌細胞の増殖に関係させ、そしてATF4の発現および機能は、ヒレグリン1(乳癌細胞の成長を刺激する因子)によって増大されるという当該分野における報告によって補強された(Talukderら, 2000, Cancer Res. 60: 276~281)。 20

#### 【0107】

(Zinedin) Zinedinは、WD反復ドメインを含む最近記載されたカルモジュリン結合タンパク質であり、これは優先的に脳において発現された(Castetsら, 2000, J. Biol. Chem. 275: 19970~19977)。この発現パターンは、zinedin標的化薬物が、任意の正常な増殖細胞に対する影響を有さないようであることを示唆した。しかしzinedin由来のアンチセンス配向のGSEは、IPTG依存性のBrdU自殺アッセイおよびIPTG阻害性の細胞系統を生じさせる能力の両方によって、乳癌細胞の成長を阻害することが本明細書中では見出されなかった。zinedinの構造分析は、カルモジュリンおよびカベオリンとの相互作用を媒介するような特定のドメインを示した(Castetsら、同書)。これらのドメインの構造ベースの標的化、ならびにzinedin-カルモジュリン相互作用の妨害に基づくスクリーニングは、zinedin標的化薬物の開発についての戦略として使用され得る。 30

#### 【0108】

(新規の遺伝子)この選択によって同定されるいくつかの遺伝子は、公知の機能を有さないか、公知の遺伝子または同定可能な機能的ドメインとの著しい相同性を有さなかった。これらの結果は、このような遺伝子に対する第一の機能的証拠を提供した。最も高度に富化され、そして機能的に活性なGSEのうちの1つは、GBC-1(Growth of Breast Carcinoma 1)と称された。GBC-1の翻訳されたタンパク質配列は、仮説に基づいた無名のタンパク質(受託番号XP\_031920)の部分的なセンス配向の配列に照合した。GBC-1 GSEは、ヘリカルリピートペプチドをコードした。このGSEの強力な成長阻害活性は、このペプチド由来の分子またはこのペプチドを模倣する分子が抗腫瘍活性を有するようであることを示唆した。本明細書中で開示されるGBC-1ペプチドは、プロトタイプ薬物とみなされ得、この構造を使用して、 40 50

合成化合物の合理的設計を指向し得た。

【0109】

本発明において同定される他の新規の遺伝子の中で、本明細書中でGBC-3 (Growth of Breast Carcinoma 3)およびGBC-11 (Growth of Breast Carcinoma 11)と称される2つの遺伝子は、最も高度に富化され、そしてこれらのGSEは、強力な機能的活性を示した。これらのGSEを含み、そしてIPTGでの処理によって効率的に成長阻害される細胞系統は、GBC-3阻害またはGBC-11阻害の細胞性効果の特徴付けに有用であった。GBC-3は、他の点では特徴付けられないEST AA443027に照合し、そして染色体3q29にマッピングし、GBC-11は、染色体14にマッピングし、そして任意の公知のcDNA配列を照合しなかった。GBC-3は、NCBI SAGEデータベース (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SAGE/sagevn.cgi>)を用いて行われる「仮想ノーザン」分析に従って、すべての細胞型において極めて低いレベルで発現されるようであり、これは、阻害のための容易な標的であり得ることを示唆した。

10

【0110】

(6. 試験化合物のインビボ試験)

表3に示される遺伝子の発現または活性を阻害する効能は、以下のようにインビボで試験された。

【0111】

表3における遺伝子の発現または活性を阻害する本発明のIPTG誘導性GSEを発現する細胞 ( $1 \sim 2 \times 10^6$ ) を、異種移植片として最も好ましくはマウスの一方の側腹においてマウスに注入し、その結果腫瘍成長は、視覚的にモニターされ得た。MDA-MB-231乳癌のマウス異種移植片におけるIPTG調節性の遺伝子発現は、例えばLeeら (1997, *Biotechniques* 23:1062~1068) によって当該分野において実証されており、そして本明細書中で記載される実験は、Leeらによって記載されるように実質的に行われ得たが、本発明のGSE含有腫瘍細胞を用いて行われ得た。逆に、GSEナイーブな腫瘍細胞は、各々のマウスにおいて反対の側腹に注入された。2組の注入マウスを、平行して収容および飼育し、1組のマウスは、Leeらによって教示されるような濃度でIPTGを補充された飼料を与えられ、そして他の組のマウスは、IPTG補充飼料を受けなかった。発現した腫瘍を、腫瘍細胞の成長の程度が致命的または過酷になるまで、過酷な動物飼育条件下でマウスに対して観察した。生検サンプルを採取し、そして腫瘍を測定し、そして動物屠殺後に体重を量って、各々のマウスにおけるGSE発現腫瘍と非GSE発現腫瘍との間の差異、およびIPTG補足を受けたマウスとIPTG補足を受けていないマウスとの間の差異を決定した。

20

30

【0112】

IPTGを受けたマウスは、成長がIPTGによって影響されないナイーブな異種移植片細胞の1つの腫瘍を生じた。これらの腫瘍は、IPTGを受けていないマウスのナイーブな異種移植片細胞およびGSE含有異種移植片細胞の腫瘍の両方のサイズに実質的に等しかった。対照的に、IPTGを受けたマウスのGSE含有異種移植片細胞から生じた腫瘍は、他の腫瘍よりもかなり小さかった。生検は、IPTGを受けていないマウスのナイーブな異種移植片細胞およびGSE含有異種移植片細胞の腫瘍の両方、ならびにIPTGを受けたマウス由来のナイーブな異種移植片細胞において腫瘍細胞の増殖を示し、そしてGSE含有異種移植片腫瘍における細胞の休止または死を示した。

40

【0113】

これらの結果は、表3に示される遺伝子の発現または活性の阻害が、インビボで腫瘍細胞の成長を阻害したことを実証した。

【0114】

上述の開示が、本発明のある特定の実施態様を強調し、そしてそれに等しいすべての改変または代案が、添付の特許請求の範囲に示されるような本発明の趣旨および範囲内にあ

50

ることが理解されるべきである。

【表 1】

表 1. 選択ライブラリにおいて cDNA インサートを含む  
クローンの 1482 の配列間で富化された遺伝子

遺伝子	受託番号	配列数 (s/as)	クローン数	機能的アッセイ*
ATF4	NM_001675.1	5(as)	369	A
STAT5b	NM_012448.1	4(s), 4(as)	152	A,B
GBC-1	NM_031221.1	2(s)	70	A,B
ARHG	NM_001665.1	5(s), 1(as)	43	A
VWF	NM_000552.2	6(s), 5(as)	39	B
MCM3	NM_002388.2	3(s), 4(as)	38	C
18S RNA	K03432.1	8(s), 4(as)	33	A
ITGB5	NM_002213.1	4(s), 1(as)	30	A,B
HSPCA	NM_005348.1	2(s)	27	B
STAT3	NM_003150.1	4(s), 3(as)	25	A,B
L1CAM	NM_000425.2	8(s), 4(as)	20	A,B
28S RNA	M27830.1	3(s)	17	A
C-FOS	NM_005252.2	3(s), 3(as)	17	A
C-KIT	NM_021099.2	4(s), 2(as)	12	A
FEN1	NM_004111.3	2(s), 2(as)	12	A
GBC-3	AA443027	1(s)	12	A,B
NIN283	NM_032268	1(s)	11	A
ADPRT	NM_001618	1(s), 1(as)	10	
CCN D1	NM_001758.1	2(s), 2(as)	9	A
CDC20	NM_001255	1(as)	9	B
EFNA1	NM_004428	1(s), 3(as)	9	A
KIAA1270	XM_044835	1(as)	9	A
RPL31	NM_013403.1	2(s)	9	A,B
7SL	X04248.1	4(s), 1(as)	8	C
ENO1	NM_001428	2(s)	8	
GSTP	NM_000852	2(s)	8	
ICAM2	NM_000873	2(s), 1(as)	8	
INT-2/FGF3	NM_005247	2(s)	8	C
LYN	NM_002350	2(as)	8	A
RPS24	NM_001026	1(s), 1(as)	8	
FGFR1	NM_000604.2	2(s), 1(as)	6	A
HES6	XM_043579	1(s)	6	B
PKC zeta	NM_002744	2(s), 1(as)	6	B
RAN	NM_006325	1(s)	6	
RPA3	NM_002947.1	1(s)	6	A
ZIN	NM_013403.1	1(as)	6	A, B
TAF7	NM_005642	1(s)	6	A
AP1B1/BAM22	NM_001127.1	2(s)	5	A
HNRPF	NM_004966	1(s)	5	A
HNRPMT	AF222689	1(s)	5	A
NFkB-1	NM_003998.1	1(as)	5	A,B
NR3C1	NM_000176	1(s)	5	A
PKC delta	NM_006254.1	2(s), 1(as)	5	C
BAG-1	NM_004323.2	2(s)	4	A
GBC-11	W84777	1(s)	4	A,B
HNRPA2B1	NM_002137	1(s)	4	A
IF1	NM_016311.1	1(s)	4	A
ITGA4	NM_000885	1(s), 1(as)	4	
JunB	NM_002229.1	1(s)	4	C
GRP58	NM_005313.1	1(s), 1(as)	4	
PKC eta	NM_006255.1	3(s), 1(as)	4	A,B,C

10

20

30

40

遺伝子	受託番号	配列数 (s/as)	クローン数	機能的アッセイ*
PSMB7	NM_002799	1(s)	4	
RAB2L	NM_004761	1(s)	4	
RPL35	NM_004632.1	2(as)	4	C
CDK2	NM_001798.1	2(s)	3	A
DAP-3	NM_004632.1	2(as)	3	A,B
EIF-3	NM_003750	3(s)	3	A
GBC-12		1(s)	3	A
IGF2R	NM_000876	2(s)	3	
KIFC1	XM_042626	1(as)	3	
MET	NM_031517	2(s), 1(as)	3	
PCNA	NM_002592	1(s)	3	
PPP2R1B	NM_002716	2(as)	3	
RAB5B	NM_002868.1	1(s), 1(as)	3	
TGDF1	NM_003212	1(as)	3	
ARFAPTIN1	NM_014447	1(as)	2	
CDK10	NM_003674	2(s)	2	B
CREB1	NM_004379	1(s)	2	
EDF-1	NM_003792	1(s)	2	
FLJ10006	XM_041928	1(as)	2	
FLJ13052	NM_023018	1(s)	2	
FOSL2	NM_005253.1	1(s), 1(as)	2	
GBC-13		1(s)	2	
GBC-14	AL557138	1(s)	2	
GBC-15	BE079876	1(s)	2	
GBC-16		1(s)	2	
GBC-17		1(s)	2	
GBC-18		1(s)	2	
GNAS	M21139	1(as)	2	
IL4R	NM_000418	1(as)	2	
ITGA3	NM_002204	1(as)	2	
MAP2K2	NM_002755	2(as)	2	
MBD-1	NM_015847	1(s), 1(as)	2	B
MCM-6	NM_005915	1(s)	2	
MYL6	NM_021019	2(s)	2	A
NUMA1	NM_006185	1(s)	2	
PC4	NM_006713	1(s)	2	
RAD23A	NM_005053	1(s)	2	
REL	NM_002908	1(s)	2	
RPA1	NM_002945	1(as)	2	
RPL12	NM_000976	1(s)	2	
RPS29	NM_001032	1(s)	2	
SQSTM1	NM_003900	1(s)	2	

\*A、BrdU 自殺アッセイによって確認された；B、IPTG によって阻害される細胞系統を生じた；C、低い感染率

10

20

30

【 0 1 1 5 】

【表 2】

表2. 細胞増殖に以前に関連された富化遺伝子

遺伝子	受託番号	配列数 (s/as)	クロー ン数	説明	癌との関連
CCN D1	NM_001758	2(s),2(as)	9	サイクリン、G1/S移行	癌において増幅
CDK2	NM_001798	2(s)	3	サイクリン依存性キナーゼ、 S期	癌において増幅
PCNA	NM_002592	1(s)	3	DNA複製	癌においてアップレ ギュレート
RPA3	NM_002947	1(s)	6	DNA複製、除去修復	
RPA1	NM_002945	1(as)	2	DNA複製	
MCM3	NM_002388	3(s),4(as)	38	DNA複製	
MCM6	NM_005915	1(s)	2	DNA複製	
FEN1	NM_004111	2(s),2(as)	12	DNA複製および修復	
CDC20	NM_001255	1(as)	9	CDC2-関連キナーゼ、有糸 分裂	
NUMA1	NM_006185	1(s)	2	後期有糸分裂における核の 再集合	
RAN	NM_006325	1(s)	6	低分子量GTPアーゼ、有糸 分裂	Rasファミリー
CDK10	NM_003674	2(s)	2	細胞周期、G2/M	
C-KIT	NM_021099	4(s),2(as)	12	増殖因子レセプター、癌遺伝	癌原遺伝子
EFN A1	NM_004428	1(s),3(as)	9	レセプターチロシンキナーゼ リガンド	RAS経路レギュレー ター
LYN	NM_002350	2(as)	8	チロシンキナーゼ	YES癌原遺伝子
INT-2/FGF- 3	NM_005247	2(s)	8	線維芽細胞増殖因子	乳房癌遺伝子
FGFR1	NM_000604	2(s),1(as)	6	線維芽細胞増殖因子レセプ ター、チロシンキナーゼ	乳癌において増幅
IGF2R	NM_000876	2(s)	3	インスリン様増殖因子2レセ プター	乳癌において変異
TDGF1	NM_003212	1(as)	3	奇形癌腫由来増殖因子 1(EGFファミリー)	奇形癌腫において過 剰発現
MET	NM_031517	2(s),1(as)	3	肝細胞増殖因子レセプター	癌原遺伝子
IL4R	NM_000418	1(as)	2	インターロイキン-4レセプ	
STAT3	NM_003150	4(s),3(as)	25	転写因子(増殖)	乳癌においてアップレ ギュレート
STAT5b	NM_012448	4(s),4(as)	152	転写因子(増殖)	
C-FOS	NM_005252	3(s),3(as)	17	AP-1成分	癌原遺伝子
NF $\kappa$ B-1	NM_003998	1(as)	5	ストレス、アポトーシス、パラ クリン活性	
TAF7	NM_005642	1(s)	6	転写開始因子	
PC4	NM_006713	1(s)	2	転写の一般的に正のコアク チベーター	
CREB1	NM_004379	1(s)	2	転写因子、サイクリンAを含 むcAMP誘導性遺伝子の発 現を調節する	
JUNB	NM_002229	1(s)	4	AP-1成分	癌原遺伝子
FOSL2	NM_005253	1(s),1(as)	2	AP-1成分	FOS関連
REL	NM_002908	1(s)	2	転写因子	癌原遺伝子
ADPRT	NM_001618	1(s),1(as)	10	ポリ(ADPリボシル)転移酵素	
PKC $\zeta$	NM_002744	2(s),1(as)	6	セリン/トレオニンプロテイン キナーゼ	腫瘍プロモーターに よって刺激
PKC $\delta$	NM_006254	2(s),1(as)	5	セリン/トレオニンプロテイン キナーゼ	腫瘍プロモーターに よって刺激
PKC $\eta$	NM_006255	3(s),1(as)	4	セリン/トレオニンプロテイン キナーゼ	腫瘍プロモーターに よって刺激

10

20

30

40

MAP2K2	NM_002755	2(as)	2	MAPキナーゼキナーゼ	髄芽腫転移に関連
GRP58	NM_005313	1(s),1(as)	4	膜シグナル伝達	
PPP2R1B	NM_002716	2(as)	3	プロテインホスファターゼ2調節サブユニット $\beta$	
BAG1	NM_004323	2(s)	4	アポトーシスインヒビター (Bcl-2ファミリー)	癌において過剰発現
DAP3	NM_004632	2(as)	3	正/負のアポトーシスレギュレーター	グリオーマにおいて過剰発現
ITGA4	NM_000885	1(s),1(as)	4	細胞接着、シグナル伝達	Src経路に関与
ITGA3	NM_002204	1(as)	2	細胞接着、シグナル伝達	結腸直腸癌の成長に関与
ITGB5	NM_002213	4(s),1(as)	30	細胞接着、シグナル伝達	胃癌の侵襲に相関
AHRG	NM_001665	5(s),1(as)	43	低分子量GTPアーゼ、細胞骨格再編成	Rasファミリー、Rastランスフォーミング活性に寄与
GNAS複合体	M21139	1(as)	2	Gタンパク質 $\alpha$ サブユニット、ノックアウトは胚致死	
HSPCA	NM_005348	2(s)	27	シャペロン、タンパク質ホールディング	乳癌において過剰発現、チロシキナーゼを活性化
EIF-3	NM_003750	3(s)	3	転写開始因子	
RPL31	NM_013403	2(s)	9	リボソームタンパク質L31	
RPL35	NM_004632	2(as)	4	リボソームタンパク質L35	
RPL12	NM_000976	1(s)	2	リボソームタンパク質L12	
RPS29	NM_001032	1(s)	2	リボソームタンパク質S29	
RPS24	NM_001026	1(s),1(as)	8	リボソームタンパク質S24	
18S RNA	K03432.1	8(s),4(as)	33	リボソームRNA	
28S RNA	M27830	3(s)	17	リボソームRNA	
7SL	X04248	4(s),1(as)	8	シグナル認識粒子のRNA成	

10

20

【 0 1 1 6 】

【表3】

表3. 細胞増殖に以前に関連されていない富化遺伝子

遺伝子	受託番号	配列数 (s/as)	クロー ン数	説明	癌との関連
<b>転写因子</b>					
ATF4	NM_001675	5(as)	369	転写因子の活性化	ヒレグリンによって乳癌において誘導性
HES6	XM_043579	1(s)	6	転写コファクター、分化誘導物質	
NR3C1	NM_000176	1(s)	5	糖質コルチコイドレセプター	
EDF1	NM_003792	1(s)	2	転写因子、内皮細胞成長を刺激、内皮細胞分化を抑制	
MBD1	NM_015847	1(s),1(as)	2	メチル化DNA結合タンパク質、転写インヒビター	
<b>RNA輸送</b>					
HRPMT1L2	NM_001536	1(s)	5	Hnrpアルギニンメチルトランスフェラーゼ	
HNRPF	NM_004966	1(s)	5	ヘテロ核リボ核タンパク質F	
HNRPA2B1	NM_002137	1(s)	4	ヘテロ核リボ核タンパク質A2/B1	
<b>シグナル伝達および細胞接着</b>					
ZIN	NM_013403	1(as)	6	カルモジュリン結合性WD反復タンパク質	
Arfaptin1	NM_014447	1(as)	2	POR1 GTP結合タンパク質に類似;細胞膜波うちおよびラメリポジウムの形成に作用し得る	
L1CAM	NM_000425	8(s),4(as)	20	細胞接着、神経系	
ICAM2	NM_000873	2(s),1(as)	8	細胞接着、細胞内	
<b>細胞内輸送</b>					
AP1B1/BAM22	NM_001127	2(s)	5	クラスリン結合性アダプタータンパク質	
RAB2L	NM_004761	1(s)	4	低分子量GTPアーゼ、細胞内輸送	Rasファミリー
KIFC1	XM_042626	1(as)	3	細胞内輸送	
Rab5B	NM_002868	1(s),1(as)	3	低分子量GTPアーゼ、小胞輸送	Rasファミリー
<b>タンパク質プロセッシング</b>					
NIN283	NM_032268	1(s)	11	ユビキチン媒介性タンパク質修飾	
PSMB7	NM_002799	1(s)	4	プロテアソームサブユニット	
SQSTM1	NM_003900	1(s)	2	Sequestosome1;ユビキチン媒介性タンパク質分解	
RAD23A	NM_005053	1(s)	2	ヌクレオチド除去修復、ユビキチン媒介性タンパク質分解	
<b>その他</b>					
VWF	NM_000552	6(s),5(as)	39	血液凝固	
GSTP	NM_000852	2(s)	8	異物代謝	
ENO1	NM_001428	2(s)	8	解糖	
IF1	NM_016311	1(s)	4	F <sub>0</sub> /F <sub>1</sub> ミトコンドリアATPアーゼのインヒビター	
MYL6	NM_021019	2(s)	2	収縮性	

10

20

30

40

FLJ13052	NM_023018	1(s)	2	NADキナーゼ(推定)	
GBC-14	AL557138	1(s)	2	チロシン3-モノオキシゲナーゼ/トリプトファン5-モノオキシゲナーゼ活性化タンパク質、とポリペプチドに類似	
KIAA1270	XM_044835	1(as)	9	アラニル-tRNAシンテターゼホモログ	
<b>未知の機能</b>					
GBC-1	NM_031221	2(s)	70	ヘリカルリピートペプチドを含	
FLJ10006	XM_041928	1(as)	2		
GBC-3	AA443027	1(s)	12	HC3q29	
GBC-11		1(s)	4	HC14	
GBC-12		1(s)	3	HC1	
GBC-13		1(s)	2		
GBC-15	BE079876	1(s)	2		
GBC-16		1(s)	2		
GBC-17		1(s)	2		
GBC-18		1(s)	2		

10

【 0 1 1 7 】

20

表 4. GSE のヌクレオチド配列

遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配列 番号	配列
16S RNA K03432.1	1	AS	4	1089 gccgctagagggtgaaatccttggaccggcgcaagagccaccagagcgaaagcatttgcacaagaatgttttca ttaatcaagaacgaaagtcgaggttcgaagcagatcagataccctcgttagttccgaccataaacgatgccgacc ggcgaatcgccggcggttattcccatgacccggcgg 1271
			5	1413 ccggacacggacagattgacagatttagctcttctcgtattccgttccgtgggtggtgcatgcccgttcttag ttggtagcgatttctgctggttaattccgataaacgaacaga 1529
			6	177 caaagattaagccatgcatgtctaagtacgcacgcccgtacagtgaaactgcgaatggctcattaaatcaagtta tggttcctttggtcgt 268
			7	1414 cggacacggacagattgacagattgatatgctcttctcgtattccgttccgtgggtggtgcatgcccgttcc 1482
			8	154 ctgccagtagcattgcttctcaagattaaagccatgcatgctaaagtacgcacggccgggtac 218
			9	199 taagtacgcacggccggtacagtgaaactgcgaatggctcattcaaatcagttatggt 255
			10	570 cggagagggcctgagaaacggctaccacatccaaggaagga 613
			11	177 caaagattaaagccatgcatgtctaagtacgcacgcccggta 217
			12	1040 cggaaactgagggccatgattaagaggggacggccggg 1074
			13	1433 cagattgatatgctcttctcgtattccgtgggtggt 1467
			14	224 aactgcgaatggctcattaaatcaagttatggttcttcttggctcgt 268
			15	185 aagccatgcatgtctaagtacgcacggcgg 214
			16	83 ccctactgatggtgttcttggccatgtaactcctcagtagaggaacccgaggttcagacatttgggt gtagtcttgggtgagggaccatgggggaacgtaccatctgt 200
			17	1 gaattcaccagcgttggattgtccaccactaatagggaacgtgagct 49
			18	136 cgcaggttcagacatttgggtgtagtg 162
19	29 cccagctactcgggggctgagggctggagatcgttggatccaggagttctgggctgtagtgcgctatgc cgatcgggtgtccgactaagttccgcatcaataggg 136			
20	70 ccaggagttctgggtgtagtgcgctatgccgatcgggtcgcgcactaaagtccggcatcaataggt 137			
21	144 ccggagcggggggaccaccaggttgcctaaaggagggtga 183			
22	24 gtagtcccagctactcgggaggtcgtgaggtggaggtatcgttga 67			
28S RNA M27830.1	10	S	10	83 ccctactgatggtgttcttggccatgtaactcctcagtagaggaacccgaggttcagacatttgggt gtagtcttgggtgagggaccatgggggaacgtaccatctgt 200
			4	1 gaattcaccagcgttggattgtccaccactaatagggaacgtgagct 49
			3	136 cgcaggttcagacatttgggtgtagtg 162
7SL RNA X04248.1	3	S	3	29 cccagctactcgggggctgagggctggagatcgttggatccaggagttctgggctgtagtgcgctatgc cgatcgggtgtccgactaagttccgcatcaataggg 136
			1	70 ccaggagttctgggtgtagtgcgctatgccgatcgggtcgcgcactaaagtccggcatcaataggt 137
			3	144 ccggagcggggggaccaccaggttgcctaaaggagggtga 183
			9	24 gtagtcccagctactcgggaggtcgtgaggtggaggtatcgttga 67

10

20

30

40

遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配列 番号	配列
	3	S	23	153 gggaccaccaggctgctaaaggagggtga 183
ADPRT NM_001618	9	S	24	2736 gctgtggcacgggtctaggacacacacttctggtggatcctgtcccagggtctctgggatagccc cgctgaagcgcccgtgacag 2821
	1	AS	25	2422 gacctccccctgagcagactgtaggcacacctgattccagcaggttgtcaagcatttccc accttggcctgcaacctgtctgc 2504
ARFAP11 NM_014447	2	AS	26	26 ttcaactgacaaaccgcccaggagacagtggaccggcgacctctcaaccagcc 79
ATF4 NM_001675 .1	359	AS	27	833 acaccttcgaattaaagcaacattcctcgtattccaggcaagcaccgcaacatgaccgaaatgagcttctctgagcagcg 909
	6	AS	28	833 gacaccttcgaattaaagcaacattcctcgtattccaggcaagcaccgcaaca 883
	2	AS	29	838 ---ccttagaattaaagcaacattcctcgtattccaggcaagcaccgcaaca 893
	1	AS	30	843 -----gaattaaagcaacattcctcgtattccaggcaagcaccgca---- 880
	1	AS	31	864 cgttggctcagcaagctctgttggctcatttggctgcttggcttggctgg 909
IFI NM_016311 .1	4	S	32	13 ccagcagcaatggcagtgacggcgttggcggcggcagctggcttggcgttggggc 69
BAG1 NM_004323 .2	3	S	33	434 cggggacgaggagtcgacctcgaccgggagcggagggtgaccaggaggaaatggcggcagctgggtccaccgtga ctgtccaccaccagc 518
APIB1 NM_001127 .1	5	S	34	461 ggaggtgaccagggaggaaatggcggcagctgggtcaccctgactgtcaccaccagc 518
	1	S	35	275 gccaggtcagcctgacatggccattatgcccgtcaacaccttggaaaggactgtgagga 336
	1	S	36	286 gactgacatggccattatggccgtcaacaccttggaaaggactgtgag 334
CDK20 NM_001255	4	AS	37	1001 gccaggacacctgctacggccttgacagccccttgatgctgggtgaaatgctgcagagggaa cccagccacctctcccggagcactggcccacacatgaccagttatcattaccaccactggccaaatgtcgtg catttggggcccagcagcccacaccttcttggctggccactcagtgaggccacatgggttctctgct 1209
CDK10	1	S	38	1159 gccccagccacctcccaggggccagagcactgtaaac 1199

10

20

30

40





遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配列 番号	配列
	1	AS	70	actttctgtggcagctccacagatgaggtctt 1291
FEN1	5	S	71	467 gacagtcacctcaacctcaagcagcggcttctcagctggtggatggg 514
NM_004111				634 gccacagctcaagtcaggcgagctggcccaacgcagtgagcggggctgaggcagagaagcagctgacagcagggc
.3	4	AS	72	tcaggctgctgg 720
	2	AS	73	841 ggcagagccagctgctgcccctggggaagctggcgaagtctatgctgctggctaccga 900
	1	S	74	634 gccacagctcaagtcaggcgagctggcccaacgcagtgagcggc 677
				651 gccacctggacaaaacgcattgagcggcggcctgagggcagagaagcagctgatacatgctcaagctgctgg 720
FGFR1	1	S	76	2004 ggtaacagtgctgctgactcccagtgcatccatgaactctgggggttcttctggttcggccatcagggctctcct
NM_000604				ccagtgggactcccctgctagcagggctctctgagtatgagcttcccgaagaccctcgc
.2	1	AS	77	gggagctgctcgggacagactggtcttaggc 2169
	4	S	78	2844 ggaggaactttcaagctgctgaaggagggtccaccgcatggacaagcccagtaactgccccaaagagctg
				1930 ggtaccaagaagtgactcccacagccagatggctgtgcacaagctggccaaagcagcactcctctgctgcagga
GBC-1	68	S	79	caggtaacagtgctgctgactccagtg 2029
XM_031920	2	S	80	876 tcctcacatcccagacgatggcggccaggcagagacgctcctcacttcccagcgggtagcggccg 943
				876 tcctcacatcccagacgatggcggccaggcagagacgctcctcacttcccag 928
FLJ10006	2	AS	81	1010agaaaagtggagaccctcaggaggctgagccagtgagtcagcaaaatgaagagatccccgaacccccgaatcagtgga
XM_041928				ttcggaaaagtggatcc 1102
FLJ13052	2	S	82	2508 ctaacacagcaggggactcaaacgcgtgattctcctctgctctccc 2556
NM_023018				
FOSL2	1	S	83	708 ggcggggctggacaatgcccagcgtctctgtctcaagcccactcagcattgctggggcttctacggtgaggatcccc
NM_005253	1	AS	84	784 881 ggtgactctctgctccaggacgctagatagtgga 848
.1	4	AS	85	437 cagagcccccaaacgctgggcagagttgacaggaccccaaatgctaaaagtgtggagg 378

遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配列 番号	配列
W84777				配列
GBC-12	4	S	86	tgggagaccgggagcgggggtgggggtgctcctcagcccgggagagctagtcagccggcccgccacacagcatactt aggagcaaggactggacctgctctctcgcggtagcgga
GBC-13	3	S	87	accctggnaacatgnaaataaaaacaacttgggttttgaaaaaaccgcaaacgcttatgggtgtggatg taacacaagggtgtggtgt
GBC-14 AL557138	2	S	88	176 tggaggaaaccctgtctcggaggctgtagcctgtgagcagcgagatccagggacag 236
GBC-15 BE079876	2	S	89	107 cagctaccagaagtctgaggcaggagaaatgctgaaaccggggagcagagg 159
GBC-16	2	S	90	cagcgatccgtccagcagatgacgaatatcagcggcoattccggcataccgagctgtgcataatgcccgcaga ctgtgct
GBC-17	2	S	91	cggaaagagctcacaatgctcattcggctcggctcgggtgtgtgctgttcttataactgtggcaattcagg tgctcgtctgaaacggaggtactcaatggagtcctcaacaatgagggccctgttcatggcttctgtgtggc cgttcgttccaatgttct
GBC-18	2	S	92	cgatgattatttcttggcaagtttttagaagacgtcaaaaatgattacatcttttaaacgtggtttattac cggc
GBC-2	1		93	1 agagcaggcgtgaagtccacacgccagcccccgtcgcagtggtggttccgagcaggtacgtctcgcggcgcg tgcgga 81
GBC-3 AA443027	12	S	94	4 cgggatgaagtgcaccagcagaaataccagagaccgagcgaatggcccagggtcagctccaccgaaaccgggagtcag cgaagacgtctc 101
GBC-4 AV710590	1	AS	95	87 cctcgtcaggattgcttcccgcggtgctcccgggtgcaaggaaagccagcaacttgccacagca gccatctttct 1
GNAS NM 000516	2	AS	96	44 cgcgcagctcccccccctcgcagcggccgagggggtgatggccgcgggcccag 106
GSTP NM 000852	7	S	97	275 ggaccagcaggagccctcgttgacatggtgaatgacggcgtggaggacctccgctgca 336
	1	S	98	670 tgcctgctggtttcccctctctcagcatatgtggggcgcctcagcggcccgcccaagctca

遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配 列 番 号	配列
HES6	6	S	99	aggccttcctggctccctgagtcactgaactcccatcaatggcaacggaaacagtgagg gttggg 537 935 gcaagggaagccctggtaaacagccagctcagggcccccagcccgcttcttaagaaaaacttttagggg acctgcagctctg 1013
HNRPA2B1 NM_002137	4	S	100	826 cggaccaggaccagggaagtaacttttagaggagatctgatgatatggcagtgggacgtggattt gggatggctata 902
HNRPF NM_004966	5	S	101	1000 caggcttggaaaggatgaggcctggctacagcaagctacaggggttacgagaggtacagt ggcctcagtgatggctacggcttcaaccagcctgttcgggagagacctcagctactgtctctcgggaatgtat gaccacagatagcccac 1157
HRMT1L2 NM_001536	5	S	102	2707 ggtgcgggtgaagatggcggcagccggccgggaactgcat 2748
HSPCA NM_005348 .1	24 3	S S	103 104	1554 caaggaccaggtagctaaactcagcctttgtggaacgtcttcgggaaacatggc 1605 1553 ccaaggaccaggtagctaaactcagcctttgtggaac 1588
ICAM2 NM_000873	5 2 1	S S AS	105 106 107	12 ggcagcccttggctggctccctgagcccgctggagactgccagagatgtcctctttcgggta caggaccctgactgtggcctcttccctctgactgctg 112 705 ggcctgtgtcggacagccagatgggtcatcatagtcacggtggtcggtgttctccctgt 768 745 gccgctcactccctgtagtgccatccgctgctggcgaagtgctggccggaagatgaagcaga gcaggacagatgtcacgaacagggacgcaaccacccgaccca 850
IGF2R NM_000876 IL4R NM_000418	2 1 2	S S AS	108 109 110	903 gaagctggtgcgaaggacagggcttctctgagttaggt 941 1571 gcggtgcaccacgacggnaagaagcctatgacctgcggtggtccgcatgcagaacc 1631 1178 ctctctctctcacactccacggngcctcaaaactcaacacatcgaccacgctgagctct ctggccagaggactgtctgtgatctccactgggaccatgctgatttccagagcc 1300
INTB5 NM_002213 .1	25 2	S S	111 112	67 tggggctctgctgctcctgcccggctcggctcgaactgactgaggagtgccacctcatgtgaaga atgtctgataatccaccataatgtgctgctccaaaggagacttcggaagcc 198 2088 ccaaggactgcctcatgattcacctatgtgagctccccagtggaagtcacaacctgaccgtccctc agggagccagagtgtagaaaccccccaacccatgacctctct 2203
	1	S	113	1722ggccatggcgagtgctcactgcgggggaatgcaagtggcatgcaggttaccatcggggacaactgtaactgct

遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配列 番号	配列
	1	S	114	cgacagacatcagcaca 1808 2118gtggagctcccagtggaagtcacaacctgacctcctcaggaggccagagtggtggaacaaccccccaa cgccatgaccatcctcctctggtg 2208 2047tgaaaagatgaccaggaagctgtgctagtcttctaca 2082
	1	AS	115	
ITGA3	2	AS	118	1993 tgggtcctcccccagagcgtccgggtcgggtctcgcacgtgatctcaggagcaattt NM_002204 cggagcgtctctgtctactggcctg 2085
ITGA4	2	S	119	1188 ggcgcaaccggccccgaaggccgctccgggagacggtgatgctgtgctgtgcttggcctgggggt NM_000885 ccgacggccgccccctacaact 1276
Jumb	1	AS	120	2797 tgtgtctacagttagcttctctgtggaacactgtatgcttctnctgtaatca 2848
NM_002229	1	S	121	306 cgggatacggccggccctggtggcctctctacacgactacaac 353
.1	1	S	122	322 cctgtgtggcctctctacacgactac 349
KIAA1270	9	AS	123	1591 cctgtccaaggaggccacacagcgtggtggccttccccacggagggccactgctgtcccgtcctctgt XM_044835 atacagttgcaacacctgggctcacagt 1683
KIFC1	3	AS	124	2193tctggatccgtcttacttctctgtgtggcctgagcagtagtaccataacacactggttccacctggaggcaa 2125
XM_042626	1	AS	125	4465 ttgggaccaccaggaagacacacttggatgtgtgtgtgggtaccgaaggcagcgtgtgtatggagctcctgaaagc LICAM cggccatgggtgggc 4392
NM_000425	1	AS	126	2457 caggcaatcctgagctggaaggcattgaaatcctcaactcaagtccgctgctggtcaagtggcggcgggtgg .2 acctggcccaggtcaaggccacctccgcygatacaatg 2568
	2	S	127	1389 agtgtcagtggtgacgagatggaacaacagtcttcaggagcaacgttcttccctatgccaatggga ccttggcatttgagaacctccaggccaatgacaac 1495
	2	AS	128	1518 gccaatgacccaacaatgtaccatcatggttaactgaaggttaagatgcaactcagatcactcaggggcc cgcagcaacaatcgagaagaaggttccaggg 1623
	1	S	129	666 accaggaccatcctcagaaggaacccattgacctcgggtcaaggccacaacacagcatgtgacaggaaagcc

10

20

30

40

遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配列 番号	配列
	1	S	130	gagcctgctcttcccccaactccagcagccacc 774 ggcaacctctacttttggcaatgctgctccctccgacaaceactcagactacatctgccaagccccatttcccagg caccaggaccatcatt 680
	1	S	131	ccaaagaaagagtggtggtaccctgtaccagtgcccccaact 294
	1	S	132	ggccttcggagccctgtgccaggttccagtggtgacgaggtgggacaacagtgctt 1427
	1	S	133	gacagaaagccgcccctgtcttcccccaactccagcagccacctgggtg 779
	12	S	134	aatatgaaggacaccatgtgatggagccacctgtcatcac 133
	1	AS	135	ccccctggatgaggggggcaaggggcaact 2917
	7	S	136	aatatgaaggacaccatgtgatggagc 120
LYN	1	AS	137	tacatcatcacgagttcatggtcaaggggtggttggatttccctcaagagtgatgaaggtggcacaaggtgctg
NM_002350	4	AS	138	ctgccccagctcattgactctctggccccagattgca 1353
PSMB7	4	S	139	ggctgtacgtgtggccaccaagggagggccatctacatcacccg 1255 caagaattcgtgagcgaagccatcgcagctggcattcttcaacgacctgggc 647
MAP2K2	1	AS	140	tcattcgtctttgagttcggccaccttggcttcttgggtgag 475
NM_030662.1	1	AS	141	cggctccggagccatgtaggagcgcgtgccacgaaagagtgggccatggagttctatgagct ggccgctcaccccgaagtcaacagcttgatctcc 977
MBD1	1	S	142	2829 cctcgtgccgaattcttggccctcgaaggccaaattccctatagtgagtcgtattaattcg 2889
NM_015847	1	AS	143	2846 tttatacgaactcactataggaaatttggccctcgagcc 2885
MCM3	3	AS	144	2207 cactccaaagagcggcagactcacagagaccaaaggaaatcccaaaaagtggagttgagtgatccaggttgaag gcattcaaggtggcccctcttgatgttccggggagctcagcaggtcaatcggcatgaatcgcctcacagaa tccatcaaccgggacagagagagcccttctcttcagttg 2394
NM_002388	6	S	145	1597 tggcccttgggtagtgctgtggaatattcctggcccacagatgatcccccaactttagcccggaaagatccagcaggacacc cagat 1675
.2	14	AS	146	1707 .accaaagaaaaaaagagaaatggtaggtcagcaattcatgaaagaagtacatccatgtggccccaaaaatcatcaa gcc 1783

10

20

30

40



遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配列 番号	配列
NM_006713				
PCNA NM_002592	3	S	164	1 cggctacaggcaggcgggaaaggaggaagtctagctgggttcggcttcaggaggcctcaga gcgagcggcgaacgctcgacgcggctgagacct 97
PKC delta NM_006254	1	S	165	897 gccccatacaaccagaagctttggctgaggctttgaaccacaagtcacccagagagcctccc ggagatcagactcagctcctcagagcctgttgggatatatcagggttcggagaagaagaccggagtt 1024
	1	S	166	667 gatcattcggcagatgcaatggcaccgcggcacaagccgggacacatatatccgaaaga acgcttcaacatcgatgccaccgcttcaaggttcaaacactacatg 775
	3	AS	167	1935 caccagagactacaagtaacttgaaccagagttcctgaacggaaggcgcctctcctacagcg 2000
PKC eta NM_006255	1	S	168	327 tgggccagaccgaccacaagcagaagaccacaacccacgtacaacgagggttttgcgtaacgtcacccgacg
	1	S	169	383 tgcgtaacgtcaacgacgagcggccacctcgagttggccgcttccacgagacccccctgggctacgaccactt cgtggccaactgacacctgcagttccaggaget 486
	1	AS	170	371 aacgagggttttgcgtaacgtcaccgacggccaccctcgagttggccgcttccacgagacccccctggg
	1	S	171	362 cccacgtacaacaggaggttttgcgctaa 390
PKZETA NM_002744	4	S	172	386 acggccaccttccaagccaagcgtttaaaccagggagcgtactgcggtcagtgccagcg 445
	1	S	173	163 ccgctcaccctcaagtggtggacagcgaaggtgacccttgcaggtgtcctccagatgg agctggaaagggtttccgctgctggccctcagtgccagggatgaaggcctcatctcatg 283
	1	AS	174	842 gacgtractcaatgaccaggaacaaccgacttgcgtctgaaagcagggatgtaatccgacca ggaagggttggctggatgcctgctcaaaacacgtgtctctgtctgtaccagtcataatcctcgccatcgcg
PPP2R1B NM_002716	2	AS	175	504 acggaattgctgctctgattctctgctttaaaccagcatttgatgccctgggtagcaaacgctg acaaacccacatgc 578
	1	AS	176	805 aggaaccatggcttcttgagctctgaaaaatctgtcagcccaccatatagcgaaagcggcca agatttactctgctgcttctcgaagtg 893
RAB2L NM_004761	4	S	177	871 gtcaacagtttaacaaggctggcagggggcagtggttagttctgtcctggggggtacttccc actggagagggacctggggaggtgaccatacggcc 965

配列

遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配列 番号	配列
RAB5B	2	S	178	834 aacaccaggcagctgttccgactggcctcct 864
NM_002868	1	AS	179	1345 gggcgagggtggagggtcgaggggtcaactgtggctctgta 1383
.1			180	1351 gcctgctcanagaagactggcaggactgggaggcggacagatgggcccctcttggcctcttccccagctct 1419
RAD23A	2	S	181	750 ggatggtgacctgtgagaatgaaagtggagcccagcgtcaagaagtctagtttttataggcagctgtcc 816
NM_005053	6	S	181	
NM_006325	2	S	182	1727 tgaatcttgaiaacccctcatgttaattcagtgtttagaccacaagacttgagacagctccatc agatgtcctcttccagtatgtcagcagggcgaatcccaatactactgcccattgtttcacaatcagatgcattt gagggtcttgacttcaagttgtgcagataaacgcatgataaatg 1906
REL	2	S	182	
NM_002908	2	S	183	518 aggagcagagccaggcggccatcacaccgagcaggcggccagcctcggaacacagatcc acgctgtgcctacctcgaatgctcagccctgcacaggatgggtgtcaaggaaagtgttcgcccag gctgtccggcctgtgctc 660
AHRG	36	S	183	
NM_001665	2	AS	184	377 ccattgccagtcgccctctctatgaaacbtggtggcaagtggtgcatccagaggtgtgcccaca ctgccctgatgtgccatcctgtggtggcaccagaagaccctgagagcccagcctgacaccctacggc 511
.1	1	S	185	518 agggagagaccaggcggccatcacaccgagcaggcggccagcctcggaacacagatcc 273 ggcaatggagaacacagatgacgaaacgttggctgagggtaggagagtgtacggaggcgggtcactact cctcctggcccgcagttgccacaggttcagggttcaactttgctg 384
	2	S	186	
	1	S	187	516 caccatcctgttgcagggctgagcattcgagtaggtaggcacagcgtggatctgcttggcccagtgccctggc cctgtgctgtgtgatggggcctggcccctgctccttg 622
	1	S	188	541 gagcacagcccggacagcctcggcggctattccttggctccatcgtgtgcaggggtggcgtcctagg tagcgcagcgtggatattcctcggccagtgcatggcccctgagtggtgtg 660
RPA1	2	AS	189	2163 tggagaagcaaaaacctagttacataatttacttctatggtctgcagttaggggtcagtgactta cgacataattcctgctgtgatgataatgaaatgacagaagcctgaaaggctgagtgagtga 2285
NM_002945	2	AS	189	
RPA3	6	S	190	8 agccgcagttttggaccataatcatgg 34
NM_002947	6	S	190	
.1				

10

20

30

40

遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配列 番号	配列
RPL12	2	S	191	24 ggccaaggtgcaacttccttcggtcgtccccaatccgggttcacccgacaccagccgctccca ccatgccgcccgaagttagaccacaaga_114
NM_000976				
RPL31	9	S	192	28 tggcgagaagaaaaggccggtctcgcacacgaagtggttaaccocgagaat_80
NM_013403	1	S	193	44 ggcgcgtctcgcacacgaagtggttaaccocgagaat_80
.1				
RPL35	2	AS	194	12 ggcggcttctgacagcaatggccaagatcaaggctcgagatct_53
NM_004632	1	AS	195	12 ggcggcttctgacagcaatggccaagatcaaggc_44
.1				
RPS24	4	AS	196	351 gccagcacaacattggcctttgcagtcgccctgacttctcaattctgttcttgcgttcc_421
NM_001026	4	S	197	373 cagaatgaagaaagtcaggggactgcaaggccaatgttggctggcaaaaag_427
RPS29	2	S	198	4 ttaacctctgcaactgctgagagcaagatgggtcacccagcagctgactggagcca_59
NM_001032				
SQSTM1	2	S	199	1278 ggcagcaaaaacaagtgcacatgaagggggtccctgtgtgtgtgc_1324
NM_003900				
STAT3	11	S	200	2288 gagagccaggagcatcctgaagctgaccaggtagcgtgaccatgcccataccctgaagaccagttta tctgtgacaccacagcctgcagcaatccatgacctgcccgatgccccccg_2407
NM_003150	7	AS	201	2111 aagaccagatccagtcctggaaaccatacaaaaagcagcagctgaacaacatgtcatttgcgaaatcat catggctataagatcattggtatgctaccaatctctg_2218
.1				
RPS24	2	S	202	667 ggatgcccgaagagagtgaggatctagaacagaaaatgaaagtggtagagaatctcca ggatgacttggattcaactataaacctcaagagtc_754
RPS29	2	S	203	431 ttcctgcaagagtcgaatgttctctcagcaaatctacgaagaatcaagcagttcttcagagcaggtatc ttgaaagccaatggagatgcccggattgtggcccgggtgcc_545
NM_001032	1	AS	204	834 agatgctcaactggctgaccagatgggagaagcattcgtgagtgagctggcggggcttttctcagcagtgaggt acgtgcagaa_918
RPL35	1	S	205	413 gaccagcagtatagccgcttctcctgcaagagtggaatgttctctatca_459
NM_004632	1	AS	206	935 gagctgctgactggaagagggcgaacagatggagtcacgtgcagaa_980
STAT5b	102	AS	207	287 tcttgataatccacagggagaacattaaaggccaccagctcctggaggcccttgggtgag

遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配列 番号	配列	
NM_012448 .1	1	AS	208	gagctcagaagaaggcagaacaccagggtgggggaagatgggttttt 391	
	3	S	209	aggggggaagtg 384	
		S	210	1941aacaaagcagcagggccacgacctgctcatcaacaagccagatgggacctctgctgcgttcagcgactcggaaa tcggggggcatcaccattgcttggaaattga 2047	
		S	211	1409 aaacgaatcaagaggtctgcccctgctgctgagagtgctgacgagtgctgacggaagaagtccacaatcttggttgactc acagttcagtggtgggaaatgagctggt 1513	
	3	AS	212	287 tcttgataatcctcagagggccatttaagcccaccacccagctcatgaaagggcatggtgagtagctgcagaaagaaga gcagaactccagggtgggggaagatgggttt 389	
		AS	213	287 tcttgataatccacaggaagaacatttaagcccaccacccagctccctggaggg 334	
	2	S	214	1467acaatcctgttgaaatcccagttcagtggtgggaaatgagctggt 1513	
		S	215	1484ccagttcagtggtgggaaatgagctggt 1513	
	TAF7 (TFIID)	6	S	65 cgagctggcctctctcggcaagatttggcgtgaccatccccgggccccttccatcaataatcgggt 127	
	NM_0055642	3	AS	216	57 ggtcgtagcagaagcagagcaagggctccaggggaaactggaggggtt 105
	TDFI	8	S	217	3646 ccagcatggcaaggtgggtgacctggaggaagggccacattgtgccccagagctgcgagagaggaatctccggga gaacgggtatgagtgagtgagtgccgctataaacagctgcaactgcctg 3768
	NM_000552 .2	3	AS	218	4687 ccttggcccgaagcccctcctcactgccccccacatggcacaagtcactgtggccccgggctcttgg gggtttcgacctggggcccaagaggaactccatggttctggatgaggcgttc 4813
		3	S	219	1124 gcccgacctgtcccagggaaatggtgtagcggctggaccaccacagcgcgtgagcccaagtgtgc cctgctggatg 1207
	2	S	220	7776 agtgcgtggaagtgccatctgctgtgaggtggtgactggctaccgggggggactcccagttcct g 7851	
S		221	5082 tggtagcaggggtgaccggagcagggcggcccaacctggtctacatgggtaccggaaaactcg 5144		
S		222	6003 agtgcacacccgctgacttccagccagatggccagacctgctgagagatcaggtcaactgt 6067		

配列

10

20

30

40

遺伝子/ 受託番号	クロー ン数	配 向	配列 番号	配列
ZIN NM_013403 .1	1	AS	223	4725 acatggcacaagtccactgtg9g9cccccggggctctt9g9gggtttc9gacctg9g9gcccccaagagg9gaaactccatg9gtt ctggatg 4805
	2	S	224	4376 tccaccg9gaggtcttgaataacacacactgttcccaaatcttcaagcaagatcgaccgacctgaagc 4440
	1	AS	225	7818 ctggctcaccg9gggactcccagctctcctggaagatgtc9gctcccagtg9g 7874
	1	AS	226	1380 accctccg9gacctccctctctcgagactgcaaacactgcaatttgcgaaacagcc 1436
	2	AS	227	8762 agctgcatgggtgctgctgctgccc 8786
	6	AS	228	1782 ctca9tggccttcaccagcac9gacctgcccacatc9tggcctcctccgctctg9gcaacc9tctttgtatga catggaggttggca9tggcctcctcac9ctggagtcc9ggg9gagcagc9gtccaccca 1916

【 0 1 1 8 】

10

20

30

40

【表5】

表5. センス配向のGSEによってコードされるペプチド

遺伝子	GSE 配列 番号	ペプチド 配列番号	親タンパク質 における位置 (AA残基)	配列
ADPRT	24	229	860-887	LWHGSRITNFAGILSQGLRIAPPEAPVT
IF1	32	230	1-16	MAVTALAARTWLVVWG
BAG1	33	231	53-80	RDEESTRSEEVTRREMAAAGLTVIVTHS
BAG1	34	232	62-80	EVTREEMAAAAGLTVIVTHS
APIB1	35	233	76-97	YAKSQPDMAMAVNTFVKDCED
APIB1	36	234	81-96	PDMAAMAVNTFVKDCE
CDK10	38	235	347-360	APATSEGGQSKRCKP
CDK2	40	236	51-66	EISLLKELNHPNIVKL
CDK2	41	237	159-177	YTHEVVTLWYRAPEILLGC
c-FOS	45	238	362-378	PELVHYREEKHVFPQRF
c-FOS	47	239	148-158	KMAAAKCRNRR
CREB1	54	240	27-49	VQAQPQIATLAQVSMFAAHTSS
CCND1	55	241	56-91	MRKIVATWMLEVCEEQKCEEEVFLAMN YLDRFLSL
EDF1	61	242	22-37	AKSKQAILAAQRRGGD
EIF1	62	243	1050-1063	RGGADDERSSWRNA
EFNA1	67	244	53-79	HYEDHSVADAAMEQYIL YLVEHEEYQL
FEN1	71	245	90-101	POLKSGELAKRS
FGFR1	76	246	427-470	VTVSADSSASMNISGVLLVVRPSRLSSSGTPMLAGVSEYELPEDPR
FGFR1	78	247	402-421	GTKKSDFHQSQMAVHKLAKSI
GBC1	79	248	36-54	LTSQTMGGQAFILLTSQKG
FOS2L	83	249	246-261	IKPISIAGGFYGEEPL

10

20

30

40

遺伝子	GSE 配列 番号	ペプチド 配列番号	親タンパク質 における位置 (AA残基)	配列
GSTP	97	250	83-102	DQEEAALVDMVNDGVEDLRC
GSTP	98	251	170-210	CLDAFPLLSAYVGRLSARPKLKAFLASP EYVNLPIINGNGKQ
GBC-3	94	252		WMDGRDEVTOOKYQRPETEWPRVSLH PEPEDAAKTSLSE
HES6	99	253	874-948	RAAPGNQPSQAPAPFLKLLGLQL
HNRPA2B1	100	254	786-866	ISDQDQEVLEEDLMDMAVDVDLGMAI
HNRPF	101	255	226-278	AGLERMRPGAYSTGYGGYVEYSGLSGDYGYFTTDLFGRDLSYCL SGMYDHRVGD
HRMT1L2	102	256	2701-2748	GVGAGEDGSGRRELH
HSPCA	103	257	499-515	KDQVANSAFVERLRKHG
ICAM2	105	258	1-19	MSSFGYRILTVLALFTLICC
ICAM2	106	259	216-229	YEPVSDSQMVIIVT
IGF2R	108	260	253-265	KLVRKDRLLVLSYV
IGF2R	109	261	481-496	KKRYDLSALVRHAEPF
INTB5	111	262	12-56	LLGLCALPRLAGLNICTSATSCEELLIHPKCAWCKEDFGS
INTB5	112	263	688-724	KDCVMFTYVELPSGKSNLTVLREPCGNTPNAMTIL
INTB5	113	264	457-485	GHGECHCCECKCHAGYIGDNCNCSTDIST
INTB5	114	265	697-726	VELPSGKSNLTVLREPCGNTPNAMTILLA
ITGA4	119	266	18-41	PEAAVREIVMLLCLGVPTGRPN
JUNB	121	267	19-34	GYGRAPGGLSLHDYKL
JUNB	122	268	24-32	PGGLSLHDY
L1CAM	127	269	457-491	SVQWLDEDEGTTVLQDERFFPYANGTIGRDLQAND
L1CAM	129	270	216-251	TRTIQKEPDLRVRKATNSMIDRKRLLPFTNSSSH
L1CAM	130	271	191-220	GNLYFANVLTSDNHSYCHAHFFPTRTII

10

20

30

40

遺伝子	GSE 配列 番号	ペプチド 配列番号	親タンパク質 における位置 (AA残基)	配列
LICAM	132	272	450-469	AFGAPVPSVQWLDEGTTVL
LICAM	134	273	25-39	EYEGHHVMEPPVITE
LICAM	131	274	79-91	KEELGVTVYQSPH
LICAM	133	275	237-253	DRKPRLLFPNTSSHLV
PSMB7	139	276	193-211	EAKNLVSEALAAAGIFNDLG
MCM3	145	277	519-543	PLGSAVDILATDDPNFSQEDQDDTQ
MCM3	148	278	789-802	LSKMDDDNQVMVSE
MCM6	151	279	690-711	PAPVNGINGYNEDINQESAPKA
MET	154	280	1253-1317	YSVHNKGTGAKLPVKWMALESQTQKFTTKSDVWS FGVVLWELMTRGAPP YPDVNTFDITVYLLQG
MYL6	155	281	2-23	MCDFTEDQITTEKFAQLFDRIT
MYL6	156	282	7-32	EDQITTEKFAQLFDRIGDGKILYNQ
NR3C1	159	283	132-155	STSVPENPKSSASTAVSAAPTEKE
NUMA1	160	284	1314-1332	ELTSQAERAELQELKAW
GRP58	161	285	360-382	NLKRYLKSEFPESNDGPKVVV
PC4	163	286	32-49	APEKPVKKQKIGETSRAL
PKC delta	165	287	281-322	GINQKLLAEALNQVTRASRRSDSASSEPVGIYQGFKEKKTGV
PKC delta	166	288	204-239	IIGRCTGTAANSRDITFQKERFNIDMPHRFKVHNYM
PKC eta	168	289	55-84	GQTSIKQKTNKPTYNEEFCANVIDGGHLEL
PKC eta	169	290	73-106	CANVTGGHLELAVFHETPLGYDHFVANCITLQFQE
PKCzeta	172	291	130-148	GHLFQAKRFNRRA YCGQCS
PKC zeta	173	292	55-94	PLTLKVVVDSEGDPTVSSQMELEEAFLARQCRDEGLIHH
RAB2L	177	293	291-321	VTQFNKVAGAVVSSVLGATSTGEGPGEVTR

10

20

30

40

遺伝子	GSE 配列 番号	ペプチド 配列番号	親タンパク質 における位置 (AA残基)	配列
REL	182	294	518-553	NLENPSCNSVLDPRDLRQLHQMSSSMASGANSNTT
AHRG	183	295	131-177	EQSQAPITPQQGQALAKQIHA VRYLECSALQDDGVKEVFAEAVRAVL
AHRG	186	296	49-85	GWMEEQSQAPITPQQGQALE
AHRG	187	297	130-164	KEFSQAPITPQQGQALAKQIHAVRYLECSALQQDGG
AHRG	188	298	138-155	TPQQGQALAKQIHAVRYL
RPL12	191	299	209-228	SRIRVHLTPAASTMLPKFNP
RPL31	192	300	8-24	GEKKKGRSAINVVVTR
RPS24	197	301	113-130	WMDGRMKKVRGTAKANVGAGKK
STAT3	200	302	6150-729	ESQEHPEADPGSAAAPYLKTKFICVTPITTCNSNTIDLPMSPR
STAT3	202	303	90-181	DYRKRVDLEQKMKVVENLQDDDFNYKTLKS
STAT3	203	304	71-108	FLQESNVLYQHNLRIKQFLQSRYLEKPMELARIVARC
STAT3	205	305	65-79	DQOYSRFLQESNVLY
STAT5	209	306	599-633	NKQQAHDLLINKPDGIFLRFSDSEIGGHTLAWKF
STAT5	210	307	422-455	KRIKRSDRRGAFESVTEEKFTILFESQFSVGGNEL
STAT5	213	308	441-455	TILFESQFSVGGNEL
VWF	217	309	1113-1152	QHGGKVVITWRTATLCPQSCHEERNLRENGYECEWRYNSCAPA
VWF	219	310	272-299	ARTCAQEGMVLVYGTWDSACSPVCPAGM
VWF	220	311	2490-2513	CCGRCLPSACEVVTGSPRGDSQSS
VWF	221	312	1592-1611	VSQGDREQAPNLVYVMVTGNP
VWF	222	313	1899-1919	CHIVTCQPDGGQTLKSHRVNC
VWF	224	314	1356-1376	STSEVLKYTLFQIFSKIDRPE

10

20

30

40

50

【図面の簡単な説明】

【0119】

【図1】図1は、遺伝子抑制因子テクノロジーの原理を例示する概略図である。

【図2】図2は、LNCXCO3レトロウイルスベクターの構造の概略図である。

【図3】図3は、BrdU選択プロトコルの概略図である。

【図4】図4は、IPTGの存在環境下または非存在環境下においてBrdU自殺選択に供されたライブラリ形質導入細胞を含む細胞培養プレートの写真であり、これは、G418選択直後(上)、IPTG存在環境下において1回のBrdU自殺選択後(中央)またはIPTG存在環境下において2回のBrdU自殺選択後(下)である。

【図5】図5は、BrdU自殺に対するIPTG依存性の耐性について、個々のGSEで

形質導入された細胞集団の試験の結果の棒グラフであり、三部で測定され、そしてIPTGの存在環境下および非存在環境下においてBrdU自殺選択を生き残るコロニー数の平均および標準偏差として表される。示される結果についての配列は、GSE(配列番号)である：GBC-1(79)、GBC-3(94)、STAT3(205)、STAT5b(211)、PRL31(192)、GBC-11(85)、L1CAM(125)、INTB5(112)、OKC(170)、VWF(225)、ZIN(228)、HSPCA(103)、CDC20(37)、PKC(172)、CDK10(39)、DAP3(59)、RPA3(190)、NF B1(157)、HES6(99)およびMBD1(142)。

【図6】図6は、個々のGSEで形質導入されたクローン細胞系統を用いて実施されたIPTG成長障害アッセイの結果の棒グラフであり、三部で測定され、そしてIPTGの存在環境下および非存在環境下における培養7日後の細胞数の平均および標準偏差として表される。示される結果についての配列は、GSE(配列番号)である：HNRPf(101)、HRMT1L2(102)、STAT5b(211)、CCND1(57)、28S RNA(17)、RPL31(192)、CDK2(40)、AHRG(183)、GBC-1(79)、L1CAM(125)、NIN283(158)、MYL6(155)、DAP3(59)、TAF7(215)、STAT3(205)、IF1(32)、GBC-11(85)、LYN(138)、c-KIT(48)、GBC-3(94)、eIF-3(62)、PKC(170)、EFNA1(67)、ATF4(27)、HNRP A2B1(102)、GBC-12(86)、INTB5(112)、BAM2 2(35)、FOS(43)、FGFR1(77)およびKIAA1270(123)。

【図7】図7Aおよび図7Bは、クローンIPTG阻害細胞系統におけるL1CAM由来GSE(配列番号134)の形態学的効果を例示する顕微鏡写真である。図7Aは、IPTG処理4日の細胞形態に対する効果を示す。図7Bは、IPTG処理細胞における有糸分裂の終局の証拠を示す。

【配列表】

10

20

## SEQUENCE LISTING

<110> Board of Trustees of the University of Illinois  
Primiano, Thomas  
Chang, Bey-dih  
Roninson, Igor

<120> Methods and Reagents for Identifying Gene Targets for Treating Cancer

<130> 99,216-U

<160> 314

<170> PatentIn version 3.0 10

<210> 1  
<211> 25  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<220>  
<221> misc\_feature  
<222> (18)..(25)  
<223> n stands for a, c, t, or g

<400> 1  
ggatcctcac tcactcannn nnnnn 25 20

<210> 2  
<211> 38  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 2  
gtacctgagt tataggatcc ctgccatgcc atgccatg 38

<210> 3  
<211> 24  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens 30

<400> 3  
cctagggacg gtacggtacg gtac 24

<210> 4  
<211> 183  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 4  
gccgctagag gtgaaattcc ttggaccggc gcaagacgga ccagagcgaa agcatttgcc 60  
aagaatgttt tcattaatca agaacgaaag tcggagggtc gaagacgata agataccgtc 120

gtagttccga ccataaacga tgcgaccgg cgatggggcg gcgttattcc catgaccgc 180  
 cgg 183

<210> 5  
 <211> 117  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 5  
 ccggacacgg acaggattga cagattgata gctctttctc gattccgtgg gtgggtggtgc 60  
 atggccgttc ttagttggtg gagcgatttg tctggttaat tccgataacg aacgaga 117

<210> 6  
 <211> 92  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 6  
 caaagattaa gccatgcatg tctaagtacg cacggccggt acagtgaaac tgccaatggc 60  
 tcattaaatc agttatggtt cctttggtcg ct 92

<210> 7  
 <211> 69  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 7  
 cggacacgga caggattgac agattgatag ctctttctcg attccgtggg tgggtggtgca 60  
 tggccgttc 69

<210> 8  
 <211> 65  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 8  
 ctgcccagtag catatgcttg tctcaaagat taagccatgc atgtctaagt acgcacggcc 60  
 ggtac 65

<210> 9  
 <211> 57  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 9  
 taagtacgca cggccggtac agtgaactg cgaatggctc attaaatcag ttatggt 57

<210> 10  
 <211> 44  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 10  
 cggagagggga gcctgagaaa cggctaccac atccaaggaa ggca 44  
  
 <210> 11  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 10  
  
 <400> 11  
 caaagattaa gccatgcatg tctaagtacg cacggccggt a 41  
  
 <210> 12  
 <211> 35  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 12  
 cggaaactgag gccatgatta agagggacgg ccggg 35  
  
 <210> 13  
 <211> 35  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 20  
  
 <400> 13  
 cagattgata gctctttctc gattccgtgg gtggt 35  
  
 <210> 14  
 <211> 45  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 14  
 aactgcgaat ggctcattaa atcagttatg gttcctttgg tcgct 45 30  
  
 <210> 15  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 15  
 aagccatgca tgtctaagta cgcacggccg 30  
  
 <210> 16  
  
 40

<211> 118  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 16  
 ccctactgat gatgtgtgtg tgccatggta atcctgctca gtacgagagg aaccgcaggt 60  
 tcagacattt ggtgtatgtg cttggctgag gagccaatgg ggcgaacgta ccatctgt 118

<210> 17  
 <211> 49  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 17  
 gaattcacca agcggtggat tgttcaccca ctaatagggg acgtgagct 49

<210> 18  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 18  
 cgcaggttca gacatttggg gtatgtg 27

<210> 19  
 <211> 108  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 19  
 cccagctact cgggaggctg aggctggagg atcgcttgag tccaggagtt ctgggctgta 60  
 gtgcgctatg ccgatcgggt gtccgcacta agttcggcat caatatgg 108

<210> 20  
 <211> 68  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 20  
 ccaggagttc tgggctgtag tgcgctatgc cgatcgggtg tccgcactaa gttcggcatc 60  
 aatatggt 68

<210> 21  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 21  
 ccgggagcgg gggaccacca ggttcgctaa ggaggggtga 40

10

20

30

40

<210> 22  
 <211> 44  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 22  
 gtagtcccag ctactcggga ggctgaggct ggaggatcgc ttga 44  
  
 <210> 23  
 <211> 31 10  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 23  
 ggggaccacc aggttcgcta aggaggggtg a 31  
  
 <210> 24  
 <211> 86  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 24  
 gctgtggcac gggcttagga ccaccaactt tgctgggatc ctgtcccagg gtcttcggat 60  
 agccccgct gaagcggccg tgacag 86 20  
  
 <210> 25  
 <211> 83  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 25  
 gaccctcccc tgagcagact gtaggccacc togatgtcca gcaggttgtc aagcatttcc 60  
 accttggcct gcacactgtc tgc 83  
  
 <210> 26  
 <211> 54 30  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 26  
 ttcacactga ccaaccgccc aggacagtcg gaccggcgac ctctcaacco agcc 54  
  
 <210> 27  
 <211> 76  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 27

acaccttcga attaagcaca ttctctgatt ccagcaaagc accgcaacat gaccgaaatg 60  
 agcttcctga gcagcg 76  
  
 <210> 28  
 <211> 50  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 28  
 gacaccttcg aattaagcac attctctgat tccagcaaag caccgcaaca 50  
  
 <210> 29  
 <211> 55  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 29  
 ccttagaatt aagcacattc ctcgattcca gcaaagcgcc gcaacatgac ggaaa 55  
  
 <210> 30  
 <211> 38  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 30  
 gaattaagca ctttctctga gtccagcaaa gccccgca 38  
  
 <210> 31  
 <211> 46  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 31  
 cgctgctcag caagctctgt tcggatcatgt tgcggtgctt tgctgg 46  
  
 <210> 32  
 <211> 57  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 32  
 ccagcagcaa tggcagtgac ggcggtggcg gcgcggacgt ggcttggcgt gtggggc 57  
  
 <210> 33  
 <211> 85  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 33  
 ccgggacgag gagtgcaccc ggagcgagga ggtgaccagg gaggaaatgg cggcagctgg 60

10

20

30

40

gctcaccgtg actgtcaccc acagc 85

<210> . 34  
 <211> 58  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 34  
 ggaggtgacc agggaggaaa tggcggcagc tgggctcacc gtgactgtca cccacagc 58

<210> 35 10  
 <211> 62  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 35  
 gccaaagatc agcctgacat ggccattatg gccgtcaaca cctttgtgaa ggactgtgag 60  
 ga 62

<210> 36  
 <211> 49  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 20

<400> 36  
 gcctgacatg gccattatgg ccgtcaacac ctttgtgaag gactgtgag 49

<210> 37  
 <211> 209  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 37  
 gccagggaca ccatgctacg gccttgacag ccccttgatg ctgggtgaat gtctgcagag 60  
 gaaccagcc accctctcca ggagcactgg gccacacatt gaccaagtta tcattaccac 120  
 cactggccaa atgtctgcca tctggggccc agcgcagccc acacacttcc tggtgtggc 180 30  
 cactcagtgt ggccacatgg tgttctgct 209

<210> 38  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 38  
 gcccagcca cctccgaggg ccagagcatg cgctgtaaac c 41

<210> 39  
 <211> 96  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 39  
 ctaccaggag agccctgggc tggaggctga gctgcacccc tgctccccc atggaggacc 60  
 caacaggagg ccgtaggctct gatgctgagc gaagct 96  
  
 <210> 40  
 <211> 47  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 40  
 agatctctct gcttaaggag cttaccatc ctaatatgt caagctg 47  
  
 <210> 41  
 <211> 58  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 41  
 tacaccatg aggtggtgac cctgtggtac cgagctctg aaatcctct gggtgca 58  
  
 <210> 42  
 <211> 112  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 42  
 cactgccatc tcgaccagtc cggacctgca gtgggtggtg cagcccggcc tegtctctc 60  
 tgtggcccca tcgcagacca gagccctca cctttcgga gtcccggcc cc 112  
  
 <210> 43  
 <211> 72  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 43  
 cactcaccg cagactcctt ctccagcatg ggctcgctg tcaacgcga ggacttctgc 60  
 acggacctgg cc 72  
  
 <210> 44  
 <211> 66  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 44

10

20

30

40

agcgaacgag cagtgaccgt gtcctaccc agctctgctt cacagcgccc acctgtctcc 60  
gcccct 66

<210> 45  
<211> 66  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 45  
gcccgagctg gtgcattaca gagaggagaa acacatcttc cctagagggt tctgtagac 60  
ctaggg 66

10

<210> 46  
<211> 166  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 46  
gaggcagggt gaaggcctcc tcagactccg ggggtggcaac ctctggcagg cccccagtca 60  
gatcaagggg agccacagac atctcttctg ggaagcccag gtcctcagg atcttgcagg 120  
cgggtcgggt agctgccagg atgaactcta gtttttctct ctcctt 166

20

<210> 47  
<211> 35  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 47  
taagatggct gcagccaaat gccgcaaccg gagga 35

<210> 48  
<211> 108  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 48  
gcgatttcgg gctagccaga gacatcagga atgattcgaa ttacgtggtc aaaggaaatg 60  
cacgactgcc cgtgaagtgg atggcaccag agagcatttt cagctgcg 108

30

<210> 49  
<211> 116  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 49  
cccagggatg ccggctgact ccaagttcta caagatgatc aaggaaggct tccggatggt 60

40

cagcccggag cacgcgcctg cggaaatgta tgactgcatg aagacttget gggacg 116

<210> 50  
 <211> 71  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 50  
 aacggggcat cggaagtctg gtcacgctaa gaagaccgag gctgagaagg aacaagccag 60  
 gggaagcgtg a 71

<210> 51  
 <211> 69  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 51  
 gctggtttg aggtcctctg gtcacgtacg agactgtcac cagttaccgc gctctgtttg 60  
 aaacatgctc 69

<210> 52  
 <211> 85  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 52  
 tgagaaggaa caagccaggg gaagcgtgaa caatgatgct ctgctctggg ctgccgctcg 60  
 ggcttctgta caactgacct ggttt 85

<210> 53  
 <211> 80  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 53  
 gaacaagcca gggaagcgtg aacaatgatg ctctgctctg ggctgccgct cgggcttctg 60  
 tacaactgac ctggtttctc 80

<210> 54  
 <211> 66  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 54  
 aagcccagcc acagattgcc acattagccc aggtatctat gccagcagct catgcaacat 60  
 catctg 66

10

20

30

40

<210> 55  
 <211> 108  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 55  
 tgcggaagat cgtcgccacc tggatgctgg aggtctgcga ggaacagaag tgcgaggagg 60  
 aggtcttccc gctggccatg aactacctgg accgcttctt gtcgctgg 108

<210> 56  
 <211> 23  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 56  
 agaacatgga ccccaaggcc gcc 23

<210> 57  
 <211> 108  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 57  
 tgcggaagat cgtcgccacc tggatgctgg aggtctgcga ggaacagaag tgcgaggagg 60  
 aggtcttccc gctggccatg aactacctgg accgcttctt gtcgctgg 108

<210> 58  
 <211> 113  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 58  
 cacagcttct cggccgctcag ggggatggtc tccttcatct tagaggccac gaacatgcaa 60  
 gtggcccccga gcagctgcag gcggctcttt ttcacgggct ccagcgacag gaa 113

<210> 59  
 <211> 169  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 59  
 gcggcactgt gcctacctct aagccaagat cacagcatgt gaggaagaca gtggacatct 60  
 gctttatgct ggaccagta agatgaggaa gtcgggcagt acacaggaag aggagccagg 120  
 cccttgtagc tatgggattg gacaggactg cagttggctc tggacctgc 169

<210> 60

10

20

30

40

<211> 159  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 60  
 gcctacctct aagccaagat cacagcatgt gaggaagaca gtggacatct gctttatgct 60  
  
 ggacccagta agatgaggaa gtcgggcagt acacaggaag aggagccagg cccttgatcc 120  
  
 tatgggattg gacaggactg cagttggctc tggacctgc 159  
  
  
 <210> 61  
 <211> 49  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 61  
 ggccaaatcc aagcaggcta tcttagcggc acagagacga ggaggagat 49  
  
  
 <210> 62  
 <211> 79  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 62  
 ggcgaggagg cgctgatgat gagcgatcat cctggcgtaa tgctgatgat gaccggggtc 60  
  
 ccagggcagg gttggatga 79  
  
  
 <210> 63  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 63  
 gcagcgttgg gcccattgag gacgc 25  
  
  
 <210> 64  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 64  
 cagcttcagg cagaaacaga accaa 25  
  
  
 <210> 65  
 <211> 66  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 65  
 agatctcgcc ggetttacgt tcacctcggg gtctgcagca ccctcogctt cctctctag 60

gcgacg 66

<210> 66  
 <211> 47  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 66  
 cgccggcttt acgttcacct cgggtgtctgc agcacacctcc gcttctc 47

<210> 67 10  
 <211> 84  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 67  
 cgcactatga agatcactct gtggcagacg ctgcoatgga gcagtacata ctgtacctgg 60  
 tggagcatga ggagtaccag ctgt 84

<210> 68  
 <211> 61  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 20

<400> 68  
 tgctgcaagt ctcttctcct gtggattgac atgggctga ggactgtgag tgattttgcc 60  
 a 61

<210> 69  
 <211> 109  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 69  
 tggcacagcc cccctgctgg cacagctctg gggagtgtg cccacagatg ggagagaatg 60  
 cagtacctgg ctacaaactt ctctgtggca gctccacaga tgaggtctt 109 30

<210> 70  
 <211> 48  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 70  
 gacagtcacc ttcaacctca agcagcggtc ttcattgctgg tggatggg 48

<210> 71  
 <211> 87

<212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 71  
 gccacagctc aagtcaggcg agctggccea acgcagtgag cggcgggctg aggcagagaa 60  
 gcagctgcag caggctcagg ctgctgg 87

<210> 72  
 <211> 60  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 10

<400> 72  
 ggcagaggcc agctgtgctg ccctggtgaa ggctggcaaa gtctatgctg cggctaccga 60

<210> 73  
 <211> 44  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 73  
 gccacagctc aagtcaggcg agctggccea apgcagtgag cggc 44

<210> 74  
 <211> 70  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 20

<400> 74  
 ggcacctgga caaacgcatt gagcggcggc ctgaggcaga gaagcagctg tatcatgctc 60  
 aagctgctgg 70

<210> 75  
 <211> 70  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 75  
 tggcgaaacg cgggcccacc acagggacgc tgctgcccag ggtcctgctg gcctgggtgg 60  
 tggccctggc 70

<210> 76  
 <211> 165  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 76  
 ggtaacagtg tctgctgact ccagtgcatc catgaactct ggggttcttc tggttcggcc 60

atcaaggctc tcctccagtg ggactcccat gctagcaggg gtctctgagt atgagcttcc 120  
 cgaagacct cgcgggagct gcctcgggac agactggtct taggc 165

<210> 77  
 <211> 135  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 77  
 ggaggaactt ttcaagctgc tgaaggaggg tcaccgcatg gacaagccca gtaactgcac 60  
 caacgagctg tacatgatga tgcgggactg ctggcatgca gtgccctcac agagaccac 120  
 cttcaagcag ctggt 135

10

<210> 78  
 <211> 99  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 78  
 ggtaccaaga agagtgactt ccacagccag atggctgtgc acaagctggc caagagcatc 60  
 ctctgcccag acaggtaaca gtgtctgctg actccagtg 99

20

<210> 79  
 <211> 68  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 79  
 tcctcacatc ccagacgatg ggcggccagg cagagacgct cctcacttcc cagacggggt 60  
 agcggccg 68

<210> 80  
 <211> 53  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

30

<400> 80  
 tcctcacatc ccagacgatg ggcggccagg cagagacgct cctcacttcc cag 53

<210> 81  
 <211> 94  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 81  
 agaaagtgag gaccctcagg aggctgcagg ccagtgcagc agcaaataa gagattcccg 60

40

aacccccgaat cagtgattcg gaaagtgagg atcc 94

<210> 82  
 <211> 49  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 82  
 ctaacacagc gagggactca acacgctgat tctcctcctg cctctcccg 49

<210> 83  
 <211> 76  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 10

<400> 83  
 ggcggggctg gacaatgcc agcgtctgt ctcaagccca tcagcattgc tgggggcttc 60  
 tacggtgagg atcccc 76

<210> 84  
 <211> 34  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 84  
 ggtgactcct gctccaggac gctaggatag gtga 34 20

<210> 85  
 <211> 58  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 85  
 cagagcccca aaacgctggg cagagttgac aggacccaaa tgctaaagt gtggaggg 58

<210> 86  
 <211> 121  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 30

<400> 86  
 tggggagacc cggagacggt ggctgggggtg tcctcagccc gggagagctg agtcagccgc 60  
 gccccgcaca cagcatactt aggagccaag gacttggacc togettctcg ccggtacgcg 120  
 a 121

<210> 87  
 <211> 91  
 <212> DNA

40

<213> Homo Sapiens

<220>

<221> misc\_feature

<222> (9)..(9)

<223> n stands for a, c, t, or g

<220>

<221> misc\_feature

<222> (17)..(17)

<223> n stands for a, c, t, or g

10

<400> 87

accocctggna acatggnaaa tataaaacaa cttggtgttt ttgaaaaacc gcaaagcgtt 60

atggtgtgga tgtaacacag ggggtgtgtg t 91

<210> 88

<211> 61

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 88

tggaggaaac cccgtgtctg cggagcggct gtagcctgtg agcagcgaga tccagggaca 60

g 61

20

<210> 89

<211> 53

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 89

cagctaccca gaagtctgag gcaggagaaa tgctggaacc cgggaggcag agg 53

<210> 90

<211> 82

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

30

<400> 90

cagcgatccg tccagcagat gacgaatc gacggccatt tccggcatac cgagctgttg 60

cataatgcc gcagactgtg ct 82

<210> 91

<211> 170

<212> DNA

<213> Homo Sapiens

<400> 91

40

cggaagagct cacaatgctc atttcgctc tcgctcgggt gttgtgctgt tctttaatac 60  
 tgtgggcaat tcaggtgtgt cgcttagaaa acggaggtac tcaatggagt cctcaacaat 120  
 gaggggccct gttcatggct ttgtgttggc cgttcgttcc acatgttctt 170

<210> 92  
 <211> 79  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 92  
 cgatgattat tttcttggca aagtttttag cagaacgtca aaaattgatt acatctttta 60  
 aacgtggttt attaccggc 79

10

<210> 93  
 <211> 81  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 93  
 agagcgaggc gtgaagtcca cagcccagc cccgtcgcag tgtggttggc gagcaaggct 60  
 acgtctgagg cgcgtgagg a 81

20

<210> 94  
 <211> 98  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 94  
 ccgggatgaa gtgacccagc agaaatacca gagaccggag acggaatggc ccagggctcag 60  
 cctccaccgg gaaccggagg atgcagcga gacgtctc 98

<210> 95  
 <211> 86  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 95  
 cctcgtcag gattgcttcc cgcggtgctt cccgcggctg cacggaaggc cacgaaccga 60  
 caacttgac agcagccatc ttttct 86

30

<210> 96  
 <211> 63  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 96

40

cgcgcgagc tccccgccc tcgagccgag gccgagggg ctgatggccg ccgcccggcc 60  
gag 63

<210> 97  
<211> 62  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 97  
ggaccagcag gaggcagccc tggaggacat ggtgaatgac ggcgtggagg acctccgctg 60  
ca 62 10

<210> 98  
<211> 134  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 98  
tgctggctg egtttccct gctctcagca tatgtggggc gcctcagcgc ccggcccaag 60  
ctcaaggcct tcttggcctc ccttgagtac gtgaacttcc ccatcaatgg caacgggaaa 120  
cagtgagggg tggg 134

<210> 99  
<211> 79  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 99  
gcagggcagc ccttggtaac cagcccagtc aggcccagc cccgtttctt aagaaacttt 60  
tagggaccct gcagctctg 79

<210> 100  
<211> 77  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 100  
cggaccagga ccaggaagta acttttagagg aggatotgat ggatatggca gtggacgtgg 60  
atattgggat ggctata 77

<210> 101  
<211> 158  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 101

10

20

30

40

caggcctgga aaggatgagg cctgggtcct acagcacagg ctacgggggc tacgaggagt 60  
acagtggcct cagtgatggc tacggctcoa ccaccgacct gttcgggaga gacctcagct 120  
actgtctctc cggaatgtat gaccacagat acgccgac 158

<210> 102  
<211> 42  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 102  
ggtgcgggtg aagatggcgg cagccgagcc cgcgaactgc at 42

10

<210> 103  
<211> 52  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 103  
caaggaccag gtagctaact cagcctttgt ggaacgtctt cggaaacatg gc 52

<210> 104  
<211> 36  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

20

<400> 104  
ccaaggacca ggtagctaac tcagcctttg tggaac 36

<210> 105  
<211> 101  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 105  
ggcagccctt ggctgggtccc tgcgagcccg tggagactgc cagagatgac ctctttcggg 60  
tacaggacce tgactgtggc cctcttcacc ctgatctgct g 101

30

<210> 106  
<211> 64  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 106  
gagcctgtgt cggacagcca gatggtcac atagtcacgg tgggtgcggg gttgctgtcc 60  
ctgt 64

<210> 107

40

<211> 106  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 107  
 gccgctcact ccccgtaggt gcccatccgc tgctggcgca agtgetggcc gaagatgaag 60  
 cagagcagga cagatgtcac gaacagggac agcaacaccg acacca 106  
  
 <210> 108  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 10  
  
 <400> 108  
 gaagctggtg cgcaaggaca ggcttgcct gagttacgt 39  
  
 <210> 109  
 <211> 62  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (18)..(18)  
 <223> n stands for a, c, t, or g 20  
  
 <400> 109  
 gcggtgccac cgacgggnaa gaagcgtat gacctgtccg cgctgggccg ccatgcagaa 60  
 cc 62  
  
 <210> 110  
 <211> 124  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (26)..(26)  
 <223> n stands for a, c, t, or g 30  
  
 <400> 110  
 ctctctctcc tcacactcca cggggngcct caaacaactc cacacatcgc accacgctga 60  
 tgctctctgg ccagaggact gtcttctga tctccactgg gcaccatgct gattttccag 120  
 agcc 124  
  
 <210> 111  
 <211> 132

<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 111  
tggggctctg cgcgctcctg ccccgctcg caggctcaa catatgcaact agtgggaagtg 60  
ccacctcatg tgaagaatgt ctgctaatec acccaaatg tgcctggtgc tccaaagagg 120  
acttcggaag cc 132

<210> 112  
<211> 115  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

10

<400> 112  
ccaaggactg cgtcatgatg ttcacctatg tggagctccc cagtgggaag tccaacctga 60  
cgtctctcag ggagccagag tgtggaaaca cccccaacgc catgaccatc ctct 115

<210> 113  
<211> 87  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 113  
ggccatggcg agtgtcactg cggggaatgc aagtgccatg caggttacat cggggacaac 60  
tgtaactgct cgacagacat cagcaca 87

20

<210> 114  
<211> 91  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

<400> 114  
gtggagctcc ccagtgaggaa gtccaacctg accgtctca gggagccaga gtgtggaaac 60  
acccccaacg ccatgaccat cctcctggct g 91

<210> 115  
<211> 36  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

30

<400> 115  
tgaaagatga ccaggaggct gtgctatggt tctaca 36

<210> 116  
<211> 90  
<212> DNA  
<213> Homo Sapiens

40

<400> 116  
 aactccagtg ggcacccaag attcaacttgg agccctggcc tocccacccct tgtctttggg 60  
 ctggctgctt gggggaccaa gaacttgcac 90

<210> 117  
 <211> 81  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 117  
 aagagcaagt gccagctgct aaggggcttg agtcagagac tctggaagac tccaagtcca 60  
 agatgtatgt ggagttacat g 81

<210> 118  
 <211> 93  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 118  
 tggcgctcct ccccgagcgc ctccgaggtc cgggtgttcg tcacgttgat gctcaggagc 60  
 aatttcgga cgtctctgct gtactggagc ctg 93

<210> 119  
 <211> 90  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 119  
 ggcgcgaacc cggccccga aggcgccct cggggagacg gtgatgctgt tgctgtgcct 60  
 gggggtccc accggccgcc cctacaacgt 90

<210> 120  
 <211> 53  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<220>  
 <221> misc\_feature  
 <222> (44)..(44)  
 <223> n stands for a, c, t, or g

<400> 120  
 tgtgtctac agttagcttc tctgctggac acctgtatgc ttcnctgtaa tca 53

<210> 121  
 <211> 48

<212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 121  
 cgggatacgg cggggcccct ggtggcctct ctctacacga ctacaaac 48  
  
 <210> 122  
 <211> 28  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 122  
 ccctggtggc ctctctctac acgactac 28 10  
  
 <210> 123  
 <211> 96  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 123  
 cctgtccaag aggaggccac agegctggcc tttccccaag gaggccactg ctgtcccgtc 60  
 ctctgtatac agttgcaaca cctgggcctc acaggt 96  
  
 <210> 124  
 <211> 69  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 124  
 tctggatccg tottcacttc ctggtggcct gaggcagacc aataacacac tggttcacct 60  
 tggaggcaa 69  
  
 <210> 125  
 <211> 93  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 125  
 ttggggaccc aggagacgac acttggatgt tgtgtggtgg gtaccgaagg cagcgtgtgt 60 30  
 atggagctcc tgaaagccgg ccatgggggtg ggc 93  
  
 <210> 126  
 <211> 112  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 126  
 caggcaatcc ctgagctgga aggcattgaa atcctcaact caagtgccgt gctgggtcaag 60

tggcggccgg tggacctggc ccaggtcaag ggccacctcc gggatacaa tg 112

<210> 127  
 <211> 107  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 127  
 agtgttcagt ggctggacga ggatgggaca acagtgttc aggaacgaacg cttcttcccc 60  
 tatgccaatg ggacctggg cattcgagac ctccaggcca atgacac 107

<210> 128  
 <211> 106  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 128  
 gccaatgacc aaaacaatgt taccatcatg gctaacctga aggttaaaga tgcaactcag 60  
 atcaactcagg ggccccgcag cacaatcgag aagaaagggtt ccaggg 106

<210> 129  
 <211> 109  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 129  
 accaggacca tcattcagaa ggaaccatt gacctcggg tcaaggccac caacagcatg 60  
 attgacagga agccgcgct gctcttcccc accaactcca gcagccacc 109

<210> 130  
 <211> 90  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 130  
 ggcaacctct actttgcaa tgtgtcacc tccgacaacc actcagacta catctgccac 60  
 gcccaacttc caggcaccag gaccatcatt 90

<210> 131  
 <211> 42  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 131  
 ccaaggaaga gctgggtgtg accgtgtacc agtcgcccc a ct 42

<210> 132

10

20

30

40

<211> 61  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 132  
 ggccttcgga ggcctgtg c cagtggtca gtgctggac gaggatggga caacagtgct 60  
 t 61  
  
 <210> 133  
 <211> 51  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 10  
  
 <400> 133  
 gacaggaagc cgcgcctgct ctccccacc aactccagca gccacctggt g 51  
  
 <210> 134  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 134  
 aatatgaagg acaccatgtg atggagccac ctgtcatcac 40  
  
 <210> 135 20  
 <211> 29  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 135  
 cccctggatg aggggggcaa ggggcaact 29  
  
 <210> 136  
 <211> 27  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 136  
 aatatgaagg acaccatgtg atggagc 27 30  
  
 <210> 137  
 <211> 111  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 137  
 tacatcatca ccgagttcat ggctaagggt agtttgctgg atttcctcaa gagtgatgaa 60  
 ggtggcaagg tgctgctgcc caagctcatt gacttctcgg cccagattgc a 111

<210> 138  
 <211> 48  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 138  
 ggctgtacgc tgtggteacc aaggaggagc ccatctacat catcacgc 48  
  
 <210> 139  
 <211> 52  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 10  
  
 <400> 139  
 caagaatctg gtgagcgaag ccatcgcagc tggcatcttc aacgacctgg gc 52  
  
 <210> 140  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 140  
 tcctcgtctt tgagttcgcc gaccttggct ttctgggtga g 41  
  
 <210> 141  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 20  
  
 <400> 141  
 ccgctccgga gccatgtagg agcgcgtgcc cacgaaggag ttggccatgg agtctatgag 60  
 ctggccgctc accccgaagt cacacagctt gatctcc 97  
  
 <210> 142  
 <211> 61  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 142  
 cctcgtgccg aattcttggc ctcgagggcc aaattcccta tagtgagtcg tattaaatc 60  
 g 61  
  
 <210> 143  
 <211> 40  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 143  
 tttaatacga ctcaactatag ggaatttggc cctcgaggcc 40

<210> 144  
 <211> 188  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 144  
 cactccaaag acggcagact cacaggagac caaggaatcc cagaaagtgg agttgagtga 60  
 atccaggttg aaggcattca aggtggcctt cttggatgtg ttccgggaag ctcatgcca 120  
 gtcaatcggc atgaatcgcc tcacagaatc catcaaccgg gacagcgaag agcccttctc 180  
 ttcagttg 188 10

<210> 145  
 <211> 79  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 145  
 tgcccttggg tagtgctgtg gatatcctgg ccacagatga tcccaacttt agccaggaag 60  
 atcagcagga cacccagat 79

<210> 146  
 <211> 77  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 146  
 accaagaaga aaaaggagaa gatggtgagt gcagcattca tgaagaagta catccatgtg 60  
 gccaaaatca tcaagcc 77

<210> 147  
 <211> 79  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 147  
 tgcccttggg tagtgctgtg gatatcctgg ccacagatga tcccaacttt agccaggaag 60  
 atcagcagga cacccagat 79 30

<210> 148  
 <211> 41  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 148  
 tgagcaagat gcaggatgac aatcaggatca tgggtgtctga g 41

<210> 149  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 149  
 acccaagttc ggagacgagg cctcctcaga tgaggaagat gatgcctca gacaccatga 60  
 cctgattgtc atcctgcac c ttgctcagag caacctg 97

<210> 150  
 <211> 80  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

10

<400> 150  
 agcagtggct catccgccct acttcccac c cacacaaac ccaattgtaa ataacatag 60  
 acttcgtgag tacttttggg 80

<210> 151  
 <211> 68  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 151  
 gccctgtcc tgtgaacggg atcaatggct acaatgaaga cataaatcaa gagtctgctc 60  
 ccaaagcc 68

20

<210> 152  
 <211> 46  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 152  
 tggagtgcac tctgacggaa aaagaagaaa gagatccaca agggaa 46

<210> 153  
 <211> 90  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

30

<400> 153  
 gcacagtga ttttctttcc gtcactgtcc aacaaagtcc catgatagac acagccaaaa 60  
 tgccctcttc ctatgacttc attgaaatgc 90

<210> 154  
 <211> 196  
 <212> DNA

40

<213> Homo Sapiens

<400> 154  
 tatagcgtcc acaacaaaac ggggtgcgaaa ctaccggtga agtggatggc tttagagagt 60  
 ctgcagacgc aaaagttcac caccaagtca gacgtgtggt ccttcggtgt gcttctctgg 120  
 gagctcatga cgagaggagc ccctccttat cctgacgtga acacatttga taccactata 180  
 tacctgttgc aaggca 196

<210> 155  
 <211> 73  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

10

<400> 155  
 gtcaagatgt gtgacttcac cgaagaccag accgcagagt tcaaggaggc cttccagctg 60  
 tttgaccgaa cag 73

<210> 156  
 <211> 82  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 156  
 ccgaagacca gaccgcagag ttcaaggagg ccttccagct gtttgaccga acaggtgatg 60  
 gcaagatcct gtacagccag tg 82

20

<210> 157  
 <211> 46  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 157  
 ggccaccgga gcggcccggc gacgatcgct gacagcttcc cctgcc 46

<210> 158  
 <211> 86  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

30

<400> 158  
 ggcaccctt ctgcactgac ttccagatat ggttctccct tcctccctga ggacaccaaa 60  
 ttggatgaga gcaagtttga gagaag 86

<210> 159  
 <211> 88  
 <212> DNA

40

<213> Homo Sapiens  
 <400> 159  
 gcaaacctca tatgtcgacc agtggtccag agaaccocaa gagttcagca tccactgctg 60  
 tgtctgctgc cccacagag aaggagtt 88

<210> 160  
 <211> 59  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 160 10  
 ggagctgacc tcacaggtg agcgtgcgga ggagctgggc caagaattga aggcgtggc 59

<210> 161  
 <211> 72  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 161  
 caatctgaag agatacctga agtctgaacc tateccagag agcaatgatg ggctctgtaa 60  
 ggtagtggtg gc 72

<210> 162 20  
 <211> 66  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 162  
 ttagcagttc tgatagcaac aacaggaatc tetccagcag tgctctccaa gtgagtgagc 60  
 ggccgc 66

<210> 163  
 <211> 55  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 163 30  
 tgctccagaa aaacctgtaa agagacaaaa gacaggtgag acttcgagag cctcg 55

<210> 164  
 <211> 97  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 164  
 ccgctacagg caggcgggaa ggaggaaagt ctagctggtt tcggcttcag gagcctcaga 60  
 gcgagcgggc gaacgtcgcg acgacgggct gagacct 97

<210> 165  
 <211> 128  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 165  
 gcggcatcaa ccagaagctt ttggctgagg ccttgaacca agtcacccag agagcctccc 60  
 ggagatcaga ctacgcctcc tcagagcctg ttgggatata tcagggttcc gagaagaaga 120  
 ccggagtt 128

10

<210> 166  
 <211> 109  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 166  
 gatcatcggc agatgcactg gcaccgcggc caacagccgg gacactatat tccagaaaga 60  
 acgcttcaac atcgacatgc cgcaccgctt caaggttcac aactacatg 109

<210> 167  
 <211> 66  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

20

<400> 167  
 caccagaga ctacagtaac tttgaccagg agttcctgaa cgagaaggcg cgctctcct 60  
 acagcg 66

<210> 168  
 <211> 92  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 168  
 tgggccagac cagcaccaag cagaagacca acaaaccac gtacaacgag gagttttgcg 60  
 ctaacgtcac cgacggcggc cacctcgagt tg 92

30

<210> 169  
 <211> 107  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 169  
 tgcgctaacg tcaccgacgg cggccacctc gagttggcg tcttccacga gacccccctg 60  
 ggctacgacc acttcgtggc caactgcacc ctgcagttcc aggagct 107

40

<210> 170  
 <211> 75  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 170  
 aacgaggagt tttgcgctaa cgtcaccgac ggogggcacc tcgagttggc cgttctccac 60  
 gagaccccc tgggc 75

<210> 171  
 <211> 29  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 171  
 cccacgtaca acgaggagtt ttgcgctaa 29

<210> 172  
 <211> 60  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 172  
 acggccacct cttccaagcc aagcgttcta acaggagagc gtactgaggc cagtgcagcg 60

<210> 173  
 <211> 121  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 173  
 ccgctcacc tcaagtgggt ggacagcga ggtgaccctt gcacgggtgc ctcccagatg 60  
 gagctggaag aggctttccg cctggcccgt cagtgcaggg atgaaggcct catcattcat 120  
 g 121

<210> 174  
 <211> 158  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 174  
 gacgtactca atgaccagga acaaccgact tgtcgtctgg aagcaggagt gtaatccgac 60  
 caggaagggg ttgctggatg cctgctcaaa cacgtgcttc totgtctgta cccagtcaat 120  
 atcctcgcca tcatgcacca gctctttctt caccactt 158

10

20

30

40

<210> 175  
 <211> 75  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 175  
 acggaattgc tgtctgattt ctgctttaac agcatttgat gccttgggat agcaaacgct 60  
 gaacaaacca catgc 75

<210> 176  
 <211> 89  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 176  
 aggaccatg gctttctgga gctctgaaaa tctgtcagcc accatatagc gaacgcgcca 60  
 agatttatct tctgctgctt gtcgaagtg 89

<210> 177  
 <211> 95  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 177  
 gtcacacagt ttaacaaggc gccaggggca gtggtagtt ctgtcctggg ggctacttcc 60  
 actggagagg gacctgggga ggtgaccata cggcc 95

<210> 178  
 <211> 31  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 178  
 aacaccaggc agctgttccg actggcctcc t 31

<210> 179  
 <211> 39  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 179  
 gggcggaggc ggaggtgcag ggtcaactgt ggctctgta 39

<210> 180  
 <211> 69  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<220>

10

20

30

40

<221> misc\_feature  
 <222> (10)..(10)  
 <223> n stands for a, c, t, or g

<400> 180  
 gcctgctcan agaagctggc aggactggga ggcgacagat gggcccctct tggcctctgt 60  
 cccagctct 69

<210> 181  
 <211> 67  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

10

<400> 181  
 ggatggtgac ctgtgagaat gaagctggag cccagcgtca gaagtctagt tttataggca 60  
 gctgtcc 67

<210> 182  
 <211> 181  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 182  
 tgaatcttga aaacccctca tgtaattcag tgttagacct aagagacttg agacagctcc 60  
 atcagatgtc ctcttccagt atgtcagcag ggcaccaattc caatactact gccattggt 120  
 tcacaatcag atgcatttga gggatctgac ttcagttgtg cagataacag catgataaat 180  
 g 181

20

<210> 183  
 <211> 143  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 183  
 aggagcagag ccaggcgccc atcacaccgc agcagggcca ggcactcgcg aaacagatcc 60  
 acgctgtgag ctacctgaa tgctcagccc tgcaacagga tgggtgcaag gaagtgttcg 120  
 ccgaggctgt ccgggctgtg ctc 143

30

<210> 184  
 <211> 135  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 184  
 ccattgccag tccgcccgtcc tatgagaacg tgccgcacaa gtggcatcca gaggtgtgcc 60

40

accactgccc tgatgtgccc atcctgctgg tgggcaccaa gaaggacctg agagcccagc 120  
 ctgacacccct acggc 135

<210> 185  
 <211> 46  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 185  
 aggagcagag ccaggcgccc atcacaccgc agcagggcca ggcact 46

10

<210> 186  
 <211> 112  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 186  
 ggcaatggag aaacagatga cgaaaacggt ggtctgaggg taggagagtg tacggaggcg 60  
 gtcatactcc tcttggcccg cagtgtccca caggttcagg ttcactttgc gc 112

<210> 187  
 <211> 107  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

20

<400> 187  
 caccatcctg ttgcagggt gagcattoga ggtagcgcac agcgtggatc tgcttggcca 60  
 gtgcctggcc ctgctgcggt gtgatggcg cctggccctg ctccttg 107

<210> 188  
 <211> 119  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 188  
 gagcacagcc cggacagcct cggcgagcta ttccttggct ccatcgtgtt gcaggggtgg 60  
 cgtcctaggt agcgcgcagc gtggatatgc tcggccagtg catggccctg atgcggtgt 119

30

<210> 189  
 <211> 123  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 189  
 tggagaagca aaaacctagt tacataattt acttcatggt ctgcagttag ggtcagtgac 60  
 ttacgacata attcctgett gatgataatg aaattgacag aagcctgaag gctgagtgag 120

40

tga	123	
<210> 190		
<211> 27		
<212> DNA		
<213> Homo Sapiens		
<400> 190		
agccgcagtc ttggaccata atcatgg	27	
		10
<210> 191		
<211> 91		
<212> DNA		
<213> Homo Sapiens		
<400> 191		
ggccaagggtg caacttcctt cggtcgtccc gaatccgggt tcatccgaca ccagccgcct	60	
ccaccatgcc gccgaagttc gaccccaacg a	91	
		20
<210> 192		
<211> 53		
<212> DNA		
<213> Homo Sapiens		
<400> 192		
tggcgagaag aaaaagggcc gttctgcat caacgaagtg gtaaccgag aat	53	
		30
<210> 193		
<211> 37		
<212> DNA		
<213> Homo Sapiens		
<400> 193		
ggcgttctg ccatcaacga agtggttaacc cgagaat	37	
		40
<210> 194		
<211> 42		
<212> DNA		
<213> Homo Sapiens		
<400> 194		
ggcggcttgt gcagcaatgg ccaagatcaa ggctcgagat ct	42	
		40
<210> 195		
<211> 33		
<212> DNA		
<213> Homo Sapiens		
<400> 195		

ggcggcttgt gcagcaatgg ccaagatcaa ggc 33  
  
 <210> 196  
 <211> 71  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 196  
 gccagcacca acattggcct ttgcagtcct cctgactttc ttcattctgt tcttgcgttc 60  
 ctttcgttgc t 71  
 10  
  
 <210> 197  
 <211> 55  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 197  
 cagaatgaag aaagtcaggg ggactgcaaa ggccaatggt ggtgctggca aaaag 55  
  
 <210> 198  
 <211> 56  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 198  
 ttacctcgtt gcactgctga gagcaagatg ggtcaccagc agctgtactg gagcca 56  
 20  
  
 <210> 199  
 <211> 47  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 199  
 ggcagcaaaa caagtgacat gaagggaggg tcctgtgtg tgtgtgc 47  
  
 <210> 200  
 <211> 120  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
 30  
  
 <400> 200  
 gagagccagg agcatcctga agctgaccca ggtagcgtg cccatacct gaagaccaag 60  
 tttatctgtg tgacaccaac gacctgcagc aataccattg acctgccgat gtccccccgc 120  
  
 <210> 201  
 <211> 108  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
 40

<400> 201  
 aagaccaga tccagtcctg ggaaccatac acaaagcagc agctgaacaa catgtcattt 60  
 gctgaaatca tcatgggcta taagatcatg gatgctacca atatcctg 108

<210> 202  
 <211> 98  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 202  
 ggatgtccgg aagagagtgc aggatctaga acagaaaatg aaagtggtag agaatctcca 60  
 ggatgacttt gatttcaact ataaaaccct caagagtc 98

<210> 203  
 <211> 115  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 203  
 ttctgcaag agtcgaatgt tctctatcag cacaatctac gaagaatcaa gcagtttctt 60  
 cagagcaggt atcttgagaa gccaatggag attgcccggg ttgtggcccg gtgcc 115

<210> 204  
 <211> 85  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 204  
 agatgtctac tgcgctggac cagatgccga gaagcatcgt gaggtagctg gcggggcttt 60  
 tgtcagcagat ggagtacgtg cagaa 85

<210> 205  
 <211> 47  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 205  
 gaccagcagt atagccgctt cctgcaagag tcgaatgttc tctatca 47

<210> 206  
 <211> 47  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 206  
 gagctggctg actggaagag gcggcaacag atggagtacg tgcagaa 47

<210> 207  
 <211> 105  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 207  
 tcttgataat ccacaggaga acattaaggc caccagctc ctggagggcc tggcagga 60  
 gctgcagaag aaggcagaac accaggtggg ggaagatggg ttttt 105

<210> 208  
 <211> 82  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 208  
 gagaacatta aggccaccca gctcctggag ggcctggcgc aggagctgca gaacaaggca 60  
 caacaccagg agggggaaga tg 82

<210> 209  
 <211> 107  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 209  
 aacaagcagc aggccacga cctgctcacc aacaagccag atgggacctt cctgctgcgc 60  
 ttcagcgact cggaaatcgg gggcaccacc attgcttggg agtttga 107

<210> 210  
 <211> 104  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 210  
 aaacgaatca agaggtctga ccgccgtggt gcagagtcgg tcacggaaga gaagttcaca 60  
 atcttgtttg actcacagtt cagtgttggg ggaatgagc tggg 104

<210> 211  
 <211> 104  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 211  
 tcttgataat cctcaggagg ccattaagcc caccagctc atgaaggga tggcagta 60  
 gctgcagaag aagagcagaa ctccaggtgg ggaagatgg gttt 104

<210> 212  
 <211> 48

10

20

30

40

<212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 212  
 tcttgataat ccacaggaga acattaaggc cacccagctc ctggaggg 48  
  
 <210> 213  
 <211> 47  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 213  
 acaatcctgt ttgaatccca gttcagtggt ggtggaaatg agctggg 47 10  
  
 <210> 214  
 <211> 30  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 214  
 ccagttcagt gttggtggaa atgagctggg 30  
  
 <210> 215  
 <211> 63  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens 20  
  
 <400> 215  
 cgagctgctc ctctcggcaa gatttcgctc tgaccatccc gggcccttc atcactaatc 60  
 ggt 63  
  
 <210> 216  
 <211> 49  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 216  
 ggtcgtagca gaagcaggag caaggcgtcc aggggaaact ggagggctt 49 30  
  
 <210> 217  
 <211> 123  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 217  
 ccagcatggc aaggtgggga cctggaggac ggccacattg tgccccaga gctgogagga 60  
 gaggaatctc cgggagaacg ggtatgagtg tgagtggctc tataacagct gtgcacctgc 120  
 ctg 123

<210> 218  
 <211> 127  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 218  
 ccttgcccct gaagcccctc ctctactct gccccccac atggcacaag tcactgtggg 60  
 cccggggctc ttggggggtt cgaccctggg gcccaagagg aactccatgg ttctggatgt 120  
 ggcgttc 127

10

<210> 219  
 <211> 84  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 219  
 gcccggacct gtgcccagga gggaatggtg ctgtacggct ggaccgacca cagcgcgtgc 60  
 agcccagtgt gccctgctgg tatg 84

<210> 220  
 <211> 76  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

20

<400> 220  
 agtgctgtgg aaggtgcctg ccactgcct gtgaggtggt gactggctca ccgccccggg 60  
 actcccagtc ttctg 76

<210> 221  
 <211> 63  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 221  
 tggtcagcca gggtgaccgg gaggcggcgc ccaacctggt ctacatggtc accggaaatc 60  
 ctg 63

30

<210> 222  
 <211> 65  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens

<400> 222  
 agtgccacac cgtgacttgc cagccagatg gccagacctt gctgaagagt catcgggtca 60  
 actgt 65

40

<210> 223  
 <211> 81  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 223  
 acatggcaca agtcaactgtg ggcccggggc tcttgggggt ttcgacctg gggccaaga 60  
 ggaactccat ggttctggat g 81  
  
 <210> 224  
 <211> 65  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 224  
 tccaccagcg aggtcttgaa atacacactg ttccaaatct tcagcaagat cgaccgacct 60  
 gaagc 65  
  
 <210> 225  
 <211> 57  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 225  
 ctggctcacc ggggggggac tcccagtctt cctggaagag tgcggtcc cagtggg 57  
  
 <210> 226  
 <211> 57  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 226  
 accctcccgg cacctccctc tctcgagact gcaacacctg catttgccga aacagcc 57  
  
 <210> 227  
 <211> 25  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 227  
 agctgcatgg gtgcctgctg ctgcc 25  
  
 <210> 228  
 <211> 135  
 <212> DNA  
 <213> Homo Sapiens  
  
 <400> 228  
 ctcagtggcc ttcaccagca ccgagcctgc ccacatcgtg gcctccttcc gctctggcga 60

10

20

30

40

caccgtcttg tatgacatgg aggttggcag tgcctcctc acgctggagt cccggggcag 120

cagcgggtcca accca 135

<210> 229  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 229

Leu Trp His Gly Ser Arg Thr Thr Asn Phe Ala Gly Ile Leu Ser Gln 10  
 1 5 10 15

Gly Leu Arg Ile Ala Pro Pro Glu Ala Pro Val Thr  
 20 25

<210> 230  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 230

Met Ala Val Thr Ala Leu Ala Ala Arg Thr Trp Leu Gly Val Trp Gly 20  
 1 5 10 15

<210> 231  
 <211> 28  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 231

Arg Asp Glu Glu Ser Thr Arg Ser Glu Glu Val Thr Arg Glu Glu Met  
 1 5 10 15

Ala Ala Ala Gly Leu Thr Val Thr Val Thr His Ser  
 20 25

<210> 232  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 232

Glu Val Thr Arg Glu Glu Met Ala Ala Ala Gly Leu Thr Val Thr Val  
 1 5 10 15

Thr His Ser

<210> 233  
 <211> 22

10

20

30

40

<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 233

Tyr Ala Lys Ser Gln Pro Asp Met Ala Ile Met Ala Val Asn Thr Phe  
1 5 10 15

Val Lys Asp Cys Glu Asp  
20

<210> 234

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 234

Pro Asp Met Ala Ile Met Ala Val Asn Thr Phe Val Lys Asp Cys Glu  
1 5 10 15

<210> 235

<211> 14

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 235

Ala Pro Ala Thr Ser Glu Gly Gln Ser Lys Arg Cys Lys Pro  
1 5 10

<210> 236

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 236

Glu Ile Ser Leu Leu Lys Glu Leu Asn His Pro Asn Ile Val Lys Leu  
1 5 10 15

<210> 237

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 237

Tyr Thr His Glu Val Val Thr Leu Trp Tyr Arg Ala Pro Glu Ile Leu  
1 5 10 15

Leu Gly Cys

<210> 238

<211> 17

<212> PRT

10

20

30

40

<213> Homo sapiens

<400> 238

Pro Glu Leu Val His Tyr Arg Glu Glu Lys His Val Phe Pro Gln Arg  
1 5 10 15

Phe

<210> 239

<211> 11

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<400> 239

Lys Met Ala Ala Ala Lys Cys Arg Asn Arg Arg  
1 5 10

<210> 240

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 240

Val Gln Ala Gln Pro Gln Ile Ala Thr Leu Ala Gln Val Ser Met Pro  
1 5 10 15

20

Ala Ala His Ala Thr Ser Ser  
20

<210> 241

<211> 36

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 241

Met Arg Lys Ile Val Ala Thr Trp Met Leu Glu Val Cys Glu Glu Gln  
1 5 10 15

Lys Cys Glu Glu Glu Val Phe Pro Leu Ala Met Asn Tyr Leu Asp Arg  
20 25 30

30

Phe Leu Ser Leu  
35

<210> 242

<211> 16

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 242

Ala Lys Ser Lys Gln Ala Ile Leu Ala Ala Gln Arg Arg Gly Gly Asp

40

1                    5                    10                    15  
 <210> 243  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 243  
 Arg Gly Gly Ala Asp Asp Glu Arg Ser Ser Trp Arg Asn Ala  
 1                    5                    10  
  
 <210> 244  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 244  
 His Tyr Glu Asp His Ser Val Ala Asp Ala Ala Met Glu Gln Tyr Ile  
 1                    5                    10                    15  
  
 Leu Tyr Leu Val Glu His Glu Glu Tyr Gln Leu  
                   20                    25  
  
 <210> 245  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 245  
 Pro Gln Leu Lys Ser Gly Glu Leu Ala Lys Arg Ser  
 1                    5                    10  
  
 <210> 246  
 <211> 44  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 246  
 Val Thr Val Ser Ala Asp Ser Ser Ala Ser Met Asn Ser Gly Val Leu  
 1                    5                    10                    15  
  
 Leu Val Arg Pro Ser Arg Leu Ser Ser Ser Gly Thr Pro Met Leu Ala  
                   20                    25                    30  
  
 Gly Val Ser Glu Tyr Glu Leu Pro Glu Asp Pro Arg  
                   35                    40  
  
 <210> 247  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens  
  
 <400> 247

10

20

30

40

Gly Thr Lys Lys Ser Asp Phe His Ser Gln Met Ala Val His Lys Leu  
1 5 10 15

Ala Lys Ser Ile  
20

<210> 248  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 248

10

Leu Thr Ser Gln Thr Met Gly Gly Gln Ala Glu Thr Leu Leu Thr Ser  
1 5 10 15

Gln Lys Gly

<210> 249  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 249

Ile Lys Pro Ile Ser Ile Ala Gly Gly Phe Tyr Gly Glu Glu Pro Leu  
1 5 10 15

20

<210> 250  
<211> 20  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 250

Asp Gln Gln Glu Ala Ala Leu Val Asp Met Val Asn Asp Gly Val Glu  
1 5 10 15

Asp Leu Arg Cys  
20

<210> 251  
<211> 41  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

30

<400> 251

Cys Leu Asp Ala Phe Pro Leu Leu Ser Ala Tyr Val Gly Arg Leu Ser  
1 5 10 15

Ala Arg Pro Lys Leu Lys Ala Phe Leu Ala Ser Pro Glu Tyr Val Asn  
20 25 30

Leu Pro Ile Asn Gly Asn Gly Lys Gln

40

35 40

<210> 252  
 <211> 39  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 252

Trp Met Asp Gly Arg Asp Glu Val Thr Gln Gln Lys Tyr Gln Arg Pro  
 1 5 10 15

Glu Thr Glu Trp Pro Arg Val Ser Leu His Pro Glu Pro Glu Asp Ala  
 20 25 30

Ala Lys Thr Ser Leu Ser Glu  
 35

10

<210> 253  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 253

Arg Ala Ala Pro Gly Asn Gln Pro Ser Gln Ala Pro Ala Pro Phe Leu  
 1 5 10 15

Lys Lys Leu Leu Gly Thr Leu Gln Leu  
 20 25

20

<210> 254  
 <211> 27  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 254

Ile Ser Asp Gln Asp Gln Glu Val Thr Leu Glu Glu Asp Leu Met Asp  
 1 5 10 15

Met Ala Val Asp Val Asp Leu Gly Met Ala Ile  
 20 25

30

<210> 255  
 <211> 53  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 255

Ala Gly Leu Glu Arg Met Arg Pro Gly Ala Tyr Ser Thr Gly Tyr Gly  
 1 5 10 15

Gly Tyr Glu Glu Tyr Ser Gly Leu Ser Asp Gly Tyr Gly Phe Thr Thr  
 20 25 30

40

Asp Leu Phe Gly Arg Asp Leu Ser Tyr Cys Leu Ser Gly Met Tyr Asp  
35 40 45

His Arg Tyr Gly Asp  
50

<210> 256  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 256

Gly Val Gly Ala Gly Glu Asp Gly Gly Ser Arg Gly Arg Glu Leu His  
1 5 10 15

10

<210> 257  
<211> 17  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 257

Lys Asp Gln Val Ala Asn Ser Ala Phe Val Glu Arg Leu Arg Lys His  
1 5 10 15

Gly

20

<210> 258  
<211> 19  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 258

Met Ser Ser Phe Gly Tyr Arg Thr Leu Thr Val Ala Leu Phe Thr Leu  
1 5 10 15

Ile Cys Cys

<210> 259  
<211> 14  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

30

<400> 259

Tyr Glu Pro Val Ser Asp Ser Gln Met Val Ile Ile Val Thr  
1 5 10

<210> 260  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

40

<400> 260

Lys Leu Val Arg Lys Asp Arg Leu Val Leu Ser Tyr Val  
1 5 10

<210> 261  
<211> 16  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 261

Lys Lys Arg Tyr Asp Leu Ser Ala Leu Val Arg His Ala Glu Pro Glu  
1 5 10 15

10

<210> 262  
<211> 45  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 262

Leu Leu Gly Leu Cys Ala Leu Leu Pro Arg Leu Ala Gly Leu Asn Ile  
1 5 10 15

Cys Thr Ser Gly Ser Ala Thr Ser Cys Glu Glu Cys Leu Leu Ile His  
20 25 30

Pro Lys Cys Ala Trp Cys Ser Lys Glu Asp Phe Gly Ser  
35 40 45

20

<210> 263  
<211> 37  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 263

Lys Asp Cys Val Met Met Phe Thr Tyr Val Glu Leu Pro Ser Gly Lys  
1 5 10 15

Ser Asn Leu Thr Val Leu Arg Glu Pro Glu Cys Gly Asn Thr Pro Asn  
20 25 30

Ala Met Thr Ile Leu  
35

30

<210> 264  
<211> 29  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 264

Gly His Gly Glu Cys His Cys Gly Glu Cys Lys Cys His Ala Gly Tyr  
1 5 10 15

40

Ile Gly Asp Asn Cys Asn Cys Ser Thr Asp Ile Ser Thr  
 20 25

<210> 265  
 <211> 30  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 265

Val Glu Leu Pro Ser Gly Lys Ser Asn Leu Thr Val Leu Arg Glu Pro  
 1 5 10 15

Glu Cys Gly Asn Thr Pro Asn Ala Met Thr Ile Leu Leu Ala  
 20 25 30

10

<210> 266  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 266

Pro Glu Ala Ala Val Arg Glu Thr Val Met Leu Leu Leu Cys Leu Gly  
 1 5 10 15

Val Pro Thr Gly Arg Pro Tyr Asn  
 20

20

<210> 267  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 267

Gly Tyr Gly Arg Ala Pro Gly Gly Leu Ser Leu His Asp Tyr Lys Leu  
 1 5 10 15

<210> 268  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

30

<400> 268

Pro Gly Gly Leu Ser Leu His Asp Tyr  
 1 5

<210> 269  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 269

Ser Val Gln Trp Leu Asp Glu Asp Gly Thr Thr Val Leu Gln Asp Glu

40



Glu Tyr Glu Gly His His Val Met Glu Pro Pro Val Ile Thr Glu  
 1 5 10 15

<210> 274  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 274

Lys Glu Glu Leu Gly Val Thr Val Tyr Gln Ser Pro His  
 1 5 10

<210> 275  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 275

Asp Arg Lys Pro Arg Leu Leu Phe Pro Thr Asn Ser Ser Ser His Leu  
 1 5 10 15

Val

<210> 276  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 276

Glu Ala Lys Asn Leu Val Ser Glu Ala Ile Ala Ala Gly Ile Phe Asn  
 1 5 10 15

Asp Leu Gly

<210> 277  
 <211> 25  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 277

Pro Leu Gly Ser Ala Val Asp Ile Leu Ala Thr Asp Asp Pro Asn Phe  
 1 5 10 15

Ser Gln Glu Asp Gln Gln Asp Thr Gln  
 20 25

<210> 278  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10

20

30

40

&lt;400&gt; 278

Leu Ser Lys Met Gln Asp Asp Asn Gln Val Met Val Ser Glu  
 1 5 10

&lt;210&gt; 279

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 279

Pro Ala Pro Val Asn Gly Ile Asn Gly Tyr Asn Glu Asp Ile Asn Gln  
 1 5 10 15

10

Glu Ser Ala Pro Lys Ala  
 20

&lt;210&gt; 280

&lt;211&gt; 65

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 280

Tyr Ser Val His Asn Lys Thr Gly Ala Lys Leu Pro Val Lys Trp Met  
 1 5 10 15

Ala Leu Glu Ser Leu Gln Thr Gln Lys Phe Thr Thr Lys Ser Asp Val  
 20 25 30

20

Trp Ser Phe Gly Val Val Leu Trp Glu Leu Met Thr Arg Gly Ala Pro  
 35 40 45

Pro Tyr Pro Asp Val Asn Thr Phe Asp Ile Thr Val Tyr Leu Leu Gln  
 50 55 60

Gly

65

&lt;210&gt; 281

&lt;211&gt; 22

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

&lt;400&gt; 281

Met Cys Asp Phe Thr Glu Asp Gln Thr Thr Glu Phe Lys Glu Ala Phe  
 1 5 10 15

Gln Leu Phe Asp Arg Thr  
 20

&lt;210&gt; 282

&lt;211&gt; 26

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Homo sapiens

30

40

<400> 282

Glu Asp Gln Thr Thr Glu Phe Lys Glu Ala Phe Gln Leu Phe Asp Arg  
1 5 10 15

Thr Gly Asp Gly Lys Ile Leu Tyr Asn Gln  
20 25

<210> 283

<211> 24

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<400> 283

Ser Thr Ser Val Pro Glu Asn Pro Lys Ser Ser Ala Ser Thr Ala Val  
1 5 10 15

Ser Ala Ala Pro Thr Glu Lys Glu  
20

<210> 284

<211> 19

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 284

20

Glu Leu Thr Ser Gln Ala Glu Arg Ala Glu Glu Leu Gly Gln Glu Leu  
1 5 10 15

Lys Ala Trp

<210> 285

<211> 23

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 285

Asn Leu Lys Arg Tyr Leu Lys Ser Glu Pro Ile Pro Glu Ser Asn Asp  
1 5 10 15

30

Gly Pro Val Lys Val Val Val  
20

<210> 286

<211> 18

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 286

Ala Pro Glu Lys Pro Val Lys Lys Gln Lys Thr Gly Glu Thr Ser Arg  
1 5 10 15

40

Ala Leu

<210> 287  
<211> 42  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 287

Gly Ile Asn Gln Lys Leu Leu Ala Glu Ala Leu Asn Gln Val Thr Gln  
1 5 10 15

10

Arg Ala Ser Arg Arg Ser Asp Ser Ala Ser Ser Glu Pro Val Gly Ile  
20 25 30

Tyr Gln Gly Phe Glu Lys Lys Thr Gly Val  
35 40

<210> 288  
<211> 36  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 288

Ile Ile Gly Arg Cys Thr Gly Thr Ala Ala Asn Ser Arg Asp Thr Ile  
1 5 10 15

20

Phe Gln Lys Glu Arg Phe Asn Ile Asp Met Pro His Arg Phe Lys Val  
20 25 30

His Asn Tyr Met  
35

<210> 289  
<211> 30  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 289

Gly Gln Thr Ser Thr Lys Gln Lys Thr Asn Lys Pro Thr Tyr Asn Glu  
1 5 10 15

30

Glu Phe Cys Ala Asn Val Thr Asp Gly Gly His Leu Glu Leu  
20 25 30

<210> 290  
<211> 35  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 290

Cys Ala Asn Val Thr Asp Gly Gly His Leu Glu Leu Ala Val Phe His

40

1                    5                    10                    15  
 Glu Thr Pro Leu Gly Tyr Asp His Phe Val Ala Asn Cys Thr Leu Gln  
                   20                    25                    30

Phe Gln Glu  
                   35

<210> 291  
 <211> 19  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 291

10

Gly His Leu Phe Gln Ala Lys Arg Phe Asn Arg Arg Ala Tyr Cys Gly  
 1                    5                    10                    15

Gln Cys Ser

<210> 292  
 <211> 40  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 292

20

Pro Leu Thr Leu Lys Trp Val Asp Ser Glu Gly Asp Pro Cys Thr Val  
 1                    5                    10                    15

Ser Ser Gln Met Glu Leu Glu Glu Ala Phe Arg Leu Ala Arg Gln Cys  
                   20                    25                    30

Arg Asp Glu Gly Leu Ile Ile His  
                   35                    40

<210> 293  
 <211> 31  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 293

30

Val Thr Gln Phe Asn Lys Val Ala Gly Ala Val Val Ser Ser Val Leu  
 1                    5                    10                    15

Gly Ala Thr Ser Thr Gly Glu Gly Pro Gly Glu Val Thr Ile Arg  
                   20                    25                    30

<210> 294  
 <211> 36  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 294

40

Asn Leu Glu Asn Pro Ser Cys Asn Ser Val Leu Asp Pro Arg Asp Leu  
 1 5 10 15

Arg Gln Leu His Gln Met Ser Ser Ser Ser Met Ser Ala Gly Ala Asn  
 20 25 30

Ser Asn Thr Thr  
 35

<210> 295  
 <211> 47  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

10

<400> 295

Glu Gln Ser Gln Ala Pro Ile Thr Pro Gln Gln Gly Gln Ala Leu Ala  
 1 5 10 15

Lys Gln Ile His Ala Val Arg Tyr Leu Glu Cys Ser Ala Leu Gln Gln  
 20 25 30

Asp Gly Val Lys Glu Val Phe Ala Glu Ala Val Arg Ala Val Leu  
 35 40 45

<210> 296  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

20

<400> 296

Gly Trp Met Glu Glu Gln Ser Gln Ala Pro Ile Thr Pro Gln Gln Gly  
 1 5 10 15

Gln Ala Leu Glu  
 20

<210> 297  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

30

<400> 297

Lys Glu Gln Ser Gln Ala Pro Ile Thr Pro Gln Gln Gly Gln Ala Leu  
 1 5 10 15

Ala Lys Gln Ile His Ala Val Arg Tyr Leu Glu Cys Ser Ala Leu Gln  
 20 25 30

Gln Asp Gly  
 35

<210> 298  
 <211> 18  
 <212> PRT

40

<213> Homo sapiens

<400> 298

Thr Pro Gln Gln Gly Gln Ala Leu Ala Lys Gln Ile His Ala Val Arg  
1 5 10 15

Tyr Leu

<210> 299

<211> 20

<212> PRT

<213> Homo sapiens

10

<400> 299

Ser Arg Ile Arg Val His Leu Thr Pro Ala Ala Ser Thr Met Leu Pro  
1 5 10 15

Lys Phe Asn Pro  
20

<210> 300

<211> 17

<212> PRT

<213> Homo sapiens

20

<400> 300

Gly Glu Lys Lys Lys Gly Arg Ser Ala Ile Asn Glu Val Val Thr Arg  
1 5 10 15

Glu

<210> 301

<211> 22

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 301

Trp Met Asp Gly Arg Met Lys Lys Val Arg Gly Thr Ala Lys Ala Asn  
1 5 10 15

30

Val Gly Ala Gly Lys Lys  
20

<210> 302

<211> 40

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 302

Glu Ser Gln Glu His Pro Glu Ala Asp Pro Gly Ser Ala Ala Pro Tyr

40

1                    5                    10                    15  
 Leu Lys Thr Lys Phe Ile Cys Val Thr Pro Thr Thr Cys Ser Asn Thr  
                   20                    25                    30

Ile Asp Leu Pro Met Ser Pro Arg  
                   35                    40

<210> 303  
 <211> 32  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 303

10

Asp Val Arg Lys Arg Val Gln Asp Leu Glu Gln Lys Met Lys Val Val  
 1                    5                    10                    15

Glu Asn Leu Gln Asp Asp Phe Asp Phe Asn Tyr Lys Thr Leu Lys Ser  
                   20                    25                    30

<210> 304  
 <211> 38  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 304

Phe Leu Gln Glu Ser Asn Val Leu Tyr Gln His Asn Leu Arg Arg Ile  
 1                    5                    10                    15

20

Lys Gln Phe Leu Gln Ser Arg Tyr Leu Glu Lys Pro Met Glu Ile Ala  
                   20                    25                    30

Arg Ile Val Ala Arg Cys  
                   35

<210> 305  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 305

Asp Gln Gln Tyr Ser Arg Phe Leu Gln Glu Ser Asn Val Leu Tyr  
 1                    5                    10                    15

30

<210> 306  
 <211> 35  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 306

Asn Lys Gln Gln Ala His Asp Leu Leu Ile Asn Lys Pro Asp Gly Thr  
 1                    5                    10                    15

40

Phe Leu Leu Arg Phe Ser Asp Ser Glu Ile Gly Gly Ile Thr Ile Ala  
20 25 30

Trp Lys Phe  
35

<210> 307  
<211> 34  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 307

Lys Arg Ile Lys Arg Ser Asp Arg Arg Gly Ala Glu Ser Val Thr Glu  
1 5 10 15

10

Glu Lys Phe Thr Ile Leu Phe Glu Ser Gln Phe Ser Val Gly Gly Asn  
20 25 30

Glu Leu

<210> 308  
<211> 15  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 308

20

Thr Ile Leu Phe Glu Ser Gln Phe Ser Val Gly Gly Asn Glu Leu  
1 5 10 15

<210> 309  
<211> 40  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 309

Gln His Gly Lys Val Val Thr Trp Arg Thr Ala Thr Leu Cys Pro Gln  
1 5 10 15

Ser Cys Glu Glu Arg Asn Leu Arg Glu Asn Gly Tyr Glu Cys Glu Trp  
20 25 30

30

Arg Tyr Asn Ser Cys Ala Pro Ala  
35 40

<210> 310  
<211> 28  
<212> PRT  
<213> Homo sapiens

<400> 310

Ala Arg Thr Cys Ala Gln Glu Gly Met Val Leu Tyr Gly Trp Thr Asp  
1 5 10 15

40

His Ser Ala Cys Ser Pro Val Cys Pro Ala Gly Met  
 20 25

<210> 311  
 <211> 24  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 311

Cys Cys Gly Arg Cys Leu Pro Ser Ala Cys Glu Val Val Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

10

Pro Arg Gly Asp Ser Gln Ser Ser  
 20

<210> 312  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 312

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

Thr Gly Asn Pro  
 20

20

<210> 313  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

<400> 313

Cys His Thr Val Thr Cys Gln Pro Asp Gly Gln Thr Leu Leu Lys Ser  
 1 5 10 15

His Arg Val Asn Cys  
 20

<210> 314  
 <211> 21  
 <212> PRT  
 <213> Homo sapiens

30

<400> 314

Ser Thr Ser Glu Val Leu Lys Tyr Thr Leu Phe Gln Ile Phe Ser Lys  
 1 5 10 15

Ile Asp Arg Pro Glu  
 20

40



## 【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US02/22868
<b>A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER</b>		
IPC(7) : C12Q 1/68 US CL : 435/6		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
<b>B. FIELDS SEARCHED</b>		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 435/6		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) USPAT, PGPUBS, DERWENT WPI, MEDLINE, BIOSIS		
<b>C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT</b>		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 5,837,488 A (GARFINKEL et al.) 17 November 1998 (17.11.1998).	1-14
A	US 5,512,660 A (SPRINGER et al.) 30 April 1996 (30.04.1996).	1-14
A	US 5,969,124 A (LEMMON) 19 October 1999 (19.10.1999).	1-14
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
"A"	document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E"	earlier application or patent published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L"	document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O"	document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P"	document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	
Date of the actual completion of the international search 29 July 2003 (29.07.2003)		Date of mailing of the international search report <b>10 SEP 2003</b>
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner for Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703)305-3230		Authorized officer <i>Valerie Bell-Hanover</i> Kenneth R. Hoffman Telephone No. 703-308-0196

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US02/22868

**Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)**

This international report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1.  Claim Nos.:  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
2.  Claim Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.  Claim Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

**Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)**This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:  
Please See Continuation Sheet

1.  As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.  As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.  As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.: 1-14, relating to STRN4, LICAM, ICAM2, VWF
4.  No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest  The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
 No protest accompanied the payment of additional search fees.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

PCT/US02/22868

**BOX II. OBSERVATIONS WHERE UNITY OF INVENTION IS LACKING**

Group I, claim(s) 1-14, drawn to methods of identifying a compound via assaying gene expression.

Group II, claim(s) 15 and 17-21, drawn to a compound that inhibits tumor cell growth and method of use thereof.

Group III, claim(s) 16, drawn to a target gene.

Group IV, claim(s) 22-23, drawn to peptides.

This application contains claims directed to more than one species of the generic invention. These species are deemed to lack unity of invention because they are not so linked as to form a single general inventive concept under PCT Rule 13.1.

In order for more than one species to be examined, the appropriate additional examination fees must be paid. The species are as follows:

Regarding Groups I-III, the species are each of the individual genes/sequences as set forth in Table 3 (38 total sequences).

Regarding Group IV, the species are each of the individual peptides as set forth in SEQ ID NO:229-314 (86 total sequences).

The claims are deemed to correspond to the species listed above in the following manner: N/A

The following claim(s) are generic: all of claims 1-23.

The inventions listed as Groups I-IV do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, they lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the claims of Groups I-IV are not so related as to support unity of invention. The special technical feature of each of the Groups is as follows: I - identification of a compound via gene expression analysis; II - compounds which inhibit tumor cell growth; III - specific gene sequences; and IV - specific peptides. Thus, there is no special technical feature which is shared among the various groups.

The species listed above do not relate to a single general inventive concept under PCT Rule 13.1 because, under PCT Rule 13.2, the species lack the same or corresponding special technical features for the following reasons: the target genes of Table 3 differ in sequence and share no properties in common; this applies as well to the different peptides of SEQ ID NO:229-314. The unique sequences and functions of each of these genes and peptides represent its own special technical feature.

## フロントページの続き

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	F I	テーマコード(参考)
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/53	M
G 0 1 N 33/53	G 0 1 N 33/566	
G 0 1 N 33/566	A 6 1 K 37/02	

(81) 指定国 AP(GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, N O, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW

(72) 発明者 チャン、 ベイ - ディー

アメリカ合衆国 イリノイ州 6 0 1 4 8 ロンバード カンプリア レーン 1 1 1 6

(72) 発明者 ロニンソン、 イゴア ピィ .

アメリカ合衆国 イリノイ州 6 0 0 9 1 ウィルメッテ リンカン レーン 2 7 3 1

F ターム(参考) 4B024 AA01 AA11 BA80 CA02 CA09 DA03 DA06 EA02 GA14 HA14  
HA17

4B063 QA13 QQ08 QQ43 QR32 QR55 QR77 QS34 QX02

4C084 AA02 AA07 AA17 BA44 CA62 NA14 ZB262 ZC022

4H045 AA10 AA30 BA10 CA41 EA28 EA51 FA74

专利名称(译)	用于鉴定用于治疗乳腺癌的基因靶标的方法和试剂		
公开(公告)号	<a href="#">JP2005514910A</a>	公开(公告)日	2005-05-26
申请号	JP2003513493	申请日	2002-07-19
申请(专利权)人(译)	伊利诺伊州的盐湖研究所董事会		
[标]发明人	プリミアノトーマス チャンベイディー ロニンソンイゴアビィ		
发明人	プリミアノ、トーマス チャン、ベイ-ディー ロニンソン、イゴアビィ.		
IPC分类号	G01N33/53 A61K38/00 A61K45/00 A61P35/00 A61P43/00 C07K7/06 C07K7/08 C07K14/00 C07K14/47 C12N15/09 C12N15/10 C12N15/12 C12N15/53 C12Q1/02 C12Q1/68 C12Q1/6886 G01N33/50 G01N33/566 G01N33/574		
CPC分类号	C07K7/08 A61K38/00 C07K14/47 C12Q1/6886 C12Q2600/158 G01N33/5011 G01N33/5023 G01N33/57415 G01N2500/10 G01N2800/52		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K45/00 A61P35/00 C07K14/47 C12Q1/68.A G01N33/53.M G01N33/566 A61K37/02		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA02 4B024/CA09 4B024/DA03 4B024/DA06 4B024/EA02 4B024/GA14 4B024/HA14 4B024/HA17 4B063/QA13 4B063/QQ08 4B063/QQ43 4B063/QR32 4B063/QR55 4B063/QR77 4B063/QS34 4B063/QX02 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA17 4C084/BA44 4C084/CA62 4C084/NA14 4C084/ZB262 4C084/ZC022 4H045/AA10 4H045/AA30 4H045/BA10 4H045/CA41 4H045/EA28 4H045/EA51 4H045/FA74		
代理人(译)	三好秀		
优先权	60/306730 2001-07-20 US PCT/US2002/006254 2002-02-28 WO		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

### 摘要(译)

本发明提供了用于鉴定肿瘤细胞生长所必需的哺乳动物基因作为抑制上述基因表达的药物治疗目标的方法和试剂，从而减少抑制生长。

遺伝子	発元番号	配列数 (s/seq)	クローニング数	発元のシグナル
ATF4	NM_001675.1	5(seq)	369	A
STAT5b	NM_012449.1	4(seq, 4(ss))	152	A,B
GBC-1	NM_034221.1	2(seq)	70	A,B
ARHG	NM_001665.1	5(seq, 1(ss))	43	A
VWF	NM_000522.2	5(seq, 5(ss))	30	B
MCM3	NM_002388.2	3(seq, 4(ss))	38	C
TBS RNA	K03432.1	8(seq, 4(ss))	33	A
ITGB5	NM_002213.1	4(seq, 1(ss))	30	A,B
HSPCA	NM_003348.1	2(seq)	27	B
STAT3	NM_003150.1	4(seq, 3(ss))	25	A,B
L1CAM	NM_000425.2	8(seq, 4(ss))	20	A,B
ZRS RNA	M27930.1	3(seq)	17	A
C-FOB	NM_002222.2	3(seq, 3(ss))	17	A
C-KIT	NM_021099.2	4(seq, 2(ss))	12	A
FEN1	NM_004111.3	2(seq, 2(ss))	12	A
GBC-3	AA443027	1(seq)	12	A,B
NIN2B3	NM_002298	1(seq)	11	A
ADPRT	NM_001618	1(seq, 1(ss))	10	A
CCN D1	NM_001759.1	2(seq, 2(ss))	9	A
CDC20	NM_001285	1(ss)	9	B
EFNA1	NM_004428	1(seq, 3(ss))	9	A
KIAA1270	KM_044835	1(ss)	9	A
RPL31	NM_013403.1	2(seq)	9	A,B
TSU	X02248.1	4(seq, 1(ss))	8	C
ENO1	NM_001428	2(seq)	8	A
GSTP	NM_000852	2(seq)	8	A
ICAM2	NM_000873	2(seq, 1(ss))	8	A
INT-2/FGF3	NM_005247	2(seq)	8	C
LYN	NM_002393	2(ss)	8	A
RPS24	NM_001026	1(seq, 1(ss))	8	A
EGFR1	NM_000504.2	2(seq, 1(ss))	8	A
HES6	KM_043579	1(ss)	6	B
PKC zeta	NM_002744	2(seq, 1(ss))	6	B
RAN	NM_006325	1(ss)	6	B
RPA3	NM_002947.1	1(ss)	6	A
ZIN	NM_013403.1	1(ss)	6	A, B
TAI1	NM_005642	1(seq)	6	A
APF1/ABAM2	NM_011122.1	2(ss)	6	A
HNRPF	NM_004666	3(ss)	5	A
HNRPM1	AF222889	1(ss)	5	A
RFB-1	NM_003998.1	1(ss)	5	A, B
NR3C1	NM_000176	1(ss)	5	A
PKC delta	NM_000254.1	2(seq, 1(ss))	5	A
BAG-1	NM_004232.2	2(seq)	4	A
GBC-11	W8477	1(ss)	4	A, B
HNRPA2B1	NM_002137	1(ss)	4	A
IFI	NM_016311.1	1(ss)	4	A
ITGA4	NM_000805	1(seq, 1(ss))	4	A
JunB	NM_002229.1	1(ss)	4	C
SFRP5	NM_005313.1	1(seq, 1(ss))	4	A
PKC eta	NM_006255.1	3(seq, 1(ss))	4	A, B, C