

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2008-283985

(P2008-283985A)

(43) 公開日 平成20年11月27日(2008.11.27)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
<b>C 1 2 N 15/09 (2006.01)</b>	C 1 2 N 15/00 Z N A A	4 B O 2 4
<b>C 1 2 Q 1/68 (2006.01)</b>	C 1 2 Q 1/68 A	4 B O 6 3

審査請求 有 請求項の数 16 O L (全 110 頁)

(21) 出願番号	特願2008-190243 (P2008-190243)	(71) 出願人	301055505 トーマス ジェファーソン ユニバーシテ イ
(22) 出願日	平成20年7月23日 (2008.7.23)		アメリカ合衆国, ペンシルバニア 191 07-6799, フィラデルフィア, ロー カスト ストリート 1020
(62) 分割の表示	特願平9-536340の分割	(74) 代理人	100140109 弁理士 小野 新次郎
原出願日	平成9年4月3日 (1997.4.3)	(74) 代理人	100089705 弁理士 社本 一夫
(31) 優先権主張番号	60/014, 943	(74) 代理人	100075270 弁理士 小林 泰
(32) 優先日	平成8年4月5日 (1996.4.5)	(74) 代理人	100080137 弁理士 千葉 昭男
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/019, 372		
(32) 優先日	平成8年6月5日 (1996.6.5)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/020, 196		
(32) 優先日	平成8年6月21日 (1996.6.21)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		
(31) 優先権主張番号	60/039, 532		
(32) 優先日	平成9年3月3日 (1997.3.3)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 癌の診断および予後のための方法

(57) 【要約】

【課題】本発明は、腫瘍抑制遺伝子 p R b 2 / p 1 3 0 の発現のレベルを決定することを含む、診断および予後のための方法を提供する。

【解決手段】 p R b 2 / p 1 3 0 発現の相対レベルは癌の存在、腫瘍等級、および患者予後と関連するため、これらの方法は、癌を検出し、治療の判断を行い、患者の成果を予測し、および罹患していない個体における癌の危険性を予測するために用いることができる可能性がある。本発明はさらに、 p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子中の突然変異および多型性の検出のための方法を提供する。これは、腫瘍形成に関連する遺伝的事象を特徴付けし、突然変異の親起源を追跡し、生殖系突然変異のキャリアーを同定し、および、癌の素因を有する個体を同定するために用いることができる可能性がある。

【選択図】 なし

## 【特許請求の範囲】

## 【請求項 1】

癌に苦しむ患者の予後を決定する方法であって、患者由来の試料中の p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルを決定する、ここにおいて p R b 2 / p 1 3 0 発現の減少したレベルは好ましくない予後の指標である、ことを含む前記方法。

## 【請求項 2】

p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルの決定が、当該遺伝子の R N A 転写物の相対数を決定することを含む、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 3】

p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルの決定が、p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質の相対レベルを決定することを含む、請求項 1 に記載の方法。

10

## 【請求項 4】

p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質のレベルを、試料を p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質に結合する抗体と接触させることによって決定する、請求項 3 に記載の方法。

## 【請求項 5】

放射線療法または化学療法による患者の治療の前に、試料を患者から得る、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 6】

癌が婦人科系の癌である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 7】

癌が子宮内膜癌である、請求項 6 に記載の方法。

20

## 【請求項 8】

試料が子宮内膜組織を含む、請求項 7 に記載の方法。

## 【請求項 9】

子宮内膜組織が腫瘍を含む、請求項 8 に記載の方法。

## 【請求項 10】

癌が卵巣癌である、請求項 6 に記載の方法。

## 【請求項 11】

癌が非小細胞肺癌である、請求項 1 に記載の方法。

## 【請求項 12】

組織における癌性疾患状態を検出する方法であって、当該組織の試料中の p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルを決定する、ここにおいて p R b 2 / p 1 3 0 発現の減少したレベルは癌の存在の指標である、ことを含む前記方法。

30

## 【請求項 13】

p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルの決定が、当該遺伝子の R N A 転写物の相対数を決定することを含む、請求項 12 に記載の方法。

## 【請求項 14】

p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルの決定が、p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質の相対レベルを決定することを含む、請求項 12 に記載の方法。

## 【請求項 15】

p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質のレベルを、試料を p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質に結合する抗体と接触させることによって決定する、請求項 14 に記載の方法。

40

## 【請求項 16】

癌が婦人科系の癌である、請求項 12 に記載の方法。

## 【請求項 17】

癌が子宮内膜癌である、請求項 16 に記載の方法。

## 【請求項 18】

癌が卵巣癌である、請求項 16 に記載の方法。

## 【請求項 19】

癌が非小細胞肺癌である、請求項 12 に記載の方法。

50

- 【請求項 20】  
 癌の危険性のある個体、または治療後に癌の再発の危険性のある個人を同定する方法であって、  
 個体から試料化された組織中の p R b 2 / p 1 3 0 の発現レベルを決定し；そして  
 試料組織中の p R b 2 / p 1 3 0 発現レベルを正常な p R b 2 / p 1 3 0 発現レベルと比較する  
 ことを含む前記方法。
- 【請求項 21】  
 p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルの決定が、当該遺伝子の R N A 転写物の相対数を決定することを含む、請求項 20 に記載の方法。 10
- 【請求項 22】  
 p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルの決定が、p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質の相対レベルを決定することを含む、請求項 20 に記載の方法。
- 【請求項 23】  
 p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質のレベルを、試料を p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質に結合する抗体と接触させることによって決定する、請求項 22 に記載の方法。
- 【請求項 24】  
 癌が婦人科系の癌である、請求項 20 に記載の方法。
- 【請求項 25】  
 癌が子宮内膜癌である、請求項 24 に記載の方法。 20
- 【請求項 26】  
 癌が卵巣癌である、請求項 24 に記載の方法。
- 【請求項 27】  
 癌が非小細胞肺癌である、請求項 20 に記載の方法。
- 【請求項 28】  
 癌を等級付けする方法であって、  
 癌を病む患者からの組織の試料中の p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現のレベルを決定する、  
 ここにおいて、発現のレベルは癌の等級の指標となる  
 ことを含む前記方法。
- 【請求項 29】  
 p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルの決定が、試料組織中の当該遺伝子の R N A 転写物の相対数を決定することを含む、請求項 28 に記載の方法。 30
- 【請求項 30】  
 p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルの決定が、試料組織中の p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質の相対レベルを決定することを含む、請求項 28 に記載の方法。
- 【請求項 31】  
 試料組織中の当該タンパク質のレベルを、p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質に結合する抗体を前記試料組織と接触させる免疫測定によって決定する、請求項 30 に記載の方法。
- 【請求項 32】  
 癌が婦人科系の癌である、請求項 28 に記載の方法。 40
- 【請求項 33】  
 癌が子宮内膜癌である、請求項 32 に記載の方法。
- 【請求項 34】  
 癌が卵巣癌である、請求項 32 に記載の方法。
- 【請求項 35】  
 癌が非小細胞肺癌である、請求項 28 に記載の方法
- 【請求項 36】  
 癌が扁平上皮細胞または腺癌である、請求項 35 に記載の方法。
- 【請求項 37】  
 本質的に p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のイントロンもしくはプロモーター領域、またはそ 50

の少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなるDNAセグメント。

【請求項38】

本質的にpRb2/p130イントロン1、またはその少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなる、請求項37に記載のDNAセグメント。

【請求項39】

本質的にSEQ ID NO:66からなる、請求項38に記載のDNAセグメント。

【請求項40】

本質的にpRb2/p130イントロン2、またはその少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなる、請求項37に記載のDNAセグメント。

【請求項41】

本質的にSEQ ID NO:67からなる、請求項40に記載のDNAセグメント。

10

【請求項42】

本質的にpRb2/p130イントロン3、またはその少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなる、請求項37に記載のDNAセグメント。

【請求項43】

本質的にSEQ ID NO:48からなる、請求項42に記載のDNAセグメント。

【請求項44】

本質的にpRb2/p130イントロン4、またはその少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなる、請求項37に記載のDNAセグメント。

20

【請求項45】

本質的にSEQ ID NO:49からなる、請求項44に記載のDNAセグメント。

【請求項46】

本質的にpRb2/p130イントロン5、またはその少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなる、請求項37に記載のDNAセグメント。

【請求項47】

本質的にSEQ ID NO:50からなる、請求項46に記載のDNAセグメント。

【請求項48】

本質的にpRb2/p130イントロン6、またはその少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなる、請求項37に記載のDNAセグメント。

30

【請求項49】

本質的にSEQ ID NO:51からなる、請求項48に記載のDNAセグメント。

【請求項50】

本質的にpRb2/p130イントロン7、またはその少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなる、請求項37に記載のDNAセグメント。

【請求項51】

本質的にSEQ ID NO:52からなる、請求項50に記載のDNAセグメント。

40

【請求項52】

本質的にpRb2/p130イントロン8、またはその少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなる、請求項37に記載のDNAセグメント。

【請求項53】

本質的にSEQ ID NO:53からなる、請求項52に記載のDNAセグメント。

【請求項54】

本質的にpRb2/p130イントロン9、またはその少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなる、請求項37に記載のDNAセグメント。

【請求項55】

50

本質的に SEQ ID NO : 54 からなる、請求項 54 に記載の DNA セグメント。

【請求項 56】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 10、またはその少なくとも 15 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 37 に記載の DNA セグメント。

【請求項 57】

本質的に SEQ ID NO : 55 からなる、請求項 56 に記載の DNA セグメント。

【請求項 58】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 11、またはその少なくとも 15 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 37 に記載の DNA セグメント。

10

【請求項 59】

本質的に SEQ ID NO : 56 からなる、請求項 58 に記載の DNA セグメント。

【請求項 60】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 12、またはその少なくとも 15 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 37 に記載の DNA セグメント。

【請求項 61】

本質的に SEQ ID NO : 57 からなる、請求項 60 に記載の DNA セグメント。

20

【請求項 62】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 13、またはその少なくとも 15 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 37 に記載の DNA セグメント。

【請求項 63】

本質的に SEQ ID NO : 58 からなる、請求項 63 に記載の DNA セグメント。

【請求項 64】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 14、またはその少なくとも 15 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 37 に記載の DNA セグメント。

【請求項 65】

本質的に SEQ ID NO : 59 からなる、請求項 64 に記載の DNA セグメント。

30

【請求項 66】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 15、またはその少なくとも 15 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 37 に記載の DNA セグメント。

【請求項 67】

本質的に SEQ ID NO : 60 からなる、請求項 66 に記載の DNA セグメント。

【請求項 68】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 16、またはその少なくとも 15 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 37 に記載の DNA セグメント。

40

【請求項 69】

本質的に SEQ ID NO : 61 からなる、請求項 68 に記載の DNA セグメント。

【請求項 70】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 17、またはその少なくとも 15 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 37 に記載の DNA セグメント。

【請求項 71】

本質的に SEQ ID NO : 62 からなる、請求項 70 に記載の DNA セグメント。

【請求項 72】

50

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 1 8、またはその少なくとも 1 5 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 3 7 に記載の DNA セグメント。

【請求項 7 3】

本質的に S E Q I D N O : 6 3 からなる、請求項 7 2 に記載の DNA セグメント。

【請求項 7 4】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 1 9、またはその少なくとも 1 5 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 3 7 に記載の DNA セグメント。

【請求項 7 5】

本質的に S E Q I D N O : 6 4 からなる、請求項 7 4 に記載の DNA セグメント。 10

【請求項 7 6】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 2 0、またはその少なくとも 1 5 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 3 7 に記載の DNA セグメント。

【請求項 7 7】

本質的に S E Q I D N O : 6 5 からなる、請求項 7 6 に記載の DNA セグメント。

【請求項 7 8】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 2 1、またはその少なくとも 1 8 ヌクレオチドセグメントからなる、請求項 3 7 に記載の DNA セグメント。

【請求項 7 9】 20

本質的に S E Q I D N O : 6 8 からなる、請求項 7 8 に記載の DNA セグメント。

【請求項 8 0】

S E Q I D N O : 1 1 3 に示されたプロモーター領域またはそのセグメントの少なくとも 1 5 ヌクレオチドからなるクレーム 1 の DNA セグメント。

【請求項 8 1】

p R b 2 / p 1 3 0 イントロンのセグメントであって、当該イントロン中のスプライシングシグナルジヌクレオチドを除いたものに実質的に相補的なヌクレオチド配列を有する DNA セグメントから本質的になる、少なくとも 1 5 ヌクレオチドの増幅プライマー。

【請求項 8 2】

プライマーが約 1 5 ないし約 3 0 ヌクレオチドを含む、請求項 8 1 に記載の増幅プライマー。 30

【請求項 8 3】

プライマーが約 1 8 ないし約 2 7 ヌクレオチドを含む、請求項 8 2 に記載の増幅プライマー。

【請求項 8 4】

前記プライマーが、S E Q I D N O : 1 1 3 に示されたプロモーター領域、あるいは、S E Q I D N O : 4 8、S E Q I D N O : 4 9、S E Q I D N O : 5 0、S E Q I D N O : 5 1、S E Q I D N O : 5 2、S E Q I D N O : 5 3、S E Q I D N O : 5 4、S E Q I D N O : 5 5、S E Q I D N O : 5 6、S E Q I D N O : 5 7、S E Q I D N O : 5 8、S E Q I D N O : 5 9、S E Q I D N O : 6 0、S E Q I D N O : 6 1、S E Q I D N O : 6 2、S E Q I D N O : 6 3、S E Q I D N O : 6 4、S E Q I D N O : 6 5、S E Q I D N O : 6 6、S E Q I D N O : 6 7 および S E Q I D N O : 6 8 からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有するイントロンに実質的に相補的なヌクレオチド配列を有する、請求項 8 1 に記載の増幅プライマー。 40

【請求項 8 5】

前記プライマーが、S E Q I D N O : 6 9、S E Q I D N O : 7 0、S E Q I D N O : 7 1、S E Q I D N O : 7 2、S E Q I D N O : 7 3、S E Q I D N O : 7 4、S E Q I D N O : 7 5、S E Q I D N O : 7 6、S E Q I D N O : 7 7、S E Q I D N O : 7 8、S E Q I D N O : 7 9、S E Q I D 50

NO: 80、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 111およびSEQ ID NO: 112からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有する、請求項 81に記載の増幅プライマー。

10

【請求項 86】

ヒト pRb2 / p130 遺伝子のエキソン中の多型性をまたは突然変異を同定する方法であって、

(a) 増幅条件下において、エキソンを含むゲノム DNA の試料をプライマー対で処理し、ここにおいて、前記プライマー対は、前記エキソン上流のプロモーター領域もしくはイントロンにハイブリダイズする第 1 プライマーおよび前記エキソン下流の 3' - 非コード領域もしくはイントロンにハイブリダイズする第 2 プライマーを含み、前記処理は、前記エキソンを含む増幅産物を産生する；

20

(b) 前記増幅産物のヌクレオチド配列を決定して、前記エキソンのヌクレオチド配列を提供し；そして

(c) 工程 (b) において得られた前記エキソンの配列を、対応する野生型エキソンの配列と比較することを含む、前記方法。

【請求項 87】

前記プライマー対の各プライマーが、3' - 非コード領域、SEQ ID NO: 113 に示されたプロモーター領域、あるいは、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67 および SEQ ID NO: 68 からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有するイントロンに実質的に相補的なヌクレオチド配列を有する、請求項 86 に記載の方法。

30

【請求項 88】

前記プライマー対の各プライマーが、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 79、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103、SEQ

40

50

ID NO: 104、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 111およびSEQ ID NO: 112からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有する、請求項86に記載の方法。

【請求項89】

ヒトpRb2 / p130遺伝子のエキソン中の多型性をまたは突然変異を同定する方法であって、

(a) 前記エキソンを含むゲノムDNAの試料、前記エキソン上流のプロモーター領域もしくはイントロンにハイブリダイズする第1プライマーおよび前記エキソン下流の3' - 非コード領域もしくはイントロンにハイブリダイズする第2プライマーを含むプライマー対、1種類またはそれ以上のデオキシヌクレオチド三リン酸の混合物、および前記プライマー対を放射性標識することの可能な化合物、およびDNAポリメラーゼ、をポリメラーゼ連鎖反応溶液中で混合することによって、ポリメラーゼ連鎖反応混合物を形成し；

(b) 前記混合物を複数回のポリメラーゼ連鎖反応熱サイクルにかけてpRb2 / p130増幅産物を産生し；

(c) 前記pRb2 / p130増幅産物を変性し；

(d) 前記変性pRb2 / p130増幅産物を電気泳動により分離し；

(e) 工程(d)の電気泳動により分離された産物をフィルムに曝露して、写真画像を作成し；そして

(e) 前記pRb2 / p130増幅産物の写真画像中のバンドの移動度を、対応する野生型エキソンについての電気泳動により分離された増幅産物と比較する、ことを含む、前記方法。

【請求項90】

前記プライマー対の各プライマーが、3' - 非コード領域、SEQ ID NO: 113に示されたプロモーター領域、あるいは、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67およびSEQ ID NO: 68からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有するイントロンに実質的に相補的なヌクレオチド配列を有する、請求項89に記載の方法。

【請求項91】

前記プライマー対の各プライマーが、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 79、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 111およびSEQ ID NO

: 112 からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有する、請求項 89 に記載の方法。

【請求項 92】

ヒト p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のエキソンを含むヒト染色体試料中の突然変異を同定する方法であって、

( a ) 前記エキソンを含む染色体試料、前記エキソン上流のプロモーター領域もしくはイントロンにハイブリダイズする第 1 プライマーおよび前記エキソン下流の 3' - 非コード領域もしくはイントロンにハイブリダイズする第 2 プライマーを含むプライマー対、少なくとも 1 種類の標識されたデオキシヌクレオチド三リン酸を含む 1 種類またはそれ以上のデオキシヌクレオチド三リン酸の混合物、および DNA ポリメラーゼ、を緩衝液中で混合することによって混合物を形成し；

( b ) 前記混合物を p R b 2 / p 1 3 0 増幅産物を産生するために十分な温度と時間にさらし；そして

( c ) 前記標識に特異的な蛍光色素結合体で p R b 2 / p 1 3 0 増幅産物を可視化し；そして

( d ) 工程 a で得られた可視化 p R b 2 / p 1 3 0 増幅産物を、対応する野生型エキソンについての可視化増幅産物と比較する

ことを含む、前記方法。

【請求項 93】

前記プライマー対の各プライマーが、3' - 非コード領域、SEQ ID NO: 113 に示されたプロモーター領域、あるいは、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67 および SEQ ID NO: 68 からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有するイントロンに実質的に相補的なヌクレオチド配列を有する、請求項 92 に記載の方法。

【請求項 94】

前記プライマー対の各プライマーが、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 79、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 111 および SEQ ID NO: 112 からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有する、請求項 92 に記載の方法。

【請求項 95】

前記染色体試料が、前記エキソンを含む、脱水され変性された染色体試料である、請求項 92 に記載の方法。

10

20

30

40

50

## 【請求項 96】

ヒト p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のエキソン中の突然変異を検出するためのキットであって、

1 またはそれ以上の容器を受容するためのキャリアー；

ヒト DNA の試料を乾燥し、脱水し、そして変性するためのスライドガラスを保持することの可能な、1 またはそれ以上のサブ容器を含む第 1 容器；

緩衝液、標識混合物、請求項 41 に記載のプライマー、およびヒト DNA の試料を増幅することの可能なポリメラーゼからなる反応混合物を含む第 2 容器手段；

前記標識混合物に特異的な蛍光色素結合体を含む第 3 容器手段；並びに

染色化合物を含む第 4 容器手段

10

を含む前記キット。

## 【発明の詳細な説明】

## 【技術分野】

## 【0001】

政府助成金

本明細書に記載されている発明は国立衛生研究所助成金 R O 1 C A 6 0 9 9 9 - 0 1 A 1 により支援された。米国政府は本発明にある種の権利を持っている。

## 【0002】

関連出願の参照

本出願は 1997 年 3 月 3 日に提出された米国仮特許出願番号 60 / 039, 532 号、1996 年 6 月 21 日に提出された米国仮特許出願番号 60 / 020, 196 号、1996 年 6 月 5 日に提出された米国仮特許出願番号 60 / 019, 372 号および 1996 年 4 月 5 日に提出された米国仮特許出願番号 60 / 014, 943 号からの優先権を請求する。

20

## 【0003】

発明分野

本発明は癌の危険性のある個体の同定、および癌の検出および評価のための方法に関する。

## 【背景技術】

## 【0004】

背景技術A. 癌抑制の R b ファミリー

ヒトの癌の多くの型は細胞内での増殖制御の平衡異常により起こされると信じられている。増殖制御における負の調節の減少および / またはそれらの不活性化は癌性状態を起こすことができる。もしくは、正の調節増殖制御の増加もまた癌性状態を起こすことができる。

## 【0005】

最初の腫瘍抑制遺伝子の同定以来、新規腫瘍抑制遺伝子の同定およびヒトの癌におけるそれらの関与に癌研究のより多くの努力が焦点を合わせてきた。Knudson の " ツーヒット " 仮説に従うと (Knudson, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 68, 820 - 823 (1971))、ヒトの癌の多くの型は未だに同定されていない推定腫瘍抑制遺伝子のヘテロ接合性の喪失により発現すると考えられている (Lasko et al., Annu. Rev. Genetics, 25, 281 - 296 (1991))。

40

## 【0006】

最も研究されている腫瘍抑制遺伝子の一つは網膜芽細胞腫感受性遺伝子 (Rb) であり、その遺伝子産物 (pRb、p105 または pRb / p105) は細胞分割の制御において鍵となる役割を果たしていることが示されている。分裂間期細胞において、pRb は E2F のような転写因子との相互作用を通して細胞周期に必要なとされる遺伝子の転写を抑制することにより細胞の静止状態の維持に寄与している (Wagner et al., N

50

ature, 352, 189 - 190 (1991); Nevins, Science, 258, 424 - 429 (1992); および Hiebert et al., Genes Develop., 6, 177 - 185 (1992)。この活性の喪失は、機能性 pRb での置換後の pRb 細胞における形質転換された表現型の復帰により証明されたように、細胞の形質転換を誘導できる (Huang et al., Science 242: 1563 - 1565 (1988); Bookstein et al., Science, 247: 712 - 715 (1990); および Sumegi et al., Cell Growth Differ., 1: 247 - 250 (1990))。

【0007】

細胞周期に入ったら、pRb は細胞周期依存性キナーゼによりリン酸化されるようであり (Lees et al., EMBO J. 10: 4279 - 4290 (1991); Hu et al., Mol. Cell. Biol., 12: 971 - 980 (1992); Hinds et al., Cell, 70: 993 - 1006 (1992); および Matsushima et al., Nature, 35: 295 - 300)、それは pRb の転写因子からの解離、ゆえに細胞周期の進行に必要とされる遺伝子の発現を可能にすると考えられている。

【0008】

網膜芽細胞腫タンパク質ファミリーには少なくとも三つの構成物が含まれていることが観察されている。二つの他のタンパク質、p107 および最近クローン化された pRb2 / p130 は pRb / p105、特に "ポケット領域" を作り上げる二つの不連続ドメインと相同性の領域を共有している。Ewen et al., Cell 66: 1155 - 1164 (1993); Mayol et al., Oncogene 8: 1561 - 2566 (1993); Li et al., Genes Dev. 7: 2366 - 2377 (1993); および Hannon et al., Genes Dev. 7: 2378 - 2391 (1993)。ポケットドメインはいくつかのウイルス形質転換オンコプロテインとの結合に必要とされる (Moran, Curr. Opin. Genet. Dev. 3: 63 - 70 (1993))。

【0009】

pRb2 / p130 cDNA および推定アミノ酸配列は Li らにより示されている。p107 cDNA および推定アミノ酸配列は Ewen らにより示されている。Li らおよび Ewen らの全開示は本明細書において援用される。

【0010】

pRb2 / p130 ならびに p107 および pRb は細胞周期進行の負の制御因子として作用することが観察されており、細胞を G1 期で遮断する (Goodrich et al., Cell 67: 293 - 302 (1991); Zhu et al., Genes Dev. 7: 1111 - 1125 (1993); Claudio et al., Cancer Res. 54: 5556 - 5560 (1994); および Zhu et al., EMBO J. 14: 1904 - 1913 (1995))。しかしながら、これらのタンパク質は選択された細胞株において異なった増殖抑制特性を示し、網膜芽細胞腫タンパク質ファミリーの異なったメンバーはお互いに補足しあうであろうけれども、それらは完全には機能的に重複していないことを示唆している (Claudio et al., 上記文献)。

【0011】

これら三つのタンパク質による細胞周期進行に対して制御を働かせる機構は完全には理解されていないが、いくつかの転写因子との複合体形成および活性の調節を含んでいるようである (Sang et al., Mol. Cell. Differ. 3: 1 - 29 (1995))。これらの複合体の中で最も研究されているのは転写因子の E2F ファミリーの複合体である。E2F の複合体は細胞周期の G0 / G1 S 期の進行に必要とされる遺伝子の発現を制御する、E2F 様および DP 様サブユニットからなるヘテロ二量体転写因子である (Lan Thangue, N. B., Trends Biochem. Sc

10

20

30

40

50

i . 19 : 108 - 114 ( 1994 ) ) 。

【 0012 】

三つのタンパク質は細胞周期の異なった期において別個の E 2 F / D P 1 複合体に結合しおよびその活性を調節している ( S a n g e t a l . , 上記文献 ; C h e l l a p a n e t a l . , Cell 65 : 1053 - 1061 ( 1991 ) ; S h i r o d k a r e t a l . , Cell 66 : 157 - 166 ( 1992 ) ; C o b r i n i k e t a l . , Genes Dev. 7 : 2392 - 2404 ( 1993 ) ; H i j m a n s e t a l . , Mol. Cell. Biol. 15 : 3082 - 3089 ( 1995 ) ; および V a i r o e t a l . , Genes Dev. 9 : 869 - 881 ( 1995 ) ) 。 このことは細胞周期の制御におけるこれらの関連タンパク質の別個の役割を示唆している。

10

【 0013 】

p R b 2 / p 1 3 0 の増殖抑制性特性は G 1 期に特異的であることが示されている。 D 型サイクリン、ならびに転写因子 E 2 F - 1 および E 1 A ウイルス性オンコプロテインは腫瘍細胞において p R b 2 / p 1 3 0 仲介 G 1 増殖停止を助けることができる。このことは、他の R b ファミリータンパク質同様に、 p R b 2 / p 1 3 0 のリン酸化は細胞周期により機械的に制御されていること、および p R b 2 / p 1 3 0 は実際に別の鍵となる G 1 - S 期制御因子であることを示唆している。 C l a u d i o e t a l . , Cancer Res. 56 , 2003 - 2008 ( 1996 ) 。

【 0014 】

p R b と E 2 F のような転写因子との会合は " ポケット領域 " として知られている領域での相互作用により起こることが示されている ( R a y c h a u d h u r i e t a l . , Genes Develop. , 5 1200 - 1207 ( 1991 ) ) 。 最近、 p 1 0 7 もそのような結合プロフィールを用いることが示された ( C a o e t a l . , Nature , 355 176 - 179 ( 1992 ) ) 。 ドメイン A および B はスペーサーと一緒に、本明細書に記載した p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子中の " ポケット領域 " に対応すると信じられている。さらに、いくつかのヒトの癌でポケット領域中の突然変異が観察されており、 p R b タンパク質の機能欠如は形質転換された表現型の獲得に関係していると考えられている ( H u e t a l . , EMBO J. , 9 1147 - 1153 ( 1990 ) ; H u a n g e t a l . , Mol. Cell. Biol. , 10 : 3761 - 3769 ( 1990 ) ) 。

20

30

【 0015 】

R b 、 p 1 0 7 および p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質は細胞周期制御に鍵となる働きを果たしており、そこでは三つのタンパク質すべてがいくつかのサイクリン / c d k 複合体と相互作用している。インピボでは p R b とサイクリン A / c d k 2 またはサイクリン A / c d k 2 との安定な相互作用は観察されていないけれども、 p R b はサイクリン A / c d k 2 、サイクリン E / c d k 2 およびサイクリン D / c d k 4 のようなサイクリン / c d k 複合体により制御できる ( M a c L a c h l a n e t a l . , Eukaryotic Gene Exp. 5 : 127 - 156 ( 1995 ) ) 。 一方、 p 1 0 7 および p R b 2 / p 1 3 0 の両方ともインピボでサイクリン E / c d k 2 およびサイクリン A / c d k 2 複合体と安定に相互作用する ( L i e t a l . , 上記文献 ; E w e n e t a l . , Science 255 : 85 - 87 ( 1992 ) ; および F a h a e t a l . , Science 255 : 87 - 90 ( 1992 ) ) 。 これらの複合体は、細胞周期の種々の期における p R b 、 p 1 0 7 および p R b 2 / p 1 3 0 の異なったリン酸化型の存在の原因になっているのであろう ( C h e n e t a l . , Cell 58 : 1193 - 1198 ( 1989 ) ; D e C a p r i o e t a l . , Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89 : 1795 - 1798 ( 1992 ) ; および B e i j e r s b e r g e n e t a l . , Genes Dev. 9 : 1340 - 1353 ( 1993 ) ) 。 p R b の機能的活性はこれらのリン酸化により促進されるのであるから、この翻訳後修飾により p R b 2 / p 1 3 0 もまた同様の様式で影響されることはありそう

40

50

なことである。p R b 2 / p 1 3 0 は重複しないにしても、p R b と同様な機能的特性を示すので、p R b 同様、p R b 2 / p 1 3 0 は腫瘍抑制遺伝子として作用することが提案されている。p R b 2 / p 1 3 0 が染色体16の長腕上に位置していることも観察されている。この発見は腫瘍抑制遺伝子としてのp R b 2 / p 1 3 0 についての意見を補強している。染色体16は乳、卵巣、肝細胞および前立腺癌のようないくつかのヒト新生組織形成 (neoplasias) においてヘテロ接合性の喪失 (LOH) がしばしば報告されている領域である (Yeung et al., Oncogene 8: 3465 - 3468 (1993))。染色体16, および特にp R b 2 / p 1 3 0 は遺伝性円柱腫症 (HR) として知られているまれなヒト皮膚疾患に関係があるとされている。HRは染色体16 q 1 2 - q 1 3 上の座に位置していると報告されている。p R b 2 / p 1 3 0 が16 q 1 2 - q 1 3 に位置しているという点から、この疾患の発症に關与する腫瘍抑制遺伝子の候補として提案されてきた。Biggs et al., Nature Genetics 11: 441 - 443 (1995年12月)。

10

#### 【0016】

癌の危険性のある個体の同定、および癌の検出および評価についての改良された方法が必要とされている。

p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子は腫瘍抑制遺伝子であり、およびそれは種々の癌腫に関係付けられることが知られている染色体領域に位置しているので、この遺伝子中の突然変異について個体をスクリーニング方法が必要とされている。この遺伝子の配列多型を同定することも必要とされている。p R b 2 / p 1 3 0 の機能に影響を及ぼすであろう、エキソンコード配列およびエキソン-イントロン結合内の両方での突然変異が起こりうると信じられている。腫瘍から抽出されたゲノムDNAより取り出された個々のエキソンの直接DNA配列分析が、卵巣癌でのp 5 3 遺伝子および網膜芽細胞腫でのR b 遺伝子の突然変異を同定するために首尾よく使用された。Milner et al., Cancer Research 53: 2128 - 2132 (1993); Yandell et al., N. E. J. Medicine 321: 1689 - 1695 (1989)。しかしながら、エキソンの直接配列決定は、非常に時間のかかる方法であるので望ましい方法ではない。p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のゲノム構造の理解は、p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子中の多型および配列突然変異について患者のDNAをスクリーニングすることを当業者に可能にするであろう。配列突然変異の同定はまたp R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の生殖細胞突然変異保持者の診断も可能にするであろうし、およびこれらの場合の出生前スクリーニングを可能にする。

20

30

#### 【0017】

##### B. 婦人科癌

婦人科癌には子宮、卵巣、子宮頸、膣、陰門およびファロピー管の癌、ならびに妊娠絨毛性疾患が含まれる。子宮の癌には子宮内膜癌および子宮肉腫が含まれる。

#### 【0018】

子宮内膜癌は婦人生殖器官の最も一般的な悪性腫瘍である。この新生物はしばしば初期に診断されるが (ステージIで75%)、患者の約20%がこの疾患で死亡するであろう (その半数はステージIで診断されている) (Pettersson, Annual Report On The Results Of Treatment In Gynecological Cancer, Radiumhemmet, Stockholm, vol. 22: 65 - 82; Braly, Gynecol Oncol 58: 145 - 7 (1995))。より進行性の疾患を持つ患者を同定する能力は、各々の場合に対する適切な処置の立案において非常に重要である。この目的を心に留めて、組織学的型、分化度、子宮筋層の深さ、リンパ節転移および子宮外拡散を含むいくつかの病理学的な腫瘍の特色がこれまで考えられてきた (MacMahon, Gynecol Oncol 2: 122 (1974); Chambers et al., Gynecol Oncol 27: 180 - 8 (1987))。不幸にして、これらの因子のどれも患者の十分に正確な階層化を可能にしなかった。そのようなパラメーターも再現性が疑わしいものであ

40

50

た。

【0019】

子宮内膜癌の臨床成果を予言するものと一致する簡単な実験室での試験が非常に必要とされている。必要とされているものとは治療の開始前に、初期の疾患段階で個々の患者の疾患の進行性を同定できる予後診断法である。

【0020】

卵巣癌は米国において、婦人科癌死の最も多い原因となっている。ほとんどの卵巣悪性腫瘍は上皮癌腫であり、少数派の腫瘍は生殖または間質細胞から生じている。卵巣癌においては、細胞分化の程度（組織学的段階）が、処置への応答および全生存率の両方についての重要で独立した予想因子である。卵巣癌はしばしば染色体変化を示している。p R b / p 1 3 0 遺伝子はヒト染色体 1 6 q 1 2 . 2 に位置しており、そこはヒト卵巣癌でしばしば変化を受けている一つの領域である。卵巣癌を等級付ける改良法が必要とされている。改良された方法は疾患の診断、処置の選択および予後指標に有用であろう。

10

【0021】

C. 肺癌

肺癌は西洋諸国においての癌関連死の最も大きな単一原因である。肺癌療法の適当な方針の選択にあたっては、癌の悪性度の正確な決定が必要とされる。この決定は典型的には腫瘍の " 等級付け (grading) " によりなされる。腫瘍の等級付けは典型的には熟練した病理学者により腫瘍切片の特徴および外観が調査されることにより実施される。肺癌の予後徴候および処置の型を決定する場合に組織学的基準を使用する際の重大な問題は、同一の標本を読みとる際の観察者間および観察者内変異の程度である。決定は必然的に主観的である。加えて、原発および転移部位の両方で腫瘍それ自体内に不均質性が存在する。個々の腫瘍等級を一致させるには何人かの病理学者の意見を得ることが必要になってきているであろう。

20

【0022】

腫瘍試料の現主観的病理学的分析よりも、個々の患者の肺癌の悪性度と一致して断定的である簡単な実験室での試験が必要とされている。

肺障害出現前の潜在的癌の検出は、疾病の初期段階での治療開始を可能にするであろうし、それにより陽性の治療成果の見込みを最大にする。簡単な遺伝子検査により、肺癌の危険性があるがまだ病気にはなっていない人を同定するのも望まれるであろう。そのようなスクリーニング試験は、発癌物質への環境的暴露または癌の家族歴などで肺癌が発生する危険性のある人に対して最も利点があるであろう。

30

【0023】

肺癌診断の別の形を増加させる、および潜在的肺癌を持つ個体を同定するのに使用できる簡単な実験室での試験が必要とされている。肺癌の素質がある個体をスクリーニングするための検査もまた必要とされている。

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0024】

発明の概要

本発明はヒト p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子および p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質、および癌の診断および予後のための並びに癌の素質の予想のための方法における分子マーカーとしてのそれらの使用に関する。本発明の好適な態様によると、癌とは婦人科癌または非小細胞肺癌である。本発明の最も好適な態様によると、癌とは子宮内膜癌、卵巣癌、肺の扁平上皮癌または肺の腺癌である。

40

【0025】

患者からの試料中の p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルを決定することを含む、癌に悩む患者の予後を決定するための方法を提供するのが本発明の目的である。試料中の p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルの低下は好ましくない予後の指標である。

【0026】

50

組織試料中の p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルを決定することを含む、組織の癌性疾患状態を検出または同定するための方法を提供するのも本発明の別の目的である。評価は都合良くは、試料中の p R b 2 / p 1 3 0 発現レベルを決定し、そして試料組織の発現レベルを正常で非癌性組織の p R b 2 / p 1 3 0 発現レベルと比較することにより実施される。p R b 2 / p 1 3 0 発現レベルの低下は癌の存在の指標である。この方法は目にみえる障害を示さない個体での癌検出に使用されるであろう。

【 0 0 2 7 】

個体の組織試料中の p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルを決定し、組織試料の p R b 2 / p 1 3 0 発現レベルを正常 p R b 2 / p 1 3 0 発現レベルと比較することを含む、病気にはなっていないが癌の危険性を持つ個体をまたは処置後に癌の再発の危険性を持つ個体を同定する方法を提供するのが本発明のさらに別の目的である。p R b 2 / p 1 3 0 発現のレベルの減少は、疾患または疾患再発の可能性の指標である。子宮内膜癌の場合、子宮切除術後の再発の危険性を同定するための、または放射線治療または化学療法のようなさらなる処置の必要性を評価するための方法が提供される。

10

【 0 0 2 8 】

本発明の別の目的は、癌患者からの組織試料中の p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現レベルを決定することを含む、癌の等級付けのための方法を提供することである。組織試料中の発現レベルは正常組織中の発現レベルと比較される。正常組織と比較して、癌組織レベルでの発現レベルの減少量の程度は癌の病理学的等級の指標である。より大きな減少量はより進行性の疾病状態を示している。

20

【 0 0 2 9 】

p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のイントロンまたは少なくともその 1 5 ヌクレオチドセグメントから本質的に成る DNA セグメントを提供するのが本発明の一つの目的である。

p R b 2 / p 1 3 0 イントロン（該イントロンのスプライスシグナルジヌクレオチドを除いて）のセグメントと実質的に相補的なヌクレオチド配列を持つ DNA セグメントから本質的に成る少なくとも 1 5 のヌクレオチドの増幅プライマーを提供するのが本発明の別の目的である。

【 0 0 3 0 】

ヒト p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のエキソン中の多型および突然変異を同定するための方法を提供するのが本発明のさらに別の目的である。

30

本発明の一つの態様は以下の工程を含むヒト p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のエキソン中の多型および突然変異を増幅および同定するための方法を含んでいる：

( a ) 増幅条件下、該エキソンを含んでいるゲノム DNA の試料を、プロモーター領域または該エキソンの上流のイントロンにハイブリダイズする第一プライマーおよびイントロンまたは 3 ' - 非コード領域にハイブリダイズする第二プライマーを含むプライマー対で処理し、該処理は該エキソンを含む増幅産物を産生する；

( b ) 該エキソンのヌクレオチド配列を提供するために該増幅産物のヌクレオチド配列を決定し；そして

( c ) 工程 b で得られた該エキソンの配列と相当する野生型エキソンの配列に対する配列を比較する。

40

【 0 0 3 1 】

P C R プライマー対の各々のプライマーは、プロモーター領域からの、スプライスシグナルジヌクレオチドを除いた p R b 2 / p 1 3 0 イントロンからの、または 3 ' - 非コード領域からの DNA セグメントを本質的に含む少なくとも 1 5 のヌクレオチドの増幅プライマーから成っている。

【 0 0 3 2 】

上記の増幅プライマーは 3 ' - 非コード領域、配列 I D 番号： 1 1 3 として与えられているようなプロモーター領域、または配列 I D 番号： 4 8、配列 I D 番号： 4 9、配列 I D 番号： 5 0、配列 I D 番号： 5 1、配列 I D 番号： 5 2、配列 I D 番号： 5 3、配列 I D 番号： 5 4、配列 I D 番号： 5 5、配列 I D 番号： 5 6、配列 I D 番号： 5 7、配列 I

50

D 番号：58、配列 ID 番号：59、配列 ID 番号：60、配列 ID 番号：61、配列 ID 番号：62、配列 ID 番号：63、配列 ID 番号：64、配列 ID 番号：65、配列 ID 番号：66、配列 ID 番号：67、および配列 ID 番号：68 から成る群より選択されるヌクレオチド配列を持つイントロンと実質的に相補的なヌクレオチド配列を持っている。

【0033】

好適な態様において、上記の増幅プライマーは配列 ID 番号：69、配列 ID 番号：70、配列 ID 番号：71、配列 ID 番号：72、配列 ID 番号：73、配列 ID 番号：74、配列 ID 番号：75、配列 ID 番号：76、配列 ID 番号：77、配列 ID 番号：78、配列 ID 番号：79、配列 ID 番号：80、配列 ID 番号：81、配列 ID 番号：82、配列 ID 番号：83、配列 ID 番号：84、配列 ID 番号：85、配列 ID 番号：86、配列 ID 番号：87、配列 ID 番号：88、配列 ID 番号：89、配列 ID 番号：90、配列 ID 番号：91、配列 ID 番号：92、配列 ID 番号：93、配列 ID 番号：94、配列 ID 番号：95、配列 ID 番号：96、配列 ID 番号：97、配列 ID 番号：98、配列 ID 番号：99、配列 ID 番号：100、配列 ID 番号：101、配列 ID 番号：102、配列 ID 番号：103、配列 ID 番号：104、配列 ID 番号：105、配列 ID 番号：106、配列 ID 番号：107、配列 ID 番号：108、配列 ID 番号：109、配列 ID 番号：110、配列 ID 番号：111、および配列 ID 番号：112 から成る群より選択されるヌクレオチド配列を持っている。

【0034】

本発明の別の態様はヒト p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のエキソン中の多型および突然変異を同定するための方法を含んでおり、その方法は以下の工程を含む：

(a) ポリメラーゼ連鎖反応緩衝液中、該エキソンを含んでいるゲノム DNA の試料、プロモーター領域または該エキソンの上流のイントロンにハイブリダイズする第一プライマーおよび 3' - 非コード領域または該エキソンの下流のイントロンにハイブリダイズする第二プライマーを含むプライマー対、一つまたはそれ以上のデオキシヌクレオチド三リン酸の混合物、および該プライマー対を放射性標識できる化合物、および DNA ポリメラーゼを混合することによりポリメラーゼ連鎖反応混合物を形成し；

(b) 該混合物を複数回のポリメラーゼ連鎖反応熱サイクルにかけて p R b 2 / p 1 3 0 増幅産物を生成させ；

(c) 該 p R b 2 / p 1 3 0 増幅産物を変性させ；

(d) 該変性 p R b 2 / p 1 3 0 増幅産物を電気泳動的に分離し；

(e) 工程 d の電気泳動的に分離された産物をフィルムに暴露して写真画像を作成し；そして

(e) 該 p R b 2 / p 1 3 0 増幅産物の該写真画像中のバンドの移動度を相当する野生型エキソンからの電気泳動的に分離された増幅生成物と比較する。

【0035】

別の態様において、本発明はヒト p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のエキソンを含むヒト染色体試料中の突然変異を同定する方法を含んでおり、その方法は以下の工程を含んでいる：

(a) 緩衝液中、該エキソンを含んでいる染色体試料、プロモーター領域または該エキソンの上流のイントロンにハイブリダイズする第一プライマーおよび 3' - 非コード領域または該エキソンの下流のイントロンにハイブリダイズする第二プライマーを含むプライマー対、一つまたはそれ以上のデオキシヌクレオチド三リン酸の混合物（標識されている少なくとも一つのデオキシヌクレオチド三リン酸を含んでいる）、および DNA ポリメラーゼを混合することにより混合物を形成させ；

(b) 該混合物に p R b 2 / p 1 3 0 増幅産物を産生するために十分な温度および時間を与え；および

(c) 該標識に特異的に結合する蛍光色素で該 p R b 2 / p 1 3 0 増幅産物を可視化し；そして

(d) 工程 c で得られた可視化された p R b 2 / p 1 3 0 増幅産物と相当する野生型

10

20

30

40

50

エキソンからの可視化増幅産物を比較する。

【0036】

これらおよびその他の目的は以下の説明から当業者には明らかにされるであろう。

【課題を解決するための手段】

【0037】

発明の詳細な説明

A. 略語および定義

1. 略語

b p	塩基対	
B S A	ウシ血清アルブミン	10
d A T P	デオキシアデニン	三リン酸
d C T P	デオキシシトシン	三リン酸
d G T P	デオキシグアノシン	三リン酸
D I G D N A	ジゴキシゲニン標識 D N A	
D I G - d U T P	ジゴキシゲニン - デオキシウリジン	三リン酸
D N A	デオキシリボ核酸	
d T T P	デオキシチミン	三リン酸
E D T A	エチレンジアミン四酢酸	
F I T C	フルオレセイン	イソチオシアナート
P C R	ポリメラーゼ連鎖反応	20
P H A	フィトヘマグルチニン	
P R I N S	オリゴヌクレオチド - P R i m e d I N S i t u 合成	
R N A	リボ核酸	
S D S	ドデシル硫酸ナトリウム	
S S C	標準クエン酸塩溶液	
S S C P	一本鎖コンフォメーション多型	
T B E	0.09 M トリス、0.09 M ホウ酸および 2.5 mM E D	

T A の緩衝液混合物

2. 定義

”対立遺伝子”とは染色体上の決められた座位を占める遺伝子の一つまたはそれ以上の別の形を指している。 30

【0038】

”影響を受けた組織”とは視覚的または他の試験により、癌性または前癌性と称される障害を含むと信じられる組織を意味している。

”増殖産物”とはその生成物が増幅された鋳型セグメントに相補的である、P C R、S S C P および P R I N S のような増幅法により生成された核酸セグメントを指している。

【0039】

”下流”とは発現の方向、すなわち、核酸中の与えられた部位の 3' 側に配列が位置していることを示している。

”子宮内膜癌”または”子宮内膜癌腫”とは子宮内膜に起こっているポリープ様増殖を意味している。 40

【0040】

”発現”（p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子に関して）とは、遺伝子にコードされている遺伝子情報を実現して機能性 R N A またはタンパク質を産生することを意味している。本用語は最も広い意味で使用され、そうでないと示されない限り、転写または翻訳の両方を含んでいる。

【0041】

”発現レベル”（p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子に関して）とは、絶対的な発現レベルのみでなく、p R b 2 / p 1 3 0 発現の標準レベルとの比較により決定されるような相対的発現レベルも意味している。 50

## 【0042】

”ゲノムDNA”とは細胞または生物体のゲノムを形成しているDNA配列のすべてを指している。本明細書に記載されている発明において、それはpRb2/p130遺伝子のためのエキソン、イントロンおよび制御要素を含んでいる。

## 【0043】

”等級付け”（腫瘍試料に関して）とは悪性度について認められた程度の分類化を意味している。腫瘍試料の等級化において、病理学者または他の観察者は組織の分化の程度を評価する（例えば、等級1、よく分化している、等級2、中程度に分化している、等級3、よく分化していない）。

## 【0044】

”婦人科癌”とは子宮、卵巣、子宮頸、膣、陰門およびファロピー管に生じる腫瘍、ならびに妊娠絨毛性疾患を意味している。

”ハイブリダイゼーション”とは本質的に相補的なヌクレオチド配列（核酸のポリマー）のワトソン-クリック塩基対生成により二本鎖分子が形成されることを意味している。

## 【0045】

”3'-非コード領域”とは終止コドンの下流の核酸配列を意味している。

”非小細胞肺癌”（NSCLC）とは小細胞肺癌（SCLC）を除いた肺癌のすべての形を意味している。特に、非小細胞肺癌は扁平上皮癌、腺癌、細気管支-肺胞癌および大細胞癌を含む肺癌の群を意味している。

## 【0046】

”多型”とは対立遺伝子変異を示しているゲノム集団の同時発生を意味している。本明細書で使用される場合、本用語は異なった表現型、ならびに集団中にアミノ酸変異体は存在するが、変異体はタンパク質の機能を破壊しないようなタンパク質を産生する対立遺伝子を包含している。

## 【0047】

”プライマー”とは相補的鋳型鎖と塩基対を形成する、遊離の3'ヒドロキシル基を含むオリゴヌクレオチドを指し、それはポリメラーゼによる核酸合成のための出発点として作用することができる。プライマーは一本鎖でも二本鎖でもよいが、二本鎖形であれば、プライマーはその相補鎖から分離されるように最初に処理される。

## 【0048】

”pRb2/p130遺伝子”とはpRb2/p130タンパク質をコードしている遺伝子（そのcDNAは配列番号：1に示されている）、およびそのすべての対立遺伝子変異体および突然変異体を意味している。

## 【0049】

”pRb2/p130イントロン”とは、本明細書で使用される場合、pRb2/p130遺伝子の野生型イントロンセグメント、ならびにその任意の対立遺伝子変異体を意味している。

## 【0050】

”pRb2/p130タンパク質”とはそのすべての対立遺伝子変異体および突然変異体を含むpRb2/p130遺伝子の翻訳生成物を意味している。pRb2/p130アミノ酸配列は配列番号：2に示されている。

## 【0051】

”予後”とはその本来の医学的意味（すなわち、疾患からの回復の見込み）に従って使用される。

”スプライス結合”または”エキソン-イントロン結合”とは核遺伝子のエキソン-イントロン境界のすぐ隣を囲んでいるヌクレオチド配列を指している。本明細書で使用される場合、本用語はRNAスプライシングの機構における破損および再結合の部位を含んでいる。

## 【0052】

”スプライスシグナル ジヌクレオチド”とはイントロンの最初の二つのヌクレオチド

10

20

30

40

50

(5'末端)または最後の二つのヌクレオチド(3'末端)を指している。高度に保存された遺伝子においては、5'末端ジヌクレオチドはGTであり、3'末端ジヌクレオチドはAGである。もしくは、5'末端ジヌクレオチドおよび3'末端ジヌクレオチドは各々”ドナー”および”アクセプター”と称されている。

【0053】

”実質的に相補的なヌクレオチド配列”とは(二つのヌクレオチド配列間で)配列がハイブリダイゼーション条件下、ハイブリッド二重鎖の形成を可能にする十分なワトソン-クリック塩基対一致を示すような関係を意味している。しかしながら、塩基対の一致が正確であることは必要とされない。

【0054】

”下流”とは発現の方向、すなわち、核酸中の与えられた部位の3'側に配列が位置していることを示しており、”上流”とは発現と逆の方向、すなわち、核酸中の与えられた部位の5'側に配列が位置していることを示している。

【0055】

本発明は癌の危険性のある個体を同定するための、および癌の検出および評価のための方法を提供する。これらの方法は二つの基本型から成っている：pRb2/p130発現レベルの決定に基づいた方法、およびpRb2/p130のゲノム構造の決定に基づいた方法。

【0056】

B. pRb2/p130発現レベルの決定に基づいた方法

本発明は婦人科癌および非小細胞肺癌を含む(これらに制限されるわけではない)癌の診断および予後のための、pRb2/p130発現レベルに基づいた改良法を提供する。婦人科癌の中でこれらの方法が応用されるであろう婦人科癌は卵巣癌および子宮内膜癌である。

【0057】

1. 婦人科癌

初期の卵巣癌はしばしば無徴候であるか、または患者には無視されるであろう温和な徴候のみしか示さない。卵巣癌の大多数は診断の時点で卵巣を越えて、およびしばしば骨盤を越えて拡がっている。卵巣癌の診断および予後のための改良法は処置の選択に有用であろうし、患者の結果に良好な効果を持っていなければならない。本発明は、卵巣癌組織において、pRb2/p130発現と腫瘍等級間に相関があるという発見に基づいている。

【0058】

子宮内膜癌はしばしば順調な過程をたどる、しかしながら、これらの場合のかなりの部分は挙動が悪く、最終的には本疾患で死亡する。現在使用されている手術-病理学的パラメーターはこの患者の群の同定を必ずしも可能にするわけではない。

【0059】

子宮内膜癌の病期のためのF.I.G.O.基準に従うと、外科的方法は必ず腹膜洗浄、腹式子宮摘出、両側性卵管卵巣摘出および系統的骨盤および大動脈性リンパ腺切除を含んでいなければならない。本当にこの手術は子宮体に限られた腫瘍の患者にはしばしば不必要に”過激で”および潜在的に危険である。子宮内膜癌の患者が腹部手術の死亡率の危険因子として知られている(Disaia et al., ”子宮の腺癌”, Clinical Gynecologic Oncology, St. Louis: Mosby-Year Book, p156-93(1993))心血管疾患、糖尿病、高血圧および重度の肥満をもまたしばしば引き起こすと考えられるとしたら(Wingo et al., Am J Obstet Gynecol 152:803-8(1985))、この観察はより適切なものになる。一方、肥満または高い手術危険度の患者には、子宮摘出は膣技術(Massi et al., Am J Obstet Gynecol 174:1320-6(1996); Pitkin, Obstet Gynecol 49:567-9(1977); Peters et al., Am J Obstet Gynecol 146:285-90(1983))により容易におよび安全に実施できる。

10

20

30

40

50

このことを考慮して、本発明によりアッセイされる相対的 p R b 2 / p 1 3 0 発現は、治療の機会を低下させることなくより侵略的でない手術処置の候補の選択に使用できるであろうし、ならびに、高い危険度の患者（すべての手術的努力を試み、および手術後の処置を与えなければならない）の同定の助けになっている。

#### 【 0 0 6 0 】

子宮内膜の正常組織は比較的高レベルの p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質を発現している。本発明は子宮内膜癌患者の組織中の p R b 2 / p 1 3 0 発現と処置後の最終的臨床結果との間に高度な統計的逆相関が発見されたことに基づいている。p R b 2 / p 1 3 0 のレベルの減少は有意に悪い生存率と相関している。本明細書で報告された研究結果は、腫瘍のステージまたは分化の等級に関係なく、その腫瘍が p R b 2 / p 1 3 0 陰性の患者においては子宮内膜癌で死亡する危険性がほぼ5倍に増加していることを示している。

10

#### 【 0 0 6 1 】

最も大きな悪性度の組織では p R b 2 / p 1 3 0 の発現がわずかであるか、または全く発現していない。従って、試料を p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質に特異的な抗体と接触させる。子宮内膜癌の場合、試料は典型的には子宮内膜組織を含んでいるであろうし、および特に子宮内膜癌を含むであろう。試料により結合された抗体の量は正常子宮内膜組織により結合された抗体量と比較して決定される。正常および試験試料により結合された量の相違は患者の予後の指標である。実施例1に記載された子宮内膜癌研究では同時に既知の分子予後指標、すなわち、DNAインデックス、種々の古典的臨床-病理学的パラメータおよび p R b 2 / p 1 3 0 発現が試験された。p R b 2 / p 1 3 0 レベルの低下は有意に悪い生存率と関連した。p R b 2 / p 1 3 0 の発現はそれ故、子宮内膜癌の臨床結果の独立した予想を表している。F . I . G . O . ステージおよび腫瘍倍数性のようなよく知られた危険因子も、それほど強力ではないが、独立した予後を示すものとして確認された。子宮内膜癌の生存率のそのような特色の既知の負の影響に従って ( Di Saia et al . , Am J Obstet Gynecol 151 : 1009 - 15 ( 1985 ) ; Susini et al . , Am J Obstet Gynecol 170 : 527 - 34 ( 1994 ) ; Massi et al . , Am J Obstet Gynecol 174 : 1320 - 6 ( 1996 ) )、p R b 2 / p 1 3 0 の陰性は異数性 (  $P = 0 . 001$  ) および年齢 65才 (  $P = 0 . 008$  ) と関連しているという点において、p R b 2 / p 1 3 0 発現は腫瘍倍数性および患者年齢に有意に相関していた。しかしながら、腫瘍倍数性は多変異分析による独立した予後変数として抵抗したことは注目し得る。p R b 2 / p 1 3 0 状態および倍数性による階層化は、生存率が有意に相違した患者部分群の同定を可能にした ( データは示されていない )。相関に対する傾向は p R b 2 / p 1 3 0 状態と分化の程度のような別の主たる予後指標間でも観察され、p R b 2 / p 1 3 0 陰性は中程度および未分化の腫瘍でより頻繁であった (  $P = 0 . 06$  )。さらに、分化の程度に関して、p R b 2 / p 1 3 0 状態による階層化は各々の群内の生存率における有意な相違を明らかにした ( データは示されていない )。p R b 2 / p 1 3 0 の発現は腫瘍ステージとは相関しなかった ; p R b 2 / p 1 3 0 陰性腫瘍は異なった腫瘍ステージに等しく分布されており、それ故、この特色は初期ステージの始まりからある種の腫瘍に典型的であることを示している。

20

30

40

#### 【 0 0 6 2 】

従って、p R b 2 / p 1 3 0 発現レベルは伝統的な予後技術に置き代わるまたは拡大させる都合のよい分子マーカーとして働くであろう。予後因子としての古典的な手術的病理学的パラメータに対する p R b 2 / p 1 3 0 発現使用の重要な利点は、治療が開始される前に、最初の診断の時点で決定できることである。放射線療法または化学療法により前もって処置されていない患者に対し、低レベルの p R b 2 / p 1 3 0 は進行的に挙動する傾向を持つ腫瘍の同定に使用できる。

#### 【 0 0 6 3 】

個々の患者における疾患進行性の初期での正確な決定は処置進行計画の必要な部分である。本発明の試験法が悪い予後を同定した場合、放射線療法または化学療法のような補助

50

的治療が開始されるであろう。このより積極的な処置は患者の生存の機会を増加させるにちがいない。疾患の初期の段階においても、p R b 2 / p 1 3 0 発現レベルは患者の癌の悪性の可能性および続いた疾患経過の進行性を反映するものである。”分子に基づいた”予後診断のこの形式では、組織学的型、分化度、子宮筋層侵襲の深さ、リンパ節転移の程度、子宮外拡散および子宮内膜癌予後診断が現在に基づいているその他の因子などの主観的評価に基づいている伝統的な予後因子よりも一貫して評価できる。

【0064】

## 2. 肺癌

肺癌の場合、肺組織試料を、当業者に周知である慣用的な生検技術によって個体から取出す。その試料は、概して、針生検によって集められる。例えば、本明細書中に援用される、Cancer: Principles & Practice of Oncology, V. T. DeVita, Jr.ら監修, 第3版(1989), J. B. Lippincott Co., フィラデルフィア, PA, 616-619頁を参照されたい(経竜骨(transcarinal)針生検および経胸腔経皮微針吸引生検)。NSCLCを含むような肺病巣の識別のために、病変から試料を採取する。病変は、最初、X線または当業者に知られている他の慣用的な肺病巣画像化技術によって見つけられる。潜伏性NSCLCまたはNSCLC素因について調べるために、肺のどの部位からも組織試料を採取することができる。最も顕著に悪性の可能性がある組織は、p R b 2 / p 1 3 0をほとんどまたは全く発現しない。正常肺組織細胞は、高レベルのp R b 2 / p 1 3 0タンパク質を発現する。患者肺腫瘍組織の細胞におけるp R b 2 / p 1 3 0発現レベルは、同患者の正常肺組織でのレベルとまたは正常の対照群の肺組織でのレベルと比較することができる。

10

20

【0065】

非小細胞肺癌(NSCLC)には、扁平上皮細胞癌、腺癌、細気管支肺胞癌および大細胞癌が含まれる。極めて有意の統計的逆相関関係が、非小細胞肺癌からの組織でのp R b 2 / p 1 3 0の発現と、熟練した病理学者による組織の病理学的等級付との間に確立されている。

【0066】

したがって、p R b 2 / p 1 3 0発現レベルは、慣用的な腫瘍等級付に代るまたはそれを増大させる好都合な分子マーカーとして役立つことができる。正確な腫瘍等級付は、個々の患者の治療過程の設計に不可欠な部分である。等級付は、問題の腫瘍の悪性の可能性を反映するものであり、したがって、続いて起こる疾患経過の攻勢を反映するものである。生体の腫瘍等級情報の作成は、腫瘍組織学に関するより主観的な知見に代る分子の代用としてp R b 2 / p 1 3 0に頼ることによって一層容易に行われる。「分子に基づく」等級付のこの形式は、熟練した病理学者による主観的評価に基づいている慣用的な病理学的等級付よりも一貫して行うことができる。p R b 2 / p 1 3 0発現レベルは、活発な若しくは潜伏性のNSCLCまたはNSCLCに対する素因の存在についての好都合な分子マーカーとしても役立つ。

30

【0067】

肺病巣は、正常な無癌対照肺組織におけるp R b 2 / p 1 3 0のレベルと比較された病巣でのp R b 2 / p 1 3 0の発現の減少を示すことにより、非小細胞肺癌(NSCLC)として識別することができる。同様に、明らかな肺病巣はないが、他の肺癌の症状がある個体、または疾患を免れた個体の肺組織におけるp R b 2 / p 1 3 0発現レベルは、潜伏性NSCLCまたはNSCLCの危険をそれぞれ示している。NSCLCの初期診断は、目に見える肺病巣が出現する前でも、治療の早期開始および延命を可能にするであろう。

40

【0068】

本発明の実施により、罹患した肺組織試料におけるp R b 2 / p 1 3 0発現レベルの正常対照と比較して少なくとも約3分の1の減少は、その病巣がNSCLCであることを示す。同様に、肺病巣はないが、喀痰細胞異常、咳または気管支炎などの他の潜在的肺癌症

50

状を示している患者の肺組織における約3分の1またはそれ以上のp R b 2 / p 1 3 0 発現減少は、前病巣NSCLCを示すものである。肺癌の症状を示していないそれ以外には健康な個体の肺組織における約3分の1またはそれ以上のp R b 2 / p 1 3 0 発現減少は、将来のNSCLCの危険を示すものであると考えられる。約半分またはそれ以上のp R b 2 / p 1 3 0 発現の減少は、NSCLC疾患またはNSCLC素因をより一層示すものである。

【0069】

本発明の一つの側面により、疾患を免れている個体のNSCLCにかかる危険について評価する。その検査法を用いて、環境的発癌物質にさらされた集団、例えば、アスベスト作業員、鉱夫、織物工員、喫煙者等の中から、またはNSCLCの履歴または他の形態の癌を有する家族の中からNSCLCを発症する危険のある個体を識別することができる。

10

【0070】

### 3. 発現レベルを測定する方法

本発明の実施により、罹患組織の試料は、当業者に周知である慣用的な生検技術によって癌患者から取出される。その試料は、好ましくは、放射線療法または化学療法の開始前に患者から得られる。次に、その試料を、p R b 2 / p 1 3 0 発現レベルの測定用に調製する。

【0071】

組織試料中のp R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現の相対レベルを測定することは、試料組織中のp R b 2 / p 1 3 0 RNA転写物、特に、mRNA転写物の相対数を測定すること、または試料組織中の対応するp R b 2 / p 1 3 0 タンパク質の相対レベルを測定することを含む。好ましくは、試料組織中のp R b 2 / p 1 3 0 タンパク質の相対レベルは、p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質を結合する抗体を試料組織と接触させる免疫検定によって測定される。試料採取された腫瘍の細胞中の相対p R b 2 / p 1 3 0 発現レベルは、一つまたはそれ以上の標準に関して好都合に測定される。それら標準は、例えば、一方にはゼロ発現レベル、そしてもう一方には、同患者の正常組織中の遺伝子の発現レベル、または正常対照群の組織中の発現レベルを含むことができる。その標準は、標準細胞系におけるp R b 2 / p 1 3 0 発現レベルを含んでもよい。正常の発現レベルと比較したp R b 2 / p 1 3 0 発現の減少の大きさは、治療後の将来の臨床結果を示すものである。目的の組織の細胞中の特定の遺伝子のmRNA転写物のレベルを測定する方法は、当業者に周知である。一つのこのような方法により、全細胞RNAは、達成した細胞から、核酸抽出緩衝液の存在下での均一化に続く遠心分離によって精製される。核酸を沈澱させ、そしてDNAをDNアーゼでの処理および沈澱によって除去する。次に、RNA分子を、標準的な技法によるアガロースゲル上のゲル電気泳動によって分離し、そして例えば、いわゆる「ノーザン」プロットング技術によってニトロセルロースフィルターに転移させる。RNAを加熱によってフィルター上に固定する。特異的RNAの検出および定量化は、問題のRNAに対して相補的な適当に標識されたDNAまたはRNAプローブを用いて行われる。本明細書中にその開示が援用される、Molecular Cloning: A Laboratory Manual, J. Sambrook 監修, 第2版, Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989年, 第7章を参照されたい。

20

30

40

【0072】

プロットング技術の他に、in situ ハイブリダイゼーション技術にしたがってmRNA検定試験を行うことができる。後者技術は、ノーザンプロットング技術よりも少ししか腫瘍細胞を必要としない。「細胞交雑」としても知られる in situ 技術は、顕微鏡カバーガラス上に全細胞を付着させ、そして放射性またはそれ以外の標識cDNAまたはcRNAプローブを含有する溶液で細胞の核酸含有量をプローブすることを行う。in situ ハイブリダイゼーション技術の実施は、本明細書中にその開示がそのまま援用される米国特許第5,427,916号で更に詳細に記載されている。

【0073】

50

上のRNAハイブリダイゼーション法のための核酸プローブは、本明細書中にその開示がそのまま援用される、Liら, *Genes Dev.* 7: 2366-2377 (1993)の公表されたpRb2/p130cDNA配列に基づいて設計することができる。そのヌクレオチド配列は、本明細書中において配列番号: 1として再現される。翻訳開始コドンは、配列番号: 1のヌクレオチド70~72を含む。翻訳終結コドンは、ヌクレオチド3487~3489を含む。

【0074】

RNAハイブリダイゼーション、プロットハイブリダイゼーションかまたは *in situ* ハイブリダイゼーション法は、RNAドナー細胞中の標的RNA転写物の存在について定量的結果を与えることができる。標識DNAおよびRNAプローブの調製方法、および標的ヌクレオチド配列に対するそれらのハイブリダイゼーション条件は、本明細書中に援用される、*Molecular Cloning*, 上記, 第10および11章で記載されている。

10

【0075】

核酸プローブは、例えば、 $^{32}\text{P}$ 、 $^{14}\text{C}$ 若しくは $^{35}\text{S}$ などの放射性核種; 重金属; または標識抗体、蛍光分子、化学発光 (*chemoluminescent*) 分子、酵素若しくは類似のものなどの放射性リガンドに特異的な結合対メンバーとして機能することができるリガンドで標識することができる。

【0076】

プローブは、Rigbyら, *J. Mol. Biol.* 113: 237-251 (1977)のニックトランスレーション法によってかまたはランダムプライム法、Fienbergら, *Anal. Biochem.* 132: 6-13 (1983)によって高特異的活性まで標識することができる。後者は、高特異的活性の $^{32}\text{P}$ 標識プローブを一本鎖DNAからまたはRNA鋳型から合成するために選ばれた方法である。どちらの方法も当業者に周知であるので、本明細書中では繰返さない。既存のヌクレオチドを極めて放射性のヌクレオチドと置換えることにより、ニックトランスレーション法にしたがって、特異的活性を有する $^{32}\text{P}$ 標識DNAプローブを $10^8$  cpm/マイクログラムの十分に過剰で製造することは可能である。次に、フィルターを写真フィルムに暴露することによって、ハイブリダイゼーションのオートラジオグラフ検出を行うことができる。フィルターのデンシトメーター走査は、mRNA転写物の正確な測定を与える。

20

30

【0077】

放射性核種標識付が実施できない場合、ランダムプライマー法を用いて、dTTP類似体5-(N-(N-ビオチニル- -アミノカプロイル)-3-アミノアリル)デオキシウリジン三リン酸をプローブ分子中に包含させることができる。このようにビオチニル化されたプローブオリゴヌクレオチドは、着色反応を生じる蛍光色素または酵素と結合したアビジン、ストレプトアビジンまたは抗ビオチン抗体などのビオチン結合タンパク質との反応によって検出することができる。

【0078】

pRb2/p130転写物の相対数は、mRNAの逆転写に続くポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR)での増幅および標準との比較によって測定することもできる。RT-PCRの方法およびそれらの変更は、当業者に周知である。

40

【0079】

本発明のもう一つの実施態様により、患者組織の細胞中のpRb2/p130発現レベルは、該当するpRb2/p130タンパク質の量を検定することによって測定される。pRb2/p130タンパク質の発現を測定する種々の方法が存在し、ウェスタンブロットティングおよび免疫組織化学的染色が含まれる。ウェスタンブロットは、SDSゲルを用いてゲル上のタンパク質試料を拡散させ、そのゲルを硝酸セルロースフィルターでブロットティングし、そして標識抗体でフィルターをプローブすることによって行われる。免疫組織化学的染色技術を用いると、細胞試料は、典型的に、脱水および定着に続いて、結合した遺伝子産物に特異的な標識抗体との反応によって製造され、この場合、酵素標識、蛍光

50

標識、発光標識等のような標識は、通常、目視検出される。

【0080】

本発明の一つの実施態様により、組織試料を患者から得、そして慣用的な組織固定技法にしたがってそれら試料を包埋した後、例えば、3～5 μmに切断し、定着させ、固定し、そして乾燥させる。定着剤は、好都合にはホルマリンを含むことができる。検体を固定するための包埋剤は、例えば、パラフィンを含むことができる。試料はこの状態で貯蔵することができる。脱パラフィン化および再水和後、pRb2/p130に特異的な抗体を含む免疫試薬と試料を接触させる。抗体は、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を含むことができる。抗体は、自然のままの抗体、またはpRb2/p130タンパク質を特異的に結合できるそのフラグメントを含むことができる。このようなフラグメントには、FabおよびF(ab')<sub>2</sub>フラグメントが含まれるが、これらに制限されるわけではない、本明細書中で用いられる「抗体」という用語は、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体両方を含む。「抗体」という用語は、自然のままの抗体分子を意味するのみならず、抗原結合能力を保持しているそれらのフラグメントも包含する。

10

【0081】

適当なポリクローナル抗血清は、適当な宿主動物をpRb2/p130タンパク質で免疫感作し、そして当業者に知られている慣用的な技法にしたがって抗血清を集め且つ精製することによって製造することができる。モノクローナル抗体は、Monoclonal Antibodies, Hybridomas: A New Dimension in Biological Analysis, R.H. Kennetら監修, Plenum Press, ニューヨークおよびロンドン(1980)などの後の研究で更に推考される、Kohler および Milstein, Nature 254:493-497(1975)の古典的技法を行うことによって製造することができる。

20

【0082】

ポリクローナル抗体またはモノクローナル抗体を生じさせる免疫原として用いるための実質的に純粋なpRb2/p130は、好都合には組換えDNA法によって調製することができる。一つのこのような方法により、pRb2/p130は、細菌で発現されたグルタチオンS-トランスフェラーゼ(GST)融合タンパク質のかの質で製造される。このような融合タンパク質は、標準的な発現プロトコール、例えば、「グルタチオンS-トランスフェラーゼ融合タンパク質の発現および精製」, Current Protocols in Molecular Biology(1990)中の補遺10, 単元16.7の後に、商業的に入手可能な発現系を用いて製造することができる。Smith および Johnson, Gene 67:34-40(1988); Frangioni および Neel, Anal. Biochem. 210:179-187(1993)も参照されたい。簡単にいうと、pRb2/p130をコードするDNAを、正しい読み枠内のpGEX2T中にサブクローン化し、そして大腸菌(E. coli)細胞中に導入する。形質転換細胞をLB/アンピシリンプレート上で選択するが;それらプレートは37で12～15時間インキュベートされる。形質転換細胞をイソプロピル-D-チオガラクトシド中で増殖させて、pRb2/p130-GST融合タンパク質の発現を誘導する。細胞を液体培養物から遠心分離によって採取する。細菌ペレットを再懸濁させ、そして細胞ペレットを音波処理して細胞を溶解させる。次に、その溶解産物をグルタチオン-アガロースビーズと接触させる。ビーズを遠心分離によって集め、そして融合タンパク質を溶離させる。次に、その融合タンパク質をトロンピン切断緩衝液で処理することによってGST担体を除去する。放出されたpRb2/p130タンパク質を回収する。

30

40

【0083】

完全なpRb2/p130分子を用いる免疫感作に代るものとして、適当な宿主を完全なタンパク質のフラグメント、特に、分子のカルボキシ末端に対応するペプチドで免疫感作することによって、pRb2/p130に対する抗体を生じることができる。

【0084】

抗体は、検出可能な標識を直接的にかまたは間接的に有する。検出可能な標識は、一次

50

抗 p R b 2 / p 1 3 0 抗体に対して直接的に結合することができる。更に好都合に、検出可能な標識は、一次抗体を結合する二次抗体、例えば、ヤギ抗ウサギ I g G に対して結合している。標識は、例えば、ラジオイムノアッセイの場合に放射性核種；免疫蛍光検定の場合に蛍光残基；化学発光検定の場合に化学発光残基；または酵素結合イムノソルベント検定の場合、色素原基質を切断する酵素を好都合に含むことができる。

#### 【 0 0 8 5 】

最も好ましくは、検出可能な標識は、過剰のビオチン結合能力を有するアビジン - ビオチンペルオキシダーゼ複合体 ( A B C ) を含む。二次抗体はビオチニル化される。分析中の組織切片において p R b 2 / p 1 3 0 抗原を位置決定するために、その切片を、 p R b 2 / p 1 3 0 に対する一次抗血清で処理し、洗浄した後、二次抗血清で処理する。A B C の引続きの添加は、A B C がビオチンに対して非特異的に付着するので、特定の抗原の部位にペルオキシダーゼを局在させる。ペルオキシダーゼ ( したがって抗原 ) は、切片を、例えば、 $H_2O_2$  およびジアミノベンジジン ( 褐色に染色されている抗原部位を生じる ) または  $H_2O_2$  および 4 - クロロ - 1 - ナフトール ( 青色染色を生じる ) と一緒にインキュベートすることによって検出される。

#### 【 0 0 8 6 】

A B C 法は、パラフィン包埋切片、凍結切片および塗抹標本に用いることができる。内因性 ( 組織または細胞 ) ペルオキシダーゼは、例えば、メタノール中の  $H_2O_2$  で急冷することができる。

#### 【 0 0 8 7 】

腫瘍試料中の p R b 2 / p 1 3 0 発現のレベルは、染色強度を比較することによって、または染色された細胞数を比較することによって、正常組織試料中での発現に相対する基準で比較することができる。正常対照に関して染色強度が低いほど、または対照切片とほぼ同数の細胞を有する組織切片中の染色された細胞計数が少ないほど、p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の発現は少なく、したがって、試料の予想される悪性の可能性は高い。

#### 【 0 0 8 8 】

次の実施例では、A D L 1 と称される、p R b 2 / p 1 3 0 に対して生じたポリクローナル抗体を用いた。その抗体の特異性は、ウェスタンブロット分析 ( P e r t i l e ら , C e l l G r o w t h & D i f f e r e n t i a t i o n 1 6 : 5 9 - 6 4 ( 1 9 9 5 ) ; C l a u d i o ら , C a n c e r R e s 5 6 : 2 0 0 3 - 8 ( 1 9 9 6 ) ) によって、更には、p R b 2 / p 1 3 0、および他の網膜芽腫関連タンパク質 p R b / p 1 0 5 および p 1 0 7 をコードする c D N A の *i n v i t r o* で翻訳された形を用いる抗体の免疫沈降によって確認された。A D L 1 抗体は、p R b 2 / p 1 3 0 タンパク質の *i n v i t r o* で翻訳された形だけを免疫沈降させることができた ( B a l d i ら , C l i n i c a l C a n c e r R e s 2 : 1 2 3 9 - 4 5 ( 1 9 9 6 ) ) 。

#### 【 0 0 8 9 】

##### C . p R b 2 / p 1 3 0 のゲノム構造の識別に基づく方法

ヒト p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のゲノム構造を本明細書中で記載する。p R b 2 / p 1 3 0 ゲノム DNA は、クローン化され且つ配列決定されている。p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子は、ヒト新形成についてヘテロ接合性の消失 ( L O H ) を示すことが以前に報告された部分である染色体 1 6 の長いアームまで地図で表わされている。p R b 2 / p 1 3 0 の推定上のプロモーターは、識別され、クローン化され、そして配列決定されている。遺伝子の完全なイントロン - エキソン機構が解明されている。ヒト p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子は、5 0 k b を越えるゲノム DNA にわたって、2 2 個のエキソンおよび 2 1 個のイントロンを含有する。個々のエキソンの長さは、6 5 b p ~ 1 5 1 7 b p であるが、個々のイントロンの長さは 8 2 b p ~ 9 8 3 7 b p である。これらエキソンおよびイントロンの体制を図 3 A で示す。p R b 2 / p 1 3 0 のそれぞれのエキソンおよびイントロンの位置および寸法、並びにエキソン - イントロン結合部のヌクレオチド配列を下記の表 7 で示す ( 配列番号 : 6 ~ 4 7 ) 。エキソン配列は大文字で示され、イントロン配列は小文字で示される。s u p e r s c r i p t 番号は、配列番号 : 1 上のエキソン - イントロン境界の又

10

20

30

40

50

クレオチド位置に対応する。

【0090】

エキソンは全て完全に配列決定されたが、エキソンのゲノム配列および以前に報告されたcDNA配列を比較した場合、相違は見られなかった。Li, Y.ら, Genes 7: 2366 - 2377 (1993)。エキソン-イントロン境界は、ゲノムDNA配列がcDNAの配列から分れる位置として識別された。

【0091】

全エキソンの内で最大(1517bp長さ)であるエキソン22を例外として、見出されたエキソンは比較的小さく、最も短いエキソン4および7は、それぞれ65ヌクレオチドだけ含んでいた。エキソン10~20までは、「ポケット領域」を形成するpRb2/p130タンパク質の部分をコードする。エキソン10~13までおよび17~20までは、ドメインAおよびドメインBにそれぞれ翻訳される。エキソン14, 15および16は、「スペーサー」として知られるpRb2/p130タンパク質の部分をコードする。そのスペーサーは、ドメインAおよびB間に位置する。

【0092】

イントロンは完全に配列決定されている。エキソン16と17との間にある最も短いイントロンであるイントロン16は、僅か82bp長さであるが、最大のイントロンであるイントロン21は、9837bpにわたる。イントロン21は、エキソン21と22との間に位置する。イントロンの完全な配列は、配列番号: 48~68として与えられる。pRb2/p130のイントロン配列は全て、他のヒト遺伝子に特有であることが判ったGT-AG則にあてはまる。Breathnach, R.ら, Annu. Rev. Biochem. 50: 349 - 383 (1981)。この規則は、イントロンの属の配列をGT...AGとして識別する。この属形を有するイントロンは、GT-AG則にあてはまると特徴付けられる。「スプライスシグナルジヌクレオチド」として知られる2種類のジヌクレオチドGTおよびAGは、pRb2/p130mRNAのプロセッシング中にイントロンからのスプライシングのためのシグナルとして作用する。スプライスシグナルジヌクレオチド中の点突然変異は、他の遺伝子の *in vivo* および *in vitro* での異常なスプライシングと関係している。概して、Genes V, B. Lewin, オックスフォード大学出版部, 913 - 916頁, ニューヨーク(1994) および Yandel 1 ら, 上記, 1694頁を参照されたい。したがって、スプライシング中にRNA転写物から除外されるスプライスシグナルジヌクレオチドまたは他の配列に対する何等かの突然変異を識別することは重要である。

【0093】

本明細書中に記載のpRb2/p130ゲノム構造およびイントロン配列は、腫瘍形成に関係した突然変異および再編成を減少させるのに用いることができる。本明細書中のそのゲノム構造およびイントロン配列は、天然に存在する多形性についてヌクレオチドレベルでスクリーニングするのに用いることもできる。特異的な1種類の多形性についての情報は、目的とされた突然変異がその多形性と同様のパターンを示す場合、腫瘍中の原因となる因子としてpRb2/p130中の突然変異を排除するのに用いることができる。pRb2/p130中の多形性の情報は、同一の突然変異の遺伝的連鎖を、そして順に、突然変異が生殖系列起原である場合、時間集中的配列決定を必要とすることなく、親起原および家族履歴の追跡を確認するのに用いることができる。次に、これら多形性は、ヒト新形成の診断的アプローチの開発に用いることができる。しかしながら、全部の多形性がこれら用途において等しく有用であるわけではないということに留意すべきである。エキソン中の突然変異は腫瘍発生をもたらすと考えられるので、これら突然変異を捜し出すことは好ましい。更に、遺伝子のコード領域は、概して、より安定であり且つ経時的にほとんど突然変異しないと考えられるので、エキソン領域中の多形性は当然、典型的にほとんど共通性がないということになる。pRb2/p130のエキソン領域中の多形性の検出は、ゲノムDNAおよびcDNA両方のスクリーニングを可能にすると考えられる。

【0094】

10

20

30

40

50

次の実施例において、p R b 2 / p 1 3 0 突然変異および多形性を確認するいくつかのスクリーニング法を示す。

#### 1. p R b 2 / p 1 3 0 の転写調節

腫瘍サプレッサー遺伝子産物は、細胞成長のみならず細胞分化も調節する My o D などの転写因子と直接的に相互作用するということが証明されている。S a n g ら, 上記、8 頁。これら転写因子の配列部分モチーフの突然変異は、腫瘍抑制遺伝子の機能に影響すると考えられる。したがって、p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のゲノム構造を識別することに加えて、追加の実験を行って、p R b 2 / p 1 3 0 の 5' フランキングプロモーター配列を決定した。p R b 2 / p 1 3 0 の推定上のプロモーター配列の一部は、最初のエキソンの完全な配列および最初のイントロンの開始部分と一緒に、図 4 で示される (配列番号: 4)。推定上のプロモーター領域の完全な配列は、配列番号: 1 1 3 で与えられる。

10

#### 【0095】

p R b 2 / p 1 3 0 プロモーターを特性決定するために、プライマー伸長分析を行って、転写開始部位の位置を示した。プライム伸長分析のプロトコールは、次の実施例で与えられる。推定上の A T G コドンから 2 6 ~ 5 0 ヌクレオチド上流のアンチセンス鎖配列 (図 4 を参照されたい) を含有する 2 4 ヌクレオチドセグメント (配列番号: 1 1 4) を末端標識し、そしてヒラ細胞からの細胞質 R N A 上の伸長反応のためのプライマーとして用いた。図 5 で示されるように、7 8 b p の主要な伸長フラグメントは、ヒラ細胞を鋳型として用いて行われたプライマー伸長から検出された (列 1)。プライマー伸長分析によって検出された追加のバンドは、追加の開始部位でありうる。この知見 (列 1) は、出発コドンの 9 9 ヌクレオチド上流の転写開始部位と一致する。逆に、t R N A を鋳型として用いた場合 (列 2)、プライマー伸長生成物は観察されなかった。プロモーター配列中で識別された転写開始部位の考えられる位置は、図 4 において矢印で示される。プライマー伸長分析を 3 回繰返し、そしてそれぞれの場合に同様の結果を生じた。

20

#### 【0096】

推定上の転写因子結合部位は、S I G N A L S C A N プログラムの使用により、既知の転写因子結合部位の共通配列に対するそれらの類似性によって識別された。このプログラムの説明は、次の実施例に包含されている。最も認識可能な配列モチーフは、転写因子 S p 1 (2 か所の部位) K e r 1 および M y o D についてである。図 4 は、これらモチーフの位置を示す。K e r 1 は、ケラチノサイト特異的転写に關与するが、M y o D は筋発生に關与する。L e a s k ら, G e n e s D e v . 4 : 1 9 8 5 - 1 9 9 8 (1 9 9 0); W e i n t r a u b , H . , C e l l 7 5 : 1 2 4 1 - 1 2 4 4 (1 9 9 3)。これら配列モチーフの p R b 2 / p 1 3 0 のプロモーター領域中の存在は、特定の細胞系の分化を調節する複雑な経路におけるこの遺伝子の關与の仮説を支持する。

30

#### 【0097】

#### 2. p R b 2 / p 1 3 0 における突然変異の検出

本発明は、p R b 2 / p 1 3 0 のゲノム D N A を増幅し且つそこでの多形性および突然変異をスクリーニングする方法を提供する。本明細書中で記載の検定法を用いて、いくつかの癌を診断し且つ特性決定することができるしまたはヘテロ接合担体状態を識別することができる。p R b 2 / p 1 3 0 中の突然変異を増幅させ且つ検出する方法の例を与えるが、本発明は、示された特定の手法に制限されるわけではない。p R b 2 / p 1 3 0 のゲノム D N A 配列の使用および/または本明細書中で記載のプライマーの使用に頼る他の増幅および識別の手段も、本発明によって包含される。

40

#### 【0098】

概して、本明細書中に記載の方法は、スクリーニング用の核酸試料を調製した後、その試料を 1 個またはそれ以上の対立遺伝子中の突然変異について検定することを行う。核酸試料を細胞から得る。ゲノム D N A の細胞源には、培養細胞系、または組織 (または全器官若しくは生物全体) から得られる単離細胞若しくは細胞種が含まれる。好ましくは、細胞源は末梢血リンパ球である。血液および組織試料からの D N A 抽出法は、当業者に知られている。例えば、本明細書中にその開示がそのまま援用される、B l i n ら, N u c

50

. *Acids Res.* 3: 2303 - 2308 (1976); および Sambrook ら, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 第2版, 9.16 - 9.23頁, Cold Spring Harbor Laboratory Press, コールド・スプリング・ハーバー, NY (1989) を参照されたい。スクリーニングされる患者試料が二本鎖ゲノムDNAの形である場合、最初に、当業者に周知の方法を用いてそれを変性させる。変性は、鎖を融解させるかまたは、アルカリ溶液およびホルムアミド若しくは尿素の濃厚溶液などの水素結合を脱安定化させる薬剤に鎖をさらすことによって行うことができる。

#### 【0099】

本発明の一つの実施態様において、ゲノムDNA試料をスクリーニングする前に、pRb2/p130ゲノムDNA試料を、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)の使用により、プライマー対、緩衝液混合物および鎖伸長を促進することができる酵素を用いて増幅させる。PCRを行う方法は、当業者に周知である。例えば、詳細に示されているかのように本明細書中に援用される、Beutler ら, 米国特許第5,234,811号、または Templeton, N.S., *Diag. Mol. Path.*, (1): 58 - 72 (1992) を参照されたい。次に、PCRから製造された増幅生成物を用いて、一本鎖コンホメーション多形(SSCP)またはプライマー *in situ* DNA合成(PRINS)として知られる技法を用いて、突然変異についてスクリーニングすることができる。当然ながら、突然変異は、患者の遺伝子単離物を配列決定し、そして対応する野生型pRb2/p130セグメントのそれと配列を比較する一層面倒な作業によって識別することもできる。

10

20

#### 【0100】

PCRは、熱循環、すなわち、下限が37 ~ 55 で且つ上限が約90 ~ 100 である温度範囲内でPCR反応混合物を加熱し且つ冷却する反復サイクルによって行われる。選択される具体的な温度範囲は、選択される酵素および必要な特異性または緊縮に依存する。下限温度は、典型的に、高い特異性を必要としない増幅でのアニーリングに用いられ、そして逆に、高い方の限界温度は、より大きい緊縮が必要な場合に用いられる。後者の例は、一つの具体的な標的DNAをゲノムDNAから増幅させることが目的である場合である。より高いアニーリング温度は、所望の配列からではないDNAセグメントをより少なく生じるであろう。好ましくは、本明細書中で記載の発明のためのアニーリング温度は、50 ~ 65 である。最も好ましくは、アニーリング温度は55 である。

30

#### 【0101】

PCRは、概して、緩衝水溶液、すなわち、PCR緩衝液中において、好ましくは7 ~ 9、最も好ましくは約8のpHで行われる。典型的に、モル過剰のプライマーを、鋳型鎖を含有する緩衝液と混合する。ゲノムDNAについてのこの比率は、典型的に、 $10^6$  : 1 (プライマー : 鋳型) である。PCR緩衝液は、デオキシヌクレオチド三リン酸(dATP、dCTP、dGTPおよびdTTP) およびポリメラーゼも含有する。PCRにおいて用いるのに適したポリメラーゼには、大腸菌DNAポリメラーゼI、大腸菌DNAポリメラーゼIのクレノウフラグメント、T4DNAポリメラーゼ、T7DNAポリメラーゼ、TaqDNAポリメラーゼ(*Thermus aquaticus* DNAポリメラーゼI)、および増幅生成物の形成を促進する他の熱安定酵素が含まれるが、これらに制限されるわけではない。

40

#### 【0102】

本明細書中で用いられるプライマーは、核酸制限消化物から精製されたまたは当業者に知られている何等かの適当な方法を用いて合成的に製造された天然に存在するオリゴヌクレオチドでありうる。本明細書中で用いられるプライマーは、自動化された方法を用いて合成することができる。

#### 【0103】

突然変異は、エキソン自体およびスプライス部位の両方で起こりうるので、分析されるエキソン部分全体を確実に増幅させるプライマーを設計する必要がある。エキソン全体を

50

増幅させるために、何等かの与えられたエキソンのためのオリゴヌクレオチドプライマーは、それが、プロモーター領域、3 非コード領域または増幅されるエキソンに隣接したイントロンに相補的な配列の一部を含むように設計されるべきであるが、しかしながら、そのプライマー配列は、スプライスシグナルジヌクレオチドの配列を含むべきではないということを経験とする。スプライスシグナルジヌクレオチドを含めた領域全体を増幅させることを確実にするために、スプライスシグナルジヌクレオチドに相補的な配列をプライマーから除外することは重要である。スプライスシグナルジヌクレオチドに相補的な配列を含むことは、スプライス部位に張付き且つそこで起こりうる可能な突然変異をいずれも隠す増幅生成物を生じると考えられる。しかしながら、エキソンに隣接したイントロンとは、増幅されるエキソンに直接隣接したイントロンに制限されるわけではないということに留意すべきである。オリゴヌクレオチドプライマーは、それが、増幅されるエキソンからエキソンまでの上流または下流のイントロンに相補的な配列の一部を含むように設計されうる。後者の場合、製造された増幅生成物は、2 個以上のエキソンを含むと考えられる。好ましくは、それぞれ隣接したイントロンの配列の少なくとも 20 ~ 25 ヌクレオチドがプライマー配列中に包含される。

10

#### 【0104】

本明細書中で用いられるプライマーは、増幅される p R b 2 / p 1 3 0 セグメントのそれぞれの鎖に対して実質的に相補的であるように選択される。ハイブリダイゼーション条件下においてハイブリッド二本鎖の形成を可能にする十分な塩基対対合が存在すべきである。しかしながら、その塩基対対合は正確である必要はない。したがって、プライマー配列は、増幅される p R b 2 / p 1 3 0 セグメントの正確な配列を反映してよいしまたはしていなくてよい。非相補的塩基または更に長い配列は、プライマー中に散在しうるが、そのプライマー配列は、増幅されるセグメントとの十分な相補性を保持することによって増幅生成物を形成するという条件とする。

20

#### 【0105】

プライマーは、重合剤の存在下で増幅生成物の合成をプライムするように十分に長くなければならない。用いられるプライマーの正確な長さは、温度およびプライマー源を含めた多数の因子に依存するが、これらに制限されるわけではない。好ましくは、プライマーは、15 ~ 30 ヌクレオチド、更に好ましくは、18 ~ 27 ヌクレオチド、そして最も好ましくは、24 ~ 25 ヌクレオチドから成る。それより短いプライマーは、概して、鑄型との安定なハイブリッド複合体を形成するのに、更に冷たいアニーリング温度を必要とする。

30

#### 【0106】

通常、プライマー対は同じ長さであるが、しかしながら、若干のプライマーの長さは、同一アニーリング温度でプライマー対を得るように変更された。15 bp 未満のプライマーは、概して、非特異的増幅生成物を生じると考えられる。

#### 【0107】

本発明の一つの実施態様により、SSCPを用いて、p R b 2 / p 1 3 0 のエキソンにおける多形性および突然変異を分析する。SSCPは、それが簡単、迅速で且つ能率がよいという点で、直接配列決定にまさる利点を有する。

40

#### 【0108】

分析は、Oritaら、Genomic, 5, 874 - 879 (1989) に記載の方法に従って行い、その開示全体を、ここに参照として援用する。放射活性標識されたプライマーまたはデオキシヌクレオチドを用い、PCR法を用いることによって、標的配列を増幅し、同時に標識する。原位置でのハイブリダイゼーションも制限酵素の使用も両方とも、SSCPには必要ではない。

#### 【0109】

SSCPは、ゲルマトリックス内での分子の電気泳動移動度のシフトにより、単一塩基置換(ポイントミューテーション)を含む、配列の変化を検出する。2つの類似した配列の間の一つのヌクレオチドの違いは、他方と比較して一方の折りたたみ構造を変えるに充

50

分である。このコンフォメーション変化は、相当する野生型DNAセグメントのバンドパターンと比較した場合、癌DNAではバンドシフトが出現することによって検出される。単一の塩基対変化は、最大で約400bpのPCR生成物をSSCP分析することによって、検出することができる。この大きさより大きいPCR生成物は、最初に制限酵素で消化して、より小さいフラグメントにしなければならない。

#### 【0110】

本発明のもう一つの実施態様では、pRb2/p130内の配列の変異を、PRINS技術を用いて検出することができる。PRINS法は、融通性のある技術であり、分子および細胞遺伝学的技術の正確さを合わせ持っており、核および染色体内での遺伝子の天然位置を提供する。Cintiら、Nuc, Acids Res., 21, 24, 799-5800 (1993)を参照のこと。この開示全体を参照としてここに援用する。PRINS技術は、in situでの標識されていないオリゴデオキシヌクレオチドの配列特異的アニーリングを基本としている。オリゴデオキシヌクレオチドは、TaqIポリメラーゼによって触媒されるin situでの鎖延長のためのプライマーとして作用する。ピオチンまたはジゴキシゲニン(Digoxigenin)のような物質で標識された標識ヌクレオチドは、鎖延長のための基質として働く。標識されたDNA鎖は、標識物質に特異的なフッ化クロム結合抗体に晒すことによって可視化される。好ましくは、標識はジゴキシゲニンであり、フッ化クロム複合抗体は、抗-ジゴキシゲニン-FITCである。これにより、結果としてプライマーそれ自身のヌクレオチド数よりはるかに多い数の標識ヌクレオチドが取り込まれる。さらに、ハイブリダイゼーションの特異性は、標識されたヌクレオチドがプライマー内に置かれる場合に持ち上がる問題に対して無防備ではない。結合標識は、プライマーをアニールし延長するそのような場所にのみ見出されるであろう。

10

20

#### 【0111】

SSCP技術も、またPRINS技術も、多型性の具体的姿または検出された変異を特徴付けないであろう。バンドシフトが、SSCP分析を用いることによって検出されるならば、サンプルセグメントをさらに配列決定し、相当する野生型のpRb2/p130セグメントのそれと配列を比較しなければならない。同様に、与えられたエキソンセグメントのアレレの一つまたは両方の欠如がPRINS技術によって検出されるならば、セグメントの配列を決定し、相当する野生型のヌクレオチド配列と比較して、突然変異、即ちポイントミューテーション、欠失または挿入、の正確な位置および形を決定しなければならない。PRINS技術は、多型性を検出することはできない。

30

#### 【0112】

SSCP分析およびPRINS技術を用いるためのプロトコールは、以下の実施例に含まれる。

pRb2/p130遺伝子内の変異を検出するPRINS方法は、キットの形で実施される。そのような実施態様では、キャリアーを細分し、バイアルまたは試験管のような一つまたはそれより多くの容器に、密閉して入れる。第一の容器は、DNAサンプルを乾燥、脱水または変性状態に保つための、一つまたはそれより多くのサブ容器、セグメントまたはディビジョンを含むことができる。第二の容器は、PRINS反応混合物を含むことができ、その混合物は、PCRバッファー、DIG DNA標識混合物、TaqIポリメラーゼのようなポリメラーゼ、および本発明に従って設計したプライマー(実施例7、表8を参照のこと)を含むことができる。DIG DNA標識混合物は、標識および未標識のデオキシヌクレオチドの混合物を含む。好ましくは、標識されたヌクレオチドは、ピオチンまたはジゴキシゲニンのいずれかで標識されている。より好ましくは、標識は、ジゴキシゲニンである。第三の容器は、標識に特異的なフッ化クロム結合抗体を含むことができる。ジゴキシゲニンに特異的なフッ化クロム結合抗体は、抗-ジゴキシゲニン-FITCである。ピオチンに適当な結合フッ化クロムは、アビジン-FITCまたはアビジンテキサスレッド(Texas Red)である。第四の容器は、染色化合物、好ましくはヨウ化プロピジウム(propidium Iodide)(PI)、を含むことができ

40

50

る。さらに、キットは、適当な洗浄溶液および希釈溶液を含むことができる。

【実施例】

【0113】

実施例

以下の実施例は本発明を具体的に説明する。これらの実施例は、具体的に説明するためにのみ提供され、本発明の範囲を制限するものではない。

【0114】

実施例1 子宮内膜癌での p R b 2 / p 1 3 0 の発現

A . 患者および癌

1994年12月から1988年9月の間、以前に治療されていない子宮内膜癌患者196人を、イタリア、フローレンス大学産科婦人科 ( Department of Obstetrics and Gynecology , University of Florence , Italy ) で調べた。放射線の分子分析への影響の可能性の懸念を除去するため、予備的放射線照射を受けた患者は除外した。175例では、外科手術が最初の治療であった。癌の最も典型的な部分を含むパラフィン包埋組織ブロックをこれらの内104例から得られた：4人の患者は、追跡できず、全体で100人の患者が残った。患者の年齢は、46から84歳の範囲であり、平均年齢は64歳であった。組織学的型、分化の程度、および子宮筋層浸潤の深さを評価するため、組織スライドを再調査した。段階は、1988年国際婦人科産科学会 ( the International Federation of Gynecology and Obstetrics ) ( FIGO ) の分類 ( Gynecol Oncol , 35 , 125 , 1988 ) に従って、外科標本の顕微鏡分析によって、評価した。表1に研究グループの臨床的病理的特徴を要約した。

【0115】

B . 外科治療

外科治療は、95例の全子宮切除を含み、5例の子宮切除も含む。両側の卵管 - 卵巣摘出も常に関連する。骨盤および傍らの大動脈のリンパ節切除は、外科医の考えで行われたが、秩序立てられているわけではない。全体で43人の患者がリンパ節切除を受けた。網 ( Omentum ) は、適当な場合に除去した ( 4例 ) 。

【0116】

10

20

【表 1 - 1】

表 1

p R b 2 / p 1 3 0 発現について試験した 1 0 0 人の患者の臨床的病理的特徴

特徴	患者数
年齢	
< 6 5 歳	5 2
≥ 6 5 歳	4 8
F I G O 段階	
I	6 8
II	1 5
III	1 4
IV	3
組織学的型	
腺癌 (adenocarcinoma)	7 4
鱗腺腫 (adenosquamous)	1 7
腺棘細胞腫 (adenoacanthoma)	4
乳頭血清 (papillary serous)	4
明細胞 (clear cell)	1
分化の程度	

10

20

30

40

【 0 1 1 7 】

【表 1 - 2】

良く分化した	44
中程度に分化した	26
わずかに分化した	25
評価できない	5
子宮筋層浸潤の深度	
≤ 50%	41
> 50%	59
補助療法	
なし	57
放射線療法	37
化学療法	6

10

20

## 【0118】

## C. 癌標本の収集

30

全体で100人の患者について、癌標本を、子宮摘出後すぐの病変を示していると認められる部位から新しく摘出した。癌サンプルのそれぞれを後に二分割した：そのうち一方はフローサイトメトリーに、もう一方は組織学的分析に用いた。

## 【0119】

## D. 補助療法

100人の患者の内43人が補助療法を受けた。補助療法を受けた43人の患者の内、37人は放射線療法を、6人は化学療法を受けた。分化の程度はわずかで、子宮内膜浸潤が深く(>50%)、子宮体外側の癌(段階1)であることが、補助治療を受けた人の主な診断基準であった。照射を受けた患者(37人)は、骨盤全体に56 Gyを受けた。化学療法(6人の患者)は、より進行した病状(段階 III - IV)で、可能な場合に、行われた。化学療法養生法は、シスプラチン(体表面領域 $m^2$ 当たり60 mg)を、シクロホスファミド(体表面 $m^2$ 当たり600 mg)およびエピルピシン(体表面領域 $m^2$ 当たり60 mg)と組み合わせて、21日ごとに6サイクル、行った。

40

## 【0120】

## E. 結果の追跡調査および評価

治療完了後、最初の2年間は3ヶ月毎に、3年目4年目は4ヶ月毎に、その後は、6ヶ月毎に、患者を調査した。再発は、骨盤または全身のいずれかで、任意の癌が再発したと診断書に記載された場合に、再発であると見なした。病気無(disease-free)状態の持続期間は、手術の日付から計算された。手術後病気の治癒しなかった患者または手術日から3ヶ月以内に再発した患者は、病気が治癒したとは考えられず、それ故、病

50

気の治癒した人々の分析から除外されたが、保険統計上の生存期間の計算からは除外しなかった。子宮内膜癌以外の原因でなくなった患者は、追跡できなかつたと考えて、それ故生存期間を死亡日として検閲した。追跡データは、100人の患者全体について得られ、その平均は48ヶ月(20から86ヶ月の範囲)であった。病気治癒(disease-free)状態の持続期間および保険統計の生存期間を研究の終点とした。

#### 【0121】

##### F. DNAインデックスのフローサイトメトリー分析

フローサイトメトリーを行うために、リン酸塩緩衝溶液中でサンプルをランセットおよびはさみで細かく切り刻むことによって、腫瘍細胞懸濁液を得た。細胞懸濁液を、ポリアクリルアミドの50 $\mu$ mメッシュでろ過し、70%のエタノールで固定化し、アッセイするまで、-4 $^{\circ}$ Cで保存した。DNA分析を行う前に、エタノールを、遠心分離(1500回転/分で10分間)によって除去した；次いで、ペレットを再懸濁し、リン酸塩緩衝溶液中で2回洗浄した。RNAを、リボヌクレアーゼ(Serva、リン酸塩緩衝溶液中0.1mg/ml)で、37 $^{\circ}$ Cで30分間消化することによって除去し、核酸をリン酸塩緩衝溶液中で洗浄し、そしてDNAを40mgのヨウ化プロビジウム(Beckton Dickinson)および1gのクエン酸ナトリウム/リットル(蒸留水)で染色した。サンプルにヒト女性のリンパ球を加えたのち、酵素処理および染色を行い、それらをDNA二倍体の標準として用いた。DNA分析は、Eliteのフローサイトメーター(Coulter Corporation, Hialeah, Fla)を用い、15mWアルゴンレーザー、波長488nmの条件で行った。データは、DNAのヒストグラムとして表された。DNA倍数性は、DNAインデックスによって定められ、二倍体標準のDNA含有量に対する癌のG<sub>0</sub>およびG<sub>1</sub>細胞(ピークチャンネル)のモデルDNA値の割合と定義した。ヒストグラムは、10,000より多い細胞の測定を基本とし、結果として、一般的に、3から6%の変異係数で良好な分解能を示した。DNAインデックスの計算は、コンピューター補助プログラム Multicycle Autofit、version 2.00(Phoenix Flow Systems, San Diego, CA)でのそれぞれのヒストグラムを処理することによって、行われた。

#### 【0122】

DNAインデックス値が1( $\pm$ 0.04)の全ての例を二倍体と分類し、他を異数体とした。

##### G. 抗体

ADL1と名付けられたウサギのポリクローナル免疫血清は、HarlowおよびLane、Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Laboratory Press, 1988、第5章(この開示はここに参照として採用される)に記載の方法に従って、pRb2/p130に対して調製された。ウサギは、キーホールリンペットヘモシアニン(keyhole limpet hemocyanin)(KLH)と結合させたペプチド

Glu - Asn - His - Ser - Ala - - Leu - Leu - Arg - Arg - Leu - Gln - Asp - Val - Ala - Asn - Asp - Arg - Gly - Ser - His - Cys (配列番号: 3)

を含む複合体で免疫化された。ペプチドは、pRb2/p130タンパク質のカルボキシ末端に相当する。簡単に言えば、ウサギは、配列番号: 3 - KLH結合体を皮下注射で2週間に一度、全体で3回の注射を実施することによって、免疫化された。1回目の注射(一次免疫)は、1mgの配列番号: 3 - KLH結合体/500 $\mu$ l PBS、および500 $\mu$ lの完全フロイントアジュバントを含んでいた。2回目および3回目の注射(追加免疫)には、500 $\mu$ gの結合体/500 $\mu$ l PBS、および500 $\mu$ lの完全フロイントアジュバントが含まれていた。ウサギは、3回目の注射の後に採血した。その後、2回目および3回目の注射と同じ組成物を含む追加免疫を、月に一度行った。

#### 【0123】

##### H. 免疫組織化学的分析

10

20

30

40

50

それぞれの腫瘍標本の切片を5  $\mu$ mに切断し、ガラス上にマウントし、37 で一晩乾燥させた。次いで、全ての切片をキシレン中で脱パラフィン化し、一連のアルコール勾配で再び水和し、リン酸塩緩衝溶液中で洗浄した。この緩衝液は、以後の洗浄の全て、さらに抗体の希釈に用いられた。切片を0.5%の過酸化水素で急冷し、希釈した10%の正常なヤギ抗-ウサギ血清でブロックした。次に、1:1000に希釈したADL1免疫血清と共に、スライドを室温で1時間インキュベートし、次いで、希釈されたヤギ抗-ウサビビオチニル化抗体 (Vector, Burlingame, Calif) と共に、室温で30分間、インキュベートした。リン酸塩緩衝溶液で洗浄の後、スライドを、ABC法 (Vector) によって、室温で30分間、処理した。最終の色原体としてジアミノベンジジン (Sigma, St. Louis) を用い、核対比染色としてヘマトキシリンを用いた。それぞれの組織断片の負の対照は、一次抗体を相当する免疫化前血清を置換することからなる。さらに、相当する免疫化抗原を過剰に含む抗体のブレインキュベーションは、免疫細胞化学反応をブロックし、それによってpRb2/p130に関するADL1抗体の特異性をますます強固にする (データは示していない)。

10

#### 【0124】

全サンプルを、同じ条件下で処理した。また、それぞれの実験に、正常な子宮組織を、対照として含めた。pRb2/p130免疫染色の結果は、それぞれの患者の臨床結果の知識を前もって持ち合わせていない3人の観察者によって、独立的に解釈した。一致度合いは、観察者間の一致の%として表されたが、90% (100標本の内90) であった。残りの標本では、一致した2人の研究者の意見からスコアを得た。結果は、陽性細胞の%として表した。それぞれの癌サンプル中、少なくとも20の抗力化領域 (high power field) をランダムに選択し、2,000の細胞が計測された。pRb2/p130による抗体染色では、そのほとんどが核であったが、少数の標本は、細胞質染色を示した。この免疫反応性のパターンは、固定化および包埋の手順による微小構造の変化に関係するか、またはすでに分子レベルで示されているように (Claudioら、Cancer Res., 56, 2003-8, 1996)、様々な細胞サイクル期の間でのこの抗原の発現のレベルの違いおよび所在位置の違いを反映しているのであろう。

20

#### 【0125】

##### I. 細胞反応性のカットオフポイント

pRb2/p130の発現の予後値を評価するために、患者の病気治癒期間および保険統計の生存期間を、pRb2/p130 (+)%のカットオフポイントを変えて、2グループに分け、後に比較した。40%またはそれより少ない反応細胞のカットオフポイントを用いた場合、P値は、不十分な病気治癒および保険統計の生存について、有意であった (それぞれ、 $P = 0.003$  および  $P < 0.001$ )。 (+) 50%のカットオフポイントでは、有意性のレベルは、それぞれ  $p = 0.02$  および  $P = 0.01$  に減少し、 (+) が60%またはそれより高い反応性のカットオフポイントでは有意でなくなった。従って、以後の生存分析は、 (+) が40%の反応性をカットオフポイントに用いて、行った。最適カットオフポイントを同定するための同様の研究法は、p53発現およびbcl-2発現を利用した免疫組織化学研究に用いられている (Shimら、J. Natl. Cancer Inst., 88, 519-29, 1996; Silvestriniら、J. Clin. Oncol., 14, 1604-10, 1996)。

30

40

#### 【0126】

##### J. 統計学的分析

Fisherの精密試験を用いて、pRb2/p130発現およびその他の予後変化の間の関係性を評価した (Fienbergら、The Analysis of Cross-Classified Categorical Data, MIT Press, Cambridge, Mass.; Zeltermanら、"Contingency Tables in Medical Studies", NEJM Books, 293-310, 1992)。病気治癒状態維持期間および保険統計の生存期間を、Kaplan-Meier法 (Kaplanら、Am Stat Assoc., 53, 457-

50

81、1958)に従って計算し、log-rank試験(Miller, Survival Analysis, 44-102, John Wiley, New York, 1981)によって評価した。Coxの単変数分析(Univariate Cox Analysis)を用いて、病气治癒状態維持期間および生存期間のそれぞれの予後変化への影響について評価した。可能な危険因子のいずれが独立した個々の予後情報を与えたかを予測するために、多変数分析(変数の事前選択によるCoxの比例-危険回帰)(Cox, J. R. Stat. Soc., 34, 187-220, 1972)を行った。データ分析は、SPSS統計パッケージ、リリース5.0.1(SPSS Inc., Chicago, IL)で行った。

【0127】

#### K. 結果

茶色の染色は、腫瘍細胞内にpRb2/p130が存在することを示す。標本は、染色の検出不可、数少ない陽性細胞のみが染色される(約10%)、細胞の40%より多くが染色される、または細胞の大部分が強く染色される、として特徴付けられる。細胞の40%より多くが免疫染色される癌は、pRb2/p130(+)であると考えられる。

【0128】

正常な子宮サンプル内では、子宮内膜および頸管内上皮細胞内で、pRb2/p130に対する強い免疫反応性を検出した。試験した100例の子宮内膜腺癌の内、5例は20%またはそれより少ない細胞でpRb2/p130に対する免疫反応性を示し、15例は30%の細胞で反応性を示し、9例では40%の細胞が染色された。これらの29例の腫瘍(29%)は、pRb2/p130陰性と考えられた。残り71例の腫瘍では、そのうち11例が50%陽性、49例が60%陽性、そして4例が70%より多くの細胞が染色されたと評価された。これら71例の腫瘍(71%)は、pRb2/p130陽性と考えられた。

【0129】

DNAインデックス値は、73例で二倍体型を示し、27例で異数体型を示した。異数体腫瘍のDNAインデックスでは、1例は低二倍体(hypodiploid)であり、4例は高四倍体(Hypertetraploid)であり、残り22例は、二倍体から四倍体の範囲のDNA含有形態( $1 < DNA < 2$ )であった。

【0130】

#### L. pRb2/p130発現と臨床的病理学的特徴との関連

pRb2/p130の発現は、患者の年齢と逆比例した; 65歳より若い患者では、pRb2/p130陰性の腫瘍は52例中9例(17.3%)であったが、これに対して、65歳もしくはそれより高齢の患者では48例中20例(41.6%)( $P = 0.008$ )であった。pRb2/p130の免疫染色は、二倍体パターンを持つ患者間(73例中16例、21.9%)( $P = 0.001$ )より異数体腫瘍の患者間(27例中13例、48.1%)の方が、陰性であることがより頻繁であった。pRb2/p130陰性の腫瘍は、分化の程度の低いまたは中程度の腫瘍の患者の間でより頻繁であったが、この関係は、統計的には有意ではなかった( $P = 0.06$ )。pRb2/p130の発現レベルは、子宮頸部に限定された腫瘍患者(段階I)および子宮頸部の外側に広がった腫瘍を持つ患者(段階>1)の間では、有意な差はなかった( $P = 0.4$ )。pRb2/p130陰性の広がり有意の差は、組織学的型の間でも、また子宮筋層浸潤の程度の異なる患者間でも、認められなかった。

【0131】

表2に示したように、pRb2/p130の発現、癌の倍数体型、FIGOの段階および分化の程度は、Univariate Cox分析によって、病气治癒状態期間および保険統計の生存期間と、有意に相互関連した。年齢、組織学的型および子宮筋層浸潤の深さを含む、その他の臨床病理の特徴は、結果とは関係しなかった(データには示していない)。

【0132】

10

20

30

40

50

図 1 に示すように、p R b 2 / p 1 3 0 陰性の腫瘍患者は、病気治癒状態期間および生存期間の有意の減少（それぞれ、 $P = 0.001$  および  $P < 0.0001$ ）を示し；5年間の生存の可能性は、そのような腫瘍患者中では52.0%であったが、これに対して、p R b 2 / p 1 3 0 陽性の癌患者では、92.5%であった。

【 0 1 3 3 】  
【 表 2 】

表 2：病気治癒持続期間および保険統計の生存期間についての、Cox Univariate Analysisによる、子宮内膜癌患者100人の臨床結果の有意な予測

変数	回復比率	95%信頼区間	P値	死亡率比率	95% CI+	P値
pRb2/p130						
陽性	1			1		
陰性	4.83	1.70 - 13.64	0.003	6.68	2.32 - 19.27	<0.0001
FIGO 段階						
1	1					
>1	5.42	1.86 - 15.77	0.002	5.08	1.78 - 14.51	0.002
倍数体の状態						
二倍体	1			1		
異数倍体	3.43	1.24 - 9.51	0.01	5.94	2.14 - 16.42	<0.001
分化の程度（1 = 良く分化した、2 = 中程度に分化した、3 = ほとんど分化していない）						
1	1			1		
2	7.73	1.54 - 38.67	0.01	13.88	1.65 - 116.27	p.01
3	7.45	1.43 - 38.78	0.01	18.36	2.23 - 151.10	0.007

10

20

30

40

50

【 0 1 3 4 】

表 3 に、子宮内膜癌患者の病気から死亡に至る率比率を概算するために、p R b 2 / p 1 3 0 免疫染色に対する応答、腫瘍の多倍数体型、FIGOの段階および分化の程度を同時に試験した、Coxの比例 - 危険回帰分析の結果を示した。p R b 2 / p 1 3 0 の免疫染色陰性は、乏しい結果の最も強い独立した予想因子として生じた。p R b 2 / p 1 3 0 陰性の腫瘍患者は、p R b 2 / p 1 3 0 陽性の腫瘍患者より病気による死亡率比率（4.91）が有意により高かった。子宮頸部の外側に広がった癌（段階 > 1）および異数倍体型もまた、病気から死に至る可能性がより高いこととも関連するが、これに対して分化の程度は独立した予後情報を与えなかった。p R b 2 / p 1 3 0 の発現およびFIGOの段階を組み合わせて用いることによって、より正確な死の危険性の解析が可能になる。

【 0 1 3 5 】

図 2 は、これらの層別危険グループによる Kaplan Meier の生存評価を示す。以下に、log-rank 試験によるグループ間の比較を示す。

段階 I、pRb2 / p130 - 陽性 対 段階 > I、pRb2 / p130 - 陽性：差は有意でなかった。

段階 I、pRb2 / p130 - 陽性 対 段階 I、pRb2 / p130 - 陰性：P = 0.01。

段階 I、pRb2 / p130 - 陰性 対 段階 > I、pRb2 / p130 - 陰性：P = 0.005。

段階 > I、pRb2 / p130 - 陽性 対 段階 > I、pRb2 / p130 - 陰性：P = 0.003。

段階 > I、pRb2 / p130 - 陽性 対 段階 I、pRb2 / p130 - 陰性：差は有意でなかった。

【0136】

【表3】

表 3：生存期間データについての Cox 比例-危険回帰分析の結果

変数	率比率	95% 信頼区間	P値 *
pRb2/p130			
陽性	1		
陰性	4.91	1.66 - 14.54	0.004
FIGO 段階			
I	1		
>I	4.18	1.43 - 12.23	0.009
倍数体の状態			
二倍体	1		
異数倍体	3.36	1.17 - 9.62	0.02

\* モデルの  $\chi^2$  検定、P < 0.001

【0137】

実施例 2 卵巣癌での pRb2 / p130 の発現

A. 癌

60 の (ホルマリン固定しパラフィン包埋した) 上皮癌標本を、ペンシルバニア病院病理学部門 (the Department of Pathology at Pennsylvania Hospital) から得た。標本は、グレード 1、グレード 2 およびグレード 3 の癌を含んでいた。

【0138】

### B. 免疫組織化学

自動免疫染色器 (Ventana ES, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ) およびペルオキシダーゼ-DAB免疫検出キット (Ventana Medical Systems) を用いて、免疫組織化学染色を行った。5ミクロンの断片をそれぞれの癌標本から切り出した。断片をスライド上にマウントし、空気乾燥した。断片をキシレン中で脱パラフィン化し、そして水中の一連のアルコール勾配で水和した。ポリクローナル抗-pRB2一次抗体を、1:500に希釈して、37℃で30分間、適用した。次いでスライドをビオチニル化ヤギ抗-ウサギ抗体と共に30分間インキュベートした。次に、スライドを西洋わさびペルオキシダーゼ結合アビジンと共にインキュベートした。過酸化水素を酸化基質として用い、ジアミノベンジジン (DAB) を色原体として用いた。スライドをヘマトキシリンで対抗染色し、脱水し、そしてマウントした。pRB2 / p130免疫染色の強度を評価した。

10

【0139】

### C. 結果

予備試験の結果を表4に示している。これらの結果から、腫瘍のグレードが増すに従って、検出されるpRB2 / p130タンパク質の発現はより少なくなると考えられる。それ故、pRB2 / p130発現のレベルは、グレード付けに、さらにヒトの卵巣上皮癌の予備指標として、有用であるだろう。

【0140】

【表4】

20

表4：ヒトの卵巣上皮癌標本でのpRB2 / p130の免疫組織化学的検出

癌のグレード	免疫染色の程度			
	-	+	++	+++
グレード 1	20%	40%	40%	0%
グレード 2	50%	33%	17%	0%
グレード 3	37%	26%	23%	14%

30

【0141】

実施例3 肺癌、シリーズ1でのpRB2 / p130の発現

#### A. pRB2 / p130に対する抗体

ウサギのポリクローナル免疫血清は、ADL1と名付けられ、実施例1Gに記載の方法に従って、これらの研究に用いられた。

【0142】

#### B. p107に対する抗体

ウサギのポリクローナル免疫血清は、細菌で発現させたGST-p107融合タンパク質でウサギを免疫化することによって、p107 (ADL2) に対して、調製された。融合タンパク質の発現は、SmithおよびJohnson, Gene, 67, 31-40、1988ならびにFrangioniおよびNeel, Anal. Biochem., 210, 179-187、1993に報告された方法に従って、行われた。ウサビの免疫化には、融合タンパク質を用い、皮下注射を2週間に一度、全体で3回注射を行った。1回目の注射 (一次免疫) には、500 μl PBS中の500 μgタンパク質、+ 500 μlの不完全フロイントアジュバントが含まれた。2回目および3回目の注射 (追加免疫) は、100 μgのタンパク質 / 500 μl PBS、+ 500 μlの不完全フロイ

40

50

ントアジュバントを含んでいた。ウサギは3回目の注射の後、採血した。さらに、二回目および3回目の注射と同一組成物で、追加免疫を、月に一度行った。

【0143】

C. pRb / p105 に対する抗体

Huら、Mol. Cell Biol., 11, 5792 - 5799 (1991)に記載の方法に従って調製した、抗-pRb / p105モノクローナル抗体(XZ77)を、これらの研究に用いた。

【0144】

D. 組織サンプル

外科手術で一部切除した肺癌患者51人からの肺組織標本を、一部切除外科手術の前に化学療法または放射線療法を受けなかった患者から得た。サンプルは、39例の扁平上皮細胞癌および12例の腺癌からなっていた。組織学的診断およびグレード付けは、熟練した肺病理学者によって行われた。サンプルを1-2-3のスケールでグレード付けし、このうち"3"は、最も悪性の病気を表し、"1"は悪性の最も少ない病気を示している。気管、気管支および隣接腺の層状の円柱上皮を含む正常な肺組織サンプルは、患者の死から10時間以内に行われた生検または死体解剖のいずれかから得られた。

10

【0145】

E. 免疫組織化学

それぞれの肺組織標本からの切片を3-5 μmに切断し、ガラス上にマウントし、37で一晩乾燥させた。その後、切片の全てをキシレンで脱パラフィン化し、一連のアルコール勾配で再び水和し、リン酸塩緩衝溶液(PBS)内で洗浄した。同一緩衝液を、以後の洗浄の全てに、および抗体の希釈に用いた。

20

【0146】

pRb2 / p130およびp107検出用組織切片を、0.5%の過酸化水素で結果として急冷し、希釈した10%の正常ヤギ抗-ウサギ血清(Vector Laboratories)でブロックした。スライドを、pRb2 / p130で高められたウサギポリクローナル免疫血清(ADL1)(1:2000に希釈)、またはp107に対するASDL2抗体(1:500に希釈)と共に、室温で1時間、インキュベートした。次いで、希釈したヤギ抗-ウサギピオチニル化抗体(Vector Laboratories)と共に、スライドを、室温で30分間、インキュベートした。

30

【0147】

pRb / p150検出用切片を、クエン酸緩衝液(pH6)中、700Wのマイクロ波でそれぞれ5分間、二度加熱し、0.5%過酸化水素中で結果として急冷し、そして希釈された10%の正常なウマ抗-マウス血清(Vector Laboratories, INC)でブロックした。モノクローナルマウス抗-ヒトpRb / p105抗体XZ77(1:500に希釈)を加え、室温で120分間、インキュベートした。PBS中で洗浄の後、スライドを、希釈したウマ抗-マウスピオチニル化抗体(Vector Laboratories, Inc)と共に、室温で30分間、インキュベートした。

【0148】

スライドは、ピオチニル化抗体製造者(Vector Laboratories)の教えに従って、いわゆる"ABC"法によって、室温で30分間、処理した。ジアミノベンジジンを最終色原体として、またヘマトキシリンを核対抗染色として、用いた。それぞれの組織切片についての陰性対照は、ADL1およびADL2に対する一次抗体を免疫化前血清で置換するか、またはXZ77の一次抗体を省くことからなる。

40

【0149】

3人の病理学者は、pRb2 / p130タンパク質の発現を、陽性染色された核の%として、スケール0-1-2-3で評価した: 0 = 検出不可能な発現のレベル; 1 = 低い発現レベル(1-30%細胞が陽性染色された); 2 = 中程度の発現レベル(30-60%の細胞が陽性染色された); 3 = 高い発現レベル(60-100%の細胞が陽性染色された。気管、気管支および隣接する腺の重層扁平上皮を含む正常な肺組織サンプルは、強く

50

染色され、高い発現レベルを示した。

【 0 1 5 0 】

F . 結果

結果は表 5 に示す。

【 0 1 5 1 】

【表 5 - 1】

サンプル 番号	種類	グレード	表 5			
		評価	pRb2/p130 レベル	p107 レベル	pRb/p105 レベル	
1	偏平細胞癌	3	0	2	3	
2	偏平細胞癌	2	3	1	3	
3	偏平細胞癌	1	3	1	3	10
4	偏平細胞癌	1	3	1	3	
5	偏平細胞癌	2	2	1	2	
6	偏平細胞癌	2	3	1	2	
7	偏平細胞癌	3	1	1	3	
8	偏平細胞癌	2	3	1	2	
9	偏平細胞癌	2	1	1	2	20
10	偏平細胞癌	2	3	1	1	
11	偏平細胞癌	2	3	1	2	
12	偏平細胞癌	1	3	1	3	
13	偏平細胞癌	3	1	1	1	
14	偏平細胞癌	1	3	1	3	
15	偏平細胞癌	3	0	2	3	30
16	偏平細胞癌	2	2	1	2	
17	偏平細胞癌	2	3	1	2	
18	偏平細胞癌	2	1	1	2	
19	偏平細胞癌	1	3	1	3	
20	偏平細胞癌	3	1	1	1	
21	偏平細胞癌	2	3	1	2	40
22	偏平細胞癌	3	2	1	3	
23	偏平細胞癌	2	3	1	3	
24	偏平細胞癌	2	3	1	1	

【 0 1 5 2 】

## 【表 5 - 2】

2 5	扁平細胞癌	2	3	1	2	
2 6	扁平細胞癌	1	3	1	3	
2 7	扁平細胞癌	3	1	2	3	
2 8	扁平細胞癌	2	3	1	3	
2 9	扁平細胞癌	1	3	1	3	
3 0	扁平細胞癌	1	3	1	3	10
3 1	扁平細胞癌	2	2	1	2	
3 2	扁平細胞癌	2	3	1	2	
3 3	扁平細胞癌	3	3	1	3	
3 4	扁平細胞癌	2	3	1	2	
3 5	扁平細胞癌	2	0	1	2	
3 6	扁平細胞癌	2	3	1	1	20
3 7	扁平細胞癌	2	3	1	2	
3 8	扁平細胞癌	1	3	1	3	
3 9	扁平細胞癌	3	1	1	0	
4 0	腺癌	3	0	2	2	
4 1	腺癌	1	2	1	2	
4 2	腺癌	2	1	2	1	30
4 3	腺癌	2	1	1	2	
4 4	腺癌	2	0	2	1	
4 5	腺癌	2	1	1	2	
4 6	腺癌	1	2	1	2	
4 7	腺癌	3	0	2	2	
4 8	腺癌	1	2	1	2	40
4 9	腺癌	3	0	2	2	
5 0	腺癌	2	1	2	1	
5 1	腺癌	2	0	1	2	

## 【 0 1 5 3 】

統計分析

表 5 からのデータを Jonkheere - Terpstra 試験と STATXACT 統計ソフトウェア (Cytel Software Corp., Cambridge, M 50

A)とを用いて分析して、組織グレードとタンパク質発現レベルとの間に関係があるかどうかを調べた。

【0154】

扁平細胞癌 ( $p < 0.0001$ ) 及び腺癌 ( $p < 0.004$ ) においては病理学的グレード評価と pRb2 / p130 の発現の間には、統計的に有意な逆関係 (inverse relationship) が存在した。

【0155】

扁平細胞癌 ( $p = 0.004$ ) では、病理学的グレード評価と pRb / p105 の発現との間に統計的に有意な逆関係が存在したが、腺癌の pRb / p105 の発現とグレード評価の間には、このような関係が存在しなかった。

10

【0156】

実施例4 肺癌、シリーズIIにおけるpRb2 / p130の発現  
肺癌標本

V. Monaldi Hospital と、II University of Naples (イタリア) の胸部外科部門において1995年1月から1996年4月までに手術による切除 (肺葉切除術又は肺切除術) を受けた患者から158肺癌標本を得た。標本は手術による切除の前に化学療法又は放射線療法を受けなかった患者からのみ入手した。

【0157】

腫瘍の組織学的診断と分類はWHO基準に基づいておこない、術後の病的TNMステージはAmerican Joint Committee on Cancerの指針を用いて決定した。

20

【0158】

分析した158腫瘍標本のルーチンの組織病理学的評価をpRb2 / p130免疫染色とは別におこなった。32腫瘍は腺癌であり、118腫瘍は扁平細胞癌であり、4腫瘍はカルシノイドであり、4腫瘍は小細胞肺癌であった。87腫瘍 (55.1%) はステージIとして分類され、43腫瘍 (27.1%) はステージIIとして分類され、28腫瘍 (17.7%) はステージIIIAとして分類された。腺癌と扁平細胞癌とは表6に示すようにグレードによって分類した。

【0159】

B. 免疫組織化学

各標本の切片を3~5 $\mu$ mでカットして、ガラス上に取り付け、37 $^{\circ}$ Cにおいて一晩乾燥させた。次に全ての切片をキシレン中で脱パラフィン化し、段階的なアルコールシリーズ (graded alcohol series) で再水和させ、PBS中で洗浄した。その後の全ての洗浄と抗体の希釈のためにはこの緩衝液を用いた。切片をクエン酸緩衝液 (pH6) 中で、それぞれ700Wの電子オーブンにおいて5分間ずつ2回加熱し、次いで、0.5%過酸化水素中で急冷し、希釈10%標準ヤギ抗ウサギ血清によってブロックした。次に、スライドを1:500~1:1500の範囲の希釈度においてpRb2 / p130に対してレイズさせた (raised) ウサギポリクローナル免疫血清と共に室温において1時間インキュベートし、次に、希釈ヤギ抗ウサギピオチニル化抗体 (Vector Laboratories) と共に室温において1時間インキュベートした。PBS中で洗浄した後に、スライドをABC法 (Vector Laboratories) によって室温において30分間処理した。ジアミノベンジジンを最終色原体 (chromogen) として、ヘマトキシリンをカウンターステイン (counterstain) として用いた。一次抗体の代わりに免疫前血清を用いることによって、各組織切片に対する陰性対照を得た。

30

40

【0160】

全てのサンプルを同じ条件下で処理した。3人の病理学者 (A. Baldi、G. G. Giordano及びF. Baldi) がタンパク質の染色パターンを別々に評価して、それを陽性核の%に関して得点をつけた: スコア1、陽性細胞10%未満 (検出不能レ

50

ベルまでの低い発現) ; スコア 2、陽性細胞 10% ~ 50% (中程度レベルの発現) ; スコア 3、陽性細胞 50% を越える (高レベルの発現)。観察者の間の一致の%として表された一致レベル (level of concordance) は 90% (142 ~ 158 標本) であった。残りの標本では、一致した、2人の研究者の意見からスコアを得た。少なくとも 20 の高出力場 (higher power field) をランダムに選択して、2000 細胞をカウントした。このコード化されたスコアは統計分析を容易にするために好ましい。

【0161】

C. 統計分析

考えられる腫瘍の異なる変数 (組織学的種類とグレード評価、転移の兆候、pRb2 / p130 発現レベル) の間の関連 (association) の有意性を評価するためにカイ二乗検定法を用いた統計分析をおこなった。< 0.05 の p 値は統計的に有意であると考えられた。

10

【0162】

D. 結果

pRb2 / p130 免疫染色は主として核であったが、一部の標本は低バックグラウンド ~ 無バックグラウンドで細胞質染色を明らかに示した。

【0163】

腫瘍の免疫組織化学的染色パターンは次のように要約することができる: 50 標本 (31.6%) は低レベル ~ 検出不能レベルの pRb2 / p130 (スコア 1) を示し、73 標本 (46.2%) は中程度レベルの pRb2 / p130 (スコア 2) を示し、35 標本 (22.2%) では高レベルの発現が検出された。この研究の少数の小細胞肺癌とカルシノイドはこれらの組織学的群における統計分析を可能にしなかった。SCLC 標本の全ては低レベル ~ 検出不能レベルの pRb2 / p130 (スコア 1) を示したが、このタンパク質の高レベルの発現が全てのカルシノイドにおいて認められた。

20

【0164】

統計分析は、pRb2 / p130 発現が腫瘍ステージ又は TNM 状態と相関しないことを明らかにした (p = n.s.)。しかし、pRb2 / p130 発現レベルと組織学的グレード評価との間に陰性の有意な関係が存在した (p < 0.0001)。組織学的グレードと pRb2 / p130 発現との間の相関関係を表 6 に示す。

30

【0165】

【表 6】

表 6

種類	グレード	番号	pRb2 / p130 レベル		
			1	2	3
扁平細胞癌	1	13	2	0	11
扁平細胞癌	2	42	8	28	6
扁平細胞癌	3	63	30	27	6
腺癌	1	8	0	2	6
腺癌	2	27	4	16	2
腺癌	3	2	2	0	0

40

【0166】

平均フォローアップ期間があまりに短かったので、患者の無疾患時間と総生存時間との

50

詳細な分析は不可能であった。しかし、患者における転移の発生に注目すると、転移と pRb2 / p130 発現との間の有意な逆関係が認められた ( $p < 0.0001$ )。

【0167】

#### 実施例5 ゲノムクローンの単離と特徴付け

##### A. ゲノムクローンの単離

全ヒト pRb2 / p130 遺伝子を単離するために、ヒト P1 ゲノムライブラリー (Genome System Inc., St. Louis, MO) を公開 cDNA 配列 (Li 等, Genes Dev. 7: 2366~2377 (1993)) から作製された 2 プライマーを用いてスクリーニングした。ゲノムクローンを単離するために用いたプライマーの配列は、GTATACCATTTAGCAGCTGTC CGCC (配列番号: 116) と、配列 GTGTGCCATTTATGTGATGGCAAAG (配列番号: 115) の補体とである。

10

【0168】

P1 ゲノムライブラリーのスクリーニング時に同定されたクローンの 1 つ (クローン no. 1437、図 3B) は、サザンプロットハイブリダイゼーションによって、pRb2 / p130 遺伝子の一部を含有することが確認された。推定 (putative) プロモーター領域を含有する pRb2 / p130 遺伝子の他の 5' 隣接配列を得るために、Clontech, Palo Alto, CA からのヒト胎盤ゲノム DNA フェージライブラリー (EMBL3SL6/T7) を cDNA プローブを用いて、Sambrook 等の方法 [Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, 12.30~12.38頁, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY (1989), この全開示は本明細書に援用される] に従ってスクリーニングした。[ -<sup>3</sup>2P ] で標識した cDNA プローブは、公開 cDNA 配列 (Li 等, 上記文献) の開始コドン後の最初の 430 bp に相当した。得られた 2 種類の陽性クローンのうち、SCR3 (図 3B) として同定された 1 つは、pRb2 / p130 遺伝子の 5' 隣接領域を含有すると確認された。

20

【0169】

##### B. エキソン/イントロン境界の同定

ゲノム DNA におけるエキソンの位置とエキソン/イントロン境界とを正確に特徴付けるために、オリゴヌクレオチドプライマーのセットを用いて、ゲノム DNA クローンの配列を決定した。これらのプライマーが大体 150 bp 間隔でゲノム DNA にアニールされるように pRb2 / p130 の cDNA ヌクレオチド配列に基づいて、プライマーを合成した。ゲノム DNA 配列が公開 cDNA 配列と異なるような位置から、エキソン/イントロン境界を同定した。

30

【0170】

##### C. クローンの配列決定

組換えクローンの配列決定を一部は、Applied Biosystem Model 373A DNA シーケンサーでの配列分析にジデオキシターミネーター反応化学を用いる自動化 DNA シーケンシングによって、また一部は GIBCO BRL (Gaithersburg, MD) から購入した dsDNA Cycle Sequencing System キットを製造者の指示に従って用いることによっておこなった。

40

【0171】

##### D. オリゴヌクレオチドプライマーの合成

本発明に用いるオリゴヌクレオチドプライマーの全ては、Applied Biosystems DNA-RNA シンセサイザー Model 394 によって、-シアノエチルホスホラミジット (-cyanoethyl phosphoramidite) 化学を用いて合成した。

【0172】

##### E. ゲノムクローン特徴付けの結果

50

ヒト pRb2 / p130 遺伝子は 22 エキソン及び 21 イントロンと、ゲノム DNA の 50 kb を越えるスパンとから成る。これらのエキソンとイントロンの構成 (organization) を図 3 A のスケールに大体合わせて示す。pRb2 / p130 の各エキソンとイントロンとの位置とサイズ、並びにエキソン - イントロン境界におけるヌクレオチド配列を表 4 (配列番号: 6 ~ 47) に示す。これらのエキソンは 65 ~ 1517 bp 長さのサイズの範囲である。82 ~ 9837 bp 長さのサイズの範囲であるイントロンは完全に配列決定されている。ヌクレオチド配列を配列番号: 48 ~ 68 として示す。

【0173】

実施例 6 転写調節要素の特徴付け

A. 細胞培養と RNA 抽出

ヒト HeLa (頸部類上皮癌) 細胞系統を American Type Culture Collection から得て、10% ウシ胎児血清 (FCS) を加えた Dulbecco 改変 Eagle 培地 (DMEM) での 37 °C、10% CO<sub>2</sub> 含有雰囲気における培養に維持した。細胞質 RNA を RNAzol B 方法 (Cinna / Biotecx, Friendswood, TX) を用いて抽出した。

【0174】

【表 7 - 1】

表 7

## ヒト pRb2 / p130 遺伝子のエキソン-イントロン境界

エキソン番号 (b p)	5' ドナー 配列	3' アクセプター 配列	イントロン番号 (b p)
1 (240)	ACGCTGGAG <sup>309</sup> gtgcgctcgc (配列番号:6)	tcttttacag <sup>310</sup> GGAAATGAT (配列番号:7)	1 (4220) (配列番号:66)
2 (131)	AGAGCAGAG <sup>440</sup> gtaactatgt (配列番号:8)	ttaataaccag <sup>441</sup> CTTAATCGA (配列番号:9)	2 (3507) (配列番号:67)
3 (201)	GAAACAGCG <sup>641</sup> gtaggttttc (配列番号:10)	tccccaaag <sup>642</sup> GCGACAGCC (配列番号:11)	3 (3865) (配列番号:48)
4 (65)	ATGCAAAAG <sup>706</sup> gtaagaaaat (配列番号:12)	aatcctgcag <sup>707</sup> GTAATTCC (配列番号:13)	4 (4576) (配列番号:49)
5 (129)	ATTTTAAAG <sup>835</sup> gtaggtttgt (配列番号:14)	acaccatag <sup>836</sup> GCTTATCTG (配列番号:15)	5 (1618) (配列番号:50)
6 (161)	GAAAAAAG <sup>996</sup> gtttgtaagt (配列番号:16)	ttcatcatag <sup>997</sup> CTCCTTAAG (配列番号:17)	6 (92) (配列番号:51)
7 (65)	AGAGAGGTTT <sup>1061</sup> gtgagtactt (配列番号:18)	ttcctatag <sup>1062</sup> TAAAGCCAT (配列番号:19)	7 (889) (配列番号:52)
8 (187)	TTTGACAAG <sup>1248</sup>	ttttcttttag <sup>1249</sup>	8 (4586)

10

20

30

40

【 0 1 7 5 】

【表 7 - 2】

	gigagtttag (配列番号:20)	TCCAAAGCA (配列番号:21)	(配列番号:53)	
9(167)	GATTCTTCAG <sup>1415</sup> gtagttga (配列番号:22)	gcttttttag <sup>1416</sup> GACATGTTC (配列番号:23)	9(2127) (配列番号:54)	
10(90)	GTGCTAAAG <sup>1525</sup> gtaattgtgc (配列番号:24)	atttctacag <sup>1526</sup> AAATTGCCA (配列番号:25)	10(716) (配列番号:55)	10
11(104)	GATTTATCT <sup>1629</sup> gtgagtaaaa (配列番号:26)	atthtatag <sup>1630</sup> GGTATTCTG (配列番号:27)	11(837) (配列番号:56)	
12(138)	TTTTATAAG <sup>1767</sup> gtatttcc (配列番号:28)	tttatttcag <sup>1768</sup> GTGATAGAA (配列番号:29)	12(1081) (配列番号:57)	20
13(165)	TGTGAAGAG <sup>1932</sup> gtgaaaatca (配列番号:30)	tcttcatag <sup>1933</sup> GTCATGCCA (配列番号:31)	13(1455) (配列番号:58)	
14(112)	TTGGAAGGA <sup>2044</sup> gtaagtttaa (配列番号:32)	ttgaccctag <sup>2045</sup> GCATAACAT (配列番号:33)	14(2741) (配列番号:59)	30
15(270)	CTGTGCAAG <sup>2314</sup> gtaaggaagg (配列番号:34)	ctgtcactag <sup>2315</sup> GTATTGCCA (配列番号:35)	15(197) (配列番号:60)	
16(281)	TTTAGAAAG <sup>2595</sup> gtaatttttc (配列番号:36)	tatctcctag <sup>2596</sup> GTATACCAT (配列番号:37)	16(82) (配列番号:61)	40
17(177)	ATGGCAAAG <sup>2772</sup> gtgagtacca (配列番号:38)	gtttgccag <sup>2773</sup> GTCACAAAA (配列番号:39)	17(1079) (配列番号:62)	

【表 7 - 3】

18(72)	CGGAGCCAG <sup>2844</sup> gtaactacat (配列番号:40)	ttctctaaag <sup>2845</sup> GTGTATAGA (配列番号:41)	18(659) (配列番号:63)
19(107)	AAGATAGAA <sup>2950</sup> gtgggatcct (配列番号:42)	ctggctgcag <sup>2951</sup> CCAGTAGAG (配列番号:43)	19(572) (配列番号:64)
20(202)	CAGGCAAAT <sup>3153</sup> gtaagtatga (配列番号:44)	tttttaaacag <sup>3154</sup> ATGGGATGC (配列番号:45)	20(901) (配列番号:65)
21(165)	CCTTCAAAG <sup>3318</sup> gtgagcctaa (配列番号:46)	cccaccatag <sup>3319</sup> AGACTGAGA (配列番号:47)	21(9837) (配列番号:68)
22(1517)	ホ <sup>3</sup> リアデ <sup>2</sup> ニル化シグ <sup>1</sup> ナルに		

10

20

## 【0177】

## B. プライマー伸長分析

pRb2/p130プロモーターを特徴付けるために、プライマー伸長分析をおこなって、転写開始部位を確認した。この分析のためのプライマーは、位置22から開始する、pRb2/p130ゲノムDNA配列に対して相補的な、オリゴヌクレオチド、5'ACCTCAGGTGAGGTGAGGGCCCGG3' (配列番号:114)であった(図4、配列番号:4を参照のこと)。このプライマーを[<sup>32</sup>P]ATPによって末端標識して、20μgのHeLa細胞質RNAによって42'において一晚ハイブリダイゼーションした。プライマー-アニーリングしたRNAを2mMデオキシヌクレオチドの存在下で42'において45分間、トリ骨髄芽球症ウイルス逆転写酵素によってcDNAに転化した。cDNA生成物を次に8M尿素を含有する7%シーケンスゲル(sequencing gel)上で分析した。得られた伸長生成物の長さから転写開始部位の位置をマッピングした。

30

## 【0178】

## C. シグナル スキャン プログラム

幾つかの転写因子結合モチーフをSIGNAL SCAN VERSION 4.0を用いて同定した。SIGNAL SCANはミネソタ大学のAdvanced Bioscience Computing Center (St. Paul, MN)によって開発されたコンピュータープログラムである。このプログラムは、分子生物学者がDNA配列における可能な転写因子結合部位と他の要素とを見いだすのを容易にする。このプログラムの完全な説明はPrestridge, D.S., CABIOS 7:203~206 (1991)に見いだすことができ、これの全開示は長々しく説明されているとしても本明細書に援用される。SIGNAL SCANは公開シグナル配列と未知配列との間の配列相同性を見いだす。本明細書で定義するがぎり、シグナルとは、周知の意義(known significance)を有する可能性がある任意の短いDNA配列である。大抵の既知シグナルは転写要素を表す。このプログラムは同定された相同性の意義を解明せず、同定された配列の意義の解釈は使用者に任される。シグナル要素の意義はシグナ

40

50

ルの長さによって変化し、短いセグメントに匹敵するもの ( m a t c h e s ) はランダム発生の高い見込みを有する。

【 0 1 7 9 】

D . プライマー伸長分析と S I G N A L S C A N との結果

図 5 は、p R b 2 / p 1 3 0 の転写開始部位を確認するためにおこなったプライマー伸長分析の結果を示す。鑄型として H e L a 細胞を用いておこなったプライマー伸長から 7 8 b p の主要な伸長フラグメントが検出された ( レーン 1 ) 。同定された転写開始部位の可能な位置は図 4 の矢印によって示される。推定転写因子結合部位は、既知転写因子結合部位の共通配列へのそれらの類似性によって同定された。S p 1、K e r 1 及び M y o D に相当する配列モチーフも図 4 に示される。

10

【 0 1 8 0 】

実施例 7 P C R による異型突然変異 ( h e t e r o z y g o u s m u t a t i o n ) の検出

A . ゲノム D N A の作製

本発明で用いるゲノム D N A はヒト末梢血液リンパ球から得た。サンプルは、S a m b r o o k 等の方法 [ M o l e c u l a r C l o n i n g : A L a b o r a t o r y M a n u a l , 第 2 版 , 9 . 1 6 ~ 9 . 2 3 頁 , C o l d S p r i n g H a r b o r L a b o r a t o r y P r e s s , C o l d S p r i n g H a r b o r , N Y ( 1 9 8 9 ) ] によって作製した。

20

【 0 1 8 1 】

B . P C R プライマーの合成

本明細書で用いる P C R プライマーは実施例 5 D に述べたように合成した。用いた特異的プライマー配列とそれらのアニーリング温度は表 8 に配列番号 : 6 9 ~ 1 1 2 として記載する。

【 0 1 8 2 】

【表 8 - 1】

表 8

増幅した エキソン	プライマー (5' ~ 3') の配列	アニーリング 温度 (°C)	PCR 生成物 サイズ (bp)	
エキソン 1	TTCGCCGTTTGAATTGCTGC (配列番号:93)	55	359	
エキソン 1(rev)	ACCGGTTCACACCAACTAGG (配列番号:94)			10
エキソン 2	GAGATAGGGTCATCATTGAAAC (配列番号:95)	55	206	
エキソン 2(rev)	CATTAGCCATACTCTACTTGT (配列番号:96)			
エキソン 3	GCTAATTAACTCTGTAAGTGC (配列番号:97)	55	327	20
エキソン 3(rev)	CACTGCAGCACAGACTAATGTGT (配列番号:98)			
エキソン 4	TCTCTCCCTTAACTGTGGGTTT (配列番号:99)	55	245	
エキソン 4(rev)	GGAGTTGACGAGATTAATACCTG (配列番号:100)			30
エキソン 5	CTCTGTAAGTCTTATAATCCTG (配列番号:69)	55	235	
エキソン 5(rev)	CTAGGAAACCTGTACAACTCC (配列番号:70)			
エキソン 6	GGCTTATTGTGTGCTGATATC	55	289	40

【 0 1 8 3 】

## 【表 8 - 2】

	(配列番号:71)			
エキソン 6(rev)	AGAGATCCTTAAGTCGTCATG			
	(配列番号:72)			
エキソン 7	CATGACGACTTAAGGATCTCTT	55	196	
	(配列番号:101)			10
エキソン 7(rev)	CTCAGTTTCCAGAGTACAAAC			
	(配列番号:102)			
エキソン 8	CAGTTTCTGTGAGAGAGTACA	55	283	
	(配列番号:73)			
エキソン 8(rev)	GGCTTACCTGCTCCTGTATTT			
	(配列番号:74)			
エキソン 9	GTGAATTAAGTCTTTCTGGCC	55	277	20
	(配列番号:103)			
エキソン 9(rev)	ATCTTAGAAAGCAGACAGGGC			
	(配列番号:104)			
エキソン 10	GAGACATTTTATCCCCTTGTG	55	289	
	(配列番号:105)			
エキソン 10(rev)	TCCATGCCTCCAGTCTAAAGT			30
	(配列番号:106)			
エキソン 11	GAGGAGGAATGGGCCTTTATT	55	244	
	(配列番号:75)			
エキソン 11(rev)	AACCCACAGAATAGGGCAGGA			
	(配列番号:76)			
エキソン 12	CACTTAAGTTGCACTGGGTA	55	273	40
	(配列番号:107)			
エキソン 12(rev)	CAACAGGAAGTTGGTCTCATC			
	(配列番号:108)			
エキソン 13	TAAAAGGAAGAGCGGCTGTTT	55	378	
	(配列番号:109)			

【表 8 - 3】

エキソン 13(rev)	TTAAACCTAACTGCCACCCTC			
	(配列番号:110)			
エキソン 14	GGATACTGGCATTCTGTGTAAC	55	197	
	(配列番号:77)			
エキソン 14(rev)	ATTTCCAGATAGTAAGCCCCA			10
	(配列番号:78)			
エキソン 15	AGCTTGGACGGAAGTCAGATC	55	413	
	(配列番号:79)			
エキソン 15(rev)	TCTAGCCAAACCTCGGGTAAC			
	(配列番号:80)			
エキソン 16	AATTGTAAACCTCTGCCC	55	394	20
	(配列番号:81)			
エキソン 16(rev)	ATTTCCAAGCTCATGCT			
	(配列番号:82)			
エキソン 17	AGCATGAGCTTGGGAAAT	55	277	
	(配列番号:83)			
エキソン 17(rev)	TGAAGACCTATCTTTGCC			30
	(配列番号:84)			
エキソン 18	G TTCACAGAGCTCCTCACACT	55	230	
	(配列番号:85)			
エキソン 18(rev)	AGGCCACAGAGTCAACTATGG			
	(配列番号:86)			
エキソン 19	AGGTCCTATCACCAAGGGTGT	55	250	40
	(配列番号:87)			
エキソン 19(rev)	GCTTAGTACTTCTTCAAGGC			
	(配列番号:88)			
エキソン 20	GTAGCTGTTCCCTTTCTCCTA	55	364	
	(配列番号:89)			
エキソン 20(rev)	CCTCAACACTCATGAGAGTGA			

## 【表 8 - 4】

	(配列番号:90)		
エキソン 21	TGGTTTAGCACACCTCTTCAC	55	325
	(配列番号:91)		
エキソン 21(rev)	GCTTAGCACAAACCCTGTTTC		
	(配列番号:92)		
エキソン 22	CTGAGCTATGTGCATTTGCA	55	232
	(配列番号:111)		
エキソン 22(rev)	AAGGCTGCTGCTAAACAGAT		
	(配列番号:112)		

10

## 【0186】

C. PCR 増幅

サンプルDNAをPerkin-Elmer Cetusサーモサイクラー(thermocycler)において増幅した。2.5単位の組換えTaqDNAポリメラーゼと40ngのゲノムDNAとを用いて、100 $\mu$ l反応量でPCRを実施した。GeneAmp DNA Amplificationキット(Perkin-Elmer Cetus)に与えられた勧告に従って、反応混合物を調製した。この反応混合物は50mM/lのKClと、10mM/lのTris-HCl(pH8.3)と、1.5mM MgCl<sub>2</sub>と、200 $\mu$ Mの各デオキシヌクレオチド三リン酸と、1 $\mu$ Mの各プライマーとから成るものであった。35PCRサイクルをおこなった、各サイクルは90 における1分間と、アニーリング温度(55 )における1分間の初期変性工程と、72 における1分間の伸長工程と、その後の72 における7分間の最終インキュベーション期間とから成るものであった。本発明によって設計される各プライマーに関する、適当なアニーリング温度を表8に示す。本発明によって設計される他のプライマーに対処するために、アニーリング温度を微細調整することができる。

20

30

## 【0187】

D. PCRの増幅生成物

PCRによって生成される増幅生成物のサイズを上記表8に示す。PCR生成物の長さは196bp~413bpの範囲であった。

## 【0188】

E. PCR生成物の配列決定

pRb2/p130の増幅生成物の配列決定を、上記実施例5Cに記載した方法に従っておこなうことができる。配列決定は、Sanger等のProc. Natl. Acad. Sci., USA. 74:5463~5467(1977)、又はSambrook等のMolecular Cloning: A Laboratory Manual, 第2版, 13.42~13.77, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY(1989)によって述べられているチェーンターミネーション法によって、本明細書に述べるpRb2/p130ゲノム配列に基づく適当なプライマーを用いておこなうこともできる。

40

## 【0189】

実施例8 SSCP分析による突然変異の検出A. 一般的方法

SSCP分析はOrita等の方法[Genomics, 5:874~879(1989)]及びHogg等の方法[Oncogene, 7:1445~1451(1992)]

50

]によっておこなった、これらの文献の各々は本明細書に援用される。SSCP分析に関して、個々のエキソンの増幅を幾つかの実験において実施例7に述べたように、但し、この場合には、標識生成物を得るために $1\mu\text{Ci}$ の $[^3\text{P}]\text{dCTP}$  ( $3000\text{Ci}/\text{mol}$ )を加えて、おこなった。PCR増幅生成物の10%アリコートをして $10\sim 20\mu\text{l}$ の0.1%SDSと10mMEDTAとの混合物によって希釈した。95%ホルムアミドと、2mMEDTAと、0.05%プロモフェノールブルーと、0.05%キシレンシアノール負荷溶液(United States Biochemicals, OH)とによって1:1希釈した後に、希釈したサンプルを6%非変性ゲル上でランした。DNAをTBE ( $0.09\text{M}$  Tris塩基、 $0.09\text{M}$  ホウ酸及び $2.5\text{mMEDTA}$ )ランニング緩衝液(running buffer)中で一定ワット数において室温で電気泳動した。ゲルを濾紙上で乾燥させ、X線フィルムに増感スクリーンなしに $12\sim 72$ 時間暴露させた。

#### 【0190】

変性PCR増幅生成物の電気泳動移動パターンにおけるシフトを、対応する野生型サンプル又は同じ患者からの正常組織サンプルと比較して観察することによって、多形と突然変異とを検出した。バンドシフトが同定されたならば、セグメントを配列決定して、多形又は突然変異の正確な性質を確認した。

#### 【0191】

##### B. CCRF - CEM細胞系統におけるpRb2 / p130遺伝子突然変異の検出

DNAをCCRF - CEM系統(ヒトリンパ芽球細胞)から抽出して、増幅した。増幅のために、4ngのゲノムDNAと、0.2mMの各デオキシヌクレオチド三リン酸と、2単位のTaqポリメラーゼと、0.4 $\mu\text{M}$ の各プライマーとを含有するPCR反応混合物 $50\mu\text{l}$ を用いた。変性(95、1分間)、アニーリング(55、1分間)及び伸長(72、1分間)の55サイクルをサーマルサイクラーにおいておこなった。SSCP分析はMDE突然変異検出キット(AT Biochem)を用いておこなった。PCR生成物を95において2分間加熱してから、氷上に数分間直接置いた。サンプルを0.6XTBEランニング緩衝液中で8ワットの一定電力において室温でMDEゲルに通して8時間ランした。ゲルを0.6XTBE緩衝液中で製造された $1\mu\text{g}/\text{ml}$ の臭化エチジウム溶液中で室温において15分間染色してから、UV-トランスイルミネーター上に置いて、バンドを可視化した。エキソン20は対照に比べて異なった移動を示し、このことは突然変異の存在を示唆した。

#### 【0192】

PCR生成物の配列を、ジデオキシターミネーター反応化学を用いる自動化DNA配列決定法によって決定した。2種類の点突然変異が同定された：配列番号：1の2950位置におけるA C CからG C Cへ、スレオニンのアラニン置換を生じる；配列番号：1の3029位置におけるC C TからC G Tへ、プロリンのアルギニン置換を生じる。

#### 【0193】

##### C. 他の細胞系統におけるpRb2 / p130遺伝子突然変異の検出

上述したSSCPとDNA配列決定法とを用いて、pRb2 / p130遺伝子における突然変異を次のヒト腫瘍細胞系統において同定した：

Jurkat細胞系統(ヒト白血病、T細胞リンパ芽球)：エキソン22における点突然変異；

K562細胞系統(ヒト慢性骨髄性白血病、赤芽球細胞(erythroblastoid cell))：エキソン22における点突然変異、エキソン21における欠失；

Molt-4細胞系統(ヒトT細胞白血病、末梢血リンパ芽球)：エキソン21における点突然変異、エキソン22における突然変異(単数又は複数)；

Daudi細胞系統(ヒト甲状腺リンパ腫、リンパ芽球B細胞)：エキソン19における点突然変異と挿入、エキソン21における点突然変異と挿入、エキソン22における突然変異(単数又は複数)；

Cem細胞系統(リンパ芽球細胞系統、Tリンパ球)：エキソン20における突然変異

10

20

30

40

50

(単数又は複数)、エキソン22における点突然変異と挿入；

S a o s - 2細胞系統(ヒト原発性骨原性肉腫)：エキソン21における点突然変異と挿入、エキソン22における点突然変異と挿入；

U 2 - O s細胞系統(ヒト原発性骨原性肉腫)：エキソン19と20における点突然変異、エキソン22における点突然変異と挿入；

M G 6 3細胞系統(ヒト骨肉腫)：エキソン19における点突然変異；

H o s細胞系統(ヒト骨原性肉腫、T E 8 5)：エキソン19における点突然変異、エキソン22における挿入；

U 1 7 5 2細胞系統(ヒト肺腫瘍)：エキソン19における点突然変異、エキソン21における点突然変異と挿入、エキソン22における点突然変異と挿入； H 6 9細胞系統

(ヒト肺腫瘍)：エキソン21における点突然変異；

H 8 2細胞系統(ヒト肺腫瘍)：エキソン21における点突然変異；及び

H o n e細胞系統(ヒト鼻咽頭癌)：エキソン21における突然変異と挿入、エキソン22における突然変異(単数又は複数)。

【0194】

D. 原発性腫瘍におけるp R b 2 / p 1 3 0遺伝子突然変異の検出

上述したSSCPとDNA配列決定法とを用いて、p R b 2 / p 1 3 0遺伝子における突然変異を次の原発性ヒト腫瘍において同定した：

1 3 N P C 原発性腫瘍(ヒト鼻咽頭癌)：エキソン21における点突然変異、エキソン22における点突然変異と挿入；及び

5 N P C 原発性腫瘍(ヒト鼻咽頭癌)：エキソン22における点突然変異と挿入。

【0195】

実施例9 PRINS法による突然変異の検出

PRINS法を、Cinti等、Nuc. Acids Res. 21巻, 24号, 5799~5800(1993)の方法に従って、ゲノムDNAの供給源としてヒト末梢リンパ球を用いておこなった。オリゴヌクレオチドプライマーを、それらがイントロン隣接エキソン20の一部を含むように設計した。エキソン20を増幅するために用いたプライマーの配列は上記表8に記載する(配列番号：89と90)。

【0196】

PHA刺激末梢血リンパ球からのヒト固定中期染色体又は間期核をガラススライド上に広げて、10日間風乾した。DNAをエタノールシリーズ(70%、90%及び100%)中で脱水してから、94℃に5分間加熱することによって変性させた。200 pmolの各オリゴヌクレオチドと、5 µlの10X PCR緩衝液I (Ampli Taq、Perkin-Elmer)と、2 µlのDIG DNA標識用混合物(1 mM dATP、1 mM dCTP、1 mM dGTP、0.65 mM dTTP、0.35 mM DIG-dUTP、Boehringer-Mannheim)と、2単位のTaq I DNAポリメラーゼ(Ampli Taq、Perkin-Elmer)とを含有する反応混合物を用いて、サンプルを55℃において10分間、72℃において30分間インキュベートした。本発明に従って設計される他のプライマーに適したアニーリング温度を表8に示す。次に、サンプルを2X SSC (pH 7.0)中と4X SSC (pH 7.0)中で室温において5分間、2回洗浄した。次に、DNAサンプルを4X SSCと0.5%ウシ血清アルブミン(BSA)との溶液(pH 7.0)中に入れて、抗ジゴキシゲニン-FITC (Boehringer-Mannheim)と共に室温において45分間インキュベートし、4X SSCと0.5% BSA (pH 7.0) (pH 7.0)中で1:100に希釈した。4X SSCと0.05% Triton X-100中でサンプルを洗浄した後に、サンプルを1 µg/mlのPropidium Iodide (PI)によってカウンター染色した。

【0197】

スライドをConfocal Laser Scanning Microscope (CLSM Sarastro, Molecular Dynamics)下で調べた。

FITCとPIシグナルが、独立的に生成されて、同時に検出された、最終プロジェクション ( projection ) を、Silicon Graphic Computer Personal IRIS - 4D / 20ワークステーション ( workstation ) によってスーパーインポーズした。

【0198】

図6は、正常なヒト間期核に対するPRINS反応の結果を示す。ブライトスポット ( bright spot ) はpRb2 / p130のエキソン20を含有するDNAセグメントに相当する。この個体はpRb2 / p130のエキソン20の存在に関して同型接合体 ( homozygous ) である。この個体のエキソン20に突然変異が存在したならば、これらの部位の一方又は両方が強度を減じたか、又はその全体において目視不能であったと思われる。

10

【0199】

この突然変異の正確な性質を決定するために、患者のpRb2 / p130DNAセグメントを当業者に公知の方法によって配列決定し、pRb2 / p130DNAの野生型サンプルと比較することが考えられる。

【0200】

本明細書に引用した参考文献の全ては本明細書に援用される。本明細書に開示した方法、手段及びテクニックを実施するために必要な試薬、組成物及び供給品 ( supplies ) の全てはキットとして提供することができる。このようなキットも本発明の別の実施態様である。

20

【0201】

本発明が上記目的と利益、並びに本発明に固有の目的と利益を果たすために十分に適合することは、当業者が容易に理解するであろう。本明細書に述べる核酸、組成物、方法、手段及びテクニックは好ましい実施態様の代表的なものとして提示され、例示であると意図され、本発明の範囲に対する限定とは意図されない。本発明はその要旨又は本質的な特質から逸脱せずに他の特定の形式で具体化されることができるので、本発明の範囲を定義するものとして、上記明細書ではなく、添付請求の範囲を参照すべきである。

【表 9 - 1】

配列表

(2) 配列情報 SEQ ID NO:1:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 4853 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: cDNA

(ix) 特徴:

- (A) NAME/KEY: CDS
- (B) 存在位置: 70..3489

(xi) 配列: SEQ ID NO:1:

```

TTCGCCGTTT GAATTGCTGC GGGCCCGGGC CCTCACCTCA CCTGAGGTCC GGCCGCCAG 60
GGGTGCGCT ATG CCG TCG GGA GGT GAC CAG TCG CCA CCG CCC CCG CCT 108
Met Pro Ser Gly Gly Asp Gln Ser Pro Pro Pro Pro Pro
1 5 10
CCC CCT CCG GCG GCG GCA GCC TCG GAT GAG GAG GAG GAG GAC GAC GGC 156
Pro Pro Pro Ala Ala Ala Ala Ser Asp Glu Glu Glu Glu Asp Asp Gly
15 20 25
GAG GCG GAA GAC GCC GCG CCG TCT GCC GAG TCG CCC ACC CCT CAG ATC 204
Glu Ala Glu Asp Ala Ala Pro Ser Ala Glu Ser Pro Thr Pro Gln Ile
30 35 40 45
CAG CAG CGG TTC GAC GAG CTG TGC AGC CGC CTC AAC ATG GAC GAG GCG 252
Gln Gln Arg Phe Asp Glu Leu Cys Ser Arg Leu Asn Met Asp Glu Ala
50 55 60
GCG CGG CCC GAG GCC TGG GAC AGC TAC CGC AGC ATG AGC GAA AGC TAC 300
Ala Arg Pro Glu Ala Trp Asp Ser Tyr Arg Ser Met Ser Glu Ser Tyr
65 70 75
ACG CTG GAG GGA AAT GAT CTT CAT TGG TTA GCA TGT GCC TTA TAT GTG 348
Thr Leu Glu Gly Asn Asp Leu His Trp Leu Ala Cys Ala Leu Tyr Val
80 85 90
GCT TGC AGA AAA TCT GTT CCA ACT GTA AGC AAA GGG ACA GTG GAA GGA 396
Ala Cys Arg Lys Ser Val Pro Thr Val Ser Lys Gly Thr Val Glu Gly
95 100 105
AAC TAT GTA TCT TTA ACT AGA ATC CTG AAA TGT TCA GAG CAG AGC TTA 444
Asn Tyr Val Ser Leu Thr Arg Ile Leu Lys Cys Ser Glu Gln Ser Leu
110 115 120 125
ATC GAA TTT TTT AAT AAG ATG AAG AAG TGG GAA GAC ATG GCA AAT CTA 492
Ile Glu Phe Phe Asn Lys Met Lys Lys Trp Glu Asp Met Ala Asn Leu
130 135 140
CCC CCA CAT TTC AGA GAA CGT ACT GAG AGA TTA GAA AGA AAC TTC ACT 540
Pro Pro His Phe Arg Glu Arg Thr Glu Arg Leu Glu Arg Asn Phe Thr
145 150 155
GTT TCT GCT GTA ATT TTT AAG AAA TAT GAA CCC ATT TTT CAG GAC ATC 588
Val Ser Ala Val Ile Phe Lys Lys Tyr Glu Pro Ile Phe Gln Asp Ile
160 165 170
TTT AAA TAC CCT CAA GAG GAG CAA CCT CGT CAG CAG CGA GGA AGG AAA 636
Phe Lys Tyr Pro Gln Glu Glu Gln Pro Arg Gln Gln Arg Gly Arg Lys
175 180 185
CAG CGG CGA CAG CCC TGT ACT GTG TCT GAA ATT TTC CAT TTT TGT TGG 684
Gln Arg Arg Gln Pro Cys Thr Val Ser Glu Ile Phe His Phe Cys Trp
190 195 200 205
GTG CTT TTT ATA TAT GCA AAA GGT AAT TTC CCC ATG ATT AGT GAT GAT 732

```

10

20

30

40





【表 9 - 4】

Ala	Gln	Ala	Leu	Ala	Gly	Ser	Leu	Ser	Ser	Gln	Gln	Val	Thr	Gly	Thr		
			785					790					795				
ACT	TTG	CAA	GTC	CCT	GGT	CAA	GTG	GCC	ATT	CAA	CAG	ATT	TCC	CCA	GGT	2508	
Thr	Leu	Gln	Val	Pro	Gly	Gln	Val	Ala	Ile	Gln	Gln	Ile	Ser	Pro	Gly		
			800					805					810				
GGC	CAA	CAG	CAG	AAG	CAA	GGC	CAG	TCT	GTA	ACC	AGC	AGT	AGT	AAT	AGA	2556	
Gly	Gln	Gln	Gln	Lys	Gln	Gly	Gln	Ser	Val	Thr	Ser	Ser	Ser	Asn	Arg		
			815				820						825				
CCC	AGG	AAG	ACC	AGC	TCT	TTA	TCG	CTT	TTC	TTT	AGA	AAG	GTA	TAC	CAT	2604	10
Pro	Arg	Lys	Thr	Ser	Ser	Leu	Ser	Leu	Phe	Phe	Arg	Lys	Val	Tyr	His		
							835						840		845		
TTA	GCA	GCT	GTC	CGC	CTT	CGG	GAT	CTC	TGT	GCC	AAA	CTA	GAT	ATT	TCA	2652	
Leu	Ala	Ala	Val	Arg	Leu	Arg	Asp	Leu	Cys	Ala	Lys	Leu	Asp	Ile	Ser		
							850						855		860		
GAT	GAA	TTG	AGG	AAA	AAA	ATC	TGG	ACC	TGC	TTT	GAA	TTC	TCC	ATA	ATT	2700	
Asp	Glu	Leu	Arg	Lys	Lys	Ile	Trp	Thr	Cys	Phe	Glu	Phe	Ser	Ile	Ile		
							865						870		875		
CAG	TGT	CCT	GAA	CTT	ATG	ATG	GAC	AGA	CAT	CTG	GAC	CAG	TTA	TTA	ATG	2748	
Gln	Cys	Pro	Glu	Leu	Met	Met	Asp	Arg	His	Leu	Asp	Gln	Leu	Leu	Met		
							880						885		890		
TGT	GCC	ATT	TAT	GTG	ATG	GCA	AAG	GTC	ACA	AAA	GAA	GAT	AAG	TCC	TTC	2796	20
Cys	Ala	Ile	Tyr	Val	Met	Ala	Lys	Val	Thr	Lys	Glu	Asp	Lys	Ser	Phe		
							895						900		905		
CAG	AAC	ATT	ATG	CGT	TGT	TAT	AGG	ACT	CAG	CCG	CAG	GCC	CGG	AGC	CAG	2844	
Gln	Asn	Ile	Met	Arg	Cys	Tyr	Arg	Thr	Gln	Pro	Gln	Ala	Arg	Ser	Gln		
							910						915		920		925
GTG	TAT	AGA	AGT	GTT	TTG	ATA	AAA	GGG	AAA	AGA	AAA	AGA	AGA	AAT	TCT	2892	
Val	Tyr	Arg	Ser	Val	Leu	Ile	Lys	Gly	Lys	Arg	Lys	Arg	Arg	Asn	Ser		
							930						935		940		
GGC	AGC	AGT	GAT	AGC	AGA	AGC	CAT	CAG	AAT	TCT	CCA	ACA	GAA	CTA	AAC	2940	
Gly	Ser	Ser	Asp	Ser	Arg	Ser	His	Gln	Asn	Ser	Pro	Thr	Glu	Leu	Asn		
							945						950		955		
AAA	GAT	AGA	ACC	AGT	AGA	GAC	TCC	AGT	CCA	GTT	ATG	AGG	TCA	AGC	AGC	2988	30
Lys	Asp	Arg	Thr	Ser	Arg	Asp	Ser	Ser	Pro	Val	Met	Arg	Ser	Ser	Ser		
							960						965		970		
ACC	TTG	CCA	GTT	CCA	CAG	CCC	AGC	AGT	GCT	CCT	CCC	ACA	CCT	ACT	CGC	3036	
Thr	Leu	Pro	Val	Pro	Gln	Pro	Ser	Ser	Ala	Pro	Pro	Thr	Pro	Thr	Arg		
							975						980		985		
CTC	ACA	GGT	GCC	AAC	AGT	GAC	ATG	GAA	GAA	GAG	GAG	AGG	GGA	GAC	CTC	3084	
Leu	Thr	Gly	Ala	Asn	Ser	Asp	Met	Glu	Glu	Glu	Glu	Arg	Gly	Asp	Leu		
							990						995		1000		1005
ATT	CAG	TTC	TAC	AAC	AAC	ATC	TAC	ATC	AAA	CAG	ATT	AAG	ACA	TTT	GCC	3132	
Ile	Gln	Phe	Tyr	Asn	Asn	Ile	Tyr	Ile	Lys	Gln	Ile	Lys	Thr	Phe	Ala		
							1010						1015		1020		
ATG	AAG	TAC	TCA	CAG	GCA	AAT	ATG	GAT	GCT	CCT	CCA	CTC	TCT	CCC	TAT	3180	40
Met	Lys	Tyr	Ser	Gln	Ala	Asn	Met	Asp	Ala	Pro	Pro	Leu	Ser	Pro	Tyr		
							1025						1030		1035		
CCA	TTT	GTA	AGA	ACA	GGC	TCC	CCT	CGC	CGA	ATA	CAG	TTG	TCT	CAA	AAT	3228	
Pro	Phe	Val	Arg	Thr	Gly	Ser	Pro	Arg	Arg	Ile	Gln	Leu	Ser	Gln	Asn		
							1040						1045		1050		
CAT	CCT	GTC	TAC	ATT	TCC	CCA	CAT	AAA	AAT	GAA	ACA	ATG	CTT	TCT	CCT	3276	
His	Pro	Val	Tyr	Ile	Ser	Pro	His	Lys	Asn	Glu	Thr	Met	Leu	Ser	Pro		
							1055						1060		1065		
CGA	GAA	AAG	ATT	TTC	TAT	TAC	TTC	AGC	AAC	AGT	CCT	TCA	AAG	AGA	CTG	3324	

【表 9 - 5】

Arg Glu Lys Ile Phe Tyr Tyr Phe Ser Asn Ser Pro Ser Lys Arg Leu  
 1070 1075 1080 1085  
 AGA GAA ATT AAT AGT ATG ATA CGC ACA GGA GAA ACT CCT ACT AAA AAG 3372  
 Arg Glu Ile Asn Ser Met Ile Arg Thr Gly Glu Thr Pro Thr Lys Lys  
 1090 1095 1100  
 AGA GGA ATT CTT TTG GAA GAT GGA AGT GAA TCA CCT GCA AAA AGA ATT 3420  
 Arg Gly Ile Leu Leu Glu Asp Gly Ser Glu Ser Pro Ala Lys Arg Ile  
 1105 1110 1115  
 TGC CCA GAA AAT CAT TCT GCC TTA TTA CGC CGT CTC CAA GAT GTA GCT 3468  
 Cys Pro Glu Asn His Ser Ala Leu Leu Arg Arg Leu Gln Asp Val Ala  
 1120 1125 1130  
 AAT GAC CGT GGT TCC CAC TGA GGTTAGTCTC TTGTATTA AAA CTCTTCACAA 3519  
 Asn Asp Arg Gly Ser His \*  
 1135 1140  
 AATCTGTTTA GCAGCAGCCT TTAATGCATC TAGATTATGG AGCTTTTTTC CTTAATCCAG 3579  
 CTGATGAGTT ACAGCCTGTT AGTAACATGA GGGGACATTT TGGTGAGAAA TGGGACTTAA 3639  
 CTCCTCCAG TGTCTTAGA ACATTTAAT TCATCCCAAC TGTCTTTTTT TCCCTACCAC 3699  
 TCAGTGATTA CTGTCAAGGC TGCTTACAAT CCAAACCTGG GTTTTTGGCT CTGGCAAAGC 3759  
 TTTTAGAAT ACTGCAAGAA ATGATGTGTA CCAACGCTGA GCATAGGAGG CTTCTGTTGA 3819  
 CGTCTCCAAC AGAAGAACTG TGTTC AAGT TCAATCCTAC CTGTTTTGTG GTCAGCTGTA 3879  
 GTCCTCATAA AAAGCAAAC AAAAATTAGG TATTTTGTC TAAAACACCT GGTAGGAGTG 3939  
 TGTGATTTTT TGCATTCCTG ACAAGGAGA GCACACCCAG GTTTGGAGGT CCTAGGTCAT 3999  
 TAGCCCTCGT CTCCCGTCC CTTTGTGCAC ATCTCCCTC TCCCATTCG GTGTGGTGCA 4059  
 GTGTGAAAAG TCCTTGATTG TTCGGGTGTG CAATGTCTGA GTGAACCTGT ATAAGTGGAG 4119  
 GCACTTTAGG GCTGTAAAA GCATGATTTT GTAACCCAGA TTTTGCTGTA TATTTGTGAT 4179  
 AGCACTTTCT ACAATGTGAA CTTTATTA AAA TACAAA ACTT CCAGGCTAAA CATCCAATAT 4239  
 TTTCTTTAAT GCTTTTATAT TTTTTTAAAA TGTTAAAACC CCTATAGCCA CCTTTTGGGA 4299  
 ATGTTTTAAA TTCTCCAGTT TTTTGTATA TAGGGATCAA CCAGCTAAGA AAAGATTTTA 4359  
 AGTCAAGTTG AATTGAGGGG ATTAATATGA AACTTATGA CCTCTTCCTT TAGGAGGGAG 4419  
 TTATCTAAAA GAAATGTCTA TTAAGGTGAT ATATTTAAAA ATATTTTTGG GTGTTCTG 4479  
 CAGTTTAAAA AAATTGGTTG GAGAATTTAG GTTTTTATTA GTACCATAGT ACCATTTATA 4539  
 CAAATTAGAA AATGTTATTT AACAGCTGAA TTATCTATAC ATATCTTTAT TAATCACTAT 4599  
 TGTTCCAGCA GTTTCAAGT CAAATTAATA ATCTTATTAG GGAGAAAATT CAATTGTA AAA 4659  
 TTGAATCAGT ATAAACAAG TTAAGTGGTA ACTTCATATT GCTGAGAGAA ATATGGA ACT 4719  
 TACATTGTT C AATTAGAATA GTGTTCTCCC CAAATATTTA TAAA ACTTCT CAAGATACTG 4779  
 CTACGTGTAA TTTTATATGA AGATAAGTGT ATTTTCAAT AAAGCATTTA TAAATTA AAA 4839  
 AAAAAAAAAA AAAA  
 4853

10

20

30

(2) 配列情報 SEQ ID NO:2:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 1140 アミノ酸
- (B) 型: アミノ酸
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: タンパク質

(xi) 配列: SEQ ID NO:2:

Met Pro Ser Gly Gly Asp Gln Ser Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro  
 1 5 10 15  
 Ala Ala Ala Ala Ser Asp Glu Glu Glu Glu Asp Asp Gly Glu Ala Glu  
 20 25 30  
 Asp Ala Ala Pro Ser Ala Glu Ser Pro Thr Pro Gln Ile Gln Gln Arg  
 35 40 45  
 Phe Asp Glu Leu Cys Ser Arg Leu Asn Met Asp Glu Ala Ala Arg Pro  
 50 55 60  
 Glu Ala Trp Asp Ser Tyr Arg Ser Met Ser Glu Ser Tyr Thr Leu Glu

40







【表 9 - 9】

CTTGAACCGC CGGCCTGGAC TACGTTTCCC AGCAGCCCGT GCTCAAGACT ACGGGTGCCT 180  
 GCAGGCGGTC ACGGTCGTTT GCGACGGCGC AGACGCGGTG CGGGCGGGCG ACGGCGGGC 240  
 GCTTCGCGGT TTGAATTGCT GCGGGCCCGG GCCCTCACCT CACCTGAGGT CCGGCCGCC 300  
 AGGGGTGCGC T ATG CCG TCG GGA GGT GAC CAG TCG CCA CCG CCC CCG CCT 350

Met Pro Ser Gly Gly Asp Gln Ser Pro Pro Pro Pro Pro

1 5 10

CCC CCT CCG GCG GCG GCA GCC TCG GAT GAG GAG GAG GAG GAC GAC GGC 398  
 Pro Pro Pro Ala Ala Ala Ala Ser Asp Glu Glu Glu Glu Asp Asp Gly

15 20 25

GAG GCG GAA GAC GCC GCG CCG TCT GCC GAG TCG CCC ACC CCT CAG ATC 446  
 Glu Ala Glu Asp Ala Ala Pro Ser Ala Glu Ser Pro Thr Pro Gln Ile

CAG CAG CGG TTC GAC GAG CTG TGC AGC CGC CTC AAC ATG GAC GAG GCG 494  
 Gln Gln Arg Phe Asp Glu Leu Cys Ser Arg Leu Asn Met Asp Glu Ala

30 35 40 45

GCG CGG CCC GAG GCC TGG GAC AGC TAC CGC AGC ATG AGC GAA AGC TAC 542  
 Ala Arg Pro Glu Ala Trp Asp Ser Tyr Arg Ser Met Ser Glu Ser Tyr

50 55 60

ACG CTG GAG GTGCGCTCGC

561

Thr Leu Glu

80

(2) 配列情報 SEQ ID NO:5:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 80 アミノ酸
- (B) 型: アミノ酸
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: タンパク質

(xi) 配列: SEQ ID NO:5:

Met Pro Ser Gly Gly Asp Gln Ser Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro Pro  
 1 5 10 15

Ala Ala Ala Ala Ser Asp Glu Glu Glu Glu Asp Asp Gly Glu Ala Glu  
 20 25 30

Asp Ala Ala Pro Ser Ala Glu Ser Pro Thr Pro Gln Ile Gln Gln Arg  
 35 40 45

Phe Asp Glu Leu Cys Ser Arg Leu Asn Met Asp Glu Ala Ala Arg Pro  
 50 55 60

Glu Ala Trp Asp Ser Tyr Arg Ser Met Ser Glu Ser Tyr Thr Leu Glu  
 65 70 75 80

(2) 配列情報 SEQ ID NO:6:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 19 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:6:

ACGCTGGAGG TGGCTCGC

19

(2) 配列情報 SEQ ID NO:7:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 19 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖

10

20

30

40

## 【表 9 - 1 0】

(D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: DNA (genomic) (xi) 配列: SEQ ID NO:7: TCTTTTACAG GGAAATGAT 19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:8: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 19 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 二本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: DNA (genomic) (xi) 配列: SEQ ID NO:8: AGAGCAGAGG TAACTATGT 19	10
(2) 配列情報 SEQ ID NO:9: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 19 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 二本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: DNA (genomic) (xi) 配列: SEQ ID NO:9: TTAATACCAG CTTAATCGA 19	20
(2) 配列情報 SEQ ID NO:10: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 19 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 二本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: DNA (genomic) (xi) 配列: SEQ ID NO:10: GAAACAGCGG TAGGTTTTC 19	30
(2) 配列情報 SEQ ID NO:11: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 19 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 二本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: DNA (genomic) (xi) 配列: SEQ ID NO:11: TCCCCAAAG GCGACAGCC 19	40
(2) 配列情報 SEQ ID NO:12: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 19 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 二本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: DNA (genomic) (xi) 配列: SEQ ID NO:12: ATGCAAAAGG TAAGAAAAT	

【表 9 - 1 1】

19		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:13:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 19 塩基対		
(B) 型: 核酸		
(C) 鎖の数: 二本鎖		
(D) トポロジー: 直鎖状		
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)		
(xi) 配列: SEQ ID NO:13:		
AATCCTGCAG GTAATTTCC		10
19		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:14:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 19 塩基対		
(B) 型: 核酸		
(C) 鎖の数: 二本鎖		
(D) トポロジー: 直鎖状		
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)		
(xi) 配列: SEQ ID NO:14:		
ATTTTAAAGG TAGGTTTGT		20
19		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:15:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 18 塩基対		
(B) 型: 核酸		
(C) 鎖の数: 二本鎖		
(D) トポロジー: 直鎖状		
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)		
(xi) 配列: SEQ ID NO:15:		
ACACCATAGG CTTATCTG		30
18		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:16:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 19 塩基対		
(B) 型: 核酸		
(C) 鎖の数: 二本鎖		
(D) トポロジー: 直鎖状		
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)		
(xi) 配列: SEQ ID NO:16:		
GAAAAAAGG TTTGTAAGT		40
19		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:17:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 19 塩基対		
(B) 型: 核酸		
(C) 鎖の数: 二本鎖		
(D) トポロジー: 直鎖状		
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)		
(xi) 配列: SEQ ID NO:17:		
TTCATCATAG CTCCTTAAG		
19		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:18:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 19 塩基対		

## 【表 9 - 1 2】

(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 二本鎖	
(D) トポロジ: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:18:	
AGAGAGTTTG TGAGTACTT	
19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:19:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 18 塩基対	10
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 二本鎖	
(D) トポロジ: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:19:	
TTCCTATAGT AAAGCCAT	
18	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:20:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 19 塩基対	
(B) 型: 核酸	20
(C) 鎖の数: 二本鎖	
(D) トポロジ: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:20:	
TTTGACAAGG TGAGTTTAG	
19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:21:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 19 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 二本鎖	
(D) トポロジ: 直鎖状	30
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:21:	
TTTTCTTTAG TCCAAAGCA	
19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:22:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 19 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 二本鎖	
(D) トポロジ: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	40
(xi) 配列: SEQ ID NO:22:	
GATTCTCAGG TTAGTTTGA	
19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:23:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 19 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 二本鎖	
(D) トポロジ: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	

【表 9 - 1 3】

(xi) 配列: SEQ ID NO:23: CCTTTTTAG GACATGTC 19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:24: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 19 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 二本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: DNA (genomic)	10
(xi) 配列: SEQ ID NO:24: GTGCTAAAGG TAATTGTGC 19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:25: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 19 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 二本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:25: ATTTCTACAG AAATTGCCA 19	20
(2) 配列情報 SEQ ID NO:26: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 19 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 二本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:26: GATTTATCTG TGAGTAAAA 19	30
(2) 配列情報 SEQ ID NO:27: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 18 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 二本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:27: ATTTTATAGG GTATTCTG 18	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:28: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 19 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 二本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: DNA (genomic)	40
(xi) 配列: SEQ ID NO:28: TTTTATAAGG TATTTCCCA 19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:29:	

【表 9 - 1 4】

<p>(i) 配列の特性:</p> <p>(A) 長さ: 19 塩基対</p> <p>(B) 型: 核酸</p> <p>(C) 鎖の数: 二本鎖</p> <p>(D) トポロジー: 直鎖状</p> <p>(ii) 配列の種類: DNA (genomic)</p> <p>(xi) 配列: SEQ ID NO:29:</p> <p>TTTATTTTCAG GTGATAGAA</p> <p>19</p>	10
<p>(2) 配列情報 SEQ ID NO:30:</p> <p>(i) 配列の特性:</p> <p>(A) 長さ: 19 塩基対</p> <p>(B) 型: 核酸</p> <p>(C) 鎖の数: 二本鎖</p> <p>(D) トポロジー: 直鎖状</p> <p>(ii) 配列の種類: DNA (genomic)</p> <p>(xi) 配列: SEQ ID NO:30:</p> <p>TGTGAAGAGG TGAAAATCA</p> <p>19</p>	10
<p>(2) 配列情報 SEQ ID NO:31:</p> <p>(i) 配列の特性:</p> <p>(A) 長さ: 18 塩基対</p> <p>(B) 型: 核酸</p> <p>(C) 鎖の数: 二本鎖</p> <p>(D) トポロジー: 直鎖状</p> <p>(ii) 配列の種類: DNA (genomic)</p> <p>(xi) 配列: SEQ ID NO:31:</p> <p>TCTTCATAGG TCATGCCA</p> <p>18</p>	20
<p>(2) 配列情報 SEQ ID NO:32:</p> <p>(i) 配列の特性:</p> <p>(A) 長さ: 19 塩基対</p> <p>(B) 型: 核酸</p> <p>(C) 鎖の数: 二本鎖</p> <p>(D) トポロジー: 直鎖状</p> <p>(ii) 配列の種類: DNA (genomic)</p> <p>(xi) 配列: SEQ ID NO:32:</p> <p>TTGGAAGGAG TAAGTTTAA</p> <p>19</p>	30
<p>(2) 配列情報 SEQ ID NO:33:</p> <p>(i) 配列の特性:</p> <p>(A) 長さ: 20 塩基対</p> <p>(B) 型: 核酸</p> <p>(C) 鎖の数: 二本鎖</p> <p>(D) トポロジー: 直鎖状</p> <p>(ii) 配列の種類: DNA (genomic)</p> <p>(xi) 配列: SEQ ID NO:33:</p> <p>TTGACCCCTA GGCATAACAT</p> <p>20</p>	40
<p>(2) 配列情報 SEQ ID NO:34:</p> <p>(i) 配列の特性:</p> <p>(A) 長さ: 19 塩基対</p> <p>(B) 型: 核酸</p> <p>(C) 鎖の数: 二本鎖</p>	

【表 9 - 1 5】

(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:34:	
CTGTGCAAGG TAAGGAAGG	
19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:35:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 19 塩基対	
(B) 型: 核酸	10
(C) 鎖の数: 二本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:35:	
CTGTCACTAG GTATTGCCA	
19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:36:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 19 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 二本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	20
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:36:	
TTTAGAAAGG TAATTTTTC	
19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:37:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 19 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 二本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	30
(xi) 配列: SEQ ID NO:37:	
TATCTCCTAG GTATACCAT	
19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:38:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 19 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 二本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:38:	
ATGGCAAAGG TGAGTACCA	40
19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:39:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 18 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 二本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: DNA (genomic)	
(xi) 配列: SEQ ID NO:39:	
GTTTGCCAGG TCACAAA	

【表 9 - 1 6】

- 18
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:40:
- (i) 配列の特性:
- (A) 長さ: 19 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状
- (ii) 配列の種類: DNA (genomic)
- (xi) 配列: SEQ ID NO:40:
- CGGAGCCAGG TAACTACAT 10
- 19
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:41:
- (i) 配列の特性:
- (A) 長さ: 19 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状
- (ii) 配列の種類: DNA (genomic)
- (xi) 配列: SEQ ID NO:41:
- TTCTCTAAAG GTGTATAGA 20
- 19
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:42:
- (i) 配列の特性:
- (A) 長さ: 19 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状
- (ii) 配列の種類: DNA (genomic)
- (xi) 配列: SEQ ID NO:42:
- AAGATAGAAG TGGGATCTT
- 19
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:43:
- (i) 配列の特性:
- (A) 長さ: 19 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状
- (ii) 配列の種類: DNA (genomic)
- (xi) 配列: SEQ ID NO:43:
- CTGGCTGCAG CCAGTAGAG 30
- 19
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:44:
- (i) 配列の特性:
- (A) 長さ: 19 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状
- (ii) 配列の種類: DNA (genomic)
- (xi) 配列: SEQ ID NO:44:
- CAGGCAAATG TAAGTATGA 40
- 19
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:45:
- (i) 配列の特性:
- (A) 長さ: 20 塩基対

【表 9 - 17】

<ul style="list-style-type: none"> <li>(B) 型: 核酸</li> <li>(C) 鎖の数: 二本鎖</li> <li>(D) トポロジー: 直鎖状</li> <li>(ii) 配列の種類: DNA (genomic)</li> <li>(xi) 配列: SEQ ID NO:45:</li> </ul>	
TTTTTAAACA GATGGGATGC	
20	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:46:	
<ul style="list-style-type: none"> <li>(i) 配列の特性: <ul style="list-style-type: none"> <li>(A) 長さ: 19 塩基対</li> <li>(B) 型: 核酸</li> <li>(C) 鎖の数: 二本鎖</li> <li>(D) トポロジー: 直鎖状</li> </ul> </li> <li>(ii) 配列の種類: DNA (genomic)</li> <li>(xi) 配列: SEQ ID NO:46:</li> </ul>	10
CCTTCAAAGG TGAGCCTAA	
19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:47:	
<ul style="list-style-type: none"> <li>(i) 配列の特性: <ul style="list-style-type: none"> <li>(A) 長さ: 19 塩基対</li> <li>(B) 型: 核酸</li> <li>(C) 鎖の数: 二本鎖</li> <li>(D) トポロジー: 直鎖状</li> </ul> </li> <li>(ii) 配列の種類: DNA (genomic)</li> <li>(xi) 配列: SEQ ID NO:47:</li> </ul>	20
CCCACCATAG AGACTGAGA	
19	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:48:	
<ul style="list-style-type: none"> <li>(i) 配列の特性: <ul style="list-style-type: none"> <li>(A) 長さ: 3865 塩基対</li> <li>(B) 型: 核酸</li> <li>(C) 鎖の数: 二本鎖</li> <li>(D) トポロジー: 直鎖状</li> </ul> </li> <li>(ii) 配列の種類: DNA (genomic)</li> <li>(xi) 配列: SEQ ID NO:48:</li> </ul>	30
GTAGGTTTTT TTGTTGGTTC ATCAGGAATA CACATTAGTC TGTGCTGCAG TGTTGATATT 60	
CTGCTAGGTT TTTTTTTTCT GGTTTTAAAA AAGAAATAAG ATTTAAAAAA TCTTTTTTCT 120	
CAGTCGTTTT CTTTTAATGA TGCTTCCGGG GCTTCACATT GTGGGTTAGC CATGAAGAGT 180	
GGCTTTCACA TATTGCTAAA TGTATACAGG TCTGTGTTTC TATAAACTAC ATGTGTCTTA 240	
TTTCATTTTA TTATTATTTA CCTCCTCAGT GATCCTTGTT CTGAAACCTT CCTTTTTTCAT 300	
TTAAGCAACA AAAAATGCAG ACTGTACAAG TCAGACTTAG GGATTTTCAC CCTTTCGCCG 360	
CCTTGGAGAG TTCTGTATCT GTATCTGGAT ATATATATTT TTTATTGCGC AGGGGCCATG 420	
CTAATCAATG TATTGTTCCA ATTTTAGTAT ATGTGCTGCC GAAGGGAGCA CTGCCCTAGA 480	
TATAGATCAC TATATTAACC ACTATATTTT CTAAGTAGTA TTATATAGAC TATTTTATGT 540	
CAAACCTGAGT AATAAATAAT CCCCTTGAAA TGACTTCTCT ATGTATTTTG ATGTTTATAA 600	
TGAATTCAGA ATAGAGAGAC TGGATTGGGA AAAGACAGGA GAACTGAAAC TATTATGAAT 660	
TTGTGCTTTT TGATCACTTC TGCAAAGTCT ATAAGCATGC TCTGACTCAG TGTTTTCTAC 720	
CTTTTCTGAT AGATAAAGGC AGTTATGGAA TACACATTTT CCTTCTTTAT CATTGAAAGT 780	
TTTTTCATAA AGTAGAAATG AAAATTCTAA CAATTAATAA AATGTTGACA AGAAAAGTAA 840	
AGGGAAGGA GTTAAATTA TTTGGCTAGA ATAAATAATG TTTGCTTCTC TTTAAATATA 900	
AAAGTTTTCC CAGACTGTGA AGGATGTTTA CATTAAAGTGT AACCTTTTAA AAATAAAATG 960	
GAATGACAAA CCAGGAGGAA AAAAAATTTA AAAAACTAG AACTATTTAC ATTTTAATAT 1020	
AGATGGCACC ACTGATACAG AAGCATCTGG TCTAGCTCAC TTACAGTTTT GGGGAATTGA 1080	
CTATTTAAAA TGAAGCATTG TGAGCCAGGC GGGTTGGCTC ACGCCTGTAA TCCCAGCACT 1140	

10

20

30

40

【表 9 - 1 8】

TTTATGAGGC TGAGGCAGGC GAATCACCTG AGTTCAGGAG TTCAATACCA GCCTGGCCAA 1200  
 CGTGGCAAAA CCCCGTCTCT ACTAAAAATA CAAAAATTAG CTGTGCATGG TGGTGCATGC 1260  
 CTATAATCCC AGCTACTCGG GAGGCTGAGT CAGTTGAATC CCTTGAACCG AGAAGCAGAG 1320  
 GTTGTGAGCC AAGATCGTAC CATTGCATTC GAGCCTGGGC GACAGAATGA AACTCCATCT 1380  
 CATAAATAAA TAAATAAACT AATAAAATGA CATATTCTCC TAGCACTTTG GGAGGCCGAG 1440  
 GCAGGTGGAT TGCTGGAGGT CAGGAGTTCA AGACTAGCTT GGCCAATGTG CCAAAACCCC 1500  
 ATTTCCATTA AAAATACAAA AATTAGGCAG GTATGGTGGT GTGTGCCTGT TGTCCCAGTT 1560  
 ACTTGAGGGC TGAGGCAGGT GAATCACTTG AACCCAGGAG TCGGAGGTTT CAGTGAGCTG 1620  
 CGATCGCGCC AATGCACTCC AGCTTAGGTG ACAGAGTGAG ACTTCGTCTC CAAATAAATA 1680  
 AATAAAAAAT GAAGTATTCT AAAGGTTTGA ATAGAAGCTT TGTACTGAGT CTGAGTGAGG 1740  
 CCAATGTGAT CATTATGGG AAGATATCTT CTTTGTGGT AGTATCTGGA AAATAATTTT 1800  
 AGATTGCACT TGTTTTGCTA TTTCTTAGGA TATATATACT ACCTAATTCT AATTAAGAGA 1860  
 ATTTTAAAAG GCCATGTGCA GTGGCTCACA CCTGATCCCC AGCACTTTGG GAGGCTGAAG 1920  
 TGGACAGATC ACTTGAGCCC AGGAGTTTGA GACCAGCCTG GACAGTATGG CGAACTTCA 1980  
 TCTCCACAAA AAATACAAAA ATTAGCTTGG AGTGGTGGCG CACACCTGTG GTCCCAGCTA 2040  
 CTGGGGAGGC TGGAGGTGGG GGGATCACTT GAGCCTGGGA GGTGAGGCT GCAGTGAGCT 2100  
 GTGCTCATA CACTGTACTC CAGTTTGGGT GACAGAGCAA GACCTTGTTT CAAAAAATA 2160  
 AAAAAAAGT AAATCACTTT ATTAGAGATT TTACATTTA ATCACTTTGT ATACTTTCTG 2220  
 TTAGCTCTT CTGTAACTA TAGTCATAAT GTATAGCACT TACTGAGCAT TTACTTTGGG 2280  
 GCAGGGACTC TTAAGACTTC AATATGTATT ACTTCAGTTA ATCCCTCTGA CAACCTTGTG 2340  
 ATACTCATA TATTGTTAGA TAGAGAAAAT TAACCGCAGA GAGGTTAAGT AATTTGGCCA 2400  
 GGGTCGCACA ACCAAGCGTG GAGTTCTTAT TGAAACTGAC TGCGGGAACC CATGTGCTTT 2460  
 ACTGTGACTA TATACTGCAT CTCTCACACA CTATCTGAAA ATGTGTCACT ATTTGTTTAG 2520  
 CACTTATCCA CAGGAAATAC TGCAGGTAT TATGTAGGAC ACAAGCATT TTTAAACAC 2580  
 CAAACCCAC AGTTTTTGT TTTCTGAGAGC TTACAGTACA GTCAGCGAGA TGAGGCAGGT 2640  
 ATGAAGATTC CAGTGCATGC AATGCAGTGT GTTATAAAAG TCCCATGACT ACCAGAGGGA 2700  
 ATACAGATGT AAAACTTAGG AGGAAAAGAA ATCACTCTGG ATGAGCCAGT CAGGTAAGTT 2760  
 TACATGGAAT AAGTAGAAAT GGGTCTTGAA AGATGGGTAC GAGTTTGATA GGTGAATTTG 2820  
 AAGATACAGA TAGCACCTTC TGTGTAGAGG AAACAAGAAA AGACAAAAGC AGTAAAGCAA 2880  
 GAAGAAATGT GGGAGGTTAG TCAAGTTTTT TTTCTAGAA TTCTCAAGTT GTAGAGCCAG 2940  
 AATTAAGAGT AGCTTAAGTG TTAAGCTAAA AAAAATTGAA TTTTATTTTGT GTAGGCAACT 3000  
 AAAACTAGAA ATAGTTTATC ATCGCCTAT GGTAGAGAGG ATACTTTTAA AAGCAGAACA 3060  
 CTGACATTTA ATCCTTGCCA TGGAGTGGTG AACTAAGTAC AGTATTGTAC CCAAGTAGAG 3120  
 TAATCTTTT ACAGATGAAA TGAATAAGGC CCAGGTGAGC AAGTGTACCC TAGCTAATGG 3180  
 CAGTGCTGGA ACTAAATCTA ATCTAATCTT CTCACGGAA TTTCTGTTCTT CTGGGCACCT 3240  
 TGTTAGAATA AGGCTGTTGG GAGGTGGAGA CCACAGATTT CTTGTCTAAA AGTTGTCAGA 3300  
 GGTTTTGGTA GAAAAGCCAA GCTTAAAGCA GGTCTGAAAC TTGGCAGACT ACTTGCCAAT 3360  
 ATACAACAGG TACTCTTAAT GGATGGAAGT ATAAGGAATT ATAGGAAGCT CATAATTTAC 3420  
 ATAAAAAGG CCTTTTGTGA TTTGATATAG TCTGGAATAT CTTTAAAGGAG GGAGGGAGGG 3480  
 ATACAGGTCA TTAGCTATGA TAAAGGAGAA AAAAATAAGG ACATATCTGA CTGCATATAG 3540  
 TGGTCCTGAA TCAGCATAGC ATTGCTGTGT CATCGAAAGA ACTATTTTAA TTCATTTTAT 3600  
 TTTCCACCTC ACCTATCTTG CCTTCACAAA ACTTAAAAG ATTCTTTAAG AATTTTCTTT 3660  
 TCTTTGAGAT GGGCTCTTTC CCTGGTACCC AGCTATTTCC TACCAATATT TTGTTAAGGC 3720  
 AGAACGTCCA CGTTTTCCAT GTGAAGCTGA ATCTGTTGTC TCTCCCTTAA ACTGTGGGTT 3780  
 TTATTTTACA CCTGATTTAT AATCATTTGG GATTTTTTTT TCTGATCTTC TGGTGCTCG 3840  
 TGACTGGGGT TTTCTTCCCC CAAAG

3865

(2) 配列情報 SEQ ID NO:49:

(i) 配列の特性:

(A) 長さ: 4576 塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

10

20

30

40

【表 9 - 1 9】

(xi) 配列: SEQ ID NO:49:

GTAAGAAAAT AGTAATATTT ATTTAGATTT AATATGTCTA TTTACATTAC CAGGTATTA 60  
TCTCGTCAAC TCCTAATATG TATCAGGAAA AGATTTCCAC TGAAAATTTT CTCAAGGGTT 120  
TTAATCCTAG ATTCTTTTTT AAGTATTGCC TTTCCATCAA AGGATCTATT GGATTTCTTT 180  
ACAATATCCA AATCTCTCTT ATTTAAATGGA AAGTCCATTA ACTTCGTTGT ATACAACATC 240  
TTTCCTACCC AAAGCTACTC TCCTCAAATT ATGAGCTGAA AACACATAAT CCTGTATATG 300  
CTTGTATTGC GAACTCTATC TTCCATGAGA TGTATCTTAT TTAGTCTGAG CGCAATTACT 360  
GATCAACCTC AGAGCTGTTT AGATTTTTTT GTGTGTCTTG TTCACATAAG TATACTTAGT 420  
CAAATGCTTT TATACTACTT TTATTTTCTT TCCCTTTTTT CTGTGTCTCAT TTAACCTACC 480  
CAAGGTCTGC ATTCAGTGAA ATACATGTCT CTATTATTTT TTGCCTTTT TGTATTTATT 540  
TATTTATTTA TTTATTTGAG ATGGAATCTC ATTCTGTCTC CCAGGGCTAG ATTGTAGTGG 600  
CACAACTCTG GCTCACTGCA GGCTACACCT CCCAGGTTCA AGTAATTCTC CTGCCTCAGC 660  
CTCCCGAATA GCCGTGATTA CAGGCGCCCA CCACCATGCC CAGCTAATTT TTGTGTTTTT 720  
AGTAGAGATG GGGTTTACC ATGTTGGCCA GGCTGGTCTC AACTCCTGA CCTCAGGTGA 780  
TCTGCCTGCC CTGGCCTCCC ACAGTGCTGG GATTATAGGC ACGAGCCACT GCGTCCAGCA 840  
CCTTAGTATC TTTCTATGTA GAACGAATGC TCCCAGGTAG ATGGGAAAGT GCAGATATAT 900  
TATTATGTAG TCAGCTCCTG TATACCATGT GGCTTGGCCT TCGTCACTAA GATGGCTCAC 960  
TCTGAATGCA AAGTTATCAC AGAGTCTTAG GTGCTGGAAG GAGTTGCACA GGTATCACTG 1020  
AGACTCTCAT TATTAGATTA ACTAGCTTAA CTTACTTTAT TTTTTTTTGA GATGGAGTCT 1080  
CACTCTGTTG CCCAGGCTGG AGTGCAGTGG TGGCATCTCG GCCCACTGCA ACCTCTGCTG 1140  
CCCGGGTTCA AGCGATCTCC TGCTCAGCC TCCCGAGTAG CTGGGATTAC AGGTGCCTGC 1200  
CACTGTGCCG GGCTAATTTT TTGTGTTTTT AGTAGACAGG GAGTTTCACC ATCTTGGCCA 1260  
GGCTGGCCTT GAACTCCTGA CCTCGTGATC CACCTGCGTC AGCCTCCAA AGTGCTGGGC 1320  
TTACAGGCGT GAGCCATCGC ACCCAGCCTA GCTTAACTCA GTTACTTTAT TTTCTATTTT 1380  
TATTTTTATT TTTGACACAG GATCTTGCTC TGTGCCCAG GCTGGAGTGC AGTGGTATGA 1440  
TCTCTGCTCA CTGCAACCTC CGCCTCTTGT GTTCAAGTTG ATTCTTGTGG CTCAGCCTCT 1500  
TGAGTAGCTG GGATTGCAGG CATGCACCAT TATACCTGGC TAATTTTTGT ATTTTTAGTA 1560  
GTGTTGGGGT TTTGCCATGT TGGCCAGGGT GGTCTCGAAC TCCTGACCTC AAGTGATCTG 1620  
CCACCTCGGC CTCCCAAAGT GTTGGGATTA CAGGTGTTGA GCCACCATGC TCAATCAGCT 1680  
TAGTTACTTT AAAGATTAGG CAGCTGAGCC CAGAAACTAG CTGCTGGGAA CAAAGCTAAG 1740  
ATTGAACTCA GATCTCCTGG TTCTGGTTC TTAGTTTCAT ACTGGCTGTG AAGGCCTCTG 1800  
GGAAGAATGT GTTACATTGT TGGTCTCCAG GTTTGATTTG TCCTGGTCCC TCTCTGGCTA 1860  
ATTAGGGTGA GAGCCGCCAT CCTCCTTCC CTGAGCTGCA TGCTTGATTC AAGAGAAAAA 1920  
TCTTTCTTTT GTCATACATG AACTGGCAT GTTTCTTTAA TGATGATAAA GCGGACATGA 1980  
TCAGTGGCAT GAAATAAAGG TTTTGGAGTA TATAAACCAT TTTTACAGCG GCTACAAATT 2040  
TTAGAATGTG TGA CTGCTAT TATGTATGAT GGTAACTTT TCATATGATT GTATTGGGCA 2100  
AGTATGTCTC ATTTCTAGGG TTTTATCTG TTTTGTGTTG CTTTTATGGC ATATGTGTAC 2160  
TTAGAAGTAA ATATAGTTGG TACTATATAT AATATGTACA ATACAATAAA AAATAATTTT 2220  
ATTGTCTTTA TTTTGTCTC ACTGGACCTG TTGGGGTGGT TTTTCTCTG TAATTAATC 2280  
AGTGTGTTGAC TTTTATCTCA TTAATTCAGT TTATAATAAT TCCACCTTAA GAACCTTTGT 2340  
GGATTGGGCA TGTGCGCTA TGCTGGAAC CTAGCTACTT GGGAAAGTTGA AGTGGGAAGC 2400  
GGAGGCTGCA GTGAGCTGAG ATTGCACCTC CAGTTTGGGC GAATTTGAGA CCGTGTTCG 2460  
AAAAAAAAAA AAAAAAAAAA AGAAACTTGG TCCTTTCACA GTCCACCACT GTGATCTTTT 2520  
ATAATACAG ATGATCTTTT TCTAATAGTC ATTTAATTGC TTTAATTCAG TTCTCATTTA 2580  
TTTGGGGGAA AGGTGTA CT TTTTATAGCC ACCTTTCTAA TGACAAATAA GCCAACTCTG 2640  
GAGATGAAAC ATTTCTATTT ACTTGTTATC TTTGTTGATT AAAAGATAAA ATACCTCACA 2700  
AAGTCAGATT TATTTGTAAG GTCAGGATTT GAAATAGAAA ATACGTCATG TTGAGAGAGT 2760  
CCTAGAATTT AATTTAAATT AGATTCTGAT CTTTAGGGGC ATTTGAGCTT TTTATTAGAT 2820  
GTTACGAGTA CTGTTTTTTT TTTTTTTTTT TTTGCCTTCT ATGGCAAGTG CACACCAGTA 2880  
ACAAGTTTAG GCTTGTGGT GTGATGGGCT TGTAGCTTG AAATCAGTAG GTGCTACTTA 2940  
CTTACTTTTT TACACATGAG GAACCAAGTA TATTTAATA TTAACCTCT TTATAGGAGA 3000  
GCCAAGCAAG TTGGTTGGC TGTATCAATG CGCAGTTTGA TGTGGTGATT ATCGTTTGCC 3060  
TGCTTTGGCA GAGGAGGATT TTTTTTCTC TTTAGTTTCT TTAAGTTGAT TTGTTGAATG 3120  
TTTCATCTA AACAAAAAAG AATTGCTTTG TATACGCTGA GGTAAAGTGT AACTTTCTTT 3180

10

20

30

40

【表 9 - 2 0】

GGAGGAACAG AGAGAAAGG AAACCTGAAA CAAAACCTGCA GGTGTGTGTG TGTGTGTACA 3240  
TGTACACTTG GGTAGGCGTT AAGTGTGAAA TGCTGAGGTT TGGAAATAAT TCTTCATATG 3300  
TATGTTAGCT TATTTAAATT GAATTTATCT GATGATACAA GAATGTAAAA TCACCATGAA 3360  
GCATACATGT GCAGTGTTA ACTAAAAAAG GATGGGCTTG AAGTTATAAA ATAAC TAGAA 3420  
ATAATTCTTA ATTTCTAGAA AATTAAGATA ATAATAAAAT GGTTTAACTA CACGTAAAAA 3480  
TGTGTTTCACT GTTAGAGTTC AACCGACT GCAGAAAATT ACATGTTTCT GTCAGTTTAG 3540  
GTTTTTGATT TCTTATTCC CTGTTACCAA GCATCAGCAA TTATTCTTGG GATTATTAGC 3600  
CCTGGAATTG AAAGATATTT AATGGTACTC CTGTTGCATT AATTTGTCTG AGTTTATGTA 3660  
GAAAAGTATT AAAAATGTTA CTGTTGGAGT CTGATAAAAA GTTCTGGTCT TTTAAAAATA 3720  
TGTGTATGAG AAATAGCATG AACTCAGGAG GCAGAGCTTG CAGTGAGCTG AGATCGTGCC 3780  
ACTGCACTCC AGCCTGGGCG ACAGTGAGAC TCCATCTCAA AAAAAAAAAA TGTATATGAG 3840  
AATAATTAAG TGAATATTT TTTGGGCTGT CTCCTAAGTA TTTCTAATAA TTTTCATGAC 3900  
AGAAAAATGT TTTTCATGCAA AACAATTTCC TTACAGTTG AGATAATTTA TAAATGTTTT 3960  
GTGTTTCAGAA TTTTCAAAGA AAAGACCAAT GATAAAGTTT TATTCAGCTA CTAGGTATTT 4020  
AATAAACACT TAATGATGAA TGGCATT TTTT AGTAAAGTTA TAGTTTTTAC TAAGCTGTTA 4080  
GACATTTATT AATTTATTA AGGCCAGGCA TGGTGGTTA CACCTGTAAT CCTAGCACTT 4140  
TGGGAGGCCA AGGCAGAAG ATCACTTGAG TCCAGGAGTT CAAGACCAGC CTGGGCAACA 4200  
TAGCAAGACT CCATCTCTAA AAAAAGTTTT TAAATTAGCC ATGTGTGGTG GCGTGTACCT 4260  
GTAATTTGCA GCTGCCAGG AGGCTGAGAC AGGAAGCCCT TGAGCCCAAG AGGTTGAGGG 4320  
TGCAGTGAGC CATGATCATA CCACTGTACT CCAGCCTGGG TGACCCACCA AGACTCTGTC 4380  
TCTTGAATA AATAAATAA GAAATTTATT AAGATATTAG AGTAATATGT CGGATGTA 4440  
TTTGCCAAA CACTTATTGT AATGAGTCAA TTTTGTACAA TTGTTTTGTA ATGTCATAAT 4500  
AAGAAAGGAA GAAATTTTT AAAAATGTTA CAAAGTCAAT GCTAATTTAA CTCTGTA 4560  
GCTTATAATC CTGCAG

10

20

4576

(2) 配列情報 SEQ ID NO:50:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 1618 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:50:

30

GTAGGTTTGT AAATCAAAGA TTTTGGGCA ATCTGCGTTT CTGTGTTATG TTTACCCTTG 60  
GAGTTGTACA GGTTTCTAG CATCAGTATT TTGAAGAGCT CCTGTCATTA CGGCTATCCA 120  
GGTACTTAT AACTAAGAGT CAAGCTGCCT GTAAAAATAT TTTTGATAA ACAGTTGCAG 180  
ATACCACAAA GTTTAAAGTC TTAATGACA ACTTCAAGAA GTTCTGAAA TATACTCA 240  
ACAAGGAGAA GCATTTAGA AACTCAGAGT TGCGAAGATG ACATTAAGC CGATAATGTT 300  
TCCTACATTG GCAAACCTTG TGCCTGACAC ATTTAGGAG ATCAAAAAGA ATTTGTTGAA 360  
AGAATCTTAC TTCAAATTTT GGTACAGAAG AATAGTTATG GTTCTAAAAT AAAGAAAATG 420  
AACTTTTCATC TTTTAACTA ACAGATATAT GGAATGATG ATTTTGGCAT TGCATTTAAT 480  
AGAACTTAGG TATATAATTT CTATGAATGA TAAACAGTTA CAAGCCCAA TTATGATTTA 540  
CAAAGCAAAT ATTA AAAAGT ATGTATAGAG TTAATAAAA TATTGCTGCT GCTATTTGAG 600  
TAATATTGTA ATAGGATTCT GGGTGATTCT CAGTTTGGAG GTAATTTTCA TTAATTTT 660  
AGCTTGCTA TCAAGGTAGA TTTTAAAAT TAGTGGAGTT CAGTTGCTCC TGGTATGGTA 720  
AATTTAATGT TCCTCATCTT CTTTTCTGTT CTTTCTCTCA TTTCTATCAT AACTCCCTTG 780  
TATATTCCCA AAAAGCTGCT TCCTTCACT TTTATCTTT TTTGGTTTT AATTA AAAAG 840  
AATTTTTTTT TTGGAGACAG GGTCTCACTC TGTCACCCAG GTTGGGATGC AGTGGTGAAA 900  
TCACAATTCA CTGCAGCCTC AATCTCCTGG GCTCAGATGA TCCTCTCATC TCAGCCTCCC 960  
AGGTAGCTGG GACTACAGAC ATACACCACC ACACCCAGTT AATTTTTTTG TATTTTTTCA 1020  
TATAGATGAG GTTTCACCAT GTTTCCTGGG TTGTCTCAA CTCCTGGACT CAAGCGATGT 1080  
ACCCACCTTG GCCTCCAAA GTGGATTATA GGAATGGAGC CACTATGCC AACCTTTACC 1140  
TCTTTTATTT TTAGTTGATT TTTTTCTTT TGTGCTGAGT CTAGGGCAAG AATAAATTGT 1200  
AAACTAGTAT GAAATACATC TAATACATTC AAATTAAGA TATAAATATC TGAACAGTGT 1260

40

【表 9 - 2 1】

AATTTTTTAA AGTGGTGT TTGTTTTAAA AGTAGACTTA CTTGCAAAGT TGTATTTTGT 1320  
 GGTTTTTAGA TCTTAGTATC CTAATTTTG ATTACCTAAA ATTTAAGTTT TAAGTTTCCC 1380  
 TTAACCATCT CTACATAAAT AATTGAATAA CTGAAATCTT TCGAGTAATG ATACACTTTA 1440  
 CTTCTATTTG CCAITTTTTG ACAAATTTCT AGTGTTGAAA TAGGCCATA TATACTGTTT 1500  
 CCTATACATT TGTATGCTAA GTGGTATACT GATTATACTC TATGTTTTAC ATTTTAGTTT 1560  
 ATTACAAATT GGCTTATTGT GTGCTGATAT CTCTGTTTTG TGATTCTATA CACCATAG 1618

## (2) 配列情報 SEQ ID NO:51:

## (i) 配列の特性:

(A) 長さ: 92 塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

## (ii) 配列の種類: DNA (genomic)

## (xi) 配列: SEQ ID NO:51:

GTTTGTAAGT AGCAAAGAAA TAACGTGAAA ATGTTTTCTG GAGAAAACT TGATTTAACA 60  
 TGACGACTTA AGGATCTCTT CTTTCATCAT AG  
 92

## (2) 配列情報 SEQ ID NO:52:

## (i) 配列の特性:

(A) 長さ: 889 塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

## (ii) 配列の種類: DNA (genomic)

## (xi) 配列: SEQ ID NO:52:

GTGAGTACTT CTGTATAAAA TGTTTTAATA TTTTAAATTG TATACTTAGG AAACCTCAGA 60  
 AGTTAGTGTT TTTATTGTTT GACTCTGGA AACTGAGAAT ATGTTTTGTG AGAGAATACA 120  
 GGAAGCAAA AATTCTGTCA CCTAAATATA AGCACACTTT TAAATGTGT TCAAAATTGT 180  
 ATGGCTGTCT CCGAAGTTTC TTTAAGCTTC TGGATTATAA ATTCTGAAAT AAATTCTCTG 240  
 GGAAGTATAT GGGTGAAGAT TGATGATGTG TAAGTGTTGA AAGTCTTCAG GGGTGCCTAG 300  
 AGCAGCTAGA CAGATAGTTA AGCTTCTCAC CGGAAGTTGC ACCTACCAGC AGCTGAAACA 360  
 CTGTCAGCAA AAATACTTGT CCTGTGTGAT GGATGAGCTT GGGGATAGCA GGATTACATG 420  
 TGATACTATC CAGTTTTTGT TTTGTTTTGT TTTTGGAGAT GGAGTCTCGC TGTGTCGCCC 480  
 AGGCTGGAAT GCAGTGGCAT GATCTCGGCT CACTGCAACC TCTGCCTCCC AGGTTCGAAGC 540  
 GATTCTTCTG CCTCAGCCTC CTGAGTAGCT GTGAATACAG GCACGTGCCA CCATGCCCAG 600  
 CTAATTTTTG TATTTTTAGT AGAGACAGGG TTTACCATA TTGGCCAGGC TGGTCTCAAA 660  
 CTCCTGACTT CGTGACCACC TGCCTCAGCC TCCCAAAGTG CTGGGATTAC AGACGGGAGC 720  
 TACTGCACCC AGCTATACTA TCCAGTTCTT ATAACTACAA GTTACCCTAC CAAAGTTTAA 780  
 CTTTCCAAAA AACTATTAGA ACTTTTAGTA AATAAAAAAA TGAAATAATT AATTGAAATG 840  
 GCAGTTTCTG TGAGAGAGTA CATTTTGTCT GTATTTGTTT TTCCTATAG 889

## (2) 配列情報 SEQ ID NO:53:

## (i) 配列の特性:

(A) 長さ: 4586 塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

## (ii) 配列の種類: DNA (genomic)

## (xi) 配列: SEQ ID NO:53:

GTGAGTTTGT CCATGCCAGA AGAGTAGAAA TACCAGGAGC AGGTAAGCCA GGGGTTCTTT 60  
 TTTATTTGGG TAATTTTATG TTTGTGTTTT ACTTGCCTAC AGTATGAAGG AGAAAATTCT 120  
 CATCATACTT CTCTTAATTG AAAAAGGTAT CTCTATGATA TTTGCTTTGT TAATATCAAC 180  
 TTTTATTCAT TTTAGTGAGG TCTGAGAAAA GAAATTAATA TAAATTTAAA ACAAATGTGT 240  
 CATGCTGATA ATTGTTGGTT TTAATAAGAT GGGCCAGTAA TATATGGTCT TATATGTAGT 300  
 GAACATAGTG TAGGCATTTA GAAAGTGATA ATTGACCTGA CTGGGCTT CATTTAAGAG 360

10

20

30

40

【表 9 - 2 2】

ACTGGAGTAA	AATGAGGATC	TACAGTCTTT	AAGAAAATTC	TTTCAAACCTG	AATTTTCAGGA	420
CCACGTGGTA	TTATTTCTAA	CAGACACTTA	GAGTGATGCA	GGCCAAGAGT	TTCCCTCCTG	480
CTATGTGGTG	GAACAGAAAA	CACCAAACCT	CTGGAAAAGT	CCACCAGGGG	AAACACTGGG	540
TAATCCAAGG	GCCAGTTCAC	CTGGATAGTG	AGCTGCTTCA	GACTTGAGAC	TGGTCTGCTT	600
ATTCATTCAA	CAGATATTCC	TAAAGCATT	TATATGTCAG	GTTGTGCTCT	GGACACTGGA	660
GATAAAGCAG	TGAACAAAAT	AACCACGAGA	ACCCTGTTCT	AAAGAAGCTT	ATATTCCAGT	720
GTGGGGAGAT	GGACAGGAGA	TAAACAAGTA	AATATATAGT	ATGTTGGGTG	ATGATAGATG	780
AAGAAAATAG	AGTAGTAATA	CAAAATATTG	AGGGGAGGGG	AGAATGGGAT	GGCTGGGCTG	840
TGGTAGGTAA	GGTGGTTGGG	AACGGTGCTA	CACACCAGAA	GTAAGTGAGG	AAGCAAGCCA	900
TATGAATAGC	TGGGTAATG	TATTTGAAGC	TGAGAGCATA	ACAAATGCAA	AGCCATGAGG	960
TTGGAACAGG	ATTAGCTTTT	TGGAGGAACA	GTGAGAATGC	TAGTGTGGTA	GGAATAGAGT	1020
GAGGGAAAAA	GTGGTAAGAA	GTGACGGGAG	GCCAGGTGTG	ATGGCTCATA	CTTGTAATCC	1080
TAGCACATTG	GGAGACTGAG	GCAGAAGACT	GCCTGAGCCC	AGGAGTTCAA	GACTAGTCTG	1140
GGCAACAAAG	TGAGACCCCG	TCTCTACATA	AAATATTAAT	ACAAAAAATA	AGCTGGCCAT	1200
GGTTGTGTCC	ACCTGTGGGC	CCAGCTACTT	GCGAGGCTGA	GTTAGGAGGA	TTCGTTGAGC	1260
CCAGGAGTTC	CAGGCTGCAG	TGAGCCGTGA	TGCGTCACT	GCCCTCCAGC	CTGGGTGACA	1320
GAGCAAGAGC	CTGTCTTTAA	AAAAAAGAA	AAAAAGAAGA	AGAAAAAGAA	ATGCAGGGAA	1380
GAGGGAACAA	GAGAGCCAGA	CAGACCGTGT	AGGCTTTGGA	AGCCATCGTA	AGGACTTTTG	1440
CTTCTGCTCT	GATTGAGGTG	AAAGCCATTA	AGAGGGTTAT	TAAGAGGAGT	GACTGATTTA	1500
CATTTTTAAA	GGTCTTCTGG	GAAAGTGGGA	TTAGAGGCAA	GGTGGAAGT	AGGGAGTTAA	1560
GAAGCTATTG	GAATGATTCT	GGCAATAGTT	TATGGTGGCT	TGCTTCAGAA	AATGGTTTGT	1620
AGCTGGGCCA	TATTTTGGAG	ATGGCACCCA	CAGGATTTAC	CGAGGGTTTG	TATCTAGGGT	1680
ATGAGAAAAA	GAGAACAGTG	ATGTCTCCAG	TTGGGTGAAT	GATATAAAAG	CTAAAATCCT	1740
GACAAGTGCC	TGTAATGTTG	TAAGTTATCT	GGCCCTGGCT	CTCTCTGAAT	TCATCTACTT	1800
TCCTCCCTCC	TCACCCACTT	ATGCCACATT	AACCTCCTTT	TTTGTCTTC	AGATATGCCA	1860
GGCATGCCTG	CAACACAAAG	CCTTTGCCTT	TGCAATTCCC	TCTGCCTAAA	CTGTATTGCT	1920
TCAAGAGATT	CATGTGGCTT	CCTTCTCACT	TCATTCTGGT	CTCTGATAAC	CCAACCTGCTA	1980
TGTCAATAAT	AACCACAACA	TCCTCCCCAA	CCCTCAGGAC	TTCTTTTCCC	CCTGACTCTG	2040
CTTGCTAGTG	TTTCTCTTCG	TATTTATCAC	TGTCTGACAG	TAAGTACGGA	CGTACGTACA	2100
AAAGAATTGT	TTATTACCTG	TCTCCTTGCA	TTAGAATATA	AGCTTCACCA	AGGCTGTGAC	2160
CAGTGTGTGA	TGCAGCGCTT	GGCACATAGT	AAACATTCCG	GGAACATTTA	CTACTGAAAT	2220
TTATTAACCA	GGGAACAAGT	CTGGGGGAAC	GGGAATCAAC	AAGTTACGGT	TATTACCATG	2280
TTAAATTACA	GATGCTTTTT	AAGCATCCTA	CTAGAGAAGT	TGAATACACA	CTTGAGGTAT	2340
ACAAGACAGG	AGTTCACAGT	TCACACTACA	GGTTAGGGGT	TGTGTATATA	TGCTCTGGGG	2400
TCATCAGGGT	GGGTACAGAT	AGCCTTTTTT	TTTTTTTTTT	TTTTTTTTTT	TTTTTTTTTT	2460
TTTTTTTTTT	AGATGGATCT	CGCTCTTCAC	CCAGGGTGGG	GTGCAGTGGT	GCAATCTTGG	2520
CTGCAGCTGT	GACCTGTGCC	ACGGTGGGTT	GCAAGGGATT	CTCCTGCCTC	AGCGTCGTGA	2580
GTAGCTGGGA	TTACAGGTGC	CTGCCACCAT	GCCCAGCTAA	TTTTTTGTGA	TTTTTGAGTA	2640
GAAACGGCAT	TTCACCATCT	TGGCTAGTCT	GATCTTGACT	CCTGCCCTCA	TGATCTTCCC	2700
ACCTCGACTT	CCTGAAGTGC	TGGGATTATA	GGCGTGAGCC	ACCATACCCA	GCCGTAGATG	2760
GCTGTAAAG	CTATAAAATG	AGGAGGGATT	ACTTAGAGGT	ATGAATTGAG	AGAGAATACA	2820
AGAGGTCTAA	GGACAAAGCT	CAGGGTCACT	CCAAATTTTG	TAAGTCTTCA	TTTGGAGATG	2880
GAACATCCTA	ATATTTTTAA	GATACCGACT	TAATATTTGC	ACCCAAGTTA	AAGATCCTCT	2940
TGATCAGAAT	GAACAGGAAG	CTTTAAGCTA	AGCACAGTGC	TACCAAGAAG	CACCATGTTG	3000
ACCTTGAGGA	CTCTGGCAGG	AAGCTGTTTG	TGGTTGTCAC	ACCTAGTTTC	CTCTGTGAAA	3060
CTACTGCTGC	CTGTGGGTGA	TGTGGTTATA	TGCTGCTGGC	TGCTGTTGAT	TCTCTGTTT	3120
GTGTACAAGG	TGTTTTTCCC	TCCCAGTACC	TCCCAATGTA	GGCATCGGTT	CATGCACAGT	3180
GAAGTAGTTG	CCTGCGAGAA	ACCTTGTAAG	GCAGGGAGCA	GCCTTTTGAA	TGCAATAATC	3240
TACCCGAATC	ATTTAATGA	CTTAATTATA	GAATGAATTT	CTTTGAGACA	AAGTAAAAGT	3300
CTTAGTTGTA	TTACACTTTT	AGACATAGAG	GAGACATGTA	GGTTTGTTC	TGTATACAGT	3360
AAATTTCTGT	GCTTTTCTAT	ATCTTATGAA	ACTTGAATAG	TTGGCTCTGT	TGCCAGGTGA	3420
AAGTTTTGCT	AGGTTTTTTA	GGAAATTAGG	ATGAGTACAT	TTAAGACACA	GGGAAATTTT	3480
ATCTTGAATA	GTAAGAAGACA	TTGTTAAGCT	ATCGATTCCCT	TTCAGAGTTT	ATTTGGAAAA	3540
TCAGAGAGAT	GTTTTACTGG	CTCCTTTGAC	ACCAAGTCAC	ATCTTCTCCT	AATTTATTGT	3600

【表 9 - 2 3】

GAAGAATGTT GACATTA ACT TATTTCTCTG AAGACCTGTC TACCTTAGGG GGCTGTTCTG 3660  
 CATCAAGTTG CCTTTTTAGG GGATGTACAA CTTATTATCT GTCTCTGAAG CAAATATGAA 3720  
 TATTTGGATG GTGGGTGTAT TAATTCATTT TAACACTGCT GATAAAGACA TGCCCCAAAC 3780  
 TGGGGAACAA AAAGAGGTTT AATTGGACTT TACAGTTCCA CATGACTGGG GAGTCCTCAG 3840  
 AATCATGGTG TGAGACGAAA GGCACCTTCTT AGGTGGCGGT GGCAAGAGAA AAATGAGGCA 3900  
 GAAGCAAAAG TGGAAACCCC TGATAAGACC GTCAGATCTC GCGAGACGTA TTCACTATCA 3960  
 CAAGAATAGG ACGGAAAGA CTGGCCTCCA TAATTCAATT ACCTCCCACT GGGTGCCTCA 4020  
 CACAGCATAT GGAATTCTG GGA AAAACAA TTCAATGGGA GGCTTCGATG CAGACATAGC 4080  
 CAAACCATAT CAGTAGGCTT TTGTTAAATC ATGGATTTTT TTTGGAACCA AATTTAATCA 4140  
 CAATTTTCTT TTATCTTTGA GTGTCTCCCA AAATAGCAGT AGATGGGAAT TGTGAAATTC 4200  
 TGTTTCTCAG AGCTGAGAAT AATCTTAATT TTTCAGGTGA GCAGAATGCT TATCTTTGCC 4260  
 TCCGAGCATA AGTTTTACAA GAGGGTATGT AGGGAGCTGT ACCTTATTTT AGAGTTTTAA 4320  
 CTTTTAAGAG ACAAACCTTT AGTTAGCTAA AATACAAATT ATTCTTTCAC ACCTTCGTCT 4380  
 TCACATGGAT ATTGGCGGCT CTTAATGCTG TTATGTTTAA ATTCCAAAGA ATGGTGACAT 4440  
 TTGAGTCACT AAAATTTATT GATATTGTA AGATAAAGTC TATCTGGCTT GAAGTCCCAT 4500  
 TTGTGAAGTG AATTAAGTC TTTCTGGCCT AAAATAATGT TCTTTAAAAA ATGTTTATTA 4560  
 ATTCTGTGTA ATTTTTTTTT CTTTAG

10

4586

(2) 配列情報 SEQ ID NO:54:

(i) 配列の特性:

(A) 長さ: 2127 塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

20

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:54:

GTTAGTTTGA GCCCTGTCTG CTTTCTAAGA TTTGGTTATT GACCATTTTC CAATTTCCCTA 60  
 TTCTTTCATT ATTAATGCCT TAATTCACCC ATGAATAATT TTTTATCAAT TGTATACTCA 120  
 GTCCTGTGTG GAGTCTATAG AGGACCTAGC AATAAGATGT ATAAGTGGA GATCTTCTTT 180  
 CCTTAGATTT CTTAATATA ATACAAGACA CAGTAACTAA TAACACCAGA CAGTGTAGAG 240  
 TAAACACAAA AAGTGTCTTA TTGCCAACTG TTCTTTCAAG ATTTTCAGGA GTGGTGACGT 300  
 GCGCGCGGGG GGAAGCTCAG TGATGATGGG AATAATTGTC AAAGGACTTT ATGAAGAGGG 360  
 TTGACCTGAG GTAAGTTCTG AAGGGTGACT CAGATTTGCC AAGATTAATA GAGTCCACA 420  
 TGTTCATAAA GCAGGACAAA AACCCTGTA ACTTTTGTA GCTCTATAAA ACATCCTTAT 480  
 CCTGGAAAGG AAGTTGACTG CATTAGCTC CTTTGATCTC CCTGAGACTG GTAGGAATAT 540  
 CATTGAGTTT TAATTAAGG CCCAGTAGGC TGAATCTCAT CATCTTATGC ATAACCTTTG 600  
 GCAAGTTGAT TTGAAAAGCT ACCTCCAAGG TCCCTCTCAG TCCTAAAACC TTATGATATG 660  
 ATAACGTTGA CCCAAAAGGA CCCCATTTCT TTTCTGATGA TGGTATATCA AGAAGACCCT 720  
 ATATGTACAC ATAAGTAATT TCCCCTCAT AGCCAGGCTT CTAAATGCC AACTACTTTT 780  
 CCTTTAACAT TTCAGTGAAG TCTGCTTTAT TCATAAACTT GATTGTGATT TATACTCAAC 840  
 AAGTTATATC TCTGTGGCCT CTTCTGAGT CATGTTTTTC AGATGCACCT TGTTTGGCTT 900  
 GAATTTAGAA GCATTTTCGTA AATACATTTT AGAAGCCATC TTAATCTCTG TGCTTCCAG 960  
 ATCGCTTTAC AGTTTCTAAC TAGGCATAAC AGCATTTTAA ATCTTAGGGA CCATTAGTGG 1020  
 GGTAAATAA TTATTACCAG TAAATACTAG GTAAAATAA GGGTGCTATT TTTGCTGAAA 1080  
 GGTATGTGTG CGTGTGTTCC CAGAAAAATT CTGCTTGAT ATGTATTCAG TAGTTATCTC 1140  
 TAGCAGGACT GTAATTGATT TCTATTCTCT TTATAATTTT TAAACTTGC TTCATTTTCA 1200  
 CAAAGAATAT GTATATAATT ATATATATAT TTGTGATCAA GATAAAAACA GTTGTTACAA 1260  
 AAAGCTTACA TGGTGATAAT TTGTATAATG CTTCTGGATT GAACATATAT TGCTCCCTAA 1320  
 TAATAGAAAG ACTGAAGTAA ACCTCGTTGG CGGGAAAAAA ATGTAGAATG CCAGGAACAG 1380  
 TTTATGTGAG TCTGTAGTAT GGGTTTTACA CCCCTTCATT CTATTTTCTT CCAGGTGTTT 1440  
 TTAATGGGAG TTTTACTGTC CTCTAGGGAA ATAGTTAAGG GCAAGTTTGG GATAATCAGT 1500  
 GACTGGGGAT GTGTAGGACA GGTGGGGGAC AGTCATAGAT ATCGAATGGG CCCAGGCCAA 1560  
 GGTGCTAAA CTTCTGCAC TGAAGGTGT ATCCCGGCC GGGCGAAGTG GTTCATTCTT 1620  
 GTAATCCTAA CACTTTGGGA GCCTGAGGCA AGTGGATCAC TTGAGGCCAG GAGTTCGAGA 1680

30

40

【表 9 - 2 4】

CCAGCCTGGC CAACATGGTG AAACCCCATC TCTACTGAAA ATACAAAAAT TAGCTGGGCG 1740  
 TGGTGGCAGG TGCCTGCAGT TCCAGCTACT TTGGAGGCTG AGGCAGGAGA ATCACTTGAA 1800  
 CCTGGGAGGT GGAGGTTGCA GTGAGCCAAG ACTGCATCAC TGCACTCCAT CCTGGGTGAA 1860  
 AGAGCGAGAC TCTGTCTCAA AAAAAATATA TATATATAAA AATAAAAAGT GTAGCTCCCA 1920  
 CAAGAAAAGT TTTTTTTTTT TCATTCAAAC TGTAATACC ACCACCTTG AAAAGGAAGT 1980  
 ATGGGATCTC TTGGATTAAT TTGGGAAGTG TATAGTTTCT GTTCAGAGTG TTTTATATTT 2040  
 ACATGTTAGT GAAATTATAG AGACATTTTA TCCCCTTGTG ACTTGACAAG ACCTTTAAAT 2100  
 TATGTTATTT CTCATTACCT TTTTGTAG

2127

(2) 配列情報 SEQ ID NO:55:

10

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 716 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:55:

GTAATTGTGC TAAAGGTAAG GTTTAACATT GTTATTCTGC TTCCATGTTT GAAGTTTAAAC 60  
 TAAATGGAGT CATTCTTAC TAACTAAGAA AGATGAGGAA AAGATTTATG ACTTTAGACT 120  
 GGAGGCATGG ATATGGCTGT CCAATTTTTT TGGTCAACCA ACTGATTTCT GAGCCCTTCT 180  
 CAGTAAGATA GAAATTTTAG AATGGTATCT TTATTATATT GGACTACTGA TGCTTCCCTA 240  
 TCTGCAAATC TTTAGGTTTC CTTGTAAAC TGGAAATTA ATAGAAGTGT AGTGATTCTT 300  
 CAACATATTG AGAATAAGGA CAGGAGATAT CACTGTTATG GGCGGAAACC TGGGCTAGGA 360  
 ATTGTTTGTCT GTCAGGAATT GGAACCTAAGT AGGTGTGGAC TAGTAAGCCA ATTACATACC 420  
 TCTTAGCATT GGTCTGTTTT GTTCCAACAT AGAGGAAAAA AAAGGGTGT AGTCTTAAAT 480  
 GATATTACAG TTCCTTATGT GCCAATTTCA TTTAATAATT TTAGAAAAAT GTGACTGTTA 540  
 CCATGAAGAA AATTAAGGTA TCTTAGGGAT AATTAACA CCAATCATAA GAAGTGTGCA 600  
 TATCTAAAGT ATTGGGTTGG TTTTGAATTT TATTTTGTGA GTAAAGGAGG AGGAATGGGC 660  
 CTTTATTTTC TTTGTGTTCC AATTTTGTGG GGGTTTTTTT TTTATTATTT CTACAG 716

20

(2) 配列情報 SEQ ID NO:56:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 837 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

30

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:56:

GTGAGTAAAA TAACCAATGT ATTGATCAGC ACAATGAAAC ATAATTTCTT TCCTGCCCTA 60  
 TTCTGTGGGT TGTTTTCTTA CTTTATATAT AGTCTCCTTT CATAACAAA AGTTTTTAAT 120  
 TTTGATGAAA TCCAATATAT TTTTCTACTA GTTGCCTGTG CTTTCGTTTC ATGTATGTAT 180  
 GTATGTATGT ATTTACCTAT TCGAGATGGA GTCTCGCGCT GTCGCCAAGG CTGGAGTGTA 240  
 GTGGCAGAT CTCGGCTCAA TGCAACCTCC GCCTCCTGGG TTCAAGCAAT TCTCCTGCCT 300  
 CAGCCTCCCA AATAGCTGGG ATTATAGGCA TGTGCCACCA TGCCAGCTC ATTTCTGTCT 360  
 TTTTCGTAGA GATGGCGTTT AGTCATGTTG GGCAGGATGT TCTCGAACTC CAGACCTCAT 420  
 GTGGACCACA TTCCTTGTGC TCCCAGAGTG CTAGTATTAC AGCTGTGAGC CACCCATGCC 480  
 TTGCCTGTTG CCTGTGCCTT TGGCTCTTCA ATAACCTTTA TTTATAACAT CTTTGCCTG 540  
 TCATTGTTCT TCTAAGCATC AGTGTGTGTG TATTTTGGTT AGAGATGTAA TCTCTTTTAA 600  
 GATACATTTT ATATAGGTAA GGTTTTAAAA TTCTCATACA TTCCTTTTAT ATATTTCCCTC 660  
 TACTAAAAAA TGGGCTTTAT TTATATAATT AAGAAAGGTT TTGTAAGAAA ATAAGGACAC 720  
 ACTTTGCACT CACTCAGAAA ATGAGACTTT CTTTGGTATT TTCACTTAAG TTGCACTGGG 780  
 TATGAAATGA CTTTTTAGAC TAAGTAGATG TTTCTAATGC TGACTTTTAT TTTATAG 837

40

(2) 配列情報 SEQ ID NO:57:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 1081 塩基対

【表 9 - 2 5】

- (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 二本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:57:

GTATTTCCCA AAAAATATGA TACTAATGGG GATATTGTAG ATGAGACCAA CTTCTGTG 60  
 TTAGTCATTT AGTTCAAGTT AACATCTAAG AACATTTATT CTGTTTCTAT TTACATAGTT 120  
 AATCTCTACT TGTGGAGTAG AAAAGAAATA GAATCTTAAG ACCTATGTAA ATTCTTTTAA 180  
 TATTGTATGA AAGATCTATT TTGGGTAAAA GCTTCGATTC CTCTCTATCT AATAAAAAGTT 240  
 TTTAGAATAC TGTGATTTTT ATGAGCTGAG AAGGCTTAAA AAAAGTAGCA CACATGTCAC 300  
 TAGCTAATCT TGTATAGCAG CCTTTCCTTA TCTTATGAAA ATTAATACC ATTGAAAATG 360  
 TCAGAAAAAA AATAAAAAGT TGCTTTTCAT GTGTTACAGA GAGGCATAGA GTTAAAAGCA 420  
 TTGATTTGGT AGCTAGTTCT TCCCTCCCG GAGATGGAGT CTTGCTCTGT CGCCAGCGT 480  
 GGAGTGCAGT GCGGCCATCT CAGCTCACAG AAAGCTCCAC CTCCTGGGT CACGCCATTC 540  
 TCCTGCCTCA GCCTGCCGAG TAGCTGGGAC TACAGGCGGC CGCCACCACA CCCGGCTAAT 600  
 TTTTTGTATT TTTAGCAGAG ACGGGGTCTA CACCGTGTTA GCCAGGATGG TACTCGATCT 660  
 CCTGACCTCG TGATCCTGCC CGCCACGGCC CCCAGAGTG CTGGGATTAC AGGCTGGTAG 720  
 CTATTTCCCT GATACTGACT TAGCATATGA GTTTATGCTT AACTCTCATA AGATAGACGA 780  
 AACTAATTTT TATAGTGCCA TAGATTAAT GTTTAGAGAT TTTTATATGA AATTTAAGA 840  
 GTAATGTTTT TCAACCTCAA TGTACAAAAC ATGTATTTTA TAAAAAATT TTGAAATACA 900  
 TCACAATGTA AACCATTTTA TATAATTCAT AGTTTGAAT ATAATTATT ACAAAGACAG 960  
 TAAAAGGAAG AGCGGCTGTT TCAAAATAAT ACTTCAACT GTAATTTGA CTAATTTCT 1020  
 GTCTAAATAT TAAAAAATA TTTAATAATT ATTCAGTGAA CCAAGACATT TTTTATTCA 1080

10

20

G

1081

(2) 配列情報 SEQ ID NO:58:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 1455 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 二本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:58:

GTGAAAATCA ACATCTTTTT ATGAGAAAAA TACATCAATA TCTAATCTAT TAATAATCCT 60  
 TTTGGGGATG GGAGGGTGGC AGTTAGGTTT AATATGTTAT AATTACACCT TGTTATGAGA 120  
 AAAATCTTGG ACTGTAACGT CCCTCTCTAC CCACAAATTG GGAAGGTGCC AAGAGACCAA 180  
 AGAATGACTC AGACAAGTCC AGCTCGGCAA GTACATAACG TCTATTAAGA CTTACATATG 240  
 GAGGAGGCAG AGGTGGTGGG GAAAAATAAA AGACTTATAT ACAGGGTACT CCTAGGTAGC 300  
 AGCAGGACAG CTCTAGAGAT CCTCGCTACC TCCCATCGCT AAGCTGCTTT TAAGCTAATT 360  
 TTCTGGCTCT TTGCCTACTA TGTGTGTGCA CGATGGGACT GTTTTCCTTG GTAGTTTCTC 420  
 AGATCTTCTC TGGGATGTTG GGGTTCTCAG GGACACCTGT TCCTTGGCTG GGCACCATGG 480  
 CCTTGGCTCA CTGCCTAGCC TTCAGGGTTT AGGCAGCAGA CATAACCCT TAAGTAAGGT 540  
 AGGTGACCTG TCACATTTCA CCCCATGTCA AAGAGGAAAC GAGTCAGATA ATTTGTGGTT 600  
 GCCCTAAGAT TTTGGTGACA GAGTAAAAAT TCAGTGTTCT TTCTTGATT CCTTACCAAG 660  
 TTTCTTTCCC ATAGAGCAGT GGTCATCCT TTTTGGCACC AAGGACCAGT TTCATGGAAG 720  
 ACAATTTTTC CATGGACAGG GTTGGGGTT GGAGAGATTT TGGGATGATT CATCTGCCTT 780  
 ACATTTATTG CACACTTTAT TTCTATTATT ATTACGTGGT AATATATAAT GAAATAATTA 840  
 TACAATCAC CAAAATGTAG AGTCAGTGGG AGCCCTGAGC TTGTTTTCTT GCAACTAGAT 900  
 GGTCCCATCT GGGGGCGGTG GGAGACAGTG ACAGATCAGC AGGCATTAGA TTCTCATAAG 960  
 GAGCATGCAA CCTAGATCCC TTATGTGTGC AGTTCACAAT AGGGTTCACA CTCCTGTGAG 1020  
 AATCTAATGC CACCACTAAT CTGACAGGAG GCCAGCACAG GCGGCAATGT GAGCGATGGG 1080  
 GAGCAGCTTT ACATACAGAT GAAGCTTTGC TCGGATGCTC ACTGCCTGCT GCTCACCTCC 1140  
 TGCTATGTTG CCCAGTTCCT AACAGGTCC ATGGCCAGG GGTGGGGAC TCCTGCTTTA 1200  
 GAGTGGTTGA TATCAAACCT CCTCTCCAAA CCAGTCAATG AAGTTTACT CATATTTAGT 1260

30

40

【表 9 - 2 6】

ATCCAATTAC AAGGTTTTGA ATTTTTGAC TGCCAAAAGT TTTTTTTTA ACTTTATTAT 1320  
 TAAATGGGA AAGACAGCTG ATTTATTTA GATGGAATAA TTGTTAAGAT ACTTCTTCTG 1380  
 CCTTAGATTA CTATTGTATT TGTAATTAAG GTGCTCGTTT GGATACTGGC ATTCTGTGTA 1440  
 ACCAATTCTT CATAG

1455

(2) 配列情報 SEQ ID NO:59:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 2741 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

10

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:59:

GTAAGTTTAA CAATACTAGG AGAATATCTT GGGGCTTACT ATCTGGAAAT TTAATTTTCA 60  
 TCTAACCCCTA CAAGTGAAGT TAATAGGGTA TACATAGAAG AAAATATTCT ATGCATTTTG 120  
 GTACCCATGG ATCACTTAAA AGAAGGGCCT TAAAGACTA AGAACACAGG AAAATGCATG 180  
 ATATAACAGG TATCTTTTAA AAAGGATAGA CTGCTTTATT TATTTATTTA TTTATTGAGA 240  
 CAGAGTCTTG CTCTGTCACT CAAGCTGGAG TGCAGTGGCC CAATCTCAGC TCACTGCAAC 300  
 CTCTGCCTGC CGGGTTC AAG CGATTCTCAT GCCTCAGCCT CCTGAGTAGC TGGGACTACA 360  
 GGCATGCGCC ACCACGCCTA GCTAATTTTT GTATTTTATG TAGAGAAGGG GTTTTGCCAT 420  
 ATTTGGCCAGG CTGGCCTTGA ACTCCTGACC TCAAGTGATC CGTCTACCTC GTTCTCCCAA 480  
 AGTGTGGAA TTACAGGCAT GGGCACCGTG CCCGGCTGAC TGCTGTATAT TTAATATGAT 540  
 CCCTATTTTT AAAGTGTATG TTTATTTATG AGCATACAAA ATAGTGGAAA TGGAAAAACC 600  
 AAAGTGTAA GATCATTGTT GGGTGAATGA ATTCCTGGTG ATTTCTGTAA AATTTTAAAG 660  
 GCAAATACAT ATTACTTTTA AAATCAGAAA TAGAAAAGCC TTCTTAAAGA TAGAGCTGCA 720  
 TGATCCAGTT AGGTATAGAC AAGCCAGTGA GTTAAGACAA CTGAGTATGT TCCACTTTGT 780  
 TGAGCTGTGC TACCTAGTT AATGTGACAT TAGTGCTGGC CCAAGAAATA CAGAAAAGGG 840  
 CAGTTTTGCT ATCTATCTGG TTTATATTTT TTAGGCAGCT GCTTAGAAGA TCTGCAAGGT 900  
 GAAAGTTTT AGTTACATA TGTGAGATAG AACTACTTTT TAAAGAGCA ATTCAGTAAA 960  
 TCCAGAGAGT TCTAAATCCT TGGATCCAAT TAAAAGAATA TTGTTATTTG TAGATCAGTT 1020  
 TTATAATGTA ATTGATAAGA ACTGGCTATA GAAGGAATAC CAGTTTTAAA GTCAGGATTC 1080  
 ACTCTAGGCT GGGCATGGTG GCTCATGCCT GTAATCCCAG CACTGTGGGA GACCTAGTGG 1140  
 GGAGGATCAC TTGAGCCCGG GAGTTCAAGA CCATCCTGGG CAACATAGCA AGATACCATC 1200  
 TCTACCCCA ACCCCCCCAA AAAATCACT CTAAGTGTAT ACTTAATACA CATGGATGAT 1260  
 CCTTATGAAA AGTCTCATT TTTGAAAGAT CTGAGAGCTG GTCTTTCTTA GTCTATTTTT 1320  
 GTAGAATTTT CCGTTCCTA ATCTACAGAT TAGGAAGACT TGACGTTAAC TTCATTTTCA 1380  
 ATGTCTTACC ACTTGCTCAG TTTTCTGAG ATCTCTTGAT ATTTTATGGA GGAGAAATGA 1440  
 TCATAATCTA TTCTTTGCTG ATTTGCGAGC TTTGTACCAA ATACAACTC AGTAAGTTTA 1500  
 TTTACTTTTG TATCATCTGG AAATAGAAAT GTTAAGCCAC AGTTTGTAG GATTTACTCC 1560  
 TATCAGTACT TCTTACAAAC TTTGCTATGT ATATTTTAAA TTTTAAAAAC ACTCTGATGC 1620  
 ACAGCTCTTA GAAGTGGACA CAGAAGAAGG AAGAAATGCT TCTCAAAAAT TCAGACATTG 1680  
 GTGTGAATAC TAAAAATAG ACTAAGCCAT AATGGGTTGT GTACCACTGA ATCATACTACT 1740  
 TAAAAATGGT TGAATGGTAA ATTTTATGTT ATATATATA CCACAATTTT AAAAACTAG 1800  
 CCTGTAATAC CAGCATTTTG GGAGGCCAAG GCGGGTGGAT CACCTGAGGT CAGGAGTTCC 1860  
 AGACCAGCCT GGCCAACATG GTGACCTCAT CTCTACTAGG GAGGCGGAAA GTAGCCATGC 1920  
 CGTGTGGCAT ATGCCTCTAA TCCCAGTTAC TTGGGAGGCT GAGGCGCAAG AATCACTTAA 1980  
 ACCCAGGAGG CAGAGTTTGT AGTGAACCGA GATCAGGCTA CTGCACTCCA GCCTGGGTGA 2040  
 TAGAGTAAGA CTCTGTCAAA AAATAAATAG TAACAATTTG CCCCAAACCA TTGAATTGTA 2100  
 TAATTTAAGT AGATGAAATT TATGGTATAT AAAGTGTTTT AAAAAAATAA ATTATGCTTA 2160  
 ACTGAATCCA AATCATGCAT GTCCACCTTG CTTAAGAACA TTATTGAGTT TTAATAATTT 2220  
 TTTATATGTG GAAAAAGACA GAGATCCAAA TTGATAAAAC CCGTGGCGGC GGAATGCTCC 2280  
 TAGATGACAT ACTACCAATC AGGTCCCTT ATCAAGTAGT GGCTCTGTAG TAAAAACACA 2340  
 TCTTACATGA GTGGTAGGTA GAAAGTGGAT ATGATAGAAA ATATTATAGA AAAATATAAT 2400  
 ATAGAAAAAT AGGGTAATTC CTTAAATTC CCCTAAATCA TGAAGGTTCT TTAGTAGTGG 2460

20

30

40

【表 9 - 27】

AAGACAGAGT CAGGTCTGAT TTGGGAAAGG GGGCGTGGAG AAAGGAACAC TGCAAGACAC 2520  
 AAAATTCCGT TTTAAATTT TGCTCTCAGT AGTGTTCAC TGAACACGAAT GAAAGTTCAC 2580  
 TAATGAATAT AGGTAAGATT AGACTTCTGT AATTCTTGT TGCTTTTTGA ATTATGAAGT 2640  
 ATTTCAAACA CTGTAGTTAT TTTTAACAT AAGAGCTTGG ACGGAAGTCA GATCTGAGTC 2700  
 TCCTTGAGTT AAATGCTTTG TTTGATTTGT TTTGACCCTA G  
 2741

(2) 配列情報 SEQ ID NO:60:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 197 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

10

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:60:

GTAAGGAAGG CAGAGTTGGA TATTGAGTTC CTTCTCTGTG GCATGTATTG AAAAGTTACC 60  
 CGAGGTTTGG CTAGAGTGAC ATAGGGGACA GAGGAGTGAT GGGGAGAGAG GGTGGGGAG 120  
 AGCAGAAATT GTAAACCTCT GCCCGGAGAA CCTCTTATTA TCAACATTTT CTTTCATGCTT 180  
 TTTTCTCTG TCACTAG  
 197

(2) 配列情報 SEQ ID NO:61:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 82 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

20

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:61:

GTAATTTTTC ACATACCTTA TCAGAGCATG AGCTTGGGAA ATACAAGTGT TAAACAAAGT 60  
 TTGAAATGTT TTTATCTCCT AG  
 82

(2) 配列情報 SEQ ID NO:62:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 1079 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

30

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:62:

GTGAGTACCA TTTGGAATTG TAAAGGCAAA GATAGGTCTT CATTACTGAG TAACATTTTT 60  
 TAACCACTGT CTTGAGATAC AGTTTACATG CTCTATAATT CACCTATTTA AAATGCACAA 120  
 CTAATGGGT CTTAGTATAT TCACAGATAT GTGCAATACT CACCACAATT TTAGAACATA 180  
 ATATCCCAT GTATAGTTAT ATGAGAGTAT TTTTATCCAT TCATTAGCTA ATGTATATTT 240  
 CAGTTGTTTC TACTTGGGGC ATATATGCAT AATACCACTA TTAGCATTTG TGTTGGGTT 300  
 TTGGTATAGA CATGTATTTT CATTCTCTA GGGTATATAC CTAGGAATGG GCTGCTGGGT 360  
 CATACATTAA CTGTGTTTTA CCTATTTAGG GAATTGCTAG ATTGGTTCTC CAAAGTACTG 420  
 TACCATCTTA CACTTACACA GCAGTATAAT AAAGATTTTA GTTTCTCCAC TATCTCATT 480  
 ACACCTACTA TCTTACTTTG TTTAAATAAC TTATTGAGGA GAAATTCACA TAACATAAAA 540  
 TTAATTGGGT TTTTCTTTTC TTTTGGGAGA TGTTGTTTCA TTCTTGTCAC CCAGGCTGGA 600  
 GTGCAGTGGT GCATCTCAGC TCACTGCAAC CTCTGCCTCC CAGGTTCAAG CGATTCTCCT 660  
 GTCGTAGCCT CCCGAGTAGC TGGGATTACA GCCATGTGCC ACCACGCCTG GCTAATTTGG 720  
 GGATTTTTAG TAGAGATGGG GTTGACCATG TTGGCCAGGC AGGTCTCAAA CTCCTGACCT 780  
 CAGGTGATCT GCCCACCTCG GTCTCCCAA GTGCTGGGAT TACAGGTGTG AACACCAGCA 840  
 CCTGGCCTCT AAGTCTTGAT TCACATACTA TAGACTCCTA TTGTTTTTAT TGAATTTTAA 900  
 TAGATATTCT TGAATCGATG TATCTTCATT TGCTATATGC CGTTAATACC ATTTCCAGAG 960

40

## 【表 9 - 2 8】

ACTTTAAATA GCTTTTATAT AATTTTCACC CCTTTTACTG GGCAGCAGGT TCACAGAGCT 1020  
 CCTCACACTA TTATGGTGGT AGTTGCTATG TCTCTCAGAG CACTCTTGCT GTTTGCCAG 1079

(2) 配列情報 SEQ ID NO:63:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 659 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:63:

GTAACATCAT TTTCTCTATG GGCTGCAAAA TAAAGCTTAT AGTCTGTGAT GAATACAAAA 60  
 AATTACCCAT AGTTGACTCT GTGGCCTTTT TTCCAAGATA AACACCTGGG ACTCTACTTA 120  
 AGGAAAGTTC TACTTTAATC TTTATTCTTG ATGTCACATG TTGATTAAGG TCTCTTTTCC 180  
 TCAAAAGGCA ACAATGTTAA ATATTTTATT GCCTTCTTAA TTCAGAAAAA TCACAAGATA 240  
 GGAATTAAGA AGTTACTTGG TTTCTATGTC ACCTTTTATT CTGGTTTAGT AACATACTG 300  
 TAGGTTTAAAC CAAGAGAATG TCACATGGAA ATTTAAAACC CACTTCGACT TTATTACCAT 360  
 TCATCTCTGA GAGGCAAATC GGCCAGATCT GTGTATCTTA CTTAGAATGA CTTGACATTA 420  
 TGGTTGGGTG CTGTCAGTGC AGTGTAGTAC TGCAGGTAGT ACTTGGCATG TGATGCTAGA 480  
 TGGGCTCTGA TTGAATCCTG GATCTGTTAT AATTTGAGTT ATGTTTCTCA ACCTGTTCTG 540  
 AGGACAACATA TTGCTATACA GGTTATTGTG AAAACCAAGT AACATATGTG AAGGTCTAT 600  
 CACCAAGGGT GTGCTCAACA AATACTAGTT TATGTCCCCT GCTCATTGTT TCTCTAAAG 659

10

(2) 配列情報 SEQ ID NO:64:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 572 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:64:

GTGGGATCTT TGTGAACATC AAGACAAAAT TAGGAGCTTT TCTTACTTTT TAGGCCTTGA 60  
 AGAAGTAACT AAGCATTACT AAATGAAATA ACTATAGAAA CTATGAAAGT GTTTTATAGA 120  
 TCAGTAAACC ATATTCTAGC TGGCAAAACT GTCCATTACA TAGCTTTGGG GCACAATATT 180  
 ATGTAACATA TTTCTCCAGG AGAATTAGAG CTTTCAGGGA GGAATCTGCT TGCCTGAGTT 240  
 CCAGAAAGGT CTGATATGTC AATTGGAACC ATGCTATGGA AATACCATCC CCTGCCTGTC 300  
 TGCTTTGTAC CACTTAGTAC AGGGCTTAGG TCCTAGAAAA TTTGGTGTAA CTTATTAATG 360  
 GACACTACTC AGAAAGCCCT TGCTATGGTT ATGGCATAGG GAGAAAGTTA ATATCCTAGC 420  
 TGAGCTTTGC TTTTGGTGT GAAGAACAGA GTGCCTATTC ACTGTTATTA GCAAGTAGTG 480  
 CAGGTAGCTG TTCCCTTTCT CCTACTTTTA AAAAATTAAT ACAGTCACTA TTAGCAGCCT 540  
 TTGTTGACACA GCCTTGGTTC TCCTGGCTGC AG

572

(2) 配列情報 SEQ ID NO:65:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 901 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:65:

GTAAGTATGA CAGGGATTAT TTCATACTTT TCTCACTCAT GAGTGTGAG GAATCATTTA 60  
 TGATTTATAT ATGGACCATT CACCTGGTCC GTATATAAAC TAGTTTTGGC CAGGTGTGGT 120  
 GGCTCACACC TGTAATCCTA GCACTTTGGG AGGCCGAGGA GGGTAGATCA CTTGAGGTCA 180  
 GGAGTTCAAG ACCAGCCTGG CCAACGTGGC AAAACCCAGT CTCTACTAAA CATAAAAAA 240  
 TGAGCTGGGC GTGGTGGCAC ACACTTGTA TCCCAGCTAC TCTGGGGGCT GAGGCAGGAG 300  
 AATTGTCTGT ACATGGAAGG CGGCGGCTGT AGTGACCTGA CATTGTGCCA CTGCACTCCA 360

20

30

40

【表 9 - 2 9】

GCTTGGGTGA CAGAACAAGA CTCTGTCTCA TCACTAAGCT AGCTCTACAA ACACTTCTCT 420  
 TATGTACAAT GAGGAAGTCT GTAATCTACC TAACCAATAT AAATTCTACT GTTGTCAAGC 480  
 ATCAACCGAG TAAGATTGTA TTTGGAGTCC CCGCAAAGTA TAGTAGTACA AGAGGCAGGC 540  
 TACATGGGTT CAAATTTCCC AGTACTTAAC AGTGGTGGTA ACCCTGCAAA TCATTAAATT 600  
 TTCTCTGTAC CTCATTTCTT CATATATAAA ATGGGAATAT AACTAGTTCC TAGCATATGG 660  
 GGTGTTGTA AGGATGACAT GACATAATGT ATAAAAATG CTTACAATAA TAACTGGCAC 720  
 AAATAAGCA CTTAAGGTTT GCTATTAGAA TATTTTTCTT TAGGTTAAGT TATTGCTAAA 780  
 ACATCACTCT GTCATTCATA AAATACTGG TTAGCACAC CTCTTCACTC AATAATCATT 840  
 TTCAGTAAAA ATAATTATAA ATTTTTTTTC TTAGAATTAC TGATTTTTTT TTTTAAACA 900

10

G

901

(2) 配列情報 SEQ ID NO:66:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 4220 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:66:

GTGCGCTCGC GGGCGGAGGG GCGCTTCCGG CCTAGTTGGT GTGAACCGGT GCCTTCCGAG 60  
 CCGTGTCCGG CGCCTCGAGA GACTCTCGGG CCGGTTGCGG GCTCCCAGCC CCGAGAGGGG 120  
 TGGGGACTCC CTCTGCGCTA TTCCGAGGCT CTTAGCCGCT CCGAGGGTTA ACCCGCTCTC 180  
 GCCGGGCTTT CCTGCGGCTT CCGAATGGGG AACGTGTCTT GCCCTAAAGT AGCACAGCAA 240  
 GGTGAGATC GCGTTGGGGC CCCGTTGAGG AAAATGGGTG TGTGTGGTCC ATCTGACCCC 300  
 CCGCCCGTCT TGTTAGTAGA ATGAACTAGT GTCGTTGTCA AGACCACACG GACAAGGGGA 360  
 GGGGACTTGC CCTTATTTGC ACCGCGATTA ACCGGGTTGT GGCACCTGGG TCTCCACGGC 420  
 TCTCCGCTCG TTGCGTTCCC CCTGTAAACC AAATTGCCTT TGCCCTGGCG TTGCGGGCGT 480  
 TTGAGTCAAC GTGCTGATGC GTTTTGGGCT GTGTTTACGT CTGTGTAAC AAATTAATAC 540  
 TCATTTCCC CCAGGCCATA TGAATGAGC CCACCGCCGA CCCGGATGTT TACACATGCC 600  
 CCCATTTGTC ACTACGATCA GGAAGTGGC TACCTCCAGG GCTTTTTGGT CACCCGCGC 660  
 ATTGCACAGG ACTCCTGTTG TCGTCGCCAT CCGGGTGTGT TAGGTCCGAG CCTTCGGCAC 720  
 AGGGCTTGCA CCATGACAAA AATGGCCATT CTAGCCAGTG AGTGTGAGCT TTGTATGCAC 780  
 CTCCCCTTCA TGGGCCAATG GGAAGTGACA CGGAAGTACG GATTGTTTAT CACCTGTTTG 840  
 ACTGTGTGTG TGGCATTTAA ACCTGAGGCC ATTTGATTTT TCAAGTCGTT TTATAATTA 900  
 TTTGTACAAA GAGTCGGGCA AATACGTCCA GGATGCAAAG CCTAACGAAG GTATTATTTA 960  
 AATATGATGT TTTTGGCTAT GTGACTGAT GACTGAGGTT ATTTTAAATT TGTATTTGCA 1020  
 TTAATACAAT TTAATTTCAA TTAGTAGTTC CCTCTTTGAA TTGTTAGGTC TGCACAACAT 1080  
 ACTGTATGGT GGCTTTACAA CCCGACAGAC CTGAAACCGC TGAAAAAGTT CAGTATGGTG 1140  
 ATCTCTAAAC TGGAGATATT TGTGTTTACC TCACAGAGCT GTTCTGAAGA TTAATAAAG 1200  
 CAATAATGTA GTTTCTGGCA CATAAAGCAC CCATATGGAC AGTGTTTTCA AGTTTACTAA 1260  
 GCTCTTTGTA TATTTACATG ATCTGGCTGA GTAAGCTATG TTCCTATTCA TCTCTCAGTG 1320  
 CCTTTCTGTA GTCTGGCAAA GAGAAGGACT GGTGGCTTT TTATGTTGTT TTTTGTTTTT 1380  
 TGGGTTTTTT TTTGGTAAAT GGCCTTAAAG GCTTCAAAC AAGCTCTTAT TTTACCCTCA 1440  
 AGATAATCCT GTAATCAGA TAGAACAAGC ATTATCGCCA TTTATTTGAG GTATTTCAAC 1500  
 TCATAGCAGT TAAGTTGTAT GAAGTCTAGT GATACATGAG CAAGTATCAC GTAATAGCTG 1560  
 GTTAGTAAAT TATTTTGAAT ATCATGTTT ATTACTCAAT TCTTTTGATT ACTGAGACTT 1620  
 TAGTTTCAGC TTCTTAGCCC AGTTTATCAG TAAATGATTT ACTCAGTAAA ATATTCATCA 1680  
 AATATTTCTT GAGCACCTAT TACTTGCTAC ACATTGTTCT AGGTGCTGGA TATAGGCAC 1740  
 AAATACTCT TGTGGGGCTT ACAGTGAGGT ACGCTGTGAC AATATGGGAT GTCATTCTCA 1800  
 TGGGAGTGCA AGGGTAAAT AAAGCTCTTA TGATGTTTAA TACAGAATAC TGTTATGGA 1860  
 ATTTAACTT GATTTCTTGT ATTTTCTGTG CATTTTTAAC CTGTAACCTA TTCTCACAGT 1920  
 CCTCAGCCAA GAAAATGCAG CCTCTGAGAC TGTTAAGTAA TTTCCCACT GTGTTATAGC 1980  
 TACTGTATGG CAGAGCCGGA ATTTGAAACC AGATCTATTT GACCCTAGAA GATGTGACCA 2040  
 TGAGATGTTA ATTTTGGGTA TAACTTTTTT AGTATTATGG AATTTTCAAC ATATATTTTT 2100

20

30

40

【表 9 - 3 0】

TAGGACCAAA GATAAACTAG GCACAGAGTC TACTCTTTGC ATAAATTATT TAAAAGAGCT 2160  
 TCGCGCTCCA TTTTGTATC TAAGCACTGT AAAATTCTCA CAAGACTAAT TCTTCTTTT 2220  
 AGGAACGATA TAGTTGTAAA CTTTCTATTT TTTTCTTTT TTTTCTCC CTCCACCATC 2280  
 CAAGTAGTTG TGAATTTTCT AGAGCCAAAA TAGAACACTA TAGATTATCT TTTAAACCCT 2340  
 TTATTGAAGC AGAGGATAAT GCTGTGACCG ACTTAACTTT ATGCTTTCTA AGAGATATTG 2400  
 ATATAGTAGA GAAATGCAGT AGTTATGCAT CTCCGTTTGC TTTTACATCA TAAATCAAGA 2460  
 ATATTATGAA ACCATCTCCC AGAGATATAT GTGATACACA GATCTTGGCT GTTTTTTTTT 2520  
 TTTACAAAAG TAACATCTAT GCTATTGATA CATATAAGTG GGTTTGTAAG ACAGTCTATG 2580  
 TGTAATGTG AAAAAAGGAA GAATTTCCAG TTCTTCTCAT TTTTATTAG ACCAGTAATG 2640  
 AATACAGTGA AGCTAAAGGA CATCTCCAT CCTTCCTCGC TTTTATAGGG AGAGGAAAGT 2700  
 TGTATCACTT CTTGAGTAAA AAGAATTGTG ACGATCTTTT ACAAACAATG CCTTAAAAAT 2760  
 TATTATTTTT GAATGATATG TGGTAGTGGG ATCCACAATA GTCTCATTG GTTATACAAA 2820  
 TAAATTTTAT GTATTCATGT ATGTGTTTTG ATTAGGTATA AAATTAGTGG CTGAATATCC 2880  
 ATCCAAGCTT AATTTTGTAT TTCTATCACT TTTGTAGATT TTGAGCAAGA TTAATAATAT 2940  
 AAACAATAGG CCAGGCGCAG GGGCTCACGC CTGTAATCCC AGCACTTTGG GAGGTCTAGG 3000  
 TGGGCGAGTC ACGAGGTCAG GAGATCAAGA CCATCCTGGC TAACACATTG AAACCCAGTC 3060  
 TGCTACTAAA AATACAAAAA ATTAGCTGAG CGTGGTGGTG GGCACCTGTA GTCCCAGCTA 3120  
 CTCAGGAGGC TGAGGCGAGGA GAATGGTGTG AACCTGGGAG GCAGAGCTTG GAGTGAGCCA 3180  
 AGATGGAGCC ACTGTACTCC AGCCTGGGTG ACACAGTGAG ACTCCATCTC AAAAAAATA 3240  
 AAAAAATAAT AAAAAATAAC AATAATATTG TTTGCATTAC TATGGCTATA TAGCAAATTG 3300  
 CCTTAAACT TAGGGCAGA AAGCAATTG TTTTGGTAC AGGTTCTGTG AGTAAGGAAT 3360  
 TCAGGCTGGG GACAGTGTGG ATGTCATGTT TCTGCGTCAA AATGACTGGT ACCTCACCTG 3420  
 GAAGACTTGA GCAACTAGGT ACTGGCACAG CTGGAGCTCG TTGGGCATCT CTGTATGTTT 3480  
 GTTCCATGTG GTCTCACCGA CATGGTGATC CAGGGTAGGT AAATTGTAC ATGCTGGTTC 3540  
 AGGACTCCGA AGGCACATGT CCTAAGAGAG AGAACCAAGT GGAATCTATA GTGCGTTGTA 3600  
 TAATCTTTTA GAATTACATA GTTTCAGTTG TACCTGTGCA ATTATTGATA GAGACAGTTA 3660  
 ATCAGTGTGA GGAACACAG ACCCTTGCCC AGGTCCAAGG TGAGGGAACC CTCTGTACCT 3720  
 GTCAGTGGAA TAATGTTAAT GTCACATTAT AAGAAGAGCC TGACGGGGCT GGGTAGAGTG 3780  
 GCTCACACCT GTAATCCAG CACTTTGGAA GACCAAGGCG GATGGATCAC TTGAGGCCAG 3840  
 GAGTTCAAGA CCAGCCTGGG CGACATGACA AAACCTGTG TCGACCAAGA AAACATAGAA 3900  
 TTAGCCAGGT ATGGTGGCGC ACTTCTGTAG TCCCAGCTAC TTGGGAGACT GAGGTAGGAG 3960  
 GAGTGCTTGA ACCTGGGAGG TGGAGGTTTC AGTGAGCCAA GATTGGGCCA CTGCACTCCA 4020  
 GCCTGGGTGA CAGAGCAAGA TTCCATCTCC GAGAGAAAAA AAAAAAAAAA AAAAAAGAG 4080  
 CGTATGAGAT AGGGTCATCA TTGAACTAA GTTTCCACA AAAATATAAA CAACACTTTC 4140  
 AATTTAAACA TACTTTTAAA AATATTGAAA TATTTATATG TAGCTTTTTA ACTGAAAATC 4200  
 AATTTCTTT TCTTTACAG

10

20

30

4220

(2) 配列情報 SEQ ID NO:67:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 3507 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 二本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:67:

GTAACATATGT TAGAGTTTGA CAAGTAGAGT ATGGCTAATG TAAGCTCATA AATCATAGTG 60  
 ATAGTAAGAA TTATCTCTGC TCATCATTTT CTGAGCATTG GTACCTGTGG ACTGGCGAAA 120  
 TTAGATGCTA AAACAGCAT CTAATGATTT TCCTCCTCTA TATCACAGTT AATATCCATT 180  
 ATATTTTACT TCTTTGGTGA AAATATTTAA ATTTTAAATG TTTAGGCACT TGTATGGCAG 240  
 AATTTATTTT TAAAGTTTAG GACATTGTGT AATATTGGGA GAAATGAAGG ATATTGAGAA 300  
 ACTTTAGGAG ATACTCCAAG TTGAAAAGGT AAATAAATA TTATTTGCTA TTATACTTAG 360  
 CAAATATGTG CACAGGACTT GTGGTCTTAA TATAAATGGA ACATGTAAGT ATTTCTCAGT 420  
 TTCCTGTTTG GAGGATAAAT GACATGATTA TAATCCATTT TAGAAAGGGT CAAATATGTT 480  
 TAAAAGAAGA GGCAGAAATT GCTTTATCTG TTGTGTAATT AAATTGATTA CATTTATTTT 540

40

【表 9 - 3 1】

TTGTGCCTTT	TAGGTGAATT	TTCTTACATG	GCTTATTA	AAA	GATAAGTGA	AAAATGATGT	600
TTAGCATTTT	GGGGAAATT	ACCACTGTCA	AAATTTATGG	AGTTAATGGT	TAAAAATCA		660
CTTACTAAAT	AAAAAATTA	ACTGGGTGTG	GTTGTGCATA	CCTGCAGGCC	TAGCTACTTG		720
GGAGGCTGAG	ATGGGAGGAT	CACTTGAGCC	CTGAATGATG	GAGCAGCACT	GCACTCCAGC		780
CTGGGCCACA	GAGCAAGACC	TTGTCTCCAA	AAAAAAAAAA	AAAAAAGAAG	GTTACTATTA		840
AAATAATTAG	CAGGCTGGGG	GCGGTGGCTC	ACACTTGTA	TCCCAGTAAT	CCCAGCACTT		900
TGGAGGCCAA	GGTGTGTGGA	TCACTTGAGG	TCAAGAATTG	GAGATCAGCC	TGGCCAATAT		960
GGTGAAACCC	CGTCTCAACT	AAAAATACAA	AAATTAGCCG	AGTGTGGTGA	CATGCGCCTG		1020
TAATCTTAGC	TACTCAGGAA	GCTGAGTCAG	GAAAATCACT	TGAGCCCAGG	AGGCACAGGT		1080
TGCAGTGAGC	ACTATTGCAC	TCCAGCCTGG	GTGACAAGAG	CGAGACTCCA	TCTCAAAACA		1140
AATAAATAAA	ATAAATAAT	TCACAATGTC	ATGTTTTAGC	TGACATTGTG	AATTTTAGTA		1200
ATCTTTTTTT	AACCTTTAAC	TCCATCCTGA	GTTACATTGA	CCAAAGAAAT	CAGTATCTAG		1260
AATTATATCA	GGAACTACT	AACAGGGTTA	ATAAAATGAA	TAAAGAACAT	GACTTCACAA		1320
AGGTTATAAT	TCACATAGCT	AATAGATACA	GGAAGAGATA	TTCCTGTCA	CTAATAAAGA		1380
CTTTCAAAGT	AGAAGATAA	CATTTCAATC	TGTTTTTTTT	GAGATGGAGT	CTTGCTGTTT		1440
CACCCAGGCC	AGGGTGCAGG	GGCGTGATCT	CAGCTCATTG	CAGCGTGTGC	GTCCCAGGTT		1500
CAAAATGATC	TCCCGCTGTG	GCCTCCAAG	TAGCTGGGAT	TACAGATGCG	CACCACCACA		1560
CCTGGCTAAT	TTTTTGATT	TTTAGTAGAG	ACGGGTTTCA	CCATGTTGGC	CAGGCTGGTT		1620
TCCAACCTCT	GACCTCAGGT	GATCCACCCG	CCTTGGACTC	CCAAAGTGCT	GGCATTACAG		1680
GTGTGAGCCA	CCATGCCTGG	CCAACATTTT	ATTCTTATCA	TTGGGAAAAT	TTGAAGTCTG		1740
GTATACCAAG	TTGGTCACT	GTACAGGGAA	ACAGGAACTC	TATTTTTTTT	ATTTTTCAGT		1800
TCTTTTTTTT	TTTTTTTTTT	TTTTTTTGG	ATGGAGTCTC	ACTCTGCTGC	CCAGGCTGGA		1860
GTGCAGTAGC	TCAATCTCTA	CTCACTGCAA	CCTCCACTTC	CCAGGTTGAG	GTGATTCTCA		1920
TGCTTCAGCC	TCCCGGAGTA	GCTGGGATAA	AGGCACATAC	CACTATACCT	GACTAATTTT		1980
TGTATTTTTT	GTGGAGACCA	GGTTTCACCG	TGTTGACCAG	GCTAGTCTCG	AACTCCTGAC		2040
CTCAAGTGAT	CTACCTGCCT	CGGTCTCCCA	AAGTGTGGG	ATTACAGGCA	TGAGCCACTG		2100
CGCTCAGGCA	GGAACTCTAT	ATTGCTGGTG	TACATTGGTG	AGAGTCAAAA	TTGACACAAC		2160
TACTTTACTA	GCAAAATTTG	TGGTATTTAG	TAATATTGAA	GGTGCACATT	CTCTTACTGT		2220
ACTTCTTGGA	GTAGTCCCA	AAGAACTCC	TGCACACATG	TATAAGGATG	TTTTCATTAC		2280
AACATGTTTT	GTTATCATGG	AATATTAGAA	ACAACCTAAA	TTTCCATTGG	TTGGGGAGTG		2340
AATGCAAAAA	GTCATTGTAT	GTTTCATATGA	AAGAATGTTT	TTAGCAATTA	AAATGAATAT		2400
ATCTTACATA	TCAACATTA	TGTCAGAAAC	ATTATTGAGT	GTGAAAAAGC	AAGTTGCAGA		2460
ATACCACTGA	AGTATGATAG	CATTTATATA	AAATGTAAAA	ACACGTAATA	AGATATTGCT		2520
TATTGTTTAC	ACATACATGT	GTATGTGTAG	TAAGTGTGAA	AACATAGGAA	GGATTAAGAC		2580
CAACTTTGGA	ATGGTTTTTA	TCITTGGGGT	AGAAGGGTAA	GGATGGGATT	AGGGAGGAGT		2640
ATAAAATGGT	AATTTTGACT	GTTTCTTTTT	CTTTTTCTTT	TTCTTTTTTG	AGACAGAGTC		2700
TCGCATTGTC	GCCAGGCTGG	AGTGCAGTGG	CGTGATCTCG	GCTCACTGCA	ACCTCCGCCT		2760
CCCAGGTTTA	AGTGATTTTC	CTGCCTCAGC	CTCCTGAGTA	GCTGGGATTA	CAGGTGCCCG		2820
CCACCACGCC	CAGCTAATTT	TTTGTATTTT	TAGTAGAGAT	CGGGTTTTAC	CATGTTGGCC		2880
ATGCTGGTTT	CAAACTCCTG	ACCTTGTA	TCTCCACCT	CGGCCTCCCA	AAGTGTGGG		2940
ATTACAGGTG	TGAGCTACTG	CGCCTAGCCT	TGACTGCTTT	TATAGTGTG	CTAGTTTAAA		3000
AAAAATCTG	AAGTGGCAGG	AGGAGGTGGC	TCACACCTGT	AATCACAGTG	TTCTAGGAAG		3060
CCAAAGTAGG	AGGATCACTC	AAGCCAGGA	GTCTGCGGTG	AGCTGTGATC	TTGCCACTGA		3120
ACTCCAACAT	GGGTGATAGA	ACGAAACCCT	ATCTCTTACA	AAAACAAAAA	CGACAAAATT		3180
TATTTAATAT	ATTAACATTT	AAAAATCTG	GCAGTGAACC	AACGTGAATG	TTGGTTAGGT		3240
TACTCTTGTT	AATTTTGGTT	TGTATTTTCA	AATATTTTCA	AGTTAACAAA	TACTTTAGGT		3300
AACCTAAACA	AAATGGATTA	GGAGGATCAG	AGGAATATAC	CAATCTGTAA	GAAATTAAGC		3360
TAGTCAGAGA	CATGAGTTGT	GATTTTATTT	CACTGTCTAA	AAGTAATATA	ATTTAATGCG		3420
ATAATATTGA	TTTACTTTTG	AATACTTACT	TTTGTATACT	TTAGCCTTAT	GTTAATTATG		3480
AAATATCTTG	TTTGTCTTTA	ATACCAG					

3507

(2) 配列情報 SEQ ID NO:68:

(i) 配列の特性:

(A) 長さ: 9837 塩基対

10

20

30

40

【表 9 - 3 2】

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 二本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(i) 配列の種類: DNA (genomic)

(xi) 配列: SEQ ID NO:68:

GTGAGCCTAA CATCAATCTT GGCCTTACT AACCTCAAAA TGCTTCAGAT GCTAGAAACA 60  
GGGTTTGTGC TAAGCTTAGG CACTCATTAG AGTGATGAGA GCTGCCAGGG AGCAGTGATC 120  
AGTCAGTCCT CATGAAGCAA AACCCAGGGT TGTTTTGTGTT TTTGCCTTTT TTGAGGGGGA 180  
GGGGGTGGAA TTTAAGGGTG GGAACAGGG CAAGGGATTG TGATTCTTTT TATCCCTCT 240  
CCTATTTGTA CTTTTGGTG TAAACCTGAA ATTGATTTCT TACCAAAGGC CTGTTTCTGG 300  
GACAGGCAGT GTCCTCAGGA GTCTGGCTAA TGGGAGAAGT TGACATTTTT GACATTGCAG 360  
TTCAATAGTC ATATTAGCAC AGATGTATGT GGCAACAGCC ACCTCATTCT AAGAAGGGGA 420  
AGGAAGCTTG AGTCAGGCCT TAATGTTGAA AAGTCAGGGA GCTGTTGAGG TATGGAAGGG 480  
CACTCAGCAG GAAGCAGGTT AAGGGGAAGA AAACAGTGTC CTTGAGGCAG ACAGTGATTC 540  
AAAGCTTAAT TACGGGCATC ATGCTATGTT AGCGAGTGGG ACTGGATTGT GACGGCCCTT 600  
ACATAATGAG ATTTTTATTG ATAAAGGTTG CTTAGAGGCT GGGCGTTGTG GCTCACACCT 660  
GTACTIONCAA CACTTTGGGA GGCCACAGTG GGCAGATCAC CTGAGGTCAG GAGTTCATGA 720  
CCAGGCTAGT CAACACGGTG TAAACCTCAT CTCTATTA AAATACAAAA TTAGCTGGGT 780  
GTGGTGGAAAT GCACCTGTAA TCCAGCTAC TCGGGAGGCT AAGGCAGGAA AATAGCTTGA 840  
ACCCAGGAGG TGGAGTTGC AGTGAGCAGA GCATTGCGCC ATTGCACTCC AGCCTGGGTG 900  
ACAAAAGCGA AACTCACTGT CTCAAAAAA AAAAAAACC GGTGCTTAG AAATACACAT 960  
TTTTTTTTGG CCTGAACCTCT TCAAAAAAAG GTCAGTATGG TAAGAGGACG GGAAGGTTT 1020  
CGTAGAGGAG ACTAGGGAGA CACGACATCC AAATGCAATG CATGATTCTT GACCCTGCAT 1080  
AGGAAATCGT CGTTATAAAG GACATTTTGA GGAAAATTTG AATGTGGGCT TTAGTGTATT 1140  
TTTTTTTTTA AAGTTTCTTT GGTGTTGATG ATGTCTAGCA GATTATGTAG GAGACTGTGC 1200  
TGAAAAGTAT TCAGAGGTAA AGTGTCCCAG TGTCTGCAGC TTACTTTCAA ACGGGTTGGT 1260  
TGCAATATAT TTAGGTAGGG AGAGAGTGAA AGTAACTCTT AGACATTAAT GATTGATAAG 1320  
TGGCTGTTCA GTGTAATATT TTTTCAACT CTTTGTAGGC TTGCAATCTT TAAAAAGTT 1380  
GAGGAAAACA GTCCGGGTGC AGTGCCCTCAC GCCTGTAATC CCAACATTTT GGCAGGCTGG 1440  
GATGGGAAAA TTGCTTGAGG CCAGAATTTG GAAAACGGCT CAGGCAACAT AAAACCCCAT 1500  
CCCTACAACA AATAAAAATT AGCTGAGCAT GGTGCCATGC ACCTGTAGTT GTATCTACTC 1560  
AGGAGGCTGA GCCCAAAATT TCAAGGCTGC GGTGAGCTAT GGTCGTGCCA CCACACTCCA 1620  
GCCTGGGCAA TAAATTGAGA AACCTGTCT GTTTGGAAAA AAAAGTTGAG GAAAACAATT 1680  
AAACAATAAC AGCAAAAATC TGTATAAAA TGTAATAATG GGCCAGGTGT GGTGGCTCAT 1740  
GCCTGTAATC CCACCACTTT GGGAGGCCGA AATGGGTGGA TCACCTGAGG TCAGGAGTTC 1800  
AAAATCAGCT TGGCCAACAT GGTGAAACCC CATCTCTGCT AAAATTACAA AAAAATTAGC 1860  
TGGGTGCGGT GGCACACACC TGTAATCCCA GATACTCAGG AGGCTGAGGC AGGAGAATCG 1920  
CTTGAACCCA GGAGGCGGAG GTTGCAGTGA GCCGAGATCG TGCCACTACA CTCCAGCCTG 1980  
GGCAACAGAG CCAGACTCTG TCTCAAAAA AAAAAAAGT TTAATTCACG CAGAGCCAGC 2040  
TGAACGGCAG ACAGGAGTTT GGTATTCAA ATCAGCCTAC CAGAAAATTC GGAGACTGGG 2100  
GTTTTTAAAG AATGACTTGG CGGGTAGGGG GCCAGGGATT GGCGAATGCT AATTTGTCAG 2160  
GTGGGAGGTG AAATCACAGG GGGTGAAGT GGGCTCTTGC TGTCTTCTGT TACTGAGTGG 2220  
AATTGCAGAA CTGTTGAGC CAGATTATGG TCTGAGTGGC GCCAGCTAGT GCATTGGAAT 2280  
GCGCGGTCTG AAAAGTATCT CCAGCACCAA TCTTAGGTTT TACAATAGTG ATGTTATCCC 2340  
TGAGAGCAAT TGGGGAGGTC AGGAATCTTA TAGCCTCTGG CTGCAAGCCT CCTAAATCAT 2400  
AATTTCTAAT CTGTGGCTA ATTTGTTAGT TCTACAAAGG CAGACTGATC CCCAGGCAAG 2460  
AATGGGGTTT GTTTTTGGAA AGGACTGTTA CAATCTTTGT TTCAAAGTGA AATTAGAAAT 2520  
TAAATTCCTC CTGTAGTTAG TTAGGTCTTC GCCCAGGAAT GAACAAGGGC AGCTCGGAAG 2580  
TGAGAAGCGT GGAGTCATTT AGGTCAGATC CCTTGCACTG TCATAACTTT CTCACTGTTA 2640  
GGATTTTTGC AAAGGCAGTT TCGTGAACGT ACAGAGACAG GCCCTTGCTA TTATCCCTAT 2700  
TTTTTAGATA AGGATATCCA GCGGATGAGG AAGTTTTACT TCTGGGAACA GCCTGGATAC 2760  
GAAACCTTCA CACGTCAGTG TCTTTTGGGA CATTTTCTCG TCAGTACAGC CCTGTTGAAT 2820  
GTTCTCACGG TGGGGAGGTA CGTGTTAAA ATGCGGGGAA GGTGCTTTTA TTTCACCCCT 2880  
GGTGAACATA GGGGAGCTAA TTTTTTAAA CATGATTTTT GGCCCCCTTG AACCGCCGGC 2940

10

20

30

40

【表 9 - 3 3】

CTGGACTACG TTTCCAGCA GCCCGTGCTC AAGACTACGG GTGCCTGCAG GCGGTCAGAG 3000  
TCGTTTGGCG CGGCGCAGGC GCGGTGCGGG CGGCGGACGG GCGGGCGCTT CGCCGTTTGA 3060  
ATGGCTGCGG GCCCGGGCCC TCACCTCACC TGAGGTGCGC CGCCCAGGGG TCGCCTATGC 3120  
CGTGGGGAGG TGACCAGTCG CCACCGCCCC CGCCTCCCCC TCCGGCGGGG GCAGCCTCGG 3180  
ATGAGGAGGA GGAGGACGAC GGCAGGGCGG AAGACGCCGC GCGGCCTGCC GAGTCGCCCA 3240  
CCCCTCAAAG CCGAATTCTG CAGATATCCA TCACACTGBC GGCCGCTCGA GCATGCATCT 3300  
AGAGGGCCCA ATTCCGCCCTA TAGTGAGTCG TATTACAATT CACTGGCCGT CGTTTTACAA 3360  
CGTCGTGACT GGGAAAAACC CTGGCGTTAC CCAACTTAAT CGCCTTGACG CACATCCCCC 3420  
TTTTGCCAGC TGGCGTAATA GCGAAGAGGC CCGCACCAGT CGCCCTTCCC AACAGTTGGG 3480  
CAGCCTGAAT GCGAATGGA CGCGCCCTGT AGCGGCGCAT TAAGCGCGGC GGGTGTGGTG 3540  
TTACGCGAGC GTGACCGCTA CACTTGCCAG CGCCCTAGCG CCCGCTCCTT TCGCTTTCTT 3600  
CCCTTCTTT CTGCCCAGT TCGCCGGCTT TCCCGTCAA GCTCTAAATC GGGGGCTCCC 3660  
TTTAGGGTTC CGATTTAGTG CTTTACGGCA CCTCGACCCC AAAAACTTG ATTAGGGTGA 3720  
TGGTTCACGT ATTGGGCCAT CGCCCTGATA GACGGTTTTT CGCCCTTGA CGTTGGGAGT 3780  
CCACGTTCTT TAATAGTGA CTCTTGTTC AACTGGAAC AACACTCAAC CCTATCTCGG 3840  
TCTATTCTTT TGATTTATAA GGGATTTTGC CGATTTGCGC CTATTGGTTA AAAAATGAGC 3900  
TGATTTAACA AAAATTTAAC GCGAATTTTA ACAAATTC AAGCGCAAGG GCTGCTAAAG 3960  
GAAGCGGAAC ACGTAGAAAG CCAGTCCGCA GAAACGGTGC TGACCCCGGA TGAATGTCAG 4020  
CTACTGGGCT ATCTGGACAA GGGAAAACGC AAGCGCAAAG AGAAAGCAGG TAGCTTGACG 4080  
TGGGCTTACA TGGCGATAGC TAGACTGGGC GGTTTTATGG ACAGCAAGCG AACCGGAATT 4140  
GCCAGCTGGG GCGCCCTCTG GTAAGGTTGG GAAGCCCTGC AAAGTAACT GGATGGCTTT 4200  
CTTGCCGCCA AGGATCTGAT GCGCAGGGG ATCAAGATCT GATCAAGAGA CAGGATGAGG 4260  
ATCGTTTCGC ATGATTGAAC AAGATGGATT GCACGCAGGT TCTCCGGCCG CTTGGGTGGA 4320  
GAGGCTATTC GGCTATGACT GGGCACAACA GACAATCGGC TGCTCTGATG CCGCCGTGTT 4380  
CCGGCTGTCA GCGCAGGGGC GCCCGTCTT TTTTGTCAAG ACCGACCTGT CCGGTGCCCT 4440  
GAATGAACTG CAGGACGAGG CAGCGCGGCT ATCGTGGCTG GCCACGACGG GCGTTCCTTG 4500  
CGCAGCTGTG CTCGACGTTG TCACTGAAGC GGAAGGGAC TGCTGCTAT TGGGCGAAGT 4560  
GCCGGGGCAG GATCTCCTGT CATCCACCT TGCTCCTGCC GAGAAAGTAT CCATCATGGC 4620  
TGATGCAATG CGGCGGCTGC ATACGCTTGA TCCGGCTACC TGCCATTCC ACCACCAAGC 4680  
GAAACATCGC ATCGAGCGAG CACGTACTCG GATGGAAGCC GGTCTTGTCC ATCAGGATGA 4740  
TCTGGACGAA GAGCATCAGG GGCTCGCGCC AGCCGAACT GTTCGCCAGG CTCAAGGCGC 4800  
GCATGCCCGA CGGCGAAGGA TCTCGTCGTG ACCCATGGCG AATGCCTGCT TGCCGAATAT 4860  
CATGGGTGGA AAAATGGCCG CTTTTCTGGG ATTCATCGAA CTGGTGGCCG GGCTGGGTGT 4920  
GGCGGACGCT ATCAGGACAT AGCGTTGGCT ACCCGTGATA TTGCTGAAGA GCTTGGCGGC 4980  
GAATGGGCTG ACCGCTTCTT CGTGCTTTAC GGTATCGCCG CTCGCGATTC GCAGCGCATC 5040  
GCCTTCTATC GCCTTCTTGA CGAGTTCTTC TGAATTGAAA AAGGAAGAGT ATGAGTATTC 5100  
AACATTTCCG TGTCGCCCTT ATTCCTTTT TTGCGGCATT TTGCCTTCTT GTTTTTGCTC 5160  
ACCCAGAAAC GCTGGTAAA GTAAGATG CTGAAGATCA GTTGGGTGCA CGAGTGGGT 5220  
ACATCGAACT GGATCTCAAC AGCGGTAAGA TCCTTGAGAG TTTTCGCCCC GAAGAACGTT 5280  
TTCCAATGAT GAGCACTTTT AAAGTTCTGC TATGTGGCGC GGTATTATCC CGTATTGACG 5340  
CCGGGCAAGA GCAACTCGGT CGCCGCATAC ACTATTCTCA GAATGACTTG GTTGAGTACT 5400  
CACCAGTCAC AGAAAAAGCA TCTTACGGAT GGCATGACAG TAAGAAGAT TATGCAGTGC 5460  
TGCCATAACC ATGAGTGATA AACTGCGGC CACTTACTT CTGACAACGA TCGGAGGACC 5520  
GAAGGAGCTA ACCGCTTTTT TGCACAACAT GGGGATCAT GTAACCTGCC TTGATCGTTG 5580  
GGAACCGGAG CTGAATGAAG CCATACAAA CGACGAGCGT GACACCACGA TGCTGTAGC 5640  
AATGGCAACA ACCTTGGCA AACTATTAAC TGCGGAAC TA TACTCTAG CTCCCGGCA 5700  
ACAATTAATA GACTGGATGG AGCGGATAA AGTTGCAGGA CCACTTCTGC GCTCGGCCCT 5760  
TCCGGCTGGC TGGTTTATTG CTGATAAATC TGGAGCCGGT GAGCGTGGT CTGCGGTAT 5820  
CATTGCAGCA CTGGGGCCAG ATGGTAAGCC CTCCGTATC GTAGTTATCT ACACCGACGG 5880  
GGAGTCAGGC AACTATGGAT GAACGAAATA GACAGATCGC TGAGATAGGT GCCTCACTGA 5940  
TTAAGCATG GTAACGTCA GACCAAGTTT ACTCATATAT ACTTTAGATT GATTTAAAC 6000  
TTCATTTTTA ATTTAAAGG ATCTAGGTGA AGATCCTTTT TGATAATCTC ATGACCAAAA 6060  
TCCCTAACG TGAGTATTCG TTCCACTGCA GCGTCAGACC CCGTAGAAAA GATCAAAGGA 6120  
TCTTCTTGAG ATCCTTTTTT TCTGCGCTA ATCTGCTGCT TGCAAACAAA AAAACCACCG 6180

10

20

30

40

【表 9 - 3 4】

CTACCAGCGG TGGTTTGTTC GCCGGATCAA GAGCTACCAA CTCTTTTTCC GAAGGTAAC 6240  
GGCTTCAGCA GAGCGCAGAT ACCAAATACT GTTCTTCTAG TGTAGCCGTA CGTAGGCCAC 6300  
CACTTCAAGA ACCTCTGTAC CACCGCCTAC ATACCTCGCT CTGCTAATCC TGTTACCAGT 6360  
GGCTGCCGCC AGTGGCGATA AGTCGTGTCT TACCGGGTTG GACTCAAGAC GATAGTTACC 6420  
GGATAAGGCG CAGCGGTCGG GCTGAACGGG GGGTTCGTGC ACACAGCCCA GCTTGGAGCG 6480  
AACGACCTAC ACCGAACTGA GATACCTACA GCGTGAGCTA TGAGAAAGCG CCACGCTTCC 6540  
CGAAGGGAGA AAGCGGACAA GGTATCCGGT AAGCGGCAGG GTCGGAACAG GAGAGCGCAC 6600  
GAGGGAGCTT CCAGGGGGAA ACGCCTGGTA TCTTTATAGT CCTGTGCGGT TTCGCCACCT 6660  
CTGACTTGAG CGTCGATTTT TGTGATGCTC GTCAGGGGGG CGGAGCCTAT GGAAAAACGC 6720  
CAGCAACGCG GCCTTTTTAC GGTTCCTGGC CTTTTGCTGG CTTTTGCTC ACATGTTCTT 6780  
TCCTGCGTTA TCCCTGATT CTGTGGATAA CCGTATTACC GCCTTTGAGT GAGCTGATAC 6840  
CGCTCGCCGC AGCCGAACGA CCGAGCCGAG CGAGTCAGTG AGCGAGGAAG CGGAAGAGCG 6900  
CCCAATACGC AAACCGCCTC TCCCGCGCG TGGCCGATT CATTAAATGCA GCTGGCACGA 6960  
CAGGTTTCCC GACTGGAAAG CCGGCAGTGA GCGCAACGCA ATTAATGTGA GTTAGCTCAC 7020  
TCATTAGGCA CCCAGGCTTT AACTTTATG CTTCCGGCTC GTATGTTGTG TGAATTGTG 7080  
AGCGGATAAC AATTTACAC AGGAAACAGC TATGACCATG ATTACGCCAA GCTATTTAGG 7140  
TGACACTATA GAATACTCAA GCTATGCATC AAGCTTGTA CCGAGCTCGG ATCCACTAGT 7200  
AACGGCCGCC AGTGTGCTGG AATTCGGCTT AAAGGTAGGC GGATCTGGT CACTCTAGG 7260  
CCTAAATGGC CATTTAGGTG AACTATAGA AGAGCTCGAG GACAACAGAA AATCTTAGTG 7320  
AACATGTTTT ATGGGAAAAT TTTATATACA ACATCAAAG CACAATCCG AAAATACTGT 7380  
TAAAATGGAT TTTATCAAAA TGAATAATTT CTGCTATTTG AGACACTGTT AAGAGAATTA 7440  
AAAAACCAGC CATAGACTAT TAGAAAATCT GTACACGTTT CATATCTGAT GAAGCATTG 7500  
TATATCTACA GTATCTAAG AATTCTCAA ATTCAGTAGG AAAACCACCA AATGTAAGG 7560  
TGGGCAAAAG ATTTGAACAC ACTTCACCCA TTACATGCCT GTTAGAATGG CTAATAATCCA 7620  
AAAAGTGACA AATCGTAAGT TCTGACAACA ATGTGGAACA ATTTTACATA TTGCTGGTGT 7680  
GAACGCAAAA TGGCATCGCC ACTGTGGAAA GTTGTTCCTT AAACATACCA TTATACAACC 7740  
AGCAATCTCA TTCTAGGTA TTTACACAAA TGAATGGA AACTATGTTT AGACAAAATC 7800  
ACGTACATGA CTGTTTATAG TACTTTCTT CTAATTGCC AAAAAGTGGG AAACAACCCA 7860  
AACGTCTTC AGCTGGTGA TGCATATAAA TAAGCTGTGG TGCATCCAGA CAATCGACTG 7920  
CTACTTTGCA AAAAAAGGA ACTGATATAT TCAATGTAGA TAAATCTCAA ATGCATCAAT 7980  
GCTTAAGTGA AAGACACTGG ATTCAGTAGG CTACTTATGA TTCCATTCT GTGACATTGT 8040  
GGAAAAGGCA AAATATTGG ACAAGAACAT CAGTGGTGGT TTGGGATAGG CTGACAAGGG 8100  
AGTATGAGGG ATTTTTTCAG AGGAACAGT TTATCCGACT GTAGGTATTT CTAGCACAGA 8160  
ATTGGGAGTC TGTCCAGTAA AATGATAGCG ATTATTAGAC TCTTGGTTGG AGAAAGATTT 8220  
GTCATCTTGA CGTAATAGGT GATAGCTGAA ACTTACGGGG AGAATATTAC AAAGCAAGGA 8280  
GGGGGAGAA ATTTCCAGC AAGAAGTAGC TTATGTCTAG AACCAATCTA TAACGTAATA 8340  
ACATTTAGAC TACTATGAGG GGATAATTAT CAAATACTAT ACAAGATCAG TTAAGATGAA 8400  
GACTGATCAT TAGTGATACT TGACAGAGCA GTGTCAGTGC ACTGGTATGA CTTGTTGAGA 8460  
AATAAATTAT GGTAGCATTG CTTATACACA ATTAACGATG TATACAGTAA GACAGTGTGA 8520  
GAAATATTCA AGCAAATGGG AGACCGCAGA GATACCAAAT GCAGACCAGA CTCTTAGGAG 8580  
GCAAGAAGGG GGCTAGAAAA AGAATTGAAG GAAAGCTTTC TTCAGATGCT TAAGATTTTG 8640  
TGGCCAGGTG CAGTGGCTCA TGCCTGTTCC CAGCACATTA GGAGGCCCAA AGCAGGAGGA 8700  
TTGCTTGAGC CCAGGAATTC AAGACCAGCT TGGACAACAT AGTGCAACCC CATTTCTATT 8760  
GGTAATTTAA AAAAAAAAAA AATGAAAAAC ACTTGTGAAG GTACATCTGT TGATAATAAA 8820  
GAACACTGAT TTTCAATAAA ACCCCAAAA CATTTATTAC TTTAAAGAAT AAAAATAACA 8880  
AGTGTCAATGA TAAATATGT CTGGGATTTG TTTTAAATA ATCTGGGGAA TGGAAATGAA 8940  
TCAGAGTATA AATCAAGCAA GGCTGGCCAA ACATGCTGAA GTAGAGGAAT AGGTATGTGA 9000  
GGATGCATTA TGCTTCTCTA CTTTTGTATG TTTACAATTT CCCTATAATA GATATCTGTG 9060  
AATTTGCTTA GTATGCTTTC TGTAAGCAA CATGGATGAA GCAGCACATG AAAAAGAATT 9120  
TTAACCAACA AACTAGCAGA AATAATGTGA CAGACGACTT TTAGAGGCTT TGGAGAAACT 9180  
GAATGCTAAA GGTGCTGTAC AGCCAGCCCC AGTCTTCTG ACATTCTGGC AGTGTCTTTC 9240  
TCAATTGCAG CTCCTCATCT GAGCCACTGT CCAGAAAATA ATTTGAGTAA CTTAATCCT 9300  
CAATTCTCCC AAGGATAGTA CCATTCTAGA TCTTACTAAT TTATTAGCTA CAATGGATAC 9360  
CTTAGGGGGG GATTAAGGCC TACTTTTCTA GTGAAATCCC AGTTGAGAAT GGCTGCTAAA 9420

10

20

30

40

## 【表 9 - 3 5】

AACTGAGTAA CATTAGACTG AAAGAAAGGG AATATTGTAT AAAGTTGTAC TTTGAAAAAG 9480  
 AGAAAAAGAT GTGTCTAAGT GACTATCAGA TAGCAATGTA ATGCTCCCTA ATTGTAAAAA 9540  
 AAATCACAAA TTTGTGAACT CACGAATTAT AGACATGTAT AATTGACCTA CAGGTCAAGA 9600  
 AGTGCCTGTG GAAGAGCTTG TTA AAAATAG AACTACTCAG CCCCTTCTCA AATAGCCATC 9660  
 GGCCTCAGCC ATCTGGAAAG TAAAGTTGGC AGGTTATGTA ACTTAGTGTT TCTTTTACTC 9720  
 TGTAGATGTG TTCAAACCTCT TCCAGGTA AA CTGCTTAACT CATTGAGAT TCTTTGACTA 9780  
 ATACTGAGCT ATGTGCATTT GCATTTTGAA AAATTATGTA TCTTTTCC ACCATAG 9837

(2) 配列情報 SEQ ID NO:69:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 23 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: その他 核酸

(xi) 配列: SEQ ID NO:69:

CTCTGTA ACT GCTTATAATC CTG

23

(2) 配列情報 SEQ ID NO:70:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 21 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: その他 核酸

(xi) 配列: SEQ ID NO:70:

CTAGGAAACC TGTACA ACTC C

21

(2) 配列情報 SEQ ID NO:71:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 21 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: その他 核酸

(xi) 配列: SEQ ID NO:71:

GGCTTATTGT GTGCTGATAT C

21

(2) 配列情報 SEQ ID NO:72:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 21 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: その他 核酸

(xi) 配列: SEQ ID NO:72:

AGAGATCCTT AAGTCGTCAT G

21

(2) 配列情報 SEQ ID NO:73:

(i) 配列の特性:

- (A) 長さ: 21 塩基対
- (B) 型: 核酸
- (C) 鎖の数: 一本鎖
- (D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: その他 核酸

10

20

30

40

【表 9 - 3 6】

(xi) 配列: SEQ ID NO:73: CAGTTTCTGT GAGAGAGTAC A 21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:74: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 21 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 一本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: その他 核酸	10
(xi) 配列: SEQ ID NO:74: GGCTTACCTG CTCCTGTATT T 21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:75: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 21 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 一本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: その他 核酸	20
(xi) 配列: SEQ ID NO:75: GAGGAGGAAT GGCCTTTAT T 21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:76: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 21 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 一本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: その他 核酸	30
(xi) 配列: SEQ ID NO:76: AACCCACAGA ATAGGGCAGG A 21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:77: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 22 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 一本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: その他 核酸	40
(xi) 配列: SEQ ID NO:77: GGATACTGGC ATTCTGTGTA AC 22	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:78: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 21 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 一本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: その他 核酸	40
(xi) 配列: SEQ ID NO:78: ATTTCCAGAT AGTAAGCCCC A 21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:79:	

## 【表 9 - 3 7】

- (i) 配列の特性:  
 (A) 長さ: 21 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 一本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状  
 (ii) 配列の種類: その他 核酸  
 (xi) 配列: SEQ ID NO:79:  
 AGCTTGGACG GAAGTCAGAT C  
 21 10
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:80:  
 (i) 配列の特性:  
 (A) 長さ: 21 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 一本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状  
 (ii) 配列の種類: その他 核酸  
 (xi) 配列: SEQ ID NO:80:  
 TCTAGCCAAA CCTCGGGTAA C  
 21
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:81:  
 (i) 配列の特性: 20  
 (A) 長さ: 18 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 一本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状  
 (ii) 配列の種類: その他 核酸  
 (xi) 配列: SEQ ID NO:81:  
 AATTGTAAAC CTCTGCC  
 18
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:82:  
 (i) 配列の特性: 30  
 (A) 長さ: 18 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 一本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状  
 (ii) 配列の種類: その他 核酸  
 (xi) 配列: SEQ ID NO:82:  
 ATTTCCCAAG CTCATGCT  
 18
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:83:  
 (i) 配列の特性: 40  
 (A) 長さ: 18 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 一本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状  
 (ii) 配列の種類: その他 核酸  
 (xi) 配列: SEQ ID NO:83:  
 AGCATGAGCT TGGGAAAT  
 18
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:84:  
 (i) 配列の特性:  
 (A) 長さ: 18 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 一本鎖

【表 9 - 3 8】

(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: その他 核酸	
(xi) 配列: SEQ ID NO:84:	
TGAAGACCTA TCTTTGCC	
18	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:85:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 21 塩基対	
(B) 型: 核酸	10
(C) 鎖の数: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: その他 核酸	
(xi) 配列: SEQ ID NO:85:	
GTTACAGAG CTCCTCACAC T	
21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:86:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 21 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	20
(ii) 配列の種類: その他 核酸	
(xi) 配列: SEQ ID NO:86:	
AGGCCACAGA GTCAACTATG G	
21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:87:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 21 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: その他 核酸	30
(xi) 配列: SEQ ID NO:87:	
AGGTCCTATC ACCAAGGGTG T	
21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:88:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 21 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: その他 核酸	
(xi) 配列: SEQ ID NO:88:	
GCTTAGTTAC TTCTTCAAGG C	40
21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:89:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 21 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: その他 核酸	
(xi) 配列: SEQ ID NO:89:	
GTAGCTGTC CCTTCTCCT A	

【表 9 - 3 9】

21		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:90:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 21 塩基対		
(B) 型: 核酸		
(C) 鎖の数: 一本鎖		
(D) トポロジー: 直鎖状		
(ii) 配列の種類: その他 核酸		
(xi) 配列: SEQ ID NO:90:		
CCTCAACACT CATGAGAGTG A		10
21		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:91:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 21 塩基対		
(B) 型: 核酸		
(C) 鎖の数: 一本鎖		
(D) トポロジー: 直鎖状		
(ii) 配列の種類: その他 核酸		
(xi) 配列: SEQ ID NO:91:		
TGGTTTAGCA CACCTCTTCA C		20
21		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:92:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 21 塩基対		
(B) 型: 核酸		
(C) 鎖の数: 一本鎖		
(D) トポロジー: 直鎖状		
(ii) 配列の種類: その他 核酸		
(xi) 配列: SEQ ID NO:92:		
GCTTAGCACA AACCTGTTT C		20
21		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:93:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 20 塩基対		
(B) 型: 核酸		
(C) 鎖の数: 一本鎖		
(D) トポロジー: 直鎖状		
(ii) 配列の種類: その他 核酸		
(xi) 配列: SEQ ID NO:93:		
TTCGCCGTTT GAATTGCTGC		30
20		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:94:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 20 塩基対		
(B) 型: 核酸		
(C) 鎖の数: 一本鎖		
(D) トポロジー: 直鎖状		
(ii) 配列の種類: その他 核酸		
(xi) 配列: SEQ ID NO:94:		
ACCGTTTAC ACCAACTAGG		40
20		
(2) 配列情報 SEQ ID NO:95:		
(i) 配列の特性:		
(A) 長さ: 22 塩基対		

【表 9 - 4 0】

(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: その他 核酸	
(xi) 配列: SEQ ID NO:95:	
GAGATAGGGT CATCATTGAA AC	
22	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:96:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 21 塩基対	10
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: その他 核酸	
(xi) 配列: SEQ ID NO:96:	
CATTAGCCAT ACTCTACTTG T	
21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:97:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 22 塩基対	
(B) 型: 核酸	20
(C) 鎖の数: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: その他 核酸	
(xi) 配列: SEQ ID NO:97:	
GCTAATTTAA CTCTGTAAC T GC	
22	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:98:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 23 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	30
(ii) 配列の種類: その他 核酸	
(xi) 配列: SEQ ID NO:98:	
CACTGCAGCA CAGACTAATG TGT	
23	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:99:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 23 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: その他 核酸	40
(xi) 配列: SEQ ID NO:99:	
TCTCTCCCTT TAACTGTGGG TTT	
23	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:100:	
(i) 配列の特性:	
(A) 長さ: 23 塩基対	
(B) 型: 核酸	
(C) 鎖の数: 一本鎖	
(D) トポロジー: 直鎖状	
(ii) 配列の種類: その他 核酸	

【表 9 - 4 1】

(xi) 配列: SEQ ID NO:100: GGAGTTGACG AGATTAATAC CTG 23	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:101: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 22 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 一本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: その他 核酸	10
(xi) 配列: SEQ ID NO:101: CATGACGACT TAAGGATCTC TT 22	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:102: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 21 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 一本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: その他 核酸	20
(xi) 配列: SEQ ID NO:102: CTCAGTTTCC AGAGTACAAA C 21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:103: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 22 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 一本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: その他 核酸	30
(xi) 配列: SEQ ID NO:103: GTGAATTA AAA GTCTTTCTGG CC 22	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:104: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 21 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 一本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: その他 核酸	40
(xi) 配列: SEQ ID NO:104: ATCTTAGAAA GCAGACAGGG C 21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:105: (i) 配列の特性: (A) 長さ: 21 塩基対 (B) 型: 核酸 (C) 鎖の数: 一本鎖 (D) トポロジー: 直鎖状 (ii) 配列の種類: その他 核酸	40
(xi) 配列: SEQ ID NO:105: GAGACATTTT ATCCCCTTGT G 21	
(2) 配列情報 SEQ ID NO:106:	

## 【表 9 - 4 2】

- (i) 配列の特性:  
 (A) 長さ: 21 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 一本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状  
 (ii) 配列の種類: その他 核酸  
 (xi) 配列: SEQ ID NO:106:  
 TCCATGCCTC CAGTCTAAAG T  
 21 10
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:107:  
 (i) 配列の特性:  
 (A) 長さ: 20 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 一本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状  
 (ii) 配列の種類: その他 核酸  
 (xi) 配列: SEQ ID NO:107:  
 CACTTAAGTT GCACTGGGTA  
 20
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:108:  
 (i) 配列の特性: 20  
 (A) 長さ: 21 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 一本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状  
 (ii) 配列の種類: その他 核酸  
 (xi) 配列: SEQ ID NO:108:  
 CAACAGGAAG TTGGTCTCAT C  
 21
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:109:  
 (i) 配列の特性:  
 (A) 長さ: 21 塩基対  
 (B) 型: 核酸 30  
 (C) 鎖の数: 一本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状  
 (ii) 配列の種類: その他 核酸  
 (xi) 配列: SEQ ID NO:109:  
 TAAAAGGAAG AGCGGCTGTT T  
 21
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:110:  
 (i) 配列の特性:  
 (A) 長さ: 21 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 一本鎖  
 (D) トポロジー: 直鎖状 40  
 (ii) 配列の種類: その他 核酸  
 (xi) 配列: SEQ ID NO:110:  
 TTAAACCTAA CTGCCACCCT C  
 21
- (2) 配列情報 SEQ ID NO:111:  
 (i) 配列の特性:  
 (A) 長さ: 20 塩基対  
 (B) 型: 核酸  
 (C) 鎖の数: 一本鎖

【表 9 - 4 3】

(D) トポロジー: 直鎖状  
(ii) 配列の種類: その他 核酸  
(xi) 配列: SEQ ID NO:111:  
CTGAGCTATG TGCATTTGCA  
20

(2) 配列情報 SEQ ID NO:112:  
(i) 配列の特性:  
(A) 長さ: 20 塩基対  
(B) 型: 核酸  
(C) 鎖の数: 一本鎖  
(D) トポロジー: 直鎖状  
(ii) 配列の種類: その他 核酸  
(xi) 配列: SEQ ID NO:112:

AAGGCTGCTG CTAACAGAT  
20

(2) 配列情報 SEQ ID NO:113:  
(i) 配列の特性:  
(A) 長さ: 2461 塩基対  
(B) 型: 核酸  
(C) 鎖の数: 二本鎖  
(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: DNA (genomic)  
(xi) 配列: SEQ ID NO:113:

TGCCCGCCTT GGCCTCCCAA CGTGTAGGGA TTACAGGCGT GAGTCACCGC GCCTTGCCAA 60  
ATTATTTATT ATTATTTTTT GGAGACAGGG TCTCTGTTGC CCAAGCTGTA GTGGTATGGC 120  
CACAGTTCAC TGCAGACTCC CCAGGATTAG GCGTTCCTCC CACCTCAGTC TCCCAAGTAG 180  
CTAGGATTAC AGGCGTCTAC CACCACTCTG GGTAAATTTT TCTATTTTTT GGAGAGACAG 240  
GGTTTCACTA TGTGCGCCAG GCTGGACCTC GAACTCCTGT CTCAAGCAGC CCCCCACCT 300  
CGCCTCCCAA AGTGCTGGAT TTACAGGTGT GATCCACAAC GTCCAGCCTA TATACTTAAG 360  
ATACTTCTAA ACCATTTGTG TTCAACTTCT GTTCTTGCCC CATAGTCACC TTGAGACTCA 420  
TCACTTAGCC AACTCCAAAA GCATTGCTGA TTA CTGTGAA TTTTACTAAG GTTTTCTTAA 480  
GAGGGTTCCA TTGTCTCAA ATTGTTCTG AAATATCCTG TTACCTGTCT ACCTGATTTT 540  
CTCCTATCTT CAGAGTTCCA TTTCCCTGTC TCCCGCCTGT CATTATACCT TCCATAAGCC 600  
CCTACTTTTG TCCAGCACT TTTCCCTCTG TCAGTTTACA TATCCACCA AGCAAAACAA 660  
AAATAGCAA ACAGTAATGC CTTCTGAATC CTCAAATTGC TCAATCTCA GATTGCTCCT 720  
CAATCTGGAA AATGTTTTAT ATCAAGCCCA TTTATAAATC AAGGATTGGC AATTTAAAAA 780  
ATTAATAATA AGAAAGGAGA ATTGGAATA AAATGAATTG GCTGGGCACG GTGGCTCAGC 840  
CCTGTAATCC CAGAACTTTG GGAGGCCGAG GTGGGTGGAT CACTTGAGGT CAGGAGTGGC 900  
AGACCAGCCT GGCCAACATG GTGAAACCTT GCCTGTTCTG AAAATCCAAA AATCAGCTGG 960  
GTGCGGCGGC GCACACCTGT AATCCAGAT ACTCAGGAG CTGAGGCAGG AGAATCGCTT 1020  
GATCCAGGA GCGGAGGTT GCAGCGAGCC GAGATCGTGC CACTACACTC CAGTCTGGCC 1080  
AACAGAGCCA GACTCTGTCT CACAAAAAAA AAAAAGTTTA ATTCACGGAG AGCCAGCTGA 1140  
ACGGCAGACA GGAGTTTGGT TATCCAAATC AGCCTACCAG AAATTGGAGA CTGGGGTTTT 1200  
TAAAAGAATG ACTTGCGGGG TAGGGGCCCA GGGATTGGCG AATGCTAATT TGTCAGGTGG 1260  
GAGGTGAAAT CACAGGGGGT TGAAGTGGGC TCTTGCTGTC TTCTGTTACT GAGTGGAAAT 1320  
GCAGAACTTG TTGAGCCAGA TTATGGTCTG AGTGGCGCCA GCTAGTGCAT CGGAATGCGC 1380  
GGTCTGAAAA GTATCTCCAG CACCAATCTT AGGTTTTACA ATAGTGATGT TATCCCTGAG 1440  
AGCAATTGGG GAGGTCAGGA ATCTTATAGC CTCTGGCTGC AAGCCTCCTA AATCATAATT 1500  
TCTAATCTTG TGGTAATTT GTTAGTTCTA CAAAGGCAGA CTGATCCCCA GGCAAGAATG 1560  
GGGTTTGT TTGAAAGGA CTGTTACAAT CTTTGTTC AAGTGAATT AGAAATTA 1620  
TTCCTCCTGT AGTTAGTTAG GTCTTCGCC AGGAATGAAC AAGGGCAGCT CGGAAGTGAG 1680  
AAGCGTGGAG TCATTTAGGT CAGATTCCTT GCCTGTCAT AACTTTCTCA CTGTTAGGAT 1740  
TTTTGCAAAG GCAGTTTCGT GAACGTACAG AGACAGGCC TTGCTATTAT CCCTATTTTT 1800  
TAGATAAGGA TATCCAGCCG ATGAGGAAGT TTTACTTCTG GAACAGCCTG GATACGAAAC 1860

10

20

30

40

## 【表 9 - 4 4】

CTTCACACGT CAGTGTCTTT TGGACATTTT CTCGTCAGTA CAGCCCTGTT GAATGTTCTC 1920  
 ACGGTGGGGA GGTACGTGTT TAAAATACGG GGAAGGTGCT TTTATTTTAC CCCTGGTGAA 1980  
 ACTAGGGGAG CTAATTTTTT TAAACATGAT TTTTGTCCCC CTTGAACCGC CGGCCTGGAC 2040  
 TAGTTTTCCC AGCAGCCCGT GCTCAAGACT ACGGGTGCCT GCAGGCGGTC AGCGTCGTTT 2100  
 GCGACGGGCG AGACGCGGTG CGGGCGGGCG ACGGGCGGGC GCTTCGCCGT TTGAATTGCT 2160  
 GCGGGCCCGG GCCCTCACCT CACCTGAGGT CCGGCCGCCC AGGGGTGCGC TATGCCGTCG 2220  
 GGAGGTGACC AGTCGCCACC GCCCCCGCCT CCCCTCCGG CGCGGCAGC CTCGGATGAG 2280  
 GAGGAGGAGG ACGACGGCGA GCGGAAGAC GCCGCGCGT CTGCCGAGTC GCCCACCCT 2340  
 CAGATCCAGC AGCGTTTCA CGAGCTGTGC AGCCGCTCA ACATGGACGA GCGGCGCGG 2400  
 CCCGAGGCCT GGGACAGCTA CCGCAGCATG AGCGAAAGCT ACACGCTGGA GGTGCGCTCG 2460

10

C

2461

(2) 配列情報 SEQ ID NO:114:

(i) 配列の特性:

(A) 長さ: 24 塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: その他 核酸

(xi) 配列: SEQ ID NO:114:

ACCTCAGGTG AGGTGAGGCG CCGG

24

20

(2) 配列情報 SEQ ID NO:115:

(i) 配列の特性:

(A) 長さ: 25 塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: その他 核酸

(xi) 配列: SEQ ID NO:115:

GTGTGCCATT TATGTGATGG CAAAG

25

30

(2) 配列情報 SEQ ID NO:116:

(i) 配列の特性:

(A) 長さ: 25 塩基対

(B) 型: 核酸

(C) 鎖の数: 一本鎖

(D) トポロジー: 直鎖状

(ii) 配列の種類: その他 核酸

(xi) 配列: SEQ ID NO:116:

GTATACCATT TAGCAGCTGT CCGCC

25

40

## 【図面の簡単な説明】

【0202】

【図1】図1は p R b 2 / p 1 3 0 陽性かまたは p R b 2 / p 1 3 0 陰性腫瘍を持っていると特徴付けられた子宮内膜癌 (すべてのステージ) の患者 1 0 0 人の生存確率のプロットである。

【図2】図2はステージおよび p R b 2 / p 1 3 0 発現により階層化された同一の患者 1 0 0 人における生存確率のプロットである。

【図3】図3 A はヒト p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子の概要図である。エキソンは白抜きの方形で示され、一方イントロンは斜線を付けた垂直棒で示されている。エキソン 1 0 - 1 3、1 4 - 1 6 および 1 7 - 2 0 は各々ドメイン A、スパーサーおよびドメイン B を表して

50

いる。

【0203】

図3BはP1およびファージライブラリーに由来するヒトpRb2/p130ゲノムクローンの概略図である。

【図4】図4はヒトpRb2/p130遺伝子の5'末端および5'上流領域のヌクレオチド配列(配列番号:4)であり、転写開始部位( )およびプライマー伸長分析に利用されたプライマーに相補的な配列(下線)を示している。+1位はATG翻訳開始コドンのAに割り当てられた(ボールド体および下線)。Sp1因子認識モチーフに対応する配列は四角で囲まれている。MyoDおよびKer1転写因子に対応する配列モチーフもまた四角で囲まれている。1位から始まり240位までのヌクレオチドはpRb2/p130のエキソン1に対応している。241位で始まる小文字の文字はイントロン1の最初の10のヌクレオチドを表している。

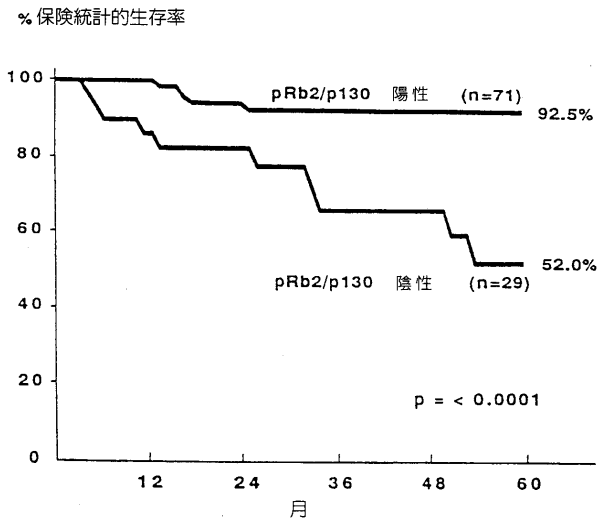
10

【図5】図5はヒトpRb2/p130遺伝子の転写開始部位を同定するために行われたプライマー伸長実験の生成物を示している。細胞質RNAは図4の-22位から始まる24のヌクレオチドに相補的なオリゴヌクレオチド(配列番号:4)と一夜ハイブリダイズされた。レーンMは分子量マーカー(174 DNA/HaeIII, Promega)を含んでいる。レーン1および2は各々鑄型としてのヒラー細胞およびtRNAからのpRb2/p130のプライマー伸長生成物を含んでいる。

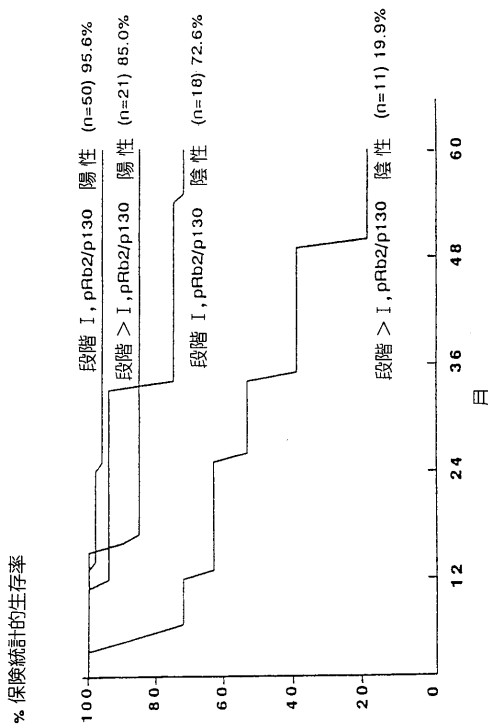
【図6】図6はPRINS技術の使用により可視化された抹消血リンパ球核中のpRb2/p130遺伝子のエキソン20を含んでいる二つの対立遺伝子を例示している。

20

【図1】



【図2】



【 図 3 】

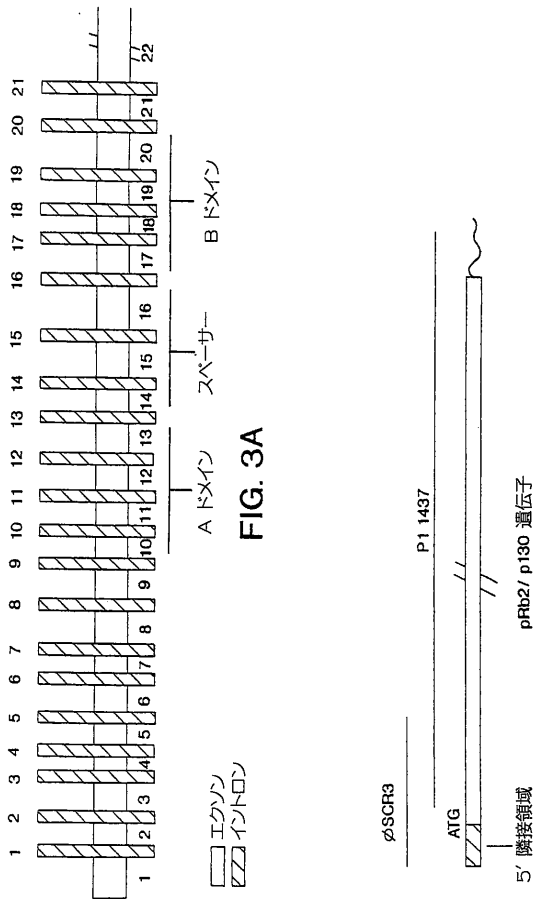


FIG. 3A

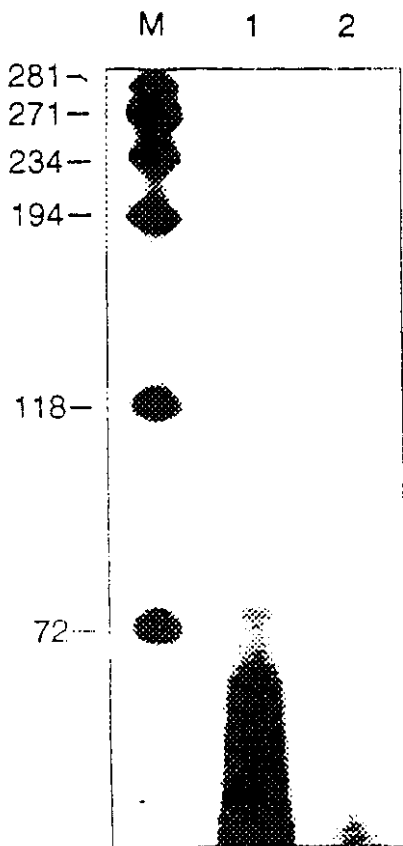
FIG. 3B

【 図 4 】

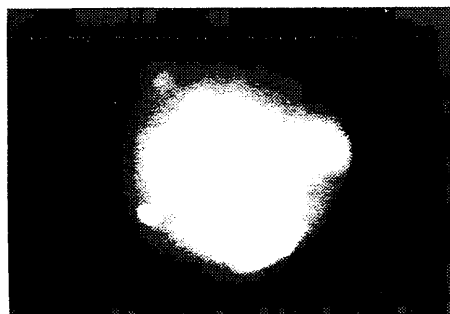
```

-311 CAGCCCTGTTGAATGTTCTCACGGTGGGGAGGTACGTGTTTAAAATACGG
-261 GGAAGTGCCTTTTATTTACCCCTGGTGAACACTAGGGGAGCTAATTTTTT
-211 TAAACATGATTTTTGTCCCCCTTGAACCGCCGCCTGGACTACGTTTCCC
-161 AGCAGCCCGTGCCTCAAGACTACGGTGCCTGCAGGCCTGTCAGCGTCGTTT
      Ker1
      Sp1      Sp1
-111 GCGACGGCGCAGACGCGGTGGGGCGCGGACGGGGGCGCGCTTCGCCGT
      MyoD
-61 TTGAATGCTGCGGGCCCGGGCCCTCACCTCAGCTCCGGCCGCC
-11 AGGGGTGCGCTATGCCGTCCGGGAGGTGACCAGTCGCCACCGCCCGCCCT
      M P S G G D Q S P P P P P
40 CCCCCTCCGGCGGCGGCAGCCTCGGATGAGGAGGAGGAGGACGACGGCGA
      P P P A A A A S D E E E E D D G E
90 GCGGAAGACGCGCGCGCTCTGCCGAGTCGCCACCCCTCAGATCCAGC
      A E D A A P S A E S P T P Q I Q
140 AGCGGTTTCGACGAGCTGTGCAGCCGCTCAACATGGACGAGGCGGCGCGG
      Q R F D E L C S R L N M D E A A R
190 CCCGAGCCTGGGACAGCTACCGCAGCATGAGCGAAAGTACACGCTGGA
      P E A W D S Y R S M S E S Y T L E
240 Ggtgcgctcgc
  
```

【 図 5 】



【 図 6 】



## 【手続補正書】

【提出日】平成20年7月24日(2008.7.24)

## 【手続補正1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

## 【請求項1】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 遺伝子のイントロンもしくはプロモーター領域、またはその少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなるDNAセグメント。

## 【請求項2】

本質的に p R b 2 / p 1 3 0 イントロン 1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、14、15、16、17、18、19、20若しくは21、またはその少なくとも15ヌクレオチドセグメントからなる、請求項1に記載のDNAセグメント。

## 【請求項3】

本質的に SEQ ID NO : 66、67、48、49、50、51、52、53、54、55、56、57、58、59、60、61、62、63、64、65及び68からなるグループから選択されるヌクレオチド配列からなる、請求項2に記載のDNAセグメント。

## 【請求項4】

SEQ ID NO : 113 に示されたプロモーター領域またはそのセグメントの少なくとも15ヌクレオチドからなる 請求項1 のDNAセグメント。

## 【請求項5】

p R b 2 / p 1 3 0 イントロンのセグメントであって、当該イントロン中のスプライシングシグナルジヌクレオチドを除いたものに実質的に相補的なヌクレオチド配列を有するDNAセグメントから本質的になる、少なくとも15ヌクレオチドの増幅プライマー。

## 【請求項6】

プライマーが約15ないし約30ヌクレオチドを含む、請求項5に記載の増幅プライマー。

## 【請求項7】

プライマーが約18ないし約27ヌクレオチドを含む、請求項6に記載の増幅プライマー。

## 【請求項8】

前記プライマーが、SEQ ID NO : 113 に示されたプロモーター領域、あるいは、SEQ ID NO : 48、SEQ ID NO : 49、SEQ ID NO : 50、SEQ ID NO : 51、SEQ ID NO : 52、SEQ ID NO : 53、SEQ ID NO : 54、SEQ ID NO : 55、SEQ ID NO : 56、SEQ ID NO : 57、SEQ ID NO : 58、SEQ ID NO : 59、SEQ ID NO : 60、SEQ ID NO : 61、SEQ ID NO : 62、SEQ ID NO : 63、SEQ ID NO : 64、SEQ ID NO : 65、SEQ ID NO : 66、SEQ ID NO : 67 および SEQ ID NO : 68 からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有するイントロンに実質的に相補的なヌクレオチド配列を有する か；あるいは、前記プライマーが、SEQ ID NO : 69、SEQ ID NO : 70、SEQ ID NO : 71、SEQ ID NO : 72、SEQ ID NO : 73、SEQ ID NO : 74、SEQ ID NO : 75、SEQ ID NO : 76、SEQ ID NO : 77、SEQ ID NO : 78、SEQ ID NO : 79、SEQ ID NO : 80、SEQ ID NO : 81、SEQ ID NO : 82、SEQ ID NO : 83、SEQ ID NO : 84、SEQ ID

NO: 85、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 111およびSEQ ID NO: 112からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有する、請求項5に記載の増幅プライマー。

【請求項9】

ヒトpRb2/p130遺伝子のエキソン中の多型性をまたは突然変異を同定する方法であって、

(a) 増幅条件下において、エキソンを含むゲノムDNAの試料をプライマー対で処理し、ここにおいて、前記プライマー対は、前記エキソン上流のプロモーター領域もしくはイントロンにハイブリダイズする第1プライマーおよび前記エキソン下流の3'-非コード領域もしくはイントロンにハイブリダイズする第2プライマーを含み、前記処理は、前記エキソンを含む増幅産物を産生する；

(b) 前記増幅産物のヌクレオチド配列を決定して、前記エキソンのヌクレオチド配列を提供し；そして

(c) 工程(b)において得られた前記エキソンの配列を、対応する野生型エキソンの配列と比較することを含む、前記方法。

【請求項10】

前記プライマー対の各プライマーが、3'-非コード領域、SEQ ID NO: 113に示されたプロモーター領域、あるいは、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67およびSEQ ID NO: 68からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有するイントロンに実質的に相補的なヌクレオチド配列を有するか；あるいは、前記プライマー対の各プライマーが、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 79、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 111およびSEQ ID NO: 112からな

るグループから選択されるヌクレオチド配列を有する、請求項9に記載の方法。

【請求項11】

ヒトpRb2/p130遺伝子のエキソン中の多型性をまたは突然変異を同定する方法であって、

(a) 前記エキソンを含むゲノムDNAの試料、前記エキソン上流のプロモーター領域もしくはイントロンにハイブリダイズする第1プライマーおよび前記エキソン下流の3'-非コード領域もしくはイントロンにハイブリダイズする第2プライマーを含むプライマー対、1種類またはそれ以上のデオキシヌクレオチド三リン酸の混合物、および前記プライマー対を放射性標識することの可能な化合物、およびDNAポリメラーゼ、をポリメラーゼ連鎖反応溶液中で混合することによって、ポリメラーゼ連鎖反応混合物を形成し；

(b) 前記混合物を複数回のポリメラーゼ連鎖反応熱サイクルにかけてpRb2/p130増幅産物を産生し；

(c) 前記pRb2/p130増幅産物を変性し；

(d) 前記変性pRb2/p130増幅産物を電気泳動により分離し；

(e) 工程(d)の電気泳動により分離された産物をフィルムに曝露して、写真画像を作成し；そして

(e) 前記pRb2/p130増幅産物の写真画像中のバンドの移動度を、対応する野生型エキソンについての電気泳動により分離された増幅産物と比較する、ことを含む、前記方法。

【請求項12】

前記プライマー対の各プライマーが、3'-非コード領域、SEQ ID NO: 113に示されたプロモーター領域、あるいは、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67およびSEQ ID NO: 68からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有するイントロンに実質的に相補的なヌクレオチド配列を有するか；あるいは、前記プライマー対の各プライマーが、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 79、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 111およびSEQ ID NO: 112からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有する、請求項11に記載の方法。

【請求項13】

ヒトpRb2/p130遺伝子のエキソンを含むヒト染色体試料中の突然変異を同定する方法であって、

(a) 前記エキソンを含む染色体試料、前記エキソン上流のプロモーター領域もしくは

イントロンにハイブリダイズする第1プライマーおよび前記エキソン下流の3'-非コード領域もしくはイントロンにハイブリダイズする第2プライマーを含むプライマー対、少なくとも1種類の標識されたデオキシヌクレオチド三リン酸を含む1種類またはそれ以上のデオキシヌクレオチド三リン酸の混合物、およびDNAポリメラーゼ、を緩衝液中で混合することによって混合物を形成し；

(b) 前記混合物をpRb2/p130増幅産物を産生するために十分な温度と時間にさらし；そして

(c) 前記標識に特異的な蛍光色素結合体でpRb2/p130増幅産物を可視化し；そして

(d) 工程aで得られた可視化pRb2/p130増幅産物を、対応する野生型エキソンについての可視化増幅産物と比較することを含む、前記方法。

【請求項14】

前記プライマー対の各プライマーが、3'-非コード領域、SEQ ID NO: 113に示されたプロモーター領域、あるいは、SEQ ID NO: 48、SEQ ID NO: 49、SEQ ID NO: 50、SEQ ID NO: 51、SEQ ID NO: 52、SEQ ID NO: 53、SEQ ID NO: 54、SEQ ID NO: 55、SEQ ID NO: 56、SEQ ID NO: 57、SEQ ID NO: 58、SEQ ID NO: 59、SEQ ID NO: 60、SEQ ID NO: 61、SEQ ID NO: 62、SEQ ID NO: 63、SEQ ID NO: 64、SEQ ID NO: 65、SEQ ID NO: 66、SEQ ID NO: 67およびSEQ ID NO: 68からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有するイントロンに実質的に相補的なヌクレオチド配列を有するか；あるいは、前記プライマー対の各プライマーが、SEQ ID NO: 69、SEQ ID NO: 70、SEQ ID NO: 71、SEQ ID NO: 72、SEQ ID NO: 73、SEQ ID NO: 74、SEQ ID NO: 75、SEQ ID NO: 76、SEQ ID NO: 77、SEQ ID NO: 78、SEQ ID NO: 79、SEQ ID NO: 80、SEQ ID NO: 81、SEQ ID NO: 82、SEQ ID NO: 83、SEQ ID NO: 84、SEQ ID NO: 85、SEQ ID NO: 86、SEQ ID NO: 87、SEQ ID NO: 88、SEQ ID NO: 89、SEQ ID NO: 90、SEQ ID NO: 91、SEQ ID NO: 92、SEQ ID NO: 93、SEQ ID NO: 94、SEQ ID NO: 95、SEQ ID NO: 96、SEQ ID NO: 97、SEQ ID NO: 98、SEQ ID NO: 99、SEQ ID NO: 100、SEQ ID NO: 101、SEQ ID NO: 102、SEQ ID NO: 103、SEQ ID NO: 104、SEQ ID NO: 105、SEQ ID NO: 106、SEQ ID NO: 107、SEQ ID NO: 108、SEQ ID NO: 109、SEQ ID NO: 110、SEQ ID NO: 111およびSEQ ID NO: 112からなるグループから選択されるヌクレオチド配列を有する、請求項13に記載の方法。

【請求項15】

前記染色体試料が、前記エキソンを含む、脱水され変性された染色体試料である、請求項13に記載の方法。

【請求項16】

ヒトpRb2/p130遺伝子のエキソン中の突然変異を検出するためのキットであって、

1またはそれ以上の容器を受容するためのキャリアー；

ヒトDNAの試料を乾燥し、脱水し、そして変性するためのスライドガラスを保持することの可能な、1またはそれ以上のサブ容器を含む第1容器；

緩衝液、標識混合物、請求項5に記載のプライマー、およびヒトDNAの試料を増幅することの可能なポリメラーゼからなる反応混合物を含む第2容器手段；

前記標識混合物に特異的な蛍光色素結合体を含む第3容器手段；並びに  
染色化合物を含む第4容器手段  
を含む前記キット。

---

フロントページの続き

(74)代理人 100096013

弁理士 富田 博行

(74)代理人 100107386

弁理士 泉谷 玲子

(72)発明者 ジョルダナーノ, アントニオ

アメリカ合衆国ペンシルバニア州 1 9 1 2 8 , フィラデルフィア, ジンジャー・レーン 3 0 3

(72)発明者 パルディ, アルフォンソ

イタリア共和国イ 8 0 1 2 8 ナポリ, ヴィア・ジ・オルシ 2 5

Fターム(参考) 4B024 AA01 AA11 CA04 CA09 HA14

4B063 QA01 QA17 QQ02 QQ42 QR32 QR38 QR40 QR56 QR62 QR72

QS25 QS34 QS36 QX02

专利名称(译)	癌症的诊断和预后方法		
公开(公告)号	<a href="#">JP2008283985A</a>	公开(公告)日	2008-11-27
申请号	JP2008190243	申请日	2008-07-23
[标]申请(专利权)人(译)	托马斯杰弗逊大学		
申请(专利权)人(译)	托马斯杰弗逊大学		
[标]发明人	ジョルダーノアントニオ バルディアアルフォンソ		
发明人	ジョルダーノ,アントニオ バルディ,アルフォンソ		
IPC分类号	C12N15/09 C12Q1/68 C07H21/02 C07H21/04 C07K1/00 C07K14/00 C07K14/47 C07K17/00 C12N15/11 C12N15/85 C12Q1/00 G01N33/50 G01N33/53 G01N33/574 G01N33/68		
CPC分类号	C07K14/4736 C12Q1/6851 C12Q1/6886 C12Q2600/112 C12Q2600/118 G01N33/57423 G01N33/57442 G01N33/57449 G01N33/57484 G01N33/57492		
FI分类号	C12N15/00.ZNA.A C12Q1/68.A C12N15/00.A C12N15/00.AZN.A C12Q1/6851.C C12Q1/6851.Z C12Q1/6886.C C12Q1/6886.Z		
F-TERM分类号	4B024/AA01 4B024/AA11 4B024/CA04 4B024/CA09 4B024/HA14 4B063/QA01 4B063/QA17 4B063/QQ02 4B063/QQ42 4B063/QR32 4B063/QR38 4B063/QR40 4B063/QR56 4B063/QR62 4B063/QR72 4B063/QS25 4B063/QS34 4B063/QS36 4B063/QX02		
代理人(译)	小林 泰 千叶昭夫		
优先权	60/014943 1996-04-05 US 60/019372 1996-06-05 US 60/020196 1996-06-21 US 60/039532 1997-03-03 US		
外部链接	<a href="#">Espacenet</a>		

摘要(译)

要解决的问题：提供诊断和预后的方法，以确定肿瘤抑制基因pRb2 / p130的表达水平。ZSOLUTION：由于pRb2 / p130表达的相对水平与癌症，肿瘤分级和患者预后的存在相关，因此这些方法可用于检测癌症，做出治疗决策，预测患者预后，以及预测患者的风险。无病人的癌症。本发明进一步提供了一种检测pRb2 / p130基因突变和多态性的方法，该方法可用于表征与肿瘤形成相关的遗传事件，追踪突变的亲本起源，鉴定种系突变的携带者，以及鉴定个体。具有倾向于卡纳的倾向。Z

特徴	患者数
年齢	
< 65歳	52
≧ 65歳	48
FIGO段階	
I	68
II	15
III	14
IV	3
組織学的型	
腺癌 (adenocarcinoma)	74
鱗腺腫 (adenosquamous)	17
腺棘細胞腫 (adenoacanthoma)	4
乳頭血清 (papillary serous)	4
明細胞 (clear cell)	1
分化の程度	