(19)日本国特許庁(JP)　(12)公表特許公報(A)　(11)特許出願公表番号
特表2016-507550
(P2016-507550A)
(43)公表日　平成28年3月10日(2016.3.10)

(51)Int.Cl.		F I			テーマコード（参考）
A61K 35/12	***(2015.01)***	A61K	35/12		4B024
C12N 15/09	***(2006.01)***	C12N	15/00	ZNAA	4B063
C07K 14/47	***(2006.01)***	C07K	14/47		4B064
C12P 21/00	***(2006.01)***	C12P	21/00		4B065
C12Q 1/06	***(2006.01)***	C12Q	1/06		4C084

審査請求 未請求　予備審査請求 未請求　（全 171 頁）　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2015-556576 (P2015-556576)
(86)(22)出願日　平成26年2月12日 (2014.2.12)
(85)翻訳文提出日　平成27年10月2日 (2015.10.2)
(86)国際出願番号　PCT/GB2014/050412
(87)国際公開番号　WO2014/125277
(87)国際公開日　平成26年8月21日 (2014.8.21)
(31)優先権主張番号　1302468.2
(32)優先日　平成25年2月12日 (2013.2.12)
(33)優先権主張国　英国 (GB)
(31)優先権主張番号　1317888.4
(32)優先日　平成25年10月9日 (2013.10.9)
(33)優先権主張国　英国 (GB)

(71)出願人　504164608
リニューロン・リミテッド
ＲｅＮｅｕｒｏｎ　Ｌｉｍｉｔｅｄ
イギリス、ジーユー２・７エイエフ、サリー、ギルフォード、サリー・リサーチ・パーク、ニュージェント・ロード１０番
(74)代理人　100091096
弁理士　平木　祐輔
(74)代理人　100118773
弁理士　藤田　節
(74)代理人　100122389
弁理士　新井　栄一
(74)代理人　100111741
弁理士　田中　夏夫

最終頁に続く

(54)【発明の名称】微粒子の製造方法

(57)【要約】
本発明は、条件的不死化細胞によって微粒子を製造することができるという知見に基づく。条件的不死化細胞は幹細胞とすることができる。実施例は、条件的不死化された神経幹細胞及びCD34^{+}細胞からの微粒子の回収に成功したことが示す。条件的不死化は、エキソソームなどの微粒子を産生するクローン細胞の安定供給を提供する。条件的不死化細胞は、条件的不死化細胞から典型的には回収又は単離される、エキソソームなどの微粒子のための「プロデューサー細胞」として有用である。
【選択図】なし

【特許請求の範囲】
【請求項１】
微粒子を製造するための条件的不死化細胞の使用。
【請求項２】
条件的不死化細胞が、
間葉系幹細胞、任意選択で、骨髄由来幹細胞、子宮内膜新生細胞、間葉系前駆細胞、脂肪由来幹細胞又は成体多能性前駆細胞から選択されるもの；
神経幹細胞、任意選択で、ニューロスフェア開始幹細胞、又はオリゴデンドロサイト前駆細胞から選択されるもの；
造血幹細胞、任意選択で、CD34+細胞、及び／又は臍帯血から単離されるもの、若しくは任意選択でCD34+/CXCR4+細胞；
非造血臍帯血幹細胞；
極小胚様幹細胞（VSEL）；
人工多能性幹（iPS）細胞；
線維芽細胞；あるいは
樹状細胞
である、請求項１に記載の使用。
【請求項３】
細胞がc-mycERを含む、請求項１又は２に記載の使用。
【請求項４】
微粒子が、エキソソーム、微小胞、膜粒子、膜小胞、エキソソーム様小胞、エクトソーム様小胞、エクトソーム又はエキソベシクルである、請求項１～３のいずれか１項に記載の使用。
【請求項５】
細胞が幹細胞株に由来し、任意選択で神経幹細胞株又は非神経幹細胞株に由来する、請求項１～４のいずれか１項に記載の使用。
【請求項６】
幹細胞株が無血清培地で生育されている、請求項５に記載の使用。
【請求項７】
幹細胞株が、神経幹細胞株、任意選択でECACC受託番号04091601を有するCTX0E03、ECACC受託番号04110301を有するSTR0C05、及びECACC受託番号04092302を有するHPC0A07である、請求項６に記載の使用。
【請求項８】
微粒子が、
（a）電子顕微鏡で決定した場合に30nm～1000nm若しくは30～200nm若しくは30～100nmのサイズ、又は
（b）1.1～1.2g/mlのスクロース中密度
を有する、請求項１～７のいずれか１項に記載の使用。
【請求項９】
微粒子がRNAを含む、請求項１～８のいずれか１項に記載の使用。
【請求項１０】
RNAがmRNA及び／又はmiRNAである、請求項９に記載の使用。
【請求項１１】
微粒子が、hsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532の1種、2種、3種又は4種を含む、請求項１０に記載の使用。
【請求項１２】
微粒子が、
（a）セラミド、コレステロール、スフィンゴミエリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール及び/若しくはホスファチジルコリンから選択される脂質、
（b）miRNA、任意選択で、hsa-let-7g、hsa-miR-101、hsa-miR-10a、hsa-miR-10b、hsa-m

iR-126、hsa-miR-128、hsa-miR-129-5p、hsa-miR-130a、hsa-miR-134、hsa-miR-137、hsa-miR-155、hsa-miR-15a、hsa-miR-15b、hsa-miR-16、hsa-miR-17、hsa-miR-182、hsa-miR-183、hsa-miR-185、hsa-miR-18b、hsa-miR-192、hsa-miR-194、hsa-miR-195、hsa-miR-20a、hsa-miR-20b、hsa-miR-210、hsa-miR-218、hsa-miR-301a、hsa-miR-302a、hsa-miR-302c、hsa-miR-345、hsa-miR-375、hsa-miR-378、hsa-miR-7、hsa-miR-9、hsa-miR-93、hsa-miR-96、及びhsa-miR-99aから選択されるmiRNA、
（c）テトラスパニン、任意選択でCD63、CD81、CD9、CD53、CD82及び/若しくはCD37から選択されるテトラスパニン、
（d）TSG101、Alix、CD109及び/若しくはthy-1、並びに/又は
（e）CD133
の1種以上を含む、請求項１～１１のいずれか１項に記載の使用。
【請求項１３】
微粒子が表19又は表21に示されるタンパク質の少なくとも10種を含む、請求項１～１２のいずれか１項に記載の使用。
【請求項１４】
微粒子が、幹細胞、幹細胞の条件培地、神経幹細胞又は神経幹細胞の条件培地の少なくとも1種の生物学的活性を含む、請求項１～１３のいずれか１項に記載の使用。
【請求項１５】
少なくとも1種の生物学的活性が再生活性である、請求項１４に記載の使用。
【請求項１６】
治療に使用するための、請求項１～１５のいずれか１項に記載の使用により製造される微粒子。
【請求項１７】
治療が再生治療である、請求項１６に記載の微粒子。
【請求項１８】
微粒子の製造方法であって、条件的不死化細胞の条件培地から微粒子を単離することを含み、任意選択で該細胞が請求項２又は３に記載のものである、微粒子の製造方法。
【請求項１９】
（i）細胞の条件培地が、幹細胞による培地中への微粒子の放出を誘導する1種以上の成分を含み、
（ii）細胞が低酸素条件下で培養されたものであり、
（iii）細胞が異なる細胞型と共培養されたものであり、
（iv）細胞が多区画のバイオリアクタ中で培養されたものであり、及び／又は
（v）細胞が部分的に分化させた幹細胞である、
請求項１８に記載の微粒子の製造方法。
【請求項２０】
1種以上の成分が、トランスフォーミング増殖因子-ベータ（TGF-β）、インターフェロン-ガンマ（INF-γ）及び腫瘍壊死因子-アルファ（TNF-α）から選択される、請求項１９（i）に記載の方法。
【請求項２１】
異なる細胞型が内皮細胞である、請求項１９（iii）、又は請求項１９（iii）に従属する場合の請求項２０に記載の方法。
【請求項２２】
請求項１９～２１のいずれか１項に記載の方法により得られる微粒子。
【請求項２３】
請求項２２に記載の微粒子と、薬学的に許容される賦形剤、担体又は希釈剤とを含む組成物。
【請求項２４】
請求項２２に記載の微粒子の製造方法に使用するためのキットであって、（a）培地、（b）条件的不死化細胞、（c）任意選択で、請求項１９又は２０に記載の1種以上の成分

、（ｄ）任意選択で、対照としての使用に適した請求項２２に記載の微粒子、（ｅ）任意選択で、産生した微粒子の特異的検出に適した検出剤、及び（ｆ）キットを使用して請求項２２に記載の微粒子を製造するための指示書、を含むキット。

【請求項２５】

条件的不死化細胞と候補薬剤とを接触させること、及び接触した幹細胞による微粒子の産生速度が対照と比較して増加するか又は低下するかを観測することを含む、条件的不死化細胞による微粒子の産生速度を変化させる薬剤のスクリーニング方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【０００１】

本発明は、細胞により製造される微粒子、その使用及び製造に関する。

【背景技術】

【０００２】

幹細胞は、自己複製能力及び機能的に異なる細胞型に分化する能力を有する。成長分野である再生医療において、具体的には組織の置換、再生又は修復を必要とする再生治療において、幹細胞は強力なツールであるという可能性を有する（Banerjee他、2011）。しかしながら、治療における幹細胞の使用には以下の欠点がある：機能的安定性及び表現型安定性を有し、細胞の生成、貯蔵、輸送及び扱いに起因して関連のコストが高くかつ時間がかかる幹細胞を一貫して十分に供給する必要がある；受容者による幹細胞の拒絶反応を避けるために免疫学的適合性が要求される；並びに、腫瘍又は異所性組織形成の潜在的安全性リスクに関する複雑な規制問題がある。更に、幹細胞移植の治療効果にもかかわらず、例えば生着及び修復細胞又は置換細胞への分化による、移植した幹細胞の長期にわたる直接的な効果に関する説得力のある証拠はない。

【０００３】

神経幹細胞（NSC）は自己複製しており、神経、星状膠細胞及び乏突起膠細胞を生成する多能性幹細胞である（Kornblum、2007）。神経幹細胞の医療的可能性については十分に実証されている。損傷を受けた中枢神経系（CNS）組織の再生能は非常に限られており、その結果、神経機能がしばしば慢性的に及び進行的に喪失する。神経幹細胞（NSC）は、神経系の損壊又は疾患の幹細胞に基づく治療において有望な結果を示している（Einstein他、2008）。卒中後の動物の脳内への神経幹細胞（NSC）のインプラントにより、その後の運動試験及び認知試験において有意の回復が示されている（Stroemer他、2009）。損傷を受けた組織の機能をNSCがどのようにして回復させることができるかは完全には理解されていないが、細胞分化に適切な部位、血管新生前活性及び神経栄養性活性、並びに天然の免疫系及び他の宿主細胞による、組織修復を促進する免疫調節等の多様な修復特性をNSCが有することが現在では次第に理解されるようになっている（Miljan & Sinden、2009、Horie他、2011）。これらの効果の多くは、インプラントした神経幹細胞から宿主環境（host milieu）への一時的なシグナル伝達に依存しており、例えば虚血性の筋肉組織損傷にインプラントされた場合に、NSCは、治癒及び修復を促進するために天然の血管新生促進性及び調節性の免疫応答を導く及び増幅する炎症誘発性マーカーを一時的に発現し得る（Hicks他、未発表データ）。慢性的卒中の脳では、NSCは実質的な神経栄養効果も有する。例えば、NSCは、宿主の脳由来のダブルコルチン陽性神経芽細胞（neroblast）により、卒中によって損傷を受けた線条体脳組織の再増殖を促進する（Hassani、O'Reilly、Pearse、Stroemer他、PLoS One. 2012;7(11)）。

【０００４】

更に、障害のある卒中患者の「CTX0E03」条件的不死化皮質由来の神経幹細胞を使用して該患者の処置を試験するために、慢性的卒中を有する動物モデルにおける大きなNSC回復効果に基づいて、ReNeuron Limited（Surrey、イギリス）により、神経幹細胞を使用する臨床試験が行われている最中である（Clinicaltrials.gov識別番号：NCT01151124）。

【０００５】

間葉系幹細胞（MSC）は、間葉系細胞型のみに、即ち脂肪細胞系統、軟骨細胞系統及び

骨細胞系統に分化する可能性を有する、系統制限された幹細胞である（Pittenger他、1999;Ding他、2011）。MSC（間葉系間質細胞及び間葉系前駆細胞とも称される）は、骨髄、血液、脂肪及び他の体細胞組織等の様々な起源に由来する。しかしながら、MSCの治療的可能性は、未分化細胞としてのMSCの血管新生促進特性及び免疫調節特性の利用に対してより多く向けられている。ヒトMSCの産生は、その細胞が約15から20回の集団倍加を超えて安定して数を増大させることができないことにより制限されている。

【０００６】

間葉系幹細胞の条件培地（MSC-CM）はMSC自体の治療効果と同様の治療効果を有し、MSCに基づく治療に関するパラクリン機構を示唆する（Timmers他、2007）。WO-A-2009/105044は、MSCにより分泌される、エキソソームとして知られる粒子がMSCの少なくとも1種の生物学的特性を含むことを開示し、そのMSC粒子の治療における使用を示唆し、更にThery他、2011は、エキソソーム及び他の同様に分泌された小胞を一般的に概説する。治療薬として幹細胞を直接使用することに関するいくつかの欠点が間葉系幹細胞由来のエキソソームを使用することにより克服される（例えば貯蔵、輸送及び扱い）が、エキソソームを産生するために機能的に及び表現型的に安定である幹細胞を一貫して十分に供給するという問題が依然としてある。治療に使用するために、好ましくはエキソソームを大規模に産生する必要がある。細胞株がない場合には、幹細胞の起源からの再貯留による細胞の補充が必要であり、このことにより、各新規のバッチの試験及び確認のためのコストが繰り返し発生する。更に、MSCにより処置され得る疾患及び障害が限定される可能性がある。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００７】

幹細胞に基づく治療の改善の必要性が依然として残されている。

【課題を解決するための手段】

【０００８】

本発明は、条件的不死化細胞によって微粒子を有利に製造することができるという驚くべき知見に基づく。条件的不死化細胞は幹細胞とすることができる。実施例は、条件的不死化された神経幹細胞及び$CD34^+$細胞からの微粒子の回収に成功したことを示す。条件的不死化は、エキソソーム等の微粒子を産生するクローン細胞の安定供給を提供する。条件的不死化細胞は、条件的不死化細胞から典型的には回収又は単離される、エキソソームなどの微粒子のための「プロデューサー細胞」として有用である。

【０００９】

本発明の第1の態様は、微粒子を製造するための条件的不死化細胞の使用を提供する。条件的不死化細胞は典型的には以下である：

間葉系幹細胞、任意選択で、骨髄由来幹細胞、子宮内膜新生細胞、間葉系前駆細胞又は成体多能性前駆細胞から選択されるもの；

神経幹細胞、任意選択で、ニューロスフェア開始幹細胞、又はオリゴデンドロサイト前駆細胞から選択されるもの；

造血幹細胞、任意選択で、CD34+細胞、及び／又は臍帯血から単離されるもの、若しくは任意選択でCD34+/CXCR4+細胞；

非造血臍帯血幹細胞；

極小胚様幹細胞（VSEL）；

人工多能性幹（iPS）細胞；

線維芽細胞；あるいは

樹状細胞。

【００１０】

製造される微粒子は、エキソソーム、微小胞、膜粒子、膜小胞、エキソソーム様小胞、エクトソーム様小胞、エクトソーム又はエキソベシクル（exovesicle）であり得る。典型的には、微粒子はエキソソームである。一実施形態において、細胞が間葉系幹細胞であり、微粒子がエキソソームである。

【００１１】
条件的不死化は、細胞に活性化剤が供給されない限り、不活性である不死化因子を導入することにより行うことができる。そのような不死化因子はc-mycER等の遺伝子であることができる。c-MycER遺伝子産物は、変異体エストロゲン受容体のリガンド結合ドメインに融合したc-Mycバリアントを含む融合タンパク質である。条件的不死化細胞は、典型的には活性化剤の存在下で培養される。c-MycER 条件的不死化細胞について、活性化剤は4-ヒドロキシタモキシフェン（4-OHT）である。したがって、微粒子は、典型的には、微粒子単離の時点で不死化状態にある条件的不死化細胞から単離される。
【００１２】
成分の培養培地への添加により、低酸素条件下での幹細胞の培養により又は他の細胞型との共培養により、条件的不死化細胞による微粒子の産生を変化させることができ、それにより幹細胞微粒子の製造方法が改善されることも発見した。
【００１３】
本発明の第2の態様は、微粒子の製造方法であって、条件的不死化細胞の条件培地（任意選択で、細胞は上で定義したものである）から微粒子を単離することを含む方法を提供する。この態様のいくつかの実施形態において：
細胞の条件培地が、幹細胞による培地中への微粒子の放出を誘導する1種以上の成分を含み、
細胞が低酸素条件下で培養されたものであり、
細胞が異なる細胞型と共培養されたものであり、
細胞が多区画のバイオリアクタ中で培養されたものであり、及び／又は
細胞が部分的に分化させた幹細胞である。
【００１４】
本発明のさらなる態様は、幹細胞微粒子の製造方法を提供し、典型的には神経幹細胞微粒子又は別の幹細胞型（上に詳述した通り）由来の微粒子の製造方法を提供する。本方法は、幹細胞の分化が可能な環境下で幹細胞、典型的には条件的不死化幹細胞を培養すること、及び該細胞により産生される微粒子を回収することを含むことができる。微粒子を、部分的に分化した神経幹細胞から単離することができる。幹細胞を、代謝老廃物の効果的な除去が可能な条件下で培養することができる。一実施形態では、幹細胞の分化が可能な環境は多区画のバイオリアクタ中の培養であり、典型的には長期にわたる（例えば7日を超える）多区画のバイオリアクタ中の培養である。本方法は、幹細胞の条件培地から微粒子を単離することを含むことができる。幹細胞の条件培地は、幹細胞による培地中への微粒子の放出を刺激する1種以上の添加成分又は薬剤を含むことができる。1種以上の成分は、トランスフォーミング増殖因子-ベータ（TGF-β）、インターフェロン-ガンマ（INF-γ）及び／又は腫瘍壊死因子-アルファ（TNF-α）から選択され得る。微粒子を、幹細胞が低酸素条件下で培養された幹細胞の条件培地から単離することができる。微粒子を、NSCニッチ環境を作り出すために、別の細胞型と、典型的には内皮細胞と共培養した幹細胞により生じる幹細胞の条件培地から単離することができる。
【００１５】
本発明の別の態様は、本発明の態様に係る方法により得られる微粒子を提供する。
【００１６】
本発明の別の態様は、条件的不死化細胞と候補薬剤とを接触させること、及び接触させた条件的不死化細胞による微粒子の産生速度が対照と比較して増加するか又は低下するかを観測することを含む、条件的不死化細胞による微粒子の産生を変化させる薬剤のスクリーニング方法を提供する。
【００１７】
本発明のさらなる態様は、微粒子の製造方法に使用するためのキットであって、（a）培地、（b）条件的不死化細胞、（c）任意選択で、請求項19若しくは20の1種以上の成分、（d）任意選択で、対照としての使用に適した請求項22の微粒子、（e）任意選択で、産生した微粒子の特異的検出に適した検出剤、及び（f）キットを使用して請求項22の微粒

子を製造するための指示書、を含むキットを提供する。

【００１８】

本発明のさらなる態様及び実施形態を、以下に及び特許請求の範囲に定義する。

【００１９】

本発明はまた、神経幹細胞が治療上有用な微粒子を含有するという知見に基づく。神経幹細胞からの微粒子の製造に関して本明細書で議論する方法は、本発明の第1の態様について記載した他の細胞型からの微粒子の製造方法にも適用可能である。

【００２０】

本発明の一態様は神経幹細胞微粒子を提供する。微粒子は、エキソソーム、微小胞、膜粒子、膜小胞、エキソソーム様小胞、エクトソーム様小胞、エクトソーム又はエキソベシクル（exovesicle）であることができる。典型的には、微粒子はエキソソームである。微粒子は、幹細胞の分化が可能な環境下で培養された、条件的不死化された神経幹細胞に由来することができる。微粒子は、部分的に分化した神経幹細胞から単離することができる。一実施形態では、幹細胞の分化が可能な環境は多区画のバイオリアクタであり、典型的には細胞が7日を超えて培養される多区画のバイオリアクタである。微粒子は神経幹細胞株に由来することができる。いくつかの実施形態では、神経幹細胞株は、「CTX0E03」細胞株、「STR0C05」細胞株、「HPC0A07」細胞株、又はMiljan他、Stem Cells Dev. 2009に開示されている神経幹細胞株であることができる。いくつかの実施形態では、微粒子は、培養での維持に血清を必要としない幹細胞株に由来する。微粒子は、電子顕微鏡で決定した場合に30nm～1000nmの若しくは30～200nmの若しくは30～100nmのサイズ；及び／又は1.1～1.2g/mlのスクロース中密度を有することができる。微粒子はRNAを含むことができる。RNAは、mRNA、miRNA及び／又は任意の他の低分子RNAであることができる。微粒子は、hsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532の1種、2種、3種又は4種を含むことができる。微粒子は1種以上の脂質を含むことができ、典型的にはセラミド、コレステロール、スフィンゴミエリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール、ホスファチジルコリンから選択される1種以上の脂質を含むことができる。微粒子は1種以上のテトラスパニンを含むことができ、典型的にはCD63、CD81、CD9、CD53、CD82及び／又はCD37を含むことができる。微粒子は、TSG101、Alix、CD109、thy-1及びCD133の1種以上を含むことができる。微粒子は、表19又は表21中に示されるタンパク質の少なくとも10種を含むことができる。微粒子は、神経幹細胞又は神経幹細胞の条件培地の少なくとも1種の生物学的活性を含むことができる。少なくとも1種の生物学的活性は組織再生活性であることができる。本発明の粒子は典型的には単離されている、又は精製されている。

【００２１】

本発明のさらなる態様は、治療に使用するための神経幹細胞微粒子を提供する。治療は、組織の置換、再生又は修復を必要とする再生治療であることができ、例えば、治療は血管新生、神経新生及び／又は神経保護を必要とする。治療は、神経学的疾患、障害又は欠損に対するものであることができる。治療は、機能及び／又は認知の回復を改善することができる。治療は、卒中、末梢動脈性疾患、神経症、又は組織の再生、血行再建若しくは局所的な抗炎症作用を必要とする任意の他の疾患若しくは障害に対するものであることができ、任意の他の疾患又は障害として、

（i）神経学的障害、疾患又は欠損、例えばパーキンソン病、アルツハイマー病、卒中若しくはALS、

（ii）リソソーム蓄積症、

（iii）心血管障害、例えば心筋梗塞、うっ血性心不全、末梢動脈性疾患、糖尿病性潰瘍、創傷治癒、

（iv）特発性肺線維症、呼吸促迫症候群、慢性閉塞性肺疾患、特発性肺高血圧症、嚢胞性線維症及び喘息を含む肺の疾患、

（v）代謝性又は炎症性障害、例えば糖尿病（I若しくはII型）、関節リウマチ、変形性関節症、ループス、クローン病、過敏性腸疾患又は移植片対宿主病、

（vi）精神障害、例えば鬱病、双極性障害、統合失調症、又は自閉症候群障害、例えば自

閉症、アスペルガー症候群若しくはレット症候群、
（vii）失明を引き起こす網膜の疾患、例えば加齢性黄斑変性、シュタルガルト病、糖尿病性網膜症、網膜色素変性症、並びに
（viii）脱髄性疾患、例えば多発性硬化症、脳性麻痺、橋中心髄鞘崩壊症、脊髄ろう、横断性脊髄炎、デビック病、進行性多巣性白質脳症、視神経炎、白質萎縮症、ギラン・バレー症候群、抗MAG末梢神経障害及びシャルコー・マリー・トゥース病
が挙げられる。

【００２２】

一実施形態では、微粒子はエキソソームであり、治療は組織の置換、再生若しくは修復を必要とする疾患若しくは状態に関するものである。別の実施形態では、微粒子は微小胞であり、治療は血管新生を必要とする疾患又は神経学的疾患、障害若しくは欠損に関するものである。

【００２３】

治療はまた、その後に、並行して、又は同時に、微粒子が由来する幹細胞を受け入れる宿主において寛容を誘導するための予防治療であることができ、典型的には免疫寛容を誘導するための予防治療であることができる。幹細胞治療の投与前の又は幹細胞治療の投与と並行しての本発明の微粒子の患者への1回以上の用量の投与により、幹細胞治療の有害な免疫応答、即ち「拒絶反応」のリスクを低減することができる。

【００２４】

本発明の別の態様は、疾患の処置用の医薬の製造における神経幹細胞微粒子の使用を提供する。

【００２５】

本発明の別の態様は、神経幹細胞微粒子と、薬学的に許容される賦形剤、担体又は希釈剤とを含む組成物を提供する。

【図面の簡単な説明】

【００２６】

【図１】微粒子を産生するCTX0E03条件的不死化神経幹細胞を示す電子顕微鏡写真である。パネルA～Eは、直径30nm～50nmのエキソソームを含有する細胞内多小胞体（MVB）を示し、パネルFは、細胞膜での出芽プロセスを経て神経幹細胞から放出された直径100nm超の微小胞を示す。

【図２】幹細胞からの微粒子の同定、特性決定及び製造に関するプロトコルの概要を示す図である。

【図３】CTX0E03の条件培地及び非条件培地に対して実施したヒト血管新生ELISAストリップの光学密度の読み取りを示す。

【図４】図4Aは、通常の培養条件（3日T175）と比較した、Integraシステムから精製した微粒子を含有する15mlの培地から抽出したタンパク質の量（BCAアッセイで測定した）を示す。図4Bは、（i）Integra培養CTX0E03エキソソーム（左上のパネル）及び微小胞（右上のパネル）におけるCD63と、（ii）Integra培養CTX0E03エキソソーム（左下のパネル）及び微小胞（右下のパネル）におけるCD81とに関する（2ug/ml、1：250での）FACS検出を示す。

【図５】通常の培養条件（3日T175）と比較した、Integraシステムからのろ過により精製した微粒子を含有する15mlの培地から抽出して260/280nmで測定した単離全RNAの量を示す。

【図６Ａ】図6Aは、CTX0E03条件培地中で培養した正常ヒト皮膚線維芽細胞（NHDF）の又は精製したCTX0E03エキソソームの添加時の正常ヒト皮膚線維芽細胞（NHDF）の遊走活性を表す創閉鎖/掻創アッセイの結果を示す。

【図６Ｂ】図6Bは、基礎の条件（エキソソームなし）に対する10μgのCTX0E03エキソソームの効果を比較する、72時間後の掻創アッセイの結果を示す。

【図６Ｃ】図6Cは、基礎の条件、2μg/mlのエキソソーム、6μg/mlのエキソソーム、20μg/mlのエキソソーム及びLSGS（低血清増殖サプリメント）陽性対照に関する治癒面積の%

を示す。図6Cの上のパネルは、Integra Cellineシステム中で2週にわたって培養したCTX0E03細胞から単離したエキソソームを示し、図6Cの下のパネルは、Integra Cellineシステム中で6週にわたって培養したCTX0E03細胞から単離したエキソソームを示す。

【図６Ｄ】図6Dは、インビボの注射創傷治癒アッセイ（injection wound healing assay）においてCTX0E03細胞と陰性対照（生理食塩水）とを比較する。

【図７】標準的なCTX0E03（T175）培養からの培養培地毎に得た精製エキソソームの量 対 3週目の時点でのIntegra CELLineシステムからの培養培地毎に得た精製エキソソームの量を示す。

【図８】図8Aは、CTX0E03 Integra CELLine培養システムの1週後、2週後及び3週後の2種の異なるフラスコから回収したエキソソームの濃度を示す。図8Bは、CTX0E03細胞の6週連続培養中において単一のIntegra CELLineフラスコから回収したエキソソームの濃度を示す。

【図９】標準的な（「対照」）CTX0E03（T175）培養と比較して、Integra CELLineシステム中において3週にわたって培養したCTX0E03細胞中で測定した様々なmRNAマーカーの発現レベルの変化倍率（fold change）を示す。

【図１０】標準的なCTX0E03（T175）培養でのCTX0E03細胞における基準発現レベルに対して評価した、Integraバイオリアクタ培養で3週にわたって培養したCTX0E03細胞から得たエキソソーム中の及び標準的なCTX0E03（T175）培養から得た微粒子中の様々なmiRNAの上方制御倍率及び下方制御倍率を示す。

【図１１ａ】標準的な（T175）条件下で培養したCTX0E03細胞（「CTX」）、微小胞（「MV」）及びエキソソーム（「EXO」）からのmiRNAの大規模シーケンシングから得たmiRNAのプロファイルを示す。図11a及び図11bは2種の培養物からの結果を示す。

【図１１ｂ】標準的な（T175）条件下で培養したCTX0E03細胞（「CTX」）、微小胞（「MV」）及びエキソソーム（「EXO」）からのmiRNAの大規模シーケンシングから得たmiRNAのプロファイルを示す。図11a及び図11bは2種の培養物からの結果を示す。

【図１２Ａ】HUVECの血管新生に対するhNSC微小胞の影響を示す図である。図12Aは、基礎のHUVECと比較して、微小胞を添加した場合（右側のパネル）に観測した管形成の明確な増加を示す写真である。

【図１２Ｂ】HUVECの血管新生に対するhNSC微小胞の影響を示す図である。図12B及び図12Cは、様々な濃度（0.05μg、0.1μg、0.3μg-図12B及び0.6μg/ml-図12C）でhNSC微小胞によりもたらされる管全長の増加を示す。

【図１２Ｃ】HUVECの血管新生に対するhNSC微小胞の影響を示す図である。図12B及び図12Cは、様々な濃度（0.05μg、0.1μg、0.3μg-図12B及び0.6μg/ml-図12C）でhNSC微小胞によりもたらされる管全長の増加を示す。

【図１３】PC-12細胞における神経突起伸長に対するhNSC微小胞の影響を示す写真である。

【図１４】Agilent RNAバイオアナライザで決定したCTX0E03細胞、エキソソーム及び微小胞における全RNA含有量プロファイルを示す電気泳動図である。

【図１５】エクソンに完全に重複する遺伝子をコードする割合（％）及びイントロン内又は遺伝子間配列内に位置する非コード転写産物の割合（％）を模式的に示す（GENCODE配列データセットに対してNGS BAMファイルを実行することにより作成した）。

【図１６】CTX0E03プロデューサー細胞と比較してエキソソーム及びMVに選択的にシャトルされる（shuttled）、上位にランクする新規miRNAを示す。

【図１７Ａ】1週、2週、3週、4週、5週及び6週にわたりIntegra Cellineシステム中で培養したCTX0E03エキソソーム（図17A）及び微小胞（図17B）の粒子サイズ及び濃度を決定するために行ったNanoSight分析の結果を示す。

【図１７Ｂ】1週、2週、3週、4週、5週及び6週にわたりIntegra Cellineシステム中で培養したCTX0E03エキソソーム（図17A）及び微小胞（図17B）の粒子サイズ及び濃度を決定するために行ったNanoSight分析の結果を示す。

【図１８】CTX0E03エキソソームからのプロテオームデータと微小胞からのプロテオーム

データとを比較し（18A及び18B）、並びに神経幹細胞エキソソームと間葉系幹細胞エキソソームとを比較する（18C及び18D）ベン図を示す。図18Aは、2週のIntegra培養システムから単離したCTX0E03エキソソーム及び微小胞内に特有のタンパク質の数を示す。図18Bは、CTX0E03エキソソーム内において同定したタンパク質と関連する生物学的プロセスと微小胞内において同定したタンパク質と関連する生物学的プロセスとを比較する。図18Cは、CTX0E03神経幹細胞エキソソームのプロテオームと間葉系幹細胞エキソソームのプロテオームとを比較し、図18Dは、MSC由来のエキソソームにおいて同定したタンパク質と関連する生物学的プロセスと神経幹細胞由来のエキソソームと関連する生物学的プロセスとを比較する。

【図１９】NSC由来のエキソソームと関連するが間葉系幹細胞エキソソームとは関連しないことが分かった30種の生物学的プロセスを示す。

【図２０】CD34+細胞の条件的不死化の成功を示す。（A）は、臍帯血に由来するレンチウイルス感染ヒトCD34+前駆細胞におけるc-mycERTAM mRNAの存在を示すqRT-PCRサイクルのダイアグラムである。（B）は、免疫沈降物中のエキソソームマーカーAlixの検出を示す対照サンプルである。（C）は、CD34+細胞及びCD34+ cMycERTam細胞の両方に由来する免疫沈降したエキソソームにおけるAlix発現を示す。

【発明を実施するための形態】

【００２７】

本発明は、条件的不死化細胞によって微粒子を有利に製造することができるという予想外の知見に基づく。条件的不死化細胞は幹細胞とすることができる。実施例は、条件的不死化された神経幹細胞及び$CD34^+$細胞による微粒子の製造の成功を示す。条件的不死化は、エキソソーム等の微粒子を産生するクローン細胞の安定供給を提供する。条件不死化細胞は、条件的不死化細胞から典型的には回収又は単離される、エキソソームなどの微粒子のための「プロデューサー細胞」として有用である。

【００２８】

また本発明者らは予想外にも、神経幹細胞において微粒子を同定した。この微粒子は該微粒子が由来する神経幹細胞の機能のいくつかを保持し、神経幹細胞と同じ処置に有用であり、典型的には治療上有用である。微粒子は、対応する幹細胞よりも有利である。なぜならば、微粒子はより小さくてより単純であり、それにより、より容易に産生され、維持され、貯蔵され及び輸送され、並びに幹細胞を取り巻く規制問題のいくつかを避ける可能性を有するからである。条件培地からの単離により、例えば多区画のバイオリアクタ等のバイオリアクタ中で微粒子を連続して産生することができ、これにより、大規模産生及び「画一的な」治療の提供が可能になる。多区画のバイオリアクタは、典型的には2区画のバイオリアクタである。

【００２９】

予想外にも、幹細胞が分化し始めることが可能な環境下での（神経幹細胞に限定されない任意の種類の）幹細胞の培養により、産生される微粒子の収率が著しく増加することを更に発見した。

【００３０】

本発明者らは予想外にも、多区画のバイオリアクタ中での（神経幹細胞に限定されない任意の種類の）幹細胞の培養の結果、より分化した形態の幹細胞へと幹細胞が部分的に分化することを観測した。培養でのこの分化は、分化を誘導する薬剤の添加を必要としない。この分化は典型的には、少なくとも1週間の、少なくとも2週間の又は少なくとも3週間の培養期間を必要とする。多区画のバイオリアクタ中での培養中に起こる幹細胞への変化は、培養した幹細胞による微粒子の産生に反映される。従って、多区画のバイオリアクタ中で幹細胞を培養することにより、細胞の分化を誘導することができる。よって、多区画のバイオリアクタ中で培養した幹細胞から微粒子を回収することにより、部分的に分化した幹細胞から微粒子を産生することができ、該幹細胞を、典型的には少なくとも1週にわたって、少なくとも2週にわたって、少なくとも3週にわたって、少なくとも4週にわたって、少なくとも5週にわたって又は少なくとも6週にわたって多区画のバイオリアクタ中で

培養する。任意選択で、細胞、例えばNSCを10週以下にわたって培養する。一実施形態では、本発明は、部分的に分化した神経幹細胞から微粒子を単離することによる微粒子の製造方法を提供する。

【００３１】

本発明者らはまた、幹細胞からの微粒子の分泌を誘導することができることも発見した。神経幹細胞に限定されず、任意の幹細胞からの微粒子の産生に使用することもできるこの発見により、幹細胞培養から得られる微粒子の収率を改善することが可能になる。いくつかの薬剤が微粒子の分泌を様々な程度に増進することが確認されており、このことは、分泌される微粒子の量をコントロールすることができるという更なる利点を有する。低酸素条件下での幹細胞の培養により、微粒子の産生も増進される。更に、幹細胞と別の細胞型との共培養により、具体的には内皮細胞型との共培養により、幹細胞によって産生される微粒子を有利に改変することができることを発見した。

【００３２】

更なる実施形態では、本発明は、無血清幹細胞により産生される微粒子を提供し、典型的にはエキソソームを提供する。血清は多くの細胞株の良好な培養に必要であるが、血清自体のエキソソーム等の多くの夾雑物を含有する。以下で説明するように、本発明者らは、良好な培養に血清を必要としない幹細胞から微粒子を産生している。

【００３３】

微粒子

本発明は、条件的不死化細胞からの微粒子の製造に関する。

【００３４】

本発明は一態様において、条件的不死化された神経幹細胞、間葉系幹細胞又は造血幹細胞から得られる微粒子を提供する。神経幹細胞微粒子は、神経幹細胞により産生される微粒子であり、間葉系幹細胞微粒子は、間葉系幹細胞により産生される微粒子であり、造血幹細胞微粒子は、造血幹細胞により産生される微粒子である。典型的には、微粒子は幹細胞から分泌される。より典型的には、微粒子はエキソソーム又は微小胞である。いくつかの幹細胞（条件的不死化されていない）、例えば間葉系幹細胞等からの微粒子が当分野で知られている。

【００３５】

「微粒子」は、細胞から放出される直径30～100nmの細胞外小胞である。微粒子は、生体分子を囲む脂質二重層により規定される。用語「微粒子」は当分野で公知であり、膜粒子、膜小胞、微小胞、エキソソーム様小胞、エキソソーム、エクトソーム様小胞、エクトソーム又はエキソベシクル等の多くの異なる種類の微粒子を包含する。異なる種類の微粒子は、直径、細胞内起源、スクロース中での微粒子の密度、形状、沈降速度、脂質組成、タンパク質マーカー及び分泌の様式（即ち、シグナル（誘導性）後又は自発的（構成的））に基づいて区別される。一般的な4種の微粒子及びそれらの顕著な特徴を以下の表1で説明する。

【表１】

表 1: 種々の微粒子

微粒子	サイズ	形状	マーカー	脂質	起源
微小胞	100-1000nm	異形	インテグリン, セレクチン, CD40 リガンド	ホスファチジルセリン	細胞膜
エキソソーム様小胞	20-50nm	異形	TNFRI	脂質ラフトなし	他のオルガネラからの MVB
エキソソーム	30-100nm; (<200nm)	カップ形状	テトラスパニン（例：CD63, CD9), Alix, TSG101, ESCRT	コレステロール, スフィンゴミエリン, セラミド, 脂質ラフト, ホスファチジルセリン	多小胞エンドソーム
膜粒子	50-80nm	円形	CD133, CD63 なし	未知	細胞膜

【００３６】

微粒子は、直接的な及び間接的な機構を介してドナー細胞と受容細胞との間で媒体として作用することにより細胞間連絡に関与すると考えられる。直接的な機構として、受容細胞による微粒子及びそのドナー細胞由来成分（例えばタンパク質、脂質又は核酸）の取り込みが挙げられ、該成分は、受容細胞中において生物学的活性を有する。間接的な機構として、微小胞-受容細胞の表面相互作用、及び受容細胞の細胞内シグナル伝達を調節することが挙げられる。そのため、微粒子は、受容細胞による1種以上のドナー細胞由来の特性の獲得を媒介することができる。動物モデルにおける幹細胞治療の効果にもかかわらず、幹細胞は宿主中に生着されているようには見えない。よって、幹細胞治療が効果的である機構は不明である。理論に拘束されることを望まないが、本発明者らは、神経幹細胞により分泌される微粒子が神経幹細胞の治療上の有用性に関与し、従って微粒子自体が治療上有用であると考える。

【００３７】

本発明の微粒子及び細胞、例えば幹細胞は単離される。用語「単離される」とは、該用語が言及する微粒子、微粒子集団、細胞又は細胞集団がその天然環境内ではないことを示す。微粒子、微粒子集団、細胞又は細胞集団は、周囲の組織から実質的に分離されている。いくつかの実施形態では、サンプルが少なくとも約75％の、いくつかの実施形態は少なくとも約85％の、いくつかの実施形態では少なくとも約90％の、いくつかの実施形態では少なくとも約95％の微粒子及び／又は幹細胞を含む場合、微粒子、微粒子集団、細胞又は細胞集団は周囲の組織から実質的に分離されている。換言すると、サンプルが約25％未満の、いくつかの実施形態では約15％未満の、いくつかの実施形態では約5％未満の、微粒子及び／又は幹細胞以外の物質を含有する場合、サンプルは周囲の組織から実質的に分離されている。そのようなパーセント値は重量パーセントを指す。本用語は、起源である生物から取り出されて培養物中に存在している細胞又は微粒子を包含する。本用語はまた、起源である生物から取り出され、その後に生物中に再挿入されている細胞又は微粒子も包含する。再挿入された細胞を含有する生物は、細胞が取り出された生物と同じ生物であることができ、又は異なる生物であることができる。

【００３８】

幹細胞は、（膜小胞及び微小胞を形成するための）原形質膜の出芽等の様々な機構により、並びに細胞膜による細胞内多小胞体（微粒子を含有する）の融合及び（エキソソーム及びエキソソーム様小胞を分泌するための）細胞外区画中への微粒子の放出の結果として

、微粒子を天然に産生する。

【００３９】

一実施形態において、本発明の微粒子を産生する神経幹細胞は、例えば米国特許第5,851,832号、米国特許第6,777,233号、米国特許第6,468,794号、米国特許第5,753,506号及びWO-A-2005121318で説明されている、胎児の、胚の又は成体の神経幹細胞であることができる。胎児組織は、ヒト胎児の皮質組織であることができる。細胞は、Yuan他(2011）により説明されているように人工多能性幹（iPS）細胞の分化から神経幹細胞として選択され得る、又は（例えば、最近のTheir他、2012のように、Sox2、Klf4及びc-Mycを構成的に誘導するがOct4活性をリプログラミングの初期段階に厳密に制限することにより）体細胞から産生された直接誘導型の神経幹細胞であることができ、例えば線維芽細胞であることできる。当分野で公知であるように（例えばKlimanskaya他、2006及びChung他、2008）、ヒト胚幹細胞は、ドナー胚の生存能力を保存する方法により得ることができる。ヒト胚幹細胞を得るためのそのような非破壊方法を、本発明の微粒子を得ることができる胚幹細胞を提供するために使用することができる。あるいは、本発明の微粒子は、成体の幹細胞、iPS細胞又は直接誘導型の神経幹細胞から得ることができる。よって、本発明の微粒子は、ヒト胚の破壊、又は原料物質としてのヒト胚の使用を必要としない多くの方法により産生することができる。

【００４０】

典型的には、微粒子が産生される細胞集団は実質的に純粋である。用語「実質的に純粋」は本明細書で使用する場合、全細胞集団を構成する他の細胞に対して、少なくとも約75％の、いくつかの実施形態では少なくとも約85％の、いくつかの実施形態では少なくとも約90％の、いくつかの実施形態では少なくとも約95％の純度である細胞の集団を指す。例えば、幹細胞、例えば神経幹細胞集団に関して、この用語は、全細胞集団を構成する他の細胞と比較して幹細胞が少なくとも75％の、いくつかの実施形態では少なくとも85％の、いくつかの実施形態では少なくとも約90％の、いくつかの実施形態では少なくとも約95％の純度であることを意味する。換言すると、用語「実質的に純粋」は、オリジナルの増幅されていない並びにその後の培養及び増幅前に単離されている集団における系列決定済み細胞（lineage committed cell）の約25％未満を、いくつかの実施形態では約15％未満を、いくつかの実施形態では約5％未満を含有する本発明の幹細胞の集団を指す。

【００４１】

幹細胞、例えば神経幹細胞、の微粒子は、典型的には、脂質、タンパク質及び核酸を含む環境を取り囲む少なくとも1層の脂質二重層を含む。核酸はデオキシリボ核酸（DNA）及び／又はリボ核酸（RNA）であることができる。RNAは、メッセンジャーRNA（mRNA）、マイクロRNA（miRNA）又は任意のmiRNA前駆体、例えばpri-miRNA、pre-miRNA及び／又は核内低分子RNA（snRNA）であることができる。

【００４２】

幹細胞、例えば神経幹細胞、の微粒子は、それが由来する幹細胞の少なくとも1種の生物学的機能を保持する。保持され得る生物学的機能として、血管新生及び／又は神経新生を促進する能力、卒中を患っている患者の脳における認知の改善をもたらす能力あるいは末梢動脈性疾患における血流の回復を加速させる能力が挙げられる。例えば、CTX0E03細胞はPBMCアッセイにおいてT細胞の活性化を阻害することが知られており、一実施形態では、本発明の微粒子は、このPBMCアッセイにおいてT細胞の活性化を阻害する能力を保持する。PBMCアッセイは当業者に公知であり、該アッセイを実施するためのキットが市販されている。

【００４３】

実施例8、表2及び図6は、CTX0E03幹細胞エキソソームが創傷治癒の「掻創」モデルにおいて創傷を閉鎖する能力を保持することを証明する。図6Aにおける結果は、CTX0E03条件培地で培養した正常ヒト皮膚線維芽細胞（NHDF）の遊走活性は、精製エキソソームの添加時に観測した遊走活性とほとんど同じであることを示す。よって、本発明の微粒子が保持することができる生物学的機能の1種は、正常ヒト皮膚線維芽細胞（NHDF）の遊走活性を

刺激する能力である。

【００４４】

実施例8はまた、本発明の微粒子が初代HUVECの血管新生を刺激することができること及びPC-12細胞の神経突起伸長を刺激することができることを示す。よって、本発明の微粒子が保持することができる生物学的機能は、初代HUVECの血管新生を刺激する及び／又はPC-12細胞の神経突起伸長を刺激する能力である。

【００４５】

実施例13でのプロテオーム分析は、神経幹細胞エキソソームが、遺伝物質の産生、パッケージング、機能及び分解に関連する生物学的機能を含むことを示す。よって、一実施形態では、本発明のエキソソームは、これらの機能を保持し、典型的にはRNAポリメラーゼ機能、RNA分解機能、リボソーム機能及びスプライソソーム機能の1種以上を保持する。

【００４６】

微粒子は、1000nm以下の直径を有する。典型的には、本発明の微粒子は200nm以下の直径、例えば100nm以下の直径を有することができる。上記表1に記載したように、微粒子は100nm～1000nmの直径を有する。エキソソームは典型的には30～100nmの直径を有すると定義されるが、ここ最近の研究では、エキソソームは100nm～200nmの直径を有することもできることが確認されている（例えばKatsuda他、Proteomics 2013及びKatsuda他、Scientific Reports 2013）。よって、エキソソームは典型的には30nm～150nmの直径を有する。膜粒子は50nm～80nmの直径を有し、エキソソーム様粒子は20nm～50nmの直径を有する。直径を任意の適切な技法、例えば電子顕微鏡法又は動的光散乱法で決定することができる。用語「微粒子」として、膜粒子、膜小胞、微小胞、エキソソーム様小胞、エキソソーム、エクトソーム様小胞、エクトソーム又はエキソベシクルが挙げられるがこれらに限定されない。

【００４７】

図1のパネルA～Eは、直径が30～50nmのエキソソームを含有するMVBの神経幹細胞における存在を示し、更にパネルFは直径が100nmを超える微小胞を示す。表20及び図17（以下）は、典型的な神経幹細胞エキソソームは約70nm～約150nmの範囲の直径を有すると測定され、この直径は当分野で説明されている（間葉系幹細胞由来の）エキソソームのサイズと一致することを示す。よって、本発明のエキソソームは典型的には30nm～200nmの直径を有し、より典型的には50nm～150nmの直径を有する。前述したように、エキソソームは典型的には、Alixマーカー（UNIPROTアクセッション番号Q8WUM4）について陽性である。

【００４８】

図1F及び表20は、モード径が約150nm～200nmである又は中央径が約180nm～350nmである典型的な神経幹細胞微粒子の観測したサイズを示す。よって、本発明の微粒子は典型的には100～1000nmの直径を有し、より典型的には150nm～350nmの直径を有する。

【００４９】

本発明の微粒子の一部はCD133表面マーカーを発現する。本発明の他の微粒子はCD133表面マーカーを発現しない。

【００５０】

「マーカー」は、存在、濃度、活性又はリン酸化状態が検出され得る及び細胞の表現型を同定するために使用され得る生体分子を指す。

【００５１】

エキソソームは、典型的には30～100nmの直径であり、時には100nm～200nmの直径である、エンドソーム由来の脂質微粒子であり、エキソサイトーシスにより細胞から放出される。エキソソームの放出は、制御されて機能的に適切な様式で、構成的に又は誘導時に起こる。エキソソームの生合成中に、エキソソームは広範囲の細胞質タンパク質（シャペロンタンパク質、インテグリン、細胞骨格タンパク質及びテトラスパニン等）及び遺伝物質を組み入れる。その結果、エキソソームは、親細胞微環境下において及び相当な距離にわたって細胞間でタンパク質、脂質及び遺伝物質を移動させるための細胞間連絡デバイスであるとみなされる。本発明はこの理論に拘束されないが、エキソソームは神経幹細胞の効

果に関与している可能性がある。従って、神経幹細胞由来のエキソソームは、それ自体が治療に効果があると予期される。

【００５２】

所望の機能を有するように設計されている微粒子

微粒子は、該微粒子を産生する幹細胞の機能の少なくとも一部を保持する。従って、幹細胞（幹細胞は任意の幹細胞型であることができ神経幹細胞に限定されないが、本発明の神経幹細胞微粒子は実施形態として明白に含まれる）を操作することにより、1種以上の所望の機能、典型的にはタンパク質又はmiRNAを有するように微粒子を設計することができる。その操作は典型的には、1種以上の外因性のコード核酸配列、非コード核酸配列又は調節核酸配列を幹細胞に導入するための遺伝子操作であることができる。例えば、VEGF及び／又はbFGFを含有するエキソソームが所望される場合、エキソソームを産生する幹細胞を形質転換して又は該幹細胞にトランスフェクションしてVEGF及び／又はbFGFを（高レベルで）発現させることができ、次いでそれらは幹細胞により産生される微粒子中に組み入れられるだろう。同様に、iPS細胞を使用して微粒子を産生することができ、この細胞を、iPS細胞により産生される微粒子に必要なタンパク質及び核酸（例えばmiRNA）を産生するように設計することができる。従って、本発明は、微粒子が産生される幹細胞中において天然には存在しない機能を含有し（即ち、微粒子（例えばエキソソーム）は1種以上の外因性のタンパク質配列又は核酸配列を含有する）、天然には生じない及び操作されている、任意の幹細胞型由来の特別な微粒子を提供する。条件的不死化細胞の使用は、これらの設計された微粒子の連続製造を有利に提供する。

【００５３】

一実施形態では、単離された又は精製された微粒子には、標的細胞中で所望の機能を発揮するように意図されている1種以上の外因性の核酸、脂質、タンパク質、薬物又はプロドラッグが多く負荷（load）されている。このことは幹細胞の操作を必要とせず、外因性物質を任意選択で微粒子に直接添加することができる。例えば、外因性の核酸を電気穿孔（エレクトロポレーション）により微粒子中に導入することができる。次いで、微粒子を外因性物質の媒体又は担体として使用することができる。一実施形態では、微粒子を産生する細胞から単離された微粒子には、1種以上の病態遺伝子をサイレンシングするために配備され得る微粒子を産生するために、典型的には電気穿孔により外因性のsiRNAが多く含まれている。このようにして、微粒子を1種以上の薬剤、典型的には治療薬又は診断薬を標的細胞に搬送するための媒体として使用することができる。この例として、1種以上の病態遺伝子をサイレンシングすることができる外因性のsiRNAを含む神経幹細胞エキソソームが挙げられる。

【００５４】

微粒子マーカー

本発明は、単離された神経幹細胞微粒子の集団を提供し、該集団は本質的に本発明の微粒子のみを含み、即ち微粒子集団は純粋である。多くの態様では、微粒子集団は、本発明の微粒子を少なくとも約80％（他の態様では少なくとも85％、90％、91％、92％、93％、94％、95％、96％、97％、98％、99％、99.5％、99.9％又は100％）含む。

【００５５】

本発明の単離された神経幹細胞微粒子は特定のマーカーに特有の発現プロファイルを有することを特徴とし、他の細胞型由来の微粒子と区別される。マーカーを本明細書で説明する場合、マーカーの存在又は不存在を使用して微粒子を区別することができる。例えば、用語「含むことができる」又は「発現することができる」はまた、マーカーが存在しない正反対の実施形態も開示し、即ち、語句「微粒子は1種以上のテトラスパニン、典型的にはCD63、CD81、CD9、CD53、CD82及び／又はCD37を含むことができる」はまた、微粒子が1種以上のテトラスパニン、典型的にはCD63、CD81、CD9、CD53、CD82及び／又はCD37を含み得ない正反対の実施形態も説明する。

【００５６】

集団の微粒子の少なくとも約70％が検出可能なレベルのマーカーを示す場合、例えば膜

粒子、膜小胞、微小胞、エキソソーム様小胞、エキソソーム、エクトソーム様小胞、エクトソーム又はエキソベシクルの70％が検出可能なレベルのマーカーを示す場合、本発明の幹細胞（例えば神経幹細胞）微粒子はマーカーを保有すると典型的にはみなされる。他の態様では、集団の少なくとも約80％、少なくとも約90％又は少なくとも約95％又は少なくとも約97％又は少なくとも約98％以上が検出可能なレベルのマーカーを示す。特定の態様では、集団の少なくとも約99％又は100％が検出可能なレベルのマーカーを示す。マーカーの定量化は、定量的RT-PCR（qRT-PCR）の使用により又は蛍光活性化細胞選別（FACS）により検出することができる。この列挙は例としてのみ記載され、限定することを意図しないことを理解すべきである。典型的には、FACSで検出する場合に集団の微粒子の少なくとも90％が検出可能なレベルのマーカーを示す場合、本発明の神経幹細胞微粒子はマーカーを保有するとみなされる。

【００５７】

qRT-PCRで測定した細胞の発現レベルが35（qRT-PCRアレイ時の標準カットオフ）以下のクロッシングポイント（Cp）値を有する場合、本明細書で説明したマーカーは本発明の集団の細胞により発現されるとみなされる。Cpは増幅曲線が検出閾値を超える箇所を表し、クロッシング閾値（ct）としても報告され得る。

【００５８】

一実施形態では、本発明は、集団の細胞がマーカーであるネスチン、Sox2、GFAP、βIIIチューブリン、DCX、GALC、TUBB3、GDNF及びIDOの1種以上を発現することを特徴とする神経幹細胞集団により産生される微粒子に関する。別の実施形態では、微粒子はエキソソームであり、エキソソームの集団はDCX（ダブルコルチン-初期神経細胞マーカー）、GFAP（グリア線維性酸性タンパク質-星状膠細胞マーカー）、GALC、TUBB3、GDNF及びIDOの1種以上を発現する。

【００５９】

本発明の神経幹細胞微粒子は、1種以上のタンパク質マーカーを、同じ種の間葉系幹細胞微粒子中での該マーカーの発現レベルよりも低い又は高いレベルで発現することができる。CTX0E03細胞微粒子により発現されるタンパク質マーカーが本明細書において及び以下で同定されている。いくつかの実施形態では、微粒子は、αチューブリン又は他のそのような対照タンパク質（単数又は複数）に比例するレベルでタンパク質マーカーを発現することができる。いくつかの実施形態では、本発明の微粒子は、このタンパク質を対照タンパク質に対して少なくとも+/-1.2倍変化するレベルで、典型的には対照タンパク質に対して少なくとも+/-1.5倍変化するレベルで、対照タンパク質に対して少なくとも+/-2倍変化するレベルで又は対照タンパク質に対して少なくとも+/-3倍変化するレベルで発現することができる。いくつかの実施形態では、微粒子はタンパク質マーカーをαチューブリン又は他の対照タンパク質に対して細胞当たり10^{-2}～10^{-6}回のコピーのレベルで発現することができる。いくつかの実施形態では、本発明の微粒子は、このタンパク質をαチューブリン又は他の対照タンパク質に対して細胞当たり10^{-2}～10^{-3}回のコピーのレベルで発現することができる。

【００６０】

本発明の神経幹細胞微粒子は、1種以上のmiRNA（miRNA前駆体等）を、同じ種の間葉系幹細胞微粒子におけるmiRNA（miRNA前駆体等）の発現レベルよりも低い又は高いレベルで発現することができる。CTX0E03細胞微粒子により発現されるmiRNAマーカーが以下で同定されている。いくつかの実施形態では、本発明の微粒子は、マーカーmiRNAを、内部対照遺伝子とも称されるU6B若しくは15a又は任意の他のmiRNA参照遺伝子と比較して少なくとも+/-1.5倍変化するレベルで、典型的には少なくとも+/-2倍変化するレベルで又は少なくとも+/-3倍変化するレベルで（公知であるΔΔct法に従って算出される）発現することができる。

【００６１】

本発明の神経幹細胞微粒子は、同じ種の間葉系幹細胞微粒子におけるmRNAの発現レベルよりも低い又は高いレベルで1種以上のmRNAを発現することができる。いくつかの実施形

態では、本発明の微粒子は、内部対照遺伝子とも称されるATP5B若しくはYWHAZ又は任意の他の参照遺伝子に対して少なくとも+/-1.5倍変化するレベルで、典型的には少なくとも+/-2倍変化するレベルで又は少なくとも+/-3倍変化するレベルで（ΔΔct法に従って算出される）マーカーmRNAを発現することができる。

【００６２】

本発明のエキソソームは典型的には、インテグリン、テトラスパニン、MHCクラスI抗原及び／又はMHCクラスII抗原、CD抗原並びにそれらの表面上の細胞接着分子を特異的に発現し、これにより、特定の細胞型によるこれらの取り込みを促進することができる。エキソソームは、様々な細胞骨格タンパク質、GTPアーゼ、クラスリン、シャペロン及び代謝酵素を含有する（ミトコンドリアタンパク質、リソソームタンパク質及びERタンパク質は除外されており、そのため全体のプロファイルは細胞質と似ていない）。エキソソームはまた、mRNAスプライシング因子及びmRNA翻訳因子も含有する。最後に、エキソソームは一般的に、HSP70、HSP90及びアネキシン等のシグナル伝達の役割を果たすことが知られているが古典的機構（ER-ゴルジ）では分泌されないいくつかのタンパク質を含有する。

【００６３】

エキソソームの脂質二重層は典型的には、コレステロール、スフィンゴミエリン及びセラミドが多量に存在している。エキソソームはまた、1種以上のテトラスパニンマーカータンパク質も発現する。テトラスパニンとして、CD81、CD63、CD9、CD53、CD82及びCD37が挙げられる。エキソソームはまた、増殖因子、サイトカイン及びRNAも含有し、具体的にはmiRNAも含有する。エキソソームは典型的には、マーカーTSG101、Alix、CD109、thy-1及びCD133の1種以上を発現する。Alix（Uniprotアクセッション番号Q8WUM4）、TSG101（Uniprotアクセッション番号Q99816）並びにテトラスパニンタンパク質CD81（Uniprotアクセッション番号P60033）及びCD9（Uniprotアクセッション番号P21926）は特徴的なエキソソームマーカーである。

【００６４】

Alixはエンドソーム経路マーカーである。エキソソームはエンドソーム由来であり、従って、このマーカーについて陽性の微粒子はエキソソームと特性決定される。本発明のエキソソームは典型的には、Alixについて陽性である。本発明の微小胞は典型的には、Alixについて陰性である。

【００６５】

微粒子プロテオーム

表18及び表20は、Integra Cellineの多区画のバイオリアクタ中で2週にわたって培養したCTX0E03細胞から単離したエキソソーム及び微小胞それぞれにおいて質量分析で検出される全てのタンパク質を列挙する。一実施形態では、本発明のエキソソームは、表18に列挙したタンパク質の少なくとも70％を、少なくとも80％を、少なくとも90％を、少なくとも95％を、少なくとも99％を又は少なくとも99.5％を含む。同様に、本発明の微小胞は典型的には、表20に列挙したタンパク質の少なくとも70％を、少なくとも80％を、少なくとも90％を、少なくとも95％を、少なくとも99％を又は少なくとも99.5％を含む。更なる実施形態では、本発明の微小胞又はエキソソームのプロテオームは、表18（エキソソーム）又は表20（微小胞）に記載されたプロテオームと少なくとも70％、少なくとも80％、少なくとも90％、少なくとも95％、少なくとも99％又は少なくとも99.5％同一である。微小胞又はエキソソームのタンパク質含有量を決定する場合、典型的には質量分析を使用し、例えば実施例13で説明するLC/MS/MS法を使用する。

【００６６】

表19及び表21は、Integra Cellineの多区画のバイオリアクタ中で2週にわたって培養したCTX0E03細胞から単離したエキソソーム及び微小胞それぞれにおいて質量分析で検出した100種の最も多量に存在するタンパク質を示す。典型的には、本発明のエキソソームは、表19に列挙した最初の10種のタンパク質を含み、より典型的には表19に列挙した最初の20種の、最初の30種の、最初の40種の又は最初の50種のタンパク質を含む。同様に、本発明の微粒子は典型的には、表21に列挙した最初の10種のタンパク質を含み、より典型的に

は表21に列挙した最初の20種の、最初の30種の、最初の40種の又は最初の50種のタンパク質を含む。一実施形態では、本発明のエキソソームは、表19に列挙した全100種のタンパク質を含む。一実施形態では、本発明の微小胞は、表21に列挙した全100種のタンパク質を含む。典型的には、本発明のエキソソーム又は微小胞における100種の最も多量に存在するタンパク質は、表19（エキソソーム）又は表21（微粒子）で同定されているタンパク質の少なくとも70種を含有する。より典型的には、本発明のエキソソーム又は微小胞における100種の最も多量に存在するタンパク質は、表19（エキソソーム）又は表21（微粒子）で同定されているタンパク質の少なくとも80種を、少なくとも95種を、96種を、97種を、98種を又は99種を又は全100種を含有する。

【００６７】

微粒子のmiRNA含有量

実施例12（及び関連する図11）は、CTX0E03細胞、この細胞により産生される微小胞及びエキソソーム中に存在するmiRNAの大規模シーケンシングの結果を示す。この実施例は予想外にも、微粒子中に存在する異なるmiRNA種の数は細胞中に存在する異なるmiRNA種の数と比較して大幅に減少しており、微粒子は120未満の異なるmiRNAを含有するが細胞は450～700のmiRNA種を含有することを示す。微粒子はhsa-miR-1246の大部分を含有する。

【００６８】

実施例12のデータはまた、微粒子が4種の主要なmiRNA種、即ちhsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532で特性決定されることも示す。これらの4種のmiRNAは、微粒子中における1000回以上のリード数で存在するmiRNAのみであり、これらの4種のmiRNAは、微粒子中における他のmiRNAと比較して大きく過剰に存在する。このことは細胞中におけるプロファイルと大きく異なっており、細胞は、高い（1000を超えるリード数）レベル又は非常に高い（10,000回を超えるリード数）レベルで存在する、はるかに多い数のmiRNAを含有する。理論には拘束されないが、本発明者らは、hsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532は微粒子中に選択的に運ばれ（又は組み入れられ）、微粒子の機能に関与すると考えられることを提案する。

【００６９】

典型的には、一実施形態では、本発明の微粒子、例えばエキソソームは、hsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532の1種、2種、3種又は4種全てを含有する。これらのmiRNAマーカーそれぞれは典型的には、微粒子当たり少なくとも1000のリード数（任意選択で、実施例12で説明した大規模シーケンス技法を使用して決定される）で存在する。hsa-miR-1246は、微粒子当たり少なくとも2000の、5000の、10,000の、20,000の又は25,000のリード数を任意選択で有することができる。hsa-miR-4492は、微粒子当たり少なくとも2000の、3000の、4000の又は5000のリード数を任意選択で有することができる。hsa-miR-4532は、微粒子当たり少なくとも2000の又は3000のリード数を任意選択で有することができる。

【００７０】

一実施形態では、hsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及び／又はhsa-miR-4532それぞれは、微粒子を産生した細胞中に存在する場合よりも高いリード数で微粒子中に、例えばエキソソーム中に存在する。具体的には、miR-1246の微粒子中におけるリード数は典型的には、細胞中におけるリード数の少なくとも2倍であり、より典型的には細胞中におけるリード数の4倍、5倍、6倍、7倍又は8倍であり、任意選択で細胞中におけるリード数の10倍、15倍又は20倍である。

【００７１】

一実施形態では、本発明の微粒子は、hsa-let-7a-5p、has-miR-92b-3p、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-100-5p及び／又はhsa-99b-5pを、微粒子を産生した細胞中に存在する場合よりも低いリード数で含有する。典型的には、これらのmiRNAそれぞれの本発明の微粒子中におけるリード数は1000未満であり、より典型的には100未満であり、例えば50未満である。任意選択で、本発明の微粒子は、hsa-let-7a-5pを50未満の又は25未満のリード数で含有する。

【００７２】
一実施形態では、本発明の微粒子は、大規模シーケンシングにより分析した場合に150種未満のmiRNA（即ち様々なmiRNA種）を含有し、典型的には120種未満のmiRNAを含有する。
【００７３】
一実施形態では、hsa-miR-1246は本発明の微粒子中において最も多量に存在するmiRNAである（任意選択で、実施例12で説明した大規模シーケンス技法を使用して決定した）。典型的には、本発明の微粒子（例えば微小胞及びエキソソーム）中におけるmiRNAの総数の少なくとも40％はhsa-miR-1246である。典型的には、本発明のエキソソーム中におけるmiRNAの総数の少なくとも50％はhsa-miR-1246である。
【００７４】
hsa-miR-4492は典型的には、本発明の微粒子中において2番目に多量に存在するmiRNAである。典型的には、本発明の微粒子（例えば微小胞及びエキソソーム）中におけるmiRNAの総数の少なくとも3％はhsa-miR-4492である。より典型的には、本発明の微粒子（例えば微小胞及びエキソソーム）中におけるmiRNAの総数の少なくとも4％はhsa-miR-4492である。
【００７５】
典型的には、本発明の微粒子（例えば微小胞及びエキソソーム）中におけるmiRNAの総数の少なくとも2％はhsa-miR-4532である。
【００７６】
典型的には、本発明の微粒子（例えば微小胞及びエキソソーム）中におけるmiRNAの総数の少なくとも1％はhsa-miR-4488である。
【００７７】
一実施形態では、本発明の微粒子は、hsa-miR-4508、hsa-miR-4516の一方又は両方を、該粒子におけるmiRNAの全含有量の少なくとも0.1％のレベルで含有する。
【００７８】
hsa-miR-3676-5p、hsa-miR-4485、hsa-miR-4497、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-3195、hsa-miR-3648、hsa-miR-663b、hsa-miR-3656、hsa-miR-3687、hsa-miR-4466、hsa-miR-4792、hsa-miR-99b-5p及びhsa-miR-1973の1種以上が本発明の微粒子中に存在することができる。
【００７９】
典型的には、hsa-let-7a-5p及びhsa-100-5pそれぞれは、本発明の微粒子におけるmiRNAの総数の1％未満で存在し、より典型的には0.1％未満で又は0.05％未満で存在する。
【００８０】
本発明の典型的なエキソソームでは、miRNAの総数の少なくとも50％がhsa-miR-1246であり、miRNAの総数の0.1％未満がhsa-let-7a-5pである。
【００８１】
一実施形態では、本発明の微粒子におけるmiRNAの総数の少なくとも90％はhsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532を含む。典型的には、本発明の微粒子におけるmiRNAの総数の少なくとも95％又は96％はhsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532を含む。これらの微粒子のmiRNAの全含有量の10％未満は、hsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532ではないmiRNAである。
【００８２】
上記で論じたmiRNAの実施形態の組み合わせが提供される。例えば、本発明の微粒子は典型的には、hsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532それぞれを少なくとも1000のリード数で含有し、hsa-let-7a-5p、hsa-miR-92b-3p、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-100-5p及びhsa-99b-5pそれぞれを100未満のリード数で含有する。典型的には、これらの微粒子における総miRNAの少なくとも90％又は少なくとも95％は、hsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532である。
【００８３】

本発明の微粒子（例えば微小胞又はエキソソーム）は典型的には、最も多量に存在するmiRNAとしてhsa-miR-1246を有し、hsa-miR-4492は2番目に多量に存在するmiRNAである。本実施形態では、本発明の微粒子（例えば微小胞及びエキソソーム）におけるmiRNAの総数の少なくとも40％はhsa-miR-1246であり、該微粒子におけるmiRNAの総数の少なくとも3％はhsa-miR-4492である。この微粒子におけるmiRNAの総数の少なくとも2％はhsa-miR-4532であり、該微粒子におけるmiRNAの総数の少なくとも1％はhsa-miR-4488である。hsa-let-7a-5p及びhsa-100-5pそれぞれは、この微粒子におけるmiRNAの総数の0.1％未満で存在する。

【００８４】

エキソソーム及び微小胞中における大規模シーケンシングの結果を細胞に対する相対的な変化倍率としてプロットすることにより、hsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532は細胞と比較してエキソソーム中及び微小胞中において有意に上方制御されることが確認される。この比較はまた、エキソソーム及び微小胞の両方においてmiRNAであるhsa-miR-3195が最も上方制御されたmiRNAであることを示す。hsa-miR-3195の絶対リードはエキソソーム及び微小胞に関して約40の範囲であるが、細胞中においてhsa-miR-3195は検出されない。従って、hsa-miR-3195は本発明のエキソソーム及び微小胞中に特異的に見られ、一実施形態では、本発明のエキソソーム又は微小胞はhsa-miR-3195を含む。

【００８５】

一実施形態では、本発明の微粒子は、以下のmiRNA前駆体の1種以上を含む：

AC079949.1（配列番号738）
GGCCGCGCCCCGTTTCCCAGGACAAAGGGCACTCCGCACCGGACCCTGGTCCCAGCG；
AP000318.1（配列番号739）
CCCACTCCCTGGCGCCGCTTGTGGAGGGCCCAAGTCCTTCTGATTGAGGCCCAACCCGTGGAAG；
AL161626.1（配列番号740）
CGCCGGGACCGGGGTCCGGGGCGGAGTGCCCTTCCTCCTGGGAAACGGGGTGCGGC；
AC004943.1（配列番号741）
GCTTCACGTCCCCACCGGCGGCGGCGGCGGTGGCAGTGGCGGCGGCGGCGGCGGTGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCTC；及び
AL121897.1（配列番号742）
GCCGCCCCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCCGCTTTCGGCTCGGGCCTCAGGTGAGTCGGAGGGGCCGGGCGCC

【００８６】

一実施形態では、本発明の微粒子は、（実施例12のパートDに詳述した）上記に列挙した前駆体から得られる以下の成熟miRNAの1種、2種又は3種を含む：

ggcggagugcccuucuuccugg（AL161626.1-201に由来する）（配列番号743）
ggagggcccaaguccuucugau（AP000318.1-201に由来する）（配列番号744）
gaccaggguccggugcggagug（AC079949.1-201に由来する）（配列番号745）。

【００８７】

これらの5種のmiRNA前駆体及び3種の成熟miRNAはこれまで単離されておらず、従って、各配列はそれ自体が新規の配列としても提供される。よって、一態様では、本発明は、miRNA前駆体であるAC079949.1、AP000318.1、AL161626.1、AC004943.1及びAL121897.1の1種以上を含む組成物を提供する。別の実施形態では、本発明は、成熟miRNAであるggcggagugcccuucuuccugg（AL161626.1-201に由来する）、ggagggcccaaguccuucugau（AP000318.1-201に由来する）及びgaccaggguccggugcggagug（AC079949.1-201に由来する）の1種以上を含む組成物を提供する。任意選択で、組成物は、1種以上のmiRNA前駆体及び／又は1種以上の成熟miRNAと、薬学的に許容される担体又は希釈剤とを含む医薬組成物である。実施例12で述べるように、これらのmiRNA及び前駆体はエキソソーム及び微小胞中に選択的にシャトルされると思われ、そのため、微粒子の機能に少なくとも部分的に関与することができる。

【００８８】

実施例12はまた、神経幹細胞微粒子が様々な非コードRNA種を含むことも示す。一実施形態では、本発明の微粒子は、リボソームRNA、核小体低分子RNA、核内低分子RNA、マイクロRNA、長鎖遺伝子間非コードRNA及び多種多様な他のRNA（例えばRMRP、ヴォールトRNA、後生動物SRP及び／又はRNY）の1種以上を含む。

【００８９】

実施例4は、CTX0E03細胞により産生される微粒子中に存在し、qRT-PCRアレイにより決定した場合に35未満のCpを有するmiRNAを示す。典型的には、一実施形態では、本発明の微粒子は、以下のmiRNA（Ambros他に従った及びwww.mirbase.orgで利用可能な名称により特定される）の1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、15種、20種、25種、30種、35種、40種、45種、50種、60種若しくはそれ以上又は全てを含有する。

【００９０】

hsa-let-7a
hsa-let-7b
hsa-let-7c
hsa-let-7d
hsa-let-7e
hsa-let-7f
hsa-let-7g
hsa-let-7i
hsa-miR-100
hsa-miR-101
hsa-miR-103a
hsa-miR-106b
hsa-miR-10a
hsa-miR-10b
hsa-miR-124
hsa-miR-125a-5p
hsa-miR-125b
hsa-miR-126
hsa-miR-127-5p
hsa-miR-128
hsa-miR-129-5p
hsa-miR-130a
hsa-miR-132
hsa-miR-134
hsa-miR-137
hsa-miR-141
hsa-miR-146b-5p
hsa-miR-150
hsa-miR-155
hsa-miR-15a
hsa-miR-15b
hsa-miR-16
hsa-miR-17
hsa-miR-181a
hsa-miR-182
hsa-miR-183

hsa-miR-185
hsa-miR-18a
hsa-miR-18b
hsa-miR-192
hsa-miR-194
hsa-miR-195
hsa-miR-196a
hsa-miR-205
hsa-miR-20a
hsa-miR-20b
hsa-miR-21
hsa-miR-210
hsa-miR-214
hsa-miR-218
hsa-miR-219-5p
hsa-miR-22
hsa-miR-222
hsa-miR-23b
hsa-miR-24
hsa-miR-26a
hsa-miR-301a
hsa-miR-302a
hsa-miR-302c
hsa-miR-33a
hsa-miR-345
hsa-miR-375
hsa-miR-378
hsa-miR-424
hsa-miR-7
hsa-miR-9
hsa-miR-92a
hsa-miR-93
hsa-miR-96
hsa-miR-99a

【００９１】
一実施形態では、CTX0E03微粒子は、以下のmiRNA（該miRNAは上記リストから選択されている）の1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種、15種、20種、25種、30種又はそれ以上を含有する。
【００９２】

hsa-let-7g
hsa-miR-101
hsa-miR-10a
hsa-miR-10b
hsa-miR-126
hsa-miR-128
hsa-miR-129-5p
hsa-miR-130a
hsa-miR-134
hsa-miR-137
hsa-miR-155
hsa-miR-15a
hsa-miR-15b
hsa-miR-16
hsa-miR-17
hsa-miR-182
hsa-miR-183
hsa-miR-185
hsa-miR-18b
hsa-miR-192
hsa-miR-194
hsa-miR-195
hsa-miR-20a
hsa-miR-20b
hsa-miR-210
hsa-miR-218
hsa-miR-301a
hsa-miR-302a
hsa-miR-302c
hsa-miR-345
hsa-miR-375
hsa-miR-378
hsa-miR-7
hsa-miR-9
hsa-miR-93
hsa-miR-96
hsa-miR-99a

【００９３】

ドットブロットで検出されるタンパク質

実施例5は、CTX0E03細胞により産生される微粒子中に存在し、ドットブロットで検出されるタンパク質を示す。典型的には、本発明の微粒子は、以下のタンパク質の1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種又は全てを含有する。

【００９４】

EDA-A2
ガレクチン-3
IGFBP-2
IGFBP-rp1/IGFBP-7
IL-1a
LECT2
MCP-1
SPARC
TIMP-1
トロンボスポンジン-1
VEGF

【００９５】
実施例13では、エキソソーム及び微小胞中におけるガレクチン-3及びトロンボスポンジン-1の存在も確認される。実施例13では、エキソソーム中におけるTIMP-1の存在が確認される。

【００９６】
実施例5はまた、CTX0E03細胞により産生される微粒子が以下のタンパク質の1種、2種、3種、4種又は5種を発現することもできることも示す。

【００９７】

EGF-R/ErbB1
MDC
エンドスタチン
ホリスタチン
Csk

【００９８】
実施例13では、エキソソーム及び微小胞中におけるEGF-R及びCskの存在も確認される。

【００９９】
ガレクチン-3、SPARC、TIMP-1、トロンボスポンジン-1、VEGF、MDC及びエンドスタチンは血管新生を調節することが知られている。よって、これらのタンパク質の1種以上を含有する微粒子は、血管新生を調節する必要がある疾患又は障害の処置に有用である。

【０１００】
IL-1a、LECT2、MCP-1及びCskは炎症を調節することが知られている。よって、これらのタンパク質の1種以上を含有する微粒子は、炎症を調節する必要がある疾患又は障害の処置に有用である。

【０１０１】
（ｉ）ガレクチン-3、SPARC、TIMP-1、トロンボスポンジン-1、VEGF、MDC及びエンドスタチンの1種以上と、（ｉｉ）IL-1a、LECT2、MCP-1及びCskの1種以上とを含有する微粒子は、血管新生及び炎症を調節する必要がある疾患又は障害の処置に有用であることができる。

【０１０２】

多区画のバイオリアクタでの培養における神経幹細胞

以下の実施例10及び図9に示すように、3週にわたる多区画のバイオリアクタでの培養後に、神経幹細胞は、標準的な単一区画のT175フラスコ中において標準的な手順に従って培養された神経幹細胞よりも有意に高いレベルで多くのマーカーを発現する。一実施形態では、本発明の微粒子は、典型的には多区画のバイオリアクタ中で、少なくとも2週にわたって、典型的には少なくとも3週にわたって、少なくとも4週にわたって、少なくとも5週にわたって又は少なくとも6週にわたって培養されたNSCから単離される。任意選択で、NSCは10週以下にわたって、例えば2～10週にわたって、3～10週にわたって、4～10週にわたって、5～10週にわたって又は6～10週にわたって培養されている。微粒子はまた、これらの期間にわたってバイオリアクタ中で培養された、本明細書中に記載する他の細胞型、例えば間葉系幹細胞及び造血幹細胞から単離することもできる。

【０１０３】

多区画のバイオリアクタ中で3週にわたって培養されたCTX0E03神経幹細胞は、標準的な単一区画のT175細胞培養中で培養された神経幹細胞よりも高いレベルでDCX、GALC、GFAP、TUBB3、GDNF及びIDOを発現する。よって、多区画のバイオリアクタ中で培養されている神経幹細胞は、DCX、GALC、GFAP、TUBB3、GDNF及びIDOの1種以上を発現することができ、該神経幹細胞は、典型的には1週以上にわたって、10日以上にわたって、2週以上にわたって又は少なくとも3週にわたって、4週にわたって、5週又はそれ以上にわたって培養されている。2区画のバイオリアクタ中で培養された細胞は典型的には、DCX、GALC、GFAP、TUBB3、GDNF及びIDOの1種以上の、標準的な条件下で培養された幹細胞と比較して増加した発現を示す。多区画のバイオリアクタで培養された細胞におけるこれらのマーカーの発現レベルは典型的には、標準的な単一区画のT175培養フラスコ中で培養された細胞においてよりも有意に高い。典型的には、多区画のバイオリアクタ中で培養された幹細胞は、標準的な培養手順に従ってT-175フラスコ中で培養されたCTX0E03細胞においてよりも少なくとも2倍高いレベルでDCX1、GALC、GFAP、TUBB3、GDNF又はIDOの1種以上を発現する。一実施形態では、微粒子、典型的にはエキソソームは、標準的な条件下で培養した幹細胞と比較してDCX、GALC、GFAP、TUBB3、GDNF及びIDOの1種以上の増加した発現を示す神経幹細胞から得られる。例えば、Integra CeLLineバイオリアクタで培養した神経幹細胞から回収した、ろ過したばかりの（freshly filtered）条件培地から微粒子を得ることができる。

【０１０４】

上方制御されたマーカーとして、DCX（ダブルコルチン-初期神経細胞マーカー）、GFAP（グリア線維性酸性タンパク質-星状膠細胞マーカー）、GALC、TUBB3、GDNF及びIDOが挙げられる。CTX0E03細胞は3種の異なる細胞型、即ち神経、星状膠細胞及び乏突起膠細胞に分化することができる。多区画のバイオリアクタ中での3週間後の高レベルのDCX及びGFAPは、培養した幹細胞が部分的に分化して神経細胞（DCX+細胞）系統及び／又は星状膠細胞（GFAP+細胞）系統に進入することを示す。よって、一実施形態では、本発明は、（ｉ）神経細胞系統に関連する1種以上のマーカー、典型的にはDCX、及び／又は（ｉｉ）星状膠細胞系統に関連する1種以上のマーカー、典型的にはGFAP、を発現する神経幹細胞集団により産生される微粒子を提供する。別の実施形態では、本発明は、（ｉ）神経細胞系統に関連する1種以上のマーカー、典型的にはDCX、及び／又は（ｉｉ）星状膠細胞系統に関連する1種以上のマーカー、典型的にはGFAP、を発現する神経幹細胞微粒子、典型的にはエキソソームを提供する。これらの細胞又はこれらの細胞に由来する微粒子（典型的にはエキソソーム）は、DCX及び／又はGFAPを、標準的な（T-175）培養における対応する幹細胞よりも高いレベルで発現する。典型的には、これらの細胞又は微粒子は、DCX及び／又はGFAPを、幹細胞の少なくとも2倍のレベルで、より典型的には標準的な培養における対応する幹細胞の少なくとも2.5倍で、標準的な培養における対応する幹細胞の少なくとも5倍で、標準的な培養における対応する幹細胞の少なくとも7.5倍で又は標準的な培養における対応する幹細胞の少なくとも10倍で発現する。DCXの発現に関して、標準的な（T-175）培養における対応する幹細胞に対する細胞又は微粒子における変化倍率は、任意選択で標準的な幹細胞の少なくとも20倍であることができ、少なくとも50倍であることができ、少なくと

も100倍であることができ、少なくとも500倍であることができ、又は少なくとも1000倍であることができる。

【０１０５】

用語「バイオリアクタ」は当分野における通常の意味が与えられており、即ちバイオプロセスを行うために使用される装置である。本明細書で説明されるバイオリアクタは、細胞培養、例えば幹細胞培養での使用に適している。細胞培養用の単純なバイオリアクタは単一区画のフラスコであり、例えば一般的に使用されるT-175フラスコ（例えばBD Falcon(商標)175cm^{2}細胞培養フラスコ、750ml、組織培養処理ポリスチレン、ストレートネック、ブループラグシールスクリューキャップ、BD製品コード353028）である。当分野で公知であるように、バイオリアクタは多区画を有することができる。この多区画のバイオリアクタは典型的には、細胞を含有する区画をガス及び／又は培養培地を含有する1つ以上の区画から分離する1つ以上の膜又は障壁で分離されている少なくとも2つの区画を含有する。多区画のバイオリアクタは当分野で公知である。多区画のバイオリアクタの例としてIntegra CeLLineバイオリアクタが挙げられ、該Integra CeLLineバイオリアクタは、培地区画と10kDaの半透膜によって分離されている細胞区画とを含有し、この膜により、任意の抑制性の廃棄物を同時に除去しつつ栄養素の細胞区画中への連続拡散が可能になる。個々の区画へのアクセスのしやすさにより、培養を機械的に干渉することなく細胞に新鮮な培地を提供することが可能になる。シリコーン膜は細胞区画のベースを形成し、細胞区画への短い拡散経路を設けることによって最適な酸素供給及び二酸化炭素レベルのコントロールをもたらす。任意の多区画のバイオリアクタを本発明に従って使用することができる。

【０１０６】

実施例11、表3及び図10は、3週にわたって多区画のバイオリアクタ中で培養されている神経幹細胞により産生されたエキソソームのmiRNA含有量は、3週にわたって標準的なT-175フラスコ中で培養された幹細胞のmiRNA含有量と単一区画のT175培養フラスコ中で培養された神経幹細胞により産生された微粒子のmiRNA含有量と異なることを示す。一実施形態では、本発明は、少なくとも2種の、3種の、4種の、5種の、6種の又は7種のmiRNAが、制御倍率（Fold Regulation）により算出した場合に標準的なT-175フラスコ中で培養された対応する幹細胞中における場合と比較して上方制御される又は下方制御される微粒子、典型的にはエキソソームを提供する（実施例11参照）。各miRNAの制御倍率は任意選択で少なくとも2倍上方又は下方である。

【０１０７】

図6C及び実施例8には、数週間にわたってNSCが培養される場合にNSCから単離されたエキソソームが予想外にも特に効果的であることが示されている。よって、一実施形態では、本発明のエキソソームは、典型的には多区画のバイオリアクタ中で、少なくとも2週にわたって、典型的には少なくとも3週にわたって、少なくとも4週にわたって、少なくとも5週にわたって又は少なくとも6週にわたって培養されたNSCから単離される。任意選択で、NSCは10週以下にわたって培養され、例えば2～10週にわたって、3～10週にわたって、4～10週にわたって、5～10週にわたって又は6～10週にわたって培養されている。

【０１０８】

一実施形態では、本発明の神経幹細胞エキソソームは、以下のmiRNAの1種、2種、3種、4種、5種、6種又は7種を、制御倍率により算出した場合に、標準的なT-175フラスコ中で培養された対応する幹細胞中で発現した場合よりも高いレベルで発現する（星印は、少なくとも2倍の制御増加が好ましいmiRNAを示す）。

【０１０９】

hsa-miR-146b-5p*
hsa-let-7c*
hsa-miR-99a*
hsa-miR-132*
hsa-miR-378*
hsa-miR-181a*
hsa-let-7b*

【０１１０】

一実施形態では、本発明の神経幹細胞エキソソームは、以下のmiRNAの1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種又はそれ以上を、制御倍率により算出した場合に、標準的なT-175フラスコ中で培養された対応する幹細胞中で発現した場合よりも低いレベルで発現する（星印は、少なくとも2倍の制御低下が好ましいmiRNAを示す）。

【０１１１】

hsa-miR-7*
hsa-miR-106b*
hsa-miR-101*
hsa-miR-302a*
hsa-miR-301a*
hsa-miR-183*
hsa-miR-219-5p*
hsa-miR-18a*
hsa-miR-15a*
hsa-miR-182*
hsa-miR-33a*
hsa-miR-96*
hsa-miR-18b*

【０１１２】

更なる実施形態では、本発明のNSCエキソソームは、（i）標準的な培養における対応する細胞と比較してエキソソームで増加すると上記で示されているmiRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種又は7種を増加したレベルで、及び（ii）標準的な培養における対応する細胞と比較してエキソソームで低下すると上記で示されているmiRNAの少なくとも1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種又はそれ以上を低下したレベルで含む。例えば、神経幹細胞エキソソームは、標準的な培養における対応する細胞と比較してエキソソームで増加すると上記に示されているmiRNAの3種以上を制御倍率の増加で、及び標準的な培養における対応する細胞と比較してエキソソームで低下すると上記に示されているmiRNAの3種以上を制御倍率の低下で含有することができる。別の例示的な実施形態では、神経幹細胞エキソソームは、標準的な培養における対応する細胞と比較してエキソソームで増加すると上記に示されているmiRNAの5種以上を制御倍率の増加で、及び標準的な培養における対応する細胞と比較してエキソソームで低下すると上記に示されているmiRNAの5種以上を制御倍率の低下で含有することができる。

【０１１３】

用語「発現される」は、細胞又は微粒子内のマーカーの存在を説明するために使用される。発現されるとみなされるためには、マーカーは検出可能なレベルで存在する必要がある。「検出可能なレベル」とは、qRT-PCR若しくはqPCR、ブロッティング、質量分析又はFACS分析等の標準的な実験室方法の1種を使用して検出することができるマーカーを意味する。発現を35以下のクロッシングポイント（cp）値で適度に検出することができる場合、遺伝子は、本発明の集団の細胞又は微粒子により発現されているとみなされる。用語「発

現する」及び「発現」は同様の意味を有する。このcp値未満の発現レベルでは、マーカーは発現されていないとみなされる。本発明の幹細胞又は微粒子中におけるマーカーの発現レベルと例えば間葉系幹細胞等の別の細胞又は微粒子中における同じマーカーの発現レベルとの比較を、好ましくは同じ種から単離されている2つの細胞/微粒子型を比較することにより行うことができる。好ましくは、この種は哺乳動物であり、より好ましくはこの種はヒトである。そのような比較を、逆転写ポリメラーゼ連鎖反応（RT-PCR）実験を使用して都合よく行うことができる。

【０１１４】

本明細書で使用する場合、用語「有意な発現」又はその等価の用語「陽性」及び「+」は、マーカーに関して使用される場合に細胞又は微粒子の集団において細胞/微粒子の細胞の20％より多くが、好ましくは30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、95％、98％、99％より多く又は更に全てが前記マーカーを発現することを意味するとみなされる。

【０１１５】

本明細書で使用する場合、マーカーに関して使用する「陰性」又は「-」は、細胞又は微粒子の集団において細胞/微粒子の20％未満が、10％未満が、好ましくは9％、8％、7％、6％、5％、4％、3％、2％、1％未満が前記マーカーを発現する、又は前記マーカーを発現する細胞/微粒子がないことを意味するとみなされる。

【０１１６】

微粒子表面マーカーの発現を、例えば、特異的微粒子表面マーカーに関するシグナルがバックグラウンドのシグナルよりも大きいかどうかを決定するために従来の方法及び装置（例えば、市販の抗体及び当分野で公知の標準的なプロトコルと共に使用されるBeckman Coulter Epics XL FACSシステム）を使用する特異的細胞表面マーカーに関するフローサイトメトリー及び／又はFACSによって決定することができる。バックグラウンドのシグナルは、各表面マーカーの検出に使用される特異的抗体と同じアイソタイプの非特異的抗体により生成されるシグナル強度として定義される。陽性とみなされるマーカーに関して、観測される特異的シグナルは、典型的にはバックグラウンドのシグナル強度に対して20％を超えており、好ましくは30％、40％、50％、60％、70％、80％、90％、100％、500％、1000％、5000％、10000％又はそれ以上を超えている。目的の微粒子表面マーカーの発現を分析する代替の方法として、目的の細胞表面マーカーに対する抗体を使用する電子顕微鏡による視覚分析が挙げられる。

【０１１７】

「蛍光活性化細胞選別（FACS）」は、蛍光標識抗体の使用に基づく細胞の精製方法である。抗体は細胞表面上のマーカーを対象としており、従って目的の細胞に結合する。次いで、細胞の蛍光発光ピークに基づいて細胞が選別される。

【０１１８】

微粒子マーカー（表面タンパク質及び細胞内タンパク質等）を、粒子内マーカーのための微粒子透過化によるタンパク質発現をアッセイするために当業者に公知の様々な方法により分析することもでき、該公知の方法として、ゲル電気泳動及びその後の適切な抗体によるウエスタンブロッティング、免疫沈降及びその後の電気泳動分析並びに/又は上記で説明した電子顕微鏡が挙げられるがこれらに限定されない。例えば、1種以上のテトラスパニンの発現を、上記の方法の1種以上又は当業者に公知の任意の他の方法を使用してアッセイすることができる。マーカーの発現を評価するために、例えばqRT-PCRによりRNAレベルを分析することもできる。

【０１１９】

微粒子の機能

前述したように、幹細胞微粒子は幹細胞に由来する少なくとも1種の生物学的機能を保持する。保持され得る生物学的機能として、血管新生、組織再生、組織修復及び／又は神経新生を促進する能力、卒中を患っている患者の脳における認知の改善をもたらす能力あるいは末梢動脈性疾患における血流の回復を加速させる能力が挙げられる。

【０１２０】

例えば、CTX0E03細胞はPBMCアッセイにおいてT細胞の活性化を阻害することが知られており、一実施形態では、本発明の微粒子は、PBMCアッセイにおいてT細胞の活性化を阻害するこの能力を保持する。PBMCアッセイは当業者に公知であり、該アッセイを実施するためのキットが市販されている。

【０１２１】

実施例8、表2及び図6は、CTX0E03幹細胞エキソソームが創傷治癒の「掻創」モデルにおいて創傷を閉鎖する能力を保持することを証明する。結果は、CTX0E03条件培地で培養した正常ヒト皮膚線維芽細胞（NHDF）の遊走活性が、精製エキソソームの添加時に観測した遊走活性とほとんど同じであることを示す。よって、本発明の微粒子が保持することができる生物学的機能の1種は、正常ヒト皮膚線維芽細胞（NHDF）の遊走活性を刺激する能力である。NHDF遊走アッセイは当分野で公知である。NHDF遊走の刺激を、インビトロの掻創（創閉鎖）アッセイを使用して、例えば実施例8（A）のアッセイを使用して決定することができる。創閉鎖は、0時間で決定した最初の創傷部に関してNHDF細胞で覆われた面積として算出される。本アッセイにおけるNHDF遊走の刺激は典型的には創閉鎖の増加として定義され、典型的には24時間後の基礎の条件（微粒子なし）下での創閉鎖よりも少なくとも1.2倍大きい創閉鎖として、より典型的には少なくとも1.5倍大きい創閉鎖として定義される。48時間後では、創閉鎖は典型的には、基礎の条件（微粒子なし）下での創閉鎖よりも少なくとも1.2倍大きく又は1.5倍大きく、より典型的には少なくとも2倍大きい。NHDF遊走の刺激は、掻創アッセイにより決定した場合に、基礎の条件下で100％の創閉鎖が観測される少なくとも24時間前に100％の創閉鎖を生じさせるとも定義され得る。

【０１２２】

実施例8はまた、本発明の微小胞が初代HUVECの血管新生を刺激することができること及びPC-12細胞の神経突起伸長を刺激することができることを示す。よって、本発明の微粒子が保持することができる生物学的機能は、初代HUVECの血管新生を刺激する及び／又はPC-12細胞の神経突起伸長を刺激する能力である。血管新生アッセイ及び神経突起伸長アッセイは当分野で公知である。初代HUVECの血管新生の刺激を、ibidi μ-スライド及びWimtube検出を使用する24時間血管新生アッセイ並びに管長及び分岐点の分析を使用して、例えば実施例8（B）のアッセイを使用して決定することができる。本アッセイでの血管新生の刺激は典型的には、基礎の血管新生に対する増加と定義され、例えば基礎の血管新生の100％超として、典型的には基礎の血管新生の少なくとも110％として、少なくとも120％として又は少なくとも140％として（即ち、基礎レベルの血管新生の少なくとも1.1倍として、少なくとも1.2倍として又は少なくとも1.4倍として）定義される。神経突起伸長の刺激を、1μmのインサートを介してPC-12細胞の伸長を検出することにより、例えば実施例8（C）のアッセイにより決定することができる。本アッセイでの神経突起伸長の刺激は典型的には、分光光度計により定量化した場合に、基礎の条件（微粒子なし）に対する神経突起伸長の増加として定義され、又はNGFのみの添加に対して微粒子がNGFと併用されている場合の神経突起伸長の増加として定義される。

【０１２３】

実施例13でのプロテオーム分析は、神経幹細胞エキソソームが、遺伝物質の産生、パッケージング、機能及び分解に関連する生物学的機能を含むことを示す。よって、一実施形態では、本発明のエキソソームは、これらの機能を保持し、典型的にはRNAポリメラーゼ機能、RNA分解機能、リボソーム機能及びスプライソソーム機能の1種以上を保持する。

【０１２４】

免疫原性

本発明の（同種異系の）神経幹細胞微粒子は典型的には、インビトロ若しくはインビボで免疫応答を誘発しない、又は同種の幹細胞集団の患者への注入時に誘発されると予期されるであろう免疫応答よりも実質的に弱い免疫応答を誘発する。本発明の特定の態様では、神経幹細胞微粒子は、該微粒子の少なくとも約70％が免疫応答を誘発しない場合に免疫応答を誘発しないとみなされる。いくつかの実施形態では、微粒子の少なくとも約80％が、少なくとも約90％が又は少なくとも約95％が、99％が若しくはそれ以上が免疫応答を誘

発しない。好ましくは、本発明の微粒子は、抗体媒介免疫応答を誘発しない、又はヒト免疫応答を誘発しない。より好ましくは、本発明の微粒子は、インビトロで抗体媒介応答又はヒト免疫応答を誘発しない。更により好ましくは、本発明の微粒子は、混合リンパ球免疫応答を誘発しない。免疫応答を誘発する本発明の細胞の能力を様々な方法で試験することができることが当業者に理解されるだろう。

【０１２５】

肢虚血のげっ歯類モデルに移植されたCTX0E03細胞では、血管新生に関与する宿主遺伝子の、ビヒクル処置対照に対して迅速で一過性の上方制御が既に証明されており、該宿主遺伝子としてCCL11、CCL2、CXCL1、CXCL5、IGF1、IL1β、IL6、HGF、HIF1α、bFGF、VEGFA及びVEGFCが挙げられる。hNSC処置により、宿主の先天性免疫応答及び血管新生応答が一時的に上昇し、そして組織再生が加速される。

【０１２６】

ヒトPBMCアッセイを使用して、CTX0E03細胞株が免疫原性でないことは既に証明されている。よって、CTX0E03細胞により産生される微粒子も非免疫原性であると予想される。免疫原性の欠如により、宿主/患者の免疫系による微粒子の排除を避けることが可能になり、それにより有害な免疫性及び炎症性の応答なしに微粒子の治療効果をもたらすことが可能になる。

【０１２７】

幹細胞

微粒子を産生する幹細胞は幹細胞株であることができ、即ち安定して分裂する幹細胞の培養物であることができる。単一の規定の供給源を使用して幹細胞株を大量に生育させることができる。不死化は自発的事象から生じることができ、又は不死化因子をコードする外因性の遺伝情報を幹細胞中に導入することにより不死化を実現することができ、その結果、適切な培養条件下で幹細胞が無限に細胞増殖する。そのような外因性の遺伝因子として遺伝子「myc」を挙げることができ、該遺伝子「myc」は転写因子Mycをコードする。トランスフェクション又は形質導入等の様々な適切な手段により、外因性の遺伝情報を幹細胞中に導入することができる。形質導入のために、遺伝子操作されたウイルス媒体を使用することができ、該ウイルス媒体として、レンチウイルス等のレトロウイルスから得られるものが挙げられる。

【０１２８】

治療効果のある微粒子の産生に悪影響を及ぼすことなく不死化因子の発現が制御され得る、条件的不死化された幹細胞株を使用することにより、更なる利点が提供される。このことは、細胞に活性化剤が供給されない限り、不活性である不死化因子を導入することにより実現され得る。そのような不死化因子はc-mycER等の遺伝子であることができる。c-MycER遺伝子産物は、変異体エストロゲン受容体のリガンド結合ドメインに融合したc-Myc多様体を含む融合タンパク質である。c-MycERは、合成ステロイドである4-ヒドロキシタモキシフェン（4-OHT）の存在下でのみ細胞増殖を推進させる（Littlewood他、1995）。このアプローチにより、例えば神経幹細胞に由来する微粒子中におけるc-Myc又は該c-Mycをコードする遺伝子の存在に起因して、宿主細胞の増殖に対する望ましくないインビボ効果（例えば腫瘍形成）を避けつつインビトロでの神経幹細胞の拡張（増殖）のコントロールが可能になる。適切なc-mycER条件的不死化神経幹細胞が米国特許第7,416,888号で説明されている。従って、条件的不死化された神経幹細胞株の使用により、従来の幹細胞微粒子の単離及び産生が改善される。条件的不死化の他の方法が当技術分野で公知である。

【０１２９】

好ましい条件的不死化幹細胞株として、CTX0E03神経幹細胞株、STR0C05神経幹細胞株及びHPC0A07神経幹細胞株が挙げられ、これらの神経幹細胞株はヨーロピアンコレクションオブアニマルカルチャーズ（European Collection of Animal Cultures）（ECACC）、Vaccine Research and Production laboratories、Public Health Laboratory Services、Porton Down、Salisbury、Wiltshire、SP4 0JGに受託番号04091601（CTX0E03）、受託番号04110301（STR0C05）及び受託番号04092302 （HPC0A07）で寄託されている。これらの細胞

の誘導過程及び起源がEP1645626 B1で説明されている。これらの細胞の利点は、これらの細胞により産生される微粒子により保持される。

【０１３０】

CTX0E03細胞株の細胞を以下の培養条件下で培養することができる：

・ヒト血清アルブミン　0.03%
・トランスフェリン、ヒト　5μg/ml
・プトレシン二塩酸塩　16.2μg/ml
・ヒト組換えインスリン　5μ/ml
・プロゲステロン　60ng/ml
・L-グルタミン　2mM
・亜セレン酸ナトリウム（セレン）　40ng/ml。

【０１３１】

塩基性線維芽細胞増殖因子（10ng/ml）、表皮細胞増殖因子（20ng/ml）、及び4-ヒドロキシタモキシフェン100nMを加えて細胞を拡張する。4-ヒドロキシタモキシフェンを除去することにより細胞を分化させることができる。典型的には5%CO_2/37℃で、又は5%、4%、3%、2%若しくは1%のO_2の低酸素条件下で細胞を培養することができる。これらの細胞株の良好な培養には血清は必要ない。多くの細胞株の良好な培養には血清が必須であるが、血清は、それ自体のエキソソーム等の多くの夾雑物を含有する。CTX0E03神経幹細胞株、STR0C05神経幹細胞株若しくはHPC0A07神経幹細胞株又は血清を要しない任意の他の細胞株の更なる利点は、血清によるコンタミネーションが避けられることである。

【０１３２】

CTX0E03細胞株の細胞（及びこの細胞由来の微粒子）は元来、12週のヒト胎生副腎皮質に由来する多能性細胞である。CTX0E03細胞株の単離、作製及びプロトコルがSinden他により詳細に説明されている（米国特許第7,416,888号及びEP1645626 B1）。CTX0E03細胞は「胚性幹細胞」ではなく、即ち、CTX0E03細胞は胚胎胞の内細胞塊由来の多分化能性細胞ではなく、原細胞の単離により胚は破壊されなかった。

【０１３３】

CTX0E03細胞（及びこの細胞から得られる微粒子）は血管新生であり、そのため末梢動脈性疾患等の血管新生を必要とする疾患の処置に有用である。CTX0E03細胞（及びこの細胞に由来する微粒子）は神経新生でもあり、従って虚血（卒中）により損傷を受けた脳等の神経新生を必要とする疾患の処置に有用である。CTX0E03はレトロウイルス感染により送達された単一コピーのc-mycER導入遺伝子を含有するクローン細胞株であり、4-OHT（4-ヒドロキシタモキシフェン）により条件的に制御される。c-mycER導入遺伝子は、4-OHTの存在下で細胞増殖を刺激する融合タンパク質を発現し、従って4-OHTの存在下で培養される場合に拡張のコントロールが可能になる。この細胞株はクローン性であり、培養下で速やかに拡張し（倍加時間50～60時間）、正常なヒト核型（46XY）を有する。この細胞株は遺伝的に安定であり大量に生育され得る。この細胞は安全であり非腫瘍形成性である。増殖因子及び4-OHTの不存在下では、この細胞の増殖は停止し、該細胞は神経細胞及び星状膠細胞へ分化する。虚血により損傷を受けた脳にインプラントされると、この細胞は組織損傷の領域のみに遊走する。

【０１３４】

CTX0E03細胞株の開発により、臨床用の安定した製品のスケールアップが可能になる。バンクに保存されている材料からの細胞の産生により、商業的に利用するために細胞を大量に生成することが可能になる（Hodges他、2007）。

【０１３５】

Pollock他、2006は、卒中（MCAo）のラットモデルにおけるCTX0E03の移植により、グラフト後6～12週で感覚運動機能及び粗大運動の非対称性の両方において統計的に有意に改善されたことを説明する。このデータは、CTX0E03が治療用細胞株としての開発に必要とされる適切な生物学的特性及び製造特性を有することを示す。

【０１３６】

Stevanato他、2009は、CTX0E03細胞が、EGF、bFGF、及び4-OHTの除去後にインビトロの及びMCAoラット脳でのインプラント後にインビボの両方でのc-mycERTAM導入遺伝子の発現を下方制御したことを確認している。インビボでのc-mycERTAM導入遺伝子のサイレンシングにより、潜在的な臨床用途のためのCTX0E03細胞の更なる安全特性が付与される。

【０１３７】

Smith他、2012は、卒中（一過性の中大脳動脈閉塞）のラットモデルにおけるCTX0E03の前臨床効果試験を説明する。結果は、CTX0E03インプラント片が3ヶ月の期間を超えて行動機能障害を確実に回復すること及びこの効果がCTX0E03インプラント片のインプラント部位に特異的であることを示す。卒中が、より広い領域の損傷と比較してよい結果を示す線条体に限定された場合、病変トポロジーは回復において潜在的に重要な因子である。

【０１３８】

神経網膜幹細胞株（例えば米国特許第7,514,259号で説明されている）も本発明に従って使用することができる。

【０１３９】

用語「培養培地」又は「培地」は当分野で理解されており、一般に、生細胞の培養に使用される任意の材料又は調製物を指す。用語「培地」は細胞培養に関して使用する場合、細胞を取り囲む環境の成分を含む。培地は固体であることができ、液体であることができ、気体であることができ、又は相及び材料の混合物であることができる。培地として、液体増殖培地及び細胞増殖を維持しない液体培地が挙げられる。培地として、寒天マトリクス、アガロースマトリクス、ゼラチンマトリクス及びコラーゲンマトリクス等のゼラチン状培地も挙げられる。例示的な気体培地として、ペトリ皿若しくは他の固体支持体又は半固体支持体上で増殖している細胞が曝される気相が挙げられる。用語「培地」は、たとえ該培地が細胞と未だ接触していないとしても、細胞培養での使用を目的とする材料も指す。換言すると、細菌培養用に調製された、栄養素に富んだ液体が培地である。同様に、水又は他の液体と混合した場合に細胞培養に適するようになる粉末混合物を「粉末化培地」と称することができる。「限定培地」は、化学的に定義された（通常は精製された）成分で作られている培地を指す。「限定培地」は、酵母エキス及びビーフブロス等の特徴が明らかでない生物学的エキスを含有しない。「富栄養培地」として、特定種のほとんど又は完全に生存可能な形態の増殖を支持するように設計されている培地が挙げられる。富栄養培地は複雑な生物学的エキスを含むことが多い。「高密度培養の増殖に適した培地」は、他の条件（温度及び酸素移動速度等）がそのような増殖を可能とする場合に細胞培養物が3以上のOD600に到達するのが可能な任意の培地である。用語「基礎培地」は、任意の特別な栄養素補給を必要としない多くの種類の微生物の増殖を促進する培地を指す。ほとんどの基礎培地は一般的に、4種の基礎化学群、即ちアミノ酸、炭水化物、無機塩及びビタミンから成る。基礎培地は一般的に、より複雑な培地の基礎となり、該基本培地には血清、緩衝液、増殖因子、脂質等の栄養補助剤が添加される。一態様では、増殖培地は、本発明の細胞の自己複製能力を維持しつつ該細胞の増殖及び拡張の支持に必須の増殖因子を含む複雑な培地であることができる。基礎培地の例として、イーグル基礎培地、最小必須培地、ダルベッコ変法イーグル培地、199培地、栄養混合物（Nutrient Mixtures）ハムF-10及びハムF-12、マッコイ5A、ダルベッコMEM/F-I 2、RPMI 1640、並びにイスコフ改変ダルベッコ培地（IMDM）が挙げられるがこれらに限定されない。

【０１４０】

医薬組成物

本発明の幹細胞微粒子は治療に有用であり、従って医薬組成物として製剤化され得る。薬学的に許容される組成物は典型的には、本発明の微粒子に加えて少なくとも1種の薬学的に許容される担体、希釈剤、ビヒクル及び／又は賦形剤を含む。適切な担体の例として乳酸リンゲル液が挙げられる。そのような成分の詳細な考察がGennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 第20版、ISBN: 0683306472で説明されている。

【０１４１】

語句「薬学的に許容される」は本明細書において、しっかりした医学的判断の範囲内で、合理的なベネフィット/リスク比に見合う毒性、刺激性、アレルギー反応又は他の問題若しくは合併症を超えることなくヒト及び動物の組織と接触して使用されるのに適している化合物、材料、組成物及び／又は剤形を指すために用いられる。

【０１４２】

必要に応じて、組成物は少量のpH緩衝剤を含有することもできる。担体は、BioLife Solutions Inc.、米国から市販されているHypothermosol(登録商標)等の貯蔵培地を含むことができる。適切な医薬担体の例がE W Martinによる「Remington's Pharmaceutical Sciences」で説明されている。そのような組成物は、予防に又は治療に有効な量の、好ましくは精製形態の予防微粒子又は治療微粒子を、対象への適正な投与のための形態を付与するのに適した量の担体と共に含有することができる。剤形は投与方法に適していなくてはならない。好ましい実施形態では、医薬組成物は無菌であり、そして対象への投与に適した形態であり、対象は好ましくは動物対象であり、より好ましくは哺乳動物対象であり、最も好ましくはヒト対象である。

【０１４３】

本発明の医薬組成物は様々な形態であることができる。これらの形態として、例えば、凍結乾燥調製剤、溶液又は懸濁液、注射可能で不溶解性の溶液等の半固体剤形及び液体剤形を挙げることができる。医薬組成物は好ましくは注射可能である。本発明の微粒子の具体的な利点は、微粒子が得られる幹細胞と比較して微粒子の頑健性が向上されていることであり、従って、微粒子を、幹細胞には適していないであろう製剤化、例えば凍結乾燥に供することができる。

【０１４４】

本発明の方法、医薬及び組成物が、損傷した組織の処置又は回復に使用されること並びに/あるいは組織障害を伴う1種以上の症状の処置、調節、予防及び/又は寛解に使用されることが好ましい。本発明の方法、医薬、組成物及び微粒子が再生治療に、典型的には卒中、末梢動脈性疾患又は失明を引き起こす網膜の疾患の処置に使用されることが特に好ましい。

【０１４５】

医薬組成物は一般的に水性の形態である。組成物は防腐剤及び／又は抗酸化剤を含むことができる。

【０１４６】

浸透圧をコントロールするために、医薬組成物はナトリウム塩等の生理学的塩を含むことができる。塩化ナトリウム（NaCl）が好ましく、該塩化ナトリウムは1～20mg/mlで存在することができる。存在することができる他の塩として、塩化カリウム、リン酸二水素カリウム、リン酸二ナトリウム無水物、塩化マグネシウム及び塩化カルシウムが挙げられる。

【０１４７】

組成物は1種以上の緩衝液を含むことができる。典型的な緩衝液として、リン酸塩緩衝液、Tris緩衝液、ホウ酸塩緩衝液、コハク酸塩緩衝液、ヒスチジン緩衝液又はクエン酸緩衝液が挙げられる。典型的には、緩衝液を5～20mMの範囲の濃度で含むことができる。組成物のpHは一般的に5～8であり、より典型的には6～8であり、例えば6.5～7.5であり、又は7.0～7.8である。

【０１４８】

組成物は好ましくは無菌である。組成物は好ましくはグルテンを含まない。組成物は好ましくは非発熱性である。

【０１４９】

典型的な実施形態では、6-ヒドロキシ-2,5,7,8-テトラメチルクロマン-2-カルボン酸（Trolox(登録商標)）、Na^+、K^+、Ca^{2+}、Mg^{2+}、Cl^-、$H_2PO_4^-$、HEPES、ラクトビオン酸塩、スクロース、マンニトール、グルコース、デキストロン-40、アデノシン及びグルタチオンを含む組成物中に微粒子が懸濁されている。典型的には、組成物は、DMSO等の双極性非

プロトン溶媒を含まないだろう。適切な組成物、例えばHypoThermasol(登録商標)-FRSが市販されている。そのような組成物は有利であり、なぜならば、該組成物により、長期間（数時間～数日）にわたって4℃～25℃で微粒子を貯蔵することが可能になるからであり、又は凍結温度（cryothermic temperature）で、例えば-20℃未満の温度で微粒子を保存することが可能になることからからである。次いで、微粒子は解凍後に本組成物中で投与され得る。

【０１５０】

医薬組成物を任意の適切な経路で投与することができ、該経路は処置される疾患又は状態に応じて当業者に明らかであろう。典型的な投与の経路として、静脈内、動脈内、筋肉内、皮下、頭蓋内、鼻腔内又は腹腔内が挙げられる。脳の障害を処置するための一選択肢は、微粒子を脳内に投与することであり、典型的には損傷又は疾患の部位に投与することである。

【０１５１】

治療上効果がある又は予防上効果がある用量で微粒子を投与することができ、該用量は当業者に明らかだろう。微粒子の免疫原性が低い又は該免疫原性が存在しないことに起因して、有害な免疫応答を誘導しない用量を繰り返し投与することができる。

【０１５２】

治療用途

本発明の微粒子は、疾患の処置（治療）又は予防に有用である。よって、本発明は、本発明の微粒子を使用して患者の疾患又は障害を治療する又は予防する方法を含む。用語「患者」は、予防的処置又は治療的処置を受けるヒト対象及び他の哺乳動物対象を含む。

【０１５３】

前述したように、本発明のmiRNAを含む組成物はまた、それらの治療にも有用であり、従って、微粒子の治療用途は本明細書において、miRNAを含む組成物にも同様に当てはまることを指す。

【０１５４】

治療上有用な本発明の微粒子は再生活性を有する。再生活性を有する微粒子は、再生プロセスを活性化することができる若しくは増進させることができる又は変性プロセスを阻害することができる若しくは低減することできる微粒子である。再生プロセスは、細胞及び組織の複製、回復、修復及び／又は増殖をもたらす。変性プロセスは、細胞又は組織の完全性及び／又は機能の喪失をもたらす。このことは、損傷を受けた又は障害のある細胞又は組織、例えば卒中、精神障害、心筋梗塞、筋萎縮性側索硬化症及び末梢動脈性疾患によって生じるものを処置するのに特に有用であることができる。

【０１５５】

本発明の微粒子は組織再生に有用である。「組織再生」は、外傷後に組織中の細胞の数を増加させるプロセスである。外傷は、細胞の数を低下させるものであることができる。例えば、事故、自己免疫障害又は疾患状態が外傷をもたらす可能性もある。組織再生により組織内の細胞の数が増加し、組織の細胞間の接続を再構築することが可能になり、そして組織の機能性を取り戻すことが可能になる。

【０１５６】

治療は、組織の置換、再生又は修復を必要とする再生治療であることができる。治療は、神経学的疾患、障害又は欠損に対するものであることができる。治療は、機能及び／又は認知の回復を改善することができる。治療は、卒中、末梢動脈性疾患、神経症、又は組織の再生、血行再建若しくは局所的な抗炎症作用を必要とする任意の他の疾患若しくは障害に関するものであることができ、任意の他の疾患又は障害として、

（i）神経学的障害、疾患又は欠損、例えばパーキンソン病、アルツハイマー病、卒中若しくはALS、

（ii）リソソーム蓄積症、

（iii）心血管障害、例えば心筋梗塞、うっ血性心不全、末梢動脈性疾患、糖尿病性潰瘍、創傷治癒、

（iv）特発性肺線維症、呼吸促迫症候群、慢性閉塞性肺疾患、特発性肺高血圧症、嚢胞性線維症及び喘息を含む肺の疾患、
（v）代謝性又は炎症性障害、例えば糖尿病（I若しくはII型）、関節リウマチ、変形性関節症、ループス、クローン病、過敏性腸疾患又は移植片対宿主病、
（vi）精神障害、例えば鬱病、双極性障害、統合失調症、又は自閉症候群障害、例えば自閉症、アスペルガー症候群若しくはレット症候群、
（vii）失明を引き起こす網膜の疾患、例えば加齢性黄斑変性、シュタルガルト病、糖尿病性網膜症、網膜色素変性症、並びに
（viii）脱髄性疾患、例えば多発性硬化症、脳性麻痺、橋中心髄鞘崩壊症、脊髄ろう、横断性脊髄炎、デビック病、進行性多巣性白質脳症、視神経炎、白質萎縮症、ギラン・バレー症候群、抗MAG末梢神経障害及びシャルコー・マリー・トゥース病
が挙げられる。

【０１５７】

一実施形態では、微粒子及び該微粒子を含有する組成物は、免疫調節のために使用されない。一実施形態では、治療は免疫調節に関連するものではない。

【０１５８】

本発明はまた、本発明の微粒子の有効な量を投与して疾患を治療する又は予防することを含む、疾患又は状態を治療する又は予防する方法も提供する。典型的には、疾患又は状態は上記に示されている。

【０１５９】

本発明の微粒子を、該微粒子が得られる幹細胞と同じ疾患の処置（治療）に使用することができる。神経幹細胞は、卒中、脳損傷、例えば運動の、感覚の及び／又は認知の障害、精神障害、心筋梗塞、筋萎縮性側索硬化症、肢虚血、末梢動脈性疾患等の疾患の処置に有用であることが知られている。よって、本発明の微粒子はまた、卒中、脳損傷、例えば運動の、感覚の及び／又は認知の障害、精神障害、心筋梗塞、筋萎縮性側索硬化症、肢虚血、末梢動脈性疾患の処置にも有用である。

【０１６０】

図6及び実施例8は、神経幹細胞から得たエキソソームが創傷治癒を刺激することを証明する。よって、一実施形態では、本発明のエキソソームは、組織の置換、再生又は修復を必要とする疾患又は状態の処置（治療）に使用される。そのような状態として、糖尿病性潰瘍及び創傷治癒が挙げられる。図6Cは、6週にわたって培養したNSCから単離したエキソソームは2週にわたって培養したNSCから単離したエキソソームよりも効果的であることを示す。よって、一実施形態では、少なくとも2週にわたって、より典型的には少なくとも4週にわたって又は少なくとも6週にわたって（典型的には多区画のバイオリアクタ中で）培養されているNSC（典型的にはCTX0E03細胞）から単離したエキソソームが、組織の置換、再生又は修復を必要とする疾患又は状態の処置（治療）に使用される。任意選択で、NSCは10週以下にわたって培養されており、例えば2～10週にわたって、3～10週にわたって、4～10週にわたって、5～10週にわたって又は6～10週にわたって培養されている。

【０１６１】

6週にわたって（多区画のバイオリアクタ中で）培養されているNSC（CTX0E03細胞）から単離したエキソソームで観測した効果の増強は、6週にわたる細胞の培養後にも生じる、エキソソームで観測したサイズの約70nmの直径への縮小と関係がある。よって、一実施形態では、少なくとも6週にわたって（典型的には多区画のバイオリアクタ中で）培養されているNSC（典型的にはCTX0E03細胞）から単離したエキソソームが、組織の置換、再生又は修復を必要とする疾患又は状態の処置（治療）に使用される。前述したように、任意選択でNSCは10週以下にわたって培養されており、例えば6～10週にわたって培養されている。別の実施形態では、100nm未満の直径を有するNSC（典型的にはCTX0E03細胞）から単離したエキソソームが、組織の置換、再生又は修復を必要とする疾患又は状態の処置に使用され、該NSCは、典型的には80nm未満の直径、例えば約70nmの直径を有する。

【０１６２】

図12に示すように及び実施例8で論じるように、神経幹細胞から得た微小胞は血管新生を刺激する。よって、一実施形態では、本発明の微小胞は、血管新生を必要とする疾患又は状態の処置（治療）に使用され、典型的には組織再生及び／又は血管再建により処置される疾患又は障害の処置（治療）に使用される。本発明の微小胞を、心筋梗塞、うっ血性心不全、末梢動脈性疾患、糖尿病性潰瘍及び創傷治癒等の心血管障害の処置（治療）に使用することができる。血管新生の刺激はまた、虚血の処置にも治療上有用であり、具体的には心虚血及び肢虚血の処置にも治療上有用である。図12は、少なくとも3週にわたって培養したNSCから回収した微小胞は1週又は2週にわたって培養したNSCから単離した微小胞よりも効果的であることを示す。よって、一実施形態では、少なくとも3週にわたって、より典型的には少なくとも4週にわたって又は6週にわたって（典型的には多区画のバイオリアクタ中で）培養されているNSC（典型的にはCTX0E03細胞）から単離した微小胞が、血管新生を必要とする疾患又は状態の処置に使用される。任意選択で、NSCは10週以下にわたって培養されており、例えば3～10週にわたって、4～10週にわたって、5～10週にわたって又は6～10週にわたって培養されている。

【０１６３】

図13に示すように及び実施例8で論じるように、神経幹細胞から得た微小胞は神経突起伸長を刺激する。よって、一実施形態では、本発明の微小胞は、神経学的疾患、障害又は欠陥、例えばパーキンソン病、アルツハイマー病、卒中、神経症若しくはALSの処置（治療）に使用される。

【０１６４】

予防用途では、医薬組成物又は医薬は、特定の疾患を罹患しやすい又は特定の疾患のリスクがある患者に、疾患のリスクを取り除く若しくは低減する又は該疾患の発症を遅らせるのに十分な量で投与される。治療用途では、組成物又は医薬は、そのような疾患の疑いがある又は該疾患を既に患っている患者に、疾患及びその合併症の症状を治癒するのに又は少なくとも部分的に抑制するのに十分な量で投与される。このことを達成するのに十分な量は、治療上効果がある又は予防上効果がある用量として定義される。予防レジメン及び治療レジメンの両方において、薬剤は典型的には、十分な応答が得られるまで何回かの投与量に分けて投与される。典型的には、応答がモニタリングされ、応答が弱くなり始める場合には投薬が繰り返される。

【０１６５】

本発明の微粒子は、併用療法を提供するために任意選択で幹細胞と併用され得る。幹細胞は任意選択で、微粒子が由来する幹細胞であり、例えば微粒子がCTX0E03細胞由来のエキソソームである場合、併用療法で使用される幹細胞はCTX0E03細胞であることができる。幹細胞及び微粒子を任意選択で、（ｉ）単一の医薬組成物で共に投与することができ、（ｉｉ）同時期に又は同時に投与するが別々に投与することができ、あるいは（ｉｉｉ）別々に及び連続して投与することができ、例えば幹細胞後に微粒子を若しくは微粒子後に幹細胞を投与することができる。幹細胞及び微粒子を別々に及び連続して投与する場合、細胞の投与と微粒子の投与との間の期間は1時間であることができ、1日であることができ、1週間であることができ、2週間であることができ又はそれ以上であることができる。

【０１６６】

一実施形態では、予防的治療により、微粒子が得られる幹細胞を受ける宿主において寛容が誘導され、典型的には免疫寛容が誘導される。一実施形態では、幹細胞治療の適用前に、本発明の微粒子の用量を患者に1回以上投与して有害な免疫応答のリスク、即ち幹細胞治療の「拒絶反応」を低減することができる。別の実施形態では、上記で論じたように、幹細胞を本発明の微粒子と共に投与することにより、幹細胞に対する寛容を増強することができる。

【０１６７】

上記で説明した状態の処置（治療）に関する、本発明の組成物の有効量は、投与手段、標的部位、患者の生理学的状態、患者がヒト又は動物であるかどうか、他の薬剤が投与されたかどうか及び処置が予防的である又は治療的であるかどうか等の多くの異なる因子に

応じて変化する。通常、患者はヒトである。

【０１６８】

CTX0E03細胞株が卒中、末梢動脈性疾患、脳損傷、例えば運動の、感覚の及び／又は認知の障害並びに精神障害の処置に効果的であることが分かっている。CTX0E03細胞は現在、身体障害のある卒中患者の処置に関する臨床試験で試験されている（Clinicaltrials.gov識別番号：NCT01151124）。WO-A-2012/004611には、単極性鬱病及び双極性鬱病、統合失調症、強迫性障害、自閉症及び自閉症候群障害等の精神障害の処置（治療）におけるCTX0E03細胞の使用が説明されている。よって、CTX0E03細胞により産生された微粒子はまた、卒中、末梢動脈性疾患、失明を引き起こす網膜の疾患（例えば網膜色素変性症）、脳損傷、例えば運動の、感覚の及び／又は認知の障害並びに精神障害を処置（治療）することもできる。

【０１６９】

本明細書で使用する場合、用語「処置（治療）する（treat）」、「処置（治療）」、「処置（治療）する（treating）」及び「治療」は患者又は対象に対して直接使用される場合に障害に関連する1種以上の症状の改善又は障害若しくは障害に関連する1種以上の症状の防止（prevention）　若しくは予防（prophylaxis）を意味するとみなすべきである。処置する障害として、変性障害、組織破壊等の障害、腫瘍性障害、炎症性障害、自己免疫疾患又は移植された器官及び組織の拒絶反応等の免疫媒介疾患が挙げられるがこれらに限定されない。症状の改善又は防止は、前記処置を必要とする対象に本発明の微粒子又はこの微粒子を含む医薬組成物を投与することによって起こる。

【０１７０】

インビボでの投与した細胞及び微粒子の追跡

本発明は、神経幹細胞により産生された微粒子に特徴的なマーカープロファイルを提供する。従って、患者から得たサンプルを試験して該サンプルにおけるマーカープロファイルが微粒子のマーカーと一致するかどうかを決定することにより、インビボでこの微粒子の存在を検出することができる。サンプルのプロファイルが本明細書で説明した微粒子のプロファイルと一致する場合、これにより微粒子の存在が確認される。このことを使用して、微粒子自体の存在及び／又は体内分布だけでなく微粒子を産生する幹細胞の存在も検出することができる。これは、例えばADME(T) 研究において、インビボで投与した幹細胞が宿主組織中に生着しているかどうか及び／又は遊走しているかどうかを検出する際に特に有用である。

【０１７１】

インビボでの微粒子の検出を、微粒子又は幹細胞が患者に投与される処置の経過のモニタリングに使用することができる。よって、患者において微粒子又は本発明の微粒子を産生する細胞の存在、不存在又は量を検出することにより、投与レジメを、例えばインビボで微粒子又は幹細胞の有効量を与えるのに必要な用量を増加させる又は低下させるように改変することが可能になる。

【０１７２】

微粒子の製造方法

微粒子は、細胞の条件培地から、典型的には幹細胞の条件培地から単離する。「条件培地」（CM）は幹細胞用の増殖培地であることができ、該増殖培地は、少なくとも約12時間にわたる、少なくとも24時間にわたる、少なくとも48時間にわたる又は少なくとも72時間にわたる、典型的には最大168時間（7日）にわたる幹細胞の大量培養に使用されており、必要に応じて使用前に任意の適切な手段により、好ましくはろ過により、除去される及び無菌化される。

【０１７３】

あるいは、長期間にわたって、例えば少なくとも2週にわたって、少なくとも3週にわたって、少なくとも4週にわたって、少なくとも5週にわたって、少なくとも6週にわたって又はそれ以上にわたって細胞培養を維持することが可能になり、そのため条件培地を維持することが可能になる2区画のバイオリアクタから微粒子を回収することができる。本シ

ステムでは、10kDaの半透膜で培地のより大きいリザーバから分離されている小さい細胞区画（約15ml）内で細胞及び分泌された微粒子が維持される。このことにより、微粒子の産生を最大化するために非常に高密度の細胞を効果的に維持しつつ、代謝老廃物の効果的な除去が可能になる。実施例9並びに図7及び図8は、2区画のバイオリアクタの使用により、微粒子の収率は標準的な細胞培養フラスコ（T175フラスコ）が使用される際に得られる場合に比べてはるかに高くなることを証明する。

【０１７４】

分子量、サイズ、形状、流体力学的半径、組成、電荷、基質-リガンド相互作用、電磁波の吸収度若しくは散乱又は生物学的活性に基づいて、微粒子を他の培地成分から分離することができる。一実施形態では、所望の微粒子を分離するのに適したサイズのフィルタを使用して、例えば100K MWCOフィルタを使用して、条件培地をろ過する。任意選択で、濃縮したNSC条件培地をサイズ排除クロマトグラフィーにかけて微粒子を単離する前に、幹細胞の条件培地を濃縮する。次いで、目的の微粒子を単離するためにUV吸収画分を選択することができる。

【０１７５】

様々な単離技法及びパラメータを使用することにより、培地から様々な微粒子を単離することができる。例えば、エキソソームは1.13～1.19g/mLの小胞密度を有し、該エキソソームを100,000～200,000gでの分画遠心分離及びスクロース勾配超遠心分離により単離することができる。微小胞は、ろ過（100K MWCO）及び18,000～20,000gでの分画遠心分離により単離することができる。膜粒子は1.04～01.07g/mlの密度を有し、エキソソーム様小胞は1.1g/mlの密度を有する。

【０１７６】

典型的な製造方法は以下を含む：幹細胞を培養して条件培地を作製する；1500rpmでの遠心分離により細胞残屑を除去する；100K MWCOフィルタによる限外ろ過により微小胞（1000kDa未満）を単離する、又は120,000gでの超遠心分離によりエキソソーム（30～100nm）を単離する；続いてBCAタンパク質アッセイを使用して定量化する。

【０１７７】

微粒子用のプロデューサー細胞としての、条件的不死化された幹細胞

本発明の一態様では、条件的不死化された幹細胞を使用して微小胞及び／又はエキソソーム等の微粒子を製造する。条件的不死化は、エキソソーム等の微粒子を製造するクローン細胞の安定供給をもたらす。この条件的不死化された幹細胞は典型的には神経幹細胞であるが、任意の種類の幹細胞であることができ、例えば造血幹細胞又は間葉系幹細胞であることができる。条件的不死化された幹細胞は、$CD34^+$細胞であってもよい。従って、条件的不死化された幹細胞を培養する工程及び該幹細胞により産生された微粒子を回収する工程を含む、幹細胞微粒子の製造方法が提供される。上記で説明したように、幹細胞の条件的不死化は当分野で公知である。一実施形態において、条件的不死化は、合成ステロイドである4-ヒドロキシタモキシフェン（4-OHT）の存在下でのみ細胞増殖を駆動するc-myc ERを導入することにより行われる。疑義を避けるために、本方法は神経幹細胞の使用に限定されない。

【０１７８】

実施例は、条件的不死化された神経幹細胞及びCD34+臍帯血細胞からのエキソソームの製造を実証している。この例証は、間葉系幹細胞を含む他の細胞型にも容易に適用可能である。

【０１７９】

微粒子の産生に使用する幹細胞が神経幹細胞である場合、本明細書で説明した任意の神経幹細胞、例えばCTX0E03条件的不死化細胞株はクローン性であり、標準化されており、インビトロ及びインビボで明らかに安全であり、そして安定したエキソソーム産生に特有の供給源を提供するスケールに製造され得る。また、任意選択で米国特許第7,514,259号において説明されているように、神経幹細胞は神経網膜幹細胞株であることできる。

【０１８０】

微粒子はまた、CD45-，CD34-である、条件的不死化されたニューロスフェア開始幹細胞（NS-IC）から製造することも可能である。これらの細胞は、ニューロスフェア培養を開始することができる。ニューロスフェアは、神経幹細胞及び未分化前駆体を含む細胞の凝集体（aggregate）又は集団（cluster）である。NS-IC細胞は当技術分野で公知であり、例えばEP 1900811 B1（StemCells Inc.）に記載の通りである。NS-IC細胞は典型的にAC133^{+}である。

【０１８１】

別の実施形態において、条件的不死化された幹細胞は、オリゴデンドロサイト前駆細胞（OPC）である。OPCは、オリゴデンドロサイトに対する前駆体であり、典型的には星状膠細胞、そして場合によりニューロンへ分化することが可能である。OPCは典型的に、プロテオグリカンPDGFRαを発現する。OPCは、例えばWO-A-2010/075500（StemCells Inc.）に記載されており、これらのOPCはPDGFRα^{+} / CD105^{-}であり、場合によりCD133^{+}であることもある。

【０１８２】

微粒子の製造に使用する幹細胞が間葉系幹細胞である場合、該間葉系幹細胞は任意選択で、条件的不死化された脂肪由来幹細胞（「ADSC」）又はWO-A-2009/105044で説明されている間葉系幹細胞の条件的不死化されたバージョンであることができ、これらの細胞はCD29+、CD44+、CD49a+/e+、CD105+、CD166+、CD34-、CD45-である。

【０１８３】

さらなる実施形態において、微粒子は、CD73、CD90及びCD105を発現するが、CD14、CD19、CD34、CD45及びHLA-DRを発現しない、条件的不死化されたヒト骨髄由来幹細胞により製造され、その細胞集団のうち少なくとも50％の細胞が、グリア細胞繊維性酸性タンパク質（GFAP）を発現し、BDNFを分泌する。そのような細胞はEP-A-2620493（Brainstorm Cell Therapeutics）に記載されている。

【０１８４】

一実施形態において、条件的不死化された間葉系幹細胞は子宮内膜新生細胞（「ERC」）である。ERCは当技術分野で公知であり、典型的に月経血から単離される。ERCは典型的には、CD9、CD29、CD41a、CD44、CD59、CD73、CD90及びCD105を発現する。条件的不死化されていないERCからのエキソソームの製造が、例えばUS特許出願公開番号US2013/0195899（Medistem Inc.）に開示されている。

【０１８５】

さらなる実施形態は、典型的には骨髄に由来する、条件的不死化された成体多能性前駆細胞（「MAPC」）からの微粒子を提供する。MAPCは当技術分野で公知であり、典型的にはOct3及びテロメラーゼを発現する。MAPCは、Athersys Inc.によって、「多幹（Multistem）」製品として開発されている。一実施形態において、MAPCは、ヒト多能性非胚性非生殖細胞であり、これは、内胚葉、外胚葉及び内胚葉胚性系統のうちの少なくとも2つのそれぞれの少なくとも1種の細胞型に分化することができ、テロメラーゼを発現し、場合によりOct-3を発現する。これらのMAPCは、典型的には培養中に少なくとも10～40回の細胞倍化を経ている（例えば、米国特許第8,147,824号（Athersys, Inc.）参照）。別の実施形態において、MAPCは、CD90及びCD49cと、sox-9、sox-11、hox-A5及びMSX-1のうちの1以上とを発現し、場合によりテロメラーゼを発現してもよいヒト細胞集団である。これらの細胞は、典型的に、培養中の22回の細胞倍化を経た後のマーカープロフィールを示す。

【０１８６】

本発明に従って条件的不死化させることができる間葉系幹細胞の別の実施形態は、間葉系前駆細胞（MPC）である。MPCはSDF-1（ストロマ細胞由来因子1－強力なストロマ由来のCXCαケモカイン）を発現する。MPCは典型的に骨、脂肪及び軟骨に分化することができる。MPCは典型的に、SDF-1発現についての選択により、例えばSDF-1抗体を用いて、単離することができる。MPCは典型的に骨髄から単離される。MPCは典型的に、STRO-1^{bright} VCAM-1^{bright}、THY-1^{bright}、CD146^{bright}及びSTRO-2^{bright}からなる群より選択される少なくとも1つのマーカーについて陽性である。場合により、MPCは、STRO-1^{bri}、LFA-3、THY-

I、VCAM-I、ICAM-I、PECAM-I、P-セレクチン、L-セレクチン、CD49a/CD49b/CD29、CD49c/CD29、CD49d/CD29、CD29、CDl 8、CD61、ベータ-1インテグリン、6-19、トロンボモジュリン、CDlO、CD13、SCF、PDGF-R、EGF-R、IGFl-R、NGF-R、FGF-R、レプチン-R、RANKL及びCD146又はこれらのマーカーの任意の組み合わせからなるMPCに特異的な表面マーカーの群より選択される少なくとも2つのマーカーを有する。MPC又はそれらの子孫の生存及び／又は増殖は、SDF-I又はその類似体への曝露により増強することができる（例えば、WO2006032075（Angioblast Inc. [現在のMesoblast, Inc.]）参照）。MPCは、Mesoblastにより、「Revascor」という名称で商業的に開発されている。

【０１８７】

エキソソームなどの微粒子を単離することができる他の条件的不死化幹細胞としては、造血幹細胞、典型的にはCD34+造血幹細胞、場合により臍帯血から単離されたもの（「臍帯血細胞」と称されることが多い）が挙げられる。実施例15及び図20A～Cは、臍帯血由来のヒトCD34+前駆細胞を、c-mycERTAMレンチウイルスで条件的不死化することに成功し、それが特徴的なマーカーAlixを発現するエキソソームを産生したことを実証している。

【０１８８】

臍帯血はまた、条件的不死化して、微粒子の製造に使用することができる非造血幹細胞も含む。

【０１８９】

造血幹細胞はまた米国特許第7,794,705号（Amorcyte Inc.）に記載されている。これらの細胞は、CXCR-4-媒介走化活性を有し、in vitroにおいて造血コロニーを形成することができるCD34+/CXCR-4+細胞である。

【０１９０】

微粒子はまた、典型的には$CD133^+$ $CXCR4^+$ $CD34^+$ Lin^-CD45^-である、条件的不死化されたヒト由来極小胚様幹細胞（VSEL）により製造することができる（例えば、WO2010039241（NeoStem Inc.）に記載されている）。VSELは場合により、$Oct\text{-}4^+$、$SSEA^+$、$Nanog^+$であってもよいし、又は核中にOct-4タンパク質及び表面上にSSEA抗原を発現してもよい。

【０１９１】

条件的不死化された幹細胞は、成体多能性前駆細胞（「MAPC」）であってもよい。MAPCは当技術分野で公知である（例えば、Reading et al. J Immunol. 2013 May 1;190(9):4542-52参照）。

【０１９２】

人工多能性幹（iPS）細胞はまた、条件的不死化されていてもよく、エキソソームの製造のために用いることができる。iPS細胞は、Malik及びRao Methods Mol Biol, 2013; 997-23-33により概説されているように、当技術分野で公知である。

【０１９３】

微粒子のためのプロデューサー細胞としての条件的不死化され分化した（非幹）細胞

条件的不死化は幹細胞に限定されるものではない。したがって、本発明のさらなる態様において、条件的不死化された分化した（すなわち非幹）細胞を使用して、微粒子、例えば微小胞及び／又はエキソソームを製造する。

【０１９４】

線維芽細胞は、条件的不死化されていてもよく、エキソソームなどの微粒子の製造のために用いることができる。典型的には、線維芽細胞はヒト皮膚線維芽細胞である。

【０１９５】

樹状細胞もまた、条件的不死化されていてもよく、エキソソームなどの微粒子の製造のために用いることができる。

【０１９６】

微粒子分泌の誘導方法

本発明者らは、細胞による、典型的には幹細胞による微粒子の産生を増進させることができることを発見した。神経幹細胞に限定されない及び任意の細胞（典型的には幹細胞）からの微粒子の産生に使用され得るこの発見により、幹細胞培養から得られる微粒子の収

率を改善することが可能になる。この収率改善は、条件的不死化細胞によって提供される微粒子の連続供給と合わせた場合に特に利点がある。

【０１９７】

（幹）細胞による微粒子の産生を増進する第1の技法は、条件培地の除去前に12～96時間にわたって、典型的には1～25ng/mlで、例えば10ng/mlで、TGF-β、IFN-γ又はTNF-αの1種以上により幹細胞を処理することである。

【０１９８】

以下の実施例2で説明するように、TGF-β、IFN-γ又はTNF-α（10ng/ml）の存在により多小胞体（MVB）の発生の頻度が変化することを観測した。頻度はTGF-βの存在下で最も高く、続いてIFN-γであり、続いてTNF-αであった。従って、TGF-β、IFN-γ又はTNF-αの1種以上を幹細胞培養培地に添加することにより、細胞による微粒子の産生を刺激することができる。次いで、上記で説明したように微粒子を他の成分から分離することにより、微粒子を回収することができる。

【０１９９】

幹細胞による微粒子の産生を増進する第2の技法は、低酸素条件下での細胞の培養である。低酸素条件下での細胞の培養は当業者に公知であり、O_2が大気濃度未満である大気中で、即ちO_2が21％未満の大気中で細胞を培養することを含む。このことは典型的には、酸素濃度を変化させることが可能な培養器中に細胞を置くことにより実現される。低酸素培養は、典型的には10％未満のO_2を、より典型的には5％以下のO_2を、例えば4％以下のO_2を、3％以下のO_2を、2％以下のO_2を又は1％以下のO_2を含有する大気中で培養することを含む。

【０２００】

本発明者らはまた、別の細胞型と幹細胞とを共培養することにより、幹細胞による微粒子の産生を変化させることができることにも気付いた。別の細胞型は非幹細胞であることができ、即ち最終分化細胞型であることができる。典型的には、別の細胞型は、幹細胞とインビボで相互作用するであろう細胞型である。一実施形態では、神経幹細胞は内皮細胞等の上皮細胞と共培養され、典型的にはヒト臍帯静脈内皮細胞（HUVEC）と共培養される。NSC及び血管系が、血管に近接して又は隣接して局在化される増殖性NSCと相互作用することがインビボで観測されている。NSCが内皮細胞と共培養される場合に受容体チロシンキナーゼの活性化及びシグナルタンパク質の分泌も上方制御されることが観測されており、このことは、血管系がNSCの増殖能を調節することも示す。理論に拘束されることを望まないが、本発明者らは、サイトカイン発現の増幅を経て、組織再生のプロセスにおけるNSCと微小血管（即ち内皮細胞）との間の中心的な相互作用がインビボで存在すると考える。従って、内皮細胞（例えばHUVEC）と共培養したNSC（例えばCTX0E03細胞）由来の微粒子、例えばエキソソームは治療用途のために予備刺激され、なぜならば、微粒子は、幹細胞及び微粒子が活性であるインビボの環境を模倣する環境中で産生されているからである。

【０２０１】

従って、別の細胞型との幹細胞の培養により、産生される微粒子の量を増加させることができ、及び／又は微粒子の内容物を純化することができ、典型的にはその結果、幹細胞により産生される微粒子は活性化状態の組織修復に偏在する。よって、他の細胞と共培養されている幹細胞により産生された微粒子、例えば内皮細胞と共培養されたNSCにより産生された微粒子が有利である。本明細書で説明したように、この微粒子を、共培養した幹細胞の条件培地からの単離により得ることができる。

【０２０２】

予想外にも、本発明者らは、多区画のバイオリアクタ中で幹細胞を培養することにより、幹細胞により産生される微粒子の量を極めて簡単に増加させることができることに気付いた。この発見は神経幹細胞に限定されず、全ての幹細胞の培養に一般的に適用される。よって、本発明の一態様は、多区画のバイオリアクタ中で培養されている幹細胞からの微粒子の製造方法を提供する。微粒子が回収される細胞は典型的には、少なくとも1週間に

わたって、典型的には少なくとも8日、9日、10日、11日、12日、13日又は14日にわたって、例えば15日、16日、17日、18日、19日、20日、21日又はそれ以上にわたって、例えば少なくとも3週、4週、5週、6週又はそれ以上にわたって培養されている。図8から、週ごとに、微粒子産生の増進は相加的だけでなく指数関数的であることが分かる。長期培養は典型的には、Integra Cellineシステムの2区画のバイオリアクタ（Integra Biosciences AG、Zizers、スイスから市販されている）中で観測されるが、本発見はこの具体的な多区画のバイオリアクタに限定されず、任意の多区画のバイオリアクタを使用することができる。本培養方法を、神経幹細胞及び間葉系幹細胞を含むがそれらに限定されない任意の幹細胞型から微粒子を産生するために使用することができる。

【０２０３】

微粒子の産生を変化させる薬剤のスクリーニング方法

本発明は、条件的不死化細胞、典型的には条件的不死化された幹細胞による微粒子の産生を変化させる薬剤のスクリーニング方法を提供する。本方法は、典型的には微粒子の産生に適した条件下で、条件的不死化細胞（例えば幹細胞）を候補薬剤と接触させること、及び（i）接触した条件的不死化細胞による微粒子の産生速度が増加するか若しくは低下するかを観測すること、又は（ii）薬剤に接触していない対照幹細胞と比較した微粒子の特徴（例えばサイズ、タンパク質、mRNA若しくはmiRNAの含有量）の変化を観測することを含む。

【０２０４】

条件培地の全RNA組成のスクリーニング方法

遠心分離（1500rpmで5分）後に、ろ過（0.02～0.2μm又は100K MWCO）により条件培地から微粒子を回収する。トリゾールに基づく抽出を使用して、続いてQiagen RNaesyミニキットを使用する精製により全RNAを得る。水中の抽出物は、それがRNAである可能性があることを示唆する260：280nmの吸光度を有する。全RNAは、mRNA（Superscript II RT、Invitrogen）又はmiRNA（mScript RTキット、Qiagen）に適したプロトコルにより逆転写される。mRNA及びmiRNAの存在の妥当性を、miRNAに関してはATP5B及びYWHAZ用のプライマー並びにmiRNAハウスキーピング遺伝子に関してはU6B及び15a用のプライマーをそれぞれ使用するqRT-PCRで証明した。RNAを、アレイ（マイクロアレイ又はPCRに基づくアレイ）及びシーケンシング等の一般的な遺伝子発現分析アッセイにより評価することができる。

【０２０５】

キット

本発明は、本発明の微粒子の製造方法に使用するためのキットを提供する。キットは、細胞の培養培地、条件的不死化細胞及び本キットを使用して請求項22の微粒子を製造するための指示書を含む。任意選択で、キットは請求項19又は20の1種以上の成分を含む。キットはまた、対照として使用するための本発明に係る微粒子も含む。対照の微粒子は任意選択で凍結乾燥されている。キットは任意選択で、産生した微粒子の検出に適した検出剤を含有することもでき、例えば微粒子の同定に使用することができるマーカータンパク質に特異的に結合する抗体を含有することもできる。

【０２０６】

以下の非限定的な実施例を参照して本発明を更に説明する。

【実施例】

【０２０７】

［実施例1］

電子顕微鏡による可視化のための神経幹細胞及び神経幹細胞微粒子の調製方法

電子顕微鏡のためのCTX0E03細胞の包埋

・5×70％CTX0E03培養物

・+/-4OHT、IFNγ、TNFα及びTGFβによる（全て24時間にわたる10ngでの）処理

・細胞の剥離及びpH7.4の0.1Mカコジル酸塩中の2.5％グルテルアルデヒド（Gluteraldehyde）中における終夜にわたる固定

・細胞の回転沈殿300g
・緩衝化オスミウム2％、1.5時間
・回転、洗浄水、終夜
・酢酸ウラン2％、2時間
・回転、洗浄水、30分
・エタノール勾配20、30、50、70、80、90、100％、週末の間。
・100％酸化プロピレン（PO）、1時間
・回転、PO中の50％寒天LV樹脂、1時間
・75％LV樹脂/PO 5時間
・60℃で終夜にわたる100％樹脂
・室温までの冷却後に切断（60～80nm）、200KvでのTEMの撮像。

【０２０８】

結果

図1A～Eは、直径が約30nm～50nmのエキソソームを含有する多小胞体（MVB）の電子顕微鏡写真を示す。図1Fは、直径が100nm超の微小胞を示す。

【０２０９】

［実施例2］

神経幹細胞株からの神経幹細胞微粒子の産生

方法

CTX0E03細胞の同じ培養物を含有する5個のサブコンフルエントフラスコを、4OHTが添加されている又は添加されていない完全増殖培地対照と共に、10ng/mlのTGF-β、10ng/mlのIFNγ又は10ng/mlのTNFαで個々に処理した。処理の72時間後、電子顕微鏡による評価のために、細胞を、トリプジーン（trypzean）/EDTAを使用して回収して洗浄し、pH7.4の0.1Mカコジル酸塩中の2.5％グルテアルデヒド中において終夜にわたり固定した。

【０２１０】

結果

TGF-β、IFN-γ又はTNF-αの存在により多小胞体（MVB）の発生の頻度が変化することを観測した。頻度はTGF-βの存在下で最も高く、続いてIFN-γであり、続いてTNF-αであった。

【０２１１】

結論

因子TGF-β、IFN-γ又はTNF-αの添加により、神経幹細胞からの微粒子の産生を刺激することができる。このことは、微粒子のより効率的な産生の可能性を有する。

【０２１２】

［実施例3］

神経幹細胞微粒子の精製、定量化、及び特性決定

方法

大量の微粒子を産生するためのプロトコルの概要を図2に示す。主要な工程は、精製、定量化、特性決定、効果試験及び製造である。

【０２１３】

（1）精製

超遠心分離により、例えば1～2時間にわたる100000×gでの超遠心分離により、微粒子を幹細胞の条件培地から精製することができる。特異的抗体を使用する、免疫沈降等の抗体に基づく方法、磁性ビーズ精製、樹脂に基づく精製等の代替の又は追加の精製法を使用してもよい。

【０２１４】

（2）定量化

全核酸レベル又は全タンパク質レベルの定量化により、例えば様々なPCR又はBCAアッセイ等の比色タンパク質定量化法により、精製した微粒子を定量化することができる。電子顕微鏡グリッド、又は微粒子特異的マーカーに特異的に結合する抗体若しくは抗体フラグ

メントを使用する免疫アッセイ（例えばELISA、免疫ブロッティング）等の他の定量化技法を代替として使用することができる。

【０２１５】

（3）特性決定

微粒子を機能的に又は構造的に特性決定することができる。当分野で公知の方法（SDS-PAGE、質量分析、PCR）を使用して、RNA/mRNA/miRNA及びタンパク質プロファイリングを使用することができる。構成的に分泌された微粒子を試験し、トランスフォーミング増殖因子-ベータ（TGF-β）、インターフェロン-ガンマ（INF-γ）、及び／又は腫瘍壊死因子-アルファ（TNF-α）等の誘導剤の添加により誘導される微粒子と比較することができる。

【０２１６】

（4）治療効果

微粒子の効果をインビトロアッセイ及びインビボアッセイにより試験することができる。インビトロでの評価に関して、単球、PBMC、内皮細胞、及び／又は線維芽細胞の培養物に神経幹細胞微粒子を添加することができ、これらの細胞に対する微粒子の効果を評価することができる。適切な動物モデルへの神経幹細胞微粒子の投与を使用してインビボでの効果を評価することができる。臨床試験を実施してヒト対象における神経幹細胞微粒子の安全性及び転帰を評価することができる。

【０２１７】

（5）製造/スケールアップ

神経幹細胞微粒子の大規模製造にIntegra disposable T1000等のバイオリアクタを使用することができる。次いで、精製した微粒子を治療用製品として製剤化する。

【０２１８】

［実施例4］

CTX0E03微粒子におけるmiRNAの特性決定

方法

・3条件：標準的な培養におけるCTX0E03細胞、標準的な培養におけるCTX0E03細胞から得られる微粒子、及びIntegra CELLineシステムにおけるCTX0E03細胞から得られる精製エキソソーム（以下の実施例7～11参照）

・製造業者の指示に従ってqRT-PCRパネル（Qiagen）を使用するmiRNAアレイの検討。このアッセイでは、方法/参照遺伝子の選択に感受性のあるデータ正規化により高精度及び高感度が実現される。このアッセイではゲノム全体の配列決定が実現されない。

【０２１９】

結果：A）（i）標準的なCTX0E03細胞、（ii）ろ過した条件培地（0.02～0.2μmのフィルタ）、即ち微粒子、及び（iii）Integra CELLineシステムから得られるエキソソーム、において35個以下のcpが見られるmiRNAのリスト（予備miRNA qRT-PCR miscriptアレイ（Qiagen）の結果）。

B）参照（ハウスキーピング）遺伝子の算術平均な及び幾何平均

【０２２０】

A

成熟 miRNA	CTX0E03 標準培養	CM 微粒子	CM エキソソーム Integra
hsa-miR-21-5p	19.52	20.9	20.72
hsa-let-7a-5p	22.64	23.11	22.36
hsa-miR-125b-5p	21.64	23.25	21.74
hsa-miR-9-5p	22.58	23.64	22.94
hsa-miR-92a-3p	23.2	23.94	24.01
hsa-miR-24-3p	23.73	24.24	23.83
hsa-miR-20a-5p	23.45	24.43	25.06
hsa-miR-16-5p	23.14	24.72	24.32
hsa-miR-100-5p	23.28	24.74	23.04
hsa-let-7b-5p	24.67	24.75	23.7
hsa-let-7f-5p	23.93	25.09	23.86
hsa-miR-17-5p	24.56	25.24	26.13
hsa-miR-23b-3p	24.3	25.3	24.13
hsa-miR-106b-5p	24.4	25.41	26.16
hsa-miR-222-3p	23.25	25.49	23.17
hsa-let-7e-5p	24.57	25.58	24.16
hsa-miR-26a-5p	23.4	25.63	24.2
hsa-miR-181a-5p	25.16	25.7	24.32
hsa-miR-125a-5p	23.56	25.75	24.88
hsa-miR-103a-3p	24.65	25.8	25.77
hsa-let-7i-5p	24.37	25.98	24.23
hsa-miR-99a-5p	24.44	26.05	23.44
hsa-let-7c	25.76	26.12	24.07
hsa-let-7g	25.2	26.15	25.17
hsa-miR-195-5p	24.72	26.34	25.67
hsa-miR-93-5p	25.15	26.48	26.06
hsa-miR-22-3p	25.03	26.49	25.66
hsa-miR-20b-5p	26.03	26.86	27.42
hsa-miR-18a-5p	26.71	26.87	29.06
hsa-miR-15b-5p	25.1	26.92	26.43
hsa-let-7d-5p	26.84	26.96	26.52
hsa-miR-424-5p	25.56	27.72	26.66
hsa-miR-15a-5p	26.88	27.89	29.3
hsa-miR-130a-3p	27.23	28.26	28.49
hsa-miR-33a-5p	30.34	28.54	34.18
hsa-miR-128-	26.94	28.64	27.66

hsa-miR-218-5p	27.79	28.68	28.03
hsa-miR-301a-3p	29.53	28.69	31.57
hsa-miR-134	28.3	28.76	28.76
hsa-miR-101-3p	28.44	28.82	31.64
hsa-miR-7-5p	29.71	28.82	30.22
hsa-miR-18b-5p	28.83	28.85	35.47
hsa-miR-185-5p	28.34	28.99	28.13
hsa-miR-378-3p	29.76	29.25	28.97
hsa-miR-132-3p	28.65	29.32	27.72
hsa-miR-345-5p	28.49	29.52	29.66
hsa-miR-219-5p	30.58	29.52	32.7
hsa-miR-127-5p	30.05	29.95	31.11
hsa-miR-146b-5p	30.53	30.54	28.07
hsa-miR-10a-5p	27.1	30.69	28.32
hsa-miR-210	29.85	30.83	30.65
hsa-miR-129-5p	32.51	30.98	31.69
hsa-miR-137	31.46	31.13	30.95
hsa-miR-182-5p	28.34	31.64	31.27
hsa-miR-124-3p	33.38	31.71	33.07
hsa-miR-96-5p	29.77	32.27	34.67
hsa-miR-192-5p	31.42	32.42	32.52
hsa-miR-126-3p	31.73	32.44	32.05
hsa-miR-194-5p	31.11	32.49	31.72
hsa-miR-375	33.77	32.94	30.94
hsa-miR-205-5p	35	33.01	32.72
hsa-miR-183-5p	29.88	33.21	31.74
hsa-miR-10b-5p	29.6	33.22	30.79
hsa-miR-302a-3p	29.67	33.6	31.69
hsa-miR-214-3p	34.19	33.76	32.11
hsa-miR-141-3p	35	33.96	34.51
hsa-miR-302c-3p	31.6	34.29	33.93
hsa-miR-196a-5p	35	34.65	35.75
hsa-miR-150-5p	34.59	34.76	34.59
hsa-miR-155-p	32.04	35.75	32.76

B

	CTX0E03 標準培養	CM 微粒子	CM エキソソーム Integra
算術平均の平均値	23.54	23.82	24.79
幾何平均の平均値	23.48	23.8	24.62

【０２２１】

［実施例5］

タンパク質ドットブロットを使用するCTX0E03条件培地の分析

方法

・条件付けした24時間及び72時間条件培地（RMM及びITS培地）

・回収した培地を透析により「濃縮」し、タンパク質をビオチン化する（典型的な全タンパク質濃度は0.5mg/mlであると思われる）。次いで、培地をRaybiotech L507ヒトタンパク質アレイでインキュベートする（全タンパク質濃度0.1mg/ml）。洗浄及びHRP結合ストレプトアビジンを有するアレイのインキュベーション後に、タンパク質の存在を化学発光により検出する。アレイは定性的データを提供する（即ち、タンパク質は存在するが、他のタンパク質と比較した発現レベルは示されない）。

【０２２２】

結果

サイトカイン名	サイトカイン正式名	機能
EDA-A2	エクトジスプラシン-A2	皮膚付属器の適切な形成に関与している可能性がある。
ガレクチン-3*	ガレクチン-3	IgE に結合するガラクトース特異的レクチン。α-3, β-1 インテグリンと共に内皮細胞移動の CSPG4 による刺激を媒介する可能性がある。
IGFBP-2	インスリン様成長因子結合タンパク質 2	IGF-結合タンパク質は IGF の半減期を延長し、細胞培養に対する IGF の増殖促進効果を阻害又は刺激することが示されている。
IGFBP-rp1/IGFBP-7	インスリン様成長因子結合タンパク質関連タンパク質-1 インスリン様成長因子結合タンパク質-7	高アフィニティで IGF に結合する可溶性タンパク質
IL-1a†	インターロイキン 1α	炎症及び免疫の強力なメディエーター
LECT2†	白血球細胞由来ケモタキシン-2	好中球走化活性を有する。軟骨細胞増殖の正の調節物質でもある。
MCP-1†	単球走化性タンパク質 1	損傷及び感染部位への単球の動員に役割を果たす。
SPARC*	分泌タンパク質, 酸性システインに富む関連モジュラーカルシウム結合タンパク質 1 [前駆体]	細胞接着及び増殖を調節し、組織リモデリング及び血管新生において機能すると考えられるマトリックス細胞タンパク質
TIMP-1*	メタロプロテアーゼ-2 の組織阻害物質	メタロプロテアーゼ (コラゲナーゼ等)と複合体形成し、それらを不可逆的に不活性化する。また、in vitro において赤血球生成を媒介するが、IL-3 とは異なり、種特異的であり、ヒト及びマウス赤血球前駆細胞のみの増殖及び分化を刺激する。
トロンボスポンジン-1*	トロンボスポンジン-1	細胞外マトリックスと関連し、種々の生体機能、例えば強力な血管形成活性を有する多モジュラー分泌タンパク質
VEGF*	血管内皮細胞増殖因子	血管新生, 脈管新生及び内皮細胞増殖に活性を有する増殖因子
これらのタンパク質は、ある場合に発現を示すが、培地中に存在することもある。		
EGF R/ErbB1	上皮増殖因子受容体	EGF の受容体であるが、EGF ファミリーの他のメンバー(TGF-α, アンフィレギュリン, ベタセルリン, ヘパリン結合 EGF 様増殖因子等)の受容体でもある。

MDC *	ジスインテグリン及び メタロプロテアーゼドメイン 11 メタロプロテアーゼ様, ジスインテグリン様, 及びシステインリッチタンパク質 MDC	脳内インテグリンの推定リガンド。これは、非触媒メタロプロテアーゼ様タンパク質である。
エンドスタチン*	エンドスタチン	血管新生阻害物質; 内皮細胞移動を阻害するが、増殖に影響を及ぼさない可能性がある。VEGF とのバランスに働いて血管新生のレベルを維持する可能性がある。
ホリスタチン	ホリスタチン	分化促進(pro-differentiation)タンパク質を阻害することにより、分化に対する幹細胞複製を調節する。
Csk†	細胞質チロシンキナーゼ	この活性はインターロイキン 6 (IL-6)が誘導する分化に必要である。造血細胞の増殖及び分化に役割を果たす可能性がある。心内及び動脈内内皮細胞におけるシグナル伝達に関与する可能性がある。

* = 血管新生

† = 炎症

【０２２３】

［実施例6］

ヒト血管新生ELISAストリップ（Signosis）を使用する条件培地の分析方法

製造業者の指示に従ってヒト血管新生ELISAストリップ（Signosis）を利用した。新鮮なRMM培地及び24時間にわたり条件付けたCTX0E03 RMM培地を8種の血管新生サイトカイン、即ち腫瘍壊死因子α（TNFα）、インスリン様増殖因子1（IGF-1）、VEGFA、インターロイキン-6（IL-6）、bFGF、トランスフォーミング増殖因子β1（TGFβ1）、EGF及びレプチンに関して分析した。特定の血管新生サイトカインに対する各一次抗体でコーティングしたストリップの個々のウェルに試験用サンプルをロードした。分光計により450nmでの吸光度を測定した。血管新生サイトカインの濃度は試験用サンプルの色強度に正比例した。

結果を図3に示す。

【０２２４】

［実施例7］

Integra CELLINE-CTX0E03細胞から微粒子を産生するための使い捨てバイオリアクタ

細胞株からの効率的な微粒子の産生及び回収は、最大密度の細胞に関する最適培養条件の維持に依存する。細胞に供給される酸素若しくは栄養素の任意の制限又は代謝老廃物（waste metabolic product）の蓄積により培養の寿命が制限され、そのため微粒子の産生が制限されるだろう。

【０２２５】

2区画のCELLine AD 1000は、10kDaの半透膜によって、より大きな培地リザーバから分離されている小さな細胞区画内に、マトリクスインレイ（matrix inlay）に付着した接着細胞を収容するように設計されている。この膜により、より小さな細胞区画内において細胞により産生される任意の微粒子を濃縮しつつ、栄養素の連続拡散及び老廃物の除去が可能になる。大きな容積容量（1リットル）の培地区画に起因して、本システムは、培地の変更を必要とすることなく、より長期間にわたり高密度培養を維持する可能性を有する。中皮腫腫瘍細胞の培養物からのエキソソームの産生がMitchell他、2008で説明されている

。

【０２２６】

方法

CELLine AD1000の最適な性能を得るために、25mlの完全増殖培地（増殖因子及び4OHTを有するRMM）をフラスコの培地区画中に配置して半透膜を予め濡らす。室温で5分にわたりフラスコを放置した後、37℃で最低1時間にわたり15mlのラミニン溶液（DMEM/F12中に20μg/ml）を細胞区画に添加することにより、マウスラミニンでマトリクスインレイをコーティングする。ラミニン溶液を除去し、15mlの温かいDMEM/F12を細胞区画に添加して過剰なラミニンを除去する。マトリクスインレイが乾燥するのを避け、合計で15mlの完全増殖培地中の約15×10^6個のCTX0E03細胞を緩やかに導入する。細胞区画から気泡を注意深く除去する。更に460mlの完全増殖培地を細胞区画に慎重に添加した後に、37℃で5％CO_2中において終夜にわたりフラスコをインキュベートする。翌日、細胞区画から培地を除去して15mlの予め温めた増殖培地と置き換える。

【０２２７】

7日ごとに、細胞区画から微粒子/培地を回収する。5分にわたり1500rpmで培地を遠心分離して細胞残屑を除去し、-80℃で貯蔵する。更に15mlの予め温めた完全増殖培地を細胞区画中に慎重に添加し、485mlの完全増殖培地を培地区画に慎重に添加し、更に7日わたりインキュベートする。100K MWCOろ過により微粒子を単離する。必要に応じて繰り返す。

【０２２８】

図4Aは、通常の培養条件（3日T175）と比較した、Integraシステムを使用して精製した微粒子を含有する15mlの培地から抽出したタンパク質の量を示す。BCAアッセイで測定したタンパク質のミリグラムを示す。図5は、260/280nmで測定した、単離した全RNAの対応する量を示す。

【０２２９】

マーカー特性決定により、両方の精製集団（微小胞及びエキソソーム）がCD63及びCD81を発現することが示された（FACSにより決定した-図4B）。エキソソームのみが、エンドソームのマーカーAlixを発現する（ウエスタンブロットにより決定した、データを示さず）。

【０２３０】

［実施例8］

効果アッセイ

（A）創傷治癒アッセイにおける、CTX0E03条件培地の機能とCTX0E03細胞由来の精製エキソソームの機能との比較

方法-創閉鎖/掻創アッセイ

・12ウェルプレートのウェル当たり0.25×10^6個のNHDF（正常ヒト皮膚線維芽細胞）を播種してコンフルエントにさせる（24時間）
・24時間にわたり増殖因子を除去する
・細胞を除去し（掻創）、エキソソーム/条件培地と共にインキュベートする
・影響を受けた領域を48時間にわたって撮像する
・Image Jを使用して面積を評価する。

【０２３１】

結果

【表２】

表 2: CTX0E03 条件培地において培養した又は精製エキソソームの添加時の正常ヒト皮膚線維芽細胞 (NHDF)の遊走活性を示す創閉鎖/掻創アッセイ

	創閉鎖 (%)		
	0h	24h	48h
CTX0E03 条件培地	0%	100%	
2ug/ml エキソソーム	0%	95.4%	100%
対照	0%	48.1%	49.7%

【０２３２】
創閉鎖を、0時間で決定した最初の創傷部に関して細胞で覆われた面積として算出した。創閉鎖を0時間での最初の創傷部に対する割合（％）として表す。これらのデータを図6Aにおいて写真でも示す。

【０２３３】
図6Bは、10μgのCTX0E03エキソソームが、基礎の条件（エキソソームなし）と比較して72時間後に（HDNF掻創/遊走アッセイで決定した場合に）創閉鎖を有意に増加させることを示す。

【０２３４】
更なる実験により、（増殖因子及び4OHTの存在下でIntegra CELLineバイオリアクタを使用する）連続培養中の全ての時点（2～6週目）から精製された（超遠心分離により精製し、BCAタンパク質アッセイにより定量化し、CD63及びCD81に関して99％を超えて陽性であると特性決定され、対応する微粒子画分と比較してAlixの高い発現レベルを有する）エキソソームは、基礎の条件と比較して5～10μg/mlのピーク反応で線維芽細胞の遊走及び創傷治癒を有意に増進することを確認した。図6Cは、基礎の条件、2μg/mlのエキソソーム、6μg/mlのエキソソーム、20μg/mlのエキソソーム及びLSGS（低血清増殖サプリメント）陽性対照に関する治癒面積の％を示す。図6Cの上のパネルは、Integra Cellineシステム中で2週にわたって培養したCTX0E03細胞から単離したエキソソームを示し、図6Cの下のパネルは、Integra Cellineシステム中で6週にわたって培養したCTX0E03細胞から単離したエキソソームを示す。これらのデータは、試験した全てのNSCエキソソームの全ての用量で基礎の条件と比較して治癒が増進し、治癒の％が72時間後に陽性対照（LSGS）に近づくことを示す。

【０２３５】
図6Cにおけるデータはまた、6週にわたって培養したNSCから単離したエキソソームでは（2週のエキソソームよりも）速く治癒し、全ての用量に関してわずか48時間後に治癒の％が100％に達することを示す。

【０２３６】
図6Dは、インビボで統計的に有意な程度でCTX0E03細胞が創傷治癒を刺激したことを裏付ける、マウスにおけるインビボの注射創傷アッセイ（injection wound assay）の結果を示す。これは、インビボで微粒子の効果を確認するのに使用され得る簡便なインビボのバイオアッセイである。

【０２３７】
結論　ヒト神経幹細胞株CTX0E03から放出されたエキソソームは創傷治癒のインビトロモデルにおいて線維芽細胞の遊走を増進し、このことは、エキソソームはhNSCが修復を促進する機序に寄与することができることを示唆する。6週にわたって培養した細胞から単離

したエキソソームは、2週にわたって培養した細胞から単離した細胞と比較してインビトロでの創傷治癒効果の改善を示す。

【０２３８】

（B）血管新生の刺激

ibidi μ-スライドを使用して、初代HUVECに対する血管新生を検出するための24時間アッセイを行い、Wimtube検出及び（管長及び分岐点の）分析を自動化した。1週目に、2週目に、3週目に、4週目に及び6週目にIntegraフラスコから回収した微小胞をHUVECに添加し、血管新生を基礎のHUVEC（添加なし）と比較した。LSGS（低血清増殖サプリメント）を陽性対照として使用した。図12に図示した結果は、神経幹細胞微粒子が血管新生を増進させることを示す。更に、これらのデータは、1週又は2週にわたって培養した微小胞によりもたらされる場合に比べて血管新生における大きな増進が、少なくとも3週間の培養後（即ち、Integra cellineバイオリアクタ中における3週の、4週の及び6週の培養後）に回収した微小胞によりもたらされることを示す。少なくとも3週にわたって培養した微小胞は、統計的に有意なレベルまで、及び陽性対照のレベルに達するレベルまで血管新生を刺激した。血管新生における最も大きな増進は4週後に回収した微小胞によりもたらされることが示されており、この微小胞は、陽性対照と同じ量まで血管新生を刺激した。

これらのデータは、hNSC微小胞が血管新生を刺激することを示す。

【０２３９】

（C）神経突起伸長の刺激

1μmのインサートを介してPC-12細胞を使用して神経突起伸長を決定した。72時間後にPC-12細胞体を除去し、インサートの下側の神経突起を染色した。次いで、染料を抽出して分光光度計で定量化した。2週目にIntegraフラスコから回収した微小胞を0.03μg、0.3μg及び3μgでそれぞれ100ng/mlのNGF（神経増殖因子）と共に細胞に添加した。神経突起伸長を基礎の細胞（添加なし）と比較した。100ng/mlのNGFを対照として使用した。図13に示すように、3μgのhNSC微小胞の添加により、NGFのみの添加と比較して神経突起伸長が顕著に増進した。

これらのデータは、hNSC微小胞が神経突起伸長を刺激することを示す。

【０２４０】

［実施例9］

Integra CELLineシステムを使用するエキソソームの産生

実施例7で説明したようにIntegra CELLineシステムを使用してCTX0E03細胞を培養してエキソソームを精製した。3週目の時点でCELLineシステムを使用して、及び対照として当分野で日常的に使用する標準的なT175システムを使用して、培地から精製したエキソソームの濃度を、（タンパク質含有量を評価するためのBCAアッセイを使用して）定量化した。図7は、Integra CELLineシステムを使用するエキソソームの産生が従来の培養（T175フラスコ）を使用する場合と比較して数倍に増加していることを示す。

【０２４１】

実施例7で説明したように、Integra CELLineシステムを使用して3週の期間にわたってCTX0E03細胞を培養し、エキソソームを精製して定量化するために、1週目、2週目、及び3週目に培地を回収した。図8Aは、微粒子の産生が3週の培養期間にわたって指数関数的に増加し、微粒子の効率的で大規模な産生を可能にすることを示す。次いで、単一のIntegra CELLineフラスコから回収したエキソソームの濃度を1～6週の連続的なCTX0E03培養にわたってモニタリングし、結果を以下に及び図8に示した。

【０２４２】

Integra 時点	エキソソームの総量 (ug)	エキソソーム ug/ml
1 週目	12	0.80
2 週目	112	7.47
3 週目	88	5.87
4 週目	148	9.87
5 週目	240	16.00
6 週目	440	29.33

【０２４３】
これらの結果は、数週間にわたって、典型的には少なくとも3週にわたって、幹細胞を多区画のバイオリアクタ中で培養する場合にエキソソームの産生が驚くほど増加することを示す。
【０２４４】
［実施例10］
Integra CELLine及び標準的な（T175）培養システムから得た細胞の表現型の特性決定
実施例7で説明したように、Integra CELLineバイオリアクタ及び標準的な培養を使用してCTX0E03細胞を培養した。マーカー特異的抗体及び蛍光顕微鏡を使用して、DCXタンパク質マーカー及びGFAPタンパク質マーカーの発現を確認した。
【０２４５】
細胞から得たサンプル中において、DCXマーカー、GALCマーカー、GFAPマーカー、TUBB3マーカー、GDNFマーカー及びIDOマーカーの発現をqRT-PCRで検出した。マーカーの発現を、標準的な（T175）培養から得た微粒子と、3週間培養したIntegra CELLineシステムから得たエキソソームとの間で比較し、標準的な（T175）培養におけるCTX0E03細胞での発現レベルであるベースラインに対して評価した。
【０２４６】
本発明者らは、標準から得た対照細胞と比較してIntegra CELLineシステムから得た細胞のマーカー発現の著しい差異を観測した。標準的な培養物から得た対照細胞と比較して、Integra CELLineシステム中で培養した細胞では、部分的に分化した細胞のマーカーが数倍に増加した（図9）。特に顕著な変化は、マーカーDCX1（ダブルコルチン-神経系統への侵入に関するマーカー）、GFAP（グリア細胞線維性酸性タンパク質-星状膠細胞系統への侵入に関するマーカー）、GDNF（グリア細胞由来神経栄養因子）及びIDO（インドールアミン2,3-ジオキシゲナーゼ）の発現の増加である。このことは、2区画のバイオリアクタ中で培養した神経幹細胞が神経系統（DCX+）又は星状膠細胞系統（GFAP+）の細胞に部分的に分化することを示す。Integra培養細胞におけるDCX及びGFAPの発現を蛍光顕微鏡で確認し、このことは、Integra CELLineバイオリアクタを使用して培養したCTX0E03細胞が、標準的なCTX0E03細胞に比べてより分化した神経細胞発現型を有することを証明する。
【０２４７】
［実施例11］
Integra CELLine培養物から得たエキソソームのmiRNA発現プロファイル及び標準的な（T175）培養物から得た微粒子のmiRNA発現プロファイルの特性決定
単一区画のT-175フラスコ中において、Integra CELLine培養を使用して及び標準的な培養で3週にわたってCTX0E03細胞を培養した。実施例7で説明したように、Integra培養物からエキソソームを精製し、標準的なT-175培養物から微粒子を精製した。標準的な培養又はIntegra CELLineシステムから得たエキソソーム及び微粒子中で発現した様々なmiRNAの相対的な発現レベルを、製造業者の指示に従ってqRT-PCRパネル（Qiagen）を使用するmiRNAアレイで決定し、標準的なCTX0E03細胞株対照群と比較した上方制御レベル及び下方制

御レベルの倍率に変換した（表3及び図10参照）。これらのデータは、3週にわたるIntegra CELLine培養システムから得たエキソソーム、微粒子、及び標準的な単一のフラスコ培養から得た細胞の間で示差的なmiRNA発現プロファイルを示す。

【表３】

表 3: 標準培養物から得られた微粒子又は Integra CELLine システムからのエキソームにおける、対照(CTX0E03 細胞)に対する miRNA の調節倍率

	標準培養物 (微粒子)	Integra (エキソソーム)
miRNA	対照(CTX0E03 細胞)に対する調節倍率	
hsa-miR-146b-5p	-1.0222	10.5805
hsa-let-7c	-1.6954	4.7678
hsa-miR-99a-5p	-3.5349	3.3714
hsa-miR-132-3p	-1.9163	3.088
hsa-miR-378-3p	1.2731	3.0175
hsa-miR-181a-5p	-1.7431	2.9147
hsa-let-7b-5p	-1.4658	2.7574
hsa-miR-100-5p	-3.208	1.977
hsa-let-7e-5p	-2.7101	1.9274
hsa-miR-23b-3p	-2.3322	1.8834
hsa-miR-185-5p	-1.9119	1.8532
hsa-let-7i-5p	-3.5677	1.8404
hsa-let-7a-5p	-1.851	1.7736
hsa-let-7d-5p	-1.5	1.7654
hsa-let-7g-5p	-2.2527	1.7092
hsa-miR-222-3p	-5.8092	1.6779
hsa-let-7f-5p	-2.8712	1.5948
hsa-miR-218-5p	-1.9611	1.5619
hsa-miR-24-3p	-1.6721	1.5511
hsa-miR-9-5p	-2.2475	1.4109
hsa-miR-126-3p	-2.1263	1.203
hsa-miR-134	-1.6567	1.1783
hsa-miR-128	-3.5842	1.0743
hsa-miR-155-5p	-8.8458	1.0425
hsa-miR-22-3p	-3.4782	-1.0023
hsa-miR-26a-5p	-5.3579	-1.0187
hsa-miR-210	-2.3107	-1.0449
hsa-miR-92a-3p	-1.9885	-1.0693
hsa-miR-93-5p	-3.056	-1.1701
hsa-miR-424-5p	-4.9189	-1.2086
hsa-miR-195-5p	-3.8951	-1.2541
hsa-miR-127-5p	-1.1316	-1.2953
hsa-miR-21-5p	-2.8845	-1.3044
hsa-miR-103a-3p	-2.6482	-1.3287
hsa-miR-16-5p	-3.5267	-1.3692
hsa-miR-125a-5p	-5.1159	-1.434
hsa-miR-10a-5p	-14.4701	-1.434
hsa-miR-10b-5p	-15.1194	-1.4373
hsa-miR-345-5p	-2.5521	-1.4406
hsa-miR-130a-3p	-2.6178	-1.5728
hsa-miR-15b-5p	-4.4025	-1.6058
hsa-miR-20b	-2.1312	-1.6096
hsa-miR-20a-5p	-2.3107	-1.8319
hsa-miR-17-5p	-1.9296	-1.8319

hsa-miR-7-5p	-1.5105	-2.042
hsa-miR-106b-5p	-2.4708	-2.1287
hsa-miR-101-3p	1.4794	-2.4453
hsa-miR-302a-3p	-18.0634	-2.4623
hsa-miR-301a-3p	1.4931	-2.5257
hsa-miR-183-5p	-13.9772	-2.5847
hsa-miR-219-5p	1.6994	-2.7321
hsa-miR-18a-5p	-1.4028	-3.2792
hsa-miR-15a-5p	-2.4766	-3.3714
hsa-miR-182-5p	-12.5099	-4.9588
hsa-miR-33a-5p	2.7927	-9.1472
hsa-miR-96-5p	-7.0047	-18.9396
hsa-miR-18b-5p	-1.3519	-49.18

【０２４８】
以下の式を使用して生データから値を算出した。
【数１】

$$\Delta CT\,(\text{サンプル/対照}) = \text{平均 CT (GOI)} - \text{平均 CT (HKG)}$$

$$\text{発現倍率 (サンプル/対照)} = 2^{-(\text{平均 }\Delta CT)}$$

$$\text{変化倍率} = \frac{\text{発現倍率 (サンプル)}}{\text{発現倍率 (対照)}}$$

$$(\text{変化倍率}) > 1 \text{ の場合、} (\text{調節倍率}) = (\text{変化倍率})$$

$$(\text{変化倍率}) < 1 \text{ の場合、} (\text{調節倍率}) = -\left(\frac{1}{\text{変化倍率}}\right)$$

【０２４９】
［式中、
CT=サイクル閾値
GOI=目的の遺伝子（調べたmiRNA）
HKG=ハウスキーピング遺伝子（データを正規化するために使用した参照miRNA）］。
【０２５０】
［実施例12］
全miRNA分析
細胞は、細胞外空間への放出で決定される微粒子中にRNAをシャトルすることができる。このことにより、遺伝子的にコードされたメッセージの細胞間での伝達が可能になる。本明細書において、細胞外RNAを「シャトルRNA（shuttle RNA）」と総称する。次世代シーケンシングを使用して、CTX0E03神経幹細胞（NSC）から放出された非コードRNA種を包括的に分析することを目的とした。
【０２５１】
非コードRNAは2つのカテゴリー（低分子及び長鎖）に分けられる。低分子の非コードRNAバイオタイプとして、リボソームRNA（rRNA）、核小体低分子（snoRNA）、核内低分子RNA（snRNA）、マイクロRNA（miRNA）、多種多様な他のRNA（misc_RNA、例えばRMRP、ヴォ

ールトRNA、後生動物SRP及びRNY）が挙げられ、長鎖の非コードRNAバイオタイプとして、長鎖非コードRNA（lncRNA）及び長鎖遺伝子間非コードRNA（lincRNA）が挙げられる。

【０２５２】

本明細書において、NSC由来のエキソソーム及び微小胞（MV）から放出された、低分子の及び長鎖の非コードRNA等のシャトルRNAを特性決定して、プロデューサーNSC（producer NSC）のRNA含有量と比較した。

【０２５３】

A）Agilent RNAバイオアナライザで同定した細胞、エキソソーム及び微小胞中における全RNA含有量

図14に示すように、エキソソーム及び微小胞の両方におけるRNAは、低分子RNA種から主に成る。大部分のヌクレオチド（nt）は、分子ラダーと対比して示すように200以下であった。

【０２５４】

B）RNAの組成

大規模シーケンシング（次世代シーケンシング）により低分子RNAのシーケンシングライブラリを作成し、シャトル及び細胞内RNAの組成を調べた。結果を図15に示す。

【０２５５】

C）標準的な（T175）培養からのCTX0E03細胞、微小胞及びエキソソームmiRNA発現の大規模シーケンシング

大規模シーケンシングはcDNAライブラリの調製及びその後のシーケンシングに基づいており、微小胞及びエキソソームにおける様々なmiRNAの全配列の読み取りに関する情報を提供する。これらの大規模配列データにより、上記に示すqRT-PCRアレイデータが補完され、細胞及び微粒子のmiRNAプロファイルが包括的に分析される。qRT-PCRアレイ分析とは異なり、大規模シーケンシングはプローブアレイ中に存在する配列の同定に限定されず、そのため、同定される配列は前もって既知である必要はない。大規模シーケンシングはまた、直接読み取ることもでき、非常に短い配列を配列決定する能力も有する。しかしながら、大規模シーケンシングは、発現が低い転写産物の検出に適していない。

【０２５６】

方法

分画遠心で精製した、親細胞並びにそのエキソソーム（30～100μm）及び微小胞（100～1000μm）中における様々なmiRNAの存在を、各サンプルに関して1つのタグ付きmiRNAライブラリの構築後の大規模シーケンシングで同定した。

【０２５７】

更に、高度にシャトルされたmiRNA（例えばhsa-miR-1246）に特異的なプライマーを設計し、インビボでの移植後にリアルタイム逆転写PCR（qRT-PCR）で使用してエキソソーム/微小胞を追跡した。

【０２５８】

大規模シーケンシングをGATC Biotech（ドイツ）で実施し、該大規模シーケンシングは、各サンプルに関するタグ付きmiRNAライブラリの調製及びその後のシーケンシング並びにmiRBaseの精査を必要とした。

【０２５９】

・タグ付きmiRNAライブラリの構築（22～30nt）

・各サンプルの3'末端及び5'末端の両方に特異的RNAアダプターをライゲーションし、その後に逆転写、増幅及び低分子RNAライブラリの精製を行うことにより、シーケンシングライブラリを作成した（含有される低分子RNA画分のサイズ範囲は22～30nt）。

【０２６０】

・Illumina HiSeq 2000（シングルリード）によるシーケンシング

・Illumina HiSeq 2000（シングルリード）を使用してシーケンシングを実施した。1プールの分析は最大45,000,000シングルリードを含むことができ、各リード長は最大50塩基である。FastQファイル（配列及び品質スコア）を使用してシーケンシングの品質をコン

トロールした。
【０２６１】
・既知のmiRNAの同定を以下のように実施した：
・得られた配列からRNAアダプターを切り取り、生データをきれいにした。生データをクラスター化し、各クラスターに関して多くのリードを付与した。miRNAをmiRBaseの精査（Ssearch）により同定した。
【０２６２】
結果
多くの微小胞及びエキソソームではmiRNAが細胞に比べて豊富であり、このことは、細胞が、細胞外へ放出するためにmiRNAを特異的に選別することを示した。更に、miRNAの含有量はエキソソーム及び微小胞の両方で類似しており、このことは、排出された微小胞中に選択的にmiRNAを取り込む共通の器官を示す。理論に拘束されることを望まないが、このことは、分泌された微小胞及びエキソソームにおけるmiRNA含有量を、hNSCサブタイプを同定するためのフィンガープリントとして使用することができることを示しうる。
【０２６３】
従って、大規模シーケンシング分析により、hNSCエキソソーム及び微小胞の両方において、これまで報告されていない特有の一連のmiRNAが同定された。排出された小胞におけるmiRNAの含有量は類似するが、hNSCと比較して選択的なmiRNA取り込みを示した。これらの知見から、hNSCに関してこれまで説明されていないシャトルmiRNAによって媒介される生物学的効果を支持することができた。
【０２６４】
結果を以下の表4～9に詳述する。データを図11にも示し、図11は、微小胞及びエキソソームに存在するmiRNAのプロファイルが細胞と比較して有意に異なることを明確に示す。要約すると、これらのデータは、細胞と比較して微小胞及びエキソソーム中におけるhsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532の量（リード数）の大幅な増加を示す。大幅な増加はhsa-miR-4508、hsa-miR-4516、has-miR-3676-5p及びhsa-miR-4485においても見られる。hsa-let-7a-5p、has-miR-92b-3p、has-miR-21-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-100-5p及びhsa-99b-5p等の特定のmiRNAの量（リード数）の大幅な減少が見られる。
【０２６５】
エキソソーム中におけるhsa-miR-1246、hsa-miR-4488、hsa-miR-4492、hsa-miR-4508、hsa-miR-4516及びhsa-miR-4532それぞれの存在をqRT-PCRで確認した（データは示さず）。
【０２６６】
エキソソーム及び微小胞での大規模シーケンシングの結果を細胞と比較した相対変化倍率としてプロットすることにより、エキソソーム及び微小胞中のhsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532が細胞と比較して有意に上方制御されることが確認される。この比較により、エキソソーム及び微小胞の両方においてmiRNAであるhsa-miR-3195が最も上方制御されるmiRNAであることも明らかになる。hsa-miR-3195の絶対リード数はエキソソーム及び微小胞に関して約40の範囲内であるが、hsa-miR-3195は細胞には存在しない。
【０２６７】
上記の実施例11で述べたように、エキソソーム、微粒子及び親細胞におけるmiRNA含有量も試験し、PCRアレイ分析を使用して確認した。qRT-PCRにより、以下のmiRNAの存在が分かった：hsa-let-7g-5p、hsa-miR-101-3p、hsa-miR-10a-5p、hsa-miR-10b-5p、hsa-miR-125b-5p、hsa-miR-128、hsa-miR-130a-3p、hsa-miR-134、hsa-miR-137、hsa-miR-146b-5p、hsa-miR-15a-5p、hsa-miR-15b-5p、hsa-miR-16-5p、hsa-miR-17-5p、hsa-miR-181a-5p、hsa-miR-182-5p、hsa-miR-185-5p、hsa-miR-18b-5p、hsa-miR-192-5p、hsa-miR-194-5p、hsa-miR-195-5p、hsa-miR-20a-5p、hsa-miR-20b-5p、hsa-miR-210、hsa-miR-21-5p、hsa-miR-218-5p、hsa-miR-219-5p、hsa-miR-222-3p、hsa-miR-22-3p、hsa-miR-23b-3p、hsa

-miR-24-3p、hsa-miR-26a-5p、hsa-miR-301a-3p、hsa-miR-302a-3p、hsa-miR-302c-3p、hsa-miR-345-5p、hsa-miR-378a-3p、hsa-miR-7-5p、hsa-miR-92a-3p、hsa-miR-93-5p、hsa-miR-9-5p、hsa-miR-96-5p、及びhsa-miR-99a-5p。

【表４】

表 4: 細胞 EH

細胞: CTX0E03 07EH				
miRNA	miRNA.配列	配列番号	miRNA長さ	リード数
hsa-let-7a-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	1	22	75110
hsa-miR-10a-5p	UACCCUGUAGAUCCGAAUUUGUG	2	23	52927
hsa-miR-100-5p	AACCCGUAGAUCCGAACUUGUG	3	22	52451
hsa-miR-99b-5p	CACCCGUAGAACCGACCUUGCG	4	22	39457
hsa-miR-486-5p	UCCUGUACUGAGCUGCCCCGAG	5	22	20310
hsa-miR-27b-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	6	21	16900
hsa-miR-92a-3p	UAUUGCACUUGUCCCGGCCUGU	7	22	14359
hsa-miR-191-5p	CAACGGAAUCCCAAAAGCAGCUG	8	23	12591
hsa-miR-21-5p	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	9	22	11943
hsa-miR-98	UGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUU	10	22	11760
hsa-let-7f-5p	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU	11	22	10349
hsa-miR-26a-5p	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	12	22	9900
hsa-miR-92b-3p	UAUUGCACUCGUCCCGGCCUCC	13	22	9794
hsa-miR-127-3p	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU	14	22	7064
hsa-miR-181a-5p	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU	15	23	6956
hsa-miR-182-5p	UUUGGCAAUGGUAGAACUCACACU	16	24	5531
hsa-let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUU	17	22	5103
hsa-miR-379-5p	UGGUAGACUAUGGAACGUAGG	18	21	4746
hsa-miR-146b-5p	UGAGAACUGAAUUCCAUAGGCU	19	22	4552
hsa-miR-21-3p	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU	20	21	4089
hsa-miR-1246	AAUGGAUUUUUGGAGCAGG	21	19	3973
hsa-let-7i-5p	UGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUU	22	22	3015
hsa-miR-4532	CCCCGGGGAGCCCGGCG	23	17	2847
hsa-miR-183-5p	UAUGGCACUGGUAGAAUUCACU	24	22	2695
hsa-miR-151a-3p	CUAGACUGAAGCUCCUUGAGG	25	21	2681
hsa-miR-501-3p	AAUGCACCCGGGCAAGGAUUCU	26	22	2649
hsa-let-7e-5p	UGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUU	27	22	2449
hsa-let-7b-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU	28	22	2435
hsa-miR-16-5p	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	29	22	2173
hsa-miR-30a-5p	UGUAAACAUCCUCGACUGGAAG	30	22	2001
hsa-miR-30d-5p	UGUAAACAUCCCCGACUGGAAG	31	22	1977
hsa-miR-409-5p	AGGUUACCCGAGCAACUUUGCAU	32	23	1871
hsa-miR-22-3p	AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU	33	22	1826
hsa-miR-4492	GGGGCUGGGCGCGCGCC	34	17	1754
hsa-miR-125a-5p	UCCCUGAGACCCUUUAACCUGUGA	35	24	1451
hsa-miR-222-3p	AGCUACAUCUGGCUACUGGGU	36	21	1422
hsa-miR-151a-5p	UCGAGGAGCUCACAGUCUAGU	37	21	1386

hsa-miR-181b-5p	AACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGU	38	23	1382
hsa-miR-221-5p	ACCUGGCAUACAAUGUAGAUUU	39	22	1363
hsa-miR-186-5p	CAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCU	40	22	1225
hsa-miR-423-5p	UGAGGGGCAGAGAGCGAGACUUU	41	23	1080
hsa-miR-125b-5p	UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA	42	22	1002
hsa-let-7g-5p	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU	43	22	959
hsa-miR-500a-3p	AUGCACCUGGGCAAGGAUUCUG	44	22	923
hsa-miR-30e-5p	UGUAAACAUCCUUGACUGGAAG	45	22	911
hsa-miR-27a-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCCGC	46	21	867
hsa-miR-409-3p	GAAUGUUGCUCGGUGAACCCCU	47	22	865
hsa-miR-148b-3p	UCAGUGCAUCACAGAACUUUGU	48	22	856
hsa-miR-125b-1-3p	ACGGGUUAGGCUCUUGGGAGCU	49	22	851
hsa-miR-410	AAUAUAACACAGAUGGCCUGU	50	21	848
hsa-miR-381	UAUACAAGGGCAAGCUCUCUGU	51	22	842
hsa-miR-99a-5p	AACCCGUAGAUCCGAUCUUGUG	52	22	773
hsa-let-7d-5p	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	53	22	765
hsa-miR-148a-3p	UCAGUGCACUACAGAACUUUGU	54	22	702
hsa-miR-23a-3p	AUCACAUUGCCAGGGAUUUCC	55	21	654
hsa-miR-28-3p	CACUAGAUUGUGAGCUCCUGGA	56	22	593
hsa-miR-423-3p	AGCUCGGUCUGAGGCCCCUCAGU	57	23	557
hsa-miR-9-5p	UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGA	58	23	518
hsa-miR-23b-3p	AUCACAUUGCCAGGGAUUACC	59	21	508
hsa-miR-941	CACCCGGCUGUGUGCACAUGUGC	60	23	492
hsa-miR-4488	AGGGGGCGGGCUCCGGCG	61	18	485
hsa-miR-103a-3p	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA	62	23	459
hsa-miR-25-3p	CAUUGCACUUGUCUCGGUCUGA	63	22	436
hsa-miR-889	UUAAUAUCGGACAACCAUUGU	64	21	411
hsa-miR-378a-3p	ACUGGACUUGGAGUCAGAAGG	65	21	410
hsa-miR-30c-5p	UGUAAACAUCCUACACUCUCAGC	66	23	378
hsa-miR-4485	UAACGGCCGCGGUACCCUAA	67	20	358
hsa-miR-125b-2-3p	UCACAAGUCAGGCUCUUGGGAC	68	22	352
hsa-miR-671-3p	UCCGGUUCUCAGGGCUCCACC	69	21	350
hsa-miR-361-5p	UUAUCAGAAUCUCCAGGGGUAC	70	22	337
hsa-miR-30e-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUACAGC	71	22	294
hsa-miR-1271-5p	CUUGGCACCUAGCAAGCACUCA	72	22	288
hsa-miR-589-5p	UGAGAACCACGUCUGCUCUGAG	73	22	282
hsa-miR-374a-5p	UUAUAAUACAACCUGAUAAGUG	74	22	275
hsa-miR-769-5p	UGAGACCUCUGGGUUCUGAGCU	75	22	263
hsa-miR-345-5p	GCUGACUCCUAGUCCAGGGCUC	76	22	249
hsa-miR-30a-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGC	77	22	236
hsa-miR-15b-5p	UAGCAGCACAUCAUGGUUUACA	78	22	229
hsa-miR-221-3p	AGCUACAUUGUCUGCUGGGUUUC	79	23	225
hsa-miR-31-5p	AGGCAAGAUGCUGGCAUAGCU	80	21	213
hsa-miR-342-3p	UCUCACACAGAAAUCGCACCCGU	81	23	205
hsa-miR-136-3p	CAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCU	82	22	203

hsa-miR-493-3p	UGAAGGUCUACUGUGUGCCAGG	83	22	192
hsa-miR-720	UCUCGCUGGGGCCUCCA	84	17	154
hsa-miR-7-5p	UGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGU	85	23	154
hsa-miR-130b-3p	CAGUGCAAUGAUGAAAGGGCAU	86	22	150
hsa-miR-192-5p	CUGACCUAUGAAUUGACAGCC	87	21	138
hsa-miR-493-5p	UUGUACAUGGUAGGCUUUCAUU	88	22	115
hsa-miR-204-5p	UUCCCUUUGUCAUCCUAUGCCU	89	22	113
hsa-miR-26b-5p	UUCAAGUAAUUCAGGAUAGGU	90	21	107
hsa-miR-1307-5p	UCGACCGGACCUCGACCGGCU	91	21	105
hsa-let-7d-3p	CUAUACGACCUGCUGCCUUUCU	92	22	103
hsa-miR-340-5p	UUAUAAAGCAAUGAGACUGAUU	93	22	100
hsa-miR-134	UGUGACUGGUUGACCAGAGGGG	94	22	99
hsa-miR-432-5p	UCUUGGAGUAGGUCAUUGGGUGG	95	23	97
hsa-miR-30b-5p	UGUAAACAUCCUACACUCAGCU	96	22	96
hsa-miR-320a	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGA	97	22	95
hsa-miR-100-3p	CAAGCUUGUAUCUAUAGGUAUG	98	22	94
hsa-miR-744-5p	UGCGGGGCUAGGGCUAACAGCA	99	22	89
hsa-miR-181a-3p	ACCAUCGACCGUUGAUUGUACC	100	22	86
hsa-miR-34a-5p	UGGCAGUGUCUUAGCUGGUUGU	101	22	85
hsa-miR-181a-2-3p	ACCACUGACCGUUGACUGUACC	102	22	81
hsa-miR-190a	UGAUAUGUUUGAUAUAUUAGGU	103	22	79
hsa-miR-132-3p	UAACAGUCUACAGCCAUGGUCG	104	22	78
hsa-miR-181c-5p	AACAUUCAACCUGUCGGUGAGU	105	22	76
hsa-miR-29a-3p	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA	106	22	75
hsa-miR-301a-3p	CAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAGC	107	23	75
hsa-miR-411-5p	UAGUAGACCGUAUAGCGUACG	108	21	75
hsa-miR-128	UCACAGUGAACCGGUCUCUUU	109	21	74
hsa-miR-4516	GGGAGAAGGGUCGGGGC	110	17	74
hsa-miR-425-5p	AAUGACACGAUCACUCCCGUUGA	111	23	72
hsa-miR-130b-5p	ACUCUUUCCCUGUUGCACUAC	112	21	71
hsa-miR-130a-3p	CAGUGCAAUGUUAAAAGGGCAU	113	22	67
hsa-miR-30d-3p	CUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGC	114	22	65
hsa-miR-654-5p	UGGUGGGCCGCAGAACAUGUGC	115	22	65
hsa-miR-93-5p	CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAG	116	23	65
hsa-miR-487b	AAUCGUACAGGGUCAUCCACUU	117	22	63
hsa-miR-484	UCAGGCUCAGUCCCCUCCCGAU	118	22	62
hsa-miR-24-3p	UGGCUCAGUUCAGCAGGAACAG	119	22	61
hsa-miR-4677-3p	UCUGUGAGACCAAAGAACUACU	120	22	61
hsa-miR-149-5p	UCUGGCUCCGUGUCUUCACUCCC	121	23	56
hsa-miR-197-3p	UUCACCACCUUCUCCACCCAGC	122	22	56
hsa-miR-96-5p	UUUGGCACUAGCACAUUUUUGCU	123	23	56
hsa-miR-1307-3p	ACUCGGCGUGGCGUCGGUCGUG	124	22	55
hsa-miR-34c-5p	AGGCAGUGUAGUUAGCUGAUUGC	125	23	53
hsa-miR-370	GCCUGCUGGGGUGGAACCUGGU	126	22	52
hsa-miR-148b-5p	AAGUUCUGUUAUACACUCAGGC	127	22	51

hsa-miR-335-5p	UCAAGAGCAAUAACGAAAAAUGU	128	23	51
hsa-miR-4461	GAUUGAGACUAGUAGGGCUAGGC	129	23	50
hsa-miR-27a-5p	AGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCA	130	22	49
hsa-miR-363-3p	AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA	131	22	47
hsa-miR-431-5p	UGUCUUGCAGGCCGUCAUGCA	132	21	47
hsa-miR-877-5p	GUAGAGGAGAUGGCGCAGGG	133	20	46
hsa-miR-550a-5p	AGUGCCUGAGGGAGUAAGAGCCC	134	23	45
hsa-miR-4508	GCGGGGCUGGGCGCGCG	135	17	44
hsa-miR-541-3p	UGGUGGGCACAGAAUCUGGACU	136	22	42
hsa-miR-135b-5p	UAUGGCUUUUCAUUCCUAUGUGA	137	23	40
hsa-miR-140-3p	UACCACAGGGUAGAACCACGG	138	21	39
hsa-miR-362-5p	AAUCCUUGGAACCUAGGUGUGAGU	139	24	37
hsa-miR-455-3p	GCAGUCCAUGGGCAUAUACAC	140	21	37
hsa-miR-758	UUUGUGACCUGGUCCACUAACC	141	22	37
hsa-miR-101-3p	UACAGUACUGUGAUAACUGAA	142	21	36
hsa-miR-374b-5p	AUAUAAUACAACCUGCUAAGUG	143	22	36
hsa-miR-148a-5p	AAAGUUCUGAGACACUCCGACU	144	22	35
hsa-miR-17-5p	CAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	145	23	35
hsa-miR-20a-5p	UAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAG	146	23	35
hsa-miR-874	CUGCCCUGGCCCGAGGGACCGA	147	22	35
hsa-miR-193b-3p	AACUGGCCCUCAAAGUCCCGCU	148	22	34
hsa-miR-548ah-3p	CAAAAACUGCAGUUACUUUUGC	149	22	34
hsa-miR-539-3p	AUCAUACAAGGACAAUUUCUUU	150	22	33
hsa-miR-421	AUCAACAGACAUUAAUUGGGCGC	151	23	31
hsa-miR-28-5p	AAGGAGCUCACAGUCUAUUGAG	152	22	30
hsa-miR-485-3p	GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU	153	22	29
hsa-miR-2467-5p	UGAGGCUCUGUUAGCCUUGGCUC	154	23	26
hsa-miR-4449	CGUCCCGGGGCUGCGCGAGGCA	155	22	26
hsa-miR-24-2-5p	UGCCUACUGAGCUGAAACACAG	156	22	25
hsa-miR-181d	AACAUUCAUUGUUGUCGGUGGGU	157	23	24
hsa-miR-323a-3p	CACAUUACACGGUCGACCUCU	158	21	24
hsa-miR-106b-3p	CCGCACUGUGGGUACUUGCUGC	159	22	23
hsa-miR-125a-3p	ACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCC	160	22	23
hsa-miR-330-5p	UCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGC	161	22	23
hsa-miR-1275	GUGGGGGAGAGGCUGUC	162	17	22
hsa-miR-19b-3p	UGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGA	163	23	22
hsa-miR-301b	CAGUGCAAUGAUAUUGUCAAAGC	164	23	21
hsa-miR-485-5p	AGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUC	165	22	21
hsa-miR-29b-3p	UAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUU	166	23	20
hsa-miR-3158-3p	AAGGGCUUCCUCUCUGCAGGAC	167	22	20
hsa-miR-431-3p	CAGGUCGUCUUGCAGGGCUUCU	168	22	20
hsa-miR-454-3p	UAGUGCAAUAUUGCUUAUAGGGU	169	23	20
hsa-miR-106b-5p	UAAAGUGCUGACAGUGCAGAU	170	21	19
hsa-miR-1973	ACCGUGCAAAGGUAGCAUA	171	19	19
hsa-miR-31-3p	UGCUAUGCCAACAUAUUGCCAU	172	22	19

hsa-miR-374a-3p	CUUAUCAGAUUGUAUUGUAAUU	173	22	19
hsa-miR-433	AUCAUGAUGGGCUCCUCGGUGU	174	22	19
hsa-miR-4417	GGUGGGCUUCCCGGAGGG	175	18	19
hsa-miR-143-3p	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC	176	21	18
hsa-miR-19a-3p	UGUGCAAAUCUAUGCAAAACUGA	177	23	18
hsa-miR-532-5p	CAUGCCUUGAGUGUAGGACCGU	178	22	18
hsa-miR-561-5p	AUCAAGGAUCUUAAACUUUGCC	179	22	18
hsa-miR-663b	GGUGGCCCGGCCGUGCCUGAGG	180	22	18
hsa-miR-1301	UUGCAGCUGCCUGGGAGUGACUUC	181	24	17
hsa-miR-299-3p	UAUGUGGGAUGGUAAACCGCUU	182	22	17
hsa-miR-9-3p	AUAAAGCUAGAUAACCGAAAGU	183	22	17
hsa-miR-17-3p	ACUGCAGUGAAGGCACUUGUAG	184	22	15
hsa-miR-376c	AACAUAGAGGAAAUUCCACGU	185	21	15
hsa-miR-424-5p	CAGCAGCAAUUCAUGUUUUGAA	186	22	15
hsa-miR-660-5p	UACCCAUUGCAUAUCGGAGUUG	187	22	15
hsa-miR-153	UUGCAUAGUCACAAAAGUGAUC	188	22	14
hsa-miR-3605-5p	UGAGGAUGGAUAGCAAGGAAGCC	189	23	14
hsa-miR-3687	CCCGGACAGGCGUUCGUGCGACGU	190	24	14
hsa-miR-4284	GGGCUCACAUCACCCCAU	191	18	14
hsa-miR-455-5p	UAUGUGCCUUUGGACUACAUCG	192	22	14
hsa-miR-543	AAACAUUCGCGGUGCACUUCUU	193	22	14
hsa-miR-1276	UAAAGAGCCCUGUGGAGACA	194	20	13
hsa-miR-330-3p	GCAAAGCACACGGCCUGCAGAGA	195	23	13
hsa-miR-369-3p	AAUAAUACAUGGUUGAUCUUU	196	21	13
hsa-miR-4786-5p	UGAGACCAGGACUGGAUGCACC	197	22	13
hsa-miR-548k	AAAAGUACUUGCGGAUUUUGCU	198	22	13
hsa-miR-1226-3p	UCACCAGCCCUGUGUUCCCUAG	199	22	12
hsa-miR-188-3p	CUCCCACAUGCAGGGUUUGCA	200	21	12
hsa-miR-27b-5p	AGAGCUUAGCUGAUUGGUGAAC	201	22	12
hsa-miR-377-5p	AGAGGUUGCCCUUGGUGAAUUC	202	22	12
hsa-miR-487a	AAUCAUACAGGGACAUCCAGUU	203	22	12
hsa-miR-92a-1-5p	AGGUUGGGAUCGGUUGCAAUGCU	204	23	12
hsa-miR-135b-3p	AUGUAGGGCUAAAAGCCAUGGG	205	22	11
hsa-miR-218-5p	UUGUGCUUGAUCUAACCAUGU	206	21	11
hsa-miR-3943	UAGCCCCCAGGCUUCACUUGGCG	207	23	11
hsa-miR-92b-5p	AGGGACGGGACGCGGUGCAGUG	208	22	11
hsa-miR-1185-1-3p	AUAUACAGGGGGAGACUCUUAU	209	22	10
hsa-miR-1273g-3p	ACCACUGCACUCCAGCCUGAG	210	21	10
hsa-miR-2355-5p	AUCCCCAGAUACAAUGGACAA	211	21	10
hsa-miR-23a-5p	GGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUU	212	22	10
hsa-miR-30c-1-3p	CUGGGAGAGGGUUGUUUACUCC	213	22	10
hsa-miR-329	AACACACCUGGUUAACCUCUUU	214	22	10
hsa-miR-337-3p	CUCCUAUAUGAUGCCUUUCUUC	215	22	10
hsa-miR-3609	CAAAGUGAUGAGUAAUACUGGCUG	216	24	10
hsa-miR-378a-5p	CUCCUGACUCCAGGUCCUGUGU	217	22	10

hsa-miR-3929	GAGGCUGAUGUGAGUAGACCACU	218	23	10
hsa-miR-4745-5p	UGAGUGGGGCUCCCGGGACGGCG	219	23	10
hsa-miR-5096	GUUUCACCAUGUUGGUCAGGC	220	21	10
hsa-miR-656	AAUAUUAUACAGUCAACCUCU	221	21	10
hsa-let-7a-3p	CUAUACAAUCUACUGUCUUUC	222	21	9
hsa-miR-15a-5p	UAGCAGCACAUAAUGGUUUGUG	223	22	9
hsa-miR-185-5p	UGGAGAGAAAGGCAGUUCCUGA	224	22	9
hsa-miR-25-5p	AGGCGGAGACUUGGGCAAUUG	225	21	9
hsa-miR-3065-5p	UCAACAAAAUCACUGAUGCUGGA	226	23	9
hsa-miR-3176	ACUGGCCUGGGACUACCGG	227	19	9
hsa-miR-339-3p	UGAGCGCCUCGACGACAGAGCCG	228	23	9
hsa-miR-374b-3p	CUUAGCAGGUUGUAUUAUCAUU	229	22	9
hsa-miR-4435	AUGGCCAGAGCUCACACAGAGG	230	22	9
hsa-miR-4448	GGCUCCUUGGUCUAGGGGUA	231	20	9
hsa-miR-4497	CUCCGGGACGGCUGGGC	232	17	9
hsa-miR-4521	GCUAAGGAAGUCCUGUGCUCAG	233	22	9
hsa-miR-539-5p	GGAGAAAUUAUCCUUGGUGUGU	234	22	9
hsa-miR-548ah-5p	AAAAGUGAUUGCAGUGUUUG	235	20	9
hsa-miR-1910	CCAGUCCUGUGCCUGCCGCCU	236	21	8
hsa-miR-376a-3p	AUCAUAGAGGAAAAUCCACGU	237	21	8
hsa-miR-382-5p	GAAGUUGUUCGUGGUGGAUUCG	238	22	8
hsa-miR-3940-3p	CAGCCCGGAUCCCAGCCCACUU	239	22	8
hsa-miR-494	UGAAACAUACACGGGAAACCUC	240	22	8
hsa-miR-495	AAACAAACAUGGUGCACUUCUU	241	22	8
hsa-miR-545-3p	UCAGCAAACAUUUAUUGUGUGC	242	22	8
hsa-miR-99b-3p	CAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCG	243	22	8
hsa-miR-1197	UAGGACACAUGGUCUACUUCU	244	21	7
hsa-miR-181b-3p	CUCACUGAACAAUGAAUGCAA	245	21	7
hsa-miR-212-5p	ACCUUGGCUCUAGACUGCUUACU	246	23	7
hsa-miR-3200-3p	CACCUUGCGCUACUCAGGUCUG	247	22	7
hsa-miR-340-3p	UCCGUCUCAGUUACUUUAUAGC	248	22	7
hsa-miR-3607-5p	GCAUGUGAUGAAGCAAAUCAGU	249	22	7
hsa-miR-361-3p	UCCCCCAGGUGUGAUUCUGAUUU	250	23	7
hsa-miR-3656	GGCGGGUGCGGGGGUGG	251	17	7
hsa-miR-532-3p	CCUCCCACACCCAAGGCUUGCA	252	22	7
hsa-miR-574-3p	CACGCUCAUGCACACACCCACA	253	22	7
hsa-miR-107	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCA	254	23	6
hsa-miR-127-5p	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU	255	22	6
hsa-miR-18a-5p	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAG	256	23	6
hsa-miR-26a-2-3p	CCUAUUCUUGAUUACUUGUUUC	257	22	6
hsa-miR-296-5p	AGGGCCCCCCCUCAAUCCUGU	258	21	6
hsa-miR-3648	AGCCGCGGGGAUCGCCGAGGG	259	21	6
hsa-miR-382-3p	AAUCAUUCACGGACAACACUU	260	21	6
hsa-miR-3939	UACGCGCAGACCACAGGAUGUC	261	22	6
hsa-miR-432-3p	CUGGAUGGCUCCUCCAUGUCU	262	21	6

hsa-miR-4423-5p	AGUUGCCUUUUUGUUCCCAUGC	263	22	6
hsa-miR-4466	GGGUGCGGGCCGGCGGGG	264	18	6
hsa-miR-454-5p	ACCCUAUCAAUAUUGUCUCUGC	265	22	6
hsa-miR-4746-5p	CCGGUCCCAGGAGAACCUGCAGA	266	23	6
hsa-miR-496	UGAGUAUUACAUGGCCAAUCUC	267	22	6
hsa-miR-548o-3p	CCAAAACUGCAGUUACUUUUGC	268	22	6
hsa-miR-1248	ACCUUCUUGUAUAAGCACUGUGCUAAA	269	27	5
hsa-miR-1254	AGCCUGGAAGCUGGAGCCUGCAGU	270	24	5
hsa-miR-1296	UUAGGGCCCUGGCUCCAUCUCC	271	22	5
hsa-miR-136-5p	ACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGA	272	23	5
hsa-miR-199a-5p	CCCAGUGUUCAGACUACCUGUUC	273	23	5
hsa-miR-296-3p	GAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCC	274	22	5
hsa-miR-3177-3p	UGCACGGCACUGGGGACACGU	275	21	5
hsa-miR-324-3p	ACUGCCCCAGGUGCUGCUGG	276	20	5
hsa-miR-337-5p	GAACGGCUUCAUACAGGAGUU	277	21	5
hsa-miR-342-5p	AGGGGUGCUAUCUGUGAUUGA	278	21	5
hsa-miR-365b-3p	UAAUGCCCCUAAAAAUCCUUAU	279	22	5
hsa-miR-3676-5p	AGGAGAUCCUGGGUU	280	15	5
hsa-miR-502-3p	AAUGCACCUGGGCAAGGAUUCA	281	22	5
hsa-miR-505-3p	CGUCAACACUUGCUGGUUUCCU	282	22	5
hsa-miR-550a-3p	UGUCUUACUCCCUCAGGCACAU	283	22	5
hsa-miR-5587-3p	GCCCCGGGCAGUGUGAUCAUC	284	21	5
hsa-miR-641	AAAGACAUAGGAUAGAGUCACCUC	285	24	5
hsa-miR-655	AUAAUACAUGGUUAACCUCUUU	286	22	5
hsa-miR-664-3p	UAUUCAUUUAUCCCCAGCCUACA	287	23	5
hsa-miR-671-5p	AGGAAGCCCUGGAGGGGCUGGAG	288	23	5
hsa-miR-760	CGGCUCUGGGUCUGUGGGGA	289	20	5
hsa-let-7e-3p	CUAUACGGCCUCCUAGCUUUCC	290	22	4
hsa-miR-1268a	CGGGCGUGGUGGUGGGGG	291	18	4
hsa-miR-1273f	GGAGAUGGAGGUUGCAGUG	292	19	4
hsa-miR-1286	UGCAGGACCAAGAUGAGCCCU	293	21	4
hsa-miR-1291	UGGCCCUGACUGAAGACCAGCAGU	294	24	4
hsa-miR-141-3p	UAACACUGUCUGGUAAAGAUGG	295	22	4
hsa-miR-1468	CUCCGUUUGCCUGUUUCGCUG	296	21	4
hsa-miR-328	CUGGCCCUCUCUGCCCUUCCGU	297	22	4
hsa-miR-424-3p	CAAAACGUGAGGCGCUGCUAU	298	21	4
hsa-miR-4454	GGAUCCGAGUCACGGCACCA	299	20	4
hsa-miR-4463	GAGACUGGGGUGGGGCC	300	17	4
hsa-miR-4671-3p	UUAGUGCAUAGUCUUUGGUCU	301	21	4
hsa-miR-4775	UUAAUUUUUUGUUUCGGUCACU	302	22	4
hsa-miR-500a-5p	UAAUCCUUGCUACCUGGGUGAGA	303	23	4
hsa-miR-548b-5p	AAAAGUAAUUGUGGUUUUGGCC	304	22	4
hsa-miR-573	CUGAAGUGAUGUGUAACUGAUCAG	305	24	4
hsa-miR-576-5p	AUUCUAAUUUCUCCACGUCUUU	306	22	4
hsa-miR-625-3p	GACUAUAGAACUUUCCCCCUCA	307	22	4

hsa-miR-652-3p	AAUGGCGCCACUAGGGUUGUG	308	21	4
hsa-miR-665	ACCAGGAGGCUGAGGCCCCU	309	20	4
hsa-miR-766-3p	ACUCCAGCCCCACAGCCUCAGC	310	22	4
hsa-miR-935	CCAGUUACCGCUUCCGCUACCGC	311	23	4
hsa-miR-937	AUCCGCGCUCUGACUCUCUGCC	312	22	4
hsa-miR-1180	UUUCCGGCUCGCGUGGGUGUGU	313	22	3
hsa-miR-1185-2-3p	AUAUACAGGGGGAGACUCUCAU	314	22	3
hsa-miR-132-5p	ACCGUGGCUUUCGAUUGUUACU	315	22	3
hsa-miR-16-2-3p	CCAAUAUUACUGUGCUGCUUUA	316	22	3
hsa-miR-20b-5p	CAAAGUGCUCAUAGUGCAGGUAG	317	23	3
hsa-miR-2116-3p	CCUCCCAUGCCAAGAACUCCC	318	21	3
hsa-miR-299-5p	UGGUUUACCGUCCCACAUACAU	319	22	3
hsa-miR-30b-3p	CUGGGAGGUGGAUGUUUACUUC	320	22	3
hsa-miR-30c-2-3p	CUGGGAGAAGGCUGUUUACUCU	321	22	3
hsa-miR-3187-3p	UUGGCCAUGGGGCUGCGCGG	322	20	3
hsa-miR-3615	UCUCUCGGCUCCUCGCGGCUC	323	21	3
hsa-miR-3620	UCACCCUGCAUCCCGCACCCAG	324	22	3
hsa-miR-3654	GACUGGACAAGCUGAGGAA	325	19	3
hsa-miR-3662	GAAAAUGAUGAGUAGUGACUGAUG	326	24	3
hsa-miR-3681-5p	UAGUGGAUGAUGCACUCUGUGC	327	22	3
hsa-miR-4286	ACCCCACUCCUGGUACC	328	17	3
hsa-miR-4640-3p	CACCCCCUGUUUCCUGGCCCAC	329	22	3
hsa-miR-4717-3p	ACACAUGGGUGGCUGUGGCCU	330	21	3
hsa-miR-542-3p	UGUGACAGAUUGAUAACUGAAA	331	22	3
hsa-miR-5584-5p	CAGGGAAAUGGGAAGAACUAGA	332	22	3
hsa-miR-570-3p	CGAAAACAGCAAUUACCUUUGC	333	22	3
hsa-miR-574-5p	UGAGUGUGUGUGUGUGAGUGUGU	334	23	3
hsa-miR-628-3p	UCUAGUAAGAGUGGCAGUCGA	335	21	3
hsa-miR-654-3p	UAUGUCUGCUGACCAUCACCUU	336	22	3
hsa-miR-769-3p	CUGGGAUCUCCGGGGUCUUGGUU	337	23	3
hsa-miR-943	CUGACUGUUGCCGUCCUCCAG	338	21	3
hsa-let-7b-3p	CUAUACAACCUACUGCCUUCCC	339	22	2
hsa-miR-1244	AAGUAGUUGGUUUGUAUGAGAUGGUU	340	26	2
hsa-miR-1255a	AGGAUGAGCAAAGAAAGUAGAUU	341	23	2
hsa-miR-1273e	UUGCUUGAACCCAGGAAGUGGA	342	22	2
hsa-miR-1289	UGGAGUCCAGGAAUCUGCAUUUU	343	23	2
hsa-miR-152	UCAGUGCAUGACAGAACUUGG	344	21	2
hsa-miR-194-5p	UGUAACAGCAACUCCAUGUGGA	345	22	2
hsa-miR-195-5p	UAGCAGCACAGAAAUAUUGGC	346	21	2
hsa-miR-200c-3p	UAAUACUGCCGGGUAAUGAUGGA	347	23	2
hsa-miR-212-3p	UAACAGUCUCCAGUCACGGCC	348	21	2
hsa-miR-222-5p	CUCAGUAGCCAGUGUAGAUCCU	349	22	2
hsa-miR-3065-3p	UCAGCACCAGGAUAUUGUUGGAG	350	23	2
hsa-miR-3115	AUAUGGGUUUACUAGUUGGU	351	20	2
hsa-miR-3126-5p	UGAGGGACAGAUGCCAGAAGCA	352	22	2

hsa-miR-3174	UAGUGAGUUAGAGAUGCAGAGCC	353	23	2
hsa-miR-324-5p	CGCAUCCCCUAGGGCAUUGGUGU	354	23	2
hsa-miR-33a-5p	GUGCAUUGUAGUUGCAUUGCA	355	21	2
hsa-miR-3677-3p	CUCGUGGGCUCUGGCCACGGCC	356	22	2
hsa-miR-369-5p	AGAUCGACCGUGUUAUAUUCGC	357	22	2
hsa-miR-425-3p	AUCGGGAAUGUCGUGUCCGCCC	358	22	2
hsa-miR-4426	GAAGAUGGACGUACUUU	359	17	2
hsa-miR-4467	UGGCGGCGGUAGUUAUGGGCUU	360	22	2
hsa-miR-4482-3p	UUUCUAUUUCUCAGUGGGGCUC	361	22	2
hsa-miR-4515	AGGACUGGACUCCCGGCAGCCC	362	22	2
hsa-miR-4792	CGGUGAGCGCUCGCUGGC	363	18	2
hsa-miR-659-5p	AGGACCUUCCCUGAACCAAGGA	364	22	2
hsa-miR-663a	AGGCGGGGCGCCGCGGGACCGC	365	22	2
hsa-miR-940	AAGGCAGGGCCCCCGCUCCCC	366	21	2
hsa-miR-99a-3p	CAAGCUCGCUUCUAUGGGUCUG	367	22	2
hsa-miR-1185-5p	AGAGGAUACCCUUUGUAUGUU	368	21	1
hsa-miR-1225-3p	UGAGCCCCUGUGCCGCCCCCAG	369	22	1
hsa-miR-1237	UCCUUCUGCUCCGUCCCCCAG	370	21	1
hsa-miR-1252	AGAAGGAAAUUGAAUUCAUUUA	371	22	1
hsa-miR-1257	AGUGAAUGAUGGGUUCUGACC	372	21	1
hsa-miR-1260b	AUCCCACCACUGCCACCAU	373	19	1
hsa-miR-1273d	GAACCCAUGAGGUUGAGGCUGCAGU	374	25	1
hsa-miR-1290	UGGAUUUUUGGAUCAGGGA	375	19	1
hsa-miR-1306-3p	ACGUUGGCUCUGGUGGUG	376	18	1
hsa-miR-1321	CAGGGAGGUGAAUGUGAU	377	18	1
hsa-miR-1343	CUCCUGGGGCCCGCACUCUCGC	378	22	1
hsa-miR-138-5p	AGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCG	379	23	1
hsa-miR-140-5p	CAGUGGUUUUACCCUAUGGUAG	380	22	1
hsa-miR-146b-3p	UGCCCUGUGGACUCAGUUCUGG	381	22	1
hsa-miR-186-3p	GCCCAAAGGUGAAUUUUUUGGG	382	22	1
hsa-miR-1908	CGGCGGGGACGGCGAUUGGUC	383	21	1
hsa-miR-1915-3p	CCCCAGGGCGACGCGGCGGG	384	20	1
hsa-miR-1915-5p	ACCUUGCCUUGCUGCCCGGGCC	385	22	1
hsa-miR-193a-3p	AACUGGCCUACAAAGUCCCAGU	386	22	1
hsa-miR-19b-1-5p	AGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGC	387	23	1
hsa-miR-208b	AUAAGACGAACAAAAGGUUUGU	388	22	1
hsa-miR-2110	UUGGGGAAACGGCCGCUGAGUG	389	22	1
hsa-miR-219-1-3p	AGAGUUGAGUCUGGACGUCCCG	390	22	1
hsa-miR-26b-3p	CCUGUUCUCCAUUACUUGGCUC	391	22	1
hsa-miR-2964a-3p	AGAAUUGCGUUUGGACAAUCAGU	392	23	1
hsa-miR-29a-5p	ACUGAUUUCUUUUGGUGUUCAG	393	22	1
hsa-miR-3126-3p	CAUCUGGCAUCCGUCACACAGA	394	22	1
hsa-miR-3130-3p	GCUGCACCGGAGACUGGGUAA	395	21	1
hsa-miR-3130-5p	UACCCAGUCUCCGGUGCAGCC	396	21	1
hsa-miR-3140-5p	ACCUGAAUUACCAAAAGCUUU	397	21	1

hsa-miR-3155a	CCAGGCUCUGCAGUGGGAACU	398	21	1
hsa-miR-3157-3p	CUGCCCUAGUCUAGCUGAAGCU	399	22	1
hsa-miR-3180-3p	UGGGGCGGAGCUUCCGGAGGCC	400	22	1
hsa-miR-323b-5p	AGGUUGUCCGUGGUGAGUUCGCA	401	23	1
hsa-miR-339-5p	UCCCUGUCCUCCAGGAGCUCACG	402	23	1
hsa-miR-34a-3p	CAAUCAGCAAGUAUACUGCCCU	403	22	1
hsa-miR-34b-3p	CAAUCACUAACUCCACUGCCAU	404	22	1
hsa-miR-34c-3p	AAUCACUAACCACACGGCCAGG	405	22	1
hsa-miR-3658	UUUAAGAAAACACCAUGGAGAU	406	22	1
hsa-miR-365a-5p	AGGGACUUUUGGGGGCAGAUGUG	407	23	1
hsa-miR-3676-3p	CCGUGUUUCCCCCACGCUUU	408	20	1
hsa-miR-3691-5p	AGUGGAUGAUGGAGACUCGGUAC	409	23	1
hsa-miR-376a-5p	GUAGAUUCUCCUUCUAUGAGUA	410	22	1
hsa-miR-378g	ACUGGGCUUGGAGUCAGAAG	411	20	1
hsa-miR-3909	UGUCCUCUAGGGCCUGCAGUCU	412	22	1
hsa-miR-3928	GGAGGAACCUUGGAGCUUCGGC	413	22	1
hsa-miR-3942-3p	UUUCAGAUAACAGUAUUACAU	414	21	1
hsa-miR-3944-5p	UGUGCAGCAGGCCAACCGAGA	415	21	1
hsa-miR-3960	GGCGGCGGCGGAGGCGGGGG	416	20	1
hsa-miR-4326	UGUUCCUCUGUCUCCCAGAC	417	20	1
hsa-miR-4444	CUCGAGUUGGAAGAGGCG	418	18	1
hsa-miR-4450	UGGGGAUUUGGAGAAGUGGUGA	419	22	1
hsa-miR-4642	AUGGCAUCGUCCCCUGGUGGCU	420	22	1
hsa-miR-4668-5p	AGGGAAAAAAAAAAGGAUUUGUC	421	23	1
hsa-miR-4673	UCCAGGCAGGAGCCGGACUGGA	422	22	1
hsa-miR-4688	UAGGGGCAGCAGAGGACCUGGG	423	22	1
hsa-miR-4700-3p	CACAGGACUGACUCCUCACCCCAGUG	424	26	1
hsa-miR-4731-3p	CACACAAGUGGCCCCCAACACU	425	22	1
hsa-miR-4749-3p	CGCCCCUCCUGCCCCCACAG	426	20	1
hsa-miR-4769-5p	GGUGGGAUGGAGAGAAGGUAUGAG	427	24	1
hsa-miR-4800-5p	AGUGGACCGAGGAAGGAAGGA	428	21	1
hsa-miR-491-5p	AGUGGGGAACCCUUCCAUGAGG	429	22	1
hsa-miR-501-5p	AAUCCUUUGUCCCUGGGUGAGA	430	22	1
hsa-miR-5092	AAUCCACGCUGAGCUUGGCAUC	431	22	1
hsa-miR-541-5p	AAAGGAUUCUGCUGUCGGUCCCACU	432	25	1
hsa-miR-542-5p	UCGGGGAUCAUCAUGUCACGAGA	433	23	1
hsa-miR-551b-3p	GCGACCCAUACUUGGUUUCAG	434	21	1
hsa-miR-5690	UCAGCUACUACCUCUAUUAGG	435	21	1
hsa-miR-577	UAGAUAAAAUAUUGGUACCUG	436	21	1
hsa-miR-584-3p	UCAGUUCCAGGCCAACCAGGCU	437	22	1
hsa-miR-589-3p	UCAGAACAAAUGCCGGUUCCCAGA	438	24	1
hsa-miR-616-5p	ACUCAAAACCCUUCAGUGACUU	439	22	1
hsa-miR-628-5p	AUGCUGACAUAUUUACUAGAGG	440	22	1
hsa-miR-629-5p	UGGGUUUACGUUGGGAGAACU	441	21	1
hsa-miR-644b-3p	UUCAUUUGCCUCCCAGCCUACA	442	22	1

hsa-miR-664-5p	ACUGGCUAGGGAAAAUGAUUGGAU	443	24	1
hsa-miR-922	GCAGCAGAGAAUAGGACUACGUC	444	23	1

【０２６８】
【表５】

表 5: 細胞 EI

細胞- CTX0E03 07EI				
miRNA	miRNA.配列	配列番号	miRNA長さ	リード数
hsa-let-7a-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	1	22	305060
hsa-miR-92b-3p	UAUUGCACUCGUCCCGGCCUCC	13	22	242715
hsa-miR-21-5p	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	9	22	154626
hsa-miR-92a-3p	UAUUGCACUUGUCCCGGCCUGU	7	22	137412
hsa-miR-127-3p	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU	14	22	110806
hsa-miR-100-5p	AACCCGUAGAUCCGAACUUGUG	3	22	109290
hsa-miR-27b-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	6	21	91902
hsa-miR-191-5p	CAACGGAAUCCCAAAAGCAGCUG	8	23	89150
hsa-miR-26a-5p	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	12	22	88724
hsa-miR-99b-5p	CACCCGUAGAACCGACCUUGCG	4	22	87399
hsa-let-7f-5p	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU	11	22	78395
hsa-miR-181a-5p	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU	15	23	47686
hsa-miR-486-5p	UCCUGUACUGAGCUGCCCCGAG	5	22	41639
hsa-miR-30a-5p	UGUAAACAUCCUCGACUGGAAG	30	22	35465
hsa-miR-98	UGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUU	10	22	30440
hsa-miR-151a-3p	CUAGACUGAAGCUCCUUGAGG	25	21	29047
hsa-miR-21-3p	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU	20	21	27733
hsa-miR-30d-5p	UGUAAACAUCCCCGACUGGAAG	31	22	27307
hsa-let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUU	17	22	27224
hsa-miR-10a-5p	UACCCUGUAGAUCCGAAUUUGUG	2	23	26908
hsa-miR-22-3p	AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU	33	22	26456
hsa-miR-182-5p	UUUGGCAAUGGUAGAACUCACACU	16	24	25885
hsa-miR-222-3p	AGCUACAUCUGGCUACUGGGU	36	21	22187
hsa-miR-125a-5p	UCCCUGAGACCCUUUAACCUGUGA	35	24	20960
hsa-miR-16-5p	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	29	22	19856
hsa-let-7b-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU	28	22	19774
hsa-miR-151a-5p	UCGAGGAGCUCACAGUCUAGU	37	21	19773
hsa-let-7e-5p	UGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUU	27	22	19035
hsa-miR-125b-5p	UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA	42	22	17965
hsa-let-7i-5p	UGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUU	22	22	17802
hsa-let-7g-5p	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU	43	22	15467
hsa-miR-409-3p	GAAUGUUGCUCGGUGAACCCCU	47	22	14133
hsa-miR-30e-5p	UGUAAACAUCCUUGACUGGAAG	45	22	13889
hsa-miR-181b-5p	AACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGU	38	23	12606
hsa-miR-186-5p	CAAAGAAUUCUCCUUUUGGGCU	40	22	12441
hsa-miR-381	UAUACAAGGGCAAGCUCUCUGU	51	22	9851
hsa-miR-423-5p	UGAGGGGCAGAGAGCGAGACUUU	41	23	8893

hsa-miR-30c-5p	UGUAAACAUCCUACACUCUCAGC	66	23	8737
hsa-miR-410	AAUAUAACACAGAUGGCCUGU	50	21	8509
hsa-miR-146b-5p	UGAGAACUGAAUUCCAUAGGCU	19	22	8434
hsa-miR-654-3p	UAUGUCUGCUGACCAUCACCUU	336	22	8392
hsa-miR-9-5p	UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGA	58	23	7957
hsa-miR-28-3p	CACUAGAUUGUGAGCUCCUGGA	56	22	7767
hsa-miR-148a-3p	UCAGUGCACUACAGAACUUUGU	54	22	6599
hsa-miR-379-5p	UGGUAGACUAUGGAACGUAGG	18	21	6135
hsa-let-7d-5p	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	53	22	5972
hsa-miR-183-5p	UAUGGCACUGGUAGAAUUCACU	24	22	5477
hsa-miR-25-3p	CAUUGCACUUGUCUCGGUCUGA	63	22	5303
hsa-miR-423-3p	AGCUCGGUCUGAGGCCCCUCAGU	57	23	5225
hsa-miR-889	UUAAUAUCGGACAACCAUUGU	64	21	4597
hsa-miR-221-5p	ACCUGGCAUACAAUGUAGAUUU	39	22	4379
hsa-miR-125b-1-3p	ACGGGUUAGGCUCUUGGGAGCU	49	22	4192
hsa-miR-409-5p	AGGUUACCCGAGCAACUUUGCAU	32	23	3970
hsa-miR-4492	GGGGCUGGGCGCGCGCC	34	17	3864
hsa-miR-148b-3p	UCAGUGCAUCACAGAACUUUGU	48	22	3593
hsa-miR-103a-3p	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA	62	23	3518
hsa-miR-1271-5p	CUUGGCACCUAGCAAGCACUCA	72	22	3477
hsa-miR-136-3p	CAUCAUCGUCUCAAAUGAGUCU	82	22	3373
hsa-miR-769-5p	UGAGACCUCUGGGUUCUGAGCU	75	22	2957
hsa-miR-4532	CCCCGGGGAGCCCGGCG	23	17	2915
hsa-miR-378a-3p	ACUGGACUUGGAGUCAGAAGG	65	21	2895
hsa-miR-99a-5p	AACCCGUAGAUCCGAUCUUGUG	52	22	2767
hsa-miR-221-3p	AGCUACAUUGUCUGCUGGGUUUC	79	23	2764
hsa-miR-30e-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUACAGC	71	22	2441
hsa-miR-26b-5p	UUCAAGUAAUUCAGGAUAGGU	90	21	2432
hsa-miR-4488	AGGGGGCGGGCUCCGGCG	61	18	2391
hsa-miR-27a-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCCGC	46	21	2385
hsa-miR-23b-3p	AUCACAUUGCCAGGGAUUACC	59	21	2316
hsa-miR-500a-3p	AUGCACCUGGGCAAGGAUUCUG	44	22	2144
hsa-miR-941	CACCCGGCUGUGUGCACAUGUGC	60	23	2114
hsa-miR-23a-3p	AUCACAUUGCCAGGGAUUUCC	55	21	2086
hsa-miR-30a-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUGCAGC	77	22	2045
hsa-miR-30b-5p	UGUAAACAUCCUACACUCAGCU	96	22	1936
hsa-miR-501-3p	AAUGCACCCGGGCAAGGAUUCU	26	22	1895
hsa-miR-130b-3p	CAGUGCAAUGAUGAAAGGGCAU	86	22	1862
hsa-miR-1246	AAUGGAUUUUUGGAGCAGG	21	19	1783
hsa-miR-140-3p	UACCACAGGGUAGAACCACGG	138	21	1735
hsa-miR-31-5p	AGGCAAGAUGCUGGCAUAGCU	80	21	1705
hsa-miR-493-3p	UGAAGGUCUACUGUGUGCCAGG	83	22	1698
hsa-miR-181c-5p	AACAUUCAACCUGUCGGUGAGU	105	22	1554
hsa-miR-93-5p	CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAG	116	23	1492
hsa-miR-181a-2-3p	ACCACUGACCGUUGACUGUACC	102	22	1491

hsa-miR-15b-5p	UAGCAGCACAUCAUGGUUUACA	78	22	1465
hsa-miR-7-5p	UGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGU	85	23	1460
hsa-miR-192-5p	CUGACCUAUGAAUUGACAGCC	87	21	1453
hsa-miR-425-5p	AAUGACACGAUCACUCCCGUUGA	111	23	1432
hsa-miR-204-5p	UUCCCUUUGUCAUCCUAUGCCU	89	22	1378
hsa-miR-340-5p	UUAUAAAGCAAUGAGACUGAUU	93	22	1360
hsa-miR-190a	UGAUAUGUUUGAUAUAUUAGGU	103	22	1305
hsa-miR-34a-5p	UGGCAGUGUCUUAGCUGGUUGU	101	22	1283
hsa-miR-20a-5p	UAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAG	146	23	1257
hsa-miR-29a-3p	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA	106	22	1206
hsa-miR-361-5p	UUAUCAGAAUCUCCAGGGGUAC	70	22	1173
hsa-miR-671-3p	UCCGGUUCUCAGGGCUCCACC	69	21	1166
hsa-miR-411-5p	UAGUAGACCGUAUAGCGUACG	108	21	1130
hsa-miR-589-5p	UGAGAACCACGUCUGCUCUGAG	73	22	1067
hsa-miR-130a-3p	CAGUGCAAUGUUAAAAGGGCAU	113	22	1020
hsa-miR-320a	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGA	97	22	994
hsa-miR-149-5p	UCUGGCUCCGUGUCUUCACUCCC	121	23	948
hsa-miR-335-5p	UCAAGAGCAAUAACGAAAAAUGU	128	23	945
hsa-miR-134	UGUGACUGGUUGACCAGAGGGG	94	22	941
hsa-miR-17-5p	CAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	145	23	939
hsa-miR-493-5p	UUGUACAUGGUAGGCUUUCAUU	88	22	876
hsa-miR-34c-5p	AGGCAGUGUAGUUAGCUGAUUGC	125	23	846
hsa-miR-484	UCAGGCUCAGUCCCCUCCCGAU	118	22	835
hsa-miR-181a-3p	ACCAUCGACCGUUGAUUGUACC	100	22	803
hsa-miR-24-3p	UGGCUCAGUUCAGCAGGAACAG	119	22	740
hsa-miR-128	UCACAGUGAACCGGUCUCUUU	109	21	707
hsa-miR-342-3p	UCUCACACAGAAAUCGCACCCGU	81	23	698
hsa-miR-454-3p	UAGUGCAAUAUUGCUUAUAGGGU	169	23	690
hsa-miR-1307-5p	UCGACCGGACCUCGACCGGCU	91	21	616
hsa-miR-487b	AAUCGUACAGGGUCAUCCACUU	117	22	590
hsa-miR-130b-5p	ACUCUUUCCCUGUUGCACUAC	112	21	568
hsa-miR-197-3p	UUCACCACCUUCUCCACCCAGC	122	22	544
hsa-miR-432-5p	UCUUGGAGUAGGUCAUUGGGUGG	95	23	542
hsa-miR-374a-5p	UUAUAAUACAACCUGAUAAGUG	74	22	537
hsa-miR-345-5p	GCUGACUCCUAGUCCAGGGCUC	76	22	527
hsa-miR-744-5p	UGCGGGGCUAGGGCUAACAGCA	99	22	515
hsa-miR-376c	AACAUAGAGGAAAUUCCACGU	185	21	506
hsa-miR-181d	AACAUUCAUUGUUGUCGGUGGGU	157	23	497
hsa-miR-363-3p	AAUUGCACGGUAUCCAUCUGUA	131	22	493
hsa-miR-539-3p	AUCAUACAAGGACAAUUUCUUU	150	22	493
hsa-miR-758	UUUGUGACCUGGUCCACUAACC	141	22	477
hsa-miR-323a-3p	CACAUUACACGGUCGACCUCU	158	21	443
hsa-miR-107	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUCA	254	23	431
hsa-miR-720	UCUCGCUGGGGCCUCCA	84	17	427
hsa-miR-654-5p	UGGUGGGCCGCAGAACAUGUGC	115	22	409

hsa-miR-370	GCCUGCUGGGGUGGAACCUGGU	126	22	406
hsa-miR-421	AUCAACAGACAUUAAUUGGGCGC	151	23	399
hsa-miR-30d-3p	CUUUCAGUCAGAUGUUUGCUGC	114	22	358
hsa-miR-148b-5p	AAGUUCUGUUAUACACUCAGGC	127	22	354
hsa-miR-1301	UUGCAGCUGCCUGGGAGUGACUUC	181	24	346
hsa-miR-374b-5p	AUAUAAUACAACCUGCUAAGUG	143	22	339
hsa-miR-125b-2-3p	UCACAAGUCAGGCUCUUGGGAC	68	22	333
hsa-miR-28-5p	AAGGAGCUCACAGUCUAUUGAG	152	22	332
hsa-miR-495	AAACAAACAUGGUGCACUUCUU	241	22	321
hsa-miR-15a-5p	UAGCAGCACAUAAUGGUUUGUG	223	22	320
hsa-miR-100-3p	CAAGCUUGUAUCUAUAGGUAUG	98	22	314
hsa-miR-193b-3p	AACUGGCCCUCAAAGUCCCGCU	148	22	305
hsa-miR-330-5p	UCUCUGGGCCUGUGUCUUAGGC	161	22	303
hsa-miR-376a-3p	AUCAUAGAGGAAAAUCCACGU	237	21	298
hsa-miR-135b-5p	UAUGGCUUUUCAUUCCUAUGUGA	137	23	289
hsa-miR-301a-3p	CAGUGCAAUAGUAUUGUCAAAGC	107	23	280
hsa-miR-218-5p	UUGUGCUUGAUCUAACCAUGU	206	21	276
hsa-miR-143-3p	UGAGAUGAAGCACUGUAGCUC	176	21	256
hsa-miR-27b-5p	AGAGCUUAGCUGAUUGGUGAAC	201	22	255
hsa-miR-369-3p	AAUAAUACAUGGUUGAUCUUU	196	21	255
hsa-miR-877-5p	GUAGAGGAGAUGGCGCAGGG	133	20	249
hsa-miR-19b-3p	UGUGCAAAUCCAUGCAAAACUGA	163	23	246
hsa-miR-424-5p	CAGCAGCAAUUCAUGUUUUGAA	186	22	245
hsa-miR-660-5p	UACCCAUUGCAUAUCGGAGUUG	187	22	244
hsa-miR-532-5p	CAUGCCUUGAGUGUAGGACCGU	178	22	238
hsa-miR-299-3p	UAUGUGGGAUGGUAAACCGCUU	182	22	235
hsa-miR-431-3p	CAGGUCGUCUUGCAGGGCUUCU	168	22	231
hsa-miR-374a-3p	CUUAUCAGAUUGUAUUGUAAUU	173	22	220
hsa-miR-148a-5p	AAAGUUCUGAGACACUCCGACU	144	22	214
hsa-miR-4516	GGGAGAAGGGUCGGGGC	110	17	207
hsa-miR-92b-5p	AGGGACGGGACGCGGUGCAGUG	208	22	206
hsa-miR-16-2-3p	CCAAUAUUACUGUGCUGCUUUA	316	22	202
hsa-miR-101-3p	UACAGUACUGUGAUAACUGAA	142	21	201
hsa-let-7a-3p	CUAUACAAUCUACUGUCUUUC	222	21	199
hsa-miR-4485	UAACGGCCGCGGUACCCUAA	67	20	195
hsa-miR-455-3p	GCAGUCCAUGGGCAUAUACAC	140	21	192
hsa-miR-185-5p	UGGAGAGAAAGGCAGUUCCUGA	224	22	188
hsa-miR-1185-1-3p	AUAUACAGGGGGAGACUCUUAU	209	22	187
hsa-miR-1197	UAGGACACAUGGUCUACUUCU	244	21	185
hsa-miR-106b-3p	CCGCACUGUGGGUACUUGCUGC	159	22	178
hsa-miR-24-2-5p	UGCCUACUGAGCUGAAACACAG	156	22	178
hsa-miR-4677-3p	UCUGUGAGACCAAAGAACUACU	120	22	177
hsa-miR-380-3p	UAUGUAAUAUGGUCCACAUCUU	445	22	174
hsa-miR-548k	AAAAGUACUUGCGGAUUUUGCU	198	22	171
hsa-miR-1307-3p	ACUCGGCGUGGCGUCGGUCGUG	124	22	169

hsa-miR-485-3p	GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU	153	22	168
hsa-miR-494	UGAAACAUACACGGGAAACCUC	240	22	165
hsa-miR-17-3p	ACUGCAGUGAAGGCACUUGUAG	184	22	163
hsa-miR-561-5p	AUCAAGGAUCUUAAACUUUGCC	179	22	160
hsa-miR-27a-5p	AGGGCUUAGCUGCUUGUGAGCA	130	22	158
hsa-miR-874	CUGCCCUGGCCCGAGGGACCGA	147	22	151
hsa-miR-9-3p	AUAAAGCUAGAUAACCGAAAGU	183	22	151
hsa-miR-96-5p	UUUGGCACUAGCACAUUUUUGCU	123	23	151
hsa-miR-656	AAUAUUAUACAGUCAACCUCU	221	21	147
hsa-miR-379-3p	UAUGUAACAUGGUCCACUAACU	446	22	145
hsa-miR-382-5p	GAAGUUGUUCGUGGUGGAUUCG	238	22	144
hsa-miR-541-3p	UGGUGGGCACAGAAUCUGGACU	136	22	141
hsa-miR-337-3p	CUCCUAUAUGAUGCCUUUCUUC	215	22	139
hsa-miR-15b-3p	CGAAUCAUUAUUUGCUGCUCUA	447	22	137
hsa-miR-20b-5p	CAAAGUGCUCAUAGUGCAGGUAG	317	23	136
hsa-miR-329	AACACACCUGGUUAACCUCUUU	214	22	136
hsa-miR-3676-5p	AGGAGAUCCUGGGUU	280	15	134
hsa-miR-543	AAACAUUCGCGGUGCACUUCUU	193	22	134
hsa-miR-365b-3p	UAAUGCCCCUAAAAAUCCUUAU	279	22	133
hsa-miR-125a-3p	ACAGGUGAGGUUCUUGGGAGCC	160	22	131
hsa-miR-3065-5p	UCAACAAAAUCACUGAUGCUGGA	226	23	130
hsa-miR-1296	UUAGGGCCCUGGCUCCAUCUCC	271	22	126
hsa-miR-935	CCAGUUACCGCUUCCGCUACCGC	311	23	118
hsa-miR-132-3p	UAACAGUCUACAGCCAUGGUCG	104	22	116
hsa-miR-4284	GGGCUCACAUCACCCCAU	191	18	116
hsa-miR-487a	AAUCAUACAGGGACAUCCAGUU	203	22	113
hsa-miR-574-5p	UGAGUGUGUGUGUGUGAGUGUGU	334	23	113
hsa-miR-301b	CAGUGCAAUGAUAUUGUCAAAGC	164	23	111
hsa-miR-548o-3p	CCAAAACUGCAGUUACUUUUGC	268	22	105
hsa-miR-18a-5p	UAAGGUGCAUCUAGUGCAGAUAG	256	23	104
hsa-miR-485-5p	AGAGGCUGGCCGUGAUGAAUUC	165	22	104
hsa-miR-548ah-5p	AAAAGUGAUUGCAGUGUUUG	235	20	103
hsa-miR-361-3p	UCCCCCAGGUGUGAUUCUGAUUU	250	23	101
hsa-miR-433	AUCAUGAUGGGCUCCUCGGUGU	174	22	101
hsa-miR-337-5p	GAACGGCUUCAUACAGGAGUU	277	21	100
hsa-miR-1276	UAAAGAGCCCUGUGGAGACA	194	20	99
hsa-miR-30c-1-3p	CUGGGAGAGGGUUGUUUACUCC	213	22	99
hsa-miR-31-3p	UGCUAUGCCAACAUAUUGCCAU	172	22	96
hsa-miR-424-3p	CAAAACGUGAGGCGCUGCUAU	298	21	96
hsa-miR-550a-5p	AGUGCCUGAGGGAGUAAGAGCCC	134	23	95
hsa-miR-4454	GGAUCCGAGUCACGGCACCA	299	20	94
hsa-miR-541-5p	AAAGGAUUCUGCUGUCGGUCCCACU	432	25	92
hsa-miR-106b-5p	UAAAGUGCUGACAGUGCAGAU	170	21	89
hsa-miR-153	UUGCAUAGUCACAAAAGUGAUC	188	22	88
hsa-miR-135b-3p	AUGUAGGGCUAAAAGCCAUGGG	205	22	87

hsa-miR-574-3p	CACGCUCAUGCACACACCCACA	253	22	87
hsa-miR-1226-3p	UCACCAGCCCUGUGUUCCCUAG	199	22	85
hsa-miR-576-5p	AUUCUAAUUUCUCCACGUCUUU	306	22	84
hsa-miR-127-5p	CUGAAGCUCAGAGGGCUCUGAU	255	22	83
hsa-miR-155-5p	UUAAUGCUAAUCGUGAUAGGGGU	448	23	83
hsa-miR-3176	ACUGGCCUGGGACUACCGG	227	19	83
hsa-miR-382-3p	AAUCAUUCACGGACAACACUU	260	21	83
hsa-miR-1275	GUGGGGGAGAGGCUGUC	162	17	82
hsa-miR-671-5p	AGGAAGCCCUGGAGGGGCUGGAG	288	23	82
hsa-miR-23a-5p	GGGGUUCCUGGGGAUGGGAUUU	212	22	81
hsa-miR-25-5p	AGGCGGAGACUUGGGCAAUUG	225	21	80
hsa-miR-641	AAAGACAUAGGAUAGAGUCACCUC	285	24	80
hsa-miR-19a-3p	UGUGCAAAUCUAUGCAAAACUGA	177	23	79
hsa-miR-377-3p	AUCACACAAAGGCAACUUUUGU	449	22	78
hsa-miR-454-5p	ACCCUAUCAAUAUUGUCUCUGC	265	22	78
hsa-miR-496	UGAGUAUUACAUGGCCAAUCUC	267	22	78
hsa-miR-29b-3p	UAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUU	166	23	77
hsa-miR-26a-2-3p	CCUAUUCUUGAUUACUUGUUUC	257	22	76
hsa-miR-1260b	AUCCCACCACUGCCACCAU	373	19	74
hsa-miR-2467-5p	UGAGGCUCUGUUAGCCUUGGCUC	154	23	74
hsa-miR-377-5p	AGAGGUUGCCCUUGGUGAAUUC	202	22	74
hsa-miR-330-3p	GCAAAGCACACGGCCUGCAGAGA	195	23	73
hsa-miR-1180	UUUCCGGCUCGCGUGGGUGUGU	313	22	71
hsa-miR-99b-3p	CAAGCUCGUGUCUGUGGGUCCG	243	22	71
hsa-miR-299-5p	UGGUUUACCGUCCCACAUACAU	319	22	69
hsa-miR-374b-3p	CUUAGCAGGUUGUAUUAUCAUU	229	22	69
hsa-miR-4746-5p	CCGGUCCCAGGAGAACCUGCAGA	266	23	69
hsa-miR-331-3p	GCCCCUGGGCCUAUCCUAGAA	450	21	68
hsa-miR-340-3p	UCCGUCUCAGUUACUUUAUAGC	248	22	68
hsa-miR-92a-1-5p	AGGUUGGGAUCGGUUGCAAUGCU	204	23	68
hsa-miR-542-3p	UGUGACAGAUUGAUAACUGAAA	331	22	66
hsa-miR-431-5p	UGUCUUGCAGGCCGUCAUGCA	132	21	65
hsa-miR-1254	AGCCUGGAAGCUGGAGCCUGCAGU	270	24	61
hsa-miR-3158-3p	AAGGGCUUCCUCUCUGCAGGAC	167	22	61
hsa-miR-362-5p	AAUCCUUGGAACCUAGGUGUGAGU	139	24	61
hsa-miR-30c-2-3p	CUGGGAGAAGGCUGUUUACUCU	321	22	59
hsa-miR-4461	GAUUGAGACUAGUAGGGCUAGGC	129	23	59
hsa-miR-3200-3p	CACCUUGCGCUACUCAGGUCUG	247	22	57
hsa-miR-215	AUGACCUAUGAAUUGACAGAC	451	21	56
hsa-miR-1185-5p	AGAGGAUACCCUUUGUAUGUU	368	21	55
hsa-miR-328	CUGGCCCUCUCUGCCCUUCCGU	297	22	55
hsa-miR-655	AUAAUACAUGGUUAACCUCUUU	286	22	55
hsa-miR-181b-3p	CUCACUGAACAAUGAAUGCAA	245	21	54
hsa-miR-376b	AUCAUAGAGGAAAAUCCAUGUU	452	22	54
hsa-miR-486-3p	CGGGGCAGCUCAGUACAGGAU	453	21	54

hsa-miR-760	CGGCUCUGGGUCUGUGGGGA	289	20	54
hsa-miR-3909	UGUCCUCUAGGGCCUGCAGUCU	412	22	53
hsa-miR-4508	GCGGGGCUGGGCGCGCG	135	17	53
hsa-miR-4521	GCUAAGGAAGUCCUGUGCUCAG	233	22	53
hsa-let-7e-3p	CUAUACGGCCUCCUAGCUUUCC	290	22	52
hsa-miR-455-5p	UAUGUGCCUUUGGACUACAUCG	192	22	52
hsa-miR-93-3p	ACUGCUGAGCUAGCACUUCCCG	454	22	51
hsa-miR-151b	UCGAGGAGCUCACAGUCU	455	18	49
hsa-miR-887	GUGAACGGGCGCCAUCCCGAGG	456	22	49
hsa-miR-152	UCAGUGCAUGACAGAACUUGG	344	21	48
hsa-miR-324-3p	ACUGCCCCAGGUGCUGCUGG	276	20	48
hsa-miR-1266	CCUCAGGGCUGUAGAACAGGGCU	457	23	47
hsa-miR-302b-3p	UAAGUGCUUCCAUGUUUUAGUAG	458	23	47
hsa-miR-548e	AAAAACUGAGACUACUUUUGCA	459	22	47
hsa-miR-502-3p	AAUGCACCUGGGCAAGGAUUCA	281	22	46
hsa-miR-302d-3p	UAAGUGCUUCCAUGUUUGAGUGU	460	23	45
hsa-miR-3943	UAGCCCCCAGGCUUCACUUGGCG	207	23	45
hsa-miR-1286	UGCAGGACCAAGAUGAGCCCU	293	21	44
hsa-miR-3605-5p	UGAGGAUGGAUAGCAAGGAAGCC	189	23	44
hsa-miR-505-3p	CGUCAACACUUGCUGGUUUCCU	282	22	44
hsa-miR-3615	UCUCUCGGCUCCUCGCGGCUC	323	21	43
hsa-miR-4435	AUGGCCAGAGCUCACACAGAGG	230	22	43
hsa-miR-598	UACGUCAUCGUUGUCAUCGUCA	461	22	43
hsa-miR-126-5p	CAUUAUUACUUUUGGUACGCG	462	21	42
hsa-miR-4671-3p	UUAGUGCAUAGUCUUUGGUCU	301	21	41
hsa-miR-652-3p	AAUGGCGCCACUAGGGUUGUG	442	21	41
hsa-miR-3687	CCCGGACAGGCGUUCGUGCGACGU	190	24	40
hsa-miR-4286	ACCCCACUCCUGGUACC	328	17	40
hsa-miR-590-3p	UAAUUUUAUGUAUAAGCUAGU	463	21	40
hsa-miR-1285-3p	UCUGGGCAACAAAGUGAGACCU	464	22	39
hsa-miR-2355-5p	AUCCCCAGAUACAAUGGACAA	593	21	38
hsa-miR-550a-3p	UGUCUUACUCCCUCAGGCACAU	283	22	38
hsa-let-7d-3p	CUAUACGACCUGCUGCCUUUCU	92	22	37
hsa-miR-136-5p	ACUCCAUUUGUUUUGAUGAUGGA	272	23	37
hsa-miR-1468	CUCCGUUUGCCUGUUUCGCUG	296	21	37
hsa-miR-3609	CAAAGUGAUGAGUAAUACUGGCUG	216	24	37
hsa-miR-548b-5p	AAAAGUAAUUGUGGUUUUGGCC	304	22	37
hsa-miR-664-3p	UAUUCAUUUAUCCCCAGCCUACA	287	23	37
hsa-miR-99a-3p	CAAGCUCGCUUCUAUGGGUCUG	367	22	37
hsa-miR-532-3p	CCUCCCACACCCAAGGCUUGCA	252	22	36
hsa-miR-10b-5p	UACCCUGUAGAACCGAAUUUGUG	465	23	33
hsa-miR-369-5p	AGAUCGACCGUGUUAUAUUCGC	357	22	33
hsa-miR-3161	CUGAUAAGAACAGAGGCCCAGAU	466	23	32
hsa-miR-3940-3p	CAGCCCGGAUCCCAGCCCACUU	239	22	32
hsa-miR-663b	GGUGGCCCGGCCGUGCCUGAGG	180	22	32

hsa-miR-219-2-3p	AGAAUUGUGGCUGGACAUCUGU	467	22	31
hsa-miR-2277-5p	AGCGCGGGCUGAGCGCUGCCAGUC	735	24	31
hsa-miR-4448	GGCUCCUUGGUCUAGGGGUA	231	20	31
hsa-miR-339-5p	UCCCUGUCCUCCAGGAGCUCACG	402	23	30
hsa-miR-3613-5p	UGUUGUACUUUUUUUUUUGUUC	469	22	30
hsa-miR-4775	UUAAUUUUUUGUUUCGGUCACU	302	22	30
hsa-miR-212-5p	ACCUUGGCUCUAGACUGCUUACU	246	23	29
hsa-miR-324-5p	CGCAUCCCCUAGGGCAUUGGUGU	354	23	27
hsa-miR-4326	UGUUCCUCUGUCUCCCAGAC	417	20	27
hsa-miR-582-3p	UAACUGGUUGAACAACUGAACC	470	22	27
hsa-miR-34a-3p	CAAUCAGCAAGUAUACUGCCCU	403	22	26
hsa-miR-106a-5p	AAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	471	23	25
hsa-miR-4745-5p	UGAGUGGGGCUCCCGGGACGGCG	219	23	25
hsa-miR-769-3p	CUGGGAUCUCCGGGGUCUUGGUU	337	23	25
hsa-miR-1268a	CGGGCGUGGUGGUGGGGG	291	18	24
hsa-miR-154-3p	AAUCAUACACGGUUGACCUAUU	472	22	24
hsa-miR-188-3p	CUCCCACAUGCAGGGUUUGCA	200	21	24
hsa-miR-29c-3p	UAGCACCAUUUGAAAUCGGUUA	473	22	24
hsa-miR-539-5p	GGAGAAAUUAUCCUUGGUGUGU	234	22	24
hsa-miR-766-3p	ACUCCAGCCCCACAGCCUCAGC	310	22	24
hsa-miR-30b-3p	CUGGGAGGUGGAUGUUUACUUC	320	22	23
hsa-miR-3177-3p	UGCACGGCACUGGGGACACGU	275	21	23
hsa-miR-191-3p	GCUGCGCUUGGAUUUCGUCCCC	474	22	22
hsa-miR-296-3p	GAGGGUUGGGUGGAGGCUCUCC	274	22	22
hsa-miR-296-5p	AGGGCCCCCCCUCAAUCCUGU	258	21	22
hsa-miR-339-3p	UGAGCGCCUCGACGACAGAGCCG	228	23	22
hsa-miR-501-5p	AAUCCUUUGUCCCUGGGUGAGA	430	22	22
hsa-miR-200b-3p	UAAUACUGCCUGGUAAUGAUGA	475	22	21
hsa-miR-212-3p	UAACAGUCUCCAGUCACGGCC	348	21	21
hsa-miR-26b-3p	CCUGUUCUCCAUUACUUGGCUC	391	22	21
hsa-miR-665	ACCAGGAGGCUGAGGCCCCU	309	20	21
hsa-miR-668	UGUCACUCGGCUCGGCCCACUAC	476	23	21
hsa-miR-146a-5p	UGAGAACUGAAUUCCAUGGGUU	477	22	20
hsa-miR-1973	ACCGUGCAAAGGUAGCAUA	171	19	20
hsa-miR-210	CUGUGCGUGUGACAGCGGCUGA	478	22	20
hsa-miR-3607-5p	GCAUGUGAUGAAGCAAAUCAGU	249	22	20
hsa-miR-378a-5p	CUCCUGACUCCAGGUCCUGUGU	217	22	20
hsa-miR-4449	CGUCCCGGGGCUGCGCGAGGCA	155	22	20
hsa-miR-138-5p	AGCUGGUGUUGUGAAUCAGGCCG	379	23	19
hsa-miR-146b-3p	UGCCCUGUGGACUCAGUUCUGG	381	22	18
hsa-miR-3065-3p	UCAGCACCAGGAUAUUGUUGGAG	350	23	18
hsa-miR-4417	GGUGGGCUUCCCGGAGGG	175	18	18
hsa-miR-497-5p	CAGCAGCACACUGUGGUUUGU	479	21	18
hsa-miR-500a-5p	UAAUCCUUGCUACCUGGGUGAGA	303	23	18
hsa-miR-625-3p	GACUAUAGAACUUUCCCCCUCA	307	22	18

hsa-miR-628-3p	UCUAGUAAGAGUGGCAGUCGA	335	21	18
hsa-miR-1343	CUCCUGGGGCCCGCACUCUCGC	378	22	17
hsa-miR-3648	AGCCGCGGGGAUCGCCGAGGG	259	21	17
hsa-miR-432-3p	CUGGAUGGCUCCUCCAUGUCU	262	21	17
hsa-miR-4482-3p	UUUCUAUUUCUCAGUGGGGCUC	361	22	17
hsa-miR-542-5p	UCGGGGAUCAUCAUGUCACGAGA	433	23	17
hsa-miR-551b-3p	GCGACCCAUACUUGGUUUCAG	434	21	17
hsa-miR-7-1-3p	CAACAAAUCACAGUCUGCCAUA	480	22	17
hsa-miR-219-1-3p	AGAGUUGAGUCUGGACGUCCCG	390	22	16
hsa-miR-3656	GGCGGGUGCGGGGGUGG	251	17	16
hsa-miR-3661	UGACCUGGGACUCGGACAGCUG	481	22	16
hsa-miR-411-3p	UAUGUAACACGGUCCACUAACC	482	22	16
hsa-miR-5096	GUUUCACCAUGUUGGUCAGGC	220	21	16
hsa-miR-577	UAGAUAAAAUAUUGGUACCUG	436	21	16
hsa-let-7i-3p	CUGCGCAAGCUACUGCCUUGCU	483	22	15
hsa-miR-132-5p	ACCGUGGCUUUCGAUUGUUACU	315	22	15
hsa-miR-140-5p	CAGUGGUUUUACCCUAUGGUAG	380	22	15
hsa-miR-195-5p	UAGCAGCACAGAAAUAUUGGC	346	21	15
hsa-miR-3187-3p	UUGGCCAUGGGGCUGCGCGG	322	20	15
hsa-miR-342-5p	AGGGGUGCUAUCUGUGAUUGA	278	21	15
hsa-miR-34b-3p	CAAUCACUAACUCCACUGCCAU	404	22	15
hsa-miR-4661-5p	AACUAGCUCUGUGGAUCCUGAC	484	22	15
hsa-miR-584-5p	UUAUGGUUUGCCUGGGACUGAG	485	22	15
hsa-miR-744-3p	CUGUUGCCACUAACCUCAACCU	486	22	15
hsa-miR-770-5p	UCCAGUACCACGUGUCAGGGCCA	487	23	15
hsa-miR-3677-3p	CUCGUGGGCUCUGGCCACGGCC	356	22	14
hsa-miR-425-3p	AUCGGGAAUGUCGUGUCCGCCC	358	22	14
hsa-miR-548ah-3p	CAAAAACUGCAGUUACUUUUGC	149	22	14
hsa-miR-5699	UCCUGUCUUUCCUUGUUGGAGC	488	22	14
hsa-miR-582-5p	UUACAGUUGUUCAACCAGUUACU	489	23	14
hsa-miR-1185-2-3p	AUAUACAGGGGGAGACUCUCAU	314	22	13
hsa-miR-1249	ACGCCCUUCCCCCCCUUCUUCA	490	22	13
hsa-miR-1255a	AGGAUGAGCAAAGAAAGUAGAUU	341	23	13
hsa-miR-1910	CCAGUCCUGUGCCUGCCGCCU	236	21	13
hsa-miR-301a-5p	GCUCUGACUUUAUUGCACUACU	491	22	13
hsa-miR-5001-3p	UUCUGCCUCUGUCCAGGUCCUU	492	22	13
hsa-miR-5094	AAUCAGUGAAUGCCUUGAACCU	493	22	13
hsa-miR-628-5p	AUGCUGACAUAUUUACUAGAGG	440	22	13
hsa-miR-629-5p	UGGGUUUACGUUGGGAGAACU	441	21	13
hsa-miR-937	AUCCGCGCUCUGACUCUCUGCC	312	22	13
hsa-miR-940	AAGGCAGGGCCCCCGCUCCCC	366	21	13
hsa-miR-1248	ACCUUCUUGUAUAAGCACUGUGCUAAA	269	27	12
hsa-miR-194-5p	UGUAACAGCAACUCCAUGUGGA	345	22	12
hsa-miR-199b-3p	ACAGUAGUCUGCACAUUGGUUA	494	22	12
hsa-miR-22-5p	AGUUCUUCAGUGGCAAGCUUUA	495	22	12

hsa-miR-3605-3p	CCUCCGUGUUACCUGUCCUCUAG	496	23	12
hsa-miR-3654	GACUGGACAAGCUGAGGAA	325	19	12
hsa-miR-504	AGACCCUGGUCUGCACUCUAUC	497	22	12
hsa-miR-1291	UGGCCCUGACUGAAGACCAGCAGU	294	24	11
hsa-miR-1299	UUCUGGAAUUCUGUGUGAGGGA	498	22	11
hsa-miR-188-5p	CAUCCCUUGCAUGGUGGAGGG	499	21	11
hsa-miR-222-5p	CUCAGUAGCCAGUGUAGAUCCU	349	22	11
hsa-miR-331-5p	CUAGGUAUGGUCCCAGGGAUCC	500	22	11
hsa-miR-3939	UACGCGCAGACCACAGGAUGUC	261	22	11
hsa-miR-154-5p	UAGGUUAUCCGUGUUGCCUUCG	501	22	10
hsa-miR-18a-3p	ACUGCCCUAAGUGCUCCUUCUGG	502	23	10
hsa-miR-1908	CGGCGGGGACGGCGAUUGGUC	383	21	10
hsa-miR-200c-3p	UAAUACUGCCGGGUAAUGAUGGA	347	23	10
hsa-miR-2116-3p	CCUCCCAUGCCAAGAACUCCC	318	21	10
hsa-miR-302a-3p	UAAGUGCUUCCAUGUUUUGGUGA	503	23	10
hsa-miR-3174	UAGUGAGUUAGAGAUGCAGAGCC	353	23	10
hsa-miR-326	CCUCUGGGCCCUUCCUCCAG	504	20	10
hsa-let-7g-3p	CUGUACAGGCCACUGCCUUGC	505	21	9
hsa-miR-141-3p	UAACACUGUCUGGUAAAGAUGG	295	22	9
hsa-miR-24-1-5p	UGCCUACUGAGCUGAUAUCAGU	506	22	9
hsa-miR-3115	AUAUGGGUUUACUAGUUGGU	351	20	9
hsa-miR-3180-3p	UGGGGCGGAGCUUCCGGAGGCC	400	22	9
hsa-miR-33a-5p	GUGCAUUGUAGUUGCAUUGCA	355	21	9
hsa-miR-34c-3p	AAUCACUAACCACACGGCCAGG	405	22	9
hsa-miR-3929	GAGGCUGAUGUGAGUAGACCACU	218	23	9
hsa-miR-4517	AAAUAUGAUGAAACUCACAGCUGAG	507	25	9
hsa-miR-576-3p	AAGAUGUGGAAAAAUUGGAAUC	508	22	9
hsa-miR-1229	CUCUCACCACUGCCCUCCCACAG	509	23	8
hsa-miR-1289	UGGAGUCCAGGAAUCUGCAUUUU	343	23	8
hsa-miR-1915-5p	ACCUUGCCUUGCUGCCCGGGCC	385	22	8
hsa-miR-23b-5p	UGGGUUCCUGGCAUGCUGAUUU	510	22	8
hsa-miR-302a-5p	ACUUAAACGUGGAUGUACUUGCU	511	23	8
hsa-miR-3938	AAUUCCCUUGUAGAUAACCCGG	512	22	8
hsa-miR-4466	GGGUGCGGGCCGGCGGGG	264	18	8
hsa-miR-4786-5p	UGAGACCAGGACUGGAUGCACC	197	22	8
hsa-miR-589-3p	UCAGAACAAAUGCCGGUUCCCAGA	438	24	8
hsa-miR-616-5p	ACUCAAAACCCUUCAGUGACUU	439	22	8
hsa-miR-943	CUGACUGUUGCCGUCCUCCAG	338	21	8
hsa-miR-1237	UCCUUCUGCUCCGUCCCCCAG	370	21	7
hsa-miR-1915-3p	CCCCAGGGCGACGCGGCGGG	384	20	7
hsa-miR-3620	UCACCCUGCAUCCCGCACCCAG	324	22	7
hsa-miR-3691-5p	AGUGGAUGAUGGAGACUCGGUAC	409	23	7
hsa-miR-4426	GAAGAUGGACGUACUUU	359	17	7
hsa-let-7a-2-3p	CUGUACAGCCUCCUAGCUUUCC	513	22	6
hsa-miR-10a-3p	CAAAUUCGUAUCUAGGGGAAUA	514	22	6

hsa-miR-1287	UGCUGGAUCAGUGGUUCGAGUC	515	22	6
hsa-miR-145-5p	GUCCAGUUUUCCCAGGAAUCCCU	516	23	6
hsa-miR-29b-1-5p	GCUGGUUUCAUAUGGUGGUUUAGA	517	24	6
hsa-miR-3128	UCUGGCAAGUAAAAAACUCUCAU	518	23	6
hsa-miR-33b-5p	GUGCAUUGCUGUUGCAUUGC	519	20	6
hsa-miR-3681-5p	UAGUGGAUGAUGCACUCUGUGC	327	22	6
hsa-miR-3685	UUUCCUACCCUACCUGAAGACU	520	22	6
hsa-miR-3918	ACAGGGCCGCAGAUGGAGACU	521	21	6
hsa-miR-551b-5p	GAAAUCAAGCGUGGGUGAGACC	522	22	6
hsa-miR-1273f	GGAGAUGGAGGUUGCAGUG	292	19	5
hsa-miR-1273g-3p	ACCACUGCACUCCAGCCUGAG	210	21	5
hsa-miR-1304-5p	UUUGAGGCUACAGUGAGAUGUG	523	22	5
hsa-miR-1538	CGGCCCGGGCUGCUGCUGUUCCU	524	23	5
hsa-miR-181c-3p	AACCAUCGACCGUUGAGUGGAC	525	22	5
hsa-miR-193a-5p	UGGGUCUUUGCGGGCGAGAUGA	526	22	5
hsa-miR-208b	AUAAGACGAACAAAAGGUUUGU	388	22	5
hsa-miR-219-5p	UGAUUGUCCAAACGCAAUUCU	527	21	5
hsa-miR-3159	UAGGAUUACAAGUGUCGGCCAC	528	22	5
hsa-miR-3173-5p	UGCCCUGCCUGUUUUCUCCUUU	529	22	5
hsa-miR-3175	CGGGGAGAGAACGCAGUGACGU	530	22	5
hsa-miR-3200-5p	AAUCUGAGAAGGCGCACAAGGU	531	22	5
hsa-miR-3662	GAAAAUGAUGAGUAGUGACUGAUG	326	24	5
hsa-miR-3928	GGAGGAACCUUGGAGCUUCGGC	413	22	5
hsa-miR-4709-3p	UUGAAGAGGAGGUGCUCUGUAGC	532	23	5
hsa-miR-4787-3p	GAUGCGCCGCCCACUGCCCCGCGC	533	24	5
hsa-miR-499a-5p	UUAAGACUUGCAGUGAUGUUU	534	21	5
hsa-miR-545-3p	UCAGCAAACAUUUAUUGUGUGC	242	22	5
hsa-miR-548u	CAAAGACUGCAAUUACUUUUGCG	535	23	5
hsa-miR-659-5p	AGGACCUUCCCUGAACCAAGGA	364	22	5
hsa-miR-1257	AGUGAAUGAUGGGUUCUGACC	372	21	4
hsa-miR-1292	UGGGAACGGGUUCCGGCAGACGCUG	536	25	4
hsa-miR-1914-5p	CCCUGUGCCCGGCCCACUUCUG	537	22	4
hsa-miR-195-3p	CCAAUAUUGGCUGUGCUGCUCC	538	22	4
hsa-miR-2110	UUGGGGAAACGGCCGCUGAGUG	389	22	4
hsa-miR-302c-5p	UUUAACAUGGGGGUACCUGCUG	539	22	4
hsa-miR-3126-3p	CAUCUGGCAUCCGUCACACAGA	394	22	4
hsa-miR-3126-5p	UGAGGGACAGAUGCCAGAAGCA	352	22	4
hsa-miR-3150a-5p	CAACCUCGACGAUCUCCUCAGC	540	22	4
hsa-miR-3157-3p	CUGCCCUAGUCUAGCUGAAGCU	399	22	4
hsa-miR-323b-3p	CCCAAUACACGGUCGACCUCUU	541	22	4
hsa-miR-335-3p	UUUUUCAUUAUUGCUCCUGACC	542	22	4
hsa-miR-3607-3p	ACUGUAAACGCUUUCUGAUG	543	20	4
hsa-miR-3653	CUAAGAAGUUGACUGAAG	544	18	4
hsa-miR-3663-3p	UGAGCACCACACAGGCCGGGCGC	545	23	4
hsa-miR-376a-5p	GUAGAUUCUCCUUCUAUGAGUA	410	22	4

hsa-miR-4423-3p	AUAGGCACCAAAAAGCAACAA	662	21	4
hsa-miR-4423-5p	AGUUGCCUUUUUGUUCCCAUGC	263	22	4
hsa-miR-4463	GAGACUGGGGUGGGGCC	300	17	4
hsa-miR-449a	UGGCAGUGUAUUGUUAGCUGGU	547	22	4
hsa-miR-4511	GAAGAACUGUUGCAUUUGCCCU	548	22	4
hsa-miR-4640-3p	CACCCCCUGUUUCCUGGCCCAC	329	22	4
hsa-miR-4800-3p	CAUCCGUCCGUCUGUCCAC	549	19	4
hsa-miR-505-5p	GGGAGCCAGGAAGUAUUGAUGU	550	22	4
hsa-miR-548a-3p	CAAAACUGGCAAUUACUUUUGC	551	22	4
hsa-miR-570-3p	CGAAAACAGCAAUUACCUUUGC	333	22	4
hsa-miR-663a	AGGCGGGGCGCCGCGGGACCGC	365	22	4
hsa-miR-877-3p	UCCUCUUCUCCCUCCUCCCAG	552	21	4
hsa-miR-103a-2-5p	AGCUUCUUUACAGUGCUGCCUUG	553	23	3
hsa-miR-1268b	CGGGCGUGGUGGUGGGGGUG	554	20	3
hsa-miR-1270	CUGGAGAUAUGGAAGAGCUGUGU	555	23	3
hsa-miR-1293	UGGGUGGUCUGGAGAUUUGUGC	556	22	3
hsa-miR-1322	GAUGAUGCUGCUGAUGCUG	557	19	3
hsa-miR-150-5p	UCUCCCAACCCUUGUACCAGUG	558	22	3
hsa-miR-190b	UGAUAUGUUUGAUAUUGGGUU	559	21	3
hsa-miR-193a-3p	AACUGGCCUACAAAGUCCCAGU	386	22	3
hsa-miR-193b-5p	CGGGGUUUUGAGGGCGAGAUGA	560	22	3
hsa-miR-199a-5p	CCCAGUGUUCAGACUACCUGUUC	273	23	3
hsa-miR-20a-3p	ACUGCAUUAUGAGCACUUAAAG	561	22	3
hsa-miR-216a	UAAUCUCAGCUGGCAACUGUGA	562	22	3
hsa-miR-2682-5p	CAGGCAGUGACUGUUCAGACGUC	563	23	3
hsa-miR-2964a-5p	AGAUGUCCAGCCACAAUUCUCG	564	22	3
hsa-miR-3177-5p	UGUGUACACACGUGCCAGGCGCU	565	23	3
hsa-miR-320c	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGU	566	20	3
hsa-miR-323a-5p	AGGUGGUCCGUGGCGCGUUCGC	567	22	3
hsa-miR-3622a-5p	CAGGCACGGGAGCUCAGGUGAG	568	22	3
hsa-miR-3912	UAACGCAUAAUAUGGACAUGU	569	21	3
hsa-miR-3934	UCAGGUGUGGAAACUGAGGCAG	570	22	3
hsa-miR-3942-3p	UUUCAGAUAACAGUAUUACAU	414	21	3
hsa-miR-3942-5p	AAGCAAUACUGUUACCUGAAAU	571	22	3
hsa-miR-4523	GACCGAGAGGGCCUCGGCUGU	572	21	3
hsa-miR-4640-5p	UGGGCCAGGGAGCAGCUGGUGGG	573	23	3
hsa-miR-4671-5p	ACCGAAGACUGUGCGCUAAUCU	574	22	3
hsa-miR-4709-5p	ACAACAGUGACUUGCUCUCCAA	575	22	3
hsa-miR-4731-3p	CACACAAGUGGCCCCCAACACU	425	22	3
hsa-miR-4731-5p	UGCUGGGGGCCACAUGAGUGUG	576	22	3
hsa-miR-4762-5p	CCAAAUCUUGAUCAGAAGCCU	577	21	3
hsa-miR-5010-5p	AGGGGGAUGGCAGAGCAAAAUU	578	22	3
hsa-miR-502-5p	AUCCUUGCUAUCUGGGUGCUA	579	21	3
hsa-miR-548d-5p	AAAAGUAAUUGUGGUUUUUGCC	580	22	3
hsa-miR-548i	AAAAGUAAUUGCGGAUUUUGCC	581	22	3

hsa-miR-548j	AAAAGUAAUUGCGGUCUUUGGU	582	22	3
hsa-miR-5587-3p	GCCCCGGGCAGUGUGAUCAUC	284	21	3
hsa-miR-1225-3p	UGAGCCCCUGUGCCGCCCCCAG	369	22	2
hsa-miR-1227	CGUGCCACCCUUUUCCCCAG	583	20	2
hsa-miR-1252	AGAAGGAAAUUGAAUUCAUUUA	371	22	2
hsa-miR-1280	UCCCACCGCUGCCACCC	584	17	2
hsa-miR-1288	UGGACUGCCCUGAUCUGGAGA	585	21	2
hsa-miR-1303	UUUAGAGACGGGGUCUUGCUCU	586	22	2
hsa-miR-1306-3p	ACGUUGGCUCUGGUGGUG	376	18	2
hsa-miR-139-5p	UCUACAGUGCACGUGUCUCCAG	587	22	2
hsa-miR-149-3p	AGGGAGGGACGGGGGCUGUGC	588	21	2
hsa-miR-16-1-3p	CCAGUAUUAACUGUGCUGCUGA	589	22	2
hsa-miR-1909-5p	UGAGUGCCGGUGCCUGCCCUG	590	21	2
hsa-miR-224-5p	CAAGUCACUAGUGGUUCCGUU	591	21	2
hsa-miR-2276	UCUGCAAGUGUCAGAGGCGAGG	592	22	2
hsa-miR-2355-3p	AUUGUCCUUGCUGUUUGGAGAU	468	22	2
hsa-miR-2964a-3p	AGAAUUGCGUUUGGACAAUCAGU	392	23	2
hsa-miR-29c-5p	UGACCGAUUUCUCCUGGUGUUC	594	22	2
hsa-miR-3074-3p	GAUAUCAGCUCAGUAGGCACCG	595	22	2
hsa-miR-3120-3p	CACAGCAAGUGUAGACAGGCA	596	21	2
hsa-miR-3130-5p	UACCCAGUCUCCGGUGCAGCC	396	21	2
hsa-miR-3140-3p	AGCUUUUGGGAAUUCAGGUAGU	597	22	2
hsa-miR-3155a	CCAGGCUCUGCAGUGGGAACU	398	21	2
hsa-miR-3163	UAUAAAAUGAGGGCAGUAAGAC	598	22	2
hsa-miR-3167	AGGAUUUCAGAAAUACUGGUGU	599	22	2
hsa-miR-363-5p	CGGGUGGAUCACGAUGCAAUUU	600	22	2
hsa-miR-3676-3p	CCGUGUUUCCCCCACGCUUU	408	20	2
hsa-miR-378g	ACUGGGCUUGGAGUCAGAAG	411	20	2
hsa-miR-4467	UGGCGGCGGUAGUUAUGGGCUU	360	22	2
hsa-miR-4498	UGGGCUGGCAGGGCAAGUGCUG	601	22	2
hsa-miR-4654	UGUGGGAUCUGGAGGCAUCUGG	420	22	2
hsa-miR-4659a-3p	UUUCUUCUUAGACAUGGCAACG	603	22	2
hsa-miR-4662a-5p	UUAGCCAAUUGUCCAUCUUUAG	604	22	2
hsa-miR-4683	UGGAGAUCCAGUGCUCGCCCGAU	605	23	2
hsa-miR-4738-3p	UGAAACUGGAGCGCCUGGAGGA	606	22	2
hsa-miR-4746-3p	AGCGGUGCUCCUGCGGGCCGA	607	21	2
hsa-miR-4748	GAGGUUUGGGGAGGAUUUGCU	608	21	2
hsa-miR-4792	CGGUGAGCGCUCGCUGGC	363	18	2
hsa-miR-491-5p	AGUGGGGAACCCUUCCAUGAGG	429	22	2
hsa-miR-5000-3p	UCAGGACACUUCUGAACUUGGA	609	22	2
hsa-miR-503	UAGCAGCGGGAACAGUUCUGCAG	610	23	2
hsa-miR-5189	UCUGGGCACAGGCGGAUGGACAGG	611	24	2
hsa-miR-548aq-3p	CAAAAACUGCAAUUACUUUUGC	612	22	2
hsa-miR-548av-3p	AAAACUGCAGUUACUUUUGC	613	20	2
hsa-miR-5584-5p	CAGGGAAAUGGGAAGAACUAGA	332	22	2

hsa-miR-5690	UCAGCUACUACCUCUAUUAGG	435	21	2
hsa-miR-573	CUGAAGUGAUGUGUAACUGAUCAG	305	24	2
hsa-miR-597	UGUGUCACUCGAUGACCACUGU	614	22	2
hsa-miR-622	ACAGUCUGCUGAGGUUGGAGC	615	21	2
hsa-miR-636	UGUGCUUGCUCGUCCCGCCCGCA	616	23	2
hsa-miR-1193	GGGAUGGUAGACCGGUGACGUGC	617	23	1
hsa-miR-1224-3p	CCCCACCUCCUCUCUCCUCAG	618	21	1
hsa-miR-122-5p	UGGAGUGUGACAAUGGUGUUUG	720	22	1
hsa-miR-1228-5p	GUGGGCGGGGGCAGGUGUGUG	620	21	1
hsa-miR-1244	AAGUAGUUGGUUUGUAUGAGAUGGUU	340	26	1
hsa-miR-1247-5p	ACCCGUCCCGUUCGUCCCCGGA	621	22	1
hsa-miR-1255b-5p	CGGAUGAGCAAAGAAAGUGGUU	622	22	1
hsa-miR-1269b	CUGGACUGAGCCAUGCUACUGG	623	22	1
hsa-miR-1272	GAUGAUGAUGGCAGCAAAUUCUGAAA	624	26	1
hsa-miR-1273c	GGCGACAAAACGAGACCCUGUC	625	22	1
hsa-miR-1273e	UUGCUUGAACCCAGGAAGUGGA	342	22	1
hsa-miR-1282	UCGUUUGCCUUUUUCUGCUU	626	20	1
hsa-miR-1290	UGGAUUUUUGGAUCAGGGA	375	19	1
hsa-miR-1294	UGUGAGGUUGGCAUUGUUGUCU	627	22	1
hsa-miR-1306-5p	CCACCUCCCCUGCAAACGUCCA	628	22	1
hsa-miR-1321	CAGGGAGGUGAAUGUGAU	377	18	1
hsa-miR-135a-5p	UAUGGCUUUUUAUUCCUAUGUGA	629	23	1
hsa-miR-137	UUAUUGCUUAAGAAUACGCGUAG	630	23	1
hsa-miR-142-5p	CAUAAAGUAGAAAGCACUACU	631	21	1
hsa-miR-143-5p	GGUGCAGUGCUGCAUCUCUGGU	632	22	1
hsa-miR-15a-3p	CAGGCCAUAUUGUGCUGCCUCA	633	22	1
hsa-miR-186-3p	GCCCAAAGGUGAAUUUUUUGGG	382	22	1
hsa-miR-192-3p	CUGCCAAUUCCAUAGGUCACAG	634	22	1
hsa-miR-19b-1-5p	AGUUUUGCAGGUUUGCAUCCAGC	387	23	1
hsa-miR-200a-3p	UAACACUGUCUGGUAACGAUGU	635	22	1
hsa-miR-204-3p	GCUGGGAAGGCAAAGGGACGU	636	21	1
hsa-miR-214-3p	ACAGCAGGCACAGACAGGCAGU	637	22	1
hsa-miR-29a-5p	ACUGAUUUCUUUUGGUGUUCAG	393	22	1
hsa-miR-3064-5p	UCUGGCUGUUGUGGUGUGCAA	638	21	1
hsa-miR-3116	UGCCUGGAACAUAGUAGGGACU	639	22	1
hsa-miR-3125	UAGAGGAAGCUGUGGAGAGA	640	20	1
hsa-miR-3127-3p	UCCCCUUCUGCAGGCCUGCUGG	641	22	1
hsa-miR-3130-3p	GCUGCACCGGAGACUGGGUAA	395	21	1
hsa-miR-3140-5p	ACCUGAAUUACCAAAAGCUUU	397	21	1
hsa-miR-3157-5p	UUCAGCCAGGCUAGUGCAGUCU	642	22	1
hsa-miR-3179	AGAAGGGGUGAAAUUUAAACGU	643	22	1
hsa-miR-3181	AUCGGGCCCUCGGCGCCGG	644	19	1
hsa-miR-3187-5p	CCUGGGCAGCGUGUGGCUGAAGG	645	23	1
hsa-miR-3190-5p	UCUGGCCAGCUACGUCCCCA	646	20	1
hsa-miR-3198	GUGGAGUCCUGGGGAAUGGAGA	647	22	1

hsa-miR-320b	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCAA	648	22	1
hsa-miR-323b-5p	AGGUUGUCCGUGGUGAGUUCGCA	401	23	1
hsa-miR-3591-5p	UUUAGUGUGAUAAUGGCGUUUGA	649	23	1
hsa-miR-3619-5p	UCAGCAGGCAGGCUGGUGCAGC	650	22	1
hsa-miR-3659	UGAGUGUUGUCUACGAGGGCA	651	21	1
hsa-miR-3674	AUUGUAGAACCUAAGAUUGGCC	652	22	1
hsa-miR-3679-3p	CUUCCCCCCAGUAAUCUUCAUC	653	22	1
hsa-miR-375	UUUGUUCGUUCGGCUCGCGUGA	654	22	1
hsa-miR-378b	ACUGGACUUGGAGGCAGAA	655	19	1
hsa-miR-3908	GAGCAAUGUAGGUAGACUGUUU	656	22	1
hsa-miR-3911	UGUGUGGAUCCUGGAGGAGGCA	657	22	1
hsa-miR-3913-5p	UUUGGGACUGAUCUUGAUGUCU	658	22	1
hsa-miR-3917	GCUCGGACUGAGCAGGUGGG	659	20	1
hsa-miR-3944-3p	UUCGGGCUGGCCUGCUGCUCCGG	660	23	1
hsa-miR-429	UAAUACUGUCUGGUAAAACCGU	661	22	1
hsa-miR-4421	ACCUGUCUGUGGAAAGGAGCUA	718	22	1
hsa-miR-4443	UUGGAGGCGUGGGUUUU	663	17	1
hsa-miR-4459	CCAGGAGGCGGAGGAGGUGGAG	664	22	1
hsa-miR-4473	CUAGUGCUCUCCGUUACAAGUA	665	22	1
hsa-miR-4479	CGCGCGGCCGUGCUCGGAGCAG	666	22	1
hsa-miR-4497	CUCCGGGACGGCUGGGC	232	17	1
hsa-miR-4504	UGUGACAAUAGAGAUGAACAUG	667	22	1
hsa-miR-4520b-3p	UUUGGACAGAAAACACGCAGGU	668	22	1
hsa-miR-452-5p	AACUGUUUGCAGAGGAAACUGA	669	22	1
hsa-miR-4636	AACUCGUGUUCAAAGCCUUUAG	670	22	1
hsa-miR-4659b-3p	UUUCUUCUUAGACAUGGCAGCU	671	22	1
hsa-miR-4664-3p	CUUCCGGUCUGUGAGCCCCGUC	672	22	1
hsa-miR-4665-5p	CUGGGGGACGCGUGAGCGCGAGC	673	23	1
hsa-miR-4666a-5p	AUACAUGUCAGAUUGUAUGCC	674	21	1
hsa-miR-4673	UCCAGGCAGGAGCCGGACUGGA	422	22	1
hsa-miR-4681	AACGGGAAUGCAGGCUGUAUCU	675	22	1
hsa-miR-4682	UCUGAGUUCCUGGAGCCUGGUCU	676	23	1
hsa-miR-4690-5p	GAGCAGGCGAGGCUGGGCUGAA	677	22	1
hsa-miR-4699-5p	AGAAGAUUGCAGAGUAAGUUCC	678	22	1
hsa-miR-4700-3p	CACAGGACUGACUCCUCACCCCAGUG	424	26	1
hsa-miR-4706	AGCGGGGAGGAAGUGGGCGCUGCUU	679	25	1
hsa-miR-4721	UGAGGGCUCCAGGUGACGGUGG	680	22	1
hsa-miR-4728-3p	CAUGCUGACCUCCCUCCUGCCCCAG	681	25	1
hsa-miR-4742-5p	UCAGGCAAAGGGAUAUUUACAGA	682	23	1
hsa-miR-4747-3p	AAGGCCCGGGCUUUCCUCCCAG	683	22	1
hsa-miR-4749-5p	UGCGGGGACAGGCCAGGGCAUC	684	22	1
hsa-miR-4755-3p	AGCCAGGCUCUGAAGGGAAAGU	685	22	1
hsa-miR-4763-5p	CGCCUGCCCAGCCCUCCUGCU	686	21	1
hsa-miR-4766-3p	AUAGCAAUUGCUCUUUUGGAA	687	21	1
hsa-miR-4781-3p	AAUGUUGGAAUCCUCGCUAGAG	688	22	1

hsa-miR-4793-3p	UCUGCACUGUGAGUUGGCUGGCU	689	23	1
hsa-miR-488-3p	UUGAAAGGCUAUUUCUUGGUC	690	21	1
hsa-miR-4999-5p	UGCUGUAUUGUCAGGUAGUGA	691	21	1
hsa-miR-5001-5p	AGGGCUGGACUCAGCGGCGGAGCU	692	24	1
hsa-miR-5002-5p	AAUUUGGUUUCUGAGGCACUUAGU	693	24	1
hsa-miR-5004-5p	UGAGGACAGGGCAAAUUCACGA	694	22	1
hsa-miR-5006-3p	UUUCCCUUUCCAUCCUGGCAG	695	21	1
hsa-miR-5088	CAGGGCUCAGGGAUUGGAUGGAG	696	23	1
hsa-miR-544a	AUUCUGCAUUUUUAGCAAGUUC	697	22	1
hsa-miR-548al	AACGGCAAUGACUUUUGUACCA	698	22	1
hsa-miR-548aq-5p	GAAAGUAAUUGCUGUUUUUGCC	699	22	1
hsa-miR-548at-5p	AAAAGUUAUUGCGGUUUUGGCU	700	22	1
hsa-miR-548au-5p	AAAAGUAAUUGCGGUUUUUGC	701	21	1
hsa-miR-548b-3p	CAAGAACCUCAGUUGCUUUUGU	702	22	1
hsa-miR-556-3p	AUAUUACCAUUAGCUCAUCUUU	703	22	1
hsa-miR-5582-3p	UAAAACUUUAAGUGUGCCUAGG	704	22	1
hsa-miR-5586-3p	CAGAGUGACAAGCUGGUUAAAG	705	22	1
hsa-miR-5588-5p	ACUGGCAUUAGUGGGACUUUU	706	21	1
hsa-miR-5683	UACAGAUGCAGAUUCUCUGACUUC	707	24	1
hsa-miR-5696	CUCAUUUAAGUAGUCUGAUGCC	708	22	1
hsa-miR-5701	UUAUUGUCACGUUCUGAUU	709	19	1
hsa-miR-5706	UUCUGGAUAACAUGCUGAAGCU	710	22	1
hsa-miR-592	UUGUGUCAAUAUGCGAUGAUGU	711	22	1
hsa-miR-603	CACACACUGCAAUUACUUUUGC	712	22	1
hsa-miR-624-3p	CACAAGGUAUUGGUAUUACCU	713	21	1
hsa-miR-885-5p	UCCAUUACACUACCCUGCCUCU	714	22	1
hsa-miR-933	UGUGCGCAGGGAGACCUCUCCC	715	22	1

【０２６９】

【表６】

表 6: 微小胞 EI

微小胞 CTX0E0307EI				
miRNA	miRNA.配列	配列番号	miRNA長さ	リード数
hsa-miR-1246	AAUGGAUUUUUGGAGCAGG	21	19	32723
hsa-miR-4492	GGGGCUGGGCGCGCGCC	34	17	16225
hsa-miR-4488	AGGGGGCGGGCUCCGGCG	61	18	12878
hsa-miR-4532	CCCCGGGGAGCCCGGCG	23	17	6746
hsa-miR-4508	GCGGGGCUGGGCGCGCG	135	17	531
hsa-miR-4516	GGGAGAAGGGUCGGGGC	110	17	500
hsa-miR-3676-5p	AGGAGAUCCUGGGUU	280	15	357
hsa-miR-4485	UAACGGCCGCGGUACCCUAA	67	20	44
hsa-miR-4497	CUCCGGGACGGCUGGGC	232	17	43
hsa-miR-21-5p	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	9	22	33
hsa-miR-3195	CGCGCCGGGCCCGGGUU	716	17	28
hsa-miR-3648	AGCCGCGGGGAUCGCCGAGGG	259	21	26
hsa-miR-663b	GGUGGCCCGGCCGUGCCUGAGG	180	22	24
hsa-miR-3656	GGCGGGUGCGGGGGUGG	251	17	19
hsa-miR-3687	CCCGGACAGGCGUUCGUGCGACGU	190	24	19
hsa-miR-4466	GGGUGCGGGCCGGCGGGG	264	18	19
hsa-miR-4792	CGGUGAGCGCUCGCUGGC	363	18	19
hsa-miR-99b-5p	CACCCGUAGAACCGACCUUGCG	4	22	18
hsa-let-7a-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	1	22	15
hsa-miR-1290	UGGAUUUUUGGAUCAGGGA	375	19	7
hsa-miR-1291	UGGCCCUGACUGAAGACCAGCAGU	294	24	7
hsa-miR-182-5p	UUUGGCAAUGGUAGAACUCACACU	16	24	7
hsa-miR-5096	GUUUCACCAUGUUGGUCAGGC	220	21	7
hsa-miR-1273f	GGAGAUGGAGGUUGCAGUG	292	19	5
hsa-miR-26a-5p	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	12	22	5
hsa-miR-4284	GGGCUCACAUCACCCCAU	191	18	5
hsa-miR-92b-3p	UAUUGCACUCGUCCCGGCCUCC	13	22	5
hsa-let-7b-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU	28	22	4
hsa-let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUU	17	22	4
hsa-let-7f-5p	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU	11	22	4
hsa-miR-100-5p	AACCCGUAGAUCCGAACUUGUG	3	22	4
hsa-miR-1248	ACCUUCUUGUAUAAGCACUGUGCUAAA	269	27	4
hsa-miR-1973	ACCGUGCAAAGGUAGCAUA	171	19	4
hsa-miR-21-3p	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU	20	21	4
hsa-miR-3654	GACUGGACAAGCUGAGGAA	325	19	4
hsa-miR-92a-3p	UAUUGCACUUGUCCCGGCCUGU	7	22	4
hsa-miR-1273g-3p	ACCACUGCACUCCAGCCUGAG	210	21	3

hsa-miR-23b-3p	AUCACAUUGCCAGGGAUUACC	59	21	3
hsa-miR-3609	CAAAGUGAUGAGUAAUACUGGCUG	216	24	3
hsa-miR-3615	UCUCUCGGCUCCUCGCGGCUC	323	21	3
hsa-miR-3653	CUAAGAAGUUGACUGAAG	544	18	3
hsa-miR-3960	GGCGGCGGCGGAGGCGGGGG	416	20	3
hsa-miR-4448	GGCUCCUUGGUCUAGGGGUA	231	20	3
hsa-let-7d-5p	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	92	22	2
hsa-miR-16-5p	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	29	22	2
hsa-miR-181a-5p	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU	15	23	2
hsa-miR-181b-5p	AACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGU	38	23	2
hsa-miR-222-3p	AGCUACAUCUGGCUACUGGGU	36	21	2
hsa-miR-24-3p	UGGCUCAGUUCAGCAGGAACAG	119	22	2
hsa-miR-3196	CGGGGCGGCAGGGGCCUC	717	18	2
hsa-miR-4419b	GAGGCUGAAGGAAGAUGG	718	18	2
hsa-miR-4461	GAUUGAGACUAGUAGGGCUAGGC	129	23	2
hsa-miR-4486	GCUGGGCGAGGCUGGCA	719	17	2
hsa-miR-663a	AGGCGGGGCGCCGCGGGACCGC	365	22	2
hsa-miR-9-5p	UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGA	58	23	2
hsa-let-7i-3p	CUGCGCAAGCUACUGCCUUGCU	483	22	1
hsa-let-7i-5p	UGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUU	22	22	1
hsa-miR-1225-5p	GUGGGUACGGCCCAGUGGGGGG	720	22	1
hsa-miR-1244	AAGUAGUUGGUUUGUAUGAGAUGGUU	340	26	1
hsa-miR-125b-5p	UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA	42	22	1
hsa-miR-1275	GUGGGGGAGAGGCUGUC	162	17	1
hsa-miR-1280	UCCCACCGCUGCCACCC	584	17	1
hsa-miR-134	UGUGACUGGUUGACCAGAGGGG	94	22	1
hsa-miR-149-5p	UCUGGCUCCGUGUCUUCACUCCC	121	23	1
hsa-miR-191-5p	CAACGGAAUCCCAAAAGCAGCUG	8	23	1
hsa-miR-221-3p	AGCUACAUUGUCUGCUGGGUUUC	79	23	1
hsa-miR-22-3p	AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU	33	22	1
hsa-miR-26b-5p	UUCAAGUAAUUCAGGAUAGGU	90	21	1
hsa-miR-30c-5p	UGUAAACAUCCUACACUCUCAGC	66	23	1
hsa-miR-30d-5p	UGUAAACAUCCCCGACUGGAAG	31	22	1
hsa-miR-3182	GCUUCUGUAGUGUAGUC	721	17	1
hsa-miR-320a	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGA	97	22	1
hsa-miR-34a-5p	UGGCAGUGUCUUAGCUGGUUGU	101	22	1
hsa-miR-3607-3p	ACUGUAAACGCUUUCUGAUG	543	20	1
hsa-miR-361-5p	UUAUCAGAAUCUCCAGGGGUAC	70	22	1
hsa-miR-3652	CGGCUGGAGGUGUGAGGA	722	18	1
hsa-miR-409-3p	GAAUGUUGCUCGGUGAACCCCU	47	22	1
hsa-miR-423-3p	AGCUCGGUCUGAGGCCCCUCAGU	57	23	1
hsa-miR-423-5p	UGAGGGGCAGAGAGCGAGACUUU	41	23	1
hsa-miR-432-5p	UCUUGGAGUAGGUCAUUGGGUGG	95	23	1
hsa-miR-4417	GGUGGGCUUCCCGGAGGG	175	18	1
hsa-miR-4426	GAAGAUGGACGUACUUU	359	17	1

hsa-miR-4449	CGUCCCGGGGCUGCGCGAGGCA	155	22	1
hsa-miR-4800-3p	CAUCCGUCCGUCUGUCCAC	549	19	1
hsa-miR-484	UCAGGCUCAGUCCCCUCCCGAU	118	22	1
hsa-miR-486-5p	UCCUGUACUGAGCUGCCCCGAG	5	22	1
hsa-miR-493-3p	UGAAGGUCUACUGUGUGCCAGG	83	22	1
hsa-miR-5095	UUACAGGCGUGAACCACCGCG	723	21	1
hsa-miR-556-3p	AUAUUACCAUUAGCUCAUCUUU	703	22	1
hsa-miR-644b-5p	UGGGCUAAGGGAGAUGAUUGGGUA	724	24	1
hsa-miR-664-5p	ACUGGCUAGGGAAAAUGAUUGGAU	443	24	1
hsa-miR-760	CGGCUCUGGGUCUGUGGGGA	289	20	1
hsa-miR-941	CACCCGGCUGUGUGCACAUGUGC	60	23	1
hsa-miR-98	UGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUU	10	22	1
hsa-miR-99a-5p	AACCCGUAGAUCCGAUCUUGUG	52	22	1

【０２７０】

【表７】

表 7: エキソソーム EI

エキソソーム CTX0E03 07EI				
miRNA	miRNA.配列	配列番号	miRNA長さ	リード数
hsa-miR-1246	AAUGGAUUUUUGGAGCAGG	21	19	83958
hsa-miR-4492	GGGGCUGGGCGCGCGCC	34	17	22482
hsa-miR-4488	AGGGGGCGGGCUCCGGCG	61	18	20618
hsa-miR-4532	CCCCGGGGAGCCCGGCG	23	17	6419
hsa-miR-4516	GGGAGAAGGGUCGGGGC	110	17	904
hsa-miR-4508	GCGGGGCUGGGCGCGCG	135	17	723
hsa-miR-3676-5p	AGGAGAUCCUGGGUU	280	15	174
hsa-miR-4485	UAACGGCCGCGGUACCCUAA	67	20	43
hsa-miR-21-5p	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	9	22	41
hsa-miR-4497	CUCCGGGACGGCUGGGC	232	17	28
hsa-miR-663b	GGUGGCCCGGCCGUGCCUGAGG	180	22	26
hsa-miR-4792	CGGUGAGCGCUCGCUGGC	363	18	24
hsa-miR-4454	GGAUCCGAGUCACGGCACCA	299	20	22
hsa-miR-1291	UGGCCCUGACUGAAGACCAGCAGU	294	24	17
hsa-miR-26a-5p	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	12	22	17
hsa-miR-3195	CGCGCCGGGCCCGGGUU	716	17	17
hsa-let-7a-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	1	22	15
hsa-miR-182-5p	UUUGGCAAUGGUAGAACUCACACU	16	24	15
hsa-miR-99b-5p	CACCCGUAGAACCGACCUUGCG	4	22	15
hsa-miR-5096	GUUUCACCAUGUUGGUCAGGC	220	21	14
hsa-miR-3648	AGCCGCGGGGAUCGCCGAGGG	259	21	13
hsa-miR-3654	GACUGGACAAGCUGAGGAA	325	19	13
hsa-miR-4466	GGGUGCGGGCCGGCGGGG	264	18	12
hsa-miR-3687	CCCGGACAGGCGUUCGUGCGACGU	190	24	11
hsa-miR-4284	GGGCUCACAUCACCCCAU	191	18	11
hsa-miR-3656	GGCGGGUGCGGGGGUGG	251	17	10
hsa-miR-3609	CAAAGUGAUGAGUAAUACUGGCUG	216	24	8
hsa-miR-644b-5p	UGGGCUAAGGGAGAUGAUUGGGUA	724	24	8
hsa-miR-664-5p	ACUGGCUAGGGAAAAUGAUUGGAU	443	24	8
hsa-miR-92a-3p	UAUUGCACUUGUCCCGGCCUGU	7	22	7
hsa-miR-92b-3p	UAUUGCACUCGUCCCGGCCUCC	13	22	7
hsa-let-7b-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU	28	22	6
hsa-let-7f-5p	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU	11	22	6
hsa-miR-127-3p	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU	14	22	6
hsa-miR-1290	UGGAUUUUUGGAUCAGGGA	375	19	6
hsa-miR-4449	CGUCCCGGGGCUGCGCGAGGCA	155	22	6
hsa-miR-4461	GAUUGAGACUAGUAGGGCUAGGC	129	23	6

hsa-miR-100-5p	AACCCGUAGAUCCGAACUUGUG	3	22	5
hsa-miR-1248	ACCUUCUUGUAUAAGCACUGUGCUAAA	269	27	5
hsa-miR-1973	ACCGUGCAAAGGUAGCAUA	171	19	5
hsa-miR-3653	CUAAGAAGUUGACUGAAG	544	18	5
hsa-miR-4417	GGUGGGCUUCCCGGAGGG	175	18	5
hsa-miR-125b-5p	UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA	42	22	4
hsa-miR-151a-3p	CUAGACUGAAGCUCCUUGAGG	25	21	4
hsa-miR-16-5p	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	29	22	4
hsa-miR-21-3p	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU	20	21	4
hsa-miR-23a-3p	AUCACAUUGCCAGGGAUUUCC	55	21	4
hsa-miR-4419b	GAGGCUGAAGGAAGAUGG	718	18	4
hsa-miR-1273f	GGAGAUGGAGGUUGCAGUG	292	19	3
hsa-miR-1273g-3p	ACCACUGCACUCCAGCCUGAG	210	21	3
hsa-miR-181b-5p	AACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGU	38	23	3
hsa-miR-221-3p	AGCUACAUUGUCUGCUGGGUUUC	79	23	3
hsa-miR-3615	UCUCUCGGCUCCUCGCGGCUC	323	21	3
hsa-miR-9-5p	UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGA	58	23	3
hsa-let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUU	17	22	2
hsa-let-7e-5p	UGAGGUAGGAGGUUGUAUAGUU	27	22	2
hsa-let-7i-5p	UGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUU	22	22	2
hsa-miR-103a-3p	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA	62	23	2
hsa-miR-106b-5p	UAAAGUGCUGACAGUGCAGAU	170	21	2
hsa-miR-1273e	UUGCUUGAACCCAGGAAGUGGA	342	22	2
hsa-miR-221-5p	ACCUGGCAUACAAUGUAGAUUU	39	22	2
hsa-miR-222-3p	AGCUACAUCUGGCUACUGGGU	36	21	2
hsa-miR-30d-5p	UGUAAACAUCCCCGACUGGAAG	31	22	2
hsa-miR-3960	GGCGGCGGCGGAGGCGGGGG	416	20	2
hsa-let-7d-3p	CUAUACGACCUGCUGCCUUUCU	92	22	1
hsa-let-7d-5p	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	53	22	1
hsa-let-7g-5p	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU	43	22	1
hsa-let-7i-3p	CUGCGCAAGCUACUGCCUUGCU	483	22	1
hsa-miR-10a-5p	UACCCUGUAGAUCCGAAUUUGUG	2	23	1
hsa-miR-1181	CCGUCGCCGCCACCCGAGCCG	725	21	1
hsa-miR-1225-3p	UGAGCCCCUGUGCCGCCCCCAG	369	22	1
hsa-miR-1244	AAGUAGUUGGUUUGUAUGAGAUGGUU	340	26	1
hsa-miR-125a-5p	UCCCUGAGACCCUUUAACCUGUGA	35	24	1
hsa-miR-1296	UUAGGGCCCUGGCUCCAUCUCC	271	22	1
hsa-miR-1307-5p	UCGACCGGACCUCGACCGGCU	91	21	1
hsa-miR-146b-5p	UGAGAACUGAAUUCCAUAGGCU	19	22	1
hsa-miR-149-5p	UCUGGCUCCGUGUCUUCACUCCC	121	23	1
hsa-miR-151a-5p	UCGAGGAGCUCACAGUCUAGU	37	21	1
hsa-miR-15b-5p	UAGCAGCACAUCAUGGUUUACA	78	22	1
hsa-miR-181a-2-3p	ACCACUGACCGUUGACUGUACC	102	22	1
hsa-miR-181a-5p	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU	15	23	1
hsa-miR-191-5p	CAACGGAAUCCCAAAAGCAGCUG	8	23	1

hsa-miR-198	GGUCCAGAGGGGAGAUAGGUUC	726	22	1
hsa-miR-204-5p	UUCCCUUUGUCAUCCUAUGCCU	89	22	1
hsa-miR-20a-5p	UAAAGUGCUUAUAGUGCAGGUAG	146	23	1
hsa-miR-219-5p	UGAUUGUCCAAACGCAAUUCU	527	21	1
hsa-miR-22-3p	AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU	33	22	1
hsa-miR-23b-3p	AUCACAUUGCCAGGGAUUACC	59	21	1
hsa-miR-26b-3p	CCUGUUCUCCAUUACUUGGCUC	391	22	1
hsa-miR-299-5p	UGGUUUACCGUCCCACAUACAU	319	22	1
hsa-miR-29a-3p	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA	106	22	1
hsa-miR-30e-3p	CUUUCAGUCGGAUGUUUACAGC	71	22	1
hsa-miR-31-3p	UGCUAUGCCAACAUAUUGCCAU	172	22	1
hsa-miR-3198	GUGGAGUCCUGGGGAAUGGAGA	647	22	1
hsa-miR-323a-3p	CACAUUACACGGUCGACCUCU	158	21	1
hsa-miR-342-3p	UCUCACACAGAAAUCGCACCCGU	81	23	1
hsa-miR-3607-3p	ACUGUAAACGCUUUCUGAUG	543	20	1
hsa-miR-3651	CAUAGCCCGGUCGCUGGUACAUGA	727	24	1
hsa-miR-378a-3p	ACUGGACUUGGAGUCAGAAGG	65	21	1
hsa-miR-379-5p	UGGUAGACUAUGGAACGUAGG	18	21	1
hsa-miR-423-3p	AGCUCGGUCUGAGGCCCCUCAGU	57	23	1
hsa-miR-423-5p	UGAGGGGCAGAGAGCGAGACUUU	41	23	1
hsa-miR-425-5p	AAUGACACGAUCACUCCCGUUGA	111	23	1
hsa-miR-4258	CCCCGCCACCGCCUUGG	728	17	1
hsa-miR-4426	GAAGAUGGACGUACUUU	359	17	1
hsa-miR-4443	UUGGAGGCGUGGGUUUU	663	17	1
hsa-miR-4448	GGCUCCUUGGUCUAGGGGUA	231	20	1
hsa-miR-4697-3p	UGUCAGUGACUCCUGCCCCUUGGU	729	24	1
hsa-miR-4700-3p	CACAGGACUGACUCCUCACCCCAGUG	424	26	1
hsa-miR-4700-5p	UCUGGGGAUGAGGACAGUGUGU	730	22	1
hsa-miR-4797-3p	UCUCAGUAAGUGGCACUCUGU	731	21	1
hsa-miR-484	UCAGGCUCAGUCCCCUCCCGAU	118	22	1
hsa-miR-486-5p	UCCUGUACUGAGCUGCCCCGAG	5	22	1
hsa-miR-494	UGAAACAUACACGGGAAACCUC	240	22	1
hsa-miR-500a-5p	UAAUCCUUGCUACCUGGGUGAGA	303	23	1
hsa-miR-644b-3p	UUCAUUUGCCUCCCAGCCUACA	442	22	1
hsa-miR-663a	AGGCGGGGCGCCGCGGGACCGC	365	22	1

【０２７１】

【表８】

表 8: 微小胞 EH

微小胞 CTX0E03 07EH				
miRNA	miRNA配列	配列番号	miRNA長さ	リード数
hsa-miR-1246	AAUGGAUUUUUGGAGCAGG	21	19	78791
hsa-miR-4492	GGGGCUGGGCGCGCGCC	34	17	6012
hsa-miR-4532	CCCCGGGGAGCCCGGCG	23	17	3410
hsa-miR-4488	AGGGGGCGGGCUCCGGCG	61	18	1737
hsa-miR-4485	UAACGGCCGCGGUACCCUAA	67	20	319
hsa-miR-4508	GCGGGGCUGGGCGCGCG	135	17	221
hsa-miR-4516	GGGAGAAGGGUCGGGGC	110	17	114
hsa-miR-4466	GGGUGCGGGCCGGCGGGG	264	18	61
hsa-miR-4497	CUCCGGGACGGCUGGGC	232	17	51
hsa-miR-3195	CGCGCCGGGCCCGGGUU	716	17	41
hsa-miR-1973	ACCGUGCAAAGGUAGCAUA	171	19	30
hsa-miR-21-5p	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	9	22	22
hsa-miR-4284	GGGCUCACAUCACCCCAU	191	18	20
hsa-miR-4792	CGGUGAGCGCUCGCUGGC	363	18	12
hsa-miR-92a-3p	UAUUGCACUUGUCCCGGCCUGU	7	22	12
hsa-miR-1291	UGGCCCUGACUGAAGACCAGCAGU	294	24	11
hsa-miR-3676-5p	AGGAGAUCCUGGGUU	280	15	10
hsa-miR-100-5p	AACCCGUAGAUCCGAACUUGUG	3	22	8
hsa-miR-3656	GGCGGGUGCGGGGGUGG	251	17	8
hsa-miR-663b	GGUGGCCCGGCCGUGCCUGAGG	180	22	8
hsa-let-7a-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	1	22	7
hsa-miR-1290	UGGAUUUUUGGAUCAGGGA	375	19	7
hsa-miR-3687	CCCGGACAGGCGUUCGUGCGACGU	190	24	7
hsa-miR-4461	GAUUGAGACUAGUAGGGCUAGGC	52	23	6
hsa-miR-664-5p	ACUGGCUAGGGAAAAUGAUUGGAU	91	24	6
hsa-miR-92b-3p	UAUUGCACUCGUCCCGGCCUCC	13	22	6
hsa-miR-125b-5p	UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA	42	22	5
hsa-miR-3653	CUAAGAAGUUGACUGAAG	544	18	5
hsa-let-7f-5p	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU	11	22	4
hsa-miR-16-5p	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	29	22	4
hsa-miR-181a-5p	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU	15	23	4
hsa-miR-3609	CAAAGUGAUGAGUAAUACUGGCUG	216	24	4
hsa-miR-9-5p	UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGA	58	23	4
hsa-let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUU	17	22	3
hsa-miR-1244	AAGUAGUUGGUUUGUAUGAGAUGGUU	59	26	3
hsa-miR-127-3p	UCGGAUCCGUCUGAGCUUGGCU	14	22	3

hsa-miR-181b-5p	AACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGU	38	23	3
hsa-miR-21-3p	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU	20	21	3
hsa-miR-26a-5p	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	12	22	3
hsa-miR-30c-5p	UGUAAACAUCCUACACUCUCAGC	66	23	3
hsa-miR-3960	GGCGGCGGCGGAGGCGGGGG	416	20	3
hsa-miR-485-3p	GUCAUACACGGCUCUCCUCUCU	153	22	3
hsa-let-7b-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU	28	22	2
hsa-let-7g-5p	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU	43	22	2
hsa-miR-1273f	GGAGAUGGAGGUUGCAGUG	292	19	2
hsa-miR-151a-3p	CUAGACUGAAGCUCCUUGAGG	25	21	2
hsa-miR-182-5p	UUUGGCAAUGGUAGAACUCACACU	16	24	2
hsa-miR-191-5p	CAACGGAAUCCCAAAAGCAGCUG	8	23	2
hsa-miR-197-3p	UUCACCACCUUCUCCACCCAGC	122	22	2
hsa-miR-423-5p	UGAGGGGCAGAGAGCGAGACUUU	41	23	2
hsa-miR-4468	AGAGCAGAAGGAUGAGAU	732	18	2
hsa-miR-644b-5p	UGGGCUAAGGGAGAUGAUUGGGUA	724	24	2
hsa-miR-93-5p	CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAG	116	23	2
hsa-let-7d-5p	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	92	22	1
hsa-miR-1225-3p	UGAGCCCCUGUGCCGCCCCCAG	369	22	1
hsa-miR-1254	AGCCUGGAAGCUGGAGCCUGCAGU	270	24	1
hsa-miR-1273g-3p	ACCACUGCACUCCAGCCUGAG	210	21	1
hsa-miR-1275	GUGGGGGAGAGGCUGUC	162	17	1
hsa-miR-1296	UUAGGGCCCUGGCUCCAUCUCC	271	22	1
hsa-miR-1307-5p	UCGACCGGACCUCGACCGGCU	91	21	1
hsa-miR-134	UGUGACUGGUUGACCAGAGGGG	94	22	1
hsa-miR-15b-5p	UAGCAGCACAUCAUGGUUUACA	78	22	1
hsa-miR-17-5p	CAAAGUGCUUACAGUGCAGGUAG	145	23	1
hsa-miR-1972	UCAGGCCAGGCACAGUGGCUCA	733	22	1
hsa-miR-22-3p	AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU	33	22	1
hsa-miR-25-3p	CAUUGCACUUGUCUCGGUCUGA	63	22	1
hsa-miR-27b-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	6	21	1
hsa-miR-3065-5p	UCAACAAAAUCACUGAUGCUGGA	226	23	1
hsa-miR-30d-5p	UGUAAACAUCCCCGACUGGAAG	31	22	1
hsa-miR-320a	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGA	97	22	1
hsa-miR-342-3p	UCUCACACAGAAAUCGCACCCGU	81	23	1
hsa-miR-3648	AGCCGCGGGGAUCGCCGAGGG	259	21	1
hsa-miR-3652	CGGCUGGAGGUGUGAGGA	722	18	1
hsa-miR-376c	AACAUAGAGGAAAUUCCACGU	185	21	1
hsa-miR-378a-3p	ACUGGACUUGGAGUCAGAAGG	65	21	1
hsa-miR-409-3p	GAAUGUUGCUCGGUGAACCCCU	47	22	1
hsa-miR-433	AUCAUGAUGGGCUCCUCGGUGU	174	22	1
hsa-miR-4417	GGUGGGCUUCCCGGAGGG	175	18	1
hsa-miR-4448	GGCUCCUUGGUCUAGGGGUA	231	20	1
hsa-miR-4454	GGAUCCGAGUCACGGCACCA	299	20	1
hsa-miR-454-3p	UAGUGCAAUAUUGCUUAUAGGGU	169	23	1

hsa-miR-4800-3p	CAUCCGUCCGUCUGUCCAC	549	19	1
hsa-miR-493-3p	UGAAGGUCUACUGUGUGCCAGG	83	22	1
hsa-miR-5095	UUACAGGCGUGAACCACCGCG	723	21	1
hsa-miR-574-3p	CACGCUCAUGCACACACCCACA	253	22	1
hsa-miR-665	ACCAGGAGGCUGAGGCCCCU	309	20	1
hsa-miR-720	UCUCGCUGGGGCCUCCA	84	17	1
hsa-miR-99a-5p	AACCCGUAGAUCCGAUCUUGUG	52	22	1
hsa-miR-99b-5p	CACCCGUAGAACCGACCUUGCG	4	22	1

【０２７２】

【表９】

表 9: エキソソーム EH

エキソソーム CTX0E03 07EH				
miRNA	miRNA.配列	配列番号	miRNA長さ	リード数
hsa-miR-1246	AAUGGAUUUUUGGAGCAGG	21	19	111092
hsa-miR-4492	GGGGCUGGGCGCGCGCC	34	17	5188
hsa-miR-4532	CCCCGGGGAGCCCGGCG	23	17	3368
hsa-miR-4488	AGGGGGCGGGCUCCGGCG	61	18	1389
hsa-miR-4485	UAACGGCCGCGGUACCCUAA	67	20	386
hsa-miR-4508	GCGGGGCUGGGCGCGCG	135	17	188
hsa-miR-4516	GGGAGAAGGGUCGGGGC	110	17	135
hsa-miR-4497	CUCCGGGACGGCUGGGC	232	17	73
hsa-miR-1973	ACCGUGCAAAGGUAGCAUA	171	19	50
hsa-miR-3195	CGCGCCGGGCCCGGGUU	716	17	48
hsa-miR-4466	GGGUGCGGGCCGGCGGGG	264	18	43
hsa-let-7a-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUAUAGUU	1	22	20
hsa-miR-99b-5p	CACCCGUAGAACCGACCUUGCG	4	22	19
hsa-miR-21-5p	UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA	9	22	18
hsa-miR-92a-3p	UAUUGCACUUGUCCCGGCCUGU	7	22	18
hsa-miR-3676-5p	AGGAGAUCCUGGGUU	280	15	17
hsa-miR-4792	CGGUGAGCGCUCGCUGGC	363	18	15
hsa-miR-664-5p	ACUGGCUAGGGAAAAUGAUUGGAU	443	24	13
hsa-miR-100-5p	AACCCGUAGAUCCGAACUUGUG	3	22	11
hsa-miR-1291	UGGCCCUGACUGAAGACCAGCAGU	294	24	10
hsa-miR-16-5p	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	29	22	10
hsa-miR-4284	GGGCUCACAUCACCCCAU	191	18	10
hsa-miR-663b	GGUGGCCCGGCCGUGCCUGAGG	180	22	9
hsa-miR-25-3p	CAUUGCACUUGUCUCGGUCUGA	63	22	8
hsa-miR-3656	GGCGGGUGCGGGGGUGG	251	17	8
hsa-miR-181a-5p	AACAUUCAACGCUGUCGGUGAGU	15	23	7
hsa-miR-26a-5p	UUCAAGUAAUCCAGGAUAGGCU	12	22	6
hsa-miR-3654	GACUGGACAAGCUGAGGAA	325	19	6
hsa-miR-644b-5p	UGGGCUAAGGGAGAUGAUUGGGUA	724	24	6
hsa-let-7b-5p	UGAGGUAGUAGGUUGUGUGGUU	28	22	5
hsa-let-7f-5p	UGAGGUAGUAGAUUGUAUAGUU	11	22	5
hsa-miR-1290	UGGAUUUUUGGAUCAGGGA	375	19	5
hsa-miR-4426	GAAGAUGGACGUACUUU	359	17	5
hsa-miR-5096	GUUUCACCAUGUUGGUCAGGC	220	21	5
hsa-miR-125b-5p	UCCCUGAGACCCUAACUUGUGA	42	22	4
hsa-miR-1273f	GGAGAUGGAGGUUGCAGUG	292	19	4
hsa-miR-191-5p	CAACGGAAUCCCAAAAGCAGCUG	8	23	4

hsa-miR-22-3p	AAGCUGCCAGUUGAAGAACUGU	33	22	4
hsa-miR-3609	CAAAGUGAUGAGUAAUACUGGCUG	216	24	4
hsa-miR-3687	CCCGGACAGGCGUUCGUGCGACGU	190	24	4
hsa-miR-93-5p	CAAAGUGCUGUUCGUGCAGGUAG	116	23	4
hsa-miR-1248	ACCUUCUUGUAUAAGCACUGUGCUAAA	269	27	3
hsa-miR-1273g-3p	ACCACUGCACUCCAGCCUGAG	210	21	3
hsa-miR-151a-3p	CUAGACUGAAGCUCCUUGAGG	25	21	3
hsa-miR-182-5p	UUUGGCAAUGGUAGAACUCACACU	16	24	3
hsa-miR-221-3p	AGCUACAUUGUCUGCUGGGUUUC	79	23	3
hsa-miR-222-3p	AGCUACAUCUGGCUACUGGGU	36	21	3
hsa-miR-29a-3p	UAGCACCAUCUGAAAUCGGUUA	106	22	3
hsa-miR-4461	GAUUGAGACUAGUAGGGCUAGGC	129	23	3
hsa-miR-486-5p	UCCUGUACUGAGCUGCCCCGAG	5	22	3
hsa-miR-92b-3p	UAUUGCACUCGUCCCGGCCUCC	13	22	3
hsa-miR-9-5p	UCUUUGGUUAUCUAGCUGUAUGA	58	23	3
hsa-miR-98	UGAGGUAGUAAGUUGUAUUGUU	10	22	3
hsa-let-7d-5p	AGAGGUAGUAGGUUGCAUAGUU	53	22	2
hsa-miR-134	UGUGACUGGUUGACCAGAGGGG	94	22	2
hsa-miR-151a-5p	UCGAGGAGCUCACAGUCUAGU	37	21	2
hsa-miR-15b-5p	UAGCAGCACAUCAUGGUUUACA	78	22	2
hsa-miR-30a-5p	UGUAAACAUCCUCGACUGGAAG	30	22	2
hsa-miR-3124-3p	ACUUUCCUCACUCCCGUGAAGU	734	22	2
hsa-miR-3653	CUAAGAAGUUGACUGAAG	544	18	2
hsa-let-7c	UGAGGUAGUAGGUUGUAUGGUU	17	22	1
hsa-let-7d-3p	CUAUACGACCUGCUGCCUUUCU	92	22	1
hsa-let-7g-5p	UGAGGUAGUAGUUUGUACAGUU	43	22	1
hsa-let-7i-5p	UGAGGUAGUAGUUUGUGCUGUU	22	22	1
hsa-miR-103a-3p	AGCAGCAUUGUACAGGGCUAUGA	62	23	1
hsa-miR-106b-5p	UAAAGUGCUGACAGUGCAGAU	170	21	1
hsa-miR-1244	AAGUAGUUGGUUUGUAUGAGAUGGUU	340	26	1
hsa-miR-128	UCACAGUGAACCGGUCUCUUU	109	21	1
hsa-miR-1285-3p	UCUGGGCAACAAAGUGAGACCU	464	22	1
hsa-miR-1307-3p	ACUCGGCGUGGCGUCGGUCGUG	124	22	1
hsa-miR-140-3p	UACCACAGGGUAGAACCACGG	138	21	1
hsa-miR-148b-3p	UCAGUGCAUCACAGAACUUUGU	48	22	1
hsa-miR-181b-5p	AACAUUCAUUGCUGUCGGUGGGU	38	23	1
hsa-miR-193a-3p	AACUGGCCUACAAAGUCCCAGU	386	22	1
hsa-miR-1972	UCAGGCCAGGCACAGUGGCUCA	733	22	1
hsa-miR-21-3p	CAACACCAGUCGAUGGGCUGU	20	21	1
hsa-miR-2277-3p	UGACAGCGCCCUGCCUGGCUC	735	21	1
hsa-miR-23a-3p	AUCACAUUGCCAGGGAUUUCC	55	21	1
hsa-miR-23b-3p	AUCACAUUGCCAGGGAUUACC	59	21	1
hsa-miR-24-3p	UGGCUCAGUUCAGCAGGAACAG	119	22	1
hsa-miR-27a-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCCGC	46	21	1
hsa-miR-27b-3p	UUCACAGUGGCUAAGUUCUGC	6	21	1

hsa-miR-299-3p	UAUGUGGGAUGGUAAACCGCUU	182	22	1
hsa-miR-30b-5p	UGUAAACAUCCUACACUCAGCU	96	22	1
hsa-miR-30c-5p	UGUAAACAUCCUACACUCUCAGC	66	23	1
hsa-miR-31-3p	UGCUAUGCCAACAUAUUGCCAU	172	22	1
hsa-miR-3196	CGGGGCGGCAGGGGCCUC	717	18	1
hsa-miR-3198	GUGGAGUCCUGGGGAAUGGAGA	647	22	1
hsa-miR-320a	AAAAGCUGGGUUGAGAGGGCGA	97	22	1
hsa-miR-329	AACACACCUGGUUAACCUCUUU	214	22	1
hsa-miR-339-5p	UCCCUGUCCUCCAGGAGCUCACG	402	23	1
hsa-miR-34a-5p	UGGCAGUGUCUUAGCUGGUUGU	101	22	1
hsa-miR-3607-5p	GCAUGUGAUGAAGCAAAUCAGU	249	22	1
hsa-miR-3648	AGCCGCGGGGAUCGCCGAGGG	259	21	1
hsa-miR-376c	AACAUAGAGGAAAUUCCACGU	185	21	1
hsa-miR-3960	GGCGGCGGCGGAGGCGGGGG	416	20	1
hsa-miR-411-3p	UAUGUAACACGGUCCACUAACC	482	22	1
hsa-miR-423-3p	AGCUCGGUCUGAGGCCCCUCAGU	57	23	1
hsa-miR-423-5p	UGAGGGGCAGAGAGCGAGACUUU	41	23	1
hsa-miR-4417	GGUGGGCUUCCCGGAGGG	175	18	1
hsa-miR-4444	CUCGAGUUGGAAGAGGCG	418	18	1
hsa-miR-4499	AAGACUGAGAGGAGGGA	736	17	1
hsa-miR-4521	GCUAAGGAAGUCCUGUGCUCAG	233	22	1
hsa-miR-4680-5p	AGAACUCUUGCAGUCUUAGAUGU	737	23	1
hsa-miR-4709-5p	ACAACAGUGACUUGCUCUCCAA	575	22	1
hsa-miR-501-3p	AAUGCACCCGGGCAAGGAUUCU	26	22	1
hsa-miR-644b-3p	UUCAUUUGCCUCCCAGCCUACA	442	22	1
hsa-miR-654-3p	UAUGUCUGCUGACCAUCACCUU	336	22	1
hsa-miR-9-3p	AUAAAGCUAGAUAACCGAAAGU	183	22	1
hsa-miR-940	AAGGCAGGGCCCCCGCUCCCC	366	21	1
hsa-miR-99a-5p	AACCCGUAGAUCCGAUCUUGUG	52	22	1

【０２７３】

D）エキソソーム、MV及びプロデューサー細胞（producer cell）で実施したGENCODE分析による、上位にランクするコードRNA及び非コードRNAの同定

【表１０】

表 10: 各試験サンプルにおいて GENCODE を用いて同定された配列リードの総数

CTX0E0307EH 細胞	CTX0E0307EH EXO	CTX0E0307E H MV	CTX0E0307EI 細胞	CTX0E0307EIE XO	CTX0E0307EI MV
18741941	12678688	10876797	22116110	16311289	835970

【０２７４】

シーケンス結果のGENCODEデータベース分析を使用して、表11に示すように、エキソソーム（EXO）、微小胞（MV）及びプロデューサー細胞中において7つの推定新規miRNA配列を同定した（出発物質の量が低いため、nb CTX0E03 07EI MVのリードは不正確である-表1

0参照）。これらのデータを図16に図示し、図16は、これらの配列が、細胞と比較してエキソソーム及び微小胞中に選択的にシャトルされることを示す。

【表１１】

表11:エキソソーム (EXO)、微小胞 (MV) 及びプロデューサー細胞におけるGENCODEを用いた推定新規miRNA配列の同定。CTXOE03 07EI MVリードは、出発物質の量が少なかったために不正確だった(表1)。転写産物IDは、Ensembl データベース (www.ensembl.org)より取得した。

遺伝子記号	転写産物ID	長さ	RNAのタイプ	CTXOE0307E H細胞	CTXOE0307E HEXO	CTXOE0307E HMV	CTXOE0307E I細胞	CTXOE0307E IEXO	CTXOE0307EI MV
AC079949.1	AC079949.1-201	57	新規 miRNA	2629	27006	14873	2425	11433	848
AP000318.1	AP000318.1-201	64	新規 miRNA	1353	9379	11002	7469	2963	419
AL161626.1	AL161626.1-201	57	新規 miRNA	471	4450	3712	291	1263	129
AC004943.1	AC004943.1-201	81	新規 miRNA	24	81	43	23	94	5
AL121897.1	AL121897.1-201	89	新規 miRNA	6	22	14	2	30	3

【０２７５】

新規miRNAの確認

AC079949.1-201（配列番号738）

遺伝子：AC079949.1 ENSG00000239776
>12 dna：染色体　染色体：GRCh37:12:127650616:127650672:1
GGCCGCGCCCCGTTTCCCAGGACAAAGGGCACTCCGCACCGGACCCTGGTCCCAGCG
【０２７６】
推定成熟miRNAであるAC079949.1-201に関しては、Naive Bays分類システムを使用してmiRNA前駆体配列内で成熟miRNAを発見するツールであるhttp://mirna.imbb.forth.gr/MatureBayes.htmlを使用して、gaccaggguccggugcggagug（配列番号745）を、可能性のある5'ステム成熟miRNAとして同定した。その配列の存在確認を、AGGGTCCGGTGCGGAGT（配列番号746）プライマー配列を使用して実施した。この配列をmirbase（http://www.mirbase.org/）に入力し、配列がウシ（Bos taurus）のmiR-2887-1（アクセッション番号MIMAT0013845）に類似する以下のmiRNAを発見した。
【０２７７】

bta-miR-2887 : 9-20 (配列番号 747)

```
AC079949 (5)          2  ggguccggugcg  13
                         ||||||||||||
bta-miR-2887          9  ggguccggugcg  20
```

【０２７８】
この新規miRNAの存在を精製したエキソソームの逆転写miRNAに対するqRT-PCRで試験した。
【０２７９】
配列TGCGGAGTGCCCTTTGTCCT（配列番号748）であるAC079949の3'ステムを使用して同じ分析を実施したが、この場合には同様のmiRNAがmirbase中に認められなかった。
【０２８０】
AP000318.1-201（配列番号739）
遺伝子：AP000318.1 ENSG00000266007
>21 dna：染色体　染色体：GRCh37:21:35677430:35677493:1
CCCACTCCCTGGCGCCGCTTGTGGAGGGCCCAAGTCCTTCTGATTGAGGCCCAACCCGTGGAAG
【０２８１】
推定成熟miRNAであるAP000318.1-201に関しては、ggagggcccaaguccuucugau（配列番号744）を可能性のある5'ステム成熟miRNAとして同定した。その配列の存在確認を、GGAGGGCCCAAGTCCTTCTGAT（配列番号749）プライマー配列を使用して実施した。カエノラブディティス・レマネイ（Caenorhabditis remanei）のmiR-55ステムループを類似のmiRNAとして同定した。プライマー確認をqRT-PCRで再び行った。
【０２８２】

crm-miR-55-5p : 4-17 (配列番号 750)

```
AP000318.1           20  cccaaguccuucug  7
                         |||||||  ||||||
crm-miR-55-5p         4  cccaagugcuucug  17
```

【０２８３】
AL161626.1-201（配列番号740）
遺伝子：AL161626.1 ENSG00000241781
>9 dna：染色体　染色体：GRCh37:9:79186731:79186787:1
CGCCGGGACCGGGGTCCGGGGCGGAGTGCCCTTCCTCCTGGGAAACGGGGTGCGGC
【０２８４】

推定成熟miRNAであるAL161626.1-201に関しては、ggcggagugcccuucuuccugg（配列番号743）を可能性のある5'ステム成熟miRNAとして同定した。その配列の存在確認を、CGGAGTGCCCTTCTTCCT（配列番号751）プライマー配列を使用して実施した。トウモロコシ（Zea mays）のmiR164cステムループ及びアキポジウム・ディスタキオン（Achypodium distachyon）のmiR164fステムループを類似のmiRNAとして同定した。プライマー確認をqRT-PCRで再び行った。

【０２８５】

zma-miR164c-3p : 4-15 (配列番号 752)

```
AL161626.1              5  gugcccuucuuc  16
                              ||||||||||||
zma-miR164c-3p          4  gugcccuucuuc  15
```

【０２８６】

AC004943.1 （配列番号741）

遺伝子：AC004943.1 ENSG00000265573

>16 dna：染色体　染色体:GRCh37:16:72821592:72821672:-1

GCTTCACGTCCCCACCGGCGGCGGCGGCGGTGGCAGTGGCGGCGGCGGCGGCGGTGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCGGCTC

AL121897.1 （配列番号742）

遺伝子：AL121897.1 ENSG00000264308

>20 dna：染色体　染色体：GRCh37:20:30865503:30865591:1

GCCGCCCCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCGCCCGCTTTCGGCTCGGGCCTCAGGTGAGTCGGAGGGGCCGGGCGCC

【０２８７】

推定新規を含む多種多様なRNA（misc_RNA）

misc_RNAは多種多様なRNAの略であり、一連の多種多様な低分子RNAの総称である。多種多様な転写産物の特徴は他のRNAキーでは定義されない。

【０２８８】

GENCODE配列データセットを使用して同定した、上位にランクする既知のmisc_RNA及び新規のmisc_RNAのリスト：

【表１２】

表12:エキソソーム（EXO)、微小胞（MV）及びプロデューサー細胞におけるGENCODEを用いた推定新規misc_RNAを含むmisc_RNAの配列の同定(CTX0E03 07EI MVリードは、出発物質の量が少なかったために不正確だった－表10)。転写産物IDは、Ensembl データベース (www.ensembl.org)より取得した。

遺伝子記号	転写産物ID	長さ	RNAのタイプ	CTX0E0307EH 細胞	CTX0E0307EH EXO	CTX0E0307EH MV	CTX0E0307EI 細胞	CTX0E0307EI EXO	CTX0E0307EI MV
RPPH1	RPPH1-201	333	misc RNA	76	2229	1785	0	1077	197
RMRP	RMRP-201	264	misc RNA	139	1803	1443	191	659	87
RPPH1	RPPH1-001	638	misc RNA	182	931	1372	795	2017	157
VTRNA1-1	VTRNA1-1-201	99	misc RNA	43	720	52	247	210	9
Y_RNA	Y_RNA.321-201	93	新規 misc RN	159	196	661	960	903	217
Y_RNA	Y_RNA.725-201	95	新規 misc RN	1092	18	74	1005	39	11
Y_RNA	Y_RNA.125-201	96	新規 misc RN	1079	15	58	906	27	12
Y_RNA	Y_RNA.118-201	99	新規 misc RN	134	12	9	156	45	7
Y_RNA	Y_RNA.394-201	109	新規 misc RN	9	9	7	33	13	1
Y_RNA	Y_RNA.687-201	111	新規 misc RN	36	6	15	103	41	10
Y_RNA	Y_RNA.144-201	102	新規 misc RN	129	5	21	187	84	5
Y_RNA	Y_RNA.337-201	105	新規 misc RN	7	4	0	15	4	0
Y_RNA	Y_RNA.413-201	97	新規 misc RN	136	4	8	125	46	3
Y_RNA	Y_RNA.30-201	103	新規 misc RN	74	3	3	62	21	2

【０２８９】

misc_RNAの内、以下の配列がエキソソーム及びMVにおいて選択的に少なく又は多くシャトルされること、即ち、RPHI、RMRP及びVTRNA1-1がそれぞれ多くシャトルされ、Y_RNA.725-201及びY_RNA.125-201がそれぞれ少なくシャトルされることが分かった。RPHIはリボヌクレアーゼP RNA成分H1である。RMRP遺伝子は、エンドリボヌクレアーゼをプロセシングするミトコンドリアRNAのRNA成分をコードし、該エンドリボヌクレアーゼは、ミトコンド

リアDNA複製のプライミング部位でミトコンドリアRNAを切断する。このRNAはまた、テロメラーゼの逆転写酵素触媒サブユニットと相互作用してRNA依存性RNAポリメラーゼ活性を有する別々のリボ核タンパク質複合体を形成し、低分子干渉RNAへとプロセシングされ得る二本鎖RNAを産生する。VTRNA1-1はヴォールトRNA成分1である。ヴォールトは大きな細胞質リボ核タンパク質であり、主要なヴォールトタンパク質であるMVP、2種の少量のヴォールトタンパク質であるTEP1及びPARP4、並びに非翻訳RNA成分であるVTRNA1-1から組成される。Y_RNA.725-201及びY_RNA.125-201は新規のmisc_RNAであり、それらの機能は明確ではない。

【０２９０】

後生動物の多種多様なRNA

7SL、6S、ffs又は4.5S RNAとしても知られるシグナル認識粒子RNAは、シグナル認識粒子（SRP）リボ核タンパク質複合体のRNA成分である。SRPは、細胞内でのタンパク質の交通を方向付けて該タンパク質の分泌を可能にする、普遍的に保存されたリボ核タンパク質である。SRP　RNAは、1種以上のSRPタンパク質と共にシグナルペプチドの結合及び放出に寄与する。この複合体のRNA成分及びタンパク質成分は高度に保存されているが、異なる界の生物の間では変化する。

【０２９１】

GENCODE配列データセットを使用して同定した、上位にランクする後生動物のmisc_RNAのリスト：

【表１３】

表13:エキソソーム (EXO)、微小胞 (MV) 及びプロデューサー細胞におけるGENCODEを用いたシグナル認識粒子RNA(misc_RNA)配列の同定。転写産物IDは、Ensembl データベース (www.ensembl.org)より取得した。

遺伝子記号	転写産物ID	長さ	RNAのタイプ	CTXOE0307EH 細胞	CTXOE0307EH EXO	CTXOE0307EH MV	CTXOE0307EI 細胞	CTXOE0307EI EXO	CTXOE0307EI MV
Metazoa_SRP	Metazoa_SRP.791-201	288	後生動物シグナル認識		679	2324	2058	771	2698	465
Metazoa_SRP	Metazoa_SRP.561-201	294	後生動物シグナル認識		634	2006	1683	744	2147	432
Metazoa_SRP	Metazoa_SRP.864-201	297	後生動物シグナル認識		252	1884	1544	78	170	148
Metazoa_SRP	Metazoa_SRP.824-201	297	後生動物シグナル認識		438	881	958	505	1860	342
Metazoa_SRP	Metazoa_SRP.72-201	278	後生動物シグナル認識		441	630	631	494	2184	349
Metazoa_SRP	Metazoa_SRP.151-201	307	後生動物シグナル認識		377	464	470	432	1431	265
Metazoa_SRP	Metazoa_SRP.208-201	277	後生動物シグナル認識		382	410	431	422	1104	242
Metazoa_SRP	Metazoa_SRP.501-201	280	後生動物シグナル認識		265	272	266	236	434	44
Metazoa_SRP	Metazoa_SRP.682-201	298	後生動物シグナル認識		12	52	21	10	13	2

【０２９２】

rRNA（リボソームRNA）

リボソームRNA（rRNA）はリボソームとして知られるタンパク質合成オルガネラの一部を形成し、細胞質にエクスポートされてメッセンジャーRNA（mRNA）の情報のタンパク質への翻訳を促進する。真核生物リボソーム（80S）rRNA成分は、大ユニット（rRNA 5S、5.8S及び28S）、小ユニット（rRNA 18S）である。エキソソーム及びMVでは、rRNAの28S及び

5.8Sの両方が選択的に多くシャトルされる。

【０２９３】

GENCODE配列データセットを使用して同定した、上位にランクするrRNAのリスト：

【表１４】

表14:エキソソーム (EXO)、微小胞 (MV) 及びプロデューサー細胞におけるGENCODEを用いたrRNA配列の同定。転写産物IDは、Ensembl データベース (www.ensembl.org)より取得した。

遺伝子記号	転写産物ID	長さ	RNAのタイプ	CTX0E0307EH 細胞	CTX0E0307EH EXO	CTX0E0307EH MV	CTX0E0307EI 細胞	CTX0E0307EI EXO	CTX0E0307EI MV
RNA5-8SP6	RNA5-8SP6-201	152	rRNA		205008	1148190	706558	213187	135909	14732
RNA28S5	RNA28S5-001	432	rRNA		86111	458585	516754	62829	390237	47483
RNA18S5	RNA18S5-001	599	rRNA		74634	52055	61639	116874	138484	14616
RNA5-8SP2	RNA5-8SP2-201	152	rRNA		6488	1719	1540	9231	3112	149
RNA5-8SP5	RNA5-8SP5-201	152	rRNA		2794	7393	3924	7314	3579	232

【０２９４】

核小体低分子RNA：snoRNA

核小体低分子RNA（snoRNA）は他のRNAの、即ちリボソームRNA、トランスファーRNA及び

核小体低分子RNAの化学修飾を主に導く低分子RNAの一種である。snoRNAには主に2種のクラス、即ちメチル化と関係するC/Dボックス snoRNA及びプソイドウリジン化と関係するH/ACAボックス snoRNAがある。

【０２９５】

GENCODE配列データセットを使用して同定した、上位にランクするsnoRNAのリスト：

【表１５】

表15:エキソソーム (EXO)、微小胞 (MV) 及びプロデューサー細胞におけるGENCODEを用いたsnoRNA配列の同定。転写産物IDは、Ensembl データベース (www.ensembl.org)より取得した。

遺伝子記号	転写産物ID	長さ	RNAのタイプ	CTX0E0307EH 細胞	CTX0E0307EH EXO	CTX0E0307EH MV	CTX0E0307EI 細胞	CTX0E0307EI EXO	CTX0E0307EI MV	CTX0E0307EI
SNORD3A	SNORD3A-201	216	snoRNA	1433	2085	1621	906	1732	120	
SNORD3C	SNORD3C-201	216	snoRNA	1169	1702	1220	639	1176	86	
SNORD29	SNORD29-201	65	snoRNA	28130	1633	1070	36677	1752	45	
SNORD83B	SNORD83B-201	93	snoRNA	1835	675	487	638	575	29	
SNORD30	SNORD30-201	70	snoRNA	29743	254	244	29071	283	24	

【０２９６】

核内低分子RNA（snRNA）

一般にU-RNAとも称される核内低分子リボ核酸（snRNA）は、U1、U2、U4、U5及びU6と名付けられている主要なスプライセオソームを構成し、いくつかのRNA-RNA相互作用及びRNA-タンパク質相互作用に関与する低分子RNAの一種である。それらの主な機能は、核内でのプレmRNA（hnRNA）のプロセシングにある。それらが転写因子（7SK RNA）又はRNAポリメラーゼII（B2 RNA）の制御及びテロメアの維持を補助することも示されている。

【０２９７】

GENCODE配列データセットを使用して同定した、上位にランクするsnRNAのリスト：

【表１６Ａ】

表16A:エキソソーム (EXO)、微小胞 (MV) 及びプロデューサー細胞におけるGENCODEを用いたsnRNA配列の同定。転写産物IDは、Ensembl データベース (www.ensembl.org)より取得した。

遺伝子記号	転写産物ID	長さ	RNAのタイプ	CTX0E0307EH 細胞	CTX0E0307EH EXO	CTX0E0307EH MV	CTX0E0307EI 細胞	CTX0E0307EI EXO	CTX0E0307EI MV
U2	U2.38-201	191	snRNA	1354	71596	49223	751	35290	1919
U2	U2.6-201	192	snRNA	834	15561	13594	303	8146	272
U1	U1.81-201	164	snRNA	584	10901	7307	91	3197	121
U1	U1.90-201	167	snRNA	533	9927	6689	48	2187	84
U2	U2.7-201	191	snRNA	201	9267	3109	288	6736	262

【０２９８】

lincRNA及び新規のlincRNA

長鎖遺伝子間非コードRNA（lincRNA）は、多様な細胞プロセスの主要制御因子として現れている。個々のlincRNAの機能を決定することは依然として困難である。長鎖非コードRNA（長鎖ncRNA、lncRNA）は、200ヌクレオチドよりも長い、タンパク質をコードしない転写産物である。

【０２９９】

GENCODE配列データセットを使用して同定した、上位にランクする既知の及び新規のlincRNAのリスト：

【表１６Ｂ】

表16B:エキソソーム (EXO)、微小胞 (MV) 及びプロデューサー細胞におけるGENCODEを用いたlincRNA及び推定新規lincRNA配列の同定。転写産物IDは、Ensembl データベース (www.ensembl.org)より取得した。

遺伝子記号	転写産物ID	長さ	RNAのタイプ	CTX0E0307EH 細胞	CTX0E0307EH EXO	CTX0E0307EH MV	CTX0E0307EI 細胞	CTX0E0307EI EXO	CTX0E0307EI MV	CTX0E0307EI MV
RP11-108M9.3	RP11-108M9.3-00	1761	新規 lincRNA	244	159	240	539	324	45	
RP11-329I6.1	RP11-329I6.1-00	507	新規 lincRNA	19	70	41	29	84	2	
RP11-160E2.6	RP11-160E2.6-00	637	新規 lincRNA	228	67	115	489	74	6	
AC004528.3	AC004528.3-001	107	新規 lincRNA	16	58	46	14	55	4	
MALAT1	MALAT1-201	4585	lincRNA	150	308	234	26	182	12	
GAS5	GAS5-007	2743	lincRNA	12024	215	120	46501	875	13	

【０３００】

GAS5 lincRNAは、エキソソーム及び微小胞と比較してプロデューサー細胞中で高度に発現する（エキソソーム及びMVの両方において下方にシャトルされる）。

【０３０１】

mRNA

mRNAをコードする配列も同定した。

【表１７】

表17:エキソソーム(EXO)、微小胞(MV)及びプロデューサー細胞におけるGENCODEを用いたmRNA配列の同定。転写産物IDは、Ensembl データベース(www.ensembl.org)より取得した。

遺伝子記号	転写産物ID	長さ	RNAのタイプ	CTX0E0307EH 細胞	CTX0E0307EH EXO	CTX0E0307EH MV	CTX0E0307EI 細胞	CTX0E0307EI EXO	CTX0E0307EI MV
EEF2	EEF2-201	9407	mRNA		710	578	449	1155	471	33
MTRNR2L8	MTRNR2L8-201	1290	mRNA		1383	548	642	1323	258	15
NES	NES-001	8635	mRNA		668	406	234	1448	267	20
VIM	VIM-001	8316	mRNA		563	911	501	1500	618	36

【０３０２】

実施例12：結論

大規模シーケンス分析の主な目的は、神経幹細胞由来の小胞（エキソソーム及び微小胞）中におけるmiRNA成分を同定することであった。この分析により、エキソソーム及びMV

の両方に選択的にシャトルされる新たな一連の既知及び新規miRNAを同定した。同定したmiRNAの内、mirbaseデータベースに既に含まれているのは、hsa-miR-1246、hsa-miR-4488、hsa-miR-4492、hsa-miR-4508、hsa-miR-4516、hsa-miR-4532であり、新規mirRNAの内ではAC079949.1、AP000318.1、AL161626.1、AC004943.1、AL121897.1であった。エキソソームにおいて新規のシャトルされたmiRNA等の上位にランクするシャトルされたmiRNAをqRT-PCRで確認した。

【０３０３】

シャトルRNAのサイズ分布は本明細書に示すように、主に20～200ntの範囲内であり、他のRNA種は細胞により細胞外空間へ放出される。大規模シーケンシング及びGENCODE配列セットの分析により、より複雑化して多様な非コードRNA転写産物を発見した。詳細な評価によりこの分析を広げ、これにより、エキソソーム及び微小胞の両方において選択的に多く（2以上のlog2変化倍率として定義される）シャトルされる他の非コードRNA及び選択的に少なく（-2以下のlog2変化倍率として定義される）シャトルされる他の非コードRNAの発見につながった。ほぼ全ての非コードRNAサブタイプ、すなわちリボソームRNA（rRNA）、核小体低分子（snoRNA）、核内低分子RNA（snRNA）、マイクロRNA（miRNA）、多種多様な他のRNA（misc_RNA、例えばRMRP、ヴォールトRNA、後生動物SRP及びRNY）、並びに長鎖遺伝子間非コードRNA（lincRNA）において、示差的にシャトルされた非コードRNAを発見した。

【０３０４】

細胞及びシャトルRNAで検出されたRNA種の不均一な分布は、該RNA種の遺伝子制御における役割に関する証拠が増えていることと合わせると、細胞がこれらのRNAを特異的に放出し、標的細胞の機能を改変することを強く示唆する。

【０３０５】

［実施例13］

プロテオーム分析

方法

分画超遠心法を使用して、CTX0E03細胞Integra培養物（2週目）からエキソソーム画分及び微小胞画分を調製した。エキソソーム及び微小胞を変性RIPA緩衝液（50mMのTris HCl、pH8.0、150mMのNaCl、1%SDS、0.1%Triton X100、10mMのDTT、１×完全プロテアーゼ阻害剤（Roche）及び1×PhosStopホスファターゼ阻害剤（Roche））中で破砕し、1mLのツベルクリン注射器及び25ゲージ針を使用して手動でせん断した。Qubit蛍光光度計（Invitrogen）を使用して、破砕後にサンプルを再定量した。各サンプル20μgを4～12%SDS-PAGEゲル（Novex、Invitrogen）上にロードした。ゲルをレーン毎に40個の切片に切り出し、以下のプロトコルによりロボット（ProGest、DigiLab）を使用してゲル薄片を処理した：

a）25mMの重炭酸アンモニウムで洗浄し、続いてアセトニトリルで洗浄する、

b）60℃において10mMのジチオスレイトールで還元し、続いて室温において50mMのヨードアセトアミドでアルキル化する、

c）37℃において4時間にわたりトリプシン（Promega）で消化する、

d）ギ酸でクエンチする、

e）更に処理することなく質量分析により上清を直接分析する。

【０３０６】

質量分析

ThermoFisher Q ExactiveにつないだWaters NanoAcquity HPLCシステムを使用するナノLC/MS/MSにより、各ゲル消化物を分析した。捕捉カラム及び分析カラムの両方にJupiter Proteo樹脂（Phenomenex）を充填し、ペプチドを捕捉カラム上にロードして350nL/分で75μmの分析カラムを通して溶出させた。それぞれ70,000FWHM分解能及び17,500FWHM分解能でOrbitrap中において実施したMS及びMS/MSにより、データ依存型モードで質量分析器を操作した。

【０３０７】

エキソソーム

超遠心分離で精製したエキソソームにおいて、質量分析により2572種のタンパク質を同定した。初期段階（2週目）のIntegra培養物からエキソソームを単離した。2572種全てのタンパク質の遺伝子名及び対応するSWISSPROTアクセッション番号（括弧内）を表18に（遺伝子名のアルファベット順に）列挙し、最も多量に存在する100種のタンパク質を表19に、量が減少する順に列挙する。特徴的なエキソソームマーカーCD9、CD81及びAlix（PDCD6IPとしても知られる）は、最も多量に存在する100種のタンパク質中に存在する。

【表１８】

表 18: CTX0E03 エキソソームにおいて同定された全 2572 種のタンパク質の遺伝子名及び SWISSPROT アクセッション番号（遺伝子名のアルファベット順に列挙する）

A1BG (P04217), A2M (P01023), AACS (Q86V21), AAMP (Q13685), AARS (P49588), AARSD1 (Q9BTE6), AASDHPPT (Q9NRN7), ABCA3 (Q99758), ABCE1 (P61221), ABCF1 (Q8NE71), ABCF3 (Q9NUQ8), ABHD10 (Q9NUJ1), ABHD14B (Q96IU4), ABI1 (Q8IZP0), ABR (Q12979), ACAA2 (P42765), ACACA (Q13085), ACADVL (P49748), ACAP2 (Q15057), ACAT1 (P24752), ACAT2 (Q9BWD1), ACBD7 (Q8N6N7), ACLY (P53396), ACO1 (P21399), ACO2 (Q99798), ACOT1 (Q86TX2), ACOT13 (Q9NPJ3), ACOT7 (O00154), ACP1 (P24666), ACSL1 (P33121), ACSL3 (O95573), ACSL4 (O60488), ACSS2 (Q9NR19), ACTC1 (P68032), ACTG1 (P63261), ACTL6A (O96019), ACTN1 (P12814), ACTN4 (O43707), ACTR10 (Q9NZ32), ACTR1A (P61163), ACTR1B (P42025), ACTR2 (P61160), ACTR3 (P61158), ADAM10 (O14672), ADAM12 (O43184), ADAMTS15 (Q8TE58), ADAMTS16 (Q8TE57), ADAR (P55265), ADAT2 (Q7Z6V5), ADH5 (P11766), ADI1 (Q9BV57), ADK (P55263), ADRBK1 (P25098), ADRM1 (Q16186), ADSL (P30566), ADSS (P30520), AEBP1 (Q8IUX7), AFM (P43652), AGL (P35573), AGRN (O00468), AGT (P01019), AHCY (P23526), AHCYL1 (O43865), AHNAK (Q09666), AHSA1 (O95433), AHSG (P02765), AIDA (Q96BJ3), AIFM1 (O95831), AIMP1 (Q12904), AIMP2 (Q13155), AIP (O00170), AK1 (P00568), AK3 (Q9UIJ7), AK4 (P27144), AKAP12 (Q02952), AKAP9 (Q99996), AKR1A1 (P14550), AKR1B1 (P15121), AKR1C1 (Q04828), AKR7A2 (O43488), AKR7A3 (O95154), AKT1 (P31749), ALCAM (Q13740), ALDH16A1 (Q8IZ83), ALDH3A1 (P30838), ALDH7A1 (P49419), ALDH9A1 (P49189), ALDOA (P04075), ALDOC (P09972), ALKBH2 (Q6NS38), ALKBH4 (Q9NXW9), AMBP (P02760), AMDHD2 (Q9Y303), AMPD2 (Q01433), AMZ2 (Q86W34), ANAPC1 (Q9H1A4), ANAPC4 (Q9UJX5), ANAPC5 (Q9UJX4), ANAPC7 (Q9UJX3), ANKFY1 (Q9P2R3), ANKRD28 (O15084), ANP32A (P39687), ANP32B (Q92688), ANP32E (Q9BTT0), ANXA1 (P04083), ANXA2 (P07355), ANXA4 (P09525), ANXA5 (P08758), ANXA6 (P08133), ANXA7 (P20073), AP1B1 (Q10567), AP1G1 (O43747), AP1M1 (Q9BXS5), AP1S1 (P61966), AP1S2 (P56377), AP2A1 (O95782), AP2A2 (O94973), AP2B1 (P63010), AP2M1 (Q96CW1), AP2S1 (P53680), AP3B1 (O00203), AP3D1 (O14617), AP3M1 (Q9Y2T2), AP3S1 (Q92572), AP3S2 (P59780), AP4S1 (Q9Y587), APEH (P13798), APEX1 (P27695), API5 (Q9BZZ5), APIP (Q96GX9), APOA1 (P02647), APOA1BP (Q8NCW5), APOA2 (P02652), APOBEC3C (Q9NRW3), APOC2 (P02655), APOD (P05090), APOH (P02749), APOM (O95445), APPL1 (Q9UKG1), APRT (P07741), AQR (O60306), ARCN1 (P48444), ARF1 (P84077), ARF4 (P18085), ARF5 (P84085), ARF6 (P62330), ARFIP1 (P53367), ARFIP2 (P53365), ARHGAP1 (Q07960), ARHGAP12 (Q8IWW6), ARHGDIA (P52565), ARHGEF1 (Q92888), ARHGEF10 (O15013), ARHGEF7 (Q14155), ARIH1 (Q9Y4X5), ARIH2 (O95376), ARL1 (P40616), ARL2 (P36404), ARL3 (P36405), ARL6IP1 (Q15041),

ARL8B (Q9NVJ2), ARMC10 (Q8N2F6), ARMC6 (Q6NXE6), ARMC8 (Q8IUR7), ARMC9 (Q7Z3E5), ARMCX3 (Q9UH62), ARPC1A (Q92747), ARPC1B (O15143), ARPC2 (O15144), ARPC3 (O15145), ARPC4 (P59998), ARPC5 (O15511), ARPC5L (Q9BPX5), ARRDC1 (Q8N5I2), ASB6 (Q9NWX5), ASCC1 (Q8N9N2), ASCC2 (Q9H1I8), ASCC3 (Q8N3C0), ASF1A (Q9Y294), ASH2L (Q9UBL3), ASMTL (O95671), ASNA1 (O43681), ASNS (P08243), ASS1 (P00966), ATG16L1 (Q676U5), ATG3 (Q9NT62), ATG4B (Q9Y4P1), ATG7 (O95352), ATIC (P31939), ATL3 (Q6DD88), ATM (Q13315), ATOX1 (O00244), ATP1A1 (P05023), ATP1B1 (P05026), ATP1B3 (P54709), ATP2B1 (P20020), ATP2B4 (P23634), ATP5B (P06576), ATP5E (P56381), ATP5I (P56385), ATP6AP2 (O75787), ATP6V0D1 (P61421), ATP6V1A (P38606), ATP6V1B2 (P21281), ATP6V1C1 (P21283), ATP6V1D (Q9Y5K8), ATP6V1E1 (P36543), ATP6V1G1 (O75348), ATP6V1H (Q9UI12), ATR (Q13535), ATRN (O75882), ATXN10 (Q9UBB4), B2M (P61769), B3GAT3 (O94766), B3GNT1 (O43505), B4GALT7 (Q9UBV7), BAG2 (O95816), BAIAP2 (Q9UQB8), BANF1 (O75531), BAT1 (Q13838), BAT3 (P46379), BBOX1 (O75936), BCAS2 (O75934), BCAT1 (P54687), BCCIP (Q9P287), BCL2L13 (Q9BXK5), BCLAF1 (Q9NYF8), BDH2 (Q9BUT1), BICD2 (Q8TD16), BLOC1S1 (P78537), BLVRA (P53004), BLVRB (P30043), BMP1 (P13497), BOLA2 (Q9H3K6), BPGM (P07738), BPHL (Q86WA6), BPNT1 (O95861), BRCC3 (P46736), BRE (Q9NXR7), BROX (Q5VW32), BRP16L (P0CB43), BSG (P35613), BST1 (Q10588), BTAF1 (O14981), BUB3 (O43684), BUD31 (P41223), BYSL (Q13895), BZW1 (Q7L1Q6), BZW2 (Q9Y6E2), C10orf119 (Q9BTE3), C10orf58 (Q9BRX8), C10orf76 (Q5T2E6), C11orf54 (Q9H0W9), C11orf68 (Q9H3H3), C12orf10 (Q9HB07), C14orf149 (Q96EM0), C14orf166 (Q9Y224), C15orf58 (Q6ZNW5), C16orf13 (Q96S19), C16orf80 (Q9Y6A4), C1D (Q13901), C1orf123 (Q9NWV4), C1orf50 (Q9BV19), C1orf57 (Q9BSD7), C1RL (Q9NZP8), C20orf11 (Q9NWU2), C20orf27 (Q9GZN8), C20orf4 (Q9Y312), C21orf59 (P57076), C22orf25 (Q6ICL3), C22orf28 (Q9Y3I0), C2orf29 (Q9UKZ1), C2orf79 (Q6GMV3), C3orf10 (Q8WUW1), C3orf26 (Q9BQ75), C3orf75 (Q0PNE2), C4orf27 (Q9NWY4), C4orf41 (Q7Z392), C5orf32 (Q9H1C7), C6orf130 (Q9Y530), C6orf211 (Q9H993), C7orf25 (Q9BPX7), C7orf28B (P86790), C7orf41 (Q8N3F0), C7orf59 (Q0VGL1), C9orf142 (Q9BUH6), C9orf23 (Q8N5L8), C9orf41 (Q8N4J0), C9orf64 (Q5T6V5), CA11 (O75493), CAB39 (Q9Y376), CACNA2D1 (P54289), CACYBP (Q9HB71), CAD (P27708), CADM1 (Q9BY67), CADM4 (Q8NFZ8), CALB1 (P05937), CALD1 (Q05682), CALM1 (P62158), CAMK2D (Q13557), CAND1 (Q86VP6), CAP1 (Q01518), CAPN1 (P07384), CAPN2 (P17655), CAPN5 (O15484), CAPNS1 (P04632), CAPS (Q13938), CAPZA1 (P52907), CAPZA2 (P47755), CAPZB (P47756), CARHSP1 (Q9Y2V2), CARKD (Q8IW45), CARM1 (Q86X55), CARS (P49589), CASK (O14936), CASP3 (P42574), CASP6 (P55212), CAT (P04040), CBFB (Q13951), CBR1 (P16152), CBR3 (O75828), CBS (P35520), CBWD2 (Q8IUF1), CBX1 (P83916), CBX3 (Q13185), CBX5 (P45973), CC2D1A (Q6P1N0), CC2D1B (Q5T0F9), CCAR1 (Q8IX12), CCBL1 (Q16773), CCBL2 (Q6YP21), CCDC22 (O60826), CCDC25 (Q86WR0), CCDC53 (Q9Y3C0),

CCDC56 (Q9Y2R0), CCDC93 (Q567U6), CCNC (P24863), CCND2 (P30279), CCNH (P51946), CCT2 (P78371), CCT3 (P49368), CCT4 (P50991), CCT5 (P48643), CCT6A (P40227), CCT7 (Q99832), CCT8 (P50990), CD109 (Q6YHK3), CD151 (P48509), CD276 (Q5ZPR3), CD44 (P16070), CD47 (Q08722), CD59 (P13987), CD63 (P08962), CD81 (P60033), CD9 (P21926), CD99 (P14209), CDC16 (Q13042), CDC23 (Q9UJX2), CDC27 (P30260), CDC34 (P49427), CDC37 (Q16543), CDC40 (O60508), CDC42 (P60953), CDC5L (Q99459), CDCP1 (Q9H5V8), CDH2 (P19022), CDK1 (P06493), CDK2 (P24941), CDK2AP2 (O75956), CDK4 (P11802), CDK5 (Q00535), CDK5RAP3 (Q96JB5), CDK7 (P50613), CDKN2A (P42771), CDKN2AIP (Q9NXV6), CELSR1 (Q9NYQ6), CELSR2 (Q9HCU4), CEP57 (Q86XR8), CFL1 (P23528), CFL2 (Q9Y281), CHAC2 (Q8WUX2), CHAF1B (Q13112), CHD4 (Q14839), CHEK2 (O96017), CHERP (Q8IWX8), CHID1 (Q9BWS9), CHML (P26374), CHMP1B (Q7LBR1), CHMP2A (O43633), CHMP4A (Q9BY43), CHMP4B (Q9H444), CHMP6 (Q96FZ7), CHORDC1 (Q9UHD1), CHP (Q99653), CHRAC1 (Q9NRG0), CHST14 (Q8NCH0), CHST3 (Q7LGC8), CHURC1 (Q8WUH1), CIAO1 (O76071), CIAPIN1 (Q6FI81), CIRH1A (Q969X6), CKAP5 (Q14008), CKB (P12277), CLASP1 (Q7Z460), CLDN3 (O15551), CLEC18B (Q6UXF7), CLIC1 (O00299), CLIC4 (Q9Y696), CLLD6 (Q5W111), CLNS1A (P54105), CLP1 (Q92989), CLPB (Q9H078), CLTA (P09496), CLTC (Q00610), CLU (P10909), CMAS (Q8NFW8), CMBL (Q96DG6), CMPK1 (P30085), CNBP (P62633), CNDP2 (Q96KP4), CNN2 (Q99439), CNN3 (Q15417), CNOT1 (A5YKK6), CNOT10 (Q9H9A5), CNOT6L (Q96LI5), CNOT7 (Q9UIV1), CNP (P09543), COASY (Q13057), COBRA1 (Q8WX92), COG1 (Q8WTW3), COG2 (Q14746), COG3 (Q96JB2), COG4 (Q9H9E3), COG5 (Q9UP83), COG6 (Q9Y2V7), COG7 (P83436), COG8 (Q96MW5), COL11A1 (P12107), COL14A1 (Q05707), COL6A1 (P12109), COMMD1 (Q8N668), COMMD10 (Q9Y6G5), COMMD2 (Q86X83), COMMD3 (Q9UBI1), COMMD4 (Q9H0A8), COMMD5 (Q9GZQ3), COMMD6 (Q7Z4G1), COMMD7 (Q86VX2), COMMD8 (Q9NX08), COMMD9 (Q9P000), COMT (P21964), COPA (P53621), COPB1 (P53618), COPB2 (P35606), COPE (O14579), COPG (Q9Y678), COPG2 (Q9UBF2), COPS2 (P61201), COPS3 (Q9UNS2), COPS4 (Q9BT78), COPS5 (Q92905), COPS6 (Q7L5N1), COPS7A (Q9UBW8), COPS7B (Q9H9Q2), COPS8 (Q99627), COPZ1 (P61923), CORO1A (P31146), CORO1B (Q9BR76), CORO1C (Q9ULV4), CORO2B (Q9UQ03), CORO7 (P57737), COTL1 (Q14019), COX5A (P20674), COX5B (P10606), COX6C (P09669), COX7A2 (P14406), CP (P00450), CPD (O75976), CPN2 (P22792), CPNE1 (Q99829), CPNE3 (O75131), CPNE7 (Q9UBL6), CPSF1 (Q10570), CPSF2 (Q9P2I0), CPSF3 (Q9UKF6), CPSF7 (Q8N684), CPXM1 (Q96SM3), CRIP2 (P52943), CRK (P46108), CRLF3 (Q8IUI8), CRTAP (O75718), CRYAB (P02511), CRYM (Q14894), CRYZ (Q08257), CRYZL1 (O95825), CS (O75390), CSDE1 (O75534), CSE1L (P55060), CSK (P41240), CSNK1A1 (P48729), CSNK2A1 (P68400), CSNK2B (P67870), CSRP1 (P21291), CSRP2 (Q16527), CSTB (P04080), CSTF1 (Q05048), CSTF2T (Q9H0L4), CSTF3 (Q12996), CTBP1 (Q13363), CTBP2 (P56545), CTNNA1 (P35221), CTNNB1 (P35222), CTNNBL1

(Q8WYA6), CTNND1 (O60716), CTPS (P17812), CTPS2 (Q9NRF8), CTR9 (Q6PD62), CTSC (P53634), CTSD (P07339), CTSF (Q9UBX1), CTSL2 (O60911), CTU1 (Q7Z7A3), CTU2 (Q2VPK5), CUL1 (Q13616), CUL2 (Q13617), CUL3 (Q13618), CUL4A (Q13619), CUL4B (Q13620), CUL5 (Q93034), CWF19L1 (Q69YN2), CXADR (P78310), CXorf26 (Q9BVG4), CYB5A (P00167), CYCS (P99999), CYFIP1 (Q7L576), CYFIP2 (Q96F07), CYR61 (O00622), DAG1 (Q14118), DAK (Q3LXA3), DARS (P14868), DAZAP1 (Q96EP5), DBI (P07108), DBN1 (Q16643), DBNL (Q9UJU6), DBR1 (Q9UK59), DCAF7 (P61962), DCAF8 (Q5TAQ9), DCD (P81605), DCK (P27707), DCLK1 (O15075), DCPS (Q96C86), DCTD (P32321), DCTN1 (Q14203), DCTN2 (Q13561), DCTN3 (O75935), DCTN4 (Q9UJW0), DCTN5 (Q9BTE1), DCTN6 (O00399), DCUN1D1 (Q96GG9), DCUN1D5 (Q9BTE7), DCXR (Q7Z4W1), DDA1 (Q9BW61), DDAH2 (O95865), DDB1 (Q16531), DDB2 (Q92466), DDI2 (Q5TDH0), DDR1 (Q08345), DDT (P30046), DDX1 (Q92499), DDX17 (Q92841), DDX19A (Q9NUU7), DDX21 (Q9NR30), DDX23 (Q9BUQ8), DDX39 (O00148), DDX3X (O00571), DDX5 (P17844), DDX51 (Q8N8A6), DDX6 (P26196), DECR1 (Q16698), DEF (Q68CQ4), DEFA1 (P59665), DENR (O43583), DERA (Q9Y315), DFFA (O00273), DHFR (P00374), DHPS (P49366), DHRS1 (Q96LJ7), DHRS11 (Q6UWP2), DHRS4 (Q9BTZ2), DHX15 (O43143), DHX16 (O60231), DHX29 (Q7Z478), DHX36 (Q9H2U1), DHX9 (Q08211), DIAPH1 (O60610), DIAPH2 (O60879), DIMT1L (Q9UNQ2), DIP2B (Q9P265), DIP2C (Q9Y2E4), DIS3 (Q9Y2L1), DIS3L2 (Q8IYB7), DKC1 (O60832), DLG1 (Q12959), DNAH17 (Q9UFH2), DNAJA1 (P31689), DNAJA2 (O60884), DNAJB1 (P25685), DNAJB4 (Q9UDY4), DNAJC13 (O75165), DNAJC3 (Q13217), DNAJC7 (Q99615), DNASE1L1 (P49184), DNM1 (Q05193), DNM1L (O00429), DNM2 (P50570), DNPEP (Q9ULA0), DOCK1 (Q14185), DOCK4 (Q8N1I0), DOCK5 (Q9H7D0), DOCK7 (Q96N67), DOHH (Q9BU89), DOM3Z (O77932), DPCD (Q9BVM2), DPH1 (Q9BZG8), DPH2 (Q9BQC3), DPH5 (Q9H2P9), DPM1 (O60762), DPP3 (Q9NY33), DPP9 (Q86TI2), DPY30 (Q9C005), DPYSL2 (Q16555), DPYSL3 (Q14195), DPYSL4 (O14531), DPYSL5 (Q9BPU6), DRG1 (Q9Y295), DRG2 (P55039), DSG1 (Q02413), DSP (P15924), DST (Q03001), DSTN (P60981), DTD1 (Q8TEA8), DTYMK (P23919), DUS2L (Q9NX74), DUSP12 (Q9UNI6), DUSP23 (Q9BVJ7), DUSP3 (P51452), DYM (Q7RTS9), DYNC1H1 (Q14204), DYNC1I2 (Q13409), DYNC1LI1 (Q9Y6G9), DYNC1LI2 (O43237), DYNC2H1 (Q8NCM8), DYNLL1 (P63167), DYNLL2 (Q96FJ2), DYNLRB1 (Q9NP97), DYNLT1 (P63172), ECHDC1 (Q9NTX5), ECHDC3 (Q96DC8), ECHS1 (P30084), ECM29 (Q5VYK3), EDC4 (Q6P2E9), EEA1 (Q15075), EEF1A1 (P68104), EEF1B2 (P24534), EEF1D (P29692), EEF1E1 (O43324), EEF1G (P26641), EEF2 (P13639), EEFSEC (P57772), EFEMP2 (O95967), EFHD2 (Q96C19), EFNB2 (P52799), EFTUD1 (Q7Z2Z2), EFTUD2 (Q15029), EGFR (P00533), EHD1 (Q9H4M9), EHD2 (Q9NZN4), EHD4 (Q9H223), EIF1 (P41567), EIF1AX (P47813), EIF2A (Q9BY44), EIF2AK2 (P19525), EIF2B1 (Q14232), EIF2B2 (P49770), EIF2B3 (Q9NR50), EIF2B4 (Q9UI10), EIF2B5 (Q13144), EIF2C2 (Q9UKV8), EIF2S1 (P05198), EIF2S2 (P20042), EIF2S3 (P41091), EIF3A (Q14152), EIF3B (P55884), EIF3C (Q99613), EIF3D

(O15371), EIF3E (P60228), EIF3F (O00303), EIF3G (O75821), EIF3H (O15372), EIF3I (Q13347), EIF3J (O75822), EIF3K (Q9UBQ5), EIF3L (Q9Y262), EIF3M (Q7L2H7), EIF4A1 (P60842), EIF4A2 (Q14240), EIF4A3 (P38919), EIF4E (P06730), EIF4E2 (O60573), EIF4G1 (Q04637), EIF4G2 (P78344), EIF4G3 (O43432), EIF4H (Q15056), EIF5 (P55010), EIF5A (P63241), EIF5B (O60841), EIF6 (P56537), ELAC2 (Q9BQ52), ELAVL1 (Q15717), ELMO2 (Q96JJ3), ELP2 (Q6IA86), ELP3 (Q9H9T3), EMG1 (Q92979), EMILIN1 (Q9Y6C2), EML1 (O00423), EML2 (O95834), EML3 (Q32P44), EML4 (Q9HC35), ENAH (Q8N8S7), ENO1 (P06733), ENO2 (P09104), ENOPH1 (Q9UHY7), ENY2 (Q9NPA8), EPB41L2 (O43491), EPB41L3 (Q9Y2J2), EPHA2 (P29317), EPHB3 (P54753), EPHX1 (P07099), EPM2AIP1 (Q7L775), EPRS (P07814), ERH (P84090), ERI1 (Q8IV48), ERI3 (O43414), ERP44 (Q9BS26), ESD (P10768), ESYT1 (Q9BSJ8), ETF1 (P62495), ETFA (P13804), ETFB (P38117), EXOC1 (Q9NV70), EXOC2 (Q96KP1), EXOC3 (O60645), EXOC4 (Q96A65), EXOC5 (O00471), EXOC6 (Q8TAG9), EXOC7 (Q9UPT5), EXOC8 (Q8IYI6), EXOSC1 (Q9Y3B2), EXOSC2 (Q13868), EXOSC3 (Q9NQT5), EXOSC4 (Q9NPD3), EXOSC5 (Q9NQT4), EXOSC6 (Q5RKV6), EXOSC7 (Q15024), EXOSC8 (Q96B26), EXOSC9 (Q06265), EXTL3 (O43909), EYA3 (Q99504), EZR (P15311), F3 (P13726), F8 (P00451), F8A1 (P23610), FABP5 (Q01469), FABP7 (O15540), FADD (Q13158), FAF1 (Q9UNN5), FAH (P16930), FAHD2A (Q96GK7), FAM114A2 (Q9NRY5), FAM115A (Q9Y4C2), FAM120A (Q9NZB2), FAM125A (Q96EY5), FAM127A (A6ZKI3), FAM129B (Q96TA1), FAM136A (Q96C01), FAM168A (Q92567), FAM175B (Q15018), FAM188A (Q9H8M7), FAM3A (P98173), FAM3C (Q92520), FAM45B (Q6NSW5), FAM49B (Q9NUQ9), FAM82B (Q96DB5), FAM84B (Q96KN1), FAM98A (Q8NCA5), FAM98B (Q52LJ0), FARP1 (Q9Y4F1), FARP2 (O94887), FARSA (Q9Y285), FARSB (Q9NSD9), FASN (P49327), FAT1 (Q14517), FBL (P22087), FBLN2 (P98095), FBN1 (P35555), FBN2 (P35556), FBXL18 (Q96ME1), FBXO21 (O94952), FBXO22 (Q8NEZ5), FDFT1 (P37268), FDPS (P14324), FEN1 (P39748), FERMT1 (Q9BQL6), FERMT2 (Q96AC1), FGF1 (P05230), FGFRL1 (Q8N441), FGGY (Q96C11), FH (P07954), FHL1 (Q13642), FHL2 (Q14192), FHL3 (Q13643), FIS1 (Q9Y3D6), FKBP1A (P62942), FKBP3 (Q00688), FKBP4 (Q02790), FKBP5 (Q13451), FLII (Q13045), FLNA (P21333), FLNB (O75369), FLNC (Q14315), FLOT1 (O75955), FMNL2 (Q96PY5), FN3K (Q9H479), FN3KRP (Q9HA64), FNTA (P49354), FNTB (P49356), FOLR1 (P15328), FREM2 (Q5SZK8), FRMD8 (Q9BZ67), FSCN1 (Q16658), FSD1 (Q9BTV5), FTH1 (P02794), FTL (P02792), FTO (Q9C0B1), FTSJD2 (Q8N1G2), FUBP1 (Q96AE4), FUCA2 (Q9BTY2), FUK (Q8N0W3), FXR1 (P51114), G3BP1 (Q13283), G3BP2 (Q9UN86), G6PD (P11413), GAA (P10253), GALK1 (P51570), GALK2 (Q01415), GALNT1 (Q10472), GALNT2 (Q10471), GANAB (Q14697), GAP43 (P17677), GAPDH (P04406), GAPVD1 (Q14C86), GAR1 (Q9NY12), GARS (P41250), GART (P22102), GATSL2 (A6NHX0), GBA (P04062), GBE1 (Q04446), GCLM (P48507), GCN1L1 (Q92616), GDI1 (P31150), GDI2 (P50395), GEMIN5 (Q8TEQ6), GEMIN6 (Q8WXD5), GET4 (Q7L5D6), GFAP (P14136), GFPT1 (Q06210), GFPT2

(O94808), GGCT (O75223), GGPS1 (O95749), GINS1 (Q14691), GINS4 (Q9BRT9), GIPC1 (O14908), GIT1 (Q9Y2X7), GLA (P06280), GLB1 (P16278), GLB1L2 (Q8IW92), GLG1 (Q92896), GLIPR2 (Q9H4G4), GLMN (Q92990), GLO1 (Q04760), GLOD4 (Q9HC38), GLRX (P35754), GLRX3 (O76003), GLT25D1 (Q8NBJ5), GLTP (Q9NZD2), GLTPD1 (Q5TA50), GLUD1 (P00367), GLUL (P15104), GMDS (O60547), GMFB (P60983), GMPPA (Q96IJ6), GMPPB (Q9Y5P6), GMPR (P36959), GMPR2 (Q9P2T1), GMPS (P49915), GNA11 (P29992), GNA13 (Q14344), GNAI2 (P04899), GNAI3 (P08754), GNAQ (P50148), GNAS (Q5JWF2), GNB1 (P62873), GNB2 (P62879), GNB2L1 (P63244), GNB4 (Q9HAV0), GNE (Q9Y223), GNG12 (Q9UBI6), GNG4 (P50150), GNG5 (P63218), GNPDA1 (P46926), GNPNAT1 (Q96EK6), GOLGA7 (Q7Z5G4), GOLGB1 (Q14789), GOLIM4 (O00461), GOLM1 (Q8NBJ4), GOLPH3 (Q9H4A6), GORASP2 (Q9H8Y8), GPC1 (P35052), GPC4 (O75487), GPC6 (Q9Y625), GPD1L (Q8N335), GPI (P06744), GPLD1 (P80108), GPM6A (P51674), GPM6B (Q13491), GPN1 (Q9HCN4), GPR56 (Q9Y653), GPS1 (Q13098), GPX1 (P07203), GPX4 (P36969), GRB2 (P62993), GRHPR (Q9UBQ7), GRP (Q3ZCW2), GRPEL1 (Q9HAV7), GRWD1 (Q9BQ67), GSK3A (P49840), GSK3B (P49841), GSN (P06396), GSPT1 (P15170), GSS (P48637), GSTK1 (Q9Y2Q3), GSTM2 (P28161), GSTM3 (P21266), GSTM4 (Q03013), GSTO1 (P78417), GSTP1 (P09211), GSTT2 (P0CG29), GSTZ1 (O43708), GTF2F2 (P13984), GTF2H2 (Q13888), GTF2I (P78347), GTF3C1 (Q12789), GTF3C2 (Q8WUA4), GTF3C4 (Q9UKN8), GTPBP1 (O00178), GUK1 (Q16774), GYG1 (P46976), GYS1 (P13807), H2AFY (O75367), H2AFZ (P0C0S5), HADH (Q16836), HAGH (Q16775), HARS (P12081), HAT1 (O14929), HAUS3 (Q68CZ6), HAUS4 (Q9H6D7), HBA1 (P69905), HBB (P68871), HCFC1 (P51610), HDAC1 (Q13547), HDAC2 (Q92769), HDAC3 (O15379), HDHD2 (Q9H0R4), HDLBP (Q00341), HEATR1 (Q9H583), HEATR2 (Q86Y56), HEBP1 (Q9NRV9), HECTD3 (Q5T447), HEG1 (Q9ULI3), HELZ (P42694), HERC4 (Q5GLZ8), HEXB (P07686), HGS (O14964), HHIP (Q96QV1), HIBCH (Q6NVY1), HIF1AN (Q9NWT6), HINT1 (P49773), HIP1R (O75146), HIST1H1B (P16401), HIST1H1C (P16403), HIST1H2BM (Q99879), HIST1H2BO (P23527), HIST1H4A (P62805), HIST2H2AA3 (Q6FI13), HIST2H3A (Q71DI3), HK1 (P19367), HK2 (P52789), HLA-A (P30443), HLA-A (P01892), HLCS (P50747), HMGA1 (P17096), HMGB1 (P09429), HMGCL (P35914), HMGCS1 (Q01581), HMGN2 (P05204), HNRNPA1 (P09651), HNRNPA2B1 (P22626), HNRNPA3 (P51991), HNRNPAB (Q99729), HNRNPC (P07910), HNRNPD (Q14103), HNRNPF (P52597), HNRNPH1 (P31943), HNRNPH2 (P55795), HNRNPH3 (P31942), HNRNPK (P61978), HNRNPL (P14866), HNRNPM (P52272), HNRNPR (O43390), HNRNPU (Q00839), HNRNPUL2 (Q1KMD3), HNRPDL (O14979), HNRPLL (Q8WVV9), HOOK3 (Q86VS8), HP (P00738), HP1BP3 (Q5SSJ5), HPCAL1 (P37235), HPRT1 (P00492), HPX (P02790), HRAS (P01112), HS6ST2 (Q96MM7), HSD17B10 (Q99714), HSD17B4 (P51659), HSP90AA1 (P07900), HSP90AB1 (P08238), HSP90B1 (P14625), HSPA12A (O43301), HSPA14 (Q0VDF9), HSPA1A (P08107), HSPA2 (P54652), HSPA4

(P34932), HSPA4L (O95757), HSPA5 (P11021), HSPA8 (P11142), HSPA9 (P38646), HSPB1 (P04792), HSPB11 (Q9Y547), HSPBP1 (Q9NZL4), HSPD1 (P10809), HSPE1 (P61604), HSPG2 (P98160), HSPH1 (Q92598), HTATIP2 (Q9BUP3), HTRA1 (Q92743), HTT (P42858), HUWE1 (Q7Z6Z7), HYOU1 (Q9Y4L1), IARS (P41252), ICAM1 (P05362), IDE (P14735), IDH1 (O75874), IDH2 (P48735), IDI1 (Q13907), IDUA (P35475), IFI16 (Q16666), IFI35 (P80217), IFIT5 (Q13325), IFITM3 (Q01628), IGF1R (P08069), IGF2BP2 (Q9Y6M1), IGF2BP3 (O00425), IGF2R (P11717), IGFBP3 (P17936), IGSF3 (O75054), IGSF8 (Q969P0), IKBKAP (O95163), IL1RAP (Q9NPH3), ILF2 (Q12905), ILF3 (Q12906), ILK (Q13418), ILKAP (Q9H0C8), IMP4 (Q96G21), IMPA1 (P29218), IMPA2 (O14732), IMPAD1 (Q9NX62), IMPDH2 (P12268), INF2 (Q27J81), INPP1 (P49441), INPPL1 (O15357), INTS1 (Q8N201), INTS10 (Q9NVR2), INTS3 (Q68E01), INTS5 (Q6P9B9), IPO11 (Q9UI26), IPO13 (O94829), IPO4 (Q8TEX9), IPO5 (O00410), IPO7 (O95373), IPO8 (O15397), IPO9 (Q96P70), IQGAP1 (P46940), IRF2BP2 (Q7Z5L9), IRF3 (Q14653), IRGQ (Q8WZA9), ISG15 (P05161), ISOC1 (Q96CN7), ISPD (A4D126), ISYNA1 (Q9NPH2), ITFG3 (Q9H0X4), ITGA2 (P17301), ITGA3 (P26006), ITGA4 (P13612), ITGA5 (P08648), ITGA6 (P23229), ITGA7 (Q13683), ITGAV (P06756), ITGB1 (P05556), ITGB4 (P16144), ITGB8 (P26012), ITPA (Q9BY32), JAM3 (Q9BX67), JUP (P14923), KARS (Q15046), KBTBD4 (Q9NVX7), KBTBD6 (Q86V97), KCTD12 (Q96CX2), KDM1A (O60341), KEAP1 (Q14145), KHDRBS1 (Q07666), KHSRP (Q92945), KIAA0174 (P53990), KIAA0196 (Q12768), KIAA0319L (Q8IZA0), KIAA0664 (O75153), KIAA0776 (O94874), KIAA1033 (Q2M389), KIAA1279 (Q96EK5), KIAA1468 (Q9P260), KIAA1598 (A0MZ66), KIAA1797 (Q5VW36), KIAA1967 (Q8N163), KIF1A (Q12756), KIF3A (Q9Y496), KIF5B (P33176), KIF5C (O60282), KLC1 (Q07866), KLC2 (Q9H0B6), KLC4 (Q9NSK0), KLHDC3 (Q9BQ90), KLHL13 (Q9P2N7), KNG1 (P01042), KNTC1 (P50748), KPNA1 (P52294), KPNA2 (P52292), KPNA3 (O00505), KPNA4 (O00629), KPNA6 (O60684), KPNB1 (Q14974), KPRP (Q5T749), KRAS (P01116), KRIT1 (O00522), KRT13 (P13646), KRT14 (P02533), KRT71 (Q3SY84), KTN1 (Q86UP2), L1CAM (P32004), LAGE3 (Q14657), LAMA4 (Q16363), LAMA5 (O15230), LAMB1 (P07942), LAMC1 (P11047), LAMP1 (P11279), LAMP2 (P13473), LANCL1 (O43813), LANCL2 (Q9NS86), LAP3 (P28838), LARP1 (Q6PKG0), LARS (Q9P2J5), LASP1 (Q14847), LCAT (P04180), LCMT1 (Q9UIC8), LDHA (P00338), LDHB (P07195), LDLR (P01130), LEFTY2 (O00292), LEPRE1 (Q32P28), LFNG (Q8NES3), LGALS1 (P09382), LGALS3 (P17931), LGALS3BP (Q08380), LHFP (Q9Y693), LIMA1 (Q9UHB6), LIMS1 (P48059), LIN7C (Q9NUP9), LIPG (Q9Y5X9), LLGL1 (Q15334), LMCD1 (Q9NZU5), LMNA (P02545), LMNB1 (P20700), LOXL4 (Q96JB6), LPL (P06858), LRBA (P50851), LRCH3 (Q96II8), LRG1 (P02750), LRP1 (Q07954), LRRC20 (Q8TCA0), LRRC40 (Q9H9A6), LRRC47 (Q8N1G4), LRRC57 (Q8N9N7), LRSAM1 (Q6UWE0), LRWD1 (Q9UFC0), LSM1 (O15116), LSM12 (Q3MHD2), LSM2 (Q9Y333), LSM3 (P62310), LSM4 (Q9Y4Z0), LSM6 (P62312), LSM7 (Q9UK45), LSS (P48449), LTA4H (P09960), LTBP2 (Q14767), LTBP3 (Q9NS15), LUM

(P51884), LYPLA1 (O75608), LYPLA2 (O95372), LYPLAL1 (Q5VWZ2), M6PR (P20645), MACF1 (Q9UPN3), MAD1L1 (Q9Y6D9), MAD2L1 (Q13257), MAEA (Q7L5Y9), MAGEE1 (Q9HCI5), MAGOHB (Q96A72), MALT1 (Q9UDY8), MAN1B1 (Q9UKM7), MAN2A1 (Q16706), MANBA (O00462), MAP1B (P46821), MAP1S (Q66K74), MAP2K1 (Q02750), MAP2K2 (P36507), MAP2K3 (P46734), MAP3K4 (Q9Y6R4), MAP4 (P27816), MAP4K4 (O95819), MAPK1 (P28482), MAPK12 (P53778), MAPK3 (P27361), MAPK9 (P45984), MAPKAPK2 (P49137), MAPKSP1 (Q9UHA4), MAPRE1 (Q15691), MAPRE3 (Q9UPY8), MARCKS (P29966), MARCKSL1 (P49006), MARK2 (Q7KZI7), MARS (P56192), MAT2A (P31153), MAT2B (Q9NZL9), MATR3 (P43243), MBD3 (O95983), MBNL1 (Q9NR56), MCAM (P43121), MCAT (Q8IVS2), MCM2 (P49736), MCM3 (P25205), MCM4 (P33991), MCM5 (P33992), MCM6 (Q14566), MCM7 (P33993), MCTS1 (Q9ULC4), MDH1 (P40925), MDH2 (P40926), MDK (P21741), MDN1 (Q9NU22), ME1 (P48163), ME2 (P23368), MED1 (Q15648), MED16 (Q9Y2X0), MED17 (Q9NVC6), MED18 (Q9BUE0), MED20 (Q9H944), MED22 (Q15528), MED23 (Q9ULK4), MED27 (Q6P2C8), MED30 (Q96HR3), MED31 (Q9Y3C7), MEMO1 (Q9Y316), MERIT40 (Q9NWV8), METAP1 (P53582), METAP2 (P50579), METT10D (Q86W50), METTL1 (Q9UBP6), METTL11A (Q9BV86), METTL13 (Q8N6R0), METTL2B (Q6P1Q9), METTL5 (Q9NRN9), MFAP2 (P55001), MFAP4 (P55083), MFGE8 (Q08431), MFI2 (P08582), MGAT4B (Q9UQ53), MGAT5 (Q09328), MGEA5 (O60502), MICAL1 (Q8TDZ2), MIF (P14174), MIF4GD (A9UHW6), MINA (Q8IUF8), MINK1 (Q8N4C8), MIOS (Q9NXC5), MIS12 (Q9H081), MKLN1 (Q9UL63), MLTK (Q9NYL2), MMP14 (P50281), MMS19 (Q96T76), MOB2 (Q70IA6), MOBKL1B (Q9H8S9), MOBKL2A (Q96BX8), MOBKL3 (Q9Y3A3), MOCS2 (O96033), MON2 (Q7Z3U7), MORC2 (Q9Y6X9), MOV10 (Q9HCE1), MOXD1 (Q6UVY6), MPI (P34949), MPP6 (Q9NZW5), MPRIP (Q6WCQ1), MPST (P25325), MPZL1 (O95297), MRC2 (Q9UBG0), MRI1 (Q9BV20), MRTO4 (Q9UKD2), MSH2 (P43246), MSN (P26038), MSTO1 (Q9BUK6), MTA1 (Q13330), MTA2 (O94776), MTAP (Q13126), MTHFD1 (P11586), MTHFS (P49914), MTM1 (Q13496), MTMR1 (Q13613), MTMR6 (Q9Y217), MTMR9 (Q96QG7), MTOR (P42345), MTPN (P58546), MTR (Q99707), MVD (P53602), MVK (Q03426), MVP (Q14764), MYADM (Q96S97), MYBBP1A (Q9BQG0), MYCBP (Q99417), MYD88 (Q99836), MYH10 (P35580), MYH9 (P35579), MYL12B (O14950), MYL6 (P60660), MYO18A (Q92614), MYO1B (O43795), MYO1C (O00159), MYO1E (Q12965), MYO6 (Q9UM54), MYOF (Q9NZM1), MZT1 (Q08AG7), NAA10 (P41227), NAA15 (Q9BXJ9), NAA16 (Q6N069), NAA20 (P61599), NAA30 (Q147X3), NAA38 (O95777), NAA50 (Q9GZZ1), NACA (Q13765), NADSYN1 (Q6IA69), NAE1 (Q13564), NAGK (Q9UJ70), NAGLU (P54802), NAMPT (P43490), NANS (Q9NR45), NAP1L1 (P55209), NAP1L4 (Q99733), NAPA (P54920), NAPG (Q99747), NAPRT1 (Q6XQN6), NARS (O43776), NASP (P49321), NCAM1 (P13591), NCAPD2 (Q15021), NCAPG (Q9BPX3), NCBP1 (Q09161), NCBP2 (P52298), NCDN (Q9UBB6), NCKAP1 (Q9Y2A7), NCKIPSD (Q9NZQ3), NCL (P19338), NCS1 (P62166), NCSTN (Q92542), NDRG3 (Q9UGV2), NDRG4 (Q9ULP0), NDUFA2

(O43678), NDUFA3 (O95167), NDUFA5 (Q16718), NDUFAB1 (O14561), NDUFS6 (O75380), NEDD4L (Q96PU5), NEFL (P07196), NEK9 (Q8TD19), NES (P48681), NF1 (P21359), NFIC (P08651), NFIX (Q14938), NFKB2 (Q00653), NHLRC2 (Q8NBF2), NHP2L1 (P55769), NID1 (P14543), NIP7 (Q9Y221), NIT1 (Q86X76), NIT2 (Q9NQR4), NLE1 (Q9NVX2), NLGN4X (Q8N0W4), NLN (Q9BYT8), NMD3 (Q96D46), NME1 (P15531), NME2 (P22392), NME3 (Q13232), NME7 (Q9Y5B8), NMT1 (P30419), NNMT (P40261), NOB1 (Q9ULX3), NOL11 (Q9H8H0), NOL6 (Q9H6R4), NOMO2 (Q5JPE7), NONO (Q15233), NOP10 (Q9NPE3), NOP2 (P46087), NOTCH1 (P46531), NOTCH3 (Q9UM47), NOVA2 (Q9UNW9), NPEPPS (P55786), NPLOC4 (Q8TAT6), NPM1 (P06748), NPM3 (O75607), NPTN (Q9Y639), NPW (Q8N729), NQO1 (P15559), NQO2 (P16083), NR2C2AP (Q86WQ0), NRAS (P01111), NRBP1 (Q9UHY1), NRBP2 (Q9NSY0), NRD1 (O43847), NRP2 (O60462), NSF (P46459), NSMAF (Q92636), NSMCE1 (Q8WV22), NSUN2 (Q08J23), NT5C (Q8TCD5), NT5DC1 (Q5TFE4), NTN1 (O95631), NUBP1 (P53384), NUBP2 (Q9Y5Y2), NUCB1 (Q02818), NUDC (Q9Y266), NUDCD1 (Q96RS6), NUDCD2 (Q8WVJ2), NUDT1 (P36639), NUDT10 (Q8NFP7), NUDT12 (Q9BQG2), NUDT16 (Q96DE0), NUDT16L1 (Q9BRJ7), NUDT2 (P50583), NUDT21 (O43809), NUDT4 (Q9NZJ9), NUDT5 (Q9UKK9), NUMA1 (Q14980), NUP188 (Q5SRE5), NUP37 (Q8NFH4), NUP43 (Q8NFH3), NUP54 (Q7Z3B4), NUP88 (Q99567), NUP93 (Q8N1F7), NUTF2 (P61970), NXN (Q6DKJ4), OBFC2B (Q9BQ15), OCRL (Q01968), ODZ2 (Q9NT68), ODZ3 (Q9P273), OGFOD1 (Q8N543), OGT (O15294), OLA1 (Q9NTK5), OLFML3 (Q9NRN5), OPA1 (O60313), OPLAH (O14841), OSBP (P22059), OSBPL1A (Q9BXW6), OSGEP (Q9NPF4), OTUB1 (Q96FW1), OVCA2 (Q8WZ82), OXCT1 (P55809), OXSR1 (O95747), P4HB (P07237), PA2G4 (Q9UQ80), PAAF1 (Q9BRP4), PABPC1 (P11940), PABPC4 (Q13310), PABPN1 (Q86U42), PACSIN2 (Q9UNF0), PACSIN3 (Q9UKS6), PAF1 (Q8N7H5), PAFAH1B1 (P43034), PAFAH1B2 (P68402), PAFAH1B3 (Q15102), PAICS (P22234), PAIP1 (Q9H074), PAK2 (Q13177), PALD (Q9ULE6), PALLD (Q8WX93), PANK4 (Q9NVE7), PAPOLA (P51003), PAPSS1 (O43252), PARF (Q3YEC7), PARK7 (Q99497), PARN (O95453), PARP1 (P09874), PARP4 (Q9UKK3), PARVA (Q9NVD7), PBK (Q96KB5), PBLD (P30039), PCBP1 (Q15365), PCBP2 (Q15366), PCDHB2 (Q9Y5E7), PCDHGB4 (Q9UN71), PCDHGC3 (Q9UN70), PCID2 (Q5JVF3), PCMT1 (P22061), PCNA (P12004), PCOLCE2 (Q9UKZ9), PCYT2 (Q99447), PDCD10 (Q9BUL8), PDCD2L (Q9BRP1), PDCD4 (Q53EL6), PDCD5 (O14737), PDCD6 (O75340), PDCD6IP (Q8WUM4), PDCL3 (Q9H2J4), PDDC1 (Q8NB37), PDE12 (Q6L8Q7), PDE6D (O43924), PDGFC (Q9NRA1), PDIA3 (P30101), PDIA6 (Q15084), PDLIM1 (O00151), PDLIM4 (P50479), PDLIM5 (Q96HC4), PDLIM7 (Q9NR12), PDRG1 (Q9NUG6), PDRO (Q6IAA8), PDS5A (Q29RF7), PDXK (O00764), PDXP (Q96GD0), PEA15 (Q15121), PEBP1 (P30086), PEF1 (Q9UBV8), PELO (Q9BRX2), PELP1 (Q8IZL8), PEPD (P12955), PFAS (O15067), PFDN2 (Q9UHV9), PFDN5 (Q99471), PFDN6 (O15212), PFKL (P17858), PFKM (P08237), PFKP (Q01813), PFN1 (P07737), PFN2 (P35080), PGAM1 (P18669), PGAM5 (Q96HS1), PGD

(P52209), PGGT1B (P53609), PGK1 (P00558), PGLS (O95336), PGLYRP2 (Q96PD5), PGM1 (P36871), PGM2L1 (Q6PCE3), PGM3 (O95394), PGP (A6NDG6), PGRMC1 (O00264), PGRMC2 (O15173), PHF5A (Q7RTV0), PHGDH (O43175), PHKB (Q93100), PHLDA3 (Q9Y5J5), PHPT1 (Q9NRX4), PIK3CB (P42338), PIK3R4 (Q99570), PIN1 (Q13526), PIP4K2A (P48426), PIPOX (Q9P0Z9), PITPNB (P48739), PKM2 (P14618), PKP1 (Q13835), PLAA (Q9Y263), PLCD3 (Q8N3E9), PLCG1 (P19174), PLD3 (Q8IV08), PLEC (Q15149), PLEKHB2 (Q96CS7), PLIN3 (O60664), PLOD1 (Q02809), PLOD2 (O00469), PLOD3 (O60568), PLRG1 (O43660), PLS1 (Q14651), PLS3 (P13797), PLSCR3 (Q9NRY6), PLTP (P55058), PLXNA1 (Q9UIW2), PLXNB2 (O15031), PLXND1 (Q9Y4D7), PM20D2 (Q8IYS1), PML (P29590), PMM2 (O15305), PMPCA (Q10713), PMPCB (O75439), PMVK (Q15126), PNMA2 (Q9UL42), PNO1 (Q9NRX1), PNP (P00491), PODXL (O00592), POLA1 (P09884), POLD1 (P28340), POLD2 (P49005), POLE3 (Q9NRF9), POLR1A (O95602), POLR1B (Q9H9Y6), POLR1C (O15160), POLR1D (Q9Y2S0), POLR1E (Q9GZS1), POLR2A (P24928), POLR2B (P30876), POLR2C (P19387), POLR2E (P19388), POLR2G (P62487), POLR2H (P52434), POLR2J (P52435), POLR2L (P62875), POLR3A (O14802), POLR3B (Q9NW08), POLR3C (Q9BUI4), POLR3F (Q9H1D9), POP1 (Q99575), POP4 (O95707), POP5 (Q969H6), POP7 (O75817), PPA1 (Q15181), PPA2 (Q9H2U2), PPAT (Q06203), PPCS (Q9HAB8), PPIA (P62937), PPIB (P23284), PPID (Q08752), PPIF (P30405), PPIH (O43447), PPIL1 (Q9Y3C6), PPM1A (P35813), PPM1F (P49593), PPM1G (O15355), PPME1 (Q9Y570), PPP1CA (P62136), PPP1CB (P62140), PPP1CC (P36873), PPP1R7 (Q15435), PPP1R8 (Q12972), PPP2CA (P67775), PPP2CB (P62714), PPP2R1A (P30153), PPP2R2A (P63151), PPP2R4 (Q15257), PPP2R5C (Q13362), PPP2R5D (Q14738), PPP2R5E (Q16537), PPP3CA (Q08209), PPP4C (P60510), PPP4R1 (Q8TF05), PPP5C (P53041), PPP6C (O00743), PPP6R3 (Q5H9R7), PPPDE2 (Q6ICB0), PPT1 (P50897), PPWD1 (Q96BP3), PRCP (P42785), PRDX1 (Q06830), PRDX2 (P32119), PRDX3 (P30048), PRDX5 (P30044), PRDX6 (P30041), PREP (P48147), PREPL (Q4J6C6), PRIM1 (P49642), PRIM2 (P49643), PRKACA (P17612), PRKACB (P22694), PRKAG1 (P54619), PRKAR1A (P10644), PRKAR2A (P13861), PRKAR2B (P31323), PRKDC (P78527), PRMT1 (Q99873), PRMT3 (O60678), PRMT5 (O14744), PROM1 (O43490), PROSC (O94903), PRPF19 (Q9UMS4), PRPF31 (Q8WWY3), PRPF4 (O43172), PRPF4B (Q13523), PRPF8 (Q6P2Q9), PRPS1 (P60891), PRPS2 (P11908), PRPSAP1 (Q14558), PRPSAP2 (O60256), PRSS23 (O95084), PRTFDC1 (Q9NRG1), PSAT1 (Q9Y617), PSMA1 (P25786), PSMA2 (P25787), PSMA3 (P25788), PSMA4 (P25789), PSMA5 (P28066), PSMA6 (P60900), PSMA7 (O14818), PSMB1 (P20618), PSMB2 (P49721), PSMB3 (P49720), PSMB4 (P28070), PSMB5 (P28074), PSMB6 (P28072), PSMB7 (Q99436), PSMB8 (P28062), PSMC1 (P62191), PSMC2 (P35998), PSMC3 (P17980), PSMC4 (P43686), PSMC5 (P62195), PSMC6 (P62333), PSMD1 (Q99460), PSMD10 (O75832), PSMD11 (O00231), PSMD12 (O00232), PSMD13 (Q9UNM6), PSMD14 (O00487), PSMD2 (Q13200), PSMD3 (O43242), PSMD4 (P55036),

PSMD5 (Q16401), PSMD6 (Q15008), PSMD7 (P51665), PSMD8 (P48556), PSMD9 (O00233), PSME1 (Q06323), PSME2 (Q9UL46), PSME3 (P61289), PSME4 (Q14997), PSMF1 (Q92530), PSMG1 (O95456), PSMG2 (Q969U7), PSMG3 (Q9BT73), PSPC1 (Q8WXF1), PSPH (P78330), PTBP1 (P26599), PTGES3 (Q15185), PTGFRN (Q9P2B2), PTGR1 (Q14914), PTGR2 (Q8N8N7), PTK2 (Q05397), PTK7 (Q13308), PTN (P21246), PTP4A1 (Q93096), PTPN1 (P18031), PTPN11 (Q06124), PTPN23 (Q9H3S7), PTPRA (P18433), PTPRG (P23470), PTPRZ1 (P23471), PUF60 (Q9UHX1), PUM1 (Q14671), PURB (Q96QR8), PUS7 (Q96PZ0), PVR (P15151), PWP1 (Q13610), PXDN (Q92626), PXK (Q7Z7A4), PYCR1 (P32322), PYCRL (Q53H96), PYGB (P11216), PYGL (P06737), QARS (P47897), QDPR (P09417), QKI (Q96PU8), QRICH1 (Q2TAL8), QSOX2 (Q6ZRP7), QTRT1 (Q9BXR0), RAB10 (P61026), RAB11A (P62491), RAB11FIP1 (Q6WKZ4), RAB12 (Q6IQ22), RAB13 (P51153), RAB14 (P61106), RAB18 (Q9NP72), RAB1A (P62820), RAB1B (Q9H0U4), RAB21 (Q9UL25), RAB22A (Q9UL26), RAB23 (Q9ULC3), RAB27A (P51159), RAB2A (P61019), RAB34 (Q9BZG1), RAB35 (Q15286), RAB3A (P20336), RAB3GAP1 (Q15042), RAB3GAP2 (Q9H2M9), RAB4A (P20338), RAB5A (P20339), RAB5B (P61020), RAB5C (P51148), RAB6A (P20340), RAB6B (Q9NRW1), RAB7A (P51149), RAB8A (P61006), RAB8B (Q92930), RABAC1 (Q9UI14), RABGAP1 (Q9Y3P9), RABGGTA (Q92696), RABGGTB (P53611), RABIF (P47224), RAC1 (P63000), RAD1 (O60671), RAD50 (Q92878), RAE1 (P78406), RAI14 (Q9P0K7), RALA (P11233), RALB (P11234), RALY (Q9UKM9), RAN (P62826), RANBP1 (P43487), RANBP2 (P49792), RANBP6 (O60518), RANBP9 (Q96S59), RANGAP1 (P46060), RAP1A (P62834), RAP1B (P61224), RAP1GDS1 (P52306), RAP2B (P61225), RARS (P54136), RASA1 (P20936), RBBP4 (Q09028), RBBP5 (Q15291), RBBP7 (Q16576), RBBP9 (O75884), RBM12 (Q9NTZ6), RBM15 (Q96T37), RBM17 (Q96I25), RBM22 (Q9NW64), RBM4 (Q9BWF3), RBMX (P38159), RBP1 (P09455), RBPJ (Q06330), RBX1 (P62877), RCC1 (P18754), RCC2 (Q9P258), RCL (O43598), RDX (P35241), RECQL (P46063), REEP5 (Q00765), REEP6 (Q96HR9), REPS1 (Q96D71), RFC4 (P35249), RFC5 (P40937), RFTN1 (Q14699), RHEB (Q15382), RHOA (P61586), RHOB (P62745), RHOC (P08134), RHOF (Q9HBH0), RHOG (P84095), RIC8A (Q9NPQ8), RMND5A (Q9H871), RNASEH2A (O75792), RNASEH2C (Q8TDP1), RNF123 (Q5XPI4), RNF20 (Q5VTR2), RNF213 (Q63HN8), RNF7 (Q9UBF6), RNGTT (O60942), RNH1 (P13489), RNMT (O43148), RNPEP (Q9H4A4), ROBLD3 (Q9Y2Q5), ROCK1 (Q13464), ROCK2 (O75116), ROR1 (Q01973), RP2 (O75695), RPA1 (P27694), RPA2 (P15927), RPA3 (P35244), RPE (Q96AT9), RPF2 (Q9H7B2), RPL10 (P27635), RPL10A (P62906), RPL11 (P62913), RPL12 (P30050), RPL13 (P26373), RPL13A (P40429), RPL14 (P50914), RPL15 (P61313), RPL17 (P18621), RPL18 (Q07020), RPL18A (Q02543), RPL19 (P84098), RPL21 (P46778), RPL22 (P35268), RPL22L1 (Q6P5R6), RPL23 (P62829), RPL23A (P62750), RPL24 (P83731), RPL26 (P61254), RPL27 (P61353), RPL27A (P46776), RPL28 (P46779), RPL3 (P39023), RPL30 (P62888), RPL31 (P62899), RPL32 (P62910), RPL34 (P49207), RPL35 (P42766), RPL35A

(P18077), RPL36 (Q9Y3U8), RPL36A (P83881), RPL36AL (Q969Q0), RPL37A (P61513), RPL38 (P63173), RPL4 (P36578), RPL5 (P46777), RPL6 (Q02878), RPL7 (P18124), RPL7A (P62424), RPL8 (P62917), RPL9 (P32969), RPLP0 (P05388), RPLP1 (P05386), RPLP2 (P05387), RPP30 (P78346), RPP40 (O75818), RPRD1A (Q96P16), RPS10 (P46783), RPS11 (P62280), RPS12 (P25398), RPS13 (P62277), RPS14 (P62263), RPS15 (P62841), RPS15A (P62244), RPS16 (P62249), RPS17 (P08708), RPS18 (P62269), RPS19 (P39019), RPS2 (P15880), RPS20 (P60866), RPS21 (P63220), RPS23 (P62266), RPS24 (P62847), RPS25 (P62851), RPS26 (P62854), RPS27 (P42677), RPS27A (P62979), RPS27L (Q71UM5), RPS28 (P62857), RPS29 (P62273), RPS3 (P23396), RPS3A (P61247), RPS4X (P62701), RPS4Y1 (P22090), RPS5 (P46782), RPS6 (P62753), RPS6KA3 (P51812), RPS7 (P62081), RPS8 (P62241), RPS9 (P46781), RPSA (P08865), RQCD1 (Q92600), RRAGA (Q7L523), RRAS (P10301), RRAS2 (P62070), RRBP1 (Q9P2E9), RRM1 (P23921), RRM2 (P31350), RRM2B (Q7LG56), RRP12 (Q5JTH9), RRP9 (O43818), RSL1D1 (O76021), RSU1 (Q15404), RTCD1 (O00442), RTN3 (O95197), RTN4 (Q9NQC3), RUVBL1 (Q9Y265), RUVBL2 (Q9Y230), RWDD2B (P57060), S100A10 (P60903), S100A11 (P31949), S100A13 (Q99584), S100A16 (Q96FQ6), S100A4 (P26447), S100A6 (P06703), S100A8 (P05109), SAAL1 (Q96ER3), SACS (Q9NZJ4), SAE1 (Q9UBE0), SAFB2 (Q14151), SAMHD1 (Q9Y3Z3), SAP18 (O00422), SAR1A (Q9NR31), SARM1 (Q6SZW1), SARS (P49591), SART3 (Q15020), SBDS (Q9Y3A5), SBF1 (O95248), SCARB1 (Q8WTV0), SCARB2 (Q14108), SCFD1 (Q8WVM8), SCLY (Q96I15), SCP2 (P22307), SCPEP1 (Q9HB40), SCRG1 (O75711), SCRIB (Q14160), SCRN1 (Q12765), SCRN2 (Q96FV2), SCYL1 (Q96KG9), SCYL2 (Q6P3W7), SDC1 (P18827), SDC2 (P34741), SDCBP (O00560), SDF4 (Q9BRK5), SDHA (P31040), SDK1 (Q7Z5N4), SDSL (Q96GA7), SEC11A (P67812), SEC13 (P55735), SEC22B (O75396), SEC23A (Q15436), SEC23B (Q15437), SEC23IP (Q9Y6Y8), SEC24A (O95486), SEC24B (O95487), SEC24C (P53992), SEC24D (O94855), SEC31A (O94979), SEH1L (Q96EE3), SELH (Q8IZQ5), SEMA3A (Q14563), SEPSECS (Q9HD40), 40787 (Q9NVA2), 37500 (Q15019), 38596 (Q99719), 39326 (Q16181), 39692 (Q92599), 40057 (Q9UHD8), SERBP1 (Q8NC51), SERPINA1 (P01009), SERPINA3 (P01011), SERPINA7 (P05543), SERPINB6 (P35237), SERPINB8 (P50452), SERPINE1 (P05121), SERPINE2 (P07093), SERPING1 (P05155), SERPINH1 (P50454), SETD3 (Q86TU7), SETD7 (Q8WTS6), SF3A1 (Q15459), SF3A2 (Q15428), SF3A3 (Q12874), SF3B1 (O75533), SF3B14 (Q9Y3B4), SF3B2 (Q13435), SF3B3 (Q15393), SF3B4 (Q15427), SF3B5 (Q9BWJ5), SFPQ (P23246), SFRP4 (Q6FHJ7), SGTA (O43765), SH3BP4 (Q9P0V3), SH3GL1 (Q99961), SH3GLB1 (Q9Y371), SHBG (P04278), SHC1 (P29353), SHMT1 (P34896), SHMT2 (P34897), SHOC2 (Q9UQ13), SHPK (Q9UHJ6), SKIV2L (Q15477), SKIV2L2 (P42285), SKP1 (P63208), SLC16A1 (P53985), SLC1A3 (P43003), SLC1A5 (Q15758), SLC29A1 (Q99808), SLC2A1 (P11166), SLC31A1 (O15431), SLC3A2 (P08195), SLC44A2 (Q8IWA5), SLC5A3 (P53794), SLC7A5 (Q01650), SLC9A3R1 (O14745), SLC9A3R2 (Q15599), SLIRP

(Q9GZT3), SMAD4 (Q13485), SMARCA4 (P51532), SMARCA5 (O60264), SMARCC1 (Q92922), SMARCC2 (Q8TAQ2), SMARCD1 (Q96GM5), SMARCD2 (Q92925), SMARCE1 (Q969G3), SMC1A (Q14683), SMC2 (O95347), SMC3 (Q9UQE7), SMC4 (Q9NTJ3), SMC5 (Q8IY18), SMC6 (Q96SB8), SMCHD1 (A6NHR9), SMEK1 (Q6IN85), SMS (P52788), SMU1 (Q2TAY7), SMYD5 (Q6GMV2), SNAP23 (O00161), SNAPIN (O95295), SND1 (Q7KZF4), SNF8 (Q96H20), SNRNP200 (O75643), SNRNP40 (Q96DI7), SNRPA1 (P09661), SNRPB (P14678), SNRPD1 (P62314), SNRPD2 (P62316), SNRPD3 (P62318), SNRPE (P62304), SNRPF (P62306), SNRPG (P62308), SNTB1 (Q13884), SNUPN (O95149), SNX1 (Q13596), SNX12 (Q9UMY4), SNX17 (Q15036), SNX18 (Q96RF0), SNX2 (O60749), SNX27 (Q96L92), SNX3 (O60493), SNX5 (Q9Y5X3), SNX6 (Q9UNH7), SNX8 (Q9Y5X2), SNX9 (Q9Y5X1), SOD1 (P00441), SORD (Q00796), SORT1 (Q99523), SPAG9 (O60271), SPC24 (Q8NBT2), SPC25 (Q9HBM1), SPG21 (Q9NZD8), SPR (P35270), SPRYD4 (Q8WW59), SPTAN1 (Q13813), SPTBN1 (Q01082), SPTBN2 (O15020), SRGAP2 (O75044), SRI (P30626), SRM (P19623), SRP14 (P37108), SRP19 (P09132), SRP54 (P61011), SRP68 (Q9UHB9), SRP72 (O76094), SRP9 (P49458), SRPX (P78539), SRPX2 (O60687), SRR (Q9GZT4), SRRT (Q9BXP5), SRSF1 (Q07955), SRSF11 (Q05519), SRSF2 (Q01130), SRSF3 (P84103), SRSF6 (Q13247), SRSF7 (Q16629), SRSF9 (Q13242), SRXN1 (Q9BYN0), SSB (P05455), SSBP1 (Q04837), SSRP1 (Q08945), SSSCA1 (O60232), ST13 (P50502), STAG2 (Q8N3U4), STAM (Q92783), STAMBP (O95630), STAT1 (P42224), STAT3 (P40763), STIP1 (P31948), STK24 (Q9Y6E0), STK25 (O00506), STK38L (Q9Y2H1), STOM (P27105), STON2 (Q8WXE9), STRAP (Q9Y3F4), STUB1 (Q9UNE7), STX12 (Q86Y82), STX4 (Q12846), STX5 (Q13190), STX7 (O15400), STXBP1 (P61764), STXBP3 (O00186), STYX (Q8WUJ0), SUB1 (P53999), SUDS3 (Q9H7L9), SUGT1 (Q9Y2Z0), SUMO1 (P63165), SUPT16H (Q9Y5B9), SUPT4H1 (P63272), SUPT5H (O00267), SUPT6H (Q7KZ85), SVEP1 (Q4LDE5), SWAP70 (Q9UH65), SYMPK (Q92797), SYNCRIP (O60506), SYNE1 (Q8NF91), SYNE2 (Q8WXH0), SYNGR2 (O43760), SYNJ2BP (P57105), TAB1 (Q15750), TAF9 (Q9Y3D8), TAF9 (Q16594), TAGLN (Q01995), TAGLN2 (P37802), TALDO1 (P37837), TARDBP (Q13148), TARS (P26639), TATDN1 (Q6P1N9), TAX1BP3 (O14907), TBC1D13 (Q9NVG8), TBC1D15 (Q8TC07), TBC1D23 (Q9NUY8), TBC1D24 (Q9ULP9), TBC1D4 (O60343), TBC1D9B (Q66K14), TBCA (O75347), TBCB (Q99426), TBCD (Q9BTW9), TBCE (Q15813), TBL1XR1 (Q9BZK7), TCEA1 (P23193), TCEB1 (Q15369), TCEB2 (Q15370), TCERG1 (O14776), TCP1 (P17987), TDP2 (O95551), TEP1 (Q99973), TEX10 (Q9NXF1), TF (P02787), TFCP2 (Q12800), TFG (Q92734), TFRC (P02786), TGFB1 (P01137), TGFB2 (P61812), TGFBI (Q15582), TGM1 (P22735), TH1L (Q8IXH7), THBS1 (P07996), THBS3 (P49746), THG1L (Q9NWX6), THOC2 (Q8NI27), THOC3 (Q96J01), THOC5 (Q13769), THOC6 (Q86W42), THOC7 (Q6I9Y2), THOP1 (P52888), THUMPD1 (Q9NXG2), THY1 (P04216), THYN1 (Q9P016), TIA1 (P31483), TIGAR (Q9NQ88), TIMM13 (Q9Y5L4), TIMM50 (Q3ZCQ8), TIMM8B (Q9Y5J9), TIMM9 (Q9Y5J7), TIMP1 (P01033), TIPRL (O75663), TKT

(P29401), TLN1 (Q9Y490), TLN2 (Q9Y4G6), TM9SF2 (Q99805), TM9SF3 (Q9HD45), TMED10 (P49755), TMED2 (Q15363), TMED7 (Q9Y3B3), TMED9 (Q9BVK6), TMEM167A (Q8TBQ9), TMEM2 (Q9UHN6), TMEM50B (P56557), TMEM87A (Q8NBN3), TMOD3 (Q9NYL9), TNC (P24821), TNPO1 (Q92973), TNPO2 (O14787), TNPO3 (Q9Y5L0), TOLLIP (Q9H0E2), TOMM20 (Q15388), TOMM22 (Q9NS69), TOMM34 (Q15785), TOMM5 (Q8N4H5), TOMM70A (O94826), TOP1 (P11387), TOP2B (Q02880), TOR1B (O14657), TP53BP1 (Q12888), TP53RK (Q96S44), TPI1 (P60174), TPM3 (P06753), TPM3L (A6NL28), TPM4 (P67936), TPMT (P51580), TPP1 (O14773), TPP2 (P29144), TPR (P12270), TPRG1L (Q5T0D9), TPRKB (Q9Y3C4), TPT1 (P13693), TRAF2 (Q12933), TRAP1 (Q12931), TRAPPC1 (Q9Y5R8), TRAPPC2L (Q9UL33), TRAPPC3 (O43617), TRAPPC4 (Q9Y296), TRAPPC5 (Q8IUR0), TRAPPC6A (O75865), TRAPPC6B (Q86SZ2), TRIM22 (Q8IYM9), TRIM25 (Q14258), TRIM28 (Q13263), TRIP12 (Q14669), TRIP13 (Q15645), TRIP6 (Q15654), TRMT1 (Q9NXH9), TRMT112 (Q9UI30), TRMT5 (Q32P41), TRMT6 (Q9UJA5), TRMT61A (Q96FX7), TRNT1 (Q96Q11), TROVE2 (P10155), TRRAP (Q9Y4A5), TSG101 (Q99816), TSKU (Q8WUA8), TSPAN14 (Q8NG11), TSPAN4 (O14817), TSPAN5 (P62079), TSPAN6 (O43657), TSPAN9 (O75954), TSSC1 (Q53HC9), TSTA3 (Q13630), TTC1 (Q99614), TTC37 (Q6PGP7), TTC38 (Q5R3I4), TTC5 (Q8N0Z6), TTC9C (Q8N5M4), TTL (Q8NG68), TTLL12 (Q14166), TTN (Q8WZ42), TTR (P02766), TTYH1 (Q9H313), TTYH2 (Q9BSA4), TTYH3 (Q9C0H2), TUBA1B (P68363), TUBA1C (Q9BQE3), TUBB (P07437), TUBB2A (Q13885), TUBB2B (Q9BVA1), TUBB2C (P68371), TUBB3 (Q13509), TUBB4 (P04350), TUBB6 (Q9BUF5), TUBG1 (P23258), TUBGCP2 (Q9BSJ2), TUBGCP3 (Q96CW5), TWF1 (Q12792), TWF2 (Q6IBS0), TXN (P10599), TXNDC17 (Q9BRA2), TXNDC9 (O14530), TXNL1 (O43396), TXNL4B (Q9NX01), TXNRD1 (Q16881), TYMS (P04818), U2AF1 (Q01081), U2AF2 (P26368), UAP1 (Q16222), UBA1 (P22314), UBA2 (Q9UBT2), UBA3 (Q8TBC4), UBA5 (Q9GZZ9), UBA6 (A0AVT1), UBE2D1 (P51668), UBE2D3 (P61077), UBE2E1 (P51965), UBE2G2 (P60604), UBE2I (P63279), UBE2J2 (Q8N2K1), UBE2K (P61086), UBE2L3 (P68036), UBE2M (P61081), UBE2N (P61088), UBE2O (Q9C0C9), UBE2V1 (Q13404), UBE2V2 (Q15819), UBE2Z (Q9H832), UBE3A (Q05086), UBE4A (Q14139), UBE4B (O95155), UBL3 (O95164), UBL4A (P11441), UBL5 (Q9BZL1), UBR1 (Q8IWV7), UBR4 (Q5T4S7), UBTD1 (Q9HAC8), UBXN1 (Q04323), UCHL1 (P09936), UCHL3 (P15374), UCHL5 (Q9Y5K5), UCK2 (Q9BZX2), UFC1 (Q9Y3C8), UFD1L (Q92890), UFSP2 (Q9NUQ7), UGDH (O60701), UGP2 (Q16851), UMPS (P11172), UNC119B (A6NIH7), UNC45A (Q9H3U1), UPF1 (Q92900), UPP1 (Q16831), UROD (P06132), UROS (P10746), USO1 (O60763), USP10 (Q14694), USP11 (P51784), USP14 (P54578), USP15 (Q9Y4E8), USP24 (Q9UPU5), USP39 (Q53GS9), USP5 (P45974), USP7 (Q93009), USP9X (Q93008), UTP15 (Q8TED0), UXS1 (Q8NBZ7), UXT (Q9UBK9), VAC14 (Q08AM6), VAMP3 (Q15836), VAMP5 (O95183), VAPA (Q9P0L0), VAPB (O95292), VARS (P26640), VASN (Q6EMK4), VASP (P50552), VAT1 (Q99536), VAV2 (P52735), VBP1 (P61758), VCAN

(P13611), VCL (P18206), VCP (P55072), VIM (P08670), VPRBP (Q9Y4B6), VPS11 (Q9H270), VPS13C (Q709C8), VPS16 (Q9H269), VPS18 (Q9P253), VPS24 (Q9Y3E7), VPS25 (Q9BRG1), VPS26A (O75436), VPS26B (Q4G0F5), VPS28 (Q9UK41), VPS29 (Q9UBQ0), VPS33A (Q96AX1), VPS33B (Q9H267), VPS35 (Q96QK1), VPS36 (Q86VN1), VPS37B (Q9H9H4), VPS39 (Q96JC1), VPS45 (Q9NRW7), VPS4A (Q9UN37), VPS4B (O75351), VPS53 (Q5VIR6), VRK1 (Q99986), VTA1 (Q9NP79), VWA1 (Q6PCB0), VWA5A (O00534), WARS (P23381), WASF1 (Q92558), WASL (O00401), WDFY1 (Q8IWB7), WDR1 (O75083), WDR11 (Q9BZH6), WDR12 (Q9GZL7), WDR18 (Q9BV38), WDR26 (Q9H7D7), WDR33 (Q9C0J8), WDR4 (P57081), WDR43 (Q15061), WDR45L (Q5MNZ6), WDR48 (Q8TAF3), WDR5 (P61964), WDR54 (Q9H977), WDR55 (Q9H6Y2), WDR59 (Q6PJI9), WDR6 (Q9NNW5), WDR61 (Q9GZS3), WDR73 (Q6P4I2), WDR77 (Q9BQA1), WDR82 (Q6UXN9), WDR91 (A4D1P6), WDR92 (Q96MX6), WNK1 (Q9H4A3), XPNPEP1 (Q9NQW7), XPO1 (O14980), XPO4 (Q9C0E2), XPO5 (Q9HAV4), XPO6 (Q96QU8), XPO7 (Q9UIA9), XPOT (O43592), XRCC1 (P18887), XRCC5 (P13010), XRCC6 (P12956), XRN2 (Q9H0D6), YARS (P54577), YBX1 (P67809), YEATS4 (O95619), YES1 (P07947), YIPF4 (Q9BSR8), YKT6 (O15498), YPEL5 (P62699), YRDC (Q86U90), YTHDF2 (Q9Y5A9), YWHAB (P31946), YWHAE (P62258), YWHAG (P61981), YWHAH (Q04917), YWHAQ (P27348), YWHAZ (P63104), ZC3HAV1L (Q96H79), ZCCHC3 (Q9NUD5), ZER1 (Q7Z7L7), ZFPL1 (O95159), ZFR (Q96KR1), ZMAT2 (Q96NC0), ZNF259 (O75312), ZW10 (O43264), ZWILCH (Q9H900), ZYG11B (Q9C0D3), ZYX (Q15942), ZZEF1 (O43149).

【０３０８】

【表１９】

表 19: CTX0E03 エキソソームにおいて観察された、最も多量に存在した 100 種のタンパク質（名称及び SwissProt アクセッション番号）

同定されたタンパク質	アクセッション番号
アクチン, 細胞質 2	P63261
グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ	P04406
ヒストン H4	P62805
ピルビン酸キナーゼアイソザイム M1/M2	P14618
アルファ-エノラーゼ	P06733
熱ショックタンパク質 HSP 90-ベータ	P08238
ユビキチン-40S リボソームタンパク質 S27a	P62979
熱ショック同族体 71 kDa タンパク質	P11142
ハプトグロビン	P00738
熱ショックタンパク質 HSP 90-アルファ	P07900
ホスホグリセリン酸キナーゼ 1	P00558
アクチン, アルファ 心筋 1	P68032
40S リボソームタンパク質 S3	P23396
伸長因子 1-アルファ 1	P68104
GTP 結合核タンパク質 Ran	P62826
ヒストン H2B タイプ 1-M	Q99879
ペプチジル-プロリル cis-trans イソメラーゼ A	P62937
プロフィリン-1	P07737
伸長因子 2	P13639
脂肪酸シンターゼ	P49327
チューブリンベータ-2C 鎖	P68371
チューブリンアルファ-1B 鎖	P68363
チューブリンベータ鎖	P07437
40S リボソームタンパク質 S11	P62280
真核生物開始因子 4A-I	P60842
T-complex タンパク質 1 サブユニットシータ	P50990
14-3-3 タンパク質 シータ	P27348
40S リボソームタンパク質 S18	P62269
チューブリンベータ-3 鎖	Q13509
T-complex タンパク質 1 サブユニットベータ	P78371
40S リボソームタンパク質 S16	P62249
熱ショック 70 kDa タンパク質 1A/1B	P08107
ヒストン H3.2	Q71DI3
トランスケトラーゼ	P29401
40S リボソームタンパク質 SA	P08865
クラステリン	P10909
脂肪酸結合タンパク質, 脳	O15540
ヘモペキシン	P02790
T-complex タンパク質 1 サブユニットガンマ	P49368

チューブリンベータ-2B 鎖	Q9BVA1
アデノシルホモシステイナーゼ	P23526
T-complex タンパク質 1 サブユニットエータ	Q99832
40S リボソームタンパク質 S15a	P62244
T-complex タンパク質 1 サブユニットデルタ	P50991
ビメンチン	P08670
グアニンヌクレオチド結合タンパク質 サブユニットベータ-2-様 1	P63244
ジヒドロピリミジナーゼ関連タンパク質 3	Q14195
伸長因子 1-ガンマ	P26641
ファシン	Q16658
クレアチンキナーゼ B 型	P12277
X 線修復クロス補足タンパク質 5	P13010
40S リボソームタンパク質 S2	P15880
ヒストン H2A タイプ 2-A	Q6FI13
40S リボソームタンパク質 S4, X アイソフォーム	P62701
14-3-3 タンパク質 ゼータ/デルタ	P63104
ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 A1	P09651
CD81 抗原	P60033
ケラチン, タイプ I 細胞骨格 14	P02533
ATP-クエン酸シンターゼ	P53396
40S リボソームタンパク質 S9	P46781
トランスゲリン-2	P37802
フルクトースニリン酸アルドラーゼ A	P04075
ユビキチン様調節因子活性化酵素 1	P22314
ペルオキシレドキシン-1	Q06830
40S リボソームタンパク質 S5	P46782
T-complex タンパク質 1 サブユニットイプシロン	P48643
60S リボソームタンパク質 L30	P62888
T-complex タンパク質 1 サブユニットアルファ	P17987
60S リボソームタンパク質 L12	P30050
コフィリン-1	P23528
ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 A2/B1	P22626
真核生物翻訳開始因子 5A-1	P63241
ホスホグリセリン酸ムターゼ 1	P18669
クラスリン 重鎖 1	Q00610
ジヒドロピリミジナーゼ関連タンパク質 2	Q16555
60S リボソームタンパク質 L35a	P18077
T-complex タンパク質 1 サブユニットゼータ	P40227
カルボニルレダクターゼ [NADPH] 1	P16152
40S リボソームタンパク質 S3a	P61247
フェリチン 重鎖	P02794
アネキシン A2	P07355
ミオシン軽鎖ポリペプチド 6	P60660
主要ヴォールトタンパク質	Q14764

ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 D0	Q14103
60S 酸性リボソームタンパク質 P0	P05388
X 線修復クロス補足タンパク質 6	P12956
40S リボソームタンパク質 S20	P60866
タンパク質アルギニン N-メチルトランスフェラーゼ 1	Q99873
40S リボソームタンパク質 S10	P46783
トランスアルドラーゼ	P37837
ヒストン H2B タイプ 1-	P23527
トリオースリン酸イソメラーゼ	P60174
タンパク質 S100-A6	P06703
40S リボソームタンパク質 S17	P08708
CD9 抗原	P21926
フィラミン-A	P21333
ペプチジル-プロリル cis-trans イソメラーゼ FKBP4	Q02790
プログラムされた細胞死 6 相互作用タンパク質	Q8WUM4
グルタチオン S-トランスフェラーゼ P	P09211
14-3-3 タンパク質 イプシロン	P62258

【０３０９】

微小胞

初期段階（2週目）のIntegra培養物から単離し、10,000×gでの遠心分離で精製した微小胞において、質量分析により2940種のタンパク質を同定した。2940種全てのタンパク質の遺伝子名及び対応するSWISSPROTアクセッション番号（括弧内）を表20に（遺伝子名のアルファベット順に）列挙し、最も多量に存在する100種のタンパク質を表21に、量が減少する順に列挙する。

【表２０】

表 20: CTX0E03 微小胞において同定された全 2940 種のタンパク質の遺伝子名及び SWISSPROT アクセッション番号（遺伝子名のアルファベット順に列挙する）

A1BG (P04217), AACS (Q86V21), AAMP (Q13685), AARS (P49588), AARSD1 (Q9BTE6), AASDHPPT (Q9NRN7), ABCA3 (Q99758), ABCC1 (P33527), ABCC4 (O15439), ABCE1 (P61221), ABCF1 (Q8NE71), ABCF2 (Q9UG63), ABCF3 (Q9NUQ8), ABHD14B (Q96IU4), ABI1 (Q8IZP0), ABR (Q12979), ACAA1 (P09110), ACAA2 (P42765), ACACA (Q13085), ACADM (P11310), ACADVL (P49748), ACAT1 (P24752), ACAT2 (Q9BWD1), ACBD6 (Q9BR61), ACBD7 (Q8N6N7), ACLY (P53396), ACO1 (P21399), ACO2 (Q99798), ACOT1 (Q86TX2), ACOT13 (Q9NPJ3), ACOT7 (O00154), ACOX1 (Q15067), ACOX3 (O15254), ACP1 (P24666), ACSL1 (P33121), ACSL3 (O95573), ACSL4 (O60488), ACSS2 (Q9NR19), ACTC1 (P68032), ACTG1 (P63261), ACTL6A (O96019), ACTN1 (P12814), ACTN4 (O43707), ACTR10 (Q9NZ32), ACTR1A (P61163), ACTR1B (P42025), ACTR2 (P61160), ACTR3 (P61158), ACY1 (Q03154), ADAM10 (O14672), ADAM9 (Q13443), ADAMTS15 (Q8TE58), ADAMTS16 (Q8TE57), ADAR (P55265), ADD1 (P35611), ADD3 (Q9UEY8), ADH5 (P11766), ADK (P55263), ADO (Q96SZ5), ADPRH (P54922), ADRBK1 (P25098), ADRM1 (Q16186), ADSL (P30566), ADSS (P30520), AEBP1 (Q8IUX7), AFM (P43652), AGL (P35573), AGPS (O00116), AGRN (O00468), AHCY (P23526), AHCYL1 (O43865), AHNAK (Q09666), AHNAK2 (Q8IVF2), AHSA1 (O95433), AHSG (P02765), AIDA (Q96BJ3), AIFM1 (O95831), AIMP1 (Q12904), AIMP2 (Q13155), AIP (O00170), AK1 (P00568), AK2 (P54819), AK3 (Q9UIJ7), AK4 (P27144), AKAP12 (Q02952), AKAP9 (Q99996), AKR1A1 (P14550), AKR1B1 (P15121), AKR1C1 (Q04828), AKR7A2 (O43488), AKR7A3 (O95154), AKT1 (P31749), ALCAM (Q13740), ALDH16A1 (Q8IZ83), ALDH18A1 (P54886), ALDH2 (P05091), ALDH3A1 (P30838), ALDH7A1 (P49419), ALDH9A1 (P49189), ALDOA (P04075), ALDOC (P09972), ALKBH2 (Q6NS38), ALOX12B (O75342), AMDHD2 (Q9Y303), AMPD2 (Q01433), ANAPC1 (Q9H1A4), ANAPC4 (Q9UJX5), ANAPC5 (Q9UJX4), ANAPC7 (Q9UJX3), ANKFY1 (Q9P2R3), ANKRD17 (O75179), ANKRD28 (O15084), ANKRD52 (Q8NB46), ANP32A (P39687), ANP32B (Q92688), ANP32E (Q9BTT0), ANXA1 (P04083), ANXA11 (P50995), ANXA2 (P07355), ANXA3 (P12429), ANXA4 (P09525), ANXA5 (P08758), ANXA6 (P08133), ANXA7 (P20073), AP1B1 (Q10567), AP1G1 (O43747), AP1M1 (Q9BXS5), AP1S2 (P56377), AP2A1 (O95782), AP2A2 (O94973), AP2B1 (P63010), AP2M1 (Q96CW1), AP2S1 (P53680), AP3B1 (O00203), AP3D1 (O14617), AP3M1 (Q9Y2T2), AP3S1 (Q92572), AP4S1 (Q9Y587), APEH (P13798), APEX1 (P27695), API5 (Q9BZZ5), APIP (Q96GX9), APMAP (Q9HDC9), APOA2 (P02652), APOBEC3C (Q9NRW3), APOH (P02749), APOL2 (Q9BQE5), APPL1 (Q9UKG1), APRT (P07741), AQR (O60306), ARAF (P10398), ARCN1 (P48444), ARF1 (P84077), ARF4 (P18085), ARF6 (P62330), ARFGAP2 (Q8N6H7), ARFIP1 (P53367), ARFIP2 (P53365), ARG1 (P05089), ARHGAP1 (Q07960), ARHGAP5

(Q13017), ARHGDIA (P52565), ARHGEF1 (Q92888), ARHGEF10 (O15013), ARHGEF6 (Q15052), ARHGEF7 (Q14155), ARIH1 (Q9Y4X5), ARIH2 (O95376), ARL1 (P40616), ARL2 (P36404), ARL3 (P36405), ARL6IP1 (Q15041), ARL8A (Q96BM9), ARL8B (Q9NVJ2), ARMC10 (Q8N2F6), ARMC6 (Q6NXE6), ARMC8 (Q8IUR7), ARMC9 (Q7Z3E5), ARPC1A (Q92747), ARPC1B (O15143), ARPC2 (O15144), ARPC3 (O15145), ARPC4 (P59998), ARPC5 (O15511), ARPC5L (Q9BPX5), ASAH1 (Q13510), ASCC1 (Q8N9N2), ASCC3 (Q8N3C0), ASMTL (O95671), ASNA1 (O43681), ASNS (P08243), ASPSCR1 (Q9BZE9), ASS1 (P00966), ATAD3A (Q9NVI7), ATE1 (O95260), ATG101 (Q9BSB4), ATG16L1 (Q676U5), ATG3 (Q9NT62), ATG4B (Q9Y4P1), ATG7 (O95352), ATIC (P31939), ATL3 (Q6DD88), ATM (Q13315), ATOX1 (O00244), ATP1A1 (P05023), ATP1B1 (P05026), ATP1B3 (P54709), ATP2A2 (P16615), ATP2B1 (P20020), ATP2B4 (P23634), ATP5A1 (P25705), ATP5B (P06576), ATP5C1 (P36542), ATP5E (P56381), ATP5F1 (P24539), ATP5H (O75947), ATP5I (P56385), ATP5L (O75964), ATP5O (P48047), ATP6AP1 (Q15904), ATP6AP2 (O75787), ATP6V0A1 (Q93050), ATP6V0D1 (P61421), ATP6V1A (P38606), ATP6V1B2 (P21281), ATP6V1C1 (P21283), ATP6V1D (Q9Y5K8), ATP6V1E1 (P36543), ATP6V1G1 (O75348), ATP6V1H (Q9UI12), ATR (Q13535), ATRN (O75882), ATXN10 (Q9UBB4), B2M (P61769), B3GAT3 (O94766), B3GNT1 (O43505), BAG2 (O95816), BAG5 (Q9UL15), BAIAP2 (Q9UQB8), BANF1 (O75531), BAT1 (Q13838), BAT3 (P46379), BCAM (P50895), BCAS2 (O75934), BCAT1 (P54687), BCCIP (Q9P287), BCL2L12 (Q9HB09), BDH2 (Q9BUT1), BICD2 (Q8TD16), BLMH (Q13867), BLVRA (P53004), BLVRB (P30043), BMP1 (P13497), BOLA2 (Q9H3K6), BOP1 (Q14137), BPGM (P07738), BPNT1 (O95861), BRCC3 (P46736), BRE (Q9NXR7), BRIX1 (Q8TDN6), BROX (Q5VW32), BRP16L (P0CB43), BSG (P35613), BST1 (Q10588), BTAF1 (O14981), BUB3 (O43684), BUD31 (P41223), BYSL (Q13895), BZW1 (Q7L1Q6), BZW2 (Q9Y6E2), C10orf119 (Q9BTE3), C10orf58 (Q9BRX8), C10orf76 (Q5T2E6), C11orf54 (Q9H0W9), C11orf68 (Q9H3H3), C12orf10 (Q9HB07), C12orf57 (Q99622), C14orf149 (Q96EM0), C14orf166 (Q9Y224), C14orf21 (Q86U38), C15orf58 (Q6ZNW5), C16orf13 (Q96S19), C16orf61 (Q9NRP2), C16orf80 (Q9Y6A4), C18orf21 (Q32NC0), C18orf8 (Q96DM3), C1orf123 (Q9NWV4), C1orf128 (Q9GZP4), C1orf57 (Q9BSD7), C20orf11 (Q9NWU2), C20orf4 (Q9Y312), C21orf33 (P30042), C21orf59 (P57076), C22orf28 (Q9Y3I0), C3orf10 (Q8WUW1), C3orf26 (Q9BQ75), C3orf75 (Q0PNE2), C4orf27 (Q9NWY4), C4orf41 (Q7Z392), C4orf43 (Q96EY4), C5orf33 (Q4G0N4), C6orf211 (Q9H993), C7orf28B (P86790), C7orf50 (Q9BRJ6), C7orf59 (Q0VGL1), C8orf33 (Q9H7E9), C9orf142 (Q9BUH6), C9orf23 (Q8N5L8), C9orf41 (Q8N4J0), C9orf64 (Q5T6V5), CA11 (O75493), CA12 (O43570), CA2 (P00918), CAB39 (Q9Y376), CACNA2D1 (P54289), CACYBP (Q9HB71), CAD (P27708), CADM1 (Q9BY67), CADM4 (Q8NFZ8), CALB1 (P05937), CALD1 (Q05682), CALM1 (P62158), CALR (P27797), CALU (O43852), CAMK1 (Q14012), CAMK2D (Q13557), CAMKV (Q8NCB2), CAND1 (Q86VP6), CANX (P27824), CAP1 (Q01518), CAPN1 (P07384), CAPN2 (P17655), CAPN5 (O15484),

CAPN7 (Q9Y6W3), CAPNS1 (P04632), CAPRIN1 (Q14444), CAPS (Q13938), CAPZA1 (P52907), CAPZA2 (P47755), CAPZB (P47756), CARHSP1 (Q9Y2V2), CARKD (Q8IW45), CARM1 (Q86X55), CARS (P49589), CASK (O14936), CASP14 (P31944), CASP3 (P42574), CASP7 (P55210), CAT (P04040), CBFB (Q13951), CBR1 (P16152), CBR3 (O75828), CBS (P35520), CBX1 (P83916), CBX3 (Q13185), CBX5 (P45973), CC2D1A (Q6P1N0), CCAR1 (Q8IX12), CCBL2 (Q6YP21), CCDC102B (Q68D86), CCDC22 (O60826), CCDC25 (Q86WR0), CCDC93 (Q567U6), CCND2 (P30279), CCNY (Q8ND76), CCT2 (P78371), CCT3 (P49368), CCT4 (P50991), CCT5 (P48643), CCT6A (P40227), CCT7 (Q99832), CCT8 (P50990), CD109 (Q6YHK3), CD151 (P48509), CD276 (Q5ZPR3), CD44 (P16070), CD46 (P15529), CD47 (Q08722), CD58 (P19256), CD59 (P13987), CD63 (P08962), CD81 (P60033), CD9 (P21926), CD97 (P48960), CD99 (P14209), CDC123 (O75794), CDC16 (Q13042), CDC23 (Q9UJX2), CDC34 (P49427), CDC37 (Q16543), CDC40 (O60508), CDC42 (P60953), CDC42BPB (Q9Y5S2), CDC5L (Q99459), CDCP1 (Q9H5V8), CDH2 (P19022), CDK1 (P06493), CDK2 (P24941), CDK4 (P11802), CDK5 (Q00535), CDK5RAP3 (Q96JB5), CDK7 (P50613), CDKN2A (P42771), CDKN2AIP (Q9NXV6), CECR5 (Q9BXW7), CELF1 (Q92879), CELSR1 (Q9NYQ6), CELSR2 (Q9HCU4), CFL1 (P23528), CFL2 (Q9Y281), CHCHD3 (Q9NX63), CHD4 (Q14839), CHEK2 (O96017), CHERP (Q8IWX8), CHID1 (Q9BWS9), CHMP1A (Q9HD42), CHMP1B (Q7LBR1), CHMP2A (O43633), CHMP4A (Q9BY43), CHMP4B (Q9H444), CHMP5 (Q9NZZ3), CHMP6 (Q96FZ7), CHN1 (P15882), CHORDC1 (Q9UHD1), CHP (Q99653), CHRAC1 (Q9NRG0), CHST3 (Q7LGC8), CIAO1 (O76071), CIAPIN1 (Q6FI81), CIRBP (Q14011), CIRH1A (Q969X6), CISD2 (Q8N5K1), CKAP4 (Q07065), CKAP5 (Q14008), CKB (P12277), CLASP1 (Q7Z460), CLIC1 (O00299), CLIC4 (Q9Y696), CLLD6 (Q5W111), CLNS1A (P54105), CLPB (Q9H078), CLTA (P09496), CLTC (Q00610), CLTCL1 (P53675), CLU (P10909), CMBL (Q96DG6), CMC1 (Q7Z7K0), CMPK1 (P30085), CMTM6 (Q9NX76), CNBP (P62633), CNDP2 (Q96KP4), CNN2 (Q99439), CNN3 (Q15417), CNNM3 (Q8NE01), CNOT1 (A5YKK6), CNOT10 (Q9H9A5), CNOT6L (Q96LI5), CNP (P09543), COASY (Q13057), COBRA1 (Q8WX92), COG1 (Q8WTW3), COG3 (Q96JB2), COG4 (Q9H9E3), COG5 (Q9UP83), COG6 (Q9Y2V7), COL11A1 (P12107), COL14A1 (Q05707), COL18A1 (P39060), COL6A1 (P12109), COMMD10 (Q9Y6G5), COMMD2 (Q86X83), COMMD3 (Q9UBI1), COMMD5 (Q9GZQ3), COMMD8 (Q9NX08), COMMD9 (Q9P000), COMT (P21964), COPA (P53621), COPB1 (P53618), COPB2 (P35606), COPE (O14579), COPG (Q9Y678), COPG2 (Q9UBF2), COPS2 (P61201), COPS3 (Q9UNS2), COPS4 (Q9BT78), COPS5 (Q92905), COPS6 (Q7L5N1), COPS7A (Q9UBW8), COPS7B (Q9H9Q2), COPS8 (Q99627), CORO1B (Q9BR76), CORO1C (Q9ULV4), CORO2B (Q9UQ03), CORO7 (P57737), COTL1 (Q14019), COX4NB (O43402), COX5A (P20674), COX5B (P10606), COX6C (P09669), CP (P00450), CPD (O75976), CPNE1 (Q99829), CPNE2 (Q96FN4), CPNE3 (O75131), CPNE4 (Q96A23), CPNE7 (Q9UBL6), CPOX (P36551), CPSF1 (Q10570), CPSF2 (Q9P2I0), CPSF3 (Q9UKF6), CPSF3L (Q5TA45), CPSF6 (Q16630), CPSF7 (Q8N684), CPXM1

(Q96SM3), CRABP2 (P29373), CRIP2 (P52943), CRK (P46108), CRLF3 (Q8IUI8), CRNKL1 (Q9BZJ0), CRTAP (O75718), CRYAB (P02511), CRYM (Q14894), CRYZ (Q08257), CRYZL1 (O95825), CS (O75390), CSDE1 (O75534), CSE1L (P55060), CSK (P41240), CSNK1A1 (P48729), CSNK2A1 (P68400), CSNK2A2 (P19784), CSNK2B (P67870), CSRP1 (P21291), CSRP2 (Q16527), CSTB (P04080), CSTF1 (Q05048), CSTF2T (Q9H0L4), CSTF3 (Q12996), CTBP1 (Q13363), CTBP2 (P56545), CTNNA1 (P35221), CTNNAL1 (Q9UBT7), CTNNB1 (P35222), CTNNBL1 (Q8WYA6), CTNND1 (O60716), CTPS (P17812), CTPS2 (Q9NRF8), CTR9 (Q6PD62), CTSC (P53634), CTSD (P07339), CTSF (Q9UBX1), CTSL2 (O60911), CTTN (Q14247), CTU1 (Q7Z7A3), CUL1 (Q13616), CUL2 (Q13617), CUL3 (Q13618), CUL4A (Q13619), CUL4B (Q13620), CUL5 (Q93034), CUL7 (Q14999), CXADR (P78310), CXCL14 (O95715), CXorf26 (Q9BVG4), CXorf38 (Q8TB03), CYB5R3 (P00387), CYC1 (P08574), CYCS (P99999), CYFIP1 (Q7L576), CYFIP2 (Q96F07), CYR61 (O00622), DAB1 (O75553), DAD1 (P61803), DAG1 (Q14118), DAK (Q3LXA3), DAPK3 (O43293), DARS (P14868), DAZAP1 (Q96EP5), DBI (P07108), DBN1 (Q16643), DBNL (Q9UJU6), DCAF7 (P61962), DCAF8 (Q5TAQ9), DCBLD2 (Q96PD2), DCK (P27707), DCLK1 (O15075), DCPS (Q96C86), DCTD (P32321), DCTN1 (Q14203), DCTN2 (Q13561), DCTN3 (O75935), DCTN4 (Q9UJW0), DCTN5 (Q9BTE1), DCTN6 (O00399), DCUN1D1 (Q96GG9), DCUN1D3 (Q8IWE4), DCUN1D5 (Q9BTE7), DCXR (Q7Z4W1), DDA1 (Q9BW61), DDAH1 (O94760), DDAH2 (O95865), DDB1 (Q16531), DDB2 (Q92466), DDI2 (Q5TDH0), DDOST (P39656), DDR1 (Q08345), DDT (P30046), DDX1 (Q92499), DDX17 (Q92841), DDX18 (Q9NVP1), DDX19A (Q9NUU7), DDX20 (Q9UHI6), DDX21 (Q9NR30), DDX23 (Q9BUQ8), DDX24 (Q9GZR7), DDX27 (Q96GQ7), DDX39 (O00148), DDX3X (O00571), DDX46 (Q7L014), DDX47 (Q9H0S4), DDX49 (Q9Y6V7), DDX5 (P17844), DDX50 (Q9BQ39), DDX51 (Q8N8A6), DDX52 (Q9Y2R4), DDX54 (Q8TDD1), DDX55 (Q8NHQ9), DDX56 (Q9NY93), DDX6 (P26196), DECR1 (Q16698), DECR2 (Q9NUI1), DEF (Q68CQ4), DEK (P35659), DENR (O43583), DERA (Q9Y315), DFFA (O00273), DFFB (O76075), DHCR24 (Q15392), DHCR7 (Q9UBM7), DHFR (P00374), DHPS (P49366), DHRS11 (Q6UWP2), DHRS4 (Q9BTZ2), DHX15 (O43143), DHX16 (O60231), DHX29 (Q7Z478), DHX30 (Q7L2E3), DHX32 (Q7L7V1), DHX36 (Q9H2U1), DHX37 (Q8IY37), DHX38 (Q92620), DHX9 (Q08211), DIAPH1 (O60610), DIAPH2 (O60879), DIMT1L (Q9UNQ2), DIP2A (Q14689), DIP2B (Q9P265), DIP2C (Q9Y2E4), DIS3 (Q9Y2L1), DIS3L2 (Q8IYB7), DKC1 (O60832), DLAT (P10515), DLD (P09622), DLG1 (Q12959), DLGAP4 (Q9Y2H0), DLST (P36957), DMD (P11532), DNAJA1 (P31689), DNAJA2 (O60884), DNAJB1 (P25685), DNAJB11 (Q9UBS4), DNAJB4 (Q9UDY4), DNAJB6 (O75190), DNAJC13 (O75165), DNAJC2 (Q99543), DNAJC3 (Q13217), DNAJC7 (Q99615), DNASE1L1 (P49184), DNM1 (Q05193), DNM1L (O00429), DNM2 (P50570), DNMT1 (P26358), DNPEP (Q9ULA0), DOCK1 (Q14185), DOCK4 (Q8N1I0), DOCK5 (Q9H7D0), DOCK7 (Q96N67), DOCK9 (Q9BZ29), DOHH (Q9BU89), DPCD (Q9BVM2), DPH2 (Q9BQC3), DPH5 (Q9H2P9), DPM1 (O60762), DPM3 (Q9P2X0), DPP3

(Q9NY33), DPP9 (Q86TI2), DPY30 (Q9C005), DPYSL2 (Q16555), DPYSL3 (Q14195), DPYSL4 (O14531), DPYSL5 (Q9BPU6), DRG1 (Q9Y295), DRG2 (P55039), DSC1 (Q08554), DSG1 (Q02413), DSP (P15924), DST (Q03001), DSTN (P60981), DTD1 (Q8TEA8), DTNA (Q9Y4J8), DTYMK (P23919), DUS2L (Q9NX74), DUS3L (Q96G46), DUSP12 (Q9UNI6), DUSP3 (P51452), DYM (Q7RTS9), DYNC1H1 (Q14204), DYNC1I2 (Q13409), DYNC1LI1 (Q9Y6G9), DYNC1LI2 (O43237), DYNC2H1 (Q8NCM8), DYNLL1 (P63167), DYNLL2 (Q96FJ2), DYNLRB1 (Q9NP97), DYNLT1 (P63172), EBNA1BP2 (Q99848), ECE1 (P42892), ECHDC1 (Q9NTX5), ECHS1 (P30084), ECM29 (Q5VYK3), EDC3 (Q96F86), EDC4 (Q6P2E9), EEA1 (Q15075), EEF1A1 (P68104), EEF1B2 (P24534), EEF1D (P29692), EEF1E1 (O43324), EEF1G (P26641), EEF2 (P13639), EEF2K (O00418), EEFSEC (P57772), EFEMP2 (O95967), EFHD2 (Q96C19), EFTUD1 (Q7Z2Z2), EFTUD2 (Q15029), EGFR (P00533), EHD1 (Q9H4M9), EHD2 (Q9NZN4), EHD3 (Q9NZN3), EHD4 (Q9H223), EIF1AX (P47813), EIF2A (Q9BY44), EIF2AK2 (P19525), EIF2AK4 (Q9P2K8), EIF2B1 (Q14232), EIF2B2 (P49770), EIF2B3 (Q9NR50), EIF2B4 (Q9UI10), EIF2B5 (Q13144), EIF2C1 (Q9UL18), EIF2C2 (Q9UKV8), EIF2S1 (P05198), EIF2S2 (P20042), EIF2S3 (P41091), EIF3A (Q14152), EIF3B (P55884), EIF3C (Q99613), EIF3D (O15371), EIF3E (P60228), EIF3F (O00303), EIF3G (O75821), EIF3H (O15372), EIF3I (Q13347), EIF3J (O75822), EIF3K (Q9UBQ5), EIF3L (Q9Y262), EIF3M (Q7L2H7), EIF4A1 (P60842), EIF4A2 (Q14240), EIF4A3 (P38919), EIF4E (P06730), EIF4G1 (Q04637), EIF4G2 (P78344), EIF4H (Q15056), EIF5 (P55010), EIF5A (P63241), EIF5B (O60841), EIF6 (P56537), ELAC2 (Q9BQ52), ELAVL1 (Q15717), ELMO2 (Q96JJ3), ELP2 (Q6IA86), ELP3 (Q9H9T3), EMD (P50402), EMG1 (Q92979), EML1 (O00423), EML2 (O95834), EML3 (Q32P44), EML4 (Q9HC35), ENAH (Q8N8S7), ENC1 (O14682), ENO1 (P06733), ENO2 (P09104), ENOPH1 (Q9UHY7), ENY2 (Q9NPA8), EPB41L2 (O43491), EPB41L3 (Q9Y2J2), EPDR1 (Q9UM22), EPHA2 (P29317), EPHB2 (P29323), EPHB3 (P54753), EPHB4 (P54760), EPHX1 (P07099), EPM2AIP1 (Q7L775), EPN1 (Q9Y6I3), EPRS (P07814), ERBB2IP (Q96RT1), ERGIC1 (Q969X5), ERH (P84090), ERI1 (Q8IV48), ERI3 (O43414), ERLIN2 (O94905), ERO1L (Q96HE7), ERP29 (P30040), ERP44 (Q9BS26), ESD (P10768), ESYT1 (Q9BSJ8), ETF1 (P62495), ETFA (P13804), ETFB (P38117), EXOC1 (Q9NV70), EXOC2 (Q96KP1), EXOC3 (O60645), EXOC4 (Q96A65), EXOC5 (O00471), EXOC6 (Q8TAG9), EXOC6B (Q9Y2D4), EXOC7 (Q9UPT5), EXOC8 (Q8IYI6), EXOSC1 (Q9Y3B2), EXOSC10 (Q01780), EXOSC2 (Q13868), EXOSC3 (Q9NQT5), EXOSC4 (Q9NPD3), EXOSC5 (Q9NQT4), EXOSC6 (Q5RKV6), EXOSC7 (Q15024), EXOSC8 (Q96B26), EXOSC9 (Q06265), EZR (P15311), F11R (Q9Y624), F8 (P00451), F8A1 (P23610), FABP5 (Q01469), FABP7 (O15540), FADD (Q13158), FAH (P16930), FAHD1 (Q6P587), FAHD2A (Q96GK7), FAM115A (Q9Y4C2), FAM120A (Q9NZB2), FAM125A (Q96EY5), FAM127A (A6ZKI3), FAM129A (Q9BZQ8), FAM129B (Q96TA1), FAM136A (Q96C01), FAM175B (Q15018), FAM3C (Q92520), FAM45B (Q6NSW5), FAM49B (Q9NUQ9), FAM82B (Q96DB5), FAM84B (Q96KN1), FAM96B (Q9Y3D0),

FAM98A (Q8NCA5), FAM98B (Q52LJ0), FANCI (Q9NVI1), FAR1 (Q8WVX9), FARP1 (Q9Y4F1), FARP2 (O94887), FARSA (Q9Y285), FARSB (Q9NSD9), FAS (P25445), FASN (P49327), FAT1 (Q14517), FAU (P62861), FBL (P22087), FBLN2 (P98095), FBN1 (P35555), FBN2 (P35556), FBXL18 (Q96ME1), FBXO21 (O94952), FBXO22 (Q8NEZ5), FBXW11 (Q9UKB1), FCF1 (Q9Y324), FDFT1 (P37268), FDPS (P14324), FDXR (P22570), FEN1 (P39748), FERMT1 (Q9BQL6), FERMT2 (Q96AC1), FFR (Q9UID3), FGFBP3 (Q8TAT2), FH (P07954), FHL1 (Q13642), FHL2 (Q14192), FHL3 (Q13643), FIBP (O43427), FKBP10 (Q96AY3), FKBP1A (P62942), FKBP2 (P26885), FKBP3 (Q00688), FKBP4 (Q02790), FKBP5 (Q13451), FLG (P20930), FLG2 (Q5D862), FLII (Q13045), FLNA (P21333), FLNB (O75369), FLNC (Q14315), FLOT1 (O75955), FLOT2 (Q14254), FMNL2 (Q96PY5), FN3K (Q9H479), FN3KRP (Q9HA64), FNTA (P49354), FNTB (P49356), FOLR1 (P15328), FREM2 (Q5SZK8), FRG1 (Q14331), FRMD5 (Q7Z6J6), FRMD8 (Q9BZ67), FRYL (O94915), FSCN1 (Q16658), FSD1 (Q9BTV5), FTH1 (P02794), FTL (P02792), FTO (Q9C0B1), FTSJD2 (Q8N1G2), FUBP1 (Q96AE4), FUBP3 (Q96I24), FUCA2 (Q9BTY2), FUK (Q8N0W3), FUS (P35637), FXR1 (P51114), FXR2 (P51116), FYCO1 (Q9BQS8), FYN (P06241), G3BP1 (Q13283), G3BP2 (Q9UN86), G6PD (P11413), GAA (P10253), GALK1 (P51570), GALK2 (Q01415), GALNT1 (Q10472), GALNT2 (Q10471), GALNT7 (Q86SF2), GAN (Q9H2C0), GANAB (Q14697), GAP43 (P17677), GAPDH (P04406), GAPVD1 (Q14C86), GAR1 (Q9NY12), GARS (P41250), GART (P22102), GATSL2 (A6NHX0), GBA (P04062), GBE1 (Q04446), GBF1 (Q92538), GCDH (Q92947), GCLC (P48506), GCLM (P48507), GCN1L1 (Q92616), GDI1 (P31150), GDI2 (P50395), GEMIN4 (P57678), GEMIN5 (Q8TEQ6), GEMIN6 (Q8WXD5), GET4 (Q7L5D6), GFAP (P14136), GFM1 (Q96RP9), GFPT1 (Q06210), GFPT2 (O94808), GGCT (O75223), GGPS1 (O95749), GINS1 (Q14691), GINS2 (Q9Y248), GINS4 (Q9BRT9), GIPC1 (O14908), GIT1 (Q9Y2X7), GLA (P06280), GLB1L2 (Q8IW92), GLE1 (Q53GS7), GLG1 (Q92896), GLIPR2 (Q9H4G4), GLMN (Q92990), GLO1 (Q04760), GLOD4 (Q9HC38), GLRX (P35754), GLRX3 (O76003), GLT25D1 (Q8NBJ5), GLT25D2 (Q8IYK4), GLTP (Q9NZD2), GLUD1 (P00367), GLUL (P15104), GMDS (O60547), GMFB (P60983), GMPPA (Q96IJ6), GMPPB (Q9Y5P6), GMPR (P36959), GMPR2 (Q9P2T1), GMPS (P49915), GNA11 (P29992), GNA12 (Q03113), GNA13 (Q14344), GNAI1 (P63096), GNAI2 (P04899), GNAI3 (P08754), GNAQ (P50148), GNAS (Q5JWF2), GNB1 (P62873), GNB1L (Q9BYB4), GNB2 (P62879), GNB2L1 (P63244), GNB4 (Q9HAV0), GNE (Q9Y223), GNG10 (P50151), GNG12 (Q9UBI6), GNG4 (P50150), GNG5 (P63218), GNL3 (Q9BVP2), GNPDA1 (P46926), GNPNAT1 (Q96EK6), GOLGA7 (Q7Z5G4), GOLM1 (Q8NBJ4), GOLPH3 (Q9H4A6), GORASP2 (Q9H8Y8), GOT1 (P17174), GOT2 (P00505), GPC1 (P35052), GPC4 (O75487), GPC6 (Q9Y625), GPD1L (Q8N335), GPHN (Q9NQX3), GPI (P06744), GPM6A (P51674), GPN1 (Q9HCN4), GPR50 (Q13585), GPR56 (Q9Y653), GPS1 (Q13098), GPSM1 (Q86YR5), GPX1 (P07203), GPX4 (P36969), GRB2 (P62993), GRHPR (Q9UBQ7), GRP (Q3ZCW2), GRWD1 (Q9BQ67), GSDMA

(Q96QA5), GSK3A (P49840), GSK3B (P49841), GSN (P06396), GSPT1 (P15170), GSR (P00390), GSS (P48637), GSTK1 (Q9Y2Q3), GSTM2 (P28161), GSTM3 (P21266), GSTM4 (Q03013), GSTO1 (P78417), GSTP1 (P09211), GSTT2 (P0CG29), GSTZ1 (O43708), GTF2E2 (P29084), GTF2F2 (P13984), GTF2H3 (Q13889), GTF2I (P78347), GTF3C2 (Q8WUA4), GTF3C3 (Q9Y5Q9), GTF3C4 (Q9UKN8), GTPBP1 (O00178), GTPBP4 (Q9BZE4), GUK1 (Q16774), GYG1 (P46976), GYS1 (P13807), H1F0 (P07305), H1FX (Q92522), H2AFX (P16104), H2AFY (O75367), H2AFZ (P0C0S5), HADH (Q16836), HADHA (P40939), HARS (P12081), HAT1 (O14929), HAUS3 (Q68CZ6), HAUS4 (Q9H6D7), HBA1 (P69905), HBB (P68871), HBS1L (Q9Y450), HBXIP (O43504), HCFC1 (P51610), HDAC1 (Q13547), HDAC2 (Q92769), HDDC2 (Q7Z4H3), HDGF (P51858), HDGFRP2 (Q7Z4V5), HDHD2 (Q9H0R4), HDLBP (Q00341), HEATR1 (Q9H583), HEATR2 (Q86Y56), HEBP1 (Q9NRV9), HECTD3 (Q5T447), HERC4 (Q5GLZ8), HEXB (P07686), HGS (O14964), HHIP (Q96QV1), HINT1 (P49773), HINT2 (Q9BX68), HINT3 (Q9NQE9), HIP1R (O75146), HIST1H1B (P16401), HIST1H1C (P16403), HIST1H1D (P16402), HIST1H1E (P10412), HIST1H2AD (P20671), HIST1H2BJ (P06899), HIST1H2BM (Q99879), HIST1H2BO (P23527), HIST1H4A (P62805), HIST2H2AA3 (Q6FI13), HIST2H2AB (Q8IUE6), HIST2H2BE (Q16778), HIST2H3A (Q71DI3), HIST3H2BB (Q8N257), HK1 (P19367), HK2 (P52789), HLA-A (P30443), HLA-A (P01892), HLA-B (P03989), HMGA1 (P17096), HMGB1 (P09429), HMGB2 (P26583), HMGCL (P35914), HMGCS1 (Q01581), HMGN1 (P05114), HMGN2 (P05204), HMGN4 (O00479), HNRNPA0 (Q13151), HNRNPA1 (P09651), HNRNPA2B1 (P22626), HNRNPA3 (P51991), HNRNPAB (Q99729), HNRNPC (P07910), HNRNPD (Q14103), HNRNPF (P52597), HNRNPH1 (P31943), HNRNPH2 (P55795), HNRNPH3 (P31942), HNRNPK (P61978), HNRNPL (P14866), HNRNPM (P52272), HNRNPR (O43390), HNRNPU (Q00839), HNRNPUL1 (Q9BUJ2), HNRNPUL2 (Q1KMD3), HNRPDL (O14979), HNRPLL (Q8WVV9), HOOK3 (Q86VS8), HP (P00738), HP1BP3 (Q5SSJ5), HPCAL1 (P37235), HPRT1 (P00492), HPX (P02790), HRAS (P01112), HRNR (Q86YZ3), HSD17B10 (Q99714), HSD17B12 (Q53GQ0), HSD17B4 (P51659), HSDL2 (Q6YN16), HSP90AA1 (P07900), HSP90AB1 (P08238), HSP90B1 (P14625), HSPA12A (O43301), HSPA14 (Q0VDF9), HSPA1A (P08107), HSPA4 (P34932), HSPA4L (O95757), HSPA5 (P11021), HSPA8 (P11142), HSPA9 (P38646), HSPB1 (P04792), HSPBP1 (Q9NZL4), HSPD1 (P10809), HSPE1 (P61604), HSPG2 (P98160), HSPH1 (Q92598), HTRA1 (Q92743), HTT (P42858), HUWE1 (Q7Z6Z7), HYOU1 (Q9Y4L1), IARS (P41252), ICAM1 (P05362), IDE (P14735), IDH1 (O75874), IDH2 (P48735), IDH3A (P50213), IDI1 (Q13907), IFI16 (Q16666), IFIT5 (Q13325), IFITM3 (Q01628), IFRD2 (Q12894), IFT172 (Q9UG01), IGF1R (P08069), IGF2BP2 (Q9Y6M1), IGF2BP3 (O00425), IGF2R (P11717), IGFBP3 (P17936), IGFBP5 (P24593), IGHG1 (P01857), IGHG2 (P01859), IGSF3 (O75054), IGSF8 (Q969P0), IKBKAP (O95163), IKBKB (O14920), IL1RAP (Q9NPH3), ILF2 (Q12905), ILF3 (Q12906), ILK (Q13418), ILKAP (Q9H0C8), IMMT (Q16891), IMP3 (Q9NV31), IMPA1 (P29218), IMPA2 (O14732),

IMPAD1 (Q9NX62), IMPDH1 (P20839), IMPDH2 (P12268), INA (Q16352), INF2 (Q27J81), INPP1 (P49441), INPPL1 (O15357), INTS10 (Q9NVR2), INTS3 (Q68E01), INTS7 (Q9NVH2), INTS8 (Q75QN2), IPO11 (Q9UI26), IPO4 (Q8TEX9), IPO5 (O00410), IPO7 (O95373), IPO8 (O15397), IPO9 (Q96P70), IQGAP1 (P46940), IRF2BP2 (Q7Z5L9), IRF3 (Q14653), IRGQ (Q8WZA9), ISOC1 (Q96CN7), ISYNA1 (Q9NPH2), ITFG3 (Q9H0X4), ITGA2 (P17301), ITGA3 (P26006), ITGA4 (P13612), ITGA5 (P08648), ITGA6 (P23229), ITGA7 (Q13683), ITGAV (P06756), ITGB1 (P05556), ITGB1BP1 (O14713), ITGB3 (P05106), ITGB4 (P16144), ITGB5 (P18084), ITGB8 (P26012), ITPA (Q9BY32), JAM3 (Q9BX67), JUP (P14923), KARS (Q15046), KATNB1 (Q9BVA0), KBTBD6 (Q86V97), KCTD21 (Q4G0X4), KDM1A (O60341), KEAP1 (Q14145), KHDRBS1 (Q07666), KHSRP (Q92945), KIAA0020 (Q15397), KIAA0090 (Q8N766), KIAA0174 (P53990), KIAA0196 (Q12768), KIAA0664 (O75153), KIAA0776 (O94874), KIAA1033 (Q2M389), KIAA1279 (Q96EK5), KIAA1598 (A0MZ66), KIAA1797 (Q5VW36), KIAA1949 (Q6NYC8), KIAA1967 (Q8N163), KIDINS220 (Q9ULH0), KIF1A (Q12756), KIF2A (O00139), KIF5B (P33176), KIF5C (O60282), KLC1 (Q07866), KLHDC4 (Q8TBB5), KLHL13 (Q9P2N7), KLHL22 (Q53GT1), KLHL26 (Q53HC5), KNTC1 (P50748), KPNA1 (P52294), KPNA2 (P52292), KPNA3 (O00505), KPNA4 (O00629), KPNA6 (O60684), KPNB1 (Q14974), KPRP (Q5T749), KRAS (P01116), KRIT1 (O00522), KRT13 (P13646), KRT14 (P02533), KRT71 (Q3SY84), KTN1 (Q86UP2), L1CAM (P32004), LACTB2 (Q53H82), LAMA1 (P25391), LAMA4 (Q16363), LAMA5 (O15230), LAMB1 (P07942), LAMB2 (P55268), LAMC1 (P11047), LAMP1 (P11279), LAMP2 (P13473), LANCL1 (O43813), LANCL2 (Q9NS86), LAP3 (P28838), LARP1 (Q6PKG0), LARS (Q9P2J5), LAS1L (Q9Y4W2), LASP1 (Q14847), LBR (Q14739), LCMT1 (Q9UIC8), LDHA (P00338), LDHB (P07195), LDLR (P01130), LEFTY2 (O00292), LEPRE1 (Q32P28), LGALS1 (P09382), LGALS3 (P17931), LGALS3BP (Q08380), LGALS7 (P47929), LIMA1 (Q9UHB6), LIMS1 (P48059), LIN7C (Q9NUP9), LIPG (Q9Y5X9), LLGL1 (Q15334), LMAN1 (P49257), LMAN2 (Q12907), LMCD1 (Q9NZU5), LMNA (P02545), LMNB1 (P20700), LMNB2 (Q03252), LNPEP (Q9UIQ6), LOH12CR1 (Q969J3), LONP1 (P36776), LOR (P23490), LOXL4 (Q96JB6), LPHN2 (O95490), LPL (P06858), LRBA (P50851), LRG1 (P02750), LRP1 (Q07954), LRPPRC (P42704), LRRC1 (Q9BTT6), LRRC40 (Q9H9A6), LRRC47 (Q8N1G4), LRRC57 (Q8N9N7), LRRC59 (Q96AG4), LRRC8A (Q8IWT6), LRSAM1 (Q6UWE0), LSM1 (O15116), LSM12 (Q3MHD2), LSM2 (Q9Y333), LSM4 (Q9Y4Z0), LSM6 (P62312), LSM7 (Q9UK45), LSS (P48449), LTA4H (P09960), LTBP2 (Q14767), LTBP3 (Q9NS15), LTN1 (O94822), LUC7L (Q9NQ29), LUC7L2 (Q9Y383), LUC7L3 (O95232), LYAR (Q9NX58), LYPLA1 (O75608), LYPLA2 (O95372), LYPLAL1 (Q5VWZ2), LZTR1 (Q8N653), M6PR (P20645), MACF1 (Q9UPN3), MACF1 (Q96PK2), MACROD1 (Q9BQ69), MAD1L1 (Q9Y6D9), MAD2L1 (Q13257), MAGEE1 (Q9HCI5), MAK16 (Q9BXY0), MALT1 (Q9UDY8), MAN1A2 (O60476), MAN1B1 (Q9UKM7), MAN2C1 (Q9NTJ4), MAP1B (P46821), MAP1LC3A (Q9H492), MAP1LC3B2 (A6NCE7), MAP2K1 (Q02750), MAP2K2 (P36507), MAP2K3

(P46734), MAP2K4 (P45985), MAP2K7 (O14733), MAP4 (P27816), MAP4K4 (O95819), MAPK1 (P28482), MAPK14 (Q16539), MAPK3 (P27361), MAPKSP1 (Q9UHA4), MAPRE1 (Q15691), MAPRE3 (Q9UPY8), MARCKS (P29966), MARCKSL1 (P49006), MARK2 (Q7KZI7), MARS (P56192), MAT2A (P31153), MAT2B (Q9NZL9), MATR3 (P43243), MBD3 (O95983), MBLAC2 (Q68D91), MBNL1 (Q9NR56), MBNL2 (Q5VZF2), MCAM (P43121), MCM2 (P49736), MCM3 (P25205), MCM4 (P33991), MCM5 (P33992), MCM6 (Q14566), MCM7 (P33993), MCTS1 (Q9ULC4), MDH1 (P40925), MDH2 (P40926), MDK (P21741), MDN1 (Q9NU22), ME1 (P48163), ME2 (P23368), MED1 (Q15648), MED10 (Q9BTT4), MED11 (Q9P086), MED17 (Q9NVC6), MED18 (Q9BUE0), MED20 (Q9H944), MED23 (Q9ULK4), MED24 (O75448), MED28 (Q9H204), MED31 (Q9Y3C7), MEMO1 (Q9Y316), MEN1 (O00255), MERIT40 (Q9NWV8), METAP1 (P53582), METAP2 (P50579), METT10D (Q86W50), METTL1 (Q9UBP6), METTL11A (Q9BV86), METTL13 (Q8N6R0), METTL2B (Q6P1Q9), METTL5 (Q9NRN9), METTL9 (Q9H1A3), MFAP2 (P55001), MFAP4 (P55083), MFGE8 (Q08431), MFI2 (P08582), MGEA5 (O60502), MICA (Q29983), MICAL1 (Q8TDZ2), MIF (P14174), MINA (Q8IUF8), MIOS (Q9NXC5), MKI67IP (Q9BYG3), MLEC (Q14165), MLLT4 (P55196), MLST8 (Q9BVC4), MLTK (Q9NYL2), MMP14 (P50281), MMP2 (P08253), MMS19 (Q96T76), MOB2 (Q70IA6), MOBKL1B (Q9H8S9), MOBKL2A (Q96BX8), MOBKL3 (Q9Y3A3), MOCS2 (O96033), MOGS (Q13724), MON2 (Q7Z3U7), MORC2 (Q9Y6X9), MOV10 (Q9HCE1), MOXD1 (Q6UVY6), MPG (P29372), MPI (P34949), MPP6 (Q9NZW5), MPRIP (Q6WCQ1), MPST (P25325), MPZL1 (O95297), MRC2 (Q9UBG0), MRE11A (P49959), MRI1 (Q9BV20), MRPS27 (Q92552), MRPS28 (Q9Y2Q9), MRPS33 (Q9Y291), MRPS34 (P82930), MRPS6 (P82932), MRTO4 (Q9UKD2), MSH2 (P43246), MSH3 (P20585), MSH6 (P52701), MSN (P26038), MSTO1 (Q9BUK6), MTA1 (Q13330), MTA2 (O94776), MTAP (Q13126), MTHFD1 (P11586), MTHFS (P49914), MTM1 (Q13496), MTMR1 (Q13613), MTMR2 (Q13614), MTMR6 (Q9Y217), MTMR9 (Q96QG7), MTOR (P42345), MTPN (P58546), MTR (Q99707), MTRR (Q9UBK8), MVD (P53602), MVK (Q03426), MVP (Q14764), MX1 (P20591), MYADM (Q96S97), MYBBP1A (Q9BQG0), MYCBP (Q99417), MYD88 (Q99836), MYH10 (P35580), MYH14 (Q7Z406), MYH9 (P35579), MYL12B (O14950), MYL6 (P60660), MYO18A (Q92614), MYO1B (O43795), MYO1C (O00159), MYO1E (Q12965), MYO5A (Q9Y4I1), MYO6 (Q9UM54), MYOF (Q9NZM1), NAA10 (P41227), NAA15 (Q9BXJ9), NAA16 (Q6N069), NAA25 (Q14CX7), NAA38 (O95777), NAA50 (Q9GZZ1), NACA (Q13765), NAE1 (Q13564), NAGK (Q9UJ70), NAGLU (P54802), NAMPT (P43490), NANS (Q9NR45), NAP1L1 (P55209), NAP1L4 (Q99733), NAPA (P54920), NAPG (Q99747), NAPRT1 (Q6XQN6), NARFL (Q9H6Q4), NARS (O43776), NASP (P49321), NAT10 (Q9H0A0), NAT9 (Q9BTE0), NCAM1 (P13591), NCAN (O14594), NCAPD2 (Q15021), NCAPG (Q9BPX3), NCBP1 (Q09161), NCCRP1 (Q6ZVX7), NCDN (Q9UBB6), NCKAP1 (Q9Y2A7), NCKIPSD (Q9NZQ3), NCL (P19338), NCLN (Q969V3), NCS1 (P62166), NCSTN (Q92542), NDOR1 (Q9UHB4), NDRG3 (Q9UGV2), NDRG4 (Q9ULP0), NDUFA2 (O43678), NDUFA7 (O95182),

NDUFAB1 (O14561), NDUFB4 (O95168), NDUFC2 (O95298), NDUFS5 (O43920), NDUFS6 (O75380), NEDD8 (Q15843), NEFL (P07196), NEFM (P07197), NEK6 (Q9HC98), NEK9 (Q8TD19), NES (P48681), NF1 (P21359), NF2 (P35240), NFIX (Q14938), NHLRC2 (Q8NBF2), NHP2L1 (P55769), NID1 (P14543), NIP7 (Q9Y221), NIPSNAP1 (Q9BPW8), NIT1 (Q86X76), NIT2 (Q9NQR4), NKRF (O15226), NLE1 (Q9NVX2), NLGN4X (Q8N0W4), NLN (Q9BYT8), NMD3 (Q96D46), NME2 (P22392), NME3 (Q13232), NME7 (Q9Y5B8), NMT1 (P30419), NNMT (P40261), NOB1 (Q9ULX3), NOC2L (Q9Y3T9), NOC3L (Q8WTT2), NOC4L (Q9BVI4), NOG (Q13253), NOL11 (Q9H8H0), NOL6 (Q9H6R4), NOL9 (Q5SY16), NOMO2 (Q5JPE7), NONO (Q15233), NOP10 (Q9NPE3), NOP16 (Q9Y3C1), NOP2 (P46087), NOP56 (O00567), NOP58 (Q9Y2X3), NOS1AP (O75052), NOSIP (Q9Y314), NOTCH2 (Q04721), NOVA2 (Q9UNW9), NPC1 (O15118), NPC2 (P61916), NPEPPS (P55786), NPLOC4 (Q8TAT6), NPM1 (P06748), NPTN (Q9Y639), NPW (Q8N729), NQO1 (P15559), NQO2 (P16083), NRAS (P01111), NRBP1 (Q9UHY1), NRD1 (O43847), NRP1 (O14786), NRP2 (O60462), NSDHL (Q15738), NSF (P46459), NSUN2 (Q08J23), NSUN5 (Q96P11), NSUN6 (Q8TEA1), NT5C (Q8TCD5), NT5C2 (P49902), NT5C3L (Q969T7), NT5E (P21589), NTN1 (O95631), NUBP1 (P53384), NUBP2 (Q9Y5Y2), NUCB1 (Q02818), NUCKS1 (Q9H1E3), NUDC (Q9Y266), NUDCD1 (Q96RS6), NUDCD2 (Q8WVJ2), NUDT1 (P36639), NUDT10 (Q8NFP7), NUDT16 (Q96DE0), NUDT16L1 (Q9BRJ7), NUDT21 (O43809), NUDT4 (Q9NZJ9), NUDT5 (Q9UKK9), NUMA1 (Q14980), NUP188 (Q5SRE5), NUP210 (Q8TEM1), NUP37 (Q8NFH4), NUP43 (Q8NFH3), NUP54 (Q7Z3B4), NUP62 (P37198), NUP85 (Q9BW27), NUP88 (Q99567), NUP93 (Q8N1F7), NUTF2 (P61970), NXF1 (Q9UBU9), NXN (Q6DKJ4), NXT1 (Q9UKK6), OAT (P04181), OBSL1 (O75147), OCRL (Q01968), ODR4 (Q5SWX8), ODZ2 (Q9NT68), ODZ3 (Q9P273), OGFOD1 (Q8N543), OGT (O15294), OLA1 (Q9NTK5), OLFML3 (Q9NRN5), OPA1 (O60313), ORC3 (Q9UBD5), OSBP (P22059), OSBPL6 (Q9BZF3), OSGEP (Q9NPF4), OTUB1 (Q96FW1), OVCA2 (Q8WZ82), OXCT1 (P55809), OXSR1 (O95747), P4HA1 (P13674), P4HB (P07237), PA2G4 (Q9UQ80), PAAF1 (Q9BRP4), PABPC1 (P11940), PABPC4 (Q13310), PABPN1 (Q86U42), PACSIN2 (Q9UNF0), PACSIN3 (Q9UKS6), PAF1 (Q8N7H5), PAFAH1B1 (P43034), PAFAH1B2 (P68402), PAFAH1B3 (Q15102), PAICS (P22234), PAIP1 (Q9H074), PAK1IP1 (Q9NWT1), PAK2 (Q13177), PALD (Q9ULE6), PALLD (Q8WX93), PANK4 (Q9NVE7), PAPOLA (P51003), PAPSS1 (O43252), PARK7 (Q99497), PARN (O95453), PARP1 (P09874), PARP4 (Q9UKK3), PARVA (Q9NVD7), PBLD (P30039), PCBD1 (P61457), PCBP1 (Q15365), PCBP2 (Q15366), PCDHB2 (Q9Y5E7), PCDHGC3 (Q9UN70), PCID2 (Q5JVF3), PCMT1 (P22061), PCNA (P12004), PCOLCE2 (Q9UKZ9), PCYOX1 (Q9UHG3), PCYOX1L (Q8NBM8), PCYT2 (Q99447), PDCD10 (Q9BUL8), PDCD11 (Q14690), PDCD4 (Q53EL6), PDCD5 (O14737), PDCD6 (O75340), PDCD6IP (Q8WUM4), PDCL3 (Q9H2J4), PDDC1 (Q8NB37), PDE12 (Q6L8Q7), PDGFRA (P16234), PDIA3 (P30101), PDIA4 (P13667), PDIA5 (Q14554), PDIA6 (Q15084), PDLIM1 (O00151), PDLIM4 (P50479), PDLIM5 (Q96HC4), PDLIM7 (Q9NR12),

PDRO (Q6IAA8), PDS5A (Q29RF7), PDS5B (Q9NTI5), PDXK (O00764), PDXP (Q96GD0), PEA15 (Q15121), PEBP1 (P30086), PECI (O75521), PEF1 (Q9UBV8), PELO (Q9BRX2), PELP1 (Q8IZL8), PEPD (P12955), PES1 (O00541), PFAS (O15067), PFDN1 (O60925), PFDN2 (Q9UHV9), PFDN4 (Q9NQP4), PFDN5 (Q99471), PFDN6 (O15212), PFKL (P17858), PFKM (P08237), PFKP (Q01813), PFN1 (P07737), PFN2 (P35080), PGAM1 (P18669), PGAM5 (Q96HS1), PGD (P52209), PGGT1B (P53609), PGK1 (P00558), PGLS (O95336), PGLYRP2 (Q96PD5), PGM1 (P36871), PGM2L1 (Q6PCE3), PGM3 (O95394), PGP (A6NDG6), PGRMC1 (O00264), PGRMC2 (O15173), PHB (P35232), PHB2 (Q99623), PHF5A (Q7RTV0), PHF6 (Q8IWS0), PHGDH (O43175), PHKB (Q93100), PHLDA1 (Q8WV24), PHLDA3 (Q9Y5J5), PHLDB1 (Q86UU1), PHPT1 (Q9NRX4), PI15 (O43692), PI4KA (P42356), PICALM (Q13492), PIGT (Q969N2), PIK3CA (P42336), PIK3R4 (Q99570), PIN1 (Q13526), PIP4K2A (P48426), PIP4K2B (P78356), PIP4K2C (Q8TBX8), PIPOX (Q9P0Z9), PIPSL (A2A3N6), PITPNB (P48739), PKM2 (P14618), PKP1 (Q13835), PLAA (Q9Y263), PLCB3 (Q01970), PLCD1 (P51178), PLCD3 (Q8N3E9), PLCG1 (P19174), PLCG2 (P16885), PLD3 (Q8IV08), PLEC (Q15149), PLIN2 (Q99541), PLIN3 (O60664), PLK1 (P53350), PLOD1 (Q02809), PLOD2 (O00469), PLOD3 (O60568), PLRG1 (O43660), PLS1 (Q14651), PLS3 (P13797), PLSCR3 (Q9NRY6), PLTP (P55058), PLXNA1 (Q9UIW2), PLXNB2 (O15031), PLXND1 (Q9Y4D7), PMM2 (O15305), PMPCA (Q10713), PMPCB (O75439), PMVK (Q15126), PNMA2 (Q9UL42), PNN (Q9H307), PNO1 (Q9NRX1), PNP (P00491), PNPLA2 (Q96AD5), PODXL (O00592), POLD1 (P28340), POLD2 (P49005), POLE3 (Q9NRF9), POLR1A (O95602), POLR1B (Q9H9Y6), POLR1C (O15160), POLR1D (Q9Y2S0), POLR2A (P24928), POLR2B (P30876), POLR2C (P19387), POLR2E (P19388), POLR2G (P62487), POLR2H (P52434), POLR2J (P52435), POLR2K (P53803), POLR3A (O14802), POLR3B (Q9NW08), POLR3C (Q9BUI4), POP1 (Q99575), POP4 (O95707), POP7 (O75817), POR (P16435), PPA1 (Q15181), PPA2 (Q9H2U2), PPAN (Q9NQ55), PPAP2A (O14494), PPAT (Q06203), PPCS (Q9HAB8), PPFIBP1 (Q86W92), PPIA (P62937), PPIB (P23284), PPIC (P45877), PPID (Q08752), PPIF (P30405), PPIH (O43447), PPIL1 (Q9Y3C6), PPM1F (P49593), PPM1G (O15355), PPME1 (Q9Y570), PPP1CA (P62136), PPP1CB (P62140), PPP1CC (P36873), PPP1R14B (Q96C90), PPP1R7 (Q15435), PPP1R8 (Q12972), PPP2CA (P67775), PPP2CB (P62714), PPP2R1A (P30153), PPP2R2A (P63151), PPP2R2D (Q66LE6), PPP2R4 (Q15257), PPP2R5D (Q14738), PPP2R5E (Q16537), PPP3CA (Q08209), PPP4C (P60510), PPP4R1 (Q8TF05), PPP5C (P53041), PPP6C (O00743), PPP6R3 (Q5H9R7), PPPDE2 (Q6ICB0), PPT1 (P50897), PPWD1 (Q96BP3), PRCP (P42785), PRDX1 (Q06830), PRDX2 (P32119), PRDX3 (P30048), PRDX4 (Q13162), PRDX6 (P30041), PREP (P48147), PREPL (Q4J6C6), PRIM1 (P49642), PRIM2 (P49643), PRKAA1 (Q13131), PRKACA (P17612), PRKACB (P22694), PRKAG1 (P54619), PRKAR1A (P10644), PRKAR2A (P13861), PRKCA (P17252), PRKCI (P41743), PRKCSH (P14314), PRKDC (P78527), PRKRA (O75569), PRMT1 (Q99873), PRMT10 (Q6P2P2),

PRMT3 (O60678), PRMT5 (O14744), PRMT7 (Q9NVM4), PROSC (O94903), PRPF19 (Q9UMS4), PRPF3 (O43395), PRPF31 (Q8WWY3), PRPF4 (O43172), PRPF40A (O75400), PRPF4B (Q13523), PRPF6 (O94906), PRPF8 (Q6P2Q9), PRPS1 (P60891), PRPS2 (P11908), PRPSAP2 (O60256), PRRC1 (Q96M27), PRSS23 (O95084), PRTFDC1 (Q9NRG1), PSAP (P07602), PSAT1 (Q9Y617), PSD3 (Q9NYI0), PSENEN (Q9NZ42), PSIP1 (O75475), PSMA1 (P25786), PSMA2 (P25787), PSMA3 (P25788), PSMA4 (P25789), PSMA5 (P28066), PSMA6 (P60900), PSMA7 (O14818), PSMB1 (P20618), PSMB2 (P49721), PSMB3 (P49720), PSMB4 (P28070), PSMB5 (P28074), PSMB6 (P28072), PSMB7 (Q99436), PSMC1 (P62191), PSMC2 (P35998), PSMC3 (P17980), PSMC4 (P43686), PSMC5 (P62195), PSMC6 (P62333), PSMD1 (Q99460), PSMD10 (O75832), PSMD11 (O00231), PSMD12 (O00232), PSMD13 (Q9UNM6), PSMD14 (O00487), PSMD2 (Q13200), PSMD3 (O43242), PSMD4 (P55036), PSMD5 (Q16401), PSMD6 (Q15008), PSMD7 (P51665), PSMD8 (P48556), PSMD9 (O00233), PSME1 (Q06323), PSME2 (Q9UL46), PSME3 (P61289), PSME4 (Q14997), PSMG1 (O95456), PSMG2 (Q969U7), PSPC1 (Q8WXF1), PSPH (P78330), PTBP1 (P26599), PTGES2 (Q9H7Z7), PTGES3 (Q15185), PTGFRN (Q9P2B2), PTGR1 (Q14914), PTHLH (P12272), PTK2 (Q05397), PTK7 (Q13308), PTMA (P06454), PTN (P21246), PTP4A1 (Q93096), PTPN1 (P18031), PTPN11 (Q06124), PTPN23 (Q9H3S7), PTPRA (P18433), PTPRE (P23469), PTPRG (P23470), PTPRJ (Q12913), PTPRZ1 (P23471), PUF60 (Q9UHX1), PURA (Q00577), PURB (Q96QR8), PUS1 (Q9Y606), PUS7 (Q96PZ0), PVR (P15151), PVRL2 (Q92692), PWP1 (Q13610), PWP2 (Q15269), PXDN (Q92626), PXK (Q7Z7A4), PXN (P49023), PYCR1 (P32322), PYCRL (Q53H96), PYGB (P11216), PYGL (P06737), QARS (P47897), QDPR (P09417), QKI (Q96PU8), QTRT1 (Q9BXR0), RAB10 (P61026), RAB11A (P62491), RAB11FIP1 (Q6WKZ4), RAB12 (Q6IQ22), RAB13 (P51153), RAB14 (P61106), RAB18 (Q9NP72), RAB1A (P62820), RAB1B (Q9H0U4), RAB21 (Q9UL25), RAB22A (Q9UL26), RAB23 (Q9ULC3), RAB27A (P51159), RAB2A (P61019), RAB2B (Q8WUD1), RAB32 (Q13637), RAB34 (Q9BZG1), RAB35 (Q15286), RAB3A (P20336), RAB3GAP1 (Q15042), RAB3GAP2 (Q9H2M9), RAB4A (P20338), RAB5A (P20339), RAB5B (P61020), RAB5C (P51148), RAB6A (P20340), RAB7A (P51149), RAB8A (P61006), RAB8B (Q92930), RABAC1 (Q9UI14), RABGAP1 (Q9Y3P9), RABGGTA (Q92696), RABGGTB (P53611), RABL2A (Q9UBK7), RABL3 (Q5HYI8), RAC1 (P63000), RAC3 (P60763), RAD23B (P54727), RAD50 (Q92878), RAE1 (P78406), RAF1 (P04049), RALA (P11233), RALB (P11234), RALY (Q9UKM9), RAN (P62826), RANBP1 (P43487), RANBP2 (P49792), RANGAP1 (P46060), RAP1A (P62834), RAP1B (P61224), RAP1GDS1 (P52306), RAP2B (P61225), RAPH1 (Q70E73), RARS (P54136), RASA1 (P20936), RASA3 (Q14644), RBBP4 (Q09028), RBBP5 (Q15291), RBBP7 (Q16576), RBM12 (Q9NTZ6), RBM14 (Q96PK6), RBM15 (Q96T37), RBM22 (Q9NW64), RBM25 (P49756), RBM26 (Q5T8P6), RBM28 (Q9NW13), RBM39 (Q14498), RBM4 (Q9BWF3), RBM8A (Q9Y5S9), RBMX (P38159), RBP1 (P09455), RBPJ (Q06330), RBX1

(P62877), RCC1 (P18754), RCC2 (Q9P258), RCL (O43598), RCL1 (Q9Y2P8), RCN1 (Q15293), RDH11 (Q8TC12), RDH13 (Q8NBN7), RDX (P35241), RECQL (P46063), RELA (Q04206), REPS1 (Q96D71), RETSAT (Q6NUM9), RFC2 (P35250), RFC3 (P40938), RFC4 (P35249), RFC5 (P40937), RFFL (Q8WZ73), RFTN1 (Q14699), RHEB (Q15382), RHOA (P61586), RHOB (P62745), RHOC (P08134), RHOF (Q9HBH0), RHOG (P84095), RHOT2 (Q8IXI1), RIC8A (Q9NPQ8), RNASEH2C (Q8TDP1), RNF114 (Q9Y508), RNF20 (Q5VTR2), RNF213 (Q63HN8), RNF7 (Q9UBF6), RNGTT (O60942), RNH1 (P13489), RNMT (O43148), RNPEP (Q9H4A4), ROBLD3 (Q9Y2Q5), ROCK1 (Q13464), ROCK2 (O75116), RP2 (O75695), RPA1 (P27694), RPA2 (P15927), RPA3 (P35244), RPE (Q96AT9), RPF2 (Q9H7B2), RPIA (P49247), RPL10 (P27635), RPL10A (P62906), RPL11 (P62913), RPL12 (P30050), RPL13 (P26373), RPL13A (P40429), RPL14 (P50914), RPL15 (P61313), RPL17 (P18621), RPL18 (Q07020), RPL18A (Q02543), RPL19 (P84098), RPL21 (P46778), RPL22 (P35268), RPL22L1 (Q6P5R6), RPL23 (P62829), RPL23A (P62750), RPL24 (P83731), RPL26 (P61254), RPL26L1 (Q9UNX3), RPL27 (P61353), RPL27A (P46776), RPL28 (P46779), RPL29 (P47914), RPL3 (P39023), RPL30 (P62888), RPL31 (P62899), RPL32 (P62910), RPL34 (P49207), RPL35 (P42766), RPL35A (P18077), RPL36 (Q9Y3U8), RPL36A (P83881), RPL36AL (Q969Q0), RPL37 (P61927), RPL37A (P61513), RPL38 (P63173), RPL4 (P36578), RPL5 (P46777), RPL6 (Q02878), RPL7 (P18124), RPL7A (P62424), RPL7L1 (Q6DKI1), RPL8 (P62917), RPL9 (P32969), RPLP0 (P05388), RPLP1 (P05386), RPLP2 (P05387), RPN1 (P04843), RPN2 (P04844), RPP30 (P78346), RPP38 (P78345), RPRD1A (Q96P16), RPRD1B (Q9NQG5), RPS10 (P46783), RPS11 (P62280), RPS12 (P25398), RPS13 (P62277), RPS14 (P62263), RPS15 (P62841), RPS15A (P62244), RPS16 (P62249), RPS17 (P08708), RPS18 (P62269), RPS19 (P39019), RPS2 (P15880), RPS20 (P60866), RPS21 (P63220), RPS23 (P62266), RPS24 (P62847), RPS25 (P62851), RPS26 (P62854), RPS27 (P42677), RPS27A (P62979), RPS27L (Q71UM5), RPS28 (P62857), RPS29 (P62273), RPS3 (P23396), RPS3A (P61247), RPS4X (P62701), RPS4Y1 (P22090), RPS5 (P46782), RPS6 (P62753), RPS6KA1 (Q15418), RPS6KA3 (P51812), RPS7 (P62081), RPS8 (P62241), RPS9 (P46781), RPSA (P08865), RQCD1 (Q92600), RRAGC (Q9HB90), RRAS2 (P62070), RRBP1 (Q9P2E9), RRM1 (P23921), RRM2 (P31350), RRM2B (Q7LG56), RRP1 (P56182), RRP12 (Q5JTH9), RRP1B (Q14684), RRP7A (Q9Y3A4), RRP9 (O43818), RRS1 (Q15050), RSL1D1 (O76021), RSL24D1 (Q9UHA3), RSPRY1 (Q96DX4), RSU1 (Q15404), RTCD1 (O00442), RTKN (Q9BST9), RTN3 (O95197), RTN4 (Q9NQC3), RUVBL1 (Q9Y265), RUVBL2 (Q9Y230), RWDD2B (P57060), S100A10 (P60903), S100A11 (P31949), S100A13 (Q99584), S100A16 (Q96FQ6), S100A2 (P29034), S100A4 (P26447), S100A6 (P06703), S100A7 (P31151), S100A8 (P05109), S100A9 (P06702), SAAL1 (Q96ER3), SACS (Q9NZJ4), SAE1 (Q9UBE0), SAMHD1 (Q9Y3Z3), SAP18 (O00422), SAR1A (Q9NR31), SARM1 (Q6SZW1), SARNP (P82979), SARS (P49591), SARS2 (Q9NP81), SART3 (Q15020), SBDS (Q9Y3A5), SBF1 (O95248), SCARB1 (Q8WTV0), SCARB2 (Q14108),

SCCPDH (Q8NBX0), SCFD1 (Q8WVM8), SCFD2 (Q8WU76), SCP2 (P22307), SCPEP1 (Q9HB40), SCRG1 (O75711), SCRIB (Q14160), SCRN1 (Q12765), SCRN2 (Q96FV2), SCYL1 (Q96KG9), SDC2 (P34741), SDC4 (P31431), SDCBP (O00560), SDCCAG1 (O60524), SDCCAG3 (Q96C92), SDHA (P31040), SDHB (P21912), SDK1 (Q7Z5N4), SDSL (Q96GA7), SEC13 (P55735), SEC14L2 (O76054), SEC22B (O75396), SEC23A (Q15436), SEC23B (Q15437), SEC23IP (Q9Y6Y8), SEC24A (O95486), SEC24B (O95487), SEC24C (P53992), SEC24D (O94855), SEC31A (O94979), SEC61B (P60468), SEC61G (P60059), SEH1L (Q96EE3), SELH (Q8IZQ5), SELO (Q9BVL4), SEMA3A (Q14563), SENP3 (Q9H4L4), SEPSECS (Q9HD40), 40422 (Q9P0V9), 40787 (Q9NVA2), 37500 (Q15019), 38596 (Q99719), 39326 (Q16181), 40057 (Q9UHD8), SERBP1 (Q8NC51), SERPINB12 (Q96P63), SERPINB3 (P29508), SERPINB6 (P35237), SERPINH1 (P50454), SESN2 (P58004), SET (Q01105), SETD3 (Q86TU7), SF3A1 (Q15459), SF3A2 (Q15428), SF3A3 (Q12874), SF3B1 (O75533), SF3B14 (Q9Y3B4), SF3B2 (Q13435), SF3B3 (Q15393), SF3B4 (Q15427), SF3B5 (Q9BWJ5), SFN (P31947), SFPQ (P23246), SFRP4 (Q6FHJ7), SFXN3 (Q9BWM7), SGTA (O43765), SH3BGRL3 (Q9H299), SH3BP4 (Q9P0V3), SH3GL1 (Q99961), SH3GLB1 (Q9Y371), SHC1 (P29353), SHMT1 (P34896), SHMT2 (P34897), SHOC2 (Q9UQ13), SHPK (Q9UHJ6), SIRT5 (Q9NXA8), SKIV2L (Q15477), SKIV2L2 (P42285), SKP1 (P63208), SLC12A2 (P55011), SLC12A4 (Q9UP95), SLC16A1 (P53985), SLC1A3 (P43003), SLC1A5 (Q15758), SLC25A10 (Q9UBX3), SLC25A11 (Q02978), SLC25A13 (Q9UJS0), SLC25A22 (Q9H936), SLC25A3 (Q00325), SLC25A5 (P05141), SLC25A6 (P12236), SLC26A2 (P50443), SLC29A1 (Q99808), SLC29A2 (Q14542), SLC2A1 (P11166), SLC30A1 (Q9Y6M5), SLC38A1 (Q9H2H9), SLC3A2 (P08195), SLC44A2 (Q8IWA5), SLC4A2 (P04920), SLC4A7 (Q9Y6M7), SLC5A3 (P53794), SLC5A6 (Q9Y289), SLC6A8 (P48029), SLC7A1 (P30825), SLC7A5 (Q01650), SLC9A3R1 (O14745), SLC9A3R2 (Q15599), SLIRP (Q9GZT3), SLK (Q9H2G2), SMAD1 (Q15797), SMAD2 (Q15796), SMARCA4 (P51532), SMARCA5 (O60264), SMARCB1 (Q12824), SMARCC1 (Q92922), SMARCC2 (Q8TAQ2), SMARCD2 (Q92925), SMC1A (Q14683), SMC2 (O95347), SMC3 (Q9UQE7), SMC4 (Q9NTJ3), SMC5 (Q8IY18), SMCHD1 (A6NHR9), SMEK1 (Q6IN85), SMG1 (Q96Q15), SMN1 (Q16637), SMS (P52788), SMU1 (Q2TAY7), SMYD3 (Q9H7B4), SMYD5 (Q6GMV2), SNAP23 (O00161), SND1 (Q7KZF4), SNF8 (Q96H20), SNRNP200 (O75643), SNRNP40 (Q96DI7), SNRNP70 (P08621), SNRPA1 (P09661), SNRPB (P14678), SNRPB2 (P08579), SNRPD1 (P62314), SNRPD2 (P62316), SNRPD3 (P62318), SNRPE (P62304), SNRPF (P62306), SNRPG (P62308), SNTB1 (Q13884), SNTB2 (Q13425), SNX1 (Q13596), SNX12 (Q9UMY4), SNX17 (Q15036), SNX18 (Q96RF0), SNX2 (O60749), SNX27 (Q96L92), SNX3 (O60493), SNX5 (Q9Y5X3), SNX6 (Q9UNH7), SNX9 (Q9Y5X1), SOD1 (P00441), SOD2 (P04179), SORD (Q00796), SORT1 (Q99523), SPATS2L (Q9NUQ6), SPC24 (Q8NBT2), SPCS2 (Q15005), SPCS3 (P61009), SPG21 (Q9NZD8), SPIN1 (Q9Y657), SPR (P35270), SPRR1B (P22528), SPRR2E (P22531), SPTAN1 (Q13813), SPTBN1 (Q01082),

SPTBN2 (O15020), SR140 (O15042), SRBD1 (Q8N5C6), SRCRL (A1L4H1), SRGAP2 (O75044), SRI (P30626), SRM (P19623), SRP14 (P37108), SRP19 (P09132), SRP54 (P61011), SRP68 (Q9UHB9), SRP72 (O76094), SRP9 (P49458), SRPK1 (Q96SB4), SRPR (P08240), SRPRB (Q9Y5M8), SRPX (P78539), SRPX2 (O60687), SRR (Q9GZT4), SRRM1 (Q8IYB3), SRRM2 (Q9UQ35), SRRT (Q9BXP5), SRSF1 (Q07955), SRSF10 (O75494), SRSF11 (Q05519), SRSF2 (Q01130), SRSF3 (P84103), SRSF5 (Q13243), SRSF6 (Q13247), SRSF7 (Q16629), SRSF9 (Q13242), SRXN1 (Q9BYN0), SSB (P05455), SSBP1 (Q04837), SSR1 (P43307), SSR3 (Q9UNL2), SSRP1 (Q08945), SSSCA1 (O60232), SSU72 (Q9NP77), ST13 (P50502), STAG1 (Q8WVM7), STAM (Q92783), STAMBP (O95630), STAT1 (P42224), STAT2 (P52630), STAT3 (P40763), STAU1 (O95793), STIP1 (P31948), STK10 (O94804), STK24 (Q9Y6E0), STK25 (O00506), STK38 (Q15208), STK38L (Q9Y2H1), STOM (P27105), STOML2 (Q9UJZ1), STON2 (Q8WXE9), STRAP (Q9Y3F4), STT3A (P46977), STUB1 (Q9UNE7), STX12 (Q86Y82), STX4 (Q12846), STX5 (Q13190), STXBP1 (P61764), STXBP3 (O00186), STYX (Q8WUJ0), SUB1 (P53999), SUCLA2 (Q9P2R7), SUCLG2 (Q96I99), SUGT1 (Q9Y2Z0), SULF2 (Q8IWU5), SUMO1 (P63165), SUPT16H (Q9Y5B9), SUPT4H1 (P63272), SUPT5H (O00267), SUPT6H (Q7KZ85), SUSD5 (O60279), SVEP1 (Q4LDE5), SVIL (O95425), SWAP70 (Q9UH65), SYMPK (Q92797), SYNCRIP (O60506), SYNGR2 (O43760), SYNJ2BP (P57105), SYNM (O15061), SYPL1 (Q16563), TAB1 (Q15750), TAF9 (Q9Y3D8), TAGLN (Q01995), TAGLN2 (P37802), TALDO1 (P37837), TAOK1 (Q7L7X3), TARDBP (Q13148), TARS (P26639), TATDN1 (Q6P1N9), TAX1BP3 (O14907), TBC1D13 (Q9NVG8), TBC1D15 (Q8TC07), TBC1D23 (Q9NUY8), TBC1D24 (Q9ULP9), TBC1D4 (O60343), TBC1D9B (Q66K14), TBCA (O75347), TBCB (Q99426), TBCC (Q15814), TBCD (Q9BTW9), TBCE (Q15813), TBK1 (Q9UHD2), TBL1XR1 (Q9BZK7), TBL2 (Q9Y4P3), TBL3 (Q12788), TBPL1 (P62380), TCEA1 (P23193), TCEB1 (Q15369), TCEB2 (Q15370), TCERG1 (O14776), TCF25 (Q9BQ70), TCP1 (P17987), TELO2 (Q9Y4R8), TEX10 (Q9NXF1), TEX15 (Q9BXT5), TF (P02787), TFCP2 (Q12800), TFG (Q92734), TFRC (P02786), TGFB1 (P01137), TGFB2 (P61812), TGFBI (Q15582), TGFBRAP1 (Q8WUH2), TGM1 (P22735), TGM3 (Q08188), TH1L (Q8IXH7), THBS1 (P07996), THBS3 (P49746), THG1L (Q9NWX6), THOC2 (Q8NI27), THOC3 (Q96J01), THOC5 (Q13769), THOC6 (Q86W42), THOC7 (Q6I9Y2), THOP1 (P52888), THTPA (Q9BU02), THUMPD1 (Q9NXG2), THUMPD3 (Q9BV44), THY1 (P04216), THYN1 (Q9P016), TIA1 (P31483), TIAL1 (Q01085), TIGAR (Q9NQ88), TIMM13 (Q9Y5L4), TIMM44 (O43615), TIMM50 (Q3ZCQ8), TIMM8A (O60220), TIMM8B (Q9Y5J9), TIMM9 (Q9Y5J7), TIMP2 (P16035), TIPRL (O75663), TJP1 (Q07157), TKT (P29401), TLN1 (Q9Y490), TLN2 (Q9Y4G6), TM9SF3 (Q9HD45), TMED10 (P49755), TMED2 (Q15363), TMED5 (Q9Y3A6), TMED7 (Q9Y3B3), TMED9 (Q9BVK6), TMEFF2 (Q9UIK5), TMEM132A (Q24JP5), TMEM2 (Q9UHN6), TMEM30A (Q9NV96), TMEM33 (P57088), TMOD3 (Q9NYL9), TMPO (P42166), TMX1 (Q9H3N1), TNC (P24821), TNKS1BP1 (Q9C0C2), TNPO1 (Q92973), TNPO2 (O14787),

TNPO3 (Q9Y5L0), TOM1L2 (Q6ZVM7), TOMM20 (Q15388), TOMM34 (Q15785), TOMM5 (Q8N4H5), TOMM70A (O94826), TOP1 (P11387), TOP2A (P11388), TOP2B (Q02880), TP53I3 (Q53FA7), TP53RK (Q96S44), TPBG (Q13641), TPD52 (P55327), TPI1 (P60174), TPM1 (P09493), TPM2 (P07951), TPM3 (P06753), TPM3L (A6NL28), TPM4 (P67936), TPP2 (P29144), TPT1 (P13693), TRA2A (Q13595), TRA2B (P62995), TRAF2 (Q12933), TRAP1 (Q12931), TRAPPC1 (Q9Y5R8), TRAPPC2L (Q9UL33), TRAPPC3 (O43617), TRAPPC4 (Q9Y296), TRAPPC5 (Q8IUR0), TRIM16 (O95361), TRIM22 (Q8IYM9), TRIM25 (Q14258), TRIM26 (Q12899), TRIM28 (Q13263), TRIM47 (Q96LD4), TRIM5 (Q9C035), TRIO (O75962), TRIP13 (Q15645), TRIP6 (Q15654), TRMT1 (Q9NXH9), TRMT112 (Q9UI30), TRMT5 (Q32P41), TRMT6 (Q9UJA5), TRMT61A (Q96FX7), TRNT1 (Q96Q11), TROVE2 (P10155), TRRAP (Q9Y4A5), TSG101 (Q99816), TSKU (Q8WUA8), TSN (Q15631), TSPAN14 (Q8NG11), TSPAN6 (O43657), TSR1 (Q2NL82), TSSC1 (Q53HC9), TSTA3 (Q13630), TTC1 (Q99614), TTC15 (Q8WVT3), TTC27 (Q6P3X3), TTC37 (Q6PGP7), TTC38 (Q5R3I4), TTC7B (Q86TV6), TTC9C (Q8N5M4), TTL (Q8NG68), TTLL12 (Q14166), TTN (Q8WZ42), TTYH1 (Q9H313), TTYH3 (Q9C0H2), TUBA1B (P68363), TUBA4A (P68366), TUBB (P07437), TUBB2B (Q9BVA1), TUBB2C (P68371), TUBB3 (Q13509), TUBB6 (Q9BUF5), TUBG1 (P23258), TUBGCP2 (Q9BSJ2), TUBGCP3 (Q96CW5), TUFM (P49411), TWF1 (Q12792), TWF2 (Q6IBS0), TXN (P10599), TXNDC17 (Q9BRA2), TXNDC5 (Q8NBS9), TXNDC9 (O14530), TXNL1 (O43396), TXNRD1 (Q16881), TYK2 (P29597), TYMS (P04818), U2AF1 (Q01081), U2AF2 (P26368), UAP1 (Q16222), UBA1 (P22314), UBA2 (Q9UBT2), UBA3 (Q8TBC4), UBA52 (P62987), UBA6 (A0AVT1), UBE2D1 (P51668), UBE2D3 (P61077), UBE2E1 (P51965), UBE2G2 (P60604), UBE2I (P63279), UBE2J2 (Q8N2K1), UBE2K (P61086), UBE2L3 (P68036), UBE2M (P61081), UBE2N (P61088), UBE2O (Q9C0C9), UBE2S (Q16763), UBE2V1 (Q13404), UBE2V2 (Q15819), UBE3A (Q05086), UBE3C (Q15386), UBE4A (Q14139), UBE4B (O95155), UBFD1 (O14562), UBL3 (O95164), UBL4A (P11441), UBL5 (Q9BZL1), UBLCP1 (Q8WVY7), UBP1 (Q9NZI7), UBQLN2 (Q9UHD9), UBR1 (Q8IWV7), UBR4 (Q5T4S7), UBTD1 (Q9HAC8), UBXN1 (Q04323), UBXN6 (Q9BZV1), UCHL1 (P09936), UCHL3 (P15374), UCHL5 (Q9Y5K5), UCK2 (Q9BZX2), UFC1 (Q9Y3C8), UFD1L (Q92890), UGDH (O60701), UGGT1 (Q9NYU2), UGP2 (Q16851), ULK3 (Q6PHR2), UMPS (P11172), UNC119B (A6NIH7), UNC45A (Q9H3U1), UPF1 (Q92900), UPP1 (Q16831), UQCRC1 (P31930), UQCRC2 (P22695), UQCRFS1 (P47985), URB1 (O60287), URB2 (Q14146), UROD (P06132), UROS (P10746), USO1 (O60763), USP10 (Q14694), USP11 (P51784), USP13 (Q92995), USP14 (P54578), USP15 (Q9Y4E8), USP24 (Q9UPU5), USP39 (Q53GS9), USP5 (P45974), USP7 (Q93009), USP9X (Q93008), UTP15 (Q8TED0), UTP18 (Q9Y5J1), UTP20 (O75691), UTP6 (Q9NYH9), UTRN (P46939), UXS1 (Q8NBZ7), UXT (Q9UBK9), VAC14 (Q08AM6), VAMP3 (Q15836), VAMP5 (O95183), VAPA (Q9P0L0), VAPB (O95292), VARS (P26640), VASP (P50552), VAT1 (Q99536), VAV2 (P52735), VBP1 (P61758), VCAN (P13611), VCL (P18206), VCP (P55072),

VDAC1 (P21796), VDAC2 (P45880), VDAC3 (Q9Y277), VIM (P08670), VPRBP (Q9Y4B6), VPS11 (Q9H270), VPS13A (Q96RL7), VPS13C (Q709C8), VPS16 (Q9H269), VPS18 (Q9P253), VPS24 (Q9Y3E7), VPS25 (Q9BRG1), VPS26A (O75436), VPS26B (Q4G0F5), VPS28 (Q9UK41), VPS29 (Q9UBQ0), VPS33A (Q96AX1), VPS33B (Q9H267), VPS35 (Q96QK1), VPS36 (Q86VN1), VPS37B (Q9H9H4), VPS39 (Q96JC1), VPS41 (P49754), VPS45 (Q9NRW7), VPS4A (Q9UN37), VPS4B (O75351), VPS53 (Q5VIR6), VPS8 (Q8N3P4), VRK1 (Q99986), VTA1 (Q9NP79), VWA1 (Q6PCB0), VWA5A (O00534), WARS (P23381), WASF2 (Q9Y6W5), WASL (O00401), WBSCR22 (O43709), WDFY1 (Q8IWB7), WDR1 (O75083), WDR11 (Q9BZH6), WDR12 (Q9GZL7), WDR18 (Q9BV38), WDR26 (Q9H7D7), WDR3 (Q9UNX4), WDR36 (Q8NI36), WDR4 (P57081), WDR43 (Q15061), WDR45L (Q5MNZ6), WDR48 (Q8TAF3), WDR5 (P61964), WDR54 (Q9H977), WDR6 (Q9NNW5), WDR61 (Q9GZS3), WDR73 (Q6P4I2), WDR74 (Q6RFH5), WDR75 (Q8IWA0), WDR77 (Q9BQA1), WDR82 (Q6UXN9), WDR92 (Q96MX6), WHSC2 (Q9H3P2), WRNIP1 (Q96S55), XP32 (Q5T750), XPC (Q01831), XPNPEP1 (Q9NQW7), XPO1 (O14980), XPO4 (Q9C0E2), XPO5 (Q9HAV4), XPO6 (Q96QU8), XPO7 (Q9UIA9), XPOT (O43592), XRCC1 (P18887), XRCC5 (P13010), XRCC6 (P12956), XRN2 (Q9H0D6), YARS (P54577), YBX1 (P67809), YES1 (P07947), YKT6 (O15498), YRDC (Q86U90), YTHDC1 (Q96MU7), YTHDF2 (Q9Y5A9), YWHAB (P31946), YWHAE (P62258), YWHAG (P61981), YWHAH (Q04917), YWHAQ (P27348), YWHAZ (P63104), ZC3H15 (Q8WU90), ZC3HAV1 (Q7Z2W4), ZC3HAV1L (Q96H79), ZCCHC3 (Q9NUD5), ZFAND1 (Q8TCF1), ZFR (Q96KR1), ZMAT2 (Q96NC0), ZNF259 (O75312), ZNF326 (Q5BKZ1), ZNF330 (Q9Y3S2), ZNF622 (Q969S3), ZNF765 (Q7L2R6), ZNFX1 (Q9P2E3), ZW10 (O43264), ZWILCH (Q9H900), ZYG11B (Q9C0D3), ZYX (Q15942).

【０３１０】

【表２１】

表 21: CTX0E03 微小胞における、最も多量に存在した 100 種のタンパク質
（名称及び SwissProt アクセッション番号）

同定されたタンパク質	アクセッション番号
アクチン, 細胞質 2	P63261
ヒストン H4	P62805
ヒストン H2B	Q99879
ヒストン H3.2	Q71DI3
ヒストン H2B タイプ 1	P23527
グリセルアルデヒド-3-リン酸デヒドロゲナーゼ	P04406
ヒストン H2A タイプ 2-A	Q6FI13
ユビキチン-40S リボソームタンパク質 S27a	P62979
アネキシン A2	P07355
アルファ-エノラーゼ	P06733
ピルビン酸キナーゼアイソザイム M1/M2	P14618
60S リボソームタンパク質 L6	Q02878
ヒストン H2B タイプ 2-E	Q16778
熱ショック同族体 71 kDa タンパク質	P11142
アクチン, アルファ 心筋 1	P68032
熱ショックタンパク質 HSP 90-ベータ	P08238
ヒストン H2B タイプ 1-J	P06899
伸長因子 1-アルファ 1	P68104
チューブリンベータ-2C 鎖	P68371
60S リボソームタンパク質 L18	Q07020
チューブリンベータ鎖	P07437
40S リボソームタンパク質 S2	P15880
40S リボソームタンパク質 S11	P62280
ヒストン H2B タイプ 3-B	Q8N257
チューブリンアルファ-1B 鎖	P68363
40S リボソームタンパク質 S3	P23396
40S リボソームタンパク質 S3a	P61247
ヒストン H2A タイプ 1-D	P20671
伸長因子 2	P13639
熱ショックタンパク質 HSP 90-アルファ	P07900
GTP 結合核タンパク質 Ran	P62826
60S リボソームタンパク質 L4	P36578
40S リボソームタンパク質 S9	P46781
プロフィリン-1	P07737
60S リボソームタンパク質 L13a	P40429
ホスホグリセリン酸キナーゼ 1	P00558
脂肪酸シンターゼ	P49327
アネキシン A1	P04083
ヒストン H2A.Z	P0C0S5

ビメンチン	P08670
40S リボソームタンパク質 S6	P62753
モエシン	P26038
ペプチジル-プロリル cis-trans イソメラーゼ A	P62937
60S リボソームタンパク質 L26	P61254
60S リボソームタンパク質 L3	P39023
40S リボソームタンパク質 S8	P62241
60S リボソームタンパク質 L28	P46779
エズリン	P15311
40S リボソームタンパク質 S4, X アイソフォーム	P62701
60S リボソームタンパク質 L7a	P62424
60S リボソームタンパク質 L13	P26373
60S リボソームタンパク質 L7	P18124
40S リボソームタンパク質 S23	P62266
60S リボソームタンパク質 L5	P46777
真核生物開始因子 4A-I	P60842
40S リボソームタンパク質 S24	P62847
チューブリンベータ-2B 鎖	Q9BVA1
60S リボソームタンパク質 L8	P62917
60S リボソームタンパク質 L15	P61313
60S リボソームタンパク質 L10	P27635
ペルオキシレドキシン-1	Q06830
ケラチン, タイプ I 細胞骨格 14	P02533
14-3-3 タンパク質 シータ	P27348
40S リボソームタンパク質 S18	P62269
トランスケトラーゼ	P29401
60S リボソームタンパク質 L24	P83731
ヒストン H1.5	P16401
コフィリン-1	P23528
ジヒドロピリミジナーゼ関連タンパク質 3	Q14195
60S リボソームタンパク質 L21	P46778
60S リボソームタンパク質 L36	Q9Y3U8
ナトリウム/カリウム輸送 ATPase サブユニットアルファ-1	P05023
40S リボソームタンパク質 S16	P62249
T-complex タンパク質 1 サブユニットガンマ	P49368
ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 A1	P09651
60S リボソームタンパク質 L14	P50914
熱ショック 70 kDa タンパク質 1A/1B	P08107
T-complex タンパク質 1 サブユニットシータ	P50990
60S リボソームタンパク質 L30	P62888
タンパク質 S100-A6	P06703
40S リボソームタンパク質 SA	P08865
CD44 抗原	P16070
60S リボソームタンパク質 L35a	P18077

チューブリンベータ-3 鎖	Q13509
T-complex タンパク質 1 サブユニットデルタ	P50991
4F2 細胞表面抗原 重鎖	P08195
T-complex タンパク質 1 サブユニットベータ	P78371
ミオシン-9	P35579
アデノシルホモシステイナーゼ	P23526
フィラミン-A	P21333
脂肪酸結合タンパク質, 脳	O15540
ミリストイル化アラニンリッチ C キナーゼ基質	P29966
T-complex タンパク質 1 サブユニットエータ	Q99832
ファシン	Q16658
フルクトース二リン酸アルドラーゼ A	P04075
60S リボソームタンパク質 L27	P61353
60S リボソームタンパク質 L17	P18621
ヘテロ核リボヌクレオタンパク質 A2/B1	P22626
60S リボソームタンパク質 L10a	P62906
60S リボソームタンパク質 L35	P42766

【０３１１】
プロテオームデータの考察
CD63（MLA1及びTSPAN30としても知られる）、TSG101（ESCRT-I複合体サブユニットTSG101としても知られる）、CD109（150kDaのTGF-ベータ-1-結合タンパク質としても知られる）及びthy-1（CD90としても知られる）をエキソソーム及び微小胞の両方で検出した。
【０３１２】
他のテトラスパミンも検出した。即ちエキソソーム画分でテトラスパミン-4、-5、-6、-9及び14を検出し、微小胞でテトラスパミン-6及び-14を検出した。
【０３１３】
CD133（AC133、プロミニン-1、PROM1、PROML1及びMSTP061としても知られる）をエキソソームで検出したが、微小胞では検出しなかった。
【０３１４】
CD53（MOX44及びTSPAN25としても知られる）、CD82（KAI1、SAR2、ST6及びTSPAN27としても知られる）、CD37（TSPAN26としても知られる）並びにCD40リガンド（CD40LG、CD40L及びTNFSF5としても知られる）をエキソソーム又は微小胞では検出しなかった。
【０３１５】
ネスチン、GFAP及びチューブリンベータ-3鎖（TUBB3としても知られる）をエキソソーム画分及び微小胞画分の両方で検出し、両方の画分における上位100種のタンパク質内ではチューブリンベータ-3鎖が特に顕著であった。Sox2、DCX、GALC、GDNF及びIDOを検出しなかった。
【０３１６】
セレクチン及びTNFRI（TNF受容体1、TNFRSF1A、TNFAR及びTNFR1としても知られる）を検出しなかった。
【０３１７】
インテグリンアルファ-2、-3、-4、-5、-6、-7、-V並びにインテグリンベータ-1、-4及び-8をエキソソーム画分及び微小胞画分の両方で検出した。インテグリンベータ-3及び-5を微小胞のみで検出した。
【０３１８】
MHCクラスI抗原（例えばHLA_A1、HLA-A2及びHLA-B27）をエキソソーム及び微小胞の両方で検出した。

【０３１９】
細胞接着分子（例えばCADM1、CADM4、ICAM1、JAM3、L1CAM、NCAM）をエキソソーム及び微小胞の両方で検出した。
【０３２０】
細胞骨格タンパク質（例えばアクチン、ビメンチン、ケラチン、カテニン、ジストログリカン（dystroglucan）、神経フィラメントポリペプチド、微小管結合タンパク質、チューブリン、デスモプラキン（desmoplaktin）、プレクチン、プラコフィリン、セプチン、スペクトリン、タリン、ビンキュリン及びザイキシン）をエキソソーム画分及び微小胞画分の両方で検出した。
【０３２１】
GTPアーゼ、クラスリン、シャペロン、熱ショックタンパク質（例えばHsp90、Hsp70）、スプライシング因子、翻訳因子、アネキシン及び増殖因子（例えばTGF-ベータ）をエキソソーム及び微小胞の両方で検出した。
【０３２２】
ガレクチン-3、TIMP-1、トロンボスポンジン-1（thrombosponding-1）、EGF受容体及びCSKをエキソソーム及び微小胞の両方で検出した。
【０３２３】
図18では、エキソソームからのプロテオームデータと微小胞からのプロテオームデータとが比較されている。図18Aには、2週目のIntegra培養システムから単離した各微粒子集団中の特有のタンパク質の数が図示されている。図18Bでは、2週目のIntegraシステムから単離された各微粒子集団において同定したタンパク質と関連する生物学的プロセスが比較されている。エキソソームで同定したタンパク質が関連する生物学的プロセスと、微小胞で同定したタンパク質が関連する生物学的プロセスとは極めて類似する。
【０３２４】
ビオチン代謝に関連するタンパク質はエキソソーム中にのみ見られたが、トリプトファンの生合成及びタウリン/アルファ-リノレン酸代謝に関与するタンパク質を微小胞中でのみ同定した。
【０３２５】
図18Cでは、CTX0E03のプロテオームと、Lai他2012で開示されている間葉系幹細胞エキソソームのプロテオームとが比較されており、Lai他2012では、間葉系幹細胞から放出されたエキソソームにおいて合計857種のタンパク質を同定した。
【０３２６】
図18Dでは、MSC由来のエキソソーム（Lim 2012）において同定したタンパク質と関連する生物学的プロセスと、本発明の神経幹細胞由来のエキソソームと関連する生物学的プロセスとが比較されている。MSC由来のエキソソームのみと関連することが分かった3種の生物学的プロセスは、（有意性の低下順に）喘息；フェニルアラニン、チロシン及びトリプトファンの生合成；そして原発性免疫不全である。神経幹細胞由来のエキソソームのみと関連することが分かった30種の生物学的プロセスを図19に示し、同定した最も有意な生物学的機能はRNAポリメラーゼに関する。
【０３２７】
MSC由来のエキソソーム及びNSC由来のエキソソームの両方に共通する197種の生物学的プロセスの更なる比較により、MSCエキソソームと比較した場合、NSCエキソソームはRNA分解、リボソーム及びスプライセオソームに関与するプロセスを特に多く含有することが明らかになる。
【０３２８】
上記の比較により、（Lim他2012により特性決定されたように）NSC由来のエキソソームとMSC由来のエキソソームとの間に多くの有意な差があることが示される。Limのグループによって同定されたエキソソームには非常に少ない/存在しないことと比較して、NSCエキソソームに存在することを同定した4つの最も有意な生物学的相違全てが、遺伝物質の産生、充填、機能及び分解、即ちRNAポリメラーゼ、RNA分解、リボソーム及びスプライセオ

ソームに関連するタンパク質を含む。

【０３２９】

［実施例14］

微粒子のサイズ分布

NanoSight分析を行い、1週、2週、3週、4週、5週及び6週にわたりIntegra Cellineシステム中で培養したCTX0E03細胞から単離した微小胞（「mv1」～「mv6」）及びエキソソーム（「exo1」～「exo6」）の粒子サイズ（粒径）及び濃度を決定した。全ての結果は5回の反復測定に基づく。

【０３３０】

ナノ粒子トラッキング分析（NTA）を使用して粒子サイズ分布を測定した。NTAでは溶液中での粒子の動きが検出され、この動きが粒子サイズと関連付けられる。全てのサンプルに関して、モード粒子サイズ及び中央粒子サイズを算出した。最小の小胞を捕捉するために最も感度の高いカメラ設定を使用してエキソソームサンプルを分析した。より大きな小胞の過剰曝露を防止するために低い感度のカメラ設定を使用して微小胞サンプルを分析した。その結果、サンプル中のより小さな小胞の一部を検出しなかった。より小さな小胞がMVサンプル中に存在したが、質量の観点からは該小胞がサンプルに占める割合は小さい。

【０３３１】

Exo1の一部を膜特異的蛍光色素（CellMask(商標)）で標識し、NTA分析とCellMask(商標)標識とを組み合わせることにより、NTAで検出した事象が膜小胞に対応することを確認した（データは示さず）。

【０３３２】

結果を以下の表22及び図17に示す。

【０３３３】

エキソソームでは6週目でサイズの低下が、即ちモードの約110nmから約70nmへの低下が、又は中央値の約130nmから約75nmへの低下が見られる。全体的なサイズ範囲は70nm～150nmであり、当分野で説明されている他の細胞型由来のエキソソームのサイズと一致する。6週にわたる細胞の培養後にエキソソームのサイズが約70nmの直径に低下するという観測は、実施例8及び図6で報告した6週にわたり多区画のバイオリアクタで培養したCTX0E03細胞から単離したエキソソームの効果の増強と相関する。

【０３３４】

また、図17に示すように、微小胞及びエキソソームの濃度も6週の期間にわたり低下し、その期間に観測した効果の向上をおおむね反映していることにも留意されたい。

【０３３５】

予想したように、微小胞はより大きく、モード径は約150nm～200nmであり、又は中央径は約180nm～350nmである。

【表２２】

表 22: CTX0E03 微小胞及びエキソソームのサイズ分布

サンプル	カウント	希釈	濃度 x10^{12}/ml	モード (nm)	中央値 (nm)
Exo1 (1)	5.204	10000	32.26	107	151
Exo1 (2)	1.734	10000	10.75	135	164
Exo1 (3)	6.55	10000	40.61	108	128
Exo2	14.33	10000	88.85	118	153
Exo3 (1)*	2.52	10000	15.62	89	115
Exo3 (2)	10.06	10000	62.37	115	146
Exo3 (3)	8.98	10000	55.68	128	147
Exo4 (1)	3.04	10000	18.85	111	136
Exo4 (2)	2.89	10000	17.92	110	120
Exo4 (3)	2.77	10000	17.17	116	134
Exo5 (1)	2.34	100	0.15	99	117
Exo5 (2)	2.02	100	0.13	102	124
Exo 5 (3)	2.08	100	0.13	116	127
Exo6 (1)	1.45	100	0.09	68	74
Exo6 (2)	1.19	100	0.07	69	75
MV1 (1)	9.314	200	1.15	183	212
MV1 (2)	10.76	200	1.33	161	214
MV1 (3)	10.738	200	1.33	173	198
MV2	5.89	1000	3.65	177	194
MV3 (1)*	5.68	2000	7.04	150	186
MV3 (2)	11.5	2000	14.26	221	351
MV3 (3)	9.57	2000	11.87	214	270
MV4 (1)	4.894	400	1.21	209	240
MV4 (2)	2.934	1000	1.82	195	212
MV4 (3)	2.55	1000	1.58	184	221
MV5 (1)	1.086	200	0.13	164	237
MV5 (2)	1.458	200	0.18	205	205
MV 5 (3)	1.3	200	0.16	219	210
MV6 (1)	0.346	200	0.04	171	186
MV6 (2)	0.37	200	0.05	168	212
培地	0.14	10	0.00	100	149

＊大きな凝集体

【０３３６】

［実施例15］

c-mycERTAMレンチウイルスにより条件的不死化された臍帯血由来のヒトCD34+前駆細胞により産生されるエキソソーム

臍帯血由来のヒトCD34+前駆細胞を、c-mycERTAM レンチウイルスを用いて条件的不死化

した。qRT-PCRにより、臍帯血由来のレンチウイルス感染ヒトCD34+前駆細胞におけるc-mycERTAM mRNAの存在が確認された（図20Aに示される通り）。

【０３３７】

続いて、細胞培養上清からのエキソソームのウエスタンブロット分析を実施した。サンプルの分析は、以下に記載するように行った：

1．エキソソーム捕捉イムノビーズを用いた、2つの細胞上清サンプル（それぞれ1ml体積）からのエキソソームの濃縮；

2．分析したマーカーの既知の発現及び既知のタンパク質含量を有する正規化対照及び参照サンプルを含む、一般的なエキソソーム関連タンパク質（Alix及びHSP70）の発現についてのSDS-PAGE及びWB 分析。

【０３３８】

分析した材料：

細胞培養物由来の上清のアリコートは、CD34及び条件的不死化されたCD34 c-mycERTAM細胞から単離された3つの1.5mlバイアルを含み、処理まで－80℃で保存した。

【０３３９】

活性の説明：

エキソソーム捕捉イムノビーズONと共に4℃でインキュベーションすることにより、予め清澄化した上清からエキソソームを捕捉し濃縮した。

【０３４０】

イムノビーズの回収後、残りの上清を120,000×gで2時間超遠心し、残渣のエキソソーム（存在する場合）を沈殿させ、免疫捕捉の効率を検査した。

【０３４１】

元の上清サンプルの1mlに各々対応する総IP及びUCペレットを溶解しゲルにローディングし、Alix（すべてのエキソソームにおいて普遍的に発現される、多小胞体レベルでのカーゴタンパク質の濃縮及びソーティングと、IL小胞への組み込みに関与するタンパク質）及びHSP70（多タンパク質複合体の組み立てを促進し、細胞膜を横切るポリペプチドの移動に参加し、大部分の上皮様ヒト細胞からのエキソソームにおいて発現される分子シャペロン）についてWBにより分析した。

濃縮した上清は密度が高すぎて、WB分析に適していなかった。

【０３４２】

分析の全体の結果：

対照サンプル：最初に、対照サンプル、ヒト細胞培養物由来の上清に対してプロトコールを適用し、それは1mLのサンプルが高発現シグナルを得るのに十分であることを示した。

【０３４３】

1mlの条件培地が1.1×10^{6}細胞に対応し、総収量8.3μg総エキソソームタンパク質濃度/ml上清となるように、80％コンフルエンスの72時間齢の細胞培養物からの対照サンプル上清を回収した。

【０３４４】

バンドの密度を評価するための参照として、同じヒト細胞培養上清から精製した3つの異なる濃度のエキソソームをローディングした。

【０３４５】

予想通り、免疫沈降したサンプル（上清の1mlから）は、5～10μgの精製エキソソームと同等のシグナルを生じる。この結果を図20Bに示す。

【０３４６】

サンプル：細胞培養上清

CD34

CD34 cmycERTAM

サンプル上清からのエキソソームは、エキソソーム捕捉イムノビーズ（一般的なエキソソームマーカーとしてのテトラスパニンの結合に基づく）を用いた濃縮に成功した。

【０３４７】
免疫沈降（IP）後にローディングしたサンプルは、1μg未満のエキソソームの全体収量に対応するAlix発現を示したが、2つのサンプルの間に認められる明らかな差はなく、CD34+及びCD34+ c-MycERTam細胞の両方がエキソソームを産生した。正確な定量的比較のために異なる方法を使用する必要がある。サンプルは、HSP70発現（おそらく組織/細胞型に起因する）について陰性であったようだ。これらの結果を図20Cに示す。
【０３４８】
使用したイムノビーズは、残りの上清の超遠心（UC）後のシグナルの不在から確認されるように、細胞上清からの総エキソソームを沈降させると以前に示されている。同じことが分析したサンプルについても確認された。
【０３４９】
本発明の実施形態は以下を含む：
1.神経幹細胞微粒子。
2.微粒子が、エキソソーム、微小胞、膜粒子、膜小胞、エキソソーム様小胞、エクトソーム様小胞、エクトソーム又はエキソベシクルである、実施形態1に記載の神経幹細胞微粒子。
3.微粒子が神経幹細胞株に由来する、実施形態1又は2に記載の神経幹細胞微粒子。
4.神経幹細胞株が、条件的不死化され、及び／又は無血清培地で生育されている、実施形態3に記載の神経幹細胞微粒子。
5.神経幹細胞株が、ECACC受託番号04091601を有するCTX0E03、ECACC受託番号04110301を有するSTR0C05、及びECACC受託番号04092302を有するHPC0A07である、実施形態4に記載の神経幹細胞微粒子。
6.微粒子が、
（a）電子顕微鏡で決定した場合に30nm～1000nmの若しくは30～200nmの若しくは30～100nmのサイズ、又は
（b）1.1～1.2g/mlのスクロース中密度
を有する、実施形態1から5のいずれかに記載の神経幹細胞微粒子。
7.RNAを含む、実施形態1から6のいずれかに記載の神経幹細胞微粒子。
8.RNAがmRNA及び／又はmiRNAである、実施形態7に記載の神経幹細胞微粒子。
9.微粒子が、hsa-miR-1246、hsa-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532の1種、2種、3種又は4種を含む、実施形態8に記載の神経幹細胞微粒子。
10.（a）セラミド、コレステロール、スフィンゴミエリン、ホスファチジルセリン、ホスファチジルイノシトール及び/若しくはホスファチジルコリンから選択される脂質、
（b）任意選択で、hsa-let-7g、hsa-miR-101、hsa-miR-10a、hsa-miR-10b、hsa-miR-126、hsa-miR-128、hsa-miR-129-5p、hsa-miR-130a、hsa-miR-134、hsa-miR-137、hsa-miR-155、hsa-miR-15a、hsa-miR-15b、hsa-miR-16、hsa-miR-17、hsa-miR-182、hsa-miR-183、hsa-miR-185、hsa-miR-18b、hsa-miR-192、hsa-miR-194、hsa-miR-195、hsa-miR-20a、hsa-miR-20b、hsa-miR-210、hsa-miR-218、hsa-miR-301a、hsa-miR-302a、hsa-miR-302c、hsa-miR-345、hsa-miR-375、hsa-miR-378、hsa-miR-7、hsa-miR-9、hsa-miR-93、hsa-miR-96、及びhsa-miR-99aから選択される、miRNA、
（c）任意選択でCD63、CD81、CD9、CD53、CD82及び/若しくはCD37から選択される、テトラスパニン、
（d）TSG101、Alix、CD109及び/若しくはthy-1、並びに/又は
（e）CD133
の1種以上を含む、実施形態1から9のいずれかに記載の神経幹細胞微粒子。
11.表19又は表21に示されるタンパク質の少なくとも10種を含む、実施形態1から10のいずれかに記載の神経幹細胞微粒子。
12.神経幹細胞又は神経幹細胞の条件培地の少なくとも1種の生物学的活性を含む、実施形態1から11のいずれかに記載の神経幹細胞微粒子。
13.少なくとも1種の生物学的活性が再生活性である、実施形態12に記載の神経幹細胞微粒

子。
14.治療に使用するための、実施形態1から13のいずれかに記載の神経幹細胞微粒子。
15.治療が再生治療である、実施形態14に記載の神経幹細胞微粒子。
16.治療が、
（i）神経学的障害、疾患又は欠損、例えばパーキンソン、アルツハイマー、卒中若しくはALS、
（ii）リソソーム蓄積症、
（iii）心血管障害、例えば心筋梗塞、うっ血性心不全、末梢動脈性疾患、糖尿病性潰瘍、創傷治癒、
（iv）特発性肺線維症、呼吸促迫症候群、慢性閉塞性肺疾患、特発性肺高血圧症、嚢胞性線維症及び喘息を含む肺の疾患、
（v）代謝性又は炎症性障害、例えば糖尿病（I若しくはII型）、関節リウマチ、変形性関節症、ループス、クローン病、過敏性腸疾患又は移植片対宿主病、
（vi）精神障害、例えば鬱病、双極性、統合失調症、又は自閉症候群障害、例えば自閉症、アスペルガー症候群若しくはレット症候群、
（vii）失明を引き起こす網膜の疾患、例えば加齢性黄斑変性、シュタルガルト病、糖尿病性網膜症又は網膜色素変性症、並びに
（viii）脱髄性疾患、例えば多発性硬化症、橋中心髄鞘崩壊症、脊髄ろう、横断性脊髄炎、デビック病、進行性多巣性白質脳症、視神経炎、白質萎縮症、ギラン・バレー症候群、抗MAG末梢神経障害及びシャルコー・マリー・トゥース病
に対するものである、実施形態14又は15に記載の神経幹細胞微粒子。
17.治療が機能及び／又は認知の回復を改善する、実施形態14から16のいずれかに記載の神経幹細胞微粒子。
18.治療が卒中、末梢動脈性疾患又は失明を引き起こす網膜の疾患に対するものである、実施形態14から17のいずれかに記載の神経幹細胞微粒子。
19.（i）微粒子がエキソソームであり、治療が組織の置換、再生若しくは修復を必要とする疾患若しくは状態に対するものである、あるいは
（ii）微粒子が微小胞であり、治療が血管新生を必要とする疾患又は神経学的障害、疾患若しくは欠損に対するものである、
実施形態14から17のいずれかに記載の神経幹細胞微粒子。
20.疾患の処置用の医薬の製造における、実施形態1から19のいずれかに記載の神経幹細胞微粒子の使用。
21.神経幹細胞の条件培地から微粒子を単離することを含む、実施形態1から13のいずれかに記載の神経幹細胞微粒子の製造方法。
22.幹細胞の条件培地から微粒子を単離することを含む幹細胞微粒子の製造方法であって、
（i）幹細胞の条件培地が、幹細胞による培地中への微粒子の放出を誘導する1種以上の成分を含み、
（ii）幹細胞が低酸素条件下で培養されたものであり、
（iii）幹細胞が異なる細胞型と共培養されたものであり、
（iv）幹細胞が多区画のバイオリアクタ中で培養されたものであり、及び／又は
（v）幹細胞が部分的に分化させたものである、上記方法。
23.幹細胞が神経幹細胞であり、任意選択で実施形態3から5のいずれかに記載の神経幹細胞である、実施形態22に記載の方法。
24.1種以上の成分が、トランスフォーミング増殖因子-ベータ（TGF-β）、インターフェロン-ガンマ（INF-γ）及び腫瘍壊死因子-アルファ（TNF-α）から選択される、実施形態22（i）又は実施形態22（i）に従属する場合の実施形態23に記載の方法。
25.異なる細胞型が内皮細胞である、実施形態22（iii）、実施形態22（iii）に従属する場合の実施形態23又は24に記載の方法。
26.実施形態22から25のいずれかに記載の方法により得られる微粒子。

27.実施形態1から13のいずれか又は実施形態26に記載の微粒子と、薬学的に許容される賦形剤、担体又は希釈剤とを含む組成物。
28.実施形態1から13のいずれか又は実施形態26に記載の微粒子の製造方法に使用するためのキットであって、（a）培地、（b）神経幹細胞、（c）任意選択で、実施形態22から24のいずれかに記載の1種以上の成分、（d）任意選択で、対照としての使用に適した実施形態1から13のいずれか又は実施形態26に記載の微粒子、（e）任意選択で、産生した微粒子の特異的検出に適した検出剤、及び（f）キットを使用して実施形態1から13のいずれか又は実施形態26に記載の微粒子を製造するための指示書、を含むキット。
29.幹細胞と候補薬剤とを接触させること、及び接触した幹細胞による微粒子の産生速度が対照と比較して増加するか又は低下するかを観測することを含む、幹細胞による微粒子の産生速度を変化させる薬剤のスクリーニング方法。
30.幹細胞微粒子の製造方法であって、
（i）幹細胞の分化が可能な環境下で幹細胞を培養すること、及び
（ii）上記細胞により産生される微粒子を回収すること
を含む方法。
31.幹細胞の分化が可能な環境が、多区画のバイオリアクタ中の培養であり、例えば、バイオリアクタが、細胞を含有する区画をガス及び／又は培養培地を含有する1つ以上の区画から分離する1つ以上の膜又は障壁で分離されている少なくとも2つの区画を含有する、実施形態30に記載の方法。
32.培養が7日を超えるものである、実施形態31に記載の方法。
33.幹細胞の条件培地から微粒子を単離することを含む、実施形態30～32のいずれかに記載の方法。
34.幹細胞の条件培地が、幹細胞による培地中への微粒子の放出を刺激する1種以上の添加成分又は薬剤を含む、実施形態33に記載の方法。
35.1種以上の成分が、トランスフォーミング増殖因子-ベータ（TGF-β）、インターフェロン-ガンマ（IFN-γ）及び／又は腫瘍壊死因子-アルファ（TNF-α）から選択される、実施形態34に記載の方法。
36.幹細胞が低酸素条件下で培養されたものである、実施形態33～35のいずれかに記載の方法。
37.幹細胞が別の細胞型と共培養されたものである、実施形態33～36のいずれかに記載の方法。
38.別の細胞型が内皮細胞である、実施形態37に記載の方法。
39.幹細胞が神経幹細胞である、実施形態30～38のいずれかに記載の方法。
40.幹細胞が神経幹細胞株である、実施形態39に記載の方法。
41.神経幹細胞株が条件的不死化されている、実施形態40に記載の方法。
42.神経幹細胞株が、ECACC受託番号04091601を有するCTX0E03、ECACC受託番号04110301を有するSTR0C05、又はECACC受託番号04092302を有するHPC0A07である、実施形態40又は41に記載の方法。
43.神経幹細胞株が無血清培地で生育されている、実施形態40～42のいずれかに記載の方法。
44.神経幹細胞が、Nestin、Sox2、GFAP、βIIIチューブリン、DCX、GALC、TUBB3、GDNF及びIDOの1種以上のマーカーを発現する、実施形態39～43のいずれかに記載の方法。
45.微粒子がエキソソームであり、該エキソソームがDCX、GFAP、GALC、TUBB3、GDNF及びIDOの1種以上を発現する、実施形態39～44のいずれかに記載の方法。
46.少なくとも2種の、3種の、4種の、5種の、6種の又は7種のmiRNAが、制御倍率により算出した場合に、標準的なT-175フラスコ中で培養された対応する幹細胞における場合と比較して微粒子において上方制御又は下方制御される、実施形態30～45のいずれかに記載の方法。
47.微粒子がエキソソームであり、該エキソソームが、以下のmiRNA：hsa-miR-146b-5p; hsa-let-7c; hsa-miR-99a; hsa-miR-132; hsa-miR-378; hsa-miR-181a; hsa-let-7b; hsa-

miR-100; hsa-let-7e; hsa-miR-23b; hsa-miR-185; hsa-let-7i; hsa-let-7a; hsa-let-7d; hsa-let-7g; hsa-miR-222; hsa-let-7f; hsa-miR-218; hsa-miR-24; hsa-miR-9; hsa-miR-126; hsa-miR-134; hsa-miR-128; 及びhsa-miR-155の1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種又はそれ以上を、制御倍率により算出した場合に、標準的なT-175フラスコ中で培養された対応する幹細胞において発現される場合よりも高いレベルで発現する、実施形態30～46のいずれかに記載の方法。

48.微粒子がエキソソームであり、該エキソソームが、以下のmiRNA：hsa-miR-22; hsa-miR-26a; hsa-miR-210; hsa-miR-92a; hsa-miR-93; hsa-miR-424; hsa-miR-195; hsa-miR-127-5p; hsa-miR-21; hsa-miR-103a; hsa-miR-16; hsa-miR-125a-5p; hsa-miR-10a; hsa-miR-10b; hsa-miR-345; hsa-miR-130a; hsa-miR-15b; hsa-miR-20b; hsa-miR-20a; hsa-miR-17; hsa-miR-7; hsa-miR-106b; hsa-miR-101; hsa-miR-302a; hsa-miR-301a; hsa-miR-183; hsa-miR-219-5p; hsa-miR-18a; hsa-miR-15a; hsa-miR-182; hsa-miR-33a; hsa-miR-96; 及びhsa-miR-18bの1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種又はそれ以上を、制御倍率により算出した場合に、標準的なT-175フラスコ中で培養された対応する幹細胞において発現される場合よりも低いレベルで発現する、実施形態30～47のいずれかに記載の方法。

49.微粒子が、hsa-miR-1246、has-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532の1種、2種、3種又は4種を含む、実施形態30～48のいずれかに記載の方法。

50.単離された又は精製された微粒子に、1種以上の外因性の核酸、脂質、タンパク質、薬物又はプロドラッグを負荷（load）することをさらに含む、実施形態30～49のいずれかに記載の方法。

51.外因性の核酸が、1種以上の病態遺伝子をサイレンシングすることができるsiRNAである、実施形態50に記載の方法。

52.実施形態30～51のいずれかに記載の方法により得ることができる微粒子。

53.DCX、GFAP、GALC、TUBB3、GDNF及びIDOの1種以上を発現するエキソソームである微粒子。

54.エキソソームが、以下のmiRNA：hsa-miR-146b-5p; hsa-let-7c; hsa-miR-99a; hsa-miR-132; hsa-miR-378; hsa-miR-181a; hsa-let-7b; hsa-miR-100; hsa-let-7e; hsa-miR-23b; hsa-miR-185; hsa-let-7i; hsa-let-7a; hsa-let-7d; hsa-let-7g; hsa-miR-222; hsa-let-7f; hsa-miR-218; hsa-miR-24; hsa-miR-9; hsa-miR-126; hsa-miR-134; hsa-miR-128; 及びhsa-miR-155の1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種又はそれ以上を、制御倍率により算出した場合に、標準的なT-175フラスコ中で培養された対応する幹細胞において発現される場合よりも高いレベルで発現する、実施形態52又は53に記載の微粒子。

55.エキソソームが、以下のmiRNA：hsa-miR-22; hsa-miR-26a; hsa-miR-210; hsa-miR-92a; hsa-miR-93; hsa-miR-424; hsa-miR-195; hsa-miR-127-5p; hsa-miR-21; hsa-miR-103a; hsa-miR-16; hsa-miR-125a-5p; hsa-miR-10a; hsa-miR-10b; hsa-miR-345; hsa-miR-130a; hsa-miR-15b; hsa-miR-20b; hsa-miR-20a; hsa-miR-17; hsa-miR-7; hsa-miR-106b; hsa-miR-101; hsa-miR-302a; hsa-miR-301a; hsa-miR-183; hsa-miR-219-5p; hsa-miR-18a; hsa-miR-15a; hsa-miR-182; hsa-miR-33a; hsa-miR-96; 及びhsa-miR-18bの1種、2種、3種、4種、5種、6種、7種、8種、9種、10種又はそれ以上を、制御倍率により算出した場合に、標準的なT-175フラスコ中で培養された対応する幹細胞において発現される場合よりも低いレベルで発現する、実施形態52～54のいずれかに記載の微粒子。

56.hsa-miR-1246、has-miR-4492、hsa-miR-4488及びhsa-miR-4532の1種、2種、3種又は4種を含む、実施形態52～55のいずれかに記載の微粒子。

57.治療に使用するための、実施形態52～56のいずれかに記載の微粒子。

58.治療が、

（i）神経学的障害、疾患又は欠損、例えばパーキンソン、アルツハイマー、卒中若しくはALS、

（ii）リソソーム蓄積症、

（iii）心血管障害、例えば心筋梗塞、うっ血性心不全、末梢動脈性疾患、糖尿病性潰瘍、創傷治癒、
（iv）特発性肺線維症、呼吸促迫症候群、慢性閉塞性肺疾患、特発性肺高血圧症、嚢胞性線維症及び喘息を含む肺の疾患、
（v）代謝性又は炎症性障害、例えば糖尿病（I型若しくはII型）、関節リウマチ、変形性関節症、ループス、クローン病、過敏性腸疾患又は移植片対宿主病、
（vi）精神障害、例えば鬱病、双極性、統合失調症、又は自閉症候群障害、例えば自閉症、アスペルガー症候群若しくはレット症候群、
（vii）失明を引き起こす網膜の疾患、例えば加齢性黄斑変性、シュタルガルト病、糖尿病性網膜症又は網膜色素変性症、あるいは
（viii）脱髄性疾患、例えば多発性硬化症、脳性まひ、橋中心髄鞘崩壊症、脊髄ろう、横断性脊髄炎、デビック病、進行性多巣性白質脳症、視神経炎、白質萎縮症、ギラン・バレー症候群、抗MAG末梢神経障害及びシャルコー・マリー・トゥース病
に対するものである、実施形態57に記載の微粒子。
59.実施形態52～56のいずれかに記載の微粒子及び幹細胞を含む組成物であって、場合により該幹細胞が、該微粒子が由来する幹細胞であり、例えば幹細胞がECACC受託番号04091601を有するCTX0E03である、上記組成物。
60.治療に使用するための、実施形態59に記載の組成物。
61.幹細胞及び微粒子が、
（i）単一の医薬組成物で一緒に投与される、
（ii）同時期に又は同時に投与されるが別々に投与される、あるいは
（iii）別々に及び連続して投与される、例えば細胞の投与と微粒子の投与との間の期間が1時間、1日、1週間、2週間又はそれ以上である、
実施形態60に記載の組成物。
62.治療が、微粒子が由来する幹細胞を受ける宿主において寛容を、典型的には免疫寛容を誘導する、あるいは幹細胞を微粒子と一緒に投与することにより幹細胞に対する寛容が増強する、実施形態60又は61に記載の組成物。
【０３５０】
参考文献

Ambros et al RNA 2003. 9: 277-279

Banerjee, S., Williamson, D., Habib, N., Gordon, M., Chataway, J. (2011) Age and Ageing 40:7-13

Chung *et al.*,Cell Stem Cell, 2, 113-117, 2008

Ding, D. C., Shyu, W. C., Lin S. Z. (2011) Cell Transplant 20: 5-14

Einstein, O., Ben-Hur, T. (2008) Arch Neurol 65:452-456

Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy. 20th edition, ISBN: 0683306472

Hassani Z, O'Reilly J, Pearse Y, Stroemer P, Tang E, Sinden J, Price J, Thuret S. "Human neural progenitor cell engraftment increases neurogenesis and microglial recruitment in the brain of rats with stroke." PLoS One. 2012;7(11):e50444. doi: 10.1371/journal.pone.0050444. Epub 2012 Nov 21.

Hodges et al. Cell Transplant. 2007;16(2):101-15

Horie, N., Pereira, N.P., Niizuma, K. Sun, G. et al. (2011) Stem Cells 29:274-285.

Katsuda, Kosaka, Takeshita, Ochiya. Proteomics 2013, *00*, 1-17

Katsuda, Tsuchiya, Kosaka, Yoshioka, Takagaki, Oki, Takeshita, Sakai, Kuroda, Ochiya. Scientific Reports 2013, 3:1197, p1-11.

Klimanskaya *et al.*, 2006, Nature 444:481-485

Kornblum, Stroke 2007, 38:810-816

Lai et al "Proteolytic Potential of the MSC Exosome Proteome: Implications for an Exosome-Mediated Delivery of Therapeutic Proteasome". International Journal of Proteomics (2012) Article ID 971907, 14 pages.

Littlewood, T. D., Hancock, D. C., Danielian, P. S. et al. (1995) Nucleic Acid Research 23:1686-1690.

Miljan, E.A. & Sinden, J.D. (2009) Current Opinion in Molecular Therapeutics 4:394-403

Miljan EA, Hines SJ, Pande P, Corteling RL, Hicks C, Zbarsky V, Umachandran, M, Sowinski P, Richardson S, Tang E, Wieruszew M, Patel S, Stroemer P, Sinden JD. Implantation of c-mycER TAM immortalized human mesencephalic-derived clonal cell lines ameliorates behavior dysfunction in a rat model of Parkinson's disease. Stem Cells Dev. 2009 Mar;18(2):307-19

Mitchell et al Journal of Immunological Methods 335 (2008) 98–105

Pollock et al, Exp Neurol. 2006 May;199(1):143-55.

Mark F Pittenger; Alastair M Mackay; Stephen C Beck; Rama K Jaiswal; et al *Science;* Apr 2, 1999; 284, 5411

Smith, E. J., Stroemer, R.P., Gorenkova, N., Nakajima, M. et al. (2012) Stem Cells 30:785-796.

Stevenato, L., Corteling, R., Stroemer, P., Hope, A. et al. (2009) BMC Neuroscience 10:86

Stroemer, P., Patel, S., Hope, A., Oliveira, C., Pollock, K., Sinden, J. (2009) Neurorehabil Neural Repair 23: 895-909.

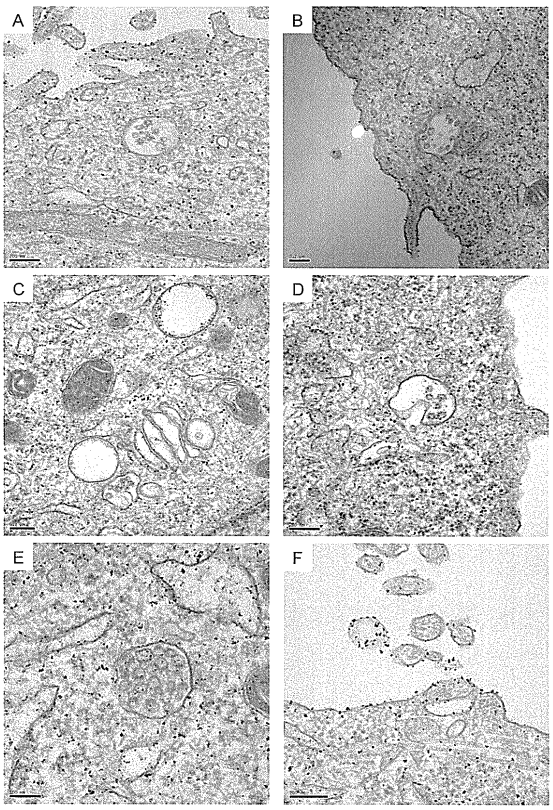
Théry, C., Ostrowski, M., Segura, E. et al. (2009) Nature Reviews Immunology 9: 581-593

Their et al, "Direct Conversion of Fibroblasts into Stably Expandable Neural Stem Cells". Cell Stem Cell. 2012 Mar 20.

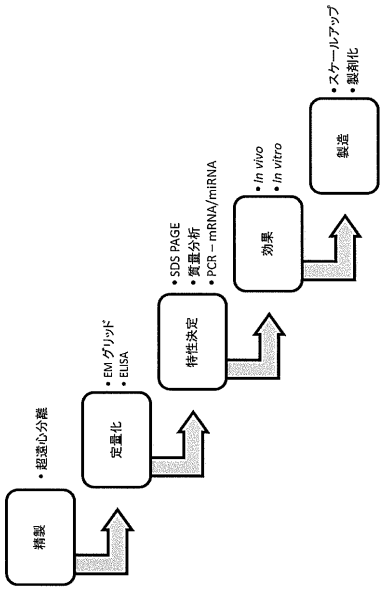
Timmers, L., Lim, S. K., Arslan, F., Armstrong, J. S. et al. (2007) Stem Cell Res 1: 129-137

Yuan, S.J., Martin, J,, Elia, J., Flippin, J. et al. (2011) PLoS ONE 6:e17540

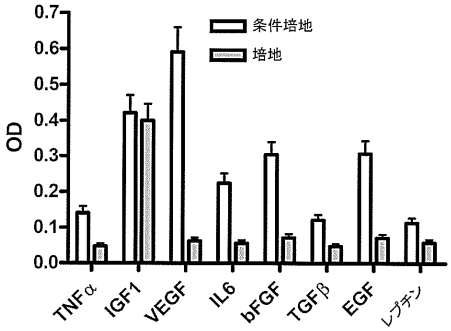
【図１】



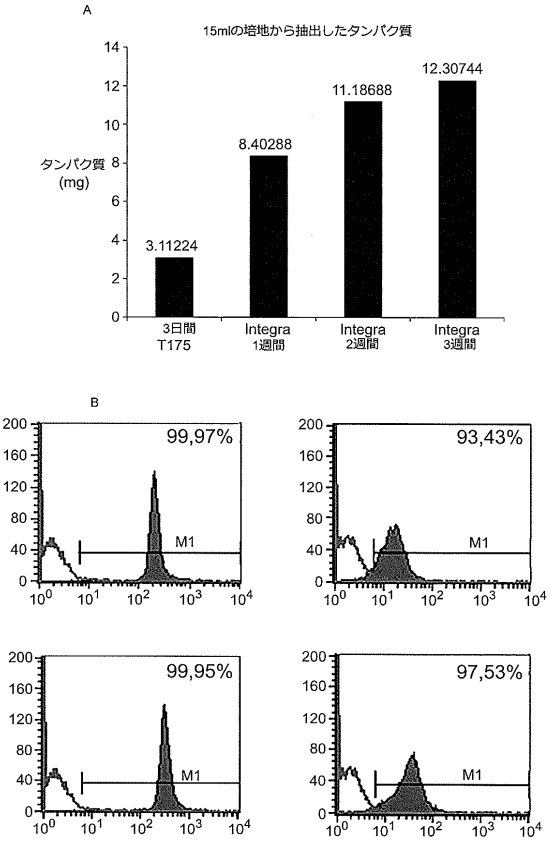
【図２】



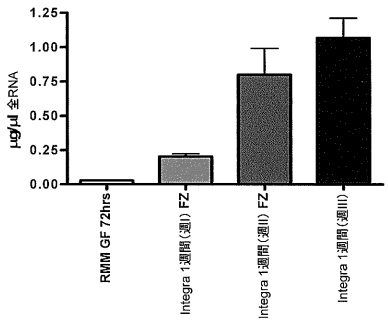
【図３】


0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
OD
条件培地
培地
TNFα
IGF1
VEGF
IL6
bFGF
TGFβ
EGF
レプチン

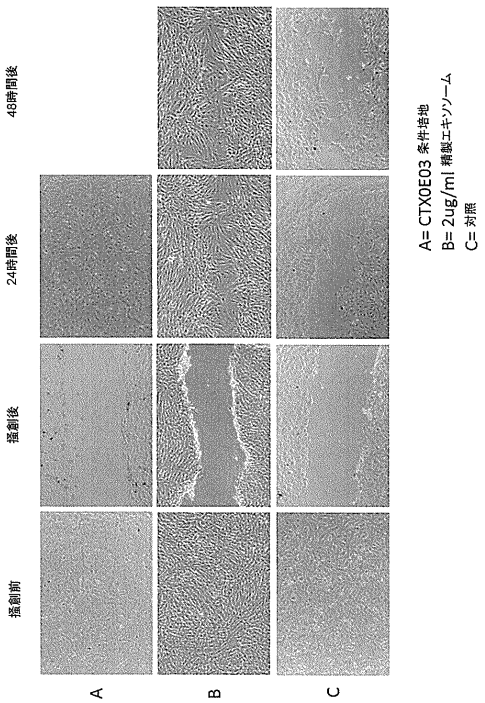
【図４】


A
15mlの培地から抽出したタンパク質
タンパク質 (mg)
3.11224
8.40288
11.18688
12.30744
3日間 T175
Integra 1週間
Integra 2週間
Integra 3週間
B
99,97%
93,43%
99,95%
97,53%
M1

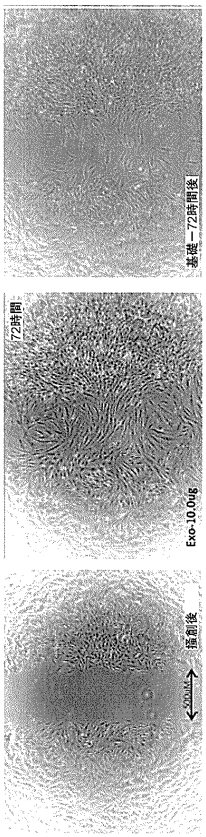
【図５】


1.25
1.00
0.75
0.50
0.25
0.00
μg/μl 全RNA
RMM GF 72hrs
Integra 1週間(週I) FZ
Integra 1週間(週II) FZ
Integra 1週間(週III)

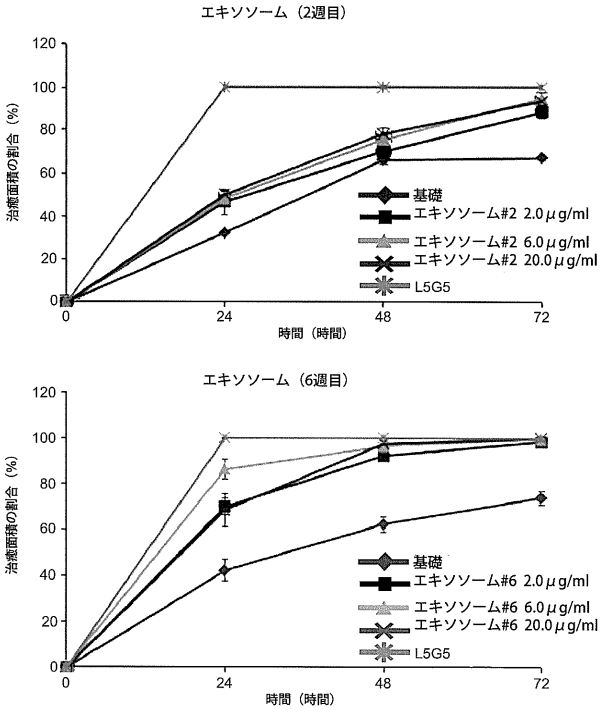
【図６Ａ】


48時間後
24時間後
掻創後
掻創前
A
B
C
A= CTX0E03 条件培地
B= 2ug/ml 精製エキソソーム
C= 対照

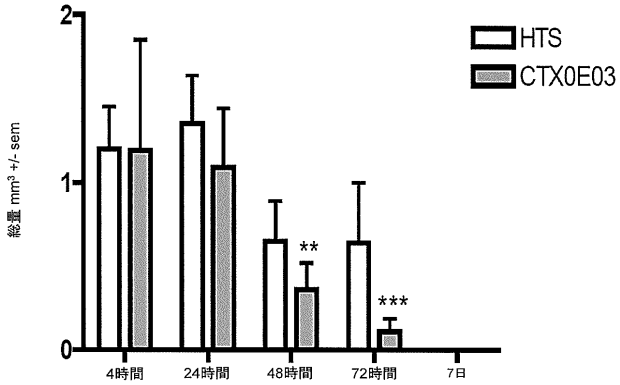
【図６Ｂ】



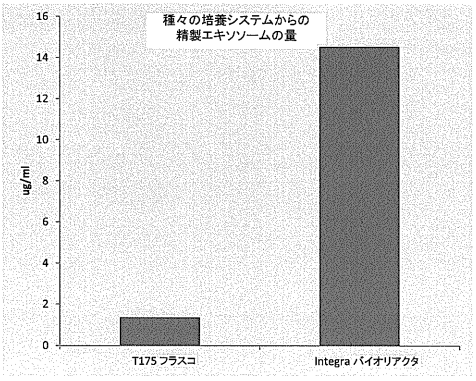
【図６Ｃ】



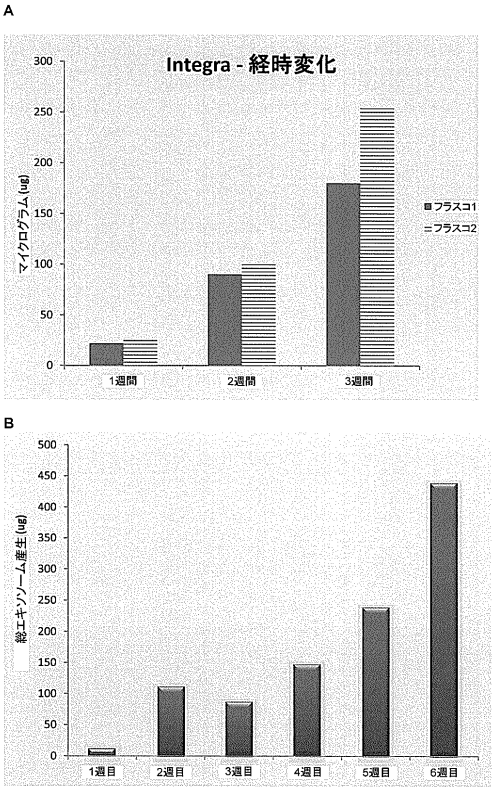
【図６Ｄ】



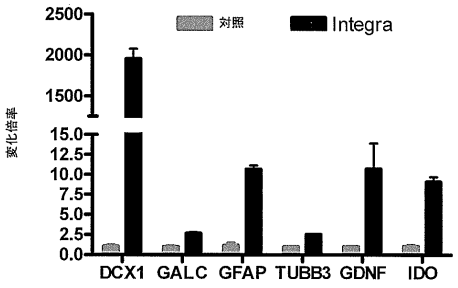
【図７】



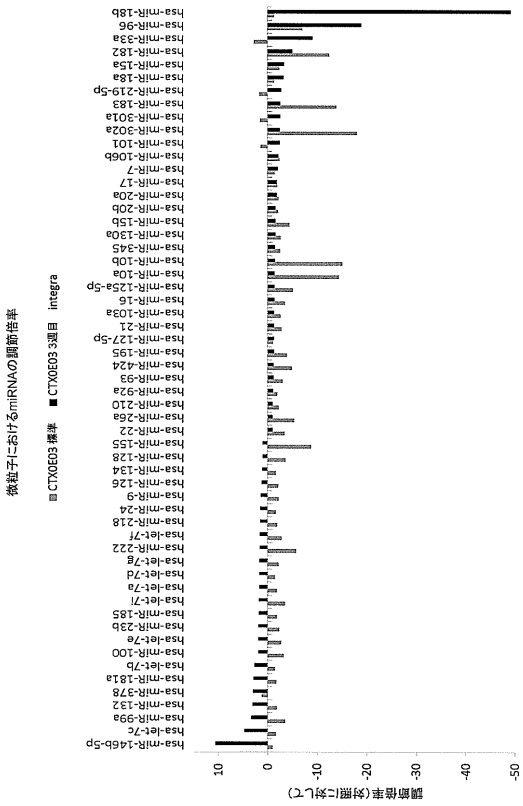
【図８】



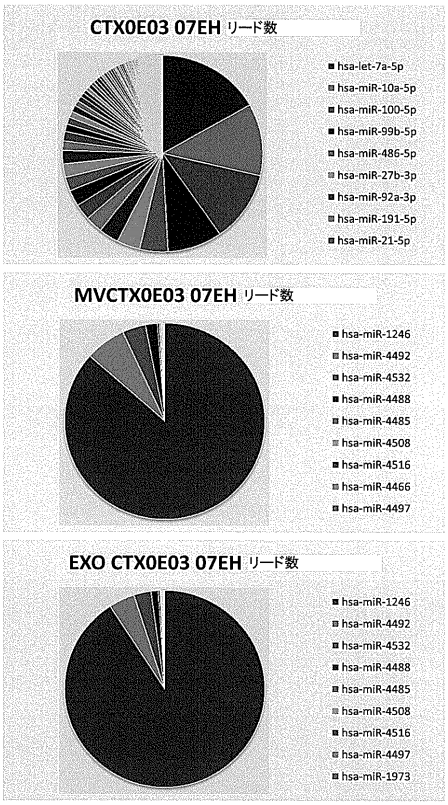
【図９】



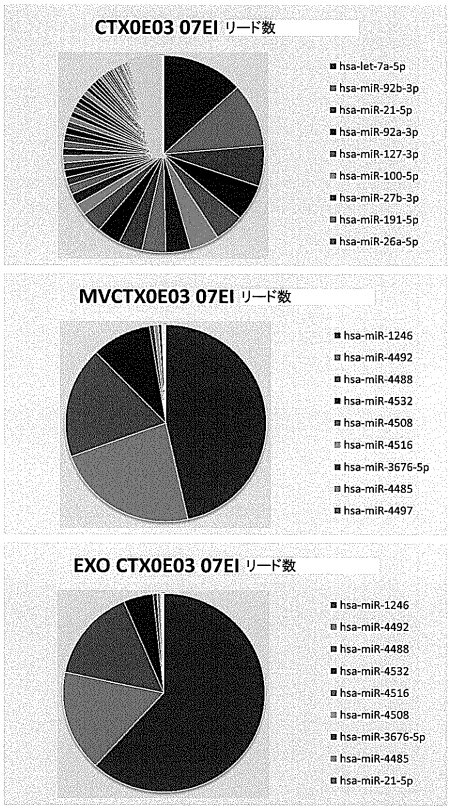
【図１０】



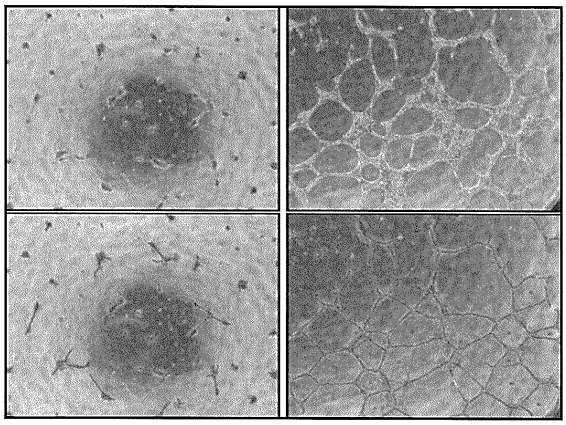
【図１１ａ】



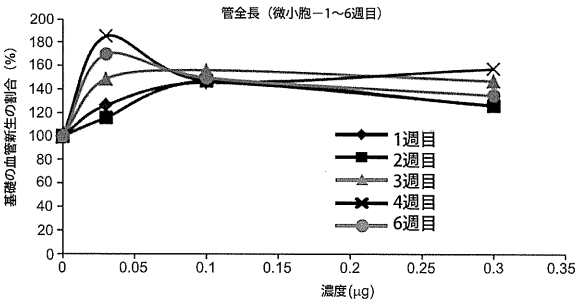
【図１１ｂ】



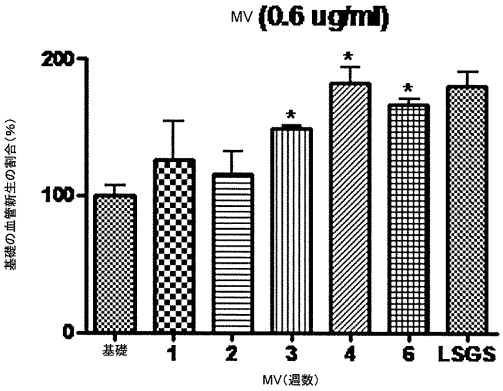
【図１２Ａ】



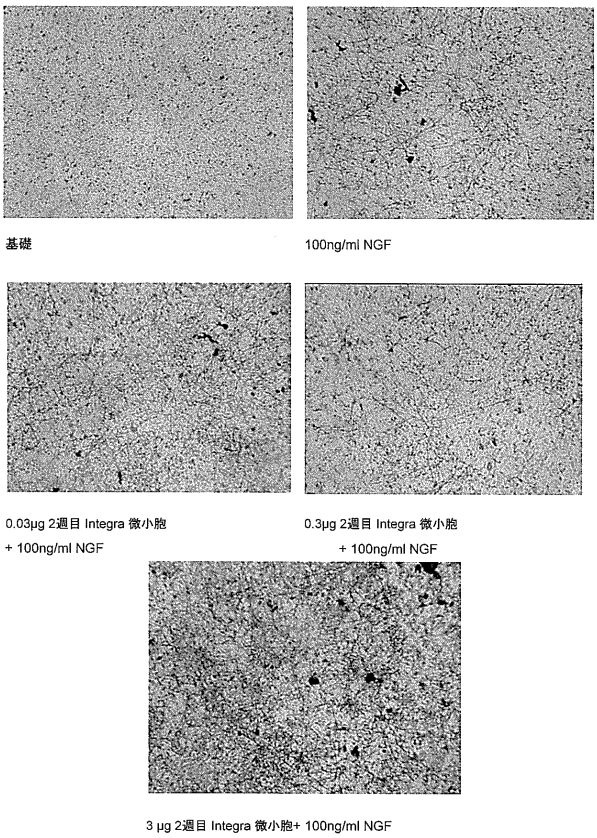
【図１２Ｂ】



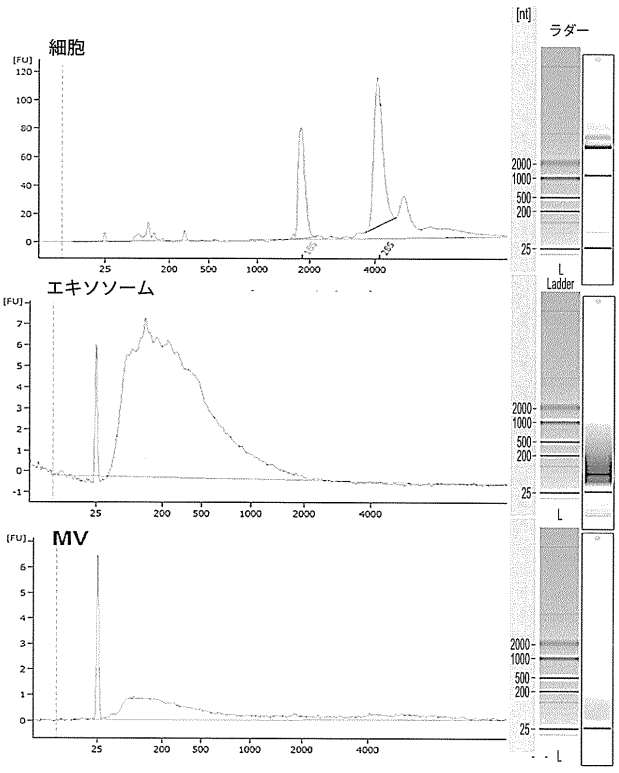
【図１２Ｃ】



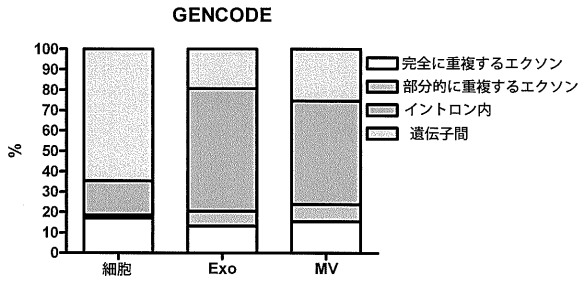
【図１３】



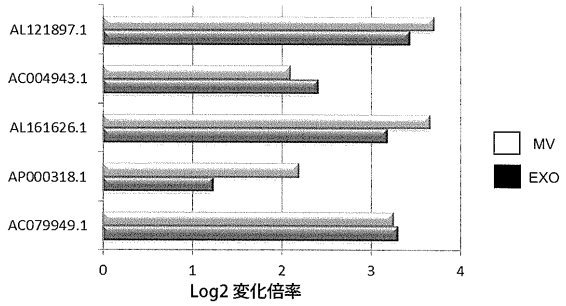
【図１４】



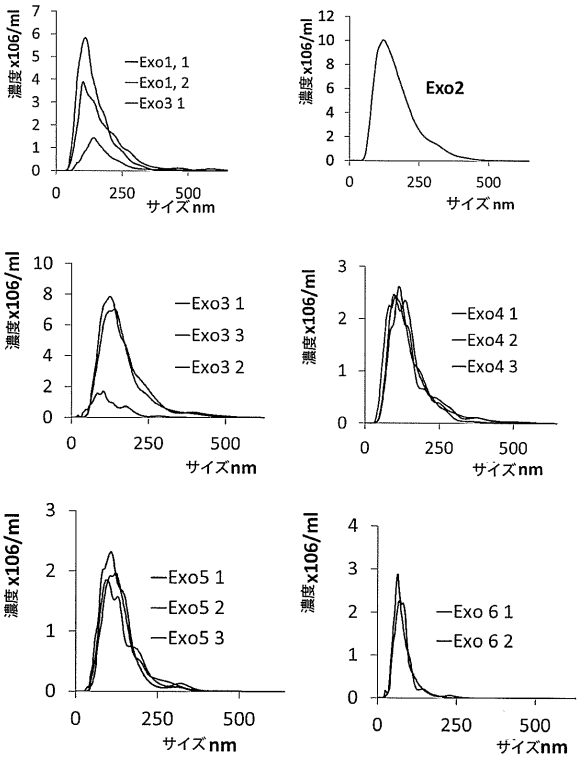
【図１５】



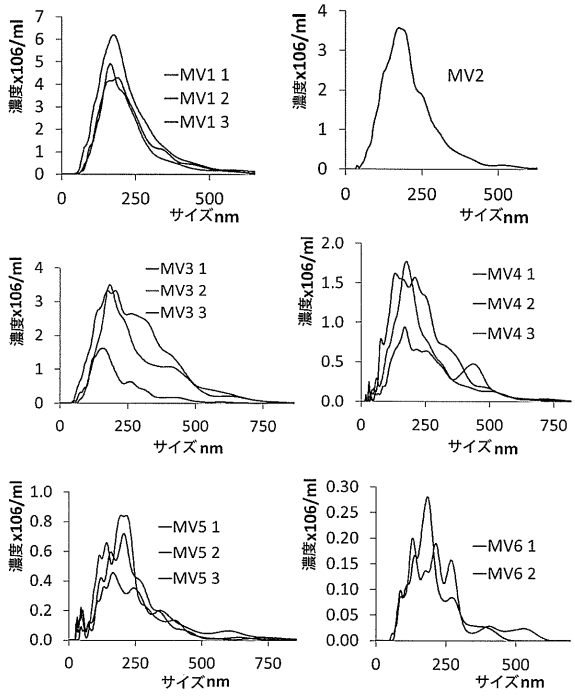
【図１６】



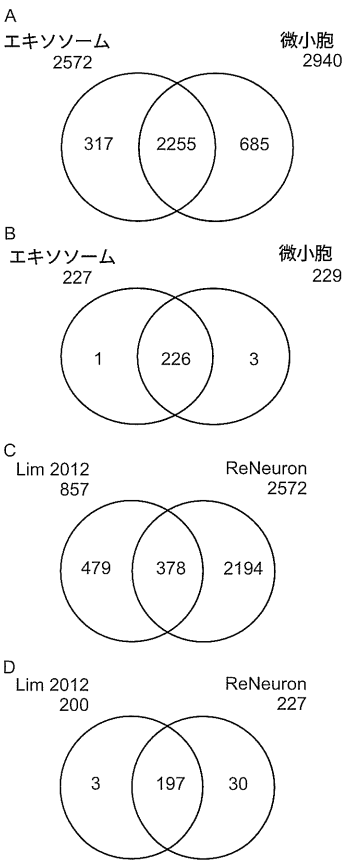
【図１７Ａ】



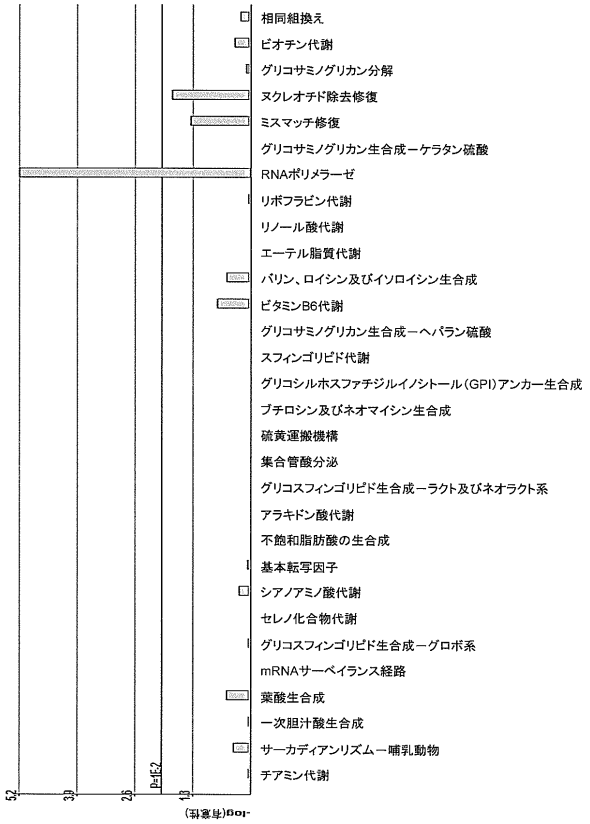
【図１７Ｂ】



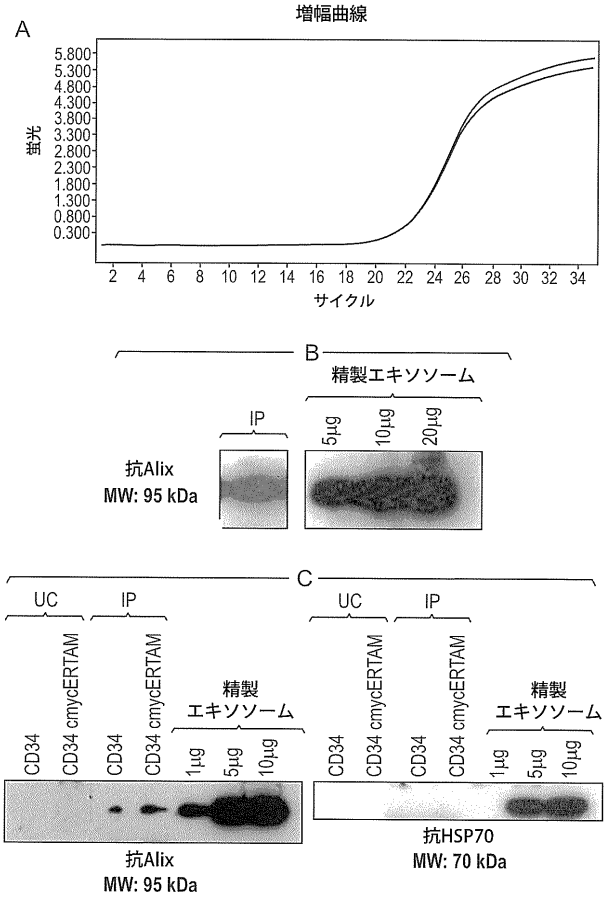
【図１８】



【図１９】



【図２０】



【配列表】

2016507550000001.app

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2014/050412

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
INV. A61K31/711 C12N5/0797 A61P25/28 A61P11/00 A61P9/00
A61K35/30 C12N5/10
ADD.
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
A61K C12N

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

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
EPO-Internal, WPI Data, Sequence Search, BIOSIS, COMPENDEX, EMBASE

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	KELLER S ET AL: "CD24 is a marker of exosomes secreted into urine and amniotic fluid", KIDNEY INTERNATIONAL, NATURE PUBLISHING GROUP, LONDON, GB, vol. 72, no. 9, 1 November 2007 (2007-11-01), pages 1095-1102, XP009106564, ISSN: 0085-2538, DOI: 10.1038/SJ.KI.5002486	1,4,8, 14,18, 19,22, 24,25
Y	page 1097; figure 4 page 1101	20,21
	----- -/--	

[X] Further documents are listed in the continuation of Box C. [X] See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

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

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

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

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

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

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

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

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

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
15 April 2014	24/04/2014

Name and mailing address of the ISA/	Authorized officer
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Bochelen, Damien

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2005)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2014/050412

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	TIAN SHENG CHEN ET AL: "Enabling a robust scalable manufacturing process for therapeutic exosomes through oncogenic immortalization of human ESC-derived MSCs", JOURNAL OF TRANSLATIONAL MEDICINE, BIOMED CENTRAL, LONDON, GB, vol. 9immort, no. 1, 25 April 2011 (2011-04-25), page 47, XP021097952, ISSN: 1479-5876, DOI: 10.1186/1479-5876-9-47	16,17, 22,23
Y	pages 49-51	1-15,20, 21

X	RONNE WEE YEH YEO ET AL: "Mesenchymal stem cell: An efficient mass producer of exosomes for drug delivery", ADVANCED DRUG DELIVERY REVIEWS, vol. 65, no. 3, 7 July 2012 (2012-07-07), pages 336-341, XP055113907, ISSN: 0169-409X, DOI: 10.1016/j.addr.2012.07.001	16,17, 22,23
Y	pages 338-339; figure 2	1-15

Y	DUKJIN KANG ET AL: "Proteomic Analysis of Exosomes from Human Neural Stem Cells by Flow Field-Flow Fractionation and Nanoflow Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry", JOURNAL OF PROTEOME RESEARCH, vol. 7, no. 8, 1 August 2008 (2008-08-01), pages 3475-3480, XP055066064, ISSN: 1535-3893, DOI: 10.1021/pr800225z page 3477 - page 3478; table 2	5,7

Y	WO 2011/062244 A1 (KURODA MASAHIKO [JP]; TANAKA MASAMI; MIZUTANI TAKAYUKI; TAKANASHI MASA) 26 May 2011 (2011-05-26) abstract	9-11

Y	WO 2011/149354 A1 (VERENIGING VOOR CHRISTELIJK HOGER ONDERWIJS WETENSCHAPPELIJK ONDERZOEK) 1 December 2011 (2011-12-01) page 64; claim 6; sequence 142	9-11

	-/--	

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/GB2014/050412

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	POLLOCK K ET AL: "A conditionally immortal clonal stem cell line from human cortical neuroepithelium for the treatment of ischemic stroke", EXPERIMENTAL NEUROLOGY, ACADEMIC PRESS, NEW YORK, NY, US, vol. 199, no. 1, 1 May 2006 (2006-05-01), pages 143-155, XP024946020, ISSN: 0014-4886, DOI: 10.1016/J.EXPNEUROL.2005.12.011 [retrieved on 2006-05-01] page 147 - page 149 -----	3,5-7

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No
PCT/GB2014/050412

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2011062244 A1	26-05-2011	NONE	
WO 2011149354 A1	01-12-2011	EP 2611918 A1	10-07-2013
		WO 2011149354 A1	01-12-2011

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (April 2005)

フロントページの続き

(51)Int.Cl.			FI				テーマコード（参考）
A61P 43/00		***(2006.01)***	Ａ６１Ｐ	43/00	１０５		４Ｃ０８６
A61K 35/28		***(2015.01)***	Ａ６１Ｐ	43/00	１１１		４Ｃ０８７
A61K 35/48		***(2015.01)***	Ａ６１Ｋ	35/28			４Ｃ２０６
A61K 35/30		***(2015.01)***	Ａ６１Ｋ	35/48			４Ｈ０４５
A61K 35/51		***(2015.01)***	Ａ６１Ｋ	35/30			
A61K 35/545		***(2015.01)***	Ａ６１Ｋ	35/51			
A61K 35/15		***(2015.01)***	Ａ６１Ｋ	35/545			
A61K 35/33		***(2015.01)***	Ａ６１Ｋ	35/15	Ｚ		
C12N 5/09		*(2010.01)*	Ａ６１Ｋ	35/33			
C12N 5/0775		*(2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/09			
C12N 5/0797		*(2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/0775			
C12N 5/0789		*(2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/0797			
C12N 5/0735		*(2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/0789			
C12N 5/10		*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/0735			
C12N 5/071		*(2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/10			
C12N 5/0784		*(2010.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/071			
A61K 31/7105		*(2006.01)*	Ｃ１２Ｎ	5/0784			
A61K 48/00		*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/7105			
A61K 38/00		*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	48/00			
A61K 31/575		*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	37/02			
A61K 31/164		*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/575			
A61K 31/688		*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/164			
A61K 31/685		*(2006.01)*	Ａ６１Ｋ	31/688			
			Ａ６１Ｋ	31/685			

(81)指定国 AP(BW,GH,GM,KE,LR,LS,MW,MZ,NA,RW,SD,SL,SZ,TZ,UG,ZM,ZW),EA(AM,AZ,BY,KG,KZ,RU,TJ,TM),EP(AL,AT,BE,BG,CH,CY,CZ,DE,DK,EE,ES,FI,FR,GB,GR,HR,HU,IE,IS,IT,LT,LU,LV,MC,MK,MT,NL,NO,PL,PT,RO,RS,SE,SI,SK,SM,TR),OA(BF,BJ,CF,CG,CI,CM,GA,GN,GQ,GW,KM,ML,MR,NE,SN,TD,TG),AE,AG,AL,AM,AO,AT,AU,AZ,BA,BB,BG,BH,BN,BR,BW,BY,BZ,CA,CH,CL,CN,CO,CR,CU,CZ,DE,DK,DM,DO,DZ,EC,EE,EG,ES,FI,GB,GD,GE,GH,GM,GT,HN,HR,HU,ID,IL,IN,IR,IS,JP,KE,KG,KN,KP,KR,KZ,LA,LC,LK,LR,LS,LT,LU,LY,MA,MD,ME,MG,MK,MN,MW,MX,MY,MZ,NA,NG,NI,NO,NZ,OM,PA,PE,PG,PH,PL,PT,QA,RO,RS,RU,RW,SA,SC,SD,SE,SG,SK,SL,SM,ST,SV,SY,TH,TJ,TM,TN,TR,TT,TZ,UA,UG,US

(74)代理人 100169971
弁理士 菊田 尚子
(74)代理人 100194618
弁理士 鶴田 聡子
(72)発明者 シンデン，ジョン
イギリス国 ジーユー２ ７エーエフ サリー，ギルフォード，サリー リサーチ パーク，ニュージェント ロード １０，リニューロン リミテッド
(72)発明者 スティーバナト，ララ
イギリス国 ジーユー２ ７エーエフ サリー，ギルフォード，サリー リサーチ パーク，ニュージェント ロード １０，リニューロン リミテッド
(72)発明者 コーテリング，ランドルフ
イギリス国 ジーユー２ ７エーエフ サリー，ギルフォード，サリー リサーチ パーク，ニュージェント ロード １０，リニューロン リミテッド

Ｆターム(参考) 4B024 AA01 BA21 BA80 DA03 GA18 HA01 HA08

4B063 QA01 QQ02 QQ52 QQ53 QR08 QX02
4B064 AF23 AG02 CC03 CC30 DA01
4B065 AA87X AC14 BA06 BB40 CA18 CA19 CA24 CA44
4C084 AA01 AA13 BA44 CA26 CA28 CA29 DC50 NA13 NA14 ZB211
ZC411
4C086 AA01 AA02 DA11 DA41 DA42 EA16 NA13 NA14 ZB21 ZC41
4C087 AA01 AA02 AA03 BB34 BB44 BB45 BB59 BB61 BB63 CA04
CA10 CA16 CA19 CA20 NA13 NA14 ZB21 ZC41
4C206 AA01 AA02 GA03 GA25 NA13 NA14 ZB21 ZC41
4H045 AA10 AA20 AA30 BA10 DA01 DA14 DA18 DA20 EA20 EA21
EA22 EA28 EA30 FA72