

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2004-57003

(P2004-57003A)

(43) 公開日 平成16年2月26日(2004.2.26)

(51) Int. Cl. ⁷	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09	C 1 2 N 15/00 Z N A A	2 G O 4 5
A 6 1 K 31/7088	A 6 1 K 31/7088	4 B O 2 4
A 6 1 K 35/76	A 6 1 K 35/76	4 B O 6 3
A 6 1 K 38/00	A 6 1 K 39/395 E	4 B O 6 4
A 6 1 K 39/395	A 6 1 K 45/00	4 B O 6 5

審査請求 未請求 請求項の数 26 O L (全 90 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2002-214978 (P2002-214978)	(71) 出願人	502198836 茶野 徳宏
(22) 出願日	平成14年7月24日 (2002.7.24)		滋賀県草津市野村5丁目9-34-809
(31) 優先権主張番号	特願2002-161400 (P2002-161400)	(71) 出願人	502198847
(32) 優先日	平成14年6月3日 (2002.6.3)		岡部 英俊
(33) 優先権主張国	日本国 (JP)		京都府京都市伏見区桃山南大島町101-5
特許法第30条第1項適用申請有り		(71) 出願人	502136377
			池川 志郎
			東京都品川区上大崎1-12-22-201
		(74) 代理人	100088904
			弁理士 庄司 隆

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 RB1 遺伝子誘導蛋白質 (RB1CC1) 及び遺伝子

(57) 【要約】

【課題】 癌における多剤耐性に関与している新規遺伝子及びその蛋白質の検索・提供し、それら遺伝子及びその蛋白質の機能の解明し、該遺伝子の検査方法及び該蛋白質に対する抗体を提供し、上記の遺伝子及び抗体を用いて、癌の検査診断方法を提供する。

【解決手段】 ヒト又は動物の細胞の核に存在し、転写因子機能及び/又はレチノブラストーマ-1 遺伝子 (RB1 遺伝子) 或いはその遺伝子産物の発現を誘導しうる機能を有する新規蛋白質 (RB1CC1) 又はポリペプチド、及びその遺伝子を見出した。そのアミノ酸配列及び cDNA 配列を決定し、新規遺伝子とハイブリダイズするプライマーにより、遺伝子の増幅、検出を行い、新規遺伝子の発現、変異等を検査し、癌細胞の増殖との関連を見出し癌の検査を行ない、新規蛋白質に対する抗体を調製し、抗体による新規蛋白質の検出により、新規蛋白質と癌細胞の増殖との関連を見出し癌の検査を行なった。

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ヒト又は動物の細胞の核に存在し、転写因子機能及び/又はレチノブラストーマ遺伝子(RB1 遺伝子) 或いはその遺伝子産物の発現を誘導しうる機能を有する蛋白質又はポリペプチド。

【請求項 2】

請求項 1 記載のヒト蛋白質が下記の群より選ばれるポリペプチド又は蛋白質; (1) 配列表の配列番号 1 に記載のアミノ酸配列で示されるポリペプチド又は蛋白質、(2) 前記のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列の少なくとも 5 個のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、(3) 前記のポリペプチド又は蛋白質と少なくとも約 70% のアミノ酸配列上の同一性を有するポリペプチド又は蛋白質、(4) および前記(1) から(3) のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列において 1 ないし数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加などの変異あるいは誘発変異を有するポリペプチド又は蛋白質。

10

【請求項 3】

請求項 1 記載の動物蛋白質がマウス由来の蛋白質であり、下記の群より選ばれるポリペプチド又は蛋白質; (1) 配列表の配列番号 2 に記載のアミノ酸配列で示されるポリペプチド又は蛋白質、(2) 前記のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列の少なくとも 5 個のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、(3) 前記のポリペプチド又は蛋白質と少なくとも約 70% のアミノ酸配列上の同一性を有するポリペプチド又は蛋白質、(4) および前記(1) から(3) のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列において 1 ないし数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加などの変異あるいは誘発変異を有するポリペプチド又は蛋白質。

20

【請求項 4】

請求項 1 ~ 3 に記載のポリペプチド又は蛋白質をコードする核酸またはその相補鎖。

【請求項 5】

請求項 3 に記載の核酸またはその相補鎖とストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションする核酸。

【請求項 6】

配列表の配列番号 3 ~ 4 に記載の核酸またはその相補鎖の塩基配列のうち少なくとも 15 個の連続した塩基配列で示される核酸であって、該核酸の転写によって発現されるポリペプチドが請求項 1 ~ 3 記載のポリペプチドである核酸。

30

【請求項 7】

請求項 4 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の核酸を含有する組換えベクター。

【請求項 8】

請求項 7 の組換えベクターで形質転換された形質転換体。

【請求項 9】

請求項 8 の形質転換体を培養する工程を含む、請求項 1 ~ 3 に記載のポリペプチド又は蛋白質の製造方法。

【請求項 10】

請求項 4 ~ 6 に記載の核酸またはその相補鎖とストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションする配列表の配列番号 5 ~ 132 に記載の核酸プライマー。

40

【請求項 11】

請求項 1 ~ 3 に記載のポリペプチド又は蛋白質を免疫学的に認識する抗体。

【請求項 12】

請求項 1 ~ 3 に記載のポリペプチド又は蛋白質の転写因子活性及び/又は RB1 遺伝子の発現を誘導しうる機能を阻害もしくは増強する化合物のスクリーニング方法であって、請求項 1 ~ 3 に記載のポリペプチド又は蛋白質、請求項 11 に記載の抗体のうち、少なくともいずれか 1 つを用いることを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項 13】

請求項 4 もしくは 6 に記載の核酸と相互作用して該核酸の発現を阻害もしくは増強する化

50

合物のスクリーニング方法であって、請求項 4 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の核酸、請求項 7 に記載のベクター、請求項 8 に記載の形質転換体、請求項 10 に記載の核酸プライマーのうち少なくともいずれか 1 つを用いることを特徴とするスクリーニング方法。

【請求項 14】

請求項 12 又は 13 に記載のスクリーニング方法でスクリーニングされる化合物。

【請求項 15】

請求項 1 ~ 3 に記載のポリペプチド又は蛋白質の転写因子活性及び / 又は R B 1 遺伝子の発現を誘導しうる機能を阻害もしくは増強する化合物。

【請求項 16】

請求項 4 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の核酸と相互作用して該核酸の発現を阻害もしくは増強する化合物。 10

【請求項 17】

請求項 1 ~ 3 に記載のポリペプチド又は蛋白質、請求項 4 ~ 6 のいずれか 1 項に記載の核酸、請求項 7 に記載のベクター、請求項 8 に記載の形質転換体、請求項 10 に記載の核酸プライマー、請求項 11 に記載の抗体、または請求項 14 ~ 16 のいずれか 1 項に記載の化合物のうち、少なくともいずれか 1 つを含有することを特徴とする、抗がん剤の治療に抵抗性である多剤耐性の治療に用いる医薬組成物。

【請求項 18】

請求項 1 ~ 3 に記載のポリペプチド又は蛋白質の発現または活性に関連した疾病の検査診断方法であって、試料中の (a) 該ポリペプチド又は蛋白質をコードしている核酸、および / または (b) 該ポリペプチド又は蛋白質をマーカーとして分析することを含む検査診断方法。 20

【請求項 19】

癌細胞の検査方法又は癌の診断方法である請求項 18 の検査診断方法。

【請求項 20】

請求項 11 に記載の抗体を用いることを特徴とする、請求項 1 ~ 3 に記載のポリペプチド又は蛋白質の全部又は一部の発現、増加、減少、欠損等を検査する請求項 18 又は 19 に記載の方法。

【請求項 21】

請求項 10 に記載の核酸プライマーの少なくとも何れかの 1 つを用いて請求項 1 ~ 3 に記載のポリペプチド又は蛋白質をコードする遺伝子を増幅させる工程を経て、請求項 1 ~ 3 に記載のポリペプチド又は蛋白質をコードする遺伝子の全部又は一部の発現、変異、欠損又は挿入等を検査する請求項 18 又は 19 に記載の方法。 30

【請求項 22】

癌抑制遺伝子レチノブラストーマ遺伝子 (R B 1 遺伝子) 或いはその遺伝子産物 (R B 1 蛋白質) の全部又は一部の発現、増加、減少、変異、欠損又は挿入等を検査することを組み合わせることを特徴とする請求項 18 ~ 21 に記載の方法。

【請求項 23】

多剤耐性遺伝子、 (M D R 1 遺伝子) の或いはその遺伝子産物 (M D R 1 蛋白質 : P - 糖蛋白質) の全部又は一部の発現、増加、減少、変異、欠損又は挿入等を検査することを組み合わせることを特徴とする請求項 18 ~ 22 に記載の方法。 40

【請求項 24】

細胞増殖マーカー、 K i - 6 7 蛋白質、の全部又は一部の発現、増加、減少等を検査することを組み合わせることを特徴とする請求項 18 ~ 23 に記載の方法。

【請求項 25】

請求項 23 記載の方法を用いる癌細胞の薬剤感受性を検査する方法。

【請求項 26】

請求項 18 ~ 25 に記載の方法に用いる検査診断試薬およびキット。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、癌抑制遺伝子（レチノブラストーマ遺伝子：R B 1 遺伝子）の発現を誘導しうる新規な蛋白質およびポリペプチド（以下新規蛋白質 R B 1 C C 1）に関するものである。さらに詳しくは、新規蛋白質のアミノ酸配列の全部または一部を有するポリペプチド、該ポリペプチドをコードする核酸（以下 R B 1 C C 1 遺伝子）、該核酸を含有する組換えベクター、該組換えベクターで形質転換された形質転換体、該形質転換体を使ったペプチドまたはポリペプチドの製造方法、該ペプチドまたはポリペプチドに対する抗体、これらを利用した化合物のスクリーニング方法、該スクリーニングされた化合物、該ポリペプチド若しくは該核酸に作用する活性阻害化合物または活性賦活化合物、これらに係る医薬組成物、及びこれらに係る疾病の検査診断方法並びに試薬に関する。

10

【0002】

【従来の技術】

抗がん剤の治療に抵抗性である多剤耐性（MDR）は癌治療を困難にさせている。MDRの成因は明確ではないが、いくつかの癌ではMDR関連遺伝子（MDR1遺伝子）産物であるP-糖蛋白質が関与していると言われている。一方、他の癌ではP-糖蛋白質の発現が癌の発生や転移と逆に相関することも知られている。これらのP-糖蛋白質の異なる効果は異なる遺伝子産物の抑制を受けているか或いは異なった相互作用をしていると考えられる。MDRに関連する遺伝子の検索はこれらの現象を解明する上で必須である。

【0003】

【解決しようとする課題】本発明が解決しようとする課題は、上記のように抗がん剤に対する多剤耐性に関与する遺伝子およびその遺伝子産物を見いだすことである。より具体的には、本発明の課題は癌抑制遺伝子（レチノブラストーマ遺伝子：R B 1 遺伝子）の発現を誘導しうる新規な蛋白質およびポリペプチド（新規蛋白質 R B 1 C C 1）を提供することである。また本発明の別の課題は、新規蛋白質のアミノ酸配列の全部または一部をコードする核酸（以下 R B 1 C C 1 遺伝子）を提供し、遺伝子工学手法による、蛋白質又はポリペプチド（新規蛋白質 R B 1 C C 1）の製造法を提供することである。さらに本発明の別の課題は、新規蛋白質 R B 1 C C 1 由来のポリペプチドに対する抗体を提供することである。その他の本発明の課題は、上記のものを利用して新規蛋白質 R B 1 C C 1 の有する作用の阻害剤・拮抗剤・賦活剤のスクリーニングをおこなうことであり、スクリーニングされた化合物を提供することであり、またこれらを利用した抗がん剤の治療に抵抗性である多剤耐性（MDR）の治療に用いる医薬組成物を提供することである。また別の本発明が解決しようとする課題は、本発明中で明らかになった、癌抑制遺伝子（レチノブラストーマ遺伝子：R B 1 遺伝子）の発現を誘導しうる新規の蛋白質およびポリペプチド（R B 1 C C 1 蛋白質）又は該蛋白質のアミノ酸配列の全部または一部をコードする核酸（以下 R B 1 C C 1 遺伝子）、これを検査することによって癌細胞又は癌の診断方法を提供することである。さらに、該蛋白質のアミノ酸配列の全部または一部をコードする核酸を増幅しうる核酸プライマーを提供し、該プライマーを用いた核酸の増幅産物を検査することによる癌細胞又は癌の診断方法を提供することである。そして、該蛋白質又はポリペプチド（R B 1 C C 1 蛋白質）と反応しうる抗体を提供することであり、またその抗体を用いた免疫学的な検査方法を提供する。又本発明の課題は該検査方法に用いられる該プライマー又は該抗体を用いた検査試薬又はキットを提供することでもある。

20

30

40

【0004】

【解決する手段】課題解決のため、本発明者らは、U-2 OS骨肉腫細胞とMDR変異誘導細胞の間で別々に発現されている遺伝子を探索しその塩基配列および該新規蛋白質のcDNAがコードするアミノ酸配列を決定した。また動物においても同様な蛋白質が存在することを証明するためマウスの新規蛋白質のアミノ酸配列および該新規蛋白質のcDNAがコードするアミノ酸配列を決定した。さらには、これらの蛋白質を認識する抗体を調製し、遺伝子の発現、変異、欠損等の検査に加えて免疫学的な検討を行い、ある種の癌細胞において本遺伝子の発現及び蛋白質の発現が抑制されていることを見出し、本発明を完成した。

50

【 0 0 0 5 】

すなわち、本発明は以下の構成よりなる。

1、ヒト又は動物の細胞の核に存在し、転写因子機能及び/又はレチノブラストーマ遺伝子(RB1遺伝子)或いはその遺伝子産物の発現を誘導しうる機能を有する蛋白質又はポリペプチド。

2、上記1記載のヒト蛋白質が下記の群より選ばれるポリペプチド又は蛋白質；(1)配列表の配列番号1に記載のアミノ酸配列で示されるポリペプチド又は蛋白質、(2)前記のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列の少なくとも5個のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、(3)前記のポリペプチド又は蛋白質と少なくとも約70%のアミノ酸配列上の同一性を有するポリペプチド又は蛋白質、(4)および前記(1)から(3)のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列において1ないし数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加などの変異あるいは誘発変異を有するポリペプチド又は蛋白質。

10

3、上記1記載の動物蛋白質がマウス由来の蛋白質であり、下記の群より選ばれるポリペプチド又は蛋白質；(1)配列表の配列番号2に記載のアミノ酸配列で示されるポリペプチド又は蛋白質、(2)前記のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列の少なくとも5個のアミノ酸配列を含有するポリペプチド、(3)前記のポリペプチド又は蛋白質と少なくとも約70%のアミノ酸配列上の同一性を有するポリペプチド又は蛋白質、(4)および前記(1)から(3)のポリペプチド又は蛋白質のアミノ酸配列において1ないし数個のアミノ酸の欠失、置換又は付加などの変異あるいは誘発変異を有するポリペプチド又は蛋白質。

20

4、上記1~3に記載のポリペプチド又は蛋白質をコードする核酸またはその相補鎖。

5、上記3に記載の核酸またはその相補鎖とストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションする核酸。

6、配列表の配列番号3~4に記載の核酸またはその相補鎖の塩基配列のうち少なくとも15個の連続した塩基配列で示される核酸であって、該核酸の転写によって発現されるポリペプチドが上記1~3記載のポリペプチドである核酸。

7、上記4~6のいずれか1項に記載の核酸を含有する組換えベクター。

8、上記7の組換えベクターで形質転換された形質転換体。

9、上記8の形質転換体を培養する工程を含む、上記1~3に記載のポリペプチド又は蛋白質の製造方法。

30

10、上記4~6に記載の核酸またはその相補鎖とストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションする配列表の配列番号5~132に記載の核酸プライマー。

11、上記1~3に記載のポリペプチド又は蛋白質を免疫学的に認識する抗体。

12、上記1~3に記載のポリペプチド又は蛋白質の転写因子活性及び/又はRB1遺伝子の発現を誘導しうる機能を阻害もしくは増強する化合物のスクリーニング方法であって、上記1~3に記載のポリペプチド又は蛋白質、上記11に記載の抗体のうち、少なくともいずれか1つを用いることを特徴とするスクリーニング方法。

13、上記4もしくは6に記載の核酸と相互作用して該核酸の発現を阻害もしくは増強する化合物のスクリーニング方法であって、上記4~6のいずれか1項に記載の核酸、上記7に記載のベクター、上記8に記載の形質転換体、上記10に記載の核酸プライマーのうち少なくともいずれか1つを用いることを特徴とするスクリーニング方法。

40

14、上記12又は13に記載のスクリーニング方法でスクリーニングされる化合物。

15、上記1~3に記載のポリペプチド又は蛋白質の転写因子活性及び/又はRB1遺伝子の発現を誘導しうる機能を阻害もしくは増強する化合物。

16、上記4~6のいずれか1項に記載の核酸と相互作用して該核酸の発現を阻害もしくは増強する化合物。

17、上記1~3に記載のポリペプチド又は蛋白質、上記4~6のいずれか1項に記載の核酸、上記7に記載のベクター、上記8に記載の形質転換体、上記10に記載の核酸プライマー、上記11に記載の抗体、または上記14~16のいずれか1項に記載の化合物のうち、少なくともいずれか1つを含有することを特徴とする、抗がん剤の治療に抵抗性で

50

ある多剤耐性の治療に用いる医薬組成物。

18、上記1～3に記載のポリペプチド又は蛋白質の発現または活性に関連した疾病の検査診断方法であって、試料中の(a)該ポリペプチド又は蛋白質をコードしている核酸、および/または(b)該ポリペプチド又は蛋白質をマーカーとして分析することを含む検査診断方法。

19、癌細胞の検査方法又は癌の診断方法である上記18の検査診断方法。

20、上記11に記載の抗体を用いることを特徴とする、上記1～3に記載のポリペプチド又は蛋白質の全部又は一部の発現、増加、減少、欠損等を検査する上記18又は19に記載の方法。

21、上記10に記載の核酸プライマーの少なくとも何れかの1つを用いて上記1～3に記載のポリペプチド又は蛋白質をコードする遺伝子を増幅させる工程を経て、上記1～3に記載のポリペプチド又は蛋白質をコードする遺伝子の全部又は一部の発現、変異、欠損又は挿入等を検査する上記18又は19に記載の方法。

22、癌抑制遺伝子レチノブラストーマ遺伝子(RB1遺伝子)或いはその遺伝子産物(RB1蛋白質)の全部又は一部の発現、増加、減少、変異、欠損又は挿入等を検査することを組み合わせることを特徴とする上記18～21に記載の方法。

23、多剤耐性遺伝子、(MDR1遺伝子)の或いはその遺伝子産物(MDR1蛋白質:P-糖蛋白質)の全部又は一部の発現、増加、減少、変異、欠損又は挿入等を検査することを組み合わせることを特徴とする上記18～22に記載の方法。

24、細胞増殖マーカー、Ki-67蛋白質、の全部又は一部の発現、増加、減少等を検査することを組み合わせることを特徴とする上記18～23に記載の方法

25、上記23記載の方法を用いる癌細胞の薬剤感受性を検査する方法。

26、上記18～25に記載の方法に用いる検査診断試薬およびキット。

【0006】

【発明の実施の形態】(新規蛋白質RB1CC1)本発明において提供される新規蛋白質RB1CC1をコードする核酸は、U-2 OS骨肉腫細胞とMDR変異誘導細胞の間で別々に発現されている遺伝子を検索し、配列表・配列番号5～37に記載の核酸プライマーを用いて、U-2 OS mRNAを鋳型として増幅し、その塩基配列および該新規蛋白質のcDNAがコードするアミノ酸配列を決定し、新規なアミノ酸配列を有する物質として、そのcDNAが取得されたものである。本発明の新規蛋白質RB1CC1のcDNAは、6.6-kbの長さを持ち、4782ヌクレオチドのオープンリーディングフレーム(ORF)を含み、分子量180kDaの1594個のアミノ酸からなる蛋白質をコードしていた。

【0007】

ヒト新規蛋白質RB1CC1はコンセンサス核局在シグナル配列部位(リジン-プロリン-アルギニン-リジン配列:KPRK)、ロイシンジッパーモチーフ配列部位及びコイル-コイル構造を有していた。ヒト新規蛋白質RB1CC1はDNA結合転写機能を持つことが示唆された。

【0008】

(マウス新規蛋白質Rb1cc1)マウス筋肉のmRNAを鋳型にして配列表の配列番号53～83に記載の核酸プライマーを用いて増幅・解析した。得られたマウス新規蛋白質Rb1cc1をコードするcDNAは6518bpの鎖長であり、1588アミノ酸をコードしている4764bpのオープンリーディングフレーム(ORF)を持っていた。マウス新規蛋白質Rb1cc1の遺伝子はヒト新規蛋白質RB1CC1遺伝子と89%の相同性を持っていた。マウス新規蛋白質Rb1cc1もヒトと同様コンセンサス核局在シグナル配列部位(リジン-プロリン-アルギニン-リジン配列:KPRK)、ロイシンジッパーモチーフ配列部位及びコイル-コイル構造を有していた。マウス新規蛋白質Rb1cc1もDNA結合転写機能を持つことが示唆された。

【0009】

(新規蛋白質及び遺伝子の機能)MDRにおける本発明のRB1CC1遺伝子の役割を調

べるために、親細胞 U - 2 OS 細胞、MDR に変異した細胞 (U - 2 OS / D X 5 8 0) と MDR 1 遺伝子を導入した U - 2 OS 細胞 (U - 2 / D O X O 3 5) に対してドキソルビシン (doxorubicin) 処理をした場合の RB1CC1 遺伝子の発現を比較したところ、親細胞 U - 2 OS 細胞と遺伝子導入コントロール細胞 (U - 2 / Neo 8) において、ドキソルビシン (doxorubicin) は RB1CC1 遺伝子の発現を低下させ、細胞死を誘導した。対照的に、MDR に変異した細胞においてはドキソルビシン (doxorubicin) 処理は RB1CC1 遺伝子の発現レベル、細胞生存期間又は細胞増殖に抑制効果を示さず、MDR 1 遺伝子を有する細胞では RB1CC1 遺伝子の発現を増加させた。これらの細胞では RB1CC1 遺伝子の発現と RB1 遺伝子の発現が相関し、両遺伝子の発現はこれらの細胞の増殖を持続させた。

10

【 0 0 1 0 】

本発明の RB1CC1 遺伝子と RB1 遺伝子の発現の関係を調べるために、U - 2 OS ヒト骨肉種細胞の 5 種の MDR への変異株と 2 4 種のヒト腫瘍細胞 (1 0 種の骨肉種、4 種の肺癌、7 種の乳癌、3 種の血液癌) での両遺伝子の発現を調べたところ、全ての細胞で RB1CC1 遺伝子の発現は RB1 遺伝子の発現と強く相関した。非腫瘍組織のノーザンブロット解析においても RB1CC1 遺伝子と RB1 遺伝子の発現は同様な相関を示した。

【 0 0 1 1 】

さらに、K 5 6 2 細胞とジャーカット (Jurkat) 細胞において本発明の RB1CC1 遺伝子の外来性発現は RB1 遺伝子発現を増加させた。MDR 1 遺伝子の発現はこれらの細胞では検出できなかった。RB1CC1 遺伝子の誘導は RB1 遺伝子のプロモーターの転写活性も刺激した。RB1CC1 遺伝子の導入は RB1 遺伝子のプロモーターの刺激活性を通じて RB1 遺伝子の発現を上昇させた。

20

【 0 0 1 2 】

新規蛋白質 RB1CC1 のアミノ酸配列、その核局在性及びその発現パターンから、本発明の RB1CC1 遺伝子は分子中間体を通して直接或いは間接的に、RB1 遺伝子発現を増強させる転写因子である可能性がある。ヒト及びマウス由来 RB1 遺伝子のプロモーター配列の解析から Sp1 や ATF のような構成転写因子が存在する可能性は示されているが、RB1 遺伝子発現を直接制御する転写因子は知られていない。約 8 0 % のヒトの癌においては RB1 遺伝子経路に存在する分子がその発癌機構に関連しており、RB1 遺伝子の制御不能が多くの人々の癌に重要な役割をしている。

30

【 0 0 1 3 】

本発明のヒト及びマウスの RB1CC1 遺伝子は表 1 に示すようにヒトでは 7 4 k b、マウスでは 5 7 k b 以上の長さを有している 2 4 のエキソンと 2 3 個のイントロンから構成されている。そしてエキソン 3 の部位に翻訳開始箇所がある。マウスにおけるこの遺伝子構造は、配列表・配列番号 8 4 ? 1 3 2 に記載のプライマーを用いて明らかにした。この遺伝子の染色体上の局在部位を調べたところ、ヒトでは第 8 染色体上の 8 q 1 1 . 2 に、マウスでは第 1 染色体の 1 A 2 - 4 に存在していることがわかった。

【 表 1 】

表1 RB1CC1 遺伝子の構造

番号	エキソン		イントロン		ヒトの配列		
	核酸鎖長 (bp)		核酸鎖長 (kb)		ヒトの配列		
	ヒト	マウス	ヒト	マウス	スプライシング受容配列	スプライシング受容配列	
1	358	296	1	9.1	11.2	GGGTTGGCCG gtaagtgtcg	
2	115	110	2	1.3	1.8	GTCCCTGACG gtaagtcaca	
3	122	115	3	1.4	3.5	CAGTCCACAC gtagtgtga	
4	127	127	4	0.2	0.1	TGCTGGGACG gtaggtalle	
5	171	171	5	7.0	5.8	GGCTGGATTG gtaagatata	
6	203	203	6	2.1	1.3	AACTTACTCA gtagtlllg	
7	430	427	7	5.7	3.8	CTGAGCCGCG gtaagtasccg	
8	171	171	8	6.3	0.8	GGTTCCTLWG gtaactatctt	
9	185	185	9	0.3	0.2	TCATCTACTG gtaagtgate	
10	187	187	10	0.1	0.1	CTACAGGCG gtagtgcagct	
11	82	82	11	0.3	0.1	AAATTATLTA gtaagtgttc	
12	62	62	12	1.6	1.6	TTCTTTTGT gtagtirtatct	
13	104	104	13	0.8	0.3	CACTCTGCG gtaagtglca	
14	127	127	14	0.1	0.1	TGACGAAAG gaaattosa	
15	1901	1892	15	10.1	10.0	TAGCAAAAG gtaagaatta	
16	166	166	16	2.9	1.6	GCATCAACAC gtagtktact	
17	109	109	17	0.1	0.1	GGGATAAAG gtttgtactg	
18	241	241	18	6.3	1.1	TGCTGTACA gtaagtacgg	
19	55	49	19	1.0	1.0	GTAGAACGA gtaagttaat	
20	48	48	20	4.4	3.0	TCAAAAGCTG gtaagatlll	
21	59	59	21	2.3	2.1	CTATGAGGA gtaagtcttt	
22	137	137	22	3.5	2.0	GGTGGGCTG gtaagtgtca	
23	71	71	23	0.8	1.6	AGCCAAAGG gtaaaaaagc	
24	1401	1379				tcctcttag GCACAAACA	

エキソン配列は大文字で、イントロン配列は小文字で示した。

10

20

30

40

50

【0014】

本発明のRB1CC1遺伝子の変異を検出するために、35例の原発性乳癌から調製したcDNAを用いてRB1CC1遺伝子を解析したところ、7例の癌で9種類の変異を確認した。9種類全ての変異はエキソン3-24での抜け落ちの存在であり、断片化した新規蛋白質RB1CC1はコンセンサス核局在シグナル配列部位、ロイシンジッパーモチーフ配列部位及びコイル-コイル構造が失われており、基本的な新規蛋白質RB1CC1の機能がないものであった。

【0015】

2例の原発乳癌(MMK3と6)では両方の対立遺伝子において複数のヘテロ接合体の抜け落ちがあり、抜け落ちを持つRB1CC1遺伝子からは明らかに断片化された新規蛋白質RB1CC1が得られることが予測される。MMK6ではエキソン3-24(ヌクレオチド、534-5322)とエキソン9-23(ヌクレオチド、1757-5187)での抜け落ちがあり、コドン4と411でそれぞれフレームシフトをしていた。MMK3においては、エキソン3-24(ヌクレオチド、535-5324)とエキソン5-11(ヌクレオチド、849-2109)での抜け落ちがあり、前者ではコドン4での終止が起こり、後者ではコドン109でのフレームシフトを引き起こし122アミノ酸の断片蛋白質が得られる結果になっていた。癌試料のゲノムDNAのPCRではそれぞれの抜け落ち変異に対応する変則な生成物が検出されたのに対して、胚細胞DNAでは変異が認められないことから、これらの変異は体細胞で見出されるものである。これらの癌では新規蛋白質RB1CC1が検出されず、そしてRB1蛋白質がMMK6では欠如しており、MMK3では優位に減少していた。両方とも染色体のRB1ローカスでのヘテロ接合性の消失はなかった。一方、RB1CC1遺伝子の変異がない癌試料(MMK12と29)では新規蛋白質RB1CC1とRB1蛋白質の両方が存在していた。このことはRB1CC1遺伝子の不活性化変異はRB1遺伝子の発現を不十分にし、RB1遺伝子経路の制御不能を促進し、そして癌発生を引き起こすことが示唆される。

【0016】

5例の他の乳癌(MMK1、15、31、38及び40)においても、機能を持たない断片蛋白質を生成するRB1CC1遺伝子内での抜け落ちを検出した。これらの変異は全てヘテロ接合体であったが、RB1CC1ローカスでのヘテロ接合性の消失も存在しており、すべてのケースでRB1CC1遺伝子の発現もないことより、両方の対立遺伝子で機能消失が起きていることが示唆された。これらの癌においてRB1蛋白質の発現がRB1C

C 1 遺伝子と R B 1 遺伝子の変異がないケース (M M K 1 2 と 2 9) に比較して明らかに減少していた。これらの 5 例 (M M K 1 、 1 5 、 3 1 、 3 8 及び 4 0) では R B 1 ローカーでのヘテロ接合性の消失は認められなかった。

【 0 0 1 7 】

本発明の R B 1 C C 1 遺伝子のホモ接合不活性化は乳癌の発生に関連している。調べた原発乳癌の約 2 0 % において、明らかに機能を持たない断片の新規蛋白質 R B 1 C C 1 を生成する R B 1 C C 1 遺伝子の抜け落ち変異が認められた。これらの癌の 2 例は R B 1 C C 1 遺伝子内部での複数のヘテロ接合の抜け落ちであり、残りは R B 1 C C 1 遺伝子のヘテロ接合性の消失であった。7 例全てで新規蛋白質 R B 1 C C 1 は検出できないが、R B 1 C C 1 遺伝子の変異のない癌では蛋白質が発現されていた。R B 1 蛋白質は R B 1 ローカーでのヘテロ接合の消失がないにも拘わらず、7 例全てで存在しないか又は有意に減少していた。

10

新規蛋白質 R B 1 C C 1 は R B 1 遺伝子の発現を増加させる方向に制御しており、乳癌において R B 1 C C 1 遺伝子は腫瘍抑制因子として働いている。そして、R B 1 C C 1 遺伝子の異常・不活化は、R B 1 遺伝子の発現低下をもたらし、癌の発生・進行を引き起こす。

【 0 0 1 8 】

上述のように R B 1 C C 1 遺伝子および蛋白質の発現が R B 1 遺伝子の発現と相関していることから、本発明の R B 1 C C 1 遺伝子および蛋白質検査を R B 1 遺伝子の発現又は蛋白質の発現と組み合わせて検査することによってより有用な癌細胞又は癌の診断方法が提供される。

20

【 0 0 1 9 】

さらに多剤耐性遺伝子 (M D R 1) 又は蛋白質と組み合わせる検査によって、薬剤の癌又は癌細胞に対する効果を調べることができ、抗癌剤の選択、効果の予測に有用な検査方法又は診断方法が提供される。

【 0 0 2 0 】

(ポリペプチド又は蛋白質) 本発明の新規蛋白質は、配列表の配列番号 1 又は 2 に示すアミノ酸配列からなるポリペプチド又は蛋白質である。さらに本発明のポリペプチド又は蛋白質は、この配列表の配列番号 1 又は 2 に示すポリペプチドの部分配列を有するポリペプチドから選択される。その選択されるポリペプチドは、配列表の配列番号 1 又は 2 に示すポリペプチドと、好ましくは約 7 0 % 以上、より好ましくは約 8 0 % 以上、さらに好ましくは約 9 0 % をこえる相同性を有する。この相同性をもつポリペプチドの選択は、例えば R B 1 遺伝子又は R B 1 蛋白質の発現を指標にして行うことができる。

30

【 0 0 2 1 】

アミノ酸配列の相同性を決定する技術は、自体公知であり、例えばアミノ酸配列を直接決定する方法、推定される核酸の塩基配列を決定後これにコードされるアミノ酸配列を推定する方法等を使用することができる。

【 0 0 2 2 】

本発明のポリペプチドは、配列表の配列番号 1 又は 2 に示すアミノ酸配列からなるポリペプチド又は蛋白質の部分配列を有するポリペプチドから選択されるアミノ酸配列を試薬・標準物質・免疫原として利用できる。その最小単位としては、少なくとも約 5 個以上、好ましくは少なくとも約 8 ~ 1 0 個以上、さらに好ましくは少なくとも約 1 1 ~ 1 5 個以上のアミノ酸で構成されるアミノ酸配列からなり、免疫学的にスクリーニングしうるポリペプチドを本発明の対象とする。

40

【 0 0 2 3 】

さらに、このように特定されたポリペプチドをもとにして、R B 1 遺伝子又は R B 1 蛋白質の発現を指標とすることにより、1 ないし数個のアミノ酸の欠失・置換・付加などの変異あるいは誘発変異を有するアミノ酸配列からなるポリペプチドも提供することができる。欠失・置換・付加あるいは挿入の手段は自体公知であり、例えば U l m e r の技術 (S c i e n c e , 2 1 9 : 6 6 6 , 1 9 8 3) を利用することができる。さらに、これら利

50

用できるペプチドは、その構成アミノ基もしくはカルボキシル基などを修飾するなど、機能の著しい変更を伴わない程度に改変が可能である。

【0024】

本発明のポリペプチドは、それら自体で、新規蛋白質RB1CC1の機能を制御するための医薬組成物に使用できる。また、本発明のポリペプチド又は蛋白質は、新規蛋白質RB1CC1の機能を制御する化合物、例えば、阻害剤、拮抗剤、賦活剤等を得るためのスクリーニングや、新規蛋白質RB1CC1に対する抗体の取得に用いることができる。さらに、本発明のポリペプチド又は蛋白質は、試薬・標準品としても使用可能である。

【0025】

(核酸)本発明の核酸およびその相補鎖は、配列表の配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列をコードする、配列表の配列番号3又は4に記載の核酸および該核酸に対する相補鎖、これらの核酸とストリンジェントな条件下でハイブリダイゼーションする核酸、およびこれらの核酸のうち少なくとも15個の連続した塩基配列を有しかつコードするペプチドが新規蛋白質RB1CC1に対する抗体と結合能を有する核酸を意味する。核酸としてDNAを代表例にとると、「DNAにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA」とは、自体公知の方法で例えばMolecular Cloning: A Laboratory Manual (Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989 本の名前ですよね? 出版社、出版年度がいのでは?)に記載の方法によって得ることができる。ここで、「ストリンジェントな条件下でハイブリタイズする」とは、例えば、6xSSC、0.5%SDSおよび50%ホルムアミドの溶液中で42にて加温した後、0.1xSSC、0.5%SDSの溶液中で68にて洗浄する条件でも依然として陽性のハイブリタイズのシグナルが観察されることを表す。

【0026】

本発明の核酸は、配列表の配列番号1又は2に記載のアミノ酸配列をコードする、配列表の配列番号3又は4の核酸の情報から選択される相同鎖および相補鎖を意味し、指定されたヌクレオチド配列の領域に対応する少なくとも約15~20個以上の配列からなる核酸配列及び該相補鎖を意味する。この有用な核酸配列の決定は、公知の蛋白質発現系、例えば無細胞蛋白質発現系を利用して簡易に発現蛋白質の確認を行い、その生理活性新規蛋白質RB1CC1に対する抗体との結合性を指標にして選別することにより行うことができる。無細胞蛋白質発現系としては、例えば胚芽、家兔網状赤血球等由来のリボソーム系の技術を利用できる(Nature, 179, 160~161, 1957)。

【0027】

これらの核酸は、いずれも本発明の新規蛋白質RB1CC1および本発明のポリペプチド又は蛋白質の製造に有用な遺伝子情報を提供するものであり、これらをコードする遺伝子等の核酸、またはmRNA検出のためのプローブもしくはプライマーとして、あるいは遺伝子発現を制御するためのアンチセンスオリゴマーとして使用することができる。さらに、本発明の核酸は、核酸に関する試薬・標準品としても利用できる。

【0028】

(形質転換体)上記のような無細胞蛋白質発現系以外にも、大腸菌、酵母、枯草菌、昆虫細胞、動物細胞等の自体公知の宿主を利用した遺伝子組換え技術によって、本発明からなる新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドを提供可能である。

【0029】

形質転換は、自体公知の手段を応用することができ、例えばレプリコンとして、プラスミド、染色体、ウイルス等を利用して宿主の形質転換を行う。より好ましい系としては、遺伝子の安定性を考慮するならば、染色体内へのインテグレート法があげられるが、簡便には核外遺伝子を用いた自律複製系を利用する。ベクターは、宿主の種類により選択され、発現目的の遺伝子配列と複製そして制御に関する情報を担持した遺伝子配列とを構成要素とする。構成要素は宿主が原核細胞か真核細胞かによって選択し、プロモーター、リボソーム結合部位、ターミネーター、シグナル配列、エンハンサー等を自体公知の方法によっ

て組合せて使用する。

【0030】

形質転換体は、自体公知の各々の宿主の培養条件に最適な条件を選択して培養することにより、本発明のポリペプチドの製造に用いることができる。培養は、発現産生される新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドの生理活性、特にRB1遺伝子誘導活性又はDNA結合性転写因子活性を指標にして行ってもよいが、培地中の形質転換体量を指標にして継代培養またはバッチによって行う。

【0031】

(新規蛋白質RB1CC1およびその由来物の回収)培地からの新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドの回収は、新規蛋白質RB1CC1に対する抗体との結合性を指標にして、分子篩、イオンカラムクロマトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー等を組合せるか、溶解度差にもとづく硫酸、アルコール等の分画手段によっても精製回収できる。

10

【0032】

(抗体)抗体は、本発明の新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドの抗原決定基を選別し、作成する。抗原決定基は、少なくとも5個、より好ましくは少なくとも8~10個のアミノ酸で構成される。このアミノ酸配列は、必ずしも配列表の配列番号1又は2と相同である必要はなく、蛋白質の立体構造上の外部への露出部位であればよく、露出部位が不連続部位であれば、該露出部位について連続的なアミノ酸配列であることも有効である。抗体は、免疫学的に新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドを認識する限り特に限定されない。この認識の有無は、公知の抗原抗体結合反応によって決定する。

20

【0033】

抗体を産生するためには、本発明の新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドを、アジュバントの存在または非存在下で、単独または担体に結合して、動物に対して体液性応答および/または細胞性応答等の免疫誘導を行う。担体は、自身が宿主に対して有害作用をおこさなければ特に限定されず、例えばセルロース、重合アミノ酸、アルブミン等が例示される。免疫する動物としては、マウス、ラット、兔、やぎ、馬等が好適に用いられる。ポリクローナル抗体は、自体公知の血清からの抗体回収法によって取得する。

30

【0034】

モノクローナル抗体を生産するためには、上記の免疫手段が施された動物から抗体産生細胞を回収し、自体公知の永久増殖性細胞への形質転換手段を導入することによって行われる。

【0035】

ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体は、直接本発明からなる新規蛋白質RB1CC1と結合し、その活性を制御可能であり、新規蛋白質RB1CC1とRB1遺伝子又は蛋白質の発現の制御を容易に行うことができる。そのため、RB1遺伝子産物と新規蛋白質RB1CC1が関連する疾患の治療・予防のために有用である。

【0036】

(スクリーニング)かくして調製された新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチド、これらをコードする核酸およびその相補鎖、これらのアミノ酸配列および塩基配列の情報に基づき形質転換させた細胞、並びに新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、単独または複数手段を組合せることによって、新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドとの結合性、新規蛋白質RB1CC1の機能、または新規蛋白質RB1CC1の発現に対する阻害剤もしくは賦活剤のスクリーニングに有効な手段を提供する。すなわち、本発明のポリペプチド、本発明の抗体の少なくともいずれか1つを用いることで、本発明のポリペプチド又は蛋白質とRB1遺伝子又は蛋白質の発現を阻害もしくは増強する化合物を得るためのスクリーニング方法が、本発明の核酸、本発明のベクター、本発明の形質転換体、本

40

50

発明の抗体の少なくともいずれか1つを用いることで本発明の核酸と相互作用し該核酸の発現を阻害もしくは増強する化合物のスクリーニング方法が、本発明のポリペプチド又は蛋白質、本発明の抗体の少なくともいずれか1つを用いることで本発明のポリペプチド又は蛋白質のRB1遺伝子又は蛋白質の発現制御機能を阻害もしくは増強する化合物のスクリーニング方法が提供可能である。例えば、ポリペプチドの立体構造に基づくドラッグデザインによる拮抗剤の選別、蛋白質発現系を利用した遺伝子レベルでの発現調整剤の選別、抗体を利用した抗体認識物質の選別等が、自体公知の医薬品スクリーニングシステムにおいて利用可能である。

【0037】

(化合物、医薬組成物)上記のスクリーニング方法で得られた化合物は、新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドのRB1遺伝子又は蛋白質の発現制御機能を調節する阻害剤、拮抗剤、賦活剤等の候補化合物として利用可能である。また、遺伝子レベルでの新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドの発現に対する阻害剤、拮抗剤、賦活剤等の候補化合物としても利用可能である。上記の阻害剤、拮抗剤、賦活剤等の候補化合物としては、蛋白質、ポリペプチド、抗原性を有さないポリペプチド、低分子化合物等が挙げられ、好ましくは低分子化合物である。

【0038】

かくして選別された候補化合物は、生物学的有用性と毒性のバランスを考慮して選別することによって、骨肉腫、白血病、更に、乳腺、前立腺、肺、及び大腸由来の腫瘍等の治療に用いる医薬組成物として調製可能である。また、本発明からなる新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチド、これらをコードする核酸およびその相補鎖、これらの塩基配列を含むベクター並びに、新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、それら自体が、新規蛋白質RB1CC1とRB1遺伝子産物との相互作用に対する阻害・拮抗・賦活等の機能を有する、乳癌、前立腺癌等の治療に用いる医薬手段として使用できる。ここで、乳癌、前立腺癌等とは、良性腫瘍ならびに悪性腫瘍を含み、なお、製剤化にあたっては、自体公知のポリペプチド、蛋白質、核酸、抗体等、各対象に応じた製剤化手段を導入すればよい。

【0039】

本発明からなる新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチド、これらをコードする核酸およびその相補鎖、これらの塩基配列を含むベクター並びに、新規蛋白質RB1CC1およびその由来物からなるポリペプチドを免疫学的に認識する抗体は、本発明のポリペプチドの発現またはその活性が関連する疾患、例えば、本発明の新規蛋白質RB1CC1の発現またはRB1遺伝子又はその産物との相互作用に関連した疾患等の検査診断方法として使用することができる。特に、乳癌、前立腺癌等の診断マーカーおよび/または試薬等の検査診断方法として有用である。診断は、新規蛋白質RB1CC1をコードしている核酸配列との相互作用・反応性を利用して、相応する核酸配列の存在量を決定すること、および/または新規蛋白質RB1CC1について生体内分布を決定すること、および/または新規蛋白質RB1CC1の試料中での存在量を決定することによって行う。詳しくは、新規蛋白質RB1CC1を診断マーカーとして検定する。その測定法は、自体公知の抗原抗体反応系、酵素反応系、PCR反応系等を利用すればよい。さらに、検査診断の方法に用いる試薬キットなども含まれる。

【0040】

【実施例】以下、本発明を実施例に基づき具体的に説明するが、本発明は下記の実施例に限定されない。

【0041】

【実施例1】(ヒトRB1CC1のcDNA)MDRに関連する遺伝子を同定するために、U-2OS骨肉腫細胞とMDR変異誘導細胞の間で別々に発現されている遺伝子を探索し新規ヒト遺伝子を同定した。配列表の配列番号5と26のプライマー対(CC1-S1及びCC1-AS1)及び配列番号6と25のプライマー対(CC1-S2及びCC1-AS2)を用いてクローニングし、更に配列番号7~24のプライマーを使ってその核

酸配列を決定した。また、市販のcDNA末端配列迅速増幅キット(RACEキット、ロッシュ社製)を用い、配列番号27~37のプライマーを使って、5'末端及び3'末端cDNAの配列を同定した。DNAとそのコードされるアミノ酸配列はDNAsis ver. 3.2 シークエンスアナライザー(日立ソフトウエア製)とP SORT II (<http://www.yk.rim.or.jp/~aisoai/molbio-j.html>)を用いて解析した。その結果、そのcDNAは、6.6-kbの長さを持ち、4782ヌクレオチドのオープンリーディングフレーム(ORF)を含み、180kDaの分子量で1594個のアミノ酸からなる蛋白質をコードしていた。

【0042】

【実施例2】(マウスRb1cc1のcDNA)マウス筋肉のmRNAを鋳型にRT-PCR法を用いて増幅させ、配列表の配列番号53と73のプライマー対(MCC1-S1及びMCC1-AS1)及び配列番号54と72のプライマー対(MCC1-S2及びMCC1-AS2)を使ってクローニングした。そして更に配列表・配列番号55~71のプライマーを使ってその核酸配列を決定した。また、配列表の配列番号74~77のプライマー(MCC-ASR1、MCC-ASR2、MCC-ASR3及びINTRON1ASR)を5'末端RACE用プライマー、配列番号78~83のプライマー(MCC-SR1、MCC-SR2、MCC3-S3、MCC3-S4、MCC3-AS2及びMCC3-AS3)を3'末端RACE用プライマーとしてcDNAの迅速増幅を行った以外は実施例1と同様に操作してマウス新規蛋白質Rb1cc1のcDNAを同定した。マウス新規蛋白質Rb1cc1をコードするcDNAは6518bpの鎖長であり、1588アミノ酸をコードしている4764bpのオープンリーディングフレーム(ORF)を持っている。マウス新規蛋白質Rb1cc1の遺伝子はヒト新規蛋白質RB1CC1遺伝子と、核酸レベルにて86%、蛋白レベルにて89%の相同性を持っていた(配列番号1~4参照)。

【0043】

【実施例3】(本発明のRB1CC1遺伝子とMDR1遺伝子の分析)親細胞U-2OS細胞と数種のMDR変異細胞におけるRB1CC1遺伝子とMDR1遺伝子の発現レベルをノーザンプロットで解析した。RB1CC1遺伝子の解析用プローブはRB1CC1遺伝子配列のヌクレオチド番号4190~4654の間にハイブリダイズするものを用い、MDR1遺伝子にはMDR1遺伝子のヌクレオチド番号834~1119にハイブリダイズするプローブを用いた。プローブはデオキシシトシン3リン酸の3'位のリンを放射性同元素に置換した³²P-dCTPでラベルして用いた。グリセロール脱ヒド-3-リン酸脱水素酵素(GAPDH)をmRNA発現の指標として用いた。その結果両遺伝子の発現レベルは逆相関した(図1)。

【0044】

【実施例4】(抗体の調製とウエスタンプロット解析)本発明の新規蛋白質RB1CC1のアミノ酸配列642-658(RB1CC-642)、744-757(RB1CC-744)及び1104-1118(RB1CC-1104)の3種類の合成ポリペプチドを調製し、それぞれのポリペプチドのアミノ末端にシステイン残基を導入したものを、ウサギに通常の方法で免疫し抗体を得た。U-2OS細胞の核成分と細胞質成分をそれぞれSDS-PAGE後、調製した抗体を用いてウエスタンプロットによる解析を行った。その結果、分子量180kDaのRB1CC1蛋白質が核に存在していることが示された(図2)。

マウスNIH3T3-3細胞の核成分と細胞質成分を同様に電気泳動後、RB1CC-642抗体を用いてウエスタンプロット解析した。同時に抗スタスミンウサギ抗体を用いてスタスミンの検出も行った。その結果、Rb1cc1蛋白質は核に局在し、スタスミンは細胞質に存在していることが示された。さらに同細胞を各抗体による免疫細胞染色を行い比較したところ、RB1CC-642抗体では核が染色され、一方抗スタスミンウサギ抗体では細胞質が染色された(図3)。

以上の結果、本発明の新規蛋白質RB1CC1は哺乳動物細胞の核に存在することが示さ

れた。

【0045】

【実施例5】(本発明のRB1CC1遺伝子の発現に対する抗癌剤の効果)親細胞(U-2 OS)、MDRに変異した細胞(U-2 OS/DX580)とMDR1遺伝子を導入したU-2 OS細胞(U-2/DOXO35)に対してドキソルビシン(doxorubicin)処理をした4種の細胞について、抗癌剤の影響を調べた。抗癌剤ドキソルビシン(doxorubicin)、450ng/mLの存在下での細胞増殖の影響を調べた。その結果、図4に示すように親細胞U-2 OS細胞と遺伝子導入コントロール細胞(U-2/Neo8)では抗癌剤によって細胞増殖が抑えられるのに対して、MDRに変異した細胞(U-2 OS/DX580)とMDR1遺伝子を導入したU-2 OS細胞(U-2/DOXO35)の場合には抗癌剤の効果はなく細胞増殖が120時間以上続いた(図4)。

10

【0046】

上記の実験で得られた各経時的に得られた細胞のmRNA発現レベルの解析を行った。本発明の新規遺伝子RB1CC1遺伝子、RB1遺伝子及びMDR1遺伝子を、RB1遺伝子の発現レベルをヒトRB1 mRNAのヌクレオチド配列336-675の部位にハイブリダイズするプローブを用いて検出した以外は実施例3と同様にそれぞれ解析した。その結果を図5に示した。抗癌剤の効果認められた親細胞U-2 OS細胞と遺伝子導入コントロール細胞(U-2/Neo8)では、経時的にRB1CC1遺伝子の発現が低下していた。対照的に、MDRに変異した細胞(U-2 OS/DX580)とMDR1遺伝子を導入したU-2 OS細胞(U-2/DOXO35)細胞においてはドキソルビシン(doxorubicin)処理によってRB1CC1遺伝子の発現レベルは抑制されず、RB1CC1遺伝子の発現が増加した。これらの細胞ではRB1CC1遺伝子の発現とRB1遺伝子の発現が相関していた(図5)。

20

【0047】

【実施例6】(本発明のRB1CC1遺伝子とRB1遺伝子の発現)種々の癌細胞におけるRB1CC1遺伝子とRB1遺伝子の発現を半定量RT-PCR法によって調べた。用いた細胞株は、SARG、IOR/OS9、10、14、15、18、MOS、(これらは進行したヒト骨肉種の手術試料から得た)、Saos-2、HOS、MCF-7、T-47D、BT-20、SK-BR3、ZR75-1、MDA-MB-231、Dauidi、Jurkat、K562(これらはアメリカンタイプカルチャーコレクションより購入)、NZK-K1(これは46才女性の乳癌組織より樹立した)、LK2、QG56、EBC1及びSBC2(これらは愛知ガンセンターの成田達彦博士より分与された)である。各細胞株より2µgのRNAを抽出し、RT-PCRを22-30サイクルかけて増幅した。RB1遺伝子用のプライマーは公知のプライマーを合成して用いた(Sauerbreyら、1996年)。RB1CC1増幅用プライマー対は配列表・配列番号19及び20(CC1-SとCC1-AS)の組み合わせを用いた。コントロールとして2ミクログロブリンを用いた。これら全ての細胞でRB1CC1遺伝子の発現はRB1遺伝子の発現と強く相関した。正常リンパ球1例と6例の癌細胞T-47D、MCF7、NZK-K1、Dauidi、K562、Jurkatの結果を図6に示した(図6)。

30

40

【0048】

【実施例7】(臓器での本発明のRB1CC1遺伝子とRB1遺伝子の発現)ヒトの脳、心臓、骨格筋、大腸、胸腺、脾臓、腎臓、肝臓、小腸、胎盤、肺、リンパ球の各非腫瘍組織中に発現しているRB1CC1遺伝子とRB1遺伝子を市販のMTN Blots(Clontech社製)を用いてノーザンブロット解析によって行った。その結果を図7に示した。心臓および骨格筋では両遺伝子は強く発現しており、大腸、小腸、肺及びリンパ球では発現は弱かった。しかし、RB1CC1遺伝子とRB1遺伝子の発現は相関していた。一方マウスの心臓、脳、脾臓、肺、肝臓、筋肉、腎臓、睾丸の各組織中に発現しているRb1cc1遺伝子をノーザンブロット解析した。その結果を図8に示した。心臓では

50

6.2 - kbと6.8 - kbの転写産物が強く発現しており、腎臓、肝臓および筋肉で若干の発現が認められた。睾丸では6.2 - kbの発現が主であり、肺及び脾臓では発現は弱かった(図7、図8)。

【0049】

【実施例8】(本発明のRB1CC1遺伝子導入によるRB1遺伝子の発現)実施例6で示した細胞の中でRB1CC1遺伝子及びRB1遺伝子の両方が弱い発現レベルであったJurkat及びK562細胞にRB1CC1遺伝子を外から導入して、RB1遺伝子の発現レベルの変化を調べた。RB1CC1分子の完全なコード領域を含む4.9 - kbをpCR3.1 - Uniベクター(Invitrogen社製)に組み込み、クローニングしてRB1CC1発現ベクター(pCR - RB1CC)を調製した。調製した発現ベクターをK562及びJurkat細胞に組み込みRB1CC1形質転換細胞を調製した。対照としてpCR3.1 - UniベクターにlacZ遺伝子を組み込んだものを調製した。親細胞と形質転換細胞(RB1CC1遺伝子導入細胞)のそれぞれのRB1CC1遺伝子とRB1遺伝子の発現レベルを実施例6と同様に操作して調べた。その結果を図9に示した。未転換の細胞及びlacZ遺伝子を組み込んだ細胞ではRB1CC1遺伝子及びRB1遺伝子ともに発現は弱い、RB1CC1遺伝子を組み込んだ細胞ではRB1CC1遺伝子はもとよりRB1遺伝子も強く発現されていることが判り、RB1CC1遺伝子の導入(外来性発現)によりRB1遺伝子の発現も誘導されることが示された(図9)。

10

【0050】

【実施例9】(本発明のRB1CC1遺伝子のRB1遺伝子プロモーター転写活性)RB1CC1遺伝子の導入がRB1遺伝子のプロモーター領域の転写活性を増強制御していることを調べた。約2 - kbのRB1プロモーター領域の遺伝子をプライマー対、5' - GAA GAT CTT TGA AAT TCC TCC TGC ACC A - 3' (Bgl. RbPro - S)と5' - CCC AAG CTT AGC CAG CGA GCT GTG GAG - 3' (Hind. RbPro - AS)で増幅させ、Picagene Basicベクター2(東洋インク製)に組み込んだ。そして、RB1プロモーターが蛍ルシフェラーゼの発現を支配しているpGV - RbProベクターを調製した。調製したpGV - RbProベクターはさらに、内部コントロールとしてシーパンジールシフェラーゼ遺伝子をコードするpRL - SV40で重転換させて、K562細胞にL

20

30

【0051】

【実施例10】(原発性乳癌におけるRB1CC1遺伝子のローカス(D8S567)でのヘテロ接合性の消失)癌組織のDNA試料及び同一患者のゲノムDNAをPCRにより増幅した試料を尿素変性8%ポリアクリルアミドゲル電気泳動により解析した。電気泳動後、銀染色により得られた結果を図11に示した。何れの患者でもゲノムDNAでは2本のバンドが認められ、ヘテロ接合性が保持されているのに対して、5例の癌組織のDNAで1本のバンドしか検出されず、ヘテロ接合性の消失を認めた(図11)。

40

【0052】

【実施例11】(乳癌における本発明のRB1CC1遺伝子の変異解析)実施例1で用いた配列番号6及び25のプライマー対(CC1 - S2とCC1 - AS2)によりELONGASEシステム(GIBCO社製)を用いて増幅したcDNA試料を、ABI PRISM 310型遺伝子解析装置、および配列表・配列番号7~24のプライマーを用いて、遺伝子配列を解析することによりRB1CC1遺伝子の変異を同定した。その結果35例の乳癌中7例の変異例を確認し、9種類の変異型を確認した。更にこれを配列番号38~52のプライマーを使って再確認した。その結果を表2に示した。

50

【表 2】

表2 原発性乳癌におけるRB1CC1遺伝子の変異

試料名	ヌクレオチド変異	存在部位 (コドン)	干渉される 影響	ゲノム DNA	RB1CC1 遺伝子の状態		RB1 の状態	
					対立遺伝子	蛋白質	LOH	蛋白質
MMK3	c.11_480del	3-24	Y46X4	天然型	複数ヘテロ接合欠損	(-)	(-)	↓↓
	c.325_585del	5-11	P109fsX122					
MMK6	c.10_479del	3-24	Y46X48	天然型	複数ヘテロ接合欠損	(-)	(-)	(-)
	c.1253_4663del	9-23	D411fsX431					
MMK1	c.957_4783del	7-24	N319fsX368	天然型	ヘテロ接合性消失	(-)	(-)	↓↓
MMK15	c.1635_4719del	12-24	S545fsX557	天然型	ヘテロ接合性消失	(-)	(-)	(-)
MMK31	c.212_4811del	5-24	T716fsX111	天然型	ヘテロ接合性消失	(-)	(-)	(-)
MMK38	c.241_4621del	5-22	C81fsX99	天然型	ヘテロ接合性消失	(-)	(-)	↓↓
MMK40	c.591_4678del	7-23	S197fsX212	天然型	ヘテロ接合性消失	(-)	(-)	↓↓

(-) absent, ↓↓: significantly decreased.
LOH:ヘテロ接合性消失

【0053】

【実施例12】

実施例11で解析した試料のうちRB1CC1遺伝子に変異の求められたMMK6と認められなかったMMK29についてPCR産物を分析した結果とそれに対応する遺伝子配列解析結果を図12に示した。その結果、変異のないMMK29では4.9-kbの遺伝子が発現されているのに対して変異のあるMMK6では4.9-kbの発現は認められず断片遺伝子(1456bpと98bp)の発現が認められた(図12)。

【0054】

【実施例13】(ウエスタンブロットによる解析)

実施例11で解析した試料のうちRB1CC1遺伝子に変異を認めた3種の癌(MMK6、MMK40、MMK38)及び変異を認めなかった2例(MMK12、MMK29)について、新規蛋白質RB1CC1とRB1蛋白質の発現をウエスタンブロットで確認した。抽出蛋白質を5%SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動した後、PVDFメンブランに転写し、実施例4で調製した抗ヒトRB1CC1抗血清(-RB1CC-642)を反応させた。RB1蛋白質は抗RB1モノクローナル抗体(G3-245; Pharmingen社製)を反応させた。反応後、検出はECL試薬(Amersham社製)で行った。その結果を図13に示した。変異のないMMK12とMMK29においては180kDaの分子量を持つ新規蛋白質RB1CC1と110~116kDaのRB1蛋白質の両蛋白質が発現しているのに対して、変異のある3例では何れも両蛋白質の発現は認められなかった(図13)。

【0055】

【実施例14】(免疫組織染色)実施例11で解析した試料のうちRB1CC1遺伝子に変異を認めた2種の癌(MMK3、MMK6)及び変異を認めなかった1例(MMK12)の免疫組織染色を行った。反応させる抗体は実施例13と同じ抗体を用い、それぞれの癌試料から得たパラフィン固定ブロックより調製した組織切片に抗体を反応させた。図14に示したように新規蛋白質RB1CC1とRB1蛋白質の発現レベルは相関しており、RB1CC1遺伝子に変異を認めた2種の癌(MMK3、MMK6)では変異を認めなかった1例(MMK12)よりも明らかにその発現レベルは低下していることが確認された(図14)。

【0056】

【実施例15】

実施例14と同様に操作し、54例の原発性乳癌組織を免疫組織染色により検査したところ、15%にあたる8例でRB1CC1蛋白質が検出されなかった。そして、これら全て

10

30

40

50

でRB1蛋白質の発現が欠如しているか或いは有意に低下していた。

一方、RB1CC1蛋白質を発現している46例では、45例においてRB1蛋白質が同時に発現していた。このRB1蛋白質の発現を免疫組織染色の染色指標(1000個以上の細胞のうち染色される細胞の数の割合を%で表したもの)でRB1CC1陽性群と陰性群と比較すると、RB1CC1陽性群が $78.6 \pm 13.9\%$ に対して陰性群は $13.6 \pm 12.1\%$ とRB1CC1の発現と正の相関を示していた(図15a)。一方、Ki-67の免疫組織染色をマウスモノクローナル抗体(NCL-Ki-67-MM1、ノボカストラ社製)を用いて行ったところ、その染色指標はRB1CC1陽性群で $20.3 \pm 12.8\%$ に対して、陰性群では $65.0 \pm 12.2\%$ と明らかにRB1CC1の発現と逆相関が認められた(図15b)。

10

これらのことから、RB1CC1蛋白質の発現が抑制されている癌では、細胞増殖のマーカであるKi-67が多量に発現されており、癌細胞の増殖が盛んであることを示している。このようにRB1CC1蛋白質とKi-67の両者を組み合わせて検査することにより、癌の診断に有用であることが判った。

【0057】

【発明の効果】本発明の新規遺伝子(RB1CC1遺伝子)及びその蛋白質(RB1CC1)を検査することにより、癌細胞の増殖及び癌の診断に有用な情報を提供できる。

【0058】

【図面の簡単な説明】

【図1】ヒトRB1CC1遺伝子とMDR1遺伝子の発現の関連を調べたノーザンブロットの写真である。 20

【図2】ヒトRB1CC1蛋白質が核に存在していることを示すウエスタンブロットと細胞の免疫染色の写真である。

【図3】マウスRb1cc1蛋白質が核に存在していることを示すウエスタンブロットと細胞の免疫染色の写真である。

【図4】抗癌剤ドキシソルピシン処理による細胞増殖の効果を調べた図である。

【図5】抗癌剤ドキシソルピシン処理による細胞増殖とRB1CC1遺伝子の発現とRB1遺伝子の発現の関連を調べたノーザンブロットの写真である。

【図6】各種癌細胞におけるRB1CC1遺伝子の発現とRB1遺伝子の発現の関連を調べたRT-PCR産物の電気泳動写真である。 30

【図7】ヒト各種臓器におけるRB1CC1遺伝子の発現とRB1遺伝子の発現の関連を調べたノーザンブロットの写真である。

【図8】マウス各種臓器におけるRB1CC1遺伝子の発現とRB1遺伝子の発現の関連を調べたノーザンブロットの写真である。

【図9】RB1CC1遺伝子導入によるRB1遺伝子発現効果を調べたRT-PCR産物の電気泳動写真である。

【図10】RB1遺伝子プロモーター領域の転写活性に及ぼすRB1CC1遺伝子誘導の効果を調べた結果の図である。

【図11】各種の原発性乳癌におけるRB1CC1遺伝子ロカスのヘテロ接合性の消失の検査結果の写真である。 40

【図12】原発性乳癌におけるRB1CC1遺伝子の変異を調べたRT-PCR産物の電気泳動の写真と遺伝子配列解析結果の図である。

【図13】原発性乳癌におけるRB1CC1蛋白質とRB1蛋白質の発現を調べたウエスタンブロットの写真である。

【図14】原発性乳癌におけるRB1CC1蛋白質とRB1蛋白質の発現を調べた免疫組織染色の写真である。

【図15】染色指標のRB1CC1と、Ki-67及びRB1との相関を示す図である。

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Chano Tokuhiho, Okabe Hidetoshi

<120> RB1 gene induced protein and gene thereof

<130> SUMS001

<160> 132

<210> 1

<211> 1594

10

<212> PRT

<213> human RB1CC1

<400> 1

Met Lys Leu Tyr Val Phe Leu Val Asn Thr Gly Thr Thr Leu Thr Phe
 1 5 10 15

Asp Thr Glu Leu Thr Val Gln Thr Val Ala Asp Leu Lys His Ala Ile
 20 25 30

20

Gln Ser Lys Tyr Lys Ile Ala Ile Gln His Gln Val Leu Val Val Asn
 35 40 45

Gly Gly Glu Cys Met Ala Ala Asp Arg Arg Val Cys Thr Tyr Ser Ala
 50 55 60

30

Gly Thr Asp Thr Asn Pro Ile Phe Leu Phe Asn Lys Glu Met Ile Leu
 65 70 75 80

Cys Asp Arg Pro Pro Ala Ile Pro Lys Thr Thr Phe Ser Thr Glu Asn
 85 90 95

40

Asp Met Glu Ile Lys Val Glu Glu Ser Leu Met Met Pro Ala Val Phe

Ser Phe Pro Lys Ser Val Glu His Val Ser Pro Asp Thr Ala Asp Ala
 260 265 270

Glu Ser Gly Lys Glu Ile Arg Glu Ser Cys Gln Ser Thr Val His Gln
 275 280 285

Gln Asp Glu Thr Thr Ile Asp Thr Lys Asp Gly Asp Leu Pro Phe Phe
 290 295 300

10

Asn Val Ser Leu Leu Asp Trp Ile Asn Val Gln Asp Arg Pro Asn Asp
 305 310 315 320

Val Glu Ser Leu Val Arg Lys Cys Phe Asp Ser Met Ser Arg Leu Asp
 325 330 335

20

Pro Arg Ile Ile Arg Pro Phe Ile Ala Glu Cys Arg Gln Thr Ile Ala
 340 345 350

Lys Leu Asp Asn Gln Asn Met Lys Ala Ile Lys Gly Leu Glu Asp Arg
 355 360 365

30

Leu Tyr Ala Leu Asp Gln Met Ile Ala Ser Cys Gly Arg Leu Val Asn
 370 375 380

Glu Gln Lys Glu Leu Ala Gln Gly Phe Leu Ala Asn Gln Lys Arg Ala
 385 390 395 400

Glu Asn Leu Lys Asp Ala Ser Val Leu Pro Asp Leu Cys Leu Ser His
 405 410 415

40

Ala Asn Gln Leu Met Ile Met Leu Gln Asn His Arg Lys Leu Leu Asp
 420 425 430

Ile Lys Gln Lys Cys Thr Thr Ala Lys Gln Glu Leu Ala Asn Asn Leu
 435 440 445

His Val Arg Leu Lys Trp Cys Cys Phe Val Met Leu His Ala Asp Gln
 450 455 460

Asp Gly Glu Lys Leu Gln Ala Leu Leu Arg Leu Val Ile Glu Leu Leu
 465 470 475 480

Glu Arg Val Lys Ile Val Glu Ala Leu Ser Thr Val Pro Gln Met Tyr
 485 490 495

Cys Leu Ala Val Val Glu Val Val Arg Arg Lys Met Phe Ile Lys His
 500 505 510

Tyr Arg Glu Trp Ala Gly Ala Leu Val Lys Asp Gly Lys Arg Leu Tyr
 515 520 525

Glu Ala Glu Lys Ser Lys Arg Glu Ser Phe Gly Lys Leu Phe Arg Lys
 530 535 540

Ser Phe Leu Arg Asn Arg Leu Phe Arg Gly Leu Asp Ser Trp Pro Pro
 545 550 555 560

Ser Phe Cys Thr Gln Lys Pro Arg Lys Phe Asp Cys Glu Leu Pro Asp

10

20

30

40

565

570

575

Ile Ser Leu Lys Asp Leu Gln Phe Leu Gln Ser Phe Cys Pro Ser Glu
 580 585 590

Val Gln Pro Phe Leu Arg Val Pro Leu Leu Cys Asp Phe Glu Pro Leu
 595 600 605

10

His Gln His Val Leu Ala Leu His Asn Leu Val Lys Ala Ala Gln Ser
 610 615 620

Leu Asp Glu Met Ser Gln Thr Ile Thr Asp Leu Leu Ser Glu Gln Lys
 625 630 635 640

20

Ala Ser Val Ser Gln Thr Ser Pro Gln Ser Ala Ser Ser Pro Arg Met
 645 650 655

Glu Ser Thr Ala Gly Ile Thr Thr Thr Thr Ser Pro Arg Thr Pro Pro
 660 665 670

Pro Leu Thr Val Gln Asp Pro Leu Cys Pro Ala Val Cys Pro Leu Glu
 675 680 685

30

Glu Leu Ser Pro Asp Ser Ile Asp Ala His Thr Phe Asp Phe Glu Thr
 690 695 700

Ile Pro His Pro Asn Ile Glu Gln Thr Ile His Gln Val Ser Leu Asp
 705 710 715 720

40

Leu Asp Ser Leu Ala Glu Ser Pro Glu Ser Asp Phe Met Ser Ala Val
 725 730 735

Asn Glu Phe Val Ile Glu Glu Asn Leu Ser Ser Pro Asn Pro Ile Ser
 740 745 750

Asp Pro Gln Ser Pro Glu Met Met Val Glu Ser Leu Tyr Ser Ser Val
 755 760 765

10

Ile Asn Ala Ile Asp Ser Arg Arg Met Gln Asp Thr Asn Val Cys Gly
 770 775 780

Lys Glu Asp Phe Gly Asp His Thr Ser Leu Asn Val Gln Leu Glu Arg
 785 790 795 800

20

Cys Arg Val Val Ala Gln Asp Ser His Phe Ser Ile Gln Thr Ile Lys
 805 810 815

Glu Asp Leu Cys His Phe Arg Thr Phe Val Gln Lys Glu Gln Cys Asp
 820 825 830

30

Phe Ser Asn Ser Leu Lys Cys Thr Ala Val Glu Ile Arg Asn Ile Ile
 835 840 845

Glu Lys Val Lys Cys Ser Leu Glu Ile Thr Leu Lys Glu Lys His Gln
 850 855 860

Lys Glu Leu Leu Ser Leu Lys Asn Glu Tyr Glu Gly Lys Leu Asp Gly
 865 870 875 880

40

Leu Ile Lys Glu Thr Glu Glu Asn Glu Asn Lys Ile Lys Lys Leu Lys
 885 890 895

Gly Glu Leu Val Cys Leu Glu Glu Val Leu Gln Asn Lys Asp Asn Glu
 900 905 910

Phe Ala Leu Val Lys His Glu Lys Glu Ala Val Ile Cys Leu Gln Asn
 915 920 925

Glu Lys Asp Gln Lys Leu Leu Glu Met Glu Asn Ile Met His Ser Gln
 930 935 940

Asn Cys Glu Ile Lys Glu Leu Lys Gln Ser Arg Glu Ile Val Leu Glu
 945 950 955 960

Asp Leu Lys Lys Leu His Val Glu Asn Asp Glu Lys Leu Gln Leu Leu
 965 970 975

Arg Ala Glu Leu Gln Ser Leu Glu Gln Ser His Leu Lys Glu Leu Glu
 980 985 990

Asp Thr Leu Gln Val Arg His Ile Gln Glu Phe Glu Lys Val Met Thr
 995 1000 1005

Asp His Arg Val Ser Leu Glu Glu Leu Lys Lys Glu Asn Gln Gln Ile
 1010 1015 1020

Ile Asn Gln Ile Gln Glu Ser His Ala Glu Ile Ile Gln Glu Lys Glu

10

20

30

40

1025	1030	1035	1040	
Lys Gln Leu Gln Glu Leu Lys Leu Lys Val Ser Asp Leu Ser Asp Thr				
	1045	1050	1055	
Arg Cys Lys Leu Glu Val Glu Leu Ala Leu Lys Glu Ala Glu Thr Asp				
	1060	1065	1070	10
Glu Ile Lys Ile Leu Leu Glu Glu Ser Arg Ala Gln Gln Lys Glu Thr				
	1075	1080	1085	
Leu Lys Ser Leu Leu Glu Gln Glu Thr Glu Asn Leu Arg Thr Glu Ile				
	1090	1095	1100	20
Ser Lys Leu Asn Gln Lys Ile Gln Asp Asn Asn Glu Asn Tyr Gln Val				
1105	1110	1115	1120	
Gly Leu Ala Glu Leu Arg Thr Leu Met Thr Ile Glu Lys Asp Gln Arg				
	1125	1130	1135	
Ile Ser Glu Leu Ile Ser Arg His Glu Glu Glu Ser Asn Ile Leu Lys				30
	1140	1145	1150	
Ala Glu Leu Asn Lys Val Thr Ser Leu His Asn Gln Ala Phe Glu Ile				
	1155	1160	1165	
Glu Lys Asn Leu Lys Glu Gln Ile Ile Glu Leu Gln Ser Lys Leu Asp				
	1170	1175	1180	40

Ser Glu Leu Ser Ala Leu Glu Arg Gln Lys Asp Glu Lys Ile Thr Gln
 1185 1190 1195 1200

Gln Glu Glu Lys Tyr Glu Ala Ile Ile Gln Asn Leu Glu Lys Asp Arg
 1205 1210 1215

Gln Lys Leu Val Ser Ser Gln Glu Gln Asp Arg Glu Gln Leu Ile Gln
 1220 1225 1230

10

Lys Leu Asn Cys Glu Lys Asp Glu Ala Ile Gln Thr Ala Leu Lys Glu
 1235 1240 1245

Phe Lys Leu Glu Arg Glu Val Val Glu Lys Glu Leu Leu Glu Lys Val
 1250 1255 1260

20

Lys His Leu Glu Asn Gln Ile Ala Lys Ser Pro Ala Ile Asp Ser Thr
 1265 1270 1275 1280

Arg Gly Asp Ser Ser Ser Leu Val Ala Glu Leu Gln Glu Lys Leu Gln
 1285 1290 1295

30

Glu Glu Lys Ala Lys Phe Leu Glu Gln Leu Glu Glu Gln Glu Lys Arg
 1300 1305 1310

Lys Asn Glu Glu Met Gln Asn Val Arg Thr Ser Leu Ile Ala Glu Gln
 1315 1320 1325

Gln Thr Asn Phe Asn Thr Val Leu Thr Arg Glu Lys Met Arg Lys Glu
 1330 1335 1340

40

Asn Ile Ile Asn Asp Leu Ser Asp Lys Leu Lys Ser Thr Met Gln Gln
 1345 1350 1355 1360

Gln Glu Arg Asp Lys Asp Leu Ile Glu Ser Leu Ser Glu Asp Arg Ala
 1365 1370 1375

Arg Leu Leu Glu Glu Lys Lys Lys Leu Glu Glu Glu Val Ser Lys Leu
 1380 1385 1390

Arg Ser Ser Ser Phe Val Pro Ser Pro Tyr Val Ala Thr Ala Pro Glu
 1395 1400 1405

Leu Tyr Gly Ala Cys Ala Pro Glu Leu Pro Gly Glu Ser Asp Arg Ser
 1410 1415 1420

Ala Val Glu Thr Ala Asp Glu Gly Arg Val Asp Ser Ala Met Glu Thr
 1425 1430 1435 1440

Ser Met Met Ser Val Gln Glu Asn Ile His Met Leu Ser Glu Glu Lys
 1445 1450 1455

Gln Arg Ile Met Leu Leu Glu Arg Thr Leu Gln Leu Lys Glu Glu Glu
 1460 1465 1470

Asn Lys Arg Leu Asn Gln Arg Leu Met Ser Gln Ser Met Ser Ser Val
 1475 1480 1485

Ser Ser Arg His Ser Glu Lys Ile Ala Ile Arg Asp Phe Gln Val Gly

10

20

30

40

1490

1495

1500

Asp Leu Val Leu Ile Ile Leu Asp Glu Arg His Asp Asn Tyr Val Leu
 1505 1510 1515 1520

Phe Thr Val Ser Pro Thr Leu Tyr Phe Leu His Ser Glu Ser Leu Pro
 1525 1530 1535

10

Ala Leu Asp Leu Lys Pro Gly Glu Gly Ala Ser Gly Ala Ser Arg Arg
 1540 1545 1550

Pro Trp Val Leu Gly Lys Val Met Glu Lys Glu Tyr Cys Gln Ala Lys
 1555 1560 1565

20

Lys Ala Gln Asn Arg Phe Lys Val Pro Leu Gly Thr Lys Phe Tyr Arg
 1570 1575 1580

Val Lys Ala Val Ser Trp Asn Lys Lys Val
 1585 1590

<210> 2

<211> 1588

<212> PRT

<213> mouse Rblcc1

<400> 2

Met Lys Leu Tyr Val Phe Leu Val Asn Thr Gly Thr Thr Leu Thr Phe
 1 5 10 15

Asp Thr Glu Leu Thr Val Gln Thr Val Ala Asp Leu Lys His Ala Ile
 20 25 30

40

Gln Ser Lys Tyr Lys Ile Ala Ile Gln His Gln Val Leu Val Val Asn
 35 40 45

Gly Gly Glu Cys Met Ala Ala Asp Arg Arg Val Cys Thr Tyr Ser Ala
 50 55 60

Gly Thr Asp Thr Asn Pro Ile Phe Leu Phe Asn Lys Glu Met Ile Leu
 65 70 75 80

Cys Asp Arg Ala Pro Ala Ile Pro Lys Ala Thr Phe Ser Thr Glu Asn
 85 90 95

Asp Met Glu Ile Lys Val Glu Glu Ser Leu Met Met Pro Ala Val Phe
 100 105 110

His Thr Val Ala Ser Arg Thr Gln Leu Ala Val Glu Met Tyr Asp Val
 115 120 125

Ala Lys Lys Leu Cys Ser Phe Cys Glu Gly Leu Val His Asp Glu His
 130 135 140

Leu Gln His Gln Gly Trp Ala Ala Ile Met Ala Asn Leu Glu Asp Cys
 145 150 155 160

Ser Asn Ser Tyr Gln Lys Leu Leu Phe Lys Phe Glu Ser Ile Tyr Ser
 165 170 175

Asp Tyr Leu Gln Ser Ile Glu Asp Ile Lys Leu Lys Leu Thr His Leu

10

20

30

40

Lys Ile Ile Gln Pro Phe Met Leu Glu Cys His Gln Thr Ile Ala Lys
 340 345 350

Leu Asp Asn Gln Asn Met Lys Ala Ile Lys Gly Leu Glu Asp Arg Leu
 355 360 365

Tyr Ala Leu Asp Gln Met Ile Ala Ser Cys Ser Arg Leu Val Asn Glu
 370 375 380

10

Gln Lys Glu Leu Ala Gln Gly Phe Leu Ala Asn Gln Met Arg Ala Glu
 385 390 395 400

Asn Leu Lys Asp Ala Ser Val Leu Pro Asp Leu Cys Leu Ser His Ala
 405 410 415

20

Asn Gln Leu Met Ile Met Leu Gln Asn His Arg Lys Leu Leu Asp Ile
 420 425 430

Lys Gln Lys Cys Thr Thr Ala Lys Gln Glu Leu Ala Asn Asn Leu His
 435 440 445

30

Val Arg Leu Lys Trp Cys Cys Phe Val Met Leu His Ala Asp Gln Asp
 450 455 460

Gly Glu Lys Leu Gln Ala Leu Leu Arg Leu Val Ile Glu Leu Leu Glu
 465 470 475 480

Arg Val Arg Ile Val Glu Ala Leu Ser Thr Val Pro Gln Met Tyr Cys
 485 490 495

40

Leu Ala Val Val Glu Val Val Arg Arg Lys Met Phe Ile Lys His Tyr
 500 505 510

Arg Glu Trp Ala Gly Ala Leu Val Lys Asp Gly Lys Gln Leu Tyr Glu
 515 520 525

Ala Glu Lys Ser Lys Arg Glu Ser Phe Gly Lys Leu Phe Arg Lys Ser
 530 535 540

Phe Leu Arg Asn Arg Leu Phe Lys Gly Leu Asp Ser Trp Pro Ser Ser
 545 550 555 560

Phe Cys Thr Gln Lys Pro Arg Lys Phe Asp Cys Glu Leu Pro Asp Ile
 565 570 575

Ser Leu Lys Asp Leu Gln Phe Leu Gln Ser Phe Cys Pro Ser Glu Val
 580 585 590

Gln Pro Phe Leu Arg Val Pro Leu Leu Cys Asp Phe Glu Pro Leu His
 595 600 605

Gln His Val Leu Ala Leu His Asn Leu Val Lys Ala Ala Gln Ser Leu
 610 615 620

Asp Glu Met Ser Gln Thr Ile Thr Asp Leu Leu Asn Glu Gln Lys Val
 625 630 635 640

Ser Thr Ser Gln Ala Ser Pro Gln Ser Ala Ala Ser Pro Arg Ile Glu

10

20

30

40

Arg Ala Ala Ala Gln Asp Ser His Thr Ser Ile Gln Thr Ile Lys Asp
 805 810 815

Asp Leu Cys His Phe Arg Thr Phe Val Gln Lys Glu Gln Cys Asp Leu
 820 825 830

Ala Asn Tyr Leu Lys Cys Thr Ala Val Glu Ile Arg Asn Ile Ile Glu
 835 840 845

10

Lys Val Lys Cys Ser Leu Glu Ile Thr Leu Lys Glu Lys His Gln Gln
 850 855 860

Glu Leu Gln Ser Leu Lys Ile Glu Tyr Glu Cys Lys Leu Asp Ala Leu
 865 870 875 880

20

Val Lys Asp Ser Glu Glu Asn Val Asn Lys Ile Leu Lys Leu Lys Glu
 885 890 895

Asn Leu Val Ser Leu Glu Glu Ala Leu Gln Asn Lys Asp Asn Glu Phe
 900 905 910

30

Thr Ser Ile Lys His Glu Lys Asp Ala Ile Val Cys Val Gln Gln Glu
 915 920 925

Lys Asp Gln Lys Leu Leu Glu Met Glu Lys Ile Met His Thr Gln His
 930 935 940

Cys Glu Ile Lys Glu Leu Lys Gln Ser Arg Glu Met Ala Leu Glu Asp
 945 950 955 960

40

Leu Lys Lys Leu His Asp Glu Lys Ile Glu Ser Leu Arg Ala Glu Phe
 965 970 975

Gln Cys Leu Glu Glu Asn His Leu Lys Glu Leu Glu Asp Thr Leu His
 980 985 990

Ile Arg His Thr Gln Glu Phe Glu Lys Val Met Thr Asp His Asn Met
 995 1000 1005

Ser Leu Glu Lys Leu Lys Lys Glu Asn Gln Gln Arg Ile Asp Gln Met
 1010 1015 1020

Leu Glu Ser His Ala Ser Thr Ile Gln Glu Lys Glu Gln Gln Leu Gln
 1025 1030 1035 1040

Glu Leu Lys Leu Lys Val Ser Asp Leu Ser Asp Met Arg Cys Lys Leu
 1045 1050 1055

Glu Val Glu Leu Ala Leu Lys Glu Ala Glu Thr Asp Glu Ile Lys Ile
 1060 1065 1070

Leu Leu Glu Glu Ser Arg Thr Gln Gln Lys Glu Met Leu Lys Ser Leu
 1075 1080 1085

Leu Glu Gln Glu Thr Glu Asn Leu Arg Thr Glu Ile Ser Lys Leu Asn
 1090 1095 1100

Gln Lys Ile His Asp Asn Asn Glu Ser Tyr Gln Val Gly Leu Ser Glu

10

20

30

40

1105	1110	1115	1120	
Leu Arg Ala Leu Met Thr Ile Glu Lys Asp Gln Cys Ile Ser Glu Leu				
	1125	1130	1135	
Ile Ser Arg His Glu Glu Glu Ser Asn Ile Leu Lys Ala Glu Leu Asp				
	1140	1145	1150	10
Asn Val Thr Ser Leu His Arg Gln Ala Tyr Glu Ile Glu Lys Lys Leu				
	1155	1160	1165	
Lys Glu Gln Ile Val Glu Leu Gln Thr Arg Leu Asn Ser Glu Leu Ser				
	1170	1175	1180	20
Ala Leu Glu Lys Gln Lys Asp Glu Lys Ile Thr Gln Gln Glu Glu Lys				
	1185	1190	1195	1200
Tyr Glu Ala Leu Ile Gln Asn Leu Glu Lys Asp Lys Glu Arg Leu Val				
	1205	1210	1215	
Lys Asn His Glu Gln Asp Lys Glu His Leu Ile Gln Glu Leu Asn Phe				
	1220	1225	1230	30
Glu Lys Asn Lys Ala Val Gln Thr Ala Leu Asp Glu Phe Lys Val Glu				
	1235	1240	1245	
Arg Glu Leu Val Glu Lys Glu Leu Leu Glu Lys Val Lys His Leu Glu				
	1250	1255	1260	40

Asn Gln Ile Ala Lys Thr Pro Ala Phe Glu Ser Ala Arg Glu Asp Ser
 1265 1270 1275 1280

Ser Ser Leu Val Ala Glu Leu Gln Glu Lys Leu Gln Glu Glu Lys Ala
 1285 1290 1295

Lys Phe Leu Glu Gln Leu Glu Glu Gln Glu Lys Arg Lys Asn Glu Glu
 1300 1305 1310

10

Met Gln Asn Val Arg Thr Ser Leu Ile Ala Glu Gln Gln Thr Asn Phe
 1315 1320 1325

Asn Thr Val Leu Thr Arg Glu Lys Met Arg Lys Glu Asn Ile Ile Asn
 1330 1335 1340

20

Asp Leu Ser Asp Lys Leu Lys Ser Thr Met Gln Gln Gln Glu Arg Asp
 1345 1350 1355 1360

Lys Asp Leu Ile Glu Ser Leu Ser Glu Asp Arg Ala Arg Leu Leu Glu
 1365 1370 1375

30

Glu Lys Lys Gln Leu Glu Glu Glu Val Ser Lys Leu Arg Thr Ser Ser
 1380 1385 1390

Phe Leu Ser Ser Ala Pro Val Ala Ala Ala Pro Glu Leu Tyr Gly Ala
 1395 1400 1405

Cys Ala Pro Glu Leu Pro Gly Glu Pro Glu Arg Ser Val Met Glu Thr
 1410 1415 1420

40

1570

1575

1580

Asn Lys Lys Val

1585

(210) 3

(211) 6636

(212) DNA

(213) human RB1CC1 gene

(400) 3

gtcgacaata acaaaccaag ccgcccgggt gtcccgccgc ctgccgagcc ctgggcgttg 60
 cctcagaatc ccccagtcgc ctgggcccct cggctctgac aggcccgccg cttctgtccc 120
 ccggccccag acccagagcc gaggggcctg ctccgctcct tctccgcccg gaccctctcc 180
 igcctccctag agttcggggc cgcggcgggc gggcgcccgg gacgccggcg gttgtgtcgg 240
 cttagccgtg ccgaatgggc ggttggtaac cgcctccgag gactaggcgg cggcgggaaga 300
 iggtgccggg ggtcgcctggc tctgctgctg ccgccggcga aggaggaggc gttgccggtt 360
 ttctgagitt aaccagtaat gccattcagt tgccaatctc aagcaaagca aacataagcc 420
 agttttaatc tacittttaa gaaaagtggg agtccitttc acagtgcctg acgtaactgt 480
 atcagagggg gaggtataag ctacacagaat tcagataaat catcatgaag ttatatgtat 540
 ttctggttaa caciggaact actctaacat ttgacactga acttacagtg caaactgtgg 600
 cagaccttaa gcatgccatt caaagcaaat acaagattgc tattcaacac caggtgctgg 660
 iggtcaatgg aggagaatgc atggctgcag atcgaagagt gtgtacctac agtgctggga 720
 cggatacaaa tccaattttt ctttttaaca aagaaatgat cttatgcgat cgtccacctg 780
 ctattcctaa aactaccttt tcgacagaaa atgacatgga aataaaagtt gaagaatctc 840
 ttatgatgcc tgcagttttt catactgttg ctccaaggac acagcttgca ttggaaatgt 900
 atgaagtgc caagaaactt tgttctttt gtgaaggctt igtacatgat gaacatcttc 960
 aacaccaagg ctgggctgca atcatggcca acctggagga ctgttcaaat tcataccaaa 1020
 agctactttt caagtttgaa agtatttatt caaattatct gcagtccata gaagacatca 1080
 agttaaaact tactcattta ggaactgcag tttcagtaat ggccaagatt ccaactgttg 1140
 agtgcctaac cagacatagt tacagagaat gtttgggaag actggattct ttacctgaac 1200

10

20

30

40

atgaagactc agaaaaagct gagacgaaaa gatccactga actggtgctc tctcctgata 1260
 igcctagaac aactaacgaa tctttgtaa cctcatttcc caagtcagtg gaacatgtgt 1320
 ccccagatac cgcagatgct gaaagtgcca aagaaattag ggaatcttgt caaagtactg 1380
 ttcatcagca agatgaaact acgattgaca ctaaagatgg tgatctgccc ttttttaatg 1440
 tctctttgtt agactggata aatgttcaag atagacctaa tgatgtggaa tctttggcca 1500
 ggaagtgcct tgattctatg agcaggcttg atccaaggat tattcgacca tttatagcag 1560
 aatgccgca aactattgcc aaacttgata atcagaatat gaaagccatt aaaggacttg 1620
 aagatcggct ctacgccctg gaccagatga ttgctagctg tggccgactg gtgaatgaac 1680
 agaaagagct tgctcagga ttttagcta atcagaagag agctgaaaac ttaaaggatg 1740
 catctgtatt acctgattta tgccctgagtc acgcaaatca gttgatgatt atgttgcaaa 1800
 atcatagaaa actgittagat attaagcaga agtgtaccac tgccaaacaa gaactagcaa 1860
 ataacctaca tgcagactg aagtggigtg gctttgtaat gcttcatgct gatcaagatg 1920
 gagagaagtt acaagcttg ctccgcctcg taatagagct gttagaaaga gtcaaaattg 1980
 ttgaagctct tagtacagtt cctcagatgt actgcttagc tgttgttgag gttgtaagaa 2040
 gaaaaatggt cataaaacac tacagggagt gggctggctg tttagtcaaa gatggaaaga 2100
 gattataiga agcagaaaaa tcaaaaaggg aatcctttgg gaaattattt aggaagtctt 2160
 ttttaagaaa tcgtctgttt aggggactgg actcctggcc ccttccitt tgtactcaaa 2220
 agcctcgaaa gtttgactgt gaacttccag atatttcatt aaaagattta cagtttctgc 2280
 aatcatttg tcttcggaa gttcagccat tctcaggtt tcccttactt tgtgactttg 2340
 aacctctaca ccagcatgta cttgctctac ataatttggg aaaagcagca caaagtttgg 2400
 atgaaatgct acagaccatt acagatctac tgagtgaaca aaaggcatct gtgagccaga 2460
 catccccaca gtctgcttct tccaagaaga tggaaagtac agcaggaatt acaactacta 2520
 cctcaccgag aactcctcca cactgactg ttcaggatcc cttatgtcct gcagtttgtc 2580
 ccttagaaga attatctcca gatagtattg atgcacatac gtttgatttt gaaactattc 2640
 cccatccaaa catagaacag actattcacc aagtittctt agacttggat tcattagcag 2700
 aaagtcciga atcagatttt atgtctgctg tgaatgagtt tgaatagaa gaaaatttgt 2760
 cgtctcctaa tcttataagt gatccacaaa gcccagaaat gatggtgga tcactttatt 2820
 catcagttat caatgcgata gacagtagac gaatgcagga tacaatgta tgtggtaagg 2880
 aggatttgg agatcatact tctctgaatg tccagttgga aagatgtaga gttgttgccc 2940

10

20

30

40

aagactcica cttcagtata caaaccatta aggaagacct ttgccacitt agaacatttg 3000
tacaaaaaga acagtgtgac ttctcaaat cattaaaatg tacagcagta gaaataagaa 3060
acattatiga aaaagtaaaa tgttctctgg aaataacact aaaagaaaa catcaaaaag 3120
aactactgtc tttaaaaaat gaatatgaag gtaaacttga cggactaata aaggaaactg 3180
aagagaatga aaacaaaatt aaaaaattga agggagagtt agtatgcctt gaggaggitt 3240
tacaaaaata agataatgaa tttgctttgg ttaacatga aaaagaagct gtaatctgcc 3300
tgcagaaiga aaaggatcag aagttgtag agatggaaaa tataatgcac tctcaaaatt 3360
gtgaaattaa agaactgaag cagtcacgag aaatagtgtt agaagactta aaaaagctcc 3420
atgttgaaaa tgaigagaag ttacagttat tgagggcaga acttcagtc tiggagcaaa 3480
gtcatctaaa ggaattagag gacacacttc aggttaggca catacaagag tttgagaagg 3540
ttaigacaga ccacagagtt tctttggagg aattaaaaaa ggaaaatcaa caaataatta 3600
atcaaataca agaattctcat gctgaaatta tccaggaaaa agaaaaacag ttacaggaat 3660
taaaactcaa ggtttctgat ttgtcagaca cgagatgcaa gttagaggtt gaacttgcgt 3720
tgaaggaagc agaaactgat gaaataaaaa ttttgcctgga agaaagcaga gccccagcaga 3780
aggagacctt gaaatctctt ctggaacaag agacagaaaa ttgagaaca gaaattagta 3840
aactcaacca aaagattcag gataataatg aaaattatca ggtgggccta gcagagctaa 3900
gaactttaat gacaattgaa aaagatcagc gtatttccga gttaattagt agacatgaag 3960
aagaatctaa tatacttaaa gctgaaattaa acaaagtaac atctttgcat aaccaagcat 4020
ttgaaataga aaaaaaccta aaagaacaaa taattgaact gcagagtaaa tiggattcag 4080
aattgagtgc tcttgaaaga caaaaagatg aaaaaattac ccaacaagaa gagaaatagc 4140
aagctattat ccagaacctt gagaaagaca gacaaaaatt ggtcagcagc caggagcaag 4200
acagagaaca gtttaattcag aagcttaatt gtgaaaaaga tgaagctatt cagactgccc 4260
taaaagaatt taattggag agagaagttg ttgagaaaga gttattagaa aaagttaaac 4320
atcttgagaa tcaaatagca aaaagtcttg ccatigactc taccagagga gattcttcaa 4380
gcttagtgc tgaacttcaa gaaaagcttc aggaagaaaa agctaagitt ctagaacaac 4440
ttgaagagca agaaaaaaga aagaatgaag aaatgcaaaa tgttcgaaca tctttgattg 4500
cggaacaaca gaccaatit aacactgtit taacaagaga gaaaatgaga aaagaaaaca 4560
taataaatga tcttagtgat aagttgaaaa gtacaatgca gcaacaagaa cgggataaag 4620
attgataga gtcactttct gaagatcgag ctcgittgct tgaggaaaag aaaaagcttg 4680

10

20

30

40

aagaagaagt cagtaagttg cgcagtagca gttttgttcc ttcaccatg gtagctacag 4740
ccccagaact ttaaggagct tgtgcacctg aactcccagg tgaatcagat agatccgctg 4800
tggaaacagc agaigaagga agagtggatt cagcaatgga gacaagcatg atgtctgtac 4860
aagaaaatg tcatatgttg tctgaagaaa aacagcggat aatgctgita gaacgaacat 4920
tgcaatgaa agaagaagaa aataaacggt taaatcaaag actgatgtct cagagcatgt 4980
cttcagtatc ttcaaggcat tctgaaaaga tagctattag agattttcag gtgggagatt 5040
tggactcat caccctagac gaacgccatg acaattatgt gttatttact gttagtccca 5100
ctttatattt tctacattca gagtctctac ctgccctgga tctcaaacca ggtgagggtg 5160
cttcaggigc atctagaaga ccttgggtac ttggaaaagt aatggaaaaa gaatactgtc 5220
aagccaaaaa ggcacaaaaac agatttaaaag ttccittggg gacaaagttt tacagagtga 5280
aagccgtatc atggaataag aaagtataac ttatggacaa aattaatata ttctatgaca 5340
ttttttctg atttgtcctg cagtgtctat tcatcactcc aaaaacagca ggccatcttt 5400
ttaigcaaaa gtcagcgtga caataactt cactgggtga catcgtttac ttttaactg 5460
gcttcatitt aggaataata aattcatcag aatccttggc tgaattaaa tggtttttgt 5520
tttttggitt ttttttttac ccagacaact ctagaatgc ggaccaaact acttcatttt 5580
ctcaaagggc ataccttgtg cattgtggct taigatgagc catattaatt gccigttaaa 5640
tatacactag ctgaaacta gatgttaaat gttattatta ccagcattg tccitttgtg 5700
aaatcagiat cagaatactt gcactcttta acacattctt tataaaatgt ataaattatt 5760
cagaactatt taaaataaag aggagtgtta ttgcatgctg ataatcattt tgagtttggc 5820
tcagtagata ctaaagcaa ttgtttcagt ttttttaaat gccctttgat gtttcaaaaa 5880
aaaaaaggaa ctgtaattg attgactgat ttaagatca gccataagta atcagcaatc 5940
ttcaaaaagca ctttcagtgg attggctatc tgggttctaa agggaagagt ctgtgctact 6000
aaccattca aatgcagact caaacctcc caacatcttt atgactctag aataatcata 6060
ttgatgaaat cgtaattcat ggttgagttt cagaacaaaa gatattcatt gcacattaac 6120
catttagagg tcatttaaat aacaaaatg tgtattgtaa aagaactgta caattttaaa 6180
acaataaaga ttgaaacctg taaatgtgtg tgccitttaa agaaggatac atttttaata 6240
tatttgagtg attgctggga agtgtgaaa taitgttatg tatcataca aagagaaaca 6300
tgtttattac aaaaatgttc ttttaactata tactatgtaa cagggtaaac agtgttatgt 6360
agaatagaat tgtgtaaact agatcttag agaagttgcc attgagcaaa gttattttaaa 6420

10

20

30

40

tgagttagtt gagttggatg agaattgttt gaggtttgtt gctagagaac aataataaaa 6480
 taattctttt tcagaaaata ttttaattct tcataaaaat aagttaaata tttttttaaa 6540
 tatgtatac taatagtaca aaatggaata aacatcatag tgtatagaaa actgaatttg 6600
 acaagttaat gaataaatga acaaatgatt tcaaaa 6636

<210> 4

<211> 6518

<212> DNA

<213> mouse Rblcc1 gene

<400> 4

ccgagtcgac aataacaaac cccacggcgg ccgcgacce gccctgccaa gctctcagtg 60
 cctcggcccgg cggactcggg tccccgcgcg gagccgaggg gccggagcag cggctgcgcc 120
 cgactcccat cctccgggc ctgcgccggg actcggcggc tgggcgccga cggttgtgtc 180
 ggttggcggc gccgcagggg cggttgatag ccgccgccga ggccagggcg gcggcagaag 240
 atggigccga gggccgccgg ctgtgttctt gccgcggcgg gaggaggcgc tgccggttct 300
 ctgagttica ccagtaatgc cactcagttg ccaatatcaa gcaagcgcac ataagacaat 360
 igtaatcitt taagaaaagt agtacttctc ttcacagtat ctggcggatc aacactggag 420
 ggtgaggigt cagcttccag aaagatcacc atgaagttat atgtgtttct ggttaacacc 480
 ggaaccacgc tgacatttga cactgagcta actgigcaaa ctgtggctga tcttaagcat 540
 gccattcaaa gcaaatataa gattgctatt cagcaccagg ttctgggtgg caatggagga 600
 gaatgcatgg ctgcagatcg aagagtgtgt acttacagcg ctgggacgga cacaatcca 660
 atttttcttt ttaataaaga aatgatctta tgtgaccgtg cacctgctat tccataagct 720
 acctttcaa cagaaaatga catggaata aaagttgaag agtctcttat gatgacctga 780
 gttttccaca ctgttgcttc aaggacacag ctgacagttg aatgtatga cgttgccaag 840
 aagctctgct cttctgtga agggcttctc catgatgaac atcttcagca ccaaggctgg 900
 gctgcaatca tggccaatct ggaggactgt tcaattcat accaaaaact tcttttcaag 960
 ttgaaagta ttattctga ttatcttcaa tccatagaag acatcaagtt aaaacttact 1020
 catttaggaa ctgctgttcc agtaatggcc aagattccac tattggagtg cctaaccaga 1080
 catagttaca gggaaatgtt ggggaagacc gattctttga atgaacaatga aggctcagag 1140

10

20

30

40

aaagctgaga tgaaaagatc tactgaactg gtgctctctc ctgatatgcc tagaacaacg 1200
 aacacatect tggtaacctc attteacaag tcaatggagc atgtagctcc agatcccacc 1260
 ggtactgaac gtggcaaaga acttagggaa tcttgtcaaa gtactgtcca gcaagaagaa 1320
 gcttcagtgg atgctaaaaga cagtgatctg ccttttttta atgtttcttt gttagactgg 1380
 ataaatgicc aagatagacc caatgatgtg gaatctctgg tcaggaagtg cttigattct 1440
 atgagcaggc ttgacccaaa gattattcaa ccatttatgt tagaatgcca tcaaactatt 1500
 gccaaacttg ataacagaa tatgaaagcc attaaagggc ttgaagatcg gctgtatgcc 1560
 ttggaccaga tgattgctag ctgtagccgg ctggtaaagc aacagaaaga gcttgctcag 1620
 ggatttttag ctaatcagat gagagctgaa aacttgaagg atgcatctgt gttacctgat 1680
 ctgtgtctga gtcatgcaa tcaactaatg attatgttgc aaaaccacag aaaactgttg 1740
 gatattaac agaagtgcac cactgccaaa caagagctag caacaatct ccacgtcaga 1800
 ctgaagtggc gttgttttgt gatgcttcat gctgatcaag atggagaaaa actgcaggca 1860
 ctgctccgcc ttgtaataga gctgttagaa agagtcagaa ttgttgaggc tcttagtaca 1920
 gtccctcaga tgtattgctt agctgttgtt gaggttgtaa gaagaaaaat gttcattaaa 1980
 cactacagag agtgggctgg tgccttagtc aaagacggaa aacaactata tgaagctgaa 2040
 aagtcaaaaa gggaaacctt tgggaaatta tttaggaagt cctttttaag aaatcgtctg 2100
 tttaaaggac tggactcctg gccctctca tttgtactc agaagcctcg aaaatttgac 2160
 tgtgaacttc cagatatac attaaaagat ttacagttc ttcaatcatt ttgtccttca 2220
 gaagtcagc catcctcag ggtcccctta ctttgtgact ttgaacctct acaccagcat 2280
 gtacttgcct tacataattt ggtaaaagca gcacaaagtt tggatgaaat gtcacagact 2340
 attacagatc tctaaatga acaaaaggta tccacaagtc aggcacccc acagtcagct 2400
 gcttctccaa gaatagaaag tacaacaggc attacaacca ctacctacc aaaaactcct 2460
 cctccactaa ctgttcagga caccctatgt ccggcagtgt gtcccctaga agaattatct 2520
 ccagatagta tcgatgctca tacatttgat ttcgaaacca tctccatcc aaacacagaa 2580
 caaccgttc accaagcttc tatagactg gattcattag cagaaagccc tgagtctgac 2640
 tttatgtctg ctgtgaatga gtttgtgata gaagaaaatt tatcgtctcc aaacctata 2700
 agtatccac aaagtcagaa aatgatggtg gagtcacttt actcttcagt catcaatgca 2760
 atagatagta ggcgtatgca agacacaagt acacgtggaa acgagggctt tggggatcgg 2820
 gctgctctac atgtccagct ggagaaatgc agagctgctg cacaagactc tcacaccagt 2880

10

20

30

40

atacaaacca tcaaggacga tctgtgccat ttcagaacat ttgtacaaa agaacagtgt 2940
 gacttagcaa attatttaa atgtacagct gtagaataa gaaatattat tgaaaaagta 3000
 aaatgittc tagaaataac actaaaggaa aagcatcagc aagaactcca atctttaaa 3060
 attgagtatg aatgtaaact tgatgctcta gtaaaagaca gtgaagaaaa tgtaaataaa 3120
 attttaaaat tgaagaaaa tttagtatcc ctigaagagg ctttacaaa taaagacaat 3180
 gaattcactt cgattaaaca tgaaaaggat gctattgtct gtgtgcagca agaaaaggat 3240
 cagaagtigt tagagatgga aaagataatg catactcaac attgtgaaat taaagaactg 3300
 aagcagtcac gagagatggc attagaagac ctgaaaaagc tgcattgata aaaaatcgag 3360
 icattgagag ctgaattca gtgcttagaa gaaaatcacc tgaaggaatt agaggacaca 3420
 ctgcacatca ggcacacaca ggagtttag aaagttatga cagaccaca tatgtctttg 3480
 gagaaattaa aaaaagaaaa tcagcaaga attgaccaga tgctagaatc tcatgctca 3540
 actattcagg aaaaagagca acagctgcag gaggttgaac tcaaagtttc tgacttgtca 3600
 gacatgagat gtaagttaga ggttgaactt gcactaaagg aagcagaaac agatgagata 3660
 aagatctigt tggaaagagag cagaacacag cagaaggaaa tgctgaagtc tttacttgaa 3720
 caagagaccg aaacttaag aacagaaata agtaactaa accaaaaaat tcatgataat 3780
 aatgagagtt accaggtggg tttgtcagag ttaagagctt taatgacaat tgaaaaagat 3840
 cagtgcaitt cagagttaat cagtagacat gaagaagaat ctaatatact taaggctgaa 3900
 ttagacaatg ttacatcttt gcatcgccaa gcatatgaaa tagaaaaaaaa actgaaagaa 3960
 caaatagttg aatgacagac tagattgaac tcagaattga gtgctcttga aaaacagaaa 4020
 gatgaaaaaa ttaccaaca agaagagaag tatgaagcac ttatccagaa ccttgagaaa 4080
 gacaaggaga gactggtcaa gaaccacgag caagacaaag aacacttaat tcaggagctt 4140
 aattttgaaa aaacaaagc tgttcaact gcactagatg aatttaaggt ggagagagaa 4200
 ctgttgaga aagagttatt agaaaaagtt aaacatcttg agaatcaat agccaaaact 4260
 cctgcctttg agtcagccag agaagattct tcaagcttag ttgcggaact tcaagagaaa 4320
 ctcaagaag aaaaagctaa gtittctgaa caacttgaag aacaagagaa aagaaagaat 4380
 gaggaaatgc aaaatgtcag aaccttttg attgctgagc agcagaccaa ctttaacaca 4440
 gtcttaacaa gagagaaaat gaggaaagaa aacataata atgatcttag tgataagcta 4500
 aaaagtacaa tgcagcagca agagcgggat aaagatttga tagagtcgct ctctgaggac 4560
 cgagctcgtt tgcittgaaga gaagaagcag ctigaagagg aagtgagtaa actccgcact 4620

10

20

30

40

agcagtttc tttcctcagc acctgtggct gcagccccag agctctaigg tgcgtgtgca 4680
 cctgagctcc caggggagcc agagagatca gtcattggaga cggcagatga aggaagactg 4740
 gattccgcaa tggagacaag catgatgtct gtccaagaaa acatgttata tgaagagaag 4800
 cagaggatca tgcctcctaga acggacattg cagtigaaag aagaagaaaa caagcggtta 4860
 aatcaaagac tgaigtctca gagtttgctc tcagtccttt caaggcattc tgaaaaaata 4920
 gccattagag attttcaggt gggagatttg gtctctcatca tcttagatga gcggcacgac 4980
 aattaigtat tgtttactgt tagtcttact ttatattttc tgcactcaga gtctcttctt 5040
 gccctggatc tcaaaccagg tgaggagct tcaggtgcat ctagaagacc ctgggtcctt 5100
 gggaaaagtaa tggaaaagga atactgtcaa gccaaaaagg cacaaaacag atttaaagtt 5160
 cctttgggga caaagtttta cagagtgaag gcctgtgcat ggaataagaa agtatagcca 5220
 cagaagaaat ctctacatct catacattt ttgatttgct ctccagtgtc gataaactac 5280
 tctaaaaaca gcctggccatt gttgggtttt tttttgttgt ttgtttgttt gttttgtttt 5340
 acaaaagica acataacaat atacttcatt ggtggactgc acttaccitt taagtggcta 5400
 catcttagga acaataaatt tattaqaatt ctggctgaa tcaaaatggt tttgttttgt 5460
 tccacccaa ataactagaa attcggacca aatagatgt tttccaaggg cagagcctgc 5520
 actgtggctt gtgactagcc tcattagtgt cctgtaata aacattagct gaatagttac 5580
 cagtttgtt accagcattt gtctcttgt gaattcaaga gtctctgcac tctttaacat 5640
 gtctttata aaatgtataa accttccaa actatttaa gaggagtgtt attgcatgca 5700
 gataatcata attttagatt tgcctcagaa gactactaaa gcaaattigt tcaTTTTT 5760
 ttaaaaaaat gccctttaat gttcaaaaa aaaataacag tgaatttga ctgactttaa 5820
 gatcagccat aaataatgag cagtctcaa aagcatttt cacacagatc atctgggctc 5880
 cagggaggaa gactctgtgc cactgatgtt tcaagtga ggactcactc aaacctctca 5940
 gcatcttagg actgtttcaa gtaatcatat tgatgaactc gtaattcatg gttgaccttc 6000
 agaagaagat attcattgta tattaacatt tagaggctat ttaataaca aaagtctgta 6060
 ttgtaaagga cctgtacaat ttaagacaa taaqaattg aaagtgtaaa tgtgtgtgcc 6120
 ttttaaaggt tacattttaa atatatgctg tgatttctgg gaaaggtgaa aaaaatgttc 6180
 tgtatcaaag agaaacctgt ttattaaaa atgttgtttg tatcctaigt aacaggtga 6240
 agtgggtgtc tgtggaacag aacctgtaa actcaaggtt taaaagctgg cactgaacaa 6300
 agatattgaa gtagctaggc tagttgattg gaaagagttt cttcaggtt gttgttagca 6360

10

20

30

40

gtaataaag atccttttc agaaatatt aatttctca taaaataag tiggatatt 6420
 ttataaatat gtaatctaat agaataaaa tggataaac atagtgtata gaatacctaa 6480
 ttcaaaaaca tattaatgaa taaacgaaca atgatta 6518

<210> 5

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
 sequence called CC1-S1

<400> 5

gacgtaactg ttcagaggg

<210> 6

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
 sequence called CC1-S2

<400> 6

tcagaggtg aggtataagc

<210> 7

<211> 28

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
 sequence called CC1-S3

10

20

30

40

<400> 7

atcatcatga agttatatgt atttctgg

<210> 8

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-ASP2

<400> 8

tiggccatta ctgaaactgc a

<210> 9

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-S4

<400> 9

tgtggaatct ttggtcagga

<210> 10

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-ASP1

<400> 10

taatccttgg atcaagcctg c

10

20

30

40

<210> 11
<211> 21
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-S5 10
<400> 11
igtaccactg ccaaacaaga a
<210> 12
<211> 20
<212> DNA
<213> Artificial Sequence
<220> 20
<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-S6
<400> 12
cttcggaagt tcagccattc
<210> 13
<211> 20
<212> DNA 30
<213> Artificial Sequence
<220>
<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-S6R
<400> 13
tccatccttg gtgaagaagc
<210> 14 40
<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-S7

<400> 14

tccccatcca aacatagaac a

10

<210> 15

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-S8

20

<400> 15

aaggaagacc ttgcccatt t

<210> 16

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

30

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-S9

<400> 16

gaactgaagc agtcacgaga aa

<210> 17

<211> 20

<212> DNA

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-S10

<400> 17

ttgtcagaca cgagatgcaa

<210> 18

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-S11

<400> 18

aaattatcag gtgggcttag ca

<210> 19

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-S

<400> 19

ccaggagcaa gacagagaac

<210> 20

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer

10

20

30

40

sequence called CC1-AS

<400> 20

cgagctcgat cttcagaaag

<210> 21

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-AS5

<400> 21

tgcttgcttc cattgctgaa

<210> 22

<211> 20

20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-AS4

<400> 22

ccaaatctcc cacctgaaaa

30

<210> 23

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called HCC22INTS

40

<400> 23

ctagacgaac gccatgacaa

<210> 24

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called HCC22INTAS

10

<400> 24

tggcttgaca gtattctttt tcc

<210> 25

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-AS2

<400> 25

tgagcactgc aggacaaatc a

<210> 26

<211> 21

30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called CC1-AS1

<400> 26

tgatgaatga gcactgcagg a

40

<210> 27

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called RB1CC-RS1

<400> 27

cctccctgcc tcttagagtt

<210> 28

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called RB1CC-R4

<400> 28

tagtcctcgg cagcggttac

<210> 29

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called RB1CC-R3

<400> 29

aaactcagaa aaccggcaac

<210> 30

<211> 21

<212> DNA

10

20

30

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called RB1CC-R2

<400> 30

tgccacagtt tgcactgtaa g

<210> 31

10

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called RB1CC-R1

<400> 31

20

tttccaatgc aagctgtgtc

<210> 32

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called RB1CC-RS2

30

<400> 32

gagtgaaagc cgtatcatgg a

<210> 33

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

40

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called RB1CC-RS3

<400> 33

aatgcggacc aaactacttc a

<210> 34

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called RB1CC-RS4

<400> 34

tcagtggtt ggtcatctgg

<210> 35

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called RB1CC-RS5

<400> 35

tgattgctgg gaagtgtgaa

<210> 36

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called RB1CC-RS6

10

20

30

40

<400> 36

gagaattggt tgagtttgt tgc

<210> 37

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called RB1CC-R5

<400> 37

tigtcaatg gcaacttctc

<210> 38

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK3-1-S

<400> 38

gggtgagga taagtcaca gaa

<210> 39

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK3-2-S

<400> 39

tcttatgtga tegtccacct g

10

20

30

40

<210> 40

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK3-2-AS

10

<400> 40

caaaggattc cctttttgat ttt

<210> 41

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

20

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK6-2-S

<400> 41

gctaatacaga agagagctga aaactt

<210> 42

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

30

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK1-1-S

<400> 42

gatggatgac tgcccttttt

<210> 43

<211> 20

40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK1-2-S

<400> 43

taagcatgcc attcaaagca

10

<210> 44

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK15-1-S

20

<400> 44

tttctttata cagggaagtc ttt

<210> 45

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

30

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK15-2-AS

<400> 45

tttcagaat gccttgaaga t

<210> 46

<211> 23

<212> DNA

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK31-2-S

<400> 46

aggataccat catcctagac gaa

<210> 47

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK31-2-AS

<400> 47

cttaccaccc tcacctggtt

<210> 48

<211> 26

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK40-S

<400> 48

tttgtattt taagtttagg aactgc

<210> 49

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer

10

20

30

40

sequence called MMK38-S

<400> 49

ataggataca aatccaattt ttc

<210> 50

<211> 27

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK31-S

<400> 50

aaaatatagg atacaaatcc aatgaca

<210> 51

<211> 24

20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK36-S

<400> 51

aaaggatgca tctgtattac ctga

30

<210> 52

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MMK340-S1

40

<400> 52

gccaacctgg aggactgtt

<210> 53

<211> 23

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-S1

10

<400> 53

ggttctctga gtttcaccag taa

<210> 54

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-S2

<400> 54

atcaacactg gagggtagg

<210> 55

<211> 28

30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called EcoCC1S3

<400> 55

atcatcatga agttatatgt gtttctgg

40

<210> 56

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-S7

<400> 56

gatgcctgca gttttccaca

<210> 57

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-S8

<400> 57

acgtggcaaa gaacttaggg

<210> 58

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-AS4

<400> 58

gctttcttt gctggacagt

<210> 59

<211> 20

<212> DNA

10

20

30

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-S11

<400> 59

ccttggacca gatgattgct

<210> 60

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-S9

<400> 60

gggtccccctt actttgtgac t

<210> 61

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-AS8

<400> 61

catccaaact ttgtgctgct

<210> 62

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

10

20

30

40

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-S12

<400> 62

tgctgcacaa gactctcaca

<210> 63

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-AS6

<400> 63

ggcacagatc gtccttgatg g

<210> 64

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-S13

<400> 64

tgaacttgca ctaaaggaag ca

<210> 65

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-AS7

<400> 65

cagcatttc ttctgctgtg

<210> 66

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-S14

<400> 66

tgagtgtct tgaaaaacag aaag

<210> 67

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-S15

<400> 67

ttgcggaact tcaagagaaa c

<210> 68

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MIRBICC-5

<400> 68

ctggaacaac ttgaagaaca agag

10

20

30

40

<210> 69

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MIRB1CC-3

10

<400> 69

acgagctcgg tcctcagaga

<210> 70

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

20

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-S3

<400> 70

tcaggtagga gatttaggtc

<210> 71

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

30

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-AS3

<400> 71

tgccgctcat ctaggatgat

<210> 72

40

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-AS2

<400> 72

cagcactgga ggacaaatca

10

<210> 73

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-AS1

20

<400> 73

agtcacaagc cacagtgcag

<210> 74

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

30

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-ASR1

<400> 74

tgctttgaat ggcatgctta

<210> 75

<211> 20

<212> DNA

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-ASR2

<400> 75

cctcacccctc cagtgtgat

<210> 76

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-ASR3

<400> 76

ccctccgcacc atcttctg

<210> 77

<211> 18

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called INTRON1ASR

<400> 77

cagggctccc gtaggact

<210> 78

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer

10

20

30

40

sequence called MCC-SR1

<400> 78

tcaggtagga gatttggtc

<210> 79

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-SR2

<400> 79

ccagcatttg tctcttgtg

<210> 80

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC3-S3

<400> 80

tttgagttt gcctcagaag a

<210> 81

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC3-S4

<400> 81

10

20

30

40

tcggaatica tggttgacct

<210> 82

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC3-AS2

10

<400> 82

tttcccagaa atcacgcaat

<210> 83

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC3-AS13

<400> 83

ictttgttca gtgccagctt t

<210> 84

<211> 20

30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC15S

<400> 84

accaggtggg tttgtcagag

40

<210> 85

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC15AS

<400> 85

10

cttggcgaag caaagatgta

<210> 86

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-3S

20

<400> 86

acaciggagg gtgaggtgtc

<210> 87

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

30

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MCC-3AS

<400> 87

gtgtcaaag tcagcgtggt

<210> 88

<211> 18

40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT1-S

<400> 88

gacggttgtg tcggttgg

<210> 89

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT1-AS

<400> 89

tiggcaactg agtggcatta

<210> 90

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT2-S0

<400> 90

tgccactcag ttgccaagta

<210> 91

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

10

20

30

40

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT2-S

<400> 91

cacagtatct ggcggtaagt ca

<210> 92

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT3-AS

<400> 92

cccagcgcig taagtacaca

<210> 93

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT4-S

<400> 93

taagcatgcc attcaaagca

<210> 94

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT4-AS

10

20

30

40

<400> 94

cagg~~tgcacg~~ gtcacataag

<210> 95

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT5-S

<400> 95

gcagtttcc acactgttgc

<210> 96

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT5-AS

<400> 96

ctccagattg gccatgattg

<210> 97

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT6-S

<400> 97

gccaatctgg aggactgttc

10

20

30

40

<210> 98

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT6-AS

10

<400> 98

agaatccggt cttcccaaac

<210> 99

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

20

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT7-S

<400> 99

cccaatgatg tggaaatctct g

<210> 100

<211> 20

<212> DNA

30

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT7-AS

<400> 100

agcaatcatc tggccaagg

<210> 101

40

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT8-S

<400> 101

aagatcggct gtagcctt

10

<210> 102

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT8-AS

20

<400> 102

caacagtttt ctgtggtttt gc

<210> 103

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

30

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT9-S

<400> 103

ggatgcatct gtgttacctg a

<210> 104

<211> 20

<212> DNA

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT9-AS

<400> 104

gccctgcagtt tttctccatc

<210> 105

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT10-S

<400> 105

gctccgcctt gtaatagagc

<210> 106

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT10-AS

<400> 106

ccaaaggatt cccittttga

<210> 107

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer

10

20

30

40

sequence called MINT11-S

<400> 107

gggctggatgc tttagtcaaa

<210> 108

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

10

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT11-AS

<400> 108

aaaatgagga aggccaggag

<210> 109

<211> 20

20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT12-S

<400> 109

actcctggcc ttctcattt

30

<210> 110

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT12-AS

40

<400> 110

tgaggaatgg ctgcacttct

<210> 111

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT13-S

10

<400> 111

gcctcgaaaa ttgactgtg a

<210> 112

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

20

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT13-AS

<400> 112

tccaaacttt gtgctgcttt t

<210> 113

<211> 21

30

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT14-S

<400> 113

aaaagcagca caaagtttgg a

40

<210> 114

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT14-AS

<400> 114

~~tggaggagga~~ gtttttgggtg

<210> 115

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT15-S

<400> 115

ccacgagcaa gacaaagaac

<210> 116

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT15-AS

<400> 116

tccgcaacta agcttgaaga a

<210> 117

<211> 20

<212> DNA

10

20

30

40

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT16-S

<400> 117

tgaggaaatg caaaatgtca

<210> 118

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT16-AS

<400> 118

gctcttgctg ctgcattgta

<210> 119

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT17-S

<400> 119

aaagtacaat gcagcagcaa ga

<210> 120

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

10

20

30

40

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT17-AS

<400> 120

tgctgaggaa agaaaactgc t

<210> 121

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT18-S

<400> 121

agctctaagg tgcgtgtgc

<210> 122

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT18-AS

<400> 122

gagcatgac ctcgtcttc c

<210> 123

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT19-S

10

20

30

40

<400> 123

tctgaagaga agcagaggat ca

<210> 124

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT19-AS

<400> 124

cagcttiga ttaaccgct tg

<210> 125

<211> 24

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT20-S

<400> 125

cattgcagtt gaaagaagaa gaaa

<210> 126

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT20-AS

<400> 126

igccttgaag agactgagga c

10

20

30

40

<210> 127

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT21-S

10

<400> 127

tccttcaag gcattctgaa aa

<210> 128

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

20

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT21-AS

<400> 128

atccaggca ggaagagact

<210> 129

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

30

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT22-S

<400> 129

agcggcacga caattatgta

<210> 130

<211> 22

40

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT22-AS

<400> 130

tttccatta ctttccaag ga

10

<210> 131

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT23-S

20

<400> 131

ctgggcctt gggaaagtaa

<210> 132

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

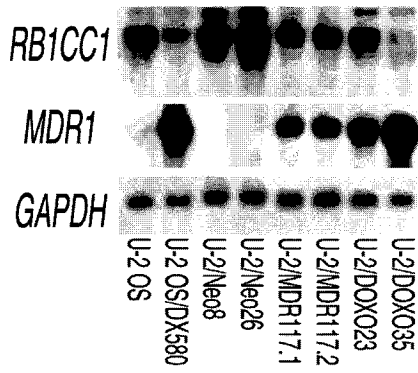
30

<223> Description of Artificial Sequence:artificially synthesized primer
sequence called MINT23-AS

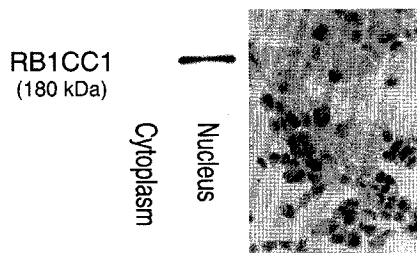
<400> 132

cagcacigga ggacaaatca

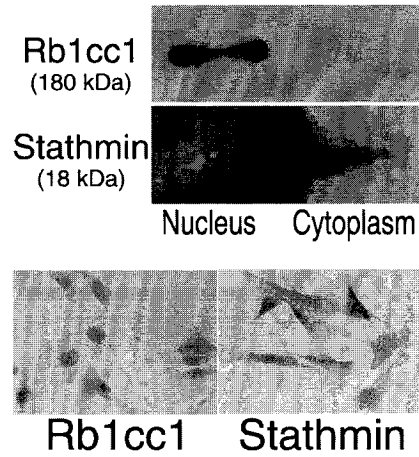
【 図 1 】



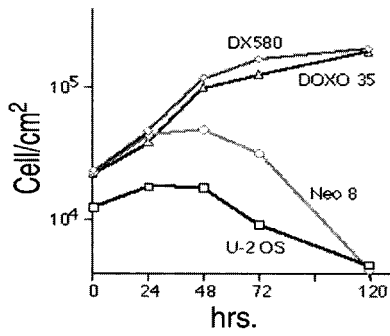
【 図 2 】



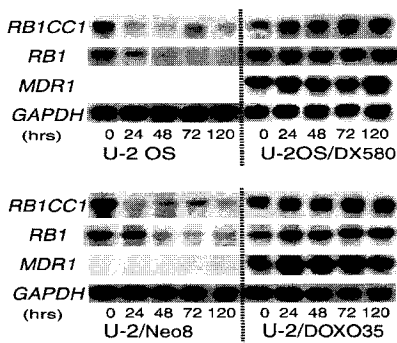
【 図 3 】



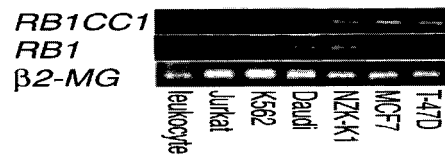
【 図 4 】



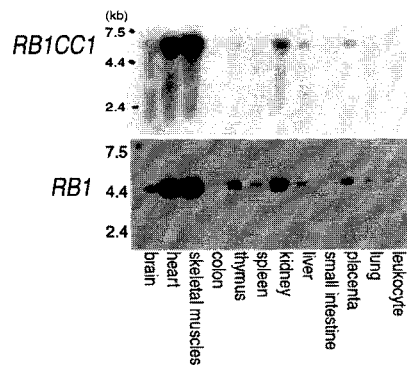
【 図 5 】



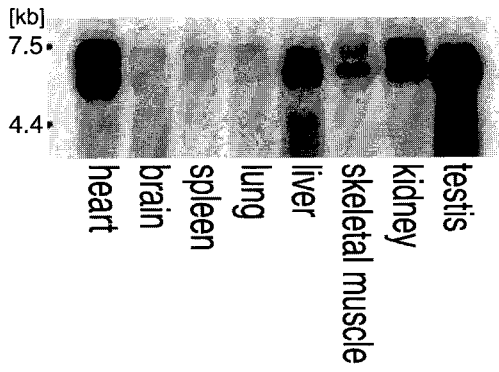
【 図 6 】



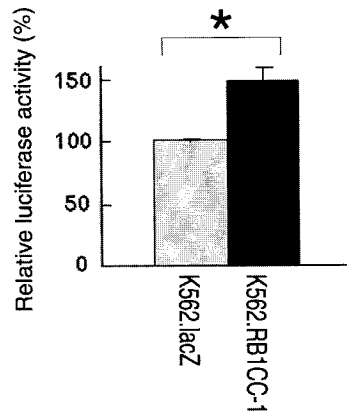
【 図 7 】



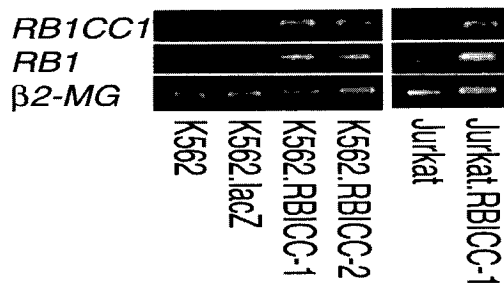
【 8 】



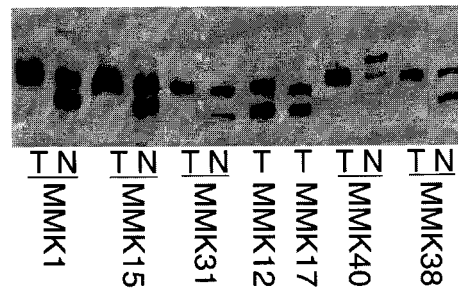
【 10 】



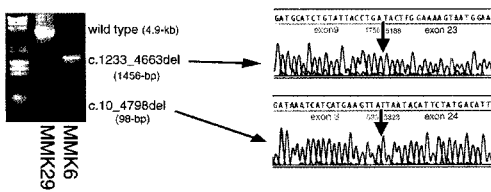
【 9 】



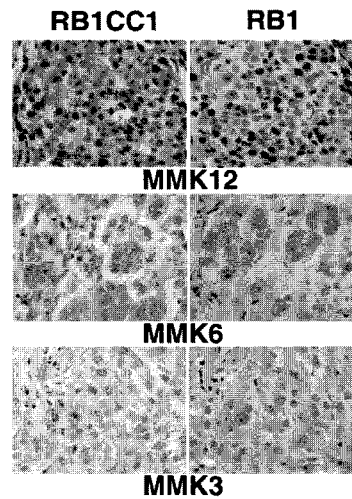
【 11 】



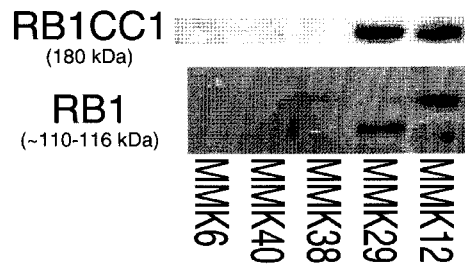
【 12 】



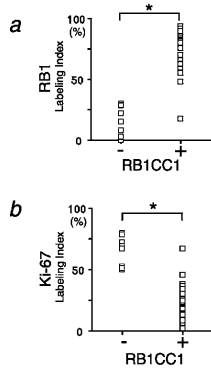
【 14 】



【 13 】



【 図 15 】



フロントページの続き

(51) Int.Cl. ⁷	F I	テーマコード(参考)
A 6 1 K 45/00	A 6 1 K 48/00	4 C 0 8 4
A 6 1 K 48/00	A 6 1 P 35/00	4 C 0 8 5
A 6 1 P 35/00	C 0 7 K 14/47	4 C 0 8 6
C 0 7 K 14/47	C 0 7 K 16/18	4 C 0 8 7
C 0 7 K 16/18	C 1 2 N 1/15	4 H 0 4 5
C 1 2 N 1/15	C 1 2 N 1/19	
C 1 2 N 1/19	C 1 2 N 1/21	
C 1 2 N 1/21	C 1 2 P 21/02	C
C 1 2 N 5/10	C 1 2 Q 1/18	
C 1 2 P 21/02	C 1 2 Q 1/68	A
C 1 2 Q 1/18	G 0 1 N 33/15	Z
C 1 2 Q 1/68	G 0 1 N 33/50	Z
G 0 1 N 33/15	G 0 1 N 33/53	D
G 0 1 N 33/50	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	C 1 2 N 5/00	A
	A 6 1 K 37/02	

(72)発明者 茶野 徳宏

〒525-0027 草津市野村5丁目9-34-809

Fターム(参考) 2G045 AA34 AA35 BB24 CB01 CB02 DA13 DA36 FB01 FB02 FB03
 FB05 FB12 GC15
 4B024 AA11 BA80 CA04 CA05 CA09 CA11 DA02 DA06 EA02 EA04
 GA11 GA18 GA19 HA03 HA14
 4B063 QA01 QA06 QA18 QA19 QQ03 QQ20 QQ42 QQ52 QR02 QR08
 QR32 QR38 QR41 QR42 QR55 QR57 QR59 QR62 QR66 QR69
 QR77 QR80 QR82 QS12 QS25 QS34 QS39 QX01 QX02
 4B064 AG01 CA10 CA19 CC24 CE07 CE11 CE12 DA14
 4B065 AA91X AA91Y AA93X AA93Y AB01 AC14 BA01 CA24 CA46
 4C084 AA02 AA06 AA07 AA13 AA17 BA01 BA02 BA08 BA22 BA23
 CA18 CA23 CA53 DA27 NA14 ZB262
 4C085 AA13 BB11 EE01
 4C086 AA01 AA02 AA03 AA04 EA16 MA02 MA04 NA14 ZB26
 4C087 AA01 AA02 BC83 MA02 NA13 NA14 ZB26
 4H045 AA10 AA11 AA20 AA30 BA10 CA40 DA75 DA86 EA50 FA74

专利名称(译)	RB1基因衍生蛋白 (RB1CC1) 和基因		
公开(公告)号	JP2004057003A	公开(公告)日	2004-02-26
申请号	JP2002214978	申请日	2002-07-24
[标]申请(专利权)人(译)	茶野 德宏 四郎IKEGAWA		
申请(专利权)人(译)	茶野 德宏 冈部秀敏 四郎IKEGAWA		
[标]发明人	茶野德宏		
发明人	茶野 德宏		
IPC分类号	G01N33/50 A61K31/7088 A61K35/76 A61K38/00 A61K38/02 A61K39/395 A61K45/00 A61K48/00 A61P35/00 C07K14/47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C12N15/09 C12N15/12 C12P21/02 C12Q1/18 C12Q1/68 G01N33/15 G01N33/53 G01N33/566		
CPC分类号	A61P35/00 C07K14/47		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A A61K31/7088 A61K35/76 A61K39/395.E A61K45/00 A61K48/00 A61P35/00 C07K14 /47 C07K16/18 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12P21/02.C C12Q1/18 C12Q1/68.A G01N33/15.Z G01N33/50.Z G01N33/53.D G01N33/53.M G01N33/566 C12N5/00.A A61K37/02 A61K38/00 A61K38 /02 A61K38/16 A61K38/17 C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12N5/00.101 C12N5/10		
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/AA35 2G045/BB24 2G045/CB01 2G045/CB02 2G045/DA13 2G045/DA36 2G045 /FB01 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB05 2G045/FB12 2G045/GC15 4B024/AA11 4B024/BA80 4B024/CA04 4B024/CA05 4B024/CA09 4B024/CA11 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/EA02 4B024 /EA04 4B024/GA11 4B024/GA18 4B024/GA19 4B024/HA03 4B024/HA14 4B063/QA01 4B063/QA06 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ03 4B063/QQ20 4B063/QQ42 4B063/QQ52 4B063/QR02 4B063 /QR08 4B063/QR32 4B063/QR38 4B063/QR41 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR57 4B063/QR59 4B063/QR62 4B063/QR66 4B063/QR69 4B063/QR77 4B063/QR80 4B063/QR82 4B063/QS12 4B063 /QS25 4B063/QS34 4B063/QS39 4B063/QX01 4B063/QX02 4B064/AG01 4B064/CA10 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/CE07 4B064/CE11 4B064/CE12 4B064/DA14 4B065/AA91X 4B065/AA91Y 4B065 /AA93X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AC14 4B065/BA01 4B065/CA24 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA06 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/BA02 4C084/BA08 4C084 /BA22 4C084/BA23 4C084/CA18 4C084/CA23 4C084/CA53 4C084/DA27 4C084/NA14 4C084/ZB262 4C085/AA13 4C085/BB11 4C085/EE01 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/AA03 4C086/AA04 4C086 /EA16 4C086/MA02 4C086/MA04 4C086/NA14 4C086/ZB26 4C087/AA01 4C087/AA02 4C087/BC83 4C087/MA02 4C087/NA13 4C087/NA14 4C087/ZB26 4H045/AA10 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045 /AA30 4H045/BA10 4H045/CA40 4H045/DA75 4H045/DA86 4H045/EA50 4H045/FA74		
代理人(译)	庄司隆		
优先权	2002161400 2002-06-03 JP		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

解决的问题：提供并寻找与癌症多药耐药性有关的新基因及其蛋白质，阐明该基因及其蛋白质的功能，提供一种测试基因的方法和针对该蛋白质的抗体，使用该基因和抗体提供了一种检查和诊断癌症的方法。一种新型蛋白质 (RB1CC1)，存在于人或动物细胞的核中，具有转录因子功能和/或能够诱导视网膜母细胞瘤1基因 (RB1基因) 或其基因产物 (RB1CC1) 表达的功能，或发现了

多肽及其基因。确定氨基酸序列和cDNA序列，通过与新基因杂交的引物扩增和检测基因，检查新基因的表达和突变，发现与癌细胞增殖的关系并检查癌症。然后，制备针对该新蛋白的抗体，并且通过使用该抗体检测该新蛋白，发现该新蛋白与癌细胞生长之间的关系，并检查了癌症。

番号	核酸長 (bp)		挿入核酸長 (bp)		配列		
	ヒト	マウス	ヒト	マウス	5'プライミング配列	3'プライミング配列	
1	358	286	1	9.1	11.2	GATTCGCG gtaagttctg	
2	115	100	2	1.3	1.8	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
3	122	115	3	1.4	3.5	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
4	127	127	4	0.2	0.1	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
5	171	171	5	7.0	3.8	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
6	203	203	6	2.1	1.3	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
7	430	427	7	5.7	3.8	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
8	171	171	8	6.3	0.3	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
9	183	185	9	0.3	0.2	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
10	187	187	10	0.1	0.1	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
11	82	82	11	0.3	0.1	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
12	62	62	12	1.6	1.6	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
13	104	104	13	0.3	0.3	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
14	127	127	14	0.1	0.1	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
15	1901	1892	15	10.1	10.0	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
16	166	166	16	2.9	1.5	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
17	109	109	17	0.1	0.1	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
18	241	241	18	6.3	1.1	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
19	55	45	19	1.0	1.0	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
20	48	48	20	4.4	3.0	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
21	59	59	21	2.3	2.1	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
22	137	137	22	3.5	2.0	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
23	71	71	23	0.8	1.6	ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg
24	140	139				ttctctctag TTACTGATC	GTCCCGCG gtaagttctg