

(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2008-532477

(P2008-532477A)

(43) 公表日 平成20年8月21日 (2008.8.21)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 15/09 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 Z N A A	2 G O 4 5
C 1 2 Q 1/68 (2006.01)	C 1 2 Q 1/68 A	4 B O 2 4
C 1 2 Q 1/02 (2006.01)	C 1 2 Q 1/02	4 B O 2 9
C 1 2 P 21/02 (2006.01)	C 1 2 N 15/00 F	4 B O 6 3
C O 7 K 16/32 (2006.01)	C 1 2 P 21/02 C	4 B O 6 4
審査請求 未請求 予備審査請求 未請求 (全 147 頁) 最終頁に続く		

(21) 出願番号	特願2007-535933 (P2007-535933)	(71) 出願人	502240113 オンコセラピー・サイエンス株式会社 神奈川県川崎市高津区坂戸3丁目2-1
(86) (22) 出願日	平成18年2月9日 (2006.2.9)	(71) 出願人	504137912 国立大学法人 東京大学 東京都文京区本郷七丁目3番1号
(85) 翻訳文提出日	平成19年7月31日 (2007.7.31)	(74) 代理人	100102978 弁理士 清水 初志
(86) 国際出願番号	PCT/JP2006/302684	(74) 代理人	100128048 弁理士 新見 浩一
(87) 国際公開番号	W02006/085684	(72) 発明者	中村 祐輔 東京都文京区本郷七丁目3番1号 国立大 学法人東京大学内
(87) 国際公開日	平成18年8月17日 (2006.8.17)		
(31) 優先権主張番号	60/652, 318		
(32) 優先日	平成17年2月10日 (2005.2.10)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/703, 225		
(32) 優先日	平成17年7月27日 (2005.7.27)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 膀胱癌を診断する方法

(57) 【要約】

膀胱癌 (BLC) を検出および診断する目的の方法を本明細書に記載する。1つの態様において、本診断法は、BLC細胞と正常細胞を識別するBLC関連遺伝子の発現レベルを決定する段階を含む。本発明はさらに、リンパ節転移を有する膀胱癌細胞において独特な発現パターン変化を有するBLC関連遺伝子を用いて、膀胱癌転移を予測および予防する手段を提供する。最終的に、本発明は、膀胱癌の治療において有用な治療薬をスクリーニングする方法、膀胱癌を治療する方法、および対象に膀胱癌のワクチン接種をする方法を提供する。特に、本出願は、膀胱癌において発現が顕著に上昇する新規ヒト遺伝子C2093、B5860N、およびC6055を提供する。これらの遺伝子およびこれらの遺伝子によってコードされるポリペプチドは、例えば膀胱癌の診断において、疾患に対する薬物を開発するための標的分子として、および膀胱癌の細胞増殖を軽減するために使用することができる。

【特許請求の範囲】**【請求項 1】**

患者由来の生体試料における膀胱癌関連遺伝子の発現レベルを決定する段階を含む、対象における膀胱癌または膀胱癌を発症する素因を診断する方法であって、該試料の発現レベルが該遺伝子の正常対照レベルと比較して上昇または低下していることにより、該対象が膀胱癌に罹患しているかまたは膀胱癌を発症するリスクがあることが示される方法。

【請求項 2】

膀胱癌関連遺伝子がBLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択され、さらに試料の発現レベルが正常対照レベルと比較して上昇していることにより、対象が膀胱癌に罹患しているかまたは膀胱癌を発症するリスクがあることが示される、請求項1記載の方法。

10

【請求項 3】

試料の発現レベルが正常対照レベルより少なくとも10%高い、請求項2記載の方法。

【請求項 4】

膀胱癌関連遺伝子がBLC番号395～1666の遺伝子からなる群より選択され、さらに試料の発現レベルが正常対照レベルと比較して低下していることにより、対象が膀胱癌に罹患しているかまたは膀胱癌を発症するリスクがあることが示される、請求項1記載の方法。

【請求項 5】

試料の発現レベルが正常対照レベルより少なくとも10%低い、請求項4記載の方法。

【請求項 6】

複数の膀胱癌関連遺伝子の発現レベルを決定する段階をさらに含む、請求項1記載の方法。

20

【請求項 7】

遺伝子発現レベルが、以下からなる群より選択される方法によって決定される、請求項1記載の方法：

- (a) 膀胱癌関連遺伝子のmRNAを検出する段階、
- (b) 膀胱癌関連遺伝子によってコードされるタンパク質を検出する段階、および
- (c) 膀胱癌関連遺伝子によってコードされるタンパク質の生物活性を検出する段階。

【請求項 8】

検出がDNAアレイ上で行われる、請求項7記載の方法。

【請求項 9】

患者由来の生体試料が上皮細胞を含む、請求項1記載の方法。

30

【請求項 10】

患者由来の生体試料が膀胱癌細胞を含む、請求項1記載の方法。

【請求項 11】

患者由来の生体試料が膀胱癌細胞由来の上皮細胞を含む、請求項1記載の方法。

【請求項 12】

BLC番号1～1666の遺伝子からなる群より選択される2つまたはそれ以上の膀胱癌関連遺伝子の遺伝子発現パターンを含む、膀胱癌参照発現プロファイル。

【請求項 13】

BLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択される2つまたはそれ以上の膀胱癌関連遺伝子の遺伝子発現パターンを含む、膀胱癌参照発現プロファイル。

40

【請求項 14】

BLC番号395～1666の遺伝子からなる群より選択される2つまたはそれ以上の膀胱癌関連遺伝子の遺伝子発現パターンを含む、膀胱癌参照発現プロファイル。

【請求項 15】

膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法であって、以下の段階を含む方法：

- a) 被験化合物を、BLC番号1～1666の遺伝子からなる群より選択されるポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドと接触させる段階；
- b) ポリペプチドと被験化合物との結合活性を検出する段階；および

50

c) ポリペプチドに結合する被験化合物を選択する段階。

【請求項 16】

膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法であって、以下の段階を含む方法：

- a) 候補化合物を、BLC番号1～1666の遺伝子からなる群より選択される1つまたは複数のマーカー遺伝子を発現する細胞と接触させる段階；および
- b) 被験化合物の非存在下で検出されるポリペプチドの発現レベルと比較して、BLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択される1つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを低下させるか、またはBLC番号395～1666の遺伝子からなる群より選択される1つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを上昇させる候補化合物を選択する段階。

10

【請求項 17】

細胞が膀胱癌細胞を含む、請求項16記載の方法。

【請求項 18】

膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法であって、以下の段階を含む方法：

- a) 被験化合物を、BLC番号1～1666の遺伝子からなる群より選択されるポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドと接触させる段階；
- b) 段階(a)のポリペプチドの生物活性を検出する段階；および
- c) 被験化合物の非存在下で検出される該ポリペプチドの生物活性と比較して、BLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択されるポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの生物活性を抑制するか、または被験化合物の非存在下で検出される該ポリペプチドの生物活性と比較して、BLC番号395～1666の遺伝子からなる群より選択されるポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの生物活性を増強する被験化合物を選択する段階。

20

【請求項 19】

膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法であって、以下の段階を含む方法：

- a) 候補化合物を、BLC番号1～1666の遺伝子からなる群より選択される1つまたは複数のマーカー遺伝子の転写制御領域およびその転写制御領域の調節下で発現されるレポーター遺伝子を含むベクターを導入した細胞と接触させる段階；
- b) 該レポーター遺伝子の発現レベルまたは活性を測定する段階；および
- c) 被験化合物の非存在下で検出される該レポーター遺伝子の発現レベルまたは活性と比較して、該マーカー遺伝子がBLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択される上方制御されるマーカー遺伝子である場合に、該レポーター遺伝子の発現レベルもしくは活性を低下させるか、または該マーカー遺伝子がBLC番号395～1666の遺伝子からなる群より選択される下方制御されるマーカー遺伝子である場合に、該レポーター遺伝子の発現レベルもしくは活性を増強する候補化合物を選択する段階。

30

【請求項 20】

(a) BLC番号1～1666の遺伝子からなる群より選択される2つもしくはそれ以上の核酸配列、または(b) それらによってコードされるポリペプチドに結合する検出試薬を含むキット。

40

【請求項 21】

BLC番号1～1666の遺伝子からなる群より選択される1つまたは複数の核酸配列に結合する2つまたはそれ以上の核酸を含むアレイ。

【請求項 22】

アンチセンス組成物を対象に投与する段階を含む、対象における膀胱癌を治療または予防する方法であって、該アンチセンス組成物が、BLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択されるコード配列に相補的なヌクレオチド配列を含む方法。

【請求項 23】

siRNA組成物を対象に投与する段階を含む、対象における膀胱癌を治療または予防する

50

方法であって、該siRNA組成物が、BLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択される核酸配列の発現を低下させる方法。

【請求項24】

BLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択されるいずれか1つの遺伝子によってコードされるタンパク質に結合する抗体またはその免疫学的活性断片の薬学的有効量を対象に投与する段階を含む、対象における膀胱癌を治療または予防する方法。

【請求項25】

(a) BLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択される核酸によってコードされるポリペプチド、

(b) 該ポリペプチドの免疫学的活性断片、または

(c) ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド

を含むワクチンを対象に投与する段階を含む、対象における膀胱癌を治療または予防する方法。

10

【請求項26】

抗腫瘍免疫を誘導する方法であって、抗原提示細胞をポリペプチド、ポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、またはポリヌクレオチドを含むベクターと接触させる段階を含む方法であり、ポリペプチドがBLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択される遺伝子によってコードされるか、またはその断片をコードする免疫原性ポリペプチドである方法。

20

【請求項27】

抗原提示細胞を対象に投与する段階をさらに含む、請求項26記載の抗腫瘍免疫を誘導する方法。

【請求項28】

対象における膀胱癌を治療または予防する方法であって、請求項15～19のいずれか一項記載の方法によって得られる化合物を投与する段階を含む方法。

【請求項29】

(a) BLC番号395～1666の遺伝子からなる群より選択されるポリヌクレオチド、または(b) それによってコードされるポリペプチドを含む物質の薬学的有効量を対象に投与する段階を含む、対象における膀胱癌を治療または予防する方法。

30

【請求項30】

膀胱癌を治療または予防するための組成物であって、BLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択されるポリヌクレオチドに対するアンチセンスポリヌクレオチドまたはsiRNAの薬学的有効量を含む組成物。

【請求項31】

膀胱癌を治療または予防するための組成物であって、BLC番号1～394の遺伝子からなる群より選択される遺伝子によってコードされるタンパク質に結合する抗体またはその断片の薬学的有効量を含む組成物。

【請求項32】

膀胱癌を治療または予防するための組成物であって、有効成分としての、請求項15～19のいずれか一項記載の方法によって選択される化合物の薬学的有効量、および薬学的に許容される担体を含む組成物。

40

【請求項33】

以下からなる群より選択される、実質的に純粋なポリペプチド：

(a) SEQ ID NO:4のアミノ酸配列を含むポリペプチド；

(b) SEQ ID NO:4のアミノ酸配列、またはSEQ ID NO:4と少なくとも約80%の同一性を有する配列を含むポリペプチド；

(c) SEQ ID NO:4のアミノ酸配列を含むポリペプチドであって、配列内の1つまたは複数のアミノ酸が欠失、付加、挿入、および/または他のアミノ酸による置換によって修飾され、かつ変異の数が典型的に全アミノ酸の35%以下であるポリペプチドであり、SEQ ID NO:4のいずれか1つのアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有するポリペ

50

チド；および

(d) SEQ ID NO:3のヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドであって、SEQ ID NO:4のアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有するポリペプチド。

【請求項 3 4】

請求項33記載のポリペプチドをコードする、単離されたポリヌクレオチド。

【請求項 3 5】

請求項34記載のポリヌクレオチドを含むベクター。

【請求項 3 6】

請求項34記載のポリヌクレオチドまたは該ポリヌクレオチドを含むベクターを保有する宿主細胞。

【請求項 3 7】

請求項33記載のポリペプチドを産生する方法であって、以下の段階を含む方法：

- (a) 請求項33記載のポリペプチドをコードするポリヌクレオチド、または該ポリヌクレオチドを含むベクターを保有する宿主細胞を培養する段階；
- (b) 宿主細胞にポリペプチドを発現させる段階；および
- (c) 発現されたポリペプチドを回収する段階。

【請求項 3 8】

請求項33記載のポリペプチドに結合する抗体であって、SEQ ID NO:4の304～588のアミノ酸配列を含む抗原決定基に結合する抗体。

【請求項 3 9】

SEQ ID NO:3のポリヌクレオチドまたはその相補鎖と相補的であり、かつ少なくとも15ヌクレオチドを含むポリヌクレオチドであって、SEQ ID NO:3の988～1842位を含むヌクレオチド配列とハイブリダイズするポリヌクレオチド。

【請求項 4 0】

SEQ ID NO:3のヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドに対するアンチセンスポリヌクレオチドまたは低分子干渉RNAであって、アンチセンスポリヌクレオチドまたは低分子干渉RNAの標的配列が、SEQ ID NO:3の988～1842位から選択されるヌクレオチド配列を含む、アンチセンスポリヌクレオチドまたは低分子干渉RNA。

【請求項 4 1】

膀胱癌を診断する方法であって、以下の段階を含む方法：

- (a) 生体試料における、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列をコードする遺伝子の発現レベルを検出する段階；および
- (b) 発現レベルの上昇を膀胱癌と関連づける段階。

【請求項 4 2】

発現レベルが以下からなる群より選択される方法のいずれか1つによって検出される、請求項41記載の方法：

- (a) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列をコードするmRNAを検出する段階；
- (b) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むタンパク質を検出する段階；および
- (c) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むタンパク質の生物活性を検出する段階。

【請求項 4 3】

膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法であって、以下の段階を含む方法：

- (a) 被験化合物を、以下からなる群より選択されるポリペプチドと接触させる段階：
 - (1) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；

10

20

30

40

50

(2) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列、または該配列と少なくとも約80%の相同性を有する配列を含むポリペプチド；および

(3) SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドであって、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有するポリペプチド；

(b) ポリペプチドと被験化合物との結合活性を検出する段階；ならびに

(c) ポリペプチドに結合する化合物を選択する段階。

10

【請求項 4 4】

膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法であって、以下の段階を含む方法：

(a) 被験化合物を、以下からなる群より選択されるポリペプチドと接触させる段階：

(1) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；

(2) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列、または該配列と少なくとも約80%の相同性を有する配列を含むポリペプチド；および

(3) SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドであって、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有するポリペプチド；

20

(b) 段階(a)のポリペプチドの生物活性を検出する段階；ならびに

(c) 被験化合物の非存在下で検出される生物活性と比較して、ポリペプチドの生物活性を抑制する化合物を選択する段階。

【請求項 4 5】

生物活性が細胞増殖活性である、請求項44記載の方法。

【請求項 4 6】

膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法であって、以下の段階を含む方法：

(a) 被験化合物を、SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む1つまたは複数のポリヌクレオチドを発現する細胞と接触させる段階；および

(b) 被験化合物の非存在下で検出される発現レベルと比較して、SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含む1つまたは複数のポリヌクレオチドの発現レベルを低下させる化合物を選択する段階。

30

【請求項 4 7】

細胞が膀胱癌細胞である、請求項46記載の方法。

40

【請求項 4 8】

膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法であって、以下の段階を含む方法：

(a) 被験化合物を、SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135のヌクレオチド配列のいずれか1つを含む1つまたは複数のマーカー遺伝子の転写制御領域およびその転写制御領域の調節下で発現されるレポーター遺伝子を含むベクターを導入した細胞と接触させる段階；

(b) 該レポーター遺伝子の発現レベルまたは活性を測定する段階；および

(c) 被験化合物の非存在下で検出される該レポーター遺伝子の発現レベルまたは活性と比較して、該レポーター遺伝子の発現レベルまたは活性を低下させる化合物を選択する段階

50

。

【請求項 49】

膀胱癌を治療または予防するための組成物であって、当該組成物は活性成分としてのポリヌクレオチドに対するアンチセンスポリヌクレオチドまたは低分子干渉RNAの薬学的有効量および薬学的に許容される担体を含むものであり、ポリヌクレオチドが以下からなる群より選択されるポリペプチドをコードする組成物：

(a) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；

(b) 1つまたは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および/または付加され、かつSEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有する、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；および

(c) SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドであって、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有するポリペプチド。

【請求項 50】

低分子干渉RNAが標的配列としてSEQ ID NO:21、25、または144のヌクレオチド配列を含む、請求項49記載の組成物。

【請求項 51】

siRNAが一般式5'-[A]-[B]-[A']-3'を有し、

式中、[A]はSEQ ID NO:21、25、または144のヌクレオチド配列に対応するリボヌクレオチド配列であり、

[B]は3～23ヌクレオチドからなるリボヌクレオチド配列であり、かつ

[A']は[A]の相補配列からなるリボヌクレオチド配列である、

請求項50記載の組成物。

【請求項 52】

組成物がトランスフェクション促進剤を含む、請求項49記載の組成物。

【請求項 53】

膀胱癌を治療または予防するための組成物であって、以下からなる群より選択されるポリペプチドに対する活性成分としての抗体の薬学的有効量、および薬学的に許容される担体を含む組成物：

(a) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；

(b) 1つまたは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および/または付加され、かつSEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有する、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；および

(c) SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドであって、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有するポリペプチド。

【請求項 54】

膀胱癌を治療または予防するための組成物であって、請求項43～48のいずれか一項記載の方法によって選択される活性成分としての化合物の薬学的有効量、および薬学的に許容される担体を含む組成物。

【請求項 55】

膀胱癌を治療または予防する方法であって、以下からなる群より選択されるポリペプチ

ドをコードするポリヌクレオチドに対するアンチセンスポリヌクレオチドまたは低分子干渉RNAの薬学的有効量を投与する段階を含む方法：

- (1) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；
- (2) 1つまたは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および/または付加され、かつSEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有する、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；および
- (3) SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドであって、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有するポリペプチド。

【請求項 5 6】

siRNAが標的配列としてSEQ ID NO:21、25、または144のヌクレオチド配列を含む、請求項55記載の方法。

【請求項 5 7】

siRNAが一般式5'-[A]-[B]-[A']-3'を有し、

式中、[A]はSEQ ID NO:21、25、または144のヌクレオチド配列に対応するリボヌクレオチド配列であり、

[B]は3～23ヌクレオチドからなるリボヌクレオチド配列であり、かつ

[A']は[A]の相補配列からなるリボヌクレオチド配列である、

請求項56記載の方法。

【請求項 5 8】

組成物がトランスフェクション促進剤を含む、請求項57記載の方法。

【請求項 5 9】

膀胱癌を治療または予防する方法であって、以下からなる群より選択されるポリペプチドに対する抗体の薬学的有効量を投与する段階を含む方法：

- (a) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；
- (b) 1つまたは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および/または付加され、かつSEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有する、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；および
- (c) SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドであって、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有するポリペプチド。

【請求項 6 0】

膀胱癌を治療または予防する方法であって、請求項43～48のいずれか一項記載の方法によって選択された化合物の薬学的有効量を投与する段階を含む方法。

【請求項 6 1】

膀胱癌を治療または予防する方法であって、(a)～(c)からなる群より選択されるポリペプチド、または該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの薬学的有効量を投与する段階を含む方法：

- (a) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、またはその断片；
- (b) 1つまたは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および/または付加され、かつSEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からな

るポリペプチドと同等な生物活性を有する、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；

(c) SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドであって、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有するポリペプチド、またはその断片。

【請求項62】

抗腫瘍免疫を誘導する方法であって、(a)～(c)からなる群より選択されるポリペプチドを抗原提示細胞と接触させるか、またはポリペプチドをコードするポリヌクレオチドもしくはポリヌクレオチドを含むベクターを抗原提示細胞に導入する段階を含む方法；

(a) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、またはその断片；

(b) 1つまたは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および/または付加され、かつSEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有する、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；

(c) SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドであって、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有するポリペプチド、またはその断片。

【請求項63】

抗原提示細胞を対象に投与する段階をさらに含む、請求項62記載の抗腫瘍免疫を誘導する方法。

【請求項64】

膀胱癌を治療または予防するための薬学的組成物であって、活性成分としての、(a)～(c)の群より選択されるポリペプチドまたは該ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドの薬学的有効量、および薬学的に許容される担体を含む薬学的組成物；

(a) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド、またはその断片；

(b) 1つまたは複数のアミノ酸が置換、欠失、挿入、および/または付加され、かつSEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有する、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；

(c) SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドであって、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等な生物活性を有するポリペプチド、またはその断片。

【請求項65】

ポリヌクレオチドが発現ベクターに組み込まれている、請求項64記載の薬学的組成物。

【請求項66】

膀胱癌を診断するための診断薬であって、試薬が、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチドをコードするポリヌクレオチドにハイブリダイズするオリゴヌクレオチド、または該ポリペプチドに結合する抗体を含む診断薬。

【請求項67】

センス鎖およびアンチセンス鎖を含む二本鎖分子であって、センス鎖がSEQ ID NO:21、25、または144に対応するリボヌクレオチド配列を含み、かつアンチセンス鎖が該センス

10

20

30

40

50

鎖と相補的なリボヌクレオチド配列を含み、該センス鎖と該アンチセンス鎖が相互にハイブリダイズして二本鎖分子を形成し、SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列からなる遺伝子の少なくともいずれか1つを発現する細胞に導入した場合に、該遺伝子の発現を阻害する二本鎖分子。

【請求項68】

センス鎖が、SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列のいずれか1つに由来する約19～約25個の連続したヌクレオチドを含む、請求項67記載の二本鎖分子。

【請求項69】

センス鎖がSEQ ID NO:21、25、または144に対応するリボヌクレオチド配列からなる、請求項67記載の二本鎖分子。

【請求項70】

単一のリボヌクレオチド転写産物がセンス鎖およびアンチセンス鎖を含む、請求項67記載の二本鎖分子であって、該センス鎖と該アンチセンス鎖を連結する一本鎖リボヌクレオチド配列をさらに含む二本鎖分子。

【請求項71】

請求項67記載の二本鎖分子をコードするベクター。

【請求項72】

二次構造を有する転写産物をコードする請求項71記載のベクターであって、転写産物がセンス鎖およびアンチセンス鎖を含むベクター。

【請求項73】

転写産物が、センス鎖とアンチセンス鎖を連結する一本鎖リボヌクレオチド配列をさらに含む、請求項71記載のベクター。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

発明の分野

本発明は、膀胱癌を検出および診断する方法、ならびに膀胱癌および膀胱癌転移を治療および予防する方法に関する。本発明はまた、膀胱癌に関連する遺伝子およびポリペプチドに関する。

【0002】

本出願は、2005年2月10日に出願した米国仮特許出願第60/652,318号および2005年7月27日に出願した米国仮特許出願第60/703,225号の恩典を主張し、これらの内容は全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【背景技術】

【0003】

発明の背景

膀胱癌はヒト集団において2番目に多く見られる泌尿生殖器腫瘍であり、全世界で毎年、およそ261,000件の新たな症例が発生している。その約1/3は、診断時に浸潤性疾患または転移性疾患となっている可能性が高い(Parkin DM, et al., (1999) CA Cancer J Clin; 49:33-64(非特許文献1))。根治的膀胱切除術は、局所的であるが筋層浸潤性膀胱癌を有する患者を治療するための「最も標準的な治療法」とであるとみなされているが、そのような患者の約50%は膀胱切除術後2年以内に転移を発症し、その後その疾患により死亡する(Sternberg CN., (1995) Ann Oncol; 6:113-26(非特許文献2))。

【0004】

微小転移を治療するため、およびより大きな新生物の切除可能性を改善するため、筋層浸潤性膀胱癌には、通常ネオアジュバント化学療法が処方される(Fagg SL, et al., (1984) Br J Urol; 56:296-300(非特許文献3)、Raghavan D, et al., (1984) Med J Aust; 140:276-8(非特許文献4))。メトトレキサート、ピンブラスチン、ドキソルビシン、およびシスプラチンを含む治療法(M-VAC)を行った後に根治的膀胱切除術を行うと、根治的膀胱

切除術のみを行うよりも残存する癌を除去できる可能性が高くなり、したがって局所進行膀胱癌患者の生存率が改善される((2003) Lancet; 361:1927-34(非特許文献5)、Grossman HB, et al., (2003) N Engl J Med; 349:859-66(非特許文献6))。いくつかの臨床試験において、薬物による手術前の病期低下が有意な延命効果を有することが示された(Grossman HB, et al., (2003) N Engl J Med; 349:859-66(非特許文献6)、Splinter TA, et al., (1992) J Urol; 147:606-8(非特許文献7))；さらに、ネオアジュバント化学療法に好反応を示す患者は、膀胱機能を維持し、生活の質の改善を享受できる。しかしながら、M-VACなどの化学療法に対する個々の患者の反応を予測する方法は未だ存在せず、患者によっては、陽性効果に関して何ら利点を得ることなしに薬物の副作用に苦しむことになり、患者の健康状態が悪化した際に、さらなる治療の機会を失ってしまう場合も多い。したがって、膀胱癌患者用の新規薬物を開発するための分子標的を同定することは非常に重要である。最近のいくつかの研究から、ヒト腫瘍においてcDNAマイクロアレイ解析により作成された遺伝子発現情報が、従来の組織病理学的方法では明らかにされなかった明確な腫瘍分類を同定する分子表現型解析を提供し得ることが実証されている(Armstrong, S. A, et al., (2002) Nat Genet, 30: 41-47(非特許文献8)；Golub, T. R, et al., (1999) Science, 286: 531-537(非特許文献9)；Hofmann, W. K et al., (2002) Lancet, 359: 481-486(非特許文献10))。さらに、いくつかの研究から、新たな癌関連遺伝子を同定する上でこの方法が有効であることが実証されている。このような情報は、新生物疾患に関する臨床的戦略を改善する可能性において見込みがある。

10

20

30

40

50

【0005】

【非特許文献1】Parkin DM, et al., (1999) CA Cancer J Clin; 49:33-64

【非特許文献2】Sternberg CN., (1995) Ann Oncol; 6:113-26

【非特許文献3】Fagg SL, et al., (1984) Br J Urol; 56:296-300

【非特許文献4】Raghavan D, et al., (1984) Med J Aust; 140:276-8

【非特許文献5】(2003) Lancet; 361:1927-34

【非特許文献6】Grossman HB, et al., (2003) N Engl J Med; 349:859-66

【非特許文献7】Splinter TA, et al., (1992) J Urol; 147:606-8

【非特許文献8】Armstrong, S. A, et al., (2002) Nat Genet, 30: 41-47

【非特許文献9】Golub, T. R, et al., (1999) Science, 286: 531-537

【非特許文献10】Hofmann, W. K et al., (2002) Lancet, 359: 481-486

【発明の開示】

【0006】

発明の概要

したがって、本明細書で報告する研究の中で、本発明者らは、解析用の純粋な癌細胞集団を得ることを目的とした腫瘍のレーザーマイクロビームマイクロダイセクション(LMM)と組み合わせて、転写要素27,648個からなるcDNAマイクロアレイにより、浸潤性膀胱癌症例33例から得られたゲノム全体の情報を用いて、新規分子標的を同定した。これらの結果から、このような情報が最終的に我々の目標である「個別化治療」につながり得ることが示唆される。

【0007】

新規治療標的を開発することを目的として、膀胱癌に関連する詳細な分子機構を特徴づけるため、本発明者らは、レーザーマイクロビームマイクロダイセクション(LMM)とともに、遺伝子27,648個を提示するcDNAマイクロアレイを用いて、癌細胞33例の遺伝子発現プロファイルを解析した。膀胱癌と診断された患者の癌細胞と正常ヒト膀胱細胞(汎用対照として使用)の発現パターンを比較することにより、膀胱癌細胞において一般に上方制御される遺伝子394個が同定された。これら遺伝子のうち288個は、膀胱癌細胞において上方制御された、機能的に特徴づけられた遺伝子を表す；しかし、残りの遺伝子106個(EST 51個を含む)の機能は現在のところ不明である。さらに、遺伝子1272個が、膀胱癌細胞において一般に下方制御されると同定された。これらのうち1026個は、膀胱癌細胞において下方制御された、機能的に特徴づけられた遺伝子を表す；しかし、残りの246個(EST 119個

を含む)の機能は現在のところ不明である。上方制御される代表的な遺伝子44個の半定量的RT-PCR実験に含まれた遺伝子から、本発明者らのマイクロアレイ解析の結果が支持された。したがって、本明細書におけるデータは、その産物が膀胱癌を治療するための分子標的となり得る候補遺伝子を見出すための有用な情報を提供すると考えられる。

【0008】

本発明は、膀胱癌(BLC)と関連する遺伝子発現パターンの発見に基づく。膀胱癌において差次的に発現される遺伝子を、本明細書では「BLC核酸」または「BLCポリヌクレオチド」と総称し、対応するコードされたポリペプチドを「BLCポリペプチド」または「BLCタンパク質」と称する。

【0009】

膀胱癌の発現プロファイルを通して、本発明者らは、膀胱癌細胞において有意に過剰発現される、それぞれC2093、B5860N、およびC6055と標示される2つの特異的な遺伝子を同定した。さらに本発明者らは、B5860NおよびC6055遺伝子の新規な転写変異体を単離した。さらに、siRNAによる膀胱癌細胞の処理がC2093、B5860N、およびC6055の発現を効率的に阻害し、膀胱癌の細胞/腫瘍増殖を抑制することが実証された。これらの知見から、C2093、B5860N、およびC6055が腫瘍細胞の増殖において重要な役割を果たし、したがって抗癌剤を開発するための有望な標的であることが示唆される。

【0010】

C2093の全長mRNA配列は、1780アミノ酸のポリペプチド(SEQ ID NO:2)をコードする6319ヌクレオチド(SEQ ID NO:1)を含んでいた。B5860N遺伝子は、12エキソンおよび11エキソンからなり、それぞれB5860N V1(SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4をコードする)およびB5860N V2(SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6をコードする)に対応する2つの異なる転写変異体を有する(図3b)。V1のエキソン8において、選択的变化が存在した；しかし、残りのエキソンは両変異体に共通していた。V2変異体にはV1のエキソン8はないが、最後のエキソン内に同じ終止コドンを生じる。B5860NV1およびB5860NV2変異体の全長cDNA配列は、それぞれ5318および4466ヌクレオチドからなる。これら変異体のORFは、それぞれのエキソン1において開始する。V1およびV2転写産物は、最終的にそれぞれ812および528アミノ酸のポリペプチドをコードする。したがって、本明細書で使用する「B5860N」という用語は、B5860NV1およびB5860NV2の転写産物のいずれかまたは両方を指す。つまり、本明細書の文脈において、B5860N遺伝子は少なくとも2つの転写変異体として発現され得ることが明らかになった。膀胱癌細胞株、ならびに膀胱、心臓、肺、肝臓、腎臓、脳、および脾臓を含む正常ヒト組織における各変異体の発現パターンをさらに確認するため、本発明者らはノーザンブロット解析を行った。結果として、いずれの変異体も膀胱癌細胞において高度に過剰発現されるが、しかし正常ヒト組織においては発現していないかまたは検出不能であることが見出された(図2f、下パネル)。特に、精巣でのみV2転写産物が発現していた。C6055遺伝子は、それぞれMGC34032(Genebank登録番号NM_152697、SEQ ID NO:134のポリペプチドをコードするSEQ ID NO:133)、Genbank登録番号AK128063(SEQ ID NO:136のポリペプチドをコードするSEQ ID NO:135)、C6055V1(SEQ ID NO:130のポリペプチドをコードするSEQ ID NO:129)、およびC6055V2(SEQ ID NO:132のポリペプチドをコードするSEQ ID NO:131)に対応する、24、25、22、および22エキソンからなる4つの異なるスプライシング変異体を有する(図3c)。MGC34032のエキソン1、2、3、および24において選択的变化が存在し、その他の残りのエキソンは4つの転写産物に共通していた。C6055V1およびC6055V2転写産物にはMGC34032のエキソン1、2、および3はなく、最後のエキソン内に同じ終止コドンを生じる。さらに、C6055V1、C6055V2、およびGenbank登録番号AK128063転写産物は、MGC34032とは異なるエキソン24を有する。Genbank登録番号AK128063は、エキソン4aとして新たなエキソンを有する。特に、C6055V1およびC6055V2転写産物のORFはそれぞれのエキソン4において開始し、C6055V1およびC6055V2転写産物は同じORFを有することが示唆される。MGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、およびC6055V2転写産物の全長cDNA配列は、それぞれ2302、3947、3851、および3819ヌクレオチドからなる。MGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、およびC6055V2転写産物は最終的に、それぞれ719、587、675、および675ア

10

20

30

40

50

ミノ酸をコードする。したがって、本明細書で使用する「C6055」という用語は、MGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、およびC6055V2の転写産物の1つまたは複数を指す。つまり、本明細書の文脈において、C6055遺伝子は少なくとも4つの転写変異体として発現され得ることが明らかになった。膀胱癌細胞株、ならびに膀胱、心臓、肺、肝臓、腎臓、脳、精巣、膵臓を含む正常ヒト組織における各変異体の発現パターンをさらに確認するため、本発明者らはノーザンブロット解析を行った。その結果、およそ3.9 kbの転写産物がいくつかの膀胱癌細胞(HT-1376、SW780、およびRT4)において高度に過剰発現していたが、正常ヒト組織においては発現していないかまたは検出不能であった(図2g)。加えて、7.5 kbの転写産物がHT1376細胞においてのみ特異的に発現していたが、この転写産物の全mRNA配列はまだ同定されていない。さらに、プローブとしてこれらの転写産物に共通な領域を用いてノーザンブロット解析を行った場合、正常精巣においてのみ、MGC34032に対応する2.3 kb転写産物が検出された(図2h)。そのため、本発明者らは、C6055V1遺伝子産物の機能解析をさらに行う。

10

【0011】

多くの抗癌剤は、癌細胞のみならず正常に増殖している細胞に対しても有害である。しかし、C2093、B5860N、およびC6055の正常発現は精巣に限定されているため、C2093、B5860N、およびC6055の発現を抑制する物質は他の器官には悪影響を及ぼさないと考えられ、このため好都合なことに、膀胱癌の治療または予防に使用され得る。

【0012】

したがって本発明は、膀胱癌の診断マーカーの候補、ならびに膀胱癌診断のための新たな戦略および有効な抗癌剤を開発するための有望な潜在的標的となる新たな転写変異体、B5860NV1を提供する。さらに本発明は、この遺伝子によってコードされるポリペプチド、ならびにそれを産生および使用するための方法も提供する。より具体的には、本発明は、膀胱癌細胞において発現が上昇する新規ヒトポリペプチド、B5860NV1、またはその機能的同等物を提供する。

20

【0013】

好ましい態様において、B5860NV1ポリペプチドは、SEQ ID NO:3のオープンリーディングフレームによってコードされる811アミノ酸(SEQ ID NO:4)タンパク質を含む。本出願はまた、B5860NV1タンパク質またはその機能的同等物をコードする範囲で、B5860NV1ポリヌクレオチド配列の少なくとも一部、またはSEQ ID NO:3に記載の配列と少なくとも15%、より好ましくは少なくとも25%相補的なポリヌクレオチド配列によりコードされる単離されたタンパク質を提供する。このようなポリヌクレオチドの例は、SEQ ID NO:3の配列によってコードされるB5860NV1の変性および対立遺伝子変異体である。

30

【0014】

本明細書で用いる場合、単離された遺伝子とは、その構造が任意の天然ポリヌクレオチドの構造と同一でなく、別個の遺伝子3つを上回ってまたがる天然ゲノムポリヌクレオチドの任意の断片の構造とも同一でないポリヌクレオチドのことである。このため、この用語には、例えば(a) 天然に存在する生物のゲノム中の天然ゲノムDNA分子の部分配列を有するDNA；(b) 結果として生じる分子が任意の天然ベクターまたはゲノムDNAとも同一でないような様式で、ベクター中または原核生物もしくは真核生物のゲノムDNA中に組み込まれたポリヌクレオチド；(c) cDNA、ゲノム断片、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により生成された断片、または制限断片などの独立した分子；および(d) ハイブリッド遺伝子、すなわち、融合ポリペプチドをコードする遺伝子の一部である組換えヌクレオチド配列が含まれる。

40

【0015】

したがって1つの局面において、本発明は、本明細書に記載のポリペプチドまたはその断片をコードする、単離されたポリヌクレオチドを提供する。好ましくは、単離されたポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:3に示されるヌクレオチド配列と少なくとも60%同一であるヌクレオチド配列を含む。より好ましくは、単離された核酸分子は、SEQ ID NO:3に示されるヌクレオチド配列と少なくとも65%、70%、75%、80%、85%、90%、91%、92%、93%、94%

50

、95%、96%、97%、98%、99%、またはそれ以上同一である。単離されたポリヌクレオチドが参照配列、例えばSEQ ID NO:3よりも長いかまたはそれと同等の長さである場合には、参照配列の全長との比較が行われる。単離されたポリヌクレオチドが参照配列よりも短い、例えばSEQ ID NO:3よりも短い場合には、同じ長さ(相同性の算出に必要な任意のループを除外して)の参照配列のセグメントに対して比較が行われる。

【0016】

本発明はまた、B5860NV1タンパク質をコードするポリヌクレオチド配列を用いて宿主細胞のトランスフェクションまたは形質転換を行い、そのポリヌクレオチド配列を発現させることにより、タンパク質を産生する方法を提供する。さらに本発明は、B5860NV1タンパク質をコードするヌクレオチド配列を含むベクター、およびB5860NV1タンパク質をコードするポリヌクレオチドを保有する宿主細胞を提供する。このようなベクターおよび宿主細胞は、B5860NV1タンパク質の産生に用いられ得る。

10

【0017】

B5860NV1タンパク質を特異的に認識する結合剤もまた、本出願によって提供される。例えば、結合剤は、B5860NV1タンパク質に対して産生された抗体であってよい。または、結合剤は、タンパク質に特異的なリガンド、またはタンパク質と特異的に結合する合成ポリペプチドであってよい(例えば、WO2004/044011を参照されたい)。B5860NV1遺伝子のアンチセンスポリヌクレオチド(例えば、アンチセンスDNA)、リボザイム、およびsiRNA(低分子干渉RNA)もまた提供される。

20

【0018】

したがって、本発明は、組織試料などの患者由来の生体試料におけるBLC関連遺伝子の発現レベルを決定することにより、対象における膀胱癌の素因を診断または判定する方法を提供する。「BLC関連遺伝子」という用語は、正常細胞と比較してBLC細胞において発現レベルが異なることを特徴とする遺伝子を指す。正常細胞とは、膀胱組織から得られた細胞である。本発明の文脈において、BLC関連遺伝子とは表4~5に列挙される遺伝子(すなわち、BLC番号1~1666の遺伝子)である。遺伝子の発現レベルがその遺伝子の正常対照レベルと比較して変化していること、例えば上昇または低下していることにより、対象がBLCに罹患しているかまたはBLCを発症するリスクがあることが示される。

【0019】

本発明の文脈において、「対照レベル」という語句は、対照試料で検出されるタンパク質発現レベルを指し、これには正常対照レベルおよび膀胱癌対照レベルの両方が含まれる。対照レベルは、単一の参照集団に由来する単一の発現パターンであっても、または複数の発現パターンに由来する値であってもよい。例えば、対照レベルは、以前に試験した細胞による発現パターンのデータベースから得ることができる。「正常対照レベル」とは、正常で健康な個体において、または膀胱癌に罹患していないことが判明している個体の集団において検出される遺伝子の発現レベルを指す。正常個体とは、膀胱癌の臨床症状がない個体のことである。これに対して、「BLC対照レベル」とは、BLCに罹患した集団で認められるBLC関連遺伝子の発現プロファイルを指す。

30

【0020】

被験試料において検出される、表4に列挙された1つまたは複数のBLC関連遺伝子(すなわち、BLC番号1~394の過剰発現または上方制御遺伝子)の発現レベルが正常対照レベルと比較して上昇していることにより、(試料を採取した)対象がBLCに罹患しているかまたはBLCを発症するリスクがあることが示される。対照的に、被験試料において検出される、表5に列挙された1つまたは複数のBLC関連遺伝子(すなわち、BLC番号395~1666の低発現または下方制御遺伝子)の発現レベルが正常対照レベルと比較して低下していることにより、対象がBLCに罹患しているかまたはBLCを発症するリスクがあることが示される。

40

【0021】

または、試料における一連のBLC関連遺伝子の発現を、同様の一連の遺伝子のBLC対照レベルと比較することもできる。試料の発現とBLC対照の発現が類似していることにより、(試料を採取した)対象がBLCに罹患しているかまたはBLCを発症するリスクがあることが示

50

される。

【0022】

本発明によれば、遺伝子発現レベルは、遺伝子の発現が対照レベルと比較して少なくとも10%、好ましくは少なくとも25%、より好ましくは50%またはそれ以上上昇または低下している場合に「変化している」とみなされる。または、発現レベルは、遺伝子発現が対照レベルと比較して少なくとも0.1倍、少なくとも0.2倍、少なくとも1倍、少なくとも2倍、少なくとも5倍、または少なくとも10倍もしくはそれ以上上昇または低下している場合に、「上昇している」または「低下している」とみなされる。発現は、患者由来の組織試料の遺伝子転写産物に対するBLC関連遺伝子プローブのハイブリダイゼーションを、例えばアレイにおいて検出することにより決定される。

10

【0023】

本発明の文脈において、患者由来の組織試料とは、被験対象から、例えばBLCを有することが判明しているかまたはその疑いがある患者から得られた任意の組織であってよい。例えば、組織は上皮細胞を含み得る。より具体的には、組織は膀胱腺癌に由来する上皮細胞であってよい。

【0024】

本発明はさらに、対象からの生体試料におけるC2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルを決定する段階、その遺伝子の発現レベルを正常試料における発現レベルと比較する段階、試料におけるC2093、B5860N、またはC6055遺伝子の高い発現レベルにより、対象が膀胱癌に罹患しているかまたは膀胱癌を発症するリスクがあることが示されるとして定義する段階を含む、膀胱癌を診断する方法を提供する。

20

【0025】

本発明はまた、表4~5に列挙されたBLC関連遺伝子の2つまたはそれ以上の遺伝子発現レベルを含む、BLC参照発現プロファイルを提供する。または、BLC参照発現プロファイルは、表4に列挙されたBLC関連遺伝子または表5に列挙されたBLC関連遺伝子の2つまたはそれ以上の発現レベルを含み得る。

【0026】

本発明はさらに、BLC関連遺伝子を発現する被験細胞を被験化合物と接触させ、BLC関連遺伝子の発現レベルまたはその遺伝子産物の活性を決定することにより、BLC関連遺伝子、例えば表4~5に列挙されたBLC関連遺伝子の発現または活性を阻害または増強する物質を同定する方法を提供する。被験細胞は、膀胱癌から得られた上皮細胞などの上皮細胞であってよい。上方制御されるBLC関連遺伝子の発現レベルまたはその遺伝子産物の活性が、その遺伝子または遺伝子産物の正常対照レベルまたは活性と比較して低下していることにより、被験物質がBLC関連遺伝子の阻害剤であり、BLCの症状、例えば表4に列挙された1つまたは複数のBLC関連遺伝子の発現を軽減するために使用され得ることが示される。または、下方制御されるBLC関連遺伝子の発現レベルまたはその遺伝子産物の活性が、その遺伝子または遺伝子産物の正常対照レベルまたは活性と比較して上昇していることにより、被験物質がBLC関連遺伝子の発現または機能の増強剤であり、BLCの症状、例えば表5に列挙された1つまたは複数のBLC関連遺伝子の低発現を軽減するために使用され得ることが示される。

30

40

【0027】

さらに、膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法が本発明により提供される。本方法は、C2093、B5860N、またはC6055ポリペプチドを被験化合物と接触させる段階、およびC2093、B5860N、もしくはC6055ポリペプチドに結合するか、またはそれらの生物活性を変化させる被験化合物を選択する段階を含む。

【0028】

本発明はさらに、膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法であって、被験化合物を、C2093、B5860N、もしくはC6055ポリペプチドを発現する細胞、またはレポーター遺伝子上流にC2093、B5860N、もしくはC6055の転写制御領域を含むベクターを導入した細胞と接触させる段階、およびC2093、B5860N、もしくはC6055ポリペ

50

チドまたはレポーター遺伝子産物の発現レベルまたは活性を抑制する被験化合物を選択する段階を含む方法を提供する。

【0029】

本発明はまた、1つまたは複数のBLC核酸またはBLCポリペプチドに結合する検出試薬を含むキットを提供する。1つまたは複数のBLC核酸に結合する核酸のアレイもまた提供される。

【0030】

本発明の治療法には、アンチセンス組成物を対象に投与する段階を含む、対象におけるBLCを治療または予防する方法が含まれる。本発明の文脈において、アンチセンス組成物は特定の標的遺伝子の発現を低下させる。例えば、アンチセンス組成物は、表4に列挙された上方制御されるBLC関連遺伝子からなる群より選択されるBLC関連遺伝子配列に相補的なヌクレオチドを含み得る。または、本方法は、低分子干渉RNA(siRNA)組成物を対象に投与する段階を含み得る。本発明の文脈において、siRNA組成物は、表4に列挙されたBLC関連遺伝子からなる群より選択されるBLC核酸の発現を低下させる。さらなる別の方法では、対象におけるBLCの治療または予防は、リボザイム組成物を対象に投与することによって行われてもよい。本発明の文脈において、核酸特異的リボザイム組成物は、表4に列挙されたBLC関連遺伝子からなる群より選択されるBLC核酸の発現を低下させる。したがって、本発明において、表4に列挙されたBLC関連遺伝子は膀胱癌の好ましい治療標的である。他の治療法には、表5に列挙された下方制御されるBLC関連遺伝子の1つもしくは複数の発現、または表5に列挙されたBLC関連遺伝子の1つもしくは複数によってコードされるポリペプチドの活性を上昇させる化合物を対象に投与する方法が含まれる。

10

20

【0031】

本発明はさらに、本発明によって提供される薬学的組成物を用いて、膀胱癌を治療または予防する方法を提供する。加えて、本発明は、C2093、B5860N、またはC6055ポリペプチドを投与する段階を含む、癌を治療または予防する方法を提供する。C2093、B5860N、またはC6055ポリペプチドを投与することにより、抗腫瘍免疫が誘導されと考えられる。したがって、本発明はまた、抗腫瘍免疫を誘導する方法であって、C2093、B5860N、またはC6055ポリペプチドを投与する段階を含む方法、ならびにC2093、B5860N、またはC6055ポリペプチドを含む、癌を治療または予防するための薬学的組成物を提供する。

30

【0032】

本発明はまた、ワクチンおよびワクチン接種方法を含む。例えば、対象におけるBLCを治療または予防する方法は、表4に列挙されたBLC関連遺伝子からなる群より選択される核酸によってコードされるポリペプチド、またはそのようなポリペプチドの免疫学的活性断片を含むワクチンを対象に投与する段階を含んでもよい。本発明の文脈において、免疫学的活性断片とは、全長の天然タンパク質よりも長さは短いものの、全長タンパク質によって誘導される免疫応答に類似した免疫応答を誘導するポリペプチドのことである。例えば、免疫学的活性断片は、少なくとも8残基長であって、T細胞またはB細胞などの免疫細胞を刺激し得るべきである。免疫細胞の刺激は、細胞増殖、サイトカイン(例えば、IL-2)の産生、または抗体の産生を検出することによって測定することができる。

40

【0033】

本発明はまた、膀胱癌を治療または予防するための薬学的組成物を提供する。薬学的組成物は、例えば抗癌剤であってよい。薬学的組成物は、それぞれSEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135に示され記載されるC2093、B5860N、またはC6055ポリヌクレオチド配列に対するアンチセンスS-オリゴヌクレオチド、siRNA分子、またはリボザイムの少なくとも一部を含み得る。適切なsiRNAは、SEQ ID NO:21、25、または144の配列を標的とする。したがって、本発明のsiRNAは、SEQ ID NO:21、25、または144から選択されるヌクレオチド配列を含む。これは、好ましくは、本発明に従って膀胱癌を治療または予防するための標的として選択され得る。薬学的組成物はまた、膀胱癌などの細胞増殖性疾患を治療または予防するための化合物をスクリーニングする本方法によって選択される化合物を含む組成物であってよい。

50

【 0 0 3 4 】

薬学的組成物の作用過程は、膀胱癌細胞などの癌細胞の増殖を阻害するものであることが望ましい。薬学的組成物は、ヒトおよび家畜哺乳動物を含む哺乳動物に適用され得る。特記しない限り、本明細書で使用する専門用語および科学用語はすべて、本発明が属する技術分野の当業者によって共通に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書に記載する方法および材料と類似した、またはそれらと同等である方法および材料を、本発明の実施または試行において使用することも可能であるが、適切な方法および材料は本明細書において以下に記載するものである。本明細書において引用した出版物、特許出願、特許、および他の参考文献はすべて、その全文が参照により本明細書に組み入れられる。矛盾する場合には、本明細書が定義も含め調整する。さらに、材料、方法、および実施例は例証のためのものに過ぎず、制限を意図するものではない。

10

【 0 0 3 5 】

本明細書に記載する方法の1つの利点は、膀胱癌の明白な臨床症状が検出される前に疾患が同定されることである。本発明のその他の特徴および利点は、添付の図面および実施例ならびに本明細書に添付する特許請求の範囲と併せて以下の詳細な説明を読むことによって、より十分に明らかになるであろう。

【 0 0 3 6 】

発明の詳細な説明

本明細書で用いる「1つの(a, an)」、および「その(the)」という語は、特記しない限り「少なくとも1つの」を意味する。

20

【 0 0 3 7 】

一般に膀胱癌細胞は、高度の炎症反応を伴い、種々の細胞成分を含む固形腫瘍(solid mass)として存在する。そのため、以前に公表されたマイクロアレイデータは、不均一なプロファイルを反映している可能性が高い。

【 0 0 3 8 】

これらの問題点を視野に入れて、本発明者らは、レーザーマイクロビームマイクロダイセクション(LMM)の方法により膀胱癌細胞の精製された集団を調製し、遺伝子27,648個を提示するcDNAマイクロアレイを用いて、BLC 33例のゲノム全体の遺伝子発現プロファイルを解析した。これらのデータは、膀胱癌発症に関する重要な情報を提供するのみならず、その産物が診断マーカーおよび/または膀胱癌患者を治療するための分子標的となり得る候補遺伝子の同定を容易にし、臨床的に意義のある情報を提供するはずである。

30

【 0 0 3 9 】

本発明は、上皮細胞とBLC患者の癌腫とにおいて、複数の核酸の発現パターンの変化を発見したことに一部基づく。遺伝子発現の差は、包括的なcDNAマイクロアレイシステムを用いて同定した。

【 0 0 4 0 】

レーザーマイクロダイセクションとともに、遺伝子27,648個を提示するcDNAマイクロアレイを用いて、BLC 33例からの癌細胞の遺伝子発現プロファイルを解析した。レーザーマイクロダイセクションにより純粹に選択された、BLCと診断された患者の癌細胞と正常腺管上皮細胞との発現パターンを比較することにより、遺伝子394個(表4に示される)が、BLC細胞において一般に上方制御されると同定された。同様に、遺伝子1272個(表5に示される)が、BLC細胞において一般に下方制御されると同定された。さらに、患者の血清または喀痰において癌関連タンパク質を検出する可能性を有する候補分子マーカーの選択を行い、ヒトBLCにおいてシグナル抑制戦略を開発するためのいくつかの潜在的標的を発見した。その中でも、表4および5は、BLCと正常組織との間で発現が変化する遺伝子のリストを提供する。

40

【 0 0 4 1 】

本明細書において同定された差次的に発現される遺伝子は、BLCのマーカーとして、およびその発現がBLCの症状を治療または軽減するために変更され得るBLC遺伝子標的として、診断上有用である。BLC患者においてその発現レベルが調節を受ける(すなわち、上昇ま

50

たは低下する)遺伝子を表4~5にまとめ、本明細書ではこれらを「BLC関連遺伝子」、「BLC核酸」、または「BLCポリヌクレオチド」と総称し、対応するコードされたポリペプチドを「BLCポリペプチド」または「BLCタンパク質」と称する。特記しない限り、「BLC」という用語は、本明細書に開示する配列(例えば、表4~5に列挙されたBLC関連遺伝子)のいずれかを指す。以前に記載されている遺伝子は、データベース登録番号とともに示す。

【0042】

細胞試料における種々の遺伝子の発現を測定することにより、BLCを診断することができる。同様に、種々の物質に応じてこれら遺伝子の発現を測定することにより、BLCを治療するための物質を同定することができる。

【0043】

本発明は、表4~5に列挙されたBLC関連遺伝子の少なくとも1つからすべてまでの発現を決定する(例えば、測定する)ことを含む。既知配列に関するGenBank(商標)データベース登録項目によって提供される配列情報を用いて、当業者に周知の技法によりBLC関連遺伝子を検出および測定することができる。例えば、BLC関連遺伝子に対応する配列データベース登録項目内の配列を用いて、例えばノーザンブロットハイブリダイゼーション解析においてBLC関連遺伝子に対応するRNA配列を検出するためのプローブを構築することができる。プローブは典型的に、参照配列の少なくとも10、少なくとも20、少なくとも50、少なくとも100、または少なくとも200ヌクレオチドを含む。別の例としては、これらの配列を用いて、例えば、逆転写に基づくポリメラーゼ連鎖反応法のような増幅に基づく検出法において、1つまたは複数のBLC核酸を特異的に増幅するためのプライマーを構築することができる。

【0044】

次いで、被験細胞集団、例えば患者由来の組織試料における1つまたは複数のBLC関連遺伝子の発現レベルを、参照集団における同じ遺伝子の発現レベルと比較する。参照細胞集団は、比較するパラメータが既知である1つまたは複数の細胞、すなわち膀胱腺癌細胞(例えば、BLC細胞)または正常膀胱腺上皮細胞(例えば、非BLC細胞)を含む。

【0045】

被験細胞集団における遺伝子発現のパターンが、参照細胞集団と比較してBLCまたはそれに対する素因を示すか否かは、参照細胞集団の組成に依存する。例えば、参照細胞集団が非BLC細胞から構成される場合、被験細胞集団と参照細胞集団の間の遺伝子発現パターンの類似性により、被験細胞集団が非BLCであることが示される。反対に、参照細胞集団がBLC細胞から構成される場合、被験細胞集団と参照細胞集団の間の遺伝子発現プロファイルの類似性により、被験細胞集団がBLC細胞を含むことが示される。

【0046】

被験細胞集団におけるBLCマーカー遺伝子の発現レベルは、それが参照細胞集団における対応するBLCマーカー遺伝子の発現レベルと、1.1倍を上回る、1.5倍を上回る、2.0倍を上回る、5.0倍を上回る、または10.0倍を上回る場合、「変化している」とみなされる。

【0047】

被験細胞集団と参照細胞集団との間の差次的な遺伝子発現は、対照核酸、例えばハウスキーピング遺伝子に対して標準化することができる。例えば、対照核酸は、細胞の癌性または非癌性状態に応じて差がないことが知られている核酸である。対照核酸の発現レベルは、被験集団および参照集団におけるシグナルレベルを標準化するのに用いることができる。例示的な対照遺伝子に、例えば、 β -アクチン、グリセルアルデヒド3-リン酸デヒドロゲナーゼ、およびリボソームタンパク質P1が含まれるがそれらに限定されない。

【0048】

被験細胞集団は複数の参照細胞集団と比較することができる。複数の参照集団のそれぞれは、公知のパラメータが異なってもよい。したがって、被験細胞集団を、例えばBLC細胞を含むことが判明している第1の参照細胞集団、ならびに例えば非BLC細胞(例えば正常細胞)を含むことが判明している第2の参照集団と比較してもよい。被験細胞は、BLC細胞

10

20

30

40

50

を含むことが判明しているかまたはBLC細胞を含むことが疑われる対象からの組織型または細胞試料中に含まれてもよい。

【0049】

被験細胞は、好ましくは体組織または体液、例えば、生体液(例えば、血液、痰、または尿など)から得られる。例えば、被験細胞を膀胱組織から精製してもよい。好ましくは、被験細胞集団は上皮細胞を含む。上皮細胞は、好ましくは膀胱腺癌であることが判明しているか、または疑われる組織由来である。

【0050】

参照細胞集団における細胞は、被験細胞の組織型と類似した組織型に由来すべきである。任意で、参照細胞集団は細胞株、例えば、BLC細胞株(すなわち、陽性対照)または正常非BLC細胞株(すなわち、陰性対照)である。または、対照細胞集団は、測定されるパラメータまたは条件に関して公知である細胞由来の分子情報のデータベースに由来していてもよい。

10

【0051】

対象は好ましくは哺乳動物である。例示的な哺乳動物には、例えば、ヒト、非ヒト霊長動物、マウス、ラット、イヌ、ネコ、ウマ、またはウシが含まれるが、それらに限定されない。

【0052】

本明細書に開示した遺伝子の発現は、当技術分野で公知の方法を用いて、タンパク質または核酸レベルで決定することができる。例えば、これらの核酸配列の1つまたは複数を選択的に認識するプローブを使用して、ノーザンハイブリダイゼーション分析により、遺伝子発現を決定することができる。または、例えば差次的に発現される遺伝子配列に特異的なプライマーを使用して、逆転写に基づくPCRアッセイにより遺伝子発現を測定してもよい。発現はまた、タンパク質レベルで、すなわち本明細書に記載の遺伝子によってコードされるポリペプチドのレベルまたはその生物活性を測定することによって決定してもよい。そのような方法は当技術分野において周知であり、例えば、遺伝子によってコードされるタンパク質に対する抗体を利用した免疫測定法が含まれるが、これに限定されない。遺伝子によってコードされるタンパク質の生物活性は、当技術分野において一般に周知である。

20

【0053】

膀胱癌の機序を明らかにし、このような腫瘍を治療および/または予防するための新規診断マーカーおよび/または薬物標的を同定するため、本発明者らは、ゲノム全域にわたるcDNAマイクロアレイとレーザーマイクロビームマイクロダイセクションを併用して、膀胱癌における遺伝子の発現プロファイルを解析した。結果として、膀胱癌細胞において特異的に過剰発現されるC2093、B5860N、およびC6055が同定された。さらに、低分子干渉RNA(siRNA)によりC2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現を抑制すると、癌細胞の増殖が有意に阻害された。これらの知見から、C2093、B5860N、および/またはC6055が癌細胞に発癌活性をもたらすこと、ならびにこれらのタンパク質の1つまたは複数の活性を阻害することは、膀胱癌などの増殖性疾患を治療および予防するための有望な戦略となり得ることが示唆される。

30

40

【0054】

B5860N

本発明により、類似の配列を有するcDNAが同定され、これはB5860Nの変異体をコードするものである。長い方の変異体のcDNAは5318ヌクレオチドからなり、2436ヌクレオチドのオープンリーディングフレームを含む(SEQ ID NO:3)。既知のB5860Nのオープンリーディングフレームは1584ヌクレオチドからなり、527アミノ酸-タンパク質をコードする(Genebank登録番号NM_017779)。したがって、5318ヌクレオチドからなる長い方の変異体は本発明にとって新規である。さらに、527アミノ酸-タンパク質をコードするB5860N cDNAの既知配列は、3338ヌクレオチドからなる。しかし本発明では、4466ヌクレオチドからなるB5860Nの全長cDNAが単離された。この短い方の変異体のヌクレオチド配列は、既知ヌクレオ

50

チド配列と比較して3'-UTRの新規配列を含むが、それらによってコードされるアミノ酸配列はいずれも同一であった。本明細書では、既知の527アミノ酸-タンパク質をコードする短い方の変異体、および新規の811アミノ酸-タンパク質をコードする長い方の変異体の転写産物を、それぞれB5860NV2およびB5860NV1と記載する。B5860NV1およびB5860NV2のヌクレオチド配列、ならびにそれらによってコードされるアミノ酸配列を、以下のSEQ ID NOに記載する。

	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列
B5860NV1	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:4
B5860NV2	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:6

【0055】

したがって本発明は、長い方の変異体B5860NV1によってコードされる実質的に純粋なポリペプチドを提供し、これにはSEQ ID NO:4のアミノ酸配列を含むポリペプチド、およびB5860NV1タンパク質をコードする範囲で、その機能的同等物が含まれる。B5860NV1と機能的に同等なポリペプチドの例には、例えば、ヒトB5860NV1タンパク質に対応する他の生物の相同タンパク質、およびヒトB5860NV1タンパク質の変異体が含まれる。

【0056】

C6055

本発明により、類似の配列を有するcDNAが同定され、これはC6055の変異体をコードするものである。NCBIのデータベースによれば、C6055は24エキソンからなり、MGC34032と称され、染色体1p31.3に位置する。C6055はデータベース上のMGC34032の最後のエキソン(エキソン24)内に含まれないため、本発明者らは、膀胱癌細胞株、SW780を鋳型として用いて、ESTウォーキング、ならびに5'RACEおよび3'RACE実験としてRT-PCRを行い、C6055の全cDNA配列を得た(材料および方法を参照されたい)。その結果、本発明者らは、2つの新規転写産物、C6055V1およびC6055V2を見出した。最終的に、この遺伝子は、それぞれMGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、およびC6055V2に対応する、24、25、22、および22エキソンからなる4つの異なるスプライシング変異体を有する(図3c)。MGC34032のエキソン1、2、3、4、および24において選択的スプライシングが存在し、その他の残りのエキソンは4つの転写産物に共通していた。C6055V1およびC6055V2転写産物にはMGC34032のエキソン1、2、および3はなく、最後のエキソン内に同じ終止コドンを生じる。特に、C6055V1およびC6055V2転写産物のORFはそれぞれのエキソン4において開始し、C6055V1およびC6055V2転写産物は同じORFを有することが示される。MGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、およびC6055V2転写産物の全長cDNA配列は、それぞれ2302、3947、3851、および3819ヌクレオチドからなる。MGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、およびC6055V2転写産物は最終的に、それぞれ719、587、675、および675アミノ酸をコードする。C6055V1およびC6055V2のヌクレオチド配列、ならびにそれらによってコードされるアミノ酸配列を、以下のSEQ ID NOに記載する。

	ヌクレオチド配列	アミノ酸配列
C6055V1	SEQ ID NO:129	SEQ ID NO:130
C6055V2	SEQ ID NO:131	SEQ ID NO:132

【0057】

したがって本発明は、長い方の変異体C6055V1またはC6055V2によってコードされる実質的に純粋なポリペプチドを提供し、これにはSEQ ID NO:130またはSEQ ID NO:132のアミノ酸配列を含むポリペプチド、およびGenbank登録番号AK128063タンパク質をコードする範囲で、それらの機能的同等物が含まれる。C6055V1またはC6055V2と機能的に同等なポリペプチドの例には、例えば、ヒトC6055V1またはC6055V2タンパク質に対応する他の生物の相同タンパク質、およびヒトC6055V1またはC6055V2タンパク質の変異体が含まれる。

【0058】

本発明において、「機能的に同等な」という用語は、対象ポリペプチドが、B5860NV1タンパク質のように細胞増殖を促進する活性、および癌細胞に発癌活性を付与する活性を有することを意味する。対象ポリペプチドが細胞増殖活性を有するか否かは、対象ポリペ

10

20

30

40

50

チドをコードするDNAを細胞に導入し、それぞれのポリペプチドを発現させ、細胞増殖の促進またはコロニー形成活性の上昇を検出することによって判定され得る。このような細胞には、例えば、NIH3T3、COS7、およびHEK293が含まれる。

【0059】

所与のタンパク質と機能的に同等なポリペプチドを調製する方法は当業者に周知であり、これにはタンパク質に変異を導入する公知の方法が含まれる。例えば、当業者は、ヒトB5860NV1タンパク質と機能的に同等なポリペプチドを、このタンパク質のアミノ酸配列に部位特異的突然変異誘発法により適切な変異を導入することによって調製することができる(Hashimoto-Gotoh et al., (1995) Gene 152:271-5; Zoller and Smith, (1983) Methods Enzymol 100: 468-500; Kramer et al., (1984) Nucleic Acids Res. 12:9441-56; Kramer and Fritz, (1987) Methods Enzymol 154: 350-67; Kunkel, (1985) Proc Natl Acad Sci USA 82: 488-92; Kunkel, (1991) Methods Enzymol;204:125-39)。アミノ酸変異は自然界でも起こり得る。本発明のポリペプチドには、得られる変異ポリペプチドがヒトB5860NV1タンパク質と機能的に同等であるという前提で、1つまたは複数のアミノ酸が変異したヒトB5860NV1タンパク質のアミノ酸配列を有するタンパク質が含まれる。本発明において、変異の数は一般に全アミノ酸の35%以下、好ましくは30%以下、さらにより好ましくは25%、20%、10%、5%、2%、または1%以下である。具体的には、そのような変異体において変異させるアミノ酸の数は一般に200もしくは100アミノ酸またはそれ未満、典型的には10アミノ酸またはそれ未満、好ましくは6アミノ酸またはそれ未満、より好ましくは3アミノ酸またはそれ未満である。

【0060】

ある特定のアミノ酸配列の1つまたは複数のアミノ酸残基の置換、欠失、挿入、および/または付加によって改変されたアミノ酸配列を有するタンパク質である変異タンパク質または改変タンパク質は、当初の生物活性を保持することが知られている(Mark et al., (1984) Proc Natl Acad Sci USA 81: 5662-6; Zoller and Smith, (1982) Nucleic Acids Res 10:6487-500; Dalbadie-McFarland et al., (1982) Proc Natl Acad Sci USA 79: 6409-13)。そのためには、変異させるアミノ酸残基は、アミノ酸側鎖の特性が保存される別のアミノ酸に変異させることが好ましい(保存的アミノ酸置換として知られる過程)。アミノ酸側鎖の特性の例には、疎水性アミノ酸(A、I、L、M、F、P、W、Y、V)、親水性アミノ酸(R、D、N、C、E、Q、G、H、K、S、T)、および以下の官能基または特徴を共通して有する側鎖がある：脂肪族側鎖(G、A、V、L、I、P)；水酸基含有側鎖(S、T、Y)；硫黄原子含有側鎖(C、M)；カルボン酸およびアミド含有側鎖(D、N、E、Q)；塩基含有側鎖(R、K、H)；ならびに芳香族含有側鎖(H、F、Y、W)。括弧内の文字はアミノ酸の一文字コードを示すことに留意されたい。

【0061】

ヒトB5860NV1タンパク質のアミノ酸配列に1つまたは複数のアミノ酸残基が付加されたポリペプチドの一例は、ヒトB5860NV1タンパク質を含む融合タンパク質である。ヒトB5860NV1タンパク質と他のペプチドまたはタンパク質との融合物である融合タンパク質は、本発明に含まれる。融合タンパク質は、本発明のヒトB5860NV1タンパク質をコードするDNAを他のペプチドまたはタンパク質をコードするDNAとフレームが合致するように連結し、この融合DNAを発現ベクターに挿入して、それを宿主において発現させるといった当業者に周知の技法によって作製することができる。本発明のタンパク質と融合させ得るペプチドまたはタンパク質に関する制限はない。

【0062】

本発明のタンパク質と融合させるペプチドとして用いられ得る既知ペプチドには、例えば、FLAG(Hopp et al., (1988) Biotechnology 6: 1204-10)、6個のHis(ヒスチジン)残基を含む6×His、10×His、インフルエンザ凝集素(HA)、ヒトc-myc断片、VSP-GP断片、p18HIV断片、T7タグ、HSVタグ、Eタグ、SV40T抗原断片、Ickタグ、α-チューブリン断片、Bタグ、プロテインC断片などが含まれる。本発明のタンパク質と融合させ得るタンパク質の例には、GST(グルタチオン-S-トランスフェラーゼ)、インフルエンザ凝集素(HA)、免疫グ

ロブリン定常領域、 β -ガラクトシダーゼ、MBP(マルトース結合タンパク質)などがある。

【0063】

融合タンパク質は、上記の融合ペプチドまたはタンパク質をコードする市販のDNAと、本発明のポリペプチドをコードするDNAを融合させ、調製された融合DNAを発現させることによって調製することができる。

【0064】

または、当技術分野において公知である方法を用いて、例えばハイブリダイゼーション技法を用いて、機能的に同等なポリペプチドを単離することができる(Sambrook et al., (1989) Molecular Cloning 2nd ed. 9.47-9.58, Cold Spring Harbor Lab. Press)。当業者は、ヒトB5860NV1タンパク質をコードするDNA配列(すなわち、SEQ ID NO:3)の全体または一部と高い相同性を有するDNAを容易に単離して、単離されたDNAからヒトB5860NV1タンパク質と機能的に同等なポリペプチドを単離することができる。本発明のポリペプチドには、ヒトB5860NV1タンパク質をコードするDNA配列の全体または一部とハイブリダイズするDNAによってコードされ、かつヒトB5860NV1タンパク質と機能的に同等であるポリペプチドが含まれる。これらのポリペプチドには、ヒト由来のタンパク質に対応する哺乳動物相同体(例えば、サル、ラット、ウサギ、およびウシ遺伝子によってコードされるポリペプチド)が含まれる。ヒトB5860NV1タンパク質をコードするDNAと相同性の高いcDNAを動物から単離する際には、精巢由来の組織または膀胱癌組織を用いることが特に好ましい。

【0065】

ヒトB5860NV1タンパク質と機能的に同等なポリペプチドをコードするDNAを単離するためのハイブリダイゼーションの条件は、当業者によって慣行的に選択され得る。例えば、ハイブリダイゼーションは、「Rapid-hyb緩衝液」(Amersham LIFE SCIENCE)を用いて68でプレハイブリダイゼーションを30分間またはそれ以上行い、標識プローブを添加した上で、68で1時間またはそれ以上加温することにより行うことができる。それに続く洗浄段階は、例えば低ストリンジェント条件下で行い得る。低ストリンジェント条件は、例えば、42、2×SSC、0.1% SDS、または好ましくは50、2×SSC、0.1% SDSである。より好ましくは、高ストリンジェント条件を用いる。高ストリンジェント条件は、例えば、室温で2×SSC、0.01% SDS中での20分間の洗浄を3回行った後に、37で1×SSC、0.1% SDS中での20分間の洗浄を3回行い、50で1×SSC、0.1% SDS中での20分間の洗浄を2回行うことである。しかし、温度および塩濃度などのいくつかの要因はハイブリダイゼーションのストリンジェンシーに影響を及ぼし得るため、当業者は必要なストリンジェンシーを得るためにこれらの要因を適切に選択することができる。

【0066】

ハイブリダイゼーションの代わりに、遺伝子増幅法、例えばポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法を利用して、タンパク質をコードするDNA(SEQ ID NO:3)の配列情報に基づいて合成したプライマーを用いて、ヒトB5860NV1タンパク質と機能的に同等なポリペプチドをコードするDNAを単離することもできる。

【0067】

上記のハイブリダイゼーション法または遺伝子増幅法により単離されたDNAによってコードされる、ヒトB5860NV1タンパク質と機能的に同等なポリペプチドは、通常、ヒトB5860NV1タンパク質のアミノ酸配列と高い相同性を有する。本明細書で使用する「高い相同性」という用語は典型的に、ポリペプチド配列またはポリヌクレオチド配列と参照配列との間の40%またはそれ以上、好ましくは60%またはそれ以上、より好ましくは80%またはそれ以上、さらにより好ましくは85%、90%、93%、95%、98%、99%またはそれ以上の相同性を指す。相同性パーセント(同一性パーセントとも称される)は典型的に、最適に整列させた2つの配列間で決定される。比較のために配列を整列させる方法は、当技術分野において周知である。配列の最適な整列化および比較は、例えば「Wilbur and Lipman, (1983) Proc Natl Acad Sci USA 80: 726-30」中のアルゴリズムを用いて行うことができる。

【0068】

本発明のポリペプチドは、これを産生させるために用いる細胞もしくは宿主または利用

する精製法に応じて、アミノ酸配列、分子量、等電点、糖鎖の有無、または形態に差異があってもよい。それでもなお、このようなポリペプチドは、本発明のヒトB5860NV1タンパク質の機能と同等な機能を有する限り、本発明の範囲内に含まれる。

【0069】

本発明のポリペプチドは、当業者に周知の方法を用いて、組換えタンパク質または天然タンパク質として調製することができる。組換えタンパク質は、例えば、本発明のポリペプチドをコードするDNA(例えば、SEQ ID NO:3のヌクレオチド配列を含むDNA)を適切な発現ベクターに挿入し、このベクターを適切な宿主細胞に導入し、抽出物を得て、この抽出物をクロマトグラフィー、例えば、イオン交換クロマトグラフィー、逆相クロマトグラフィー、ゲル濾過、または本発明のタンパク質に対する抗体を固定したカラムを利用するアフニティークロマトグラフィーに供して、または前述のカラムを2つ以上組み合わせてポリペプチドを精製することによって、調製することができる。

10

【0070】

また、本発明のポリペプチドを宿主細胞(例えば、動物細胞および大腸菌(*E. coli*))において、グルタチオン-S-トランスフェラーゼタンパク質との融合タンパク質として、または複数のヒスチジンが付加された組換えタンパク質として発現させる場合には、発現された組換えタンパク質は、グルタチオンカラムまたはニッケルカラムを用いて精製することができる。または、本発明のポリペプチドをc-myc、複数のヒスチジン、またはFLAGによってタグ付けされたタンパク質として発現させる場合には、これは、それぞれc-myc、His、またはFLAGに対する抗体を用いて検出および精製することができる。

20

【0071】

融合タンパク質の精製後に、融合タンパク質を必要に応じてトロンピンまたは第Xa因子で切断することにより、目的のポリペプチド以外の領域を除くことも可能である。

【0072】

天然タンパク質は、当業者に公知の方法によって、例えば後述するB5860NV1タンパク質に結合する抗体を結合させたアフニティークラムを、本発明のポリペプチドを発現する組織または細胞の抽出物と接触させることによって、単離することができる。抗体は、ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体であり得る。

【0073】

本発明はまた、本発明のポリペプチドの部分ペプチドを包含する。好ましくは、本発明の部分ペプチドは、SEQ ID NO:4のアミノ酸配列の304~588位から選択されるアミノ酸配列またはその一部を含む。304~588位に及ぶアミノ酸配列は、B5860NV2と比較してB5860NV1に特異的な領域である。部分ペプチドは本発明のポリペプチドに特異的なアミノ酸配列を有し、少なくとも7アミノ酸、好ましくは8アミノ酸またはそれ以上、より好ましくは9アミノ酸またはそれ以上からなる。部分ペプチドは、例えば、本発明のポリペプチドに対する抗体の調製、本発明のポリペプチドに結合する化合物のスクリーニング、および本発明のポリペプチドの阻害剤のスクリーニングに使用することができる。

30

【0074】

本発明の部分ペプチドは、遺伝子操作により、ペプチド合成の公知の方法により、または本発明のポリペプチドを適切なペプチダーゼで消化することにより生成され得る。ペプチド合成には、例えば、固相合成または液相合成を使用することができる。

40

【0075】

本発明はさらに、上記のB5860NV1ポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。本発明のポリヌクレオチドは、上記のように本発明のポリペプチドのインビボもしくはインビトロ産生に使用することができる、または本発明のタンパク質をコードする遺伝子の遺伝子異常に起因する疾患の遺伝子治療に適用することができる。本発明のポリペプチドをコードする限り、mRNA、RNA、cDNA、ゲノムDNA、化学合成されたポリヌクレオチドを含む、本発明のポリヌクレオチドの任意の形態を使用することができる。本発明のポリヌクレオチドには、結果として得られるDNAが本発明のポリペプチドをコードする限り、所与のヌクレオチド配列およびその変性配列を含むDNAが含まれる。

50

【0076】

本発明のポリヌクレオチドは、当業者に公知の方法で調製することができる。例えば、本発明のポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドを発現する細胞からcDNAライブラリーを調製し、本発明のDNA(例えば、SEQ ID NO:3)の部分配列をプローブとして用いてハイブリダイゼーションを行うことにより、調製することができる。cDNAライブラリーは、例えば、Sambrook et al., (1989) Molecular Cloning, Cold Spring Harbor Laboratory Pressに記載されている方法により調製することができる。または、市販のcDNAライブラリーを使用することも可能である。cDNAライブラリーはまた、本発明のポリペプチドを発現する細胞からRNAを抽出し、本発明のDNAの配列(例えば、SEQ ID NO:3)に基づいてオリゴDNAを合成し、このオリゴDNAをプライマーとして用いてPCRを行い、本発明のタンパク質をコードするcDNAを増幅することにより、調製することもできる。

【0077】

加えて、得られたcDNAのヌクレオチドの配列を決定することにより、cDNAによってコードされる翻訳領域を慣行的に決定することができ、本発明のポリペプチドのアミノ酸配列を容易に得ることができる。さらに、得られたcDNAまたはその一部をプローブとして用いて、ゲノムDNAライブラリーをスクリーニングすることにより、ゲノムDNAを単離することができる。

【0078】

より具体的には、本発明の対象ポリペプチドが発現している細胞、組織、もしくは器官(例えば、精巣)、または膀胱癌細胞株から、mRNAを最初に調製し得る。mRNAの単離には、公知の方法を用いることができる。例えば、全RNAを、グアニジン超遠心(Chirgwin et al., (1979) Biochemistry 18:5294-9)またはAGPC法(Chomczynski and Sacchi, (1987) Anal. Biochem 162:156-9)により調製し得る。さらに、mRNA精製キット(Pharmacia)などを用いて、全RNAからmRNAを精製し得る。または、QuickPrep mRNA精製キット(Pharmacia)によりmRNAを直接精製することもできる。

【0079】

得られたmRNAを基に、逆転写酵素を用いてcDNAを合成する。cDNAは、AMV逆転写酵素第一鎖cDNA合成キット(生化学工業)などの市販のキットを用いて合成することができる。または、cDNAは、本明細書に記載のプライマーなどを用いる5'-RACE法(Frohman et al., (1988) Proc Natl Acad Sci USA 85: 8998-9002; Belyavsky et al., (1989) Nucleic Acids Res 17: 2919-32)、5'-Ampli FINDER RACEキット(Clontech)、およびポリメラーゼ連鎖反応(PCR)により、合成および増幅することもできる。

【0080】

所望のDNA断片をPCR産物から調製し、ベクターDNAと連結する。このような組換えベクターを用いて大腸菌などを形質転換し、選択されたコロニーから所望の組換えベクターを調製する。所望のDNAのヌクレオチド配列は、ジデオキシヌクレオチド鎖終結法などの従来法で確認することができる。

【0081】

本発明のポリヌクレオチドのヌクレオチド配列は、発現に用いようとする宿主におけるコドンの使用頻度を考慮することで、より効率的に発現されるように設計することができる(Grantham et al., (1981) Nucleic Acids Res 9: 43-74)。本発明のポリヌクレオチドの配列は、市販のキットまたは従来法により変更することができる。例えば、配列は、制限酵素による消化、合成オリゴヌクレオチドもしくは適切なポリヌクレオチド断片の挿入、リンカーの付加、または開始コドン(ATG)および/もしくは終止コドン(TAA、TGA、またはTAG)の挿入によって変更することができる。

【0082】

具体的には、本発明のポリヌクレオチドは、SEQ ID NO:3のヌクレオチド配列を含むDNAを包含する。

【0083】

さらに本発明は、SEQ ID NO:3のヌクレオチド配列を有するポリヌクレオチドとストリ

ンジェントな条件下でハイブリダイズし、かつ上記の本発明のB5860NV1タンパク質と機能的に同等なポリペプチドをコードするポリヌクレオチドを提供する。当業者であれば、適切にストリンジェントな条件を適切に選択することができる。例えば、低ストリンジェント条件を使用することができる。より好ましくは、高ストリンジェント条件を使用することができる。これらの条件は、上記の条件と同じである。上記のハイブリダイズするDNAは、好ましくはcDNAまたは染色体DNAである。

【0084】

本発明はまた、ヒトB5860NV1タンパク質をコードするポリヌクレオチド(SEQ ID NO:3)またはその相補鎖と相補的であり、かつ少なくとも15ヌクレオチドを含むポリヌクレオチドであって、SEQ ID NO:3の988~1842位に及ぶヌクレオチド配列とハイブリダイズするポリヌクレオチドを提供する。本発明のポリヌクレオチドは好ましくは、本発明のB5860NV1ポリペプチドをコードするDNAと特異的にハイブリダイズするポリヌクレオチドである。本明細書で用いる「特異的にハイブリダイズする」という用語は、通常のハイブリダイゼーション条件下で、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条件下で、他のタンパク質をコードするDNAとの間に有意なクロスハイブリダイゼーションが起こらないことを意味する。このようなポリヌクレオチドには、本発明のポリペプチドをコードするDNAまたはその相補鎖と特異的にハイブリダイズするプローブ、プライマー、ヌクレオチド、およびヌクレオチド誘導体(例えば、アンチセンスオリゴヌクレオチドおよびリボザイム)が含まれる。さらに、このようなポリヌクレオチドは、DNAチップの調製に利用することができる。

10

20

【0085】

ベクターおよび宿主細胞

本発明はまた、本発明のポリヌクレオチドが導入されたベクターおよび宿主細胞を提供する。本発明のベクターは、宿主細胞中に本発明のポリヌクレオチド、特にDNAを保存するため、本発明のポリペプチドを発現させるため、または遺伝子治療のために本発明のポリヌクレオチドを投与するために有用である。

【0086】

大腸菌が宿主細胞であり、ベクターを大腸菌(例えば、JM109、DH5 α 、HB101、またはXL1Blue)内で増幅して大量に生成する場合、ベクターは、大腸菌内で増幅するための「複製起点」、および形質転換された大腸菌を選択するためのマーカー遺伝子(例えば、アンピシリン、テトラサイクリン、カナマイシン、クロラムフェニコールなどの薬剤によって選択される薬剤耐性遺伝子)を有する必要がある。例えば、M13系ベクター、pUC系ベクター、pBR322、pBluescript、pCR-Scriptなどを使用することができる。さらに、pGEM-T、pDI RECT、およびpT7もまた上記ベクターと同様に、cDNAのサブクローニングおよび抽出に使用することができる。ベクターを本発明のタンパク質の産生に使用する場合には、発現ベクターが特に有用である。例えば、大腸菌で発現させる発現ベクターは、大腸菌で増幅するために上記の特徴を有する必要がある。JM109、DH5 α 、HB101、またはXL1 Blueなどの大腸菌を宿主細胞として使用する場合、ベクターは、大腸菌で所望の遺伝子を効率的に発現し得るプロモーター、例えば、lacZプロモーター(Ward et al., (1989) Nature 341: 544-6; (1992) FASEB J 6: 2422-7)、araBプロモーター(Better et al., (1988) Science 240: 1041-3)、T7プロモーターなどを有する必要がある。この点に関して、例えば、pGEX-5X-1(Pharmacia)、「QIAexpressシステム」(Qiagen)、pEGFP、およびpET(この場合、宿主は好ましくはT7 RNAポリメラーゼを発現するBL21である)を上記ベクターの代わりに使用することができる。さらにベクターは、ポリペプチド分泌のためのシグナル配列を含んでもよい。ポリペプチドを大腸菌のペリプラズムに分泌させる例示的なシグナル配列は、pelBシグナル配列(Lei et al., (1987) J Bacteriol 169: 4379-83)である。ベクターを標的宿主細胞に導入する手段には、例えば塩化カルシウム法およびエレクトロポレーション法が含まれる。

30

40

【0087】

大腸菌に加えて、例えば、哺乳動物由来の発現ベクター(例えば、pcDNA3(Invitrogen)

50

、およびpEF-BOS(Mizushima S and Nagata S, (1990) Nucleic Acids Res 18(17): 5322)、pEF、pCDM8)、昆虫細胞由来の発現ベクター(例えば「Bac-to-BACバキュロウイルス発現系」(GIBCO BRL)、pBacPAK8)、植物由来の発現ベクター(例えば、pMH1、pMH2)、動物ウイルス由来の発現ベクター(例えば、pHSV、pMV、pAdexLcw)、レトロウイルス由来の発現ベクター(例えば、pZlpneo)、酵母由来の発現ベクター(例えば、「ピキア(Pichia)発現キット」(Invitrogen)、pNV11、SP-Q01)、および枯草菌(Bacillus subtilis)由来の発現ベクター(例えば、pPL608、pKTH50)を、本発明のポリペプチドの産生に使用することができる。

【0088】

ベクターをCHO、COS、またはNIH3T3細胞などの動物細胞で発現させるためには、ベクターはこのような細胞における発現に必要なプロモーター、例えば、SV40プロモーター(Mulligan et al., (1979) Nature 277: 108)、MMLV-LTRプロモーター、EF1 α プロモーター(Mizushima et al., (1990) Nucleic Acids Res 18: 5322)、CMVプロモーターなど、および好ましくは形質転換体を選択するためのマーカー遺伝子(例えば、薬剤(例えば、ネオマイシン、G418)によって選択される薬剤耐性遺伝子)を有する必要がある。これらの特徴を有する公知のベクターの例には、例えばpMAM、pDR2、pBK-RSV、pBK-CMV、pOPRSV、およびpOP13が含まれる。

【0089】

ポリペプチドの産生

さらに、本発明は、本発明のポリペプチドを産生する方法を提供する。ポリペプチドは、ポリペプチドをコードする遺伝子を含む発現ベクターを保有する宿主細胞を培養することによって調製し得る。必要に応じて、細胞内で遺伝子を安定に発現させると同時に遺伝子のコピー数を増幅するための方法を使用することができる。例えば、核酸合成経路が欠失したCHO細胞に、相補的なDHFR遺伝子を含むベクター(例えば、pCHO 1)を導入し、次にこのベクターをメトトレキセート(MTX)により増幅することができる。さらに、遺伝子の一過性発現の場合には、SV40の複製起点を含むベクター(pcDなど)で、染色体上にSV40 T抗原発現遺伝子を含むCOS細胞を形質転換する方法が用いられ得る。

【0090】

上記のように得られる本発明のポリペプチドは、宿主細胞の内部または外部(培地など)から単離して、実質的に純粋で均一なポリペプチドとして精製することができる。所与のポリペプチドに関して本明細書で用いる「実質的に純粋な」という用語は、ポリペプチドが他の生物学的高分子を実質的に含まないことを意味する。実質的に純粋なポリペプチドは、乾燥重量で少なくとも75%(例えば、少なくとも80%、85%、95%、または99%)純粋である。純度は、任意の適切な標準的な方法により、例えばカラムクロマトグラフィー、ポリアクリルアミドゲル電気泳動、またはHPLC解析により測定することができる。ポリペプチドを単離および精製する方法は、いかなる特定の方法にも制限されない。実際に、任意の標準的な方法を使用することができる。

【0091】

例えば、カラムクロマトグラフィー、濾過、限外濾過、塩析、溶媒沈殿、溶媒抽出、蒸留、免疫沈降、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動、等電点電気泳動、透析、および再結晶を適切に選択し、組み合わせ、ポリペプチドを単離および精製することができる。

【0092】

クロマトグラフィーの例には、例えばアフィニティークロマトグラフィー、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、ゲル濾過、逆相クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィーなどがある(Strategies for Protein Purification and Characterization: A Laboratory Course Manual. Ed. Daniel R. Marshak et al., (1996) Cold Spring Harbor Laboratory Press)。これらのクロマトグラフィーは、HPLCおよびFPLCなどの液体クロマトグラフィーによって実施することができる。したがって本発明は、上記の方法で調製された高純度のポリペプチドを提供する。

【0093】

10

20

30

40

50

本発明のポリペプチドは、精製前および/または精製後に適切なタンパク質修飾酵素で処理することにより、任意に修飾するかまたは部分的に欠失させることができる。有用なタンパク質修飾酵素には、トリプシン、キモトリプシン、リシルエンドペプチダーゼ、プロテインキナーゼ、グルコシダーゼなどがあるが、これらに限定されない。

【0094】

膀胱癌の診断

本発明の文脈において、BLCは、被験細胞集団(すなわち、患者由来の生体試料)からの1つまたは複数のBLC核酸の発現レベルを測定することにより診断される。好ましくは、被験細胞集団は、上皮細胞、例えば膀胱組織から得られた細胞を含む。遺伝子発現は、血液または他の体液(尿など)から測定することもできる。タンパク質レベルを測定するために、他の生体試料を使用することも可能である。例えば、診断しようとする対象由来の血液または血清中のタンパク質レベルを、免疫測定法または他の従来の生物学的アッセイ法により測定することができる。

【0095】

1つまたは複数のBLC関連遺伝子、例えば、表4~5に列挙された遺伝子の発現を、被験細胞または生体試料において決定し、アッセイした1つまたは複数のBLC関連遺伝子に関連する正常対照発現レベルと比較する。正常対照レベルとは、BLCに罹患していないことが判明している集団で典型的に認められるBLC関連遺伝子の発現プロファイルのことである。患者由来の組織試料における1つまたは複数のBLC関連遺伝子の発現レベルに変化(例えば、上昇または低下)があることにより、対象がBLCに罹患しているかまたはBLCを発症するリスクがあることが示される。例えば、被験集団における、表4に列挙された1つまたは複数の上方制御されるBLC関連遺伝子の発現が正常対照レベルと比較して上昇していることにより、その対象がBLCに罹患しているかまたはBLCを発症するリスクを有することが示される。逆に、被験集団における、表5に列挙された1つまたは複数の下方制御されるBLC関連遺伝子の発現が正常対照レベルと比較して低下していることにより、その対象がBLCに罹患しているかまたはBLCを発症するリスクを有することが示される。

【0096】

被験集団におけるBLC関連遺伝子の1つまたは複数が、正常対照レベルと比較して変化していることにより、その対象がBLCに罹患しているかまたはBLCを発症するリスクがあることが示される。例えば、一連のBLC関連遺伝子(表4~5に列挙された遺伝子)の少なくとも1%、少なくとも5%、少なくとも25%、少なくとも50%、少なくとも60%、少なくとも80%、少なくとも90%またはそれ以上が変化していることにより、その対象がBLCに罹患しているかまたはBLCを発症するリスクがあることが示される。

【0097】

さらに本発明は、本発明の遺伝子の発現レベルを診断マーカーとして使用して、膀胱癌などの細胞増殖性疾患を診断する方法も提供する。この診断法は、(a) C2093、B5860N、およびC6055遺伝子の1つまたは複数の発現レベルを検出する段階、ならびに(b) 発現レベルの上昇を膀胱癌と関連づける段階を含む。本発明の文脈において、B5860N遺伝子の転写産物にはB5860NV1およびB5860NV2が含まれる。本発明の文脈において、C6055遺伝子の転写産物には、MGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、およびC6055V2が含まれる。

【0098】

生体試料におけるC2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルは、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子に対応するmRNA、またはそれら遺伝子によってコードされるタンパク質を定量することによって評価することができる。mRNAの定量法は当業者に公知である。例えば、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子に対応するmRNAのレベルは、ノーザンブロットティングまたはRT-PCRによって評価し得る。C2093遺伝子の全長ヌクレオチド配列はSEQ ID NO:1に示した。または、B5860N遺伝子転写産物の2つの変異体型の全長ヌクレオチド配列もSEQ ID NO:3および5に示した。または、C6055遺伝子転写産物の4つの変異体型の全長ヌクレオチド配列もSEQ ID NO:129、131、133、および135に示した。したがって、当業

者であれば誰もが、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子を定量するためのプローブまたはプライマーのヌクレオチド配列を設計することができる。

【0099】

また、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルは、それら遺伝子によってコードされるタンパク質の活性または量に基づいて解析することもできる。C2093、B5860N、またはC6055タンパク質の量を決定する方法は以下に示す。例えば、免疫測定法は、生体材料におけるタンパク質の決定に有用である。マーカー遺伝子(すなわち、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子)が膀胱癌患者の試料中で発現されている限りは、任意の生体材料をタンパク質またはその活性を決定するための生体試料として使用することができる。例えば、本発明の文脈において、膀胱組織は好ましい生体試料である。しかし、血液および尿などの体液もまた解析が可能である。一方、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子によってコードされるタンパク質の活性を決定するためには、解析しようとするタンパク質の活性に応じて適した方法が選択され得る。

10

【0100】

生体試料中のC2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルを評価し、正常試料(例えば、非罹患対象に由来する試料)における発現レベルと比較する。このような比較によって標的遺伝子の発現レベルが正常試料における発現レベルよりも高いことが示された場合には、その対象は膀胱癌に罹患していると判断される。正常対象および診断しようとする対象の生体試料におけるC2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルは、同時に決定することができる。または、あらかじめ対照群から採取しておいた試料の遺伝子発現レベルを解析して得られた結果に基づき、統計学的方法によって発現レベルの正常範囲を決定することもできる。対象の試料を比較して得られた結果を正常範囲と比較する；その結果が正常範囲に入らない場合、対象は膀胱癌に罹患しているか、または膀胱癌を発症するリスクを有すると判断される。

20

【0101】

本発明においては、膀胱癌などの細胞増殖性疾患を診断するための診断薬も提供する。本発明の診断薬は、C2093、B5860N、もしくはC6055遺伝子転写産物、またはそれらによってコードされるポリペプチドに結合する化合物を含む。好ましくは、SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列を含むポリヌクレオチドにハイブリダイズするオリゴヌクレオチド、またはSEQ ID NO2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドに結合する抗体をこのような化合物として使用し得る。

30

【0102】

BLC関連遺伝子の発現を阻害または増強する物質の同定

BLC関連遺伝子の発現またはその遺伝子産物の活性を阻害する物質は、BLCに関連した上方制御遺伝子を発現する被験細胞集団を被験物質と接触させ、次いでBLC関連遺伝子の発現レベルまたはその遺伝子産物の活性を決定することにより同定することができる。物質の存在下におけるBLC関連遺伝子の発現レベルまたはその遺伝子産物の活性レベルが、被験物質の非存在下における発現または活性レベルと比較して低下していることにより、その物質がBLCに関連した上方制御遺伝子の阻害剤であり、BLCの阻害に有用であることが示される。

40

【0103】

または、BLCに関連した下方制御遺伝子の発現またはその遺伝子産物の活性を増強する物質は、BLC関連遺伝子を発現する被験細胞集団を被験物質と接触させ、次いでBLCに関連した下方制御遺伝子の発現レベルまたは活性を決定することにより同定することができる。BLC関連遺伝子の発現レベルまたはその遺伝子産物の活性レベルが、被験物質の非存在下における発現または活性レベルと比較して上昇していることにより、被験物質がBLCに関連した下方制御遺伝子の発現またはその遺伝子産物の活性を増大させることが示される。

【0104】

50

被験細胞集団は、BLC関連遺伝子を発現する任意の細胞であり得る。例えば、被験細胞集団は、膀胱組織由来の細胞のような上皮細胞を含み得る。さらに、被験細胞は癌細胞由来の不死化細胞株であってもよい。または、被験細胞は、BLC関連遺伝子をトランスフェクトした細胞、またはレポーター遺伝子と機能的に連結したBLC関連遺伝子由来の制御配列(例えば、プロモーター配列)をトランスフェクトした細胞であってもよい。

【0105】

対象におけるBLC治療の有効性の評価

本明細書において同定されたBLC関連遺伝子の差次的発現により、BLCの治療過程をモニターすることも可能になる。本方法において、BLCに対する治療を受ける対象から被験細胞集団が提供される。必要に応じて、例えば、治療前、治療中、および/または治療後といった様々な時点で被験細胞集団を対象から入手する。次いで、当該細胞集団における1つまたは複数のBLC関連遺伝子の発現を決定し、BLC状態が判明している細胞を含む参照細胞集団と比較する。本発明の文脈において、参照細胞は、関心対象の治療に曝露されてはならない。

【0106】

参照細胞集団がBLC細胞を含まない場合、被験細胞集団および参照細胞集団におけるBLC関連遺伝子の発現に類似性があることが、関心対象の治療が有効であることを示す。しかしながら、被験集団と正常対照参照細胞集団におけるBLC関連遺伝子の発現の差は、あまり好ましくない臨床効果または予後を示す。同様に、参照細胞集団がBLC細胞を含む場合、被験細胞集団および参照細胞集団におけるBLC関連遺伝子の発現の差が、関心対象の治療が有効であることを示すが、被験集団および膀胱癌対照参照細胞集団におけるBLC関連遺伝子の発現の類似性は、臨床効果または予後があまり好ましくないことを示す。

【0107】

さらに、治療後に採取された対象由来生物試料において決定される1つまたは複数のBLC関連遺伝子の発現レベル(すなわち、治療後レベル)を、治療を開始する前に採取された対象由来生物試料において決定される1つまたは複数のBLC関連遺伝子の発現レベル(すなわち、治療前レベル)と比較することができる。BLC関連遺伝子が上方制御される遺伝子である場合、治療後試料における発現レベルの低下は、関心対象の治療が有効であることを示し、一方、治療後試料における発現レベルの上昇または維持は、臨床効果または予後があまり好ましくないことを示す。逆に、BLC関連遺伝子が下方制御される遺伝子である場合、治療後試料における発現レベルが上昇していることにより、関心対象の治療が有効であることが示され、治療後試料における発現レベルが低下しているかまたは維持されていることにより、臨床効果または予後があまり好ましくないことが示される。

【0108】

本明細書で用いる場合、「有効な」という用語は、治療が、対象における、病理学的に上方制御される遺伝子の発現低下、病理学的に下方制御される遺伝子の発現上昇、または膀胱腺癌の大きさ、波及度、もしくは転移能の低下をもたらすことを示す。関心対象の治療が予防的に適用される場合、「有効な」という用語は、治療が膀胱腫瘍の形成を遅延もしくは防止する、または臨床的なBLCの症状を遅延、予防、もしくは軽減することを示す。膀胱腫瘍の評価は、標準的な臨床プロトコルを用いて行うことができる。さらに、有効性を、BLCの診断または治療のための任意の公知の方法と関連して判定することもできる。例えば、BLCを、症候性の異常、例えば、体重減少、腹痛、背部痛、食欲不振、悪心、嘔吐、および全身倦怠感、衰弱、および黄疸を特定することによって診断することができる。

【0109】

膀胱癌を診断する本方法は、対象における膀胱癌の治療の有効性を評価するために適用することができる。本方法に従って、被験細胞集団などの生体試料を、膀胱癌の治療を受けている対象から採取する。評価の方法は、膀胱癌を診断する従来法に従って行い得る。

【0110】

必要に応じて、治療前、治療中、または治療後の様々な時点で生体試料を対象から採取

10

20

30

40

50

する。次いで、生体試料におけるC2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルを決定し、例えば膀胱癌の状態が判明している細胞(すなわち、癌細胞または非癌細胞)を含む参照細胞集団に由来する対照レベルと比較する。対照レベルは、治療に曝露されていない生体試料において決定される。対照レベルが癌細胞を含まない生体試料に由来する場合、対象由来の生体試料中の発現レベルと対照レベルが類似していることにより、治療が有効であることが示される。対象由来の生体試料中のC2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルと対照レベルに差があれば、臨床効果または予後があまり好ましくないことが示される。

【0111】

「有効な」という用語は、治療が、対象における病理学的に上方制御される遺伝子(例えば、C2093、B5860N、およびC6055遺伝子)の発現低下、または膀胱癌細胞の大きさ、波及度、もしくは増殖能の低下をもたらすことを指す。治療を予防的に適用する場合、「有効な」とは、治療によって膀胱癌の発生が遅延するかまたは防止されることを示す。膀胱癌の評価は、標準的な臨床プロトコルを用いて行い得る。さらに、治療の有効性は、膀胱癌を診断または治療するための任意の公知の方法に則して決定され得る。さらに、膀胱癌を診断する本方法は、被験細胞集団などの患者由来の生体試料におけるC2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルを対照レベルと比較することにより、膀胱癌患者の予後を評価するためにも適用することもできる。または、患者由来の生体試料におけるC2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルを一連の病期にわたって測定し、患者の予後を評価することも可能である。

10

20

【0112】

C2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルが正常対照レベルと比較して上昇していることにより、予後があまり好ましくないことが示される。C2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルが正常対照レベルと比較して類似していることにより、患者の予後がより好ましいことが示される。

【0113】

特定の個体に対する適切なBLC治療のための治療剤の選択

個体の遺伝子構成の差によって、個体が様々な薬物を代謝する相対的能力に差が生じ得る。対象において代謝されて抗BLC剤として作用する物質は、対象の細胞において、癌性状態に特徴的な遺伝子発現パターンから非癌性状態に特徴的な遺伝子発現パターンへの変化を誘導することによって顕在化し得る。したがって、物質が対象においてBLCの適切な阻害剤であるかどうかを決定するために、本明細書に開示する差次的に発現されるBLC関連遺伝子によって、治療効果があるかまたは予防効果があると推定されるBLC阻害剤を、選択された対象由来の被験細胞集団において調べることができる。

30

【0114】

特定の対象にとって適切であるBLCの阻害剤を同定するには、対象からの被験細胞集団を治療剤に曝露して、表4~5に列挙されたBLC関連遺伝子の1つまたは複数の発現を決定する。

【0115】

本発明の方法の文脈において、被験細胞集団は、BLC関連遺伝子を発現するBLC細胞を含む。好ましくは、被験細胞は上皮細胞である。例えば、被験細胞集団を候補物質の存在下でインキュベートし、被験細胞集団の遺伝子発現パターンを測定して、1つまたは複数の参照プロファイル、例えばBLC参照発現プロファイルまたは非BLC参照発現プロファイルと比較し得る。

40

【0116】

BLCを含む参照細胞集団と比較して、被験細胞集団において表4に列挙されたBLC関連遺伝子の1つもしくは複数の発現が低下するか、または表5に列挙されたBLC関連遺伝子の1つもしくは複数の発現が上昇することにより、物質が治療効果を発揮する可能性を有することが示される。

【0117】

50

本発明の文脈において、被験物質は任意の化合物または組成物であってよい。例示的な被験物質には免疫調節剤が含まれるが、これに限定されない。

【0118】

治療剤を同定するためのスクリーニングアッセイ

本明細書に開示した差次的に発現されるBLC関連遺伝子を、BLCを治療するための候補治療剤を同定するために用いることもできる。本発明の方法は、候補治療剤をスクリーニングして、候補治療剤が、BLC状態に特徴的な表4～5に列挙された1つまたは複数のBLC関連遺伝子の発現プロファイルを、非BLC状態に特徴的な遺伝子発現パターンへと変換させ得るかどうかを判定する段階を含む。

【0119】

本方法では、細胞を1つの被験物質または複数の被験物質(逐次的にまたは組み合わせて)に曝露し、細胞における表4～5に列挙された1つまたは複数のBLC関連遺伝子の発現を測定する。被験集団でアッセイしたBLC関連遺伝子の発現プロファイルを、被験物質に曝露していない参照細胞集団における同じBLC関連遺伝子の発現レベルと比較する。

【0120】

低発現遺伝子の発現を促進し得るか、または過剰発現遺伝子の発現を抑制し得る物質は、臨床的に有益である可能性がある。このような物質は、動物または被験対象において、膀胱腺癌増殖を防止する能力に関してさらに試験することができる。

【0121】

さらなる態様において、本発明は、BLCの治療における潜在的標的に作用する候補物質をスクリーニングする方法を提供する。上に詳述したように、マーカー遺伝子の発現レベルまたはそれらの遺伝子産物の活性を調節することにより、BLCの発症および進行を調節することができる。したがって、BLCの治療における潜在的標的に作用する候補物質を、このような発現レベルおよび活性を癌性状態または非癌性状態の指標として用いるスクリーニング法によって同定することができる。本発明の文脈において、このようなスクリーニングは例えば以下の段階を含み得る：

- a) 被験化合物を、表4または5に列挙された遺伝子からなる群より選択されるポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドと接触させる段階；
- b) ポリペプチドと被験化合物との結合活性を検出する段階；および
- c) ポリペプチドに結合する被験化合物を選択する段階。

【0122】

または、本発明のスクリーニング法は以下の段階を含み得る：

- a) 候補化合物を、表4または5に列挙された遺伝子からなる群より選択される1つまたは複数のマーカー遺伝子を発現する細胞と接触させる段階；および
- b) 表4に列挙された遺伝子からなる群より選択される1つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを低下させるか、または表5に列挙された遺伝子からなる群より選択される1つもしくは複数のマーカー遺伝子の発現レベルを上昇させる候補化合物を選択する段階。

【0123】

マーカー遺伝子を発現する細胞には、例えばBLCから樹立された細胞株が含まれる；このような細胞は、本発明の上記のスクリーニングに用いることができる。

【0124】

または、本発明のスクリーニング法は以下の段階を含み得る：

- a) 被験化合物を、表4または5に列挙された遺伝子からなる群より選択されるポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドと接触させる段階；
- b) 段階(a)のポリペプチドの生物活性を検出する段階；および
- c) 被験化合物の非存在下で検出される生物活性と比較して、表4に列挙された遺伝子からなる群より選択されるポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドの生物活性を抑制するか、または被験化合物の非存在下で検出される生物活性と比較して、表5に列挙された遺伝子からなる群より選択されるポリヌクレオチドによってコードされるポリペ

10

20

30

40

50

プチドの生物活性を増強する化合物を選択する段階。

【0125】

本発明のスクリーニング法に使用するタンパク質は、マーカー遺伝子のヌクレオチド配列を用いて組換えタンパク質として得ることができる。マーカー遺伝子およびそれによってコードされるタンパク質に関する情報に基づき、当業者は、タンパク質の任意の生物活性をスクリーニングの指標として選択し、選択した生物活性に関するアッセイのために適した任意の測定法を選択することができる。

【0126】

または、本発明のスクリーニング法は以下の段階を含み得る：

a) 候補化合物を、表4または5に列挙された遺伝子からなる群より選択される1つまたは複数のマーカー遺伝子の転写制御領域およびその転写制御領域の調節下で発現されるレポーター遺伝子を含むベクターを導入した細胞と接触させる段階；

b) レポーター遺伝子の発現または活性を測定する段階；ならびに

c) 被験化合物の非存在下で検出される発現レベルまたは活性と比較して、マーカー遺伝子が表4に列挙された遺伝子からなる群より選択される上方制御されるマーカー遺伝子である場合に、レポーター遺伝子の発現レベルもしくは活性を低下させるか、またはマーカー遺伝子が表5に列挙された遺伝子からなる群より選択される下方制御されるマーカー遺伝子である場合に、レポーター遺伝子の発現レベルもしくは活性を増強する候補化合物を選択する段階。

【0127】

適切なレポーター遺伝子および宿主細胞は、当技術分野において周知である。本発明のスクリーニング法に適したレポーター構築物は、マーカー遺伝子の転写制御領域を用いて調製することができる。マーカー遺伝子の転写制御領域が当業者に公知である場合には、その公知配列情報を用いてレポーター構築物を調製することができる。マーカー遺伝子の転写制御領域が未知である場合には、マーカー遺伝子のヌクレオチド配列情報に基づいて、転写制御領域を含むヌクレオチド部分をゲノムライブラリーから単離することができる。

【0128】

C2093、B5860N、もしくはC6055遺伝子および/またはこれらの遺伝子によってコードされるタンパク質、またはこれらの遺伝子の転写制御領域を用いて、遺伝子の発現または遺伝子によってコードされるポリペプチドの生物活性を変化させる化合物をスクリーニングすることができる。このような化合物は、膀胱癌を治療または予防するための薬剤として用いられる。

【0129】

したがって、本発明は、本発明のポリペプチドを用いて、膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法を提供する。本スクリーニング法の1つの態様は、(a) 被験化合物を、C2093、B5860N、もしくはC6055によってコードされるポリペプチド、またはそれらの同等物と接触させる段階、(b) ポリペプチドと被験化合物との結合活性を検出する段階、および(c) ポリペプチドに結合する化合物を選択する段階を含む。本発明において、C2093、B5860N、もしくはC6055によってコードされるポリペプチド、またはそれらの同等物は、以下からなる群より選択され得る：

(1) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列を含むポリペプチド；

(2) SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列、またはこのような配列と少なくとも約80%の相同性を有する配列を含むポリペプチド；ならびに

(3) SEQ ID NO:1、3、5、129、131、133、および135からなる群より選択されるヌクレオチド配列からなるポリヌクレオチドにストリンジェントな条件下でハイブリダイズするポリヌクレオチドによってコードされるポリペプチドであって、SEQ ID NO:2、4、6、130、132、134、および136からなる群より選択されるアミノ酸配列からなるポリペプチドと同等

な生物活性を有するポリペプチド。

【0130】

スクリーニングに使用する本発明のポリペプチドは、組換えポリペプチドであっても、または天然由来のタンパク質であってもよく、またはそれらの部分ペプチドであってもよい。被験化合物と接触させる本発明のポリペプチドは、例えば、精製ポリペプチド、可溶性タンパク質、担体と結合した形態、または他のポリペプチドと融合した融合タンパク質であってもよい。

【0131】

例えば本発明のC2093、B5860N、またはC6055によってコードされるポリペプチドを用いて、本発明のポリペプチドに結合するタンパク質をスクリーニングする方法としては、当業者に周知の多くの方法を用いることができる。このようなスクリーニングは、例えば、免疫沈降法により、具体的には以下の方法で行うことができる。pSV2neo、pcDNA 1、pcDNA3.1、pCAGGS、およびpCD8といった外来遺伝子用の発現ベクターに遺伝子を挿入することにより、本発明のポリペプチドをコードするC2093、B5860N、またはC6055遺伝子を宿主(例えば、動物)細胞などで発現させる。発現に使用するプロモーターは一般に使用され得る任意のプロモーターであってよく、これには、例えばSV40初期プロモーター(Rigby, Williamson (ed.), (1982) Genetic Engineering, vol. 3. Academic Press, London, 83-141)、EF- α プロモーター(Kim et al., Gene 91: 217-23 (1990))、CAGプロモーター(Niwa et al., (1991) Gene 108: 193-9)、RSV LTRプロモーター(Cullen, (1987) Methods in Enzymology 152: 684-704)、SR α プロモーター(Takebe et al., (1988) Mol Cell Biol 8: 466-72)、CMV最初期プロモーター(Seed and Aruffo, (1987) Proc Natl Acad Sci USA 84: 3365-9)、SV40後期プロモーター(Gheysen and Fiers, (1982) J Mol Appl Genet 1: 385-94)、アデノウイルス後期プロモーター(Kaufman et al., (1989) Mol Cell Biol 9: 946-58)、HSV TKプロモーターなどが含まれる。外来遺伝子を発現させるための宿主細胞への遺伝子の導入は任意の方法に従って行うことができ、これには例えばエレクトロポレーション法(Chu et al., (1987) Nucleic Acids Res 15: 1311-26)、リン酸カルシウム法(Chen and Okayama, (1987) Mol Cell Biol 7: 2745-52)、DEAEデキストラン法(Lopata et al., (1984) Nucleic Acids Res 12: 5707-17; Sussman and Milman, (1984) Mol Cell Biol 4: 1641-3)、リポフェクシン法(Derijard B, et al., (1994) Cell 76: 1025-37; Lamb et al., (1993) Nature Genetics 5: 22-30; Rabindran et al., (1993) Science 259: 230-4)などがある。本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドは、特異性が判明しているモノクローナル抗体のエピトープを本発明のポリペプチドのN末端またはC末端に導入することにより、モノクローナル抗体の認識部位(エピトープ)を含む融合タンパク質として発現させることができる。市販のエピトープ-抗体系を用いることもできる(Experimental Medicine 13: 85-90 (1995))。マルチクローニング部位を用いることにより、例えば β -ガラクトシダーゼ、マルトース結合タンパク質、グルタチオンS-トランスフェラーゼ、緑色蛍光タンパク質(GFP)などとの融合タンパク質を発現し得るベクターが市販されている。

【0132】

融合によって本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドの性質を変えないように、数個~十数個のアミノ酸からなる小さなエピトープのみを導入することによって調製された融合タンパク質も報告されている。ポリヒスチジン(Hisタグ)、インフルエンザ凝集素HA、ヒトc-myc、FLAG、水疱性口内炎ウイルス糖タンパク質(VSV-GP)、T7遺伝子10タンパク質(T7タグ)、ヒト単純ヘルペスウイルス糖タンパク質(HSVタグ)、Eタグ(モノクローナルファージ上のエピトープ)などのエピトープ、およびそれらを認識するモノクローナル抗体を、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドに結合するタンパク質をスクリーニングするためのエピトープ-抗体系として用いることができる(Experimental Medicine 13: 85-90 (1995))。

【0133】

免疫沈降では、適切な界面活性剤を用いて調製した細胞溶解物にこれらの抗体を添加す

10

20

30

40

50

ることにより、免疫複合体を形成させる。免疫複合体は、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチド、そのポリペプチドとの結合能を含むポリペプチド、および抗体からなる。上記のエピトープに対する抗体を用いることに加えて、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドに対する抗体を用いて免疫沈降を行うこともでき、これらの抗体は上記の通りに調製することができる。

【0134】

抗体がマウスIgG抗体である場合、免疫複合体は、例えばプロテインAセファロースまたはプロテインGセファロースによって沈降させることができる。本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドをGSTなどのエピトープとの融合タンパク質として調製する場合には、これらのエピトープと特異的に結合する物質、例えばグルタチオン-セファロース4Bなどを用いて、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドに対する抗体を用いる場合と同じ様式で免疫複合体を形成させることができる。免疫沈降は、例えば、文献(Harlow and Lane, (1988) Antibodies, 511-52, Cold Spring Harbor Laboratory publications, New York)中の方法に基づいてまたは従って行い得る。

【0135】

SDS-PAGEは免疫沈降したタンパク質の解析に一般に用いられており、結合したタンパク質は、適切な濃度のゲルを用いてタンパク質の分子量によって解析することができる。本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドに結合したタンパク質をクマシー染色または銀染色などの一般的な染色法によって検出することは困難であるため、タンパク質の検出感度は、放射性同位体である³⁵S-メチオニンまたは³⁵S-システインを含む培養液中で細胞を培養し、細胞内のタンパク質を標識した上でタンパク質を検出することによって改善することができる。タンパク質の分子量が明らかになった時点で、標的タンパク質をSDS-ポリアクリルアミドゲルから直接精製して、その配列を決定することができる。

【0136】

ポリペプチドを使用して本発明のポリペプチドに結合するタンパク質をスクリーニングする方法としては、例えばウェスト-ウェスタンブロット解析(Skolnik et al., (1991) Cell 65: 83-90)を用いることができる。具体的には、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドに結合するタンパク質は、本発明のポリペプチドに結合するタンパク質を発現すると予想される細胞、組織、器官(例えば、精巣などの組織)、または培養細胞(例えば、HT1197、UMUC3、J82、HT1376、SW780、RT4 PC3、DU145、またはHT1376)から、ファージベクター(例えば、ZAP)を用いてcDNAライブラリーを調製し、LB-アガロース上でタンパク質を発現させ、発現したタンパク質をフィルター上に固定し、精製および標識がなされた本発明のポリペプチドを上記のフィルターと反応させ、本発明のポリペプチドに結合したタンパク質を発現するプラークを標識により検出することによって得ることができる。本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドは、ビオチンとアビジンとの結合を利用することにより、または本発明のスクリーニングに使用するポリペプチド、または本発明のポリペプチドに融合させたペプチドもしくはポリペプチド(例えば、GST)に特異的に結合する抗体を利用することにより標識し得る。放射性同位体または蛍光などを使用する方法を用いてもよい。

【0137】

または、本発明のスクリーニング法の別の態様においては、細胞を利用するツーハイブリッドシステムを使用することができる(「MATCHMAKERツーハイブリッドシステム」、「哺乳動物MATCHMAKERツーハイブリッドアッセイキット」、「MATCHMAKERワンハイブリッドシステム」(Clontech);「HybriZAPツーハイブリッドベクターシステム」(Stratagene);参考文献「Dalton and Treisman, (1992) Cell 68: 597-612」、「Fields and Sternglanz, (1994) Trends Genet 10: 286-92」)。

【0138】

ツーハイブリッドシステムでは、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドをSRF結合領域またはGAL4結合領域と融合させて、酵母細胞で発現させる。本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドに結合するタンパク質を発現すると予想される細胞から、

ライブラリーが発現した際にVP16またはGAL4転写活性化領域と融合するように、cDNAライブラリーを調製する。続いてcDNAライブラリーを上記の酵母細胞に導入し、検出された陽性クローンからライブラリーに由来するcDNAを単離する(本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドに結合するタンパク質が酵母細胞で発現された場合、この2つの結合によってレポーター遺伝子が活性化され、陽性クローンが検出されるようになる)。cDNAによってコードされるタンパク質は、上記のようにして単離したcDNAを大腸菌に導入してタンパク質を発現させることによって調製することができる。

【0139】

レポーター遺伝子としては、HIS3遺伝子のほかに、例えばAde2遺伝子、lacZ遺伝子、CAT遺伝子、ルシフェラーゼ遺伝子などを用いることができる。

10

【0140】

本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドに結合する化合物を、アフィニティークロマトグラフィーを用いてスクリーニングすることもできる。例えば、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドをアフィニティークラムの担体上に固定化し、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドに結合し得るタンパク質を含む被験化合物をカラムに供す。本明細書における被験化合物は、例えば細胞抽出物、細胞溶解物などであってよい。被験化合物のローディング後にカラムを洗浄し、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドに結合した化合物を調製することができる。

【0141】

被験化合物がタンパク質である場合には、得られたタンパク質のアミノ酸配列を解析して、その配列に基づいてオリゴDNAを合成し、そのオリゴDNAをプローブとして用いてcDNAライブラリーをスクリーニングして、対象タンパク質をコードするDNAを取得する。表面プラズモン共鳴現象を使用するバイオセンサーを、結合した化合物を検出または定量するための手段として本発明において用いることができる。このようなバイオセンサーを用いると、ごく微量のポリペプチドのみを用いて、標識を行わずに、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドと被験化合物との相互作用を表面プラズモン共鳴シグナルとしてリアルタイムに観察することができる(例えば、BIAcore、Pharmacia)。このため、BIAcoreなどのバイオセンサーを用いて、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドと被験化合物との結合を評価することが可能である。

20

【0142】

本発明のスクリーニングに使用する固定化されたポリペプチドを合成化合物、または天然物バンク、またはランダムファージペプチドディスプレイライブラリーに曝露した際に結合する分子をスクリーニングする方法、および本発明のスクリーニングに使用するタンパク質に結合するタンパク質のみならず化合物(アゴニストおよびアンタゴニストを含む)も単離するための、コンビナトリアルケミストリー法に基づくハイスループットを用いたスクリーニング方法(Wrighton et al., (1996) Science 273: 458-64; Verdine, (1996) Nature 384: 11-13; Hogan, (1996) Nature 384: 17-9)は当業者に周知である。

30

【0143】

または本発明は、以下のような段階を含む、C2093、B5860N、もしくはC6055によってコードされる本発明のポリペプチド、またはこれらの同等物を用いて、膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法を提供する：

40

(a) 被験化合物をポリペプチドまたはその同等物と接触させる段階；

(b) 段階(a)のポリペプチドまたはその同等物の生物活性を検出する段階；および

(c) ポリペプチドまたはその同等物の生物活性を、被験化合物の非存在下で検出される生物活性と比較して抑制する化合物を選択する段階。

【0144】

本発明のC2093、B5860N、およびC6055タンパク質は膀胱癌細胞の細胞増殖を促進する活性を有するため、この活性を指標として用いて、この活性を阻害する化合物をスクリーニングすることができる。

【0145】

50

C2093、B5860N、またはC6055タンパク質の生物活性を含む限り、任意のポリペプチドをスクリーニングに使用することができる。このような生物活性には、ヒトC2093、B5860N、またはC6055タンパク質の細胞増殖活性が含まれる。例えば、ヒトC2093、B5860N、またはC6055タンパク質を用いることができ、これらのタンパク質と機能的に同等なポリペプチドを用いることもできる。このようなポリペプチドは、細胞によって内因的にまたは外因的に発現させてもよい。

【0146】

このスクリーニングによって単離された化合物は、本発明のC2093、B5860N、またはC6055ポリペプチドのアゴニストまたはアンタゴニストの候補である。「アゴニスト」という用語は、本発明のポリペプチドとの結合によってその機能を活性化する分子を指す。同様に、「アンタゴニスト」という用語は、本発明のポリペプチドとの結合によってその機能を阻害する分子を指す。さらに、このスクリーニングによって「アンタゴニスト」として単離された化合物は、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドと分子(DNAおよびタンパク質を含む)とのインビボ相互作用を阻害する化合物の候補でもある。

10

【0147】

本方法において検出しようとする生物活性が細胞増殖である場合には、実施例に記載されるように、例えば、本発明のスクリーニングに使用するポリペプチドを発現する細胞を調製し、この細胞を被験化合物の存在下で培養して、細胞増殖の速度を決定し、細胞周期などを測定し、さらにはコロニー形成活性を測定することにより、それを検出することができる。

20

【0148】

さらなる態様において、本発明は、膀胱癌を治療または予防するための化合物をスクリーニングする方法を提供する。上に詳述した通り、C2093、B5860N、および/またはC6055遺伝子の発現レベルを調節することにより、膀胱癌の発症および進行を調節することができる。したがって、膀胱癌の治療または予防に用いられ得る化合物は、C2093、B5860N、またはC6055の発現レベルを指標として用いるスクリーニングによって同定することができる。本発明の文脈において、このようなスクリーニングは例えば以下の段階を含み得る：

- a) 被験化合物を、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子の1つまたは複数を発現する細胞と接触させる段階；および
- b) C2093、B5860N、またはC6055遺伝子の1つまたは複数の発現レベルを、被験化合物の非存在下で検出される発現レベルと比較して低下させる化合物を選択する段階。

30

【0149】

C2093、B5860N、またはC6055遺伝子の1つまたは複数のうちの少なくとも1つを発現する細胞には、例えば、膀胱癌から樹立された細胞株が含まれる；このような細胞を、本発明の上記のスクリーニングに用いることができる(例えば、HT1197、UMUC3、J82、HT1376、SW780、RT4、およびHT1376)。発現レベルは、当業者に周知の方法によって評価することができる。本スクリーニング方法において、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルを低下させる化合物は、膀胱癌の治療または予防に用いる候補物質として選択され得る。

40

【0150】

または、本発明のスクリーニング方法は以下の段階を含み得る：

- a) 被験化合物を、C2093、B5860N、またはC6055である1つまたは複数のマーカー遺伝子の転写制御領域およびその転写制御領域の調節下で発現されるレポーター遺伝子を含むベクターを導入した細胞と接触させる段階；
- b) レポーター遺伝子の発現レベルまたは活性を測定する段階；および
- c) レポーター遺伝子の発現レベルまたは活性を、被験化合物の非存在下で検出される発現レベルまたは活性と比較して低下させる化合物を選択する段階。

【0151】

適切なレポーター遺伝子および宿主細胞は、当技術分野において周知である。スクリー

50

ニングに必要なレポーター構築物は、マーカー遺伝子の転写制御領域を用いて調製することができる。マーカー遺伝子の転写制御領域が当業者に公知である場合には、その公知配列情報を用いてレポーター構築物を調製することができる。マーカー遺伝子の転写制御領域が未知である場合には、マーカー遺伝子のヌクレオチド配列情報に基づいて、転写制御領域を含むヌクレオチド部分をゲノムライブラリーから単離し得る。

【0152】

タンパク質の結合に用い得る支持体の例には、アガロース、セルロース、およびデキストランなどの不溶性多糖類、ならびにポリアクリルアミド、ポリスチレン、およびシリコンなどの合成樹脂が含まれる。上記の材料から調製された市販のビーズおよびプレート(例えば、マルチウェルプレート、バイオセンサーチップなど)を用い得ることが好ましい。ビーズを用いる場合には、それらをカラムに充填してもよい。

10

【0153】

タンパク質の支持体への結合は、化学的結合および物理的吸着などの慣行的方法に従って行うことができる。または、タンパク質は、タンパク質を特異的に認識する抗体を介して支持体に結合させてもよい。さらに、アビジンおよびビオチンを用いて、タンパク質を支持体に結合させることもできる。タンパク質間の結合は、緩衝液がタンパク質間の結合を阻害しない限りは、例えばこれらに限定されないがリン酸緩衝液およびTris緩衝液などの緩衝液中で行われる。

【0154】

本発明において、表面プラズモン共鳴現象を使用するバイオセンサーを、結合したタンパク質を検出または定量するための手段として用いることもできる。このようなバイオセンサーを用いると、ごく微量のポリペプチドのみを用いて、標識を行わずに、タンパク質間の相互作用を表面プラズモン共鳴シグナルとしてリアルタイムに観察することができる(例えば、BIAcore、Pharmacia)。

20

【0155】

または、C2093、B5860N、またはC6055ポリペプチドを標識し、結合したタンパク質の標識を用いて、結合したタンパク質を検出または測定することもできる。具体的には、タンパク質の一方をあらかじめ標識した後に、標識したタンパク質を被験化合物の存在下でもう一方のタンパク質と接触させ、次いで洗浄後に結合したタンパク質を標識によって検出または測定する。

30

【0156】

本方法におけるタンパク質の標識には、放射性同位体(例えば、 ^3H 、 ^{14}C 、 ^{32}P 、 ^{33}P 、 ^{35}S 、 ^{125}I 、 ^{131}I)、酵素(例えば、アルカリホスファターゼ、西洋ワサビペルオキシダーゼ、 β -ガラクトシダーゼ、 β -グルコシダーゼ)、蛍光物質(例えば、フルオレセインイソチオシアネート(FITC)、ローダミン)、およびビオチン/アビジンなどの標識物質を用いることができる。タンパク質を放射性同位体で標識する場合には、検出または測定は液体シンチレーションによって行い得る。または、酵素で標識したタンパク質は、酵素の基質を添加して、呈色などの基質の酵素的変化を吸光光度計で検出することにより、検出または測定し得る。さらに、蛍光物質を標識として用いる場合には、蛍光光度計を用いて結合したタンパク質を検出または測定し得る。

40

【0157】

本スクリーニングに抗体を用いる場合には、抗体を上記の標識物質のいずれかで標識し、標識物質に基づいて検出または測定することが好ましい。または、C2093、B5860N、またはC6055ポリペプチドに対する抗体を一次抗体として使用して、標識物質で標識した二次抗体によって検出してもよい。さらに、本発明のスクリーニングにおいてタンパク質に結合した抗体は、プロテインGまたはプロテインAカラムを用いて検出または測定することもできる。

【0158】

細胞抽出物、細胞培養上清、発酵微生物の産物、海洋生物からの抽出物、植物抽出物、精製タンパク質または粗タンパク質、ペプチド、非ペプチド化合物、合成微小分子化合物

50

、および天然化合物を含むがこれらに限定されない任意の被験化合物を、本発明のスクリーニング法に用いることができる。本発明の被験化合物は、(1) 生物学的ライブラリー、(2) 空間的にアドレス指定が可能な並行した固相または液相ライブラリー、(3) デコンボリューションを必要とする合成ライブラリー法、(4) 「1ビーズ1化合物」ライブラリー法、および(5) アフィニティークロマトグラフィー選択を用いる合成ライブラリー法を含む、当技術分野で公知のコンビナトリアルライブラリー法における任意の多くの方法で入手することもできる。アフィニティークロマトグラフィー選択を用いる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つのアプローチはペプチド、非ペプチドオリゴマー、または化合物の低分子ライブラリーに適用可能である(Lam (1997) *Anti cancer Drug Des.* 12: 145-67)。分子ライブラリーを合成する方法の例は、当技術分野において見い出すことができる(DeWitt et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90: 6909-13; Erb et al. (1994) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 11422-6; Zuckermann et al. (1994) *J. Med. Chem.* 37: 2678-85; Cho et al. (1993) *Science* 261: 1303-5; Carell et al. (1994) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33: 2059; Carell et al. (1994) *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 33: 2061; Gallop et al. (1994) *J. Med. Chem.* 37: 1233-51)。化合物のライブラリーは、溶液中に提示してもよく(Houghten (1992) *Bio/Techniques* 13: 412-21を参照されたい)、またはビーズ(Lam (1991) *Nature* 354: 82-4)、チップ(Fodor (1993) *Nature* 364: 555-6)、細菌(米国特許第5,223,409号)、孢子(米国特許第5,571,698号; 同第5,403,484号、および同第5,223,409号)、プラスミド(Cull et al. (1992) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 1865-9)、もしくはファージ(Scott and Smith (1990) *Science* 249: 386-90; Delvin (1990) *Science* 249: 404-6; Cwirla et al. (1990) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 6378-82; Felici (1991) *J. Mol. Biol.* 222: 301-10; 米国特許出願第2002103360号)上に提示してもよい。

【0159】

本スクリーニングによって単離された化合物は、マーカー遺伝子の発現またはマーカー遺伝子によってコードされるタンパク質の活性を阻害する薬物を開発するための候補となり、膀胱癌の治療または予防に適用することができる。

【0160】

さらに、マーカー遺伝子によってコードされるタンパク質の活性を阻害する化合物の構造の一部が、付加、欠失、および/または置換によって変換された化合物もまた、本発明のスクリーニング法によって得られる化合物に含まれる。

【0161】

本発明の方法によって単離された化合物を、ヒトおよび他の哺乳動物、例えばこれらに限定されないがマウス、ラット、モルモット、ウサギ、ネコ、イヌ、ヒツジ、ブタ、ウシ、サル、ヒヒ、およびチンパンジーの薬剤として投与する場合、単離された化合物は直接投与することもできるし、または公知の薬学的調製法を用いて剤形に製剤化することもできる。本発明の意図する薬学的組成物および調製物、ならびにこれらを作製および使用する方法については、以下で詳述する。

【0162】

膀胱癌を有する対象の予後の評価

本発明はまた、被験細胞集団における1つまたは複数のBLC関連遺伝子の発現を、全病期にわたる患者から得られた参照細胞集団における同じBLC関連遺伝子の発現と比較する段階を含む、BLCを有する対象の予後を評価する方法を提供する。被験細胞集団および参照細胞集団における1つまたは複数のBLC関連遺伝子の遺伝子発現を比較することにより、または対象から得られた被験細胞集団の経時的な遺伝子発現のパターンを比較することにより、対象の予後を評価することができる。

【0163】

例えば、表4に列挙したような上方制御されるBLC関連遺伝子の1つもしくは複数の発現が正常対照と比較して上昇すること、または表5に列挙したような下方制御されるBLC遺伝子の1つもしくは複数の発現が正常対照と比較して低下することは、予後があまり好まし

くないことを示す。逆に、表4～5に列挙されたBLC関連遺伝子の1つまたは複数の発現が正常対照と比較して類似していることは、対象の予後がより好ましいことを示す。好ましくは、表4および5に列挙された遺伝子からなる群より選択される1つまたは複数の遺伝子の遺伝子の発現プロファイルを比較することにより、対象の予後を評価し得る。

【0164】

キット

本発明はまた、BLC検出試薬、例えば、BLC核酸の一部に相補的なオリゴヌクレオチド配列のような、1つまたは複数のBLC核酸に特異的に結合するかもしくはこれを同定する核酸、またはBLC核酸によってコードされる1つまたは複数のタンパク質に結合する抗体を含む。検出試薬は、キットの形態で共に包装され得る。例えば、検出試薬、例えば核酸または抗体(固相マトリクスに結合してあるか、またはそれらをマトリクスに結合させるための試薬とは個別に包装される)、対照試薬(陽性および/または陰性)、および/または検出可能な標識は、個別の容器に包装され得る。アッセイを行うための説明書(例えば、書面、テープ、VCR、CD-ROMなど)もまた、キットに含まれ得る。キットのアッセイ形式は、当技術分野においていずれも公知であるノーザンハイブリダイゼーションまたはサンドイッチELISAであり得る。

10

【0165】

例えば、BLC検出用試薬を多孔性ストリップのような固体マトリックス上に固定し、少なくとも1つのBLC検出部位を形成してもよい。多孔性ストリップの測定領域または検出領域は、それぞれが1つの核酸を含む複数の部位を含んでもよい。試験ストリップは、陰性対照部位および/または陽性対照部位を含む場合もある。または、対照部位を検査ストリップとは別のストリップ上に配置してもよい。任意で、異なる検出部位が異なる量の固定化核酸を含んでもよく、すなわち、第1の検出部位でより多く、以後の部位でより少なく含んでもよい。被験試料を添加すると、検出可能なシグナルを呈している部位の数により、試料中に存在するBLC量の定量的指標が得られる。検出部位は任意の適した検出可能な形態として構成することができ、典型的に検査ストリップの幅全体にわたる棒状またはドット状の形態にある。

20

【0166】

または、キットは、1つまたは複数の核酸を含む核酸基質アレイを含み得る。アレイ上の核酸は、表4～5に列挙されたBLC関連遺伝子によって示される1つまたは複数の核酸配列を特異的に同定する。表4～5に列挙されたBLC関連遺伝子によって示される核酸の2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、40、または50個もしくはそれ以上の発現は、アレイテストストリップまたはチップへの結合レベルによって同定され得る。基質アレイは、例えば、参照によりその全内容が全体として本明細書に組み入れられる米国特許第5,744,305号に記載される「チップ」などの固体基質上に存在し得る。

30

【0167】

アレイおよび複数性

本発明はまた、1つまたは複数の核酸を含む核酸基質アレイを含む。アレイ上の核酸は、表4～5に列挙されたBLC関連遺伝子によって示される1つまたは複数の核酸配列に特異的に対応する。表4～5に列挙されたBLC関連遺伝子によって示される核酸の2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、40、または50個もしくはそれ以上の発現レベルは、アレイに結合する核酸を検出することによって同定され得る。

40

【0168】

本発明はまた、単離された複数の核酸(すなわち、2つまたはそれ以上の核酸の混合物)を含む。核酸は液相または固相中に存在し得、例えばニトロセルロース膜などの固体支持体上に固定化されていてもよい。複数性には、表4～5に列挙されたBLC関連遺伝子によって示される核酸の1つまたは複数が含まれる。様々な態様において、複数性には、表4～5に列挙されたBLC関連遺伝子によって示される核酸の2、3、4、5、6、7、8、9、10、15、20、25、40、または50個もしくはそれ以上が含まれる。

【0169】

50

膀胱癌を阻害する方法

本発明はさらに、表4に列挙された上方制御されるBLC関連遺伝子の1つまたは複数の発現(またはその遺伝子産物の活性)を低下させるか、または表5に列挙された下方制御されるBLC関連遺伝子の1つまたは複数の発現(またはその遺伝子産物の活性)を上昇させることにより、対象におけるBLCの症状を治療または軽減する方法を提供する。適切な治療用化合物を、BLCに罹患しているかまたはBLCを発症するリスク(またはそれに対する感受性)を有する対象に対して、予防的または治療的に投与することができる。このような対象は、標準的な臨床的方法を用いて、または表4~5に列挙されたBLC関連遺伝子の1つもしくは複数の異常な発現レベルもしくはその遺伝子産物の異常な活性を検出することにより、同定することができる。本発明の文脈において、適切な治療剤には、例えば細胞周期制御および細胞増殖の阻害剤が含まれる。

10

【0170】

本発明の治療法は、BLC細胞が由来する同じ組織種の正常細胞と比較して、BLC細胞において発現が低下している1つまたは複数の遺伝子(「下方制御される」または「低発現される」遺伝子)または遺伝子産物の発現、活性、またはその両者を上昇させる段階を含む。これらの方法では、対象において低発現される(下方制御される)遺伝子の1つまたは複数の量を上昇させる化合物の有効量で対象を治療する。投与は全身投与または局所投与であり得る。適切な治療用化合物には、低発現される遺伝子のポリペプチド産物、その生物活性断片、および低発現される遺伝子をコードし、かつBLC細胞における発現を可能にする発現調節エレメントを有する核酸；例えば、BLC細胞にとって内因性であるこのような遺伝子の発現レベルを上昇させる物質(すなわち、低発現される1つまたは複数の遺伝子の発現を上方制御するもの)が含まれる。このような化合物の投与は、対象の膀胱癌細胞における異常に低発現された1つまたは複数の遺伝子の影響に対抗し、対象の臨床状態を改善する。

20

【0171】

または、本発明の治療法は、膀胱癌細胞において発現が異常に上昇している1つまたは複数の遺伝子(「上方制御される」または「過剰発現される」遺伝子)または遺伝子産物の発現、活性、またはその両者を低下させる段階を含む。発現は、当技術分野で公知の任意のいくつかの方法によって阻害することができる。例えば、過剰発現される1つまたは複数の遺伝子の発現を阻害するかまたはそれに拮抗する核酸、例えば、過剰発現される1つまたは複数の遺伝子の発現を妨害するアンチセンスオリゴヌクレオチドまたは低分子干渉RNAを対象に投与することによって、発現を阻害することができる。

30

【0172】

さらなる別の態様において、本治療法は、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現または機能を低下させる段階を含む。これらの方法では、対象を、対象において過剰発現される遺伝子(すなわち、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子)の1つまたは複数の発現および/または活性を低下させる化合物の有効量で治療する。投与は全身投与または局所投与であり得る。治療用化合物には、膀胱癌細胞に内因的に存在するこのような遺伝子の発現レベルを低下させる化合物(すなわち、過剰発現される遺伝子の発現を下方制御する化合物)が含まれる。このような治療用化合物の投与は、対象の細胞における異常に過剰発現された遺伝子の影響に対抗し、対象の臨床状態を改善する。このような化合物は、上記の本発明のスクリーニング法によって得ることができる。

40

【0173】

C2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現はまた、遺伝子の発現を阻害するかまたはそれに拮抗する核酸を対象に投与する段階を含む、当技術分野において公知のいくつかの方法のいずれかで阻害することもできる。遺伝子の発現を妨害するアンチセンスオリゴヌクレオチド、siRNA、またはリボザイムを、遺伝子の発現を阻害するために使用することができる。

【0174】

上記のように、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子のヌクレオチド配列に対応するアン

50

チセンスオリゴヌクレオチドを用いて、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現レベルを低下させることができる。具体的には、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドは、C2093、B5860N、もしくはC6055遺伝子によってコードされるポリペプチド、またはこれらに対応するmRNAのいずれかと結合することにより作用し得、それによって遺伝子の転写もしくは翻訳を阻害し、mRNAの分解を促進し、および/または遺伝子によってコードされるタンパク質の発現を阻害し、最終的にC2093、B5860N、またはC6055タンパク質の機能を阻害する。

【0175】

アンチセンスオリゴヌクレオチドおよびその誘導体は、誘導体に対して不活性である適切な基剤と混合することでリニメント剤または湿布剤などの外用剤にして、本発明の膀胱癌を治療または予防する方法で 사용할 ことができる。

10

【0176】

過剰発現される遺伝子の1つまたは複数の遺伝子産物を阻害する核酸には、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子をコードするヌクレオチド配列のセンス鎖核酸とアンチセンス鎖核酸の組み合わせを含む低分子干渉RNA(siRNA)もまた含まれる。本発明の治療または予防においては、細胞にsiRNAを導入する標準的な技術が用いられ得るが、これにはDNAがRNA転写の鋳型となる技術が含まれる。siRNAは、例えばヘアピンのように、標的遺伝子からの単一の転写産物がセンス配列および相補的アンチセンス配列の両方を有するように構築される。

【0177】

アンチセンスポリヌクレオチド、低分子干渉RNA、およびリボザイム

20

上記のように、表4に列挙されたBLC関連遺伝子のヌクレオチド配列に対応するアンチセンス核酸を用いて、遺伝子の発現レベルを低下させることができる。膀胱癌において上方制御される、表4に列挙されたBLC関連遺伝子に対応するアンチセンス核酸は、膀胱癌の治療に有用である。具体的には、本発明のアンチセンス核酸は、表4に列挙されたBLC関連遺伝子またはそれらに対応するmRNAと結合することによって作用し得、それによって遺伝子の転写もしくは翻訳を阻害し、mRNAの分解を促進し、および/または表4に列挙されたBLC関連遺伝子によってコードされるタンパク質の発現を阻害し、それによってタンパク質の機能を阻害する。

【0178】

本発明は、SEQ ID NO:3のヌクレオチド配列内の任意の部位とハイブリダイズするアンチセンスオリゴヌクレオチドを含む。具体的には、本発明は、SEQ ID NO:3の988~1842、すなわちB5860NV1配列に特異的な領域のヌクレオチド配列を含む核酸とハイブリダイズするアンチセンスポリヌクレオチドを提供する。このアンチセンスオリゴヌクレオチドは、好ましくは、SEQ ID NO:3のヌクレオチド配列の少なくとも約15個の連続したヌクレオチドに対するものである。上記の少なくとも15個の連続したヌクレオチドにおいて開始コドンを含む、上記のアンチセンスオリゴヌクレオチドが、さらにより好ましい。

30

【0179】

アンチセンスオリゴヌクレオチドの誘導体または修飾産物を、アンチセンスオリゴヌクレオチドとして用いることもできる。そのような修飾産物の例には、メチル-ホスホネート型またはエチル-ホスホネート型のような低級アルキルホスホネート修飾物、ホスホロチオエート修飾物、およびホスホロアミデート修飾物が含まれる。

40

【0180】

本明細書で用いる「アンチセンス核酸」という用語は、標的配列に完全に相補的なヌクレオチド、およびアンチセンス核酸が標的配列に特異的にハイブリダイズし得る限り、1つまたは複数のヌクレオチドのミスマッチを有するヌクレオチドの両方を包含する。例えば、本発明のアンチセンス核酸には、少なくとも15個の連続したヌクレオチドの範囲にわたって、少なくとも約70%またはそれ以上、好ましくは少なくとも約80%またはそれ以上、より好ましくは少なくとも約90%またはそれ以上、さらにより好ましくは少なくとも約95%またはそれ以上の相同性を有するポリヌクレオチドが含まれる。相同性の決定には、

50

当技術分野において公知のアルゴリズムを使用することができる。さらに、アンチセンスオリゴヌクレオチドの誘導体または修飾産物を、本発明でアンチセンスオリゴヌクレオチドとして用いることもできる。そのような修飾産物の例には、メチル-ホスホネート型またはエチル-ホスホネート型のような低級アルキルホスホネート修飾物、ホスホロチオエート修飾物、およびホスホロアミデート修飾物が含まれるが、これらに限定されない。

【0181】

このようなアンチセンスポリヌクレオチドは、本発明のポリペプチドをコードするDNAを単離もしくは検出するためのプローブとして、または増幅に使用するためのプライマーとして有用である。

【0182】

本発明のアンチセンス核酸は、BLC関連マーカー遺伝子によってコードされるタンパク質を産生する細胞に対して、そのタンパク質をコードするDNAまたはmRNAと結合し、それらの転写または翻訳を阻害し、mRNAの分解を促進し、かつタンパク質の発現を阻害することによって作用し、その結果タンパク質の機能を阻害する。

【0183】

本発明のアンチセンス核酸は、核酸に対して不活性の適切な基剤と混合することにより、リニメント剤または湿布剤などの外用製剤の形にすることができる。

【0184】

同様に、必要に応じて、賦形剤、等張剤、溶解補助剤、安定剤、保存料、鎮痛薬などを添加することにより、本発明のアンチセンス核酸を、例えば錠剤、粉剤、顆粒剤、カプセル剤、リポソームカプセル剤、注射剤、液剤、点鼻薬、および凍結乾燥製剤へと製剤化することもできる。これらは以下の公知の方法によって調製することができる。

【0185】

本発明のアンチセンス核酸は、罹患部位に直接適用することにより、またはそれが罹患部位に到達するように血管内に注入することにより、患者に投与することができる。アンチセンスを含む溶媒を使用することで、持続性および膜透過性を高めることもできる。その例には、リポソーム、ポリ-L-リジン、脂質、コレステロール、リボフェクチンまたはこれらの誘導体が含まれるがこれらに限定されない。

【0186】

本発明のアンチセンス核酸誘導体の用量は、患者の状態に応じて適切に調節され、所望の量で用いることができる。例えば0.1 mg/kg ~ 100 mg/kg、好ましくは0.1 mg/kg ~ 50 mg/kgの用量範囲で投与することができる。

【0187】

本発明のアンチセンス核酸は、本発明のタンパク質の発現を阻害し、そのため、本発明のタンパク質の生物活性を抑制するのに有用である。さらに、本発明のアンチセンス核酸を含む発現阻害剤も、本発明のタンパク質の生物活性を阻害し得るため、有用である。

【0188】

本発明の方法は、上方制御される、例えば、細胞の悪性形質転換に起因して上方制御されるBLC関連遺伝子の細胞内の発現を変化させるために用いることができる。標的細胞において、siRNAが、表4に列挙されたBLC関連遺伝子の1つに対応する転写産物に結合することにより、細胞によるタンパク質産生が減少する。オリゴヌクレオチドの長さは少なくとも10ヌクレオチドであり、天然転写産物と同じ長さであってもよい。好ましくは、オリゴヌクレオチドは、75、50、25ヌクレオチド長、またはそれ未満である。最も好ましくは、オリゴヌクレオチドは約19 ~ 25ヌクレオチド長である。

【0189】

本発明のアンチセンス核酸には、修飾オリゴヌクレオチドが含まれる。例えば、チオエート化オリゴヌクレオチドを用いて、オリゴヌクレオチドにヌクレアーゼ耐性を付与することができる。

【0190】

同様に、マーカー遺伝子に対するsiRNAを用いて、マーカー遺伝子の発現レベルを低下

10

20

30

40

50

させることができる。本明細書において「siRNA」という用語は、標的mRNAの翻訳を妨げる二本鎖RNA分子を指す。細胞にsiRNAを導入する標準的な技法が用いられ得るが、これにはDNAがRNA転写の鋳型となる技法が含まれる。本発明の文脈において、siRNAは、表4に列挙されたBLC関連遺伝子などの上方制御されるマーカー遺伝子に対するセンス核酸配列およびアンチセンス核酸配列を含む。siRNAは、例えばヘアピンのように、単一の転写産物が標的遺伝子由来のセンス配列および相補的アンチセンス配列の両方を有するように構築される。

【0191】

表4に列挙したようなBLC関連遺伝子のsiRNAは、標的mRNAにハイブリダイズし、その結果、通常一本鎖mRNA転写産物と会合し、それによって翻訳およびひいてはタンパク質の発現を妨害することにより、表4に列挙されたBLC関連遺伝子によってコードされるポリペプチドの産生を減少させるかまたは阻害する。したがって、本発明のsiRNA分子は、ストリンジントな条件下で表4に列挙されたmRNAまたはcDNAに特異的にハイブリダイズする能力により定義され得る。本発明の目的において、「ハイブリダイズする」または「特異的にハイブリダイズする」という用語は、2つの核酸分子が「ストリンジントなハイブリダイゼーション条件」下でハイブリダイズする能力を指すために交換可能に用いられる。「ストリンジントなハイブリダイゼーション条件」という語句は、上記で説明されたが、典型的には核酸の複雑な混合物中で核酸分子がその標的配列にハイブリダイズするが、他の配列には検出可能な程度にハイブリダイズしない条件を指す。ストリンジントな条件は配列に依存し、種々の状況によって異なる。配列が長いほど、より高い温度で特異的にハイブリダイズする。核酸のハイブリダイゼーションに関する広範な手引きは、Tijssen, Techniques in Biochemistry and Molecular Biology--Hybridization with Nucleic Probes, 「Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid assays」(1993)において見出される。一般に、ストリンジントな条件は、特定の配列について、規定のイオン強度pHでの融解温度(T_m)よりも約5~10 低くなるように選択される。 T_m とは、標的に相補的なプローブの50%が、平衡状態で標的配列にハイブリダイズする(規定のイオン強度、pH、および核酸濃度における)温度である(標的配列が過剰に存在する場合、 T_m では、プローブの50%が平衡状態で占有されている)。ストリンジントな条件はまた、ホルムアミドなどの不安定化剤の添加によっても達成され得る。選択的または特異的なハイブリダイゼーションに関して、陽性シグナルとは、バックグラウンドの少なくとも2倍、好ましくはバックグラウンドハイブリダイゼーションの10倍である。例示的なストリンジントなハイブリダイゼーション条件は、以下であり得る：50%ホルムアミド、5×SSC、および1% SDS中での42 におけるインキュベーション、または5×SSC、1% SDS中での65 におけるインキュベーション、0.2×SSCおよび0.1% SDS中での50 における洗浄を伴う。

【0192】

本発明の文脈において、siRNAは好ましくは、500、200、100、50、もしくは25ヌクレオチド長またはそれ未満である。より好ましくは、siRNAは約19~約25ヌクレオチド長である。siRNAの阻害活性を増強する目的で、ヌクレオチド「u」を標的配列のアンチセンス鎖の3'末端に付加することができる。付加する「u」の数は、少なくとも約2個、一般的には約2~約10個、好ましくは約2~約5個である。付加された「u」は、siRNAのアンチセンス鎖の3'末端において一本鎖を形成する。

【0193】

表4に列挙したようなBLC関連遺伝子のsiRNAは、mRNA転写産物と結合し得る形態で、細胞内に直接導入することができる。これらの態様において、本発明のsiRNA分子は典型的には、アンチセンス分子に関して上記のように修飾される。その他の修飾もまた可能であり、例えば、コレステロール結合siRNAは薬理学的特性を改善することが示されている。Song et al. Nature Med. 9:347-51(2003)。または、siRNAをコードするDNAを、ベクターに含めて送達することもできる。

【0194】

10

20

30

40

50

ベクターは、例えば、BLC関連遺伝子標的配列を、その配列に隣接する機能的に連結された制御配列を有する発現ベクター中に、両鎖の発現が(DNA分子の転写により)可能になるような様式でクローニングすることによって作製してもよい(Lee, N.S., et al., (2002) Nature Biotechnology 20 : 500-5)。BLC関連遺伝子のmRNAに対するアンチセンス鎖であるRNA分子を第1のプロモーター(例えば、クローニングされたDNAの3'側にあるプロモーター配列)によって転写させ、BLC関連遺伝子のmRNAに対してセンス鎖であるRNA分子を第2のプロモーター(例えば、クローニングされたDNAの5'側にあるプロモーター配列)によって転写させる。センス鎖とアンチセンス鎖はインピボでハイブリダイズして、BLC関連遺伝子をサイレンシングするためのsiRNA構築物を生じる。または、2つの構築物を利用して、siRNA構築物のセンス鎖およびアンチセンス鎖を作製することもできる。クローニングされたBLC関連遺伝子は、単一の転写産物が標的遺伝子由来のセンス配列および相補的アンチセンス配列の両方を有する、例えばヘアピンなどの二次構造を有する構築物をコードすることも可能である。

10

【0195】

ヘアピンループ構造を形成させる目的で、任意のヌクレオチド配列からなるループ配列をセンス配列とアンチセンス配列との間に配置することができる。したがって、本発明はまた、一般式5'-[A]-[B]-[A']-3'(式中、[A]は、表4に列举されたmRNAまたはcDNAに特異的にハイブリダイズする配列に対応するリボヌクレオチド配列である)を有するsiRNAを提供する。好ましい態様において、[A]は表4から選択された遺伝子の配列に対応するリボヌクレオチド配列であり、[B]は約3～約23ヌクレオチドからなるリボヌクレオチド配列であり、[A']は[A]の相補配列からなるリボヌクレオチド配列である。領域[A]は[A']とハイブリダイズし、次いで領域[B]からなるループが形成される。ループ配列は、好ましくは3～23ヌクレオチド長であり得る。ループ配列は、例えば、以下の配列からなる群より選択され得る(http://www.ambion.com/techlib/tb/tb_506.html)。さらに、23ヌクレオチドからなるループ配列もまた、活性siRNAを提供する(Jacque, J.-M., et al., (2002) Nature 418 : 435-8)。

20

CCC、CCACC、またはCCACACC : Jacques, J. M., et al., (2002) Nature, 418 : 435-8。

UUCG : Lee, N.S., et al., (2002) Nature Biotechnology 20 : 500-5。Fruscoloni, P., et al., (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100(4) : 1639-44。

UUCAAGAGA : Dykxhoorn, D. M., et al., (2002) Nature Reviews Molecular Cell Biology 4 : 457-67。

30

【0196】

例えば、ヘアピン構造を有する本発明の好ましいsiRNAを以下に示す。以下の構造においてループ配列は、CCC、UUCG、CCACC、CCACACC、およびUUCAAGAGAからなる群より選択され得る。好ましいループ配列は、UUCAAGAGA(DNAでは「ttcaagaga」)である。

【0197】

適切なsiRNAのヌクレオチド配列は、Ambionのウェブサイト(http://www.ambion.com/techlib/misc/siRNA_finder.html)から入手可能なsiRNA設計コンピュータプログラムを用いて設計することができる。コンピュータプログラムは、以下のプロトコールに基づいてsiRNA合成のためのヌクレオチド配列を選択する。

40

【0198】

siRNA標的部位の選択

1. 対象となる転写物のAUG開始コドンから始めて、AAジヌクレオチド配列を求めて下流にスキャンする。潜在的なsiRNA標的部位として、個々のAAおよび3'側に隣接する19ヌクレオチドの出現を記録する。Tuschl, et al. (1999) Genes Dev 13(24) : 3191-7においては、5'および3'非翻訳領域(UTR)および開始コドン近傍(75塩基以内)の領域が、調節タンパク質結合部位により富んでいる可能性があることから、これらに対してsiRNAを設計しないことを推奨している。UTR-結合タンパク質および/または翻訳開始複合体は、siRNAエンドヌクレアーゼ複合体の結合を妨害し得る。

2. 潜在的な標的部位をヒトゲノムデータベースと比較し、他のコード配列に対して有意

50

な相同性をもついかなる標的配列も検討対象から除く。相同性検索は、NCBIのサーバー上(www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/)にあるBLASTを用いて実施することができる。

3. 合成に適した標的配列を選択する。アンピオンでは、好ましくは、評価すべき遺伝子の長さに沿っていくつかの標的配列を選択することができる。

【0199】

BLC関連遺伝子に隣接する調節配列は、それらの発現が独立に、または時間的もしくは空間的様式で調節されることが可能なように、同一の場合もあれば異なる場合もある。siRNAは、BLC関連遺伝子の鋳型をそれぞれ、例えば核内低分子RNA(snRNA)U6由来のRNAポリメラーゼIII転写単位またはヒトH1 RNAプロモーターを含むベクター中にクローニングすることにより、細胞内で転写される。ベクターを細胞に導入するために、トランスフェクション促進剤を使用することができる。FuGENE(Rochediagnostics)、Lipofectamine 2000(Invitrogen)、Oligofectamine(Invitrogen)、およびNucleofector(和光純薬工業)は、トランスフェクション促進剤として有用である。

10

【0200】

C2093、B5860N、またはC6055 mRNAの様々な部分のオリゴヌクレオチドおよびそれらの様々な部分に相補的なオリゴヌクレオチドを、標準的な方法に従って、腫瘍細胞において(例えば、HT1197、UMUC3、J82、HT1376、SW780、RT4、またはHT1376膀胱癌細胞株を用いて)C2093、B5860N、またはC6055の産生を減少させる能力についてインビトロで試験した。候補siRNA組成物と接触させた細胞におけるC2093、B5860N、またはC6055転写産物の産物が、候補組成物の非存在下で培養した細胞と比較して減少していることを、C2093、B5860N、もしくはC6055特異的抗体を用いて、または他の検出戦略を用いて検出する。インビトロでの細胞に基づくアッセイまたは無細胞アッセイにおいてC2093、B5860N、またはC6055の産生を減少させる配列を、次いで細胞増殖に対する阻害効果に関して試験する。インビトロでの細胞に基づくアッセイにおいて細胞増殖を阻害する配列をラットまたはマウスにおいてインビボで試験し、C2093、B5860N、またはC6055産生の減少、および悪性新生物を有する動物における腫瘍細胞増殖の減少を確認する。

20

【0201】

本発明には、標的配列、例えば、SEQ ID NO:1のヌクレオチド2543~2561(SEQ ID NO:21)、SEQ ID NO:3のヌクレオチド2491~2509、もしくはSEQ ID NO:5のヌクレオチド1639~1657(SEQ ID NO:25)、またはSEQ ID NO:129のヌクレオチド1905~1923、SEQ ID NO:131のヌクレオチド1873~1891、SEQ ID NO:133のヌクレオチド1921~1939、もしくはSEQ ID NO:135のヌクレオチド2001~2019(SEQ ID NO:144)の核酸配列を含む二本鎖分子もまた含まれる。本発明において、センス鎖がSEQ ID NO:21、25、または144に対応するリボヌクレオチド配列を含み、かつアンチセンス鎖がそのようなセンス鎖に相補的なリボヌクレオチド配列を含み、そのようなセンス鎖とそのようなアンチセンス鎖が相互にハイブリダイズして二本鎖分子を形成する、センス鎖およびアンチセンス鎖を含む二本鎖分子は、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子を発現する細胞に導入した場合に、そのような遺伝子の発現を阻害する。本発明において、単離された核酸がRNAまたはその誘導体である場合には、ヌクレオチド配列において塩基「t」は「u」と置換される必要がある。本明細書で使用する「相補的な」という用語は、核酸分子のヌクレオチド単位間のWatson CrickまたはHogsteen塩基対形成を指し、「結合」という用語は、2つの核酸もしくは化合物、または関連する核酸もしくは化合物、またはこれらの組み合わせの間での物理的または化学的相互作用を意味する。

30

40

【0202】

相補的な核酸配列は適切な条件下でハイブリダイズして、ミスマッチをほとんど含まない安定した二重鎖を形成する。さらに、本発明の単離されたヌクレオチドのセンス鎖およびアンチセンス鎖は、ハイブリダイゼーションによって二本鎖ヌクレオチドまたはヘアピンループ構造を形成し得る。好ましい態様において、このような二重鎖は、10個の一致ごとにミスマッチを2つ以上含まない。二重鎖の鎖が完全に相補的である特に好ましい態様においては、そのような二重鎖はミスマッチを含まない。核酸分子は、(SEQ ID NO:1に関

50

して)6319ヌクレオチド長未満、(SEQ ID NO:3に関して)5318ヌクレオチド長未満、(SEQ ID NO:129に関して)3851ヌクレオチド長未満、(SEQ ID NO:131に関して)3819ヌクレオチド長未満、(SEQ ID NO:133に関して)3851ヌクレオチド長未満、または(SEQ ID NO:135に関して)3819ヌクレオチド長未満である。例えば、核酸分子は、500、200、75ヌクレオチド長、またはそれ未満である。本発明には、本明細書に記載する核酸の1つまたは複数を含むベクター、およびそのベクターを含む細胞もまた含まれる。本発明の単離された核酸は、C2093、B5860N、もしくはC6055に対するsiRNA、またはsiRNAをコードするDNAに有用である。核酸をsiRNAまたはそれをコードするDNAに使用する場合、センス鎖は好ましくは約19ヌクレオチドよりも長く、より好ましくは約21ヌクレオチドよりも長い。

【0203】

10

本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAは、本発明のポリペプチドの発現を阻害し、そのため本発明のポリペプチドの生物活性を抑制するのに有用である。同様に、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAを含む発現阻害剤は、それらが本発明のポリペプチドの生物活性を阻害し得るという点で有用である。

【0204】

したがって、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAを含む組成物は、膀胱癌の治療に有用である。さらに、siRNAの阻害活性を増強する目的で、ヌクレオチド「u」を標的配列のアンチセンス鎖の3'末端に付加することもできる。付加する「u」の数は、少なくとも約2個、一般的には約2～約10個、好ましくは約2～約5個である。付加した「u」は、siRNAのアンチセンス鎖の3'末端において一本鎖を形成する。

20

【0205】

同様に、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAを含む発現阻害剤は、それらが本発明のポリペプチドの生物活性を阻害できるという点において有用である。したがって、本発明のアンチセンスオリゴヌクレオチドまたはsiRNAを含む組成物は、膀胱癌のような細胞増殖性疾患を治療するのに有用である。

【0206】

さらに、本発明は、本発明のC2093、B5860N、またはC6055ポリペプチドの発現を阻害するリボザイムを提供する。

【0207】

一般に、リボザイムは大型リボザイムと小型リボザイムに分類される。大型リボザイムは、核酸のリン酸エステル結合を切断する酵素として知られている。大型リボザイムとの反応後、反応した部位は5'リン酸基および3'ヒドロキシル基からなる。大型リボザイムはさらに、(1)グアノシンによる5'スプライス部位でのエステル交換反応を触媒するI群イントロンRNA；(2)投げ縄構造を介した2段階反応による自己スプライシングを触媒するII群イントロンRNA；および(3)加水分解によりtRNA前駆体を5'部位で切断するリボヌクレアーゼPのRNA成分に分類される。一方、小型リボザイムは大型リボザイムと比較してサイズが小さく(約40 bp)、RNAを切断して5'ヒドロキシル基および2'-3'環状リン酸を生じる。ハンマーヘッド型リボザイム(Koizumi et al., (1988) FEBS Lett 228: 228-30)およびヘアピン型リボザイム(Buzayan, (1986) Nature 323: 349-53; Kikuchi and Sasaki, (1991) Nucleic Acids Res 19: 6751-5)は小型リボザイムに含まれる。リボザイムを設計および構築する方法は、当技術分野において公知である(Koizumi et al., (1988) FEBS Lett 228: 228-30; Koizumi et al., (1989) Nucleic Acids Res 17: 7059-71; Kikuchi and Sasaki, (1991) Nucleic Acids Res 19: 6751-5を参照されたい)。したがって、本発明のポリペプチドの発現を阻害するリボザイムを、それらの配列情報(SEQ ID NO: 1、3、5、129、131、133、または135)およびこれらの従来の方法に基づいて構築することも可能である。

30

40

【0208】

C2093、B5860N、またはC6055転写産物に対するリボザイムは、過剰発現されるC2093、B5860N、またはC6055タンパク質の発現を阻害し、このタンパク質の生物活性を抑制し得る。したがって、これらのリボザイムは膀胱癌の治療または予防に有用である。

【0209】

50

抗体

または、BLCにおいて過剰発現される遺伝子の1つまたは複数の遺伝子産物の機能は、遺伝子産物に結合するか、または別の方法で遺伝子産物の機能を阻害する化合物を投与することによって阻害することができる。例えば、化合物は、1つまたは複数の過剰発現される遺伝子産物に結合する抗体である。

【0210】

本発明は、抗体、特に上方制御されるマーカー遺伝子によってコードされるタンパク質に対する抗体、またはそのような抗体の断片の使用に言及する。本明細書で使用する「抗体」という用語は、抗体を合成するために用いた抗原(すなわち、上方制御されるマーカーの遺伝子産物)またはそれに近縁の抗原とのみ相互作用する(すなわち、結合する)、特異的構造を有する免疫グロブリン分子を指す。

10

【0211】

本発明は、本発明のポリペプチドに結合する抗体を提供する。具体的には、本発明は、B5860NV1特異的配列であるSEQ ID NO:4の304~588のアミノ酸配列を含む抗原決定基に結合する抗体を提供する。本発明の抗体は、モノクローナル抗体またはポリクローナル抗体などの任意の形態で使用され得、これにはウサギなどの動物を本発明のポリペプチドで免疫することによって得られる抗血清、すべてのクラスのポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体、ヒト抗体、ならびに遺伝子組換えによって作製されたヒト化抗体が含まれる。

20

【0212】

抗体を得るための抗原として用いられる本発明のポリペプチドは、任意の動物種に由来し得るが、好ましくはヒト、マウス、またはラットなどの哺乳動物、より好ましくはヒトに由来する。ヒト由来のポリペプチドは、本明細書に開示するヌクレオチドまたはアミノ酸配列から得ることができる。

【0213】

本発明によれば、免疫抗原として用いるポリペプチドは、完全なタンパク質であってもまたはタンパク質の部分ペプチドであってもよい。部分ペプチドは、例えば、B5860NV1特異的配列(SEQ ID NO:4の304~588位)から選択される部分アミノ酸配列を含んでもよい。

【0214】

本明細書では、抗体を、本発明のポリペプチドの全長または断片のいずれかと反応するタンパク質として定義する。

30

【0215】

本発明のポリペプチドまたはその断片をコードする遺伝子を既知の発現ベクターに挿入し、次いでこのベクターを用いて本明細書に記載する宿主細胞を形質転換することができる。所望のポリペプチドまたはその断片を、任意の標準的な方法によって宿主細胞の内部または外部から回収し、後にこれを抗原として用いることができる。または、ポリペプチドを発現する細胞全体もしくはその溶解物、または化学合成したポリペプチドを抗原として用いてもよい。

【0216】

任意の哺乳動物を抗原で免疫することができるが、細胞融合に用いる親細胞との適合性を考慮に入れることが好ましい。一般に、齧歯目(Rodentia)、ウサギ目(Lagomorpha)、または霊長目(Primate)の動物が用いられる。齧歯目の動物には、例えば、マウス、ラット、およびハムスターが含まれる。ウサギ目の動物には、例えばウサギが含まれる。霊長目の動物には、例えば、カニクイザル(*Macaca fascicularis*)、アカゲザル、マントヒヒ、およびチンパンジーなどの狭鼻下目(Catarrhini)(旧世界サル)のサルが含まれる。

40

【0217】

動物を抗原で免疫する方法は、当技術分野で公知である。抗原の腹腔内注射または皮下注射は、哺乳動物を免疫するための標準的な方法である。より具体的には、抗原を適切な量のリン酸緩衝食塩水(PBS)、生理食塩水などで希釈し、懸濁させる。必要に応じて、抗原懸濁液を、フロイント完全アジュバントなどの適量の標準的アジュバントと混合し、乳

50

化した後、哺乳動物に投与し得る。その後、適量のフロイント不完全アジュバントと混合した抗原を、4~21日ごとに数回投与することが好ましい。免疫化に適切な担体を用いてもよい。上記のように免疫した後、血清を、所望の抗体の量の増加に関して標準的方法で調べる。

【0218】

本発明のポリペプチドに対するポリクローナル抗体は、血清中の所望の抗体の増加に関して調べた免疫後の哺乳動物から血液を採取し、任意の従来法によって血液から血清を分離することによって調製することができる。ポリクローナル抗体にはポリクローナル抗体を含む血清が含まれ、ポリクローナル抗体を含む画分を血清から単離することもできる。免疫グロブリンGまたはMは、本発明のポリペプチドのみを認識する画分から、例えば、本発明のポリペプチドを結合させたアフィニティーカラムを用いた上で、この画分をプロテインAまたはプロテインGカラムを用いてさらに精製して、調製することができる。

10

【0219】

モノクローナル抗体を調製するには、抗原で免疫した哺乳動物から免疫細胞を収集し、上記の通りに血清中の所望の抗体のレベル上昇について確かめた上で、細胞融合に供する。細胞融合に用いる免疫細胞は、脾臓から取得することが好ましい。上記の免疫細胞と融合させるもう一方の好ましい親細胞には、例えば、哺乳動物の骨髓腫細胞、より好ましくは薬物による融合細胞の選択のための特性を獲得した骨髓腫細胞が含まれる。

【0220】

上記の免疫細胞および骨髓腫細胞は、既知の方法、例えば、Milstein et al. (Galfre and Milstein, (1981) Methods Enzymol 73: 3-46)の方法に従って融合させることができる。

20

【0221】

細胞融合によって結果として得られたハイブリドーマは、それらをHAT培地(ヒポキサンチン、アミノプテリン、およびチミジンを含む培地)などの標準的な選択培地中で培養することによって選択し得る。細胞培養は典型的に、HAT培地中で、所望のハイブリドーマを除く他のすべての細胞(非融合細胞)が死滅するのに十分な期間である、数日間から数週間にわたって続けられる。その後、標準的な限界希釈を行い、所望の抗体を産生するハイブリドーマ細胞をスクリーニングおよびクローニングする。

【0222】

ハイブリドーマを調製するために非ヒト動物を抗原で免疫する上記の方法に加えて、EBウイルスに感染したリンパ球などのヒトリンパ球を、ポリペプチド、ポリペプチド発現細胞、またはそれらの溶解物でインビトロにおいて免疫することもできる。続いて、免疫後のリンパ球を、無限に分裂し得るU266などのヒト由来の骨髓腫細胞と融合させ、ポリペプチドに結合し得る所望のヒト抗体を産生するハイブリドーマを得ることができる(特開昭63-17688号)。

30

【0223】

続いて得られたハイブリドーマをマウスの腹腔内に移植し、腹水を抽出する。得られたモノクローナル抗体は、例えば、硫酸アンモニウム沈殿、プロテインAもしくはプロテインGカラム、DEAEイオン交換クロマトグラフィー、または本発明のポリペプチドを結合させたアフィニティーカラムにより精製することができる。本発明の抗体は、本発明のポリペプチドの精製および検出のためだけでなく、本発明のポリペプチドのアゴニストおよびアンタゴニストの候補としても用いられ得る。さらに、この抗体を、本発明のポリペプチドに関連した疾患の抗体療法に適用することもできる。得られた抗体を人体に対して投与する場合には(抗体療法)、免疫原性を抑えるためにヒト抗体またはヒト化抗体が好ましい。

40

【0224】

例えば、ヒト抗体遺伝子のレパートリーを有するトランスジェニック動物を、ポリペプチド、ポリペプチド発現細胞、またはそれらの溶解物から選択される抗原で免疫することができる。次いで、抗体産生細胞を動物から採取し、骨髓腫細胞と融合させてハイブリド

50

ーマを得、そのハイブリドーマからポリペプチドに対するヒト抗体を調製することができる(WO92-03918、WO94-02602、WO94-25585、WO96-33735、およびWO96-34096を参照されたい)。

【0225】

または、免疫したリンパ球のような、抗体を産生する免疫細胞を癌遺伝子によって不死化し、モノクローナル抗体の調製に用いることもできる。

【0226】

このようにして得られるモノクローナル抗体は、遺伝子操作技術を用いて組換えにより調製することもできる(例えば、MacMillan Publishers LTDにより英国で刊行された、Borrebäck and Larrick, (1990) *Therapeutic Monoclonal Antibodies*を参照されたい)。例えば、抗体をコードするDNAを、抗体を産生するハイブリドーマまたは免疫リンパ球などの免疫細胞からクローニングし、適切なベクターに挿入した上で、宿主細胞に導入し、組換え抗体を調製することができる。本発明はまた、上記のようにして調製した組換え抗体も提供する。

10

【0227】

さらに、本発明の抗体は、1つまたは複数の本発明のポリペプチドによってコードされるタンパク質に結合する限り、抗体の断片または修飾抗体であってもよい。例えば、抗体断片は、Fab、F(ab')₂、Fv、またはHおよびL鎖由来のFv断片が適切なリンカーによって連結されている一本鎖Fv(scFv)であってもよい(Huston et al., (1988) *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 5879-83)。より具体的には、抗体断片は、抗体をパインやペプシンなどの酵素で処理することにより作製することができる。または、抗体断片をコードする遺伝子を構築し、発現ベクターに挿入し、適切な宿主細胞で発現させることができる(例えばCo et al., (1994) *J Immunol* 152: 2968-76.; Better and Horwitz, (1989) *Methods Enzymol* 178: 476-96; Pluckthun and Skerra, (1989) *Methods Enzymol* 178: 497-515; Lamoyi, (1986) *Methods Enzymol* 121: 652-63; Rousseaux et al., (1986) *Methods Enzymol* 121: 663-9; Bird and Walker, (1991) *Trends Biotechnol* 9: 132-7を参照されたい)。

20

【0228】

抗体は、例えばポリエチレングリコール(PEG)などの様々な分子との結合によって修飾することができる。本発明は、そのような修飾抗体を提供する。修飾抗体は、抗体を化学的に修飾することにより得られる。これらの修飾法は、当技術分野で慣例的である。

30

【0229】

または、本発明の抗体は、非ヒト抗体に由来する可変領域とヒト抗体に由来する定常領域との間のキメラ抗体、または非ヒト抗体に由来する相補性決定領域(CDR)、ヒト抗体に由来するフレームワーク領域(FR)および定常領域を含むヒト化抗体として得られてもよい。そのような抗体は、公知の技術によって調製することができる。ヒト化は、ヒト抗体の対応する配列の代わりに、齧歯類のCDRまたはCDR配列を用いることによって行われ得る(例えば、Verhoeyen et al., (1988) *Science* 239: 1534-6を参照されたい)。したがって、このようなヒト化抗体は、実質的にヒト可変ドメインの全長より短い領域が、非ヒト種由来の対応する配列によって置き換えられたキメラ抗体である。

【0230】

ヒトフレームワーク領域および定常領域に加えてヒト可変領域をも含む完全ヒト抗体を用いることもできる。このような抗体は、当技術分野で公知のさまざまな技術を用いて作製することができる。例えば、インビトロ法は、バクテリオファージ上に提示されたヒト抗体断片の組換えライブラリーの使用を含む(例えば、Hoogenboom & Winter, (1992) *J. Mol. Biol.* 227: 381-8)。同様に、ヒト免疫グロブリン座位を、内因性免疫グロブリン遺伝子が部分的または完全に不活性化されたトランスジェニック動物、例えばマウスに導入することによってヒト抗体を作製することもできる。このアプローチは例えば、米国特許第6,150,584号、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号に記載されている。

40

【0231】

50

上記のようにして得られた抗体は、均一になるまで精製してもよい。例えば、一般的なタンパク質に対して用いられる分離法および精製法に従って、抗体の分離および精製を行うことができる。例えば、これらに限定されないが、アフィニティークロマトグラフィーなどのカラムクロマトグラフィー、フィルター、限外濾過、塩析、透析、SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動、および等電点電気泳動を適切に選択しかつ組み合わせる使用することにより、抗体を分離および単離することができる(Antibodies : A Laboratory Manual, Ed Harlow and David Lane, (1988) Cold Spring Harbor Laboratory)。プロテインAカラムおよびプロテインGカラムをアフィニティークラムとして使用することができる。用いられる例示的なプロテインAカラムには、例えば、ハイパーD、POROS、およびセファローズF.F.(Sephacrose F.F)(Pharmacia)が含まれる。

10

【0232】

例示的なクロマトグラフィーには、アフィニティークロマトグラフィーを除いて、例えば、イオン交換クロマトグラフィー、疎水性クロマトグラフィー、ゲル濾過、逆相クロマトグラフィー、吸着クロマトグラフィーなどが含まれる(Strategies for Protein Purification and Characterization : A Laboratory Course Manual, Ed Daniel R. Marshak et al., (1996) Cold Spring Harbor Laboratory Press)。クロマトグラフィー手順は、HPLCおよびFPLCなどの液相クロマトグラフィーによって行うことができる。

【0233】

本発明の抗体の抗原結合活性を測定するために、例えば、吸光度測定、酵素結合免疫吸着アッセイ法(ELISA)、酵素免疫アッセイ法(EIA)、放射免疫アッセイ法(RIA)、および/または免疫蛍光検査法を用いてもよい。ELISAの場合、本発明の抗体をプレート上に固定化し、本発明のポリペプチドをプレートに添加し、次いで抗体産生細胞の培養上清または精製抗体といった所望の抗体を含む試料を添加する。続いて、一次抗体を認識し、アルカリホスファターゼなどの酵素で標識された二次抗体を添加し、プレートをインキュベートする。続いて洗浄後に、p-ニトロフェニルリン酸などの酵素基質をプレートに添加し、吸光度を測定して試料の抗原結合活性を評価する。抗体の結合活性を評価するには、C末端断片またはN末端断片といったポリペプチドの断片を抗原として使用することもできる。本発明の抗体の活性評価には、BIAcore(Pharmacia)を用いてもよい。

20

【0234】

本発明の抗体を本発明のポリペプチドが含まれると考えられる試料に対して曝露し、抗体とポリペプチドによって形成される免疫複合体を検出または測定することにより、上記の方法によって本発明のポリペプチドの検出または測定が可能になる。

30

【0235】

本発明によるポリペプチドの検出または測定の方法は、ポリペプチドを特異的に検出または測定することができるため、ポリペプチドを使用する種々の実験において有用である。

【0236】

癌細胞において起こる特定の分子変化を対象にした癌治療は、進行性乳癌治療のためのトラスツズマブ(ハーセプチン)、慢性骨髄性白血病のためのメシル酸イマチニブ(グリーベック)、非小細胞肺癌(NSCLC)のためのゲフィチニブ(イレッサ)、B細胞リンパ腫およびマントル細胞リンパ腫のためのリツキシマブ(抗CD20 mAb)などの抗癌剤の臨床開発および規制認可により確認されている(Ciardello F and Tortora G. (2001) Clin Cancer Res. ; 7(10) : 2958-70. Review. ; Slamon DJ, et al., (2001) N Engl J Med. ; 344(11) : 783-92. ; Rehwald U, et al., (2003) Blood. ; 101(2) : 420-4. ; Fang G, et al., (2000). Blood, 96, 2246-53)。これらの薬物は、形質転換した細胞のみを標的とすることから、臨床的に有効であり、従来の抗癌剤より許容性が良好である。したがって、そのような薬物は、癌患者の生存および生活の質を改善するのみならず、分子標的癌治療の考え方が正当であることを証明している。さらに、標的化薬物は、標準的な化学療法と併用して用いた場合、その有効性を増強することができる(Gianni L. (2002). Oncology, 63 Suppl 1, 47-56. ; Klejman A, et al., (2002) Oncogene, 21, 5868-76)。したがって、将来の癌治療

40

50

はおそらく、血管新生および浸潤性のような腫瘍細胞の異なる特徴をねらった標的特異的薬剤と従来の薬剤の併用を含むであろう。

【0237】

これらの調節方法は、エキスピボもしくはインピトロで行うこともでき(例えば、細胞を物質とともに培養することにより)、またはインピボで行うこともできる(例えば、物質を対象に投与することにより)。本方法は、タンパク質、もしくはタンパク質の組み合わせ、または核酸分子、もしくは核酸分子の組み合わせを、差次的に発現される遺伝子の異常な発現またはそれらの遺伝子産物の異常な活性を相殺する治療法として投与する段階を含む。

【0238】

遺伝子および遺伝子産物の発現レベルまたは生物活性がそれぞれ(疾患または障害に罹患していない対象と比較して)上昇していることによって特徴付けられる疾患および障害は、過剰発現される一つまたは複数の遺伝子の活性に拮抗する(すなわち、それを低下させるまたは阻害する)治療薬によって治療され得る可能性がある。活性に拮抗する治療薬は、治療的または予防的に投与することができる。

【0239】

したがって、本発明の文脈において利用し得る治療薬には、例えば以下のものが含まれる：(i) 過剰発現または低発現される1つまたは複数の遺伝子のポリペプチド、またはその類似体、誘導体、断片、もしくは相同体；(ii) 過剰発現される遺伝子または遺伝子産物に対する抗体；(iii) 過剰発現または低発現される1つまたは複数の遺伝子をコードする核酸；(iv) アンチセンス核酸、または「機能不全」である核酸(すなわち、1つまたは複数の過剰発現される遺伝子の核酸内への異種挿入による)；(v) 低分子干渉RNA(siRNA)；または(vi) 調節因子(すなわち、阻害剤、過剰発現または低発現されるポリペプチドとその結合パートナーとの間の相互作用を変化させるアゴニストおよびアンタゴニスト)。機能不全アンチセンス分子は、相同組換えによってポリペプチドの内因性機能を「ノックアウト」するために利用される(例えば、Capecchi, (1989) Science 244: 1288-92を参照されたい)。

【0240】

生物活性の低下(疾患または障害に罹患していない対象と比較して)によって特徴付けられる疾患および障害は、活性を上昇させる(すなわち、それに対するアゴニストである)治療薬によって治療することができる。活性を上方制御する治療薬は、治療的または予防的に投与することができる。利用し得る治療薬には、ポリペプチド(またはその類似体、誘導体、断片、もしくは相同体)、または生物学的利用能を高めるアゴニストが含まれるが、これらに限定されない。

【0241】

レベルの上昇または低下は、ペプチドおよび/またはRNAを定量することによって、患者の組織試料を得て(例えば、生検組織から)、これをRNAまたはペプチドレベル、発現されたペプチドの構造および/または活性(またはその発現が変化している遺伝子のmRNA)に関してインピトロでアッセイすることによって、容易に検出することができる。当技術分野において周知である方法には、免疫学的分析(例えば、ウェスタンブロット解析、免疫沈降後のドデシル硫酸ナトリウム(SDS)ポリアクリルアミドゲル電気泳動、免疫細胞化学等)、および/またはmRNAの発現を検出するハイブリダイゼーション分析(例えば、ノーザン分析、ドットブロット、インサイチュハイブリダイゼーション等)が含まれるがこれらに限定されない。

【0242】

予防的投与は、疾患または障害の出現が妨げられるか、またはその進行が遅れるように、疾患の明瞭な臨床症状が現れる前に行う。本発明の治療方法は、細胞を、差次的に発現される遺伝子の遺伝子産物の活性のうち一つまたは複数調節する物質と接触させる段階を含んでもよい。タンパク質活性を調節する物質の例には、核酸、タンパク質、このようなタンパク質の天然の同族リガンド、ペプチド、ペプチド模倣物およびその他の低分子が

10

20

30

40

50

含まれるが、これらに限定されない。例えば、適した物質は、1つまたは複数の差次的に低発現される遺伝子の1つまたは複数のタンパク質活性を活性化し得る。

【0243】

膀胱癌に対するワクチン接種

本発明はまた、表4に列挙されたBLC関連遺伝子(すなわち上方制御遺伝子)からなる群より選択される核酸によってコードされるポリペプチド、そのようなポリペプチドの免疫学的活性断片、またはそのようなポリペプチドもしくはその断片をコードするポリヌクレオチドを含むワクチンを対象に投与する段階を含む、対象における膀胱癌を治療または予防する方法に関する。ポリペプチドの投与により、対象において抗腫瘍免疫が誘導される。抗腫瘍免疫を誘導するため、表4に列挙されたBLC関連遺伝子からなる群より選択される核酸によってコードされるポリペプチド、そのようなポリペプチドの免疫学的活性断片、またはそのようなポリペプチドもしくはその断片をコードするポリヌクレオチドを、それを必要とする対象に投与する。ポリペプチドまたはその免疫学的活性断片は、BLCに対するワクチンとして有用である。場合によっては、タンパク質またはその断片は、T細胞受容体(TCR)に結合させた形態、またはマクロファージ、樹状細胞(DC)、もしくはB細胞などの抗原提示細胞(APC)により提示させた形態で投与してもよい。DCは抗原提示能が強いため、APCの中でもDCを用いることが最も好ましい。

10

【0244】

本発明において、BLCに対するワクチンとは、動物に接種すると抗腫瘍免疫を誘導する能力を有する物質を指す。本発明によると、表4に列挙されたBLC関連遺伝子によってコードされるポリペプチドまたはその断片は、表4に列挙されたBLC関連遺伝子を発現するBLC細胞に対して強力かつ特異的な免疫応答を誘導する可能性があるHLA-A24またはHLA-A*0201拘束性エピトープであることが示唆された。このように、本発明はまた、ポリペプチドを用いて抗腫瘍免疫を誘導する方法も含む。一般に抗腫瘍免疫は、以下のような免疫応答を含む：

20

- 腫瘍に対する細胞傷害性リンパ球の誘導、
- 腫瘍を認識する抗体の誘導、および
- 抗腫瘍サイトカイン産生の誘導。

【0245】

したがって、あるタンパク質が、動物への接種時にこれらの免疫応答のいずれか一つを誘導する場合、そのタンパク質は、抗腫瘍免疫誘導効果を有すると決定される。タンパク質による抗腫瘍免疫の誘導は、そのタンパク質に対する宿主における免疫系の応答をインビボまたはインビトロで観察することで検出できる。

30

【0246】

例えば、細胞傷害性Tリンパ球の誘導を検出する方法は周知である。特に、生体内に入る外来物質は、抗原提示細胞(APC)の作用によってT細胞およびB細胞に提示される。APCによって提示された抗原に対して抗原特異的に応答するT細胞は、抗原による刺激によって細胞障害性T細胞(または細胞障害性Tリンパ球；CTL)に分化した後増殖する(これはT細胞の活性化と呼ばれる)。したがって、あるペプチドによるCTL誘導は、APCによるT細胞へのペプチドの提示およびCTLの誘導を検出することによって評価することができる。さらに、APCは、CD4+ T細胞、CD8+ T細胞、マクロファージ、好酸球、およびNK細胞を活性化する効果を有する。CD4+ T細胞およびCD8+ T細胞も同様に抗腫瘍免疫において重要であることから、ペプチドの抗腫瘍免疫誘導作用は、これらの細胞の活性化効果を指標として用いて評価することができる。

40

【0247】

APCとして樹状細胞(DC)を用いてCTLの誘導作用を評価する方法は、当技術分野で周知である。DCは、APCの中でも最も強力なCTL誘導作用を有する代表的なAPCである。この方法では、被験ポリペプチドをまずDCに接触させて、このDCをT細胞に接触させる。DCとの接触後に対象細胞に対して細胞傷害作用を有するT細胞が検出されることは、被験ポリペプチドが、細胞傷害性T細胞を誘導する活性を有することを示す。腫瘍に対するCTLの活性は

50

、例えば ^{51}Cr 標識腫瘍細胞の溶解を指標として用いて検出することができる。または ^3H -チミジンの取り込み活性、またはLDH(ラクトースデヒドロゲナーゼ)の放出を指標として用いることで、腫瘍細胞の損傷度を評価する方法も周知である。

【0248】

DCとは別に、末梢血単核球(PBMC)も同様にAPCとして用いてもよい。CTLの誘導は、GM-CSFおよびIL-4の存在下でPBMCを培養することによって増強されることが報告されている。同様に、CTLは、キーホールリンペットヘモシアニン(KLH)およびIL-7の存在下でPBMCを培養することによって誘導されることが示されている。

【0249】

これらの方法によってCTL誘導活性を有することが確認された被験ポリペプチドは、DC活性化効果およびその後のCTL誘導活性を有するポリペプチドであるとみなされる。したがって、腫瘍細胞に対してCTLを誘導するポリペプチドは、腫瘍に対するワクチンとして有用である。さらに、ポリペプチドに接触させることによって腫瘍に対するCTLの誘導能力を獲得したAPCは、腫瘍に対するワクチンとして有用である。さらに、APCによるポリペプチド抗原の提示により細胞傷害性を獲得したCTLも、腫瘍に対するワクチンとして用いることができる。APCおよびCTLによる抗腫瘍免疫を用いるそのような腫瘍の治療法は、細胞免疫療法と呼ばれる。

【0250】

一般的に、細胞免疫療法のためにポリペプチドを用いる場合、CTL誘導効率は、異なる構造を有する複数のポリペプチドを組み合わせ、それらをDCに接触させることによって増加することが知られている。したがって、DCをタンパク質断片によって刺激する場合、複数のタイプの断片の混合物を用いることが有利である。

【0251】

または、ポリペプチドによる抗腫瘍免疫の誘導は、腫瘍に対する抗体産生の誘導を観察することで確認できる。例えば、ポリペプチドに対する抗体が、そのポリペプチドで免疫した実験動物において誘導される場合、かつ腫瘍細胞の増殖がそれらの抗体によって抑制される場合、ポリペプチドは、抗腫瘍免疫の誘導能力を有するとみなすことができる。

【0252】

抗腫瘍免疫は本発明のワクチンを投与することによって誘導され、抗腫瘍免疫の誘導によって、BLCを治療および予防することができる。癌の治療または癌の発症の予防には、癌性細胞の増殖の阻害、癌の退縮、および癌の発生抑制のような段階のいずれかが含まれる。癌を有する個体の死亡率および疾病率の低下、血液中の腫瘍マーカーのレベルの低下、癌に伴う検出可能な症状の軽減等も同様に、癌の治療または予防に含まれる。このような治療および予防効果は、好ましくは統計的に有意である。例えば、細胞増殖疾患に対するワクチンの治療または予防効果を、ワクチン投与を行わない対照と比較する観察において、5%またはそれ未満は有意水準である。例えば、スチューデントt-検定、マン-ホイットニーのU検定、またはANOVAを統計解析に用いてもよい。

【0253】

免疫学的活性を有する上記のタンパク質またはそのタンパク質をコードするベクターをアジュバントと併用してもよい。アジュバントとは、免疫学的活性を有するタンパク質と同時に(または連続的に)投与した場合、タンパク質に対する免疫応答を増強する化合物を意味する。例示的アジュバントには、コレラ毒素、サルモネラ毒素、ミョウバン等が含まれるがこれらに限定されない。さらに本発明のワクチンは、薬学的に許容される担体を適切に組み合わせることができる。そのような担体の例は、滅菌水、生理食塩液、リン酸緩衝液、培養液等が含まれるが、それらに限定されない。さらに、ワクチンは必要に応じて、安定化剤、懸濁剤、保存剤、界面活性剤等を含んでもよい。ワクチンは、全身または局所投与され得る。ワクチン投与は、1回投与によって行ってもよく、または複数回投与によって追加刺激してもよい。

【0254】

本発明のワクチンとしてAPCまたはCTLを用いる場合、腫瘍を例えばエキスピボ法によ

10

20

30

40

50

て治療または予防することができる。より具体的には、治療または予防を受ける対象のPBMCを採取し、細胞をエキスピボでポリペプチドに接触させ、APCまたはCTLの誘導後、細胞を対象に投与してもよい。APCはまた、ポリペプチドをコードするベクターをエキスピボでPBMCに導入することによって誘導することができる。インビトロで誘導されたAPCまたはCTLは、投与前にクローニングすることができる。標的細胞を破壊する高い活性を有する細胞をクローン化して増やすことで、細胞免疫療法を、より効果的に実施することができる。さらに、このようにして単離されたAPCおよびCTLを、細胞が由来する個体に対してのみならず、他の個体由来の類似のタイプの腫瘍に対する細胞免疫療法のために用いてもよい。

【0255】

さらに、本発明のポリペプチドの薬学的有効量を含む、癌のような細胞増殖疾患を治療または予防するための薬学的組成物が提供される。薬学的組成物は、抗腫瘍免疫を惹起するために用いてもよい。

【0256】

C2093、B5860N、またはC6055の正常発現は精巢に限定されている。したがって、この遺伝子の抑制は、他の器官に悪影響を及ぼさないと考えられる。そのため、C2093、B5860N、またはC6055ポリペプチドは、細胞増殖性疾患、特に膀胱癌の治療に好ましい。さらに、癌細胞で特異的に発現されるタンパク質のペプチド断片は癌に対する免疫応答を誘導することが判明しているため、C2093、B5860N、またはC6055のペプチド断片を、膀胱癌などの細胞増殖性疾患を治療または予防するための薬学的組成物中に用いることもできる。本発明においては、ポリペプチドまたはその断片は抗腫瘍免疫を誘導するのに十分な用量で投与され、これは0.1 mg~10 mg、好ましくは0.3 mg~5 mg、より好ましくは0.8 mg~1.5 mgの範囲内にある。投与は繰り返し行う。抗腫瘍免疫を誘導するには、例えば、1 mgのペプチドまたはその断片を、2週間ごとに4回投与してもよい。

【0257】

さらに、C2093、B5860N、もしくはC6055、またはそれらの断片をコードするポリヌクレオチドを、抗腫瘍免疫を生じるために使用することができる。そのようなポリヌクレオチドを発現ベクターに組み込み、治療しようとする対象においてC2093、B5860N、もしくはC6055、またはそれらの断片を発現させ得る。したがって、本発明は、抗腫瘍免疫を誘導する方法であって、C2093、B5860N、もしくはC6055、またはそれらの断片をコードするポリヌクレオチドを、膀胱癌などの細胞増殖性疾患に罹患しているか、またはそのような疾患を発症するリスクを有する対象に投与する方法を包含する。

【0258】

BLCまたは悪性BLCを阻害するための薬学的組成物

本発明は、本発明のスクリーニング法によって選択された任意の化合物を含む、膀胱癌を治療または予防するための組成物を提供する。

【0259】

本発明のスクリーニング法によって単離された化合物を、細胞増殖性疾患(例えば、膀胱癌)を治療するために、ヒトまたは他の哺乳動物、例えば以下に限定されないがマウス、ラット、モルモット、ウサギ、ネコ、イヌ、ヒツジ、ブタ、ウシ、サル、ヒヒ、チンパンジーに薬剤として投与する場合には、単離された化合物を直接投与してもよく、または公知の薬剤調製法を用いて剤形に製剤化してもよい。例えば、必要に応じて、薬物は、糖衣錠、カプセル剤、エリキシル剤、およびマイクロカプセルとして経口摂取されるか、または水もしくは任意の他の薬学的に許容される液体との滅菌溶液もしくは懸濁液の注射剤形で非経口摂取され得る。例えば、化合物は、薬学的に許容される担体または媒体、具体的には滅菌水、生理食塩水、植物油、乳化剤、懸濁剤、界面活性剤、安定化剤、着香剤、賦形剤、溶剤、保存剤、結合剤などと共に、一般的に許容される投薬実施に必要な単位投与剤形で混合することができる。これらの調製物に含まれる有効成分の量によって、指示範囲内の適した用量を得ることができる。

【0260】

錠剤およびカプセル剤に混合することができる添加剤の例には、結合剤、例えばゼラチン、コーンスターチ、トラガカントゴム、およびアラビアゴム；賦形剤、例えば結晶セルロース；膨張剤、例えばコーンスターチ、ゼラチン、およびアルギン酸；潤滑剤、例えばステアリン酸マグネシウム；甘味剤、例えばショ糖、乳糖、またはサッカリン；ならびに着香剤、例えばペパーミント、アカモノ (*Gaultheria adeno-thrix*) 油、およびチェリーが含まれるがこれらに限定されない。単位投与剤形がカプセル剤である場合には、油などの液体担体を上記の成分にさらに含めることもできる。注射用滅菌組成物は、注射用蒸留水などの溶剤を用いて、通常の投薬実施に従って製剤化することができる。

【0261】

生理食塩水、グルコース、ならびにD-ソルビトール、D-マンノース、D-マンニトール、および塩化ナトリウムなどの補助剤を含む他の等張液を、注射用水溶液として用いることができる。これらは、アルコール、具体的にはエタノール、プロピレングリコールおよびポリエチレングリコールなどの多価アルコール、Polysorbate 80(商標)およびHCO-50などの非イオン性界面活性剤といった適切な可溶化剤と共に用いることができる。ゴマ油または大豆油は、可溶化剤としての安息香酸ベンジルまたはベンジルアルコールと共に使用することができ、かつ緩衝液、例えばリン酸緩衝液および酢酸ナトリウム緩衝液；鎮痛剤、例えば塩酸プロカイン；安定化剤、例えばベンジルアルコール、フェノール；ならびに抗酸化剤と共に製剤化することのできる油性液体の例である。調製された注射剤は、適したアンブルに充填してもよい。

10

【0262】

当業者に周知の方法を用いて、本発明の薬学的化合物を患者に、例えば動脈内、静脈内、または経皮注射として投与することができ、また鼻腔内、筋肉内、または経口投与として投与することもできる。投与の用量および方法は、患者の体重および年齢ならびに投与法に応じて変化するが、当業者はそれらを日常的に選択することができる。化合物がDNAによってコードされ得る場合には、DNAを遺伝子治療用のベクターに挿入し、治療を行うためにベクターを投与することができる。投与の用量および方法は、患者の体重、年齢、および症状に応じて変化するが、これらのパラメータの選択および最適化は、当業者の権限の範囲内である。

20

【0263】

本発明の文脈において、適切な薬学的製剤には、経口、直腸内、鼻腔内、局所(口腔内および舌下を含む)、腔内、もしくは非経口(筋肉内、皮下、および静脈内を含む)投与に適した製剤、または吸入もしくは吹入による投与に適した製剤が含まれる。好ましくは、投与は静脈内である。製剤は任意で、個別の用量単位に包装される。

30

【0264】

経口投与に適した薬学的製剤には、それぞれが活性成分の規定量を含むカプセル剤、カシェ剤、または錠剤が含まれる。適切な製剤にはまた、粉剤、顆粒剤、溶液、懸濁液、および乳液が含まれる。活性成分は、任意でボラス、舐剤、またはペーストとして投与される。経口投与用の錠剤およびカプセル剤は、結合剤、充填剤、潤滑剤、崩壊剤、および/または湿潤剤のような通常の賦形剤を含んでもよい。錠剤は、任意で1つもしくは複数の製剤成分を用いて、圧縮または成形により作製することができる。圧縮錠は、粉剤または顆粒剤のような流動状の活性成分を、任意で結合剤、潤滑剤、不活性希釈剤、潤滑剤、表面活性剤、および/または分散剤と混合して、適した機械において圧縮することによって調製してもよい。成形錠剤は、不活性液体希釈剤によって湿らせた粉末化合物の混合物に適した機械において成形することによって作製してもよい。錠剤は、当技術分野で周知の方法にしたがってコーティングすることができる。経口液体調製物は、例えば、水性もしくは油性懸濁液、溶液、乳液、シロップ剤、もしくはエリキシル剤の形であってもよく、または使用前に水もしくは他の適した溶剤で構成するための乾燥製品として提供してもよい。そのような液体調製物は、懸濁剤、乳化剤、非水性溶剤(食用油が含まれてもよい)、および/または保存剤のような通常の添加剤を含んでもよい。錠剤は任意で、活性成分の徐放または制御放出を提供するように調製してもよい。錠剤の包装は、月に1回服用され

40

50

る1個の錠剤を含む場合がある。

【0265】

非経口投与に適した製剤には、抗酸化剤、緩衝剤、制菌剤および対象とするレシピエントの血液と製剤を等張にする溶質を任意で含む水性および非水性滅菌注射剤、ならびに懸濁剤および/または濃化剤を含む水性および非水性滅菌懸濁液が含まれる。製剤は、単位用量または複数回用量で容器、例えば密封アンプルおよびバイアルに入れてもよく、滅菌液体担体、例えば生理食塩液、注射用水を使用直前に加えるだけでよい凍結乾燥状態で保存してもよい。または、製剤を持続注入用とすることができる。即時調合注射溶液および懸濁液は、既に説明した種類の滅菌粉末、顆粒、および錠剤から調製することができる。

【0266】

直腸投与用の適切な製剤には、カカオバターまたはポリエチレングリコールのような標準的な担体を含む坐剤が含まれる。口内への、例えば口腔内または舌下への局所投与用の適切な製剤には、ショ糖およびアカシアまたはトラガカントのような着香基剤に活性成分を含むトローチ剤、ならびにゼラチンとグリセリンまたはショ糖とアカシアのような基剤に活性成分を含む香錠が含まれる。鼻腔内投与の場合、本発明の化合物を液体スプレー、もしくは分散性の粉末として、または点鼻剤の形態で用いてもよい。点鼻剤は、一つまたは複数の分散剤、溶解剤、および/または懸濁剤も含む水性または非水性基剤によって製剤化してもよい。

【0267】

吸入による投与の場合、吸入器、ネブライザー、加圧バックまたは他のエアロゾル噴霧を送達するための都合のよい手段によって化合物を都合よく送達することができる。加圧容器は、適切な噴霧剤(ジクロロジフルオロメタン、トリクロロフルオロメタン、ジクロロテトラフルオロエタン、炭酸ガス、または他の適切なガス)を含む場合がある。加圧エアロゾルの場合、投与単位は、一定量を送達するバルブを提供することで決定することができる。

【0268】

または、吸入もしくは吹入による投与の場合、化合物は、乾燥粉末組成物、例えば化合物と、乳糖またはデンプンのような適した粉末基剤との粉末混合物の形状をとってもよい。粉末組成物は、単位投与剤形、例えば、粉末が吸入器または吹入器を利用して投与され得るカプセル剤、カートリッジ、ゼラチンまたはプリスターパックの形としてもよい。

【0269】

他の製剤には、治療剤を放出する埋め込み可能装置および接着パッチが含まれる。

【0270】

望ましい場合、活性成分が徐放性となるように適合した上記の製剤を使用することができる。薬学的組成物はまた、抗菌剤、免疫抑制剤、および/または保存剤のような他の活性成分を含んでもよい。

【0271】

上記で特に言及した成分の他に、本発明の製剤には、当該製剤のタイプに関して当技術分野において通常の他の物質が含まれていてもよいと理解すべきである。例えば経口投与に適した製剤は着香料を含んでもよい。

【0272】

例えば、症状によって多少の差はあるものの、本発明のポリペプチドと結合してその活性を制御する化合物の用量は、標準的な成人(体重60 kg)に経口投与する場合、一般に約0.1 mg ~ 約100 mg/日、好ましくは約1.0 mg ~ 約50 mg/日、およびより好ましくは約1.0 mg ~ 約20 mg/日である。

【0273】

標準的な成人(体重60 kg)に注射剤形で非経口投与する場合には、患者、標的器官、症状、および投与方法によって多少の差はあるものの、約0.01 mg ~ 約30 mg/日、好ましくは約0.1 ~ 約20 mg/日、より好ましくは約0.1 ~ 約10 mg/日の用量を静脈内注射することが都合がよい。同様に他の動物の場合においても、体重60 kgに換算した量を投与すること

10

20

30

40

50

が可能である。

【0274】

好ましい単位投与製剤は、下記に引用するように、活性成分またはその適当な分画の有効量を含む。

【0275】

上記の条件のそれぞれに関して、組成物、例えばポリペプチドおよび有機化合物は、約0.1～約250 mg/kg/日の用量範囲で経口または注射によって投与され得る。成人の用量範囲は一般に、約5 mg～約17.5 g/日であり、好ましくは約5 mg～約10 g/日であり、最も好ましくは約100 mg～約3 g/日である。個別の単位で提供される錠剤または他の単位投与剤型は、同一単位量を複数回投与した量で有効性を示すような単位量、例えば約5 mg～約500 mg、より典型的には約100 mg～約500 mgを含む量を都合よく含んでもよい。

【0276】

使用される用量は、対象の年齢および性別、治療する正確な疾患、およびその重症度を含む、いくつかの因子に依存する。投与経路も、条件および重症度によって変動する場合がある。いずれにしても、適切で最適な投与量は、当業者により、上述した要因を考慮した上で慣行的に計算され得る。

【0277】

さらに、本発明は、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子の発現を阻害する有効成分を含む、膀胱癌を治療または予防するための薬学的組成物を提供する。このような有効成分には、C2093、B5860N、もしくはC6055遺伝子に対するアンチセンスポリヌクレオチド、siRNA、もしくはリボザイム、またはアンチセンスポリヌクレオチド、siRNA、もしくはリボザイムの発現ベクターなどの誘導体が含まれる。

【0278】

siRNAのヌクレオチド配列もまた、上記と同じ様式で設計することができる。さらに、C2093、B5860N、またはC6055 mRNAの様々な部分のオリゴヌクレオチドおよびそれらの様々な部分に相補的なオリゴヌクレオチドを、上記と同じ様式で選択することもできる。哺乳動物細胞において発現を阻害するC2093、B5860N、またはC6055 siRNAオリゴヌクレオチドの例には、それぞれSEQ ID NO:21、25、および144を含む標的配列が含まれる。SEQ ID NO:25の標的配列は、2つのB5860N転写産物、B5860NV1およびB5860NV2の間で共有されている。そのため、センス鎖としてSEQ ID NO:25を含むsiRNAは、B5860NV1およびB5860NV2転写産物の両方の発現を阻害し得る。SEQ ID NO:144の標的配列は、4つのC6055転写産物、MGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、および6055V2の間で共有されている。そのため、センス鎖としてSEQ ID NO:144を含むsiRNAは、MGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、および6055V2転写産物のすべての発現を阻害し得る。本発明において、核酸配列がRNAまたはその誘導体である場合には、ヌクレオチド配列において塩基「t」は「u」と置換される必要がある。

【0279】

siRNAは、mRNA転写産物に結合し得る形態で細胞内に直接導入される。または、C2093、B5860N、またはC6055に対するsiRNAを使用するのと同様の様式で、siRNAをコードするDNAをベクター内に含む。さらに、ヘアピンループ構造を形成させる目的で、任意のヌクレオチド配列からなるループ配列を、センス配列とアンチセンス配列との間に配置することができる。したがって、本発明はまた、一般式5'-[A]-[B]-[A']-3'を有するsiRNAを提供する。上記のように、本式中、

[A]は、C2093、B5860N、またはC6055のmRNAまたはcDNAに特異的にハイブリダイズする配列に対応するリボヌクレオチド配列であり、

[B]は、約3～約23ヌクレオチドからなるリボヌクレオチド配列であり、かつ

[A']は、[A]の相補配列からなるリボヌクレオチド配列である。

【0280】

本発明のsiRNAでは、阻害活性を増強する目的で、ヌクレオチド「u」を[A']の3'末端に付加することもできる。付加する「u」の数は、少なくとも約2個、一般的には約2～約10

個、好ましくは約2～約5個である。さらに、23ヌクレオチドからなるループ配列によっても、活性のあるsiRNAが提供される(Jacque, J.-M., et al., (2002) Nature 418: 435-438)。例えば、本発明のヘアピン構造を有する好ましいsiRNAは、以下に示すものである。以下の構造において、ループ配列は、CCC、UUCG、CCACC、CCACACC、およびUUCAAGAGAからなる群より選択され得る。好ましいループ配列は、UUCAAGAGA(DNAでは「ttcaagaga」)である。本発明の文脈での使用に適した例示的なヘアピンsiRNAには、以下のものが含まれる：

C2093-siRNAに関して(GTGAAGAAGTGCGACCGAA/SEQ ID NO:21の標的配列に関して)

5'-gugaagaagugcgaccgaa-[B]-uucggucgcacuuucac-3'(SEQ ID NO:24)、

B5860N-siRNAに関して(CCAAAGTTCCGTAGTCTAA/SEQ ID NO:25の標的配列に関して)

5'-ccaaaguuccguagucuaa-[B]-uuagacuacggaacuuugg-3'(SEQ ID NO:28)および

C6055-siRNAに関して(GTTGCAGTTACAGATGAAG/SEQ ID NO:144の標的配列に関して)

5'-gttgcagt tacagatgaag-[B]-cttcatctgtaactgcaac-3'(SEQ ID NO:147)。

【0281】

これらの有効成分は、誘導体に対して不活性である適切な基剤と混合することにより、リメント剤または湿布剤などの外用剤にすることができる。同様に、必要に応じて、賦形剤、等張剤、可溶化剤、安定化剤、保存剤、鎮痛剤などを添加することにより、これらを、例えば錠剤、粉剤、顆粒剤、カプセル剤、リボソームカプセル剤、注射剤、液剤、点鼻剤、および凍結乾燥剤に製剤化することもできる。これらは従来法に従って調製可能である。

【0282】

有効成分は、罹患部位に直接適用することにより、またはそれが罹患部位に到達するように血管内に注入することにより、患者に投与される。持続性および膜透過性を高めるために、封入剤を用いることもできる。封入剤の例には、リボソーム、ポリ-L-リジン、脂質、コレステロール、リポフェクチン、またはこれらの誘導体が含まれる。

【0283】

本発明のこのような組成物の投与量は、患者の状態に応じて適切に調整することができ、所望の量を用いることができる。例えば、0.1～100 mg/kg、好ましくは0.1～50 mg/kgの用量範囲を投与することができる。本発明の別の態様は、C2093、B5860N、もしくはC6055遺伝子によってコードされるポリペプチドに対する抗体、またはそのようなポリペプチドに結合する抗体の断片を含む、膀胱癌を治療または予防するための組成物である。

【0284】

症状によって多少の差はあるものの、膀胱癌を治療または予防するための抗体またはその断片の用量は、標準的な成人(体重60 kg)に経口投与する場合、約0.1 mg～約100 mg/日、好ましくは約1.0 mg～約50 mg/日、およびより好ましくは約1.0 mg～約20 mg/日である。

【0285】

標準的な成人(体重60 kg)に注射剤形で非経口投与する場合には、患者の状態、疾患の症状、および投与方法によって多少の差はあるものの、約0.01 mg～約30 mg/日、好ましくは約0.1～約20 mg/日、およびより好ましくは約0.1～約10 mg/日の用量を静脈内注射することが都合がよい。同様に他の動物の場合においても、体重60 kgに換算した量を投与することが可能である。

【0286】

本発明の局面を以下の実施例に記載するが、これらは、特許請求の範囲に記載された本発明の範囲を制限するものではない。以下の実施例は、BLC細胞において差次的に発現される遺伝子の同定および特徴づけを説明する。特記しない限り、本明細書で使用する技術用語および科学用語はすべて、本発明が属する技術分野の当業者によって一般に理解される意味と同じ意味を有する。本明細書に記載する方法および材料と類似した、またはそれらと同等である方法および材料を、本発明の実施または試行において使用することも可能であるが、適切な方法および材料は以下に記載するものである。本明細書において引用し

た特許、特許出願、および出版物はいずれも、参照により組み入れられる。

【0287】

実施例

材料および方法

患者、細胞株、組織試料、およびネオアジュバント化学療法

ヒト膀胱癌細胞株HT1197、UMUC3、J82、HT1376、SW780、およびRT4はATCCから入手した。全ての細胞は適切な培地；すなわち、HT1197、UMUC3、J82、およびHT1376に関しては、0.1 mM必須アミノ酸(Roche)、1 mMピルビン酸ナトリウム(Roche)、0.01 mg/mlインスリン(Sigma)を含むEMEM(Sigma、ミズーリ州、セントルイス)；HBL100、COS7に関してはダルベッコー修飾イーグル培地(Invitrogen、カリフォルニア州、カールズバッド)；RT-4に関してはマッコイ5a(sigma)；SW 780に関してはL-15中で培養した。各培地には、10%ウシ胎児血清(Cansera)および1%抗菌/抗真菌溶液(Sigma)を添加した。SW 780細胞は、CO₂を含まない加湿空気の雰囲気中において37℃で維持した。他の細胞株は、5% CO₂を含む加湿空気の雰囲気中において37℃で維持した。

10

【0288】

外科切除された膀胱癌からの組織試料および対応する臨床情報は、各患者が書面によるインフォームドコンセントを提出した後に取得した。膀胱の移行上皮癌であると組織学的に確認された全部で33例の癌試料(女性9名、男性24名；年齢不詳である1名(BC01025)を除き、年齢中央値66.5歳、53~77歳の範囲)(表1)を、本研究用に選択した。UICC TNM分類に従って、臨床病期を判断した。前もって放射線療法を受けることなく根治的膀胱切除術を受けたと予想される、結節転移のないT2aN0M0~T3bN0M0の患者のみを登録した。参加者は、ECOG病期(PS)が2であると判定され、腎機能、肝機能、および血液機能に重篤な異常がないことが必要である。

20

【0289】

(表1) 試験した患者

番号	ID	性別	年齢	病期	グレード
1	BC01001	M	62	T3b	G3
2	BC01004	M	54	T3b	G3
3	BC01007	M	75	T2b	G2>G3
4	BC01009	M	66	T3b	G2
5	BC01010	M	77	T2b	G1
6	BC01011	M	64	T3b	G2>G3
7	BC01012	M	72	T2b	G2>G3
8	BC01013	F	57	T3b	G2
9	BC01014	M	64	T3b	G2
10	BC01015	M	57	T3b	G3
11	BC01016	M	70	T3b	G2
12	BC01017	M	65	T2b	G2
13	BC01018	M	71	T3b	G2
14	BC01019	M	59	T2b	G2
15	BC01020	M	72	T3b	G2
16	BC01021	F	68	T2b	G2
17	BC01022	M	73	T3b	G1>G2
18	BC01023	F	74	T3b	G3
19	BC01024	M	66	T3b	G3
20	BC01025	M	不明	T2b	G2
21	BC01026	M	58	T3b	G3
22	BC01027	M	72	T2b	G2
23	BC01028	M	69	T3a	G2
24	BC01029	F	67	T3a	G3
25	BC01031	M	74	T3b	G2
26	BC01032	F	64	T3b	G3>>G2
27	BC01033	F	68	T3b	G2
28	BC02003	F	53	T3a	G2
29	BC02014	M	56	T3b	G2
30	BC03001	M	53	T3b	G3
31	BC04001	F	70	T3b	G3
32	BC05001	F	73	T3a	G1=G2
33	BC05002	M	60	T3b	G2

10

20

30

40

50

【 0 2 9 0 】

ネオアジュバント化学療法を行う前の生検時に、各患者から3～5片の癌組織を採取した。これらの試料を直ちにTissueTek OCT媒体(サクラ、日本、東京)中に包埋し、凍結して-80℃で保存した。クライオスタット(サクラ、日本、東京)を用いて凍結組織を8μm切片になるようにスライスし、次いで組織学的検査のためにヘマトキシリンおよびエオシンで染色した。パルス紫外線ナロービーム焦点レーザーを用いるEZ-カットシステム(SL Microtest GmbH、ドイツ)を製造業者の手順に従って使用して、本発明者らの実験用に膀胱癌細胞を選択的に濃縮した。胸部X線、腹部および骨盤のコンピュータ断層撮影(CT)および磁気共鳴画像法(MRI)により全患者を検査し、リンパ節転移も遠隔転移もないことを確認した。

【 0 2 9 1 】

RNAの抽出およびT7に基づくRNA増幅

以前に記載されている通りに、マイクロダイセクションした癌細胞の各集団から全RNAを抽出した(Kitahara O, et al., (2001) Cancer Res; 61:3544-9)。RNAの質を保証するため、各症例の残存組織から抽出した全RNAを変性アガロースゲルで電気泳動し、リボソームRNAバンドの存在により質を確認した。全RNAの抽出およびT7に基づくRNA増幅は、RNe

asy Microキット(QIAGEN、米国、カリフォルニア州、バレンシア)を使用したこと以外は以前に記載されている通りに実施した(Okabe H, et al., (2001) Cancer Res; 61:2129-37)。2ラウンドのRNA増幅後に、各試料に関して30~100 µgの増幅RNA(aRNA)が得られた。対照として、正常ヒト膀胱ポリ(A)⁺ RNA(BD Bioscience、カリフォルニア州、パロアルト)を同様に増幅した。鋳型として全RNAを使用するかまたはaRNAを使用するかにかかわらず、マイクロアレイによるデータがRT-PCRによる結果と一致することを、本発明者らは半定量的RT-PCR実験により先に確認しているため(Kitahara O, et al., (2001) Cancer Res; 61:3544-9)、この方法によって増幅されたRNAは、元のRNA供給源における比率を正確に反映している。

【0292】

cDNAマイクロアレイ

スライドガラス上にスポットするcDNAを得るため、以前に記載されている通りに各遺伝子についてRT-PCRを行った(Kitahara O, et al., (2001) Cancer Res; 61:3544-9)。高密度Microarray Spotter Lucidea(GE Healthcare、Amersham Biosciences、英国 バッキンガムシャー)を用いて、PCR産物を7型スライドガラス(GE Healthcare、Amersham Biosciences)上にスポットした；遺伝子9,216個を1枚のスライド上に二つ組でスポットした。異なる3組のスライド(全体で遺伝子スポット27,648個)を調製して、そのそれぞれに同じハウスキーピング遺伝子52個および陰性対照遺伝子2個を同様にスポットした。cDNAプローブは、以前に記載されている方法でaRNAから調製した(Okabe H, et al., (2001) Cancer Res; 61:2129-37)。ハイブリダイゼーション実験のため、各癌組織および対照に由来する増幅RNA(aRNA)9.0 µgを、それぞれCy5-dCTPおよびCy3-dCTP(GE Healthcare、Amersham Biosciences)の存在下で逆転写した。ハイブリダイゼーション、洗浄、およびシグナルの検出は、以前に記載されている通りに実施した(Okabe H, et al., (2001) Cancer Res; 61:2129-37)。

【0293】

シグナルの定量

スポット27,648個からCy3およびCy5のシグナル強度を定量し、ArrayVisionソフトウェア(Imaging Research, Inc., カナダ、オンタリオ州、セントキャサリンズ)を用いて、バックグラウンドを置換してシグナルを解析した。次に、各標的スポットのCy5(腫瘍)およびCy3(対照)の蛍光強度を、ハウスキーピング遺伝子52個の平均Cy5/Cy3比が1となるように調整した。低いシグナル強度に由来するデータは信頼性が低いことから、以前に記載されている通りに各スライドにおいてカットオフ値を決定し(Ono K, et al., (2000) Cancer Res; 60:5007-11)、Cy3およびCy5色素がいずれもカットオフより低いシグナル強度を生じる場合には、さらなる解析から遺伝子を除外した(Saito-Hisaminato A, et al., (2002) DNA Res; 9:35-45)。他の遺伝子に関しては、Cy3またはCy5シグナル強度の一方がカットオフ値よりも低い場合、Cy5/Cy3比が極端に高いかまたは低い測定値を提供して、偽予測遺伝子が選択されることになるため、各試料の生データを用いて相対的発現比としてCy5/Cy3を計算する以前の方法を修正した。そのようなバイアスを低減するため、Cy3またはCy5シグナル強度の一方がカットオフ値よりも低い場合には、各カットオフ値の半分に加えて各試料のCy5およびCy3シグナル強度を用いて、Cy5/Cy3比を計算した。

【0294】

膀胱癌において上方制御または下方制御される遺伝子の同定

以下の基準に従って、膀胱癌に共通して上方制御または下方制御される遺伝子を同定および解析した。まず、50%を超える症例についてその相対的発現比を計算することができ、かつ50%を超える症例においてその発現が上方制御または下方制御される遺伝子を選択した。さらに、35~50%の症例について相対的発現比を計算することができる場合には、80%の症例で上方制御または下方制御される遺伝子も評価した。各遺伝子の相対的発現比(Cy5/Cy3強度比)を、以下のような4つのカテゴリーの1つに分類した：(1) 上方制御される(発現比は5.0より大きい)；(2) 下方制御される(発現比は0.2未満)；(3) 発現に変化なし(発現比は0.2~5.0)；および(4) 発現されない(またはわずかに発現されるが、検出のカッ

10

20

30

40

50

トオフレベル未満である)。これらのカテゴリーを用いて、発現比の変化が試料間で共通していると同時に、特定のサブグループに特異的である一組の遺伝子を検出した。膀胱癌細胞において一般に上方制御または下方制御される候補遺伝子を検出するため、遺伝子27,648個の全体的な発現パターンをスクリーニングして、5.0よりも大きいかまたは0.2より小さい発現比を有する遺伝子を選択した。腫瘍細胞で上方制御されと考えられる全部で394個の遺伝子のうち、情報のある膀胱癌症例の50%を超える症例において発現比が5.0を超え、正常ヒト組織の発現プロファイルを介して心臓、肺、肝臓、および腎臓を含む正常器官において低い発現を示すという理由で、施設内同定番号C2093、B5860N、およびC6055を有する遺伝子に注目した。

【0295】

10

半定量的RT-PCR

上方制御された遺伝子44個を選択して、半定量的RT-PCR実験を適用することによりそれらの発現レベルを調べた。各試料からのaRNAのアリコート3 μ gを、ランダムプライマー(Roche)およびSuperscript II(Invitrogen)を用いて逆転写し、一本鎖cDNAを得た。各cDNA混合物を希釈し、次いで標的DNAまたはGAPDH特異的反応用に調製した同じプライマーセットを用いてPCR増幅した。図1aのRT-PCRに使用したプライマー配列を表2に記載する。図1bおよび1cのRT-PCRに使用したPCRプライマー配列は以下の通りである：

C2093用の

5'-TGCTGGTTCAGAACGAACTATG-3' (SEQ ID NO:9)および

5'-TCCTCGTGGCTAATGAAAGC-3' (SEQ ID NO:10)、

B5860N V1およびV2の共通配列用の

5'-GCTACAAGTAAAGAGGGGATGG-3' (SEQ ID NO:11)および

5'-GGACAGAAAGGTAAGTCAGTGGG-3' (SEQ ID NO:12)。

GAPDHの発現を内部対照とした。PCR反応は、産物強度が増幅の直線相の範囲内に入るように、サイクル数を最適化した(表2)。

【0296】

(表2) 図1aのRT-PCR用のプライマー配列

20

LMMID	フォワードプライマー	SEQ ID NO	リバースプライマー	SEQ ID NO	PCR
B5860N	5'-ATTGTGGGAATGCACAGG TT-3'	37	5'-GGACAGAAAGGTAA GTCAGTGGG-3'	12	56d 25cy
B0811	5'-GATGTACATATGAGGATT TCCCG-3'	38	5'-GTCAGTGCACATAAT TCCAATAGC-3'	39	56d 25cy
C2093	5'-TTCTAGCTCCTCAACCAA ATCCT-3'	40	5'-CCGGGAAAGTAAACT GACTCAC-3'	41	56d 25cy
F6022	5'-TCTCTTGAGGGCTGCTTTG T-3'	42	5'-TCATCCACTGAAATA CCTGGCTT-3'	43	56d 25cy
F7562	5'-TGGCCATATCAGTTCCAA CA-3'	44	5'-CTTTGGCATAGCAGC CTGAACT-3'	45	56d 25cy
F4976	5'-GGAGAATGAGCTGGATCA GG-3'	46	5'-ATGCTGCAATTCCCA AATCTCT-3'	47	56d 25cy
F6193	5'-AACTCATTGTGTGGCTGT GC-3'	48	5'-CATCACAATCCTGGG AATTCAG-3'	49	56d 25cy
F7409	5'-TCCTGAGGGCCATTTACT CA-3'	50	5'-TGCATCCAGTAGCTA TTCAGCAA-3'	51	56d 25cy
C6055	5'-TCCAGTTGGTTACTCAGT GTTTG-3'	52	5'-CTGTCATGTGCTCAT GTGAGTTT-3'	53	56d 25cy
D5491	5'-CGTCGACAATATAAACAG GGA-3'	54	5'-CGAGCACAAGATAAT TTTTCCC-3'	55	56d 25cy
C5088	5'-GCAAGTCAGTGCCTAGAT GGATA-3'	56	5'-AAAAATTGAGTGTGT CTCGGTG-3'	57	56d 25cy
D7746	5'-TACAGAGAGGATGGGATT GTGTT-3'	58	5'-CCTAGCAGTTGTTAG AGGCAGAA-3'	59	56d 25cy
A0303	5'-GGGCTTTTAATTTGTGAA CTTCTG-3'	60	5'-TGAAATAGTCTGGCC ATTTGAC-3'	61	56d 25cy
C6865	5'-GTCCCAGACAACAGAAGT TACCA-3'	62	5'-AATTTCTCAGAGCT CACATACG-3'	63	56d 25cy
F0411	5'-TTTATATTGTGCCATGCAG TCC-3'	64	5'-ACCAGGATCACAGAG AGCTTGA-3'	65	56d 25cy

10

20

30

A8295	5'-TCAGAGTGAGGACTCATT TATCATTT-3'	66	5'-CACAGGGCAGGTTTT GATTTAT-3'	67	56d 25cy	10
F4025	5'-CCCCTTCAGTGAGCCTCA TA-3'	68	5'-TGAAATTGACCTGGT AGAGCCTT-3'	69	56d 30cy	
B2879N	5'-TGTGTTTTCTTTTGGCACC AT-3'	70	5'-TTACTCCTGGCAAGC TGTGAG-3'	71	56d 30cy	
A0576N	5'-ATATCAGCATCACGGCAC AA-3'	72	5'-GTATGATGTAGCTGA GGTCCGTG-3'	73	56d 30cy	
F6507	5'-TGCTGGCTAACTAAAGAA GATGC-3'	74	5'-AAATGAGGCCATTCT GTTGAGA-3'	75	56d 30cy	
F1653	5'-TGAGATTCTGGAGAGTGA ATGC-3'	76	5'-TCAGATGTTGTAGCA GGGACTTT-3'	77	56d 30cy	
C2210	5'-CATTTCTTTATAGTTGCCT CCCC-3'	78	5'-TTTTGGGTCAGCACT GACAAT-3'	79	56d 30cy	
C7757	5'-GTCTTGGAGGAGCAGATT CCA-3'	80	5'-CTACAATTTATTTCCG AGTCCCC-3'	81	56d 30cy	
F5981	5'-CCTCAAGGCCATTGATGT AAA-3'	82	5'-ATGGTAACCATGA CCCACTG-3'	83	56d 25cy	
B9838	5'-AGATAAATCATGACAAGG TCCCC-3'	84	5'-GCCTTTTGCTTCTTCT GTCTTCT-3'	85	56d 28cy	20
F6910	5'-TTGGTGTAGCACCACACT GG-3'	86	5'-GCATGACTCAGGGAA GGGTATT-3'	87	56d 30cy	
D7443	5'-AATGGCATGATCTTGTGT GAAG-3'	88	5'-AGATCACTGTGGGTC TTAAGCAA-3'	89	56d 25cy	
C5509	5'-TCTACACCACAGAAAGCA AGTCA-3'	90	5'-TACCTGAGGAAATTC CCGTTACT-3'	91	56d 25cy	
A8407	5'-ATAGGGATAATGGCCTCC AATTC-3'	92	5'-CTCGCACCTAATAAT CTGGTCTC-3'	93	56d 28cy	
B6283	5'-TGTGTCTCATCTGTGAACT GCTT-3'	94	5'-TTCGTGTTACGGTAT ATCCTGCT-3'	95	56d 25cy	
D9407	5'-CCCTAAAGAGTGAGTTTT CCACA-3'	96	5'-AAAGGTATTTTCCTG CAGTAGCC-3'	97	56d 25cy	
B2426	5'-GGGCCAGTATGTGTAAC GACAT-3'	98	5'-TCAGACATCTGCTGA CTACAGGA-3'	99	56d 25cy	
C1898	5'-CAACGAGAGCAAAACTCC AATAC-3'	100	5'-ATAGGGTTTTGCAGT AGGGAGAG-3'	101	56d 25cy	
A7343N	5'-CACATGGTGACCACAGTG CAT-3'	102	5'-AGAGGGTGAGGGCTT TCATCT-3'	103	56d 25cy	40
D8150	5'-CTTGCTATTGTCAGGTTTT GGTG-3'	104	5'-CACTGCATTTACTGCT TTTGGA-3'	105	56d 25cy	
C7747	5'-AGGAGAGGGAGAAATCTT AGCAA-3'	106	5'-CCAGTTGTATGCCAA CATACTCA-3'	107	56d 27cy	
F7016	5'-CAGGATTCCAAATGTCAG TGAG-3'	108	5'-CCTGCCATTGTCTTTC AGGTTT-3'	109	56d 25cy	

A8317N	5'-CCTATCACAGACGGAAAT CCC-3'	110	5'-TAGGGCAGTTTCCTG TGTTCCCT-3'	111	56d 25cy
F6225	5'-TGCTCTGTACATGCCTCTG C-3'	112	5'-GCACCCAGAAGGACT TGCTATT-3'	113	56d 25cy
D6311	5'-CTTCAGAGTGGGTTGGAA AAAT-3'	114	5'-TAGTGTGTAATGCGA TCCTGTGA-3'	115	56d 30cy
C6902	5'-CACTGTGGCAAGATTGCT CT-3'	116	5'-TACATCACAGCCTTG TTCTTTCC-3'	117	56d 25cy
F6333	5'-AAGCGGTCCACAGTCCAA TA-3'	118	5'-TCACATTGGAGGATA GCTGGAA-3'	119	56d 30cy
F7636	5'-GAAGTTTCCTGAGGCTCC AA-3'	120	5'-GCCCACAAGAGAAGG TAGAGGA-3'	121	56d 25cy
F2376	5'-TCCTCTGTCGGTAGCTGTC A-3'	122	5'-ACCCTTCATGTTTCTA GGGCTG-3'	123	56d 25cy
GAPDH	5'-CGACCACTTTGTCAAGCT CA-3'	7	5'-GGTTGAGCACAGGGT ACTTTATT-3'	8	56d 20cy

10

【 0 2 9 7 】

ノーザンプロット解析

ノーザンプロットを、それぞれRT-PCRにより調製したA0576N、C2093、C5509、B5860N、F1653、B9838、およびC6055の[$\alpha^{32}\text{P}$]-dCTP標識増幅産物とハイブリダイズさせた(表3)。C6055の特異的プローブは、以下のようなプライマーセットを用いてPCRにより調製した：C6055のマイクロアレイプローブ用の

5'-CCCCAGTTGAGAGTTTGCTC-3' (SEQ ID NO:137)および

5'-CTGTCATGTGCTCATGTGAGTTT-3' (SEQ ID NO:53)、

C6055の4つの転写産物間の共通領域用の

5'-TGACATCGGGATTCAGACTAA-3' (SEQ ID NO:138)および

5'-AAAGATGCTGGTCCTTGTGC-3' (SEQ ID NO:139)。

製造業者の説明書に従ってTRIzol試薬(Invitrogen)を使用し、すべての膀胱癌細胞株および凍結外科標本から全RNAを抽出した。DNase I(ニッポンジーン、日本、大阪)で処理した後、製造業者の説明書に従ってMicro-FastTrack(Invitrogen)を用いてmRNAを単離した。各mRNAとともに正常成人ヒト心臓、肺、肝臓、腎臓、脳、脾臓、精巣、および膀胱から単離されたポリA(+) RNA(Clontech、カリフォルニア州、パロアルト)のアリコート1 μg を1%変性アガロースゲルで分離し、ナイロン膜に転写した。プレハイブリダイゼーション、ハイブリダイゼーション、および洗浄は、供給業者の推奨に従って行った。プロットのオートラジオグラフィーは、増感スクリーンを用いて-80℃で14日間行った。

30

【 0 2 9 8 】

(表3) RT-PCRによるノーザンプローブ作製のプライマー配列

	配列	SEQ ID NO
C2093_F2	5'-TGCTGGTTCAGAACGAACTATG-3'	9
C2093_R2	5'-TCCTCGTGGCTAATGAAAGC-3'	10
B5860N_F2	5'-AGGCAGGCAACTTTCATTTG-3'	13
B5860N_RT	5'-GGACAGAAAGGTAAGTCAGTGGG-3'	12
A0576N_FT	5'-GTCCCTCATGCCATCACAGTAT-3'	124
A0576N_RT	5'-GTATGATGTAGCTGAGGTCCGTG-3'	73
F1653_F1	5'-AGCAGAGGCTGAGCAAAGAG-3'	125
F1653_R1	5'-CCCCAGTTTCTGGAATGCTA-3'	126
C5509_F1	5'-AGCGGAGTTCATAAGCCAAA-3'	127
C5509_R1(RT)	5'-TACCTGAGGAAATTCCTGTTACT-3'	91
B9838_F2-RT	5'-TCAAGGGACAATGGTGTGAC-3'	128
B9838_RT	5'-GCCTTTTGCTTCTTCTGTCTTCT-3'	85
C6055_F1	5'-CCCCAGTTGAGAGTTTGCTC-3'	137
C6055_R1	5'-CTGTCATGTGCTCATGTGAGTTT-3'	53
C6055_F2	5'-TGACATCGGGATTACAGACTAA-3'	138
C6055_R2	5'-AAAGATGCTGGTCCTTGTGC-3'	139

10

【 0 2 9 9 】

5' RACEおよび3' RACE

20

B5860NおよびC6055の5'末端および3'末端の配列を、SMART(商標) RACE cDNA増幅キット(Clontech)を用いて、cDNA末端の5'迅速増幅(5' RACE)およびcDNA末端の3'迅速増幅(3' RACE)を行うことにより決定した。増幅用に膀胱癌細胞株、SW780細胞からcDNA鋳型を合成し、5' RACE用のB5860N特異的リバースプライマー

5'-CATTTTCTGATCCCCACCTCCCTTTG-3' (SEQ ID NO:14)

、C6055特異的リバースプライマー

C6055_GSP1; 5'-GATCCAAATGCTAGGGATCCTGTGTG-3' (SEQ ID NO:140)および

C6055_NGSP1; 5'-CCTGTGTGATATCGTATGGCTCGTCCA-3' (SEQ ID NO:141)、

ならびに3' RACE用のB5860N特異的フォワードプライマー

5'-AGAGGGGATGGGGAAGGTGTTGC-3' (SEQ ID NO:15)、

30

ならびにキット中に供給されるAP1プライマーを用いてPCRを行った。

【 0 3 0 0 】

発現ベクターの構築

C2093、B5860N、およびC6055 cDNAの全コード配列を、KOD-Plus DNAポリメラーゼ(東洋紡、日本、大阪)を使用して以下のプライマーでPCRすることにより増幅した：

C2093- フォワード、

5'-ATAAGAATGCGGCCGCAATGGAATCTAATTTTAATCAAGAGG-3' (SEQ ID NO:16)(下線はNotI部位を示す)および

C2093- リバース、

5'-ATAAGAATGCGGCCGCTTTGGCTGTTTTTGTTCGA-3' (SEQ ID NO:17)(下線はNotI部位を示す)、

40

B5860NV1- フォワード、

5'-ATAAGAATGCGGCCGCTATGGAGAGTCAGGGTGTGC-3' (SEQ ID NO:18)(下線はNotI部位を示す)

および

B5860NV1- リバース、

5'-CCGCTCGAGTCTTAGACTACGGAACCTTTGGT-3' (SEQ ID NO:19)(下線はXhoI部位を示す)、

B5860NV2- フォワード、

5'-GGAATTCATGGAGAGTCAGGGTGTG-3' (SEQ ID NO:20)(下線はEcoRI部位を示す)および

B5860NV2- リバース、

5'-CCGCTCGAGTCTTAGACTACGGAACCTTTGGT-3' (SEQ ID NO:19)(下線はXhoI部位を示す)、

C6055- フォワード、

50

5'-AGAATTCATGATCTTCCTACTGTGTATTATTGGC-3' (SEQ ID NO:142) (下線はEcoRI部位を示す) および

C6055-リバー、

5'-TATCTCGAGCTGCTTCCTAGTTTGTGGATTTTC-3' (SEQ ID NO:143) (下線はXhoI部位を示す)。PCR産物を、pCAGGSnHA発現ベクターのそれぞれEcoRIおよびXhoI、ならびにNotI部位に挿入した。これらの構築物は、DNAの配列決定により確認した。

【0301】

ウェスタンブロットング解析

FuGENE 6トランスフェクション試薬(Roche)を製造業者の説明書に従って使用して、COS7細胞にそれぞれ1 μ gのpCAGGS-C2093-HA、pCAGGS-B5860NV1-HA、pCAGGS-B5860NV2-HA、またはpCAGGS-C6055-HAを一過的にトランスフェクトした。細胞溶解液を10% SDSポリアクリルアミドゲル(pCAGGS-C2093-HA、pCAGGS-B5860NV1-HA、pCAGGS-B5860NV2-HAトランスフェクト細胞に関して)または7.5% SDSポリアクリルアミドゲル(pCAGGS-C6055-HAトランスフェクト細胞に関して)で分離し、ニトロセルロース膜に転写し、次いで1/1000希釈の一次抗体としてのマウス抗HA抗体(Roche)と共にインキュベートした。二次抗体としてのヒツジ抗マウスIgG-HRP(Amersham Biosciences)と共にインキュベートした後、ECLキット(Amersham Biosciences)を用いてシグナルを可視化した。

【0302】

膀胱癌細胞における外因性C2093、B5860N、およびC6055タンパク質を検出するための免疫細胞化学染色

外因性C2093、B5860NV1およびB5860NV2、またはC6055の細胞内局在を調べるため、COS7細胞を全3つの構築物のためにウェル当たり 1×10^5 細胞で播種した。24時間後、FuGENE 6トランスフェクション試薬(Roche)を製造業者の説明書に従って用いて、COS7細胞にそれぞれ1 μ gのpCAGGS-C2093-HA、pCAGGS-B5860NV1-HA、pCAGGS-B5860NV2-HA、またはpCAGGS-C6055-HAを一過的にトランスフェクトした。次いで、細胞は15分間4%パラホルムアルデヒドを含むPBSを用いて固定され、4 で2.5分間0.1% Triton X-100を含むPBSを用いて透過性を与えられた。続いて、細胞を4 で12時間3% BSAのPBS溶液で被覆し、非特異的ハイブリダイゼーションをブロッキングした。次に、トランスフェクトして構築した各COS7細胞を、1/1000希釈のマウス抗HA抗体(Roche)と共にインキュベートした。PBSで洗浄した後、いずれのトランスフェクト細胞も、1/3000希釈のAlexa488結合抗マウス二次抗体(Molecular Probe)により染色した。4',6-ジアミジノ-2-フェニルインドール二塩酸(DAPI)で核を対比染色した。TCS SP2 AOBST顕微鏡(ライカ、日本、東京)下で蛍光像を取得した。

【0303】

同期化およびフローサイトメトリー解析

FuGENE 6(Roche)を供給業者の手順に従って用いて、HeLa細胞(1×10^6 細胞)に8 μ gのpCAGGS-C2093-HA、またはpCAGGS-B5860NV1-HA、pCAGGS-B5860NV2-HAをトランスフェクトする。トランスフェクションの24時間後、アフイディコリン(1 ng/ml)をさらに16時間作用させて、細胞をG1期で停止させる。新鮮な培地で3回洗浄することにより細胞周期を解除し、示した時点で細胞を回収する。細胞を分裂期で停止させるには、細胞をノコダゾール(250 ng/ml)と共に16時間インキュベートしてから、これを回収する。

【0304】

FACS解析のため、同期化した接着細胞および脱離細胞のアリコート400 mlを混合し、4、70%エタノールで固定した。PBS(-)で2回洗浄した後、RNase I 1 mgを含むPBS 1 mlと共に細胞を37 で30分間インキュベートした。次いで、細胞をヨウ化プロピジウム(PI) 50 mgを含むPBS 1 ml中で染色した。細胞周期の各画分の割合は、フローサイトメーター(FACScalibur; Becton Dickinson、カリフォルニア州、サンディエゴ)で少なくとも10000個の細胞から決定した。

【0305】

psiU6X3.0を用いたC2093、B5860N、およびC6055特異的siRNA発現ベクターの構築

以前の報告(WO2004/076623)に従ってpsiU6BX siRNA発現ベクターを用いて、ベクターに

基づくRNAiシステムを確立した。psiU6BXベクターのBbsI部位に二本鎖オリゴヌクレオチドをクローニングすることにより、C2093(psiU6BX-C2093)、B5860N(psiU6BX-B5860N)、C6055(psiU6BX-C6055)に対するsiRNA発現ベクター、および対照プラスミド、psiU6BX-EGFP、psiU6BX-SCRを調製した。二本鎖オリゴヌクレオチドのヌクレオチド配列を以下に示す。

標的配列、GTGAAGAAGTGCGACCGAA (SEQ ID NO:21)に対するC2093si#3
センス(SEQ ID NO:22) :

5'-CACCGTGAAGAAGTGCGACCGAATTCAAGAGATTCGGTCGCACTTCTTCAC-3'

アンチセンス(SEQ ID NO:23) :

5'-AAAAGTGAAGAAGTGCGACCGAATCTCTTGAATTCGGTCGCACTTCTTCAC-3'

10

標的配列、CCAAAGTTCCGTAGTCTAA (SEQ ID NO:25)に対するB5860Nsi#3
センス(SEQ ID NO:26) :

5'-CACCCCAAAGTTCCGTAGTCTAATTCAAGAGATTAGACTACGGAACCTTTGG-3'

アンチセンス(SEQ ID NO:27) :

5'-AAAACCAAAGTTCCGTAGTCTAATCTCTTGAATTAGACTACGGAACCTTTGG-3'

標的配列、GTTGCAGTTACAGATGAAG (SEQ ID NO:144)に対するC6055si-08
センス(SEQ ID NO:145) :

5'-CACCGTTGCAGTTACAGATGAAGTTCAAGAGACTTCATCTGTAAGTCAAC-3'

アンチセンス(SEQ ID NO:146) :

5'-AAAAGTTGCAGTTACAGATGAAGTCTCTTGAAGTTCATCTGTAAGTCAAC-3'

20

標的配列、GAAGCAGCAGCACTTCTTC (SEQ ID NO:29)に対するsiRNA対照(SiEGFP)
センス(SEQ ID NO:30) :

5'-CACCGAAGCAGCAGCACTTCTTCTTCAAGAGAGAAGAAGTCGTGCTGCTTC-3'

アンチセンス(SEQ ID NO:31) :

5'-AAAAGAAGCAGCAGCACTTCTTCTTCTTGAAGAAGAAGTCGTGCTGCTTC-3'

標的配列、GCGCGCTTTGTAGGATTCG(SEQ ID NO:33)に対するsiRNA対照(SiSCR)
センス(SEQ ID NO:34) :

5'-CACCGCGCGCTTTGTAGGATTCGTTCAAGAGACGAATCCTACAAAGCGCGC-3'

アンチセンス(SEQ ID NO:35) :

5'-AAAAGCGCGCTTTGTAGGATTCGTTCAAGAGACGAATCCTACAAAGCGCGC-3'

30

【 0 3 0 6 】

これらのsiRNA発現ベクターは、以下のようなヌクレオチド配列からなるヘアピン構造を有するsiRNAを発現する :

C2093 si#3 : GTGAAGAAGTGCGACCGAATTCAAGAGATTCGGTCGCACTTCTTCAC (SEQ ID NO:24)、

B5860N si#3 : CCAAAGTTCCGTAGTCTAATTCAAGAGATTAGACTACGGAACCTTTGG (SEQ ID NO:28)、

C6055 si-08 GTTGCAGTTACAGATGAAGTTCAAGAGACTTCATCTGTAAGTCAAC (SEQ ID NO:147)、

EGFP対照 : GAAGCAGCAGCACTTCTTCTTCAAGAGAGAAGAAGTCGTGCTGCTTC (SEQ ID NO:32)、および

SCR対照 : GCGCGCTTTGTAGGATTCGTTCAAGAGACGAATCCTACAAAGCGCGC (SEQ ID NO:36)。

【 0 3 0 7 】

C2093、B5860N、およびC6055の遺伝子サイレンシング効果

40

ヒト膀胱癌細胞株、C2093およびB5860Nに関するUMUC3およびJ82、またはC6055に関するSW780を10cmディッシュにプレATINGし(1×10⁶細胞/ディッシュ)、C2093およびB5860Nに関してはFuGENE6(Roche)およびLipofectamine2000(Invitrogen)試薬、またはC6055に関してはNucleofector(Amaxa)試薬をそれぞれ供給業者の推奨に従って使用して、陰性対照としてのpsiU6BX-EGFPおよびpsiU6BX-SCR、psiU6BX-C2093、psiU6BX-B5860N、またはpsiU6BX-C6055をトランスフェクトした。各構築物のトランスフェクションの6日後に全RNAを細胞から抽出し、次いで上記のC2093、B5860N、およびC6055の共通領域の特異的プライマーを用いる半定量的RT-PCRにより、siRNAのノックダウン効果を確認した。内部対照としてのGAPDHおよびACTBのプライマーは以下の通りである :

GAPDH

50

5'-CGACCACTTTGTCAAGCTCA-3' (SEQ ID NO:7)および
5'-GGTTGAGCACAGGGTACTTTATT-3' (SEQ ID NO:8)、
ACTB
5'-CATCCACGAACTACCTTCAACT-3' (SEQ ID NO:148)
5'-TCTCCTTAGAGAGAAGTGGGGTG-3' (SEQ ID NO:149)。

【0308】

さらに、UMUC3、J82、およびSW780細胞株を用いた、siRNAを発現するトランスフェクタントを、それぞれ0.6、1.0、および0.3 mg/mlのネオマイシンを含む選択培地中で21、28、および24日間培養した。4%パラホルムアルデヒドで固定した後、トランスフェクト細胞をギムザ液で染色して、コロニー形成を評価した。細胞生存度を定量するためにMTTアッセイを行った。ネオマイシンを含む培地中でそれぞれ21日間および28日間培養した後、MTT溶液(3-(4,5-ジメチルチアゾール-2-イル)-2,5-ジフェニルテトラゾリウムブロマイド)(Sigma)を0.5 mg/mlの濃度で添加した。37℃で2.5時間または1.5時間インキュベートした後、酸-SDS(0.01N HCl/10% SDS)を添加した；紺青色の結晶を溶解させるために、この懸濁液を激しく混合し、次いで37℃で一晩インキュベートした。570 nmでの吸光度をMicroplate Reader 550(BioRad)で測定した。

10

【0309】

C2093-siRNAによる多核細胞の観察

FuGENE6(Roche)を用いてUMUC3細胞に陰性対照としてのsi-EGFPおよびsi-C2093をトランスフェクトした後、培養して、トランスフェクションの7日後にそれらの細胞形態を顕微鏡で観察した。C2093タンパク質発現の抑制をさらに確認するため、標準的な手順に従って抗C2093抗体を用いてウェスタンブロッティングを行った。

20

【0310】

抗C2093抗体および抗B5860N抗体

COOH末端においてHisタグを含むC2093(1612~1780 a.a.)(SEQ ID NO:150)、およびB586ONV2(337~527 a.a.)またはB586ONV1(621-811 a.a.)(SEQ ID NO:151)の部分断片を発現するプラスミドを、それぞれpET21ベクターを用いて調製した。組換えタンパク質を大腸菌、BL21コドン-プラス株(Stratagene、カリフォルニア州、ラホーヤ)で発現させ、Ni-NTA樹脂およびTALONを用いて供給業者の手順に従って精製した。これらのタンパク質をウサギに接種した。標準的な手順に従って、免疫血清をアフィニティーカラムで精製した。アフィニティー精製した抗C2093抗体および抗B5860N抗体を、ウェスタンブロッティング、免疫沈降、および免疫染色に使用した。

30

【0311】

膀胱癌細胞における内因性C2093およびB5860Nタンパク質を検出するための免疫細胞化学染色

内因性C2093またはB5860Nの細胞内局在を調べるため、C2093またはB5860Nを内因的に発現するUMUC3細胞をそれぞれウェル当たり 1×10^5 細胞で播種した。24時間後、細胞は15分間4%パラホルムアルデヒドを含むPBSを用いて固定され、4℃で2分間0.1% Triton X-100を含むPBSを用いて透過性を与えられた。続いて、細胞を4℃で12時間3% BSAのPBS溶液で被覆し、非特異的ハイブリダイゼーションをブロッキングした。次に、UMUC3細胞を、1/100希釈のアフィニティー精製した抗C2093抗体または抗B5860N抗体と共にインキュベートした。4',6'-ジアミジン-2'-フェニルインドール二塩酸(DAPI)で核を対比染色した。PBSで洗浄した後、UMUC3細胞を1/1000希釈のAlexa488結合抗ウサギ二次抗体(Molecular Probe)により染色した。共焦点顕微鏡(ライカ、日本、東京)下で蛍光像を取得した。

40

【0312】

正常組織または膀胱癌組織における内因性C2093およびB5860Nタンパク質を検出するための免疫組織化学染色

パラフィン包埋された正常成人ヒト組織(BioChain、カリフォルニア州、ヘイワード)および外科的膀胱癌標本のスライドを、それぞれ切片を脱パラフィン処理し、抗C2093抗体を用いて高pHを有する抗原回復溶液(DAKO)中で電子レンジにより80℃で5分間加熱するか

50

、または切片を脱パラフィン処理し、抗B5860N抗体を用いて高pHを有する抗原回復溶液(DAKO)中で108℃で15分間オートクレーブした後に、ENVISION+キット/HRP(DakoCytomation、デンマーク、グロストラップ)を用いて染色した。内因性のペルオキシダーゼおよびタンパク質をブロッキングした後、これらの切片を、1/20希釈のアフィニティー精製した抗C2093抗体または抗B5860N抗体と共にインキュベートした。ペルオキシダーゼ標識抗ウサギ免疫グロブリン(Envisionキット、Dako Cytomation、カリフォルニア州、カーピンテリア)を用いて、免疫検出を行った。最終的に、反応物を3,3'-ジアミノベンジン(Dako)で発色させ、細胞はヘマトキシリンで対比染色した。

【0313】

結果

膀胱癌の正確な発現プロファイルを得るため、LMMを用いて膀胱癌細胞のみを収集した。この手順によって選択された癌細胞の比率は、顕微鏡による可視化で判定してほぼ100%であると推定された(データは示していない)。

【0314】

発現比が5.0を超える上方制御遺伝子394個が同定された(表4)。これらの遺伝子には、膀胱癌細胞において過剰発現される、機能的に特徴づけられた遺伝子288個が含まれ、その他の106個(EST 51個を含む)は現時点では未知であった。これらの上方制御される要素には、シグナル伝達経路、癌遺伝子、細胞周期、ならびに細胞接着および細胞骨格に関連する重要な遺伝子が含まれていた。一方で、発現比が0.2よりも低い下方制御遺伝子1272個が同定された(表5)。これらの下方制御遺伝子には、膀胱癌細胞において下方制御される、機能的に特徴づけられた遺伝子1026個が含まれ、その他の246個(EST 119個を含む)は未知であった。

【0315】

膀胱癌において上方制御されるこれらの遺伝子の発現パターンを確認するため、膀胱癌細胞株、ならびに正常膀胱および正常移行細胞を含む正常ヒト組織を用いて、半定量的RT-PCR解析を行った。情報のある全症例の大部分において発現が過剰発現された上方制御遺伝子44個の発現レベル比を比較したところ、その結果は、試験した症例の大多数においてマイクロアレイ解析の結果と非常に類似していた(図1)。特に、B5860N、B0811、C2093、F6022、F4976、D5491、F0411、D7746、A0576N、F1653、C2210、C7757、およびD7443はまた、正常重要器官において発現を示さなかった。これらのデータから、膀胱癌細胞において一般に上方制御される遺伝子を同定するための本発明者らの戦略の信頼性が検証された。

【0316】

これらの上方制御遺伝子、A0576N、C2093、C5509、B5860N、F1653、B9838、およびC6055の発現パターンをさらに調べるため、表3に記載の各プライマーセットを用いてRT-PCRにより調製したA0576N、C2093、C5509、B5860N、F1653、B9838、およびC6055の各 $[\alpha^{32}\text{P}]$ -dCTP標識増幅産物をそれぞれのプローブとして用いて、膀胱癌細胞株でノーザンブロット解析を行った(図2)。それらはいずれも、やはり、膀胱癌細胞株において正常膀胱における発現よりも非常に高い発現を示した。特に、A0576N、C2093、B5860N、B9838、およびC6055は膀胱癌細胞株において特異的に過剰発現され、正常膀胱を含む正常ヒト組織では発現されていなかった。以上のことから、これらの特異的に過剰発現される遺伝子が分子標的療法の良好な候補となり得ることが示唆される。

【0317】

(表4) 膀胱癌において上方制御される遺伝子

10

20

30

40

BLC 割当	LMMID	アクセッション	遺伝子	名称
1	C3760	BC008718	BIRC5	バキュロウイルス IAP 反復含有 5 (サバイビン)
2	D9621	NM_178229	IQGAP3	IQ モチーフ含有 GTP アーゼ活性化タンパク質 3
3	F1653	BC011621	HOOK1	hook 相同体 1 (ショウジョウバエ)
4	C8776	AA766028	AF15Q14	AF15q14 タンパク質
5	F6507	AL046246	PGAP1	GPI デアシラーゼ
6	F3374	AF195765	RAMP	RA 調節性核マトリックス結合タンパク質
7	A3555	K02581	TK1	チミジンキナーゼ 1、可溶性
8	C5005	BX648571	FLJ38736	仮想タンパク質 FLJ38736
9	D0006	NM_145697	CDCA1	細胞分裂周期関連 1
10	B8706	R52614	CDK5R1	サイクリン依存性キナーゼ 5、調節サブユニット 1 (p35)
11	A4693	U42408	LAD1	ラジニン (ladinin) 1
12	E0388	BC033193	MGC30208	仮想タンパク質 MGC30208

13	B8882	BC005832	KIAA0101	KIAA0101
14	D4920	AI247180	GUCY1B2	グアニル酸シクラーゼ 1、可溶性、 β 2
15	F2861	CR598555	KIF20A	キネシンファミリーメンバー20A
16	E1412	AI989840		
17	E1349	BC041395		ヒト (Homo sapiens)、diaphanous 相同体 3 (ショウジョウバエ) に類似、クローン IMAGE:5277415、mRNA
18	A3243	CR624652	TTK	TTK プロテインキナーゼ
19	E1138	AF318349	LEMD2	LEM ドメイン含有 2
20	B0259	AA234962	PKP3	プラコフィリン 3
21	A2921	NM_002391	MDK	ミッドカイン (神経突起成長促進因子 2)
22	A3058	NM_202002	FOXM1	フォークヘッドボックス M1
23	B5904	BC008947	C10orf3	第 10 染色体オープンリーディングフレーム 3
24	D6767	BM312795		転写遺伝子座
25	A4388	NM_001988	EVPL	エンボプラキン
26	D4636	AF370395	EPS8L1	ESP8 様 1
27	B4587	AB096683	MGC57827	RIKEN cDNA 2700049P18 遺伝子に類似
28	A1618	X70683	SOX4	SRX (性決定領域 Y) ボックス 4
29	F6022	AK022479	HDHD1A	ハロ酸デハロゲナーゼ様加水分解酵素 ドメイン含有 1A
30	A0061	AF053306	BUB1B	BUB1 ベンズイミダゾール非抑制性出芽 1 (budding uninhibited by benzimidazoles 1) 相同体 β (酵母)
31	E2104	CN280172		cDNA クローン IMAGE:4734740、部分 cds
32	A2254	NM_006845	KIF2C	キネシンファミリーメンバー2C
33	B8870	NM_018685	ANLN	アニリン、アクチン結合タンパク質 (scraps 相同体、ショウジョウバエ)
34	A3896	BC015050	OIP5	Opa 相互作用タンパク質 5
35	A8287	R87657	DKFZp762E1312	仮想タンパク質 DKFZp762E1312
36	A1835	U18018	ETV4	ets 変種遺伝子 4 (E1A エンハンサー 結合タンパク質、E1AF)
37	D2882	AA777954		
38	A2282	BC014039	MELK	母性胚性ロイシンジッパー キナーゼ
39	C7457	W44613	LY6K	差次的発現 C016 遺伝子の cDNA
40	E1774	AK022881	KIAA1272	KIAA1272 タンパク質
41	E0785	BC039269	NALP2	NACHT、ロイシンリッチ反復および PYD 含有 2
42	F1332	CR592757	BRRN1	barren 相同体 (ショウジョウバエ)
43	F7562	AI146812		

10

20

30

40

44	C2093	H93085	MPHOSPH1	M 期リンタンパク質 1	10
45	F7083	AL044366	RUNX1	runt 関連転写因子 1 (急性骨髄性白血病 1 ; aml1 癌遺伝子)	
46	F6312	AW977404	SLC15A2	溶質輸送体ファミリー15(H+/ペプチド 輸送体)、メンバー2	
47	E0954	BC021290	IMP-2	IGF-II mRNA 結合タンパク質 2	
48	A5657	BQ219156	HSPC150	ユビキチン結合酵素に類似した HSPC150 タンパク質	
49	F7407	AF095288	PTTG2	下垂体腫瘍形質転換 2	
50	B2909	CR625760	TOP2A	トポイソメラーゼ (DNA) II α 170 kDa	
51	F2445	AK022644	MGC3101	仮想タンパク質 MGC3101	
52	B9303	AK129960	LOC92558	仮想タンパク質 LOC92558	
53	C6902	BC007608	HMGB3	高移動度群ボックス 3	
54	A0499	BM912233	CKS2	CDC28 プロテインキナーゼ調節 サブユニット 2	20
55	A9518N	AA570186		AK096951 ; BC066547 により支持される 仮想遺伝子	
56	A2728	AK126687	LLGL2	致死の giant larvae 相同体 2 (ショウジョウバエ)	
57	A5623	AF044588	PRC1	細胞質分裂のタンパク質制御因子 1	
58	B6283	AY257469	CIT	シトロン(citron) (rho 相互作用、 セリン/スレオニンキナーゼ 21)	
59	C8054	NM_001445	FABP6	脂肪酸結合タンパク質 6、回腸 (ガストロトロピン(gastrotropin))	
60	E0465	BC010044	CDC20	CDC20 細胞分裂周期 20 相同体 (S. セレビシエ(S. cerevisiae))	
61	B0811	AW183154	KIF14	キネシンファミリーメンバー14	
62	E1010	CN341726	2'-PDE	2'-ホスホジエステラーゼ	
63	F4976	AF165527	DGCR8	ディジョージ症候群重要領域遺伝子 8	
64	F2376	AK021714		cDNA FLJ11652 fis、クローン HEMBA1004461	30
65	C0234	NM_020639	RIPK4	受容体相互作用セリン-スレオチン キナーゼ 4	
66	A5953	N24235	KIAA0789	KIAA0789 遺伝子産物	
67	B7725	NM_031966	CCNB1	サイクリン B1	
68	A0576N	NM_138555	KIF23	キネシンファミリーメンバー23	
69	B7480	AF407165	PPP1R14C	プロテインホスファターゼ 1、 調節(阻害)サブユニット 14C	
70	B4218	BQ052480	IFI27	インターフェロン、 α 誘導性 タンパク質 27	
71	F1655	AL137343	NSE1	NSE1	
72	C9468	AA885242	KIFC2	キネシンファミリーメンバーC2	
73	A1787	NM_016343	CENPF	セントロメアタンパク質 F、 350/400ka(マイトシン)	
74	D6683	NM_003106	SOX2	SRY(性決定領域 Y) ボックス 2	40

75	A0024	AF017790	KNTC2	動原体結合 2
76	D9407	CR749484	LOC152519	仮想タンパク質 LOC152519
77	F6910	BF940192	KIAA0776	KIAA0776
78	A1367	D14520	KLF5	Kruppel 様因子 5(腸)
79	C2210	AI755171	MRCL3	ミオシン調節軽鎖 MRCL3
80	C5088	R62589	SEMA3C	sema ドメイン、免疫グロブリン ドメイン(Ig)、短い塩基性ドメイン、 分泌性、(セマフォリン)3C
81	F1242	AB020713	NUP210	ヌクレオポリン 210
82	C7747	CA314541		転写遺伝子座
83	D5753	AA971042	RHPN1	ローフィリン(rhophilin)、Rho GTP アーゼ結合タンパク質 1
84	E1801	AW971869	SORL1	ソーチリン(sortilin)関連 タンパク質、L(DLR クラス)A 反復含有
85	A1063	BU600928	SPRR1B	低分子プロリンリッチタンパク質 1B (コーニフィン(cornifin))
86	A8317N	BQ013695	FLJ10420	仮想タンパク質 FLJ10420
87	B5860N	BM683578	DEPDC1	DEP ドメイン含有 1
88	F3847	AK027006	TNRC9	トリヌクレオチド反復含有 9
89	A0018	NM_198433	STK6	セリン/スレオニンキナーゼ 6
90	A4356	Y00503	KRT19	ケラチン 19
91	A0004	AB003698	CDC7	CDC7 細胞分裂周期 7(S. セレビスエ)
92	D7212	AA132702	XTP2	HBxAg トランス活性化タンパク質 2
93	F4584	XM_049695	VANGL2	vang 様 2(van gogh、 ショウジョウバエ)
94	E1619	BU620217	NS	ヌクレオステミン
95	B6905	BU675191	CGI-72	CGI-72 タンパク質
96	C6486	X83618	HMGCS2	3-ヒドロキシ-3-メチルグルタリル- コエンザイム A 合成酵素 2 (ミトコンドリア)
97	A3298	M91670	UBE2S	ユビキチン結合酵素 E2S
98	C0488	AA781195	PRAME	黒色腫で優先的に発現される 抗原
99	A2691N	BC041846	CDH3	カドヘリン 3、1 型、P カドヘリン (胎盤)
100	F0757	AK023834	CDCP1	CUB ドメイン含有タンパク質 1
101	F6193	AK026280		転写遺伝子座、XP_375099.1 仮想タンパク質 LOC283585[ヒト]と 弱く類似
102	A0303	U79240	PASK	PAS ドメイン含有セリン/ スレオニンキナーゼ
103	C7757	AK024506	C14orf80	第 14 染色体オープンリーディング フレーム 80
104	F2228	X51688	CCNA2	サイクリン A2
105	D9210	CA844321	MGC3196	仮想タンパク質 MGC3196

10

20

30

40

106	F6225	AW970636	FOXP1	フォークヘッドボックス P1
107	C7353	AK122903	EPS8L2	EPS8 様 2
108	E1776	AI138333	MAP4K3	マイトジェン活性化タンパク質 キナーゼキナーゼキナーゼキナーゼ 3
109	D5491	AA947258		転写遺伝子座
110	E0885	NM_183047	PRKCBP1	プロテインキナーゼ C 結合タンパク質 1
111	B4479	AF258572	GSDML	gastermin 様
112	C6719	BC013892	PVRL4	ポリオウイルス受容体関連 4
113	A2796	NM_006681	NMU	ニューロメディン U
114	D8458	AA830668		
115	F6333	AW590215	SLC4A8	溶質輸送体ファミリー4、重炭酸 ナトリウム共輸送体、メンバー8
116	D4789	AW070371	SIMP	免疫優性 MHC 結合ペプチドの 供給源
117	A4875	NM_000336	SCNN1B	ナトリウムチャネル、 非電位開口型 1、 β (リドル症候群)
118	A0143N	AJ606319	MYB	v-myb 骨髄芽球症ウイルス癌遺伝子 相同体 (トリ)
119	B2426	CB116740	POGK	KRAB ドメインを有する pogo 転移因子
120	F7685	AV699624		転写遺伝子座
121	C5020	BC004352	KIF22	キネシンファミリーメンバー22
122	C7114	BU738386	LOC284352	仮想タンパク質 LOC284352
123	F7399	AI928242	TFCP2L1	転写因子 CP2 様 1
124	A6002	AA179812	FLJ21918	仮想タンパク質 FLJ21918
125	A2439	AF053305	BUB1	BUB1 ベンズイミダゾール 非抑制性出芽 1 相同体 (酵母)
126	A1591	NM_002534	OAS1	2', 5'-オリゴアデニル酸シンターゼ 1、40/46 kDa
127	F6689	AK021848		
128	C7737	AA969163		転写遺伝子座
129	F0411	AW898615		
130	B6548	R61700		
131	A5136N	AF133086	ST14	腫瘍形成能の抑制 14 (結腸癌、 マトリプターゼ、エピシン (epithin))
132	D6877	AI002358		
133	B4478	AA910946	AP1M2	アダプター関連タンパク質複合体 1、 μ 2 サブユニット
134	C9858	NM_006892	DNMT3B	DNA (シトシン-5)-メチルトランス フェラーゼ 3 β
135	B1194	AK090897	GPATC2	G パッチドメイン含有 2
136	A4438	AF055015	EYA2	eyes absent 相同体 2 (ショウジョウバエ)
137	A7602	CD359557	DAZAP2	DAZ 関連タンパク質 2
138	D7746	AI024928	C13orf24	第 13 染色体オープンリーディング フレーム 24
139	C1901	AA649063	FLJ21865	エンド- β -N- アセチルグルコサミニダーゼ
140	E0639	AK023937	THEA	チオエステラーゼ、脂肪関連

10

20

30

40

141	A7322	CA314912	LOC202451	仮想タンパク質 LOC202451
142	B2879N	AA173525		ジンクフィンガータンパク質 R1f (再編成 L-myc 融合遺伝子タンパク質) (Zn-15 関連タンパク質)に類似
143	B7367	CR616479	AMACR	α -メチルアシル-CoA ラセマーゼ
144	F4070	NM_020897	HCN3	過分極活性化環状ヌクレオチド開口型 カリウムチャネル 3
145	C4658	AF132541	GMIP	GEM 相互作用タンパク質
146	B8739	AA992910	VSIG2	V-セットおよび 免疫グロブリンドメイン含有 2
147	F7003	AW291323		
148	B2454	AL833191	SMC2L1	SMC2 染色体構造維持 2 様 1(酵母)
149	A1223	X73502	KRT20	ケラチン 20
150	F0969	AK026201	RAB3IP	PAB3A 相互作用タンパク質(ラビン 3)
151	F3726	AF098668	LYPLA2	リゾホスホリパーゼ II
152	A1209	NM_001071	TYMS	チミジル酸合成酵素
153	C3759	NM_003072	SMARCA4	クロマチンの SWI/SNF 関連、 マトリックス結合、アクチン依存性制 御因子、サブファミリーa、メンバー4
154	C0328	CR592555		ホモサピエンス(ヒト)の胎盤の全長 cDNA クローン CS0DE011YI04
155	B6353	R19310	RELN	リーリン
156	C1555	AK094156		KIAA0454 タンパク質に類似
157	D7443	AI017753	AHI1	エーベルソンヘルパー組込み部位
158	D8001	AW976634		転写遺伝子座
159	F7409	AI739486	MFAP3	ミクロフィブリル結合タンパク質 3
160	F6200	AK023542		
161	B4626	BC052574	FLJ20171	仮想タンパク質 FLJ20171
162	F7636	AI651388		
163	A2310	AF261758	DHCR24	24-デヒドロコレステロール還元酵素
164	C9450	AI338875	CDK3	サイクリン依存性キナーゼ 3
165	F3973	AL157504		mRNA ; cDNA DKFZp58600724 (クローン DKFZp58600724 由来)
166	C7681	AA151182	ZNF339	ジンクフィンガータンパク質 339
167	D9500	AI361654		
168	C9098	AY376439	ECT2	上皮細胞形質転換配列 2 癌遺伝子
169	B5152N	CR618521	CSNK1E	カゼインキナーゼ 1、 ϵ
170	D4223	AK095136	RASGEF1A	RasGEF ドメインファミリー、 メンバー1A
171	F2073	NM_020990	CKMT1	クレアチンキナーゼ、 ミトコンドリア 1(遍在性)
172	B7466	AA128378	KIAA0303	KIAA0303 タンパク質
173	A7083	CR608243	ARHGAP8	Rho GTP アーゼ活性化タンパク質 8

10

20

30

40

174	D5363	AI419859	GALNT7	UDP-N-アセチル- α -D-ガラクトサミン：ポリペプチドN-アセチルガラクトサミニルトランスフェラーゼ 7 (GalNAc-T7)	
175	A9044	BC003186	Pfs2	DNA 複製複合体 GINS タンパク質 PSF2	
176	C8682	NM_005329	HAS3	ヒアルロナン合成酵素 3	
177	A1605	NM_203401	STMN1	スタスミン 1/癌タンパク質 18	
178	A4045N	BE538546	PMCH	プロメラニン凝集ホルモン	
179	A0042	AF029082	SFN	ストラチフィン (stratifin)	
180	A1524	U29344	FASN	脂肪酸合成酵素	10
181	F3821	AL117612	MAL2	Mal、T 細胞分化タンパク質 2	
182	C4276	NM_001407	CELSR3	カドヘリン、EGF LAG 7 回貫通 G 型受容体 3 (flamingo 相同体、ショウジョウバエ)	
183	D7936	BQ022849	TEX27	精巣発現配列 27	
184	A5159	BC080193	ERBB2	v-erb-b2 赤芽球性白血病ウイルス癌遺伝子相同体 2、神経芽腫/神経膠芽腫由来癌遺伝子相同体 (トリ)	
185	A4542	NM_001305	CLDN4	クローディン 4	
186	F8586	AA579871	SMARCC1	クロマチンの SWI/SNF 関連、マトリックス結合、アクチン依存性制御因子、サブファミリー c、メンバー 1	20
187	A7870	NM_018492	TOPK	T-LAK 細胞起源タンパク質キナーゼ	
188	B7330N	BM726315	GALNT6	UDP-N-アセチル- α -D-ガラクトサミン：ポリペプチドN-アセチルガラクトサミニルトランスフェラーゼ 6 (GalNAc-T6)	
189	A1054	M13755	G1P2	インターフェロン、 α 誘導性タンパク質 (クローン IFI-15K)	
190	A6139	BU730831	PAFAH1B3	血小板活性化因子アセチルヒドロラーゼ、アイソフォーム Ib、 γ サブユニット 29 kDa	30
191	A6127	AI356291	GPT2	グルタミン酸ピルビン酸トランスアミナーゼ (アラニンアミノトランスフェラーゼ) 2	
192	C8580	CR611223	CLDN7	クローディン 7	
193	C6055	AA001450	MGC34032	仮想タンパク質 MGC34032	
194	F8392	AI432199	LMO4	LIM ドメインオンリー 4	
195	A1970	BC000356	MAD2L1	MAD2 有糸分裂停止欠損様 1 (酵母)	
196	D8466	AI619500		転写遺伝子座	
197	C9305	AI080640	AGR2	anterior gradient 2 相同体 (アフリカツメガエル (Xenopus laevis))	40
198	E0170	BQ417235		転写遺伝子座	
199	F7497	AW973864	SYNJ2BP	シナプトジャニン 2 結合タンパク質	
200	D7200	BC069011	TRA2A	トランスフォーマー-2 α	

201	F4522	AK023400	DCL-1	I 型膜貫通 C 型レクチン受容体 DCL-1	
202	B8930	AA513445	RBM21	RNA 結合モチーフタンパク質 21	
203	A4643	J05428	UGT2B7	UDP グリコシルトランスフェラーゼ 2 ファミリー、ポリペプチド B7	
204	F8409	BC041096	CLCA2	塩素チャネル、カルシウム活性化、 ファミリーメンバー 2	
205	A2603N	Z46629	SOX9	SRY (性決定領域 Y) ボックス 9 (屈曲肢異形性、常染色体性転換)	10
206	A6979	AI357616	LOC90133	仮想タンパク質 LOC90133	
207	E1348	BX640908	EVII	エコトロピックウイルス組込み部位 1	
208	F5885	AK023050			
209	A3644	NM_006949	STXBP2	シンタキシン結合タンパク質 2	
210	C5509	NM_201269	Zep-2	ジンクフィンガーモチーフ エンハンサー結合タンパク質 2	
211	B2579N	N70341	ELAC2	elaC 相同体 2 (大腸菌 (E. coli))	
212	D4039	CB142087	MARVELD2	MARVEL ドメイン含有 2	
213	A1800	NM_052987	CDK10	サイクリン依存性キナーゼ (CDC2 様) 10	
214	F3387	AK126185	PPFIA4	プロテインチロシンホスファターゼ、 受容体型、f ポリペプチド (PTPRF)、 相互作用タンパク質 (リプリン (liprin))、 $\alpha 4$	20
215	A2735	BC036811	PTHR2	副甲状腺ホルモン受容体 2	
216	C9937	BC013048	C8orf20	第 8 染色体オープンリーディング フレーム 20	
217	F7614	AI114655	LOC284058	仮想タンパク質 LOC284058	
218	B1561	AK074562	QKI	quaking 相同体、KH ドメイン RNA 結合 (マウス)	
219	B4400	BX647949	FRAS1	フレーザー症候群 1	
220	C4588	AA016977		mRNA ; cDNA DKFZp686F1844 (クローン DKFZp686F1844 由来)	30
221	D3205	AY024361	MLL3	B 黒色腫抗原ファミリー、メンバー 4	
222	B7272	BQ268701			
223	B7706	R22536	FLJ13052	NAD キナーゼ	
224	G0074	AK127891	MGC10744	仮想タンパク質 MGC10744	
225	C0909	U38276	SEMA3F	sema ドメイン、免疫グロブリン ドメイン (Ig)、短い塩基性ドメイン、 分泌性、(セマフォリン) 3F	
226	A8777	BM990713	IL28RA	インターロイキン 28 受容体、 α (インターフェロン、 λ 受容体)	40
227	E1497	BU625507	SLC16A3	溶質輸送体ファミリー 16 (モノカルボン酸輸送体)、 メンバー 3	

228	C6865	BC041417		転写遺伝子座、NP_955751.1 カリウムチャネル制御因子[ヒト]と 中程度に類似
229	A0327N	NM_002421	MMP1	マトリックスメタロプロテイナーゼ 1 (間質性コラゲナーゼ)
230	C8624	NM_005858	AKAP8	A キナーゼ (PRKA) アンカー タンパク質 8
231	B9838	AA018510	MGC33382	仮想タンパク質 MGC33382
232	B4649	BM996064	TJP3	密着結合タンパク質 3(閉鎖帯 3)
233	F7985	AA682421		
234	B5490	AB014555	HIP1R	ハンチンチン相互作用タンパク質-1 関連
235	A0959	NM_001034	RRM2	リボヌクレオチド還元酵素 M2 ポリペプチド
236	A5644	BC015582	MGC23280	仮想タンパク質 MGC23280
237	B7163	AA262462	NT5C2	5'-ヌクレオチダーゼ、サイトゾル II
238	F5981	AL050119	TMEM1	膜貫通タンパク質 1
239	F7087	AL043093	FAM47B	配列類似性を有するファミリー47、 メンバーB
240	C6634	AA398740		cDNA FLJ41168fis、クローン BRACE 2041095
241	C0285	AK093343	FLJ23231	仮想タンパク質 FLJ23231
242	C0417	AF311320	SLC37A1	溶質輸送体ファミリー37(グリセロー ル-3-リン酸輸送体)、メンバー1
243	F3641	AY099469	SLAC2-B	SLAC2-B
244	C1730	BU682808	GNAS	GNAS 複合体遺伝子座
245	F2351	AL162042		
246	C3640	NM_182641	FALZ	胎児性アルツハイマー抗原
247	B7032N	AA398096	PFKFB4	6-ホスホフルクト-2-キナーゼ/ フルクトース-2, 6-ジホスファターゼ 4
248	D8837	NM_012189	CABYR	カルシウム結合チロシン-(Y)-リン酸 化調節性(フィブラスヘアシン (fibrousheathin)2)
249	F6161	BF056203	ABHD7	アブヒドロラーゼ (abhydrolase) ドメイン含有 7
250	B5458N	AA889610	CARHSP1	カルシウム調節性熱安定性 タンパク質 1、24 kDa
251	D3452	BX482647	PARP14	ポリ (ADP-リボース) ポリメラーゼファミリー、メンバー14
252	B6562	CA306079	PLEKHJ1	プレクストリン相同ドメイン含有、 ファミリーJ メンバー1
253	C6789	AK125177	LOC149134	仮想タンパク質 LOC149134
254	C0485	BC064568	LOC150223	仮想タンパク質 LOC150223
255	A7343N	N68578	LIPC	リパーゼ、肝臓
256	A6349	AK095197	PAQR6	プロゲスチンおよびアディポQ受容体 ファミリーメンバーVI
257	A1865	U60808	CDS1	CDP-ジアシルグリセロール合成酵素 (ホスファチジン酸 シチジルトランスフェラーゼ)1

10

20

30

40

258	A7352	AJ421269	TD-60	RCC1 様
259	F0534	NM_004360	CDH1	カドヘリン 1、1 型、E カドヘリン (上皮)
260	F3919	AK025341	FARP1	FERM、RhoGEF (ARHGEF) および プレクストリンドメインタンパク質 1 (軟骨細胞由来)
261	F7374	AI656728	ARIH1	ariadne 相同体、ユビキチン結合酵素 E2 結合タンパク質、1 (ショウジョウバエ)
262	A2822	BQ015859	CSTA	シスタチン A (ステフィン A)
263	E1344	BC064421	C2orf29	第 2 染色体オープンリーディング フレーム 29
264	A1604	X52186	ITGB4	インテグリン、 $\beta 4$
265	D8789	AI025912	GLCCI1	グルココルチコイド誘導性転写産物 1
266	D3350	R45979		
267	F7016	BE179023	FLJ11142	仮想タンパク質 FLJ11142
268	A0636	Z29066	NEK2	NIMA (never in mitosis 遺伝子 a) 関連キナーゼ 2
269	A5223	BC007379	MGC16207	仮想タンパク質 MGC16207
270	G0445	AK000981		
271	B0869N	AF274048	UHRF1	ユビキチン様、PHD および RING フィンガードドメイン含有、1
272	C7864	D84454	SLC35A2	溶質輸送体ファミリー 35 (UDP-ガラクトース輸送体)、メンバー A2
273	A2837	BU618918	CDKN3	サイクリン依存性キナーゼ阻害因子 3 (CDK2 関連二重特異性ホスファターゼ)
274	C7435	BC029267	MUC20	ムチン 20
275	A4383	Z97029	RNASEH2A	リボヌクレアーゼ H2、大サブユニット
276	F7162	AK000364	CHD7	クロモドメインヘリカーゼ DNA 結合タンパク質 7
277	B1819	AY165122	MYH14	ミオシン、重鎖ポリペプチド 14
278	A0207	M73812	CCNE1	サイクリン E1
279	D8150	BF965334	PRKRA	プロテインキナーゼ、インターフェロン誘導性二本鎖 RNA 依存性活性化因子
280	C8051	BM685415	C10orf116	Chromosome 10 open reading frame 116 第 10 染色体オープンリーディング フレーム 116
281	A5601	H19339		mRNA ; cDNA DKFZp547G036 (クローン DKFZp547G036 由来)
282	B7365	BC025755	C6orf134	第 6 染色体オープンリーディング フレーム 134
283	A1957	U20979	CHAF1A	クロマチン構築因子 1、サブユニット A (p150)
284	B5103N	AI091425	VGLL1	vestigial 様 1 (ショウジョウバエ)
285	F2779	BC001226	PLEK2	プレクストリン 2

10

20

30

40

286	C6110	W67193	GFPT1	グルタミン-フルクトース-6-リン酸 トランスアミナーゼ 1
287	A4616	AJ007669	FANCG	ファンconi貧血、相補群 G
288	A1859N	NM_001002295	GATA3	GATA 結合タンパク質 3
289	A0333	NM_002466	MYBL2	v-myb 骨髄芽球症ウイルス癌遺伝子 相同体(トリ)様 2
290	A6869	BC011665	TCF3	転写因子 3(E2A 免疫グロブリン エンハンサー結合因子 E12/E47)
291	C7801	AI299827	TFCP2L3	転写因子 CP2 様 3
292	F8081	BF433219		
293	A3587	NM_003088	FSCN1	ファシン相同体 1、アクチン束化 タンパク質(ムラサキウニ (Strongylocentrotus purpuratus))
294	A6935	AA523117	DC-TM4F2	TM4SF9 に類似のテトラスパニン
295	F3642	CR619487	DKFZP564C103	DKFZP564C103 タンパク質
296	F3549	AK025185		
297	F6831	AK024988		KIAA0160 遺伝子産物に類似のものは 新規である。
298	E0499	BM906554	COX6B1	シトクロム c 酸化酵素サブユニット Vib ポリペプチド 1(遍在性)
299	A7770	R55185	IRX3	iroquois ホメオボックスタンパク質 3
300	A2865	AJ297436	PSCA	前立腺幹細胞抗原
301	B3762	BC035311	ZD52F10	デルモカイン(dermokine)
302	F8140	AW976457	MBNL1	muscleblind 様(ショウジョウバエ)
303	A8295	AA430571		転写遺伝子座
304	F8687	AW081894		
305	A1166	S62028	RCV1	リカバリン
306	B8658	CA429220	SKP2	S 期キナーゼ関連タンパク質 2(p45)
307	B6813	BX092653		転写遺伝子座
308	E0909	BU726646		転写遺伝子座
309	D1287	BC012136	ISL2	ISL2 転写因子、LIM/ホメオドメイン、 (islet-2)
310	A6151	BU620959	RAPGEFL1	Rap グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF)様 1
311	A6486	W67936	RAI	RelA 関連阻害因子
312	G0008	AK026743	C21orf96	第 21 染色体オープンリーディング フレーム 96
313	F3089	AB046838	KIAA1618	KIAA1618
314	F3293	AL389951	NUP50	ヌクレオポリン 50 kDa
315	B5870	AI312573	CPNE3	コピン(copine) III
316	A9334	BC039343	HN1	血液性および神経性発現 1
317	B9951	NM_005556	KRT7	ケラチン 7
318	B8627	R39044	RAB27B	RAB27B、メンバーRAS 癌遺伝子 ファミリー

10

20

30

40

319	D2335	BQ018544		仮想 LOC389908
320	B4097	CR596974	MLP	MARCKS 様タンパク質
321	F7332	AI936859	RTKN	ローテキン(rhotekin)
322	B8205	AL133100	FLJ20531	仮想タンパク質 FLJ20531
323	C2132	AW134658	MSI2	musashi 相同体 2(ショウジョウバエ)
324	E0491	BC062785		cDNA クローン IMAGE:4734740、 部分 cds
325	A4959	AF042282	EXO1	エキソヌクレアーゼ 1
326	A1824	NM_002224	ITPR3	イノシトール 1, 4, 5-三リン酸受容体、 3 型
327	A1007	Z29093	DDR1	ジスコイジンドメイン受容体 ファミリー、メンバー1
328	C4330	BC006000	CAPNS2	カルパイン、小サブユニット 2
329	D6311	BI771102	PHYHIPL	配列類似性を有するファミリー13、 メンバーC1
330	B5994	T81301	AFURS1	老化細胞で上方制御される ATP アーゼファミリー相同体
331	C6374	AA493372	LOC55971	インスリン受容体チロシンキナーゼ 基質
332	F7512	AW978905	HNRPK	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 K
333	F0864	AK025277	TNRC6	トリヌクレオチド反復含有 6
334	A9568	BC022217	C6orf85	第 6 染色体オープンリーディング フレーム 85
335	F2807	AL080146	CCNB2	サイクリン B2
336	A0587	NM_006739	MCM5	MCM5 ミニ染色体維持欠損 5、 細胞分裂周期 46(S. セレビスエ)
337	B1119	AI215478	HMMR	ヒアルロナン媒介性運動性受容体 (RHAMM)
338	B7060	BC067795	MGC11308	仮想タンパク質 MGC11308
339	B8276	BC009831	RAB25	RAB25、メンバー-RAS 癌遺伝子 ファミリー
340	A8043	W72411	TP73L	腫瘍タンパク質 p73 様
341	B9340	T78186	DNMT3A	DNA(シトシン-5-)メチルトランス フェラーゼ 3 α
342	B4456	BX537652	FLJ12892	仮想タンパク質 FLJ12892
343	B3796	AA116022	USP18	ユビキチン特異的プロテアーゼ 18
344	E0950	BF740209	PYGB	ホスホリラーゼ、グリコーゲン；脳
345	B4409	XM_371116	MYO5B	ミオシン VB
346	C1898	AL713801	SLAMF7	SLAM ファミリーメンバー7
347	F4025	AK021428	C6orf210	第 6 染色体オープンリーディング フレーム 210
348	F0983	AL832106	MLR2	リガンド依存性共抑制因子
349	A3256	L07597	RPS6KA1	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ、 90 kDa、ポリペプチド 1

10

20

30

40

350	A1715	M74178	MST1	マクロファージ刺激 1 (肝細胞増殖因子様)	10
351	A8407	CB988759	C2orf33	第 2 染色体オープンリーディング フレーム 33	
352	A6363	CR621577		ヒト、クローン IMAGE:5301514、mRNA	
353	B4618	BM014054	LOC339229	仮想タンパク質 LOC339229	
354	D9773	BC039118	STX6	シンタキシン 6	
355	A0309	U85658	TFAP2C	転写因子 AP-2 γ (活性化エンハンサー 結合タンパク質 2 γ)	
356	F4885	NM_003681	PDXK	ピリドキサル (ピリドキシン、 ビタミン B6) キナーゼ	
357	A0516	BC064662	TRAF2	TNF 受容体関連因子 2	
358	B2664	AA682861	PARD6B	par-6 分配欠損 6 相同体 β (線虫 (<i>C. elegans</i>))	
359	A1874	CR617220	KRT8	ケラチン 8	
360	A2608	NM_002230	JUP	接合プラコグロビン	20
361	A5157	AF027153			
362	A1767	M93107	BDH	3-ヒドロキシ酪酸脱水素酵素 (心臓、ミトコンドリア)	
363	B4853N	CD013889	CHRNA1	コリン受容体、ニコチン性、 α ポリペプチド 1 (筋肉)	
364	A5044	AK127479	SPINT2	セリンプロテアーゼ阻害因子、 Kunitz 型、2	
365	A4467	AF038961	MPDU1	マンノース-P-ドリコール利用欠損 1	
366	B3995	BC073757	KRT18	ケラチン 18	
367	D5376	BQ946404	CALM2	カルモジュリン 2 (ホスホリラーゼキナーゼ、 δ)	
368	A2620	NM_001649	APXL	apical タンパク質様 (アフリカツメガエル)	
369	A0437	NM_005782	THOC4	THO 複合体 4	30
370	B5141	NM_194463	RNF128	Ring フィンガータンパク質 128	
371	B9661	BF764924	WSB1	WD 反復および SOCS ボックス含有 1	
372	C8847	AA232990		転写遺伝子座	
373	C0023	NM_002744	PRKCZ	プロテインキナーゼ C、 ζ	
374	D6248	AW295407	FLJ25078	仮想タンパク質 FLJ25078	
375	A2088	BF131641	S100A11	S100 カルシウム結合タンパク質 A11 (カルジザリン (calgizzarin))	
376	D8834	BM729250	GTF3A	基本転写因子 IIIA	
377	A1139	AF230388	TRIM29	三要素モチーフ含有 29	
378	C9024	AI678218	AE2	仮想タンパク質 AE2	
379	E0571	BG115155	FLJ10726	仮想タンパク質 FLJ10726	40
380	C4878	BC040176	LOC130576	仮想タンパク質 LOC130576	
381	E0516	AK075185	KDELRL1	KDEL (Lys-Asp-Glu-Leu) 小胞体 タンパク質保持受容体 1	

382	B6529	CA314443	PLXNA3	プレキシシン A3
383	A2111	BC062996	DBI	ジアゼパム結合阻害因子(GABA 受容体調節因子、アシル-コエンザイム A 結合タンパク質)
384	A6657	BX451670	FLJ30525	仮想タンパク質 FLJ30525
385	F5784	AK022067	KIAA1217	KIAA1217
386	A7182	NM_003731	SSNA1	シェーグレン症候群核自己抗原 1
387	A4144	BC004376	ANXA8	アネキシシン A8
388	A2382	NM_004456	EZH2	zeste のエンハンサー相同体 2 (ショウジョウバエ)
389	A9467	BC045658	LOC57228	クローン 643 由来の仮想タンパク質
390	F6419	AW978490	SSH2	slingshot 相同体 2 (ショウジョウバエ)
391	B3971	AF290612	NUSAP1	核小体および紡錘体結合タンパク質 1
392	B4325	BC053605		LOC440448
393	A6441	AI279896	CGI-69	CGI-69 タンパク質
394	C7625	BU684240	EHF	ets 相同因子

10

【 0 3 1 8 】

(表 5) 膀胱癌において下方制御される遺伝子

BLC 割当	LMMID	アクセッション	遺伝子	名称
395	A0898	BC011393	CHN1	キメリン(chimerin) (キメリン(chimaerin))1
396	A0944	Z24725	PLEKHC1	プレクストリン相同ドメイン含有、 ファミリーC(FERM ドメインを有する) メンバー1
397	A1750	D31716	BTEB1	塩基性転写要素結合タンパク質 1
398	A1852	M19713	TPM1	トロポミオシン 1(α)
399	A2460	AF000959	CLDN5	クローディン 5(膜心臓顔面症候群に おいて欠失している膜貫通 タンパク質)
400	A2701	NM_003028	SHB	SHB(src 相同 2 ドメイン含有) アダプタータンパク質 B
401	A6184	NM_133268	OSBPL1A	オキシステロール結合タンパク質様 1A
402	A3188	M27110	PLP1	プロテオリピドタンパク質 1 (ペリツェウス・メルツバッハー病、 痙性対麻痺 2、無併発性)
403	A3340	M93284	PNLIPRP2	腓リパーゼ関連タンパク質 2
404	A4189	AA922716	PRKACB	プロテインキナーゼ、cAMP 依存性、 触媒性、 β
405	A4472	AF042081	SH3BGRL	SH3 ドメイン結合グルタミン酸 リッチタンパク質様
406	A5084	CR614015	CD14	CD14 抗原

20

30

40

407	A5498	BX093242		転写遺伝子座
408	A5356	NM_001002260	C9orf58	第9染色体オープンリーディング フレーム 58
409	A5795	BQ775444	CORO1C	コロニン、 アクチン結合タンパク質、1C
410	A5704	AB018254	KIAA0711	KIAA0711 遺伝子産物
411	A0100	NM_002006	FGF2	線維芽細胞増殖因子 2(塩基性)
412	A6111	NM_018105	THAP1	THAP ドメイン含有、 アポトーシス関連タンパク質 1
413	A1365	D10653	TM4SF2	膜貫通 4 スーパーファミリーメンバー 2
414	A1764	NM_002526	NT5E	5'-ヌクレオチダーゼ、エクト(CD73)
415	A2964	BQ219660	GNG11	グアニンヌクレオチド結合タンパク質 (G タンパク質)、 γ 11
416	A3203	NM_002436	MPP1	膜タンパク質、パルミトイル化 1、 55 kDa
417	A3322	M80899	AHNAK	AHNAK 核タンパク質 (デスモイオキン(desmoyokin))
418	A3739	NM_000090	COL3A1	コラーゲン、III 型、 α 1(エーラス・ ダンロス症候群 IV 型、常染色体優性)
419	A3748	X51593	MYH3	ミオシン、重鎖ポリペプチド 3、 骨格筋、胚性
420	A4630	U89281	RODH	3-水酸化ステロイドエピメラーゼ
421	A4972	NM_002487	NDN	ネクジン相同体(マウス)
422	A5807	W80773		cDNA FLJ13601 fis、 クローン PLACE1010069
423	A5937	BC028315	GABARAPL1	GABA (A) 受容体関連タンパク質様 1
424	A5785	CR627469	PSMB7	プロテアソーム(プロソーム (prosome)、マクロペイン (macropain))サブユニット、 β 型、7
425	A1572	NM_015833	ADARB1	アデノシンデアミナーゼ、 RNA 特異的、B1(RED1 相同体ラット)
426	A1847	U31525	GYG	グリコゲニン
427	A1879	U45955	GPM6B	糖タンパク質 M6B
428	A2452	BX537488	CSRP1	システインおよび グリシンリッチタンパク質 1
429	A2978	X04741	UCHL1	ユビキチンカルボキシル末端 エステラーゼ L1 (ユビキチンチオールエステラーゼ)
430	A3946	NM_021738	SVIL	スーパービリン
431	A4579	L29394	HP	ハプトグロビン
432	A4473	BX648582	SPRY2	sprouty 相同体 2(ショウジョウバエ)
433	A4611	S79851	TXNRD1	チオレドキシン還元酵素 1
434	A5118	X17576	NCK1	NCK アダプタータンパク質 1
435	A5888	U56417	AGPAT1	1-アシルグリセロール-3-リン酸 0- アシルトランスフェラーゼ 1 (リゾホスファチジン酸 アシルトランスフェラーゼ、 α)
436	A6099	W60630	JAM3	接合部接着分子 3

10

20

30

40

437	A1083	BX510904	MYH2	ミオシン、重鎖ポリペプチド2、骨格筋、成体	10
438	A2610	NM_020546	ADCY2	アデニル酸シクラーゼ2(脳)	
439	A2972	X72475		アミロイド免疫グロブリン軽鎖タンパク質 BRE	
440	A3214	X17042	PRG1	プロテオグリカン1、分泌顆粒	
441	A5485	NM_018357	FLJ11196	アケロン(acheron)	
442	A0260	U47413	CCNG1	サイクリンG1	
443	A0232	NM_006219	PIK3CB	ホスホイノシチド-3-キナーゼ、触媒性、 β ポリペプチド	
444	A0946	U62961	OXCT1	3-オキシ酸 CoA トランスフェラーゼ1	
445	A1617	NM_133378	TTN	タイチン	
446	A1855	X73114	MYBPC1	ミオシン結合タンパク質C、遅延型	
447	A1891	BC038984	GAS6	増殖停止特異的6	20
448	A2372	AF458589	PPP1R12A	プロテインホスファターゼ1、調節(阻害)サブユニット12A	
449	A2739	AF073920	RGS6	Gタンパク質シグナル伝達の制御因子6	
450	A3733	X04665	THBS1	トロンボスポンジン1	
451	A5211	R55332	LRIG1	ロイシンリッチ反復および免疫グロブリン様ドメイン1	
452	A5251	NM_025164	KIAA0999	KIAA0999 タンパク質	
453	A5694	BM996053	C10orf9	第10染色体オープンリーディングフレーム9	
454	A0094	NM_002293	LAMC1	ラミニン、 γ 1(以前のLAMB2)	
455	A0383	M13690	SERPING1	セリン(またはシステイン)プロテイナーゼ阻害因子、クレードG(C1阻害因子)、メンバー1、(血管浮腫、遺伝性)	
456	A0791	X63556	FBN1	フィブリリン1(マルファン症候群)	30
457	A1064	NM_024164	TPSB2	トリプターゼ、 α	
458	A0960	U60115	FHL1	4.5(four-and-a-half)LIMドメイン1	
459	A1736	NM_001456	FLNA	フィラミンA、 α (アクチン結合タンパク質280)	
460	A2031	NM_003040	SLC4A2	溶質輸送体ファミリー4、陰イオン交換体、メンバー2(赤血球膜タンパク質バンド3様1)	
461	A2388	BC000574	PCOLCE	プロコラーゲンC-エンドペプチダーゼエンハンサー	
462	A2860	BC002436	STX4A	シンタキシン4A(胎盤)	
463	A4328	NM_000573	CR1	補体成分(3b/4b)受容体1、Knops 血液型系含有	
464	A4602	X63679	TRAM1	転座関連膜タンパク質1	
465	A4974	NM_006063	KBTBD10	kelch 反復および BTB (POZ)ドメイン含有10	40
466	A5015	NM_001451	FOXF1	フォークヘッドボックスF1	

467	A0941	S59049	RGS1	G タンパク質シグナル伝達の 制御因子 1
468	A1753	BC063289	C4A	補体成分 4B
469	A1882	AF018081	COL18A1	コラーゲン、XVIII 型、 $\alpha 1$
470	A2595	BC010839	RPN1	リボホリン I
471	A2224	NM_004469	FIGF	c-fos 誘導性増殖因子 (血管内皮増殖因子 D)
472	A2740	CR607883	CDO1	システインジオキシゲナーゼ、I 型
473	A3089	AK091961	UMOD	ウロモジュリン(ウロムコイド、 タム・ホースフォール糖タンパク質)
474	A4193	BU737730	RBP1	レチノール結合タンパク質 1、細胞
475	A4841	AF037261	SCAM-1	ビネキシン β (SH3 含有アダプター分子-1)
476	A5514	AA669799	ASMTL	アセチルセロトニン O- メチルトランスフェラーゼ様
477	A1085	BQ073704	LGALS1	レクチン、ガラクトシド結合、 可溶性、1(ガレクチン 1)
478	A0837	L02950	CRYM	クリスタリン、 μ
479	A0961	NM_001482	GATM	グリシンアミジノトランスフェラーゼ (L-アルギニン： グリシンアミジノトランス フェラーゼ)
480	A1592	NM_000177	GSN	ゲルゾリン (アミロイド症、Finnish 型)
481	A2043	BC005330	TFPI2	組織因子経路阻害因子 2
482	A2272	AF195530	XPNPEP1	X-プロリルアミノペプチダーゼ (アミノペプチダーゼ P) 1、可溶性
483	A6080	N99340	CLIPR-59	CLIP-170 関連タンパク質
484	A0357	X15606	ICAM2	細胞内接着分子 2
485	A0775	L12579	CUTL1	cut 様 1、CCAAT 置換タンパク質 (ショウジョウバエ)
486	A1074	D90228	ACAT1	アセチル-CoA エンザイム A アセチルトランスフェラーゼ 1 (アセトアセチルCoA エンザイム A チオラーゼ)
487	A1610	NM_002084	GPX3	グルタチオンペルオキシダーゼ 3 (血漿)
488	A1452	CD013947	ITGB6	インテグリン、 $\beta 6$
489	A1754	AB119995	CES1	カルボキシルエステラーゼ 1(単球/ マクロファージセリンエステラーゼ 1)
490	A3061	U07643	LTF	ラクトトランスフェリン
491	A2715	BC035802	GZMK	グランザイム K (セリンプロテアーゼ、 グランザイム 3；トリプターゼ II)
492	A2751	M68874	PLA2G4A	ホスホリパーゼ A2、IVA 群 (サイトゾル、カルシウム依存性)
493	A3563	NM_021136	RTN1	レティキュロン(reticulon) 1
494	A4201	CR592913	RRAS2	関連 RAS ウイルス(r-ras) 癌遺伝子相同体 2
495	A4237	BC058074	WISP2	WNT1 誘導性シグナル伝達経路 タンパク質 2
496	A4709	BC016952	CYR61	システインリッチ、 血管新生誘導因子、61

10

20

30

40

497	A4871	Z19002	ZBTB16	ジンクフィンガーおよび BTB ドメイン含有 16	
498	A6057	BC035939	MRAS	筋肉 RAS 癌遺伝子相同体	
499	A5773	N72174	EGFL5	EGF 様ドメイン、多重 5	
500	A0533	NM_003932	ST13	腫瘍形成能の抑制 13(結腸癌) (Hsp70 相互作用タンパク質)	
501	A1748	U29089	PRELP	プロリンアルギニンリッチ末端 ロイシンリッチ反復タンパク質	
502	A2478	Y13647	SCD	ステアロイル-CoA デサチュラーゼ (δ -9-デサチュラーゼ)	
503	A6225	AJ420439		mRNA 全長挿入物 cDNA クローン EUROIMAGE 1585492	10
504	A3965	AF078695	REV3L	REV3 様、DNA ポリメラーゼの 触媒サブユニット(酵母)	
505	A6264	BC022522	CD200	CD200 抗原	
506	A4365	U68494	SLC30A1	溶質輸送体ファミリー-30 (亜鉛輸送体)、メンバー1	
507	A4491	L15388	GRK5	G タンパク質共役受容体キナーゼ 5	
508	A4983	X12830	IL6R	インターロイキン 6 受容体	
509	A4769	AF004563	STXBP1	シンタキシン結合タンパク質 1	
510	A4887	NM_001173	ARHGAP5	Rho GTP アーゼ活性化タンパク質 5	20
511	A6081	AK023172	C2orf23	第 2 染色体オープンリーディング フレーム 23	
512	A0090	BC040499	TGFBR2	トランスフォーミング増殖因子、 β 受容体 II (70/80 kDa)	
513	A0905	X14723	CLU	クラスタリン(補体溶解阻害因子、 SP-40、40、硫酸化糖タンパク質 2、 テストステロン抑制前立腺 メッセージ 2、アポリポタンパク質 J)	
514	A0635	NM_004329	BMPR1A	骨形成タンパク質受容体、IA 型	
515	A1474	M86406	ACTN2	アクチニン、 α 2	30
516	A1453	M37721	PAM	ペプチジルグリシン α -アミド化 モノオキシゲナーゼ	
517	A1886	BC029261	MYOC	ミオシリン、 小柱網誘導性グルココルチコイド応答	
518	A1995	M14745	BCL2	B 細胞 CLL/リンパ腫 2	
519	A3435	CR623240	PSG9	妊娠特異的 β -1-糖タンパク質 9	
520	A3866	AF080157	CHUK	保存的ヘリックス-ループ- ヘリックス遍在性キナーゼ	
521	A4111	BC033040	SLC1A1	溶質輸送体ファミリー1(ニューロン/ 上皮高親和性グルタミン酸輸送体、 システム Xag)、メンバー1	40

522	A3834	AB010419	CBFA2T3	core 結合因子、runt ドメイン、 α サブユニット 2; 転座、3
523	A3959	AF055081	DES	デスミン
524	A4076	BC008837	AKR1B10	アルドーケト還元酵素ファミリー1、メンバーB10(アルドース還元酵素)
525	A3738	NM_002332	LRP1	低密度リポタンパク質関連タンパク質 1(α -2-マクログロブリン受容体)
526	A4586	D86977	DHX38	DEAH(Asp-Glu-Ala-His) ボックスポリペプチド 38
527	A5806	BC042960		転写遺伝子座、NP_787073.2 仮想タンパク質 MGC35023[ヒト]と中程度に類似
528	A0386	K02215	AGT	アンジオテンシノーゲン(セリンまたはシステイン)プロテイナーゼ 阻害因子、クレード A(α -1 アンチプロテイナーゼ、アンチトリプシン)、メンバー8)
529	A0415	M77349	TGFBI	トランスフォーミング増殖因子、 β 誘導性、68 kDa
530	A0922	NM_004394	DAP	死亡関連タンパク質
531	A1594	NM_002422	MMP3	マトリックスメタロプロテイナーゼ 3 (ストロメライシン 1、プロゼラチナーゼ)
532	A2471	NM_001155	ANXA6	アネキシン A6
533	A3114	M95585	HLF	肝臓白血病因子
534	A4742	AF019214	HBP1	HMG ボックス転写因子 1
535	A5262	NM_020182	TMEPAI	膜貫通、前立腺アンドロゲン誘導性 RNA
536	A5911	AK125888	FBXO32	F ボックスタンパク質 32
537	A6082	N66336	ALS2CR15	筋萎縮性側索硬化症 2(若年性) 染色体領域、候補 14
538	A0159	BC028049	PPP3CB	プロテインホスファターゼ 3 (以前の 2B)、触媒サブユニット、 β アイソフォーム (カルシニューリン A β)
539	A0423	NM_006744	RBP4	レチノール結合タンパク質 4、血漿
540	A0192	M62829	EGR1	初期成長応答 1
541	A1378	NM_000362	TIMP3	メタロプロテイナーゼ組織阻害因子 3(ソースビー眼底変性症、偽炎症)
542	A2275	L80005	SNRPN	SNRPN 上流リーディングフレーム
543	A2508	X03350	ADH1B	アルコール脱水素酵素 1B(クラス I)、 β ポリペプチド
544	A2188	J02770	IF	I 因子(補体)
545	A2542	J02874	FABP4	脂肪酸結合タンパク質 4、脂肪細胞

10

20

30

40

546	A3037	BC030975	IL1RL1	インターロイキン 1 受容体様 1	
547	A6208	NM_004264	SURB7	RNA ポリメラーゼ B の SRB7 抑制因子相同体(酵母)	
548	A4040	NM_181425	FXN	フラタキシン	
549	A4254	NM_001848	COL6A1	コラーゲン、VI 型、 $\alpha 1$	
550	A4407	AF055872	TNFSF13	腫瘍壊死因子(リガンド) スーパーファミリー、メンバー12	
551	A5853	N72866	MITF	小眼球症関連転写因子	
552	A5740	AI304392	PTGFRN	プロスタグランジン F2 受容体負の 制御因子	10
553	A1150	NM_000560	CD53	CD53 抗原	
554	A6221	N67054	RANBP5	RAN 結合タンパク質 5	
555	A3680	U79751	BLZF1	塩基性ロイシンジッパー核内因子 1 (JEM-1)	
556	A3778	BC050277	PELO	インテグリン、 $\alpha 1$	
557	A4024	AK091336	STMN2	スタスミン様 2	
558	A4394	AF039701	MBD2	メチル-CpG 結合ドメインタンパク質 2	
559	A4823	D50370	NAP1L3	ヌクレオソーム構築タンパク質 1 様 3	
560	A6003	BC042605	FKBP5	FK506 結合タンパク質 5	
561	A0152	M19154	TGFB2	トランスフォーミング増殖因子、 $\beta 2$	20
562	A6102	R71596		転写遺伝子座	
563	A0735	NM_001847	COL4A6	コラーゲン、IV 型、 $\alpha 6$	
564	A1010	D28475	CLCN6	塩素チャンネル 6	
565	A1387	BC038588	AEBP1	AE 結合タンパク質 1	
566	A1516	U24488	TNXB	テネイシン XB	
567	A1414	NM_001855	COL15A1	コラーゲン、XV 型、 $\alpha 1$	
568	A1815	NM_002664	PLEK	プレクストリン	
569	A1951	AL833268	MEF2C	MADS ボックス転写エンハンサー因子 2、 ポリペプチド C (筋細胞エンハンサー因子 2C)	
570	A2158	NM_005410	SEPP1	セレンタンパク質 P、血漿、1	30
571	A2189	NM_000112	SLC26A2	溶質輸送体ファミリー26 (硫酸輸送体)、メンバー2	
572	A2536	U48707	PPP1R1A	タンパク質ホスファターゼ 1、 調節(阻害)サブユニット 1A	
573	A2518	BM557396	IGFBP6	インスリン様増殖因子結合 タンパク質 6	
574	A2543	NM_213674	TPM2	トロポミオシン 2(β)	
575	A2625	L26081	SEMA3A	sema ドメイン、 免疫グロブリンドメイン(Ig)、 短い塩基性ドメイン、分泌性、 (セマフォリン)3A	40
576	A3360	NM_031850	AGTR1	アンジオテンシン II 受容体、1 型	
577	A3631	NM_005908	MANBA	マンノシダーゼ、 βA 、リソソーム	

606	A0460	X55656	HBG2	ヘモグロビン、 γ G
607	A0994	BC016928	OAT	オルニチンアミノトランスフェラーゼ (脳回転状萎縮)
608	A1154	NM_000784	CYP27A1	シトクロム P450、ファミリー27、 サブファミリーA、ポリペプチド1
609	A1423	L38486	MFAP4	ミクロフィブリル結合タンパク質4
610	A1301	AF039018	PDLIM3	PDZ および LIM ドメイン3
611	A1431	L43821	NEDD9	神経前駆細胞発現、発生的に下方制御 9
612	A1966	X81438	AMPH	アンフィファイシン(乳癌を有する 全身硬直症候群 128 kDa 自己抗原)
613	A2075	L02321	GSTM5	グルタチオン S-トランスフェラーゼ M5
614	A2175	J03075	PRKCSH	プロテインキナーゼ C 基質 80K-H
615	A6159	T17385		仮想 LOC399951
616	A2557	NM_001928	DF	補体の D 成分(アディプシン)
617	A3019	J00068	ACTA1	アクチン、 α 1、骨格筋
618	A3511	NM_006200	PCSK5	プロタンパク質転換酵素サブチリシン /ケキシシ 5 型
619	A3291	BM805032	PRSS2	プロテアーゼ、セリン、 2(トリプシン2)
620	A3903	AF026692	SFRP4	分泌性 frizzled 関連タンパク質4
621	A4297	NM_012205	HAAO	3-ヒドロキシアントラニル酸 3,4- ジオキシゲナーゼ
622	A4403	NM_001856	COL16A1	コラーゲン、XVI 型、 α 1
623	A4695	NM_001003395	TPD52L1	腫瘍タンパク質 D52 様1
624	A5457	AF038193	ARL3	ADP リボシル化因子様3
625	A5849	NM_024095	ASB8	アンキリン反復および SOCS ボックス 含有8
626	A0971	AY034086	DSCR1L1	ダウン症候群重要領域遺伝子1様1
627	A0707	NM_000677	ADORA3	アデノシン A3 受容体
628	A0745	NM_004024	ATF3	活性化転写因子3
629	A1510	NM_004385	CSPG2	コンドロイチン硫酸 プロテオグリカン2(パーシカン)
630	A1693	X94991	ZYX	ザイキシシ
631	A3032	NM_000055	BCHE	ブチリルコリンエステラーゼ
632	A2904	BM727781	PCP4	プルキンエ細胞タンパク質4
633	A4043	NM_000304	PMP22	末梢ミエリタンパク質22
634	A4136	BC035128	MXI1	MAX 相互作用因子1
635	A4263	BX647780	ITGA5	インテグリン、 α 5(フィブロネクチン受容体、 α ポリペプチド)
636	A4390	AB007836	TGFB1I1	トランスフォーミング増殖因子 β 1 誘導性転写産物1
637	A5442	AF105036	KLF4	Kruppel 様因子4(腸)
638	A5422	W91908	GALNAC4S-6ST	B 細胞 RAG 関連タンパク質

10

20

30

40

639	A5834	AK025773	LMAN1	レクチン、マンノース結合、1
640	A1432	L47738	CYFIP2	細胞質 FMR1 相互作用タンパク質 2
641	A6243	BM564532	OPN1SW	オプシン 1(錐体視物質)、短波感受性(色盲、第三色盲)
642	A4702	NM_014890	DOC1	卵巣癌で下方制御 1
643	A5428	H05313		転写遺伝子座
644	A5556	BC071586	TIMP2	メタロプロテイナーゼ組織阻害因子 2
645	A6008	NM_005504	BCAT1	分岐鎖アミノトランスフェラーゼ 1、サイトゾル
646	A1553	BC023505	ECM1	細胞外基質タンパク質 1
647	A2063	U47025	PYGB	ホスホリラーゼ、グリコーゲン；脳
648	A3015	NM_201442	C1S	補体成分 1、s 小成分
649	A3119	J04621	SDC2	シンデカン 2(ヘパラン硫酸 プロテオグリカン 1、細胞表面結合、 フィブログリカン)
650	A3501	BC051748	TOP3A	トポイソメラーゼ (DNA) III α
651	A3151	M83712	CHRNA5	コリン受容体、ニコチン性、 α ポリペプチド 5
652	A3373	L13858	SOS2	son of sevenless 相同体 2 (ショウジョウバエ)
653	A4547	NM_004586	RPS6KA3	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ、 90 kDa、ポリペプチド 3
654	A5868	BC037733	SLC40A1	溶質輸送体ファミリー 40 (鉄調節性輸送体)、メンバー 1
655	A0578	NM_004417	DUSP1	二重特異性ホスファターゼ 1
656	A6152	XM_376018	KIAA1644	KIAA1644 タンパク質
657	A3054	U01839	FY	Duffy 血液型
658	A3550	NM_000702	ATP1A2	ATP アーゼ、Na ⁺ /K ⁺ 輸送、 α 2(+) ポリペプチド
659	A3299	BM696587	CRYAB	クリスタリン、 α B
660	A3783	X70991	NAB2	NGFI-A 結合タンパク質 2 (EGR1 結合タンパク質 2)
661	A4819	D17408	CNN1	カルポニン 1、塩基性、平滑筋
662	A4917	X83688	P2RX1	プリン受容体 P2X、 リガンド開口型イオンチャネル、1
663	A5597	BC012347	FGF13	線維芽細胞増殖因子 13
664	A6010	U79271	AKT3	v-akt マウス胸腺腫ウイルス癌遺伝 相同体 3(プロテインキナーゼ B、 γ)
665	A6089	CR749654	PHLDB2	プレクストリン相同様ドメイン、 ファミリー B、メンバー 2
666	A0975	NM_002037	FYN	SRC、FGR、YES 関連 FYN 癌遺伝子

10

20

30

667	A0875	L13740	NR4A1	核内受容体サブファミリー4、A群、メンバー1
668	A0597	X72760	LAMB2	ラミニン、 β 2(ラミニンS)
669	A1023	X05610	COL4A2	コラーゲン、IV型、 α 2
670	A1147	NM_000129	F13A1	凝固因子 XIII、A1ポリペプチド
671	A1956	NM_004010	DMD	ジストロフィン(筋ジストロフィー、デュシェンヌ型およびベッカー型)
672	A2404	M15395	ITGB2	インテグリン、 β 2(抗原 CD18(p95)、リンパ球機能関連抗原1；マクロファージ抗原1(mac-1) β サブユニット)
673	A2675	NM_005907	MAN1A1	マンノシダーゼ、 α 、クラス1A、メンバー1
674	A2641	X69090	MYOM1	ミオメシン(myomesin)1 (スケレミン(skelemin)) 185 kDa
675	A4175	CR594469	RHOQ	ras 相同体遺伝子ファミリー、メンバーQ
676	A4807	AJ001515	RYR3	リアノジン受容体3
677	A5152	AK129891	CASQ2	カルセケストリン2(心筋)
678	A0184	NM_000426	LAMA2	ラミニン、 α 2(メロシン、先天性筋ジストロフィー)
679	A6115	NM_175709	CBX7	クロモボックス相同体7
680	A2415	M15856	LPL	リポタンパク質リパーゼ
681	A2442	AK074668	ISLR	ロイシンリッチ反復含有免疫グロブリンスーパーファミリー
682	A2450	NM_001740	CALB2	カルビンジン2、29 kDa (カルレチニン)
683	A3055	AK095384	PDE4C	ホスホジエステラーゼ4C、cAMP 特異的(ホスホジエステラーゼ E1 dunce 相同体、ショウジョウバエ)
684	A3380	L20977	ATP2B2	ATPアーゼ、Ca ⁺⁺ 輸送、形質膜2
685	A3181	NM_002193	INHBB	インヒビン、 β B (アクチビンAB β ポリペプチド)
686	A4053	AB005293	PLIN	ペリリピン
687	A4794	AF064493	LDB2	LIMドメイン結合2
688	A4830	NM_004557	NOTCH4	notch 相同体4(ショウジョウバエ)
689	A5436	BQ009281	ELL2	伸長因子、RNAポリメラーゼII、2
690	A5690	AB028952	SYNPO	シナプトポジン(synaptopodin)
691	A6510	AI215810	CAPN7	カルパイン7
692	B1689	AL359062	COL8A1	コラーゲン、VIII型、 α 1
693	B2439	U04735	STCH	ストレス70タンパク質シャペロン、ミクロソーム結合、60 kDa
694	B6764	M14338	PROS1	プロテインS(α)
695	B8155	NM_006873	SBLF	TFIIA- α / β 様因子
696	A6427	BC004995	MARVELD1	MARVELドメイン含有1
697	A6436	AB014609	MRC2	マンノース受容体、C型2

10

20

30

40

698	A7576	AI640497	C9orf103	第9染色体オープンリーディング フレーム 103	10
699	A8863	BM678420		転写遺伝子座	
700	B1851	AA032154	FLJ22655	仮想タンパク質 FLJ22655	
701	B3746	AF311912	SFRP2	分泌性 frizzled 関連タンパク質 2	
702	B3759	AF067420	MGC27165	仮想タンパク質 MGC27165	
703	B4090	M34175	AP2B1	アダプター関連タンパク質複合体 2、 β 1 サブユニット	
704	A6545	NM_004613	TGM2	トランスグルタミナーゼ 2 (C ポリペプチド、タンパク質- グルタミン- γ - グルタミルトランスフェラーゼ)	
705	A6949	AB014733	SMAP-5	ゴルジ膜タンパク質 SB140	
706	A6923	AA677283	KIRREL	kin of IRRE 様(ショウジョウバエ)	
707	A9130	AF001436	CDC42EP2	CDC42 エフェクタータンパク質 (Rho GTP アーゼ結合)2	
708	A9161	BC051700	PHF10	PHD フィンガータンパク質 10	20
709	B0149	AF052090	NNT	ニコチンアミドヌクレオチド トランスヒドロゲナーゼ	
710	B1400	BX538213	CPEB4	細胞質ポリアデニル化エレメント結合 タンパク質 4	
711	B2148	M61900			
712	B2723	AA018259		ホモサピエンス(ヒト)の胎児脳の全長 cDNA クローン CS0DF027YN23	
713	A6778	M36172	MYL4	ミオシン、軽鎖ポリペプチド 4、 アルカリ；心房、胚性	
714	A7349	BX647178	FILIP1	フィラミン A 相互作用タンパク質 1	
715	B2829	AA121865	FLJ10081	仮想タンパク質 FLJ10081	
716	B2547	BM725055		転写遺伝子座	
717	A9341	BG576897	MSRB	メチオニンスルホキシド還元酵素 B	
718	B0275	AK092204	DNAJB9	DnaJ (Hsp40) 相合体、 サブファミリーB、メンバー9	30
719	B2490	BX112650	RYR2	リアノジン受容体 2(心臓)	
720	B2456	AL550901	CCNI	サイクリン I	
721	B3649	AI199480	WASF2	WAS タンパク質ファミリー、 メンバー2	
722	B4064	NM_000047	ARSE	アリールスルファターゼ E (点状軟骨異形成症 1)	
723	A6385	AA663484	PPP2R2B	プロテインホスファターゼ 2 (以前の 2A)、調節サブユニット B (PR 52)、 β アイソフォーム	
724	A8114	AL832154	CAP2	CAP、アデニル酸シクラーゼ結合 タンパク質、2(酵母)	
725	B0739	AK074209	PLEKHA3	プレクストリン相同ドメイン含有、 ファミリーA(ホスホイノシチド結合 特異的)メンバー3	
726	B0268	AK123393	CCDC3	コイルドコイルドメイン含有 3	

727	B1032	NM_172127	CAMK2D	カルシウム/カルモジュリン依存性 プロテインキナーゼ (CaM キナーゼ) II δ	10
728	B4077	NM_004099	STOM	ストマチン	
729	B0283	AL832993	NDFIP1	Nedd4 ファミリー相互作用タンパク質 1	
730	B2130	NM_000448	RAG1	組換え活性化遺伝子 1	
731	B2457	NM_007353	GNA12	グアニンヌクレオチド結合タンパク質 (G タンパク質) α 12	
732	B4085	NM_198098	AQP1	アクアポリン 1 (チャネル形成内在性 タンパク質、28 kDa)	
733	B4092	AB011126	FNBP1	フォルミン結合タンパク質 1	
734	B6287	U66680			
735	A7286	NM_021201	MS4A7	膜貫通 4-ドメイン、サブファミリー A、メンバー 7	
736	A8203	AK026966	AK3	アデニル酸キナーゼ 3	
737	A7795	BC044582	UBL3	ユビキチン様 3	20
738	A8531	BX537531	FBLN5	フィブリン (fibulin) 5	
739	B1081	AK096303	FLJ38984	仮想タンパク質 FLJ38984	
740	B1985	AI052390	FLJ20071	ダイメクリン (dymeclin)	
741	B4230	AK054596	IGBP1	免疫グロブリン (CD79A) 結合タンパク 質 1	
742	B4078	AK093049	SERPINA3	セリン (またはシステイン) プロテイナー ゼ阻害因子、クレード A (α -1 アンチプロテイナーゼ、 アンチトリプシン)、メンバー 3	
743	C0670	AK093067	CHPT1	コリンホスホトランスフェラーゼ 1	
744	A6409	AK091288	C9orf19	第 9 染色体オープンリーディング フレーム 19	
745	A6664	H19830	DKFZP434G156	仮想タンパク質 DKFZp434G156	
746	A7411	BC035028	SERPIND1	セリン (またはシステイン) プロテイナー ゼ阻害因子、クレード D (ヘパリンコファクター)、メンバー 1	30
747	A7145	X52005			
748	A7963	AK024964	NFIA	KIAA0485 タンパク質	
749	A7972	NM_170677	MEIS2	Meis1、骨髄エコトロピックウイルス 組込み部位 1 相同体 2 (マウス)	
750	A8433	NM_005843	STAM2	シグナル伝達アダプター分子 (SH3 ドメインおよび ITAM モチーフ) 2	
751	B2609	AL833069	KIAA1434	仮想タンパク質 KIAA1434	
752	A9305	BC035417		転写遺伝子座、NP_650255. 1 キイロショウジョウバエ (<i>Drosophila melanogaster</i>) CG11670 遺伝子と弱く類似	
753	A9187	BC034222	HRLP5	H-rev 107 様タンパク質 5	
754	A9801	AI350750	PDGFD	DNA 損傷誘導性タンパク質 1	
755	B1288	H73979	CACNB2	カルシウムチャネル、電位依存性、 β 2 サブユニット	40
756	B2506	AL834231	MTPN	ミオトロフィン	

757	B4086	NM_006206	PDGFRA	血小板由来増殖因子受容体、 αポリペプチド
758	A6672	H27000	WBSCR17	ウィリアムズ・ビューレン症候群 染色体領域 17
759	A6683	AB088477	PER1	period 相同体 1(ショウジョウバエ)
760	A8568	BQ071428	CUEDC2	CUE ドメイン含有 2
761	A9468	BX110596		ヒト、クローン IMAGE:4799216、mRNA
762	B8113	BC020848	RNASE6	リボヌクレアーゼ、 RN アーゼ A ファミリー、k6
763	B6773	BC077077	DPYSL3	ジヒドロピリミジナーゼ様 3
764	A6781	CB529051	G0S2	推定リンパ球 G0/G1 転換遺伝子
765	A6410	XM_496907	PEG10	父性的発現 10
766	A6665	AW450890	LMO3	LIM ドメインオンリー3 (ロンボチン(rhombotin)様 2)
767	A6936	AI766077	FLJ13456	仮想タンパク質 FLJ13456
768	A9993	AB007903	GPRASP1	G タンパク質共役受容体関連選別 タンパク質 1
769	B0327	NM_144658	DOCK11	細胞質分裂の献身因子(dedicator)11
770	B4288	AK092766	OLFML3	オルファクトメジン様 3
771	A6776	BM726594	COX7A1	シトクロム c 酸化酵素サブユニット VIIa ポリペプチド 1(筋肉)
772	A7599	AK095147		cDNA FLJ37828 fis、クローン BRSSN2006575
773	A7330	NM_018434	RNF130	RING フィンガータンパク質 130
774	A9462	BM474898	SLIT2	slit 相同体 2(ショウジョウバエ)
775	A9042	NM_022349	MS4A6A	膜貫通 4-ドメイン、 サブファミリーA、メンバー6A
776	A6522	BC045177	FLJ30046	仮想タンパク質 FLJ30046
777	A6530	NM_006988	ADAMTS1	トロンボスポンジン 1 型モチーフを 有するディスインテグリン様および メタロプロテアーゼ (レプロリシン(reprolysin)型)、1
778	A6567	AK096428	PDK4	ピルビン酸脱水素酵素キナーゼ、 イソ酵素 4
779	A7663	BX647421	FSTL1	フォリスタチン様 1
780	B2584	CR620669	PBX3	プレ B 細胞白血病転写因子 3
781	A8129	AB067468	KIAA1881	KIAA1881
782	A8552	AK056721	LOC56181	仮想タンパク質 RP1-317E23
783	A8591	BC078139	EIF2C2	真核生物翻訳開始因子 2C、2
784	A8744	NM_001233	CAV2	カベオリン 2
785	B0328	AK094236	DDIT4L	DNA 損傷誘導性転写産物 4 様
786	B4847	AA490011	LTBP1	潜在性トランスフォーミング増殖因子 β 結合タンパク質 1
787	A6611	N58556	DKFZp547K1113	仮想タンパク質 DKFZp547K1113

10

20

30

40

788	A6317	AI205684	HSPA2	熱ショック 70 kDa タンパク質 2
789	A7191	BC007655	PPP1R2	プロテインホスファターゼ 1、 調節(阻害)サブユニット 2
790	A8600	CR749355	hIAN2	ヒト免疫関連ヌクレオチド 2
791	B1649	AA244092		第 9 染色体動原体周囲 mRNA 配列
792	B4691	NM_024605	ARHGAP10	Rho GTP アーゼ活性化タンパク質 10
793	B6518	CA419435	GNPDA2	グルコサミン-6-リン酸デアミナーゼ 2
794	B9201	BX647427	WIF1	WNT 阻害因子 1
795	A6458	AK127289	SLCO2B1	溶質輸送体有機陰イオン輸送体 ファミリー、メンバー-2B1
796	A6602	W87690	ITGA9	インテグリン、 α 9
797	A6863	AK027199	MGC48972	仮想タンパク質 MGC48972
798	A6906	BC050423	TMEM22	膜貫通タンパク質 22
799	A8147	AY422170	TP53INP2	腫瘍タンパク質 p53 誘導性核 タンパク質 2
800	B4154	D87074	RIMS3	シナプス膜エキソサイトシス制御 3
801	B6579	AK126500	APEG1	大動脈優先発現タンパク質 1
802	A6712	NM_182643	DLC1	肝臓癌で欠失 1
803	A6993	H10356		cDNA FLJ36544 fis、クローン TRACH2006378
804	A7225	NM_002729	HHEX	造血性発現ホメオボックス
805	A6837	BX412783	LOC283140	仮想タンパク質 LOC283140
806	A7425	NM_003250	THRA	甲状腺ホルモン受容体、 α (赤芽球性 白血病ウイルス(v-erb-a)癌遺伝子 相同体、トリ)
807	A8162	AL832955	TNFAIP9	腫瘍壊死因子、 α 誘導性タンパク質 9
808	A7679	M97675	ROR1	受容体チロシンキナーゼ様 オーファン受容体 1
809	B2084	S45018	CHAT	コリンアセチルトランスフェラーゼ
810	A6593	AF007150	ANGPTL2	アンジオポイエチン様 2
811	A7075	NM_004982	KCNJ8	カリウム内向き整流性チャネル、 サブファミリーJ、メンバー-8
812	A7710	AK125609	CKIP-1	CK2 相互作用タンパク質 1 ; HQ0024c タンパク質
813	A7772	BC028314	SURF1	サーフェイト(surfeit)1
814	A9120	AF332010	CDV-1	心室で発現されるカルニチン欠損症 関連遺伝子 1
815	B0202	NM_021914	CFL2	コフィリン 2(筋肉)
816	B0240	AA081184	TCF4	転写因子 4

10

20

30

40

817	B5402	XM_375377	KIAA0513	KIAA0513	
818	B8811	D86962	GRB10	増殖因子受容体結合タンパク質 10	
819	A6613	AB018278	SV2B	シナプス小胞糖タンパク質 2B	
820	A6583	XM_371114	FHOD3	フォルミン相同 2 ドメイン含有 3	
821	A6876	AA705804	DPT	ダーマトポンチン(dermatopontin)	
822	A7426	BG617617	SAA2	血清アミロイド A2	
823	A7689	X00457	HLA-DPA1	主要組織適合性複合体、クラス II、DP α 1	
824	A8605	AK025205	DKFZP564O0823	DKFZP56400823 タンパク質	
825	A8639	AI368204	ENPP3	エクトヌクレオチドピロホスファターゼ/ホスホジエステラーゼ 3	10
826	A8647	XM_290734		アタキシシン 2 結合タンパク質 1 アイソフォーム 4; ヘキサリボヌクレオチド結合 タンパク質 1 に類似	
827	A9250	BC062575	RHOJ	ras 相同体遺伝子ファミリー、メンバー J	
828	B3940	K02765	C3	補体成分 3	
829	B3977	AI056268	PARVA	パルビン(parvin)、 α	
830	B4699	NM_003450	ZNF174	ジンクフィンガータンパク質 174	
831	B8782	AK022926	CTNNAL1	カテニン(カドヘリン結合タンパク質)、 α 様 1	20
832	A6719	AI302184	SQRDL	硫化キノン還元酵素様(酵母)	
833	A7464	AF081287	CTDP1	CTD(カルボキシ末端ドメイン、RNA ポリメラーゼ II、ポリペプチド A)ホスファターゼ、サブユニット 1	
834	A7246	N75862	EYA4	eyes absent 相同体 4 (ショウジョウバエ)	
835	A7773	NM_002504	NFX1	核転写因子、X ボックス結合 1	
836	A8155	CD242398	LOC51255	仮想タンパク質 LOC51255	
837	B2641	BX094063	PIN4	タンパク質(ペプチジルプロリルシス/トランス イソメラーゼ) NIMA 相互作用、4(パーブリン(parvlin))	30
838	A9121	AB002388	ZNF536	ジンクフィンガータンパク質 536	
839	A9280	AW136599	HUNK	ホルモン性上方制御 Neu 関連キナーゼ	
840	B0241	BC056414	PLVAP	原形質膜小胞結合タンパク質	
841	B1531	BC063304	NPR1	ナトリウム利尿ペプチド受容体 A/ グアニル酸シクラーゼ A (心房ナトリウム利尿ペプチド受容体 A)	
842	B2663	BC009978	ACTC	アクチン、 α 、心筋	
843	B4213	NM_001001937	ATP5A1	ATP 合成酵素、H ⁺ 輸送、ミトコンドリア F1 複合体、 α サブユニット、アイソフォーム 1、心筋	40

844	A6348	AK026653	C14orf168	第 14 染色体オープンリーディング フレーム 168
845	A6842	AB043585	RPRM	レプリモ (reprimo)、 TP53 依存性 G2 停止メディエータ候補
846	A8761	BM984852	C6orf166	仮想タンパク質 PR02266
847	B0337	R28608	MAPRE2	微小管結合タンパク質、 PR/EB ファミリー、メンバー 2
848	B5155	W84893	AGTRL1	アンジオテンシン II 受容体様 1
849	B7659	AF541281	LPPR4	可塑性関連遺伝子 1
850	B6542	NM_014819	PJA2	praja 2、RING-H2 モチーフ含有
851	A7775	BC033820	FGL2	フィブリノーゲン様 2
852	A8156	BQ010373	HEG	HEG 相同体
853	B2659	AI025259		転写遺伝子座
854	A9282	AF086912	OGN	オステオグリシン (骨誘導因子、 ミメカン (mimcan))
855	B0845	H68305	PRKAB2	プロテインキナーゼ、AMP 活性化、 $\beta 2$ 非触媒サブユニット
856	B3924	AK075151	HSPB7	熱ショック 27 kDa タンパク質 ファミリー、メンバー 7 (心血管)
857	B4008	XM_167709	C10orf38	第 10 染色体オープンリーディング フレーム 38
858	C4095	NM_002122	HLA-DQA1	主要組織適合性複合体、クラス II、 DQ $\alpha 1$
859	B9009	XM_039796	TNIK	TRAF2 および NCK 相互作用キナーゼ
860	A6475	BC032508	FLJ10781	仮想タンパク質 FLJ10781
861	A6358	AK056079	JAM2	接合部接着分子 2
862	A7230	NM_001845	COL4A1	コラーゲン、IV 型、 $\alpha 1$
863	A9373	AK128695	COL6A2	コラーゲン、VI 型、 $\alpha 2$
864	A9103	AK091635	FLJ11200	仮想タンパク質 FLJ11200
865	A9081	BC000693	ACTR1A	ARP1 アクチン関連タンパク質 1 相同体 A、セントラクチン (centractin) α (酵母)
866	A9381	AL117605		cDNA : FLJ21418 fis、クローン COL04072
867	A9719	XM_294521	FLJ43950	FLJ43950 タンパク質
868	B1004	NM_004530	MMP2	マトリックスメタロプロテイナーゼ 2 (ゼラチナーゼ A、72 kDa ゼラチナーゼ、72 kDa IV 型 コラゲナーゼ)
869	B4674	AA149429	ATP10D	ATP アーゼ、クラス V、10D 型
870	A6856	XM_051081	TBC1D12	TBC1 ドメインファミリー、 メンバー 12
871	A7467	BC034989	P2RY14	プリン受容体 P2Y、 G タンパク質共役、14
872	A7088	AB031046	TCF7L1	転写因子 7 様 1 (T 細胞特異的、 HMG ボックス)
873	A7222	NM_001911	CTSG	カテプシン G
874	A7893	AA417560		転写遺伝子座
875	A8030	AL137734	DKFZp586C0721	仮想タンパク質 DKFZp586C0721

10

20

30

40

876	A8514	AL110212	H2AFV	H2A ヒストンファミリー、 メンバーV
877	A9870	AB040938	KIAA1505	KIAA1505 タンパク質
878	B1676	BC025985	IGHG4	免疫グロブリン重鎖定常 γ 4 (G4m マーカー)
879	A6447	AK127088	EPB41L2	赤血球膜タンパク質バンド 4.1 様 2
880	A6457	AJ318805		cDNA FLJ44429 fis、クローン UTERU2015653
881	A6360	AL390127	KLF13	Kruppel 様因子 13
882	A7000	XM 496727	DKFZP564J102	DKFZP564J102 タンパク質
883	A6844	AL831898	LOC285812	仮想タンパク質 LOC285812
884	A7239	AA523541	DSIP1	δ 睡眠誘導ペプチド、免疫反応物
885	A8482	BC047492	ADHFE1	アルコール脱水素酵素、鉄含有、1
886	A8493	AA780301	CTSF	カテプシン F
887	A9564	NM_000076	CDKN1C	サイクリン依存性キナーゼ阻害因子 1C(p57、Kip2)
888	B2874	AA883488	KIAA0408	KIAA0408
889	B6561	AB014544	KIAA0644	KIAA0644 遺伝子産物
890	B7552	NM 016143	NSFL1C	NSFL1 (p97)、補因子 (p47)
891	A6751	NM_002258	KLRB1	キラー細胞レクチン様受容体 サブファミリーB、メンバー1
892	A8186	BM551020	SCAMP2	分泌性担体膜タンパク質 2
893	A8159	BX537904	APG5L	APG5 自己食食 5 様 (S. セレビスエ)
894	A8823	N26005	PPP1R3C	プロテインホスファターゼ 1、 調節(阻害)サブユニット 3C
895	B4810	BM701072	KIAA0103	KIAA0103
896	B9056	AF433662	ARHGEF3	Rho グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) 3
897	B2978	AA442090	FLJ10292	仮想タンパク質 FLJ10292
898	B3794N	BC033829	AKAP12	A キナーゼ (PRKA) アンカータンパク質 (グラビン (gravin)) 12
899	B3766	NM 000933	PLCB4	ホスホリパーゼ C、 β 4
900	B4194N	BG292094	FLJ11000	仮想タンパク質 FLJ11000
901	B6051	R32860	MOBKL2B	MOB1、Mps One Binder キナーゼ活性化因子様 2B(酵母)
902	B6511	AK124739		cDNA FLJ36725 fis、クローン UTERU2012230
903	B6358	AL161983	MGC39820	仮想タンパク質 MGC39820
904	B7880N	AK125119	C6orf68	第 6 染色体オープンリーディング フレーム 68
905	B9198	AK123132	MSRA	メチオニンスルホキシド還元酵素 A
906	B8754	AL833264	FEM1B	fem-1 相同体 b(線虫)
907	B9564	CR609948	KPNB1	カリオフェリン(インポーチン) β 1
908	B9394	AL117521	C20orf77	第 20 染色体オープンリーディング フレーム 77

10

20

30

40

909	A1871N	NM_198235	RNASE1	リボヌクレアーゼ、 RNアーゼ A ファミリー、1 (脾臓)
910	A3439N	BM994174	HBB	ヘモグロビン、 β
911	A7605	R15801	NRN1	ニューリチン(neuritin)1
912	B4394	N46424	RAI14	レチノイン酸誘導性 14
913	B3827	N20989	ANTXR1	炭疽毒素受容体 1
914	B4574	AK160376	FLJ12895	仮想タンパク質 FLJ12895
915	B6373	BX423161	LHPP	ホスホリジンホスホヒスチジン無機 ピロリン酸ホスファターゼ
916	B7122	AA480009		cDNA FLJ13569 fis、クローン PLACE1008369
917	B7310	R72837	DKFZP434F2021	DKFZP434F2021 タンパク質
918	B8308	NM_001001936	KIAA1914	KIAA1914
919	B7903	N49237		ヒト、クローン IMAGE:5312516、mRNA
920	B8141	BC042478	DKFZP434F0318	仮想タンパク質 DKFZp434F0318
921	B9647	AK125651	FLJ43663	仮想タンパク質 FLJ43663
922	A0925N	L42374	PPP2R5B	プロテインホスファターゼ 2、 調節サブユニット B(B56)、 β アイソフォーム
923	A6533N	AL833076	FLJ14281	仮想タンパク質 FLJ14281
924	A6272	NM_139346	BIN1	架橋統合因子(integrator)1
925	B4133	BC039740	LOC84549	RNA 結合タンパク質
926	B4694	AK074046	ZNF521	ジンクフィンガータンパク質 521
927	B5489	NM_003916	AP1S2	アダプター関連タンパク質複合体 1、 σ 2 サブユニット
928	B6306	AF107454	C7orf2	第 7 染色体オープンリーディング フレーム 2
929	B7500	H14059	LOC197336	RIKEN cDNA 3230401M21 [マウス(Mus musculus)]に類似
930	B8069	NM_013366	ANAPC2	分裂後期促進複合体サブユニット 2
931	B8422	CA310622	ACTR3	ARP3 アクチン関連タンパク質 3 相同体(酵母)
932	B8679	NM_030569	ITIH5	インター α (グロブリン) 阻害因子 H5
933	B9427	BC047114		cDNA クローン IMAGE:5313062、 部分 cds
934	B9435	Z39318	SP2	Sp2 転写因子
935	A4798N	NM_174953	ATP2A3	ATP アーゼ、Ca ⁺⁺ 輸送、遍在性
936	A0774N	BC012613	CPA3	カルボキシペプチダーゼ A3 (肥満細胞)
937	A6640N	BC001816	RAP1GDS1	RAP1、GTP-GDP 解離刺激因子 1
938	A8783N	AA621565	ENPP1	エクトヌクレオチドピロホスファター ゼ/ホスホジエステラーゼ 1

10

20

30

40

939	B0870N	CR610395	ASF1A	ASF1 抗サイレンシング機能 1 相同体 A(S. セレビスエ)
940	B5768	BX647147		転写遺伝子座、XP_375099.1 仮想タンパク質 LOC283585[ヒト]と 弱く類似
941	B6365	AK091292	FATJ	fat 様カドヘリン FATJ
942	B6571	BC039332	LOC285086	仮想タンパク質 LOC285086
943	B7170N	NM_019035	PCDH18	プロトカドヘリン 18
944	B9172	AK092542	C2orf32	第 2 染色体オープンリーディング フレーム 32
945	B9634	BX110180		転写遺伝子座
946	B9317	N24737		転写遺伝子座
947	B9419	BM996307	LNK	ナム(numb)タンパク質のリガンド X
948	A2660N	NM_021023	CFHL3	補体因子 H 関連 3
949	A0881N	Z21707	ZNF197	ジンクフィンガータンパク質 197
950	A1816N	BC075800	PRKAR2B	プロテインキナーゼ、cAMP 依存性、 調節性、II 型、 β
951	A0702N	BQ189297	FLT1	fms 関連チロシンキナーゼ 1 (血管内皮増殖因子/血管透過性因子 受容体)
952	A0936N	M86852	PXMP3	ペルオキシソーム膜タンパク質 3、 35 kDa(ツェルウェーガ症候群)
953	B4137	NM_053025	MYLK	ミオシン、軽鎖ポリペプチドキナーゼ
954	B4949	R26358	SLMAP	筋細胞膜結合タンパク質
955	B5172N	NM_001289	CLIC2	塩素細胞内チャネル 2
956	B6700	AL133579	STARD9	START ドメイン含有 9
957	B6104N	BM987057	KIAA0563	KIAA0563 遺伝子産物
958	B7105	AK055782	PDLIM2	PDZ および LIM ドメイン 2(mystique)
959	B7930	N21096		
960	B7887	BU580616	FLJ10159	仮想タンパク質 FLJ10159
961	B8081	BM981462	FLJ13710	仮想タンパク質 FLJ13710
962	B8438	AA403307	UBE4B	ユビキチン化因子 E4B (UFD2 相同体、酵母)
963	B9300	CA446432	C6orf66	第 6 染色体オープンリーディング フレーム 66
964	A6448N	AK127801	FLJ46603	FLJ46603 タンパク質
965	A9346N	AY358379	PP2135	PP2135 タンパク質
966	B3779	BF966783		
967	B4396	W58589	DDR2	ジスコイジンドメイン受容体 ファミリー、メンバー 2
968	B4568	AK021950	PRTFDC1	ホスホリボシルトランスフェラーゼ ドメイン含有 1
969	B4956	NM_005737	ARL7	ADP リボシル化因子様 7
970	B4577	AY081219	ABCC4	ATP 結合カセット、 サブファミリー C(CFTR/MRP)、 メンバー 4
971	B5199	AK098381	ADCY5	アデニル酸シクラーゼ 5

10

20

30

40

972	B5399	XM_056455	D2S448	黒色腫関連遺伝子	
973	B6366	AK130263	KIAA1430	KIAA1430	
974	B7304N	AA777308	C6orf60	第6染色体オープンリーディング フレーム 60	
975	B7312	BU738244		AK094796により支持される 仮想遺伝子	
976	B7171	H75419	CYBRD1	シトクロム b 還元酵素 1	
977	B7708	AA938297	FLJ20716	仮想タンパク質 FLJ20716	
978	B8098	R42864	PAPOLA	ポリ(A)ポリメラーゼ α	
979	B7768	BC017032	GCNT3	グルコサミニル(N-アセチル) トランスフェラーゼ 3、ムチン型	10
980	B8770	J04605	PEPD	ペプチダーゼ D	
981	B9603	BM679454	ASAM	脂肪細胞特異的接着分子	
982	B9803	AF414088	COL21A1	コラーゲン、XXI 型、 $\alpha 1$	
983	A4655N	NM_001164	APBB1	アミロイド β (A4) 前駆体タンパク質 結合、ファミリーB、メンバー1 (Fe65)	
984	A1818N	NM_033138	CALD1	カルデスモン 1	
985	A3200N	AK122763	COL5A1	コラーゲン、V 型、 $\alpha 1$	
986	B2864	AI088622	PRKCDBP	プロテインキナーゼ C、 δ 結合タンパク質	20
987	B4348	AK055071	PIGK	ホスファチジルイノシトール グリカン、クラス K	
988	B8670	NM_021038	MBNL1	muscleblind 様(ショウジョウバエ)	
989	B9836	R79561	ARRDC3	アレスチンドメイン含有 3	
990	A1779N	AF025534	LILRB5	白血球免疫グロブリン様受容体、 サブファミリー(TM および ITIM ドメインを有する)、メンバー5	
991	A3034N	BC027913	PPP3R1	プロテインホスファターゼ 3 (以前の 2B)、調節サブユニット B、 19 kDa、 α アイソフォーム (カルシニューリン B、I 型)	30
992	A3147N	U20938	DPYD	ジヒドロピリミジン脱水素酵素	
993	A1963N	BC047756	QPCT	グルタミンルペプチドシクロトランス フェラーゼ(グルタミンルシクラーゼ)	
994	B3829	AF091434	PDGFC	血小板由来増殖因子 C	
995	B4578	AI290343	STC2	スタニオカルシン 2	
996	B5151	BU627644	7h3	仮想タンパク質 FLJ13511	
997	B4614	AL833852	TAZ	PDZ 結合モチーフを有する 転写共活性化因子 (TAZ)	
998	B4971	NM_020443	NAV1	ニューロンナビゲーター1	
999	B6319	BX414085	ICSBP1	インターフェロンコンセンサス配列 結合タンパク質 1	40
1000	B7526	R40594	CYP2U1	シトクロム P450、ファミリー2、 サブファミリーU、ポリペプチド 1	
1001	B9790	BC067746	CLEC1	C 型レクチン様受容体-1	
1002	B9341	BC012984	ALS2CR19	筋萎縮性側索硬化症 2 (若年性) 染色体領域、候補 19	

1003	A0907N	NM_016083	CNR1	カンナビノイド受容体 1(脳)
1004	A5065	BC036661	CMKOR1	ケモカインオーファン受容体 1
1005	A3369N	L13283	MUC7	ムチン 7、唾液
1006	A8391N	AA482082	FOXK1	フォークヘッドボックス K1
1007	B4364	CD365397	TRPV2	一過性受容体電位カチオンチャネル、サブファミリーV、メンバー2
1008	B3958	AF145713	SCHIP1	シュワノミン相互作用タンパク質 1
1009	B5164	R37342	PARVG	パルビン、 γ
1010	B6108	AW409897	LOC91461	仮想タンパク質 BC007901
1011	B6565N	BC007997	RERG	RAS 様、エストロゲン調節性、成長抑制因子
1012	B7875	H17818		転写遺伝子座
1013	B9007	BQ028161	hSyn	脳シネンブリン (synembryn)
1014	A1780N	CR606785	ENPP2	エクトヌクレオチドピロホスファターゼ/ホスホジエステラーゼ 2 (オートタキシン)
1015	A1151N	M55618	TNC	テネイシン C(ヘキサブラキオン)
1016	A6369N	NM_013374	PDCD6IP	プログラム細胞死 6 相互作用タンパク質
1017	B3930	XM_290629	C14orf78	第 14 染色体オープンリーディングフレーム 78
1018	B4217	BU608626	WFDC2	WAP 4 ジスルフィドコアダメイン 2
1019	B4447	NM_032287	LDOC1L	癌で下方制御されるロイシンジッパー1 様
1020	B5721N	AK024116	FLJ14054	仮想タンパク質 FLJ14054
1021	B5949	NM_016293	BIN2	架橋統合因子 2
1022	B6719	BX537713		ヒト、クローン IMAGE:4150640、mRNA
1023	B6738	BX640757	DRCTNNB1A	Ctnnb1 により下方制御、a
1024	A1669	M95787	TAGLN	トランスゲリン(transgelin)
1025	A0919N	J05550	MRC1	マンノース受容体、C 型 1
1026	A2753N	BC009924	NPTX2	ニューロンペントラキシン II
1027	A0969N	NM_001873	CPE	カルボキシペプチダーゼ E
1028	B3911	BC038457	DKFZP586H2123	再生関連筋肉プロテアーゼ
1029	B4953	AB007960	SH3GLB1	SH3 ドメイン GRB2 様エンドフィリン B1
1030	B5382N	AK125194	MAP1B	微小管結合タンパク質 1B
1031	B6568	AK091271	GPR161	G タンパク質共役受容体 161
1032	B7877	AB029033	IQSEC3	IQ モチーフおよび Sec7 ドメイン 3
1033	B9777	NM_030781	COLEC12	コレクチンサブファミリーメンバー12
1034	A3079	J04599	BGN	バイグリカン
1035	A3160N	NM_000125	ESR1	エストロゲン受容体 1
1036	A1981	U58514	CHI3L2	キチナーゼ 3 様 2

10

20

30

40

1037	A6696	NM_012072	C1QR1	補体成分 1、q 小成分、受容体 1	
1038	A8809N	NM_000755	CRAT	カルニチンアセチルトランスフェラーゼ	
1039	B1090N	AF361473	ROBO4	roundabout 相同体 4、magic roundabout (ショウジョウバエ)	
1040	B3933	AY358360	ELTD1	EGF、ラトロフィリンおよび 7 回膜貫通ドメイン含有 1	
1041	B3966	BC047724	C10orf128	第 10 染色体オープンリーディングフレーム 128	
1042	B3831	AK125356	KLHL13	kelch 様 13 (ショウジョウバエ)	10
1043	B4450	BC048969	TSPYL1	TSPY 様 1	
1044	B5396	AF208863	C6orf209	第 6 染色体オープンリーディングフレーム 209	
1045	B5410	BC033183	CHST3	糖質 (コンドロイチン 6) スルホトランスフェラーゼ 3	
1046	B6082	BX537781	FNDC5	フィブロネクチン III 型ドメイン含有 5	
1047	B7003N	AF045584	SLC43A1	溶質輸送体ファミリー 43、メンバー 1	
1048	B7922	NM_181844	BCL6B	B 細胞 CLL/リンパ腫 6、メンバー B (ジンクフィンガータンパク質)	
1049	B8790	AK123915	ZBED3	ジンクフィンガー、BED ドメイン含有 3	20
1050	A0055N	AF058925	JAK2	ヤヌスキナーゼ 2 (プロテインチロシンキナーゼ)	
1051	A7633	AL136578	MGC3040	仮想タンパク質 MGC3040	
1052	B5842N	AF545852	MK2S4	プロテインキナーゼ基質 MK2S4	
1053	B7363	AL832469		BX647608 により支持される仮想遺伝子	
1054	B9053	AB023158	RAB11FIP2	RAB11 ファミリー相互作用タンパク質 2 (クラス I)	
1055	A0560N	NM_000618	IGF1	インスリン様増殖因子 1 (ソマトメジン C)	30
1056	A1624N	NM_003034	SIAT8A	シアリルトランスフェラーゼ 8A (α -N-アセチルノイラミン酸: α -2, 8-シアリルトランスフェラーゼ、GD3 合成酵素)	
1057	A7760N	BC047390	ARID5A	AT リッチ相互作用ドメイン 5A (MRF1 様)	
1058	A8879N	CR597401	HCA112	肝細胞癌関連抗原 112	
1059	A5504N	AK056479	SPRED2	sprouty 関連、EVH1 ドメイン含有 2	
1060	B2957	CR599541	TFIP11	タフテリン (tuftelin) 相互作用タンパク質 11	
1061	B3586	AA748009	PPP2R5E	プロテインホスファターゼ 2、調節サブユニット B (B56)、 ϵ アイソフォーム	40
1062	B4320	N56931	C5orf4	第 5 染色体オープンリーディングフレーム 4	
1063	B4277	AJ420529	STX7	シンタキシン 7	
1064	B3893	AY549722	ITLN1	インテレクチン 1 (ガラクトフラノース結合)	

1065	B7204N	AK074765	CA14	炭酸脱水酵素 XIV
1066	B7444	AW452608	C9orf87	第9染色体オープンリーディング フレーム 87
1067	B8593	BU624282	KIAA0779	KIAA0779 タンパク質
1068	B9132	AA455877	MRVI1	マウスレトロウイルス組込み部位 1 相同体
1069	B9504	AA521163	PTEN	ホスファターゼおよびテンシン相同体 (多発性進行癌で変異 1)
1070	A8864N	N93511	FLJ10853	仮想タンパク質 FLJ10853
1071	B2559	CA426475	HBE1	ヘモグロビン、 ϵ 1
1072	B4235N	AK095908	MFGE8	乳脂肪球-EGF 因子 8 タンパク質
1073	B4291	AK025198	XIST	X(不活性)特異的転写産物
1074	B4245	AF034176	NUDT3	Nudix(ヌクレオシドニリン酸 結合部分 X)型モチーフ 3
1075	B7559	AB073386	SGEF	Src 相同 3 ドメイン含有 グアニンヌクレオチド交換因子
1076	B8203	NM_018325	C9orf72	第9染色体オープンリーディング フレーム 72
1077	B8035	AL834240	KIAA1576	KIAA1576 タンパク質
1078	B8212	AK023159	LSM11	LSM11、U7 低分子核内 RNA 結合
1079	A0085N	D37965	PDGFRL	血小板由来増殖因子受容体様
1080	A4391N	NM_003155	STC1	スタニオカルシン 1
1081	A1437N	NM_002210	ITGAV	インテグリン、 α V(ビトロネクチン 受容体、 α ポリペプチド、抗原 CD51)
1082	A7247N	AL133118	EMCN	エンドムチン
1083	A8289N	AK127420		転写遺伝子座、FLJ43276 タンパク質 [ヒト]と類似の XP_375268.2 と 弱く類似
1084	B3883	BC027937	RAI2	レチノイン酸誘導性 2
1085	B4321	BX648583	EDIL3	EGF 様反復およびジスコイジン I 様 ドメイン 3
1086	B4684	BC036485		ヒト、クローン IMAGE:5261213、mRNA
1087	B5442	AK124604	LOC283537	仮想タンパク質 LOC283537
1088	B6492	AK057151		cDNA FLJ32589 fis、クローン SPLEN2000443
1089	B7082	AK055323		cDNA クローン IMAGE:5263177、 部分 cds
1090	B9505	NM_004796	NRXN3	ニューレキシシン 3
1091	A3538	J03464	COL1A2	コラーゲン、I 型、 α 2
1092	A7704N	NM_003749	IRS2	インスリン受容体基質 2

10

20

30

1093	B3059	NM_004755	RPS6KA5	リボソームタンパク質 S6 キナーゼ、90 kDa、ポリペプチド 5	
1094	B3834	AB033040	RNF150	Ring フィンガータンパク質 150	
1095	B4237	XM_290941	PRNPIP	プリオンタンパク質相互作用タンパク質	
1096	B4498N	BX648979	SLC41A1	溶質輸送体ファミリー41、メンバー1	
1097	B4661	AI765053	PTPRD	プロテインチロシンホスファターゼ、受容体型、D	
1098	B4633	AL162008	CLIC4	塩素細胞内チャネル 4	
1099	B5019	BQ574410		ホモサピエンス(ヒト)の胎盤 Cot25-規準化の全長 cDNA クローン CS0DI014YH21	10
1100	B7429	BM723215	SMARCE1	クロマチンの SWI/SNF 関連、マトリックス結合、アクチン依存性制御因子、サブファミリーe、メンバー1	
1101	B8028	AK057742	C10orf46	第 10 染色体オープンリーディングフレーム 46	
1102	B8036	R20340	ATP5S	ATP 合成酵素、H ⁺ 輸送、ミトコンドリア F0 複合体、サブユニット s(因子 B)	
1103	B8213	AA729769	LOC112476	リンパ球抗原 6 複合体、遺伝子座 G5B ; G5b タンパク質 ; オープンリーディングフレーム 31 に類似	20
1104	B9470	N29574	RRAGD	ras 関連 GTP 結合 D	
1105	A2632N	NM_003816	ADAM9	ディスインテグリンおよびメタロプロテイナーゼドメイン 9(メルトリン γ)	
1106	B0081N	AB040962	KIAA1529	KIAA1529	
1107	B3699	NM_006617	NES	ネスチン	
1108	B8411	BX412247	EFHD1	EF ハンドドメイン含有 1	
1109	A2019N	AA442410	EMP1	上皮膜タンパク質 1	
1110	B4240	BC018652	FXVD6	FXVD ドメイン含有イオン輸送制御因子 6	
1111	B4249	BC070071	RBM16	RNA 結合モチーフタンパク質 16	30
1112	B3721	AB023177	KIAA0960	KIAA0960 タンパク質	
1113	B5418	BQ573990	ZNF148	ジンクフィンガータンパク質 148(pHZ-52)	
1114	B5464	AK127355	SEC23A	Sec23 相同体 A(S. セレビスエ)	
1115	B7185	W61217	RAB23	RAB23、メンバー-RAS 癌遺伝子ファミリー	
1116	B7996N	BQ445850		cDNA クローン IMAGE:5561426、部分 cds	
1117	B8341	BC043003	NEK7	NIMA(never in mitosis 遺伝子 a) 関連キナーゼ 7	
1118	B8547	BC033746	PNCK	妊娠上方制御非遍在性発現 CaM キナーゼ	40
1119	B8351	R26919	DSCR1L2	ダウン症候群重要領域遺伝子 1 様 2	
1120	B8389	AK095203	PDE3A	ホスホジエステラーゼ 3A、cGMP 阻害性	

1121	B9722	BQ773658		仮想 LOC402560
1122	A1600N	NM_001844	COL2A1	コラーゲン、II 型、 $\alpha 1$ (原発性変形性関節症、 脊椎骨端異形成症、先天性)
1123	A1471N	M83772	FMO3	フラビン含有モノオキシゲナーゼ 3
1124	A1634N	BC026324	MMD	単球からマクロファージへの分化関連
1125	A2633N	BX648814	ANGPT1	アンジオポエチン 1
1126	B4030	AK055793	C20orf129	第 20 染色体オープンリーディング フレーム 129
1127	B4339	W73738	TMEM25	膜貫通タンパク質 25
1128	B4891	W19216	PKIG	プロテインキナーゼ (cAMP 依存性、 触媒性) 阻害因子 γ
1129	B5059N	T88953		転写遺伝子座
1130	B6284	AK096240		真菌後生動物起源のタンパク質様 (11.1 kD) (2C514) に類似
1131	B7814	BC039414		ヒト、クローン IMAGE:5302158、mRNA
1132	B8234	AF070632		クローン 24405 mRNA 配列
1133	B8924	AI357442	SPARC	分泌タンパク質、酸性、 システインリッチ (オステオネクチン)
1134	A0038N	W73825	TCF21	転写因子 21
1135	B3584	AA917358		転写遺伝子座
1136	B6250	N30317	LOC91526	仮想タンパク質 DKFZp434D2328
1137	B7018	R00826	RAB3GAP	RAB3 GTP アーゼ活性化タンパク質
1138	B7435	AK093246	RPL13	リボソームタンパク質 L13
1139	B8344	AB019210	PGM2L1	ホスホグルコムターゼ 2 様 1
1140	B8850	Z30256	KIF1B	キネシンファミリーメンバー 1B
1141	A2087N	BC012617	ACTG2	アクチン、 $\gamma 2$ 、平滑筋、腸内
1142	A4459N	BC013188	TPST1	チロシルタンパク質 スルフォトランスフェラーゼ 1
1143	A7346N	N70296	ANK3	アンキリン 3、ランヴィエ絞輪 (アンキリン G)
1144	B3695	BC017312	MGC3047	仮想タンパク質 MGC3047
1145	B3889	BC013042	MGC7036	仮想タンパク質 MGC7036
1146	B4032	AF545571	SULF1	スルファターゼ 1
1147	B5618	AA502764	RKHD1	Ring フィンガーおよび KH ドメイン 含有 1
1148	B6405	AA045332	ME1	リンゴ酸酵素 1、NADP (+) 依存性、 サイトゾル
1149	B6035N	AF205632	SH3BP3	SH3 ドメイン結合タンパク質 3
1150	B7441	AA994299	C16orf30	第 16 染色体オープンリーディング フレーム 30

10

20

30

40

1151	B7274	BM671249	BAZ2A	ジンクフィンガードメイン隣接 プロモドメイン、2A
1152	B8865	N66810		ヒト、クローン IMAGE:4690669、mRNA
1153	B8404	AF173389	EEA1	初期エンドソーム抗原 1、162 kD
1154	A4381N	U81523	EBAF	子宮内膜出血関連因子(左右決定、 因子 A；トランスフォーミング増殖 因子 β スーパーファミリー)
1155	A6909	NM_018667	SMPD3	スフィンゴミエリン ホスホジエステラーゼ 3、中性膜 (中性スフィンゴミエリナーゼ II)
1156	A7232N	BX648421	IGJ	免疫グロブリン J ポリペプチド、 免疫グロブリン α および μ ポリペプチドのリンカータンパク質
1157	B4665N	AA045171		
1158	B4638	BX648635	LIFR	白血病抑制因子受容体
1159	B5081N	AL832416	C9orf13	第 9 染色体オープンリーディング フレーム 13
1160	B5460	BX537492	FLJ23091	推定 NFkB 活性化タンパク質 373
1161	B5427	CR600360	DNAJA2	DnaJ (Hsp40) 相同体、 サブファミリー A、メンバー 2
1162	B5292	BQ574739	SMAP	低分子酸性タンパク質
1163	B7193N	BX109986		転写遺伝子座
1164	B7424	CA503060	FLJ21069	仮想タンパク質 FLJ21069
1165	B8040	AJ420553	ID4	DNA 結合の阻害因子 4、 ドミナントネガティブヘリックス -ループ-ヘリックスタンパク質
1166	B8354	NM_003387	WASPIP	ウィスコット・アルドリッチ症候群 タンパク質相互作用タンパク質
1167	B8628	AA658236	HECTD2	HECT ドメイン含有 2
1168	B9368	AF504647		cilia 関連タンパク質 (CYS1)
1169	B9749	BQ575959	HTRA3	セリンプロテアーゼ HTRA3
1170	A1397N	AK091875	PPP2CB	プロテインホスファターゼ 2 (以前の 2A)、触媒サブユニット、 β アイソフォーム
1171	A1485N	BC050283	WASF3	WAS タンパク質ファミリー、 メンバー 3
1172	A6126N	H11384	CDC42EP3	CDC42 エフェクタータンパク質 (Rho GTP アーゼ結合) 3
1173	B4330	AB020637	KIAA0830	KIAA0830 タンパク質
1174	B4491	BX537444	ATP2B4	ATP アーゼ、Ca ⁺⁺ 輸送、形質膜 4
1175	B5815	T72611		転写遺伝子座
1176	B6819N	AL542335	EEF1A1	真核生物翻訳伸長因子 1 α 1
1177	B7058	BX094037		転写遺伝子座
1178	B8051	AK094950		cDNA FLJ37631 fis、クローン BRCOC2015944

10

20

30

40

1179	B8866	CR749586	FLJ11088	GGA 結合パートナー
1180	B8599	R37079	PDZRN4	PDZ ドメイン含有 RING フィンガー4
1181	B9502	AL050227	PTGER3	プロスタグランジン E 受容体 3 (サブタイプ EP3)
1182	C0213	BX110085		転写遺伝子座
1183	C0226	AK074924	KIAA0853	KIAA0853
1184	C3653	BC066956	VIM	ビメンチン
1185	C4908	BX118828		転写遺伝子座
1186	C6830	R49122	FLJ14800	仮想タンパク質 FLJ14800
1187	C7111	T15991		転写遺伝子座
1188	C8074	X79204	ATXN1	アタキシン 1
1189	C9718	W94051	DTNA	ジストロブレビン、 α
1190	C0685	H27764	SLC18A2	溶質輸送体ファミリー18 (小胞モノアミン)、メンバー2
1191	C3767	BC018128	FGFR1	線維芽細胞増殖因子受容体 1 (fms 関連チロシンキナーゼ 2、 パイフェル症候群)
1192	C4060	N35250		
1193	C7466	NM_003480	MFAP5	ミクロフィブリル結合タンパク質 5
1194	C8953	AL136678	DEPDC6	DEP ドメイン含有 6
1195	C9351	AA195210	DKFZP761M1511	仮想タンパク質 DKFZP761M1511
1196	C3791	BU170801	PAI-RBP1	PAI-1 mRNA 結合タンパク質
1197	C4729	N70455	FBXO31	F ボックスタンパク質 31
1198	C6623	AA102332	MLSTD1	男性不妊症ドメイン含有 1
1199	C8039	Z22970	CD163	CD163 抗原
1200	C8442	AB011151	ZCCHC14	ジンクフィンガー、CCHC ドメイン 含有 14
1201	C8606	BC063430	CPXM	カルボキシペプチダーゼ X (M14 ファミリー)
1202	C9730	BQ448187		転写遺伝子座
1203	C0791	BC051340	CD164L1	CD164 シアロムチン様 1
1204	C0830	AA012832	IRS1	インスリン受容体基質 1
1205	C3778	NM_003617	RGS5	G タンパク質シグナル伝達の 制御因子 5
1206	C4735	AL136805	ZNF537	ジンクフィンガータンパク質 537
1207	C4765	CR626993		mRNA ; cDNA DKFZp686N07104 (クローン DKFZp686N07104 由来)
1208	C4743	AL137554	CDADC1	シチジンおよび dCMP デアミナーゼ ドメイン含有 1
1209	C6116	W67536	FLJ31204	仮想タンパク質 FLJ31204
1210	C7126	NM_020871	LRCH2	ロイシンリッチ反復および カルボニン相同 (CH) ドメイン含有 2
1211	C7172	AF377960	CTTNBP2	コルタクチン結合タンパク質 2
1212	C8260	BM981111	MEF2D	MADS ボックス転写エンハンサー 因子 2、ポリペプチド D (筋細胞エンハンサー因子 2D)

10

20

30

40

1213	C2020	CA420307	SF3B1	スプライシング因子 3b、サブユニット 1、155 kDa
1214	C2324	BQ182775	ECRG4	食道癌関連遺伝子 4 タンパク質
1215	C3763	AF480883	PPAP2B	ホスファチジン酸ホスファターゼ 2B 型
1216	C4549	N64370	TMOD2	トロポモジュリン 2(ニューロン)
1217	C6059	AK096344	FLJ35220	仮想タンパク質 FLJ35220
1218	C6234	AI247176	TARSH	Nesh-SH3 の標的
1219	C7503	N90724	IGSF4	免疫グロブリンスーパーファミリー、メンバー 4
1220	C7652	AA142913	ARGBP2	Arg/Abl 相互作用タンパク質 ArgBP2
1221	C7256	NM_021963	NAP1L2	ヌクレオソーム構築タンパク質 1 様 2
1222	C8088	D87465	SPOCK2	Sparc/オステオネクチン、cwcw および kazal 様ドメインプロテオグリカン (テストイカン(testican))2
1223	C8286	AY369207	RBPMS2	複数スプライシングを有する RNA 結合タンパク質 2
1224	C8659	BF673156	MYL1	ミオシン、軽鎖ポリペプチド 1、アルカリ；骨格、速筋型
1225	D0785	AA936292		転写遺伝子座
1226	C0678	AI796508		転写遺伝子座
1227	C0274	NM_005157	ABL1	v-abl Abelson マウス白血病ウイルス癌遺伝子相同体 1
1228	C4258	AK092045	C3orf6	第 3 染色体オープンリーディングフレーム 6
1229	C6974	AK124567	HIBCH	3-ヒドロキシイソブチリル-コエンザイム A 加水分解酵素
1230	C7876	AW023627		転写遺伝子座
1231	C8066	NM_014279	OLFM1	オルファクトメジン 1
1232	C9569	H18926		ホモサピエンス(ヒト)の HeLa 細胞 Cot25-規準化の全長 cDNA クローン CS0DK010YA20
1233	D1322	BX647857	ASB5	アンキリン反復および SOCS ボックス含有 5
1234	C0219	AJ303079	PALM2-AKAP2	PALM2-AKAP2 タンパク質
1235	C1520	BC014640	COL14A1	コラーゲン、XIV 型、 $\alpha 1$ (ウンジュリン(undulin))
1236	C2029	H14510	LOC286191	仮想タンパク質 LOC286191
1237	C7654	BC060868	BMPER	BMP 結合内皮制御因子前駆体タンパク質
1238	C8228	AK124641	CXCL12	ケモカイン(C-X-C モチーフ)リガンド 12(間質細胞由来因子 1)
1239	C8438	NM_002827	PTPN1	プロテインチロシンホスファターゼ、非受容体型 1

10

20

30

40

1240	C8274	AK056736	MBTPS2	膜結合転写因子プロテアーゼ、部位 2	
1241	D0735	AA740582		転写遺伝子座	
1242	D1185	AA451886	CYP1B1	シトクロム P450、ファミリー1、サブファミリーB、ポリペプチド 1	
1243	D1161	BX537988	ST7L	腫瘍形成能の抑制 7 様	
1244	C0787	AL832207	PLEKHH2	プレクストリン相同ドメイン含有、ファミリーH(MyTH4 ドメインを有する)メンバー2	
1245	C3772	U70063	ASAH1	N-アシルスフィンゴシンアミドヒドロラーゼ(酸性セラミダーゼ)1	10
1246	C3780	AK055619	GNAQ	グアニンヌクレオチド結合タンパク質(G タンパク質)、q ポリペプチド	
1247	C4232	AI668702		転写遺伝子座	
1248	C4884	AA036952	Gup1	GRINL1A 複合体上流タンパク質	
1249	C6084	W60379		転写遺伝子座	
1250	C7138	BM678096	TNA	テトラネクチン(プラスミノーゲン結合タンパク質)	
1251	C7919	X79981	CDH5	カドヘリン 5、2 型、VE-カドヘリン(血管上皮)	
1252	C8117	BE905862	SPAG9	精子関連抗原 9	20
1253	C9367	AL558594	PRKAG2	プロテインキナーゼ、AMP 活性化、 γ 2 非触媒サブユニット	
1254	C1466	H03229	GAB1	GRB2 関連結合タンパク質 1	
1255	C4732	CR595618	BRMS1L	乳癌転移抑制因子 1 様	
1256	C5118	AL137572	C1orf24	第 1 染色体オープンリーディングフレーム 24	
1257	C6476	AA001390	KIAA1463	KIAA1463 タンパク質	
1258	C8044	NM_004430	EGR3	初期成長応答 3	
1259	C7793	BX648935	TBL1XR1	トランスデューシン(β)様 1 X 連鎖受容体 1	
1260	C8090	NM_032088	PCDHGC3	プロトカドヘリン γ サブファミリーC、3	30
1261	C4066	AF303058	NP25	ニューロンタンパク質	
1262	C3648	AK023450	ANTXR2	炭疽毒素受容体 2	
1263	C8253	BC017021	MEOX2	間充織ホメオボックス 2 (増殖停止特異的ホメオボックス)	
1264	C8456	AB032954	KIAA1128	KIAA1128	
1265	C7882	NM_013261	PPARGC1A	ペルオキシソーム増殖活性化受容体、 γ 、共活性化因子 1、 α	
1266	C8636	CR607734	DKK3	dickkopf 相同体 3 (アフリカツメガエル)	
1267	C0671	NM_007197	FZD10	frizzled 相同体 10 (ショウジョウバエ)	40
1268	C1984	W92438		BX647608 により支持される仮想遺伝子	
1269	C2154	AF007144	DIO2	脱ヨウ素酵素、ヨードチロニン、II 型	

1270	C4105	XM_376503	ENPP4	エクトヌクレオチドピロホスファターゼ/ホスホジエステラーゼ 4 (推定機能)
1271	C4755	Z30137	LDB3	LIM ドメイン結合 3
1272	C4873	BX537721	CMYA5	心筋症関連 5
1273	C7657	AI219521	AP1G1	アダプター関連タンパク質複合体 1、 γ 1 サブユニット
1274	C8046	NM_002864	PZP	妊娠ゾーンタンパク質
1275	C9503	AA621124	LOC338773	仮想タンパク質 LOC338773
1276	C3775	BQ003524	KCTD12	カリウムチャネル四量体化ドメイン含有 12
1277	C4082	BC041798	POLK	ポリメラーゼ (DNA 指向性) κ
1278	C4778	N67331	SEC63	SEC63 様 (S. セレピンエ)
1279	C6278	BC039245	SART2	T 細胞により認識される扁平上皮癌抗原 2
1280	C6460	W96022		転写遺伝子座
1281	C8119	NM_002775	PRSS11	プロテアーゼ、セリン、11 (IGF 結合)
1282	C9118	BX114286	CD99	CD99 抗原
1283	C8687	NM_006166	NFYB	核転写因子 γ 、 β
1284	C9565	AK129819	LHFP	脂肪腫 HMGIC 融合パートナー
1285	C0284	AK123940	MGC34648	仮想タンパク質 MGC34648
1286	C0728	AK095472	DKFZp762C1112	仮想タンパク質 DKFZp762C1112
1287	B9925	BC039242	TM4SF10	膜貫通 4 スーパーファミリーメンバー10
1288	C0579	BX648468	DKFZP564J0863	DKFZP564J0863 タンパク質
1289	C1100	BG257592	FAIM	Fas アポトーシス阻害分子
1290	C7731	AF245505	DKFZp564I1922	アドリカン (adlican)
1291	C7977	AL833463	LOC283658	仮想タンパク質 LOC283658
1292	C7992	AL833291	CMYA3	心筋症関連 3
1293	C9580	AK057189	NOX4	NADPH 酸化酵素 4
1294	C9221	CR613361	RNF24	Ring フィンガータンパク質 24
1295	B9888	AB023155	NAV3	ニューロンナビゲーター3
1296	C4526	N63752	MPHOSPH1	M 期リンタンパク質 1
1297	C4850	BC040502	BVES	血管心外膜物質
1298	C8203	NM_012180	FBXO8	F ボックスタンパク質 8
1299	D1419	NM_018328	MBD5	メチル-CpG 結合ドメインタンパク質 5
1300	C0544	BX640884	C14orf24	第 14 染色体オープンリーディングフレーム 24
1301	C1403	N49231	KIAA1345	KIAA1345 タンパク質
1302	C6728	AK000337	GFOD1	グルコース-フルクトース酸化還元酵素ドメイン含有 1
1303	C7585	AK095271	LOC128977	仮想タンパク質 LOC128977
1304	C7687	CB119523	IL6ST	インターロイキン 6 シグナル伝達物質 (gp130、オンコスタチン M 受容体)

10

20

30

40

1305	C9008	D82786	TA-PP2C	T 細胞活性化タンパク質 ホスファターゼ 2C
1306	C0893	BC052210	GARP	糖タンパク質 A 反復優性
1307	C2259	CA436350		転写遺伝子座
1308	C3895	BC035090	KPNA3	カリオフィリン $\alpha 3$ (インポーチン $\alpha 4$)
1309	C4350	BX089823	FRMD3	FERM ドメイン含有 3
1310	C7057	H22566	DACH1	dachshund 相同体 1 (ショウジョウバエ)
1311	C7574	AB028993	NLGN1	ニューロリジン 1
1312	C0371	CA431042		転写遺伝子座
1313	C0844	BC009951	COLEC11	コレクチンサブファミリーメンバー11
1314	C1091	AI263903	SIAT10	シアリルトランスフェラーゼ 10 (α - 2, 3-シアリルトランスフェラーゼ VI)
1315	C0922	AF378757	PLXDC2	プレキシンドメイン含有 2
1316	C4175	BM683457	EPHA7	EphA7
1317	C4681	XM_071793	C14orf28	第 14 染色体オープンリーディング フレーム 28
1318	C6523	NM_198968	DZIP1	DAZ 相互作用タンパク質 1
1319	C6706	BC033034	DIXDC1	DIX ドメイン含有 1
1320	C6572	NM_005197	CHES1	チェックポイント抑制因子 1
1321	C8146	BF697545	MGP	マトリックス Gla タンパク質
1322	C7994	NM_016150	ASB2	アンキリン反復および SOCS ボックス含有 2
1323	C8744	NM_152309	PIK3AP1	ホスホイノシチド-3-キナーゼ アダプタータンパク質 1
1324	D0018	BX091065		転写遺伝子座
1325	D1273	AJ001015	RAMP2	受容体(カルシトニン)活性修飾 タンパク質 2
1326	B9880	CR749402	NFASC	ニューロファシン
1327	C2088	AF161423	COMMD10	COMM ドメイン含有 10
1328	C4351	CN430728		転写遺伝子座
1329	C6723	AA028127	CD209	CD209 抗原
1330	C7059	XM_059702	FLJ36748	仮想タンパク質 FLJ36748
1331	C7375	CA312122	PSMC2	プロテアソーム(プロソーム、 マクロペイン) 26S サブユニット、 ATP アーゼ、2
1332	D0007	CR596214	HNRPA0	ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 A0
1333	C0318	M16451	CKB	クレアチンキナーゼ、脳
1334	C0912	BQ071673	RAMP1	受容体(カルシトニン)活性修飾 タンパク質 1
1335	C1412	BX648776	LOC253827	仮想タンパク質 LOC253827
1336	C1603	BQ446275	HBD	ヘモグロビン、 δ
1337	C4170	AB007884	ARHGEF9	Cdc42 グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF)9
1338	C4318	AI275068		転写遺伝子座
1339	C5860	BU683028		cDNA FLJ10151 fis、クローン HEMBA1003402

10

20

30

40

1340	C5950	CF146489	NKX3-1	NK3 転写因子関連、遺伝子座 1 (ショウジョウバエ)
1341	C6708	BQ003734		間葉系幹細胞タンパク質、DSC96
1342	C7078	AK130067	ADAMTS15	トロンボスポンジン 1 型モチーフを有 するディスインテグリン様およびメタ ロプロテアーゼ(レプロリシン型)、15
1343	C9587	H17302	LRRC3B	ロイシンリッチ反復含有 3B
1344	D1274	BF435815		mRNA ; cDNA DKFZp56400862 (クローン DKFZp56400862 由来)
1345	B9884	BX641069	FLJ20481	仮想タンパク質 FLJ20481
1346	C1622	AK074184	FLJ34922	仮想タンパク質 FLJ34922
1347	C1902	CR591938	WDR33	WD 反復ドメイン 33
1348	C4861	BX647931		ENSANGP00000004103 に類似
1349	C6042	H25761		
1350	C6718	AK124339	GJA7	ギャップ結合タンパク質、 α 7、 45 kDa(コネキシン 45)
1351	C7105	R50993		
1352	C7439	AA102033	BMPR2	骨形成タンパク質受容体、II 型 (セリン/スレオニンキナーゼ)
1353	D1423	AK055040		mRNA ; cDNA DKFZp313C0240 (クローン DKFZp313C0240 由来)
1354	C0357	BC035779	SLC9A9	溶質輸送体ファミリー9(ナトリウム/ 水素交換体)、アイソフォーム 9
1355	C1604	AA044381		
1356	C1422	AA095034	GK001	GK001 タンパク質
1357	C2068	XM_375527	LOC339290	仮想タンパク質 LOC339290
1358	C3978	BC030112	HIPK3	ホメオドメイン相互作用タンパク質 キナーゼ 3
1359	C4287	CR621395	BAG2	BCL2 関連 athanogene 2
1360	C6143	NM_001496	GFRA3	GDNF ファミリー受容体 α 3
1361	C5014	A1185804	FN1	フィブロネクチン 1
1362	C6748	AF487514	GEFT	RAC/CDC42 交換因子
1363	C7089	H14263	GAS1	増殖停止特異的 1
1364	C8384	X98834	SALL2	sal 様 2(ショウジョウバエ)
1365	C7744	AF196185	PARD3	par-3 分配欠損 3 相同体(線虫)
1366	D0657	AB058780	ST6GalII	β -ガラクトシド α -2, 6- シアリルトランスフェラーゼ II
1367	D0995	BC040983	PCDH7	BH-プロトカドヘリン(脳-心臓)
1368	C0335	CR590615	ACTA2	アクチン、 α 2、平滑筋、大動脈
1369	C2131	BQ014434	PIAS1	活性化 STAT のタンパク質阻害因子、1

10

20

30

1370	C3746	NM_199511	URB	ステロイド感受性遺伝子 1
1371	C4184	NM_020482	FHL5	4.5 LIM ドメイン 5
1372	C4700	AA934589	MGC45780	仮想タンパク質 MGC45780
1373	C7603	AA292234		cDNA FLJ14942 fis, A-PLACE1011185
1374	D1435	T15727	DNC11	ダイニン、細胞質、 中間体ポリペプチド 1
1375	C2085	AA400893	PDE1A	ホスホジエステラーゼ 1A、 カルモジュリン依存性
1376	C4971	BC000234	NNMT	ニコチンアミド N-メチルトランス フェラーゼ
1377	C7050	AA084479	DNAJC9	DnaJ (Hsp40) 相同体、 サブファミリー C、メンバー 9
1378	C9868	AL136646	ARHGAP24	Rho GTP アーゼ活性化タンパク質 24
1379	B9970	AB014540	SWAP70	SWAP-70 タンパク質
1380	C4998	CR591834	DSTN	デストリン (アクチン脱重合因子)
1381	C5058	N62595	KBTBD7	kelch 反復および BTB (POZ) ドメイン 含有 7
1382	C6217	NM_001448	GPC4	グリピカン 4
1383	C8023	M81141	HLA-DQB1	主要組織適合性複合体、クラス II、 DQ β 1
1384	D0533	AF180681	ARHGEF12	Rho グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) 12
1385	D2960	NM_033281	MRPS36	ミトコンドリアリボソームタンパク質 S36
1386	D4169	AK128510	GOLPH3	ゴルジリンタンパク質 3 (コートタンパク質)
1387	E0537	BX647115	DPYSL2	ジヒドロピリミジナーゼ様 2
1388	E0690	AI743134	SERPINE2	セリン (またはシステイン) プロテイナーゼ阻害因子、クレード E (ネキシン、プラスミノゲン活性化 因子阻害因子 1 型)、メンバー 2
1389	D4142	AK091311	JAZF1	別のジンクフィンガー遺伝子に隣接 1
1390	D4211	BC069830	LETM2	ロイシンジッパー-EF-ハンド含有 膜貫通タンパク質 2
1391	D4328	AK021601	FLJ11539	仮想タンパク質 FLJ11539
1392	E1219	AB011175	TBC1D4	TBC1 ドメインファミリー、メンバー 4
1393	E0783	NM_139033	MAPK7	マイトジェン活性化プロテイン キナーゼ 7
1394	D3166	AK097340	RPESP	RPE-スポンジン
1395	D3356	NM_014829	DDX46	DEAD (Asp-Glu-Ala-Asp) ボックス ポリペプチド 46
1396	D7420	AK124757	SHPRH	SNF2 ヒストンリンカー-PHD RING ヘリカーゼ
1397	D6809	AA927082		転写遺伝子座
1398	D4165	AK123831	LOC149832	仮想タンパク質 LOC149832
1399	D4020	AA858162	C18orf4	第 18 染色体オープンリーディング フレーム 4
1400	D8933	BX538309	MAMDC2	MAM ドメイン含有 2

10

20

30

40

1401	E0644	NM_000610	CD44	CD44 抗原(ホーミング機能および Indian 血液型系)
1402	D4215	AB096175	SP5	Sp5 転写因子
1403	D5074	AA044778		cDNA FLJ38215 fis、クローン FCBBF2000291
1404	D7205	AI040887	ARHGEF7	Rho グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF)7
1405	D8143	AK075059	GLIS3	GLIS ファミリージンクフィンガー3
1406	E1492	AY326464	TXNDC5	チオレドキシンドメイン含有 5
1407	D4128	NM_173060	CAST	カルパスタチン
1408	D4739	BC022957	C9orf102	第 9 染色体オープンリーディング フレーム 102
1409	E0358	AK021543	DNM3	ダイナミン 3
1410	E1300	BC040974	PDE2A	ホスホジエステラーゼ 2A、 cGMP 促進性
1411	D9372	AI034385	SORBS1	ソルビン(sorbin)および SH3 ドメイン含有 1
1412	E0240	NM_020433	JPH2	ジャンクトフィリン 2
1413	E0721	AW024176	FBLN1	フィブリン 1
1414	D7305	BX092512	SCNN1A	ナトリウムチャネル、 非電位開口型 1 α
1415	E0139	AL390147	FAM20C	配列類似性を有するファミリー20、 メンバーC
1416	D1798	AK074734	FCGRT	IgG の Fc 断片、受容体、輸送体、 α
1417	D3702	AL096748	ARMC8	アルマジロ反復含有 8
1418	D4501	CA447839	FAM49A	配列類似性を有するファミリー49、 メンバーA
1419	D5553	AA031882		転写遺伝子座
1420	D9082	NM_052954	CYYR1	システインおよびチロシンリッチ 1
1421	E0475	CR627373	EIF4EBP2	真核生物翻訳開始因子 4E 結合 タンパク質 2
1422	D6213	AK123531		cDNA FLJ41537 fis、クローン BRTHA2017985
1423	D9915	BM463727	MEIS4	Meis1、骨髄エコトロピックウイルス 組込み部位 1 相同体 4(マウス)
1424	E0985	NM_001343	DAB2	disabled 相同体 2、マイトジェン応答 リンタンパク質(ショウジョウバエ)
1425	D1810	NM_002373	MAP1A	微小管結合タンパク質 1A
1426	D4231	C05897	ARL5	ADP リボシル化因子様 5
1427	D8491	NM_001122	ADFP	脂肪分化関連タンパク質
1428	D9934	CA450275	FREQ	frequenin 相同体(ショウジョウバエ)
1429	E0476	AF000984	DDX3Y	DEAD(Asp-Glu-Ala-Asp)ボックス ポリペプチド 3、Y 連鎖
1430	E0733	NM_004684	SPARCL1	SPARC 様 1(mast9、hevin)

10

20

30

40

1431	E0861	BX648282	ATP2A2	ATP アーゼ、Ca ⁺⁺ 輸送、心筋、遅筋 2
1432	D1811	AK128814		cDNA FLJ25106 fis、クローン CBR01467
1433	D4059	BF512606		転写遺伝子座
1434	D5243	AK074301	FAM8A1	配列類似性を有するファミリー8、 メンバーA1
1435	D6180	AK096674	C14orf32	第 14 染色体オープンリーディング フレーム 32
1436	D7516	AI074524	DKFZp434H2111	仮想タンパク質 DKFZp434H2111
1437	E0726	AB023199	WDR37	WD 反復ドメイン 37
1438	E1622	NM_001753	CAV1	カベオリン 1、カベオラタンパク質、 22 kDa
1439	E1419	AL833496	TAF10	TAF10 RNA ポリメラーゼ II、TATA ボックス結合タンパク質(TBP) 関連因子、30 kDa
1440	D7796	CR613362	ALDH6A1	アルデヒド脱水素酵素 6 ファミリー、 メンバーA1
1441	D8862	NM_032105	PPP1R12B	プロテインホスファターゼ 1、 調節(阻害)サブユニット 12B
1442	E0880	AK000617	LOC92912	仮想タンパク質 LOC92912
1443	D5244	BF510155	GPR155	G タンパク質共役受容体 155
1444	D7997	AW152624	AKAP13	A キナーゼ(PRKA)アンカー タンパク質 13
1445	D8515	CR591759	LUM	ルミカン
1446	E0237	AI093257		転写遺伝子座
1447	E0764	AF087902	TDE2	腫瘍差次的発現 2
1448	E0896	BC045606	NID	ナイドジェン(エナクチン(enactin))
1449	D1767	BC014357	CCND2	サイクリン D2
1450	D4996	NM_001001927	MTUS1	ミトコンドリア腫瘍抑制因子 1
1451	D9075	AL832156	CPEB1	細胞質ポリアデニル化エレメント結合 タンパク質 1
1452	E0623	AL162079	SLC16A1	溶質輸送体ファミリー16 (モノカルボン酸輸送体)、メンバー1
1453	D6606	AI733562		転写遺伝子座
1454	E0082	AI082254		転写遺伝子座
1455	E1421	BC044777	DJ971N18.2	仮想タンパク質 DJ971N18.2
1456	D5395	BX094351		転写遺伝子座
1457	F0968	AK025758	NFATC2	活性化 T 細胞の核内因子、細胞質、 カルシニューリン依存性 2
1458	F1046	NM_014583	LMCD1	LIM およびシステインリッチ ドメイン 1
1459	F1770	AK025713	DHX40	DEAH(Asp-Glu-Ala-His)ボックス ポリペプチド 40
1460	F3132	AL133095	C14orf103	第 14 染色体オープンリーディング フレーム 103
1461	F3574	NM_016377	AKAP7	A キナーゼ(PRKA)アンカータンパク質 7
1462	F3080	NM_006633	IQGAP2	IQ モチーフ含有 GTP アーゼ活性化 タンパク質 2

10

20

30

40

1463	F9005	D50406	RECK	kazal モチーフを有する復帰誘導システインリッチタンパク質	
1464	F2203	AK024352	EPHA3	EphA3	
1465	A7714	AB002351	DMN	デスムスリン(desmuslin)	
1466	C6534	AI057000		転写遺伝子座	
1467	F1119	U27460	UGP2	UDP-グルコースピロホスホリラーゼ 2	
1468	F1176	AY368150	KIAA1228	KIAA1228 タンパク質	
1469	F5819	BQ671518	EEF2K	NAD(P)依存性ステロイド脱水素酵素様に類似	
1470	F6592	AY358353	STK32B	セリン/スレオニンキナーゼ 32B	10
1471	A6371	BU681010		全長挿入 cDNA クローン YT94E02	
1472	F0018	NM_000963	PTGS2	プロスタグランジン- エンドペルオキシド合成酵素 2 (プロスタグランジン G/H 合成酵素 およびシクロオキシゲナーゼ)	
1473	C0081	NM_182485	CPEB2	細胞質ポリアデニル化エレメント結合タンパク質 2	
1474	F3496	AB023148	KIAA0931	KIAA0931 タンパク質	
1475	F4227	AK001050	C10orf118	第 10 染色体オープンリーディング フレーム 118	
1476	F8898	BE841307	HRMT1L1	HMT1 hnRNP メチルトランス フェラーゼ様 1(S. セレビスエ)	20
1477	F3184	NM_033380	COL4A5	コラーゲン、IV 型、 $\alpha 5$ (アルポート症候群)	
1478	A1331N	NM_199072	HIC	I-mfa ドメイン含有タンパク質	
1479	A2869	AF054839	TSPAN-2	テトラスパン 2	
1480	B4350N	AF037364	PNMA1	腫瘍随伴抗原 MA1	
1481	F1120	L13463	RGS2	G タンパク質シグナル伝達の 制御因子 2、24 kDa	
1482	F4886	AK026403	TLN2	タリン 2	
1483	F6054	AA905353	NCBP1	核キャップ結合タンパク質 サブユニット 1、80 kDa	
1484	F6595	AW938336		cDNA FLJ26188 fis、クローン ADG04821	30
1485	F6738	AK022173	LAF4	AF4 関連リンパ核タンパク質	
1486	B2123	NM_005912	MC4R	メラノコルチン 4 受容体	
1487	C8826	AI091545	SYNCRIP	シナプトタグミン結合、細胞質 RNA 相互作用タンパク質	
1488	F0480	NM_015635	DKFZP434C212	DKFZP434C212 タンパク質	
1489	F2307	AF010236	SGCD	サルコグリカン、 δ (35 kDa ジストロフィン関連糖タンパク質)	
1490	F2424	AF111783	MYH4	ミオシン、重鎖ポリペプチド 4、 骨格筋	
1491	F4281	AF199023	PLSCR4	リン脂質スクランブラーゼ 4	40
1492	F4410	AK026500	HPCAL1	ヒポカルシン様 1	

1493	F7115	AF230201	C20orf17	第 20 染色体オープンリーディング フレーム 17
1494	F0344	AL049957	CD59	CD59 抗原 p18-20(モノクローナル 抗原 16. 3A5、EJ16、EJ30、EL32、 および G344 により同定された抗原)
1495	A7732	BC017984	ARG99	ARG99 タンパク質
1496	A3113	M60445	HDC	ヒスチジン脱炭酸酵素
1497	B8326	AK125533	BNIP2	BCL2/アデノウイルス E1B 19 kDa 相互作用タンパク質 2
1498	B7331	H45412	EHD2	EH ドメイン含有 2
1499	F0196	AL050224	PTRF	ポリメラーゼ I および 転写産物終結因子
1500	F0299	NM_145693	LPIN1	リピン 1
1501	F0211	BC032379	TMEM18	膜貫通タンパク質 18
1502	F0307	D86425	NID2	ナイドジェン 2(オステオナイド ジェン(osteonidogen))
1503	F3849	AF302502	PELI2	pellino 相同体 2(ショウジョウバエ)
1504	F5852	AL137573		
1505	F9522	AB011141	ZFHX1B	ジンクフィンガーホメオボックス 1b
1506	A0029N	BC063856	SPRY1	sprouty 相同体 1、FGF シグナル伝達 のアンタゴニスト(ショウジョウバエ)
1507	B6193N	NM_030806	C1orf21	第 1 染色体オープンリーディング フレーム 21
1508	C9234	AK093732		cDNA FLJ36413 fis、クローン THYMU2010816
1509	F0121	AF089854	TU3A	TU3A タンパク質
1510	F0862	AK023375		cDNA FLJ13313 fis、クローン OVARC1001489
1511	F1093	AY029191	ASPN	アスボリン(LRR クラス 1)
1512	F3501	AK021708	PDZRN3	PDZ ドメイン含有 RING フィンガー 3
1513	F8152	AI022632	RAB7	RAB7、メンバー-RAS 癌遺伝子 ファミリー
1514	A3817N	AB000114	OMD	オステオモジュリン(osteomodulin)
1515	B3754	BC011561	HEPH	ヘファエスチン
1516	C6614	AK074076	USP47	ユビキチン特異的プロテアーゼ 47
1517	F0343	AK025548	TLOC1	転座タンパク質 1
1518	F0615	NM_007173	PRSS23	プロテアーゼ、セリン、23
1519	F2076	AL162032	GPR133	G タンパク質共役受容体 133
1520	F3313	AK025164	FLJ21511	仮想タンパク質 FLJ21511
1521	A6689	BU741863	SPOCK	Sparc/オステオネクチン、 cwcv および kazal 様ドメイン プロテオグリカン(テストイカン)
1522	B6462	NM_032515	BOK	BCL2 関連卵巣キラー
1523	C9237	XM_211958		
1524	C0484	NM_005472	KCNE3	カリウム電位開口型チャネル、 Isk 関連ファミリー、メンバー 3
1525	F0482	AK000008	BHMT2	ベタイン-ホモシステインメチル トランスフェラーゼ 2

10

20

30

40

1526	F0528	AK025661	LIMS1	LIM および老化細胞抗原様ドメイン 1	
1527	F0920	AF098269	PCOLCE2	プロコラーゲン C エンドペプチダーゼ エンハンサー 2	
1528	F2225	AF188700	AFAP	仮想タンパク質 LOC254848	
1529	F1525	M24736	SELE	セレクトリン E (内皮接着分子 1)	
1530	F2310	AB002367	DCAMKL1	ダブルコルチンおよび CaM キナーゼ様 1	
1531	F3502	X05409	ALDH2	アルデヒド脱水素酵素 2 ファミリー (ミトコンドリア)	
1532	F5279	L76566	HLA-DRB6	主要組織適合性複合体、クラス II、 DR β 6 (偽遺伝子)	10
1533	F6175	AV700633	FLJ10404	仮想タンパク質 FLJ10404	
1534	F6365	AL080114	C10orf72	第 10 染色体オープンリーディング フレーム 72	
1535	F3573	NM_172171	CAMK2G	カルシウム/カルモジュリン依存性プ ロテインキナーゼ (CaM キナーゼ) II γ	
1536	D8979	AA740585			
1537	F1289	CR623543	SC4MOL	ステロール-C4-メチル酸化酵素様	
1538	F1221	AL109700		cDNA FLJ37610 fis、クローン BRCOC2011398	
1539	F3457	AB020630	PPP1R16B	プロテインホスファターゼ 1、 調節 (阻害) サブユニット 16B	20
1540	F6060	AK023814	FLJ41603	FLJ41603 タンパク質	
1541	A1022N	M98399	CD36	CD36 抗原 (I 型コラーゲン受容体、 トロンボスポンジン受容体)	
1542	B6200N	M79123	NAP1L5	ヌクレオソーム構築タンパク質 1 様 5	
1543	F0927	AK021823	TRIM44	三要素モチーフ含有 44	
1544	A1403	J05401	CKMT2	クレアチンキナーゼ、 ミトコンドリア 2 (筋節)	
1545	B4088N	NM_000311	PRNP	プリオンタンパク質 (p27-30) (クロイ ツフェルト・ヤコブ病、ゲルストマ ン・ストロイスラー・シャインカー 症候群、致死性家族性不眠症)	30
1546	F0304	NM_002510	GPNMB	糖タンパク質 (膜貫通) nmb	
1547	F1405	AF131837	SIAT7E	シアリルトランスフェラーゼ 7 ((α -N-アセチルノイラミニル-2, 3- β -ガラクトシル 1, 3)-N- アセチルガラクトサミニド α -2, 6- シアリルトランスフェラーゼ) E	
1548	F1225	AF118108	XLKD1	細胞外 link ドメイン含有 1	
1549	F4131	AF389429	SEMA6D	sema ドメイン、膜貫通ドメイン (TM)、および細胞質ドメイン、 (セマフォリン) 6D	40

1550	C8476	R59552	CHRD1	コーディン様 1
1551	C1827	BC008703	TCEAL3	転写伸長因子 A(SII) 様 3
1552	D6878	AI002365	PDGFRB	血小板由来増殖因子受容体、 β ポリペプチド
1553	D7732	CB242274		転写遺伝子座
1554	F2379	AB002365	KIAA0367	KIAA0367
1555	F1446	AJ277587	SPIRE1	spire 相同体 1(ショウジョウバエ)
1556	F3692	NM_004673	ANGPTL1	アンジオポエチン様 1
1557	A1101N	NM_022977	ACSL4	アシル-CoA 合成酵素長鎖 ファミリーメンバー4
1558	B7430N	AA522674	LIMS2	LIM および老化細胞抗原様ドメイン 2
1559	B7571N	BU619137	TGFBR3	トランスフォーミング増殖因子、β 受 容体 III(ベータグリカン、300 kDa)
1560	F1143	AF070543	ODZ2	odz, odd 0z/ten-m 相同体 2 (ショウジョウバエ)
1561	F1241	AF114263	HH114	仮想タンパク質 HH114
1562	F2686	CR616854	EVI2B	エクトロピックウイルス組込み部位 2B
1563	F2462	NM_182734	PLCB1	ホスホリパーゼ C、β 1 (ホスホイノシチド特異的)
1564	F2715	BC035776	CILP	軟骨中間層タンパク質、 ヌクレオチドピロホスホヒドロラーゼ
1565	F4824	U82319	YDD19	YDD19 タンパク質
1566	A0203N	NM_000043	TNFRSF6	腫瘍壊死因子受容体スーパー ファミリー、メンバー6
1567	A5933	XM_059689		CG4502-PA に類似
1568	C0524	BM724780		転写遺伝子座、XP_375099.1 仮想タン パク質 LOC283585[ヒト]と弱く類似
1569	C8150	NM_014335	CRI1	CREBBP/EP300 阻害因子 1
1570	C9677	AL832661	LOC143381	仮想タンパク質 LOC143381
1571	E2113	BC005248	EIF1AY	真核生物翻訳開始因子 1A、Y 連鎖
1572	F0821	AL050030		
1573	F2190	AK021985	FBXL7	F ボックスおよびロイシンリッチ反復 タンパク質 7
1574	F1447	NM_014629	ARHGEF10	Rho グアニンヌクレオチド交換因子 (GEF) 10
1575	F2205	AF052181	EPIM	エピモルフィン
1576	F0092	AK001789	SMUG1	一本鎖選択的単機能ウラシル DNA グリコシラーゼ
1577	A3258	U19487	PTGER2	プロスタグランジン E 受容体 2 (サブタイプ EP2)、53 kDa

10

20

30

40

1578	B4152N	W89185	SET7	SET ドメイン含有タンパク質 7	
1579	B8840	BX648004	SPG20	痙性対麻痺 20、スパーチン (spartin) (Troyer 症候群)	
1580	F1146	AK025893	RBPMS	複数スプライシングを有する RNA 結合タンパク質	
1581	F0597	AK000146	CGI-30	CGI-30 タンパク質	
1582	F2464	AK027243	BBS1	バルデー・ビードル症候群 1	
1583	F2803	AF170562	USP25	ユビキチン特異的プロテアーゼ 25	
1584	F4063	AL109779	HDGFRP3	肝細胞癌由来増殖因子、関連タンパク質 3	10
1585	F4950	NM_194430	RNASE4	アンジオゲニン、リボヌクレアーゼ、RN アーゼ A ファミリー、5	
1586	F7716	BE178490		AK093334 ; AL833330 ; BC020871 ; BC032492 により支持される仮想遺伝子	
1587	A0095	J03241	TGFB3	トランスフォーミング増殖因子、 β 3	
1588	A0217	M83233	TCF12	転写因子 12 (HTF4、ヘリックス-ループ-ヘリックス転写因子 4)	
1589	F0001N	NM_153831	PTK2	PTK2 プロテインチロシンキナーゼ 2	
1590	A0375N	BC057815	RRAD	糖尿病に関連した ras 関連	20
1591	A0911N	M63256	CDR2	小脳変性症関連タンパク質 2、62 k Da	
1592	C1400	BC007632	KIAA0318	RIM 結合タンパク質 2	
1593	C0661	H18687	CLDN11	クローディン 11 (オリゴデンドロサイト膜貫通タンパク質)	
1594	C8718	AA206141	PRICKLE1	prickle 様 1 (ショウジョウバエ)	
1595	D6726	AA897762	PPM1A	プロテインホスファターゼ 1A (以前の 2C)、マグネシウム依存性、 α アイソフォーム	
1596	F3564	CR749667	PDE4B	ホスホジエステラーゼ 4B、cAMP 特異的 (ホスホジエステラーゼ E4 dunce 相同体、ショウジョウバエ)	30
1597	F4186	AB023168	NLGN4Y	ニューロリジン 4、Y 連鎖	
1598	F6116	BC030244	TNNC1	トロポニン C、遅筋型	
1599	F7080	AW973637	GGTA1	糖タンパク質、 α -ガラクトシルトランスフェラーゼ 1	
1600	F7477	AW868740	SYNPO2	シナプトポジン 2	
1601	F0520	BC041337	RHOBTB3	Rho 関連 BTB ドメイン含有 3	
1602	B4181	AK021510	KCNMB3	カリウム大コンダクタンスカルシウム活性化チャネル、サブファミリー M β メンバー 3	
1603	B5089N	AA828067	C1QB	補体成分 1、q 小成分、 β ポリペプチド	40
1604	B7158N	XM_085175	TTC7B	テトラトリコペプチド反復ドメイン 7B	

1605	E1632	BU633335	SMAD4	SMAD、mothers against DPP 相同体 4(ショウジョウバエ)
1606	F0174	AK024029	MOAP1	アポトーシス調節因子 1
1607	F1147	AK125336	LOC90167	仮想タンパク質 LOC90167
1608	F4952	AL080082		mRNA ; cDNA DKFZp564G1162 (クローン DKFZp564G1162 由来)
1609	B3745	N92541		転写遺伝子座
1610	A0270N	AF241831	HABP4	ヒアルロナン結合タンパク質 4
1611	B6485	BC009753	ACACB	アセチル-コエンザイム A カルボキシラーゼ β
1612	F0416	AF082557	TNKS	タンキラーゼ、TRF1 相互作用アンキ リン関連 ADP リボースポリメラーゼ
1613	F0470	AJ250865	TES	精巣由来転写産物(3 LIM ドメイン)
1614	F0911	L08177	EBI2	エプスタイン・バーウイルス誘導性 遺伝子 2(リンパ球特異的 G タンパク質共役受容体)
1615	F2392	NM_001901	CTGF	結合組織増殖因子
1616	F3618	AK172810	SLC39A14	溶質輸送体ファミリー39 (亜鉛輸送体)、メンバー14
1617	F4440	AB032773	TU12B1-TY	TU12B1-TY タンパク質
1618	F6326	NM_015458	MTMR9	ミオチュブラリン関連タンパク質 9
1619	F7458	AK123706	ADAMTS8	トロンボスポンジン 1 型モチーフを有 するディスインテグリン様およびメタ ロプロテアーゼ(レプロリシン型)、8
1620	A1666N	NM_000176	NR3C1	核内受容体サブファミリー3、C 群、 メンバー1(グルココルチコイド 受容体)
1621	A3471	NM_006281	STK3	セリン/スレオニンキナーゼ 3 (STE20 相同体、酵母)
1622	B7499	BX641020	ARID5B	AT リッチ相互作用ドメイン 5B (MRF1 様)
1623	B8216	CR623023		ホモサピエンス(ヒト)の神経芽細胞腫 Cot25-規準化の全長 cDNA クローン CS0DC029Y123
1624	F0286	NM_000132	F8	凝固因子 VIII、凝血原成分(血友病 A)
1625	F1338	AF056195	NAG	神経芽細胞腫増幅タンパク質
1626	F2115	AK021795	BNC2	バソヌクリン(basonuclin)2
1627	F2699	AF022789	USP12	ユビキチン特異的プロテアーゼ 12
1628	F5702	AK024358	MPEG1	マクロファージ発現遺伝子 1
1629	A0279	NM_005257	GATA6	GATA 結合タンパク質 6
1630	A3940	AF048722	PITX2	paired 様ホメオドメイン転写因子 2

10

20

30

1631	F0004	NM_005252	FOS	v-fos FBJ マウス骨肉腫ウイルス癌遺伝子相同体	
1632	G2550	NM_000962	PTGS1	プロスタグランジン- エンドペルオキシド合成酵素 1 (プロスタグランジン G/H 合成酵素 およびシクロオキシゲナーゼ)	
1633	B2787	CR619015	MRGPRF	MAS 関連 GPR、メンバー F	
1634	B6424	AL049313	CLIC5	塩素細胞内チャネル 5	
1635	C0810	AK123757	EBF	初期 B 細胞因子	
1636	F2322	AL080213	PDE4DIP	ホスホジエステラーゼ 4D 相互作用タンパク質 (ミオメガリン (myomegalin))	10
1637	F1600	AB038523	MBIP	MAP3K12 結合阻害タンパク質 1	
1638	F2393	M14091	SERPINA7	セリン (またはシステイン) プロテイナーゼ阻害因子、クレード A (α -1 アンチプロテイナーゼ、 アンチトリプシン)、メンバー 7	
1639	F2908	AK023821	MACF1	微小管-アクチン架橋因子 1	
1640	A8838	AK075242	MGC45438	仮想タンパク質 MGC45438	
1641	B4271	AB011121	ALS2CR3	筋萎縮性側索硬化症 2 (若年性) 染色体領域、候補 3	
1642	B7509	CN268436		cDNA クローン IMAGE:5263177、 部分 cds	20
1643	B9025	BU537728	HSA9761	推定ジメチルアデノシントランス フェラーゼ	
1644	F0288	BC080187	LMOD1	レイオモジン (leiomodins) 1 (平滑筋)	
1645	F0333	AK026095	SNTB1	シントロフィン、 β 1 (ジストロフィン 関連タンパク質 A1、59 kDa、 基本成分 1)	
1646	F0728	NM_021614	KCNN2	カリウム中/小コンダクタンス カルシウム活性化チャネル、 サブファミリー N、メンバー 2	
1647	F1259	AK000776		ホモサピエンス (ヒト) の神経芽細胞腫 Cot50-規準化の全長 cDNA クローン CSODD009YB17	30
1648	F2702	AL049990		mRNA ; cDNA DKFZp564G112 (クローン DKFZp564G112 由来)	
1649	F4940	BC035161	CRY2	クリプトクロム 2 (フォトリアーゼ様)	
1650	A4080	AF054992	PKD2	多発性嚢胞腎 2 (常染色体優性)	
1651	A9898	BC010353	PTPLA	プロテインチロシンホスファターゼ様 (触媒性アルギニンに代えて プロリン)、メンバー a	
1652	B1461N	CR744550	MYO9A	ミオシン IXA	
1653	C0591	AB014523	ULK2	unc-51 様キナーゼ 2 (線虫)	40

1654	C1450	AB075828	ZNF545	ジンクフィンガータンパク質 545
1655	F0518	AF035307	PLXNC1	プレキシシン C1
1656	F2283	AJ276316	ZNF304	ジンクフィンガータンパク質 304
1657	F2335	AK001832	FLJ10970	仮想タンパク質 FLJ10970
1658	F5448	AK023831	FLJ13769	仮想タンパク質 FLJ13769
1659	F2161	AF116646	GALNACT-2	コンドロイチン硫酸 GalNAcT-2
1660	A1157N	NM_002667	PLN	ホスホランパン
1661	B4276	AK056725		cDNA FLJ32163 fis、クローン PLACE6000371
1662	B5186N	AK056963		全長挿入 cDNA クローン ZE03F06
1663	C6412	BX090035		転写遺伝子座
1664	F0182	BC009203	LOC90355	AF038182 ; BC009203 により支持 される仮想遺伝子
1665	F1343	BC032404	DKFZp434D0215	SH3 ドメインタンパク質 D19
1666	F4628	AF119893		

10

20

30

40

50

【 0 3 1 9 】

膀胱癌細胞で上方制御される遺伝子としてのC2093、B5860N、およびC6055の同定

膀胱癌患者33名からの癌細胞の遺伝子発現プロファイルを、ヒト遺伝子27,648個を提示するcDNAマイクロアレイを用いて解析したところ、膀胱癌細胞において一般に上方制御される遺伝子394個が同定された。これらのうち、施設内コードC2093(M期リンタンパク質1(MPHOSPH1)(Genebank登録NM_016195(SEQ ID NO:1、SEQ ID NO:2をコードする))を示す)、B5860N(DEPドメイン含有1(DEPDC1)(SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4をコードする))を示す)、およびC6055(MGC34032仮想タンパク質、(Genebank登録NM_152697 SEQ ID NO:133、SEQ ID NO:134をコードする))を示す)を有する遺伝子に注目した。C2093、B5860N、およびC6055遺伝子の発現は、発現データを得ることができた膀胱癌症例それぞれ25例のうち24例、20例のうち17例、および32例のうち21例で上昇していた。上方制御されたこれらの遺伝子の発現を確認するため、半定量的RT-PCR解析を行い、膀胱癌試料と正常膀胱癌細胞を含む正常ヒト組織との間で発現レベルを比較した。まず、C2093が、正常膀胱細胞、ならびに肺、心臓、肝臓、および腎臓を含む正常ヒト組織と比較して、臨床膀胱癌試料21例中17例において発現上昇を示したことが見出された(図1aおよびb)。さらに、この遺伝子は、6つの膀胱癌細胞株のいずれにおいても同様に過剰発現されていた(図1b)。次いで、B5860Nが、正常ヒト組織、特に正常膀胱mRNAと比較して、臨床膀胱癌試料21例中20例において発現上昇を示し(図1aおよびc)、試験した6つの膀胱癌細胞株のいずれにおいても過剰発現されていた(図1c)ことが見出された。

【 0 3 2 0 】

これらの遺伝子の発現パターンをさらに調べるため、C2093、B5860N、およびC6055のcDNA断片をプローブとして用いて、複数のヒト組織および膀胱癌細胞株でノーザンブロット解析を行った(材料および方法を参照されたい)。C2093は、精巣以外の正常ヒト組織では発現していないかまたは検出不能であったが(図2e; 上パネル)、膀胱癌細胞株のすべてにおいて驚くほど過剰発現されていた(図2e; 下パネル)。B5860Nも同様に精巣のみで発現され(図2f、上パネル)、一方、他の正常組織、特に正常ヒト膀胱と比較して、膀胱癌細胞株のすべてにおいて有意に過剰発現されていた(図2f、下パネル)。C6055もまた、正常ヒト組織では発現していないかまたは検出不能であったが(図2g; 上パネル)、6つの膀胱癌細胞株のうち3つにおいて過剰発現されていた(図2g; 下パネル)。したがって、膀胱癌特異的に発現される転写産物に注目した。

【 0 3 2 1 】

C2093、B5860N、およびC6055のゲノム構造

当初、データベースにおいてC2093が全長ではなかったため、C2093、B5860N、およびC6055の全cDNA配列を得ることを目的として、膀胱癌細胞株、SW780を鋳型として使用し、ESTウォーキング、ならびに5'RACEおよび3'RACE実験としてRT-PCRを行った(材料および方法

を参照されたい)。C2093は31エキソンからなり、M期リンタンパク質1(MPHOSPH1)を示し、染色体10q23.31に位置する。C2093の全長mRNA配列は6319ヌクレオチドを含んでおり、1780アミノ酸をコードする。この転写産物のORFは、それぞれのエキソン1において開始する。

【0322】

B5860Nは、DEPドメイン含有1(DEPDC1)を示し、染色体1p31.2に位置する。この遺伝子はまた、それぞれB5860N V1(SEQ ID NO:3、SEQ ID NO:4をコードする)およびB5860N V2(SEQ ID NO:5、SEQ ID NO:6をコードする)に対応する、12エキソンおよび11エキソンからなる2つの異なる転写変異体を有する(図3b)。V1のエキソン8において選択的变化が存在していたが、その他の残りのエキソンは両変異体に共通していた。V2変異体にはV1のエキソン8はないが、最後のエキソン内に同じ終止コドンを生じる。B5860NV1およびB5860NV2変異体の全長cDNA配列は、それぞれ5318および4466ヌクレオチドからなる。これら変異体のORFは、それぞれのエキソン1において開始する。V1およびV2転写産物は最終的に、それぞれ811アミノ酸および527アミノ酸をコードする。膀胱癌細胞株、ならびに膀胱、心臓、肺、肝臓、腎臓、脳、脾臓を含む正常ヒト組織における各変異体の発現パターンをさらに確認するため、ノーザンブロット解析を行った。結果として、いずれの変異体も膀胱癌細胞において高度に過剰発現されるが、精巣を除く正常ヒト組織では発現していないかまたは検出不能であることが見出された(図2f、下パネル)。特に、V2転写産物は精巣でのみ発現されていた。したがって、B5860Nの両変異体の機能解析をさらに行った。

【0323】

NCBIのデータベースによれば、C6055は24エキソンからなり、MGC34032と称され、染色体1p31.3に位置する。C6055はデータベース上のMGC34032の最後のエキソン(エキソン24)内に含まれないため、本発明者らは、膀胱癌細胞株、SW780を鋳型として用いて、ESTウォーキングおよび5'RACE実験としてRT-PCRを行い、C6055の全cDNA配列を得た(材料および方法を参照されたい)。その結果、本発明者らは、2つの新規転写産物、C6055V1(SEQ ID NO:129、SEQ ID NO:130をコードする)およびC6055V2(SEQ ID NO:131、SEQ ID NO:132をコードする)を見出した。最終的に、この遺伝子は、24、25、22、および22エキソンからなる4つの異なるスプライシング変異体を有し、それぞれMGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、およびC6055V2が対応する(図3c)。MGC34032のエキソン1、2、3、4、および24において選択的スプライシングが存在し、その他の残りのエキソンは4つの転写産物に共通していた。C6055V1およびC6055V2転写産物にはMGC34032のエキソン1、2、および3はなく、最後のエキソン内に同じ終止コドンを生じる。特に、C6055V1およびC6055V2転写産物のORFはそれぞれのエキソン4において開始し、C6055V1およびC6055V2転写産物は同じORFを有することを示している。MGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、およびC6055V2転写産物の全長cDNA配列は、それぞれ2302、3947、3851、および3819ヌクレオチドからなる。MGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、およびC6055V2転写産物は最終的に、それぞれ719、587、675、および675アミノ酸をコードする。膀胱癌細胞株、ならびに膀胱、心臓、肺、肝臓、腎臓、脳、精巣、脾臓を含む正常ヒト組織における各変異体の発現パターンをさらに確認するため、マイクロアレイ用のcDNA断片C6055をプローブとして用いてノーザンブロット解析を行った。その結果、およそ3.9 kbの転写産物がいくつかの膀胱癌細胞(HT-1376、SW780、およびRT4)において高度に過剰発現されていたが、正常ヒト組織においては発現していないかまたは検出不能であった(図2g上パネル)。加えて、7.5 kbの転写産物がHT1376細胞においてのみ特異的に発現されていたが、この転写産物の全mRNA配列はまだ同定されていない。さらに、プローブとしてこれらの転写産物に共通な領域を用いてノーザンブロット解析を行った場合、正常精巣においてのみ、MGC34032に対応する2.3 kbの転写産物が検出された(図2g中段および下パネル)。そのため、本発明者らは、C6055V1遺伝子産物の機能解析をさらに行う。

【0324】

C2093、B5860N、およびC6055の細胞内局在

C2093、B5860N、およびC6055の特性をさらに調べるため、これらの遺伝子産物の細胞内

局在をCOS7細胞において調べた。最初に、C2093タンパク質を発現するプラスミド(pCAGGS-C2093-HA)をCOS7細胞に一過的にトランスフェクトしたところ、210 kDa-C2093タンパク質が、ウェスタンブロット解析により予想される大きさで認められた(図4a)。免疫細胞化学染色により、外因性C2093はCOS7細胞において主に核器官に局在することが明らかになったが、いくつかの細胞では染色体の周囲に蓄積するのが観察された(図4b)。そのため、アフィニティコリンを用いて細胞を同期化し、細胞周期の進行におけるC2093タンパク質の局在について調べた。顕著なことには、このタンパク質はG1/G0期およびS期には核に位置し、特にG2/M期には染色体の周囲に蓄積していた(図4c)。

【0325】

次に、B5860NV1またはV2タンパク質を発現するプラスミド(pCAGGS-B5860NV1-HAまたはpCAGGS-B5860NV2-HA)をそれぞれCOS7に一過的にトランスフェクトしたところ、外因性B5860NV1およびV2タンパク質は、トランスフェクションの24時間後および48時間後に、ウェスタンブロット解析によりそれぞれ予想される大きさで認められた(図4d、V1; 左パネル、V2右パネル)。さらに免疫細胞化学染色により、B5860NV1は細胞質に局在するが(図4e、上パネル)、いくつかの細胞では核器官にも認められること(図4e、下パネル)、およびB5860NV2は主に細胞質に局在し(図4f、上パネル)、いくつかの細胞では細胞膜下にも認められること(図4f、下パネル)が明らかになった。そのため、アフィニティコリンを用いて細胞を同期化し、細胞周期の進行におけるB5860NV1およびV2タンパク質の局在について調べた。B5860NV1タンパク質はG1/G0期およびS期には核に位置していたが、G2/M期には細胞膜下に局在しており(図4g)、B5860NV2タンパク質はG2/M期に細胞膜下に位置していた(図4h)。さらに、B5860NV1およびV2タンパク質を発現する両プラスミドをCOS7に一過的に同時トランスフェクトした場合、B5860NV1タンパク質は核および細胞質器官に位置すること、ならびにB5860NV2は核に位置し、G2/M期に細胞膜下に移行することが認められた(図4i)。

【0326】

さらに内因性C2093の細胞内局在を決定するため、細胞周期の進行過程における局在を、アフィニティー精製した抗C2093抗体を用いて免疫細胞化学的解析により調べた。内因性C2093タンパク質は間期には核に局在していたが、分裂前期、分裂中期、および分裂後期(前期)には細胞質に局在し、特に分裂後期(後期)には中央体に位置し、次いで分裂終期には収縮環の近傍に位置していた(図4j)。したがって、C2093は細胞質分裂において重要な役割を果たす可能性がある。

【0327】

次に、C2093と同様に、膀胱癌細胞における内因性B5860Nを細胞周期の進行過程において調べるため、アフィニティー精製したB5860Nポリクローナル抗体を用いて免疫細胞化学的解析を行った。内因性B5860Nタンパク質は間期には主として核に局在していたが、M期には細胞質に局在していた(図4k)。

【0328】

SMARTおよびSOSUIコンピュータ予測により、予測されるC6055タンパク質が、8、9、または10番目の膜貫通ドメインを含むことが判明した。この予測を確かめるため、この遺伝子産物の細胞内局在を、トランスフェクションの36時間後および60時間後のCOS7細胞において調べた。まず、C6055タンパク質を発現するプラスミド(pCAGGS-C6055-HA)をCOS7細胞に一過的にトランスフェクトし、抗HAタグ抗体を用いてウェスタンブロット解析を行った。結果から、C6055タンパク質の予想される大きさに相当する67 kDaのバンド、およびさらなる75 kDaのバンドが示された(図4l)。75 kDaのバンドが、リン酸化またはグリコシル化によって修飾されたC6055の形態を表すのかどうかを検証するため、免疫ブロッティングの前に、細胞抽出物をλ-ホスファターゼ、O-グリコシダーゼ、またはN-グリコシダーゼ、およびO-グリコシダーゼで処理した。ホスファターゼおよびO-グリコシダーゼ処理後に75 kDaのバンドは消失しなかったが、O-グリコシダーゼ処理後には消失したことから、C6055タンパク質が生細胞でのみO-グリコシル化されることが示唆された(図4m)。C6055タンパク質の細胞内局在を調べるため、C6055をトランスフェクトしたCOS7細胞で蛍光免疫組織化学染色を行った。結果から、36時間の時点では細胞質におけるC6055の局在が認め

られたが、60時間の時点では外因性C6055はCOS7細胞において主に細胞膜に局在することが明らかになった(図4n)。

【0329】

C2093、B5860N、およびC6055の発現を低下させるように設計された低分子干渉RNA(siRNA)の増殖阻害効果

C2093、B5860N、およびC6055の増殖促進の機能を評価するため、哺乳動物ベクターに基づくRNA干渉(RNAi)法により、C2093、B5860N、およびC6055を過剰発現することが示されている膀胱癌細胞株、J82、UMUC3、およびSW780で内因性のC2093、B5860N、およびC6055の発現をノックダウンした(材料および方法を参照されたい)。C2093、B5860N、およびC6055の発現レベルを、半定量的RT-PCR実験により調べた。図5~7に示したように、C2093、B5860N、およびC6055特異的siRNAは、対照siRNA構築物(psiU6BX-EGFPおよびSCR)と比較して、それぞれの遺伝子の発現を有意に抑制した(図5a、5d、6a、7a)。C2093、B5860N、およびC6055特異的siRNAによる細胞増殖阻害を確かめるため、コロニー形成アッセイおよびMTTアッセイをそれぞれ実施した。C2093-si3構築物を導入するとJ82およびUMUC3細胞の増殖が抑制され(図5 b、c、e、f)、B5860N-si3構築物によりJ82細胞の増殖が抑制され(図6b、c)、およびC6055-si-08構築物によりSW780細胞の増殖が抑制され(図7b、c)、上記の発現低下の結果と一致した。結果はそれぞれ、3回の独立した実験により検証した。これらの知見から、C2093、B5860N、およびC6055が膀胱癌の細胞増殖において重要な機能を有することが示唆される。

10

20

【0330】

特に、細胞質分裂におけるC2093の機能をさらに解明するため、C2093-siRNAを膀胱癌細胞株UMUC3細胞にトランスフェクトし、次いでトランスフェクションの7日後に顕微鏡検査により細胞形態を観察した。C2093タンパク質の発現がC2093-siRNAによりノックダウンされることが確認され(図8b)、siRNAをトランスフェクトした細胞において多核細胞が認められ(図8a、c)、これによりsi-C2093のノックダウン細胞が細胞質分裂できなかったことが示唆される。

【0331】

臨床試料におけるC2093およびB6850Nタンパク質の発現

外科切除した浸潤性膀胱癌組織および正常膀胱組織の切片、ならびに種々の正常組織(腎臓、心臓、肺、および肝臓)それぞれにおいて、C2093またはB5860Nの免疫組織化学的解析を行った。膀胱癌組織でのみ、両タンパク質に対する強い染色が認められ(図9a、b)、正常膀胱組織ではC2093の染色は検出されなかった(図9a)。

30

【0332】

考察

本報告では、ゲノム全域にわたるcDNAマイクロアレイを用いた膀胱癌の正確な発現プロファイルを紹介して、正常ヒト組織と比較して膀胱癌細胞において有意に過剰発現される新規遺伝子、C2093、B5860N、およびC6055が同定された。

【0333】

B5860Nタンパク質は免疫化学染色により中間径繊維として細胞質に局在することが認められ、B5860Nが細胞間相互作用の重要な役割を果たしている可能性が示唆された。

40

【0334】

さらに、膀胱癌細胞をsiRNAで処理することにより、全3つの標的遺伝子、C2093、B5860N、およびC6055の発現が効率的に阻害され、膀胱癌の細胞/腫瘍増殖が有意に抑制されることが実証された。これらの知見から、C2093、B5860N、およびC6055は腫瘍細胞増殖において重要な役割を担い、抗癌剤を開発するための有望な標的となり得ることが示唆される。

【0335】

産業上の利用可能性

レーザーキャプチャーダイセクションとゲノム全域にわたるcDNAマイクロアレイの組み合わせによって得られた、本明細書に記載の膀胱癌の遺伝子発現解析により、癌の予防お

50

よび治療の標的として特異的遺伝子が同定された。差次的に発現されるこれら遺伝子の一部の発現に基づいて、本発明は、膀胱癌を同定および検出するための分子診断マーカーを提供する。

【0336】

本明細書に記載した方法はまた、膀胱癌の予防、診断、および治療のさらなる分子標的の同定に有用である。本明細書において報告したデータは、膀胱癌の包括的な理解を深め、新規診断戦略の開発を促し、治療薬および予防薬の分子標的を同定するための手がかりを提供する。このような情報は膀胱腫瘍形成のより深い理解に寄与し、膀胱癌の診断、治療、および最終的には予防に向けた新規戦略を開発するための指標を提供する。

【0337】

ヒト遺伝子C2093、B5860N、およびC6055の発現は、非癌性膀胱組織と比較して膀胱癌において著しく上昇している。したがって、これらの遺伝子は膀胱癌の診断マーカーとして有用であり、これらによってコードされるタンパク質は膀胱癌の診断アッセイに有用である。

【0338】

本発明者らはまた、C2093、B5860N、またはC6055タンパク質の発現が細胞増殖を促進するが、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子に対応する低分子干渉RNAによって細胞増殖が抑制されることを示した。これらの知見により、C2093、B5860N、およびC6055タンパク質が発癌活性を促進することが示される。したがって、これらの癌タンパク質はそれぞれ、抗癌薬を開発するための有用な標的である。例えば、C2093、B5860N、もしくはC6055の発現を遮断するか、またはその活性を妨げる物質は、抗癌剤として、特に膀胱癌治療のための抗癌剤として治療上有用である。そのような物質の例には、C2093、B5860N、またはC6055遺伝子に対するアンチセンスオリゴヌクレオチド、低分子干渉RNA、およびリボザイム、ならびにC2093、B5860N、またはC6055を認識する抗体が含まれる。

【0339】

本明細書において引用した特許、特許出願、および出版物はすべて、その全体が参照により本明細書に組み入れられる。

【0340】

さらに、本発明をその特定の態様に言及して詳細に説明してきたが、上記の説明は、例示的かつ説明的な性質のものであって、本発明およびその好ましい態様を例示することを意図していることが理解されるべきである。当業者は、日常的な実験を通して、本発明の精神および範囲から逸脱することなく、そこで様々な変更および修正がなされ得ることを容易に理解すると考えられる。したがって、本発明は上記の説明によって規定されるのではなく、添付の特許請求の範囲およびそれらの同等物によって規定されることが意図される。

【図面の簡単な説明】

【0341】

【図1】図1aは、増幅RNAから調製したcDNAを用いる半定量的RT-PCRによって調べた代表的な遺伝子44個およびGAPDHの発現を示すDNAアガロースゲルの写真である。最初の10レーンは、種々の膀胱癌患者における遺伝子発現レベルを示す。次の2レーンは、正常個体由来の膀胱；正常移行細胞および全体における遺伝子発現レベルを示す。次の4レーンは、正常ヒト組織；心臓、肺、肝臓、および腎臓における遺伝子発現レベルを示す。図1bおよびcは、膀胱癌患者21名による腫瘍細胞(1001、1009、1010、1012、1013、1014、1015、1016、1017、1018、1019、1020、1021、1022、1023、1024、2003、2014、3001、5001、5002)(上および中段パネル)、膀胱癌細胞株(HT1197、UMUC3、J82、HT1376、SW780、およびRT4)(下パネル)、および正常ヒト組織(正常一括；正常膀胱、TC；マイクロダイセクションした移行細胞、心臓、肺、肝臓、腎臓)における(b) C2093および(c) B5860Nを示す。

【図2】A0576N(a)、C5509(b)、F1653(c)、B9838(d)、C2093(e)、B5860N(f)、C6055(g、h) DNA断片を各プローブとして使用した、膀胱癌細胞株および正常膀胱を含む正常ヒト組織でのノーザンブロット解析の結果を示す。

10

20

30

40

50

【図 3】(a) C2093、(b) B5860N、および(c) C6055のゲノム構造を示す。B5860Nは、V1およびV2と称する2つの異なる変異体を有する。C6055は、MGC34032、Genbank登録番号AK128063、C6055V1、およびC6055V2と称する4つの異なる変異体を有する。

【図 4】C2093、B5860N、およびC6055の外因性発現および細胞内局在を示す。(a) トランスフェクションの24時間後および48時間後における、ウェスタンブロットによるC2093タンパク質の外因性発現、(b) C2093タンパク質の細胞内局在、(c) C2093の細胞周期依存的局在、(d) トランスフェクションの24時間後および48時間後における、ウェスタンブロット解析によるB5860N V1(左パネル)およびB5860N V2(右パネル)タンパク質の外因性発現、(e) B5860N V1および(f) B5860N V2タンパク質の細胞内局在、(g) B5860N V1タンパク質および(h) B5860N V2の細胞周期依存的局在、(i) B5860N V1およびB5860N V2のCOS7細胞への同時トランスフェクション、(j) 細胞周期の進行過程におけるC2093の細胞内局在、(k) 細胞周期の進行過程におけるB5860Nの細胞内局在、(l) トランスフェクションの36時間後における、ウェスタンブロットによるC6055タンパク質の発現、(m) C6055タンパク質の翻訳後修飾 (n) 外因性C6055タンパク質の細胞内局在を示す。

【図 5】膀胱癌細胞における、C2093の発現を低下させるように設計した低分子干渉RNA(siRNA)の増殖阻害効果を示す。(a) 膀胱癌細胞株、UMUC3細胞におけるC2093の内因性発現の抑制を示す半定量的RT-PCRを示す。GAPDHを内部対照として使用した。EGFP；対照としてのEGFP配列、およびSCR；対照としてのスクランブル配列(材料および方法を参照されたい)。(b) UMUC3細胞における、C2093のノックダウンによるコロニー数の減少を実証するコロニー形成アッセイを示す。(c) UMUC3細胞における、C2093のノックダウンによるコロニー数の減少を実証するMTTアッセイを示す。(d) 膀胱癌細胞株、J82細胞におけるC2093の内因性発現の抑制を示す半定量的RT-PCRを示す。GAPDHを内部対照として使用した。(e) J82細胞における、C2093のノックダウンによるコロニー数の減少を実証するコロニー形成アッセイを示す。(f) J82細胞における、C2093のノックダウンによるコロニー数の減少を実証するMTTアッセイを示す。

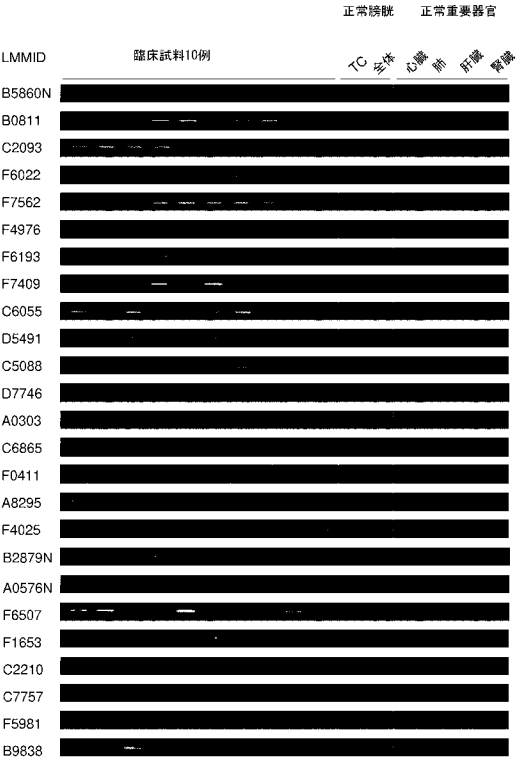
【図 6】膀胱癌細胞における、B5860Nの発現を低下させるように設計した低分子干渉RNA(siRNA)の増殖阻害効果を示す。(a) 膀胱癌細胞株、J82細胞におけるB5860Nの内因性発現の抑制を示す半定量的RT-PCRを示す。GAPDHを内部対照として使用した。EGFP；対照としてのEGFP配列、およびSCR；対照としてのスクランブル配列(材料および方法を参照されたい)。(b) J82細胞における、B5860Nのノックダウンによるコロニー数の減少を実証するコロニー形成アッセイを示す。(c) J82細胞における、B5860Nのノックダウンによるコロニー数の減少を実証するMTTアッセイを示す。

【図 7】膀胱癌細胞における、C6055の発現を低下させるように設計した低分子干渉RNA(siRNA)の増殖阻害効果を示す。(a) 膀胱癌細胞株、SW780細胞におけるC6055の内因性発現の抑制を示す半定量的RT-PCRを示す。ACTBを内部対照として使用した。SCR；対照としてのスクランブル配列(材料および方法を参照されたい)。(b) SW780細胞における、C6055のノックダウンによるコロニー数の減少を実証するコロニー形成アッセイを示す。(c) SW780細胞における、C6055のノックダウンによるコロニー数の減少を実証するMTTアッセイを示す。

【図 8】(a) C2093-siRNAの処理による多核細胞を示す。(b) 抗C2093抗体を用いたウェスタンブロット解析を示す。(c) 顕微鏡検査による細胞形態を示す。

【図 9】(a) 膀胱癌組織切片におけるC2093の発現を示す(右パネル×200；左パネル×100)、(b) 膀胱癌組織切片におけるB5860Nの発現を示す(右パネル×200；左パネル×100)、正常膀胱組織(下パネル)。

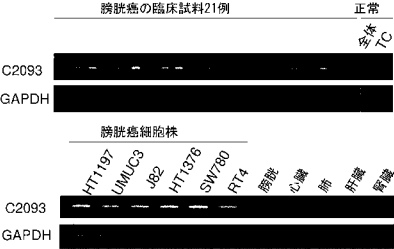
【 図 1 a - 1 】



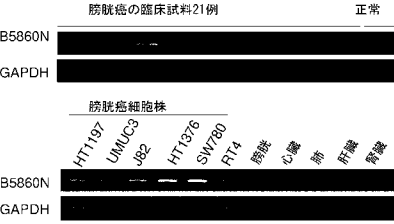
【 図 1 a - 2 】



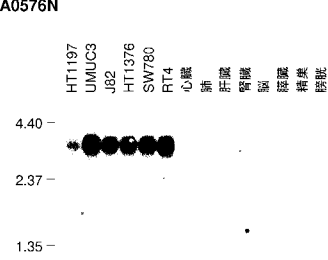
【 図 1 b 】



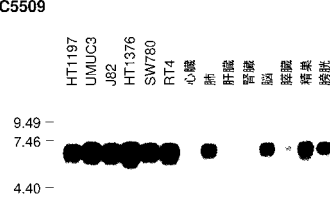
【 図 1 c 】



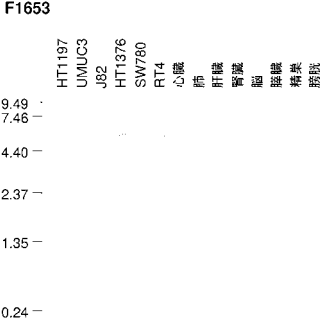
【 図 2 a 】



【 図 2 b 】

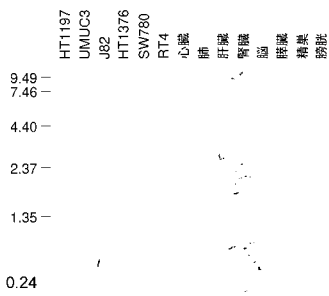


【 図 2 c 】



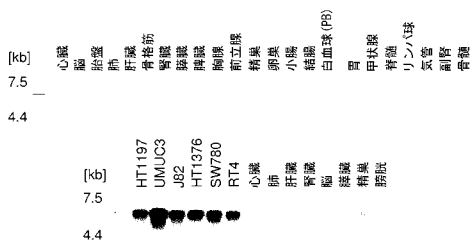
【図 2 d】

B9838



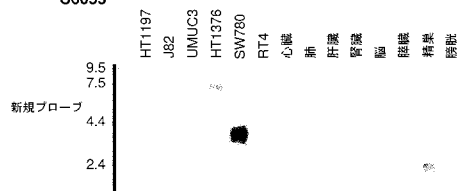
【図 2 e】

C2093



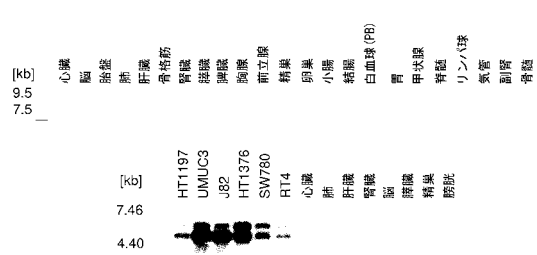
【図 2 h】

C6055



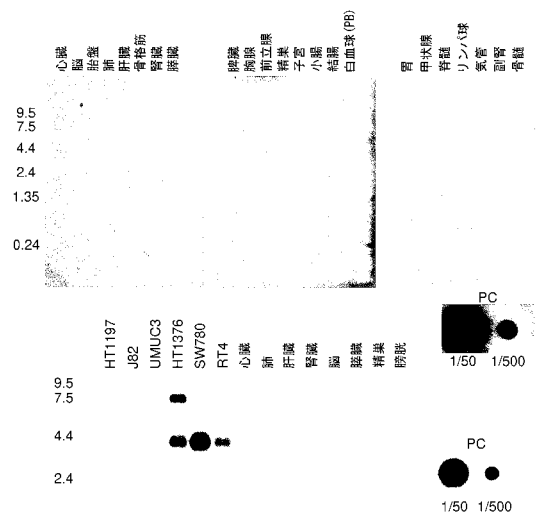
【図 2 f】

B5860N

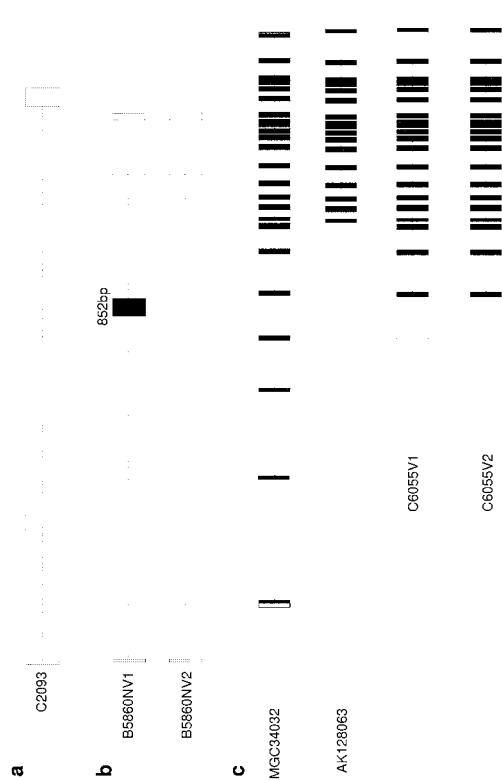


【図 2 g】

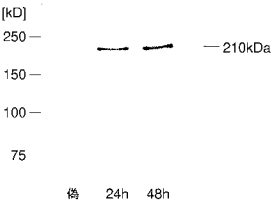
C6055



【図 3】



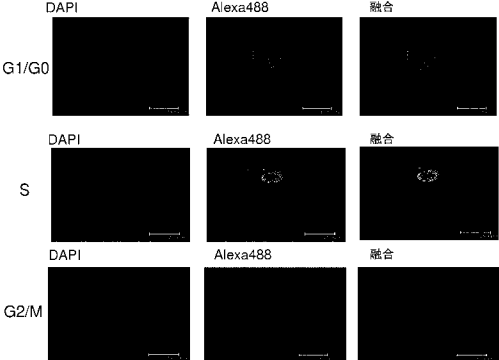
【 図 4 a 】



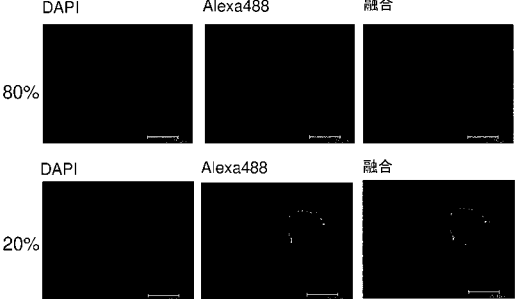
【 図 4 b 】



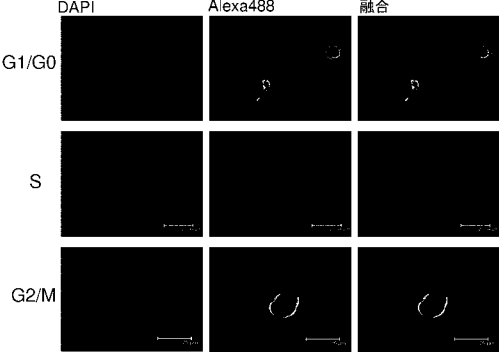
【 図 4 c 】



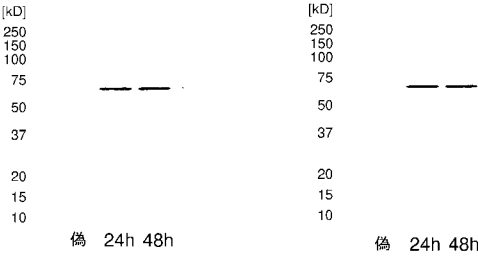
【 図 4 f 】



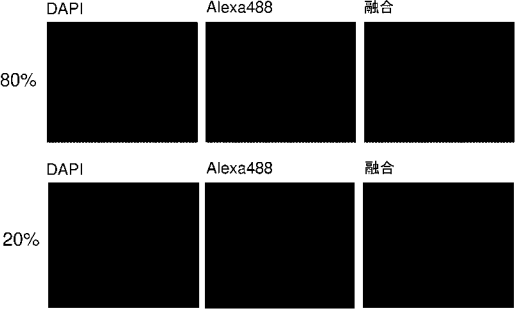
【 図 4 g 】



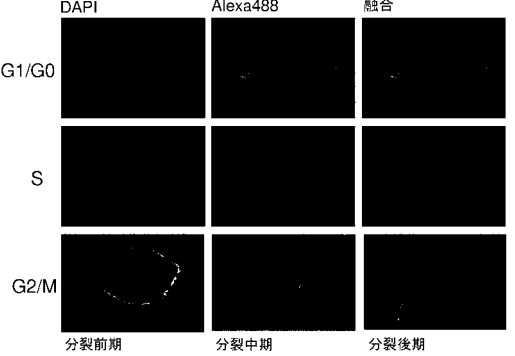
【 図 4 d 】



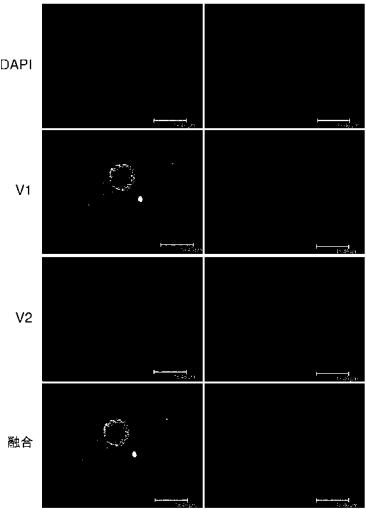
【 図 4 e 】



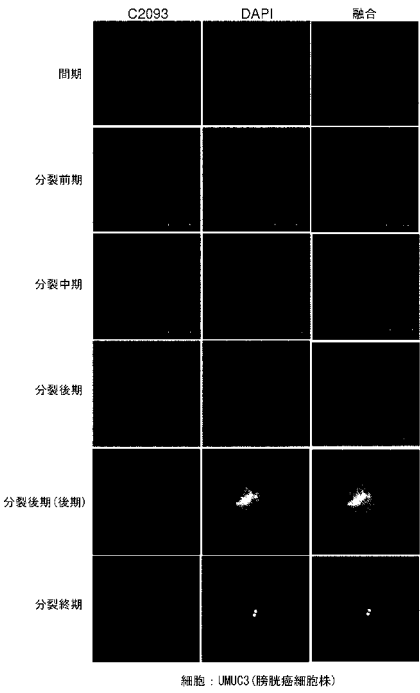
【 図 4 h 】



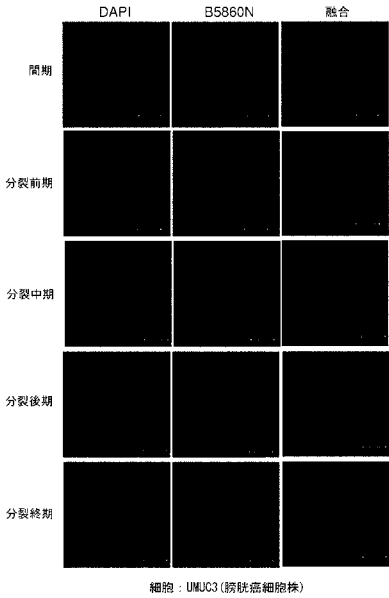
【 図 4 i 】



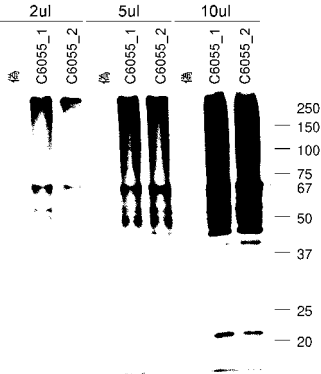
【 図 4 j 】



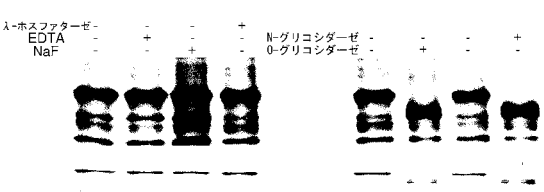
【 図 4 k 】



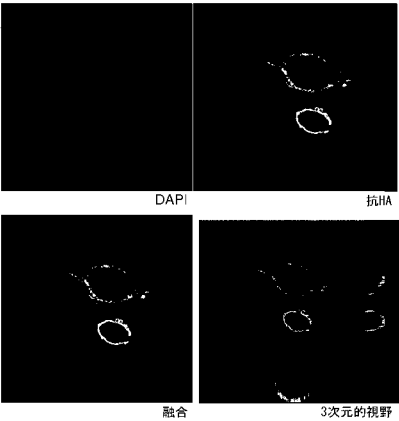
【 図 4 l 】



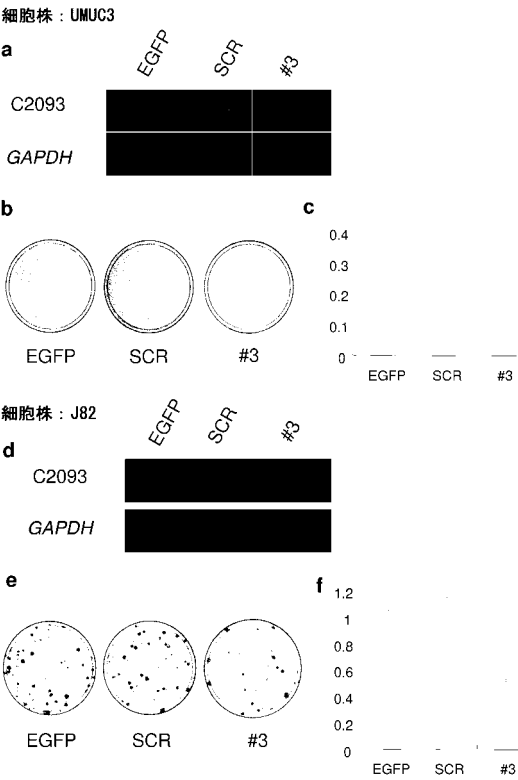
【 図 4 m 】



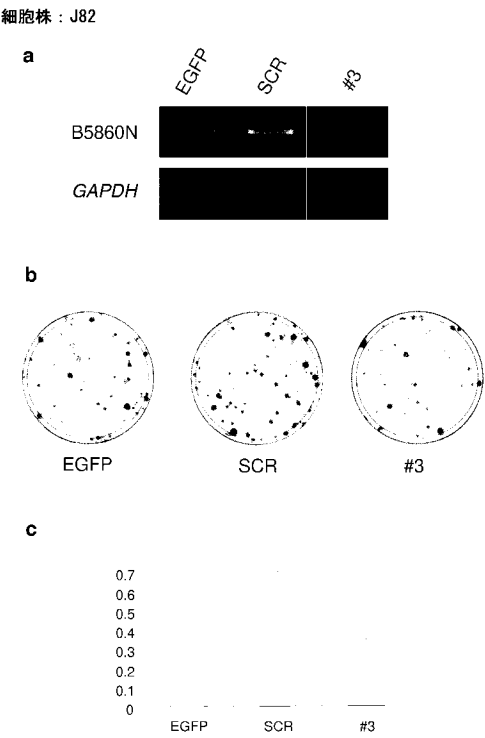
【 図 4 n 】



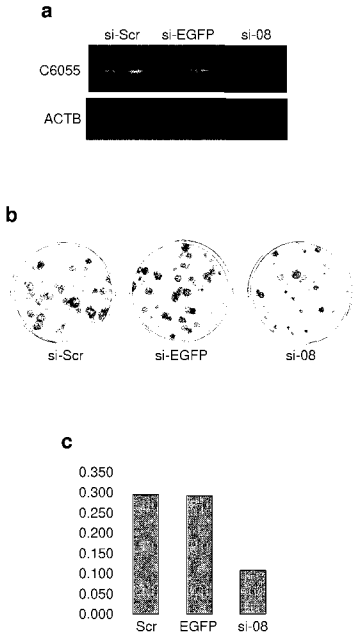
【 図 5 】



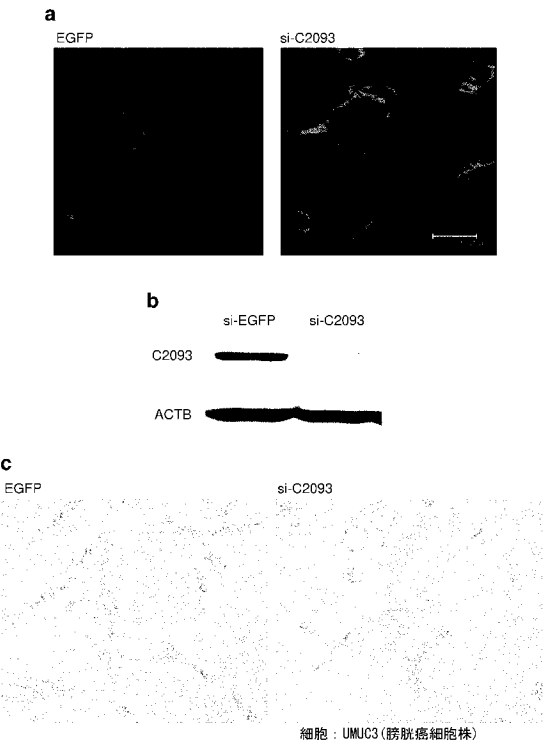
【 図 6 】



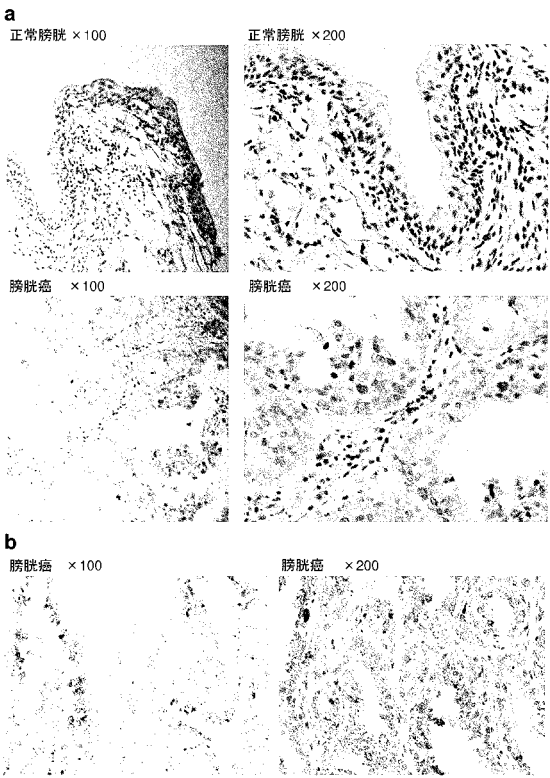
【 図 7 】



【 図 8 】



【 図 9 】



【 配 列 表 】

2008532477000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/JP2006/302684

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C12Q1/68		
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) C12Q		
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 practical, search terms used) EPO-Internal, EMBASE, BIOSIS, FSTA		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	SMITH S D ET AL: "URINE DETECTION OF SURVIVIN AND DIAGNOSIS OF BLADDER CANCER" JAMA THE JOURNAL OF THE AMERICAN MEDICAL ASSOCIATION, CHICAGO, IL, US, vol. 285, no. 3, 17 January 2001 (2001-01-17), pages 324-328, XP008003639 ISSN: 0098-7484 abstract; table 1	1-3,7
Y	the whole document	15,18, 19, 22-26,31
----- -/--		
☒ 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 document but 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
3 July 2006		3 1. 10. 2006
Name and mailing address of the ISA/ European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Leber, Thomas

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/JP2006/302684

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 01/53535 A (CEDARS-SINAI MEDICAL CENTER) 26 July 2001 (2001-07-26) claims 12,14	1-3,7
Y	the whole document	15,18, 19, 22-26,31
X	----- FUESSEL ET AL: "SYSTEMATIC IN VITRO EVALUATION OF SURVIVIN DIRECTED ANTISENSE OLIGODEOXYNUCLEOTIDES IN BLADDER CANCER CELLS" JOURNAL OF UROLOGY, BALTIMORE, MD, US, vol. 171, no. 6, June 2004 (2004-06), pages 2471-2476, XP005369537 ISSN: 0022-5347 abstract page 2472, right-hand column - page 2473, left-hand column	16,17,30
Y	the whole document	15,18, 19, 22-26,31
A	----- DATABASE NETAFFX [Online] Affymetrix; 22 June 2006 (2006-06-22), XP002386830 retrieved from HTTP://WWW.AFFYMETRIX.COM/ANALYSIS/INDEX.AFFX the whole document	21
X	----- "Affymetrix Genechip bHuman Genome U133 plus 2.0 Array" GEO, 7 November 2003 (2003-11-07), XP002343693 the whole document	21
Y	----- WO 2004/031413 A (ONCOTHERAPY SCIENCE, INC; JAPAN AS REPRESENTED BY THE PRESIDENT OF THE) 15 April 2004 (2004-04-15) the whole document claims 16-32; tables 1,2	15,18, 19, 22-26,31
A	----- NICHOLSON BRIAN E ET AL: "Profiling the evolution of human metastatic bladder cancer." CANCER RESEARCH. 1 NOV 2004, vol. 64, no. 21, 1 November 2004 (2004-11-01), pages 7813-7821, XP002386820 ISSN: 0008-5472 the whole document	
	----- -/-	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/JP2006/302684

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	MODLICH OLGA ET AL: "Identifying superficial, muscle-invasive, and metastasizing transitional cell carcinoma of the bladder: use of cDNA array analysis of gene expression profiles." CLINICAL CANCER RESEARCH : AN OFFICIAL JOURNAL OF THE AMERICAN ASSOCIATION FOR CANCER RESEARCH. 15 MAY 2004, vol. 10, no. 10, 15 May 2004 (2004-05-15), pages 3410-3421, XP002386821 ISSN: 1078-0432 the whole document	
A	ARDELT PETER ET AL: "Gene and antisense therapy of bladder cancer." ADVANCES IN EXPERIMENTAL MEDICINE AND BIOLOGY. 2003, vol. 539, no. Pt A, 2003, pages 155-183, XP009067482 ISSN: 0065-2598 the whole document	
A	TYAGI A K ET AL: "Silibinin down-regulates survivin protein and mRNA expression and causes caspases activation and apoptosis in human bladder transitional-cell papilloma RT4 cells" BIOCHEMICAL AND BIOPHYSICAL RESEARCH COMMUNICATIONS, ACADEMIC PRESS INC. ORLANDO, FL, US, vol. 312, no. 4, 26 December 2003 (2003-12-26), pages 1178-1184, XP004476401 ISSN: 0006-291X the whole document	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/JP2006/302684

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0153535	A	26-07-2001	AU 3102501 A	31-07-2001
WO 2004031413	A	15-04-2004	AU 2003272088 A1	23-04-2004
			CA 2500151 A1	15-04-2004
			EP 1551998 A2	13-07-2005
			JP 2006500949 T	12-01-2006

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2006/302684**Box II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)**

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

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 22-27 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.
2. ☒ Claims Nos.: 12-14, 20, 28, 32
because they relate to parts of the International Application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful International Search can be carried out, specifically:
see FURTHER INFORMATION sheet PCT/ISA/210
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

see additional sheet

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this International Search Report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☒ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this International Search Report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
1-3, 6-13, 15-28, 30-32

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

International Application No. PCT/JP2006/302684

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

Continuation of Box II.1

Although claims 22-27 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

Continuation of Box II.2

Claims Nos.: 12-14,20,28,32

Claims 12-14 refer to a bladder cancer "expression profile" comprising a "pattern of gene expression". An expression profile as defined in claims 12-14 merely represents presentation of information (Rule 39.1 (v) PCT). Claims 12-14 are thus not defined by technical features that would render the scope of the said claims clear under Art 6 PCT. The description also fails to provide technical features that could render the scope of the said claims 12-14 clear. The said claims 12-14 thus lack clarity to such an extent, that no meaningful search can be carried out (Rule 39.1 (v) and Art 6 PCT).

Claim 28 refers to a method of treatment whereby a compound is administered that was obtained by screening methods according to claims 15-19. In claims 15-19, however, the compounds are defined only by their desired function, contrary to the requirements of clarity of Article 6 PCT, because the result-to-be-achieved type of definition does not allow the scope of the claim to be ascertained. The fact that any compound could be screened does not overcome this objection, as the skilled person would not have knowledge beforehand as to whether it would fall within the scope claimed. The description, moreover, fails to disclose a single compound that was detected by any of the above screening methods to have an action on gene BIRC5, representing the subject-matter of the first invention. Claim 28 lacks thus clarity to such an extent, that no meaningful search can presently be carried out for this claim (Art 6 PCT).

The same objection also applies to claims 20 and 32. Thus, also for claims 20 and 32 no meaningful search can presently be carried (Art 6 PCT).

The applicant's attention is drawn to the fact that claims relating to inventions in respect of which no international search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (Rule 66.1(e) PCT). The applicant is advised that the EPO policy when acting as an International Preliminary Examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure. If the application proceeds into the regional phase before the EPO, the applicant is reminded that a search may be carried out during examination before the EPO (see EPO Guideline C-VI, 8.5),

International Application No. PCT/JP2006 /302684

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/ISA/ 210

should the problems which led to the Article 17(2) declaration be overcome.

International Application No. PCT/JP2006 /302684

FURTHER INFORMATION CONTINUED FROM PCT/SA/ 210

This International Searching Authority found multiple (groups of) inventions in this international application, as follows:

Invention 1: claims 1-3,6-13,15-28,30-32

Methods of diagnosing bladder cancer, expression profiles, methods of screening, kits, arrays, methods of treatment and compositions relating to the gene encoded as BLC NO:1 in table 4 of the description of the present application.

Invention 2-394: claims 1-3,6-13,15-28,30-32

Methods of diagnosing bladder cancer, expression profiles, methods of screening, kits, arrays, methods of treatment and compositions relating to the gene encoded as BLC NO:2-394 in table 4 of the description of the present application.

Invention 395-1666: claims 1,4-12,14-21,28,29,32

Methods of diagnosing bladder cancer, expression profiles, methods of screening, kits, arrays, methods of treatment and compositions relating to the gene encoded as BLC NO:1395-1666 in table 5 of the description of the present application.

Invention 1667: claims 33-73

A polypeptide, nucleic acid, vector, host cell, methods of production, antibody, anti-sense oligonucleotides, methods of diagnosing bladder cancer, methods of screening, methods of treatment and compositions relating to the gene as specified by SEQ ID NO:3 or the thereby encoded protein as specified in SEQ ID NO:4.

フロントページの続き

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C 1 2 N 1/15 (2006.01)	C 0 7 K 16/32	4 B 0 6 5
C 1 2 N 1/19 (2006.01)	C 1 2 N 1/15	4 C 0 8 4
C 1 2 N 1/21 (2006.01)	C 1 2 N 1/19	4 C 0 8 5
C 1 2 N 5/10 (2006.01)	C 1 2 N 1/21	4 C 0 8 6
C 0 7 K 14/82 (2006.01)	C 1 2 N 5/00 A	4 H 0 4 5
A 6 1 K 31/7088 (2006.01)	C 0 7 K 14/82	
A 6 1 P 35/00 (2006.01)	A 6 1 K 31/7088	
A 6 1 K 48/00 (2006.01)	A 6 1 P 35/00	
A 6 1 K 38/00 (2006.01)	A 6 1 K 48/00	
A 6 1 K 39/00 (2006.01)	A 6 1 K 37/02	
A 6 1 K 45/00 (2006.01)	A 6 1 K 39/00 H	
A 6 1 K 39/395 (2006.01)	A 6 1 K 45/00	
G 0 1 N 33/53 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 D	
G 0 1 N 33/50 (2006.01)	A 6 1 K 39/395 N	
G 0 1 N 33/15 (2006.01)	G 0 1 N 33/53 M	
C 1 2 M 1/00 (2006.01)	G 0 1 N 33/50 Z	
	G 0 1 N 33/15 Z	
	C 1 2 M 1/00 A	

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LS,MW,MZ,NA,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,IS,IT,LT,LU,LV,MC,NL,PL,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,BW,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,KM,KN,KP,KR,KZ,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LV,LY,MA,MD,MG,MK,MN,MW,MX,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PG,PH,PL,PT,RO,RU,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,SY,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US,UZ,VC,VN,YU,ZA,ZM,ZW

(72)発明者 片桐 豊雅

東京都文京区本郷七丁目 3 番 1 号 国立大学法人東京大学内

(72)発明者 中鶴 修一

神奈川県川崎市高津区坂戸 3 丁目 2 - 1 オンコセラピー・サイエンス株式会社内

F ターム(参考) 2G045 AA35 CB02 DA13 FB02 FB03
 4B024 AA01 AA12 BA36 BA54 CA04 CA09 DA02 DA05 EA02 EA04
 FA02 GA01 GA11 HA03 HA11 HA17
 4B029 AA07 BB20 CC03 FA12
 4B063 QA01 QA07 QA18 QA19 QQ08 QQ13 QR08 QR33 QR42 QR55
 QR59 QR62 QR80 QR82 QS25 QS36 QX02
 4B064 AG31 CA19 CC24 DA01 DA14
 4B065 AA01X AA57X AA90X AA93Y AB01 AB02 BA01 BA08 CA24 CA25
 CA44 CA46
 4C084 AA02 AA07 AA13 AA17 BA01 NA14 ZB262
 4C085 AA03 AA13 AA14
 4C086 AA01 AA02 EA16 NA14 ZB26
 4H045 AA11 AA20 AA30 CA40 CA41 DA76 DA86 EA28 EA50 FA72
 FA74

专利名称(译)	<无法获取翻译>		
公开(公告)号	JP2008532477A5	公开(公告)日	2009-03-19
申请号	JP2007535933	申请日	2006-02-09
[标]申请(专利权)人(译)	肿瘤疗法科学股份有限公司 国立大学法人 东京大学		
申请(专利权)人(译)	ONCO疗法科学股份有限公司 东京大学		
[标]发明人	中村祐輔 片桐豊雅 中鶴修一		
发明人	中村 祐輔 片桐 豊雅 中鶴 修一		
IPC分类号	C12N15/09 C12Q1/68 C12Q1/02 C12P21/02 C07K16/32 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/10 C07K14/82 A61K31/7088 A61P35/00 A61K48/00 A61K38/00 A61K39/00 A61K45/00 A61K39/395 G01N33/53 G01N33/50 G01N33/15 C12M1/00		
CPC分类号	A61P35/00 A61P37/04 C12Q1/6886 C12Q2600/136 C12Q2600/158 G01N33/57407 G01N2500/00		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12Q1/68.A C12Q1/02 C12N15/00.F C12P21/02.C C07K16/32 C12N1/15 C12N1/19 C12N1/21 C12N5/00.A C07K14/82 A61K31/7088 A61P35/00 A61K48/00 A61K37/02 A61K39/00.H A61K45/00 A61K39/395.D A61K39/395.N G01N33/53.M G01N33/50.Z G01N33/15.Z C12M1/00.A		
F-TERM分类号	2G045/AA35 2G045/CB02 2G045/DA13 2G045/FB02 2G045/FB03 4B024/AA01 4B024/AA12 4B024/BA36 4B024/BA54 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/DA02 4B024/DA05 4B024/EA02 4B024/EA04 4B024/FA02 4B024/GA01 4B024/GA11 4B024/HA03 4B024/HA11 4B024/HA17 4B029/AA07 4B029/BB20 4B029/CC03 4B029/FA12 4B063/QA01 4B063/QA07 4B063/QA18 4B063/QA19 4B063/QQ08 4B063/QQ13 4B063/QR08 4B063/QR33 4B063/QR42 4B063/QR55 4B063/QR59 4B063/QR62 4B063/QR80 4B063/QR82 4B063/QS25 4B063/QS36 4B063/QX02 4B064/AG31 4B064/CA19 4B064/CC24 4B064/DA01 4B064/DA14 4B065/AA01X 4B065/AA57X 4B065/AA90X 4B065/AA93Y 4B065/AB01 4B065/AB02 4B065/BA01 4B065/BA08 4B065/CA24 4B065/CA25 4B065/CA44 4B065/CA46 4C084/AA02 4C084/AA07 4C084/AA13 4C084/AA17 4C084/BA01 4C084/NA14 4C084/ZB262 4C085/AA03 4C085/AA13 4C085/AA14 4C086/AA01 4C086/AA02 4C086/EA16 4C086/NA14 4C086/ZB26 4H045/AA11 4H045/AA20 4H045/AA30 4H045/CA40 4H045/CA41 4H045/DA76 4H045/DA86 4H045/EA28 4H045/EA50 4H045/FA72 4H045/FA74		
代理人(译)	清水初衷		
优先权	60/652318 2005-02-10 US 60/703225 2005-07-27 US		
其他公开文献	JP2008532477A JP5109131B2		

摘要(译)

本文描述了用于检测和诊断膀胱癌 (BLC) 的客观方法。在一个实施方案中, 诊断方法包括确定BLC相关基因的表达水平, 其区分BLC细胞和正常细胞。本发明进一步提供了使用BLC相关基因预测和预防膀胱癌转移的方法, 所述BLC相关基因在具有淋巴结转移的膀胱癌细胞中具有独特的改变的表达模式。最后, 本发明提供筛选可用于治疗膀胱癌的治疗剂的方法和接种对抗膀胱癌的受试者的方法。特别地, 本申请提供了新的人基因C2093, B5860N和C6055, 其表达在膀胱癌中显著升高。由基因编码的基因和多肽可用于例如膀胱癌的诊断, 用于开发针对该疾病的药物的靶分子, 以及用于减弱膀胱癌细胞的生长。

