(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2006-515318
(P2006-515318A)
(43)公表日　平成18年5月25日(2006.5.25)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
C07K 16/18	(2006.01)	C07K	16/18	ZNA	2G045
C12N 15/09	(2006.01)	C12N	15/00	A	4B024
C07K 16/46	(2006.01)	C07K	16/46		4B063
C12Q 1/02	(2006.01)	C12Q	1/02		4B064
C12Q 1/68	(2006.01)	C12Q	1/68	A	4C085

審査請求 未請求　予備審査請求 有　（全 172 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2005-500828 (P2005-500828)
(86)(22)出願日　平成15年10月28日 (2003.10.28)
(85)翻訳文提出日　平成17年5月20日 (2005.5.20)
(86)国際出願番号　PCT/US2003/034019
(87)国際公開番号　WO2004/110345
(87)国際公開日　平成16年12月23日 (2004.12.23)
(31)優先権主張番号　60/422,176
(32)優先日　平成14年10月29日 (2002.10.29)
(33)優先権主張国　米国(US)

(71)出願人　502427323
ファルマシア・コーポレーション
アメリカ合衆国ミズーリ州６３０１７－１７３２，チェスターフィールド，チェスターフィールド・パークウェイ・ウエスト７００
(74)代理人　100089705
弁理士　社本　一夫
(74)代理人　100076691
弁理士　増井　忠弐
(74)代理人　100075270
弁理士　小林　泰
(74)代理人　100080137
弁理士　千葉　昭男

最終頁に続く

(54)【発明の名称】特異的に発現する癌関連遺伝子、それによってコードされるポリペプチドおよびその使用方法

(57)【要約】
本発明は、発現が癌または腫瘍細胞において調節される核酸およびそれらにコードされたポリペプチドに関する。本発明はさらに、癌または腫瘍を処置または調節することが必要な哺乳類において、そのような生物学的作用に有用な方法に関する。これには、腫瘍学的障害の診断および処置を含む。その上、本発明はさらに広範囲な病状の処置のための診断プローブまたは治療薬としての本発明のポリペプチドに対する抗体の使用、および診断プローブまたは治療薬としての本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列の使用に関する。

【特許請求の範囲】
【請求項１】
ｐ－カドヘリンまたはそのフラグメントに免疫特異的に結合する抗体。
【請求項２】
ｐ－カドヘリンがＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９のアミノ酸配列を有する請求項１に記載の抗体。
【請求項３】
前記抗体がモノクローナル抗体である、請求項２に記載の抗体。
【請求項４】
前記抗体がＦＶフラグメント、Ｆａｂフラグメント、（Ｆａｂ）２フラグメント、１本鎖抗体からなる群から選択される抗体フラグメントである、請求項２に記載の抗体。
【請求項５】
前記抗体が少なくとも１つのポリエチレングリコール部分と結合する、請求項３６に記載の抗体。
【請求項６】
前記抗体が拮抗薬である、請求項１、２、３、４または５に記載の抗体。
【請求項７】
抗体がヒト化抗体である、請求項１、２、３、４、５または６に記載の抗体。
【請求項８】
抗体がヒト抗体である、請求項１、２、３、４、５または６に記載の抗体。
【請求項９】
以下のことを含む、ｐ－カドヘリンに結合する物質を同定する方法：
（ａ）前記物質とｐ－カドヘリンを接触させること；および
（ｂ）前記物質がｐ－カドヘリンに結合するかどうかを確かめること。
【請求項１０】
以下のことを含む、ｐ－カドヘリンの発現または活性を調節する物質を同定するための方法：
（ａ）前記ポリペプチドを作動して発現する細胞を提供すること；
（ｂ）前記物質と細胞を接触させること；そして
（ｃ）前記物質が前記ポリペプチドの発現または活性を調節するかどうかを確かめることであって、この方法によれば、ｐ－カドヘリンの発現または活性の変化が、当該物質がｐ－カドヘリンの発現または活性を調節することを示す前記方法。
【請求項１１】
癌に関連した疾患を治療または予防する方法であって、そのような治療または予防が所望される対象に、請求項１に記載の抗体を、対象における癌に関連した疾患を治療または予防するために十分な量で投与することを含む、前記方法。
【請求項１２】
哺乳類細胞の癌状態と相関して異なって発現される遺伝子を検出する方法であって、癌であると疑われる細胞由来の試験試料において少なくとも１つの異なって発現される遺伝子産物を検出する工程を含み、遺伝子産物がＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１の配列によってコードされ、異なって発現される産物の検出が、試験試料が由来する細胞の癌状態と相関する前記方法。
【請求項１３】
患者における癌の進行をモニターするための方法であって、以下のことを含む前記方法：
ａ）患者試料において、第１の時点で、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１の核酸分子であるマーカーの発現を検出すること；
ｂ）次の時点で工程ａ）を繰り返すこと；そして
ｃ）工程ａ）およびｂ）において検出される発現レベルを比較し、そこから癌の進行をモニターすること。
【請求項１４】

以下の（ａ）と（ｂ）：
ａ）試験化合物に曝された患者から得られた第１の試料における、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１の核酸分子から選択されるマーカーの発現；と
ｂ）患者から得られた、試験化合物に曝されない第２の試料におけるマーカーの発現、
とを比較することを含む、患者において癌を阻害するための試験化合物の有効性を評価する方法であって、第２の試料に比較して第１の試料における著しい低レベルのマーカーの発現は、患者の癌を阻害することに対して試験化合物が有効であることの目安である前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

発明が属する技術分野

［００１］　本発明は一般に、発現が癌または腫瘍細胞において調節される核酸およびそれらがコードするポリペプチドの同定に関する。これらの核酸および蛋白質は今まで癌において生物学的役割を有すると確認されていない。本発明はさらに、そのような生物学的作用が必要な哺乳類において癌または腫瘍を治療または調節するために有用な方法に関する。これには、腫瘍学的疾患の診断および治療が挙げられる。その上、本発明はさらに診断プローブとして、または治療薬としての本発明のポリペプチドに対する抗体の使用、および広範囲な病状の処置のための診断プローブまたは治療薬としての本発明のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列の使用に関する。本発明はまた、アンチセンス分子に関する。

【背景技術】

【０００２】

発明の背景

癌の背景

［００２］　本発明は新生物細胞成長および増殖、すなわち、哺乳類、たとえばヒトにおける腫瘍および癌（たとえば、結腸癌）の診断、妨害、および処置のための方法および組成物に関する。とりわけ、正常細胞に比較して腫瘍細胞において異なって発現される遺伝子が同定される。これらの間では、ある種のＩｎｃｙｔｅ（Ｐａｌｏ　Ａｌｔｏ，ＣＡ）が独特の遺伝子である。

［００３］　悪性腫瘍、すなわち癌は心臓疾患に次ぐ第２の主要な死因であり（Ｂｏｒｉｎｇ，ｅｔ　ａｌ．，ＣＡ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｊ．Ｃｌｉｎ．，４３：７，１９９３）、そして３人に１人の米国人が罹患する。４人に１人の米国人は癌で死亡する。癌は主に、増殖して腫瘍塊を形成する正常組織由来の、多数の異常または新生物細胞の増加、これらの新生物細胞による隣接組織への浸潤、および血液またはリンパ系を介して局所リンパ節および遠隔部位へ広がる悪性細胞の発生により特徴付けられる。後者の悪性への進行は転移と呼ばれる。

［００４］　癌は新生物細胞とそれらの正常な隣接細胞を含む、それらの環境間のコミュニケーションの崩壊の結果生じてもよい。成長刺激および成長阻害の両方のシグナルは、組織内の細胞間でごく普通に交換される。通常、細胞は刺激シグナルがない場合は分裂せず、同様に阻害シグナルの存在下では分裂を中止することになる。癌、または新生物状態では、細胞はこれらのシグナルを“無効にする”、および正常細胞が成長しない条件下で増殖する能力を獲得する。

［００５］　腫瘍細胞はいくつかの異常な特徴を獲得して増殖しなければならない。ある種の十分に研究された腫瘍のゲノムが、活性化された癌遺伝子および不活性化された腫瘍抑制遺伝子を含む、いくつかの異なった、独立して変化した遺伝子を持つという事実はこの獲得を反映している。以下の抑制遺伝子の特有の発現がヒト癌において証明されている：網膜芽腫遺伝子、ＲＢ；ウィルムス腫瘍遺伝子、ＷＴ１（１１ｐ）；結腸癌で欠失した遺伝子、ＤＣＣ（１８ｑ）；神経線維腫症１型遺伝子、ＮＦ１（１７ｑ）；および家族性腺腫性ポリポーシス、ＡＰＣ（５ｑ）（Ｖｏｇｅｌｓｔｅｉｎ，Ｂ．ａｎｄ　Ｋｉｎｚｌ

ｅｒ，Ｋ．Ｗ．，Ｔｒｅｎｄｓ Ｇｅｎｅｔ．９：１３８－１４１，１９９３）．これらの遺伝的変化のそれぞれは、全体として完全な新生物表現型を表す特徴のいくつかを授けることに関与すると考えられる（Ｈａｎａｈａｎ，Ｄ．ａｎｄ Ｗｅｉｎｓｂｅｒｇ，Ｒ．Ａ．Ｃｅｌｌ，１００：５７－７０，２０００）。

［００６］ 結腸癌は米国において主要な癌関連死の第２の原因である。米国癌学会は、１９９９年には約９４，７００の新しい結腸癌の症例があること、および結腸癌は約４７，９００の死亡に関与することになると推定する。結腸癌はしばしば、肝臓および肺に転移する。

［００７］ 喫煙が疾患に関与する主要な病因であることが確かめられている肺癌とは異なり、結腸癌を引き起こす主要な機序は複雑で十分に理解されていない。食事因子、とりわけ高脂肪摂取は発癌を促進すると考えられている。分子レベルでは、いくつかの突然変異を含む多段階過程が腺腫から結腸癌への進行に関わると疑われる（Ｖｏｇｅｌｓｔｅｉｎ ｅｔ ａｌ．（１９８８）Ｎ．Ｅｎｇｌ．Ｊ Ｍｅｄ．３１９：５２５－５３２）。結腸癌の発生および進行は、３種の遺伝子型：癌遺伝子、腫瘍抑制遺伝子ならびに、癌遺伝子および腫瘍抑制遺伝子を含む別の遺伝子の突然変異の割合を制御するミスマッチ修復遺伝子における連続した突然変異が引き起こす。これらの突然変異は遺伝的素因（生殖系列突然変異）の結果として、または環境因子（体細胞突然変異）に反応して発生する。

［００８］ 結腸癌に関連するいくつかの突然変異が確認されている。遺伝性、または家族性結腸癌に関連している生殖系列突然変異には、腫瘍抑制遺伝子腺腫ポリポーシス（ＡＰＣ（Ｌｅｎｇａｕｅｒ ｅｔ ａｌ．（１９９１）Ｓｃｉｅｎｃｅ ２５３：６６５－６６９）およびミスマッチ‐修復遺伝子ＭｕｔＬおよびＭｕｔＳ（Ｍｏｄｒｉｃｈ（１９９５）Ｐｈｉｌ．Ｔｒａｎｓ．Ｒ．Ｓｏｃ．Ｌｏｎｄ．Ｂ ３４７：８９－９５；Ｋｏｌｏｄｎｅｒ（１９９６）Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．１０：１４３３－１４４２）が挙げられる。不完全なＡＰＣが家族性腺腫ポリポーシス（ＦＡＰ）に関与し、ＭｕｔＬおよびＭｕｔＳが遺伝性非ポリポーシス大腸癌（ＨＮＰＣＣ）に関与している。散発性結腸癌に関連して確認された体細胞突然変異には、癌遺伝子Ｋ－ｒａｓ、ｃ－ｍｙｃ、および腫瘍抑制遺伝子ｐ－５３，ＡＰＣ、神経線維腫症１型ＧＴＰアーゼ‐活性化蛋白質（ＮＦ Ｉ ＧＡＰ）、結腸癌における欠失（ＤＣＣ）および結腸癌における突然変異（ＭＣＣ）が挙げられる（Ｍｉｄｇｌｅｙ ｅｔ ａｌ．（１９９９）Ｌａｎｃｅｔ ３５３：３９１－３９９）。

［００９］ 結腸癌を処置するための従来の治療的方法には、外科的切除、照射およびアジュバント療法を含む化学療法が挙げられる。遺伝子治療法には、サイトカインまたは免疫抗原遺伝子の移入、酵素‐プロドラッグ系の移入（たとえば、Ｈｕｂｅｒ ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．５３：４６１９－４６２６を参照されたい）およびウイルスベクター（Ｚｗａｃｋａ ｅｔ ａｌ．（１９９８）Ｈｅｍａｔｏｌ．Ｏｎｃｏｌ．Ｃｈｎ．Ｎｏｒｔｈ Ａｍ．１２：５９５ ６１５）を使用した腫瘍抑制遺伝子の置換（たとえば、Ｖｅｎｏｏｋ ｅｔ ａｌ．（１９９８）Ｐｒｏｃ．ＡＳＣＯ １７：４３１ａを参照されたい）が挙げられる。

［００１０］ 結腸癌に関連したいくつかの遺伝子が同定されているが、結腸癌の発生または発生の阻害に関連したさらなる遺伝子の同定は、さらなる診断手段および治療標的を提供することができる。結腸癌において特有の発現をする遺伝子の同定は薬物の発見、診断技術、および結腸癌の進行および性質の理解の進歩にとりわけ重要である。本発明はそのような、特有の発現をする遺伝子の同定を提供する。

【０００３】

マイクロアレイ背景

［００１１］ ＤＮＡを基にしたアレイは、遺伝子発現および遺伝的変動を調べるための効率的で、ハイスループットな方法を提供することができる。たとえば、ＳＮＰｓ、または一塩基多型はヒトの遺伝的変動のもっとも一般的な型である。ＤＮＡを基にしたアレイは数百、さらに数千の遺伝子におけるＳＮＰの発見を劇的に促進することができる。同様に、そのようなアレイは選択されたＳＮＰの存在下で個人または集団のＤＮＡ試料をアッ

セイする、ＳＮＰ遺伝子型判別に使用することができる。これらの方法は、結局ヒトゲノムにおけるすべての遺伝変動、ならびに疾患感受性、薬物処置に対する反応性、およびその他の医学的に適切な情報と遺伝変動との相関関係の体系的確認につながることになる（たとえば、Ｗａｎｇ，Ｄ．Ｇ．ｅｔ　ａｌ．（１９９８）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２８０：１０７７－１０８２を参照されたい）。

［００１２］　ＤＮＡを基にしたアレイ技術は、全体的な遺伝子発現パターンの迅速な分析にとりわけ重要である。たとえば、遺伝的素因、疾患、または治療的処置は与えられた組織における多数の遺伝子発現に直接的または間接的に影響を与え得る。この場合には、発現されたすべての遺伝子のプロファイル、または転写像、およびその具体的な組織において発現されたレベルを明らかにすることが有用である。ある種の疾患に影響を受けた、または特定の治療を受けている個人または集団から生じたプロファイルは、対照の個人または集団から同じ様に生じたプロファイルと比較することができる。発現プロファイルを明らかにするには、それぞれの遺伝子を単にマーカーとして扱う数学的解析を行うことができるため、そのような解析は遺伝子機能の知識を必要としない。さらに、たとえばある成長段階において、具体的な組織において、または疾患もしくは処置に反応して発現されたすべての遺伝子を同定することにより、遺伝子発現プロファイルの解明が生物学的経路の分析に役立つであろう（たとえば、Ｌａｎｄｅｒ，Ｅ．Ｓ．ｅｔ　ａｌ．（１９９６）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２７４：５３６－５３９を参照されたい）。

【発明の開示】

【０００４】

発明の概要

［００１３］　一側面において、本発明は対象における腫瘍性疾患処置の有効性を評価する方法を含み、該方法は、本発明の核酸配列のうちの１以上を発現することができる試験細胞集団を提供する工程；１以上のこれらの核酸配列の発現を検出する工程；その発現を、癌段階がわかっている参照細胞集団における核酸配列の発現と比較する工程；そして試験細胞集団と参照細胞集団間の発現レベルの差（もし存在すれば）を確認する工程を含む。種々の態様において、対象は哺乳類、または、より好ましくはヒトであってよい。別の態様において、試験細胞集団はｉｎ　ｖｉｔｒｏ、哺乳類対象からｅｘ　ｖｉｖｏ、または哺乳類対象においてｉｎ　ｖｉｖｏで提供されてよい。核酸配列の発現は、参照細胞集団に比較して試験細胞集団において、増加するかまたは減少するかのいずれかであってよい。

［００１４］　別の側面において、本発明は癌性障害を診断する方法を含み、ここで該方法は、本発明の核酸配列のうちの１以上を発現することができる試験細胞集団を提供する工程；１以上のこれらの核酸配列の発現を検出する工程；発現を癌段階がわかっている参照細胞集団における核酸配列の発現と比較する工程；そして試験細胞集団と参照細胞集団間の発現レベルの差（もし存在すれば）を確認する工程を含む。種々の態様において、対象は哺乳類、または、より好ましくはヒトであってよい。別の態様において、試験細胞集団はｉｎ　ｖｉｔｒｏ、哺乳類対象からｅｘ　ｖｉｖｏ、または哺乳類対象においてｉｎ　ｖｉｖｏで提供されてよい。核酸配列の発現は、参照細胞集団に比較して試験細胞集団において増加するか、または減少するかのいずれかであってよい。

［００１５］　別の側面において、本発明は、本発明の核酸配列のうちの１以上を発現することができる試験細胞集団を提供する工程；試験細胞集団を試験治療薬と接触させる工程；１以上のこれらの核酸配列の発現を検出する工程；発現を癌段階が公知の参照細胞集団における核酸配列の発現と比較する工程；そして試験細胞集団と参照細胞集団間の発現レベルの差（もし存在すれば）を確認する工程を含む、対象における癌性障害を処置するための試験治療薬を同定する方法を含む。異なる態様において、対象は哺乳類、または、より好ましくはヒトであってよい。さらに、試験治療薬は公知の癌性障害剤または未知の癌性障害剤のいずれであってもよい。拮抗薬は、本発明のポリペプチドの少なくとも１つに選択性を有する抗体であってよい。処置される癌性障害は以下の疾患または障害から選択されてよい：局所的に進行した腫瘍、ヒトの軟部組織肉腫、リンパ性転移を含む転移癌

、多発性骨髄腫を含む血液細胞悪性病変、急性および慢性白血病、およびリンパ腫、口腔癌、喉頭癌および甲状腺癌を含む頭部および頸部の癌、小細胞癌および非‐小細胞癌を含む肺癌、小細胞癌および導管性癌をふくむ乳癌、食道癌、胃癌、結腸癌、大腸癌、および大腸腫瘍に関連したポリープを含む消化器癌、膵臓癌、肝臓癌、膀胱癌および前立腺癌を含む泌尿器癌、卵巣癌、子宮（子宮内膜を含む）癌および卵胞における固形腫瘍を含む女性生殖系の悪性腫瘍、腎細胞癌を含む腎臓癌、内因性脳腫瘍を含む脳の癌、神経芽細胞腫、星状細胞脳腫瘍、グリオーマ、中枢神経系における転移性腫瘍細胞浸潤、骨腫を含む骨癌、悪性メラノーマを含む皮膚癌、ヒト皮膚ケラチン細胞の腫瘍進行、扁平上皮細胞癌、基底細胞癌、血管周皮細胞腫ならびにカポジ肉腫。

［００１６］　別の側面において、本発明は対象における癌性障害への感受性、それに対する素因、およびその存在を同定するか、または確かめる方法を含む。この側面において、本発明の方法は、本発明の核酸配列のうちの１以上を発現することができる試験細胞集団を提供する工程；１以上のこれらの核酸配列の発現を検出する工程；発現を癌段階が公知の参照細胞集団における核酸配列の発現と比較する工程；そして試験細胞集団と参照細胞集団間の発現レベルの差（存在すれば）を確認する工程を含む。対象は哺乳類、または、より好ましくはヒトであってよい。

［００１７］　代わりの側面において、本発明は癌性障害に罹患しているか、またはそれを発生するリスクがある患者に、本発明の１以上の核酸配列の発現または活性を調節する物質を投与することにより癌性障害を処置する方法を含む。この物質は癌組織においてアップレギュレーションされている本発明の１以上の配列の発現を減少させるものであってよい。あるいは、ダウンレギュレーションされている本発明の１以上の配列の発現を増大させるものであってよい。さらに、該物質は核酸配列によってコードされたポリペプチドに対する抗体、アンチセンス核酸分子、ペプチド、ポリペプチド作動薬、ポリペプチド拮抗薬、ペプチド模倣物、小分子、または別の薬物であってよい。

［００１８］　本発明はまた、本発明の２以上の核酸配列を検出するための１以上の試薬を含むキットを包含する。さらに、本発明は本発明の２以上の核酸を検出することができるプローブ核酸のアレイを包含する。

［００１９］　本発明のポリペプチドおよび核酸は対象における癌性障害を処置するために使用することができる。癌性障害の処置は、哺乳類、好ましくはヒトにおけるものであってよい。種々の態様において、本発明のポリペプチドおよび核酸を含む治療用組成物を使用して、癌性障害を処置することができる。これらの治療用組成物は薬剤的に受容できるキャリア、および、さらに抗癌剤または抗炎症剤のような活性成分を含むことができる。さらに、薬剤的に受容できるキャリアと共に癌性障害の処置に使用するための治療用組成物を含むキットが提供され、ここで治療用組成物は本発明のポリペプチド、本発明のポリペプチドの作動薬、または本発明のポリペプチドの拮抗薬である。

［００２０］　さらに、本発明のポリペプチドをコードする核酸に少なくとも８０％相同である単離核酸分子またはその核酸配列の相補体、ならびにこの核酸配列を含むベクターおよび宿主細胞が本発明に包含される。また、本明細書に記載されたベクターにコードされた蛋白質の発現に適した条件下で、１以上のそのようなベクターにより形質転換された宿主細胞を培養することによりポリペプチドを産生する方法が提供される。

［００２１］　別の側面において、本明細書に記載の、単離核酸配列またはオリゴヌクレオチドによりコードされた単離されたポリペプチドが提供される。ある側面において、単離された蛋白質は機能的変異体またはそのフラグメントである。別の態様において、本発明の蛋白質の変異体またはフラグメントはそれぞれの活性を保持する。

［００２２］　さらに別の側面において、本発明は単離された核酸、単離されたポリペプチドまたは抗体のいずれかを含む医薬組成物を包含する。別の側面は、核酸および蛋白質の存在を検出する方法を包含する。

［００２３］　本発明の別の側面は、本発明の核酸またはポリペプチドの生物学的試料における存在に基づいた、癌性障害を予測するか、または検出するマーカーおよび方法である。

［００２４］　本発明の別の態様は、生物学的試料における、本発明の核酸またはポリペプチドのレベルをモニターすることに基づいた抗癌処置の有効性を評価するためのマーカーおよび方法である。
［００２５］　本発明の別の態様および利点は以下の詳細な説明および特許請求の範囲から明らかになるであろう。
【０００５】
発明の詳細な説明
［００２７］　本発明は癌の状態に関連した遺伝子に関する。個々の遺伝子（マーカーとも呼ばれる）およびこれらの遺伝子の組み合わせの発現レベルは患者における癌の存在と相関することが見出されている。試料における癌の存在、試料における癌の不存在、癌の段階、ならびに患者の癌の予防、診断、性状解析、および治療に関連する癌のその他の特徴を検出するための方法が提供される。本発明はまた、癌腫の処置のための小分子または抗体治療薬に関する。
［００２８］　本発明は部分的に、正常（すなわち、癌でない）結腸細胞における発現に比較して結腸癌細胞において過剰発現される新規マーカーの同定に基づく。本発明のマーカーはＤＮＡ、ＲＮＡ、およびポリペプチド分子に対応し、それらは正常および結腸癌細胞の一方または両方において検出することができる。本明細書では結腸細胞における１以上のこれらのマーカーの促進された発現が組織の癌状態と相互に関連する。したがって、本発明は結腸細胞（たとえば、ヒトから得られた細胞、培養したヒト細胞、保管または保存されたヒト細胞およびｉｎ　ｖｉｖｏ細胞）の癌状態を評価するための組成物、キット、方法を包含する。
［００２９］　本発明は以下のものに関する：
［００３０］　以下のものからなる群から選択されるアミノ酸配列を含む、単離されたポリペプチド：
（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４７；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５７；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６７；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７５；およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４からなる群から選択されるアミノ酸配列の成熟型；
（ｂ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４７；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５７；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６７；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７５；およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４からなる群から選択されるアミノ酸配列の成熟型の変異体（上記変異体における１以上のアミノ酸残基が上記の成熟型のアミノ酸配列と異なる、ただし、上記変異体は上記の成熟型アミノ酸配列由来のアミノ酸残基の２０％以下において異なる）；

（ｃ）ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７５；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４からなる群から選択される配列を含むアミノ酸配列；および

（ｄ）ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７５およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４からなる群から選択される配列を含むアミノ酸配列の変異体（上記変異体における１以上のアミノ酸残基が上記の成熟型のアミノ酸配列と異なる、ただし、上記変異体は上記の成熟型アミノ酸配列由来のアミノ酸残基の２０％以下において異なる）；

［００３１］ アミノ酸配列がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７５；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４からなる群から選択される、単離されたポリペプチド。

［００３２］ アミノ酸配列がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８からなる群から選択される、単離されたポリペプチド。

［００３３］ アミノ酸配列がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７３、およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４からなる群から選択される、単離されたポリペプチド。

［００３４］ アミノ酸配列がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４９；Ｓ

ＥＱ ＩＤ ＮＯ：５３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７２；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７５からなる群から選択される、単離されたポリペプチド。

［００３５］ アミノ酸配列がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４２；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４３；からなる群から選択される、単離されたポリペプチド。

［００３６］ アミノ酸配列がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３７；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１３からなる群から選択される核酸配列によりコードされる、単離されたポリペプチド。

［００３７］ ポリペプチドがＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７５；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４からなる群から選択されるアミノ酸配列の天然に存在する対立遺伝子変異体のアミノ酸配列を含むポリペプチド。

［００３８］ 対立遺伝子変異体がＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３７；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１３からなる群から選択される核酸配列と１ヌクレオチド異なる核酸配列の翻訳であるアミノ酸配列を含む、ポリペプチド。

［００３９］ アミノ酸置換が保存的アミノ酸である、ポリペプチド変異体。

［００４０］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２６；ＳＥＱ ＩＤ

ＮＯ：２７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３７；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１３からなる群から選択される核酸分子。

［００４１］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２７；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０からなる群から選択される核酸分子。

［００４２］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２０；ＥＱ ＩＤ ＮＯ：２２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３５；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１３からなる群から選択される核酸分子。

［００４３］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３７からなる群から選択される核酸分子。

［００４４］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５からなる群から選択される核酸分子。

［００４５］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３７；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１３からなる群から選択される核酸配列と１ヌクレオチド異なる核酸分子。

［００４６］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３７；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１３からなる群から選択される核酸配列にストリンジェントな条件下でハイブリダイズする核酸分子、または上記核酸配列の相補体。

［００４７］ 本発明の核酸分子を含む、ベクター。

［００４８］ プロモーターに作動可能に結合した本発明の核酸分子を含むベクター。

［００４９］ 本発明のベクターにより形質転換またはトランスフェクションされた細胞。

［００５０］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１；ＳＥＱ

ＩＤ ＮＯ：１５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３７；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１３からなる群から選択される核酸配列により形質転換またはトランスフェクションされた細胞。

［００５１］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７７～ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０１１からなる群から選択される核酸配列を含むマイクロアレイ。

［００５２］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７７～ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１９９３からなる群から選択される核酸配列を含むマイクロアレイ。

［００５３］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１９９４～ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０１１からなる群から選択される核酸配列を含むマイクロアレイ。

［００５４］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３７；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１３からなる群から選択される核酸配列を含むマイクロアレイ。

［００５５］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２７；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０からなる群から選択される核酸配列を含むマイクロアレイ。

［００５６］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２７；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３０からなる群から選択される核酸配列を含むマイクロアレイ。

［００５７］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３５およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１３からなる群から選択される核酸配列を含むマイクロアレイ。

［００５８］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３４；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３７からなる群から選択される核酸配列を含むマイクロアレイ。

［００５９］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５からなる群から選択される核酸配列を含むマイクロアレイ。

［００６０］ ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ

：４９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７５およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４のポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体。

［００６１］ 抗体はモノクローナル抗体、抗体フラグメント（ＦＶフラグメント、Ｆａｂフラグメント、（Ｆａｂ）２フラグメント、１本鎖抗体から選択されるがそれらに限定されない）であってよい。

［００６２］ 抗体は少なくとも１つのポリエチレングリコール部分と結合してよい。

［００６３］ 抗体は拮抗薬であってよい。

［００６４］ 抗体はヒト化抗体またはヒト抗体であってよい。

［００６５］ 試料中の本発明のポリペプチドの存在または量を決定するための方法であって、以下のことを含む上記方法；

（ａ）試料を提供すること；

（ｂ）試料をポリペプチドに免疫特異的に結合する抗体と接触させること；および

（ｃ）上記ポリペプチドに結合した抗体の存在または量を決定し、それによって上記試料中のポリペプチドの存在または量を決定すること。

［００６６］ 試料中の本発明の核酸分子の存在または量を決定するための方法であって、以下のことを含む上記方法；

（ａ）試料を提供すること；

（ｂ）試料を上記核酸に結合するプローブと接触させること；および

（ｃ）上記核酸分子に結合したプローブの存在または量を決定し、それによって上記試料中の核酸分子の存在または量を決定すること。

［００６７］ 請求項１に記載のポリペプチドに結合する物質を確認するための方法であって、以下のことを含む上記方法；

（ａ）上記ポリペプチドを上記物質と接触させること；

（ｂ）上記物質が上記ポリペプチドに結合するかどうかを確認すること。

［００６８］ 請求項１に記載のポリペプチドの発現または活性を調節する物質を同定するための方法であって、以下のことを含む上記方法；

（ａ）作動により上記ポリペプチドを発現する細胞を提供すること；

（ｂ）細胞と上記物質を接触させること；および

（ｃ）該物質が上記ポリペプチドの発現または活性を調節するかどうかを確認すること；（（それによって上記ペプチドの発現または活性の変化が、上記物質が上記ポリペプチドの発現または活性を調節することを示す）。

［００６９］ 本発明のポリペプチドの活性を調節するための方法であって、該ポリペプチドを発現する細胞試料を、ポリペプチドの活性を調節するために十分な量の、ポリペプチドに結合する化合物に接触させることを含む上記方法。

［００７０］ 癌に関連した障害を処置または妨害する方法であって、そのような処置または妨害が所望される対象に、上記対象の上記の癌に関連した障害の処置または予防に十分な量の本発明のポリペプチドを投与することを含む上記方法。

［００７１］ 癌に関連した障害を処置または予防する方法であって、そのような処置または予防が所望される対象に、上記対象の上記の癌に関連した障害の処置または妨害に十分な量の本発明の抗体を投与することを含む上記方法。

［００７２］ 本発明のポリペプチドおよび少なくとも１種の薬剤的に受容できるキャリアを含む医薬組成物。

［００７３］ 本発明の医薬組成物を含むキット。

［００７４］　哺乳類細胞の癌状態と相互に関連して異なって発現される遺伝子を検出する方法であって、癌であることが疑われる細胞由来の試験試料において少なくとも１種の、特有に異なって発現される（differentially expressed）遺伝子産物を検出する工程を含む上記方法、ここで遺伝子産物はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２７；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３７；およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３の配列によってコードされ、異なって発現される産物の検出は試験試料が由来する細胞の癌状態と相互に関連する。

［００７５］　以下のことを含む、試料中の本発明の核酸分子の存在を検出するための方法：

（ａ）核酸分子に選択的にハイブリダイズする核酸プローブまたはプライマーと試料を接触させること；および

（ｂ）核酸プローブまたはプライマーが試料中の核酸分子に結合するかどうかを確認するし、それによって試料中の核酸分子の存在を検出すること。

［００７６］　以下のことを含む、試料中の本発明の核酸分子の存在を検出するための方法：

（ａ）核酸分子に選択的にハイブリダイズする核酸プローブまたはプライマーと試料を接触させること；および

（ｂ）核酸プローブまたはプライマーが試料中の核酸分子に結合するかどうかを確認し、それによって試料中の核酸分子の存在を検出すること。

［００７７］　以下のことを含む、試料中のＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０１１からなる群から選択される核酸分子の存在を検出するための方法：

（ａ）核酸分子に選択的にハイブリダイズする核酸プローブまたはプライマーと試料を接触させること；および

（ｂ）核酸プローブまたはプライマーが試料中の核酸分子に結合するかどうかを確認し、それによって試料中のＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０１１からなる群から選択される核酸分子の存在を検出すること。

［００７８］　以下のことを含む、試料中のＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９３からなる群から選択される核酸分子の存在を検出するための方法：

（ａ）核酸分子に選択的にハイブリダイズする核酸プローブまたはプライマーと試料を接触させること；および

（ｂ）核酸プローブまたはプライマーが試料中の核酸分子に結合するかどうかを確認し、それによって試料中のＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９３からなる群から選択される核酸分子の存在を検出すること。

［００７９］　以下のことを含む、試料中のＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９４～ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０１１からなる群から選択される核酸分子の存在を検出するための方法：

（ａ）核酸分子に選択的にハイブリダイズする核酸プローブまたはプライマー試料とを接触させること；および

（ｂ）核酸プローブまたはプライマーが試料中の核酸分子に結合するかどうかを確認し、それによって試料中のＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９４～ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０１１からなる群から選択される核酸分子の存在を検出すること。

［００８０］　患者における癌の進行をモニターするための方法であって、以下のことを含む上記方法：

（ａ）初めの時点で、患者の試料中におけるマーカーの発現を検出すること、ここで該マーカーは本発明の核酸分子である；
（ｂ）次の時点で、工程ａ）を反復すること；および
（ｃ）工程ａ）およびｂ）において検出された発現のレベルを比較し、そしてそこから癌の進行をモニターすること。
［００８１］　患者における癌の進行をモニターするための方法であって、以下のことを含む上記方法：
（ａ）初めの時点で、患者の試料中におけるマーカーの発現を検出すること、ここで該マーカーは本発明の核酸分子である；
（ｂ）次の時点で、工程ａ）を反復すること；および
（ｃ）工程ａ）およびｂ）において検出された発現のレベルを比較し、そしてそこから癌の進行をモニターすること。
［００８２］　患者における癌の進行をモニターするための方法であって、以下のことを含む上記方法：
（ａ）初めの時点で、患者の試料中におけるマーカーの発現を検出すること、ここで該マーカーはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０１１からなる群から選択される核酸分子である；
（ｂ）次の時点で、工程ａ）を反復すること；および
（ｃ）工程ａ）およびｂ）において検出された発現のレベルを比較し、そしてそこから癌の進行をモニターすること。
［００８３］　患者における癌の進行をモニターするための方法であって、以下のことを含む上記方法：
（ａ）初めの時点で、患者の試料中におけるマーカーの発現を検出すること、ここで該マーカーはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９３からなる群から選択される核酸分子である；
（ｂ）次の時点で、工程ａ）を反復すること；および
（ｃ）工程ａ）およびｂ）において検出された発現のレベルを比較し、そしてそこから癌の進行をモニターすること。
［００８４］　患者における癌の進行をモニターするための方法であって、以下のことを含む上記方法：
（ａ）初めの時点で、患者の試料中におけるマーカーの発現を検出すること、ここで該マーカーはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９４～ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０１１からなる群から選択される核酸分子である；
（ｂ）次の時点で、工程ａ）を反復すること；および
（ｃ）工程ａ）およびｂ）において検出された発現のレベルを比較し、そしてそこから癌の進行をモニターすること。
［００８５］　患者の癌を阻害する試験化合物の有効性を評価する方法であって、以下のことを比較することを含む上記方法：
（ａ）試験化合物に曝された患者から得られた第１の試料におけるマーカーの発現（ここでマーカーは本発明の核酸分子から選択される）、および
（ｂ）患者から得られた第２の試料におけるマーカーの発現（ここで試料は試験化合物に曝されず、第２の試料に比較して、第１の試料における著しく低いレベルのマーカーの発現は、試験化合物が患者の癌を阻害するために有効であることの目安となる）。
［００８６］　患者の癌を阻害する試験化合物の有効性を評価する方法であって、以下のことを比較することを含む上記方法：
（ａ）試験化合物に曝された患者から得られた第１の試料におけるマーカーの発現（ここでマーカーはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９３からなる群から選択される核酸分子から選択される）、および
（ｂ）患者から得られた第２の試料におけるマーカーの発現（ここで試料は試験化合物に曝されず、第２の試料に比較して、第１の試料における著しく低いレベルのマーカーの発

現は、試験化合物が患者の癌を阻害するために有効であることの目安となる）。
［００８７］　患者の癌を阻害する治療の有効性を評価する方法であって、以下のことを比較することを含む上記方法：
（ａ）患者に治療の少なくとも一部を施す前に患者から得られた第１の試料におけるマーカーの発現、ここでマーカーはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９４～ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０１１からなる群から選択される核酸分子配列である；および
（ｂ）治療のその一部を施した後に患者から得られた第２の試料におけるマーカーの発現、ここで第１の試料に比較して、第２の試料におけるマーカーの著しく低いレベルの発現は、試験化合物が患者の癌を阻害するために有効であることの目安となる。
［００８８］　患者における癌を阻害するための組成物を選択する方法であって、以下のことを含む上記方法：
（ａ）患者から癌細胞を含む試料を得ること；
（ｂ）複数の試験組成物の存在下において、試料のアリコートを別々に曝露すること；
（ｃ）アリコートのそれぞれにおいて、本発明の核酸であるマーカーの発現を比較すること；および
（ｄ）別の試験組成物と比較して、試験組成物を含むアリコート中のマーカーの発現レベルを変化させるような試験組成物の１つを選択すること。
［００８９］　患者における癌を阻害するための組成物を選択する方法であって、以下のことを含む上記方法：
（ａ）患者から癌細胞を含む試料を得ること；
（ｂ）複数の試験組成物の存在下において、試料のアリコートを別々に曝露すること；
（ｃ）アリコートのそれぞれにおいて、本発明の核酸であるマーカーの発現を比較すること；および
（ｄ）別の試験組成物と比較して、試験組成物を含むアリコート中のマーカーの発現レベルを変化させるような試験組成物の１つを選択すること。
［００９０］　患者における癌を阻害するための組成物を選択する方法であって、以下のことを含む上記方法：
（ａ）患者から癌細胞を含む試料を得ること；
（ｂ）複数の試験組成物の存在下において、試料のアリコートを別々に曝露すること；
（ｃ）アリコートのそれぞれにおいて、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～１９９３からなる群から選択される核酸配列であるマーカーの発現を比較すること；および
（ｄ）別の試験組成物と比較して、試験組成物を含むアリコート中のマーカーの発現レベルを変化させるような試験組成物の１つを選択すること。
［００９１］　患者における癌を阻害するための組成物を選択する方法であって、以下のことを含む上記方法：
（ａ）患者から癌細胞を含む試料を得ること；
（ｂ）複数の試験組成物の存在下において、試料のアリコートを別々に曝露すること；
（ｃ）アリコートのそれぞれにおいて、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９４～３０１１からなる群から選択される核酸配列であるマーカーの発現を比較すること；および
（ｄ）別の試験組成物と比較して、試験組成物を含むアリコート中のマーカーの発現レベルを変化させるような試験組成物の１つを選択すること。
［００９２］　本発明のポリペプチドをコードする、本発明の核酸分子を標的とした長さ８～３０塩基のアンチセンス化合物（ここで、上記アンチセンス化合物はポリペプチドに特異的にハイブリダイズし、その発現を阻害する）。
［００９３］　原発結腸癌について転写プロファイル解析を行った。ｍＲＮＡを結腸腫瘍から単離し、そしてｍＲＮＡを正常結腸から単離した。、３０％以上の腫瘍において、且つ２倍以上異なって発現された転写物を、さらにシグナルＰ解析および膜貫通隠れマルコフモデル（Ｔｒａｎｓ　Ｍｅｍｂｒａｎｅ　Ｈｉｄｄｅｎ　Ｍａｒｋｏｖ　Ｍｏｄｅｌｓ）（ＴＭＨＭＭ）により解析し、それらが膜に結合しているか、または分泌されるかを確認した。膜に結合していることが確認された転写物はさらに、別の結腸および乳房腫瘍の

セットについて、対応する正常組織に比較して、Ｓｙｂｒｇｒｅｅｎ（リアルタイムＰＣＲ）解析により確認した。

［００９４］　異なって発現されたこれらの配列を使用して、結腸、肺、乳房、および前立腺腫瘍を含む癌腫の処置のための新規小分子および抗体治療薬を開発することができる。これらの配列のすべては癌腫の潜在的なバイオマーカーおよび有効性マーカーを提供する。当該配列を抗体試薬、全長クローンを作製するために使用してもよく、そしてｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏアッセイにおいて機能を確認するために評価してもよい。

［００９５］　本発明は、ヒト結腸腫瘍細胞においてダウンレギュレーションされる、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９４～３０１１の核酸配列を開示する。

［００９６］　本発明は、ヒト結腸腫瘍細胞においてアップレギュレーションされる、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１～１１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３～１８、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～１９９３、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３の核酸配列を開示する。

［００９７］　本発明は３１の転写物、およびヒト結腸腫瘍細胞においてアップレギュレーションされる、それらにコードされた蛋白質を開示する。これらの異なって発現された遺伝子の概要を表１に示す。

【０００６】

【表１Ａ】

表　1

転写物名称	遺伝子名	ＧｅｎＢａｎｋ受託番号	遺伝子配列	蛋白質配列
ＰＣＴＵＣ＿５	（ｐ－カドヘリン）	ＮＭ　００１７９３	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９
ＰＣＴＵＣ＿９３	（オピエート結合細胞接着分子）	ＮＭ　００２５４５	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４６
ＰＣＴＵＣ＿１９０	（有機アニオントランスポーターポリペプチド関連蛋白質　１，ＯＡＴＰＲＰ１）	ＮＭ０１６３５４	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５７
ＰＣＴＵＣ＿２３９	（癌胎児性抗原関連細胞接着分子　５）（ＣＥＡＣＡＭ５）	ＮＭ　００４３６３	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２７	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６５
ＰＣＴＵＣ＿２４６	（ＲＯＮキナーゼ）	ＮＭ　００２４４７	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４０
ＰＣＴＵＣ＿２５０	Ｇ－蛋白質共役受容体（ＧＰＲ５６）	ＮＭ　００５６８２	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４１
ＰＣＴＵＣ＿３６０	（ＳＴＥＡＰ１）	ＮＭ　０１２４４９	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５３
ＰＣＴＵＣ＿４６２	（ブメタニド感受性Ｎａ－Ｋ－Ｃｌ共輸送体，ＮＫＣＣ１）	ＮＭ　００１０４６	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５８
ＰＣＴＵＣ＿４６８	（ニューロリギン＿１，ＮＬＧＮ１）	ＮＭ　０１４９３２	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４８

【０００７】
【表１Ｂ】

転写物名称	遺伝子名	ＧｅｎＢａｎｋ受託番号	遺伝子配列	蛋白質配列
ＰＣＴＵＣ＿５３６	（ＣＯＬＮＯＶ１）	ＮＭ　０３３４０８	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：３１１３	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：３１１４
ＰＣＴＵＣ＿５８２	（ＣＥＡＣＡＭ８）	ＮＭ　００１８１６	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：２６	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：６４
ＰＣＴＵＣ＿６０５	（エピカン、ＣＤ４４）	ＮＭ　０００６１０	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：３３	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：７１
ＰＣＴＵＣ＿６２９	（モノカルボキシレートトランスポーター）（ＭＣＴ３）	ＮＭ　００４２０７	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：２９	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：６７
ＰＣＴＵＣ＿７２２	（インテグリンベータ（４）サブユニット）	ＮＭ　０００２１３	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：２３	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：６１
ＰＣＴＵＣ＿７４８	（Ｔ２４５蛋白質、Ｔ２４５）	ＮＭ　００３２７０	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：２５	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：６３
ＰＣＴＵＣ＿７８４	（膜補因子蛋白質、ＣＤ４６，ＭＣＰ）	ＮＭ　００２３８９	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：３４	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：７２
ＰＣＴＵＣ＿８１２	（プロトカドヘリン－９）（ＰＣＤＨ９）	ＮＭ　０２０４０３	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：２８	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：６６
ＰＣＴＵＣ＿８５６	（神経外モノアミントランスポーター）	ＮＭ　０２１９７７	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：１１	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：４９
ＰＣＴＵＣ＿８９８	（ＫＩＡＡ０７９２）	ＮＭ　０１４６９８	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：５	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：４３
ＰＣＴＵＣ＿９３５	（電位開閉カリウムチャンネル、ＫＣＮＱ１）	ＮＭ　０００２１８	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：３２	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：７０
ＰＣＴＵＣ＿９３６	（ＦＧＦＲ３）	ＮＭ　０００１４２	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：４	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：４２
ＰＣＴＵＣ＿９８６	（老化関連上皮膜蛋白質、ＳＥＭＰ１）	ＮＭ　０２１１０１	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：９	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：４７
ＰＣＴＵＣ＿９９１	（骨芽細胞特異的因子２、ＯＳＦ－２ｏｓ）	ＮＭ　００６４７５	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：３７	ＳＥＱ　ＩＤ ＮＯ：７５

【０００８】

【表１Ｃ】

転写物名称	遺伝子名	ＧｅｎＢａｎｋ受託番号	遺伝子配列	蛋白質配列
ＰＣＴＵＣ＿９９２	（ＮＲＡＭＰ２）	ＮＭ　０００６１７	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２２	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６０
ＰＣＴＵＣ＿１０５４	（多形上皮ムチン）（ＰＥＭ）	ＮＭ　００２４５６	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２１	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５９
ＰＣＴＵＣ＿１０６１	（ＫＩＡＡ０７７９）	ＡＢ０１８３２２	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５５
ＰＣＴＵＣ＿１０７３	（補体崩壊促進因子、ＣＤ５５、ＤＡＦ）	ＮＭ　０００５７４	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５６
ＰＣＴＵＣ＿１０７５	（溶質キャリアファミリー６メンバー６，神経伝達物質トランスポーター、タウリン）	ＮＭ　００３０４３	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３５	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７３
ＰＣＴＵＣ＿１０７８	（オステオポンチン）	ＮＭ　０００５８２	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６８
ＰＣＴＵＣ＿１０８２	（クラウジン２）	ＮＭ　０２０３８４	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５４
ＰＣＴＵＣ＿１１２２	（ヘパトーマ膜貫通キナーゼリガンド、ＨＴＫリガンド）	ＮＭ　００４０９３	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２４	ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６２

【０００９】

［００９８］　以下の遺伝子の説明は、先に記載の手順により本発明において見出された遺伝子型を代表するものとして示される。現在いくつかの遺伝子が結腸癌に関連していることが公知であるため、この方法による、たとえばＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１８、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２１、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２３、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２４、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２７、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０の遺伝子の同定は研究方法の確認に役立つ。

【００１０】

ヒト結腸腫瘍において見出された、代表的な過剰発現された遺伝子の説明

オピエート（オピオイド）結合－細胞接着分子（ＯＢＣＡＭ）

［００９９］　Ｃｈｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　８０：５１７６－８０，（１９８３）により初めて同定されたＯＢＣＡＭは、別の細胞接着分子に類似すると見なされ、Ｓｃｈｏｆｉｅｌｄ　ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｊ　Ｆｅｂ　８（２）：４８９－９５，（１９８９）によりＯＢＣＡＭと命名された。該遺伝子は、クローニングされ、Ｓｈａｒｋ　ａｎｄ　Ｌｅｅ，Ｇｅｎｅ　１５５：２１３－１７，（１９９５）によりヒト脳から配列決定された。それは神経特異的蛋白質であることが示され、細胞接着・認識分子として役割を果たすと推定されるが、その機能は十分に解明されていない。間接的証拠は、オピオイド機能におけるこの蛋白質の役割を示唆する。研究は脳におけるＯＢＣＡＭの機能が軸索成長に関与する可能性があることを示唆している。

【００１１】

ＳＥＭＰ１（クラウジン１；ＣＬＤＮ１：老化－関連上皮膜蛋白質１）

［０１００］　Ｓｗｉｓｓｈｅｌｍ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｅ　２２６：２８５－９５，（１９９９）は、ヒト乳房上皮細胞からＳＥＭＰ１をコードするｃＤＮＡを単離した。ｍＲＮＡは成人および胎児肝臓、膵臓、胎盤、副腎、前立腺および卵巣を含むヒト組織において発現されるが、いくつかの乳癌細胞株においては低いか、または検出できないレベルで発現されることが示された。それは上皮膜蛋白質（ＥＭＰ）スーパーファミリーのメンバーであり、おそらくタイトジャンクションを含む機序を介した細胞極性および透過性の維持および調節を含む、複数の潜在的機能を有している可能性がある（同書）。正常なヒト乳房上皮細胞におけるＳＥＭＰ１の発現はＦｕｒｕｓｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ　１４１：１５３９－５０，（１９９８）により初めて確認され、いくつかの乳房腫瘍および乳癌細胞株においては低いかまたは検出できないレベルで発現されることとは対照的であり、この蛋白質が腫瘍‐抑制遺伝子の候補であることを示唆してよい（Ｋｒａｍｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｕｍ　Ｇｅｎｅｔ　１０７：２４９－５６，（２０００）。ヒト多形神経膠芽腫の血管では、この蛋白質の発現およびタイトジャンクションの形態が変化していた（Ｌｉｅｂｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｃｔａ　Ｎｅｕｒｏｐａｔｈｏｌ　１００（３）：３２３－３１，（２０００））。

【００１２】

ニューロリギン１（ＮＬＧＮ１）

［００１０１］　ＮＬＧＮ１は神経細胞表面蛋白質として初めに同定され、Ｉｃｈｔｃｈｅｎｋｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　８１：４３５－４３，（１９９５）によりベータ‐ニューレキシンのスプライス部位‐特異的リガンドと見なされた。ニューロリギン１は、ベータ‐ニューレキシンが代わりにスプライシングされたＧドメインの配列に挿入物を欠如する場合だけそれらに結合し、それらが挿入物を含む場合は結合しない。発見は、代わりのニューレキシンスプライシングが細胞表面受容体ファミリーを生み出すモデルを支持し、そのような細胞表面受容体はそれらのレジデントニューロンに相互作用特異性を与える（同書）。さらに、これらの蛋白質はＣＮＳシナプスの形成およびリモデリング中に使用される構造の一部であることが示唆された（Ｓｃｈｅｉｆｆｅｌｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　１０１：６５７－６９，（２０００））。Ｋｉｋｕｎｏ　ｅｔ　ａｌ．，ＤＮＡ　Ｒｅｓ　６：１９７－２０５，（１９９９）によりクローニングされたニューロリギン１発現は脱調節された遺伝子発現を反映してよい。癌腫がＡｒｉａｚｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ　２７１：２９２８６－９４，（１９９６）による研究において退縮したように、ニューロリギン１発現は抑制されるか、または停止し、そのことは大部分の正常組織において調節された遺伝子発現と一致する。

【００１３】

神経外モノアミントランスポーター（ＥＭＴ）

［００１０２］　肝臓、腎臓、および腸における多特異的有機カチオントランスポーター、ＥＭＴは多くの内因性アミンならびに多数の薬物および環境毒の除去に欠くことができない。この遺伝子はＧｒｕｎｄｅｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ　Ｎｅｕｒｏｓｃｉ　１：３４９－５１，（１９９８）により、ヒト腎臓癌腫細胞株からクローニングされた。ノーザンブロット解析は、妊娠初期および満期胎盤、骨格筋、前立腺、大動脈、肝臓、胎児肺、唾液腺、および副腎における高レベルの遺伝子転写物発現を検出した。子宮、卵巣、腎臓、リンパ節、肺、器官、および胎児肝臓では、中等度～低レベルの発現が観察された（Ｖｅｒｈａａｇｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｏｍｉｃｓ　５５：２０９－１８，（１９９９））。Ｗｕ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ　２７３：３２７７６－８６，（１９９８）は、この蛋白質が脳におけるカチオン性神経毒および神経伝達物質の分布に重要な役割を果たすことを示唆した。Ｓｔｒｅｉｃｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｕｎｙｎ　Ｓｃｈｍｉｅｄｅｂｅｒｇｓ　Ａｒｃｈ　Ｐｈａｒｍａｃｏｌ　３５３（３）：３２８－３３，（１９９６）は、神経外モノアミントランスポーター（ｕｐｔａｋｅ２）を初めて報告した。Ｓｔｒｅｉｃｈ　ｅｔ　ａｌ．はヒトグリオーマ細胞がこのトランスポーターを発現することを報告し、したがってこのトランスポーターを発現するヒトＣＮＳグリオーマ細胞は、神経から放出されたノルアドレナリンの不活性化に関与すると

考えられる。

【００１４】

ＣＯＬＮＯＶ１（ホモサピエンス仮想蛋白質ＭＢＣ３２０５）

［００１０３］ ＣＯＬＮＯＶ１はＮａｔｉｏｎａｌ Ｃａｎｃｅｒ ＩｎｓｔｉｔｕｔｅによりＴｈｅ Ｃａｎｃｅｒ Ｇｅｎｏｍｅ Ａｎａｔｏｍｙ Ｐｒｏｊｅｃｔ Ｄａｔａｂａｓｅ中に同定された。Ｒｏｂｅｒｔ Ｌ． Ｓｔｒａｕｓｂｅｒｇはそれをクローニングし、２００１年９月に引用文献なしに、ＧｅｎＢａｎｋに提出した。その機能はまだ、明らかにされていない。

【００１５】

ＳＴＥＡＰ１

［００１０４］ ＳＴＥＡＰ１は前立腺の６回膜貫通上皮抗原である。該遺伝子は主にヒト前立腺組織に発現され、前立腺、膀胱、結腸、卵巣、およびユーイング肉腫を含む、多数の癌細胞株においてアップレギュレーションされる（Ｈｕｂｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ９６：１４５２３－２８，（１９９９）。研究の結果は、ＳＴＥＡＰが前立腺癌治療および画像診断のための細胞表面腫瘍抗原標的であることを支持する（同書）。該蛋白質の構造はチャンネルまたはトランスポーター蛋白質としての潜在的機能を示唆する。ＳＴＥＡＰ１はＨｕｂｅｒｔ ｅｔ ａｌ（１９９９）により初めて報告され、クローニングされた。

【００１６】

クラウジン２

［００１０５］ クラウジン２は、Ｆｕｒｕｓｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ １４１：１５３９－５０，（１９９８）によりニワトリ肝臓から初めて同定された。それはタイトジャンクションに局在する膜内在性蛋白質である。研究はクラウジンが免疫メディエーターに反応して、腸障壁を調節すると結論している（Ｋｉｎｕｇａｓａ ｅｔ ａｌ．，Ｇａｓｔｒｏｅｎｔｅｒｏｌｏｇｙ １１８（６）：１００１－１１，（２０００）。明らかではないが、この蛋白質およびその他のタイトジャンクション蛋白質は脳腫瘍水腫の分子機序において役割を果たすことができると推測されている（Ｐａｐａｄｏｐｏｕｌｏｓ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ Ｊ Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ １５（２）：１０１－８，（２００１））。Ｆｕｒｏｓｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ １５３（２）：２６３－２７２，（２００１）はイヌにおいて相当する蛋白質をクローニングした。

【００１７】

ＫＩＡＡ０７７９

［００１０６］ ＫＩＡＡ０７７９はＮａｇａｓｅ ｅｔ ａｌ．，ＤＮＡ Ｒｅｓ ５（５）：２７７－８６，（１９９８）．により初めて同定され、ヒト脳からクローニングされた。それは細胞シグナリング／コミュニケーション、細胞構造／運動性および核酸操作に機能的に関与してもよい（同書）。

【００１８】

補体の崩壊促進因子（ＣＤ５５、ＤＡＦ）

［００１０７］ ＣＤ５５は自己補体蛋白質による攻撃を避けるために宿主組織を助ける７０ｋＤの糖蛋白質である。ＤＡＦは活性化の初期段階で補体配列を中断し、カスケードの進行を効果的に停止し、結果として起こる細胞傷害を妨げる。ＤＡＦは、血漿補体蛋白質と密接に接触するすべての細胞型の細胞膜に発現される（Ｋｏｒｅｔｚ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ ６６：８１０－８１４，（１９９２）。Ｍｅｄｏｆ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ８４：２００７－１１，（１９８７）によりクローニングされ、性状解析されたＤＡＦはさらに、シグナル伝達分子として作用することができる。ＤＡＦに対するモノクローナル抗体は、ｉｎ ｖｉｔｒｏでヒト単球を活性化することができる（Ｓｈｉｂｕｙａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １４９：１７５８－６２，（１９９２））。Ｈｅｎｓｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｉｎｖｅｓｔｉｇａｔｉｏｎ ８１：１５５３－６３，（２００１）は、胃の印環細胞癌患者からｉｎ ｖｉｔｒｏで胃癌細胞のアポトーシスを誘導したヒト抗体ＳＣ

－１を単離し、それは臨床試験において首尾よく使用されている（Ｖｏｌｌｍｅｒｓ，ｅｔ ａｌ．，Ｏｎｃｏｌ Ｒｅｐ ５：５４９－５２，（１９８８））。抗体の標的は改変されたＤＡＦ蛋白質であることが見出された（Ｈｅｎｓｅｌ，ｅｔ ａｌ，（２００１））。ＤＡＦは乳房、結腸、および胃癌腫のような各種腫瘍において過剰発現される（Ｋｏｒｅｔｚ ｅｔ ａｌ．，（１９９２））。Ｎｏｗｉｃｋｉ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｒｅｐｒｏｄ Ｉｍｍｕｎｏｌ ４６（２）：１４４－８，（２００１）は、子宮内膜腺癌におけるＤＡＦの発現は腫瘍段階と逆に関連すると報告している。このことは、補体攻撃に曝された初期段階の子宮内膜腺癌が、ＤＡＦをアップレギュレートし、補体による崩壊から悪性細胞を保護する可能性があるという仮説と一致する。

【００１９】

ＯＡＴＰＲＰ１

［００１０８］ ＯＡＴＰＲＰ１はＷｕ ｅｔ ａｌ．により１９９９年１１月１６日にＧｅｎＢａｎｋに付託された。

【００２０】

ＮＫＣＣ１ （溶質キャリアファミリー１２、メンバー２；ＳＬＣ１２Ａ２）

［００１０９］ Ｎａ－Ｋ－Ｃｌ共輸送体、ＮＫＣＣ１は分泌および吸収上皮の両方を貫通する塩化物の細胞貫通運動を促進する。報告によると、それは、能動的な塩化物分泌を促進する分泌上皮の基底外側膜を含む多くの組織で発現される。（Ｑｕａｇｇｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍａｍｍ Ｇｅｎｏｍｅ ６（８）：５５７－８，（１９９５））。とりわけ、この蛋白質はＸｕ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ９１：２２０１－０５，（１９９４）により初めて発見されたブメタニド‐感受性Ｎａ－Ｋ－Ｃｌ共輸送体である。Ｐａｙｎｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２７０：１７９７７－８５，（１９９５）はＮＫＣＣ１遺伝子のクローニングおよび性状解析を行い、それが正常細胞増殖の制御に関与するが、その過剰発現はある種の原癌遺伝子と同様の様式で、明白に細胞を形質転換すると提案した（Ｐａｎｅｔ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｃｅｌｌ Ｐｈｙｓ １８２：１０９－１８，（２０００）。

【００２１】

ＰＥＭ （多形上皮ムチン；ムチン１、ＭＵＣ１；ピーナッツ反応性尿ムチン；ＰＵＭムチン；腫瘍‐関連上皮ＰＥＭ）

［００１１０］ ＰＥＭは多くの腺および管上皮細胞ならびにある種の造血細胞系譜により発現される大きな細胞表面ムチン糖蛋白質である。それは高度にＯ‐グリコシル化された直列反復ドメインを有し、グリコシル化の変化が上皮癌細胞において示されている。ＰＥＭは、ＳＤＳポリアクリルアミドゲル電気泳動とその後の放射標識レクチンによる検出により、ヒト尿ムチンから同定された多形として、Ｋａｒｌｓｓｏｎ ｅｔ ａｌ．，（Ａｎｎ Ｈｕｍ Ｇｅｎｅｔ ４７：２６３－９，（１９８３））により初めて同定された。ピーナッツ凝集素は最も効果的なレクチンである；そのため提案された名称の１つになった。それは乳腺を含む、上皮起源のその他の正常および悪性組織において発現される。この蛋白質は、発達に伴って調節され、乳癌において異常に発現される（Ｇｅｎｄｌｅｒ ｅｔ ａｌ，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２６５：１５２８６－９３，（１９９０））．小さいＰＥＭ対立遺伝子／遺伝子型を持つ個体は胃癌発生のリスクが大きい（Ｓｉｌｖａ，ｅｔ ａｌ．，Ｅｕｒ Ｊ Ｈｕｍ Ｇｅｎｅｔ ９（７）：５４８－５２，（２００１））。ＰＥＭは転位によりＢ－細胞リンパ腫において活性化され、Ｂ－細胞リンパ腫サブセットにおいて再配置され、増幅される（Ｄｙｏｍｉｎ，ｅｔ ａｌ．，Ｂｌｏｏｄ ９５：２６６６－７１，（２０００）。ＰＥＭはＧｅｎｄｌｅｒ，ｅｔ ａｌ．，（１９９０）によりクローニングされ、性状解析された。

【００２２】

ＮＲＡＭＰ２（天然の耐性‐関連マクロファージ蛋白質２；２価カチオントランスポーター１；ＤＣＴ１；２価金属トランスポーター１；ＤＭＴ１；溶質キャリアファミリー１１（プロトン‐共役２価金属イオントランスポーター）、メンバー２；ＳＬＣ１１Ａ２

［００１１１］ ＮＲＡＭＰはＧｒｕｅｎｈｅｉｄ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｏｍｉｃｓ

２５：５１４－２５，（１９９５）によりマウスゲノムから初めて同定された。ヒトＮＲＡＭＰ２は、Ｖｉｄａｌ ｅｔ ａｌ．，Ｍａｍｍａｌｉａｎ Ｇｅｎｏｍｅ ６：２２４－３０，（１９９５）により単離され、性状解析された。その機能は、プロトンに共役し、細胞膜電位に依存する能動輸送の媒介である。それは食餌鉄欠乏によりアップレギュレートされ、腸鉄吸収の重要なメディエーターであってもよい（Ｇｕｎｓｈｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３８８：４８２－８８，（１９９７）；Ｔａｎｄｙ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２７５（２）：１０２３－２９，（２０００））。

【００２３】

インテグリン、ベーター４（ＩＴＧＢ４）

［００１１２］ インテグリンベータ４はＳｕｚｕｋｉ，ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ ９（３）：７５７－６３，（１９９０）により初めて同定され、性状解析され、クローニングされた。インテグリンは膜貫通糖蛋白質受容体であり、細胞‐マトリクスまたは細胞‐細胞接着を媒介し、遺伝子発現および細胞増殖を調節するシグナルを伝達する（Ｖｉｄａｌ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ Ｇｅｎｅｔ １０：２２９－３４，（１９９５））。インテグリンはヘテロダイマー分子で、非共有結合的に結合したアルファおよびベータサブユニットからなる。アルファ－６／ベーター４は基底膜領域に向かい合った腹側表面に限定され、細胞マトリクス接着におけるその役割を示唆する。この可能性と一致して、層化および移行上皮において、ヘミデスモソームと関連することが見出されている（同書）。インテグリンベータ‐４サブユニットの細胞質ドメインは、ヘミデスモソーム細胞骨格およびシグナリングアダプター蛋白質ＳＨＣの動員との関連を共に媒介する。このインテグリンはラミニンの受容体であり、浸潤性癌腫において役割を果たすと考えられる。Ｓｈａｗ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ ９１：９４９－６０，（１９９７）は、ＭＤＡ－ＭＢ－４３５乳癌細胞株において、アルファ－６／ベーター４インテグリンがホスホイノシチド‐３ＯＨキナーゼ（Ｐ１３Ｋ）活性の選択的な、局在したターゲッティングを介して癌腫浸潤を促進することを証明した。アルファ－６／ベーター４インテグリンの発現は、マウス上皮ケラチン細胞が悪性変換する間に増大することが示されている、（Ｇｏｍｅｚ ｅｔ ａｌ．，Ｅｘｐ Ｃｅｌｌ Ｒｅｓ ２０１：２５０－６１，（１９９２））。

【００２４】

ＨＴＫリガンド（ヘパトーマ膜貫通キナーゼリガンド；ＥＰＨ‐関連受容体チロシンキナーゼリガンド５；ＥＰＬＧ５；ＥＰＨ‐関連キナーゼ５のリガンド；ＬＥＲＫ５；ＨＴＫＬ；ＥＰＨＲＩＮ Ｂ２；ＥＦＮＢ２）

［００１１３］ ＥＰＨＲＩＮ Ｂ２はＣａｒｐｅｎｔｅｒ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｎｅｕｒｏｓｃｉ Ｒｅｓ ４２（２）：１９９－２０６，（１９９５）により初めて報告され、Ｂｅｎｎｅｔｔ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ９２（６）：１８６６－７０，（１９９５）により造血単球系譜からクローニングされた。Ｓａｋａｎｏ，ｅｔ ａｌ．，Ｏｎｃｏｇｅｎｅ １３（４）：８１３－２２，（１９９６）による研究は、造血環境におけるＨＴＫ＋造血前駆細胞の増殖におけるＨＴＫ‐ＨＴＫＬ系の関与を示唆する。Ｂｅｎｎｅｔｔ ｅｔ ａｌ．，（１９９５）によると、このリガンドおよびその受容体は多様な組織に広範に発現し、機能することができる。報告によると、ＨＴＫリガンドは、成体肺および腎臓、ならびに胎児心臓、肺、腎臓および脳において発現される、（Ｃｅｒｒｅｔｔｉ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎ ３２：１１９７－１２０５，（１９９５））。大部分のそのファミリーメンバーとは異なり、リガンドの受容体はＣＮＳでは発現されないと考えられる。しかし、他のメンバーと同様に、それは初期上皮および上皮細胞由来系統において発現される（Ｂｅｎｎｅｔｔ ｅｔ ａｌ．，（１９９５））。ＨＴＫ－ＨＴＫＬ相互作用はシナプス形成または成熟の開始における初期段階を表し、細胞外環境からの活性‐依存的シグナルに反応する受容体の能力を増強することができる（Ｔａｋａｓｕ，ｅｔ ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２９５：４９１－９５，（２００２））。ＨＴＫリガンド転写物はいくつかの小肺細胞癌細胞株において高度に発現され、オートクリンおよび／またはジャクスタクリン（ｊｕｘｔａｃｒｉｎｅ）活性化を

介して、これらの細胞の生物学的挙動を調節できることが報告されている（Ｔａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍ Ｍｏｌ Ｇｅｎｅｔ ４：２０３３－４５，（１９９５））。ヒトメラノーマにおいて、増大したＨＴＫＬ発現はおそらく、増殖、造腫瘍性、および転位能の可能性増大を反映するか、誘導する。ＨＴＫ－ＨＴＫＬ系は、新規治療の分子マーカーおよび標的の潜在的な新規供与源であってもよい、（Ｖｏｇｔ， ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ４（３）：７９１－７，（１９９８））。Ｌｉｕ ｅｔ ａｌ．， Ｃａｎｃｅｒ ９４（４）：９３４－９，（２００２）による研究は、該リガンドが結腸癌および正常粘膜試料において異なって発現され、したがって結腸癌の進行に役割を果たせることを証明する。

【００２５】

Ｔ２４５蛋白質（Ｔ２４５；ＴＭ４ＳＦ６；膜貫通４スーパーファミリーメンバー６）

［００１１４］ いくつかのＴＭ４ＳＦ蛋白質は細胞増殖を刺激するか、調節することが示されている、（Ｂｅｌｌ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ １７５：５２７－５３６，（１９９２）；Ｈｉｇａｓｈｉｙａｍａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ １２８：９２９－９３８，（１９９５）；Ｌｅｂｅｌ－Ｂｉｎａｙ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｉｍｍｕｎｏｌ １５５：１０１－１１０，（１９９５）；Ｍａｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，ＦＡＳＥＢ Ｊ １１：４２８－４４２，（１９９７））。いくつかはインテグリンと関連し、細胞接着および運動を制御してもよい（Ｈａｄｊｉａｒｇｙｒｏｕ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ ６７：２５０５－２５１３，（１９９６）；Ｈｅｍｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ａｃｔａ １２８７：６７－７１，（１９９６）；Ｍａｅｃｋｅｒ ｅｔ ａｌ．，（１９９７））。Ｍａｅｄａ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ５２：２４０－２４２，（１９９８）はＴＭ４ＳＦをヒトグリオーマから同定し、クローニングし、そして性状解析した。組織の中でも、肝臓、膵臓、腎臓、および卵巣では高レベル発現が見られ、骨格筋、肺、および脳では低レベル発現が観察された、（Ｍａｅｄａ ｅｔ ａｌ．，（１９９８）。

【００２６】

癌胎児抗原－関連細胞接着分子５（ＣＥＡＣＡＭ５）

［００１１５］ ＣＥＡＣＡＭ５は６０％糖質からなる複合免疫反応性糖蛋白質として、Ｇｏｌｄ ａｎｄ Ｆｒｅｅｄｍａｎ，Ｊ Ｅｘｐ Ｍｅｄ １２１：４３９－６２，（１９６５）により初めて記載された。内胚葉由来消化器上皮の腺癌および胎児結腸に見出される。ＣＥＡイムノアッセイは、とりわけ結腸癌において、再発疾患または治療への反応に関する癌患者の診断および連続モニタリングに有用である。ＣＥＡＣＡＭ５はＺｉｍｍｅｒｍａｎｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ８４：２９６０－６４，（１９８７）により単離され、性状解析された。ＣＥＡ遺伝子は、ＣＥＡＣＡＭ５と改名された、（Ｂｅａｕｃｈｅｍｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｅｘｐ Ｃｅｌｌ Ｒｅｓ ２５２：２４３－４９，（１９９９））。

【００２７】

プロトカドヘリン－９（ＰＣＤＨ９）

［００１１６］ プロトカドヘリン－９はカドヘリンスーパーファミリーのメンバーである。プロトカドヘリンはカルシウム－依存的細胞接着および認識蛋白質のサブファミリーである。ＰＣＤＨ９はヒト胎児脳ライブラリーからＳｔｒｅｈｌ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ５３：８１－８９，（１９９８）により初めて単離され、同定された。それはＰＣＤＨ１およびＰＣＤＨ７に密接に関連する。他のプロトカドヘリンのように、ＰＣＤＨ９は胎児および成体脳に顕著に発現される。それらは、発達に伴って調節される発現パターンを有し、そのことはこの蛋白質が種々の形態形成の側面を指示することを示唆する、（Ｓｔｒｅｈｌ ｅｔ ａｌ．，（１９９８））。

【００２８】

モノカルボキシレートトランスポーター（ＭＣＴ３）

［００１１７］ プロトン－結合モノカルボキシレートトランスポーターファミリーの機能は細胞膜を横切る物質の輸送である。たとえば、乳酸およびピルベートはこのファミリ

ーのメンバーにより輸送される。それぞれのファミリーメンバーはわずかに異なる物質および阻害剤特異性ならびに輸送速度論を有すると考えられ、そのことはそれらが見出される組織の代謝要求性に関連する。ＭＣＴ３はＰｒｉｃｅ ｅｔ ａｌ，Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｊ ３２９：３２１－２８，（１９９８）により同定され、クローニングされ、そして性状解析された。ＭＣＴ３は筋肉繊維において大部分が発現されるＭＣＴイソ型であると考えられ、そこではエネルギー代謝は主に解糖である。それは骨格筋および他の細胞からの乳酸エフラックスの主要経路である、（Ｗｉｌｓｏｎ，ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２７３：１５９２０－２６，（１９９８））。ＭＣＴ３はまた、網膜色素上皮に見出され、そこではそれは２種の組織コンパートメント、光受容体間マトリクスおよび脈絡毛細管板間で乳酸を輸送する、（Ｙｏｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｂｉｏｐｈｙｓ Ｒｅｓ Ｃｏｍｍ ２３４：９０－９４，（１９９７

【００２９】

オステオポンチン（分泌燐蛋白質１；ＳＰＰ１；ＯＰＮ；骨シアロ蛋白質；尿石蛋白質）

［００１１８］ オステオポンチンは骨の主要な燐酸化糖蛋白質であり、象牙質を含む限られた数の別の組織において発現される、（Ｃｒｏｓｂｙ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｏｍｉｃｓ ２７：１５５－１６０，（１９９５））。オステオポンチンはカルシトロールによる刺激下で骨芽細胞により産生され、ヒドロキシアパタイトにしっかり結合する。骨マトリクスの無機質への破骨細胞の係留に関与することが示されている、（Ｒｅｉｎｈｏｌｔ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ８７：４４７３－７５，（１９９０））。尿カルシウムオキザレート石もこの蛋白質からなる、（Ｋｏｈｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２６８：１５１８０－８４，（１９９３））。オステオポンチンはヒト皮膚および大動脈の正常弾性繊維の構成要素である。それは無機化組織における結晶核形成および増殖において、より一般的には、無機質の析出が制御されるべき条件において役割を果たすことが示唆されている、（Ｂａｃｃａｒｉｎｉ－Ｃｏｎｔｒｉ ｅｔ ａｌ．，Ｍａｔｒｉｘ Ｂｉｏｌ １４：５５３－５６０，（１９９４））。この蛋白質は乳房、結腸、前立腺、および肺の癌を含むがそれらに限定されない、いくつかの病変に関与している。オステオポンチンは悪性度を促進すること、およびこの蛋白質により直接誘導されるシグナリング経路と成長因子受容体経路との相互作用が結合して、転移に関与する遺伝子の発現および機能を活性化できることの証拠がある、（Ｆｕｒｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒ Ｍｏｌ Ｍｅｄ １（５）：６２１－３２，（２００１））。最近の臨床的証拠も、癌患者血液および血漿中のオステオポンチンレベルが予後情報の提供に役立ってよいことを示唆する。この蛋白質の最も早い報告はＯｌｄｂｅｒｇ，ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ８３（２３）：８８１９－２３（１９８６）によるもので、その中で著者らはラットからオステオポンチンをクローニングし、配列決定した。ヒト遺伝子はＫｉｅｆｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ １７：３３０６，（１９８９）によりクローニングされ、配列決定された。

【００３０】

電位‐開閉カリウムチャンネル、ＫＱＴ‐様サブファミリーメンバー１（ＫＣＮＱ１）

［００１１９］ ＫＣＮＱ１は、最も大きく、最も多様化した鉄チャンネルクラスのメンバーである。それらの主な機能は、静止膜電位の調節ならびに活動電位の型および頻度の制御に関連する。これらのチャンネルは、チャンネル活性に直接関与するアルファサブユニット、および基礎チャンネル活性を調節するガンマサブユニットを含む、多様な蛋白質から構成される。ＫＣＮＱ１はＷａｎｔ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｇｅｎｅｔ １２（１）：１７－２３，（１９９６）により初めて同定され、クローニングされ、そして性状解析された。この具体的な蛋白質は心臓活動電位の再分極相および内耳のＫ＋ホメオスタシスに必須である、（Ｎｅｙｒｏｕｄ ｅｔ ａｌ．，Ｃｉｒｃ Ｒｅｓ ８４：２９０－９７，（１９９９））。ノーザンブロット解析およびｉｎ ｓｉｔｕハイブリダイゼーションは、ＫＣＮＯ１が腎臓、膵臓、肺、胎盤、内耳において発現され、そして心臓では最

も高レベルで発現されることを示唆する、（Ｓａｎｇｕｉｎｅｔｔｉ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３８４：８０－８３，（１９９６）；Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｇｅｎｅｔ １２：１７－２３，（１９９６）；Ｎｅｙｒｏｕｄ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｇｅｎｅｔ １５：１８６－８９，（１９９７））。この遺伝子は癌およびＢｅｃｋｗｉｔｈ－Ｗｉｅｄｅｍａｎｎ症候群において異常にインプリントされた隣接遺伝子の大きなドメイン中の１１ｐ１５．５に位置する、（Ｌｅｅ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔ Ｇｅｎｅｔ １５：１８１－８５，（１９９７））。ＫＣＮＱ１における突然変異は、遺伝的心臓障害である長ＱＴ間隔症候群（ＬＱＴＳ）の最も頻発する原因であり、かかる障害により個体は失神、痙攣、および心室頻拍性不整脈による突然心臓死にかかりやすくなる、（Ｓｃｈｗａｒｔｚ，ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｈｅａｒｔ Ｊ ８９：３７８－９０，（１９７５））。

【００３１】

エピカン

［００１２０］ エピカンはヘパリン硫酸プロテオグリカンである。この蛋白質はＣＤ４４の標準、白血球型の近位細胞外ドメインに挿入された、新規３３９アミノ酸ドメインを有する。それはヒトケラチン細胞上のプロテオグリカンとしてＨａｇｇｅｒｔｙ ｅｔ ａｌ．，Ｊ Ｉｎｖｅｓｔ Ｄｅｒｍａｔｏｌ ９９（４）：３７４－８０，（１９９２）により初めて同定され、そして性状解析されてエピカンと命名され、そしてそれは表皮細胞間プロテオグリカンを意味する。エピカンは扁平上皮癌の外側の細胞表面に発現され、さらに別の腫瘍の標的であってよい（Ｖａｎ Ｈａｌ，ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ ６８（４）：５２０－２７，（１９９６））．

【００３２】

膜補因子蛋白質（ＣＤ４６；ＭＣＰ；麻疹ウイルス受容体）

［００１２１］ 細胞膜上の補体活性化レベルは、制御できない補体‐媒介損傷から正常および腫瘍細胞を保護する、膜‐結合補体調節蛋白質の発現により調節される、（Ｇｏｒｔｅｒ ａｎｄ Ｍｅｒｉ，Ｉｍｍｕｎｏｌ Ｔｏｄａｙ ２０：５７６－５８２，（１９９９））。膜補因子蛋白質はこれらの調節蛋白質の１種である。いくつかの研究は、ｉｎ ｓｉｔｕにおいて腫瘍細胞がＣＤ４６を過剰発現することを示している、（Ｋｏｒｅｔｚ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ ６６：８１０－８１４，（１９９２）；Ｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ Ｊ Ｃａｎｃｅｒ ８４：８０－８６，（２００１）；Ｍａｅｎｐａａ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｐａｔｈｏｌ １４８：１１３９－５２，（１９９６）；Ｎｉｅｈａｎｓ ｅｔ ａｌ．，Ａｍ Ｊ Ｐａｔｈｏｌ １４９：１２９－１４２，（１９９６）；Ｙａｍａｋａｗａ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ ７３：２８０８－１７，（１９９４））。腫瘍細胞上での上記および別の調節蛋白質の過剰発現が、効率的な局所免疫反応を妨げている可能性がある。Ｄｕｒｒａｎｔ ａｎｄ Ｓｐｅｎｄｌｏｖｅ ｉｎ Ｃｕｒｒ Ｏｐｉｎ Ｉｎｖｅｓｔｉｇ Ｄｒｕｇｓ ７：９５９－６６，（２００１）によれば、癌では補体‐調節蛋白質ＣＤ５５、ＣＤ４６およびＣＤ５９の発現が制御されず、腫瘍は１以上の阻害剤の損失および別のものの強い過剰発現を示す。このことが補体による攻撃に耐性である腫瘍を生じる。ｉｎ ｖｉｔｒｏおよびｉｎ ｖｉｖｏで行われた研究は、補体に対する腫瘍感受性は、補体‐調節蛋白質の機能的ドメインに結合する抗体の共投与により回復できることを示している、（Ｄｕｒｒａｎｔ ａｎｄ Ｓｐｅｎｄｌｏｖｅ，（２００１））。Ｓｐａｒｒｏｗ ｅｔ ａｌ．，Ｈｕｍ Ｉｍｍｕｎｏｌ １３：８３－９３，（１９８５）はＣＤ４６がＨｕｌｙ‐ｍ５であると初めて報告した。Ｐｕｒｃｅｌｌ ｅｔ ａｌ．，Ｉｍｍｕｎｏｇｅｎｅｔｉｃｓ ３３：３３５－４４，（１９９１）はこの蛋白質を単離し、クローニングした。

【００３３】

溶質キャリアファミリー６メンバー６（神経伝達物質トランスポーター、タウリン；ＳＬＣ６Ａ６）

［００１２２］ タウリンは哺乳類における主要な細胞内アミノ酸である。それは肝細胞における胆汁酸抱合、カルシウムフラックスの調節および神経興奮性、浸透圧調節、解毒

、ならびに膜安定化に関与する。タウリントランスポーター（ＳＬＣ６Ａ６）はナトリウム‐および塩素‐依存的トランスポーターのアミノ酸配列にかなり類似する、（Ｕｃｈｉｄａ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ Ｎａｔ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ８９：８２３０－３４，（１９９２））。Ｒａｍａｍｏｏｒｔｈｙ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｊ ３００：８９３－９００，（１９９４）は、ヒト胎盤からこの遺伝子をクローニングし、性状解析した。Ｒａｍａｍｏｏｒｔｈｙ ｅｔ ａｌ．，（１９９４）によるノーザンブロット解析は、主要な転写物は胎盤および骨格筋において多く発現され、心臓、脳、肺、腎臓、および膵臓では中間のレベルで発現されるが、肝臓では低レベルで発現されることを明らかにした。胎盤、腸、子宮頸部、および網膜色素上皮由来の培養ヒト細胞株もその転写物を含む。

【００３４】

骨芽細胞特異的因子２，ＯＳＦ－２ｏｓ；ペリオスチン

［００１２３］ この蛋白質は、昆虫接着分子であるファスシクリン（ｆａｓｃｉｃｌｉｎ）Ｉと構造および配列相同性を共有する、（Ｔａｋｅｓｈｉｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ Ｊ ２９４：２７１－２７８，（１９９３））。細胞‐細胞および細胞‐マトリクス接着相互作用が腫瘍形成、腫瘍進行、およびとりわけ転移に重要な役割を果たすことを示唆する実質的な証拠がある、（Ａｌｂｅｄａ，Ｌａｂ Ｉｎｖｅｓｔ ６８：４－１７，（１９９３）；Ｔｕｓｚｙｎｓｋｉ，ｅｔ ａｌ．，Ａｃｔａ Ｈａｅｍａｔｏｌ ９７：２９－３９，（１９９７））。ペリオスチンは正常な脳組織に比較して神経膠芽腫では１０倍過剰発現され、遺伝子は卵巣、乳房および脳の癌腫を含む、いくつかのヒト腫瘍において過剰発現されることが観察されている、（Ｌａｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ５９：５４０３－０７，（１９９９））。この蛋白質はさらに卵巣腫瘍でも過剰発現される、（Ｉｓｍａｉｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ６０：６７４４－４９，（２０００））。Ｓａｓａｋｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｌｅｔｔｅｒｓ １７２：３７－４２，（２００１）の結果は、ペリオスチンが乳房および肺癌組織周囲のストロマ細胞において高度に発現されるが、ｉｎ ｓｉｔｕ ＲＮＡハイブリダイゼーションにより腫瘍内では高発現されないことを示し、ペリオスチンの発現が腫瘍浸潤に関与する可能性を示唆する。この遺伝子はＴａｋｅｓｈｉｔａ ｅｔ ａｌ．，（１９９３）により初めてクローニングされ、性状解析された。ペリオスチンは骨において発現され、肺ではより少なく発現され、他の組織では発現されない。

【００３５】

ＣＥＡＣＡＭ８（ＣＧＭ６、ＣＤ６６ｂ、ＮＣＡ－９５、ＮＣＡ－Ｗ２７２）

［００１２４］ ＣＥＡＣＡＭ８は細胞接着分子のＣＥＡ遺伝子ファミリーのメンバーであり、主に好中球および好酸球において主に発現される（Ｅａｄｅｓ－Ｐｅｒｎｅｒ ｅｔ．ａｌ．，（１９９８）Ｂｌｏｏｄ ９１：６６３－６７２）。２つのグループが１９９０年にＣＥＡＣＡＭ８の遺伝子のクローニングを報告した。Ｂｅｒｌｉｎｇ ｅｔ．ａｌ．（（１９９０）Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ ５０：６５３４－６５３９）はＣＭＬ患者から構築したライブラリーから遺伝子をクローニングし、Ａｒａｋａｗａ ｅｔ．ａｌ．（１９９０） ＢＢＲＣ １６６：１０６３－１０７１）は正常ヒト白血球から調製したライブラリーから同じゲノムを同定した。

【００３６】

ＦＧＦＲ３

［００１２５］ 線維芽細胞成長因子受容体３（“ＦＧＦＲ３”）は受容体チロシンキナーゼ蛋白質（ＲＴＫ）の線維芽細胞成長因子受容体（“ＦＧＦＲ”）ファミリーのメンバーである。線維芽細胞成長因子受容体は、多様な範囲の細胞型において増殖、分化および細胞移動を媒介する。Ｈａｒｔ，Ｋ．Ｃ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．Ｃｅｌｌ．，１２：９３１－９４１，２００１。線維芽細胞成長因子（“ＦＧＦ”）シグナリングは、細胞分裂促進、中胚葉誘導、神経生存および神経伸長、腫瘍、血管新生、ならびにアテローム性動脈硬化症において役割を果たす、Ｐａｎｄｉｔ，Ｓ．Ｇ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．，３６１：２３１－２４１，２００２。ＦＧＦＲ受容体の細胞外ド

メインへのリガンド結合は、受容体二量化および受容体細胞内ドメインチロシン残基の燐酸基転位を誘導する。ＦＧＦＲ３と癌との関連は最近解明されている（Ｈａｒｔ，Ｋ．Ｃ．，ｅｔ ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．Ｃｅｌｌ．，１２：９３１－９４１，２００１；Ｐａｎｄｉｔ，Ｓ．Ｇ．，ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｊ．，３６１：２３１－２４１，２００２）。１９９０年にＥｌｅｎａ Ｂ．ＰａｓｑｕａｌｅはＦＧＦＲ３を、ニワトリ胚に存在する２種の新規キナーゼの１種、ニワトリ線維芽細胞成長因子受容体、ｃｅｋ１に相同性であるｃｅｋ２であると報告した、Ｐａｓｑｕａｌｅ，Ｅ．Ｂ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８７：５８１２－５８１６，１９９０。１９９１年にＫｅｅｇａｎ ｅｔ ａｌ．（Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８８：１０９５－１０９９，１９９１）は遺伝子の単離を報告した。ｃＤＮＡは完全に配列決定され、線維芽細胞成長因子受容体３（ＦＧＦＲ３）と命名された。抗‐ＦＧＦＲ抗体は少なくとも早くも１９９１年には初めて報告された（Ｂｅｌｌｏｔ ｅｔ ａｌ．ＥＭＢＯ Ｊ．，１０：２８４９－２８５４，１９９１）。１９９１年にＫｅｅｇａｎ ｅｔ ａｌ．Ｏｎｃｏｇｅｎｅ，６：２２２９－２２３６，１９９１）はＦＧＦＲ３特異的な抗体を作製することを試みたが、他のＦＧＦＲ受容体と交差反応をしない抗体を得ることが著しく困難であった。

【００３７】

ＧＰＲ５６（ＴＭ７ＸＮ１、ＴＭ７ＬＮ４、ＥＧＦ ＴＭ７－様ｃＤＮＡ）

［００１２６］ ＴＭ７ＸＮ１、ＴＭ７ＬＮ４、またはＥＧＦ ＴＭ７－様ｃＤＮＡとしても公知のＧＰＲ５６は、１９９９年に２つの別々の科学者グループ（Ｌｉｕ，Ｍ．，ｅｔ ａｌ．Ｇｅｎｏｍｉｃｓ，５５：２９６－３０５，１９９９：Ｚｅｎｄｍａｎ，Ａ．Ｊ．Ｗ．，ｅｔ ａｌ．，ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔｅｒｓ，４４６：２９２－２９８，１９９９）によって同定された。他のｇ－蛋白質共役受容体と同様に、ＧＰＲ５６は細胞膜を横切る膜貫通ドメインをそれぞれが形成する、７つの疎水性アミノ酸ストレッチからなる７回膜貫通ドメインにより特徴付けられる。これらのドメインは各種ｇ－蛋白質共役受容体間で高度に保存されている。ｇ－蛋白質共役オーファン受容体の機能は、未だ確認されていない。しかし、ムチン‐様および／またはＥＧＦ‐様ドメインの存在はＧＰＲ５６が細胞‐細胞結合に関与することを示唆する。ＧＰＲ５６はＥＧＦドメインを欠如するが、報告はそのＮ－末端ドメインのグリコシル化により細胞‐細胞接着に関与してもよいことを示唆する。

【００３８】

Ｐカドヘリン（胎盤カドヘリン、ｐｃａｄ、カドヘリン‐３、ｃｄｈ３またはｃｄｈｐ）

［００１２７］ カドヘリンは成長および組織ホメオスタシス中の細胞接着を調節する膜貫通蛋白質のスーパーファミリーである（Ｇｕｍｂｉｎｅｒ，Ｂ．Ｍ．，Ｊ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．，１４８：３９９－４０４，２０００；Ｙａｇｉ，Ｔ．ａｎｄ Ｔａｋｅｉｃｈｉ，Ｍ．，Ｇｅｎｅｓ Ｄｅｖ．，１４：１１６９－１１８０，２０００）。カドヘリンは５種の細胞外Ｃａ２＋結合ドメインと、古典的カドヘリン間で高度に保存されている小さい細胞質ドメインを有する。Ｐ－カドヘリン発現はしばしば、ある一定の腫瘍型のサブセットにおいて変化する。Ｐ－カドヘリンはクローン病および結腸炎のような炎症性大腸疾患においてアップレギュレーションされることが公知である。異常なＰ－カドヘリン発現は乳癌における細胞増殖および脱分化と関連している（Ｇａｍａｌｌｏ，Ｃ．，Ｍｏｄｅｒｎ Ｐａｔｈｏｌｏｇｙ，１４：６５０－６５４，２００１）。ヒトＰ－カドヘリンは外陰表皮癌に対して作製されたＮＣＣ－ＣＡＤ－２９９モノクローナル抗体によって認識される抗原であることが報告された（Ｓｈｉｍｏｙａｍａ，Ｙ．，ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．，４９：２１２８－２１３３，１９８９）。ヒト遺伝子はＳｈｉｍｏｙａｍａ，Ｙ．，ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｃｅｌｌ Ｂｉｏｌ．，１０９：１７８７－１７９４，１９８９）により単離された。

【００３９】

ＲＯＮキナーゼ

［００１２８］　ＲＯＮ（Ｒｅｃｅｐｔｅｕｒ　ｄ’Ｏｒｉｇｉｎｅ　Ｎａｎｔａｉｓ）は肝細胞成長因子（“ＨＧＦ”）受容体ファミリーに属する受容体蛋白質チロシンキナーゼである。蛋白質チロシンキナーゼは標的蛋白質上の特定のチロシン残基にアデノシン三燐酸（ＡＴＰ）の末端燐酸を移す酵素である。これらの酵素はすべての多細胞生物に見出され、細胞増殖の調節および複合真核細胞の分化に重要な役割を果たす。膜貫通受容体チロシンキナーゼおよび非‐受容体チロシンキナーゼの２種の主要なチロシンキナーゼのクラスがある。膜貫通チロシンキナーゼはそれらの受容体ドメインへのペプチド成長因子およびサイトカインの結合により直接活性化される。このクラスに含まれるチロシンキナーゼには肝細胞成長因子受容体が挙げられる。受容体の通常な機能は、細胞外シグナルの変換器として作動することである。Ｒｏｎ遺伝子は１９０ｋＤａ蛋白質をコードし、成熟型はジスルフィド結合したヘテロダイマーである。ＲＯＮは４０ｋＤ細胞外α鎖および細胞内蛋白質チロシンキナーゼドメインを有する１５０ｋＤのβ鎖を含み、その活性はリガンド受容体結合により増大する（Ｌｅｏｎａｒｄ，Ｅ．Ｊ．ａｎｄ　Ｄａｎｉｌｋｏｖｉｔｃｈ，Ａ．，Ａｄｖａｎｃｅｓ　ｉｎ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，２０００，１３９－１６５）。

【００４０】

ＫＩＡＡ０７９２

［００１２９］　ＫＩＡＡ０７９２は、腎臓、脳、卵巣、肺および膵臓に主に発現される、未知の機能の遺伝子である。ＫＩＡＡ０７９２転写物はヒト染色体１の位置１ｑ４２．１３にマッピングされている。ＫＩＡＡ０７９２遺伝子座はゲノムＤＮＡの３６，７７４塩基対にわたる２５エキソンを含む。ＫＩＡＡ０７９２は８０７アミノ酸の蛋白質をコードする４０７４ヌクレオチド配列からなる。該配列はＧｅｎｂａｎｋ受託番号ＡＢ０１８３３５において入手できる。ＫＩＡＡ０７９２によりコードされた蛋白質は、アミノ酸６７－８９、１６６－１８８、２１２－２３４、４４６－４６８、４８７－５０９、５２８－５５０、５８３－６０５、６３５－６５７、６８９－７１１および７１７－７３９に位置する、１０種の膜貫通ドメインを含む可能性がある。これらの膜貫通ドメインに加え、少なくとも１種の別に認識されたドメイン、ＤＵＦ２２１が位置番号３５６－８０６に位置する。このドメインは、いくつかの機能未知の別の推定膜貫通蛋白質に存在する。

［００１３０］　本発明は、対応する正常組織に比較してヒト腫瘍組織において過剰発現されることが以前に報告されていない遺伝子を開示する：ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１７；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３５；およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３。

［００１３１］　本発明はまた、ヒト腫瘍組織において過剰発現されるが、特に結腸腫瘍において過剰発現されていないことが以前に報告されている遺伝子を開示する：ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３７。

【００４１】

ポリペプチド

［００１３２］　本発明の別の態様は、以下の群から選択されるアミノ酸配列を含む単離されたポリペプチドである：

（ａ）ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４１；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４７；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５３；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５４；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５５；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５６；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５７；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５８；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５９；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６０；ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６１；ＳＥ

ＱＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７５；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４からなる群から選択されるアミノ酸配列の成熟型；

（ｂ）ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４からなる群から選択されるアミノ酸配列の成熟型の変異体、（上記変異体の１以上のアミノ酸残基が上記成熟型のアミノ酸配列と異なり、ただし上記変異体は上記成熟型のアミノ酸配列において２０％以下のアミノ酸残基が異なる）；

（ｃ）ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７５；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４からなる群から選択される配列を含むアミノ酸配列；および

（ｄ）ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７５およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４からなる群から選択される配列を含むアミノ酸配列の変異体（変異体における１以上のアミノ酸残基が上記アミノ酸配列と異なり、ただし変異体は上記アミノ酸配列由来のアミノ酸残基において２０％以下異なる）；

本発明の一側面では、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：４９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５７；ＳＥＱ ＩＤ

ＮＯ：５８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６７；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７０；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７３；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７４；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：７５およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４。ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５６；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：５９；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６１；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６２；ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６５；およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：６８

［００１３３］ 本発明の蛋白質の形態は培地または宿主細胞溶解物から回収できる。膜結合の場合、適切な界面活性剤溶液（たとえば、Ｔｒｉｔｏｎ－Ｘ １００）を使用するか、または酵素開裂により膜から単離することができる。ポリペプチドの発現に使用された細胞は種々の物理的または化学的手段、たとえば凍結‐融解循環、超音波処理、機械的破壊、または細胞溶解剤により破壊することができる。

［００１３４］ 組換え細胞蛋白質またはポリペプチドから本発明の蛋白質を精製することを所望してもよい。以下の手順は適切な精製手順の代表例である：イオン交換カラム上の分画；エタノール沈降；逆相ＨＰＬＣ；シリカまたはＤＥＡＥのようなカチオン交換レジンのクロマトグラフィー；クロマトフォーカッシング（ｃｈｒｏｍａｔｏｆｏｃｕｓｉｎｇ）；ＳＤＳ－ＰＡＧＥ；硫酸アンモニウム沈降；たとえば、Ｓｅｐｈａｄｅｘ Ｇ－７５を使用したゲルろ過；ＩｇＧのような不純物を除去するための蛋白質Ａセファロースカラム；および本発明の蛋白質のエピトープ‐タグ型を結合する金属キレートカラム。さらに、当業者に公知の別の精製法を使用することができる。蛋白質精製の種々の方法をしてよく、そのような方法は当該技術分野で公知であり、たとえば、Ｄｅｕｔｓｃｈｅｒ，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，１８２（１９９０）；Ｓｃｏｐｅｓ，Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｐｕｒｉｆｉｃａｔｉｏｎ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ ａｎｄ Ｐｒａｃｔｉｃｅ，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ（１９８２）に記載される。選択された精製工程は、たとえば使用される産生方法の性質および産生される具体的な蛋白質に依存することになる。

【００４２】

ポリペプチド変異体

［００１３５］ 本明細書に記載の全長天然配列ポリペプチドに加え、開示されたポリペプチドの機能に類似のものを有する変異体を作製することができる。変異体はＤＮＡへの適切なヌクレオチド変化を導入することにより、および／または所望するポリペプチドの合成により作製することができる。当業者は、グリコシル化部位数もしくは位置を変化させるか、または膜係留特性を変化させることのような、本発明の蛋白質の翻訳後プロセシングを変化させることができる。天然全長配列、または本明細書に記載の本発明の蛋白質の種々のドメインにおける変形は、たとえば米国特許第５，３６４，９３４号に記載のような、保存的および非保存的突然変異の技術および指針のいずれかを使用して作製することができる。変形には、本発明の蛋白質をコードする１以上のコドンの置換、欠失または挿入を挙げることができ、結果として天然配列に比較して変化した本発明の蛋白質のアミノ酸配列を生じる。場合により、変形はポリペプチドの１以上のドメインにおける少なくとも１以上のアミノ酸をいずれか別のアミノ酸に置換することによる。所望する活性に有害な影響を与えずにどのアミノ酸残基を挿入、置換または欠失するかを決定するための指針は、別の哺乳類に由来する相同性の公知の蛋白質の配列とポリペプチドのそれを比較し、高度に相同性な領域で行われるアミノ酸配列の変化の数を最小にすることにより見出すことができる。アミノ酸置換は、たとえばロイシンとイソロイシンの置換のような、１アミノ酸と、類似した構造および／または化学的性質を有する別のアミノ酸の置換の結果であってよい。そのような置換は保存的アミノ酸置換として公知である。挿入または欠失は、場合により約１～５アミノ酸の範囲である。許容される変形は、体系的に配列にアミノ酸の挿入、欠失または置換を作製し、全長または成熟天然配列により示された活性に関し

て生じた変異体を試験することにより確認することができる。
［００１３６］　具体的な態様において、関心のある保存的置換は、好ましい置換という項目で表２に示される。そのような保存的置換が生理活性を変化させる場合、表２において典型的な置換と呼ばれるか、またはアミノ酸のクラスに関してさらに以下に記載されるような、より実質的な変化が導入され、そして産物の活性がスクリーニングされる。
［００１３７］　ポリペプチドの機能または免疫学的同一性における実質的な改変は、以下のことを維持することに対してそれらの効果が著しく異なる置換を選択することにより達成することができる：（ａ）たとえばシートまたはヘリックス構造のような、置換領域におけるポリペプチド骨格の構造、（ｂ）標的部位における分子の電荷または疎水性、または（ｃ）側鎖の量（bulk）。天然に存在する残基は共通の側鎖の特性に基づいてグループに分割することができる：（１）疎水性：ノルロイシン、ｍｅｔ、ａｌａ、ｖａｌ、ｌｅｕ、ｉｌｅ；（２）中性親水性：ｃｙｓ、ｓｅｒ、ｔｈｒ；（３）酸性：ａｓｐ、ｇｌｕ；（４）塩基性：ａｓｎ、ｇｌｎ、ｈｉｓ、ｌｙｓ、ａｒｇ；（５）鎖の配向に影響を与える残基：ｇｌｙ、ｐｒｏ；および（６）芳香性：ｔｒｐ、ｔｙｒ、ｐｈｅ。
［００１３８］　非保存的置換は、これらのクラスの１種のメンバーを別のクラスに交換することを伴うことになる。そのように置換された残基はさらに、保存的置換部位、またはより好ましくは残余（非保存的）部位に導入されてもよい。
［００１３９］　変形は、オリゴヌクレオチド媒介（部位‐特異的）変異誘発、アラニンスキャンニング、およびＰＣＲ変異誘発のような、当該技術分野で公知の方法を使用して、行うことができる。部位‐特異的変異誘発（Ｃａｒｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１３：４３３１（１９８６）；Ｚｏｌｌｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１０：６４８７（１９８７）を参照されたい）、カセット変異誘発（Ｗｅｌｌｓ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅ，３４：３１５（１９８５）を参照されたい）、制限選択変異誘発（Ｗｅｌｌｓ ｅｔ ａｌ．，Ｐｈｉｌｏｓ．Ｔｒａｎｓ．Ｒ．Ｓｏｃ．Ｌｏｎｄｏｎ ＳｅｒＡ，３１７：４１５（１９８６）を参照されたい）またはいずれか別の公知の技術をクローニングされたＤＮＡに実施して変異ＤＮＡを産生することができる。
［００１４０］　また、スキャンニングアミノ酸分析を使用して隣接配列に沿った１以上のアミノ酸を同定することができる。比較的小さい中性アミノ酸が好ましいスキャンニングアミノ酸として挙げられる。そのようなアミノ酸には、アラニン、グリシン、セリン、およびシステインが挙げられる。この群の中では、アラニンが一般的に好ましいスキャンニングアミノ酸であり、なぜならそれはベータ‐炭素以外に側鎖がないため、変異体の主鎖構造を変化させる可能性が少ないからである（Ｃｕｎｎｉｎｇｈａｍ ａｎｄ Ｗｅｌｌｓ，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４４：１０８１－１０８５（１９８９）を参照されたい）。さらに、アラニンは最も普通のアミノ酸であるために、一般的に好ましい。さらに、それは埋没および曝露の両方の位置にしばしば見出される（Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｔｈｅ Ｐｒｏｔｅｉｎｓ，（Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ＆Ｃｏ．，Ｎ．Ｙ．）；Ｃｈｏｔｈｉａ，Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．，１５０：１（１９７６）を参照されたい）。しかし、アラニン置換が適切な量の変異体を生じない場合、イソステリック（ｉｓｏｓｔｅｒｉｃ）アミノ酸を使用することができる。
［００１４１］　本発明の蛋白質のフラグメントはいくつかの慣用の技術のいずれかを使用して作製することができる。また、所望するペプチドフラグメントを化学的に合成することができる。代わりの方法には、酵素消化、たとえば特定のアミノ酸残基により示された部位で蛋白質を開裂することが公知の酵素で蛋白質を処理すること、または適切な制限酵素でＤＮＡを消化し、所望するフラグメントを単離することによりフラグメントを作製することが挙げられる。別の適切な方法には、ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）により、所望するポリペプチドフラグメントをコードするＤＮＡフラグメントを単離し、増幅することが挙げられる。所望するＤＮＡフラグメントの末端を明確に定めるオリゴヌクレオチドをＰＣＲの５′および３′プライマーに使用する。好ましくは、ポリペプチドフラグメントは天然ポリペプチドと少なくとも１種の生物学的および／または免疫学的活性を共有

する。

【００４３】

ポリペプチドの改変

［００１４２］　本発明の蛋白質の共有結合改変は本発明の範囲内に包含される。共有結合改変の１種の型としては、本発明の蛋白質の選択された側鎖またはＮ－もしくはＣ－末端残基と反応することができる有機誘導化試薬とポリペプチドの標的アミノ酸残基を反応させることが挙げられる。二官能性試薬による誘導体化は、たとえば、抗体を精製するための方法に使用するために、非水溶性支持マトリクスまたは表面に蛋白質を架橋させるために有用であり、逆の場合も同じである。一般的に使用される架橋剤には、たとえば１，１－ビス（ジアゾアセチル）－２－フェニルエタングルタルアルデヒド、Ｎ－ヒドロキシスクシニミドエステル、たとえば４－アジドサリチル酸とのエステル、ホモ二官能性イミドエステル、たとえば３，３′－ジチオビス（スクシニミジルプロピオネート）のようなジスクシニミジルエステル、ビス（Ｎ－マレイミド－１，８－オクタンのような二官能性マレイミドおよびメチル－３－［（パジドフェニル）ジチオ］プロピオイミデートのような物質が挙げられる。

［００１４３］　別の改変には、グルタミニルおよびアスパラギニル残基から、それぞれ対応するグルタミルおよびアスパルチル残基への脱アミド、プロリンおよびリシンのヒドロキシル化、セリルまたはトレオニル残基のヒドロキシル基の燐酸化、リシン、アルギニン、およびヒスチジン側鎖のアミノ基のメチル化（Ｔ．Ｅ．Ｃｒｅｉｇｈｔｏｎ，Ｐｒｏｔｅｉｎｓ：Ｓｔｒｕｃｔｕｒｅ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｐｒｏｐｅｒｔｉｅｓ，Ｗ．Ｈ．Ｆｒｅｅｍａｎ＆Ｃｏ．，Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，ｐｐ．７９－８６（１９８３）を参照されたい）、Ｎ－末端アミンのアセチル化、および任意のＣ－末端カルボキシル基のアミド化が挙げられる。

［００１４４］　本発明の範囲内に含まれるポリペプチドの共有結合改変の別の型としては、ポリペプチドの天然グリコシルパターンを変化させることが挙げられる。本明細書の目的に関して“天然のグリコシル化パターンを変化させる”とは、天然配列に見出される１以上の糖質部分の（内在するグリコシル化部位を除去すること、または化学的および／または酵素的手段によりグリコシル化を欠失させることによる）欠失、および／または天然配列に存在しない１以上のグリコシル化部位の添加を意味することを意図する。さらに、該句は、存在する種々の糖質部分の性質および割合の変化を含む、天然の蛋白質のグリコシル化の定性的な変化を包含する。ポリペプチドへのグリコシル化部位の添加は、アミノ酸配列を変化させることにより行うことができる。変更は１以上のセリンまたはトレオニン残基の天然配列への添加、またはそれらによる置換により行うことができる（Ｏ結合グリコシル化部位に対して）。アミノ酸配列は場合により、ＤＮＡレベルにおける変化を介して、とりわけ予め選択された塩基においてポリペプチドをコードするＤＮＡを変異させることにより変更してよく、その結果所望するアミノ酸に翻訳されることになるコドンが作製される。

［００１４５］　ポリペプチド上の糖質部分の数を増加させる別の手段は、ポリペプチドへのグリコシドの化学的または酵素的カップリングによるものである。そのような方法は当該技術分野では、たとえば、ＷＯ８７／０５３３０（１９８７年９月１１日公開）およびＡｐｌｉｎ ａｎｄ Ｗｒｉｓｔｏｎ，ＣＲＣ Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，ｐｐ．２５９－３０６（１９８１）に記載される。

［００１４６］　ポリペプチドに存在する糖質部分の除去は化学的もしくは酵素的に、またはグリコシル化の標的として役立つアミノ酸残基をコードするコドンの突然変異による置換により行うことができる。化学的脱グリコシル技術は当該技術分野で公知であり、たとえばＨａｋｉｍｕｄｄｉｎ，ｅｔ ａｌ．，Ａｒｃｈ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ，２５９：５２（１９８７）およびＥｄｇｅ ｅｔ ａｌ．，Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１１８：１３１（１９８１）により記載される。ポリペプチドの糖質部分の酵素的開裂は、Ｔｈｏｔａｋｕｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．，１３８：３５０（１９８７）により記載のように、種々のエンド‐およびエキソ‐グリコシダーゼ

の使用により行うことができる。
［００１４７］　本発明の蛋白質または抗体の共有結合改変の別の型は、米国特許第４，６４０，８３５号；第４，４９６，６８９号；第４，３０１，１４４号；第４，６７０，４１７号；第４，７９１，１９２号または第４，１７９，３３７号に記載の方法で、たとえばポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、ポリプロピレングリコール、またはポリオキシアルキレンのような種々の非蛋白性ポリマーの１種にポリペプチドまたは抗体を結合させることを包含する。
［００１４８］　本発明のポリペプチド、作動薬、拮抗薬、または抗体に見られるリシンのアミノ末端α‐アミノ基またはε‐アミノ基のいずれかと反応可能な官能基には、以下のものが挙げられる：ｐ－ニトロフェニル、またはスクシニミジルのようなカーボネート；カルボニルイミダゾール；アズラクトン；環状イミドチオン；イソシアネートまたはイソチオシアネート；トレシルクロリド（ＥＰ　７１４　４０２，　ＥＰ　４３９　５０８）；およびアルデヒド。本発明のポリペプチド、作動薬、拮抗薬、または抗体上のカルボン酸基、反応性カルボニル基および酸化された糖質部分と反応可能な官能基には以下のものが挙げられる：第１アミン；ならびにヒドラジンおよびヒドラジド官能基、たとえばアシルヒドラジド、カルバゼート、セミカルバゾン、チオカルバゼートなど。本発明のポリペプチド、作動薬、拮抗薬、または抗体上で利用可能な場合、メルカプト基も、適切な活性化ポリマーに対するチオール、マレイミド、スルホン、およびフェニルグリオキサールのような反応基の接着部位として使用することができる；たとえば、米国特許第５，０９３，５３１号を参照されたい。その開示を参照として本明細書に援用する。求電子中心と反応することができる別の求核試薬には、たとえばヒドロキシル、アミノ、カルボキシル、チオール、活性メチレンなどが挙げられるが、それらに限定されない。
［００１４９］　本発明の好ましい一態様において、本発明のポリペプチド、作動薬、拮抗薬、もしくは抗体Ｎ－末端アミノ基またはリシンのε‐アミノ基と活性化ＰＥＧを使用して第２アミンまたはアミド結合が形成される。本発明の別の好ましい側面において、Ｃｈａｍｏｗ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｃｏｎｊｕｇａｔｅ　Ｃｈｅｍ．５：１３３－１４０（１９９４）および米国特許第５，８２４，７８４号に記載のように、ＮａＣＮＢＨ$_3$、ＮａＢＨ$_3$、ピリジンボランなどのような適切な還元剤による還元によって、本発明のポリペプチド、作動薬、拮抗薬、または抗体のＮ－末端第１アミノ基と１本鎖または分枝鎖ＰＥＧアルデヒド間で、第２アミン結合が形成される。
［００１５０］　本発明の別の好ましい態様において、スクシニミジルエステル、環状イミドチオンなどのようなアミド‐形成リンカーにより活性化されたポリマーを使用して、本発明のポリペプチド、作動薬、拮抗薬、または抗体とポリマー間の結合を形成する。たとえば、米国特許第５，３４９，００１号；米国特許第５，４０５，８７７号；およびＧｒｅｅｎｗａｌｄ，　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｒｉｔ．Ｒｅｖ．Ｔｈｅｒ．Ｄｒｕｇ　Ｃａｒｒｉｅｒ　Ｓｙｓｔ．１７：１０１－１６１，２０００を参照されたい。これらを参照として本明細書に援用する。本発明のポリペプチド、作動薬、拮抗薬、または抗体の遊離アミノ基に結合することができる１種の好ましい活性化ポリ（エチレングリコール）には１本鎖または分枝鎖Ｎ－ヒドロキシスクシニルイミドポリ（エチレングリコール）が挙げられ、それはＮ－ヒドロキシスクシニルイミドによりポリ（エチレングリコール）のコハク酸エステルを活性化することにより作製することができる。
［００１５１］　本発明の別の好ましい態様は、活性化ポリマーを使用して、ε‐アミノまたは別の基を介して本発明のポリペプチド、作動薬、拮抗薬、または抗体とポリマーとの共有結合を形成することを包含する。たとえば、末端が活性化されたポリマーのイソシアネートまたはイソチオシアネート型を使用して、リシンアミノ基と尿素またはチオ尿素を基礎にした結合を形成することができる。
［００１５２］　本発明の別の好ましい側面において、米国特許第５，１２２，６１４号、第５，３２４，８４４号および第５，６１２，６４０号（これらを参照として本明細書に援用する）に記載のように、蛋白質アミノ基と共にカルバメートウレタン結合が形成される。例としては、Ｎ－スクシニミジルカーボネート、パラ‐ニトロフェニルカーボネー

ト、およびカルボニルイミダゾール活性化ポリマーが挙げられる。本発明の別の好ましい態様において、ＰＥＧのベンゾトリアゾールカーボネート誘導体は本発明のポリペプチド、作動薬、拮抗薬、または抗体上のアミノ基に結合する。

［００１５３］　本発明の蛋白質はまた、別の異種ポリペプチド、またはアミノ酸配列に融合した本発明の蛋白質を含むキメラ分子を形成する方法で改変することができる。

［００１５４］　一態様において、そのようなキメラ分子はタグポリペプチドと本発明の蛋白質の融合体を含み、抗タグ抗体が選択的に結合できるエピトープを提供する。エピトープタグは一般に、蛋白質のアミノ‐またはカルボキシ‐末端に位置する。そのような本発明の蛋白質のエピトープタグ型の存在は、タグポリペプチドに対する抗体を使用して検出することができる。また、エピトープタグが付くことにより、抗‐タグ抗体またはエピトープタグに結合する別の型の親和性マトリックスを使用して、親和性精製により蛋白質を容易く精製することができる。種々のポリペプチドおよびそれらのそれぞれの抗体は当該技術分野で公知である。例としては以下のものが挙げられる：ポリ‐ヒスチジン（ｐｏｌｙ－Ｈｉｓ）またはポリ‐ヒスチジン‐グリシン（ｐｏｌｙ－ｈｉｓ－ｇｌｙ）タグ；ｆｌｕＨＡタグおよびその抗体１２ＣＡ５（Ｆｉｅｌｄ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．，８：２１５９－２１６５（１９８８））；ｃ－ｍｙｃタグおよびそれに対する８Ｆ９、３Ｃ７、６Ｅ１０、Ｇ４、Ｂ７および９Ｅ１０抗体（Ｅｖａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　ａｎｄ　Ｃｅｌｌｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，５：３６１０－３６１６（１９８５））；ならびに単純疱疹ウイルス糖蛋白質Ｄ（ｇＤ）タグおよびその抗体（Ｐａｂｏｒｓｋｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，３（６）：５４７－５５３（１９９０））。別のタグポリペプチドには、Ｆｌａｇ－ペプチド（Ｈｏｐｐ　ｅｔ　ａｌ．，ＢｉｏＴｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，６：１２０４－１２１０（１９８８））；ＫＴ３エピトープペプチド（Ｍａｒｔｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２５５：１９２－１９４（１９９２））；α－チューブリンエピトープペプチド（Ｓｋｉｎｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２６６：１５１６３－１５１６６（１９９１））；およびＴ７遺伝子１０蛋白質ペプチドタグ（Ｌｕｔｚ－Ｆｒｅｙｅｒｍｕｔｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８７：６３９３６３９７（１９９０））が挙げられる。

［００１５５］　代わりの態様において、キメラ分子はイムノグロブリンまたはイムノグロブリンの特定の領域とポリペプチドの融合体を含んでいてよい。キメラ分子の二価型（“イムノアドヘシン”とも呼ばれる）の場合、そのような融合はＩｇＧ分子のＦｃ領域に対してであってよい。Ｉｇ融合体は好ましくは、少なくともＩｇ分子内の１種の可変領域の代わりにポリペプチドの可溶（欠失または不活性化された膜貫通ドメイン）型の置換を含む。とりわけ好ましい態様において、イムノグロブリン融合体はヒンジ、ＣＨ２およびＣＨ３、またはＩｇ分子内のヒンジ、ＣＨ２およびＣＨ３領域を含む。イムノグロブリン融合体の産生については、米国特許第５，４２８，１３０号、１９９５年６月２７日発行も参照されたい。

［００１５６］　別の態様において、キメラ分子はペプチドの分泌を可能にするか、もしくはそれを促進する、またはさらに細胞内でのその局在を変化させる、本発明の蛋白質とシグナルペプチドとの融合体を包含する。シグナル配列は分泌または膜局在が所望される場合、一般に本発明の蛋白質のアミノ‐またはカルボキシ‐末端、より一般にはＮ－末端に位置する。シグナルペプチドは一般に宿主細胞の酵素により特に開裂されるため、そのような融合体は通常中間産物である。シグナルペプチドの供給により、培地への蛋白質の分泌後に、蛋白質の容易な精製が可能になる。細胞内のコンパートメントに分泌または標的を定めた種々のシグナルペプチドは当該技術分野で公知であり、酵母および哺乳類細胞を含む多くの宿主細胞で使用できる。

［００１５７］　本発明のポリペプチドはまた、遺伝子治療に使用することができる。遺伝子治療は、対象への特定の核酸の投与により行われる治療を表す。哺乳類対象への治療用核酸の送達は、直接（すなわち、患者は核酸または核酸‐含有ベクターに直接曝露される）または間接（すなわち、細胞は初めにｉｎ　ｖｉｔｒｏで核酸により形質転換され、

その後患者に移植される）のいずれかであってよい。これらの２種の方法は、それぞれ、ｉｎ ｖｉｖｏまたはｅｘ ｖｉｖｏ治療として公知である。本発明のポリヌクレオチドはまた、細胞または生物体（ウイルスベクターまたは裸ＤＮＡの形状を含むが、それらに限定されない）への核酸の導入のための別の公知の方法により投与することができる。当該技術分野内で利用できる遺伝子治療に関連した方法のいずれかを使用して、本発明を実施することができる。たとえば、Ｇｅｎｅ Ｔｈｅｒａｐｙ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ：Ｔｒａｎｓｌａｔｉｏｎａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈｅｓ ｆｒｏｍ Ｐｒｅｃｌｉｎｉｃａｌ Ｓｔｕｄｉｅｓ ｔｏ Ｃｌｉｎｉｃａｌ Ｉｍｐｌｅｍｅｎｔａｔｉｏｎ Ｅ．Ｃ．Ｌａｔｔｉｍｅ＆Ｓ．Ｌ．Ｇｅｒｓｏｎ編 Ａｃａｄｅｍｉｃ Ｐｒｅｓｓ，２００２を参照されたい。

［００１５８］ 細胞はまた、本発明の治療薬または蛋白質の存在下、ｅｘ ｖｉｖｏで培養して増殖させるか、またはそのような細胞に対して所望する作用、またはそれらに活性を生じさせることができる。処置された細胞はその後、治療目的のためにｉｎ ｖｉｖｏに導入されてよい。

【００４４】

合理的ドラッグデザイン

［００１５９］ 合理的ドラッグデザインのゴールは、関心のある生理的に活性なポリペプチドまたは、それらと相互作用する小分子の構造類似体、たとえば作動薬、拮抗薬、または阻害剤を生み出すことである。これらの例のいずれかを使用して、ポリペプチドのより活性もしくは安定型である薬物か、またはｉｎ ｖｉｖｏでポリペプチドの機能を促進するか、もしくは妨げる薬物を作製することができる（Ｈｏｄｇｓｏｎ，Ｂｉｏ／Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，９：１９－２１（１９９１）を参照されたい）。

［００１６０］ 一方法において、ポリペプチド、またはポリペプチド‐阻害剤複合体の３次元構造は、Ｘ線結晶解析、コンピューターモデリング、または最も一般的には２種の方法の組み合わせにより決定される。分子の構造を明らかにし、活性部位（複数の部位）を確認するために、ポリペプチドの形状および電荷の両方を確認しなければならない。たびたびではないが、ポリペプチドの構造に関する有用な情報は、相同蛋白質の構造に基づいたモデリングにより得ることができる。両方の場合において、適切な構造情報を使用して、類似したポリペプチド様分子を設計するか、または効果的な阻害剤を同定する。合理的ドラッグデザインの有用な例は、Ｂｒａｘｔｏｎ ａｎｄ Ｗｅｌｌｓ，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，３１：７７９６－７８０１（１９９２）により示されるような、改善された活性または安定性を有する分子、またはＡｔｈａｕｄａ ｅｔ ａｌ，Ｊ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１１３：７４２－７４６（１９９３）により示されるような、天然ペプチドの阻害剤、作動薬、または拮抗薬として作用する分子を包含する。

［００１６１］ 先に記載の機能的アッセイにより選択される標的特異的抗体を単離し、その後その結晶構造を解明することも可能である。この方法は、原則として、その後のドラッグデザインが基礎にすることができるファーマコア（ｐｈａｒｍａｃｏｒｅ）を生み出す。機能的で、薬理学的に活性な抗体に対する抗‐イデオタイプ抗体（抗‐ｉｄｓ）を作製することにより、蛋白質結晶解析を全く回避することができる。鏡像の鏡像として、抗‐ｉｄｓの結合部位は元の受容体の類似体であると予想される。その後、抗‐ｉｄｓを使用して化学的または生物学的に産生されたペプチドのバンクからペプチドを同定し、単離することができる。単離されたペプチドはその後ファーマコアとして作用することになる。

［００１６２］ 本発明に基づいて、Ｘ線結晶解析のような解析研究を行うために使用する、十分な量のポリペプチドを作製することができる。さらに、本明細書に提供されたポリペプチドアミノ酸配列の知識は、Ｘ線結晶解析の代わりの、またはそれに付加されるコンピューターモデリング技術を使用するものに指針を提供することになる。

【００４５】

核酸

［００１６３］ 本発明はさらに、本発明のペプチドまたは蛋白質をコードする単離され

た核酸分子を提供する。核酸分子は、本発明のペプチドの１種をコードする核酸配列、その対立遺伝子変異体、またはそのオルソログもしくはパラログからなる、本質的にそれからなる、またはそれを含むことになる。

［００１６４］　本明細書で使用する、“単離された”核酸分子は核酸の天然供与源に存在する別の核酸分子から単離されるものである。好ましくは、“単離された”核酸は、核酸が由来する生物体のゲノムＤＮＡにおいて核酸に天然に隣接する配列（すなわち、核酸の５′および３′末端に位置する配列）が存在しない。重要な点は、核酸が遠隔の、重要でないフランキング配列から単離され、組換え発現、プローブおよびプライマーの作製、および核酸配列に特有の別の用途のような、本明細書に記載の具体的な操作を受けられることである。

［００１６５］　さらに、転写物／ｃＤＮＡ分子のような“単離された”核酸分子には、実質的に他の細胞物質、または組換え技術により産生される場合は培地、または化学的に合成される場合は化学的前駆体もしくは他の化学物質がなくてよい。しかし、核酸分子は別のコーディング配列または調節配列に融合し、そして依然として単離されたと見なすことができる。

［００１６６］　たとえば、ベクターに含まれる組換えＤＮＡ分子は単離されたと見なされる。単離されたＤＮＡ分子の別の例としては、異種宿主細胞に維持された組換えＤＮＡ分子または溶液中の精製された（部分的または実質的に）ＤＮＡ分子が挙げられる。単離されたＲＮＡ分子には、本発明の単離されたＤＮＡ分子のｉｎ　ｖｉｖｏおよびｉｎ　ｖｉｔｒｏＲＮＡ転写物が挙げられる。本発明に記載の単離された核酸にはさらに、合成された分子が挙げられる。

［００１６７］　したがって、本発明はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１～３８に示されたヌクレオチド配列を含む核酸分子、またはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～７６に提供された蛋白質をコードするいずれかの核酸分子を提供する。一つのヌクレオチド配列が一つの核酸分子のヌクレオチド配列を含む場合、該核酸分子は該ヌクレオチド配列を含む。

［００１６８］　したがって、本発明はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１～１１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３～３８およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３に示されたヌクレオチド配列を含む核酸分子、またはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４に提供された蛋白質をコードするいずれかの核酸分子を提供する。一つのヌクレオチド配列が一つの核酸分子の完全ヌクレオチド配列である場合、該核酸分子は該ヌクレオチド配列からなる。

［００１６９］　したがって、本発明はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１～１１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３～３８およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３に示されたヌクレオチド配列からなる核酸分子、またはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４に提供された蛋白質をコードするいずれかの核酸分子を提供する。ヌクレオチド配列が核酸分子の完全ヌクレオチド配列である場合、該核酸分子は該ヌクレオチド配列からなる。

［００１７０］　本発明はさらに、本質的にＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１～１１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３～３８およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３に示されたヌクレオチド配列からなる核酸分子、またはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４に提供された蛋白質をコードするいずれかの核酸分子を提供する。ヌクレオチド配列が最終核酸分子において、ほんのわずかな付加的な核酸残基と共に存在する場合、該核酸分子は本質的にそのようなヌクレオチド配列からなる。

［００１７１］　単離された核酸分子は、成熟蛋白質プラス付加的なアミノもしくはカルボキシル‐末端アミノ酸、または成熟ペプチドの内側のアミノ酸（たとえば、成熟型が１以上のペプチド鎖を有する場合）をコードすることができる。そのような配列は、とりわけ、前駆体から成熟型への蛋白質のプロセシングに役割を果たす、蛋白質輸送を促進する、蛋白質半減期を延長するか、もしくは短縮する、またはアッセイもしくは産生のための蛋白質の操作を促進することができる。

［００１７２］　先に記載のように、単離された核酸分子は以下のものを含むが、それらに限定されない：ペプチドだけをコードする配列、成熟ペプチドをコードする配列および付加的なコーディング配列、たとえばリーダー配列または分泌配列（たとえば、プレプロまたはプロ蛋白質配列）、成熟ペプチドをコードする配列（付加的なコーディング配列、プラスイントロンのような付加的な非コーディング配列を含むか、または含まない）プラス付加的な非コーディング配列、たとえばイントロン、ならびに非コーディング５′および３′配列、たとえば転写、ｍＲＮＡプロセシング（スプライシングおよびポリアデニル化シグナルを含む）、リボソーム結合およびｍＲＮＡの安定性に役割を果たす、転写されるが翻訳されない配列。さらに、核酸分子は、たとえば精製を促進するペプチドをコードするマーカー配列に融合してもよい。

［００１７３］　単離された核酸分子はｍＲＮＡのようなＲＮＡの形状、クローニングにより得られるか、または化学合成技術、もしくはそれらの組み合わせにより産生される、ｃＤＮＡおよびゲノムＤＮＡを含む、ＤＮＡの形状であってよい。核酸、とりわけＤＮＡは２本鎖または１本鎖であってよい。１本鎖核酸はコーディング配列（センス鎖）または非コーディング配列（アンチ‐センス鎖）であってよい。

［００１７４］　本発明はさらに、本発明のペプチドフラグメントをコードする核酸分子、および先に記載の本発明の蛋白質の明白な変異体をコードする核酸分子を提供する。そのような核酸分子は、たとえば、対立遺伝子変異体（同じ遺伝子座）、パラログ（異なる遺伝子座）、およびオルソログ（異なる生物体）のように、天然に存在してもよく、または組換えＤＮＡ法もしくは化学合成により構築されてもよい。そのような、天然に存在しない変異体は、核酸分子、細胞、または生物体に適用される変異誘発技術を含む、そのような変異誘発技術により作製することができる。したがって、先に説明したように、変異体はヌクレオチド置換、欠失、逆位および挿入を含んでいてよい。変異はコーディングおよび非コーディング領域のいずれか、または両方において起こってよい。変異は保存的および非保存的アミノ酸置換の両方を生じることができる。

［００１７５］　フラグメントは、１２以上のヌクレオチドの隣接ヌクレオチド配列を含む。さらに、元のヌクレオチド配列の長さに依存して、少なくとも３０、４０、５０、１００、２５０または５００ヌクレオチドの長さであってよい。フラグメントの長さは、その意図する用途に基づくことになる。たとえば、ペプチド領域を持つエピトープをコードしてもよく、またはＤＮＡプローブおよびプライマーとして有用であってよい。そのようなフラグメントはオリゴヌクレオチドプローブを合成するために公知のヌクレオチド配列を使用して単離することができる。標識したプローブを使用して、コーディング領域に対応する核酸を単離するためにｃＤＮＡライブラリー、ゲノムＤＮＡライブラリー、またはｍＲＮＡをスクリーニングすることができる。さらにＰＣＲ反応において、プライマーを使用して具体的な遺伝子領域をクローニングすることができる。

［００１７６］　プローブ／プライマーは一般に、実質的に精製されたオリゴヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド対を含む。オリゴヌクレオチドは一般に、ストリンジェントな条件下で、少なくとも約１２、２０、２５、４０、５０またはそれ以上の連続ヌクレオチドにハイブリダイズするヌクレオチド配列領域を含む。

［００１７７］　オルソログ、ホモログ、および対立遺伝子変異体は当該技術分野で公知の方法を使用して同定することができる。これらの変異体は、あるヌクレオチド配列に対して一般に６０～７０％、７０～８０％、８０～９０％、そしてより一般には少なくとも約９０～９５％またはそれ以上相同性であるペプチドをコードするヌクレオチド配列を含む。そのような核酸分子は中等度～ストリンジェントな条件下で、ハイブリダイズすることができるものとして容易に同定することができる。対立遺伝子変異体は、コーディング遺伝子の遺伝子座により容易に確認することができる。

［００１７８］　本明細書で使用する“ストリンジェントな条件下でハイブリダイズする”という用語は、お互いに少なくとも６０～７０％相同性なペプチドをコードするヌクレオチド配列が、一般にお互いにハイブリダイズされたままでいる条件下でのハイブリダイゼーションおよび洗浄のための条件を記載することを意図する。該条件は、少なくとも約

６０％、少なくとも約７０％、少なくとも約８０％、少なくとも約９０％、少なくとも約９５％、少なくとも約９８％、または少なくとも約９９％であるかそれ以上お互いに相同性の配列が、お互いにハイブリダイズされたままであるようなものであってよい。そのようなストリンジェントな条件は当業者には公知であり、Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｎ．Ｙ．（１９８９），６．３．１－６．３．６に見出すことができる。ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件の１例は、約４５℃で、６ｘＳＳＣ（塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム）中でのハイブリダイゼーション、続いて５０～６５℃での０．２ｘＳＳＣ、０．１％ ＳＤＳにおける１回以上の洗浄である。中等度から低いストリンジェントなハイブリダイゼーション条件は当該技術分野でよく知られている。

【００４６】

核酸分子の用途

［００１７９］ 本発明の核酸分子はプローブ、プライマー、化学的中間体、および生物学的アッセイにおいて有用である。核酸分子はＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９－４９、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯｓ：５１－７６およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４に示されたペプチドをコードする全長ｃＤＮＡおよびゲノムクローンを単離するため、およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯｓ：３９－４９、ＳＥＱ ＩＤ ＮＯｓ：５１－７６およびＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３１１４に示された同じであるか、または関連するペプチドを産生する変異体（対立遺伝子、オルソログなど）に対応するｃＤＮＡおよびゲノムクローンを単離するためのメッセンジャーＲＮＡ、転写物／ｃＤＮＡおよびゲノムＤＮＡのハイブリダイゼーションプローブとして有用である。

［００１８０］ プローブは核酸分子の全長に沿ったいずれかの配列に対応してよい。したがって、それは５′－非コーディング領域、コーディング領域、および３′－非コーディング領域に由来してよい。

［００１８１］ 核酸分子はまた、核酸分子のいずれか一定の領域を増幅するためのＰＣＲプライマーとしても有用であり、そして所望する長さおよび配列のアンチセンス分子を合成するために有用である。

［００１８２］ 核酸分子はまた、組換えベクターを構築するために有用である。そのようなベクターとしては、ペプチド配列の一部、または全部を発現する発現ベクターが挙げられる。ベクターとしてはさらに、細胞ゲノムのような、別の核酸分子配列に統合し、ゲノムおよび／または遺伝子産物のｉｎ ｓｉｔｕ発現を変化させるために使用される、挿入ベクターが挙げられる。たとえば、内因性コーディング配列は、１以上の具体的に導入された突然変異を含む、コーディング領域の全部または一部との相同組換えにより置換することができる。

［００１８３］ 核酸分子はまた、蛋白質の抗原部分を発言するために有用である。

［００１８４］ 核酸分子はまた、ｉｎ ｓｉｔｕハイブリダイゼーション法の手段により核酸分子の染色体位置を確認するためのプローブとして有用である。

［００１８５］ 核酸分子はまた、本発明の核酸分子の遺伝子調節領域を含むベクターを作製するために有用である。

［００１８６］ 核酸分子はまた、本明細書に記載の核酸分子から産生されるｍＲＮＡの全部、または一部に対応するリボザイムの設計に有用である。

［００１８７］ 核酸分子はまた、ペプチド配列の一部、または全部を発現するベクターの作製に有用である。

［００１８８］ 核酸分子はまた、核酸分子およびペプチドの一部、または全部を発現する宿主細胞の構築に有用である。

［００１８９］ 核酸分子はまた、核酸分子およびペプチドの一部、または全部を発現するトランスジェニック動物の構築に有用である。

［００１９０］ 核酸分子はまた、核酸発現の存在、レベル、形状および分布を確認するためのハイブリダイゼーションプローブとして有用である。したがって、プローブを使用して、細胞、組織、または生物体における具体的な核酸分子の存在を検出するか、または

レベルを確認することができる。レベルが確認される核酸はＤＮＡまたはＲＮＡであってよい。したがって、本明細書に記載のペプチドに対応するプローブを使用して、一定の細胞、組織、または生物体における発現および／またはコピー数を評価することができる。これらの用途は、蛋白質発現の正常な結果に比較した増加または減少を含む、障害の診断に適切である。

［００１９１］　プローブは蛋白質を発現する細胞または組織を同定するための診断試験キットの一部として使用することができる。

【００４７】

核酸発現アッセイ

［００１９２］　核酸発現アッセイは核酸の発現を調節する化合物を同定するための薬物スクリーニングに有用である。

［００１９３］　そのような化合物を使用して、遺伝子の核酸発現、とりわけ遺伝子を発現する細胞および組織において、それによって媒介される生物学的および病理学的過程に関連した障害を処置することができる。当該方法は一般に、核酸の発現を調節するための化合物の能力をアッセイすること、したがって所望する核酸発現によって特徴付けられる障害を処置するために使用することができる化合物を同定することを含む。アッセイは細胞を基礎にした系および無細胞系で行うことができる。細胞を基礎にしたアッセイは、核酸を天然に発現する細胞、または具体的な核酸配列を発現するように遺伝的に操作された組換え細胞を含む。

［００１９４］　核酸発現のアッセイにはｍＲＮＡレベルのような、核酸レベルの直接アッセイを挙げることができる。この態様において、これらの遺伝子の調節領域には、ルシフェラーゼのようなレポーター遺伝子が作動可能に結合していてよい。

［００１９５］　したがって、遺伝子発現の調節物質は、候補化合物と細胞が接触し、ｍＲＮＡの発現が測定される方法において同定することができる。候補化合物の存在下でのｍＲＮＡの発現レベルを、候補化合物の非存在下でのｍＲＮＡの発現レベルに比較する。候補化合物は次にこの比較に基づき核酸発現の調節物質として同定され、たとえば異常な核酸発現により特徴付けられる障害を治療するために使用することができる。ｍＲＮＡの発現が候補化合物の非存在下に比べ、その存在下で統計的に有意に多い場合、候補化合物は核酸発現の刺激物質として同定される。核酸発現が候補化合物の非存在下に比べ、その存在下で統計的に有意に少ない場合、候補化合物は核酸発現の阻害物質として同定される。

［００１９６］　本発明はさらに、核酸を発現する細胞および組織における核酸発現を調節する遺伝子調節物質として薬物スクリーニングにより同定された化合物を使用した、標的としての核酸による処置の方法を提供する。調節には、核酸発現のアップレギュレーション（すなわち、活性化または活発化）またはダウンレギュレーション（抑制または拮抗）が挙げられる。

［００１９７］　あるいは、本明細書に記載の薬物スクリーニングを使用して同定された薬物または小分子が、蛋白質を発現する細胞および組織において核酸発現を阻害する限り、核酸発現の調節物質はそのような薬物または小分子であってよい。

［００１９８］　核酸分子はまた、臨床試験または処置計画において、遺伝子の発現または活性を調節する化合物の有効性をモニターするために有用である。したがって、遺伝子発現パターンは化合物、とりわけ患者が耐性を獲得することができる化合物による処置の有効性を継続するためのバロメーターとして役立ってよい。遺伝子発現パターンはまた、化合物に影響を受けた細胞の生理的反応を示すマーカーとして役立ってよい。したがって、そのようなモニタリングが、化合物の投与量を増大、または患者が耐性にならない代わりの化合物の投与のいずれかを可能にすることになる、同様に、核酸発現のレベルが所望するレベル以下に低下する場合、化合物の投与は、それに対応して減少させてよい。

【００４８】

核酸診断

［００１９９］　核酸分子はまた、核酸発現の定性的変化、およびとりわけ病状を引き起

こす定性的変化の診断アッセイにおいて有用である。核酸分子を使用して、遺伝子における突然変異およびｍＲＮＡのような遺伝子発現産物を検出することができる。核酸分子は、遺伝子において天然に存在する遺伝的突然変異を検出し、そしてそれによって突然変異を持つ対象が突然変異により引き起こされる障害のリスクを有するかどうかを確認するためのハイブリダイゼーションプローブとして使用することができる。突然変異には、遺伝子の１以上のヌクレオチドの欠失、付加、もしくは置換、染色体再配列、たとえば逆位もしくは転座、ゲノムＤＮＡの改変、たとえば異常なメチル化パターンまたは遺伝子コピー数の変化、たとえば増幅が挙げられる。機能障害に伴う遺伝子の変異型は、疾患が蛋白質の過剰発現、過少発現、または変化した発現から生じる場合、活性な疾患または疾患への感受性に対する診断手段を提供する。

［００２００］　遺伝子に突然変異を有する個体は種々の技術により、核酸レベルで検出することができる。ゲノムＤＮＡは直接解析してもよく、または解析前に、ＰＣＲを使用することにより増幅してもよい。ＲＮＡまたはｃＤＮＡは同じように使用することができる。ある種の用途では、突然変異の検出は、アンカーポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）またはＲＡＣＥ　ＰＣＲのようなＰＣＲ（たとえば、米国特許第４，６８３，１９５号および第４，６８３，２０２号を参照されたい）または、かわりにリゲーション連鎖反応（ＬＣＲ）（たとえば、Ｌａｎｄｅｇｒａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４１：１０７７－１０８０（１９８８）；およびＮａｋａｚａｗａ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ　９１：３６０－３６４（１９９４）を参照されたい）におけるプローブ／プライマーの使用を含み、後者の反応はとりわけ、遺伝子における点突然変異の検出に有用である（たとえば、Ａｂｒａｖａｙａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２３：６７５－６８２（１９９５）を参照されたい）。この方法は、患者から細胞試料を集める、試料の細胞から核酸（たとえば、ゲノム、ｍＲＮＡまたは両方）を単離する、遺伝子（存在する場合）のハイブリダイゼーションおよび増幅が起きるような条件下で、該遺伝子にとりわけハイブリダイズする１以上のプライマーと核酸試料を接触させる、および増幅産物の存在の有無を検出するか、または増幅産物のサイズを検出し、そして対照試料の長さと比較する工程を含む。欠失および挿入は、正常な遺伝子型に比べた、増幅された型のサイズの変化により検出することができる。点突然変異は増幅されたＤＮＡと正常なＲＮＡまたはアンチセンスＤＮＡ配列をハイブリダイズすることにより同定することができる。

［００２０１］　あるいは、遺伝子における突然変異は、たとえば、ゲル電気泳動により確認される制限酵素消化パターンの変化により直接同定することができる。

［００２０２］　さらに、配列‐特異的リボザイム（米国特許第５，４９８，５３１号）を使用して、リボザイム開裂部位の発生または消失により具体的な突然変異の存在を評価することができる。完全に適合した配列は、ヌクレアーゼ開裂消化アッセイまたは融解温度の差によりミスマッチ配列と区別することができる。

［００２０３］　具体的な位置における配列変化はまた、ＲＮアーゼおよびＳＩ保護のようなヌクレアーゼ保護アッセイ、または化学的開裂により評価することができる。さらに、変異遺伝子および野生型遺伝子間の配列差は直接ＤＮＡ配列決定により決定することができる。診断アッセイ（Ｎａｅｖｅ，Ｃ．Ｗ．，（１９９５）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１９：４４８）を行う場合、質量分析による配列決定（たとえば、ＰＣＴ国際公開番号ＷＯ９４／１６１０１；Ｃｏｈｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｄｖ．Ｃｈｒｏｍａｔｏｇｒ．３６：１２７－１６２（１９９６）；およびＧｒｉｆｆｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｐｐｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌ．３８：１４７－１５９（１９９３）を参照されたい）を含む、種々の自動配列決定法を使用することができる。

［００２０４］　遺伝子における突然変異を検出するための別の方法には以下のものが挙げられる：開裂物質からの保護を使用して、ＲＮＡ／ＲＮＡまたはＲＮＡ／ＤＮＡデュープレックスにおけるミスマッチ塩基を検出する（Ｍｙｅｒｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ　２３０：１２４２（１９８５））；Ｃｏｔｔｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ　８５：４３９７（１９８８）；Ｓａｌｅｅｂａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｅｔｈ．Ｅｎｚｙｍｏｌ．２１７：２８６－２９５（１９９２））、突然変異体および野生型核酸の電気泳動度を比

較する（Ｏｒｉｔａ ｅｔ ａｌ．，ＰＮＡＳ ８６：２７６６（１９８９）；Ｃｏｔｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ｍｕｔａｔ．Ｒｅｓ．２８５：１２５－１４４（１９９３）；およびＨａｙａｓｈｉ ｅｔ ａｌ．，Ｇｅｎｅｔ．Ａｎａｌ．Ｔｅｃｈ．Ａｐｐｌ．９：７３－７９（１９９２））、および変性剤のグラジエントを含むポリアクリルアミドゲルにおける変異体または野生型フラグメントの動きを、変性グラジエントゲル電気泳動を使用してアッセイする（Ｍｙｅｒｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ ３１３：４９５（１９８５））。点突然変異を検出するための別の技術の例としては、選択的オリゴヌクレオチドハイブリダイゼーション、選択的増幅、および選択的プライマー伸長が挙げられる。

［００２０５］　遺伝子増幅および／または発現は、試料において直接測定することができる。あるいは、ＤＮＡデュープレックス、ＲＮＡデュープレックス、およびＤＮＡ‐ＲＮＡハイブリッドデュープレックスまたはＤＮＡ‐蛋白質デュープレックスを含む、具体的なデュープレックスを認識することができる抗体を使用することができる。同様に抗体を標識して、デュープレックスが表面に結合し、その結果表面上でのデュープレックスの形成時にデュープレックスに結合した抗体の存在を検出することができるアッセイを行うことができる。

［００２０６］　あるいは、遺伝子発現を細胞または組織切片の免疫組織化学的染色のような免疫学的方法および細胞培養物または体液のアッセイにより測定し、遺伝子産物の発現を直接定量することができる。免疫組織化学的染色および／または試料液のアッセイに有用な抗体は、モノクローナルまたはポリクローナルのいずれであってもよく、どのような哺乳類においても作製することができる。好都合には、抗体は天然配列ポリペプチド、または本明細書に記載のＤＮＡ配列に基づいた合成ペプチド、またはＤＮＡに融合し、具体的抗体エピトープをコードする外因性配列に対して作製することができる。

［００２０７］　核酸分子はまた、必ずしも疾患を引き起こさないが、それにもかかわらず処置の様式に影響を与える遺伝子型に関して個体を試験するために有用である。したがって、核酸分子を使用して、個体の遺伝子型と処置に使用される化合物に対する個体の反応間の関連（薬物ゲノム関係）を研究することができる。したがって、本明細書に記載の核酸分子を使用して、処置のための適切な化合物または投与計画を選択するために、個体における遺伝子の突然変異含量を評価することができる。

［００２０８］　したがって、処置に影響を与える遺伝的変動を提示する核酸分子は個体において処置を適合させるために使用することができる診断標的を提供する。したがって、これらの多形を含む、組換え体細胞および動物の産生が処置化合物および投与計画の効果的な臨床設計を可能にする。

［００２０９］　本発明はアンチセンス化合物、とりわけオリゴヌクレオチドに関し、それらは本発明のポリペプチドをコードする核酸分子を標的とし、そして本発明のポリペプチドの発現を調節する。さらに、本発明のアンチセンス化合物を含む薬剤的および他の組成物が提供される。さらに、上記細胞または組織と、１以上のアンチセンス化合物または本発明の組成物を接触させることを含む、細胞または組織において本発明のポリペプチドの発現を調節する方法が提供される。さらに、本発明のポリペプチドに関連した疾患または状態を有するか、またはそれになりやすいと考えられる動物、とりわけヒトを、本発明の１以上のアンチセンス化合物または組成物の治療的または予防的有効量を投与することにより処置する方法が提供される。

［００２１０］　したがって、核酸分子は細胞、組織および生物体における遺伝子発現を制御するためのアンチセンス構築物として有用である。ＤＮＡアンチセンス核酸分子は、転写に関与する遺伝子の領域に相補的であるように設計され、転写、したがって蛋白質産生を妨害する。アンチセンスＲＮＡまたはＤＮＡ核酸分子は、開始ＡＵＧコドンを標的とする場合、ｍＲＮＡにハイブリダイズし、ｍＲＮＡの蛋白質への翻訳を阻害する。あるいは、ＤＮＡアンチセンス分子は標的ｍＲＮＡのＲＮアーゼＨ‐依存的分解を刺激することにより遺伝子発現を調節することができる。アンチセンスオリゴヌクレオチドは、ホスホロチオエート、ポリアミドまたはモルホリノ基のような改善された特性を授ける、改変された核酸を含むことが期待される。

［００２１１］　あるいは、あるクラスのアンチセンス分子は核酸の発現を減少させるためにｍＲＮＡの不活性化に使用することができる。したがって、これらの分子は異常な、または望ましくない核酸発現により特徴付けられる障害を処置することができる。この技術は、ｍＲＮＡの１以上の領域に相補的で、ｍＲＮＡが翻訳される能力を低下させるヌクレオチド配列を含むリボザイムによる開裂を包含する。可能な領域にはコーディング領域、とりわけ基質結合のような、蛋白質の触媒的、または別の機能的活性に対応するコーディング領域が挙げられる。

［００２１２］　さらに、核酸を使用して小分子干渉ＲＮＡ（ｓｉＲＮＡ）を生成することができ、標的ｍＲＮＡを発現する細胞に送達されると、そのＲＮＡレベルの減少、したがってそのＲＮＡにより発現される蛋白質の減少を導くことができる（Ｅｌｂａｓｈｉｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｅｓ　ａｎｄ　Ｄｅｖｅｌｏｐｍｅｎｔ．１５：１８８－２００，２００１）。ｓｉＲＮＡの作製は市販のキット（ＭＥＧＡｓｃｒｉｐｔ　ＲＮＡｉ　Ｋｉｔ，Ａｍｂｉｏｎ，Ｉｎｃ．Ａｕｓｔｉｎ，Ｔｘ）を使用して行うことができる。

［００２１３］　核酸分子はまた、遺伝子発現が異常である細胞を含む患者における遺伝子治療のためのベクターを提供する。したがって、ｅｘ　ｖｉｖｏで操作され、患者に戻されている患者の細胞を含む組換え細胞が個体に導入され、そこで細胞は所望する蛋白質を産生し、個体を処置する。

［００２１４］　本発明はまた、生体試料における核酸の存在を検出するためのキットを包含する。たとえば、キットは生体試料中の核酸を検出することができる標識または標識可能な核酸のような試薬；試料中の核酸の量を測定するための手段；および試料中の核酸の量を標準物と比較するための手段を含むことができる。化合物または物質は適切な容器に入れることができる。キットはさらに、蛋白質ｍＲＮＡまたはＤＮＡを検出するキットを使用するための説明書を含むことができる。

【００４９】

ベクター／宿主細胞

［００２１５］　本発明はまた、本明細書に記載の核酸分子を含むベクターを提供する。“ベクター”という用語はベヒクル、好ましくは核酸分子を表し、それは複数の核酸分子を輸送することができる。ベクターが核酸分子である場合、複数の核酸分子がベクター核酸に共有結合的に結合する。本発明のこの側面では、ベクターにはプラスミド、１本鎖もしくは２本鎖ファージ、１本鎖もしくは２本ＲＮＡもしくはＤＮＡウイルスベクター、またはＢＡＣ、ＰＡＣ、ＹＡＣ、またはＭＡＣのような人工染色体が挙げられる。

［００２１６］　ベクターは染色体外因子として宿主細胞に維持され、そこで核酸分子の付加的なコピーを産生する。あるいは、ベクターは宿主細胞ゲノムに統合され、宿主細胞が複製するときに付加的な核酸分子のコピーを産生してもよい。

［００２１７］　本発明は核酸分子の維持（クローニングベクター）のためのベクターまたは発現のためのベクター（発現ベクター）を提供する。ベクターは原核細胞もしくは真核細胞において、または両方（シャトルベクター）において機能することができる。

［００２１８］　発現ベクターは、ベクター中で核酸分子に作動可能に結合したｃｉｓ‐作動性調節領域を含み、その結果核酸分子が宿主細胞において転写される。核酸分子は、転写に影響を与えることができる、別個の核酸分子と共に宿主細胞に導入することができる。したがって、第２の核酸分子はｃｉｓ‐調節性制御領域と相互作用する、ｔｒａｎｓ‐作用因子を提供し、ベクターからの核酸分子の転写を可能にする。あるいは、ｔｒａｎｓ‐作用因子は、宿主細胞により供給されてもよい。結局、ｔｒａｎｓ‐作用因子はベクター自体から産生することができる。しかし、ある種の態様において、核酸分子の転写および／または翻訳は無細胞系で起きてもよいと理解すべきである。

［００２１９］　本発明に記載の核酸分子が作動可能に結合することができる調節配列はｍＲＮＡ転写を検出するためのプロモーターを含む。これらには、バクテリオファージλ由来の左プロモーター、大腸菌由来のｌａｃ、ＴＲＰおよびＴＡＣプロモーター、ＳＶ４０由来の初期および後期プロモーター、ＣＭＶ極初期プロモーター、アデノウイルス初期および後期プロモーター、およびレトロウイルス長‐末端反復配列が挙げられるが、これ

らに限定されない。

［００２２０］　転写を促進する領域を制御することのほかに、発現ベクターはさらに、レプレッサー結合部位およびエンハンサーのような転写を調節する領域を含む。例としては、ＳＶ４０エンハンサー、サイトメガロウイルス極初期エンハンサー、ポリオーマエンハンサー、アデノウイルスエンハンサー、およびレトロウイルスＬＴＲエンハンサーが挙げられる。

［００２２１］　転写開始および制御のための部位を含むことに加え、発現ベクターは転写終止のために必要な配列、および転写領域では翻訳のためのリボソーム結合部位を含んでいてよい。発現のための別の制御エレメントには、開始および終止コドンならびにポリアデニル化シグナルが挙げられる。当業者は、発現ベクターにおいて有用な多数の調節配列を知っているであろう。そのような調節配列はたとえば、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ．３ｒｄ．ｅｄ．，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．，（２００１）に記載される。

［００２２２］　種々の発現ベクターを使用して、核酸分子を発現させることができる。そのようなベクターには、染色体、エピゾーム、およびウイルス由来ベクター、たとえば、細菌プラスミド由来、バクテリオファージ由来、酵母エピゾーム由来、酵母人工染色体を含む酵母染色体エレメント由来、ウイルス、たとえばバキュロウイルス、ＳＹ４０のようなパポバウイルス、ワクシニアウイルス、アデノウイルス、ポックスウイルス、偽狂犬病ウイルス、およびレトロウイルス由来のベクターが挙げられる。ベクターはまた、プラスミドおよびバクテリオファージ遺伝エレメント、たとえばコスミドおよびファージミド由来のもののような、これらの供与源の組み合わせに由来してもよい。原核および真核宿主のための適切なクローニングおよび発現ベクターはＳａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ．３ｒｄ．ｅｄ．，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．，（２００１）に記載される。

［００２２３］　調節配列は１以上の宿主細胞における構成的発現（すなわち組織特異的）を提供してよく、または１以上の細胞型において、温度、栄養素添加物、またはホルモンもしくは別のリガンドのような外因性因子によるような誘導発現を提供してもよい。原核および真核宿主における構成的および誘導発現を提供する種々のベクターは当業者によく知られている。

［００２２４］　核酸分子は公知の方法によりベクター核酸に挿入することができる。一般に、最後に発現されることになるＤＮＡ配列は、ＤＮＡ配列および１以上の制限酵素を持つ発現ベクターを開裂し、その後フラグメントを一緒に連結することにより発現ベクターに結合する。制限酵素消化および結合の手順は当業者によく知られている。

［００２２５］　適切な核酸分子を含むベクターは、公知の技術を使用して増殖または発現のために適切な宿主細胞に導入することができる。細菌細胞には、大腸菌、放線菌、およびネズミチフス菌が挙げられるが、それらに限定されない。真核細胞には酵母、ショウジョウバエのような昆虫細胞、ＣＯＳおよびＣＨＯのような動物細胞、および植物細胞が挙げられるが、それらに限定されない。

［００２２６］　本明細書に記載のように、融合蛋白質としてペプチドを発現することが望ましくてよい。したがって、本発明はペプチドの産生を考慮した融合ベクターを提供する。融合ベクターは組換え蛋白質の発現を増大させ、組換え蛋白質の溶解度を増大させ、そして親和性精製のためのリガンドのように作用することにより蛋白質の精製を促進させることができる。蛋白質分解開裂部位は融合部分の接合部に導入され、その結果所望するペプチドを結局開裂部分から単離することができる。蛋白質分解酵素には、第Ｘａ因子、トロンビン、およびエンテロリパーゼが挙げられるが、それらに限定されない。一般的な融合発現ベクターには、ｐＧＥＸ（Ｓｍｉｔｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｅ　６７：３１－４０（１９８８））、ｐＭＡＬ（Ｎｅｗ　Ｅｎｇｌａｎｄ　Ｂｉｏｌａｂｓ，Ｂｅｖｅｒ

ｌｙ，Ｍａｓｓ．）およびｐＲＩＴ５（Ｐｈａｒｍａｃｉａ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，Ｎ．Ｊ．）が挙げられ、それらはグルタチオンＳ－トランスフェラーゼ（ＧＳＴ）、マルトースＥ結合蛋白質、または蛋白質Ａをそれぞれ標的組換え蛋白質に融合させる。適切な誘導、非融合大腸菌発現ベクターの例としては、ｐＴｒｃ（Ａｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｅ　６９：３０１－３１５（１９８８））およびｐＥＴ　１１ｄ（Ｓｔｕｄｉｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｅ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　１８５：６０－８９（１９９０））が挙げられる。

［００２２７］　宿主細胞が組換え蛋白質を蛋白質分解的に開裂する能力が障害されているという遺伝的背景を提供することにより、宿主細菌において組換え蛋白質発現を最大化することができる。（Ｇｏｔｔｅｓｍａｎ，　Ｓ．，Ｇｅｎｅ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ　Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ：Ｍｅｔｈｏｄｓ　ｉｎ　Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ　１８５，Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．（１９９０）１１９－１２８）。あるいは、関心のある核酸分子の配列を変化させて、たとえば大腸菌のような具体的な宿主細胞に対する好ましいコドンの使用を提供することができる（Ｗａｄａ　ｅｔ　ａｌ．，　Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．２０：２１１１－２１１８（１９９２））。

［００２２８］　核酸分子はまた、酵母において有効な発現ベクターにより発現されてもよい。酵母、たとえばパン酵母における発現のためのベクターの例としてはｐＹｅｐＳｅｃ１（Ｂａｌｄａｒｉ，　ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｊ．６：２２９－２３４（１９８７））、ｐＭＦａ（Ｋｕｒｊａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ　３０：９３３－９４３（１９８２））、ｐＪＲＹ８８（Ｓｃｈｕｌｔｚ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｅ　５４：１１３－１２３（１９８７））およびｐＹＥＳ２（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ　Ｃｏｒｐｏｒａｔｉｏｎ，Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆ．）が挙げられる。

［００２２９］　核酸分子はまた、たとえばバキュロウイルス発現ベクターを使用して、昆虫細胞に発現されてもよい。培養した昆虫細胞（たとえばＳｆ９細胞）において蛋白質の発現に利用できるベクターには、ｐＡｃ系（Ｓｍｉｔｈ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ　Ｂｉｏｌ．３：２１５６－２１６５（１９８３））およびｐＶＬ系（Ｌｕｃｋｌｏｗ　ｅｔ　ａｌ．，Ｖｉｒｏｌｏｇｙ　１７０：３１－３９（１９８９））が挙げられる。

［００２３０］　本発明のある種の態様において、本明細書に記載の核酸分子は、哺乳類発現ベクターを使用して哺乳類細胞に発現される。哺乳類発現ベクターの例としては、ｐＣＤＭ８（Ｓｅｅｄ，Ｂ．Ｎａｔｕｒｅ　３２９：８４０（１９８７））およびｐＭＴ２ＰＣ（Ｋａｕｆｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＥＭＢＯ　Ｊ．６：１８７－１９５（１９８７））が挙げられる。

［００２３１］　本明細書に記載の発現ベクターは、当業者が使用することができる、核酸分子を発現するために有用な公知のベクターの例だけのために提供される。当業者は、本明細書に記載の核酸分子の維持増殖または発現に適切な別のベクターに詳しいであろう。これらは、たとえばＳａｍｂｒｏｏｋ，Ｊ．，Ｆｒｉｔｓｈ，Ｅ．Ｆ．，ａｎｄ　Ｍａｎｉａｔｉｓ，Ｔ．Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ．３ｒｄ，ｅｄ．，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．，２００１に見出される。

［００２３２］　本発明はまた、本明細書に記載の核酸分子が逆配向でベクターにクローニングされるが、アンチセンスＲＮＡの転写を可能にする調節配列に作動可能に結合するベクターを包含する。したがって、アンチセンス転写物は、コーディングおよび非コーディング領域の両方を含む、本明細書に記載の核酸分子配列の全部、または一部に対して産生される。このアンチセンスＲＮＡの発現は、センスＲＮＡの発現（調節配列、構成または誘導発現、組織特異的発現）に関連して先の記載のパラメーターのそれぞれに従う。

［００２３３］　本発明はまた、本明細書に記載のベクターを含む、組換え宿主細胞に関する。宿主細胞にはしたがって、原核細胞、酵母のような下等真核細胞、昆虫細胞のよう

な別の真核細胞、および哺乳類細胞のような高等真核細胞が挙げられる。
［００２３４］　組換え宿主細胞は、当業者が容易に使用できる技術により、本明細書に記載のベクター構築物を細胞に導入することにより作製できる。これらには、燐酸カルシウムトランスフェクション、ＤＥＡＥ‐デキストラン‐媒介トランスフェクション、カチオン脂質‐媒介トランスフェクション、エレクトロポレーション、形質導入、感染、リポフェクション、およびＳａｍｂｒｏｏｋ，　ｅｔ　ａｌ．（Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｃｌｏｎｉｎｇ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ．３ｒｄ，ｅｄ．，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．，２００１）に見出されるような別の技術が挙げられるが、それらに限定されない。
［００２３５］　宿主細胞は１以上のベクターを含むことができる。したがって、異なるヌクレオチド配列が同じ細胞の異なるベクターに導入されてよい。同様に、核酸分子は単独で、またはその核酸分子に関連しない発現ベクターに対するトランス‐作用因子を提供するもののような、別の核酸分子と一緒に導入されてもよい。１以上のベクターが細胞に導入される場合、ベクターは独立して導入、共導入、または核酸分子ベクターと結合してもよい。
［００２３６］　バクテリオファージおよびウイルスベクターの場合、これらは感染および形質導入のための標準手順により、パッケージまたは封入ウイルスとして細胞に導入されてよい。ウイルスベクターは、複製‐コンピテント、または複製‐欠陥であってよい。ウイルス複製が欠陥の場合、複製は宿主細胞で起こり、欠陥を補足する機能を提供することになる。
［００２３７］　ベクターは一般に、組換えベクター構築物を含む細胞の亜集団の選択を可能にする、選択可能なマーカーを含む。マーカーは、本明細書に記載の核酸分子を含む同じベクター中に含まれていてもよく、または別個のベクター上にあってもよい。マーカーは原核細胞に対してはテトラサイクリンまたはアンピシリン‐耐性遺伝子、真核宿主細胞に対してはジヒドロフォレートレダクターゼまたはネオマイシン耐性を含む。しかし、表現型特性に対する選択を提供するいずれのマーカーも効果的であろう。
［００２３８］　成熟蛋白質は適切な調節配列の制御下で細菌、酵母、哺乳類細胞、およびその他の細胞において産生されてよいが、無細胞転写および翻訳系を使用して、本明細書に記載のＤＮＡ構築物に由来するＲＮＡからこれらの蛋白質を産生してもよい。
［００２３９］　複数の膜貫通ドメインを含む蛋白質により行うことが困難な蛋白質の分泌が所望される場合、適切な分泌シグナルがベクターに包含される。シグナル配列はペプチドに対して内因性であってもよく、またはこれらのペプチドに対して異種であってもよい。
［００２４０］　ペプチドが培地に分泌されない場合、蛋白質は凍結融解、超音波処理、機械的破壊、溶解物質の使用などを含む標準破壊手順により宿主細胞から単離してよい。次にペプチドを回収し、硫酸アンモニウム沈殿、酸抽出、アニオンもしくはカチオン‐交換クロマトグラフィー、ホスホセルロースクロマトグラフィー、疎水性‐相互作用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、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、レシチンクロマトグラフィー、または高性能液体クロマトグラフィーを含む、公知の精製法により精製することができる。
［００２４１］　本明細書に記載のペプチドの組換え産生における宿主細胞に依存して、ペプチドは細胞に依存した種々のグリコシル化パターンを有してよく、または細菌で産生される場合はグリコシル化されていなくてもよい。さらに、ペプチドは宿主‐媒介工程の結果、ある場合には、初期に改変されたメチオニンを含んでいてよい。
【００５０】
ベクターおよび宿主細胞の使用
［００２４２］　本明細書に記載の蛋白質を発現する組換え宿主細胞は、種々の用途を有する。初めに、該細胞はさらに精製されて所望する量の蛋白質を産生することができる蛋白質を産生するために有用である。したがって、発現ベクターを含む宿主細胞は蛋白質産

生に有用である。

［００２４３］　宿主細胞はまた、蛋白質または蛋白質フラグメントを含む、細胞を基礎にしたアッセイ、たとえば先に記載のものおよび当該技術分野で公知の別の形式を行うために有用である。したがって、天然の蛋白質を発現する組換え宿主細胞は、蛋白質機能を刺激または阻害する化合物のアッセイに有用である。

［００２４４］　宿主細胞はまた、これらの機能が影響を受ける蛋白質突然変異体を同定するために有用である。突然変異体が天然に存在し、病状を引き起こす場合、突然変異体を含む宿主細胞は変異蛋白質に対して所望する作用（たとえば、機能を刺激する、または阻害する）を有し、天然の蛋白質に対してはそれらの作用を示してはいけない化合物のアッセイに有用である。

【００５１】

トランスジェニック動物

［００２４５］　遺伝的に操作された宿主細胞はさらに非ヒトトランスジェニック動物を作製するために使用することができる。トランスジェニック動物は好ましくは哺乳類、たとえばラットまたはマウスのような齧歯類であり、そのような動物の１以上の細胞はトランスジーンを含む。トランスジーンは外来ＤＮＡであり、それは細胞のゲノムに組み込まれ、そこからトランスジェニック動物が発生し、トランスジェニック動物の１以上の細胞型または組織中の成熟動物ゲノムに留まる。これらの動物は蛋白質の機能を研究し、蛋白質活性の調節因子を同定し、評価するために有用である。トランスジェニック動物の別の例としては非ヒト霊長類、ヒツジ、イヌ、ウシ、ヤギ、ニワトリ、および両生類が挙げられる。

［００２４６］　トランスジェニック動物は、受精した卵母細胞の雄前核に、たとえばマイクロインジェクション、レトロウイルス感染により核酸を導入し、偽妊娠した雌の里親動物中で卵母細胞を成長させることにより作製することができる。どんな蛋白質ヌクレオチド配列も非ヒト動物、たとえばマウスのゲノムにトランスジーンとして導入することができる。

［００２４７］　発現ベクターに有用な調節または別の配列のいずれかはトランスジェニック配列の一部を形成することができる。これには、すでに含まれていなければイントロン配列およびポリアデニル化シグナルが挙げられる。組織特異的調節配列（複数の配列）はトランスジーンに作動可能に結合し、特定の細胞に蛋白質を発現させることができる。

［００２４８］　胚操作およびマイクロインジェクションにより、トランスジェニック動物、とりわけマウスのような動物を作製する方法は、当該技術分野では慣用になっていて、たとえば、Ｌｅｄｅｒ　ｅｔ　ａｌ．による米国特許第４，７３６，８６６号および第４，８７０，００９号，Ｗａｇｎｅｒ　ｅｔ　ａｌ．による米国特許第４，８７３，１９１号、ならびにＨｏｇａｎ，　Ｂ．，Ｍａｎｉｐｕｌａｔｉｎｇ　ｔｈｅ　Ｍｏｕｓｅ　Ｅｍｂｒｙｏ，（Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｐｒｅｓｓ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ，Ｎ．Ｙ．，１９８６）に記載される。類似の方法が別のトランスジェニック動物の作製に使用される。トランスジェニック技術により作製された動物は、そのゲノムにおけるトランスジーンの存在、および／または動物の組織もしくは細胞におけるトランスジェニックｍＲＮＡの発現に基づいて同定することができる。次にトランスジェニック技術により作製された動物を使用して、トランスジーンを持つ別の動物を繁殖させることができる。さらに、トランスジーンを持つトランスジェニック動物はその上、別のトランスジーンを持つ別のトランスジェニック動物に交配させることができる。トランスジェニック動物はまた、動物全体または動物の組織が本明細書に記載の同種組換え宿主細胞を使用して作製されている動物を包含する。

［００２４９］　別の態様において、トランスジーンの調節された発現を考慮した、選択された系を含むトランスジェニック非ヒト動物を作製することができる。そのような系の１例としては、バクテリオファージＰ１のｃｒｅ／ｌｏｘＰレコンビナーゼ系が挙げられる。ｃｒｅ／ｌｏｘＰレコンビナーゼ系の説明としては、Ｌａｋｓｏ　ｅｔ　ａｌ．ＰＮＡＳ　８９：６２３２－６２３６（１９９２）を参照されたい。レコンビナーゼ系の別の

例としては、パン酵母のＦＬＰレコンビナーゼ系が挙げられる（Ｏ’Ｇｏｒｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．Ｓｃｉｅｎｃｅ　２５１：１３５１－１３５５（１９９１））。ｃｒｅ／ｌｏｘＰレコンビナーゼ系を使用してトランスジーンの発現を調節する場合、Ｃｒｅレコンビナーゼおよび選択された蛋白質の両方をコードするトランスジーンを含む動物が要求される。そのような動物は“ダブル”トランスジェニック動物の構築により、たとえば一方が選択された蛋白質をコードするトランスジーンを含み、他方がレコンビナーゼをコードするトランスジーンを含む２種の動物を交配させることにより提供することができる。

［００２５０］　本明細書に記載の非ヒトトランスジェニック動物のクローンはまた、Ｗｉｌｍｕｔ，Ｉ．ｅｔ　ａｌ．Ｎａｔｕｒｅ　３８５：８１０－８１３（１９９７）ならびにＰＣＴ国際公開番号第ＷＯ　９７／０７６６８号およびＷＯ　９７／０７６６９に記載の方法に従って作製することができる。手短に述べると、トランスジェニック動物由来の細胞、たとえば体細胞を単離して、増殖周期をでて、G_0期に入るように誘導することができる。静止細胞は次に、たとえば電気パルスの使用により、静止細胞が単離された同じ種の動物由来の除核卵母細胞に融合させることができる。再構築された卵母細胞は次に、桑実胚または胞胚に成長するまで培養し、偽妊娠雌里親動物に移す。この雌里親動物から生まれた子孫は細胞、たとえば体細胞が単離される動物のクローンである。

［００２５１］　本明細書に記載のペプチドを発現する組み換え細胞を含むトランスジェニック動物はｉｎ　ｖｉｖｏにおいて本明細書に記載のアッセイを行うために有用である。したがって、ｉｎ　ｖｉｖｏに存在し、基質を結合させ、蛋白質を活性化することができる種々の生理的因子はｉｎ　ｖｉｔｒｏまたは細胞を基礎にしたアッセイからは明白でない。したがって、基質相互作用を含む蛋白質機能、蛋白質機能および基質相互作用に対する具体的な変異蛋白質の作用、ならびにキメラ蛋白質の作用を含むｉｎ　ｖｉｖｏ蛋白質機能をアッセイするための非ヒトトランスジェニック動物を提供することは有用である。さらに、１以上の蛋白質機能を実質的に、または完全に除去する突然変異であるヌル突然変異の作用を評価することができる。

［００２５２］　上記明細書に記載されたすべての刊行物および特許は参照として本明細書に援用される。本発明の記載された方法および系の種々の改変および変更は、本発明の範囲および意図から逸脱することなく、当業者に明らかであろう。本発明は具体的な好ましい態様に関連して記載されているが、主張された本発明はそのような具体的な態様に不適切に限定されるべきではないと理解すべきである。実際、分子生物学の分野または関連分野における当業者には明白な、本発明の実行のための先に記載の様式の種々の改変は、以下の特許請求の範囲内であることが意図される。

【００５２】

マイクロアレイ構築およびエレメント選択

［００２５３］　化学カップリング手順およびインクジェット装置を使用して、基質表面にアレイエレメントを合成することができる（Ｇａｍｂｌｅ　ｅｔ　ａｌ．米国特許第５９８１７３３号を参照されたい）。ドットまたはスロットブロットに類似のアレイを使用して、加熱式、ＵＶ、機械的、または化学的結合手順により、基質の表面にエレメントを配列および結合させることができる。一般的なアレイは手により、または利用可能な方法および機械を使用して作製し、いずれか適切な数のエレメントを含むことができる。ハイブリダイゼーション後、ハイブリダイズされないプローブを除去し、スキャナーを使用して蛍光のレベルおよびパターンを測定する。マイクロアレイ上のエレメントにハイブリダイズするそれぞれのプローブの相補性および相対的存在量の程度はスキャンした画像の解析により評価することができる。

［００２５４］　別の態様では、全長ｃＤＮＡまたは発現配列タグ（Expressed Sequence Tags: ＥＳＴ）がマイクロアレイのエレメントを含む。多数の特有のヌクレオチド配列のゲノムスキャンを表すか、または本発明のヌクレオチド配列の１種に対応する全長ｃＤＮＡまたはＥＳＴは適切な基板、たとえばスライドグラス上に配置される。ｃＤＮＡは、たとえばＵ．Ｖ．架橋、その後の加熱および化学的乾燥を使用してスライドグラスに固定する（たとえば、Ｓｃｈｅｎａ，Ｍ．ｅｔ　ａｌ．（１９９５）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２７０

：４６７－４７０；およびＳｈａｌｏｎ，Ｄ．ｅｔ ａｌ．（１９９６）Ｇｅｎｏｍｅ Ｒｅｓ．６：６３９－６４５を参照されたい）。蛍光プローブを作製し、基板上のエレメントへのハイブリダイゼーションのために使用する。

［００２５］ ポリペプチドを含むシグナル配列をコードする遺伝子に共通の保存された蛋白質モチーフを持つ配列を見出すために、マイクロアレイのためのプローブ配列は、種々のｃＤＮＡライブラリーから多数のクローンをスクリーニングすることにより選択することができる。一態様において、ｃＤＮＡライブラリーから同定された配列は、適切な解析プログラム、たとえばＢｌｏｃｋ ２ Ｂｉｏａｎａｌｙｓｉｓ Ｐｒｏｇｒａｍ（Ｉｎｃｙｔｅ，Ｐａｌｏ Ａｌｔｏ，Ｃａｌｉｆ．）を使用して解析し、保存された蛋白質モチーフを持つ遺伝子配列を同定する。Ｓｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ ＤａｔａｂａｓｅおよびＰＲＯＳＩＴＥに含まれる配列情報に基づいたこのモチーフ解析プログラムは、ゲノムまたはｃＤＮＡ配列から翻訳された、性状未解析の蛋白質の機能を確認するための方法である（たとえば、Ｂａｉｒｏｃｈ，Ａ．ｅｔ ａｌ．（１９９７）Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：２１７－２２１；およびＡｔｔｗｏｏｄ，Ｔ．Ｋ．ｅｔ ａｌ．（１９９７）Ｊ．Ｃｈｅｍ．Ｉｎｆ．Ｃｏｍｐｕｔ．Ｓｃｉ．３７：４１７－４２４を参照されたい）。ＰＲＯＳＩＴＥは、極端な配列相違のために、保存されたモチーフを使用して検出することができない機能または構造ドメインを同定するために使用することができる。該方法はウェイトマトリックス（ｗｅｉｇｈｔ ｍａｔｒｉｃｅｓ）に基づく。この方法により同定されたモチーフは次にＳｗｉｓｓ－Ｐｒｏｔ Ｄａｔａｂａｓｅに対して校正し、整合の偶発分布の尺度を得る。

［００２５６］ 別の態様において、隠れマルコフモデル（Hidden Markov Model: ＨＭＭ）を使用して共有モチーフ、とりわけコンセンサス配列を見出すことができる（たとえば、Ｐｅａｒｓｏｎ，Ｗ．Ｒ． ａｎｄ Ｄ．Ｊ．Ｌｉｐｍａｎ（１９８８）Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ８５：２４４４－２４４８；およびＳｍｉｔｈ，Ｔ．Ｆ．ａｎｄ Ｍ．Ｓ．Ｗａｔｅｒｍａｎ（１９８１）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．１４７：１９５－１９７を参照されたい）。ＨＭＭは初め、発語認識パターンを検討するために開発されたが、現在は生物学において、蛋白質および核酸配列の解析、ならびに蛋白質構造のモデリングに使用されている（たとえば、Ｋｒｏｇｈ，Ａ．ｅｔ ａｌ．（１９９４）Ｊ．Ｍｏｌ．Ｂｉｏｌ．２３５：１５０１－１５３１；およびＣｏｌｌｉｎ，Ｍ．ｅｔ ａｌ．（１９９３）Ｐｒｏｔｅｉｎ Ｓｃｉ．２：３０５－３１４を参照されたい）。ＨＭＭは正規の確率的基礎を有し、アミノ酸またはヌクレオチドに対して位置‐特異的スコアを使用する。アルゴリズムは新規に同定された配列に由来する情報を継続して取込み、そのモチーフ解析能力を増大させている。

【００５３】

マイクロアレイ用途

［００２５７］ ポリヌクレオチド配列がマイクロアレイ中のアレイエレメントにハイブリダイズする場合、それらはとりわけ有用である。そのようなマイクロアレイを使用して、未知の機能の遺伝子発現をモニターすることができるが、それらは前癌または癌組織において異なって発現される。さらに、マイクロアレイを使用して、腫瘍生物学において公知の機能の遺伝子の発現をモニターすることができる。

［００２５８］ マイクロアレイは多数のポリヌクレオチド配列の大規模遺伝的または遺伝子発現解析に使用することができる。マイクロアレイは、別の症状が明確になる前の管癌の初期段階の診断、および類似した症状をもつ疾患の鑑別診断のような、疾患の診断に使用することができる。マイクロアレイはまた、細胞増殖の制御に関与するポリペプチドをコードする遺伝子の変化した発現が疾患、たとえば癌を引き起こす場合、処置のモニタリングおよび評価に使用することができる。さらに、マイクロアレイを使用して、個体の疾患、たとえば癌に対する素因を検討することができる。さらに、マイクロアレイを使用して、細胞増殖などのような細胞反応を検討することができる。

［００２５９］ マイクロアレイにおいてポリヌクレオチド配列をハイブリダイズ可能なアレイエレメントとして使用する場合、アレイエレメントはそれぞれのエレメントが基板

上の特定の位置に存在するように整った様式で構成される。アレイエレメントが基板上の特定の位置にあることから、ハイブリダイゼーションパターンおよび強度（それらは一緒に特有の発現特性を生み出す）は具体的な遺伝子の発現レベルに関して説明され、具体的な疾患もしくは状態または処置に関連させることができる。

［００２６０］　異なる生体試料由来の十分に多量の転写物特性により、細胞と組織源情報、たとえば疾患状態、処置の予後、種々の環境因子または遺伝子型への曝露、および具体的な遺伝子または遺伝子群の発現レベル間に統計的に有意な相関が出現する可能性がある。たとえば、転写物特性は肝臓と前立腺のような２種の異なる組織間、正常および乳房腫瘍のような正常および罹病組織間、または前立腺腫瘍および照射前立腺腫瘍間のような非処置および処置組織間に存在する差を示すことができる。

［００２６１］　本発明の別の態様において、本発明のアッセイを行うために必要な試薬を含むキットを作製することができる。

［００２６２］　具体的には、本発明は（ａ）本明細書に開示されたヒトゲノムのフラグメントに結合することができる核酸分子の１種を含む第１の容器；および（ｂ）１種以上の洗浄試薬、結合核酸の存在を検出することができる試薬を含む１以上の別の容器を含む、１以上の容器を狭い範囲に受け入れる区画化キットを提供する。

［００２６３］　詳細には、区画化キットは試薬が別々の容器に含まれるいずれかのキットを包含する。そのような容器には、小ガラス容器、プラスチック容器、プラスチックの細片、ガラスもしくは紙、またはシリカのような配列物質が挙げられる。そのような容器により、ある容器から別の容器に試薬を効率的に移すことが可能になり、その結果、試料と試薬は相互汚染せず、それぞれの容器の物質または溶液をある容器から別の容器に定量的に添加することができる。そのような容器は、試験試料を受け入れることになる容器、核酸プローブを含む容器、洗浄試薬を含む容器、（たとえば、燐酸緩衝生理食塩水、Ｔｒｉｓ‐バッファーなど）および結合プローブを検出するために使用する試薬を含む容器を含むことになる。当業者は、以前に同定されていない本発明の遺伝子を、本明細書に開示された配列情報を使用して普通に同定し、当該技術分野で公知の確立したキット形式の１種に容易に組み込めることを容易く認識することになる。

【００５４】

マイクロアレイのためのＲＮＡ単離、増幅、およびラベリング

［００２６４］　ＲＮＡは当業者に公知のいくつかの方法のいずれかに従って試料から単離できる。たとえば、核酸精製の方法はＬａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　ｉｎ　Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ　ａｎｄ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ：Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ　Ｗｉｔｈ　Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄ　Ｔａｒｇｅｔｓ，Ｐａｒｔ　Ｉ．Ｔｈｅｏｒｙ　ａｎｄ　Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄ　Ｐｒｅｐａｒａｔｉｏｎ，Ｐ．Ｔｉｊｓｓｅｎ，ｅｄ．Ｅｌｓｅｖｉｅｒ（１９９３）に記載される。試料ポリヌクレオチドが増幅される場合、核酸試料を増幅し、少量の転写物を含む、元の試料の相対的な量を維持することが望ましい。総ｍＲＮＡは、リバーストランスクリプターゼ、オリゴｄ（Ｔ）からなるプライマー、およびファージＴ７プロモーターをコードする配列を使用して逆転写により増幅し、１本鎖ＤＮＡ鋳型を提供することができる。第２のＤＮＡ鎖は、ＤＮＡポリメラーゼおよびＤＮＡ／ＲＮＡハイブリッドの分解を助けるＲＮアーゼを使用して重合する。２本鎖ＤＮＡ合成後、Ｔ７　ＲＮＡポリメラーゼを添加し、第２ＤＮＡ鎖鋳型からＲＮＡを転写することができる（Ｖａｎ　Ｇｅｌｄｅｒ　ｅｔ　ａｌ．米国特許第５，５４５，５２２号）。ＲＮＡはｉｎ　ｖｉｔｒｏ、ｉｎ　ｓｉｔｕまたはｉｎ　ｖｉｖｏで増幅することができる（Ｅｂｅｒｗｉｎｅ　米国特許第５，５１４，５４５号を参照されたい）。

［００２６５］　ポリヌクレオチドは、ハイブリダイズされたポリヌクレオチド複合体の検出を考慮して１以上の標識部分により標識してよい。標識部分には、分光学的、光化学的、生化学的、生体電気的、免疫化学的、電気的、光学的または化学的手段により検出することができる組成物を含んでいてよい。標識部分には、放射性同位体、化学ルミネセンス化合物、標識結合蛋白質、重金属原子、分光学的マーカー、たとえば蛍光マーカーおよ

び色素、磁気標識、結合酵素、質量分析タグ、スピンラベル、電子伝達ドナーおよびアクセプターなどが挙げられる。

【００５５】

ハイブリダイゼーションおよびマイクロアレイの解析

［００２６６］　ハイブリダイゼーションにより変性ポリヌクレオチドおよび変性試料ポリヌクレオチドは、塩基対形成を介して安定なデュープレックスを形成する。ハイブリダイゼーション法は当業者に公知である（たとえば、Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ ｉｎ Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ ａｎｄ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｖｏｌ．２４：Ｈｙｂｒｉｄｉｚａｔｉｏｎ Ｗｉｔｈ Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄ Ｔａｒｇｅｔｓ，Ｐ．Ｔｉｊｓｓｅｎ，ｅｄ．Ｅｌｓｅｖｉｅｒ，Ｎ．Ｙ．（１９９３）を参照されたい）。ハイブリダイゼーション条件は塩濃度、温度、ならびに当該技術分野で公知の他の化合薬品および条件により説明することができる。とりわけ、塩濃度を減らすか、またはハイブリダイゼーション温度を上げることによりストリンジェント性を増大させることができる。

［００２６７］　たとえば、ストリンジェントな塩溶液は通常、約７５０ｍＭ ＮａＣｌおよび７５ｍＭ クエン酸三ナトリウム未満、好ましくは、約５００ｍＭ ＮａＣｌおよび５０ｍＭ クエン酸三ナトリウム未満、最も好ましくは、約２５０ｍＭ ＮａＣｌおよび２５ｍＭ クエン酸三ナトリウム未満であろう。ストリンジェントな温度条件としては通常、少なくとも約３０℃、より好ましくは少なくとも約３７℃、そして最も好ましくは少なくとも約６０℃が挙げられるであろう。ハイブリダイゼーション時間、界面活性剤または溶媒の濃度、およびキャリアＤＮＡの含有または排除のような、付加的なパラメーターの変動は当業者には公知である。これらの条件に関する付加的な変更は当業者には容易に明らかであろう（Ｗａｈｌ，Ｇ．Ｍ．ａｎｄ Ｓ．Ｌ．Ｂｅｒｇｅｒ（１９８７）Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．１５２：３９９－４０７；Ｋｉｍｍｅｌ，Ａ．Ｒ（１９８７）Ｍｅｔｈｏｄｓ Ｅｎｚｙｍｏｌ．１５２：５０７－５１１；Ａｕｓｕｂｅｌ，Ｆ．Ｍ．ｅｔ ａｌ．（１９９７）Ｓｈｏｒｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，Ｎ．Ｙ．；およびＳａｍｂｒｏｏｋ，Ｊ．ｅｔ ａｌ（２００１）Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｃｌｏｎｉｎｇ Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ Ｓｐｒｉｎｇ Ｈａｒｂｏｒ Ｐｒｅｓｓ，Ｐｌａｉｎｖｉｅｗ，Ｎ．Ｙ．）

［００２６８］　ハイブリダイゼーション反応はディファレンシャルハイブリダイゼーション形式で実行することができる。ディファレンシャルハイブリダイゼーションでは、両方の生体試料由来のポリヌクレオチドを作製し、異なる標識部分により標識する。２種の標識されたポリヌクレオチドの混合物がマイクロアレイに添加される。マイクロアレイは次に２種の異なる標識からの発光が個々に検出できる条件下で試験される。両方の生体試料に由来する実質的に等しい数のポリヌクレオチドにハイブリダイズするマイクロアレイ中のポリヌクレオチドは明確な複合蛍光を生じる（Ｓｈａｌｏｎ ｅｔ ａｌ．ＰＣＴ公開公報ＷＯ９５／３５５０５）。好ましい態様において標識として、蛍光団Ｃｙ３およびＣｙ５（Ａｍｅｒｓｈａｍ Ｐｈａｒｍａｃｉａ Ｂｉｏｔｅｃｈ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ Ｎ．Ｊ．）が使用される。

［００２６９］　ハイブリダイゼーション後、マイクロアレイを洗浄してハイブリダイゼーションしない核酸を除去し、ハイブリダイズ可能なアレイエレメントとポリヌクレオチド間の複合体形成が検出される。複合体形成を検出する方法は当業者には公知である。

［００２７０］　ディファレンシャルハイブリダイゼーション実験では、２以上の異なる生体試料由来のポリヌクレオチドは、異なる発光波長を持つ２以上の異なる蛍光標識により標識される。蛍光シグナルは特定の波長を検出するための異なる光電子増倍管セットにより別々に検出することができる。２以上の試料におけるポリヌクレオチドの相対的存在量／発現レベルが得られる。

［００２７１］　一般に、１以上のマイクロアレイを同様の試験条件で使用する場合、マイクロアレイ蛍光強度を標準化して、ハイブリダイゼーション強度の変動を考慮すること

ができる。好ましい態様では、個々のポリヌクレオチド複合体ハイブリダイゼーション強度は、個々のマイクロアレイに含まれる内部標準化対照に由来する強度を使用して標準化される。

［００２７２］　マイクロアレイを使用して、同時に多数の遺伝子の発現レベルをモニターし、スプライス変異体、突然変異、および多形を同定することができる。この情報を使用して遺伝子機能を確認し、疾患の遺伝的基礎を理解し、疾患を診断し、そして治療薬の活性を明らかにし、それをモニターすることができる。

【００５６】

Ｓｙｂｒｇｒｅｅｎを使用したｍＲＮＡ発現解析

［００２７３］　可能な場合、マイクロ‐アレイの結果はＳＹＢＲｇｒｅｅｎ法を使用して確認した。ＳＹＢＲ　ｇｒｅｅｎ　ＰＣＲ法はＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎ　１　Ｄｙｅを使用してリアルタイムＰＣＲを実行するための方法である。ポリメラーゼ連鎖反応（ＰＣＲ）産物の直接検出は２本鎖ＤＮＡへのＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎ色素の結合により引き起こされる蛍光の増大を測定することによりモニターする。遺伝子特異的ＰＣＲオリゴヌクレオチドプライマー対はＰｒｉｍｅｒ　Ｅｘｐｒｅｓｓ　１．５　ｓｏｆｔｗａｒｅを使用して設計した（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，Ｃａ）。

［００２７４］　取り扱い説明書（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，Ｃａ）に従って、ランダムヘキサマーと共にＡＢＩ　Ｔａｑｍａｎ逆転写試薬を使用して、それぞれのｍＲＮＡ　１マイクログラムを１００μＬのリバーストランスクリプターゼ反応物に添加する。サーマルサイクリング条件は、１サイクル（２５℃、１０分間）、１サイクル（４８℃、３０分間）、および１サイクル（９５℃、５分間）であった。次に４００マイクロリットルの水をｃＤＮＡ反応物に添加する。取り扱い説明書（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，Ｃａ）に従って、得られたｃＤＮＡ（１０μＬ）を２５μＬ　ＳＹＢＲ　ｇｒｅｅｎ　ＰＣＲ反応混合物に添加する。サーマルサイクリング条件は、１サイクル（９５℃、１０分間）、４０サイクル（、９５℃、１５秒間）、アニーリング（６０℃、１分間）であった。データは相対的評価のために、ｄｅｌｔａ　ｄｅｌｔａ　ＣＴ法を使用して同じ遺伝子に対して標準化した、倍数の増加として表現する。比較のために、結腸および乳房腫瘍由来のｃＤＮＡから得られたデータを、正常結腸および乳房ｃＤＮＡプール由来のデータと比較した。

【００５７】

抗体

［００２７５］　本発明はさらに、本発明の蛋白質に対する抗体を提供する。抗体の例としては、ポリクローナル、モノクローナル、ヒト化、二重特異的、およびヘテロ共役抗体が挙げられる。

【００５８】

ポリクローナル抗体

［００２７６］　抗体はポリクローナル抗体を含むことができる。ポリクローナル抗体を作製する方法は当業者には公知である。ポリクローナル抗体は、免疫物質、所望する場合、アジュバントの１回以上の注射により、哺乳類において作製することができる。一般に免疫物質および／またはアジュバントは複数回の皮下または腹腔内注射により哺乳類に注射されることになる。免疫物質には、ポリペプチドまたはその融合蛋白質が挙げられる。免疫される哺乳類において、免疫原性であることが公知の蛋白質に免疫物質を結合させることが有用であってよい。そのような免疫原性物質の例としては、スカシガイヘモシアニン、血清アルブミン、ウシチログロブリン、およびダイズトリプシン阻害剤が挙げられる。使用できるアジュバントの例としては、フロイント完全アジュバントおよびＭＰＬ－ＴＤＭアジュバント（モノホスホリルリピッドＡ、合成トレハロースジコリノミコレート）が挙げられる。あるいは、関心のある蛋白質を精製する必要なしに抗体を作製するために、遺伝免疫が有用な方法であってよい（Ｋｉｌｐａｔｒｉｃｋ　ｅｔ　ａｌ．，１７：５６９－５７６，１９９８）。当業者は、過度な実験をせずに免疫プロトコールを選択する

ことができる。
【００５９】
モノクローナル抗体
［００２７７］　あるいは、抗体はモノクローナル抗体であってよい。モノクローナル抗体は、ハイブリドーマ法、たとえばＫｏｈｌｅｒ　ａｎｄ　Ｍｉｌｓｔｅｉｎ，Ｎａｔｕｒｅ，２５６：４９５（１９７５）に記載のような方法を使用して作製することができる。ハイブリドーマ法では、一般にマウス、ハムスター、または他の適切な宿主動物を免役して、免疫物質に特に結合する抗体を産生するか、または産生することができるリンパ球を誘出する。あるいは、リンパ球をｉｎ　ｖｉｔｒｏで免役してもよい。
［００２７８］　免疫物質は一般にポリペプチドまたはその融合蛋白質を含むことになる。一般に、ヒト起源の細胞が所望される場合、末梢血リンパ球（“ＰＢＬ”）が使用され、非ヒト哺乳類起源が所望される場合、脾臓細胞またはリンパ節細胞が使用される。その後リンパ球はポリエチレングリコールのような適切な融合物質を使用して不死化細胞株と融合し、ハイブリドーマ細胞を形成する（Ｇｏｄｉｎｇ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ｐｒｉｎｃｉｐｌｅｓ　ａｎｄ　Ｐｒａｃｔｉｃｅ，Ａｃａｄｅｍｉｃ　Ｐｒｅｓｓ，（１９８６）ｐｐ．５９－１０３）。不死化細胞株は通常、形質転換された哺乳類細胞、とりわけ齧歯類、ウシ、およびヒト起源の骨髄腫細胞である。通常、ラットまたはマウス骨髄腫細胞株が使用される。ハイブリドーマ細胞は、好ましくは非融合不死化細胞の増殖または生存を阻害する１以上の物質を含む適切な培地中で培養してよい。たとえば、親細胞が酵素ヒポキサンチングアニンホスホリボシルトランスフェラーゼ（ＨＧＰＲＴまたはＨＰＲＴ）を欠く場合、ハイブリドーマの培地は一般にヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジン（“ＨＡＴ培地”）を含み、それらの物質はＨＧＰＲＴ‐欠乏細胞の増殖を妨害することになる。
［００２７９］　好ましい不死化細胞株は、効率的に融合し、選択された抗体‐産生細胞による抗体の安定な高レベル発現を支持し、そしてＨＡＴ培地のような培地に感受性があるものである。より好ましい不死化細胞株はマウス骨髄腫細胞株であり、それらはたとえば、Ｓａｌｋ　Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ　Ｃｅｌｌ　Ｄｉｓｔｒｉｂｕｔｉｏｎ　Ｃｅｎｔｅｒ，　Ｓａｎ　Ｄｉｅｇｏ，ＣａｌｉｆｏｒｎｉおよびＡｍｅｒｉｃａｎ　Ｔｙｐｅ　Ｃｕｌｔｕｒｅ　Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，Ｍａｎａｓｓａｓ，Ｖｉｒｇｉｎｉａから入手できる。ヒト骨髄腫およびマウス‐ヒトヘテロ骨髄腫細胞株もヒトモノクローナル抗体産生に関して記載されている（Ｋｏｚｂｏｒ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３３：３００１（１９８４）；Ｂｒｏｄｅｕｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｙ　Ｐｒｏｄｕｃｔｉｏｎ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　ａｎｄ　Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，Ｍａｒｃｅｌ　Ｄｅｋｋｅｒ，Ｉｎｃ．，Ｎｅｗ　Ｙｏｒｋ，（１９８７）ｐｐ．５１－６３）。
［００２８０］　次に、本発明の蛋白質に対して作製されたモノクローナル抗体の存在に関して、ハイブリドーマ細胞を培養する培地をアッセイする。好ましくは、ハイブリドーマ細胞により産生されたモノクローナル抗体の結合特異性は、免疫沈降またはｉｎ　ｖｉｔｒｏ結合アッセイ、たとえばラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）または酵素‐結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）により確認することができる。そのような技術およびアッセイは当該技術分野で公知である。モノクローナル抗体の結合親和性は、たとえば、Ｍｕｎｓｏｎ　ａｎｄ　ＰｏｌｌａｒｄのＳｃａｔｃｈａｒｄ解析（Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．，１０７：２２０（１９８０））により確認することができる。
［００２８１］　所望するハイブリドーマ細胞を同定した後、クローンは限界希釈法によりサブクローニングし、標準法により培養することができる（Ｇｏｄｉｎｇ、上記）。この目的に適切な培地には、たとえばダルベッコ改変イーグル培地およびＲＰＭＩ１６４０培地が挙げられる。あるいは、ハイブリドーマ細胞は哺乳類の腹水のようなｉｎ　ｖｉｖｏで培養することができる。サブクローンにより分泌されたモノクローナル抗体は、たとえば蛋白質Ａセファロース、ヒドロキシアパタイトクロマトグラフィー、ゲル電気泳動、透析、またはアフィニティークロマトグラフィーのような慣用のイムノグロブリン精製手

順により培地または腹水液から単離または精製することができる。
［００２８２］　モノクローナル抗体はまた、組換えＤＮＡ法、たとえば米国特許第４，８１６，５６７号に記載のものにより作製することができる。本発明のモノクローナル抗体をコードするＤＮＡは、慣用の手順（たとえば、マウス抗体の重鎖および軽鎖をコードする遺伝子に特に結合することができるオリゴヌクレオチドプローブを使用することによる）を使用して、容易に単離し、配列決定することができる。本発明のハイブリドーマ細胞はそのようなＤＮＡの好ましい供与源として役立つ。いったん単離されると、該ＤＮＡは発現ベクターに組み込まれ、次に別の状況ではイムノグロブリン蛋白質を産生しない宿主細胞、たとえばサルＣＯＳ細胞、チャイニーズハムスター卵巣（ＣＨＯ）細胞、または骨髄腫細胞にそれらはトランスフェクションされ、組換え宿主細胞においてモノクローナル抗体が合成される。該ＤＮＡはまた、たとえば相同マウス配列のかわりにヒト重鎖および軽鎖一定ドメインのコーディング配列を置換することによるか、または非イムノグロブリンポリペプチドに対するコーディング配列の全部または一部をイムノグロブリンコーディング配列に結合させることにより改変することができる（米国特許第４，８１６，５６７号；Ｍｏｒｒｉｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，ＰＮＡＳ，８１：６８５１－６８５５（１９８４））。そのような非‐イムノグロブリンポリペプチドは本発明の抗体の一定ドメインの代わりに置換するか、本発明の抗体の１種の抗原結合部位の可変ドメインの代わりに置換して、キメラ二価抗体を作製することができる。抗体は一価抗体であってよい。一価抗体を作製する方法は当該技術分野で公知である。たとえば、一方法としてはイムノグロブリン軽鎖および改変重鎖の組換え発現が挙げられる。重鎖は一般に、重鎖架橋を妨害するために、Ｆｃ領域のいずれかの位置で切断される。あるいは、適切なシステイン残基を別のアミノ酸残基で置換するか、または欠失させて架橋を妨害する。
［００２８３］　ｉｎ　ｖｉｔｒｏ法も、一価抗体の作製に適切である。抗体フラグメント、とりわけＦａｂフラグメントを作製するための抗体消化は当該技術分野で公知の慣用の技術により行うことができる。
【００６０】
ヒトおよびヒト化抗体
［００２８４］　本発明の抗体はさらに、ヒト化抗体またはヒト抗体を含むことができる。非ヒト（たとえばマウス）抗体のヒト化型は、キメライムノグロブリン、イムノグロブリン鎖またはそれらのフラグメント（たとえば、Ｆｖ、Ｆａｂ、Ｆａｂ′、Ｆ（ａｂ′）、または抗体の別の抗原‐結合サブ配列）であり、それらは非ヒトイムノグロブリンに由来する最小配列を含む。ヒト化抗体はヒトイムノグロブリン（レシピエント抗体）を含み、そこではレシピエントの相補性決定領域（ＣＤＲ）由来の残基は、所望する特異性、親和性および能力を有する、非ヒト種（たとえばマウス、ラット、またはウサギ）のＣＤＲ由来の残基（ドナー残基）により置換される。ある種の例では、ヒトイムノグロブリンのＦｖ骨格残基は対応する非ヒト残基により置換される。ヒト化抗体はまた、レシピエント抗体または移入されたＣＤＲもしくは骨格配列のいずれにおいても見出されない残基を含むことができる。一般に、ヒト化抗体は少なくとも１種、そして通常２種の可変ドメインの実質的にすべてを含むことになり、そこでは非ヒトイムノグロブリンのＣＤＲ領域に対応するそれらのすべてまたは実質的にすべておよび骨格領域（ＦＲ）のすべてまたは実質的にすべてがヒトイムノグロブリンコンセンサス配列のものである。ヒト化抗体は好ましくはさらに、イムノグロブリン一定領域（Ｆｃ）の少なくとも一部、一般にヒトイムノグロブリンのそれを含むことになる（Ｊｏｎｅｓ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３２１：５２２－５２５（１９８６）；Ｒｉｅｃｈｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３３２：３２３３２９（１９８８）；およびＰｒｅｓｔａ，Ｃｕｒｒ．Ｏｐ．Ｓｔｒｕｃｔ．Ｂｉｏｌ．，２：５９３－５９６（１９９２））。
［００２８５］　非ヒト抗体をヒト化する方法は当該技術分野で公知である。一般に、ヒト化抗体は非ヒトである供与源からそれに導入された１以上のアミノ酸残基を有する。これらの非ヒトアミノ酸残基はしばしば“移入”残基と呼ばれ、それらは一般に“移入”可変ドメインに由来する。ヒト化は本質的にＷｉｎｔｅｒおよび協力者の方法（Ｊｏｎｅｓ

et al.，Nature，321：522－525（1986）；Riechmann et al.，Nature，332：323－327（1988）；Verhoeyen et al.，Science，239：1534－1536（1988））に従い、齧歯類ＣＤＲまたはＣＤＲ配列を対応するヒト抗体の配列に置換することにより行うことができる。したがって、そのような“ヒト化”抗体はキメラ抗体（米国特許第４，８１６，５６７号）であり、ここで実質的に、無傷ヒト可変ドメインは非ヒト種由来の対応する配列によって決して置換されていない。実際問題として、ヒト化抗体は一般に、ある種のＣＤＲ残基、およびことによるとある種のＦＲ残基が齧歯類抗体の類似した部位由来の残基により置換されたヒト抗体である。

［００２８６］　ヒト抗体はまた、ファージディスプレイライブラリー（Homogenous and Winter，J. Mol. Biol.，227：381（1991）；Marks et al.，J. Mol. Biol.，222：581（1991））を含む、当該技術分野で公知の技術を使用して、作製することができる。Cole et al.およびBoerner et al.の技術もヒトモノクローナル抗体の作製に利用できる（Cole et al.，Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy，Alan R. Liss，p. 77（1985）およびBoerner et al.，J. Immunol.，147（1）：86－95（1991））。同様に、ヒト抗体はヒトイムノグロブリン遺伝子座をトランスジェニック動物、たとえばマウスに導入することにより作製してよく、そこでは内因性イムノグロブリン遺伝子は部分的に、または完全に不活性化されている。抗原刺激時に、ヒト抗体産生が観察され、それは遺伝子再配列、構築、および抗体レパートリーを含むすべての点でヒトにおいて見られるものに密接に類似する。この方法は、たとえば米国特許第５，５４５，８０７号；第５，５４５，８０６号；第５，５６９，８２５号；第５，６２５，１２６号；第５，６３３，４２５号；第５，６６１，０１６号および以下の科学的刊行物：Marks et al.，Bio／Technology １０，７７９７８３（１９９２）；Lonberg et al.，Nature ３６８ ８５６－８５９（１９９４）；Morrison，Nature ３６８，８１２－１３（１９９４）；Fishwild et al.，Nature Biotechnology １４，８４５－５１（１９９６）；Neuberger，Nature Biotechnology １４，８２６（１９９６）；Lonberg and Huszar，Intern. Rev. Immunol. １３，６５－９３（１９９５）；Tomizuka et al.，PNAS ９７，７２２－７２７（２０００）に記載される。

【００６１】

二価特異的抗体

［００２８７］　二価特異的抗体はモノクローナル、好ましくはヒトまたはヒト化抗体であって、それらは少なくとも２種の異なる抗原に対して結合特異性を有する。この場合には、結合特異性の１種は本発明の蛋白質に対するものであり、他の１種はいずれか別の抗原、そして好ましくは細胞表面蛋白質または受容体もしくは受容体サブユニットに対するものである。

［００２８８］　二価特異的抗体を作製する方法は当該技術分野で公知である。慣例上、二価特異的抗体の組換え産生は２種のイムノグロブリン重鎖／軽鎖対の共発現に基づき、ここで２種の重鎖は異なる特異性を有する（Milstein and Cuello，Nature，３０５：５３７－５３９（１９８３））。イムノグロブリン重鎖／軽鎖の無作為な取り合わせのために、これらのハイブリドーマ（クワドローマ（quadroma））はたくさんの抗体分子の潜在的混合物を産生し、その中で１種だけが正しい二価特異的構造を有する。正しい分子の精製は通常アフィニティークロマトグラフィー工程により行われる。類似の手順は１９９３年５月１３日公開のＷＯ ９３／０８８２９、およびTraunecker et al.，EMBO J.，１０：３６５５－３６５９（１９９１）に開示される。

［００２８９］　所望する結合特異性を持つ抗体可変ドメイン（抗体‐抗原結合部位）は

イムノグロブリン一定ドメイン配列に融合させることができる。好ましくは、少なくともヒンジ、ＣＨ２、およびＣＨ３領域の一部を含む、イムノグロブリン重鎖一定ドメインと融合させる。少なくとも融合物の１種に存在する軽鎖結合に必要な部位を含む第１重鎖一定ドメイン（ＣＨ１）を有することが好ましい。イムノグロブリン重鎖融合物および、所望する場合、イムノグロブリン軽鎖をコードするＤＮＡを別々の発現ベクターに挿入し、そして適切な宿主生物体に共トランスフェクションする。二価特異的抗体を作製するためのそれ以上の詳細な説明は、たとえばＳｕｒｅｓｈ ｅｔ ａｌ．，Ｍｅｔｈｏｄｓ ｉｎ Ｅｎｚｙｍｏｌｏｇｙ，１２１：２１０（１９８６）を参照されたい。

［００２９０］ ＷＯ９６／２７０１１,に記載の別の方法に従って、１対の抗体分子間の界面を操作して、ヘテロダイマーの割合を最大にすることが可能であり、それらは組換え細胞培養物から回収される。好ましい界面は少なくとも抗体一定ドメインのＣＨ３領域の一部を含む。この方法では、第１抗体分子の界面由来の１以上の小アミノ酸側鎖は大側鎖（たとえば、チロシンまたはトリプトファン）に置換される。大アミノ酸側鎖をより小さなもの（たとえばアラニンまたはトレオニン）に置換することにより、大側鎖（複数の側鎖）に対して同じか、または類似のサイズの代償性“空隙”が作製される。これがホモダイマーのような別の不要な最終産物よりもヘテロダイマーの収率を増大させる機序を提供する。

［００２９１］ 二価特異的抗体は全長抗体または抗体フラグメント（たとえばＦ（ａｂ′）$_2$二価特異的抗体）として作製することができる。抗体フラグメントから二価特異的抗体を作製する技術は文献に記載されている。たとえば、二価特異的抗体は化学的結合を使用して作製することができる。Ｂｒｅｎｎａｎ ｅｔ ａｌ，Ｓｃｉｅｎｃｅ ２２９：８１（１９８５）は、無傷抗体を蛋白質分解により開裂し、Ｆ（ａｂ′）$_2$フラグメントを作製する手順を記載する。これらのフラグメントをジチオール錯化剤亜ヒ酸ナトリウムの存在下で還元して隣接したジチオールを安定化し、分子間ジスルフィド形成を妨害する。作製されたＦａｂ′フラグメントは次にチオニトロベンゾエート（ＴＮＢ）誘導体に変換される。次にメルカプトエチルアミンによる還元により、Ｆａｂ′‐ＴＮＢ誘導体をＦａｂ′‐チオールに再変換し、別の等モル量のＦａｂ′‐ＴＮＢ誘導体と混合し、二価特異的抗体を作製する。作製された二価特異的抗体は酵素の選択的免疫のための物質として使用することができる。

［００２９２］ Ｆａｂ′フラグメントは大腸菌から直接回収され、化学的にカップリングして、二価特異的抗体を形成することができる。Ｓｈａｌａｂｙ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．１７５：２１７－２２５（１９９２）は、完全なヒト化二価特異的抗体、Ｆ（ａｂ′）２分子の産生について記載する。それぞれのＦａｂ′フラグメントは大腸菌から別々に分泌され、ｉｎ ｖｉｔｒｏで化学的に結合し、二価特異的抗体を形成する。このようにして形成された二価特異的抗体はＥｒｂＢ２受容体および正常ヒトＴ細胞を過剰発現する細胞に結合し、ヒト乳房腫瘍標的に対するヒト細胞毒性リンパ球の溶解活性を誘発することができる。

［００２９３］ 組換え細胞培養物から直接二価特異的抗体を作製し、単離するための種々の方法が記載される。たとえば、二価特異的抗体はロイシンジッパーを使用して産生されている。Ｋｏｓｔｅｌｎｙ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４８（５）：１５４７－１５５３（１９９２）。ＦｏｓおよびＪｕｎ蛋白質由来のロイシンジッパーペプチドは、遺伝子融合により２種の異なる抗体のＦａｂ′部分に連結した。抗体ホモダイマーをヒンジ領域で還元し、モノマーを形成し、その後再酸化して抗体ヘテロダイマーを作製した。この方法はまた、抗体ホモダイマーの産生に使用することができる。Ｈｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ ９０：６４４４－６４４８（１９９３）に記載された“二重特異性抗体（ｄｉａｂｏｄｙ）”技術は二価特異的抗体を作製するための代わりの技術として提供されている。フラグメントは、同じ鎖上に

２種のドメイン間の対形成ができるように非常に短いリンカーにより、軽鎖可変ドメイン（V_L）に結合した重鎖可変ドメイン（V_H）を含む。したがって、１フラグメントのＶ

$_L$およびV_Hドメインは別のフラグメントの相補的なV_LおよびV_Hドメインと対形成させられ、それによって２種の抗原結合部位を形成する。１本鎖Ｆｖ（ｓＦｖ）ダイマーの使用による二価特異的抗体フラグメント作製のための別の方法も報告されている。Ｇｒｕｂｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１５２：５３６８（１９９４）を参照されたい。

［００２９４］　２以上の結合価を持つ抗体が企図される。たとえば、三価特異的抗体を作製することができる。Ｔｕｔｔ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．１４７：６０（１９９１）を参照されたい。代表的な二価特異的抗体は本明細書の一定のポリペプチド上の２種の異なるエピトープに結合することができる。あるいは、アームをＴ細胞受容体分子（たとえばＣＤ２、ＣＤ３、ＣＤ２８またはＢ７）またはＩｇＧに対するＦｃ受容体（ＦｃγＲ）、たとえばＦｃγＲＩ（ＣＤ６４）、ＦｃγＲＩＩ（ＣＤ３２）およびＦｃγＲＩＩＩ（ＣＤ１６）のような白血球上のトリガー分子に結合するアームと結合させ、本発明の具体的な蛋白質を発現する細胞に細胞防御機序を集中させることができる。また、二価特異的抗体を使用して、本発明の具体的な蛋白質を発現する細胞に細胞毒性物質を局在させることができる。これらの抗体は本発明の蛋白質に対する結合アームおよび、細胞毒性物質または放射性核種キレート剤、たとえばＥＯＴＵＢＥ、ＤＰＴＡ、ＤＯＴＡまたはＴＥＴＡに結合するアームを有する。別の関心のある二価特異的抗体はポリペプチドに結合し、そしてさらに組織因子（ＴＦ）に結合する。

【００６２】

ヘテロ複合抗体

［００２９５］　ヘテロ複合抗体も本発明の範囲内にある。ヘテロ複合抗体は２種の共有結合的に結合した抗体からなる。そのような抗体は、たとえば不要な細胞を免疫系細胞の標的とすること（米国特許第４，６７６，９８０号）およびＨＩＶ感染の処置（ＷＯ９１／００３６０；ＷＯ９２／２００３７３；ＥＰ　０３０８９）を意図している。抗体は、架橋剤を含む方法を含む、合成蛋白質化学において公知の方法を使用してｉｎ　ｖｉｔｒｏで作製することができる。たとえば、イムノトキシンはジスルフィド交換反応を使用するか、またはチオエーテル結合を形成することにより構築することができる。この目的に適切な試薬の例としては、イミノチオレート、メチル－４－メルカプトブチルイミデート、および、たとえば米国特許第４，６７６，９８０号に開示されたものが挙げられる。

【００６３】

エフェクター機能操作

［００２９６］　エフェクター機能に関して本発明の抗体を改変し、たとえば癌を処置する抗体の有効性を促進することを所望してもよい。たとえば、システイン残基（複数の残基）をＦｃ領域に導入し、それによってこの領域に鎖間ジスルフィド結合を形成することができる。このように作製されたホモダイマー抗体はインターナリゼーション能力および／または増大した補体媒介細胞致死および抗体依存的な細胞の細胞毒性（ＡＤＣＣ）が改善されていてよい。Ｃａｒｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ　Ｍｅｄ．，１７６：１１９１１９５（１９９２）およびＳｈｏｐｅｓ，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１４８：２９１８－２９２２（１９９２）を参照されたい。Ｗｏｌｆｆ　ｅｔ　ａｌ．Ｃａｎｃｅｒ　Ｒｅｓｅａｒｃｈ，５３：２５６０－２５６５（１９９３）に記載のように、抗腫瘍活性が増大したホモダイマー抗体もヘテロ二機能架橋剤を使用して作製することができる。あるいは、二重のＦｃ領域を有する抗体は、操作されて、促進された補体溶解およびＡＤＣＣ能を有することができる。Ｓｔｅｖｅｎｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ａｎｔｉ－Ｃａｎｃｅｒ　Ｄｒｕｇ　Ｄｅｓｉｇｎ，３：２１９－２３０（１９８９）を参照されたい。

【００６４】

イムノコンジュゲート

［００２９７］　本発明はまた、化学療法剤、毒素（たとえば、細菌、真菌、植物、もしくは動物起源の酵素的に活性な毒素、またはそのフラグメント）、または放射性同位体（すなわち、放射性複合体）のような細胞毒性物質に結合した抗体を含むイムノコンジュゲートに関する。

［００２９８］　そのような免疫複合体の作製に有用な化学療法剤は先に記載されている。使用することができる、酵素的に活性な毒素およびそのフラグメントには、ジフテリアＡ鎖、ジフテリア毒素の非結合活性フラグメント、エキソトキシンＡ鎖（緑膿菌由来）リシンＡ鎖、アブリンＡ鎖、モデクシンＡ鎖、アルファ－サルシン、シナアブラギリ蛋白質、ジアンチン蛋白質、ツルレイシ阻害剤、クルシン、クロチン、サポオナリアオフィシナリス（ｓａｐａｏｎａｒｉａ　ｏｆｆｉｃｉｎａｌｉｓ）阻害剤、ゲロニン、ミトゲリン、レストリクトシン、フェノマイシン、マイタンシノイド、エノマイシン、およびトリコテセネスが挙げられる。種々の放射性核種が放射性複合抗体の産生に利用できる。例としては、^{212}Ｂｉ、^{131}Ｉ、^{131}Ｉｎ、^{90}Ｙ、および^{186}Ｒｅが挙げられる。

［００２９９］　抗体と細胞毒性物質の複合体は以下のような種々の二機能蛋白質結合物質を使用して作製することができる：Ｎ－スクシニミジル－３－（２－ピリジルジチオール）プロピオネート（ＳＰＤＰ）、イミノチオラン（ＩＴ）、イミドエステルの二機能誘導体（たとえばジメチルアジピミデートＨＣＬ）、活性エステル（たとえばジスクシニミジルスベレート）、アルデヒド（たとえばグルタルアルデヒド）、ビスアジド化合物（たとえばビス－（ｐ－ジアゾニウムベンゾイル）－エチレンジアミン）、ジイソシアネート（たとえばトルエン２，６－ジイソシアネート）。たとえば、リシンイムノトキシンはＶｉｔｅｔｔａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２３８：１０９８（１９８７）に記載のように作製することができる。炭素－１４－標識１－イソチオシアナートベンジル－３－メチルジエチレントリアミンペンタ酢酸（ＭＸ－ＤＴＰＡ）は放射性核種の抗体への結合のための代表的なキレート剤である。Ｗ０９４／１１０２６を参照されたい。

［００３００］　別の態様において、抗体－受容体複合物を患者に投与し、次に除去物質を使用して循環から未結合の結合体を除去し、そして細胞毒性物質（たとえば放射性核種）に結合する“リガンド”（たとえばアビジン）を投与する腫瘍プレターゲッティングに使用するために、抗体は“受容体”（たとえばストレプトアビジン）に結合してよい。

【００６５】

イムノリポソーム

［００３０１］　本明細書に開示された抗体はまた、イムノリポソームとして製剤することができる。抗体を含むリポソームは当該技術分野で公知であり、たとえばＥｐｓｔｅｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８２：３６８８（１９８５）；Ｈｗａｎｇ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，７７：４０３０（１９８０）；ならびに米国特許第４，４８５，０４５号および第４，５４４，５４５号に記載される。循環時間が促進されたリポソームは米国特許第５，０１３，５５６号に記載される。

［００３０２］　とりわけ有用なリポソームは、ホスファチジルコリン、コレステロールおよびＰＥＧ誘導体化ホスファチジルエタノールアミン（ＰＥＧ－ＰＥ）を含む脂質組成物との逆相蒸発法により作製することができる。リポソームは決められたポアサイズのフィルターを通して押し出され、所望する直径のリポソームを得る。本発明の抗体のＦａｂ'フラグメントは、Ｍａｒｔｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｌ．Ｃｈｅｍ．，２５７：２８６－２８８（１９８２）に記載のようにジスルフィド交換反応によりリポソームに結合させる。化学療法剤（たとえばドキソルビシン）は場合によりリポソーム内に含まれる。Ｇａｂｉｚｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃａｎｃｅｒ　Ｉｎｓｔ．，８１（１９）：１４８４（１９８９）を参照されたい。

【００６６】

蛋白質および核酸を検出する方法

［００３０３］　本発明はまた、生体試料中における本発明の蛋白質の有無を検出するための方法を提供する。該方法は、試験対象から生体試料を得ること、ならびに蛋白質および蛋白質をコードする核酸（たとえばｍＲＮＡ、ゲノムＤＮＡ）を検出することができる化合物または物質と生体試料を接触させることを含み、その結果生体試料における本発明の蛋白質の存在が検出される。ｍＲＮＡまたはゲノムＤＮＡを検出するための物質は、ｍＲＮＡまたはゲノムＤＮＡにハイブリダイズすることができる標識核酸プローブである。

核酸プローブは、全長核酸、たとえばＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１～１１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３～３８、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３の核酸、もしくはそのフラグメント、たとえばＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～３０１１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０１２～３０８３、または少なくとも１５、３０、５０、１００、２５０もしくは５００ヌクレオチド長で、ストリンジェントな条件下でとりわけハイブリダイズするのに十分なオリゴヌクレオチドであってよい。本発明の診断アッセイに使用するための別の適切なプローブは本明細書に記載される。

［００３０４］　蛋白質を検出するための物質は蛋白質に結合することができる抗体、好ましくは検出可能な標識を持つ抗体である。抗体はポリクローナル、またはより好ましくはモノクローナルであってよい。無傷抗体、またはそのフラグメント（たとえばＦａｂまたはＦ（ａｂ′）$_2$）を使用することができる。プローブまたは抗体に関して“標識された”という用語は、検出可能な物質とプローブまたは抗体との結合（すなわち物理的な結合）によるプローブまたは抗体の直接標識、および直接標識される別の試薬との反応性によるプローブまたは抗体の間接標識を包含することを意図する。間接標識の例としては、蛍光標識した二次抗体を使用した一次抗体の検出、蛍光標識したストレプトアビジンで検出可能なビオチンによるＤＮＡプローブの末端‐標識が挙げられる。“生体試料”という用語は、対象から単離した組織、細胞、および生体液、ならびに対象内に存在する組織、細胞および生体液を包含することを意図する。すなわち、本発明の検出方法を使用して、生体試料中のｍＲＮＡ、蛋白質、またはゲノムＤＮＡをｉｎ　ｖｉｖｏおよびｉｎ　ｖｉｔｒｏで検出することができる。たとえば、ｍＲＮＡのｉｎ　ｖｉｖｏ検出技術にはノーザンハイブリダイゼーション、およびｉｎ　ｓｉｔｕハイブリダイゼーションが挙げられる。蛋白質検出のｉｎ　ｖｉｖｏ技術としては、酵素結合免疫吸着アッセイ（ＥＬＩＳＡ）、ウェスタンブロット、免疫沈降および免疫蛍光が挙げられる。さらに、蛋白質検出のｉｎ　ｖｉｔｒｏ技術としては、標識抗体の対象への導入が挙げられる。たとえば、抗体は、対象におけるその存在および位置が標準イメージング技術により検出できる放射性マーカーにより標識可能である。

［００３０５］　一態様において、生体試料は試験対象の蛋白質分子を含む。あるいは、生体試料は試験対象由来のｍＲＮＡ分子または試験対象由来のゲノムＤＮＡ分子を含んでいてよい。

［００３０６］　別の態様において、該方法はさらに、対照対象から対照生体試料を得ること、蛋白質、ｍＲＮＡ、またはゲノムＤＮＡを検出することができる化合物または物質と対照試料を接触させて生体試料中の蛋白質、ｍＲＮＡ、またはゲノムＤＮＡを検出すること、および試験対象中の蛋白質、ｍＲＮＡ、またはゲノムＤＮＡの存在を対照試料中の蛋白質、ｍＲＮＡ、またはゲノムＤＮＡの存在と比較することを含む。

【００６７】

診断およびアフィニティー精製におけるＡｂの使用

［００３０７］　本発明の蛋白質に対する抗体は種々の用途を有する。たとえば、抗体は本発明の蛋白質に対する診断アッセイ、たとえば具体的な細胞、組織、または血清におけるその発現の検出に使用することができる。当該技術分野で公知の種々の診断アッセイ技術、たとえば不均一、または均一相のいずれかで行われる競合的結合アッセイ、直接または間接サンドイッチアッセイおよび免疫沈降アッセイ（Ｚｏｌａ，Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ　Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ　Ｍａｎｕａｌ　ｏｆ　Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ，ＣＲＣ　Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．（１９８７）ｐｐ．１４７－１５８）を使用することができる。診断アッセイで使用される抗体は、検出可能な部分により標識することができる。検出可能な部分は検出可能なシグナルを直接的または間接的に生じることができる。たとえば、検出可能な部分は、放射性同位体、たとえば^{3}Ｈ、^{14}Ｃ、^{32}Ｐ、^{35}Ｓ、もしくは^{125}Ｉ、蛍光もしくは化学ルミネセンス化合物、たとえばフルオレセインイソチオシアネート、ローダミン、もしくはルシフェリン、または酵素、たとえばアルカリホスファターゼ、ベータ‐ガラクトシダーゼもしくはホースラディッシュペルオキシダーゼであってよい。以下に記載の方法を含む、抗体を検出可能な部分に結合させるための当該技術分野で公知

のいずれかの方法を使用することができる：Ｈｕｎｔｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，１４４：９４５（１９６２）；Ｄａｖｉｄ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｅｍｉｓｔｒｙ，１３：１０１４（１９７４）；Ｐａｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．Ｍｅｔｈ．，４０：２１９（１９８１）；およびＮｙｇｒｅｎ，Ｊ．Ｈｉｓｔｏｃｈｅｍ．ａｎｄ Ｃｙｔｏｃｈｅｍ．，３０：４０７（１９８２）。

［００３０８］ ポリペプチドに特異的な抗体を固体支持体に結合させ、標識したポリペプチドおよび宿主に由来する試料が固体支持体を通過し、そして固体支持体に結合した、検出された標識の量を試料中のポリペプチドの量に相関させることができる競合アッセイを使用することができる。

［００３０９］ 本発明の蛋白質に対する抗体はまた、組換え細胞培養物または天然の供与源由来の本発明の蛋白質のアフィニティー精製に有用である。この工程では、当該技術分野で公知の方法を使用して、抗体は適切な支持体、たとえば、Ｓｅｐｈａｄｅｘレジンまたは濾紙上に固定化される。次に、固定化された抗体を精製されることになる本発明の蛋白質を含む試料と接触させ、その後支持体を適切な溶媒で洗浄して、固定化抗体に結合している本発明の蛋白質以外のすべての試料中の物質を実質的に除去する。最後に、支持体を別の適切な溶媒で洗浄して本発明の蛋白質を抗体から遊離させる。

【００６８】

結合アッセイ

［００３１０］ 結合アッセイでは、相互作用は結合で、形成された複合体は反応混合物中で単離または検出することができる。具体的な態様において、本明細書で同定された遺伝子によりコードされるポリペプチドまたは薬物候補は、共有結合または非共有結合により固体相、たとえばマイクロタイタープレート上に固定化される。非共有結合は一般にポリペプチドの溶液で固体表面をコーティングし、乾燥させることにより行われる。あるいは、固定化されたポリペプチドに特異的な固定化抗体、たとえば、モノクローナル抗体を使用して、それを固体表面に係留することができる。アッセイは、検出可能な標識により標識することができる非固定化成分を、固定化成分、たとえば係留成分を含む被覆表面に添加することにより行われる。反応完了時に未反応成分を除去し（たとえば洗浄により）、固体表面に係留された複合体を検出する。本来非固定化成分が検出可能な標識を持つ場合、表面上に固定化された標識の検出は、複合体形成が起きたことを示唆する。本来非固定化成分が標識を持たない場合、複合体形成は、たとえば固定化複合体を特に結合する、標識抗体を使用することにより検出することができる。

［００３１１］ 候補化合物が、本明細書で同定された遺伝子によりコードされた具体的なポリペプチドと相互作用するが、それに結合しない場合、そのようなポリペプチドとの相互作用は蛋白質‐蛋白質相互作用を検出するための公知の方法によりアッセイすることができる。そのようなアッセイには、慣用の方法、たとえば架橋形成、共‐免疫沈降、およびグラジエントまたはクロマトグラフィーカラムによる共‐精製が挙げられる。さらに、蛋白質‐蛋白質相互作用は、Ｃｈｅｖｒｅｌ ａｎｄ Ｎａｔｈａｎｓ，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９：５７８９－５７９３（１９９１）に開示されたように、Ｆｉｅｌｄｓおよび共同研究者（Ｆｉｅｌｄｓ ａｎｄ Ｓｏｎｇ，Ｎａｔｕｒｅ（Ｌｏｎｄｏｎ），３４０：２４５－２４６（１９８９）；Ｃｈｉｅｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８８：９５７８－９５８２（１９９１））により記載の、酵母に基づいた遺伝系を使用することによりモニターすることができる。多くの転写活性化因子、たとえば酵母ＧＡＬ４は２種の物理的に別個のモジュールドメイン、ＤＮＡ‐結合ドメインとして作用する１種、および転写‐活性化ドメインとして機能する別の１種からなる。先の刊行物に記載の酵母発現系（一般に“ツー‐ハイブリッド系”と呼ばれる）は、この特性を利用し、そして２種のハイブリッド蛋白質、標的蛋白質がＧＡＬ４のＤＮＡ‐結合ドメインに融合した１種、および蛋白質を活性化する候補が活性化ドメインに融合した別の１種を利用する。ＧＡＬ４‐活性化プロモーターの制御下におけるＧＡＬ４－ｌａｃＺレポーター遺伝子の発現は、蛋白質‐蛋白質相互作用を介したＧＡＬ４活性の再構成に依存する。相互作用ポリペプチドを含むコロニーは、β‐

ガラクトシダーゼに対する発色基質による検出する。ツーハイブリッド技術を使用した２種の具体的な蛋白質間の蛋白質‐蛋白質相互作用を同定するための完全なキット（ＭＡＴＣＨＭＡＫＥＲ（登録商標））はＣｌｏｎｔｅｃｈから市販される。この系は具体的な蛋白質相互作用に関与する蛋白質ドメインを説明すること、およびこれらの相互作用にきわめて重要なアミノ酸残基を特定することにも適用される。

【００６９】

受容体／結合蛋白質の同定

［００３１２］　拮抗薬は、競合的阻害アッセイに適切な条件下で、ポリペプチドと潜在的拮抗薬を膜結合ポリペプチド受容体もしくは組換え受容体または結合蛋白質と結合させることにより検出することができる。ポリペプチドは、たとえば放射活性により標識してよく、その結果受容体または結合蛋白質に結合したポリペプチド分子の数を使用して、潜在的拮抗薬の有効性を確認することができる。受容体または結合蛋白質をコードする遺伝子は、たとえばリガンドパンニングおよびＦＡＣＳソーティング（Ｃｏｌｉｇａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ　ｉｎ　Ｉｍｍｕｎ．，１（２）：Ｃｈａｐｔｅｒ　５（１９９１））のような、当該技術分野で公知の多数の方法により同定することができる。

［００３１３］　好ましくは、ポリアデニル化ＲＮＡをポリペプチドに反応性の細胞から作製し、そしてこのＲＮＡから作製されたｃＤＮＡライブラリーをプールに分割し、ポリペプチドに反応性でないか、または結合蛋白質活性を含まないＣＯＳ細胞または別の細胞のトランスフェクションに使用する、発現クローニングが使用される。スライドガラス上で培養したトランスフェクション細胞を、標識ポリペプチドに曝すか、または溶解物質を結合活性試験のために作製する。ポリペプチドは、ヨウ素化または部位‐特異的蛋白質キナーゼに対する認識部位の含有を含む、種々の方法により標識することができる。固定およびインキュベーション後、スライドをオートラジオグラフィーにより分析する。陽性プールを同定し、サブ‐プールを作製し、相互作用サブ‐プーリングおよび再‐スクリーニング工程を使用して再トランスフェクションし、結局推定受容体または結合蛋白質をコードする単一クローンを得る。受容体または結合蛋白質同定のための代わりとなる方法として、標識ポリペプチドを、受容体または結合蛋白質を発現するか、または含む細胞膜または抽出調製物に光親和性に結合させることができる。架橋材料はＰＡＧＥにより分解し、Ｘ‐線フィルムに曝露する。標識複合体は切り取り、ペプチドフラグメントに分解して、蛋白質マイクロスクリーニングを行う。マイクロスクリーニングから得られたアミノ酸配列を使用して、ｃＤＮＡライブラリーをスクリーニングするための１組の変性オリゴヌクレオチドプローブを設計し、推定受容体または結合蛋白質をコードする遺伝子を同定する。

［００３１４］　潜在的拮抗薬のより具体的な例としては、イムノグロブリンとポリペプチドの融合物に結合するポリペプチド、およびとりわけ以下のものを含むが、それらに限定されない抗体が挙げられる：ポリ‐およびモノクローナル抗体および抗体フラグメント、１本鎖抗体、抗‐イディオタイプ抗体、ならびにそのような抗体またはフラグメントのキメラまたはヒト化型、それに加え、ヒト抗体および抗体フラグメントまたは複合抗体。あるいは、潜在的拮抗薬は密接に関連した蛋白質、たとえば受容体または結合蛋白質を認識するが作用は示さない、ポリペプチドの変異型であってもよく、それによってポリペプチドの作用を競合的に阻害する。

【００７０】

結合相互作用の阻害剤

［００３１５］　ポリペプチドのコーディング配列が別の蛋白質に結合する蛋白質をコードする場合、該ポリペプチドを結合相互作用に関与する別の蛋白質または分子を同定するアッセイに使用することができる。そのような方法により、結合相互作用に関与する阻害剤を同定することができる。また、そのような結合相互作用に関与する蛋白質を使用して、ペプチドまたは結合相互作用の小分子阻害剤もしくは作動薬をスクリーニングすることができる。また、本発明の蛋白質の受容体を使用して、相関関係にあるリガンド（複数の

リガンド）を単離することができる。スクリーニングアッセイは、天然の蛋白質または蛋白質の受容体の生理活性を模倣するリード化合物を見出すために設計することができる。そのようなスクリーニングアッセイは、小分子薬物候補の同定にとりわけ適する、化学ライブラリーのハイスループットスクリーニングがしやすいアッセイを含むことになる。企図した小分子は、合成有機または無機化合物の両方を含む。アッセイは、当該技術分野でよく知られた、蛋白質‐蛋白質結合アッセイ、生化学的スクリーニングアッセイ；イムノアッセイおよび細胞を基礎にしたアッセイを含む多様な形式で行うことができる。

【００７１】

発現または活性の調節因子を同定するための方法

細胞を基礎にしたアッセイ

［００３１６］　本発明は、本発明の蛋白質に結合するか、または、たとえば発現または活性に対して刺激もしくは阻害作用を有する調節因子、すなわち候補または試験化合物もしくは物質（たとえば、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～３０１１の核酸によりコードされたポリペプチドに対する抗体、アンチセンス核酸分子、ペプチド、ポリペプチド作動薬、ポリペプチド拮抗薬、ペプチド模倣物質、小分子または他の薬物）を同定するための方法を提供する。

［００３１７］　一態様において、本発明は蛋白質もしくはポリペプチドまたはそれらの生理活性部分の膜結合型に結合するか、またはそれらの活性を調節する、候補または試験化合物のためのアッセイを提供する。本発明の試験化合物は、当該技術分野で公知の以下のコンビナトリアルライブラリーの多数の方法のいずれかを使用して得ることができる：生物学的ライブラリー；空間的にアドレス可能な並列固相または溶液相ライブラリー；デコンボルーションを必要とする合成ライブラリー法；“１‐ビーズ１‐化合物”ライブラリー法；およびアフィニティークロマトグラフィー選択を使用した合成ライブラリー法。生物学的ライブラリー法はペプチドライブラリーに限定されるが、他の４種の方法はペプチド、非ペプチドオリゴマー、または化合物の小分子ライブラリーに適用可能である（Ｌａｍ（１９９７）Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ　Ｄｒｕｇ　Ｄｅｓ　１２：１４５）。

［００３１８］　分子ライブラリー合成のための例としては、以下のような例を当該技術分野において見出すことができる：ＤｅＷｉｔｔ　ｅｔ　ａｌ．（１９９３）Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　Ｕ．Ｓ．Ａ．９０：６９０９；Ｅｒｂ　ｅｔ　ａｌ．（１９９４）Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　Ｕ．Ｓ．Ａ．９１：１１４２２；Ｚｕｃｋｅｒｍａｎｎ　ｅｔ　ａｌ．（１９９４）Ｊ　Ｍｅｄ　Ｃｈｅｍ　３７：２６７８；Ｃｈｏ　ｅｔ　ａｌ．（１９９３）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２６１：１３０３；Ｃａｒｒｅｌｌ　ｅｔ　ａｌ．（１９９４）Ａｎｇｅｗ　Ｃｈｅｍ　Ｉｎｔ　Ｅｄ　Ｅｎｇｌ　３３：２０５９；Ｃａｒｒｅｌｌ　ｅｔ　ａｌ．（１９９４）Ａｎｇｅｗ　Ｃｈｅｍ　Ｉｎｔ　Ｅｄ　Ｅｎｇｌ　３３：２０６１；およびＧａｌｌｏｐ　ｅｔ　ａｌ．（１９９４）Ｊ　Ｍｅｄ　Ｃｈｅｍ　３７：１２３３。

［００３１９］　化合物のライブラリーは溶液中（たとえば、Ｈｏｕｇｈｔｅｎ（１９９２）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１３：４１２－４２１）またはビーズ上（Ｌａｍ（１９９１）Ｎａｔｕｒｅ　３５４：８２－８４）チップ上（Ｆｏｄｏｒ（１９９３）Ｎａｔｕｒｅ　３６４：５５５－５５６）細菌（Ｌａｄｎｅｒ、米国特許第５，２２３，４０９号）、胞子（Ｌａｄｎｅｒ　ＵＳＰ’４０９）プラスミド（Ｃｕｌｌ　ｅｔ　ａｌ．（１９９２）Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ　８９：１８６５－１８６９）またはファージ（Ｓｃｏｔｔ　ａｎｄ　Ｓｍｉｔｈ（１９９０）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４９：３８６－３９０；Ｄｅｖｌｉｎ（１９９０）Ｓｃｉｅｎｃｅ　２４９：４０４－４０６；Ｃｗｉｒｌａ　ｅｔ　ａｌ．（１９９０）Ｐｒｏｃ　Ｎａｔｌ　Ａｃａｄ　Ｓｃｉ　ＵＳＡ　８７：６３７８－６３８２；Ｆｅｌｉｃｉ（１９９１）Ｊ　Ｍｏｌ　Ｂｉｏｌ　２２２：３０１－３１０；Ｌａｄｎｅｒ、上記）に提示することができる。

［００３２０］　一態様において、アッセイは細胞を基礎にしたアッセイであり、そこでは膜結合型蛋白質、またはその生理活性部分を発現する細胞を細胞表面で試験化合物と接触させ、蛋白質に結合する試験化合物の能力を測定する。細胞は、たとえば哺乳類起源ま

たは酵母細胞のものであってよい。蛋白質に結合する試験化合物の能力の測定は、たとえば、試験化合物と放射性同位体または酵素標識の結合により行い、蛋白質、またはその生理活性部分への試験化合物の結合は複合体中の標識化合物の検出により測定することができる。たとえば、試験化合物は直接的または間接的のいずれかで^{125}Ｉ、^{35}Ｓ、^{14}Ｃまたは^{3}Ｈにより標識され、放射性同位体は放射の直接計数またはシンチレーション計数により検出することができる。あるいは、試験化合物は、たとえばホースラディッシュペルオキシダーゼ、アルカリ性ホスファターゼ、またはルシフェラーゼで酵素標識し、酵素標識は適切な基質から産物への変換を測定することにより検出することができる。一態様において、アッセイは、膜結合型蛋白質、またはその生理活性部分を発現する細胞を、細胞表面で本発明のポリペプチドに結合する公知の化合物と接触させてアッセイ混合物を形成し、アッセイ混合物を試験化合物と接触させ、そして試験化合物が蛋白質と相互作用する能力を測定し、ここで蛋白質と相互作用する試験化合物の能力の測定は、公知の化合物に比較して、本発明のポリペプチドまたはその生理活性部分に好ましくは結合する試験化合物の能力を測定することを含む。

［００３２１］　別の態様において、アッセイは細胞を基礎にしたアッセイであり、膜結合型蛋白質、またはその生理活性部分を発現する細胞を細胞表面で試験化合物と接触させ、蛋白質またはその生理活性部分の活性を調節する（たとえば、刺激する、または阻害する）試験化合物の能力を測定することを含む。本発明の蛋白質またはその生理活性部分の活性を調節する試験化合物の能力の測定は、蛋白質が標的分子に結合するか、またはそれと相互作用する能力を測定することにより行うことができる。本明細書で使用する、“標的分子”とは、本来蛋白質が結合するか、または相互作用する分子であり、たとえば本発明の蛋白質と相互作用する蛋白質を発現する細胞の表面上の分子、第２の細胞の表面上の分子、細胞外環境の分子、細胞膜の内部表面に結合した分子、または細胞質分子である。標的分子は、本発明のもの以外の分子、または本発明の蛋白質もしくはポリペプチドであってよい。一態様において、標的分子は細胞膜を介した、細胞への細胞外シグナル（たとえば、膜欠乏分子への化合物の結合により生成されるシグナル）の伝達を促進するシグナル伝達経路の成分である。標的分子は、たとえば、触媒活性を有する第２の細胞内蛋白質、または下流シグナル伝達分子と本発明の蛋白質との結合を促進する蛋白質であってよい。

［００３２２］　標的分子に結合するか、またはそれと相互作用する蛋白質の能力を測定することは、直接結合を測定するための先に記載の方法の１種により行うことができる。一態様において、標的分子に結合するか、またはそれと相互作用する蛋白質の能力を測定することは、標的分子の活性を測定することにより行うことができる。たとえば、標的の細胞内セカンドメッセンジャー（すなわち、細胞内Ｃａ$^{2+}$、ジアシルグリセロール、ＩＰ３など）の誘導を検出すること、適切な基質に対する標的の触媒／酵素活性を検出すること、レポーター遺伝子（検出可能なマーカー、たとえばルシフェラーゼをコードする拡散に作動可能に結合した調節エレメントを含む）の誘導を検出すること、または細胞反応、たとえば、細胞の生存、細胞分化、または細胞増殖を検出することにより、測定することができる。

［００３２３］　さらに別の態様において、本発明のアッセイは試験化合物と蛋白質またはその生理活性部分を接触させ、該蛋白質またはその生理活性部分に結合する試験化合物の能力を測定することを含む、無細胞アッセイである。蛋白質への試験化合物の結合は、先に記載のように、直接的または間接的のいずれかにより測定することができる。一態様において、アッセイは、蛋白質またはその生理活性部分を、本発明の蛋白質に結合する公知の化合物と接触させてアッセイ混合物を形成し、アッセイ混合物を試験化合物と接触させ、そして試験化合物が蛋白質と相互作用する能力を測定することを含み、ここで蛋白質と相互作用する試験化合物の能力の測定は、公知の化合物に比較して、本発明の蛋白質またはその生理活性部分に好ましくは結合する試験化合物の能力を測定することを含む。

［００３２４］　別の態様において、アッセイは試験化合物と蛋白質またはその生理活性部分を接触させ、該蛋白質またはその生理活性部分の活性を調節する（刺激するまたは阻

害する）試験化合物の能力を測定することを含む、無細胞アッセイである。本発明の蛋白質の活性を調節する試験化合物の能力を測定することは、たとえば、直接結合を測定するための先に記載の方法の１種を使用して、蛋白質が標的分子に結合する能力を測定することにより行うことができる。代わりの態様において、本発明の蛋白質の活性を調節する試験化合物の能力を測定することは、標的分子をさらに調節する蛋白質の能力を測定することにより行うことができる。たとえば、適切な基質上での標的分子の触媒／酵素活性は先に記載のように測定することができる。

［００３２５］　さらに別の態様において、無細胞アッセイは、蛋白質またはその生理活性部分を、本発明の蛋白質に結合する公知の化合物と接触させてアッセイ混合物を形成し、アッセイ混合物を試験化合物と接触させ、そして試験化合物が蛋白質と相互作用する能力を測定することを含み、ここで蛋白質と相互作用する試験化合物の能力の測定は、標的分子に好ましくは結合するか、またはその活性を調節する蛋白質の能力を測定することを含む。

［００３２６］　本発明の無細胞アッセイは、本発明の蛋白質の可溶型または膜‐結合型のいずれかの使用に従う。蛋白質の膜‐結合型を含む無細胞アッセイの場合、可溶化剤を使用して本発明の蛋白質の膜‐結合型が溶液中に保持されることを所望してよい。そのような可溶化剤の例としては、非イオン性界面活性剤、たとえばｎ－オクチルグルコシド、ｎ－ドデシルグルコシド、オクタノイル－Ｎ－メチルグルカミド、デカノイル－Ｎ－メチルグルカミド、Ｔｒｉｔｏｎ（登録商標）Ｘ１００、Ｔｒｉｔｏｎ（登録商標）Ｘ－１１４Ｔｈｅｓｉｔ（登録商標）、イソトリデシポリ（エチレングリコールエーテル）ｎ、Ｎ－ドデシル－－Ｎ，Ｎ－ジメチル－３－アンモニオ－１－プロパヘスルホネート、３－（３－コラミドプロピル）ジメチルアンミニオール－１－プロパンスルホネート（ＣＨＡＰＳ）または３－（３－コラミドプロピルジ）メチルアンミニオール－１－２－ヒドロキシ－１－プロパンスルホネート（ＣＨＡＰＳＯ）が挙げられる。

［００３２７］　本発明の上記のアッセイ法の１以上の態様において、本発明の蛋白質またはその標的分子のいずれかを固定化し、蛋白質の１種または両方の複合体型と非複合体型の単離を促進し、そしてアッセイ自動化に適応させることを所望してよい。本発明の蛋白質に対する試験化合物の結合、または候補化合物の存在下もしくは非存在下での本発明の蛋白質と標的分子との相互作用は、反応物の含有に適したいずれかの容器中で行うことができる。そのような容器の例としては、マイクロタイタープレート、試験管、および微小‐遠心管が挙げられる。一態様において、蛋白質の１種または両方をマトリクスに結合させるドメインを添加する融合蛋白質が提供される。たとえば、本発明の融合蛋白質のＧＳＴ‐蛋白質をグルタチオンセファロースビーズ（Ｓｉｇｍａ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ，Ｓｔ．Ｌｏｕｉｓ，ＭＯ）またはグルタチオン由来マイクロタイタープレート上に吸着させ、次にそれらを試験化合物または試験化合物と非吸着標的蛋白質もしくは蛋白質のいずれかと結合させることが可能であり、そして混合物は、複合体形成を促進する条件下（たとえば、塩およびｐＨに関して生理的条件下）でインキュベートされる。インキュベーション後、ビーズまたはマイクロタイタープレートウェルを洗浄してどのような非結合成分も除去し、ビーズの場合はマトリクスを固定化し、複合体は、たとえば先に記載のように、直接的または間接的のいずれかで測定する。あるいは、複合体をマトリクスから単離し、本発明の蛋白質のレベル、結合または活性は標準技術を使用して測定する。

［００３２８］　マトリクス上に蛋白質を固定化するための別の方法は、本発明のスクリーニングアッセイにおいても使用することができる。たとえば、本発明の蛋白質または標的分子のいずれかは、ビオチンおよびストレプトアビジンの結合を使用して固定化することができる。ビオチン化蛋白質または標的分子は、当該技術分野で公知の技術（たとえば、ビオチン化キット、Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌｓ，Ｒｏｃｋｆｏｒｄ，Ｉｌｌ．）を使用してビオチン－ＮＨＳ（Ｎ－ヒドロキシ－スクシニミド）から作製し、ストレプトアビジン‐被覆９６ウェルプレート（Ｐｉｅｒｃｅ　Ｃｈｅｍｉｃａｌ）のウェルに固定化することができる。あるいは、本発明の蛋白質または標的分子に反応性であるが、蛋白質がその標的分子に結合するのを妨害しない抗体でプレートのウェルを被覆し、抗体結

合により非結合標的または蛋白質をウェル中に捕捉してもよい。ＧＳＴ‐固定化複合体に対する先に記載の方法に加え、そのような複合体を検出するための方法には、蛋白質または標的分子と反応する抗体を使用した複合体の免疫検出、および蛋白質または標的分子に関連する酵素活性荷物付いたエンザイムイムノアッセイが挙げられる。

［００３２９］　別の態様において、本発明の蛋白質発現の調節因子は、細胞を候補化合物と接触させ、細胞中のｍＲＮＡまたは蛋白質の発現を測定する方法により同定される。候補化合物存在下でのｍＲＮＡまたは蛋白質の発現レベルを、候補化合物非存在下でのｍＲＮＡまたは蛋白質の発現レベルと比較する。次に、候補化合物はこの比較に基づいて、本発明の蛋白質発現の調節因子として同定することができる。たとえば、ｍＲＮＡまたは蛋白質の発現は候補化合物の存在下の方が、その非存在下よりも多い（統計的に有意に多い）場合、その候補化合物はｍＲＮＡまたは蛋白質の発現の刺激因子として同定される。あるいは、ｍＲＮＡまたは蛋白質の発現は候補化合物の存在下の方が、その非存在下よりも少ない（統計的に有意に少ない）場合、その候補化合物はｍＲＮＡまたは蛋白質の発現の阻害剤として同定される。ｍＲＮＡまたは蛋白質の発現レベルは、ｍＲＮＡまたは蛋白質を検出するために本明細書に記載の方法により測定することができる。

［００３３０］　本発明のさらに別の態様において、本発明の蛋白質をツーハイブリッドまたはスリーハイブリッドアッセイ（たとえば、米国特許第５，２８３，３１７号；Ｚｅｒｖｏｓ　ｅｔ　ａｌ．（１９９３）Ｃｅｌｌ　７２：２２３－２３２；Ｍａｄｕｒａ　ｅｔ　ａｌ．（１９９３）Ｊ　Ｂｉｏｌ　Ｃｈｅｍ　２６８：１２０４６－１２０５４；Ｂａｒｔｅｌ　ｅｔ　ａｌ．（１９９３）Ｂｉｏｔｅｃｈｎｉｑｕｅｓ　１４：９２０－９２４；Ｉｗａｂｕｃｈｉ　ｅｔ　ａｌ．（１９９３）Ｏｎｃｏｇｅｎｅ　８：１６９３－１６９６；およびＢｒｅｎｔ　Ｗ０９４／１０３００を参照されたい）において、“バイト蛋白質”として使用し、本発明の蛋白質に結合するか、またはそれと相互作用し、そして本発明の蛋白質の活性を調節することができる別の蛋白質を同定することができる。そのような結合蛋白質はまた、たとえば経路の上流または下流エレメントのような蛋白質によるシグナルの伝達に関与すると考えられる。

［００３３１］　ツーハイブリッド系は、単離可能なＤＮＡ‐結合および活性化ドメインからなる、多くの転写因子のモジュール特性に基づく。手短に述べると、アッセイは２種の異なるＤＮＡ構築物を使用する。１種の構築物では、本発明の蛋白質をコードする遺伝子は、公知の転写因子（たとえば、ＧＡＬ‐４ｚ）のＤＮＡ結合ドメインをコードする遺伝子に融合する。他方の構築物では、未同定の蛋白質（“プレイ”または“試料”）をコードするＤＮＡ配列のライブラリー由来のＤＮＡ配列は、公知の転写因子の活性化ドメインをコードする遺伝子に融合する。“バイト”および“プレイ”蛋白質がｉｎ　ｖｉｖｏで相互作用し、蛋白質‐依存的複合体を形成できる場合、転写因子のＤＮＡ結合および活性化ドメインは非常に接近する。この接近により、転写因子に反応する転写調節部位に作動可能に結合したレポーター遺伝子（たとえばＬａｃＺ）が転写される。レポーター遺伝子の発現を検出し、機能的転写因子を含む細胞コロニーを単離し、それを使用して本発明の蛋白質と相互作用する蛋白質をコードするクローニングされた遺伝子を得ることができる。

【００７２】

ｉｎ　ｖｉｖｏ腫瘍モデル

［００３３２］　癌の場合、種々の公知の動物モデルを使用して、腫瘍の発生および病因において本明細書で同定された遺伝子の役割をさらに理解し、そして抗体および小分子拮抗薬のような、本発明の天然の蛋白質の別の拮抗薬を含む候補治療薬の効力を試験することができる。そのようなモデルはｉｎ　ｖｉｖｏでの特質により、ヒト患者における反応の予言にとりわけ役立つ。腫瘍および癌（たとえば、乳癌、結腸癌、前立腺癌、肺癌など）の動物モデルには、非組換えおよび組換え（トランスジェニック）動物の両方が挙げられる。非組換え動物には、たとえば、齧歯類、たとえばマウスモデルが挙げられる。そのようなモデルは、本発明の遺伝子を発現する腫瘍細胞を標準技術、たとえば皮下注射、尾静脈内注射、脾臓移植、腹腔内移植、腎臓小体下移植、または同所移植、たとえば結腸組

織に移植された結腸癌を使用して同系マウスに導入することにより作製することができる。たとえば、ＰＣＴ公開公報ＷＯ９７／３３５５１、１９９７年、９月１８日公開を参照されたい。おそらく、腫瘍学研究において最もしばしば使用される動物は免疫不全マウス、たとえばヌードマウスである。胸腺機能不全／形成不全マウスはヒト腫瘍異種移植片（本発明の１以上の遺伝子を天然に、または組換え技術により発現する）の宿主として首尾よく働くという観察は、この目的のための広範な使用を導いている。常染色体劣性ｎｕ遺伝子はたとえば以下の系統を含む、非常に多数の異なるコンジェニック系統に導入されている：ＡＳＷ、Ａ／Ｈｅ、ＡＫＲ、ＢＡＬＢ／ｃ、Ｂｌ０．ＬＰ、Ｃ１７、Ｃ３Ｈ、Ｃ５７ＢＬ、Ｃ５７、ＣＢＡ、ＤＢＡ、ＤＤＤ、Ｉ／ｓｔ、ＮＣ、ＮＦＲ、ＮＦＳ、ＮＦＳ／Ｎ、ＮＺＢ、ＮＺＣ、ＮＺＷ、Ｐ、ＲＩＩＩおよびＳＪＬ。さらに、ヌードマウス以外の遺伝性免疫欠陥を持つ多様な別の動物が腫瘍異種移植片の受容動物として使用されている。より詳細には、Ｔｈｅ Ｎｕｄｅ Ｍｏｕｓｅ ｉｎ Ｏｎｃｏｌｏｇｙ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｅ．Ｂｏｖｅｎ ａｎｄ Ｂ．Ｗｉｎｏｇｒａｄ編（ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｉｎｃ．，１９９１）を参照されたい。

［００３３］ そのような動物に導入された細胞は、公知の腫瘍／癌細胞株、たとえばＢ １０４－１－１細胞株（ｎｅｕプロトオンコジーンによりトランスフェクションされた安定なＮＩＨ－３Ｔ３細胞株）；ｒａｓ‐トランスフェクションＮＩＨ－３Ｔ３細胞；Ｃａｃｏ－２（ＡＴＣＣ ＨＴＢ－３７）；もしくは中等度によく分化したグレードＩＩヒト結腸腺癌細胞株、ＨＴ－２９（ＡＴＣＣ ＨＴＢ－３８）に由来するか；または腫瘍および癌に由来してよい。腫瘍または癌細胞株の試料は、液体窒素中の凍結および保存を含む、標準条件を使用して、外科手術を受けた患者から得ることができる（Ｋａｒｍａｌｉ ｅｔ ａｌ．，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，４８：６８９－６９６（１９８３））。

［００３４］ 腫瘍細胞は種々の手順によりヌードマウスのような動物に導入することができる。マウスの皮下（ｓ．ｃ．）空間は腫瘍移植に非常に適する。腫瘍は固体ブロック、套管針の使用による針生検物、または細胞懸濁液として移植することができる。固体ブロックまたは套管針移植の場合には、適切なサイズの腫瘍組織フラグメントがｓ．ｃ．空間に導入される。細胞懸濁液は原発腫瘍または安定な腫瘍細胞株から新たに作製され、皮下に注射される。この部位では、接種物は真皮結合組織下部とｓ．ｃ．組織間に入れられる。

［００３５］ 乳癌の動物モデルは、本質的にＤｒｅｂｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８３：９１２９－９１３３（１９８６）に記載のように、たとえば、ラット神経芽腫細胞（それからｎｅｕ癌遺伝子が初めに単離された）、またはｎｅｕ‐により形質転換されたＮＩＨ－３Ｔ３細胞をヌードマウスに移植することにより作製することができる。

［００３６］ 同様に、結腸癌の動物モデルは、動物、たとえばヌードマウスにおいて結腸癌細胞を継代培養し、これらの動物に腫瘍を出現させることにより作製することができる。ヌードマウスにおけるヒト結腸癌の同所移植モデルは、たとえば、Ｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，５４：４７２６－４７２８（１９９４）およびＴｏｏ ｅｔ ａｌ．，Ｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ５５：６８ｉ－６８４（１９９５）．に記載されている。このモデルは、いわゆる“ＭＥＴＡＭＯＵＳＥ”（登録商標）に基づき、ＡｎｔｉＣａｎｃｅｒ，Ｉｎｃ．，（Ｓａｎ Ｄｉｅｇｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ）から市販される。

【００７３】

同系腫瘍モデル

［００３７］ 動物に生じた腫瘍は、除去し、ｉｎ ｖｉｔｒｏで培養することができる。ｉｎ ｖｉｔｒｏ培養物由来の細胞は次に動物において継代培養することができる。そのような腫瘍はさらに試験または薬物スクリーニングの標的として役立つ可能性がある。あるいは、継代培養から生じた腫瘍を単離し、継代前の細胞および１回以上継代した後単離した細胞由来のＲＮＡにおいて、関心のある遺伝子の発現の差を解析することができる。そのような継代培養技術は公知の腫瘍または癌細胞株のいずれでも行うことができる

。

［００３３８］　たとえば、Ｍｅｔｈ　Ａ、ＣＭＳ４、ＣＭＳ５およびＷＥＨＩ－１６４は、ＢＡＬＢ／ｃ雌マウス（ＤｅＬｅｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｅｘｐ．Ｍｅｄ．，１４６：７２０（１９７７））の化学的に誘発された線維肉腫であり、それらは種々の物質の抗腫瘍活性を研究するための高度に制御可能なモデル系である（Ｐａｌｌａｄｉｎｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｉｍｍｕｎｏｌ．，１３８：４０２３－４０３２（１９８７））。手短に述べると、腫瘍細胞を細胞培養によりｉｎ　ｖｉｔｒｏで増殖させる。動物への注射前に細胞株を洗浄し、約10×10^6～10×10^7細胞／ｍｌの細胞密度でバッファーに懸濁する。次に動物に１０～１００μｌの細胞懸濁液を感染させ、１～３週間で腫瘍を出現させる。

［００３３９］　さらに、最もよく研究された実験的腫瘍であるマウスのＬｅｗｉｓ肺（３ＬＬ）癌を研究用の腫瘍モデルとして使用することができる。この腫瘍モデルにおける効力は、肺小細胞癌（ＳＣＣＬ）と診断されたヒト患者の処置における有益な作用と関連付けられている（Ｚｕｐｉ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｒ．Ｊ．Ｃａｎｃｅｒ，４１：ｓｕｐｐｌ．４，３０（１９８０））。証拠は、たとえ１つの細胞の注射からでも生じる可能性があり、非常に高率の感染した腫瘍細胞が生き残ることを示唆する。この腫瘍モデルについてのより詳細な情報については、Ｚａｃｈａｒｓｋｉ，Ｈａｅｍｏｓｔａｓｉｓ，１６：３００－３２０（１９８６）を参照されたい。

［００３４０］　腫瘍を移植された動物において試験化合物の効力を評価するための１方法としては、処置前後の腫瘍サイズの測定が挙げられる。慣例として、移植された腫瘍サイズはノギスにより２または３次元で測定する。２次元に限定された尺度は腫瘍サイズを正確に反映せず、したがってそれは数式を使用することにより通常対応する体積に変換される。しかし、腫瘍サイズの測定は非常に不正確である。薬物候補の治療効果は処置‐誘発増殖遅延および具体的な増殖遅延として、よりよく説明することができる。腫瘍増殖の説明における別の重要な変数は、腫瘍体積倍加時間である。腫瘍増殖の計算および説明のためのコンピュータープログラムも使用可能であり、たとえばＲｙｇａａｒｄ　ａｎｄ　Ｓｐａｎｇ－Ｔｈｏｍｓｅｎ，Ｐｒｏｃ．６ｔｈ　Ｉｎｔ．Ｗｏｒｋｓｈｏｐ　ｏｎ　Ｉｍｍｕｎｅ－Ｄｅｆｉｃｉｅｎｔ　Ａｎｉｍａｌｓ　Ｗｕ　ａｎｄ　Ｓｈｅｎｇ編．（Ｂａｓｅｌ，１９８９），ｐ．３０１により報告されたようなものが挙げられる。しかし、少なくとも初期には、処置後の壊死および炎症反応が実際に腫瘍サイズを増大させる可能性があることに注意すべきである。したがって、これらの変化は、形態学的方法とフローサイトメトリー解析の組み合わせにより注意深くモニターする必要がある。

［００３４１］　さらに、トランスジェニック動物を作製する標準技術を使用して組換え（トランスジェニック）動物モデルを操作し、関心のある動物ゲノムに本明細書で同定された遺伝子のコーディング部分を導入することができる。トランスジェニック操作の対象として役立つ動物としては、マウス、ラット、ウサギ、モルモット、ヒツジ、ヤギ、ブタおよび非ヒト霊長類、たとえばヒヒ、チンパンジー、およびサルが挙げられるが、それらに限定されない。そのような動物にトランスジーンを導入する技術は前核マイクロインジェクション（米国特許第４，８７３，１９１号）；生殖細胞株へのレトロウイルス媒介遺伝子導入（たとえばＶａｎ　ｄｅｒ　Ｐｕｔｔｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８２：６１４８－６１５（１９８５））；胚幹細胞における遺伝子ターゲッティング（Ｔｈｏｍｐｓｏｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ，５６：３１３－３２１（１９８９））；胚のエレクトロポレーション（Ｌｏ，Ｍｏｌ．Ｃｅｌｌ．Ｂｉｏｌ．，３：１８０３－１８１４（１９８３））；および精子媒介遺伝子導入（Ｌａｖｉｔｒａｎｏ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ，５７：７１７－７３（１９８９））が挙げられる。総説としては、たとえば米国特許第４，７３６，８６６号を参照されたい。

［００３４２］　本発明の目的の場合、トランスジェニック動物はそれらの細胞の一部だけにおいてトランスジーンを持つ動物（“モザイク動物”）を含む。トランスジーンは単一トランスジーンとしてか、またはたとえば頭部‐頭部または頭部‐尾部連結のようなコンカテマー中に統合されてよい。また、具体的な細胞型へのトランスジーンの導入はたと

えばＬａｓｋｏ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８９：６２３２－６３６（１９９２）の技術に従うことにより行うことができる。

［００３４３］ トランスジェニック動物におけるトランスジーンの発現は標準技術によりモニターすることができる。たとえば、サザンブロット法またはＰＣＲ増幅を使用してトランスジーンの統合を評価することができる。また、ｍＲＮＡの発現レベルは、ｉｎ ｓｉｔｕハイブリダイゼーション、ノーザンブロット法、ＰＣＲ、または免疫細胞化学のような技術を使用して解析することができる。動物はさらに、腫瘍または癌の発生の徴候に関して調べられる。

［００３４４］ あるいは“ノックアウト”動物を作製してもよく、それらは本明細書で同定されたポリペプチドをコードする内因性遺伝子と動物の胚細胞に導入された同じポリペプチドをコードする変化したゲノムＤＮＡ間の同種組換えの結果として、ポリペプチドをコードする欠陥、または変化した遺伝子を有する。たとえば、具体的なポリペプチドをコードするｃＤＮＡを使用し、樹立された技術に従ってそのポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡをクローニングすることができる。具体的なポリペプチドをコードするゲノムＤＮＡの一部は、欠失するか、または統合をモニターすることができる選択的マーカーをコードする遺伝子のような、別の遺伝子で置換してもよい。一般に、数キロ塩基の変化していないフランキングＤＮＡ（５′および３′末端の両方において）がベクターに含有される。相同組換えベクターの説明に関してはＴｈｏｍａｓ ａｎｄ Ｃａｐｅｃｃｈｉ，Ｃｅｌｌ，５１：５０３（１９８７）を参照されたい。ベクターは胚幹細胞株に導入（たとえばエレクトロポレーションにより）され、導入されたＤＮＡが内因性ＤＮＡと相同組換えしている細胞が選択される。たとえばＬｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃｅｌｌ，６９：９１５（１９９２）を参照されたい。選択された細胞は次に動物（たとえばマウスまたはラット）の芽細胞に注射され、凝集キメラを形成する。たとえば、Ｂｒａｄｌｅｙ，ｉｎ Ｔｅｒａｔｏｃａｒｃｉｎｏｍａｓ ａｎｄ Ｅｍｂｒｙｏｎｉｃ Ｓｔｅｍ Ｃｅｌｌｓ：Ａ Ｐｒａｃｔｉｃａｌ Ａｐｐｒｏａｃｈ，Ｅ．Ｊ．Ｒｏｂｅｒｔｓｏｎ編（ＩＲＬ：Ｏｘｆｏｒｄ，１９８７），ｐｐ．１１３－１５２を参照されたい。次にキメラ胚は偽妊娠里親動物に移植され、胚は出産されて“ノックアウト”動物が作製される。生殖細胞中に相同組換えＤＮＡを係留する子孫は標準技術により同定可能であり、動物のすべての細胞が相同組換えＤＮＡを含有する動物を繁殖させるために使用される。ノックアウト動物は、当該技術分野で公知のように、本発明のアンチセンス分子を投与することにより作製することができる。そのようなアンチセンス分子を含有する動物はとりわけ本発明の態様として企図される。ノックアウト動物は、たとえばある種の病的状態に対して防御する能力、およびポリペプチドの欠如（ノックアウト）による病的状態の発生により特徴付けることができる。

【００７４】

動物モデル（非齧歯類）

［００３４５］ 本明細書で同定された本発明のポリペプチドの蛋白質、および別の薬物候補に特に結合する抗体の効力はまた、自然発生動物腫瘍の処置において試験することができる。そのような研究の適切な対象はネコ口腔扁平上皮癌（ＳＣＣ）である。ネコ口腔ＳＣＣは、高度に浸潤性で悪性の腫瘍で、最もよく知られたネコの一般的な口腔癌であり、この種で報告された口腔腫瘍の６０％以上の原因となる。それはめったに遠隔部位に転移しない、とはいえその低い転移率は単にこの腫瘍がネコでは生存時間が短いことの反映であるかもしれない。これらの腫瘍は、主にネコの口腔の解剖学的構造のために、通常外科手術が容易ではない。現在のところ、この腫瘍の効果的な処置はない。研究対象になる前に、それぞれのネコは完全な臨床検査および生検を受け、コンピュータートモグラフィーにより詳しく調べられる。舌下口腔扁平上皮癌と診断されたネコは研究から除外される。そのような腫瘍により舌は麻痺する可能性があり、たとえ処置が腫瘍を消滅させても動物は自分で餌を食べることができない可能性がある。それぞれのネコは長期間にわたり、繰り返し処置される。処置期間中、およびそれぞれにつづく再検査において、腫瘍の写真を毎日撮ることになる。処置後、それぞれのネコに別のＣＴスキャンを行う。ＣＴスキャ

ンおよび胸部放射線透過写真はその後、８週間ごとに評価される。データは、生存、反応、および毒性における対照と比較した差が評価される。腫瘍退縮の証拠には、好ましくはＱＯＬの改善および／または寿命延長を伴った陽性反応が必要である。

［００３４６］　さらに、イヌ、ネコ、およびヒヒの線維肉腫、腺癌、リンパ腫、軟骨腫、または平滑筋肉腫も試験することができる。これらのうち、イヌおよびネコの乳腺種は、その外観と挙動がヒトのものに非常に類似するため好ましいモデルである。しかし、このモデルの使用は動物においてこの型の腫瘍の出現がまれなため限定される。

［００３４７］　当該技術分野で公知の、別のｉｎ　ｖｉｔｒｏおよびｉｎ　ｖｉｖｏ癌試験も本明細書では適切である。

【００７５】

作動薬または拮抗薬のスクリーニング

［００３４８］　本発明は、ポリペプチド（作動薬）を模倣する、またはポリペプチド（拮抗薬）の作用を妨害する化合物を同定するための、それらのスクリーニング法を包含する。

［００３４９］　拮抗薬薬物候補のスクリーニングアッセイは、本明細書で同定された遺伝子によりコードされたポリペプチドに結合する、もしくは複合体を形成する、さもなければコードされたポリペプチドと別の細胞蛋白質との相互作用を妨げる化合物を同定するために設計される。そのようなアッセイには、本明細書に記載されたようなポリペプチドをコードする遺伝子（ｍＲＮＡまたはゲノムＤＮＡ）の相互作用を妨げる化合物を同定する方法が挙げられる。これらのスクリーニングアッセイには、化学ライブラリーのハイ‐または超ハイ‐スループットスクリーニングが容易なアッセイが挙げられ、それらはアンチセンスまたは小分子薬物候補を同定するためにとりわけ適する。

［００３５０］　そのようなアッセイには、蛋白質‐蛋白質結合アッセイ、生化学的スクリーニングアッセイ、イムノアッセイ、標的核酸結合アッセイ、および細胞を基礎にしたアッセイが挙げられ、それらについては当該技術分野で公知である。

【００７６】

アンチセンス

［００３５１］　別の潜在的ポリペプチド拮抗薬はアンチセンス技術を使用して作製されるアンチセンス構築物であり、その場合、たとえば、アンチセンス分子は本発明の蛋白質の標的とするｍＲＮＡ（またはゲノムＤＮＡ）にハイブリダイズし、蛋白質翻訳（またはｍＲＮＡ翻訳）を妨害することによりｍＲＮＡの翻訳（または転写）を直接遮断するために作用する。アンチセンス技術は、トリプル‐ヘリックス形成またはアンチセンスＤＮＡもしくはＲＮＡを介して遺伝子発現を制御するために使用可能であり、それらの方法は共にポリヌクレオチドのＤＮＡまたはＲＮＡへの結合に基づく。たとえば、本明細書の成熟ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド配列の５′コーディング領域を使用して約１０～４０塩基対長のアンチセンスＲＮＡオリゴヌクレオチドを設計する。ＤＮＡオリゴヌクレオチドは、転写に関与する遺伝子の領域に相補的であるように設計され（トリプル‐ヘリックス、Ｌｅｅ　ｅｔ　ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．，６：３０７３（１９７９）；Ｃｏｏｎｅｙ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２４１：４５６（１９８８）；Ｄｅｒｖａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，２５１：１３６０（１９９１）を参照されたい）、それによってポリペプチドの転写および産生を妨害する。アンチセンスＲＮＡオリゴヌクレオチドはｉｎ　ｖｉｖｏでｍＲＮＡにハイブリダイズし、ｍＲＮＡからポリペプチドへの翻訳を遮断する（アンチセンス－－Ｏｋａｎｏ，Ｎｅｕｒｏｃｈｅｍ．，５６：５６０（１９９１）；Ｏｌｉｇｏｄｅｏｘｙｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ　ａｓ　Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ　Ｉｎｈｉｂｉｔｏｒｓ　ｏｆ　Ｇｅｎｅ　Ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ（ＣＲＣ　Ｐｒｅｓｓ：Ｂｏｃａ　Ｒａｔｏｎ，ＦＬ，１９８８）。先に記載のオリゴヌクレオチドはまた、細胞に送達されて、アンチセンスＲＮＡまたはＤＮＡをｉｎ　ｖｉｖｏで発現し、ポリペプチドの産生を阻害してもよい。アンチセンスＤＮＡが使用される場合、翻訳開始部位に由来するオリゴデオキシリボヌクレオチド、たとえば標的遺伝子ヌクレオチド配列の約－１０～＋１０位置間が好ましい。

［００３５２］　アンチセンスＲＮＡまたはＤＮＡは一般に、少なくとも約５塩基長、約１０塩基長、約１５塩基長、約２０塩基長、約２５塩基長、約３０塩基長、約３５塩基長、約４０塩基長、約４５塩基長、約５０塩基長、約５５塩基長、約６０塩基長、約６５塩基長、約７０塩基長、約７５塩基長、約８０塩基長、約８５塩基長、約９０塩基長、約９５塩基長、約１００塩基長、またはそれ以上である。

［００３５３］　本発明は以下のものを含む、核酸分子の機能調節に使用するための、オリゴマーアンチセンス化合物、とりわけオリゴヌクレオチドを使用する：ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４をコードし、結局、産生されるＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４の量を調節するＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１～１１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３－３８およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３。これは、アンチセンス化合物を提供することにより行われ、それらはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４をコードするＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１～１１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３～３８およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３を含む１以上の核酸と特にハイブリダイズするアンチセンス化合物を提供することにより達成される。本明細書で使用する、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４をコードする、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１～１１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３～３８およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３を含む“標的核酸”および“核酸”という用語は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１－７６およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４をコードするＤＮＡ、そのようなＤＮＡから転写されたＲＮＡ（プレ－ｍＲＮＡおよびｍＲＮＡを含む）およびさらにそのようなＲＮＡに由来するｃＤＮＡを包含する。オリゴマー化合物とその標的核酸との具体的なハイブリダイゼーションは核酸の正常な機能を妨げる。標的核酸にとりわけハイブリダイズする化合物による、そのような核酸のこの調節は、一般に“アンチセンス”と呼ばれる。妨げられることになるＤＮＡの機能には、複製および転写が挙げられる。妨げられることになるＲＮＡの機能には、たとえば以下のものを含むすべての生体機能が挙げられる：蛋白質翻訳部位へのＲＮＡの転位、ＲＮＡからの蛋白質翻訳、１以上のｍＲＮＡ種を得るためのＲＮＡのスプライシング、およびＲＮＡが関与するか、またはそれにより促進される可能性がある触媒活性。標的核酸分子によるそのような干渉の全体的な作用は、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４の発現の調節である。本発明では、“調節”は遺伝子の発現の増大（刺激）または減少（阻害）のいずれかを意味する。本発明では、阻害は遺伝子発現の調節の好ましい形状であり、ｍＲＮＡが好ましい標的である。

［００３５４］　具体的な核酸をアンチセンスの標的にすることが好ましい。本発明では、具体的な核酸に対するアンチセンス化合物の“ターゲッティング”は、複数の工程からなる。工程は通常、機能が調節される核酸配列の同定から始まる。これはたとえば、発現が具体的な障害または疾患状態に関連する細胞遺伝子（または遺伝子から転写されるｍＲＮＡ）、または感染性物質由来の核酸分子であってよい。本発明では、標的はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４をコードする、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１～１１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３～３８およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３を含む核酸分子である。ターゲッティング工程はまた、アンチセンス相互作用が起きるためのこの遺伝子内の部位または複数の部位の確認を含み、その結果、蛋白質発現が検出されるか、または調節される。本発明においては、好ましい遺伝子内部位は遺伝子のオープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）の翻訳開始または終止コドンを包含する領域である。当該技術分野で公知のように、翻訳開始コドンは“ＡＵＧコドン”、“スタートコドン”または“ＡＵＧスタートコドン”と呼ばれる。少数の遺伝子は５’－ＧＵＧ、５’－ＵＵＧまたは５’－ＣＵＧのＲＮＡ配列を有する翻訳開始コドンを有し、そして５’－ＡＵＡ、５’－ＡＣＧおよび５’－ＣＵＧはｉｎ　ｖｉｖｏで機能することが示されている。したがって、“翻訳開始コドン”および“スタートコドン”という用語は、たとえそれぞれの場合の開始アミノ酸が一般にメチオニン（真核細

胞において）またはホルミルメチオニン（原核細胞において）であっても、多くのコドン配列を包含することができる。真核細胞または原核細胞遺伝子は２以上の代わりのスタートコドンを有していてもよいことは当該技術分野で公知であり、それらのいずれか１つは好ましくは具体的な細胞型または組織における、または具体的な条件の組み合わせのもとでの翻訳開始のために使用することができる。本発明では、“翻訳開始コドン”および“スタートコドン”という用語は、そのようなコドンの配列（複数の配列）にかかわらず、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４をコードする遺伝子から転写されたｍＲＮＡ分子の翻訳を開始するためにｉｎ　ｖｉｖｏで使用されるコドンまたは複数のコドンを表す。

［００３５５］　また、遺伝子の翻訳終止コドン（または“ストップコドン”）は、３種の配列、すなわち、５’－ＵＡＡ、５’－ＵＡＧおよび５’－ＵＧＡ（ｔ対応するＤＮＡ配列はそれぞれ５’－ＴＡＡ、５’－ＴＡＧおよび５’－ＴＧＡである）の１種を有していてよいことは当該技術分野で公知である。“スタートコドン領域”および“翻訳開始領域”という用語は、翻訳開始コドンからいずれかの方向（すなわち、５′または３′）において、約２５～約５０の隣接ヌクレオチドを包含するそのようなｍＲＮＡまたは遺伝子の一部を表す。同様に、“ストップコドン領域”および“翻訳終止コドン領域”という用語は、翻訳終止コドンからいずれかの方向（すなわち、５′または３′）において、約２５～約５０の隣接ヌクレオチドを包含するそのようなｍＲＮＡまたは遺伝子の一部を表す。

［００３５６］　オープンリーディングフレーム（ＯＲＦ）または“コーディング領域”は翻訳開始コドンと翻訳終止コドンの間の領域を表すことが当該技術分野で公知であり、そしてそれはまた効果的な標的領域である。別の標的領域としては、翻訳開始コドンから５′方向のｍＲＮＡの部分を表すことが当該技術分野で公知であり、したがって５′キャップ部位とｍＲＮＡまたは遺伝子上の対応するヌクレオチドの翻訳開始コドン間のヌクレオチドを含む５′非翻訳領域（５′ＵＴＲ）、および翻訳終止コドンから３′方向のｍＲＮＡの部分を表すことが当該技術分野で公知であり、したがって５′キャップ部位とｍＲＮＡまたは遺伝子上の対応するヌクレオチドの翻訳終止コドン間のヌクレオチドを含む３′非翻訳領域（３′ＵＴＲ）が挙げられる。ｍＲＮＡの５′キャップは５′－５′三燐酸結合を介してｍＲＮＡの５′－末端領域に結合したＮ７－メチル化グアノシン残基を含む。ｍＲＮＡの５′キャップ領域は５′キャップ構造自体およびキャップに隣接した初めの５０ヌクレオチドを含むと見なされる。５′キャップ領域はまた、好ましい標的領域であってよい。

［００３５７］　ある種の真核細胞ｍＲＮＡ転写物は直接翻訳されるが、多くは翻訳される前に転写物から切除される“イントロン”として公知の１以上の領域を含む。残りの（したがって翻訳される）領域は、“エキソン”として公知であり、連続したｍＲＮＡ配列を形成するために一緒にスプライシングされる。ｍＲＮＡスプライシング部位、すなわち、イントロン－エキソン接合部も好ましい標的領域であってよく、そして異常なスプライシングが疾患に関与するか、または具体的なｍＲＮＡスプライシング産物の過剰産生が疾患に関与する場合とりわけ有用である。再配列または欠失による異常な融合接合部も好ましい標的領域である。イントロンも効果的であり、したがって、たとえばＤＮＡまたはプレ－ｍＲＮＡを標的としたアンチセンス化合物に対する好ましい標的領域であってよいことが見出されている。

［００３５８］　１以上の標的部位がいったん同定されると、標的に十分に相補的、すなわち十分にハイブリダイズし、そして十分な特異性を有するオリゴヌクレオチドが選択され、所望する効果を示す。

［００３５９］　本発明では、“ハイブリダイゼーション”は水素結合を意味し、そしてそれは相補的なヌクレオシドまたはヌクレオチド塩基間のワトソン－クリック、フーグスティーン、または逆フーグスティーン水素結合であってよい。たとえば、アデニンとチミンは相補的な核酸塩基であり、それらは水素結合を介して対になる。本明細書で使用する“相補的”とは、２種のヌクレオチド間の正確な対形成のための能力を表す。たとえば、

オリゴヌクレオチドのある位置のヌクレオチドがＤＮＡまたはＲＮＡ分子の同じ位置において水素結合することができる場合、その位置において、該オリゴヌクレオチドとＤＮＡまたはＲＮＡはお互いに相補的であると見なされる。オリゴヌクレオチドとＤＮＡまたはＲＮＡ分子それぞれの十分な数の対応する位置がお互いに水素結合できるヌクレオチドによって占有される場合、それらはお互いに相補的である。したがって、“とりわけハイブリダイズ可能である”および“相補的”とは、オリゴヌクレオチドとＤＮＡまたはＲＮＡ標的間に安定で特異的な結合が存在するような、十分な程度の相補性または正確な対形成を示すために使用される用語である。アンチセンス化合物の配列は、とりわけハイブリダイズ可能であるために、その標的核酸の配列に対して１００％相補的である必要がないことは当該技術分野で理解される。標的ＤＮＡまたはＲＮＡ分子への化合物の結合が標的ＤＮＡまたはＲＮＡの正常な機能を妨げ、有用性の損失を引き起こし、そして特異的な結合が所望される条件下、すなわち、ｉｎ　ｖｉｖｏアッセイまたは治療的処置の場合における生理的条件下、およびｉｎ　ｖｉｔｒｏアッセイの場合においてアッセイが行われる条件下で、非標的配列へのアンチセンス化合物の非特異的結合を避けるために十分に相補的である場合、アンチセンス化合物は、とりわけハイブリダイズ可能である。

［００３６０］　アンチセンス化合物は一般に試薬および診断法の研究に使用される。たとえば、極めて特異的に遺伝子発現を阻害できるアンチセンスオリゴヌクレオチドは、具体的な遺伝子の機能評価のために当業者によりしばしば使用される。また、アンチセンス化合物は、たとえば生物学的経路の種々のメンバーの機能間の識別に使用される。アンチセンス調節はしたがって、研究用途に使用されている。

［００３６１］　アンチセンスの特異性および感度も治療的用途のために当業者に使用される。アンチセンスオリゴヌクレオチドは動物およびヒトにおける疾患状態の処置において治療の一部として使用されてきた。アンチセンスオリゴヌクレオチドは安全で、効果的にヒトに投与されていて、多数の臨床試験が現在進行中である。したがって、オリゴヌクレオチドは細胞、組織および動物の処置のための処置計画において有用であるように設計することができる、有用な治療様式であることが証明される。本発明では、“オリゴヌクレオチド”という用語は、リボヌクレオチド（ＲＮＡ）もしくはデオキシリボヌクレオチド（ＤＮＡ）またはそれらの模倣物のオリゴマーまたはポリマーを表す。この用語は、天然に存在する核酸塩基、糖および共有結合ヌクレオシド間（骨格）結合からなるオリゴヌクレオチド、および天然に存在しない部分を有し、同様に機能するオリゴヌクレオチドを含む。そのような改変された、または置換されたオリゴヌクレオチドは、所望する特性、たとえば、促進された細胞への取込、核酸標的への増大した親和性、およびヌクレアーゼ存在下での増大した安定性のために、しばしば天然型より好ましい。

［００３６２］　アンチセンスオリゴヌクレオチドはアンチセンス化合物の好ましい形状であるが、本発明は以下に記載のようなオリゴヌクレオチド模倣物を含むがそれらに限定されない、別のオリゴマーアンチセンス化合物を包含する。本発明に記載のアンチセンス化合物は好ましくは約８～約３０の核酸塩基（すなわち、約８～約３０の結合したヌクレオシド）を含む。とりわけ好ましいアンチセンス化合物はアンチセンスオリゴヌクレオチドであり、さらにより好ましくは、約１２～約２５の核酸塩基を含むものである。当該技術分野で公知のように、ヌクレオシドは塩基‐糖の組み合わせである。ヌクレオシドの塩基部分は通常、複素環塩基である。そのような複素環塩基の最も一般的な２種のクラスはプリンおよびピリミジンである。ヌクレオチドはヌクレオシドの糖部分に共有結合した燐酸基をさらに含むヌクレオシドである。ペントフラノシル糖を含むそれらのヌクレオシドの場合、燐酸基は糖の２′、３′または５′ヒドロキシル部分のいずれかに結合することができる。オリゴヌクレオチドを形成する場合、燐酸基はお互いに隣接するヌクレオシドと共有結合して線状の高分子化合物を形成する。次にこの線状高分子構造のそれぞれの末端がさらに結合して環状構造を形成することができるが、開放型線状構造が一般に好ましい。オリゴヌクレオチド構造内では、燐酸基は一般にオリゴヌクレオチドのヌクレオシド間骨格を形成するように表される。普通のＩ結合またはＲＮＡおよびＤＮＡの骨格は３′－５′ホスホジエステル結合である。

［００３６３］　本発明において有用な、好ましいアンチセンス化合物の具体的な例としては、改変骨格または非天然ヌクレオシド間結合を含むオリゴヌクレオチドが挙げられる。本明細書で説明するように、改変骨格を有するオリゴヌクレオチドは骨格に燐原子を保持するものおよび骨格に燐原子を持たないものが挙げられる。本明細書の目的では、そして時には当該技術分野で参照されるように、ヌクレオシド間骨格に燐原子を持たない改変されたオリゴヌクレオチドもヌクレオシドであると見なすことができる。

［００３６４］　好ましい改変オリゴヌクレオチド骨格には、たとえば正常３’－５’結合を有する、ホスホロチオエート、キラルホスホロチオエート、ホスホロジチオエート、ホスホトリエステル、アミノアルキルホスホトリエステル、メチルおよび他のアルキルホスホネート、たとえば３′アルキレンホスホネートおよびキラルホスホネート、ホスフィネート、ホスホロアミデート、たとえば３′－アミノホスホロアミデートおよびアミノアルキルホスホロアミデート、チオノホスホロアミデート、チオノアルキルホスホネート、チオノアルキルホスホトリエステル、およびボラノホスホネート、これらの２’－５’結合類似体、ならびにヌクレオシド単位の隣接対が３’－５’から５’－３’または２’－５’から５’－２’に結合した、逆の極性を有するものが挙げられる。種々の塩、混合塩および遊離酸型も包含される。

［００３６５］　上記の燐含有結合の作製法を教示する代表的な米国特許としては、以下のものが挙げられるが、それらに限定されない：米国特許第３，６８７，８０８号；第４，４６９，８６３号；第４，４７６，３０１号；第５，０２３，２４３号；第５，１７７，１９６号；第５，１８８，８９７号；第５，２６４，４２３号；第５，２７６，０１９号；第５，２７８，３０２号；第５，２８６，７１７号；第５，３２１，１３１号；第５，３９９，６７６号；第５，４０５，９３９号；第５，４５３，４９６号；第５，４５５，２３３号；第５，４６６，６７７号；第５，４７６，９２５号；第５，５１９，１２６号；第５，５３６，８２１号；第５，５４１，３０６号；第５，５５０，１１１号；第５，５６３，２５３号；第５，５７１，７９９号；第５，５８７，３６１号；および第５，６２５，０５０号。これらのそれぞれは参照として本明細書に援用される。

［００３６６］　燐原子を中にもたない、好ましい改変オリゴヌクレオチド骨格は、短鎖アルキルもしくはシクロアルキルヌクレオシド間結合、混合ヘテロ原子およびアルキルもしくはシクロアルキルヌクレオシド間結合、または１以上の短鎖ヘテロ原子もしくは複素環ヌクレオシド間結合により形成される骨格を有する。これらには、モルホリノ結合（部分的にヌクレオシドの糖部分から形成される）；シロキサン骨格；スルフィド、スルホキシドおよびスルホン骨格；ホルムアセチルおよびチオホルムアセチル骨格；アルケン含有骨格；スルホネートおよびスルホンアミド骨格；アミド骨格；ならびに混合したＮ、Ｏ、ＳおよびＣＨ$_2$成分部分を有する別のものが挙げられる。

［００３６７］　上記のオリゴヌクレオシドの作製法を教示する代表的な米国特許としては、以下のものが挙げられるが、それらに限定されない：米国特許第５，０３４，５０６号；第５，１６６，３１５号；第５，１８５，４４４号；第５，２１４，１３４号；第５，２１６，１４１号；第５，２３５，０３３号；第５，２６４，５６２号；第５，２６４，５６４号；第５，４０５，９３８号；第５，４３４，２５７号；第５，４６６，６７７号；第５，４７０，９６７号；第５，４８９，６７７号；第５，５４１，３０７号；第５，５６１，２２５号；第５，５９６，０８６号；第５，６０２，２４０号；第５，６１０，２８９号；第５，６０２，２４０号；第５，６０８，０４６号；第５，６１０，２８９号；第５，６１８，７０４号；第５，６２３，０７０号；第５，６６３，３１２号；第５，６３３，３６０号；第５，６７７，４３７号；および第５，６７７，４３９号。それらのそれぞれは参照として本明細書に援用される。

［００３６８］　別の好ましいオリゴヌクレオチド模倣物では、ヌクレオチド単位の糖およびヌクレオシド両方の結合、すなわち骨格は、新しい基により置換される。塩基単位は適切な核酸標的化合物とのハイブリダイゼーションのために維持される。そのようなオリゴマー化合物の１種、優れたハイブリダイゼーション特性を有することが示されているオリゴヌクレオチド模倣物は、ペプチド核酸（ＰＮＡ）と呼ばれる。ＰＮＡ化合物では、オ

リゴヌクレオチドの糖‐骨格はアミド含有骨格、とりわけアミノエチルグリシン骨格により置換される。核酸塩基は保持され、そして骨格のアミド部分のアザ窒素原子に直接または間接的に結合する。ＰＮＡ化合物の作製法を教示する代表的な米国特許としては、以下のものが挙げられるが、それらに限定されない：米国特許第５，５３９，０８２号；５，７１４，３３１号；および５，７１９，２６２号。それらのそれぞれは参照として本明細書に援用される。ＰＮＡ化合物の別の教示はＮｉｅｌｓｅｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｓｃｉｅｎｃｅ，１９９１，２５４，１４９７－１５００に見出すことができる。

［００３６９］　本発明のより好ましい態様は、ホスホロチオエート骨格を持つオリゴヌクレオチドおよびヘテロ原子骨格を持つオリゴヌクレオシド、そしてとりわけ先に参照した米国特許第５，４８９，６７７号の－CH_2－ＮＨ－Ｏ－CH_2－、－CH_2－Ｎ（CH_3）－Ｏ－CH_2－［メチレン（メチルイミノ）またはＭＭＩ骨格としても公知］－CH_2－Ｏ－Ｎ（CH_3）－CH_2－、－CH_2Ｎ（CH_3）－Ｎ（CH_3）－CH_2－、および－Ｏ－Ｎ（CH_3）－CH_2－CH_2－［ここで天然のホスホジエステル骨格は－Ｏ－Ｐ－Ｏ－CH_2－として提示される］、ならびに先に参照した米国特許第５，６０２，２４０号のアミド骨格である。また、先に参照した米国特許第５，０３４，５０６号のモルホリノ骨格構造を有するオリゴヌクレオチドが好ましい。

［００３７０］　また、改変オリゴヌクレオチドが１以上の置換された糖部分を含んでいてもよい。好ましいオリゴヌクレオチドは２′の位置において以下の中の１種を含む：ＯＨ；Ｆ；Ｏ－、Ｓ－、もしくはＮ－アルキル；Ｏ－、Ｓ－、もしくはＮ－アルケニル；Ｏ－、Ｓ－、もしくはＮ－アルキニル；またはＯ－アルキル－Ｏ－アルキル（式中、アルキル、アルケニル、およびアルキニルは置換された、または非置換C_1～C_{10}アルキルまたはC_2～C_{10}アルケニルおよびアルキニルであってよい。Ｏ［（CH_2）$_n$Ｏ］$_m$$CH_3$、Ｏ（$CH_2$）$_n$、ＯＣ$H_3$、Ｏ（$CH_2$）$_n$$NH_2$、Ｏ（$CH_2$）$_n$$CH_3$、Ｏ（$CH_2$）$_n$ＯＮ$H_2$およびＯ（$CH_{2n}$ＯＮ［（$CH_2$）$_n$$CH_3$）］$_2$（式中、ｎおよびｍは１～約１０である）がとりわけ好ましい。別の好ましいオリゴヌクレオチドは２′の位置において以下の中の１種を含む：C_1～C_{10}、（低級アルキル、置換された低級アルキル、アルカリル、アラルキル、Ｏ－アルカリルまたはＯ－アラルキル、ＳＨ、ＳＣH_3、ＯＣＮ、Ｃｌ、Ｂｒ、ＣＮ、CF_3、ＯＣF_3、ＳＯＣH_3、SO_2CH_3、ＯＮO_2、NO_2、N_3、NH_2、ヘテロシクロアルキル、ヘテロシクロアルカリル、アミノアルキルアミノ、ポリアルキルアミノ、置換されたシリル、ＲＮＡ開裂基、レポーター基、インターカレーター、オリゴヌクレオチドの薬物動態学的特性を改善する基、またはオリゴヌクレオチドの薬力学的特性を改善する基、および類似の特性を有する別の置換基。好ましい改変には、２′－メトキシエトキシ（２′－Ｏ－$CH_2$$CH_2$ＯＣ$H_3$、２′－Ｏ－（２－メトキシエチル）または２’－ＭＯＥとしても公知）（Ｍａｒｔｉｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｈｅｌｖ．Ｃｈｉｍ．Ａｃｔａ，１９９５，７８，４８６－５０４）すなわち、アルコキシアルコキシ基が挙げられる。さらに好ましい改変には、本明細書において実施例として以下に記載の２′－ジメチルアミノオキシエトキシ、すなわちＯ（CH_2）$_2$ＯＮ（CH_3）$_2$基（２′－ＤＭＡＯＥとしても公知）、および同様に本明細書において実施例として以下に記載の２’－Ｏ－ジメチルアミノエトキシエチル（２′－Ｏ－ジメチルアミノエトキシエチルまたは２′－ＤＭＡＥＯＥとして当該技術分野で公知）、すなわち２′－Ｏ－CH_2－Ｏ－CH_2－Ｎ（CH_2）$_2$が挙げられる。

［００３７１］　別の好ましい改変には、２′－メトキシ（２′－ＯCH_3）、２′－アミノプロポキシ（２′－Ｏ$CH_2$$CH_2$$CH_2$$NH_2$）および２′－フルオロ（２′－Ｆ）が挙げられる。また、オリゴヌクレオチドの別の位置、とりわけ３′末端ヌクレオチド上または２′－５′結合オリゴヌクレオチド中の糖の３′位、および５′末端ヌクレオチドの５′位に類似の改変を行ってもよい。また、オリゴヌクレオチドはペントフラノシル糖のかわりに、シクロブチル部分のような糖模倣物を有していてもよい。そのような改変された糖構造の作製法を教示する代表的な米国特許は以下のものを含むが、それらに限定されない：米国特許第４，９８１，９５７号；第５，１１８，８００号；第５，３１９，０８０号；第５，３５９，０４４号；第５，３９３，８７８号；第５，４４６，１３７号

；第５，４６６，７８６号；第５，５１４，７８５号；第５，５１９，１３４号；第５，５６７，８１１号；第５，５７６，４２７号；第５，５９１，７２２号；第５，５９７，９０９号；第５，６１０，３００号；第５，６２７，０５３号；第５，６３９，８７３号；第５，６４６，２６５号；第５，６５８，８７３号；第５，６７０，６３３号；および第５，７００，９２０号。これらのそれぞれは参照としてそのまま本明細書に援用される。

［００３７２］　また、オリゴヌクレオチドは核酸塩基（しばしば当該技術分野では、単に“塩基”と呼ばれる）改変または置換を含んでいてもよい。本明細書で使用する“非改変”または“天然の”核酸塩基には、プリン塩基アデニン（Ａ）、およびグアニン（Ｇ）、およびピリミジン塩基チミン（Ｔ）、シトシン（Ｃ）およびウラシル（Ｕ）が挙げられる。改変核酸塩基には、以下のような別の合成および天然核酸塩基が挙げられる：たとえば５－メチルシトシン（５－Ｍｅ－Ｃ）、５－ヒドロキシメチルシトシン、キサンチン、ヒポキサンチン、２－アミノアデニン、アデニンおよびグアニンの６－メチルおよび他のアルキル誘導体、アデニンおよびグアニンの２－プロピルおよび他のアルキル誘導体、２－チオウラシル、２－チオチミンおよび２－チオシトシン、５－ハロウラシルおよびシトシン、５－プロピニルウラシルおよびシトシン、６－アゾウラシル、シトシンおよびチミン、５－ウラシル（プソイドウラシル）、４－チオウラシル、８－ハロ、８－アミノ、８－チオール、８－チオアルキル、８－ヒドロキシルおよび他の８－置換アデニンおよびグアニン、５－ハロとりわけ５－ブロモ、５－トリフルオロメチルおよび他の５－置換ウラシルおよびシトシン、７－メチルグアニンおよび７－メチルアデニン、８－アザグアニンおよび８－アザアデニン、７－デアザグアニンおよび７－デアザアデニンならびに３－デアザグアニンおよび３－デアザアデニン。別の核酸塩基としては、米国特許第３，６８７，８０８号、Ｔｈｅ Ｃｏｎｃｉｓｅ Ｅｎｃｙｃｌｏｐｅｄｉａ Ｏｆ Ｐｏｌｙｍｅｒ Ｓｃｉｅｎｃｅ Ａｎｄ Ｅｎｇｉｎｅｅｒｉｎｇ，ｐａｇｅｓ８５８－８５９，Ｋｒｏｓｃｈｗｉｔｚ，Ｊ．Ｉ．，ｅｄ．Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ＆Ｓｏｎｓ，１９９０に開示されたもの、Ｅｎｇｌｉｓｃｈ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｇｅｗａｎｄｔｅ Ｃｈｅｍｉｅ，Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ Ｅｄｉｔｉｏｎ，１９９１，３０，６１３、およびＳａｎｇｈｖｉ，Ｙ．Ｓ．，Ｃｈａｐｔｅｒ １５，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ｐａｇｅｓ２８９－３０２、およびＣｒｏｏｋｅ，Ｓ．Ｔ．ａｎｄ Ｌｅｂｌｅｕ，Ｂ．ｅｄ．，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，１９９３に開示されたものが挙げられる。これらの核酸塩基のある種のものは本発明のオリゴマー化合物の結合親和性増大にとりわけ有用である。これらには、２－アミノプロピルアデニン、５－プロピニルウラシルおよび５－プロピニルシトシンを含む、５－置換ピリミジン、６－アザピリミジンおよびＮ－２、Ｎ－６およびＯ－６置換プリンが挙げられる。５－メチルシトシン置換は、核酸デュープレックス安定性を０．６～１．２℃増大させることが示されていて（Ｓａｎｇｈｖｉ，Ｙ．Ｓ．，Ｃｒｏｏｋｅ，Ｓ．Ｔ．ａｎｄ Ｌｅｂｌｅｕ，Ｂ．，ｅｄｓ，Ａｎｔｉｓｅｎｓｅ Ｒｅｓｅａｒｃｈ ａｎｄ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ，ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｃａ Ｒａｔｏｎ，１９９３，ｐｐ．２７６－２７８）、そして今のところ、好ましい塩基置換であり、２′－Ｏ－メトキシエチル糖置換と合わせた場合、さらにとりわけ好ましい塩基置換である。

［００３７３］　ある種の先に記載の改変核酸塩基および別の改変核酸塩基の作製法を教示する代表的な米国特許としては、以下のものが挙げられるが、それらに限定されない：先に記載の米国特許第３，６８７，８０８号、ならびに第４，８４５，２０５号；第５，１３０，３０２号；第５，１３４，０６６号；第５，１７５，２７３号；第５，３６７，０６６号；第５，４３２，２７２号；第５，４５７，１８７号；第５，４５９，２５５号；第５，４８４，９０８号；第５，５０２，１７７号；第５，５２５，７１１号；第５，５５２，５４０号；第５，５８７，４６９号；第５，５９４，１２’号、第５，５９６，０９１号；第５，６１４，６１７号；第５，７５０，６９２、および第５，６８１，９４１号。これらのそれぞれは参照として本明細書に援用される。

［００３７４］　本発明のオリゴヌクレオチドの別の改変としては、オリゴヌクレオチド

の活性、細胞内分布、または細胞内取込を促進する１以上の部分または複合体をオリゴヌクレオチドに化学的に結合させることが挙げられる。そのような部分には、以下のものが挙げられるが、それらに限定されない：たとえばコレステロール部分（Ｌｅｔｓｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，１９８９，８６，６５５３－６５５６）、コール酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔ．，１９９４，４，１０５３－１０６０）、チオエーテル、たとえばヘキシル－Ｓ－トリチルチオール（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｎ．Ｎ．Ｙ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，１９９２，６６０，３０６－３０９；Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｏｒｇ．Ｍｅｄ．Ｃｈｅｍ．Ｌｅｔ．，１９９３，３，２７６５－２７７０）、チオコレステロール（Ｏｂｅｒｈａｕｓｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１９９２，２０，５３３－５３８）、脂肪族鎖、たとえばドデカンジオールまたはウンデシル残基（Ｓａｉｓｏｎ－Ｂｅｈｍｏａｒａｓ ｅｔ ａｌ．，ＥＭＢＯ Ｊ．，１９９１，１０，１１１１－１１１８；Ｋａｂａｎｏｖ ｅｔ ａｌ．，ＦＥＢＳ Ｌｅｔｔ．，１９９０，２５９，３２７－３３０；Ｓｖｉｎａｒｃｈｕｋ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍｉｅ，１９９３，７５，４９－５４）、燐脂質、たとえば、ジ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロールまたはトリエチルアンモニウム１，２－ジ－Ｏ－ヘキサデシル－ｒａｃ－グリセロ－３－Ｈ－ホスホネート（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，１９９５，３６，３６５１－３６５４；Ｓｈｅａ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．，１９９０，１８，３７７７－３７８３）、ポリアミンまたはポリエチレングリコール鎖（Ｍａｎｃｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌｅｏｓｉｄｅｓ＆Ｎｕｃｌｅｏｔｉｄｅｓ，１９９５，１４，９６９－９７３）またはアダマンタン酢酸（Ｍａｎｏｈａｒａｎ ｅｔ ａｌ．，Ｔｅｔｒａｈｅｄｒｏｎ Ｌｅｔｔ．，１９９５，３６，３６５１－３６５４）、パルミチル部分（Ｍｉｓｈｒａ ｅｔ ａｌ．，Ｂｉｏｃｈｉｍ．Ｂｉｏｐｈｙｓ．Ａｃｔａ，１９９５，１２６４，２２９－２３７）、またはオクタデシルアミノもしくはヘキシルアミノ－カルボニル－オキシコレステロール部分（Ｃｒｏｏｋｅ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｐｈａｒｍａｃｏｌ．Ｅｘｐ．Ｔｈｅｒ．，１９９６，２７７，９２３－９３７）。

［００３７５］　そのようなオリゴヌクレオチド複合体の作製法を教示する代表的な米国特許としては、以下のものが挙げられるが、それらに限定されない：米国特許第４，８２８，９７９号；第４，９４８，８８２号；第５，２１８，１０５号；第５，５２５，４６５号；第５，５４１，３１３号；第５，５４５，７３０号；第５，５５２，５３８号；第５，５７８，７１７号，第５，５８０，７３１号；第５，５８０，７３１号；第５，５９１，５８４号；第５，１０９，１２４号；第５，１１８，８０２号；第５，１３８，０４５号；第５，４１４，０７７号；第５，４８６，６０３号；第５，５１２，４３９号；第５，５７８，７１８号；第５，６０８，０４６号；第４，５８７，０４４号；第４，６０５，７３５号；第４，６６７，０２５号；第４，７６２，７７９号；第４，７８９，７３７号；第４，８２４，９４１号；第４，８３５，２６３号；第４，８７６，３３５号；第４，９０４，５８２号；第４，９５８，０１３号；第５，０８２，８３０号；第５，１１２，９６３号；第５，２１４，１３６号；第５，０８２，８３０号；第５，１１２，９６３号；第５，２１４，１３６号；第５，２４５，０２２号；第５，２５４，４６９号；第５，２５８，５０６号；第５，２６２，５３６号；第５，２７２，２５０号；第５，２９２，８７３号；第５，３１７，０９８号；第５，３７１，２４１号，第５，３９１，７２３号；第５，４１６，２０３号，第５，４５１，４６３号；第５，５１０，４７５号；第５，５１２，６６７号；第５，５１４，７８５号；第５，５６５，５５２号；第５，５６７，８１０号；第５，５７４，１４２号；第５，５８５，４８１号；第５，５８７，３７１号；第５，５９５，７２６号；第５，５９７，６９６号；第５，５９９，９２３号；第５，５９９，９２８号および第５，６８８，９４１号。これらのそれぞれは参照として本明細書に援用される。

［００３７６］　一定の化合物のすべての位置が均一に改変されることが必要ではなく、実際、先に述べた改変の１種以上が単一化合物に、またはオリゴヌクレオチド内の単一ヌ

クレオチドだけに取り込まれてもよい。また、本発明はキメラ化合物である、アンチセンス化合物を含む。本発明において“キメラ（ｃｈｉｍｅｒｉｃ）”アンチセンス化合物、または“キメラ（ｃｈｉｍｅｒａ）”はアンチセンス化合物、とりわけオリゴヌクレオチドであり、それらは２種以上の化学的に異なる領域を含み、それぞれは少なくとも１種のモノマー単位、すなわち、オリゴヌクレオチド化合物の場合ヌクレオチドからなる。これらのオリゴヌクレオチドは一般に、ヌクレアーゼ分解への耐性増大、細胞取込増大、および／または標的核酸への結合親和性増大をオリゴヌクレオチドに授けるように改変された、少なくとも１領域を含む。オリゴヌクレオチドの別の領域は、ＲＮＡ：ＤＮＡまたはＲＮＡ：ＲＮＡハイブリッドの開裂が可能な酵素の基質として役立ってもよい。例としては、ＲＮアーゼＨは細胞エンドヌクレアーゼであり、それはＲＮＡ：ＤＮＡデュープレックスのＲＮＡ鎖を開裂する。したがって、ＲＮアーゼＨの活性は、ＲＮＡ標的を開裂し、それによってオリゴヌクレオチドによる遺伝子発現の阻害効率を非常に促進する。結果として、同じ標的領域にハイブリダイズするホスホロチオエートデオキシオリゴヌクレオチドに比較して、キメラオリゴヌクレオチドを使用する場合、より短いオリゴヌクレオチドにより、匹敵する結果をしばしば得ることができる。ＲＮＡ標的の開裂は通常、ゲル電気泳動、そして、必要な場合、当該技術分野で公知の関連した核酸ハイブリダイゼーション技術により検出される。

［００３７７］　本発明のキメラアンチセンス化合物は、先に記載のように、２以上のオリゴヌクレオチド、改変オリゴヌクレオチド、オリゴヌクレオシドおよび／またはオリゴヌクレオチド模倣物の複合構造物として形成することができる。また、そのような化合物は当該技術分野では、ハイブリッドまたはギャップマーと呼ばれている。そのようなハイブリッド構造の作製法を教示する代表的な米国特許としては、以下のものが挙げられるが、それらに限定されない：米国特許第５，０１３，８３０号；第５，１４９，７９７号；第５，２２０，００７号；第５，２５６，７７５号；第５，３６６，８７８号；第５，４０３，７１１号；第５，４９１，１３３号；第５，５６５，３５０号；第５，６２３，０６５号；第５，６５２，３５５号；第５，６５２，３５６号；および第５，７００，９２２号。これらのそれぞれは参照としてそのまま本明細書に援用される。

［００３７８］　本発明に従って使用されるアンチセンス化合物は好都合には、そして通常、固相合成の公知の技術を使用して作製することができる。そのような合成のための装置は、たとえばＡｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ（Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，ＣＡ）を含むいくつかの業者により市販される。当該技術分野で公知のそのような合成のためのいずれか別の方法を付加的に、または代わりに使用することができる。ホスホロチオエートおよびアルキル化誘導体のようなオリゴヌクレオチドを作製するための類似の技術を使用することは公知である。

［００３７９］　本発明のアンチセンス化合物はｉｎ　ｖｉｔｒｏで合成され、生体起源のアンチセンス組成物、またはアンチセンス分子をｉｎ　ｖｉｖｏで合成するために設計された遺伝ベクター構築物を含まない。本発明の化合物はまた、取込、分布および／または吸収を促進するための、リポソーム、受容体標的分子、経口、直腸、局所または他の製剤のような別の分子、分子構造または化合物の混合物と混合する、それらにより被包する、結合する、または別の方法で関連させることができる。そのような、取込、分布および／または吸収を促進する製剤の作製法を教示する代表的な米国特許としては以下のものが挙げられるが、それらに限定されない：米国特許第５，１０８，９２１号；第５，３５４，８４４号；第５，４１６，０１６号；第５，４５９，１２７号；第５，５２１，２９１号；第５，５４３，１５８号；第５，５４７，９３２号；第５，５８３，０２０号；第５，５９１，７２１号；第４，４２６，３３０号；第４，５３４，８９９号；第５，０１３，５５６号；第５，１０８，９２１号；第５，２１３，８０４号；第５，２２７，１７０号；第５，２６４，２２１号；第５，３５６，６３３号；第５，３９５，６１９号；第５，４１６，０１６号；第５，４１７，９７８号；第５，４６２，８５４号；第５，４６９，８５４号；第５，５１２，２９５号；第５，５２７，５２８号；第５，５３４，２５９号；第５，５４３，１５２号；第５，５５６，９４８号；第５，５８０，５７５号；およ

び第５，５９５，７５６号。これらのそれぞれは参照として本明細書に援用される。
［００３８０］　本発明のアンチセンス化合物は診断、治療、および予防のため、ならびに研究試薬およびキットとして使用することができる。治療の場合、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４の発現を調節することにより処置できる疾患または障害を有すると推測される動物、好ましくはヒトが、本発明に記載のアンチセンス化合物を投与することにより処置される。本発明の化合物は、治療的有効量のアンチセンス化合物を適切な薬剤的に受容できる希釈剤またはキャリアに添加することにより医薬組成物として使用することができる。アンチセンス化合物の使用および本発明の方法はまた、たとえば感染、炎症、または腫瘍形成を妨害するか、または遅延させるために予防的に使用することができる。
［００３８１］　本発明のアンチセンス化合物はまた、研究および診断に有用である。なぜなら、これらの化合物はＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４をコードする核酸にハイブリダイズし、この事実を利用して容易に構築されるサンドイッチまたは他のアッセイを可能にするからである。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４をコードする核酸と本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドのハイブリダイゼーションは当該技術分野で公知の方法により検出することができる。そのような方法には、オリゴヌクレオチドへの酵素の結合、オリゴヌクレオチドの放射標識、またはいずれか別の適切な検出手段を挙げることができる。試料中のＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９～４９、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５１～７６、およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４のレベルを検出するためのそのような検出方法を使用したキットも作製することができる。
［００３８２］　潜在的拮抗薬には、ポリペプチドの活性部位、蛋白質‐結合部位、または他の適切な結合部位（たとえば、補因子結合部位、基質結合部位）に結合し、それによってポリペプチドの正常な生理活性を阻害する小分子が挙げられる。小分子の例としては、小ペプチドまたはペプチド様分子、好ましくは可溶性ペプチド、および合成非ペプチジル有機または無機化合物が挙げられるが、それらに限定されない。
［００３８３］　リボザイムはＲＮＡの具体的な開裂を触媒することができる酵素性ＲＮＡ分子である。リボザイムは相補的標的ＲＮＡへの配列特異的ハイブリダイゼーション、その後の末端核酸分解性開裂により作用する。潜在的ＲＮＡ標的内の具体的リボザイム開裂部位は公知の技術により確認することができる。より詳細には、たとえば、Ｒｏｓｓｉ，Ｃｕｒｒｅｎｔ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，４：４６９－４７１（１９９４）、およびＰＣＴ公開公報第ＷＯ９７／３３５５１号（１９９７年９月１８日公開）を参照されたい。
［００３８４］　転写阻害に使用されるトリプルヘリックス形成における核酸分子は１本鎖であり、そしてデオキシヌクレオチドからなるべきである。これらのオリゴヌクレオチドの塩基組成は、フーグスティーン型塩基対形成ルールによりトリプルヘリックス形成を促進するように設計され、それらは一般にデュープレックスの１本鎖上のプリンまたはピリミジンの手頃な大きさの伸長を必要とする。さらに詳細には、たとえば、ＰＣＴ公開公報ＷＯ９７／３３５５１、上記、を参照されたい。
［００３８５］　これらの小分子は本明細書で説明された１以上のスクリーニングアッセイのいずれかおよび／または当業者に公知のいずれか別の技術により同定することができる。
［００３８６］　薬物候補と本明細書で同定された核酸によりコードされたポリペプチドが、２種の成分が相互作用するための条件下、およびそれに十分な時間、接触することを必要とする拮抗薬のすべてのアッセイは公知である。
【００７７】
拮抗薬のアッセイ
［００３８７］　拮抗薬のための別のアッセイにおいて、哺乳類細胞または受容体を発現する膜標本は候補化合物の存在下で、標識されたポリペプチドと共にインキュベートされることになる。次にこの相互作用を促進または阻害する化合物の能力を測定することがで

きる。
［００３８８］　潜在的拮抗薬には、ポリペプチドの活性部位、受容体‐結合部位、または成長因子もしくは他の適切な結合部位に結合し、それによってポリペプチドの正常な生理活性を阻害する小分子が挙げられる。小分子の例としては、抗体、小ペプチドまたはペプチド様分子、好ましくは可溶性ペプチド、および合成非ペプチジル有機または無機化合物が挙げられるが、それらに限定されない。
【００７８】
薬物スクリーニング
［００３８９］　本発明はとりわけ、種々の薬物スクリーニング技術のいずれかにおいてポリペプチドまたはその結合フラグメントを使用することにより化合物をスクリーニングするために有用である。そのような試験で使用されるポリペプチドまたはフラグメントは、溶液中で遊離する、固体支持体に付着する、細胞表面上にある、または細胞内に位置するのいずれかであってよい。薬物スクリーニングの一方法は、ポリペプチドまたはフラグメントを発現する組み換え核酸により安定に形質転換された真核または原核宿主細胞を使用する。薬物は競合的結合アッセイにおいてそのような形質転換された細胞に対してスクリーニングされる。生存可能、または固定型のいずれかにおけるそのような細胞を標準結合アッセイに使用することができる。たとえば、ポリペプチドまたはフラグメントと試験される物質間の複合体形成を測定することができる。あるいは、試験される物質により引き起こされた、ポリペプチドとその標的細胞または標的受容体間の複合体形成の減少を調べることができる。
［００３９０］　したがって、本発明は本発明の蛋白質に関連した疾患または障害に影響を与えることができる、薬物またはいずれか別の物質に対するスクリーニング法を提供する。これらの方法はそのような物質とポリペプチドまたはそのフラグメントを接触させ、当該技術分野で公知の方法により、（ｉ）物質とポリペプチドまたはフラグメント間の複合体の存在、または（ｉｉ）ポリペプチドまたはフラグメントと細胞間の複合体の存在に対しアッセイすることを含む。そのような競合的結合アッセイにおいて、ポリペプチドまたはフラグメントは一般に標識される。適切なインキュベーション後、遊離ポリペプチドまたはフラグメントを結合型で存在するそれと分け、そして遊離または複合体形成をしない標識の量がポリペプチドに結合するか、またはポリペプチド／細胞複合体を妨害する具体的な物質の能力の尺度である。
［００３９１］　薬物スクリーニングの別の技術は、ポリペプチドに適切な感受性を有する化合物のハイスループットスクリーニングを提供し、１９８４年９月１３日に公開されたＷＯ８４／０３５６４に詳細に記載される。手短に述べると、多数の異なる小ペプチド試験化合物が、プラスチックピンまたはある種の別の表面のような、固体基質上で合成される。本発明の蛋白質に適用すると、ペプチド試験化合物はポリペプチドと反応し、そして洗浄される。結合ポリペプチドは当該技術分野で公知の方法により検出される。精製されたポリペプチドはまた、先に記載の薬物スクリーニング技術における使用のためにプレートを直接被覆することができる。さらに、非中和抗体を使用して、ペプチドを捕捉し、それを固体支持体に固定化することができる。
［００３９２］　本発明はまた、ポリペプチドまたはそのフラグメントへの結合に対して、ポリペプチドを結合することができる中和抗体が特に試験化合物と競合する、競合的薬物スクリーニングアッセイの使用を企図する。この方法では、抗体を使用してポリペプチドと１以上の抗原決定基を共有するいずれかのペプチドの存在を検出することができる。
【００７９】
処置される障害
癌性障害
［００３９３］　本発明のポリペプチドは癌細胞生成、増殖または転移に関与してよい。本発明のポリヌクレオチドまたはポリペプチドの存在または量の検出が１種以上の型の癌の診断および／または予後に有用であってよい。たとえば、本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチドの増大した発現の存在が、癌の遺伝性リスク、前癌状態、また

は進行中の悪性腫瘍を示唆してもよい。逆に、遺伝子の欠陥またはポリペプチドの欠如が癌状態と関連してもよい。また、癌または癌の素因に関連する一塩基多形の同定が診断または予後に有用であってよい。

［００３９４］　癌処置は、腫瘍細胞増殖の阻害、血管新生（腫瘍増殖を支持するために必要な新血管の増殖）および／または腫瘍細胞運動性または浸潤性を減少させることによる転位の妨害により腫瘍退縮を促進する。本発明の治療的組成物は以下のものを含む成体および小児腫瘍学に効果的であってよい：固相腫瘍／悪性腫瘍、局所進行腫瘍、ヒト軟部組織肉腫、リンパ性転移を含む転移性癌、多発性骨髄腫を含む血液細胞悪性腫瘍、急性および慢性白血病およびリンパ腫、口腔癌を含む頭部および頸部癌、喉頭癌および甲状腺癌、小細胞癌および非小細胞癌を含む肺癌、小細胞癌および腺管癌を含む乳癌、食道癌、胃癌結腸癌、結腸直腸癌および結腸直腸腫瘍に関連したポリープを含む消化器癌、膵臓癌、肝臓癌、膀胱癌および前立腺癌を含む泌尿器癌、卵巣癌、子宮（子宮内皮を含む）癌、および卵胞の固形腫瘍を含む女性生殖器の悪性腫瘍、腎細胞癌を含む腎臓癌、神経芽細胞腫、星状細胞脳腫瘍、グリオーマ、中枢神経系の転移性腫瘍細胞浸潤、骨腫を含む骨癌、悪性メラノーマを含む皮膚癌、ヒト皮膚ケラチン細胞の腫瘍進行、扁平上皮細胞癌、基底細胞癌、血管周皮細胞腫ならびにカポジ肉腫。

【００８０】

白血病

［００３９５］　白血病および関連する障害は、本発明のポリヌクレオチドおよび／またはポリペプチドの機能を促進または阻害する治療薬の投与により処置または妨害することができる。そのような白血病および関連する障害には、急性リンパ性白血病、急性骨髄性白血病、骨髄芽球性白血病、前骨髄性白血病、骨髄単球性白血病、単球性白血病、赤白血病、慢性白血病、慢性骨髄性（顆粒球性）白血病および慢性リンパ性白血病が挙げられるが、それらに限定されない（そのような障害の総説としては、Ｆｉｓｈｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，１９８５，Ｍｅｄｉｃｉｎｅ，２ｄ　Ｅｄ．，Ｊ．Ｂ．Ｌｉｐｐｉｎｃｏｔｔ　Ｃｏ．，Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａが挙げられる）。

【００８１】

その他の活性

［００３９６］　本発明のポリペプチドはまた、１以上の以下の付加的な活性または効果を示すことができる：細菌、真菌およびその他の寄生生物を含むが、それらに限定されない感染因子の増殖、感染または機能を阻害するか、またはそれらを致死させること；以下のことを含む身体的特徴をもたらす（抑制する、または促進する）こと：身長、体重、毛髪色、眼色、皮膚、脂肪対赤身比もしくは他の組織色素沈着または器官もしくは身体部分サイズもしくは型（たとえば、乳房増大または縮小、骨型または状態の変化）；バイオリズムまたは日周期もしくはサイクルを生み出すこと；雄生または雌性対象の生殖能力を生み出すこと；食餌性脂肪、脂質、蛋白質、炭水化物、ビタミン、ミネラル、補因子または他の栄養因子もしくは成分の代謝、異化、同化、プロセシング、利用、貯蔵または除去を行うこと；食欲、性欲、ストレス、認知（認知障害を含む）、抑鬱（抑鬱障害を含む）および凶暴行動を含むが、それらに限定されない行動の特徴を生み出すこと；鎮痛作用または他の疼痛減少作用を提供すること；造血系譜以外の胚幹細胞系譜の分化および増殖を促進すること；ホルモンおよび内分泌活性；酵素の場合、酵素の欠乏を調整し、欠乏に関連する疾患を処置すること；高度増殖性障害（たとえば、乾癬）の処置；イムノグロブリン様活性（たとえば、抗原または補体に結合する能力）；およびそのような蛋白質もしくは別の物質またはそのような蛋白質と交差反応する実体に対して免疫反応を引き起こすワクチン組成物において抗原として作用する能力。

【００８２】

適用、投与、プロトコール、スケジュール、投与量、および製剤

［００３９７］　本明細書の分子ならびにそれに対する作動薬および拮抗薬は先に記載の種々の障害および疾患の予防および治療薬として薬剤的に有用である。

［００３９８］　ポリペプチドまたは作動薬および拮抗薬の治療用組成物は、凍結乾燥製

剤または水溶液の形状において、任意の薬剤的に受容できるキャリア、賦形剤、または安定化剤と、適切な程度の純度を有する所望する分子を混合することにより、貯蔵用に作製される（Ｒｅｍｉｎｇｔｏｎ’ｓ Ｐｈａｒｍａｃｅｕｔｉｃａｌ Ｓｃｉｅｎｃｅｓ，１６ｔｈ ｅｄｉｔｉｏｎ，Ｏｓｏｌ，Ａ． ｅｄ．（１９８０））。受容できるキャリア、賦形剤、または安定化剤は使用される量および濃度において受容者に非毒性であり、以下のものが挙げられる：バッファー、たとえば燐酸、クエン酸、およびその他の有機酸；酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸およびメチオニン；保存剤（たとえば、オクタデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド；ヘキサメトニウムクロリド；ベンザルコニウムクロリド、ベンゼトニウムクロリド；フェノール、ブチルまたはベンジルアルコール；アルキルパラベン、たとえばメチルまたはプロピルパラベン；カテコール；レゾルシノール；シクロヘキサノール；３－ペンタノール；およびｍ－クレゾール）；低分子量（約１０残基未満）ポリペプチド；蛋白質、たとえば血清アルブミン、ゼラチン、またはイムノグロブリン；親水性ポリマー、たとえばポリビニルピロリドン；アミノ酸、たとえばグリシン、グルタミン、アスパラギン、ヒスチジン、アルギニン、またはリシン；単糖、二糖、およびその他の炭水化物、たとえばグルコース、マンノース、またはデキストリン；キレート剤、たとえばＥＤＴＡ；糖、たとえばショ糖、マンニトール、トレハロースまたはソルビトール；塩‐形成性対イオン、たとえばナトリウム；金属錯体（たとえば、Ｚｎ‐蛋白質錯体）；および／または非イオン性界面活性剤、たとえばＴＷＥＥＮ（登録商標）、ＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（登録商標）またはポリエチレングリコール（ＰＥＧ）。

［００３９９］ そのようなキャリアの付加的な例としては、イオン交換物質、アルミナ、アルミニウムステアレート、レシチン、血清蛋白質、たとえばヒト血清アルブミン、バッファー物質、たとえば燐酸、グリシン、ソルビン酸、ソルビン酸カリウム、飽和植物性脂肪酸の部分的グリセリド混合物、水、塩、または電解質、たとえばプロタミン硫酸、燐酸水素二ナトリウム、塩化ナトリウム、亜鉛塩、コロイドシリカ、マグネシウムトリシリケート、ポリビニルピロリドン、セルロースを基礎にした物質、およびポリエチレングリコールが挙げられる。拮抗薬の局所またはゲルに基づいた形状には、多糖、たとえばカルボキシメチルセルロースまたはメチルセルロースナトリウム、ポリビニルピロリドン、ポリアクリレート、ポリオキシエチレン‐ポリオキシプロピレン‐ブロックポリマー、ポリエチレングリコール、およびウッドワックスアルコール（ｗｏｏｄ ｗａｘ ａｌｃｏｈｏｌ）が挙げられる。すべての投与に対して、慣用のデポー製剤の形状が適切に使用される。そのような形状には、たとえば微小カプセル、ナノ‐カプセル、リポソーム、硬膏剤、吸入型、鼻スプレー、舌下錠、および徐放製剤が挙げられる。ポリペプチド、作動薬、または拮抗薬は一般に約０．１ｍｇ／ｍｌ～１００ｍｇ／ｍｌの濃度でそのようなベヒクル中に製剤されることになる。

［００４００］ 別の製剤は、ポリペプチドまたはその拮抗薬を形成された製品に取り込むことを含む。そのような製品は癌細胞増殖の調節に使用することができる。さらに、腫瘍浸潤および転移をこれらの製品を使用して調節することができる。

［００４０１］ ｉｎ ｖｉｖｏ投与のために使用されるポリペプチドまたは拮抗薬は無菌でなければならない。このことは、凍結乾燥および溶解の前、または後に滅菌濾過膜により濾過することにより容易に行われる。通常、ポリペプチドは凍結乾燥型で、または全身投与する場合は溶液で貯蔵される。凍結乾燥型の場合、ポリペプチドまたはその拮抗薬は一般に、使用時における適切な希釈剤による溶解のために別の成分と組み合わせて製剤される。ポリペプチドまたは拮抗薬の液体製剤の例としては、皮下注射のための１回量バイアルに充填された滅菌、透明、無色の非保存溶液が挙げられる。反復使用に適切な保存医薬組成物は、たとえば、取り扱い説明書およびポリペプチドの型に依存して以下のものを含んでいてよい：ａ）ポリペプチドまたはそれに対する作動薬もしくは拮抗薬；ｂ）溶液中のポリペプチドまたは別の分子のある範囲の最大安定性におけるｐＨ、好ましくは約４～８を維持できるバッファー；ｃ）撹拌‐誘発凝集に対してポリペプチドまたは分子を主に安定化する界面活性剤／表面活性剤；ｄ）等張化剤；ｅ）フェノール、ベンジルアルコールおよびベンゼトニウムハライド、たとえばクロリドの群から選択される保存剤；お

よび水。

［００４０２］　使用する界面活性剤が非イオン性である場合、それは、たとえばＰＯＬＹＳＯＲＢＡＴＥ（登録商標）（ＴＷＥＥＮ™（登録商標）２０、８０など）またはポロキサマー（たとえばＰＯＬＯＸＡＭＥＲ（登録商標）１８８）であってよい。非イオン性界面活性剤の使用により、ポリペプチドの変性を引き起こさずに製剤が剪断表面応力に曝されることになる。さらに、そのような表面活性剤‐含有製剤は、肺投与、および針無しジェットインジェクター銃に使用されるようなエアゾール装置において使用することができる（たとえば、ＥＰ２５７，９５６を参照されたい）。

［００４０３］　等張化剤はポリペプチドまたはその拮抗薬の液体組成物の等張性を確実にするために存在してもよく、そして多価糖アルコール、好ましくは三価以上の糖アルコール、たとえばグリセリン、エリスリトール、アラビトール、キシリトール、ソルビトール、およびマンニトールが挙げられる。これらの糖アルコールは単独で、または組み合わせて使用することができる。あるいは、塩化ナトリウムまたは別の適切な無機塩を使用して溶液を等張にすることができる。

［００４０４］　バッファーはたとえば、所望するｐＨに依存して、酢酸、クエン酸、または燐酸バッファーであってよい。本発明の液体製剤の一型のｐＨは約４～８，好ましくはほぼ生理的ｐＨに緩衝される。

［００４０５］　保存剤フェノール、ベンジルアルコールおよびベンゼトニウムハライド、たとえばクロリドは、使用することができる公知の抗微生物薬である。

［００４０６］　一般に治療用ポリペプチド組成物は、滅菌アクセスポート、たとえば皮下注射針により穴をあけることができるストッパーを有する静脈内溶液バッグ、またはバイアルを有する容器に入れられる。製剤は好ましくは、反復した静脈内（ｉ．ｖ．）、皮下（ｓ．ｃ．）、もしくは筋肉内（ｉ．ｍ．）注射として、または鼻腔内もしくは肺内送達に適したエアゾール製剤として投与することができる（肺内送達については、ＥＰ２５７，９５６を参照されたい）。

［００４０７］　また、ポリペプチドは徐放製剤の形状で投与することができる。徐放製剤の適切な例としては、蛋白質を含む固体親水性ポリマーの半透過性マトリックスが挙げられ、そのようなマトリックスは成型品の形状、たとえばフィルム、またはマイクロカプセルである。徐放‐マトリックスの例としては、ポリエステル、ハイドロゲル（たとえば、Ｌａｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｊ．Ｂｉｏｍｅｄ．Ｍａｔｅｒ．Ｒｅｓ．，１５：１６７－２７７（１９８１）およびＬａｎｇｅｒ，Ｃｈｅｍ．Ｔｅｃｈ．，１２：９８－１０５（１９８２）に記載のハイドロゲル（たとえば、ポリ（２－ヒドロキシエチル－メタクリレート）またはポリ（ビニルアルコール））、ポリラクチド（米国特許第３，７７３，９１９号、ＥＰ５８，４８１）、Ｌ－グルタミン酸とガンマエチル‐Ｌ－グルタメートのコポリマー（Ｓｉｄｍａｎ　ｅｔ　ａｌ．，Ｂｉｏｐｏｌｙｍｅｒｓ，２２：５４７－５５６（１９８３））、非分解性エチレン‐ビニルアセテート（Ｌａｎｇｅｒ　ｅｔ　ａｌ．，上記）、Ｌｕｐｒｏｎ　Ｄｅｐｏｔ（登録商標）のような分解性乳酸‐グリコール酸コポリマー（乳酸‐グリコール酸コポリマーおよびロイプロリドアセテートからなる注射用ミクロスフェア）およびポリ－Ｄ－（－）－３ヒドロキシ酪酸（ＥＰ１３３　９８８）が挙げられる。

［００４０８］　エチレン‐ビニルアセテートおよび乳酸‐グリコール酸のようなポリマーは１００日にわたり分子の放出を可能にするが、ある種のヒドロゲルはより短い期間蛋白質を放出する。被包された蛋白質が長期間体内に留まる場合、それらは３７℃での湿気への曝露の結果、変性または凝集し、生理活性の損失および可能性のある免疫原性の変化を引き起こす可能性がある。関与する機序に依存した蛋白質安定化のための合理的な方法を考案することができる。たとえば、凝集機序がチオ‐ジスルフィド交換を介した分子間Ｓ－Ｓ結合形成であることが見出される場合、スルフヒドリル残基を改変し、酸性溶液から凍結乾燥し、適切な添加剤を使用して水分含量を制御し、そして具体的なポリマーマトリックス組成物を開発することにより、安定化を達成することができる。

［００４０９］　また、徐放性ポリペプチド組成物はリポソームにより捕捉されたポリペ

プチドを含有する。ポリペプチドを含有するリポソームは、それ自体公知の方法により作製することができる：ＤＥ３，２１８，１２１；Ｅｐｓｔｅｉｎ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，８２：３６８８－３６９２（１９８５）；Ｈｗａｎｇ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，７７：４０３０－４０３４（１９８０）；ＥＰ５２ ３２２；ＥＰ３６ ６７６；ＥＰ８８ ０４６；ＥＰ１４３ ９４９；ＥＰ１４２，６４１；日本特許出願８３－１１８００８；米国特許第４，４８５，０４５および４，５４４，５４５；ならびにＥＰ １０２ ３２４号。通常、リポソームは、脂質含量が約３０％コレステロール以上であり、選択された部分を最適治療に適応させることができる小さい（約２００～８００オングストローム）単ラメラ型のもので、その脂質含量は最適治療のために調節されている割合の、約３０ｍｏｌ．％コレステロール以上である。

［００４１０］ ポリペプチドまたはその拮抗薬の治療的有効量は、もちろん処置（妨害も含む）されることになる病的状態、、投与法、処置に使用される化合物の型、関与するいずれかの共‐治療、患者の年齢、体重、一般的な健康状態、既往歴などのような因子に依存して変化し、そしてその決定は開業医の技術の範囲内である。したがって、治療者は、最大の治療効果が得られるように投与量を決め、投与経路を改変することが必要である。ポリペプチドが狭い宿主域を有する場合、ヒト患者の治療には、ヒトポリペプチド、より好ましくは天然のヒトポリペプチドを含む製剤が好ましい。臨床医は、問題の状態の処置のために所望する効果が得られる投与量に到達するまでポリペプチドを投与することになる。たとえば、目標がＣＨＦの処置である場合、量はこの状態に伴う進行性心臓肥大を阻害するものである。この治療の推移は心エコー図により容易にモニターすることができる。同様に、肥大型心筋症の患者では、ポリペプチドは経験を基にして投与されてよい。

［００４１１］ 先の指針により、効果的な投与量は一般に約０．００１～約１．０ｍｇ／ｋｇ、より好ましくは約０．０１～１．０ｍｇ／ｋｇ、最も好ましくは約０．０１～０．１ｍｇ／ｋｇの範囲内である。

［００４１２］ ヒト成人高血圧の処置における非経口用途の場合、体重１ｋｇにつき約０．０１～５０ｍｇ、好ましくは約０．０５～２０ｍｇ、最も好ましくは１～２０ｍｇ、注射の形状でポリペプチドを１日に１～３回、静脈内注射により投与することが好都合である。経口投与の場合、ポリペプチドに基づいた分子は好ましくは１日に１～３回、体重１ｋｇにつき約５ｍｇ～１ｇ、好ましくは約１０～１００ｍｇ投与する。エンドトキシン汚染は安全レベル、たとえば０．５ｎｇ／ｍｇ蛋白質未満において最少に保たなければならないことを理解すべきである。さらに、ヒト投与の場合、製剤は好ましくはＦＤＡ Ｏｆｆｉｃｅ ａｎｄ Ｂｉｏｌｏｇｉｃｓ ｓｔａｎｄａｒｄｓに要求されるような無菌性、発熱原性、一般的安全性、および純度を満たす。

［００４１３］ 組織再生に使用されることになるポリペプチドを含む医薬組成物の投与計画は、ポリペプチドの作用を改変する種々の因子、たとえば形成されることが所望される組織重量、傷害の部位、傷害を受けた組織の状態、創傷のサイズ、傷害を受けた組織の型（たとえば骨）、患者の年齢、性、および常食、任意の感染の重症度、投与の時期、およびその他の臨床的因子を考慮して主治医が決定することになる。投与量は再構築に使用されるマトリックスの型、医薬組成物中の別の蛋白質の含有により変化してよい。たとえば、最終組成物への別の公知の成長因子、たとえばＩＧＦ－Ｉの添加も投与量に影響を与える可能性がある。推移は、定期的な組織／骨成長および／または修復の評価、たとえば、Ｘ‐線、組織形態学的測定、およびテトラサイクリン標識によりモニターすることができる。

［００４１４］ ポリペプチドまたは作動薬もしくは拮抗薬投与の経路は、たとえば、静脈内、筋肉内、脳内、腹腔内、脳脊髄内、皮下、眼内、動脈内、滑膜内、くも膜下内、経口、局所もしくは吸入経路による注射もしくは注入によるか、または以下に記載のような徐放系による公知の方法に一致する。また、ポリペプチドまたはその拮抗薬は腫瘍内、腫瘍周辺、病巣内、または病巣周辺経路により適切に投与され、局所および全身的治療効果を引き起こす。腹腔内経路はたとえば、卵巣腫瘍の治療においてとりわけ有用であること

が予想される。
［００４１５］　ペプチドまたは小分子が拮抗薬または作動薬として使用される場合、それは好ましくは、液体または固体の形状で哺乳類に投与される。
［００４１６］　塩を形成し、これによって有用である薬剤的に受容できる分子の塩の例としては、アルカリ金属塩（たとえばナトリウム塩、カリウム塩）、アルカリ土類金属塩（たとえばカルシウム塩、マグネシウム塩）、アンモニウム塩、有機塩基塩（たとえばピリジン塩、トリエチルアミン塩）、無機酸塩（たとえば塩酸塩、硫酸塩、硝酸塩）、および有機酸の塩（たとえば酢酸塩、蓚酸塩、ｐ－トルエンスルホン酸塩）が挙げられる。
【００８３】
治療用組成および組み合わせ治療
［００４１７］　本発明のポリペプチド、ポリヌクレオチド、またはポリペプチド調節因子（本発明のポリペプチド生理活性の阻害因子および刺激因子を含む）を投与して癌を処置してもよい。治療用組成は、単独で、または補助癌治療、たとえば外科手術、化学療法、放射線療法、およびレーザー療法と組み合わせて治療的有効量において投与してよく、そして必ずしも癌を根絶することなしに有益な作用、たとえば腫瘍サイズ縮小、腫瘍増殖速度の低下、転移の阻害、またはそれ以外の全体的な臨床状態の改善を提供してもよい。
［００４１８］また、組成物は抗癌カクテルの一部として治療的有効量を投与することができる。抗癌カクテルは送達のために薬剤的に受容できるキャリアの他に、本発明のポリペプチドまたは調節因子と１以上の抗癌剤の混合物である。癌治療として抗癌カクテルの使用は日常的である。当該技術分野で公知であり、ポリペプチドまたは調節因子と組み合わせて使用することができる抗癌剤には、以下のものが挙げられる：アクチノマイシンＤ、アミノグルテチミド、アスパラギナーゼ、ブレオマイシン、ブスルファン、カルボプラチン、カルムスチン、クロラムブシル、シスプラチン（ｃｉｓ－ＤＤＰ）、シクロホスファミド、シタラビンＨＣｌ（シトシンアラビノシド）、ダカルバジン、ダクチノマイシン、ダウノルビシンＨＣｌ、ドキソルビシンＨＣｌ、エストラムスチン燐酸ナトリウム、エトポシド（Ｖ１６－２１３）、フロクスウリジン、５－フルオロウラシル（５－Ｆｕ）、フルタミド、ヒドロキシウレア（ヒドロキシカルバミド）、イフォスファミド、インターフェロンアルファ－２ａ、インターフェロンアルファ－２ｂ、ロイプロリドアセテート（ＬＨＲＨ－放出因子類似体）、ロムスチン、メクロレタミンＨＣｌ（ナイトロジェンマスタード）、メルファロン、メルカプトプリン、メスタ、メトトレキセート（ＭＴＸ）、マイトマイシン、マイトキサントロンＨＣＬ，オクトレオチド、プリカマイシン、プロカルバジンＨＣｌ、ストレプトゾシン、タモキシフェンシトレート、チオグアニン、チオテパ、ビンブラスチンスルフェート、ビンクリスチンスルフェート、アムサクリン、アザシチジン、ヘキサメチルメラミン、インターロイキン－２、ミトグアゾン、ペントスタチン、セムスチン、テニポシド、およびビンデシンスルフェート。
［００４１９］　さらに、本発明の治療用組成物は癌の予防的処置に使用することができる。当該技術分野で公知の、個体を癌にかかりやすくする遺伝的状態および／または環境状況（たとえば発癌物質への曝露）がある。これらの状況下では、癌発生のリスクを低下させるために、本発明のポリペプチドの治療的有効量でこれらの個体を処置することが有益であってよい。
【００８４】
抗体の医薬組成物
［００４２０］　本明細書で同定されたポリペプチドを特に結合する抗体、および本明細書に開示されたスクリーニングアッセイにより同定された別の分子は、医薬組成物の形状で種々の障害の処置のために投与することができる。
［００４２１］　ポリペプチドが細胞内であり、全抗体が阻害因子として使用される場合、内在化抗体が好ましい。しかし、リポフェクションまたはリポソームを使用して細胞に抗体、または抗体フラグメントを送達することもできる。抗体フラグメントを使用する場合、標的蛋白質の結合ドメインに特に結合する最小阻害フラグメントが好ましい。たとえば、抗体の可変領域配列に基づいて、標的蛋白質配列に結合する能力を保持するペプチド

分子を設計することができる。そのようなペプチドは化学的に合成、および／または組換えＤＮＡ技術により産生することができる。たとえばＭａｒａｓｃｏ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：７８８９－７８９３（１９９３）を参照されたい。本明細書の製剤はまた、処置される具体的な徴候への必要に従って１以上の活性化合物、好ましくはお互いに有害な影響を与えない相補的な活性を持つものを含んでいてよい。あるいは、、またはさらに、組成物はたとえば細胞毒性物質、サイトカイン、化学療法剤、または増殖阻害剤のようなその機能を促進する物質を含んでいてよい。そのような分子は意図する目的に有効な量において適切に組み合わせて存在する。

【００８５】

有効量のｉｎ ｖｉｔｒｏモデル

［００４２２］ ｉｎ ｖｉｔｒｏモデルを使用して、潜在的な癌治療薬としての本発明のポリペプチドの有効量を決定することができる。これらのｉｎ ｖｉｔｒｏモデルにはそれぞれ、培養した腫瘍細胞の増殖アッセイ、軟寒天中で培養した腫瘍細胞の増殖（Ｆｒｅｓｈｎｅｙ，（１９８７）Ｃｕｌｔｕｒｅ ｏｆ Ａｎｉｍａｌ Ｃｅｌｌｓ：Ａ Ｍａｎｕａｌ ｏｆ Ｂａｓｉｃ Ｔｅｃｈｎｉｑｕｅ，Ｗｉｌｙ－Ｌｉｓｓ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ＮＹ Ｃｈ １８ ａｎｄ Ｃｈ ２１を参照されたい）、Ｇｉｏｖａｎｅｌｌａ ｅｔ ａｌ．，Ｊ．Ｎａｔｌ．Ｃａｎ．Ｉｎｓｔ．，５２：９２１－３０（１９７４）に記載のヌードマウスにおける腫瘍系、Ｐｉｌｋｉｎｇｔｏｎ ｅｔ ａｌ．，Ａｎｔｉｃａｎｃｅｒ Ｒｅｓ．，１７：４１０７－９（１９９７）に記載のＢｏｙｄｅｎチャンバーアッセイにおける腫瘍細胞の運動性および浸潤可能性、Ｒｉｂａｔｔａ ｅｔ ａｌ．，Ｉｎｔｌ．Ｊ．Ｄｅｖ．Ｂｉｏｌ．，４０：１１８９－９７（１９９９）およびＬｉ ｅｔ ａｌ．，Ｃｌｉｎ．Ｅｘｐ．Ｍｅｔａｓｔａｓｉｓ，１７：４２３－９（１９９９）に記載のニワトリ漿尿膜の血管新生または血管内皮細胞移動の誘導のような血管新生アッセイが挙げられる。適切な腫瘍細胞株は、たとえばＡＭＥＲＩＣＡＮ ＴＹＰＥ ＴＩＳＳＵＥ ＣＵＬＴＵＲＥ ＣＯＬＬＥＣＴＩＯＮカタログから入手可能である。

【００８６】

製品

［００４２３］ 先に記載の障害の診断または処置に有用なポリペプチドまたはその拮抗薬を含むキットのような製品は、少なくとも容器およびラベルを含む。適切な容器には、たとえば、瓶、バイアル、シリンジ、および試験管が挙げられる。容器は種々の材料、たとえばガラスまたはプラスチックから形成されてよい。容器は状態の診断または処置に効果的な組成物を含み、そして滅菌したアクセスポートを有してよい（たとえば、容器は皮下注射針により穿孔可能なストッパーを有する静脈内溶液バッグまたはバイアルであってよい）。組成物中の活性物質は、ポリペプチドまたはその作動薬もしくは拮抗薬である。容器上、またはそれに伴うラベルは、組成物が選択された状態の診断または処置に使用されることを示す。製品はさらに、薬剤的に受容できるバッファー、たとえば燐酸緩衝生理食塩水、リンゲル液、およびブドウ糖溶液を含む、第２の容器を含んでいてよい。それはさらに、別のバッファー、希釈剤、フィルター、針、シリンジ、および使用のための説明書を含む容器挿入物を含む、市販用、および使用者の観点から望ましい別の物を含んでいてよい。製品はまた、先に記載の別の活性物質を含む第２または第３の容器を含んでいてよい。

【００８７】

癌の診断、予後、および管理

［００４２４］ 本明細書に記載のポリヌクレオチドおよびそれらの遺伝子産物、ならびに対応する遺伝子および遺伝子産物は、発癌経路に従った初期の変化を検出する遺伝または生化学的マーカー（たとえば血液または組織中において）として、および／または種々の治療法および予防的介入の効力をモニターするためにとりわけ関心がある。

［００４２５］ たとえば、ある種のポリヌクレオチドの発現レベルがより好ましくない予後を表し、したがって患者に対してより積極的な化学‐または放射線療法の根拠となてよく、逆も同様である。

［００４２６］　新しい、代わりとなる腫瘍特異的特徴と、患者における処置への反応および予後との相関関係が予後の症状を明らかにし、腫瘍の分子的特徴に基づいて適応させた治療法を設計することができる。これらの治療法には抗体ターゲッティング、拮抗薬（たとえば小分子）、および遺伝子治療が挙げられる。

［００４２７］　ある種のポリヌクレオチドの発現を測定し、そして、正常組織や疾患の変種における発現が既知の患者のプロファイルと比較することにより、処置の特異性の観点、および患者の快適レベルの観点の両方から、患者に対して最も可能性のある処置の決定を可能にする。また、ポリヌクレオチドの発現のような代替腫瘍マーカーを使用して、癌の異なる形状および疾患状態をよりよく分類し、診断および処置することができる。本明細書に記載のポリヌクレオチドに対応する遺伝子の発現レベルの確認が利用できる、腫瘍学において広く使用される２種の分類は、癌性疾患のステージング、および癌組織の性質のグレーディングである。

［００４２８］　異なって発現される遺伝子に対応するポリヌクレオチド、およびそれらにコードされた遺伝子産物は、潜在的に悪性の事象が肉眼的形態学的レベルで検出できる前に、癌に罹っているか、またはそれに感受性の患者をモニターして、分子レベルでそれらを検出するために有用である。。さらに、本明細書に記載のポリヌクレオチド、およびそのようなポリヌクレオチドに対応する遺伝子は、たとえばポリヌクレオチド、またはそれらにコードされた遺伝子産物を使用して治療法の有効性を評価する、たとえば、治療前、中、後の患者における腫瘍量を評価するためのテラメトリクス（ｔｈｅｒａｍｅｔｒｉｃｓ）として有用であってよい。

［００４２９］　さらに、ある種の癌において特有の発現を示し、したがってそれにとって重要な遺伝子に対応するとして同定されたポリヌクレオチドはまた、たとえばポリヌクレオチドが広範な癌の型に異なって発現される遺伝子を表す場合、別の型の癌の発生、または発生のリスクと密接な関連を有する可能性がある。したがって、たとえば、転移結腸癌に臨床的関連を有する遺伝子に対応するポリヌクレオチドの発現が、乳癌または卵巣癌に対して臨床的関連を有してもよい。

【００８８】

ステージング

［００４３０］　ステージングは患者において癌状態がどの程度であるかを説明するために医師が使用する手順である。ステージングは、予後の確認、処置の計画およびそのような処置の結果の評価において医師の助けとなる。ステージングシステムは癌の型により異なるが、一般に以下の“ＴＮＭ”システムを含む：Ｔにより表される腫瘍の型、および腫瘍サイズを説明する数；Ｎにより表される、近くのリンパ節に癌が転移しているかどうか；そしてＭにより表される、癌が身体のより離れた部分に転移しているかどうか。一般に、癌がいずれのリンパ節にも転移しないで原発巣だけに検出される場合、それはステージＩと呼ばれる。最も近いリンパ節だけにそれが広がっている場合、それはステージＩＩと呼ばれる。ステージＩＩＩの場合、癌は一般に原発巣の部位に比較的隣接したリンパ節に広がっている。肝臓、骨、脳または別の部位のような身体の離れた部分に広がっている癌は、最も進行したステージである、ステージＩＶと呼ばれる。

［００４３１］　本明細書に記載のポリヌクレオチドならびに対応する遺伝子および遺伝子産物は、癌の攻撃性に関するマーカー、たとえば転移の可能性、および身体の異なる領域における存在を同定することにより、ステージ手順の微調整を促進することができる。したがって、高い転移性癌を意味するポリヌクレオチドを有するステージＩＩの癌を使用して、境界のステージＩＩの腫瘍をステージＩＩＩの腫瘍に変更し、より積極的な治療法を容認することができる。逆に、より低い転移可能性を意味するポリヌクレオチドの存在により、より保存的な腫瘍のステージングが行われる。

【００８９】

癌のグレーディング

［００４３２］　グレードは腫瘍が同じ型の正常組織にどの程度類似するかを説明するために使用される。腫瘍の顕微鏡的外観を使用して、細胞形態、細胞の構造、および他の分

化のマーカーのようなパラメーターに基づいて腫瘍のグレードを同定する。原則として腫瘍のグレードはその増殖速度または攻撃性に対応し、未分化またはハイグレードの腫瘍は一般に十分に分化した、または低グレードの腫瘍より攻撃的である。一般に以下の指針を腫瘍のグレーディングに使用する：１）ＧＸ　グレード評価不能；２）Ｇ１　十分に分化；Ｇ２　中等度に分化；３）Ｇ３　わずかに分化；４）Ｇ４　未分化。ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～３０１１のポリヌクレオチドならびにそれらの対応する遺伝子および遺伝子産物は腫瘍のグレーディングにとりわけ有益である。なぜなら、それらは腫瘍細胞の分化状態を決定するだけでなく、転移可能性のような、腫瘍の攻撃性を決定することにおいて有益である、分化以外の因子を同定できるからである。

【００９０】

結腸癌の検出

［００４３］　適切な発現パターンを示す遺伝子に対応するポリヌクレオチドを使用して、対象における結腸癌を検出することができる。大腸癌はヒトにおいて最もよく見られる腫瘍の１種であり、そしておそらく遺伝性新生物の最もよく見られる形状である。

［００４３］　妨害および初期の検出は大腸癌の制御および治療における重要な因子である。大腸癌は、結腸の内側被膜上に形成される小さく、良性の細胞増殖であるポリープとして始まる。数年かけて、これらのポリープの一部は付加的な突然変異を蓄積し、癌になる。多発性家族性大腸癌障害が同定されていて、それらは以下の様に要約される：１）家族性腺腫性ポリープ症（ＦＡＰ）；２）ガードナー症候群；３）遺伝性非ポリープ症結腸癌（ＨＮＰＣＣ）；および４）Ａｓｈｋｅｎａｚｉ　Ｊｅｗｓにおける家族性大腸癌。

［００４３５］　適切なポリヌクレオチドの発現は大腸癌の診断、予後および処置に使用することができる。結腸癌の検出は、配列のいずれかの発現レベル単独、または発現レベルの組み合わせを使用して確認することができる。結腸癌の攻撃的性質および／または転移可能性の確認は、本明細書に記載のポリヌクレオチドに対応する遺伝子の１以上の遺伝子産物のレベルを比較し、そして癌組織において変化することが公知の別の配列の総レベル、たとえばｐ５３、ＤＣＣ、ｒａｓ、ＦＡＰの発現を比較することにより確認することができる（たとえば、Ｆｅａｒｏｎ　ＥＲ，ｅｔ　ａｌ，Ｃｅｌｌ（１９９０）６１（５）：７５９；Ｈａｍｉｌｔｏｎ　ＳＲ　ｅｔ　ａＬ，Ｃａｎｃｅｒ（１９９３）７２：９５７；Ｂｏｄｍｅｒ　Ｗ，ｅｔ　ａｌ．，Ｎａｔ　Ｇｅｎｅｔ．（１９９４）４（３）：２１７；Ｆｅａｒｏｎ　ＥＲ，Ａｎｎ　ＮＹＡｃａｄＳｃｉ．（１９９５）７６８：１０１を参照されたい）。

［００４３６］　たとえば、結腸癌の発生は癌遺伝子（たとえば、ｒａｓ）または腫瘍抑制遺伝子（たとえばＦＡＰまたはｐ５３）のレベルに対して本明細書に記載のポリヌクレオチドに対応する遺伝子の発現レベルを調べることにより、検出することができる。したがって、具体的なマーカーポリヌクレオチドの発現を使用して、正常と癌の結腸組織間で識別すること、異なる細胞起源の結腸癌間で識別すること、異なる潜在的な転移速度を有する結腸癌間で識別することなどができる。癌のマーカーの総説としては、たとえばＨａｎａｈａｎ　ｅｔ　ａｌ．（２０００）Ｃｅｌｌ　１００：５７－７０を参照されたい。

【００９１】

臨床試験における有効性モニタリング

［００４３７］　本発明はまた、患者における腫瘍、たとえば結腸腫瘍の阻害のための臨床試験における以下の手順による有効性モニタリングの方法に関する：患者から腫瘍組織細胞の第１の試料を得る；患者に化合物を投与する；化合物が腫瘍を阻害するために十分な時間の後、患者から腫瘍組織細胞の第２の試料を得る；そして第１および第２試料においてＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７７～１９９３、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０１２～３０８３、またはＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１～１１、ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１３～３８およびＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１３の遺伝子のいずれか１以上のレベルを検出する（ここで、第１の試料より第２の試料のレベルが低いことは、化合物が患者の腫瘍阻害に効果的であることを示す。あるいは、患者における腫瘍、たとえば結腸癌の阻害に関する臨床試験における化合物の有効性は、以下の手順によりモニターすることができる：患者から腫瘍組織細胞の

第１の試料を得る；患者に化合物を投与する；化合物が腫瘍を阻害するために十分な時間の後、患者から腫瘍組織細胞の第２の試料を得る；そして第１および第２試料においてＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：１９９４～３０１１のいずれか１以上の核酸配列を検出する（ここで、第１の試料より第２の試料のレベルが高いことは、化合物が患者の腫瘍阻害に効果的であることを示す）。

［００４３８］　腫瘍増殖阻害に対する物質（たとえば薬物、化合物）の影響のモニタリングは、基礎的薬物スクリーニングにおいてだけでなく、臨床試験においても適用することができる。たとえば、本明細書に記載のスクリーニングアッセイにより確認されるような、遺伝子発現、蛋白質レベルまたは蛋白質活性を増大させるための物質の有効性は、減少した遺伝子発現、蛋白質レベルまたは蛋白質活性を示す対象の臨床試験においてモニターすることができる。あるいは、スクリーニングアッセイにより確認されるような、遺伝子発現、蛋白質レベルまたは蛋白質活性を減少させるための物質の有効性は、増大した遺伝子発現、蛋白質レベルまたは蛋白質活性を示す対象の臨床試験においてモニターすることができる。そのような臨床試験において、ポリペプチドの発現または活性、そして好ましくは結腸癌に関与している別のポリペプチドのそれをマーカーとして使用することができる。

［００４３９］　たとえば、そして限定するつもりではなく、物質（たとえば薬物、化合物）による処置により細胞において調節される本発明の遺伝子を含む、腫瘍増殖を調節する（たとえば本明細書に記載のスクリーニングアッセイにおいて同定されるような）遺伝子を同定することができる。したがって、癌に対する物質の作用を、たとえば、臨床試験において研究するために、細胞を単離し、そしてＲＮＡを調製し、本発明の遺伝子および障害に関与する別の遺伝子の発現レベルを分析することができる。遺伝子発現レベル（すなわち、遺伝子発現パターン）は本明細書に記載のように、ノーザンブロット法またはＲＴ‐ＰＣＲにより、またはかわりに本明細書に記載の方法の１種により産生された蛋白質の量を測定することにより、もしくは本発明の遺伝子または別の遺伝子の活性のレベルを測定することにより定量することができる。この方法では、遺伝子発現パターンが物質に対する細胞の生理的反応を示すマーカーとして役立ってよい。したがって、この反応状態は物質による個体の処置の前、処置中の種々の時点で測定してよい。

［００４４０］　好ましい態様において、本発明は以下の工程を含む、物質（たとえば、本明細書に記載のスクリーニングアッセイにおいて同定された作動薬、拮抗薬、ペプチド模倣物、蛋白質、ペプチド、核酸、小分子、抗体または別の薬物候補）による対象の処置の有効性モニタリングの方法を提供する：（ｉ）物質の投与前に対象から投与前の試料を得ること；（ｉｉ）投与前試料における本発明のポリペプチドまたは核酸のレベルを検出すること；（ｉｉｉ）対象から１以上の投与後の試料を得ること；（ｉｖ）投与後の試料における本発明のポリペプチドまたは核酸のレベルを検出すること；（ｖ）投与前試料における本発明のポリペプチドまたは核酸のレベルと、投与後の試料または複数の試料における本発明のポリペプチドまたは核酸のレベルを比較すること；そして（ｖｉ）それに応じて物質の投与を変化させること。たとえば、ポリペプチドの発現または活性を減少させるために、すなわち、物質の有効性を増すために、物質の投与増大が望ましくてもよい。

【００９２】

定義

［００４４１］　“天然配列”は天然に由来する本発明の蛋白質と同じアミノ酸配列を有するポリペプチドを含む。そのような天然の配列は天然から単離してもよく、または組換えおよび／または合成手段により産生してもよい。“天然配列”はとりわけ、蛋白質の天然に存在する切断または分泌型（たとえば細胞外ドメイン配列）、天然に存在する変異型（たとえば選択的スプライシング型）、および天然に存在する対立遺伝子変異型を包含する。本発明の一態様において、本発明の蛋白質の天然の配列は、公知の配列のＮ－末端からＣ－末端までを包含するアミノ酸を含む、成熟または全長天然配列である。

［００４４２］　“変異ポリペプチド”は表１の蛋白質のアミノ酸配列と少なくとも約８０％アミノ酸配列同一性を有する、本明細書で説明した活性ポリペプチドを意味する。そ

のような同一性は全長ポリペプチドの残基、または蛋白質のアミノ酸配列に特に由来するフラグメントに対してであってよい。そのような変異ポリペプチドには、たとえばそれぞれのアミノ酸配列のＮ－および／またはＣ－末端において、および１以上の内部ドメイン内で、１以上のアミノ酸残基が付加、または欠失されたポリペプチドが挙げられる。通常、変異ポリペプチドは全長ポリペプチドまたは表１に示す蛋白質のアミノ酸配列に特に由来するフラグメントと、少なくとも約８０％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８１％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８２％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８３％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８４％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８１％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８５％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８６％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８７％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８８％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８９％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９０％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９１％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９２％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９３％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９４％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９５％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９６％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９７％アミノ酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９８％アミノ酸配列同一性、そしてさらにより好ましくは少なくとも約９９％アミノ酸配列同一性を有することになる。変異ポリペプチドは天然のポリペプチド配列を包含しない。

［００４４３］　ポリペプチド配列に関して本明細書で使用する、“パーセント（％）アミノ酸配列同一性”は、候補配列中のアミノ酸残基の割合として説明され、かかる残基は必要な場合、最大パーセント配列同一性を達成するための配列アラインメントおよびギャップ導入後の、本発明の配列の蛋白質におけるアミノ酸残基と同一であり、配列同一性の一部としていずれかの保存的置換を考慮しない。パーセントアミノ酸配列同一性を決定するためのアラインメントは、当該技術分野の技術の範囲内であり、たとえば、公式に利用可能なコンピューターソフトウェア、たとえばＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、ＡＬＩＧＮ－２またはＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）を使用して行うことができる。当業者は、比較する配列の全長にわたる最大アラインメントを達成するために必要ないずれかのアルゴリズムを含む、アラインメント測定のための適切なパラメーターを決定することができる。しかし本明細書の目的の場合、％アミノ酸配列同一性値は、配列比較コンピュータープログラムＡＬＩＧＮ－２を使用することにより、以下に記載のように得る。ＡＬＩＧＮ－２配列比較コンピュータープログラムはＧｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．により作製され、ソースコードは米国著作権局（Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ　Ｄ．Ｃ．，２０５５９）のユーザードキュメンテーションと共に保管され、そこで，米国著作権登録番号ＴＸＵ５１００８７として登録されている。ＡＬＩＧＮ－２プログラムはＧｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．，Ｓｏｕｔｈ　Ｓａｎ　Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａから公式に利用可能である。．ＡＬＩＧＮ－２プログラムはＵＮＩＸオペレーティングシステム、好ましくはデジタルＵＮＩＸ　Ｖ４．０１上での使用のためにコンパイルされるべきである。すべての配列比較パラメーターはＡＬＩＧＮ－２プログラムによりセットされ、変化しない。

［００４４４］　本明細書の目的では、与えられたアミノ酸配列Ａの、与えられたアミノ酸配列Ｂに対する（ｔｏ、ｗｉｔｈ、またはａｇａｉｎｓｔ）％アミノ酸配列同一性（あるいは、与えられたアミノ酸配列Ｂに対する（ｔｏ、ｗｉｔｈ、またはａｇａｉｎｓｔ）ある程度の％アミノ酸配列同一性を有するか、または含む与えられたアミノ酸配列Ａとして表現することができる）は、以下のように計算される：フラクションＸ／Ｙを１００倍（ＸはＡＬＩＧＮ－２プログラムのＡおよびＢのアラインメントにおいて、かかるプログラムにより同一のマッチとして採点された、アミノ酸残基数であり、ＹはＢの総アミノ酸残基数である）。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さに等しくない場合、Ｂに対するＡの％アミノ酸配列同一性はＡに対するＢの％アミノ酸配列同一性に等しくないこ

とを当業者は理解すべきであろう。

［００４４５］　特記しない限り、本明細書で使用するすべての％アミノ酸配列同一性値は、ＡＬＩＧＮ－２配列比較コンピュータープログラムを使用して、先に記載のように得られる。しかし、％アミノ酸配列同一性はまた、配列比較プログラムＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２（Ａｌｔｓｃｈｕｌ　ｅｔ　ａｌ．　Ｎｕｃｌｅｉｃ　Ａｃｉｄｓ　Ｒｅｓ．　２５：３３８９－３４０２（１９９７））を使用して測定することができる。ＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２配列比較コンピュータープログラムはｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ．からダウンロードすることができる。ＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２はいくつかの検索パラメーターを使用し、それらの検索パラメーターのすべては以下のものを含むデフォルト値に設定される：ｕｎｍａｓｋ＝ｙｅｓ、ｓｔｒａｎｄ＝ａｌｌ、予測発生＝１０、最小ｌｏｗ　ｃｏｍｐｌｅｘｉｔｙ　ｌｅｎｇｔｈ＝１５１５、マルチ－パスｅ－値＝０．０１、マルチ－パス定数＝２５、ｄｒｏｐｏｆｆ　ｆｏｒ　ｆｉｎａｌ　ｇａｐｐｅｄ　ａｌｉｇｎｍｅｎｔ＝２５およびスコアリングマトリクス＝ＢＬＯＳＵＭ６２。

［００４４６］　アミノ酸配列比較にＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２を使用する場合、与えられたアミノ酸配列Ａの、与えられたアミノ酸配列Ｂに対する（ｔｏ、ｗｉｔｈ、またはａｇａｉｎｓｔ）％アミノ酸配列同一性（あるいは、与えられたアミノ酸配列Ｂに対する（ｔｏ、ｗｉｔｈ、またはａｇａｉｎｓｔ）ある程度の％アミノ酸配列同一性を有するか、または含む与えられたアミノ酸配列Ａとして表現される）は、以下のように計算される：フラクションＸ／Ｙを１００倍（ＸはＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２プログラムのＡおよびＢのアラインメントにおいて、かかるプログラムにより同一のマッチとして採点された、アミノ酸残基数であり、ＹはＢの総アミノ酸残基数である）。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さに等しくない場合、Ｂに対するＡの％アミノ酸配列同一性はＡに対するＢの％アミノ酸配列同一性に等しくないことを理解すべきであろう。

［００４４７］　“変異ポリヌクレオチド”または“変異核酸配列”は、本明細書で説明した活性ポリペプチドをコードする核酸配列を意味し、そしてそれは（ａ）表１に示すポリペプチドをコードする核酸の公知のリーディングフレームを含む残基をコードする核酸配列、または（ｂ）表１に示すアミノ酸配列に特に由来する別のフラグメントをコードする核酸配列のいずれかに少なくとも約８０％核酸配列同一性を有する。通常、変異ポリヌクレオチドは、（ａ）表１に示すポリペプチドをコードする核酸の公知のリーディングフレームを含む残基をコードする核酸配列、または（ｂ）表１に示すアミノ酸配列に特に由来する別のフラグメントをコードする核酸配列のいずれかに少なくとも約８０％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８１％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８２％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８３％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８４％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８５％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８６％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８７％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８８％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約８９％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９０％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９１％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９２％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９３％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９４％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９５％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９６％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９７％核酸配列同一性、より好ましくは少なくとも約９８％核酸配列同一性そしてさらにより好ましくは少なくとも約９９％核酸配列同一性を有することになる。ポリヌクレオチド変異体は天然のヌクレオチド配列を包含しない。

［００４４８］　本明細書で同定されたポリペプチドをコードする核酸配列に関する“パーセント（％）核酸配列同一性”は、必要な場合、最大パーセント配列同一性を達成するための配列アラインメントおよびギャップ導入後のポリペプチドをコードする核酸と同一である候補配列中のヌクレオチドの割合として説明される。パーセント核酸配列同一性を決定するためのアラインメントは、当該技術分野の技術の範囲内であり、たとえば、公式

に利用可能なコンピューターソフトウェア、たとえばＢＬＡＳＴ、ＢＬＡＳＴ－２、ＡＬＩＧＮ、ＡＬＩＧＮ－２またはＭｅｇａｌｉｇｎ（ＤＮＡＳＴＡＲ）を使用して行うことができる。当業者は、比較する配列の全長にわたる最大アラインメントを達成するために必要ないずれかのアルゴリズムを含む、アラインメント測定のための適切なパラメーターを決定することができる。しかし本明細書の目的の場合、％核酸配列同一性値は、配列比較コンピュータープログラムＡＬＩＧＮ－２を使用することにより、以下に記載のように得る。ＡＬＩＧＮ－２配列比較コンピュータープログラムはＧｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．により作製され、ソースコードは米国著作権局（Ｗａｓｈｉｎｇｔｏｎ Ｄ．Ｃ．，２０５５９）のユーザードキュメンテーションと共に保管され、そこで，米国著作権登録番号ＴＸＵ５１００８７として登録されている。ＡＬＩＧＮ－２プログラムはＧｅｎｅｎｔｅｃｈ，Ｉｎｃ．，Ｓｏｕｔｈ Ｓａｎ Ｆｒａｎｃｉｓｃｏ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａから公式に利用可能である。ＡＬＩＧＮ－２プログラムはＵＮＩＸオペレーティングシステム、好ましくはデジタルＵＮＩＸ Ｖ４．０１上での使用のためにコンパイルされるべきである。すべての配列比較パラメーターはＡＬＩＧＮ－２プログラムによりセットされ、変化しない。

［００４４９］ 本明細書の目的では、与えられた核酸配列Ｃの、与えられた核酸配列Ｄに対する（ｔｏ、ｗｉｔｈ、またはａｇａｉｎｓｔ）％核酸配列同一性（あるいは、与えられた核酸配列Ｄに対する（ｔｏ、ｗｉｔｈ、またはａｇａｉｎｓｔ）ある程度の％核酸配列同一性を有するか、または含む与えられた核酸配列Ｃとして表現することができる）は、以下のように計算される：フラクションＷ／Ｚを１００倍（ＷはＡＬＩＧＮ－２プログラムのＣおよびＤのアラインメントにおいて、かかるプログラムにより同一のマッチとして採点された核酸数であり、ＺはＤの総ヌクレオチド数である）。核酸配列Ｃの長さが核酸配Ｄの長さに等しくない場合、Ｄに対するＣの％核酸配列同一性はＣに対するＤの％核酸配列同一性に等しくないことを当業者は理解すべきであろう。

［００４５０］ 特記しない限り、本明細書で使用するすべての％核酸配列同一性値は、ＡＬＩＧＮ－２配列比較コンピュータープログラムを使用して、先に記載のように得られる。しかし、％核酸配列同一性はまた、配列比較プログラムＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２（Ａｌｔｓｃｈｕｌ ｅｔ ａｌ．Ｎｕｃｌｅｉｃ Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２５：３３８９３４０２（１９９７））を使用して測定することができる。ＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２配列比較コンピュータープログラムはｈｔｔｐ：／／ｗｗｗ．ｎｃｂｉ．ｎｌｍ．ｎｉｈ．ｇｏｖ．からダウンロードすることができる。ＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２はいくつかの検索パラメーターを使用し、それらの検索パラメーターのすべては以下のものを含むデフォルト値に設定される：ｕｎｍａｓｋ＝ｙｅｓ、ｓｔｒａｎｄ＝ａｌｌ、予測発生＝１０、最小ｌｏｗ ｃｏｍｐｌｅｘｉｔｙ ｌｅｎｇｔｈ＝１５／５、マルチ－パスｅ－値＝０．０１、マルチ－パス定数＝２５、ｄｒｏｐｏｆｆ ｆｏｒ ｆｉｎａｌ ｇａｐｐｅｄ ａｌｉｇｎｍｅｎｔ＝２５およびスコアリングマトリクス＝ＢＬＯＳＵＭ６２。

［００４５１］ 配列比較にＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２を使用する場合、与えられた核酸配列Ｃの、与えられた核酸配列Ｄに対する（ｔｏ、ｗｉｔｈ、またはａｇａｉｎｓｔ）％核酸配列同一性（あるいは、与えられた核酸配列Ｄに対する（ｔｏ、ｗｉｔｈ、またはａｇａｉｎｓｔ）ある程度の％核酸配列同一性を有するか、または含む与えられた核酸配列Ｃとして表現される）は、以下のように計算される：フラクションＷ／Ｚを１００倍（ＷはＮＣＢＩ－ＢＬＡＳＴ２プログラムのＣおよびＤのアラインメントにおいて、かかるプログラムにより同一のマッチとして採点されたヌクレオチド数であり、ＺはＤの総ヌクレオチド数である）。核酸配列Ｃの長さが核酸配列Ｄの長さに等しくない場合、Ｄに対するＣの％核酸配列同一性はＣに対するＤの％核酸配列同一性に等しくないことを理解すべきであろう。

［００４５２］ 別の態様において、変異ポリヌクレオチドは活性ポリペプチドをコードする核酸分子であり、そしてそれらは表１に示す全長ポリペプチドをコードするヌクレオチド配列に、好ましくはストリンジェントなハイブリダイゼーションおよび洗浄条件下でハイブリダイズすることができる。変異ポリペプチドは変異ポリヌクレオチドによってコ

ードされるものであってよい。

［００４５３］　先に記載のように行われたアミノ酸配列同一性比較における“保存的”という用語は、類似した特性を有するアミノ酸残基を含む。好ましい保存的置換は表２に示す。

【００９３】

【表２】

表 2

元の残基	典型的な置換	好ましい置換
Ala (A)	val; leu; ile	val
Arg (R)	lys; gln; asn	lys
Asn (N)	gln; his; lys; arg	gln
Asp (D)	glu	glu
Cys (C)	ser	ser
Gln (Q)	asn	asn
Glu (E)	asp	asp
Gly (G)	pro; ala	ala
His (H)	asn; gln; lys; arg	arg
Ile (I)	leu; val; met; ala; phe;ノルロイシン	leu
Leu (L)	norleucine; ile; val; met; ala; phe	ile
Lys (K)	arg; gln; asn	arg
Met (M)	leu; phe; ile	leu
Phe (F)	leu; val; ile; ala; tyr	leu
Pro (P)	ala	ala
Ser (S)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr; phe	tyr
Tyr (Y)	trp; phe; thr; ser	phe
Val (V)	ile; leu; met; phe; ala; ノルロイシン	leu

【００９４】

［００４５４］　本明細書の目的では、与えられたアミノ酸Ａの与えられたアミノ酸配列Ｂに対する（ｔｏ、ｗｉｔｈ、またはａｇａｉｎｓｔ）％陽性（ｐｏｓｉｔｉｖｅ）値、

（あるいは、与えられたアミノ酸配列Ｂに対する（ｔｏ、ｗｉｔｈ、またはａｇａｉｎｓｔ）ある程度の％陽性を有するか、または含む与えられたアミノ酸配列Ａとして表現することができる）は、以下のように計算される：フラクションＶＹを１００倍（Ｘは配列アラインメントプログラムＡＬＩＧＮ－２プログラムのＡおよびＢのアラインメントにおいて、かかるプログラムにより先に記載のように陽性値として採点されたアミノ酸残基数であり、ＹはＢの総アミノ酸残基数である。アミノ酸配列Ａの長さがアミノ酸配列Ｂの長さに等しくない場合、Ｂに対するＡの％陽性はＡに対するＢの％陽性に等しくないことを理解すべきであろう。

［００４５５］　本明細書に開示された種々のポリペプチドを記載するために使用される場合、“単離された”という用語は、その天然の環境成分から同定され、そして単離および／または回収されているポリペプチドを意味する。好ましくは、単離されたポリペプチドは天然に結合しているすべての成分と結合していない。その天然の環境の汚染成分は、一般にポリペプチドの診断または治療用途を妨害する物質であり、酵素、ホルモン、およびその他の蛋白質性または非‐蛋白質性溶質を挙げることができる。好ましい態様において、ポリペプチドは（１）回転カップ式配列決定装置の使用により少なくとも１５残基のＮ－末端または内部アミノ酸配列を得るために十分な程度に、または（２）非還元またはクーマシーブルーもしくは、好ましくは銀染色を使用した還元条件下でのＳＤＳ－ＰＡＧＥにより均一に精製されることになる。単離されたポリペプチドは組換え細胞内のｉｎｓｉｔｕのポリペプチドを含む。なぜなら、蛋白質の天然の環境の少なくとも１成分が存在しないからである。しかし、通常、単離されたポリペプチドは少なくとも１種の精製工程により調製されることになる。

［００４５６］　ポリペプチドをコードする“単離された”核酸分子は、同定され、そして通常核酸の天然の供与源において結合している少なくとも１種の汚染核酸分子から単離された核酸分子である。好ましくは、単離された核酸は、それが天然に結合しているすべての成分と結合していない。単離された核酸分子は、それが天然に見出される形状、または環境以外にあるものである。したがって、単離された核酸分子は天然の細胞に存在するような核酸分子と識別できる。しかし、たとえばポリペプチドをコードする単離された核酸分子が天然の細胞の染色体位置と異なる位置にある場合、核酸分子は通常ポリペプチドを発現する細胞に含まれた核酸分子を含む。

［００４５７］　“対照配列”という用語は、具体的な宿主生物中において作動可能に結合したコーディング配列の発現に必要なＤＮＡ配列を表す。原核細胞に適切な対照配列には、プロモーター、場合によりオペレーター配列、およびリボソーム結合配列が挙げられる。さらに、真核細胞はプロモーター、ポリアデニル化シグナル、およびエンハンサーを使用することが公知である。

［００４５８］　核酸分子は、別の核酸配列と機能的に関連するように配置される場合、“作動可能に結合”している。たとえば、プレ配列または分泌リーダーに対するＤＮＡがプレ蛋白質として発現される場合、それはポリペプチドに対するＤＮＡに作動可能に結合し；プロモーターまたはエンハンサーが配列の転写に影響を与える場合、それはコーディング配列に作動可能に結合し；またはリボソーム結合部位が翻訳を促進するように位置する場合、それはコーディング配列に作動可能に結合する。一般に、“作動可能に結合する”とは、結合しているＤＮＡ配列が隣接し、そして分泌リーダーの場合、隣接し、読み取り相にある。しかし、エンハンサーは隣接している必要はない。結合は都合のよい制限部位における結合によって行われる。そのような部位が存在しない場合、合成オリゴヌクレオチドアダプターまたはリンカーが慣用の方法に従って使用される。

［００４５９］　“抗体”という用語は最も広範な意味において使用され、とりわけたとえば、単一モノクローナル抗体（作動薬、拮抗薬、および中和抗体を含む）、多エピトープ特異性を有する抗体組成物、１本鎖抗体、および抗体フラグメントを包含する。本明細書で使用する“モノクローナル抗体”という用語は、実質的に均一な抗体の集団から得られた抗体を表し、すなわち、集団に含まれる個々の抗体は、少量存在してもよい、可能性のある天然に存在する突然変異以外は同一である。ハイブリダイゼーション反応の“スト

リンジェント性は、容易に当業者により確認可能であり、そして一般にプローブ長、洗浄温度、および塩濃度に依存する経験的な推定である。一般に、より長いプローブは適切なアニーリングに、より高温を必要とし、一方、より短いプローブは、より低温を必要とする。ハイブリダイゼーションは一般に、溶解温度以下の環境に相補的鎖が存在する場合、再アニーリングするためのＤＮＡの能力に依存する。プローブとハイブリダイズ可能な配列間に、より高い程度の所望する相同性が存在する場合、使用できる相対温度はより高温である。結果として、より高い相対的温度が反応条件をよりストリンジェントにし、一方より低温ではストリンジェント性が低いという結果になる。ハイブリダイゼーション反応のストリンジェント性の付加的な詳細および説明については、Ａｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｉｎ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｗｉｌｅｙ Ｉｎｔｅｒｓｃｉｅｎｃｅ Ｐｕｂｌｉｓｈｅｒｓ，（１９９５）を参照されたい。

［００４６０］　本明細書で説明する、“ストリンジェントな条件”または“高いストリンジェント性条件”は、以下の様に説明することができる：（１）洗浄に低イオン強度および高温、たとえば５０℃で０．０１５Ｍ　塩化ナトリウム／０．００１５Ｍ　クエン酸ナトリウム／０．１％ドデシル硫酸ナトリウムを使用する；（２）ハイブリダイゼーション中にホルムアミドのような変性剤、たとえば５０％（ｖ／ｖ）ホルムアミド、０．１％　ウシ血清アルブミン／０．１％　Ｆｉｃｏｌ／０．１％　ポリビニルピロリドン／５０ｍＭ　燐酸ナトリウムバッファー、ｐＨ６．５、７５０ｍＭ　塩化ナトリウム、７５ｍＭ　クエン酸ナトリウム、４２℃を使用する；または（３）４２℃で、５０％　ホルムアミド、５ｘＳＳＣ（０．７５Ｍ　ＮａＣｌ、０．０７５Ｍ　クエン酸ナトリウム）、５０ｍＭ　燐酸ナトリウム（ｐＨ６．８）、０．１％　ピロ燐酸ナトリウム、５ｘデンハート溶液、超音波処理サケ精子ＤＮＡ（５０μｇ／ｍｌ）、０．１％　ＳＤＳ、および１０％　デキストラン硫酸を使用し、そして４２℃で０．２ｘＳＳＣ（塩化ナトリウム／クエン酸ナトリウム）および５５℃で５０％　ホルムアミド中での洗浄、続いて５５℃でＥＤＴＡを含む０．１ｘＳＳＣからなる高‐ストリンジェント性洗浄を行う。

［００４６１］　本明細書の目的に対する“活性な”または“活性”は、天然、または天然に存在するポリペプチドの生物学的および／または免疫学的活性を保持するポリペプチドの形状（複数の形状）を表し、ここで“生物学的”活性は生物学的機能（阻害性または刺激性）を表し、それは天然、または天然に存在するポリペプチドが有する抗原性エピトープに対する抗体の産生を誘発する能力以外の天然、または天然に存在するポリペプチドにより引き起こされる酵素活性を含み、そして“免疫学的”活性は天然、または天然に存在するポリペプチドが有する抗原性エピトープに対する抗体の産生を誘発する能力を表す。好ましい生物学的活性には、たとえば、細胞外マトリックスを分解するポリペプチドの特性が挙げられ、例としては本発明において記載された、そのような活性を有することが発見されたプロテアーゼの事例が挙げられる。

［００４６２］　“拮抗薬”という用語は最も広い意味で使用され、本明細書に開示された天然のポリペプチドの生理活性を部分的に、または完全に遮断する、阻害する、または中和するいずれの分子も含む。同様に、“作動薬”という用語は、最も広い意味で使用され、本明細書に開示された天然のポリペプチドの生理活性を模倣するいずれの分子も含む。適切な作動薬または拮抗薬分子にはとりわけ、作動薬または拮抗薬抗体または抗体フラグメント、天然のポリペプチドのフラグメントまたはアミノ酸配列変異体、ペプチド、アンチセンス分子、および小有機分子が挙げられる。ポリペプチドの作動薬または拮抗薬を同定する方法は候補作動薬または拮抗薬分子とポリペプチド、ｍＲＮＡまたは遺伝子を接触させ、そして通常ポリペプチドに関連する、１以上の生理活性の検出可能な変化を測定することを含む。

［００４６３］　“処置”は、治療的処置および予防または妨害手段を共に表し、目的は標的とする病的状態または障害を妨げるか、または進行を遅らせる（緩和する）ことである。より具体的には、“処置”は、癌性障害の進行を妨げるか、または病状を変化させることを意図して行われる介入である。処置の概念は、最も広い意味で使用され、そしてと

りわけ、いずれかの病期の癌性障害の妨害（予防）、調節、緩和、および治癒を含む。したがって、“処置”は治療的処置および予防または妨害処置を共に表し、目的は標的とする病的状態または障害を妨げるか、または進行を遅らせる（緩和する）ことである。障害はどのような原因の結果であってもよい。処置が必要な対象には、障害を有するもの、および障害と推測されるものまたは障害の妨害を必要とするものが挙げられる。

［００４６４］　“慢性”投与は、長期間、初期の治療効果（活性）を維持するための、急性様式と対照的な継続様式の物質（複数の物質）の投与を表す。

［００４６５］　“間欠式”投与は中断せずに継続的に行われるものではなく、むしろ周期的な性質の処置である。

［００４６６］　“マイクロアレイ”は、固体支持体を含む、紙、ナイロン、もしくは別の型の膜、フィルター、ゲル、ポリマー、チップ、スライドガラス、またはいずれか別の適切な支持体上に配列された異なるポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチドのアレイを表す。ポリヌクレオチドまたはオリゴヌクレオチド（当該技術分野における骨格化学が少しは利用可能である）は基質上で合成されるか、または基質への適用前に作製することができる。

［００４６７］　１以上の別の治療薬と“組み合わせた”投与は、同時（ｓｉｍｕｌｔａｎｅｏｕｓ）（同時（ｃｏｎｃｕｒｒｅｎｔ））および１以上の治療薬のいずれかの順番での連続投与を含む。

［００４６８］　本明細書で使用する“キャリア”は、薬剤的に受容できるキャリア、賦形剤、または安定化剤を含み、それらは使用される投与量および濃度において、それらに曝露された細胞または哺乳類に非毒性である。しばしば、生理的に受容できるキャリアは水性ｐＨ緩衝溶液である。生理的に受容できるキャリアの例としては、バッファー、たとえば燐酸、クエン酸、およびその他の有機酸；酸化防止剤、たとえばアスコルビン酸；低分子量（すなわち、約１０残基未満）ポリペプチド；蛋白質、たとえば血清アルブミン、ゼラチン、またはイムノグロブリン；親水性ポリマー、たとえばポリビニルピロリドン；アミノ酸、たとえばグリシン、グルタミン、アスパラギン、アルギニンまたはリシン；単糖、二糖、およびその他の炭水化物、たとえばグルコース、マンノース、またはデキストリン；キレート剤、たとえばＥＤＴＡ；糖アルコール、たとえばマンニトールまたはソルビトール；脂質、たとえばカチオン性脂質、塩‐形成性対イオン、たとえばナトリウム；および／または非イオン性界面活性剤、たとえばＴＷＥＥＮ（登録商標）、ポリエチレングリコール（ＰＥＧ）、およびＰＬＵＲＯＮＩＣＳ（登録商標）が挙げられる。

［００４６９］　“抗体フラグメント”は無傷抗体の一部、好ましくは無傷抗体の抗原結合または可変領域を含む。抗体フラグメントの例としては、Ｆａｂ、Ｆａｂ’、Ｆ（ａｂ’）$_2$，およびＦｖフラグメント；二重特異性抗体（ｄｉａｂｏｄｙ）；線状抗体（Ｚａｐａｔａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｐｒｏｔｅｉｎ　Ｅｎｇ．８（１０）：１０５７－１０６２（１９９５）を参照されたい）、１本鎖抗体分子、および抗体フラグメントにより形成される多特異的抗体が挙げられる

［００４７０］　抗体のパパイン消化は、それぞれが１つの抗原結合部位を持つ、“Ｆａｂ”と呼ばれる２つの同一の抗原結合フラグメント、および容易に結晶化する能力を反映する名称である、“ｆｃ”フラグメントを生じる。ペプシン処理は２つの抗原‐結合部位を有し、そして依然として抗原を架橋することができる、Ｆ（ａｂ’）$_2$フラグメントを生じる。

［００４７１］　“Ｆｖ”は完全な抗原‐認識および抗原‐結合部位を含む、最小抗体フラグメントである。この領域は１つの重鎖‐および１つの軽鎖可変ドメインの密着した、非‐共有結合性結合のダイマーからなる。それぞれの可変ドメインの３種のＣＤＲが相互作用してＶＨ－ＶＬダイマーの表面の抗原‐結合部位を明確にすることが、この構造において行われる。言い換えると、６種のＣＤＲが抗体に抗原‐結合特異性を与える。しかし、１種の可変ドメインでさえ、全結合部位よりも低い親和性ではあるが、抗原を認識し、それに結合する能力を有する。

［００４７２］　Ｆａｂフラグメントはまた、軽鎖の定常ドメインと重鎖の第１定常ドメ

イン（ＣＨＩ）を含む。Ｆａｂフラグメントは抗体ヒンジ領域の１以上のシステインを含む、重鎖ＣＨＩドメインのカルボキシ末端にいくつかの残基を付加することによりＦａｂ’フラグメントと異なる。Ｆａｂ－ＳＨは本明細書でのＦａｂ’の呼称であり、そこでは定常ドメインのシステイン残基（複数の残基）が遊離チオール基を持つ。Ｆ（ａｂ’）$_2$抗体フラグメントは初め、対の間にヒンジシステインを有するＦａｂ’フラグメント対として産生された。抗体フラグメントのその他の化学的カップリングは当業者に公知である。

［００４７３］　いずれかの脊椎動物由来の抗体（イムノグロブリン）の“軽鎖”は、それらの定常ドメインのアミノ酸配列に基づき、カッパおよびラムダと呼ばれる２種の明確に異なる型の１種に割り当てることができる。

［００４７４］　イムノグロブリンの定常ドメインのアミノ酸配列に基づき、それらを異なるクラスに割り当てることができる。イムノグロブリンには５種の主要クラス：ＩｇＡ、ＩｇＤ、ＩｇＥ、ＩｇＧ、およびＩｇＭがあり、そしてこれらのいくつかはさらにサブクラス、たとえば、ＩｇＧ１、ＩｇＧ２、ＩｇＧ３、ＩｇＧ４、ＩｇＡ、およびＩｇＡ２に分けることができる。

［００４７５］　“単鎖Ｆｖ”または“ｓＦｖ”抗体フラグメントは抗体のＶＨおよびＶＬドメインを含み、これらのドメインは単一のポリペプチド鎖に存在する。好ましくは、ＦｖポリペプチドはさらにＶＨとＶＬドメイン間にポリペプチドリンカーを含み、それによりｓＦｖは抗原結合のための所望する構造を形成することができる。ｓＦｖの総説については、Ｐｌｕｃｋｔｈｕｎ ｉｎ Ｔｈｅ Ｐｈａｒｍａｃｏｌｏｇｙ ｏｆ Ｍｏｎｏｃｌｏｎａｌ Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ，ｖｏｌ．１１３，Ｒｏｓｅｎｂｕｒｇ ａｎｄ Ｍｏｏｒｅ ｅｄｓ．，Ｓｐｒｉｎｇｅｒ－Ｖｅｒｌａｇ，Ｎｅｗ Ｙｏｒｋ，ｐｐ．２６９－３１５（１９９４）を参照されたい。

［００４７６］　“二重特異性抗体”という用語は、２種の抗原結合部位を持つ小抗体フラグメントを表し、そのフラグメントは同じポリペプチド鎖（ＶＨ－ＶＬ）において、軽鎖可変ドメイン（ＶＬ）に結合した重鎖可変ドメイン（ＶＨ）を含む。短すぎて同じ鎖上の２つのドメイン間の対形成ができないリンカーを使用することにより、ドメインと別の鎖の相補的ドメインが強制的に対形成させられ、２種の抗原結合部位を作り出す。二重特異性抗体は、たとえば、ＥＰ　４０４，０９７；ＷＯ　９３／１１１６１；およびＨｏｌｌｉｎｇｅｒ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．ＵＳＡ，９０：６４４４－６４４８（１９９３）にさらに詳細に記載される。

［００４７７］　“単離された”抗体は、その天然の環境成分から同定、および単離、および／または回収されているものである。その天然の環境の汚染成分は、抗体の診断的または治療的用途を妨害する物質であり、酵素、ホルモン、およびその他の蛋白質性または非蛋白質性溶質を挙げることができる。好ましい態様において、抗体は（１）ローリー法により測定した抗体の重量の９５％以上まで、（２）回転カップ式配列決定装置の使用によりＮ－末端または内部アミノ酸配列の少なくとも１５残基を得るのに十分な程度に、または（３）クーマシーブルーまたは、好ましくは銀染色を使用して、還元または非還元条件下、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより均一に精製されることになる。単離された抗体は、抗体の天然の環境の少なくとも１成分が存在しないことにより、組換え細胞内のｉｎ ｓｉｔｕ抗体を含む。しかし通常、単離された抗体は少なくとも１精製工程により作製されるであろう。

［００４７８］　“標識”という用語は、本明細書で使用される場合、抗体に直接的または間接的に結合し、“標識された”抗体を生成する、検出可能な化合物または組成物を表す。標識はそれ自体検出可能（たとえば放射性同位体標識または蛍光標識）であってもよく、または酵素標識の場合、検出可能な基質化合物または組成物の化学的変換を触媒してもよい。

［００４７９］　“固相”は、本発明の抗体が接着する、非水性マトリクスを意味する。本明細書に包含される固相の例としては、部分的または完全にガラスからなるもの（たとえば調節ポアガラス（ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ ｐｏｒｅ ｇｌａｓｓ）、多糖（たとえば

アガロース）、ポリアクリルアミド、ポリスチレン、ポリビニルアルコールおよびシリコンが挙げられる。ある種の態様では、状況に依存して、固相はアッセイプレートのウェルを含むことができる；別の場合、それは精製カラムである（たとえばアフィニティークロマトグラフィーカラム）。この用語はまた、米国特許第４，２７５，１４９号に記載のもののように、別個の粒子の不連続な固相も含む。

［００４８０］　本明細書で使用する、“癌”または“癌性”という用語は、一般に統制されていない細胞増殖を特徴とする哺乳類における生理状態を表すか、または説明する。これには、原発増殖細胞が別の部位に広がっている、良性の増殖、前‐悪性増殖または悪性増殖を挙げることができる。本明細書で使用する用語は、“異常な組織の腫瘤であって、その増殖は正常組織の増殖を超過し、そしてそれと協調せず、そして変化を引き起こす刺激停止後も同じ過度の様式で持続する”と記載された、いずれかの異常増殖を含む（Ｒｏｂｂｉｎｓ，Ｓ．Ｌ．Ｐａｔｈｏｌｏｇｉｃ　Ｂａｓｉｓ　ｏｆ　Ｄｉｓｅａｓｅ，Ｗ．Ｂ．Ｓａｕｎｄｅｒｓ　Ｃｏ．１９７４を参照されたい）。癌の例としては以下のものが挙げられるが、それらに限定されない：腺腫を含む癌腫、リンパ腫、芽細胞腫、メラノーマ、肉腫、および白血病。そのような癌のより具体的な例としては、扁平上皮細胞癌、小細胞肺癌、非‐小細胞肺癌、消化器癌、ホジキンおよび非ホジキンリンパ腫、膵臓癌、神経膠腫、子宮頸部癌、卵巣癌、肝癌および肝細胞癌のような肝臓癌、膀胱癌、乳癌、結腸癌、大腸癌、子宮内膜癌、唾液腺癌、腎細胞癌およびウィルムス腫瘍のような腎臓癌、基底細胞癌、メラノーマ、前立腺癌、外陰部癌、甲状腺癌、精巣癌、食道癌、ならびに種々の型の頭部および頸部癌が挙げられる。本明細書に記載の、本発明の方法に従った処置に対して好ましい癌は、乳癌、結腸癌、メラノーマ、卵巣癌および前立腺癌である。

［００４８１］　本明細書で使用する“細胞毒性物質”という用語は、細胞の機能を阻害するか、または妨害する、および／または細胞を破壊する物質を表す。該用語は放射性同位体（たとえば、^{131}Ｉ、^{125}Ｉ、^{90}Ｙおよび^{186}Ｒｅ）、化学療法剤、および毒素、たとえば細菌、真菌、もしくは動物起源、またはそれらのフラグメントの酵素的に活性な毒素を含むことを意図する。

［００４８２］　“化学療法剤”は癌の処置に有用な化合物である。化学療法剤の例としては、アルキル化剤、葉酸拮抗薬、核酸代謝の代謝拮抗物質、抗生物質、ピリミジン類似体、５－フルオロウラシル、シスプラチン、プリンヌクレオシド、アミン、アミノ酸、トリアゾールヌクレオシド、またはコルチコステロイドが挙げられる。具体的な例としては、アドリアマイシン、ドキソルビシン、５－フルオロウラシル、シトシンアラビノシド（“Ａｒａ－Ｃ”）、シクロホスファミド、チオテパ、ブスルファン、サイトキシン、タキソール、トキソテーレ、メトトレキセート、シスプラチン、メルファロン、ビンブラスチン、ビノレルビン、カルボプラチン、テニポシド、ダウノルビシン、カルミノマイシン、アミノプテリン、ダクチノマイシン、マイトマイシン、エスペラミシン（米国特許第４，６７５，１８７号）、メルファロン、およびその他の関連する窒素マスタードが挙げられる。さらにこの定義には、タモキシフェンおよびオナプリストンのような、腫瘍に対するホルモン作用を調節または阻害するように作用するホルモン物質が含まれる。

［００４８３］　本明細書で使用する場合、“増殖‐阻害物質”は、ｉｎ　ｖｉｔｒｏまたはｉｎ　ｖｉｖｏのいずれかで、Ｗｎｔ‐過剰発現癌細胞のような細胞の増殖を阻害する化合物または組成物を表す。したがって、増殖‐阻害物質はＳ期において、悪性細胞の割合を著しく減少させるものである。増殖‐阻害物質の例としては、細胞周期進行を（Ｓ期以外の位置で）遮断する物質、たとえばＧＩ停止およびＭ－相停止を誘発する物質が挙げられる。古典的Ｍ－相遮断薬には、ビンカ（ビンクリスチンおよびビンブラスチン）、タキソール、、およびトポ１１阻害剤、たとえばドキソルビシン、ダウノルビシン、エトポシド、およびブレオマイシンが挙げられる。Ｇ１を停止するそれらの物質、たとえばタモキシフェン、プレドニソン、ダカルバジン、メクロレタミン、シスプラチン、メトトレキセート、５－フルオロウラシル、およびａｒａ－ＣのようなＤＮＡアルキル化剤はまた、Ｓ－相停止も引き起こす。増殖‐阻害物質に関するそれ以上の情報は、”Ｃｅｌｌ　ｃｙｃｌｅ　ｒｅｇｕｌａｔｉｏｎ，ｏｎｃｏｇｅｎｅｓ，ａｎｄ　ａｎｔｉｎｅｏｐｌａ

ｓｔｉｃ ｄｒｕｇｓ”ｂｙ Ｍｕｒａｋａｍｉ ｅｔ ａｌ．という標題でＴｈｅ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂａｓｉｓ ｏｆ Ｃａｎｃｅｒ，Ｍｅｎｄｅｌｓｏｈｎ ａｎｄ Ｉｓｒａｅｌ，ｅｄｓ．，Ｃｈａｐｔｅｒ １，（ＶＶＢ Ｓａｕｎｄｅｒｓ：Ｐｈｉｌａｄｅｌｐｈｉａ，１９９５），ｐ．１３に見出すことができる。別の例としては、腫瘍壊死因子（ＴＮＦ）、酸性もしくは塩基性ＦＧＦまたは肝細胞増殖因子（ＨＧＦ）の血管新生活性を阻害または中和することができる抗体、組織因子の凝血活性を阻害または中和することができる抗体、蛋白質Ｃ、もしくは蛋白質Ｓ（ＷＯ ９１／０１７５３、１９９１年２月２１日公開を参照されたい）、またはＨＥＲ２受容体（ＷＯ ８９／０６６９２）に結合することができる抗体、たとえば４Ｄ５抗体（およびその機能的等価物）（たとえば、ＷＯ ９２／２２６５３）が挙げられる。．

［００４８４］ 薬理学的意味において、本発明では、ポリペプチドまたはその作動薬もしくは拮抗薬または抗体のような活性物質の“治療的有効量”は哺乳類の癌性障害の処置に有効な量を表し、経験的に決定することができる。治療的有効量の決定は当該技術分野で公知のいずれかの方法により行うことができる。

［００４８５］ 本明細書で使用する、ポリペプチドまたはその作動薬もしくは拮抗薬または抗体のような活性物質の“有効量”は提示された目的を実行するために有効な量を表し、そのような量は所望する効果に対して経験的に決定することができる。

［００４８６］ 本明細書に記載する核酸、ポリペプチド、抗体、作動薬、および拮抗薬は、治療的に使用される場合、本明細書では“治療薬”と呼ばれる。治療薬の投与法には、皮内、筋肉内、腹腔内、静脈内、皮下、鼻腔内、硬膜外、および経口経路が挙げられるが、それらに限定されない。本発明の治療薬は、いずれかの慣用の経路、たとえば注入またはボーラス注射により、上皮または粘膜皮膚内層（たとえば口腔粘膜、直腸および長粘膜など）を介した吸収により投与してもよく、そして別の生理活性物質と一緒に投与してもよい。投与は全身的または局所的であってよい。さらに、脳室内およびくも膜下注射を含む、いずれか適切な経路により中枢神経系に治療薬を投与することが好都合であってもよい。

［００４８７］ 脳室内注射は貯槽（たとえばＯｍｍａｙａ貯槽）についた脳室内カテーテルによって促進することができる。肺投与はまた、吸入器またはネブライザー、およびエアゾール化物質を含む製剤の使用によって利用することができる。また、処置が必要な領域に治療薬を局所的に投与することが好ましくてもよい；これは、たとえば、外科手術中の局所注入、局所適用、注射、カテーテルの手段、坐薬の手段、または挿入物の手段により行うことができるが、それらに限定されない。具体的な態様では、投与は悪性腫瘍または腫瘍性もしくは前腫瘍性組織の部位（または先の部位）における直接注射によってもよい。

［００４８８］ 種々の送達系が公知であり、以下のものを含む本発明の治療薬の投与に使用することができる：たとえば（ｉ）リポソーム、微粒子、マイクロカプセルによる被包；（ｉｉ）治療薬を発現することができる組換え細胞；（ｉｉｉ）エンドサイトーシスに媒介された受容体（たとえば、Ｗｕ ａｎｄ Ｗｕ，１９８７．Ｊ Ｂｉｏｌ Ｃｈｅｍ ２６２：４４２９－４４３２を参照されたい）；（ｉｖ）レトロウイルスまたはその他のベクターの一部としての治療用核酸の構築など。

［００４８９］ 本発明の一態様において、治療薬はベシクル、とりわけリポソームに送達することができる。リポソームでは、本発明の蛋白質は、薬剤的に受容できるキャリアに加え、水溶液中でミセル、不溶性単層、脂質結晶、またはラメラ層のような凝集した形状で存在する両親媒性物質と結合する。リポソーム製剤のための適切な脂質としては、モノグリセリド、ジグリセリド、スルファチド、リゾレシチン、燐脂質、サポニン、胆汁酸などが挙げられるが、それらに限定されない。そのようなリポソーム製剤の製造は当業者のレベルの範囲内であり、たとえば、米国特許第８３７，０２８号；および米国特許第４，７３７，３２３号に開示され、それらのすべてを本明細書に参照として援用する。

［００４９０］ さらに別の態様において、治療薬は以下のものを含む徐放システムで送達することができる：送達ポンプ（たとえばＳａｕｄｅｋ， ｅｔ ａｌ．，１９８９．

Ｎｅｗ Ｅｎｇｌ Ｊ Ｍｅｄ ３２１：５７４を参照されたい）および半透過性ポリマー材料（たとえば、Ｈｏｗａｒｄ，ｅｔ ａｌ．，１９８９．Ｊ Ｎｅｕｒｏｓｕｒｇ ７１：１０５を参照されたい）。さらに、徐放システムを治療標的（たとえば脳）の近傍に配置し、それによって全身投与量の一部だけを必要とすることができる。たとえば、Ｇｏｏｄｓｏｎ，Ｉｎ：Ｍｅｄｉｃａｌ Ａｐｐｌｉｃａｔｉｏｎｓ ｏｆ Ｃｏｎｔｒｏｌｌｅｄ Ｒｅｌｅａｓｅ １９８４．（ＣＲＣ Ｐｒｅｓｓ，Ｂｏｃｃａ Ｒａｔｏｎ，ＦＬ）を参照されたい。

［００４９１］ 本発明の具体的な態様において、治療薬が蛋白質をコードする核酸である場合、治療用核酸はｉｎ ｖｉｖｏで投与され、それを適切な核酸発現ベクターの一部として構築し、それが以下のように細胞内に現れるように投与することにより、コードされた蛋白質の発現を促進することができる（たとえば、レトロウイルスベクターの使用により、直接注射により、微粒子砲撃により、脂質もしくは細胞表面受容体またはトランスフェクション物質による被覆により、または核に入ることが公知のホメオボックス様ペプチドに結合してそれを投与すること（たとえばＪｏｌｉｏｔ，ｅｔ ａｌ．，１９９１．Ｐｒｏｃ Ｎａｔｌ Ａｃａｄ Ｓｃｉ ＵＳＡ ８８：１８６４－１８６８を参照されたい）などにより）。あるいは、核酸治療薬を相同組換えにより細胞内に導入し、発現のために宿主細胞ＤＮＡ内に取り込ませることができる。

［００４９２］ 本明細書で使用する“治療的有効量”という用語は、患者に有益であること、すなわち適切な医学的状態の処置、治癒、妨害もしくは改善、またはそのような状態の処置、治癒、妨害または改善の速度の増大を示すために十分な医薬組成物または方法のそれぞれの活性成分の総量を意味する。個々の活性成分を単独で適用する場合、該用語はその成分だけを表す。組み合わせて適用する場合、組み合わせ、連続、または同時のいずれかで投与するにかかわらず、治療効果を生じる活性成分の合わせた量を表す。

［００４９３］ 具体的な障害または状態の処置に有効な本発明の治療薬の量は、障害または状態の性質に依存することになり、当業者によって標準臨床技術により決定することができる。さらに、場合によりｉｎ ｖｉｔｒｏアッセイを使用して最適投与量範囲の確認を手伝ってもよい。使用される的確な量はまた、投与経路および疾患または障害の全体的な重症度に依存することになり、開業医の判断およびそれぞれの患者の状況に従って決定されるべきである。結局、主治医がそれぞれ個々の患者を処置するための、本発明の蛋白質の量を決定することになる。初めに主治医は本発明の蛋白質の低用量を投与し、患者の反応を観察することになる。患者に最適治療効果が得られるまで、本発明の蛋白質のより多い量を投与することができ、その時点で投与量はそれ以上増加させない。しかし、本発明の治療薬の静脈内投与のための適切な投与量範囲は一般に体重１Ｋｇにつき、活性化合物約２０～５００マイクログラム（μｇ）である。鼻腔内投与のための適切な投与量範囲は一般に０．０１ｐｇ／ｋｇ体重～１ｍｇ／ｋｇ体重である。有効量はｉｎ ｖｉｔｒｏまたは動物モデル試験系に由来する用量‐反応曲線から推測することができる。一般に坐薬は重量の０．５％～１０％の範囲で活性成分を含み；経口製剤は好ましくは１０％～９５％活性成分を含む。

［００４９４］ 本発明の医薬組成物を使用した静脈内治療の期間は、それぞれ個々の患者の治療される疾患の重症度および状態、ならびに特異体質に依存して変化することになる。本発明の蛋白質のそれぞれの適用の期間は、１２～２４時間の範囲の連続静脈内投与となる。結局、主治医が本発明の医薬組成物を使用した静脈内治療の適切な期間を決定することになる。

［００４９５］ 特記しない限り、本明細書で使用されるすべての技術的および化学的用語は本発明が関連する当業者が普通に理解する意味と同じものを有する。矛盾する場合、定義を含む本明細書において調節される。さらに、材料、方法、および実施例は説明のためだけであり、限定することを意図しない。本明細書に記載の方法および材料と類似または等価のそれらを本発明の実施および試験に使用することができるが、適切な方法および材料は以下に記載される。

［００４９６］ 実施例に記載されたすべての市販の試薬は、特記しない限り取扱説明書

に従って使用した。以下の実施例および明細書中のＡＴＣＣ受託番号によって確認された細胞の供与源は、Ａｍｅｒｉｃａｎ Ｔｙｐｅ Ｃｕｌｔｕｒｅ Ｃｏｌｌｅｃｔｉｏｎ，Ｍａｎａｓｓａｓ，ＶＡである。

［００４９７］　本明細書で言及したすべての公開公報、特許出願、特許、およびその他の参考文献はそのまま、参照として本明細書に援用する。

［００４９８］　本発明は以下の実施例においてより詳細に説明されるが、それらは特許請求の範囲に記載された本発明の範囲を限定しない。以下の実施例は説明のためだけであり、いかなる方法によっても本発明の範囲を限定するものではない。

【００９５】

実施例

【実施例１】

【００９６】

試料の作製

［００４９９］　総ＲＮＡは１０の原発結腸腫瘍および１０の正常結腸試料から、総細胞ＲＮＡ単離のためのＡｍｂｉｏｎ Ｔｏｔａｌｌｙ ＲＮＡ ｋｉｔ、カタログ番号＃１９１０，２１３０ Ｗｏｏｄｗａｒｄ Ｓｔｒｅｅｔ，Ａｕｓｔｉｎ，Ｔｅｘａｓ ７８７４４－１８３２を使用して単離した。プロトコールに従い、グアニジニウムを基礎にした溶解溶液中で試料を溶解し、次にフェノール：クロロホルム：ＩＡＡおよび酸‐フェノールで順次抽出した。次にＲＮＡをイソプロパノールで沈殿させる。Ｐｏｌｙ Ａ＋ ＲＮＡは、Ｏｌｉｇｏｔｅｘ ＲＮＡ ｍｉｄｉ ｋｉｔ，カタログ番号＃７００４２，２８１５９ Ａｖｅｎｕｅ Ｓｔａｎｆｏｒｄ，Ｖａｌｅｎｃｉａ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ，９１３５５を使用して抽出した。このキットを使用して、固相マトリックスに結合したｄＴオリゴマーにＰｏｌｙ Ａ＋尾部をハイブリダイズすることによりＰｏｌｙ Ａ＋ＲＮＡを精製した。

【実施例２】

【００９７】

プローブの作製

［００５００］　それぞれのＰｏｌｙ Ａ＋ ＲＮＡ試料は、ＭＭＬＶ逆転写酵素、０．０５ｐｇ／ｕｌ オリゴ－ｄＴプライマー（２１マー）、１×第１鎖バッファー、０．０３ ｕｎｉｔｓ／ｕｌ ＲＮアーゼ阻害剤、５００ｕＭ ｄＡＴＰ、５００ｕＭ ｄＧＴＰ、５００ｕＭ ｄＴＴＰ、４０ｕＭ ｄＣＴＰ、４０ｕＭ ｄＣＴＰ－Ｃｙ３（ＢＤＳ）またはｄＣＴＰ－Ｃｙ５（Ａｍｅｒｓｈａｍ Ｐｈａｒｍａｃｉａ Ｂｉｏｔｅｃｈ）を使用して逆転写された。逆転写反応は、ＧＥＭＢＲＩＧＨＴキットにより、２００ｎｇ ｐｏｌｙＡ$^{+}$ ＲＮＡを含む２５ｍｌ容積中で行った。特定の対照ｐｏｌｙＡ$^{+}$ ＲＮＡ（ＹＣＦＲ０６、ＹＣＦＲ４５、ＹＣＦＲ６７、ＹＣＦＲ８５、ＹＣＦＲ４３、ＹＣＦＲ２２、ＹＣＦＲ２３、ＹＣＦＲ２５、ＹＣＦＲ４４、ＹＣＦＲ２６）を非‐コーディング酵母ゲノムＤＮＡからのｉｎ ｖｉｔｒｏ転写により合成した（Ｗ．Ｌｅｉ、未発表）。定性的対照として、０．００２ｎｇ、０．０２ｎｇ、０．２ｎｇ、および２ｎｇの対照ｍＲＮＡ（ＹＣＦＲ０６、ＹＣＦＲ４５、ＹＣＦＲ６７、ＹＣＦＲ８５）をそれぞれ試料ｍＲＮＡに対して１：１００，０００、１：１０，０００、１：１０００、１：１００（ｗ／ｗ）の比で希釈し、逆転写反応を行った。対照ｍＲＮＡ（ＹＣＦＲ４３、ＹＣＦＲ２２、ＹＣＦＲ２３、ＹＣＦＲ２５、ＹＣＦＲ４４、ＹＣＦＲ２６）は試料ｍＲＮＡ分別発現パターンに対して、１：３、３：１、１：１０、１０：１、１：２５、２５：１（ｗ／ｗ）の比で希釈して逆転写反応を行った。３７℃で２時間インキュベーション後、それぞれの反応試料（一方はＣｙ３、他方はＣｙ５で標識）は２．５ｍｌの０．５Ｍ水酸化ナトリウムで処理し、２０分間、８５℃でインキュベーションし、反応を停止し、ＲＮＡを分解した。プローブは２つの連続したＣＨＲＯＭＡ ＳＰＩＮ ３０ゲルろ過スピンカラム（Ｃｌｏｎｔｅｃｈ，Ｐａｌｏ Ａｌｔｏ，Ｃａｌｉｆ．ＵＳＡ）を使用して精製し、両反応試料を合わせた後、１ｍｌ グリコーゲン（１ｍｇ／ｍｌ）、６０ｍｌ 酢酸ナトリウム、および３００ｍｌ １００％エタノールを使用してエタノールで沈殿させた。プローブ

はその後、ＳｐｅｅｄＶＡＣ（Ｓａｖａｎｔ）を使用して完全に乾燥させ、１４ｕｌ　５×ＳＳＣ／０．２％　ＳＤＳ中に再懸濁した。

【実施例３】

【００９８】

ハイブリダイゼーション

［００５０１］　ハイブリダイゼーション反応物は、５×ＳＳＣ、０．２％　ＳＤＳハイブリダイゼーションバッファー中の両Ｃｙ３およびＣｙ５標識ｃＤＮＡ合成産物のそれぞれ０．２μｇからなる、９μｌ　プローブ混合物を含有した。プローブ混合物は６５℃になるまで５分間加熱し、マイクロアレイ表面にアリコートをのせ、１．８ｃｍ^{2}カバーガラスで覆った。アレイは顕微鏡スライドガラスよりほんのわずかに大きい穴のある防水チャンバーに移した。チャンバーは、チャンバーの角に５ｘＳＳＣ　を１４０μｌ添加することにより内部を湿度１００％に保った。アレイを含有するチャンバーは６０℃で６．５時間インキュベーションした。アレイは高ストリンジェント性洗浄バッファー（１×ＳＳＣ、０．１％　ＳＤＳ）中、４５℃で１０分間洗浄し、低ストリンジェント性洗浄バッファー（０．１％ｘＳＳＣ）中、４５℃で３回、それぞれ１０分間、洗浄し、乾燥させた。

【実施例４】

【００９９】

検出

［００５０２］　レポーターに標識されたハイブリダイゼーション複合体を検出するために使用される顕微鏡に、Ｃｙ３の励起のための４８８ｎｍ、およびＣｙ５の励起のための６３２ｎｍにおいてスペクトル腺を発生することができるＩｎｎｏｖａ　７０混合ガス１０Ｗレーザー(Ｃｏｈｅｒｅｎｔ　Ｌａｓｅｒｓ，Ｓａｎｔａ　Ｃｌａｒａ，Ｃａｌｉｆ．）を装備した。

［００５０３］　２種の別々のスキャンにおいて、混合ガス多重腺レーザーは２種の発蛍光団を順次励起した。放出光は、波長に基づいて、２種の発蛍光団に対応する光電子増倍管検出器（ＰＭＴ　Ｒ１４７７，　Ｈａｍａｍａｔｓｕ　Ｐｈｏｔｏｎｉｃｓ，　Ｓａｎ　Ｊｏｓｅ，　Ｃａｌｉｆ．）に分割した。アレイと光電子増倍管間に位置した適切なフィルターを使用して、フィルターにシグナルを通した。使用した発蛍光団の発光最大値はＣｙ３では５６５ｎｍ、そしてＣｙ５では６５０ｎｍであった。装置は両発蛍光団からのスペクトルを同時に記録することができたが、それぞれのアレイは、、レーザー源における適切なフィルターを使用して発蛍光団毎に１回スキャンし、一般に２回スキャンした。

［００５０４］　スキャンの感度は一般に、公知の濃度でプローブ混合物に添加されたｃＤＮＡ対照種によって発生したシグナル強度を使用してキャリブレーションした。アレイ上の特定の位置に相補的ＤＮＡを含有し、その位置におけるシグナル強度をハイブリダイズした種の重量比１：１００，０００と相関させた。異なる供与源（たとえば試験および対照細胞を表す）由来の２種のプローブをそれぞれ異なる発蛍光団で標識し、それらを異なって発現される遺伝子を同定するために単一アレイにハイブリダイズさせた場合、キャリブレーションするｃＤＮＡの試料を２種の発蛍光団で標識し、それぞれの同一量をハイブリダイゼーション混合物に添加することによりキャリブレーションを行った。

［００５０５］　光電子増倍管の出力は、ＩＢＭ－コンパチブルＰＣコンピューターにインストールされた１２－ビットＲＴＩ－８３５Ｈアナログ－デジタル（Ａ／Ｄ）変換ボード（Ａｎａｌｏｇ　Ｄｅｖｉｃｅｓ，Ｎｏｒｗｏｏｄ，Ｍａｓｓ．）を使用してデジタル化した。デジタル化データは画像としてディスプレーされ、そこでシグナル強度は線形２０‐色変換を使用して、青（低シグナル）から赤（高シグナル）の範囲の偽カラースケールにマッピングした。また、データは定量的に分析した。２種の異なる発蛍光団が励起されて、同時に測定される場合、データは初めにそれぞれの発光スペクトルを使用して、発蛍光団間の光クロストークに対して補正した。

［００５０６］　グリッドはそれぞれのスポットからのシグナルがグリッドのそれぞれのエレメントの中心になるように蛍光シグナル画像に重ね合わせた。次にそれぞれのエレメント内の蛍光シグナルを統合し、平均シグナル強度に対応した数値を得た。シグナル解析

に使用したソフトウェアはＧＥＭＴＯＯＬＳ遺伝子発現解析プログラム（Ｉｎｃｙｔｅ）であった。

【実施例５】

【０１００】

マイクロアレイ解析

［００５０７］　ハイブリダイゼーションしたマイクロアレイの解析は、マルチステップ法である。アレイは、スポット特性を決定する初期の品質管理手順により作動した。完了後、１組の予め定義された標準物を通過したスポットを使用して、バックグラウンド補正およびシグナル正規化の内部法により、それぞれの遺伝子に対するＣｙ３（腫瘍）およびＣｙ５（正常プール）シグナルを平衡化した。次に平衡化シグナルを使用して、それぞれの提示された転写物に対する平衡ディファレンシャル発現比を計算した。比は以下の様に計算した。

【０１０１】

【化１】

$$\text{比} = \frac{Cy3}{\text{平衡化}\ Cy5} \qquad Cy3 >= Cy5 \text{ の場合}$$

$$\text{比} = -\frac{\text{平衡化}\ Cy5}{Cy3} \qquad Cy3 < Cy5 \text{ の場合}$$

【０１０２】

［００５０８］　正規化後、アレイは、アレイレベルにおいて別の一連の品質管理処置を通過し、ディファレンシャル発現値における確実性を確かめた。すべての品質管理処置を通過したアレイの場合、２倍以上の比を著しく異なる正および負の両比として受け入れた。２倍という値は首尾一貫して９０％～９５％の二次確認率を証明しているため、それを使用した。この実験の場合、正の比率は腫瘍組織における転写物のアップレギュレーションを示す。調べた腫瘍の少なくとも３０％においてアップレギュレーションを示す転写物は、別のバイオインフォーマティック解析により確認した。ディファレンシャル発現値は内部で品質管理され、表３（アップレギュレーションされた転写物）および表４（ダウンレギュレーションされた転写物）に示す。

（表中、Internal ID:内部ＩＤ、Colon Tumor；結腸腫瘍）

【０１０３】

【表３－１】

TABLE 3

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_1	-1.167605	3.33153	2.21829	1.482095	2.386943	2.489082	1.178339	1.210582	-1.500949	1.525775
PCTUC_2	3.010309	3.331919	1.11844	2.034488	1.618272	4.119026	2.455277	2.637006	1.209973	-1.000567
PCTUC_3	1.024984	1.056008	-1.133479	-1.434139	4.280367	1.005496	5.875144	6.30145	-1.159219	2.552166
PCTUC_4	2.153777	3.903957	1.664692	1.69709	3.688466	1.199631	3.034428	2.040424	2.191431	2.560127
PCTUC_5	2.057309	3.513776	2.178211	1.767936	3.360188	1.860806	2.206577	5.10363	6.760265	4.802891
PCTUC_6	1.434955	2.456625	1.647487	1.257837	2.88564	1.212183	1.667211	3.338447	1.982268	1.572041
PCTUC_7	1.726415	6.022513	1.97093	1.371469	1.267824	2.602364	1.40409	3.219049	1.47228	1.677557
PCTUC_8	3.44923	8.567132	3.309122	1.418101	2.207181	4.990086	1.091259	5.882385	3.828326	1.331393
PCTUC_9	-1.24335	-1.591661	-1.413795	2.313674	1.483923	-1.36474	1.922685	2.5084	1.303766	2.178063
PCTUC_10	1.889236	2.209288	2.358001	2.91982	1.86346	1.969926	2.081224	2.411553	1.657971	-1.743247
PCTUC_11	1.825643	2.982506	2.381234	1.8578	2.436895	2.568045	1.596274	4.858005	2.774633	1.975318
PCTUC_12	2.29826	3.603747	2.093798	3.73169	2.919872	3.78894	2.013017	2.542768	2.626356	1.422498
PCTUC_13	1.829951	2.163258	1.540913	1.118439	2.699494	1.86401	2.481613	2.293715	1.852841	1.855033
PCTUC_14	2.409517	2.765398	1.743494	2.035633	2.988889	1.693567	2.454003	1.683912	1.03871	2.257919
PCTUC_15	1.774211	4.314919	3.921481	2.014538	4.311935	1.914858	2.013299	5.353806	4.08829	2.007689
PCTUC_16	2.225139	4.326321	1.919548	1.593435	3.5661	1.732865	2.3366	4.066249	3.479868	3.223681
PCTUC_17	1.499352	3.324623	2.759565	1.119117	2.112245	1.254072	-1.096253	-1.756643	1.935014	-3.121983
PCTUC_18	2.446111	2.948642	1.698977	1.715412	3.550059	1.683823	2.186993	2.96542	2.487542	3.251436
PCTUC_19	2.4004	3.573775	1.950095	1.77725	3.201406	1.508808	1.818975	2.720885	3.012143	3.537117
PCTUC_20	1.648393	2.617168	1.625779	1.529432	2.786005	1.709264	2.094551	2.094095	1.963154	2.195627
PCTUC_21	1.298735	2.233336	1.202361	1.422586	2.42449	1.437381	2.023834	2.282534	1.277144	1.666151
PCTUC_22	1.946348	3.223213	2.01582	1.897335	3.349705	1.707798	2.027604	2.128659	2.171994	2.981197
PCTUC_23	1.966244	2.633702	1.647908	1.584596	3.069661	1.597093	2.13367	2.336216	2.116655	2.618075
PCTUC_24	1.612851	1.759476	1.227302	1.212384	2.204627	-1.119074	1.240807	1.92722	2.278076	2.961248
PCTUC_25	1.547841	3.747698	1.780759	1.400986	3.299834	1.648136	2.679808	2.685308	2.532363	2.311755
PCTUC_27	1.696275	2.027911	1.427261	1.591907	2.715553	2.039945	2.314785	2.445415	1.99636	2.038934
PCTUC_28	1.734647	2.30457	1.349411	1.609	2.535051	1.678706	2.822846	1.88328	1.953373	2.189538
PCTUC_29	1.218383	2.146439	1.305923	1.36905	1.993406	1.368914	2.383155	1.000889	2.234657	1.527855
PCTUC_30	2.251479	4.269543	1.869797	1.95957	4.609859	1.760434	2.268146	2.543274	1.988293	2.669211
PCTUC_31	1.273212	2.008828	1.222321	1.216924	4.79896	1.334197	2.871417	2.122144	1.3468	1.960979
PCTUC_32	2.211274	2.299184	1.538199	1.846299	2.374974	1.218089	1.774198	2.142013	2.850726	2.695594
PCTUC_33	1.516001	2.527318	1.163905	1.144805	3.056935	1.389436	2.702812	2.145138	1.920181	2.031137
PCTUC_34	1.738326	2.761815	1.478411	1.590443	2.763778	2.308969	1.788974	1.978217	2.045808	1.735026
PCTUC_35	2.450331	3.412452	2.060661	1.883831	3.852642	1.765146	2.861895	3.731185	2.581271	3.074587
PCTUC_36	1.282602	2.816709	1.325435	1.018326	1.998563	1.833468	2.432657	2.726498	2.961284	2.017774
PCTUC_37	2.157884	3.047547	1.903155	1.270211	3.594	1.597116	1.618725	2.926616	2.415369	2.998529
PCTUC_38	2.032504	2.527848	1.368973	1.775121	2.579978	1.568038	1.956689	1.717832	1.848987	3.147673
PCTUC_39	2.057803	2.589417	1.472552	2.317069	8.40739	1.901959	3.708238	1.892787	3.094937	2.192067

【０１０４】

【表３－２】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_40	1.397248	1.999109	2.080914	1.299083	2.359739	1.399132	2.258712	2.419852	1.798392	1.924235
PCTUC_41	2.106049	2.4829	1.780815	1.566652	2.513543	1.144015	1.825707	2.340699	1.925134	1.971642
PCTUC_42	2.11433	2.763852	1.680019	1.171995	3.175251	1.426665	2.701805	2.495222	3.045982	3.19735
PCTUC_43	1.829138	4.590826	2.386226	-1.003516	1.231775	4.018248	-1.717588	3.282683	1.355019	-2.227438
PCTUC_44	1.995429	3.195874	1.562907	1.796879	3.65745	1.901663	2.288847	3.732934	1.771478	2.074904
PCTUC_45	2.476977	3.752093	2.011098	2.046475	4.519679	1.920817	2.960815	3.469161	2.769985	3.980089
PCTUC_46	1.517254	1.824735	1.121034	1.163115	2.756811	1.389416	4.811975	6.741828	1.411192	4.160511
PCTUC_47	1.971729	3.51245	2.332144	3.026521	2.137793	2.28666	-1.026749	1.882731	-1.020302	-1.161207
PCTUC_48	2.66606	5.100231	2.502615	2.33134	3.784472	2.37839	2.51831	4.070007	2.886431	2.084877
PCTUC_49	2.709622	4.09865	2.081851	2.337645	5.108332	1.263168	3.046843	3.630741	3.958366	4.64426
PCTUC_50	1.657113	2.514183	1.208705	1.449126	2.884126	1.410489	2.236377	1.987109	2.029714	2.282976
PCTUC_51	1.961473	2.348377	1.406842	1.547914	2.674841	1.60263	2.121905	1.692895	1.738349	2.351656
PCTUC_52	1.411542	3.194549	1.993584	1.274938	1.806577	2.385026	1.081419	2.46315	1.161641	-1.600941
PCTUC_53	2.388666	4.043553	1.855629	1.771712	4.134722	1.587455	2.536895	3.264168	3.314468	3.182655
PCTUC_54	2.698339	2.207234	1.160583	1.06194	2.104804	1.107599	2.914414	2.088041	2.297055	2.521916
PCTUC_55	1.868779	2.478753	1.525201	1.658344	2.55561	1.428883	2.366578	2.212243	2.574092	3.033405
PCTUC_56	2.17674	2.960366	1.741503	1.720215	2.986598	1.669315	2.29392	2.890783	3.26451	3.500622
PCTUC_57	1.537308	2.195412	1.311886	1.381912	1.982858	1.410287	2.059224	2.085696	1.64198	2.190387
PCTUC_58	1.946348	3.042087	1.42848	1.449061	2.855023	1.394989	2.557589	2.430643	2.140668	2.649637
PCTUC_59	2.022084	2.498707	1.48394	1.429058	2.51607	1.799848	1.85432	2.296163	1.586154	1.753843
PCTUC_60	2.317572	2.699497	1.835917	1.959696	3.354239	1.712394	2.212893	2.592989	1.856218	2.779451
PCTUC_61	2.51545	2.741376	1.854596	1.985688	2.947656	1.727563	1.623219	2.784914	2.158502	2.995003
PCTUC_62	1.618495	1.648216	1.27043	1.286811	2.033582	1.412706	2.11299	1.986623	1.438089	2.129747
PCTUC_63	1.732632	2.741961	1.420588	1.602472	3.022122	1.6105	4.15876	2.426561	2.206344	3.127447
PCTUC_64	1.165401	1.982774	1.254929	1.115399	1.751606	1.236849	2.340298	2.036072	2.087404	2.694909
PCTUC_65	1.336602	1.949603	1.201375	1.276382	2.270138	1.235732	2.317672	2.306382	2.003266	2.126323
PCTUC_66	2.015365	2.177838	1.630885	1.77424	2.942512	1.619317	2.178478	2.276473	2.05338	2.074758
PCTUC_67	2.022251	2.405791	1.785181	1.731284	2.81626	1.753909	1.97785	1.79724	1.433013	2.074351
PCTUC_68	1.317565	2.295076	1.442385	1.217891	2.656733	1.358542	2.104213	2.034427	1.717962	1.406569
PCTUC_69	2.06803	2.258815	1.488382	1.728301	2.683501	1.639055	1.641071	2.025247	1.196433	1.558159
PCTUC_70	2.306625	2.912195	2.046354	1.955802	3.254495	1.921972	2.268832	2.628053	1.66275	2.378746
PCTUC_71	1.905904	2.366372	1.588232	1.677139	1.97013	2.267135	1.564448	1.615601	2.039741	1.579345
PCTUC_72	2.018447	3.73358	1.421489	1.405039	2.970055	1.760416	3.557688	2.643089	2.44463	3.665364
PCTUC_73	1.766525	2.412998	1.502014	1.51544	2.075916	1.683902	1.809353	2.241871	2.040006	2.312258
PCTUC_74	1.691552	1.793785	1.267592	1.185903	1.924729	1.421482	1.944983	2.06476	1.296222	1.954839
PCTUC_75	1.846039	3.109019	1.663261	1.625626	2.798696	1.437059	2.601595	2.122126	2.107793	1.98714
PCTUC_76	1.882731	2.066262	1.742008	2.003987	2.153655	1.942441	1.555217	1.902045	-1.09762	-1.010611
PCTUC_77	1.369232	2.060578	1.361874	1.062815	2.131934	1.195854	2.903624	2.60441	2.066324	2.714115
PCTUC_78	1.63917	2.264273	1.436098	1.202832	2.346673	1.181195	1.810331	2.232351	1.67842	2.220953
PCTUC_79	2.223718	3.031543	1.922364	1.92482	3.363707	1.621712	2.469737	2.889681	2.831694	3.861511

【０１０５】

【表３－３】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_80	1.467536	2.186955	1.428232	1.371915	2.048764	1.369115	1.454227	1.95301	1.843292	2.085274
PCTUC_81	1.912159	2.586055	1.59879	1.821389	2.575871	1.760196	2.054171	1.836205	1.987947	3.053376
PCTUC_82	1.434465	2.289142	1.630034	1.848266	2.4429	2.259899	4.030933	5.108284	1.813017	1.846668
PCTUC_83	1.891248	8.992641	1.960748	1.456855	3.430561	3.053387	2.580104	7.283586	3.504228	3.625079
PCTUC_84	1.944148	2.782467	1.558292	1.82153	7.161571	2.01469	3.056976	8.148343	3.72328	6.142403
PCTUC_85	1.981983	1.957546	1.457266	1.418137	2.307765	1.307712	1.589812	1.99927	1.847969	2.260472
PCTUC_86	2.379777	3.951234	2.300241	2.094229	5.10043	2.220748	3.581237	5.052755	5.616655	5.332936
PCTUC_87	1.846455	2.21849	1.671109	1.930862	2.322542	1.699534	2.314521	1.886742	1.394717	1.442726
PCTUC_88	2.79995	3.726188	1.975374	2.025747	3.535597	1.929106	2.036797	3.083732	3.142027	3.882488
PCTUC_89	1.382285	1.979193	1.126635	1.163368	1.985515	1.316076	1.530518	2.001615	1.930774	1.798015
PCTUC_90	2.162711	2.51384	1.80511	1.877139	2.893159	1.857735	2.417712	2.532709	1.813916	2.823546
PCTUC_91	1.623899	2.305127	1.427174	1.361678	3.340343	1.63355	3.832869	2.333097	1.372882	2.447965
PCTUC_92	1.828539	2.704496	1.571857	1.476535	3.043378	1.666357	2.701302	1.772067	1.774099	2.143625
PCTUC_93	2.670166	6.27784	2.639735	2.603041	5.276127	2.607343	4.430416	5.798988	5.255655	7.660719
PCTUC_94	1.650576	2.347257	1.551303	1.540996	2.319753	1.715865	2.232659	2.694269	2.328191	3.154522
PCTUC_95	2.15389	2.130007	1.777067	2.088068	2.410172	1.843929	1.533536	2.207211	1.42266	1.867618
PCTUC_96	2.035643	2.232943	1.849501	1.655422	3.846957	1.826181	1.444591	1.594736	1.656573	2.302421
PCTUC_97	2.2532	2.703321	1.774541	1.719427	1.937724	1.151094	1.998184	2.523026	2.472415	3.031885
PCTUC_98	1.823728	3.187145	1.843798	1.578049	3.37381	1.489856	3.310011	3.274649	2.506988	3.68643
PCTUC_99	2.934582	3.653785	2.223708	2.350155	3.916004	2.06415	2.539989	3.015937	2.478161	3.691117
PCTUC_100	2.183041	3.85372	1.631668	1.508529	3.716182	1.589476	2.987672	2.551001	2.194593	2.946532
PCTUC_101	1.998253	2.540957	1.689489	1.447247	2.309024	1.367315	1.511417	1.960072	1.568574	1.827056
PCTUC_102	1.637692	2.45107	1.566288	1.728188	2.008309	2.120665	2.018083	1.663197	-1.251624	1.116722
PCTUC_103	2.143254	2.904234	1.622328	1.548801	3.37803	1.657802	1.825109	2.626874	2.153862	2.633694
PCTUC_104	1.696224	2.088969	1.567019	1.532818	2.249511	1.727754	1.906005	2.199311	1.763109	2.300518
PCTUC_105	1.855064	2.819359	1.567435	1.543721	2.847837	1.774548	2.498841	2.219475	2.53344	3.003811
PCTUC_106	2.074095	2.583958	1.802072	2.062965	2.517983	1.986182	2.1625	1.853343	1.876295	2.219061
PCTUC_107	1.436427	2.014846	1.287173	1.42702	3.187718	1.428675	3.43222	3.999756	2.34375	1.125152
PCTUC_108	2.466527	2.305113	2.542691	1.881556	2.379215	2.390612	2.187789	2.57185	-2.25182	-1.321648
PCTUC_109	2.778593	5.835248	2.612641	2.431126	5.114062	2.270507	4.797082	4.657402	4.699218	5.555741
PCTUC_110	1.765069	2.276443	1.539449	1.588558	2.340659	1.475036	1.720918	1.949022	1.091809	2.113063
PCTUC_111	1.621092	2.106955	1.258185	1.182327	2.337887	1.356621	2.66051	2.240773	1.417537	2.266325
PCTUC_112	1.929109	2.886708	1.581569	1.522645	2.817362	1.436257	2.905006	3.577459	3.043684	3.659114
PCTUC_113	2.183752	3.438374	1.850835	2.011902	3.310618	1.979509	2.612262	4.243793	3.004574	5.308458
PCTUC_114	2.780542	6.40439	2.686503	2.496432	4.999533	2.578598	4.425914	5.114237	5.027148	7.201783
PCTUC_115	2.200367	4.069643	2.01756	2.220671	4.177684	2.113645	3.79364	4.499948	3.998406	5.093233
PCTUC_116	2.287616	3.50528	2.043065	2.038058	3.823674	2.177961	2.663367	3.985358	3.658729	4.065497
PCTUC_117	2.970644	6.056041	2.398937	2.169403	2.49033	2.324831	3.71894	5.194387	4.871262	8.52777
PCTUC_118	2.477434	2.172511	1.88397	1.931524	2.371255	1.073007	2.146897	2.531411	2.827695	3.864724
PCTUC_119	1.776452	2.629506	1.322001	1.291075	2.405234	1.417364	3.733404	2.569529	1.923712	2.616817

【０１０６】

【表３－４】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_120	1.982641	4.046946	1.732223	1.753712	4.177029	2.043426	3.579566	3.415488	3.988481	5.692827
PCTUC_121	2.045416	3.467918	1.856998	1.932082	4.08297	2.193191	3.784323	3.251114	2.983277	4.42307
PCTUC_122	2.082013	2.52088	1.641259	1.772476	3.19319	1.833187	2.382438	2.799391	2.247619	3.287899
PCTUC_123	1.892968	2.118832	1.447326	1.521655	2.863929	1.773008	2.15826	2.126261	1.823674	2.55418
PCTUC_124	2.302006	4.194275	2.018941	2.276732	4.738862	2.436061	3.979022	4.108718	3.802742	5.029344
PCTUC_125	2.642775	3.22901	2.16624	2.453689	3.785296	2.573088	3.251187	3.020403	2.911322	4.168266
PCTUC_126	2.253894	3.976677	1.994424	2.144706	4.513967	2.581049	3.680543	4.021809	3.870054	4.986007
PCTUC_127	2.304186	5.744323	2.38022	2.359522	5.583232	2.522426	4.309034	4.886045	4.733597	5.523011
PCTUC_128	2.553788	4.196769	2.379538	2.46891	4.286704	2.152378	4.22779	4.702429	4.055894	6.302035
PCTUC_129	2.325642	2.745098	1.756556	1.931827	3.167695	1.707048	2.728328	4.065711	2.544175	4.100242
PCTUC_130	1.703418	2.36412	1.743213	1.60323	2.148247	1.266083	2.077873	1.683113	1.734082	2.06349
PCTUC_131	1.724546	2.582779	1.392246	1.469603	2.513543	1.270988	2.04825	2.313275	2.000083	2.74953
PCTUC_132	1.940151	2.216878	1.970094	1.976734	2.568789	1.579236	1.830217	2.785681	2.457472	3.307127
PCTUC_133	2.553717	3.466767	1.779728	1.567245	4.051633	1.731929	3.150585	4.064429	2.606395	3.244058
PCTUC_134	2.376674	4.774848	2.152457	1.8395	4.683371	1.612822	4.448137	4.003712	3.285781	3.945924
PCTUC_135	2.144651	2.649289	1.787653	1.872877	3.417997	1.846059	1.863919	2.309483	1.794108	2.744771
PCTUC_136	2.148641	2.10056	1.450171	1.367047	2.250633	1.355217	1.798358	2.22741	1.796116	2.565216
PCTUC_137	2.130816	3.194793	1.684232	1.613193	2.966923	1.35991	2.570772	2.806133	2.604188	3.888691
PCTUC_138	2.136258	3.341462	1.642945	1.58273	3.252918	1.524161	1.745744	2.406214	2.042087	2.619121
PCTUC_139	1.473054	1.985499	1.192933	1.173492	2.241265	1.143266	2.066499	1.963953	1.841994	2.064502
PCTUC_140	2.382936	5.190052	2.593684	2.288506	5.946975	2.414967	4.98026	4.444968	4.510729	4.851974
PCTUC_141	2.122445	3.281591	1.948166	2.022838	3.489888	1.889636	2.541389	3.602278	2.748523	4.301198
PCTUC_142	2.632055	6.609196	2.636786	2.29089	5.705941	2.397714	4.855232	6.581445	5.864189	5.030571
PCTUC_143	2.046356	2.483107	1.691251	1.867148	2.636136	1.403801	2.190016	2.591157	2.568045	3.211911
PCTUC_144	1.992145	2.628616	1.684575	1.899628	2.873412	1.647328	2.414353	2.496427	2.541264	3.560737
PCTUC_145	2.29488	2.37603	1.896473	1.935271	2.790786	1.660398	2.395132	2.796336	2.654901	3.40539
PCTUC_146	2.349353	2.360452	1.53855	1.534619	2.342172	1.584713	2.94323	2.317092	2.006493	2.575637
PCTUC_147	1.97557	1.49492	1.63718	2.030017	-1.038416	2.001094	2.210781	2.228616	2.339426	
PCTUC_148	2.326489	3.609815	1.936063	1.768154	3.691488	1.509576	2.475563	3.592372	3.070454	4.243995
PCTUC_149	2.223878	2.409088	1.720194	1.945538	3.391234	1.758313	2.260378	2.22741	1.93171	2.465638
PCTUC_150	2.333193	4.274464	2.124192	1.964887	4.341965	2.146984	3.071743	2.980247	2.838894	3.951463
PCTUC_151	2.408074	1.836668	1.819378	1.927453	1.641701	1.118945	1.690904	1.656675	2.072012	2.469634
PCTUC_152	2.381697	2.747643	1.664237	1.933687	2.809088	1.834308	2.092884	1.902702	1.615941	2.529564
PCTUC_153	1.62262	2.523015	1.305855	1.294968	2.128255	1.342434	2.327278	1.829888	1.51327	2.055782
PCTUC_154	1.969294	4.241415	1.971435	1.899327	3.933199	2.087219	5.444258	4.698549	3.542736	4.80305
PCTUC_155	1.909149	3.250235	1.912516	1.746694	3.157428	1.900503	3.86909	2.834414	2.736624	3.900374
PCTUC_156	1.451361	2.080686	1.431723	1.311998	2.154091	1.355351	3.034428	2.511339	2.120448	3.005841
PCTUC_157	2.139517	2.237462	1.468132	1.596464	2.680392	1.448459	2.420711	2.545386	1.995685	2.728806
PCTUC_158	2.340751	2.427624	1.720458	1.846447	2.538067	1.941758	2.007342	2.254047	1.631933	2.410079
PCTUC_159	2.592723	2.82934	1.762373	1.801574	3.712104	1.578095	3.848518	3.110776	2.391282	3.468199

【０１０７】

【表３－５】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Coloh Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_160	1.827864	2.666218	1.512777	1.535254	3.099494	1.71481	3.247859	2.328171	2.225173	2.633327
PCTUC_161	1.970345	2.297757	1.646088	1.982166	2.605821	1.64334	1.970826	1.135816	1.408153	1.169709
PCTUC_162	1.439782	2.222644	1.286601	1.290794	2.162714	1.516161	3.428723	2.54344	1.760029	2.468676
PCTUC_163	2.345697	3.837572	1.862247	1.813233	3.450867	1.488808	3.324039	3.002135	2.720615	4.085257
PCTUC_164	2.004076	3.285513	1.74896	1.715412	3.191004	1.778077	3.709771	3.123746	3.284263	4.40286
PCTUC_165	2.412875	3.80279	2.015456	1.967204	4.143846	1.981667	3.475828	3.158709	3.283108	4.339454
PCTUC_166	2.181621	2.471198	1.548179	1.592577	2.671936	1.569606	2.37525	2.220013	1.636322	2.418371
PCTUC_167	2.096034	3.911778	2.010473	1.741283	3.903537	1.912417	3.642718	3.581518	4.185241	3.87418
PCTUC_168	1.651318	2.208828	1.587337	1.49218	2.213346	1.634055	2.771515	2.105632	1.719537	1.637775
PCTUC_169	1.811134	2.690632	1.77663	1.493697	3.244027	1.930187	3.72207	3.529785	2.909162	3.166899
PCTUC_170	2.528349	4.629561	2.096909	1.838336	3.974016	1.781	3.341992	3.305236	2.792567	3.879703
PCTUC_171	3.086575	5.856294	3.12292	2.78069	5.925259	2.919611	4.642657	4.902596	4.809088	5.596507
PCTUC_172	2.610924	3.449815	1.901268	1.79184	3.248729	1.550726	2.163172	2.490952	2.218841	3.090771
PCTUC_173	3.236281	5.599024	2.767506	3.135199	5.606467	2.903394	4.465715	5.46153	5.120931	6.050416
PCTUC_174	1.971308	3.937824	1.747312	1.87709	3.60039	1.861225	4.508595	3.761544	3.31325	4.360519
PCTUC_175	2.017454	2.898789	1.806199	1.675621	3.033045	1.755859	4.167829	2.880966	2.685777	3.379845
PCTUC_176	3.282002	5.875219	2.919173	2.342964	5.071848	2.262967	3.221856	3.569772	3.500499	4.628857
PCTUC_177	2.392638	2.791999	1.879821	1.711466	2.876557	1.524353	1.523746	2.458048	1.864571	2.685582
PCTUC_178	2.094212	3.932021	1.863073	1.688921	3.519515	1.847285	4.919324	4.203074	3.863744	4.174652
PCTUC_179	2.173889	2.059803	1.524988	1.567178	2.219269	1.747305	2.065585	2.24778	1.608568	2.147894
PCTUC_180	2.07498	4.72869	2.369165	1.775542	3.810833	1.946993	4.605177	4.671301	4.640214	5.030571
PCTUC_181	2.282053	2.447175	1.364804	1.565102	2.661733	1.425805	2.630357	1.739557	1.460964	2.22836
PCTUC_182	2.141199	2.648744	1.563208	1.846968	2.751587	1.996502	3.521755	2.171139	1.867099	2.465678
PCTUC_183	3.488463	3.83314	2.357281	2.562478	3.983159	2.458078	4.124454	2.703356	2.967947	3.801535
PCTUC_184	2.221076	4.22895	1.935559	1.942214	4.078297	2.076441	4.521826	5.001291	4.169762	4.55684
PCTUC_185	2.449592	3.155836	1.881579	2.034842	2.937128	2.14845	3.046543	3.044092	3.03148	3.943398
PCTUC_186	1.762882	2.359142	1.321211	1.423152	2.671936	1.769513	2.771634	2.852953	2.28604	2.764569
PCTUC_187	1.822807	2.58226	1.442614	1.449022	1.951994	1.613911	2.586738	2.64335	2.376528	3.03701
PCTUC_188	1.923808	2.515208	2.389021	1.911519	2.53708	2.045036	1.946169	2.901283	2.062389	1.39598
PCTUC_189	1.948982	2.841221	1.626155	1.526462	3.049721	1.189676	3.114371	2.026224	2.357244	2.775983
PCTUC_190	1.959037	3.718122	1.823316	3.125287	2.35109	1.856854	2.230163	3.423967	2.430517	2.049917
PCTUC_191	1.410424	1.569667	1.231558	1.251293	2.681443	1.381624	2.178181	1.989367	1.190545	2.491852
PCTUC_192	2.053974	2.829744	1.849315	1.897637	2.560419	1.482075	5.03285	2.084232	3.26451	4.011952
PCTUC_193	2.839539	2.441042	1.599217	1.521155	2.689553	1.29112	2.100079	2.480937	18.116383	2.875305
PCTUC_194	2.15666	1.996907	1.367373	1.717722	2.412942	2.001654	1.817391	2.171206	1.196635	2.300121
PCTUC_195	2.665177	2.113436	1.762802	1.931272	2.876521	1.900214	1.651488	1.142722	1.179752	1.38506
PCTUC_196	2.20503	2.648168	1.708679	1.791299	2.873039	1.73353	2.588496	3.12993	2.885138	3.500921
PCTUC_197	3.055709	3.674174	2.145274	2.452721	3.976326	2.348229	4.14846	4.193355	4.024918	5.287393
PCTUC_198	1.477454	1.937081	1.136061	1.210487	1.95604	1.261323	2.727162	2.404391	1.558354	2.043277
PCTUC_199	1.971808	2.898166	1.580341	1.694481	3.270516	1.487119	3.480046	2.848711	2.610347	3.40059

【０１０８】

【表３－６】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_200	2.122297	3.621145	1.752643	1.561154	3.118557	1.388631	3.663344	3.536279	2.864961	3.865406
PCTUC_201	2.389857	3.803328	1.984605	2.117899	4.475106	1.994174	3.598878	3.87792	2.983387	4.888649
PCTUC_202	2.36793	2.626245	1.949721	2.03951	3.720536	2.062144	2.676319	2.53176	2.045086	3.460951
PCTUC_203	2.429015	3.120531	1.843767	1.782332	3.47691	1.880652	2.334102	2.838404	2.443658	3.758187
PCTUC_204	1.724228	3.185202	1.524506	1.612622	3.460114	1.656442	3.938874	5.426718	2.76839	4.144833
PCTUC_205	2.399812	5.050709	1.950805	2.01819	3.854446	1.670652	4.146744	4.298879	3.8508	5.717604
PCTUC_206	2.016684	2.115916	1.595259	1.762565	2.502826	1.62402	1.605383	1.612099	1.599841	2.471186
PCTUC_207	2.449808	3.13117	1.808911	2.02143	3.636165	1.797917	2.291486	3.536181	2.614953	4.12153
PCTUC_208	1.780541	2.820107	1.579203	1.625143	2.405794	1.490423	3.274915	3.02393	3.642722	3.909081
PCTUC_209	2.801661	3.453332	2.032379	1.982221	3.402283	1.66403	2.464782	2.728186	2.398898	3.647652
PCTUC_210	2.062106	2.313428	1.465423	1.57732	2.748908	1.723869	2.429967	2.551201	1.83207	2.613226
PCTUC_211	3.358549	1.721248	1.794588	3.601527	1.869076	3.216175	3.178193	3.426056	3.472931	
PCTUC_212	2.351744	2.68273	1.898117	2.273726	3.325987	2.177626	2.152791	2.324348	1.772685	2.773665
PCTUC_213	2.730678	3.296502	1.68906	1.697095	2.686597	1.631742	2.49734	2.631736	2.803728	3.287899
PCTUC_214	2.54486	2.329126	1.914379	2.146495	2.587393	2.201351	1.695774	1.932895	1.341692	2.163093
PCTUC_215	2.029841	2.073445	1.530253	1.860207	2.410172	1.464003	1.928169	2.393773	2.346943	2.913078
PCTUC_216	1.986904	3.159026	1.655331	1.574419	2.840889	1.803161	3.202755	3.098863	2.928031	4.003825
PCTUC_217	1.633083	2.003624	1.448483	1.324029	1.629999	1.096922	3.429597	1.901818	2.632384	2.647131
PCTUC_218	2.244204	2.915729	2.017862	1.920212	3.04816	1.901643	3.28671	2.752961	1.685245	2.549436
PCTUC_219	2.246086	2.49719	1.829735	1.570088	2.706755	1.47931	1.774027	2.026216	1.411155	1.786487
PCTUC_220	3.079557	4.331718	2.211666	2.502485	4.280556	2.250299	3.696237	3.884892	4.250008	5.088533
PCTUC_221	2.239766	2.779905	1.819913	1.950109	3.386697	1.8683	2.429364	2.863629	2.223653	3.416208
PCTUC_222	1.600726	3.542366	3.206866	2.886933	1.440514	2.575146	1.528597	1.305798	1.858591	1.029718
PCTUC_223	2.104468	2.600874	2.20841	1.920786	2.423107	2.1189	1.757274	2.368792	1.870888	2.201073
PCTUC_224	2.151362	1.813645	3.464472	5.390255	2.281284	1.143885	2.746074	1.721361	1.142136	3.933807
PCTUC_225	3.906109	5.627452	2.692037	3.592667	19.34424	3.947801	9.441274	14.251806	4.210367	6.532535
PCTUC_226	3.494833	5.578166	2.032682	1.216262	2.716067	2.55933	4.571705	3.583985	1.245965	2.777815
PCTUC_227	2.810362	2.059662	1.627353	1.244153	1.214697	2.978041	1.250008	2.425125	1.503769	1.170118
PCTUC_228	2.201654	2.169393	1.981317	1.985123	2.967201	1.813294	4.047213	2.051134	1.956453	1.732637
PCTUC_229	11.366358	2.173938	1.090219	1.220566	-1.039668	7.329924	1.756996	6.414836	1.554824	2.703673
PCTUC_230	3.375315	4.060716	2.39143	1.668518	2.078012	2.291451	2.00425	3.101055	2.16244	2.591086
PCTUC_231	3.248742	3.047224	2.090379	1.713994	1.59874	1.650768	2.27758	2.859699	2.394677	3.114586
PCTUC_232	1.755365	2.104231	1.455328	1.451029	1.513414	1.851298	1.967491	2.211849	1.470639	1.909648
PCTUC_233	2.583899	5.946256	1.862887	1.460509	1.088642	3.503407	1.214912	2.087436	1.201315	1.306118
PCTUC_234	2.467569	1.992606	1.732377	1.383298	1.762978	1.744023	2.810245	2.624959	1.974127	2.182724
PCTUC_235	2.405652	2.480653	1.955835	1.977734	1.048993	1.967334	1.391752	2.217333	1.605545	-1.062253
PCTUC_236	2.641375	1.227863	2.045434	1.940119	-1.244945	1.125475	-1.08361	1.131917	1.769547	2.291027
PCTUC_237	2.522561	2.560848	1.990514	1.659553	1.692141	1.95317	1.941142	2.974464	1.987368	2.460801
PCTUC_238	2.315423	1.905347	1.35975	1.348598	1.412436	1.761459	1.938436	2.437879	1.578815	1.985001
PCTUC_239	2.102382	2.242059	1.890734	1.040776	1.178056	2.327703	2.005099	2.31158	-1.602604	-1.592889

【０１０９】

【表３－７】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_240	2.408981	2.352341	1.59466	1.537688	1.248939	1.797664	2.260158	1.986103	2.107779	1.786581
PCTUC_241	1.941355	2.154684	1.518697	1.660347	1.22467	1.93955	1.398541	2.159003	1.30178	-1.097629
PCTUC_242	2.47675	2.847825	1.734511	1.592506	1.85966	2.19824	1.927631	2.652801	1.922133	2.28963
PCTUC_243	2.971365	2.163603	1.472201	1.335836	1.134337	3.253193	1.019366	1.921647	-1.062837	-1.102913
PCTUC_244	4.580625	1.684575	1.141275	1.186582	1.499127	1.588954	1.097882	2.41193	2.428367	2.164614
PCTUC_245	2.870873	1.709187	1.645507	1.94663	1.993426	1.736485	1.296248	2.383676	-1.035178	-1.085292
PCTUC_246	2.515966	1.997775	1.543553	1.387189	2.290185	1.596717	2.920444	2.129318	1.721134	1.554376
PCTUC_247	7.588651	3.970692	1.914703	1.88352	1.212324	1.619696	3.745029	5.322661	2.411938	3.973129
PCTUC_248	4.41854	3.05227	1.999376	1.683012	-1.188447	1.355851	1.913746	2.992553	2.44081	4.331967
PCTUC_249	2.56015	2.500697	1.469604	1.28346	1.287332	1.296018	1.905911	2.062311	1.5673	2.105443
PCTUC_250	2.685042	3.859677	1.120608	1.711187	1.100062	2.773936	1.646017	2.262158	1.381524	1.037847
PCTUC_251	1.91974	2.922307	1.973029	1.510662	2.356412	1.488182	2.978148	2.1869	1.264823	2.8339
PCTUC_252	3.177958	1.795341	3.212665	2.383147	1.357193	1.375228	1.023197	1.937373	2.682085	1.127316
PCTUC_253	3.474582	3.422618	2.248334	2.004326	2.14971	2.167365	1.996771	3.35515	1.913116	2.732446
PCTUC_254	2.120358	2.259684	1.491716	1.528243	1.586254	1.82616	2.351354	2.65802	1.413939	2.305251
PCTUC_255	2.572479	2.529292	1.830403	1.752406	1.939718	2.049325	2.728652	3.495365	2.180295	3.135996
PCTUC_256	3.878601	3.361156	2.1136	1.729907	1.614187	2.121907	2.668546	3.13753	2.356709	3.027172
PCTUC_257	2.163267	2.263555	1.808706	1.676525	1.800374	1.593813	2.171247	2.688064	1.854916	2.297249
PCTUC_258	2.388353	2.488551	1.975504	1.860139	1.840538	1.953386	3.046884	3.450625	2.276681	3.445494
PCTUC_259	3.016547	3.151346	1.743907	2.172231	1.840373	2.657611	1.752061	1.874493	1.991144	2.031666
PCTUC_260	3.96491	5.031919	2.992211	2.621613	2.29796	2.835871	4.359889	5.454328	2.956482	5.089366
PCTUC_261	2.601377	1.858821	2.109545	2.090508	1.311203	1.299203	1.699995	2.17389	2.328848	3.134634
PCTUC_262	3.619794	2.708431	2.073283	2.071872	1.774984	2.161551	2.553585	2.656883	1.799782	3.511413
PCTUC_263	3.303594	2.90581	2.419173	1.984032	2.126918	2.628037	2.22115	3.208899	1.673071	2.896297
PCTUC_264	2.046339	2.045633	1.52259	1.660213	1.513248	1.718884	2.355733	3.086609	2.092861	2.543259
PCTUC_265	2.243312	2.335322	1.585328	1.816227	1.789087	1.84443	1.990054	2.112158	1.604318	2.454317
PCTUC_266	5.015629	5.737246	2.474179	2.203052	2.508281	2.752462	5.271327	7.15142	6.201518	6.192584
PCTUC_267	3.728191	3.790784	2.335161	2.334736	2.23775	2.407998	2.606209	3.376878	2.233774	3.645929
PCTUC_268	3.314795	2.694717	1.956361	1.864354	1.89976	2.274251	2.286787	2.648614	2.672675	2.851749
PCTUC_269	2.84269	3.09059	2.076964	2.083827	1.921276	2.225441	2.327417	2.774195	1.849681	2.537223
PCTUC_270	2.809991	3.040862	2.439587	1.90887	2.154098	2.661012	3.828418	4.091862	3.042243	5.057569
PCTUC_271	2.030727	2.214447	1.438683	1.827851	1.479516	1.796683	2.179518	2.032843	2.390726	1.577298
PCTUC_272	2.689879	1.867979	2.398205	1.676425	2.069532	2.978599	1.343153	2.262219	1.054891	2.047256
PCTUC_273	3.520804	2.604538	1.902172	1.925295	1.677577	2.013162	2.119559	2.517091	1.56865	2.645934
PCTUC_274	2.37426	2.281653	2.032656	2.082908	2.151423	2.355896	2.007947	2.673893	1.531729	2.325394
PCTUC_275	2.22381	2.450564	1.834214	1.665578	1.4253	1.900366	2.590191	3.224328	1.998324	3.024211
PCTUC_276	4.804692	7.184418	2.741525	2.269183	1.86227	2.943753	6.126108	4.642348	5.059815	5.372001
PCTUC_277	2.347694	2.035078	1.350143	1.733654	1.361137	1.723907	3.269839	2.696898	2.057062	3.182218
PCTUC_278	2.294004	2.944572	2.302722	1.926946	1.729742	2.094828	2.38265	2.796767	1.854717	3.154387
PCTUC_279	3.504003	3.252621	1.94464	1.827564	1.639722	2.005874	2.978029	3.26697	2.05299	2.785948

【０１１０】

【表３－８】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_280	2.37598	2.145716	1.585682	1.801991	1.743704	1.86396	1.957028	2.051702	1.616621	2.17304
PCTUC_281	3.037311	3.299949	2.038734	2.113893	1.853465	2.376895	3.270395	3.587495	2.29148	3.428254
PCTUC_282	2.668364	2.674275	1.758186	2.16771	1.703983	2.054744	2.199522	2.702134	2.041137	2.736642
PCTUC_283	2.137884	2.072191	1.510265	2.0916	1.643327	1.939767	2.589601	1.594674	1.63263	1.671657
PCTUC_284	2.53009	2.233893	1.631901	1.9737	1.555607	1.987288	2.528478	2.862927	1.735835	2.854227
PCTUC_285	6.332763	6.443246	2.791887	2.457937	2.505342	3.079297	6.083429	10.085707	6.538405	6.643817
PCTUC_286	5.257563	5.886498	2.668014	2.212737	2.399585	2.753213	3.59893	6.45603	5.407847	6.728555
PCTUC_287	3.52928	3.100616	1.847619	1.494685	1.53431	2.047107	2.906386	3.33462	3.347987	3.105007
PCTUC_288	2.102673	2.525493	1.98892	2.130579	1.632277	2.029243	1.85862	2.220732	1.430543	1.504025
PCTUC_289	3.147058	3.372461	2.276921	2.246916	2.168657	2.304952	2.399266	3.131665	1.835088	2.654428
PCTUC_290	4.222344	3.670878	2.668959	2.422289	2.324938	3.251477	4.356605	5.606828	3.09261	4.484571
PCTUC_291	2.935719	2.719058	1.784167	1.982964	1.827909	2.076605	2.595305	3.074471	1.621296	3.430257
PCTUC_292	2.984468	2.835538	1.844973	1.998731	1.794246	1.975275	2.718234	2.889359	3.352547	3.627154
PCTUC_293	2.489122	2.058945	1.877674	2.014703	1.595915	1.694107	2.019536	2.452825	1.697461	1.909641
PCTUC_294	3.294222	3.462772	2.499072	2.195277	2.22694	3.0436	2.595452	3.706271	2.084171	3.342356
PCTUC_295	3.380114	2.602693	2.26526	1.921976	1.776908	2.251134	2.904371	4.252948	2.152901	2.987439
PCTUC_296	2.686099	2.244886	1.919786	1.873626	1.961759	2.087629	3.49325	4.494589	1.443877	2.62743
PCTUC_297	5.196949	5.286231	3.698334	2.791397	2.839808	3.604622	7.745868	8.334743	4.608661	6.148468
PCTUC_298	5.587264	2.298222	1.91904	2.037368	1.683946	1.888779	2.302903	2.906211	1.626086	2.653658
PCTUC_299	5.689084	4.919997	2.865614	2.004579	2.254943	2.391559	5.756627	5.500046	3.411536	4.336478
PCTUC_300	6.772169	3.684442	2.120501	2.219169	1.733218	2.233243	2.326694	2.733778	2.099969	2.461344
PCTUC_301	2.093773	2.044039	1.909037	1.69156	2.246853	1.923591	1.734049	1.743211	1.667224	1.550048
PCTUC_302	3.991078	4.580527	3.303583	2.55929	2.767085	3.607384	3.005309	4.17177	3.054622	4.566369
PCTUC_303	2.370317	2.022451	1.91632	2.531979	2.379047	2.456815	1.899414	2.440792	2.188243	1.609168
PCTUC_304	4.127187	3.126195	2.034232	2.095927	1.715794	2.04325	2.31896	2.464632	1.583972	2.481459
PCTUC_305	2.935688	1.487187	2.214246	2.058172	1.721464	1.96945	1.37899	2.044353	1.11567	1.291094
PCTUC_306	4.746076	3.343698	2.685661	2.155374	2.034321	2.810436	3.373838	3.438033	2.450403	3.788159
PCTUC_307	3.019703	2.24161	1.876862	2.00637	1.467769	1.561316	2.133034	2.136498	1.667441	2.387891
PCTUC_308	4.673458	5.029093	2.33969	2.097128	1.778258	2.46688	5.101476	5.459764	3.302731	5.212498
PCTUC_309	3.407573	3.376861	2.267434	2.172949	1.753296	2.06269	3.498287	6.679554	3.305283	5.179197
PCTUC_310	2.189645	2.488225	4.420121	2.173265	1.631521	1.857961	2.588842	2.414808	2.136176	2.981805
PCTUC_311	2.658834	2.382129	4.32649	1.990568	1.769064	1.936857	2.728184	2.549392	2.345132	2.817231
PCTUC_312	2.127386	1.679055	2.66417	2.236	1.107264	1.03898	1.911259	1.606964	1.840382	3.202574
PCTUC_313	2.975827	3.533522	2.131942	2.058614	1.96968	2.205216	2.254331	2.391725	1.496214	2.017714
PCTUC_314	2.64863	3.640082	1.860648	2.294988	1.724837	2.204293	2.621585	2.727868	2.266493	3.507617
PCTUC_315	2.214283	2.206159	1.810798	1.912709	1.248759	1.02131	1.873907	1.595523	2.2302	3.104499
PCTUC_316	5.557586	6.430025	2.668887	2.1117	2.184844	2.977269	5.084843	5.690078	4.364601	5.182178
PCTUC_317	3.648384	3.385846	2.241048	2.291818	1.939281	2.332324	3.953731	4.390101	2.765639	4.208732
PCTUC_318	5.378511	6.426007	2.462233	2.000173	2.068377	2.783622	5.77487	7.181798	3.896205	5.578665
PCTUC_319	5.452092	7.002919	3.448654	2.65954	2.582983	3.675624	5.221754	9.011139	1.676277	5.093641

【０１１１】

【表３－９】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_320	3.295201	3.224249	2.418855	2.438641	2.368528	2.882559	2.693735	3.040426	2.081827	3.438727
PCTUC_321	2.895834	2.315506	1.904166	2.068255	1.961573	2.140977	1.388092	2.195915	1.118666	1.742483
PCTUC_322	4.143029	5.302269	2.638332	2.136894	2.147911	2.509368	4.285131	4.96098	3.772761	4.72897
PCTUC_323	2.067646	2.595632	1.525776	1.976109	1.566396	1.807721	2.053201	2.764767	1.650641	2.163632
PCTUC_324	2.691354	2.89679	2.010389	2.294306	2.107859	2.291451	2.072965	3.084313	1.686068	2.212211
PCTUC_325	3.999175	3.23015	2.139746	2.538517	1.643733	1.43054	2.912849	2.96758	3.002518	4.049307
PCTUC_326	2.297636	1.943776	1.721583	2.195745	1.830882	1.678896	2.176286	2.333714	1.653947	1.985383
PCTUC_327	4.567304	4.428077	2.616247	2.32428	2.129087	2.860305	4.50753	5.71555	3.221009	5.424201
PCTUC_328	3.539221	4.166342	2.380124	2.448791	2.493793	3.117953	3.532043	4.398926	2.240857	4.636419
PCTUC_329	1.970259	1.817101	1.692714	1.927202	1.728867	1.938489	2.246803	2.420075	1.885388	2.232656
PCTUC_330	2.135586	2.0755	1.759994	2.094738	1.947718	2.184758	1.576406	2.325558	1.450989	2.131205
PCTUC_331	2.782232	2.653003	1.978628	2.037058	2.079432	2.015503	2.105836	1.982838	1.824007	2.105958
PCTUC_332	3.111092	2.687885	1.992779	1.905652	1.79761	2.157558	2.35697	2.949601	1.824357	2.690155
PCTUC_333	2.318447	1.787268	1.849104	1.798626	1.446862	1.747717	2.934819	3.938158	1.939798	2.05878
PCTUC_334	1.874384	1.992494	1.40384	1.65309	1.245036	1.541244	2.08288	1.975025	1.536793	1.95171
PCTUC_335	2.611389	2.576149	1.959713	1.970436	1.718427	2.159401	2.32575	2.904458	1.605049	2.342069
PCTUC_336	2.330261	2.28512	1.535005	1.898456	1.550727	2.004049	2.530914	2.241112	1.911488	2.97038
PCTUC_337	2.241662	2.23638	1.488679	1.767888	1.63189	1.765664	2.402218	2.383659	1.561228	2.706952
PCTUC_338	2.815969	2.403253	1.838307	2.069623	1.498996	1.932377	2.605035	2.630431	1.97032	2.888035
PCTUC_339	2.58594	2.473097	1.910527	2.242478	1.915542	2.267443	2.164635	2.673887	1.663999	2.394497
PCTUC_340	5.321351	3.654036	2.543868	2.509842	1.970748	2.799647	2.489953	8.540805	2.280929	2.772973
PCTUC_341	2.227542	2.025373	1.566321	1.932986	1.604847	1.771648	1.997451	2.114003	1.511254	2.001948
PCTUC_342	2.521508	1.735598	1.899227	1.924772	1.730055	1.799832	2.274296	2.631532	2.505168	3.127952
PCTUC_343	3.248326	2.382129	1.834694	1.930941	1.510622	1.54815	1.723506	5.615517	2.155862	2.497843
PCTUC_344	3.774367	3.566884	2.270241	2.083904	2.056787	2.388751	3.892942	4.121072	2.506671	3.81235
PCTUC_345	2.884718	2.611996	1.692929	2.084061	1.635321	1.680449	1.65429	2.882919	2.379074	2.50676
PCTUC_346	3.646603	3.245387	2.435109	2.143002	1.781983	2.176567	2.489427	2.665195	2.374072	2.848118
PCTUC_347	4.438542	4.959843	2.631065	2.431357	2.271578	2.884108	4.174658	5.172139	3.595544	4.704914
PCTUC_348	2.75379	2.535014	1.90771	2.465073	1.67656	2.101132	2.69651	2.75628	2.03811	2.714414
PCTUC_349	3.909889	4.528754	2.668959	2.322136	2.002069	2.689832	3.726952	3.759751	2.906675	4.511586
PCTUC_350	2.792134	2.57382	1.883458	2.029199	1.951232	2.086607	2.639501	3.024416	2.016236	3.336448
PCTUC_351	4.496643	2.292628	1.605078	1.953279	1.640106	2.091848	2.217803	2.631467	1.692517	2.682757
PCTUC_352	2.975627	3.498726	1.761696	1.601816	1.62745	2.032929	3.296501	3.034418	2.017581	2.898892
PCTUC_353	5.921041	1.897311	1.294325	1.676672	1.453307	1.889645	2.48882	2.557603	2.039747	2.342551
PCTUC_354	6.059254	6.249482	3.449207	2.921316	2.949268	3.953862	6.095821	8.179487	4.740977	6.752993
PCTUC_355	6.229225	5.959078	3.044651	2.209111	2.548369	2.880915	6.314769	7.584483	4.459912	6.731706
PCTUC_356	3.354931	3.866993	2.345238	2.18334	1.88739	2.344102	3.970764	3.44365	2.745494	4.373598
PCTUC_357	2.751259	2.617638	2.173257	2.049143	2.249806	2.308369	2.443851	3.30145	1.698394	2.902148
PCTUC_358	1.569435	1.690702	1.300281	1.784292	1.63359	1.941134	2.458909	2.1209	1.535128	2.417566
PCTUC_359	2.559835	2.73083	1.689176	1.995529	1.681855	1.974657	2.151726	2.475451	1.630787	2.947569

【０１１２】

【表３－１０】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_360	4.107032	3.399894	2.794858	2.497178	2.294676	3.011921	3.695467	3.223783	2.485509	3.957333
PCTUC_361	3.003746	2.494177	1.995029	1.932543	1.674815	1.989847	2.630999	2.800455	1.736644	2.927565
PCTUC_362	2.440848	2.140181	1.675391	1.78602	1.55943	1.756287	2.323909	2.335853	1.741052	2.414361
PCTUC_363	2.743691	3.369475	2.163374	2.025629	1.782426	2.37175	2.724983	2.471031	1.969971	2.817292
PCTUC_364	5.331734	6.668924	2.512076	2.79165	2.216435	2.99462	7.012845	6.196832	4.300729	5.887486
PCTUC_365	2.84881	2.181204	1.583908	1.936329	1.921305	2.21789	2.560786	2.625995	1.882286	2.305182
PCTUC_366	3.93763	3.833567	2.871508	2.51805	2.47756	2.990927	3.261907	4.190991	3.234589	4.369407
PCTUC_367	4.134794	3.168116	2.510271	2.138366	1.921304	2.475569	2.606431	3.400553	2.48203	4.506122
PCTUC_368	3.757106	3.676876	2.459811	2.157374	2.073027	2.480668	3.439268	3.868262	3.597644	4.642876
PCTUC_369	3.708133	2.510159	2.104059	1.597603	1.478547	3.459225	3.245049	4.811554	5.0354	
PCTUC_370	3.867609	3.547782	2.471164	2.112282	2.015814	2.586246	3.630464	3.817188	2.615044	3.206606
PCTUC_371	2.545983	1.902669	1.798742	2.149657	1.362599	2.042603	1.004502	1.733275	-1.294235	-1.174134
PCTUC_372	2.120895	1.985513	1.655881	1.857098	1.574041	1.782903	2.419052	1.935022	1.625869	2.765687
PCTUC_373	3.317969	3.300145	2.590271	2.307053	2.30217	3.25888	2.063588	2.796654	1.830389	3.526159
PCTUC_374	1.610954	1.528575	1.254938	1.805304	1.661116	1.902272	2.063588	2.688988	1.345831	2.268873
PCTUC_375	2.64639	2.026726	2.394302	1.965622	1.688982	1.955749	1.43164	2.129483	1.254105	1.893949
PCTUC_376	2.58554	2.26397	2.149105	1.910245	1.473766	1.323888	2.214069	3.194154	2.050849	3.22952
PCTUC_377	1.974547	1.843346	1.498608	1.76156	1.304683	1.422594	2.470438	2.485046	2.02962	2.999551
PCTUC_378	1.799032	1.909818	1.266351	1.805849	1.422752	1.764847	2.037436	1.920452	1.353655	2.452314
PCTUC_379	2.809991	3.104309	1.618504	1.965153	1.507427	1.901509	2.479268	2.474901	1.896021	2.365896
PCTUC_380	2.062649	1.906358	1.564003	2.094136	1.68139	1.992917	1.760941	1.825539	1.185322	1.118641
PCTUC_381	4.934052	7.285052	2.611982	2.38664	2.165479	2.835555	4.980717	5.563924	4.130403	4.843069
PCTUC_382	3.145328	3.340626	2.167187	2.4187	1.973113	2.440718	3.481834	3.938086	2.907352	3.69767
PCTUC_383	3.160824	3.060342	2.072027	2.30552	2.01981	2.346514	2.061869	2.414692	1.614143	2.345685
PCTUC_384	3.120152	2.910294	1.922039	1.802327	1.571349	2.00554	2.358657	2.839284	2.372556	2.932624
PCTUC_385	3.083806	3.15393	2.544231	2.492088	2.528433	3.006696	2.695292	3.407489	2.419821	2.835872
PCTUC_386	3.162037	3.094964	2.126098	2.45989	2.204981	2.763716	4.548329	4.304034	2.650025	4.261168
PCTUC_387	4.007894	3.551215	3.060653	2.760879	2.148093	2.20499	3.004974	4.803649	3.60179	5.225955
PCTUC_388	1.665821	1.71606	1.326498	1.722747	1.737454	2.022286	2.602177	2.56764	1.487003	2.454711
PCTUC_389	1.640459	6.711383	1.958431	2.48378	1.404279	2.252397	1.349243	1.221948	1.085022	1.005355
PCTUC_390	1.75192	1.944185	1.57942	2.008176	1.780645	1.984737	1.886508	2.053055	1.276402	2.213593
PCTUC_391	4.6229	4.782019	3.078028	2.821985	2.757624	3.243428	4.212927	5.989446	3.823582	4.467264
PCTUC_392	3.485953	2.236763	1.643519	2.5109	1.94171	2.458303	2.53442	2.895445	2.231894	2.968892
PCTUC_393	3.429088	3.19615	2.760777	2.330962	2.317443	3.080195	2.562047	3.199905	1.644047	3.09701
PCTUC_394	1.956778	2.014125	2.407287	2.088266	1.803808	2.052922	1.485163	1.791144	1.482122	1.784639
PCTUC_395	2.301491	1.941803	2.02459	2.445048	1.522407	1.253237	1.754702	1.58624	1.737612	2.136938
PCTUC_396	2.572758	2.096845	1.77806	1.988507	1.516392	1.881169	2.456162	2.70796	2.091553	3.12313
PCTUC_397	3.461717	3.924062	2.397048	2.627406	2.340878	2.737342	2.910623	3.234478	2.156349	3.741645
PCTUC_398	2.060445	2.129671	1.765777	2.154751	2.0387	2.22809	1.460816	1.831952	1.041979	1.742374
PCTUC_399	1.784871	1.92874	1.606977	2.111418	1.982721	2.078429	2.442215	2.528577	1.249963	2.603135

【０１１３】

【表３－１１】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_400	2.912105	2.509347	2.208568	2.187831	1.902238	2.335688	1.93176	2.166172	1.336475	2.095809
PCTUC_402	2.473379	2.035924	2.015918	2.125032	1.846033	1.977784	1.942955	2.510741	1.574066	2.099593
PCTUC_403	3.044617	2.684285	2.137905	2.04104	1.860546	2.107548	2.115424	2.946819	1.726075	2.634579
PCTUC_404	2.718181	2.694169	2.300801	2.303463	2.093521	2.710852	2.382079	2.82944	2.009431	3.281803
PCTUC_406	3.178427	2.74695	2.29744	2.217696	2.166758	2.587248	2.348621	2.849712	1.686074	3.148104
PCTUC_407	3.056299	2.663542	2.343237	2.35323	2.213864	2.549039	3.362665	3.465319	2.534939	3.891845
PCTUC_408	2.020171	2.288822	1.580787	2.087243	2.022461	2.040769	2.560151	2.755626	1.725474	2.550859
PCTUC_409	2.004701	1.91753	2.043845	2.029877	1.374792	1.32847	1.948556	2.156865	1.743222	2.468351
PCTUC_410	2.823477	2.079084	1.828117	1.971688	2.59637	3.361394	4.898874	2.030213	2.812655	
PCTUC_411	2.442635	2.821673	2.1775	2.162623	2.374948	2.79521	1.793024	2.306354	1.328428	2.059772
PCTUC_412	2.522494	2.787869	2.044906	2.251569	1.78448	2.34141	2.07978	2.673887	1.493052	2.363667
PCTUC_413	4.823759	4.816738	2.444866	2.557981	2.332555	2.890792	4.322053	6.235146	2.594052	4.245276
PCTUC_414	4.140165	4.372881	2.41847	2.4379	2.252348	2.853143	3.271439	4.594022	2.097916	3.826796
PCTUC_415	2.581056	2.333065	1.748048	2.177715	1.781241	2.271866	2.004488	2.366559	1.588667	2.669858
PCTUC_416	3.979205	4.425482	3.179835	2.49232	2.257952	2.875755	3.032918	3.50868	2.250973	3.846255
PCTUC_417	3.114341	3.119072	2.283371	2.453368	2.115911	2.123813	2.482459	3.225545	1.897321	3.052733
PCTUC_418	3.380672	2.566587	2.098064	1.985276	1.816855	2.402113	2.174567	2.789737	2.576604	3.115066
PCTUC_419	2.318419	2.760706	2.229328	2.329481	1.766098	2.443327	2.057769	2.229288	1.63313	2.138522
PCTUC_420	2.963531	3.143115	2.18586	2.355827	2.258371	2.391559	2.380276	3.909662	1.890675	3.059867
PCTUC_421	3.523689	2.163615	1.651499	2.514414	1.430685	1.077536	2.594693	2.030645	2.401612	3.816474
PCTUC_422	2.236862	2.181313	2.204773	1.380721	1.466239	2.4507	1.751342	1.914153	-1.994129	-1.623521
PCTUC_423	3.100164	2.768556	2.230654	2.389357	2.029327	2.489001	2.474573	3.171004	1.814375	2.506032
PCTUC_424	4.047059	3.834085	2.527061	2.484142	2.170724	2.635959	6.207118	3.261327	2.182814	3.921246
PCTUC_425	1.785719	1.839733	1.472349	2.018828	1.833956	1.936564	2.257473	2.348564	1.621156	2.343169
PCTUC_426	6.098773	5.734037	3.16041	2.664088	2.467161	2.787	6.023342	6.340659	3.623966	5.023
PCTUC_427	2.271291	2.464738	1.668215	1.816736	1.593545	1.963182	2.59146	3.218375	1.981801	3.276546
PCTUC_428	5.065524	5.161148	3.054286	2.644954	2.300476	2.811955	4.697448	6.932314	3.533367	6.558954
PCTUC_429	4.544531	5.866208	2.376281	2.569743	2.496617	2.936883	4.995127	1.960985	2.883196	5.37323
PCTUC_430	6.353233	5.8785	2.560364	2.614165	2.184317	2.638209	4.390141	5.727512	2.911126	4.250409
PCTUC_431	3.771823	4.187628	2.359161	2.35775	2.100648	2.476889	3.380067	4.27829	2.543056	3.997764
PCTUC_432	3.056736	2.814484	2.227544	2.181698	2.094198	2.911814	1.989612	2.598813	1.571292	2.986079
PCTUC_433	4.054384	4.009579	2.622651	2.591521	2.812049	2.806021	3.194487	5.832902	3.000723	4.362042
PCTUC_434	2.326007	2.291512	2.000558	2.329474	2.327149	2.40136	3.17905	4.093861	1.955503	3.334149
PCTUC_435	3.45679	3.138741	2.380019	2.03344	1.681855	2.182042	2.924546	2.469926	2.081802	2.473711
PCTUC_436	2.63824	2.092904	1.829563	1.843457	1.680504	2.012068	1.624249	1.893484	1.304093	2.132982
PCTUC_437	6.731214	8.586503	3.54067	2.651634	3.064444	2.809489	8.348773	7.651482	5.333182	8.055189
PCTUC_438	4.981229	5.375686	2.421715	2.319799	2.014582	2.717542	4.266325	3.728613	3.076244	4.921318
PCTUC_439	2.697179	2.422815	2.011376	1.926572	2.499886	2.298005	2.509704	3.263963	1.49895	2.93489
PCTUC_440	2.149141	2.022499	1.430869	2.1492	1.660266	1.964941	2.645994	2.86284	1.821599	2.942023
PCTUC_441	4.051781	3.311647	2.314	2.437911	2.113835	2.465924	2.763208	3.583939	2.550073	3.728398

【０１１４】

【表３－１２】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_442	3.187954	2.164001	2.019149	2.336673	1.726152	2.008205	2.701962	5.927336	1.823643	2.574186
PCTUC_443	2.877242	2.275949	2.151833	1.90094	1.556428	1.985571	1.791218	1.924718	1.65177	2.492881
PCTUC_444	2.654798	2.379096	1.644744	2.113579	1.462735	1.684871	2.639715	3.409781	1.514741	1.895138
PCTUC_445	2.696902	2.734087	2.162968	2.128721	1.531066	1.630364	3.215146	4.502505	3.277213	4.260717
PCTUC_446	3.552812	3.808604	2.448	2.377787	2.223854	2.321074	3.346376	3.889021	2.635538	3.747683
PCTUC_447	2.457076	2.397561	1.660214	1.962635	1.665535	1.961918	2.018709	2.225815	1.469813	2.509177
PCTUC_448	2.260049	1.830025	2.049749	2.111274	1.336249	1.269913	2.187302	2.122471	1.998752	3.300487
PCTUC_449	5.494178	6.597764	2.759527	2.631596	2.232384	2.727314	6.261316	6.267126	4.693824	5.379424
PCTUC_450	5.396477	5.850169	2.957937	2.551245	2.323228	3.197335	4.956213	5.617073	3.907706	5.66407
PCTUC_451	3.234099	3.824688	1.805116	1.960044	1.567665	2.0707	3.137932	2.992602	1.916229	2.724454
PCTUC_452	1.988279	1.911949	1.746898	1.9211	1.410218	1.984737	1.36334	1.379513	1.280376	1.428708
PCTUC_453	4.156703	3.429154	2.668119	2.437835	1.985651	1.876505	3.497016	3.878442	2.477252	3.548843
PCTUC_454	1.863835	1.840781	1.565095	2.077737	1.72461	1.910458	1.869281	2.309147	1.478462	2.101685
PCTUC_455	3.180538	3.255673	2.373674	2.493548	2.303203	2.793179	3.666803	4.352312	2.484562	4.184809
PCTUC_456	2.603995	2.660861	1.828479	2.013692	2.134072	-1.00204	1.287843	1.276185	1.068495	1.467703
PCTUC_457	1.951543	1.738451	1.314122	1.450489	1.474622	1.918738	2.538246	2.341118	1.655009	2.175128
PCTUC_458	3.082505	3.1755	1.641161	1.860139	2.340101	1.962578	3.124843	2.788344	1.466358	2.728292
PCTUC_459	2.093832	2.06715	1.780446	1.808486	1.52498	2.111142	1.830646	2.40658	1.115848	2.081882
PCTUC_460	4.152094	3.292449	2.278043	2.468725	2.022536	2.965396	3.735419	3.885926	2.441958	4.66639
PCTUC_461	2.949867	3.067491	2.152803	1.982133	1.933115	1.967691	2.630139	3.61916	2.220422	4.227802
PCTUC_462	5.260846	3.310389	3.009029	2.364296	2.113845	2.688921	1.809321	2.077108	-1.119729	-1.12931
PCTUC_464	3.028954	3.059962	2.519372	1.971144	1.852329	1.986388	3.7569	4.555263	1.884179	3.803697
PCTUC_467	1.851681	1.727232	1.185358	1.913809	1.664958	1.740369	2.339638	2.211905	1.92208	2.029057
PCTUC_468	5.289123	4.978931	2.630347	3.07653	2.621873	2.748851	3.820414	5.352636	3.791035	4.472126
PCTUC_469	3.783153	4.114516	2.305927	2.928126	2.397941	2.591887	3.058516	4.370934	2.663233	3.267893
PCTUC_470	7.936601	6.850856	3.652995	2.918136	2.82882	3.424826	8.002387	11.349638	7.409304	7.896651
PCTUC_471	2.180746	2.761191	2.199378	2.584434	2.013092	2.095686	2.172105	3.294361	1.948187	3.010162
PCTUC_472	5.085942	5.354563	3.110618	2.8712	2.575828	3.56209	4.849838	5.889228	4.071405	6.342055
PCTUC_473	4.312363	3.72427	2.239403	2.415173	1.983299	2.348436	3.795649	4.221846	2.31603	3.951533
PCTUC_474	3.696658	3.291336	2.905436	2.244899	2.026702	2.14509	3.216147	4.660154	2.7524	5.420599
PCTUC_475	5.070798	5.750005	3.2816	2.710166	2.482052	3.35751	6.479264	8.310672	5.376397	6.879448
PCTUC_476	4.073975	4.069614	2.38597	2.549321	2.176326	2.671123	4.650983	5.04074	3.253613	4.819563
PCTUC_477	2.846882	2.862958	2.415767	2.441686	2.023011	2.387151	2.945137	3.255189	2.492054	2.513826
PCTUC_478	1.198274	6.471813	2.447198	2.589143	2.060662	2.645504	4.693357	7.934476	4.227252	5.576314
PCTUC_479	6.380529	6.312082	2.940724	2.148456	2.107159	2.699603	5.376858	7.113347	4.423897	5.450957
PCTUC_480	3.605897	2.601701	2.728055	2.094268	1.77564	2.322522	2.093338	2.796594	1.619356	2.265154
PCTUC_481	4.150877	2.25544	2.163176	2.125869	1.578758	1.346006	3.905318	2.776636	3.143842	3.796467
PCTUC_482	4.905541	6.253034	2.660336	2.411183	1.90211	2.862653	6.053042	5.972333	4.49482	5.577618
PCTUC_483	3.804823	4.135355	1.910409	2.431383	1.665717	2.420212	3.421625	3.582682	2.395104	3.517098
PCTUC_484	2.982269	2.854497	1.857548	1.770715	1.687256	2.371871	3.803153	3.727755	2.296599	3.348165

【０１１５】

【表３－１３】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colón Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_485	2.400091	2.499066	2.048137	2.125371	1.763658	2.112958	1.907894	2.063742	1.316474	1.965625
PCTUC_486	5.368877	6.171281	2.094893	2.564498	1.828952	2.540716	5.23061	5.541661	4.039124	4.86787
PCTUC_487	4.33764	3.811306	2.244857	2.606614	1.838906	2.620514	3.613905	4.692163	2.593385	4.190191
PCTUC_488	5.781398	4.944817	2.550974	2.317226	1.946061	2.670145	4.679341	5.579667	3.789751	4.612708
PCTUC_489	4.129999	4.597306	2.073404	2.376219	1.772075	2.434191	3.85106	4.174643	2.855676	4.725146
PCTUC_490	2.533209	2.249715	1.902172	2.280487	1.291751	1.00053	2.110267	1.543375	2.442942	3.5069
PCTUC_491	4.349143	3.271342	1.968882	2.122043	1.913929	2.92511	2.435802	2.331618	1.966097	2.968132
PCTUC_492	3.442778	3.200904	2.026083	2.070875	1.888175	2.268654	2.685976	2.430065	1.627878	2.18276
PCTUC_493	2.000497	3.239336	1.994512	1.847443	1.764806	2.431231	1.919509	2.458445	1.699867	1.642623
PCTUC_494	2.670316	2.293422	1.684396	1.868083	1.564883	1.785818	1.975354	1.989132	1.672897	2.13476
PCTUC_495	1.597283	1.984764	1.610974	1.99927	1.399811	1.660831	2.083885	2.297657	2.914436	3.204953
PCTUC_496	1.775757	1.56946	1.436648	2.088016	1.193644	-1.007082	2.12366	1.591845	2.178094	2.857278
PCTUC_497	2.083349	1.9671	2.180265	2.309402	1.536103	1.323915	1.730687	2.357525	1.763247	3.182555
PCTUC_498	2.722987	2.821209	2.018141	2.142493	1.737708	1.819995	2.924548	2.83141	1.952073	2.535718
PCTUC_499	2.779592	2.158303	1.893526	2.309402	1.44936	1.103923	1.935671	1.822613	2.506015	2.594218
PCTUC_500	3.574841	3.073884	2.401034	2.240357	2.004712	2.108564	2.599634	3.275906	2.786753	4.39258
PCTUC_501	2.54213	2.105277	2.337502	2.628652	2.246022	2.202682	1.428914	1.944631	1.495945	2.239097
PCTUC_502	2.178911	2.285843	1.789459	2.164132	1.590264	1.511049	2.666108	2.601538	2.911196	3.460927
PCTUC_503	2.414157	1.944002	1.772574	2.32658	1.672217	2.016269	1.952843	1.82467	1.463055	2.126049
PCTUC_504	2.463425	2.447765	2.163759	2.089343	1.930668	2.329668	2.567232	2.692213	1.521157	2.197148
PCTUC_505	2.12314	1.912607	1.443313	1.437833	1.400606	1.591243	2.751235	2.448544	1.66492	2.427388
PCTUC_506	2.791865	2.085928	1.808019	2.124345	2.001914	2.183582	1.918865	1.706821	1.224784	1.548311
PCTUC_507	1.894859	1.972295	1.660342	1.781779	1.749316	2.121192	2.149194	2.676733	1.717022	2.754955
PCTUC_508	1.639329	2.087199	1.918195	1.927565	1.960287	1.958871	1.943062	1.667803	1.494308	2.107172
PCTUC_509	1.92661	2.409046	1.17896	2.502893	1.697634	1.933163	1.725295	1.748657	-1.138867	1.133237
PCTUC_510	2.74997	2.181224	1.981297	2.163146	1.72972	1.468092	2.099357	1.940111	1.872053	2.135083
PCTUC_511	2.141737	2.395646	2.027365	2.038215	1.75701	2.154159	2.097517	2.410887	1.261737	2.364517
PCTUC_512	2.174905	1.714814	2.488783	2.689739	1.448017	1.147774	1.783252	2.252219	2.044234	3.814058
PCTUC_513	3.039541	2.820119	2.028585	2.125969	2.057135	2.47837	2.887622	3.551895	1.792477	2.975644
PCTUC_514	3.052588	2.991949	2.247591	2.51345	2.333359	2.867124	2.561581	2.992617	1.677437	2.835756
PCTUC_515	2.034073	2.038699	1.665666	1.59906	1.481016	1.627145	2.312069	2.810126	1.996169	2.617225
PCTUC_516	2.264423	2.08314	2.138243	2.297952	1.845813	1.726031	2.281983	3.149352	2.109466	3.559903
PCTUC_517	4.065478	3.998617	2.456918	2.576724	2.081958	2.849573	3.00185	3.49281	2.722194	4.174789
PCTUC_518	5.685041	1.377179	2.230373	2.437649	1.905197	2.27343	4.425375	6.756968	4.773911	6.573621
PCTUC_519	4.014813	3.038095	2.627206	2.849769	2.049812	2.797114	3.013171	2.941275	2.861877	3.896014
PCTUC_520	2.454347	2.33136	2.101032	2.413781	1.580209	2.145546	1.51115	2.011956	1.136702	1.394944
PCTUC_521	4.696158	3.993624	1.967548	2.5262	1.740719	2.110756	3.817168	3.857475	2.626673	4.603748
PCTUC_522	2.955145	3.214377	2.28823	2.614905	2.264642	2.805435	2.143939	2.405287	1.943805	3.157292
PCTUC_523	2.031883	2.267176	1.740335	2.357091	1.943224	2.232193	2.524796	2.664089	1.784314	2.867758
PCTUC_524	3.117527	3.173575	1.999416	2.450931	1.852275	2.433354	2.742706	3.018785	2.42759	3.763151

【０１１６】

【表３－１４】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_525	2.676281	2.769179	1.85005	1.882107	1.618436	2.042445	3.087261	3.427543	2.131444	3.138867
PCTUC_526	1.666611	2.198318	1.581107	2.010444	1.593466	1.819044	1.85444	2.008788	1.4249	2.145726
PCTUC_527	6.939546	6.183732	3.480864	2.834689	2.319295	3.182961	6.456305	7.971256	7.174463	6.581938
PCTUC_528	4.949556	4.691981	3.093936	2.604392	2.059476	2.512796	5.234399	6.328454	4.522633	6.481423
PCTUC_529	2.075038	1.719615	1.560014	1.896456	1.631452	1.915459	1.857537	1.934087	1.285698	1.914062
PCTUC_530	4.147139	3.497023	2.339375	2.565444	2.050107	2.551965	3.05574	3.508546	2.27785	4.110225
PCTUC_531	2.343305	2.01423	2.036322	2.090427	1.881663	2.315542	2.948552	3.496778	1.73247	2.323464
PCTUC_532	4.510367	4.525547	2.959393	2.010432	1.662161	2.570683	2.284815	2.635896	2.962807	2.741162
PCTUC_533	3.849342	3.696642	2.538885	2.515058	2.033303	3.050366	2.7762	3.603807	3.006189	3.681454
PCTUC_534	1.767598	2.102775	1.631302	2.020012	1.818509	1.973636	2.828246	3.083603	1.815389	3.059071
PCTUC_535	4.195316	4.086377	2.345238	2.621754	1.959155	2.341728	3.394196	4.137745	3.503355	3.483258
PCTUC_536	6.243456	2.785664	2.43465	2.10029	2.731689	5.155655	5.988683	5.516017	6.628252	
PCTUC_537	5.38413	4.90169	2.114623	2.51	2.008325	2.447649	5.432794	4.880079	3.579062	5.154306
PCTUC_538	2.602264	2.538037	2.19584	2.023753	1.577312	2.296285	2.399659	2.631008	1.729843	2.877178
PCTUC_539	3.54853	2.237731	2.088234	2.511449	1.925883	1.995681	1.760945	1.987853	1.698475	2.458658
PCTUC_540	2.888831	2.882751	2.434141	2.23018	1.710604	2.941353	1.844049	2.175175	1.444954	1.928482
PCTUC_541	3.269265	2.895229	2.268465	2.370985	1.904343	2.275076	2.124308	2.580506	1.574504	2.246783
PCTUC_542	2.44896	2.29352	2.003177	2.059909	2.051723	2.051276	1.402258	2.145409	1.243739	2.369804
PCTUC_543	2.512787	1.711784	2.086737	2.002021	1.785412	1.959295	1.987292	2.511984	1.558444	2.087383
PCTUC_544	2.681708	2.466954	2.712077	2.575649	2.445763	2.557583	3.232352	3.451574	2.111259	3.616122
PCTUC_545	2.533259	2.391037	2.119718	2.084042	1.633101	2.308393	2.793809	3.41116	1.722354	3.360532
PCTUC_546	2.556877	2.404527	2.076303	2.310916	2.3094	2.525068	2.366782	3.208857	1.82044	3.108346
PCTUC_547	2.186541	2.087202	1.802749	2.354466	1.737011	2.245233	1.469712	1.604138	-1.492083	-1.072894
PCTUC_548	2.414651	2.029257	2.061789	2.085276	1.74288	2.260957	2.562115	3.803141	1.176394	1.92117
PCTUC_549	1.670813	1.868073	1.944966	1.7995	3.077506	1.578194	2.249098	2.658492	-1.194468	1.463275
PCTUC_550	2.035058	2.595207	2.075765	2.609532	1.910092	2.306434	2.517305	2.607248	1.930816	2.87325
PCTUC_551	2.274966	2.047911	1.7206	2.051094	1.47953	1.988129	1.546736	1.716089	1.394948	1.991959
PCTUC_552	2.638577	2.758001	2.067063	2.31942	1.843889	2.573594	2.512912	2.64596	1.937291	2.563375
PCTUC_553	2.981036	2.50471	1.883204	2.115905	1.82132	2.185575	2.258192	2.0661	1.424623	2.222347
PCTUC_554	2.436244	2.485835	1.824445	2.12429	1.804349	2.341026	4.148862	4.517709	2.382762	4.91679
PCTUC_555	2.944834	2.212094	1.637195	2.050716	1.812436	2.190103	2.354151	2.306093	1.419395	2.184773
PCTUC_556	2.714275	2.715855	1.841325	2.15853	2.076278	2.630554	2.111118	2.346193	1.319616	2.781438
PCTUC_557	3.131188	2.954755	2.162656	2.40551	1.870438	2.332639	2.480744	2.815126	1.940635	2.798939
PCTUC_558	2.132947	2.228063	1.419358	1.864631	1.463866	1.665789	2.06459	2.231466	1.619472	2.350911
PCTUC_559	2.332394	2.15486	1.495926	1.887638	1.915631	2.205838	2.108767	2.029673	1.304332	2.039695
PCTUC_560	3.196013	2.914045	2.145384	2.59745	1.823627	2.452425	4.978587	4.384961	3.288052	3.699426
PCTUC_561	2.1513	1.96924	1.761033	1.414338	-1.168462	3.724798	2.758653	1.581049	-1.079886	1.651879
PCTUC_562	1.659784	1.154773	1.048913	1.024868	-1.336392	1.458079	2.06474	2.293924	2.117243	2.045964
PCTUC_563	2.585276	2.190079	1.313003	1.250177	-1.309359	1.330289	2.358853	2.966393	3.292261	2.070739
PCTUC_564	2.817678	3.787903	1.135624	1.872162	1.369615	1.398376	1.335047	2.796356	3.870261	3.021988

【０１１７】

【表３－１５】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_565	1.641978	1.358107	-1.036329	1.016858	-1.118048	1.642279	2.27982	2.227257	2.123359	2.019439
PCTUC_566	1.548184	1.57239	1.177027	1.234061	-1.024877	1.794402	2.498483	2.64332	2.308097	2.197079
PCTUC_568	1.654475	1.291164	1.043306	1.184206	-1.104657	1.744485	2.015622	2.518641	2.257252	2.248926
PCTUC_569	1.405539	2.485698	1.313684	-1.19257	1.149279	2.901726	-1.50788	3.395245	2.128505	-1.653142
PCTUC_570	1.676607	1.560754	1.085764	1.030557	-1.101693	1.150738	4.060815	3.067239	3.349717	2.06671
PCTUC_571	1.513431	2.937735	2.57267	2.722686	1.00085	2.047153	-1.008306	1.45744	-1.386172	-2.112743
PCTUC_572	1.663791	-1.06477	1.593715	2.486905	1.926183	-1.194861	3.665618	-1.085841	3.47144	3.62577
PCTUC_573	1.767246	1.481849	-1.021755	1.165484	-1.078355	1.879792	2.448401	2.685976	2.137358	2.185858
PCTUC_574	1.291006	1.252516	1.008709	1.066555	-1.042773	1.815429	2.230381	2.324055	1.982066	1.956972
PCTUC_575	1.69959	1.726639	1.383058	1.334898	-1.044352	2.050044	2.155466	2.329984	2.099358	2.332833
PCTUC_576	1.858294	1.387836	1.157076	1.364982	1.10785	1.846621	2.27799	3.027295	1.976763	2.776882
PCTUC_577	1.900154	1.671832	1.240975	1.305402	-1.030198	1.747903	2.632668	2.756806	2.36739	2.146093
PCTUC_578	2.089452	1.667765	1.670322	1.539216	-1.060703	2.186524	2.089006	2.601211	1.727324	1.500667
PCTUC_579	3.319847	3.063403	2.058318	1.82173	-1.477657	2.210833	1.89179	4.36574	2.389901	2.087243
PCTUC_580	2.527649	1.235273	1.142485	1.536292	-1.102233	2.106504	1.186451	2.692309	2.473882	1.343175
PCTUC_581	4.171175	1.930353	1.289021	1.280861	1.790144	1.456263	3.17164	11.32385	2.588184	5.754287
PCTUC_582	2.060718	2.143747	2.221659	-1.132255	1.311752	2.614078	1.645149	1.820179	-2.838872	-2.738889
PCTUC_583	1.955715	2.752954	2.15881	1.520894	-1.178174	3.318897	1.427448	1.565843	1.878233	1.184871
PCTUC_584	1.368932	1.918412	2.436657	2.091652	-1.266287	1.954525	1.144457	-1.009171	1.257005	-1.396045
PCTUC_585	3.066615	1.758414	3.530922	2.242071	1.113677	2.765282	2.180095	2.33827	2.243864	2.836234
PCTUC_586	2.625219	2.259675	1.576642	1.534752	-1.178215	2.133562	2.115911	3.00543	1.91642	1.857386
PCTUC_587	2.562503	1.885402	2.097867	2.085679	-1.083323	2.549655	1.498298	-1.012961	-1.919216	-2.147842
PCTUC_588	1.908116	1.08511	1.324322	1.262651	-1.337089	1.542745	3.807242	2.343264	2.309335	2.6663
PCTUC_589	1.973591	1.75518	1.465789	1.763982	1.125532	2.052527	2.493824	2.967375	2.424135	2.66706
PCTUC_590	2.289264	1.587785	1.488175	1.429079	1.038875	1.623075	3.704542	3.459654	2.542809	2.654304
PCTUC_591	2.166435	1.574134	2.066997	1.512965	1.347126	1.983467	2.169764	1.540234	1.987544	-1.006504
PCTUC_592	2.391229	1.668447	2.206781	1.895666	1.297054	2.239261	2.481292	2.64519	1.770056	1.99023
PCTUC_593	2.993244	2.143421	1.786839	1.82173	1.211386	2.071805	2.562777	4.070767	3.268451	2.346879
PCTUC_594	2.266927	1.81015	1.432413	1.377111	1.069318	1.74096	3.361343	3.544527	3.864242	2.743535
PCTUC_595	1.529021	1.283073	-1.078631	1.000447	-1.157923	1.559802	1.904926	2.265164	2.075392	1.901483
PCTUC_596	1.972231	1.668146	1.377539	1.459993	-1.060956	1.784124	2.275661	3.585576	2.084074	2.095021
PCTUC_597	2.14585	4.201519	2.722095	1.036502	1.011944	3.159435	-1.697335	4.054702	1.388331	-8.53404
PCTUC_598	2.354877	1.619132	1.433926	1.77209	-1.100912	1.75033	2.718441	2.196595	2.09338	1.579785
PCTUC_599	2.414222	2.455986	1.397936	1.834194	1.076061	2.099691	2.677208	2.061399	2.272578	1.872414
PCTUC_600	1.898288	2.353238	2.2936	2.959539	1.338679	2.130302	1.908707	2.488858	1.399387	-1.326734
PCTUC_601	2.799655	4.394316	1.374927	1.371902	-1.181136	1.462605	3.064583	3.174861	1.935508	9.527042
PCTUC_602	1.966814	2.086259	1.620849	1.557261	1.013303	1.700839	1.833059	2.171972	2.079844	1.662449
PCTUC_603	5.415817	-1.825225	4.445374	7.686296	-1.623484	-1.584713	-1.579554	1.63215	-1.17958	1.944797
PCTUC_604	4.548471	3.68559	1.787653	2.5105	-1.029682	2.68338	2.241231	4.40873	2.714834	2.437561
PCTUC_605	2.45415	2.507529	1.857248	3.294002	1.253527	1.898492	1.350918	2.222734	1.083346	1.33569

【０１１８】

【表３－１６】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_606	1.457075	2.362059	2.69411	1.668789	1.28103	1.581753	2.66108	2.529084	2.030086	1.452565
PCTUC_607	2.371922	1.77947	1.71337	1.366738	-1.082459	1.654599	2.324419	2.59917	2.451451	2.103469
PCTUC_608	2.356047	2.154961	2.013607	1.76495	1.503782	2.086731	3.106404	4.167883	2.874574	1.804172
PCTUC_609	3.341621	2.040385	1.907361	1.673439	1.192257	1.772983	3.051194	4.351245	2.107334	2.227571
PCTUC_610	6.863899	3.046129	3.930916	2.956858	1.672432	3.519794	5.237543	3.504589	2.221707	2.152098
PCTUC_611	1.772479	3.18666	1.441249	1.51261	1.350461	2.276961	3.20788	3.081503	2.240111	1.793533
PCTUC_612	2.453625	2.656935	1.42877	1.68846	1.177155	1.659303	2.216207	2.995906	2.361989	1.927937
PCTUC_613	2.322756	1.295258	1.398793	1.632847	1.081717	1.55503	2.021138	2.085583	2.246955	2.521659
PCTUC_614	2.105337	2.060017	1.605743	1.710592	1.31056	2.65174	3.898009	4.171721	3.421649	3.565886
PCTUC_615	2.061213	2.15023	1.301226	1.267069	1.225575	1.978197	4.354056	1.955533	-1.100134	-1.1857
PCTUC_616	2.308388	1.574555	1.407101	1.429502	1.100921	1.862664	2.006837	2.45286	2.204572	2.003495
PCTUC_617	1.576303	1.238666	1.102804	1.104352	1.037544	1.696718	2.119472	2.426069	2.377271	2.046716
PCTUC_618	5.2704	3.445125	2.291641	2.158062	1.304951	2.89914	4.475184	7.241369	5.205436	4.131087
PCTUC_619	3.6311	1.682945	2.344108	2.325649	1.262526	2.321978	3.009422	3.721688	3.073065	2.042396
PCTUC_620	2.279748	1.49322	1.640359	1.400027	1.118628	2.167707	2.134956	2.298337	1.714914	2.049021
PCTUC_621	2.725315	2.27424	1.951459	1.822087	1.321089	2.116471	6.734607	4.110401	3.675307	3.180559
PCTUC_622	3.367776	2.442924	2.535629	2.154737	1.430283	2.514078	2.875581	3.276011	2.336778	3.035044
PCTUC_623	3.551299	2.625063	1.846458	2.015363	1.363958	2.605199	3.487387	3.974484	4.055721	4.236562
PCTUC_624	2.990381	1.391522	1.569815	2.308152	1.489686	2.118815	3.457612	3.882709	2.828475	2.821918
PCTUC_625	3.241178	2.398982	1.696991	2.166973	1.479425	2.081784	3.337394	-1.713592	3.08825	2.179591
PCTUC_626	4.263879	3.245743	2.479307	2.482792	1.639614	3.007421	5.284403	6.718605	5.273727	5.698007
PCTUC_627	2.120695	1.950867	1.15705	1.526368	1.375283	1.7371	2.475792	2.327755	1.602649	2.6975
PCTUC_628	2.234193	1.721639	1.572728	1.672325	1.329832	2.56408	2.984585	3.741057	3.25906	2.476948
PCTUC_629	2.645262	2.009622	1.87541	2.068085	1.504461	2.044725	1.800382	3.497649	1.133335	1.157579
PCTUC_630	2.896469	2.463484	1.901627	1.923349	1.147038	2.048723	2.555925	3.197447	2.384872	2.957937
PCTUC_631	2.064842	1.621446	1.339284	1.385534	1.301967	1.987264	2.027627	2.22932	1.486664	1.569272
PCTUC_632	1.955281	1.482409	1.149627	1.092045	1.111003	1.508266	2.289024	2.49168	1.969036	1.942292
PCTUC_633	2.089976	1.619433	1.290514	1.629664	1.165089	1.711891	2.335012	2.855269	2.77205	2.872453
PCTUC_634	2.999586	1.967814	1.3107	1.652533	1.417344	1.85976	2.048713	2.137747	1.426612	1.078268
PCTUC_635	2.765555	1.540217	1.356881	1.681852	1.160647	1.950333	1.993799	2.140466	2.074382	2.244986
PCTUC_636	1.97347	1.371112	1.547874	1.554828	1.186887	1.790172	2.568077	2.913422	2.262483	2.405525
PCTUC_637	1.900493	1.412755	1.229323	1.277215	-1.006073	1.079308	2.512235	1.88564	2.880826	2.823866
PCTUC_638	2.561628	1.908089	1.464314	1.384407	1.220221	2.067919	1.923353	2.435373	2.128093	2.20338
PCTUC_639	2.060063	1.545589	1.45735	1.561649	1.582865	1.966816	3.490128	3.441771	2.172453	1.944276
PCTUC_640	3.636007	2.997755	2.108412	2.242866	1.648748	2.489141	8.613799	5.361654	4.848388	3.89614
PCTUC_641	4.679021	3.565046	2.195632	2.465471	1.670103	2.574851	5.807697	5.468801	4.90076	4.871609
PCTUC_642	3.39597	2.37976	1.849144	2.319398	1.659982	2.463501	4.48316	4.04062	3.272967	3.171938
PCTUC_643	2.769052	2.057714	1.999222	2.00004	1.418435	2.352794	3.681963	4.545543	4.167448	3.945667
PCTUC_644	3.130126	1.843459	1.786604	1.997668	1.446098	2.748792	4.362951	6.57235	4.583384	4.447282
PCTUC_645	2.248375	2.071626	1.630426	1.708583	1.466932	2.083058	3.503422	3.768635	3.508003	2.443652

【０１１９】

【表３－１７】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_646	2.482285	2.26653	1.393158	1.702992	1.361391	2.187366	2.567158	3.634599	3.011877	2.432719
PCTUC_647	2.157234	1.842401	1.396858	1.534424	1.129591	1.962954	3.286385	3.175565	2.436413	3.026659
PCTUC_648	1.696494	1.639976	1.340072	1.360999	1.36889	1.610516	2.408909	2.309618	2.284194	1.903609
PCTUC_649	3.796501	3.261933	2.28008	2.205014	1.615482	2.738749	5.635113	8.772574	6.176256	5.03567
PCTUC_650	3.289895	3.550014	1.972488	1.88842	1.351876	2.598258	4.604433	4.868678	5.932552	3.396743
PCTUC_651	1.996156	1.805128	1.404317	1.432118	1.394295	1.925645	3.539554	2.666421	2.136865	2.279523
PCTUC_652	4.039923	3.381759	2.282342	2.25035	1.624183	2.913148	4.555728	1.156568	4.910597	4.307831
PCTUC_653	4.071556	3.266201	2.354722	2.154996	1.544724	2.767277	5.956202	1.555341	6.13508	5.008499
PCTUC_654	1.984298	1.555235	1.53037	1.545385	1.389834	2.331898	2.444826	2.8718	2.382006	2.741199
PCTUC_655	2.574506	1.984158	1.59359	1.721093	1.11024	1.224894	2.950068	2.167558	3.359763	3.099351
PCTUC_656	2.892828	2.117047	1.873724	1.873271	1.416158	2.362089	3.633137	4.458858	3.959656	3.985284
PCTUC_657	2.411529	1.795964	1.78192	2.371935	1.692294	2.150204	2.150625	3.353007	2.31164	2.392572
PCTUC_658	2.09202	1.744102	1.745396	1.762151	1.482022	1.644417	2.892346	2.837056	2.655083	2.161197
PCTUC_659	2.575266	2.124049	1.560475	1.727308	1.270648	1.973494	1.78177	2.413365	2.113657	1.750194
PCTUC_660	2.520167	1.745141	1.594287	1.69775	1.350521	2.166205	2.403092	3.011296	1.741263	1.859095
PCTUC_661	2.134085	1.940671	1.53473	1.50667	1.288514	1.715786	2.752077	2.625633	2.526097	2.552588
PCTUC_662	4.724458	3.946936	2.465677	2.121572	1.348008	2.663858	5.457253	6.366603	5.702743	5.768478
PCTUC_663	3.248355	3.44881	1.944542	1.979683	1.275257	2.356379	4.800281	5.678669	5.463997	4.923267
PCTUC_664	2.197084	1.883653	1.327784	1.438995	1.167273	1.986381	1.856272	2.469981	2.215134	2.151767
PCTUC_665	3.614111	1.87647	2.062585	2.114008	1.184832	2.495689	3.434863	3.68608	3.742092	3.742618
PCTUC_666	5.643526	4.451371	2.833776	2.63493	1.439823	3.220485	6.93086	9.153201	5.997135	5.199389
PCTUC_667	2.185947	1.815849	1.536835	1.63991	1.30789	1.611768	2.271733	2.909057	3.039583	2.493955
PCTUC_668	1.913589	1.460395	1.120916	1.262651	1.194898	1.648326	1.919215	2.367546	1.940866	2.018715
PCTUC_669	2.221644	2.111672	1.170494	1.612767	1.245904	1.908394	2.337281	2.577075	1.47188	1.641456
PCTUC_670	1.803643	1.555918	1.270898	1.483201	1.452556	2.070219	2.981058	3.041791	2.489966	2.225878
PCTUC_671	1.667533	1.414151	1.012784	1.153869	1.035625	1.709244	2.416751	2.559589	2.054646	2.06568
PCTUC_672	3.765201	4.324469	2.213268	1.789587	1.390585	2.727472	4.420219	4.758027	4.863633	4.530597
PCTUC_673	2.413774	1.597572	1.470126	1.148103	1.251977	1.934935	2.240915	3.633712	2.146384	2.153216
PCTUC_674	4.901073	3.630356	2.421033	2.328926	1.511821	2.743376	5.589533	5.753892	4.882175	5.347692
PCTUC_675	2.02757	1.687118	1.462588	1.634331	1.275855	2.173746	2.78693	2.843419	2.028366	1.98453
PCTUC_676	1.919538	1.742238	1.581826	1.585945	1.31395	2.187662	2.288546	2.932474	2.404961	2.084628
PCTUC_677	2.011766	1.351125	1.310936	1.382537	1.077973	1.438577	2.052207	1.749069	2.615633	2.229117
PCTUC_678	2.721872	1.77266	1.812868	1.940869	1.428293	2.203922	2.936104	3.330144	3.415096	3.076645
PCTUC_679	2.092978	1.779302	1.515586	1.668664	1.38376	1.973946	3.2316	2.814185	4.022079	2.479098
PCTUC_680	2.760168	1.714808	1.395004	1.473272	1.462381	2.046929	2.532627	2.774914	1.819864	1.925472
PCTUC_681	3.005869	1.905482	1.623226	1.913392	1.464779	2.276395	3.817427	4.516187	2.855823	3.798191
PCTUC_682	2.932731	2.279735	1.696851	1.844617	1.441928	2.315317	3.596598	4.557338	3.690554	3.464538
PCTUC_683	2.931927	2.512429	1.638134	1.535175	1.35907	2.056906	4.222321	4.727066	3.607633	3.268795
PCTUC_684	3.377182	2.464607	2.122759	2.173514	1.549637	2.503668	4.190849	5.953754	4.558081	4.440939
PCTUC_685	2.92051	1.826244	2.23447	2.417694	1.675354	2.345897	2.715857	3.245863	2.231445	2.50942

【０１２０】

【表３－１８】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_686	3.751326	2.864389	1.669852	1.850708	1.330981	2.165409	4.294438	4.208843	3.325176	2.755725
PCTUC_687	2.542475	1.384002	2.253859	2.250025	1.424351	2.074088	1.869166	2.815679	1.490269	1.342491
PCTUC_688	2.500217	1.454033	1.51167	1.553329	1.572351	1.99125	1.958521	2.333184	1.27325	-1.066773
PCTUC_689	2.798229	1.898112	1.7912	1.784557	1.556316	2.131139	2.383163	2.505348	2.325377	2.199408
PCTUC_690	3.62354	2.586582	1.978384	2.035194	1.708843	2.50947	5.384008	6.459625	5.017322	4.32398
PCTUC_691	1.980327	1.529974	1.627668	1.647607	1.52965	2.205507	2.210307	2.322275	2.126769	2.07636
PCTUC_692	2.207429	2.023349	1.621345	1.557046	1.375703	2.224838	2.85757	3.214349	3.428101	2.408178
PCTUC_693	2.573091	1.854801	1.521731	1.559489	1.622517	1.548608	2.368227	2.242102	2.130813	1.939746
PCTUC_694	2.661108	1.611918	1.733396	1.820798	1.583537	2.199028	2.382027	2.465793	1.909728	2.059906
PCTUC_695	3.084925	1.906792	1.716335	1.835684	1.446206	2.287057	3.326586	3.396893	2.944132	2.388609
PCTUC_696	3.436488	2.050998	1.556213	1.780796	1.26221	1.970905	2.222844	2.797527	3.212934	2.826079
PCTUC_697	2.846267	2.169852	1.739728	1.886953	1.394527	2.347556	3.192369	4.477496	3.643991	3.435004
PCTUC_698	2.902011	2.257164	1.820701	1.706544	1.408133	2.125621	2.448727	3.056476	2.241038	2.410933
PCTUC_699	4.827313	4.018908	2.272471	2.292536	1.480471	2.635933	4.609246	6.675708	4.95645	4.966762
PCTUC_700	2.390521	1.464474	1.576155	1.860255	1.427529	1.983465	2.705402	2.346061	1.430664	-1.167211
PCTUC_701	3.311536	2.376002	1.731801	1.61275	1.301387	2.144452	3.534742	4.30228	3.916895	3.484727
PCTUC_702	2.624016	2.448785	1.653695	1.713574	1.383952	2.109074	3.338197	4.553086	3.53563	3.263711
PCTUC_703	5.139153	4.081909	2.450374	2.374609	1.702067	2.852373	5.956202	6.243945	4.714651	5.417841
PCTUC_704	2.309258	2.014421	1.651519	1.676327	1.409805	2.132345	2.505468	3.092073	2.572824	2.661616
PCTUC_705	2.665751	1.414355	1.617702	1.691659	1.355501	1.778648	2.980165	2.849719	2.00298	1.713915
PCTUC_706	2.287762	1.813085	1.379834	1.514168	1.28103	1.814586	2.2015	2.705321	1.909649	2.313449
PCTUC_707	4.413056	2.800452	1.930365	2.110764	1.410492	2.458768	5.149868	4.922929	4.477264	5.023233
PCTUC_708	2.598162	1.997955	1.603416	1.690229	1.241806	2.184737	2.946659	3.779886	2.632446	2.432719
PCTUC_709	4.610568	3.121099	1.945206	2.056421	1.340026	2.622874	4.778035	5.593929	4.240022	4.561161
PCTUC_710	3.801278	3.21265	1.997177	1.977971	1.311692	2.287708	4.084493	4.953694	3.663384	4.028213
PCTUC_711	2.359209	1.549437	1.459169	1.554681	1.345212	2.115186	2.804591	2.285582	2.297939	2.056486
PCTUC_712	2.518226	1.681685	1.821278	1.801401	1.557828	2.684022	2.781386	3.591925	2.617531	2.670167
PCTUC_713	3.620613	2.880119	1.938276	2.031514	1.295043	2.00528	3.891295	3.109384	2.850291	3.159817
PCTUC_714	2.705708	2.028827	1.58479	1.802496	1.267622	2.099078	2.875953	3.59224	2.31435	2.403818
PCTUC_715	2.566382	1.848065	1.289421	1.405011	1.082506	1.59096	4.816006	3.40176	4.762467	3.724533
PCTUC_716	5.121842	4.239795	2.482671	2.399158	1.467867	2.474753	5.810473	6.93972	6.273273	5.95307
PCTUC_717	2.995538	2.487843	1.807189	2.102638	1.598794	2.849058	4.082064	5.516239	4.204436	3.742789
PCTUC_718	3.134496	2.21508	2.111608	2.288491	1.542992	2.47499	3.832772	4.199984	4.278993	3.647059
PCTUC_719	2.800922	2.135409	1.739122	1.755105	-1.152661	2.358	3.678965	4.428831	3.953455	3.784203
PCTUC_720	3.266792	1.098088	1.647018	2.574326	1.945548	-1.205677	-1.063135	1.223399	2.529553	-1.518103
PCTUC_721	2.279879	1.470384	1.464171	1.332593	2.18729	1.219077	2.001222	2.165595	-1.026659	1.008794
PCTUC_722	2.864947	2.957419	1.898244	2.449121	2.823838	1.96705	2.055324	1.437751	-1.41294	1.360393
PCTUC_723	2.936209	1.665902	1.822441	2.500832	2.126406	2.562115	1.727666	2.153008	1.840006	1.938897
PCTUC_724	6.322812	4.141862	3.652369	2.620724	1.336264	1.682504	3.997535	6.661172	3.369624	7.058978
PCTUC_725	3.180355	5.149987	5.441726	3.571592	4.900834	3.101324	2.563077	3.681123	1.793489	1.51067

【０１２１】

【表３－１９】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_726	2.312671	3.094301	1.870246	1.929492	4.47831	1.67782	2.292115	1.848348	-1.219312	-1.166466
PCTUC_727	3.400119	5.56307	2.538855	4.796176	1.16597	3.559063	1.578317	1.594204	1.814655	1.531729
PCTUC_728	2.245501	2.481267	1.936934	2.452436	2.517091	2.806376	2.952748	4.708348	1.765438	1.495801
PCTUC_729	3.68157	2.719935	4.756963	4.780087	2.451955	2.330432	1.917511	3.005132	4.83178	-1.258102
PCTUC_730	2.54578	1.70516	1.376145	1.063746	1.484946	1.080247	2.14124	2.324177	2.076872	3.588565
PCTUC_731	1.650166	2.149801	2.230358	-1.192853	3.374881	1.015105	5.222567	2.830412	1.246106	2.175415
PCTUC_732	1.173051	2.470797	1.96913	2.981646	4.636403	1.851799	2.169836	1.784843	1.559113	-1.25609
PCTUC_733	1.545922	2.714017	2.174145	1.535983	1.445219	1.904821	1.443	1.663835	2.115776	1.236191
PCTUC_734	6.250961	2.613591	2.367622	1.395285	3.012707	1.171522	2.305167	5.020079	3.221029	1.091173
PCTUC_735	1.941943	-1.154395	1.336703	2.721427	2.473974	1.017259	1.672028	2.921675	1.218728	1.246331
PCTUC_736	2.193176	1.875473	2.309137	2.229304	1.749662	2.629588	1.524143	1.566741	-1.201418	-1.951975
PCTUC_737	2.341751	1.418063	2.449272	2.472956	1.947165	1.388693	1.779508	2.146775	1.104491	-1.046858
PCTUC_738	2.088114	1.828001	5.574064	6.420503	2.571054	1.098163	2.774363	1.621336	1.516934	7.845816
PCTUC_739	1.909534	2.02831	2.202837	1.52946	2.025769	1.247938	-1.26988	-1.005211	1.587222	-1.134634
PCTUC_740	1.957884	2.764184	3.193176	2.302767	1.341441	2.857754	1.181018	1.024162	1.563654	-1.183276
PCTUC_741	1.431072	2.457295	2.102171	1.919661	3.254123	1.579953	1.597549	1.411438	1.444184	1.019456
PCTUC_742	2.752174	2.719285	2.902712	1.786477	3.561341	1.485681	1.734902	3.267958	1.198231	-1.066429
PCTUC_743	2.374025	2.252629	1.611526	1.306457	2.242702	2.018359	-1.174056	1.525324	-1.349442	-1.594422
PCTUC_744	2.208758	1.106154	2.55469	1.622825	2.047873	1.545292	2.761388	2.804563	-1.050354	-1.752185
PCTUC_745	2.619822	2.234076	2.125212	1.175748	1.801113	2.807861	1.011148	2.10842	1.66104	1.228528
PCTUC_746	-2.604011	-4.336377	-1.289437	-2.013778	4.400435	-2.675976	1.970285	2.396611	-2.847489	2.130628
PCTUC_747	1.996631	-1.253024	-1.283601	1.034031	3.964703	-1.25556	2.387692	4.348555	-1.255805	2.368414
PCTUC_748	1.378674	2.536747	3.586713	1.966716	1.091169	2.050708	-2.072285	-1.318467	1.513265	1.065084
PCTUC_749	2.69839	5.340216	3.960504	1.565272	1.828033	4.927153	-1.143048	5.439857	3.837492	-3.545734
PCTUC_750	3.70196	4.375464	1.684335	1.790254	2.591611	2.446485	1.367795	1.933932	1.386537	1.142848
PCTUC_751	1.434497	2.616543	2.421894	1.107728	1.966931	1.737975	-1.241683	2.058157	1.067161	-2.030771
PCTUC_752	2.611563	2.241413	2.252592	1.833555	9.644817	1.593348	4.761776	3.719502	1.503111	2.153079
PCTUC_753	1.172065	1.9564	2.087169	2.44259	1.617989	2.066443	1.033129	1.516422	-1.335804	-2.518059
PCTUC_754	3.315586	5.507189	2.819951	1.428701	2.854979	2.397538	-1.066542	3.14355	2.478858	-1.195199
PCTUC_755	1.385515	2.299191	2.11237	1.901943	1.481955	1.970024	1.185407	1.18702	1.219573	-1.653884
PCTUC_756	1.513908	1.812244	2.275906	1.890749	2.026129	2.882849	2.101217	2.946557	1.692976	-1.316299
PCTUC_757	4.822169	3.194647	2.069062	6.764375	1.062056	1.187444	1.511025	4.881807	5.212888	2.193957
PCTUC_758	1.931267	2.721672	3.427641	2.313735	2.068174	1.505924	1.555706	1.666933	2.959011	1.118693
PCTUC_759	2.034523	1.959083	2.928546	3.031246	1.546934	1.735673	1.381833	1.541585	1.737289	-2.07133
PCTUC_760	1.498347	2.639704	2.019559	-1.061474	1.700927	2.398042	-1.407117	1.76619	2.031062	-2.262535
PCTUC_761	1.584407	1.682904	3.221693	2.118881	3.939364	1.33241	1.004258	2.610148	1.57589	-1.525089
PCTUC_762	2.547231	-1.006767	1.712516	3.774214	3.514404	1.036089	3.905444	1.182394	3.137581	3.109285
PCTUC_763	2.682344	2.138069	2.196179	1.553065	2.311897	1.623725	1.003853	1.479892	1.332373	-1.336425
PCTUC_764	1.903514	1.984084	1.90328	1.87638	2.203765	1.443503	1.122172	1.359252	1.011896	-1.182106
PCTUC_765	2.765059	2.873031	2.372725	1.795411	2.257401	2.852201	3.815464	3.295881	3.430123	1.612201

【０１２２】

【表３－２０】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colón Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_766	2.970002	1.421156	2.223881	2.091841	2.138762	1.751701	1.370024	1.566602	1.051677	-1.430663
PCTUC_767	3.131984	1.92316	2.102419	1.974468	2.576102	1.688487	-1.026691	1.496795	1.156978	-1.046688
PCTUC_768	2.021438	1.613102	2.162979	2.390166	1.978501	1.804999	1.775698	1.30813	1.117862	1.079834
PCTUC_769	2.666843	2.697247	3.103855	1.741283	2.923714	2.228969	2.045903	1.798744	1.413123	-1.011207
PCTUC_770	2.126302	1.367927	1.821058	2.06508	1.92668	1.780768	2.462475	1.889457	1.767707	-1.141445
PCTUC_771	9.066208	2.301069	32.466282	9.306285	2.641976	2.005732	1.116398	34.002872	1.488342	1.233248
PCTUC_772	2.542206	2.138214	2.170891	2.752532	1.818219	1.754995	-1.437286	1.556602	-1.705196	-1.570951
PCTUC_773	2.140708	1.910514	1.868318	1.171023	1.791513	1.537386	2.238718	2.355336	1.640442	1.361949
PCTUC_774	2.170943	1.04411	1.569475	1.657634	2.391124	1.32997	3.654829	2.754861	2.30835	1.262997
PCTUC_775	1.67631	1.744011	1.153107	1.063258	2.223874	1.630996	2.98714	2.822254	2.15646	2.017799
PCTUC_776	1.180588	2.774556	1.708677	-1.116192	2.445475	3.07617	-2.487576	3.56929	2.108594	-2.786735
PCTUC_777	2.2542	2.193221	1.918728	1.949192	1.985048	1.751589	1.397667	1.306645	1.239567	-1.283668
PCTUC_778	2.304341	1.986533	2.36534	2.001854	2.164915	1.510138	1.526597	1.664457	1.440165	-1.032099
PCTUC_779	3.319706	7.10986	4.295543	1.431373	3.739748	3.748428	1.452387	7.42728	4.553708	-1.07404
PCTUC_780	2.182786	2.654104	2.052293	1.226816	1.797102	2.157646	-1.205891	1.907031	1.53636	-2.304723
PCTUC_781	2.002184	2.124835	2.563484	2.123987	1.910713	1.722384	1.527703	1.481272	1.215339	-1.406521
PCTUC_782	1.982726	2.339215	2.723196	1.605118	2.213815	1.617926	1.552256	2.451002	1.04707	1.072533
PCTUC_783	5.412443	3.235496	5.063339	2.247368	4.10765	2.737198	2.23809	2.347927	1.955506	-1.07352
PCTUC_784	1.523491	1.954146	2.511079	1.829886	2.085814	2.944778	1.815663	3.105924	1.291081	-1.739954
PCTUC_785	3.088835	3.454606	4.478419	4.437982	2.777349	3.654921	2.573428	2.848108	1.267785	1.625115
PCTUC_786	3.020984	2.177902	1.285365	1.111271	2.810368	2.435968	4.543569	1.591059	3.410156	1.128185
PCTUC_787	1.579647	2.126352	2.621198	1.891533	3.694917	1.637091	3.55331	3.154013	1.750237	1.272859
PCTUC_788	1.989318	1.677531	1.929438	3.418436	2.037659	1.606908	-1.181581	1.337417	-2.098886	-2.480899
PCTUC_789	2.948468	3.183348	2.201415	2.286198	2.866979	2.483153	1.444229	1.86178	-1.248986	-1.504003
PCTUC_790	2.147948	1.806976	2.417625	2.035112	1.626123	1.447673	1.045415	1.208749	2.23128	1.276644
PCTUC_791	1.986498	2.576382	1.954842	1.568862	1.966789	1.592721	1.349893	3.158833	1.447821	1.399047
PCTUC_792	3.196796	3.486831	3.260377	2.264079	2.886792	2.085161	2.20713	2.344924	2.470099	1.817712
PCTUC_793	3.769532	4.108984	3.562748	2.284717	3.681486	2.10013	1.513724	2.635218	2.137043	1.708771
PCTUC_794	2.002344	1.894897	1.788498	1.56391	2.133116	1.863609	2.198983	2.666669	1.811442	1.939686
PCTUC_795	3.044567	3.152989	3.166747	1.968495	2.934963	2.127643	2.492941	2.642769	2.282253	2.362006
PCTUC_796	3.184995	3.117129	3.047694	2.60312	8.595053	2.647675	2.326116	2.575455	1.61441	1.680482
PCTUC_797	3.851431	4.428571	4.33976	2.782248	3.783499	2.603868	2.269858	2.853786	2.478076	1.905879
PCTUC_798	3.482885	4.161508	3.216578	2.304008	3.654118	2.457634	2.696164	2.928414	2.720635	2.714809
PCTUC_799	5.14745	5.773758	4.428958	2.696134	4.204111	2.351586	2.502443	4.14609	3.89303	2.335182
PCTUC_800	4.496764	4.59942	4.781262	2.728859	4.622788	2.514232	3.562574	3.872903	3.111842	2.51209
PCTUC_801	4.790975	6.2401	5.334881	2.849744	5.284999	2.584845	2.455776	5.196043	3.88422	2.451636
PCTUC_802	4.483533	5.933342	4.402905	2.849242	4.738077	2.568384	2.687358	4.062475	4.073182	2.542692
PCTUC_803	3.927758	5.220841	5.310245	2.649704	4.138473	2.467542	2.698226	3.995141	3.278665	2.342741
PCTUC_804	2.382821	2.906737	2.819774	2.152793	2.339993	2.423423	1.384956	2.123258	1.957864	1.386133
PCTUC_805	2.018582	2.140931	2.448375	2.322326	2.203802	2.672317	1.401187	1.540846	1.152146	-1.175308

【０１２３】

【表３－２１】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_806	3.712907	4.013764	4.981676	2.92389	3.971395	3.325083	2.04527	2.802911	2.473777	1.819835
PCTUC_807	2.668381	3.176708	3.365095	3.510781	2.829598	2.345594	1.253775	1.38732	3.626277	1.921228
PCTUC_808	5.563641	6.477875	5.692748	2.900728	5.47545	2.74287	3.69523	5.083086	4.782139	2.761177
PCTUC_809	3.700055	3.973909	4.959146	2.291433	2.488166	1.961826	2.048956	1.790611	3.117042	2.17878
PCTUC_810	2.242853	2.325493	2.37969	1.993197	2.071771	1.738072	1.312312	1.851987	1.688317	1.826226
PCTUC_811	3.831634	4.074454	3.860348	2.405638	3.12156	2.479734	2.148855	2.703484	2.424147	1.854368
PCTUC_812	3.288	3.867888	3.940192	2.396031	3.229351	2.216486	1.603243	2.525568	2.223361	1.836276
PCTUC_813	3.754223	3.77283	3.865026	2.398146	3.256464	2.244768	1.638971	2.436859	2.326672	1.8383
PCTUC_814	4.75541	5.228207	4.819787	2.861704	5.149302	2.599626	3.107804	4.748261	3.481901	2.720379
PCTUC_815	3.892281	4.406302	4.380984	2.8373	4.870093	2.731606	2.866852	3.780127	2.582704	2.17795
PCTUC_816	4.379927	4.996663	4.362504	2.736067	5.081002	2.782779	2.519143	3.337878	3.713792	2.460799
PCTUC_817	3.106359	3.238691	3.38937	2.47535	3.133699	2.539845	1.612676	2.570179	1.924375	1.690343
PCTUC_818	4.434761	4.46969	4.046491	3.016147	4.799383	2.94142	2.551051	3.184934	2.801994	2.33619
PCTUC_819	4.909876	5.234096	5.850842	3.322591	5.497626	2.593287	3.521731	4.601146	3.217127	2.405624
PCTUC_820	2.304303	2.138123	2.074894	2.295133	2.166532	1.869347	1.156877	1.535996	1.159733	1.049716
PCTUC_821	2.834139	2.745442	2.990574	1.933787	2.992724	2.347548	1.943487	2.602382	1.883901	1.635784
PCTUC_822	5.200898	6.422604	5.118377	2.91676	5.344371	2.762829	3.264891	5.359295	4.502306	3.029265
PCTUC_823	2.53588	2.995658	4.46937	2.562591	1.622748	1.709181	1.903973	1.224162	2.378757	1.939935
PCTUC_824	2.933777	3.42145	3.242542	2.405094	3.023423	2.227166	1.707171	2.192069	1.810446	1.541394
PCTUC_825	3.186176	2.917574	2.62689	2.378563	3.827872	2.623839	1.395692	2.159526	1.437781	1.424438
PCTUC_826	1.919053	2.475648	1.850094	1.928537	2.086126	1.645178	-1.212428	1.368683	-1.04751	-1.335886
PCTUC_827	1.904114	1.956388	1.952929	1.326964	1.775423	1.546281	1.382322	2.004729	1.195291	1.218382
PCTUC_828	2.92745	3.599613	3.223438	2.173024	3.13715	2.18352	1.813284	2.32015	1.509559	1.480408
PCTUC_829	1.974123	2.175198	2.062895	1.914626	2.036808	1.874654	1.125268	1.435859	-1.304285	-1.312731
PCTUC_830	3.077779	4.19744	2.897306	2.005722	3.079901	2.283218	1.781524	2.266755	1.943294	1.646191
PCTUC_831	1.840324	2.44461	1.915517	2.425321	1.885715	2.391593	-1.009171	1.332706	-1.261596	-1.61064
PCTUC_832	2.225947	2.367063	2.522229	1.897432	2.548975	1.880277	1.458405	1.539495	1.276124	1.443973
PCTUC_833	2.858343	2.674582	2.619268	2.118242	2.951528	1.751907	1.79457	1.72199	1.301647	1.022377
PCTUC_834	2.9596	2.374317	2.542884	2.410777	3.259532	1.976311	1.460713	2.062928	1.372882	1.3302
PCTUC_835	3.010594	3.311469	3.328452	2.455323	3.43195	2.281342	2.204623	2.371787	2.323638	1.765945
PCTUC_836	2.007784	2.085062	2.016944	1.841439	2.027111	1.45514	-1.0925	1.160709	1.031877	-1.113493
PCTUC_837	2.796955	2.807929	3.865616	2.395671	3.712218	2.231949	1.66407	2.161517	1.429815	1.354722
PCTUC_838	1.494369	1.963341	5.039379	2.152365	1.19218	2.005671	-2.169267	-1.164172	-1.842256	-2.396542
PCTUC_839	4.239632	3.829796	4.241501	2.527571	5.13077	2.297453	2.766795	4.081153	2.158186	1.795967
PCTUC_840	2.061444	1.848708	2.171947	1.677039	2.955164	1.678983	1.204796	2.335048	1.335965	2.376273
PCTUC_841	2.054037	1.62262	1.568904	1.818563	2.585692	2.266033	2.716181	2.149279	1.463845	1.134204
PCTUC_842	3.325278	2.201624	2.83394	2.779279	2.899318	2.482376	1.619383	2.270337	-1.229555	-1.389874
PCTUC_843	1.788604	2.545392	2.462816	2.152621	2.521353	1.871004	1.006096	1.009794	1.274239	-1.385184
PCTUC_844	2.402184	1.850049	1.960408	2.116551	2.600048	1.738249	1.103569	1.422457	-1.057936	-1.378921
PCTUC_845	2.50498	2.196354	2.359953	2.038789	2.122147	1.679917	1.342282	1.664368	2.089621	1.064222

【０１２４】

【表３－２２】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_846	1.928036	1.792006	2.050615	2.294138	2.265651	1.85247	1.315385	1.280974	1.452513	-1.129171
PCTUC_847	2.329573	2.669091	2.7908	2.09974	2.517365	1.9447	1.183061	1.32463	1.112224	-1.025501
PCTUC_848	2.48907	1.635645	3.754775	3.079755	1.910938	2.019166	2.091423	1.847378	3.154582	1.44493
PCTUC_849	2.128594	2.421387	2.235757	1.88999	2.596102	1.743695	1.90351	1.688092	1.963297	1.678683
PCTUC_850	2.250095	2.870839	2.845568	1.836877	3.054814	2.045105	1.648624	2.308564	1.954925	1.453773
PCTUC_851	2.480321	2.003515	2.084979	2.261478	2.775162	1.562211	1.136459	1.845817	-1.086125	-1.357593
PCTUC_852	3.791353	2.885709	4.59536	4.799927	1.82336	1.889697	1.312998	2.271817	1.761846	-1.842876
PCTUC_853	2.130593	2.395275	2.332972	3.390371	1.420116	1.676356	1.374857	1.613049	2.606546	1.058314
PCTUC_854	4.050172	3.927672	3.382661	2.926788	3.400673	2.649884	2.259034	2.604694	2.801454	2.114191
PCTUC_855	2.517597	4.010342	2.627365	2.16504	2.749827	2.364338	1.62134	2.291844	1.883181	1.499188
PCTUC_856	4.521049	4.759143	5.94944	3.528028	4.510493	2.907776	2.257864	4.008818	3.392172	2.427414
PCTUC_857	2.118167	1.667272	1.584278	2.004081	2.715339	1.504321	1.376339	2.058645	-1.784745	-1.963081
PCTUC_858	3.618611	3.923041	3.748677	2.279956	4.36315	2.044061	2.004635	3.352611	2.537826	1.762131
PCTUC_859	2.535355	2.672349	3.022804	2.061067	3.411787	2.013783	1.536712	2.006352	1.351533	1.26096
PCTUC_860	2.018386	2.602673	2.390009	1.920446	1.678945	2.13201	-1.115348	1.203492	-1.029419	-1.134879
PCTUC_861	2.705428	2.904839	2.577471	2.28519	2.138755	1.813424	1.637124	2.287569	2.369354	1.098582
PCTUC_862	2.109637	2.062488	2.299455	1.913848	2.063145	1.783912	1.357527	1.117161	1.014917	-1.249444
PCTUC_863	1.402514	1.913175	2.036407	2.504151	3.015167	1.639549	1.782294	1.222373	1.319296	-1.975291
PCTUC_864	2.99618	3.233393	2.876639	2.230565	3.5081	1.90779	1.773835	2.173387	1.771235	1.285498
PCTUC_865	2.690218	2.717674	2.690491	1.992791	2.795335	1.871908	1.736728	1.634273	2.278668	1.260973
PCTUC_866	1.996733	1.609049	2.308326	2.546587	2.202009	1.52375	-1.07945	1.211952	1.089258	-1.249161
PCTUC_867	2.818447	3.778686	3.51761	2.102258	3.744934	1.877495	1.917157	2.066668	2.591593	1.722827
PCTUC_868	1.991561	2.991961	2.213984	1.770526	2.169716	2.112046	2.219779	1.913224	1.858551	1.03877
PCTUC_869	2.25384	1.99884	2.021969	3.166457	2.211639	1.625932	-1.098634	1.378695	-1.768543	-1.969913
PCTUC_870	2.254735	1.975595	2.232454	2.071242	2.097088	1.96413	1.421129	2.013952	1.004407	-1.038988
PCTUC_871	2.01151	2.790665	2.513632	1.841401	2.546699	1.890775	1.185761	1.517475	1.007294	-1.046279
PCTUC_872	2.010319	2.272945	2.635181	2.545468	2.5213	1.859905	1.622411	1.984478	-1.119956	-1.143552
PCTUC_873	3.252205	2.109674	3.160142	2.223053	2.871609	1.969205	2.159228	2.561842	1.304826	-1.011093
PCTUC_874	1.741674	1.985395	1.40981	-1.0323	1.717773	1.809296	3.093593	2.048956	2.165634	1.434358
PCTUC_875	2.694372	2.621971	2.075549	1.654308	3.340908	1.976093	1.667331	1.503174	1.410736	1.373617
PCTUC_876	2.534711	2.628107	2.776704	2.619621	2.670912	1.698732	1.905596	2.541518	1.739503	-1.078499
PCTUC_877	2.125987	1.825273	3.556471	2.425424	2.202742	2.082926	1.377183	2.487029	-1.016485	-1.140493
PCTUC_878	2.143905	2.173444	2.548723	1.926992	1.945828	1.541651	1.458844	1.476125	1.730811	1.382746
PCTUC_879	3.017557	3.313776	3.23282	2.519569	4.085382	2.209875	1.955096	2.333605	2.3839	1.646064
PCTUC_880	2.332958	2.74189	2.615978	1.927811	2.540155	1.951771	1.6827	2.031071	1.627983	1.584582
PCTUC_881	3.719461	3.623826	3.19083	2.295216	3.808763	1.954496	2.04587	2.55217	2.220093	1.588366
PCTUC_882	3.375582	3.323253	3.632514	2.259738	3.998963	2.301353	1.994945	2.153584	2.236753	1.649811
PCTUC_883	3.460237	3.49788	4.037887	2.49328	4.323845	2.325608	2.589049	2.499343	2.33114	1.720812
PCTUC_884	2.009108	2.153635	2.528886	2.029703	2.670727	1.708056	1.789686	1.79987	1.421518	-1.111179
PCTUC_885	2.66158	2.072809	2.160885	1.721565	-1.103153	1.94465	-1.539719	-2.02752	1.242959	-1.255616

【０１２５】

【表３－２３】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colón Tumor 10
PCTUC_886	2.972494	2.924612	3.118183	2.282334	3.49861	2.163645	2.68261	2.434486	1.358898	1.236363
PCTUC_887	2.027975	2.38398	2.296002	1.924612	2.42382	2.023344	1.535118	1.598191	1.46662	1.114935
PCTUC_888	2.436039	3.457342	2.737972	2.126336	1.551599	3.805361	-1.069556	1.609747	-1.07591	-1.619559
PCTUC_889	2.248439	2.221073	2.669714	2.05175	2.822394	2.091429	1.468055	1.245638	1.022078	-1.027285
PCTUC_890	2.203458	2.155574	2.361843	1.701684	2.477744	1.921732	1.48676	2.127379	1.295536	1.247707
PCTUC_891	3.155087	2.883648	2.752733	2.458148	3.186105	2.363246	1.666287	1.836035	2.044549	1.476581
PCTUC_892	2.343731	1.338486	2.692445	2.506622	1.907094	1.910954	1.459881	1.555845	-1.049927	-1.618603
PCTUC_893	2.915632	2.590539	3.622392	3.905265	4.47831	2.822666	2.622807	3.53729	1.375128	1.160408
PCTUC_894	4.500998	3.59058	3.962988	2.844126	4.481072	2.52524	2.373235	3.208908	2.510066	2.15306
PCTUC_895	2.269523	1.780666	2.160403	2.08125	2.08296	1.962498	1.407028	1.535472	1.424376	1.051004
PCTUC_896	2.865829	2.840475	2.428004	2.385588	2.747852	2.271611	1.191141	2.048356	1.421338	1.191054
PCTUC_897	2.345222	1.942502	1.96854	2.697916	1.00369	1.553053	-1.974929	-1.903705	1.486964	1.508478
PCTUC_898	2.265094	2.938895	2.243422	2.234162	2.681554	2.549773	3.184214	4.649253	2.011571	1.58673
PCTUC_899	3.240594	2.89024	3.19629	1.643464	4.062936	2.158757	2.411463	2.41099	1.354378	1.042022
PCTUC_900	2.158255	2.225039	1.958986	1.337243	2.284375	1.788992	2.553147	2.451661	1.704656	1.721045
PCTUC_901	1.704198	2.000071	2.057588	2.11317	1.742318	1.938191	1.050664	1.215151	-1.046125	1.061172
PCTUC_902	1.700514	1.979201	2.911566	2.402822	2.639393	2.177013	1.063489	1.191732	-1.36473	-1.708799
PCTUC_903	1.971537	1.805452	1.941796	1.408055	2.242712	1.873974	1.976962	2.267684	1.318745	1.435156
PCTUC_904	2.582627	2.451558	2.073478	1.945297	2.805823	1.776571	1.686699	1.426102	-1.205492	-1.405787
PCTUC_905	2.486936	2.48598	2.785518	2.234389	2.725869	2.266052	1.302131	1.820607	1.647485	1.116222
PCTUC_906	2.348454	3.648733	3.524524	2.959175	3.327241	2.751729	2.016082	2.143599	1.745673	1.411276
PCTUC_907	4.418301	5.429524	5.189786	2.601276	5.046936	2.856837	4.284631	3.878442	3.326426	2.825075
PCTUC_908	2.923208	3.753517	3.50064	2.171186	3.947329	1.95905	1.64949	3.431271	2.31849	1.451118
PCTUC_909	2.172991	2.597694	2.453735	1.788767	2.241053	1.691228	1.255651	2.059265	1.018969	-1.236387
PCTUC_910	1.632832	2.259243	2.020136	1.770561	2.368836	2.426663	1.193135	1.550878	1.26375	-2.27989
PCTUC_911	3.628025	3.382685	3.266242	1.433443	2.065969	4.532208	2.238964	2.900606	-2.700652	-2.005532
PCTUC_912	1.708289	4.094818	3.834928	1.347942	2.497629	1.54193	1.019645	-1.82718	2.099053	-3.007764
PCTUC_913	-1.046016	2.240158	2.899449	3.032311	1.341131	2.648759	1.394977	1.270218	1.774617	1.057235
PCTUC_914	-1.027773	1.19017	-1.465852	-1.152883	-1.047242	1.128493	2.531108	2.016811	3.008403	3.898096
PCTUC_915	1.725658	1.366501	1.683899	2.436776	2.106251	1.801934	2.191015	3.068439	1.352042	1.298424
PCTUC_916	1.327684	2.027969	2.144469	2.198778	1.659379	2.121188	1.570392	1.336953	1.167939	-1.554178
PCTUC_917	1.483645	1.60136	2.103386	2.447269	1.95535	1.965218	1.922846	1.327187	1.025806	-1.7507
PCTUC_918	1.771259	1.22116	2.070256	1.986665	1.580713	1.995978	1.821286	2.205084	-1.13903	-1.191393
PCTUC_919	2.918718	2.124875	1.756297	1.53907	1.104604	1.322658	2.104843	2.861712	1.681921	2.872681
PCTUC_920	1.897873	2.063434	1.176537	1.403987	1.222612	2.698585	1.970061	1.211588	3.268852	2.365577
PCTUC_921	3.146559	1.290703	1.689708	2.295315	2.378711	1.727702	1.722659	1.76901	1.971489	1.591412
PCTUC_922	1.300489	1.381081	1.467731	2.008957	1.973597	2.134946	2.808802	3.163258	1.398622	1.656875
PCTUC_923	1.191862	1.585463	1.143061	2.031052	2.405917	3.874743	-1.967023	3.358653	1.087691	1.532369
PCTUC_924	1.518692	3.641808	3.494821	1.361807	1.99471	1.343629	-1.03239	-1.781882	2.09737	-2.384392
PCTUC_925	2.424894	2.040161	2.190496	2.154025	1.278334	1.416624	1.590514	2.341637	1.477663	2.725187

【０１２６】

【表３－２４】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_926	1.072146	1.919559	2.084503	1.99245	1.011251	2.278423	-1.304067	1.084692	-1.079548	-1.80759
PCTUC_927	-1.101332	1.821126	1.98096	2.582406	1.806138	-1.212027	1.171116	1.829475	1.941464	2.180511
PCTUC_928	1.238585	2.209098	2.432987	2.179409	1.149451	2.340422	1.355329	1.415694	1.08397	-1.223843
PCTUC_929	2.16326	1.219258	1.393823	3.200348	2.760397	2.15377	1.618364	2.005306	1.092598	-1.651047
PCTUC_930	1.507631	2.192262	2.35394	2.122252	1.663228	2.479362	-1.213437	1.090769	-1.149222	-1.471385
PCTUC_931	-1.02405	1.359214	1.94306	2.289215	3.077495	1.645102	2.155922	1.039858	1.343799	1.362534
PCTUC_932	1.975673	-1.065396	1.775844	2.857529	2.110501	1.937046	1.845351	2.05657	-1.258158	-1.216066
PCTUC_933	1.989775	2.301899	2.211407	2.059944	1.641539	2.929791	1.407341	1.54831	1.010886	-1.266786
PCTUC_934	2.596033	1.930659	2.12377	1.602472	1.913087	1.616478	1.237305	1.177842	1.013334	-1.807534
PCTUC_935	2.121555	2.019863	3.910625	2.859906	1.295485	2.428755	-1.44736	1.060927	1.645897	-1.674838
PCTUC_936	2.90906	-1.051498	2.174735	5.179016	4.19084	1.094927	5.459811	1.070757	3.521735	3.525177
PCTUC_937	2.907178	9.230203	2.312996	1.276643	1.504857	3.064947	1.020142	1.660377	1.513395	-1.338045
PCTUC_938	1.899924	3.569331	2.190631	1.89375	2.05869	2.338089	1.109879	1.828194	-1.334607	-1.661552
PCTUC_939	3.068882	2.580992	1.638408	2.981934	11.334661	1.983513	2.87102	3.14574	1.457221	1.217682
PCTUC_940	4.369292	2.150146	2.492596	2.16282	1.811484	2.83538	1.388755	1.554512	-1.103216	-1.020415
PCTUC_941	6.789319	2.83798	2.739652	-1.141878	1.460348	3.385786	3.089068	2.907079	1.402766	2.203065
PCTUC_942	8.814911	-2.69703	6.393185	12.043472	-1.465271	-1.412977	-1.811306	1.675567	1.103626	3.157614
PCTUC_943	2.181615	3.609258	2.070167	1.696407	1.338924	3.666498	1.075061	1.531565	1.111984	-1.632703
PCTUC_944	2.302399	2.098599	1.513715	-1.04266	2.621862	1.843041	2.498397	1.6392	1.850137	1.347077
PCTUC_945	1.999231	2.014684	3.082334	2.063655	1.362715	1.522345	1.550846	1.137903	1.755582	1.180404
PCTUC_946	2.545056	2.827518	2.61495	1.211746	2.104344	3.172343	-1.24995	1.939802	1.777056	-1.791084
PCTUC_947	2.561492	3.223751	2.778957	1.930789	1.553573	2.288532	1.312973	1.379707	1.309444	-1.475509
PCTUC_948	1.706577	-1.308394	-1.237869	1.039971	3.865446	-1.124776	2.213994	4.330243	-1.445415	2.07831
PCTUC_949	1.43762	3.289446	1.772405	1.788377	2.09428	3.346842	-1.188788	1.263286	1.919915	-1.14363
PCTUC_950	13.208265	9.352516	4.609438	8.549457	1.956832	5.91396	2.479738	8.393818	6.084914	4.093964
PCTUC_951	2.494127	1.998511	1.590633	-1.031617	2.656538	1.871348	2.61188	1.729258	1.833634	1.36509
PCTUC_952	2.82671	2.233259	3.037292	2.039842	2.084847	2.036369	1.827873	1.442905	2.043129	1.025536
PCTUC_953	2.853971	3.279671	4.436422	1.663468	3.558529	3.07094	2.967804	2.867549	3.798386	2.524811
PCTUC_954	3.898259	3.25054	3.100874	2.376224	2.463332	3.129348	1.128209	1.538464	1.22886	-1.176202
PCTUC_955	2.017269	1.446693	1.930404	1.320767	2.193144	2.363069	2.394411	2.180458	-1.101003	-1.863439
PCTUC_956	2.800478	5.191406	2.169827	2.550036	1.613759	4.62408	1.552741	2.699866	1.611055	1.67697
PCTUC_957	2.047268	2.226898	1.30777	2.2121	2.037518	1.703468	1.262165	1.267325	-1.487167	
PCTUC_958	2.344756	2.871189	3.006427	2.284117	4.198602	2.874749	9.091537	2.579849	2.25185	-1.038772
PCTUC_959	1.986256	2.648532	2.317293	2.659039	1.70162	2.090051	1.305155	1.579253	1.503822	-1.386404
PCTUC_960	2.235276	1.97325	1.955242	1.238362	2.183643	2.845635	1.507949	1.179313	1.183302	-1.464932
PCTUC_961	1.63631	1.274917	2.890156	-1.242321	3.175415	1.530236	3.29414	2.872372	1.096841	1.829785
PCTUC_962	2.321866	1.862551	1.916661	1.87765	2.2245	2.019459	1.862188	1.227619	1.190924	-1.438797
PCTUC_963	1.999053	1.822242	1.93074	1.022611	2.052344	2.151981	1.134676	1.309617	1.415813	-1.234398
PCTUC_964	2.92635	2.622254	2.912582	3.961787	1.85012	2.46002	1.865439	2.370393	-1.09332	-3.343158
PCTUC_965	2.240051	1.577813	2.167076	1.196908	2.714298	2.357135	1.837095	1.809527	1.743313	-1.162524

【０１２７】

【表３－２５】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_966	8.739191	1.618101	17.573606	7.109097	1.762113	2.646736	-1.230297	16.329386	-1.143001	-1.221426
PCTUC_967	3.445451	2.098926	3.399137	1.719636	2.686562	2.171907	1.72484	1.534128	1.603964	1.367996
PCTUC_968	2.356605	2.231912	1.267656	1.811389	3.422028	4.739057	1.944878	2.618026	-1.846025	-2.014114
PCTUC_969	2.303658	2.29328	1.62459	1.166594	1.631738	1.907598	1.905547	1.442495	1.500899	1.457679
PCTUC_970	3.712332	3.554731	3.460251	1.426326	2.987715	3.316134	2.077369	1.906654	2.141966	-1.005555
PCTUC_971	2.520978	2.121438	1.94307	1.326363	1.768682	2.386012	1.093453	1.315324	1.454897	-1.284141
PCTUC_972	2.542714	2.971309	2.511884	1.574862	2.593775	3.227783	-1.009619	1.343919	-1.032079	-1.399772
PCTUC_973	2.079656	1.617495	1.915495	1.297526	2.815989	1.251395	1.961825	2.074857	-1.041606	-1.257309
PCTUC_974	1.637691	3.281691	4.147404	3.280086	1.723133	2.587815	1.378796	1.798498	1.758659	1.092618
PCTUC_975	1.908338	1.326548	1.354787	1.804381	3.117997	1.943511	2.282181	2.703775	1.038239	-1.779081
PCTUC_976	2.122945	2.807116	2.32995	2.880146	1.539895	1.623674	1.062539	1.261934	1.465839	1.609397
PCTUC_977	2.142424	4.477849	3.614886	1.303536	1.630268	4.600121	-1.597071	3.386886	1.982753	-5.036413
PCTUC_978	1.844867	4.566318	3.164039	1.116617	1.187718	5.154942	-1.644976	3.034494	1.65744	-1.747205
PCTUC_979	3.689453	1.997519	1.491258	1.672252	2.057643	1.716536	-1.087847	1.360934	2.241092	1.105519
PCTUC_980	1.886542	2.248851	2.074873	1.414794	2.233084	2.386343	1.795594	1.492045	1.670228	-1.506544
PCTUC_981	2.08836	2.049679	2.05979	1.236637	2.006662	1.674169	1.624496	1.309471	2.548435	-1.017204
PCTUC_982	9.422415	5.445676	4.121441	3.337268	-1.077134	1.818088	2.996705	5.079009	3.42635	8.203172
PCTUC_983	2.169163	1.979837	3.120249	3.177388	1.344734	2.53358	1.54159	1.62574	1.1435	-2.666574
PCTUC_984	2.545414	3.161671	-1.048021	-1.020995	1.377628	2.02023	1.97024	-1.190315	1.653198	-1.202102
PCTUC_985	3.494484	5.996723	4.444107	3.225024	2.333731	4.662121	1.90137	2.882533	1.816393	3.0195
PCTUC_986	6.475299	5.153673	5.127562	1.588725	3.348598	8.491511	4.16046	8.290752	9.11205	1.558066
PCTUC_987	2.460184	2.194276	1.690811	1.674193	2.135545	1.509953	1.227295	1.284975	2.07757	1.044685
PCTUC_988	2.052341	2.031957	3.182646	2.178561	1.434476	2.254812	1.719378	1.654111	1.818505	-1.854655
PCTUC_989	2.641716	2.272612	1.178549	2.740248	2.787188	2.697165	1.935913	-1.211672	-1.055024	-1.235915
PCTUC_990	2.228094	2.029221	1.743631	2.108763	1.605475	1.922588	-1.141932	1.454403	-1.655129	-1.738252
PCTUC_991	-1.120914	2.574555	1.406036	-2.033588	2.358146	4.337499	-2.529357	3.53756	1.902414	-5.891994
PCTUC_992	2.587451	2.230571	2.801737	2.085155	1.888326	5.606849	2.492292	1.717627	1.557444	1.716952
PCTUC_993	2.389752	1.481784	1.738086	1.470533	3.590099	1.986168	2.308209	5.121046	-1.67648	-2.187591
PCTUC_994	3.214524	3.677742	4.622314	3.995251	2.352907	5.024633	2.315602	2.597577	-1.086497	1.236312
PCTUC_995	1.299307	2.503965	1.912283	-1.000929	1.964259	2.535233	1.611994	1.390142	1.288071	-1.528931
PCTUC_996	3.145576	2.075071	1.719235	1.5831	-1.106453	1.28686	2.158292	2.788701	2.345606	5.569685
PCTUC_997	3.614506	2.11737	2.371607	2.323291	1.895755	2.178464	-1.029413	1.827458	1.145476	-1.355086
PCTUC_998	1.503244	2.900391	2.956001	2.59196	1.536935	1.976933	1.262073	1.608358	1.431333	-1.122224
PCTUC_999	1.54409	2.00904	2.189009	1.112385	6.224452	1.493959	1.989163	1.052016	1.194044	-1.147475
PCTUC_1000	2.257364	1.945727	3.821304	2.174996	1.875551	2.20571	1.6934	1.670557	1.617663	-1.023672
PCTUC_1001	1.935329	2.216833	1.58268	3.462853	2.968328	1.130081	2.155692	3.082375	2.100547	-1.204434
PCTUC_1002	2.510861	1.434915	2.16613	1.911476	1.278224	2.096987	-1.294777	1.078077	-1.129435	-1.530266
PCTUC_1003	2.83421	1.655505	1.6249	2.138236	6.283207	1.4735	2.15687	1.821478	1.463017	1.283592
PCTUC_1004	2.979737	2.171031	2.224337	1.850705	1.290176	3.601119	-1.07069	1.343604	-1.143005	-2.140174
PCTUC_1005	1.557493	2.305755	2.095499	2.149415	1.390719	2.16352	1.304812	1.170797	-1.375762	-2.103141

【０１２８】

【表３－２６】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_1006	5.535388	7.73051	3.142701	-1.084378	3.258003	9.251185	1.590991	5.711594	4.310499	-1.261379
PCTUC_1007	2.615719	1.901241	1.692383	1.787937	2.608618	2.718569	1.268528	2.513555	-1.982436	-1.091678
PCTUC_1008	1.663619	1.794802	6.374212	1.840365	4.460235	1.276398	2.204101	1.638292	4.717824	3.206786
PCTUC_1009	2.892305	2.170208	1.440984	1.408635	2.93398	1.652535	1.975113	2.175845	-1.12018	-1.256014
PCTUC_1010	1.880008	1.988196	2.131428	2.353244	1.907687	2.162597	1.310228	1.180317	1.430186	1.023308
PCTUC_1011	2.377302	2.395559	2.353736	1.510876	2.469237	2.407776	1.636206	1.314562	1.337553	-1.441501
PCTUC_1012	7.20619	3.67785	3.583454	2.960135	3.33169	4.84285	2.186353	2.722289	-1.262478	-1.152552
PCTUC_1013	2.295973	1.924709	2.110733	2.214748	1.67961	2.04709	1.407198	1.560425	1.47126	1.312585
PCTUC_1014	1.945588	6.071303	6.141302	4.545424	1.493324	6.928616	1.055858	1.73243	2.155555	1.436217
PCTUC_1015	2.437442	2.363077	1.907915	1.24577	2.015562	1.976716	1.164299	1.108067	1.452288	-1.039557
PCTUC_1016	2.648614	2.691739	2.125413	1.510101	1.551306	1.382746	1.236182	2.766599	3.571078	2.098697
PCTUC_1017	2.08836	2.478742	2.411507	1.85197	2.521672	2.340813	1.321283	1.651027	-1.085383	-1.248735
PCTUC_1018	2.211551	2.414348	2.150821	1.263532	2.090107	1.948146	1.027787	1.058867	1.177399	-1.100196
PCTUC_1019	2.243053	2.254891	2.0381	1.362609	2.175798	2.038241	1.053319	1.24096	1.37697	1.005457
PCTUC_1020	2.178661	2.363133	1.977522	1.234102	2.011053	2.229994	1.313133	1.350871	1.360874	-1.033352
PCTUC_1021	3.163341	2.58837	2.621589	1.408393	3.120556	3.197343	2.049208	1.526544	1.221605	-1.309624
PCTUC_1022	2.174315	2.401368	2.06502	1.434312	1.691736	1.934023	1.118641	1.445595	1.440211	-1.104546
PCTUC_1023	2.03722	1.811963	2.094636	1.388881	2.020649	2.286244	1.199824	1.239642	1.410419	-1.164296
PCTUC_1024	2.445513	2.453608	1.804029	3.237316	1.742311	2.001559	1.172226	1.705722	-1.206812	-1.054981
PCTUC_1025	2.117916	2.15395	2.049663	1.506818	1.973658	2.404986	1.106891	1.008177	-1.131864	-1.427144
PCTUC_1026	2.10133	1.767012	2.766461	1.130868	2.016076	2.11835	-1.035554	1.054889	1.15996	-1.218929
PCTUC_1027	2.237257	2.367525	2.2373	1.669054	1.671289	2.190092	1.41212	1.34154	1.687925	-1.292349
PCTUC_1028	1.694805	3.393244	2.780445	1.023844	1.428	3.870844	-1.713348	3.093784	1.692219	-7.325786
PCTUC_1029	3.43763	2.470928	2.477139	1.661261	1.722777	2.591095	1.170344	1.749711	1.783676	-1.138249
PCTUC_1030	1.676745	3.116692	1.956181	2.168289	1.894927	2.480039	1.690515	1.771112	1.444623	-1.221338
PCTUC_1031	2.563475	2.375423	2.750607	1.337144	2.270017	2.688212	1.639698	1.950274	1.999945	1.067321
PCTUC_1032	1.701297	7.355005	8.588897	6.225047	1.699016	8.662786	1.111851	1.969947	1.904457	1.343916
PCTUC_1033	2.254854	2.130038	1.321677	1.750454	2.423863	2.168242	1.83769	-1.03914	1.615783	1.27235
PCTUC_1034	2.101815	2.041247	1.677848	1.32662	2.254946	2.150622	1.288981	1.17577	1.315346	-1.072515
PCTUC_1035	2.007621	2.009369	2.074745	1.271912	2.072435	1.867998	1.425122	1.339841	1.516976	-1.286181
PCTUC_1036	2.671005	2.959068	3.898445	2.528466	2.557439	3.322184	1.418265	1.509088	2.627051	1.135941
PCTUC_1037	2.553691	1.57382	1.76822	2.366851	1.942184	1.914963	1.260587	1.324501	1.198238	-1.551652
PCTUC_1038	2.632271	2.32554	1.337809	2.459163	3.139472	2.619273	2.006016	-1.109492	1.349718	1.086261
PCTUC_1039	2.077623	1.529966	1.836295	1.394481	1.958322	2.990175	1.283478	1.915295	1.754567	-1.138346
PCTUC_1040	2.194537	2.398347	2.303395	1.89259	2.729439	2.314548	1.527413	1.683415	1.129444	-1.559905
PCTUC_1041	2.330321	2.353049	2.368518	1.439722	1.806904	2.059229	1.561613	1.930949	1.902644	-1.386571
PCTUC_1042	1.512719	1.910023	2.468123	1.859708	2.13613	3.089431	1.932695	3.129841	1.719934	-1.320877
PCTUC_1043	2.258492	3.003565	2.174273	1.297437	2.415284	2.218593	2.379896	2.101869	1.637499	1.196839
PCTUC_1044	3.830532	2.841184	3.037506	1.615478	3.303318	3.22484	1.934236	2.257307	2.405261	1.09738
PCTUC_1045	2.521084	2.768955	2.359327	1.532786	2.363462	2.879969	1.782096	1.488046	1.917997	1.11014

【０１２９】

【表３－２７】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_1046	2.691287	2.029598	2.164129	1.569587	2.17121	2.405005	1.380251	1.708364	2.180275	1.085321
PCTUC_1047	4.148441	3.724395	2.311642	2.541887	2.194607	2.321114	3.516298	4.373227	3.01992	4.139297
PCTUC_1048	3.402202	3.200241	2.513871	2.593382	1.939163	2.195277	3.486061	5.021372	2.803599	4.429878
PCTUC_1049	2.740732	2.697594	2.084831	2.384646	2.168709	2.188752	2.981335	3.233166	1.950319	3.128412
PCTUC_1050	1.640787	2.482057	1.476933	1.563183	2.135159	1.613317	1.971067	2.743932	1.618722	2.855495
PCTUC_1051	1.358934	2.087856	1.620875	1.902402	1.913099	2.123477	1.513347	1.615171	-1.039459	1.834816
PCTUC_1052	2.165557	1.650278	1.46462	1.314437	1.562692	1.744405	2.047574	2.076573	1.551619	1.922986
PCTUC_1053	2.334652	3.100399	1.809538	1.788479	3.325128	2.097268	3.603894	3.217664	2.832975	3.028847
PCTUC_1054	2.429376	1.579998	1.683261	1.886491	1.238793	2.507241	2.729321	3.044449	3.602959	2.788986
PCTUC_1055	1.001255	4.122614	1.903675	1.909667	2.93935	2.402552	1.661436	2.673273	1.955399	2.420513
PCTUC_1056	5.635899	4.017169	2.059601	2.393082	1.742979	2.051499	3.139189	3.432348	2.196797	2.255609
PCTUC_1057	3.696463	3.913398	2.197404	2.421372	1.805608	2.215758	2.988161	3.701127	2.786364	3.401309
PCTUC_1058	2.074971	2.023162	1.930327	1.872757	1.92556	2.13731	1.384542	2.027797	1.059753	2.095294
PCTUC_1059	3.01785	2.41626	2.067343	1.854001	1.630117	1.343765	2.219798	2.697312	2.333196	3.102681
PCTUC_1060	3.432813	3.74384	2.526108	2.254666	1.940598	2.088285	2.860373	3.085011	2.016002	3.103222
PCTUC_1061	3.597329	3.734005	2.229716	2.217949	1.926729	2.242374	2.994492	2.948725	2.439886	3.150199
PCTUC_1062	2.533764	1.934094	2.167086	2.696558	1.715214	1.60416	1.591494	2.034929	1.556863	2.421872
PCTUC_1063	2.157444	2.482796	1.867876	1.765957	1.589517	1.987271	1.375089	1.998077	2.016782	1.889572
PCTUC_1064	4.09897	3.738977	2.442533	2.412839	2.164216	2.755367	4.411705	5.011181	3.46172	5.131229
PCTUC_1065	2.054724	2.228052	2.512652	1.919982	2.701186	1.490694	2.590107	2.38876	2.363459	4.526927
PCTUC_1066	2.084735	2.24061	1.429457	1.82487	2.75413	1.794536	1.984237	2.119993	1.470474	2.544308
PCTUC_1067	2.933006	4.749996	2.385475	1.909325	4.58545	2.013362	4.187653	3.594945	3.306826	4.448132
PCTUC_1068	2.701608	1.184968	1.307782	2.119545	3.026683	1.308447	2.572794	2.035954	1.168742	-1.62542
PCTUC_1069	2.625726	4.286357	2.167391	2.290825	4.321199	2.068573	2.871417	4.054071	2.894181	4.689563
PCTUC_1070	1.584965	1.882021	1.744875	2.283847	1.837694	2.118418	2.070433	2.04862	1.577364	2.154318
PCTUC_1071	1.470987	2.153697	1.495836	1.419932	5.155255	1.388731	3.577526	3.684772	1.714653	3.6624
PCTUC_1072	2.802821	2.533034	1.67031	2.088873	1.771321	2.028962	2.494959	2.520422	1.52116	2.786445
PCTUC_1073	2.478014	2.234136	1.961086	1.38199	5.264887	1.354737	5.133123	5.65145	-1.088542	2.657814
PCTUC_1074	2.892866	2.33099	1.988019	2.946748	1.108592	1.538652	-2.114757	-1.873364	1.578808	1.499023
PCTUC_1075	4.04627	4.70859	2.551507	1.56122	1.826874	5.673028	1.487911	3.36078	1.996255	-1.226855
PCTUC_1076	3.606797	4.151217	1.930236	2.696807	5.593647	1.079724	-1.086661	1.298582	-2.48976	-1.297809
PCTUC_1077	1.616496	3.197529	3.108619	1.130574	1.346149	3.755108	-1.717643	3.507391	2.243764	-6.207491
PCTUC_1078	1.422069	4.019051	1.909229	1.279646	1.15715	2.035899	1.0433	3.818222	1.377906	-1.549799
PCTUC_1079	2.122901	1.275714	1.809766	3.093876	3.302016	1.837077	1.661645	3.01799	-1.788427	-1.698747
PCTUC_1080	1.828537	1.957328	1.229454	1.199278	1.232905	1.44747	1.984165	2.345122	1.636858	1.950357
PCTUC_1081	6.836148	5.102329	2.717062	2.208524	2.300102	2.589691	5.375653	6.566166	5.535592	6.460448
PCTUC_1082	6.903161	1.482253	2.091234	6.780239	1.029036	5.148818	1.46638	4.037243	3.383032	2.662901
PCTUC_1083	2.452948	1.82755	2.15254	2.260958	1.523636	1.742403	2.213345	3.029419	1.749504	1.541367
PCTUC_1084	2.247821	2.066517	2.982403	1.608464	2.04356	5.43197	2.509498	1.651137	2.294021	2.377209
PCTUC_1085	1.874127	1.955559	1.498886	1.842026	1.538427	1.892009	2.399117	2.119305	1.629489	2.086697

【０１３０】

【表３－２８】

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTUC_1086	2.847633	6.075811	4.381285	1.511456	1.868587	5.73202	-1.514249	5.886267	2.988024	-5.816788
PCTUC_1087	1.3664	2.123451	2.9151	2.105061	2.410319	2.234142	-1.571367	1.514389	1.084099	-1.197264
PCTUC_1088	1.936453	1.911005	2.479018	1.812969	2.036546	1.200861	-1.078458	1.518761	1.225581	-1.545213
PCTUC_1089	1.24914	1.909665	1.100831	-1.024006	1.882236	1.151515	1.412061	2.449138	2.136675	-2.094553
PCTUC_1090	2.427823	3.291917	2.632262	-1.157801	2.557583	4.012289	-1.088193	3.326313	1.816009	-1.895476
PCTUC_1091	-1.135505	-1.247456	-1.045071	-1.085618	2.864153	-1.468186	2.400961	3.376961	-1.036417	2.125376
PCTUC_1092	3.410679	6.492293	1.777087	1.695987	2.327668	1.86228	1.19823	2.141057	2.600541	-1.064478
PCTUC_1093	3.755767	4.141311	4.201713	2.539634	3.961076	2.556667	2.182766	2.833895	2.716894	1.994166
PCTUC_1094	2.617909	2.304399	2.340273	2.152541	2.739291	1.917973	1.256288	1.742476	1.373519	-1.040928
PCTUC_1095	3.191518	2.927253	2.048578	1.963189	1.810486	2.621555	2.247114	3.160852	1.67503	3.055504
PCTUC_1096	2.476109	2.670372	1.640251	1.433016	1.183916	2.855342	3.209525	3.223669	2.431496	1.144113
PCTUC_1097	2.792058	1.011758	2.032809	4.583232	2.712476	1.188027	7.007524	2.897435	4.072117	3.561213
PCTUC_1098	3.151127	3.072883	3.069124	2.292287	3.349233	2.235905	3.822684	3.685224	2.116626	1.788512
PCTUC_1099	1.913735	1.955109	2.239843	2.06643	1.812519	1.330936	1.352804	1.032184	1.913205	1.142619
PCTUC_1100	2.463933	2.147176	3.594009	3.065532	4.90844	3.01892	3.443123	4.852659	3.883996	-1.016162
PCTUC_1101	2.644637	2.395418	2.492429	1.721552	2.093062	1.497275	-1.124809	1.461785	-1.018584	-1.077507
PCTUC_1102	1.794169	4.295766	1.950269	1.521305	3.031758	1.789655	3.265229	4.170906	3.68111	3.87418
PCTUC_1103	3.468701	3.695837	2.574288	3.952629	14.716324	3.608782	5.252712	8.523944	3.121104	4.45085
PCTUC_1104	1.125964	2.803037	2.456732	2.102422	-1.074769	2.588284	1.178718	1.538689	-1.197036	-1.466973
PCTUC_1105	2.568763	2.527151	2.689841	2.754335	1.771922	1.527503	1.550702	1.517095	3.307125	-1.187629
PCTUC_1106	2.643478	2.604252	3.498866	3.627512	1.705972	1.770228	1.134965	1.313179	2.075559	-1.295864
PCTUC_1107	1.526503	3.075097	1.460604	1.517412	2.6556	1.523458	2.687189	2.26406	2.135197	2.66312
PCTUC_1108	2.463843	2.560478	3.215582	1.354654	1.810031	2.183624	2.147157	2.902527	-1.371394	1.466713
PCTUC_1109	3.588415	2.108878	2.986275	1.881867	2.134955	2.225928	2.196385	2.044623	2.626373	2.64584
PCTUC_1110	2.204521	2.448262	2.352178	2.286165	1.417835	1.354471	1.193941	1.553985	1.463523	-1.03174
PCTUC_1111	2.069705	2.8492	1.984487	2.394027	3.019645	1.685433	2.241103	1.567154	-1.032259	-1.041822
PCTUC_1112	5.447097	2.774286	1.580806	1.491514	1.893947	2.082848	1.4844	2.695112	1.403345	-1.788018
PCTUC_1113	7.077715	9.720737	2.134717	4.605519	9.415028	2.861085	1.342187	4.543931	4.665126	3.338884
PCTUC_1114	1.609405	3.273106	1.546363	1.695939	2.102199	1.582855	2.503864	4.677818	2.280037	7.309894
PCTUC_1115	2.537809	2.632147	1.810424	3.062999	2.56556	1.654223	1.319917	1.579363	1.971646	-1.049361
PCTUC_1116	1.964747	2.737338	1.587556	1.63718	2.788908	1.374163	2.717865	2.334999	1.905592	2.724711
PCTUC_1117	1.654424	3.967134	-1.022176	1.599265	1.611094	2.810961	2.866595	9.361756	-1.230064	2.835042
PCTUC_1118	1.423818	1.82765	1.933905	1.546609	2.088507	2.992826	2.338832	2.094304	1.685008	2.157194
PCTUC_1119	1.956617	1.911459	1.960848	1.916424	1.27242	1.330389	1.214922	1.499869	1.134647	1.376153
PCTUC_1120	2.248806	2.269157	1.875802	1.964867	1.680379	1.943912	1.350693	1.483964	-1.036967	1.453104

【０１３１】

【表４－１】

TABLE 4

Internal Id	Colon Tumor 1	Colon Tumor 2	Colon Tumor 3	Colon Tumor 4	Colon Tumor 5	Colon Tumor 6	Colon Tumor 7	Colon Tumor 8	Colon Tumor 9	Colon Tumor 10
PCTDC_1	-3.686332	-3.764107	-2.186606	-3.680799	-3.84198	-2.083407	-8.688679	-9.78441	-14.029575	-6.670203
PCTDC_2	-1.77226	-1.420686	-1.947258	-2.290254	-1.328009	-2.114774	-4.047634	-2.835961	-2.071182	-3.214962
PCTDC_3	-2.830777	-2.188274	-2.38472	-2.302896	-2.112362	-1.927832	-3.16564	-2.886491	-2.446894	-1.904502
PCTDC_4	-1.323522	-2.135768	-1.45575	-1.914081	1.438666	-1.855833	-1.014881	-6.896226	-1.656962	-2.489081
PCTDC_5	-2.235407	-1.80509	-2.016836	-2.171651	-1.418959	-1.842869	-3.031669	-2.735307	-3.107583	-2.954397
PCTDC_6	-2.667534	-1.160172	-2.10837	-1.32617	-2.153253	-1.232452	-1.392996	-1.036028	-1.758322	-3.107631
PCTDC_7	1.021256	-25.105358	1.439239	-7.869633	-1.171115	-8.855359	-1.216792	-24.185755	1.414277	-18.743429
PCTDC_8	-2.234816	-1.242266	-1.243916	-1.636976	-1.064982	-1.019038	-1.904193	-1.840326	-2.781147	-3.551286
PCTDC_9	-16.672455	-36.952839	-14.68694	-31.487497	-32.52441	-16.077021	-59.434616	-38.668518	-51.549026	-43.448406
PCTDC_10	-1.434666	-1.613476	-2.514822	-2.946794	-2.143325	-2.379478	-3.532775	-1.889631	-2.401799	-4.232121
PCTDC_11	-9.385355	-4.410996	-4.533406	-13.051781	-9.788757	-5.102507	-20.116104	-7.378749	-9.099745	-8.085587
PCTDC_12	-3.030862	1.265934	-2.241221	1.405932	-2.084695	1.072907	-1.407256	1.180162	-1.905116	-3.182707
PCTDC_13	-5.984219	-3.497875	-3.012388	-5.099751	-4.836649	-4.354877	-4.62117	-11.826143	-3.442251	-5.913578
PCTDC_14	-1.413376	-1.002366	1.266685	1.365882	-1.425659	-1.56822	-2.118925	-1.938972	-1.961342	-1.970369
PCTDC_15	-2.996104	-1.091542	-1.403562	-1.430543	-2.256678	-2.433607	-5.873315	-2.510856	-1.735214	-5.508246
PCTDC_16	-2.943326	-2.249868	-2.035691	-1.535672	-1.933099	-3.29295	-6.804746	-2.026004	-2.810378	-1.862623
PCTDC_17	-1.54203	-2.192574	-2.076071	-1.693325	-1.265747	-2.036594	-2.364163	-4.195938	-3.319173	-3.066366
PCTDC_18	-2.54153	-1.691014	-1.825847	-2.509501	-2.54944	-1.872667	-4.038313	-2.298284	-2.932148	-2.821428
PCTDC_19	-2.096784	-2.959664	-1.619618	-1.55181	-1.288303	-2.898973	-3.003338	-2.332875	-1.90442	-2.035478
PCTDC_20	-4.713184	-2.644333	-2.191245	-3.963356	-7.454573	-4.287554	-3.738031	-19.061356	-3.511957	-10.332695
PCTDC_21	-2.334953	1.145789	-1.030932	-2.206662	-2.146682	-1.115742	-5.497366	1.296405	-3.967105	-4.493529
PCTDC_22	1.237133	2.211828	-1.071583	1.450114	-2.12071	1.448982	-2.034846	-2.080018	-1.381942	-6.800498
PCTDC_23	-7.005491	-9.202102	-4.653239	-6.05403	-13.13538	-5.260255	-5.300622	-19.321873	-11.009766	-11.427928
PCTDC_24	-5.951272	-3.290831	-3.232419	-4.298961	-4.875925	-3.6086	-7.682777	-4.40144	-4.022962	-2.925095
PCTDC_25	-2.081615	-6.085269	-1.765094	-2.220059	1.845746	-3.207089	-2.655337	-3.553803	-6.520929	-3.446985
PCTDC_26	-2.293379	-1.050853	-1.285113	-1.328853	-1.934643	-1.940149	-3.591095	-1.951122	-1.37034	-3.077018
PCTDC_27	-2.839561	1.611821	-2.185083	-5.724341	-1.866924	3.660588	-10.868382	1.926474	-1.630994	-8.4668
PCTDC_28	-1.563559	-1.277798	-1.635946	-1.273865	-1.36657	-1.321581	-3.660369	-1.933117	-2.098044	-4.096041
PCTDC_29	1.078378	1.039777	-1.32094	1.030855	-1.184824	-1.005047	-2.532266	-2.431369	-2.85346	-3.993455
PCTDC_30	-1.29269	-1.946759	-2.059295	-2.439818	-1.469364	-1.960798	-2.788447	-3.257213	-2.917638	-2.279913
PCTDC_31	-1.012831	-1.271201	-1.522388	-1.413658	-1.035629	-1.46709	-2.706539	-3.315894	-3.28479	-1.964129
PCTDC_32	-1.400573	-2.489946	-2.067323	-2.041809	-2.21355	-1.97579	-2.158711	-2.641496	-2.999132	-2.193696
PCTDC_33	-1.792293	-1.204384	-1.955245	-2.213695	-1.2927	-1.526485	-1.673905	-1.723348	-2.351685	-2.155787
PCTDC_34	-9.176607	-4.869056	-4.837561	-9.30142	-6.392067	-4.70703	-12.4248	-6.442802	-6.281425	-5.773592
PCTDC_35	-1.325917	-1.476112	-1.903347	-1.844246	-1.166259	-1.891547	-2.539454	-2.715621	-3.328795	-1.898967
PCTDC_36	-2.577685	-2.057103	-2.070463	-2.040741	-2.200454	-2.28446	-2.584173	-2.668974	-1.717271	-1.928648
PCTDC_37	-6.387117	-3.830329	-3.541164	-5.297482	-5.487053	-4.428577	-9.50749	-5.010199	-4.99507	-3.553512
PCTDC_38	-1.808332	-1.838845	-1.399662	-1.668483	-2.744579	-1.792163	-3.028126	-2.257229	-2.170509	-4.585708
PCTDC_39	-2.020502	-1.953096	-2.389464	-2.185357	-1.589978	-2.005652	-4.330509	-2.296262	-4.873521	-2.819757
PCTDC_40	-2.345016	-1.103264	-1.3714	-2.098808	-1.36887	-1.772813	-4.667068	-2.386149	-2.537639	-3.865486
PCTDC_41	-1.30085	-1.293364	-2.020555	-1.683774	-1.218266	1.564349	-2.61227	-3.514743	-3.92785	-2.121385

【０１３２】

【表４－２】

PCTDC_42	-6.69437	-3.298533	-3.746257	-6.221455	-5.266223	-3.7603	-9.58972	-4.996074	-4.661958	-4.888981
PCTDC_43	-2.282477	-2.061087	-2.344448	-2.35339	-1.983304	-2.077527	-3.233304	-2.467427	-2.282286	-2.178664
PCTDC_44	-2.485822	-1.833041	-2.228038	-2.318379	-1.774187	-2.102059	-3.104153	-4.135684	-3.281705	-3.038427
PCTDC_45	-2.598734	-1.185102	-2.771417	-3.295656	-2.129327	-2.089204	-2.438284	-5.021548	-2.835689	-5.339724
PCTDC_46	-6.373006	-9.560293	-2.788558	-3.045106	-6.789342	-2.472825	1.256632	-5.916982	-13.388905	-2.907615
PCTDC_47	-4.87862	-2.657794	-2.552702	-4.304638	-4.328265	-3.70784	-4.090519	-10.020152	-4.129423	-6.91205
PCTDC_48	-1.898269	-1.156685	-1.726415	-1.402836	-1.626888	-1.450668	-2.800931	-2.528788	-2.254879	-2.278187
PCTDC_49	-1.255479	1.182284	-1.860565	-1.56444	-2.199043	-1.29667	-2.640137	-1.01344	-2.202153	-3.045769
PCTDC_50	-12.934993	-5.623239	-5.310431	-13.596727	-12.429982	-6.235202	-18.762634	-8.091263	-8.401872	-8.138474
PCTDC_51	-5.198398	-4.477626	-4.28704	-4.892914	-3.817191	-4.412484	-9.920094	-5.504246	-5.859859	-4.390945
PCTDC_52	-2.349524	-1.820608	-2.454295	-2.495358	-2.524858	-2.228088	-4.798067	-4.327576	-5.975545	-4.351716
PCTDC_53	-1.195486	-1.319256	-1.530677	-1.392	-1.095178	-1.588446	-3.653877	-2.09207	-2.502064	-3.282234
PCTDC_54	-1.265201	-1.569405	-2.220051	-2.484167	-1.76688	-1.68808	-2.522207	-2.462492	-2.462886	-2.378968
PCTDC_55	-1.88841	-5.731989	-2.436103	-3.851297	-3.033818	-2.748683	-9.275631	-7.243145	-6.042737	-1.017954
PCTDC_56	-6.924843	-4.498032	-4.446744	-6.123724	-5.885492	-4.223862	-9.964831	-5.768355	-6.104057	-5.487343
PCTDC_57	-1.721724	-5.243209	-2.373629	-3.036423	-3.06899	-2.605145	-8.748384	-6.431192	-5.936039	1.013381
PCTDC_58	-1.942217	-2.25106	-2.107988	-1.765252	-1.959601	-1.912733	-2.253616	-2.626545	-1.998992	-1.811559
PCTDC_59	-2.031986	2.064397	-1.413948	-1.241656	-1.031326	-1.583744	-2.902067	-2.160966	-2.559188	-2.171652
PCTDC_60	-7.579762	-4.952477	-5.026139	-8.268243	-6.976716	-4.594235	-9.801021	-6.549976	-8.366997	-6.324865
PCTDC_61	-1.848968	-1.066639	-1.398534	-1.855107	-1.062309	-1.721365	-2.107157	-2.72991	-2.706889	-2.094767
PCTDC_62	-2.240544	-1.273063	-2.48321	-1.429924	-1.609147	-1.656653	-2.405285	-2.427855	-1.90805	-1.702626
PCTDC_63	-2.854465	-2.842449	-3.035436	-2.914622	1.10521	-2.059103	-1.267867	-2.900948	-5.406435	-2.089989
PCTDC_64	-3.893095	-2.440034	-1.984535	-3.534865	-4.673214	-3.331235	-3.260733	-8.222388	-2.997291	-5.712786
PCTDC_65	-1.732418	-1.829374	-1.810178	-2.663752	-1.023093	-1.749293	-1.990184	-2.138188	-2.393138	-4.281384
PCTDC_66	-2.16481	-1.621258	-1.986666	-1.997742	-1.548889	-1.418086	-2.319613	-2.252599	-1.721568	-1.527662
PCTDC_67	-1.901971	-1.24001	-1.747679	-1.402124	-1.510826	-1.44361	-2.3941	-2.584812	-2.320981	-2.128469
PCTDC_68	-2.217162	-1.195414	-1.493331	-1.936626	-1.071265	-1.453052	-3.169803	-2.645681	-3.19537	-2.847229
PCTDC_69	-1.245448	-1.448996	-1.999391	-1.5595	-1.106344	-1.607833	-2.533608	-3.170008	-3.630129	-2.208691
PCTDC_70	-1.998234	-2.018207	-2.033922	-1.801316	-1.697051	-1.883712	-4.296963	-4.564299	-5.013136	-3.408126
PCTDC_71	-1.511911	-1.458437	-1.272488	-1.458376	-2.154458	-1.567635	-2.335572	-1.933825	-2.3208	-4.172569
PCTDC_72	-1.203158	-2.797158	-1.235114	1.005051	1.023688	-1.275921	-1.417767	-3.189466	-2.712248	-2.466872
PCTDC_73	-1.541916	-1.903445	-1.544858	-2.257688	-1.289162	-2.065163	-1.510612	-3.397659	-2.772774	-2.795055
PCTDC_74	-4.853553	-3.635271	-5.199815	-6.211979	-5.240062	-4.120387	-8.364182	-5.820191	-8.033478	-5.058536
PCTDC_75	-3.273766	-14.657293	-2.862239	-1.764461	-1.760385	-5.651796	-2.522639	-11.103881	-8.209849	-2.939723
PCTDC_76	-1.217171	-1.296736	-1.144786	1.079204	-1.260905	-1.300726	-2.012938	-2.021577	-2.267975	-2.526409
PCTDC_77	-1.797696	1.103401	-1.335014	-2.339793	-1.511612	1.156325	-2.42797	-1.702881	-2.322926	-2.977733
PCTDC_78	-2.456534	-1.875372	-2.855611	-2.716163	-2.373691	-1.994662	-4.118546	-3.399733	-4.519724	-3.063789
PCTDC_79	-2.525538	-2.232876	-3.110879	-3.264385	-3.456531	-3.005263	-3.964085	-3.305238	-6.023715	-3.777092
PCTDC_80	-1.630138	-1.35257	-1.631509	-1.196468	-4.494679	-2.22871	-2.531804	-2.986517	-2.009376	1.426795
PCTDC_81	-1.929872	-1.113005	1.031929	1.007586	-2.347475	-1.029887	-2.659047	-1.291147	-1.465626	-2.568156
PCTDC_82	-1.70836	-1.282488	-1.783215	-1.979933	-1.949185	-1.456901	-2.558453	-1.890956	-1.654315	-2.291716
PCTDC_83	-1.243828	-1.987254	-1.764672	-2.130092	-1.901367	-1.483869	-1.774219	-1.906184	-2.040671	-1.55863
PCTDC_84	1.232643	-2.07259	-1.662058	-1.68123	-1.850402	-1.488962	-1.738312	-2.997032	-3.06989	-2.522394
PCTDC_85	-3.765696	-3.829437	-3.300366	-1.734307	-2.508329	-3.397085	-1.800004	-4.670069	-5.907787	-4.243998
PCTDC_86	-6.189479	-3.353586	-3.170256	-5.04737	-5.663467	-4.629498	-5.268767	-16.325615	-5.504815	-10.651917

【０１３３】

【表４－３】

PCTDC_87	-2.475857	-3.51374	-2.164196	-1.447658	-2.618937	-2.965783	-4.651131	-4.426116	-5.074196	-3.048017
PCTDC_88	1.944102	-1.259746	-3.338257	1.38276	-1.214961	1.176969	-1.816881	-2.221296	-2.040161	-3.435726
PCTDC_89	-5.932095	-3.275715	-2.963247	-5.379752	-6.126326	-4.648353	-5.023491	-16.478586	-5.259194	-10.594707
PCTDC_90	-4.716655	-5.929635	-3.482047	-3.96486	-6.801842	-3.987328	-3.317574	-10.907522	-7.503156	-7.047785
PCTDC_91	-4.519485	-5.358361	-3.661997	-4.073708	-6.157125	-4.017776	-3.727969	-10.129467	-7.625894	-6.47775
PCTDC_92	-1.685087	-1.691207	-1.860737	-1.845194	-1.751631	-1.55329	-2.539011	-2.670223	-2.961054	-2.324611
PCTDC_93	-1.492022	-1.006958	-1.228877	-1.906211	-1.943167	1.239372	-2.519451	-1.614062	-2.468781	-2.956497
PCTDC_94	1.237337	-1.164018	-1.261906	-1.155859	1.205331	-1.568057	-2.680018	-2.582005	-3.017979	-2.11765
PCTDC_95	-2.12835	-2.041079	-1.984469	-2.045971	-1.898901	-1.838165	-2.816427	-3.051432	-3.385318	-2.692921
PCTDC_96	-2.078055	-2.330517	-1.327108	-1.441385	-3.743099	-2.54813	-2.836381	-3.19527	-1.011483	-1.329053
PCTDC_97	-1.334297	-2.087266	-2.462863	-1.61449	-1.632635	-1.734123	-2.982916	-2.245812	-4.641543	-2.431019
PCTDC_98	-2.000543	-1.611817	-1.535503	-1.859716	-2.520927	-1.863264	-4.766246	-2.206263	-2.463233	-2.087883
PCTDC_99	-3.419719	-1.580899	-2.110636	-3.050031	-3.421836	-2.330333	-8.410342	-5.218665	-4.778626	-4.32383
PCTDC_100	-2.379466	-1.420795	-1.926739	-2.998748	-2.869548	-1.487802	-6.952064	-3.395472	-3.807495	-5.184178
PCTDC_101	-2.000934	-1.77734	-1.552652	-2.221759	-2.488121	-2.103176	-2.342718	-3.634921	-1.789127	-3.305705
PCTDC_102	-3.985031	-5.559905	-3.089806	-5.037643	-9.124702	-3.95919	-3.523541	-15.429191	-9.570858	-11.63169
PCTDC_103	-1.916361	-1.481127	-1.837724	-2.897688	-1.658977	-1.597318	-3.302787	-1.97656	-1.831488	-2.571605
PCTDC_104	-2.531153	-2.705933	-2.725935	-3.236739	-2.795705	-2.179013	-8.550433	-4.822043	-9.241587	-8.620716
PCTDC_105	1.216257	-1.641811	-1.067287	1.311882	1.061105	-1.186902	-2.28356	-1.916777	-2.520292	-4.656952
PCTDC_106	-2.073981	-1.348887	-1.531421	-1.910613	-2.255851	-1.574975	-4.112132	-2.460182	-2.674212	-2.620046
PCTDC_107	-2.031476	-1.595985	-1.77897	-1.50754	-2.122092	-1.285797	-4.282806	-2.194912	-2.682937	-2.991414
PCTDC_108	-2.335722	-2.427527	-2.178308	-2.322503	-3.071886	-1.536358	-5.271469	-2.617043	-3.87438	-5.142908
PCTDC_109	-1.91579	1.12028	-1.746202	-3.056107	-3.911528	-1.098137	-6.498635	-2.601364	-4.266908	-7.241029
PCTDC_110	-11.250849	-5.493386	-5.459946	-6.066711	-7.821973	-5.741544	-20.645773	-8.901743	-13.201766	-9.474846
PCTDC_111	-4.779661	-2.762719	-2.382575	-4.451578	-4.830759	-3.784938	-4.775443	-13.710231	-4.736529	-9.753855
PCTDC_112	-4.049462	-5.77829	-3.279663	-4.752324	-7.3581	-3.770256	-3.896379	-13.006416	-8.495649	-9.174363
PCTDC_113	-4.345043	-3.027864	-2.915782	-2.857641	-3.202537	-3.182243	-5.411848	-3.122021	-6.497146	-5.564974
PCTDC_114	-1.556411	-1.673897	-1.841856	-2.564856	-1.955312	-1.430802	-1.9482	-1.666666	-2.218147	-1.823165
PCTDC_115	-1.410966	-1.522985	-1.206489	-1.477594	-2.159136	-1.466078	-2.758297	-2.215887	-2.567012	-4.594712
PCTDC_116	-1.671688	-1.465093	-1.653697	-1.982813	-2.208729	-1.510808	-4.142076	-2.876519	-3.256964	-2.992515
PCTDC_117	-4.229105	-5.642348	-3.183808	-4.386364	-6.983963	-3.690495	-4.032526	-12.182355	-8.187602	-9.412992
PCTDC_118	-1.964442	1.805349	-1.85113	-4.038047	-1.632577	3.702723	-6.816492	1.465504	-3.411267	-5.558865
PCTDC_119	-2.186803	-1.022619	-2.035141	-2.479424	-2.150818	-1.699052	-2.68473	-3.509726	-3.446977	-3.184815
PCTDC_120	-1.430576	-1.102015	-1.132152	-1.812828	-3.149442	-2.18336	1.201436	-5.29367	-5.691936	-5.728442
PCTDC_121	-4.904629	-2.872402	-2.430766	-5.292966	-5.347709	-4.335685	-4.980919	-17.322721	-5.555618	-13.936533
PCTDC_122	-3.6904	-2.680579	-1.969049	-4.20231	-7.732623	-3.943798	-4.159578	-20.717194	-3.961968	-13.265989
PCTDC_123	-4.49448	-6.431859	-3.257086	-5.054696	-8.789499	-4.220544	-4.458473	-16.951117	-10.633861	-11.06091
PCTDC_124	-1.744154	-1.817764	-1.186199	-1.778908	-1.913888	-1.876516	-2.220029	-2.524925	-1.514067	-1.913248
PCTDC_125	-4.713228	-6.320646	-3.339272	-5.216887	-8.649884	-4.156865	-3.94276	-15.586668	-9.926511	-11.538962
PCTDC_126	-4.696732	-6.627284	-3.523528	-5.722506	-10.116261	-4.275777	-4.537924	-15.922481	-9.872524	-11.471142
PCTDC_127	-1.108407	-1.057277	-1.179754	-1.385472	-1.268484	-1.158254	-2.990276	-2.605285	-3.485199	-3.114484
PCTDC_128	-4.545651	-2.638318	-2.41323	-5.386978	-4.731944	-4.151817	-4.414096	-17.50596	-5.337328	-13.212199
PCTDC_129	-5.034372	-2.967628	-2.568805	-4.976381	-5.099236	-4.137128	-5.355405	-15.638588	-5.499931	-11.5353
PCTDC_130	-2.051642	-2.098477	-1.837924	-1.707663	-1.703864	-2.287815	-2.981069	-2.060238	-1.37465	-1.877548
PCTDC_131	2.627375	-2.67068	1.834017	-1.765682	-2.783329	-1.387256	-4.366215	-2.788288	-2.56777	-2.021314

【０１３４】

【表４－４】

PCTDC_132	-4.665012	-3.317816	-3.19454	-6.633753	-6.66045	-3.80588	-7.436905	-4.451353	-5.046357	-3.825623
PCTDC_133	-2.946086	-2.116852	-1.72241	-3.087247	-3.948884	-2.73899	-3.233242	-6.990095	-2.77934	-5.504802
PCTDC_134	-3.058105	-2.498846	-2.002397	-2.88534	-3.806821	-2.891005	-3.158316	-5.96714	-3.160015	-4.867879
PCTDC_135	-1.687653	-1.845589	-1.873229	-2.343037	-1.830697	-1.486067	-4.24235	-2.986602	1.492916	-3.130219
PCTDC_136	-2.200974	-2.152797	-1.148252	-1.83632	-1.976489	-2.07305	-2.560523	-2.921531	-1.495705	-2.227009
PCTDC_137	-10.828956	-5.270857	-4.860933	-5.900774	-9.482695	-6.709738	-16.989042	-8.53929	-10.65459	-8.351618
PCTDC_138	-2.895159	-2.965245	2.169616	-1.927329	-3.188821	-2.49371	-5.257616	-2.912396	-3.793311	-2.631904
PCTDC_139	-3.934355	-2.826199	-2.375097	-3.812811	-3.661432	-3.092424	-3.94329	-7.177196	-3.531577	-5.426573
PCTDC_140	-1.904256	-2.79029	-1.253306	-1.295051	-2.622534	-2.155357	-2.246449	-2.258769	-2.737894	-2.926592
PCTDC_141	-3.08367	-3.345164	-2.524613	-2.622477	-3.134956	-2.443242	-3.105939	-4.254194	-3.02592	-3.054046
PCTDC_142	-2.957271	-1.985764	-2.006083	-2.92826	-3.725083	-2.753375	-2.748035	-5.325381	-3.462896	-4.431551
PCTDC_143	-1.066036	-1.67104	-1.015772	-1.546854	-1.530618	-1.801544	-2.933015	-2.477804	-2.959098	-2.615129
PCTDC_144	-1.445624	-1.807576	-1.111409	-1.48605	-3.227776	-2.065048	-2.531502	-3.04369	-1.003939	-1.357381
PCTDC_145	-3.07717	-2.146355	-1.129324	-2.287934	-2.854114	-2.326507	-2.595412	-4.664679	-2.699193	-3.707924
PCTDC_146	-7.009215	-3.635918	-3.136031	-5.086275	-5.066755	-2.906322	-11.119669	-4.22236	-7.007662	-4.997516
PCTDC_147	-4.207016	-5.540858	-3.094626	-4.090336	-6.743286	-3.452254	-3.596967	-10.395126	-6.16955	-7.261432
PCTDC_148	-1.351986	-1.336251	-1.004627	-1.225727	-1.128605	-1.380893	-3.824272	-2.648127	-2.450598	-2.995833
PCTDC_149	-4.108362	-2.621138	-2.309178	-4.294799	-4.056478	-3.255341	-4.28165	-9.910971	-4.116663	-7.631859
PCTDC_150	-5.98528	-2.98137	-3.386578	-2.302485	-4.899428	-3.171614	-9.085684	-4.92853	-4.902088	-5.884509
PCTDC_151	-3.855859	-2.506654	-2.1212	-3.633645	-6.417445	-3.698747	-4.310469	-15.277804	-4.509701	-10.009133
PCTDC_152	5.204085	-5.826153	-3.315112	-4.699694	-9.195724	-4.23119	-4.110284	-20.236582	-11.094976	-12.877276
PCTDC_153	-2.591242	-3.623291	-1.582283	-2.397384	-4.042944	-2.712866	-6.123426	-3.677176	-8.167227	-3.230167
PCTDC_154	-1.988355	-1.956847	-1.400108	-1.495448	-1.414439	-1.471138	-2.662261	-2.621493	-3.384066	-3.308468
PCTDC_155	-3.045794	-2.256173	-1.79689	-2.80938	-3.849687	-2.993447	-2.75769	-5.764012	-3.377901	-5.71154
PCTDC_156	-1.985825	-1.668599	-1.772614	-1.848234	-1.906182	-1.974599	-2.316575	-2.065084	-1.892309	-1.669646
PCTDC_157	-24.091745	-6.946621	-7.996484	-26.935823	-23.703266	-13.417576	-52.650387	-14.037018	-28.02939	-13.408166
PCTDC_158	-1.650762	-2.664782	-1.50441	-1.354878	-2.137988	-1.553338	-1.968661	-2.361855	-2.390924	-2.822145
PCTDC_159	-1.149911	-1.36099	-1.640492	-1.368059	-1.395896	-1.276863	-2.318608	-2.180403	-2.889938	-2.466328
PCTDC_160	-3.750376	-2.5433	-2.277271	-3.585937	-4.150171	-3.548278	-3.781662	-7.474132	-3.371794	-6.091012
PCTDC_161	-1.889016	-1.961895	-1.7557	-1.8793	-1.652045	-1.527334	-2.943324	-3.102524	-2.419431	-2.648917
PCTDC_162	-3.621216	-2.569228	-2.185721	-3.014324	-3.992921	-3.127769	-3.394859	-6.636523	-2.867695	-4.432214
PCTDC_163	-1.837535	-1.75843	-1.906056	-2.043089	-2.040604	-2.006225	-2.901773	-2.346002	-2.248675	-2.00109
PCTDC_164	-1.248544	-2.1374	-1.981841	-1.865184	-1.622861	-1.405297	-2.948033	-2.934754	-4.30079	-3.859725
PCTDC_165	-1.095199	-1.295839	-1.833439	-1.770437	-1.344037	-1.588076	-2.47727	-2.414314	-3.631488	-3.532092
PCTDC_166	-2.718937	-2.558548	-3.240606	-3.848436	-3.650884	-2.931838	-4.336748	-3.24646	-4.411035	-2.980717
PCTDC_167	-4.016697	-2.559193	-2.349691	-3.895859	-4.55859	-3.570338	-4.178797	-7.782403	-3.813373	-5.671333
PCTDC_168	-2.680113	-2.068863	-1.738906	-2.575072	-3.449777	-2.688166	-2.663015	-4.319777	-2.573629	-3.171301
PCTDC_169	-1.661317	-1.56804	-1.022683	-1.889948	-2.182787	-2.058129	-2.473203	-2.952778	-4.40996	-3.264037
PCTDC_170	-2.058542	-2.438631	-2.294661	-2.185661	-2.612388	-2.169586	-4.30589	-3.911129	-4.591723	-2.672218
PCTDC_171	-1.668753	-1.852991	-1.614027	-1.467932	-2.244333	-2.225409	-2.251348	-2.092346	-1.972791	-2.16491
PCTDC_172	-1.337232	-1.28112	-1.140765	-1.241679	-1.518697	-1.669519	-2.704463	-2.297935	-1.919122	-1.941853
PCTDC_173	-1.23684	-1.628725	-1.725804	-1.686747	-2.797905	-2.048641	-3.10866	-2.673926	-2.901284	-3.034959
PCTDC_174	-1.578831	-1.530159	-1.323276	-1.448158	-3.484801	-2.081222	-2.096023	-2.054026	-1.053168	-1.085007
PCTDC_175	-6.860311	-8.596538	-6.015227	-7.395287	-6.868768	-4.774598	-12.734313	-8.883727	-9.912612	-8.323947
PCTDC_176	1.416791	-1.700415	-1.08375	-1.233969	-1.22021	-1.258965	-2.632138	-1.913653	-2.185067	-2.483676

【０１３５】

【表４－５】

PCTDC_177	-1.947781	-1.898147	-1.996725	-1.230632	-2.043674	-1.939379	-4.530967	-2.359891	-4.078347	-2.764213
PCTDC_178	-1.914441	-1.735873	-1.912667	-2.333658	-2.213283	-2.055301	-5.208098	-2.614315	-3.639303	-3.584429
PCTDC_179	-1.584291	-4.533706	-1.981395	-1.249368	-1.442302	-2.900685	-1.154608	-2.03717	-6.044252	-2.34479
PCTDC_180	-1.035091	-1.290039	-1.996445	-2.50551	-1.144317	-1.415126	-1.386274	-1.791795	-2.670586	-2.395692
PCTDC_181	-1.88717	-2.132685	-2.245895	-1.921092	-1.720108	-1.714957	-2.479498	-2.910652	-2.405157	-3.129045
PCTDC_182	-7.096983	-11.581309	-3.847387	-6.296889	-7.922583	-6.934667	-19.723858	-12.640163	-17.473091	-12.771142
PCTDC_183	-1.641561	-2.313724	-1.780369	-2.408584	-1.815283	-2.414614	-1.648399	-1.437117	-3.31257	-2.936945
PCTDC_184	-1.761954	-3.35066	-1.288622	-1.667949	-2.856786	-2.78603	-2.557558	-4.300115	-2.994413	-3.691492
PCTDC_185	-1.25742	-1.907512	-1.662129	-1.913995	-1.710638	-1.525948	-2.479607	-2.37295	-3.136964	-3.129661
PCTDC_186	-1.340019	-1.549101	-1.453753	-1.605042	-1.663931	-1.246323	-2.614822	-2.054178	-2.435119	-1.90128
PCTDC_187	-1.803373	-1.169177	-1.637415	-1.929255	-1.797708	-1.816847	-4.147898	-2.062153	-3.158015	-2.938852
PCTDC_188	-5.764035	-8.496846	-4.912166	-7.168073	-5.870468	-4.396978	-15.750997	-7.304055	-15.64049	-11.103608
PCTDC_189	-3.328565	-3.022969	-3.115447	-4.255837	-4.161739	-2.94891	-8.228148	-5.483788	-5.084009	-4.167959
PCTDC_190	-1.254828	-1.472193	-1.478995	-1.744422	-1.826931	-1.768481	-3.537523	-2.037857	-2.598359	-2.147279
PCTDC_191	-2.159151	-3.128419	-1.950118	-2.926632	-1.847003	-2.4262	-2.804561	-1.730608	-5.975543	-4.760255
PCTDC_192	1.236833	-1.962486	1.002009	-1.568607	-1.256739	-1.741019	-2.644385	-3.044426	-3.826642	-2.357721
PCTDC_193	-3.631537	-2.738209	-2.246517	-3.775388	-6.564242	-4.156188	-4.158795	-18.791737	-4.027184	-9.387738
PCTDC_194	-4.487526	-3.650918	-3.31222	-5.680427	-6.258502	-5.13086	-9.800389	-4.697654	-6.405068	-6.736834
PCTDC_195	-1.8363	-1.64894	-1.935888	-2.529458	-2.259551	-1.81423	-2.198194	-1.737582	-2.735552	-2.158796
PCTDC_196	-2.474186	-3.365656	-1.343502	-3.501091	-4.264999	-5.080579	-4.471194	-7.231489	-18.427435	-9.806072
PCTDC_197	-1.807832	-2.29473	-1.370198	-3.162165	-5.352941	-2.324542	-5.903867	-3.229978	-17.273748	-6.400387
PCTDC_198	-2.344617	-2.959151	-2.17081	-2.163698	-2.65943	-1.932416	-2.653923	-3.757628	-2.735156	-1.817282
PCTDC_199	-4.386623	-2.638841	-2.480235	-4.108781	-4.452411	-3.623217	-4.536964	-8.831078	-4.463152	-6.401208
PCTDC_200	-2.09309	-1.775309	-1.933533	-2.33589	-2.088803	-2.100615	-5.586963	-1.843135	-5.846531	-3.071575
PCTDC_201	-1.450764	-1.617985	-1.051829	-1.23726	-3.690548	-2.379844	-2.473764	-2.870435	-1.025683	-1.222568
PCTDC_202	-3.046799	-1.879969	-2.648411	-4.555435	-3.545973	-1.911155	-8.100895	-3.645935	-5.755246	-7.075781
PCTDC_203	1.108333	-1.612469	-1.357317	1.574016	-1.019122	-2.278131	-2.146923	-2.403642	-3.497723	-2.42467
PCTDC_204	-8.862192	-8.515929	-3.496506	-7.670859	-13.681435	-5.798268	-34.06509	-12.273384	-17.905043	-34.228233
PCTDC_205	-1.075394	-5.071301	-1.509261	-1.556702	-1.422097	-1.469821	-2.113142	-2.577702	-3.65754	-2.8461
PCTDC_206	-1.737375	-1.89541	-1.9666	-1.855576	-1.827961	-1.890783	-3.518015	-2.87097	-3.271979	-3.320841
PCTDC_207	-2.82381	-6.325802	-2.511963	-3.987634	-2.676592	-2.473858	-4.771787	-4.502133	-6.395139	-6.571494
PCTDC_208	-1.656419	-2.065864	-1.284579	-3.513086	-1.361242	-1.2463	-2.302852	-1.63261	-4.727072	-3.248115
PCTDC_209	-5.483701	-11.85375	-3.020115	-4.377883	-5.433315	-5.330461	-15.063501	-11.671608	-15.723096	-11.474429
PCTDC_210	-1.15939	-1.060312	-1.423204	-1.415902	-1.342489	-1.569534	-2.567336	-2.081995	-2.780438	-2.044163
PCTDC_211	-4.027411	-2.378188	-2.177797	-3.458907	-3.85693	-3.454089	-3.890421	-7.289502	-4.10517	-6.346364
PCTDC_212	-1.658192	-1.55431	-1.589337	-1.643705	-1.989426	-1.814972	-2.492545	-2.12127	-2.077773	-1.769448
PCTDC_213	-1.72558	-1.483346	-1.542145	-1.676729	-2.45592	-1.928891	-2.556381	-2.162709	-1.529102	-1.17182
PCTDC_214	-2.161695	-2.26164	-2.339913	-2.524176	-2.457808	-2.837507	-5.943567	-1.049267	-1.058182	-4.723122
PCTDC_215	-2.529369	-3.011394	-2.542804	-2.727487	-3.088225	-3.338695	-6.675632	-3.509163	-4.088458	-3.590021
PCTDC_216	-1.656439	-1.592109	-1.819538	-2.245645	-1.654958	-1.727204	-2.826245	-1.483557	-3.021882	-2.146228
PCTDC_217	-1.847873	-2.74288	-1.248616	-1.452109	-2.042847	-1.819851	-2.80383	-2.80035	-1.412471	-1.811291
PCTDC_218	-1.166439	-1.756858	-1.308203	-1.469586	1.014225	-1.678976	-2.935515	-2.474926	-3.653771	-2.784799
PCTDC_219	-1.252568	-1.684199	-1.155907	1.40619	-1.54444	-2.652697	-3.281955	-1.350641	-3.027711	-3.31431
PCTDC_220	-4.17908	-2.748761	-2.267626	-3.527103	-3.513831	-3.300081	-3.680073	-8.556771	-3.592223	-5.737456
PCTDC_221	-4.836594	-7.768823	-3.52599	-4.42607	-10.136181	-4.794336	-3.827177	-21.278063	-11.837326	-11.247367

【０１３６】

【表４－６】

PCTDC_222	-3.906126	-2.907072	-2.068267	-3.461873	-6.774076	-4.288795	-3.640255	-17.291485	-3.768052	-9.4419
PCTDC_223	-1.100584	-2.114033	-1.601058	-1.638044	-1.699998	-2.298889	-2.346835	-2.776059	-2.945078	-2.02338
PCTDC_224	-4.242598	-2.839127	-2.379757	-3.524704	-3.613482	-3.46923	-4.02571	-9.015471	-3.785506	-6.03347
PCTDC_225	-4.777097	-7.94543	-3.501098	-4.389704	-10.008644	-4.383356	-3.423778	-20.784225	-11.31271	-10.954226
PCTDC_226	-4.540014	-7.1293	-3.391137	-4.181539	-9.32625	-4.607494	-3.244585	-20.744709	-11.417688	-10.372003
PCTDC_227	-1.422441	-1.1647	-1.218198	-1.332996	-1.117286	-1.352514	-2.258559	-2.182548	-2.125192	-2.144093
PCTDC_228	-3.922249	-5.863266	-3.065356	-3.744807	-6.576053	-3.884015	-3.288769	-12.3219	-8.174881	-7.634091
PCTDC_229	-5.263347	-3.294776	-2.501016	-4.652264	-4.555173	-4.333633	-4.448777	-16.964617	-5.066412	-9.85986
PCTDC_230	-3.925831	-2.796558	-2.098749	-3.53759	-7.084292	-4.194637	-3.671257	-18.332588	-3.799327	-10.502856
PCTDC_231	-5.242747	-8.259526	-3.789936	-4.696026	-11.373317	-4.70225	-3.937051	-19.540285	-10.537539	-10.05743
PCTDC_232	-2.294399	-1.745048	-1.850713	-2.168706	-2.485562	-2.128672	-5.706282	-4.30805	-5.31519	-5.17726
PCTDC_233	-1.238592	-1.419183	1.100986	-1.086468	-1.028074	-1.519963	-3.768478	-2.549499	-2.301235	-2.82662
PCTDC_234	-2.238329	-1.225333	-1.22022	-1.634064	-1.887437	-1.264152	-4.115586	-4.426901	-5.132766	-2.441659
PCTDC_235	-26.014566	-26.899576	-22.260601	-14.416063	-30.63615	-10.398974	-35.84404	-37.890846	-28.436022	-40.04533
PCTDC_236	-1.525063	-1.403936	-1.457327	1.779269	-2.068593	-1.935501	-3.037173	-1.855584	-1.150821	-2.050454
PCTDC_237	-1.342953	-1.138019	-1.133785	-1.373282	-1.051208	-1.274877	-2.369792	-2.281013	-2.097712	-2.207632
PCTDC_238	-1.501538	-1.644368	-1.863785	-1.657531	-1.664238	-1.913187	-4.210544	-2.658317	-3.280815	-3.646399
PCTDC_239	-1.904965	-1.884623	-1.672115	-1.567592	-1.527552	-1.841173	-2.362227	-2.348137	-1.84079	-2.010021
PCTDC_240	-2.111756	-1.555367	-1.523962	-1.949346	-1.554618	-1.687986	-3.038711	-2.072264	-2.204134	-1.849882
PCTDC_241	-2.691587	-1.19034	-1.934832	-2.253114	-2.510615	-2.218499	-3.646227	-2.971531	-1.572821	-1.789804
PCTDC_242	-2.298609	-1.381359	-1.308637	-1.46631	-1.679047	-2.039107	-2.208811	-2.28638	-1.971873	-2.074498
PCTDC_243	-1.402621	1.085415	1.062659	-1.091258	-1.358562	-1.318499	-3.639507	-2.84055	-3.161946	-3.535114
PCTDC_244	-3.540937	-1.836178	-2.367527	-3.391082	-2.486673	-1.748289	-7.997188	-3.286743	-4.133771	-4.60195
PCTDC_245	-2.214928	-1.84093	-1.84495	-2.022239	-1.820758	-1.832195	-4.165719	-2.28764	-1.761182	-2.417527
PCTDC_246	-1.76635	-1.63073	-1.682651	-1.966334	-1.6663	-1.595434	-2.634676	-2.23967	-2.666174	-2.305202
PCTDC_247	-1.778498	1.015742	-1.128503	-1.557932	-1.658755	-1.349474	-2.380194	-1.999325	-2.180002	-2.680629
PCTDC_248	-4.171661	-4.078983	-3.07633	-1.408247	-2.28533	-3.88447	-1.569351	-4.786776	-5.813709	-4.900392
PCTDC_249	-5.12327	-7.903827	-3.478949	-4.345335	-9.133308	-4.527576	-3.343985	-19.883654	-11.058222	-10.261432
PCTDC_250	-4.108335	-2.688739	-2.270979	-3.676643	-3.862636	-3.840485	-3.851627	-10.762053	-4.526831	-8.764568
PCTDC_251	-4.484256	-2.09902	-2.316149	-4.576964	-2.427416	-2.679081	-6.497992	-3.447102	-3.482586	-5.451421
PCTDC_252	1.110065	-3.469609	-1.558385	-1.43239	-1.210027	-1.821194	-6.009986	-1.983636	-4.484305	-4.349729
PCTDC_253	-1.699842	-1.454623	-1.422735	-1.761389	-1.237906	-1.516983	-3.239355	-2.960478	-2.969269	-2.921623
PCTDC_254	-1.831613	-1.491833	-1.792443	2.372589	-5.5415	-3.804338	-3.96088	-2.255185	-2.441548	-4.56314
PCTDC_255	-2.389394	-1.260788	-1.077165	-2.063594	-1.515193	-1.348214	-4.322912	-2.479361	-3.79677	-10.963726
PCTDC_256	-2.79098	-3.093994	-1.257646	-2.697717	1.756046	-1.42124	-1.874196	-1.572451	-4.164904	-2.942757
PCTDC_257	-2.007114	-2.008637	-1.469927	-1.515188	-1.6455	-1.935026	-1.793478	-2.261944	-1.706943	-1.84242
PCTDC_258	-1.608199	-2.027372	-1.10816	-1.153414	-2.64577	-2.164887	-2.138947	-2.635155	1.101481	1.001589
PCTDC_259	-2.354438	-1.372294	1.226844	-2.133314	-1.354503	-1.462832	-1.777587	-1.151733	-3.669216	-5.133826
PCTDC_260	-2.604011	-4.336377	-1.289437	-2.013778	4.400435	-2.675976	1.970285	2.396611	-2.847489	2.130628
PCTDC_261	-1.537797	-1.141336	-1.495266	-1.746315	-1.160505	-1.368188	-2.891441	-1.965796	-2.099375	-2.274744
PCTDC_262	-2.753373	-2.140275	-2.532053	-2.554981	-1.703069	-2.032704	-4.865805	-3.031115	-4.299381	-3.680209
PCTDC_263	-1.785774	-1.551533	-1.656989	-2.030993	-1.766316	-1.670561	-2.093797	-1.586664	-2.302789	-2.545252
PCTDC_264	-3.580837	-2.326493	-2.58249	-2.59469	-2.352746	-2.172579	-7.356969	-4.616506	-5.189599	-4.719282
PCTDC_265	-2.374061	-3.093873	-1.422594	-3.02511	-1.326881	-2.993881	-10.062272	-5.890966	-6.007321	-7.178654
PCTDC_266	-3.302186	-2.145091	-2.473056	-3.285471	-2.608865	-2.065178	-5.472369	-2.766854	-3.566468	-4.449538

【０１３７】

【表４－７】

PCTDC_267	-2.346302	-1.468917	-1.721191	-1.507031	-1.709475	-1.508112	-3.803641	-2.603237	-2.931435	-4.010838
PCTDC_268	-2.107902	-1.580947	-2.055259	-2.15739	-1.497125	-1.700791	-2.035907	-1.889752	-1.469181	-1.708773
PCTDC_269	-2.541823	-2.595453	-3.66834	-3.796033	-3.32306	-2.379198	-4.543904	-2.730455	-4.025674	-4.433538
PCTDC_270	-2.54968	-1.897837	-1.5039	-4.030859	-2.933698	1.069363	-6.909536	-1.596846	-2.536486	-5.071217
PCTDC_271	-4.312228	-2.626342	-3.335603	-4.055226	-3.386051	-3.260807	-6.212852	-4.560222	-5.647288	-3.819784
PCTDC_272	-2.036159	-1.363548	-1.613196	-2.056096	-1.644075	-1.492992	-2.927971	-1.627886	-1.546699	-2.915572
PCTDC_273	-1.466514	-1.47301	-1.619885	-1.322114	-2.217748	-1.438038	-2.148547	-2.178608	-2.320278	-2.776088
PCTDC_274	-2.826242	-2.691233	-2.291895	-4.644922	-2.121244	-2.247778	-3.46386	-2.572843	-3.629104	-3.713943
PCTDC_275	-1.862883	-5.515562	-2.056687	-4.536572	-1.252029	-1.003338	-11.410631	-1.151153	-11.397514	-5.726798
PCTDC_276	-4.188195	-2.804357	-2.14192	-3.4069	-7.087134	-4.217476	-3.132212	-19.35323	-3.765451	-10.062749
PCTDC_277	-3.316963	-2.355866	-2.018188	-3.210177	-2.994663	-2.995564	-2.991639	-5.738002	-3.121268	-4.617397
PCTDC_278	-1.59519	-1.208626	-1.073164	-1.516793	-1.36901	-1.36545	-3.049989	-2.161933	-2.534092	-3.634981
PCTDC_279	-3.328635	-2.402078	-2.674182	-3.365015	-2.838426	-2.094618	-4.847474	-3.21493	-3.531053	-3.276093
PCTDC_280	-2.00892	-1.959798	-1.418687	-1.551801	-1.356092	-1.693354	-2.413334	-2.310149	-2.435938	-2.811727
PCTDC_281	-2.085441	-1.306356	-1.934703	-2.34709	-1.849548	-1.588091	-2.687367	-2.350503	-2.975265	-2.875559
PCTDC_282	-2.031199	-4.178926	-1.501072	-2.093809	-1.027688	-2.549859	-2.611744	-2.844443	-6.270815	-5.109812
PCTDC_283	-2.256392	-1.16297	-1.590518	-2.591235	-2.012158	-1.131231	-4.185311	-1.866927	-3.823021	-5.471189
PCTDC_284	-2.433178	-2.244144	-1.806869	-2.403887	-3.270381	-2.617707	-2.880339	-4.826176	-2.403895	-3.537261
PCTDC_285	-2.107364	-1.348654	-1.292773	-2.284883	-1.276845	-1.262789	-4.501634	-2.47389	-3.226784	-2.666664
PCTDC_286	-1.011685	-1.400408	-1.559272	-1.384357	-1.122806	-2.165796	-3.470174	-2.341007	-3.268555	-2.995115
PCTDC_287	-1.979708	-1.298204	-1.255026	-2.021377	-1.188739	-1.278287	-3.824776	-2.377869	-3.071996	-2.574481
PCTDC_288	-2.305089	-1.880831	-2.239136	-2.554946	-2.08069	-1.875589	-6.210633	-3.432205	-4.671096	-3.117131
PCTDC_289	-1.486956	-1.98167	-1.036458	-1.09955	-2.816411	-2.192947	-2.139038	-2.965462	1.117521	-1.113814
PCTDC_290	-3.562744	-3.871484	-1.923246	-2.427721	-3.265605	-2.611839	-5.507403	-5.024969	-4.783923	-4.289661
PCTDC_291	-3.097702	-2.600365	-2.303037	-2.929789	-3.116413	-2.479932	-8.477123	-5.651296	-4.748075	-4.153006
PCTDC_292	-1.56978	-1.183312	-1.520002	-1.641381	-1.129012	-1.532378	-2.67058	-2.009878	-2.491136	-2.341999
PCTDC_293	-10.18624	-3.780659	-5.276081	-11.313716	-10.131436	-6.433547	-16.108952	-9.149508	-9.620059	-6.977403
PCTDC_294	-3.900229	-4.336713	-1.672553	-2.304041	-6.733215	-4.070741	-3.169832	-5.821867	-4.436994	-7.281688
PCTDC_295	-1.209046	-1.122768	-1.587951	-1.498479	1.044804	-1.457103	-2.545094	-1.963598	-2.240566	-2.224381
PCTDC_296	-3.698761	-2.350756	-2.777413	-3.755806	-2.51192	-2.703047	-7.823654	-4.022834	-5.51972	-4.912844
PCTDC_297	-3.093647	-3.761977	-2.186037	-1.308696	-2.641925	-3.034877	-5.773628	-4.317933	-4.100777	-3.488915
PCTDC_298	-2.297807	-1.410159	-1.9196	-1.950024	-1.650355	-1.795715	-1.83728	-2.387764	-2.474603	-2.129225
PCTDC_299	-1.89521	-1.354424	-1.123448	-1.873263	-1.36766	-1.333848	-6.838379	-2.556827	-2.964774	-3.187869
PCTDC_300	-1.42162	-1.602237	-1.268964	-1.253886	-1.127024	-1.224164	-1.913381	-2.007162	-2.272181	-3.411546
PCTDC_301	-2.943285	-2.148288	-1.191947	-2.763554	2.763937	-1.612864	1.421686	1.108202	-5.495829	-2.529128
PCTDC_302	-6.406439	-2.028337	-2.167836	-2.019916	-1.109315	-3.375747	1.517615	-1.047322	1.03283	-1.205198
PCTDC_303	-2.817563	-2.154164	-1.78874	-2.779721	-4.163968	-2.98236	-2.123022	-4.972325	-2.771994	-4.887907
PCTDC_304	-7.464938	-3.133507	-4.03298	-7.604817	-5.315706	-3.748991	-8.648803	-4.297132	-4.222451	-4.112308
PCTDC_305	-2.014723	-2.095896	-1.131347	-2.008184	-2.41007	-2.067976	-3.095366	-3.241502	-4.974222	-4.456541
PCTDC_306	-3.969199	-2.738114	-2.292288	-3.43873	-3.428852	-3.433239	-3.852857	-8.218064	-3.541728	-5.608873
PCTDC_307	-1.417446	-1.376043	-1.435508	-1.638834	-1.476408	-1.510144	-2.174652	-1.960471	-2.305311	-2.085746
PCTDC_308	-8.653403	-20.58325	-4.370862	-5.277433	-15.810896	-5.709903	-7.506292	-21.021177	-18.16979	-15.282486
PCTDC_309	-3.137505	-3.304923	-3.245285	-3.165118	-2.716445	-2.538695	-5.427696	-3.96977	-5.34938	-3.434406
PCTDC_310	-12.061647	-5.272011	-5.720038	-12.138116	-11.271891	-8.351592	-15.544457	-6.618097	-9.989495	-7.883212
PCTDC_311	-2.115049	-1.485084	-1.570765	-2.19385	-1.463544	-1.568636	-2.643091	-1.923311	-2.491152	-2.016061

【０１３８】

【表４－８】

PCTDC_312	1.481472	-1.618008	-1.014678	-1.243736	-1.10675	1.07741	-2.589733	-2.607608	-2.462168	-2.47417
PCTDC_313	-1.273086	1.043674	-1.00678	-1.091739	1.003629	-1.149116	-2.445372	-1.996363	-2.240741	-2.395751
PCTDC_314	-2.49528	-1.981606	-2.53176	-2.166479	-1.675072	-1.83386	-4.455273	-2.660103	-3.904015	-3.88134
PCTDC_315	-4.246729	-5.756291	-3.252714	-3.78408	-6.582098	-4.020957	-3.663386	-11.000549	-7.362528	-6.767858
PCTDC_316	-1.270286	1.212425	-1.341502	1.115258	-1.351564	-1.129105	-3.416999	-2.177473	-2.653117	-2.919225
PCTDC_317	1.354967	-1.090403	1.094382	1.319759	1.075027	-1.322192	-2.006308	-2.169702	-2.077435	-2.53624
PCTDC_318	-1.418532	-1.182988	-1.410398	-1.462745	-1.37436	-1.066702	-3.100096	-2.509806	-3.332818	-2.666414
PCTDC_319	-2.847453	-1.610835	-2.137122	-4.008525	-2.580153	-1.447103	-7.838775	-3.137043	-3.309639	-6.645592
PCTDC_320	-1.570447	-1.646244	-1.15019	-1.643979	-1.055569	-1.517501	-2.395785	-2.585518	-2.073397	-4.045468
PCTDC_321	-1.523534	1.03465	-1.379848	-1.80666	-1.725373	-1.211345	-2.963809	-2.20423	-2.320638	-3.414114
PCTDC_322	-1.959616	-1.836321	-1.791546	-1.885724	-2.337018	-1.753529	-4.687747	-2.546606	-2.777194	-2.816231
PCTDC_323	-1.759654	-1.876256	-1.381283	-2.053537	-1.730219	-1.74737	-4.210407	-2.178987	-3.938169	-4.408377
PCTDC_324	-4.241111	-3.697052	-3.347769	-3.735688	-3.168041	-3.110309	-4.810374	-3.284321	-4.389349	-4.177819
PCTDC_325	-4.293188	-3.750995	-2.755883	-2.867415	-5.334981	-3.492937	-7.161442	-4.917929	-5.236836	-5.740018
PCTDC_326	-2.483399	-1.89337	-1.533312	-2.253657	-2.249147	-2.239092	-2.973208	-2.988244	-1.376134	-1.895988
PCTDC_327	-1.918311	-1.479681	-2.0809	-2.437624	-2.628933	-1.870174	-2.171522	-1.891829	-1.711816	-2.050615
PCTDC_328	-4.101023	-2.454861	-1.939533	-2.924037	-3.540413	-3.433633	-3.484589	-9.24229	-3.640446	-5.59146
PCTDC_329	-3.325883	-3.202878	-2.660003	-2.620374	-2.884403	-3.235591	-4.306441	-2.874235	-3.416734	-3.269137
PCTDC_330	-4.325046	-5.603637	-2.757072	-3.08421	-6.878116	-3.690394	-3.485615	-11.029022	-6.335642	-6.479433
PCTDC_331	-2.936653	-2.221632	-1.802164	-2.695677	-4.706359	-3.417982	-2.846125	-7.170537	-2.894992	-5.80286
PCTDC_332	-1.649843	-1.262365	-1.228164	-1.48323	-1.408435	-1.123622	-3.094638	-1.961519	-3.331235	-2.068638
PCTDC_333	-2.141754	-2.134733	-1.757711	-2.809459	-1.735782	-1.905308	-2.71019	-2.492548	-2.638774	-2.736861
PCTDC_334	-3.501326	-4.491755	-2.473015	-2.947388	-6.778422	-3.391635	-2.57456	-11.102236	-5.849842	-6.251497
PCTDC_335	-1.227933	-1.317701	-1.295	-1.258839	-1.293943	-1.319804	-2.484284	-1.942393	-2.102638	-2.640838
PCTDC_336	-3.148972	-2.179465	-1.555655	-2.493189	-5.507409	-3.612695	-2.795166	-11.60204	-3.320234	-7.553721
PCTDC_337	-3.966367	-2.473189	-1.953672	-3.182715	-4.397205	-3.64587	-3.302513	-11.300043	-3.332641	-6.622171
PCTDC_338	-1.899115	-1.978631	-1.556313	-1.552081	-1.990791	-2.036446	-2.547056	-2.315574	-1.672926	-1.673005
PCTDC_339	-2.671378	-1.864997	-1.524507	-2.402448	-4.48918	-3.058439	-2.272604	-7.023274	-2.677456	-4.512324
PCTDC_340	-2.728256	-2.135133	-1.584932	-2.20714	-3.585228	-2.827927	-2.610447	-5.930333	-2.285218	-3.446473
PCTDC_341	-3.673474	-4.037199	-2.388833	-3.204217	-6.281793	-3.741079	-2.618799	-11.512197	-6.588821	-6.15581
PCTDC_342	-3.58528	-2.442878	-1.646449	-2.521667	-6.100334	-3.831348	-2.693085	-15.116555	-3.094456	-8.320878
PCTDC_343	-1.679677	-1.991002	-1.348143	-1.318828	-1.511339	-1.699405	-2.993683	-3.541289	-2.123977	-2.629834
PCTDC_344	-3.23739	-3.437972	-1.895346	-3.190621	-1.744413	-3.803385	-2.496838	-1.944487	-1.251222	-1.08661
PCTDC_345	-1.644668	-2.779138	-1.517523	1.364956	-1.674406	-4.892186	-2.066659	-1.488773	-2.048109	1.271424
PCTDC_346	-2.173687	-1.90845	-2.221743	-2.314945	-1.510086	-2.01679	-2.0381	-1.794273	-1.987858	-1.776335
PCTDC_347	-3.215951	-2.527133	-2.775464	-3.561818	-3.815771	-3.61717	-4.590827	-3.510527	-3.444241	-2.840451
PCTDC_348	-1.723149	-1.577233	1.023316	1.173152	-2.244136	-1.163732	-1.765558	-2.098776	-2.404756	-3.516867
PCTDC_349	-4.606752	-5.350285	1.07467	-3.393382	3.494553	-3.776194	-8.061971	-3.085753	2.783463	-4.163679
PCTDC_350	-1.673569	-2.053359	1.517985	-1.509558	-1.985934	-1.74484	-1.054856	-2.273646	-1.22114	-2.518731
PCTDC_351	-2.15345	-2.781823	1.5802	-1.603137	-2.436613	-2.126303	-1.074242	-2.7906	-1.168993	-2.61287
PCTDC_352	-1.918688	-4.757151	1.269333	-2.993961	-3.911849	-3.276581	-8.238791	-5.228536	-5.113611	-4.634111
PCTDC_353	-1.068852	-2.075098	-1.336365	-1.345524	-2.028439	-1.569322	-2.203796	-2.300594	-2.143878	-2.061727
PCTDC_354	-1.008482	-1.545598	-1.110947	-1.199497	1.067307	-1.148932	-2.006905	-2.270097	-2.420032	-2.935613
PCTDC_355	-1.020998	-1.740442	-1.828657	-1.44221	-1.683714	-1.382682	-2.570274	-2.082243	-2.0819	-2.80178
PCTDC_356	-4.541613	-6.258914	-1.221775	-2.06907	1.022882	-2.536011	-1.625364	-2.540703	-6.342539	-2.618487

【０１３９】

【表４－９】

PCTDC_357	-1.893087	-2.572712	-1.617558	-1.725631	-2.670305	-2.200665	-1.738183	-3.051713	-2.957093	-3.627696
PCTDC_358	-3.481641	-2.246628	-1.780498	-2.936959	-3.004195	-2.949249	-2.735868	-6.206738	-3.133926	-4.475304
PCTDC_359	-3.538222	-3.849429	-2.165769	-3.021411	-5.941804	-3.461999	-2.455908	-11.913185	-7.039542	-6.29104
PCTDC_360	-1.793573	-2.921968	-1.638617	-1.843308	-2.364318	-2.771786	-4.532234	-3.035789	-3.96584	-4.225999
PCTDC_361	-2.291991	-1.61443	-1.443631	-1.733552	-1.618359	-2.112897	-2.089313	-2.453935	-1.761781	-1.766528
PCTDC_362	-1.670359	-1.499924	-1.285046	-1.541224	-1.269314	-1.370505	-2.758603	-2.459529	-3.364921	-3.779385
PCTDC_363	-1.802833	-1.689108	-1.911253	-2.12268	-2.399896	-1.640921	-3.121555	-2.376389	-2.138602	-2.144983
PCTDC_364	-1.898284	-1.981644	-1.924549	-1.549852	-2.081147	-1.83666	-2.059931	-3.211289	-2.022543	-4.047491
PCTDC_365	4.22351	-9.226021	3.084101	-1.705691	-11.104012	-1.263447	-16.474352	-3.833677	-3.515598	-1.455502
PCTDC_366	-1.888896	-1.85332	-2.192266	-2.289319	-2.119952	-1.962621	-2.683585	-1.982845	-2.539793	-2.131283
PCTDC_367	-1.97838	-1.367645	-1.522653	-2.071325	-2.921427	-1.754204	-3.520776	-1.917178	-2.957508	-3.464419
PCTDC_368	-1.759534	-1.378262	-1.961315	-1.663318	-1.758865	-1.539361	-2.633818	-2.408538	-2.715942	-2.475481
PCTDC_369	-1.840346	-2.035742	-2.124624	-1.275016	-1.85535	-1.684391	-3.190459	-2.843073	-2.785024	-2.324296
PCTDC_370	-2.007089	1.096472	-1.096968	-1.650896	-1.568698	-1.065779	-3.231136	-2.119581	-2.370553	-3.640322
PCTDC_371	-3.043957	-2.778382	-3.056535	-4.018412	-6.229258	-4.206266	-4.134809	-2.572417	-4.510403	-3.98005
PCTDC_372	-1.488775	-1.266047	-1.503389	-1.584015	-1.764421	-1.497509	-3.433379	-2.431221	-2.62591	-2.364552
PCTDC_373	-2.474675	-1.855865	-2.397671	-3.08373	-4.650255	-2.701431	-5.541125	-3.740372	-4.711283	-5.363891
PCTDC_374	-1.477882	-2.920208	-1.197682	1.409172	-1.21861	-2.062943	-2.468417	-2.218792	-3.703695	-4.524557
PCTDC_375	-1.345356	-1.468122	-1.632299	-1.213916	-1.686642	-1.677184	-3.231339	-2.047146	-2.547986	-2.687473
PCTDC_376	-2.18548	-3.157719	-1.975049	-2.149141	-2.804915	-2.772744	-4.423054	-2.28992	-4.693399	-4.732909
PCTDC_377	-3.444881	-3.297239	-2.220726	-4.062848	-2.433287	-2.563527	-4.492982	-3.069068	-4.294678	-4.562173
PCTDC_378	-4.045188	-1.286256	-1.490966	-2.940182	-1.901902	-2.282956	-2.071853	-1.218522	-3.795834	-2.348081
PCTDC_379	-4.225448	-2.540783	-1.936715	-3.018784	-3.767159	-3.556599	-3.71274	-9.53263	-3.796503	-6.069323
PCTDC_380	-2.938715	-3.974298	-1.779847	-2.547801	-1.31499	-2.849799	2.296765	1.223609	-4.261389	-2.095827
PCTDC_381	-4.600126	-2.575117	-2.007174	-3.468507	-4.303986	-4.106955	-3.716886	-13.196062	-4.619672	-8.85029
PCTDC_382	-3.937433	-5.777416	-2.985915	-3.02475	-6.739953	-3.647153	-2.899484	-12.142699	-6.762471	-6.210923
PCTDC_383	-3.820225	-5.31635	-2.647508	-3.152502	-6.585879	-3.781007	-2.757492	-12.215237	-7.54418	-6.675462
PCTDC_384	-2.888999	-2.564559	-2.41546	-2.562159	-2.392565	-2.579501	-2.90819	-2.191753	-2.543473	-2.438313
PCTDC_385	-1.971279	-1.510526	-1.926565	-1.778569	-1.995005	-1.83999	-3.014101	-2.088584	-1.839071	-2.999907
PCTDC_386	-3.693599	-5.350247	-2.611449	-2.99702	-6.727289	-3.633339	-2.769401	-10.876658	-6.694985	-6.252499
PCTDC_387	-3.671165	-2.35536	-1.846964	-2.844131	-3.411843	-3.199733	-3.12726	-8.164774	-2.955156	-4.983577
PCTDC_388	-6.418478	-2.875051	-2.671779	-6.267906	-8.002217	-3.747109	-9.926229	-4.492403	-4.01534	-4.989985
PCTDC_389	-3.510195	-2.252676	-1.83295	-2.903546	-3.303936	-3.158527	-2.956561	-7.561758	-2.747388	-4.7964
PCTDC_390	-2.303	-1.856063	-1.523551	-2.242671	-3.465624	-2.548517	-2.250637	-5.084722	-2.436353	-4.205762
PCTDC_391	-1.787495	-2.155359	-1.689284	-1.394923	-1.520547	-1.793494	-3.306055	-2.495369	-2.562027	-1.9559
PCTDC_392	-2.296905	-1.875615	-1.871569	-1.92093	-1.96803	-1.988252	-3.171811	-2.27029	-2.387262	-1.971462
PCTDC_393	-1.118759	-1.34588	-1.05869	-1.307118	1.076997	-1.131981	-2.47366	-1.950791	-2.979702	-5.808935
PCTDC_394	-14.147042	-27.16382	-10.344748	-10.396039	-17.129059	-7.902956	-16.22966	-24.564844	-23.351175	-24.049783
PCTDC_395	-1.990524	1.161036	-1.893522	-2.769256	-2.91797	-1.128561	-5.602054	-2.269211	-4.024747	-7.990259
PCTDC_396	-1.563106	-2.419688	-1.19848	-2.27685	1.625478	-1.128652	-2.310545	-1.895955	-2.949045	-3.943671
PCTDC_397	-1.65502	-3.812934	-1.760821	-1.792365	1.010416	-1.957875	-1.435545	-2.289376	-2.088355	-1.497819
PCTDC_398	-1.810502	-1.8462	-1.610123	-1.943737	-1.689724	-1.463656	-2.536437	-2.327757	-3.223704	-2.32261
PCTDC_399	-1.897382	-2.459177	-1.758665	-2.345544	-1.599726	-1.57208	-2.217453	-2.250325	-2.891168	-3.103871
PCTDC_400	-1.745117	1.215976	1.159521	-2.366141	-1.683216	1.350873	-3.66434	-1.566388	-2.472184	-7.061352
PCTDC_401	-2.316692	-2.547475	-1.865808	-2.672911	-2.25369	-1.778172	-3.41019	-2.286762	-2.406163	-3.021344

【０１４０】

【表４－１０】

PCTDC_402	-1.895008	-2.318722	-1.982123	-1.897704	-1.610391	-1.779176	-2.560131	-2.858688	-4.338165	-7.435108
PCTDC_403	-2.206829	-1.992888	-1.958218	-2.322778	-1.765563	-1.618405	-2.691217	-2.074394	-2.555042	-2.342018
PCTDC_404	-3.24259	1.105085	1.600145	-1.331533	-1.211876	-1.801164	-2.295932	-2.429118	-3.811723	-6.599621
PCTDC_405	-1.461492	-3.163721	-1.309089	1.201983	-1.057724	-1.866313	-2.623849	-2.376353	-5.042603	-5.362969
PCTDC_406	-3.758136	-5.656469	-1.197139	-4.133626	-2.615841	-2.968811	-5.255373	-4.357278	-5.601061	-7.791493
PCTDC_407	1.043213	-5.557227	-1.607802	-2.326464	-21.611631	-2.518974	-20.609203	-4.392604	-6.316997	-2.722303
PCTDC_408	-1.865685	-2.494514	-1.59753	-1.834113	-1.55844	-1.581567	-3.825832	-5.100916	-3.272011	-4.100996
PCTDC_409	-5.336955	-2.904762	-2.434043	-4.500535	-4.37821	-4.205354	-4.244617	-17.269669	-5.153924	-9.591729
PCTDC_410	-2.80336	-2.559432	-1.839973	-1.461133	-3.095735	-2.744054	-2.665254	-5.23113	-2.69788	-3.688508
PCTDC_411	-1.90841	-1.111871	-1.727242	-2.36153	-1.560955	-1.378731	-3.97056	-2.251723	-4.60925	-5.852931
PCTDC_412	-6.033443	-5.572865	-2.395153	-5.529053	-7.323551	-2.345133	-15.503913	-12.429821	-19.225355	-16.954866
PCTDC_413	-2.243366	-2.065153	-1.848375	-2.587145	-1.635368	-1.65605	-3.256246	-3.128621	-2.342679	-3.900469
PCTDC_414	2.023767	1.331859	2.169444	-1.916078	-1.403027	1.740423	-3.666911	-2.733058	-2.509844	-2.838648
PCTDC_415	-3.920775	-2.252436	-3.213345	-5.994901	-4.956508	-3.304775	-9.66715	-5.797694	-7.218999	-9.178728
PCTDC_416	-7.442655	-2.28381	-2.242605	-3.477119	-2.146398	-1.816274	-4.544723	-3.432478	-13.144384	-9.472692
PCTDC_417	-2.607719	-2.390978	-2.229146	-2.052244	-2.063334	-2.147236	-3.477573	-2.670616	-2.360998	-2.176139
PCTDC_418	-4.090001	-2.633664	-2.038903	-3.328784	-6.567248	-4.023874	-3.216345	-17.795725	-3.685657	-9.244202
PCTDC_419	-2.023584	1.352602	-1.670136	-2.5473	-2.245735	-1.132564	-3.282859	-1.452853	-2.953099	-4.224542
PCTDC_420	-2.251421	1.800712	-1.947923	-4.515185	-1.667579	3.835113	-7.88019	1.879768	-1.602296	-7.187496
PCTDC_421	-2.21586	-2.398456	-2.138798	-2.086025	1.06367	-1.577877	-1.032754	-1.617107	-2.510909	-1.548298
PCTDC_422	-5.115602	-9.702243	-1.006383	-6.4676	-3.524682	-6.743957	-10.768804	-10.759794	-14.728729	-15.24783
PCTDC_423	-1.831691	1.008045	-1.119537	-1.713724	1.0263	-1.16685	-3.696149	-2.139006	-4.231594	-4.755056
PCTDC_424	-1.11881	-2.558552	-1.29532	-1.944752	-1.721406	-1.983778	-3.899375	-2.577879	-2.61241	-4.033377
PCTDC_425	-3.606344	-1.584107	-1.723869	-5.365775	-3.688865	-1.723426	-11.907057	-2.609665	-6.127047	-12.738211
PCTDC_426	-2.116754	1.178401	-1.201768	-2.278917	-1.92316	-1.578315	-3.836931	-2.091437	-3.109696	-3.228948
PCTDC_427	-3.06407	-3.861369	-3.700923	-3.038453	-2.201797	-2.820146	-5.154231	-4.331721	-5.67382	-4.049896
PCTDC_428	-1.974874	1.030132	1.112083	-2.272229	-1.298947	-1.095983	-3.818708	-1.517295	-5.526316	-3.639863
PCTDC_429	-2.138915	-10.298188	-2.214486	-1.305676	-1.288579	-4.286278	-2.442652	-6.461126	-6.962633	-2.643682
PCTDC_430	-2.040858	1.937925	-1.854622	-3.497624	-1.320876	4.064054	-6.751593	1.581492	-2.944198	-7.217455
PCTDC_431	-4.125475	-2.652308	-2.345984	-3.330373	-3.384879	-3.300669	-3.426686	-8.326731	-3.519214	-4.977574
PCTDC_432	-1.75307	-1.49367	-1.544939	-1.801559	-1.458804	-1.873488	-3.154468	-2.206955	-1.948518	-3.039134
PCTDC_433	-2.272839	-2.53438	-1.61612	-2.163939	-2.00098	-2.01857	-3.910663	-2.551511	-3.928213	-4.674957
PCTDC_434	-1.28826	-1.575161	-1.58858	-1.686772	-1.054567	-1.390829	-2.92367	-2.333632	-2.249653	-2.199577
PCTDC_435	-5.220012	-7.5921	-3.568733	-4.668806	-8.816271	-4.404173	-4.128571	-17.027718	-9.717108	-9.731349
PCTDC_436	-1.194001	-1.267171	-1.202947	-1.160666	-1.904211	-1.261343	-1.759856	-1.927743	-2.225657	-3.104023
PCTDC_437	-4.118565	-2.392381	-1.881881	-3.254918	-3.592949	-3.464413	-3.505827	-9.926498	-4.018203	-6.815197
PCTDC_438	-2.799394	-2.12613	-1.812833	-2.694802	-3.01254	-2.508386	-5.663525	-1.898467	-3.320766	-2.685038
PCTDC_439	-2.606339	-2.348985	-2.160693	-2.992317	-2.952945	-2.404006	-2.682554	-2.355178	-2.451406	-2.047588
PCTDC_440	-1.644827	-1.259022	-1.456172	-1.209592	-1.548498	-1.364202	-2.640613	-2.060328	-2.039139	-2.62871
PCTDC_441	-2.326669	-1.780098	-2.208816	-2.820748	-2.577038	-1.457507	-2.585803	-1.890205	-2.121005	-2.109571
PCTDC_442	-2.462439	-2.061104	-1.573771	-2.394099	-2.343858	-2.25791	-3.318656	-3.370878	-1.485723	-2.232206
PCTDC_443	-9.429247	-4.145243	-4.631259	-9.646797	-7.486014	-4.522355	-14.677288	-5.488232	-9.310837	-7.388904
PCTDC_444	-3.822721	-2.7215	-1.607755	-3.124867	-3.169854	-2.673374	-6.160846	-4.838342	-2.959502	-6.198854
PCTDC_445	-4.733167	-5.118199	-2.359844	-4.211793	-4.978528	-3.292587	-10.502336	-10.050386	-3.505228	-10.975809
PCTDC_446	-2.242095	-2.142577	-1.814265	-2.243981	-1.820491	-1.72304	-2.456413	-1.992708	-2.33442	-2.443974

【０１４１】

【表４－１１】

PCTDC_447	-1.873643	-2.16026	-1.803395	-2.071719	-1.670508	-1.525621	-2.269687	-1.663389	-2.176325	-1.870524
PCTDC_448	-1.228048	-1.156409	-1.297073	-1.128794	-1.177185	-1.138005	-1.9805	-1.965061	-2.759055	-2.718367
PCTDC_449	-1.243277	-1.308936	-1.231462	-1.932546	-1.105554	1.247501	-2.14472	-1.708293	-2.419002	-2.378231
PCTDC_450	-1.825526	-1.926383	-1.841183	-2.168026	-1.812707	-1.238025	-3.797982	-2.002429	-2.575729	-6.129398
PCTDC_451	-1.960918	-2.016697	-1.027948	-1.270407	-1.836382	-2.319706	-2.740891	-2.636069	-1.662029	-1.269787
PCTDC_452	-1.013147	-1.118609	-1.454832	-1.847407	-1.027153	-1.103615	-1.966168	-1.985103	-2.362963	-2.419588
PCTDC_453	-1.859579	-1.580305	-1.656572	-2.144008	-1.537008	-1.377476	-3.19715	-1.681339	-3.330876	-2.699991
PCTDC_454	-2.86018	-2.866956	-1.411291	-2.079742	-2.578795	-2.107279	-2.543648	-2.400486	-2.117301	-2.781379
PCTDC_455	-1.18778	-1.118609	-1.298338	-1.736544	1.111227	1.084275	-2.359633	-1.907869	-2.50018	-2.821481
PCTDC_456	-1.202898	-1.348395	-1.104627	-1.09717	1.032196	-1.352769	-3.292715	-2.280744	-2.313621	-2.07801
PCTDC_457	-3.921933	-2.491198	-2.09695	-3.465019	-3.414396	-3.244624	-3.680325	-9.38241	-4.090302	-5.999517
PCTDC_458	-4.198047	-2.623072	-2.234297	-3.627238	-3.373092	-3.411826	-3.752882	-9.920869	-4.132503	-6.257953
PCTDC_459	-4.147692	-2.674235	-2.27989	-3.407578	-3.197421	-3.277509	-3.452338	-8.875525	-3.475946	-5.319915
PCTDC_460	-4.249775	-2.763192	-2.221259	-3.763872	-3.620351	-3.497402	-3.646024	-9.96344	-4.267687	-7.248205
PCTDC_461	-5.280007	-7.671776	-3.699308	-4.451082	-8.672559	-4.164809	-3.766206	-15.002592	-9.621099	-8.862043
PCTDC_462	-3.57887	-2.278907	-1.935006	-3.113895	-3.381089	-2.854793	-3.078645	-6.668007	-3.693722	-6.207499
PCTDC_463	-2.981488	-2.488562	-2.14119	-3.487246	-3.115881	-2.439668	-3.133138	-6.110227	-3.292491	-4.770925
PCTDC_464	-2.379064	-2.893599	-1.953627	-2.104885	-2.612707	-2.221495	-2.100314	-3.848471	-2.619261	-2.567279
PCTDC_465	-2.479421	-3.298689	-2.407963	-2.989532	-3.314621	-2.458162	-2.530385	-6.778717	-4.317293	-3.369215
PCTDC_466	-1.410138	-1.44473	-1.258094	-1.596811	-1.593217	-1.572988	-2.917847	-2.465304	-2.271055	-4.42402
PCTDC_467	-2.390594	-2.345222	-1.961068	-2.361172	-2.357436	-2.167579	-2.072833	-3.064006	-2.583501	-2.76667
PCTDC_468	-1.680336	-3.259171	-1.838008	-2.652272	-1.206303	-2.842929	-1.416433	-1.290887	-4.525883	-3.491836
PCTDC_469	-2.045475	-1.709187	-1.800676	-2.270922	-1.779019	-1.438455	-2.230007	-1.712926	-1.977794	-2.058432
PCTDC_470	-1.983869	-3.163117	-1.795463	-2.738596	-1.964095	-1.927791	-4.439088	-3.31788	-2.961011	1.182987
PCTDC_471	-2.451482	-1.574182	-1.89738	-2.73348	-1.87724	-1.748365	-4.446304	-2.649345	-3.490811	-4.192489
PCTDC_472	-1.037877	-1.923896	-2.101907	-3.020603	-1.84166	1.03894	1.027216	-3.45271	-2.19805	-3.567147
PCTDC_473	-1.751684	-1.556872	-1.634768	-2.287308	-1.514002	-1.171918	-3.867051	-1.335986	-3.011726	-6.024663
PCTDC_474	-4.04888	-3.69383	-2.858062	-3.35046	-4.122208	-3.128487	-5.867784	-3.845832	-3.756094	-4.628043
PCTDC_475	-2.757834	-2.932736	-1.846393	-2.068793	-2.324373	-2.470888	-3.857581	-3.838137	-3.065844	-2.988186
PCTDC_476	-1.312905	-1.293242	-1.655551	-1.990178	-1.110877	-1.222385	-2.412448	-2.36894	-2.051659	-2.843233
PCTDC_477	-2.036354	-1.61711	-1.890354	-4.704314	-1.76905	-1.575935	-3.358423	-1.957228	-4.20353	-5.172051
PCTDC_478	-2.165554	-1.980344	-1.793583	-1.943708	-1.758711	-1.946568	-2.538936	-2.167247	-1.973462	-2.095788
PCTDC_479	-4.170393	-2.573389	-2.156788	-3.468242	-3.309002	-3.227538	-3.466124	-8.528288	-3.727987	-6.107713
PCTDC_480	-1.707033	-1.169422	-1.193386	-1.478945	-1.621326	-1.596215	-2.417819	-2.582085	-2.210896	-2.703929
PCTDC_481	-3.940004	-2.535416	-2.119418	-3.3859	-3.558542	-3.057556	-3.262084	-7.538472	-3.32997	-4.996814
PCTDC_482	-2.601739	-1.264894	-1.697132	-3.261934	-2.244717	-1.332372	-5.460417	-2.407066	-3.417602	-5.091409
PCTDC_483	-2.718768	-2.185249	-1.651059	-1.869576	-2.812357	-2.9404	-3.102393	-1.634451	-1.067689	1.100071
PCTDC_484	-2.39852	-1.631899	-1.848976	-2.475552	-1.284731	-1.224315	-2.444646	-2.167004	-2.873597	-4.347968
PCTDC_485	-2.057471	-2.066126	-2.464797	-2.260879	-1.797202	-1.956571	-3.849904	-2.381093	-3.594158	-3.283784
PCTDC_486	-1.164735	-1.380944	-1.368693	-1.605741	-1.046789	-1.156493	-2.355411	-2.087242	-2.743011	-2.741241
PCTDC_487	1.351533	-1.199158	-1.211928	-1.358015	1.112984	-1.089697	-1.089697	-1.924453	-2.163176	-2.667205
PCTDC_488	-2.173894	-1.688027	-1.826145	-2.155279	-1.247267	-1.21457	-2.300259	-2.370535	-2.922597	-4.340714
PCTDC_489	-6.81174	-4.885068	-3.691052	-6.952291	-5.914726	-4.917046	-8.368398	-4.67966	-5.141819	-3.87472
PCTDC_490	-2.693876	-2.168933	-1.795236	-2.225158	-1.464391	-2.486346	-1.86256	-1.67286	-1.805379	-1.350162
PCTDC_491	1.022384	-1.962803	-1.111503	-1.53311	-1.457028	-1.42621	-2.36949	-1.819114	-2.279974	-3.299198

【０１４２】

【表４－１２】

PCTDC_492	-4.435233	-4.72611	-2.31092	-4.114769	-5.46749	-2.250829	-13.135315	-8.658033	-10.866399	-11.625659
PCTDC_493	-1.726497	1.237203	-1.684367	-2.214422	-2.250615	1.001932	-4.354498	-1.930646	-2.972657	-5.826303
PCTDC_494	-3.986704	-10.214438	-2.235956	-1.289291	-3.902556	-4.708869	-8.360419	-5.433639	-11.695395	-7.803391
PCTDC_495	-9.662001	-4.017264	-4.912549	-7.437357	-8.433582	-6.488033	-15.314687	-6.099616	-10.37993	-5.293031
PCTDC_496	-1.931297	-2.426281	-1.483111	-1.651267	-1.59488	-1.691502	-3.558874	-4.366205	-3.123582	-3.897883
PCTDC_497	-4.386757	-2.803833	-2.258645	-3.774412	-3.796883	-3.464158	-3.641393	-9.802439	-3.830014	-6.246689
PCTDC_498	-1.910983	-1.800007	-1.728982	-1.602626	-2.152866	-1.79345	-2.961699	-2.436046	-1.53983	1.072635
PCTDC_499	-3.801859	-2.794723	-1.966794	-3.332434	-6.132774	-3.888875	-3.158231	-12.658903	-3.36037	-7.937511
PCTDC_500	-3.766929	-2.549677	-1.934078	-3.285396	-5.195549	-3.521348	-3.002847	-10.687489	-3.434129	-7.020942
PCTDC_501	-2.497117	-1.798926	-1.79396	-1.974637	-3.059483	-1.868472	-3.872467	-2.818968	-2.871452	-4.185874
PCTDC_502	-4.022521	-1.818765	-1.942933	-2.244681	-1.375072	-2.307466	1.134177	-1.232951	-1.094307	-1.509788
PCTDC_503	-1.384349	-1.163179	-1.623914	-1.462417	-1.09429	-1.379813	-2.539931	-1.973483	-2.806978	-2.619855
PCTDC_504	-3.270537	-2.029771	-1.740615	-2.643592	-2.993415	-2.9028	-2.780434	-6.381547	-3.298102	-5.283781
PCTDC_505	-5.003045	-3.663749	-4.378886	-3.824932	-5.549801	-4.801282	-11.344074	-5.839832	-10.373031	-5.292884
PCTDC_506	-1.345389	-1.281099	-1.152219	-1.296648	-1.080703	-1.191914	-2.479965	-2.444037	-2.647597	-2.140528
PCTDC_507	-4.757814	-7.498409	-1.651077	-5.082231	-10.403072	-4.26957	-3.998628	-20.232414	-11.585198	-12.86114
PCTDC_508	-2.800021	-2.040236	-1.515285	-2.37896	-2.617315	-1.914974	-4.588605	-2.526306	-4.673424	-3.409321
PCTDC_509	-2.934403	-4.523464	-1.688992	-3.833131	-7.293571	-3.287681	-9.000772	4.655367	-13.595597	-4.621663
PCTDC_510	-1.476941	-2.454367	-1.741225	-1.378503	-1.920962	-1.287828	-3.334848	-3.086293	-4.46172	-3.106186
PCTDC_511	-1.973351	-1.731608	-1.729295	-1.56888	-1.714635	-1.546756	-3.090829	-2.238058	-2.172862	-2.05809
PCTDC_512	-2.655767	-19.708242	-1.225767	-3.286163	-18.513833	-3.542684	-3.158092	-12.497798	-24.719374	-4.924631
PCTDC_513	-3.147304	-47.15366	-1.472986	-4.223797	-53.499794	-4.163492	-4.528132	-23.560839	-88.310661	-9.291848
PCTDC_514	-2.896986	-42.338341	-1.397007	-4.191507	-44.630997	-3.902461	-3.665555	-20.874205	-74.998177	-6.763952
PCTDC_515	-2.789012	-2.157998	-1.996718	-1.580221	-2.797045	-2.058109	-7.408581	-2.21213	-3.995366	-3.363424
PCTDC_516	-1.372227	-2.083936	-1.553563	-1.535993	-1.558006	-1.330293	-2.353537	-2.324155	-2.567971	-2.820413
PCTDC_517	-2.612071	-2.37371	-2.24176	-2.073574	-2.146933	-2.037686	-4.844729	-2.684412	-2.387803	-2.425425
PCTDC_518	-3.503985	-1.595497	-1.11622	-2.607165	-1.074117	-2.044653	-5.675608	-2.003303	-5.242962	-5.370054
PCTDC_519	-5.198984	-9.360762	-7.042399	-10.017647	-5.152067	-10.524405	-26.187635	-12.124947	-8.147792	-19.470036
PCTDC_520	-1.335818	1.267761	-2.617651	1.228106	-1.36805	-2.032907	-3.105246	1.947639	-3.280555	-2.722996
PCTDC_521	-2.380674	-2.470443	-2.565333	-2.267503	-2.319755	-2.104322	-2.855173	-4.322774	-2.842998	-5.603982
PCTDC_522	-1.350376	-1.445063	-1.346426	-1.360597	-1.340386	-1.117974	-3.012714	-2.165339	-3.430023	-4.755522
PCTDC_523	-2.445678	-2.15636	-2.008549	-1.974647	-2.243389	-2.291559	-3.577276	-2.483721	-2.613158	-2.39375
PCTDC_524	-3.786515	-2.643449	-2.021266	-2.914837	-3.078571	-3.104864	-2.932681	-5.816575	-2.131141	-2.879459
PCTDC_525	-5.028649	-1.391998	-1.738997	-3.433631	-2.018528	-2.59016	-2.453159	-1.29434	-4.881182	-2.744209
PCTDC_526	1.012703	-1.66488	-1.121852	-1.066909	-1.140691	-1.186716	-2.263018	-2.14326	-2.677976	-4.123821
PCTDC_527	-4.322382	-5.28279	-2.794171	-3.210779	-6.969234	-3.758474	-3.695833	-11.288051	-6.075418	-6.068587
PCTDC_528	-1.037666	-1.481409	-1.933469	-1.923975	-1.000878	-1.392221	-2.307213	-2.355418	-2.664037	-1.883761
PCTDC_529	-4.203119	-2.413176	-1.883237	-3.05964	-3.565671	-3.404735	-3.16146	-9.616374	-3.619349	-6.840977
PCTDC_530	-3.489052	-1.022411	-1.351068	-3.08581	-2.888702	-1.291287	-4.9881	-2.314329	-2.677203	-6.71598
PCTDC_531	-2.788715	1.008337	-1.266413	-2.898742	-2.418625	-1.167032	-4.373553	-2.174679	-2.273024	-6.779548
PCTDC_532	-1.599621	-1.732217	-1.172744	-1.01763	-1.412733	-1.769813	-2.953695	-3.218176	-2.363033	-2.318671
PCTDC_533	-3.127232	-3.188901	-3.005321	-2.579616	-2.570059	-2.571501	-4.802047	-3.536669	-3.118577	-2.818208
PCTDC_534	-1.528137	-1.314179	-2.057945	-2.069454	-1.574109	-1.273614	-1.930238	-1.540489	-2.00633	-2.243512
PCTDC_535	-1.786282	-2.101565	-2.098175	-2.198452	-1.403034	-1.55068	-2.843627	-2.637512	-3.457897	-3.254817
PCTDC_536	-1.177096	-1.031142	-1.319487	-1.140883	1.343581	-1.305724	-2.593612	-2.25954	-1.919988	-2.160357

【０１４３】

【表４－１３】

PCTDC_537	-3.799112	-2.701041	-1.966207	-3.6021	-6.962352	-4.299753	-3.52406	-19.381191	-3.533262	-10.068835
PCTDC_538	-1.977907	-1.31051	-1.444315	-1.750597	-1.304521	-1.352274	-3.180976	-2.307213	-3.092135	-3.120386
PCTDC_539	-3.053032	-2.333641	-1.411762	-2.712081	-3.116833	-1.645554	-7.03511	-6.858676	-2.140382	-6.644153
PCTDC_540	2.15045	-2.562178	1.666789	-1.648637	-2.499994	-1.500036	-3.543043	-2.433013	-2.404769	-1.862214
PCTDC_541	-2.255368	-2.092699	-2.72356	-2.457666	-2.074179	-2.316446	-4.198337	-3.335201	-3.99356	-3.080166
PCTDC_542	-3.057606	-2.365003	-1.936607	-2.646039	-3.576478	-2.981153	-2.738776	-6.353964	-2.783772	-4.630699
PCTDC_543	-2.02795	-1.1764	-1.487945	-1.991581	-1.52056	-1.82209	-3.629715	-2.379959	-3.298835	-3.24351
PCTDC_544	-2.35955	-3.624348	1.159183	-3.163264	-2.038474	-3.161205	-7.419415	-4.592446	-6.918106	-6.446481
PCTDC_545	-3.578978	-2.29385	-2.024204	-2.684515	-2.701118	-2.349786	-4.703971	-3.517354	-2.734774	-2.279695
PCTDC_546	-4.24607	-3.474969	-4.85251	-6.135162	-5.773375	-4.128414	-5.972315	-6.127929	-7.578036	-5.786638
PCTDC_547	-1.790011	-2.155357	-2.026831	-2.01	-1.520742	-1.716096	-2.021892	-1.823375	-1.964153	-1.837394
PCTDC_548	-2.02119	-2.574125	1.103573	-2.249537	-2.783807	-2.282952	-1.362833	-2.893267	-1.174093	-2.488058
PCTDC_549	-1.087209	-1.240978	-1.428093	-1.7115	1.06794	-1.267364	-2.617886	-2.139586	-3.319463	-2.148385
PCTDC_550	-3.323033	-2.491836	-1.86641	-3.041298	-5.106065	-3.298179	-2.67091	-6.901036	-3.05029	-6.368939
PCTDC_551	-2.214859	-1.530053	-1.05263	-1.959219	-1.045903	-1.616773	-3.305795	-1.547398	-3.197367	-3.784653
PCTDC_552	-1.231717	-2.050832	-2.720342	-2.200618	-1.941845	-1.677305	-3.195515	-2.50823	-2.247194	-2.804085
PCTDC_553	-1.025631	-2.275231	-1.452125	-2.132788	-1.666659	-1.56604	-2.19495	-2.009058	-1.910682	-2.605141
PCTDC_554	-1.135718	-1.081424	-1.407248	-1.361144	1.153963	-1.314985	-2.044226	-2.369961	-2.089493	-1.931527
PCTDC_555	-3.005455	-4.273493	-2.095281	-1.541273	-4.177554	-3.648843	-7.010541	-5.203244	-6.406971	-5.155677
PCTDC_556	-2.298774	-2.56509	-1.304017	-1.308648	-3.126355	-4.482344	-5.974912	-4.990507	-4.360383	-3.330212
PCTDC_557	-2.642847	-3.578011	-1.344106	-3.135075	-6.856468	-5.09733	-4.356937	-15.4079	-22.830832	-12.213466
PCTDC_558	-2.091945	-2.207287	-2.653325	-2.720855	-2.248579	-1.879507	-3.64272	-2.36905	-3.298157	-3.581275
PCTDC_559	-2.178046	-1.506931	-1.37275	-2.056458	-1.884107	-1.201338	-4.644512	-2.458729	-1.756415	-4.717901
PCTDC_560	-3.988228	-2.979001	-3.621165	-5.204254	-3.823349	-2.377509	-4.225865	-3.607449	-3.226445	-3.282101
PCTDC_561	-26.0333	-8.337242	-9.079122	-24.277685	-22.783827	-12.009212	-30.645575	-10.47272	-14.096417	-9.249123
PCTDC_562	-1.108282	1.164169	1.039573	-1.053774	1.113347	1.116945	-3.024733	-1.926901	-1.925363	-2.04705
PCTDC_563	-1.573374	-1.054869	1.167521	1.08473	-1.576548	-1.095156	-3.6972	-2.891324	-3.374032	-2.836388
PCTDC_564	-3.087662	-2.850971	-3.033665	-3.457917	-3.067259	-2.084297	-4.547463	-3.041965	-3.241731	-3.54576
PCTDC_565	-2.004796	-1.672195	-1.761897	-1.906638	-1.521024	-1.825188	-2.484365	-1.917063	-1.932943	-1.893031
PCTDC_566	-1.573435	-1.588811	-1.115372	-1.014231	1.284361	-1.18682	-2.648138	-1.998425	-2.664293	-4.492978
PCTDC_567	-1.904652	-1.555524	-1.938543	-1.984841	-1.28467	-1.59086	-2.869549	-2.669139	-2.646847	-2.239221
PCTDC_568	-1.068629	1.213866	-1.78508	-1.641857	-2.221032	-1.414268	-2.792088	-1.331242	-3.16828	-3.233897
PCTDC_569	-2.375146	-2.102661	-2.029639	-1.663989	-1.420596	-2.230147	-1.457797	1.069658	-1.722803	-2.220284
PCTDC_570	-9.608533	-8.61835	-3.753283	-9.15265	-17.243759	-6.931448	-44.141563	-11.76804	-19.895657	-37.167835
PCTDC_571	-3.498796	1.100427	1.52337	-1.171291	-1.235893	-1.873176	-2.435471	-2.313335	-3.99035	-6.524507
PCTDC_572	-1.714235	-1.05276	-1.427239	-2.068653	-1.311309	-1.225797	-3.97152	-1.70684	-3.714783	-4.567413

【実施例６】

【０１４４】

シグナルＰ解析およびＴＭＨＭＭ解析

[００４１]　２倍以上異なって発現され、３０％以上の腫瘍にある転写物は、シグナルＰおよびＴＭＨＭＭ解析によりさらに解析し、それらが膜に結合しているかどうかを確認した。

【０１４５】

シグナル配列およびＴＭＨＭＭ解析

[００４２] シグナルＰ　Ｖ２．０は２種のシグナルペプチド予測法、シグナルＰ－ＮＮ（神経ネットワークに基づく、シグナルＰ　Ｖ１．１に対応）およびシグナルＰ－ＨＭＭ（隠れマルコフモデルに基づく）を含む。真核細胞データの場合、シグナルＰ－ＨＭＭはシグナルペプチドと非開裂シグナルアンカー間の識別が実質的に改善していることを示しているが、開裂部位の正確な位置の予測においてはわずかに正確さが低い（Ｎｉｅｌｓｅｎ　ａｎｄ　Ｋｒｏｇｈ，Ｉｎ　Ｐｒｏｃｅｅｄｉｎｇｓ　ｏｆ　ｔｈｅ　Ｓｉｘｔｈ　Ｉｎｔｅｒｎａｔｉｏｎａｌ　Ｃｏｎｆｅｒｅｎｃｅ　ｏｎ　Ｉｎｔｅｌｌｉｇｅｎｔ　Ｓｙｓｔｅｍｓ　ｆｏｒ　Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ　Ｂｉｏｌｏｇｙ，（１９９８）．ＡＡＡＩ　Ｐｒｅｓｓ，Ｍｅｎｌｏ　Ｐａｒｋ，Ｃａｌｉｆｏｒｎｉａ，ｐｐ．１２２－１３０）。試験したすべての蛋白質において、シグナル開裂の予測部位は両プログラムにおいて全く同じであるため、シグナルＰ－ＨＭＭのデータだけを示す。ＴＭＨＭＭはＨＭＭに基づいた膜蛋白質トポロジー予測プログラムである。このプログラムは、膜貫通ヘリックスの９７～９８％を正しく予測することが示されている（Ｋｒｏｇｈ　ｅｔ　ａｌ．，ＪＭｏｌ　Ｂｉｏ，３０５：５６７－５８０（２００１））。さらに、ＴＭＨＭＭは特異性および感度共に９９％以上で、可溶性および膜蛋白質を識別することができる。

［００４３］　図１～３１は以下の蛋白質配列それぞれのシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ解析を示す：ＰＣＴＵＣ－５（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３９）、ＰＣＴＵＣ－９３（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４６）、ＰＣＴＵＣ－１９０（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５７）、ＰＣＴＵＣ－２３９（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６５）、ＰＣＴＵＣ－２４６（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４０）、ＰＣＴＵＣ－３６０（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５３）、ＰＣＴＵＣ－４６２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５８）、ＰＣＴＵＣ－４６８（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４８）、ＰＣＴＵＣ－５３６（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４）、ＰＣＴＵＣ－５８２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６４）、ＰＣＴＵＣ－６０５（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７１）、ＰＣＴＵＣ－６２９（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６７）、ＰＣＴＵＣ－７２２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６１）、ＰＣＴＵＣ－７４８（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６３）、ＰＣＴＵＣ－７８４（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７２）、ＰＣＴＵＣ－８１２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６６）、ＰＣＴＵＣ－８５６（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４９）、ＰＣＴＵＣ－８９８（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４３）、ＰＣＴＵＣ－９３５（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７０）、ＰＣＴＵＣ－９３６（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２）、ＰＣＴＵＣ－９８６（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４７）、ＰＣＴＵＣ－９９１（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７５）、ＰＣＴＵＣ－９９２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６０）、ＰＣＴＵＣ－１０５４（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５９）、ＰＣＴＵＣ－１０６１（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５５）、ＰＣＴＵＣ－１０７３（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５６）、ＰＣＴＵＣ－１０７５（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７３）、ＰＣＴＵＣ－１０７８（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６８）、ＰＣＴＵＣ－１０８２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５４）、ＰＣＴＵＣ－１１２２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６２）、およびＰＣＴＵＣ－２５０（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４１）。これらのペプチドの細胞内局在および膜トポロジーのためのシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ解析の予測は表５に要約する。

【０１４６】

【表５】

表５

遺伝子	産物位置	開裂シグナル配列	トポロジー	TMセグメントの数
PCTUC5	細胞膜	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	1
PCTUC93	分泌	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端外部	0
PCTUC190	細胞膜	NA	Ｎ－末端内部＆Ｃ－末端外部	11
PCTUC239	分泌	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端外部	0
PCTUC246	細胞膜	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	1
PCTCUC250	細胞膜	yes	Ｎ－末端内部＆Ｃ－末端内部	7
PCTUC360	細胞膜	NA	Ｎ－末端内部＆Ｃ－末端内部	6
PCTUC462	細胞膜	NA	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端外部	12
PCTUC468	細胞膜	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	1
PCTUC536	細胞膜	no	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端外部	4
PCTUC582	分泌	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端外部	0
PCTUC605	細胞膜	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	1
PCTUC629	細胞膜	NA	Ｎ－末端内部＆Ｃ－末端内部	12
PCTUC722	分泌	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端外部	0
PCTUC748	細胞膜	no	Ｎ－末端内部＆Ｃ－末端内部	4
PCTUC784	細胞膜	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	1
PCTUC812	細胞膜	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	1
PCTUC856	細胞膜	no	Ｎ－末端内部＆Ｃ－末端内部	12
PCTUC898	細胞膜	no	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	10
PCTUC935	細胞膜	no	Ｎ－末端内部＆Ｃ－末端内部	6
PCTUC936	細胞膜	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	1
PCTUC986	細胞膜	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	3
PCTUC991	分泌	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端外部	0
PCTUC992	細胞膜	NA	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	9
PCTUC1054	細胞膜	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	1
PCTUC1061	細胞膜	NA	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端外部	2
PCTUC1073	分泌	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端外部	0
PCTUC1075	細胞膜	NA	Ｎ－末端内部＆Ｃ－末端内部	12
PCTUC1078	分泌	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端外部	0
PCTUC1082	細胞膜	yes	Ｎ－末端内部＆Ｃ－末端外部	3
PCTUC1122	細胞膜	yes	Ｎ－末端外部＆Ｃ－末端内部	1
NA =適用できない（N-末端シグナル配列非依存的膜挿入）				

【実施例７】

【０１４７】

細胞表面結合遺伝子発現の時間依存性のＳｙｂｒ　Ｇｒｅｅｎ　Ｐｃｒ解析

［００４４］　可能な場合、マイクロアレイの結果はＳＹＢＲ　ｇｒｅｅｎ法を使用して確認した。ＳＹＢＲ　ｇｒｅｅｎ　ＰＣＲ法は、ＳＹＢＲ　Ｇｒｅｅｎ　１　Ｄｙｅを使用してリアルタイムＰＣＲを実行するための方法である。ポリメラーゼ連鎖反応（ＯＰＣＲ）の直接検出は、ＳＹＢＲ　ｇｒｅｅｎ　ｄｙｅの２本鎖ＤＮＡへの結合によって引き起こされた蛍光の増大を測定することによりモニターする。遺伝子特異的ＰＣＲオリゴヌクレオチドプライマー対は、Ｐｒｉｍｅｒ　Ｅｘｐｒｅｓｓ　１．５ソフトウェア（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，Ｃａ）を使用して設計し

た。

［００４５］　蛋白質産物が膜に結合していることが確認された転写物はさらに、６または１３組のいずれかの結腸腫瘍および６組の乳房腫瘍ＲＮＡの付加的な組に関してＳＹＢＲ　ｇｒｅｅｎ（リアルタイムＰＣＲ）解析により確認し、正常結腸または乳房ＲＮＡのプールと比較した。初めに、取り扱い説明書（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，Ｃａ）に従って、それぞれのｍＲＮＡ　１マイクログラムをランダムヘキサマーと共に、ＡＢＩＴａｑｍａｎ逆転写試薬を使用して、逆転写酵素反応物　１００μＬに添加した。サーマルサイクリング条件は、２５℃で１０分間を１サイクル、４８℃で３０分間を１サイクル、および９５℃で５分間を１サイクルであった。次に水４００μＬをｃＤＮＡ反応物に添加した。取り扱い説明書（Ａｐｐｌｉｅｄ　Ｂｉｏｓｙｓｔｅｍｓ，Ｆｏｓｔｅｒ　Ｃｉｔｙ，Ｃａ）に従って、生成されたｃＤＮＡ（１０μＬ）をＳＹＢＲ　ｇｒｅｅｎ　ＰＣＲ反応混合物　２５μＬに添加した。サーマルサイクリング条件は、９５℃で１０分間を１サイクル、９５℃で１５秒間を４０サイクル、６０℃で１分間アニーリングであった。データは、相対的定量のためのデルタデルタＣＴ法を使用して同じ遺伝子に標準化して倍数の増加として示す。比較のために、結腸および乳房腫瘍由来のｃＤＮＡにより得られたデータを正常結腸および乳房ｃＤＮＡのプール由来のデータと比較した。

［００４６］　表６は使用したＳＹＢＲ　ｇｒｅｅｎプライマーおよびプローブの組を示す。表７は結腸腫瘍（ＣＴ）および乳房腫瘍（ＢＴ）におけるＳＹＢＲ　ｇｒｅｅｎを示す。

【０１４８】

【表６Ａ】

表 6

PCTUC	フォワードプライマー	リバースプライマー
5	CGGAGACAGGCTATGAGTCTGA SEQ ID NO:3012	TGAAGTCAAACTGCCACATTC SEQ ID NO:3048
246	GCCAGCAACCTACATGAACTTG SEQ ID NO:3013	TGAGAACTGCGGCTGTTCTG SEQ ID NO:3049
250	CGACATGCTGGGAGATTACATC SEQ ID NO:3014	AGAGGCTTTGTCACTCAGCAAGA SEQ ID NO:3050
936	TGAGTCTGGGCAGCTGTCC SEQ ID NO:3015	CTGGACTGCTACCTTTCAAAGCTT SEQ ID NO:3051
898	CATCAGGTTGGAGTGCGTCTT SEQ ID NO:3016	CGAGGCGATGACATAGTTCACA SEQ ID NO:3052
1121	GGATCAGCCCTGAACTCACT SEQ ID NO:3017	TTGTCCCTGTCCCTCTCTCT SEQ ID NO:3053
1103	AGACAAGGATGCCGTGGATAA SEQ ID NO:3018	TGAAGTCCACCTGGGCATCT SEQ ID NO:3054
93	TCAATATAGATGATTGTGCCATCTTCT SEQ ID NO:3019	CACGTTTATGAGTTGAACTTCTC SEQ ID NO:3055
986	TGCAAAGTCTTTGACTCCTTGCT SEQ ID NO:3020	TCAAGGCACGGGTTGCTT SEQ ID NO:3056
468	GTCCAAAGAGTTACTTGCAACAGTCT SEQ ID NO:3021	ATTAGTAAACATTTTGTCATGCAGCAT SEQ ID NO:3057
856	GGCATGGTTTAGGCCCTGTT SEQ ID NO:3022	TGGCTCTAGGTGTCCACTAAAGG SEQ ID NO:3058
536	CCAAGATGCAGAGGTTGATGAA SEQ ID NO:3023	TCGTCTCAGGCTTCCTGCTT SEQ ID NO:3059
360	CCGTTTATGGGTAGACATCTTTGG SEQ ID NO:3024	TGTTGGAGTATACGTGTGGACATG SEQ ID NO:3060
1082	GCCATGCCAGCCTTTCTGT SEQ ID NO:3025	GCAATGAGCTAAGAGCCAACCT SEQ ID NO:3061
1061	AGCTAGAAGGGCTGGAGAATGC SEQ ID NO:3026	GAACGTCCTGTTGCGAGTCTT SEQ ID NO:3062
1073	GGTACAAATTATTTGGCTCGACTTC SEQ ID NO:3027	CACTCTGGCAACGGGTCACT SEQ ID NO:3063
190	TGATGCAATCACACGGGAACT SEQ ID NO:3028	GAGGTCACAGCCGACTTTAAACC SEQ ID NO:3064
462	CATGGCATGGTTAGAAGCTCTATCT SEQ ID NO:3029	ACACTCTGATGATTCCCACGAACTA SEQ ID NO:3065
1054	CGTTCTCTCCATTGCTTGTTAGC SEQ ID NO:3030	CACAGGACAGGGATGGAGAAG SEQ ID NO:3066

【０１４９】

【表６Ｂ】

PCTUC	フォワードプライマー	リバースプライマー
992	TCAAGGGAGCCAAGAGCTCTT SEQ ID NO:3031	TTGACAGTGTGTTTATGTGGAATGTT SEQ ID NO:3067
722	GACAGCAAGGTGCCCTCAGT SEQ ID NO:3032	GTAGGCGCACACCTTCATCTC SEQ ID NO:3068
1122	TGTCTGCGAAGAAGGCTAGGAG SEQ ID NO:3033	ATGGACTGAAGCTGTTGTTGCC SEQ ID NO:3069
748	TCAAGATCCGTGCTCGCAGT SEQ ID NO:3034	GGGATACAGGGTTTCAACGA SEQ ID NO:3070
582	GTTCAGCGTACATCCGGAGACT SEQ ID NO:3035	TGACCATTTACCCACCACAGGT SEQ ID NO:3071
239	TTGTCATCCGTCTTCTGAC SEQ ID NO:3036	GTGGGCACCTTTGATTCCT SEQ ID NO:3072
812	CGTAAGCAGTATGGCTCCAA SEQ ID NO:3037	AGCACCTCCTGCTTGCTTAT SEQ ID NO:3073
629	ACCCAAACTCCACAAAGCCATT SEQ ID NO:3038	GCCAGGATGAACACGTACATGTA SEQ ID NO:3074
1078	CCCTTCCAAGTAAGTCCAACGA SEQ ID NO:3039	TGTCAGGTCTGCGAAACTTCTT SEQ ID NO:3075
1124	GACAGTCACAGCAGCCTTGACA SEQ ID NO:3040	TGAACGGCGTGGATTCAATA SEQ ID NO:3076
935	TGCAGATCCTGAGGATGCTAC SEQ ID NO:3041	TCCTTCTCAGCCAGGTACACAA SEQ ID NO:3077
605	GTGGAGGACAGAAAGCCAAGTG SEQ ID NO:3042	GCACCATTTCCTGAGACTTGCT SEQ ID NO:3078
784	TGGCTCTCGGTTTCTCTGCTT SEQ ID NO:3043	CGCGGAAGACGCTGTTATT SEQ ID NO:3079
1075	TGGCTTGATCAAGGGCCTTA SEQ ID NO:3044	TGGTCACGTTTCGGTTTCAT SEQ ID NO:3080
1125	AGAAGAGCTGCCAGGAAGTGTT SEQ ID NO:3045	TCCACATGACCAGACTCTCCA SEQ ID NO:3081
991	TGGAAAACAGCAAACCACCTT SEQ ID NO:3046	CAGAGCAGATGCCAAGCCTAA SEQ ID NO:3082
1126	TTCTGAGGCATTAAGCCAGCA SEQ ID NO:3047	TGCATGGAGTTGCTGCTGT SEQ ID NO:3083

【０１５０】

【表７Ａ】

表7

PCTUC	CT-1	CT-2	CT-3	CT-4	CT-5	CT-6	CT-7	CT-8	CT-9	CT-10	CT-11	CT-12	CT-13	BT-1	BT-2	BT-3	BT-4	BT-5	BT-6
5	49.3	0.0	67.2	12.5	83.0	74.6								1.8	0.3	0.5	0.4	1.4	2.4
246	2.6	0.0	2.3	1.0	25.7	2.7								3.8	2.8	4.4	8.9	8.1	2.8
250	3.4	0.0	7.8	2.3	0.8	3.5								0.7	0.4	0.5	0.4	0.7	0.5
936	252.4	5.5	3.9	2.7	89.1	5.2								0.1	0.1	0.6	68.1	15.7	2.5
898	4.8	1.5	5.3	2.7	4.9	7.1								0.9	0.7	1.3	0.8	1.7	0.6
1121	4.2	6.9	5.8	2.8	24.3	12.6								2.1	0.9	0.6	5.5	4.4	0.9
1103	5.4	1.1	1.9	3.0	5.9	5.8								8.1	22.5	2.9	19.4	33.6	29.3
93	0.6	0.1	1.2	0.4	0.2	0.8								1.0	0.7	2.1	1.3	7.9	0.4
986	27.8	31.3	17.5	11.0	3.5	16.6								1.1	0.1	0.5	0.1	0.2	0.7
468	ND	ND	ND	ND	ND	ND								ND	ND	ND	ND	ND	ND
856	3.4	5.2	1.8	1.6	4.8	5.8								0.8	0.3	0.1	0.1	0.3	0.7
536	2.2	2.5	2.9	1.7	1.7	1.9	11.0	7.5	5.7	5.2	4.8	6.9	1.0	1.8	1.4	1.9	4.0	9.3	1.4
360	1.2	1.4	1.7	0.4	1.6	1.2								1.6	0.7	1.7	0.6	1.0	0.0
1082	1.7	2.6	65.8	0.4	16.1	1.7								0.3	0.2	0.0	0.4	1.4	0.6
1061	1.6	1.5	2.2	0.8	1.0	1.7	1.4	4.6	1.6	0.6	0.4	1.5	1.0	0.7	0.6	1.2	1.0	1.1	0.5
1073	3.3	4.6	1.9	0.7	0.6	1.0								1.0	0.8	1.9	1.1	3.4	0.7
190	16.9	8.0	9.8	4.7	12.4	9.6								0.6	0.4	0.2	0.7	2.3	2.3
462	1.9	1.9	3.7	0.9	1.0	1.6								0.4	0.2	1.5	0.3	1.1	0.1
1054	ND	ND	ND	ND	ND	ND								2.5	4.5	8.9	0.0	8.0	4.1
992	ND	ND	ND	ND	ND	ND								ND	ND	ND	ND	ND	ND
722	1.9	3.5	2.4	0.6	1.0	1.2								0.9	0.4	0.7	0.7	0.6	0.4
1122	1.1	1.7	0.7	0.4	0.4	0.6	0.5	0.6	1.2	0.7	0.8	0.6	0.9	0.3	0.4	0.3	0.2	0.3	0.2
748	0.8	0.3	2.1	0.5	0.3	1.3	11.4	14.3	2.1	13.4	1.5	15.6	3.5	0.6	0.2	0.3	0.5	0.9	0.4
582	3.9	0.2	0.7	1.0	1.1	2.3								12.6	28.2	12.5	3.0	4.2	3.2
239	19.4	0.0	7.9	37.9	7.0	8.6								2.6	68.8	11.4	217.8	9.3	4.8

【０１５１】

【表７Ｂ】

									0.1	1.3	5.1	0.2	0.3
									0.9	0.2	0.4	1.7	0.6
									0.8	0.2	3.7	8.2	5.7
									0.8	6.6	0.7	1.9	3.2
									3.5	6.7	0.0	5.7	1.3
									9.2	0.3	1.4	0.2	0.2
									2.4	0.4	10.1	0.1	0.1
									3.6	0.6	0.5	0.3	1.4
									2.7	2.7	0.6	2.3	3.8
									0.1	2.8	1.7	3.6	0.6
									0.7	0.4	2.0	1.5	0.6
									2.3	0.1	2.1	4.1	0.7
									0.8	1.5	0.6	1.6	1.2
									1.6	1.8			
								5.4		3.4	2.7		
							3.8		4.0	2.3			
						0.9		1.0	5.1				
					2.5		5.2	11.0					
				3.4		3.5	5.2						
			5.0		3.9	10.1							
		2.4		2.7	3.7								
	0.3		2.8										
	0.3	2.7	0.2	0.1	0.2	1.5	0.2	0.2	0.4	0.2	24.2		
	0.1	2.2	0.7	1.3	0.9	1.0	0.7	0.5	0.7	0.7	4.5		
	0.2	3.4	4.0	2.1	7.7	3.0	2.7	4.4	2.1	1.3	1.7		
	0.0	0.0	5.6	0.1	2.3	1.7	0.9	0.4	0.9	1.4	7.8		
	0.3	2.8	16.0	4.1	3.2	1.8	1.5	1.7	1.1	1.8	4.0		
	812	629	1078	1124	935	605	784	1075	1125	991	1126		

【実施例８】

【０１５２】

大腸菌における遺伝子発現

［００４１］　本実施例は大腸菌における組換え発現によるポリペプチドの非グリコシル化型の作製法を説明する。

［００４２］　ポリペプチドをコードするＤＮＡ配列は初めに選択したＰＣＲプライマーを使用して増幅する。プライマーは、選択した発現ベクター上の制限酵素部位に対応する制限酵素部位を含んでいなければならない。種々の発現ベクターを使用することができる

。適切なベクターの例としては、アンピリシンおよびテトラサイクリン耐性遺伝子を含むｐＢＲ３２２（大腸菌由来；Ｂｏｌｉｖａｒ　ｅｔ　ａｌ．，Ｇｅｎｅ，２：９５（１９７７）を参照されたい）が挙げられる。ベクターは制限酵素により消化され、脱燐酸化される。次にＰＣＲ増幅配列をベクターに連結する。ベクターは好ましくは、抗生物質耐性遺伝子、ｔｒｐプロモーター、ｐｏｌｙｈｉｓリーダー（初めの６ＳＴＩＩコドン、ポリヒス配列、およびエンテロキナーゼ開裂部位を含む）、本発明の蛋白質をコードする領域、ラムダ転写ターミネーター、およびａｒｇＵ遺伝子を含むことになる。

[００４３] 次に連結混合物を使用して、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．，上記に記載の方法により選択した大腸菌株に形質転換する。形質転換体はＬＢプレート上で増殖する能力により確認し、その後抗生物質耐性コロニーを選択する。プラスミドＤＮＡを分離し、制限解析により確認し、ＤＮＡ配列決定をすることができる。

[００４４] 選択されたコロニーは、抗生物質を補足したＬＢブロスのような液体培地中で一晩培養してよい。次にオーバーナイト培養物を使用して大規模培養基に接種してよい。その後発現プロモーター作動中に、細胞を所望する最適密度まで培養する。

[００４５] さらに数時間細胞を培養後、細胞を遠心分離により採取する。得られた細胞ペレットは当該技術分野で公知の各種物質を使用して可溶化してよく、そして可溶化された蛋白質は蛋白質が堅く結合する条件下で、金属キレートカラムを使用して精製することができる。

[００４６] 本発明の蛋白質は以下の手順を使用して、ポリＨｉｓタグ付の形で大腸菌に発現することができる。本発明の蛋白質をコードするＤＮＡは初めに選択したＰＣＲプライマーを使用して増幅する。プライマーは、選択した発現ベクター上の制限酵素部位に対応する制限酵素部位、および効率的で確実な翻訳開始、金属キレートカラム上での速やかな精製、およびエンテロキナーゼによる蛋白質分解により除去を提供する別の有用な配列を含むことになる。次に、ＰＣＲ‐増幅、ポリ‐Ｈｉｓタグ化配列を発現ベクターに連結し、それを使用して、菌株５２（Ｗ３１１０　ｆｕｈＡ（ｔｏｎＡ）ｌｏｎ　ｇａｌＥ　ｒｐｏＨｔｓ（ｈｔｐＲｔｓ）ｃｌｐＰ（ｌａｃＩｑ）に基づいた大腸菌宿主を形質転換する。形質転換体は初めに、３～５のＯ．Ｄ．６００に到達するまで５０ｍｇ／ｍｌカルベニシリンを含むＬＢ中、３０℃で培養する。次に培養物をＣＲＡＰ培地（３．５７ｇ（NH_2）SO_4、０．７１ｇ　クエン酸ナトリウム－$2H_2$０、１．０７ｇ　ＫＣｌ、５．３６ｇ　Ｄｉｆｃｏ酵母抽出物、水５００ｍＬ中の５．３６ｇ　シェフィールドヒカーゼ（Ｓｈｅｆｆｉｅｌｄ　ｈｙｃａｓｅ）ＳＦならびに１１０　ｍＭ　ＭＰＯＳ、ｐＨ７．３、０．５５％（ｗ／ｖ）グルコースおよび７ｍＭ　$MgSO_4$）で５０～１００倍に希釈し、振盪しながら３０℃で約２０～３０時間培養する。試料を取り除き、ＳＤＳ－ＰＡＧＥ解析により発現を確認し、バルク培養物を遠心分離し、細胞をペレットにする。細胞ペレットは精製および再生まで凍結される。

[００４７] ０．５～１Ｌ発酵物由来の大腸菌ペースト（６～１０ペレット）は、７Ｍグアニジン、２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ、ｐＨ８バッファーで１０倍の容積（ｗ／ｖ）に再懸濁する。固体亜硫酸ナトリウムおよびテトラチオン酸ナトリウムを添加して、それぞれ最終濃度０．１Ｍおよび０．０２Ｍにし、溶液を一晩、４℃で撹拌する。この工程から、すべてが亜硫酸分解（ｓｕｌｆｉｔｏｌｉｚａｔｉｏｎ）により遮断されたシステイン残基を持つ変性蛋白質が生じる。溶液をＢｅｃｋｍａｎ超遠心機で４０，０００ｒｐｍ、３０分間遠心分離する。上清を３～５容積の金属キレートカラムバッファー（６Ｍ　グアニジン、２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ、ｐＨ７．４）で希釈し、０．２２ミクロンフィルターで濾過し、不純物を取り除く。透明な抽出物を金属キレートカラムバッファーで平衡にした５ｍｌのＱｉａｇｅｎ　Ｎｉ－ＮＴＡ金属キレートカラムに載せる。カラムは５０ｍＭ　イミダゾール（Ｃａｌｂｌｏｃｈｅｍ，Ｕｔｒｏｌ　ｇｒａｄｅ）を含む別のバッファーで洗浄する。蛋白質は２５０ｍＭ　イミダゾールを含むバッファーで溶出する。所望する蛋白質を含む画分をプールし、４℃で保存する。蛋白質濃度は、そのアミノ酸配列に基づいた、計算された吸光計数を使用して２８０ｎｍにおける吸光度により推測する。

[００４８] 蛋白質は２０ｍＭ　Ｔｒｉｓ、ｐＨ８．６、０．３Ｍ　ＮａＣｌ、２．５Ｍ

尿素、５ｍＭ　システイン、２０ｍＭ　グリシンおよび１ｍＭ　ＥＤＴＡからなる、新たに作製された再生バッファーで試料をゆっくり希釈することにより再生する。再生容積は、最終蛋白質濃度が５０～１００マイクログラム／ｍｌであるように選択される。再生溶液は４℃で１２～３６時間穏やかに撹拌する。再生反応は最終濃度０．４％になるようにＴＦＡの添加により停止する（ｐＨ約３）。蛋白質をさらに精製する前に、溶液を０．２２ミクロンフィルターで濾過し、アセトニトリルを最終濃度２～１０％になるまで添加する。再生蛋白質は、ＰｏｒｏｓＲ１／Ｈ逆相カラム上で、０．１％　ＴＦＡの移動相バッファーを使用して、１０～８０％のアセトニトリルのグラジエントによる溶出によりクロマトグラフィーにより分離する。Ａ２８０吸光度を持つ画分のアリコートをＳＤＳポリアクリルアミドゲル上で分析し、均一な再生蛋白質を含む画分をプールした。一般に、多くの蛋白質の適切に再生された種は最も低いアセトニトリル濃度で溶出される。なぜなら、それらの種は逆相レジンとの相互作用から隠れた疎水性内部を持ち、最もコンパクトだからである。凝集した種は通常、より高いアセトニトリル濃度で溶出される。ミスフォールドした型の蛋白質を所望する蛋白質と分けることに加え、逆相工程はまた、試料からエンドトキシンを除去する。

[００４９]　所望する折りたたまれたポリペプチドを含む画分をプールし、溶液に向けた穏やかな窒素流を使用して、アセトニトリルを除去する。蛋白質は、製剤バッファーで平衡化し、滅菌濾過したＧ２５　Ｓｕｐｅｒｆｉｎｅ　（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）レジンを使用して、透析またはゲルろ過により、２０ｍＭ　Ｈｅｐｅｓ、ｐＨ６．８、０．１４Ｍ塩化ナトリウムおよび４％　マンニトール中で製剤される。

【実施例９】

【０１５３】

哺乳類細胞におけるポリペプチドの発現

[００５０]　本実施例は哺乳類細胞における組換え発現による潜在的にグリコシル化した形状のポリペプチドの作製法を説明する。

[００５１]　ベクター、ｐＲＫ５（ＥＰ　３０７，２４７、１９８９年3月１５日公開）を発現ベクターとして使用する。場合により、Ｓａｍｂｒｏｏｋ　ｅｔ　ａｌ．の上記のような連結法を使用して、選択した制限酵素を持つｐＲＫ５にＤＮＡを連結して挿入し、そしてｐＲＫ５‐ＤＮＡと名付ける。

[００５２]　一態様において、別の哺乳類細胞のための本明細書に記載のベクターおよびトランスフェクション法を使用して選択された宿主細胞はＮＩＨ３Ｔ３細胞であってよい。本発明の蛋白質をコードする遺伝子を過剰発現するか、またはアンチセンスを発現するトランスフェクションされたＮＩＨ３Ｔ３細胞は、活性を試験される。

[００５３]　一態様において、選択された宿主細胞は２９３細胞であってよい。ヒト２９３細胞（ＡＴＣＣ　ＣＣＬ　１５７３）は、ウシ胎児血清および場合により、栄養成分および／または抗生物質を補足したＤＭＥＭのような培地中、組織培養プレートでコンフルエントになるまで培養する。約１０μｇのｐＲＫ５－ＤＮＡをＶＡ　ＲＮＡ遺伝子（Ｔｈｉｍｍａｐｐａｙａ　ｅｔ　ａｌ．，Ｃｅｌｌ，３１：５４３（１９８２））をコードする約１μｇのＤＮＡと混合し、５００μｌの１ｍＭ　Ｔｒｉｓ－ＨＣＩ、０．１ｍＭ　ＥＤＴＡ、０．２２７Ｍ　$CaCl_2$ に溶解する。この混合物に、５００μｌの５０ｍＭ　ＨＥＰＥＳ（ｐＨ７．３５）、２８０ｍＭ　ＮａＣｌ、１．５ｍＭ　$NaPO_4$ を滴下して加え、１０分間、２５℃で沈殿を形成させる。沈殿を懸濁し、２９３細胞に添加し、約４時間、３７℃で放置する。培地を吸引し、ＰＢＳ中の２０％グリセロール　２ｍｌを３０秒間かけて添加する。その後２９３細胞を無血清培地で洗浄し、新鮮な培地を添加し、細胞を約5日間インキュベーションする。

[００５４]　トランスフェクション約２４時間後に、培地を除去し、培地（単独）または２００μＣｉ／ｍｌ ^{35}Ｓ－システインおよび２００μＣｉ／ｍｌ ^{35}Ｓ－メチオニンを含む培地に置換する。１２時間インキュベーション後、ならし培地を集め、スピンフィルター上で濃縮し、１５％　ＳＤＳゲルに置く。処理されたゲルを乾燥し、選択した期間、フィルムに曝露し、ポリペプチドの存在を明らかにする。トランスフェクションした

細胞を含む培養物をさらにインキュベーション（無血清培地中）し、選択したバイオアッセイで培地を試験する。

[００５５] 代わりの技術において、本発明の蛋白質はＳｏｍｐａｒｙｒａｃ ｅｔ ａｌ．，Ｐｒｏｃ．Ｎａｔｌ．Ａｃａｄ．Ｓｃｉ．，１２：７５７５（１９８１）に記載のデキストラン硫酸法を使用して、一過性に２９３細胞に導入してもよい。２９３細胞は撹拌フラスコ中で、最大密度になるまで培養し、７００μｇのｐＲＫ５‐ＤＮＡを添加する。細胞は初めに撹拌フラスコから遠心分離によって濃縮し、ＰＢＳで洗浄する。ＤＮＡ－デキストラン沈殿は、細胞ペレット上で４時間インキュベーションする。細胞は２０％グリセロールで９０秒間処理し、組織培養培地で洗浄し、そして組織培養培地、５μｇ／ｍｌ ウシインスリン、および０．１μｇ／ｍｌ ウシトランスフェリンを含む撹拌フラスコに再導入する。約５日後、ならし培地を遠心分離し、濾過して細胞および残渣を除去する。次に、発現された本発明の蛋白質を含む試料を濃縮し、透析および／またはクロマトグラフィーのような、いずれか選択された方法により精製する。

[００５６] 別の態様において、本発明の蛋白質はＣＨＯ細胞に発現してもよい。ｐＲＫ５‐ＤＮＡは$CaPO_4$またはＤＥＡＥ‐デキストランのような公知の試薬を使用してＣＨＯ細胞にトランスフェクションしてもよい。先に記載のように、細胞培養物をインキュベーションし、そして培地（単独）または^{35}Ｓ－メチオニンのような放射標識を含む培地で置換してもよい。ポリペプチドの存在を確認後、培地を無血清培地に置換してよい。好ましくは、培養物は約６日間インキュベーションし、その後ならし培地を採取する。次に発現された本発明の蛋白質を含む試料を濃縮し、いずれか選択された方法により精製してよい。

[００５７] エピトープ‐タグ付ポリペプチドはまた、宿主ＣＨＯ細胞に発現してもよい。ＤＮＡはｐＲＫ５ベクターからサブクローニングしてよい。サブクローン挿入物はＰＣＲを行い、選択されたエピトープ‐タグ、たとえばポリ‐ＨｉｓタグまたはｐｃＤＮＡ３．１／ｍｙｃ－ｈｉｓ（Ｉｎｖｉｔｒｏｇｅｎ，Ｃａｒｌｓｂａｄ，ＣＡ）のようなｍｙｃタグにより骨格で融合してもよい。このベクターは、Ｇ４１８および本発明の遺伝子に作動可能に結合したヒトサイトメガロウイルスを使用した安定クローンの選択のためのｎｅｏ遺伝子を有する。タグ付けは、先に記載のように発現を確認するために行われる。次に、発現されポリ‐Ｈｉｓタグ付ポリペプチドを含む培地を濃縮し、Ni^{2+}‐キレートアフィニティークロマトグラフィーのような、いずれか選択された方法により精製することができる。

[００５８] 本発明の蛋白質はまた、一過性発現手順によりＣＨＯ細胞および／またはＣＯＳ細胞に、または別の安定発現手順によりＣＨＯ細胞に発現されてよい。

[００５９] ＣＨＯ細胞における安定発現は、以下の手順を使用して行う。蛋白質はＩｇＧ構築物（イムノアドヘシン）として発現され、個々の蛋白質の溶解型に対するコーディング配列（たとえば、細胞外ドメイン）はヒンジ、ＣＨ２およびＣＨ２ドメインを含むＩｇＧ１定常領域配列に融合し、および／またはポリ‐Ｈｉｓタグ型である。

[００６０] ＰＣＲ増幅後、個々のＤＮＡはＡｕｓｕｂｅｌ ｅｔ ａｌ．，Ｃｕｒｒｅｎｔ Ｐｒｏｔｏｃｏｌｓ ｏｆ Ｍｏｌｅｃｕｌａｒ Ｂｉｏｌｏｇｙ，Ｕｎｉｔ ３．１６，Ｊｏｈｎ Ｗｉｌｅｙ ａｎｄ Ｓｏｎｓ（１９９７）に記載のような標準技術を使用してＣＨＯ発現ベクターにサブクローニングする。ＣＨＯ発現ベクターは、ｃＤＮＡの好都合なシャトリングのために、関心のあるＤＮＡの適合した制限部位５′および３′を持つように構築する。ＣＨＯ細胞におけるベクターを使用した発現は、Ｌｕｃａｓ ｅｔ ａｌ．，Ｎｕｃｌ．Ａｃｉｄｓ Ｒｅｓ．２４：９（１７７４－１７７９（１９９６）に記載のものであり、関心のあるｃＤＮＡおよびジヒドロフォレートレダクターゼ（ＤＨＦＲ）を発現させるために、ＳＶ４０初期プロモーター／エンハンサーを使用する。ＤＨＦＲ発現は、トランスフェクション後のプラスミドの安定な維持のための選択を可能にする。

[００６１] 市販のトランスフェクション試薬Ｓｕｐｅｒｆｅｃｔ（登録商標）（Ｑｕｉａｇｅｎ）、Ｄｏｓｐｅｒ（登録商標）またはＦｕｇｅｎｅ（登録商標）（Ｂｏｅｈｒｉ

ｎｇｅｒ Ｍａｎｎｈｅｉｍ）を使用して、所望するプラスミドＤＮＡ１２マイクログラムを約１０００万のＣＨＯ細胞に導入する。細胞はＬｕｃａｓ ｅｔ ａｌ．，上記、に記載のように培養した。約３ｘ１０$^{-7}$細胞は、以下に記載の別の増殖および産生のためにアンプル中で凍結させる。

[００６２] プラスミドＤＮＡを含むアンプルは水浴により解凍し、ボルテックスで混合する。内容物は、培地を１０ｍＬ含む試験管にピペットで移し、１０００ｒｐｍで５分間遠心分離する。上清を吸引し、細胞を選択培地（０．２μｍ濾過ＰＳ２０、５％ ０．２ｇｍ 完全に濾過（ｄｉａｆｉｌｔｅｒｅｄ）したウシ胎児血清）に再懸濁する。次に９０ｍＬ選択培地を含む１００ｍＬスピナーに細胞を分取する。１～２日後、細胞を１５０ｍＬの選択増殖培地で満たした２５０ｍＬのスピナーに移し、３７℃でインキュベーションする。細胞培地は遠心分離により新鮮な培地と交換し、増殖培地に再懸濁する。いずれの適切なＣＨＯ培地も使用することができるが、１９９２年６月１６日発行の米国特許第５，１２２，４６９号に記載の増殖培地を実際に使用することができる。３Ｌの増殖スピナーに１．２ｘ１０６細胞／ｍＬを接種する。０日に、細胞数ｐＨを確認する。１日目に、スピナーから試料を採取し、濾過空気の散布を開始する。２日目にスピナーから試料を採取し、温度を３３℃にシフトし、３０ｍＬの５００ｇ／Ｌ グルコースおよび０．６ｍＬの１０％ 消泡剤（たとえば、３５％ ポリメチルシロキサンエマルジョン、Ｄｏｗ Ｃｏｍｉｎｇ ３６５ Ｍｅｄｉｃａｌ Ｇｒａｄｅ Ｅｍｕｌｓｉｏｎ）を加える。

[００６３] 増殖中、ｐＨは必要により約７．２に保つように調整する。１０日後、または増殖力が７０％以下に低下するまで、細胞培養物を遠心分離により採取し、０．２２ミクロンフィルターで濾過する。濾液は４℃で保存するか、または精製のためにただちにカラムにのせる；ポリ‐Ｈｉｓタグポリペプチドの場合、蛋白質はＮｉ－ＮＴＡカラム（Ｑｉａｇｅｎ）を使用して精製する。精製前に、イミダゾールを５ｍＭの濃度でならし培地に添加する。ならし培地は０．３Ｍ ＮａＣｌおよび５ｍＭ イミダゾールを含む２０ｍＭ Ｈｅｐｅｓ、ｐＨ７．４、バッファー、平衡化した６ｍｌ Ｎｉ－ＮＴＡカラムに流速４～５ｍｌ／分、４℃で注ぐ。負荷後、カラムは別の平衡化バッファーで洗浄し、蛋白質は０．２５Ｍイミダゾールを含む平衡化バッファーで溶出する。高度に精製された蛋白質は次に２５ｍｌ Ｇ２５ Ｓｕｐｅｒｆｉｎｅ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）カラムにより、１０ｍＭ Ｈｅｐｅｓ、０．１４Ｍ ＮａＣｌおよび４％ マンニトール、ｐＨ６．８を含む保存バッファーで脱塩し、－８０℃で保存される。

[００６４] イムノアドヘシン（Ｆｃ－含有）構築物は以下のようにならし培地から精製する。ならし培地を２０ｍＭ 燐酸バッファー、ｐＨ６．８で平衡化してある５ｍｌ 蛋白質Ａカラム（Ｐｈａｒｍａｃｉａ）に注ぐ。負荷後、カラムを平衡バッファーで十分に洗浄し、１００ｍＭ クエン酸、ｐＨ３．５で溶出前する。溶出された蛋白質は、１Ｍ Ｔｒｉｓバッファー、ｐＨ９ ２７５μｌを含む試験管に１ｍｌ 画分を集めることにより速やかに中和する。次に、高度に精製された蛋白質をポリ‐Ｈｉｓタグ蛋白質のために先に記載のように保存バッファーで脱塩する。均一性は、ＳＤＳポリアクリルアミドゲルおよびエドマン分解によるＮ－末端アミノ酸配列決定により評価する。

[００６５] ＣＨＯ細胞における安定発現はまた、関心のある遺伝子をＦｃドメインに融合せずに行った。この場合、関心のある遺伝子を発現するプラスミド、たとえば先に記載のｐｃＤＮＡ３．１／ｍｙｃ－ｈｉｓをｃ－ｍｙｃ、ポリＨｉｓ融合体として３５ｍｍ組織培養皿に約５ｘ１０^{5}細胞にトランスフェクションした。次の日、トリプシン／ＥＤＴＡまたは別の適合した細胞解離混合物により細胞を取り除き、１００ｍｌの増殖培地で希釈し、１００ｍｍの組織培養皿に接種した。次の日、培地を除去し、適切な量の選択培地を含む培地と交換した。この場合、選択薬物は、約８００ｕｇ／ｍｌで添加したＧ４１８（Ｇｅｎｅｔｉｃｉｎ，Ｌｉｆｅ Ｔｅｃｈｎｏｌｏｇｉｅｓ）である。約１０日後、ＤＮＡを安定して取り込まなかった細胞は致死し、安定にトランスフェクションした細胞の小コロニーが肉眼で見える。これらの細胞はクローニングシリンダー（Ｆｒｅｓｈｎｅｙ，２０００）を使用して単一、またはプールとしてのいずれかで解離させることが可能であり、そしてより大きな組織培養皿に接種される。関心のある遺伝子の発現は増幅後、

関心のある蛋白質に対する抗体またはエピトープタグを使用して、先に記載の技術またはウェスタンブロット法のようなその他の技術により個々のクローンにおいて検出することができる。

[００６６] さらに、関心のある遺伝子はｐＩＲＥＳ２－ｅＧＦＰベクター（Ｃｌｏｎｅｔｅｃｈ）にクローニングした。このベクターは内部リボソーム侵入部位（ＩＲＥＳ）から下流に位置する賦活化緑色蛍光蛋白質（ｅＧＦＰ）を発現する。細胞はこのベクターによりトランスフェクションし、Ｇ４１８を使用して選択した。ＤＮＡを取り込む細胞は、緑色蛍光細胞の確認により蛍光顕微鏡で同定することができる。さらに、関心のある遺伝子を発現する細胞は分離するか、または蛍光活性化細胞ソーティングにより濃縮することができる。ＧＦＰ発現細胞による関心のある遺伝子の発現は上記のように行った。

[００６７] 関心のある遺伝子は、先に記載のものと同じベクターおよび検出技術を使用して、ＣＨＯ、ＨＥＫ２９３およびＨＵＶＥＣ細胞に加え、種々の腫瘍細胞株に発現される。使用したいくつかのヒト腫瘍細胞株としては、ＳＷ４８０（ＡＴＣＣ、ＣＣＬ－２２８）、ＨＣＴ－１１６（ＡＴＣＣ、ＣＣＬ－２４７）、ＤＬＤ－１（ＡＴＣＣ、ＣＣＬ－２２１）、ＬＳ１７４Ｔ（ＡＴＣＣ、ＣＣＬ－１８８）またはＨＴ－２９、ＡＴＣＣ、ＨＴＢ－３８）が挙げられる。

【実施例１０】

【０１５４】

酵母における遺伝子発現

[００６８] 酵母におけるポリペプチドの組換え発現も行うことができる。

[００６９] 初めに、ＡＤＨ２／ＧＡＰＤＨプロモーターから本発明の蛋白質の細胞内産生または分泌のために酵母発現ベクターが構築される。本発明の蛋白質をコードするＤＮＡおよびプロモーターは選択されたプラスミドの適切な制限部位に挿入され、本発明の蛋白質の細胞内発現を行う。選択のために、本発明の蛋白質をコードするＤＮＡは、ＡＤＨ２／ＧＡＰＤＨプロモーター、本発明の蛋白質の天然のシグナルペプチドもしくは別の哺乳類のシグナルペプチド、またはたとえば、酵母アルファ‐因子もしくはインベルターゼ分泌シグナル／リーダー配列、および本発明の蛋白質の発現のためのリンカー配列（必要な場合）と共に選択されたプラスミドにクローニングすることができる。

[００７０] 次に、酵母株ＡＢ１１０のような酵母細胞は先に記載の発現プラスミドにより形質転換され、選択された発酵培地中で培養することができる。形質転換された酵母上清は１０％ トリクロロ酢酸により沈殿させ、ＳＤＳ－ＰＡＧＥにより分け、クーマシーブルー染色でゲルを染色することにより分析することができる。

[００７１] 組換えポリペプチドはその後、遠心分離により発酵培地から除去し、選択されたカートリッジフィルターを使用して培地を濃縮することにより分離、精製することができる。

【実施例１１】

【０１５５】

バキュロウイルス感染細胞におけるポリペプチドの発現

[００７２] 以下の方法はバキュロウイルス感染細胞におけるポリペプチドの組換え発現を説明する。

[００７３] ポリペプチドをコードするＤＮＡ配列はバキュロウイルス発現ベクター内に含まれるエピトープタグの上流に融合する。そのようなエピトープタグには、ポリ‐Ｈｉｓタグおよびイムノグロブリンタグ（ＩｇＧのＦｃ領域に類似）が挙げられる。ｐＶＬ１３９３（Ｎｏｖａｇｅｎ）のような市販のプラスミドに由来するプラスミドを含む種々のプラスミドを使用することができる。手短に述べると、ポリペプチド、または膜貫通蛋白質の細胞外ドメインをコードする配列、もしくは蛋白質が細胞外の場合に成熟蛋白質をコードする配列のような、コーディング配列の所望する部分をコードする配列が５′および３′領域に相補的なプライマーによりＰＣＲで増幅される。５′プライマーはフランキング（選択された）制限酵素部位を取り込むことができる。産物はその後それらの選択された制限酵素により消化され、発現ベクターにサブクローニングされる。

[００７４] 組換えバキュロウイルスは、リポフェクチン（ＧＩＢＣＯ－ＢＲＬから市販）を使用して、上記のプラスミドおよびＢａｃｕｌｏＧｏｌｄ（登録商標）ウイルスＤＮＡ（Ｐｈａｒｍｉｎｇｅｎ）をスポドプテラフルギペルダ（Ｓｐｏｄｏｐｔｅｒａ ｆｒｕｇｉｐｅｒｄａ）（”Ｓｆ９”）細胞（ＡＴＣＣ ＣＲＬ １７１１）に共トランスフェクションすることにより作製される。２８℃で４～５日インキュベーション後、放出されたウイルスを採取し、その後の増幅に使用する。ウイルス感染および蛋白質発現は、Ｏ’Ｒｅｉｌｌｅｙ ｅｔ ａｌ．，Ｂａｃｕｌｏｖｉｒｕｓ ｅｘｐｒｅｓｓｉｏｎ ｖｅｃｔｏｒｓ：Ａ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｍａｎｕａｌ，Ｏｘｆｏｒｄ：Ｏｘｆｏｒｄ Ｕｎｉｖｅｒｓｉｔｙ Ｐｒｅｓｓ（１９９４）に記載のように行われる。

[００７５] 発現されたポリ‐Ｈｉｓタグポリペプチドは次に、たとえば 以下のようなNi^{2+}－キレートアフィニティークロマトグラフィーにより精製することができる。抽出物はＲｕｐｅｒｔ ｅｔ ａｌ．，Ｎａｔｕｒｅ，３６２：１７５－１７９（１９９３）により記載のように、組換えウイルス‐感染Ｓｆ９細胞から作製される。手短に述べると、Ｓｆ９細胞を洗浄し、超音波処理バッファー（２５ｍＬ Ｈｅｐｅｓ、ｐＨ７．９；１２．５ｍＭ $MgCl_2$；０ １ｍＭ ＥＤＴＡ；１０％ グリセロール；０．１％ ＮＰ－４０；０．４Ｍ ＫＣｌ）に再懸濁し、氷上で２回超音波処理する。超音波処理物を遠心分離により清澄にし、上清を負荷バッファー（５０ｍＭ ホスフェート、３００ｍＭ ＮａＣｌ、１０％ グリセロール、ｐＨ７．８）で５０倍に希釈し、０．４５ｇｍフィルターで濾過する。ベッド容積５ｍＬのNi^{2+}－ＮＴＡアガロースカラム（Ｑｉａｇｅｎから市販）を作製し、２５ｍＬの水で洗浄し、２５ｍＬの負荷バッファーで平衡化する。濾過した細胞抽出物を０．５ｍＬ／分でカラムに負荷する。カラムを負荷バッファーでA_{280}基線になるまで洗浄し、その時点で採集を開始する。次に、カラムを二次洗浄バッファー（５０ｍＭ ホスフェート；３００ｍＭ ＮａＣｌ、１０％ グリセロール、ｐＨ６．０）で洗浄し、非特異的に結合した蛋白質を溶出する。A_{280}基線に再び到達後、カラムを二次洗浄バッファー中、０～５００ｍＭ イミダゾールグラジエントで展開する。画分１ｍＬを集め、アルカリ性ホスファターゼ（Ｑｉａｇｅｎ）に結合したHis_{10}－ＮＴＡに対して、ＳＤＡ－ＰＡＧＥおよび銀染色またはウェスタンブロット法により分析する。溶出されたHis_{10}－タグ蛋白質を含む画分をプールし、負荷バッファーに対して透析する。

[００７６] あるいは、本発明のＩｇＧタグ（またはＦＣタグ）蛋白質の精製は公知のクロマトグラフィー技術、たとえば蛋白質Ａまたは蛋白質Ｇカラムクロマトグラフィーを使用して行うことができる。

【実施例１２】

【０１５６】

本発明のポリペプチドに結合するモノクローナル抗体の作製

[００７７] 本実施例は本発明の蛋白質に特に結合することができる、モノクローナル抗体の作製法を説明する。

[００７８] モノクローナル抗体を作製するための技術は当該技術分野で公知であり、たとえば、Ｇｏｄｉｎｇ、上記、に記載される。使用することができる免疫原としては、本発明の精製された蛋白質、本発明の蛋白質を含む融合蛋白質、および細胞表面に本発明の組換え蛋白質を発現している細胞が挙げられる。当業者は不適切な実験をせずに、免疫原を選択することができる。マウス、たとえばＢａｌｂ／ｃは、完全フロイントアジュバント中で乳化し、１～１００マイクログラムを皮下または腹腔内に注射した免疫原で免役する。あるいは、免疫原はＭＰＬ－ＴＤＭアジュバント（Ｒｉｂｉ Ｉｍｍｕｎｏｃｈｅｍｉｃａｌ Ｒｅｓｅａｒｃｈ，Ｈａｍｉｌｔｏｎ，ＭＴ）で乳化し、動物の後足蹠に注射する。免疫したマウスは、その後選択されたアジュバントで乳化した付加的な免疫原で１０～１２日後に追加免疫する。その後、数週間、マウスをさらに付加的な免疫注射により追加免疫する。抗体を検出するためのＥＬＩＳＡアッセイにおける試験のために、血清試料は眼窩後部放血によりマウスから周期的に得ることができる。

[００７９] 適切な抗体価が検出された後、抗体に“陽性”の動物にポリペプチドの最終

静脈注射をしてよい。３～４日後、マウスを致死させ、脾臓細胞を採取する。脾臓細胞は次にＡＴＣＣ、Ｎｏ．ＣＲＬ１５９７から入手可能なＰ３Ｘ６３ＡｇＵ．１のような、選択されたマウス骨髄腫細胞株に融合（３５％　ポリエチレングリコール使用）させる。融合物はハイブリドーマ細胞を生み、それらは、非融合細胞、骨髄腫ハイブリッド、および脾臓細胞ハイブリッドの増殖を阻害するためのＨＡＴ（ヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジン）を含む９６ウェル組織培養皿で培養することができる。

[００８０]　ハイブリドーマ細胞は本発明の蛋白質に対する反応性に対してＥＬＩＳＡでスクリーニングすることになる。所望のポリペプチドに対するモノクローナル抗体を分泌する“陽性”ハイブリドーマ細胞の確認は当該技術分野の技術の範囲内である。

[００８１]　陽性ハイブリドーマ細胞は同系Ｂａｌｂ／ｃマウスに腹腔内注射し、本発明の蛋白質に対するモノクローナル抗体を含む腹水を産生させることができる。あるいは、ハイブリドーマ細胞を組織培養フラスコまたはローラーボトル中で培養することができる。腹水中に産生されたモノクローナル抗体の精製は、硫酸アンモニウム沈殿、続いてゲル排除クロマトグラフィーにより行うことができる。あるいは、蛋白質Ａまたは蛋白質Ｇへの抗体の結合に基づいたアフィニティークロマトグラフィーを使用してもよい。

【実施例１３】

【０１５７】

本発明のポリペプチドに結合する抗体の作製

[００８２]　本実施例は本発明の蛋白質に特異的に結合することができるポリクローナル抗体の作製法を説明する。

[００８３]　ポリクローナル抗体作製のための技術は当該技術分野で公知であり、たとえば、Ｈａｒｌｏｗ　ａｎｄ　Ｌａｎｅ，Ａｎｔｉｂｏｄｉｅｓ：Ａ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ　Ｍａｎｕａｌ，Ｃｏｌｄ　Ｓｐｒｉｎｇ　Ｈａｒｂｏｒ　Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ，（１９８８）に記載される。使用することができる免疫原としては、本発明の精製された蛋白質、本発明の蛋白質を含む融合蛋白質、および細胞表面に本発明の組換え蛋白質を発現している細胞またはキャリア蛋白質に結合した、本発明の蛋白質由来の合成ペプチドが挙げられる。当業者は不適切な実験をせずに、免疫原を選択することができる。表８～１４はポリクローナル抗体産生のために適切な、典型的なペプチドを示す。ウサギ、たとえばＮｅｗ　Ｚｅａｌａｎｄ　Ｗｈｉｔｅは、完全フロイントアジュバント中で乳化した免疫原で免役し、５０～１０００マイクログラムを皮下または筋肉内に注射する。免疫したマウスは、その後選択されたアジュバント中で乳化した付加的な免疫原で２～４週間後に追加免疫する。その後、数週間、マウスをさらに付加的な免疫注射により追加免疫する。抗体を検出するためのＥＬＩＳＡアッセイにおける試験のために、血清試料はウサギ耳静脈から周期的に得ることができる。

[００８４]　血清からのポリクローナル抗体の精製は、硫酸アンモニウム沈殿、続いてゲル排除クロマトグラフィーにより行うことができる。あるいは、蛋白質Ａ、蛋白質Ｇまたは免疫原への抗体の結合に基づいたアフィニティークロマトグラフィーを使用してもよい。

【０１５８】

【表８】
表8

ＫＩＡＡ　０７９２ペプチド

ＣＫＩＥＱＡＬＡＱＴＧＳＶＡＡＡＰＱＥＡＬＳＮ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０８４）

ＣＫＩＥＬＰＲＤＡＲＫＥＴＶＥＳＨＦＲＤＬＳＮ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０８５）

ＣＫＩＥＤＬＬＤＫＤＰＹＳＦＧＲＴＴＩＡＬＳＮ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０８６）

【０１５９】
【表９】
表　９

ＧＰＲ－５６ペプチド

ＣＫＩＥＲＧＨＲＥＤＦＲＦＡＳＱＲＮＱＴＬＳＮ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０８７）

ＣＫＩＥＨＡＰＦＰＡＡＨＰＡＳＲＳＦＰＤＬＳＮ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０８８）

ＣＫＩＥＲＬＱＡＲＧＧＰＳＰＬＫＳＮＳＤＬＳＮ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０８９）

【０１６０】
【表１０】
表１０

Ｐカドヘリンペプチド

ＶＴＤＱＮＤＨＫＰＫＦＴＱ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０９０）

ＤＡＮＤＮＡＰＭＦＤＰＱＫＹ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０９１）

ＤＶＮＥＡＰＶＦＶＰＰＳＫ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０９２）

ＤＶＮＤＨＧＰＶＰＥＰＲＱＩ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０９３）

ＲＤＷＶＶＡＰＩＳＶＰＥ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０９４）

ＹＴＬＴＩＱＡＴＤＭＤＧＤＧＳＴＴＴＡＶ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０９５）

【０１６１】

【表１１】
表１１

ＦＧＦＲ３ペプチド

ＶＥＮＫＦＧＳＩＲＱＴＹＴＬＤ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０９６）

ＧＬＰＡＮＱＴＡＶＬＧＳＤＶＥ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０９７）

ＧＬＰＡＮＱＴＡＩＬＧＳＤＶＥ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０９８）

ＰＹＶＴＶＬＫＴＡＧＡＮＴＴＤＫ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３０９９）

ＰＹＶＴＶＬＫＳＷＩＳＥＳＶＥＡＤ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１００）

ＰＹＶＴＶＬＫＳＷＩＳＥＶＥＡＤ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１０１）

【０１６２】
【表１２】
表１２

ＣＣＫ４ペプチド

ＫＱＰＳＳＱＤＡＬＱＧＲＲＡＬＬＲ　（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１０２）

ＰＡＧＳＩＥＡＱＡＶＬＱＶＬＥＫＬＫ　（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１０３）

ＫＳＬＱＳＫＤＥＱＱＱＬＤＦＲＲＥ　（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１０４）

【０１６３】
【表１３】
表１３

ＴＭ４ＳＦ６

ＥＩＫＮＳＦＫＮＮＹＥＫＡＬＫＱＹＮ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１０５）

ＤＹＲＤＷＴＤＴＮＹＹＳＥＫＧＦＰＫ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１０６）

ＭＡＳＰＳＲＲＬＱＴＫＰＶＩＴ（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１０７）

【０１６４】

【表１４】
表１４

ＩＦＩＴＭ

MNHＩVQTFSPVNSGQ（SEQ ＩD NO：3108）

MSHTVQTFFSPVNSG（SEQ ＩD NO：3109）

EMLKEEQEVAMLGGP（SEQ ＩD NO：3110）

EMLKEEHEVAVLGGP（SEQ ＩD NO：3111）

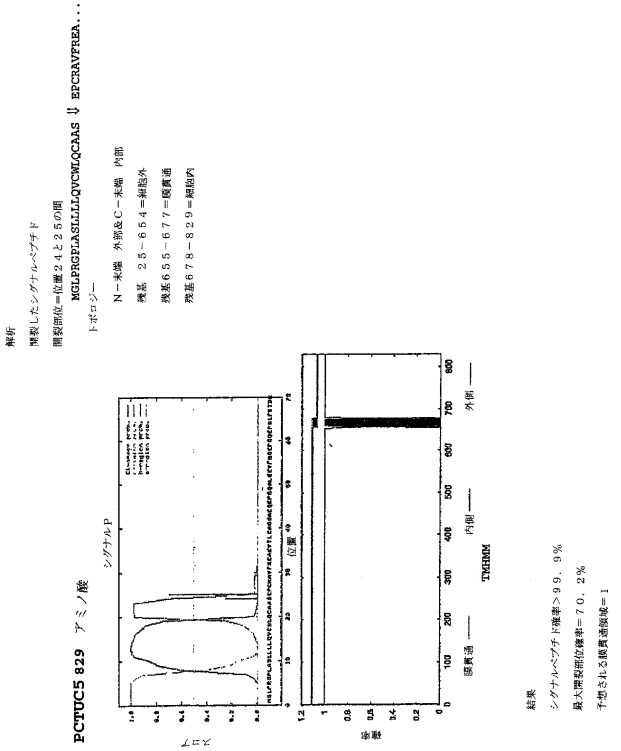
KSRDRKMVGDVTGAQ（SEQ ＩD NO：3112）

【実施例１４】
【０１６５】
特異的抗体を使用したポリペプチドの精製
[００８５] 天然または組換えポリペプチドは種々の蛋白質精製技術における標準技術を使用して精製することができる。たとえば、プロ‐ポリペプチド、成熟ポリペプチド、またはプレ‐ポリペプチドは、関心のあるポリペプチドに特異的な抗体を使用して、イムノアフィニティークロマトグラフィーにより精製する。一般にイムノアフィニティーカラムは、活性化されたクロマトグラフィーレジンに抗体を共有結合的にカップリングさせることにより構築される。ポリクローナルイムノグロブリンは硫酸アンモニウムによる沈殿、または固定化蛋白質Ａ（Ｐｈａｒｍａｃｉａ ＬＫ．Ｂ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ，Ｐｉｓｃａｔａｗａｙ，Ｎ．Ｊ．）上での精製のいずれかにより作製する。同様に、モノクローナル抗体は硫酸アンモニウム沈殿、または固定化蛋白質Ａ上でのクロマトグラフィーにより、マウス腹水から作製される。部分的に精製したイムノグロブリンはＣｎＢｒ－活性化ＳＥＰＨＡＲＯＳＥ（登録商標）（Ｐｈａｒｍａｃｉａ ＬＫ．Ｂ Ｂｉｏｔｅｃｈｎｏｌｏｇｙ）のようなクロマトグラフィーレジンに共有結合的に結合する。抗体はレジンにカップリングし、レジンは遮断され、そして誘導体レジンを取扱説明書に従って洗浄する。
[００８６] そのようなイムノアフィニティーカラムは、可溶型ポリペプチドを含む細胞から画分を調製することによるポリペプチドの精製に使用される。この調製法は、全細胞または、界面活性剤の添加または当該技術分野で公知の別の方法による分別遠心分離を介して得られた細胞下画分の可溶化に由来する。あるいは、細胞を培養する培地に、シグナル配列を含む可溶性ポリペプチドが有効量分泌されてもよい。可溶性ポリペプチド‐含有試料をイムノアフィニティーカラムに通し、ポリペプチドを選択的に吸収する条件下（たとえば界面活性剤存在下における高イオン強度バッファー）で洗浄する。その後、カラムを抗体／ポリペプチド結合を破壊する条件下（たとえば、低ｐＨバッファー、たとえば約ｐＨ２～３、または高濃度の尿素もしくはチオシアネートイオンのような変性剤）で溶出し、ポリペプチドを集める。
【図面の簡単な説明】
【０１６６】
［００２６］ 図１～３１。過剰発現される可能性のある腫瘍蛋白質の推定シグナル配列および膜貫通領域の解析。それぞれの蛋白質の初めの７０のＮ－末端アミノ酸は、シグナル配列の存在について隠れマルコフモデル（Hidden Markov Model: ＨＭＭ）シグナルＰプログラムにより解析した（左グラフ）。さらに、それぞれの全蛋白質は、可能性のある膜貫通領域についてＴＭＨＭＭプログラムにより調べた（右グラフ）。この情報から、それぞれの蛋白質の細胞下部位および膜トポロジーを予測した。
【図１】ＰＣＴＵＣ－５（ＳＥＱ ＩＤ ＮＯ：３９）の蛋白質配列のシグナルＰおよび

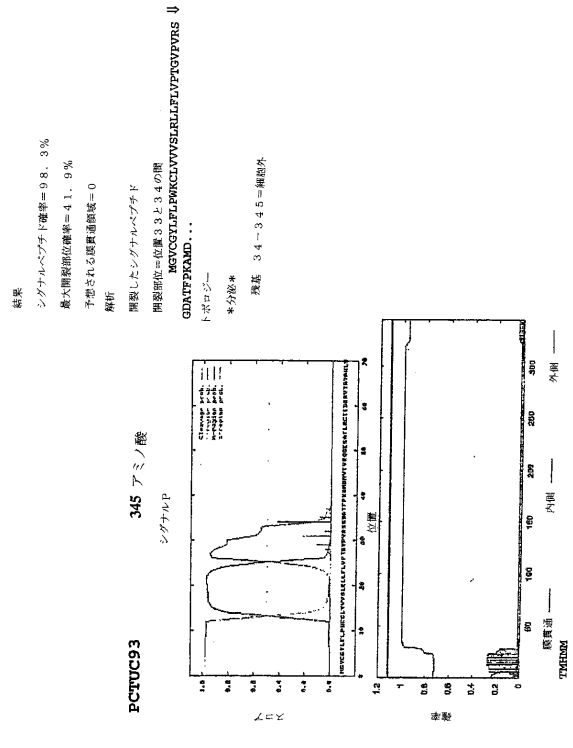
ＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図２】ＰＣＴＵＣ－９３（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４６）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図３】ＰＣＴＵＣ－１９０（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５７）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図４】ＰＣＴＵＣ－２３９（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６５）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図５】ＰＣＴＵＣ－２４６（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４０）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図６】ＰＣＴＵＣ－３６０（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５３）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図７】ＰＣＴＵＣ－４６２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５８）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図８】ＰＣＴＵＣ－４６８（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４８）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図９】ＰＣＴＵＣ－５３６（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：３１１４）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図１０】ＰＣＴＵＣ－５８２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６４）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図１１】ＰＣＴＵＣ－６０５（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７１）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図１２】ＰＣＴＵＣ－６２９（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６７）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図１３】ＰＣＴＵＣ－７２２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６１）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図１４】ＰＣＴＵＣ－７４８（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６３）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図１５】ＰＣＴＵＣ－７８４（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７２）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図１６】ＰＣＴＵＣ－８１２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６６）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図１７】ＰＣＴＵＣ－８５６（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４９）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図１８】ＰＣＴＵＣ－８９８（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４３）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図１９】ＰＣＴＵＣ－９３５（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７０）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図２０】ＰＣＴＵＣ－９３６（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４２）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図２１】ＰＣＴＵＣ－９８６（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４７）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図２２】ＰＣＴＵＣ－９９１（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７５）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図２３】ＰＣＴＵＣ－９９２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６０）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図２４】ＰＣＴＵＣ－１０５４（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５９）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図２５】ＰＣＴＵＣ－１０６１（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５５）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図２６】ＰＣＴＵＣ－１０７３（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５６）の蛋白質配列のシグナル

ＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図２７】ＰＣＴＵＣ－１０７５（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：７３）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図２８】ＰＣＴＵＣ－１０７８（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６８）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図２９】ＰＣＴＵＣ－１０８２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：５４）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図３０】ＰＣＴＵＣ－１１２２（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：６２）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。
【図３１】ＰＣＴＵＣ－２５０（ＳＥＱ　ＩＤ　ＮＯ：４１）の蛋白質配列のシグナルＰおよびＴＭＨＭＭ分析を示す。

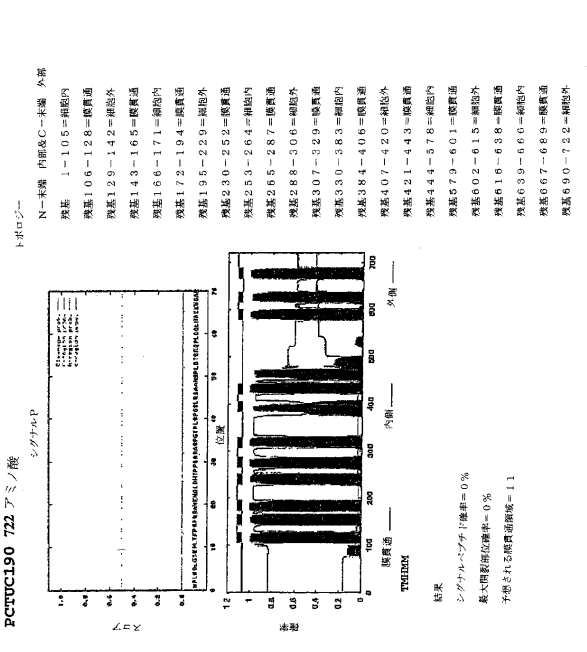
【図１】



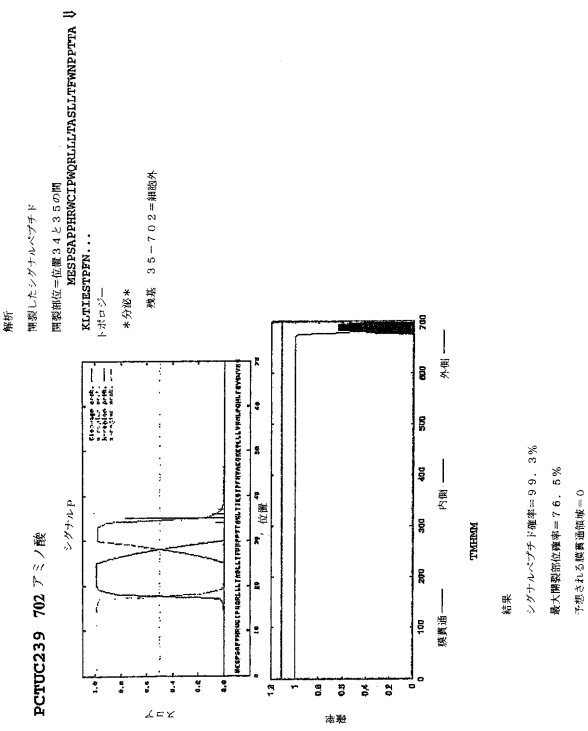
【図２】



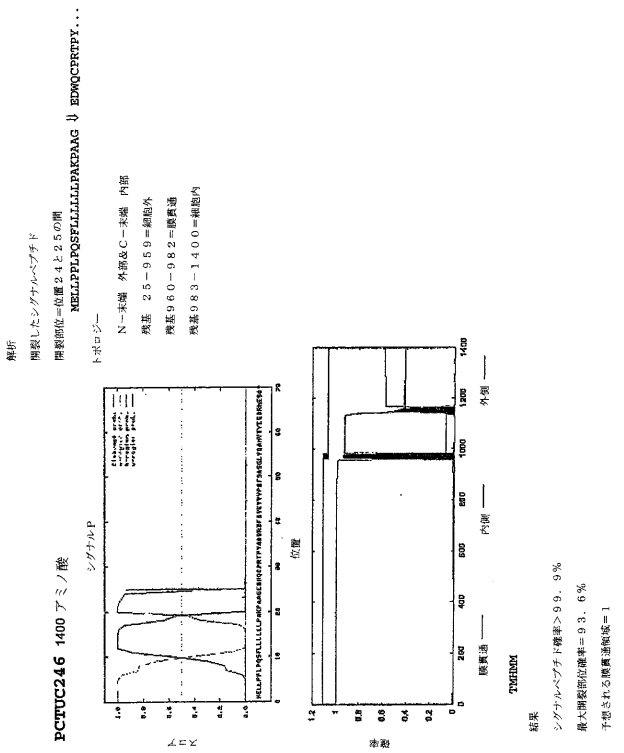
【図３】


解析
N－末端シグナル配列非依存的膜挿入
トポロジー
N－末端　内部&C－末端　外部
残基　1－105＝細胞内
残基106－128＝膜貫通
残基129－142＝細胞外
残基143－165＝膜貫通
残基166－171＝細胞内
残基172－194＝膜貫通
残基195－229＝細胞外
残基230－252＝膜貫通
残基253－264＝細胞内
残基265－287＝膜貫通
残基288－306＝細胞外
残基307－329＝膜貫通
残基330－383＝細胞内
残基384－406＝膜貫通
残基407－420＝細胞外
残基421－443＝膜貫通
残基444－578＝細胞内
残基579－601＝膜貫通
残基602－615＝細胞外
残基616－638＝膜貫通
残基639－666＝細胞内
残基667－689＝膜貫通
残基690－722＝細胞外
PCTUC190 722 アミノ酸
シグナルP
位置
内側
外側
膜貫通
TMHMM
結果
シグナルペプチド確率＝0％
最大開裂部位確率＝0％
予想される膜貫通領域＝11

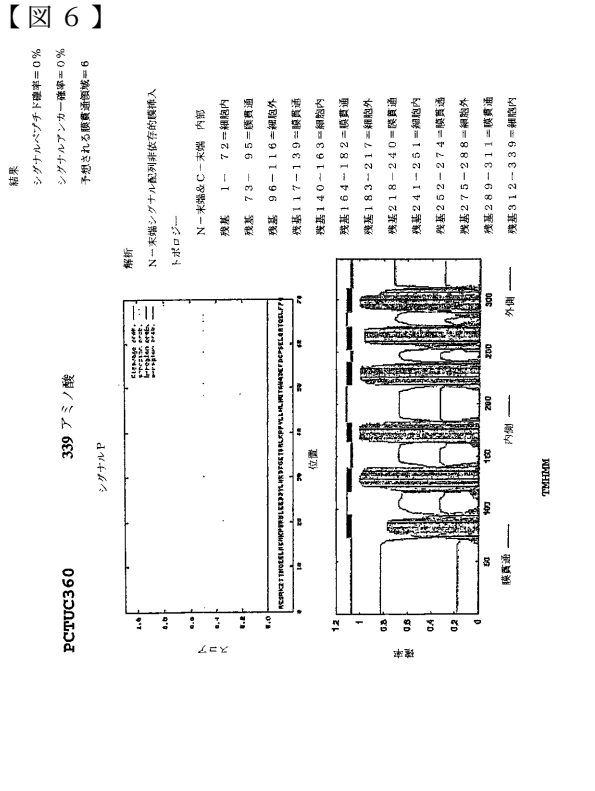
【図４】


解析
開裂したシグナルペプチド
開裂部位＝位置34と35の間
MSSPSAPPHRWCIPWQRLLLFASLLTFWNPPTTA ⇓
KLATIESTPFFN...
トポロジー
＊分泌＊
残基　35－702＝細胞外
シグナルP
位置
内側
外側
膜貫通
TMHMM
結果
シグナルペプチド確率＝99．3％
最大開裂部位確率＝76．5％
予想される膜貫通領域＝0

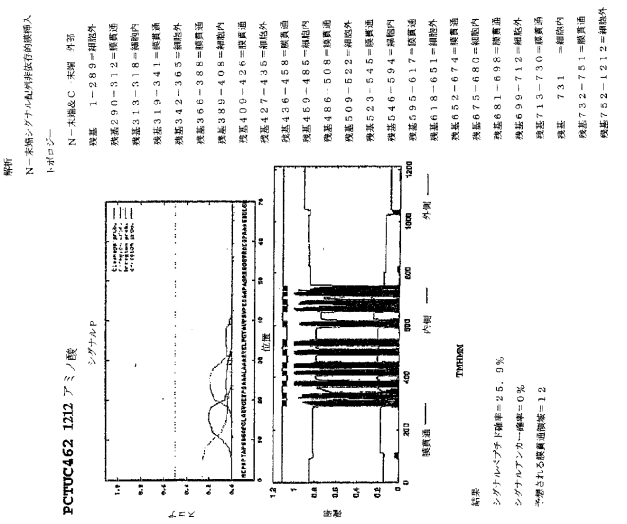
【図５】


解析
開裂したシグナルペプチド
開裂部位＝位置24と25の間
MELLPPLPQSFLLLLLLPAKPAAG ⇓ EDWQCPRTPYY...
トポロジー
N－末端　外部&C－末端　内部
残基　25－959＝細胞外
残基960－982＝膜貫通
残基983－1400＝細胞内
PCTUC246 1400 アミノ酸
シグナルP
位置
内側
外側
膜貫通
TMHMM
結果
シグナルペプチド確率＞99．9％
最大開裂部位確率＝93．6％
予想される膜貫通領域＝1

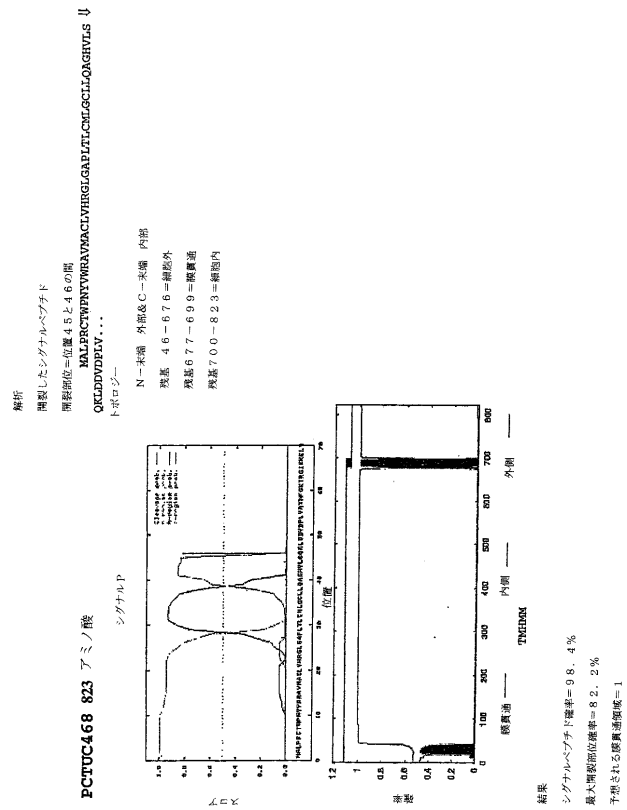
【図６】


結果
シグナルペプチド確率＝0％
シグナルアンカー確率＝0％
予想される膜貫通領域＝6
解析
N－末端シグナル配列非依存的膜挿入
トポロジー
N－末端&C－末端　内部
残基　1－72＝細胞内
残基　73－95＝膜貫通
残基　96－116＝細胞外
残基117－139＝膜貫通
残基140－163＝細胞内
残基164－182＝膜貫通
残基183－217＝細胞外
残基218－240＝膜貫通
残基241－251＝細胞内
残基252－274＝膜貫通
残基275－288＝細胞外
残基289－311＝膜貫通
残基312－339＝細胞内
PCTUC360 339 アミノ酸
シグナルP
位置
内側
外側
膜貫通
TMHMM

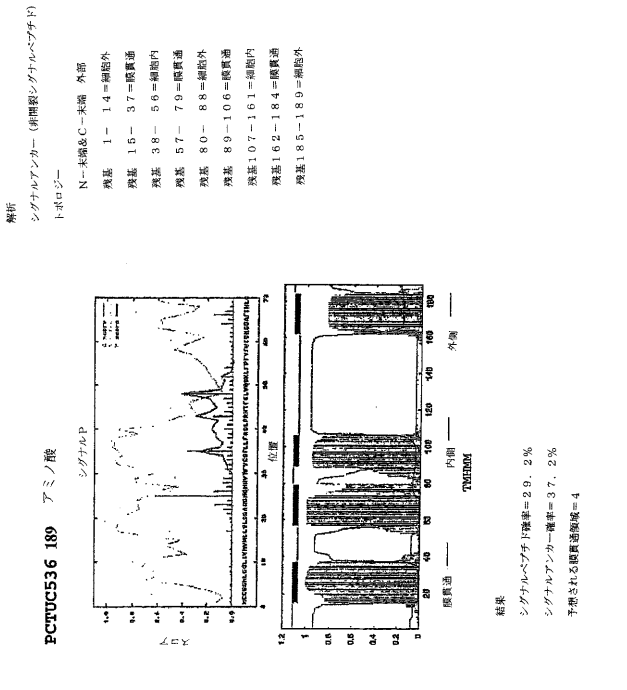
【図７】


解析
N－末端シグナル配列保存の膜挿入
トポロジー
PCTUC462 1212 アミノ酸
シグナルP
残基 1－289＝細胞外
残基290－312＝膜貫通
残基313－318＝細胞内
残基319－341＝膜貫通
残基342－365＝細胞外
残基366－388＝膜貫通
残基389－409＝細胞内
残基410－426＝膜貫通
残基427－435＝細胞外
残基436－458＝膜貫通
残基459－485＝細胞内
残基486－508＝膜貫通
残基509－522＝細胞外
残基523－545＝膜貫通
残基546－594＝細胞内
残基595－617＝膜貫通
残基618－651＝細胞外
残基652－674＝膜貫通
残基675－680＝細胞内
残基681－698＝膜貫通
残基699－712＝細胞外
残基713－730＝膜貫通
残基 731 ＝細胞内
残基732－751＝膜貫通
残基752－1212＝細胞外
位置
内側
外側
TMHMM
結果
シグナルペプチド確率＝25．9%
シグナルアンカー確率＝0%
予想される膜貫通領域＝12

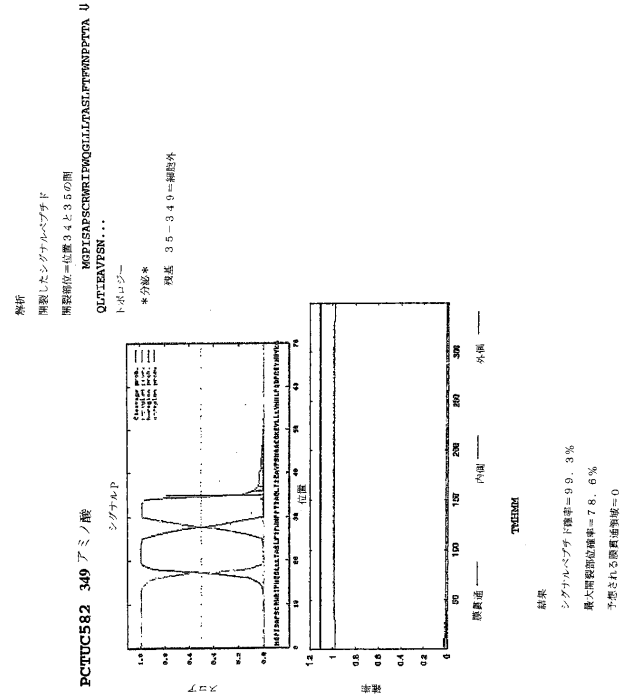
【図８】


解析
開裂したシグナルペプチド
開裂部位＝位置45と46の間
MALPRGTWPNYVWRAVMACLVVHRGLGAPLTLCKLGCLLAQAGHVLS
QKLDJDVTDPLV...
トポロジー
N－末端 外部&C－末端 内部
残基 46－676＝細胞外
残基677－699＝膜貫通
残基700－823＝細胞内
位置
膜貫通
内側
外側
TMHMM
結果
シグナルペプチド確率＝98．4%
最大開裂部位確率＝82．2%
予想される膜貫通領域＝1

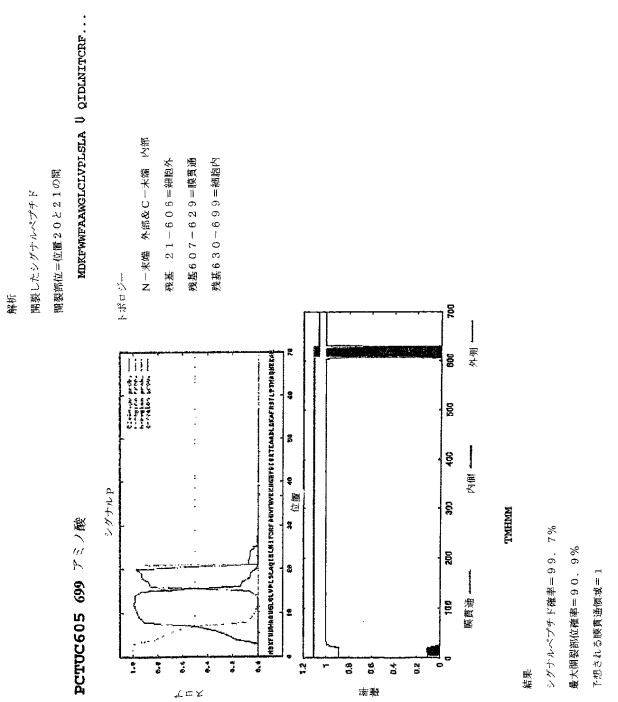
【図９】


解析
シグナルアンカー（非開裂シグナルペプチド）
トポロジー
N－末端&C－末端 外部
残基 1－ 14＝細胞外
残基 15－ 37＝膜貫通
残基 38－ 56＝細胞内
残基 57－ 79＝膜貫通
残基 80－ 88＝細胞外
残基 89－106＝膜貫通
残基107－161＝細胞内
残基162－184＝膜貫通
残基185－189＝細胞外
位置
膜貫通
内側
外側
TMHMM
結果
シグナルペプチド確率＝29．2%
シグナルアンカー確率＝37．2%
予想される膜貫通領域＝4

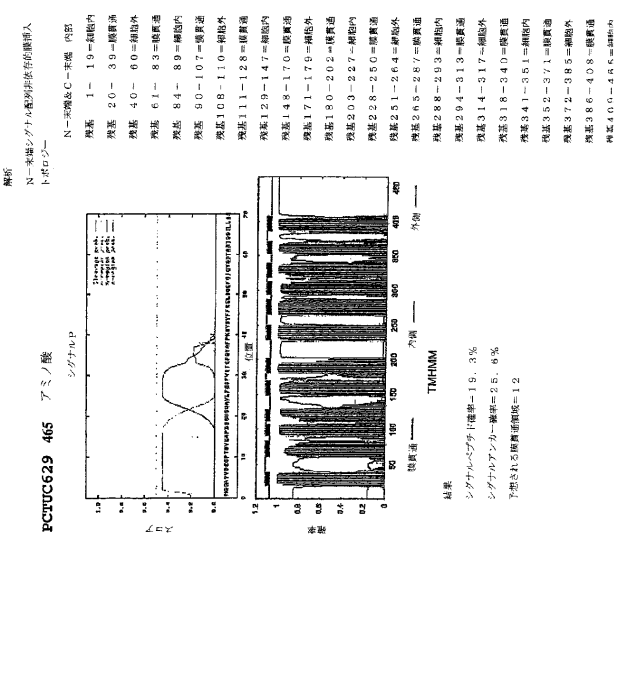
【図１０】


解析
開裂したシグナルペプチド
開裂部位＝位置34と35の間
MGPISAPSCRWRIPWQGILLFPASLPTPWNPPPTVA U
QLPTEEAVPSN...
トポロジー
＊分泌＊
残基 35－349＝細胞外
位置
膜貫通
内側
外側
TMHMM
結果
シグナルペプチド確率＝99．3%
最大開裂部位確率＝78．6%
予想される膜貫通領域＝0

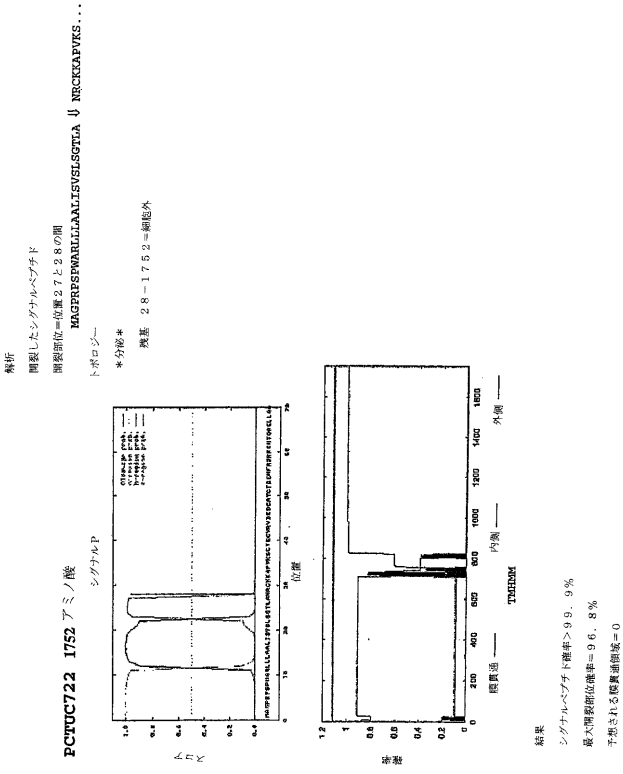
【図１１】



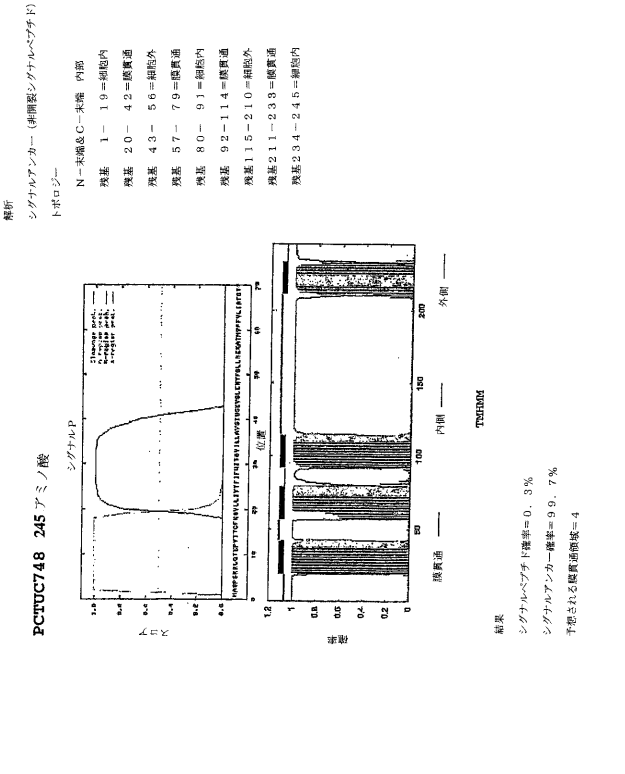
【図１２】



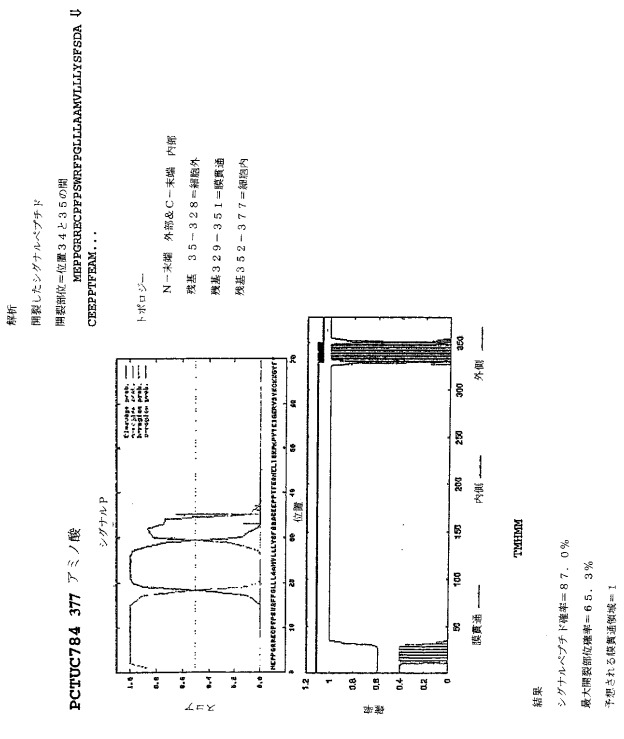
【図１３】



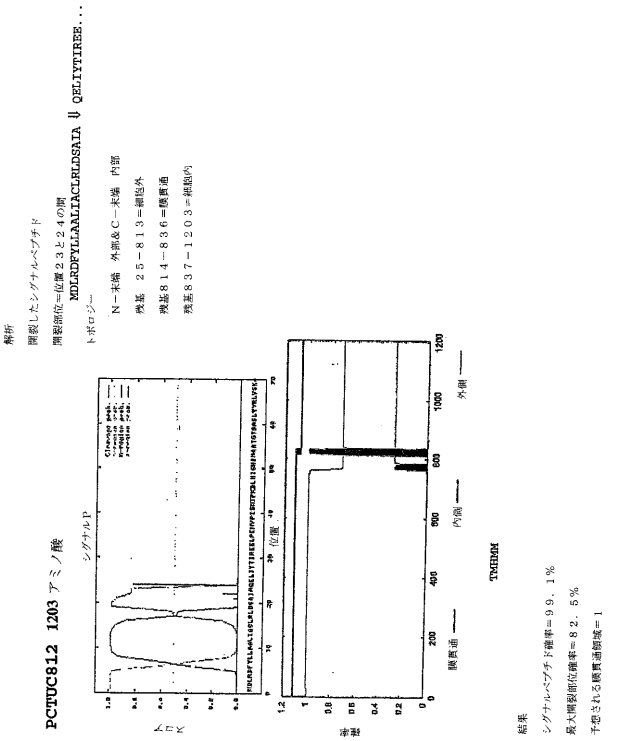
【図１４】



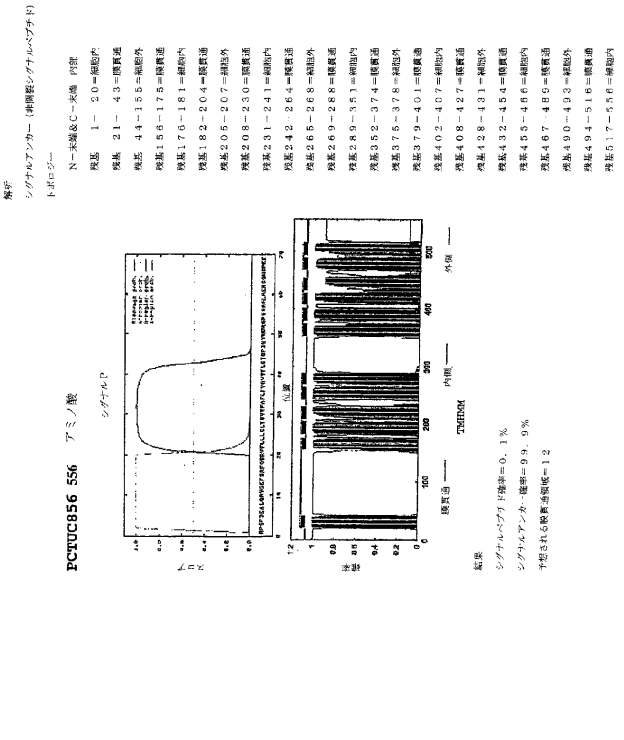
【図１５】



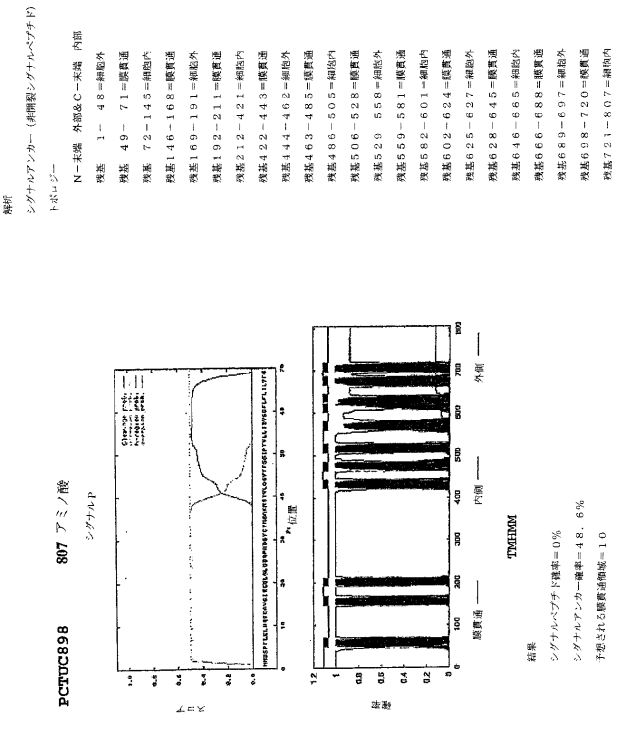
【図１６】



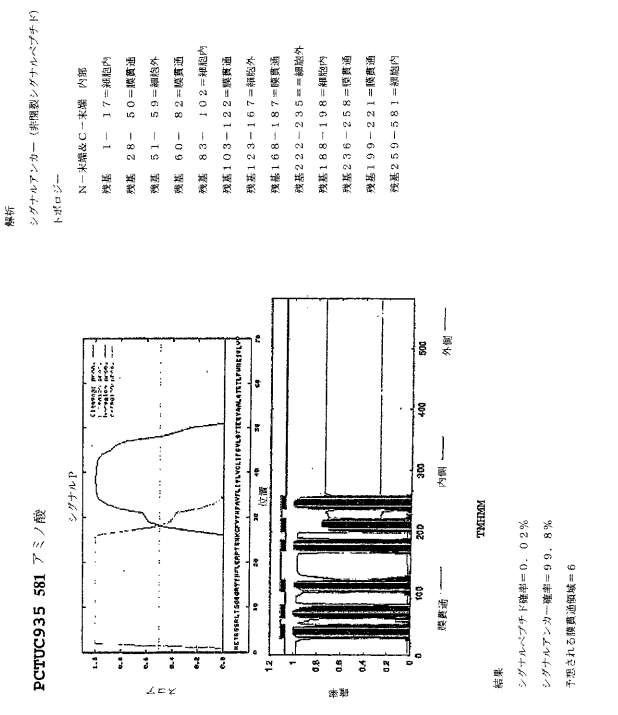
【図１７】



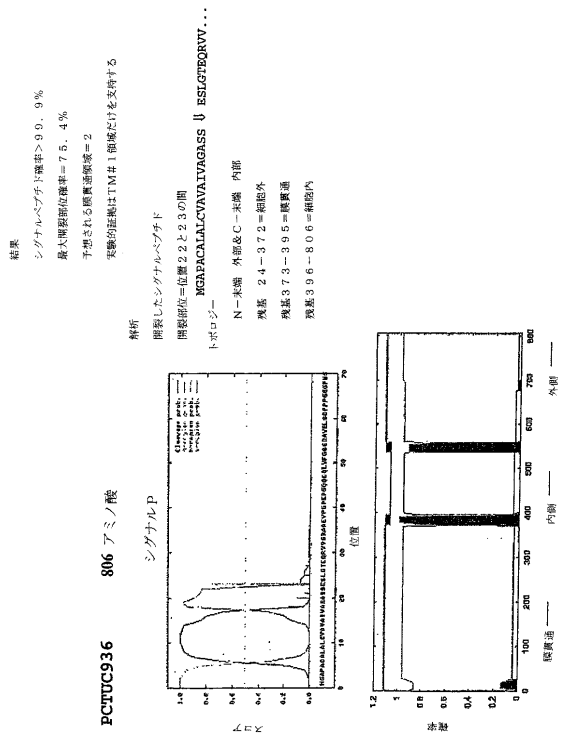
【図１８】



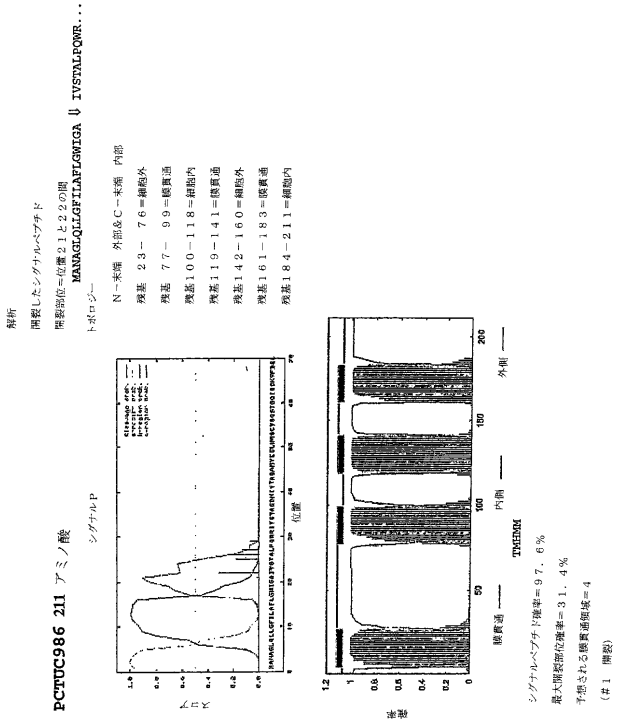
【図１９】



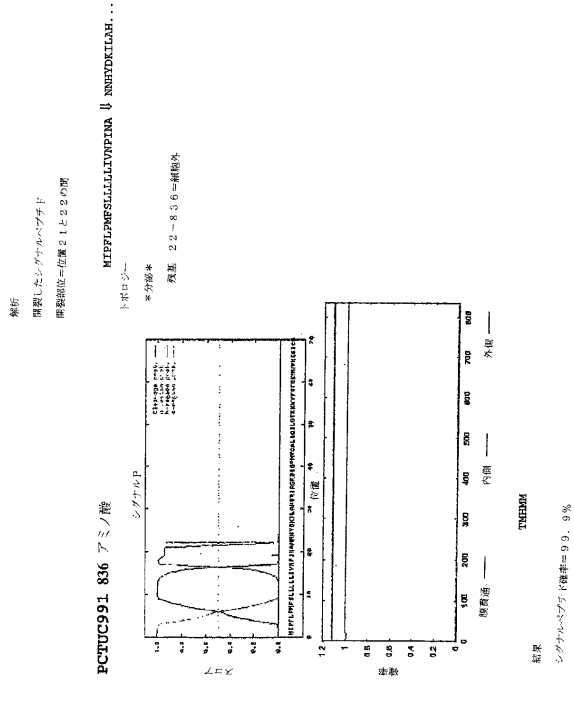
【図２０】



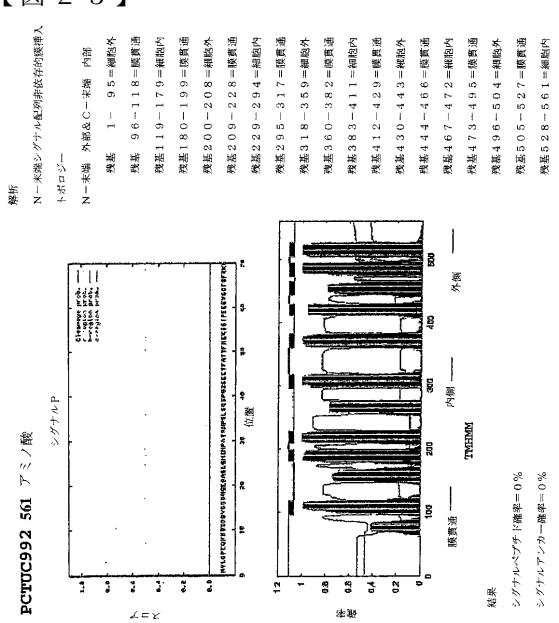
【図２１】



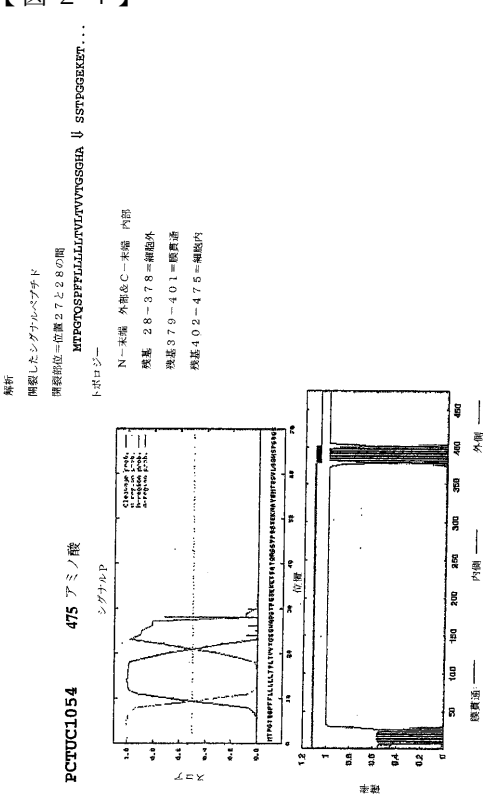
【図２２】



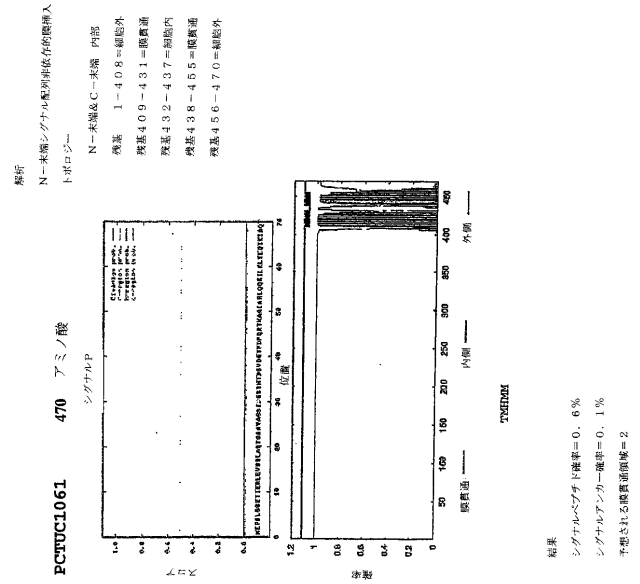
【図２３】



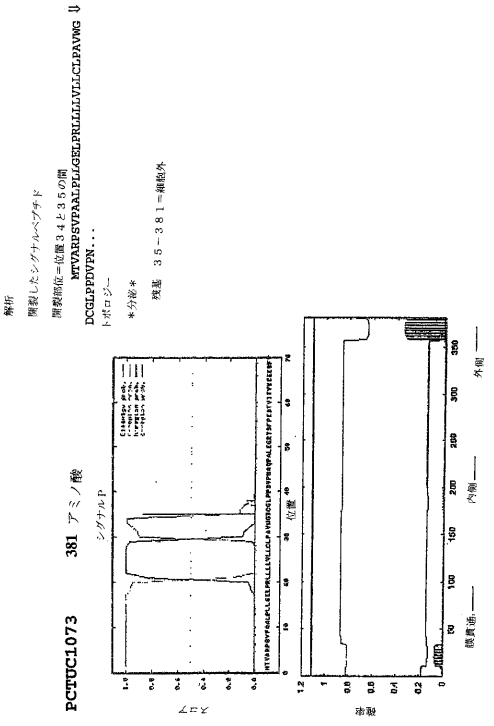
【図２４】



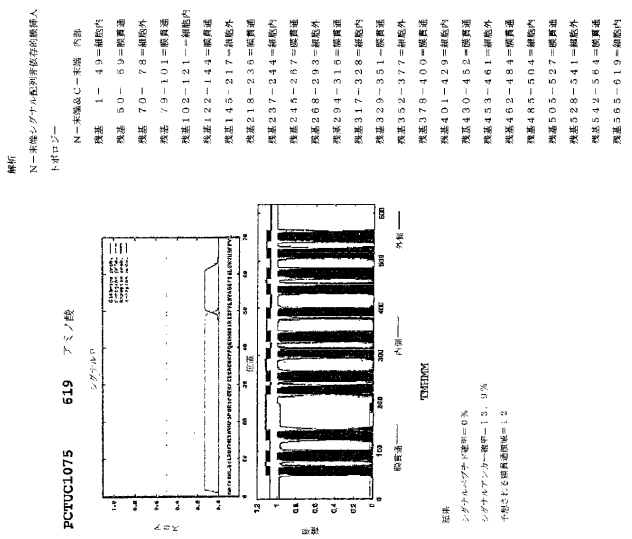
【図２５】



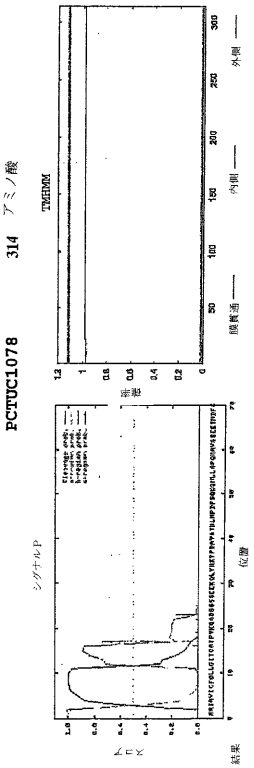
【図２６】



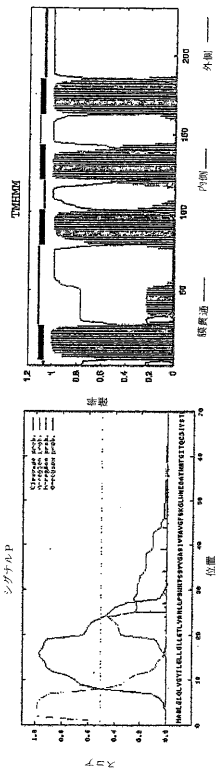
【図２７】



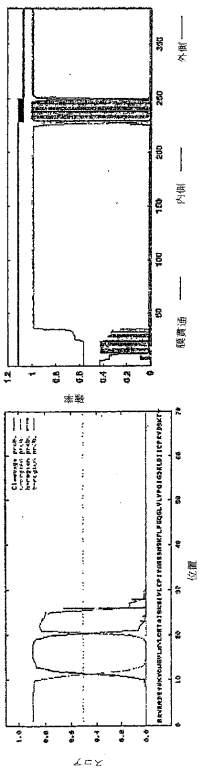
【図２８】



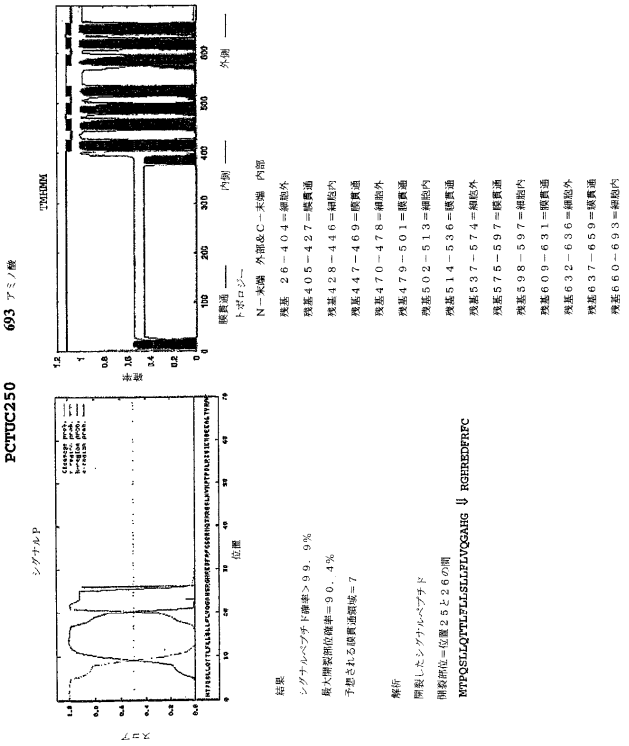
【図２９】



【図３０】



【図３１】



【配列表】

2006515318000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US03/34019

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC(7) : A61K 39/395+; C07K 16/28; C12N 15/85,86; C07H 21/02,04
US CL : 424/155; 530/388.15. 388.85, 395; 435/7.23, 344.1; 536/23
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
U.S. : cdfd

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X,P	WO 02/097395 A2 (CHIRON CORP.) 5 December 2002 (12.05.02), especially sections [0045],[0125],[0139],[0156],[0138],[0209]'[0208],[0187],[0202].	1-14
Y	PIZZARO et al. Differential patterns of placental and epithelial cadherin expression in basal	3,4,7,8,11,12,14
---	cell carcinoma and in the epidermis overlying tumours. 1995, Vol.72, pages 327-332,	---
X	especially abstract and results. page 328	1
y	CAMPBELL, Alisa. Monoclonal Antibody Technology. The Netherlands. 1984, pages 1-32, especially page 29, section 1.3.4.	37,8,11,14
Y	WO 91/09967 (CELLTECH LIMITED) 11 July 1991 (07.11.91), especially pages 10-15.	4,7,8,11
Y	CAMPBELL, Alisa. Monoclonal Antibody Technology. The Netherlands. 1984, pages 1-32, especially page 29, section 1.3.4.	3,7,8,11,14

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
18 March 2005 (18.03.2005)	26 APR 2005
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US Commissioner of Patents P.O. Box 1450 Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. (703) 305-3230	Authorized officer Jeffrey Siew Telephone No. 571-272-1600

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (July 1998)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.		FI			テーマコード（参考）
A61K 39/395	***(2006.01)***	Ａ６１Ｋ	39/395	Ｅ	４Ｈ０４５
A61P 35/00	***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	35/00		
G01N 33/50	***(2006.01)***	Ｇ０１Ｎ	33/50	Ｚ	
G01N 33/15	***(2006.01)***	Ｇ０１Ｎ	33/15	Ｚ	
Ｃ１２Ｐ 21/08	*(2006.01)*	Ｃ１２Ｐ	21/08		

(81)指定国 AP(GH,GM,KE,LS,MW,MZ,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,MD,RU,TJ,TM),EP(AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HU,IE,IT,LU,MC,NL,PT,RO,SE,SI,SK,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BR,BY,BZ,CA,CH,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,HR,HU,ID,IL,IN,IS,JP,KE,KG,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

（特許庁注：以下のものは登録商標）
ＵＮＩＸ

(74)代理人 100096013
弁理士 富田 博行
(74)代理人 100091638
弁理士 江尻 ひろ子
(72)発明者 ブールナー，モーリーン・ジェイ
アメリカ合衆国ミズーリ州６３０１７－１７３２，チェスターフィールド，チェスターフィールド・パークウェイ・ウエスト ７００，ファイザー・グローバル・リサーチ・アンド・ディベロプメント
(72)発明者 ブ，ジアーイン・ジェイ
アメリカ合衆国ミズーリ州６３０１７－１７３２，チェスターフィールド，チェスターフィールド・パークウェイ・ウエスト ７００，ファイザー・グローバル・リサーチ・アンド・ディベロプメント
(72)発明者 ヘッド，リチャード・ディー
アメリカ合衆国ミズーリ州６３０１７－１７３２，チェスターフィールド，チェスターフィールド・パークウェイ・ウエスト ７００，ファイザー・グローバル・リサーチ・アンド・ディベロプメント
(72)発明者 ヒッペンメイヤー，ポール・ジェイ
アメリカ合衆国ミズーリ州６３０１７－１７３２，チェスターフィールド，チェスターフィールド・パークウェイ・ウエスト ７００，ファイザー・グローバル・リサーチ・アンド・ディベロプメント
(72)発明者 クライン，バーバラ・ケイ
アメリカ合衆国ミズーリ州６３０１７－１７３２，チェスターフィールド，チェスターフィールド・パークウェイ・ウエスト ７００，ファイザー・グローバル・リサーチ・アンド・ディベロプメント
(72)発明者 マザレラ，リチャード・エイ
アメリカ合衆国ミズーリ州６３０１７－１７３２，チェスターフィールド，チェスターフィールド・パークウェイ・ウエスト ７００，ファイザー・グローバル・リサーチ・アンド・ディベロプメント
(72)発明者 スターテン，ニコラス・アール
アメリカ合衆国ミズーリ州６３０１７－１７３２，チェスターフィールド，チェスターフィールド・パークウェイ・ウエスト ７００，ファイザー・グローバル・リサーチ・アンド・ディベロプメ

ント

Ｆターム(参考) 2G045 AA34 CB01 DA36 FB02 FB03 FB07
4B024 AA01 AA11 BA44 CA04 CA09 CA20 DA02 DA06 DA12 EA04
GA11 HA14
4B063 QA01 QA05 QA18 QQ53 QR32 QR40 QR56 QR62 QR77 QS25
QS34 QS36
4B064 AG27 CA10 CA20 CC24 CE12 DA01 DA13
4C085 AA13 BB11 CC04 DD22 DD23 DD32 DD38 EE01 FF24 GG01
4H045 AA11 BA41 DA76 EA20 EA50 FA74 GA06 GA22 GA26

专利名称(译)	癌症相关的基因表达，多肽由此编码，		
公开(公告)号	JP2006515318A	公开(公告)日	2006-05-25
申请号	JP2005500828	申请日	2003-10-28
[标]申请(专利权)人(译)	法马西亚公司		
申请(专利权)人(译)	法玛西亚公司		
[标]发明人	ブールナーモーリーンジェイ ブジアインジェイ ヘッドリチャードディー ヒッペンメイヤーポールジェイ クラインバーバラケイ マザレラリチャードエイ スターテンニコラスアール		
发明人	ブールナー,モーリーン·ジェイ ブ,ジア-イン·ジェイ ヘッド,リチャード·ディー ヒッペンメイヤー,ポール·ジェイ クライン,バーバラ·ケイ マザレラ,リチャード·エイ スターテン,ニコラス·アール		
IPC分类号	C07K16/18 C12N15/09 C07K16/46 C12Q1/02 C12Q1/68 A61K39/395 A61P35/00 G01N33/50 G01N33/15 C12P21/08 A61K C07H21/02 C07H21/04 C07K16/28 C12N15/85 C12N15/86 G01N33/53 G01N33/567 G01N33/574		
CPC分类号	C07K16/28 A61K2039/505 G01N33/574 G01N2333/705 G01N2500/00		
FI分类号	C07K16/18.ZNA C12N15/00.A C07K16/46 C12Q1/02 C12Q1/68.A A61K39/395.E A61P35/00 G01N33/50.Z G01N33/15.Z C12P21/08		
F-TERM分类号	2G045/AA34 2G045/CB01 2G045/DA36 2G045/FB02 2G045/FB03 2G045/FB07 4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/BA44 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/CA20 4B024/DA02 4B024/DA06 4B024/DA12 4B024/EA04 4B024/GA11 4B024/HA14 4B063/QA01 4B063/QA05 4B063/QA18 4B063/QQ53 4B063/QR32 4B063/QR40 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR77 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS36 4B064/AG27 4B064/CA10 4B064/CA20 4B064/CC24 4B064/CE12 4B064/DA01 4B064/DA13 4C085/AA13 4C085/BB11 4C085/CC04 4C085/DD22 4C085/DD23 4C085/DD32 4C085/DD38 4C085/EE01 4C085/FF24 4C085/GG01 4H045/AA11 4H045/BA41 4H045/DA76 4H045/EA20 4H045/EA50 4H045/FA74 4H045/GA06 4H045/GA22 4H045/GA26		
代理人(译)	小林 泰 千叶昭夫		
优先权	60/422176 2002-10-29 US		
外部链接	Espacenet		

摘要(译)

本发明涉及其表达受癌症或肿瘤细胞调节的核酸和由其编码的多肽。本发明进一步涉及在需要治疗或调节癌症或肿瘤的哺乳动物中用于这种生物学作用的方法。这包括肿瘤疾病的诊断和治疗。在其上，本发明是编码进一步使用抗体的本发明的作为诊断探针或用于广泛的医学状况的治疗中的治疗剂的多肽的多核苷酸，并且本发明作为诊断探针或治疗剂的多肽使用序列。

(43)公表日 平成18年5月25日(2006.5.25)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード
C07K 16/18	***(2006.01)***	C07K	16/18	ZNA	2G045
C12N 15/09	***(2006.01)***	C12N	15/00	A	4B024
C07K 16/46	***(2006.01)***	C07K	16/46		4B063
C12Q 1/02	***(2006.01)***	C12Q	1/02		4B064
C12Q 1/68	***(2006.01)***	C12Q	1/68	A	4C085

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 172 頁) 最

(21)出願番号 特願2005-500828 (P2005-500828)
(86)(22)出願日 平成15年10月28日 (2003.10.28)
(85)翻訳文提出日 平成17年5月20日 (2005.5.20)
(86)国際出願番号 PCT/US2003/034019
(87)国際公開番号 WO2004/110345
(87)国際公開日 平成16年12月23日 (2004.12.23)
(31)優先権主張番号 60/422,176
(32)優先日 平成14年10月29日 (2002.10.29)
(33)優先権主張国 米国(US)

(71)出願人 502427323
ファルマシア・コーポレーショ
アメリカ合衆国ミズーリ州６３
７３２，チェスターフィールド，
ーフィールド・パークウェイ・
７００
(74)代理人 100089705
弁理士 社本 一夫
(74)代理人 100076691
弁理士 増井 忠弐
(74)代理人 100075270
弁理士 小林 泰
(74)代理人 100080137
弁理士 千葉 昭男

最終